

50376
1990
13

70005

50376
1990
13

N° d'ordre : 479

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRE ARTOIS

en vue de l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'U.S.T.L.F.A.

MENTION SPECTROCHIMIE

par

Eric BRASSART

Ingénieur E.N.S.C.L.

Boursier au Laboratoire de Génie Industriel Alimentaire
I.N.R.A. - Centre de Recherche de LILLE

Laboratoire de Catalyse Hétérogène de L'U.S.T.L.F.A.



Sujet :

INTERACTIONS CHIMIQUES A L'INTERFACE ENTRE DES CONSTITUANTS DU LAIT (ACIDES AMINES - BETA-LACTOGLOBULINE) ET DES ACIERS AUSTENITIQUES

Soutenue le 25 janvier 1990 devant la Commission d'Examen:

Membres du Jury: MM.

F. WALLART
B. BAROUX
B. RIBADEAU-DUMAS
J.P. BONNELLE
M. LALANDE

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur

Ce travail a été réalisé conjointement dans les laboratoires de Génie Industriel Alimentaire de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Villeneuve d'Ascq et celui de Catalyse Hétérogène de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE I.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur M. LALANDE et à Monsieur le Professeur J.P. BONNELLE, responsables des deux laboratoires précédemment cités, pour l'intérêt qu'ils ont apportés à mes recherches et les encouragements qu'ils n'ont jamais cessé de formuler.

Mes remerciements vont aussi à ceux qui ont apportés leurs compétences de spécialiste à ce travail: Messieurs L. GENGEMBRE et J.P. TISSIER.

Je remercie également tout le personnel du L.G.I.A. et plus particulièrement Messieurs G. RONSE, P. DEBREYNE et Madame S. DELEPLANQUE dont les conseils et la grande disponibilité m'auront été d'un grand recours durant toute cette étude.

Je suis très honoré de la présence dans ce jury de Monsieur F. WALLART, professeur de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE Flandres Artois, et le remercie d'en avoir accepté la présidence.

Je tiens à présenter mes hommages respectueux à Messieurs B. BAROUX, Docteur ès Sciences chef de groupe de recherches chez UGINE, et B. RIBADEAU-DUMAS, Directeur de Recherches à l'I.N.R.A., pour avoir accepté de rapporter ce travail et de participer au jury.

Table des matières

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I. ENCRASSEMENT DES ECHANGEURS THERMIQUES PAR LES FLUIDES ALIMENTAIRES. ETAT DES CONNAISSANCES.	4
I.1 Encrassement des surfaces chauffées par les produits laitiers.	5
I.1.1 Composition et structure des constituants du lait.	5
I.1.1.1 Composition du lait	5
I.1.1.2 Les protéines	7
I.1.2 Connaissance sur l'encrassement macroscopique des échangeurs.	12
I.2 Adsorption de macromolécules sur les surfaces.	16
I.2.1 Notions de surface, d'interface et d'adsorption.	16
I.2.2 Adsorption de macromolécules	20
I.2.3 Adsorption d'acides aminés.	24
I.2.4 Conclusions	29
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	30
II.1 L'acier 304 L	32
II.1.1 Introduction	32
II.1.2 Composition et morphologie	32
II.1.3 Base métallurgique	33
II.2 Choix du milieu d'étude	37
II.2.1 La β -lactoglobuline	37
II.2.1.1 Rappels	37
II.2.1.2 Structure et conformation	37
II.2.1.3 Propriétés de la β -lactoglobuline	40
II.2.1.4 Conditions expérimentales	43
II.2.2 Les acides aminés	43
II.2.2.1 Définition et propriétés	43
II.2.2.2 Conditions expérimentales	45

II.3	Protocole expérimental	48
II.3.1	Nettoyage des aciers	48
II.3.2	Protocole d'adsorption	49
II.3.2.1	Acides aminés et octanoïque	49
II.3.2.2	La β -lactoglobuline	49
II.4	La spectroscopie de photoélectrons induite par rayon X	50
II.4.1	Introduction	50
II.4.2	Caractérisation d'une espèce chimique par E.S.C.A.	51
II.4.2.1	Introduction	51
II.4.2.2	Informations recueillies	51
II.4.3	Analyse spectrale	53
II.4.3.1	Introduction	53
II.4.3.2	Détermination de l'énergie de liaison	53
II.4.3.3	Analyse quantitative	54
II.4.3.4	Variantes de l'analyse E.S.C.A.	57
II.5	La microscopie électronique à balayage (M.E.B) et la microanalyse X	58
II.5.1	La Microscopie Electronique à Balayage	58
II.5.1.1	Introduction	58
II.5.1.2	Aspect pratique	58
II.5.2	La microanalyse X	58
II.5.2.1	Introduction	58
II.5.2.2	Aspect quantitatif	59
CHAPITRE III.	RESULTATS ET DISCUSSION	60
III.1	Introduction	62
III.2	Etude de l'acier 304 L	62
III.2.1	Cas de l'acier recuit brillant	62
III.2.1.1	Généralités	62
III.2.1.2	Etude et localisation de l'azote	64
III.2.2	Cas de l'acier glacé 2B	67
III.2.3	Conclusion	68
III.3	Nettoyage des aciers 304L	68

III.3.1 Etude E.S.C.A.	68
III.3.2 Etude au M.E.B. et en microanalyse X	71
III.4 Etude de l'adsorption des acides (aminés et octanoïque).	71
III.4.1 Introduction	71
III.4.2 La glycine	72
III.4.2.1 Interaction glycine/acier type 1	72
a Etude E.S.C.A.	72
b Etude au M.E.B. et en microanalyse X	79
c Conclusion	79
III.4.2.2 Interaction glycine/acier de type 2	79
a Etude E.S.C.A.	79
b Etude au M.E.B. et en microanalyse X	82
c Conclusion	82
III.4.2.3 Conclusion sur l'interaction glycine/Acier 304L	83
III.4.3 La cystéine	84
III.4.3.1 Interaction cystéine/acier de type 1	84
a Etude E.S.C.A.	84
b Etude au M.E.B. et en microanalyse X	89
c Conclusion	89
III.4.3.2 Interaction cystéine/acier de type 2	90
a Etude E.S.C.A.	90
b Analyse au M.E.B. et en microanalyse X	95
c Conclusions	95
III.4.3.3 Conclusion générale sur la cystéine	95
III.4.4 La lysine	96
III.4.4.1 Interaction Lysine/acier de type 1	96
a Etude E.S.C.A.	96
b Etude au M.E.B. et en Microanalyse X	100
c Conclusion	100
III.4.4.2 Interaction lysine/acier de type 2	101
a Etude E.S.C.A.	101
b Etude au M.E.B. et en microanalyse X	104
c Conclusion	104
III.4.4.3 Conclusion générale sur la lysine	104
III.4.5 L'acide octanoïque.	105

III.4.5.1 Interaction acide octanoïque/acier de type 1	105
a Etude E.S.C.A.	105
b Etude au M.E.B et en Microanalyse X.	109
c Conclusion.	110
III.4.5.2 Interaction acide octanoïque/acier de type 2	110
a Etude E.S.C.A.	110
b Etude au M.E.B. et en microanalyse X	113
c Conclusion	113
III.4.5.3 Conclusion générale sur l'acide octanoïque	113
III.5 Adsorption de la β -lactoglobuline sur l'acier 304 L	114
III.5.1 Introduction	114
III.5.2 Interaction β -lactoglobuline/acier de type 1	114
III.5.2.1 Etude E.S.C.A.	114
III.5.2.2 Etude au MEB et en microanalyse X	123
III.5.2.3 Conclusion	123
III.5.3 Adsorption β -lactoglobuline de type 2	123
III.5.3.1 Etude E.S.C.A.	124
III.5.3.2 Etude au MEB et en microanalyse X	129
III.5.3.3 Conclusion	129
III.5.4 Conclusion adsorption β -lactoglobuline/Acier 304 L	130
III.6 Synthèse sur l'adsorption des acides (aminés, octanoïque) et de la β -lactoglobuline	131
CHAPITRE IV. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	137
BIBLIOGRAPHIE	141
ANNEXES	158

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le traitement thermique des produits agricoles et alimentaires, indispensable à la stabilisation et à la modification physico-chimique des constituants, provoque l'encrassement des surfaces d'échange.

Cet encrassement joue d'une part le rôle d'un isolant thermique du fait de la faible conductivité thermique des dépôts formés et augmente d'autre part les pertes de charges dans les installations (LUND et SANDU, 1981)

Afin de respecter le programme thermique défini et les conditions d'exploitation industrielle, il est nécessaire d'avoir recours à un surdimensionnement des échangeurs. Cette procédure génère un surcoût en matériau qui vient s'ajouter à celui occasionné par les opérations quotidiennes de nettoyage. Ce surcoût peut être illustré par certains chiffres:

la perte due à l'encrassement des échangeurs dans les procédés de raffinage est estimée à 2500 TEP par an chez ELF France.

VAN NOSTRAND et al (1979) estiment les coûts supplémentaires dans l'industrie des pétroles aux U.S.A. à 1,36 million de dollars et à 4,41 milliards de dollars pour les pays non communistes.

D' un point de vue nutritionnel, l'encrassement peut provoquer une baisse de la qualité du produit occasionnée par la diminution des teneurs de certains constituants (LUND et BIXBY, 1975).

De toute évidence, la compréhension des phénomènes d'encrassement doit nécessairement passer, étant donné la complexité des processus intervenant lors de la formation des dépôts, par une étude et une caractérisation des interfaces matériau/produit, celles-ci pouvant conduire à une meilleure compréhension des facteurs associés à l'apparition et à l'évolution de l'encrassement.

Notre travail portera plus précisément sur l'encrassement des surfaces chauffées rencontrés dans l'industrie laitière.

Dans ce contexte nous aborderons, dans le présent travail, l'étude des interactions entre l'acier inoxydable Z2 CN 18-10 et des solutions biologiques déterminées (acides aminés, acide octanoïque, et une protéine).

L'acier a été retenu comme matériau support en raison de son utilisation courante dans l'industrie agro-alimentaire.

Quant aux solutions biologiques, elles interviennent dans notre étude en tant que constituants du lait et permettent de travailler sur des systèmes moins complexes.

Nous chercherons à caractériser l'interface matériau/produit de manière à préciser les mécanismes intervenant lors de l'interaction.

Pour ce faire nous aurons recours à des techniques d'analyse de surface (la spectroscopie de photoélectrons induite par rayons X, la microscopie électronique à balayage et la microanalyse X).

Ce travail se divise en quatre parties. Dans un premier temps nous préciserons l'état des connaissances portant sur l'encrassement des surfaces chauffées lors du traitement thermique des produits laitiers et sur l'adsorption des molécules biologiques (acides aminés et protéines). Puis après avoir défini les milieux modèles retenus et les techniques utilisées nous présenterons les résultats sur l'étude de l'interaction des milieux biologiques avec l'acier inoxydable. En dernier lieu, nous procéderons à une conclusion générale.

CHAPITRE I

ENCRASSEMENT DES ECHANGEURS THERMIQUES PAR LES FLUIDES ALIMENTAIRES.

CHAPITRE I. ENCRASSEMENT DES ECHANGEURS THERMIQUES PAR LES FLUIDES ALIMENTAIRES. ETAT DES CONNAISSANCES.	4
I.1 Encrassement des surfaces chauffées par les produits laitiers.	5
I.1.1 Composition et structure des constituants du lait.	5
I.1.1.1 Composition du lait	5
I.1.1.2 Les protéines	7
I.1.2 Connaissance sur l'encrassement macroscopique des échangeurs.	12
I.2 Adsorption de macromolécules sur les surfaces.	16
I.2.1 Notions de surface, d'interface et d'adsorption.	16
I.2.2 Adsorption de macromolécules	20
I.2.3 Adsorption d'acides aminés.	24
I.2.4 Conclusions	29

CHAPITRE I ENCRASSEMENT DES ECHANGEURS THERMIQUES PAR LES FLUIDES ALIMEN- TAIRES. ETAT DES CONNAISSANCES.

I.1 Encrassement des surfaces chauffées par les produits laitiers.

I.1.1 Composition et structure des constituants du lait.

Il est d'abord utile de préciser que le lait est un produit alimentaire complexe autant sur le plan de sa composition que sur celui de sa physico-chimie, il peut être considéré comme un mélange au sens physique et chimique (ALAIS, 1975 ; WALSTRA, JENESS, 1984).

I.1.1.1 Composition du lait

Le tableau 1 donne la composition moyenne du lait de vache en ses principaux éléments, son pH est voisin de 6,6. D'un point de vue physique, on distingue trois phases :

- l'émulsion de matières grasses sous forme globulaire
- la suspension de caséines, liée à des sels minéraux sous forme de micelle
- la solution ou phase aqueuse continue.

D'un point de vue chimique, il est commun de décrire le lait par ses quatre constituants les plus abondants :

- les lipides constitués principalement de graisses ordinaires (triglycérides)
- les protéines (caséines, albumines, globulines)
- les sels minéraux
- les glucides (essentiellement le lactose)

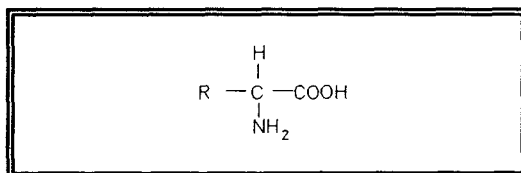
Hormis les quatre catégories précitées, le lait renferme une multitude d'autres composés qu'il serait irréaliste de décrire. Ceux-ci, même s'ils sont présents en quantité infime, sont très importants du fait de leur activité biologique : les enzymes, les protides, les phospholipides, les vitamines, les gaz dissous... (ALAIS, 1975).

	Composition (g/l)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) + eau liée (3,7%).
Glucides: lactose	49	Solution.
Lipides	35	
Matière grasse proprement dite	34	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns).
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Partie insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérols).	0,5	
Protides	34	Suspension micellaire de phosphocaséinate de Calcium (0,08 à 0,12 microns).
Caséine	27	Solution (colloïdale).
Protéines "solubles" (globulines, albumines)	5,5	
Substances azotées non-protéiques	1,5	Solution (vraie)
Sels	9	Solution ou état colloïdal (P et Ca).
de l'acide citrique (en acide)	2	(Sels de K, Ca, Na, Mg, etc.).
de l'acide phosphorique (P ₂ O ₅)	2,6	
de l'acide chlorhydrique (NaCl)	1,7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	traces	
Extrait sec (total)	127	
Extrait sec non gras	92	

Tableau 1 : Composition du lait de vache (ALAIS, 1975)

I.1.1.2 Les protéines

Les protéines sont des macromolécules complexes qui se présentent sous la forme d'un assemblage d'acides aminés appartenant à un groupe restreint, ils sont au nombre de vingt. Tous ces acides aminés sont liés les uns aux autres par une liaison amide primaire substituée appelée liaison peptidique. Cet édifice possède une conformation, c'est-à-dire une organisation tridimensionnelle, qui lui confère un certain nombre de propriétés (CHEFTEL et al., 1985). Les protéines possèdent un poids moléculaire élevé compris généralement entre 1500 et 500 000. Les acides aminés contiennent au moins un groupe aminé primaire (-NH₂) et un groupe carboxylique (-COOH). Les acides α-aminés naturels ont la structure suivante :



R est une chaîne latérale de composition variable qui influence chacune des propriétés physico-chimiques des acides et par conséquent les propriétés de la protéine qui les renferme.

Le tableau 2 regroupe les différents acides aminés entrant dans la composition des protéines du lait de vache.

Les protéines du lait se divisent en deux classes chimiquement et physiquement distinctes :

- les caséines (plusieurs variétés).
- les protéines solubles.

Les caséines existent sous forme d'agrégats colloïdaux contenant plusieurs milliers de molécules (DALGLEISH, 1982). La composition en acides aminés leur confère une hydrophobicité moyenne supérieure à celle des protéines du sérum qui justifie leur association en complexe de masse molaire élevée connu sous le nom de Micelle (CHEFTEL et al., 1985). Les caséines, essentiellement présente sous cette forme, renferment jusqu'à 8 % de minéraux (phosphate de calcium essentiellement).

Alanine	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Glycine	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Valine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 - \text{C} - \text{H} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array} - \text{C} - \text{COO}^-$ $\begin{array}{c} \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Sérine	$\text{HO} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Leucine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{H} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array} - \text{COO}^-$ $\begin{array}{c} \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Thréonine	$\text{CH}_3 - \text{CH} - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{OH} \end{array}$
Isoleucine	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Cystéine	$\text{HS} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Proline	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H} \end{array}$	Tyrosine	$\text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Phénylalanine	$\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Asparagine	$\text{NH}_2 - \text{C} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{O} \end{array}$
Tryptophane	$\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Glutamine	$\text{NH}_2 - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{O} \end{array}$
Méthionine	$\text{CH}_3 - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Acide Aspartique	$\text{O}^- - \text{C} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{O} \end{array}$
Acide Glutamique	$\text{O}^- - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{O} \end{array}$	Lysine	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Arginine	$\text{H}_2\text{N} - \text{C} - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{NH}_2^+ \end{array}$	Histidine	$\text{HC} = \text{C} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$ $\begin{array}{c} \\ \text{NH} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$

Tableau 2 : Composition chimique des différents acides aminés.

Les micelles sont des particules sphériques dont la composition moyenne est donnée dans le tableau 3.

Protéines	Minéraux et citrate (g/100 g d'extrait sec)	
Caséine α_{s1}	33	Ca 2,9
Caséine α_{s2}	11	Mg 0,1
Caséine β	33	Phosphate inorganique 4,3
Caséine κ	11	Citrate 0,5
Caséine γ	4	
	92	8
Diamètre: 20 à 300 nm		
Teneur en eau: environ 65%		

Tableau 3: Composition moyenne des micelles de caséine du lait de vache (SCHMIDT, 1980)

En fait, ces micelles se composent de submicelles sphériques, de 15 à 20 nm de diamètre (figure 1) associées les unes aux autres grâce au phosphate de calcium et de magnésium colloïdal (SCHMIDT 1980, 1982) (RIBADEAU-DUMAS, 1982, 1979).

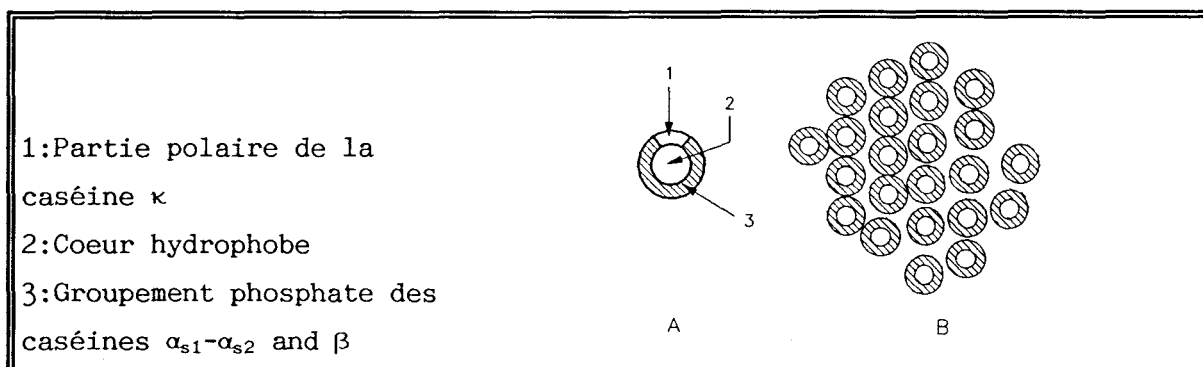


Figure 1 : Modèles de submicelles (A) et de micelle de caséine (B) (SCHMIDT,1980); Le phosphate de calcium colloïdal est localisé entre les submicelles.

La différence la plus évidente et la plus importante entre les caséines et les protéines du sérum réside dans le fait que toutes les formes de la caséine sont phosphorylées. Cette phosphorylation peut se produire sur les deux résidus de la sérine les plus proches du N terminal.

La présence de phosphate dans les caséines apparaît comme étant l'origine de leur capacité extensive à former des liaisons avec des ions métalliques divalents. Les caséines représentent environ 80 % du total azoté dans le lait et affichent un caractère acide, elles précipitent à pH 4,7.

Les protéines du sérum (ou encore les protéines solubles) sont constituées de protéines globulaires telles que la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine, les immunoglobulines. Elles constituent un mélange d'holoprotéines et de glycoprotéines.

L' α -lactalbumine et la bêta-lactoglobuline sont les protéines majoritaires du sérum, leur composition en acides aminés (tableau 4) est très différente de celle des caséines. Elles sont plus riches en acides aminés soufrés et renferment moins d'acide glutamique et de proline.

La β -lactoglobuline possède une conformation sensible au pH, de structure globulaire et compacte, elle se polymérise en octamère lorsque le pH varie de 5,2 à 3,5 et se trouve à l'état de dimère pour un pH voisin de 6,6. La répartition des différents résidus étant uniforme, les groupements hydrophobes se trouveront donc enfermés au coeur de la structure limitant ainsi les interactions avec d'autres molécules (RIBADEAU-DUMAS, 1982 ; DALGLEISH, 1982 ; STERNBERG, 1978 ; PERUTZ, 1978 ; EIGEL et al., 1984).

La présence simultanée d'un groupe thiol et de deux ponts disulfures permet l'association intermoléculaire par attaque du groupe -SH libre sur un pont disulfure.

Les propriétés propres de la β -lactoglobuline notamment celles afférentes aux conformations et structures seront développées ultérieurement.

L' α -lactalbumine est aussi une protéine globulaire mais ne disposant pas de groupe thiol libre, il est peu probable qu'elle participe à des échanges de ponts disulfures, excepté à la suite de la rupture des ponts natifs à haute température (CHEFTEL, 1985).

Acides aminés	Constituants du lait de vache						Protides totaux du lait de vache
	Caséine				β -lacto- globuline	α -lactal- bumine	
	α_s	β	κ	γ			
Acide aspartique	7,59	4,90	7,30	4,00	11,39	18,65	7,40
Thréonine	3,00	5,10	6,64	4,40	5,01	5,50	4,70
Sérine	5,80	6,80	6,09	5,50	3,58	4,76	6,00
Acide glutamique	20,90	23,20	17,35	22,90	19,12	12,85	23,00
Proline	7,80	16,00	8,78	17,0	5,22	1,98	11,30
Glycine	2,37	2,40	1,31	1,50	1,24	3,21	2,00
Alanine	3,18	1,70	5,41	2,30	6,70	2,14	3,50
Cystine (1/2)	0,00	0,00	2,80	0,00	3,40	6,40	1,80
Valine	5,36	10,20	5,10	10,50	6,11	4,66	7,00
Méthionine	2,44	3,40	1,00	4,10	3,16	0,95	2,50
Isoleucine	5,16	5,50	6,14	4,40	6,76	6,80	6,50
Leucine	8,65	11,60	6,08	12,00	15,08	11,52	10,0
Tyrosine	7,11	3,20	7,40	3,70	3,87	5,37	5,20
Phénylalanine	5,06	5,80	4,07	5,80	3,53	4,47	4,90
Tryptophane	2,13	0,83	1,05	1,20	2,62	7,00	1,40
Lysine	8,56	6,50	5,76	6,20	11,93	11,47	7,90
Histidine	2,70	3,10	1,67	3,70	1,63	2,85	2,70
Arginine	3,74	3,40	4,00	1,90	2,78	1,15	3,70

Tableau 4 : Composition en acides aminés des protéines du lait (% de substances sèches) d'après ALAIS (1975).

I.1.2 Connaissance sur l'encrassement macroscopique des échangeurs.

Le problème posé par l'encrassement des surfaces d'échange dans les échangeurs de chaleur lors du traitement thermique de fluides divers est très complexe étant donné la diversité des phénomènes qui interviennent. D'une manière générale, EPSTEIN (1979) a classé les phénomènes mis en jeu en plusieurs catégories distinctes suivant les mécanismes impliqués (tableau 5).

Encrassement dû à la précipitation	Précipitation à la surface de substances dissoutes (sels à solubilité inverse)
Encrassement dû à la sédimentation	Accumulation à la surface de grains solides divisés en suspension dans le liquide
Encrassement dû aux réactions chimiques	Formation de composé solide par réaction chimique dans laquelle la paroi n'est pas un réactif
Encrassement dû à la corrosion	Détérioration de la surface d'échange après réaction avec un ou plusieurs composés présents dans la phase
Encrassement biologique	Fixation sur la surface de micro-organismes
Congélation	Solidification d'un liquide ou de quelques uns de ses composés au point de congélation les plus élevés au contact d'une surface de refroidissement

Tableau 5 : Classification des encrassements selon EPSTEIN (1979).

Dans le cas des produits laitiers, ces différents mécanismes interagissent ou se produisent simultanément, si bien que la compréhension des phénomènes d'encrassement a été initialement précédée par un travail analytique important sur la composition et la structure des dépôts (LYSTER, 1965 ; BURTON, 1968 ; LUND et BIXBY, 1975 ; SKUDDER et al., 1981 ; TISSIER et al., 1984).

L'importance de l'encrassement et la composition du dépôt formé se modifient avec la température du fluide à l'endroit de l'échangeur où la réaction se produit. La composition des dépôts n'est en aucun cas homothétique de celle du lait. Ils sont pauvres en matières grasses et ne contiennent pas de sucres, les protéines solubles constituent l'essentiel de la phase protéique, quant à la phase minérale, elle regroupe pour l'essentiel des sels de calcium, et plus précisément des phosphates.

Si le lait utilisé n'a pas subi de traitement préalable, deux types de dépôts sont mis en évidence.

Le premier appelé "type A" par BURTON (1968) est spongieux volumineux, commence à se former à 75°C pour être à son maximum vers les températures de 95-110°C (BURTON, 1968 ; LALANDE et al., 1984). Ce type de dépôt affiche un taux important de protéines (50-70 %) et un taux minimal de minéraux (30-40 %) (LYSTER, 1965 ; LALANDE, 1984). Du fait de son caractère volumineux, il réduit la section de passage dans les échangeurs et cause ainsi l'augmentation des pertes de charge.

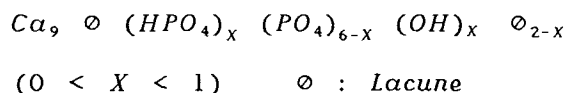
Un second type de dépôt appelé "type B" par BURTON, se forme aux températures plus élevées (130-140°C), son aspect et sa composition diffèrent ; il est dur, compact, cassant, de structure granulaire et renferme essentiellement des minéraux (70-80 %) (LYSTER, 1965 ; LALANDE et al. (1984). Ses caractéristiques physiques font qu'il agit plus comme isolant thermique qu'il n'interfère avec l'écoulement.

Les deux types de dépôt contiennent peu de matières grasses, environ 5 %. On leur attribue un rôle insignifiant dans l'encrassement des échangeurs (HIDDINK et al., 1986).

L'utilisation de techniques fines d'analyse de surface ou d'observation a permis une étude structurale et de texture plus précise : celle-ci constitue le point de départ de beaucoup d'hypothèses sur les mécanismes de formation des dépôts.

Suivant cette approche, TISSIER et al. (1985) caractérisent d'une part une structure dense, compacte et variée près des surfaces d'échange et d'autre part une structure aérée et souple en contact avec le lait. Deux types de réactions au moins prennent part dans l'encrassement (SANDU et LUND, 1985).

La première est liée à la dénaturation des protéines solubles qui explique en partie la formation des dépôts de type A. La seconde est liée à la disparition du phosphate de calcium de la solution à mesure que la température augmente et serait à la base de la formation du dépôt de type B. Cet encrassement minéral résulte de la solubilité inverse du phosphate de calcium qui précipite sous forme de phosphate tricalcique (TISSIER et al., 1985) et se convertit à la surface en un phosphate de calcium amorphe de type hydroxyapatite : (HEUGHEBAERT et MONTEL, 1970).



L'encrassement protéique résulte de l'association intermoléculaire engendrée par des réactions d'échange entre les ponts disulfures (S-S) et les groupements thiols (S-H), contenus dans les protéines du sérum et plus précisément dans la β -Lactoglobuline (LALANDE et al., 1985 ; HIDDINK et al., 1986). Cette protéine semble être la plus réactive, elle est la plus abondante des protéines du sérum (50 %) et son profil de dénaturation se corrèle avec le profil massique du dépôt dans l'échangeur (LALANDE et al., 1984, 1985 ; HIDDINK et al., 1986). L'activité de la β -Lactoglobuline s'explique par un changement de conformation de la protéine entre 60 et 70°C dont le principal effet est de démasquer le groupe thiol (-S-H). Le démasquage permet l'association de la β -Lactoglobuline avec les protéines possédant un pont disulfure (S-S) ((α -lactalbumine, κ -caséine...) (LYSTER, 1979). Ainsi, les micelles de caséines se trouvent déstabilisées par l'activation thermique du groupe thiol et se trouvent engagées dans un réseau tridimensionnel dont la β -lactoglobuline (dénaturée) initie la formation (LALANDE et al., 1985 ; SANDU et LUND, 1985).

SKUDDER et al. (1981) montrent qu'en oxydant les groupes thiols -SH dès qu'ils se démasquent, la quantité du dépôt se réduit, par contre, si l'on ajoute de la cystéine qui renferme ce groupement alors le dépôt s'amplifie.

Notons que le lait crû ou écrémé ne contient pas de groupe thiol libre et que le traitement U.H.T provoque une perte de 16 % en soufre (groupes thiol et disulfure) (ABOSHAMA et HANSEN, 1977). De plus, l'odeur de lait cuit provient de la libération par la chaleur de sulfures volatiles issus des acides aminés soufrés renfermés dans la β -lactoglobuline (HUTTON et PATTON, 1952 ; PATRICK et SWAISGOOD, 1976). On ne peut donc pas nier le rôle privilégié joué par la β -lactoglobuline tant dans l'adsorption des premières couches que dans la croissance ultérieure des dépôts. Cependant, les minéraux par les phases amorphes qui se développent interagissent avec ce réseau protéique et peut être avec les lipides. Ces interactions pourraient s'effectuer avec les groupements carboxylates des acides aspartique et glutamique des protéines du lactosérum. De même, le groupement phosphate de la phosphosérine des caséines pourrait se complexer par ce type de réactions (DAUFIN, 1987 ; ROIGNANT, 1987 ; LALANDE, 1984). Le processus d'encrassement peut être décrit par deux phénomènes non dissociables :

- la dénaturation thermique de la β -lactoglobuline
- la précipitation des sels à solubilité inverse (phosphate de calcium).

Cependant, pour des températures inférieures à 100°C, l'encrassement est plutôt régi par la composante protéique alors que pour des températures supérieures, les phénomènes d'ordre minéral sont prépondérants (WALSTRA, JENESS, 1984).

L'étape suivante dans l'étude des mécanismes d'encrassement doit porter sur l'initiation du phénomène. Il s'agit en effet de mettre en évidence les sites réactifs présents sur la surface d'échange et de caractériser les groupements fonctionnels de la matière organique et minérale ou à défaut les composés biologiques entrant en liaison avec le matériau. Cette stratégie repose sur la sensibilité et la sélectivité des méthodes analytiques disponibles compte tenu de la complexité des solutions biologiques réelles (lait, crème...), il semble souhaitable de s'orienter vers des solutions modèles chimiquement et structuralement moins compliquées (DICKINSON et al., 1989 ; ROIGNANT, 1987 ; RABEARISON ANDRIAMALALA, 1986 ; FORT, 1983). De plus, l'encrassement est conditionné par une multitude de variables qu'il est impossible de maîtriser en totalité :

- variables chimiques (concentration, force ionique, pH, complexation
- variables physiques (débit, propriétés thermophysiques, contraintes à la paroi)
- type d'interaction (électrostatique, Van der Waals, London...)
- état de surface du matériau (composition, rugosité, porosité, énergie de surface).

Ces nouvelles hypothèses nous conduisent donc à étudier l'adsorption de macromolécules sur différents substrats.

I.2 Adsorption de macromolécules sur les surfaces.

I.2.1 Notions de surface, d'interface et d'adsorption.

Avant d'aborder l'aspect général des connaissances portant sur l'adsorption, nous allons définir les notions de surface et d'interface.

Définie comme le lieu où se termine le solide, la surface se caractérise d'un point de vue structural comme un ensemble d'atomes auquel manque une partie de leurs voisins, par comparaison avec les atomes situés au coeur du solide. L'état vibrationnel de ces atomes, les distances qui les séparent, les niveaux électroniques qui leur sont associés sont donc différents. Mais, la surface c'est aussi le lieu où commence l'extérieur du solide, où vont justement se développer les interactions (solide/milieu environnement).

Il est assez clair, à ce niveau, que l'on ne peut pas considérer l'interface comme une frontière stricte, mais plutôt comme une zone dans laquelle s'opère la transition entre deux milieux interagissant (DESJONQUERES et al, 1987). Pour le Larousse, la surface est la partie extérieure d'un corps ; pour nous, il s'agira d'un certain nombre de couches atomiques dans lesquelles les propriétés sont différentes de celles du solide sous-jacent (figure 2).

L'encrassement se définit comme étant l'accumulation indésirable de matière solide à l'interface (EPSTEIN, 1979 ; KNUDSEN, 1979).

L'adsorption peut se définir par le phénomène suivant lequel les molécules dissoutes ou les particules dispersées s'accumulent à la surface (considérée de façon générale) en des concentrations bien supérieures à celles qui correspondent à des systèmes où les molécules et les particules sont distribuées de façon aléatoire (DICKINSON et al., 1989).

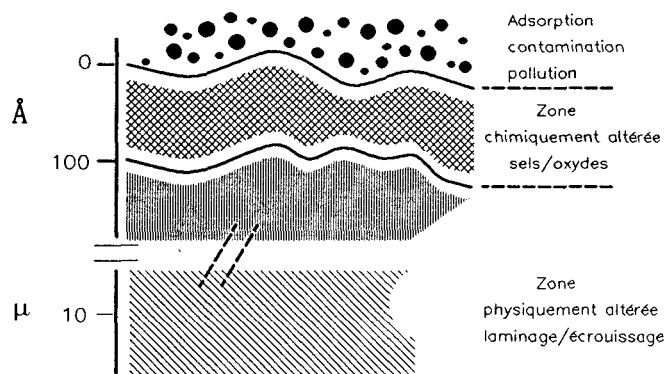


Figure 2: Modèle de surface industrielle.

L'étude de l'adsorption de macromolécules sur des surfaces solides englobe trois composantes :

- nature de l'entité qui s'adsorbe
- le milieu dans lequel se réalise l'adsorption
- la nature de la surface solide.

En ce qui concerne le système protéine/surface solide, on peut résumer à l'aide du tableau 6, les paramètres propres à chacune des composantes (ANDRADE, 1985).

La surface solide et l'interface solution-solide doivent être parfaitement caractérisées si l'on veut pouvoir comprendre l'adsorption des protéines.

Selon LUND et SANDU (1981), l'adsorption de macromolécules repose principalement sur trois caractéristiques :

- la flexibilité de la molécule
- le nombre important de sites actifs
- l'orientation de la molécule.

Une fois adsorbée, la macromolécule peut encore entrer en liaison avec la surface par l'intermédiaire de ses ramifications initialement éloignées de l'interface. L'ampleur de ce comportement est contrôlée par plusieurs paramètres physiques et chimiques telles que : la chaleur, l'agitation (mouvement Brownien

ou turbulence), modification physico-chimique du film superficiel (pH, force ionique). De plus, si la macromolécule atteint un état d'adsorption stable sur une surface, il apparaît peu probable que la majorité des liaisons existantes soient détruites sans qu'il s'en crée de nouvelles, le processus de désorption est donc dans ce cas statistiquement irréversible. En ce qui concerne les petites molécules, le cas est bien différent. Thermodynamiquement, elles atteignent la surface plus rapidement, mais leur adsorption étant plus réversible leur durée de vie moyenne à l'interface est plus courte. Par conséquent, si une macromolécule se trouve adsorbée dans un état stable, elle ne pourra pas être remplacée par les molécules de plus petites tailles mais pourra les fixer.

De façon générale, la désorption et les réarrangements des macromolécules s'opèrent suivant des durées considérées comme longues comparées au temps expérimental d'observation (DICKINSON et al., 1989).

La figure 3 illustre le comportement d'une protéine initialement à l'équilibre. Sa dénaturation continue engendre le développement d'un film adsorbé irréversiblement (Mc GUIRE, 1989). Il est difficile, voire impossible de prédire l'état conformationnel des protéines adsorbées de façon universelle. L'élaboration d'une théorie générale ne peut absolument pas prendre en compte la grande diversité des systèmes protéines/substrat.

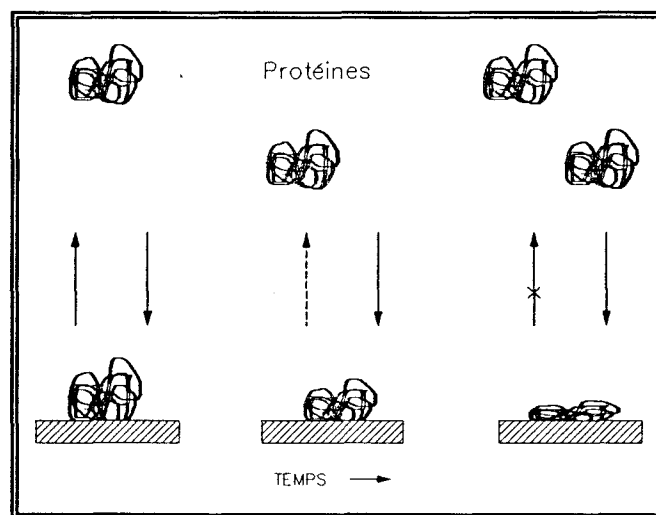


Figure 3 : Comportement post-adsorption d'une protéine à température constante (Mc GUIRE, 1989).

PROTEINE	SOLUTION	SURFACE
<ul style="list-style-type: none"> - Point isoélectrique - Distribution de charges et charge nette - Structure 3D en solution - Disposition et nature des portions hydrophobes - Régions au groupements actifs dans le transfert de charges - Rétention d'eau - Taux de dimérisation ou autre - Liaisons avec des molécules de faible poids moléculaire - Rigidité, flexibilité, changement de conformation 	<ul style="list-style-type: none"> - pH - Force ionique, composés ioniques, type de tampon - Espèce de faible poids moléculaire: acides aminés, acides gras - Type et concentration de la protéine - Température, pression - Hydrodynamique (écoulement) 	<ul style="list-style-type: none"> - Surface sèche et propre (à l'air ou dans le vide) - Topographie et hétérogénéité, microscope électronique et optique et profilomètre - Composition de la surface, spectroscopie de photoélectrons et spectroscopie infra-rouge par réflexion - Potentiel de surface, test électrostatique - Angles de contact à l'avancée, tension de surface critique - Surface humide, interface solution protéines - Stabilité dans l'eau, dissolution - Angles de contact solide-eau air, angle au retrait et hystérésis - Potentiel de la double couche - Ionisation et échange de proton des groupements superficiels - Eau liée - Effet entropique à l'interface - Dynamique de l'interface, réorientation, dénaturation - Hydrodynamique de l'interface

Tableau 6 : Synthèse des différents paramètres à prendre en compte pour l'étude de l'adsorption des protéines (ANDRADE, 1985).

I.2.2 Adsorption de macromolécules

Il serait irréaliste de procéder à une revue bibliographique généralisée dans le domaine de l'adsorption des macromolécules, en effet beaucoup trop de domaines sont concernés :

- encrassement dans les échangeurs de chaleur et autres appareils industriels
- adhésion (peinture, enduit, colle...)
- revêtement de surface (nucléaire, adsorption de polymère)
- adhésion des micro-organismes (par extension au sujet)
- implants (organes artificiels, problèmes dentaires).

Nous nous focaliserons donc sur les interactions protéines/substrat. Dans le domaine de la recherche médicale, l'étude de l'adsorption s'est très vite développée. Nous pouvons par conséquent tirer beaucoup d'enseignement des travaux réalisés dans ce secteur.

L'implantation d'organes artificiels est aujourd'hui une thérapeutique routinière. La durée de vie des implants dépend de l'interaction de la surface du matériau avec les tissus et les liquides du corps humains. Les irrégularités de la surface et les gradients de composition chimique du matériau et des "fluides" sont les facteurs essentiels responsables de la nucléation et de la propagation destructrice. Les principales réactions rencontrées sont les suivantes : adsorption, dégradation, corrosion, calcification, fatigue, usure mécanique, fragilisation (THULL, 1982).

L'état de surface (morphologie, composition...) conditionne donc la biocompatibilité des matériaux. Dans un tout autre domaine, BONHERT et al. (1988) étudient l'influence de la composition d'un polymère (2-hydroxyéthylméthacrylate (HEMA) et méthyl méthacrylate (MMA) sur l'adsorption des protéines. Ce travail a pour but de mieux comprendre les phénomènes interfaciaux engendrés par l'utilisation de lentilles de contact. Les copolymères étudiés sont adsorbés faiblement par les protéines mais leur faible perméabilité en oxygène les empêchent d'être utilisés comme matériau de base dans la fabrication des lentilles de contact. Cependant, ils constituent un matériau convenable d'étude, et l'adjonction d'additifs pourrait les rendre totalement compatibles.

L'expérimentation à l'échelle du laboratoire constitue une étape nécessaire à la mise en évidence des mécanismes intervenant lors de la mise en contact du couple "fluide biologique/surface", mais en aucun cas elle n'est représentative des conditions industrielles, d'une part, à cause de l'absence de gradient thermique et d'autre part, aucun paramètre hydrodynamique n'est pris en compte. Cependant, HEGG et al. (1985) montrent, en étudiant l'encrassement des protéines du lactosérum suivant des conditions statiques, que la dénaturation thermique de la β -lactoglobuline coïncide à l'échelle de l'Angström, avec l'importance de l'adsorption de la protéine sur de l'acier inoxydable. Il en résulte que l'augmentation de l'adsorption, associée à la dénaturation thermique de la β -lactoglobuline se développe à l'échelle microscopique comme à l'échelle macroscopique.

IVARSSON et al. (1985) ont étudié par ellipsométrie et mesure de capacitance, l'adsorption d'albumine sur différents métaux (platine, titane et zircon). L'ovalbumine se dépose en mono-couche, mais la quantité et la structure de la protéine adsorbée dépendent de la nature du métal. En fait, l'adsorption est gouvernée par des interactions électrostatiques entre la charge de la protéine et les charges de métaux qui orientent à long terme la configuration de la protéine adsorbée.

RATNER et al. (1981) ont étudié la géométrie d'adsorption de l'hémoglobine sur le polytétrafluoréthylène (P.T.F.E.) et sur du platine. Sur le P.T.F.E., l'Hémoglobine est localisée sous forme d'îlots de 50 Å d'épaisseur avec un léger recouvrement de l'espace inter-îlots, alors que sur le platine, la protéine recouvre complètement et uniformément la surface avec une orientation préférentielle des atomes d'azote vers la phase aqueuse. D'autres auteurs (PAYNTER, 1984) se sont penchés sur le même type d'étude, en considérant d'autres polymères : poly (vinyl fluorure) (PVF), poly (vinyldiène fluorure (PVF₂) et le P.T.F.E. Deux protéines ont été choisies en fonction de leur propriété vis-à-vis de l'adhésion des cellules :

- l'hémoglobine (qui inhibe l'adhésion)
- la fibronectine (qui améliore l'adhésion)

Les films (séchés) d'hémoglobine et de fibronectine adsorbées ne recouvrent pas uniformément la surface, le taux de recouvrement dépend de l'adsorbat, de

l'adsorbant, de la concentration de la protéine en solution et augmente avec la tension superficielle critique du polymère. Dans tous les cas, la fibronectine donne lieu à un recouvrement plus important de la surface, quel que soit le matériau. GOLANDER et KISS (1988) montrent en utilisant l'E.S.C.A et l'ellipsométrie que les protéines (la bovine sérum albumine, l'immunoglobuline, la fibrinogène), sous des conditions physiologiques, s'adsorbent de manière plus extensive sur le PVC (poly vinyl chlorure), hydrophobe, que sur le PMS (polyméthacrylate) et les surfaces d'oxydes de polyéthylène.

La quantité de protéine adsorbée se corrèle avec le pourcentage d'azote détecté par E.S.C.A sur le matériau. Selon les auteurs, tous ces phénomènes contribuent à montrer l'importance des forces hydrophobes lors de l'adsorption. GOLANDER et al. (1986), lors d'une étude d'adsorption de la B.S.A, sur des films d'oxydes de polyéthylène, montrent que les quantités adsorbées sont faibles. Ce faible degré d'adsorption est attribué à l'absence de groupements ioniques et aux faibles possibilités d'interactions hydrophobes. La composition chimique du substrat (donc de sa surface) influence considérablement l'adsorption, principalement par les forces attractives. L'adsorption peut donc être réduite en augmentant la densité des groupements hydrophobes non ioniques à la surface du matériau.

Dans une étude du même ordre, LIEDBERG et al. (1986) mettent en évidence des changements de conformation lors de l'adsorption de la β -lactoglobuline sur des surfaces hydrophiles d'or à différents pH. Les résultats obtenus par ellipsométrie et par infra-rouge (IRAS) montrent une diminution de la concentration à la surface lorsque le pH augmente de 4,5 à 10. Ces variations s'expliquent par l'accroissement de la charge nette de la protéine.

La β -lactoglobuline s'adsorbe à l'état natif pour une valeur de pH de 4,5 alors qu'un changement de conformation se produit pour des valeurs de pH de 6,0 et 10, la protéine est alors dans une conformation déployée plate. Pour les valeurs élevées de pH, le groupement carboxylate (groupement terminal des protéines) semble gouverner l'adsorption soit par un effet d'orientation à l'interface, soit par une grande coordination conférée par des liaisons de type ester.

MICHAELI et al. (1980) ont étudié la diffusion de la bovine sérum albumine (B.S.A) adsorbée sur du verre. En fait, une fois adsorbée, la protéine progresse le long de la surface des sites initiaux d'adsorption vers d'autres sites

encore inoccupés. Cette diffusion bidimensionnelle correspond à un état transitoire entre l'adsorption réversible et l'adsorption irréversible (Mc GUIRE, 1984).

HEGG et al. (1981) suivent l'évolution de l'épaisseur de films adsorbés lors de l'adsorption de Bovine sérum albumine, d' α -lactalbumine et de β -lactoglobuline sur de l'acier inoxydable (A.I.S.I. 304 et A.I.S.I. 316) en fonction de la température. Pour l' α -lactalbumine et la Bovine sérum albumine, on distingue deux comportements. Lorsque la température est inférieure à 70°C , l'épaisseur est sensiblement constante alors que pour des températures supérieures ($70^{\circ}\text{C} < T < 90^{\circ}\text{C}$), cette épaisseur est comprise entre 200 et 300 Å. Pour la β -lactoglobuline, l'épaisseur varie de quelques dizaines à quelques centaines d'Angströms (800) pour des températures comprises entre 50 et 90°C .

Ces différences de comportement sont liées à des changements d'agrégation en solution suivant la température.

ROLLA (1982), cité par FORT (1983) et RABEARISON ANDRIAMALALA (1986) a étudié l'adsorption de macromolécules sur l'émail dentaire et met en évidence deux modes d'adsorption protéine/substrat solide. Ceux-ci reposent sur le caractère amphotère de l'hydroxyapatite qui peut à la fois fixer les groupements chargés négativement et les groupements chargés positivement :

- le premier conduit à la fixation de groupements fonctionnels tels que COOH , ROPO_4H_2 , ROSO_3H ... la liaison met en jeu les ions calcium présents à la surface du substrat et les groupements acides de la protéine (ionisés) : (phosphate, carboxylate, sulfate) (figure 4).

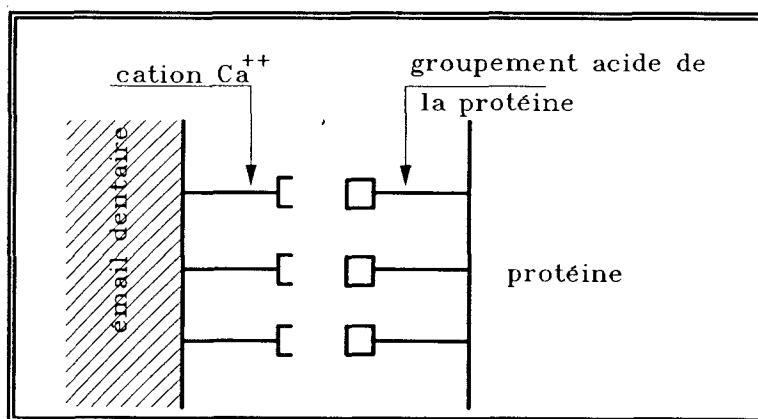


Figure 4 : Mode de fixation des protéines par le groupement acide (ROLLA, 1982).

- le second correspond à la fixation des groupements basiques de la protéine sur les ions PO_4^{3-} du solide.

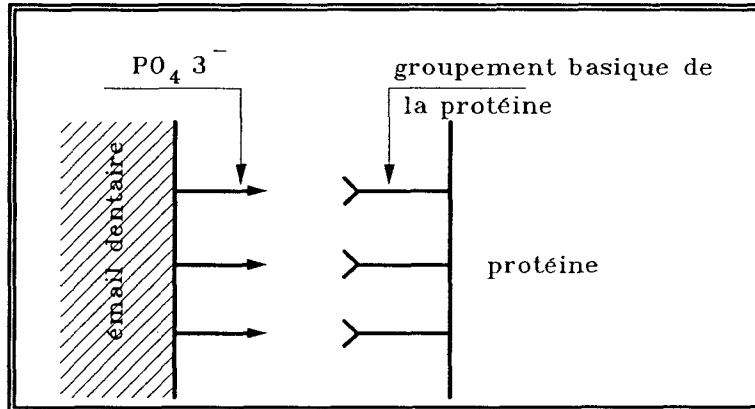


Figure 5 : Mode de fixation des protéines par le groupement basique (ROLLA, 1982).

I.2.3 Adsorption d'acides aminés.

Il ressort de l'étude bibliographique précédente que les systèmes étudiés sont complexes et que peu d'information d'ordre mécanique (à l'échelle atomique) ont été mises en valeur. Afin d'obtenir ce type d'information, il faut avoir recours à des systèmes modèles moins compliqués, ceux-ci doivent être chimiquement et structuralement moins complexes. Il s'agit en fait de limiter le nombre de composés susceptibles d'interagir avec la surface (DICKINSON, 1989). Afin de satisfaire aux exigences définies ci-dessus, nous procéderons à l'étude bibliographique de l'adsorption des acides aminés sur différents supports solides. LUNDSTROM et al. (1985) étudient à l'aide de l'E.S.C.A, l'adsorption du plus petit des acides aminés, la glycine, sur différents matériaux (or, graphite, Téflon, cuivre). Ils classent ces matériaux en trois catégories suivant le taux d'évaporation sous vide de la glycine adsorbé :

- couche stable de glycine zwitterionique (titane, graphite, or hydrophile)
- évaporation totale de la glycine (Téflon, polypyrrole, silicone)
- couche de glycine non zwitterionique (or hydrophobe, cuivre, oxyde d'aluminium).

Les auteurs proposent un modèle d'adsorption pour le graphite. Les molécules de glycine formeraient une double couche moléculaire avec une orientation préférentielle des atomes d'azote (chargés positivement) vers la surface. La forme zwitterionique, présente en solution, est caractérisée par un groupement carboxylate et un groupement amonium qui induisent à la molécule un moment dipolaire de 15,7 D (moment dipolaire de l'eau 1,8 D) responsable de l'adhérence de la double couche moléculaire à la paroi (SALANECK et al., 1985). Les mêmes phénomènes se produisent lors de l'adsorption de la glycine sur des surfaces hydrophiles de $\text{Si}(\text{O}_2)$ (WU et al., 1987).

La glycine s'ordonne perpendiculairement à l'interface en présentant son groupement aminé vers la paroi laissant ainsi le groupement carboxylate orienté vers la solution. L'épaisseur du film adsorbé est de 8 Angströms et correspond à la structure de la couche double décrite précédemment. Cette couche double est liée aux groupements OH^- présents à la surface du matériau par des liaisons de type électrostatique résultant du moment dipolaire élevé de la molécule.

L'épaisseur adsorbée est composée d'une part de la couche double et d'autre part d'une couche externe de glycine liée par des liaisons de type Van der Waals. LIEDBERG et al. (1985), lors de l'étude de l'adsorption de la glycine sur de l'or (hydrophile), décrivent les mêmes phénomènes et confirment par une analyse infra-rouge l'orientation préférentielle de la molécule, avec cependant la formation en petite proportion de liaisons peptidiques intermoléculaires. L'organisation moléculaire à l'interface n'est donc pas parfaite.

Dans une étude tout à fait similaire, LIEDBERG et al. (1987) décrivent la géométrie des interfaces résultant de l'interaction des acides aminés (L-Histidine et L-phenylalanine) avec des films d'or et de cuivre. La complémentarité des méthodes infra-rouge (IRAS) et de l'E.S.C.A leur permet de mettre en évidence les particularités de chacun des systèmes. En ce qui concerne l'or, l'adsorption de la L-Histidine est comparable à celle de la glycine avec une coordination plus importante du groupement carboxylate qui se traduit par une orientation parallèle à la surface des axes $\text{C}_\alpha\text{-C}$ et $\text{C}_\alpha\text{-N}$ de la molécule. Pour le cuivre, les deux acides aminés étudiés se comportent de façon similaire : orientation parallèle des axes $\text{C}_\alpha\text{-N}$ et $\text{C}_\alpha\text{-O}$ à la surface. Il y aurait de plus formation de liaison à caractère covalent du type M-N et M-O . Le

groupement benzénique de la L-phenylalamine est orienté perpendiculairement à la surface alors que le groupement imidazole rentre en coordination avec le cuivre.

TAMAKI et al. (1984) utilisent la spectroscopie de masse d'ions secondaires en mode statique (S.I.M.S) pour étudier des mélanges d'acides aminés déposés sur de l'argent. La surface est recouverte d'une couche mono-moléculaire. Les molécules d'acides aminés (polarisées) s'adsorbent sur la surface par de faibles interactions électrostatiques (dipole-surface). Toutes les molécules étudiées produisent des pics parents secondaires $(M-COOH)^+$ et $(M-H)^+$ (M représente la masse moléculaire des acides aminés). Le fait que le rapport $(M-COOH)^+/(M-H)^+$ reste constant quelque soit la composition du mélange de deux acides aminés indique que les ions formés proviennent d'acides dans un même état de liaison avec la surface.

COLTON et al. (1979) ont analysé par E.S.C.A et S.I.M.S des surfaces d'argent immergées préalablement dans des solutions d'acides aminés (glycine, α -alanine, serine). Les analyses E.S.C.A montrent que les acides aminés s'adsorbent et que l'épaisseur du film formé augmente avec la concentration en solution. Sur des échantillons ayant subi une attaque acide, la spectroscopie de masse d'ions secondaires (S.I.M.S) conduit à l'identification de fragments $(Ag M)^+$, $(Ag(M-45))^+$ et $(M-45)$ (45 représente la masse moléculaire du groupement $(COOH)$). Une interprétation plus détaillée sur le plan interaction n'a pu être formulée, tant les possibilités d'identification pour les pics parents $(M-45)^+$ sont multiples.

Dans une étude similaire (BENNINGHOVEN et al., 1978) proposent la formation d'un complexe à la suite du transfert d'un proton entre deux molécules d'acide aminés (identification des fragments $(M+1)^+$ et $(M-1)^-$). Dans ce processus, il n'exclut pas l'interaction entre une molécule d'acide aminé et un atome de métal.

Une approche plus précise au niveau mécanisme d'adsorption a été publiée par ROGACHEVA et al. (1985). Ils étudient l'adsorption de trois acides aminés : la lysine, la leucine, et l'acide aspartique sur du dioxyde de titane. L'acide aspartique qui renferme deux groupements acides (carboxylique), s'adsorbe de manière plus conséquente que les autres et particulièrement aux valeurs de pH les plus basses. L'augmentation du pH minimise l'adsorption du fait de la décroissance des charges positives à la surface du titane. Les

groupements carboxyliques seraient donc à la base de l'interaction surface/Acide aminé. GOLD et al. (1989) montrent que l'adsorption de la cystéine sur du titane (oxyde) aboutit à la formation d'un complexe. L'adsorption à des pH acides (3-4) se produit par l'intermédiaire du groupement carboxylate qui entre dans la formation d'un complexe à la suite de la dissociation de l'espèce $TiOH$. Le maximum d'adsorption (pH = 10) coïncide avec la prédominance de l'espèce $(NH_3^+CH(-SOH_2)COO^-)$, le mécanisme invoqué peut être d'origine multiple:

- adsorption des cations en solution
- association de l'amime (NH_3^+) et de l'oxyde superficiel (TiO_2)
- complexation superficielle où le cation acide aminé se substitue à un proton de la surface.

L'épaisseur adsorbée est deux fois plus importante à pH = 10 qu'à pH = 3-4

FUERSTENAU et al. (1984) procèdent à des mesures électrocinétiques et de mobilité électrophorétique pour appréhender le mécanisme d'adsorption d'acides aminés (acide aspartique, proline, lysine) sur deux supports : la rutile et l'hydroxyapatite.

Les mécanismes proposés englobent plusieurs paramètres : la structure chimique des acides aminés, la chimie de la solution et les aspects électriques. De manière générale, pour des pH inférieurs au point de charge nulle de la rutile, les acides aminés s'adsorbent par leur fonction carboxylique alors que pour les pH supérieurs, la liaison se crée par l'intermédiaire de l'azote. Notons que le comportement de la lysine est régi par des phénomènes d'ordre électrostatiques et que l'intervention du groupement carboxylate lors de l'adsorption est loin d'être évident. Pour l'hydroxyapatite, la concentration de l'acide aspartique induit deux comportements. Aux faibles concentrations, l'acide s'adsorbe suivant une orientation spécifique qui dépend du pH, pour des concentrations plus élevées, l'interaction est d'ordre chimique avec formation de liaison avec les ions calcium de la surface de l'hydroxyapatite. La lysine quant à elle montre une grande affinité pour les surfaces négatives, elle interagit par ses deux groupements aminés chargés positivement. Ceux-ci cessent d'être actifs pour des pH supérieurs à 10 du fait de leur hydrolyse.

Selon les auteurs, la réactivité de chacun des groupements impliqués s'explique d'autant mieux si l'on prend en considération l'orientation de la molécule et particulièrement dans le cas d'espèces zwitterioniques.

ULRICH et al. (1988) proposent deux modèles d'adsorption d'acides gras aliphatiques sur des électrodes de mercure et sur de l'aluminium ($\delta\text{Al}_2\text{O}_3$). Alors que les expulsions hydrophobes dominent l'adsorption sur les surfaces de mercure non polaires, l'adsorption des acides gras à petite chaîne (inférieure à 8 atomes de carbone) sur des surfaces d'alumine (Al_2O_3) aqueux est caractérisée par des interactions coordinatrices spécifiques. La figure 6 représente les deux modes d'adsorption :

- sur les électrodes de mercure non polaire, l'interaction hydrophobe entre la chaîne hydrocarbonée et la phase aqueuse conduit à un déplacement des molécules d'eau du premier plan.
- sur les surfaces polaires d'oxydes d'aluminium, les molécules d'acides gras s'adsorbent à cause de l'échange entre le groupement carboxylique et l'hydroxyde de surface (-OH).

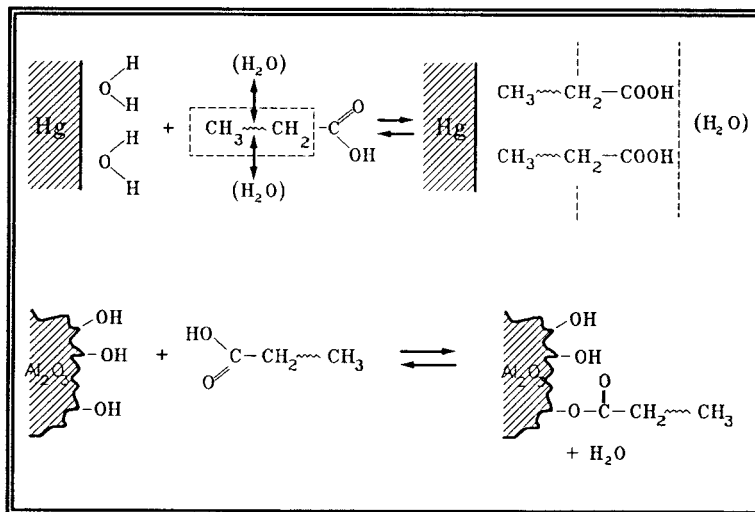


Figure 6 : Modes d'adsorption sur l'alumine (ULRICH et al, 1988).

L'adsorption des acides aminés à la surface des matériaux métalliques modifie les propriétés de résistance à la corrosion. Des mesures de polarisation potentiodynamique, réalisées par HLUCHAN et al. (1988) sur des électrodes de fer (pures à 99,9985 %) permettent d'évaluer les propriétés inhibitrices de

corrosion des acides aminés et de quatre autres composés : la créatine, l'hydroxyproline, la créatinine, la 3,5-diodotyrosine. La plupart des acides aminés agissent comme des inhibiteurs de corrosion (pour le fer), leur efficacité est d'autant meilleure que la chaîne hydrocarbonée est longue ou que la densité électronique du groupement aminé sur le carbone α est grande. La cystéine quand à elle agit comme un accélérateur de corrosion par l'intermédiaire de son groupement -SH libre qui induit des réactions de complexation ou de précipitation. Le soufre joue aussi le rôle de bloqueur de passivation notamment en réagissant sur une partie des sites nécessaires à l'adsorption des ions OH^- , étape indispensable à la formation de la couche passive (MARCUS, 1987).

I.2.4 Conclusions

Il ressort de cette revue bibliographique qu'un grand nombre d'interactions a été étudié dans des domaines très diversifiés. Les principes généraux d'adsorption commencent à être identifiés, voire compris, mais sont toujours tributaires des performances techniques des méthodes utilisées. Il va de soi que l'affinement, la sélectivité et la sensibilité des méthodes analytiques reposent sur le perfectionnement des systèmes électroniques. Néanmoins, on peut considérer que depuis quelques années, l'étude des interfaces a fait beaucoup de progrès notamment dans la caractérisation physique et chimique des surfaces et dans l'établissement des conformations moléculaires (protéines, polymères).

Dans la plupart des cas, l'aspect qualitatif est globalement maîtrisé, les progrès à obtenir résident dans l'élaboration de modèles quantitatifs qui décrivent parfaitement l'interface par les grandeurs suivantes :

- géométrie de l'interface (aire, la rugosité, l'épaisseur)
- composition élémentaire de l'interface
- composition chimique de l'interface
- structure de l'interface (analyses après interaction --> état stationnaire, analyse en dynamique).

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	30
II.1 L'acier 304 L	32
II.1.1 Introduction	32
II.1.2 Composition et morphologie	32
II.1.3 Base métallurgique	33
II.2 Choix du milieu d'étude	37
II.2.1 La β -lactoglobuline	37
II.2.1.1 Rappels	37
II.2.1.2 Structure et conformation	37
II.2.1.3 Propriétés de la β -lactoglobuline	40
II.2.1.4 Conditions expérimentales	43
II.2.2 Les acides aminés	43
II.2.2.1 Définition et propriétés	43
II.2.2.2 Conditions expérimentales	45
II.3 Protocole expérimental	48
II.3.1 Nettoyage des aciers	48
II.3.2 Protocole d'adsorption	49
II.3.2.1 Acides aminés et octanoïque	49
II.3.2.2 La β -lactoglobuline	49
II.4 La spectroscopie de photoélectrons induite par rayon X	50
II.4.1 Introduction	50
II.4.2 Caractérisation d'une espèce chimique par E.S.C.A.	51
II.4.2.1 Introduction	51
II.4.2.2 Informations recueillies	51

II.4.3 Analyse spectrale	53
II.4.3.1 Introduction	53
II.4.3.2 Détermination de l'énergie de liaison	53
II.4.3.3 Analyse quantitative	54
II.4.3.4 Variantes de l'analyse E.S.C.A.	57
II.5 La microscopie électronique à balayage (M.E.B) et la microanalyse X	58
II.5.1 La Microscopie Electronique à Balayage	58
II.5.1.1 Introduction	58
II.5.1.2 Aspect pratique	58
II.5.2 La microanalyse X	58
II.5.2.1 Introduction	58
II.5.2.2 Aspect quantitatif	59

CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES

II.1 L'acier 304 L

II.1.1 Introduction

L'industrie agro-alimentaire, au travers des maintes applications qu'elle développe, a eu depuis très longtemps recours à l'utilisation de l'acier inoxydable.

En ce qui concerne l'industrie laitière, les aciers inoxydables austénitiques (de composition 18 % Cr - 10 % Ni) constituent des matériaux de choix du fait des bonnes propriétés de résistance à la corrosion et de l'aptitude au nettoyage qu'ils présentent.

Afin de travailler dans des conditions les plus représentatives possibles des conditions industrielles, nous avons adopté la nuance d'acier inoxydable Z2 CN 18-10 (Type A.I.S.I. 304 L).

II.1.2 Composition et morphologie

En ce qui concerne la composition, elle est donnée par le fournisseur :

Fe - (18 % Cr) - (10 % Ni) - (0,03 % C au maximum)

Nous avons travaillé avec un acier qui présente deux états de surface différents :

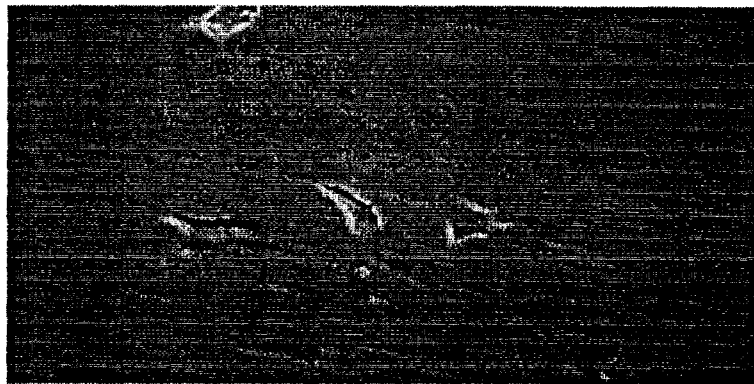


Photo 1 : Observation au M.E.B de l'état de surface de l'acier recuit brillant (grossissement 2000)

- le premier est plat avec quelques rares irrégularités (cavités) (photo 1). Cet acier est communément appelé par les métallurgistes "acier recuit brillant", il est doté d'un pouvoir réflecteur important. Par commodité, nous l'appellerons acier de premier type ou type 1.

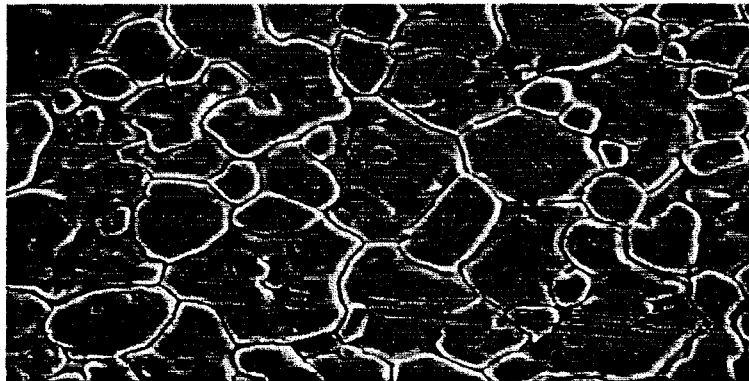


Photo 2 : Observation au M.E.B de l'état de surface de l'acier glacé 2B (grossissement 1000)

- Le second est beaucoup plus accidenté, l'effet de relief est donné par un ensemble de plateaux tous délimités par des crevasses (aspect visuel comparable à une peau de crocodile - photo 2).

Cet acier est vendu, sous l'appellation "glacé 2B". Cette dénomination peut porter à confusion dans la mesure où il est doté d'un pouvoir réflecteur beaucoup plus faible que celui de l'acier de type 1. Nous l'appellerons acier de type 2.

II.1.3 Base métallurgique

Nous rappellerons quelques bases métallurgiques de la structure des alliages inoxydables à base de fer.

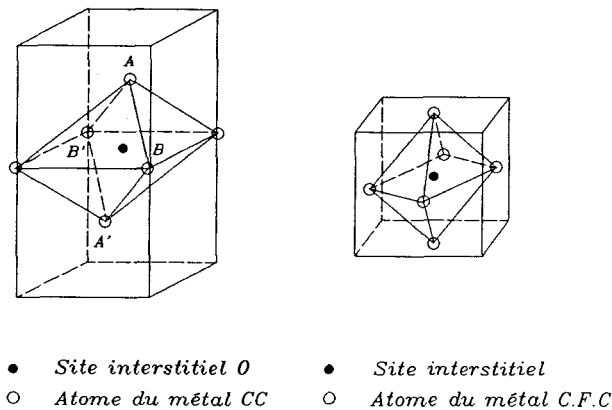
Le fer pur existe sous deux variétés cristallographiques allotropiques dont la nature et le domaine d'existence sont précisés ci-après :

Fer α cubique centré	$T < 910^{\circ}\text{C}$
Fer γ cubique à faces centrées	$940^{\circ}\text{C} < T < 1400^{\circ}\text{C}$
Fer δ cubique centré	$1400^{\circ}\text{C} < T < 1530^{\circ}\text{C}$

Les fers α et δ ont des structures très voisines. Les atomes de carbone entrent en solution dans le fer pur en se plaçant dans les interstices octaédriques du réseau cristallin (figure 7) ce qui donne deux solutions solides définies comme suit :

- ferrite, solution de carbone dans le fer α et δ .
- l'austénite, solution solide de carbone dans le fer γ

La ferrite ne renferme que très peu de carbone, moins de 0,01 % à température ordinaire.



a) cubique centré

b) cubique à faces centrées

Figure 7 : Réseaux cristallins.

Les aciers non alliés sont des alliages Fer-Carbone dont la teneur limite en carbone est égale à celle de l'austénite à 1147°C . Les aciers alliés sont des alliages Fer-Carbone qui contiennent au moins un troisième élément M en proportion suffisante pour obtenir une modification sensible d'une ou plusieurs propriétés. Selon leur affinité pour le carbone, les éléments d'alliage se comportent de deux façons :

- les uns Si, Ni, Al, Co, Cu, ne se combinent pas au carbone et, solubles dans le fer à haute température restent en solution solide de substitution dans la ferrite à froid. Le carbone est alors surtout à l'état de cémentite (Fe_3C).
- Les autres Mn, Cr, W, V, Mo, Ti ne sont que partiellement solubles dans

la ferrite et forment des carbures, qui peuvent totalement se dissoudre dans le fer à haute température et se séparent à l'état de carbures libres au cours d'un refroidissement suffisamment lent.

La dénomination acier inoxydable se rapporte aujourd'hui aux aciers qui ont des propriétés de résistance à la corrosion chimique hors de proportions avec celles des aciers non alliés ou à faible teneur en éléments d'alliage. Le chrome, à une teneur supérieure à 12 %, est un facteur nécessaire mais pas toujours suffisant pour assurer une résistance efficace à la corrosion.

Les aciers inoxydables sont classés soit suivant la composition chimique soit suivant la structure micrographique conférée par les traitements thermiques.

Cette dernière classification distingue les aciers suivants :

- les aciers martensitiques
- les aciers ferritiques
- les aciers austénitiques
- les aciers austénito-ferritiques.

Remarque sur la martensite

La martensite est obtenue quand le refroidissement de la masse austénitique est suffisamment rapide (trempe) pour supprimer la transformation perlitique. A partir d'une certaine température (M_s) apparaissent les plaquettes martensitiques dont la composition est la même que celle de l'austénite qui lui a donné naissance, la transformation ayant lieu sans diffusion de carbone. La structure martensitique est magnétique et d'autant plus dure et plus fragile que la quantité de carbone dissous est plus importante.

Remarque sur l'austénite

Le nickel possède une structure cubique à faces centrées comme le fer γ . C'est un élément gammagène qui élargit le domaine d'existence de l'austénite.

L'austénite est dans un état métastable et se maintient indéfiniment car les vitesses de diffusion sont pratiquement nulles.

La structure austénitique est amagnétique et extrêmement ductile.

Etude de l'azote

Les propriétés des aciers inoxydables sont abondamment développées dans la bibliographie. Nous nous focaliserons sur le rôle joué par l'azote.

Les aciers inoxydables austénitiques ont une teneur en chrome (> 12%) suffisante pour protéger le métal en formant à sa surface une couche passive d'oxydes de chrome.

Les aciers austénitiques sont d'autre part très sensibles à la corrosion intergranulaire, la précipitation de carbure $M_{23}C_6$ aux joints de grains s'accompagne en effet de la déchromisation des zones matricielles voisines et par suite de la sensibilisation de ces zones à la corrosion, celle-ci se trouve réduite, voire évitée, pour des teneurs en carbone < 0,03%. La susceptibilité à la corrosion peut être diminuée par la présence d'azote. L'effet de l'azote dépend de la concentration en carbone et de la température. En fait l'azote retarde la nucléation et ralentit la croissance des carbures (DEGALLAIS et al., 1987 ; DEGALLAIS et al., 1988).

En position interstitielle, l'azote modifie certaines caractéristiques microscopiques responsables des propriétés mécaniques (distorsion locale du réseau cristallin, énergie de faute d'empilement, ordre) (DEGALLAIS et al., 1987).

En fait, l'azote joue le rôle d'un stabilisateur de la phase austénitique, il évite la transformation d'une fine couche superficielle en martensite, phase beaucoup plus fragile que l'austénite (mécaniquement). L'azote se trouve principalement sous forme nitrure (Cr_2N , $CCrN$, FeN), il est en position interstitielle dans le réseau métallique (SINGER, 1984).

La nitruration des aciers améliore les propriétés de fatigue du matériau ainsi que sa durée de vie (COVALLERI et al., 1986). Dans les aciers de type 304, l'implantation d'azote contrôlerait les "microstructures" de surface (SINGER, 1984). Il semble au vu de ce qui précède que l'azote joue un rôle moteur dans l'état de surface des aciers inoxydables. Bien qu'en sites interstitiels, dans une position où chimiquement il ne peut plus réagir, cet élément génère des transformations microstructurales (dilution de réseau, contrôle de phases superficielles...).

En résumé, l'apport d'azote dans les aciers austénitiques stabilise l'austénite et réduit la formation de ferrite (températures élevées) et de martensite (températures faibles) (REED, 1989).

II.2 Choix du milieu d'étude

Comme nous avons pu le constater lors de l'étude bibliographique relative aux encrassements laitiers, les protéines et notamment la β -lactoglobuline jouent un rôle important dans l'apparition et l'évolution des dépôts. De plus, la complexité du lait rend irréaliste toute tentative de mise en évidence de mécanisme à l'échelle atomique si bien qu'il nous faut recourir à des systèmes plus simples dans lesquels on peut individualiser les sites réactionnels.

Dans la logique des remarques précédentes, nous avons choisi la β -lactoglobuline comme protéine modèle.

II.2.1 La β -lactoglobuline

II.2.1.1 Rappels

Les protéines sont des polymères d'acides aminés tous reliés les uns aux autres par une liaison appelée liaison peptidique : $-\text{NH}-\text{CO}-$. Les acides aminés représentent l'élément de base de la structure protéique et déterminent la plupart des propriétés importantes des protéines. Tous les aminoacides, exception faite de la proline, ont pour dénominateur commun l'existence d'un carboxyle libre et d'une fonction amine libre non substituée, portée par le carbone α . Chaque aminoacide possède une chaîne latérale caractéristique.

II.2.1.2 Structure et conformation

Chaque protéine a, sous son état natif, une organisation tridimensionnelle caractéristique que l'on désigne sous le nom de conformation. Les protéines se répartissent en deux classes suivant leur conformation :

- les protéines fibreuses constituées de chaînes polypeptidiques parallèles les unes aux autres.
- les protéines globulaires constituées de chaînes polypeptidiques étroitement repliées en des formes compactes, sphériques ou globulaires (LEHNINGHER, 1981).

Signalons l'existence de quelques protéines se situant entre les types fibreux et globulaires. Les structures protéiques sont classées en quatre catégories :

- la structure primaire désigne le squelette covalentiel de la chaîne polypeptidique et la séquence des acides aminés (figure 8).

H-Leu-Ile-Val-Thr-Gln-Thr-Met-Lys-Gly-Leu-Asp-Ile-Gln-Lys-Val-Ala-Gly-
 Thr-Trp-Tyr-Ser-Leu-Ala-Met-Ala-Ala-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Leu-Asp-Ala-
 Gln-Ser-Ala-Pro-Leu-Arg-Val-Tyr-Val-Glu-Glu-Leu-Lys-Pro-Thr-Pro-
 Glu-Gly-Asp-Leu-Glu-Ile-Leu-Leu-Gln-Lys-Trp-Glu-Asn-Asp-Glu-Cys-⁶⁶-
 Ala-Gln-Lys-Lys-Ile-Ile-Ala-Glu-Lys-Thr-Lys-Ile-Pro-Ala-Val-Phe-Lys-
 Leu-Asp-Ala-Ile-Asn-Glu-Asn-Lys-Val-Leu-Val-Leu-Asp-Thr-Asp-Tyr-
 Lys-Lys-Tyr-Leu-Leu-Phe-Cys-¹⁰⁶-Met-Glu-Asn-Ser-Ala-Glu-Pro-Glu-Gln-
 Ser-Leu-Val-Cys-¹¹⁹-Gln-Cys-¹²¹-Leu-Val-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Asp-Asp-Glu-
 Ala-Leu-Gln-Lys-Phe-Asp-Lys-Ala-Leu-Lys-Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-
 Arg-Leu-Ser-Phe-Asn-Pro-Thr-Leu-Gln-Glu-Glu-Gln-Cys-¹⁶⁰-His-Ile-OH

Figure 8 : Structure primaire de la β -lactoglobuline (DALGLEISH, 1981).

- la structure secondaire correspond à l'arrangement spatial adopté par la chaîne polypeptidique, elle désigne la disposition régulière et récurrente dans l'espace de cette chaîne le long d'une seule dimension. Les principales structures secondaires rencontrées sont les hélices α , les structures β , et les pelotes statistiques (ces structures seront explicitées par la suite).
- la structure tertiaire correspond à l'organisation tridimensionnelle de la chaîne polypeptidique contenant des régions de structures secondaires bien définies (hélices α , feuilletts et courbures β) ou mal définies (pelote statistique).
- la structure quaternaire résulte d'associations non covalentes d'unités protéiques et a surtout rapport avec les mécanismes de régulation enzymatique.

Nous allons maintenant décrire quelques structures secondaires telles que les hélices α , les feuilletts β .

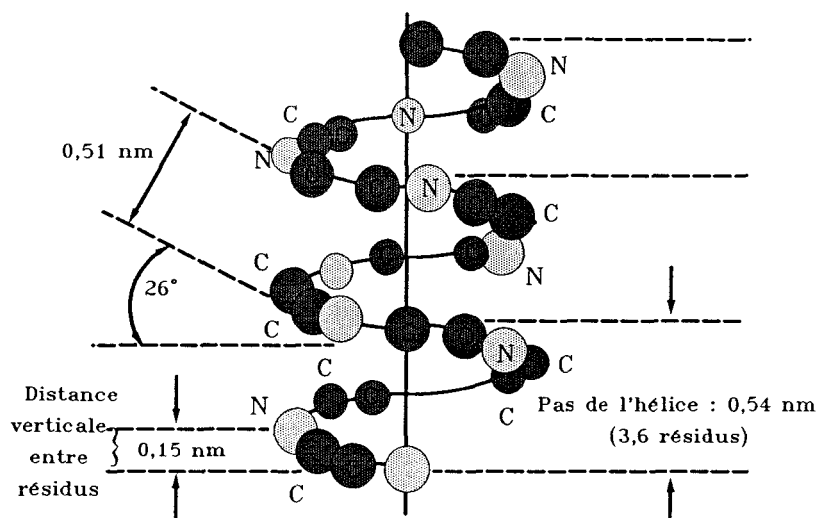


Figure 9 : Structure de l'hélice α (LEHNINGER, 1981)

L'hélice α (figure 9) est une structure ordonnée, hélécloïdale, particulièrement stable. Chaque tour de spire renferme 3,6 résidus d'acides aminés. Les chaînes latérales R des aminoacides s'ordonnent vers l'extérieur de l'hélice dont le diamètre apparent est de l'ordre de 60 Angströms. La disposition des chaînes peptidiques sous forme d'hélice α est favorisée par l'existence de liaisons hydrogène s'établissant entre l'hydrogène porté par un atome d'azote électronégatif d'une liaison peptidique et l'oxygène du carboxyle le plus proche de la liaison peptidique située dans le tour inférieur de l'hélice. Comme chaque liaison peptidique prend part aux liaisons hydrogène, la structure hélécloïdale est dotée d'une grande stabilité. De plus, la compacité de cet édifice minimise les interactions avec d'autres molécules.

Certains acides aminés, en fonction des propriétés particulières qu'ils présentent sous certaines conditions, déstabilisent les hélices α et conduisent à la formation de pelote statistique ("Random coil"). Par exemple la proline du fait de sa structure pyrrolidinique et de sa répartition uniforme dans les caséines perturbe la régularité et la structure de l'hélice α . De même, les chaînes latérales volumineuses bloquent par effet stérique l'établissement de cette hélice (CHEFTEL et al., 1985 ; LEHNINGER, 1981 ; STERNBERG, 1978).

La structure β (figure 10) est une structure en zigzag plus étirée que l'hélice α . La transition entre la structure α et la structure β provient de la rupture des liaisons hydrogène intracaténaïres par effet de la chaleur ou par étirement. Les chaînes parallèles dans la conformation β forment des

structures dites en feuillets plissés, liées par des liaisons hydrogène intermoléculaires. Toutes les liaisons peptidiques interviennent dans leur formation. Les groupements latéraux sont répartis de part et d'autre du plan des feuillets et n'ont que peu d'effet sur la structure, exception faite des aminoacides qui ne peuvent être intégrés dans une telle structure (CHEFTEL et al., 1985 ; LEHNINGER, 1981 ; STERNBERG, 1978 ; OLHENDORF et al., 1987).

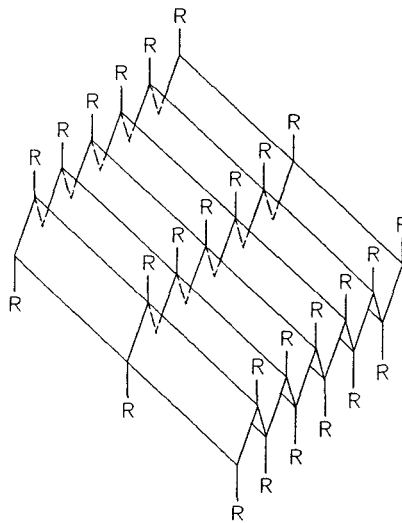


Figure 10 : Feuillets β (LEHNINGER, 1981)

II.2.1.3 Propriétés de la β -lactoglobuline

Ordinairement la protéine est à l'état de dimère et possède plusieurs variantes génétiques (A, B, C) (PAPIZ et al., 1986).

La β -lactoglobuline renferme deux ponts disulfures et un groupe thiol libre dans la séquence Cys-Gln-Cys. Cependant, la position du dernier pont demeure imprécise, elle paraît répartie entre les résidus 119 et 121.

Même si la structure n'est pas totalement déterminée, la connaissance de la séquence permet de prévoir, avec il est vrai une certaine incertitude, la structure secondaire :

- 10 à 50 % d'hélice α
- 20 à 30 % de feuillet β
- 50 à 60 % de courbure β et de structure non ordonnée.

La structure prédominante de la β -lactoglobuline est la structure β . La molécule peut être décrite sous la forme d'un cône aplati que neuf fibres de feuillets β anti-parallèles lui confèrent (figure 11).

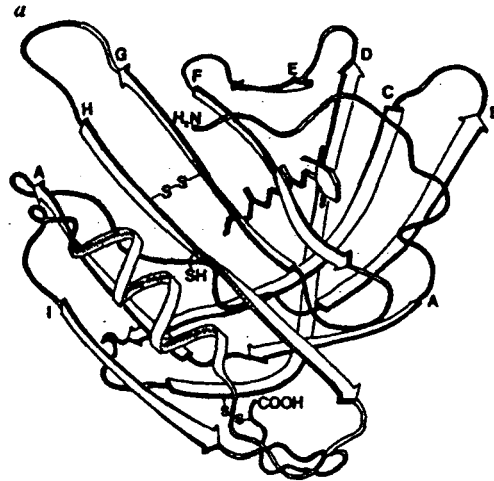


Figure 11: Structure de la β -lactoglobuline (PAPIZ, 1986).

Le feuillet β le plus externe est impliqué dans la dimérisation par des interactions anti-parallèles avec son vis-à-vis. L'interface entre les deux monomères met également en jeu des interactions hydrophobes. Le groupement thiol libre, en position 121, sera plus ou moins accessible selon la conformation et pourra éventuellement participer aux échanges de ponts disulfure.

Les groupes hydrophobes s'orientent vers l'intérieur de la protéine pour former un cœur non polaire, alors que les chaînes latérales hydrophiles sont toujours réparties à la surface d'une façon assez uniforme. La solubilité de la plupart des protéines globulaires est profondément influencée par le pH du milieu. Le pH de moindre solubilité d'une protéine est son pH isoélectrique, il correspond au pH pour lequel la protéine n'a pas de charges électriques nettes (il est de 5,2 pour la β -lactoglobuline).

A un pH quelconque au-dessus du point isoélectrique, une protéine possède une charge nette négative alors que pour un pH inférieur, elle est chargée positivement.

Pour des valeurs de pH voisines du point isoélectrique, la protéine existe sous la forme d'un dimère stable décrit approximativement par une ellipse prolata d'une longueur de 69,5 Angströms et d'une largeur de 36,5 Angströms. Dans la zone de pH acide (inférieur à 3,5), le dimère se dissocie réversiblement à cause des forces électrostatiques répulsives, cette transformation n'engendre aucun changement de conformation ou moléculaire. La charge nette, importante à ce niveau de pH, provoque un léger gonflement du monomère.

Dans le domaine isoélectrique la β -lactoglobuline se tétramérise (dimère => octamère). La transformation en octamère débute vers pH = 3,5 et atteint son maximum vers pH = 4,7 à 0°C. Cette transformation n'est pas la seule qui peut se produire, en effet, sous certaines conditions (concentration inférieure à 15 g/l et pour une température de 4,5°C), l'association devient progressive et donne lieu à un mélange de dimères, d'hexamères et d'octamères.

Pour des pH alcalins, les changements réversibles de conformation modifient les propriétés physico-chimiques, notamment par l'ionisation d'un carboxyle par monomère et par l'expansion moléculaire, ils favorisent la dissociation du dimère (SWAISGOOD, 1982 ; DALGLEISH, 1981 ; LENHINGER, 1981 ; RICHARDS, 1977).

La chaleur est, parmi les agents physiques, celui qui est le plus souvent impliqué dans les phénomènes de dénaturation des protéines. La dénaturation peut être considérée comme toute modification de la conformation (structures secondaire, tertiaire, quaternaire) sans qu'il y ait rupture de liaisons peptidiques.

Les interactions stabilisant les différentes structures (secondaire, tertiaire, quaternaire) sont de faibles énergies.

La vitesse de dénaturation s'accroît environ six cents fois quand la température augmente de 10° dans l'intervalle de température dans lequel intervient la dénaturation. Celle-ci est souvent suivie par une baisse de solubilité liée au démasquage des groupements hydrophobes. Les protéines dénaturées ont donc tendance à migrer aux interfaces laissant les groupes hydrophiles en phase aqueuse et en orientant les groupements hydrophobes dans la phase non aqueuse apolaire (SWAISGOOD, 1982 ; LENHINGER, 1981 ; CHEFTEL, 1985 ; BALDWIN et al., 1987).

II.2.1.4 Conditions expérimentales

Sachant que la β -lactoglobuline représente la moitié des protéines solubles du lait et qu'elle se montre très active sous sa forme dénaturée dans le processus d'encrassement lors du traitement thermique du lait, nous l'avons choisie comme protéine modèle. La concentration a été fixée à 5 grammes par litre, ce qui représente une quantité équivalente à la fraction totale des protéines solubles dans le lait. Le pH des solutions ainsi obtenues est égal à 6,7 et correspond au pH du lait.

II.2.2 Les acides aminés

II.2.2.1 Définition et propriétés

Les vingt acides aminés présentés dans le tableau 2 peuvent être classés en quatre catégories suivant les propriétés de la chaîne latérale R et plus particulièrement suivant la polarité :

- les acides aminés avec une chaîne latérale non polaire (hydrophobe) (Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val).

Tous ces acides sont moins solubles dans l'eau que les acides aminés polaires. L'hydrophobicité augmente avec la longueur de la chaîne latérale aliphatique.

- les acides aminés avec une chaîne latérale polaire non chargée (hydrophile) (Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asr, Gln). Les groupements fonctionnels peuvent former des liaisons hydrogène avec des molécules telles que l'eau.

- les acides aminés avec une chaîne latérale chargée négativement (acides) (Glu, Asp). Ils possèdent une seconde fonction carboxylique.

- les acides aminés avec une chaîne latérale chargée positivement (basiques) (Lys, His, Arg). Ils ont tous six atomes de carbone.

En solution aqueuse, les acides aminés s'ionisent facilement. A un pH proche de la neutralité, ils existent à l'état de "zwitterions". Ces molécules amphotères ont un point de charge nulle qui se définit comme étant le pH pour lequel la charge globale de l'acide aminé en solution est nulle.

Les molécules d'acides aminés (en solution neutre) sont comparables à des dipôles de constante diélectrique et de moment dipolaire élevés.

La figure 12 représente les espèces prédominantes en solution en fonction du pH dans le cas d'un acide aminé mono-carboxylique et mono-aminé. Le tableau 7 récapitule toutes les constantes acido-basiques de chacun des acides.

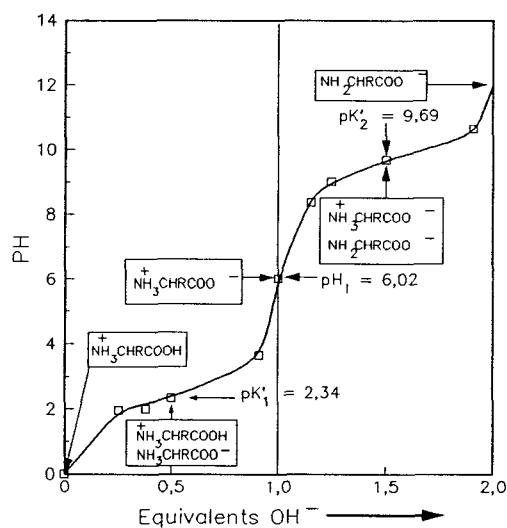


Figure 12 : Diagramme de titration d'un acide mono-aminé et mono-carboxylique (LEHNINGER, 1981).

La fonction carboxylique des acides mono-aminés et mono-carboxyliques est beaucoup plus acide que la fonction carboxylique d'un acide aliphatique du même ordre de grandeur. Cette différence provient de l'effet inducteur de la fonction aminée qui rend l'hydrogène carboxylique plus facilement dissociable. De même, la fonction aminée d'un acide mono-carboxylique est plus acide qu'une amine aliphatique comparable.

L'étude des propriétés des protéines a mis en valeur l'influence des groupements hydrophobes dans la structure tridimensionnelle. L'hydrophobicité et la solubilité des protéines dépendent essentiellement de la distribution des groupements polaires (chargés ou non) et apolaires (hydrophobes) de la chaîne latérale des aminoacides constitutifs. Par exemple, la β -lactoglobuline renferme 34,6 % d'acides aminés hydrophobes, elle est donc globalement hydrophile.)

ACIDES AMINES	pK ₁	pK ₂	pK ₃	pK ₄
GLYCINE	2,34	9,60	-	-
ALANINE	2,35	9,87	-	-
VALINE	2,29	9,72	-	-
LEUCINE	2,36	9,60	-	-
ISOLEUCINE	2,32	9,76	-	-
SERINE	2,21	9,15	-	-
THREONINE	2,15	9,12	-	-
CYSTINE	1,04	2,05	8,00	10,25
CYSTEINE	1,71	8,33	10,78	-
METHIONINE	2,28	9,21	-	-
PHENYLALANINE	2,58	9,24	-	-
TYROSINE	2,20	9,11	10,07	-
TRYPTOPHANE	2,38	9,39	-	-
ACIDE ASPARTIQUE	1,88	3,65	9,60	-
ASPARAGINE	2,02	8,80	-	-
ACIDE GLUTAMIQUE	2,19	4,25	9,67	-
GLUTAMINE	2,17	9,13	-	-
LYSINE	2,20	8,90	10,28	-
HISTIDINE	1,78	5,97	8,97	-
ARGININE	2,01	9,04	12,48	-
PROLINE	1,99	10,60	-	-

Tableau 7 : Constantes d'équilibre acido-basiques des acides aminés.

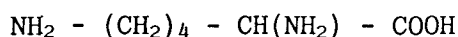
II.2.2.2 Conditions expérimentales

Trois acides aminés ont été choisis pour étudier l'adsorption de molécules biologiques modèles sur l'acier inoxydable 304 L.

Le premier d'entre eux est la glycine. Le choix a été motivé par des raisons d'ordre stérique et fonctionnel. En effet, la glycine transcrit directement la réactivité de la "fonction acide aminé", sa formule chimique est la suivante : $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$.

L'étude bibliographique a mis en valeur le rôle important que jouait la fonction (-SH) dans le processus d'encrassement, c'est pourquoi nous avons retenu la cystéine comme molécule modèle. Elle nous permettra de cerner la réactivité (éventuelle) de la fonction thiol. La cystéine est décrite par la formule suivante : $\text{H} - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$.

Pour étudier l'effet d'une fonction basique, analogue au pôle terminale azoté de la protéine, nous avons choisi la lysine :



Tous ces acides se présentent sous la forme de poudre blanchâtre. Le tableau 8 regroupe les références et caractéristiques des acides choisis :

	L Lysine mono-chlorhydrate	L cystéine mono-chlorhydrate	Glycine
Références	MERCK N°5700	Prolabo 23255.186	Prolabo 24403.248
Poids moléculaire	182,65	175,64	75,04

Tableau 8: Références et caractéristiques des acides choisis

Nous avons travaillé avec des solutions concentrées à 10 grammes par litre.

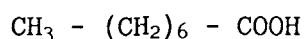
Les acides en solution sont donc à l'état zwitterionique et certaines des fonctions chimiques sont ionisées suivant le pH. Au niveau du pH aucun tampon n'a été employé, nous avons cherché à minimiser le nombre d'espèces présentes en solution susceptibles d'interférer à l'interface. De plus, le pH du lait et de la solution de β -lactoglobuline étant identique l'utilisation de tampon aurait rendu l'ensemble des tests d'adsorption moins homogène.

Dans le tableau 9, les formes prédominantes en solution sont reportées en fonction du pH de la solution.

Les aciers inoxydables sont recouverts d'une fine couche d'oxydes de quelques dizaines d'Angströms d'un caractère plutôt basique, ils conditionnent l'adsorption par l'affinité qu'ils peuvent avoir avec certaines molécules. Dans

cette optique, nous avons étudié l'adsorption de l'acide octanoïque. L'acide octanoïque est un acide carboxylique à huit atomes de carbone regroupant deux pôles :

- une longue chaîne aliphatique (apolaire) hydrophobe
- un groupe polaire (chargé négativement) hydrophile (la fonction carboxylique)



LYSINE	CYSTEINE	GLYCINE
pH = 5,6	pH = 1,9	pH = 4,2
$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}} - \text{COO}^-$	$\text{HS} - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}} - \text{COO}^-$ <p style="text-align: center;"> ---> <--- </p> $\text{HS} - \text{CH}_2 - \underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}} - \text{COOH}$	$\text{H} - \underset{\text{NH}_3^+}{\overset{\text{H}}{\text{C}}} - \text{COO}^-$

Tableau 9: Espèces prédominantes en solution.

Cette molécule s'avère intéressante pour deux autres raisons :

- elle schématise la réactivité du pôle carboxylique terminal de la protéine
- en terme d'acidité, elle peut être comparée aux acides aminés. De surcroît, elle présente une homologie avec la lysine par son squelette carboné pratiquement équivalent.

L'acide octanoïque est un liquide jaunâtre. Les solutions étaient concentrées à 1 % (1 ml pour 100 ml d'eau) et avaient pour pH 3,8 (pKa (25°C) = 4,85).

La forme prédominante en solution était donc la forme acide : R - COOH.

II.3 Protocole expérimental

II.3.1 Nettoyage des aciers

En toute rigueur, lors d'étude d'adsorption, deux composantes doivent être parfaitement maîtrisées, voire définies :

- l'espèce adsorbée
- la surface

Les molécules choisies dans le cadre de ce travail ont été décrites auparavant. En ce qui concerne l'acier, les caractéristiques chimiques et morphologiques de la surface seront développées lors du chapitre résultats.

De manière à minimiser les contaminations superficielles c'est-à-dire la matière organique et minérale provenant de l'atmosphère et de l'élaboration de l'acier, nous avons mis en oeuvre un protocole de nettoyage.

Le détergent utilisé est un détergent commercial : distribué par la société "Traitements Chimiques de Surface" rue Ampère 59236 FRELINGHEM sous le nom de RBS 35.

La procédure de nettoyage consiste à mettre en contact, sous agitation, les échantillons d'acier inoxydable préalablement découpés aux dimensions 20 x 25 mm avec une solution de détergent à 4 % (en volume). Les conditions de temps et de température ont fait l'objet d'une étude particulière qui sera développée ultérieurement. Les échantillons métalliques ont été ensuite trempés dans de l'eau ultra pure (système MilliQ. Millipore) sous agitation magnétique selon le protocole suivant :

- Changement d'eau après chaque temps de contact de 5 minutes pendant la première demi-heure puis toutes les demi-heures. Cette opération a été stoppée dès que la tension de surface de l'eau de rinçage était la même que l'eau initiale.

Une fois ce processus terminé, les échantillons ont été sortis de l'eau, égouttés par capillarité avec du papier absorbant de façon à éliminer le maximum d'eau (sans altérer le film liquide superficiel) puis mis en contact avec les solutions modèles sous agitation.

II.3.2 Protocole d'adsorption

II.3.2.1 Acides aminés et octanoïque

Une fois les opérations de nettoyage et de rinçage terminées, les échantillons ont été mis en contact avec les solutions d'acides concentrées à 10 grammes par litre suivant les conditions suivantes :

	20°C		20°C
1 heure	40°C	2 heures	40°C
	70°C		70°C

Dans la mesure où l'étude de l'adsorption des acides aminés a été choisie comme support à l'étude de l'adsorption de la β -lactoglobuline, il nous a fallu prendre en considération les phénomènes de dénaturation thermique, c'est pourquoi, la température varie de 20 à 70°C.

Avant d'être stockés sous vide, les échantillons subissent une opération de rinçage destinée à éliminer la matière organique piégée dans le film liquide. Cette opération est identique en tout point à celle mise en oeuvre lors du nettoyage.

Remarque : Lors de toutes les opérations précédemment décrites, l'eau utilisée est une eau ultra pure.

II.3.2.2 La β -lactoglobuline

L'étude portant sur les acides aminés nous a permis d'affiner le protocole expérimental. En effet, nous avons pu constater que les phénomènes observés durant la première heure se renforçaient pendant la seconde auquel cas nous avons estimé judicieux d'étudier directement l'adsorption pour des durées de deux heures.

Comme la dénaturation thermique prend effet vers 64°C, nous avons travaillé suivant deux températures 20 et 70°C.

De ce fait, nous pourrions comparer l'adsorption de la protéine dans son état natif et son état dénaturé. Nous avons repris le protocole expérimental développé lors de l'étude des acides aminés en prenant garde de contrôler la dénaturation de la protéine avant l'adsorption.

Nous avons donc cherché à minimiser les chocs thermiques en chauffant la solution protéique à 50°C et en y ajoutant le volume d'eau nécessaire pour atteindre la température et la concentration désirée juste avant le début des manipulations.

II.4 La spectroscopie de photoélectrons induite par rayon X

II.4.1 Introduction

Le but de cette technique consiste essentiellement à obtenir des informations sur l'état et l'environnement d'un atome en mesurant précisément l'énergie de ses niveaux électroniques par détection des photoélectrons induits par un bombardement de rayons "X". Tous les éléments, sauf l'hydrogène, peuvent être analysés par cette technique qui présente l'avantage d'être non destructrice, sensible et applicable quel que soit l'état physique de l'échantillon (solide, liquide, gazeux).

Cette technique s'est développée dans les années 50 notamment grâce aux travaux de SIEGBAHN et de son équipe à UPPSALA (SUEDE) et de quelques autres pionniers comme SHIRLEY et TURNER. Du fait de son développement extraordinaire de nombreux articles de revues et livres lui ont été consacrés. Nous citerons essentiellement sans être exhaustif ceux de SIEGBAHN et al. (1967), CARLSON (1975), RIGGS et PARKER (1975), JOLLY (1977) et de FADLEY (1978).

Actuellement deux appellations sont couramment employées : l'E.S.C.A. (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis) et l'X.P.S (X-Ray Photoélectron Spectroscopy).

Nous allons maintenant nous attacher à préciser le principe de base de l'E.S.C.A. Sans trop rentrer dans des concepts théoriques, néanmoins ceux-ci figurent en annexe 1.

II.4.2 Caractérisation d'une espèce chimique par E.S.C.A.

II.4.2.1 Introduction

L'E.S.C.A. Est basée sur l'effet photoélectrique, elle utilise le principe de l'émission d'électrons par la matière soumise à une irradiation. Lorsqu'un rayonnement électromagnétique d'énergie $h\nu$ irradie un échantillon, des électrons sont émis avec une énergie cinétique E_{cin} .

Dans la pratique, on recueille un spectre qui représente le nombre de coups par seconde détectés en fonction de l'énergie cinétique des photoélectrons émis. Cependant, lors de l'irradiation des processus secondaires se produisent. Le spectre E.S.C.A. Contient donc un fond continu qui résulte des collisions inélastiques et des structures de pertes d'énergie par plasmons.

II.4.2.2 Informations recueillies

Après irradiation ($h\nu=1486,6$ eV, raie $K\alpha$ de l'aluminium), le processus de photoémission fait apparaître une vacance sur un niveau électronique de coeur de l'atome M (figure 13).

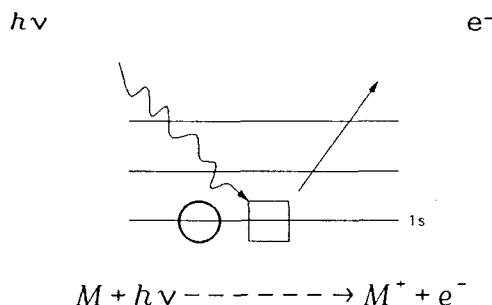


Figure 13 : Principe de la photoémission.

La désexcitation de l'atome ionisé se fera soit par fluorescence X soit par émission d'un électron Auger (figure 14).

Dans le phénomène de fluorescence, intervenant principalement pour les éléments lourds, un électron d'un niveau supérieur descend dans la vacance en libérant un photon dont l'énergie représente la différence énergétique des deux niveaux considérés. Ce phénomène est sans influence sur le spectre

E.S.C.A.. Dans le processus Auger, prépondérant pour les éléments légers, un électron d'une orbitale plus externe que l'orbitale ionisée vient combler la vacance. L'excès d'énergie provoque alors l'éjection d'un deuxième électron (électron Auger). La caractéristique principale de ces électrons est que leurs énergies cinétiques sont indépendantes de l'énergie d'excitation utilisée.

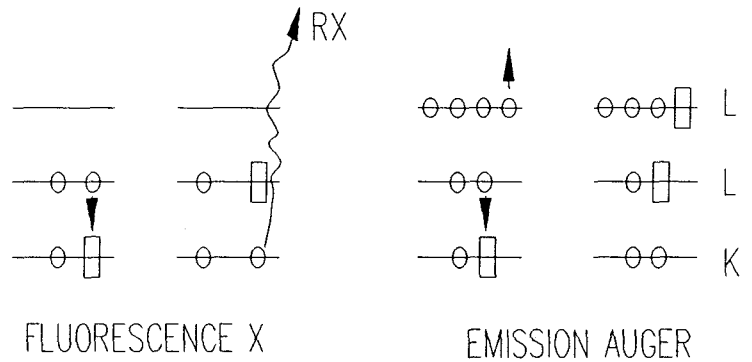


Figure 14 : Principe de la désexcitation.

Des pics satellites apparaissent à l'issue de la photoionisation, ils sont appelés "shake up" lorsqu'il y a excitation d'un électron dans un état lié au "shake off" lorsque l'électron excité est dans un état libre, l'état final est alors doublement ionisé (figure 15).

Ces deux processus entraînent une consommation d'énergie qui provoque une diminution de l'énergie cinétique du photoélectron émis.

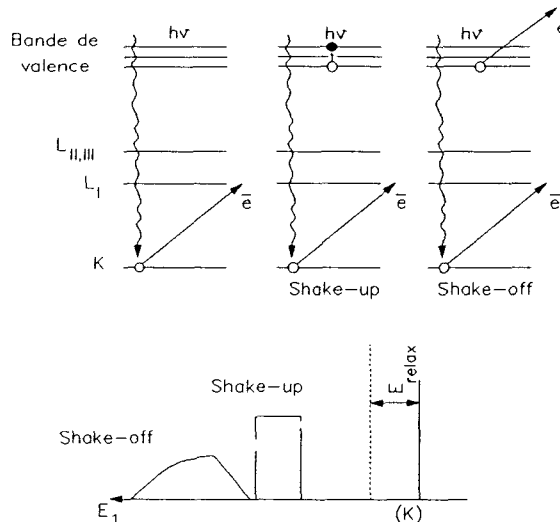
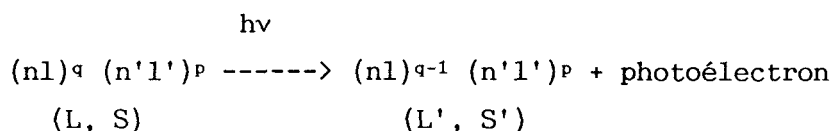


Figure 15 : Pics satellites, Shake-up, Shake-off

Les pics photoélectriques peuvent se dédoubler par effet multiples :



Dans ce cas un seul électron subit une transition. Ce sont les différentes valeurs possibles du moment orbital L' et de spin S' qui donnent des états finaux différents.

Par exemple, le couplage d'un électron non apparié (après photoémission) d'une orbitale S avec d'autres électrons non appariés de l'atome peut donner un ion avec deux configurations ou deux énergies différentes.

II.4.3 Analyse spectrale

II.4.3.1 Introduction

Au cours de ce travail, nous avons toujours analysé des échantillons d'acier inoxydable de composition parfaitement connue. L'identification des raies spectrales n'a donc posé aucun problème. La finalité de l'analyse était de caractériser la surface du matériau en composition et de mettre en valeur les modifications chimiques engendrées par l'apport de matière organique à l'interface. Nous présenterons donc la manière suivant laquelle nous avons procédé en discutant la méthode d'exploitation des données expérimentales.

II.4.3.2 Détermination de l'énergie de liaison

L'information essentielle apportée par l'E.S.C.A est la détermination de l'énergie de liaison des électrons détectés, celle-ci se fait à partir du spectre expérimental. A titre d'exemple, nous avons représenté la raie $1s$ du carbone (contamination sur les aciers) sur la figure 19 b.

L'énergie de liaison est déterminée à l'aide de la relation (1) après détermination préalable de ϕ_{sp} (étalonnage du spectromètre).

$$E_L^F = h\nu - E_{cin} - \phi_{sp} \quad (1)$$

L'énergie cinétique du photoélectron est donnée à partir du maximum d'intensité du pic pour des raies larges et dissymétriques E_{cin} peut être déterminée à partir du milieu de la largeur à mi-hauteur.

II.4.3.3 Analyse quantitative

En général, l'intensité du pic photoélectrique I_k produit par le niveau k se calcule par intégration de l'expression différentielle (2) où x, y, z indiquent la position à l'intérieur du solide (FADLEY, 1978).

$$DI_k = (\text{flux de rayons à } x,y,z) * \\ (\text{nombre d'atomes dans } dx dy dz) * (\text{section efficace d'ionisation du niveau } k) \\ *(\text{Angle solide d'acceptance de l'analyseur d'énergie des électrons à } x,y,z) \\ *(\text{probabilité d'échappement des électrons}) \\ *(\text{facteur instrumental de détection}) \quad (2)$$

Les paramètres relatifs à l'analyseur : angle d'acceptance et facteur de détection ont été regroupés sous le nom de facteur de transmission.

La relation (3) s'écrit alors :

$$dI = FnT\sigma \exp(-X/\lambda \sin \theta) dX \quad (3)$$

F : flux de photons incidents

n : nombre d'atomes par unité de volume de l'élément

σ : section de capture ou probabilité d'émission d'un photoélectron

λ : libre parcours moyen

T : facteur transmission du spectromètre

X : profondeur analysée

θ : angle d'émission des photoélectrons par rapport à la surface de l'échantillon.

Les échantillons d'acier peuvent être considérés comme des solides d'épaisseur infinie, si bien qu'après intégration l'expression de la quantité de photoélectrons détectés devient :

$$I = nF\sigma\lambda T \quad (4)$$

Les valeurs de σ dépendent de l'énergie d'excitation et du niveau électronique considéré, c'est pourquoi on utilise généralement les calculs théoriques de SCOFIELD (1976) présentés en annexe 1.

Le flux de photons F est considéré constant dans toute la matière dans la mesure où la profondeur d'échappement des photoélectrons (quelques dizaines d'Angströms) est négligeable devant la profondeur de pénétration des photons X (500 - 10000 Å).

Le facteur transmission pour nos conditions expérimentales s'écrit :

$$T(E) \approx E \quad (5)$$

Le libre parcours moyen des électrons, λ , est la distance moyenne que peut parcourir un électron dans la matière sans subir de collision inélastique. Ce paramètre, particulièrement important dans le cas des phases condensées (liquide ou solide) dépend fortement de l'énergie cinétique des électrons. En pratique, dans la plupart des cas, les photoélectrons émis ont une énergie cinétique comprise entre 100 et 1500 eV et la profondeur analysée n'excède pas 50 Å.

Quant à l'estimation du libre parcours, elle a fait l'objet de beaucoup d'études (CLARK et al., 1978 ; CLARK et al., 1977 ; WAGNER et al., 1980 ; SEAH et al., 1979).

Nous avons choisi d'utiliser la loi empirique établie par EBEL (1980).

$$\lambda(E) = \alpha \cdot E^{0.77} \quad (6)$$

α est une constante fonction du matériau.

ASHLEY et al., cités par ANDRADE (1985) ont développé un modèle théorique permettant de calculer le libre parcours moyen des électrons dans les polymères organiques.

Ils prennent plusieurs paramètres en considération :

M : la masse molaire de l'unité répétée

n : le nombre d'électrons de valence dans l'unité répétée

ρ : la densité.

Pour obtenir la loi suivante, valable entre 100 et 10 000 eV.

$$\lambda = \frac{M}{\rho \cdot n} \cdot E_k / (13,6 \cdot \ln(E_k) - 17,6 - 1400/E_k) \quad (7)$$

Les calculs menés pour la β -lactoglobuline (et d'autres protéines) nous ont permis d'obtenir la corrélation suivante (figure 16):

$$\lambda(E) \approx 0,99 \cdot E^{0,78} \quad (8)$$

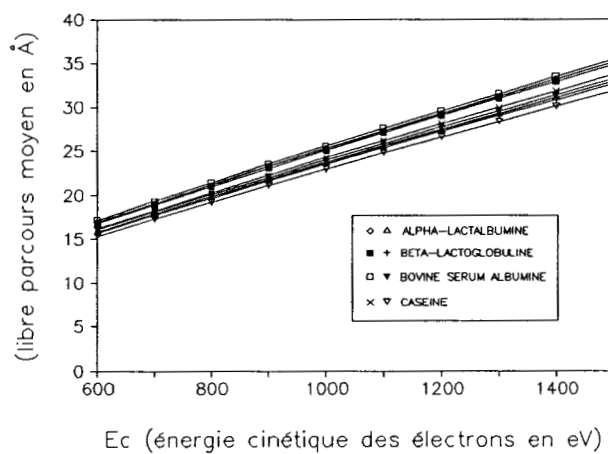


Figure 16 : Libre parcours moyens dans les protéines.

montrant ainsi la validité du modèle choisi (6). Compte tenu des relations (4) (5) (6), on peut exprimer le rapport d'intensité entre les réponses de deux niveaux de deux éléments A et B du matériau.

$$\frac{I_A}{I_B} = \frac{N_A}{N_B} \cdot \frac{\sigma_A}{\sigma_B} \cdot \left(\frac{E_A}{E_B} \right)^{1,77} \quad (9)$$

Les ratios sont calculés en choisissant le carbone comme élément de référence ($I_B = I_{\text{carbone}}$).

Précisons, tout de même que la relation (9) ne prend pas en compte les facteurs de rugosité et de contamination et que, par conséquent, elle ne conduit qu'à une analyse semi-quantitative.

II.4.3.4 Variantes de l'analyse E.S.C.A.

Le spectromètre est équipé d'un canon ionique de type PENNING qui permet le décapage de nos surfaces. On peut ainsi déterminer des pseudos profils de concentration. Les conditions d'utilisation sont les suivantes : 3000 eV - 8 μ A - 490 V. La densité de courant par échantillon 5,7 μ A/cm² correspond à une vitesse de décapage de l'ordre de deux monocouches par minute soit 5 Angströms par minute. Pour augmenter la sensibilité à la surface, on peut faire varier l'angle de détection des photoélectrons. Le principe de cette opération est schématisé sur la figure 17.

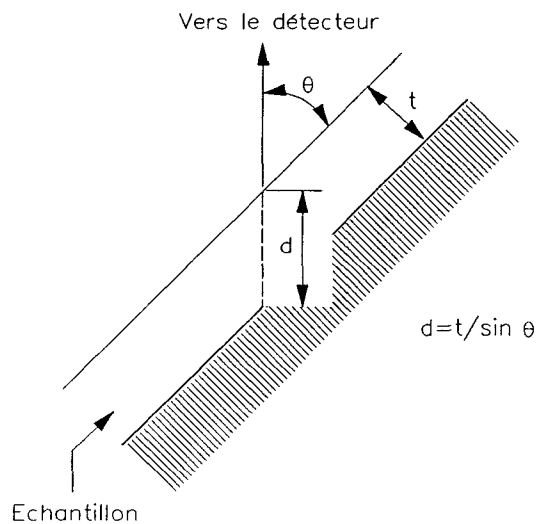


Figure 17 :Inclinaison angulaire en E.S.C.A.

Cette inclinaison rend l'analyse plus superficielle :

- la profondeur analysée est moindre
- la surface analysée est plus étendue

(FADLEY et al., 1974 ; FADLEY, 1976).

II.5 La microscopie électronique à balayage (M.E.B) et la microanalyse X

II.5.1 La Microscopie Electronique à Balayage

II.5.1.1 Introduction

La microscopie électronique est très largement utilisée pour l'étude des surfaces en partie du fait de sa résolution qui est de l'ordre de quelques centaines d'Angströms et peut atteindre la dizaine d'Angströms dans le cas de la microscopie à transmission. Son champ d'application est diversifié, il comprend la métallurgie, les milieux biologiques, la microélectronique...

L'information apportée est essentiellement visuelle mais peut s'étendre à des considérations géométriques telles que l'estimation de la profondeur des irrégularités ou des rugosités. Même s'il s'agit d'une indication partielle, elle permet d'apprécier qualitativement le relief et de préciser la morphologie de la surface. En ce qui nous concerne, cette méthode nous permet de caractériser nos surfaces durant les manipulations. Nous avons rapporté en Annexe 2 les principes théoriques de cette méthode.

II.5.1.2 Aspect pratique

La microscopie électronique nous a permis de visualiser la surface des plaques d'acier inoxydable utilisées (nettoyées et encrassées). Il est apparu sur la surface des différents échantillons des taches claires ou foncées de dimension plus ou moins importante qui se révèlent à l'analyse être une pollution organique. Cette pollution peut modifier sensiblement les Quantifications de l'analyse E.S.C.A. et expliquer partiellement la variabilité des résultats obtenus en microanalyse X.

II.5.2 La microanalyse X

II.5.2.1 Introduction

Les principes et la théorie de cette technique sont détaillés en Annexe 2. Le spectre X émis par une cible bombardée par un faisceau d'électrons convenablement accélérés résulte principalement des interactions inélastiques entre les électrons incidents et atomes de la cible. Ce spectre comporte d'une

part le spectre continu (Bremstrahlung) ou rayonnement de freinage constitué par une distribution continue de l'intensité et d'autre part le spectre caractéristique représenté par une série discrète de raies d'intensité variable.

II.5.2.2 Aspect quantitatif

L'un des atouts de cette méthode analytique repose sur le fait que l'on peut sélectionner l'aire à analyser. Ceci s'avère très intéressant lorsque la surface de l'échantillon n'est pas homogène.

Nous avons travaillé avec une tension d'accélération (électrons primaires) de 2 kV. Celle-ci s'avère suffisamment faible pour permettre une analyse superficielle et suffisamment importante pour détecter la contamination (raie K du carbone) et le substrat (raies L du fer, du chrome et du nickel).

Notre interprétation repose sur les variations des rapports X carbone / X fer (X représente le nombre de photons X émis pendant l'analyse) et le calcul du coefficient de variation. Celui-ci n'est autre que le rapport entre l'écart type de la moyenne et la moyenne, il traduit l'hétérogénéité de l'adsorption et de la contamination de la surface.

Un calcul plus complet aurait, en théorie, nécessité l'emploi de la méthode Z.A.F (Z pour le numéro atomique, A pour l'absorbance et F pour la fluorescence). Cependant si cette méthode donne des résultats satisfaisants pour des énergies primaires importantes (tension d'accélération des électrons supérieure ou égale à 15 kV), elle est difficilement adaptable au cas des faibles énergies. C'est pourquoi nous avons eu recours à des quantifications simplifiées en étudiant l'évolution des rapports X carbone / X fer qui permettent d'apprécier l'arrivée de matière à l'interface.

Remarque : Nous noterons, par commodité, les rapports X carbone / X fer : (C/Fe) et le coefficient de variation : (CV) et nous les exprimerons sous la forme de pourcentage.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	60
III.1 Introduction	62
III.2 Etude de l'acier 304 L	62
III.2.1 Cas de l'acier recuit brillant	62
III.2.1.1 Généralités	62
III.2.1.2 Etude et localisation de l'azote	64
III.2.2 Cas de l'acier glacé 2B	67
III.2.3 Conclusion	68
III.3 Nettoyage des aciers 304L	68
III.3.1 Etude E.S.C.A.	68
III.3.2 Etude au M.E.B. et en microanalyse X	71
III.4 Etude de l'adsorption des acides (aminés et octanoïque).	71
III.4.1 Introduction	71
III.4.2 La glycine	72
III.4.2.1 Interaction glycine/acier type 1	72
III.4.2.2 Interaction glycine/acier de type 2	79
III.4.2.3 Conclusion sur l'interaction glycine/Acier 304L	83
III.4.3 La cystéine	84
III.4.3.1 Interaction cystéine/acier de type 1	84
III.4.3.2 Interaction cystéine/acier de type 2	90
III.4.3.3 Conclusion générale sur la cystéine	95
III.4.4 La lysine	96
III.4.4.1 Interaction Lysine/acier de type 1	96
III.4.4.2 Interaction lysine/acier de type 2	101
III.4.5.3 Conclusion générale sur l'acide octanoïque	113

III.5 Adsorption de la β -lactoglobuline sur l'acier 304 L	114
III.5.1 Introduction	114
III.5.2 Interaction β -lactoglobuline/acier de type 1	114
III.5.2.1 Etude E.S.C.A.	114
III.5.2.2 Etude au MEB et en microanalyse X	123
III.5.2.3 Conclusion	123
III.5.3 Adsorption β -lactoglobuline de type 2	124
III.5.3.1 Etude E.S.C.A.	124
III.5.3.2 Etude au MEB et en microanalyse X	129
III.5.3.3 Conclusion	129
III.5.4 Conclusion adsorption β -lactoglobuline/Acier 304 L	130
III.6 Synthèse sur l'adsorption des acides (aminés, octanoïque) et de la β -lactoglobuline	131

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Introduction

Afin de travailler dans des conditions rigoureuses et reproductibles, nous caractériserons dans un premier temps nos aciers avant toute interaction. Cette étape comprend l'étude morphologique et la caractérisation chimique des aciers de type 1 et 2.

Dans un second temps, après avoir défini des conditions expérimentales de nettoyage pour chacun des aciers, nous présenterons les résultats relatifs aux essais d'adsorption en proposant, dans la mesure du possible, des mécanismes d'interaction entre les molécules modèles choisies et la surface. Cette démarche découle de la grande sensibilité de l'E.S.C.A. qui, outre l'information d'ordre chimique qu'elle fournit, permet une analyse en faible profondeur (95 % du signal provient d'une épaisseur égale à trois fois le libre parcours moyen, λ , des électrons dans la matière(λ)).

III.2 Etude de l'acier 304 L

III.2.1 Cas de l'acier recuit brillant

III.2.1.1 Généralités

Cet acier nous est fourni recouvert d'une feuille protectrice plastifiée. L'étape préliminaire consiste à analyser un échantillon après enlèvement de la protection.

Hormis les éléments constitutifs de l'acier (Cr, Fe, Ni) les analyses E.S.C.A. révèlent la présence de contaminations en quantité importante (C, N).

La composition superficielle déterminée à partir des données spectrales confirme l'existence d'une surépaisseur carbonée:

Eléments	Pourcentage
Carbone	61,0
Oxygène	35,0
Azote	2,4
Chrome	1,6

D'après MARCUS (1987), la teneur en chrome de la couche qui passive l'acier est de 70 % pour un acier à 17 % en chrome dans la masse. Par conséquent, la couche de contamination, étant donné, le taux de chrome détecté, recouvre la surface pratiquement uniformément. En utilisant les modélisations rapportées par ANDRADE (1985), on peut estimer l'épaisseur de cette couche moyennant quelques hypothèses simplificatrices (figure 18).

- la couche de contamination est composée de carbone (B),
- le matériau (A) est homogène et d'épaisseur infinie. Le signal de l'oxygène matérialisera la réponse du support.

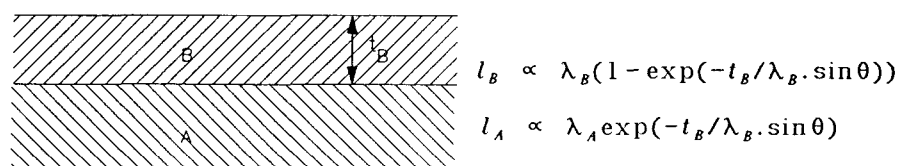


Figure 18 : Modèle du solide semi-infini rapporté par ANDRADE (1985).

D'un point de vue analytique, la formulation suivante permet de calculer l'épaisseur de la couche de contamination t_B :

$$\frac{I_B}{I_A} = \frac{\lambda_B \cdot (1 - \exp(-t_B / \lambda_B \cdot \sin \theta))}{\lambda_A \cdot \exp(-t_B / \lambda_B \cdot \sin \theta)} \quad (10)$$

I_A et I_B représentent les intensités (en coups par seconde :C/S) détectées, corrigées des sections de capture et de la fonction transmission de l'appareil. λ_A et λ_B sont les libres parcours moyens dans la matière, ils sont déterminés à partir du modèle d'ASHLEY développé au paragraphe II.4.6.3.

A partir de l'équation (10), on établit l'expression littérale de t_B :

$$t_B = \lambda_B \cdot \ln \left(\frac{I_B \cdot \lambda_A}{I_A \cdot \lambda_B} + 1 \right) \quad (11)$$

L'application numérique permet d'estimer t_B :

$$t_B = 31,6 \text{ \AA}$$

D'un point de vue qualitatif, le spectre d'azote se dédouble montrant ainsi la présence de deux types d'azote à l'interface (figure 19 a).

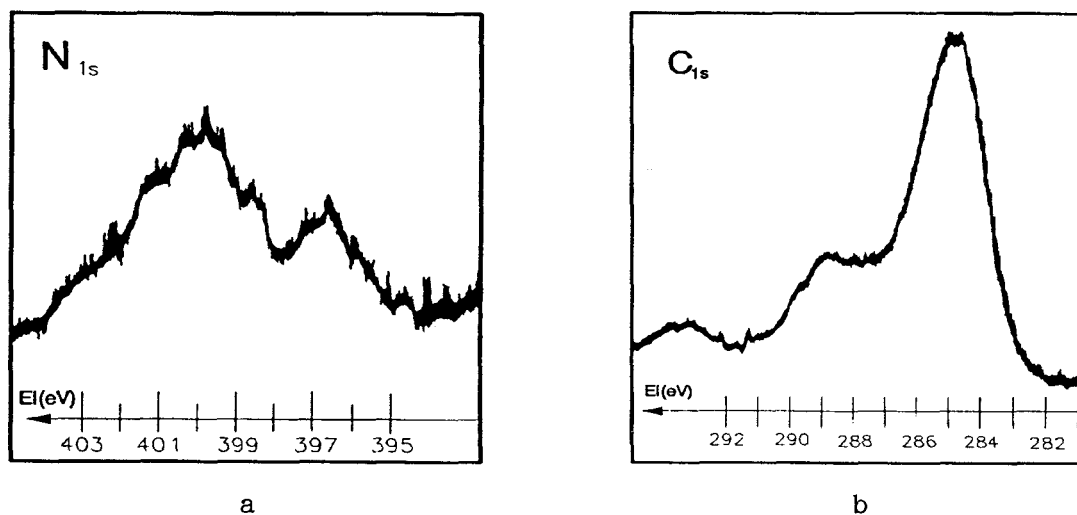


Figure 19 : Spectres E.S.C.A de l'azote (a) et du carbone (b) sur un acier recuit brillant non nettoyé

L'épaisseur analysée renferme donc un azote organique (type NH_2) sortant à une énergie de liaison $E_L = 399,8\text{eV}$ et un azote de type nitrure N^{3-} d'énergie de liaison $E_L = 396,6 \text{ eV}$ (HENDRICKSON et al., 1969). Le spectre du carbone, quant à lui, est composé de trois pics (figure 19b):

- $E_L = 293 \text{ eV}$ région spectrale où le carbone est lié à des éléments tels que le potassium.
- $E_L = 288,6 \text{ eV}$ carbone de type $(-\text{CO})$.
- $E_L = 285 \text{ eV}$ carbone aliphatique.

III.2.1.2 Etude et localisation de l'azote

L'existence de cette couche de contamination revêt un caractère d'importance quand on connaît le rôle joué par les groupements organiques azotés dans le processus de collage (Acier/film protecteur).

Il va de soi que la mise en oeuvre d'une opération de nettoyage ne pourra que diminuer le nombre de ces sites actifs dans l'adhésion et par conséquent limitera les interactions (fluides/Acier).

C'est pourquoi, après avoir nettoyé l'échantillon suivant des conditions standards (RBS 2 % - 2 heures - 20°C), nous avons procédé à une analyse détaillée de la surface en faisant appel au décapage ionique et à l'inclinaison angulaire.

La composition superficielle, après nettoyage est la suivante :

Carbone	40,8 %
Oxygène	54,5 %
Azote	4,7 %

Le spectre d'azote est toujours dédoublé, alors que le spectre du carbone se présente sous la forme d'un pic unique avec un léger épaulement dans la zone des carbones de type "-CO".

Lorsque l'on incline l'échantillon d'un angle $\theta = 70$ degrés, l'intensité des pics enregistrés s'inverse: (tableau 10).

Il en résulte que l'azote de type organique est localisé dans les premières couches analysées et que l'azote de type nitrure se situe plus dans la masse.

Nous avons ensuite procédé à un décapage ionique par bombardement d'ions Argon d'énergie 3000 eV. Le courant d'émission étant de 10 mA, l'intensité du flux ionique $-3\mu\text{A}/\text{cm}^2$ - correspond à une vitesse de décapage d'une monocouche par minute, soit 2,5 Å par minute (tableau 11).

θ	90	60	20
% NH ₂	37,0	49,3	55,2
% N ³⁻	63,0	50,8	44,8
Epaisseur analysée	81 Å	70 Å	27 Å

TABLEAU 10 : Résultats des analyses E.S.C.A. en fonction de l'angle d'inclinaison (θ) de l'échantillon.

	% C	% O	% N	% O/C	% N/C
t = 0'	40,8	54,5	4,7	133,6	11,5
t = 5'	14,5	79,0	6,5	546,2	45,2
t = 20'	36,2	58,6	5,0	162,8	13,7

TABEAU 11 : Résultats des analyses E.S.C.A. en fonction du temps de décapage (t). Elément de référence: Carbone.

En cinq minutes de décapage, le taux de carbone chute radicalement (40,8 % ---> 14,4 %) favorisant ainsi la détection de l'oxygène de passivation. Bien que la proportion d'oxygène dans le film analysé augmente, le nombre de coups par seconde enregistrés diminue. Deux explications peuvent être données :

- 5 minutes de décapage suffisent à éroder la couche superficielle de contamination et ont permis l'attaque de la couche passivante d'oxygène.
- la contamination ne forme pas une couche uniforme et se trouve donc localisée en certains endroits ("patchy overlayers") impliquant ainsi l'érosion simultanée de la couche de contamination et de la couche de passivation.

Au niveau de l'azote, on remarque que le pic correspondant au groupement fonctionnel de type $-NH_2$ disparaît après les cinq premières minutes de décapage. Ce genre de groupement se trouve donc localisé dans les douze premiers Angströms. Le pic subsistant après 5 minutes de décapage est celui des azotes de type nitrure.

En ce qui concerne les éléments métalliques constitutifs de l'acier, on peut affirmer que leur proportion dans le film analysé augmente, ce qui est tout à fait normal dans la mesure où le décapage nous fait apparaître la composition de la masse (bulk).

L'opération de décapage a été stoppée après un temps de 20 minutes, les pics d'oxygène et de carbone sont respectivement 2 fois et 2,5 fois plus petits qu'initialement. Les éléments métalliques sont devenus majoritaires à l'exception du chrome qui voit sa proportion diminuer. On peut considérer qu'en

vingt minutes de décapage, nous avons érodé une bonne partie (voire la totalité) de la couche de passivation, dont l'épaisseur est estimée à 50 Å par MARCUS (1987).

Cette étude nous a permis de mettre en évidence certaines caractéristiques de l'acier recuit brillant :

- deux types d'azote sont détectés l'un très réactif et très en surface, l'autre inerte et situé dans la masse (insertion dans les réseaux).
- la nitruration des aciers les rend moins fragiles et augmente leur durée de vie en évitant la formation de Martensite superficielle. Le produit issu de la transformation spontanée de la phase austénitique métastable (γ cubique face centrée) est appelé martensite. Sa structure cristalline est identifiée comme cubique centrée.

La martensite est plus fragile que l'austénite. La raison essentielle de cette fragilité s'explique par le fait qu'une déformation de la structure cubique centrée engendre une tendance à la formation de microfissures dans le cristal et la concentration de contraintes intenses à l'extrémité de telles fissures implique leur propagation causant ainsi de rapides fractures (OSHIDA et al., 1987).

III.2.2 Cas de l'acier glacé 2B

Ce type d'acier, au relief accidenté, ne dispose pas de revêtement protecteur.

A l'état brut sa surface est recouverte d'une couche de contamination dont la composition est la suivante :

Carbone	83,1 %
Oxygène	15,6 %
Azote	0,5 %
Chrome	0,8 %

Au niveau qualitatif, chacun des spectres présentent un pic unique caractéristique de l'élément analysé. L'azote détecté en faible quantité est un azote de type organique ($E_L = 400,1 \text{ eV}$), par conséquent l'acier glacé 2B n'est pas nitruré.

L'épaisseur de la couche de contamination calculée à partir du modèle exposé au paragraphe précédent est de l'ordre de 57 Angströms. Cet "encrassement", plus important que pour l'acier de premier type, s'explique par l'aspect superficiel accidenté qui offre une aire plus développée.

III.2.3 Conclusion

La comparaison des deux études montre que pour des compositions dans la masse identiques, les deux types d'acier présentent un état de surface différent (microstructures et composition).

L'élimination de la couche de contamination et des groupements du type "NH₂" de la surface s'avère être indispensable à l'étude des interactions. En d'autres termes, il faut s'attacher à définir un protocole de nettoyage approprié à chacun des aciers.

III.3 Nettoyage des aciers 304L

III.3.1 Etude E.S.C.A.

Pour chaque manipulation, nous procédons à une quantification atomique du film analysé. Pour évaluer l'efficacité des conditions expérimentales de nettoyage, nous nous baserons sur les pourcentages de carbone et de chrome.

Le but de cette étude est de déterminer les conditions de temps et de température optimales appropriées à l'état de surface. En effet pour l'acier de second type, il faut favoriser la diffusion du détergent au sein des irrégularités alors que pour l'acier de premier type, l'élimination des résidus de colle (fortement liés) se fera en communiquant au système une énergie assez importante (sous forme de température).

En ce qui concerne l'acier de type 1, les conditions suivantes: (50°C - 10 minutes - RBS 4 %) garantissent une décontamination plus efficace comparée à celle de l'essai: (20°C - 2 heures - RBS 4 %) :

	10 minutes / 50°C	2 heures / 20°C
Carbone (%)	25,0	37,6
Oxygène (%)	53,7	45,7
Azote (%)	3,6	5,1
Chrome (%)	18,2	11,6

En effet, l'oxygène de passivation est l'élément prédominant et l'association chrome-oxygène représente 72 % du total des éléments analysés. La décontamination se traduit d'une part par la disparition de l'azote organique (figure 20) et d'autre part par la détection du chrome métallique, situé plus dans la masse.

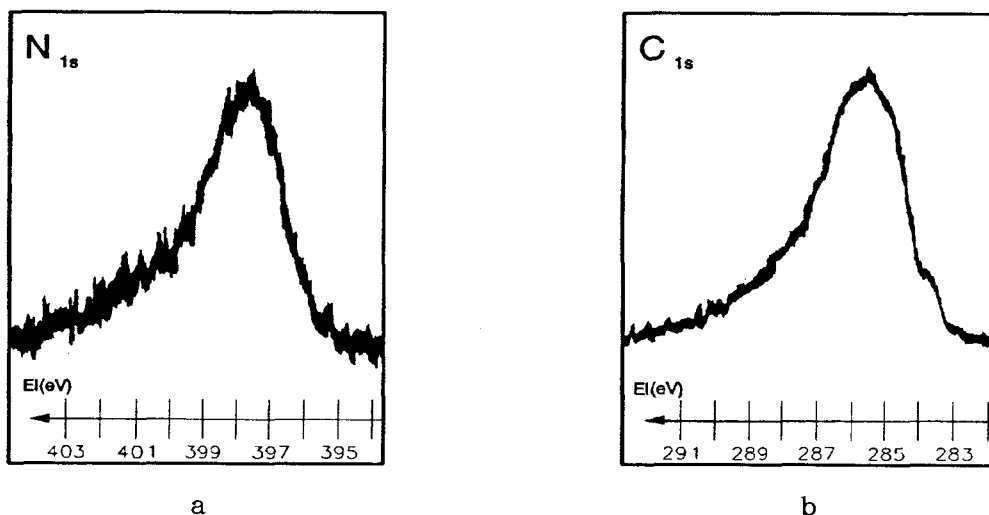


Figure 20 : Spectres E.S.C.A de l'azote (a) et du carbone (b) sur un acier recuit brillant nettoyé

L'essai, longue durée, laisse quant à lui un taux de contamination plus important : 37,6 % de carbone, et une quantité d'azote organique non négligeable. Par conséquent, nous retiendrons pour ce type d'acier la procédure (50°C - 10 minutes - RBS 4 %) pour laquelle, l'environnement chimique des atomes analysés peut être précisé en calculant les énergies de liaison relatives à chacun des éléments :

Eléments	E_L (eV)
Oxygène	531,3
Azote	396,8
Chrome	577,1

L'oxygène, détecté à une énergie de liaison de 531,3 eV est sous la forme hydroxyde, (OH⁻), il est associé en partie au chrome logiquement analysé sous sa forme oxydée ($E_L = 577,1$ eV). L'azote, quant à lui, est en insertion dans le réseau métallique à l'état nitrure (probablement du nitrure de chrome).

En ce qui concerne l'acier de type 2, la procédure longue durée a été retenue (2 heures - 20°C - RBS 4 %). On voit ici clairement l'effet favorable du temps sur la diffusion du détergent au sein des vallées intergranulaires :

	10 minutes / 50°C	2 heures / 20°C
Carbone (%)	53,1	34,8
Oxygène (%)	40,4	54,4
Azote (%)	0,0	0,9
Chrome (%)	6,5	10,0

L'étude en énergie de liaison :

Eléments	E_L (eV)
Oxygène	531,4
Azote	400,2
Chrome	577,3

met en évidence les mêmes espèces à la surface de ce matériau. L'azote organique disparaît en cinq minutes de décapage .

Globalement, après nettoyage, les aciers sont chimiquement semblables en surface, même si la couche de passivation de l'acier de type 2 est plus épaisse. En effet, on détecte un même taux d'oxygène à l'issue du processus de nettoyage pour des taux de contamination différents.

III.3.2 Etude au M.E.B. et en microanalyse X

L'examen au microscope électronique à balayage, après nettoyage, met en évidence l'existence de quelques taches. Pour l'acier de type 1, celles-ci ont une dimension inférieure au micron carré (μ^2) et sont composées essentiellement de carbone. Le relief observable est plat avec, il est vrai, quelques petits défauts (trous et cavités).

Pour l'acier de type 2, l'observation rend compte du relief accidenté et du piégeage irréversible de contaminations au sein des vallées intergranulaires.

Au niveau analytique, cette contamination résiduelle pose problème. Dans le cas de l'acier de type 2, elle n'intervient que de façon secondaire dans la mesure où les "plateaux" en sont exempts.

Pour l'acier de type 1, les taches observées correspondent à des résidus de protection que le traitement RBS ne permet pas d'éliminer. Cependant, la fraction de surface recouverte étant estimée à 2 % de la surface totale, on peut considérer que l'interférence produite par ces résidus ne prend part qu'en de faibles proportions au signal E.S.C.A. enregistré. Pour la microanalyse "X", on s'affranchit de cet artefact en sélectionnant des aires qui présentent un état de surface parfait.

III.4 Etude de l'adsorption des acides (aminés et octanoïque).

III.4.1 Introduction

Plusieurs auteurs ont eu recours à l'E.S.C.A. pour étudier les acides aminés ou évaluer la qualité de certaines denrées alimentaires (PEELING et al., 1976 ; CLARK et al., 1976 ; KLEIN et al., 1972). L'essentiel des travaux porte sur l'état solide des acides aminés et se démarque donc de notre travail pour lequel les "solides" ont été dissous en solution.

D'un point de vue analytique, nous perdons l'information qu'aurait pu suggérer les "shifts" concernant l'azote. En effet, la seule distinction possible repose sur la protonation de cet atome qui dans notre cas existe sous une forme unique $-\text{NH}_3^+$. Pour la protéine, on obtient un pic unique qui correspond à l'azote peptidique. (PEELING et al., 1986 ; BOMBEN et DEV, 1988).

Lors des analyses E.S.C.A., les échantillons séjournent dans la chambre du spectromètre sous un vide de 10^{-9} Torr et peuvent par conséquent subir des dommages (modification due au rayons "X", vide) comme le rapporte la bibliographie (SIEGBAHN et al., 1967 ; PEIZHU et al., 1982).

Cependant, dans une étude comparable à la nôtre, RATNER et al. (1981) n'ont pas observé de variations notables dans leurs spectres. En ce qui nous concerne, nous avons vérifié la stabilité des signaux détectés en doublant certaines analyses. D'un point de vue pratique, il n'existe pas d'étalons qui nous permettent d'accéder à des concentrations absolues. C'est pourquoi, le principe d'interprétation repose sur les courbes d'évolution des signaux détectés. Ces courbes illustrent le départ ou l'arrivée de matière à l'interface:

$$(I_X(t) - I_X(0)) / I_X(0) = f(t) \quad (12)$$

$I_X(t)$: intensité en (C/S) de l'élément X pour une durée d'adsorption t

$I_X(0)$: intensité en (C/S) de l'élément X de l'échantillon standard

(nettoyé)

t : temps

III.4.2 La glycine

III.4.2.1 Interaction glycine/acier type 1

a Etude E.S.C.A.

De manière générale, les résultats quantitatifs présentés dans les tableaux 12 et 13 montrent que les états adsorbés diffèrent peu de l'état initial (échantillon nettoyé). Cet état de fait se justifie essentiellement par la petite taille de la molécule. Néanmoins, il est irréfutable de constater qu'il y a eu apport de matière à l'interface, celui-ci se traduisant simultanément par une perte de détection de la couche de passivation de l'acier (perte au minimum égale à 6 % en oxygène) et une augmentation des pourcentages relatifs à la matière organique (carbone et azote).

Pour suivre l'adsorption, nous disposons de deux "sondes" : le taux de carbone, et le taux de fer.

Le premier est directement lié à l'apport de matière à l'interface et le second rend compte du recouvrement de la surface du matériau. Si nous traitons le problème de façon générale, on peut affirmer que la glycine s'adsorbe quelles que soient les conditions expérimentales. Cependant, aux vues des différentes courbes établies à partir des résultats expérimentaux, il semble que plusieurs phénomènes interviennent simultanément.

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr	Fe
0		2,205	9,43	0.464	8,652	11,554
1	20	2,43	8,152	0.495	10,228	8,15
1	40	2,41	7,319	0.818	11,228	7,406
1	70	2,347	7,28	0.749	10,872	7,528
2	20	2,424	7,965	0.46	9,436	7,538
2	40	2,654	7,963	0.514	8,98	6,662
2	70	2,245	7,53	0.747	11,136	7,66

Tableau 12 : Valeurs des intégrales des spectres

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr	% Fe
0		25,8	56,4	3,6	14,2	15,2
1	20	29,1	49,8	3,9	17,2	11,5
1	40	29,1	45,2	6,6	19,1	10,6
1	70	29,0	46,0	6,1	18,9	11,0
2	20	29,8	50,1	3,7	16,3	11,0
2	40	31,9	48,9	4,1	15,1	9,6
2	70	27,5	47,2	6,1	19,2	11,1

Tableau 13 : Pourcentages atomiques.

Nous procédons à l'analyse de 5 éléments C, N, O, Cr, Fe, ceux-ci se subdivisent en deux catégories :

- C, O ont un caractère superficiel
- Cr, Fe sont situés plus dans la masse

L'azote quant à lui peut être classé dans les deux catégories (azote nitrure et organique).

Pendant la première heure, l'adsorption se traduit par une diminution des taux de fer et d'oxygène, ceci s'explique par la croissance d'une sur-épaisseur (à la surface du matériau) engendrant une perte de détection des atomes de la masse et de la couche de passivation (figure 21). Le comportement du chrome est tout à fait paradoxal, en effet, l'épaisseur analysée se concentre en chrome, ce qui paraît assez contradictoire avec le développement du film d'adsorbat (figure 22).

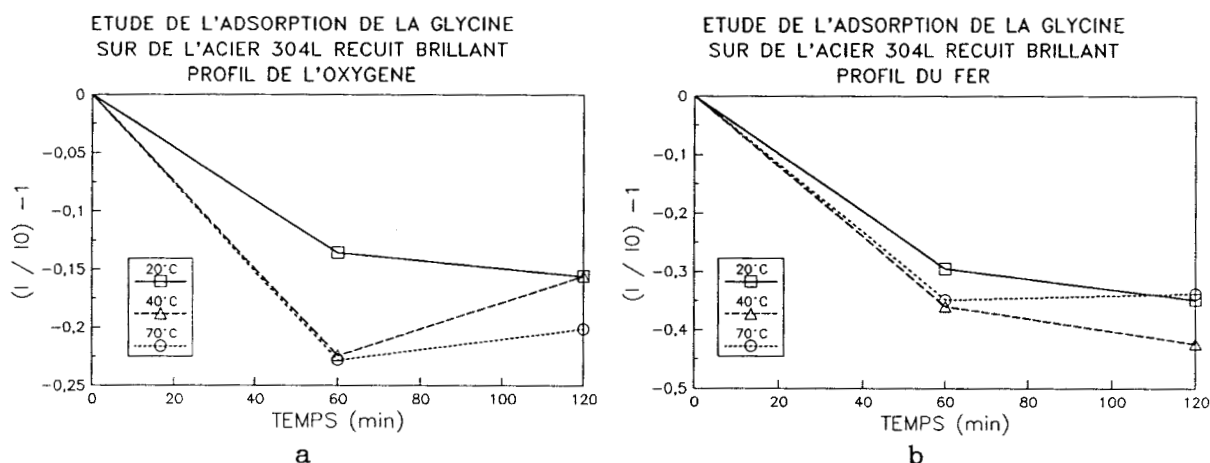


Figure 21 : Profil de détection de l'oxygène (a) et du fer (b).

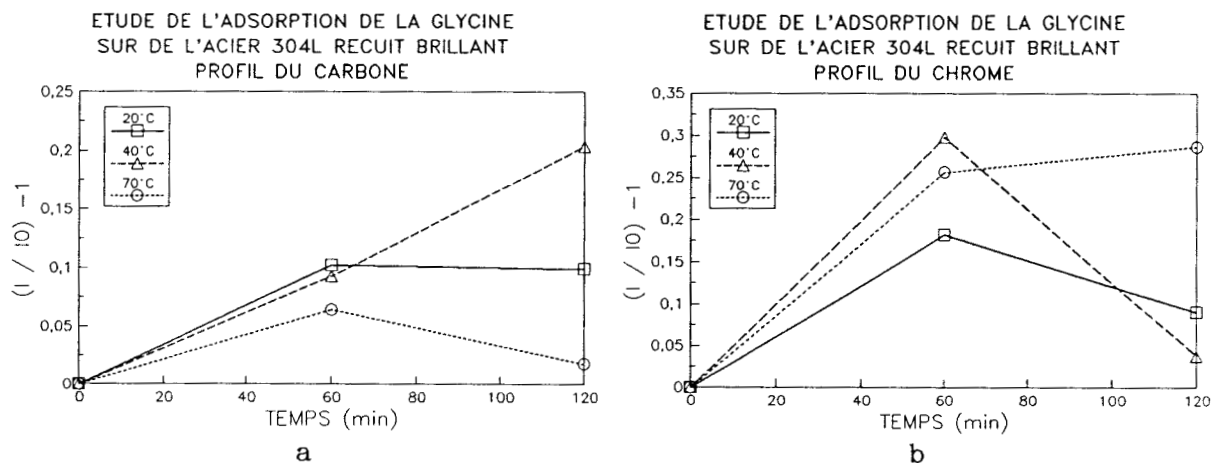


Figure 22 : Profil de détection du carbone (a) et du chrome (b).

Si nous nous référons aux travaux de LIEDBERG et al. (1985), SALANEK et al. (1985) et WU et al. (1987), nous pouvons considérer l'orientation préférentielle de la molécule de glycine qui présenterait son pôle azoté " NH_3^+ "

orienté vers l'interface. De plus, étant donné le moment dipolaire important de la glycine et l'affinité pour les sites déficitaires en électrons (métaux de transition) des groupements -NH_3^+ , nous pouvons postuler le mécanisme suivant lequel les interactions s'initieraient par l'intermédiaire de l'azote expliquant ainsi l'enrichissement virtuel en chrome qui diffuserait au sein de la couche adsorbée. De tels phénomènes ont déjà été rapportés dans la bibliographie notamment dans les travaux de FORT (1986).

D'après l'étude préliminaire de l'acier, nous savons que les espèces présentes dans les premières couches de la surface sont du type oxydes ou hydroxydes et sont donc plutôt chargées négativement. Ainsi, la complémentarité des charges entre la surface négative et le groupement moléculaire positif permet de comprendre aisément une telle association.

Comme on peut le voir dans le tableau 13, les quantifications après 1 heure d'adsorption (20, 40 et 70°C) révèlent un taux de carbone identique, ceci se traduit qualitativement par des spectres aux allures superposables. L'arrivée de matière à l'interface engendre une légère modification du spectre du chrome (la première heure), notamment par l'apparition d'une composante plus métallique. Celle-ci traduit l'action du chrome dans le processus de passivation (destruction et reconstruction du film passif) de l'acier mais ne transcrit aucunement une réaction entre l'oxyde superficiel et la molécule (figure 23).

Cette déformation correspond à la diffusion de cet élément vers la surface.

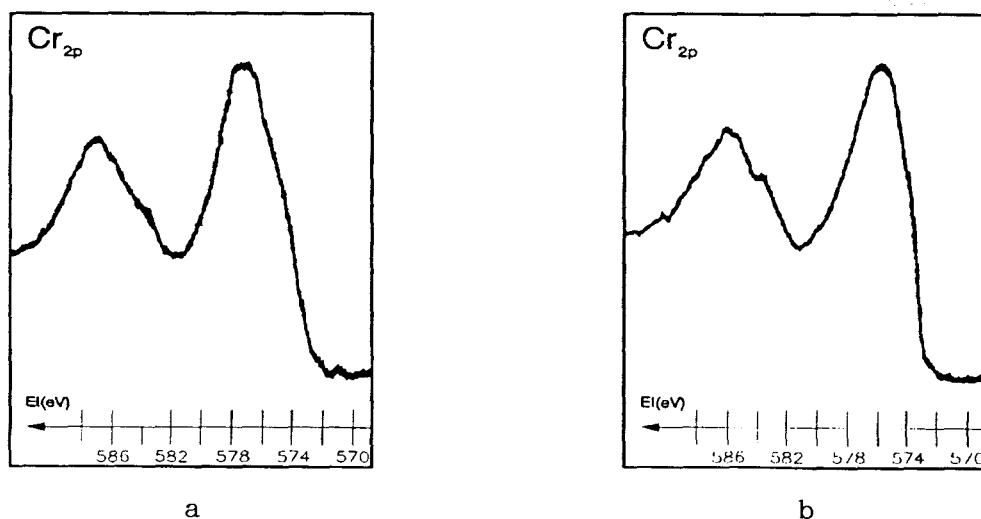


Figure 23 : Spectres du chrome a) état initial b) après adsorption (1 heure - 70 °C)

Tout comme le chrome, le fer subit des transformations lors de l'adsorption qui se concrétisent au niveau spectral par une altération de la composante "oxyde" qui dans certains cas disparaît presque complètement au profit d'un fer plus métallique. Il y a donc eu transformation (dissolution) de l'oxyde de fer détecté à une énergie de liaison de 710,7 eV (figure 24).

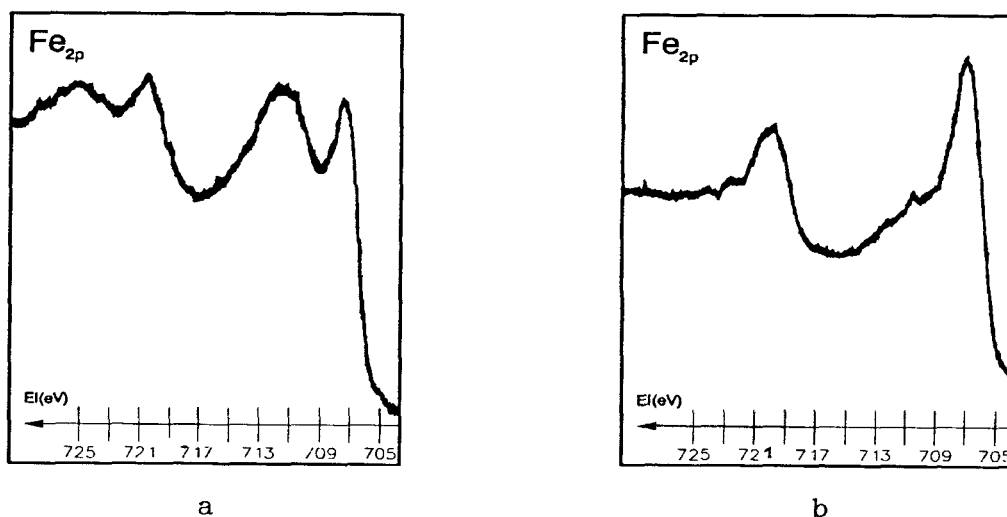


Figure 24 : Spectres du fer a) état initial b) après adsorption (1 heure - 70 °C)

Au cours de l'adsorption, nous assistons donc à un enrichissement en espèces métalliques de l'interface soit par diffusion du chrome ou par dissolution des oxydes superficiels (fer). La similitude des courbes de profil du chrome et de l'azote (figure 22 et 25) transcrit l'association de ces deux éléments et résulte de la présence de nitrure de chrome en surface.

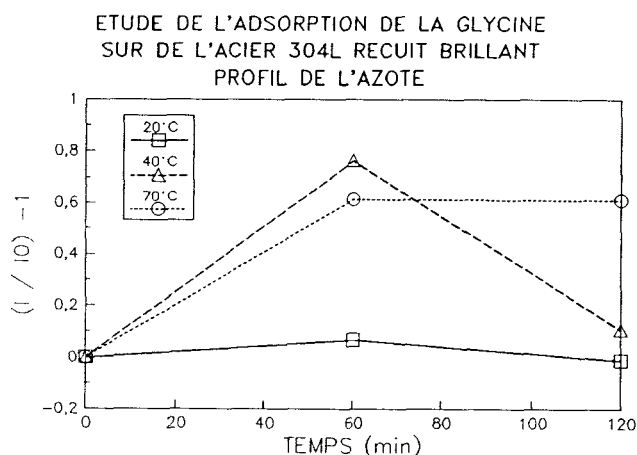


Figure 25 : Profil de détection de l'azote

L'étude comparée des spectres de l'azote apporte des renseignements d'ordre géométrique. En effet, quelles que soient les conditions expérimentales, l'azote de type nitrure est toujours détecté ($E_L = 397,1$ eV) attestant ainsi d'une faible épaisseur adsorbée et probablement d'un faible taux de recouvrement. En d'autre terme, l'adsorption serait localisée en certains sites bien particuliers que nous ne pouvons identifier de façon absolue.

L'azote de la glycine apparaît sur les spectres sous la forme d'un épaulement (figure 26) qui se définit d'autant mieux que la température est élevée. Le pic présente une largeur à mi-hauteur qui montre la diversité de ce type d'azote à l'interface. Son énergie de liaison fluctue entre 399,7 et 400,9 eV suivant les conditions expérimentales et ne peut donc pas correspondre à une amine protonée (NH_3^+) qui d'après les travaux de CLARK et al. (1976) et PEELING et al. (1976) sortirait à une énergie de liaison de $402,5 \pm 0,2$ eV à $403 \pm 0,2$ eV. En fait l'azote se trouve dans un environnement comparable à celui de la liaison peptidique (NH-CO=) ou à celui d'une amine non totalement protonée ($-\text{NH}_2$) dont les énergies de liaison sont respectivement égales à $(400,4 \pm 0,1)$ et $(400,1 \pm 0,1)$ eV.

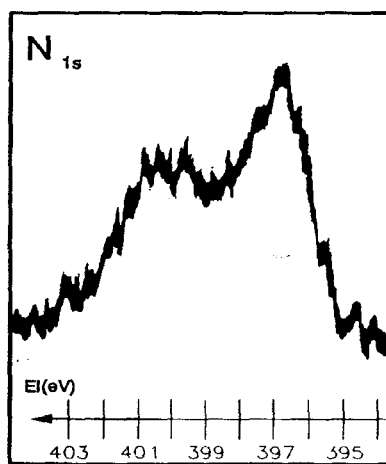


Figure 26 : Spectre de l'azote de la glycine adsorbé ($E_L=400$ eV; 1 heure 70°C).

Cette fluctuation doit aussi son origine à la fragmentation de la molécule qui selon les courbes de profil prend effet durant la seconde heure et plus particulièrement à 70°C où seul le taux de carbone évolue (décroissance) (WU et al., 1987) (figure 22).

La température gouverne donc les phénomènes se produisant après adsorption à l'interface.

- à 20°C, l'interface est stable.
- à 40°C, l'adsorption s'amplifie : augmentation simultanée des taux de carbone et d'oxygène et, perte de détection des atomes situés plus dans la masse (Fer et Chrome).
- à 70°C, on enregistre une perte de détection du carbone.

De telles évolutions ne suggèrent aucune explication directe si on ne prend pas en compte les multiples phénomènes pouvant intervenir simultanément.

- oxydation superficielle après adsorption
- fragmentation de la molécule
- effet détergent de la glycine à haute température (éventuellement)
- phénomène de corrosion
- présence de traces de fer et de chrome en solution

Néanmoins nous pouvons proposer le mécanisme d'adsorption suivant:

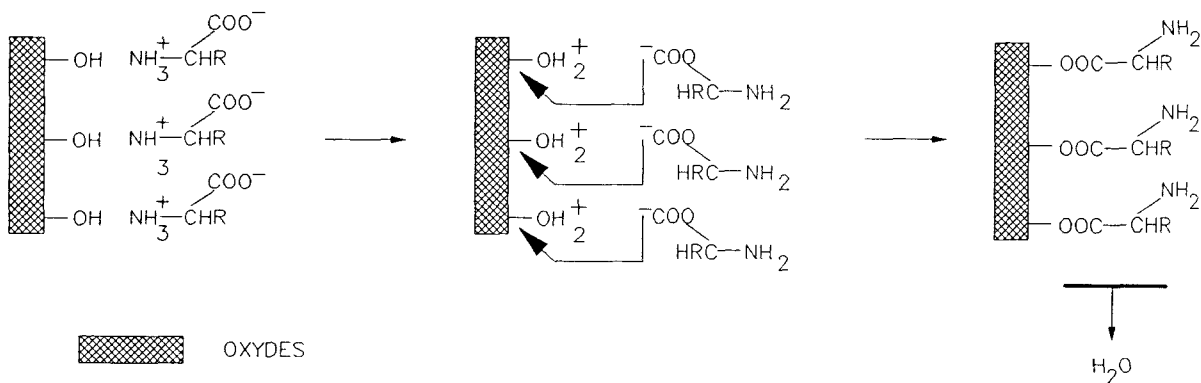


Figure 27 : Mécanisme d'adsorption des acides aminés.

Celui-ci est tout à fait cohérent avec la forme d'azote détecté et justifie la dissolution des oxydes superficiels (oxydes de fer). Ce mécanisme se déroule en deux étapes, la première comprend l'attaque de l'hydroxyde superficiel par le pôle azoté NH_3^+ (acide) qui, suivant une réaction acide base perdra un proton. Ce dernier se fixera sur l'hydroxyde superficiel pour donner une espèce

du type $Fe^{+}OH_2$. La seconde étape correspond au départ de la molécule d'eau renfermée dans l'espèce $Fe^{+}OH_2$ par l'attaque du groupement carboxylate de la glycine qui se substitue à cette molécule.

b Etude au M.E.B. et en microanalyse X

Comme nous venons de le voir, les quantifications établies lors des analyses E.S.C.A. montrent peu d'évolution entre l'état initial et l'état adsorbé. La microanalyse X étant une méthode analytique moins sensible nous n'avons pu mettre en évidence quelque modification que ce soit.

c Conclusion

Toute cette étude met en évidence la réactivité de la fonction "acide aminé" vis-à-vis de ce type d'acier. Celle-ci met en jeu le pôle aminé de la glycine qui, par effet électrostatique et par affinité électronique arrive à l'interface pour réagir suivant une réaction acide-base avec les hydroxydes superficiels (dissolution) et le groupement carboxylate de la molécule. Ce dernier réagit sur l'espèce formée par l'étape précédente. Si au niveau du mécanisme les arguments avancés suffisent à préciser l'interaction il n'en est pas de même pour comprendre l'évolution de l'interface au cours du temps. Il semble qu'une fois adsorbées les molécules subissent des modifications qui engendrent un changement d'environnement. Celui-ci ferait appel à plusieurs processus que l'on ne peut individualiser étant donné leur complexité et le manque de connaissances à leur égard.

III.4.2.2 Interaction glycine/acier de type 2

a Etude E.S.C.A.

Pour ce type d'acier, la distinction des essais portant sur une et deux heures d'adsorption apparaît clairement dans les tableaux 14 et 15 si l'on en juge l'évolution du pourcentage de carbone.

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr	Fe
0		2,452	10,725	0.068	8,46	9,5
1	20	2,628	10,75	0.267	8,012	8,9
1	40	3,062	10,6	0.386	8,152	6,5
1	70	3,06	10,5	0.533	9,352	4,044
2	20	3,331	9,665	0.261	6,442	6,814
2	40	3,93	9,25	0.388	6,452	4,06
2	70	3,631	9,635	0.507	7,216	2,94

Tableau 14 : Valeurs des intégrales des spectres.

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr	% Fe
0		26,7	59,8	0,5	13,0	12,0
1	20	27,9	58,3	1,9	11,9	11,2
1	40	31,0	54,8	2,6	11,6	8,0
1	70	30,3	53,1	3,6	13,0	5,1
2	20	35,6	52,8	1,8	9,7	8,8
2	40	40,0	48,1	2,6	9,2	5,2
2	70	36,7	49,7	3,4	10,2	3,8

Tableau 15 : Pourcentages atomiques.

Dans son état standard (nettoyé), la surface est pratiquement exempte d'azote, cet élément permet donc de suivre l'adsorption.

Cependant, les profils du carbone et de l'azote évoluent de manière contradictoire pendant la deuxième heure d'adsorption (figure 28):

- augmentation de la fraction carbonée
- stabilité de la fraction azotée

Quand on sait que la glycine renferme un atome d'azote pour deux atomes de carbone, l'apport de matière à l'interface devrait se traduire par l'augmentation simultanée de la fraction relative à chacun de ces éléments. Or, nous savons qu'il n'en est rien. Il faut donc prendre en compte des phénomènes de fragmentation de la molécule ou de réarrangement de l'interface pour comprendre une telle évolution.

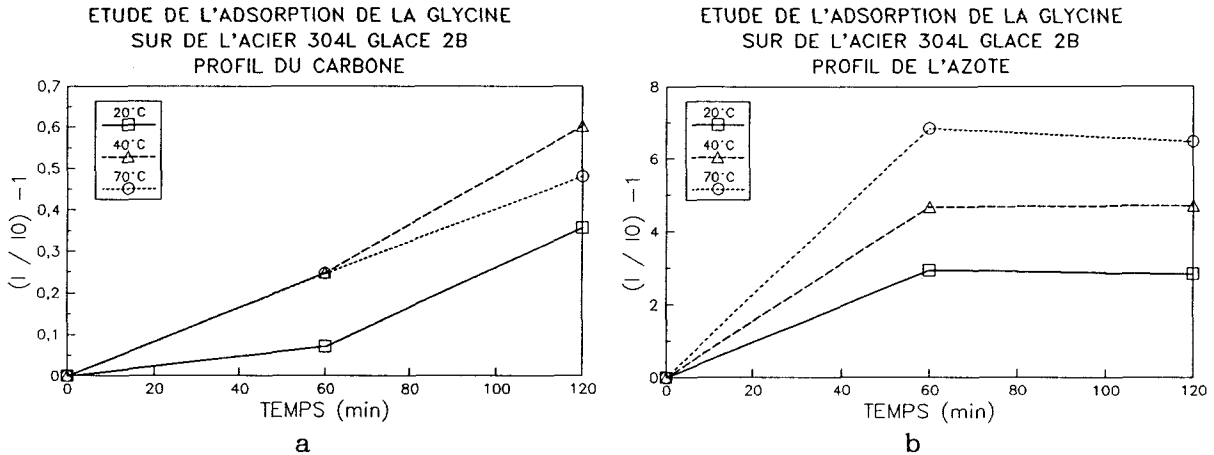


Figure 28 : Profils de détection du carbone (a) et de l'azote (b).

Hormis cette contradiction, les autres profils demeurent cohérents, à savoir que l'adsorption de la glycine (réarrangée au pas) engendre une perte de détection de la couche de passivation et des atomes de la masse qui, au niveau des courbes (figure 29) se traduit par la décroissance des signaux détectés.

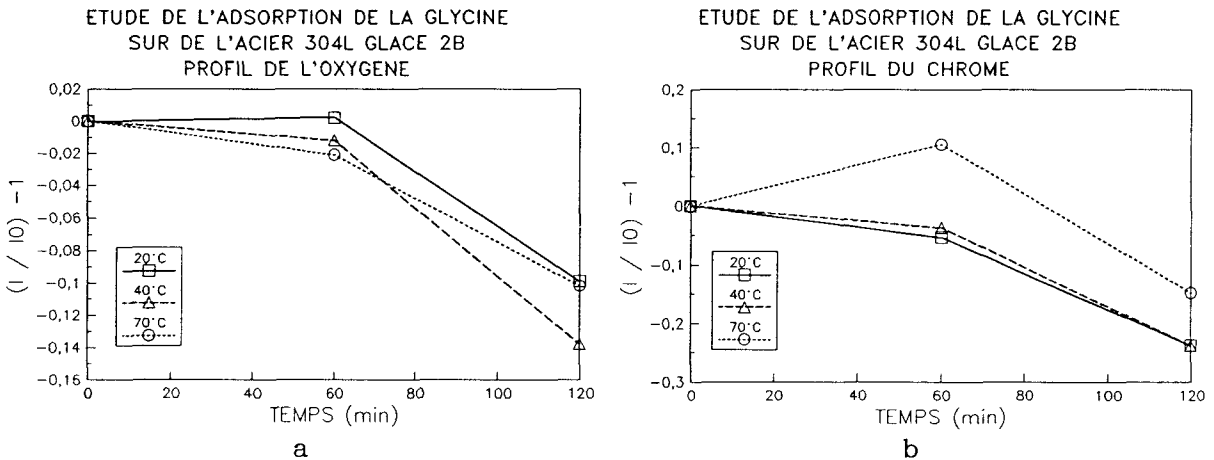


Figure 29 : Profils de détection de l'oxygène (a) et du chrome (b).

D'un point de vue qualitatif, deux éléments subissent des changements d'environnement : le fer et le carbone.

Pour le carbone, on assiste à un renforcement de la composante carboxylique, avec un effet favorable du temps et de la température, marquant ainsi la

présence du groupement carboxylique de la glycine à l'interface. Cet épaulement est beaucoup plus marqué que dans le cas de l'acier de type 1 pour lequel il était très léger.

Le fer, quant à lui, voit sa composante oxyde ($E_L = 711 \pm 0,2 \text{ eV}$) s'altérer. Ce phénomène est d'autant plus visible que la température augmente alors que le temps semble n'avoir que peu d'influence, tout au moins lors de la seconde heure. Le profil de l'azote se corrèle parfaitement avec cette évolution, en effet le signal détecté reste stable après une heure d'adsorption et quantitativement la détection est fonction croissante de la température. Ceci indique donc une interaction sélective entre le pôle azoté et l'oxyde de fer. L'énergie de liaison de l'azote, comprise entre 399,8 et 400,3 eV, ne correspond pas à la forme zwitterionique de la glycine présente en solution mais à une forme déprotonée. La glycine rentre donc en liaison avec l'oxyde de fer superficiel au cours de cette déprotonation suivant le mécanisme expliqué pour l'acier de type 1 (figure 27).

Le chrome ne subit aucune transformation, ses spectres ont une allure similaire. Cet élément n'intervient donc pas dans le processus décrit ci-dessus. Cependant, pour la manipulation (1 heure - 70°C), ses proportions, dans le film analysé, ont augmenté et l'on ne peut exclure dans ce cas l'intervention de l'oxyde dans le réarrangement éventuel du film passif.

b Etude au M.E.B. et en microanalyse X

Cette étude n'apporte aucune information supplémentaire et ceci pour les mêmes raisons que celles énoncées pour l'acier de premier type.

c Conclusion

Le relief de la surface qui présente une aire plus importante, conditionne quantitativement l'adsorption, notamment par un effet favorable du temps au niveau des phénomènes diffusionnels. En effet, les essais réalisés pour des durées de deux heures, conduisent à un encrassement plus conséquent du fait de la diffusion de la molécule de glycine au sein des vallées intergranulaires. Qualitativement, le mécanisme le plus probable, aux vues des déformations spectrales, met en jeu la réactivité du pôle aminé et du groupement carboxylate

de la molécule sur l'oxyde de fer. Au cours de ce processus la molécule de glycine subit un réarrangement moléculaire comme le montre la non-stoechiométrie.

Conditions	% N/C	% (N/C)'
Théorique	33,3	33,3
1 heure - 20°C	6,7	74,9
1 heure - 40°C	8,3	34,5
1 heure - 70°C	11,9	52,5
2 heures - 20°C	5,2	14,5
2 heures - 40°C	6,5	14,3
2 heures - 70°C	9,2	24,6

(N/C)' est calculé en faisant la différence entre les signaux détectés et ceux correspondant à l'état standard.

III.4.2.3 Conclusion sur l'interaction glycine/Acier 304L

La comparaison des courbes de profils montre que l'évolution de la détection des éléments analysés est propre à l'acier étudié. Le facteur prédominant dans ces différences n'est autre que l'état de surface du matériau. En effet, si la nitruration améliore la résistance au frottement, elle réduit remarquablement la résistance à la corrosion et induit donc une réactivité différente (RAM-CHANDANI et DENNIS, 1988 ; ZHANG et BELL, 1985 ; REED, 1989). La surface exhibe alors une sensibilité caractéristique aux éléments présents en solution. Ce caractère se révèle fondamental lorsque l'on sait que le groupement carboxylique peut tamponner localement le pH et créer des sites de corrosion (DE BERRY et VIEHBECK, 1988).

La morphologie de la surface est donc à la base de cette réactivité spécifique. En d'autre terme, elle justifie la passivité du chrome pour l'acier de type 2.

De façon générale, l'adhésion de la glycine résulte de la polarité de la molécule et de la présence d'oxydes chargés négativement en surface.

Quant au mécanisme de fixation, il est commun au deux types d'acier, et comprend deux étapes:

- réaction acide-base (amine-hydroxyde)
- substitution de la molécule d'eau par le groupement carboxylate

III.4.3 La cystéine

III.4.3.1 Interaction cystéine/acier de type 1

a Etude E.S.C.A.

Quantitativement (tableaux 16 et 17), la cystéine conduit à des résultats analogues à ceux établis pour la glycine. Les pourcentages de carbone sont peu élevés et varient jusqu'à 35 %, sans aucune distinction entre une et deux heures d'adsorption. La faible ampleur de l'adsorption se caractérise, au niveau de l'azote par de petites évolutions sur les spectres. L'azote organique (de la cystéine) est détecté sous la forme d'un large épaulement dans le pic des "nitrures" qui demeure stable et toujours identifié. Par conséquent, l'adsorption se produit sur une faible épaisseur et sans doute en certains points localisés.

TEMPS(h)	TEMP.(°C)	C	O	N	Cr	S	Fe
0		1,183	4,859	0,247	5,682		5,682
1	20	1,664	4,068	0,254	5,604	0.092	
1	40	1,394	4,467	0,268	5,800	0.133	
1	70	1,312	4,936	0,305	6,410	0.083	
2	20	1,224	4,311	0,240	5,770	0.092	
2	40	1,476	4,760	0,264	5,804	0.144	4,205
2	70	1,258	4,926	0,281	6,304	0.137	3,410

Tableau 16 : Intégrales des spectres.

TEMPS(h)	TEMP.(°C)	% C	% O	% N	% Cr	% S	% Fe
0		25,2	52,9	3,5	18,4	0,0	13,9
1	20	35,4	44,3	3,6	16,8	1,0	
1	40	29,9	48,9	3,8	17,4	1,4	
1	70	26,6	51,1	4,1	18,2	0,8	
2	20	27,8	50,1	3,6	18,4	1,0	
2	40	30,1	49,7	3,6	16,6	1,4	10,1
2	70	25,9	51,9	3,8	18,3	1,3	8,4

Tableau 17 : Pourcentages atomiques.

Les profils de détection confirment ce que nous venons de dire et soulignent la tendance à l'enrichissement en chrome de l'épaisseur analysée. D'autre part, les grandes similitudes que présentent les profils du chrome et de l'azote marquent l'association de ces deux éléments (figure 30).

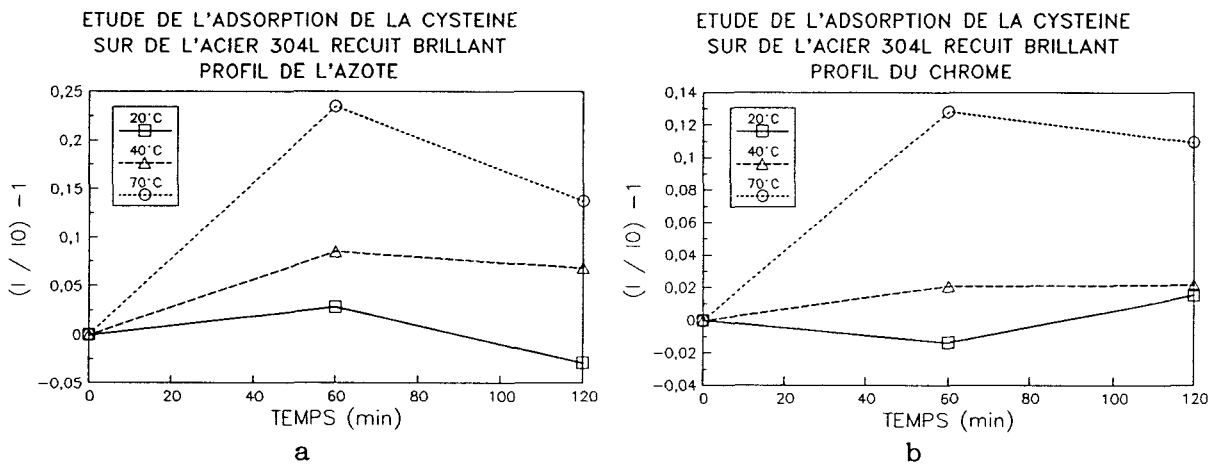


Figure 30 : Profils de détection de l'azote (a) et du chrome (b).

D'un point de vue spectral, tout ceci se concrétise par :

- l'apparition d'une composante métallique dans le spectre du chrome. (celle-ci est moins caractérisée que dans le cas de la glycine) (figure 31).

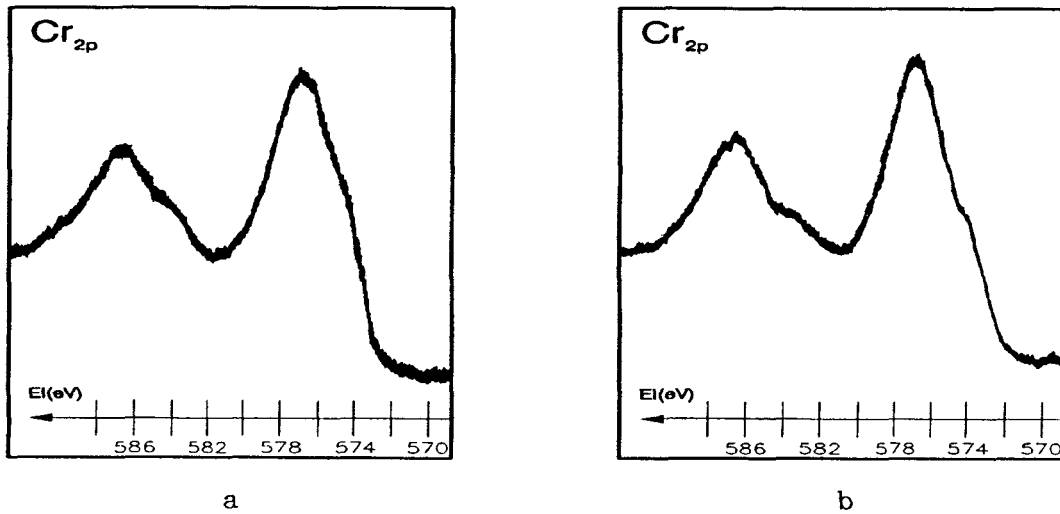


Figure 31 : Spectres du chrome a) état initial b) après adsorption (2 heures - 70 °C)

- la détection d'un azote organique à une énergie de liaison comprise entre $399,5 \pm 0,2$ eV et $400,3 \pm 0,2$ eV qui correspond à une forme différente de NH_3^+ .

Le fer, quant à lui, subit des transformations tout à fait analogues à celles exposées lors de l'étude de l'adsorption de la glycine : altération de la composante oxyde ($E_L = 711$ eV $\pm 0,2$) jusqu'à sa disparition quasi totale au profit de la composante métallique ($E_L = 707,4$ eV $\pm 0,2$) (figure 32).

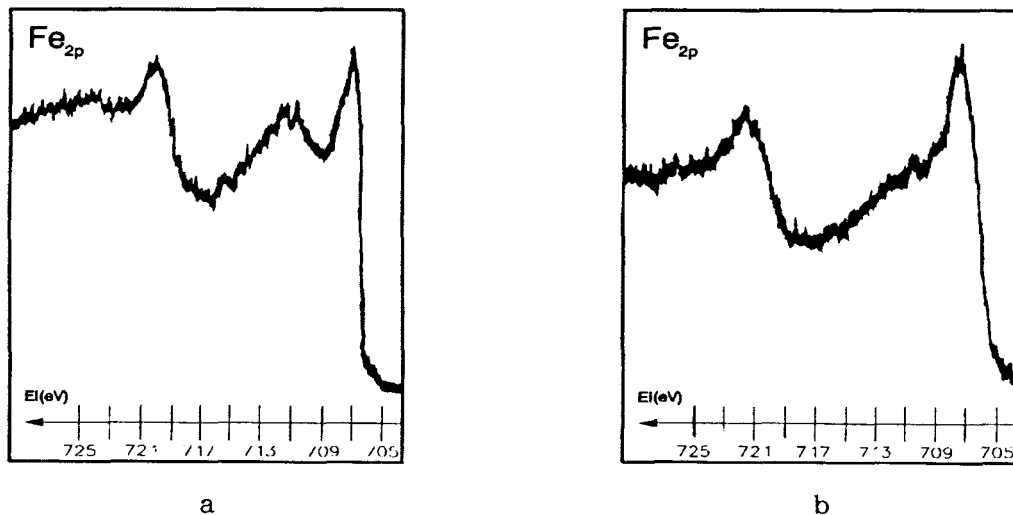


Figure 32 : Spectres du fer a) état initial b) après adsorption (2 heures - 70 °C)

A ce niveau de la discussion, nous voyons que nous sommes en présence de phénomènes comparables à ceux rencontrés pour la glycine. Tout ceci met en évidence l'activité de la partie polaire (chargée positivement) de la molécule et sa grande affinité pour les oxydes superficiels. Le mécanisme aboutit ensuite à la fixation du groupement carboxylate sur le site où a eu lieu le départ d'eau.

Cependant, le processus dit "d'adsorption" n'est pas le seul qui intervienne lors de la mise en contact du couple Acier/solution. En effet, il existe quelques disparités au niveau des résultats expérimentaux comme la non correspondance des profils de l'azote et du soufre qui suggère l'existence de plusieurs mécanismes pouvant se produire à l'interface (figure 30 et 33).

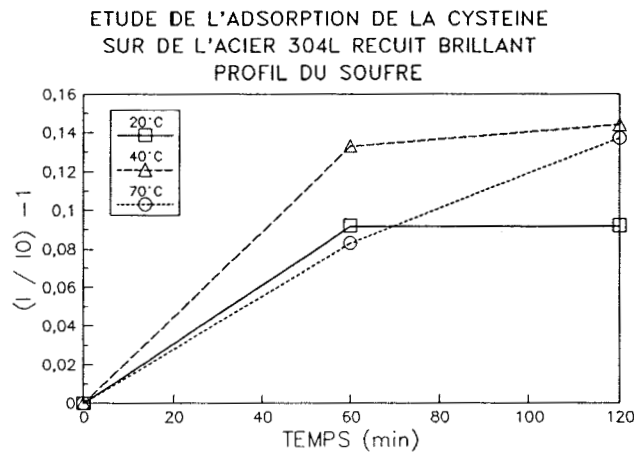


Figure 33 : Profil de détection du soufre.

Notamment, il n'est pas exclu que l'interaction mette en jeu le groupement thiol qui pourrait donner lieu à la formation de sulfures.

Expérimentalement, le soufre est détecté sous la forme d'un pic unique sortant vers les énergies de liaison de $162/162,6 \pm 0,2$ eV (figure 34).

A ce niveau apparaît une ambiguïté à propos de la détermination de l'état du soufre, celui-ci peut être organique ou inorganique (sulfure).

- D'après MILLARD (1974), le soufre lié au fer, dans les métallo-protéines est détecté dans la plage (160, 163 eV) quant au fer, il sort vers $708 \pm 0,5$ et $710 \pm 0,5$ eV. Ces données ne sont pas totalement incompatibles avec nos résultats $E_1(\text{Fe}_{2p}) = 707,4 \pm 0,2$.

- Cependant, d'après la bibliographie, l'énergie de liaison du soufre peut aussi correspondre à un soufre organique dont il est impossible de préciser l'environnement:

$$E_L(S_{2P}) = 163,8/164,2 \text{ eV (GOLD et al., 1989)}$$

$$E_L(S_{2P}) = 163,2/163,6 \text{ eV (PEELING et al., 1976)}$$

$$E_L(S_{2P}) = 162/162,7 \text{ eV (SIEGBAHN et al., 1967)}$$

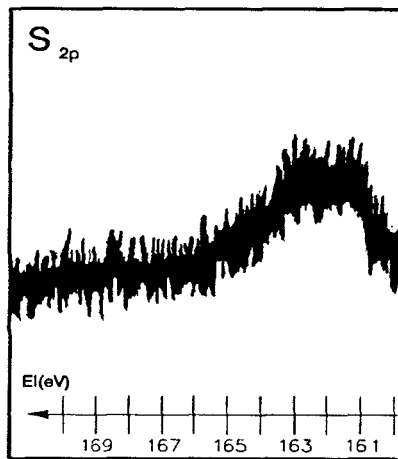


Figure 34 : Spectre du soufre de la cystéine adsorbée sur de l'acier (2 heures - 20°C)

Le dosage par absorption atomique des solutions révèle la présence de traces de chrome (0,066 mg/l) et de fer (0,37 mg/l).

La surface de l'acier est donc modifiée par l'adsorption de la cystéine et la rupture en quelques sites du film passif de l'acier explique le passage en solution de certains éléments métalliques. Cet effet peut être attribué à un affaiblissement, par le soufre adsorbé, des liaisons Métal-Métal des atomes métalliques en surface, réduisant ainsi l'énergie d'activation pour le passage en solution. L'existence d'un dipôle métal-soufre faiblement polarisé négativement du côté du soufre peut aussi favoriser le passage des cations métalliques en solution (MARCUS, 1987). De plus, le pH (1,9) favorise l'attaque corrosive du matériau par complexation et précipitation du fer par l'intermédiaire du groupement thiol (HLUCHAN et al., 1988). Finalement l'adsorption de la cystéine est liée à plusieurs phénomènes :

- adsorption suivant le mécanisme à deux étapes décrit dans les paragraphes précédent.
- attaque de la couche passivante par le soufre qui solubilise certains cations métalliques.
- fragmentation de la molécule, révélée par la non stoechiométrie N/S.

b Etude au M.E.B. et en microanalyse X

Globalement, tous les essais conduisent aux mêmes résultats. L'image obtenue au microscope électronique à des grossissements de 200 et 1000 met en évidence la présence de taches noires. L'analyse à faible grossissement (60) avec une tension primaire de 2 kV montre l'homogénéité de l'échantillon à l'échelle macroscopique :

$$(C/Fe) = 5,08 \% \quad (CV) = 1,6 \%$$

Pour un grossissement moyen (*200) le rapport C/Fe relatif à des zones à priori sans tache est un peu plus faible alors que l'examen détaillé d'une tache noire montre que celle-ci est très riche en carbone :

$$(C/Fe) = 218,85 \%$$

L'apport de cystéine à l'interface se traduit par une augmentation du rapport C/Fe qui passe de 4,73 % (CV 4,5 %) pour l'échantillon nettoyé à 5,08 % (CV 1,6 %) après adsorption et par l'augmentation du nombre de taches détectées.

c Conclusion

A l'échelle macroscopique, l'adsorption de la cystéine conduit à un renforcement de la fraction carbonée (microanalyse X) directement observable sous la forme de taches. A l'échelle microscopique plusieurs phénomènes interviennent simultanément :

- accrochage de la molécule aux oxydes superficiels
- rupture du film passif avec passage en solution d'espèces métalliques (plus particulièrement le fer), avec formation de sulfures de fer.
- fragmentation de la molécule

L'accrochage de la molécule se produit suivant deux schémas réactionnels. Le premier a déjà été amplement décrit jusqu'alors et met en jeu l'amine et le groupement carboxylate de la cystéine, quant au second il engendre l'attaque du film passif par la formation de sulfures de fer résultant de la réaction entre le soufre organique et le fer de la couche d'oxyde.

III.4.3.2 Interaction cystéine/acier de type 2

a Etude E.S.C.A.

L'adsorption de la cystéine, sur ce type d'acier est très modérée (tableaux 18 et 19), les quantités d'azote et de soufre détectées sont assez faibles. Les courbes de profil (figures 35 et 36) marquent la cohérence de nos essais, notamment par la perte de détection de l'oxygène de passivation et du chrome à mesure que la quantité de carbone arrivant à l'interface augmente.

TEMPS (h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr	S	Fe
0		1,491	6,156	0,055	4,612	0,000	4,090
1	20	1,458	5,588	0,063	5,312	0,044	
1	40	1,616	5,486	0,099	4,746	0,170	
1	70	1,730	5,330	0,147	4,418	0,177	
2	20	1,848	4,800	0,048	3,906	0,048	
2	40	1,581	5,312	0,104	4,588	0,146	3,992
2	70	1,665	5,449	0,118	4,720	0,136	2,715

Tableau 18 : Intégrales des spectres.

Les courbes de profils se rapportant au carbone, à l'azote et au soufre ne présentent pas d'incompatibilité tout au moins à 40 et 70°C où elles évoluent dans le même sens (figures 35, 36 et 39).

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr	% S	% Fe
0		30,6	57,0	0,7	11,7	0,0	9,0
1	20	28,6	56,0	0,8	14,6	0,4	
1	40	31,4	54,4	1,3	12,9	1,6	
1	70	33,4	52,7	1,9	11,8	1,7	
2	20	37,9	50,3	0,7	11,6	0,5	
2	40	31,4	54,5	1,4	12,8	1,4	9,4
2	70	32,1	53,7	1,5	12,8	1,3	6,4

Tableau 19 : Pourcentages atomiques.

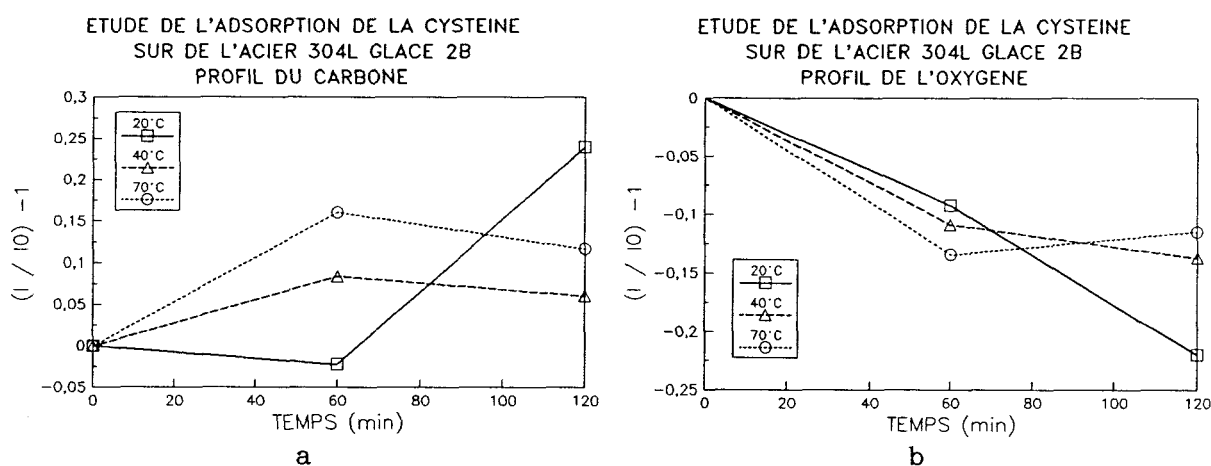


Figure 35 : Profils de détection du carbone (a) et de l'oxygène (b).

Qualitativement l'arrivée de la cystéine à l'interface produit une déformation dans la région des carbonyles qui confirme la présence du carbone carboxylique, celle-ci est plus marquée après une heure de contact, l'interface se modifie donc pendant la deuxième heure par des réarrangements ou une fragmentation moléculaire. Le départ de matière durant la seconde heure est confirmé par l'allure décroissante (à 40 et 70°C) des signaux relatifs à la matière organique (C, N, S).

Contrairement à l'acier de type 1, les spectres du soufre se dédoublent en donnant deux pics d'intensité pratiquement égale. Une partie de ce soufre est oxydée et l'autre reste dans une configuration organique (figure 37).

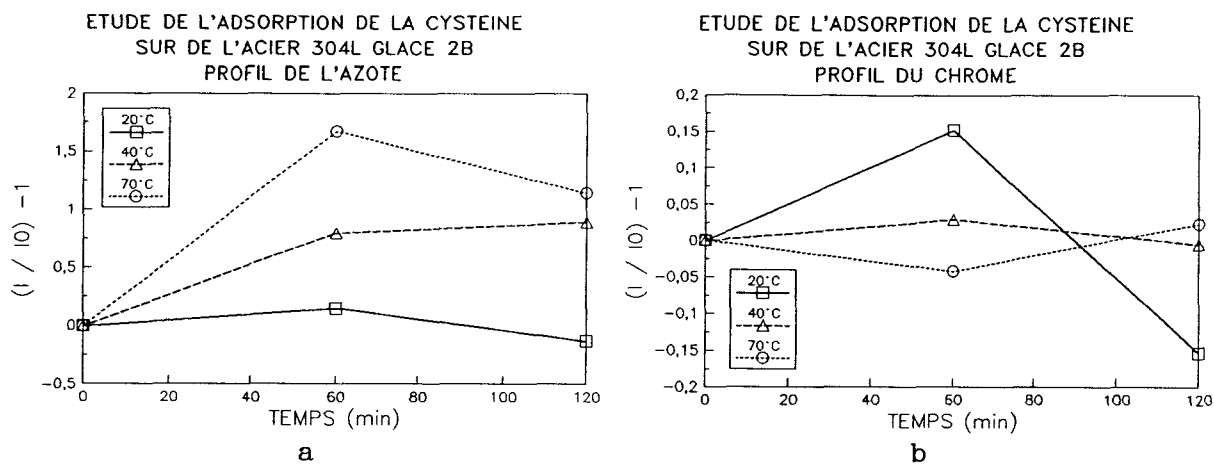


Figure 36 : Profils de détection de l'azote (a) et du chrome (b).

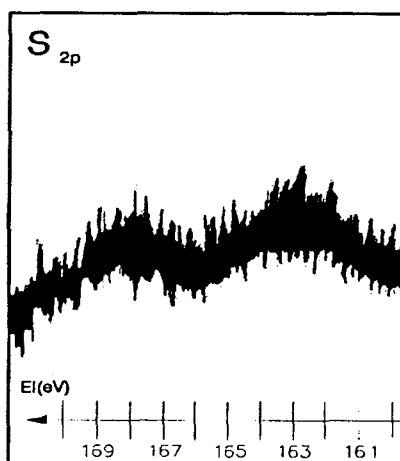


Figure 37 : Spectre du soufre de la cystéine adsorbée sur de l'acier (2 heures - 40°C)

$$E_L(S_{2P}) = 162,9 - 163,2 \text{ eV} \pm 0,2$$

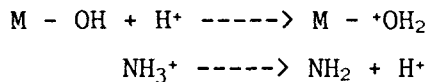
$$E_L(S_{2P}) = 167,9 - 168,5 \text{ eV} \pm 0,2$$

L'oxydation du soufre ne peut provenir d'une oxydation en solution car celle-ci aurait été constatée dans le cas de l'acier de premier type, mais résulte bien d'un phénomène de surface.

Le soufre oxydé est de type sulfate (WAGNER et al., 1979) ou sulfite (PEELING et al., 1976). Par conséquent, la cystéine est rentrée en liaison avec la couche d'oxydes par l'intermédiaire de l'atome de soufre. En ce qui

concerne l'autre fraction de soufre, son caractère organique est conféré par l'attaque de la surface par le pôle polaire de la molécule. Au pH de travail (1,9), nous sommes à l'équilibre acido-basique de la fonction carboxylique de la cystéine, par conséquent, deux formes coexistent en solution : R-COOH et RCOO⁻.

Comme nous sommes en milieu acide, les oxydes superficiels absorbent H⁺ suivant la réaction suivante, en certains endroits :



Cette réaction se produit dès que l'acier rentre en contact avec la solution.

L'adsorption se produit alors par l'intermédiaire du groupement carboxylate (après la réaction acide-base concernant l'amine et l'hydroxyde superficiel) suivant le schéma (figure 38): (GOLD et al., 1989).

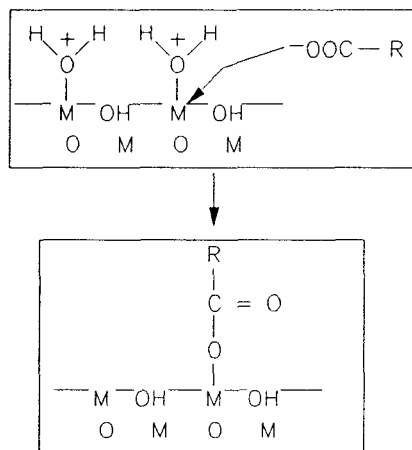


Figure 38 :Deuxième étape du mécanisme d'adsorption basé sur la réactivité des parties polaires des molécules

Ce mécanisme justifie, pour la forme R-COO⁻, à la fois la présence de carbone carboxylique et la détection d'un soufre organique. Tandis que pour la forme R-COOH la fixation intervient par le soufre pour former une structure de type sulfate.

Tout ceci nous amène à penser que les deux espèces en solution donnent lieu à deux modes d'adsorption.

Le premier comprend l'attaque de la surface par le groupement carboxylate et le deuxième met en cause le groupement thiol qui se greffe aux oxydes de surface en provoquant la fragmentation de la molécule comme le suggère la non correspondance des profils de l'azote et du soufre (figure 36 et 39).

La configuration de l'azote détecté vers 400 eV ne correspond pas à l'état zwitterionique en solution et s'avère cohérente avec les deux mécanismes précédents dans la mesure où le premier processus intervenant avant la fixation de la molécule se trouve être la réaction acido-basique entre l'amine et la surface.

Selon LIEDBERG et al. (1987) l'amine peut faire l'objet de réarrangement pour permettre un accrochage double de la molécule.

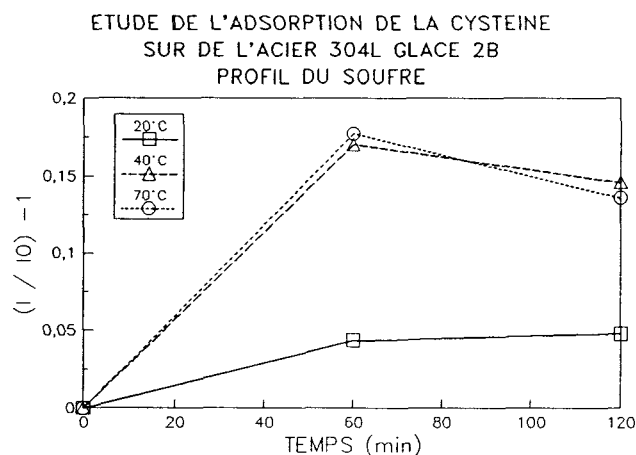
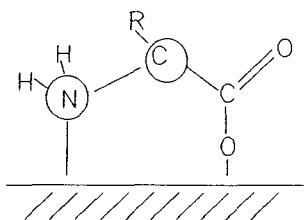


Figure 39 : Profil de détection du soufre

En ce qui concerne les éléments métalliques (Fe, Cr), ils subissent des modifications identiques à celles exposées aux précédents paragraphes, nous ne réitérerons pas l'analyse détaillée.

b Analyse au M.E.B. et en microanalyse X

Comme dans le cas de l'acier de type 1, ces deux méthodes ne sont pas discriminantes.

L'observation à faible grossissement (* 40) révèle la présence de défauts et de petites taches noires. Avec un grossissement plus important (* 200 et 600), les grains constituant la surface apparaissent plus sombres que sur l'échantillon initial. L'étude de l'homogénéité sur des aires réduites au microns carrés (μ^2) (au grossissement 1000) montre peu de variabilité dans le rapport C/Fe (C/Fe) = 6,54 % CV = 3,5 %. A fort grossissement (x 18000) et sur des aires réduites, des taches noires sont mises en évidence. Celles-ci sont plus riches en carbone qu'un grain apparemment propre analysé au même grossissement. Le rapport C/Fe passe de 9,52 % à 13,0 %.

L'échantillon homogène à l'échelle macroscopique présente des taches noires riches en carbone. Cette analyse confirme le caractère moléculaire de l'adsorption et sa localisation en sites particuliers. Les quantités de matière détectées en E.S.C.A. sont encore trop faibles pour entreprendre une analyse plus poussée avec la microscopie électronique à balayage et la microanalyse X, ces méthodes n'étant pas assez sensibles.

c Conclusion

Les deux espèces présentes en solution conduisent à deux modes de fixation distincts. L'un est devenu maintenant classique pour nous et se réfère aux parties polaires de la molécule ($-\text{NH}_3^+$ et $-\text{COO}^-$). L'autre est spécifique à cet acier (par conséquent à son état de surface) et découle de la formation d'oxyde de soufre lors de l'oxydation du groupement thiol de la cystéine.

III.4.3.3 Conclusion générale sur la cystéine

Même si les éléments relatifs à l'acier comme l'oxygène et le chrome restent stables pendant l'adsorption (pas de variation dans leurs énergies de liaisons), il n'en demeure pas moins que la surface se modifie. En effet, le pH du milieu et les espèces chargées en solution conditionnent la physico-chimie de la double couche et par conséquent orientent l'adsorption. Dans ces conditions, la composition et l'organisation atomique au sein de la couche de

passivation se posent comme des paramètres qui gouvernent la mécanique de l'adsorption. Dans la pratique, nous travaillons avec deux types d'acier dont la couche de passivation présente quelques différences :

- la nitruration rend l'acier de premier type plus sensible à la corrosion
- l'acier de second type est recouvert par une couche de passivation plus épaisse.

C'est pourquoi, les deux types d'acier réagissent différemment vis-à-vis d'un milieu agressif comme peut l'être la solution de cystéine de pH = 1,9.

La composante métallique du chrome, plus distincte, pour l'acier de premier type marque la réaction de l'alliage contre les attaques superficielles de la molécule. En fait, le film passif s'ouvre en certains points et favorise l'aptitude du pôle aminé à trouver des sites déficitaires en électrons. Pour l'acier de type 2, la couche passivante étant plus épaisse, la surface résiste mieux au milieu expliquant ainsi la réactivité différente des espèces superficielles.

Dans le cadre des manipulations réalisées, il est difficile d'apprécier l'effet du temps et de la température sur l'adsorption. La diversité et la complexité des phénomènes intervenant simultanément constituent un obstacle à l'établissement de relation quantitative en fonction du temps et de la température. Néanmoins la température peut être considérée comme un accélérateur pour chacun des processus précités.

Même si le soufre exhibe une réactivité particulière en fonction de l'état de surface de l'acier, nous retrouvons pour la cystéine (au même titre que la glycine) le mécanisme d'adsorption conféré par ce que nous pouvons appelé la fonction "acide aminé": $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

III.4.4 La lysine

III.4.4.1 Interaction Lysine/acier de type 1

a Etude E.S.C.A.

Dans cette série de tests, nous disposons des spectres de 4 éléments C,

N, O, Cr.

La lysine est une molécule plus longue que la cystéine et la glycine (7 atomes de carbone contre 2 et 3) par conséquent, les fractions carbonées détectées sont légèrement plus élevées surtout après deux heures d'adsorption (% C = 37,3) (tableaux 20 et 21).

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr
0		1,028	3,700	0,280	3,116
1	20	1,223	3,856	0,310	5,112
1	40	1,420	3,830	0,335	4,936
1	70	1,393	3,878	0,417	5,475
2	20	1,645	3,931	0,310	4,728
2	40	1,648	3,805	0,283	4,543
2	70	1,638	3,816	0,350	4,976

Tableau 20 : Intégrales des spectres.

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr
0		28,8	53,7	5,2	12,3
1	20	29,7	47,9	5,0	17,4
1	40	33,1	45,6	5,2	16,2
1	70	31,5	44,8	6,2	17,4
2	20	36,4	44,4	4,5	14,7
2	40	37,3	44,0	4,2	14,4
2	70	36,2	43,2	5,1	15,5

Tableau 21 : Pourcentages atomiques.

Les courbes de profil du carbone (figure 40) montrent clairement l'effet favorable du temps sur l'adsorption sans pour autant distinguer une réelle différence de comportement due à la température.

Malgré l'arrivée de matière à l'interface, qui théoriquement devrait induire une perte de détection simultanée du chrome et de l'oxygène, on assiste à un renforcement de la présence de ces deux éléments (figures 40 et 41). Les courbes de profil du chrome indépendantes de la température, transcrivent

l'aptitude du matériau à réagir vis-à-vis de la lysine. En fait le chrome migre vers la surface de façon à passiver l'acier en s'oxydant spontanément, expliquant ainsi l'augmentation de la détection de l'oxygène.

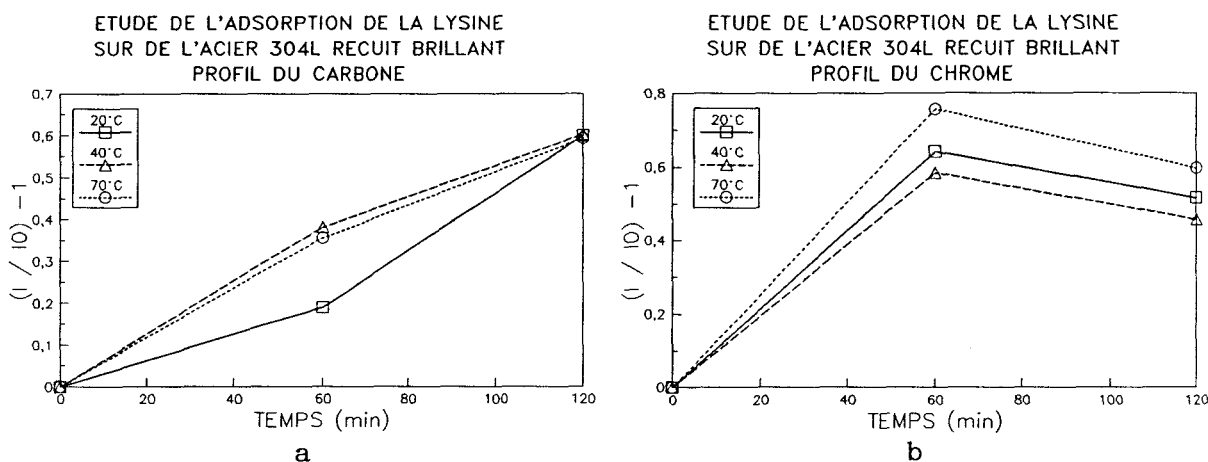


Figure 40 : Profils de détection du carbone (a) et du chrome (b).

Ainsi, la réponse spectrale de l'oxygène concerne plutôt la couche de passivation que l'oxygène apporté par la molécule d'autant plus que l'épaisseur adsorbée n'est pas très importante. En effet, les nitrures sont toujours détectés et quantitativement les variations restent très modérées. Globalement, sur les spectres d'azote, nous voyons que la déformation relative à l'azote organique est fonction croissante de la température et du temps alors que la détection des nitrures diminue légèrement entre une et deux heures.

En ce qui concerne le carbone, la région spectrale des carbonyles s'amplifie pendant la première heure (surtout à 70°C) puis pendant la deuxième heure on atteint un état identique quelle que soit la température:

- les profils des spectres sont superposables.
- la composition est identique.

Une légère composante métallique apparaît sur les spectres du chrome, celle-ci est beaucoup moins marquée que dans le cas de la glycine et de la cystéine.

La chute de détection de l'azote (figure 41) correspond à la croissance en hauteur (à 40 et 70°C), pendant la deuxième heure, de la lysine adsorbée et résulte d'une organisation mieux définie des molécules à l'interface. De plus, pour l'essai (20°C - 1 heure), l'analyse avec inclinaison de l'échantillon

d'un angle de 40° rend compte d'une diminution des rapports N/C et O/C qui implique une localisation de l'azote à l'intérieur de l'interface. Tout ceci nous amène à envisager le mécanisme suivant lequel la lysine s'oriente de façon à présenter son pôle aminé chargé positivement vers la surface de l'acier. L'azote est détecté sous la forme d'un pic unique d'énergie de liaison $E_L = 400 \text{ eV} \pm 0,2$. En conséquence nous pouvons affirmer que les deux amines font partie d'un environnement chimique comparable et, que toutes deux participent à des réactions de type acide-base avec la surface. En ce qui concerne la fixation de la molécule elle est régie par le mécanisme propre à ce que nous appelons: la fonction acide-aminé.

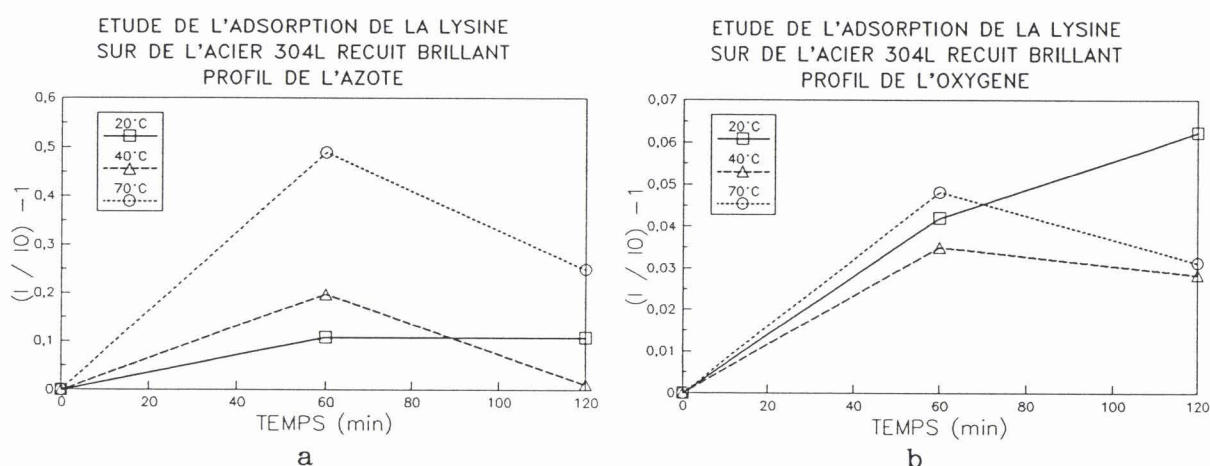


Figure 41 : Profils de détection de l'azote (a) et de l'oxygène (b).

En fait, ce sont les interactions électrostatiques qui gouvernent l'adsorption de la lysine. Les centres de charges positives migrent vers les régions de la surface chargées négativement. La couche d'oxyde est donc modifiée localement et l'acier tend à réagir contre l'adsorption par la migration du chrome. A priori, la molécule ne se fragmente pas du fait de la bonne détection du carbone carboxylique (FUERSTENAU et al., 1984). L'adsorption résulte de phénomènes locaux, elle met en jeu une molécule aux caractéristiques définies et invariables ainsi qu'un acier aux propriétés non uniformes à cause de son hétérogénéité de surface. Par conséquent, la molécule s'adsorbe sur des sites particuliers capables de rentrer en interaction avec la molécule suivant le mécanisme décrit précédemment.

b Etude au M.E.B. et en Microanalyse X

L'observation au microscope électronique laisse apparaître au grossissement (* 200) des petites taches noires riches en carbone : l'adsorption se traduit par l'augmentation du rapport C/Fe qui passe de 4,6 % (CV = 5,6 %) (grossissement 1000) à 4,94 (CV = 7,3 %) (grossissement 2000) ou 5,39 (CV = 17,2 %) (grossissement 200). La plus grande variabilité des surfaces après adsorption vient de la différence des grossissements à partir desquels ont été faites les analyses. Cela traduit aussi une moins bonne homogénéité de l'échantillon à plus fort grossissement où la contribution des taches observées augmente par rapport aux autres études, la seule différence observable est le nombre de tâches qui est beaucoup plus important. Hormis le fait que ce type d'analyse nous confirme le caractère localisé de l'adsorption, elles ne nous apportent aucune information supplémentaire.

c Conclusion

La lysine renferme deux pôles azotés différents par leur environnement mais de forme identique en solution: $-\text{NH}_3^+$.

Dans cette étude nous avons pu faire la preuve de la réaction entre l'espèce $-\text{NH}_3^+$ et les hydroxydes de surface. En effet nous ne détectons qu'une seule forme d'azote à l'interface (plutôt de type NH_2) qui correspond à une forme déprotonée des deux pôles de la lysine en solution. Cette déprotonation correspond à la première étape de l'interaction, celle-ci se poursuit par l'attaque du groupement carboxylate des sites protonés de type Fe^+OH_2 . En d'autres termes nous retrouvons la réactivité de la fonction "acide aminé" et distinguons les deux types d'azote en terme réactionnel :

- l'azote terminal (de la chaîne aliphatique) ne rentre pas en liaison avec le solide même s'il participe à la première étape du mécanisme.
- l'azote de la fonction "acide aminé" participe aux réactions d'échanges protoniques et la fonction carboxylate vient se fixer ensuite sur les sites créés lors de cette première étape.

III.4.4.2 Interaction lysine/acier de type 2

a Etude E.S.C.A.

Les quantités de matière détectées sont beaucoup plus importantes que dans les autres cas. Le pourcentage de carbone atteint, dans le cas le plus favorable, 57,7 % et dépasse toujours la barre des 50 % (hormis l'essai, 1 heure 20°C) (tableaux 22 et 23).

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr
0		1,713	5,094	0,058	2,791
1	20	1,735	4,544	0,079	2,664
1	40	2,416	3,654	0,083	2,411
1	70	2,536	3,796	0,071	2,653
2	20	2,630	3,580	0,081	2,165
2	40	2,556	3,680	0,091	2,146
2	70	2,850	3,366	0,118	2,093

Tableau 22 : Intégrales des spectres.

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr
0		36,1	54,9	0,8	8,3
1	20	38,7	51,8	1,2	8,3
1	40	51,7	39,9	1,2	7,2
1	70	51,8	39,6	1,0	7,6
2	20	54,6	38,0	1,1	6,3
2	40	53,3	39,2	1,3	6,3
2	70	57,7	34,8	1,6	5,9

Tableau 23 : Pourcentages atomiques.

Les courbes de profil (figures 42 et 43) ne montrent pas d'incohérence. L'arrivée de la lysine à l'interface engendre la croissance des signaux relatifs à l'azote et au carbone contrairement aux signaux du chrome et de l'oxygène qui enregistrent une décroissance à cause de la perte de détection des atomes de la masse.

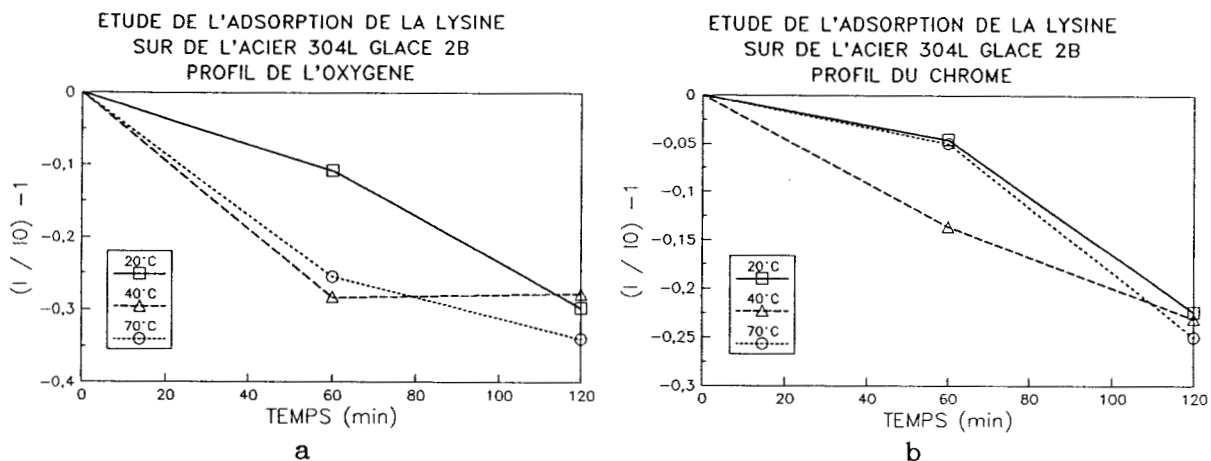


Figure 42 : Profils de détection de l'oxygène (a) et du chrome (b).

Si le temps joue un rôle favorable sur l'adsorption, la température donne lieu à une interprétation plus complexe. En effet, celle-ci gouverne la diffusion de la lysine au sein de vallées intergranulaires en provoquant un piégeage artificiel. C'est pourquoi, à 20°C, l'apport de matière à l'interface durant la première heure est moindre que dans les autres cas.

Il existe tout de même une discordance entre l'évolution de la détection du carbone et de l'azote qui peut s'expliquer par une solubilisation de la contamination initiale à 70°C. Ce caractère détergent étant moins favorable d'un point de vue cinétique que l'adsorption, on enregistre une augmentation de la fraction carbonée (figure 42).

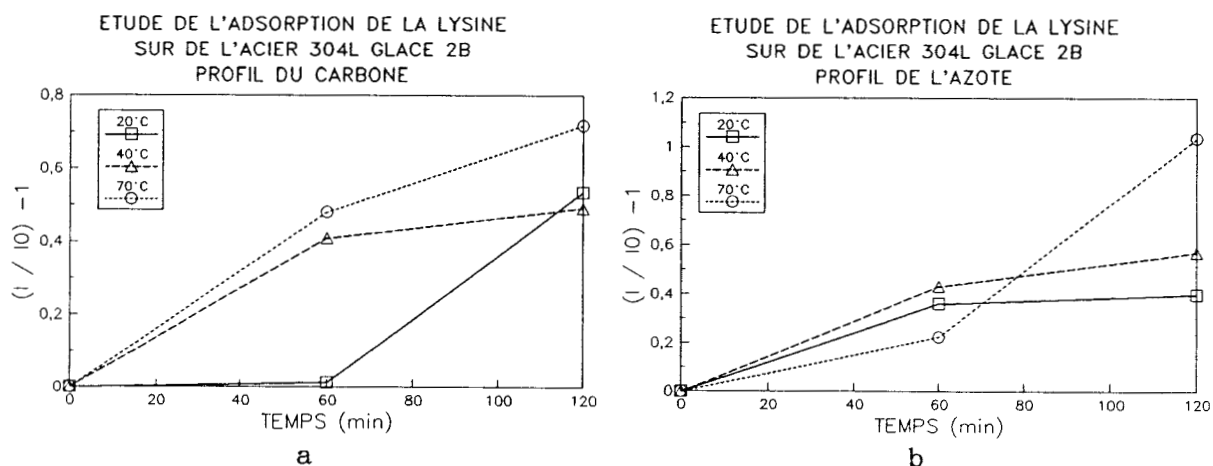


Figure 43 : Profils de détection du carbone (a) et de l'azote (b).

D'un point de vue qualitatif, peu de déformations sont observables sur les spectres.

Le carbone carboxylique est peu détecté bien que quantitativement l'interface s'enrichisse en carbone. Le spectre de l'azote se présente toujours sous la forme d'un pic unique d'énergie de liaison variant de 399,8 à 400,4 eV \pm 0,2. Les deux types d'azote ne sont pas différenciés, leur configuration à l'interface doit être identique. Durant la première heure d'adsorption, nous constatons des fluctuations dans les énergies de liaison comme le résume le tableau 24:

	Initial	20°C	40°C	70°C
Oxygène	531,2	530,8	531,4	531,6
Azote	399,8	400,0	400,2	400,4
Chrome	577,0	576,8	577,1	577,4

Tableau 24 : Variations des énergies de liaison de l'oxygène, l'azote et du chrome

Celles-ci englobent trois éléments O, N, Cr qui peuvent être à la base d'un mécanisme reposant sur la fixation de l'azote sur les oxydes superficiels. Toutefois, ce mécanisme ne peut ni être confirmé ni infirmé. En fait, le relief de l'acier intervient dans l'accrochage de la molécule par sa rugosité, les points anguleux étant des sites privilégiés d'adsorption. C'est pourquoi, la molécule trouve une grande affinité avec les vallées intergranulaires. De ce fait, analytiquement, il y a perte d'information et l'interprétation devient plus ardue. L'ensemble des phénomènes précités peut se justifier à l'aide du schéma suivant :

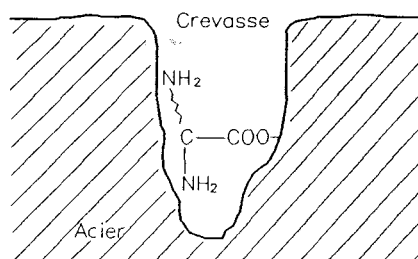


Figure 44 : Vue en coupe de la surface de l'acier glacé 2B - perte de détection dans les vallées intergranulaires.

Suivant cette organisation à l'interface, le pôle de la molécule en fond de cavité est peu, voire pas, détecté (fonction carboxylique) alors que le pôle supérieur (chaîne aliphatique et azote terminal) est pris en compte lors de l'analyse. Le pôle inférieur se fixe de façon analogue à celle mise en évidence pour la glycine et la cystéine, l'accrochage est basé sur la réactivité des deux groupes polaires $-NH_3^+$ et COO^- .

b Etude au M.E.B. et en microanalyse X

L'observation au microscope électronique confirme l'hypothèse émise précédemment, elle met en évidence la présence de matière au sein des vallées intergranulaires. Celles-ci apparaissent par endroit plus sombre que sur l'échantillon nettoyé alors que les plateaux ne sont le siège d'aucune différence observable. En microanalyse, on enregistre (au grossissement 1000) une augmentation du signal C/Fe qui passe de 5,32 % (CV = 5,1 %) à 8,03 % (CV = 7,8 %). Cette évolution traduit d'une part l'arrivée de matière à l'interface et l'hétérogénéité de cet encrassement.

c Conclusion

Pour ce type d'acier, on remarque l'influence de l'état de surface dont les imperfections constituent des sites privilégiés d'adsorption (notamment les vallées intergranulaires). La température et le temps interviennent quantitativement dans les phénomènes diffusionnels et favorisent donc l'arrivée de matière à l'interface. Au niveau du mécanisme d'adsorption, nous retrouvons l'essentiel de ce qui a été dit lors de la précédente étude (Lysine/acier de type 1), le mécanisme retenu est donc le même.

III.4.4.3 Conclusion générale sur la lysine

Cette molécule, plus grande que les autres, conduit à une quantification plus prononcée de la fraction carbonée qui rend plus difficile l'appréciation des évolutions et des modifications spectrales. Si les courbes de profil illustrent sans ambiguïté le recouvrement d'une fraction de la surface, l'étude

des spectres ne fournit aucune information absolue sur le matériau. Ceci dit aux vues des variations des signaux détectés, on peut formuler une configuration des molécules à l'interface qui corrobore nos résultats.

Cette configuration repose sur l'accrochage de la lysine par ses groupements carboxylates consécutivement à une réaction acide-base entre les amines et les hydroxydes de surface. L'amine terminale (dans la chaîne aliphatique) n'affiche aucune réactivité particulière et ne rentre pas en liaison avec le solide.

III.4.5 L'acide octanoïque.

III.4.5.1 Interaction acide octanoïque/acier de type 1

a Etude E.S.C.A.

Les résultats quantitatifs sur l'acide octanoïque sont assez disparates. Le comportement de l'acide semble dépendre principalement de la température et englobe plusieurs phénomènes (tableaux 25 et 26).

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr
0		1,615	4,564	0,321	4,090
1	20	2,448	3,475	0,257	3,210
1	40	2,805	3,486	0,183	3,501
1	70	1,846	4,290	0,320	5,363
2	20	3,634	3,278	0,136	2,183
2	40	2,782	3,685	0,190	3,591
2	70	2,067	4,630	0,342	5,462

Tableau 25 : Intégrales des spectres.

En fait, les trois températures étudiées génèrent trois comportements distincts :

- à 20°C, adsorption favorisée par le temps avec une augmentation moyenne de 10 % en carbone par heure.
- à 40°C, adsorption pour une heure de contact puis stabilité de l'interface

durant la seconde.

- à 70°C, l'adsorption reste modérée au cours du temps, par contre les signaux détectés sont: soit stables (C, N) ou augmentent (Cr).

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr
0		34,1	49,3	4,5	12,1
1	20	50,5	36,7	3,5	9,3
1	40	53,9	34,3	2,3	9,4
1	70	36,9	43,8	4,2	15,1
2	20	63,7	29,4	1,6	5,4
2	40	52,5	35,9	2,4	9,5
2	70	38,1	43,6	3,5	14,8

Tableau 26 : Pourcentages atomiques.

L'action de l'acide octanoïque à 70°C révèle une composition de surface plus proche de l'état initial.

Tout ceci se retrouve sur les courbes de profil (figures 45 et 46) où globalement à 20 et 40°C, l'adsorption se traduit par l'augmentation ou la stabilité du signal de carbone et par la diminution ou la stabilité des signaux correspondant à l'azote, l'oxygène et le chrome.

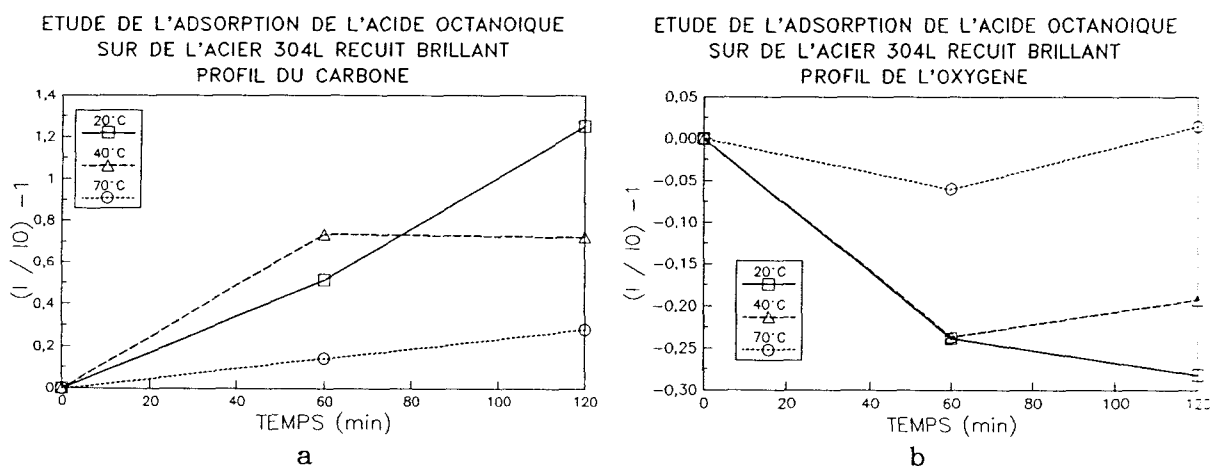


Figure 45 : Profils de détection du carbone (a) et de l'oxygène (b).

A 70°C, même si l'interface s'enrichit légèrement en carbone, on assiste à un renforcement de la fraction chromée dans le film analysé.

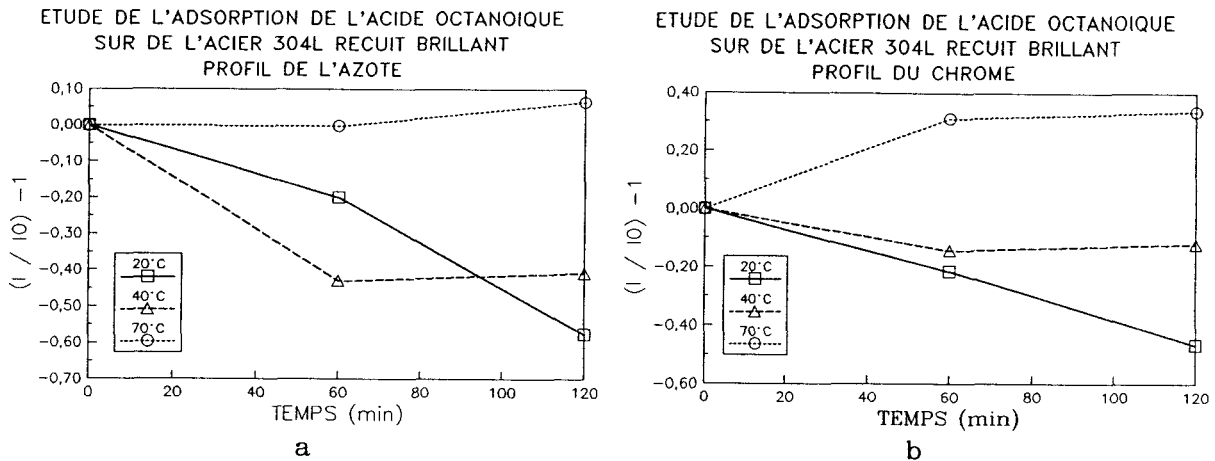


Figure 46 : Profils de détection de l'azote (a) et du chrome (b).

En fait, la partie hydrophobe de la molécule solubilise la contamination résiduelle suivant des propriétés de détergence illustrées sur le schéma suivant (figure 47).

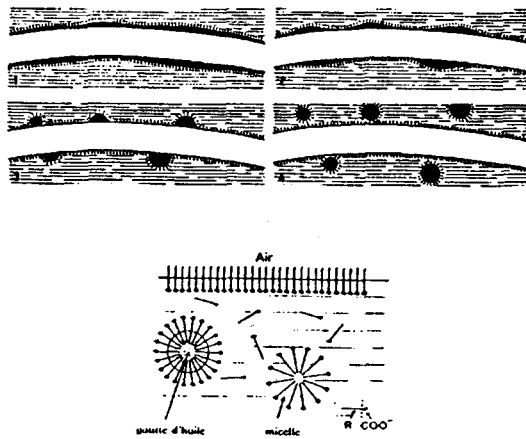


Figure 47 : Modèle de détergence.

L'augmentation du taux de carbone correspond à la fixation de la partie hydrophile à l'interface quant à l'augmentation du taux de chrome, elle se justifie par le départ des globules organiques piégés par l'acide octanoïque (figure 48).

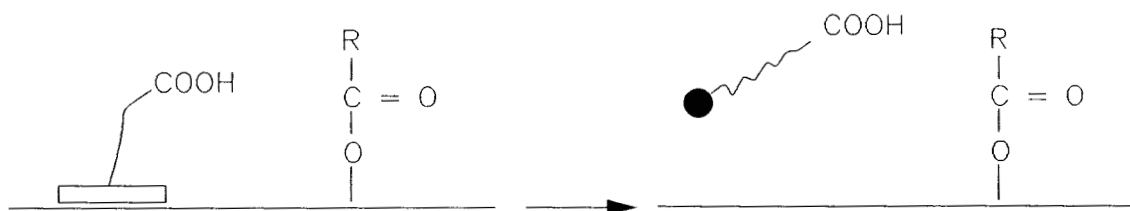


Figure 48 : Solubilisation des contaminations par le pôle hydrophobe.

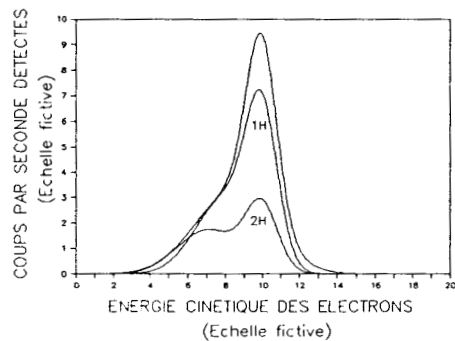
L'étude des spectres E.S.C.A. de l'azote confirme ces hypothèses (figure 49).

- A 20°C, nous enregistrons une perte de détection des nitrures avec un léger épaulement aux fortes énergies de liaisons (vers 400 eV).
- à 40°C, nous constatons un apport de matière à l'interface dans la première heure puis la stabilisation des signaux détectés pour la deuxième heure.
- A 70°C, une faible perte de détection des nitrures s'explique par l'apport d'acide octanoïque à l'interface. Cette diminution évolue peu au cours du temps.

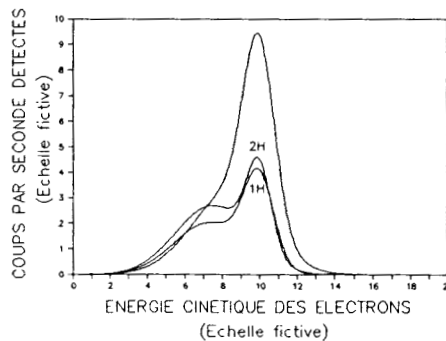
L'épaulement déjà constaté à 20°C (et à 40°C) apparaît de façon plus significative.

Tout ceci se résume par :

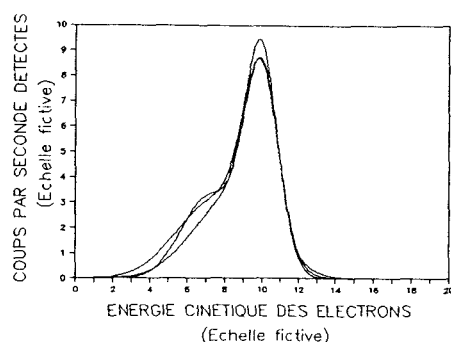
- > 20°C adsorption de l'acide octanoïque
- > 40°C adsorption pendant la première heure puis stabilisation dans la deuxième.
- > 70°C adsorption puis effet nettoyant de la surface.



20°C



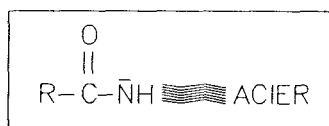
40°C



70°C

Figure 49 : Spectres de l'azote (initial, 1 et 2 heures)

L'épaulement dans la région des carbonyles, et la déformation spectrale dans la région de l'azote organique ($E_1 = 400 \pm 0,2$ eV) résulte de l'accrochage de la molécule sur les groupements aminés superficiels pour former une liaison de type peptidique:



La molécule peut se fixer également par des réactions d'échange entre le groupement carboxylique et les hydroxydes de surface (figure 6) (ULRICH et al., 1988).

La différence de cinétique entre l'adsorption et la détergence explique les évolutions différents constatées pour chacune des températures :

- A 20°C, la molécule possède un faible pouvoir détergent, l'adsorption prédomine.
- A 40°C, les phénomènes se compensent (dualité d'adsorption/détergence)
- A 70°C, le pouvoir de détergence prédomine.

b Etude au M.E.B et en Microanalyse X.

L'examen des images (* 20, * 1000) montre l'existence d'un ensemble de taches noires de tailles variables. La surface ne présente pas de défaut

particulier marquant une attaque éventuelle de l'acide. L'adsorption se quantifie, en microanalyse X, par une augmentation de la fraction carbonée, qui passe de 6,6 % (CV = 10,4 %) à 7,5 % (CV = 4,5 %).

c Conclusion.

La présence de taches réparties aléatoirement sur la surface montre l'aspect localisé de l'interaction, tout au moins au niveau de l'adsorption. L'action de l'acide est mixte, elle engendre un enrichissement en carbone par une adsorption de faible épaisseur et provoque un appauvrissement virtuel en matière en certains endroits où il y a décontamination.

III.4.5.2 Interaction acide octanoïque/acier de type 2

a Etude E.S.C.A.

Les compositions atomiques pour une heure d'adsorption sont quasiment identiques quelle que soit la température. On distingue tout de même une particularité à 70°C où l'on détecte une même quantité de chrome malgré l'augmentation du taux de carbone (figure 50) (tableaux 27 et 28).

TEMPS(h)	TEMP. (°C)	C	O	N	Cr
0		1,668	5,444	0,036	3,140
1	20	2,482	4,107	0,055	2,540
1	40	2,406	4,195	0,059	2,663
1	70	2,468	4,416	0,063	3,071
2	20	2,889	4,076	0,046	1,906
2	40	3,122	3,318	0,055	1,708
2	70	2,866	4,138	0,063	4,616

Tableau 27 : Intégrales des spectres.

TEMPS (h)	TEMP. (°C)	% C	% O	% N	% Cr
0		33,9	56,6	0,5	9,0
1	20	49,9	42,2	0,7	7,2
1	40	48,5	43,2	0,8	7,5
1	70	47,7	43,4	0,8	8,3
2	20	54,8	39,5	0,6	5,1
2	40	61,3	33,3	0,7	4,7
2	70	50,5	37,3	0,7	11,5

Tableau 28 : Pourcentages atomiques.

De façon générale, et ceci reste vrai à toute température, l'interface s'enrichit en carbone attestant de l'apport d'acide octanoïque.

Nous distinguons deux comportements après deux heures de manipulation :
 - le premier nous montre une adsorption d'acide à l'interface, décelable analytiquement par une augmentation du signal du carbone et une perte de détection du chrome. Ce comportement est visible pour des températures de 20 et 40°C.

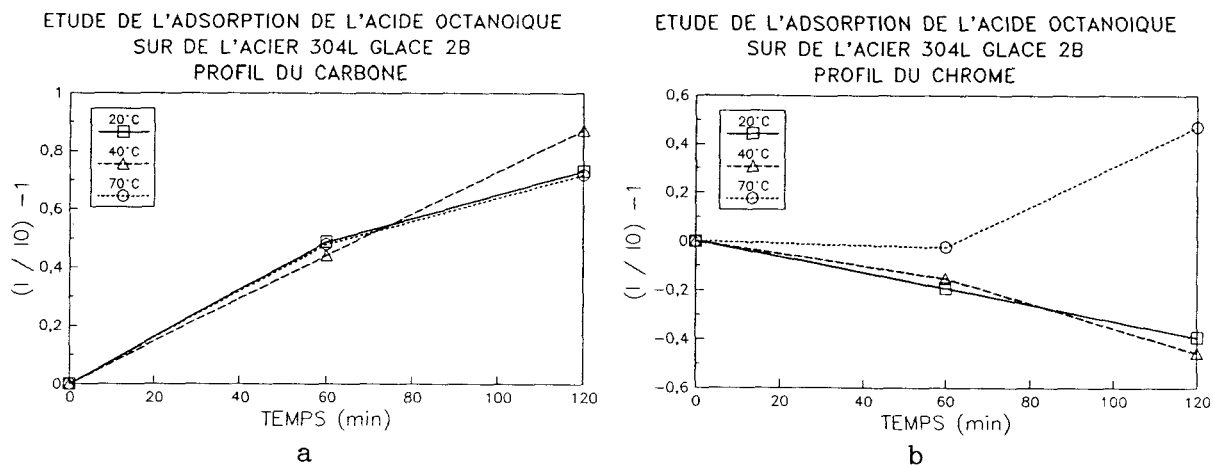


Figure 50 : Profils de détection du carbone (a) et du chrome (b).

- le second comportement a déjà été rencontré lors de l'étude précédente (acier de type 1). Il met en évidence le caractère détergent de la partie

hydrophobe de l'acide (augmentation des proportions de chrome) et l'adsorption de ce composé à l'interface (augmentation du taux de carbone détecté - pourcentage et C/S).

Nous pouvons invoquer les mêmes phénomènes que précédemment à savoir l'existence d'une dualité adsorption/décapage. Le taux de carbone élevé constaté à 70°C provient du piégeage par diffusion de l'acide dans les vallées intergranulaires de la surface, phénomène favorisé par la température.

Qualitativement au niveau spectral, la seule déformation rencontrée correspond à l'arrivée du carbone de type carboxylique à l'interface.

Le mécanisme qui régit l'adsorption de l'acide est identique pour les deux aciers. En fait, le relief de l'acier de type 2 induit un retard dans le processus de détergence à cause du temps de diffusion au sein des vallées intergranulaires.

La température favorise la détection de l'azote (figure 51) ainsi l'acide octanoïque n'est pas actif dans l'élimination de tel groupement, au contraire, il les rend plus superficiels (par enlèvement de surépaisseur). Comme pour l'acier de type 1, ces sites azotés superficiels que l'on sait très réactifs dans les processus d'adhésion peuvent rentrer en liaison avec l'acide pour former une liaison type peptidique.

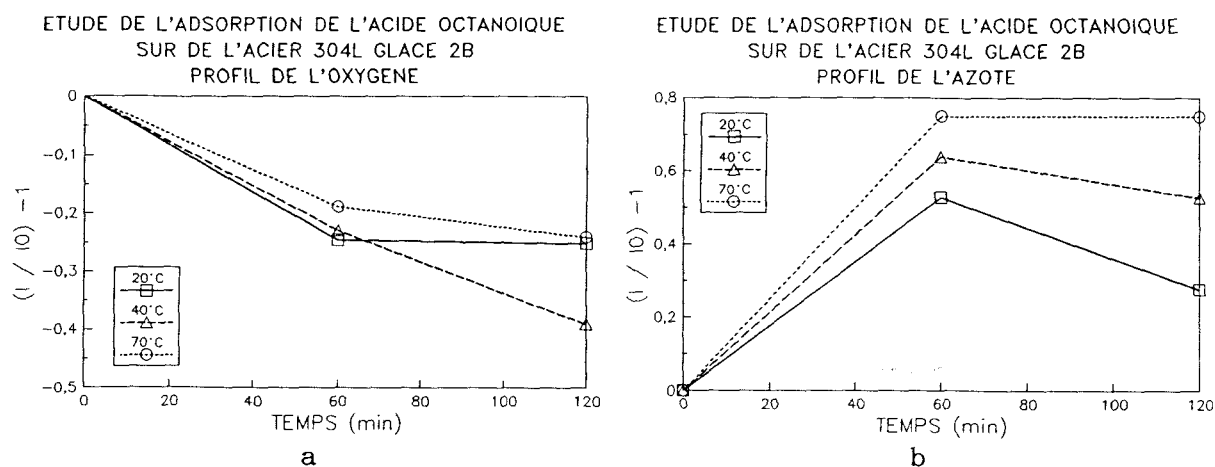


Figure 51 : Profils de détection de l'oxygène (a) et de l'azote (b).

b Etude au M.E.B. et en microanalyse X

Les images obtenues pour divers grossissements ne révèlent pas de taches sur les plateaux mais montrent un encombrement des vallées intergranulaires. Les résultats des quantifications en microanalyse X distinguent l'état initial de l'état adsorbé, le pourcentage de carbone passe de 7,6 % (CV 3,8 %) à 8,9 % (CV 7,8 %). Le coefficient de variation relatif à l'état adsorbé montre l'hétérogénéité de l'adsorption.

c Conclusion

Si les déformations spectrales et les variations des énergies de liaison sont peu significatives, l'évolution de la détection des signaux permet de cerner la réactivité de l'acide avec la surface de cet acier. L'interaction résulte de réaction d'échange entre le groupement carboxylique et les hydroxydes superficiels, de la saturation des sites azotés et de la décontamination de la surface.

III.4.5.3 Conclusion générale sur l'acide octanoïque

Pour les deux types d'acier, la température se pose comme le paramètre fondamental gouvernant l'interaction. D'une part, elle régit l'ampleur du caractère détergent et d'autre part, elle intervient dans les phénomènes diffusionnels. La réaction de la fonction carboxylique semble être identique pour les deux aciers et repose sur des phénomènes d'échange d'hydroxydes et de saturation des sites potentiellement actifs dans l'adhésion (site renfermant l'azote organique). La microanalyse X et le M.E.B. nous confirment le caractère localisé de l'interaction. En fait, il faut savoir que l'acier peut être schématiquement représenté comme un regroupement d'inclusions aux propriétés parfois très différentes. Il va de soi que les molécules en solution migreront vers les sites présentant une affinité particulière avec leur fonctionnalité.

III.5 Adsorption de la β -lactoglobuline sur l'acier 304 L

III.5.1 Introduction

Pour cette étude, nous avons eu recours à deux variantes de l'E.S.C.A. : le décapage ionique et l'inclinaison angulaire. Ces deux séries d'analyses ont été traitées indépendamment.

III.5.2 Interaction β -lactoglobuline/acier de type 1

III.5.2.1 Etude E.S.C.A.

Comme nous l'avons précisé lors du chapitre 2, nous avons choisi deux températures d'étude pour apprécier l'effet de dénaturation thermique sur l'adsorption. Selon les quantifications établies (tableau 29), il s'avère qu'à 70°C, la protéine se dépose en quantité plus importante. Le film analysé est moins riche en éléments métalliques, tout en obtenant une meilleure reproductibilité. En effet à 20°C, on aboutit à deux états légèrement différents : %C = 40,4 % et 36,2 % qui traduisent en fait un arrangement moins défini de la protéine à l'interface.

Température	% C	% O	% N	% Cr	% Ni	% Fe	% S
20	40,4	32,6	9,7	8,2	1,1	7,2	0,7
70	46,2	30,2	12,2	6,3	0,0	4,3	0,9
20	36,2	35,5	8,5	9,6	0,5	8,3	1,0
70	45,2	32,4	10,3	6,4	0,0	5,0	0,6

Tableau 29 : Pourcentages atomiques.

Qualitativement, les spectres de chacun des éléments organiques sont caractéristiques de la protéine:

- pour le carbone on distingue clairement le carbone aliphatique du carbone de la liaison peptidique. (figure 52 a)
- pour l'azote, les nitrures sont faiblement détectés et la fraction

majoritaire du spectre correspond à un azote organique (de type peptidique $E_l = 399,7 \pm 0,2$ eV et $400 \pm 0,2$ eV). (figure 52 b)

- pour le soufre, un seul pic détecté vers $E_l = 162/163$ eV.

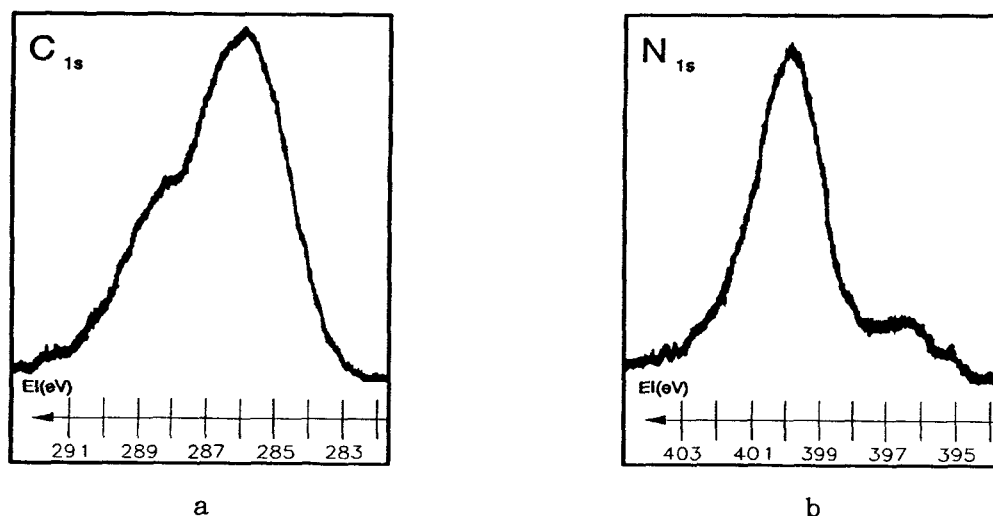


Figure 52 : Spectres du carbone a) et de l'azote b) de la β -lactoglobuline adsorbée (2 heures 70°C).

Toutes ces énergies de liaison sont cohérentes avec celles répertoriées dans la bibliographie :

E_l (N_{1s})	E_l (S_{2p})	
400,4 eV	163,2 / 163,6	Peeling et al. (1976)
$400,5 \pm 0,2$ eV	$163,4 \pm 0,2$ eV	CLARK et al. (1976)
399,8 eV	163,4 eV	BOMBEN et DEV (1988)

En ce qui concerne l'étude angulaire, nous avons procédé à deux analyses, l'une sous incidence normale et l'autre en inclinant l'échantillon d'un angle $\theta = 60$. Les profils de détection (annexe 3) de chacun des éléments analysés (hormis l'oxygène) établis pour l'étude angulaire, sont identiques, avec toutefois un décalage en intensité qui correspond à une adsorption plus importante à 70°C (tableau 30).

	% C	% O	% N	% Cr	% Ni	% Fe	% S
20°C	36,2	35,5	8,5	9,6	0,5	8,3	1,0
20°C ($\theta = 60$)	46,0	33,9	9,1	6,5	0,0	4,1	0,5
70°C	45,2	32,4	10,3	6,4	0,0	5,0	0,6
70°C ($\theta = 60$)	54,5	28,0	11,0	4,0	0,0	1,9	0,6

Tableau 30 : Pourcentages atomiques (étude angulaire).

Pour l'oxygène, nous enregistrons une perte de détection à 70°C alors que le signal demeure stable pour $T = 20^\circ\text{C}$. Nous en déduisons que la protéine est dans une configuration plus étalée à 70°C expliquant ainsi la détection moindre des éléments métalliques et de l'oxygène de passivation.

$\theta = 60$	20 °C	70 °C
% Cr/C	14,0	7,3
% Fe/C	8,8	3,5

Connaissant la structure de la β -lactoglobuline, nous pouvons en déterminer la composition théorique par rapport au carbone, l'oxygène et l'azote:

% C	% O	% N
64,3	19,4	16,2

Nous pouvons établir les mêmes quantifications pour les essais entrepris lors de l'étude angulaire.

	% C	% O	% N
20°C ($\theta = 0$)	45	44,3	10,7
20°C ($\theta = 60$)	51,7	38,1	10,2
70°C ($\theta = 0$)	51,4	36,9	11,7
70°C ($\theta = 60$)	58,2	30	11,8

La comparaison montre que l'essai à 70°C est plus proche de la composition théorique de la protéine, l'écart se justifiant en partie par un excès d'oxygène du fait de la rétention d'eau de la structure protéique. D'ailleurs, cet écart

est beaucoup plus important pour l'essai à 20°C pour lequel la protéine n'a pas été dénaturée thermiquement lui laissant ainsi une structure plus proche de l'état globulaire. D'autre part, le signal d'oxygène étant globalisé, il prend aussi en compte l'oxygène de passivation et engendre un biais dans les quantifications.

La configuration de la protéine à l'interface peut se schématiser comme suit :

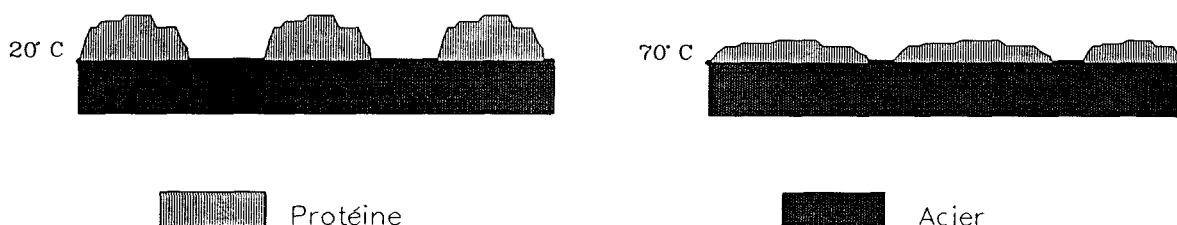


Figure 53 : Géométrie d'adsorption de la protéine en fonction de la température.

Dans la configuration à 70°C, la protéine du fait de sa structure plus déployée recouvre une fraction de surface plus importante. Par conséquent, l'inclinaison angulaire qui divise par deux l'épaisseur analysée ($\theta=60$) renforce la prépondérance du carbone et amoindri l'influence de l'oxygène se situant sous la protéine:

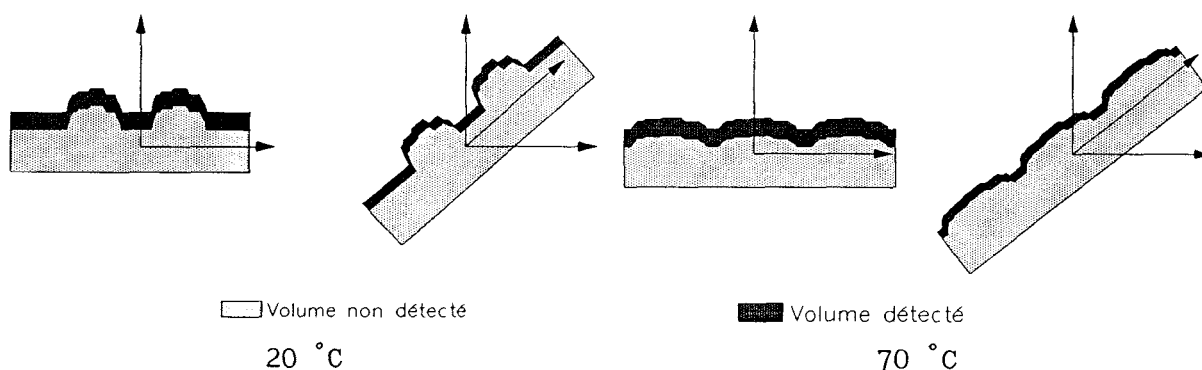


Figure 54 : Influence de l'inclinaison sur la détection.

A 20°C, comme la protéine n'est pas dénaturée thermiquement, elle arrive à l'interface à l'état de dimère et se dépose sous forme d'îlots.

De ce fait, lorsque l'on incline l'échantillon, l'oxygène de passivation non masqué par l'amas protéique (espace inter-îlots) est toujours détecté et comme l'apport de matière à l'interface lors de l'adsorption est moindre à 20°C, la fraction non recouverte est plus importante impliquant ainsi une meilleure détection des éléments métalliques et de l'oxygène de passivation.

De plus l'inclinaison angulaire montre que le carbone de type carbonyle est localisé à l'intérieur de l'interface, donc près de la surface de l'acier

D'autre part, le soufre toujours détecté sous la forme d'un pic unique (figure 55) voit son énergie de liaison fluctuer suivant l'angle d'analyse à 20°C alors que celle-ci est stable à 70° :

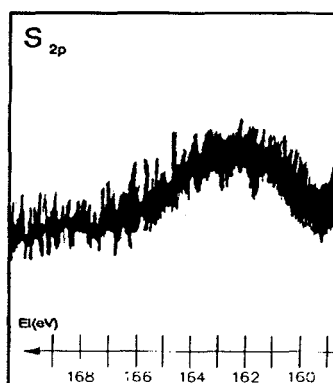


Figure 55 : Spectre du soufre de la β -lactoglobuline adsorbée (2 heures 70°C).

EI (S_{2p})	$\theta = 0$	$\theta = 60$
20°C	162,2 eV	162,8 eV
70°C	162,5 eV	162,5 eV

Le soufre connaît donc un environnement moins défini à 20°C, ce qui est tout à fait en accord avec la structure non dénaturée. Parallèlement à cette étude, nous avons entrepris des décapages ioniques sur des durées de une et trois minutes. Les résultats sont présentés dans le tableau 31 :

	% C	% O	% N	% Cr	% Ni	% Fe	% S
20°C	40,4	32,6	9,7	8,2	1,1	7,2	0,7
20°C (décapé 1 min.)	9,8	30,8	4,1	21,9	0,4	31,9	1,1
20°C (décapé 3 min.)	10,2	16,3	2,1	15,4	7,4	48,5	0,1
70°C	46,2	30,2	12,2	6,3	0,0	4,3	0,9
70°C (décapé 1 min.)	8,8	30,2	4,1	23,7	4,7	27,4	1,0
70°C (décapé 3 min.)	8,7	16,8	2,7	16,0	7,5	48,4	0,0

Tableau 31 : Pourcentages atomiques (décapage ionique).

Les spectres ont des allures identiques à celles obtenues lors de l'analyse angulaire et qualitativement ils ne permettent pas de distinguer les deux températures (20 et 70°C).

En une minute de décapage, la quasi totalité de l'azote protéique est éliminée ainsi que la composante carboxylique du carbone. On peut donc considérer que la protéine a disparu de l'interface par l'érosion découlant du décapage. De plus, sur les spectres des éléments métalliques, on note l'attaque de l'oxyde superficiel et le renforcement des composantes métalliques. Si l'on étudie, les courbes donnant la détection en fonction du temps de décapage (annexe 3), on constate qu'en une minute, les éléments relatifs à la matière organique disparaissent de façon draconienne et que les éléments de la masse (Cr, Fe) deviennent prépondérants dans l'épaisseur analysée : %Cr = 21,9 % - %Fe = 31,9 %. Ces phénomènes s'amplifient d'ailleurs après un temps d'érosion de trois minutes et se juxtaposent avec la destruction du film passif d'oxydes de chrome comme le montre l'évolution des quantités de chrome, d'oxygène et de nitrure détectées.

La vitesse de décapage étant de 5 Angströms par minute, nous en déduisons que l'épaisseur adsorbée demeure faible. Nous avons cherché à préciser cette épaisseur en étudiant les modélisations proposées par ANDRADE (1985) (figure 56). Cette démarche s'est avérée infructueuse dans la mesure où l'hétérogénéité du matériau n'est pas prise en compte par les modèles étudiés.

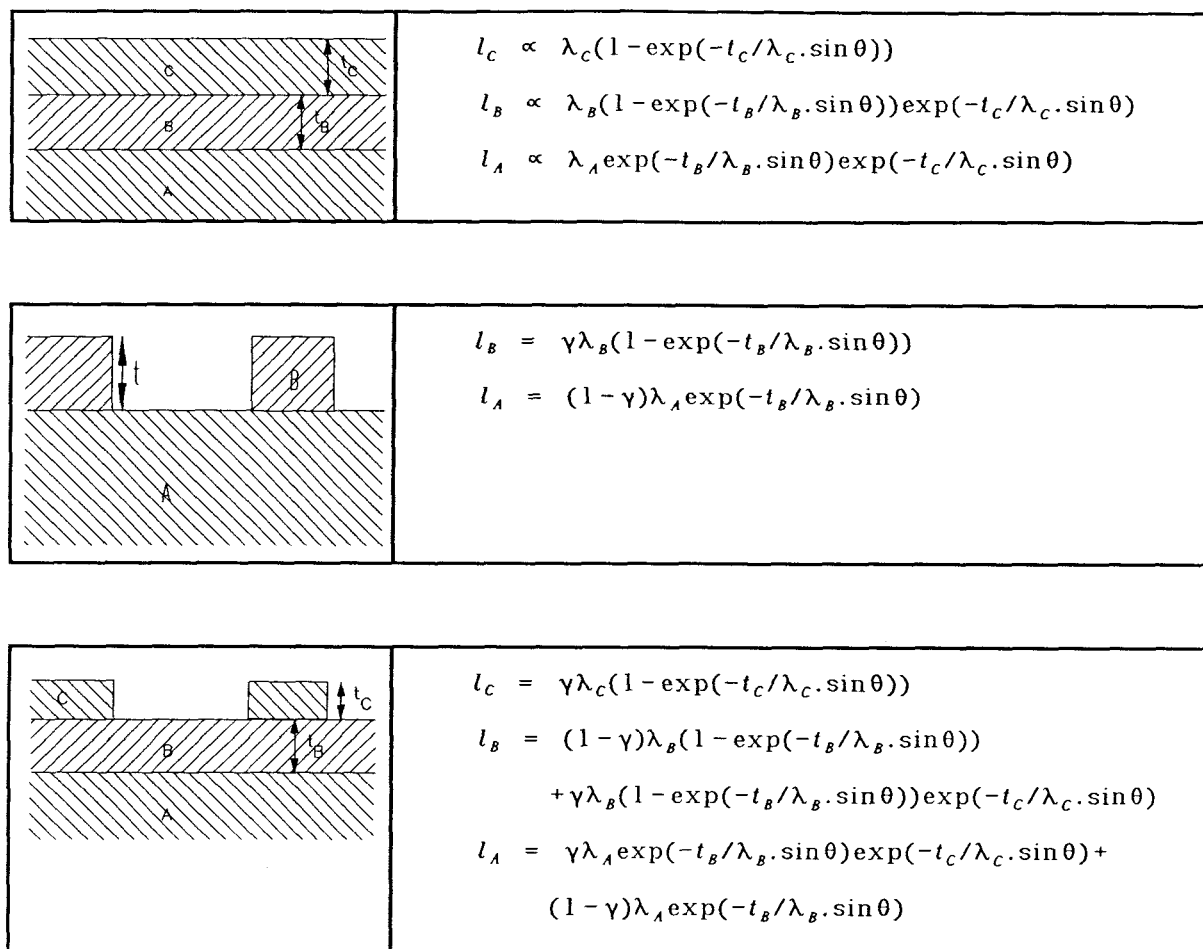


Figure 56 : Modélisations d'interface rapportées par ANDRADE (1985).

Les quantifications (tableau 31) établies pour les essais 2 heures 20°C et 70°C montrent qu'à l'issue d'un décapage de trois minutes, les deux surfaces ont les mêmes compositions superficielles or après une minute de décapage, les fractions O/C et Cr/C diffèrent.

	20 °C	70 °C
% O/C	313,3	341,3
% Cr/C	223,3	268,1

Il semble donc que la couche de passivation soit légèrement plus attaquée pour l'essai (2 heures - 20°C). On peut attribuer ces variations à la géométrie d'adsorption de la protéine (figure 57).

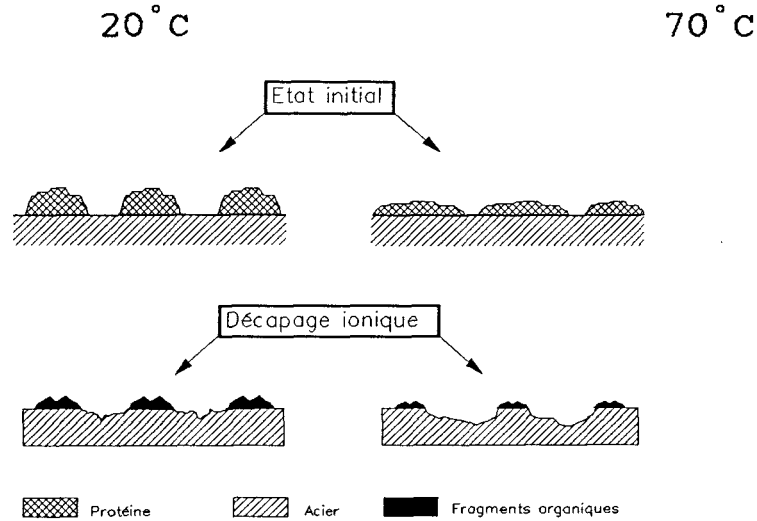


Figure 57 : Profil des surfaces adsorbées après décapage.

A 70°C, l'étalement de la protéine est à l'origine d'un recouvrement plus important de la surface si bien que l'on atteint moins rapidement l'acier et sa couche de passivation. Les deux séries d'analyse (étude angulaire et décapage ionique) aboutissent aux mêmes conclusions. L'adsorption répond d'une géométrie différente suivant la température de travail et quantitativement l'apport de matière à l'interface est plus conséquent à température élevée. Les résultats portant sur le décapage (1 minute) nous montrent que l'épaisseur adsorbée reste modérée. Cependant, l'interprétation portant sur le soufre met en valeur le comportement particulier de cet élément.

Contrairement, à l'azote organique qui disparaît de l'interface après une minute de décapage, le soufre reste présent en des quantités équivalentes à celles de l'état initial. Le soufre réagit donc de façon spécifique avec la surface de l'acier, son énergie de liaison varie très peu :

El (S_{2p})	Initial	décapage 1 min.
20°C	161,7 eV	162,1 eV
70°C	162,4 eV	162,4 eV

L'environnement chimique du soufre peut difficilement être déterminé de façon univoque étant donné les énergies de liaison. Celles-ci peuvent

correspondre à des structures de type sulfure $E_L = 161/162,2$ (WAGNER et al., 1979); $E_L = 162/162,7$ eV (MILLARD, 1974). L'étude angulaire confirme la localisation préférentielle de cet atome à l'interface.

En ce qui concerne les éléments métalliques, ils ne subissent aucune transformation, la phase oxyde reste toujours observable et demeure stable en énergie de liaison. Par conséquent, nous ne retrouvons pas le type d'interaction établi pour les acides aminés.

On ne peut pas considérer l'accrochage de la protéine sur la surface comme un phénomène homogène, il faut en effet prendre en considération l'hétérogénéité du matériau à l'échelle microscopique. Selon MARITCHIE (1978), seulement une petite partie de la protéine doit entrer dans l'interface pour qu'il y ait adsorption (135 Angströms pour la Bovine Sérum Albumine).

Dans ces conditions, il suffit qu'une partie de la protéine se fixe sur un site d'affinité pour qu'il y ait accrochage. De plus, comme la protéine renferme une multitude de portions aux propriétés différentes (hydrophiles, hydrophobes chargées, non chargées...) les interactions sont de plusieurs ordres.

Dans notre cas, l'E.S.C.A. ne peut mettre en évidence la réactivité d'une fonction particulière lorsque celle-ci fait partie d'un signal englobant l'intégralité des fonctions représentées dans le système.

Néanmoins, le processus de décapage ionique et l'étude angulaire ont permis de mettre en évidence une faible épaisseur adsorbée faisant appel à des concepts géométriques fonction de la température et le comportement spécifique de certains éléments tel que le soufre ou l'azote.

LIEDBERG et al. (1986) invoquent, lors de l'étude de l'adsorption de la β -lactoglobuline sur de l'or, des interactions spécifiques entre les groupements terminaux des acides aminés et la surface de l'or, notamment par l'intermédiaire des groupements carboxylates qui formeraient des liaisons de type Ester.

Notre étude angulaire confirmerait cette argumentation par le caractère superficiel du carbone aliphatique au dépend du carbone carboxylique qui s'orienterait plus à l'intérieur de l'interface.

III.5.2.2 Etude au MEB et en microanalyse X

L'observation au microscope électronique ne permet pas de distinguer l'état adsorbé de l'état initial. Seules les quantifications résultant de la microanalyse X mettent en évidence l'adsorption. Les rapports C/Fe passent de 4,97 % (CV 5,19 %) à 5,55 % (CV 7,18 %) pour l'essai à 20°C et, à 5,56 % (CV 3,51 %) pour l'essai à 70°C.

La seule information supplémentaire apportée par ces deux techniques porte sur la variabilité de l'encrassement. Celui-ci est plus homogène à 70°C si l'on en juge les coefficients de variation, ce qui corrobore les résultats issus de l'analyse E.S.C.A..

III.5.2.3 Conclusion

Toute cette étude montre que les interactions décrites lors de l'étude des acides aminés ne se transcrit pas au cas de la protéine. En effet, pour la β -lactoglobuline outre l'orientation préférentielle des carbonyles et le comportement particulier du soufre (notamment au décapage), nous ne disposons d'aucune autre information. L'accrochage de la protéine découle donc de la formation de liaisons hydrogène entre les groupements carbonyles protéiques et les hydroxydes superficiels: (figure 58)

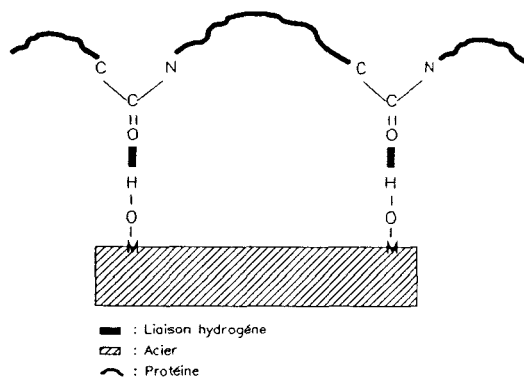


Figure 58 : Liaisons hydrogène intervenant lors de l'adsorption de la β -lactoglobuline sur de l'acier.

Le soufre, quant à lui, doit sa localisation superficielle au fait qu'il est généralement contenu dans des secteurs hydrophobes de la structure protéique. Son énergie de liaison amène une ambiguïté à propos de son état chimique

(organique ou sulfure). Cependant l'aptitude du soufre à résister au décapage ionique nous laisse penser que cet élément est plutôt impliqué dans des liaisons de type sulfure.

III.5.3 Adsorption β -lactoglobuline de type 2

III.5.3.1 Etude E.S.C.A.

L'adsorption de la β -lactoglobuline sur ce type d'acier conduit à des résultats quantitatifs peu reproductibles (tableau 32) lorsque l'on compare les deux séries de manipulation effectuées. Le relief de la surface induit donc un effet propre à la rugosité qui intervient sur deux plans :

- la mécanique de l'adsorption
- la non prise en compte de la rugosité dans les quantifications.

La rugosité se pose comme un facteur non maîtrisé dans l'adsorption dans la mesure où la profondeur de diffusion dans les vallées intergranulaires n'est pas appréciable.

Température	% C	% O	% N	% Cr	% Ni	% Fe	% S
20°C	65,0	23,6	5,5	3,0	0,0	2,7	0,3
70°C	60,4	25,6	8,8	3,0	0,0	1,8	0,4
20°C	52,9	34,7	7,0	3,3	0,0	2,2	0,0
70°C	51,8	33,3	7,6	4,4	0,0	3,0	0,0

Tableau 32 : Pourcentages atomiques.

Dans son état standard, l'acier ne présente pas d'azote de contamination si bien que tout apport d'azote à l'interface correspond à l'arrivée de protéine sur la surface. Les spectres du carbone et de l'azote sont classiques :

- deux composantes pour le carbone : les fractions aliphatique et carboxylique,
- un pic unique pour l'azote peptidique d'énergie de liaison $E_L = 400,2 \pm 0,2$ eV.

Pour le soufre, on note un comportement particulier tout à fait différent de celui rencontré pour l'acier de type 1. Le soufre est toujours faiblement détecté, il s'agit en fait plutôt de traces difficilement quantifiables (figure 59) dont les énergies de liaison correspondent à des formes plus oxydées que celles rencontrées jusqu'à présent.

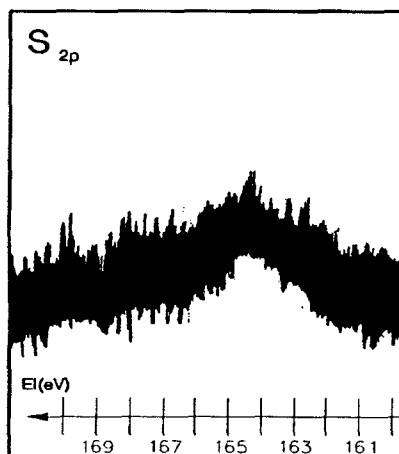


Figure 59 : Spectre du soufre de la β -lactoglobuline adsorbée (2 heures 70°C).

EI (S_{2p})	Initial
20°C	163,7 eV
70°C	164,1 eV

Ces énergies de liaison cadrent avec celles déterminées par LINDBERG et al. (1983) lors de l'étude de l'adsorption d'albumine sur de l'acier. Les auteurs identifient le soufre des ponts disulfures à 164,1 eV.

La protéine n'a donc subi aucune modification dans sa structure primaire, tout au moins aux endroits où se trouvent localisés de tels ponts.

L'inclinaison angulaire montre que le carbone carboxylique est localisé à l'intérieur de l'interface et que la répartition de l'azote dépend de la température d'adsorption :

- à 20°C , on enregistre une perte de détection
- à 70°C , on enregistre une augmentation de détection.

De plus, la détection de l'oxygène évolue, suivant l'angle d'analyse, en fonction de la température :

- perte de détection à 20°C
- stabilité du signal à 70°C

L'adsorption se décrit d'une façon beaucoup plus complexe pour ce type d'acier, nous devons prendre en compte la structure plus déliée de la protéine à 70°C et l'activation thermique dans les phénomènes diffusionnels.

La reproductibilité très relative et l'évolution singulière de plusieurs signaux peuvent s'expliquer par des phénomènes de masquage du fait du relief de la surface (figure 60).

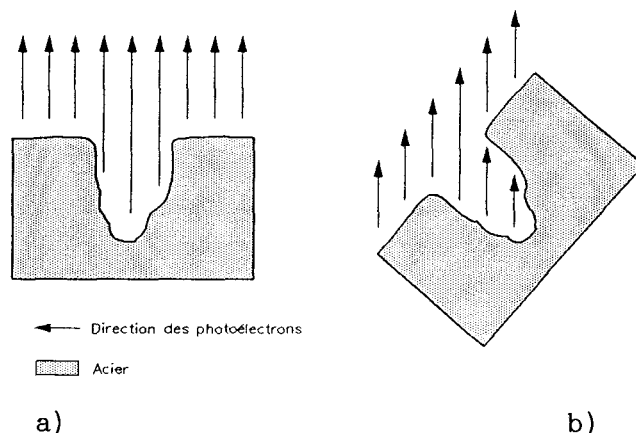


Figure 60 : Profil de la surface de l'acier glace 2B. Perte de détection lors de l'inclinaison angulaire.

Sur le schéma (a), la totalité des photoélectrons émis est détectée alors que suivant le schéma (b), des phénomènes d'ombrage occasionnent une perte de détection et par conséquent viennent relativiser les résultats.

De plus, la configuration de la protéine à l'interface peut accentuer tous ces phénomènes (figure 61).

Si nous considérons une géométrie d'adsorption fonction de la température identique à celle proposée lors de l'étude précédente, on conçoit aisément qu'à 70°C, la forme déployée de la protéine soit moins favorable aux phénomènes d'ombrage par rapport à la forme plus compacte donc plus volumineuse de la

protéine à 20°C. Cependant, ce concept ne se transpose pas automatiquement au cas de la surface "non plate", il n'explique pas totalement la faible détection du soufre.

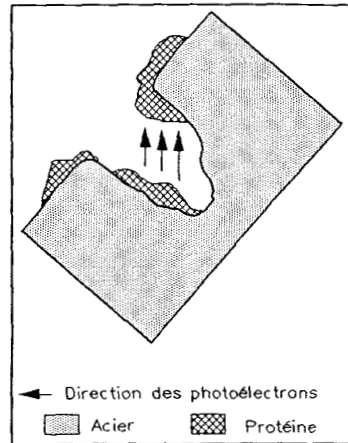


Figure 61 : Ombrage occasionné par la protéine.

Le décapage ionique, même sur la durée la plus courte (1 minute), laisse une quantité importante de matière organique sur la surface :

	20°C	70°C
% C	27,6	27,1
% N	1,6	1,6

Il faut donc en déduire qu'une partie de l'adsorption s'opère au sein des vallées intergranulaires. Après 3 minutes de décapage, on note toujours la présence de fragments organiques, même si leur état s'est modifié consécutivement à des phénomènes résultant du décapage. Par exemple, l'azote est détecté à une énergie de liaison de 397/398 eV qui correspond à une nitruration post décapage.

Ainsi, l'étude sur le décapage ionique se voit très vite limitée par la différence d'efficacité de l'érosion entre les zones planes accessibles et les zones accidentées moins favorables à ce processus, mais nous indique tout de même la présence de protéine dans les creux du relief (TOMPKINS, 1987).

En ce qui concerne les éléments métalliques tels que le chrome et le fer, l'inclinaison angulaire les rend moins visibles parce qu'ils sont plus à l'intérieur du solide et le décapage ionique occasionne l'évolution contraire.

Les profils de décapage sont identiques pour les deux températures (annexe 4) et donnent lieu à des compositions semblables (tableau 33).

	% C	% O	% N	% Cr	% Ni	% Fe	% S
20°C	65,0	23,6	5,5	3,0	0,0	2,7	0,3
20°C (décapé 1 min.)	31,3	32,6	1,5	16,4	1,0	17,2	0,0
20°C (décapé 3 min.)	19,3	22,0	10,1	15,2	4,7	28,7	0,0
70°C	60,4	25,6	8,8	3,0	0,0	1,8	0,4
70°C (décapé 1 min.)	27,1	35,7	1,6	17,0	2,4	16,2	0,0
70°C (décapé 3 min.)	16,1	37,2	0,9	13,2	4,6	28,1	0,0

Tableau 33 : Pourcentages atomiques (décapage ionique).

En fait, des deux études (décapage et analyse angulaire), la seule information d'ordre réactionnelle porte sur la localisation préférentielle des carbones de type carbonyles à l'intérieur de l'interface et la différence de détection de l'azote.

Si pour l'essai (2 heures - 70°C), l'inclinaison angulaire n'affecte pas radicalement la composition superficielle, il n'en est pas de même pour l'essai (2 heures - 20°C) pour lequel la fraction carbonée passe de 53 % à 71 % et la fraction azotée de 7 à 2,8 %. L'azote protéique est donc dans ce cas, et au même titre que les carbonyles, localisé vers la surface de l'acier laissant orienté vers l'extérieur les ramifications plus riches en carbone.

L'inclinaison rendant plus superficielle l'analyse, les plateaux délimitant les vallées intergranulaires représentent les fractions superficielles les mieux prises en compte, ainsi, le faible écart de composition à 70°C illustre l'affinité de la protéine à se faire piéger dans les creux du relief.

Pour ce type d'essai, l'E.S.C.A. a mis en évidence l'hétérogénéité de l'adsorption et la complexité d'interprétation des signaux. Le relief de la surface est en partie responsable des problèmes analytiques rencontrés.

L'information essentielle réside dans la localisation à l'interface (acier/molécule) des carbonyles et dans l'effet favorable de la température sur la diffusion de la protéine.

La protéine se fixerait donc par l'intermédiaire des carbonyles et groupements carboxyliques par des liaisons de type hydrogène sur les hydroxydes et oxydes superficiels (figure 58).

D'après les résultats de l'étude angulaire, il est certain que la protéine est dans une conformation différente pour chacune des températures étudiées. Toutefois, l'établissement de modèles se heurte aux problèmes analytiques apportés par la rugosité, qualitativement les oxydes superficiels ne subissent aucune modification observable sur les spectres et, la composante oxyde du fer ne s'altère à aucun moment.

III.5.3.2 Etude au MEB et en microanalyse X

L'observation au grossissement 600 fait apparaître une légère différence de contraste entre les plateaux et les vallées intergranulaires. Ces vallées sont donc le siège d'une adsorption préférentielle. Quantitativement, l'adsorption se traduit par un apport de matière à l'interface, le rapport C/Fe passe de 5,59 % (CV = 1,46 %) à 6,92 % (CV = 3,8 %) pour l'essai à 20°C et à 6,85 % (CV = 1,6 %) pour l'essai à 70°C.

Tous ces résultats confirment ceux obtenus en E.S.C.A. mais ne peuvent conduire à aucune autre interprétation supplémentaire. Ces deux méthodes travaillent à des résolutions encore beaucoup trop faibles pour préciser la géométrie réelle de l'état adsorbé.

III.5.3.3 Conclusion

Pour ce type d'acier nous nous sommes heurtés aux problèmes de détection que générerait l'état de surface. En ce qui concerne le mécanisme d'adsorption il est identique à celui exposé lors de l'étude de l'acier de premier type. Il est basé sur l'orientation préférentielle des groupements carbonyles qui participent à la formation de liaisons hydrogène avec les hydroxydes superficiels (figure 58). Toutefois, le soufre affiche un comportement tout à fait

caractéristique de l'acier. D'une part il est rarement détecté dans des conditions satisfaisantes (traces) et, lorsque celui-ci l'est son énergie de liaison nous montre qu'il est dans un état organique. De ce fait, on peut considérer qu'il n'a pas réagi avec la surface, contrairement au cas de l'acier de premier type. La géométrie de l'adsorption peut être difficilement précisée pour ce type d'acier, mais dépend de la température.

III.5.4 Conclusion adsorption β -lactoglobuline/Acier 304 L

L'étude de l'adsorption de la protéine a permis de caractériser le couple (β -lactoglobuline/Acier) par la précision de la géométrie (pour l'acier de type 1) et de la composition de l'interface sans pour autant permettre la caractérisation de points d'attache particulier.

Toutefois, la différence de comportement de certains atomes (tels que l'azote et le soufre) en fonction du traitement de l'interface (décapage ionique et inclinaison angulaire) suggère que l'adsorption n'est pas le seul phénomène mis en jeu lors du contact fluide/matériaux.

Si l'adsorption découle d'interactions localisées, la stabilisation de l'interface à long terme est régie par un équilibre qui englobe toutes les particularités du système (charges électriques, hydrophobicité...).

Dans notre cas, la protéine est globalement chargée négativement et se compose de secteurs hydrophiles et hydrophobes. Dès qu'une portion de la protéine entre en contact avec l'interface, les résidus d'acides aminés non polaires s'orientent vers la phase non aqueuse pour donner suite à un état plus délié de la protéine qui aura tendance à chercher à recouvrir une grande partie de la surface. Suivant cette "mécanique", les secteurs hydrophobes de la protéine entrent en liaison avec l'acier. Ce type d'interaction peut se développer par l'intermédiaire des acides aminés soufrés qui se trouvent pour la plupart localisés dans de tels groupements. On explique ainsi le caractère superficiel du soufre dont les quantités détectées restent inchangées après une minute de décapage dans le cas de l'acier de premier type et, sa non détection pour l'acier de second type. La géométrie de la surface oriente différemment l'adsorption dans la mesure où l'état et la détection du soufre sont caractéristiques de la surface dont la morphologie nous limite dans l'interprétation de nos résultats (acier de type 2).

Toutefois, la localisation superficielle des groupements carbonyles nous laisse penser que l'adsorption repose sur une interaction carbonyles/hydroxydes de surface par l'intermédiaire de liaisons hydrogène.

III.6 Synthèse sur l'adsorption des acides (aminés, octanoïque) et la β -lactoglobuline

Nous avons présenté sur la figure 62 $\%O = F(\%C)$ pour tous les essais d'adsorption réalisés, les points se répartissent tous autour d'une droite de régression, montrant l'homogénéité et la cohérence de nos résultats.

Le pourcentage d'oxygène traduit la perte de détérioration de la couche de passivation (phénomène prédominant par rapport à l'arrivée d'oxygène à l'interface) et le pourcentage de carbone représente l'apport de matière. Globalement nous distinguons deux zones sur chaque graphe :

- une zone où la contamination est moindre (glycine et cystéine)
- une zone à plus forte contamination (lysine et acide octanoïque)

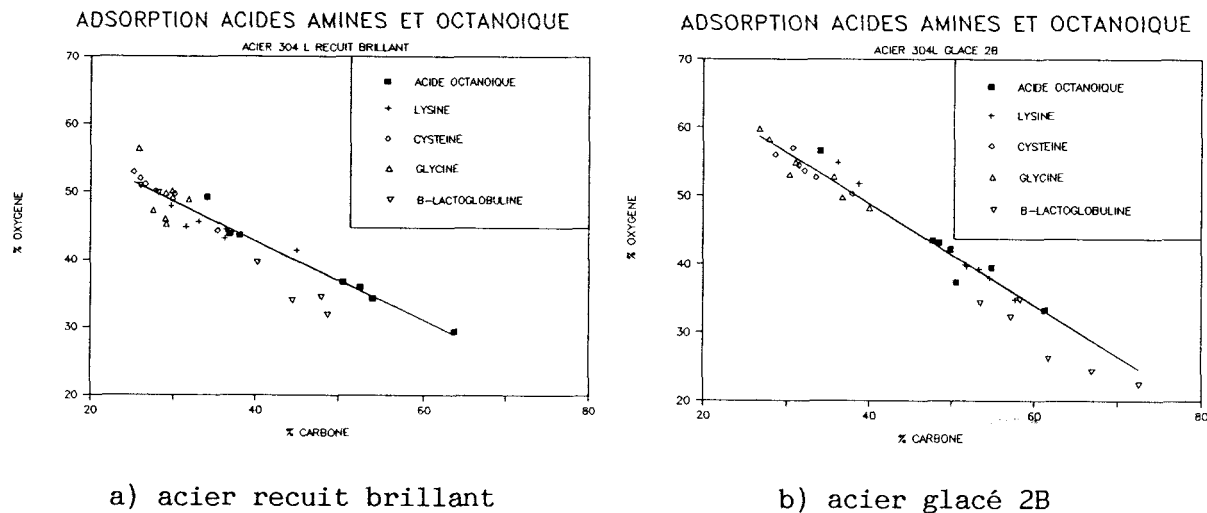


Figure 62 : Synthèse des tests d'adsorption sur l'acier 304 L.

Dans le cas de l'acier de type 2, la distinction entre ces deux zones est plus évidente, l'explication principale est d'ordre stérique. La quantité de matière piégée dans les rugosités est plus importante avec les molécules de grande taille.

Pour l'acier de premier type, l'acide octanoïque se démarque des autres composés en s'adsorbant à la paroi en plus grandes quantités. Rappelons que l'acide octanoïque est un acide carboxylique linéaire de formule $C_8O_2H_{16}$ et qu'il diffère des acides aminés par l'absence d'un groupe aminé primaire en alpha du carbone carboxylique, expliquant en partie sa différence de réactivité.

Au niveau des mécanismes, nous avons pu constater que la polarité de la fonction aminée initie les interactions. Cependant, la spécificité de certaines molécules par exemple, la cystéine, induit des réactions particulières. En effet, l'atome de soufre, détecté dans des états différents suivant la surface, est à la base d'une attaque du matériau notamment par la formation de sulfures. Ainsi, outre les problèmes d'adsorption, l'étude doit prendre en considération les phénomènes de corrosion localisés qu'il est difficile de mettre en évidence étant donné leur caractère ponctuel.

L'aspect corrosion découle, dans notre cas, de la réactivité particulière de certains groupements et surtout du pH du milieu qui conditionne la surface d'étude par une réorganisation des couches sous-jacentes du matériau. L'analyse des solutions en absorption atomique confirme l'influence des éléments métalliques dans l'adsorption, leur passage en solution (même à l'état de traces) prouve la déstructuration partielle du film passif.

Nous avons résumé, dans le tableau 34, les mécanismes d'interaction et les réactions rencontrées lors de l'adsorption de chacun des composés sur les deux types d'acier.

L'E.S.C.A. a permis dans un premier temps de quantifier l'apport de matière à l'interface et d'apprécier l'ampleur de l'adhésion des acides (aminés et octanoïque). Généralement, l'adsorption ne recouvre pas uniformément la surface étant donné les bonnes conditions de détection des éléments métalliques. De plus, par l'étude des courbes de profils, l'E.S.C.A. s'est révélée une méthode adéquate pour mettre en évidence (ou à défaut de postuler) des mécanismes d'accrochage, des phénomènes de fragmentation et pour caractériser l'état chimique des espèces présentes dans les premières couches du matériau.

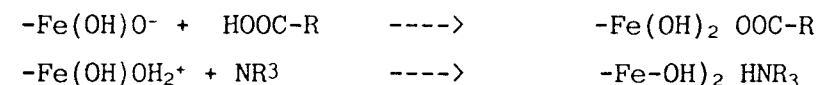
Cependant, en complétant l'information recueillie à l'aide de méthodes vibrationnelles, elle pourrait lever les diverses ambiguïtés subsistant dans l'interprétation. Toutefois, les déformations spectrales constatées pour les oxydes superficiels suffisent à prouver leur intervention dans l'adsorption. Ce type d'interaction est à la base de l'accrochage de revêtement (polymères)

sur les aciers, le "contact" étant assuré par des liaisons entre les oxydes de chrome et le polymère suivant des réactions d'oxydation et de réduction (BASIN, 1984). VAN OIJ et al. invoquent l'activité catalytique des oxydes de fer dans le processus d'accrochage de caoutchouc sur les aciers par activation de l'oxygène.

En d'autres termes, le film passif conditionne qualitativement l'adsorption par un effet catalytique de ses oxydes (FORT, 1983 ; RABEARISSON ANDRIAMALALA, 1986). Cet effet ne se traduit pas uniquement par une réaction de la molécule sur la surface mais aussi par un réarrangement moléculaire de l'espèce adsorbée. Cette hypothèse corrobore celle de LUND et SANDU (1979) qui suggèrent la possibilité de deux processus successifs lors de l'encrassement de matériaux solides par des produits alimentaires : l'adsorption est suivie d'une réaction propre de surface.

Le système (molécule/surface) est donc en constante évolution d'autant que le film d'oxydes n'est pas dans un état stable. Il est en équilibre avec son environnement et subit des processus de destruction et de reconstruction simultanés. Ceci le rend particulièrement sensible à des agressions locales susceptibles de le déstabiliser (BERANGER et LEMAITRE, 1988). La composition de la couche passive dépend à la fois du substrat métallique et du milieu dans lequel le matériau est immergé. Par conséquent, il serait irréaliste de considérer le film passif comme figé, il convient plutôt de le considérer comme un système s'ajustant au milieu d'étude.

BERANGER et LEMAITRE (1988) rapportent une modélisation du film passif suggérée par OKAMOTO et al. (1978) dans lequel les cations métalliques sont adsorbés avec un phénomène dynamique d'adsorption désorption. Les propriétés de la couche passive sont donc conférées par la stabilité des complexes formés. En ce qui concerne les aciers inoxydables, les complexes formés par le chrome sont plus stables que ceux du fer. Expérimentalement ce phénomène a été observé lors de notre travail, l'oxyde de chrome a toujours été détecté dans le même état alors que la composante oxydé du fer était le siège de transformation. Les réactions mises en jeu peuvent répondre au schéma suivant :



(REINHARD, 1987).

Mais le mécanisme le plus probable est celui représenté la figure 27, il est basé sur une réaction acide base entre le groupement NH_3^+ et les ions OH^- des oxydes superficiels. Ce mécanisme se déroule en deux étapes, la première comprend l'attaque de l'hydroxyde superficiel par le pôle azoté NH_3^+ (acide) qui, suivant une réaction acide base perdra un proton. Ce dernier se fixera sur l'hydroxyde superficiel pour donner une espèce du type Fe^+OH_2 . La seconde étape correspond au départ de la molécule d'eau renfermée dans l'espèce Fe^+OH_2 par l'attaque du groupement carboxylate de la molécule qui se substitue à cette molécule.

Toutefois, il ne concerne qu'une partie des réactions survenant à l'interface dans la mesure où il ne justifie ni le passage en solution des métaux et ni l'absence du groupement carboxylique rencontrée parfois pour certains tests.

Hormis la réactivité du film passif, il faut prendre en considération la rugosité du matériau. Les imperfections de relief sont des sites riches en énergie au sein desquels les atomes métalliques de la masse peuvent diffuser dans l'épaisseur adsorbée pour finir par passer en solution. De plus, les surfaces rugueuses ont un profil énergétique hétérogène qui engendre des différences réactionnelles locales (REINHARD, 1987). Ainsi, l'acier de type 2 peut être considéré comme un acier plus réactif dont le comportement est fonction de l'hétérogénéité de son profil. Ses vallées intergranulaires constituent des sites privilégiés d'adsorption, voire de piégeage de matière. Ainsi, en terme de nettoyage, ou pour des raisons bactériologiques, son utilisation industrielle n'est pas à recommander

L'étude portant sur l'adsorption des acides aminés a montré l'affinité particulière de ces molécules pour la surface des aciers en révélant les modifications du film passif résultant de l'apport de matière à l'interface. Globalement, on retrouve la réactivité particulière de l'amine et du groupement carboxylate dont on a pu définir l'état chimique.

Cette étude constitue donc une base de réflexion pour étudier l'adsorption de la β -lactoglobuline même si les phénomènes rencontrés sont différents. En effet, la fixation d'une molécule de petite taille met en jeu un point particulier de la molécule et un site bien défini de la surface. Pour les protéines, le cas diffère légèrement dans le sens où la fixation de la molécule

fait appel à plusieurs sites. D'autre part, l'effet stérique dû à la taille de la molécule et la conformation propre à la protéine font que l'adsorption dépend beaucoup plus de l'hétérogénéité du matériau et de la distribution des groupements hydrophobes qui orientent la molécule dans la double couche.

L'E.S.C.A. a permis de mettre en évidence la localisation des groupements de type carbonyle à l'interface et la géométrie différente de l'adsorption.

Il faut en déduire que la protéine perd sa structure native en s'adsorbant qu'elle soit dénaturée thermiquement ou pas et que ces changements dépendent de l'état de surface du matériau. En effet, le soufre affiche un comportement propre à la morphologie de l'acier.

En ce qui concerne la fixation de la protéine, cette étude nous apporte quelques éléments de réponse :

A savoir que les oxydes et particulièrement ceux relatifs au fer sont assez stables et ne réagissent pas de la même façon que dans le cas des acides aminés où les groupements potentiellement réactifs étaient polaires ($-COO^-$, $-NH_3^+$). Cet état de fait résulte de l'orientation de la protéine à l'interface dont les secteurs polaires sont tournés vers la phase aqueuse laissant ainsi les secteurs hydrophobes rentrer en liaison avec la surface par l'intermédiaire de liaisons hydrogène.

Si pour l'acier de premier type, les résultats sont cohérents, pour l'acier de second type, l'interprétation se trouve très vite limitée par le relief de la surface, notamment dans les variantes de l'E.S.C.A.. Néanmoins, on peut affirmer que la température joue un rôle moteur dans l'adsorption d'une part pour l'activation thermique des phénomènes diffusionnels et d'autre part par les modifications de conformation qu'elle engendre.

L'absence d'informations spectrales (déformation, variation d'énergie de liaison) des éléments métalliques provient de la faible quantité protéique adsorbée qui trouve son origine dans les phénomènes de répulsion électrostatique entre la surface et la protéine, toutes deux chargées négativement (LUND et SANDU, 1979). La diffusion de la protéine vers la surface n'étant pas favorisée, les interactions qui se développent ont un caractère local conféré d'une part par l'hétérogénéité du matériau et d'autre part par la réactivité de certaines portions de la molécule (MARITCHIE, 1978). Dans ces conditions, il devient difficile d'enregistrer des modifications dans les spectres E.S.C.A. qui prennent en compte l'intégralité des atomes analysés.

	GLYCINE	CYSTEINE	LYSINE	ACIDE OCTANOIQUE	β -LACTOglobuline
ACIER DE TYPE 1				<ul style="list-style-type: none"> - Effet détergent à température élevée - Adsorption par réaction d'échange (groupement -OH⁻) - Métaux en solution 	
	<ul style="list-style-type: none"> - Réarrangement moléculaire - Métaux en solution 	<ul style="list-style-type: none"> - Réarrangement moléculaire - Métaux en solution - Formation de sulfure de Fer 	<ul style="list-style-type: none"> - Réaction acide-base entre la surface et l'azote terminal - Métaux en solution 	<ul style="list-style-type: none"> - Métaux en solution - 70 °C - Soufre de type sulfure - Structure plus étalée à 70 °C - Carbonyles à l'interface 	<ul style="list-style-type: none"> - Piégeage des molécules dans les creux du relief - Effet détergent à température élevée - Adsorption par réaction d'échange (groupement -OH⁻) - Métaux en solution
ACIER DE TYPE 2				<ul style="list-style-type: none"> - Piégeage des molécules dans les creux du relief - Effet détergent à température élevée - Adsorption par réaction d'échange (groupement -OH⁻) - Métaux en solution 	
	<ul style="list-style-type: none"> - Piégeage des molécules dans les creux du relief - Réarrangement moléculaire - Métaux en solution 	<ul style="list-style-type: none"> - Réarrangement moléculaire - Métaux en solution - Formation d'oxyde de Soufre 	<ul style="list-style-type: none"> - Piégeage des molécules dans les creux du relief - Réaction acide-base entre la surface et l'azote terminal - Métaux en solution 	<ul style="list-style-type: none"> - Métaux en solution - 70 °C - Soufre de type sulfure - Structure plus étalée à 70 °C - Carbonyles à l'interface 	<ul style="list-style-type: none"> - Piégeage des molécules dans les creux du relief - Effet détergent à température élevée - Adsorption par réaction d'échange (groupement -OH⁻) - Métaux en solution

Tableau 34 : Synthèse des tests d'adsorption

CHAPITRE IV

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

CHAPITRE IV CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le présent travail s'est essentiellement attaché à mettre en évidence les mécanismes de fixation de certains composés biologiques (acides aminés, protéines) sur des substrats métalliques (acier inoxydable Z2 CN 18-10). Cette démarche s'inscrit dans le cadre des études destinées à mieux comprendre les processus initiateurs de l'encrassement des échangeurs de chaleur.

Pour mener à bien notre étude, nous avons eu recours à des techniques d'analyse de surface telles que l'E.S.C.A., la microanalyse X et le microscope électronique à balayage. La complémentarité de ces techniques nous ont permis de caractériser nos aciers en composition et morphologie, de les différencier par les espèces superficielles qu'ils renferment et de leur appliquer une procédure de nettoyage propre à leur état de surface.

L'étude de l'adsorption repose plus particulièrement sur les travaux réalisés en E.S.C.A. du fait de la grande sensibilité de cette technique et des faibles quantités adsorbées.

La microanalyse X n'ayant pas la même sensibilité, cette méthode s'est révélée très vite limitée dans l'étude rigoureuse et systématique des mécanismes conduisant à l'adsorption.

Pour les acides aminés, l'E.S.C.A. est apparue comme une méthode analytique adéquate pour décrire l'interface résultant de l'interaction et, mettre en évidence le mécanisme responsable de l'adsorption. Celui-ci repose sur des interactions acide-base entre les hydroxydes superficiels et l'amine protonée de la forme zwitterionique en solution. A l'issue de cette interaction, l'ion carboxylate vient combler le site résultant du départ d'une molécule d'eau. Ce mécanisme est commun et découle de la réactivité spécifique de la fonction "Acide aminé".

L'information chimique que fournit l'E.S.C.A. montre que l'adsorption est orientée par l'état de surface du matériau, notamment par les phénomènes diffusionnels et la réactivité de certains éléments (soufre).

Pour la protéine, l'étude n'a pu être aussi précise du fait de la grande diversité des fonctions composant la β -lactoglobuline qu'il est impossible d'individualiser d'un point de vue pratique. Toutefois, l'emploi de variantes (inclinaison angulaire, décapage ionique) nous a apporté des renseignements

d'ordre géométriques et réactionnels que nous avons pu corrélérer d'une part avec la dénaturation de la protéine et d'autre part avec une orientation de la chaîne peptidique à l'interface.

En fait, la protéine s'adsorbe par des liaisons hydrogène existant entre les groupements carbonyles de l'enchaînement peptidique et les hydroxydes superficiels.

De toute cette étude ressort deux points essentiels :

- l'activité catalytique des oxydes/hydroxydes superficiels dans l'interaction.
- l'aspect localisé de l'adsorption.

L'amélioration du procédé (traitement thermique des produits agro-alimentaires repose sur l'utilisation de matériau dont la teneur superficielle en hydroxydes de fer et en sites azotés se trouve limitée. Les aciers polis par voie chimique semble satisfaire à ces deux conditions. La teneur en oxydes de chrome dans leur film passif est largement supérieure à celle des aciers classiques (non polis chimiquement), leur couche de passivation est donc plus stable et rend l'acier moins réactif.

D'un point de vue analytique, nous avons choisi d'étudier l'adsorption des acides aminés pour se donner les moyens d'aborder l'interaction protéine/acier. En fait il s'avère que l'étude relative aux acides conduit à des résultats satisfaisants, cependant les mécanismes décrits ne s'appliquent pas au cas de la protéine. En effet les principes d'interaction ne font pas appel aux mêmes types de groupements (polaires dans un cas, hydrophobes dans l'autre).

Par conséquent, l'étude de l'adsorption des acides aminés ne peut constituer un point de départ indiscutable à la mise en évidence des mécanismes de fixation des protéines sur les parois solides.

Au terme de cette étude, il apparaît que les techniques utilisées permettent de tirer de précieux renseignements quant à la caractérisation des espèces adsorbées et des mécanismes d'adsorption. Néanmoins, en ayant recours à des spectroscopies vibrationnelles (INFRA-ROUGE, RAMAN) et ioniques (SPECTROSCOPIE DE MASSE D'IONS SECONDAIRES), il sera possible d'affiner nos connaissances,

notamment en caractérisant les groupements actifs dans l'accrochage en terme de liaison chimique et en précisant l'hétérogénéité de l'encrassement et le taux de recouvrement de la surface .

Notre travail constitue une étape vers la compréhension des phénomènes d'encrassement des échangeurs de chaleur. Elle montre qu'en partant de systèmes simplifiés (par rapport au système incluant le lait) nous parvenons à mettre en évidence l'adsorption de molécules biologiques. Certes nos conditions d'étude ne sont pas représentatives des conditions industrielles mais illustrent bien la dualité de la nature de l'encrassement, à savoir que ce dernier doit autant son origine à la matière minérale qu'à la matière organique.

BIBLIOGRAPHIE

ABOSHAMA K., HANSEN A.P. (1977)

Effect of ultra high-temperature steam injection processing on sulfur containing amino acids in milk. *Journal of Dairy Science*, 60, 1374-1378.

ADAMSON (1982)

Surfaces of solids : Microscopy and Spectroscopy. Chapitre VIII dans physical chemistry of surfaces, 4th ed., Ed. John Wiley and sons, New-York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 294-318.

ALAIS C. (1975)

Science du lait, principe des techniques laitières. Ed. Publicité PARIS.

ANDRADE J.D. (1985)

Principles of protein adsorption in : *Surface and interfacial aspects of biomedical polymers*, 2, 1, 80.

ANDRADE J.D. (1985)

X-Ray photoelectron spectroscopy. In *Surface and interfacial aspects of biomedical polymers*. Vol. 1. Surface Chemistry and Physics. Ed. ANDRADE J.D., Plenum Press, New-York and London, 105-195.

ASHLEY J.C. (1980)

Inelastic interactions of low energy electrons with organic solids : simple formulae. *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, NS-27, 1454-1458.

BALDWIN R.L., EISENBERG D. (1987)

Protein stability. In *protein Engineering*, ed. ALAN R. LISS, Inc., 127-148.

BASIN N.F. (1984)

Advances in understanding the adhesion between solid substrates and organic coatings. *Progress in organic coatings*, 12, 213-250.

BELL R.W., SANDERS C.F. (1944)

Prevention of milkstone formation in high temperature short time heater by preheating milk, skim milk and whey proteins. *J. Dairy Sci.*, 27, 499-504.

BENNINGHOVEN A., SICHTERMANN W.K. (1978)

Detection, identification and structural investigation of biologically important compounds by secondary ion mass spectrometry.

Analytical Chemistry, 50, 8, 1180-1184.

BERANGER G., LEMAITRE C. (1988)

La passivité des aciers inoxydables. Mémoires et études scientifiques.

Revue de Métallurgie.

BOMBEN K.D., DEV S.B. (1988)

Investigation of poly (L-amino acids) by x-Ray photoelectron spectroscopy.

Anal. Chem., 60, 1393-1347.

BONHERT J.L., HORBETT T.A., RATNER B.D., ROYCE F.H.

Adsorption of proteins from artificial tear solutions to contact lens materials. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 29, 3, 362-373.

BURTON H. (1968)

Reviews of the progress of dairy Science. *Journal of Dairy Research*, 32, 65-78.

CARLSON T.A. (1975)

Photoelectron and Auger spectroscopy, Plenum Press, NEW-YORK.

CAVALLERI A., GUZMAN L., OSSI P.M., ROSSI I. (1986)

On the wear behavior of nitrogen implanted 304 stainless steel. *Scripta Metallurgica*, 20, 37-42.

CHEFTEL J.C., CUQ J.L., LORIENT D. (1985)

Protéines alimentaires. *Techniques et Documentation*, Lavoisier.

CLARK D.T., PEELING J., COLLING L. (1976)

An experimental and theoretical investigation of the core level spectra of a series of amino acids, dipeptides and polypeptides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 453, 533-545.

CLARK D.T., THOMAS H.R., SHUTTLEWORTH D. (1988)

Electron mean free paths in polymers. *J. Polymer Sci., Polym. Lett.*, 16, 465-471.

CLARK D.T., THOMAS H.R. (1977)

Electron mean free paths as a function of kinetic energy in polymeric films. *J. Polym. Sci. Chem.*, 15, 2843-2867.

COLTON R.J., MURDAY J.S., WUATT J.R., DE CORPO J.J. (1979)

Combined XPS and SIMS study of amino acid overlayers. *Surface Science*, 84, 235-248.

DALGLEISH D.G. (1981)

Milk proteins - Chemistry and physics in food proteins. *Applied Science Publishers* - London and New-York, 155-178.

DAUFIN G., LABBE J.P., QUEMERAIS A., BRULE G., MICHEL F., ROIGNANT M. (1987)

Fouling of a heat exchange surface by whey milk and model fluids. An analytical study. *Le Lait*, 6, 7, 3, 339-364.

DE BERRY D.W., VIEMBECK A. (1988)

Inhibition of pitting corrosion of AISI 304 L Stainless steel by surface active compounds. *Corrosion-NACE*, 44, 5, 299-305.

DEGALLAIS S., FOCT J. (1987)

L'azote dans les aciers inoxydables austénitiques. Première partie : influence sur les caractéristiques métallurgiques. Mémoires et études scientifiques. *Revue de Métallurgie*, Décembre 1987, 645-653.

DEGALLAIS S., FOCT J. (1988)

L'azote dans les aciers inoxydables austénitiques. Deuxième partie : influence sur les caractéristiques mécaniques. Mémoires et études scientifiques. *Revue de Métallurgie*, Février 1988, 111-123.

DESJONQUERES M.C. et SPANJAARD D. (1987)

Introduction à la physique des surfaces. Ecole d'hiver sur la physico-chimie des surfaces et technologies - Les Menuires.

DICKINSON E., MAUFFRET A., ROLFE S.E., NORSKETT C.M. (1989)

Adsorption at interfaces in dairy systems. Symposium paper. *Journal of the society of Dairy Technology*, 42, 1, 18-22.

EBEL M. (1980)

Probing the influence of thin overlayers on the results of quantitative X.P.S. analysis without reference samples. *Surf. Int. Anal.*, 2, 173.

EIGEL W.N. (1984)

Nomenclature of proteins of cow's milk : fifth revision. *J. Dairy Sci.*, 67, 1599-1631.

EPSTEIN N. (1979)

Fouling : Technical Aspects (Afterword to fouling in heat exchangers). *Fouling of heat transfer Equipment*, Mc GRAW HILL, New York, 31-53.

FADLEY C.S., BAIRD R.J., SIEKHAUS W., NOVAKOV T., BERGSTROM S.A. (1974)

Review of surface analysis and angular distribution in X-ray photoelectron spectroscopy. *Journal of electron spectroscopy and related phenomena*, 4, 93-137.

FADLEY C.S. (1976)

Solid state and surface analysis by means of angular dependant X-ray photoelectron spectroscopy. *Progress in solid State Chemistry*, 11, 263-343.

FADLEY C.S. (1978)

Basic concepts of X-Ray photoelectron spectroscopy. In *Electron spectroscopy : theory, technique and applications*, ed. CR BRUNDLE and AD BAKER, Academic Press, London and New-York, Vol. 2.

FONTAINE G. (1978)

Emissions électroniques et contrastes. Première Partie : Principes. Dans *Microanalyse et microscopie électronique à balayage*, ed. les Editions de Physiques, Avenue du Hoggar - Zone Industrielle de Courtaboeuf - BP 112 - 91944 LES ULIS CEDEX (FRANCE), 39-122.

FORT J. (1983)

Contribution à l'étude d'interactions caséinates de sodium-acier inoxydable austénitique ou argent ; mise en évidence et développement de films adsorbés à la surface de matériaux. Thèse de docteur-ingénieur. Institut National Polytechnique de Toulouse.

FUERSTENAU D.W., CHANDER S., LIN J., PARFITT G.D. (1984)

Adsorption and electrokinetic effect of amino acids on rutile and hydroxyapatite. *ACS. SYMP. SER.*, 19, 253, 311-327.

GOLD J.M., SCHMIDT M., STEINEMANN S.G.

XPS study of amino acid adsorption to titanium surfaces. *Helvetica Physica Acta*, 62, 246-248.

GOLDSTEIN J.I., NEWBURY D.E., ECHLIN P., JOY D.C., FIORI C., LIFSHIN E. (1981)

X-ray spectral measurement WDS and EDS. Dans *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*, ed. Plenum Press, New-York and London, 205-273.

GOLLANDER C.G., JONSSON S., VLADKOVAT T., STENIUS P., ERIKSSON J.C. (1986)

Preparation and protein adsorption properties of photopolymerized hydrophilic films containing N-Vinylpyrrolidone (NVP), Acrylic Acid (AA) or Ethyleneoxide (EO). Units as studied by ESCA. *Colloids and surfaces*, 21, 149-165.

GOLLANDER C.G., KISS E. (1988)

Protein adsorption and ESCA characterized polymer films studied by ellipsometry. *Journal of Colloid and Interface Science*, 121, 1, 240-253.

HEGG P.O., CASTBERG H.B., LUND G. (1985)

Fouling of whey proteins on stainless steel at different temperature. *Journal of Dairy Research*, 52, 213-218.

HEGG P.O., LARSON K. (1981)

Ellipsometry studies of adsorbed lipids and milk proteins on metal surfaces. LUND, PLETT, SANDU editors, University of Madison, Wisconsin, USA, 250-255.

HENDRICKSON D.N., HOLLANDER J.M., JOLLY W.L. (1969)

Nitrogen is electron binding energies. Correlations with molecular orbital calculated nitrogen charges. *Inorganic Chemistry*, 8, 12, 2642-2647.

HEUGHEBAERT J.C., MONTEL G. (1970)

Sur l'existence d'une série de solides de composition variable correspondant au phosphate tricalcique précipité. *CR Acad. Sci.*, PARIS, 270, ser. C, 104-107.

HIDDINK J., LALANDE M., MAAS A.J.R., STREUPER A. (1986)

Heat treatment of whipping cream. 1. Fouling of the pasteurization equipment. *Milchwissenschaft*, 41 9, 542-546.

HLUCHAN V., WHEELER B.L., HACKERMANN (1988)

Amino acids as corrosion inhibitions in hydrochloric acid solutions. *Werkstoffeund Korrosion*, 39, 512-517.

HUTTON J.T., PATTON S. (1952).

The origin of sulphhydryl groups in milk proteins and their contribution to cooked flavor. *J. Dairy Sci.*, 35, 699.

IVARSSON B.A., HEGG P.O., LUNDSTROM K.I., JOHNSSON U. (1985)

Adsorption of proteins on metal surfaces studied by ellipsometric and capacitance measurements. *Colloids and surface*, 13, 169-192.

JOLLY W.L. (1977)

The application of X-Ray photoelectron spectroscopy. In *Electron spectroscopy : Theory, Technique and Applications*, ed. CR BRUNDLE and AD BAKER, Academic Press, London and New-York, Vol. 1.

KLEIN M.P., KRAMER L.N. (1972)

Estimation of protein quantity and quality by X-ray photoelectron spectroscopy. Dans *Symp. in seed Proteins* (INGLETT, G.F., ed.) chapitre 19.

KNUDSEN J.G. (1979)

Apparatus and techniques for measurement of fouling of heat transfer surfaces. *Fouling of heat transfer Equipment*, Mc GRAW HILL, New York, 57-81.

LALANDE M., TISSIER J.P., CORRIEU G. (1984)

Fouling of a plate heat exchanger used in ultra high temperature sterilization of milk. *Journal of Dairy Research*, 51, 557-568.

LALANDE M., TISSIER J.P., CORRIEU G. (1985)

Fouling of heat transfer surfaces related to β -lactoglobulin denaturation during heat processing of milk. *Biotechnology Progress*, 1, 2, 131-139.

LALANDE M. (1989)

Fouling and its control in heat exchangers in the dairy industry. *Biofouling*, 1, 233-250.

LANGERON J.P. (1988)

Spectroscopies d'électrons XPS, AES. *Le vide, les couches minces*, 244.

LEHNINGHER A.L. (1981)

Biochimie-Bases moléculaires de la structure et des fonctions cellulaires. *Flammarion Medecine Sciences*, 55-67.

LIEDBERG B., CARLSSON C., LUNDSTROM I. (1987)

An infrared reflection adsorption study of amino acids adsorbed on metal surfaces : L-Histidine and L-phenylalanine on gold and copper. *Journal of colloid and Interface Science*, 120, 1, 64-75.

LIEDBERG B., CARLSSON C., LUNDSTROM I. (1987)

An infrared reflexion-absorption study of amino acids adsorbed on metal surfaces : L-Histidine and L-phenyl alanine on gold and copper. *Journal of Colloid and Interface Science*, 120, 1, 64-76.

LIEDBERG B., IVARSSON B., HEGG P.O., LUNDSTROM I. (1986)

On the absorption of β -lactoglobulin on hydrophilic gold surfaces : studies by infrared reflection - absorption spectroscopy and ellipsometry. *Journal of colloid and Interface Science*, 114, 2, 386-397

LIEDBERG B., LUNDSTROM I., WU C.R., SALANECK W.R. (1985)

Adsorption of glycine on hydrophilic gold. *Journal of Colloid and Interface Science*, 108, 1, 123-132.

LINDBERG B., MARIPOU R., SIEGBAHN K., LARSOON R., GOLLANDER C.G., ERIKSSON J.C. (1983)

ESCA studies of heparinized and related surfaces. 1. Model surfaces on steel substrates. *Journal of Colloid and Interface Science*, 95, 2, 308-321.

LUND D., SANDU C. (1979)

State of the art of fouling : heat transfer surfaces. University of Wisconsin - Madison - USA.

LUND D., SANDU C. (1979)

Chemical reaction fouling due to foodstuffs. Dans Fouling of heat transfer equipment, ed. EFC Sommerscales et J.G. Knudsen, Mc Graw Hill International Book Company.

LUND D.B., BIXBY D. (1975)

Fouling of heat exchange surface by milk. *Process Biochemistry*, Vol. 10 (9), 52-55.

LUNDSTROM I., SALANECK W.R. (1985)

Categories of amino acids adsorption on surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 108, 1, 288-291.

LYSTER R.L.J. (1965)

The composition of milk deposits in an ultra-high temperature plant. *Journal of Dairy Research*, 32, 203-208.

LYSTER R.L.J. (1979)

Milk and dairy product. In : *Priestly R.J. (ed) effects of heating on food streffs*. Elsevier Applied Science Publishers, London, 353-368.

MARCUS P. (1987)

Surfaces metalliques et corrosion. *Le vide, les couches minces*, 42, 238, 433-437.

MARITCHIE F. (1978)

Proteins at interfaces. *Adv. progein Chem.*, 32, 283-326.

MARTENSSON N. (1988)

ESCA in analytical techniques for thin films. *Treatise on material science and technology*, Vol. 27, KN TU and R. ROSENBERG, Academic Press inc., San Diego.

MAURICE F. (1978)

Emission X. Dans *Microanalyse et microscopie électronique à balayage*, ed. les Editions de Physiques, Avenue du Hoggar - Zon Industriel de Courtaboeuf - BP 112 - 91944 LES ULIS CEDEX (FRANCE), 171-217.

Mc GUIRE (1989)

A predictive model for particle interactions with contact surfaces. *Journal of Food Science*, 54, 1, 22-29.

MICHAEL I., ABSOLON D.R., VAN OSS C.J. (1980)

Diffusion of Adsorbed protein within the plane of adsorption. *Journal of Colloid and Interface Science*, 77, 2, 586-587.

MILLARD M.M. (1974)

X-ray photoelectron spectroscopic studies of biological materials : metal ion protein binding and other analytical application. *Advances in Experimental Medicine on Biology*, 48, 589-619.

OKAMOTO G., SHIBATA T. (1978)

Passivity of metals. Corrosion monograph series RP Frenkenthul and J. Kruger, ed. Electro Chem. Soc., Redington, New-Jersey, p. 646.

OLHENDORF D.H., FINZEL B.C., WEBER P.C., SALEMNE F.R. (1987)

Some design principles for structurally stable proteins. Dans Protein Engineering, ed. ALAN D. LISS, INC., NEW-YORK, 165-173.

PAPIZ M.Z., SAWYER L., ELIOPOULOS E.E., NORTH A.C.T., FINDLAY J.B.C., SIVAPRASADARAO R., JONES T.A., NEWCOMER M.E., KRAULIS P.J. (1986)

The structure of β -lactoglobulin and its similarity with plasma retinol binding protein. *Nature*, 224, 383-385.

PATRICK P.S., SWAISGOOD H.E. (1976)

Sulfhydryl and disulfide groups in skim milk as affected by direct ultra high temperature heating and subsequent sbrage. *J. Dairy Sci.*, 59, 594.

PAYNTER R.W., RATNER B.D., HORBETT T.A., THOMAS H.R. (1984)

XPS studies on the organization of adsorbed protein films on fluoropolymers.

Journal of Colloid and Interface Science, 10, 1, 233-245.

PEELING J., CLARK D.T., EVANS M., BOUTLER D. (1976)

Evaluation of the ESCA technique as a screening method for the estimation of protein content and quality in seed Meals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27, 331-340.

PEIZHUT T., XIANGRONG Y. (1982)

Mechanism of soft X-Ray. Radiation damage on glycine by XPS. *Scientia Scnia (Série B)*, XXV, 2, 176-182.

PERUTZ M.F. (1978)

Electrostatic effects in proteins. *Science*, 210, 1187-1191.

PHILIBERT J. (1978)

Caractérisation des matériaux et méthodes microscopiques d'examen et d'analyse. Dans Microanalyse et microscopie électronique à balayage, ed. les Editions de Physiques, Avenue du Hoggar - Zon Industriel de Courtaboeuf - BP 112 - 91944 LES ULIS CEDEX (FRANCE), 1-38.

PRESSEN H., PURCELL J.M., FARREL H.M. Jr (1985)

Proton relaxation rates of water in dilute solutions of β -lactoglobulin. Determination of cross relaxation and correlation with structural changes by the use of two genetic variant of a self-associating globular protein. *Biochimica and Biophysica Acta*, 828, 1-15.

RABEARISON ANDRIAMALA C. (1986)

Contribution à l'étude des interactions entre l'acier inoxydable Z2CN18-10 ou le nickel et certains constituants du lait (lactosérum au caséinate de sodium). Mise en évidence et évolution de films adsorbés à la surface des matériaux. Thèse de docteur-ingénieur. Institut National Polytechnique de Toulouse.

RAMCHANDANI A., DENNIS J.K. (1988)

Nitriding of austenitic stainless steel. *Heat treatment of metals*, 2, 3'-36.

- RATNER B.D., HORBETT T.A., SHUTTLEWORTH, THOMAS H.R. (1981)
Analysis of the organization of protein films on solid surfaces by ESCA. *Journal of Colloid and Interface*, 83, 2, 630-642.
- REED R. (1989)
Nitrogen in austenitic stainless steels. *Journal of metals*, 41, 3, 16-21.
- REINHARD G. (1987)
Surface characterization of crom and steel prio to coating. *Progress in Organic Coatings*, 15, 125-148.
- RIBADEAU-DUMAS B. (1979)
Progrès récents dans la biochimie des protéines du lait. *Revue Laitière Française*, 371, 45-59.
- RIBADEAU-DUMAS B. (1982)
Actualité dans le domaine de la connaissance de la structure et des propriétés biochimiques des protéines lactières. *Revue Laitière Française*, 400, 17-32.
- RICHARDS F.M. (1977)
Areas, volumes, packing and protein structure. *Amm. Rev. Biophys. Bioeng.*, 6, 151-176.
- RIGGS M.J., PARKER M.J. (1975)
Surface analysis by X-ray photoelectron spectroscopy. In *Method of surface analysis*, ed., A.W. CZANDERNA, Elsevier Scientific Publishing company.
- ROGACHEVA N.V., BOBYRENKO Yu Ya (1985)
Adsorption of some amino acids on a titanium dixoyde surface. *Russian Journal of Physical Chemistry*, 59, 3, 447-448.

ROIGNANT M. (1987)

Etude de l'encrassement des échangeurs de chaleur à plaques lors de traitements thermiques de produits laitiers à des températures inférieures à 100°C. *Thèse de Docteur-Ingénieur*, Université de Rennes 1.

ROLLA G. (1982)

Colloques internationaux CNRS n° 230 (Physicochimie et cristallographie des apatites d'intérêt biologiques, PARIS (Septembre 1982)).

ROOMANS G.M. (1988)

Introduction to X-ray microanalysis in biology. *Journal of Electron microscopy technique*, 9, 3-17.

SALANECK W.R., LUNDSTROM I., LIEDBERG B. (1985)

Photoelectron spectroscopy of amino acids adsorbed upon surfaces : glycine on graphite. *Progress in colloid & Polymer Science*, 70, 83-88.

SANDU C., LUND D. (1985).

Fouling of heating surfaces - chemical reaction fouling due to milk in *fouling and cleaning in food processing*. LUND, PLETT, SANDU editors; University of Madison, Wisconsin, USA, 122-167.

SCOFIELD J.H. (1976)

Hartree-slater subshell photoionization cross sections at 1254 and 1487 eV. *Journal of Electrons Spectroscopy and Related Phenomena*, 8, 129-137.

SEAH M.P., DENCH W.A. (1974)

Electron mean free paths. *Surface Interface Analysis*, 1, 2-11.

SIEGBAHN K., NORDLING C., FAHLMAN A., NORDBERG R., HAMRIN K., HEDMAN J., HOHANSSON G., BERGMARK T., KARLSSON S.E., LINDGREN J., LINDBERG B. (1967)
ESCA : Atomic, molecular and solid state structure studied by means of electron spectroscopy. *Nova Acta Regiae Soc. Sci. UPSALIEU SIS Ser IV*, Vol. 20 (Almqvist and Wiksell, Stockholm).

SINGER I.L. (1984)

Surface analysis, ion implantation and biological processes affecting steels. *Appl. Surf. Sci.*, 18, 28-62.

SKUDDER P.J., THOMAS E.L., PAVEY J.A., PERKIN A.J. (1981)

Effects of adding potassium rodiate to milk before UHT treatment. I. Reduction in the amount of deposit on the heated surfaces. *Journal of Dairy Research*, 48, 99-113.

SKUDDER P.J. (1981)

The role of sulphhydryl groups in the formation of proteinaceous deposit from milk on heated surfaces. *Fundamentals and applications of surface phenomena associated with fouling and cleaning in food processing*. HALLSTROM, LUND, TRAGARDH editors, Lund University, Sweden, 378-387.

STERNBERG M.J., THORNTON J.M. (1978)

Review Article. Prediction of protein structure from amino-acid sequence. *Nature*, 271, 15-19.

SWAISGOOD H.L. (1982)

Chemistry of milk proteins. In developments in Dairy Chemistry. 1. Proteins, ed FOX P.F., Applied Science Publishers, London, 44-49.

TAMAKI S., SICHTERMANN W., BENNINGHOVEN A.

Static SIMS investigation of Ag-Supported amino-acids. *Japanese Journal of Applied Physics*, 23, 5, 544-549.

TOMPKINS H.G. (1987)

Modeling the effect of ion mixing and surface roughening on depth profiles. *Surface and Interface Analysis*, 10, 105-109.

THULL R. (1982)

Surface processes in artificial organs. An overview. *Med. Prof. Technol.*, 9, 119-128.

TISSIER J.P., GALLEOTI M.A., LALANDE M. (1985)

Experimental and analytical study of milk deposit on heated stainless steel surfaces in *fouling and cleaning in food processing*. LUND, PLETT, SANDU editors, University of Madison, Wisconsin, USA, 178-202.

TISSIER J.P., LALANDE M., CORRIEU G. (1984)

A study of milk deposit and heat exchange surface during UHT treatment. *Engineering and Food*, Mc KENNA, Elsevier Applied Science Publishers, 1, 49-58.

ULRICH J.J., STUMM W.

Adsorption of aliphatic fatty acids on aquatic interfaces. Comparison between two model surfaces : the mercury electrode and $\delta\text{Al}_2\text{O}_3$ colloids. *Environ. Sci. Technol.*, 22, 1, 37-41.

VAN NOSTRAND W.L., LEACH S.H., HALUSKA S.L. (1979)

Economic penalties associated with fouling of refinery heat transfer equipment. *Fouling of heat transfer Equipment*, Mc GRAW HILL, New York, 619-643.

WAGNER C.D., DAVIS L.E., RIGGS W.M. (1980)

Energy dependence of the electron mean free path. *Surface Interface Analysis*. 2, 53-55.

WAGNER C.D., RIGGS W.M., DAVIS K.E., MOULDER J.F., MUILENBERG G.E. (1979)

A hand book of X-ray photoelectron spectroscopy. ed. Muilenberg G.E., Perkin Elmer Corporation, Physical Electronic Division, 6509 Flying Cloud drive Eden Prairie, Minnesota 55344.

WALSTRA P., JENESS R. (1984)

Dairy chemistry and physics. John WILLEY & Sons, New-York, U.S.A.

WESER V. (1985)

Redox reactions of sulfur-containing amino-acid residues in proteins and metalloproteins, on XPS study. *Struct. Bonding (Berlin)*, 61, 145-160.

WU C.R., NILSSON J.O., SALANEK W.R. (1987)

Photoelectron spectroscopy of the adsorption of amino Acids on surfaces :
glycine in Si(O₂). *Physice Scriptor*, 35, 586-589.

ZHANG Z.L., BELL T. (1985)

Structure and corrosion resistance of plasma nitrided stainless steel. *Sur-
face Engineering*, 1, 2, 131-136.

ANNEXES

ANNEXE 1 : L'E.S.C.A.	159
ANNEXE 2 : LE M.E.B. ET LA MICROANALYSE X	169
ANNEXE 3 : ACIER RECUIT BRILLANT (TYPE 1)	175
ANNEXE 4 : ACIER GLACE 2B (TYPE 2)	179

ANNEXE 1 L'E.S.C.A.

1.1 Description de l'appareil

Tout appareil E.S.C.A. se compose des quatre systèmes suivants :

- une source de rayons X
- un analyseur d'énergie
- un détecteur d'électrons
- un système de pompage

Le spectromètre utilisé est un Leybold Heraeus de type LHS 10, son schéma de principe est reporté sur la figure 63.

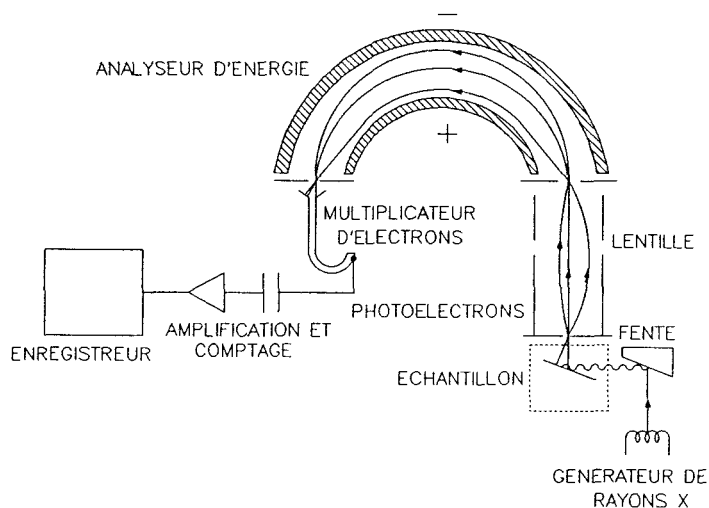


Figure 63 : Schéma de principe d'un spectromètre E.S.C.A.

1.2 La source

Le spectromètre est équipé de deux sources excitatrices :

- la transition $K\alpha$ 1,2 de l'aluminium d'énergie $h\nu = 1486,6$ eV et de largeur à mi-hauteur 0,8 eV.
- la transition $K\alpha$ 1,2 du Magnésium d'énergie $h\nu = 1253,6$ eV et de largeur à mi-hauteur 0,7 eV.

L'appareil ne dispose pas de monochromateur. La puissance fournie au canon de rayon X est de 260 Watts et l'angle d'émission des photoélectrons par rapport à la surface de l'échantillon est de 90° .

La source excitatrice choisie pour ce travail est l'anode d'aluminium sous les conditions suivantes : 13 kV - 20 mA.

1.3 L'analyseur

Il s'agit d'un analyseur dispersif (déflexion du faisceau électronique avant analyse) électrostatique de type hémisphérique. Il est constitué de deux demi sphères concentriques entre lesquelles est appliquée une différence de potentiel V . Ainsi, seuls les électrons ayant une énergie cinétique correspondant à cette tension seront focalisés sur la fente de sortie du spectromètre.

Ce type d'analyseur fonctionne suivant deux modes :

- à énergie de traversée dans l'analyseur constante (CAE)
- à rapport de retard constant (CRR) (notre cas)

Le premier mode est aussi appelé mode $\Delta E = \text{Cte}$, l'énergie des électrons dans l'analyseur, E_0 , ne varie pas durant la prise du spectre. La résolution ΔE_0 est donc constante quelle que soit l'énergie analysée (ΔE_0 représente la largeur à mi-hauteur du faisceau monoénergétique E_0 à la sortie de l'analyseur).

Dans le second mode aussi appelé $\Delta E/E = \text{Cte}$, l'énergie de traversée des électrons dans l'analyseur, E_0 , varie mais le rapport entre l'énergie des électrons à la sortie de l'échantillon, E , et l'énergie dans l'analyseur E_0 reste constant ($E_0/E = \text{Cte}$).

Ce mode est appelé $\Delta E_0 = \text{Cte}$. Les différentes énergies seront analysées avec différentes résolutions.

1.4 Système de détection

A la sortie de l'analyseur d'énergie se trouve le dispositif de détection constitué par un multiplicateur d'électrons. Les signaux sont ensuite amplifiés puis enregistrés :

- soit en mode digital (analyseur multicanaux, ordinateur)
 - soit en mode analogique (après conversion grâce à un enregistreur X-Y).
- Le nombre de coups détectés par seconde est enregistré sur la voie Y tandis que la voie X est pilotée par une tension proportionnelle à la tension de balayage donc à l'énergie cinétique des électrons.

1.5 Système de pompage

Dans le cas des surfaces solides, il est impératif de garder les surfaces les plus propres possibles en limitant au maximum l'adsorption d'éléments étrangers.

A titre d'exemple, lorsque l'on travaille à température ambiante sur des solides de densité moyenne, un atome de la surface du solide sera frappé par un atome de gaz une fois par jour si le vide est de l'ordre de $2,5 \cdot 10^{-10}$ torr, une fois par heure pour un vide de $5 \cdot 10^{-8}$ torr, une fois par minute pour un vide de $3,1 \cdot 10^{-7}$ torr et une fois par seconde si le vide est de l'ordre de $1,8 \cdot 10^{-5}$ torr.

Le vide est assuré dans notre cas par des pompes turbomoléculaires qui n'entraînent pas de contamination et qui assurent un vide de l'ordre de 10^{-9} torr.

1.6 Principe de base

L'E.S.C.A. est basée sur l'effet photoélectrique, elle utilise le principe de l'émission d'électrons par la matière soumise à une irradiation. Lorsqu'un rayonnement électromagnétique d'énergie $h\nu$ irradie un échantillon, des électrons sont émis avec une énergie cinétique E'_{cin} .

La conservation de l'énergie dans le cas d'un atome libre s'écrit :

$$E_i + h\nu = E'_{cin} + E_f(k) + E_R \quad (13)$$

- E_i : Energie totale de l'atome dans son état initial avant irradiation.
- $E_{F(k)}$: Energie totale de l'atome dans son état final après le départ d'un photoélectron k .
- E'_{cin} : Energie cinétique du photoélectron émis.
- $h\nu$: Energie des photons incidents.
- E_R Energie de recul de l'atome

Par définition, l'énergie de liaison d'un électron représente l'énergie qu'il faut fournir à l'électron pour l'amener à l'infini avec une énergie cinétique nulle. Pour les atomes et molécules libres, l'énergie de liaison est référencée par rapport au niveau de vide.

Si $E_L^V(k)$ représente l'énergie de liaison du photoélectron k référencée par rapport au vide, ou à la relation suivante :

$$E_L(k) = E_f(k) - E_i \quad (14)$$

Ce qui donne pour la relation 13:

$$h\nu = E'_{cin} + E_L^V(k) + E_R \quad (15)$$

L'énergie de recul E_R de l'atome peut être négligée, en effet, elle vaut 0,01 eV pour le rubidium frappé par la raie $K\alpha$ de l'aluminium ($h\nu = 1486,6$ eV).

Les niveaux d'énergie électroniques d'un atome se divisent en deux catégories :

La première regroupe les "électrons externes de valence" qui sont impliqués dans les liaisons interatomiques. Leur énergie est comprise entre 0 et 20 eV. Ces électrons appartiennent aux orbitales moléculaires ou aux bandes de valence (pour les solides).

La seconde comprend les électrons internes de coeur, ils sont très localisés dans l'atome et leur énergie varie entre 20 eV et plusieurs keV et se trouvent influencés par la distribution des électrons de valence de l'atome et de ses voisins.

La valeur de l'énergie de la radiation excitatrice détermine le type d'électrons analysés. Lorsque l'échantillon est bombardé par des rayons ultraviolets, on n'atteint que les couches externes de valence (c'est la spectroscopie dite U.P.S.) alors que pour des rayons X, on accède aux électrons de coeur.

1.7 Principe de mesure

La relation 15 devient, compte tenu du fait que E_R est négligeable :

$$h\nu = E'_{cin} + E'_L(k) \quad (16)$$

L'énergie E'_{cin} n'est pas déterminée directement, car le spectromètre intervient par sa fonction travail ϕ_{sp} . Cette fonction travail est encore appelée énergie d'extraction, c'est l'énergie minimale qu'il faut fournir pour amener un électron du solide, pris au niveau de Fermi, au niveau énergétique du vide, c'est-à-dire à une distance suffisante du solide (10^{-4} mm) pour qu'il n'ait aucune interaction directe de type chimique avec ce solide.

Lorsque l'on travaille avec des solides (il s'agit de notre cas), la référence appropriée est le niveau de Fermi. Quand l'équilibre thermodynamique entre l'échantillon et le spectromètre est atteint, leurs niveaux de Fermi sont confondus (SIEGBAHN et al., 1967). Si on appelle E_L^F , l'énergie de liaison du photoélectron, référencée par rapport au niveau de Fermi, ϕ_{ECH} , le travail d'extraction de l'échantillon et E_{cin} , l'énergie cinétique mesurée au-dessus du vide de l'échantillon, on a la relation suivante :

$$h\nu = E_L^F + \phi_{ECH} + E'_{cin} = E_L^F + \phi_{spect} + E_{cin} \quad (17)$$

Cette relation peut s'illustrer à l'aide de la figure 14:

De cette manière, on peut mesurer l'énergie de liaison directement :

$$E_L^F = h\nu - E_{cin} - \phi_{sp} \quad (18)$$

La mesure de ϕ_{sp} est déterminée à partir d'un niveau énergétique bien connu tels que le niveau $4f_{7/2}$ de l'or ou le niveau $1s$ du carbone de contamination. Dans le cadre de ce travail, la fonction ϕ_{sp} a toujours été évaluée en utilisant le niveau $1s$ du carbone de contamination (LANGERON, 1988 ; MÅRTENSSON, 1988 ; ANDRADE, 1985).

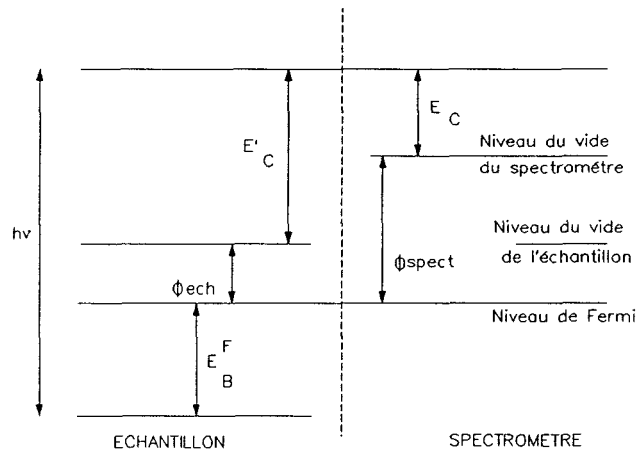


Figure 64 : Energie cinétique des électrons émis par un solide conducteur.

Remarque : Les valeurs des sections de capture, σ , et des énergies cinétiques, E_{cin} , des photoélectrons sont données dans le tableau 35

NOM	E_{cin}	σ
ALUMINIUM 2P	1413,5	0.4371
ALUMINIUM 2P	1413,5	0.4371
ALUMINIUM 2P1/2	1413	0.1811
ALUMINIUM 2P3/2	1414	0.356
ALUMINIUM 2S	1369	0.753
ARSENIC 2P1/2	128	14,07
ARSENIC 2P3/2	164	27,19
ARSENIC 3D	1446	1,821
ARSENIC 3P	1343	4,07
ARSENIC 3P1/2	1340	1,39
ARSENIC 3P3/2	1346	2,68
ARSENIC 3S	1283	1,32
AZOTE 1S	1088	1,8
BARYUM 3D	698,5	43,76
BARYUM 3D3/2	691	17,92
BARYUM 3D5/2	706	25,84
BARYUM 3P1/2	350	5,42
BARYUM 3P3/2	424	11,71
BARYUM 3S	194	3,84
BARYUM 4D	1395,5	5,86
BARYUM 4D3/2	1394	2,4
BARYUM 4D5/2	1397	3,46
BARYUM 4P	1301	4,07
BARYUM 4P1/2	1295	1,34
BARYUM 4P3/2	1307	2,73
BARYUM 4S	1234	1,13
BORE 1S	1299	0.486
BORE 2S	1482	0.022
CALCIUM 2P	1138	5,07
CALCIUM 2P1/2	1137	1,72
CALCIUM 2P3/2	1140	3,35

NOM	E_{cir}	σ
CALCIUM 2S	1049	2,59
CARBONE 1S	1203	1
CHLORE 2P	1286	2,29
CHLORE 2P1/2	1285	0,775
CHLORE 2P3/2	1287	1,51
CHLORE 2S	1217	1,69
CHROME 2P	907	11,67
CHROME 2P1/2	903	3,98
CHROME 2P3/2	912	7,69
CHROME 2S	792	3,91
FER 2P	770	16,42
FER 2P1/2	764	5,6
FER 2P3/2	777	10,82
FER 2S	641	4,57
FLUOR 1S	800	4,43
LITHIUM 1S	1432	0,0568
MAGNESIUM 1S	182	11,18
MAGNESIUM 2P	1435	0,3335
MAGNESIUM 2S	1398	0,575
NICKEL 2P	623	22,18
NICKEL 2P1/2	615	7,57
NICKEL 2P3/2	632	14,61
NICKEL 2S	479	5,16
OXYGENE 1S	955	2,93
PHOSPHORE 2P	1351	1,19
PHOSPHORE 2P1/2	1351	0,403
PHOSPHORE 2P3/2	1352	0,789
PHOSPHORE 2S	1298	1,18
PLOMB 4D	1063	21,89
PLOMB 4D3/2	1052	8,87
PLOMB 4D5/2	1074	13,02
PLOMB 4F	1346	22,74

NOM	E_{cin}	σ
PLOMB 4F5/2	1344	10,01
PLOMB 4F7/2	1349	12,73
POTASSIUM 2P	1191,5	3,97
POTASSIUM 2P1/2	1190	1,35
POTASSIUM 2P3/2	1193	2,62
POTASSIUM 2S	1110	2,27
POTASSIUM 3P	1469	0.3619
POTASSIUM 3S	1453	0.286
SILICIUM 2P	1387	0.82
SILICIUM 2P1/2	1387	0.276
SILICIUM 2P3/2	1388	0.541
SILICIUM 2S	1338	0.955
SODIUM 1S	415	8,520
SODIUM 2P	1456	0.1941
SODIUM 2S	1424	0.422
SOUFRE 2P	1322	1,68
SOUFRE 2P1/2	1322	0.567
SOUFRE 2P3/2	1323	1,11
SOUFRE 2S	1258	1,43
TITANE 2P	1029	7,91
TITANE 2P1/2	1026	2,69
TITANE 2P3/2	1032	5,22
TITANE 2S	923	3,24
TITANE 3P	1453	0.813
TITANE 3S	1428	0.473
ZINC 2P	454,5	28,72
ZINC 2P1/2	443	9,8
ZINC 2P3/2	466	18,92
ZINC 2S	293	5,76
ZINC 3D	1478	0.81
ZINC 3P	1400	2,828
ZINC 3S	1350	1,04

NOM	E_{cin}	σ
ZIRCONE 3D	1305	7,04
ZIRCONE 3D3/2	1303	2,87
ZIRCONE 3D5/2	1306	4,17
ZIRCONE 3P	1148	7,78
ZIRCONE 3P1/2	1141	2,64
ZIRCONE 3P3/2	1155	5,14
ZIRCONE 3S	1055	2,1

Figure 35 : Récapitulatif des sections de capture (SCOFIELD,1976) et des énergies cinétiques des photoélectrons.

ANNEXE 2 LE M.E.B. ET LA MICROANALYSE X

2.1 Principe de base de la microscopie électronique

Un faisceau d'électrons émis à partir d'un filament en tungsten est focalisé par un système de lentilles magnétiques sur la surface d'un échantillon placé sous vide (environ 10^{-6} torr). Comme l'électron est une particule chargée, son interaction avec l'échantillon est forte (interaction de Coulomb). Lorsqu'un faisceau d'électrons entre en collision avec un échantillon, il est diffusé par les plans atomiques de la surface. Ce qui provoque des changements de direction dans la trajectoire des électrons et également une perte partielle de leur énergie. Dans la matière, la trajectoire de l'électron est affectée par différents obstacles (multiples diffusions) et suit une trajectoire complexe. La figure 65 illustre les différents processus d'interaction des électrons incidents (primaires) avec l'échantillon analysé.

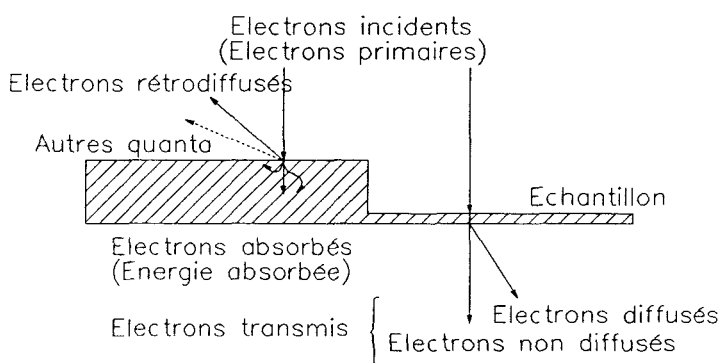


Figure 65 : Interaction des électrons avec la matière.

Lorsque des électrons homocinétiques frappent la surface d'un échantillon, une partie de ces électrons est réfléchiée dans la direction opposée (rétrodiffusion) sans modification de leur énergie et le reste est absorbé par la matière (rayons X et quanta). Si l'échantillon est suffisamment mince, les électrons peuvent le traverser (électrons transmis, diffusés et non diffusés).

La pénétration et les processus de diffusion au sein de la matière sont illustrés figure 66. Le volume d'excitation dépend du numéro atomique, pour les éléments légers ce volume s'apparente à une poire alors que pour les éléments lourds, il est de forme hémisphérique. La profondeur de diffusion, donc le volume excité, dépend de la tension d'accélération des électrons primaires.

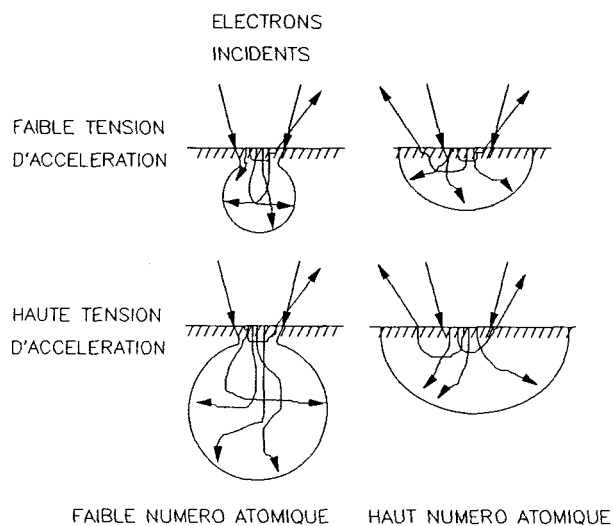


Figure 66 : Pénétration et diffusion des électrons dans la matière.

Au cours de leur diffusion, les électrons incidents perdent progressivement leur énergie jusqu'à absorption totale. Dans ce processus, des électrons secondaires (d'énergie inférieure à 50 eV) sont émis lorsque l'énergie des électrons "freinés" est plus grande que l'énergie nécessaire à l'ionisation des atomes de l'échantillon (atomes superficiels). De plus, l'effet Auger provoque l'émission des électrons Auger qui peuvent servir à l'analyse d'atomes très superficiels. Globalement à l'issue de l'interaction électrons primaires/surface bombardée, la plupart de l'énergie est convertie en chaleur, en rayons X, cathodoluminescence visible et infra-rouge et en électrons Auger ou secondaires. Les quanta émis (électrons Auger, secondaires, rayons X...) fournissent des informations qui décrivent la nature de l'échantillon : caractéristiques physico-chimiques, topographiques, cristallographiques...

Notre discussion se limitera aux phénomènes relatifs à l'émission d'électrons secondaires et au processus d'émission de photon X (microanalyse X).

Les électrons secondaires émis par les atomes superficiels sont collectés à partir d'une électrode positive, le signal résultant est ensuite amplifié à partir d'un circuit photomultiplicateur de manière à transcrire le signal sur un tube cathodique. L'étape consiste à synchroniser le balayage de la surface par le faisceau électronique primaire avec le faisceau du tube cathodique de l'écran vidéo.

La synchronisation s'effectue par l'intermédiaire d'une unité électronique appelée générateur de balayage. Concrètement, le principe du microscope électronique à balayage peut se comprendre en faisant l'analogie avec le microscope optique comme le montre la figure 67.

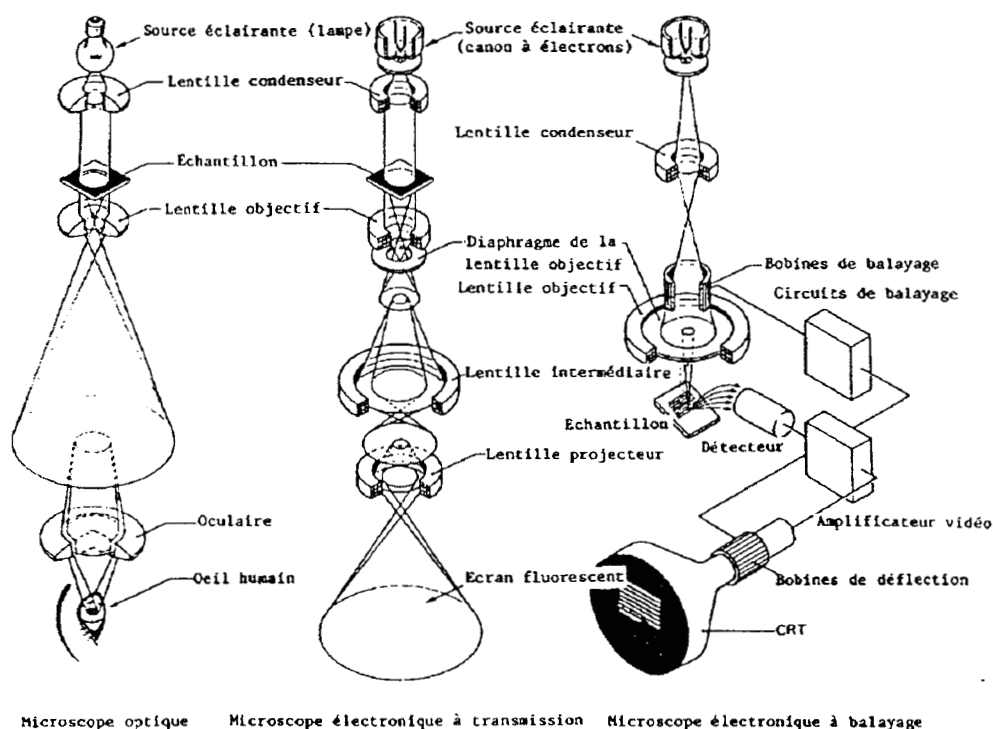


Figure 67 : Principe de base du microscope électronique à balayage.

D'un point de vue pratique, il est important de maîtriser la gamme des différents signaux et leur résolution spatiale (figure 68). Les électrons secondaires donnent principalement une information concernant la surface, ils diffusent peu à l'intérieur de l'échantillon et conviennent donc parfaitement pour observer les fines structures de surface avec une haute résolution. On

peut considérer que l'image en électrons secondaires est composée à partir d'électrons provenant des 60 premiers Angströms de la surface (PHILIBERT, 1978 ; FONTAINE, 1978 ; ADAMSON, 1982).

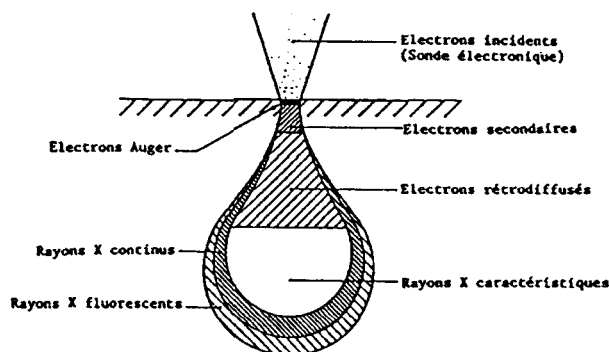


Figure 68 : Résolution spatiale et gamme des signaux en microscopie électronique à balayage.

2.2 Principe de base de la microanalyse X

2.2.1 Introduction

Le spectre X émis par une cible bombardée par un faisceau d'électrons convenablement accélérés résulte principalement des interactions inélastiques entre les électrons incidents et atomes de la cible. Ce spectre comporte d'une part le spectre continu (Bremstrahlung) ou rayonnement de freinage constitué par une distribution continue de l'intensité et d'autre part le spectre caractéristique représenté par une série discrète de raies d'intensité variable.

2.2.2 Le spectre continu

Le spectre continu trouve son origine dans le ralentissement des électrons incidents dans les champs électromagnétiques importants des noyaux des atomes de la cible. Au cours de l'interaction inélastique, la perte d'énergie d'un électron, ΔE , se traduit par l'émission d'un photon X d'énergie $h\nu = \Delta E$. De plus, lors d'un tel processus, il est probable que les électrons ne perdent pas toute leur énergie dans une seule collision mais subissent au contraire

de multiples collisions avant d'être définitivement stoppés dans l'échantillon. Chaque collision génère une perte d'énergie immédiatement convertie en photons X. Tous ces phénomènes se cumulent pour donner un spectre continu.

2.2.3 Le spectre caractéristique

Sous l'impact du faisceau incident (électrons de haute énergie), les électrons de coeur de l'atome de l'échantillon analysé sont éloignés de leurs orbites et quittent le niveau de coeur faisant apparaître "un trou". On passe donc d'un état d'équilibre à un état d'énergie plus élevé au cours de ce processus d'ionisation. Cet état instable conduit à une transition électronique au cours de laquelle le "trou" est comblé pour un électron des couches externe créant un autre trou sur un niveau encore moins profond (figure 69). La transition précédemment décrite produit de l'énergie, celle-ci est libérée sous la forme de photons X dont l'énergie n'est autre que la différence des deux états excités initial et final (ROOMANS, 1988 ; MAURICE, 1978 ; GOLDSTEIN et al., 1981).

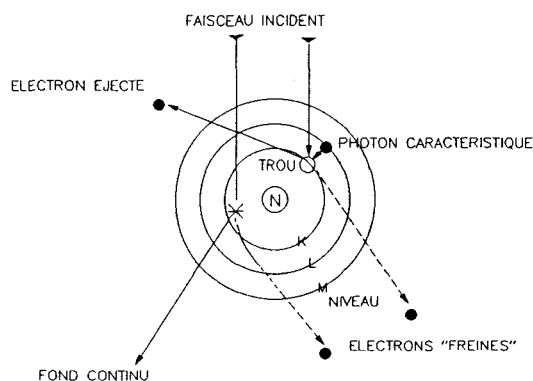


Figure 69 : Principe de génération des spectres caractéristiques et continus en microanalyse X.

Remarque : L'énergie libérée permet dans certains cas (éléments légers) d'éjecter un électron Auger.

2.2.4 Description de l'appareil

L'instrumentation d'un microanalyseur regroupe le microscope électronique et le système de micro-analyse. Le microscope électronique dont les principes de base ont été décrits précédemment est de marque JEOL type JSM 35CF.

La microanalyse est assurée par un spectromètre à sélection d'énergie (EDS) de marque LINK LZ5, il comprend un détecteur semi-conducteur, un système d'amplification, un analyseur multicanal et un système informatique. Son schéma de principe est résumé sur la figure 70.

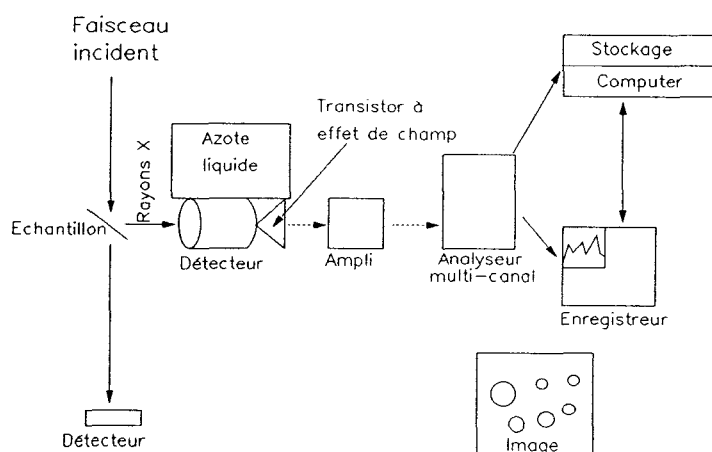


Figure 70 : Schéma de principe du spectromètre à sélection d'énergie (E.D.S).

ANNEXE 3 ACIER RECUIT BRILLANT (TYPE 1)

Décapage ionique et étude angulaire

Nous avons reporté dans cette annexe toutes les courbes de profils relatives aux études angulaires et sur le décapage ionique.

Celles-ci représentent l'évolution de la détection des éléments analysés (I) en fonction d'un paramètre étudié (température, angle d'analyse ou décapage ionique). Lors de l'étude de l'adsorption des acides nous avons utilisé la procédure suivante:

$$(I_x(t) - I_x(0)) / I_x(0) = f(t) \quad (12)$$

$I_x(t)$: intensité en (C/S) de l'élément X pour une durée d'adsorption t

$I_x(0)$: intensité en (C/S) de l'élément X de l'échantillon standard (nettoyé)

t : temps

celle-ci s'avère inapplicable au cas de la protéine. En effet certains signaux $I_x(0)$ (pour le nickel et le soufre) sont nuls et ne nous permettent pas de calculer le rapport d'intensité intervenant dans la formule (12).

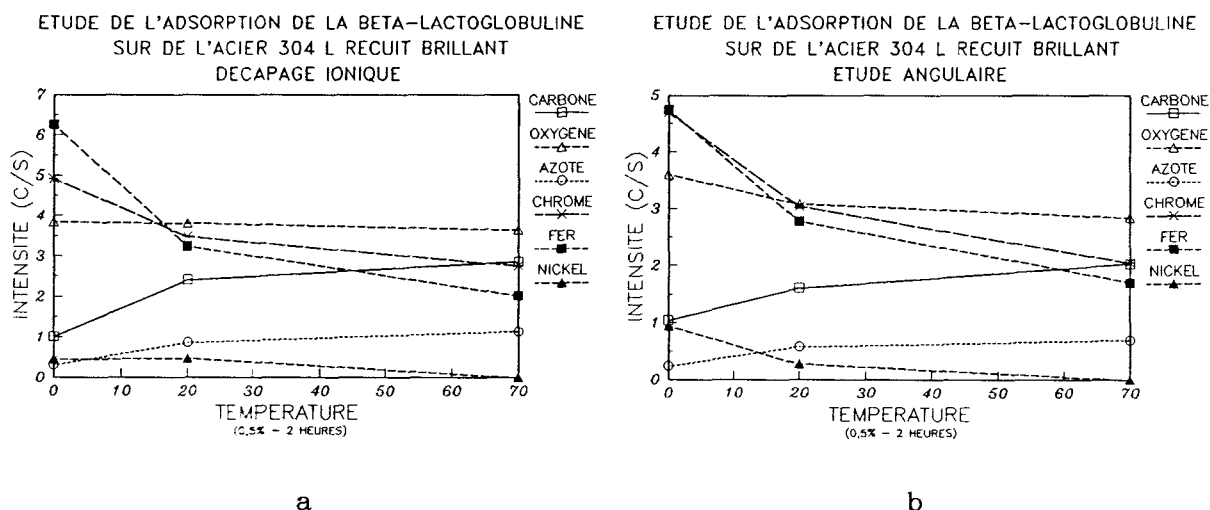
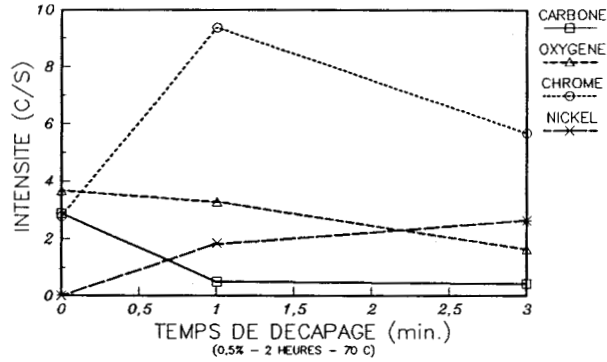
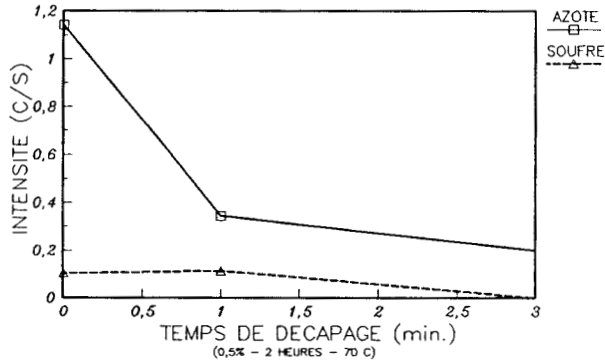


Figure 71 : Profils de détection de la protéine adsorbée en fonction de la température .(a étude sur le décapage ionique - b étude angulaire)

ETUDE DE L'ADSORPTION DE LA BETA-LACTOGLOBULINE
SUR DE L'ACIER 304 L RECUI BRILLANT
DECAPAGE IONIQUE



ETUDE DE L'ADSORPTION DE LA BETA-LACTOGLOBULINE
SUR DE L'ACIER 304 L RECUI BRILLANT
DECAPAGE IONIQUE



ETUDE DE L'ADSORPTION DE LA BETA-LACTOGLOBULINE
SUR DE L'ACIER 304 L RECUI BRILLANT
DECAPAGE IONIQUE

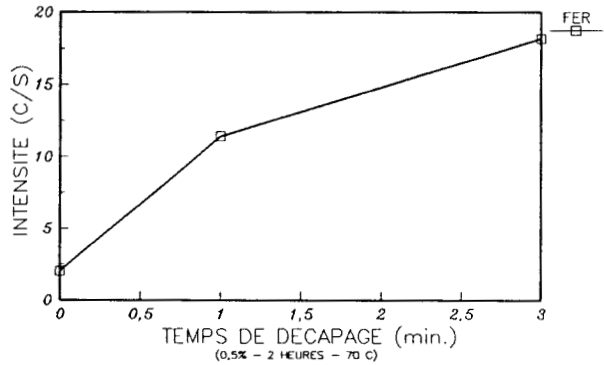
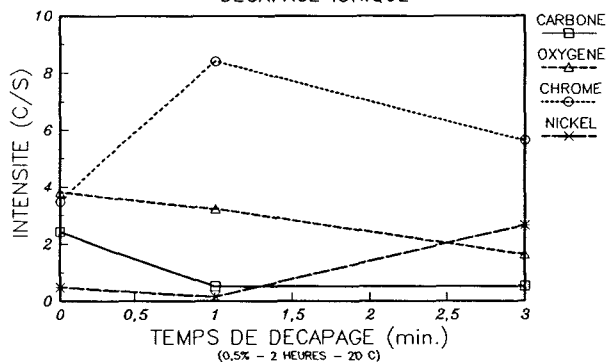
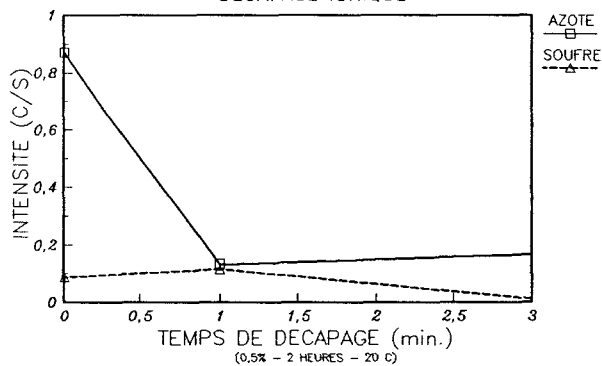


Figure 72 : Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 20°C) en fonction du temps de décapage.

ETUDE DE L'ADSORPTION DE LA BETA-LACTOGLOBULINE
SUR DE L'ACIER 304 L RECUIT BRILLANT
DECAPAGE IONIQUE



ETUDE DE L'ADSORPTION DE LA BETA-LACTOGLOBULINE
SUR DE L'ACIER 304 L RECUIT BRILLANT
DECAPAGE IONIQUE



ETUDE DE L'ADSORPTION DE LA BETA-LACTOGLOBULINE
SUR DE L'ACIER 304 L RECUIT BRILLANT
DECAPAGE IONIQUE

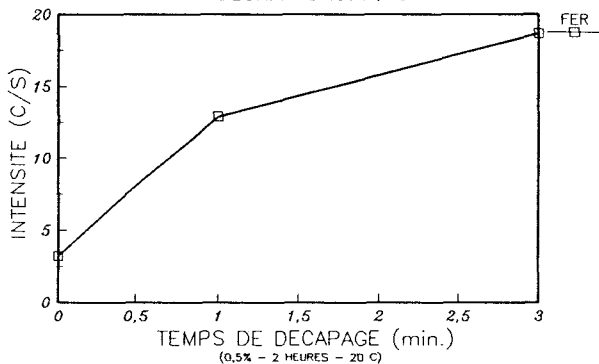
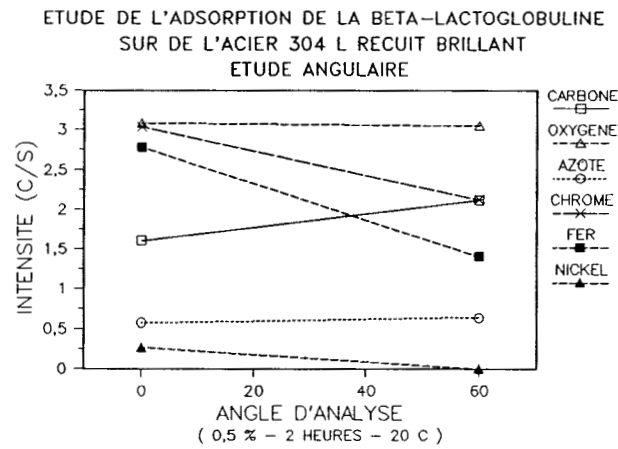
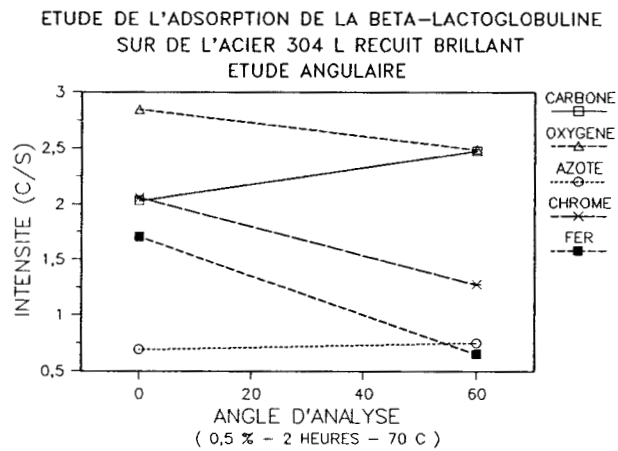


Figure 73 : Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 70°C) en fonction du temps de décapage.



a



b

Figure 74 : Profils de détection de la protéine adsorbée a) 2 heures-20°C
b) 2 heures-70°C) en fonction de l'angle d'analyse.

ANNEXE 4 ACIER GLACE 2B (TYPE 2)

Décapage ionique et étude angulaire

Nous avons reporté dans cette annexe toutes les courbes de profils relatifs aux études angulaires et sur le décapage ionique. Celles-ci ont été établies suivant la procédure décrite en annexe 3.

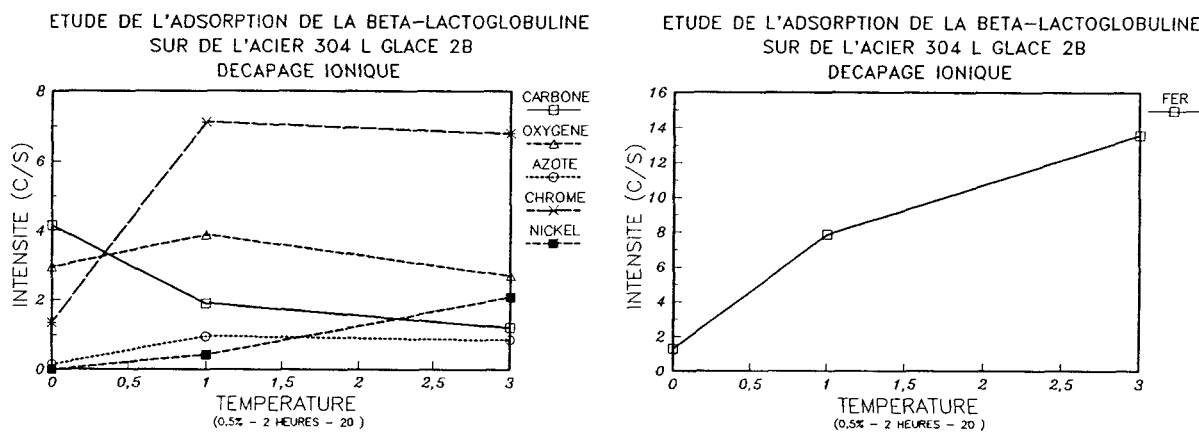


Figure 75 : Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 20°C) en fonction du temps de décapage.

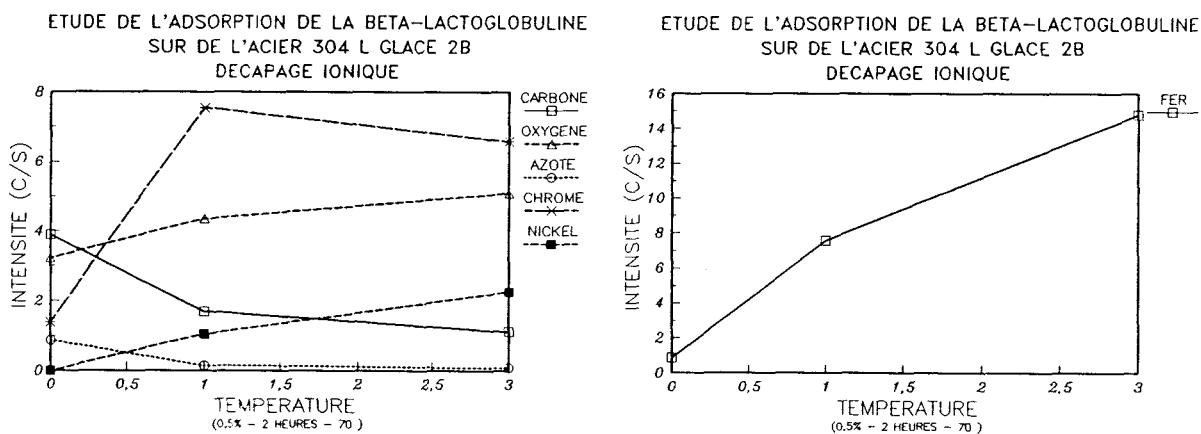


Figure 76 : Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 70°C) en fonction du temps de décapage.

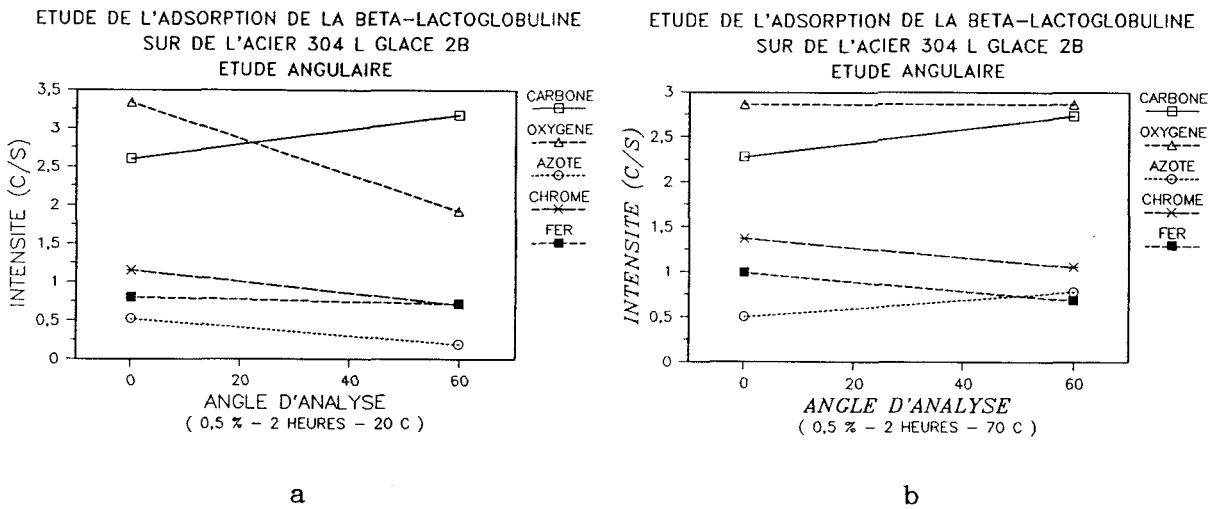


Figure 77 :Profils de détection de la protéine adsorbée a) 2 heures-20°C b) 2 heures-70°C) en fonction de l'angle d'analyse.

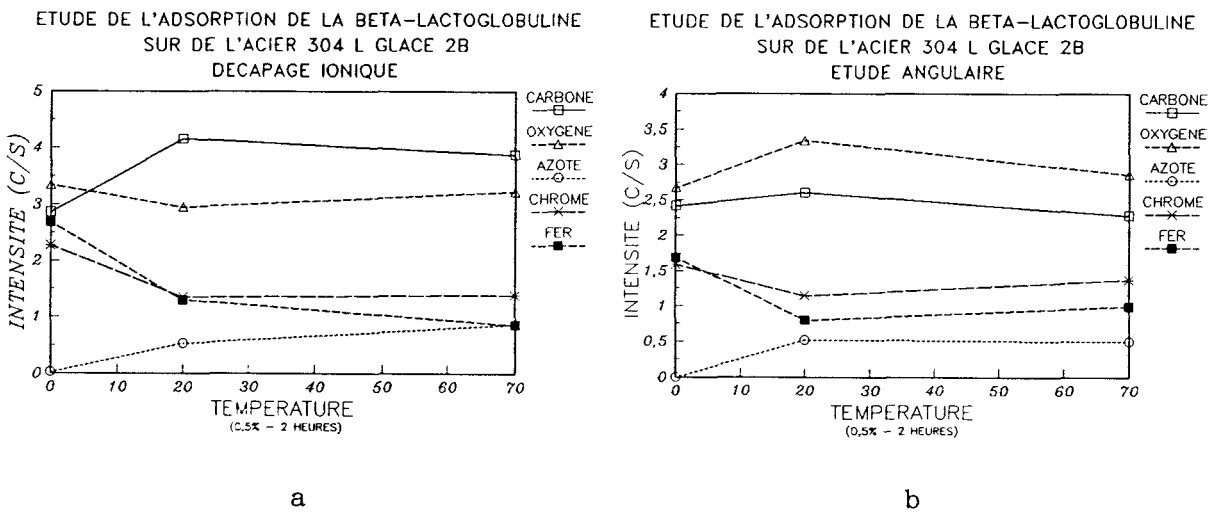


Figure 78 :Profils de détection de la protéine adsorbée en fonction de la température .(a étude sur le décapage ionique - b étude angulaire)

LISTE DES SYMBOLES

θ	: Angle d'inclinaison de l'échantillon	degrés
\AA	: Angström	10^{-10} m
h	: Constante de Planck	$6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s
D	: Debye	D
ρ	: Densité	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
E_{cin}	: Energie cinétique des électrons	eV
E_L^F	: Energie de liaison des électrons	eV
T	: Facteur transmission du spectromètre	eV
F	: Flux de photons incidents	U.S.I
ϕ_{sp}	: Fonction travail du spectromètre	eV
ν	: Fréquence	s^{-1}
I_X	: Intensité absolue détectée de l'élément "X"	C/S
λ	: Libre parcours moyen	\AA
M	: Masse molaire	$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$
μ	: Micron	10^{-6} m
N	: Nombre d'atomes par unité de volume	U.S.I
n	: Nombre d'électrons de valence	
X	: Profondeur analysée	\AA
σ	: Section de capture d'un photoélectron	10^{-28} m^2
T	: Température	($^{\circ}\text{C}$)
t	: Temps	min.

LISTE DES ABBREVIATIONS

E.D.S.	Spectroscopie à sélection d'énergie
E.S.C.A.	Spectroscopie d'électrons pour analyse chimique
H.E.M.A.	Hydroxy-éthyl-méthacrylate
I.R.	Infra-rouge
I.R.A.S.	Spectroscopie infra-rouge par absorption
M.E.B.	Microscopie électronique à balayage
M.M.A.	Méthyl-méthacrylate
P.M.S	Poly-méthacrylate
P.T.F.E	Poly-tetra-fluoro-éthylène
P.V.C.	Poly-vinyl-chlorure
P.V.F	Poly-vinyl-fluorure
P.V.F ₂	Poly-vinyldiène-fluorure
S.I.M.S.	Spectrométrie de masse d'ions secondaires
T.E.P.	Tonne équivalent pétrole
U.H.T	Ultra haute température
X.P.S.	Spectroscopie de photoelectron induite par rayons X

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1</u>	: Modèles de submicelles (A) et de micelle de caséine (B) (SCHMIDT, 1980); Le phosphate de calcium colloïdal est localisé entre les submicelles.	9
<u>Figure 2</u>	: Modèle de surface industrielle.	17
<u>Figure 3</u>	: Comportement post-adsorption d'une protéine à température constante (Mc GUIRE, 1989).	18
<u>Figure 4</u>	: Mode de fixation des protéines par le groupement acide (ROLLA, 1982).	23
<u>Figure 5</u>	: Mode de fixation des protéines par le groupement basique (ROLLA, 1982).	24
<u>Figure 6</u>	: Modes d'adsorption sur l'alumine (ULRICH et al, 1988).	28
<u>Figure 7</u>	: Réseaux cristallins.	34
<u>Figure 8</u>	: Structure primaire de la β -lactoglobuline (DALGLEISH, 1981).	38
<u>Figure 9</u>	: Structure de l'hélice α (LEHNINGER, 1981).	39
<u>Figure 10</u>	: Feuilletés β (LEHNINGER, 1981).	40
<u>Figure 11</u>	: Structure de la β -lactoglobuline (PAPIZ, 1986).	41
<u>Figure 12</u>	: Diagramme de titration d'un acide mono-aminé et mono-carboxylique (LEHNINGER, 1981).	44
<u>Figure 13</u>	: Principe de la photoémission.	51
<u>Figure 14</u>	: Principe de la désexcitation.	52
<u>Figure 15</u>	: Pics satellites, Shake-up, Shake-off.	52
<u>Figure 16</u>	: Libre parcours moyens dans les protéines.	56
<u>Figure 17</u>	: Inclinaison angulaire en E.S.C.A.	57
<u>Figure 18</u>	: Modèle du solide semi-infini rapporté par ANDRADE (1985).	63
<u>Figure 19</u>	: Spectres E.S.C.A. de l'azote (a) et du carbone (b) sur un acier recuit brillant non nettoyé.	64
<u>Figure 20</u>	: Spectres E.S.C.A de l'azote (a) et du carbone (b) sur un acier recuit brillant nettoyé	69
<u>Figure 21</u>	: Profil de détection de l'oxygène (a) et du fer (b) (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	74
<u>Figure 22</u>	: Profil de détection du carbone (a) et du chrome (b) (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	74

Figure 23	: Spectres du chrome a) état initial b) après adsorption (1 heure - 70 °C) (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	75
Figure 24	: Spectres du fer a) état initial b) après adsorption (1 heure - 70 °C) (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	76
Figure 25	: Profil de détection de l'azote (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	76
Figure 26	: Spectre de l'azote de la glycine adsorbé sur l'acier de type 1 (El=400 eV; 1 heure 70°C).	77
Figure 27	: Mécanisme d'adsorption des acides aminés.	78
Figure 28	: Profils de détection du carbone (a) et de l'azote (b) (adsorption de glycine sur l'acier de type 2).	81
Figure 29	: Profils de détection de l'oxygène (a) et du chrome (b) (adsorption de glycine sur l'acier de type 2).	81
Figure 30	: Profils de détection de l'azote (a) et du chrome (b) (adsorption de cystéine sur l'acier de type 1).	85
Figure 31	: Spectres du chrome a) état initial b) après adsorption (2 heures - 70 °C) (adsorption de cystéine sur l'acier de type 1).	86
Figure 32	: Spectres du fer a) état initial b) après adsorption (2 heures - 70 °C) (adsorption de cystéine sur l'acier de type 1).	86
Figure 33	: Profil de détection du soufre (adsorption de cystéine sur l'acier de type 1).	87
Figure 34	: Spectre du soufre de la cystéine adsorbée sur l'acier de type 1 (2 heures - 20°C)	88
Figure 35	: Profils de détection du carbone (a) et du soufre (b) (adsorption de cystéine sur l'acier de type 2).	91
Figure 36	: Profils de détection de l'azote (a) et du chrome (b) (adsorption de cystéine sur l'acier de type 2).	92
Figure 37	: Spectre du soufre de la cystéine adsorbée sur l'acier de type 2 (2 heures 40°C).	92
Figure 38	: Deuxième étape du mécanisme d'adsorption basé sur la réactivité des parties polaires des molécules.	93

Figure 39	: Profil de détection du soufre (adsorption de cystéine sur l'acier de type 2).	94
Figure 40	: Profils de détection du carbone (a) et du chrome (b) (adsorption de lysine sur l'acier de type 1).	98
Figure 41	: Profils de détection de l'azote (a) et de l'oxygène (b) (adsorption de lysine sur l'acier de type 1).	99
Figure 42	: Profils de détection de l'oxygène (a) et du chrome (b) (adsorption de lysine sur l'acier de type 2).	102
Figure 43	: Profils de détection du carbone (a) et de l'azote (b) (adsorption de lysine sur l'acier de type 2).	102
Figure 44	: Vue en coupe de la surface de l'acier glacé 2B - perte de détection dans les vallées intergranulaires.	103
Figure 45	: Profils de détection du carbone (a) et de l'oxygène (b) (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 1).	106
Figure 46	: Profils de détection de l'azote (a) et du chrome (b) (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 1).	107
Figure 47	: Modèle de détergence.	107
Figure 48	: Solubilisation des contaminations par le pôle hydrophobe.	108
Figure 49	: Spectres de l'azote (initial, 1 et 2 heures) (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 1).	109
Figure 50	: Profils de détection du carbone (a) et du chrome (b) (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 2).	111
Figure 51	: Profils de détection de l'oxygène (a) et de l'azote (b) (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 2).	112
Figure 52	: Spectres du carbone a) et de l'azote b) de la β -lactoglobuline adsorbée sur l'acier de type 1 (2 heures 70°C).	115
Figure 53	: Géométrie d'adsorption de la protéine en fonction de la température.	117
Figure 54	: Influence de l'inclinaison sur la détection.	117
Figure 55	: Spectre du soufre de la β -lactoglobuline adsorbée sur de l'acier de type 1 (2 heures 70°C).	118
Figure 56	: Modélisations d'interface rapportées par ANDRADE (1985).	120
Figure 57	: Profil des surfaces adsorbées après décapage.	121

Figure 58	: Liaisons hydrogène intervenant lors de l'adsorption de la β -lactoglobuline sur de l'acier.	123
Figure 59	: Spectre du soufre de la β -lactoglobuline adsorbée sur l'acier de type 2 (2 heures 70°C).	125
Figure 60	: Profil de la surface de l'acier glace 2B. Perte de détection lors de l'inclinaison angulaire.	126
Figure 61	: Ombrage occasionné par la protéine.	127
Figure 62	: Synthèse des tests d'adsorption sur l'acier 304 L.	131
Figure 63	: Schéma de principe d'un spectromètre E.S.C.A.	160
Figure 64	: Energie cinétique des électrons émis par un solide conducteur.	165
Figure 65	: Interaction des électrons avec la matière.	166
Figure 66	: Pénétration et diffusion des électrons dans la matière.	167
Figure 67	: Principe de base du microscope électronique à balayage.	168
Figure 68	: Résolution spatiale et gamme des signaux en microscopie électronique à balayage.	169
Figure 69	: Principe de génération des spectres caractéristiques et continus en microanalyse X.	170
Figure 70	: Schéma de principe du spectromètre à sélection d'énergie (E.D.S).	171
Figure 71	: Profils de détection de la protéine adsorbée en fonction de la température .(a étude sur le décapage ionique - b étude angulaire).	172
Figure 72	: Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 20°C) en fonction du temps de décapage.	173
Figure 73	: Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 70°C) en fonction du temps de décapage.	174
Figure 74	: Profils de détection de la protéine adsorbée a) 2 heures-20°C b) 2 heures-70°C) en fonction de l'angle d'analyse.	175
Figure 75	: Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 20°C) en fonction du temps de décapage.	176
Figure 76	: Profils de détection de la protéine adsorbée (2 heures - 70°C) en fonction du temps de décapage.	176

- Figure 77** : Profils de détection de la protéine adsorbée a) 2 heures-20°C b) 2 heures-70°C) en fonction de l'angle d'analyse. 177
- Figure 78** : Profils de détection de la protéine adsorbée en fonction de la température .(a étude sur le décapage ionique - b étude angulaire). 177

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u>	: Composition du lait de vache (ALAIS, 1975)	6
<u>Tableau 2</u>	: Composition chimique des différents acides aminés.	8
<u>Tableau 3</u>	: Composition moyenne des micelles de caséine du lait de vache (SCHMIDT, 1980)	9
<u>Tableau 4</u>	: Composition en acides aminés des protéines du lait (% de substances sèches) d'après ALAIS (1975).	11
<u>Tableau 5</u>	: Classification des encrassements selon EPSTEIN (1979).	12
<u>Tableau 6</u>	: Synthèse des différents paramètres à prendre en compte pour l'étude de l'adsorption des protéines (ANDRADE, 1985).	19
<u>Tableau 7</u>	: Constantes d'équilibre acido-basiques des acides aminés.	45
<u>Tableau 8</u>	: Références et caractéristiques des acides choisis	46
<u>Tableau 9</u>	: Espèces prédominantes en solution.	47
<u>Tableau 10</u>	: Résultats des analyses E.S.C.A. en fonction de l'angle d'inclinaison (θ) de l'échantillon.	65
<u>Tableau 11</u>	: Résultats des analyses E.S.C.A. en fonction du temps de décapage (t). Elément de référence: Carbone.	66
<u>Tableau 12</u>	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	73
<u>Tableau 13</u>	: Pourcentages atomiques (adsorption de glycine sur l'acier de type 1).	73
<u>Tableau 14</u>	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption de glycine sur l'acier de type 2).	80
<u>Tableau 15</u>	: Pourcentages atomiques (adsorption de glycine sur l'acier de type 2).	80
<u>Tableau 16</u>	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption de cystéine sur l'acier de type 1).	84
<u>Tableau 17</u>	: Pourcentages atomiques (adsorption de cystéine sur l'acier de type 1).	85
<u>Tableau 18</u>	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption de cystéine sur l'acier de type 2).	90

Tableau 19	: Pourcentages atomiques (adsorption de cystéine sur l'acier de type 2).	91
Tableau 20	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption de lysine sur l'acier de type 1).	97
Tableau 21	: Pourcentages atomiques (adsorption de lysine sur l'acier de type 1).	97
Tableau 22	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption de lysine sur l'acier de type 2).	101
Tableau 23	: Pourcentages atomiques (adsorption de lysine sur l'acier de type 2).	101
Tableau 24	: Variations des énergies de liaison de l'oxygène, l'azote et du chrome.	103
Tableau 25	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 1).	105
Tableau 26	: Pourcentages atomiques (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 1).	106
Tableau 27	: Valeurs des intégrales des spectres (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 2).	110
Tableau 28	: Pourcentages atomiques (adsorption d'acide octanoïque sur l'acier de type 2).	111
Tableau 29	: Pourcentages atomiques (adsorption de β -Lactoglobuline sur l'acier de type 1).	114
Tableau 30	: Pourcentages atomiques (étude angulaire) (adsorption de β -Lactoglobuline sur l'acier de type 1).	116
Tableau 31	: Pourcentages atomiques (décapage ionique) (adsorption de β -Lactoglobuline sur l'acier de type 1).	119
Tableau 32	: Pourcentages atomiques (adsorption de β -Lactoglobuline sur l'acier de type 2).	124
Tableau 33	: Pourcentages atomiques (décapage ionique) (adsorption de β -Lactoglobuline sur l'acier de type 2).	128
Tableau 34	: Synthèse des test d'adsorption.	136
Tableau 35	: Récapitulatif des sections de capture (SCOFIELD, 1976) et des énergies cinétiques des photoélectrons.	165



RESUME

Ce travail est lié aux problèmes d'encrassement des surfaces d'échange qui se manifestent lors du traitement thermique des produits laitiers. Il vise à mieux comprendre les mécanismes initiateurs de la formation des dépôts.

Dans cette optique, nous avons étudié l'adsorption de solutions biologiques (acides aminés, Bêta-Lactoglobuline) sur des aciers inoxydables austénitiques au moyen de techniques d'analyse de surface (spectroscopie de photoélectrons X, microscopie électronique à balayage, microanalyse X). Nous avons mis en évidence la présence de matière organique à l'interface et précisé d'une part les mécanismes intervenant lors de l'adhésion et d'autre part l'influence de l'état de surface de l'acier.

Si, pour les acides aminés l'interaction concerne les parties polaires terminales de la molécule et les hydroxydes de surface, pour la protéine elle résulte de l'orientation préférentielle des groupements carbonyles à l'interface.

Outre l'adsorption, nous avons constaté des phénomènes secondaires (fragmentation moléculaire, changement de conformation, passage en solution de métaux, comportement singulier du soufre organique) qui traduisent le rôle actif lors de l'adsorption de certains composants du film de passivation (notamment le fer).