

Synthèse, caractérisations et évaluation de l'activité bactéricide de composés inorganiques à base de cuivre Batiste Clavier

▶ To cite this version:

Batiste Clavier. Synthèse, caractérisations et évaluation de l'activité bactéricide de composés inorganiques à base de cuivre. Chimie inorganique. Le Mans Université, 2019. Français. NNT : 2019LEMA1041 . tel-03505884

HAL Id: tel-03505884 https://theses.hal.science/tel-03505884

Submitted on 1 Jan2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





THESE DE DOCTORAT DE CHIMIE

LE MANS UNIVERSITE Comue Universite Bretagne Loire

ECOLE DOCTORALE N° 596 Matière Molécules et Matériaux Spécialité : Chimie Inorganique

Par Batiste CLAVIER

Synthèse, caractérisations et évaluation de l'activité bactéricide de composés inorganiques à base de cuivre

Thèse présenté et soutenue au Mans, le 18 décembre 2019 Unité de recherche : Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMMM), UMR 6283 CNRS Thèse N° : 2019LEMA1041

Rapporteurs avant soutenance :

Sophie GANGLOFF, Professeur Université de Reims-Champagne-Ardenne Christine TAVIOT-GUÉHO, Professeur Université Clermont Auvergne

Composition du Jury :

Présidente

Christèle COMBES, Professeur, INP ENSIACET, Toulouse

Rapporteurs

Sophie GANGLOFF, Professeur Université de Reims-Champagne-Ardenne Christine TAVIOT-GUÉHO, Professeur Université Clermont Auvergne

Directeur de thèse

Gwenaël CORBEL, Chargé de Recherche Le Mans Université

Co-directrice de thèse

Christine ROQUES, Professeur - Praticien Hospitalier Université Paul Sabatier - Toulouse III

Invités

Alain BULOU, Professeur, Le Mans Université Thibaud CORADIN, Directeur de Recherche Sorbonne Université

Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMMM) à Le Mans Université. Cette thèse a été possible grâce à un contrat doctoral de Le Mans Université. En premier lieu, je tiens à remercier Jean-Marc GRENECHE puis Laurent FONTAINE, directeurs successifs de l'IMMM, et Vincent MAISONNEUVE puis Marie-Pierre CROSNIER-LOPEZ, responsables successifs de l'équipe Oxydes et Fluorures (OF) de m'avoir accueilli dans l'équipe.

Je remercie mon directeur de thèse, Gwenaël CORBEL de m'avoir encadré avec la plus grande attention pendant ces trois années de thèse. Son accompagnement, ses conseils, et sa rigueur scientifique ont permis à cette thèse de voir de jour et de la faire évoluer vers des éléments dont je n'aurai jamais imaginé l'importance s'il n'avait pas été présent. Encore merci pour la relecture attentive de mon manuscrit, qui a permis de l'améliorer considérablement. Malgré les nombreuses difficultés d'organisation, il a permis à la thèse d'être soutenue dans d'excellentes conditions et pour cela, je souhaite le remercier encore une fois. J'associe également aux remerciements Brigitte CHEVET et Jizhen HUANG, gestionnaires de l'Institut, pour les réservations et les annulations de dernière minute.

Un grand merci à ma co-directrice de thèse, Christine ROQUES, pour la réalisation des tests bactéricides, la bactériologie et la correction du manuscrit, ainsi qu'à son équipe du laboratoire FONDEREPHAR basée à Toulouse. L'activité bactéricide de mes échantillons n'aurait pas pu être réalisée sans l'aide du personnel du laboratoire : Catherine (Cathy) FEUILLOLAY, Céline LE GAC et Delphine PEREIRA, et des stagiaires Manon ALGANS et Victoria PELLIZARI. Merci à vous toutes pour votre contribution et votre implication dans ce projet, et du travail considérable fourni pour évaluer l'activité bactéricide de plusieurs dizaines de produits.

Je tiens à remercier Christine TAVIOT-GUÉHO et Sophie GANGLOFF d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse et de l'intérêt qu'elles ont porté sur mon travail. Je veux également associer aux remerciements Christèle COMBES qui a accepté d'être présidente de mon jury, Thibaud CORADIN et Alain BULOU, qui ont accepté de prendre part à l'examen de mes travaux. Je les remercie tous pour les échanges très enrichissants que nous avons eu au cours de la soutenance.

Je veux également remercier Amandine GUIET de m'avoir accordé sa confiance pendant les deux premières années de thèse. Je remercie aussi mon stagiaire de Master 2, Antonii ZHADAN pour le travail conséquent qu'il a pu fournir et pour sa grande implication dans ce projet de recherche. Je tiens également à remercier mon prédécesseur de Master 2, Téo BAPTISTE, pour le travail qu'il a pu réaliser, et sur lequel se base une partie de mes travaux. Je veux également remercier la plate-forme diffraction des rayons X et tout particulièrement Sandy AUGUSTE pour la formation pédagogique sur les différents appareils. La RMN du solide et la DFT n'aurait pas pu être réalisée sans Christophe LEGEIN et Monique BODY. Je tiens à les remercier pour leur travail conséquent sur l'acquisition et l'interprétation des spectres RMN et des calcules DFT. Je veux également remercier Vincent FERNANDEZ, de l'Institut des Matériaux Jean Rouxel de Nantes (IMN) pour son travail remarquable sur la partie XPS, permettant de caractériser l'état de surface de certains de mes échantillons. Je remercie encore une fois Alain BULOU pour la discussion et ses conseils autour de la spectroscopie infrarouge et RAMAN, ainsi que pour son aide apportée sur la détermination des modes de vibration. Je remercie Adi KASSIBA d'avoir pris beaucoup de son temps pour la RPE, ainsi qu'à Benoît SCHOEFS pour la fluorimétrie, même si au final ces études n'ont pas été couronnées de succès. Merci aussi à Christophe PAYEN de m'avoir initié au magnétomètre SQUID et d'avoir accepté, avec Catherine FAUR, d'avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse. La microscopie électronique n'aurait pas été possible sans l'aide d'Anthony ROUSSEAU, qui m'a également formé à utiliser les appareils. Je n'aurai jamais pu être autonome sur le MET sans son aide technique et scientifique. Un grand merci à Fabien BOUCHER de l'IUT Chimie du Mans pour la formation à la spectroscopie d'émission atomique et aux mesures BET, à Christelle PICHON pour la mise en place des séances de TPs à l'Université et à Mélanie JOLY pour les TPs à l'IUT. Je tiens aussi à remercier Christiane BERNE du pôle secrétariat pour son accueil et sa bonne humeur.

Je remercie également tous les membres de l'équipe OF de m'avoir fait une place dans l'équipe. Un grand merci à Cyrille GALVEN pour toute l'aide et tous les conseils qu'il a pu me prodiguer sur les appareillages du laboratoire, ainsi qu'à Jean-Yves BOTQUELEN. Un grand merci à Maud BARRE, Yohann BLIN, Sandrine COSTE, François GOUTENOIRE, Veyis GUNES et Anthony ROUSSEAU pour leur bonne humeur, les déjeuners pris au RU ou dans des restaurants, les pauses café du matin et de l'après-midi au distributeur ou au comptoir de Murielle, et les soirées chez François (Fgouten pour les intimes). J'espère avoir le plaisir de vous revoir dans un futur proche.

Je tiens à remercier Cyrille GALVEN, Zahra GOHARI, Amandine GUIET, Jérôme LHOSTE, Romain MOURY, Sébastien NOGAROTTO et Agnieszka WIZNER, le noyau dur des soirées au Mulli ou à l'Eléphant. Merci encore une fois à Sandy AUGUSTE pour sa bonne humeur à toute épreuve. Un grand merci à Antoine PAUTONNIER, mon collègue de bureau doctorant, et aussi de la patience dont il a fait preuve quand je m'énervais sur le logiciel d'affinement Fullprof quand il lui manquait une virgule ("ORDER !"). Je le remercie aussi, ainsi que tous les membres exécutifs, pour leur implication dans l'association ADoUM qui nous permet de passer de bons moments entre doctorants. Je veux également remercier Manel MISSAOUI, doctorante en physique, pour sa bonne humeur et l'écoute attentive dont elle fait preuve. Mon ressenti sur la thèse n'aurait pas été le même sans mon binôme Kévin LEMOINE, alias Lemoinite (ou Lemoinium selon l'humeur) au labo, ou Saletchang dans Monster Hunter, Dauntless, PUBG ou Starcraft. Tant de jeux, de bières, et de BK partagés. J'ai eu énormément de plaisir à partager de bons moments avec toi et j'espère que cela continuera par la suite, même si nos chemins, tant professionnels que personnels, risquent de se séparer.

Je veux également remercier mes amis de toujours. A Maxime MAHTOUT, avec qui je partage une amitié sans faille depuis 15 ans. Malgré nos parcours professionnels totalement différents, on a toujours réussi à garder le contact après le lycée et surtout, réussi à rester les mêmes. Toutes ces parties de Mario Kart Double Dash autour d'une bière, tous ces moments partagés, ces discussions, doivent perdurer. A Kim DOGUIE, pour le partage de nos centres d'intérêt communs depuis maintenant 10 ans et qui a toujours su, jusqu'à preuve du contraire, viser dans le mille en ce qui concerne mes préférences de jeux vidéos. A Simon ROQUES, avec qui je partage de bons moments autour d'une bière et/ou d'un KFC depuis plus de 8 ans, à mon arrivée à l'université.

Un grand merci à mes amis de prépa, dont l'amitié dure maintenant depuis plus de 9 ans : Hélène ARNOULD, Carole BELLONI, Marina CHARRIERRAS, Christelle DESPLAT, Pierre GIRARDEAU, Adrien HEREAU, Antoine MARENDET, Corentin PEUVREL, Davy POUPIN, Valentin SEREY, Anne TURPAUD, Stanislas VOISARD, Alexis VRIGNAUD. Tant de bons moments passés ensemble, les soirées chez l'un ou l'autre d'abord, mais surtout les nouvel ans, peut-être le seul moment où on arrive à se retrouver tous ensemble. Je trouve ça incroyable et assez émouvant de voir que, même si le temps passe, que chacun ait suivi son propre parcours dans des villes, des régions, voire même des pays différents, on arrive toujours à au moins garder le contact.

Je veux maintenant remercier chaleureusement toute ma famille pour tous les bons moments qu'on passe ensemble, qui a toujours su m'encourager, et qui a pu me procurer du réconfort dans les moments difficiles. Merci à mon père Alain CLAVIER, à ma mère Katherine NICOLAS, à mes trois sœurs Barbara « Wawa » et Magalie « Mag » CLAVIER, Flavy « Fafa » DERRIEN, à mon frère Olivier « Yéyé » SUEUR. Je veux également remercier mes beaux-frères et ma balle sœur : Eric MAGDELEINE pour Magalie, Duc Loc NGUYEN pour Flavy, Fabienne ANDRE pour Olivier ainsi que leurs enfants : Alma pour Barbara ; Quentin et Lisa pour Magalie et Eric ; Lou-Anh, Liem et Linh pour Flavy et Loc, et Pierre pour Olivier et Fabienne.

Je souhaite également remercier toutes les personnes que je n'ai pas nommées ici d'avoir contribué, à un moment ou à un autre de ma vie, à me faire devenir ce que je suis aujourd'hui. Enfin, je tiens aussi à vous remercier, cher lecteur, de l'attention que vous pourriez accorder à ce manuscrit.

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I - Bibliographie	7
1. Les infections nosocomiales 1.1. Généralités	11 11
1.2. Les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales	13
1.2.1. Définitions	13
1.2.2. Escherichia coli	15
1.2.3. Staphylococcus aureus	16
1.2.4. Pseudomonas aeruginosa	16
1.2.5. Le biofilm bactérien	17
1.3. Modes de transmission des infections nosocomiales	18
1.3.1. Sources de contamination	18
1.3.2. Survie des micro-organismes dans l'environnement et rôle du biofilm	19
1.4. Moyens de lutte contre les infections nosocomiales	20
1.4.1. Antibiotiques et résistance des bactéries	20
1.4.2. Contrôle des contaminations de surface en milieu hospitalier	24
 Evaluation de l'activité antibactérienne d'un agent antibactérien 2.1. Méthode de diffusion 	26 26
2.2. Méthode de dilution	27
2.3. Cinétique de bactéricidie	28
 Origine de l'activité bactéricide des particules à base de métaux 3.1. Mode d'action liée aux cations métalliques Mⁿ⁺ 	31 32
3.2. Mode d'action lié à la nanoparticule elle-même	33
3.3. Mode d'action lié aux espèces réactives de l'oxygène	33
4. Etat des connaissances sur les composés inorganiques antibactériens et leurs mécanismes de bactéricidie	34
4.1. L'argent métallique et l'oxyde d'argent Ag ₂ O	34
4.1.1. L'argent métallique : historique et nanoparticules	34
4.1.2. Oxydation de l'argent métallique : activité antibactérienne de Ag ₂ O	36
4.1.3. Origine de l'activité bactéricide de l'argent	37
4.2. Le cuivre métallique et ses oxydes	38
4.2.1. Le cuivre métallique	38
4.2.2. Corrosion du cuivre métallique	41

4.2.3. Les oxydes de cuivre : Cu ₂ O et CuO	42
4.2.4. Origine de l'activité du cuivre et de ses oxydes	45
4.2.5. Résistance des bactéries au cuivre	46
4.3. Composés à base de magnésium	47
4.3.1. L'oxyde de magnésium MgO - activité et mécanismes de bactéricidie associés	47
4.3.2. Instabilité de MgO vis-à-vis de l'eau et du CO ₂ et ses conséquences sur son activité	
bactéricide	48
4.3.3. Le fluorure de magnésium MgF ₂	50
4.3.4. Intérêt de composés à base de magnésium comme agent antibactérien	51
4.4. L'oxyde de zinc ZnO	51
4.5. Conclusion sur les composés inorganiques antibactériens	53
5. Intégration de composés inorganiques antibactériens dans des objets	55
5.1. Les surfaces/revêtements antibactériens	55
5.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne de surfaces in vitro	56
5.1.2. Potentiel antibactérien de surfaces fonctionnalisées en milieu hospitalier	57
5.2. Les textiles antibactériens	59
5.2.1. Méthodes de production de textiles antibactériens	59
5.2.2. Evaluation in vitro d'activité antibactérienne de textiles fonctionnalisés par des partice	ules
inorganiques	60
5.2.3. Résistance des textiles vis-à-vis de lavages répétés	63
5.2.4. Potentiel antibactérien de textiles fonctionnalisés en milieu hospitalier	64
6. Conclusion et contexte de la thèse	65
Références du chapitre l	67
Chanitre II - Matériels et méthodes	75
1 Tachniques de synthèse	70
1.1. Voie céramique ou réaction dans l'état solide	79
1.2 Voie colvethermale	80
1.2. Vole solvotilermale	81
1.2. Vole solvothermale 1.3. Précipitation et coprécipitation 1.4. Mécanosynthèse	81
1.2. Vole solvothermale 1.3. Précipitation et coprécipitation 1.4. Mécanosynthèse 1.5. Réactifs utilisés.	81 81 81
 1.2. Vole solvothermale 1.3. Précipitation et coprécipitation 1.4. Mécanosynthèse 1.5. Réactifs utilisés 2. Techniques de caractérisation 	81 81 82 82
 1.2. Vole solvothermale 1.3. Précipitation et coprécipitation 1.4. Mécanosynthèse 1.5. Réactifs utilisés 2. Techniques de caractérisation 2.1. Diffraction des Rayons X sur poudre 	81 81 82 83 83
 1.2. Vole solvothermale 1.3. Précipitation et coprécipitation 1.4. Mécanosynthèse 1.5. Réactifs utilisés 2. Techniques de caractérisation 2.1. Diffraction des Rayons X sur poudre 2.1.1. DRX à température ambiante 	81 81 82 83 83 83
 1.2. Vole solvothermale 1.3. Précipitation et coprécipitation 1.4. Mécanosynthèse 1.5. Réactifs utilisés 2. Techniques de caractérisation 2.1. Diffraction des Rayons X sur poudre 2.1.1. DRX à température ambiante 2.1.2. DRX en température 	81 81 82 83 83 83 83

2.3. Affinement des structures cristallines par la méthode de Rietveld	85
2.4. Spectroscopies	88
2.4.1. Spectroscopie infrarouge	88
2.4.2. Spectroscopie Visible-Proche Infrarouge	88
2.4.3 Résonance magnétique nucléaire du solide	89
2.5. Analyse thermogravimétrique	91
2.6. Microscopies électroniques	92
2.6.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	92
2.6.2. Microscopie électronique en transmission (MET)	93
2.7. Détermination de la taille des nanoparticules	94
2.7.1. Mesures de surface spécifique par adsorption de diazote	94
2.7.2. Détermination de la taille des domaines de diffraction cohérente	95
3. Activité bactéricide des échantillons	97 97
3.2 Méthode	97
4. Stabilité des échantillons vis-à-vis de l'environnement 4.1. Stabilité vis-à-vis de l'eau	99 99
4.2. Stabilité vis-à-vis d'une atmosphère humide contrôlée10	00
4.3. Stabilité vis-à-vis du CO $_2$ humide10	01
Références du chapitre II10	02
Chapitre III - La solution solide Mg _{1-x} Cu _x O du diagramme binaire MgO-CuO	03 07
 Préparation des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO sous la forme de particules de taille micrométrique par voie céramique1² 	[.] la 11
2.1. Synthèse1	11
2.2. Caractérisations1	12
3. Préparation des oxydes mixtes Mg _{1-x} Cu _x O sous la forme de particules de taille nanométrique partir de précurseurs hydroxydes1	e à 14
3.1. Coprécipitation de précurseurs hydroxydes1	14
3.1.1. Synthèse des hydroxydes mixtes Mg _{1-x} Cu _x (OH) ₂ 1	14
3.1.2. Identification des échantillons1	16
3.1.3. Influence de la substitution sur la structure des hydroxydes	27
3.1.4. Origine de l'expansion de la maille au cours de la déshydratation	30
3.2. Préparation des oxydes Mg _{1-x} Cu _x O par décomposition thermique des hydroxydes « Mg ₁₋ _x Cu _x (OH) ₂ »1	32

4. Stabilité des oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ et des hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » vis-à-vis de l'hydrolyse et de CO_2 humide	u 6
4.1. Stabilité des oxydes Mg _{1-x} Cu _x O vis-à-vis de l'eau130	6
4.1.1. Stabilité vis-à-vis de l'eau liquide130	6
4.1.2. Stabilité vis-à-vis d'une atmosphère humide13	8
4.2. Stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis du CO ₂ humide14	1
4.2.1 Carbonatation des hydroxydes Mg(OH) ₂ et Mg _{0,85} Cu _{0,15} (OH) ₂ 14	1
4.2.2 Carbonatation des oxydes MgO et Mg _{0,8} Cu _{0,2} O14	2
4.3. Etude de la Nesquehonite144	4
4.3.1. Tentatives de synthèse des carbonate hydratés Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .yH ₂ O14	5
4.3.2. Caractérisations14	5
4.3.3. Stabilité des carbonates Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .yH ₂ O dans le temps15	3
5. Evaluation et origine de l'activité bactéricide des composés154	4
5.1. Activité bactéricide des oxydes et des hydroxydes154	4
5.1.1. Activité bactéricide des oxydes Mg _{1-x} Cu _x O154	4
5.1.2. Activité bactéricide des hydroxydes « Mg _{1-x} Cu _x (OH) ₂ »159	9
5.1.3. Mécanisme bactéricide associé16	1
5.2. Activité bactéricide des composés Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .γH ₂ O16 ⁻	7
6. Conclusion	2
Références du chapitre III173	3
Chapitre IV - Etude de la partie riche en cuivre du diagramme binaire MgO-CuO	7
1. Introduction	1
2. La solution solide Cu _{1-x} Mg _x O existe-t-elle?	2
2 1 1 Synthèse 18	2
2 1 2 Caractérisation structurale	3
2.1.3. Morphologie des particules	0
2.2 Les oxydes mixtes Cut. Mg. O	3
2.2.1 Préparation	3
2.2.2 Mornhologie des particules	5
2 La composé Cu Ma O	0
4. Etude de la stabilité des exudes et hydroxydes vis à vis de l'hydrohyse et du CO, humide 200	1
4. Etude de la stabilité des oxydes et nydroxydes vis-a-vis de l'hydroxyse et du CO_2 numide	1
4.1.1. Stabilité des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O et Mg ₂ Cu ₅ O ₇ vis-à-vis de l'eau liquide201	1

4.1.2. Stabilité des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O vis-à-vis de d'une atmosphère humide	202
4.2. Stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis du CO ₂ humide	203
4.2.1. Stabilité des hydroxydes Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	203
4.2.2. Stabilité des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O et Mg ₂ Cu ₅ O ₇	204
4.3. La solution solide Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂ existe-t-elle ?	205
4.3.1. Synthèse des hydroxycarbonates Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂	206
4.3.2. Caractérisations	207
 Evaluation et origine de l'activité bactéricide des oxydes et hydroxydes 5.1. Activité bactéricide des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ 	214 214
5.1.1. Résultats	214
5.1.2. Origine de la bactéricidie des hydroxydes Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	216
5.2. Activité bactéricide des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O	220
5.2.1. Résultats	220
5.2.2 Origine de la bactéricidie des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O	224
5.3. Activité bactéricide des hydroxycarbonates Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂	226
6. Conclusion	229
Références du chapitre IV	230
Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates	233
1. Choix des phosphates étudiés : présentation du diagramme ternaire MgO-CuO-P $_2O_5$ et de	
phosphates hydroxylés	237
2. Les hydroxyphosphates de cuivre	242
2.1. Structure cristalline, synthèse et caractérisations du composé Cu ₂ (PO ₄)OH	242
2.2. Structure cristalline, synthèse et caractérisations du composé Cu ₃ (P ₂ O ₆ OH) ₂	248
3. Le système $Cu_2P_2O_7$ -Mg ₂ P ₂ O ₇	254
3.1. Les composés définis Cu ₂ P ₂ O ₇ et Mg ₂ P ₂ O ₇	257
3.1.1. Synthèse	257
3.1.2. Caractérisations	257
3.2. Etude de la solution solide $Cu_{2-x}Mg_xP_2O_7$ ($0 \le x \le 2$)	260
4. Le système Cu ₃ (PO ₄) ₂ -Mg ₃ (PO ₄) ₂	265
4.1. Les composés définis Cu ₃ (PO ₄) ₂ et Mg ₃ (PO ₄) ₂	266
4.1.1. Synthèse	266
4.1.2. Caractérisations	267
4.2. Les solutions solides Cu _{3-x} Mg _x (PO ₄) ₂ et Mg _{3-x} Cu _x (PO ₄) ₂	270
4.2.1. La solution solide Cu _{3-x} Mg _x (PO ₄) ₂	270
4.2.2. La solution solide Mg _{3-x} Cu _x (PO ₄) ₂	273

5. Les oxyphosphates de cuivre	277
5.1. Le composé Cu₄O(PO₄)₂	278
5.2. Le composé Cu₅O₂(PO₄)₂	281
6. Etude de la stabilité des composés définis vis-à-vis de l'hydrolyse	283
7. Évaluation de l'activité bactéricide des phosphates	287
7.1. Activité bactéricide des composés définis	287
7.2. Activité bactéricide des solutions solides	290
8. Conclusion	294
Références du chapitre V	295
Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?	299
1. Les fluorures MF ₂ (M = Mg, Cu, Zn)	303
1.1. Structures cristallines des fluorures MgF ₂ , CuF ₂ , et ZnF ₂	303
1.2. La nouvelle solution solide $Mg_{1-x}Cu_xF_2$	305
1.2.1. Synthèse et caractérisation structurale	305
1.2.2. Caractérisations de l'ordre local par RMN-MAS du solide	308
1.2.3. Morphologie des particules	312
1.3. La nouvelle solution solide $Mg_{1-x}Zn_xF_2$	316
1.3.1. Synthèse et caractérisation structurale	316
1.3.2. Caractérisations de l'ordre local par RMN-MAS du solide	319
1.3.3. Morphologie des particules	321
2. Les hydroxyfluorures M(OH)F (M = Mg, Cu, Zn), produits d'hydrolyse des fluorures	323
2.1. Structures cristallines des hydroxyfluorures Mg(OH)F, Zn(OH)F et Cu(OH)F	323
2.2. Synthèse de l'hydroxyfluorure de magnésium Mg(OH)F	325
2.3. L'hydroxyfluorure de cuivre Cu(OH)F	326
2.3.1. Synthèse	326
2.3.2. Identification et caractérisation de l'hydroxyfluorure obtenu	326
2.4 L'hydroxyfluorure de zinc Zn(OH)F	330
2.4.1. Synthèse	330
2.4.2. Détermination du taux d'hydroxylation du composé Zn(OH) _{1+x} F _{1-x}	330
2.4.3. Caractérisation structurale de l'hydroxyfluorure obtenu	332
2.5. Essais de substitutions : Cu _{1-x} Zn _x (OH)F et Zn _{1-x} Cu _x (OH)F	339
3. Les fluorophosphates M_2PO_4F (M = Mg, Cu, Zn)	340
3.1. Structures cristallines de Mg ₂ PO ₄ F, Cu ₂ PO ₄ F et Zn ₂ PO ₄ F	340
3.2. Synthèse	341

3.3. Caractérisations structurales et morphologiques des particules	2
3.4. Substitution du cuivre par le magnésium et le zinc : Cu _{2-x} (Mg,Zn) _x PO ₄ F348	8
4. Stabilité des fluorures et des fluorophosphates vis-à-vis de l'hydrolyse	1
4.1. Stabilité des fluorures Mg _{1-x} Cu _x F ₂ et Mg _{1-x} Zn _x F ₂ 352	1
4.2. Stabilité des fluorophosphates Cu ₂ PO ₄ F-nano et Zn ₂ PO ₄ F-nano353	3
5. Evaluation de l'activité bactéricide des composés vis-à-vis d'E. coli	5
5.1. Activité bactéricide des fluorures Mg _{1-x} (Cu,Zn) _x F ₂ 355	5
5.2. Activité bactéricide des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F	C
5.3. Activité bactéricide des fluorophosphates	2
6. Conclusion	7
Références du chapitre VI	Э
Conclusion générale et perspectives	3
Annexes	4
Annexe 1	С
Annexe 2	١
Liste des communications et actions de diffusion de la culture scientifique	S
Publication : Enhanced bactericidal activity of brucite through partial copper substitution	V

Introduction générale

Les infections nosocomiales constituent à l'heure actuelle une problématique majeure de santé publique. La dernière enquête publiée en juin 2018 par Santé Publique France (SPF) révèle qu'un patient hospitalisé sur 20 présente au moins une infection nosocomiale. On les définit comme étant toute infection contractée en milieu hospitalier et absente lors de l'admission du patient à l'hôpital. Les organismes responsables des infections nosocomiales sont nombreux : les bactéries constituent le réservoir le plus important, mais des virus, des champignons ou des parasites peuvent également être en cause. Dans le cas des bactéries, on assiste également à une augmentation du nombre de souches résistantes aux antibiotiques, ce qui complique considérablement leur traitement et augmente les temps et les coûts de séjour à l'hôpital. Le coût humain de la résistance de certaines bactéries aux antibiotiques est également lourd : l'antibiorésistance serait responsable de près de 4000 décès prématurés par an, d'après la même enquête de Santé Publique France.

Devant la difficulté à découvrir de nouveaux antibiotiques, des recherches ont été entreprises pour limiter le développement des bactéries en milieu hospitalier. Une des stratégies proposées consiste à conférer à des objets ou des surfaces une propriété antibactérienne. Derrière le terme antibactérien se cache deux notions différentes (hors effet sur l'adhésion) : la propriété bactériostatique, dont le but est d'empêcher le développement des bactéries sur une surface ou un objet, et la propriété bactéricide, dont le rôle est de tuer les bactéries.

Certains composés inorganiques présentent des propriétés bactériostatiques et/ou bactéricides. L'argent métallique est fréquemment cité pour ses propriétés bactéricides, mais son activité est faible, voire inexistante à température ambiante et en conditions d'hygrométrie limitée. Le cuivre métallique et ses alliages présentent une forte activité bactéricide vis-à-vis de certaines bactéries dans les conditions normales de température et d'humidité. Toutefois, ce métal est facilement oxydable, conduisant à la formation à la surface du métal de composés cuivreux (ion Cu⁺) ou cuivriques (ion Cu²⁺). Afin de s'affranchir des problèmes d'oxydation, il peut être intéressant d'étudier des composés inorganiques à base d'ions cuivrique (Cu²⁺), comme par exemple l'oxyde de cuivre CuO.

Le cuivre n'est pas le seul élément à présenter une activité bactéricide. L'oxyde de magnésium MgO et l'oxyde de zinc ZnO partagent également cette propriété. Ces oxydes présentent l'avantage par rapport à l'oxyde de cuivre d'être plus économiques, mais seul l'oxyde MgO n'est pas écotoxique. Toutefois, les oxydes MgO et ZnO présentent une activité bactéricide moins importante que celle de CuO. L'instabilité de l'oxyde de magnésium vis-à-vis de l'hydrolyse et de la carbonatation peut également constituer une problématique dans son utilisation comme agent bactéricide. En effet, si

3

l'activité de l'oxyde de magnésium est bien répertoriée dans la littérature, celle de ses produits d'hydrolyse et/ou de carbonatation l'est beaucoup moins.

Dans la littérature, les oxydes et les hydroxydes métalliques sont très étudiés pour leurs propriétés bactéricides. Les autres composés tels que les carbonates, les phosphates ou les fluorures, par exemple, sont bien moins étudiés de ce point de vue. Ce constat a donc amené à s'intéresser au cours de ce travail de thèse à une large gamme de composés inorganiques à base de cuivre, de magnésium et de zinc : les oxydes et hydroxydes bien entendu, mais aussi des carbonates, des phosphates, des hydroxyphosphates, des fluorures, des hydroxyfluorures et des fluorophosphates.

Chaque composé inorganique présente par rapport aux autres à la fois des avantages, mais aussi des inconvénients. Dans cette thèse, des substitutions partielles des ions magnésium par les ions cuivrique ou *vice versa* ont été entreprises dans le but d'exacerber les activités de composés bactéricides connus (effet de synergie), voire même de procurer des propriétés bactéricides à des composés inactifs.

Le travail de la thèse s'est focalisé sur la synthèse, la caractérisation et l'évaluation de l'activité bactéricide de composés inorganiques à base principalement de cuivre et de magnésium, tous dans leur état d'oxydation +II (ion M²⁺ avec M = Cu, Mg), dont la plupart sont déjà connus de la littérature. De par le caractère exploratoire du travail, de très nombreux composés inorganiques ont été étudiés. Ce travail constitue donc une première étape dans la recherche de nouveaux composés inorganiques pouvant présenter une forte activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus,* deux bactéries impliquées dans près de 40% des infections nosocomiales. Afin de se rapprocher au mieux des conditions réelles d'utilisation potentielle de ces composés inorganiques (milieu hospitalier, par exemple), toutes les activités bactéricides ont été évaluées dans l'eau et à température ambiante (20°C). La stabilité des composés vis-à-vis de l'eau et/ou du CO₂ pouvant impacter le bactéricidie observée, l'effet de ces interactions particules/environnement a également été étudié dans le détail.

Ce travail de thèse est divisé en six chapitres :

- Le chapitre I dressera un état de l'art sur les infections nosocomiales, leur origine et leur transmission, les moyens de prévention actuellement mis en place dans les hôpitaux et leurs limites. Puis, après avoir défini les méthodes d'évaluation de l'activité bactéricide d'un composé, une revue bibliographique sera menée sur quatre éléments chimiques dont les composés présentent une activité antibactérienne (bactériostatique ou bactéricide): l'argent, le cuivre, le magnésium et le zinc. Les explications mises en avant dans la littérature quant à leur mode d'action seront également confrontées entre elles. Pour finir, une revue bibliographique sur l'incorporation de composés inorganiques antibactériens dans des surfaces et/ou des objets sera brièvement présentée.

 Le chapitre II présentera les différentes techniques de synthèse, de caractérisation, et d'évaluation de l'activité bactéricide des composés inorganiques à base de cuivre préparés dans le cadre de cette thèse.

- Les chapitres III et IV s'intéresseront à la synthèse, à la caractérisation, et à l'évaluation du potentiel bactéricide des oxydes mixtes appartenant au diagramme binaire MgO-CuO, respectivement dans la partie riche en magnésium (Mg_{1-x}Cu_xO, chapitre III) et dans la partie riche en cuivre (Cu_{1-x}Mg_xO, chapitre IV). L'incidence de la nanostructuration des particules d'oxydes, quand elle est possible, a été également regardée. Cette nanostructuration a impliqué la synthèse de deux séries de précurseurs inédits Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ et Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ au sein desquels les deux cations Mg²⁺ et Cu²⁺ sont déjà associés avant leur décomposition thermique en oxydes mixtes. Ces oxydes et hydroxydes mixtes réagissant avec le dioxyde de carbone atmosphérique, il était donc naturel d'étudier également les produits de cette interaction : des carbonates ou des hydroxycarbonates mixtes. L'activité bactéricide des oxydes mixtes ayant été évaluée dans l'eau, cette activité a été comparée à celles des hydroxydes qui résultent de leur hydrolyse et à celles des carbonates mixtes compte tenu des applications visées.

- Afin de réduire la basicité des oxydes à base de magnésium à l'origine de leur hydrolyse et carbonatation, une combinaison avec le pentoxyde de phosphore acide P₂O₅ a été envisagée. Comme précédemment, des substitutions partielles Mg/Cu et Cu/Mg ont été réalisées. L'étude de ces phosphates mixtes a fait l'objet du chapitre V qui constitue une suite logique aux chapitres III et IV précédents. Plusieurs solutions solides et composés définis du diagramme ternaire MgO-CuO-P₂O₅ ont été réétudiés afin de déterminer leur activité bactéricide qui jusqu'à présent était totalement inconnue.

5

- Dans la littérature, le fluorure de magnésium présente une activité bactériostatique. Par analogie avec l'étude du diagramme binaire MgO-CuO, une substitution inédite des ions magnésium par les ions cuivriques (et zinc) a été tentée dans l'espoir de conférer une activité bactéricide à MgF₂. Deux nouvelles solutions solides de formulation Mg_{1-x}Cu_xF₂ et Mg_{1-x}Zn_xF₂ ont ainsi été découvertes dont les étendues ont été déterminées. Comme ces derniers sont peu stables en environnement humide, des hydroxyfluorures M(OH)F ainsi que des fluorophosphates M₂PO₄F seront également étudiés. Le chapitre VI est consacré à ces fluorures, ainsi qu'à l'étude de leur activité bactéricide.

Ce manuscrit se terminera par une conclusion qui rassemblera l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette thèse. Des perspectives à ces travaux seront enfin proposées.

Chapitre I - Bibliographie

Chapitre I - Bibliographie

Chapitre I - Bibliographie

1. Les infections nosocomiales	11
1.1. Généralités	11
1.2. Les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales	13
1.2.1. Définitions	13
1.2.2. Escherichia coli	15
1.2.3. Staphylococcus aureus	16
1.2.4. Pseudomonas aeruginosa	16
1.2.5. Le biofilm bactérien	17
1.3. Modes de transmission des infections nosocomiales	18
1.3.1. Sources de contamination	18
1.3.2. Survie des micro-organismes dans l'environnement et rôle du biofilm	19
1.4. Moyens de lutte contre les infections nosocomiales	20
1.4.1. Antibiotiques et résistance des bactéries	20
1.4.2. Contrôle des contaminations de surface en milieu hospitalier	24
2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'un agent antibactérien	26
2.1. Méthode de diffusion	26
2.2. Méthode de dilution	27
2.3. Cinétique de bactéricidie	28
3. Origine de l'activité bactéricide des particules à base de métaux	31
3.1. Mode d'action liée aux cations métalliques M ⁿ⁺	32
3.2. Mode d'action lié à la nanoparticule elle-même	33
3.3. Mode d'action lié aux espèces réactives de l'oxygène	33
4. Etat des connaissances sur les composés inorganiques antibactériens et leurs mécanismes de	24
	34
4.1. L'argent metallique et l'oxyde d'argent Ag ₂ O	34
4.1.1. L'argent metallique : historique et nanoparticules	34
4.1.2. Oxydation de l'argent métallique : activité antibactérienne de Ag ₂ O	36
4.1.3. Origine de l'activité bactéricide de l'argent	37
4.2. Le cuivre métallique et ses oxydes	38
4.2.1. Le cuivre métallique	38
4.2.2. Corrosion du cuivre métallique	41
4.2.3. Les oxydes de cuivre : Cu ₂ O et CuO	42
4.2.4. Origine de l'activité du cuivre et de ses oxydes	45

4.2.5. Résistance des bactéries au cuivre46
4.3. Composés à base de magnésium47
4.3.1. L'oxyde de magnésium MgO - activité et mécanismes de bactéricidie associés47
4.3.2. Instabilité de MgO vis-à-vis de l'eau et du CO₂ et ses conséquences sur son activité bactéricide
4.3.3. Le fluorure de magnésium MgF ₂ 50
4.3.4. Intérêt de composés à base de magnésium comme agent antibactérien51
4.4. L'oxyde de zinc ZnO51
4.5. Conclusion sur les composés inorganiques antibactériens53
5. Intégration de composés inorganiques antibactériens dans des objets
5.1. Les surfaces/revêtements antibactériens55
5.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne de surfaces in vitro
5.1.2. Potentiel antibactérien de surfaces fonctionnalisées en milieu hospitalier
5.2. Les textiles antibactériens59
5.2.1. Méthodes de production de textiles antibactériens
5.2.2. Evaluation in vitro d'activité antibactérienne de textiles fonctionnalisés par des particules inorganiques
5.2.3. Résistance des textiles vis-à-vis de lavages répétés63
5.2.4. Potentiel antibactérien de textiles fonctionnalisés en milieu hospitalier
5. Conclusion et contexte de la thèse65
Références du chapitre l67

1. Les infections nosocomiales

1.1. Généralités

Les infections nosocomiales, et de manière plus globale les infections associées aux soins constituent une problématique qui a toujours existé, même si elle était peu ou mal identifiée avant le début de l'ère industrielle. Dès le XIX^e siècle, les médecins de l'époque avaient observé une forte mortalité dans les quartiers hospitaliers réservés aux enfants, qui initialement souffraient d'une autre pathologie ⁽¹⁾. L'introduction de mesures pour limiter la prolifération des bactéries comme le confinement des patients et l'amélioration des conditions d'hygiène avait permis de réduire la mortalité d'un facteur cinq. Dans les années 1950 et 1960, les infections nosocomiales sont connues mais pas encore totalement prises en considération. Ce n'est qu'à partir de la fin des années 1970 que le monde scientifique commence à s'y intéresser, et il a fallu attendre le début des années 2000 pour que le grand public prenne conscience de l'importance du phénomène dans les hôpitaux, sensibilisés après la diffusion dans les médias d'histoires marquantes.

Dans son rapport publié en 2011⁽²⁾, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) rend publique la prévalence des infections nosocomiales dans différents pays. En moyenne, dans les pays à fort revenu, 7,6% des patients contractent au moins une infection nosocomiale pendant leur séjour à l'hôpital. Derrière ce chiffre se cache une forte disparité selon les conditions d'hospitalisation (service, durée,...) et les caractéristiques des patients : en Europe, les patients acceptés dans les services de soins intensifs ont entre 30 et 50% de risque de contracter une infection nosocomiale pendant leur séjour, du fait du nombre important de systèmes invasifs utilisés comme les cathéters ou des respirateurs. Tous patients et services confondus, les bactéries les plus fréquemment responsables des infections nosocomiales sont : E. coli (20,1%), S. aureus (17,8%), P. aeruginosa (11,5%) et les entérobactéries (hors E. coli) (10,6%). Dans les unités de soins intensifs par contre, ce sont S. aureus (21,8%), les entérobactéries (hors E. coli) (20,2%) et P. aeruginosa (17,2%) qui sont majoritaires. Dans les pays à faible et moyen revenu, la problématique des infections nosocomiales est encore plus critique. D'une part, tous les pays n'ont pas forcément un système de surveillance des infections nosocomiales et d'autre part les infections nosocomiales sont beaucoup plus répandues touchant entre 10 et 15% des patients acceptés à l'hôpital. Cette proportion peut monter jusqu'à 40% dans certains services de soins intensifs. Par ailleurs se surajoute généralement un fort taux d'incidence des bactéries ayant acquis des mécanismes de résistance, du fait d'un défaut de maîtrise de la prescription des antibiotiques.

Chapitre I - Bibliographie

Ces infections nosocomiales se manifestent chez le patient, au niveau de différents sites. En Europe, quatre pathologies représentent près de 80% des infections nosocomiales ⁽³⁾ : les infections urinaires, les infections du site opératoire, les pneumopathies et les infections sanguines ou septicémies. En France, l'institut de Veille Sanitaire (InVS) remplacé en 2016 par l'Agence Nationale de Santé Publique (ANSM) est l'établissement en charge de la surveillance des infections nosocomiales. Des enquêtes nationales ont lieu tous les cinq ans sur tout le territoire. La dernière étude s'est déroulée sur la période comprise entre le 15 mai et le 30 juin 2017, et donne des statistiques sur la prévalence des infections nosocomiales ⁽⁴⁾. Elle est de 5,21%, soit deux points de moins que la moyenne mondiale établie par l'OMS la même année, mais ce chiffre monte à plus de 27% pour les patients admis en service de réanimation. L'étude montre également quelles sont les tranches d'âge touchées, les bactéries mises en cause, et les pathologies associées. On constate que presque la moitié des infections nosocomiales est contractée par les personnes de plus de 65 ans, et parmi toutes les personnes infectées, ceux ayant nécessité la mise en place d'un système invasif ont 4,5 fois plus de risques de développer une infection ; la durée d'hospitalisation est également un paramètre clé. Les bactéries mises en cause par ordre de prévalence sont E. coli (23,6%), S. aureus (13,8%), les entérobactéries hors E. coli (12,8%) et P. aeruginosa (6,3%) (tableau 1). Les pathologies associées sont les mêmes que celles relevées dans le rapport de l'European Center for Disease Prevention and Control (ECDC)⁽³⁾, avec plus de la moitié impliquée dans une infection respiratoire ou urinaire ou une septicémie. De manière générale, ce tableau montre aussi que la majorité des infections nosocomiales est d'origine bactérienne : Candida albicans, un champignon microscopique unicellulaire n'arrive qu'en dixième position, avec une part relative de 1,5%.

Micro-organisme	Nombre de micro-organismes isolés	Part relative (%)
Escherichia coli	904	23,6
Staphylococcus aureus	601	13,8
Enterococcus faecalis	288	6,5
Pseudomonas aeruginosa	285	6,3
Klebsiella pneumoniae	266	5,6
Staphylococcus epidermidis	251	5,4
Enterobacter cloacae	185	3,8
Proteus mirabilis	130	2,9
Clostridium difficile	83	2,3
Candida albicans	67	1,5
Enterococcus faecium	66	1,5

Tableau 1 : Prévalences relatives des micro-organismes les plus fréquemment impliqués dans les infections r	nosocomiales
en France. D'après ⁽⁴⁾	

Micro-organisme	Nombre de micro-organismes isolés	Part relative (%)
Staphylocoque coagulase négative	66	1,4
Staphylococcus haemolyticus	52	1,0
Autres Streptocoques	51	1,4
Citrobacter koseri	49	1,3
Morganella spp.	48	0,8
Klebsiella oxytoca	44	1,2
Enterobacter aerogenes	42	1,0
Autres Pseudomonas spp.	35	0,8
Autres micro-organismes	709	16,3
Total	4232	100

Tableau 1 (suite) : Prévalences relatives des micro-organismes les plus fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales en France. D'après⁽⁴⁾

1.2. Les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales

1.2.1. Définitions

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, c'est-à-dire dépourvus de noyau, et caractérisées par une très grande ubiquité si l'on considère les environnements colonisés. Elles constituent le premier réservoir de biomasse et sont impliquées dans de très nombreux processus biologiques.

On peut définir les bactéries selon deux principales caractéristiques : la morphologie et la nature de la paroi cellulaire. D'autres caractéristiques existent pour les identifier, que l'on n'abordera pas dans le cadre de cette thèse. La morphologie de la bactérie est la caractéristique la plus reconnaissable, car elle est directement observable au microscope. Trois formes sont prédominantes chez les bactéries : la forme sphérique (coque), la forme allongée (bacille) et la forme très allongée (vibrion ou spirille) (figure 1). Selon les modes de regroupement, un préfixe peut être ajouté : "diplo-" pour des bactéries associées par deux, "tétra-" pour celles qui s'associent en tétrades. Certains arrangements sont considérés spécifiques de familles ou genres (arrangement en chaînette pour les streptocoques et entérocoques).



Figure 1 : Les différentes formes des bactéries (Source Larousse)

La deuxième caractéristique importante qui définit les bactéries est leur paroi cellulaire. Elle peut être classifiée en deux groupes, déterminée par la couleur de la bactérie suite à la coloration de Gram, du nom du bactériologiste Hans Christian Joachim Gram qui le mit au point en 1884. Le protocole de coloration de Gram est présenté sur la figure 2. Un agent colorant ionique violet, le violet de gentiane est tout d'abord appliqué sur des bactéries fixées sur une lame de verre. Puis, une solution contenant des ions iodures l⁻ est ajoutée afin de fixer la coloration dans la bactérie. Le dépôt bactérien est ensuite rincé à l'éthanol. En fonction de la nature de la paroi bactérienne, l'éthanol va pouvoir (bactéries à Gram -) ou non (bactéries à Gram +) décolorer les bactéries. La dernière étape consiste enfin à recolorer les bactéries avec un colorant ionique rouge ou orangé (safranine ou fuchsine). On dit que la bactérie est à Gram négatif si elle prend une coloration allant du rouge au rosé et à Gram positif si elle conserve une coloration violette.



Figure 2 : Protocole de coloration de Gram et photographies de bactéries suite à l'application de ce protocole

La figure 3 schématise respectivement la structure des parois cellulaires des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi cellulaire est composée d'une couche épaisse (20 à 80 nm) de peptidoglycane, un assemblage réticulé de chaînes polysaccharidiques (sucres) et de peptides (acides aminés) associée à la membrane cytoplasmique. Elle est imperméable à l'éthanol, ce qui explique la conservation de la coloration violette prise par les bactéries suite au test de Gram. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi cellulaire est plus complexe, composée d'une membrane externe et de la membrane cytoplasmique entre lesquelles s'intercale une couche plus fine (10 nm) de peptidoglycane. Ceci explique pourquoi la coloration violette n'est pas retenue au cours du test de Gram après le lavage à l'éthanol. Ces différences entre les parois cellulaires sont importantes à prendre en compte, car elles conditionnent les interactions avec le milieu environnant et notamment l'accessibilité de la cible pour les antibiotiques.



Figure 3 : Représentation schématique de la structure des bactéries à Gram + (à gauche) et à Gram - (à droite). D'après ⁽⁵⁾ Trois bactéries seront étudiées en particulier dans le cadre de cette étude bibliographique : *Escherichia coli, Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa*. Ce choix a été motivé par le fait qu'elles font partie des bactéries les plus étudiées et sont également les plus incriminées dans les infections nosocomiales.

1.2.2. Escherichia coli

Escherichia coli ou *E. coli* (figure 4) est une bactérie à Gram négatif très commune chez les mammifères où elle constitue une part importante de la flore intestinale. Elle se présente sous la forme de bâtonnets allongés de 2 μ m environ. Son développement est optimal en milieu aérobie à des températures proches de celles des mammifères à sang chaud, soit entre 35 et 38°C. Si la plupart des souches sont inoffensives, certaines sont également pathogènes par la production de facteurs de

virulence spécifiques. Les infections provoquées sont le plus souvent des gastro-entérites et des infections urinaires.



Figure 4 : *E. coli* - observation en microscopie électronique à balayage

1.2.3. Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus ou S. aureus (figure 5) est une bactérie à Gram positif également présente au sein du microbiote humain, avec la notion de porteurs sains. Cette bactérie se présente sous la forme de sphères de moins de 1 µm de diamètre qui se regroupent en grappes. Bien que S. aureus soit considéré comme un pathogène, il ne se manifeste que dans des conditions particulières. Il est responsable d'une grande variété d'infections, comme des infections de la peau, des intoxications alimentaires, ou des septicémies.



Figure 5 : S. aureus – observation en microscopie électronique à balayage

1.2.4. Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa ou *P. aeruginosa* (figure 6) est une bactérie à Gram négatif se présentant sous la forme de bâtonnets de 2 µm de longueur. C'est une bactérie très ubiquitaire, rencontrée dans les sols et dans les milieux humides. Cette bactérie, dite pathogène opportuniste, est fréquemment responsable de pneumonies et à un moindre degré de septicémies, on la retrouve aussi dans les infections urinaires, les infections de la peau suite à une brûlure ou une blessure, ou encore dans les otites.



Figure 6 : P. aeruginosa – observation en microscopie électronique à balayage

1.2.5. Le biofilm bactérien

Les bactéries peuvent vivre de manière individuelle, aussi appelé mode de vie planctonique, ou collective. Ce deuxième mode de vie se nomme biofilm. Il s'agit d'une communauté de microorganismes souvent symbiotiques, qui produisent une matrice extracellulaire leur permettant d'adhérer aux surfaces et entre eux, mais également de se protéger contre les agressions extérieures. La formation d'un biofilm est décrite dans la littérature selon un modèle de développement en cinq étapes (figure 7)^(6, 7):

- Tout d'abord, des bactéries initialement en mouvement libre commencent à s'adsorber à la surface par l'intermédiaire de forces attractives non covalentes de type Van der Waals. Comme ces forces sont en concurrence avec le libre mouvement des bactéries, un équilibre se crée entre le rapprochement des bactéries d'une part et leur éloignement de la surface. Cette première étape est appelée attachement réversible.

 Dans une seconde étape, les bactéries commencent à sécréter des molécules (protéines,...) à leur surface qui vont permettre de l'ancrer durablement à la surface, par formation de multiples liaisons de faible énergie. C'est l'étape d'attachement irréversible.

- Au cours de la troisième étape et de la quatrième étape, les bactéries vont se multiplier en sécrétant une matrice polymérique composée essentiellement de sucres : elles forment des microcolonies se présentant sous la forme de piliers d'épaisseur variable. Les espaces séparant les microcolonies deviennent les canaux du biofilm à l'intérieur desquels les fluides nutritifs, les gaz, ainsi que les éléments provenant du métabolisme microbien peuvent circuler. Le biofilm se structure et devient mature. Une des caractéristiques des bactéries sous forme sessile, c'est à dire qui ont adhéré à un substrat, est la détection du quorum (ou Quorum Sensing en anglais), qui se définit comme un processus de communication chimique entre une même population bactérienne qui contrôle l'expression du génome. Il conduit alors à des spécificités par rapport à la population planctonique en termes de perte de sensibilité aux agents antimicrobiens et/ou d'expression des facteurs de virulence (8).

17

- Une fois le biofilm parfaitement développé ou mature, les bactéries qui le constituent peuvent se détacher et ainsi coloniser de nouvelles surfaces. C'est l'étape de dissémination.



Figure 7 : Les étapes de formation du biofilm bactérien. Adapté de Krik E. Anderson - Genetics, Genomics and Microbial Ecology (https://www.alfredstate.edu/files/downloads/Anderson-lab-Research.pdf)

1.3. Modes de transmission des infections nosocomiales

1.3.1. Sources de contamination

Les sources de contamination par les bactéries en milieu hospitalier sont particulièrement nombreuses. Un rapport de l'OMS publié en 2002 liste deux grands réservoirs de bactéries impliquées dans les infections nosocomiales ⁽⁹⁾ :

- <u>Les personnes</u>. Le corps humain véhicule un grand nombre de bactéries dont certaines sont dites commensales (non pathogènes dans des conditions normales), mais d'autres peuvent être des pathogènes opportunistes, voire intrinsèquement pathogènes. Ces bactéries peuvent alors se transmettre par contact direct entre les personnes. Les mains sont les premiers vecteurs de ces agents pathogènes : Pittet *et coll.* ⁽¹⁰⁾ montrent en 1999 que la contamination bactérienne des mains du personnel de santé au contact de patients infectés augmentait à la vitesse moyenne de 16 unités formant colonies par minute. Ces bactéries, qu'elles appartiennent à la flore résidante (bactéries appartenant par exemple au microbiote cutané, cas le plus fréquent) ou à la flore dite transitoire, peuvent alors être transmises à d'autres patients si aucune mesure n'est mise en place. La deuxième grande voie de contamination interhumaine est la voie orale.

- <u>L'environnement.</u> Comme pour la transmission de personne à personne, il s'agit d'un mode de contamination de type exogène qui se caractérise par une colonisation et éventuellement une infection du patient sain *via* le contact avec des surfaces ou des objets contaminés ^(11, 12), la nourriture ⁽¹³⁾, ou encore par l'air respiré ⁽¹⁴⁾. Ces bactéries peuvent alors survivre et conserver leur potentiel pathogène pendant plusieurs semaines dans les conditions habituelles de température et d'humidité sur des textiles ou des plastiques utilisés dans les hôpitaux ⁽¹⁵⁾. Ce mode de transmission

est particulièrement fréquent, de par le nombre de textiles, objets, ou surfaces potentiellement contaminées et la difficulté à maîtriser ces types de contaminations.

Les sources de contamination sont donc particulièrement nombreuses, et il est parfois difficile d'en déterminer l'origine exacte. Gastmeier *et coll.* estiment en 2006 ⁽¹⁶⁾ qu'en moyenne, plus du tiers des épidémies nosocomiales sont d'origine indéterminée. Parmi celles dont la cause a été identifiée, environ 55% proviennent d'une transmission entre personnes (personnel hospitalier colonisé/infecté ou patient colonisé/infecté), et 45% de l'environnement. L'étude montre également une très forte disparité du mode de contamination en fonction de la bactérie incriminée. Par exemple, la transmission entre les personnes prédomine pour les staphylocoques à près de 80% tandis que pour les bactéries de l'espèce *Pseudomonas*, c'est la transmission *via* l'environnement qui est prépondérante (80%). La figure 8 suivante schématise les voies de transmission des organismes pathogènes.



Figure 8 : Schéma des voies de transmission des organismes pathogènes. Adapté de ⁽¹⁷⁾

1.3.2. Survie des micro-organismes dans l'environnement et rôle du biofilm

De nombreuses études ont mis en évidence la capacité des micro-organismes à survivre sur des surfaces inertes. Kramer *et coll.* en font la synthèse dans un article publié en 2006 ⁽¹⁸⁾. Ils montrent que certaines bactéries pouvaient persister plusieurs années sur une surface sèche et inanimée (tableau 2). Ils relèvent également une très forte dispersion du temps de survie pour une bactérie donnée. A titre d'exemple, *E. coli,* impliquée dans un quart des infections nosocomiales, peut persister entre 90 minutes et 16 mois. Ces différences proviennent vraisemblablement de la nature des souches bactériennes utilisées, de la nature des surfaces (bien qu'aucune corrélation n'ait été trouvée par les auteurs), de la concentration bactérienne ou encore du protocole de test (température, humidité etc.). L'étude relève également une persistance accrue des bactéries à Gram +.

Bactérie	Type (Gram + ou Gram -)	Persistance
Escherichia coli	Gram -	90 minutes - 16 mois
Staphylococcus aureus	Gram +	7 jours - 7 mois
Enterococcus spp.	Gram +	5 jours - 4 mois
Pseudomonas aeruginosa	Gram -	6 heures - 16 mois
Klebsiella spp.	Gram -	2 heures - 30 mois
Clostridium difficile	Gram +	5 mois

Tableau 2 : Persistance de quelques bactéries sur des surfaces sèches inanimées. D'après ⁽¹⁸⁾

Le biofilm possède un rôle important dans les infections nosocomiales. En effet, de par sa capacité à adhérer aux surfaces, à résister aux traitements physiques et chimiques et à disséminer des cellules microbiennes, le biofilm agit comme :

- un réservoir : la contamination est générée par la dissémination de bactéries issues du biofilm. Ce mode de contamination est particulièrement problématique dans les systèmes impliquant des mouvements d'air et d'eau comme par exemple les systèmes de climatisation ou les canalisations d'eau potable, car le biofilm y est souvent difficilement accessible et permet aux bactéries d'être facilement disséminées.

 - un foyer : la contamination est provoquée par le contact physique direct avec le biofilm. Ce mode de contamination est particulièrement cité pour être la cause majeure des infections nosocomiales liées à l'utilisation d'un système invasif, comme des cathéters ou des implants médicaux ^(7, 19, 20).

1.4. Moyens de lutte contre les infections nosocomiales

1.4.1. Antibiotiques et résistance des bactéries

Les antibiotiques se définissent comme étant des substances essentiellement d'origine naturelle ou synthétique pour quelques-unes ayant la capacité d'inhiber la croissance ou de tuer des bactéries. Depuis la découverte du premier antibiotique par Sir Alexander Fleming en 1928 (pénicilline), un grand nombre de molécules antibiotiques ont été découvertes. Chacune d'elles va cibler préférentiellement une région particulière d'une bactérie. La figure 9 suivante présente les principales familles d'antibiotiques, ainsi que leurs principales cibles ^(21, 22).



Figure 9 : Principales cibles des antibiotiques (souligné) et principales familles d'antibiotiques (italique). Adapté d'après

La résistance des bactéries aux antibiotiques constitue un enjeu important en termes de santé publique. Deux types de résistances sont à distinguer :

- <u>La résistance innée ou naturelle</u>. Toutes les bactéries d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. Cette résistance provient d'une spécificité de la bactérie qui empêche l'antibiotique de jouer son rôle (inaccessibilité de la cible, dégradation de l'antibiotique avant atteinte de la cible,...).

- La résistance acquise. Elle apparaît lorsque certaines bactéries d'une espèce donnée acquièrent une résistance à un antibiotique alors qu'initialement, elles étaient sensibles à cet antibiotique. Les bactéries sont en perpétuelle évolution afin de s'adapter à leur environnement. Par utilisation répétée d'un même antibiotique, des modifications ou des acquisitions génétiques vont faire que la bactérie va intégrer cet antibiotique comme faisant partie de son environnement, et ainsi s'adapter en conséquence. Ces bactéries, devenues résistantes à l'antibiotique en question, vont pouvoir transmettre leur patrimoine génétique de manière verticale (descendance), mais également de manière horizontale (plasmides). Minoritaires au sein d'une population dans un premier temps, elles peuvent progressivement devenir prépondérantes dans l'espèce en question, sous pression de sélection ⁽²³⁾. Parmi les bactéries les plus fréquemment citées pour leur résistance aux antibiotiques et responsables des infections nosocomiales, on trouve les entérobactéries (dont E. coli), S. aureus, et P. aeruginosa. Dans sa dernière enquête publiée en 2018, l'Institut National de Veille Sanitaire français a déterminé la prévalence de la résistance aux antibiotiques des bactéries citées précédemment ⁽⁴⁾. 26% des souches de *S. aureus* étaient résistantes à la méticilline (famille des β lactames), 13% des souches de P. aeruginosa étaient résistantes aux carbapénèmes (famille des βlactames), et environ 15% des souches d'entérobactéries étaient résistantes à plusieurs β-lactames (production de BLSE ou de carbapénémases).

La perte de sensibilité des bactéries adoptant le mode de vie en biofilm est également très largement étudiée. La littérature s'accorde à dire que le mode de vie en biofilm permet d'accroître la résistance
Chapitre I - Bibliographie

des bactéries aux antibiotiques. Ce phénomène est connu depuis les années 1980 : Nickel *et coll.* ont montré qu'un biofilm de *P. aeruginosa* étaient 20 fois plus résistant aux antibiotiques par rapport aux mêmes bactéries planctoniques ⁽²⁴⁾. Gilbert *et coll.* réalisent en 1997 une étude sur la survie de bactéries aux antibiotiques adoptant un mode de vie en biofilm par rapport à des bactéries isolées ⁽²⁵⁾. Les résultats montrent qu'il faut une concentration en antibiotiques jusqu'à 10 fois supérieure pour les bactéries en biofilm pour observer le même effet que chez des bactéries planctoniques. Plusieurs hypothèses expliqueraient cette résistance accrue des bactéries en biofilm ⁽²⁶⁾ : la pénétration difficile de l'antibiotique du fait de la sécrétion de la matrice extracellulaire et une altération du milieu liée à la présence du biofilm qui peut inactiver et/ou neutraliser l'antibiotique sont les deux principaux facteurs physico-chimiques. La modification de l'expression génomique des bactéries au sein du biofilm, peut également expliquer ce phénomène de résistance accrue. Enfin le rôle des bactéries persistantes ⁽²⁷⁾, c'est-à-dire possédant déjà une résistance à l'antibiotique en question et qui vont progressivement remplacer celles qui y étaient sensibles est également à considérer.

La cause majeure de la résistance des bactéries aux antibiotiques est donc avant tout liée à leur consommation en thérapie humaine et animale. En effet, très peu de temps sépare la découverte d'un antibiotique de l'apparition des premières résistances acquises. Le tableau 3 présente respectivement l'année de découverte, l'année de première mise sur le marché, et l'année d'apparition des premières résistances à quelques antibiotiques les plus communément utilisés. Ce tableau montre deux tendances : la première est la durée importante qui peut séparer la date de découverte et la date de mise sur le marché. Ce phénomène s'explique par le fait qu'avant toute autorisation de mise sur le marché, un médicament quel qu'il soit doit passer par différentes étapes, dont la plus longue est l'évaluation clinique, afin de s'assurer que le ratio bénéfice/risque du médicament soit le plus élevé possible. Le tableau 3 montre aussi l'apparition très rapide d'une résistance à l'antibiotique, parfois même dès la première année après la mise sur le marché.

Tableau 3 : Date de découverte,	de première mise sur	le marché et d'apparition	n des premières r	ésistances de quelques
	ant	ibiotiques ⁽²⁸⁻³¹⁾		

Antibiotique	Découverte	1 ^{ère} mise sur le marché	1 ^{ères} résistances	Référence
Pénicilline	1928	1943	1946	(28)
Méticilline	1959	1960	1961	(28)
Vancomycine	1953	1972	1988	(29)
Ciprofloxacine	1979	1987	1990	(30)
Linézolide	1987	1999	1999	(31)
Daptomycine	Années 1980	2003	2003	(28)

22

La mauvaise utilisation des antibiotiques du fait de traitements probabilistes, trop courts ou présentant des posologies inadaptées, est également pointée du doigt. D'après une étude menée dans 70 pays, entre 2000 et 2015, la consommation globale d'antibiotiques a augmenté de 65% ⁽³²⁾. Cette forte augmentation cache également de fortes disparités : dans les pays à fort revenu, la consommation d'antibiotiques n'a augmenté que de 6%, passant de 9,7 milliards en 2000 à 10,3 milliards de doses en 2015, tandis que dans les pays à faible revenu, la consommation a plus que doublé, passant de 3,3 milliards à 6,9 milliards de doses sur le même période. Cette consommation importante d'antibiotiques amplifie les phénomènes d'acquisition de résistance des bactéries aux antibiotiques et conduit à l'émergence de bactéries dites multirésistantes (BMR) ou hautement résistantes (BHR).

Peu d'antibiotiques ont été découverts ces dernières années. La figure 10 montre le nombre d'antibiotiques découverts en fonction de leur décennie de mise sur le marché. On constate une progression croissante de la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques jusqu'aux années 1980, suivi par un très net repli qui s'est amorcé à partir des années 1990.



Figure 10 : Nombre d'antibiotiques mis sur le marché en fonction de la décennie

Ce phénomène est lié à deux problématiques conjointes : la difficulté d'identifier de nouvelles cibles et donc de réelles nouvelles familles d'antibiotiques avec un ratio bénéfice/risque favorable par rapport aux molécules existantes ; la lourdeur et le coût du développement de ce type de molécule par rapport au marché envisagé.

A l'heure actuelle, de nouvelles approches sont donc proposées, ciblant par exemple l'expression des facteurs de virulence ⁽³³⁾, c'est à dire la molécule produite par la bactérie et responsable de son caractère pathogène et/ou le Quorum Sensing ⁽³⁴⁾. La bonne gestion des IAS (Infections liées aux soins) doit reposer en priorité sur la prévention et non l'usage des antibiotiques à visée

thérapeutique. La prévention inclut différentes approches dont l'usage d'autres agents chimiques : détergents, antiseptiques, désinfectants.

1.4.2. Contrôle des contaminations de surface en milieu hospitalier

Les antibiotiques ne sont pas les seuls « outils » disponibles pour lutter contre le risque infectieux en milieu hospitalier. Les procédés permettant de réduire/éliminer la contamination sur les éléments responsables de transmissions indirectes existent et sont largement utilisés. Plusieurs notions doivent tout d'abord être définies selon l'Association Française de Normalisation (AFNOR) :

- L'antisepsie, qui est l'application d'un antiseptique sur des tissus vivants entraînant une action sur la structure ou le métabolisme de micro-organismes à un niveau jugé approprié pour empêcher et/ou limiter et/ou traiter une infection de ces tissus.

- La désinfection, qui est la réduction du nombre de micro-organismes dans ou sur une matrice inanimée, par l'action irréversible d'un produit sur leur structure ou leur métabolisme, à un niveau jugé approprié pour un objectif défini.

- La stérilisation, qui est une extension de la désinfection à tout micro-organisme présent. En d'autres termes, il s'agit de l'élimination de tous les micro-organismes dans ou sur une matrice inanimée.

Des guides ou des recommandations existent ^(35, 36), indiquant différentes approches selon la destination du matériel et le niveau de risque associé :

- Les processus physiques, comme la stérilisation par la vapeur d'eau ou l'irradiation par des rayonnements ionisants (UV, rayons X ou rayons γ). La stérilisation par la vapeur est particulièrement utilisée dans les hôpitaux, pour le traitement des objets non sensibles à la chaleur ou à l'humidité. La stérilisation par la vapeur d'eau peut être également appliquée à des surfaces (sols, vitres...) Elle présente différents avantages, comme l'absence de toxicité, sa viabilité économique et surtout la possibilité de maintenir l'état stérile *via* un conditionnement de l'objet avant stérilisation. Ce type de traitement est cependant limité en termes de volume d'objets à traiter et ne concerne donc que le matériel à haut risque, comme les dispositifs médicaux.

- Les processus chimiques qui consistent à utiliser un agent bactéricide. L'utilisation de ces molécules conduit à une désinfection largement présente en milieu hospitalier. Ce processus permet de désinfecter les objets mais également des surfaces, qui ne pourraient pas être désinfectées autrement comme les murs. Il existe un très grand nombre d'agents bactéricides qui sont soit réglementés par les autorités de santé (cas des désinfectants considérés comme des dispositifs médicaux), soit sous la réglementation biocides. Le tableau 4 résume les agents les plus utilisés en

24

milieu hospitalier, avec leurs avantages et inconvénients, ainsi que quelques exemples d'utilisation. Certains produits vendus peuvent également combiner plusieurs agents, comme par exemple un ammonium quaternaire avec un alcool.

Agent désinfectant	Avantages / Inconvénients	Exemples d'utilisation	Niveau de risque
Alcools (Ex. Ethanol (à 70%), isopropanol)	+ : Economique - : Efficacité limitée, fixateur	Objets en contact ponctuel avec le patient	Bas
Eau de javel	+ : Efficace et économique - : toxique par contact, peut être corrosif	Sols, robinetterie	Bas à Moyen
Oxydants (Hors eau de javel)	+ : Très efficace - : Irritant, corrosif	Dispositifs médicaux et/ou chirurgicaux invasifs,	Haut
Aldéhydes (Ex. Glutaraldéhyde)	- : Toxique par inhalation	surfaces hors présence humaine (bloc opératoire)	Haut
Ammonium quaternaires	+ : Economique	Sols, surfaces ou mobilier	
(Ex. Chlorure de benzalkonium)	 - : Spectre limité, potentiellement allergisant 	Liquide ou imprégné dans des lingettes	Bas à Moyen

Tableau 4 : Quelques agents désinfectants utilisés en milieu hospitalier

- Une dernière approche est le recours à l'usage unique. Si cette méthode est très efficace et peutêtre la plus rapide à mettre en œuvre, elle a un coût particulièrement élevé, y compris en termes d'impact environnemental (gestion des déchets) et se limite à des utilisations bien précises, comme les instruments chirurgicaux, voire à des textiles (charlotte, blouse, ...) pour un usage spécifique.

La pertinence de l'usage des agents désinfectants pour lutter contre les infections nosocomiales n'est plus à démontrer en ce qui concerne le traitement des dispositifs médicaux à haut risque et risque médian. Il est beaucoup plus difficile d'évaluer l'impact de la désinfection « large » appliquée aux surfaces et matériel à risque bas. Dettenkofer *et coll.* ont ainsi résumé plus de 230 articles scientifiques portant sur ce sujet, et ont montré qu'aucun lien de cause à effet ne pouvait être établi entre l'utilisation importante d'agents désinfectants/antiseptiques et la diminution du nombre d'infections nosocomiales ⁽³⁷⁾. Leur conclusion est expliquée par un manque de solidité de la plupart des études épidémiologiques menées sur ce sujet et une combinaison d'actions préventives ne permettant pas d'isoler l'effet de ces seuls produits. Pour les quatre études les plus pertinentes, une seule montre une diminution significative du nombre d'infections nosocomiales suite à l'emploi d'agents désinfectants. Dans le même temps, il faut également garder à l'esprit que l'environnement (air respiré et eau consommée) joue un rôle important dans la transmission d'agents infectieux, pondérant ainsi le constat fait par l'équipe de Dettenkofer ⁽³⁷⁾.

2. Evaluation de l'activité antibactérienne d'un agent antibactérien

L'activité antibactérienne d'une substance active *in vitro* peut-être évaluée à l'aide de différentes techniques. Avant de décrire celles qui sont les plus utilisées, quelques notions doivent être tout d'abord définies :

- L'activité antibactérienne se définit comme étant la propriété d'une substance à pouvoir altérer le fonctionnement normal d'une bactérie. Derrière cette notion se cache deux autres concepts :

- L'activité bactériostatique, qui est décrite comme étant la capacité de la substance à empêcher la multiplication de la bactérie.

- L'activité bactéricide, qui est la capacité de la substance à tuer ces mêmes bactéries.

La distinction entre ces deux notions est très importante, car une substance bactéricide couvre les deux aspects, mais l'inverse n'est pas nécessairement le cas. L'étude bibliographique se limitera à trois méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne, basées sur les méthodes culturales et qui sont les plus utilisées : la méthode de diffusion, la méthode de dilution et la cinétique de bactéricidie. Les autres techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne, notamment indirectes, comme la bioautographie ou l'ATP-métrie ne seront pas développées ici.

2.1. Méthode de diffusion

La première méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne d'une substance est dite « méthode de diffusion ». Elle a été développée dans les années 1940 et reste une référence pour les tests d'efficacité antibactérienne ⁽³⁸⁾. La première étape consiste à mettre en culture la bactérie étudiée généralement pendant 18 à 24h (bactéries à croissance rapide) afin de se placer en fin de phase exponentielle de croissance. Ensuite, un *inoculum* (10⁵-10⁶ Unités Formant Colonies ou UFC/mL) est ensemencé en surface ou à l'intérieur d'un milieu gélosé coulé dans une boîte de Petri. Après séchage, le composé à tester est déposé, soit via un disque de papier imprégné, ou à l'intérieur d'un puits (5 à 10 mm) découpé à l'emporte-pièce. La culture est incubée dans une étuve à la température de croissance du germe testé (37°C pour les bactéries d'intérêt en pathologie humaine) et pendant 18 à 24 h (bactéries à croissance rapide). Durant l'incubation, nous aurons en parallèle la diffusion de la molécule à tester et la croissance bactérienne. Ainsi, si la substance présente une activité antibactérienne, une auréole d'inhibition se forme autour du puits. La mesure du diamètre de cette auréole est effectuée au pied à coulisse. Le diamètre initial du puits est inclus dans la valeur affichée. Plus la substance testée est active vis-à-vis de la bactérie étudiée et plus le diamètre d'inhibition est important.

La figure 11 schématise le protocole opératoire général pour cette méthode. Si elle présente l'avantage d'être facile à mettre en œuvre, elle ne permet que de présumer de la capacité de l'agent antibactérien à inhiber le développement des bactéries (activité bactériostatique). L'activité bactéricide, c'est à dire l'aptitude de l'agent à tuer les bactéries, ne peut pas être déterminée selon cette méthode. Par ailleurs, un des paramètres clés est représenté par la capacité de la molécule à migrer dans le milieu de culture. De ce fait, les valeurs de diamètres d'inhibition de croissance permettant de définir la sensibilité ou la résistance à la molécule sont dépendantes de cette même molécule et des conditions de préparations des solutions déposées.



Figure 11 : Représentation schématique de la méthode dite de diffusion et photographie (à droite) d'une boîte de Petri montrant l'évaluation de plusieurs substances par la méthode de diffusion (source : ScienceDirect)

2.2. Méthode de dilution

Elle repose sur l'utilisation de milieu liquide en tubes ou en microplaques (généralement 96 puits : 12 colonnes x 8 lignes) permettant un « screening » rapide. Nous décrirons ici cette dernière méthode. Traditionnellement, à chaque ligne va correspondre une substance et/ou une bactérie à tester. Tout d'abord, les puits de la microplaque sont préparés par addition de milieu de culture liquide (généralement 100 μ L). Ensuite, une solution contenant la substance à la plus haute concentration est déposée dans le puits 1 de la ligne en présence du milieu de culture (généralement 100 μ L) et des dilutions de raison 2 sont réalisées sur la ligne afin d'obtenir une gamme de concentrations. Chaque puits qui compose une ligne va ensuite être inoculé avec une suspension de bactéries de concentration fixe et connue (10^5-10^6 UFC/mL). Les puits des colonnes 11 et 12 servent généralement de témoin de stérilité (sans bactérie) et de témoin de croissance (sans molécule, avec bactérie). Après incubation, on peut déterminer en premier lieu :

- la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est déterminée visuellement par l'absence de croissance (*versus* témoin de croissance). Elle correspond donc à la concentration minimale en substance active nécessaire pour inhiber la prolifération bactérienne. Cette notion renvoie donc à l'activité bactériostatique. C'est le premier indicateur qui peut être extrait de ce test, car il suffit d'observer à partir de quel puits une croissance n'est pas observée (figure 12).



Figure 12 : Représentation schématique de la méthode dite de dilution. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

- le repiquage de l'ensemble des puits sur milieu gélosé (à l'aide d'une ensemenceur multipoint) conduit à la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB), qui est définie comme étant la concentration minimale nécessaire pour tuer 99,9% des bactéries initialement contenues dans le puits (soit une réduction de 3 ordres de grandeur ou 3 log par rapport à l'*inoculum* initial). Elle renvoie donc à l'activité bactéricide de la substance testée (figure 13). La CMB sera toujours supérieure ou égale à la CMI.





2.3. Cinétique de bactéricidie

Cette technique consiste à compter le nombre de bactéries survivantes après différents temps de contact avec la substance à tester par rapport à un témoin préparé dans les mêmes conditions. Classiquement, cette méthode est réalisée dans des conditions ne conduisant pas à une croissance de la population microbienne, c'est-à-dire que le contact molécule/bactérie n'a pas lieu dans un milieu de culture contenant des nutriments (eau stérile tamponnée ou non, par exemple). Mais il est également possible de réaliser ce type de tests directement dans un milieu de culture propice au développement bactérien. Ceci explique pourquoi il est important de préciser le milieu dans lequel le test est réalisé, d'autant plus que des interactions entre l'agent actif et le milieu peuvent être possibles.

Le dénombrement des Unités Formant Colonies (UFC) par millilitre par rapport au témoin après un temps d'incubation donné permet d'évaluer le potentiel bactéricide de la substance testée à une concentration X et un instant t. La méthodologie décrite en figure 14 est celle reprise dans les normes d'essais concernant les antiseptiques et désinfectants (NF EN ISO 14885). Les variables peuvent concerner, en-dehors des concentrations et du temps de contact, la température de contact, la présence ou non de substances interférentes durant le contact permettant de se rapprocher des conditions réelles d'utilisation.



Figure 14 : Représentation schématique de la cinétique de bactéricidie (« Time-Kill test » en anglais)

La figure 15 suivante illustre une cinétique de bactéricidie de nanoparticules d'oxyde de cuivre vis-àvis d'*E. coli* après mise en culture sous agitation à 37°C et incubation pendant 24h. On constate une diminution du nombre d'unités formant colonies pour CuO par rapport au témoin entre le point à 3h, celui à 7h et celui à 24 heures, où aucun développement bactérien ne s'est manifesté.



Figure 15 : Photographies d'une culture de bactéries *E. coli* avec ou sans CuO au bout de 3, 7 et 24 heures de contact extraites de ⁽³⁹⁾

Il existe également des méthodes plus spécifiques pour évaluer l'activité antibactérienne de surfaces ou de textiles. La méthode de diffusion décrite plus haut peut constituer une première évaluation de leur potentiel antibactérien (analyse qualitative). Pour réaliser des analyses quantitatives de type cinétique de bactéricidie, un *inoculum* est déposé directement sur la surface ou le textile préalablement stérilisé. Il peut également être composé d'une culture bactérienne et d'un milieu nutritif. La température et la durée de l'incubation sont autant de variables qui peuvent être ajustées pour se rapprocher des conditions réelles d'utilisation. Au bout d'un laps de temps défini, les bactéries sont décrochées de la surface ou du textile au moyen d'une solution dite de décrochage et d'une centrifugation. Une fraction de la solution est prélevée puis ensemencée dans des boîtes de Petri en appliquant une méthodologie similaire à celle décrite en figure 14. La figure 16 schématise cette méthode particulière d'évaluation du potentiel antibactérien d'une surface ou d'un textile.



Figure 16 : Représentation schématique de l'évaluation du potentiel antibactérien d'une surface ou d'un textile

A partir des valeurs d'UFC/mL observées à t_0 (témoin) pour le tube essai et de la valeur au temps de contact t_n , le pourcentage de réduction est calculé pour chaque souche, chaque temps de contact, chaque essai, selon la formule :

$$\%_{r\acute{e}duction} = 100 - 100 \times \frac{t_0}{t_n}$$

Les données peuvent également être exprimées en réduction logarithmique :

 $\log(r \neq duction) = \log(t_0) - \log(t_n)$

Chapitre I - Bibliographie

3. Origine de l'activité bactéricide des particules à base de métaux

Si les propriétés bactéricides de certains métaux sont connues et décrites depuis l'Antiquité, les mécanismes liés à leur bactéricidie n'ont été découverts que très récemment. Ce n'est qu'en 1893 que le concept d'effet oligodynamique est proposé par Karl Wilhelm von Nägeli pour expliquer les propriétés biocides de certains éléments, mais il a fallu attendre le début du XXI^e siècle pour proposer des mécanismes d'actions associés à la bactéricidie de ces éléments. La figure 17 résume les modes d'actions proposés pour expliquer l'activité bactéricide observée de particules ou de nanoparticules ^(40, 41). On distingue trois cas de figure :

 Mode d'action lié aux ions métalliques Mⁿ⁺. Ce mode d'action découle de la dissolution partielle de la particule à l'extérieur ou à l'intérieur de la bactérie, quand elle est ingérée *via* le mécanisme d'endocytose^a.

- Mode d'action lié à la nanoparticule elle-même. Ce mode d'action se déroule plutôt à l'extérieur de la bactérie, en interagissant directement avec la paroi cellulaire.

- Mode d'action associé aux espèces réactives de l'oxygène. Comme pour les ions métalliques, ce mode d'action peut se dérouler à l'extérieur (production exogène) ou à l'intérieur (production endogène) de la bactérie.

Ce paragraphe a pour vocation de décrire de manière générale ces trois modes d'action. Pour une description détaillée de l'activité d'un élément métallique en particulier, on pourra se référer à la section 4 de ce chapitre bibliographique.





^a Mécanisme de transport des molécules ou de particules vers l'intérieur d'une cellule

3.1. Mode d'action liée aux cations métalliques Mⁿ⁺

Les particules métalliques ou d'oxydes métalliques ne sont pas inertes. En effet, des réactions d'oxydoréduction, de complexation ou/et d'hydrolyse peuvent avoir lieu en milieu biologique, conduisant à une dissolution partielle de la particule. Les ions métalliques ainsi libérés peuvent alors entrer en compétition avec d'autres métaux présents notamment au sein de certaines protéines ou enzymes indispensables au fonctionnement voire à la survie de la bactérie. Parmi les ions potentiellement responsables, on va trouver par exemple les ions Zn²⁺ et les ions Ag⁺ qui peuvent entrer en compétition avec les ions Fe²⁺ présents dans certaines protéines (protéines fer-soufre) et les détruire (figure 18) ⁽⁴²⁾. L'ion Cu⁺ partage également cette propriété, en déplaçant les ions ferreux Fe²⁺ des clusters [4Fe-4S] des enzymes dans la paroi cellulaire, perturbant ainsi le métabolisme ⁽⁴³⁾.



Figure 18 : Rôle des ions Ag⁺ et Zn²⁺ sur la désactivation des protéines fer-soufre. D'après ⁽⁴²⁾

Une problématique majeure réside dans la détermination de la concentration minimale en ions nécessaire pour induire un effet toxique sur la bactérie. Température, souche d'étude, concentration initiale en bactéries sont autant de paramètres qui vont influencer la CMI (ou la CMB) d'un ion. Le tableau 5 regroupe les concentrations minimales en ions nécessaires pour observer aucun développement de colonies de bactéries *E. coli* et *S. aureus* au bout de 24 heures de contact à 37°C par rapport à un témoin, par la méthode de dilution dans un milieu bouillon-lysogène (concentration initiale de 10^6 UFC/mL) ⁽⁴⁴⁾. D'après cette étude, l'ion Ag⁺ serait le plus toxique, suivi des ions Cu²⁺ et Zn²⁺, à l'activité assez semblable.

Tableau 5 : Concentration en ion M ⁿ⁺	nécessaire pour observer	aucun développement	de colonie bactérienne a	u bout de
	24 heures de contact à	a 37°C. D'aprè s ⁽⁴⁴⁾		

Concentration en ion (mg/mL)	E. coli	S. aureus
Ag⁺	2,7.10 ⁻⁵	5,4.10 ⁻⁵
Cu ²⁺	6,4.10 ⁻⁴	1,6.10 ⁻³
Zn ²⁺	6,5.10 ⁻⁴	1,6.10 ⁻³

3.2. Mode d'action lié à la nanoparticule elle-même

La paroi cellulaire des bactéries est constituée d'un ensemble polymérique de sucres et d'acides aminés, qui présente de nombreux sites électronégatifs pouvant interagir avec les particules d'oxydes métalliques. Cette nature protéinique de la paroi cellulaire est favorable à l'apparition de charges négatives à la surface de la bactérie dans les conditions physiologiques. Or, certaines particules à base de métaux peuvent se charger positivement sous certaines conditions (pH, température, taille des particules, présence de contre-ions). Par conséquent, une interaction électrostatique se crée entre la particule et la paroi bactérienne. La perturbation qui en résulte entraîne une augmentation de la perméabilité de la bactérie, pouvant conduire à une lyse^b de la cellule ⁽⁴⁰⁾.

Plusieurs paramètres peuvent influencer la charge de surface des particules. La taille est le premier paramètre pouvant influencer le potentiel zêta. D'une façon générale, pour des nanoparticules métalliques ou à base d'oxydes métalliques, plus la particule est petite, plus le potentiel zêta associé sera élevé. Comme les bactéries ont une charge de surface négative, l'interaction électrostatique qui en résulte sera plus importante. La morphologie des particules peut également avoir un impact sur la charge de surface de surface des particules ^(45, 46).

3.3. Mode d'action lié aux espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS en anglais pour Reactive Oxygen Species) sont des espèces chimiques très réactives naturellement produites dans la nature et dans les milieux biologiques. Elles sont génératrices du phénomène de stress oxydant, qui intervient chez les organismes vivants (dont les bactéries) dans le processus du vieillissement cellulaire. Les principaux dérivés réactifs de l'oxygène rencontrés en milieu biologique sont les suivants :

-L'anion radical superoxyde O₂^{-•}, sous-produit de la respiration cellulaire

-Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , également un sous-produit de la respiration cellulaire mais également issu de la dismutation du radical superoxyde

-Le radical hydroxyle HO[•], issu du processus d'oxydoréduction entre le peroxyde d'hydrogène et un cation métallique aussi connu sous le nom de réaction de Fenton.

Ces trois radicaux sont liés entre eux selon la réaction de Haber-Weiss, qui combine à la fois la réaction de Fenton et la régénération du dioxygène à partir du radical superoxyde en présence de certains cations métalliques, notamment le couple Fe^{3+}/Fe^{2+} et Cu^{2+}/Cu^{+} (figure 20) ⁽⁴²⁾.

^b Destruction de la membrane cellulaire, provoquant sa mort



Réaction de Haber-Weiss: $O_2^{-\bullet} + H_2O_2 \rightarrow HO^- + HO^{\bullet} + O_2$

Figure 19 : Mécanisme de formation du radical HO[•]. D'après⁽⁴²⁾

Comme le montre la figure 19, le mécanisme de formation du radical HO[•] fait intervenir des ions métalliques. La bactérie possède bien des mécanismes de défense contre ces radicaux, mais si la production de dérivés réactifs de l'oxygène dépasse les capacités de destruction de ces derniers, une accumulation peut alors avoir lieu. Ces dérivés réactifs de l'oxygène peuvent alors dénaturer certaines protéines, attaquer la paroi de la bactérie ou encore endommager l'ADN, conduisant à la mort de la bactérie (figure 25) ⁽⁴²⁾. Par ailleurs, le déplacement des ions Fe²⁺ dans les protéines fersoufre par les ions Cu⁺, Ag⁺ ou Zn²⁺ peuvent également induire une surproduction de ROS ⁽⁴³⁾.

4. Etat des connaissances sur les composés inorganiques antibactériens et leurs mécanismes de bactéricidie

Dans cette partie, on va s'intéresser au potentiel antibactérien de plusieurs éléments décrits dans la littérature. L'argent métallique, étant le matériau de référence pour un grand nombre d'études sur le sujet, sera tout d'abord présenté. Puis ce sera au tour du cuivre métalliques et ses oxydes, le cœur de ce travail de thèse. Enfin, le potentiel antibactérien de composés inorganiques à base de magnésium et de zinc seront également présentés, car pouvant présenter des alternatives intéressantes à l'emploi du cuivre (ou ses oxydes) seul.

4.1. L'argent métallique et l'oxyde d'argent Ag₂O

4.1.1. L'argent métallique : historique et nanoparticules

L'argent appartient au groupe 11 de la classification périodique de Mendeleïev, comme le cuivre et l'or. C'est un élément métallique rare présent à hauteur de 0,08 ppm dans la croûte terrestre. Sa production a été estimée à 26500 tonnes en 2017, chiffre stable depuis 5 ans ⁽⁴⁷⁾. Le secteur de l'industrie est le plus demandeur de ce métal, qui concentre 70% de son utilisation, et plus particulièrement le domaine de l'électronique, où ses propriétés d'excellent conducteur électrique sont exploitées. L'argent est également très prisé en joaillerie (25% de son utilisation).

Chapitre I - Bibliographie

Les propriétés médicinales de l'argent sont connues depuis l'Antiquité. Hippocrate, médecin grec du V^{e} siècle avant J.C. et considéré comme le père de la médecine, l'utilisait déjà à des fins médicales. Jusqu'à la fin des années 1940, date à laquelle les premiers antibiotiques ont été mis sur le marché, l'argent est très utilisé par les médecins sous forme métallique pour réaliser des fils de suture où son potentiel antibactérien était jugé primordial ⁽⁴⁸⁾. Il servait également sous forme colloïdale et était prescrit en ophtalmologie ⁽⁴⁹⁾. A la fin les années 1960 et début des années 1970, les propriétés antibactériennes de la sulfadiazine argentique, un antiseptique contenant des ions argent Ag⁺ et utilisé dans le traitement des brûlures, sont découvertes.

A partir des années 2000, les propriétés bactéricides des nanoparticules d'argent sont très étudiées. L'étude menée en 2004 par l'équipe de Sondi *et coll.* ⁽⁵⁰⁾ montre un fort potentiel bactéricide des nanoparticules d'argent d'une dizaine de nanomètres de diamètre vis-à-vis d'*E. coli* directement dans un milieu de culture bouillon-lysogène. La totalité d'un *inoculum* à 10⁵ UFC/mL est tué après 24 heures de contact à 35°C pour des concentrations supérieures à 0,05 mg/mL. Cette efficacité fut confirmée par Morones *et coll.* l'année suivante ⁽⁵¹⁾. Baker *et coll.* ont obtenu des résultats similaires avec des nanoparticules d'argent de 75 nanomètres de diamètre vis-à-vis d'*E. coli* ⁽⁵²⁾ dans le même milieu (bouillon-lysogène).

L'activité bactéricide des nanoparticules d'argent vis-à-vis de *S. aureus* est également répertoriée dans la littérature. L'équipe de Ruparelia *et coll.* ⁽⁵³⁾ étudie en 2008 l'activité de nanoparticules d'argent de 3 nanomètres de diamètre à 30°C vis-à-vis de différentes bactéries dont *E. coli* et *S. aureus*, selon les méthodes de diffusion (diamètre d'inhibition bactérienne) et de dilution (CMB) dans un milieu de culture tryptone contenant entre autres du NaCl. Leurs résultats résumés dans le tableau 6 montrent une meilleure activité vis-à-vis de certaines souches d'*E. coli* que vis-à-vis de *S. aureus*, mais également une forte disparité de l'activité bactéricide des nanoparticules d'argent vis-à-vis d'*E. coli* en fonction de la souche étudiée, avec des valeurs de CMB parfois supérieures à celles rencontrées chez *S. aureus*.

L'activité bactéricide est donc démontrée mais doit être pondérée en considérant les valeurs des diamètres et des concentrations actives. Pour comparaison, les CMI/CMB des antibiotiques sont de l'ordre du µg/mL⁽⁵⁴⁾.

35

Bactérie	E. coli	E. coli	E. coli	S. aureus	S. aureus	S. aureus
Souche	MTCC 443	MTCC 739	MTCC 1302	NCIM 2079	NCIM 5021	NCIM 5022
Ø inhibition (mm)	≈14	≈13,5	≈15	>15	>15	>15
CMI(mg/mL)	0,040	0,180	0,120	0,120	0,120	0,120
CMB (mg/mL)	0,060	0,220	0,160	0,160	0,160	0,160

Tableau 6 : Diamètre d'inhibition, CMI et CMB de nanoparticules d'argent vis-à-vis de plusieurs souches d'E. coli et S.aureus. D'après (53)

4.1.2. Oxydation de l'argent métallique : activité antibactérienne de Ag₂O

L'argent métallique est souvent considéré comme étant stable vis-à-vis de l'oxydation. Toutefois, l'état de l'art publié en 1992 par Graedel montre que l'argent métallique est corrodable par certains polluants atmosphériques, entraînant la formation de plusieurs produits de corrosion dont les plus importants sont Ag_2S (le plus courant), et AgCI ⁽⁵⁵⁾. La quasi absence de l'oxyde d'argent Ag_2O comme produit de corrosion peut s'expliquer en partie par la lecture du diagramme potentiel-pH (ou diagramme de Pourbaix) de l'argent présenté en figure 20 (56). Ce diagramme, tracé pour une concentration en espèces dissoutes de 10⁻³ mol/L (soit environ 0,10 mg/mL, la concentration en nanoparticules dans les tests antibactériens cités plus haut) montre que cet élément peut réagir avec le dioxygène dissous pour former soit l'ion Ag⁺ (pH inférieur à 8) ou l'oxyde d'argent Ag₂O (pH supérieur à 8). A pH basique, la faible différence de potentiel entre les couples Ag₂O/Ag et O₂/H₂O fait qu'expérimentalement, la cinétique d'oxydation de Ag en Ag₂O est lente. A l'inverse, la différence de potentiel entre les couples Ag_2O/Ag et O_2/H_2O , d'autant plus élevée que le pH devient acide, favorise la formation d'ion Ag⁺. A pH neutre, la présence d'ions chlorure ou de molécules organiques dans le milieu peut conduire à la formation d'ions Ag⁺ pouvant précipiter sous la forme de AgCl ou se complexer conduisant à la dissolution progressive de l'argent métallique. En revanche, à des concentrations plus faibles (10⁻⁶ mol/L, soit la définition des domaines de corrosion, d'immunité et de passivation), l'argent manifeste clairement une instabilité vis-à-vis de l'oxydation et une absence des espèces AgO et Ag₂O du fait de leur trop grande solubilité ⁽⁵⁶⁾.

Dans les milieux biologiques, dont les conditions de pH et de potentiel sont matérialisés par un parallélogramme vert sur la figure 21, l'argent est considéré comme stable vis-à-vis de l'oxydation ⁽⁵⁷⁾, même à des concentrations en espèces dissoutes proches de celle de la CMB de l'ion Ag⁺ (environ 10⁻⁶ mol/L). Il est donc fort peu probable que ce type de milieu intervienne dans le processus d'oxydation de l'argent métallique ⁽⁵⁷⁾.



Figure 20 : Diagramme potentiel-pH de l'argent à 25°C à la concentration en espèce dissoute de 10⁻³ mol/L (a) et à 10⁻⁶ mol/L (b). Le parallélogramme vert correspond aux conditions de pH et potentiel rencontrés dans le milieu biologique. D'après ⁽⁵⁶⁾ et ⁽⁵⁷⁾

De ce fait, peu d'études se sont intéressées à l'activité bactéricide de l'oxyde d'argent Ag₂O. Lok *et coll.* ont comparé en 2006 l'activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* de nanoparticules d'argent métallique dont l'oxydation est empêchée par l'ajout d'un agent réducteur (ascorbate) à celle de nanoparticules partiellement oxydées dans un milieu aqueux salin tamponné à pH 7. Ils ont montré qu'en présence du réducteur, les nanoparticules d'argent métallique ne manifestaient aucune activité bactéricide à 37°C ⁽⁵⁸⁾. Cette observation a été confirmée par Loza *et coll.*, avec des CMB vis-à-vis de *S. aureus* pratiquement doublées (supérieures à 0,05 mg/mL) pour des nanoparticules d'argent stockées sous argon par rapport aux mêmes particules stockées sous air ⁽⁵⁹⁾ dans un milieu de culture sérum bovin fœtal. Ces études prouvent également que le milieu biologique n'est pas assez oxydant pour entraîner une dissolution des particules, laissant supposer que l'activité des nanoparticules d'argent est avant tout liée à la présence d'ions Ag⁺.

4.1.3. Origine de l'activité bactéricide de l'argent

On a vu précédemment que l'argent métallique pouvait réagir avec le dioxygène de l'air, conduisant à la libération d'ions Ag^+ . Ces derniers présentent une efficacité démontrée vis-à-vis des protéines fer-soufre chez les bactéries. C'est cette oxydation qui conditionnerait donc son activité bactéricide. De plus, à la lumière des travaux de l'équipe de Ning *et coll.* ⁽⁴⁴⁾, la CMB de l'ion Ag^+ est assez faible (entre 10^{-4} et 10^{-5} mg/mL à 37° C). Une dissolution très partielle des nanoparticules d'argent peut donc suffire pour induire une activité bactéricide ; les CMB des nanoparticules d'argent étant comprises entre 5.10^{-2} et $1,6.10^{-1}$ mg/mL selon la souche bactérienne étudiée ⁽⁵³⁾. Le rôle de l'ion Ag⁺ sur l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent a été étudié dans le détail par les travaux de Kittler *et coll.* en 2010 ⁽⁶⁰⁾. L'équipe a montré que l'activité bactéricide de nanoparticules était plus forte avec le temps due à une cinétique lente de dissolution dans de l'eau stérile ultrapure (tableau 7). Dans tous les cas, le taux de dissolution des nanoparticules d'argent atteignait un plateau au-delà duquel la concentration en ions Ag⁺ n'augmentait plus. Toutefois, plus la concentration initiale en nanoparticules et/ou la température était élevée, plus ce taux de dissolution était important.

 Tableau 7 : Pourcentage maximal de dissolution de nanoparticules d'argent à différentes concentrations et à différentes températures. D'après

Température		5°C			25°C			35°C	
Concentration en nanoparticules (mg/mL)	0,05	0,1	0,22	0,05	0,1	0,35	0,05	0,1	0,35
% max. de dissolution	7	8	11	42	47	51	52	67	88

Le faible taux de dissolution à basse température pourrait également expliquer pourquoi l'argent n'a aucune activité bactéricide à température ambiante, comme l'a relevé Michels *et coll.* en 2009 sur souche de *S. aureus* résistante à la méticilline dans les conditions normales de température et d'humidité (22°C et 50% d'HR) ⁽⁶¹⁾. Le lien entre température et solubilité pourrait aussi expliquer pourquoi la plupart des tests antibactériens sur des matériaux à base d'argent sont menées à 37°C plutôt qu'à température ambiante.

Enfin, la plupart des auteurs s'accordent à dire que son mode d'action n'était pas lié à la production de ROS. En effet, la réaction de Fenton n'est pas possible avec le couple Ag⁺/Ag. Néanmoins, Xu *et coll.* observent une production de ROS à partir de nanoparticules d'argent par photoactivation ⁽⁶²⁾. La question de l'origine de l'activité bactéricide des nanoparticules d'argent par production de ROS reste encore en suspens.

4.2. Le cuivre métallique et ses oxydes

4.2.1. Le cuivre métallique

Le cuivre est un élément métallique présent à hauteur de 60 à 70 ppm dans la croûte terrestre. C'est un métal particulièrement apprécié dans le transport d'électricité du fait de sa forte conductivité électrique. De ce fait, il est l'un des métaux les plus utilisés sur la planète, après le fer et l'aluminium, avec une consommation de 24 millions de tonnes en 2017 ⁽⁶³⁾.

Dès l'Antiquité, on lui conférait des vertus curatives et médicinales, dont l'antisepsie des blessures et la désinfection de l'eau potable ⁽⁶⁴⁾. Au XVIII^e siècle, la partie immergée des coques en bois des bateaux était protégée des algues et mollusques par des alliages à base de cuivre (propriétés

algicides et molluscicides). Aux XIX^e et au début du XX^e siècle, les sels ou oxydes de cuivre Cu²⁺ (acétate, sulfate, silicate, carbonate) permettaient de soigner, entre autres, la diphtérie, les diarrhées chroniques, la tuberculose, l'eczéma ou permettaient une cicatrisation plus rapide des brûlures et blessures ⁽⁶⁴⁾. Ce n'est qu'à partir de la fin du XIX^e siècle que ses propriétés fongicides ont commencé à être exploitées dans l'agriculture sous forme de bouillie bordelaise, mélange de sulfate de cuivre et de chaux pour lutter contre les maladies cryptogamiques (mildiou notamment) ⁽⁶⁵⁾. Pendant la première moitié du XX^e siècle, son usage reste cantonné à la formulation de fongicides. Ce n'est qu'à partir des années 1950 que les propriétés antibactériennes commencent à être exploitées par les dentistes, qui avaient observé que des patients ayant des couronnes dentaires à base de cuivre présentaient peu de caries ⁽⁶⁶⁾.

En 1983, une étude menée par Kuhn montre que les poignées de portes étaient des réservoirs à bactéries, mais que sur les poignées de porte en laiton, un alliage de cuivre et de zinc, la prolifération des bactéries *E. coli* et *S. aureus* restait limitée par rapport aux poignées en acier inoxydable, avec une disparition des bactéries de la surface en environ 7 heures ⁽⁶⁷⁾. A partir des années 1990, l'apparition de bactéries multirésistantes aux antibiotiques a entraîné un essor de la recherche sur les propriétés antibactériennes du cuivre métallique. Tout d'abord utilisé dans des applications précises, comme par exemple des cathéters ⁽⁶⁸⁾ parfois en association avec l'argent métallique, ce n'est qu'à partir du début des années 2000 que des surfaces antibactériennes à base de cuivre commencent à être étudiées. En 2005, Wilks *et coll.* ⁽⁶⁹⁾ réalisent une série de tests antibactériens de plusieurs alliages vis-à-vis de la bactérie *E. coli* à température ambiante. Les résultats sont présentés sur la figure 21. Il ressort que parmi les alliages testés les plus riches en cuivre présentent la cinétique de bactéricidie la plus élevée.



Figure 21 : Temps nécessaire à plusieurs alliages de cuivre pour tuer 100% des bactéries à température ambiante (*inoculum* initial 2.10⁷ UFC par coupon). D'après ⁽⁶⁹⁾

En 2006, deux études menées par Noyce *et coll*. ^(70, 71) montrent l'efficacité du cuivre et de ses alliages vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* résistants à la méticilline, un antibiotique de la famille des pénicillines, et l'absence totale d'activité de l'acier inoxydable. En 2009, les mêmes auteurs montrent également que le cuivre présente une activité très forte vis-à-vis d'une souche de *S. aureus* résistante à la méticilline dans les conditions normales de température et d'humidité (22°C et 50% d'HR) contrairement à un matériau contenant des ions argent (figure 22) ⁽⁶¹⁾.





Le cuivre métallique massif (plaques, feuilles) est donc particulièrement efficace vis-à-vis de bactéries responsables d'infections nosocomiales. L'activité bactéricide de nanoparticules de cuivre métallique est également répertoriée dans la littérature. A titre d'exemple, Ruparelia *et coll*. ont évalué la CMB de nanoparticules de cuivre métallique de 10 nanomètres de diamètres vis-à-vis de plusieurs souches d'*E. coli* et *S. aureus* à 37°C ⁽⁵³⁾ (dans un milieu de culture tryptone contenant du NaCl). Les résultats sont regroupés dans le tableau 8 suivant. Comme pour les nanoparticules d'argent (tableau 6), la CMB vis-à-vis de certaines souches d'*E. coli* est supérieure à celle vis-à-vis de *S. aureus*. Pour *S. aureus*, les CMB des nanoparticules d'argent et de cuivre restent identiques quelle que soit la souche testée. Dans ces conditions de température (*i.e.* 37°C), le cuivre métallique possède globalement la même activité que l'argent métallique.

Tableau 8 : MBC de nanoparticules de cuivre vis-à-vis de plusieurs souches d'E. coli et S. aureus. D'après (53)

Bactérie	E. coli	E. coli	E. coli	S. aureus	S. aureus	S. aureus
Souche	MTCC 443	MTCC 739	MTCC 1302	NCIM 2079	NCIM 5021	NCIM 5022
CMB (mg/mL)	0,160	0,260	0,220	0,160	0,160	0,160

4.2.2. Corrosion du cuivre métallique

Toutefois, le cuivre métallique est sensible à la corrosion, notamment vis-à-vis du dioxygène associé à l'humidité de l'air. En effet, d'après le diagramme potentiel-pH du cuivre ⁽⁵⁶⁾, il est instable vis-à-vis du dioxygène (figure 23) à la concentration en espèce dissoute de 10^{-2} mol/L. De plus, contrairement à l'argent, le cuivre métallique peut subir des réactions d'oxydoréduction en milieu biologique, conduisant à la formation d'oxyde cuivreux Cu₂O, cuivrique CuO, voire même une dissolution en ions Cu²⁺ dans les conditions les plus acides et oxydantes ⁽⁵⁷⁾.



Figure 23 : Diagramme potentiel-pH du cuivre à 25°C pour une concentration en espèce dissoute de 10⁻² mol/L. Le parallélogramme vert correspond aux conditions de pH et potentiel rencontrés dans le milieu biologique. D'après ⁽⁵⁶⁾ et ⁽⁵⁷⁾

Par conséquent, la surface du métal s'altère progressivement, formant plusieurs produits de corrosion. Une étude de l'oxydation atmosphérique de films de cuivre métallique par spectrométrie de photoélectrons induits par rayons X (en anglais, X-ray Photoelectron Spectrometry : XPS) a été publiée en 2008 par Platzman *et coll.* ⁽⁷²⁾. Cette étude a montré que l'oxydation du cuivre métallique à température et air ambiants est rapide puisqu'un film d'oxyde cuivreux $Cu^{+l}_{2}O$ se forme à la surface du métal au cours de la première heure d'exposition. Après 24h d'exposition, un film d'hydroxyde métastable $Cu^{+ll}(OH)_2$ se forme due à l'humidité relative élevée de l'atmosphère (\approx 60%) qui conduit par décomposition à l'apparition de l'oxyde cuivrique $Cu^{+ll}O$ (figure 24).



Figure 24 : Spectres XPS de la composante Cu(2p_{3/2}) d'une surface de cuivre après différents temps d'exposition à l'air ambiant. Adaptée d'après ⁽⁷²⁾

L'atmosphère terrestre n'est pas uniquement constituée de dioxygène, de diazote, et de vapeur d'eau. La pollution atmosphérique comme l'environnement marin a une influence directe sur le nombre et la proportion des différents sels de cuivre qui se forment ^(73, 74). Le rôle des ions chlorures sur la corrosion du cuivre métallique est également très décrit dans la littérature ⁽⁷⁵⁾. La présence d'ions chlorure (sous forme de NaCl la plupart du temps) dans certains milieux de tests antibactériens devra donc être pris en compte pour expliquer l'origine de l'activité antibactérienne décrite au point 4.2.4.

4.2.3. Les oxydes de cuivre : Cu₂O et CuO

Le cuivre métallique est très sensible à la corrosion. Par conséquent, de nombreux auteurs se sont naturellement intéressés aux propriétés bactéricides des oxydes de cuivre.

L'activité antibactérienne de Cu₂O a été assez peu étudiée dans la littérature comparativement aux études, par exemple, sur son activité photocatalytique qui est dépendante de la morphologie des particules ⁽⁷⁶⁾. Néanmoins quelques auteurs se sont intéressés à cette propriété. Sunada *et coll.* ⁽⁷⁷⁾ ont montré que l'oxyde cuivreux Cu₂O présentait une forte activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* à 37°C dans un milieu tamponné contenant du NaCl et du MgSO₄ (*inoculum* initial de 10⁸ UFC/mL), à la concentration de 0,27 g/m² de surface. La réduction de nombre de bactéries associée était de près de 6 log (soit 99,9999%) par rapport au témoin au bout d'une heure pour *E. coli* et de 3 log (soit 99,9%) pour *S. aureus* dans le même laps de temps.

La morphologie des particules de Cu₂O aurait également un impact sur son activité antibactérienne. Pang *et coll.* ont déterminé en 2009 les CMI de particules de Cu₂O de différentes morphologies vis-àvis de plusieurs bactéries à 37°C, dont *S. aureus* et *P. aeruginosa* ⁽⁷⁸⁾. Ils montrent que la morphologie des particules avait un impact important sur la CMI : d'une valeur aux alentours de 0,0125 mg/mL pour des particules de Cu₂O cubiques, elle peut quadrupler pour atteindre plus de 0,05 mg/mL pour des particules de forme octaédrique. Cette relation activité bactéricide - morphologie des particules est confirmée deux ans plus tard par Lee *et coll.* sur *E. coli*, qui observent un ralentissement marqué de la croissance bactérienne en présence de particules cubiques de Cu₂O ⁽⁷⁹⁾ dans un milieu de culture bouillon-lysogène. Cette différence d'activité serait liée au potentiel zêta, et sera discutée au point 4.2.4. en même temps que l'origine de l'activité antibactérienne des particules.

L'oxyde cuivrique CuO est le produit final de l'oxydation du cuivre métallique. Comme pour l'oxyde cuivreux Cu₂O, son potentiel bactéricide n'a commencé à être étudié qu'à partir de la fin des années 2000. L'équipe de Ren *et coll.* a évalué en 2009 le potentiel antibactérien de plusieurs nanoparticules métalliques dont l'argent, le cuivre métallique, l'oxyde cuivreux et l'oxyde cuivrique vis-à-vis des trois bactéries *S. aureus, E. coli* et *P. aeruginosa* à 37°C ⁽⁸⁰⁾ dans un milieu tryptone soja contenant du NaCl. Une partie de leurs résultats est présentée dans le tableau 9. A partir de ces résultats, un classement peut être établi : par ordre décroissant d'activité bactéricide, l'argent est plus actif que le cuivre métallique, suivi de l'oxyde cuivreux pour finir par l'oxyde cuivrique. L'étude montre également une forte disparité de la CMB des nanoparticules d'oxyde de cuivre en fonction de la souche bactérienne testée. La plus forte activité (ou faible CMB) de l'argent est néanmoins à pondérer puisqu'elle est liée à la forte dissolution des ions Ag⁺ dans le milieu comme évoqué dans le paragraphe 2.2.2.

		CMB (mg/mL)				
Souche	Ag	Cu	Cu ₂ O	CuO		
<i>E. coli</i> (NCTC9001)	0,1	0,25	0,25	0,25		
P. aeruginosa (PAO1)	0,1	0,1	2,5	5		
<i>S. aureus</i> (Golden)	0,1	1	2,5	2,5		
S. aureus (Oxford)	0,1	1	2,5	2,5		
S. aureus résistant à la méticilline (EMRSA-15)	0,1	0,25	2,5	0,25		
S. aureus résistant à la méticilline (EMRSA-16)	0,1	0,25	2,5	1		
S. aureus résistant à la méticilline (MRSA 252)	0,1	1	2,5	1		

Tableau 9 : CMB de plusieurs nanoparticules métalliques. D'après⁽⁸⁰⁾

La taille des particules a également son importance dans l'activité bactéricide de CuO. Applerot *et coll.* ⁽⁸¹⁾ montrent que l'activité bactéricide de l'oxyde cuivrique CuO est d'autant plus importante que la taille des particules est petite (milieu salin tamponné à pH 6,5). Le tableau 10 montre l'activité bactéricide à 37°C de particules submicrométriques et nanométriques de CuO à une concentration finale de 0,1 mg/mL vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* (inoculum initial de 4,8.10⁷ UFC/mL). Au bout de trois heures, une réduction de 3 log (soit une réduction de 99,9%) du nombre de bactéries *E. coli* est observée pour les particules de 2 nm de diamètre, alors qu'elle n'est que de 0,52 log (soit 70%) pour les particules submicrométriques de 800 nm de diamètre. Cette tendance est également observée pour la bactérie *S. aureus*, avec une activité vraisemblablement plus faible : la réduction atteint à peine 2 log (réduction de 97%) pour les particules les plus petites (2 nm).

	1	heure	3	neures			
	log(N ₀ /N)	% réduction	log(N ₀ /N)	% réduction			
	<i>E. coli</i> (N ₀ =4,8	3.10 ⁷ UFC/mL)					
CuO (2 nm)	1	90	3	99,9			
CuO (30 nm)	0,52	70	1,70	98			
CuO (800 nm)	0,17	34	0,52	70			
S. aureus ($N_0 = 10^7$ UFC/mL)							
CuO (2 nm)	0,28	48	1,52	97			
CuO (30 nm)	0,09	18	1,22	94			
CuO (800 nm)	0,03	7	0,19	36			

Tableau 10 : Activité bactéricide à 37°C de particules de CuO à la concentration de 0,1 mg/mL, en fonction de la taille des particules. D'après ⁽⁸¹⁾

Le cuivre métallique a fait l'objet de nombreuses études concernant son potentiel antibactérien. Comme on a pu le voir, ce métal s'oxyde rapidement à l'air, entraînant la formation d'oxydes à sa surface. Et il s'avère que tous les produits de son oxydation présentent également une activité bactéricide. Contrairement à l'argent métallique et aux matériaux à base d'ions Ag⁺, le cuivre métallique et ses oxydes présentent une forte activité bactéricide à 20°C. Ce paramètre est primordial pour une utilisation concrète en milieu hospitalier. Les ressources en cuivre étant 750 plus élevées et son coût 80 plus faible que ceux de l'argent, les matériaux antibactériens à base de cuivre constituent donc une alternative très compétitive.

4.2.4. Origine de l'activité du cuivre et de ses oxydes

On l'a vu précédemment, le cuivre métallique était particulièrement sensible à la corrosion, conduisant à la formation des produits d'oxydation Cu₂O et CuO. Par conséquent, l'activité du cuivre métallique serait avant tout liée aux produits de sa corrosion. De plus, si l'efficacité du cuivre ou ses oxydes ne fait aucun doute, aucun mécanisme n'a permis d'expliquer en totalité l'origine de leur activité. Toutefois, à la lumière des travaux menés par de nombreuses équipes à travers le monde, des tendances peuvent être observées. Dans cette partie, on s'intéressera aux différents modes d'action proposés pour expliquer l'activité bactéricide du cuivre et ses oxydes.

Un premier facteur qui pourrait intervenir dans l'activité bactéricide du cuivre et ses oxydes est sa dissolution, conduisant aux ions Cu²⁺ en solution. Or, les ions Cu²⁺ peuvent interagir avec les clusters fer-soufre de certaines protéines indispensables à la survie bactérienne ⁽⁴³⁾. Dans leur étude publiée en 2013, Hans *et coll.* ⁽⁸²⁾ montrent que le taux de dissolution de coupons de Cu⁰, de Cu₂O, ou de CuO augmentait fortement (d'un facteur compris entre 10 et 50) au contact d'un milieu physiologique tamponné contenant des ions chlorure (Tris-Cl) par rapport à un milieu phosphate salin tamponné (PBS). Les auteurs expliquent cette augmentation par la formation facile de complexes solubles avec Tris-Cl par rapport au PBS (formation de complexes entre le cuivre et le phosphate moins forts). Ils montrent aussi que CuO se dissolvait le moins, suivi de Cu₂O et enfin Cu⁰. Si cette libération pourrait jouer un rôle dans l'activité de Cu₂O, Midander *et coll.* ⁽⁸³⁾ ont, en revanche, clairement démontré que les effets cytotoxiques liés à la libération d'ions Cu²⁺ des nanoparticules de CuO étaient beaucoup plus faibles que les effets liés aux particules elles-mêmes. Cette conclusion a été corroborée plus tard par Applerot et coll.⁽⁸¹⁾. Ces résultats sont plutôt en accord avec les travaux de Ning et coll., qui situe la CMB vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* de l'ion Cu²⁺ aux alentours de 10⁻³ mg/mL à 37°C ⁽⁴⁴⁾, comparée aux solubilités de Cu₂O et CuO dans l'eau pure à 25°C respectivement de 6,3.10⁻⁵ et 1,4.10⁻⁵ mg/mL (84)

Un deuxième facteur qui peut rentrer en jeu est le potentiel zêta des particules. Dans leur étude publiée en 2011, l'équipe de Ren *et coll.* s'est intéressée à l'activité antibactérienne de particules submicrométriques de 400 nanomètres de forme cubique et octaédrique de Cu₂O vis-à-vis d'*E. coli* ⁽⁴⁶⁾. Ils observent que les particules de forme cubique présentent une activité bactéricide plus forte. Par mesure du potentiel zêta de ces particules, ils observent que les particules de forme cubique présentent une valeur très proche de zéro voire légèrement positive, alors que les particules de forme octaédrique et les bactéries *E. coli* ont un potentiel zêta strictement négatif. C'est également ce mode d'action qui est proposé par Sunada *et coll.* pour expliquer l'activité bactéricide de nanoparticules de Cu₂O ⁽⁷⁷⁾.

45

La plupart des auteurs s'accordent à dire que les nanoparticules de cuivre métallique ou d'oxyde de cuivre génèrent des ROS. Chatterjee *et coll.* ⁽⁸⁵⁾ montrent par fluorescence que l'activité bactéricide de nanoparticules de cuivre métallique est liée à un mécanisme associé aux ROS. Par détection des radicaux par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE), Applerot *et coll.* dévoilent que les nanoparticules de CuO sont génératrices de ROS responsables de l'activité bactéricide observée vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* ⁽⁸¹⁾. L'équipe de Meghana *et coll.* fait le même constat, et montre également que Cu₂O n'en produit pas ⁽⁸⁶⁾.

En conclusion, les mécanismes qui régissent l'activité bactéricide du cuivre et ses oxydes est un ensemble complexe, car ils interviennent à différents niveaux. Grass *et coll.* proposent en 2011 un modèle de l'action bactéricide du cuivre métallique (figure 25) ⁽⁸⁷⁾. Les auteurs ont classé les mécanismes selon leur ordre de survenue. Tout d'abord, le cuivre se dissout et endommage l'enveloppe bactérienne. Ce phénomène de corrosion peut être accentué par la présence de contreions, comme l'ion chlorure par exemple. Puis, la bactérie perd son potentiel de membrane et se vide de son contenu cytoplasmique. Les ions pénètrent dans la bactérie et produisent des ROS. Enfin, l'ADN bactérien est libéré et dégradé.





Toutefois, ce schéma ne se limite qu'au cuivre massif et ne permet pas de rendre compte de l'effet de la nanostructuration. De plus, on a vu précédemment que le cuivre pouvait s'oxyder et que par conséquent, les modes d'actions associés ne sont plus tout à fait les mêmes. Cu₂O interviendrait surtout au niveau dans la dépolarisation de la membrane, tandis que CuO attaquerait la bactérie par production de ROS. L'influence de la paroi cellulaire (bactéries à Gram + et -) sur le mécanisme d'action des surfaces cuivrées est également discuté par certains auteurs ⁽⁸⁸⁾.

4.2.5. Résistance des bactéries au cuivre

De par leur adaptabilité, les bactéries disposent d'un arsenal conséquent leur permettant de résister à leur environnement et le cuivre ne fait pas exception. De nombreux articles se sont intéressés à la résistance bactérienne au cuivre. L'origine de cette résistance est très variée et dépasse le cadre de cette thèse mais il semblerait qu'elle soit liée à la gestion des ions Cu^{2+ (89)}. Toutefois, au cours de tests *in vitro* sur des surfaces de cuivre métalliques, Santo *et coll*. ne montrent pas de résistance accrue de la souche *E. coli* supposée résistante au cuivre, comparée à une souche supposée sensible et à une souche "sauvage" ⁽⁹⁰⁾. Des résultats assez similaires ont été obtenus sur d'autres bactéries.

L'explication résiderait dans la trop forte concentration en cuivre apportée par les surfaces cuivrées. En effet, la concentration moyenne (exprimée en atomes de cuivre par cellule) dans une bactérie se situe aux alentours de 10⁴. Elle peut être multipliée d'un facteur 10⁵ quelques secondes après le contact avec une surface de cuivre sèche ⁽⁹¹⁾. La quantité de cuivre (sous forme d'ions) devient telle que même les mécanismes de défense ne peuvent plus gérer les effets délétères du cuivre, et conduisent inévitablement à la mort de la cellule. On pourrait alors très bien imaginer que des nanoparticules aient le même effet.

4.3. Composés à base de magnésium

4.3.1. L'oxyde de magnésium MgO - activité et mécanismes de bactéricidie associés

Le magnésium est un métal alcalino-terreux très présent sur Terre, où il constitue plus de 2,3% de la croûte terrestre. On le retrouve majoritairement sous son état d'oxydation +II, qu'il soit combiné avec d'autres éléments comme l'oxygène ou sous forme ionique Mg²⁺. C'est un oligo-élément essentiel pour le vivant, où il intervient dans de nombreuses réactions biochimiques.

Le premier composé du magnésium à avoir été étudié pour ses propriétés bactéricides est l'oxyde de magnésium MgO. L'équipe japonaise de Sawai *et coll.* ⁽⁹²⁾ a montré en 2000 qu'une suspension dans un milieu salin stérile de particules de taille micrométrique de 3,7 µm de diamètre concentrée à 5 mg/mL d'oxyde de magnésium commercial permettait de réduire pratiquement d'un facteur 3 (soit une réduction de 99,9%) le nombre de bactéries *E. coli* en 30 min à 37°C, et sous agitation (*inoculum* initial 10⁶ UFC/mL). Ils montrent également que le surnageant ainsi que les ions Mg²⁺ n'étaient pas responsables de l'activité antibactérienne, mais plutôt d'une génération de radicaux libres O₂^{-•}.

En 2005, Makhluf *et coll.* ⁽⁹³⁾ montrent une forte activité bactéricide de nanoparticules de MgO vis-àvis des bactéries *E. coli* et *S. aureus* à 37°C, en milieu salin tamponné à pH 6,5, et à la concentration de 1 mg/mL au bout de 4 heures (*inoculum* initial compris entre 5.10^7 et 8.10^8 UFC/mL). Comme pour les particules d'oxyde de cuivre, l'activité bactéricide était d'autant plus forte que la taille des particules était petite (figure 26). Dans ces deux études, l'élévation de pH associée (variation de pH=6,5 à pH=10,6) à la dissolution partielle des particules de MgO n'a qu'une influence marginale sur l'activité bactéricide observée, corroborant les travaux de Sawai ⁽⁹²⁾. L'explication proposée pour expliquer la bactéricidie de MgO repose également sur une production du radical $O_2^{-•}$, qui va perforer la paroi cellulaire et conduire à la libération du contenu de la bactérie dans le milieu, la tuant au passage.



Figure 26 : Activité bactéricide à 37°C de particules de MgO à la concentration de 1 mg/mL. D'après ⁽⁹³⁾

Leung *et coll.* se sont intéressés en 2014 entre autres à l'origine de l'activité antibactérienne de nanoparticules de MgO (diamètre inférieur à 30 nm) en suspension à 1 mg/mL provenant de deux fournisseurs différents vis-à-vis d'*E. coli (inoculum* initial 10⁸ UFC/mL) ⁽⁹⁴⁾. Dans les deux cas, aucune bactérie n'est comptabilisée après un contact de 30 minutes à 37°C par rapport au témoin. Leurs observations confirment celles de Sawai et Makhluf, à savoir que l'élévation du pH n'était pas responsable du caractère bactéricide des nanoparticules de MgO. La production de radicaux libres a été suivie par résonance paramagnétique électronique et montre qu'une des deux poudres n'en générait pas. Après l'étude de l'expression de différentes protéines et un test statistique associé, ils concluent que l'activité bactéricide est liée à la particule elle-même et non pas aux ROS, en contradiction avec les études de Sawai et de Makhluf ^(92, 93). L'origine de l'activité antibactérienne de MgO reste donc à préciser (liée ou non à la production de ROS), mais les auteurs d'accordent à dire que la paroi bactérienne est sa cible principale.

4.3.2. Instabilité de MgO vis-à-vis de l'eau et du CO₂ et ses conséquences sur son activité bactéricide

L'oxyde de magnésium est connu depuis longtemps dans la littérature pour sa sensibilité vis-à-vis d'une atmosphère humide. Campbell s'intéresse en 1909 à la cinétique d'hydratation par la vapeur d'eau à température ambiante de l'oxyde de magnésium calciné à différentes températures ⁽⁹⁵⁾. Il montre que le processus d'hydrolyse est d'autant plus rapide (hydrolyse complète en 72 heures) que la température de calcination est faible. Ce phénomène s'explique notamment par le fait que plus la température de calcination est élevée, plus les particules s'agrègent et moins elles sont réactives car la surface exposée est plus faible. Depuis, d'autres études ont été menées sur la cinétique d'hydrolyse en présence de vapeur d'eau avec des techniques beaucoup plus modernes, mais la plupart sont réalisées à des températures plus élevées (supérieures à 50°C) ^(96, 97), qui s'éloignent des

conditions normales de températures (entre 15 et 30°C). Blahá s'est intéressé en 1995 à la cinétique d'hydrolyse de nanoparticules d'oxyde de magnésium (surface spécifique 33 m²/g soit des particules d'environ 50 nanomètres de diamètre) à la température de 36°C ⁽⁹⁸⁾. Les résultats présentés sur la figure 27 montrent que le processus d'hydrolyse est rapide mais tend vers un plateau aux alentours de 75% de taux de conversion au bout de 4 heures.



Figure 27 : Cinétique d'hydrolyse de nanoparticules de MgO dans l'eau à 36°C. D'après ⁽⁹⁸⁾

Lors de leur évaluation de l'activité antibactérienne de MgO, Makhluf *et coll.* ⁽⁹³⁾ ont constaté une élévation de pH du milieu qui atteint une valeur de 10,6. A cette valeur de pH basique, une formation d'hydroxyde de magnésium intervient naturellement, au moins à la surface des particules de MgO (figure 28).



Figure 28 : Diagramme potentiel-pH du magnésium à 25°C pour une concentration en espèce dissoute de 10⁻² mol/L. Le parallélogramme vert correspond aux conditions de pH et potentiel rencontrés dans le milieu biologique. D'après ⁽⁵⁶⁾ et ⁽⁵⁷⁾

Les propriétés antibactériennes de Mg(OH)₂ ont été étudiées par l'équipe de Dong *et coll.* ⁽⁹⁹⁾ en 2010. Dans leurs travaux, ils montrent que l'hydroxyde de magnésium est capable de tuer la totalité d'un *inoculum* concentré à 10⁸ UFC/mL de bactéries *E. coli* au bout de 24h à la concentration de 1 mg/mL et à 37°C dans un milieu de culture bouillon lysogène. A la lumière du diagramme de Pourbaix du magnésium (figure 27) et de l'élévation de pH observée par Makhluf *et coll.*, l'activité bactéricide de l'oxyde de magnésium décrite plus haut est donc probablement liée en partie à celle de l'hydroxyde de magnésium. Par ailleurs, l'activité bactéricide de Mg(OH)₂ serait également liée à une perforation de la membrane, comme pour MgO.

Enfin, il a été montré que l'oxyde de magnésium est également sensible à la carbonatation atmosphérique en présence de vapeur d'eau ^(100, 101) entraînant la formation de carbonates hydratés MgCO₃.xH₂O et/ou d'hydroxycarbonates. Selon la température, on ne va pas former la même chose. Le carbonate hydraté MgCO₃.3H₂O est obtenu en dessous de 52°C, l'hydroxycarbonate Mg₅(CO₃)₄(OH)₂.4H₂O se forme à des températures comprises entre 52 et 126°C et enfin le carbonate anhydre est observée à des températures à 126°C ^(102, 103).

4.3.3. Le fluorure de magnésium MgF₂

L'ion fluorure est connu pour sa capacité à inhiber la formation de lésions carieuses ⁽¹⁰⁴⁾. Le mécanisme à l'origine de cette capacité est complexe mais il peut être résumé ainsi. Les ions fluorures perturbent le métabolisme des bactéries cariogènes en s'attaquant notamment aux enzymes de la glycolyse qui leur permettent d'assimiler le glucose. Dans la littérature, seule l'équipe de Lellouche *et coll.* a évalué l'activité antibactérienne de nanoparticules d'un fluorure inorganique, MgF₂. Ces particules préparées par voie solvothermale utilisant un chauffage micro-ondes ont un diamètre de 25 nanomètres ⁽¹⁰⁵⁾. Ces auteurs ont montré qu'au bout de 24 heures, le fluorure de magnésium possédait une activité bactériostatique à 37°C vis-à-vis de *S. aureus* (CMI de 1,5 mg/mL) et dans une moindre mesure vis-à-vis d'*E. coli* dans un milieu de culture bouillon lysogène.

Trois ans plus tard, la même équipe arrive à accroître le potentiel bactériostatique (figure 29) de leurs nanoparticules de MgF₂ en les préparant par sonochimie ⁽¹⁰⁶⁾. Un abaissement conséquent de la CMI vis-à-vis de *S. aureus* est constatée (0,1 mg/mL) tandis que celle vis-à-vis de *E. coli* n'a, en comparaison, que peu diminué (1 mg/mL). Le milieu utilisé pour réaliser ces tests est une gélose tryptone soja contenant du chlorure de sodium. Dans un tel milieu, une dissolution partielle du fluorure de magnésium ne peut être totalement écartée. Par ailleurs, les synthèses des nanoparticules de MgF₂ sont toutes effectuées en phase liquide. Ceci est susceptible d'engendrer une substitution iso-électronique partielle d'ions fluorure par des groupes hydroxyle dans le composé synthétisé conduisant à une hydroxylation partielle du fluorure MgF_{2-x}(OH)_x. A l'issue de ces travaux,

50

seule une activité bactériostatique de "MgF₂", dont la teneur en fluor n'a pas été déterminée, est donc répertorié dans la littérature.



Figure 29 : Activité bactériostatique (antibiofilm) de nanoparticules de MgF₂ déposées sur des surfaces de verre. Les bactéries vivantes et actives sont matérialisées en vert. D'après⁽¹⁰⁶⁾

4.3.4. Intérêt de composés à base de magnésium comme agent antibactérien

Les composés à base de magnésium sont globalement moins efficaces que les composés à base de cuivre ou l'argent métallique. De plus, il a été démontré que l'oxyde de magnésium est sensible aux phénomènes d'hydrolyse et/ou de carbonatation. De manière étonnante, aucune étude à ce jour n'a par exemple évalué l'activité antibactérienne des différents carbonates/hydroxycarbonates issus de la carbonatation de MgO ni même comparé l'activité de cet oxyde à celle de son hydroxyde Mg(OH)₂. Ces points sont d'autant plus importants qu'ils conditionnent la pérennité dans le temps du potentiel antibactérien de l'oxyde MgO. Néanmoins, les composés à base de magnésium (autres que MgO) demeurent des candidats intéressants pour la conception de nouveaux agents antibactériens, car le magnésium est naturellement abondant, peu onéreux et non toxique pour l'Homme.

4.4. L'oxyde de zinc ZnO

Le zinc est un élément métallique présent à hauteur de 70 ppm dans la croûte terrestre. C'est un métal très utilisé par l'Homme, avec plus de 13 millions de tonnes en 2017 ⁽¹⁰⁷⁾, dont plus de la moitié est réservée à la galvanisation. Comme pour le cuivre ou le magnésium, c'est un oligoélément essentiel à la vie.

L'activité antibactérienne de composés inorganiques à base de zinc est connue à partir du milieu du XX^e siècle, où il était très utilisé en dentisterie pour réaliser des ciments dentaires ⁽⁶⁶⁾. Mais ce n'est qu'en 1990 que l'activité bactériostatique de l'oxyde de zinc seul est évaluée par l'équipe suédoise de Söderberg *et coll.* sur plusieurs souches bactériennes dont *E. coli, S. aureus* et *P. aeruginosa* à 37°C ⁽¹⁰⁸⁾. C'est surtout l'équipe japonaise de Sawai *et coll.* qui s'est intéressé le plus à ce composé à la fin des années 1990. Dans leurs travaux, l'effet bactériostatique de ZnO est évalué par conductimétrie à 37°C dans un salin physiologique ⁽¹⁰⁹⁾. Contrairement aux autres composés à base d'argent, de cuivre

ou de magnésium, ZnO possède une activité bactériostatique nettement plus prononcée vis-à-vis d'*S. aureus* que vis-à-vis d'*E. coli*, avec des CMI respectives de 1 mg/mL (pour *S. aureus*) et plus de 20 mg/mL (pour *E. coli*). Ces résultats confirment les premières observations de Söderberg *et coll.*, et sont complétées par Yamamoto en 2001 ⁽¹¹⁰⁾, qui montre également l'influence de la taille de particules (submicrométriques) de ZnO sur la CMI.

En 2007, Ohira *et coll.* se sont intéressés cette fois-ci à la cinétique de bactéricidie de particules micrométriques de ZnO vis-à-vis d'E. coli et S. aureus à 36°C dans de l'eau stérile (*inoculum* initial 10⁴ UFC/mL) ⁽¹¹¹⁾. Les résultats, exprimant la constante de vitesse à laquelle les bactéries meurent en fonction de la concentration en microparticules de ZnO, sont présentés sur la figure 30 suivante. Il apparaît, à la lecture de la figure, que la vitesse à laquelle les bactéries sont tuées est intimement liée à la concentration en ZnO. La morphologie des particules aurait également un effet modéré, que les auteurs expliquent par une différence au niveau de la surface spécifique allouée à l'interaction particule-bactérie.



Figure 30 : Relation entre la constante de vitesse à laquelle les bactéries meurent et la concentration en ZnO. Adapté de (111)

Applerot *et coll.* réalisent en 2009 une étude de l'activité bactéricide de ZnO à la concentration de 0,1 mg/mL et à 37°C en fonction de la taille des particules ⁽¹¹²⁾ (*inoculum* initial de 6,5.10⁷ UFC/mL pour *E. coli* et environ 10^7 UFC/mL pour *S. aureus*) dans un milieu salin tamponné à pH 6,5. Leurs résultats, présentés dans le tableau 11, montrent effectivement une activité bactéricide plus forte pour les nanoparticules, avec une réduction N₀/N de près de 3 log pour *E. coli* (99,8% de bactéries tuées) et de près de 2 log pour *S. aureus* (98% de bactéries tuées) mais qu'elle reste néanmoins non négligeable pour les particules submicrométriques de 800 nanomètres de diamètre (respectivement 87% et 68% de bactéries *E. coli* et *S. aureus* tuées en 3 heures). Leurs travaux montrent également une activité bactéricide plus forte vis-à-vis d'*E. coli* par rapport à *S. aureus*, ce qui en contradiction avec les travaux cités jusqu'à présent.

	1	heure	3	neures			
	log(N ₀ /N)	% réduction	log(N ₀ /N)	% réduction			
	<i>E. coli</i> (N ₀ =6,5	.10 ⁷ UFC/mL)					
ZnO (7 nm)	1,10	92	2,70	99,8			
ZnO (260 nm)	0,80	84	2,30	99,5			
ZnO (800 nm)	0,51	69	0,70	87			
S. aureus (N₀ ≈ 10 ⁷ UFC/mL)							
ZnO (7 nm)	0,54	71	1,70	98			
ZnO (260 nm)	0,28	47	0,96	89			
ZnO (800 nm)	0,06	13	0,49	68			

Tableau 11 : Activité bactéricide à 37°C de particules	de ZnO à la concentration	de 1 mg/mL, e	n fonction	de la t	aille des
	particules ⁽¹¹²⁾				

Le mécanisme associé à la bactéricidie de ZnO est encore très discuté. Dès 1996, Sawai *et coll.* proposent que l'activité bactéricide de l'oxyde de zinc pourrait être liée à la production de radicaux libres ⁽¹¹³⁾, ce que confirmerait les travaux d'Applerot *et coll.* ⁽¹¹²⁾ par détection des ROS par résonance paramagnétique électronique. Plus récemment, Kumar *et coll.* ⁽¹¹⁴⁾ puis Lakshmi Prasanna *et coll.* ⁽¹¹⁵⁾ font le même constat, en ajoutant aussi que cette production était possible même dans l'obscurité.

Si la production de ROS par les nanoparticules de ZnO ne fait aucun doute, le rôle de l'ion Zn²⁺ est moins évident à la lecture des différents articles traitant du sujet. Sawai *et coll.* excluent que l'ion Zn²⁺ intervienne dans l'activité antibactérienne de ZnO ⁽¹¹⁶⁾. En effet, aucun effet bactéricide de cet ion n'est observé même à des concentrations 10 fois supérieures à ce que l'on peut obtenir par équilibre de solubilité de ZnO. A l'inverse, Pasquet *et coll.* montrent en 2014 que les ions Zn²⁺ contribuent à hauteur de 15% de l'activité bactéricide observée pour *E. coli* et 71% pour *S. aureus,* par détermination de l'activité bactéricide d'un surnageant de nanoparticules de ZnO ⁽¹¹⁷⁾. Wang *et coll.* estiment même que toute l'activité antibactérienne de ZnO est liée uniquement aux ions Zn²⁺ issus de la dissolution des nanoparticules (concentration en ion Zn²⁺ aux alentours de 10⁻³ mg/mL) ⁽¹¹⁸⁾.

4.5. Conclusion sur les composés inorganiques antibactériens

Le tableau 12 résume les avantages et les inconvénients des différents éléments chimiques décrits dans le cadre de ce chapitre bibliographique. Pour les composés à base d'argent, bien qu'ils soient les plus décrits dans la littérature et considérés comme les plus actifs sur le plan bactéricide, leur coût élevé ainsi que les rares données concernant le potentiel bactéricide à température ambiante suffisent à les écarter de l'étude. Les composés à base de cuivre quant à eux sont un bon compromis entre forte activité à température ambiante et coût plus modéré. Les composés à base de magnésium, encore meilleur marché que le cuivre et présentant l'avantage de n'être pas écotoxique, peuvent également être utilisés, mais au détriment d'une activité nettement plus faible et d'une problématique d'hydrolyse/carbonatation. Quant à l'oxyde de zinc, il pourrait être un bon compromis entre une efficacité significative et un coût modéré.

L'état de l'art a également révélé la complexité à déterminer l'origine de l'activité antibactérienne des composés inorganiques, la littérature pouvant parfois être contradictoire (ion Zn²⁺, par exemple). Si le rôle de l'ion Ag⁺ dans l'activité antibactérienne des composés à base d'argent ne fait aucun doute, le mode d'action précis pour les autres composés étudiés est beaucoup plus délicat à mettre en lumière. Il est souvent le résultat de la combinaison de plusieurs effets, et peut être fortement influencé par les conditions expérimentales.

Particule	Avantages	Inconvénients	Mode d'action	Références	
Ag et Ag ₂ O	Le plus actif	Onéreux (400€/kg)	Ion Ag^+	(42, 60)	
		Activité à 37°C	ROS	(62)	
Cu			ROS	(85)	
Cu₂O	Très actif Activité démontrée à 20°C		Ion Cu^+	(43, 46, 77)	
		Assez cher (5€/kg)	Particule		
CuO			Ion Cu ²⁺	(42, 118)	
			ROS	(42, 81, 86)	
MgO		Le moins actif	Particule	(94, 119)	
Mg(OH)₂	Ecocompatible	Instabilité vis-à-vis H ₂ O/CO ₂	Particule	(39)	
		Moins actif	Particule	(42, 120)	
ZnO	Le plus économique (1,5€/kg)		Ion Zn ²⁺	(42, 117, 118)	
		Activite a 37°C	ROS	(114, 115)	

Tableau 12 : Avantages, inconvénients et modes d'action supposés des composés inorganiques étudiés

5. Intégration de composés inorganiques antibactériens dans des objets

La capacité des bactéries à sans cesse s'adapter/développer une résistance aux antibiotiques a conduit ces dernières années à envisager, en parallèle de la recherche de nouveaux antibiotiques, de conférer à des objets en contact avec les patients des propriétés antibactériennes comme moyen de lutte contre les infections nosocomiales dans les hôpitaux. Que ce soient des surfaces, des textiles, voire même des dispositifs médicaux, plusieurs stratégies sont possibles pour lutter contre les infections nosocomiales.

5.1. Les surfaces/revêtements antibactériens

Les surfaces/revêtements antibactériens sont étudiés depuis le milieu des années 2000. Trois stratégies existent (figure 31) ⁽¹²¹⁻¹²³⁾ :

 Les revêtements fortement ou super- hydrophobes : en empêchant les bactéries d'adhérer (et donc de développer un biofilm) par modification de son état de surface (greffage de chaînes polyéthylène glycol, par exemple), le revêtement possède alors un effet anti-colonisation.

Les revêtements libérant un agent bactéricide (antibiotiques ou composés organiques biocides, ions Ag⁺, etc.) immobilisé ou déposé au préalable en surface. Cette activité est temporaire car elle dépend de la quantité d'agent bactéricide initiale, elle décline donc avec le temps pour finir par disparaître.
La longévité de l'action bactéricide est aussi dépendante de la force de la liaison entre l'agent et la surface.

- Les revêtements bactéricides à action permanente qui tuent les bactéries par simple contact. Ces revêtements incorporent généralement des particules d'oxydes photo-actifs, comme TiO₂, capable de générer des radicaux libres (ROS) à la lumière naturelle ou sous irradiation UV. Ce sont également des revêtements comportant des chaines polymères greffées en surface comme le bromure de poly(vinyl-4-pyridinium) comportant sur l'azote de la pyridine une chaine alkyle ⁽¹²⁴⁾.



Figure 31 : Approches possibles pour réaliser une surface antibactérienne

5.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne de surfaces in vitro

De nombreuses études ont été menées sur les propriétés antibactériennes des surfaces fonctionnalisées par des nanoparticules métalliques ou d'oxydes métalliques ⁽¹²²⁾. Jeon *et coll.* montrent en 2003 ⁽¹²⁵⁾ une très forte activité antibactérienne de couches minces de silice dopée à l'argent préparées par voie sol-gel puis déposées sur des lames de verre au bout de 24 heures vis-à-vis des bactéries *E. coli* et *S. aureus*. Jaiswal *et coll.* ont déterminé en 2012 la CMI et la CMB à 37°C de surfaces sol-gel à base de methyltriethoxysilane dopées aux ions Ag⁺, Cu²⁺ ou Zn²⁺ vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* ⁽¹²⁶⁾. Pour les deux bactéries testées, la présence d'ions Ag⁺ confère une meilleure activité à la surface par rapport aux deux autres métaux (tableau 13) ce qui est cohérent avec la littérature ^(53, 80, 108, 127).

	E. coli			S. aureus		
	Ag	Cu	Zn	Ag	Cu	Zn
CMI (% massique)	0,5	0,7	0,7	0,5	>1	0,5
CMB (% massique)	0,5	0,7	0,7	0,5	>1	0,5

 Tableau 13 : CMI et CMB exprimées en pourcentage massique de métal contenu dans des surfaces sol-gel à base de methyltriethoxysilane dopées à l'argent, au cuivre et au zinc vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus*. D'après ⁽¹²⁶⁾

Néanmoins, on a vu précédemment que des surfaces à base d'alliage de cuivre restaient malgré tout très efficaces vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* ⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾. La forte activité antibactérienne du cuivre métallique et de ses alliages serait également liée aux produits de sa corrosion, notamment Cu₂O et CuO qui se forment rapidement à la surface du métal ⁽⁷²⁾.

Peu d'études ont été réalisées sur les surfaces antibactériennes avec des composés à base de magnésium comme principe actif. Si l'oxyde et l'hydroxyde de magnésium présentent une efficacité démontrée vis-à-vis de certaines bactéries ^(39, 93, 94, 99, 119), leur intégration à des surfaces présente plusieurs difficultés, notamment leur faible résistance à la corrosion en milieu acide, neutre ou salin ⁽¹²⁸⁾. Des essais de dépôt de nanoparticules de fluorure de magnésium sur du verre ont été entrepris par l'équipe de Lellouche *et coll.*, et observent que cette surface présente une activité inhibitrice de colonisation vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* jusqu'à 7 jours ⁽¹⁰⁶⁾.

Comme pour le magnésium, des surfaces à base d'oxyde de zinc comme agent antibactérien sont assez peu répertoriées dans la littérature. Schwartz *et coll.* observent une forte activité antibactérienne de nanoparticules d'oxydes de zinc incorporées dans un polymère biocompatible. Des concentrations en ZnO aussi faibles que 0,74 μ g/cm² suffisaient pour avoir une activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* ⁽¹²⁹⁾.

5.1.2. Potentiel antibactérien de surfaces fonctionnalisées en milieu hospitalier

Les études *in vitro* sont indispensables pour garantir de l'efficacité des surfaces antibactériennes à base de composés inorganiques, mais leur application dans un milieu hospitalier est plus difficile à mettre en œuvre. En effet, la plupart des tests antibactériens sont réalisés à 37°C. Or la température ambiante d'un hôpital se situe plutôt aux alentours de 20°C. A l'heure actuelle, le cuivre métallique est l'élément qui a fait l'objet d'études les plus poussées sur son potentiel antibactérien en milieu hospitalier.

Casey *et coll.* ⁽¹³⁰⁾ ont étudié le développement de cultures bactériennes sur des objets comportant entre 60-70% de cuivre métallique : un siège de toilette (composite résine-cuivre), des robinets et une plaque poussoir de porte (alliage). L'étude s'est déroulée dans un service de gastro-entérologie. Chaque semaine et sur une période totale de 10 semaines, un nettoyage des surfaces par le personnel a été réalisé selon la procédure habituelle du service. Les résultats montrent que pour tous les objets comportant du cuivre métallique, le nombre d'unités formant colonies par centimètre carré est pratiquement nul par rapport aux témoins. Rai *et coll.* ⁽¹³¹⁾ font un constat similaire sur un fauteuil dont les bras avaient été recouverts d'un alliage cupronickel (90% cuivre et 10% nickel) dans un service ambulatoire des maladies infectieuses, avec une réduction du nombre d'unités formant colonies par centimètre carré pouvant aller jusqu'à 90% par rapport au fauteuil témoin.

Récemment, Palza *et coll.* ⁽¹³²⁾ ont réussi à incorporer des nanoparticules de cuivre métallique dans du polypropylène à hauteur de 10% massique avant de le mouler en forme de chaises. Parallèlement, une peinture polyester dopée à 5% massique avec les mêmes particules de cuivre a été appliquée sur une potence à perfusion. Les essais ont été menés à la fois *in vitro* à 37°C, et *in situ* dans un hôpital

57
sur une période de 10 semaines. A l'hôpital, la chaise ou la potence ont été nettoyées régulièrement selon les protocoles de désinfection en vigueur. Les résultats présentés sur la figure 32 montrent que l'activité bactéricide observée est globalement plus faible en milieu hospitalier.



Figure 32 : Activité bactéricide d'une chaise dopée à 10% en nanoparticules de cuivre métallique *in vitro* (37°C) et *in situ* (milieu hospitalier) et activité antibactérienne d'une potence à perfusion recouverte d'une peinture polyester dopée à 5% en nanoparticules de cuivre métallique

Cette étude montre les difficultés de l'évaluation de l'activité bactéricide des surfaces en conditions réelles, car l'activité observée *in vitro* n'est pas forcément celle qui sera observée en conditions réelles, notamment en liaison avec une ré-inoculation permanente et la présence de substances potentiellement interférentes (protéines,...). Par ailleurs, l'efficacité peut être sous-estimée en raison de l'incompatibilité du cuivre avec certains produits d'entretien. Ainsi, certaines études montrent même que le cuivre métallique ou ses alliages incorporés dans des surfaces à fort contact avec les patients peuvent n'avoir qu'une faible activité bactéricide dans les hôpitaux si le produit utilisé pour le nettoyage forme un film à la surface du cuivre ⁽¹³³⁾. La question de la pérennité du potentiel bactéricide des surfaces en alliage de cuivre est également à prendre en compte. Colin *et coll.* ont montré en 2018 que des poignées de portes alliées (90% de cuivre métallique) conservaient une activité significative au bout de trois années d'utilisation dans des établissements hospitaliers pour personnes âgées dépendantes (EPHAD) mais étaient toutefois plus faible que des poignées neuves vis-à-vis de *S. aureus* résistant à la méticiline ⁽¹³⁴⁾.

Enfin, il faut également garder à l'esprit que certains alliages à base de cuivre peuvent présenter une efficacité supérieure à celle du cuivre pur, comme l'a montré Wilks *et coll.* ⁽⁶⁹⁾ vis-à-vis d'*E. coli* (figure 21) ou plus récemment l'équipe de Warnes *et coll.* sur des bactéries et des virus ^(135, 136).

5.2. Les textiles antibactériens

Les textiles constituent un réservoir important de bactéries potentiellement pathogènes. En effet, de par la proximité avec l'homme et les conditions particulières de température et d'humidité, ils constituent un milieu particulièrement propice à leur développement. Qu'ils soient à base de fibres naturelles comme le coton ou artificielle comme le polyester ou l'acrylique, les textiles ne présentent pas d'activité antibactérienne intrinsèque. De ce fait, les bactéries ayant colonisé des textiles peuvent survivre plusieurs semaines (tableau 14) ⁽¹³⁷⁾. Ces dernières années, de nombreuses recherches ont été entreprises pour les rendre antibactériens, par imprégnation avec des composés chimiques organiques ou inorganiques présentant une activité bactéricide avérée. Des vêtements aux tissus de literie, en passant par les compresses médicales, un très grand nombre d'objets textiles peuvent être rendus antibactériens.

Temps de survie (en jours)	Coton	Coton-polyester	Laine	Soie
E. coli	45	37	41	37
S. aureus	37	37	41	37
P. aeruginosa	13	23	33	33

Tableau 14 : Temps de survie en jours de quelques bactéries sur différents types de textiles. D'après (137)

5.2.1. Méthodes de production de textiles antibactériens

La première étape de la fabrication d'un textile antibactérien repose sur le dépôt de composés chimiques bactéricides. Plusieurs techniques de dépôt sont répertories dans la littérature ⁽¹³⁷⁾ (figure 33). Parmi elles, la technique d'enduction par trempage (« dip-coating » en anglais) et la technique du foulardage-séchage (« pad-dry-cure » en anglais) sont les plus utilisées. L'enduction par trempage consiste simplement à immerger le textile dans une solution/suspension contenant l'agent antibactérien puis à le laisser sécher à sa sortie du bain. Cette technique présente l'avantage d'être rapide à mettre en œuvre, mais elle peut ne pas lier l'agent antibactérien de manière covalente au substrat, entraînant une perte rapide des propriétés recherchées avec les lavages répétés des fibres. Pour augmenter son adhésion, il est souvent nécessaire de procéder à plusieurs trempages dans différents bains afin de réaliser des modifications à la surface des fibres et ainsi permettre une liaison nettement plus forte entre l'agent antibactérien et le textile. C'est cette technique qui est également utilisé pour teindre les textiles. La technique du foulardage-séchage est une technique similaire à celle de l'enduction. Mais cette fois-ci toutes les étapes de trempage, de séchage, et de maturation ont réalisées en une seule fois où le textile va passer sur et entre une succession de rouleaux qui vont l'entraîner dans les différentes parties de l'appareil.





D'autres techniques peuvent également être employées. Récemment la sonochimie, qui utilise des ultrasons, a été employée comme méthode de dépôt de nanoparticules de CuO sur des textiles ⁽¹³⁸⁾.

5.2.2. Evaluation in vitro d'activité antibactérienne de textiles fonctionnalisés par des particules inorganiques

L'imprégnation de fibres textiles avec des particules inorganiques bactéricides constitue un axe de recherche particulièrement important dans le développement de textiles antibactériens. Parmi eux, les nanoparticules d'argent incorporées dans les textiles sont particulièrement étudiées. L'équipe de Lee *et coll.* a montré en 2003 que des tissus en coton fonctionnalisés par des nanoparticules d'argent à hauteur de 30 ppm (soit 0,0003% massique) tuaient plus de 99,9% des bactéries en 24 heures et à 37°C ⁽¹³⁹⁾. En 2008, l'équipe de Perelshtein *et coll.* a réussi à intégrer des nanoparticules d'argent par sonochimie à des fibres de coton ⁽¹⁴⁰⁾. L'activité antibactérienne observée à 37°C vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* était particulièrement importante, avec une élimination de toutes les bactéries présentes dans un *inoculum* de 1,5.10⁷ UFC/mL des bactéries au bout d'une heure pour le textile imprégné à hauteur de 6% en masse d'argent (tableau 15) dans un milieu salin. Pour les textiles chargés à 1% massique, cette réduction est d'environ un 1 log pour les deux bactéries testées (85,7% pour *E. coli*, 92,4% pour *S. aureus*) au bout d'une heure, et atteint 7,2 log (100%) au bout de 3 heures. Aujourd'hui encore, les nanoparticules d'argent constituent le principal agent inorganique bactéricide des textiles antibactériens commerciaux.

	1 heure		2 heures			
	log(N ₀ /N)	% réduction	$log(N_0/N)$	% réduction		
<i>E. coli</i> (N ₀ = 1,76.10 ⁷ UFC/mL)						
Témoin (textile propre)	0	0	0	0		
Textile à 1% massique en Ag	0,85	85,7	> 7,20	100		
Textile à 6% massique en Ag	> 7,20	100	> 7,20	100		
<i>S. aureus</i> (N₀ ≈ 1,84.10 ⁷ UFC/mL)						
Témoin (textile propre)	0	0	0	0		
Textile à 1% massique en Ag	1,12	92,4	> 7,20	100		
Textile à 6% massique en Ag	> 7,2	100	> 7,20	100		

Tableau 15 : Résultats des tests de bactéricidie vis-à-vis d'E. coli et S. aureus à 37°C de textiles fonctionnalisés à 1% et 6%en masse de nanoparticules d'argent

La littérature s'intéresse également aux textiles fonctionnalisés par des composés à base de cuivre. Les premières études remontent au début des années 2000 par l'équipe de Borkow et Gabbay ⁽¹⁴¹⁾. Dans leurs travaux, des fibres de coton ont été imprégnées de cuivre par dépôt chimique puis tissées. L'activité antibactérienne de ces textiles évaluée à température ambiante vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* montre une réduction de plus de 2 log du nombre d'UFC au bout de deux heures de contact (*inoculum* de départ non renseigné). Deux ans plus tard, la même équipe réalise une expérience similaire sur un plus grand nombre de souches bactériennes et sur des virus, le même résultat est obtenu. Toutefois, la teneur en cuivre des textiles n'était pas donnée dans l'étude. En 2009, l'équipe de Perelshtein *et coll.* ⁽¹³⁸⁾ arrive à déposer des nanoparticules d'oxyde CuO sur un bandage en coton par sonochimie. L'activité antibactérienne à 37°C de ce textile chargé à hauteur de 1% en masse de cuivre vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* est significative, avec une réduction respective d'un facteur 6 et d'un facteur 3 du nombre de bactéries *E. coli* et *S. aureus* au bout d'une heure de contact (tableau 16) en milieu salin à 0,9% en NaCl. Leurs travaux montrent également que leurs textiles imprégnés par du CuO présentaient une cinétique de bactéricidie plus rapide par rapport aux mêmes textiles imprégnés par des nanoparticules d'argent (tableau 14) ⁽¹⁴⁰⁾.

Tableau 16 : Résultats des tests de bactéricidie vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* à 37°C de textiles fonctionnalisés à 1% enmasse de nanoparticules de CuO. Photographie d'un textile brut et imprégné par du CuO (138)

	1 heure		3 heures		
	log(N ₀ /N)	% réduction	log(N ₀ /N)	% réduction	
$E. \ coli \ (N_0 = 2.10^7 \ UFC/mL)$					
Textile propre	0,04	7,5	0,06	12,2	
Textile à 1% massique en CuO	5,64	100	> 7,30	100	
<i>S. aureus</i> ($N_0 = 0.9.10^7$ UFC/mL)					
Textile propre	0,04	7,5	0	-30	
Textile à 1% massique en CuO	2,92	99,9	4,92	100	

Si la fonctionnalisation des surfaces par l'oxyde de zinc est relativement peu étudiée, les textiles antibactériens avec ZnO comme principe actif sont bien mieux décrits dans la littérature. En effet, les propriétés antibactériennes de fibres textiles à base d'oxyde de zinc sont connues depuis plus de 25 ans ⁽¹⁴²⁾. Cela tient certainement au fait que l'oxyde de zinc étant de couleur blanche, il n'entraîne pas de coloration du textile qu'il imprègne comme c'est le cas avec l'oxyde CuO (Voir photo intégrée dans le tableau précédent). Ces dernières années, de nombreuses études ont montré l'efficacité antibactérienne de textiles fonctionnalisés par l'oxyde de zinc ⁽¹⁴³⁾. Parmi les auteurs de ces études, l'équipe de Perelshtein *et coll.*, qui a également travaillé sur des textiles à base d'argent et de cuivre ^(138, 140), a montré qu'un bandage de coton imprégné avec 0,75% en masse en nanoparticules de ZnO permet de réduire quasiment de 3 log le nombre d'UFC/mL (soit 99,9% de bactéries tuées) pour *E. coli.* L'activité vis-à-vis de *S. aureus* est plus faible, avec une réduction de seulement 0,47 log (soit 66,4%) sur le même laps de temps (tableau 17, milieu salin tamponné à pH 6,5) ⁽¹⁴⁴⁾. Leur étude montre également que l'activité antibactérienne n'était pas liée à la libération d'ions Zn²⁺, ce qui confirme les observations faites par Sawai ⁽¹¹⁶⁾.

	1 heure		3 heures		
	log(N ₀ /N)	% réduction	log(N ₀ /N)	% réduction	
<i>E. coli</i> ($N_0 = 1.10^7$ UFC/mL)					
Textile propre	0,01	2,4	0	-28	
Textile à 0,75% massique en ZnO	2,80	99,8	> 7	100	
<i>S. aureus</i> ($N_0 = 0,9.10^7$ UFC/mL)					
Textile propre	0,15	20,4	0	-12,5	
Textile à 0,75% massique en ZnO	0,47	66,4	3,18	99,9	

Tableau 17 : Résultats des tests de bactéricidie vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* à 37°C de textiles fonctionnalisés à 0,75% en masse de nanoparticules de ZnO ⁽¹⁴⁴⁾

L'étude de textiles antibactériens à base de magnésium reste assez peu étudiée. Ponnuvelu *et coll.* ⁽¹⁴⁵⁾ ont montré en 2016 un certain potentiel antibactérien à 27°C de coton imprégné de nanoparticules d'oxyde de magnésium, par la méthode de mesure des diamètres d'inhibition. Un an plus tard, l'équipe de Wang *et coll.* ⁽¹⁴⁶⁾ observe une activité antibactérienne significative au bout de 24 heures et à 37°C de fibres de polyester fonctionnalisées par 4 lots de particules commerciales d' hydroxyde de magnésium Mg(OH)₂ (Brucites) de taille moyenne 2,5 ou 4,6 microns. La réduction du nombre de bactéries *E. coli* et *S. aureus* était de l'ordre de 0,60 à 6,23 log (soit entre 75 et 100%) selon la Brucite étudiée (tableau 18). Un effet de la taille est présent entre les trois textiles fonctionnalisés avec des particules de 2,5 µm environ et celui fonctionnalisé avec des particules de 4,65 µm. Toutefois, les charges nécessaires pour observer cette activité antibactérienne étaient particulièrement importantes, de l'ordre de 40% en masse de Brucite sur le produit final.

	log(N ₀ /N)	% réduction				
<i>E. coli</i> (N ₀ =	<i>E. coli</i> (N ₀ = 1,4.10 ⁵ UFC/mL)					
Textile n°1 (2,29 μm)	1,02	90,3				
Textile n°2 (2,70 μm)	0,98	89,5				
Textile n°3 (2,93 μm)	1,47	96,6				
Textile n°4 (4,65 μm)	0,60	75,1				
S. aureus ($N_0 = 1,7.10^6$ UFC/mL)						
Textile n°1 (2,29 μm)	1,59	97,4				
Textile n°2 (2,70 μm)	1,24	94,2				
Textile n°3 (2,93 μm)	> 6,23	100				
Textile n°4 (4,65 μm)	1,12	92,4				

Tableau 18 : Résultats des tests antibactériens vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* au bout de 24 heures à 37°C de textiles fonctionnalisés à 40% en masse de Brucites

5.2.3. Résistance des textiles vis-à-vis de lavages répétés

La résistance des textiles antibactériens est un paramètre important à prendre en compte. Qu'elle soit mécanique ou chimique, cette résistance va déterminer l'utilisation future du textile antibactérien pour la fabrication de vêtements ou de linge de literie par exemple. On estime que les textiles antibactériens doivent subir au moins 25 à 50 cycles de lavage tout en gardant leur intégrité et leur potentiel bactéricide pour être utilisables.

Dans leurs études, l'équipe de Perelshtein *et coll.* s'est également intéressée à la résistance de leurs textiles fonctionnalisés par des nanoparticules d'argent métallique, d'oxyde de cuivre et d'oxyde de zinc. Ils observent que le potentiel antibactérien de leurs textiles a pu être conservé au moins jusqu'à 20 lavages à 40°C vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* ^(140, 144), et même jusqu'à 65 lavages à 75°C pour le textile fonctionnalisé par du CuO vis-à-vis d'*S. aureus* ⁽¹⁴⁷⁾. Ils expliquent également que dans leurs

études, la perte des composés inorganiques antibactériens provient surtout du phénomène de dissolution de la particule plutôt qu'un phénomène de libération des nanoparticules. Ponnuvelu *et coll.* montrent que leurs textiles fonctionnalisés par de l'oxyde de magnésium conservaient leur activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* après 25 cycles de lavage ⁽¹⁴⁵⁾, tandis que Wang *et coll.* ont observé que leurs textiles fonctionnalisés par l'hydroxyde de magnésium conservaient plus de 90% de leur potentiel antibactérien même après 50 lavages à 40°C ⁽¹⁴⁶⁾.

5.2.4. Potentiel antibactérien de textiles fonctionnalisés en milieu hospitalier

Comme pour les surfaces antibactériennes, les études cliniques constituent une étape indispensable pour évaluer l'efficacité des textiles antibactériens dans les hôpitaux. Elles restent aussi relativement peu fréquentes et ne remontent qu'à une quinzaine d'années. Renaud *et coll.* ⁽¹⁴⁸⁾ ont évalué en 2006 les propriétés antibactériennes de textiles antibactériens commerciaux à base d'argent et de cuivre dans un service d'oncologie et de soins intensifs d'un hôpital lyonnais. Dans leur étude, ils montrent une très forte activité antibactérienne *in vitro* vis-à-vis d'un grand nombre de souches bactériennes, avec des réductions du nombre d'unités formant colonies supérieures à 99,9%. Mais à l'instar de l'étude réalisée par Palza *et coll.* sur des surfaces antibactériennes ⁽¹³²⁾, l'activité observée *in situ* est bien plus faible, avec une réduction du nombre d'unités formant colonies à peine supérieure à 50%. Les raisons invoquées sont les mêmes que pour les surfaces antibactériennes : température, humidité relative, type de bactéries présentes, ré-inoculation, interférences sont autant de facteurs qui influencent fortement l'activité antibactérienne d'un matériau (surface ou textile dans notre cas).

Malgré des diminutions assez limitées du nombre de bactéries sur les textiles antibactériens, leur utilisation a bien un effet positif sur la réduction du nombre d'infections nosocomiales. Fong *et coll.* ⁽¹⁴⁹⁾ montrent dans leur article publié en 2005 que l'utilisation de pansements à base d'argent dans un service de patients traités pour des brûlures avait permis de diviser par cinq le nombre de cas d'infections sur une période de deux ans. Quant à l'étude menée par Lazary *et coll.* ⁽¹⁵⁰⁾, l'utilisation de draps de lits avec des particules de CuO avait permis une diminution de 24% du nombre d'infections nosocomiales en un an et demi d'utilisation dans un service de traitement des lésions cérébrales. Enfin, en 2015, l'équipe de Perelshtein *et coll.* ⁽¹⁵¹⁾ a réalisé un essai clinique sur leurs textiles à base de ZnO comme agent antibactérien destiné à des patients traités pour des brûlures et lésions cutanés. Les auteurs ont montré que ces patients en contact avec les textiles antibactériens étaient jusqu'à deux fois moins touchés par les bactéries responsables d'infections nosocomiales que les patients témoins.

Chapitre I - Bibliographie

6. Conclusion et contexte de la thèse

Dans la revue des composés inorganiques antibactériens, on a vu que les composés à base d'argent, bien qu'ils soient les plus décrits dans la littérature et les plus actifs sur le plan antibactérien, restent onéreux et ne présentent pas d'activité antibactérienne à température ambiante. Ces deux critères suffisent à les écarter de l'étude. Les composés à base de cuivre, meilleurs marché et possédant une forte activité antibactérienne même à température ambiante constitueront le cœur de ce travail de thèse. Les composés à base de magnésium, encore meilleur marché que le cuivre et présentant l'avantage de n'être pas écotoxiques, présentent également un intérêt, même si leur activité est plus faible et que des problématiques d'hydrolyse/carbonatation existent. La méthode d'évaluation de l'activité bactéricide des composés inorganiques à base de cuivre retenue est la cinétique de bactéricidie dans de l'eau désionisée stérile, à température ambiante. De ce fait, seule l'interaction entre les particules et l'eau devra être considérée, et va permettre de faciliter le système d'étude. En effet, on a vu précédemment que la présence de solutés, comme par exemple les ions chlorure Cl⁻ pouvaient avoir un impact non négligeable sur la dissolution des particules. Le choix de la température ambiante (20°C) permet également de se rapprocher des conditions dans lesquelles les particules seraient susceptibles de rencontrer si elles étaient utilisées comme agent bactéricide.

Partant de ce constat, et du fait que l'oxyde de cuivre CuO et l'oxyde de magnésium MgO présentent tous les deux une activité bactéricide, les chapitres III et IV vont s'intéresser à leur combinaison au sein d'un même composé chimique. En effet, on pourrait assister à des éventuels effets de synergie, c'est-à-dire avoir un composé mixte dont l'activité bactéricide soit supérieure à celle des deux produits pris séparément. Dans la littérature, il est fait état d'une solution solide de formulation Mg1-_xCu_xO dans le domaine de composition $0 \le x \le 0,22^{(152)}$. Une première étape va donc consister à synthétiser, caractériser et évaluer l'activité antibactérienne de plusieurs compositions de cette solution solide, afin de déterminer si la substitution isovalente partielle d'ions magnésium par des ions cuivrique permet d'exacerber le potentiel antibactérien de l'oxyde parent MgO. A l'inverse, aucune solution solide de formulation Cu_{1-x}Mg_xO n'est répertoriée dans la littérature. Des essais de substitutions ont donc été réalisés. Une nouvelle solution solide fut découverte, son étendue et l'activité bactéricide de plusieurs compositions ont donc été naturellement déterminées. La sensibilité de l'oxyde de magnésium vis-à-vis de l'eau et du CO₂ invite à déterminer la stabilité des compositions Mg_{1-x}Cu_xO et Cu_{1-x}Mg_xO élaborées vis-à-vis de ces deux molécules et d'évaluer aussi l'activité bactéricide des produits de leur hydrolyse et carbonatation. Les chapitres III et IV de ce manuscrit sont dédiés, respectivement, aux études des deux solutions solides Mg_{1-x}Cu_xO et Cu_{1-x}Mg_xO du diagramme binaire MgO-CuO qui a été revisité à l'occasion de cette thèse.

Ces problèmes d'instabilité de l'oxyde de magnésium vis-à-vis de son environnement poussent naturellement le chercheur à s'orienter vers des composés naturellement plus stables : les phosphates de magnésium et de cuivre. En appliquant la même démarche (substitution/stabilité) que celle adoptée pour le diagramme MgO-CuO, notre attention s'est portée sur l'étude de plusieurs solutions solides existant dans les diagrammes pseudo-binaires Mg₂P₂O₇-Cu₂P₂O₇, Mg₃(PO₄)₂-Cu₃(PO₄)₂ mais aussi sur l'étude de quelques composés définis existant dans le diagramme binaire CuO-P₂O₅. Les résultats de ces études seront détaillés dans le chapitre V.

Dans la littérature, le fluorure de magnésium présente une activité surtout bactériostatique. Par analogie avec le diagramme binaire MgO-CuO, une substitution inédite des ions magnésium par les ions cuivriques a été tentée dans l'espoir de conférer une activité bactéricide à MgF₂. Cette démarche a été étendue à la substitution Mg²⁺/Zn²⁺ dont aucune tentative, à notre connaissance, n'a également été reportée dans la littérature. Deux nouvelles solutions solides de formulation Mg_{1-x}Cu_xF₂ et Mg_{1-x}Zn_xF₂ ont ainsi été découvertes dont les étendues ont été déterminées. L'instabilité avérée de CuF₂ et ZnF₂ vis-à-vis de l'hydrolyse a invité à l'étude des produits d'hydrolyse de ces fluorures, les hydroxyfluorures M(OH)F. Face aux problèmes de stabilité des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ et Mg_{1-x}Zn_xF₂, nous sommes enfin orientés vers l'étude de fluorophosphates Mg₂PO₄F, Cu₂PO₄F et Zn₂PO₄F et de leur combinaison, par analogie avec les systèmes à base d'oxydes. Ce travail constituera le chapitre VI.

Références du chapitre I

- 1. Joyce Wright, D.M., *Nosocomial Infections In Children's Wards.* Journal of Hygiene, 1940. **40**: p. 647-672.
- 2. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide, World Health Organization, 2011. p. 1-35
- 3. Zarb, P., Coignard, B., Griskeviciene, J., Muller, A., Vankerckhoven, V., Weist, K., Goossens, M.M., Vaerenberg, S., Hopkins, S., Catry, B., Monnet, D.L., Goossens, H. and Suetens, C., *The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) pilot point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use*. Euro Surveillence, 2012. **17**(46): p. 1-16.
- 4. Enquête Nationale de Prévalence des Infections Nosocomiales et des Traitements Anti-Infectieux en Etablissements de Santé, Mai-Juin 2017, p. 12
- 5. Cécile Morlot. Etude structurale de PBP3 et localisation des six "Penicillin-Binding Proteins " de *Streptococcus pneumoniae*: implication dans la croissance et la division bactérienne. Sciences du Vivant. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2003. Français. p. 1-144
- 6. Roux, A. and Ghigo, J.M., *Les biofilms bactériens*. Bulletin Académique Vétérinaire de France, 2006. **159**(3): p. 261-268.
- 7. Donlan, R.M. and Costeron, J.W., *Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Revelant Microorganisms.* Clinical Microbiology Reviews, 2002. **15**(2): p. 167-193.
- 8. Rabin, N., Zheng Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E. and O'Sintim, H., *Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents.* Future Medicinal Chemistry, 2015. **7**(4): p. 493-512.
- 9. Prevention of hospital-acquired infections: A practical Guide 2d edition, World Health Organization, 2002. p. 1-72
- Pittet, D., Dharan, S., Touveneau, S., Sauvan, V. and Perneger, T.V., *Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care*. Archives of Internal Medicine, 1999.
 159(8): p. 821-826.
- 11. Weinstein, R.A. and Hota, B., *Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection?* Clinical Infectious Diseases, 2004. **39**(8): p. 1182-1189.
- 12. Fijan, S. and Turk, S.S., *Hospital textiles, are they a possible vehicle for healthcare-associated infections?* International Journal of Environmental Research and Public Health, 2012. **9**(9): p. 3330-3343.
- 13. Navajas, M.F.C., Chacon, D.J., Solvas, J.G. and Vargas, R.G., *Bacterial contamination of enteral feeds as a possible risk of nosocomial infection*. Journal of Hospital Infection, 1992. **21**(2): p. 111-120.
- 14. Cole, E.C. and Cook, C.E., *Characterization of infectious aerosols in health care facilities: an aid to effective engineering controls and preventive strategies.* American Journal of Infection Control, 1998. **26**(4): p. 453-464.
- 15. Neely, A.N., *A survey of gram-negative bacteria survival on hospital fabrics and plastics*. The Journal of Burn-Care & Rehabilitation, 2000. **21**(6): p. 523-527.
- 16. Gastmeier, P., Stamm-Balderjahn, S., Hansen, S., Zuschneid, I., Sohr, D., Behnke, M., Vonberg, R.P. and Ruden, H., *Where should one search when confronted with outbreaks of nosocomial infection?* American Journal of Infection Control, 2006. **34**(9): p. 603-605.
- Lautenbach, E., Woeltje, K.F. and Malani, P.N., *Practcal Healthcare Epidemiology 3rd edition*.
 2010, Chicago, Illinois: The University of Chicago Press.
- 18. Kramer, A., Schwebke, I. and Kampf, G., *How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review.* BMC Infectious Diseases, 2006. **6**: p. 130.
- 19. Costeron, J.W., Stewart, P.S. and Greenberg, E.P., *Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections.* Science, 1999. **284**(5418): p. 1318-1322.

- 20. Lynch, A.S. and Robertson, G.T., *Bacterial and fungal biofilm infections*. Annual Review of Medicine, 2008. **59**: p. 415-428.
- 21. Lima, T.B., Pinto, M.F., Ribeiro, S.M., de Lima, L.A., Viana, J.C., Gomes Junior, N., Candido Ede, S., Dias, S.C. and Franco, O.L., *Bacterial resistance mechanism: what proteomics can elucidate.* FASEB Journal, 2013. **27**(4): p. 1291-1303.
- 22. Kohanski, M.A., Dwyer, D.J. and Collins, J.J., *How antibiotics kill bacteria: from targets to networks.* Nature Reviews Microbiology, 2010. **8**(6): p. 423-435.
- 23. Levy, S.B. and Marshall, B., *Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses.* Nature Medicine, 2004. **10**(12 Suppl): p. S122-9.
- 24. Nickel, J.C., Ruseska, I., Wright, J.B. and Costeron, J.W., *Tobramycin resistance of Pseudomonas aeruginosa cells growing as a biofilm on urinary catheter material.* Antimicrobial agents and chemotherapy, 1985. **27**(4): p. 619-624.
- 25. Gilbert, P., Das, J. and Foley, I., *Biofilm susceptibility to antimicrobials.* Advences in Dental Research, 1997. **11**(1): p. 160-167.
- 26. Stewart, P.S. and Costeron, J.W., *Antibiotic resistance of bacteria in biofilms.* The Lancet, 2001. **358**: p. 135-138.
- 27. Wood, T.K., Knabel, S.J. and Kwan, B.W., *Bacterial persister cell formation and dormancy*. Applied and Environmental Microbiology, 2013. **79**(23): p. 7116-7121.
- 28. Walsh, C.T. and Wencewicz, T.A., *Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective.* The Journal of Antibiotics, 2014. **67**(1): p. 7-22.
- 29. Lee Ventola, C., *The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats.* Pharmacy and Therapeutics, 2015. **40**(4): p. 277-283.
- 30. Emmerson, A.M. and Jones, A.M., *The quinolones: decades of development and use.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. **51 Suppl 1**: p. 13-20.
- 31. Leach, K.L., Brickner, S.J., Noe, M.C. and Miller, P.F., *Linezolid, the first oxazolidinone antibacterial agent.* Annals of the New York Academy of Sciences, 2011. **1222**: p. 49-54.
- 32. Klein, E.Y., Van Boeckel, T.P., Martinez, E.M., Pant, S., Gandra, S., Levin, S.A., Goossens, H. and Laxminarayan, R., *Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018. **115**(15): p. E3463-E3470.
- 33. Clatworthy, A.E., Pierson, E. and Hung, D.T., *Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy*. Nature Chemical Biology, 2007. **3**: p. 541.
- 34. Finch, R., Pritchard, D.I., Bycroft, B.W., Williams, P. and Stewart, G., *Quorum sensing: a novel target for anti-infective therapy.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1998. **42**(5): p. 569-571.
- 35. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities (2008)
- 36. Société Française d'Hygiène Hospitalière (SF2H), "Guide pour le choix des désinfectants, Produits de désinfection chimique pour les dispositifs médicaux, les sols et les surfaces" (https://sf2h.net/publications/le-choix-des-desinfectants). Janvier 2015. Volume XXII - N° 6: p. 1-110
- 37. Dettenkofer, M., Wenzler, S., Amthor, S., Antes, G., Motschall, E. and Daschner, F.D., *Does disinfection of environmental surfaces influence nosocomial infection rates? A systematic review.* American Journal of Infection Control, 2004. **32**(2): p. 84-89.
- 38. Heatley, N.G., *A Method for the Assay of Penicillin*. Biochemical Journal, 1943. **38**: p. 61-65.
- 39. Dong, C., Song, D., Cairney, J., Maddan, O.L., He, G. and Deng, Y., *Antibacterial study of Mg(OH)*₂ *nanoplatelets*. Materials Research Bulletin, 2011. **46**(4): p. 576-582.
- 40. Raghunath, A. and Perumal, E., *Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future.* International Journal of Antimicrobial Agents, 2017. **49**(2): p. 137-152.
- 41. Wang, L., Hu, C. and Shao, L., *The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future.* International Journal of Nanomedicine, 2017. **12**: p. 1227-1249.
- 42. Lemire, J.A., Harrison, J.J. and Turner, R.J., *Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications.* Nature Reviews Microbiology, 2013. **11**(6): p. 371-384.

- 43. Macomber, L. and Imlay, J.A., *The iron-sulfur clusters of dehydratases are primary intracellular targets of copper toxicity.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009. **106**(20): p. 8344-8349.
- 44. Ning, C., Wang, X., Li, L., Zhu, Y., Li, M., Yu, P., Zhou, L., Zhou, Z., Chen, J., Tan, G., Zhang, Y., Wang, Y. and Mao, C., *Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism*. Chemical Research in Toxicology, 2015. **28**(9): p. 1815-1822.
- 45. Pal, S., Tak, Y.K. and Song, J.M., *Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium Escherichia coli.* Applied and Environmental Microbiology, 2007. **73**(6): p. 1712-20.
- 46. Ren, J., Wang, W., Sun, S., Zhang, L., Wang, L. and Chang, J., *Crystallography Facet-Dependent Antibacterial Activity: The Case of Cu₂O.* Industrial & Engineering Chemistry Research, 2011.
 50(17): p. 10366-10369.
- 47. *World Silver Survey 2018*. 2018, London: Thomson Reuters. 100.
- 48. Simpson, W.J. and Hewlet, R.T., *Experiments on The Germicidal Action of Colloidal Silver*. Lancet, 1914. **184**(4763): p. 1359.
- 49. Roe, A.L., *Collosol Argentum And Its Ophthalmic Uses.* British Medical Journal, 1915. **1**(2820): p. 104.
- Sondi, I. and Salopek-Sondi, B., Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science, 2004.
 275(1): p. 177-82.
- 51. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramirez, J.T. and Yacaman, M.J., *The bactericidal effect of silver nanoparticles.* Nanotechnology, 2005. **16**(10): p. 2346-53.
- 52. Baker, C., Pradhan, A., Pakstis, L., Pochan, D. and Shah, S.I., *Synthesis and Antibacterial Properties of Silver Nanoparticles.* Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2005. **5**(2): p. 2444-249.
- 53. Ruparelia, J.P., Chatterjee, A.K., Duttagupta, S.P. and Mukherji, S., *Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles.* Acta Biomaterialia, 2008. **4**(3): p. 707-16.
- 54. Reimer, L.G., Stratton, C.W. and Reller, L.B., *Minimum Inhibitory and Bactericidal Concentrations of 44 Antimicrobial Agents Against Three Standard Control Strains in Broth with and Without Human Serum.* Antimicrobial agents and chemotherapy, 1981. **19**(6): p. 1050-1055.
- 55. Graedel, T.E., *Corrosion Mechanisms for Silver Exposed to the Atmosphere.* Journal of the Electrochemical Society, 1992. **137**(9): p. 1963-1970.
- 56. Pourbaix, M., *Atlas d'Equilibres Electrochimiques*. 1963, Paris. 644.
- 57. Luo, J., Hein, C., Mücklich, F. and Solioz, M., *Killing of bacteria by copper, cadmium, and silver surfaces reveals relevant physicochemical parameters.* Biointerphases, 2017. **12**(2): p. 020301.
- 58. Lok, C.N., Ho, C.M., Chen, R., He, Q.Y., Yu, W.Y., Sun, H., Tam, P.K., Chiu, J.F. and Che, C.M., *Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities.* Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2007. **12**(4): p. 527-34.
- 59. Loza, K., Diendorf, J., Sengstock, C., Ruiz-Gonzalez, L., Gonzalez-Calbet, J.M., Vallet-Regi, M., Köller, M. and Epple, M., *The dissolution and biological effects of silver nanoparticles in biological media.* Journal of Materials Chemistry B, 2014. **2**(12): p. 1634-1643.
- 60. Kittler, S., Greulich, C., Diendorf, J., Köller, M. and Epple, M., *Toxicity of Silver Nanoparticles Increases during Storage Because of Slow Dissolution under Release of Silver Ions.* Chemistry of Materials, 2010. **22**(16): p. 4548-4554.
- 61. Michels, H.T., Noyce, J.O. and Keevil, C.W., *Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant Staphylococcus aureus challenged antimicrobial materials containing silver and copper.* Letters in Applied Microbiology, 2009. **49**(2): p. 191-5.

- 62. Xu, H., Qu, F., Xu, H., Lai, W., Andrew Wang, Y., Aguilar, Z.P. and Wei, H., *Role of reactive oxygen species in the antibacterial mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli* 0157:H7. Biometals, 2012. **25**(1): p. 45-53.
- 63. Global Mega Trends and Key Markets for Copper, International Copper Association, 2017. p. 1-20
- 64. Dollwet, H.H.A. and Sorenson, J.R.J., *Historic uses of copper compounds in medicine*. Trace Elements in Medicine, 1985. **2**(2): p. 80-87.
- 65. Johnson, G.F., *The Early History Of Copper Fungicides*. Agricultural History, 1935. **9**(2): p. 67-79.
- 66. McCue, R.W., McDougal, F.G. and Shay, D.E., *The Antibacterial Properties of Some Dental Restorative Materials.* Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, 1951. **4**(9): p. 1180-1184.
- 67. Kuhn, P.J., *Doorknobs: A Source of Nosocomial Infection?* Diagnostic Medicine, 1983. **6**(8): p. 62-63.
- 68. McLean, R.J.C., Hussain, A.A., Sayer, M., Vincent, P.J., Hughes, D.J. and Smith, T.J.N., *Antibacterial activity of multilayer silver–copper surface films on catheter material*. Canadian Journal of Microbiology, 1993. **39**(9): p. 895-899.
- 69. Wilks, S.A., Michels, H. and Keevil, C.W., *The survival of Escherichia coli O157 on a range of metal surfaces*. International Journal of Food Microbiology, 2005. **105**(3): p. 445-54.
- 70. Noyce, J.O., Michels, H. and Keevil, C.W., *Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic meticillin-resistant Staphylococcus aureus in the healthcare environment*. Journal of Hospital Infection, 2006. **63**(3): p. 289-97.
- 71. Noyce, J.O., Michels, H. and Keevil, C.W., *Use of copper cast alloys to control Escherichia coli O157 cross-contamination during food processing.* Applied and Environmental Microbiology, 2006. **72**(6): p. 4239-4244.
- 72. Platzman, I., Brener, R., Haick, H. and Tannenbaum, R., *Oxidation of Polycrystalline Copper Thin Films at Ambient Conditions.* Journal of Physical Chemistry C, 2008. **112**(4): p. 1101-1108.
- 73. Graedel, T.E., *Copper patinas formed in the atmosphere—II. A qualitative assessment of mechanisms.* Corrosion Science, 1987. **27**(7): p. 721-740.
- 74. Graedel, T.E., Nassau, K. and Franey, J.P., *Copper patinas formed in the atmosphere I. Introduction.* Corrosion Science, 1987. **27**(7): p. 639-657.
- 75. Kear, G., Barker, B.D. and Walsh, F.C., *Electrochemical corrosion of unalloyed copper in chloride media-a critical review.* Corrosion Science, 2004. **46**(1): p. 109-135.
- 76. Huang, W.C., Lyu, L.M., Yang, Y.C. and Huang, M.H., *Synthesis of Cu2O nanocrystals from cubic to rhombic dodecahedral structures and their comparative photocatalytic activity.* Journal of the American Chemical Society, 2012. **134**(2): p. 1261-1267.
- 77. Sunada, K., Minoshima, M. and Hashimoto, K., *Highly efficient antiviral and antibacterial activities of solid-state cuprous compounds.* Journal of Hazardous Matererials, 2012. **235-236**: p. 265-70.
- 78. Pang, H., Gao, F. and Lu, Q., *Morphology effect on antibacterial activity of cuprous oxide*. Chemical Communications, 2009(9): p. 1076-1078.
- 79. Lee, Y.-J., Kim, S., Park, S.-H., Park, H. and Huh, Y.-D., *Morphology-dependent antibacterial activities of Cu2O*. Materials Letters, 2011. **65**(5): p. 818-820.
- 80. Ren, G., Hu, D., Cheng, E.W., Vargas-Reus, M.A., Reip, P. and Allaker, R.P., *Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications.* International Journal of Antimicrobial Agents, 2009. **33**(6): p. 587-590.
- 81. Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. and Banin, E., *Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress.* Small, 2012. **8**(21): p. 3326-3337.
- 82. Hans, M., Erbe, A., Mathews, S., Chen, Y., Solioz, M. and Mucklich, F., *Role of copper oxides in contact killing of bacteria*. Langmuir, 2013. **29**(52): p. 16160-10166.

- 83. Midander, K., Cronholm, P., Karlsson, H.L., Elihn, K., Moller, L., Leygraf, C. and Wallinder, I.O., Surface characteristics, copper release, and toxicity of nano- and micrometer-sized copper and copper(II) oxide particles: a cross-disciplinary study. Small, 2009. **5**(3): p. 389-399.
- 84. Solubility of Copper Oxides in Water and Steam
- 85. Chatterjee, A.K., Chakraborty, R. and Basu, T., *Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles*. Nanotechnology, 2014. **25**(13): p. 135101.
- 86. Meghana, S., Kabra, P., Chakraborty, S. and Padmavathy, N., *Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles.* RSC Advances, 2015. **5**(16): p. 12293-12299.
- 87. Grass, G., Rensing, C. and Solioz, M., *Metallic copper as an antimicrobial surface.* Applied and Environmental Microbiology, 2011. **77**(5): p. 1541-1547.
- 88. Warnes, S.L. and Keevil, C.W., Lack of Involvement of Fenton Chemistry in Death of Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive Strains of Staphylococcus aureus and Destruction of Their Genomes on Wet or Dry Copper Alloy Surfaces. Appl Environ Microbiol, 2016. **82**(7): p. 2132-2136.
- 89. Borkow, G. and Gabbay, J., *Copper as a Biocidal Tool.* Current Medicinal Chemistry, 2005. **12**: p. 2163-2175.
- 90. Espirito Santo, C., Taudte, N., Nies, D.H. and Grass, G., *Contribution of copper ion resistance to survival of Escherichia coli on metallic copper surfaces.* Applied and Environmental Microbiology, 2008. **74**(4): p. 977-986.
- 91. Espirito Santo, C., Lam, E.W., Elowsky, C.G., Quaranta, D., Domaille, D.W., Chang, C.J. and Grass, G., *Bacterial killing by dry metallic copper surfaces*. Appl Environ Microbiol, 2011. **77**(3): p. 794-802.
- 92. Sawai, J., Kojima, H., Igarashi, H., Hashimoto, A., Shoji, S., Sawaki, T., Hakoda, A., Kawada, E., Kokugan, T. and Shimizu, M., *Antibacterial characteristics of magnesium oxide powder*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2000. **16**: p. 187-194.
- 93. Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R. and Gedanken, A., *Microwave-Assisted Synthesis of Nanocrystalline MgO and Its Use as a Bacteriocide.* Advanced Functional Materials, 2005. **15**: p. 1708-1715.
- 94. Leung, Y.H., Ng, A.M., Xu, X., Shen, Z., Gethings, L.A., Wong, M.T., Chan, C.M., Guo, M.Y., Ng, Y.H., Djurisic, A.B., Lee, P.K., Chan, W.K., Yu, L.H., Phillips, D.L., Ma, A.P. and Leung, F.C., *Mechanisms of antibacterial activity of MgO: non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards Escherichia coli.* Small, 2014. **10**(6): p. 1171-1183.
- 95. Campbell, E.D.M., *Of the Influence of the Temperature of Burning on the Rate of Hydration of Magnesium Oxide.* Industrial & Engineering Chemistry, 1909. **1**(9): p. 665-668.
- 96. Layden, G.K. and Brindley, G.W., *Kinetics of Vapor-Phase Hydration of Magnesium Oxide* Journal of the American Ceramic Society, 1963. **46**(11): p. 518-522.
- 97. Kato, Y., Yamashita, N., Kobayashi, K. and Yoshizawa, Y., *Kinetic study of the hydration of magnesium oxide for a chemical heat pump.* Applied Thermal Engineering, 1996. **16**(11): p. 853-862.
- 98. Blaha, J., *Kinetics of hydration of magnesium oxide in aqueous suspension. Part* 1 *Method of measurement and evaluation of experimental data.* Ceramics- Silikaty, 1995. **39**(2): p. 45-51.
- 99. Dong, C., Cairney, J., Sun, Q., Maddan, O.L., He, G. and Deng, Y., *Investigation of Mg(OH)*₂ *nanoparticles as an antibacterial agent.* Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(6): p. 2101-2109.
- 100. Torres-Rodríguez, D.A. and Pfeiffer, H., *Thermokinetic analysis of the MgO surface carbonation process in the presence of water vapor.* Thermochimica Acta, 2011. **516**(1-2): p. 74-78.
- 101. Zhao, L., Sang, L., Chen, J., Ji, J. and Teng, H.H., *Aqueous Carbonation of Natural Brucite: Relevance to CO*₂*Sequestration.* Environmental Science & Technology, 2010. **44**: p. 406-411.
- 102. Sayles, F.L. and Fyfe, W.S., *The crystallization of magnesite from aqueous solution*. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1973. **37**(1): p. 87-99.

- 103. Davies, P.J. and Bubela, B., *The Transformation Of Nesquehonite Into Hydromagnesite*. Chemical Geology, 1973. **12**: p. 289-300.
- 104. Buzalaf, M.A.R., Pessan, J.P., Honório, H.M. and Martien ten Cate, J., *Mechanisms of Action of Fluoride for Caries Control.* Monographs in Oral Science, 2011. **22**: p. 97-114.
- 105. Lellouche, J., Kahana, E., Elias, S., Gedanken, A. and Banin, E., *Antibiofilm activity of nanosized magnesium fluoride.* Biomaterials, 2009. **30**(30): p. 5969-5978.
- 106. Lellouche, J., Friedman, A., Lellouche, J.P., Gedanken, A. and Banin, E., *Improved antibacterial and antibiofilm activity of magnesium fluoride nanoparticles obtained by water-based ultrasound chemistry*. Nanomedicine, 2012. **8**(5): p. 702-711.
- 107. http://www.mineralinfo.fr, édité par le Ministère de l'Economie et des Finances, en charge des mines et des matières premières minérales. Consulté de 9 mai 2019
- 108. Söderberg, T.A., Sunzel, B., Holm, S., Elmros, T., Hallmans, G. and Sjöberg, S., *Antibacterial Effect of Zinc Oxide In Vitro.* Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery, 1990. **24**(3): p. 193-197.
- 109. Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T. and Shimizu, M., *Evaluation of growth inhibitory effect of ceramics powder slurry on bacteria by conductance method.* Journal of chemical engineering of Japan, 1995. **28**(3): p. 288-293.
- 110. Yamamoto, O., *Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide.* International Journal of Inorganic Materials, 2001. **3**: p. 643-646.
- Ohira, T., Yamamoto, O., Iida, Y. and Nakagawa, Z.E., *Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation.* Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2008. 19(3): p. 1407-1412.
- 112. Applerot, G., Lipovsky, A., Dror, R., Perkas, N., Nitzan, Y., Lubart, R. and Gedanken, A., *Enhanced Antibacterial Activity of Nanocrystalline ZnO Due to Increased ROS-Mediated Cell Injury.* Advanced Functional Materials, 2009. **19**: p. 842-852.
- 113. Sawai, J., Kawada, E., Kanou, F., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T. and Shimizu, M., *Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity.* Journal of Chemical Engineering of Japan, 1996. **29**(7): p. 627-633.
- 114. Kumar, A., Pandey, A.K., Singh, S.S., Shanker, R. and Dhawan, A., *Engineered ZnO and TiO*₂ nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of *Escherichia coli*. Free Radical Biology and Medicine, 2011. **51**(10): p. 1872-1881.
- 115. Lakshmi Prasanna, V. and Vijayaraghavan, R., Insight into the Mechanism of Antibacterial Activity of ZnO: Surface Defects Mediated Reactive Oxygen Species Even in the Dark. Langmuir, 2015. **31**(33): p. 9155-9162.
- 116. Sawai, J., *Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay.* Journal of Applied Microbiology, 2004. **94**(4): p. 803-809.
- 117. Pasquet, J., Chevalier, Y., Pelletier, J., Couval, E., Bouvier, D. and Bolzinger, M.-A., *The contribution of zinc ions to the antimicrobial activity of zinc oxide*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2014. **457**: p. 263-274.
- 118. Wang, D., Lin, Z., Wang, T., Yao, Z., Qin, M., Zheng, S. and Lu, W., *Where does the toxicity of metal oxide nanoparticles come from: The nanoparticles, the ions, or a combination of both?* Journal of Hazardous Matererials, 2016. **308**: p. 328-334.
- 119. Jin, T. and He, Y., *Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens.* Journal of Nanoparticle Research, 2011. **13**(12): p. 6877-6885.
- 120. Jones, N., Ray, B., Ranjit, K.T. and Manna, A.C., *Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms*. FEMS Microbiology Letters, 2008. **279**(1): p. 71-76.
- 121. Banerjee, I., Pangule, R.C. and Kane, R.S., *Antifouling coatings: recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms.* Advanced Materials, 2011. **23**(6): p. 690-718.

- 122. Campoccia, D., Montanaro, L. and Arciola, C.R., *A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces.* Biomaterials, 2013. **34**(34): p. 8533-8554.
- 123. Cloutier, M., Mantovani, D. and Rosei, F., *Antibacterial Coatings: Challenges, Perspectives, and Opportunities.* Trends in Biotechnology, 2015. **33**(11): p. 637-652.
- 124. Tiller, J.C., Liao, C.J., Lewis, K. and Klibanov, A.M., *Designing surfaces that kill bacteria on contact.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(11): p. 5981-5985.
- 125. Jeon, H.-J., Yi, S.-C. and Oh, S.-G., *Preparation and antibacterial effects of Ag–SiO2 thin films by sol–gel method*. Biomaterials, 2003. **24**(27): p. 4921-4928.
- 126. Jaiswal, S., McHale, P. and Duffy, B., *Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surfaces.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012. **94**: p. 170-176.
- 127. Tayel, A.A., El-Tras, W.F., Moussa, S., El-Baz, A.F., Mahrous, H., Salem, M.F. and Brimer, L., *Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens*. Journal of Food Safety, 2011. **31**(2): p. 211-218.
- 128. Stippich, F., Vera, E., Wolf, G.K., Berg, G. and Friedrich, C., *Enhanced corrosion protection of magnesium oxide coatings on magnesium deposited by ion beam-assisted evaporation.* Surface and Coatings Technology, 1998. **103-104**: p. 29-35.
- 129. Schwartz, V.B., Thétiot, F., Ritz, S., Pütz, S., Choritz, L., Lappas, A., Förch, R., Landfester, K. and Jonas, U., Antibacterial Surface Coatings from Zinc Oxide Nanoparticles Embedded in Poly(Nisopropylacrylamide) Hydrogel Surface Layers. Advanced Functional Materials, 2012. 22(11): p. 2376-2386.
- 130. Casey, A.L., Adams, D., Karpanen, T.J., Lambert, P.A., Cookson, B.D., Nightingale, P., Miruszenko, L., Shillam, R., Christian, P. and Elliott, T.S., *Role of copper in reducing hospital environment contamination.* Journal of Hospital Infection, 2010. **74**(1): p. 72-77.
- 131. Rai, S., Hirsch, B.E., Attaway, H.H., Nadan, R., Fairey, S., Hardy, J. and Estelle, A., *Evaluation of the antimicrobial properties of copper surfaces in an outpatient infectious disease practice.* Infection Control & Hospital Epidemiology, 2012. **33**(2): p. 200-201.
- 132. Palza, H., Nunez, M., Bastias, R. and Delgado, K., *In situ antimicrobial behavior of materials with copper-based additives in a hospital environment.* International Journal of Antimicrobial Agents, 2018. **51**(6): p. 912-917.
- 133. Mikolay, A., Huggett, S., Tikana, L., Grass, G., Braun, J. and Nies, D.H., *Survival of bacteria on metallic copper surfaces in a hospital trial.* Appl Microbiol Biotechnol, 2010. **87**(5): p. 1875-1879.
- 134. Colin, M., Klingelschmitt, F., Charpentier, E., Josse, J., Kanagaratnam, L., De Champs, C. and Gangloff, S.C., *Copper Alloy Touch Surfaces in Healthcare Facilities: An Effective Solution to Prevent Bacterial Spreading.* Materials, 2018. **11**(12): p. 2479-2491.
- 135. Warnes, S.L., Highmore, C.J. and Keevil, C.W., *Horizontal transfer of antibiotic resistance genes on abiotic touch surfaces: implications for public health*. mBio, 2012. **3**(6): p. 1-10.
- 136. Warnes, S.L. and Keevil, C.W., *Inactivation of norovirus on dry copper alloy surfaces*. PLOS One, 2013. **8**(9): p. e75017.
- 137. Kowal, K., Cronin, P., Dworniczek, E., Zeglinski, J., Buzalewicz, I., Wawrzynska, M., Podbielska, H., Tiernan, P., Bauer, J., Noor, M.R., Soulimane, T. and Tofail, S.A.M., *Washable, Photosterilisable Antimicrobial Textiles*. Electrically Active Materials for Medical Devices, ed. S.A.M. Tofail and J. Bauer. 2016. 317-332.
- 138. Perelshtein, I., Applerot, G., Perkas, N., Wehrschuetz-Sigl, E., Hasmann, A., Guebitz, G. and Gedanken, A., *CuO–cotton nanocomposite: Formation, morphology, and antibacterial activity*. Surface and Coatings Technology, 2009. **204**(1-2): p. 54-57.
- 139. Lee, H.J., Yeo, S.Y. and Jeong, S.H., *Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics.* Journal of Materials Science, 2003. **38**(10): p. 2199-2204.
- 140. Perelshtein, I., Applerot, G., Perkas, N., Guibert, G., Mikhailov, S. and Gedanken, A., *Sonochemical coating of silver nanoparticles on textile fabrics (nylon, polyester and cotton) and their antibacterial activity.* Nanotechnology, 2008. **19**(24): p. 245705.

- 141. Borkow, G. and Gabbay, J., *Putting copper into action: copper-impregnated products with potent biocidal activities.* FASEB J, 2004. **18**(14): p. 1728-1730.
- 142. Saito, M., *Antibacterial, deodorizing, and UV absorbing materials obtained with zinc oxide* (*ZnO*) *coated fabrics.* Journal of Coated Fabrics, 1993. **23**(2): p. 150-164.
- 143. Dastjerdi, R. and Montazer, M., *A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **79**(1): p. 5-18.
- 144. Perelshtein, I., Applerot, G., Perkas, N., Wehrschetz-Sigl, E., Hasmann, A., Guebitz, G.M. and Gedanken, A., *Antibacterial properties of an in situ generated and simultaneously deposited nanocrystalline ZnO on fabrics.* ACS Applied Materials Interfaces, 2009. **1**(2): p. 361-366.
- 145. Ponnuvelu, D.V., Selvaraj, A., Suriyaraj, S.P., Selvakumar, R. and Pulithadathail, B., *Ultrathin hexagonal MgO nanoflakes coated medical textiles and their enhanced antibacterial activity.* Materials Research Express, 2016. **3**(10): p. 105005.
- 146. Wang, Y., Sha, L., Zhao, J., Li, Q., Zhu, Y. and Wang, N., *Antibacterial property of fabrics coated by magnesium-based brucites*. Applied Surface Science, 2017. **400**: p. 413-419.
- 147. Perelshtein, I., Ruderman, Y., Perkas, N., Beddow, J., Singh, G., Vinatoru, M., Joyce, E., Mason, T.J., Blanes, M., Mollá, K. and Gedanken, A., *The sonochemical coating of cotton withstands* 65 washing cycles at hospital washing standards and retains its antibacterial properties. Cellulose, 2013. **20**(3): p. 1215-1221.
- 148. Renaud, F.N.R., Doré, J., Freney, H.J., Coronel, B. and Dusseau, J.-Y., *Evaluation of Antibacterial Properties of a Textile Product with Antimicrobial Finish in a Hospital Environment.* Journal of Industrial Textiles, 2006. **36**(1): p. 89-94.
- 149. Fong, J., Wood, F. and Fowler, B., A silver coated dressing reduces the incidence of early burn wound cellulitis and associated costs of inpatient treatment: comparative patient care audits. Burns, 2005. **31**(5): p. 562-567.
- 150. Lazary, A., Weinberg, I., Vatine, J.J., Jefidoff, A., Bardenstein, R., Borkow, G. and Ohana, N., Reduction of healthcare-associated infections in a long-term care brain injury ward by replacing regular linens with biocidal copper oxide impregnated linens. Int J Infect Dis, 2014. 24: p. 23-29.
- 151. Perelshtein, I., Lipovsky, A., Perkas, N., Tzanov, T., capital A, C.M., Leseva, M. and Gedanken, A., *Making the hospital a safer place by sonochemical coating of all its textiles with antibacterial nanoparticles.* Ultrasonics Sonochemistry, 2015. **25**: p. 82-88.
- 152. Paranthaman, M., David, K.A. and Lindemer, T.B., *Phase equilibria of the MgO-Cu*₂*O-CuO system.* Materials Research Bulletin, 1997. **32**(2): p. 165-173.

Chapitre II - Matériels et méthodes

1. Techniques de synthèse	79
1.1. Voie céramique ou réaction dans l'état solide	79
1.2. Voie solvothermale	80
1.3. Précipitation et coprécipitation	81
1.4. Mécanosynthèse	81
1.5. Réactifs utilisés	82
2. Techniques de caractérisation	83
2.1. Diffraction des Rayons X sur poudre	83
2.1.1. DRX à température ambiante	83
2.1.2. DRX en température	84
2.2. Diffraction des neutrons	85
2.3. Affinement des structures cristallines par la méthode de Rietveld	85
2.4. Spectroscopies	88
2.4.1. Spectroscopie infrarouge	88
2.4.2. Spectroscopie Visible-Proche Infrarouge	88
2.4.3 Résonance magnétique nucléaire du solide	89
2.5. Analyse thermogravimétrique	91
2.6. Microscopies électroniques	92
2.6.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	92
2.6.2. Microscopie électronique en transmission (MET)	93
2.7. Détermination de la taille des nanoparticules	94
2.7.1. Mesures de surface spécifique par adsorption de diazote	94
2.7.2. Détermination de la taille des domaines de diffraction cohérente	95
3. Activité bactéricide des échantillons	97
3.1. Souches bactériennes	97
3.2 Méthode	97
4. Stabilité des échantillons vis-à-vis de l'environnement	99
4.1. Stabilité vis-à-vis de l'eau	99
4.2. Stabilité vis-à-vis d'une atmosphère humide contrôlée	.100
4.3. Stabilité vis-à-vis du CO $_2$ humide	.101
Références du chapitre II	.102

1. Techniques de synthèse

Au cours de cette thèse, plusieurs techniques de synthèse fréquemment rencontrées en chimie du solide ont été utilisées afin d'obtenir des composés à base d'un ou plusieurs éléments métalliques divalents (Cu²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺). Ces composés peuvent être classés en trois grandes familles : les oxydes, hydroxydes et carbonates (présence au minimum des éléments O, H et C), les phosphates (présence au moins des éléments P et O), et les fluorures (présence au moins de l'élément F). Au sein de chaque famille, des combinaisons sont possibles comme les hydroxyphosphates, les hydroxyfluorures ou encore les fluorophosphates. Par la connaissance de la chimie associée à ces différents éléments, certaines techniques de synthèse ont été privilégiées à d'autres pour obtenir les composés désirés.

1.1. Voie céramique ou réaction dans l'état solide

Cette voie de synthèse consiste à faire réagir à haute température (>800°C) des réactifs pulvérulents, le plus souvent des oxydes. Elle repose sur la diffusion des espèces à température élevée entre au moins deux réactifs en contact l'un de l'autre : c'est une réaction dans l'état solide. Cette diffusion sera d'autant plus efficace que la surface de contact entre les grains de poudre des différents réactifs est importante. Cette surface de contact entre grains peut être augmentée en mettant les poudres sous forme de pastilles ou en diminuant la taille des grains ou les deux à la fois.

Le protocole de synthèse de composés inorganiques via la méthode céramique est le suivant (figure 1). Les réactifs sous forme de poudre (dont la pureté et la composition a été contrôlée au préalable par diffraction des rayons X, spectroscopie infrarouge voire par analyse thermogravimétrique) sont pesés en proportions stæchiométriques, puis broyés et homogénéisés dans un mortier en agate pendant une dizaine de minutes. Certaines synthèses ont fait appel à des précurseurs des oxydes élémentaires. Ces précurseurs sont généralement des hydroxydes ou des nitrates dont la décomposition thermique à l'air génère des particules d'oxyde de petites tailles très réactives. Ces précurseurs sont directement mélangés entre eux dès le début de la synthèse afin de générer in situ lors du premier recuit à température modérée (<500°C) un mélange de particules fines des oxydes élémentaires. Ce mélange est ensuite homogénéisé par broyage manuel au mortier avant de subir les différents traitements thermiques à plus haute température, généralement entre 800 et 1200°C. Dans certains cas, plusieurs traitements thermiques et homogénéisations ont été nécessaires pour obtenir le produit exempt de toutes traces de phases secondaires (intermédiaires réactionnels ou réactifs). Cette voie de synthèse permet l'obtention de poudres de particules sans forme particulière et de taille variant entre 1 et 10 microns. Afin d'avoir une durée totale de synthèse raisonnable, les quantités de réactifs ont été fixées de telle sorte qu'un gramme de produit final soit obtenu.



Figure 1 : Principe de la préparation d'échantillons par voie céramique

1.2. Voie solvothermale

La synthèse solvothermale se définit comme une synthèse réalisée dans un réacteur fermé à l'intérieur duquel une pression autogène est créée par le chauffage du solvant et des réactifs. De nombreux solvants peuvent être utilisés, qu'ils soient organiques ou aqueux. Si ce dernier est de l'eau, on qualifiera cette synthèse d'hydrothermale. Elle se caractérise notamment par des températures supérieures à 100°C, température d'ébullition de l'eau et des pressions supérieures à 1 bar dans un système fermé ⁽¹⁾. Cette voie de synthèse peut se présenter comme une alternative à la voie céramique, voire dans certain cas comme l'unique voie permettant l'obtention du produit désiré (hydroxyphosphate de cuivre présenté au chapitre 5, par exemple).

Les composés synthétisés par voie hydrothermale ont été préparés dans des réacteurs en Téflon d'une contenance de 23 ou 125 mL (figures 2a et 2b). Toutefois, pour des raisons de sécurité, les réacteurs ne sont jamais remplis au-delà de 40% de leur volume interne. Ils sont ensuite placés dans un autoclave en acier inoxydable de type Parr. L'ensemble est chauffé à des températures comprises entre 100 et 240°C générant à l'intérieur du réacteur une pression pouvant atteindre 30 bars. Le chauffage est assuré par un four ThermoScientific Heratherm OMN60 programmable (figure 2c). La quantité de produit synthétisé est comprise entre quelques centaines de milligrammes à quelques grammes, selon la contenance du réacteur utilisé (23 ou 125 mL).





1.3. Précipitation et coprécipitation

Elle consiste à ajouter goutte à goutte une solution basique (soude, potasse, ammoniaque...) à une solution du cation M^{*+} dont la précipitation de l'hydroxyde M(OH)_x est souhaitée. Lorsque la solution contient plusieurs cations, le terme coprécipitation est utilisé. Cette précipitation peut se produire à des valeurs de pH proches ou différentes. Le précipité obtenu sera soit monophasique ou multiphasique. C'est généralement par cette voie que les précurseurs thermo-décomposables d'oxydes divisés sont élaborés. Après précipitation, le solide est lavé plusieurs fois à l'eau distillée et centrifugé afin de se débarrasser de l'agent précipitant en excès. Le solide est ensuite récupéré par filtration puis séché soit à l'air libre ou dans une étuve à 60°C (figure 3).



Figure 3 : Protocole de préparation de composés par coprécipitation

1.4. Mécanosynthèse

Initialement utilisée pour préparer des alliages métalliques ⁽²⁾, la mécanosynthèse s'est peu à peu étendue à la préparation d'un certain nombre de composés chimiques qu'ils soient organiques ou inorganiques ^(3, 4). Elle repose sur l'utilisation d'une énergie mécanique pour réaliser la réaction chimique et va consister à co-broyer des réactifs ensemble dans des jarres dans lesquelles sont ajoutées des billes du même matériau que la jarre. L'énergie mécanique engendrée par les chocs entre les billes va permettre d'apporter l'énergie nécessaire à la réaction (figure 4). De nombreux composés chimiques peuvent être obtenus à l'aide de cette méthode, qu'ils soient inorganiques ou non. Plusieurs paramètres vont influencer la synthèse : nature des réactifs, nature du matériau constitutif des jarres et des billes (agate ou zircone), temps de broyage, vitesse de rotation du broyeur, nombre et masse des billes utilisées.



Figure 4 : Schéma de principe de la mécanosynthèse

Le broyeur planétaire utilisé est un appareil Fritsch Pulverisette 7 dont un schéma du mode de fonctionnement et des photographies de l'appareillage sont présentés ci-après (figure 5). Les jarres présentent un volume interne de 45 mL et les billes sont en zircone ZrO₂. La masse totale de réactifs introduits dans les jarres a été fixée à un gramme et dix billes de trois grammes environ chacune sont ajoutées, soit un rapport masse de billes / masse de réactifs aux alentours de 30.



Figure 5 : (a) Principe de fonctionnement d'un broyeur planétaire. Photographie d'une jarre en zircone (b) et du broyeur Fritsch Pulverisette 7 (c)

1.5. Réactifs utilisés

Le tableau 1 suivant répertorie les différents produits chimiques utilisés dans le cadre de cette thèse, le nom du fournisseur et d'éventuelles remarques si ces derniers n'ont pas été utilisés tels quels.

Produit utilisé (pureté)	Fournisseur	Remarques
CuO (97%)	Alfa Aesar	Traité sous O_2 à 600°C avant utilisation
Mg(OH)₂ (95%)	Aldrich	Calciné à 600°C, source de MgO
ZnO (99,5%)	Riedel	-
NH ₄ H ₂ PO ₄ (99%)	Fluka	-
Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O (97%)		
MgCl ₂ .6H ₂ O (99%)	Alfa Aesar	Degré d'hydratation vérifié par ATG
Cu(NO ₃) ₂ .3H ₂ O (98%)		

Produit utilisé (pureté)	Fournisseur	Remarques
NaOH (98%)	Sigma Aldrich	-
Na ₂ CO ₃ (99,5%)	Acros Organics	-
CuCl ₂ (99%)	Acros Organics	Stocké en boîte à gants sous argon
CuF₂ (99%)	Strem Chemicals	Stocké en boîte à gants
MgF ₂ (99,99%)	Strem Chemicals	Dégazé sous vide à 150°C avant utilisation
ZnF ₂ (99%)	Aldrich	

Tableau 1 (suite) : Liste des différents réactifs utilisés pour synthétiser les produits désirés

2. Techniques de caractérisation

2.1. Diffraction des Rayons X sur poudre

La Diffraction des Rayons X (DRX) est une méthode non destructive permettant de déterminer la nature du produit analysé par comparaison avec les diagrammes répertoriés dans des bases de données (COD, JCPDS....). Une détermination de la structure cristalline du produit analysé peut également être effectuée à partir des facteurs de structure extraits de l'intensité des pics du diagramme (affinement du diagramme par la méthode de Le Bail puis par la méthode de Rietveld). La diffraction repose sur l'interaction entre un faisceau de rayons X et le nuage électronique des atomes qui composent la matière cristallisée analysée entraînant ainsi une diffusion élastique du rayonnement. Un pic de diffraction est observé sur le diffractogramme collecté lorsqu'une famille de plans réticulaires (hkl) dévie le faisceau incident de telle façon que le faisceau incident et diffracté fassent le même angle θ avec les plans (hkl). Cette condition s'exprime sous la forme d'une loi appelée loi de Bragg 2d_{hkl}sin θ = n λ . Dans cette relation, d_{hkl} est la distance inter-réticulaire entre deux plans (hkl) consécutifs d'une même famille, θ est l'angle d'incidence du rayonnement par rapport à ces plans λ est la longueur d'onde du rayonnement et n l'ordre de diffraction (figure 6).



Figure 6 : Illustration de la loi de Bragg

2.1.1. DRX à température ambiante

Au cours de cette thèse, tous les échantillons analysés par diffraction des rayons X étaient sous forme de poudre. Deux diffractomètres commercialisés par la société PANalytical ont été utilisés. Le premier est un diffractomètre MPD X'pert Pro de géométrie Bragg Brentano θ/θ muni d'un détecteur

linéaire rapide X'Celerator (figure 7a). Il est équipé d'une anticathode de cobalt dont les longueurs d'onde sont Kalpha1 = 1,78901 Å et Kalpha2 = 1,79290 Å. Ce diffractomètre a surtout été utilisé pour réaliser des diagrammes dits de routine, qui permettent de suivre l'avancement d'une réaction après chaque recuit dans le cas d'une voie céramique ou de contrôler la pureté des phases obtenues en fin de synthèse. Les diagrammes sont enregistrés sur une courte plage d'angles d'incidence 2θ typiquement entre 5 et 75° avec un pas de 0,0334° pour un temps total d'acquisition de 15 minutes. Avant toute analyse, la poudre est au préalable broyée et écrasée sur une plaque de verre dépolie de façon à former une couche d'épaisseur homogène et la plus fine possible.

Le deuxième appareil utilisé est un diffractomètre Empyrean II également de géométrie Bragg Brentano θ/θ muni d'un détecteur rapide Pixel (figure 7b). Il est équipé d'une anticathode de cuivre dont les longueurs d'onde sont Kalpha1 = 1,54056 Å et Kalpha2 = 1,54443 Å. Ce diffractomètre a été utilisé pour acquérir des diagrammes de bonne qualité, c'est-à-dire ayant un rapport signal/bruit de fond élevé. Ce type d'enregistrement est nécessaire afin de réaliser ensuite des affinements du diagramme par la méthode de Le Bail et/ou de Rietveld (voir paragraphe 2.3 ci-après). L'acquisition est réalisée avec un pas plus petit de 0,0131° sur une large plage d'angle d'incidence 2 θ typiquement 5-140°. Pour minimiser les effets d'orientation préférentielle des grains sur la plaque en verre dépoli, tous les échantillons ont été saupoudrés sur cette plaque à l'aide d'un tamis de 63 ou 160 micromètres d'ouverture.



Figure 7 : Photographie des diffractomètres (a) MPD X'pert Pro et (b) Empyrean II

2.1.2. DRX en température

La thermodiffraction des rayons X consiste à acquérir des diffractogrammes de rayons X en palier isotherme et à différentes températures afin d'apporter des informations sur le comportement thermique de certains échantillons (décomposition ou dilatation). La thermodiffraction a été réalisée sur le diffractomètre Empyrean II muni d'une chambre en température Anton Parr XRK 900 et d'un porte-échantillon en céramique de type MACOR. Les diagrammes sont enregistrés sur la plage d'angles d'incidence 2θ de 5° et 100° avec un pas de 0,0131° et une vitesse de chauffage et de refroidissement de 10°C/min. Le gaz vecteur utilisé est de l'air synthétique sec. Une thermalisation de l'échantillon est opérée pendant 20 min à chaque température avant tout enregistrement de diffractogramme.

2.2. Diffraction des neutrons

Comme pour la diffraction des rayons X, la diffraction des neutrons permet de déterminer la structure cristalline d'un composé chimique. La nette différence entre ces deux techniques réside dans le fait que les neutrons interagissent avec les noyaux atomiques, contrairement aux rayons X qui interagissent qu'avec le nuage électronique des atomes. Cette différence procure de nombreux avantages par rapport à la diffraction des rayons X. Tout d'abord, tous les atomes même ceux de numéro atomique faible ont un coefficient de diffusion des neutrons tel que leur localisation dans la structure devient aisée (meilleur contraste). Ensuite, comme les coefficients de diffusion des neutrons ne diminuent pas avec le numéro atomique, il est possible de distinguer des atomes ayant des numéros atomiques voisins mais des coefficients de diffusion des neutrons différents. De plus, l'intensité diffractée ne décroit pas avec l'angle d'incidence θ contrairement à la DRX. Les principales limitations de cette technique sont avant tout la faible disponibilité des instruments, qui demandent une source de neutrons provenant d'un réacteur nucléaire et aussi la quantité importante de matière nécessaire pour la mesure. En effet, les interactions neutrons-matière sont 10^3 à 10^4 fois plus faibles qu'avec les rayons X. 5 à 10 grammes d'échantillon sont nécessaires pour obtenir un rapport signal sur bruit de fond correct.

L'acquisition de diagrammes de diffraction neutronique a été réalisée au Laboratoire Léon Brillouin de Saclay en collaboration avec Florence Porcher. Le diffractomètre 3-T2 a été utilisé. Les neutrons sélectionnés ont une longueur d'onde de 1,2299 Å et leur détection est assurée au moyen de 50 détecteurs ³He espacés de 2,4° chacun, permettant d'enregistrer le diffractogramme sur une plage 20 comprise entre 5 et 120° avec un pas de 0,05°. Le temps total d'acquisition est de 24 heures par échantillon.

2.3. Affinement des structures cristallines par la méthode de Rietveld

Une fois les diagrammes de rayons X ou de neutrons acquis, on peut les simuler afin de déterminer la structure cristalline du composé. L'approximation la plus utilisée est celle des moindres carrés, qui consiste à ajuster le diagramme expérimental avec un diagramme calculé, en utilisant la fonction suivante :

$$S = \sum_{i=1}^{n} \omega_i (y_{i,obs} - y_{i,calcul \acute{e}})^2$$

Avec ω_i l'inverse de la variance au carré, $y_{i,obs}$ l'intensité observée (expérimentale) et $y_{i,calculé}$ l'intensité calculée (simulée).

La simulation du diagramme de rayons X se réalise par affinements de différents paramètres, que l'on peut classer en trois familles :

- Les paramètres structuraux, qui comprennent les paramètres de maille (a, b, c, α , β et γ), les positions atomiques (x,y,z), le taux d'occupation des sites cristallographiques et les facteurs d'agitation thermique isotrope (B_{iso}).

- Les paramètres de profil des raies, c'est-à-dire le facteur d'échelle et la forme des raies

- Les paramètres d'enregistrement : décalage de zéro et bruit de fond

Les structures ont été affinées selon un ajustement global, c'est-à-dire en prenant en compte toute une plage d'angles d'incidence 2 θ . La méthode utilisée est celle de Rietveld ⁽⁵⁾, qui compare les valeurs y_{obs} avec les valeurs y_{calculé} selon la formule suivante :

$$y_{i,calcul \ \acute{e}} = y_{bck} + S \sum_{k} L_k \times F_k^2 \times \Omega_{ik} \times (2\theta_i - 2\theta_k) \times A_k \times P_k$$

Avec y_{bck} l'intensité du bruit de fond, S le facteur d'échelle, L_k le facteur de Lorentz-polarisation, F_k le facteur de structure qui dépend de l'atome considéré et du coefficient d'agitation thermique, Ω_{ik} la fonction de profil, A_k la fonction d'asymétrie et P_k la fonction qui traduit l'orientation préférentielle.

Au cours des affinements, y_{bck} a été estimé par interpolation linéaire entre des points sélectionnés manuellement. La fonction de profil Ω_{ik} est de type pseudo-Voigt, qui s'exprime de la manière suivante :

$$\Omega_{i,k} = \eta \times L(2\theta) + (1 - \eta) \times G(2\theta)$$

Avec
$$L(2\theta) = \frac{2}{H\pi} \left[1 + \frac{4}{H^2} \times (2\theta - 2\theta_0)^2 \right]^{-1}$$
 et $G(2\theta) = \frac{2}{H} \sqrt{\frac{\ln 2}{\pi}} e^{-\frac{4\ln 2}{H} \times (2\theta - 2\theta_0)^2}$

H étant la largeur à mi-hauteur définie par la loi de Caglioti⁽⁶⁾, qui s'exprime selon la formule :

$$H = \sqrt{Utan^2\theta + Vtan\theta + W}$$

Les affinements de Rietveld, réalisés à partir du logiciel FULLPROF⁽⁷⁾, se sont déroulés de la manière suivante :

1- Affinement du facteur d'échelle et du décalage de zéro

2- Affinement des paramètres de maille

3- Affinement des paramètres de largeur des raies (U, V, W) et de la contribution gaussienne-lorentzienne η

4- Prise en compte de l'asymétrie des raies (2 paramètres affinés)

5- Affinement des positions atomiques

6- Affinement des paramètres de déplacement isotrope des cations Biso, cations et des anions Biso, anions

7- Affinement du taux d'occupation (le cas échéant)

8- Affinement du bruit de fond

A la fin de l'affinement, plusieurs paramètres sont calculés, qui traduisent sa qualité. Les facteurs les plus utilisés sont les suivants :

- Le facteur de profil R_p (%) : $R_p = 100 \frac{\Sigma(|y_i - y_{i,calcul \ \epsilon}|)}{\Sigma y_i}$

- Le facteur de profil pondéré (%) : $R_{wp} = 100 \sqrt{\frac{\sum \omega_i (y_i - y_{i,calcul \acute{e}})^2}{\sum \omega_i {y_i}^2}}$

- Le facteur de reliabilité espéré (%) : $R_{exp} = 100 \sqrt{\frac{N-P}{\sum \omega_i y_i^2}}$ avec N le nombre de points de mesures et P le nombre de paramètres affinés

- Le « goodness-of-fit » : $\chi^2 = (\frac{R_{wp}}{R_{exp}})^2$

- Le facteur de Bragg (%) : $R_{Bragg} = 100 \frac{\sum |I_{obs} - I_{calc}|}{\sum I_{obs}}$, I_{obs} l'intensité observée et I_{calc} l'intensité calculée associée à la réflexion

En pratique, les affinements par la méthode de Rietveld des diagrammes de rayons X des composés ont utilisé comme modèle structural de départ ceux qui étaient décrits dans la littérature. Toutefois, pour certains composés, un premier affinement des diagrammes par la méthode de Le Bail a été réalisé ⁽⁸⁾. Cette méthode est similaire à la méthode de Rietveld dans le principe (ajustement global du diagramme), mais ne nécessite pas de connaître les positions des atomes dans la maille. Cette

méthode permet de déterminer avec précision les paramètres de mailles ainsi que le profil des raies, que l'on peut ensuite utiliser comme point de départ d'un affinement Rietveld. Les paramètres de maille, les positions atomiques, le facteur de déplacement isotrope B_{iso} associés à leurs écart-types, ainsi que les facteurs de reliabilité de tous les composés sont présentés en annexe 1.

2.4. Spectroscopies

2.4.1. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie dans le domaine du moyen infrarouge (400 - 4000 cm⁻¹) permet d'étudier la vibration les liaisons atomiques. Elle repose sur le fait que les liaisons chimiques peuvent vibrer à une certaine fréquence. On distingue les vibrations d'élongation des liaisons (notées v) des vibrations de déformations angulaires (notées δ). Les modes de vibrations n'entraînant pas de variation du moment dipolaire ne sont pas visibles par spectroscopie infrarouge.

Les spectres infrarouge ont été acquis à l'aide d'un spectromètre Alpha Bruker à transformée de Fourier équipé d'un module d'analyse en Réflectance Totale Atténuée (ATR en anglais) (figure 8). Quelques milligrammes de poudre à analyser sont déposés sur un diamant (figure 8a). Puis, une forte pression est appliquée sur l'échantillon à l'aide d'une pointe, permettant un contact idéal entre la poudre et le diamant. Les spectres sont accumulés 25 fois sur la plage de fréquences de 400 à 4000 cm⁻¹ avec une résolution spectrale de 4 cm⁻¹ (longueur d'onde comprise entre 2,5 et 25 μ m) et soustraits automatiquement du blanc réalisé dans les mêmes conditions correspondant à la mesure sans l'échantillon.



Figure 8 : (a) Schéma de principe de la spectroscopie infrarouge en mode ATR. (b) Photographie du spectromètre infrarouge Alpha Bruker

2.4.2. Spectroscopie Visible-Proche Infrarouge

La spectroscopie Visible-Proche Infrarouge met en jeu des énergies plus élevées que celles observées en spectroscopie infrarouge et permet d'étudier les transitions électroniques. Dans les solides, ces dernières sont dépendantes du champ de ligands et de la coordinence du cation métallique. Deux spectromètres ont été utilisés. Le premier est un spectromètre UV-Visible UV-2600 Shimadzu muni d'une sphère d'intégration ISR-2600 Plus permettant l'analyse de poudres (figure 9). Les spectres sont ensuite traités de manière automatique par le logiciel UVProbe version 2.42 fourni par le constructeur pour convertir les spectres mesurés en réflectance en spectres d'absorbance par utilisation de la transformée de Kubelka-Munk. Le porte-échantillon est un dispositif commercial qui a été modifié pour l'adapter à nos études. Il consiste en une plaque de verre épaisse dépolie sur laquelle l'échantillon est étalé. L'avantage de ce dispositif est la quantité très réduite de matière nécessaire à l'enregistrement des spectres. Cependant, le verre utilisé n'étant pas en quartz, il absorbe complètement les rayonnements les plus énergétiques, en dessous de 400 nm. Par conséquent, la plage d'acquisition des spectres est comprise entre 400 et 1400 nm avec une résolution spectrale de 1 nm. Un spectre « blanc » est tout d'abord réalisé avec une pastille de Halon[®], matériau totalement réfléchissant dans la plage d'acquisition qui sera ensuite automatiquement soustrait au spectre de l'échantillon analysé.



Figure 9 : Photographie du spectromètre UV-visible proche infrarouge UV-2600 Shimadzu munie de la sphère d'intégration ISR-2600 Plus

2.4.3 Résonance magnétique nucléaire du solide

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est une technique spectroscopique qui exploite les propriétés magnétiques des noyaux atomiques dont le spin nucléaire est non-nul, comme l'hydrogène¹H ou le fluor ¹⁹F par exemple (spin nucléaire égal à ½). C'est une technique spectroscopique qui est sensible à l'environnement local autour du noyau sondé. Cette technique est souvent utilisée en complément de la diffraction pour conforter un modèle structural. Elle consiste à appliquer un champ magnétique B₀, qui va entraîner une levée de dégénérescence des niveaux de spins nucléaires par effet Zeeman (figure 10). Un deuxième champ magnétique, noté B₁, est appliqué perpendiculairement au champ B₀ à la fréquence de Larmor v₀ définie par :

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

avec γ le rapport gyromagnétique du noyau considéré (42,58 MHz/Tesla pour ¹H, 40,05 MHz/Tesla pour¹⁹F). Il va alors dévier l'aimantation des noyaux de leur orientation parallèle à B₀ et les faire précesser autour de ce dernier. C'est le phénomène de résonance. Comme le champ B₁ n'est appliqué que sous formes d'impulsions courtes, l'aimantation va progressivement revenir à sa position d'équilibre (relaxation, figure 10). C'est ce signal de relaxation qui est mesuré et qui, après transformée de Fourier constitue le spectre RMN.



Figure 10 : Comportement de noyaux de spin non nul soumis à un champ magnétique B₀ puis à un champ impulsionnel B₁ Les spectres RMN-MAS ¹⁹F et ¹H des fluorures et hydroxyfluorures ont été acquis à température ambiante sur un spectromètre Bruker Advance II WE 300 MHz (figure 11) en utilisant une sonde MAS 1,3 mm. L'échantillon à analyser est introduit dans un rotor en zircone (ZrO₂) de 1,3 mm de diamètre. Le remplissage du rotor s'effectue dans la boîte à gants sous Argon dans laquelle les échantillons fluorés sont stockés à l'abri de l'humidité.

Pour les échantillons diamagnétiques, les spectres présentés ont généralement été enregistrés en utilisant une séquence d'échos de Hahn et des délais entre impulsions égaux à une période de rotation du rotor. Pour les échantillons paramagnétiques, les spectres échantillons présentés ont généralement été enregistrés en utilisant une séquence de type « one pulse » (simple impulsion). Elles permettent de quantifier le nombre de noyaux excités à partir du moment où ils ne relaxent pas trop rapidement (plus rapidement en utilisant une séquence de type « one pulse ») et qu'un temps suffisamment long soit accordé pour permettre à tous les noyaux de relaxer.

Pour¹H et¹⁹F, la durée des impulsions est de 1.25 μ s et les durées de recyclage sont variables d'un échantillon et d'un noyau à l'autre, en fonction des temps de relaxation des noyaux, de 0.1 s pour le spectre ¹⁹F de CuF₂, à quelques secondes (5 s pour les spectres ¹H de CuF₂ et des composés Mg₁₋ _xCu_xF₂, 10 ou 30 s pour ceux de ZnF₂et Zn(OH)Fet des composés Mg_{1-x}Zn_xF₂) ou dizaines de secondes (20 ou 30 s pour les spectres ¹⁹F de ZnF₂et Zn(OH)F, 60 ou 300 s pour ceux des composés Mg_{1-x}Zn_xF₂) et jusqu'à une heure (pour les spectres ¹⁹F de MgF₂ et des composés Mg_{1-x}Cu_xF₂). Les spectres ont été reconstruits à l'aide du logiciel Dmfit⁽⁹⁾.



Figure 11 : Photographie du spectromètre RMN Advance II WE 300 MHz de Bruker

2.5. Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique permet d'étudier la stabilité thermique d'un échantillon dans une atmosphère donnée en mesurant en continu sa masse lors de son chauffage. Une perte de masse sera observée lors d'une déshydratation, d'une décomposition ou d'une réduction de l'échantillon. Un gain de masse à l'inverse sera le reflet d'une réaction avec les molécules de l'atmosphère dans le quel l'échantillon se trouve (oxydation par le dioxygène, par exemple).

Deux appareils ont été utilisés. Le premier est un analyseur thermogravimétrique STA449 F3 Jupiter[®] commercialisé par la société Netzsch couplé à un spectromètre de masse QMS 403C (ATG-SM, figure 11a). Il permet d'étudier la décomposition des échantillons en température tout en analysant la nature des gaz émis par l'échantillon. Toutes les mesures ont été réalisées sous un balayage d'argon (60 mL/min), dans la plage de température de 40°C à 800°C à une vitesse de montée de 2°C/min. L'échantillon à analyser est placé dans un creuset en alumine. Un thermogramme « blanc » est acquis avec un creuset vide dans les mêmes conditions de mesure que celles utilisées pour l'échantillon puis est systématiquement soustrait au thermogramme « échantillon » afin de corriger la masse mesurée de la poussée d'Archimède. Le deuxième appareil est un analyseur Q600 SDT de la société Thermal Analysis Instruments (figure 12b), permettant de réaliser simultanément une analyse thermogravimétrique et une analyse thermique différentielle (ATD-ATG). L'échantillon ainsi que l'alumine α utilisée comme référence sont placés dans deux creusets en platine reposant sur les fléaux de la balance.



Figure 12 : Photographies de (a) l'ATG-SM STA449 F3 Jupiter[®] de Netzsch et (b) de l'ATG-ATD Q600 SDT de Thermal Analysis Instruments

2.6. Microscopies électroniques

La microscopie électronique repose sur l'interaction entre des électrons et la matière. Tout d'abord, une source d'électrons est accélérée et envoyée sur l'échantillon (figure 13). Plusieurs cas de figures sont possibles : tout d'abord, une partie du faisceau peut traverser l'échantillon si ce dernier est suffisamment mince. La partie du faisceau qui interagit avec la matière entraîne l'apparition de plusieurs rayonnements : des électrons secondaires, rétrodiffusés, Auger et des rayons X. En fonction de la technique utilisée (transmission ou à balayage), on va s'intéresser en particulier à certains de ces rayonnements.



Figure 13 : Les différentes interactions électron-matière.

2.6.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage permet d'observer la surface d'échantillons massifs. Dans le cas de l'imagerie, l'observation repose sur la détection d'électrons secondaires pour la topographie ou rétrodiffusés pour le contraste chimique. Certains microscopes peuvent également disposer d'un appareil d'analyse dispersive en énergie (aussi appelé EDX en anglais pour *Energy Dispersive X-ray*) qui recueille les photons X émis par les atomes constituant l'échantillon (fluorescence). L'énergie du photon émis étant liée à la nature de l'atome émetteur, la nature et la répartition spatiale (cartographie) des éléments chimiques présents dans l'échantillon peuvent ainsi être déterminées.

La microstructure des échantillons a été étudiée à l'aide d'un microscope JSM 6510LV de la société JEOL (figure 14). Le faisceau d'électrons est produit au moyen d'une source thermoïonique produite par un filament de tungstène. La tension d'accélération est réglable entre 0,5 et 30 kV. L'appareil est également muni d'un détecteur EDX OXFORD muni d'un logiciel d'acquisition et de traitement des données AZtec. Les échantillons sont préparés en les déposant sur un ruban adhésif double face en carbone puis métallisés avec une couche d'or ou de carbone pour améliorer l'évacuation des charges qui s'accumulent à la surface des échantillons peu ou pas conducteurs. Dans le cas des analyses par EDX, l'échantillon est préalablement pastillé pour obtenir une surface plane et ainsi améliorer la quantification.



Figure 14 : Photographie du microscope électronique à balayage JSM 6510LV de la société JEOL

2.6.2. Microscopie électronique en transmission (MET)

La microscopie électronique en transmission repose sur la transmission d'un faisceau d'électrons au travers d'un échantillon mince. Les électrons sont accélérés avec une tension de quelques centaines de kV, comparée aux quelques dizaines de kV d'un microscope électronique à balayage. Par conséquent, le pouvoir de résolution est bien plus élevé, et il est possible d'atteindre des grossissements importants. Un microscope électronique à transmission peut également, outre son utilisation en imagerie, permettre de prendre des clichés de diffraction électronique, qui permettent l'accès aux paramètres de maille et aux groupes d'espace. Sur certains appareils, des modules d'analyse EDX ou de spectroscopie de perte d'énergie peuvent également être installés.

Les composés nanostructurés ont été observés à l'aide d'un JEM 2100 de JEOL, muni d'une source LaB₆ avec une tension d'accélération de 200 kV (figure 15). La préparation des échantillons consiste à disperser et casser les agrégats de quelques grains de poudre dans de l'éthanol absolu par sonification. Quelques gouttes de ce mélange sont déposées sur une grille en cuivre ou en nickel recouverte de carbone amorphe. Les images ont été prises avec une caméra Gatan ORIUS 200D. Des clichés de diffraction électronique en aire sélectionnée ont également été pris à l'aide de cet appareil.


Figure 15 : Photographie du microscope électronique en transmission JEM 2100 de la société JEOL

2.7. Détermination de la taille des nanoparticules

2.7.1. Mesures de surface spécifique par adsorption de diazote

La mesure de la surface spécifique repose sur l'adsorption d'un gaz à basse température à la surface de l'échantillon. Cette technique fait appel à la théorie développée en 1938 par Brunauer, Emmet et Teller (BET) qui régie l'adsorption physique des gaz sur un solide ⁽¹⁰⁾. Dans le cas qui nous intéresse, le gaz utilisé est le diazote. Par connaissance de la quantité de diazote adsorbé par l'échantillon et la masse de poudre introduite, il est possible de remonter à la surface spécifique exprimée en m²/g. Cette technique permet également de remonter à la taille des particules, du moment que leur morphologie est connue, ou à défaut que l'on ait une approximation de leur taille en les assimilant à des sphères parfaites. La formule est la suivante :

$$r_{particule} = \frac{3}{\rho_{apparente} \times S_{sp\,\acute{e}cifique}}$$

Avec $r_{particule}$ le rayon de la particule en mètres, $\rho_{apparente}$ la masse volumique apparente exprimée en g/m³, qui est le rapport entre la masse de poudre divisé par le volume occupé par cette poudre et $S_{spécifique}$ la surface spécifique déterminée par adsorption de diazote en m²/g. Dans le cas d'un empilement compact des particules, $\rho_{apparente}$ s'écrit de la manière suivante :

$$\rho_{apparente} = 0,74 \times \rho_{compos \acute{e}}$$

Avec $\rho_{composé}$ la masse volumique du composé, déterminée à partir du volume de maille de sa structure cristalline et de ses atomes constituants. Il faut toutefois garder à l'esprit qu'il ne s'agit que d'un modèle approché qui assimile les particules à des sphères parfaites, ce qui n'est pas forcément toujours le cas dans la pratique.

Les analyses par adsorption de diazote ont été réalisées à l'aide d'un appareil TriStar II 3020 commercialisé par la société Micrometrics permettant de mesurer trois échantillons simultanément. Avant toute mesure, les échantillons sont débarrassés de potentiels contaminants adsorbés à la surface en utilisant un système de dégazage en ligne sous vide et chauffé VacPrep 061 de la même société (figure 16).



Figure 16 : Photographie de l'appareil de mesure BET TriStar II 3020 (à droite) et du système de dégazage en ligne VacPrep 061 de Micrometrics

2.7.2. Détermination de la taille des domaines de diffraction cohérente

La diffraction des rayons X peut également permettre d'estimer la taille des particules, en déterminant la taille des domaines de diffraction cohérente. Elle consiste tout d'abord à déterminer la fonction instrumentale, qui va permettre de déterminer la largeur à mi-hauteur ainsi que la forme des raies en fonction de l'angle d'incidence 2 θ , par affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme d'un composé de référence : le NAC. Ce composé de formule Na₂Ca₃Al₂F₁₄ découvert par Courbion et Férey en 1988 ⁽¹¹⁾, présente de nombreuses qualités car il est disponible avec une très bonne qualité, présente de nombreux pics de diffractions intenses à bas angles comme à hauts angles 2 θ (symétrie cubique, a = 10,571(1) Å, groupe d'espace *I*2₁3) et n'a pas de défaut cristallin susceptible d'engendrer un élargissement des raies (figure 17).



Figure 17 : Diagramme de rayons X expérimental et simulé du composé Na₂Ca₃Al₂F₁₄ (NAC)

La structure du NAC est affinée à l'aide d'une fonction de type Thompson-Cox-Hastings à laquelle on ajoute une contribution de divergence axiale ^(12, 13). Elle est de type pseudo-Voigt ($\Omega_{i,k} = \eta \times L(2\theta) + (1 - \eta) \times G(2\theta)$). Les relations utilisées exprimant les composantes gaussiennes g et lorentziennes l des largeurs à mi-hauteur H sont les suivantes ⁽¹⁴⁾:

$$H_{g} = \sqrt{Utan^{2}\theta + Vtan\theta + W + \frac{Z}{cos^{2}\theta}}$$
$$H_{l} = Xtan\theta + \frac{Y}{cos\theta}$$

On définit le paramètre η : $\eta = 1,36603 \frac{H_l}{H} - 0,47719 \frac{{H_l}^2}{H} + 0,11116 \frac{{H_l}^3}{H}$

La largeur à mi-hauteur H s'exprime quant à elle selon l'expression suivante :

$$H = \sqrt[5]{H_g^5 + 2,69269H_g^4H_l + 2,42843H_g^3H_l^2 + 4,47163H_g^2H_l^3 + 0,07842H_gH_l^4 + H_l^5}$$

Dans les cas des composés élaborés par coprécipitation, on considère que la taille des cristallites est uniquement liée à la partie lorentzienne et les micro-contraintes à la partie gaussienne, soit Z = 0 et X = 0. Le diffractogramme de rayons X de l'échantillon acquis dans les mêmes conditions que celui collecté sur le NAC est ensuite affiné par la méthode de Le Bail, en utilisant la fonction instrumentale déterminée précédemment. Seuls les paramètres de maille, les paramètres Y et d'asymétrie sont affinés. L'expression de la taille des domaines de diffraction cohérente est la suivante :

$$T = \frac{360}{\pi^2} \times \frac{\lambda}{Y_{\acute{e}chantillon}}$$

Avec λ la longueur d'onde de la radiation utilisée et $Y_{échantillon}$ qui s'exprime selon :

$$Y_{\acute{e}chantillon} = (H_{ech,l} - H_{ins,l}) \times cos\theta$$

 $H_{ech,l}$ étant la contribution lorentzienne de la largeur à mi-hauteur observée pour l'échantillon, $H_{ins,l}$ la contribution lorentzienne de la fonction instrumentale à la largeur à mi-hauteur observée et θ l'angle d'incidence associé à la réflexion (khl). Comme l'affinement est réalisé sur tout le diagramme et non pas pic par pic, la taille des domaines de diffraction cohérente est identique si l'élargissement des pics est le même quelle que soit la réflexion considérée. Dans le cas d'une anisotropie de l'élargissement des pics générée par une anisotropie de la taille des domaines de diffraction considérée. Enfin, dans le cas des composés

préparés par mécanosynthèse, le paramètre X est affiné en plus des paramètres Y et d'asymétrie pour tenir compte des micro-contraintes générées par ce procédé de synthèse.

3. Activité bactéricide des échantillons

3.1. Souches bactériennes

L'activité bactéricide des échantillons a été évaluée à Toulouse dans le Laboratoire de Génie Chimique (UMR 5503) de l'université Paul Sabatier de Toulouse dans l'eau et à 20°C.

Pour l'évaluation des composés synthétisés, le choix s'est porté sur une bactérie à Gram +, *S. aureus* CIP 4.83 et une bactérie à Gram - *E. coli* CIP 53.126, correspondant à deux espèces classiquement impliquées en pathologie humain et notamment dans les Infections Liées aux Soins (IAS). Les souches utilisées proviennent de la Collection de l'Institut Pasteur (Paris, France). Elles sont conservées à - 80°C dans une solution de cryoconservation. Avant réalisation des essais, les souches sont remises en culture sur gélose Trypcase soja (TS) (BioMérieux, Crapone, France), incubées à 36°C pendant 24h. Les suspensions d'essai sont réalisées à partir des deuxième et troisième repiquages et ajustées à environ 2-3.10⁸ bactéries/mL dans de l'eau pour préparations injectables (EPPI) par mesure spectrophotométrique à 540 nm.

3.2 Méthode

La méthode sélectionnée correspond à la détermination d'une activité bactéricide des composés synthétisés. De ce fait, le contact microorganismes/produit est réalisé en Eau Distillée Stérile (EDS) (pas de croissance bactérienne), sous agitation ménagée (250 tours/mn) en raison de la faible solubilité de la plupart des composés, et pour des temps de contact relativement courts (maximum 3h), à température ambiante (20°C). Les essais ont été réalisés sous Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) de classe II.

Une première série d'essais a été réalisée pour un temps de contact d'une heure, afin de présélectionner les composés présentant une activité bactéricide significative vis-à-vis des deux souches test.

Pour les composés ainsi sélectionnés, une cinétique a été réalisée, dont le protocole est schématisé ci-après (figure 18). 10 mg de poudre sont mis au contact avec 10 mL d'EDS. Les suspensions titrées de chaque bactérie sont préparées extemporanément et 200 µL de l'*inoculum* sont ajoutés aux 10 mL de la solution contenant le produit soumis à l'essai. En parallèle, un témoin contenant 10 mL d'EDS et 200 µL de suspension bactérienne est également préparé, puis placé dans les mêmes conditions que le tube d'essai afin de valider le maintien de viabilité du microorganisme sur la durée de l'essai. Les

97

tubes sont placés, à température ambiante, sous agitation à une vitesse de 250 tours par minutes, afin de garantir l'homogénéité du mélange tout au long du test.

A intervalles réguliers (T_0 , 15 min, 30 min 60 min et 180 min), 100 µL de la suspension essai et du témoin sont prélevés et dilués successivement en EDS, au 1/100, puis au 1/10000. 1mL de chaque dilution ainsi que du tube initial sont ensuite prélevés et déposés dans des boîtes de Petri. 100 µL de la dernière dilution sont également déposés au fond d'une boite de Petri. 15 à 20 mL de milieu gélosé TS maintenu en surfusion (45°C) sont alors rajoutés et l'ensemble est homogénéisé. Après séchage, les boites sont placées en incubation à 36°C durant 48h avant dénombrement des colonies ou UFC (Unités Formant Colonies). Seules les dilutions permettant de dénombrer moins de 330 colonies sont prises en compte. Le nombre de bactéries viables résiduelles après contact dans le tube essais initial est déduit du nombre d'UFC pris en compte, à la dilution considérée.

Chaque composé a été évalué deux fois (sauf exception mentionnée dans les chapitres Résultats), afin de valider les résultats obtenus (calcul de la moyenne ± écart-type). Pour les composés les plus actifs, une validation de l'arrêt du contact par dilution-neutralisation dans le milieu gélosé a été réalisée et validée.



Figure 18 : Protocole d'évaluation de l'activité bactéricide des composés étudiés

Les numérations réalisées sur les tubes préparés en absence de produit (témoin) démontrent une préservation de la viabilité pour les deux souches-test, sur les 3 heures de contact. A partir des valeurs d'UFC/mL observées à T_0 pour le tube essai et de la valeur au temps de contact T_n , le pourcentage de réduction est calculé pour chaque souche, chaque temps de contact, chaque essai, selon la formule :

$$\%_{r\acute{e}duction} = 100 - 100 imes rac{T_0}{T_n}$$

Les données peuvent également être exprimées en réduction logarithmique :

$$\log(r\acute{e}duction) = \log(T_0) - \log(T_n)$$

4. Stabilité des échantillons vis-à-vis de l'environnement

L'étude de la stabilité des échantillons vis-à-vis de l'environnement est un paramètre clé dans la recherche de composés inorganiques potentiellement bactéricides. En effet, si certains composés synthétisés présentent une instabilité vis-à-vis de conditions atmosphériques, il est important de connaître quels sont les produits formés et leur rôle éventuel sur l'activité bactéricide observée. Au cours de cette thèse, l'accent a été porté sur deux phénomènes : l'interaction avec l'eau (hydrolyse) et l'interaction avec le dioxyde de carbone en présence d'eau (carbonatation).

4.1. Stabilité vis-à-vis de l'eau

L'évaluation de l'activité bactéricide des échantillons est menée dans l'eau. Il est donc indispensable de connaître la stabilité des échantillons immergés dans l'eau.

Une fois dans l'eau, deux phénomènes peuvent se produire une hydrolyse ou une dissolution des particules. Le premier phénomène conduit généralement à l'apparition de phases hydratées voire d'hydroxydes. Le second induit une libération de cations dans l'eau.

L'hydrolyse des échantillons a été suivie à la fois par spectroscopie infrarouge et par diffraction des rayons X. Une première étape a consisté à immerger 30mg de poudre dans 3mL d'eau désionisée (concentration finale de 10 mg/mL) sur une période de 16 heures. Pour les échantillons développant une instabilité observable en diffraction des rayons X et/ou par spectroscopie infrarouge, une étude cinétique sur une période comprise entre 15 minutes et 16 heures a été réalisée. Pour chaque temps d'immersion, l'hydrolyse est arrêtée en utilisant de l'acétone puis de l'éther diéthylique, avant que la poudre ne soit séchée à température ambiante. La figure 20 suivante résume le protocole d'évaluation utilisé.



Figure 19 : Protocole d'évaluation de la stabilité des poudres immergées dans l'eau désionisée

La quantification des espèces cationiques Cu²⁺, Mg²⁺ et Zn²⁺ libérées par certains composés immergés dans l'eau a été réalisée par spectroscopie d'émission atomique. L'appareillage utilisé est un 4100-MP AES d'Agilent Technologies qui utilise un plasma d'azote. La gamme étalon allant de 0,05 à 10 mg/L est préparée par dilutions successives à partir d'une solution étalon multiélémentaire Merck VIII. L'étude de la dissolution des particules est réalisée en immergeant 25 mg de poudre dans 25 mL d'eau désionisée à température ambiante (concentration de 1 mg/mL). Après 3 heures ou 24 heures d'immersion sans agitation, le surnageant est récupéré et filtré si nécessaire puis analysé par le spectromètre d'émission atomique. Si les concentrations mesurées sont au-delà de la gamme étalon, des dilutions sont réalisées. La figure 12 suivante résume le protocole d'évaluation.



Spectromètre d'émission atomique

Figure 20 : (a) Protocole de quantification des espèces cationiques libérées par l'échantillon dans l'eau désionisée au moyen d'unspectromètre d'émission atomique 4100-MP AES d'Agilent Technologies

Le pH des surnageants dans les mêmes conditions (concentration en particules de 1 mg/mL) a été mesuré en parallèle à température ambiante au moyen d'un pH-mètre SCHOTT GERÄTE CG818.

4.2. Stabilité vis-à-vis d'une atmosphère humide contrôlée

Le suivi de la stabilité des échantillons vis-à-vis de la vapeur d'eau a également été réalisé. La méthode consiste à placer une centaine de milligrammes de poudre d'échantillon dans une enceinte fermée contenant une coupelle d'eau saturée en nitrate de potassium (500 mL, 400 g/L). Le taux d'humidité, mesuré au moyen d'un hygromètre domestique se stabilise aux alentours de 80% d'humidité relative au bout de 24h à température ambiante. Le suivi de l'hydrolyse est effectué par spectroscopie infrarouge et diffraction des rayons X sur une période de 35 jours. La figure 13 suivante résume le protocole d'évaluation utilisé.





4.3. Stabilité vis-à-vis du CO₂ humide

Certains composés chimiques préparés dans le cadre de cette thèse sont susceptibles de présenter une instabilité vis-à-vis du dioxyde de carbone atmosphérique. Toutefois, les cinétiques associées sont très lentes, souvent sur l'échelle de plusieurs années. Un réacteur de carbonatation accélérée a donc été utilisé afin de rendre observable dans un laps de temps raisonnable ce phénomène. La figure 22a suivante résume le protocole utilisé. Le réacteur utilisé d'un volume interne de 125 mL est en acier permettant de supporter jusqu'à 50 bars de pression (figure 22b). Un thermocouple permet de réguler la température à laquelle l'évaluation est réalisée en palier isotherme entre 30°C et 225°C (figure 22c). 100 mg d'échantillon sont placés à l'intérieur du réacteur, dans un creuset en platine. Puis, 2 mL d'eau sont ajoutés directement dans le creuset contenant l'échantillon. Les conditions suivantes ont été fixées pour tous les échantillons testés : température de 30°C et pression de 9 bars en CO₂ pendant 16 heures. L'échantillon après exposition au CO₂ humide est ensuite séché à l'air ambiant puis analysé par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge.



Figure 22 : (a) Protocole d'évaluation de la stabilité des échantillons vis-à-vis du CO₂ humide. Photographies du réacteur de carbonatation accéléré (b) et du dispositif de chauffage (c)

Références du chapitre II

- 1. Yoshimura, M. and Byrappa, K., *Hydrothermal processing of materials: past, present and future.* Journal of Materials Science, 2007. **43**(7): p. 2085-2103.
- 2. Ma, E. and Atzmon, M., *Phase transformations induced by mechanical alloying in binary systems.* Materials Chemistry and Physics, 1995. **39**(4): p. 249-267.
- 3. Gaffet, E., Bernard, F., Niepce, J.C., Charlot, F., Gras, C., Le Caër, G., Guichard, J.L., Delcroix, P., Mocellin, A. and Tillement, O., *Some recent developments in mechanical activation and mechanosynthesis.* Journal of Materials Chemistry, 1999. **9**(1): p. 305-314.
- 4. Dubois, J., Colaco, M. and Wouters, J., *Mechanosynthesis, a method of choice in solid-state synthesis.* Chimie Nouvelle, 2014. **14**: p. 21-30.
- 5. Rietveld, H., *A profile refinement method for nuclear and magnetic structures.* Journal of applied Crystallography, 1969. **2**(2): p. 65-71.
- 6. Caglioti, G., Paoletti, A.T. and Ricci, F.P., *Choice of collimators for a crystal spectrometer for neutron diffraction.* Nuclear Instruments, 1958. **3**(4): p. 223-228.
- 7. Rodriguez Carvajal, J., *Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction.* Physica B, 1993. **192**(1-2): p. 55-69.
- 8. Le Bail, A., Duroy, H. and Fourquet, J.L., *Ab-Initio structure determination of LiSbWO*₆ by X-Ray powder diffraction. Materials Research Bulletin, 1988. **23**: p. 447-452.
- 9. Massiot, D., Fayon, F., Capron, M., King, I., Le Calvé, S., Alonso, B., Durand, J.-O., Bujoli, B., Gan, Z. and Hoatson, G., *Modelling one- and two-dimensional solid-state NMR spectra.* Magnetic Resonance in Chemistry, 2002. **40**(1): p. 70-76.
- 10. Brunauer, S., Emmett, P.H. and Teller, E., *Adsorption of Gases in Multimolecular Layers.* Journal of the American Chemical Society, 1938. **60**(2): p. 309-319.
- 11. Courbion, G. and Ferey, G., *Na*₂*Ca*₃*Al*₂*F*₁₄: A new example of a structure with "independent F"-A new method of comparison between fluorides and oxides of different formula. Journal of Solid State Chemistry, 1988. **72**(2): p. 426-431.
- 12. Thompson, P., Cox, D.E. and Hastings, J.B., *Rietveld refinement of Debye–Scherrer synchrotron X-ray data from Al*₂*O*₃. Journal of Applied Crystallography, 1987. **20**(2): p. 79-83.
- 13. Finger, L.W., Cox, D.E. and Jephcoat, A.P., *A correction for powder diffraction peak asymmetry due to axial divergence*. Journal of Applied Crystallography, 1994. **27**(6): p. 892-900.
- 14. Gravereau, P. Introduction à la pratique de la diffraction des rayons X par les poudres. 3e cycle. Diffraction des rayons X par les poudres, 2011. 209.

Chapitre III - La solution solide Mg_{1-x}Cu_xO du diagramme binaire MgO-CuO

Chapitre III - La solution solide Mg_{1-x}Cu_xO du diagramme binaire MgO-CuO

Chapitre III - La solution solide Mg_{1-x}Cu_xO du diagramme binaire MgO-CuO

1. Introduction
2. Préparation des oxydes mixtes Mg _{1-x} Cu _x O sous la forme de particules de taille micrométrique par la voie céramique
2.1. Synthèse
2.2. Caractérisations
3. Préparation des oxydes mixtes Mg _{1-x} Cu _x O sous la forme de particules de taille nanométrique à partir de précurseurs hydroxydes
3.1. Coprécipitation de précurseurs hydroxydes114
3.1.1. Synthèse des hydroxydes mixtes Mg _{1-x} Cu _x (OH) ₂ 114
3.1.2. Identification des échantillons116
3.1.3. Influence de la substitution sur la structure des hydroxydes
3.1.4. Origine de l'expansion de la maille au cours de la déshydratation
3.2. Préparation des oxydes Mg _{1-x} Cu _x O par décomposition thermique des hydroxydes « Mg ₁₋ _x Cu _x (OH) ₂ »
4. Stabilité des oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ et des hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » vis-à-vis de l'hydrolyse et du CO_2 humide
4.1. Stabilité des oxydes Mg _{1-x} Cu _x O vis-à-vis de l'eau136
4.1.1. Stabilité vis-à-vis de l'eau liquide136
4.1.2. Stabilité vis-à-vis d'une atmosphère humide138
4.2. Stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis du CO $_2$ humide141
4.2.1 Carbonatation des hydroxydes Mg(OH) ₂ et Mg _{0,85} Cu _{0,15} (OH) ₂ 141
4.2.2 Carbonatation des oxydes MgO et Mg _{0,8} Cu _{0,2} O142
4.3. Etude de la Nesquehonite144
4.3.1. Tentatives de synthèse des carbonate hydratés Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .yH ₂ O145
4.3.2. Caractérisations145
4.3.3. Stabilité des carbonates Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .yH ₂ O dans le temps153
5. Evaluation et origine de l'activité bactéricide des composés154
5.1. Activité bactéricide des oxydes et des hydroxydes154
5.1.1. Activité bactéricide des oxydes Mg _{1-x} Cu _x O154
5.1.2. Activité bactéricide des hydroxydes « Mg _{1-x} Cu _x (OH) ₂ »159
5.1.3. Mécanisme bactéricide associé161
5.2. Activité bactéricide des composés Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .yH ₂ O167
6. Conclusion
Références du chapitre III

Chapitre III - La solution solide Mg_{1-x}Cu_xO du diagramme binaire MgO-CuO

1. Introduction

L'oxyde de magnésium MgO (figure 1), nommé Periclase, cristallise dans une structure cubique de type NaCl de groupe d'espace *Fm-3m* (n° 225). Les cations Mg^{2+} occupent les sites octaédriques réguliers formés par le réseau cubique faces centrées d'anions O^{2-} .



Figure 1 : Vues en perspective des structures cristallines de MgO (a) et CuO (b et c). Description de la structure de CuO en termes de plans carrés (b) ou d'octaèdres (c) de coordinence des ions cuivrique.

Åsbrink *et coll.* (7) décrivent la structure de la Tenorite CuO, de symétrie monoclinique (groupe d'espace C2/c (n°15)), à partir de plans carrés $[CuO_4]^{6-}$ quasi réguliers (liaisons Cu-O de longueur moyenne 1,956 Å, figure 1b). Cette coordinence [4] plane est une manifestation forte de l'effet Jahn-Teller de l'ion cuivrique. Pour les atomes de cuivre situés en z=0, chaque plan carré partage dans le plan (a,b) deux arêtes O-O opposées avec deux plans carrés voisins pour former des rubans $[CuO_3]^{4-}$ infinis parallèles au plan (220) et espacés les uns des autres de ≈2,9 Å (Figure 1b). Pour les atomes de cuivre situés en z= $\frac{1}{2}$, des rubans $[CuO_3]^{4-}$ identiques sont rencontrés mais ils sont cette fois parallèles au plan (2-20) tout en restant espacés les uns des autres de ≈2,9 Å. Dans la structure de CuO, les rubans de plans carrés situés en z = 0 et en $z = \frac{1}{2}$ se connectent entre eux par sommets « oxygène ». Il en résulte la formation d'un maillage tridimensionnel (figure 1b). Deux atomes d'oxygène sont situés de part et d'autre de chaque plan carré [CuO₄]⁶⁻ à une distance Cu-O de ≈2,78 Å. En considérant ces deux derniers atomes, un octaèdre très distordu suivant son axe 4 se dessine (déformation [4+2], figure 1c). Il est possible, en faisant abstraction de l'éloignement de ces deux atomes d'oxygène, de re-décrire la structure de CuO à partir d'octaèdres très déformés et de faire apparaître ainsi des similitudes avec la structure de la Periclase MgO décrite précédemment (figure 1a et 1c). Dans cette nouvelle description, les octaèdres $[CuO_6]^{10-}$ partagent toutes leurs arêtes O-O avec des octaèdres voisins comme dans la structure type NaCl de l'oxyde MgO (figure 1c). Dans la littérature, une solution solide Mg_{1-x}Cu_xO existe dans le diagramme binaire MgO-CuO, dont l'étendue est limitée à x = 0,22 à 1050°C (figure 2) ⁽¹⁾. Les similitudes et différences entre les structures de MgO et CuO expliquent pourquoi la substitution des ions Mg^{2+} par les ions cuivrique est partielle dans l'oxyde MgO.

Comme l'oxyde de magnésium MgO et l'oxyde de cuivre CuO présentent séparément une activité bactéricide, la question était de déterminer si la combinaison de ces deux oxydes au sein d'un oxyde mixte Mg_{1-x}Cu_xO permettrait de générer une très forte activité bactéricide par un effet de synergie. Il a été montré que des particules d'oxyde mixte Mg_{0,65}Zn_{0,35}O adoptant la structure de la Periclase MgO présentaient une activité plus forte que celle des deux oxydes MgO et ZnO pris séparément ⁽²⁾. Enfin, il a été montré dans le chapitre bibliographique que l'oxyde de magnésium était instable vis-àvis de l'hydrolyse ^(3, 4) et de la carbonatation ⁽⁵⁾, contrairement à l'oxyde de cuivre. Le deuxième intérêt d'étudier la solution solide Mg_{1-x}Cu_xO est donc le gain potentiel en termes de stabilité vis-à-vis de l'atmosphère.



Figure 2 : Diagramme binaire MgO-CuO adapté d'après ⁽¹⁾

Cinq compositions de la solution solide ont été synthétisées à l'aide de deux voies de synthèse différentes. La première voie est la traditionnelle voie céramique, en utilisant comme précurseurs les nitrates des deux métaux pour accroître la réactivité du mélange. Des particules de taille micrométrique seront obtenues par cette voie. Une deuxième voie s'est focalisée sur la décomposition à basse température de précurseurs hydroxydes préparés par coprécipitation. Ce choix paraît pertinent puisque Giovanelli *et coll.* ont montré en 2012 ⁽⁶⁾ qu'une solution solide complète $Mg_{1-x}Co_x(OH)_2$ de même structure que la Brucite $Mg(OH)_2$ existait. Si une telle solution solide $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ existe avec les ions cuivrique, les deux cations Mg^{2+} et Cu^{2+} seraient intégrés au sein d'un précurseur unique dont la décomposition à basse température permettrait de préparer les

oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO sous la forme de particules de taille sub-micrométrique voire nanométrique. Cette éventualité offre la possibilité de déterminer l'incidence de la réduction en taille des particules sur l'activité bactéricide des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO pour une teneur en cuivre x donnée.

Par ailleurs, comme cela a été mentionné dans le chapitre bibliographique, Dong et coll. (7) ont révélé que des plaquettes de taille nanométrique de l'hydroxyde Mg(OH)₂ (épaisseur ≈10 nm et diamètre ≈200-300 nm) présentaient une activité bactéricide vis-à-vis d'E. coli à 37°C. Une éradication complète de l'inoculum E. coli est atteinte au bout de 24 h d'incubation avec les nanoparticules de Mg(OH)₂. Akhavan et coll. ⁽⁸⁾ ont évalué l'activité bactéricide de diverses couches nano-structurées d'oxyde CuO formées à la surface d'une feuille de cuivre métallique par immersion dans une solution diluée d'hydroxyde de sodium de concentration variant de 0 à 3.10⁻² mol/L et maintenue à 60°C pendant 20 h. Quand une solution d'hydroxyde de sodium de concentration 3.10⁻² mol/L est utilisée, la couche nano-structurée d'oxyde CuO présente une activité bactéricide élevée vis-à-vis d'E. coli. Ces auteurs ont attribué cette forte activité à la présence en grande quantité de groupements hydroxyle adsorbés à la surface des couches de CuO (détection par analyse XPS). Il peut alors être imaginé à partir de l'étude de Akhavan *et coll.* ⁽⁸⁾ que la cinétique de bactéricidie de l'hydroxyde Mg(OH)₂ pourrait être grandement accélérée lorsque des ions magnésium sont partiellement substitués par des ions cuivrique. De ce fait, la préparation des hydroxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ présente le double avantage de pouvoir les utiliser comme précurseurs des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO mais également d'étudier l'effet de l'incorporation d'ions cuivrique sur l'activité bactéricide de l'hydroxyde Mg(OH)₂.

La Brucite Mg(OH)₂ ⁽⁹⁾ est un minéral appartenant à la famille des hydroxydes de métaux divalents $M(OH)_2$, avec M = Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Ni ou Cd, qui adoptent tous la structure du composé en couches CdI₂ (groupe d'espace trigonal *P-3m1*, n°164). Cette structure est construite à partir d'octaèdres $[Mg(OH)_6]^{4-}$ qui forment des feuillets infinis et parallèles au plan (a,b) par le partage d'arêtes O-O (figure 3). Les groupements hydroxyle sont orientés selon l'axe 3 de la structure et pointent de part et d'autre de chaque feuillet d'octaèdres. L'empilement de ces feuillets selon l'axe cristallographique c délimite des galeries bidimensionnelles parallèles au plan (a,b). Si l'existence de la solution solide $Mg_{1-x}Co_x(OH)_2$ dans tout le domaine de composition tient au fait que les deux compositions terminales possèdent la même structure, qu'en est-il pour la solution solide $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$? A-t-elle toutes les chances d'exister cristallo-chimiquement parlant?

La Spertiniite $Cu(OH)_2$ ⁽¹⁰⁾ est un minéral qui cristallise dans le groupe d'espace orthorhombique *Cmc2*₁ (n°36). Cudennec *et coll.* ⁽¹¹⁾ décrivent sa structure à partir de pyramides à base carrée $[Cu(OH)_5]^3$. Dans cette pyramide, l'ion cuivrique a la particularité d'occuper le centre de la base

carrée (liaisons Cu-OH de longueur moyenne 1,96 Å), le cinquième sommet étant situé à une distance Cu-OH égale à 2,36 Å. Un sixième groupement hydroxyle se trouve de l'autre côté de la base carrée à une distance Cu-OH trop longue (2,92 Å) pour que ce dernier définisse le sixième sommet d'un octaèdre de coordinence centré sur l'ion Cu²⁺. Néanmoins, il est possible, en faisant abstraction de l'éloignement de ce sixième sommet, de re-décrire la structure de Cu(OH)₂ à partir d'octaèdres très déformés et de faire apparaître ainsi des similitudes avec la structure de la Brucite Mg(OH)₂. Cette description de la structure de Cu(OH)₂ en termes d'octaèdre a d'ailleurs été utilisée par Oswald *et coll.* ⁽¹⁰⁾. Dans les deux structures, les octaèdres de coordinence des cations divalents M (Cu²⁺ ou Mg²⁺) forment des feuillets infinis en mettant en commun leurs arêtes avec les octaèdres voisins. Tandis que ces feuillets sont plats dans la structure de Mg(OH)₂, des feuillets en escalier ou ondulés sont rencontrés dans celle de Cu(OH)₂. Ces feuillets s'empilent suivant l'axe b dans la structure de Cu(OH)₂ et suivant l'axe c dans celle de Mg(OH)₂. La cohésion des structures est dans les deux cas assurée par des liaisons hydrogène entre les deux feuillets consécutifs. Ces similitudes laissent à penser qu'une substitution partielle des ions Mg²⁺ par les ions cuivrique est possible dans l'hydroxyde Mg(OH)₂.



Figure 3 : (a) Vue en perspective de la structure cristalline de la Brucite Mg(OH)₂. (b) Répartition des 6 groupements hydroxyle premiers voisins d'un ion cuivrique dans Cu(OH)₂. (c) Description de la structure cristalline de la Spertiniite Cu(OH)₂ en termes de pyramides à base carrée ou (d) d'octaèdres de coordinence des ions cuivrique

2. Préparation des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO sous la forme de particules de taille micrométrique par la voie céramique

2.1. Synthèse

Les particules d'oxydes Mg_{1-x}Cu_xO de taille micrométrique ont été synthétisées en trois étapes. Un schéma descriptif du protocole est présenté à la figure 4. La première étape consiste à préparer un mélange de nitrate de cuivre et de nitrate de magnésium. Pour ce faire, un mélange stœchiométrique d'oxyde de cuivre (traité au préalable sous dioxygène à 600°C pendant 12 heures) et de nitrate de magnésium hexahydraté placé dans un bécher en Téflon est attaqué par 20mL d'acide nitrique concentré (68%). Une fois dissous, une solution limpide et bleue est obtenue. L'excès d'acide nitrique est complètement évaporé en portant cette solution à 140°C sous agitation constante pendant au moins 3 heures. Dans une deuxième étape, le solide bleu obtenu est broyé au mortier puis calciné à 500°C sous air (vitesse de montée et descente de 2°C/min). L'analyse par diffraction des rayons X de la poudre après calcination montre qu'un mélange d'oxyde de cuivre CuO et d'oxyde de magnésium MgO finement divisés est obtenu. Le mélange est une nouvelle fois homogénéisé par broyage au mortier puis chauffé sous air directement à 1050°C pendant 12 heures (vitesse de montée et descente de 5°C/min). Cette température de 1050°C est été choisie car c'est celle pour laquelle la solubilité du cuivre dans l'oxyde MgO est maximale d'après le diagramme binaire présenté à la figure 2. A l'issue de cette troisième étape, les particules d'oxydes mixtes Mg1- $_{x}Cu_{x}O$ sont obtenues (figure 4).



Figure 4 : Protocole de synthèse utilisé pour préparer les oxydes Mg_{1-x}Cu_xO par la voie céramique

2.2. Caractérisations

La figure 5 présente les diffractogrammes de rayons X des échantillons préparés par la voie céramique. Tous les oxydes mixtes présentent un diffractogramme identique à celui du composé parent MgO de structure type NaCl. Un décalage des pics vers les bas angles 2θ est constaté à mesure que le taux de substitution x augmente (figure 5). Ce déplacement est le signe d'une expansion homothétique de la maille cubique.



Figure 5 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO préparés par la voie céramique

Un affinement de chaque diffractogramme de rayons X par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽¹²⁾ a été réalisé en utilisant comme modèle structural de départ celui de l'oxyde de magnésium MgO référencé dans la littérature ⁽¹³⁾. L'affinement du diffractogramme de la composition x = 0,10, représentatif de cette série, est présenté sur la figure 6 suivante à titre d'exemple.



Figure 6 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'oxyde Mg_{0.9}Cu_{0.1}O

L'évolution du paramètre de maille cubique a en fonction de la teneur x en cuivre est présentée sur la figure 7 ci-après. Ce paramètre augmente linéairement avec le taux de substitution x. D'après la structure de l'oxyde MgO (figure 7), la longueur des liaisons (Mg,Cu)-O est égale à la moitié de la valeur du paramètre de maille a. L'augmentation du paramètre a est donc le résultat de l'élongation des liaisons (Mg,Cu)-O avec l'augmentation de la teneur en cuivre x. En coordinence [6], l'ion Cu²⁺ possède un rayon ionique supérieur (0,73 Å ⁽¹⁴⁾) à celui de l'ion Mg²⁺ (0,72 Å ⁽¹⁴⁾). Cette élongation des liaisons (Mg,Cu)-O est donc consistante avec la variation de rayons ioniques. L'augmentation du paramètre de maille a avec le taux de substitution suit donc une loi de Vegard classique ⁽¹⁵⁾.



Figure 7 : Evolution du paramètre de maille cubique a en fonction de la teneur x en cuivre dans la série Mg_{1-x}Cu_xO. L'erreur sur le paramètre est inférieure à la taille du point.

Des clichés de microscopie électronique à balayage ont été pris sur les poudres des oxydes MgO et $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ (figure 8). Ces clichés montrent que les particules sont dans les deux cas sans forme particulière et inhomogène en taille. La taille des grains est de 1 à 3 µm pour l'oxyde MgO, alors qu'elle est plutôt entre 3 et 10 µm pour l'oxyde mixte $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$. Cette augmentation de la taille des grains entre les deux compositions se manifeste clairement sur les diffractogrammes présentés à la figure 5 précédente par une diminution continue de la largeur à mi-hauteur de l'ensemble des pics à mesure que la teneur en cuivre x augmente. Cette augmentation de la taille des domaines de diffraction cohérente à mesure que la teneur en cuivre x augmente contribue à séparer de mieux en mieux les deux pics associés aux contributions des rayonnements $K\alpha_1$ et $K\alpha_2$ de la réflexion (220) par exemple (figure 5). D'après la littérature, des grains de l'oxyde MgO d'une taille de 3 et 10 µm ne peuvent être obtenus que par un chauffage des poudres à des températures comprises entre 1300 et 1400°C en raison du caractère réfractaire de cet oxyde ⁽¹⁶⁾. De ce point de vue, l'incorporation de cuivre dans l'oxyde MgO a donc un effet bénéfique sur la croissance des grains. Dans la suite du travail et par souci de simplification, les oxydes préparés par cette voie céramique seront appelés oxydes « micro ».



Figure 8 : Clichés MEB de (a) MgO et (b) $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$. La barre d'échelle représente 10 μ m

3. Préparation des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO sous la forme de particules de taille nanométrique à partir de précurseurs hydroxydes

Comme annoncé au début de ce chapitre, une seconde voie de synthèse mettant en jeu la coprécipitation de précurseurs hydroxydes, suivie d'une décomposition à basse température a été adoptée afin de réduire la taille des particules et ainsi exacerber l'activité bactéricide des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO.

3.1. Coprécipitation de précurseurs hydroxydes

3.1.1. Synthèse des hydroxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂

Deux voies de synthèse sont fréquemment utilisées pour préparer des particules de taille nanométrique d'hydroxyde de magnésium Mg(OH)₂. La première utilise un simple traitement hydrothermal d'un précurseur à base de magnésium dans un solvant protonique chauffé à 160-180°C. Les particules de Mg(OH)₂ sont obtenues sous la forme de bâtonnets, d'aiguilles ou de plaquettes en fonction du précurseur (métal ⁽¹⁷⁾, sulfate ⁽¹⁸⁾, nitrate ⁽¹⁸⁾ ou oxyde ⁽¹⁹⁾) et du solvant (éthylènediamine, ammoniaque ou eau) employés. La deuxième voie consiste en la précipitation des particules de Mg(OH)₂ par un ajout goutte à goutte d'une solution basique (soude, ammoniaque) à une solution d'un sel de magnésium soluble (chlorure, sulfate ou nitrate) maintenue à température constante, typiquement entre la température ambiante et 60°C ⁽²⁰⁾. Cette voie « précipitation » conduit préférentiellement à des particules en forme de plaquettes. Quand la solution de sel de magnésium est maintenue à une température supérieure à 25°C, une agglomération des particules est observée, qui va quelquefois jusqu'à la formation de roses des sables.

Cudennec *et coll.* ⁽²¹⁾ ont observé que la précipitation réalisée à température ambiante à partir d'une solution d'un sel de cuivre soluble et d'une solution concentrée d'hydroxyde de sodium (<13 mol/L) donnait naissance de manière transitoire à des particules peu cristallisées d'hydroxyde de cuivre

Cu(OH)₂, qui se transformaient rapidement en oxyde CuO après quelques heures de vieillissement. Pour ces auteurs, une dissolution progressive des particules de Cu(OH)₂ se produit avec le temps dans le milieu riche en ions hydroxyde, conduisant ainsi à la formation d'un complexe plan carré [Cu(OH)₄]²⁻ soluble. Cet ion peut être considéré comme la brique élémentaire de construction qui permet la précipitation de l'oxyde CuO (plans carrés de coordinence des ions cuivrique, figure 1) par une réaction de condensation et déshydratation ⁽²²⁾. Cette instabilité explique pourquoi l'immersion pendant 6 jours et à température ambiante d'une feuille de cuivre métallique dans une solution diluée d'hydroxyde de sodium (0,5 mol/L) conduit directement à la formation de particules de taille micrométrique d'oxyde CuO⁽²³⁾. De plus, l'hydroxyde de cuivre Cu(OH)₂ se décompose en CuO quand il est chauffé au-delà 145-160°C⁽²⁴⁾. De ce fait, tout traitement hydrothermal à 160-180°C d'un précurseur à base de cuivre dans un solvant protonique est à proscrire parce que ce traitement accélère la cinétique de formation des particules d'oxyde CuO. A titre d'illustration, Liu et coll. (25) ont été capables grâce au traitement hydrothermal d'une feuille de cuivre métallique à 160°C dans une solution d'hydroxyde de sodium (5 mol/L) de faire croître une couche nano-structurée d'oxyde CuO en présence de surfactant. Afin d'éviter la dissolution des particules de Cu(OH)₂ tout juste formées ou leur décomposition en oxyde CuO, la concentration en ions hydroxyde dans le milieu comme la température de synthèse doivent être basses. Ainsi, Wen et coll. (26) ont montré qu'un film bleu d'hydroxyde de cuivre pouvait se former à la surface d'une feuille de cuivre métallique immergée dans une solution d'ammoniaque diluée (3,3.10⁻² mol/L), maintenue à température ambiante pendant 24h.

Ces données de la littérature nous ont donc incités à choisir la coprécipitation à température ambiante et en milieu basique dilué comme voie de synthèse des hydroxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ (figure 9). Les teneurs en cuivre choisies sont les mêmes que celles des particules $Mg_{1-x}Cu_xO$ de taille micrométrique (x = 0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20). La première étape consiste à préparer un mélange de nitrate de cuivre et de nitrate de magnésium. Cette étape est réalisée de la même manière que lors de la synthèse des microparticules $Mg_{1-x}Cu_xO$. Dans une deuxième étape, 50 mL d'une solution en cations métalliques de concentration 0,5 mol/L sont préparés par dissolution du solide bleu obtenu précédemment. Placée dans une burette, cette solution est ensuite versée goutte à goutte dans 150 mL d'un mélange de solutions 0,6 M NaOH et 0,1 M Na₂CO₃ fraichement préparées. Au cours de l'addition, le pH augmente légèrement de 12,5 à 13,8 suivant la concentration en cuivre de la solution est ensuite se produit instantanément dès l'addition de la première goutte de la solution de nitrates. Dans le bécher, la solution initialement incolore se transforme alors en une suspension de particules bleues. Après l'ajout complet des 50mL de solution de nitrates, la suspension est ensuite agitée pendant 30 minutes puis laissée au repos sans agitation

115

pendant 3h. Une décantation complète des particules se produit par gravité pendant cette période de repos. Un spectre d'absorption UV-visible est collecté sur le surnageant incolore (figure 9). Sur ce spectre, aucun pic caractéristique de transitions électroniques entre les niveaux 3d des ions cuivrique solvatés en coordinence octaédrique n'apparaît dans la gamme de longueurs d'onde 500-1000 nm. La totalité des ions cuivrique présents initialement dans la solution de nitrates a donc précipité. Afin d'éliminer toutes traces d'ions sodium et carbonate, une étape importante de centrifugation et de lavage a été réalisée. Elle consiste tout d'abord à réaliser 8 cycles de centrifugations / lavages du précipité à l'eau désionisée. A la fin du huitième cycle, une filtration sur Büchner est effectuée afin de récupérer le précipité et de le laver une dernière fois avec 150 mL d'eau. Le précipité est ensuite séché à l'air pendant une nuit dans une étuve à 60°C avant d'être broyé à la main et transféré dans un pilulier.



Figure 9 : Protocole de synthèse des hydroxydes "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" par coprécipitation en milieu basique de précurseurs nitrates

3.1.2. Identification des échantillons

Pour les teneurs en cuivre $x \le 0,15$, les diagrammes de diffraction des rayons X des compositions mixtes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ sont tous identiques à celui de l'hydroxyde de magnésium $Mg(OH)_2$ (x = 0) appelé Brucite (figure 10). Pour la composition x = 0,2, une trace d'hydroxyde de cuivre $Cu(OH)_2$ est détectée (un seul pic aux alentours de 24° en 20), indiquant de ce fait que la limite de la solution solide $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ est dépassée. Comme le montre la figure 10, le pic fin et symétrique attribué à

la réflexion (001) de la phase Mg(OH)₂ (x = 0) se transforme en un pic large et asymétrique avec la substitution, révélant ainsi un désordre dans l'empilement des couches le long de l'axe cristallographique c. Une analyse structurale minutieuse de deux hydroxydes lamellaires, Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃).4H₂O ^(27, 28) et Zn₃Cu₂(OH)₆(CO₃)₂ ⁽²⁹⁾ a permis de trouver une explication à ce désordre.



Figure 10 : Diffractogrammes de rayons X collectés à température ambiante sur les poudres Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ obtenues après leur synthèse par coprécipitation. En insert, effet du désordre d'empilement des feuillets d'octaèdres selon l'axe c sur le profil du pic (001).

Comme dans la Brucite Mg(OH)₂, la structure de symétrie rhomboédrique de la Pyroaurite Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃).4H₂O (figure 11) ^(27, 28) est construite à partir de feuillets infinis d'octaèdres partageant entre eux des arêtes. Mais un quart des octaèdres formant ces feuillets est occupé par des ions Fe³⁺ dans la Pyroaurite. Pour équilibrer la charge positive de ces feuillets de type Brucite $[Mg_6Fe_2(OH)_{16}]^{2+}$ générée par cette substitution aliovalente partielle, des anions carbonate sont hébergés dans les galeries délimitées par l'empilement de ces feuillets selon la direction c. L'orientation des anions CO₃²⁻ est parallèle aux feuillets de type Brucite. Des molécules d'eau trouvent également une place dans ces galeries.

Une seconde forme de symétrie hexagonale, appelée Sjögrenite ⁽²⁸⁾ est également rapportée dans la littérature pour l'hydroxycarbonate Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃).4H₂O. Les deux structures ne diffèrent que par les séquences d'empilement suivant l'axe c des feuillets de type Brucite et des atomes d'oxygène des ions carbonate et des molécules d'eau situées dans l'espace interfeuillet. Les deux séquences différentes sont appelées rhomboédriques à trois feuillets (3R) et hexagonales à deux feuillets (2H) en référence aux polytypes Pyroaurite et Sjögrenite ⁽³⁰⁾, respectivement. Quel que soit le polytype, l'hydroxycarbonate Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃).4H₂O appartient à la famille des Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDL) ⁽³¹⁾ (ou *Layered Double Hydroxides* (LDH) en anglais) répondant à la formulation

générale $[M_{1-x}^{II}M_{x}^{III}(OH)_{2}][A^{n-}]_{x/n}$, mH₂O, où M^{II} est un cation divalent pouvant être partiellement substitué par un cation trivalent M^{III}, et où Aⁿ⁻ est un anion dit à compensation de charge, comme NO₃⁻ ou CO₃²⁻, par exemple. Des empilements désordonnés de feuillets sont rencontrés dans ces HDL ⁽³²⁾. Les défauts d'empilement peuvent provenir d'une différence de teneur en eau d'une galerie à l'autre. Étant donné que la quantité d'anions intercalés Aⁿ⁻ dans les galeries est liée à la teneur en cations trivalents M^{III}, des défauts d'empilement peuvent aider la structure à s'adapter localement à une distribution cationique hétérogène entre les feuillets d'octaèdres de type Brucite.



Figure 11 : Structures cristallines de la Pyroaurite Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃).4H₂O et de l'Aurichalcite Zn₃Cu₂(OH)₆(CO₃)₂

La structure de l'Aurichalcite Zn₃Cu₂(OH)₆(CO₃)₂ est dans une certaine mesure apparentée à celle de la Brucite (figures 3a et 11). La maille monoclinique de l'Aurichalcite contient quatre sites métalliques cristallographiquement indépendants (notés M(1) à M(4)). Le site M(3) est uniquement occupé par l'ion Zn²⁺ tandis que les trois sites métalliques restants sont à part égale occupés par les deux cations divalents Zn²⁺/Cu²⁺. Les sites M(1) et M(2) sont en coordinence [6] de géométrie octaédrique, tandis que les sites M(3) et M(4) se trouvent respectivement en coordinence [4] (tétraédrique) et [3+2]. Dans la structure de l'Aurichalcite, les octaèdres partagent des arêtes pour former des feuillets infinis parallèles au plan (b,c). Cependant, ces feuillets d'octaèdres ne sont pas aussi denses que ceux de la Brucite : un cinquième de ces octaèdres sont vides dans les feuillets de l'Aurichalcite. Les sites M(3) et M(4) restants sont tous deux situés de part et d'autre de ces feuillets déficitaires en cations, de sorte que les deux faces triangulaires opposées de chaque octaèdre vide correspondent à une face triangulaire des polyèdres de coordination des sites M(3) et M(4) (figure 11). Dans l'Aurichalcite, tous les anions carbonate sont bidentés et partagent un atome d'oxygène avec trois octaèdres d'un feuillet de type Brucite déficitaire. La moitié des ions carbonate partagent un deuxième atome d'oxygène avec des tétraèdres [M(3)Q₄]⁶⁻ afin de former des « piliers » reliant deux feuillets adjacents d'octaèdres. Les ions carbonate restants partagent un deuxième oxygène avec les polyèdres $[M(4)O_5]^{8-}$ se trouvant sur le feuillet auquel ils sont déjà liés.

Dans le protocole de synthèse des hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ adopté, des nitrates de magnésium et de cuivre ont été utilisés et la solution basique contient des anions carbonate. A partir des structures de la Pyroaurite et de l'Aurichalcite, la possibilité que des anions carbonate ou nitrate ainsi que des molécules d'eau puissent être incorporés dans les galeries des hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ préparés n'est pas à exclure. Pour détecter la présence de ces anions étrangers et des molécules d'eau, des spectres infrarouge ont été collectés à température ambiante sur des poudres brutes. La figure 12 présente la superposition des différents spectres en fonction de la teneur en cuivre x. Sur chaque spectre, la bande d'absorption intense observée à environ 3700 cm⁻¹ est attribuée à la vibration d'élongation de la liaison OH (v_{OH}) $^{(33)}$. La fréquence de la vibration d'élongation de la liaison OH dans l'échantillon x = 0 est en très bon accord avec la valeur de 3697 cm⁻¹ déterminée par Martens et Freud ⁽³⁴⁾ sur une poudre de Mg(OH)₂. Sur la figure 12, la faible bande d'absorption à environ 1650 cm⁻¹ correspondrait à la vibration de déformation angulaire des liaison H-O-H (δ_{HOH}) des molécules d'eau (33), soit présentes en faible quantité dans l'espace interfeuillet, soit physisorbées à la surface des grains. Ce point sera clarifié ultérieurement. Deux bandes supplémentaires sont également détectées à des fréquences plus basses sur chaque spectre, respectivement à 1400 et 1475 cm⁻¹ (figure 12). Ces bandes pourraient être attribuées aux vibrations v d'élongation des groupements carbonate ou nitrate ⁽³³⁾. Dans cette série Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂, le rapport entre les aires intégrées sous les pics attribués aux ions carbonate et/ou nitrate et hydroxyde augmente tout d'abord légèrement dans la plage de substitution $0 \le x \le 0,1$ avant de pratiquement doubler entre x = 0,1 et 0,15. Cela montre clairement que la quantité d'anions étrangers dans l'échantillon augmente avec la teneur en cuivre x, sans être toutefois directement proportionnelle.



Figure 12 : (a) Spectres infrarouge des hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂. (b) Variation avec la teneur en cuivre x du rapport entre les aires intégrées sous les pics attribués aux ions carbonate / nitrate et hydroxyde

La nature des anions étrangers a été déterminée en analysant les gaz libérés par l'échantillon lors de sa décomposition thermique. Cette analyse a été réalisée à l'aide d'un analyseur thermogravimétrique couplé à un spectromètre de masse. En parallèle, la décomposition thermique a également été suivie par diffraction des rayons X en température afin de fournir des informations sur le processus de transformation. Les thermogrammes, les spectres de masse et les évolutions thermiques des diagrammes de diffraction de trois échantillons sélectionnés x = 0, 0,1 et 0,2 sont comparés à la figure 13. Les thermogrammes et les spectres de masse enregistrés sur les deux échantillons restants de la série (x = 0,05 et 0,15) étant similaires à ceux des échantillons x = 0 et 0,1, ils ne sont pas représentés.



Figure 13 : Thermogrammes et spectres de masse m/z = 18 et 44 collectés lors du chauffage sous argon des échantillons Mg(OH)₂, Mg_{0,9}Cu_{0,1}(OH)₂ et Mg_{0,8}Cu_{0,2}(OH)₂ (à gauche). Evolution thermique des diffractogrammes de ces mêmes échantillons collectés lors du chauffage sous air entre 25°C à 400°C (à droite)

Sur la figure 13, deux pertes de masse distinctes sont clairement observées sur les thermogrammes des échantillons x = 0 et x = 0,1. Une première petite perte de masse se produit dans la plage de température de 100 à 225°C qui se termine par un plateau. Cette perte de masse est associée

uniquement à une libération de molécules d'eau puisqu'une bosse est observée à environ 125°C sur le spectre de masse m/z = 18. Les diffractogrammes montrent que la structure de type Brucite est préservée dans ce domaine de température de 100 à 225°C. Comme une vibration de déformation angulaire δ des liaisons H-O-H des molécules d'eau a été détectée par spectroscopie infrarouge pour tous les échantillons, cette première perte de masse ne peut être associée qu'à un processus de déshydratation.

Une seconde bosse est clairement observée à environ 175°C sur le spectre de masse m/z = 18 de l'échantillon x = 0,2. Comme le montre le diagramme de diffraction collecté à température ambiante et tracé à la figure 10, une phase secondaire $Cu(OH)_2$ est présente en très faible quantité. L'hydroxyde Cu(OH)₂ se décompose à 145-160°C⁽²⁴⁾ pour former l'oxyde CuO. Sur la figure 12, le seul pic de diffraction de la phase Cu(OH)₂ aux alentours de $2\theta = 24^{\circ}$ disparaît à 175°C, température à laquelle la deuxième bosse est détectée sur le spectre de masse m/z = 18. Aucune trace d'oxyde de cuivre CuO n'est toutefois détectée sur les diffractogrammes collectés sur l'échantillon x=0,2 dans le domaine de températures 175 et 225°C au sein duquel la phase de type Brucite existe encore. Dans leur étude, Günter et coll. ⁽²⁴⁾ ont observé que les raies de diffraction de l'oxyde CuO résultant de la décomposition de Cu(OH)₂ sont larges, ce qui signifie que les domaines de diffraction cohérente sont de petite taille. En partant d'une très faible quantité de $Cu(OH)_2$ présente dans l'échantillon x = 0,2, il n'est pas surprenant qu'aucune raie de diffraction correspondant aux grains de petite taille de l'oxyde CuO ne soit détectée dans le fond continu des diffractogrammes collectés dans le domaine de températures 175 et 225°C. Enfin, l'absence de plateau sur le thermogramme de l'échantillon x = 0,2 provient des pertes de masse successives provoquées par la déshydratation de l'hydroxyde de type Brucite et la décomposition de Cu(OH)₂. Par conséquent, il n'a pas été possible de déterminer la teneur en eau z contenue dans cet échantillon x = 0,2 à partir des pertes de masses successives observées entre la température ambiante et 225°C. Pour les quatre autres compositions de la série, la teneur en eau z a pu être déterminée. D'après les valeurs rassemblées dans le tableau 1, cette teneur en eau augmente avec la teneur en cuivre x des échantillons, mais elle reste relativement faible même pour l'échantillon le plus riche en cuivre ($z\approx0,11$ et $x\approx0,15$).

Tableau 1 : Evolution de la teneur en eau (z) et en carbonate (y) déterminée à partir des pertes de masses des analyses thermogravimétriques en fonction de la teneur en cuivre x des hydroxydes mixtes de formulation Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂. _{2v}(CO₃)_v-zH₂O

	Déshydratation		Décomposition	
Teneur x en cuivre	Perte de masse %	z(H ₂ O)	Perte de masse %	y(CO₃)
0	1,84	0,062	31,33	0,034
0,05	1,91	0,066	30,57	0,043
0,1	2,36	0,085	29,56	0,045
0,15	3,51	0,114	30,12	0,129

Dans les Hydroxydes Doubles Lamellaires (HDL), les molécules d'eau sont à la fois physisorbées à la surface des grains et situées dans les espaces interfeuillet ^(35, 36). Si les molécules physisorbées sont facilement éliminées en séchant la poudre brute à environ 60° C, un chauffage au-delà de 250°C est nécessaire pour libérer les molécules emprisonnées entre les feuillets ⁽³⁶⁾. Seules les molécules d'eau intercalées sont comptées dans la formulation des HDL avec un rapport métal/H₂O ne dépassant pas 0,5, comme par exemple dans la Pyroaurite $Mg_6Fe_2(OH)_{16}(CO_3).4H_2O^{(27, 28)}$. Pour « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ », il est légitime de se demander si la déshydratation correspond bien à une libération de molécules d'eau situées dans les galeries de la structure de type Brucite, ou physisorbées à la surface des particules, ou aux deux phénomènes à la fois. Cette question est d'une importance capitale car la température à laquelle la déshydratation se produit dans « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » est inférieure à la température caractéristique de la libération de molécules d'eau intercalées dans les structures des HDL. Comme mentionné précédemment, les poudres brutes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » ont été séchées dans une étuve à 60°C avant toute analyse, permettant normalement la désorption des molécules d'eau physisorbées à la surface des particules. Lors de l'étude in situ de la déshydratation des hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » par thermodiffraction, l'élargissement asymétrique du pic de diffraction (001) disparaît progressivement à mesure que la température augmente de la température ambiante à 225°C (figure 12). Comme les feuillets d'octaèdres sont empilés selon l'axe c, ce changement de profil du pic (001) est le signe que la déshydratation affecte cet empilement, un processus que la désorption de molécules d'eau physisorbées à la surface des particules ne peut évidemment pas causer. De ce fait, la déshydratation observée devrait principalement correspondre à la perte de molécules d'eau localisées en faible quantité dans les galeries de l'empilement.

Avec une teneur aussi faible en eau dans les échantillons séchés (tableau 1), certaines galeries d'hydroxydes mixtes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » sont certainement exemptes de molécules d'eau tandis que d'autres sont partiellement remplies. Notons que la hauteur des galeries dans la structure d'un échantillon $Mg(OH)_2$ complètement déshydraté est d'environ 2,689 Å ⁽⁹⁾, soit plus de deux fois moins que la hauteur des galeries (5,688 Å) dans la structure de $Mg_6Fe_2(OH)_{16}(CO_3).4H_2O$ ^(27, 28) bien plus

122

riche en molécules d'eau. Pour s'adapter à la présence de ces molécules d'eau en quantité variable d'une galerie à l'autre, les feuillets d'octaèdres ne peuvent pas être empilés de manière ordonnée comme dans la structure idéalisée de la Brucite Mg(OH)₂. Globalement, la hauteur des galeries augmente en moyenne selon l'axe c. Il existe alors un désordre dans l'empilement qui implique l'élargissement asymétrique du pic (001) vers les bas angles, observé sur les diagrammes de diffraction des rayons X des hydroxydes mixtes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » (figure 10). Cet élargissement ne devient significatif que pour les compositions de teneur en cuivre x supérieures à 0,1 pour lesquelles la teneur eau z dépasse ≈8 mol% (tableau 1).

Au-delà de 250-300°C, l'échantillon commence à se décomposer en libérant simultanément des molécules d'eau et quelques molécules de CO₂ comme l'indiquent les spectres de masse m/z=18 et 44 (figure 13). Aucune trace de NO₂ résultant de la décomposition thermique des nitrates n'est détectée par spectrométrie de masse (non représentée sur la figure 12). De ce fait, des anions carbonate sont présents dans les galeries au sein de la structure des hydroxydes mixtes obtenus. En raison du caractère isovalent de la substitution des ions magnésium par des ions cuivrique, les feuillets d'octaèdres dans les hydroxydes mixtes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » sont électriquement neutres, contrairement à ce qui est observé dans les polytypes Pyroaurite et Sjögrenite de $Mg_6Fe_2(OH)_{16}(CO_3).4H_2O$ ^(27, 28). La présence d'anions carbonate dans la structure des hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » implique alors qu'ils partagent des atomes d'oxygène avec des feuillets d'octaèdres, comme ce qui est observé dans la structure de l'Aurichalcite $Zn_3Cu_2(OH)_6(CO_3)_2$ ⁽²⁹⁾ (figure 11). La conséquence en est une substitution partielle de quelques ions hydroxyde par des groupements carbonate dans la formulation des hydroxydes mixtes : $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y-2}H_2O$.

Enfin, le diagramme de diffraction des rayons X collecté à une température supérieure à 300°C (figure 13) montre que le seul produit de décomposition est un oxyde mixte $Mg_{1-x}Cu_xO$ de type Periclase, même pour la composition x = 0,2, pour laquelle une trace d'hydroxyde de cuivre $Cu(OH)_2$. coexistait au côté d'un hydroxyde mixte. A partir des analyses précédentes, les réactions de déshydratation et de décomposition sont les suivantes :

$$Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2y}(CO_{3})_{y}.zH_{2}O \xrightarrow{d\acute{e}shydratation} Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2y}(CO_{3})_{y} + zH_{2}O_{(g)}$$
$$Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2y}(CO_{3})_{y} \xrightarrow{d\acute{e}composition} Mg_{1-x}Cu_{x}O + yCO_{2(g)} + (1-y)H_{2}O_{(g)}$$

La présence d'anions carbonate dans la structure des hydroxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y.zH_2O$ implique qu' une fraction des ions magnésium et/ou de cuivre se trouve en dehors des feuillets d'octaèdres et soit en coordinence [4] ou [3+2] comme dans la structure de l'Aurichalcite. La faible teneur y en ions carbonate calculée à partir de la deuxième perte de masse des thermogrammes (figure 13 et tableau 1) signifie que la fraction de cations Mg^{2+}/Cu^{2+} en coordinence [4] ou [3+2] doit également être faible. La coordinence de l'ion Cu²⁺ dans la structure a une incidence directe sur l'éclatement des niveaux d'énergie de ses orbitales 3d imposé par le champ cristallin. La position de la bande d'absorption dans le spectre UV-visible-proche IR est directement liée à l'énergie nécessaire à la transition électronique d-d. La spectroscopie d'absorption peut donc être utilisée pour sonder la coordinence des ions cuivre dans les composés Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_{y-}zH₂O. Les spectres d'absorption NIR visible de toutes les compositions de la série sont présentés en figure 14. Pour l'échantillon blanc de composition x = 0, deux faibles absorptions se produisent dans la région proche infrarouge du spectre, avec des maxima aux alentours de 7150 et 7250 cm⁻¹. Martens et Freund ont montré que ces deux bandes correspondent aux premières harmoniques des vibrations d'élongation de la liaison O-H (v_{OH}) des groupements OH^{- (34)} observées entre 3500-4000 cm⁻¹ dans Mg(OH)₂. Lorsque les ions cuivrique occupent les sites tétraédriques dans les structures de l'oxyde ZnO (37) dopé au cuivre ou de l'oxyde de structure spinelle $CuAl_2O_4$ ⁽³⁸⁾, une absorption large est mesurée dans la plage de nombres d'ondes comprise entre 5550 cm⁻¹ (1800 nm) et 8330 cm⁻¹ (1200 nm). Hormis les harmoniques des vibrations v_{OH}, aucune bande d'absorption supplémentaire n'est détectée dans cette région proche IR des spectres (figure 14). Les ions Cu²⁺ ne sont donc pas en coordinence [4] ou [3+2] dans les échantillons Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O. Cependant, une large bande d'absorption apparaît aux nombres d'ondes supérieurs dans les spectres des échantillons de composition x > 0, avec un maximum autour de 13900 cm⁻¹ (\approx 720 nm). L'intensité de cette bande augmente avec la teneur croissante en cuivre x dans la série (effet hyperchrome). Les échantillons contenant des ions cuivrique absorbent ainsi la lumière dans la région rouge du spectre visible, ce qui est en accord avec la couleur complémentaire bleue des poudres observée (figure 14). Dans le complexe hexaaquacuivre (II) $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$ (39), la transition électronique d'un électron d'une orbitale e_g vers une orbitale t_{2g} de l'ion Cu²⁺ en champ cristallin octaédrique produit l'apparition d'une bande d'absorption à environ 12500 cm⁻¹ (≈800 nm). Dans la série spectrochimique, la force d'un ligand hydroxyle est légèrement plus faible que celle du ligand aqua (caractère auxochrome du ligand hydroxyle) ⁽⁴⁰⁾. En remplaçant les 6 ligands aqua par des ligands hydroxyle, l'absorption de lumière doit avoir lieu à des longueurs d'onde inférieures à 800 nm (effet hypsochrome). De ce fait, la bande d'absorption située à environ 13900 cm⁻¹ (\approx 720 nm) correspond à la transition électronique d-d de l'ion $[Cu(OH)_6]^{4-}$.

Le spectre d'absorption de la malachite $Cu_2(CO_3)(OH)_2^{(41)}$ présente deux bandes larges dans la plage UV-Visible-proche infrarouge : une bande intense centrée autour de 12346 cm⁻¹ (810 nm) et une plus faible vers 8696 cm⁻¹ (1150 nm). Dans la structure de la malachite ⁽⁴²⁾, le cuivre divalent réside dans un octaèdre déformé avec deux distances cuivre-oxygène plus longues que les quatre autres. Cette distorsion [4+2] est attribuée à l'effet Jahn-Teller des ions cuivrique. Sur les spectres de la figure 14, aucune bande d'absorption ni épaulement supplémentaire n'est présent dans la gamme des nombres d'onde 7500-10000 cm⁻¹. De plus, la bande autour de 13900 cm⁻¹ a une forme presque symétrique. Ces deux observations suggèrent donc que la distorsion Jahn-Teller des octaèdres occupés par les ions Cu²⁺ dans les composés Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O, si elle existe, est de faible intensité.



Figure 14 : Spectres UV-visible-proche infrarouge (à gauche) et photographies (à droite) des échantillons Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O

Les analyses ci-dessus des spectres en réflexion diffuse démontrent clairement que tous les ions cuivrique sont situés dans les feuillets d'octaèdres de la structure, comme la majorité des ions magnésium dans les hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y.zH_2O$. De ce fait, les ions divalents présents en faible quantité en dehors de ces feuillets ne peuvent qu'être les ions Mg^{2+} . Un modèle structural peut donc être proposé pour les hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y.zH_2O$ sur la base de l'ensemble des caractérisations effectuées. Dans la représentation de ce modèle à la figure 15, les ions magnésium en dehors du feuillet sont considérés en coordinence tétraédrique. Ce choix est arbitraire puisque ces ions pourraient être tout autant en coordinence [3+2]. Nos caractérisations n'ont pas pu permettre de préciser ce point.



Figure 15 : Structure cristalline proposée pour les hydroxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O

La morphologie et la cristallinité des particules d'hydroxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O ont été examinées par microscopie électronique en transmission (MET) et par diffraction électronique en aire sélectionnée (DEAS, figure 16). Les clichés de microscopie révèlent que les particules d'hydroxyde de magnésium (x = 0) se présentent sous la forme de plaquettes dont les bords sont arrondis. Les particules ont un diamètre compris entre ≈ 10 et 50 nm et une épaisseur inférieure à ≈10 nm. Pour les échantillons contenant du cuivre, les plaquettes ont tendance à s'agréger en mettant en commun leur face et à reposer sur leurs tranches lorsqu'elles sont déposées sur la grille de microscopie, rendant leurs observations difficiles. La taille de ces agrégats est de plus en plus grande à mesure que leur teneur en cuivre x augmente. Cette agrégation observée en microscopie impacte toutefois assez peu la surface spécifique des composés mesurée par adsorption de diazote, comprise entre 102 et 123 m²/g selon la composition. Pour la composition x = 0,05, un cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée de plusieurs plaquettes a été pris (figure 16e). Ce cliché présente quatre anneaux de diffraction ayant des distances inter-réticulaires comparables à celles des quatre premières raies du diffractogramme de rayons X de la composition x = 0.05 (figure 10), confirmant ainsi la bonne cristallinité des particules obtenues. Pour chaque hydroxyde dans le domaine de composition $0 \le x \le 0,15$, le rapport atomique Cu/Mg, déterminé par analyse élémentaire EDX de plusieurs plaquettes, est en très bon accord avec le rapport nominal (figure 16f). A ce stade de l'identification, les spectres d'absorption collectés sur les surnageants incolores de la coprécipitation comme les analyses élémentaires réalisées sur les particules démontrent que la totalité des ions cuivrique et des ions magnésium présent initialement dans la solution de nitrates a complètement précipité.



Figure 16 : Clichés de microscopie à transmission des échantillons Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y-zH₂O (a-d) et cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée de la composition x = 0,05 (e). (f) Evolution du rapport atomique Cu/Mg déterminé par EDX en fonction de la teneur nominale en cuivre x

3.1.3. Influence de la substitution sur la structure des hydroxydes

Le désordre d'empilement des feuillets d'octaèdres selon l'axe c des hydroxydes fortement substitués entraîne un fort élargissement asymétrique de la réflexion (001) (figure 10). Ce désordre rend l'affinement des diffractogrammes par la méthode de Le Bail impossible. La diffraction des rayons X en température et les analyses thermiques ont toutefois révélé que cet élargissement disparaissait lors de la déshydratation des échantillons entre la température ambiante et 225°C. Dans le but de déterminer les paramètres maille des hydroxydes mixtes à partir des données de diffraction, les poudres ont été déshydratées en condition statique. Afin d'éviter la décomposition des hydroxydes, la température de déshydratation a été choisie 25°C en dessous de la température finale du plateau observé sur les thermogrammes (figure 13). Les poudres ont donc été déshydratées à 200°C sous air pendant 4 heures puis un diffractogramme a été enregistré à température ambiante. Ils sont superposés sur la figure 17 suivante.



Figure 17 : Diffractogrammes de rayons X collectés à température ambiante sur les poudres Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y après leur déshydratation à 200°C. En insert, effet de la déshydratation sur le profil du pic (001).

Sur la figure 17, les largeurs de pics à mi-hauteur des réflexions (100) et (110) sont plus faibles que celles des réflexions (001), (011) et (012). Cette anisotropie de largeur de raie est le reflet de l'anisotropie de taille des plaquettes révélée par la microscopie électronique en transmission (plaquettes quasi-hexagonales de diamètre entre \approx 10 et 50 nm et d'épaisseur inférieure à \approx 10 nm). A partir de ces observations, on peut conclure que la direction [001] est perpendiculaire aux faces hexagonales des plaquettes, et que l'épaisseur des plaquettes <H> est inférieure à la longueur de la diagonale (ou diamètre) <D> des faces. Dans notre cas l'élargissement des raies est supposé avoir pour origine unique la petite taille des particules plutôt que les microdéformations. Les pics de diffraction ayant tous un profil symétrique modélisable par une fonction de Voigt, les dimensions des plaquettes ont été déterminées par la méthode de la largeur intégrale (Integral Breath Method)⁽⁴³⁾. Tous les diffractogrammes ont pu être affinés par la méthode de Le Bail en utilisant le modèle de plaquettes du programme FULLPROF. Dans ce modèle, une plaquette hexagonale peut être inscrite dans un cylindre dont le diamètre et la hauteur correspondent à la grande diagonale <D> et à l'épaisseur <H> de la plaquette. Comme le montre la figure 18, les diffractogrammes peuvent être modélisés correctement avec ce modèle de plaquettes. Le diamètre <D> et l'épaisseur <H> moyens des plaquettes ont été déterminés à partir de la taille des domaines de diffraction cohérente suivant les directions [hh0] et [001], respectivement. Compte tenu du mode de synthèse (coprécipitation), les micro-contraintes n'ont pas été considérées. Les variations des paramètres de maille a et c, du diamètre <D> et de l'épaisseur <H> des plaquettes des hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$ déshydratés sont présentés en fonction de la teneur x en cuivre à la figure 18.

Une faible augmentation linéaire des paramètres de maille a et c est attendue car le cuivre divalent est de taille légèrement supérieure à celle de l'ion magnésium en coordinence [6] (0,73 Å contre 0,72 Å d'après Shannon ⁽¹⁴⁾). Expérimentalement, seul le paramètre de maille c présente une telle

augmentation ; le paramètre a reste globalement invariant avec le taux de substitution x (figure 18). Il faut rappeler que dans la structure de l'Aurichalcite $Zn_3Cu_2(OH)_6(CO_3)_2$, les tétraèdres [M(3)O₄] et les anions carbonate forment des « piliers » reliant deux feuillets d'octaèdres. La hauteur moyenne des galeries est de ≈5,1 Å, soit près de deux fois la hauteur d'une galerie dans la structure de la Brucite Mg(OH)₂ déshydratée (2,689 Å ⁽⁹⁾). D'après la figure 11, ces feuillets d'octaèdres dans la structure de l'Aurichalcite ne sont pas plats comme dans celle de la Brucite, mais ondulés au niveau des « piliers ». Au sein d'un feuillet, l'ondulation raccourcit ou allonge les distances entre les cations aux centres des octaèdres. Dans les composés Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y déshydratés, la présence d'ions carbonate pontants doit induire une déformation similaire des feuillets (augmentation de la hauteur de la galerie et ondulation du feuillet). Elle doit toutefois être de plus faible ampleur en raison de la quantité croissante d'anions carbonate présents dans les hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2v}(CO₃)_v. zH₂O L'augmentation du paramètre c avec x (+0,034 Å sur toute la plage de composition) reflète les effets combinés de la substitution Mg/Cu et de l'expansion en hauteur des galeries induite par la présence en quantité croissante d'anions carbonate. L'absence de variation du paramètre a suggère que le raccourcissement et l'allongement des distances entre cations induit par l'ondulation du feuillet se compensent totalement. Cette élasticité du feuillet est possible grâce à la flexibilité des polyèdres de coordinence des ions Cu²⁺.



Figure 18 : (a) Résultat de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme de l'hydroxyde Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)_{2-2y}(CO₃)_y déshydraté (x = 0,15) en tenant compte de la forme en plaquettes des nanoparticules. (b) Evolution des paramètres de maille a et c ainsi que du diamètre <D> et de l'épaisseur <H> des plaquettes avec la teneur x en cuivre

Une réduction homothétique de la taille des particules est observée lorsque la teneur en cuivre x augmente au sein de la série. En effet, le diamètre moyen $\langle D \rangle$ et l'épaisseur $\langle H \rangle$ ont tous les deux diminué de moitié entre la composition x = 0 et la composition x = 0,2. La forme des particules est donc significativement affectée par la substitution, comme le montre l'augmentation du rapport $\langle D \rangle / \langle H \rangle$ avec la teneur en cuivre x sur la figure 18. Pour les échantillons x = 0,1 et 0,15, les
épaisseurs moyennes des plaquettes extraites des largeurs des pics de diffraction sont respectivement <H> \approx 34 Å et 23 Å (figure 18). Ces valeurs sont en bon accord avec les épaisseurs moyennes des « traits noirs » sur les clichés de microscopie : respectivement \approx 40 Å pour x = 0,1 et \approx 28 Å pour x = 0,15 (figures 16c et 16d). Cela confirme que la taille des domaines de diffraction cohérente correspond à la taille des plaquettes.

3.1.4. Origine de l'expansion de la maille au cours de la déshydratation

En comparant les diagrammes de diffraction des rayons X des hydroxydes collecté juste après leur synthèse et après leur déshydratation (figures 10 et 17), on remarque que la position du pic (001) pour une composition donnée s'est légèrement décalée vers les bas angles 20 après la déshydratation. Cela signifie que la galerie se dilate légèrement selon l'axe c lors de l'élimination des molécules d'eau qui y résidaient. Jobbágy *et coll.* ⁽⁴⁴⁾ ont sondé par diffraction des rayons X l'effet de l'humidité relative sur la structure cristalline à température ambiante de plusieurs HDL comme Mg₆Al₂(OH)₆(CO₃).4H₂O. Dans ces conditions, une diminution de l'humidité relative induit une déshydratation douce des galeries de la structure HDL. Une diminution du paramètre c est alors observée lors de la déshydratation qui se manifeste par le décalage des pics de diffraction (00*l*) vers les hauts angles 20. Pour les HDL, la déshydratation. Si la déshydratation des hydroxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O est également topotactique, la dilatation de la maille selon l'axe c est dans ce cas contre-intuitive ou inattendue.

En prêtant attention à la présence de « piliers » dans la structure des hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y}.zH_2O$, une explication à cette dilatation de la maille selon l'axe c générée par la déshydratation peut être proposée. On peut noter qu'aucune molécule d'eau n'est présente dans les galeries de l'Aurichalcite $Zn_3Cu_2(OH)_6(CO_3)_2$, certainement à cause de l'encombrement stérique entre les piliers et les molécules d'eau. Dans cette structure, un tétraèdre $[M(3)O_4]^{6-}$ et un groupement carbonate triangulaire partagent un sommet « oxygène » pour former un pilier noté $[MgO_4]^{6-}-[CO_3]^{2-}$. Ce mode de connexion est comparable à une articulation qui peut se plier et se déplier grâce à une rotation du groupement carbonate. Dans les hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y.zH_2O$, les teneurs en eau et en carbonate sont assez faibles (tableau 1). Par conséquent, certaines galeries des hydroxydes mixtes sont certainement exemptes de molécules d'eau et d'autres partiellement remplies. En tenant compte de l'encombrement stérique entre les piliers et les molécules d'eau, on peut considérer que :

- Les galeries exemptes de molécules d'eau sont celles qui présentent les « piliers », et inversement. Cette ségrégation entre les galeries occupées par les molécules d'eau d'une part et les galeries occupées par les "piliers" d'autre part est à mettre en parallèle avec les travaux de Taviot-Guého *et coll.* ⁽⁴⁵⁾. Une répartition stratifiée des anions chlorure d'une part et des anions tartrate et succinate d'autre part dans des HDL Zn₂Cr(OH)₆Cl.nH₂O et Cu₂Cr(OH)₆Cl.nH₂O a été mise en évidence par les auteurs par diffraction des rayons X en perte d'énergie (EDXRD en anglais pour *Energy-Dispersive Xray Diffraction*).

- En raison de la faible quantité de groupements carbonate, le nombre de « piliers » par galerie dans la structure de $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$.zH₂O est inférieur à celui trouvé dans la structure de l'aurichalcite Zn₃Cu₂(OH)₆(CO₃)₂.

- Les piliers sont répartis de manière aléatoire et homogène dans des galeries de la structure $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y.zH_2O$.

Notons que la hauteur des galeries dans la Brucite déshydratée (2,689 Å) est plus de deux fois inférieure à la hauteur des galeries (5,688 Å) dans la Pyroaurite, composé dans lequel des molécules d'eau sont localisées dans les galeries. Pour accueillir les molécules d'eau dans une galerie de la structure Brucite Mg(OH)₂, la hauteur de la galerie hôte doit augmenter localement. Une telle insertion est possible dans la structure des hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y.zH_2O$ si en parallèle la galerie adjacente se contracte en hauteur localement grâce à un pliage de l'articulation « [MgO₄]⁶⁻-[CO₃]²⁻" » (figure 19). De cette manière, la structure de type Brucite peut être globalement conservée pour les échantillons Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O, avec comme conséquence un désordre d'empilement de feuillets comme celui constaté sur les diffractogrammes de rayons X (figure 10). A l'inverse, la déshydratation de l'échantillon conduirait au dépliage de cette articulation (figure 19) car les galeries dans lesquelles des molécules d'eau étaient précédemment hébergées retrouveraient leur hauteur naturelle. Cette hauteur naturelle devrait être proche de celle rencontrée dans la structure Brucite Mg(OH)₂ déshydratée (2,689 Å). L'augmentation du paramètre de maille c au cours de la déshydratation ne peut s'expliquer qu'en considérant que ce dépliage de l'articulation « [MgO₄]⁶⁻-[CO₃]²⁻» induit une augmentation de la hauteur des galeries, d'amplitude supérieure, à la réduction de hauteur des galeries libérant leurs molécules d'eau. La valeur du paramètre de maille c déterminée à partir des données de diffraction est une valeur moyenne <c> qui dépend de la teneur en carbonate y (figure 18). Si c_B et c_{BP} sont les paramètres de maille de la Brucite de Mg(OH)₂ déshydratée/idéalisée et d'une « Brucite à Piliers » (qui n'existe pas dans la nature), la valeur moyenne <c> peut être définie comme étant :

Chapitre III - La solution solide Mg_{1-x}Cu_xO du diagramme binaire MgO-CuO

$$< c > = \frac{1}{n+m}(n \times c_B + m \times c_{BP})$$

Où n et m sont respectivement les nombres de galeries déshydratées et à piliers (figure 18). Évidemment, cette formule ne prend pas en compte l'impact possible de la substitution du cuivre sur le paramètre <c>, mais elle met en lumière la complexité de la structure des échantillons déshydratés de Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y. Ce mécanisme de déshydratation proposé est logique si nous reconsidérons le processus de déshydratation des HDL contenant des anions carbonate (comme dans Mg₆Al₂(OH)₆(CO₃).4H₂O ⁽³⁵⁾). Dans ces HDL, la déshydratation induit une contraction du paramètre c plutôt que son élongation car les anions CO₃²⁻ triangulaires sont libres et ont une orientation parallèle aux feuillets d'octaèdres (figure 11).



Figure 19 : Proposition du mécanisme de déshydratation des hydroxydes mixtes Mg1-xCux(OH)2-2y(CO3)y-zH2O

Pour la suite et par souci de simplification, les hydroxydes de formulation $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y-}zH_2O$ ne feront pas apparaître leur teneur en carbonate et le nombre de molécules d'eau. Ils seront simplement nommés hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ ».

3.2. Préparation des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO par décomposition thermique des hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ »

D'après le suivi de la décomposition thermique des hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » par analyses thermogravimétriques et diffraction des rayons X, une calcination à 400°C sous air permet l'obtention des oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ isotype de la Periclase MgO. Les oxydes étudiés par la suite ont donc été obtenus en chauffant les hydroxydes sous air à 400°C pendant 12h. Les diffractogrammes collectés à température ambiante sur les échantillons sont superposés à la figure ci-dessous (figure 20). En comparant ces diffractogrammes à ceux de la figure 5, on constate que la décomposition thermique des hydroxydes a induit une réduction de la taille des domaines de diffraction cohérente qui se manifeste par un élargissement notable des pics de diffraction entre les deux séries d'oxydes Mg_{1-x}Cu_xO préparés.



Figure 20 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO préparés à partir de précurseurs "hydroxydes"

Comme pour les poudres élaborées par voie céramique, les diffractogrammes ont été affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽¹²⁾, en utilisant comme modèle structural de départ celui de l'oxyde de magnésium référencé dans la littérature ⁽¹³⁾. Compte tenu de la petite taille des particules et le manque d'intensité diffractée à grand angles, le paramètre de déplacement isotrope B_{iso} a été fixé à 1,5 pour tous les atomes. Le résultat de l'affinement du diffractogramme de la composition x = 0,10, représentatif de la série, est présenté à la figure 21 à titre d'exemple.



Figure 21 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'oxyde Mg_{0,9}Cu_{0,1}O préparé à partir de précurseurs « hydroxydes »

Dans la suite, les échantillons Mg_{1-x}Cu_xO préparés à partir de précurseurs "hydroxydes" et par voie céramique auront comme suffixe « nano » et « micro », respectivement. Pour ces deux séries d'échantillons, les évolutions du paramètre de la maille cubique a avec la teneur en cuivre x sont

comparées à la figure 22. Dans les deux séries, une augmentation linéaire du paramètre a avec la teneur x en cuivre est constatée. Toutefois, il est noté que pour une composition donnée, l'oxyde préparé à partir de précurseurs « hydroxydes » a un paramètre de maille a plus élevé que celui de l'oxyde préparé par la voie céramique. Ce phénomène d'expansion des paramètres de maille avec la nanostructuration a déjà été observé pour des nanoparticules d'oxydes comme TiO₂ ⁽⁴⁶⁾ ou α -Fe₂O₃ ⁽⁴⁷⁾.



Figure 22 : Evolution du paramètre de maille cubique a des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO préparés par voie céramique (microparticules) et à partir de précurseurs « hydroxydes » (nanoparticules)

Pour toutes les compositions, des clichés de microscopie électronique en transmission ainsi que des mesures de surface spécifiques par absorption de diazote (BET) ont été réalisés afin de connaître la cristallinité, la morphologie et le degré d'agglomération des particules. Pour chaque hydroxyde dans le domaine de composition $0 \le x \le 0,2$, le rapport atomique Cu/Mg, déterminé par analyse élémentaire EDX de plusieurs particules, est en très bon accord avec le rapport nominal (figure 23g). Il est bon de rappeler que l'oxyde Mg_{1-x}Cu_xO-nano a été préparé par décomposition thermique d'un mélange d'hydroxydes « $(Mg,Cu)(OH)_2$ » et Cu $(OH)_2$. L'analyse élémentaire précédente indique que les oxydes « (Mg,Cu)O » et CuO générés par la décomposition du mélange d'hydroxydes de composition x = 0,2 se sont complètement combinés lors du chauffage à 400°C pour former l'oxyde de composition Mg_{1-x}Cu_xO-nano. Sur les clichés de microscopie, la morphologie des particules semble évoluer avec la teneur en cuivre d'une forme ovoïde pour la composition x = 0 à une forme sphérique pour la composition x=0.2. Les tailles de ces particules sont néanmoins comparables et s'échelonnent entre 10 et 20 nanomètres. Il n'y a pas de différence notable du degré d'agglomération de ces particules entre composition sur les clichés de microscopie (figure 23). Le cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée (DEAS) pris sur un amas de particules de l'oxyde Mg_{0.8}Cu_{0.2}O (figure 23f) montre quatre anneaux de diffraction ayant des distances inter-réticulaires comparables à celles des quatre premières raies du diffractogramme de rayons X de la composition x = 0,2 (figure 20). La surface spécifique des oxydes préparés à partir de précurseurs « hydroxydes » est particulièrement élevée et est comprise entre 180 et 260 m²/g. Le diamètre $Ø_{BET}$ des particules a ensuite été estimé à partir de la surface spécifique, en assimilant les particules à des sphères parfaites. Les valeurs sont rassemblées dans le tableau 2.



Figure 23 : (a-e) Clichés de microscopie électronique à transmission et surfaces spécifiques mesurées par adsorption de diazote (BET) des particules d'oxydes Mg_{1-x}Cu_xO préparées à partir de précurseur « hydroxydes ». (f) Cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée d'un amas de particules de composition Mg_{0,8}Cu_{0,2}O. (g) Evolution du rapport atomique Cu/Mg déterminé par EDX en fonction de la teneur nominale en cuivre x

Pour chaque composition, la taille des domaines de diffraction cohérente \emptyset_{DRX} a également été estimée à partir des diffractogrammes de rayons X collectés sur les échantillons en choisissant le modèle isotrope du programme FULLPROF ⁽¹²⁾. Comme pour les hydroxydes, les micro-contraintes n'ont pas été considérées. Pour chaque composition, le tableau 2 rassemble les trois tailles \emptyset_{MET} , \emptyset_{BET} et \emptyset_{DRX} obtenues par chacune des techniques. D'après ces valeurs, la teneur en cuivre x des compositions n'a pas d'incidence sur les tailles de particules/domaines quelle que soit la technique utilisée pour la déterminer. Les tailles des domaines de diffraction cohérente \emptyset_{DRX} sont par contre plus faibles que celles estimées par microscopie et absorption de diazote, ce qui laisse supposer que les particules sont en réalité constituées de plusieurs domaines cristallisés.

Tableau 2 : Comparaison des diamètres des particules d'oxydes Mg_{1-x}Cu_xO estimés par microscopie électronique à transmission (MET) et à partir des mesures d'absorption de diazote (BET) avec les tailles des domaines de diffraction cohérente extraites des diffractogrammes.

Mg _{1-x} Cu _x O	Ø _{MET} (nm)	Ø _{BET} (nm)	Ø _{DRX} (nm)
x = 0	10-20	7,4	5,7
x = 0,05	10-20	7,6	5,1
x = 0,10	10-20	8,7	4,4
x = 0,15	10-20	7,8	3,6
x = 0,20	10	5,6	3,4

4. Stabilité des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO et des hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » vis-à-vis de l'hydrolyse et du CO₂ humide

L'activité bactéricide des produits est évaluée dans l'eau. Dans le cas par exemple de leur dépôt sur des fibres textiles, les particules d'oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ ou d'hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ se retrouveraient exposées à la vapeur d'eau et au dioxyde de carbone atmosphérique. L'oxyde de magnésium MgO est connu pour être sensible à la fois à l'hydrolyse (dans l'eau ou au contact de la vapeur d'eau) mais également au dioxyde de carbone atmosphérique ^(5, 48). Quelle est donc la stabilité des oxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_xO$? La présence de cuivre et/ou la nanostructuration accroît-elle cette sensibilité ? Il apparaît donc primordial de connaître la stabilité des produits dans les conditions d'évaluation de l'activité bactéricide et d'utilisation potentielle du produit. L'évaluation de cette stabilité doit permettre de déterminer l'origine de l'activité des produits testés mais aussi d'envisager des applications adaptées. Les sections suivantes détaillent les évaluations de la stabilité des oxydes et des hydroxydes dans l'eau, puis en présence de vapeur d'eau et enfin en présence de dioxyde de carbone humide.

4.1. Stabilité des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO vis-à-vis de l'eau

4.1.1. Stabilité vis-à-vis de l'eau liquide

Les tests de stabilité consistent à immerger les particules d'oxydes dans l'eau puis à suivre en fonction du temps leur hydratation et/ou leur hydrolyse éventuelle par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. Ces tests ont été effectués sur les deux compositions MgO et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O des séries « micro » et « nano » afin de comparer tout d'abord au sein de chaque série l'incidence du cuivre sur la stabilité et enfin de déterminer l'effet de la nanostructuration sur chaque composition. Le temps d'immersion dans l'eau est au maximum de 16 heures (soit 960 minutes).

Sur les diffractogrammes enregistrés sur la poudre du composé MgO-micro, trois bosses émergent du fond continu vers 33°, 37° et 53° en 2 θ au bout de 3 heures d'immersion (figure 24a). Ces bosses ne cessent de croître en intensité avec le temps d'immersion. Ces pics de diffraction sont attribués à l'hydroxyde Mg(OH)₂. Sur les spectres infrarouge collectés en parallèle après les mêmes temps d'immersion, une bande aux alentours de 3700 cm⁻¹ caractéristique d'une vibration d'élongation de liaison O-H (v_{OH}) apparaît également au bout de 3 heures d'immersion. La présence de cette bande v_{OH} confirme la formation de l'hydroxyde Mg(OH)₂ comme produit d'hydrolyse partielle. Dans les mêmes conditions, les diffractogrammes et les spectres infrarouge collectés sur la poudre de l'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-micro ne présentent aucune trace de produit d'hydrolyse quel que soit le temps d'immersion considéré (figure 24b). Même si d'après les clichés de microscopie électronique (figure 8) une différence de taille de quelques microns existe entre les grains de poudre des deux oxydes MgO-micro et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-micro, elle ne peut à elle seule expliquer leur différence de comportement

dans l'eau surtout après des temps d'immersion aussi long que 16 heures. Ces résultats montrent que l'hydrolyse partielle des particules d'oxyde MgO de taille micrométrique peut être fortement ralentie lorsque les ions cuivrique substituent partiellement les ions magnésium dans la structure.



Figure 24 : Diffractogrammes de rayons X et spectres infrarouge enregistrés sur des particules de taille micrométrique de composition MgO (a) et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O (b) en fonction du temps d'immersion dans l'eau

La même expérience a été réalisée sur les particules de taille nanométrique de ces deux oxydes MgO et $Mg_{0.8}Cu_{0.2}O$. Les analyses par spectroscopie infrarouge et diffraction des rayons X montrent, cette fois-ci, que l'hydrolyse partielle des deux oxydes commence dès les 15 premières minutes d'immersion dans l'eau (figure 25a et 25b). Une conversion totale en hydroxyde est même constatée sur les diffractogrammes au bout de 180 min d'immersion quelle que soit la composition de l'oxyde considéré. L'accélération de la cinétique d'hydrolyse provient de la très petite taille des particules et de leur grande surface spécifique, qui augmente leur réactivité vis-à-vis de l'eau que les ions cuivrique n'arrivent plus à limiter. Il est important de préciser que l'hydroxyde mixte formé par l'hydrolyse de la particule de composition $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ ne peut avoir comme formulation $Mg_{0.8}Cu_{0.2}(OH)_2$ car cette composition est située en dehors de la solution solide. L'excès de cuivre peut être sous la forme d'oxyde CuO ou d'hydroxyde Cu(OH)₂. Les données ne nous permettent pas de conclure sur ce point. La prise en compte de ce processus d'hydrolyse est importante dans l'interprétation des résultats d'activité bactéricide des particules d'oxydes qu'elles soient de taille micrométrique ou nanométrique. Cela implique notamment de comparer les activités des particules de taille nanométrique des deux oxydes MgO et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O à celles des hydroxydes de même composition.



Figure 25 : Diffractogrammes de rayons X et spectres infrarouge enregistré sur des particules de taille nanométrique de composition MgO (a) et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O (b) en fonction du temps d'immersion dans l'eau

4.1.2. Stabilité vis-à-vis d'une atmosphère humide

Il a été montré précédemment que les particules d'oxydes Mg_{1-x}Cu_xO « micro » et « nano » s'hydrolysaient lors de leur immersion dans l'eau. Comme la cinétique d'hydrolyse en présence de vapeur d'eau doit être plus faible que celle dans l'eau, elle a été étudiée sur une période longue de 5 semaines. Les particules des oxydes MgO et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O « micro » et « nano » ont été placées sous air à l'intérieur d'une cloche hermétique contenant une solution saturée de KNO₃ (500mL, 400 g/L) permettant de maintenir un taux d'humidité relative aux alentours de 80%. Le suivi de l'hydrolyse des particules a été effectué en utilisant la spectroscopie infrarouge et la diffraction des rayons X comme précédemment. Dans le cas des oxydes MgO-micro et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-micro, aucune bande de vibration v_{OH} fine caractéristique de l'apparition d'un hydroxyde n'est détectée aux alentours de 3700 cm⁻¹ (figure 25a et 25b). Par contre, une bande très large dans la région comprise entre 3800 et 2800 cm⁻¹ ainsi qu'une bande intense entre 1600 et 1300 cm⁻¹ sont clairement visibles sur les spectres infrarouge des deux oxydes au bout d'un jour d'exposition. La première bande est attribuée à la vibration d'élongation des liaisons O-H au sein des molécules d'eau mouillant la surface des particules d'oxyde. La seconde bande correspond à la vibration d'élongation de liaisons C-O (v_{CO3}). Cette bande ne peut provenir de molécules de CO₂ adsorbées à la surface des particules puisqu'aucune bande de vibration d'élongation antisymétrique de liaisons C-O (vas(CO)) n'est observée vers 2400 cm⁻¹. Des groupements carbonate CO_3^{2-} sont donc présents en surface des particules et sont le fruit d'une réaction avec le CO₂ contenu dans l'air de la cloche. Avec le nombre de jours d'exposition, l'adsorption de molécules d'eau et la carbonatation ne cessent d'augmenter en amplitude comme l'attestent les évolutions des spectres infrarouge des deux oxydes (figure 26a et 26b). Malgré ces modifications chimiques de la surface des particules, aucune trace de formation d'un hydroxyde, hydroxycarbonate ou carbonate hydraté n'est détectée sur les diffractogrammes des deux oxydes MgO-micro et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O-micro.



Figure 26 : Diffractogrammes de rayons X (à gauche) et spectres infrarouge (à droite) enregistrés sur des particules de taille micrométrique de composition MgO (a) et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O (b) en fonction du temps d'exposition à la vapeur d'eau

Comme attendu, la taille nanométrique des particules des deux oxydes MgO-nano et Mg_{0,8}Cu_{0,2}Onano accentue l'adsorption de molécules d'eau et la carbonatation de leur surface (figure 27a et 27b). Après seulement un jour d'exposition des oxydes « nano », les bandes larges v_{OH} et v_{CO3} associées sont quasiment de même intensité que celles observées sur les spectres infrarouge des deux oxydes MgO-micro et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-micro exposés pendant 35 jours (figure 26a et 26b). Une bande de vibration v_{OH} fine, caractéristique de l'apparition d'un hydroxyde est même détectée aux alentours de 3700 cm⁻¹ sur les spectres infrarouge dès le premier jour d'exposition des deux oxydes « nano ». Pour l'oxyde MgO-nano, la diffraction des rayons X (figure 27a) confirme clairement l'apparition de l'hydroxyde Mg(OH)₂-nano dès le premier jour d'exposition et montre aussi la disparition complète de cet oxyde au profit de l'hydroxyde au bout de 10 jours d'exposition. Aucune trace d'hydroxyde(s) n'est détectée sur les diffractogrammes collectés sur l'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-nano même au bout de 35 jours (figure 27b). En revanche, un élargissement et une diminution de l'intensité des pics de diffraction correspondant à l'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-nano sont constatés. Ils traduisent une amorphisation du composé au contact de la vapeur d'eau.



Figure 27 : Diffractogrammes de rayons X (à gauche) et spectres infrarouge (à droite) enregistrés sur des particules de taille nanométrique de composition MgO (a) et Mg_{0.8}Cu_{0.2}O (b) en fonction du temps d'exposition à la vapeur d'eau

Sur la base de ces observations, un schéma réactionnel d'hydrolyse des particules d'oxyde par la vapeur d'eau et le CO₂ atmosphérique peut être proposé (figure 28). Tout d'abord, des molécules d'eau et de CO₂ vont s'adsorber à la surface des particules. Au fil du temps, l'eau ainsi que le CO₂ adsorbés vont réagir avec la surface de l'oxyde. Pour l'oxyde MgO, une couche biphasique d'hydroxyde cristallisé Mg(OH)₂ et de carbonate de magnésium amorphe se forme en surface. Pour l'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O, la couche biphasique d'hydroxyde et de carbonate est complètement amorphe. Par diffusion lente à cœur des espèces, l'épaisseur de la couche biphasique augmente jusqu'à la conversion de l'intégralité de la particule.



Figure 28 : Illustration du processus d'hydrolyse et de carbonatation des oxydes sous atmosphère humide contrôlée

4.2. Stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis du CO₂ humide

Dans la section précédente, une hydrolyse de la surface des particules au contact de la vapeur d'eau a été mise en évidence. Les tests précédents ont aussi révélé que les quelques molécules de dioxyde de carbone présentes dans l'air de la cloche induisait une carbonatation des échantillons. Il est apparu nécessaire d'essayer de déterminer quels étaient les produits finaux de la réaction de carbonatation et si la formation d'hydroxyde en surface des particules facilitait cette carbonatation. Pour ce faire, la réaction de carbonatation a été accélérée en plaçant les particules en présence d'eau, directement dans un réacteur sous une pression de 9 bars en CO₂ pendant 16 heures à 30°C. Ces tests ont été réalisés sur des particules d'hydroxydes (Mg(OH)₂ et Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂) et d'oxydes (MgO et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O). L'effet de la nanostructuration des particules d'oxydes sur la carbonatation a été aussi regardée (micro *versus* nano). Seule la diffraction des rayons X a été utilisée pour l'identification des phases formées. Dans ces conditions sévères, la formation de carbonates et hydroxycarbonates est attendue. Le tableau 3 suivant dresse un inventaire des carbonates et hydroxycarbonates de magnésium ou de cuivre minéraux référencés dans la littérature ⁽⁴⁹⁾.

	Nom du minéral	Formule chimique	
	Magnésite	MgCO ₃	
Carbonatos	Barringtonite	MgCO ₃ .2H ₂ O	
carbonates	Nesquehonite	MgCO ₃ .3H ₂ O	
	Lansfordite	MgCO ₃ .4H ₂ O	
	Pokrovskite	Mg ₂ (CO ₃)(OH) ₂ .0,5H ₂ O	
	Artinite	Mg ₂ (CO ₃)(OH) ₂ .3H ₂ O	
Undrowneetherates	Hydromagnésite	$Mg_5(CO_3)_4(OH)_2.4H_2O$	
nydroxycarbonates	Dypingite	$Mg_{5}(CO_{3})_{4}(OH)_{2}.5H_{2}O$	
	Malachite	Cu ₂ CO ₃ (OH) ₂	
	Azurite	$Cu_3(CO_3)_2(OH)_2$	

Tableau 3 : Liste des carbonates et hydroxycarbonates de magnésium et de cuivre minéraux ⁽⁴⁹⁾

4.2.1 Carbonatation des hydroxydes Mg(OH)₂ et Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)₂

Le diffractogramme collecté sur l'hydroxyde Mg(OH)₂ après son exposition au CO₂ humide montre la formation du carbonate hydraté MgCO₃.3H₂O appelé Nesquehonite ⁽⁵⁰⁾ (figure 29a). Pour l'hydroxyde mixte Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂, seul le pic de diffraction le plus intense d'une phase de type MgCO₃.3H₂O est observé vers 13,65° en plus des pics attribués à la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂ (figure 29b) ⁽⁵¹⁾. Contrairement à la phase Nesquehonite, les particules de la phase Malachite doivent être moins bien cristallisées ou de plus petite taille car les pics sont particulièrement larges. Au bout de

16 heures, la réaction de carbonatation des deux hydroxydes $Mg(OH)_2$ et $Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)_2$ n'est pas totale puisqu'une fraction d'hydroxyde de départ est toujours présente sur les diffractogrammes. Outre le fait qu'une carbonatation forte des échantillons est constatée, ces tests montrent clairement que les deux cations Mg^{2+} et Cu^{2+} de l'hydroxyde mixte $Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)_2$ réagissent séparément avec le dioxyde de carbone.



Figure 29 : Diffractogrammes de rayons X enregistrés sur des particules d'hydroxydes Mg(OH)₂ (a) et Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂ (b) après leur exposition au CO₂ humide

4.2.2 Carbonatation des oxydes MgO et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O

La carbonatation des oxydes MgO et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O sous l'action du CO₂ humide a également été étudiée en utilisant pour chaque composition des particules de taille micrométrique et nanométrique. Pour l'oxyde MgO, les diffractogrammes montrent que le produit de la carbonatation est, comme pour l'hydroxyde Mg(OH)₂, la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O, que les particules soient de taille micrométrique ou nanométrique (figure 30a et 30b). La nanostructuration des particules de MgO n'a donc aucun effet sur la nature du carbonate obtenu ni sur sa cristallinité. Lorsque des particules de taille micrométrique sont utilisées, la réaction de carbonatation reste incomplète au bout de 16 heures puisqu'une petite fraction d'oxyde de départ MgO est toujours détectée sur le diffractogramme après exposition (pic vers 42° en 20 correspondant à la réflexion (200)). Ce n'est pas le cas pour les particules de taille nanométrique.

Il a été montré précédemment que les particules de taille micrométrique d'oxyde MgO immergées dans l'eau et en absence de CO₂ ne s'hydrolysait pas complètement au bout de 16 heures (figure 26a). En présence de CO₂ humide, une fraction de particules de taille micrométrique d'oxyde de départ MgO n'a pas eu le temps de s'hydrolyser (ni de se carbonater) au bout de 16 heures (pic vers 2 θ = 43° relatif à la réflexion (220) toujours présent sur le diffractogramme en rouge de la figure 30a). Ces deux résultats sont parfaitement cohérents entre eux. Il a été également montré précédemment que les particules nanométriques d'hydroxyde Mg(OH)₂ ne se carbonataient pas complètement au bout de 16 heures en présence de CO₂ humide (figure 29a). L'ensemble de ces résultats indique que seule l'action du CO_2 dissous pendant l'hydrolyse de la particule d'oxyde permet sa carbonatation complète. Le comportement des particules d'oxyde MgO de taille nanométrique en est une parfaite illustration.



Figure 30 : Diffractogrammes de rayons X enregistrés sur des particules d'oxyde MgO de taille micrométrique (a) et nanométrique (b) après leur exposition au CO₂ humide

Pour l'oxyde $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$, trois produits de réaction avec le CO_2 humide sont identifiés par diffraction des rayons X, que les particules soient de taille micrométrique ou nanométrique (figure 30a et 30b) : l'oxyde de cuivre CuO, un hydroxyde mixte $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ isotype de $Mg(OH)_2$ et la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$. Lorsque des particules de taille micrométrique sont utilisées, la réaction avec le CO_2 humide reste très incomplète au bout de 16 heures puisqu'une large fraction d'oxyde mixte $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ de départ est toujours détectée sur le diffractogramme après exposition (figure 31a). En revanche, la réaction du CO_2 humide avec les particules de taille nanométrique est totale car seuls les 3 produits de réaction sont visibles sur le diffractogramme (figure 31b).

Il a été montré précédemment que l'hydrolyse des particules d'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O se produisait uniquement lorsque la taille des particules était nanométrique. Ceci explique la certaine résistance à la carbonatation des particules d'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O de taille micrométrique. L'hydrolyse des particules de taille nanométrique en absence de CO₂ conduit à la formation d'un hydroxyde mixte Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ en mélange avec CuO ou Cu(OH)₂. Une certaine résistance à la carbonatation de l'hydroxyde mixte Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂ est aussi observée puisque seule une fraction se décompose et réagit avec le CO₂ humide (formation simultanée de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O et de la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂). Lors de la phase d'hydrolyse de la particule nanométrique d'oxyde mixte Mg_{0,8}Cu_{0,2}O, la présence de CO₂ dissous dans l'eau limite la formation en grande quantité d'un hydroxyde mixte Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ résistant à la carbonatation. De l'oxyde de cuivre CuO est ainsi produit en quantité (non observé lors de l'hydrolyse des particules nanométrique d'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O en absence de CO₂). Il est d'ailleurs surprenant de constater que les pics attribués à CuO soient particulièrement intenses comparativement aux pics des autres produits de la réaction, compte tenu de la fraction molaire initiale en cuivre de 20mol%. Une mauvaise cristallinité des phases $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ et $Cu_2CO_3(OH)_2$ est donc supposée.



Figure 31 : Diffractogrammes de rayons X enregistrés sur des particules d'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O de taille micrométrique (a) et nanométrique (b) après leur exposition au CO₂ humide

4.3. Etude de la Nesquehonite

On a vu précédemment que la Nesquehonite $MgCO_3.3H_2O$ était le produit principal de la carbonatation de l'oxyde MgO et de l'hydroxyde $Mg(OH)_2$ à 30°C. Ce carbonate hydraté est également un des produits de la carbonatation des hydroxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$. Dans la littérature, aucune étude ne s'est intéressée au potentiel bactéricide de ce composé, ni à l'existence d'une éventuelle solution solide $Mg_{1-x}Cu_xCO_3.yH_2O$.

Dans la structure monoclinique de la Nesquehonite ⁽⁵⁰⁾ (groupe d'espace $P2_{1}/n$ n°14), les ions magnésium en coordinence octaédrique [MgO₆]¹⁰⁻ occupent un seul site cristallographique (figure 32). Ces octaèdres partagent entre eux des sommets « oxygène » pour former des chaînes infinies en zigzag se propageant suivant l'axe b (figure 32). Chaque groupement carbonate $CO_3^{2^2}$ partage une arête O-O avec un octaèdre et son dernier sommet « oxygène » avec un autre octaèdre de la même chaîne. Cette connexion par arête O-O entre anion carbonate et octaèdre [MgO₆]¹⁰⁻ est à l'origine de leur déformation respective. Ces ions carbonate localisés dans les « zags » de chaque chaîne lui donnent sa rigidité. Ces chaînes, disposées en quinconce dans la structure, sont séparées entre elles par une des trois molécules d'eau. Les deux atomes d'oxygène des deux dernières molécules d'eau correspondent aux atomes d'oxygène des octaèdres [MgO₆]¹⁰⁻ qui ne sont pas partagés avec les anions $CO_3^{2^2}$. La coordinence octaédrique déformée du magnésium est un élément favorable à sa possible substitution par l'ion cuivrique.



Figure 32 : Projection suivant l'axe b de la structure cristalline de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O. Représentation des chaînes infinies [MgO₆] et des groupements carbonate qui parcourent l'axe b

4.3.1. Tentatives de synthèse des carbonate hydratés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O

Les carbonates Mg_{1-x}Cu_xCO₃.3H₂O ont été préparés en milieu aqueux. Du nitrate de magnésium hexahydraté et du nitrate de cuivre trihydraté commerciaux ont été dissous en proportion stœchiométrique avec du carbonate de sodium dans 50 mL d'eau désionisée. Un rapport carbonate/cations de 1,06 est utilisé (concentration finale en cations Mg²⁺ et Cu²⁺ : 0,28 mol/L). Le mélange est ensuite chauffé à 50°C (pour les composés mixtes Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O) ou maintenu à 30°C (pour MgCO₃.yH₂O) pendant 12 heures via un montage à reflux pour empêcher l'évaporation de la solution avec le temps. Au cours de la réaction, du nitrate de sodium est formé en même temps que le produit désiré, Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O. Le produit est ensuite récupéré puis filtré sur un fritté et lavé plusieurs fois avec de l'eau désionisée afin d'éliminer toutes traces de nitrate de sodium. Le séchage de la poudre est réalisé à température ambiante et à l'air libre.

4.3.2. Caractérisations

Afin d'identifier les carbonates synthétisés, des caractérisations par diffraction, spectroscopies infrarouge et UV-visible ainsi que des analyses thermogravimétriques ont été réalisées sur tous les échantillons. La figure 33 présente une superposition des diffractogrammes de rayons X collectés à température ambiante après les synthèses des différents échantillons. Toutes les compositions présentent un diffractogramme similaire à celui de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O (x=0), ce qui laisse supposer qu'une solution solide Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O existe effectivement dans ce domaine de composition.



Figure 33 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O de structure Nesquehonite.

Sur la figure 33 précédente, les pics de diffraction des différentes compositions sont relativement fins. Il est suspecté que les particules de carbonate hydratés $Mg_{1-x}Cu_xCO_3.yH_2O$ sont de taille micrométrique. Des clichés de microscopie électronique à balayage ont été pris sur les compositions x = 0 et x = 0,2. Ces clichés, présentés en figure 34, montrent que les particules de la composition x =0 se présentent sous la forme d'aiguilles d'une dizaine de micromètres de longueur. Aucune incidence de la présence de cuivre sur la taille ou la forme des particules est notée. Elles se présentent toujours sous la forme d'aiguilles d'une dizaine de micromètres de longueur pour la composition x = 0,2 (figure 34b).



Figure 34 : Clichés de microscopie électronique à balayage des composés $Mg_{1-x}Cu_xCO_3$.yH₂O x = 0 (a) et x = 0,2 (b)

Ces diffractogrammes se caractérisent par une chute très importante de l'intensité diffractée à hauts angles 2 θ , qui se traduit par une quasi-absence de pics au delà de 80°. Plusieurs affinements des diffractogrammes par la méthode de Rietveld à l'aide du programme FULLPROF ⁽¹²⁾ ont été tentés en utilisant le modèle structural de la littérature et en affinant toutes ou certaines positions atomiques. Aucun de ces affinements sont satisfaisants, que ce soit en termes de profil ou de distances interatomiques. Par conséquent les diffractogrammes ont été affinés seulement par la méthode de Le Bail, sur la plage 2 θ comprise entre 10 et 80° (601 réflexions considérées), en utilisant comme paramètres de maille initiaux ceux de la Nesquehonite donnés dans la littérature ⁽⁵⁰⁾. Comme le montre la figure 35, l'affinement par la méthode de Le Bail du diagramme est satisfaisant.



Figure 35 : Résultat de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme du composé Mg_{0.9}Cu_{0.1}CO₃.yH₂O

La figure 36 suivante présente l'évolution des paramètres de maille avec la teneur en cuivre x. En coordinence [6], l'ion cuivrique possède un rayon ionique supérieur (0,73 Å ⁽¹⁴⁾) à celui de l'ion Mg²⁺ (0,72 Å ⁽¹⁴⁾). Une augmentation globale des paramètres de maille est donc attendue. Les variations des paramètres de maille observées au sein de la série restent, de façon surprenante, inférieures à 0,1%, voire à 0,05% quelque fois.



Figure 36 : Evolution des paramètres de maille a, b, c, et de l'angle β et du volume de maille en fonction de la teneur en cuivre dans les composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O

Compte tenu de la quasi-absence d'évolution des paramètres de maille avec la teneur x en cuivre, la spectroscopie UV-visible a été utilisée afin de vérifier si l'ion cuivrique était en coordinence octaédrique, comme attendu dans le cas d'une substitution effective partielle des ions Mg²⁺ de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O. Les spectres UV-visible de tous les échantillons sont superposés à la figure 37. Une seule bande d'absorption centrée sur 13500 cm⁻¹ (740 nm) est observée. Dans le complexe hexaaquacuivre (II) $[Cu(H_2O)_6]^{2+(39)}$, la transition électronique d'un électron d'une orbitale e_g vers une orbitale t_{2g} de l'ion Cu²⁺ en champ cristallin octaédrique produit l'apparition d'une bande d'absorption à environ 12500 cm⁻¹ (800 nm). D'après la structure de la Nesquehonite, l'octaèdre de coordinence de l'ion Mg²⁺ est formé de quatre atomes d'oxygène appartenant à des groupements carbonate et de deux atomes d'oxygène appartenant à deux molécules d'eau. Dans la série spectrochimique, la force d'un ligand carbonate est légèrement plus faible que celle du ligand aqua ⁽⁴⁰⁾. En remplaçant 4 des 6 ligands aqua par des ligands carbonate, l'absorption de lumière doit avoir lieu à des longueurs d'onde inférieures à 12500 cm⁻¹ (800 nm) (effet hypsochrome), ce qui est le cas ici. La bande d'absorption centrée à 13500 cm⁻¹ (740 nm) atteste donc de la présence d'ions cuivrique en champ cristallin octaédrique comme attendu dans le cas de carbonates mixtes Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O de type Nesquehonite.



Figure 37 : Spectres visible-proche IR des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O

Les spectres infrarouge des carbonates mixtes $Mg_{1-x}Cu_xCO_3.yH_2O$ montrent l'existence d'un massif constitué d'au moins 4 pics dans la région 3000 - 3500 cm⁻¹, caractéristiques de vibrations d'élongation de liaison O-H (v_{OH}) au sein de molécules d'eau appartenant à la structure ⁽⁵²⁾ (figure 38). Ce massif est complété par la présence vers 1670 cm⁻¹ de la bande de vibration caractéristique de la déformation angulaire des liaisons H-O-H au sein de molécules d'eau (δ_{H2O}). Les bandes observées dans la région 700 - 1550 cm⁻¹ sont caractéristiques des vibrations d'élongation de liaison C-O (v_{CO3}) et de déformation angulaire (δ_{CO3}) de groupements carbonate comme décrit dans la littérature ⁽⁵³⁾. Les bandes situées en dessous de 700 cm⁻¹ correspondent aux modes de vibrations internes des liaisons M-O.



Figure 38 : Spectres infrarouge dans la région 400 – 4000 cm⁻¹ des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O

Le groupement carbonate, de géométrie triangulaire plane (symétrie D_{3h}), est constitué de 4 atomes, 3N-6 = 6 modes normaux de vibrations sont donc attendus, répartis en 3 vibrations d'élongation de liaison v_{CO3} et 3 vibrations de déformation angulaire (δ_{CO3}). La représentation irréductible Γ du groupement $CO_3^{2^2}$ de symétrie D_{3h} est :

$$\Gamma = A_1' + A_2'' + 2E$$

Le mode A₁' (correspondant à la vibration d'élongation $v_{(s) CO3}$ totalement symétriques) est inactif en spectroscopie infrarouge. Les modes A₂'' (correspondant à la vibration de déformation hors du plan $\delta_{(hp) CO3}$) et E (correspondant aux vibrations d'élongation $v_{(as) CO3}$, antisymétrique et de déformation dans le plan $\delta_{(dp) CO3}$, doublement dégénérées) sont quant à eux actifs en spectroscopie infrarouge. Dans le cas de l'ion libre, trois bandes devraient être observées en spectroscopie infrarouge. Or le spectre présenté sur la figure 38 prouve le contraire. Pas moins de 4 bandes sont observées dans la région 1000 - 1550 cm⁻¹, caractéristiques des vibrations d'élongation v_{CO3} . La structure du spectre est expliquée par l'application de la symétrie des positions atomiques et de la symétrie du cristal au groupement carbonate.

Le carbone, atome central du groupement $CO_3^{2^-}$, occupe un site 4e de symétrie C_1 . L'application de cette symétrie entraine une levée de dégénérescence de tous les modes :

$$A_1' \rightarrow A, A_2'' \rightarrow A \text{ et } E \rightarrow 2A$$

Le mode A est actif en spectroscopie infrarouge. Toutefois, le mode A issu du mode A₁' sera vraisemblablement de faible intensité, car le mode A₁' totalement symétrique est lui inactif en spectroscopie infrarouge. L'application du groupe d'espace dans lequel le composé cristallise ($P2_1/n$, C_{2h} en notation Schoenflies) donne :

$$A \rightarrow A_g + B_g + A_u + B_u$$

Seuls les modes antisymétriques A_u et B_u sont actifs en spectroscopie infrarouge. Le tableau suivant résume la filiation des modes de vibration du groupement carbonate dans la structure MgCO₃.3H₂O. Au bilan, 6 bandes correspondantes aux vibrations d'élongation des liaisons C-O (v_{CO3}) et 6 bandes correspondantes aux déformations angulaires δ_{CO3} doivent être observées sur le spectre infrarouge de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O (tableau 4). Toutefois, il est fort probable que certaines d'entre elles soient masquées par d'autres, car les spectres infrarouge se caractérisent par des bandes larges et asymétriques.

Tableau 4 : Filiation des modes de vibrations du groupement carbonate dans la structure de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O

Type de vibration	Symétrie du groupement CO3 ²⁻ (D _{3h})	Symétrie des positions atomiques (C ₁)	Symétrie du cristal C _{2h}
V _{(s) CO3}	A ₁ '	А	$A_g + B_g + A_u + B_u$
$\delta_{(hp) CO3}$	A ₂ ''	А	$A_g + B_g + A_u + B_u$
V _{(as) CO3}	E	2A	$2A_g + 2B_g + 2A_u + 2B_u$
$\delta_{(dp)CO3}$	E	2A	$2A_g + 2B_g + 2A_u + 2B_u$

Comme mentionné précédemment, au moins 4 bandes sont observées dans la région 1000 - 1550 cm⁻¹ (figure 38). Les trois bandes respectivement à 1410, 1470 et 1512 cm⁻¹ correspondent aux vibrations d'élongations antisymétriques des liaisons C-O ($v_{(as)CO3}$), la quatrième étant probablement masquée par les autres. La bande de très faible intensité centrée sur 1100 cm⁻¹ correspond au mode symétrique d'élongation des liaisons C-O ($v_{(s)CO3}$). Son intensité s'explique par le caractère symétrique du mode A₁', inactif en spectroscopie infrarouge dans le modèle de l'ion CO₃²⁻ libre. D'après Frost et Palmer, la Nesquehonite aurait la formulation suivante : Mg(HCO₃)(OH).2H₂O ⁽⁵⁴⁾, en contradiction avec la structure cristalline de la Nesquehonite décrite avec trois molécules d'eau dans la littérature ^(50, 55). Cette formulation de type hydroxy-hydrogénocarbonate de magnésium dihydraté repose notamment sur l'observation par spectroscopie infrarouge d'une bande de vibration fine aux alentours de 934 cm⁻¹ caractéristique de la déformation angulaire de la liaison Mg-O-H ⁽⁵⁴⁾. Or, aucun pic n'est observé à ce nombre d'onde. Un pic caractéristique de la déformation hors du plan δ_{hp} du groupement CO₃²⁻ est seulement observé vers 852 cm⁻¹. Il ne peut donc s'agir d'hydroxy-hydrogénocarbonate de magnésium dihydraté.

En dessous de 800 cm⁻¹, les vibrations de déformations angulaires dans le plan $\delta_{(dp)}$ du groupement CO_3^{2-} , ainsi que les modes de vibration internes des liaisons v_{MO} sont observées. Les vibrations centrées sur 744 cm⁻¹ (épaulement) et 702 cm⁻¹ correspondent aux vibrations $\delta_{(dp) CO3}$, en accord avec

les travaux de Frost et Palmer⁽⁵⁴⁾. Le tableau 5 suivant propose une attribution des différentes bandes observées en spectroscopie infrarouge. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*).

	Attribution des bandes
ν _{oн}	3556, 3447, 3253, 3120
δ _{нон}	1700 (*), 1648
V _{(as) CO3}	1512, 1470, 1410
V (s) CO3	1100
$\delta_{(hp) CO3}$	852
$\delta_{(dp) CO3}$	746(*), 702
ν _{MO}	< 700

Tableau 5 : Attribution des bandes des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O observées en spectroscopie infrarouge

Cette étude par spectroscopie infrarouge confirme que tous les échantillons de la série sont isotypes de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O. Néanmoins, un doute subsiste sur la teneur en molécule d'eau réelle de nos échantillons. Une vérification s'impose donc. Chaque échantillon a donc fait l'objet d'une analyse thermogravimétrique couplée à une analyse des gaz émis lors de sa décomposition (figure 39). Un suivi de la décomposition a également été réalisé par diffraction en température sur la composition x = 0,20. Une première perte de masse a lieu entre 100 et 200°C. Deux pics et un épaulement sont observés sur le spectre de masse m/z=18 dans cette gamme de température. La première perte de masse est donc attribuée aux départs successifs des trois molécules d'eau. Le suivi par diffraction indique que cette déshydratation conduit à une amorphisation de l'échantillon entre 75°C (début de l'amorphisation) et 250°C début de la cristallisation d'une phase Mg_{1-x}Cu_xO (figure 39). Rien sur les diffractogrammes collectés au-delà de 200°C n'indique la présence d'un ou deux carbonates cristallisés de type MCO₃. Au-delà de 350°C, une seconde perte de masse est enregistrée. Un pic est observé cette fois-ci sur le spectre de masse m/z=44, entre 350 et 500°C. C'est le signe que le (ou les) carbonate(s) amorphe(s) se décompose(nt) en libérant du dioxyde de carbone. D'après la thermodiffraction, cette décomposition conduit, comme dans le cas des hydroxydes mixtes « Mg₁₋ $_x$ Cu_x(OH)₂ », à la formation d'un oxyde mixte Mg_{1-x}Cu_xO de type Periclase. Au-delà de 450°C, l'apparition de plusieurs pics attribués à l'oxyde CuO sur les diffractogrammes collectés en température indique qu'une exsolution continue du cuivre de l'oxyde mixte Mg_{1-x}Cu_xO se produit.



Figure 39 : Thermogrammes et spectres de masse m/z = 18 et 44 collectés lors du chauffage sous argon des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O. Evolution thermique des diffractogrammes de Mg_{0.8}Cu_{0.2}CO₃.yH₂O collectés lors du chauffage sous air entre 25°C à 525°C.

A partir des pertes de masses, la teneur en molécules d'eau de nos échantillons a été calculée (tableau 6). Le nombre de molécules d'eau par unité formulaire diminue avec la teneur x en cuivre, s'écartant de plus en plus du nombre de trois molécules d'eau de la formulation de la Nesquehonite référencée dans la littérature ^(50, 55). Cet écart de formulation pourrait être lié à la purge du four de l'analyseur thermique opérée avant l'analyse pour éliminer toutes traces de vapeur d'eau et de dioxyde de carbone atmosphérique. Pour confirmer cette hypothèse, une seconde analyse thermogravimétrique (ATG) des échantillons a été réalisée sans purge préalable. Cette fois, la teneur y en eau du composé parent MgCO₃.yH₂O (x=0) est proche de 3 comme dans la littérature. Si la purge a un petit effet sur la teneur en eau du composé parent, cet effet est plus faible pour les autres compositions de la série (x>0) (tableau 12). Quelle que soit la mesure, plus la teneur x en cuivre augmente, plus le nombre de molécules d'eau présentes dans la structure des composés se rapproche de 2. Dans la structure de la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O (figure 31), une des trois molécules est libre dans le réseau ⁽⁵⁰⁾. De ce fait, la diminution de la teneur en eau de trois à deux

molécules d'eau par unité formulaire est donc possible lorsque la teneur x en cuivre augmente. L'absence de molécules d'eau entre les chaînes d'octaèdres induit nécessairement une contraction de la maille selon les trois directions cristallographiques. Les faibles augmentations des paramètres de maille au sein de la série suggère que cette contraction est compensée par l'augmentation du rayon ionique moyen des cations divalents engendrée par la substitution (0,73 Å pour l'ion Cu²⁺ contre 0,72 Å pour l'ion Mg²⁺ en coordinence [6] ⁽¹⁴⁾).

	ATO	G-SM	ATO	i
Mg _{1-x} Cu _x (CO ₃).yH ₂ O	Perte de masse (%)	y(H₂O)	Perte de masse (%)	y(H₂O)
0	70,1	2,81	74,1	3,06
0,05	68,8	2,74	68,7	2,70
0,10	64,9	2,10	65,1	2,13
0,15	63,3	1,98	63,7	2,06
0,20	60,4	1,67	61,1	1,76

Tableau 6 : Formulations proposées des carbonates Mg_{1-x}Cu_x(CO₃).yH₂O synthétisés, d'après l'ATG-SM et l'ATG

4.3.3. Stabilité des carbonates Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O dans le temps

D'après la littérature, la Nesquehonite MgCO₃.3H₂O est instable dans le temps et forme par réaction avec l'eau, majoritairement, l'Hydromagnésite Mg₅(CO₃)₄(OH)₂.4H₂O ⁽⁵⁶⁾. Les échantillons de Mg₁. _xCu_xCO₃.yH₂O synthétisés ont donc été ré-analysés par diffraction des rayons X après avoir été stocké un an en pilulier (figure 40). Le composé parent de la série (x=0) s'est partiellement transformé en Hydromagnésite. En revanche, aucune évolution notable des diffractogrammes des échantillons Mg₁. _xCu_xCO₃.yH₂O contenant du cuivre n'est observée. Comme pour les oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO et les hydroxydes mixtes "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂", la présence de cuivre a permis d'accroître la stabilité des composés vis-à-vis de l'environnement.



Figure 40 : Diffractogrammes des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O enregistrés après une année de stockage en pilulier

5. Evaluation et origine de l'activité bactéricide des composés

5.1. Activité bactéricide des oxydes et des hydroxydes

5.1.1. Activité bactéricide des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO

La cinétique de l'activité bactéricide des échantillons de la solution solide $Mg_{1-x}Cu_xO$ vis-à-vis des bactéries *E. coli* et *S. aureus* a été évaluée dans l'eau à 20°C à la concentration finale en oxyde de 1 mg/mL. L'activité bactéricide des particules d'oxyde de taille micrométrique est présentée dans le tableau 7 suivant. Un effet positif du cuivre sur l'activité bactéricide de l'oxyde MgO vis-à-vis des deux bactéries testées est observé, avec une augmentation à la fois du niveau et de la cinétique de la bactéricidie. L'oxyde de magnésium MgO tel quel présente une activité bactéricide particulièrement faible, avec une réduction de seulement 50% (0,33 log) vis-à-vis d'*E. coli* au bout de 3 heures de contact. Elle est proche de 99,99% (près de 4 log) pour toutes les autres compositions (x > 0). L'effet du cuivre est présent et prononcé également, mais il est moins prononcé dans le cas de *S. aureus*, avec une réduction de 81,7% (0,74 log) au bout de 3 heures de contact pour MgO et 97% à 99,3% (1,52 à 2,23 log) pour les autres compositions. Un tel effet du cuivre sur l'activité bactéricide de MgO est à mettre en parallèle avec l'étude de Ohira *et coll.* ⁽²⁾, qui avaient observé que l'oxyde de taille micrométrique de formulation Mg_{0,65}Zn_{0,35}O était plus actif vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* à 36°C en milieu bouillon lysogène que les deux oxydes MgO et ZnO pris séparément.

Globalement, les oxydes mixtes sont plus actifs vis-à-vis d'*E. coli* que vis-à-vis de *S. aureus*. Toutefois, le niveau d'activité ne semble pas proportionnel à la teneur en de cuivre des particules et ceci quelque soit le temps de contact et la bactérie considérés. En effet, l'oxyde mixte $Mg_{0,95}Cu_{0,05}O$ -micro est tout aussi actif vis-à-vis d'*E. coli*, aux écart-types près, aux autres oxydes mixtes de la série plus riches en cuivre (x > 0,05). Dans le cas de *S. aureus*, un problème de reproductibilité a été rencontré au cours du second test. Cependant, nous pouvons noter que les activités bactéricides restent proches entre elles, quelque soit le temps de contact considéré ou la composition regardée. Une nouvelle évaluation de la bactéricidie des oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ -micro vis-à-vis de *S. aureus* doit vérifier cette première tendance.

Tableau 7 : Activité bactéricide des oxydes micro-Mg_{1-x}Cu_xO vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 dans le cas d'*E. coli* ; n=1 dans le cas de *S. aureus*)

	Temps		E. coli			S. aureus	
Mg _{1-x} Cu _x O micro	de contact (min)	log(N₀)	% réduction	Log(N₀/N)	log(N₀)	% réduction	Log(N₀/N)
	0	6,45±0,30	-	-	6,78	-	-
	15		19,0±3,9	0,09±0,02		50,0	0,30
x = 0	30		20,4±5,0	0,10±0,03		33,3	0,18
	60		30,2±5,8	0,16±0,04		45,0	0,26
	180		53,2±4,5	0,33±0,04		81,7	0,74
	0	6,45±0,30	-	-	6,78	-	-
	15		70,2±1,0	0,53±0,01		51,7	0,32
x = 0,05	30		87,2±2,5	0,90±0,08		78,3	0,66
	60		95,7±4,6	1,54±0,60		46,7	0,27
	180		100,0±0,0	4,21±1,24		98,0	1,70
	0	6,45±0,30	-	-	6,78	-	-
	15		48,7±8,0	0,29±0,07		26,7	0,13
x = 0,10	30		76,3±6,4	0,63±0,12		61,7	0,42
	60		94,6±3,0	1,30±0,26		60,0	0,40
	180		99,7±0,4	3,81±2,19		97,0	1,52
	0	6,45±0,30	-	-	6,78	-	-
	15		39,9±13,4	0,23±0,10		45,0	0,26
x = 0,15	30		63,6±16,1	0,46±0,20		73,3	0,57
	60		88,2±4,7	0,95±0,18		73,3	0,57
	180		99,9±0,1	3,86±1,62		99,4	2,23
	0	6,45±0,30	-	-	6,78	-	-
	15		30,1±2,6	0,16±0,02		43,3	0,25
x = 0,20	30		63,0±15,3	0,45±0,19		38,3	0,21
	60		91,1±0,6	1,05±0,03		71,7	0,55
	180		99,9±0,1	3,85±1,64		97,3	1,57

L'effet de la nanostructuration des particules d'oxyde sur leur activité bactéricide a également été évalué vis-à-vis des mêmes bactéries (tableau 8). La nanostructuration accélère de manière considérable la cinétique de bactéricidie de l'oxyde MgO comme celle d'un oxyde mixte Mg_{1-x}Cu_xO de composition donnée vis-à-vis d'E. coli (figure 41). C'est moins le cas vis-à-vis de la bactérie S. aureus. Pour une composition donnée, les particules micro- et nanométriques affichent des réductions de viabilité assez similaires vis-à-vis de S. aureus, excepté pour l'oxyde parent MgO qui voit ses performances diminuées (figure 41). De ce fait, les oxydes mixtes sont nettement plus actifs vis-à-vis d'E. coli que vis-à-vis de S. aureus. L'effet positif du cuivre sur l'activité bactéricide de l'oxyde MgO vis-à-vis d'*E. coli* est particulièrement marqué puisque l'intégralité de l'inoculum initial (réduction > 6,52 log) est tué au bout de 3 heures de contact dès lors que les particules nanométriques contiennent du cuivre. Comme précédemment, le niveau d'activité n'est pas proportionnel à la teneur en cuivre des particules et ceci quels que soit le temps de contact et la bactérie considérés. Cette fois, ce sont les oxydes Mg_{0,9}Cu_{0,1}O et Mg_{0,85}Cu_{0,15}O qui présentent respectivement les cinétiques de bactéricidie vis-à-vis d'E. coli et de S. aureus les plus rapides. A la vue de l'ensemble de ces résultats, il semblerait que des teneurs en cuivre plus élevées des particules soient requises pour lutter efficacement contre la bactérie S. aureus (composition Mg_{0,85}Cu_{0,15}O), alors que cette teneur peut être abaissée à x = 0,05 pour *E. coli*. Makhluf *et coll*. ⁽⁵⁷⁾ ont évalué l'activité de particules nanométriques de MgO de taille variable (8 à 23 nm de diamètre) vis-à-vis d'E. coli et S. aureus. Quelle que soit la bactérie, l'activité bactéricide est seulement significative (reduction > 95%) lorsque la taille des particules est d'environ 8 nm et le temps de contact est d'au moins 4h à 37°C. Ceci indique tout simplement qu'une réduction de moitié de la taille des particules de MgO est nécessaire pour atteindre les niveaux d'activité bactéricide des particules d'oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO d'environ 15nm de taille moyenne.

Tableau 8 : Activité bactéricide des oxydes nano-Mg_{1-x}Cu_xO vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

Mg _{1 v} Cu _v O Temps de			E. coli		S. aureus		
nano	contact (min)	log(N₀)	% réduction	Log(N₀/N)	log(N₀)	% réduction	Log(N₀/N)
	0	6,52±0,02	-	-	6,18±0,12	-	-
	15		22,0±16,1	0,11±0,09		16,1±24,9	0,09±0,13
x = 0	30		28,3±0,2	0,14±0,01		0	0
	60		75,0±0,5	0,60±0,01		23,3±16,2	0,12±0,09
	180		100,0±0,1	4,04±0,02		17,6±18,2	0,09±0,10
	0	6,52±0,02	-	-	6,18±0,12	-	-
	15		98,2±0,8	1,77±0,19		36,8±21,7	0,21±0,15
x = 0,05	30		100,0±0,1	4,57±0,13		52,7±6,1	0,33±0,06
	60		100,0	> 6,52		82,6±6,9	0,78±0,18
	180		100,0	> 6,52		98,2±0,2	1,75±0,04
	0	6,52±0,02	-	-	6,18±0,12	-	-
	15		99,7±0,1	2,50±0,04		70,6±0,1	0,53±0,01
x = 0,10	30		100,0	6,52±0,02		88,0±3,2	0,93±0,12
	60		100,0	> 6,52		94,4±1,0	1,25±0,08
	180		100,0	> 6,52		99,8±0,1	2,67±0,05
	0	6,52±0,02	-	-	6,18±0,12	-	-
	15		99,9±0,1	3,38±0,28		80,9±3,2	0,72±0,07
x = 0,15	30		99,9±0,1	3,77±0,08		87,9±1,4	0,95±0,05
	60		100,0±0,1	3,96±0,12		97,1±0,3	1,53±0,05
	180		100,0	> 6,52		99,9±0,1	3,67±0,15
	0	6,52±0,02	-	-	6,18±0,12	-	-
	15		96,2±5,2	2,27±1,53		61,7±6,5	0,42±0,07
x = 0,20	30		99,9±0,1	3,75±0,24		74,2±7,3	0,60±0,12
	60		100,0±0,1	4,99±0,29		92,0±6,7	1,19±0,42
	180		100,0	> 6,52		99,5±0,2	2,34±0,19



Figure 41 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des oxydes MgO (micro et nano) et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O (micro et nano) vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour *S. aureus* dans le cas des oxydes micro, n=1)

Il a été montré précédemment que la nanostructuration des particules d'oxydes Mg_{1-x}Cu_xO accélérait leur hydrolyse au contact de l'eau, conduisant ainsi à la formation d'hydroxydes. Par conséquent, l'effet de la nanostructuration sur l'activité bactéricide des particules d'oxydes pourrait majoritairement provenir de ces hydroxydes présents à la surface des particules. Il est donc indispensable d'évaluer l'activité des hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » et de la comparer à celle des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO.

5.1.2. Activité bactéricide des hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ »

L'activité bactéricide des hydroxydes a été évaluée vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus*, selon le même protocole que celui utilisé pour les oxydes Mg_{1-x}Cu_xO (concentration en hydroxyde de 1mg/mL).

Les hydroxydes « $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ » induisent tous une réduction de la viabilité des bactéries *E. coli* supérieure à 40% dès les 15 premières minutes. Cette réduction est de plus en plus forte lorsque la teneur en cuivre de l'hydroxyde croit (tableau 9). $Mg(OH)_2$ reste complètement inactif dans ce même laps de temps. Au bout d'une heure, seuls 6,6% des bactéries *E. coli* ont survécu au contact de l'hydroxyde de composition x = 0,1 (figure 42). Ce pourcentage tombe à moins de 0,1% (réduction de 3 log) pour les compositions x = 0,15 et x = 0,20. La totalité de l'*inoculum* est tué au bout de 3 heures (réduction supérieure à 6,3 log), quelle que soit la teneur en cuivre x de l'hydroxyde considéré. En revanche, seuls 23% des *E. coli* sont tués au contact de $Mg(OH)_2$ au bout de 3 heures (figure 42). Cette faible activité avait déjà été rapportée par Pan *et coll.* sur des plaquettes hexagonales submicrométriques de $Mg(OH)_2$ et agglomérées ⁽⁵⁸⁾ et très récemment par Halbus *et coll.* ⁽⁵⁹⁾.

A notre connaissance, l'activité bactéricide des particules nanométriques de Mg(OH)₂ vis-à-vis de S. aureus n'a été évaluée que par Vatsha et coll. (60). L'activité de tissus de polyester imprégnés de microparticules de Mg(OH)₂ (taille moyenne supérieure à 2,5 µm) vis-à-vis de S. aureus a également été évaluée par Wang et coll. ⁽⁶¹⁾. Dans cette dernière étude, la réduction de viabilité était de 92 à 97% (1 log à 1,58 log) au bout de 24 heures de contact avec ces microparticules à 37°C. Nos résultats montrent que l'activité bactéricide de Mg(OH)₂ vis-à-vis de S. aureus est légèrement supérieure à celle observée vis-à-vis d'E. coli. Toutefois, son efficacité reste limitée car pratiquement la moitié (48%) des bactéries S. aureus est encore viable au bout de 3 heures de contact. Un temps de contact plus long permettrait peut-être d'inactiver toute la population de S. aureus, à l'instar de l'étude de Wang et coll. ⁽⁶¹⁾. Comme dans le cas d'E. coli, la substitution par le cuivre permet d'exacerber l'activité bactéricide de Mg(OH)₂ vis-à-vis de S. aureus : plus la teneur en cuivre x est élevée plus la cinétique de bactéricidie est rapide. Une forte réduction du nombre de bactéries S. aureus est observée après 3h de contact avec les particules de teneur en cuivre x supérieure à 0,1 (moins de 2% de bactéries vivantes pour x = 0,1). Cependant au bout de 3h et à composition identique, l'activité d'un hydroxyde mixte vis-à-vis de S. aureus est nettement plus faible (2 log) que celle observée vis-àvis d'E. coli (6,3 log).

Makhluf *et coll.* ⁽⁵⁷⁾ ont montré que l'activité bactéricide de l'oxyde MgO vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* est seulement significative (réduction >95%) lorsque la taille des particules est d'environ 8nm et le temps de contact est d'au moins 4h à 37°C. Smithson et Bakshi ⁽⁶²⁾ ont montré que des particules de MgO d'une vingtaine de nanomètres de diamètre s'hydrolysait intégralement en seulement ≈100

minutes à 38°C. Cette hydrolyse totale est également observée sur nos particules d'oxyde de magnésium d'environ 10-20nm après 3h d'immersion. L'activité bactéricide observée par Makhluf *et coll.* ⁽⁵⁷⁾ comme la nôtre est donc vraisemblablement celle de nanoparticules d'hydroxyde Mg(OH)₂. Une comparaison directe peut être effectuée entre l'activité bactéricide des particules de MgO de 23 nm de diamètre de l'étude de Makhluf *et coll.* ⁽⁵⁷⁾ et celle des plaquettes de Mg(OH)₂ préparées dans le cadre de cette thèse (<D> = 20 nm et <H> = 7nm, figure 17) en raison de leur taille comparable. Dans leur étude, la réduction de viabilité de leurs particules d'oxyde MgO est légèrement plus élevée vis-à-vis de *S. aureus* que vis-à-vis d'*E. coli* au même temps de contact tout en restant inférieure à 50% pour les deux bactéries au bout de 4 heures. Ces résultats sont tout à fait similaires aux nôtres. Cependant, notre étude montre que la substitution du magnésium par le cuivre permet de considérablement augmenter ces activités, en particuler vis-à-vis d'*E. coli*, qui dépasse ainsi la réduction de 3 log mesurée par Makhluf *et coll.* sur des particules de MgO hydrolysées de 8 nm de diamètre ⁽⁵⁷⁾.

	Temps de	E. coli			S. aureus		
Mg _{1-x} Cu _x (OH) ₂	contact	Na	%	log(N _o /N)	No	%	
	(min)		réduction			réduction	
	0	6,31±0,03	-	-	6,26±0,01	-	-
	15		0	0		9,6±4,5	0,04±0,02
x = 0	30		0	0		25,2±9,7	0,13±0,06
	60		0	0		36,9±6,8	0,20±0,05
	180		23,2±2,8	0,11±0,02		48,4±7,9	0,29±0,07
	0	6,31±0,03	-	-	6,26±0,01	-	-
	15		42,6±5,8	0,24±0,04		53,6±9,0	0,34±0,08
x = 0,10	30		57,0±0,8	0,37±0,01		79,3±2,5	0,69±0,05
	60		93,4±1,3	1,19±0,09		93,2±1,3	1,17±0,09
	180		100	> 6,31		99,3±0,1	2,14±0,01
	0	6,31±0,03	-	-	6,26±0,01	-	-
	15		66,5±11,4	0,49±0,15		77,2±4,8	0,65±0,09
x = 0,15	30		86,2±1,5	0,86±0,05		87,1±5,4	0,91±0,19
	60		99,9±0,1	2,98±0,10		94,0±1,4	1,23±0,10
	180		100	> 6,31		99,0±0,4	2,01±0,16
	0	6,31±0,03	-	-	6,26±0,01	-	-
	15		78,5±5,8	0,67±0,12		81,5±1,3	0,73±0,03
x = 0,20	30		86,3±2,0	0,87±0,06		84,2±2,7	0,80±0,08
	60		99,9±0,1	3,02±0,10		93,8±3,3	1,24±0,24
	180		100	>6,31		98,8±0,1	1,91±0,03

Tableau 9 : Activité bactéricide des hydroxydes nano-Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)



Figure 42 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages de réduction (moyenne ± ET, n=2)

5.1.3. Mécanisme bactéricide associé

En se basant sur les résultats précédents et ceux de la littérature, un mécanisme bactéricide peut être proposé pour les hydroxydes (et les oxydes). Makhluf *et coll.* ⁽⁵⁷⁾ et Applerot *et coll.* ⁽⁶³⁾ ont déterminé le mécanisme régissant la bactéricidie des oxydes MgO et CuO, respectivement. Pour ces deux oxydes, le mécanisme résulterait des quatre actions successives suivantes :

- la génération exogène de ROS par les particules attachée à la membrane cellulaire

- l'augmentation de la perméabilité de la paroi cellulaire liée à l'endommagement par ces ROS

- la pénétration de particules dans la cellule

- la lyse de la cellule avec une perte du contenu intracellulaire (protéines, ADN et ARN)

Dans la référence ⁽⁶⁴⁾, il a été postulé que la production de ROS par les nanoparticules d'oxydes métalliques provenait de leur état de surface, riche en défauts de surfaces électrodonneurs. Pan *et coll.* ⁽⁵⁸⁾ ont montré que l'activité d'agrégats de Mg(OH)₂ préparés par coprécipitation (diamètre moyen de 5,5 mm et réduction de la viabilité d'*E. coli* d'environ 90% au bout de 24h) est supérieure à celle de nanoplaquettes faiblement agglomérées de Mg(OH)₂ issu de l'hydrolyse de MgO (diamètre moyen de 1,2 µm et réduction de la viabilité d'*E. coli* d'environ 50% au bout de 24h). Ces

auteurs associent l'activité supérieure des agrégats à leur meilleure adsorption sur la membrane cellulaire de bactéries *E. coli* mise en évidence par microscopie électronique. Une observation faite par microscopie en fluorescence révèle que la mort des bactéries est due à lyse de la cellule. Cette observation est la même que celle faite par Applerot *et coll.* pour les nanoparticules CuO un an plus tôt ⁽⁶³⁾. Cela montre clairement que Mg(OH)₂ et CuO présentent globalement le même mécanisme bactéricide. Dans l'étude d'Applerot *et coll.*, les réductions de viabilité d'*E. coli* et de *S. aureus* après 3h de contact avec des particules de CuO d'une taille d'environ 7 nm étaient respectivement de 99,9% et 97%. Ces réductions sont similaires à celle publiées par Makhluf *et coll.* après 4h au contact de particules de MgO hydratées d'une taille d'environ 8 nm (c'est-à-dire de Mg(OH)₂). De plus, la cinétique de bactéricidie des nanoparticules de CuO semblerait aussi rapide que celle des nanoparticules de Mg(OH)₂. Cela signifierait que la capacité des nanoparticules de CuO et de Mg(OH)₂ à être adsorbées sur l'enveloppe cellulaire de bactéries et à produire des ROS est comparable quand ces particules sont de taille équivalente.

Sawai et coll. (65) estiment que l'effet alcalin résultant de l'hydrolyse de MgO est un des facteurs contribuant à l'activité biocide vis-à-vis de levures et de champignons filamenteux. Mendonca et coll. ⁽⁶⁶⁾ montrent une réduction de la viabilité de 8 log au bout de 15 minutes de contact avec un tampon NaHCO₃-NaOH à pH 11 alors que cette réduction n'est que de 0,5 log à pH 10. Cette étude démontre l'effet délétère d'une augmentation d'une unité pH sur la viabilité des cellules. L'augmentation significative de l'activité bactéricide au sein des séries « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » et Mg_{1-x}Cu_xO pourrait provenir d'une augmentation progressive du pH induite par la teneur en cuivre x croissante. Par conséquent, les évolutions du pH des suspensions de nanoparticules de plusieurs hydroxydes et oxydes (concentration de 1 mg/mL) ont été suivies sur une période de 3 heures. Ces évolutions sont présentées à la figure 43. Dans le cas des composés non substitués (MgO micro, nano et Mg(OH)₂) le pH augmente fortement pour atteindre des valeurs supérieures à 10 (10,53 pour MgO micro, 10,17 pour MgO nano et 10,96 pour Mg(OH)₂) au bout de 3 heures, avant de redescendre légèrement audelà (figure 41). Comme il l'a été montré précédemment, MgO s'hydrolyse rapidement au contact de l'eau en Mg(OH)₂, et c'est ce composé qui est responsable de l'alcalinité du milieu. Une augmentation du pH est aussi observée pour Mg_{0,8}Cu_{0,2}O nano (pH de 9,89 au bout de 3 heures) et pour Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂ (pH de 10,01 au bout de 3 heures), mais elle est de moindre amplitude. La faible augmentation du pH (pH de 7,62 au bout de 3 heures) de la suspension de particules de Mg_{0,80}Cu_{0,2}O micro s'explique par sa stabilité relative vis-à-vis de l'hydrolyse, comme montré précédemment. Nos valeurs de pH sont proches de celles de la littérature pour des nanoparticules $Mg(OH)_2 (pH = 10)^{(67)} et MgO (pH = 10,6)^{(57)}$.



Figure 43 : Evolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau de particules de (a) MgO (micro et nano), Mg(OH)₂ d'une part, et (b) de Mg_{0,8}Cu_{0,2}O (micro et nano) et Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂ d'autre part

D'après les travaux de Medonca *et coll.* ⁽⁶⁶⁾, une forte activité bactéricide de Mg(OH)₂ devrait alors être observée au bout de 3 heures. Expérimentalement, la réduction n'est que de 23% vis-à-vis d'*E. coli* et 47% vis-à-vis d'*S. aureus*. Il est surprenant de constater que l'hydroxyde mixte « Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂ » présente une activité bactéricide au bout de 3h de contact nettement supérieure à celle de l'hydroxyde Mg(OH)₂ (6,31 log contre 0,11 log vis-à-vis d'*E. coli*) alors que les valeurs de pH des deux suspensions sont comparables. D'autre part, les suspensions de particules d'oxydes MgO-nano et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-nano ont des activités bactéricides significatives au bout de 3h de contact malgré des pH comparables entre eux et comparables aux suspensions des deux hydroxydes précédents. Makhluf *et coll.* ⁽⁵⁷⁾ montrent de surcroît qu'un pH salin de 10,6 a une influence minimale sur la mort des bactéries, avec une réduction nulle vis-à-vis d'*E. coli* et inférieure à 6% vis-à-vis de *S. aureus* au bout de 4h. L'ensemble de ces observations indique que le pH basique de certaines suspensions, dans le gamme de pH considérée sur la durée de contact, n'a pas d'effet significatif sur l'activité bactéricide des oxydes et hydroxydes étudiés dans le cadre de cette thèse.

Il est connu que les ions Cu²⁺ en solution catalysent la production de ROS ^(68, 69) à partir de solution d'eau oxygénée grâce à des réactions d'oxydoréduction entre les ions Cu²⁺ et Cu⁺ de type Fenton (voir chapitre I). Une étude de la dissolution des particules d'oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO et d'hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ dans l'eau a été menée. L'influence de la nanostructuration a également été regardée (micro *versus* nano). Des poudres de particules d'oxydes ont été immergées dans l'eau désionisée à la concentration finale de 1 mg/mL. Les concentrations en ions Mg²⁺ et Cu²⁺ dans le surnageant ont été ensuite déterminées par spectroscopie d'émission atomique au bout de 3h et 24h d'immersion. Le tableau 10 suivant expose l'ensemble des résultats pour les oxydes (micro et nano) et les hydroxydes.

Tableau 10 : Concentrations en ions M²⁺ dans le surnageant après 3 et 24 heures d'immersion dans l'eau de particules de MgO de taille micro et nanométrique et d'hydroxyde Mg(OH)₂ d'une part, et de Mg_{0,8}Cu_{0,2}O de taille micro et nanométrique et d'hydroxyde Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂ d'autre part

			MgO-mi	cro l	MgO-nano	Mg(OH)₂	
	M ²⁺ (en mg/L) (μmol/L)		Mg ²⁺		Mg ²⁺	Mg ²⁺	
	3 heures		7,4		6,1	7,3	
			(304)		(251)	(300)	
	24	houros	8,3		6,3	9,9	
	24 neures		(341))	(259)	(407)	
		Mg _{0,8} Cu	_{0,2} O-micro	Mg _{0,8}	Cu _{0,2} O-nano	Mg _{0,85} Cu	_{0,15} (OH) ₂
M ²⁺ en ı <i>(umol</i>	ng/L	Mg ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺
u	/L)					-	
3 heur	· L)	1,2	<0,1	7,5	0,3	7,5	0,4
3 heu	res	1,2 (59,3)	<0,1 (<1,6)	7,5 (308)	0,3 <i>(4,7)</i>	7,5 (309)	0,4 (6,3)
3 heur	res	1,2 (59,3) 5,7	<0,1 (<1,6) <0,1	7,5 (308) 7,7	0,3 <i>(4,7)</i> 0,3	7,5 (<i>309</i>) 10,5	0,4 (6,3) 0,1

La solubilité de l'oxyde MgO, déterminée à partir de la concentration en ions Mg²⁺ dans le surnageant, est comprise entre 10,4 et 13,8 mg/L. Comme montré précédemment, la particule de MgO est soumise à un processus d'hydrolyse qui la convertit progressivement en Mg(OH)₂. D'après la littérature, la constante de solubilité K_s de Mg(OH)₂ est de 5,61.10⁻¹² à 25°C ⁽⁷⁰⁾, ce qui correspond à une solubilité de Mg(OH)₂ de 6,5 mg/L, valeur bien plus faible que la solubilité déterminée pour MgO. L'atmosphère terrestre contient du dioxyde de carbone CO₂ à hauteur de 400 ppmv. Il peut se dissoudre dans l'eau et se comporter comme un diacide (pK_a respectifs : 6,35 et 10,33 à 25°C ⁽⁷⁰⁾). Il va donc pouvoir réagir avec les ions HO⁻ issus de la dissolution de Mg(OH)₂ pour former les espèces HCO₃⁻ et CO₃²⁻. Comme les surnageants sont en équilibre permanent avec l'atmosphère, la consommation par le CO₂ des ions HO⁻ est permanente et va accentuer le processus de dissolution des particules de Mg(OH)₂. Les équations sont les suivantes :

$$Mg(OH)_2 \xrightarrow{Ks=5,61.10^{-12}} Mg^{2+} + 2HO^- \text{ et } CO_2 + 2HO^- \xrightarrow{K=2,09.10^{11}} CO_3^{2-} + H_2O^-$$

Que l'on peut regrouper en : $Mg(OH)_2 + CO_2 \xrightarrow{K=1,17} Mg^{2+} + CO_3^{2-} + H_2O_3^{2-}$

La constante de réaction est supérieure à 1, elle est donc spontanée. La figure 44 suivante illustre ce mécanisme. Il permet d'expliquer la solubilité accrue de $Mg(OH)_2$ par rapport à celle déterminée à partir de son K_s .



Figure 44 : Illustration de l'augmentation de la solubilité de MgO et Mg(OH)₂ par prise en compte de la dissolution du CO₂ d'origine atmosphérique dans le surnageant

Dans le cas de l'oxyde mixte $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$, la concentration en ions Mg^{2^+} libérés dans le surnageant après 3h d'immersion augmente avec la réduction de la taille des particules (tableau 10). La concentration en ions Mg^{2^+} libérés par l'oxyde $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ -nano devient alors comparable à celle mesurée pour l'oxyde MgO quelque soit la taille des particules (micro et nano) au même temps. L'absence de formation d'hydroxyde au bout de 16 heures d'immersion des particules d'oxyde $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ -micro dans l'eau (paragraphe 4.1.1) permet d'expliquer la faible concentration en ions Mg^{2^+} libérés dans le surnageant après 3h. Même si cette concentration augmente entre 3h et 24h, l'équilibre ne semble pas être atteint pour l'oxyde $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ -micro au bout de 24 heures. Cet équilibre est en revanche atteint pour les oxydes MgO-nano et $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ -nano dès les 3 premières heures d'immersion, car les concentrations en ions Mg^{2^+} libérés par chacun des oxydes n'évoluent plus entre 3 et 24 heures. Ces résultats sont le reflet de la formation rapide d'hydroxydes dès les trente premières minutes d'immersion (figure 25). L'étude de la dissolution des particules d'hydroxyde « $Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)_2$ » illustre parfaitement ce propos. En effet les concentrations en ions Mg^{2^+} et Cu^{2^+} libérés par les particules d'hydroxyde ou d'oxyde $Mg_{0,8}Cu_{0,2}O$ -nano sont du même ordre de grandeur après 3 heures d'immersion.

Dans le cas de l'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O, le rapport entre les concentrations en ions cuivrique et magnésium libérés dans le surnageant n'est pas proportionnel au rapport Mg²⁺/Cu²⁺ fixé par la composition. Les concentrations en ions Cu²⁺ libérés par les particules micro- et nanométrique de Mg_{0,8}Cu_{0,2}O au bout de 3h d'immersion sont respectivement 12 et 25 fois inférieures à celles en ions Mg²⁺. Notons que la concentration en ions Cu²⁺ libérés par les particules d'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O est pratiquement la même au bout de 3 heures d'immersion quelle que soit leur taille. Pour l'oxyde Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-micro, une augmentation d'une unité de pH du surnageant est observée dans les 3 premières heures d'immersion (figure 43). Cette augmentation du pH du surnageant atteint 3 unités avec les particules nanométriques de ce même oxyde. Ces observations suggèrent qu'une partie des ions cuivrique libérés par la dissolution des particules de Mg_{0,8}Cu_{0,2}O précipite sous la forme d'hydroxyde Cu(OH)₂ suite à l'élévation du pH du surnageant. En effet, la constante de solubilité de Cu(OH)₂ est de 2,2.10^{-20 (70)}, soit 8 ordres de grandeurs de moins que Mg(OH)₂. Cela se traduit par une solubilité de Cu(OH)₂ inférieure à 0,02 mg/L. Toutefois, les quantités de Cu(OH)₂ précipitées sont si
faibles qu'il n'a pas été possible de détecter cette potentielle reprécipitation par diffraction des rayons X ou spectroscopie infrarouge. Cette précipitation d'hydroxyde Cu(OH)₂ est de plus forte en amplitude pour les particules nanométriques en raison de la plus forte augmentation de la basicité du surnageant que leur dissolution provoque. Comme précédemment, le processus de dissolution des particules d'oxydes mixtes est accéléré par le CO₂ atmosphérique qui se dissout dans le surnageant en permanence. La figure 45 suivante illustre ce mécanisme de dissolution des particules d'oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO. Le phénomène de précipitation est également observé avec les particules d'hydroxyde « $Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)_2$ » pour la même raison (élévation du pH du surnageant avec le temps d'immersion, figure 43).



Figure 45 : Illustration de l'augmentation de la solubilité des particules de Mg_{0,8}Cu_{0,2}O et de la précipitation des ions Cu²⁺ sous forme d'hydroxyde Cu(OH)₂ par la prise en compte de la dissolution du CO₂ d'origine atmosphérique dans le surnageant

D'après les mesures de spectroscopie d'émission atomique présentées dans le tableau 10, les concentrations en ions Cu²⁺ sont particulièrement faibles dans les surnageants en raison d'une reprécipitation des ions Cu²⁺ en Cu(OH)₂. Akhavan *et coll.* ont mesuré l'activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* d' hétérostructures CuO/Cu(OH)₂ formées à la surface d'une feuille de cuivre métallique. Ces auteurs ont montré que l'activité était accrue lorsqu'une grande quantité de Cu(OH)₂ était formée en surface, ce qui implique que cet hydroxyde soit également actif. La précipitation de Cu(OH)₂ pourrait être un facteur qui contribue à l'augmentation de l'activité bactéricide de Mg(OH)₂, mais étant donné les faibles quantités mises en jeu, son effet ne doit pas être prépondérant.

Pan *et coll.* ⁽⁵⁸⁾ ont montré que l'activité bactéricide des nanoparticules de Mg(OH)₂ était plus forte lorsqu'elles étaient adsorbées en grande quantité sur les parois cellulaires des bactéries. Dans cette étude, les particules submicrométriques faiblement agglomérées (diamètre de particule : 700 nm, diamètre d'agrégat : 5,5 μ m) présentaient une activité plus faible que les particules nanométriques fortement agglomérées (diamètre de particule : 10 nm, diamètre d'agrégat : 5,5 μ m). D'après l'étude par diffraction, une réduction homothétique de la taille des particules est observée au fur et à mesure que la teneur en cuivre x des particules d'hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » augmente. D'après les mesures d'adsorption de diazote, toutes les poudres d'hydroxydes ont des surfaces spécifiques équivalentes (aux alentours de 100 à 120 m²/g) quel que soit le taux de substitution x. Comme le montrent les clichés MET, le changement de la forme (augmentation du rapport <D>/<H> avec x, figure 18) et la réduction de la taille des plaquettes lorsque la teneur en cuivre x augmente favorise leur agglomération. Cette agglomération annule donc l'effet positif de la réduction de taille sur la surface spécifique. Par conséquent, la teneur en cuivre x croissante des particules d'hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » augmenterait leur activité bactéricide en favorisant la formation d'agrégats induisant une meilleure adsorption sur la paroi cellulaire. Si l'effet de la nanostructuration des particules d'oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO sur leur activité bactéricide est très clair, l'effet de la teneur en cuivre x sur ces activités est plus contrasté. La réduction en taille des particules d'oxydes mixtes mixtes accélère le processus d'hydrolyse, mais il est probable que ce taux d'hydrolyse ne soit pas proportionnel à la teneur en cuivre de la particule. Si tel était le cas, l'activité bactéricide des nanoparticules d'oxydes serait proportionnelle à leur teneur en cuivre comme pour les hydroxydes.

Enfin, en ce qui concerne les différences de niveau d'activité observées entre *E. coli* et S. aureus, les données de la littérature concernant les oxydes métalliques sont parfois discordantes. Certains auteurs indiquent une sensibilité des bactéries à Gram + (*S. aureus, S. epidermidis* et *B. subtilis*) supérieure à celle des bactéries à Gram - (*E. coli* and *P. aeruginosa*) ⁽⁷¹⁻⁷³⁾ du fait de la différence de composition pariétale. Elkady *et coll.* notent un effet inverse ⁽⁷⁴⁾. Pour d'autres auteurs, il n'y a pas de différence en raison d'une perméabilité membranaire aux ROS comparable entre Gram + et Gram - ⁽⁷⁵⁻⁷⁷⁾. L'activité bactéricide plus faible des composés vis-à-vis de *S. aureus* observée durant ce travail peut être expliquée par la présence de pigments caroténoïdes, à l'origine de la couleur dorée de la bactérie, qui ont des propriétés antioxydantes. Ces pigments, associée à une forte activité catalase, peuvent aider ces bactéries à détruire les ROS produits par des nanoparticules d'hydroxydes ou d'oxydes, réduisant ainsi leur sensibilité au traitement antibactérien, en particulier pour les temps de contact prolongés ⁽⁷⁸⁾.

5.2. Activité bactéricide des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O

L'activité bactéricide des composés Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O n'a pu être évaluée, par manque de temps, que vis-à-vis des bactéries *E. coli*. La cinétique de bactéricidie de suspensions de particules de concentration 1 mg/mL a été déterminée, comme pour les oxydes et hydroxydes mixtes, sur une durée totale de 3 heures et dans l'eau désionisée stérile à 20°C. Les résultats sont présentés dans le tableau 11. Le composé non substitué MgCO₃.yH₂O présente une activité nulle aux erreurs d'incertitudes près. Par contre, les échantillons deviennent particulièrement actifs dès qu'ils contiennent une fraction de cuivre. Pour cette raison, les résultats présentés sous forme graphique (figure 46), adoptent une échelle log au lieu de l'échelle en pourcentage comme précédemment. De

Chapitre III - La solution solide Mg_{1-x}Cu_xO du diagramme binaire MgO-CuO

manière surprenante, la cinétique de bactéricidie décroit lorsque la teneur en cuivre x de l'échantillon augmente. Ainsi une heure de contact avec des particules du carbonate $Mg_{0,95}Cu_{0,05}(CO_3).yH_2O$ suffit à éradiquer la totalité de l'*inoculum* (réduction de 6 log). Cette performance n'est atteinte par les composés de teneur en cuivre supérieure à x=0.05 qu'au bout de 3 heures de contact.

Tableau 11 : Activité bactéricide des carbonates Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*) avec n=1)

	Temps de contact	1(01)	0/	L = -/AL /AL	
Composition	(min)	log(N ₀)	% reduction	LOg(N ₀ /N)	
	0	6,91±0,19	-	-	
	15		15,9±22,5	0,08±0,12	
x = 0	30		19,1±27,0	0,10±0,15	
	60		46,4±65,6	0,57±0,81	
	180		47,6±67,4	0,66±0,94	
	0	6,94±0,15	-	-	
	15		97,5±3,1	1,88±0,78	
x = 0,05	30		99,9±,1	4,28±1,98	
	60		100,0	6,95±0,15	
	180		100,0	> 6,94	
	0	6,86±0,03	-	-	
	15		79,8±22,8	0,92±0,67	
x = 0,10	30		97,5±3,1	1,94±0,86	
	60		100,0	5,05±0,10	
	180		100,0	6,71±0,25	
	0	6,70	-	-	
	15		99,5	2,34	
x = 0,15 (*)	30		99,9	3,66	
	60		100,0	6,83	
	180		100,0	> 6,83	
	0	6,98±0,14	-	-	
	15		93,0±4,4	1,20±0,29	
x = 0,20	30		98,4±0,6	1,82±0,16	
	60		99,6±0,3	2,44±0,29	
	180		100,0	6,21±0,52	



Figure 46 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des carbonates Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O vis-àvis d'*E. coli* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

Malgré la taille micrométrique des bâtonnets de carbonate mixte $Mg_{1-x}Cu_xCO_3.yH_2O$ (10 µm de longueur), leur activité bactéricide est nettement plus forte que celle des particules des oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ pourtant de taille comparable (≈10 µm) et ceci quelle que soit la teneur en cuivre x considérée (figure 47). Ce résultat est particulièrement intéressant puisque il suggère que la carbonatation de la surface des particules avec le temps d'exposition à l'air ambiant permettrait d'exacerber l'activité bactéricide des oxydes mixtes initiaux.



Figure 47 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides vis-à-vis d'*E. coli* des oxydes et des carbonates de composition x = 0,1 exprimées en en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

Comme montré précédemment, ni le pH ni les ions Cu^{2+} libérés par les oxydes et hydroxydes de magnésium substitués cuivre n'ont une influence sur l'activité bactéricide de ces composés. Des mesures de pH après différents temps d'immersion et des analyses par spectroscopie d'émission atomique des surnageants ont été malgré tout réalisés sur deux carbonates MgCO₃.yH₂O et Mg_{0.8}Cu_{0.2}CO₃.yH₂O représentatifs de la série.

Les concentrations en ions métalliques M²⁺ ont été mesurées dans les surnageants après l'immersion dans l'eau des particules de carbonate MgCO₃.yH₂O et Mg_{0,8}Cu_{0,2}CO₃.yH₂O. Les résultats sont exposés dans le tableau 12 suivant. Le composé parent MgCO₃.yH₂O est très soluble dans l'eau avec une solubilité qui atteint près de 700 mg/L au bout de 24 heures d'immersion. La substitution partielle du magnésium par le cuivre permet de réduire considérablement cette solubilité. Toutefois, comme dans le cas des hydroxydes mixtes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » ou des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO, le rapport entre les concentrations en ions cuivrique et magnésium libérés dans le surnageant n'est pas proportionnel au rapport Mg²⁺/Cu²⁺ fixé par la composition. Une diminution d'un facteur vingt de la concentration en ions Cu²⁺ libérés par les particules de Mg_{0.8}Cu_{0.2}CO₃.yH₂O est observée entre 3 heures et 24 heures d'immersion alors que dans le même temps celle en ions Mg²⁺ continue d'augmenter. D'après la littérature, la constante de solubilité de Cu(OH)₂ est de 2,2.10^{-20 (70)}. Une précipitation des ions Cu^{2+} en $Cu(OH)_2$ a donc lieu à partir d'un pH supérieur à 7,24. Or, le pH des surnageants des carbonates Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O est bien plus élevé (figure 48). Par conséquent, il est fort probable qu'une partie des ions cuivrique libérés par la dissolution des particules de Mg_{0.8}Cu_{0.2}CO₃.yH₂O précipite sous la forme d'hydroxyde Cu(OH)₂, expliquant ainsi les faibles concentrations en ions Cu²⁺ relevées dans les surnageants.

L'augmentation importante du pH (10,67 au bout de 3 heures d'immersion pour MgCO₃.yH₂O), est intermédiaire entre celle de Mg(OH)₂ (pH = 10,96 au bout du même laps de temps) et celles des oxydes de magnésium (pH = 10,53 et 10,17 respectivement pour MgO micro et nano). Les carbonates substitués présentent des élévations de pH plus faible que celles du carbonate non substitué (10,25 pour les compositions x = 0,1 et x = 0,2 au bout de 3 heures d'immersion, figure 48). Or, MgCO₃.yH₂O ne présente aucune activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli*. Par conséquent, il est peu probable que le pH basique du surnageant des carbonates ait un rôle majeur au niveau de la bactéricidie des carbonates Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O vis-à-vis d'*E. coli*.

Tableau 12 : Concentrations en ions M ²⁺ dans le surnageant après 3 et 24 heures d'immersion dans l'eau de particul	es de
MgCO ₃ .yH ₂ O (x=0) et de Mg _{0.8} Cu _{0.2} CO ₃ .yH ₂ O (x=0.2)	

	x = 0	x = 0,2	
[M ²⁺] en mg/L (μmol/L)	Mg ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺
2 houros	132,4	25,8	2,18
Sheules	5447	1062	34,3
24 hourse	127,6	35,8	< 0,1
24 neures	5249	1473	(< 1,6)



Figure 48 : Evolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau de particules de Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O pour différentes teneurs en cuivre x

6. Conclusion

Des poudres de particules de taille micrométrique de la solution solide $Mg_{1-x}Cu_xO$ ont été préparées avec succès par voie céramique, en utilisant des nitrates métalliques comme précurseurs. Afin de diminuer la taille des particules, une deuxième voie de synthèse mettant en jeu la coprécipitation d'hydroxydes mixtes a été explorée. Une nouvelle solution solide inédite de structure Brucite a pu être mise en évidence, et les différentes caractérisations menées sur ces composés ont permis de proposer une formulation $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y}.zH_2O$. Par calcination de ces hydroxydes à 400°C, des particules de taille nanométrique des oxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_xO$ ont pu ainsi être obtenues.

L'activité bactéricide de l'ensemble de ces composés a été évaluée dans l'eau et à température ambiante vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus*. La substitution du magnésium par le cuivre dans les structures de la Periclase MgO et de la Brucite Mg(OH)₂ a permis d'exacerber leurs activités bactéricides vis-à-vis des deux bactéries. L'effet positif de la nanostructuration sur l'activité de l'oxyde est bien présent vis-à-vis d'*E. coli* mais pas vis-à-vis de *S. aureus*, ce qui est étonnant. Ni le pH, ni la présence d'ions Cu²⁺ dans les surnageants n'ont permis d'apporter une explication de la bactéricidie des composés. L'adsorption aisée des particules à la surface et bactéries, associée à la production importante de ROS constituerait le mécanisme d'action privilégié.

La stabilité des particules d'oxydes et d'hydroxydes a été évaluée vis-à-vis de l'eau, la vapeur d'eau et du dioxyde de carbone humide. Les particules micrométriques d'oxyde de magnésium MgO sont particulièrement sensibles à l'eau et au CO₂ atmosphérique, mais leur stabilité est accrue par la substitution partielle du magnésium par le cuivre. Comme attendue, la nanostructuration accroît cette sensibilité à l'eau et CO₂ des particules d'oxyde qu'ils soient mixtes (Mg_{1-x}Cu_xO) ou non (MgO). Les hydroxydes mixtes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ », comme les oxydes mixtes, présentent une instabilité vis-àvis du dioxyde de carbone, entraînant la formation d'un mélange de carbonate de magnésium hydraté, la Nesquehonite MgCO₃,yH₂O et d'un hydrocarbonate de cuivre, la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂. Dans une telle situation, des substitutions partielles du magnésium par le cuivre ne sont évidemment pas à exclure. Avec le temps d'exposition à l'atmosphère, une carbonatation de la surface des particules est donc à craindre, quelque soit leur composition. Mais il a été montré, à travers l'étude de la solution solide inédite $Mg_{1-x}Cu_xCO_3.yH_2O$ isotype de la Nesquehonite, que cette carbonatation pouvait avoir un effet bénéfique (au moins en partie) sur l'activité bactéricide des oxydes mixtes initiaux. Une fois formés, ces carbonates mixtes hydratés demeurent très stables dans le temps, garantissant ainsi un niveau d'activité bactéricide élevé des composés. Il peut être même envisagé de les utiliser directement comme agent bactéricide. Qu'en est-il de l'activité bactéricide de carbonates mixtes Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ ? Une évaluation de leur activité a également été effectuée dont les résultats seront présentés en détail dans le chapitre suivant.

Références du chapitre III

- 1. Paranthaman, M., David, K.A. and Lindemer, T.B., *Phase equilibria of the MgO-Cu₂O-CuO system*. Materials Research Bulletin, 1997. **32**(2): p. 165-173.
- 2. Ohira, T., Kawamura, M., Iida, Y., Fukuda, M. and Yamamoto, O., *Influence of the mixing ratio on antibacterial characteristics of MgO-ZnO solid solution in two phase coexistence region.* Journal of the Ceramic Society of Japan, 2008. **116**(1359): p. 1234-1237.
- 3. Campbell, E.D.M., *Of the Influence of the Temperature of Burning on the Rate of Hydration of Magnesium Oxide.* Industrial & Engineering Chemistry, 1909. **1**(9): p. 665-668.
- 4. Blaha, J., *Kinetics of hydration of magnesium oxide in aqueous suspension. Part 1 Method of measurement and evaluation of experimental data.* Ceramics- Silikaty, 1995. **39**(2): p. 45-51.
- 5. Torres-Rodríguez, D.A. and Pfeiffer, H., *Thermokinetic analysis of the MgO surface carbonation process in the presence of water vapor.* Thermochimica Acta, 2011. **516**(1-2): p. 74-78.
- 6. Giovannelli, F., Delorme, F., Autret-Lambert, C., Seron, A. and Jean-Prost, V., *Existence of a solid solution from brucite to β-Co(OH)*₂. Materials Research Bulletin, 2012. **47**(5): p. 1212-1216.
- 7. Dong, C., Song, D., Cairney, J., Maddan, O.L., He, G. and Deng, Y., *Antibacterial study of Mg(OH)*₂ *nanoplatelets*. Materials Research Bulletin, 2011. **46**(4): p. 576-582.
- 8. Akhavan, O., Azimirad, R., Safa, S. and Hasani, E., *CuO/Cu(OH)*₂ *hierarchical nanostructures as bactericidal photocatalysts.* Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**(26): p. 9634.
- 9. Desgranges, L., Calvarin, G. and Chevrier, G., *Interlayer Interactions in M(OH)*₂ A Neutron Diffraction Study of Mg(OH)₂. Acta Crystallographica Section B, 1996. **51**(1): p. 82-86.
- 10. Oswald, H.R., Reller, A., Schmalle, H.W. and Dubler, E., *Structure of copper (II) hydroxide, Cu(OH)*₂. Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications, 1990. **46**(12): p. 2279-2284.
- 11. Cudennec, Y. and Lecerf, A., *The transformation of Cu(OH)*₂ *into CuO, revisited*. Solid State Sciences, 2003. **5**(11-12): p. 1471-1474.
- 12. Rodriguez Carvajal, J., *Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction*. Physica B, 1993. **192**(1-2): p. 55-69.
- 13. Tsirelson, V.G., Avilov, A.S., Abramov, Y.A., Belokoneva, E.L., Kitaneh, R. and Feil, D., *X-ray and Electron Diffraction Study of MgO*. Acta Crystallographica Section B, 1998. **54**(1): p. 8-17.
- 14. Shannon, R.D., *Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides.* Acta Crystallographica Section A, 1976. **32**(5): p. 751-767.
- 15. Vegard, L., *Die konstitution der mischkristalle und die raumfüllung der atome.* Zeitschrift für Physik, 1921. **5**(1): p. 17-26.
- 16. Spriggs, R.M., Brissette, L.A. and Vasilos, T., *Grain growth in fully dense magnesia*. Journal of the American Ceramic Society, 1964. **47**(8): p. 417-418.
- 17. Li, Y., Sui, M., Ding, Y., Zhang, G., Zhuang, J. and Wang, C., *Preparation of Mg(OH)*₂ nanorods. Advanced Materials, 2000. **12**(11): p. 818-821.
- 18. Ding, Y., Zhang, G., Wu, H., Hai, B., Wang, L. and Qian, Y., *Nanoscale magnesium hydroxide and magnesium oxide powders: control over size, shape, and structure via hydrothermal synthesis.* Chemistry of Materials, 2001. **13**(2): p. 435-440.
- Yu, J.C., Xu, A., Zhang, L., Song, R. and Wu, L., Synthesis and characterization of porous magnesium hydroxide and oxide nanoplates. The Journal of Physical Chemistry B, 2004. **108**(1): p. 64-70.
- 20. Henrist, C., Mathieu, J.P., Vogels, C., Rulmont, A. and Cloots, R., *Morphological study of magnesium hydroxide nanoparticles precipitated in dilute aqueous solution.* Journal of Crystal Growth, 2003. **249**(1-2): p. 321-330.
- 21. Cudennec, Y., Lecerf, A. and Gérault, Y., *Synthesis of Cu(OH)*₂ and CuO by soft chemistry. European Journal of Solid State and Inorganic Chemistry, 1995. **32**(10): p. 1013-1022.
- 22. Cudennec, Y., Riou, A., Gérault, Y. and Lecerf, A., *Hypothèse cristallochimique des mécanismes de formation de CuO (s) et de Cu(OH)*₂ (s) à partir de Na₂Cu(OH)₄ (s). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIC-Chemistry, 2000. **3**(8): p. 661-666.
- 23. Liu, J., Huang, X., Li, Y., Li, Z., Chi, Q. and Li, G., *Formation of hierarchical CuO microcabbages as stable bionic superhydrophobic materials via a room-temperature solution-immersion process.* Solid State Sciences, 2008. **10**(11): p. 1568-1576.

- 24. Günter, J.R. and Oswald, H.R., *Topotactic electron induced and thermal decomposition of copper(II) hydroxide.* Journal of Applied Crystallography, 1969. **3**: p. 21-26.
- Liu, Y., Chu, Y., Li, M., Li, L. and Dong, L., *In situ synthesis and assembly of copper oxide nanocrystals on copper foil via a mild hydrothermal process*. Journal of Materials Chemistry, 2006. 16(2): p. 192-198.
- 26. Wen, X., Zhang, W. and Yang, S., *Synthesis of Cu(OH)*₂ and CuO nanoribbon arrays on a copper surface. Langmuir, 2003. **19**(14): p. 5898-5903.
- 27. Allmann, R., *The crystal structure of pyroaurite*. Acta Crystallographica Section B, 1968. **24**(7): p. 972-977.
- 28. Ingram, L. and Taylor, H.F.W., *The crystal structures of sjögrenite and pyroaurite*. Mineralogical Magazine and Journal of the Mineralogical Society, 1967. **36**(280): p. 465-479.
- 29. Harding, M.M., Kariuki, B.M., Cernik, R. and Cressey, G., *The structure of aurichalcite*, $(Cu, Zn)_5$ $(OH)_6(CO_3)_2$, determined from a microcrystal. Acta Crystallographica Section B, 1994. **50**(6): p. 673-676.
- 30. Allmann, R., Double layer structures with layer ions $[M(II)_{1-x}M(III)_x(OH)_2]^{x+}$ of brucite type. Chimia, 1970. **24**(3): p. 99.
- 31. Cavani, F., Trifiro, F. and Vaccari, A., *Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications.* Catalysis today, 1991. **11**(2): p. 173-301.
- 32. Drits, V.A. and Bookin, A.S., *Chapter 2 : Crystal Structure and X-ray Identification of Layered Double Hydroxides. In Layered Double Hydroxides: Present and Future*, ed. V. Rives. 2001, New York: Nova Science.
- 33. Miller, F.A. and Wilkins, C.H., *Infrared spectra and characteristic frequencies of inorganic ions*. Analytical Chemistry, 1952. **24**(8): p. 1253-1294.
- 34. Martens, R. and Freund, F., *The potential energy curve of the proton and the dissociation energy of the OH⁻ ion in Mg(OH)*₂. Physica Status Solidi (a), 1976. **37**(1): p. 97-104.
- 35. De Roy, A. and Besse, J.P., *Conductivite ionique de composes de type hydrotalcite.* Solid State Ionics, 1989. **35**(1-2): p. 35-43.
- 36. Yun, S.K. and Pinnavaia, T.J., *Water content and particle texture of synthetic hydrotalcite-like layered double hydroxides.* Chemistry of Materials, 1995. **7**(2): p. 348-354.
- 37. Pappalardo, R., *Absorption spectra of Cu²⁺ in different crystal coordinations*. Journal of Molecular Spectroscopy, 1961. **6**(554-574): p. 554.
- 38. Freeman, J.J. and Friedman, R.M., *Re-examination of the diffuse reflectance spectra of Cu/Al*₂O₃ *catalysts.* Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases, 1978. **74**(758-761): p. 758.
- 39. Saldarriaga Fernandez, I.C., Mei, H.C., Metzger, S., Grainger, D.W., Engelsman, A.F., Nejadnik, M.R. and Busscher, H.J., *In vitro and in vivo comparisons of staphylococcal biofilm formation on a cross-linked poly(ethylene glycol)-based polymer coating.* Acta Biomaterialia, 2010. **6**(3): p. 1119-24.
- 40. Tsuchida, R., *Absorption spectra of co-ordination compounds. I.* Bulletin of the Chemical Society of Japan, 1938. **13**(5): p. 388-400.
- 41. Behrens, M. and Girgsdies, F., *Structural Effects of Cu/Zn Substitution in the Malachite-Rosasite System* Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie, 2010. **636**(6): p. 919-927.
- 42. Süsse, P., *Verfeinerung der kristallstruktur des malachits, Cu*₂(*OH*)₂*CO*₃. Acta Crystallographica, 1967. **22**(1): p. 146-151.
- 43. Langford, J.I., Louër, D., Sonneveld, E.J. and Visser, J.W., *Applications of total pattern fitting to a study of crystallite size and strain in zinc oxide powder*. Powder Diffraction, 1986. **1**(3): p. 211-221.
- 44. Jobbágy, M. and Iyi, N., Interplay of charge density and relative humidity on the structure of nitrate layered double hydroxides. The Journal of Physical Chemistry C, 2010. **114**(42): p. 18153-18158.
- 45. Taviot-Guého, C., Leroux, F., Payen, C. and Besse, J.P., *Cationic ordering and second-staging structures in copper-chromium and zinc-chromium layered double hydroxides*. Applied Clay Science, 2005. **28**(1-4): p. 111-120.

- 46. Li, G., Boerio-Goates, J., Woodfield, B.F. and Li, L., *Evidence of linear lattice expansion and covalency enhancement in rutile TiO*₂ *nanocrystals*. Applied Physics Letters, 2004. **85**(11): p. 2059-2061.
- 47. Lu, L., Li, L., Wang, X. and Li, G., Understanding of the finite size effects on lattice vibrations and electronic transitions of nano α -Fe₂O₃. The Journal of Physical Chemistry B, 2005. **109**(36): p. 17151-17156.
- 48. Zhao, L., Sang, L., Chen, J., Ji, J. and Teng, H.H., *Aqueous Carbonation of Natural Brucite: Relevance to CO*₂ *Sequestration.* Environmental Science & Technology, 2010. **44**: p. 406-411.
- 49. Anthony, J.W., Bideaux, R.A., Bladh, K.W. and Nichols, M.C., *Handbook of Mineralogy. Volume V: Borates, Carbonates, Sulfates.* Vol. 5. 2003, Chantilly: Mineralogical Society of America.
- 50. Stephan, G.W. and MacGillavry, C.H., *The crystal structure of nesquehonite*, *MgCO*₃.3*H*₂O. Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry, 1972. **28**(4): p. 1031-1033.
- 51. Zigan, F., Joswig, W., Schuster, H.D. and Mason, S.A., *Verfeinerung der Struktur von Malachit,* $Cu_2(OH)_2CO_3$, durch Neutronenbeugung. Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 1977. **145**(1-6): p. 412-426.
- 52. Coleyshaw, E.E., Crump, G. and Griffith, W.P., *Vibrational spectra of the hydrated carbonate minerals ikaite, monohydrocalcite, lansfordite and nesquehonite.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2003. **59**(10): p. 2231-2239.
- 53. Huang, C.K. and Kerr, P.F., *Infrared study of the carbonate minerals.* American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials, 1960. **45**(3-4): p. 311-324.
- 54. Frost, R.L. and Palmer, S.J., *Infrared and infrared emission spectroscopy of nesquehonite Mg(OH)(HCO₃).2H₂O-implications for the formula of nesquehonite.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011. **78**(4): p. 1255-60.
- 55. Giester, G., Lengauer, C.L. and Rieck, B., *The crystal structure of nesquehonite, MgCO*₃· *3H*₂*O, from Lavrion, Greece.* Mineralogy and Petrology, 2000. **70**(3-4): p. 153-163.
- 56. Davies, P.J. and Bubela, B., *The Transformation Of Nesquehonite Into Hydromagnesite*. Chemical Geology, 1973. **12**: p. 289-300.
- 57. Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R. and Gedanken, A., *Microwave-Assisted Synthesis of Nanocrystalline MgO and Its Use as a Bacteriocide*. Advanced Functional Materials, 2005. **15**: p. 1708-1715.
- 58. Pan, X., Wang, Y., Chen, Z., Pan, D., Cheng, Y., Liu, Z., Lin, Z. and Guan, X., *Investigation of antibacterial activity and related mechanism of a series of nano-Mg(OH)*₂. ACS Applied Materials & Interfaces, 2013. 5(3): p. 1137-42.
- 59. Halbus, A.F., Horozov, T.S. and Paunov, V.N., *Controlling the Antimicrobial Action of Surface Modified Magnesium Hydroxide Nanoparticles.* Biomimetics, 2019. **4**(2): p. 41.
- 60. Vatsha, B., Tetyana, P., Shumbula, P.M., Ngila, J.C., Sikhwivhilu, L.M. and Moutloali, R.M., *Effects* of precipitation temperature on nanoparticle surface area and antibacterial behaviour of Mg(OH)₂ and MgO nanoparticles. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology, 2013. **4**(4): p. 365-373.
- 61. Wang, Y., Sha, L., Zhao, J., Li, Q., Zhu, Y. and Wang, N., *Antibacterial property of fabrics coated by magnesium-based brucites.* Applied Surface Science, 2017. **400**: p. 413-419.
- 62. Smithson, G.L. and Bakhshi, N.N., *The kinetics and mechanism of the hydration of magnesium oxide in a batch reactor.* The Canadian Journal of Chemical Engineering, 1969. **47**(6): p. 508-513.
- 63. Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. and Banin, E., Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress. Small, 2012. **8**(21): p. 3326-3337.
- 64. Brown, G.E., Henrich, V.E., Casey, W.H., Clark, D.L., Eggleston, C., Felmy, A., Goodman, D.W., Grätzel, M., Maciel, G. and McCarthy, M.I., *Metal oxide surfaces and their interactions with aqueous solutions and microbial organisms*. Chemical Reviews, 1999. **99**(1): p. 77-174.
- 65. Sawai, J., *Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay.* Journal of Applied Microbiology, 2004. **94**(4): p. 803-809.
- 66. Mendonca, A.F., Amoroso, T.L. and Knabel, S.J., *Destruction of gram-negative food-borne* pathogens by high pH involves disruption of the cytoplasmic membrane. Applied and Environmental Microbiology, 1994. **60**(11): p. 4009-4014.

- 67. Dong, C., Cairney, J., Sun, Q., Maddan, O.L., He, G. and Deng, Y., *Investigation of Mg(OH)*₂ *nanoparticles as an antibacterial agent*. Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(6): p. 2101-2109.
- 68. Pham, A.N., Xing, G., Miller, C.J. and Waite, T.D., *Fenton-like copper redox chemistry revisited: hydrogen peroxide and superoxide mediation of copper-catalyzed oxidant production.* Journal of Catalysis, 2013. **301**(54-64): p. 54.
- 69. Nguyen, T.T., Park, H.J., Kim, J.Y., Kim, H.E., Lee, H., Yoon, J. and Lee, C., *Microbial inactivation by cupric ion in combination with H*₂O₂: *role of reactive oxidants*. Environmental Science & Technology, 2013. **47**(23): p. 13661-13667.
- 70. Lide, D.R., *CRC Handbook of Chemistry and Physics.* 85th edition. Boca Raton, ed. C. Press. 2005.
- 71. Azam, A., Ahmed, A.S., Oves, M., Khan, M.S., Habib, S.S. and Memic, A., *Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study.* Int J Nanomedicine, 2012. **7**: p. 6003-6009.
- Fiedot, M., Maliszewska, I., Rac-Rumijowska, O., Suchorska-Wozniak, P., Lewinska, A. and Teterycz, H., *The Relationship between the Mechanism of Zinc Oxide Crystallization and Its Antimicrobial Properties for the Surface Modification of Surgical Meshes*. Materials, 2017. 10(4): p. 353.
- 73. Azam, A., Ahmed, A.S., Oves, M., Khan, M.S., Habib, S.S. and Memic, A., *Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study.* International Journal of Nanomedicine, 2012. **7**: p. 6003-6009.
- 74. Elkady, M.F., Shokry Hassan, H., Hafez, E.E. and Fouad, A., *Elkady, M. F., Shokry Hassan, H., Hafez, E. E., & Fouad, A. (2015). Construction of zinc oxide into different morphological structures to be utilized as antimicrobial agent against multidrug resistant bacteria. Bioinorganic chemistry and applications, 2015.* Bioinorganic Chemistry and Applications, 2015: p. 1-20.
- 75. Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, D., Noizet, G., Morliere, C. and Bolzinger, M.A., Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties. Int J Pharm, 2014. **460**(1-2): p. 92-100.
- 76. Nair, S., Sasidharan, A., Divya Rani, V.V., Menon, D., Manzoor, K. and Raina, S., Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. J Mater Sci Mater Med, 2009. 20(1): p. S235-41.
- 77. Feuillolay, C., Haddioui, L., Verelst, M., Furiga, A., Marchin, L. and Roques, C., *Antimicrobial activity of metal oxide microspheres: an innovative process for homogeneous incorporation into materials.* Journal of Applied Microbiology, 2018. **125**(1): p. 45-55.
- 78. Liu, G.Y., Essex, A., Buchanan, J.T., Datta, V., Hoffman, H.M., Bastian, J.F., Fierer, J. and Nizet, V., Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. The Journal of Experimental Medicine, 2005. **202**(2): p. 209-215.

Chapitre IV - Etude de la partie riche en cuivre du diagramme binaire MgO-CuO

1. Introduction	181
2. La solution solide Cu _{1-x} Mg _x O existe-t-elle?	182
2.1. Coprécipitation de précurseurs hydroxydes	182
2.1.1. Synthèse	182
2.1.2. Caractérisation structurale	183
2.1.3. Morphologie des particules	190
2.2. Les oxydes mixtes Cu _{1-x} Mg _x O	193
2.2.1 Préparation	193
2.2.2. Morphologie des particules	195
3. Le composé $Cu_5Mg_2O_7$	198
4. Etude de la stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis de l'hydrolyse et du CO_2 humide	201
4.1. Stabilité des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O et Mg ₂ Cu ₅ O ₇ vis-à-vis de l'eau	201
4.1.1. Stabilité des oxydes Cu₁-xMg _x O et Mg₂Cu₅O7 vis-à-vis de l'eau liquide	201
4.1.2. Stabilité des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O vis-à-vis de d'une atmosphère humide	202
4.2. Stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis du CO $_2$ humide	203
4.2.1. Stabilité des hydroxydes Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	203
4.2.2. Stabilité des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O et Mg ₂ Cu ₅ O ₇	204
4.3. La solution solide Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂ existe-t-elle ?	205
4.3.1. Synthèse des hydroxycarbonates Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂	206
4.3.2. Caractérisations	207
5. Evaluation et origine de l'activité bactéricide des oxydes et hydroxydes	214
5.1. Activité bactéricide des hydroxydes Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	214
5.1.1. Résultats	214
5.1.2. Origine de la bactéricidie des hydroxydes Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	216
5.2. Activité bactéricide des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O	220
5.2.1. Résultats	220
5.2.2 Origine de la bactéricidie des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O	223
5.3. Activité bactéricide des hydroxycarbonates Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂	226
6. Conclusion	229
Références du chapitre IV	230

1. Introduction

Dans la partie riche en cuivre (fraction molaire en cuivre $x_{Cu} > 0,5$) du diagramme binaire MgO-CuO (figure 1), seul un composé défini, MgCu₂O₃, est référencé $^{(1)}$. Ce composé existerait sous trois formes allotropiques notées α , β et γ . La structure de la forme basse température α est de symétrie orthorhombique (groupe d'espace Pmmn) et dérive de la structure type NaCl de l'oxyde de magnésium MgO La forme haute température notée β n'existerait qu'au-delà de 1005°C. Sa structure dériverait de celle de la forme α avec une maille possédant des paramètres a et c identiques à ceux de la forme α et un paramètre b quatre fois plus grand (sur-structure). La troisième forme cristalliserait dans une structure de symétrie monoclinique. Les structures des formes β et γ n'ont jusqu'à présent pas été déterminées. Les tentatives de synthèse de l'oxyde MgCu₂O₃ menées par Ohishi et coll. (2) à partir des proportions stœchiométriques Mg:Cu = 1:2 ne permettent pas son obtention sans trace d'oxyde MgO en fin de réaction. Ces auteurs ont mis en évidence l'existence d'une solution solide limitée $Mg_{1-y}Cu_{2+y}O_3$ (0,130 < y < 0,166) décalée en fraction molaire x_{Cu} par rapport à la composition idéale MgCu₂O₃. L'absence de solution solide Cu_{1-x}Mg_xO dans cette partie du diagramme binaire MgO-CuO est surprenante car dans la littérature, des solutions solides Cu_{1-x}M_xO existent pourtant avec d'autres cations métalliques divalents de taille inférieure ou supérieure aux ions magnésium. Il s'agit des solutions solides $Cu_{1-x}Co_xO$ (x \leq 0,05, compositions obtenues par décomposition de précurseurs hydroxydes à 1000°C ⁽³⁾) et Cu_{1-x}Zn_xO (x \leq 0,09, compositions obtenues par réaction en milieu NaOH/KOH fondu à 200°C⁽⁴⁾). La très faible différence de rayons ioniques entre les ions cuivriques et magnésium nous a incités à vérifier si la solution solide Cu_{1x}Mg_xO existait. Les résultats obtenus font l'objet de ce chapitre. La composition Mg₂Cu₅O₇ a également été étudiée en vue d'évaluer son activité bactéricide.



Figure 1 : Diagramme binaire MgO-CuO. Reproduit d'après⁽¹⁾

2. La solution solide Cu_{1-x}Mg_xO existe-t-elle?

Chaudhary *et coll.* ont montré qu'il était possible de synthétiser plusieurs compositions de la solution solide Cu_{1-x}Co_xO (x \leq 0,05) par décomposition à 1000°C de précurseurs de type hydroxydes obtenus par coprécipitation ⁽³⁾. Aucune information n'est donnée par ces auteurs sur la nature réelle du (des) hydroxyde(s) utilisé(s). S'agit-il d'un mélange de Cu(OH)₂ et Co(OH)₂ ou d'un composé mixte Cu_{1-x}Co_x(OH)₂? De plus, la calcination de ces hydroxydes ayant lieu à 1000°C, les grains des poudres obtenues sont probablement de taille micrométrique. Mais les travaux du chapitre 3 ont montré que des hydroxydes mixtes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ » existaient, et que leur décomposition à basse température (400°C) permettait l'obtention de particules de taille nanométrique des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO. Cette voie « hydroxydes » nous est apparu très pertinente car elle devait permettre à la fois de démontrer l'existence de la solution solide Cu_{1-x}Mg_xO tout en obtenant des particules de taille nanométrique des propriétés bactéricides est intéressant. Des descriptions des structures cristallines de la Tenorite CuO, de la Periclase MgO, de la Spertiniite Cu(OH)₂ et de la Brucite Mg(OH)₂ ont déjà été proposées au chapitre III. Ces descriptions laissent à penser qu'une substitution partielle des ions cuivriques par les ions Mg²⁺ est possible à la fois dans l'hydroxyde Cu(OH)₂ et dans l'oxyde CuO.

2.1. Coprécipitation de précurseurs hydroxydes

2.1.1. Synthèse

La coprécipitation des hydroxydes mixtes repose sur un protocole similaire à celui des hydroxydes $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ (0 $\leq x \leq 0,15$). Dans ce protocole utilisé précédemment, le "nitrate" de cuivre est préparé par attaque de l'oxyde de cuivre CuO dans l'acide nitrique HNO₃ concentré et à chaud (140°C). Le produit formé après évaporation est en fait un mélange de nitrate de cuivre $Cu(NO_3)_2$.xH₂O et de l'hydroxynitrate de cuivre $Cu_2NO_3(OH)_3$ appelé Rouaite ⁽⁵⁾. Dans le cas présent où les compositions visées sont très riches en cuivre, le seuil de solubilité de l'hydroxynitrate dans 50mL d'eau désionisée et en présence de nitrate de magnésium est largement dépassé. Une partie des ions cuivriques introduits dans le milieu est déjà précipitée avant même l'addition de la solution mixte NaOH/Na₂CO₃. En effet, la constante de solubilité de l'hydroxynitrate est faible dans un milieu contenant des ions nitrate (1,92.10⁻³⁶ à 25°C dans KNO₃ à 0,05 mol/L⁽⁶⁾). L'approche proposée ici est de réussir à préparer des hydroxydes mixtes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ en vue de les décomposer ensuite. Par conséquent, la quantité de sel de cuivre utilisée doit être totalement soluble dans 50 mL d'eau désionisée. Les chlorures de cuivre CuCl₂ anhydre et de magnésium MgCl₂.6H₂O ont donc été choisis pour cette raison. 50 mL d'une solution en cations métalliques de concentration 0,5 M sont préparés par dissolution d'un mélange des deux chlorures en proportions stœchiométriques. Placée dans une burette, cette solution est ensuite versée goutte à goutte dans 150 mL d'un mélange de solutions 0,6 M de NaOH et 0,1 M de Na₂CO₃ fraichement préparées. Le mélange est ensuite agité pendant quelques heures puis laissé à décanter pendant une nuit, avant d'être récupéré et lavé par centrifugations successives et filtration sur Büchner.

L'hydroxyde de cuivre Cu(OH)₂ n'a curieusement pas pu être obtenu à partir du chlorure CuCl₂. En effet, il a été observé systématiquement la formation de l'oxyde de cuivre CuO au cours de l'étape de décantation. Pour Cudennec *et coll.*, la formation de CuO a pour origine la dissolution des particules d'hydroxyde Cu(OH)₂ dans un milieu très basique (C_{NaOH} >13 M) conduisant à la formation du complexe Cu(OH)₄²⁻ soluble ^(7, 8). Ce complexe, de par sa géométrie plan carré, est considéré par ces auteurs comme la brique élémentaire de construction permettant la précipitation de l'oxyde CuO par une réaction de type déshydratation/condensation ⁽⁷⁾. L'utilisation du nitrate Cu(NO₃)₂.3H₂O commercial donne également les mêmes résultats. Nos résultats sont surprenants compte tenu de la faible concentration en soude utilisée (0,6 M). Par contre, l'utilisation du mélange de nitrate de cuivre Cu(NO₃)₂.xH₂O et de l'hydroxynitrate de cuivre Cu₂NO₃(OH)₃ obtenu par attaque acide de CuO a permis l'obtention de l'hydroxyde Cu(OH)₂. La teneur en magnésium contenue dans les échantillons a été vérifiée par analyse EDX de plusieurs particules (tableau 1).

Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	Ratio Mg/Cu théorique	Ratio Mg/Cu expérimental	
0	0	0	
0,05	0,053	0,055	
0,1	0,111	0,113	
0,15	0,176	0,181	
0,2	0,250	0,252	

Tableau 1 : Comparaison entre le rapport atomique Mg/Cu déduit des analyses EDX et théorique dans les hydroxydes "Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂"

2.1.2. Caractérisation structurale

La figure 2 montre les diffractogrammes de rayons X collectés sur les poudres préparées à partir de cette méthode. Tous ces diagrammes présentent les pics caractéristiques de la structure de Cu(OH)₂ Pour la composition x = 0,2, un pic supplémentaire de très faible intensité et correspondant à la réflexion (110) de Mg(OH)₂ est détecté vers 59° en 2 θ .



Figure 2 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ préparés par coprécipitation

Des spectres dans le moyen infrarouge ont été acquis sur ces échantillons (figure 3b). Deux bandes sont observées respectivement à 3560 et 3300 cm⁻¹. Elles sont caractéristiques de vibrations d'élongation de liaisons O-H. Dans la structure de Cu(OH)2, trois groupements hydroxyl sur cinq définissant la pyramide de coordinence des ions cuivriques [Cu(OH)₅]³⁻ sont partagés avec deux pyramides voisines ; les deux derniers groupements étant partagés avec une seule pyramide voisine (figure 3a). L'observation de deux bandes v_{OH} est donc consistante avec l'existence de deux types de groupements hydroxyl non équivalents (figure 3a). Pour la composition x = 0,20, une troisième bande de très faible intensité est observée vers 3650 cm⁻¹. Elle est attribuée à la vibration d'élongation des liaisons O-H dans l'hydroxyde Mg(OH)₂ présent en impureté sur le diagramme de diffraction des rayons X de la composition x = 0,20 (figure 2). Sur la figure 3b, deux bandes de faible intensité sont détectées à 1500 et 1400 cm⁻¹ pour les composés substitués Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂. Ces bandes peuvent être le signe de la présence de groupements nitrate ou carbonate dans les échantillons. Comme des chlorures et non des nitrates sont utilisés comme source de cuivre et magnésium dans le protocole de synthèse, ces bandes sont donc sans ambiguïté liées à la présence de groupements carbonate. Contrairement aux hydroxydes « Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂ », ces groupements carbonate ne peuvent être localisés dans l'espace interfeuillet car aucun site d'accueil n'est disponible. En effet, l'introduction de groupements carbonate dans cet espace implique que ce groupement partage deux de ses sommets "oxygène" avec un feuillet ou deux feuillets de pyramides (remplaçant ainsi deux groupements hydroxyl du ou des deux feuillets concernés). Les distances O-O les plus courtes correspondent soit aux longueurs des arêtes des bipyramides au sein d'un feuillet (≈2,95 Å) ou à la distance entre deux feuillets (≈2,89 Å). Or ces distances sont bien supérieures à la longueur d'une arête O-O d'un groupement CO_3^{2-} ($\approx 2,22$ Å dans la calcite CaCO₃). Une carbonatation de la surface des particules est vraisemblablement à l'origine de l'observation des bandes à 1500 et 1400 cm⁻¹. Comme ces bandes ne sont, pour ainsi dire, pas observées sur le spectre infrarouge du composé parent Cu(OH)₂, cette

carbonatation des particules semble favorisée par la présence d'ion magnésium dans les échantillons substitués Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂.

La présence d'une bande vers 1600 cm⁻¹ témoigne de la présence de molécules d'eau soit adsorbées à la surface des particules, soit insérées entre les feuillets. La bande vers 930 cm⁻¹ est attribuée à la déformation angulaire de la liaison M²⁺-OH (δ_{MOH}), avec un épaulement observé vers 846 cm⁻¹ caractéristique de la déformation hors du plan du groupement carbonate (δ_{CO3}). Les bandes situées dans la région 800-400 cm⁻¹ correspondent quant à elles aux vibrations d'élongation des liaisons M²⁺-O et de déformation angulaire des liaisons O-M²⁺-O, ainsi qu'aux librations des groupements hydroxyl HO⁻ (vers 650 cm⁻¹), en accord avec la littérature ⁽⁹⁾.



Figure 3 : (a) Vue en perspective d'un feuillet de pyramides à base carrée [Cu(OH)₅]³⁻ (b) Spectres infrarouge des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ sur la zone 4000 - 2800 cm⁻¹ et 2000 - 400 cm⁻¹

L'analyse thermogravimétrique couplée à une détection par spectrométrie de masse (ATG-SM) des gaz émis par l'échantillon lors de sa décomposition a été menée afin confirmer ces premières constatations (figure 4). En parallèle, un suivi de la décomposition de deux composés x = 0,1 et x = 0,2 est également réalisé par diffraction des rayons X en température (figure 5). D'après les analyses thermogravimétriques et par diffraction, les hydroxydes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ (avec x = 0, 0,05 et 0,1) se décomposent en une seule étape en formant les oxydes mixtes $Cu_{1-x}Mg_xO$ correspondant. Cette décomposition qui débute vers 160°C s'accompagne d'une libération de molécules d'eau comme l'atteste le pic intense sur le spectre de masse m/z = 18. Cette température de décomposé, une bosse sur le spectre de masse m/z = 18. Cette température de décomposé, une bosse sur le spectre de masse m/z = 18 est également visible avant 100°C. Une très faible quantité de molécules d'eau est donc libérée avant la décomposition de l'hydroxyde. Cette libération est associée à une déshydratation de l'échantillon. Il s'agit dans ce cas de molécules d'eau soit adsorbées à la surface des particules, soit insérées entre les feuillets de pyramides. D'après le suivi par diffraction en

température, cette déshydratation ne produit aucun déplacement de pics que ce soit vers les bas angles 2θ (expansion de la maille) ou les grands angles 2θ (contraction de la maille). De ce fait, il ne peut s'agir que d'une désorption de molécules d'eau adsorbées à la surface des particules.

Pour les hydroxydes x = 0, 0,05 et 0,1, une bosse est également observée sur le spectre de masse m/z = 44 lors de la décomposition de l'hydroxyde vers 160°C (figure 5a, 5b et 5c). Elle est attribuée à une très faible quantité de molécules de dioxyde de carbone libérées lors de la décomposition des groupements carbonate présents en surface des particules. Ces résultats sont consistants avec les informations tirées des spectres infrarouge. Le diffractogramme collecté après la synthèse de l'hydroxyde x = 0,2 (figure 2) présentait, en plus des pics caractéristiques d'une phase de structure type Cu(OH)₂, un seul pic attribué à la présence en impureté de Mg(OH)₂. D'après le chapitre 3, l'hydroxyde Mg(OH)₂ commence à se décomposer au-delà de 300° C. Le thermogramme de l'hydroxyde x = 0,2 présente en plus de la perte associée à sa décomposition entre 150 et 250°C, une deuxième perte de masse entre 250 et 350°C. Cette perte est, de ce fait, attribuée à la décomposition de Mg(OH)₂ présent en impureté. Il est surprenant de constater que l'hydroxyde x = 0,15 (figure 5d) a un thermogramme comparable à celui de l'hydroxyde x = 0,2 (figure 5e) bien qu'aucune trace de Mg(OH)₂ n'ait été détectée sur le diffractogramme collecté après sa synthèse (figure 2). Cette observation permet de conclure que l'étendue de la solution solide Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ est limitée à x = 0,1. Les diffractogrammes collectés au-delà de 200°C sur les deux composés x = 0,1 et x = 0,2 révèlent que les oxydes mixtes formés $Cu_{1-x}Mg_xO$ restent stables jusqu'à 525°C. Au-delà de cette température, un pic émerge progressivement du fond continu aux alentours de 43° en 2 θ . Ce pic est attribué à l'oxyde MgO. Si l'observation de MgO sur les diffractogrammes du composé x = 0,2 a pour origine principale la décomposition de Mg(OH)₂ présent en impureté, ce n'est en revanche pas le cas pour le composé x = 0,1. Seule une exsolution du magnésium de l'oxyde mixte $Cu_{0.9}Mg_{0.1}O$ peut expliquer cette apparition inattendue d'oxyde MgO. Ces oxydes Cu_{1-x}Mg_xO sont donc métastables.

Au delà de 700°C, les thermogrammes de l'ensemble des échantillons présentent une perte de masse légère et continue. Elle est attribuée à une réduction partielle de l'ion cuivrique en ions cuivreux sous atmosphère d'argon. Le tableau 2 rassemble la perte de masse totale mesurée entre 25 et 700°C et la perte de masse théorique liée à la seule décomposition des hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂. La différence entre ces deux pertes de masse correspond à la perte de masse provoquée par la désorption des molécules d'eau et la décarbonatation de la surface des particules. Tableau 2 : Pertes de masse théoriques et expérimentales des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ préparés par la voie « hydroxydes ». Les pertes entre 30°C et 700°C liées au départ d'eau et de CO₂ ont pu être déterminées pour les compositions x = 0, 0,05 et 0,1 (pas de seconde phase Mg(OH)₂)

"C:: M= (OU) "	Perte de masse	Perte de masse	Pertes liées au départ	
Cu _{1-x} ivig _x (OH) ₂	théorique (%)	expérimentale (%)	d'eau et de CO ₂ (%)	
x = 0	18,5	19,3	0,8	
x = 0,05	18,8	21,2	2,4	
x = 0,10	19,2	22,1	2,7	
x = 0,15	19,7	23,4	-	
x = 0,20	20,0	26,0	-	



Figure 4 : (a-e) Résultats des ATG-SM réalisées sous argon sur les hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ préparés par coprécipitation



Figure 5 : Evolution avec la température du diffractogramme des hydroxydes (a) Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ et (b) Cu_{0.8}Mg_{0.2}(OH)₂

Dans cette étude, il a été clairement montré que les oxydes mixtes ne sont stables qu'en dessous de 525°C. Leur obtention est conditionnée par la combinaison au sein d'un seul précurseur Cu₁. $_xMg_x(OH)_2$ des deux cations métalliques Cu²⁺ et Mg²⁺ et par l'utilisation d'une température de calcination basse pour la décomposition de ce précurseur. La température idéale de ce point de vue est 400°C. Dans le diagramme de phase établi par Parantham *et coll*. ⁽¹⁾, aucune solution solide Cu₁. $_xMg_xO$ n'est mentionnée dans la gamme de composition $0 \le x \le 0,1$ car ces auteurs ont réalisé leur synthèse en décomposant un mélange de nitrates de magnésium et de cuivre à 600°C, température située au dessus de la température d'exsolution du magnésium dans ces oxydes (aux environs de 525°C).

Les affinements par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽¹⁴⁾ n'ont pas permis de rendre compte de l'allure du diffractogramme de manière satisfaisante pour les angles 20 supérieurs à 50°. Les diffractogrammes présentés sur la figure 2 ont donc été affinés par la méthode de Le Bail sur la plage 20 comprise entre 10° et 100° (118 réflexions considérées). Le modèle structural de départ utilisé est celui référencé dans la littérature ⁽¹¹⁾. Le résultat de l'affinement du diffractogramme de la composition x = 0,10, en limite de solution solide d'après les analyses précédentes, est présenté en figure 6 à titre d'exemple.



Figure 6 : Résultat de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme de la composition Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂

La figure 7 présente l'évolution des paramètres de maille avec le taux de substitution. D'après Shannon ⁽¹²⁾, le rayon ionique de l'ion Mg^{2+} en coordinence [5] ou [6] (suivant le mode de description structurale utilisé) est inférieur à celui de l'ion Cu^{2+} pour ces mêmes coordinences. Il est attendu une diminution linéaire de l'ensemble des paramètres de maille a, b et c. Si le paramètre de maille c décroît de manière pratiquement linéaire dans le domaine de composition $0 \le x \le 0,1$, le paramètre a en revanche augmente linéairement avec x. Le paramètre de maille b reste quasi invariant jusqu'à x = 0,10. Au-delà de cette composition x = 0,10, les paramètres a, b et c s'écartent de ces évolutions "linéaires". Ceci est en accord avec le caractère biphasique des compositions x = 0,15 et x = 0,20 et confirme que la solution solide est limitée en composition à x = 0,10.



Figure 7 : Evolutions des paramètres et du volume de maille en fonction de la teneur x en magnésium dans les hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂

Dans la structure de la Brucite Mg(OH)₂ déterminée par Desgranges *et coll.* ⁽¹³⁾, les 6 distances Mg-OH au sein de l'octaèdre de coordinence des ions magnésium $[Mg(OH)_6]^{4-}$ sont égales à 2,097 Å. Ces

distances Mg-OH dans Mg(OH)₂ sont supérieures aux distances équatoriales Cu-OH dans Cu(OH)₂ (1,96 Å en moyenne). Ceci peut apparaître surprenant car l'ion magnésium est plus petit que l'ion Cu²⁺. Cette anomalie est une conséquence de l'effet Jahn-Teller de l'ion Cu²⁺. L'introduction des ions magnésium dans la structure de Cu(OH)₂ diminue l'effet Jahn-Teller moyen des ions Cu²⁺. La contraction du paramètre de maille c avec x serait probablement liée à un raccourcissement des distances axiales M-OH (M = Cu/Mg) car elles sont orientées suivant cet axe (figure 8). Le plan carré, formé par les 4 liaisons équatoriales M-O_{éq}H, est parallèle au plan (a,b) (figure 8). L'augmentation du paramètre de maille a et l'invariance du paramètre b seraient le reflet de déplacements des groupements hydroxyl dans le plan (a,b) conduisant à des élongations des liaisons M-O_{éq}H (M = Cu/Mg) accompagnées peut-être de fermeture et d'ouverture d'angles O_{éq}-M-O_{éq} avec x.



Figure 8 : Déplacements possibles des atomes d'oxygène de l'octaèdre de coordinence [Cu(OH)₆]⁴⁻ induits par la substitution et à l'origine des évolutions de paramètres de maille observées avec x

2.1.3. Morphologie des particules

La taille des particules ainsi que leur degré d'agglomération conditionnant en partie l'activité bactéricide, une étude morphologique a été réalisée par diffraction des rayons X, microscopie électronique en transmission et adsorption de diazote (BET). Les clichés de microscopie de la figure 9 montrent que les particules se présentent toutes sous la forme de bâtonnets d'une quinzaine de nanomètres de diamètre et de plusieurs centaines de nanomètres de longueur. Pour la composition x = 0,10, un cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée de plusieurs bâtonnets a été pris (figure 9). Les six anneaux de diffraction présents sur ce cliché ont des distances inter-réticulaires comparables à celles des six premières raies du diffractogramme de rayons X du composé $Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)_2$ (figure 9f). La surface spécifique des hydroxydes substitués $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ déterminée par adsorption de diazote (BET) est aux alentours de 75 m²/g. Cette valeur est nettement supérieure à celle de 17 m²/g obtenue pour $Cu(OH)_2$. Cette nette différence peut provenir de la nature des précurseurs utilisés, qui ne sont pas les mêmes pour $Cu(OH)_2$ et les hydroxydes substitués $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$.



Figure 9 : (a-e) Clichés de microscopie électronique en transmission des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ accompagnés des valeurs des surfaces spécifiques déterminées par adsorption de diazote (BET). (f) Cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée de l'hydroxyde de formulation Cu_{0,90}Mg_{0,10}(OH)₂

Comme il s'agit de bâtonnets, la taille des grains ne peut pas être estimée à partir de la surface spécifique en faisant comme hypothèse que ces grains sont des sphères. Ces grains ont donc été assimilés à des cylindres de rayon *r* et de longueur *l*. La surface et le volume d'un cylindre répondant à ce critère sont respectivement de :

$$S_{cylindre} = 2\pi (r^2 + rl)$$

 $V_{cylindre} = \pi r^2 l$

La surface spécifique S_{BET} d'une poudre est définie par :

$$S_{BET} = \frac{S_{poudre}}{m_{poudre}} = \frac{n \times S_{cylindre}}{n \times m_{cylindre}}$$

Avec n le nombre de cylindres et $m_{cylindre}$, la masse d'un cylindre, égale au volume du cylindre multiplié par la masse volumique apparente ρ_{app} . Dans le cas d'un empilement compact de cylindres :

$$\rho_{app} = 0,9069 \times \rho_{compos \acute{e}}$$

En effet, il s'agit de l'extension à trois dimensions du modèle d'arrangement compact de cercles dans un plan en deux dimensions. On en déduit alors :

$$S_{BET} = \frac{2,205(r+l)}{rl\rho_{compos\ \acute{e}}}$$

D'après les clichés MET, les bâtonnets ont une longueur au moins 10 fois supérieure à leur diamètre. On peut alors approximer l'expression de la surface spécifique selon :

$$S_{BET} = \frac{2,205 \times (r+l)}{r l \rho_{compos \acute{e}}} \approx \frac{2,205 \times l}{r l \rho_{compos \acute{e}}} = \frac{2,205}{r \rho_{compos \acute{e}}}$$

Bien que cette expression ne permette pas de déterminer la longueur des bâtonnets, on peut tout de même estimer leur rayon r (et donc leur diamètre). En parallèle, la taille des domaines de diffraction cohérente a été déterminée à partir de la largeur des pics des diffractogrammes enregistrés en choisissant le modèle isotrope du programme FULLPROF ⁽¹⁴⁾. Le tableau 3 suivant rassemble le diamètre moyen des bâtonnets estimé par microscopie ($Ø_{MET}$), celui calculé à partir de la surface spécifique ($Ø_{BET}$) et la taille des domaines de diffraction cohérente ($Ø_{DRX}$). Compte tenu du mode de synthèse employé (coprécipitation), les micro-contraintes n'ont pas été considérées. On remarque que pour les composés substitués, le diamètre observé par microscopie et le diamètre calculé à partir des mesures de surfaces spécifique sont concordants, sauf pour Cu(OH)₂. Cela est certainement le reflet d'une très forte agglomération des particules entre elles, diminuant ainsi la surface spécifique de la poudre. La taille des domaines de diffraction cohérente est également nettement plus petite que les diamètres des particules mesurés par microscopie ou calculés à partir des mesures de surfaces spécifique sont concordants, sont en fait un assemblage d'au moins deux à quatre cristallites.

Tableau 3 : Détermination du diamètre des bâtonnets par microscopie électronique en transmission (MET) et adsorption de diazote (BET) pour les trois compositions Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂. Estimation de la taille des domaines de diffraction cohérente par diffraction des rayons X (DRX)

Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂	Ø _{MET} (nm)	Ø _{BET} (nm)	Ø _{DRX} (nm)
x = 0	17 ± 6	65,8	13,3
x = 0,05	19 ± 4	14,6	8,3
x = 0,10	15 ± 6	14,4	7,2

Malgré l'instabilité des hydroxydes sous le faisceau électronique, un cliché de microscopie haute résolution a pu être pris sur la composition x = 0,05, représentative de la solution solide. La transformée de Fourier (FFT) de l'image révèle un anneau partiel et une tâche de diffraction relatifs à la réflexion (111) (distance réticulaire d = 2,50 Å). La présence d'un anneau et non de deux points symétriques signifie que tous les plans (111) qui diffractent le faisceau présentent des orientations différentes. Ceci est confirmé par la présence de plusieurs séries de franges de diffraction parallèles, orientées différemment (matérialisées en rouge) sur le cliché de microscopie (figure 10). Cela

confirme ainsi l'hypothèse que les bâtonnets sont, en réalité, un assemblage de cristallites orientés différemment les uns par rapport aux autres.



Figure 10 : Cliché de microscopie électronique haute résolution de l'hydroxyde Cu_{0,95}Mg_{0,05}(OH)₂. En insert, transformée de Fourier de l'image montrant l'anneau de diffraction relatifs aux plans (111)

2.2. Les oxydes mixtes Cu_{1-x}Mg_xO

2.2.1 Préparation

Les hydroxydes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ précédemment synthétisés ont donc été calcinés à 400°C sous air pendant 12 heures afin d'obtenir les oxydes mixtes $Cu_{1-x}Mg_xO$. Les diagrammes de diffraction des échantillons montrent que ces oxydes mixtes adoptent tous la structure du composé parent CuO Tenorite (figure 11).



Figure 11 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO préparés par calcination à 400°C des précurseurs hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂

Les affinements par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽¹⁴⁾ n'ont pas permis de rendre compte de l'allure du diffractogramme de manière satisfaisante. Par conséquent, seuls des affinements des diffractogrammes de rayons X par la méthode de Le Bail avec le même programme sur la plage 20 comprise entre 20 et 126° (131 réflexions considérées) ont été réalisés. La figure 12 présente les paramètres de maille extraits de ces affinements. Cette difficulté est peut être liée à l'existence au sein d'un bâtonnet de plans de macles entre les domaines de diffraction cohérente qui le composent. Une augmentation du paramètre a et l'angle β avec le taux de substitution est remarquée, tandis que le paramètres de maille n'évoluent pratiquement plus à partir de la composition x = 0,10, ce qui signifie que la limite de solubilité du magnésium dans la structure CuO est vraisemblablement atteinte. D'après Shannon ⁽¹²⁾, le rayon ionique de l'ion Mg²⁺ est plus petit que celui de l'ion Cu²⁺ en coordinance [6]. Une diminution des paramètres de mailles était donc attendue. Si c'est bien le cas pour les paramètres de maille b, l'augmentation du paramètre de maille a et l'invariance du paramètre c avec x sont surprenantes.



Figure 12 : Evolution des paramètres de maille avec le taux de substitution dans la solution solide Cu_{1-x}Mg_xO extraits des affinements par la méthode de Le Bail des diagrammes de rayons X (en bleu). En vert : affinement par la méthode de Le Bail du composé Cu_{0.8}Mg_{0.2}O à partir de son diagramme de diffraction des neutrons

Aucune phase secondaire de type MgO n'a été détectée par diffraction des rayons X sur les compostions x = 0,15 et x = 0,20 bien que la présence de Mg(OH)₂ en impureté soit suspectée (x=0,15) ou avérée (x = 0,2). Un diagramme de diffraction des neutrons a été collecté sur l'échantillon de composition x = 0,20 (figure 13). Sur ce diagramme, un pic isolé à 33,9 en 2 θ apparaît, ainsi que

quelques épaulements au niveau de pics appartenant à la phase de structure type CuO. Ce pic isolé correspond à la réflexion (200) de l'oxyde MgO Periclase (figure 13). Un affinement par la méthode de Le Bail du diagramme de diffraction des neutrons a été opéré en considérant deux phases : une de structure type CuO et la seconde correspondant à MgO. L'affinement est plutôt de bonne qualité, compte tenu de la petite taille des particules. Pour cet échantillon de composition x = 0,20, les paramètres de maille de la phase de type CuO extraits de cet affinement (points en vert sur la figure 12 précédente) sont très proches en valeur de ceux obtenus par l'affinement de son diagramme de diffraction des rayons X par la même méthode. Ces résultats confirment bien que la solution solide Cu_{1-x}Mg_xO est limitée à x = 0,10.



Figure 13 : Affinement par la méthode de Le Bail du diagramme de diffraction des neutrons collecté à température ambiante du composé Cu_{0,8}Mg_{0,2}O

2.2.2. Morphologie des particules

Comme précédemment pour les hydroxydes mixtes dont dérivent les oxydes $Cu_{1,x}Mg_xO$, une étude morphologique a été réalisée par diffraction des rayons X, microscopie électronique en transmission et adsorption de diazote (BET). Les clichés de microscopie électronique en transmission ont été pris uniquement sur les oxydes monophasés $Cu_{1,x}Mg_xO$ (x=0, 0,05 et 0,1) (figure 14). Les particules sont sphériques et agglomérées entre elles pour la composition x = 0. L'incorporation de magnésium induit une réduction significative de la taille et un changement de la forme des particules. Pour la composition x = 0,10, les particules se présentent sous la forme de bâtonnets. A partir des mesures de surface spécifique, une taille des particules a été estimée, en tenant compte de la morphologie des particules (sphériques pour x = 0 et 0,05, cylindriques pour x = 0,10). Pour la composition x = 0, le diamètre des particules calculé à partir de la surface spécifique mesurée par adsorption de diazote (BET) est deux fois plus important que celui mesuré sur le cliché de microscopie. Cet écart est probablement dû à la forte agglomération des particules. Cette agglomération se manifeste sur le cliché de microscopie par une variation du contraste à l'intérieur d'un même grain avec quelque fois des zones quasi noires dont les contours sont très nets (pratiquement opaques aux électrons

transmis). De par cette agglomération, la surface offerte à l'adsorption de diazote est mesurée plus faible conduisant de ce fait à une surestimation du diamètre des particules. Pour les deux autres compositions x = 0,05 et 0,1 en revanche, un meilleur accord est trouvé entre les diamètres mesurés par microscopie et calculés à partir des valeurs de surfaces spécifiques (tableau 4), signe d'une moins forte agglomération des particules.



Figure 14 : (a-c) Clichés de microscopie électronique en transmission des oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$ monophasés (x \leq 0,10) accompagnés des valeurs des surfaces spécifiques déterminées par adsorption de diazote (BET). (d) Cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée de l'oxyde de formulation $Cu_{0.9}Mg_{0.1}O$

La taille des domaines de diffraction cohérente a également été déterminée à partir de la largeur des pics des diffractogrammes de rayons X extraite des affinements par la méthode de Le Bail. Pour ces affinements, l'absence d'anisotropie de largeur de raies laisse penser que la taille des particules est isotrope dans les trois directions de l'espace. Le modèle isotrope du programme FULLPROF ⁽¹⁴⁾ a donc été choisi. Comme pour les diamètres déterminés par MET ou adsorption de diazote, la taille des domaines de diffraction cohérente diminue avec le taux de substitution x (tableau 4). On remarque aussi que la taille des domaines de diffraction cohérente est presque deux fois plus petite que celles déterminées par les deux techniques précédentes. Un cliché de microscopie haute résolution d'un amas de bâtonnets de composition x = 0,10 a été pris (figure 15). La transformée de Fourier de la zone délimitée par un carré noir sur ce cliché présente plusieurs taches de diffraction situées à des distances réticulaires correspondant à des séries de franges relatives à des plans (002) ou (-111) (en vert, d = 2,52 Å), (111) ou (200) (en bleu, d = 2,32 Å) et (-202) (en rouge, d = 1,86 Å). Chaque série de franges correspond à un domaine de diffraction cohérente dont la taille (environ 10 nm) est

légèrement supérieure à celle déterminée par diffraction des rayons X (7 nm, tableau 4). Par conséquent, les particules des oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$ sont un assemblage de plusieurs cristallites. Le caractère poly-domaines des particules d'hydroxydes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ est donc préservé lors de leur décomposition thermique en oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$.

Tableau 4 : Détermination du diamètre des bâtonnets par microscopie électronique en transmission (MET) et adsorption de diazote (BET) pour les trois compositions Cu_{1-x}Mg_xO. Estimation de la taille des domaines de diffraction cohérente par diffraction des rayons X (DRX)

Cu _{1-x} Mg _x O	Ø _{MET} (nm)	Ø _{BET} (nm)	Ø _{DRX} (nm)
x = 0	52 ± 15	116	20,0
x = 0,05	18 ± 4	18,6	9,9
x = 0,10	11 ± 2	13,2	7,0



Figure 15 : Clichés de microscopie électronique haute résolution de l'oxyde de formulation Cu_{0,90}Mg_{0,10}(OH)₂. Transformée de Fourier de la zone délimitée par un carré noir montrant les tâches de diffraction relatives aux plans (002) ou (-111) (en vert), (111) ou (200) (en bleu) et (-202) (en rouge)

3. Le composé Cu₅Mg₂O₇

Les composés de la solution solide α -Mg_{1-x}Cu_{2+x}O₃ adoptent tous une structure dérivant de la structure type NaCl de l'oxyde de magnésium MgO. La figure 16 présente une comparaison de la structure de l'oxyde MgO avec celle d'un oxyde de composition simple/idéalisée α -MgCu₂O₃. Le remplacement de $\frac{3}{2}$ des ions Mg²⁺ par des ions cuivriques Cu²⁺ dans la structure de MgO induit une mise en ordre de ces cations très particulière dans la structure de α -MgCu₂O₃. A cet ordre s'ajoute une déformation [4+2] des octaèdres de coordinence des ions cuivriques due à l'effet Jahn-Teller. La conséquence de cette déformation des octaèdres est le passage d'une symétrie cubique pour MgO à orthorhombique pour α -MgCu₂O₃ (groupe d'espace *Pmmn* n°59) ⁽²⁾. Dans les structures de MgO et α -MgCu₂O₃, chaque octaèdre partage l'ensemble de ses arêtes O-O avec les octaèdres voisins. Par rapport à la composition idéalisée α -MgCu₂O₃, les composés α -Mg_{1-x}Cu_{2+x}O₃ sont déficitaires en ions magnésium. Ce déficit implique que le site, occupé entièrement par ces ions dans la structure idéalisée de α -MgCu₂O₃ (en orange sur la figure 16), est statistiquement occupé par l'excès d'ions cuivriques (x) introduit et le reste (1-x) d'ions magnésium présents dans les composés α -Mg_{1-x}Cu_{2+x}O₃.



Figure 16 : Comparaison de la structure cristalline idéalisée en composition de l'oxyde α -MgCu₂O₃ avec celle de MgO. Vues des plans infinis d'octaèdres aux côtes x = $\frac{1}{2}$ et x = $\frac{3}{2}$

Dans cette thèse, seule la composition centrale $Mg_2Cu_5O_7$ (x = 0,143) de la solution solide a été étudiée. Ce composé a été synthétisé par décomposition thermique d'hydroxydes, selon une technique similaire à celle utilisée pour préparer les oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$. Un mélange correspondant à la stœchiométrie du composé visé d'oxyde de cuivre et nitrate de magnésium est dissous dans de l'acide nitrique concentré (68%) puis évaporé à 140°C. Une solution 0,5 M est ensuite préparée par dissolution dans 50 mL d'eau distillée du solide bleu correspondant au mélange de nitrates précédemment obtenu. Placée dans une burette, cette solution est ensuite versée goutte à goutte dans 150 mL d'un mélange de solutions 0,6 M NaOH et 0,1 M Na₂CO₃ fraichement préparées. Le précipité formé est lavé plusieurs fois à l'eau distillée et centrifugé avant d'être récupéré par filtration. La décomposition du mélange d'hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ et Mg(OH)₂ est réalisée à 500°C pendant 12h. Le mélange d'oxydes Cu_{1-x}Mg_xO et MgO obtenu est ensuite broyé. D'après la littérature, la phase désirée α -Mg₂Cu₅O₇ commence à se former au-delà de 900°C puis se transforme vers 1005°C en forme β -Mg₂Cu₅O₇ avant de se décomposer au delà de 1050°C. Trois températures de recuit ont donc été testées : 950, 975 et 1000°C. La figure 17 présente les diffractogrammes de rayons X du composé après ces différentes calcinations. La phase MgO est présente en quantité ultra-minoritaire quelle que soit la température de calcination employée. Après le chauffage à 1000°C, une transformation partielle et irréversible de la forme α -Mg₂Cu₅O₇ en forme β -Mg₂Cu₅O₇



Figure 17 : Diffractogrammes de rayons X du composé "Mg₂Cu₅O₇" après sa calcination à 950, 975 et 1000°C

Par conséquent, la température "idéale" retenue a été 975°C car elle permet de n'obtenir qu'une des deux formes allotropiques (la forme α) avec le minimum d'oxyde MgO en impureté. Le diagramme de rayons X collecté sur ce composé a été affiné par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽¹⁴⁾, en utilisant comme modèle structural de départ celui référencé dans la littérature ⁽²⁾. Les paramètres de maille ainsi que les paramètres atomiques déterminés sont plutôt en accord avec ceux de la littérature (tableau 5). Toutefois, des écarts entre intensités calculées et observées sont visibles pour les pics les plus intenses du diagramme, expliquant les coefficients de reliabilité plus élevés que de coutume. D'après les résultats de l'affinement, le site 4e n'est probablement pas occupé par le magnésium, aux erreurs d'incertitudes près. Un deuxième affinement (appelé affinement n°2 par la suite) qui considère que seul le site 2b est occupé par le magnésium a été réalisé et conduit à des résultats similaires. L'estimation de la stœchiométrie réelle du composé en affinant les taux d'occupation du cuivre et du magnésium sur le site 2b en gardant le site 4e occupé à

100% par le cuivre s'est avérée infructueuse. En effet, la formulation du composé est $Mg_{2,002\pm0,006}Cu_{4,998\pm0,006}O_7$ est identique aux erreurs d'incertitudes près à celle de la stœchiométrie visée ($Mg_2Cu_5O_7$). La figure 18 suivante présente l'affinement n°2 du diffractogramme (magnésium sur le site 2b uniquement).

	•	Affinement n°1		a(Å)	b(Å)	c(Å)		
		Littérature ⁽²⁾		3,9906(1)	9,3482(3)	3,1910(1)		
		Ce travail		3,9928(3)	9,3455(3)	3,1897(3)		
	Site	e x	Ŋ	1	Z	Taux	d'occupation	B _{iso} (Ų)
Cu1	4e	1⁄4	0,08	64(3)	0,1790(6)	(0,998(6)	0,78(6)
Mg1	4e	1⁄4	0,086	54(3)	0,1790(6)	(0,002(6)	0,78(6)
Cu2	2b	1⁄4	3	4	0,367(2)	(0,146(6)	0,78(6)
Mg2	2b	1⁄4	3	4	0,367(2)	(D,853(6)	0,78(6)
01	4e	1⁄4	0,593	32(3)	0,8722(2)		0,5	0,6(2)
02	2a	1⁄4	3	4	0,5486(3)		0,25	0,6(2)
		Affin	emen	t n°2	a(Å)	b(Å)	c(Å)	
		C	e trava	ail	3,9928(3)	9,3455(3)	3,1897(3)	
	_		Site	х	у	Z	B _{iso} (Ų)	-
		Cu1	4e	1⁄4	0,0865(3)	0,1790(6)	0,79(6)	-
		Cu2	2b	1⁄4	3⁄4	0,367(2)	0,79(6)	
		Mg2	2b	1⁄4	3⁄4	0,367(2)	0,79(6)	
		01	4e	1⁄4	0,5932(3)	0,8722(2)	0,6(2)	
		02	2a	1⁄4	1⁄4	0,5486(3)	0,6(2)	
R _p =	: 12,3	8%			T _{amb}		α-Mq_C	u_O_
R _{wp}	= 12,	5%			CuKα ₁₊₂		• Obs	5 7
R_	³⁹ – 5	;,55% = 2,17%	6			-	Calc	
Expected _,, vo		i i	-	Obs-Ca	lc			
							Bragg P	osition
		1	.1					
	I	1	11					
						· ·		
15		25	•	35	45	55	65	75
					2 θ (°)	1		

Tableau 5 : Paramètres de maille, facteurs de reliabilité et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de rayons X du composé α-Mg₂Cu₅O₇ (groupe d'espace *Pmmn*, n°59)

Figure 18 : Résultat de l'affinement n°2 du diffractogramme de rayons X de l'oxyde Mg₂Cu₅O₇

4. Etude de la stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis de l'hydrolyse et du CO₂ humide

4.1. Stabilité des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO et Mg₂Cu₅O₇ vis-à-vis de l'eau

4.1.1. Stabilité des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO et Mg₂Cu₅O₇ vis-à-vis de l'eau liquide

Dans le chapitre 3, la présence de cuivre permettait d'accroitre nettement la stabilité de l'oxyde parent MgO-micro vis-à-vis de l'hydrolyse. La question est donc de savoir si la présence de magnésium dans les composés Cu_{1-x}Mg_xO a un impact sur leur stabilité vis-à-vis de l'eau, Ceci n'est pas sans répercutions sur l'activité bactéricide de ces composés puisqu'une une couche d'hydroxyde mixte ou d'un mélange d'hydroxydes pourrait ainsi se former à la surface des particules d'oxydes.

Dans cette étude, des poudres de CuO et Cu_{0,9}Mg_{0,1}O ont été immergées dans l'eau pendant 16 heures puis séchées à température ambiante. La détection d'une hydrolyse éventuelle est ensuite effectuée en analysant ces poudres séchées par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. Après immersion, aucune bande de vibration d'élongation de liaisons O-H (v_{OH}) n'est détectée sur les spectres infrarouge des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO dans la plage de nombre d'onde 2500-4000 cm⁻¹ (figure 19a). Aucun produit d'hydrolyse n'est également apparu sur les diffractogrammes de l'oxyde Cu_{0.9}Mg_{0.1}O (figure 19b).



Figure 19 : Diffractogrammes de rayons X et spectres infrarouge des oxydes CuO (a) et Cu_{0,9}Mg_{0,1}O (b) après leur immersion dans l'eau pendant 16 heures à température ambiante
Comme présenté au chapitre 3, l'oxyde de magnésium MgO s'hydrolysait rapidement, même lorsque les particules étaient de taille micrométrique. La question est de savoir si l'oxyde mixte $Mg_2Cu_5O_7$, dont les particules sont vraisemblablement de taille micrométrique, s'hydrolyse au contact de l'eau. Ce composé a donc été immergé dans l'eau pendant 16 heures. La détection d'une éventuelle hydrolyse a été réalisée par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. Les résultats sont présentés sur la figure 20 suivante. Aucun produit d'hydrolyse n'a été détecté, ce qui signifie que ce composé est stable dans l'eau dans les conditions d'études, contrairement à MgO (micro).



Figure 20 : Diffractogrammes de rayons X et spectre infrarouge de l'oxyde Mg₂Cu₅O₇ après immersion dans l'eau pendant 16 heures à température ambiante

4.1.2. Stabilité des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO vis-à-vis de d'une atmosphère humide

Les oxydes $Mg_{1-x}Cu_xO$ s'hydrolysent et se carbonatent également au contact d'une atmosphère humide contrôlée *via* une cinétique rapide surtout pour les oxydes « nano ». La stabilité des oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$ préparés par décomposition de précurseurs hydroxydes dans le temps doit être évaluée. La stabilité de CuO et de $Cu_{0,8}Mg_{0,2}O$ vis-à-vis d'une atmosphère humide contrôlée (\approx 80% d'humidité relative, CO_2 atmosphérique) a été suivie pendant plusieurs semaines par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. La figure 21 présente les diffractogrammes de rayons X et les spectres infrarouge des deux compositions. Aucun nouveau pic n'est apparu sur les diffractogrammes des deux composés. Par contre, deux bandes vers 1410 et 1660 cm⁻¹ apparaissent clairement sur le spectre infrarouge de la composition x = 0,2 (figure 21b). Elles sont attribuées respectivement à une bande carbonate et à une bande d'eau liquide. Un processus de carbonatation se met donc en place, avec toutefois une cinétique assez lente car aucun pic de diffraction correspondant à une nouvelle phase n'est apparu sur les diffractogrammes.



Figure 21 : Suivi de l'hydrolyse et de la carbonatation sous atmosphère humide contrôlée à température ambiante par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge des oxydes CuO (a) et Cu_{0,9}Mg_{0,1}O (b)

4.2. Stabilité des oxydes et hydroxydes vis-à-vis du CO₂ humide

La stabilité des oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$ sous atmosphère humide contrôlée a révélé la présence d'une bande carbonate dont l'intensité augmentait avec le temps. Toutefois, aucun nouveau pic n'est apparu sur les diffractogrammes. Afin d'accélérer le processus de carbonatation, plusieurs compositions représentatives de la solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ ont été soumises à une pression de 9 bars de CO_2 humide à 30°C. Compte tenu de l'instabilité de l'hydroxyde de cuivre, décrit dans la littérature comme métastable, le comportement de $Cu(OH)_2$ et $Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)_2$ vis-à-vis du CO_2 humide a également été évalué dans les mêmes conditions.

4.2.1. Stabilité des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂

La stabilité des hydroxydes Cu(OH)₂ et Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ vis-à-vis du CO₂ humide a été évaluée à 30°C pendant 16 heures. Le produit de la carbonatation en milieu aqueux est identifié par diffraction des rayons X comme étant la Malachite, un hydroxycarbonate de cuivre de formulation Cu₂CO₃(OH)₂ ⁽¹⁵⁾. Aucune autre phase n'a été détectée par diffraction. La réaction étant totale dans les deux cas, le magnésium ne semble pas avoir d'effet sur la réactivité de l'hydroxyde Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ vis-à-vis du CO₂ humide. Néanmoins, l'absence de seconde phase sur le diffractogramme collecté après exposition à une atmosphère de CO₂ humide laisserait supposer qu'une substitution partielle des ions cuivriques par les ions Mg²⁺ soit possible dans la structure de l'hydroxycarbonate de cuivre (figure 22).



Figure 22 : Diffractogrammes de rayons X des hydroxydes Cu(OH)₂ (a) et Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ (b) avant et après leur exposition à une atmosphère de CO₂ humide

4.2.2. Stabilité des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO et Mg₂Cu₅O₇

Dans les mêmes conditions d'exposition que pour les hydroxydes, les oxydes CuO et $Cu_{0,9}Mg_{0,1}O$ réagissent aussi avec l'atmosphère de CO_2 humide pour former un hydroxycarbonate de formulation similaire à la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$. Comme précédemment, ceci suggère qu'une solution solide $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ existe. Toutefois, la réaction est incomplète puisque qu'une fraction d'oxyde de départ est toujours présente sur les diffractogrammes collectés après 16 heures d'exposition à une atmosphère de CO_2 humide (figure 23). La réactivité des hydroxydes $Cu(OH)_2$ et $Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)_2$ est donc plus forte que celle des oxydes CuO et $Cu_{0,9}Mg_{0,1}O$, bien que la taille des grains des poudres exposées soit nanométrique pour tous ces échantillons.



Figure 23 : Diffractogrammes de rayons X des oxydes CuO (a) et Cu_{0,9}Mg_{0,1}O (b) avant et après leur exposition à une atmosphère de CO₂ humide. Les astérisques correspondent aux pics de diffraction de l'oxyde de départ

La stabilité de l'oxyde mixte $Mg_2Cu_5O_7$ a été évaluée vis-à-vis du CO_2 humide selon le même protocole que précédemment. Aucun produit de carbonatation n'est détecté sur le diffractogramme du composé $Mg_2Cu_5O_7$ collecté après son exposition à une atmosphère de CO_2 humide (figure 24). Cet oxyde est donc stable vis-à-vis de la carbonatation dans les conditions de tests utilisées, contrairement à l'oxyde MgO micro présenté au chapitre III.



Figure 24 : Diffractogrammes de rayons X de l'oxyde Mg₂Cu₅O₇ avant et après leur exposition à une atmosphère de CO₂ humide

4.3. La solution solide Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ existe-t-elle?

D'après ce qui précède, le produit de la carbonatation en milieu liquide de l'oxyde CuO et de l'hydroxyde de cuivre $Cu(OH)_2$ est l'hydroxycarbonate de cuivre $Cu_2CO_3(OH)_2$ appelé Malachite. Plusieurs autres hydroxycarbonates contenant du cuivre existent dans la nature : la Rosasite $CuZnCO_3(OH)_2$ ^(16, 17), la Mcguinessite $CuMgCO_3(OH)_2$ ^(16, 17), la Glaukosphaerite $Cu_{1,5}Ni_{0,5}CO_3(OH)_2$) ^(17, 18) et la Kolwezite $CuCoCO_3(OH)_2$) ⁽¹⁹⁾ (tableau 6). Tous ces minéraux cristallisent dans le même groupe d'espace monoclinique ($P2_1/a$) que la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$ sans pour autant être isomorphes. Ces minéraux forment le groupe 16a dans la classification des minéraux de Dana ⁽²⁰⁾. Dans la littérature, une solution solide $Cu_{2-x}Zn_xCO_3(OH)_2$ de même structure que la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$ a été mise en évidence par Behrens *et coll.*, avec une formulation limite $Cu_{1,46}Zn_{0,54}CO_3(OH)_2$ ⁽²¹⁾.

Tableau 6 : Paramètres de maille des hydroxycarbonates de formulation Cu_{2-x}M_x(CO₃)(OH)₂, M = Zn, Mg, Ni, Co. extraits des références ^(15, 16, 18, 19)

	Malachite ⁽¹⁵⁾	Rosasite (16)	Mcguinessite ⁽¹⁶⁾	Glaukosphaerite ⁽¹⁸⁾	Kolwezite ⁽¹⁹⁾	
a (Å)	9,5020	12,8976(3)	12,9181(4)	12,0613(4)	12,201(1)	
b (Å)	11,9740	9,3705(1)	9,3923(2)	9,3653(4)	9,354(1)	
c (Å)	3,2400	3,1623(1)	3,1622(1)	3,1361(1)	3,1494(3)	
β (°)	98,75	110,26(0)	111,23(0)	98,08(0)	98,922(7)	

Dans la structure de la Malachite ⁽¹⁵⁾, les ions cuivriques occupent entièrement deux sites cristallographiques différents notés ci-après Cu(1) et Cu(2) (figure 25). Pour chaque site, les octaèdres de coordinence $[Cu(1)(OH)_6]^{4-}$ (en vert) et $[Cu(2)(OH)_6]^{4-}$ (en bleu) sont allongés suivant leur axe 4 par l'effet Jahn-Teller de l'ion Cu²⁺. Chaque type d'octaèdre $[Cu(1)(OH)_6]^{4-}$ ou $[Cu(2)(OH)_6]^{4-}$ partage deux arêtes O-O opposées pour former des chaînes infinies $[Cu(1)(OH)_4]^{4-}_{\infty}$ ou $[Cu(2)(OH)_4]^{4-}_{\infty}$ se propageant suivant l'axe c. Chaque chaîne $[Cu(1)(OH)_4]^{4-}_{\infty}$ est translatée par rapport à une chaîne $[Cu(2)(OH)_4]^{4-}_{\infty}$ voisine d'un vecteur $1/2 \vec{c}$, permettant ainsi le partage d'arêtes O-O entre chaînes dans le plan (a,b). L'association de deux chaînes donne naissance à un ruban (figure 25). Les anions

carbonate $[CO_3]^{2-}$ de géométrie triangulaire assurent, quant à eux, la jonction entre les différents rubans d'octaèdres.



Figure 25 : Projection suivant l'axe c de la structure cristalline de la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$ et vue en projection suivant l'axe b d'un ruban d'octaèdres $[Cu(1)(OH)_6]^{4-}_{\infty}$ et $[Cu(2)(OH)_6]^{4-}_{\infty}$

L'étude de la carbonatation des hydroxydes et oxydes ainsi que les données de la littérature nous ont incités à entreprendre la synthèse et la caractérisation d'hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂. Outre le fait de découvrir éventuellement une nouvelle solution solide, l'intérêt de cette étude est aussi de déterminer l'activité bactéricide de ces hydroxycarbonates. Cette étude permettra enfin d'évaluer l'impact d'une carbonatation de la surface des particules d'oxydes Cu_{1-x}Mg_xO et d'hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ sur leur activité bactéricide.

4.3.1. Synthèse des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂

Des hydroxycarbonates $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ ont été synthétisés par voie hydrothermale. Du nitrate de cuivre trihydraté et du nitrate de magnésium hexahydraté commerciaux ont été dissous en proportion stœchiométrique avec du carbonate de sodium dans 5 mL d'eau désionisée. Un rapport carbonate/cations de 1,08 est utilisé (concentration finale en cations Cu^{2+} et Mg^{2+} : 0,2 mol/L). Le mélange est ensuite placé dans un autoclave de type Parr puis porté à 100°C pendant 12 heures. Au cours de la réaction, du nitrate de sodium est formé en même temps que le produit désiré. La poudre obtenue est donc lavée avec de l'eau tiède (40-50°C) afin d'éliminer toutes traces de nitrate de sodium puis séchée dans une étude à 60°C avant d'être caractérisée par diffraction des rayons X.

4.3.2. Caractérisations

Afin d'identifier les hydroxycarbonates synthétisés, des caractérisations par diffraction et spectroscopie infrarouge ainsi que des analyses thermogravimétriques ont été réalisées sur tous les échantillons.

La figure 26 suivante montre les diffractogrammes de rayons X des différents échantillons collectés à température ambiante. Toutes les compositions de x = 0,05 à x = 0,25 présentent un diffractogramme de rayons X similaire à celui de la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$ (x = 0), ce qui laisse supposer qu'une solution solide $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ existe effectivement dans ce domaine de composition. Les pics sont relativement fins, traduisant une bonne cristallinité des échantillons.



Figure 26 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des hydroxycarbonates Cu₂₋ _xMg_xCO₃(OH)₂ de type Malachite. Le diffractogramme simulé de CuMgCO₃(OH)₂ d'après les données cristallographiques de ⁽¹⁶⁾ est présenté en vert

Les diffractogrammes de rayons X des échantillons ont été affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽¹⁴⁾ sur la plage 20 comprise entre 10 et 100° en utilisant comme modèle structural de départ celui référencé dans la littérature ⁽¹⁵⁾. Dans ces affinements, seules les deux positions atomiques des atomes de cuivre ont pu être affinées. Les positions des deux atomes d'hydrogène et de l'atome de carbone n'ont pas été affinées car ces atomes de par leur faible numéro atomique diffusent peu le rayonnement X, rendant difficile leur localisation précise. Des essais d'affinements des positions atomiques des atomes Cu-O inférieures à la somme des rayons ioniques des ions Cu²⁺ (en coordinence [6]) et O²⁻ (en coordinence [3] ⁽¹²⁾). Dans leur étude de la solution solide Cu_{2-x}Zn_xCO₃(OH)₂, Behrens *et coll.* ont affiné leur diffractogramme en utilisant un modèle structural

totalement libre sans se soucier de l'incohérence de ces distances ⁽²¹⁾. Dans notre étude, un modèle structural contraint cristallographiquement réaliste a été privilégié. Le résultat de l'affinement du diffractogramme de la composition x = 0,2 représentatif du système étudié, est présenté en figure 27.



Figure 27 : Résultat de l'affinement semi-contraint (positions atomiques des atomes oxygène, de carbone et de l'hydrogène de ⁽¹⁵⁾) par la méthode de Rietveld du diffractogramme de la composition Cu_{1,8}Mg_{0,2}CO₃(OH)₂

La figure 28 suivante présente les évolutions des paramètres de la maille monoclinique a, b, c et β en fonction de la teneur x en magnésium des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ (en vert sur la figure). Sont également présentes sur cette figure 28 les évolutions des mêmes paramètres obtenus par Behrens *et coll.* pour la solution solide Cu_{2-x}Zn_xCO₃(OH)₂ (en bleu sur la figure) ⁽²¹⁾. Entre les deux solutions solides, la variation de rayons ioniques ⁽¹²⁾ entre l'ion cuivrique (0,73 Å) et l'ion substituant (0,72 Å pour Mg²⁺ ou 0,74 Å pour Zn²⁺) pris en coordinence [6] est de même amplitude mais de signe opposé : $\Delta r = -0.01$ Å pour Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ et $\Delta r = +0.01$ Å pour Cu_{2-x}Zn_xCO₃(OH)₂. Pour autant, les paramètres de la maille entre solutions solides ne varient pas en sens opposé. Des décroissances des paramètres a, c et de l'angle β sont observées dans les deux séries avec des amplitudes nettement plus faibles pour la série à base de magnésium. La principale différence entre les deux séries concerne la variation du paramètre de maille b qui dans la série d'hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ oscille autour d'une même valeur. Sans modèle structural réaliste (positions atomiques des atomes oxygène non affinées), les origines structurales de ces variations et différences n'ont pas pu être déterminées pour les deux séries Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ et Cu_{2-x}Zn_xCO₃(OH)₂. L'étendue de la solution solide doit encore être à préciser.



Figure 28 : Evolution des paramètres de maille en fonction de la teneur en magnésium ou zinc dans les Malachites de formulation Cu_{2-x}Mg_x(CO₃)(OH)₂ (en vert) et Cu_{2-x}Zn_x(CO₃)(OH)₂ d'après ⁽²¹⁾ (en bleu).

Les spectres infrarouge des hydroxycarbonates $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ sont superposés sur la figure 29. Deux bandes respectivement caractéristiques des vibrations d'élongation des liaisons O-H (v_{OH}) sont observées à 3406 et 3318 cm⁻¹. Dans la structure de la Malachite, tous les groupements hydroxyl ne sont pas équivalents, certains sont partagés entre deux rubans d'octaèdres tandis que d'autres sont partagés entre les deux chaînes d'octaèdres d'un même ruban. L'observation de deux bandes v_{OH} est le reflet de cette différence. Des bandes de vibrations de déformation angulaire des liaisons M-O-H (δ_{M-O-H}) doivent exister dans la région 1000 - 1100 cm⁻¹ (déformation hors du plan) ainsi que vers 890 cm⁻¹ (déformation dans le plan) ⁽²²⁾, ce qui est le cas dans notre étude (1098, 1045 et 875 cm⁻¹).



Figure 29 : Spectres infrarouge des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂

La filiation des modes de vibrations du groupement carbonate par application de la symétrie des positions atomiques et de celle du cristal conduisent, comme pour la Nesquehonite (voir chapitre 3), à la présence de 12 bandes A_u et B_u actives en spectroscopie infrarouge. Elles sont réparties en 6 vibrations d'élongation v_{CO3} (2 vibrations symétriques (s) et 4 vibrations antisymétriques (as)) et 6 vibrations de déformation angulaire δ_{CO3} (2 déformations hors du plan (hp) et 4 déformations dans le plan (dp)) (tableau 7).

Type de vibration	Symétrie du groupement CO3 ²⁻ (D _{3h})	Symétrie des positions atomiques (C ₁)	Symétrie du cristal C _{2h}
V _{(s) CO3}	A1'	А	$A_g + B_g + A_u + B_u$
$\delta_{(hp) CO3}$	A ₂ ''	А	$A_g + B_g + A_u + B_u$
V _{(as) CO3}	E	2A	$2A_g + 2B_g + 2A_u + 2B_u$
$\delta_{(dp) CO3}$	E	2A	$2A_g + 2B_g + 2A_u + 2B_u$

Tableau 7 : Filiation des modes de vibrations du groupement carbonate dans la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂

Dans la région 1200 - 1600 cm⁻¹ caractéristique des vibrations d'élongation antisymétrique des liaisons C-O, deux bandes $v_{(as) CO3}$ sont clairement observées. Une troisième bande $v_{(as) CO3}$ peut être devinée vers 1420 cm⁻¹ car elle induit un épaulement du pic centré sur 1380 cm⁻¹. Une bande de vibration caractéristique d'élongation symétrique des liaisons C-O $v_{(s) CO3}$ devrait être présente vers 1100 cm⁻¹, mais elle doit être d'intensité faible (comme dans le cas de la Nesquehonite) et masquée par les bandes de vibrations de déformation angulaire des liaisons M-O-H (δ_{MOH}). Pas moins de 4 bandes sont discernables dans la région 650 - 850 cm⁻¹, elles correspondent aux vibrations de déformation angulaire des groupements carbonate (δ_{CO3}). La bande la plus fine et la plus intense centrée sur 820 cm⁻¹, correspond à la déformation hors du plan des groupements carbonate, en accord avec la littérature ^(22, 23). Les bandes en dessous de 600 cm⁻¹ correspondraient à des modes de

vibrations complexes des liaisons M-O. Le tableau 8 suivant propose une attribution des différentes bandes observées en spectroscopie infrarouge. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*).

	Attribution des bandes
V _{OH}	3406, 3318
δ _{мон}	1098, 1045, 875
V _(as) CO3	1492, 1420 (*), 1385
$\delta_{(hp) CO3}$	819
$\delta_{(dp) CO3}$	774, 750, 711
V _{MO}	< 600

Tableau 8 : Attribution des bandes observées sur le spectre infrarouge des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂

Une analyse thermogravimétrique des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ a été enfin réalisée sous argon (figure 30a). Un suivi de la décomposition du composé x = 0,2 est réalisé en parallèle par diffraction des rayons X en température (figure 30b). D'après les analyses thermogravimétriques, ces hydroxycarbonates se décomposent tous en une seule étape. D'après le suivi par diffraction, le produit de la décomposition de l'hydroxycarbonate Cu_{1,8}Mg_{0,2}CO₃(OH)₂ au-delà de 325°C est un oxyde mixte Cu_{1-x}Mg_xO de structure isotype au composé parent, la Tenorite CuO. La composition de l'oxyde mixte issu de la décomposition de l'hydroxycarbonate Cu_{1,8}Mg_{0,2}CO₃(OH)₂ est Cu_{0,9}Mg_{0,1}O, formulation limite de la solution solide Cu_{1-x}Mg_xO. Les températures de décomposition observées par analyse thermogravimétrique et thermodiffraction des rayons X pour la composition x = 0,2 sont comparables. L'obtention d'un oxyde comme produit de décomposition implique que des molécules de dioxyde de carbone et d'eau soient libérées. Une forte disparité existe entre les différentes compositions au niveau de leur température de décomposition. D'autre part, les vitesses de décomposition ne sont pas toutes identiques entre compositions comme en témoigne la largeur variable du pic sur le tracé de la dérivée $\Delta m/\Delta T = f(T)$ (figure 31). Sur l'ensemble de la série, les décompositions des hydroxycarbonates ont donc lieu sur une large plage de températures comprises entre 250 et 400°C. Ce comportement est semblable à celui observé par Ramamurthy et Secco lors de la décomposition de la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂ commerciale (plage de température 230 - 325°C ⁽²⁴⁾).



Figure 30 : (a) ATG des Malachites réalisées sous argon. (b) Thermodiffraction des rayons X de la composition x = 0,20

Les pertes de masses extraites des thermogrammes sont toutes supérieures à celles calculées à partir de la formulation supposée des hydroxycarbonates $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ (tableau 9). L'insertion de molécules d'eau dans l'édifice cristallin étant impossible, ces écarts, atteignant 2% pour certaines compositions, sont de ce fait attribués à une adsorption de molécules d'eau à la surface des grains. Des clichés de microscopie électronique à balayage des poudres de composition $Cu_2CO_3(OH)_2$ (x = 0) et $Cu_{1,8}Mg_{0,2}CO_3(OH)_2$ (x = 0,2) ont été pris afin de savoir si cette adsorption était liée à une faible taille des grains/particules. Ces clichés, présentés à la figure 31, montrent que les grains se présentent sous la forme de sphères d'un diamètre d'environ 2 à 3 µm. Aucune incidence de la présence de magnésium sur la forme des sphères n'est notée. Cette taille micrométrique est compatible avec la largeur faible des pics des diffractogrammes de rayons X quelque soit la composition considérée (figure 26). Une estimation du nombre y de molécules d'eau a été effectuée pour chaque composition (tableau 9). Aucune corrélation ne peut être établie entre la teneur x en magnésium des hydroxycarbonates et la teneur y en eau du composé.



Figure 31 : Clichés de microscopie électronique à balayage des compositions x = 0 (a) et x = 0,2 (b) représentatives de la solution solide Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂

Koga *et coll.* ont mené de nombreuses études sur la cinétique de décomposition de la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$ notamment en atmosphère humide contrôlée ⁽²⁵⁾ ou sous vide dynamique ⁽²⁶⁾. Ces auteurs ont observé un abaissement de la température de décomposition de la Malachite lorsque la pression partielle en vapeur d'eau de l'atmosphère augmentait, que cette pression soit imposée par l'expérimentateur ⁽²⁵⁾ ou générée *in-situ* par la décomposition ⁽²⁶⁾. La vapeur d'eau aurait ainsi un effet catalytique sur la décomposition de la Malachite. La même équipe a également rapporté cet effet sur d'autres composés similaires, comme l'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO₃) ⁽²⁷⁾ et l'hydrozincite ($Zn_5(CO_3)_2(OH)_6$) ^(28, 29). En se basant sur ces études, nous avons essayé de voir si la teneur en eau y des hydroxycarbonates $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ avait une incidence sur leur température de décomposition. Sur le tracé de la dérivée $\Delta m/\Delta T = f(T)$ (figure 32), le maximum du pic correspond à la température T_{max} à laquelle la perte de masse est la plus élevée. En traçant pour chaque composition la température à ce maximum en fonction de la teneur y en eau, la même corrélation établie par Koga et son équipe apparaît clairement : plus la teneur y en eau est élevée, plus la température T_{max} est basse (figure 32).

Tableau 9 : Pertes de masses théoriques et expérimentales des Malachites de formulation "Cu_{2-x}Mg_x(CO₃)(OH)₂". Détermination du nombre y de molécules d'eau dans les échantillons

Cu _{2-v} Mg _v CO ₃ (OH) ₂ .vH ₂ O	Perte de masse	Perte de masse	v(H₂O)	
	théorique (%)	expérimentale (%)	IX 2-1	
x = 0	28,05	30,1	0,418	
x = 0,05	28,30	29,58	0,255	
x = 0,10	28,56	29,82	0,252	
x = 0,15	28,82	29,16	0,076	
x = 0,20	29,08	31,24	0,371	
x = 0,25	29,35	29,79	0,085	



Figure 32 : (a) Dérivée de la perte de masse en fonction de la température. (b) Quantité d'eau contenue dans l'échantillon en fonction de la température T_{max} au sommet de la dérivée Δm/ΔT (T_{max} = Δm/ΔT)

5. Evaluation et origine de l'activité bactéricide des oxydes et hydroxydes

Les oxydes de cuivre mixtes se caractérisent par leur stabilité présumée vis-à-vis de l'hydrolyse dans des conditions proches de celles des tests antibactériens. Par conséquent, l'activité des oxydes de cuivre est indépendante de celle des hydroxydes de cuivre.

5.1. Activité bactéricide des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂

5.1.1. Résultats

L'activité bactéricide des hydroxydes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ a été évaluée sur les bactéries *E. coli* et *S. aureus* dans de l'eau désionisée stérile à température ambiante et à une concentration en particules de 1 mg/mL. Les résultats, présentés sur la figure 33, montrent que des réductions supérieures à 6 log visà-vis d'*E. coli* ne sont atteintes (N₀ compris entre 2.10⁶ et 3,8.10⁶ UFC/mL) qu'au bout de 3 heures de contact. Aux premiers temps de contact, un effet négatif du magnésium sur l'activité des hydroxydes de cuivre $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ est noté. Quel que soit le temps de contact considéré (15, 30 ou 60 min), les activités des compositions x = 0,05 et x = 0,10 sont plus faibles que celles du composé parent $Cu(OH)_2$. Cet effet est encore plus prononcé pour les hydroxydes x = 0,15 et x = 0,20, dans lesquels une seconde phase $Mg(OH)_2$ est présente. La baisse non négligeable de l'activité aux temps de contact de 15 et 30 minutes peut tirer son origine de l'existence de cette seconde phase pas ou très peu active à ces temps de contact courts (voir chapitre III).

L'activité bactéricide des hydroxydes mixtes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ (0,05 $\le x \le 0,2$) vis-à-vis de *S. aureus* est, comme dans le cas des autres hydroxydes de $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ (voir chapitre III), bien plus faible que celle observée vis-à-vis d'*E. coli*. Même si les activités bactéricides des hydroxydes mixtes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ monophasés (x = 0,05 et x = 0,10) vis-à-vis de *S. aureus* dépassent des taux de réduction de 99,2 à 99,9% (~2,88 log à ~3,95 log) au bout de 3 heures de contact, ces activités restent bien inférieures à la réduction de la population observée pour *E. coli* (~6 log). Seul l'hydroxyde $Cu(OH)_2$ affiche des activités comparables vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* puisque dans les deux cas il permet de réduire l'intégralité de l'*inoculum* initial en 3 heures (réduction log supérieure à 6). Dans le cas des hydroxydes $Cu_{0,95}Mg_{0,05}(OH)_2$ et $Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)_2$, un effet négatif du magnésium sur l'activité de vis-à-vis de *S. aureus* est ainsi révélé. Comme précédemment pour l'activité bactéricide des hydroxydes biphasiques $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ (x = 0,15 et x = 0,20) vis-à-vis d'*E. coli*, la présence de la seconde phase $Mg(OH)_2$ également peu active vis-à-vis de *S. aureus* (voir chapitre III) contribue à diminuer l'activité bactéricide globale du mélange, qui ne dépasse pas 2 log au bout de 3 heures.

Tableau 10 : Activité bactéricide des hydroxydes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

	Temps		E. coli			S. aureus	
	de		%			%	
	contact	log(N ₀)	Réduction	Log(N₀/N)	log(N₀)	70 Réduction	Log(N₀/N)
	(min)		Reduction			neutron	
	0	6,30±0,03	-	-	6,26±0,01	-	-
	15		95,5±1,7	1,36±0,24		78,2±8,7	0,68±0,18
Cu(OH)₂	30		99,0±0,1	2,00±0,04		87,7±10,7	1,01±0,44
	60		99,9±0,1	3,46±0,24		99,2±0,1	2,07±0,02
	180		100	> 6,30		100,0	> 6,26
	0	6,72±0,02	-	-	6,46±0,09	-	-
	15		87,9±9,4	1,01±0,39		29,3±1,6	0,15±0,01
Cu _{0,95} Mg _{0,05} (OH) ₂	30		96,7±3,6	1,72±0,68		60,2±25,1	0,42±0,27
	60		99,6±0,5	3,22±1,53		89,3±11,6	1,07±0,52
	180		100	> 6,72		99,4±1,0	2,88±1,47
	0	6,72±0,02	-	-	6,62±0,15	-	-
	15		85,0±13,3	0,95±0,47		88,9±2,0	0,97±0,08
Cu _{0,90} Mg _{0,10} (OH) ₂	30		93,0±8,7	1,55±0,93		93,7±3,1	1,27±0,24
	60		98,2±2,5	2,88±2,01		98,4±1,1	1,94±0,40
	180		100	> 6,72		100,0±0,1	3,95±0,64
	0	6,72±0,02	-	-	6,62±0,15	-	-
	15		61,5±15,7	0,43±0,18		85,6±0,8	0,83±0,03
	30		93,0±9,5	0,80±0,25		88,5±1,7	0,93±0,06
Dipitasique	60		99,3±0,6	2,25±0,42		93,8±1,2	1,23±0,09
	180		100	> 6,72		98,7±1,3	1,94±0,45
	0	6,72±0,02	-	-	6,62±0,15	-	-
CuMg(OH).	15		63,5±4,1	0,44±0,06		85,6±0,8	0,85±0,03
	30		88,2±1,1	0,93±0,04		90,1±1,6	1,02±0,07
Bipliasique	60		99,3±0,9	3,11±1,73		94,7±1,2	1,27±0,10
	180		100	> 6,72		98,6±0,8	1,85±0,25



Figure 33 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

5.1.2. Origine de la bactéricidie des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂

Contrairement à Mg(OH)₂ et MgO, l'activité de Cu(OH)₂ est très peu décrite dans la littérature. Cela est très probablement lié à son instabilité et sa transformation aisée en CuO. Akravan *et coll.* ⁽³⁰⁾ estiment que l'activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* de couches de CuO nano-structurées formées à la surface d'une feuille de cuivre, obtenues par immersion dans une solution diluée d'hydroxyde de sodium est liée à la présence de nombreux groupements hydroxyle adsorbés à la surface des couches de CuO. L'activité de nanoparticules de Cu(OH)₂ seules de 195 nm de diamètre a été évaluée par Karkhanechi *et coll.* ⁽³¹⁾ en milieu salin vis-à-vis d'*E. coli* à 37°C et à une concentration en particules de 0,1 mg/mL. Une réduction de 3,68 log a été relevée au bout de 8 heures de contact (*inoculum* initial 2,24.10⁵ UFC/mL), comparée à la réduction supérieure à 6,3 log obtenue avec nos particules de Cu(OH)₂ (*inoculum* initial 2,03.10⁶ UFC/mL). La nette différence entre les valeurs de réduction

s'explique par la différence de concentration en particules (0,1 mg/mL dans ⁽³¹⁾ contre 1 mg/mL dans notre cas). Un autre paramètre doit également être pris en compte : la différence de surface spécifique ; un rapide calcul de la surface spécifique des nanoparticules de Cu(OH)₂ préparées par Karkhanechi *et coll.* ⁽³¹⁾ conduit à une surface spécifique de 9,1 m²/g, contre 17 m²/g dans notre cas.

Comme Mg(OH)₂ a une activité plus faible que Cu(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli*, il était attendu que la substitution du cuivre par le magnésium dans la structure de Cu(OH)₂ diminue l'activité de cet hydroxyde. Si c'est effectivement le cas pour les temps de contact inférieurs à une heure, ce constat n'est plus vrai au bout de 3 heures de contact, où des réductions log supérieures à 5,8 sont observées quelle que soit la composition de l'hydroxyde mixte Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ considérée.

D'après Karkhanechi et coll. (31), le pH jouerait un rôle important sur l'activité bactéricide des nanoparticules de Cu(OH)₂. Ces auteurs ont observé une réduction log de près de 2,6 du nombre d'UFC d'*E. coli* à pH = 8,5 tandis que la totalité de l'*inoculum* de départ (1,32.10⁵ UFC/mL) est tué à pH = 10. Cette incidence du pH sur l'activité bactéricide semble en contradiction avec les travaux de Mahkluf et coll. (32) sur MgO, et de Dong et coll. (33) sur Mg(OH)₂, et enfin avec nos travaux sur les hydroxydes Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂. Cependant, les bactéries sont considérées comme plus sensibles à des pH basiques, de l'ordre de 10-11, qu'à des pH acides dans la gamme 5-6. Nous avons donc suivi l'évolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau des particules de $Cu(OH)_2$ et Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂. Une élévation de trois unités du pH du surnageant est notée dans les 30 premières minutes suivant l'immersion des particules de $Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)_2$ (figure 33). Dans les mêmes conditions, l'élévation du pH du surnageant est trois fois plus faible après l'immersion des particules de Cu(OH)₂ (figure 34). Pour les deux hydroxydes Cu(OH)₂ et Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂, le pH du surnageant se stabilise à ≈7 et ≈9 au-delà de 30 minutes d'immersion, respectivement. Sur la figure 33, aucune différence notable d'activité bactéricide vis-à-vis d'E. coli n'est notée entre les deux hydroxydes Cu(OH)2 et Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ au bout de 3h de contact bien qu'une différence de pH de deux unités existe entre les deux surnageants. Le pH ne semble donc pas avoir un rôle majeur sur l'activité bactéricide des hydroxydes Cu_{1*}Mg_x(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli*. La faible solubilité de Cu(OH)₂, déjà mentionnée au cours du chapitre III, ne devrait pas avoir a priori d'influence sur l'activité bactéricide. La concentration en ions Cu²⁺ et Mg²⁺ a toutefois été mesurée par spectroscopie d'émission atomique à température ambiante dans les surnageants après 3 et 24 heures d'immersion de particules de Cu(OH)₂ et Cu_{0,90}Mg_{0,10}(OH)₂ dans l'eau. D'après la littérature, la constante de solubilité de Cu(OH)₂ est de 2,2.10^{-20 (34)}, ce qui correspond à une solubilité de seulement 1,72.10⁻² mg/L. Comme dans le cas de Mg(OH)₂, la solubilité calculée de Cu(OH)₂ est plus importante par rapport à ce que prédit la théorie (tableau 11), tout en étant multipliée par 7 entre 3 heures et 24 heures pour atteindre près de 4 mg/L. Elle pourrait être expliquée par un processus de dissolution des particules de Cu(OH)₂ suite à

un phénomène de carbonatation de la solution. Ce phénomène consommerait les ions HO⁻ libérés, et romprait ainsi l'équilibre de dissolution.

Lorsque la dissolution de l'hydroxyde Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ débute, il est attendu que le rapport entre les concentrations en ions Mg²⁺ et Cu²⁺ libérés dans le surnageant soit proportionnel au rapport Mg/Cu fixé par la composition. Or après 3h d'immersion, la concentration en ions Mg²⁺ dans le surnageant est plus de trois fois supérieure à celle en ions Cu²⁺. Ces résultats montrent que les particules d'hydroxyde Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ ne sont pas stables dans l'eau et que le magnésium est la cause de cette instabilité. Il est important de noter que la concentration en ions Cu²⁺ libérés par les particules de Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ dans le surnageant au bout de 3h d'immersion est plus de cinq fois supérieure à celle mesurée pour les particules de Cu(OH)₂. Cette différence de concentration pourrait être liée, en partie seulement, à la différence de surface spécifique entre ces deux échantillons (81 m²/g et 17 m^2/g pour $Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)_2$ et $Cu(OH)_2$, respectivement). Malgré cette différence de concentration en ions Cu²⁺ dans les surnageants au bout de 3h de contact, l'activité bactéricide des particules de $Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)_2$ vis-à-vis d'*E. coli* est comparable à celle des particules de Cu(OH)₂ (figure 34). La présence d'ions cuivriques dans le surnageant n'est vraisemblablement pas le seul facteur à l'origine de l'activité bactéricide des hydroxydes $Cu(OH)_2$ et $Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)_2$. Une diminution d'un facteur cinq de la concentration en ions Cu²⁺ libérés par les particules de Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ est observée entre 3 heures et 24 heures d'immersion alors que dans le même temps celle en ions Mg²⁺ continue d'augmenter. Cela suggère qu'une partie des ions cuivriques libérés par la dissolution des particules de $Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)_2$ précipite sous la forme d'hydroxyde $Cu(OH)_2$ suite à l'élévation du pH du surnageant imposée par les ions Mg²⁺ en solution. *E. coli* se retrouve alors au contact d'un mélange de particules de Cu(OH)₂ fraîchement précipitées et de particules Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ non dissoutes, à un pH de valeur croissante. Au bout de 3h d'immersion dans l'eau, il est donc probable que l'activité bactéricide élevée des particules de Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli* soit liée à une combinaison de facteurs incluant les particules de Cu(OH)₂ fraîchement précipitées. La plus faible activité des particules de $Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)_2$ pour les premiers temps de contact (15 à 60 min) s'explique par le fait que les particules de Cu(OH)₂ fraîchement précipitées sont moins actives à ces temps de contact courts. Au bout de 3 heures de contact, l'activité bactéricide des compositions biphasiques x = 0,15et 0,2 vis-à vis d'*E. coli* est identique à celle des hydroxydes Cu_{0.95}Mg_{0.05}(OH)₂ et Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ car la faible proportion d'hydroxyde Mg(OH)₂ présent initialement en impureté dans les poudres s'est dissout dans le surnageant avec le temps. L'activité bactéricide plus faible des compositions biphasiques x = 0,15 et 0,2 par rapport à celle des compositions x = 0,05 et 0,1 vis-à-vis d'E. coli pendant les 30 premières minutes de contact pourrait être attribuée à l'inactivité de l'hydroxyde $Mg(OH)_2$ à ces temps courts (voir chapitre III).

Tableau 11 : Concentrations en ions M²⁺ dans le surnageant après 3 et 24 heures d'immersion dans l'eau de particules de Cu(OH)₂ et Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂

	Cu(OH) ₂	Cu _{0,90} Mg _{0,10} (OH);	
[M ²⁺] en			
mg/L	Cu ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺
(μmol/L)			
2 houros	0,36	1,99	2,46
Jileales	5,67	31,3	101
24 hourses	2,57	0,38	3,09
24 neures	40,4	5,97	127



Figure 34 : Evolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau de particules de Cu(OH)₂ et Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂

Un raisonnement similaire pourrait expliquer l'activité bactéricide des hydroxydes de la solution solide $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ ($0 \le x \le 0,1$) vis-à-vis de *S. aureus* dont le composé parent $Cu(OH)_2$ n'avait jamais été évalué pour ce type d'activité. Néanmoins, la dissolution partielle des particules Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ ou Cu_{0.95}Mg_{0.15}(OH)₂ et la précipitation de particules de Cu(OH)₂ n'ont pas le même effet sur l'activité vis-à-vis de S. aureus que sur celle vis-à-vis d'E. coli. Ce résultat est surprenant puisque les activités de Cu(OH)₂ vis-à-vis de ces deux bactéries sont comparables. Une question se pose donc : est-ce que la forte élévation du pH constatée pour les hydroxydes mixtes Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ ou Cu_{0,95}Mg_{0,15}(OH)₂ se traduit par des effets différents sur les deux types de bactéries ? E. coli et S. aureus sont considérées neutrophiles comme la plupart des bactéries d'intérêt médical, c'est-à-dire capables de croitre et de se maintenir à des pH compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7. La survie et l'adaptation d'E. coli à pH acide est largement décrite dans la littérature ⁽³⁵⁾, notamment en raison de son implication dans la contamination de denrées alimentaires fermentées. Par ailleurs, sa colonisation du tractus gastro-intestinal nécessite une croissance dans une gamme de pH de 4,5 à 9⁽³⁶⁾. Dans cette gamme de pH, E. coli est capable de préserver son activité cellulaire en maintenant son pH intracellulaire entre 7,2 et 7,8⁽³⁷⁾. A l'inverse, la résistance à un pH basique apparait limitée (pH=8,0) (38)

S. aureus présente un pH minimal de croissance de 4,2, avec un optimum à pH = 7-7,5 et un maximum à pH = 9,8. La résistance aux pH acides est connue et en lien avec son implication au niveau cutané ⁽³⁹⁾. *S. aureus* pourrait présenter une résistance supérieure à celle d'*E. coli* à pH basique. Cependant, aucune donnée de la littérature ne permet de confirmer ce point, notamment dans nos conditions d'essais. Les valeurs de pH variant au cours du temps de contact que nous avons appliqué, cette hypothèse nécessite des essais complémentaires plus complexes qu'une seule mise en contact avec des solutions de pH différents. Cependant, ces essais sont envisagés. Par ailleurs, le rôle du pH sur l'agrégation, notamment de *S. aureus* a été démontrée. Ainsi, en présence de fortes

concentrations de glucose, la glycolyse conduit à la production d'acides et donc un abaissement du pH, favorisant l'agrégation ⁽⁴⁰⁾. Toutefois, à valeurs de pH élevées, aucune information sur cette propriété n'apparait dans la littérature.

5.2. Activité bactéricide des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO

5.2.1. Résultats

L'activité bactéricide de tous les oxydes a été évaluée selon le même protocole que les hydroxydes. Toutefois, l'activité du composé défini Mg₂Cu₅O₇ n'a pu être évaluée qu'une seule fois, au bout de 30 et 180 minutes de contact. Elle est à comparer à celles des particules de taille micrométrique Mg₁₋ _xCu_xO. Les résultats, présentés dans le tableau 12 et sur la figure 35, montrent que le composé défini Mg₂Cu₅O₇ présente une activité vis-à-vis d'*E. coli* bien plus faible que les oxydes Mg_{0,9}Cu_{0,1}O-micro et Mg_{0,8}Cu_{0,2}O-micro. L'activité bactéricide est toutefois plus forte vis-à-vis de *S. aureus*, comparable à celles des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO-micro. Ce premier résultat doit être confirmé par un second test de bactéricidie.

Tableau 12 : Activité bactéricide de l'oxyde mixte Mg₂Cu₅O₇ vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en pourcentages et en log de réduction (n=1)

	Temps		E. coli			S. aureus	
	de contact (min)	log(N₀)	% Réduction	Log(N₀/N)	log(N₀)	% Réduction	Log(N₀/N)
	0	6,24	-	-	6,47	-	-
$Mg_2Cu_5O_7$	30		0	0		27	0,26
	180		86	0,87		97,1	1,54





Les activités des particules nanométriques des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO (ci-après nommés Cu_{1-x}Mg_xO-nano) sont présentées dans le tableau 13 et sur la figure 36 suivants. Pour les oxydes appartenant à la solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano (compositions x = 0, x = 0,05 et x = 0,10), la substitution du cuivre par le magnésium diminue très fortement l'activité bactéricide vis-à-vis d'E. coli quel que soit le temps de contact considéré. L'oxyde CuO-nano présente des taux de réductions supérieurs à 99% (> 2 log de réduction) dès les premières 15 minutes alors que ces taux n'excèdent pas 35% (0,20 log de réduction) même après 30 minutes de contact avec des particules Cu_{0.95}Mg_{0.05}O-nano et Cu_{0.9}Mg_{0.1}Onano. Même si les activités de ces deux oxydes deviennent plus importantes au bout de 3h de contact, les réductions n'excèdent pas 2,2 log. Les activités des deux oxydes Cu_{0.95}Mg_{0.05}O-nano et $Cu_{0.90}Mg_{0.10}O$ -nano sont d'ailleurs nettement inférieures à celles des hydroxydes $Cu_{0.95}Mg_{0.05}(OH)_2$ et Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)₂ dont ils dérivent (différence d'activité supérieure à 4 log). Une différence d'activité existe aussi entre l'hydroxyde Cu(OH)₂ et l'oxyde CuO-nano mais elle est de moindre amplitude (1,3 log). Curieusement, les deux oxydes biphasiques $Cu_{1x}Mg_xO$ -nano (x = 0,15 et x = 0,20) présentent une très forte activité bactéricide vis-à-vis d'E. coli. Cette activité est supérieure à celle des compositions (x = 0,05 et x = 0,10) de la solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano mais elle dépasse surtout celle de l'oxyde CuO-nano au bout de 3 heures de contact (réduction supérieure à 6,67 log pour x = 0,15 et x = 0,20, contre 4,70 log pour CuO dans le tableau 8). En revanche, l'activité des oxydes biphasiques $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano (x = 0,15 et x = 0,20) est inférieure à celle de l'oxyde CuO-nano pour les temps de contact plus courts (temps < 60 min). Au bout d'une heure de contact, les réductions associées ne dépassent pas 2 log, alors que cette valeur est largement atteinte par l'oxyde CuO-nano dès les 15 premières minutes.

Contrairement au cas des hydroxydes $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$, la présence de magnésium n'entraîne pas une diminution de l'activité bactéricide des oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano (compositions x = 0,05 et x = 0,10) visà-vis de *S. aureus* pour les temps de contact inférieurs à 1 heure. L'activité des compositions x = 0,05 et x = 0,10 est même plus forte que celle de l'oxyde CuO-nano, dont le pouvoir bactéricide ne se manifeste vraiment qu'au bout de 3 heures (2,01 log). Ces observations sont néanmoins à pondérer compte-tenu des écart-types importants sur ces valeurs d'activité. Une troisième évaluation s'avère nécessaire. Les oxydes biphasiques $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano (x = 0,15 et x = 0,20) sont également les plus actifs vis-à-vis de *S. aureus* par rapport aux trois oxydes CuO-nano, Cu_{0,95}Mg_{0,05}O-nano et $Cu_{0,90}Mg_{0,10}O$ -nano. Malgré tout, les oxydes biphasiques $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano ont une activité vis-à-vis d'*S. aureus* inférieures à celle observée vis-à-vis d'*E. coli*, avec des réductions qui ne dépassent pas 2,42 log (99,6%).

Tableau 13 : Activité bactéricide des oxydes Cu _{1-x} Mg _x O-nano vis-à-vis d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> exprimées en pourcentages e
en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

	Temps de		E. coli			S. aureus	
	contact	log(N₀)	%	Log(N₀/N)	log(N₀)	%	Log(N₀/N)
	(min)		Réduction			Réduction	
	0	6,52±0,02	-	-	6,18±0,12	-	-
	15		99,5±0,1	2,30±0,11		10,1±14,2	0,06±0,06
CuO-nano	30		99,6±0,1	2,43±0,03		0,2±37,4	0,02±0,17
	60		99,9±0,1	2,91±0,01		12,7±23,6	0,07±0,12
	180		100,0±0,1	4,70±0,01		98,5±1,2	2,01±0,49
	0	6,67±0,05	-	-	6,59±0,10	-	-
Cu Mg O-	15		21,5±14,5	0,11±0,08		26,1±52,7	0,12±0,29
nano	30		37,6±2,5	0,21±0,02		50,3±32,6	0,36±0,31
nano	60		61,3±11,1	0,41±0,13		76,0±8,9	0,64±0,16
	180		94,9±3,3	1,30±0,32		95,1±3,4	1,35±0,08
	0	6,67±0,05	-	-	6,59±0,10	-	-
Cu Ma O-	15		21,5±13,0	0,11±0,07		22,9±36,7	0,14±0,22
Cu _{0,90} Ivig _{0,10} O-	30		34,4±8,6	0,18±0,06		50,0±23,6	0,32±0,21
nano	60		55,9±9,3	0,36±0,09		65,4±17,0	0,46±0,21
	180		99,0±1,0	2,21±0,59		94,2±1,1	1,24±0,08
	0	6,67±0,05	-	-	6,59±0,10	-	-
Cu _{0,85} Mg _{0,15} O-	15		41,9±15,4	0,24±0,11		65,4±5,9	0,46±0,07
nano	30		74,2±2,8	0,59±0,05		74,9±16,0	0,63±0,30
Biphasique	60		95,8±1,5	1,40±0,17		89,5±11,3	0,98±0,51
	180		100,0±0,1	> 6,67		99,6±0,1	2,40±0,08
	0	6,67±0,05	-	-	6,59±0,10	-	-
Cu _{0,80} Mg _{0,20} O-	15		58,1±12,1	0,38±0,13		67,9±1,6	0,49±0,02
nano	30		77,4±3,9	0,65±0,08		76,3±17,9	0,70±0,36
Biphasique	60		98,8±0,9	2,04±0,42		96,6±0,7	1,48±0,10
	180		100,0	> 6,67		99,4±0,8	2,42±0,76



Figure 36 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

5.2.2 Origine de la bactéricidie des oxydes Cu_{1-x}Mg_xO

L'origine de l'activité bactéricide de CuO a été étudiée à de nombreuses reprises. Elle serait liée à une génération exogène de ROS par les particules adhérées à la membrane cellulaire ⁽⁴¹⁾. Applerot *et coll.* montrent que des nanoparticules de CuO de 37 nm de diamètre (d'après des mesures par adsorption de diazote) permettent de réduire la viabilité d'*E. coli* de 1,7 log au bout de 3 heures de contact et de 1,2 log pour *S. aureus* (à 37°C et en milieu salin) ⁽⁴²⁾. Les particules d'oxyde CuO élaborées dans le cadre de cette thèse, ont un diamètre estimé par adsorption de diazote d'environ 116 nm du fait de leur agglomération. Malgré leur taille trois fois supérieure à celle reportée par Applerot et *coll.,* nos particules présentent une activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* plus élevée, (réduction 4,7 log). Cette activité a été évaluée à température ambiante (20°C) ce qui généralement se traduit par une activité inférieure à celle observée à 37°C ⁽⁴³⁻⁴⁵⁾. Inversement, nos essais ont été réalisés dans l'eau et non en

milieu salin. Le milieu salin est considérée comme négative en termes d'évaluation de l'activité bactéricide.

Dans les oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$ -nano (x = 0,05 et x = 0,10), on assiste à une très nette diminution de l'activité bactéricide au bout de 3 heures de contact, avec des réductions log ne dépassant pas 2,2 vis-à-vis d'E. coli et 1,2 vis-à-vis de S. aureus. Pourtant, les surfaces spécifiques des oxydes Cu_{1-x}Mg_xOnano sont six fois plus élevées que celle de l'oxyde CuO-nano (≈50 m²/g, contre 8 m²/g). L'effet négatif du magnésium sur l'activité bactéricide est tel qu'il inhibe complètement le gain d'activité résultant de la diminution de la taille des particules. La concentration en ions Cu²⁺ et Mg²⁺ a été mesurée par spectroscopie d'émission atomique à température ambiante dans les surnageants après 3 et 24 heures d'immersion de particules des oxydes CuO et Cu_{0,9}Mg_{0,1}O. Ces analyses ont été complétées par un suivi de l'évolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau. Les résultats sont présentés dans le tableau 14 et sur la figure 37 suivants. Après 3 heures d'immersion, la concentration en ions Cu²⁺ libérés par CuO-nano est proche de celle de Cu(OH)₂ (tableau 11). En revanche, après 24 heures, la concentration en ions Cu²⁺ libérés par CuO-nano est 10 plus faible que celle déterminée avec l'hydroxyde $Cu(OH)_2$ (tableaux 11 et 14). Pour l'hydroxyde $Cu(OH)_2$ et l'oxyde CuO-nano, les valeurs de pH des surnageants sont comparables tout comme leurs niveaux d'activité bactéricide au bout de 3 heures de contact. Ces résultats confirment une fois de plus que la concentration en ions cuivriques dans les surnageants n'a pas une incidence forte sur l'activité bactéricide de ces composés. Si une dissolution des particules d'oxyde Cu_{0,9}Mg_{0,1}O et d'hydroxyde Cu_{0,9}Mg_{0,1}(OH)₂ est à chaque fois constatée, elle est quatre fois plus importante en amplitude pour l'oxyde après 24h d'immersion (tableaux 11 et 14). Cette forte concentration en ions Mg²⁺ libérés par les particules d'oxyde CuO-nano est à l'origine de l'augmentation de 4 unités de pH du surnageant (figure 37). Aucune trace d'une seconde phase de type Mg(OH)₂ n'a été par ailleurs détectée par diffraction ou spectroscopie infrarouge sur la poudre de l'oxyde Cu_{0.9}Mg_{0.1}O après son immersion dans l'eau (figure 19). Une diminution d'un facteur neuf de la concentration en ions Cu²⁺ libérés par les particules de Cu_{0.9}Mg_{0.1}O est observée entre 3 heures et 24 heures d'immersion alors que dans le même temps celle en ions Mg²⁺ augmente d'un facteur deux. Une partie des ions cuivriques libérés par la dissolution des particules de Cu_{0.9}Mg_{0.1}O doit précipiter sous forme d'hydroxyde Cu(OH)₂, suite à l'élévation du pH du surnageant imposée par les ions Mg²⁺ en solution. Les bactéries se retrouvent alors au contact d'un mélange de particules de Cu(OH)₂ fraîchement précipitées et de particules Cu_{0,9}Mg_{0,1}O non dissoutes, en milieu alcalin. C'est probablement la précipitation en continu de ces particules Cu(OH)₂ très actives qui est à l'origine de l'augmentation progressive de l'activité bactéricide des oxydes mixtes Cu_{1-x}Mg_xO enregistrée entre 15 minutes et 3 heures de contact.

L'oxyde défini de formulation $Cu_5Mg_2O_7$ est très peu soluble, sa solubilité étant proche de celle de CuO-nano. Le rapport entre les concentrations en ions Cu^{2+} et Mg^{2+} libérés dans le surnageant n'est pas proportionnel au rapport Cu^{2+}/Mg^{2+} fixé par la composition. Mais ce phénomène est bien moins prononcé que dans l'oxyde de formulation $Cu_{0,9}Mg_{0,1}O$. Une faible élévation du pH du surnageant y est également associée, du même ordre de grandeur que celle observée avec la suspension de particules CuO-nano.

Tableau 14 : Concentrations en ions M²⁺ dans le surnageant après 3 et 24 heures d'immersion dans l'eau de particules de CuO-nano, Cu_{0,9}Mg_{0,1}O-nano d'une part, et de MgO-micro et Mg₂Cu₅O₇ d'autre part

	CuO-nano	Cu _{0,9} M	g _{0,1} O-nano	MgO-micro	Mg ₂	Cu₅O7
[M ²⁺] en mg/L (μmol/L)	Cu ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺
3 houros	0,36	0,57	5,87	7,40	0,06	0,08
5 lieules	5,67	8,97	242	304	1,02	2,06
24 hours	0,18	0,06	13,1	8,30	0,08	0,37
24 neures	2,83	0,94	539	341	3,29	15,2



Figure 37 : Evolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau de particules de CuO-nano, Cu_{0,9}Mg_{0,1}Onano, MgO-micro et Mg₂Cu₅O₇-micro

L'activité bactéricide des oxydes $Cu_{0,85}Mg_{0,15}O$ et $Cu_{0,8}Mg_{0,2}O$ biphasiques est très forte, et supérieure à celle des oxydes de la solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ ($0 \le x \le 0,1$). Ce résultat est plutôt inattendu. Une explication plausible est de considérer que la dissolution des particules d'oxyde augmente avec leur teneur x en magnésium. Dans ce cas, la quantité de particules $Cu(OH)_2$ très actives qui précipitent doit augmenter avec cette teneur x, malgré la décroissance en parallèle de la teneur en cuivre initiale des particules au sein de la série de composés $Cu_{1-x}Mg_xO$.

5.3. Activité bactéricide des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂

Par manque de temps, la cinétique de bactéricidie des hydroxycarbonates $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ n'a pu être évaluée que vis-à-vis d'*E. coli* sur 3 heures. Il est bon de rappeler que les particules sphériques de ces composés ont des tailles de l'ordre de 2-3 µm. Les résultats sont exposés dans le tableau 15 et sur la figure 38 suivants. Les activités bactéricides des composés se caractérisent par des problèmes de reproductibilité. La fluctuation importante des activités bactéricides pourrait être liée à des problèmes d'agglomération des particules. Il ressort malgré tout que le composé parent $Cu_2CO_3(OH)_2$ (x = 0) présente une activité non négligeable vis-à-vis de cette bactérie, avec une réduction au minimum de 1,47 log (compte tenu de l'écart-type) au bout de 3 heures de contact ; la réduction moyenne étant de 4,64 log.

L'impact de la substitution du cuivre par le magnésium sur l'activité bactéricide de la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂ a aussi été évalué. Compte tenu des écart-types importants sur les moyennes des réductions log, il apparaît difficile de déterminer avec certitude l'impact de la substitution sur l'activité bactéricide du composé parent Cu₂CO₃(OH)₂. Pour ces composés, des essais complémentaires doivent donc être envisagés avec modification du protocole de mise en contact particules/bactéries afin d'optimiser l'homogénéité du mélange.

	Temps de	Ν	0/ Dáduatian		
	contact (min)	(UFC/mL)	% Reduction	LOg(N ₀ /N)	
	0	6,88±0,01	-	-	
	15		98,7±1,7	2,20±0,86	
Cu ₂ CO ₃ (OH) ₂	30		99,7±0,4	3,38±1,56	
	60		99,9±0,1	4,14±2,21	
	180		99,8±0,2	4,64±3,17	
	0	6,88±0,01	-	-	
	15		97,4±3,3	1,95±0,90	
Cu _{1,9} Mg _{0,1} CO ₃ (OH) ₂	30		99,4±0,8	2,76±1,19	
	60		99,5±0,8	3,93±2,76	
	180		99,8±0,3	4,64±3,17	
	0	6,81±0,02	-	-	
	15		100,0±0,1	4,29±1,76	
Cu _{1,8} Mg _{0,2} CO ₃ (OH) ₂	30		100,0±0,1	4,73±1,82	
	60		100,0±0,1	5,23±2,22	
	180		100,0±0,1	> 6,88	

Tableau 15 : Activité bactéricide des hydroxycarbonates Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)



Figure 38 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des hydroxycarbonates Cu₂₋ _xMg_xCO₃(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

La concentration en ions Cu²⁺ et Mg²⁺ a été mesurée par spectroscopie d'émission atomique à température ambiante dans les surnageants après 3 et 24 heures d'immersion dans l'eau de particules des hydroxycarbonates Cu₂CO₃(OH)₂ et Cu_{1.8}Mg_{0.2}CO₃(OH)₂. Ces analyses ont été complétées par un suivi de l'évolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 16 et à la figure 39. Avec une solubilité de 0,81 mg/L au bout de 24 heures, la Malachite $Cu_2CO_3(OH)_2$ présente une solubilité intermédiaire entre celle de l'oxyde CuO-nano (0,30 mg/L) et de l'hydroxyde Cu(OH)₂ (4 mg/L) (tableau 16). Si la présence de magnésium dans le composé Cu_{1.8}Mg_{0.2}CO₃(OH)₂ favorise sa dissolution, elle est nettement moins prononcée en comparaison de celles observés avec l'oxyde Cu_{0.9}Mg_{0.1}O-nano et l'hydroxyde $Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)_2$. La très légère augmentation de pH du surnageant observée avec le temps d'immersion des particules d'hydroxycarbonate Cu_{1.8}Mg_{0,2}CO₃(OH)₂ en témoigne. Les valeurs et variations de pH observées ne peuvent être impliquées dans la forte activité bactéricide notée. Cette « stabilité » est toutefois à pondérer puisque la taille des particules de cet hydroxycarbonate est de quelques micromètres alors que celles des oxydes Cu_{0.9}Mg_{0.1}O-nano et des hydroxydes $Cu_{0.9}Mg_{0.1}(OH)_2$ sont nanométriques. En conclusion, l'activité bactéricide forte de l'hydroxycarbonate $Cu_{1.8}Mg_{0.2}CO_3(OH)_2$ ne peut être imputée à sa dissolution.

Tableau 16 : Concentrations en ions Cu²⁺ dans le surnageant après 3 et 24 heures d'immersion dans l'eau de particules de Cu₂CO₃(OH)₂ et Cu_{1,8}Mg_{0,2}CO₃(OH)₂

	Cu ₂ CO ₃ (OH) ₂	Cu _{1,8} Mg	_{,2} CO ₃ (OH) ₂
[M ²⁺] en mg/L (μmol/L)	Cu ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺
2 houros	0,065	1,02	0,29
Jileules	1,02	16,1	11,93
24 houros	0,24	1,07	1,16
24 neures	3,93	16,8	47,7



Figure 39 : Evolution du pH du surnageant avec le temps d'immersion dans l'eau de particules de Cu₂CO₃(OH)₂ et Cu_{1,8}Mg_{0,2}CO₃(OH)₂

Chapitre IV - Etude de la partie riche en cuivre du diagramme binaire MgO-CuO

6. Conclusion

Ce chapitre avait pour vocation de compléter l'étude menée sur le diagramme binaire MgO-CuO, et aussi de définir si une solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ existait. La coprécipitation de précurseurs de type « hydroxydes mixtes » et leur décomposition contrôlée à basse température (400°C) a permis l'obtention des oxydes visés. La caractérisation de ces précurseurs hydroxydes a révélé l'existence d'une solution solide $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ isotype de la Spertiniite, dont l'étendue est limitée à x = 0,10. Une solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ existe bien dans le diagramme binaire MgO-CuO avec une solubilité du magnésium dans la structure de CuO également limitée à x=0,1. Contrairement aux composés riches en magnésium, les échantillons riches en cuivre sont nettement plus stables vis-à-vis de l'hydrolyse, et la substitution par les ions Mg^{2+} ne semble pas altérer cette caractéristique.

Les activités bactéricides des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ et oxydes Cu_{1-x}Mg_xO ont pu être évaluées visà-vis d'*E. coli* et de *S. aureus*. Ces activités diminuent au sein des deux solutions solides avec la teneur x croissante en magnésium, supprimant ainsi le gain d'activité apporté par la taille nanométrique des particules. Les hydroxydes mixtes se sont révélés être de meilleurs agents bactéricides que leurs homologues oxydes car leur activité est très élevée dès les 15 premières minutes de contact et leur dissolution dans le milieu est plus faible. Toutefois, les composés parents CuO et Cu(OH)₂ de ces deux séries sont de loin les plus actifs.

La carbonatation forcée des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂ et oxydes Cu_{1-x}Mg_xO dans l'eau entraîne la formation d'un hydroxycarbonate mixte Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ isotype de la Malachite. Cette nouvelle solution solide a fait l'objet d'une étude structurale. Un protocole de synthèse directe par voie hydrothermale de ces hydroxycarbonates a été mis au point dans le but de contrôler le taux de substitution x et d'étudier son incidence sur l'activité bactéricide de la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂ vis-à-vis d'*E. coli*. La limite de solubilité du magnésium dans la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂ n'a pas pu être en revanche déterminée. Ces hydroxycarbonates mixtes Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂ présentent tous une forte activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* et en font des candidats intéressants comme substituant de l'oxyde CuO, puisqu'ils permettent de s'affranchir de tout problème d'hydrolyse et de carbonatation de l'oxyde avec le temps.

Ni le pH, ni la présence d'ions Cu²⁺ dans les surnageants n'ont permis d'apporter une explication à la bactéricidie des composés. Une étude de la production de ROS par les particules d'hydroxydes, oxydes ou carbonates doit être notamment réalisée par Résonance Paramagnétique Electronique afin de déterminer si cette production dépend de la teneur en cuivre de ces composés.

Références du chapitre IV

- 1. Paranthaman, M., David, K.A. and Lindemer, T.B., *Phase equilibria of the MgO-Cu₂O-CuO system.* Materials Research Bulletin, 1997. **32**(2): p. 165-173.
- 2. Oh-ishi, K., Tsuchiya, Y., Iizuka, Y. and Yamane, H., Synthesis and Crystal Structure of $Mg_{1-x}Cu_{2+x}O_3$ (0.130 $\leq x \leq 0.166$). Journal of Solid State Chemistry, 2001. **160**(1): p. 251-256.
- 3. Chaudhary, N.V.P., Murthy, J.K. and Venimadhav, A., *Absence of dipolar ordering in Co doped CuO*. Solid State Communications, 2016. **247**: p. 36-39.
- 4. Shahid, T., Arfan, M., Ahmad, W., BiBi, T. and Khan, T.M., *Synthesis And Doping Feasibility Of Composite-hydroxide-mediated Approach For The Cu_{1-x}Zn_xO Nanomaterials. Advanced Materials Letters, 2016. 7(7): p. 561-566.*
- Sarp, H., Cerny, R. and Guenee, L., *Rouaite, Cu₂(NO₃)(OH)₃, un nouveau minéral: sa description et sa structure cristalline (Alpes-Maritimes, France).* Riviera Scientifique, 2001. 85: p. 3-12.
- 6. Yoder, C.H., Bushong, E., Liu, X., Weidner, V., McWilliams, P., Martin, K., Lorgunpai, J., Haller, J. and Schaeffer, R.W., *The synthesis and solubility of the copper hydroxyl nitrates: gerhardtite, rouaite and likasite.* Mineralogical Magazine, 2018. **74**(03): p. 433-440.
- 7. Cudennec, Y. and Lecerf, A., *The transformation of Cu(OH)*₂ *into CuO, revisited.* Solid State Sciences, 2003. **5**(11-12): p. 1471-1474.
- 8. Cudennec, Y., Riou, A., Gérault, Y. and Lecerf, A., *Hypothèse cristallochimique des mécanismes de formation de CuO (s) et de Cu(OH)*₂ (s) à partir de $Na_2Cu(OH)_4$ (s). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIC-Chemistry, 2000. **3**(8): p. 661-666.
- 9. Schönenberger, U.W., Günter, J.R. and Oswald, H.R., *Polymorphism of copper (II) hydroxide*. Journal of Solid State Chemistry, 1971. **3**(2): p. 190-193.
- 10. Günter, J.R. and Oswald, H.R., *Topotactic electron induced and thermal decomposition of copper(II) hydroxide.* Journal of Applied Crystallography, 1969. **3**: p. 21-26.
- Oswald, H.R., Reller, A., Schmalle, H.W. and Dubler, E., *Structure of copper (II) hydroxide, Cu(OH)*₂. Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications, 1990. 46(12): p. 2279-2284.
- 12. Shannon, R.D., *Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides.* Acta Crystallographica Section A, 1976. **32**(5): p. 751-767.
- 13. Desgranges, L., Calvarin, G. and Chevrier, G., *Interlayer Interactions in* $M(OH)_2$ A Neutron Diffraction Study of $Mg(OH)_2$. Acta Crystallographica Section B, 1996. **51**(1): p. 82-86.
- 14. Rodriguez Carvajal, J., *Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction.* Physica B, 1993. **192**(1-2): p. 55-69.
- Zigan, F., Joswig, W., Schuster, H.D. and Mason, S.A., *Verfeinerung der Struktur von Malachit, Cu₂(OH)₂CO₃, durch Neutronenbeugung.* Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 1977. **145**(1-6): p. 412-426.
- 16. Perchiazzi, N., *Crystal structure determination and Rietveld refinement of rosasite and mcguinnessite.* Zeitschrift für Kristallographie Supplements, 2006. **2006**(suppl_23_2006): p. 505-510.
- 17. Anthony, J.W., Bideaux, R.A., Bladh, K.W. and Nichols, M.C., *Handbook of Mineralogy. Volume V: Borates, Carbonates, Sulfates*. Vol. 5. 2003, Chantilly: Mineralogical Society of America.
- 18. Perchiazzi, N. and Merlino, S., *The malachite-rosasite group: crystal structures of glaukosphaerite and pokrovskite.* European Journal of Mineralogy, 2006. **18**(6): p. 787-792.
- 19. Perchiazzi, N., Dragone, R., Demitri, N., Vignola, P. and Biagioni, C., *Incorporation of Co in the rosasite–malachite carbonate group of minerals: crystal structure studies of kolwezite and synthetic cobaltoan malachites.* European Journal of Mineralogy, 2018. **30**(3): p. 609-620.
- 20. Gaines, R.V., Skinner, H.C.W., Frood, E., Mason, B. and Rosenzweig, A., *Dana's New Mineralogy*. 1997: John Wiley & Sons, 8th Edition.

- 21. Behrens, M. and Girgsdies, F., *Structural Effects of Cu/Zn Substitution in the Malachite-Rosasite System* Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie, 2010. **636**(6): p. 919-927.
- 22. Stoilova, D., Koleva, V. and Vassileva, V., *Infrared study of some synthetic phases of malachite* $(Cu_2(OH)_2CO_3)$ -hydrozincite $(Zn_5(OH)_6(CO_3)_2)$ series. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2002. **58**(9): p. 2051-2059.
- 23. Frost, R.L., Martens, W.N., Rintoul, L., Mahmutagic, E. and Kloprogge, J.T., *Raman spectroscopic study of azurite and malachite at 298 and 77 K.* Journal of Raman Spectroscopy, 2002. **33**(4): p. 252-259.
- 24. Ramamurthy, P. and Secco, E.A., *Studies on metal hydroxy compounds. XII. Thermal analyses, decomposition kinetics, and infrared spectra of copper basic oxysalts.* Canadian Journal of Chemistry, 1970. **48**(22): p. 3510-3519.
- 25. Koga, N., Tatsuoka, T. and Tanaka, Y., *Effect of atmospheric water vapor on the kinetics of thermal decomposition of copper (II) carbonate hydroxide.* Journal of thermal analysis and calorimetry, 2009. **95**(2): p. 483-487.
- 26. Koga, N., Criado, J.M. and Tanaka, H., *Apparent kinetic behavior of the thermal decomposition of synthetic malachite.* Thermochimica Acta, 1999. **340-341**: p. 387-394.
- 27. Koga, N., Maruta, S., Kimura, T. and Yamada, S., *Phenomenological kinetics of the thermal decomposition of sodium hydrogencarbonate.* Journal of Physical Chemistry A, 2011. **115**(50): p. 14417-14429.
- 28. Koga, N., Tatsuoka, T., Tanaka, Y. and Yamada, S., *Catalytic action of atmospheric water vapor on the thermal decomposition of synthetic hydrozincite.* Transactions of the Materials Research Society of Japan, 2009. **34**(2): p. 343-346.
- 29. Yamada, S., Tsukumo, E. and Koga, N., *Influences of evolved gases on the thermal decomposition of zinc carbonate hydroxide evaluated by controlled rate evolved gas analysis coupled with TG.* Journal of thermal analysis and calorimetry, 2009. **95**(2): p. 489-493.
- 30. Akhavan, O., Azimirad, R., Safa, S. and Hasani, E., *CuO/Cu(OH)*₂ hierarchical nanostructures as bactericidal photocatalysts. Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**(26): p. 9634.
- 31. Karkhanechi, H., Takagi, R., Ohmukai, Y. and Matsuyama, H., *Enhancing the antibiofouling performance of RO membranes using Cu(OH)2 as an antibacterial agent*. Desalination, 2013. **325**: p. 40-47.
- 32. Makhluf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R. and Gedanken, A., *Microwave-Assisted Synthesis of Nanocrystalline MgO and Its Use as a Bacteriocide.* Advanced Functional Materials, 2005. **15**: p. 1708-1715.
- 33. Dong, C., Cairney, J., Sun, Q., Maddan, O.L., He, G. and Deng, Y., *Investigation of Mg(OH)*₂ *nanoparticles as an antibacterial agent.* Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(6): p. 2101-2109.
- 34. Lide, D.R., *CRC Handbook of Chemistry and Physics.* 85th edition. Boca Raton, ed. C. Press. 2005.
- 35. Oulkheir, S., Ounine, K., Elhaloui, N.E. and Attarassi, B., *Survie d'Escherichia coli dans des conditions acides.* Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux, 2006. **145**(1): p. 41-52.
- 36. De Jonge, R., Takumi, K., Ritmeester, W.S. and Van Leusden, F.M., *The adaptive response of Escherichia coli O157 in an environment with changing pH.* Journal of applied microbiology, 2003. **94**(4): p. 555-560.
- Wilks, J.C. and Slonczewski, J.L., pH of the cytoplasm and periplasm of Escherichia coli: rapid measurement by green fluorescent protein fluorimetry. Journal of bacteriology, 2007. 189(15): p. 5601-5607.
- 38. Small, P., Blankenhorn, D., Welty, D., Zinser, E. and Slonczewski, J.L., *Acid and base resistance in Escherichia coli and Shigella flexneri: role of rpoS and growth pH.* Journal of bacteriology, 1994. **176**(6): p. 1729-1737.
- 39. Surber, C., Abels, C. and Maibach, H.I., *pH of the Skin: Issues and Challenges*. 2018, San Francisco, CA.

- 40. Luo, Z., Chen, M., Chen, T., She, P. and Wu, Y., *Lactic Acid Produced by Glycolysis Contributed to Staphylococcus aureus Aggregation Induced by Glucose.* Current microbiology, 2019. **76**(5): p. 607-612.
- 41. Ren, G., Hu, D., Cheng, E.W., Vargas-Reus, M.A., Reip, P. and Allaker, R.P., *Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications.* International Journal of Antimicrobial Agents, 2009. **33**(6): p. 587-590.
- 42. Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. and Banin, E., *Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress.* Small, 2012. **8**(21): p. 3326-3337.
- 43. Noyce, J.O., Michels, H. and Keevil, C.W., *Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic meticillin-resistant Staphylococcus aureus in the healthcare environment.* Journal of Hospital Infection, 2006. **63**(3): p. 289-97.
- 44. Noyce, J.O., Michels, H. and Keevil, C.W., *Use of copper cast alloys to control Escherichia coli* 0157 cross-contamination during food processing. Applied and Environmental Microbiology, 2006. **72**(6): p. 4239-4244.
- 45. Michels, H.T., Noyce, J.O. and Keevil, C.W., *Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant Staphylococcus aureus challenged antimicrobial materials containing silver and copper.* Letters in Applied Microbiology, 2009. **49**(2): p. 191-5.

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

1. Choix des phosphates étudiés : présentation du diagramme ternaire MgO-CuO-P $_2O_5$ et de	227
phosphates hydroxyles	237
2. Les hydroxyphosphates de cuivre	242
2.1. Structure cristalline, synthèse et caractérisations du composé Cu ₂ (PO ₄)OH	242
2.2. Structure cristalline, synthèse et caractérisations du composé $Cu_3(P_2O_6OH)_2$	248
3. Le système Cu ₂ P ₂ O ₇ -Mg ₂ P ₂ O ₇	254
3.1. Les composés définis Cu ₂ P ₂ O ₇ et Mg ₂ P ₂ O ₇	257
3.1.1. Synthèse	257
3.1.2. Caractérisations	257
3.2. Etude de la solution solide $Cu_{2-x}Mg_xP_2O_7$ ($0 \le x \le 2$)	260
4. Le système Cu ₃ (PO ₄) ₂ -Mg ₃ (PO ₄) ₂	265
4.1. Les composés définis Cu ₃ (PO ₄) ₂ et Mg ₃ (PO ₄) ₂	266
4.1.1. Synthèse	266
4.1.2. Caractérisations	267
4.2. Les solutions solides Cu _{3-x} Mg _x (PO ₄) ₂ et Mg _{3-x} Cu _x (PO ₄) ₂	270
4.2.1. La solution solide Cu _{3-x} Mg _x (PO ₄) ₂	270
4.2.2. La solution solide Mg _{3-x} Cu _x (PO ₄) ₂	273
5. Les oxyphosphates de cuivre	277
5.1. Le composé Cu ₄ O(PO ₄) ₂	278
5.2. Le composé Cu ₅ O ₂ (PO ₄) ₂	281
6. Etude de la stabilité des composés définis vis-à-vis de l'hydrolyse	283
7. Évaluation de l'activité bactéricide des phosphates	287
7.1. Activité bactéricide des composés définis	287
7.2. Activité bactéricide des solutions solides	290
8. Conclusion	294
Références du chapitre V	295

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

1. Choix des phosphates étudiés : présentation du diagramme ternaire MgO-CuO-P₂O₅ et de phosphates hydroxylés

Dans les chapitres III et IV, l'étude des oxydes et hydroxydes mixtes riches en magnésium a révélé leur instabilité marquée vis-à-vis de l'hydrolyse et/ou de la carbonatation. Cette sensibilité est probablement liée à la basicité de la surface de ces particules. Pour procurer une stabilité des composés vis-à-vis de la carbonatation, une idée serait de diminuer le caractère basique des oxydes et hydroxydes, en les combinant avec un oxyde acide ou amphotère. Le pentoxyde de phosphore P₂O₅ est particulièrement intéressant, car de nombreux composés inorganiques contenant du phosphore sont répertoriés dans la littérature. Ce chapitre sera donc consacré aux phosphates à base de cuivre et de magnésium.

L'ion orthophosphate de formule $[PO_4]^{3^-}$, aussi appelé simplement ion phosphate, se présente sous la forme d'un tétraèdre dont les sommets sont occupés par les atomes d'oxygène et l'atome de phosphore de charge +V en occupe le centre. Au sein de ce tétraèdre, les 4 distances P-O sont comprises entre 1,47 Å et 1,62 Å, avec un maximum centré sur 1,53 Å ⁽¹⁾. Des condensations de groupements phosphates existent aussi (figure 1). On entend par condensation la mise en commun ou le partage d'un sommet « oxygène » entre deux groupements.

L'ion pyrophosphate de formule $[P_2O_7]^{4-}$ est composé de deux tétraèdres de phosphore partageant un sommet « oxygène ».

Lorsqu' un tétraèdre $[PO_4]^{3^-}$ partage systématiquement deux de ses quatre sommets "oxygène" avec deux autres tétraèdres, la condensation conduit soit à la formation de cycles, soit à la formation de chaînes de groupements phosphate. Dans le cadre d'un arrangement cyclique de tétraèdres, l'ion formé est appelé ion métaphosphate et a pour formule générale $(P_nO_{3n})^n$. Le préfixe ajouté indique le nombre n de tétraèdres formant le cycle. Par exemple, un cycle constitué de trois groupements phosphate (n = 3) est nommé trimétaphosphate $[P_3O_9]^{3^-}$ et un cycle à quatre groupements (n=4) s'appelle tétramétaphosphate $[P_4O_{12}]^{4^-}$. Pour les chaînes linéaires infinies, l'ion formé est appelé ion polyphosphate et a une formulation générale $[PO_3]_n^{n^-}$. Cet arrangement n'est pas sans rappeler la chaîne macromoléculaire d'un homopolymère dans lequel le monomère est le groupement $[PO_4]^{3^-}$. Le terme entité polymérique est aussi employé pour désigner ce type d'arrangement en chaînes. Comme il existe des polymères ramifiés ou réticulés, un tétraèdre d'une chaîne linéaire peut partager un troisième sommet « oxygène » conduisant au greffage d'une chaîne latérale de groupements phosphate qui peut être infinie ou non. Le terme ultraphosphate est alors employé. La formule générale de l'anion ultraphosphate est $[P_{n+2}O_{3n+5}]^{n^-}$.
La figure 1 suivante présente les quelques possibilités d'arrangements et de condensation de groupements phosphate que l'on peut rencontrer.



Figure 1 : Possibilités d'arrangement/condensation de groupement phosphates

Dans le diagramme ternaire MgO-CuO- P_2O_5 , tracé à partir des données issues de la littérature, plusieurs composés définis sont répertoriés (en rouge sur la figure 2) :



Figure 2 : Diagramme ternaire MgO-CuO-P₂O₅

Les phosphates les moins riches en oxyde métallique MO présentent un ratio MO-P₂O₅ de 1:2. Ce sont des ultraphosphates M(P₄O₁₁). Les composés au cuivre ⁽²⁾ et magnésium ⁽³⁾ n'adoptent pas le même type structural. Les composés définis présentant un ratio MO-P₂O₅ de 1:1 sont des tétramétaphosphates M₂(P₄O₁₂). Les composés au cuivre et ⁽⁴⁾ et magnésium ⁽⁵⁾ adoptent la même structure de symétrie monoclinique. A notre connaissance, aucune solution solide Mg_{2-x}Cu_x(P₄O₁₂) complète ou partielle n'est référencée dans la littérature. Par manque de temps, les ultra- et tétramétaphosphates n'ont pas été étudiés dans le cadre de cette thèse.

Les seuls pyrophosphates du diagramme ternaire ont une formulation en $M_2(P_2O_7)$ et présentent donc un ratio $MO-P_2O_5$ de 2:1. Les pyrophosphates de cuivre $Cu_2P_2O_7$ et de magnésium $Mg_2P_2O_7$, référencés dans la littérature, adoptant la même structure cristalline, une solution solide complète de type $Mg_{2-x}Cu_xP_2O_7$ de ce fait existe qui est matérialisée par un trait rouge sur la figure 2. Le système sera revisité dans le détail dans la section 3 de ce chapitre.

Les phosphates métalliques du diagramme ternaire ont pour formulation $M_3(PO_4)_2$, avec un ratio $MO-P_2O_5$ de 3:1. Les composés définis $Cu_3(PO_4)_2$ et $Mg_3(PO_4)_2$ sont connus dans la littérature et présentent des structures cristallines différentes. Cette différence est à l'origine de l'existence de deux solutions solides partielles $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ ($x \le 0,7$) du côté riche en cuivre et $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ ($x \le 1,7$) du côté riche en magnésium ⁽⁶⁾. Plusieurs compositions représentatives des deux solutions solides seront préparées et étudiées dans la section 4 de ce chapitre.

Enfin, deux oxyphosphates de cuivre de formulations respectives $Cu_4O(PO_4)_2$ (ratio $CuO-P_2O_5$ de 4:1) et $Cu_5O_2(PO_4)_2$ (ratio $CuO-P_2O_5$ de 5:1) sont également référencés dans la littérature. Leur formulation laisse apparaître qu'un ou deux atomes d'oxygène n'appartiennent pas au groupement phosphate, d'où leur nom. Xiao *et coll.* ⁽⁷⁾ ont montré que l'oxyphosphate $Cu_4O(PO_4)_2$ était capable de générer des radicaux libres HO[•]. Ce composé pourrait donc présenter une activité bactéricide qui n'a pour l'instant pas été reportée dans la littérature. Ces deux oxyphosphates de cuivre seront étudiés dans la section 5 de ce chapitre. Aucun oxyphosphate de magnésium n'est référencé dans la littérature.

L'activité bactéricide des produits sera évaluée dans l'eau. Par ailleurs, tout agent antibactérien utilisé est exposé à l'air ambiant humide. Une hydratation des composés précédents en phosphate hydraté, voire leur hydrolyse en hydroxyphosphates pourraient *a priori* se produire. Le tableau 1 suivant répertorie les hydrates et les hydroxyphosphates connus dans la littérature. La plupart sont des minéraux et les autres sont synthétiques. Plusieurs formes hydratées des pyrophosphates $M_2P_2O_7$ et phosphates $M_3(PO_4)_2$ précédents (M = Mg et Cu) existent. Ces hydrates sont pour la plupart les produits d'une « hydratation forcée » induite par un traitement hydrothermal entre 90°C et 180°C. Ces conditions de formation sont bien loin de celles dans lesquelles les tests de bactéricidie sont réalisés, leur formation est donc peu probable. Ces hydrates ne seront pas étudiés dans le cadre de cette thèse. L'hydrolyse en hydroxyphosphates des pyrophosphates $M_2P_2O_7$ et phosphates M₃(PO₄)₂ (M = Mg et Cu) est également peu probable car elle conduirait à une acidification du milieu. Avec le cuivre, cela conduirait aux réactions suivantes :

$$Cu_3(PO_4)_2 + \frac{3}{2}H_2O \rightarrow \frac{3}{2}Cu_2PO_4(OH) + \frac{1}{2}H_3PO_4$$

 $Cu_2P_2O_7 + 2H_2O \rightarrow Cu_2PO_4(OH) + H_3PO_4$

Néanmoins, deux autres composés du cuivre ont retenu notre attention : l'hydroxypyrophosphate $Cu_3(P_2O_6OH)$ et l'hydroxyphosphate $Cu_2(PO_4)OH$. Ce dernier composé présente un intérêt dans la recherche de nouveaux composés inorganiques potentiellement bactéricides, car il a été montré dans la littérature qu'il présentait une activité photocatalytique dans le proche infrarouge (800 nm) ⁽⁸⁾. Par ailleurs, Xiao *et coll.* ⁽⁷⁾ ont montré que $Cu_2(PO_4)OH$ était capable de générer des radicaux libres HO[•]. Ces éléments laissent à penser que ce composé pourrait présenter une activité bactéricide significative avec un processus photocatalytique de génération de radicaux libres comme c'est le cas pour l'oxyde TiO₂ sous irradiation UV ⁽⁹⁾.

Une étude des hydroxyphosphate $Cu_2(PO_4)OH$ et hydroxypyrophosphate $Cu_3(P_2O_6OH)$ sera donc menée dans le cadre de cette thèse. Elle fait l'objet de la prochaine section de ce chapitre.

	Nom et formulation	Référence
	Libethenite Cu ₂ (PO ₄)OH	
	Cornetite Cu ₃ (PO ₄)(OH) ₃	(10)
	Pseudomalachite Cu ₅ (PO ₄) ₂ (OH) ₄	
	Ludjibaite Cu ₅ (PO ₄) ₂ (OH) ₄	
Naturels	Bobierrite Mg ₃ (PO ₄) ₂ .8H ₂ O	(10, 11)
	Holtedahlite γ- Mg ₂ (PO ₄)OH	(10, 12)
	Althausite δ -Mg ₂ (PO ₄)OH	(10, 13-15)
	Kovdorskite Mg ₂ PO ₄ (OH).3H ₂ O	(10, 16)
	Raaedite $Mg_7(PO_4)_2(OH)_8$	(10, 17)
	Cu ₃ (P ₂ O ₆ OH) ₂	(18)
	Cu ₉ (PO ₄) ₄ O ₂ (OH) ₂	(19)
	Cu ₃ (PO ₄) ₂ .H ₂ O	(20)
	Mg ₃ (PO ₄) ₂ .4H ₂ O	(21)
	Mg ₃ (PO ₄) ₂ .22H ₂ O	(22, 23)
	Mg ₂ P ₂ O ₇ .H ₂ O	(24)
Synthétiques	Mg ₂ P ₂ O ₇ .2H ₂ O	(25)
	Mg ₂ P ₂ O ₇ .3,5H ₂ O	(24)
	Mg ₂ P ₂ O ₇ .6H ₂ O	(25)
	α -Mg ₂ (PO ₄)OH	(26)
	β -Mg ₂ (PO ₄)OH	(27)
	ε-Mg ₂ (PO ₄)OH	(26)

Tableau 1 : Liste des pyrophosphates et phosphates hydratés ainsi que des hydroxyphosphates de cuivre et de magnésium naturels et synthétiques

2. Les hydroxyphosphates de cuivre

2.1. Structure cristalline, synthèse et caractérisations du composé Cu₂(PO₄)OH

La structure cristalline du composé Cu₂(PO₄)OH a été déterminée par Cordsen ⁽²⁸⁾. Cet hydroxyphosphate cristallise dans le groupe d'espace orthorhombique Pnnm (n°58, Z = 4). Les tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ sont quasi réguliers (distances P-O comprises entre 1,52 et 1,56 Å, distance moyenne 1,54 Å). La moitié des atomes de cuivre est positionnée sur le site 4e de coordonnées réduites (0, 0, z). Ces atomes, nommés ci-après Cu(1), occupent des octaèdres de formulation $[Cu(1)O_4(OH)_2]$. Le plan équatorial est défini par deux atomes d'oxygène et deux groupements HO⁻ situés à une distance moyenne de 1,97 Å du cuivre. Deux autres atomes d'oxygène complètent la sphère de coordinence du cuivre Cu(1), avec des distances axiales Cu-O égales à 2,39 Å. De ce fait, l'effet Jahn-Teller de l'ion cuivrique induit un étirement de cet octaèdre $[Cu(1)O_4(OH)_2]^{8-}$ suivant l'axe 4 (déformation [4+2]). Ces octaèdres $[Cu(1)O_4(OH)_2]^{8-}$ partagent des arêtes OH-OH et O-O et forment ainsi des chaînes se propageant suivant l'axe c (figure 3a). Ces chaînes sont reliées entre elles dans le plan (a,b) par les tétraèdres [PO₄]³⁻ (connexion par sommet), formant ainsi un réseau de tunnels tous orientés suivant l'axe c de la structure (figure 3a). La seconde moitié des atomes de cuivre est positionnée sur le site 4g de coordonnées réduites (x, y, 0). Ces atomes, nommés ci-après Cu(2), occupent des bipyramides trigonales de formulation [Cu(2)O₄(OH)]⁸⁻. Ces bipyramides sont moins distordues que les octaèdres $[Cu(1)O_4(OH)_2]^{8-}$ puisque la distance moyenne des liaisons Cu-O équatoriales est de 2,05 Å, contre 1,93 Å en moyenne pour les liaisons axiales Cu-O et Cu-(OH). Les bipyramides [Cu(2)O₄(OH)]⁷⁻ partagent deux à deux une arête O-O pour former des dimères isolés $[Cu(2)_2O_6(OH)_2]^{10-}$ les uns des autres (figure 3b). Ces dimères occupent les tunnels formés par les octaèdres $[Cu(1)O_4(OH)_2]^{6-}$ et les tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ (figure 3c). L'hydrogène pointe vers l'espace libre entre les polyèdres. Il est porté par le seul oxygène qui n'intervient pas dans le groupement PO4³⁻.



Figure 3 : Projections selon l'axe c de la structure cristalline de Cu₂(PO₄)OH. (a) Tunnels formés par la connexion des octaèdres [Cu(1)O₄(OH)₂]⁸⁻ et des tétraèdres [PO₄]³⁻. (b) Dimères formés par la connexion des bipyramides trigonales [Cu(2)O₄(OH)]⁷⁻. (c) Insertion des dimères dans le réseau de tunnels.

L'hydroxyphosphate de cuivre a été préparé par voie hydrothermale, selon un protocole adapté de la référence ⁽⁸⁾. Du chlorure de cuivre anhydre (4,41 g, 32,8 mmol) est dissous dans 15 mL d'eau distillée

dans un corps en téflon de 125 mL. Du phosphate d'ammonium (NH₄)₂HPO₄ (8,66 g, 65,6 mmol) est dissous dans 40 mL d'eau puis transféré dans une burette. La solution de cuivre est titrée par la solution de phosphate d'ammonium et agitée vigoureusement, entraînant la formation d'une pâte bleue qui se solubilise par le maintien de l'agitation pendant une heure. Le mélange est ensuite placé dans un autoclave en acier de type Paar. L'autoclave est ensuite placé dans une étuve programmable Thermo Scientific Heratherm puis porté à 150 °C pendant 48 heures (vitesse de montée 60°C/h et de descente 10°C/h). Une fois le surnageant éliminé, les cristaux vert foncé de forme prismatique sont lavés à l'éthanol puis séchés à l'air libre avant d'être broyés en vue de leur caractérisation (figure 4).



Figure 4 : Protocole de synthèse par voie hydrothermale de Cu₂(PO₄)OH

Un diffractogramme de rayons X a été ensuite collecté et affiné par la méthode de Le Bail du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ sur la plage en 20 comprise entre 10° et 135° (795 réflexions considérées). Le modèle structural de départ est celui référencé dans la littérature ⁽²⁸⁾ et présenté précédemment. Ce modèle permet de rendre compte du diffractogramme collecté avec une qualité tout à fait acceptable. En revanche, il n'a pas été possible d'affiner le diffractogramme par la méthode de Rietveld suite à des calculs incorrects du profil.

Tableau 2 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Le Bail du compos	śé
Cu ₂ (PO ₄)OH (groupe d'espace Pnnm)	

	a(Å)	b(Å)	c(Å)
Littérature ⁽²⁸⁾	8,062(15)	8,384(12)	5,881(18)
Ce travail	8,0621(5)	8,4037(6)	5,8885(3)

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates



Figure 5 : Résultat de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme de rayons X du composé Cu₂(PO₄)OH collecté à température ambiante

L'impossibilité d'affiner le diffractogramme par la méthode de Rietveld nous a poussés à utiliser deux autres techniques pour identifier le composé préparé. La spectroscopie infrarouge et l'analyse des modes de vibration des groupements phosphate doivent permettre de vérifier qu'il s'agit bien d'un hydroxyphosphate. La décomposition thermique d'un hydroxyde libérant de l'eau, l'analyse thermogravimétrique doit permettre de vérifier la teneur en ions HO⁻ du composé.

La figure 6 suivante présente le spectre infrarouge du composé préparé. Une bande de vibration d'élongation de liaisons O-H (v_{OH}) est détectée vers 3465 cm⁻¹ sur le spectre infrarouge. Elle est reliée à la bande centrée sur 810 cm⁻¹, caractéristique d'une vibration de déformation angulaire de liaisons Cu-O-H (δ_{CuOH}), en accord avec la littérature ⁽³⁰⁾. Des bandes correspondant à ce mode de vibration devraient être aussi observées dans la région 1000 - 1100 cm⁻¹, par analogie avec les travaux menés sur les Nesquehonites et les Malachites (voir chapitres III et IV). Mais ces bandes sont masquées par les bandes associées aux vibrations d'élongation des liaisons P-O des groupements phosphates (v_{PO4}), beaucoup plus intenses.



Figure 6 : Spectre infrarouge du composé Cu₂(PO₄)OH

Le groupement phosphate, de symétrie tétraédrique T_d, est constitué de N = 5 atomes. 3N-6 = 9 modes normaux de vibration sont attendus, répartis en 4 vibrations d'élongation de liaisons P-O (v_{PO4}) et 5 vibrations de déformation angulaire de liaisons O-P-O (δ_{PO4}). La représentation irréductible Γ de ce groupement PO₄³⁻ est :

$$\Gamma = A_1 + E + 2T_2$$

Les modes A₁ ($v_{(S) PO4}$, élongation symétrique) et E ($\delta_{(S) PO4}$, déformation angulaire symétrique) sont inactifs en spectroscopie infrarouge. Les modes T₂, qui correspondent aux élongations de liaisons P-O ($v_{(as) PO4}$) et déformations angulaires de liaisons O-P-O ($\delta_{(as) PO4}$) antisymétriques et triplements dégénérés sont eux actifs en spectroscopie infrarouge. Si on s'arrêtait simplement à la symétrie de l'ion libre, on ne devrait observer que les deux bandes de vibration $v_{(as) PO4}$ et $\delta_{(as) PO4}$ en spectroscopie infrarouge. Or, le spectre IR présenté sur la figure 6 précédente est plus complexe. La structure du spectre peut être expliquée en tenant compte de la symétrie des positions atomiques et de la symétrie du cristal.

Le phosphore, atome central du groupement PO_4^{3-} , occupe un site 4g de symétrie C_s. L'application de cette symétrie à la représentation irréductible précédente donne :

$$A_1 \rightarrow A', E \rightarrow A' + A'' \text{ et } T_2 \rightarrow 2A' + A''$$

Les modes A' et A'' sont actifs en spectroscopie infrarouge. Enfin, l'application du groupe d'espace (*Pnnm* en notation Hermann-Maugin) ou du groupe de symétrie ponctuel (D_{2h} en notation Schoenflies) dans lequel le composé cristallise donne :

Pour les modes A' : $A_g + B_{3g} + B_{1u} + B_{2u}$

Pour les modes $A'' : B_{1g} + B_{2g} + A_u + B_{3u}$

Le tableau 3 suivant résume la filiation des modes de vibrations du groupement phosphate dans la structure de Cu₂(PO₄)OH. Seuls les modes B_{1u}, B_{2u} et B_{3u} sont actifs en spectroscopie infrarouge. Par application du champ cristallin, les 4 modes de vibration $v_{(s) PO4}$, $v_{(as) PO4}$, $\delta_{(s) OPO}$ et $\delta_{(as) OPO}$ des groupements phosphate deviennent ainsi tous observables en spectroscopie infrarouge. Au final, le spectre infrarouge devrait présenter 7 bandes de vibration correspondant aux élongations de liaisons P-O et 8 bandes correspondant aux déformations angulaires des liaisons O-P-O (Tableau 3).

Turne de vibretien	Symétrie du groupement	Symétrie des positions	Symétrie du cristal		
Type de vibration	PO ₄ ³⁻ (T _d)	atomiques (C _s)	D _{2h}		
$ u_{(s) PO4}$	A ₁	Α'	$A_{g} + B_{3g} + B_{1u} + B_{2u}$		
$\delta_{\text{(s) PO4}}$	F	Α'	$A_{g} + B_{3g} + B_{1u} + B_{2u}$		
	L	Α''	$B_{1g} + B_{2g} + A_u + B_{3u}$		
$\mathcal{V}_{(as) PO4}$	т	2A'	$2A_{g} + 2B_{3g} + 2B_{1u} + 2B_{2u}$		
	12	Α''	$B_{1g} + B_{2g} + A_u + B_{3u}$		
$\delta_{(\text{as})\text{PO4}}$	т	2A'	$2A_{g} + 2B_{3g} + 2B_{1u} + 2B_{2u}$		
	12	Α''	$B_{1g} + B_{2g} + A_u + B_{3u}$		

Tableau 3 : Filiation des modes de vibration du groupement phosphate dans la structure de Cu₂(PO₄)OH

Dans la région 700 - 1200 cm⁻¹ caractéristique des vibrations d'élongation des liaisons P-O ⁽³¹⁾, 2 bandes sont clairement discernables (exception faite de celle centrée sur 810 cm⁻¹). Elles sont particulièrement larges et asymétriques, ce qui est caractéristique des spectres infrarouge d'échantillons désordonnés. La bande centrée sur 932 cm⁻¹ présente plusieurs épaulements à 961 et 904 cm⁻¹. Au moins 8 bandes sont détectées dans la région 400 - 700 cm⁻¹. Elles correspondent aux vibrations de déformation angulaire des liaisons O-P-O ainsi qu'aux modes de vibrations des liaisons Cu-O. D'après la littérature, certaines ont lieu à des nombres d'onde plus faibles que 400 cm⁻¹ (³⁰⁾. Leur signature est donc incomplète sur le spectre présenté en figure 6. Le tableau 4 suivant propose une attribution des différentes bandes observées en spectroscopie infrarouge. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*).

Tableau 4 : Attribution des bandes de vibrations (cm⁻¹) observées sur le spectre infrarouge du composé Cu₂(PO₄)OH . Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)

	Littérature ⁽³⁰⁾	Ce travail
ν_{OH}	3471	3465
δ_{CuOH}	810	810
ν_{PO4}	1031, 955, 917	1041, 961 (*), 932, 904 (*)
δ_{PO4}	648, 630, 641, 548,	650 (*), 631 (*), 610, 548,
+ v_{CuO}	448, 420	444, 410 (*)

Les courbes d'analyses thermogravimétrique et de la dérivée $\Delta m/\Delta T$ du composé $Cu_2(PO_4)OH$ sont présentées sur la figure 7 suivante (vitesse de montée de 5°C/minute). La décomposition thermique du composé a lieu en une seule étape comme l'atteste la présence d'un seul pic endothermique à 597°C sur la courbe d'analyse thermique différentielle. En traçant la tangente à ce pic, il est possible de déterminer la température à laquelle la décomposition commence. Une température d'environ 580°C est ainsi obtenue. L'analyse par diffraction du résidu montre que le produit de la décomposition est l'oxyphosphate de cuivre de formulation $Cu_4O(PO_4)_2$. Aucune autre phase n'est détectée. L'équation de la réaction est donc la suivante : Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

$$2Cu_2(PO_4)OH \xrightarrow{550-630^{\circ}C} Cu_4O(PO_4)_2 + H_2O$$

Dans la littérature, cet oxyphosphate de cuivre est généralement préparé par décomposition thermique de Cu₂(PO₄)OH à 850°C ⁽³²⁾. Ce résultat est donc en accord avec ceux de la littérature. La perte de masse théorique associée à cette décomposition est de 3,76 %, inférieure à la perte de masse observée expérimentalement (4,49 %). La température à laquelle le composé se décompose est plus faible que celle reportée par Xiao et coll. (650°C avec une vitesse de montée de 10°C/minute) ⁽⁷⁾. Toutefois, Zema *et coll.* ont montré par thermodiffraction sur monocristal que la Libethenite commençait à se décomposer à partir de 500°C (33). Roumila et coll. observent un seul pic aux alentours de 575°C sur la courbe d'analyse thermique différentielle (vitesse de montée non précisée) ⁽³⁴⁾, associée à une perte de masse de 4,3%, comparable à celle que nous mesurons. La courbe d'analyse thermogravimétrique montre en revanche que l'échantillon présente une perte de masse faible mais continue avant la décomposition en $Cu_4O(PO_4)_2$ à 580°C. Cette faible perte peut être attribuée à une déshydratation du composé Cu₂(PO₄)OH. Ceci implique que la formulation du composé soit en réalité Cu₂(PO₄)OH.xH₂O. Cette hypothèse est tout à fait réaliste puisque d'autres hydroxyphosphates de la littérature sont également hydratés (voir tableau 1 en début de chapitre). A partir de la perte de masse expérimentale de 4,49%, une teneur en molécule d'eau de x = 0,10 a été déterminée, en considérant que la décomposition thermique du composé Cu₂(PO₄)OH anhydre induit une perte de masse de 3,76%. La présence de cette eau, pourtant absente du spectre infrarouge du composé, pourrait expliquer pourquoi il n'a pas été possible d'affiner le diffractogramme par la méthode de Rietveld.



Figure 7 : Résultat de l'ATG réalisée sous air sur le composé Cu₂(PO₄)OH.xH₂O (vitesse de montée : 5°C/min)

2.2. Structure cristalline, synthèse et caractérisations du composé Cu₃(P₂O₆OH)₂

Découvert en 2005, l'hydroxypyrophosphate de cuivre Cu₃(P₂O₆OH)₂ cristallise dans le groupe d'espace triclinique P-1 (n°2, Z = 1) ⁽¹⁸⁾. Tous les atomes de phosphore et d'oxygène occupent des sites cristallographiques de type 2i de coordonnées réduites (x, y, z). Les deux atomes de phosphore présentent une coordinence [4] de géométrie tétraédrique très distordue, avec des distances moyennes P-O comprises entre 1,50 et 1,61 Å (moyenne 1,56 Å). Deux tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ sont liés entre eux via un sommet oxygène pour former un groupement pyrophosphate très déformé (angle P-O-P de 123°). Deux tiers des atomes de cuivre (atomes de cuivre nommés ci-après Cu(1)) sont également positionnés sur un site 2i et le dernier tiers occupe une position spéciale 1a de coordonnées réduites (0, 0, 0) (atomes de cuivre nommés ci-après Cu(2)). Le cuivre Cu(1) occupe une pyramide à base carrée distordue de formulation $[Cu(1)O_5]^{8-}$, avec une distance équatoriale moyenne Cu-O de 1,96 Å et une distance axiale moyenne Cu-O de 2,30 Å (coordinence [4+1]). Le cuivre Cu(2) occupe un octaèdre de formulation $[Cu(2)O_6]^{10-}$ allongé suivant l'axe 4 (déformation [4+2]) par l'effet Jahn-Teller de l'ion cuivrique. Les distances équatoriales Cu-O sont en moyenne de 1,99 Å alors que la distance axiale moyenne Cu-O est de 2,34 Å. Deux pyramides [Cu(1)O₅]⁸⁻ et un octaèdre [Cu(2)O₆]¹⁰⁻ mettent en commun des arêtes entre eux pour former un trimère linéaire Cu(1)-Cu(2)-Cu(1) de formulation $[Cu_3O_{12}]^{18-}$ dans le plan (b,c). Chaque trimère s'associe à des trimères voisins en mettant en commun des arêtes. Une chaîne infinie de trimères de formulation $[Cu_3O_{10}]_{\infty}$ est ainsi constituée qui se propagent en zigzag suivant l'axe c. Ces chaînes de trimères sont connectées entre elles par les groupements pyrophosphates qui partagent avec ces chaînes à la fois des arêtes et des sommets (figure 8). Au sein d'un groupement pyrophosphate, le seul oxygène restant complètement libre porte l'atome d'hydrogène. Il n'a pas pu être localisé précisément Baies et coll. (18).



Figure 8 : (a) Représentation des chaînes infinies $[Cu_3O_{10}]^{14-\infty}$ parcourant l'axe c et (b) leur connexion par les groupements pyrophosphates $[P_2O_7]^{4-}$

L'hydroxypyrophosphate de cuivre de formulation $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ a été préparé par voie liquide (figure 9) en utilisant le protocole de la littérature ⁽¹⁸⁾. De l'oxyde de cuivre (0,5 g, 7,9 mmol) est dissous dans 20 mL d'acide phosphorique concentré (85%) dans un bécher en Téflon. Le bécher est placé dans un bain d'huile à 152°C pendant 24 heures et agité tout au long de la réaction. On obtient alors un solide pâteux de couleur bleu-vert qui est récupéré par lavage du mélange à l'acétone anhydre. Les premiers essais de synthèse avec des lavages à l'eau ont révélé une instabilité du composé vis-à-vis de l'hydrolyse, conduisant à la formation d'un mélange d'hydroxyphosphate de cuivre CuHPO₄ et de pyrophosphate de cuivre hydraté $Cu_2P_2O_7.3H_2O$. Cette instabilité, non mentionnée dans la littérature ⁽¹⁸⁾ fera l'objet d'une étude cinétique.



Figure 9 : Protocole de synthèse du composé Cu₃(P₂O₆OH)₂

L'affinement du diagramme de diffraction des rayons X de ce composé à partir des paramètres de maille et groupe d'espace de la littérature ⁽¹⁸⁾ par la méthode de Le Bail du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ est excellent ($R_p = 5,48$ %, $R_{wp} = 4,67$ %, $R_{expected} = 3,66$ %, ; 1728 réflexions considérées). Les paramètres de maille obtenus sont proches de ceux de la littérature excepté pour l'angle β . Mais l'affinement par la méthode de Rietveld conduit à des distances P-O incompatibles avec la somme des rayons ioniques des ions P⁵⁺ en coordinence [4] et O²⁻ en coordinences [2] et [3] tabulés par Shannon ⁽³⁵⁾ ou avec les travaux de Lager et Gibbs sur les liaisons P-O ⁽¹⁾. Afin d'y remédier, un affinement de toutes les positions atomiques avec une contrainte au niveau des distances P-O a été tenté mais celui-ci diverge. Après plusieurs essais, l'affinement proposé est celui qui fixe la géométrie des groupements pyrophosphates [P₂O₇]⁴⁻. Seules les positions des atomes de cuivre et les facteurs B_{iso} des cations (Cu²⁺ et P⁵⁺) ont été affinées ; les positions des atomes de phosphore et d'oxygène utilisées sont celles de la littérature ⁽¹⁸⁾. Le résultat de l'affinement est présenté à la figure 10 et les données cristallographiques sont rassemblées dans le tableau 5. Les coefficients de reliabilité par rapport à un affinement libre sont certes plus élevés, mais le modèle structural utilisé est cristallographiquement vraisemblable.

Tableau 5 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement du diffractogramme du composé
Cu ₃ (P ₂ O ₆ OH) ₂ par la méthode de Rietveld (groupe d'espace P-1). Les positions atomiques et les facteurs B _{iso} en italique
proviennent du modèle de la littérature et n'ont pas été affinés.

	a(Å)	b(Å) c(Å)	α(°)	β(°)	γ(°)
Littérature ⁽¹	⁸⁾ 4,78191(6)	7,0369	9(8) 8,357	/40(8)	66,6790(6)	74,9930(7)	72,0642(6)
Ce travail	4,7868(9)	7,047	(2) 8,36	59(2)	66,69(9)	77,02(9)	72,09(9)
	$Cu_3(P_2O_6OH)_2$	Site	x	У	Z	B _{iso} (Ų)	-
	Cu(1)	2i	0,9455(6)	0,8436(6) 0,4311(3)	0,64(6)	-
	Cu(2)	1a	0	0	0	0,64(6)	
	P(1)	2i	0,6296	0,5091	0,7015	0,64(6)	
	P(2)	2i	0,6449	0,8458	0,8120	0,64(6)	
	O(1)	2i	0,6781	0,6668	0,5192	0,77	
	O(2)	2i	0,8180	0,9407	0,6389	0,77	
	O(3)	2i	0,2902	0,5123	0,7499	0,77	
	O(4)	2i	0,6989	0,5907	0,8402	0,77	
	O(5)	2i	0,7783	0,824	0,9674	0,77	
	O(6)	2i	0,1718	0,7229	0,2522	0,77	
	O(7)	2i	0,3147	0,9466	0,8097	0,77	
	R _p = 9,85% R _{wp} = 9,09% R _a = 5,53'	%	T_{amb} $CuK_{_{\alpha1+2}}$		Cu ₃ (P ₂ O ₆	OH) ₂	-
	R _{Expected} = 3,7	2%			Obs		
					Obs-Ca	alc	
	Bragg				Position		
				hun	mm		
	10	20		10			
	10	20	30 2 θ (40 ^{(°})	50	00	

Figure 10 : Résultat de l'affinement avec le modèle structural semi-contraint du diffractogramme de rayons X de Cu₃(P₂O₆OH)₂ collecté à température ambiante

Comme précédemment, la spectroscopie infrarouge et l'analyse thermique ont été utilisées comme techniques complémentaires d'identification du composé préparé. Le spectre infrarouge de ce composé est présenté sur la figure 11 suivante. On distingue une bande très large centrée sur 2955 cm⁻¹ caractéristique de vibrations d'élongation de liaisons O-H (v_{OH}). Cette bande de vibration est fortement déplacée vers les faibles nombres d'onde par rapport à celle observée pour le composé Cu₂(PO₄)OH précédent. D'après la description de la structure réalisée plus haut, l'hydrogène serait porté par l'oxygène du groupement pyrophosphate qui ne participe à aucune liaison avec les

polyèdres de coordinence du cuivre. Contrairement à $Cu_2(PO_4)OH$, aucune bande caractéristique de déformation angulaire de type Cu-O-H n'est observée vers 800 cm⁻¹, confirmant ainsi que l'atome d'oxygène portant l'atome d'hydrogène dans le composé $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ n'est pas lié à un atome de cuivre. On devrait observer à la place une bande caractéristique de la déformation angulaire de la liaison P-O-H dans une région comprise entre 1100 et 1300 cm⁻¹. L'une des bandes centrées sur 1144 cm⁻¹ ou 1236 cm⁻¹ pourrait correspondre. Baies *et coll.* ⁽¹⁸⁾ positionnent la déformation P-O-H vers 1150 cm⁻¹, mais l'attribution qui est faite de celle vers 1240 cm⁻¹ est discutable, car attribuée à une déformation de l'angle Cu-O-P. Or, les atomes impliqués dans cette déformation sont beaucoup trop lourds pour que ce mode de vibration ait lieu avec une énergie aussi élevée. A titre de comparaison, la déformation Cu-O-H est observée dans la région 700 - 900 cm⁻¹ (810 cm⁻¹ dans le cas de notre travail sur Cu₂(PO₄)OH).



Figure 11 : Spectre infrarouge du composé Cu₃(P₂O₆OH)₂

Le groupement pyrophosphate $P_2O_7^{4-}$ est constitué de N = 9 atomes. 3N-6 = 21 modes normaux de vibrations sont attendus répartis en 8 vibrations d'élongation de liaisons P-O (v_{PO}) et 13 vibrations de déformation angulaire de liaisons O-P-O (δ_{OPO}). La représentation irréductible Γ de ce groupement $P_2O_7^{4-}$ de symétrie C_{2v} , souvent utilisée pour décrire ce groupement lorsqu'il est coudé ^(31, 36), est la suivante :

$$\Gamma = 7A_1 + 4A_2 + 6B_1 + 4B_2$$

Les modes A₁, B₁ et B₂ sont actifs en spectroscopie infrarouge. La filiation des modes de vibration par application de la symétrie de l'atome central (oxygène P-O-P pontant sur un site C₁) et de la symétrie du cristal (groupe d'espace *P-1*, symétrie C_i), entraîne l'apparition de 21 modes de vibrations actifs en spectroscopie infrarouge (mode antisymétrique A_u). Ils sont répartis en 8 vibrations d'élongations et 13 vibrations δ_{OPO} de déformation angulaire de liaisons O-P-O (tableau 6). Les bandes de vibrations associées aux déformations angulaires δ_{OPO} n'ont pas été discriminées, en raison notamment de leur recouvrement avec les bandes de vibrations (v_{CuO}) d'élongation des liaisons Cu-O.

Type de vibration	Symétrie du groupement P ₂ O ₇ ⁴⁻ (C _{2v})	Symétrie des positions atomiques (C ₁)	Symétrie du cristal (C _i)		
V _{(s) PO3}	2 x A ₁	2A	$2A_g + 2A_u$		
V _{(as) PO3}	2 x (B ₁ + B ₂)	4A	$4A_{g} + 4A_{u}$		
V _{(s) POP}	A ₁	А	$A_g + A_u$		
$ u_{(as) POP}$	B ₁	A	$A_g + A_u$		
δ_{POP}	A ₁	А	$A_g + A_u$		
δ _{ορο}	$3A_1 + 4A_2 + 3B_1 + 2B_2$	12A	12A _g + 12A _u		

Tableau 6 : Filiation des modes de vibration du groupement $P_2O_7^{4-}$ dans la structure de $Cu_3(P_2O_6OH)_2$

8 bandes sont bien observées dans la région 700 - 1300 cm⁻¹ (à l'exception de celle à 1144 cm⁻¹ ou 1236 cm⁻¹ correspondant à δ_{POH}). La bande centrée sur 750 cm⁻¹ est caractéristique des pyrophosphates. Elle correspond au mode symétrique de l'élongation de la liaison entre les atomes de phosphore et l'oxygène pontant du groupement $[P_2O_7]^{4-}$ ($v_{(s) POP}$) en accord avec des études antérieures sur des pyrophosphates coudés (angle POP différent de 180°) ⁽³⁷⁻³⁹⁾. Le mode antisymétrique $v_{(as) POP}$ devrait être positionné aux alentours de 950 cm⁻¹ ⁽⁴⁰⁾. Baies *et coll.* ⁽¹⁸⁾ attribuent également une bande vers 950 cm⁻¹ correspondant à l'élongation de la liaison P-OH. Le spectre infrarouge montre effectivement que ce pic est une combinaison de deux bandes centrées sur 926 et 940 cm⁻¹. Les autres bandes non attribuées correspondent aux autres modes de vibration des liaisons P-O. Comme pour Cu₂(PO₄)OH, au moins 9 bandes sont détectées dans la région 400 -700 cm⁻¹. Elles correspondent aux déformations angulaires des liaisons O-P-O (δ_{OPO}) ainsi qu'aux modes de vibrations internes des liaisons Cu-O. Le tableau 7 suivant propose une attribution des différentes bandes observées en spectroscopie infrarouge. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*).

Tableau 7 : Attribution des bandes de vibrations (cm⁻¹) observées sur le spectre infrarouge du composé Cu₃(P₂O₆OH)₂. Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)

	Attribution des bandes
V _{OH}	2952
δ_{POH}	1235 ou 1142
Vnoz	1235 ou 1142
• 903	1101, 1057, 1009, 981, 939
$ u_{(as)}$ POP	927 (*)
$v_{(s) POP}$	750
$δ_{OPO}$ + ν _{CuO}	669, 637, 596, 586 (*), 545, 522, 491, 448, 416

Une analyse thermogravimétrique couplée à une analyse par spectrométrie de masse des gaz émis par l'échantillon $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ a été effectuée. Les courbes présentées sur la figure 12 suivante montrent une perte de masse continue jusqu'à 400°C qui augmente brusquement entre 400 et 500°C. L'analyse par diffraction des rayons X du résidu montre la présence du pyrophosphate $Cu_2P_2O_7$ et d'un composé de formulation « $Cu(PO_3)_2$ ». Au delà de 700°C, on assiste à une perte de masse continue de l'échantillon, vraisemblablement liée à une réduction partielle des ions Cu^{2+} en ions Cu^+ due à la faible pression partielle en O_2 présente sous atmosphère argon. La décomposition du composé $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ a donc lieu entre 400 et 500°C. L'équation bilan de la réaction serait :

$$Cu_3(P_2O_6OH)_2 \xrightarrow{400-500^{\circ}C} Cu_2P_2O_7 + Cu(PO_3)_2 + H_2O_3$$

La perte de masse théorique associée à cette décomposition est de 3,33%. Comme pour le composé $Cu_2PO_4(OH)$, la perte de masse expérimentale est supérieure (3,76% sur la plage de température 40-700°C) et peut être attribuée à un départ d'eau physisorbée entre 40 et 400°C. Cette désorption n'engendre pas l'apparition de pic sur le spectre de masse m/z = 18. Par conséquent, la formulation du composé à retenir est $Cu_3(P_2O_6OH)_2.xH_2O$. En considérant que la décomposition thermique de $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ induit bien une perte de 3,33%, on aboutit à un nombre de molécules d'eau de x = 0,14, proche de celui obtenu pour $Cu_2PO_4(OH)$ (x = 0,10).



Figure 12 : Résultat de l'ATG-SM réalisée sous argon sur le composé Cu₃(P₂O₆OH)₂

3. Le système Cu₂P₂O₇-Mg₂P₂O₇

Les pyrophosphates de cuivre et de magnésium présentent tous les deux une forme basse température et une forme haute température.

La forme haute température de Cu₂P₂O₇ (notée β -Cu₂P₂O₇) existe au-delà de la transition ayant lieu entre 70 et 100°C ⁽⁴¹⁾, cristallise dans le groupe d'espace monoclinique *C2/m* (n°12, Z = 2) ⁽⁴²⁾. Cette structure est dite en feuillets. Tous les ions cuivriques occupent des octaèdres [CuO₆]¹⁰⁻ allongés suivant leur axe 4 en raison de leur effet Jahn-Teller (distances Cu-O axiales en moyenne de 2,58 Å et distances Cu-O équatoriales en moyenne de 1,97 Å soit une déformation [4+2]). Chaque octaèdre partage trois de ces arêtes O-O avec trois octaèdres voisins et forme ainsi des feuillets d'octaèdres dits en "nid d'abeille" parallèles au plan (a,b) (figure 13a). Suivant l'axe c, ces feuillets se trouvent à la cote z = ½. Ceci implique que les nids d'abeille de deux feuillets consécutifs se font face. Les groupements pyrophosphates sont localisés dans l'espace inter-feuillets à l'aplomb des nids d'abeille (figure 13b). Les tétraèdres [PO₄]³⁻ constituant les groupements pyrophosphates sont très peu distordus avec des distances P-O comprises entre 1,50 et 1,54 Å (moyenne 1,52 Å). L'angle P-O-P entre les deux tétraèdres du groupement pyrophosphate est de 180°. La cohésion de la structure est assurée *via* des connexions par sommets « oxygène » entre les groupements pyrophosphates et les feuillets d'octaèdres.

La forme haute température du pyrophosphate de magnésium (β -Mg₂P₂O₇), dont la transition de phase a lieu aux alentours de 72°C ⁽⁴³⁾, est isostructurale de β -Cu₂P₂O₇ (figures 13c et 13d). La différence avec la structure de β -Cu₂P₂O₇ réside surtout dans l'absence d'effet Jahn-Teller de l'ion Mg²⁺. Dans la structure de β -Mg₂P₂O₇, l'octaèdre de coordination est ainsi plus régulier, bien qu'il reste déformé (distances Mg-O axiales de 2,28 Å, équatoriales de 2,02 Å en moyenne). Les distances P-O sont comprises entre 1,54 et 1,60 Å dans β -Mg₂P₂O₇ (moyenne 1,56 Å).



Figure 13 : Structures cristallines des formes haute température β-Cu₂P₂O₇ et β-Mg₂P₂O₇. Représentation du feuillet d'octaèdres [CuO₆]¹⁰⁻ ou [MgO₆]¹⁰⁻ en nid d'abeille dans β-Cu₂P₂O₇ (a) et β-Mg₂P₂O₇ (b). Connexion entre les feuillets d'octaèdres et les groupements pyrophosphates dans β-Cu₂P₂O₇ (c) et β-Mg₂P₂O₇ (d)

La structure de la forme basse température α -Cu₂P₂O₇ cristallise dans le groupe d'espace monoclinique *C2/c* (n°15, Z = 2) ⁽⁴¹⁾. Les deux formes α - et β - du composé Cu₂P₂O₇ sont structurellement très proches car construites à partir du même empilement de feuillets (figure 13a et 14a). La structure de la forme α est toutefois la plus distordue. L'effet Jahn-Teller des ions cuivriques est bien entendu toujours présent, mais cette fois les groupements $[P_2O_7]^{4-}$ sont aussi distordus. L'angle entre les deux tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ quasi réguliers (distances P-O comprises entre 1,51 et 1,58 Å) constituant les groupements pyrophosphates diffère nettement de 180° (156,6°). Les groupements $[P_2O_7]^{4-}$ d'un espace interfeuillet à l'autre ne sont plus superposables en projection suivant l'axe c. Un doublement de la maille suivant l'axe c est alors nécessaire pour rendre compte de la périodicité de la structure (figure 14b).

La forme basse température du pyrophosphate de magnésium (notée α -Mg₂P₂O₇) cristallise dans le groupe d'espace primitif $P2_1/c$ (n°14, Z = 2). Toutefois, la description de la structure de α -Mg₂P₂O₇ est plus aisée en choisissant le groupe d'espace non primitif $B2_1/c$ (n°14, Z = 8) ⁽⁴⁴⁾, car elle montre ainsi certaines similitudes avec la structure de α -Cu₂P₂O₇. La structure de α -Mg₂P₂O₇ résulte d'un empilement suivant l'axe c de feuillets de polyèdres de coordinence d'ions Mg²⁺ et de feuillets de

groupements pyrophosphates $[P_2O_7]^{4-}$. Toutefois, les feuillets d'ions Mg^{2+} sont constitués pour moitié d'octaèdres $[MgO_6]^{10-}$ et pour moitié de bipyramides trigonales $[MgO_5]^{8-}$ dans le composé α - $Mg_2P_2O_7$ (figure 14c). Chaque bipyramide peut être décrite comme étant un octaèdre dans lequel un sommet du plan carré serait absent. Ce sommet est en l'occurrence trop éloigné pour faire partie du polyèdre de coordinence de ces ions magnésium (3,35 Å). Il en résulte une absence de connexion entre deux bipyramides trigonales voisines au sein d'un feuillet (figure 14c). Cette coordinence inhabituelle pour l'ion magnésium est plus fréquemment rencontrée dans les composés du cuivre. Par rapport à la variété α -Cu₂P₂O₇, l'angle entre les deux tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ (distances P-O comprises entre 1,47 et 1,61 Å) constituant les groupements pyrophosphates dans la variété α -Mg₂P₂O₇ s'écarte encore un peu plus de 180° (140,1°).



Figure 14 : Structures cristallines des formes basse température de α-Cu₂P₂O₇ et α-Mg₂P₂O₇. (a) Représentation du feuillet d'octaèdres en nid d'abeille dans α-Cu₂P₂O₇. (b) Empilement des couches d'octaèdres [CuO₆]¹⁰⁻ et des groupements [P₂O₇]⁴⁻ selon l'axe c dans α-Cu₂P₂O₇. (c) Représentation du feuillet d'octaèdres en nid d'abeille dans α - Mg₂P₂O₇. (d) Empilement des couches de polyèdres [Mg(1)O₆]¹⁰⁻ et [Mg(2)O₅]⁸⁻ et des groupements [P₂O₇]⁴⁻ selon l'axe c dans α-Mg₂P₂O₇.

Dans la littérature, une solution solide complète entre β -Cu₂P₂O₇ et β -Mg₂P₂O₇ est référencée ⁽⁴⁵⁾. Elle présente un intérêt potentiel dans la recherche de nouveaux composés inorganiques bactéricides par combinaison de deux éléments actifs (Mg²⁺ et Cu²⁺).

3.1. Les composés définis Cu₂P₂O₇ et Mg₂P₂O₇

3.1.1. Synthèse

Les pyrophosphates M₂P₂O₇ ont été préparés par voie céramique. L'oxyde métallique CuO ou MgO et du phosphate d'ammonium NH₄H₂PO₄ sont pesés dans des proportions stœchiométriques et broyés dans un mortier en agate. Le mélange est porté une première fois à 200°C pendant 12 heures pour décomposer le phosphate d'ammonium avant de l'homogénéiser une nouvelle fois par broyage au mortier. Le mélange est ensuite porté pendant 12 heures à 900°C dans le cas du pyrophosphate de cuivre et 1050°C dans le cas du pyrophosphate de magnésium (vitesses de montée et de descente de 10°C/min). Plusieurs recuits ultérieurs ont été nécessaires pour obtenir le composé Mg₂P₂O₇ exempt de phases secondaires. On obtient des poudres de couleur vert pâle pour Cu₂P₂O₇ et de couleur blanche pour Mg₂P₂O₇.

3.1.2. Caractérisations

La figure 15 suivante présente l'affinement par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ du diagramme de rayons X du composé $Cu_2P_2O_7$ enregistré sur la plage 20 comprise entre 10 et 135° (877 réflexions considérées). Seule la forme basse température α de $Cu_2P_2O_7$ est obtenue en fin de synthèse. Le modèle structural de départ utilisé est donc celui de α -Cu₂P₂O₇ répertorié dans la littérature ⁽⁴¹⁾. L'affinement est de bonne qualité, et les paramètres de mailles extraits sont en accord avec ceux de la littérature (tableau 8 et figure 15).

		a(Å)	b(Å)	c(Å)	β(°)
Littérature	(41)	6,875(5)	8,113(5)	9,162(5)	109,54(6)
Ce travai	il	6,8781(2)	8,1175(3)	9,1673(3)	109,531(6)
α -Cu ₂ P ₂ O ₇	Site	x	У	Z	B _{iso} (Ų)
Cu	8f	-0,0162(6)	0,3126(3)	0,5058(3)	0,63(6)
Р	8f	0,1977(6)	0,007(1)	0,2060(3)	0,63(6)
O(1)	4e	0	0,0432(6)	0,25	0,3(2)
O(2)	8f	0,377(1)	-0,001(3)	0,3595(9)	0,3(2)
O(3)	8f	0,223(2)	0,152(2)	0,109(2)	0,3(2)
O(4)	8f	0,180(2)	-0,152(3)	0,121(2)	0,3(2)

Tableau 8 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé α-Cu₂P₂O₇ (groupe d'espace *C2/c*)

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates



Figure 15 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de rayons X du composé α-Cu₂P₂O₇ collecté à température ambiante

La phase basse température α du composé Mg₂P₂O₇ n'a pas pu être isolée; elle coexiste systématiquement avec la forme β . Un affinement du diffractogramme a été réalisé par la méthode de Rietveld en utilisant comme modèles structuraux de départ ceux des formes basse température ⁽⁴⁴⁾ et haute température ⁽⁴³⁾ répertoriées dans la littérature (groupe d'espace non conventionnel B2₁/c pour la forme basse température). L'affinement dans le groupe d'espace conventionnel P2₁/n (non montré ici) conduit à une qualité d'affinement similaire. Le résultat de cet affinement est présenté à la figure 16 et les données cristallographiques sont rassemblées dans le tableau 9.

			a(Å)	I	b(Å)	c	:(Å)	β	s(°)
	Littératur	e ⁽⁴⁴⁾	13,20(1)	8,2	295(5)	9,0	72(5)	104	l,9(1)
	Ce trav	ail	13,171(2)	8,2	940(1)	9,05	510(2)	105,	125(9)
α-	Mg ₂ P ₂ O ₇	Site	х		У		z		B _{iso} (Ų)
	Mg(1)	4e	0,3668	8(6)	0,9310	0(3)	0,256	1(9)	1,39(9)
	Mg(2)	4e	0,3984	4(3)	0,5600	0(6)	0,227	6(6)	1,39(9)
	P(1)	4e	0,2780	D(3)	0,2332	2(6)	0,039	1(6)	1,39(9)
	P(2)	4e	0,4845	5(3)	0,2285	5(6)	-0,047	78(6)	1,39(9)
	O(1)	4e	0,3750	D(6)	0,1743	8(6)	-0,022	24(9)	1,1(2)
	O(2)	4e	0,5638	8(6)	0,2390)(9)	0,108	3(1)	1,1(2)
	O(3)	4e	0,2603	3(6)	0,096	(1)	0,144	4(1)	1,1(2)
	O(4)	4e	0,3038	8(6)	0,3922	2(9)	0,117	2(9)	1,1(2)
	O(5)	4e	0,5074	4(6)	0,0891	L(9)	-0,149	97(9)	1,1(2)
	O(6)	4e	0,4748	8(6)	0,3872	2(9)	-0,13	2(1)	1,1(2)
	O(7)	4e	0,1897	7(6)	0,2412	2(9)	-0,10	8(1)	1,1(2)

Tableau 9 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement du diffractogramme du composé α -Mg₂P₂O₇ par la méthode de Rietveld (groupe d'espace B2 $_1/c$)

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates



Figure 16 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de rayons X du composé α-Mg₂P₂O₇ collecté à température ambiante. L'affinement tient compte de la seconde phase β-Mg₂P₂O₇ présente en minorité (6,8% en masse d'après l'affinement)

Ces caractérisations par diffraction des pyrophosphates α -M₂P₂O₇ (M = Cu, Mg) sont complétées par une analyse de leurs spectres infrarouge. Dans la forme basse température de Mg₂P₂O₇, le pyrophosphate est décrit comme étant de symétrie C_{2v} ⁽⁴⁶⁾ dans lequel les modes A₁, B₁ et B₂ sont tous actifs en spectroscopie infrarouge. Etant donné les similitudes entre les structures de α -Mg₂P₂O₇ et α -Cu₂P₂O₇, il est fort probable que cette symétrie existe dans le pyrophosphate de cuivre. Tous les atomes occupent des sites de symétrie C₁. En revanche, pour Cu₂P₂O₇, l'oxygène pontant du groupement [P₂O₇]⁴⁻ occupe le site 4e de symétrie C₂. Quel que soit le pyrophosphate, il cristallise dans le groupe d'espace C_{2h}. On aboutit alors à 42 modes de vibrations actifs en spectroscopie infrarouge pour α -Mg₂P₂O₇ et 21 modes actifs pour α -Cu₂P₂O₇. Les vibrations issues du mode A₂ (δ_{OPO}) doivent cependant être peu actives en spectroscopie infrarouge, car leur activité ne provient que de l'application du champ cristallin. Le tableau 10 suivant présente la filiation des modes de vibration de l'entité [P₂O₇]⁴⁻ dans les deux composés étudiés.

	Symétrie du groupement P ₂ O ₇ 4-	Symétrie des positions	Symétrie du cristal
	C _{2v}	atomiques	C _{2h}
Cu ₂ P ₂ O ₇		11A (site C ₂)	$11A_g + 11A_u$
	$7A_1 + 4A_2 + 4D_1 + 0D_2$	10B (site C ₂)	$10B_g + 10B_u$
Mg ₂ P ₂ O ₇	$7A_1 + 4A_2 + 4B_1 + 6B_2$	21A (site C ₁)	$21A_{g} + 21A_{u} + 21B_{g} + 21B_{u}$

Tableau 10 : Filiation des modes de vibration du groupement [P2O7]⁴⁻ dans la structure des composés Cu2P2O7 et Mg2P2O7

La figure 17 suivante montre respectivement les spectres infrarouge de α -Cu₂P₂O₇ et α -Mg₂P₂O₇ dans la région 400 - 1600 cm⁻¹. On distingue nettement les bandes caractéristiques vers 730 et 945 cm⁻¹ correspondant respectivement aux modes symétriques et antisymétriques des vibrations d'élongation de la liaison P-OP d'un pyrophosphate coudé ⁽³⁷⁻⁴⁰⁾. Les autres bandes comprises entre 700 et 1250 cm⁻¹ correspondent aux vibrations d'élongation des liaisons P-O, tandis que celles V(as) POP

V(s) POP

comprises entre 400 et 700 cm⁻¹ regroupent à la fois les vibrations de déformation angulaire O-P-O ainsi que les modes de vibrations internes des liaisons M-O. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (tableau 11).

 α -Cu₂P₂O₇ α -Mg₂P₂O₇ 1208, 1174 (*), 1136, 1102 (*), 1216 (*), 1167, 1088 (*), V_{(as) PO3} + V_{(s) PO3} 1072, 1048 1066, 1042 (*)

939

736

666, 613, 579 (*), 548, 521,

955

733

666, 619 (*), 598 (*), 584 (*), 575,

Tableau 11 : Attribution des bandes de vibrations (cm ⁻¹) observées sur le spectre infrarouge des composés α-M ₂ P ₂ O ₇ (M
Cu, Mg). Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)



Figure 17 : Spectres infrarouge de (a) α -Cu₂P₂O₇ et (b) de α -Mg₂P₂O₇

3.2. Etude de la solution solide $Cu_{2-x}Mg_xP_2O_7$ ($0 \le x \le 2$)

Plusieurs pyrophosphates substitués Cu_{2-x}Mg_xP₂O₇ ont également été préparés par voie céramique en faisant varier la teneur en magnésium de 0,2 en 0,2 entre deux compositions. Du fait de la différence de température de synthèse entre $Cu_2P_2O_7$ et $Mg_2P_2O_7$, la température de synthèse des composés mixtes Cu_{2-x}Mg_xP₂O₇ n'est pas la même pour tous. Pour les teneurs x inférieures ou égales à 1, elle est de 900°C, contre 1000°C pour celles au-delà de 1. La figure 18 suivante présente les diagrammes de rayons X des différentes compositions. La composition x = 0,2 (Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇), ainsi que la composition x = 1,8 (Mg_{1.8}Cu_{0.2}P₂O₇), adoptent toutes les deux la forme haute température β des composés Cu₂P₂O₇ et Mg₂P₂O₇, en accord avec les observations de Boukhari et coll. ⁽⁴⁵⁾. Cependant, toutes les compositions intermédiaires présentent des pics d'impuretés facilement repérables dans la région 20 comprise entre 10° et 30° (figure 18). Certains pics peuvent être attribués à Cu₂P₄O₁₂ ou $Mg_2P_4O_{12}$ (tétramétaphosphate), mais pour d'autres pics (en rouge sur la figure 18), aucune attribution n'a été permise. Ces impuretés ayant un ratio M:P inférieur à 1, des essais de synthèse avec une sur-stœchiométrie en cations métalliques (rapport Cu:P ou Mg:P supérieur à 1) ont été réalisés sur les compositions x = 0,4 et x = 1,6; sans toutefois avoir l'effet escompté. L'existence d'une solution solide complète doit être remise en question.



Figure 18 : Diffractogrammes de rayons X des composés Cu_{2-x}Mg_xP₂O₇

En conséquence, seuls les diffractogrammes des compositions x = 0,2 et 1,8 dont la pureté est garantie ont été affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾, en utilisant comme modèles structuraux de départ ceux de la littérature $^{(42, 43)}$ (*i.e.* forme haute température β). Malgré l'absence de pics d'impureté sur les diagrammes, les affinements sont assez médiocres (R_{Bragg} élevés), conséquence d'une intensité de pics mal calculée (tableau 12, figure 19). Il est important de rappeler que la transition structurale entre les formes α et β dans le composé Cu₂P₂O₇ (et de Mg₂P₂O₇) a pour origine le dépliement des groupements [P2O7]⁴⁻ pour atteindre un angle de 180° entre les deux tétraèdres [PO₄]³⁻. Comme l'a mentionné Robertson et coll. ⁽⁴²⁾, un désordre existe au niveau des atomes d'oxygène des groupements $[P_2O_7]^{4-}$ dans la forme β de Cu₂P₂O₇ dont il est difficile de rendre compte, même en utilisant des facteurs de température anisotropes pour ces atomes d'oxygène dans l'affinement des données collectées sur un monocristal. Dans l'étude de Robertson et coll. (42), les facteurs de reliabilité sont élevés et l'ellipsoïde d'agitation thermique d'un des atomes d'oxygène est non défini. Dans le cas d'une substitution Mg/Cu, un désordre supplémentaire cationique est volontairement introduit dans la structure. Les deux désordres conjugués rendent difficile l'obtention d'un affinement de bonne qualité du diffractogramme de Cu_{1.8}Mg_{0.2}P₂O₇ avec une telle structure moyenne. Ceci est encore plus vrai pour le composé Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇. Pour ce dernier composé, les facteurs de température isotropes des atomes d'oxygène sont nettement plus élevés que ceux de Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ (tableau 12).

Tableau 12 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld des diffractogrammes des composés β-Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ et β-Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇ (groupe d'espace *C2/m*)

	a(Å)	b(Å)	c(Å)	β(°)
β -Cu _{1,8} Mg _{0,2} P ₂ O ₇	6,8218(1)	8,1383(1)	4,5677(1)	108,8609(8)
β -Mg _{1,8} Cu _{0,2} P ₂ O ₇	6,5453(6)	8,2752(9)	4,5046(3)	104,879(3)
Atome	Site	Coordonnées	β -Cu _{1,8} Mg _{0,2} P ₂ O ₇	$\beta\text{-}Mg_{1,8}Cu_{0,2}P_2O_7$
Cu/Mg	٨b	У	0,3112(4)	0,3101(5)
	411	B _{iso} (Ų)	0,71(9)	1,06(9)
		x	0,1990(6)	0,2100(6)
Р	4i	У	0,912(2)	0,912(1)
		B _{iso} (Ų)	0,71(9)	1,06(9)
O(1)	2a	B _{iso} (Ų)	0,6(2)	1,3(2)
		x	0,378(2)	0,376(2)
O(2)	4i	У	0,219(3)	0,212(3)
		B _{iso} (Ų)	0,6(2)	1,3(2)
		х	0,2063(9)	0,2188(9)
0(3)	8 i	У	0,1502(9)	0,1528(6)
0(3)	0j	Z	0,729(2)	0,725(2)
		B _{iso} (Ų)	0,6(2)	1,3(2)
	(a)			
	$R_{p} = 16,4\%$ $R_{wp} = 13,6\%$ $R_{wp} = 8,65\%$	T_{amb} $CuK_{\alpha^{1+2}}$	β-Cu _{1,8} Mg _{0,2} P ₂ O ₇	,
	$R_{\text{Expected}} = 3,28\%$		• Obs	
	Exposition			
			Bragg Position	
	<u>+</u> <u>+</u> .+	يلمب المسالية		
		-ph		-
	10 20	30 40	50 60	70
	<i>a</i> .	2 θ (°)		
	(b)		and the MMA stands and the Manual	-
	$R_{p} = 16,0\%$ $R_{r} = 14.6\%$		β-Mg _{1.8} Cu _{0.2} P ₂ O	7
	$R_{mp} = 14,0.00$ $R_{mm} = 11,6\%$	συ κ _{α1+2}	-,,	
	R _{Expected} = 3,39%		• Obs	
		i i		
			Bragg Position	n in the second s
		1		
	·			1
	10 20	30 40	50 60	」 70
		2 θ (°)		

Figure 19 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld des diffractogrammes de rayons X des composés β-Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ (a) et β-Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇ (b) collectés à température ambiante

Une caractérisation par spectroscopie infrarouge des deux pyrophosphates a été ensuite menée. Dans β -Mg₂P₂O₇, les deux tétraèdres de phosphate sont tête-bêche, avec un angle P-O-P de 180°, faisant apparaître un centre d'inversion sur l'atome d'oxygène pontant, ainsi qu'un axe 3. L'ion libre P₂O₇⁴⁻ présente alors dans ce cas une symétrie D_{3d}. La représentation irréductible Γ de ce groupement est ⁽⁴⁶⁾ :

$$\Gamma = 3A_{1g} + 3E_g + A_{1u} + 3A_{2u} + 4E_u$$

Seuls les modes A_{2u} et E_u sont actifs en spectroscopie infrarouge. Comme β -Cu₂P₂O₇ a la même structure que β -Mg₂P₂O₇, son groupement pyrophosphate est aussi de même symétrie D_{3d}. La filiation des modes de vibration, présentée pour les composés β -M₂P₂O₇ dans le tableau 13, indique que leurs spectres infrarouge devraient comporter beaucoup moins de bandes que ceux des formes basse température α -M₂P₂O₇ correspondantes. En effet, seuls les modes A_u et B_u dans le groupe d'espace C_{2h} sont actifs en spectroscopie infrarouge (soit 12 au total, contre 42 pour α -Mg₂P₂O₇ et 21 pour α -Cu₂P₂O₇). Ce tableau indique aussi que les vibrations v_{(s) PO3} et v_{(s) POP} doivent être inactives en spectroscopie infrarouge.

Tableau 13 : Filiation des modes de vibration du	groupemen	nt P ₂ O ₇ ⁴⁻ dans la	a structure de	$\beta - M_2 P_2 O_7 (M =$	Cu, Mg)
--	-----------	--	----------------	----------------------------	---------

Type de vibration	Symétrie du groupement	Symétrie des positions	Symétrie du cristal
	$P_2O_7^{4-}(D_{3d})$ atomiq		(C _{2h})
V _{(s) PO3}	2 x A _{1g}	2A _g	2A _g
V _{(as) PO3}	2 x E _u	$2A_u + 2B_u$	$2A_u + 2B_u$
V _{(s) POP}	A _{1g}	A _g	Ag
V _{(as) POP}	A _{2u}	B _u	B _u
δ_{POP}	Eg	$A_g + B_g$	$A_g + B_g$
δ _{ΟΡΟ}	$2E_{g} + A_{1u} + 2A_{2u} + 2E_{u}$	$2A_g + 2B_g + 3A_u + 4B_u$	$2A_g + 2B_g + 3A_u + 4B_u$

Expérimentalement, on assiste bien à une réduction significative du nombre de bandes dans la région 700 – 1400 cm⁻¹ par rapport aux formes basse température α (figure 20). Les spectres infrarouge sont d'allure comparable à ceux collectés sur quelques compositions de la solution solide Cu₂₋ _xZn_xP₂O₇ ⁽⁴⁷⁾. Trois bandes sont observées dans la région 1000 – 1200 cm⁻¹ caractéristique des v_{PO3} ; la quatrième est probablement masquée par les trois autres. De manière surprenante, la vibration d'élongation v_{(s) POP} vers 730 cm⁻¹ est présente sur les deux spectres infrarouge des composés substitués, alors qu'elle ne devrait pas être active en spectroscopie infrarouge. Elle avait été observée par Cornilsen *et coll.* sur le composé parent β-Mg₂P₂O₇ uniquement par spectroscopie Raman ⁽⁴⁶⁾. Dans leur étude, Robertson *et coll.* ⁽⁴²⁾ ont écrit qu'un désordre de position existe au niveau des atomes d'oxygène des groupements [P₂O₇]⁴⁻ dans la structure de la forme β-Cu₂P₂O₇. Les composés β-Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ et β-Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇ étant isotypes de β-Cu₂P₂O₇, un désordre existe certainement dans ces deux composés mixtes. Ce désordre implique que ces groupements [P₂O₇]⁴⁻ possèdent des conformations locales légèrement différentes les unes des autres avec des angles P-O-P différents de 180° comme dans les formes basse température α -Cu₂P₂O₇ et α -Mg₂P₂O₇. L'angle P-O-P n'étant plus de 180°, la symétrie locale des groupements [P₂O₇]⁴⁻ dans les composés β-Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ et β-Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇ n'est plus D_{3d} et tend vers la symétrie C_{2v} existant dans les formes basse température α . Il advient que des bandes de vibration théoriquement inobservables en spectroscopie infrarouge pour une symétrie D_{3d} deviennent visibles en raison de l'abaissement de la symétrie locale. De nombreuses bandes restent observables dans la région 400 - 700 cm⁻¹. Elles correspondent aux vibrations δ_{OPO} de déformation angulaire des liaisons O-P-O mais aussi aux vibrations v_{MO} d'élongation des liaisons métal-oxygène. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (tableau 14).

Tableau 14 : Attribution des bandes de vibrations (cm⁻¹) observées sur le spectre infrarouge des composés β-Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ et β-Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇. Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)



Figure 20 : Comparaison des spectres infrarouge α -Cu₂P₂O₇ et β -Cu_{1.8}Mg_{0.2}P₂O₇ (a), de α -Mg₂P₂O₇ et β -Mg_{1.8}Cu_{0.2}P₂O₇ (b)

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

4. Le système Cu₃(PO₄)₂-Mg₃(PO₄)₂

Les composés M₃(PO₄)₂ présentent un ratio métal-phosphore de 3:2. Comme indiqué en introduction de ce chapitre, ces deux composés sont des phosphates car leurs structures sont construites à partir de tétraèdres [PO₄]³⁻ indépendants les uns des autres. La figure 21a suivante présente une vue en perspective de la structure du phosphate de cuivre Cu₃(PO₄)₂. Dans cette structure cristalline de $Cu_3(PO_4)_2$, un tiers des cations Cu^{2+} occupent des bipyramides trigonales $[Cu(1)O_5]^{8-}$ (site 1) et les deux tiers restant résident au centre de plans carrés $[Cu(2)O_4]^{6-}$ (site 2). L'ion cuivrique n'est pas au centre de ces bipyramides trigonales $[Cu(1)O_5]^{8-}$ (figure 21) : quatre atomes d'oxygène sont situés à une distance moyenne Cu-O de ≈1,96 Å dont deux sont pratiquement positionnés sur l'axe 3. Le dernier atome d'oxygène est, lui, situé dans le plan trigonal à une distance de ≈2,26 Å. Au sein du plan carré [Cu(2)O₄]⁶⁻, l'ion cuivrique est situé en moyenne à ≈1,96 Å des atomes d'oxygène appartenant à deux tétraèdres [PO4]³⁻ voisins. Deux autres atomes d'oxygène de deux autres tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ sont situés de part et d'autre de ce plan carré à une distance de $\approx 3,07$ Å, trop grande pour que ces atomes soient considérés comme appartenant à un octaèdre de coordinence des ions cuivriques (figure 21). Le groupement phosphate $[PO_4]^{3-}$ est distordu avec des distances P-O comprises entre 1,51 et 1,57 Å (moyenne 1,55 Å). Les plans carrés $[Cu(2)O_4]^{6-}$ situés sur les huit coins de la maille s'associent deux à deux suivant l'axe a par l'intermédiaire de tétraèdres [PO₄]³⁻. Des chaînes en forme d'échelle constituées par l'alternance de plans carrés (barreaux de l'échelle) et de tétraèdres (montant de l'échelle) se forment ainsi suivant l'axe a (figure 21a). Les connexions entre ces chaînes mixtes sont assurées dans le plan (a,b) et suivant l'axe c par les bipyramides trigonales $[Cu(1)O_5]^{8-}$ qui fournissent de ce fait une cohésion à l'édifice cristallin (figure 21a).





La structure de Mg₃(PO₄)₂ peut être considérée, à quelques différences près, comme proche de celle de son homologue Cu₃(PO₄)₂. Une vue en perspective de la structure est présentée aux figures 21b et 21c. Outre une symétrie cristalline plus élevée (monoclinique $P2_1/n$ (n°14), Z = 2) ⁽⁴⁸⁾ pour le composé Mg₃(PO₄)₂, une fraction des ions Mg²⁺ ($\frac{2}{3}$ dans la maille considérée) occupe des bipyramides trigonales [Mg(1)O₅]⁸⁻ (site 1) comme les ions cuivriques dans la structure de Cu₃(PO₄)₂. Ces

bipyramides sont principalement distordues selon leur axe 3 car les deux liaisons Mg-O axiales ne sont pas égales (1,96 et 2,14 Å), la distance moyenne Mg-O étant de 2,01 Å dans le plan équatorial. Quant aux ions Mg²⁺ restants (¹/₃ dans la maille considérée), ils occupent non pas les centres de plans carrés mais ceux d'octaèdres [Mg(2)O₆]¹⁰⁻ (site 2). Les chaînes en forme d'échelle de la structure de Cu₃(PO₄)₂ n'existent plus en tant que telles dans la structure de Mg₃(PO₄)₂ (figure 21c). Si chaque octaèdre [Mg(2)O₆]¹⁰⁻ partage bien quatre sommets oxygène de son plan carré avec quatre tétraèdres [PO₄]³⁻ (comme les plans carrés [Cu(2)O₄]⁶⁻ au sein des chaînes en forme d'échelle de la structure de $Cu_3(PO_4)_2$, deux autres atomes d'oxygène, situés de part et d'autre de ce plan carré, se trouvent à une distance Mg-O de 2,15 Å. Elle est bien inférieure à la distance Cu-O de 3,07 Å dans la structure de $Cu_3(PO_4)_2$. Ces deux atomes d'oxygène complètent, de ce fait, la coordinence des ions magnésium dans la structure de Mg₃(PO₄)₂ (figure 21c). Ces deux autres atomes d'oxygène appartiennent à deux tétraèdres [PO₄]³⁻ supplémentaires. Dans la structure de Mg₃(PO₄)₂, chaque octaèdre [Mg(2)O₆] se retrouve ainsi directement connecté à six tétraèdres [PO₄]³⁻ (figure 21c). Il est ainsi possible de décrire la structure de $Mg_3(PO_4)_2$ à partir de celle de $Cu_3(PO_4)_2$ en considérant que le passage d'une coordinence plan carré ([Cu(2)O₄]⁶⁻) à octaédrique ([Mg(2)O₆]¹⁰⁻) résulte du rapprochement de trois chaînes en forme d'échelle (figure 21). Ce rapprochement induit le passage d'une connexion par sommet entre les polyèdres $[Cu(1)O_5]^{8-}$ et $[Cu(2)O_4]^{6-}$ dans $Cu_3(PO_4)_2$ à une connexion par arête entre les polyèdres $[Mg(1)O_5]^{8-}$ et $[Mg(2)O_6]^{10-}$ dans $Mg_3(PO_4)_2$. Les tétraèdres $[PO_4]^{3-1}$ dans la structure de Mg₃(PO₄)₂ sont quasi réguliers, avec des distances P-O comprises entre 1,51 et 1,53 Å (moyenne 1,52 Å).

Les légères différences entre les structures des deux composés $Cu_3(PO_4)_2$ et $Mg_3(PO_4)_2$ peuvent expliquer que deux solutions solides $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ et $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ soient référencées dans la littérature ⁽⁶⁾ au lieu d'une solution solide totale $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ ($0 \le x \le 3$). Quelques compositions des solutions solides ont été préparées et l'influence de la substitution sur l'activité bactéricide du phosphate a été évaluée.

4.1. Les composés définis Cu₃(PO₄)₂ et Mg₃(PO₄)₂

4.1.1. Synthèse

Comme les pyrophosphates précédents, les phosphates $Cu_3(PO_4)_2$ et $Mg_3(PO_4)_2$ ont également été préparés par voie céramique. Dans le cas de $Cu_3(PO_4)_2$, de l'oxyde de cuivre et du phosphate d'ammonium $NH_4H_2PO_4$ sont pesés dans des proportions stœchiométriques et broyés dans un mortier en agate. Les traitements thermiques sont les mêmes que ceux réalisés pour préparer le pyrophosphate de cuivre $Cu_2P_2O_7$: un premier recuit à 200°C puis un second à 900°C (12h de palier à chaque fois, vitesse de montée et descente en température de 10°C/min). La poudre obtenue est de couleur bleu électrique.

Le phosphate de magnésium Mg₃(PO₄)₂ n'a pas pu être obtenu directement à partir du mélange en proportion stœchiométrique de l'oxyde MgO et du phosphate d'ammonium NH₄H₂PO₄. La réaction n'est jamais totale quelles que soient la durée des recuits et la température de synthèse employée. Le composé Mg₃(PO₄)₂ a donc été synthétisé en portant à 1050°C pendant 12 heures un mélange équimolaire du pyrophosphate Mg₂P₂O₇ et de l'oxyde MgO. Plusieurs recuits à 1050°C de 12 heures chacun sont toutefois nécessaires à l'obtention du phosphate Mg₃(PO₄)₂ désiré.

4.1.2. Caractérisations

Les diffractogrammes de rayons X des composés $Cu_3(PO_4)_2$ et $Mg_3(PO_4)_2$ ont été affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾, en utilisant comme modèles structuraux de départ ceux référencés dans la littérature ^(48, 49) (1010 réflexions considérées pour $Cu_3(PO_4)_2$, 1139 pour $Mg_3(PO_4)_2$). La convergence de l'affinement du diffractogramme de $Cu_3(PO_4)_2$ a pu être atteinte en imposant la même valeur de B_{iso} à tous les atomes. Les données cristallographiques des deux composés $Cu_3(PO_4)_2$ et $Mg_3(PO_4)_2$ rassemblées dans les tableaux 15 et 16 suivants sont en bon accord avec ceux de la littérature, avec des qualités d'affinement tout à fait satisfaisantes (figures 22 et 23).

Tableau 15 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Cu₃(PO₄)₂ (groupe d'espace *P-1*)

Cu ₃ (PO ₄) ₂	a(Å)	b	(Å)	c(Å)	α(°)	β(°)	γ(°)
Littérature ⁽⁴⁹⁾	4,8537(7)	5,28	355(6) 6,1	.821(8)	72,35(1)	86,99(1)	68,54(1)
Ce travail	4,8574(1)	5,28	391(2) 6,1	.865(2)	72,358(1)	86,999(2)	68,5234(9)
-	Cu ₃ (PO ₄) ₂	Site	х	У	Z	B _{iso} (Ų)	
-	Cu(1)	1a	0	0	0	0,39(6)	
	Cu(2)	2i	0,2782(6)	0,2253(6)	0,3164(3)	0,39(6)	
	Р	2i	0,3580(9)	0,3500(9)	0,7757(6)	0,39(6)	
	O(1)	2i	-0,153(2)	0,348(2)	0,338(2)	0,39(6)	
	O(2)	2i	0,336(2)	0,652(2)	0,168(2)	0,39(6)	
	O(3)	2i	0,236(2)	0,224(2)	0,009(2)	0,39(6)	
	O(4)	2i	0,376(2)	0,159(2)	0,638(2)	0,39(6)	



Figure 22 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de rayons X du composé Cu₃(PO₄)₂ collecté à température ambiante

Tableau 16 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Mg₃(PO₄)₂ (groupe d'espace P2₁/n)

Mg ₃ (PO ₄) ₂	а	(Å)	b(Å)	c(Å)	β(°)
Littérature ⁽⁴⁾	⁸⁾ 7,59	957(8)	8,2305(5)	5,0775(5)	94,05(1)
Ce travail	7,60	072(2)	8,2442(2)	5,0797(2)	94,026(2)
Mg ₃ (PO ₄) ₂	Site	х	У	Z	B _{iso} (Ų)
Mg(1)	4e	0,6095	(9) 0,1433	(9) 0,094(2) 0,39(4)
Mg(2)	2b	0	0	0	0,39(4)
Р	4e	0,199(9) 0,195	(9) 0,036(2) 0,39(4)
O(1)	4e	0,058(2) 0,144	(2) 0,819(3) 0,53(7)
O(2)	4e	0,124(2) 0,199	(2) 0,307(3) 0,53(7)
O(3)	4e	0,259(2) 0,365	(2) 0,942(3) 0,53(7)
O(4)	4e	0,357(2) 0,076	(2) 0,047(3) 0,53(7)
$R_p = 7,46\%$ $R_{wp} = 7,90\%$	9/.	T _{an} Cu	nb K _{α1+2}	Mg	₃ (PO ₄) ₂
R _{Expected} = 3,0	70 07%		.1	Obs Cali Obs Bra	s c s-Calc gg Position
		بال ل ال	<u> </u>	hanne	and
1	· · · · · ·				
10	20	30	40	50	60
			2 θ (°)		

Figure 23 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de rayons X du composé Mg₃(PO₄)₂ collecté à température ambiante

Ces caractérisations par diffraction des phosphates $Mg_3(PO_4)_2$ et $Cu_3(PO_4)_2$ sont complétées par une analyse de leurs spectres infrarouge. L'application au tétraèdre $[PO_4]^{3-}$ de la symétrie de la position atomique occupée par l'atome de phosphore et du groupe d'espace dans lequel les composés cristallisent entraîne l'éclatement des modes normaux de vibrations de l'ion libre PO_4^{3-} en respectivement 18 modes actifs en spectroscopie infrarouge (A_u et B_u) pour Mg₃(PO₄)₂ contre seulement 9 modes (A_u uniquement) pour son homologue Cu₃(PO₄)₂.

Dans le composé Mg₃(PO₄)₂, ces modes sont répartis en 8 vibrations d'élongation de liaisons P-O (v_{PO4}) et 10 vibrations de déformation angulaire de liaisons O-P-O (δ_{PO4}). Quatre vibrations v_{PO} et cinq vibrations δ_{PO4} sont seulement attendues pour le phosphate Cu₃(PO₄)₂ (tableau 17).

	Symétrie du groupement PO ₄ ³⁻	Symétrie des positions atomiques (C ₁)	Symétrie du cristal
Mg ₃ (PO ₄) ₂	$A_1 + E + 2T_2$	9A	$9A_{g} + 9B_{g} + 9A_{u} + 9B_{u} (C_{2h})$
Cu ₃ (PO ₄) ₂	$A_1 + E + 2T_2$	9A	9A _g + 9A _u (C _i)

Tableau 17 : Filiation des modes de vibration du groupement PO_4^{3-} dans les structures de $M_3(PO_4)_2$ (M = Cu, Mg)

Les spectres infrarouge des phosphates Cu₃(PO₄)₂ et Mg₃(PO₄)₂ dans la région 400 - 1600 cm⁻¹ sont présentés sur la figure 24 suivante. Ils présentent une allure assez similaire à celui collecté sur le composé Cu₂(PO₄)OH (figure 6), avec toutefois un décalage assez notable (\approx 50 cm⁻¹) des bandes de vibrations v_{PO} d'élongation des liaisons P-O vers les grands nombres d'onde pour le composé Mg₃(PO₄)₂ et des dédoublements de bandes non visibles sur le spectre du composé Cu₃(PO₄)₂. Expérimentalement, 3 bandes v_{PO} relatives aux vibrations d'élongation de liaisons P-O sont observées pour Cu₃(PO₄)₂ et 6 pour Mg₃(PO₄)₂. L'absence de la bande centrée sur 750 cm⁻¹ caractéristique de la vibration d'élongation (v_{POP}, figure 24) confirme qu'il s'agit bien de tétraèdres [PO₄]³⁻ isolés et non condensés, comme pour les groupements pyrophosphates [P₂O₇]⁴⁻. Ce phénomène de recouvrement des bandes est également présent dans la zone caractéristique des vibrations δ_{OPO} de déformation angulaire des liaisons O-P-O et des vibrations v_{MO} d'élongation des liaisons métal-oxygène. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*) dans le tableau 18 suivant.

Tableau 18 : Attribution de bandes de vibrations (cm⁻¹) observées sur le spectre infrarouge des composés M₃(PO₄)₂ (M = Cu, Mg). Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)

	Cu ₃ (PO ₄) ₂	Mg ₃ (PO ₄) ₂	
N	1117 077 020	1157 (*), 1082 (*), 1060,	
V PO4	1117, 977, 929	1033, 992 (*), 977	
δ_{PO4} + v_{MO}	665 (*), 647 (*), 610, 572,	621, 589(*), 575, 507 (*),	
	522, 407	480, 400	



Figure 24 : Spectres infrarouge des composés (a) Cu₃(PO₄)₂ et (b) Mg₃(PO₄)₂

4.2. Les solutions solides Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂ et Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂

D'après Moqine *et coll.*, deux solutions solides partielles existent du côté riche en cuivre Cu₃. _xMg_x(PO₄)₂ (x ≤ 0,7) et du côté riche en magnésium Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂ (x ≤ 1,7) ⁽⁶⁾. Différentes compositions des solutions solides ont été préparées par voie céramique, selon les mêmes protocoles qui ont permis l'obtention des phases parentes Cu₃(PO₄)₂ et Mg₃(PO₄)₂ dont elles sont issues. Les phosphates mixtes Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂ sont préparés par décomposition thermique et réaction à 900°C du mélange en proportion stœchiométrique de CuO, MgO, et NH₄H₂PO₄. Comme pour la phase parente Mg₃(PO₄)₂, les phosphates mixtes Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂ ont été obtenus en faisant réagir Mg₂P₂O₇ avec le mélange en proportion stœchiométrique de CuO et MgO à 1000°C. Plusieurs compositions ont pu ainsi être obtenues jusqu'à la formulation limite Mg₂Cu(PO₄)₂ (x = 1). Le composé de formulation Mg_{1,8}Cu_{1,2}(PO₄)₂ a pu être obtenu quant à lui en faisant réagir le pyrophosphate mixte Mg_{1,8}Cu_{1,2}P₂O₇ avec CuO à 1000°C. Compte tenu du protocole de synthèse utilisé, il n'a pas été possible d'atteindre des taux de substitution supérieurs à x = 1,2.

4.2.1. La solution solide Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂

La figure 25a suivante présente une superposition des diffractogrammes de rayons X collectés à température ambiante sur les différentes compositions $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$. Tous ces diagrammes présentent les pics caractéristiques de composés isotypes de $Cu_3(PO_4)_2$ jusqu'à la composition x = 0,5. Ils ont été affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ a été réalisé en utilisant le modèle structural déterminé précédemment pour le composé parent $Cu_3(PO_4)_2$. Une répartition des ions magnésium sur les deux sites cristallographiques 1 et 2, occupés initialement par les ions cuivriques, a été considérée. L'affinement des taux d'occupation révèle que l'immense majorité des ions Mg^{2+} privilégie le site 2 (> 5% du Mg introduit). Une deuxième série d'affinements en considérant que les ions Mg^{2+} n'occupent que le site 2 conduit à des qualités d'affinements similaires. D'après la structure de $Cu_3(PO_4)_2$ décrite précédemment, la préférence de l'ion Mg^{2+} pour le site 2

n'est pas surprenante. En effet, bien que ce site 2 possède une coordinence [5] assez inhabituelle pour un ion Mg^{2+} , l'environnement extrêmement déformé du site 1 (coordinence [4]) est encore moins favorable à son accueil. Par conséquent, le modèle structural considéré est celui qui positionne les ions Mg^{2+} uniquement sur le site 2. Ceci est en accord avec les résultats de Moqine *et coll.* issus de l'affinement de données de diffraction collectées sur un monocristal de formulation $Cu_{2,37}Mg_{0,63}(PO_4)_2$ ⁽⁵⁰⁾. La figure 25b suivante présente le résultat de l'affinement du diffractogramme de la composition x = 0,2, représentative de la solution solide. Les positions atomiques des atomes pour toutes les compositions sont présentées en annexe 1.



Figure 25 : (a) Diffractogrammes de rayons X des composés $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ ($0 \le x \le 0,5$). (b) Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de la composition x = 0,2

Les évolutions des paramètres de maille extraits de ces affinements sont présentées à la figure 26. Le paramètre a ainsi que les angles β et γ évoluent assez peu avec la teneur x en magnésium. En revanche, le paramètre b diminue et surtout le paramètre c augmente, tandis que l'angle α diminue de manière linéaire avec x. Ces évolutions complexes des paramètres de maille font qu'au final, le volume de la maille augmente légèrement au sein de la solution solide.



Figure 26 : Evolution des paramètres de mailles avec le taux de substitution x dans la solution solide $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ ($0 \le x \le 0.5$). Les erreurs sur les paramètres sont inférieures à la taille des points.

Afin d'apporter une explication aux évolutions des paramètres de maille au sein de la solution solide, une analyse fine de l'évolution des distances métal-oxygène avec x a été réalisée. La figure 27 suivante présente l'évolution des distances métal-oxygène en respectant la même échelle (0,4 Å) que celle de la figure 26 précédente. La substitution partielle du cuivre par le magnésium ne se faisant que sur le site 2 de coordinence [5], il est important de considérer dans un premier temps l'évolution des distances métal-oxygène au niveau de ce site M(2), de géométrie bipyramide trigonale. D'après le dessin de la structure, l'axe 3 de la bipyramide est pratiquement orienté selon l'axe c (figure 21a). L'augmentation du paramètre de maille c devrait donc s'expliquer par une augmentation des distances M(2)-O(3), M(2)-O(4) et O(3)-O(4) (l'axe 3 de la bipyramide), ce qui est effectivement le cas. La légère diminution des paramètres de mailles a et b coïncide quant à elle avec le raccourcissement des liaisons M(2)-O axiales, situées dans le plan (a,b). La substitution a assez peu d'effet sur les distances métal-oxygène M(1)-O au niveau du site M(1) de coordinence [4] (figure 27b), tout comme sur les angles O-M(1)-O, O-M(2)-O, P-O-M(1) et P-O-M(2) (annexe 2).



Figure 27 : Représentation des polyèdres de coordinence autour des sites M(2) (a) et M(1) (b) et évolution des distances métal-oxygène au sein de la solution solide Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂

4.2.2. La solution solide Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂

Une superposition des diffractogrammes de rayons X collectés à température ambiante sur les différentes compositions $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ est présentée sur la figure 28a suivante. Tous ces diagrammes présentent les pics caractéristiques de composés isotypes du phosphate $Mg_3(PO_4)_2$. Il peut être remarqué que les positions en 2 θ des pics relatifs aux réflexions (-101) et (011) ne sont pratiquement pas affectées par la substitution, tandis que la réflexion (101) se décale en position vers les bas angles 2 θ et la réflexion (020) vers les hauts angles 2 θ . A la lumière de ces décalages, il apparaît que la substitution doit provoquer une diminution du paramètre de maille b. Les 3 derniers paramètres de maille a, c et β (angle entre les vecteurs \vec{a} et \vec{c}) sont également affectés sans que l'on puisse prédire leurs évolutions respectives.

Les affinements des diffractogrammes de toutes les compositions $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ ($0 \le x \le 1,2$) ont donc été réalisés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾. Le modèle structural déterminé précédemment pour le composé parent $Mg_3(PO_4)_2$ a permis d'affiner de manière satisfaisante ces diffractogrammes. Comme dans le cas de la solution solide $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$, une occupation mixte des sites a été considérée dans un premier temps. L'affinement des taux d'occupation a révélé que l'ion Cu^{2+} occupait préférentiellement le site 1 (>95% du Cu introduit) de coordinence [5]. Une deuxième série d'affinements en considérant que l'ion Cu^{2+} n'occupait que le
site 1 conduit à des qualités d'affinements similaires. Par conséquent, les affinements proposés sont ceux qui considèrent que les ions Cu²⁺ sont localisés uniquement sur le site 1. Ce choix est également justifié par le fait que dans la structure de Mg₃(PO₄)₂, le site 1 est de coordinence [5] de géométrie bipyramide trigonale, comme pour le site 2 du cuivre dans Cu₃(PO₄)₂. Le site 2 du magnésium dans Mg₃(PO₄)₂ est de géométrie octaédrique et faiblement distordu, ce qui ne favorise pas l'insertion de l'ion Cu²⁺ sur ce site (effet Jahn-Teller). Ceci est en accord avec les résultats de Moqine *et coll.* issus de l'affinement de données de diffraction collectées sur un monocristal de formulation Mg_{1,62}Cu_{1,38}(PO₄)₂ ⁽⁵⁰⁾. Un affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de la composition x = 0,5 représentative de cette solution solide est présenté sur la figure 28b. Les positions atomiques des atomes pour toutes les compositions sont présentées en annexe 1.



Figure 28 : (a) Diffractogrammes de rayons X des composés $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ ($0 \le x \le 1,2$). (b) Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de la composition x = 0,5

Les évolutions des paramètres de mailles extraits de ces affinements sont présentées à la figure 29. Comme attendu, une diminution linéaire et importante du paramètre de maille b avec la teneur x en cuivre est observée. Dans le plan (a,c), la situation est plus complexe puisque le paramètre a reste quasiment inchangé tandis que le paramètre c augmente légèrement quand l'angle monoclinique β (entre ces deux vecteurs \vec{a} et \vec{c}) se ferme avec x (figure 29). Globalement, la distorsion monoclinique décroît lorsque la teneur x en cuivre augmente. Le volume de maille des compositions x = 1 et x = 1,2 est pratiquement identique, ce qui laisse supposer que la limite de la solution solide est située aux alentours de x = 1,2 (formulation limite Mg_{1,8}Cu_{1,2}(PO₄)₂). Les compositions x = 0,8 et x = 0,5 dans une moindre mesure s'écartent nettement de la linéarité, malgré le fait qu'elles aient été resynthétisées. L'écart à la linéarité n'est donc vraisemblablement pas lié à l'expérimentation. Les diminutions du paramètre b et de l'angle β avec x sont le reflet du remplacement progressif des ions Mg²⁺ des bipyramides trigonales (site 1) par des ions Cu²⁺.



Figure 29 : Evolution des paramètres de mailles avec le taux de substitution dans la solution solide $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ ($0 \le x \le 1,2$). Les erreurs sur les paramètres sont inférieures à la taille des points.

Comme dans le cas de Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂, l'évolution des paramètres de maille au sein de la solution solide Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂ peut être interprétée en regardant l'évolution des distances métal-oxygène au niveau du site M(1) sur lequel la substitution du magnésium par le cuivre se réalise (figure 30). D'après le dessin de la structure (figure 30a), l'axe 3 de la bipyramide est orienté préférentiellement selon l'axe cristallographique b, sans lui être parfaitement parallèle. Sur la figure 30 suivante, on note un raccourcissement des distances M(1)-O(1) et dans une moindre mesure des M(1)-O(4) axiales. Cela pourrait expliquer en partie la diminution du paramètre de maille b avec le taux de substitution

x. De plus, contrairement à la solution solide $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$, la substitution du magnésium par le cuivre dans $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ a un impact important sur la géométrie de l'octaèdre de coordinence du deuxième site métallique M(2) (figure 30b). En effet, le plan carré de l'octaèdre (site M(2)) tend à être de plus en plus régulier à mesure que l'on substitue le magnésium par le cuivre sur le site M(1). Conjointement, un raccourcissement des distances M(2)-O(2) axiales de l'octaèdre est également observé. La substitution augmente la planéité de la base trigonale de la bipyramide de coordinence du site M(1), tout en modifiant les trois angles solides de cette même base. Les angles solides O-M(2)-O de l'octaèdre de coordinence du site M(2) ne sont quasiment pas modifiés par la substitution (annexe 2).



Figure 30 : (a) Représentation du polyèdre de coordinence autour des sites M(1) (a) et M(2) (b). Evolution des distances métal-oxygène au sein de la solution solide Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

5. Les oxyphosphates de cuivre

Les oxyphosphates de cuivre Cu₄O(PO₄)₂ et Cu₅O₂(PO₄)₂ présentent les ratios CuO:P₂O₅ les plus importants. Ils sont intéressants dans la recherche de composés inorganiques à forte activité bactéricide de par leur teneur importante en cuivre. Les structures des deux oxyphosphates ont été décrites à la fin des années 1970 par Brunel-Laügt et Guitel, et cristallisent dans le groupe d'espace *P*- $1^{(32, 51, 52)}$. Leur structure est assez complexe à décrire. En effet, dans le composé Cu₄O(PO₄)₂, les ions Cu²⁺ occupent un site en coordinence plan carré [CuO₄]⁶⁻, un site en coordinence octaédrique [CuO₆]¹⁰⁻ présentant une déformation [4+2] et deux sites en coordinence pyramide à base carrée [CuO₅]⁸⁻. Les polyèdres [CuO₅]⁸⁻ et [CuO₆]¹⁰⁻ forment des feuillets alvéolés parallèles au plan (1-10) grâce à des connexions par arêtes O-O et sommets « oxygène ». Un feuillet est isolé à la figure 31b. Suivant la direction [1-10], les tétraèdres [PO₄]³⁻ et les plans carrés [CuO₄]⁶⁻ sont situés à l'aplomb des alvéoles de ces feuillets avec lesquels ils partagent des sommets « oxygène » (figure 31a).

Dans le composé $Cu_5O_2(PO_4)_2$, la situation est comparable puisque les ions cuivriques occupent un site en coordinence [4] de géométrie plan carré $[CuO_4]^{6-}$ et deux sites en coordinence [5] de géométrie pyramidale à base carrée $[CuO_5]^{8-}$. Des polyèdres $[CuO_4]^{6-}$ et $[CuO_5]^{8-}$ forment des feuillets alvéolés parallèles au plan (b,c) grâce uniquement à des connexions par arêtes O-O. Un feuillet est isolé à la figure 31d. Suivant l'axe a, ces feuillets sont séparés entre eux par une bicouche de pyramides à base carrée $[CuO_5]^{8-}$ et de tétraèdres $[PO_4]^{3-}$ partageant entre eux des sommets d'arêtes O-O de ses pyramides à base carrée $[CuO_5]^{8-}$ et par des sommets oxygène de ses tétraèdres $[PO_4]^{3-}$.



Figure 31 : Vues en perspective des structures des oxyphosphates Cu₄O(PO₄)₂ (a) et Cu₅O₂(PO₄)₂ (c). Comparaison des feuillets alvéolés rencontrés dans ces oxyphosphates Cu₄O(PO₄)₂ (b) et Cu₅O₂(PO₄)₂ (d).

5.1. Le composé Cu₄O(PO₄)₂

L'oxyphosphate de cuivre de formulation $Cu_4O(PO_4)_2$ a été synthétisé à partir d'un mélange équimolaire de $Cu_3(PO_4)_2$ et de CuO à 850°C pendant 12 heures. On obtient alors une poudre de couleur vert bouteille. Un affinement du diagramme de diffraction de rayons X a été effectué par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ en utilisant comme modèle structural de départ celui de la littérature ⁽³²⁾. Le résultat de cet affinement est présenté à la figure 32 et dans le tableau 19 (2395 réflexions considérées). Dans cet affinement, le paramètre de déplacement atomique isotrope B_{iso} de chaque atome n'a pas pu être affiné et a été fixé à 1. Le modèle structural obtenu est proche de celui obtenu par Brunel-Laügt *et coll.* à partir de données collectées sur un monocristal ⁽³²⁾.

Tableau 19 : Paramètres de mailles et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du
diffractogramme du composé Cu ₄ O(PO ₄) ₂ synthétisé par voie céramique (groupe d'espace <i>P-1</i>)

Cu ₄ O(PO ₄) ₂	a(Å)		b(Å)	c(Å)	(α(°)	β(°)	γ(°)
Littérature ⁽³²⁾	7,528(2)	8,	090(2)	6,272(1)	113	3,68(2)	81,56(2)	105,77(2)
Ce travail	7,5366(6)	8,0	982(6)	6,2781(3)	113	3,659(2)	81,585(2)	105,758(2)
Cu	4 O(PO 4)2	Site	х		у	Z	B _{iso} (Ų)	_
	Cu(1)	2i	0,1288	(7) 0,2	640(9)	0,355(1) 1	_
	Cu(2)	2i	0,6723	(7) 0,4	440(9)	0,784(1) 1	
	Cu(3)	2i	0,8958	(8) 0,7	459(8)	0,126(1) 1	
	Cu(4)	2i	0,6193	(7) 0,9	127(9)	0,068(1) 1	
	P(1)	2i	0,7313	(2) 0,3	511(2)	0,220(2) 1	
	P(2)	2i	0,217(2) 0,9) 20(2)	0,420(2) 1	
	O(1)	2i	0,267(3) 0,2	285(3)	0,093(5) 1	
	O(2)	2i	0,017(3) 0,7	756(3)	0,380(4) 1	
	O(3)	2i	0,582(3) 0,2	143(4)	0,134(4) 1	
	O(4)	2i	0,775(3) 0,9	960(3)	0,315(4) 1	
	O(5)	2i	0,209(3) 0,0	040(3)	0,315(4) 1	
	O(6)	2i	0,374(3) 0,8	327(3)	0,333(3) 1	
	O(7)	2i	0,715(3) 0,4	487(3)	0,091(4) 1	
	O(8)	2i	0,919(3) 0,3	307(3)	0,149(4) 1	
	O(9)	2i	0,266(2) 0,5	532(3)	0,526(5) 1	

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates



Figure 32 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de rayons X de l'oxyphosphate Cu₄O(PO₄)₂ synthétisé par voie céramique

La décomposition thermique de précurseurs « hydroxydes » est connue pour générer des particules de taille sub-micrométrique, voire dans certains cas nanométrique (voir chapitres III et IV). D'après les résultats de l'ATG sous air du composé $Cu_2(PO_4)OH$ (paragraphe 2.1), le produit de sa décomposition thermique est l'oxyphosphate $Cu_4O(PO_4)_2$. Par conséquent, l'hydroxyphosphate $Cu_2(PO_4)OH$ a été calciné à 850°C sous air pendant 12 heures. Le produit obtenu est bien l'oxyphosphate $Cu_4O(PO_4)_2$, comme en témoigne l'affinement par la méthode de Le Bail du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ de son diffractogramme collecté à température ambiante, présenté en figure 33. On remarque au passage que les pics de diffraction de cet oxyphosphate sont deux fois plus larges que ceux mesurés pour le même composé préparé par voie céramique, ce qui est le reflet d'une diminution de la taille des domaines de diffraction cohérente et donc de la taille des particules. Par conséquent, dans la suite de ce travail, l'activité bactéricide de l'oxyphosphate a été évaluée à partir de l'échantillon issu de la décomposition thermique de $Cu_2(PO_4)OH$ à 850°C en raison de la taille plus faible des particules.



Figure 33 : Résultat de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme de rayons X de l'oxyphosphate Cu₄O(PO₄)₂ préparé par décomposition thermique de Cu₂(PO₄)OH à 850°C sous air

La figure 34 suivante présente le spectre infrarouge du composé entre 400 et 1400 cm⁻¹. L'absence de la bande centrée sur 750 cm⁻¹ caractéristique de la vibration d'élongation v_{PO} confirme qu'il s'agit bien de tétraèdres $[PO_4]^{3^-}$ isolés et non condensés comme pour les groupements pyrophosphates $[P_2O_7]^{4^-}$. A l'éclatement des modes de vibrations par application des symétries ponctuelles (celle du phosphore) et moléculaires (groupe d'espace du cristal), il faut aussi tenir compte de la structure du composé, décrite avec deux groupements phosphates indépendants. 8 bandes correspondant aux vibrations d'élongation de liaisons P-O (v_{PO4}) et 10 bandes caractéristiques de vibrations de déformation angulaire O-P-O (δ_{PO4}) doivent être actives en spectroscopie infrarouge. Expérimentalement, 6 bandes sont clairement identifiables dans la région 700 - 1200 cm⁻¹; les deux dernières théoriquement observables étant probablement masquées par les 6 autres. Au moins 9 bandes sont détectées dans la région 400 - 700 cm⁻¹, mais il faut également tenir compte des modes de vibrations des liaisons Cu-O. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*) dans le tableau 20 suivant.

Tableau 20 : Filiation des modes de vibration du groupement PO₄³⁻ dans l'oxyphosphate Cu₄O(PO₄)₂ et attribution des bandes de vibrations (cm⁻¹) observées sur le spectre infrarouge. Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)

	Symétrie du groupement PO4 ³⁻ T _d	Symétrie des positions atomiques C ₁	Symétrie du cristal C _i
ν _{(s) PO4}	2 x A ₁	2 x A	$2 \times (A_g + A_u)$
$v_{(as) PO4}$	2 x T ₂	2 x 3A	$2 \times (3A_g + 3A_u)$
δ _{(s) PO4}	2 x E	2 x 2A	$2 \times (2A_g + 2A_u)$
$\delta_{(as) PO4}$	2 x T ₂	2 x 3A	2 x (3A _g + 3A _u)

	Attribution des bandes					
v_{PO4}	1096 (*), 1059, 1024, 984, 959, 906					
δ_{PO} + ν_{CuO}	644 (*), 620, 584, 563, 547 (*), 505 (*), 493, 471					
	(*), 446, 410 (*)					
1.2 Cu4	O(PO ₄) ₂					
1.0 ೮						



Figure 34 : Spectre infrarouge de Cu₄O(PO₄)₂ dans la région 400 – 1400 cm⁻¹

5.2. Le composé Cu₅O₂(PO₄)₂

L'oxyphosphate de cuivre de formulation $Cu_5O_2(PO_4)_2$ a été préparé par réaction entre l'oxyphosphate $Cu_4O(PO_4)_2$, lui-même obtenu par décomposition de $Cu_2PO_4(OH)$, et CuO à 900°C pendant 12 heures. Plusieurs recuits ont été nécessaires à l'obtention de la phase sans trace des réactifs de départ. La poudre est de couleur verte très foncée. Un affinement du diffractogramme par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽²⁹⁾ a été réalisé en utilisant comme modèle structural de départ celui publié par Brunel-Laügt *et coll.* ⁽⁵¹⁾. Dans le cas présent, les facteurs B_{iso} ont pu être affinés. Le résultat de cet affinement est présenté sur la figure 35 et les données cristallographiques rassemblées dans le tableau 21. Le modèle structural obtenu est en accord avec celui de la littérature (20 compris entre 10 et 135°, 1380 réflexions considérées).

Tableau 21 : Paramètres de mailles et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Cu₅O₂(PO₄)₂ (groupe d'espace *P-1*)

$Cu_5O_2(PO_4)_2$	a(Å)	b(Å)	c(Å)	α(°)	β(°)	γ(°)
Littérature ⁽⁵¹⁾	7,603(6)	5,304(4)	5,200(4)	111,66(4)	90,19(4)	82,56(4)
Ce travail	7,6138(2)	5,3044(2)	5,2067(2)	111,749(1)	90,173(2)	82,481(2)
	Cu ₅ O ₂ (PO ₄) ₂	x	У	Z	B _{iso} (Ų)	
	Cu(1)	0	0	0	1,2(2)	
	Cu(2)	0,3613(3)	0,2478(6)	0,1169(6)	1,2(2)	
	Cu(3)	0,0595(3)	0,3869(6)	0,7124(6)	1,2(2)	
	Р	0,706(6)	0,158(1)	0,461(1)	1,2(2)	
	O(1)	0,599(2)	0,096(2)	0,201(3)	0,6(1)	
	O(2)	0,607(2)	0,386(2)	0,705(2)	0,6(1)	
	O(3)	0,876(2)	0,244(2)	0,377(2)	0,6(1)	
	O(4)	0,757(1)	-0,105(2)	0,514(2)	0,6(1)	
	O(5)	0,110(2)	0,313(2)	0,042(2)	0,6(1)	
	R _p = 9,19% R _{wp} = 7,55% R _{Bragg} = 4,14% R _{Expected} = 3,43			Cu ₅ O ₂ (PO ₄) ₂ alc Position	
			2 θ (°)			

Figure 35 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diagramme de rayons X de l'oxyphosphate Cu₅O₂(PO₄)₂ collecté à température ambiante

Le spectre infrarouge présenté sur la figure 36 suivante est caractéristique des phosphates, avec 4 bandes parfaitement discernables dans la région 700 - 1200 cm⁻¹, en accord avec l'application de la théorie des groupes sur ce composé (phosphore sur sites C₁, groupe d'espace C_i, un seul site pour le phosphore). Les bandes en dessous de 700 cm⁻¹ correspondent aux vibrations de déformation angulaire O-P-O (δ_{PO4}) ainsi qu'aux modes de vibration des liaisons Cu-O. Les épaulements observés sont marqués d'un astérisque (*) dans le tableau 22 suivant.

Tableau 22 : Filiation des modes de vibration du groupement PO₄³⁻ dans l'oxyphosphate Cu₅O₂(PO₄)₂ et attribution des bandes de vibrations (cm⁻¹) observées sur le spectre infrarouge. Les épaulements sont marqués d'un astérisque (*)

	Symétrie du groupement PO4 ³⁻ T _d	Symétrie des positions atomiques C ₁	Symétrie du cristal C _i
V (s) PO4	A ₁	А	$A_g + A_u$
V _{(as) PO4}	T ₂	3A	$3A_g + 3A_u$
δ (s) PO4	E	2A	$2A_g + 2A_u$
δ _{(as) PO4}	T ₂	3A	3A _g + 3A _u

			Attr	ibution de	s bandes			
V _{PC}	04	1135, 1022, 972, 897						
δ _{PO4} +	V _{CuO}	64	647, 606, 574, 517, 475, 444, 422, 412 (*)					
1.2 1.0 8.0 8.0 8.0 8.0	Cu _s O - - - - - -	(PO ₄) ₂				<i>М</i> ,		
14	100	1200	1000	800	600	400		
		No	mbre d'o	onde (cr	n ⁻¹)			

Figure 36 : Spectre infrarouge du composé $Cu_5O_2(PO_4)_2$ dans la région 400 – 1400 cm⁻¹

6. Etude de la stabilité des composés définis vis-à-vis de l'hydrolyse

L'activité bactéricide des produits sera évaluée dans l'eau. Il est donc primordial de connaître la stabilité des produits dans les conditions d'évaluation de l'activité bactéricide et d'utilisation potentielle du produit. Comme pour les composés présentés dans les chapitres précédents, des poudres ont été immergées dans l'eau pendant plusieurs heures (8 heures pour Cu₂P₂O₇ et Mg₂P₂O₇, 16 heures pour les autres composés). La détection d'une hydrolyse éventuelle est ensuite effectuée en analysant les poudres séchées par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge.

Lors de sa synthèse, l'hydroxypyrophosphate $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ a été rapidement identifié comme étant instable dans l'eau. Cette instabilité a été étudiée en analysant par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge les particules après leur immersion pendant 3, 8 et 16 heures (concentration en particules de 1 mg/mL). Au bout de 8 heures de contact, plusieurs pics caractéristiques des phases $Cu_2P_2O_7.3H_2O$ et $CuHPO_4$ apparaissent clairement sur le diagramme, avec en parallèle une disparition progressive des pics relatifs à la phase $Cu_3(P_2O_6OH)_2$. De plus, le pic situé vers 8,5° en 20 et dont l'intensité croît beaucoup avec le temps d'immersion et le pic vers 25,8° n'ont pas pu être attribués à une phase répertoriée dans les bases de données (astérisque rouge sur la figure 37). Les spectres infrarouge montrent aussi l'apparition d'une bande caractéristique de la déformation angulaire des liaisons H-O-H de molécules d'eau (δ_{H2O}) vers 1650 cm⁻¹ (figure 38). La faible intensité de cette bande est en accord avec la présence en petite quantité du pyrophosphate hydraté $Cu_2P_2O_7.3H_2O$. Lorsque la phase inconnue devient prépondérante au bout de 16 heures de contact, une modification importante de la signature infrarouge dans la zone 400 – 1400 cm⁻¹ se produit (figure 38).



Figure 37 : Diffractogrammes de rayons X du composé Cu₃(P₂O₆OH)₂ collectés après différents temps d'immersion dans l'eau. Les deux pics marqués d'un astérisque rouge n'ont pas pu être identifiés



Figure 38 : Spectres infrarouge collectés après différents temps d'immersion dans l'eau du composé $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ Pour les autres composés ($Cu_2PO_4(OH)$, $Cu_2P_2O_7$, $Mg_2P_2O_7$, $Cu_3(PO_4)_2$, $Mg_3(PO_4)_2$, $Cu_4O(PO_4)_2$, $Cu_5O_2(PO_4)_2$), aucun produit d'hydrolyse n'a été détecté par diffraction des rayons X ou spectroscopie infrarouge. Les diffractogrammes et les spectres infrarouge de toutes les compositions citées sont présentés sur les figures 39 à 42 suivantes, répartis par famille (l'hydroxyphosphate Cu_2PO_4OH en figure 39, les pyrophosphates $Cu_2P_2O_7$ et $Mg_2P_2O_7$ en figure 40, les phosphates $Cu_3(PO_4)_2$ et $Mg_3(PO_4)_2$ en figure 41, les oxyphosphates $Cu_4O(PO_4)_2$ et $Cu_5O_2(PO_4)_2$ en figure 42).



Figure 39 : Diffractogrammes (a) et spectres infrarouge (b) collectés après 16 heures d'immersion dans l'eau du composé Cu₂PO₄(OH)



Figure 40 : Diffractogrammes (a-c) et spectres infrarouge (b-d) collectés après 8 heures d'immersion dans l'eau des composés Cu₂P₂O₇ et Mg₂P₂O₇



Figure 41 : Diffractogrammes (a-c) et spectre infrarouge (b-d) collectés après 16 heures d'immersion dans l'eau des composés Cu₃(PO₄)₂ et Mg₃(PO₄)₂



Figure 42 : Diffractogrammes (a-c) et spectres infrarouge (b-d) collectés après 16 heures d'immersion dans l'eau des composés Cu₄O(PO₄)₂ et Cu₅O₂(PO₄)₂

7. Évaluation de l'activité bactéricide des phosphates

7.1. Activité bactéricide des composés définis

L'activité bactéricide de l'ensemble des phosphates préparés à base de cuivre a pu être évaluée une ou deux fois vis-à-vis d'*E. coli* sur un temps maximal de 3 heures de contact, à l'exception de Cu₂P₂O₇, dont l'activité n'a été évaluée qu'au bout d'une heure. Il ressort que l'activité du pyrophosphate est nulle au bout d'une heure de contact, alors qu'elle existe pour tous les autres composés de la série (tableau 23).

Tableau 23 : Activité bactéricide des composés définis Cu₂(PO₄)OH, Cu₃(P₂O₆OH)₂, Cu₂P₂O₇, Cu₃(PO₄)₂, Cu₄O(PO₄)₂, Cu₅O₂(PO₄)₂ exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*), n=1)

Composition	Temps de			
% massique en Cu	contact (min)	log(N ₀)	% Réduction	Log(N₀/N)
	0	6,75	-	-
	15		28,5	0,15
Cu₃(P₂O₅OH)₂ (*) 35,26 %Cu	30		28,5	0,15
	60		50	0,30
	180		70,9	0,54
Cu ₂ P ₂ O ₇ (*)	0	6,70	-	-
42,41 %Cu	60		0	0
	0	7,05	-	-
Cu₃(PO₄)₂ (*) 50,09 %Cu	15		99,5	2,31
	30		99,8	2,62
	60		99,7	2,58
	180		100,0	4,70
	0	6,75	-	-
Си-(РО.)ОН (*)	15		23,2	0,11
53 16 %Cu	30		55,4	0,35
55,10 /iCu	60		81,4	0,73
	180		99,2	2,15
	0	6,72±0,02	-	-
	15		61,1±15,7	0,43±0,18
55 24 %Cu	30		82,7±9,5	0,80±0,25
30)24 /0Cu	60		99,3±0,6	2,25±0,42
	180		100,0	6,57±0,19

Tableau 23 (suite) : Activité bactéricide des composés définis Cu ₂ (PO ₄)OH, Cu ₃ (P ₂ O ₆ OH) ₂ , Cu ₂ P ₂ O ₇ , Cu ₃ (PO ₄) ₂ , Cu ₄ O(PO ₄) ₂ ,
Cu ₅ O ₂ (PO ₄) ₂ exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un
astérisque (*), n=1)

Composition				_
% massique en Cu	Temps de contact (min)	log(N₀)	% Réduction	Log(N ₀ /N)
	0	6,72±0,02	-	-
C++ O (PO)	15		63,3±4,7	0,44±0,06
	30		88,1±1,1	0,93±0,04
58,87 %Cu	60		99,3±0,9	3,11±1,73
	180		100,0	> 6,72

Seuls deux phosphates de magnésium ont été étudiés : $Mg_2P_2O_7$ et $Mg_3(PO_4)_2$. Comme pour $Cu_2P_2O_7$, l'activité de $Mg_2P_2O_7$ n'a été évaluée qu'une seule fois et qu'au bout d'une heure de temps de contact. Il s'est révélé complètement inactif. $Mg_3(PO_4)_2$, dont l'activité vis-à-vis d'*E. coli* a pu être évaluée deux fois, s'avère tout aussi inactif aux écart-types près (réduction maximale de 0,52±0,50 log au bout de 3 heures de contact).

Tableau 24 : Activité bactéricide des composés définis Mg₂P₂O₇ et Mg₃(PO₄)₂ exprimées en pourcentages et en log de réduction. Mg₂P₂O₇ n'a été testé qu'une fois (n=1), Mg₃(PO₄)₂ a été testé deux fois (moyenne ± ET, n=2)

	Temps de contact (min)	log(N₀)	% Réduction	Log (N ₀ /N)
Mg P O	0	6,63	-	-
141g2F 207	60		0	0
	0	6,83±0,26	-	-
	15		8,6±17,6	0,04±0,08
Mg ₃ (PO ₄) ₂	30		16,4±18,4	0,08±0,10
	60		3,0±16,6	0,02±0,07
	180		59,2±38,6	0,52±0,50

D'après la littérature, les ions Cu²⁺ présentent une activité bactéricide significative même à des concentrations faibles. Ning *et coll.* ⁽⁵³⁾ estiment la CMB des ions Cu²⁺ aux alentours de 6,5.10⁻¹ mg/L au bout de 24 heures de contact à 37°C. Toutefois, il faut souligner la différence de méthodologie entre la définition d'une activité bactéricide dans nos conditions d'essais (contact court dans l'eau) et lors d'essais réalisés pour détermination des CMI/CMB (en milieu de culture). Par ailleurs, il a été montré dans les chapitres III et IV précédents que les ions Cu²⁺ avaient un rôle particulièrement limité sur l'activité bactéricide observée, à des concentrations inférieures à quelques mg/L (moins de 2 mg/L). La concentration en ions Cu²⁺ et Mg²⁺ a été mesurée par spectroscopie d'émission atomique à température ambiante dans les surnageants après seulement 24 heures d'immersion de particules des composés définis suivants : Cu₂PO₄(OH), Cu₃(P₂O₆OH)₂, Cu₂P₂O₇, Mg₂P₂O₇, Cu₃(PO₄)₂, Mg₃(PO₄)₂, Cu₄O(PO₄)₂, Cu₅O₂(PO₄)₂. Les résultats sont exposés dans le tableau 25 suivant. Ils ressort que tous les

composés à base de cuivre sauf l'hydroxypyrophosphate $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ sont très peu solubles dans l'eau, avec des concentrations en ions Cu^{2+} relevées dans les surnageants comprise entre 0,45 et 0,66 mg/L. Pour $Cu_3(P_2O_6OH)_2$, son instabilité vis-à-vis de l'hydrolyse décrite au paragraphe 6 est associée à une forte concentration en ions Cu^{2+} mesurée dans le surnageant. Cette concentration est de 45 mg/mL au bout de 24 heures d'immersion. Elle ne dépasse pas 0,66 mg/mL dans les autres surnageants pour les autres phosphates de cuivre. Pourtant, $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ est le composé le moins actif de la série, avec une réduction du nombre d'UFC/mL par rapport au témoin ne dépassant pas 70,9% au bout de 3 heures de contact. S'il n'est pas exclu qu'une partie de l'activité bactéricide de $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ provienne de cette forte concentration en ions Cu^{2+} présente dans le surnageant, la faible concentration en ions Cu^{2+} relevée (moins de 0,6 mg/L) dans les surnageants des autres composés étudiés n'est vraisemblablement pas responsable de leurs bactéricidies. Un deuxième test de bactéricidie sur $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ doit être réalisé pour confirmer cette hypothèse.

Le rôle du pH sur la mortalité d'*E. coli* est également à discuter. On a vu, au cours des chapitres III et IV, qu'un pH alcalin et inférieur à 11 n'avait pas d'impact sur la bactéricidie observée. Afin d'évaluer le changement de pH apporté par les composés au contact de l'eau, le pH des surnageants après immersion de particules de différents phosphates a été mesuré. Les résultats, exposés sur la figure 44 suivante, montrent que la quasi-totalité des composés, qu'ils soient à base de cuivre ou à base de magnésium, entraînent une élévation modérée du pH du surnageant par rapport à l'eau désionisée (pH = 5,7) lorsqu'ils sont immergés dans l'eau. Une exception est faite pour Cu₃(P₂O₆OH)₂, dont le surnageant est particulièrement acide (pH proche de 2,5 au bout de 3 heures d'immersion dans l'eau). Compte tenu des valeurs quasi-neutres du pH, l'activité bactéricide de ces composés n'est pas liée au changement de pH induit par leur dissolution partielle dans l'eau. Cette hypothèse est validée par les valeurs d'UFC/mL observées dans l'eau désionisée (pH = 5,7) aux temps d'analyse considérés (témoins réalisés pour chaque série d'essais).

Dans le cas de Cu₃(P₂O₆OH)₂, le rôle de l'acidité du surnageant sur la survie des bactéries doit être discuté. De nombreuses études montrent la survie d'*E. coli* dans des milieux très acides ⁽⁵⁴⁾ ; certaines souches pouvant survivre à des pH aussi bas que 2,5 pendant au moins 2 heures ⁽⁵⁵⁾, conditions proches de celles rencontrées dans l'estomac. Cela permet d'expliquer pourquoi certaines souches d'*E. coli* d'origine alimentaire peuvent être responsables d'infections gastro-intestinales ⁽⁵⁶⁾. Conner et Kotrola ont évalué la survie de la souche *E. coli* O157:H7 responsable de nombreuses intoxications alimentaires à pH légèrement acide (compris entre 4 et 5,2) tamponné par des acides organiques pendant 56 jours (concentrations en acide comprises entre 0,02 et 0,03 mol/L) ⁽⁵⁷⁾. A 25°C, la plupart des bactéries ont pu se développer. Oulkheir *et coll.* ont évalué le survie de deux souches *E. coli* sauvages en milieu Trypcase Soja acide (pH = 2,5 ; 4,5 et 6 tamponné avec HCl) à 20°C ⁽⁵⁸⁾. Les auteurs

289

notent une réduction du nombre d'UFC/mL même à pH = 4,5 et pH = 6, mais elle reste modérée (réduction de 1 log au bout de 48 heures). Dans le cas de $Cu_3(P_2O_7OH)_2$, un constat similaire peut-être fait : il s'agit du composé le moins actif de la série, et pourtant sa mise au contact avec l'eau entraîne une très forte diminution du pH. L'acidification du milieu pourrait donc jouer un certain rôle sur l'activité bactéricide de $Cu_3(P_2O_6OH)_2$.

Tableau 25 : Concentration en ions Cu²⁺ déterminée par spectroscopie d'émission atomique dans le surnageant après 24 heures d'immersion dans l'eau de particules de Cu₂PO₄(OH), Cu₃(P₂O₆OH)₂, Cu₂P₂O₇, Mg₂P₂O₇, Cu₃(PO₄)₂, Mg₃(PO₄)₂, Cu₄O(PO₄)₂, Cu₅O₂(PO₄)₂ (concentration en particules de 1g/L)

[Cu ²⁺] en mg/L (µmol/L)		[Mg ²⁺] en mg/L (µmol/L)
0,46 (<i>7,2</i>)		
45 (<i>708</i>)		
0,66 (10,4)	$Mg_2P_2O_7$	0,14 (<i>5,8</i>)
0,65 (<i>10,2</i>)	Mg ₃ (PO ₄) ₂	3,60 (148)
0,45 (7,1)		
0,65 (10,2)		
	(b)	
	B T T T T T T T T T T T T T T T T T T T	• • • • Mg ₂ F • • • • Mg ₃ (
	[Cu ²⁺] en mg/L (μ mol/L) 0,46 (7,2) 45 (708) 0,66 (10,4) 0,65 (10,2) 0,45 (7,1) 0,65 (10,2) 	[Cu ²⁺] en mg/L (μ mol/L) 0,46 (7,2) 45 (708) 0,66 (10,4) Mg ₂ P ₂ O ₇ 0,65 (10,2) Mg ₃ (PO ₄) ₂ 0,45 (7,1) 0,65 (10,2) (b) (b) (cu ₂ (PO ₄)OH Cu ₂ (PO ₄)OH Cu ₂ (PO ₄) ₂ Cu ₃ (O(PO ₄) ₂ Cu ₃ O ₂ (PO ₄) ₂ (b)

Figure 43 : pH des surnageants en fonction du temps d'immersion de particules de phosphates de cuivre (a) et de magnésium (b)

7.2. Activité bactéricide des solutions solides

Les deux pyrophosphates $Cu_2P_2O_7$ et $Mg_2P_2O_7$ ne manifestent aucune activité vis-à-vis d'*E. coli* au bout d'une heure de contact suite au premier test d'activité. En revanche, les composés substitués $Cu_{1,8}Mg_{0,2}P_2O_7$ et $Mg_{1,8}Cu_{0,2}P_2O_7$ se révèlent actifs. L'activité bactéricide de $Mg_{1,8}Cu_{0,2}P_2O_7$ est très faible, avec un pourcentage de réduction de seulement 11,6%, mais celle de $Cu_{1,8}Mg_{0,2}P_2O_7$ est significative, et atteint 88,1% (tableau 26). Ce composé présenterait même une activité comparable aux autres phosphates de cuivre (tableau 23 et figure 44). Ces résultats surprenants sont à confirmer en réalisant un deuxième test de bactéricidie. Tableau 26 : Activité bactéricide des pyrophosphates Cu_{1,8}Mg_{0,2}P₂O₇ et Mg_{1,8}Cu_{0,2}P₂O₇ exprimées en pourcentages et en log de réduction (n=1) au bout d'une heure de temps de contact

	log(N₀)	% Réduction	Log(N₀/N)
$Cu_{1,8}Mg_{0,2}P_2O_7$	6,63	88,1	0,93
$Mg_{1,8}Cu_{0,2}P_2O_7$	6,63	11,6	0,05

L'impact de la substitution cationique sur l'activité bactéricide de $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ et $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ a été évalué vis-à-vis d'*E. coli* dans l'eau et à température ambiante, sur un temps de contact maximal de 3 heures à la concentration en particules de 1 mg/mL.

L'activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* des phosphates de cuivre $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ est présentée dans le tableau 27 et la figure 44. $Cu_3(PO_4)_2$ présente déjà une activité bactéricide assez remarquable, avec une réduction 4,84 log au bout de 3 heures de contact. La substitution du cuivre par le magnésium ne permet pas d'augmenter la bactéricidie du composé. En effet, le composé $Cu_{2,9}Mg_{0,1}(PO_4)_2$ et $Cu_{2,8}Mg_{0,2}(PO_4)_2$ présentent une activité assez semblable aux écart-types près à celle du composé parent $Cu_3(PO_4)_2$. Elle diminue en revanche pour le composé $Cu_{2,7}Mg_{0,3}(PO_4)_2$, avec une activité bactéricide sensiblement plus faible que celle de $Cu_3(PO_4)_2$ (différence de près de 1,5 log sur le temps de contact de 3 heures).

	Temps de contact (min)	log(N₀)	% Réduction	Log (N₀/N)
	0	6,78±0,05	-	-
Cu _{2,9} Mg _{0,1} (PO ₄) ₂	15		89,3±4,8	0,99±0,20
	30		91,7±11,3	1,68±1,26
	60		99,1±1,0	2,34±0,78
	180		100,0±0,1	4,11±0,18
Cu _{2,8} Mg _{0,2} (PO ₄) ₂ (*)	0	6,63	-	-
	15		99,0	2,00
	30		99,6	2,39
	60		99,9	2,87
	180		100,0	4,84
	0	6,86±0,16	-	-
	15		84,8±5,5	0,83±0,16
Cu _{2,7} Mg _{0,3} (PO ₄) ₂	30		92,7±4,8	1,19±0,31
	60		98,4±0,7	1,83±0,20
	180		99,7±0,3	2,65±0,54

Tableau 27 : Activité bactéricide des phosphates Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂ exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*), n=1)



Figure 44 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des phosphates Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂ vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour la composition x=0,2 ; n=1)

Le tableau 28 et la figure 45 suivants présentent l'activité bactéricide de quelques phosphates de magnésium $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ représentatifs de la solution solide. Comme on l'a vu précédemment, l'activité bactéricide du composé parent est nulle. La substitution du magnésium par le cuivre permet toutefois de conférer au composé une activité bactéricide, au moins pour les temps de contact de 1 heure et 3 heures. Pour les temps de contact de 15 et 30 minutes, une faible activité bactéricide est relevée, mais associée à un fort écart-type. La composition x = 0,2 ($Mg_{2,8}Cu_{0,2}(PO_4)_2$) au bout de 3 heures de contact, est même compétitive par rapport à $Cu_3(PO_4)_2$. En effet, cette composition présente tout de même une activité bactéricide significative (3,97 log au bout de 3 heures de contact), tout en ayant un pourcentage massique en cuivre particulièrement faible (seulement 4,69% massique). La bactéricidie des différents phosphates $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$ testés n'est pas proportionnelle à leur teneur en cuivre x puisque les réductions log sont similaires au bout de 3 heures de contact, aux écart-types près.

	Temps de		%	Log (N₀/N)	
	contact (min)	IOB(IN0)	Réduction		
Mg _{2,8} Cu _{0,2} (PO ₄) ₂	0	6,63±0,49	-	-	
	15		34,6±48,9	0,18±0,47	
	30		42,5±60,1	0,40±0,59	
	60		76,7±29,4	0,98±0,88	
	180		100,0±0,1	3,97±1,36	
	0	6,93±0,07	-	-	
	15		60,5±22,3	0,44±0,26	
Mg _{2,5} Cu _{0,5} (PO ₄) ₂	30		71,3±24,6	0,64±0,43	
	60		88,4±11,7	1,09±0,55	
	180		99,8±0,2	2,70±0,42	
	0	6,93±0,07	-	-	
	15		82,9±22,0	1,15±0,94	
Mg ₂ Cu(PO ₄) ₂	30		84,8±21,2	1,59±1,52	
	60		93,4±8,6	1,59±0,98	
	180		99.9±0.1	3.22±0.48	

Tableau 28 : Activité bactéricide phosphates Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂ exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)



Figure 45 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des phosphates Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂ vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en log de réduction

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

8. Conclusion

Dans ce chapitre, de nombreux composés contenant du phosphore ont été synthétisés et caractérisés. Comme attendu, l'ajout d'un oxyde acide (P_2O_5) a permis de rendre les composés bien plus stables vis-à-vis de l'hydrolyse. Ils sont aussi très peu solubles dans l'eau, à l'exception de l'hydroxypyrophosphate Cu₃(P_2O_6OH)₂. Ce travail s'est également inscrit dans une réinvestigation de solutions solides décrites dans la littérature. L'existence d'une solution solide totale entre les formes haute température des pyrophosphates Cu₂ P_2O_7 et Mg₂ P_2O_7 est remise en question, mais celles entre les phosphates Cu₃(PO_4)₂ et Mg₃(PO_4)₂ sont confirmées et validées au moins jusqu'à la composition x = 0,5 pour Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)₂ et x = 1,2 pour Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)₂.

L'évaluation de l'activité bactéricide des différents composés a révélé qu'il n'existait pas forcément de lien entre la quantité de cuivre contenue dans le composé et son potentiel antibactérien. L'oxyphosphate de formulation $Cu_5O_2(PO_4)_2$, le plus riche en cuivre, est bien le plus actif au bout d'une heure de contact. Mais $Cu_4O(PO_4)_2$ ne présente pas une activité plus forte par rapport à $Cu_3(PO_4)_2$, pourtant moins riche en cuivre. Ce constat est d'autant plus vrai avec les phosphates mixtes $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$. Par exemple, le phosphate de formulation $Mg_{2,8}Cu_{0,2}(PO_4)_2$ ne contient que 4,69% en masse de cuivre et est pourtant l'un des plus actifs, avec près de 90% des bactéries tuées (1 log) au bout d'une heure de contact. De part le caractère non toxique et économique du phosphate de magnésium, il pourrait être intéressant d'utiliser ce composé $Mg_{2,8}Cu_{0,2}(PO_4)_2$ pour lutter contre les microorganismes, notamment dans le cadre du contrôle des infections nosocomiales. Le pH, ou la concentration en ions Cu^{2+} dans les suspensions de particules ne semble pas être à l'origine de la bactéricidie des phosphates testés. Une étude de la production de ROS par ces mêmes composés pourrait apporter une explication aux activités bactéricides observées.

La recherche de composés inorganiques bactéricides a montré le potentiel de l'oxyde de zinc vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus* (voir chapitre I). L'idée de combiner à la fois le cuivre et le zinc au sein d'un même matériau constitue donc une perspective intéressante. Parmi les composés du cuivre à base de phosphore pouvant présenter une telle substitution, les pyrophosphates se sont révélés décevants sur le plan antibactérien et assez difficiles à obtenir purs, dont peu intéressants de ce point de vue. En revanche, $Cu_3(PO_4)_2$ présente une activité bactéricide non négligeable vis-à-vis d'*E. coli*, et le cuivre dans ce phosphate peut être substitué partiellement (jusqu'à 16,7% molaire) par du magnésium. Des travaux précédents ont montré qu'il était possible de substituer le cuivre par le zinc dans la structure de $Cu_3(PO_4)_2$; l'inverse étant aussi tout à fait possible ⁽⁵⁹⁾.

Références du chapitre V

- 1. Lager, G.A. and G.V. Gibbs, *Effect of Variations in O-P-O and P-O-P Angles on P-O Bond Overlap Populations for Some Selected Ortho- and Pyrophosphates.* American Mineralogist, 1973. **58**: p. 756-764.
- Glaum, R., M. Weil, and D. Özalp, Synthesis, Crystal Structure, and Properties of Copper(II) Ultraphosphate CuP₄O₁₁. Zeitschrift fur anorganische und allgemeine Chemie, 1996. 622: p. 1839-1846.
- 3. Stachel, D., H. Paulus, C. Guenter, and H. Fuess, *Crystal structure of magnesium ultraphosphate*, MgP_4O_{11} . Zeitschrift für Kristallographie, 1992. **199**: p. 275-276.
- 4. Laügt, M., J.C. Guitel, I. Tordjman, and G. Bassi, *La Structure Cristalline du Tétramétaphosphate de Cuivre, Cu*₂*P*₄*O*₁₂. Acta Crystallographica Section B, 1972. **28**: p. 201-208.
- 5. Nord, A.G. and K. Borje, *The Crystal Structure of Magnesium Tetrametaphosphate* $Mg_2P_4O_{12}$. Acta Chemica Scandinavia A, 1975. **29**(1): p. 1-6.
- 6. Moqine, A., A. Boukhari, and S. Flandrois, *The Solid Solution and Magnetic Properties of* (*Mg*,*Cu*)₃(*PO*₄)₂ *Phosphates.* Material Research Bulletin, 1987. **22**: p. 965-971.
- 7. Xiao, F.-S., J. Sun, X. Meng, R. Yu, H. Yuan, J. Xu, T. Song, D. Jiang, and R. Xu, Synthesis and Structure of Copper Hydroxyphosphate and Its High Catalytic Activity in Hydroxylation of Phenol by H_2O_2 . Journal of Catalysis, 2001. **199**(2): p. 273-281.
- 8. Cho, I.-S., D.W. Kim, S. Lee, C.H. Kwak, S.-T. Bae, J.H. Noh, S.H. Yoon, H.S. Jung, D.-W. Kim, and K.S. Hong, Synthesis of Cu_2PO_4OH Hierarchical Superstructures with Photocatalytic Activity in Visible Light. Advanced Functional Materials, 2008. **18**(15): p. 2154-2162.
- 9. Dizaj, S.M., F. Lotfipour, M. Barzegar-Jalali, M.H. Zarrintan, and K. Adibkia, *Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles.* Materials Science and Engineering C, 2014. **44**: p. 278-284.
- 10. Anthony, J.W., R.A. Bideaux, K.W. Bladh, and M.C. Nichols, *Handbook of Mineralogy. Volume IV: Arsenates, Phosphates, Vanadates.* Vol. 5. 2000, Chantilly: Mineralogical Society of America.
- Takagi, S.M., M.; Brown, W. E., *Crystal structures of Bobierrite and synthetic Mg*₃(*PO*₄)₂.8*H*₂O. American Mineralogist, 1986. **71**(9-10): p. 1229-1233.
- 12. Raade, G. and M.H. Mladeck, *Holtedahlite, a new magnesium phosphate from Modum, Norway.* Lithos, 1979. **12**(4): p. 283-287.
- 13. Raade, G. and M. Tysseland, *Althausite, a new mineral from Modum, Norway.* Lithos, 1975. **8**(3): p. 215-219.
- 14. Raade, G., *Althausite, a new mineral from Modum, Norway: Addendum.* Lithos, 1979. **12**: p. 288.
- 15. Rømming, C. and G. Raade, *The crystal structure of Althausite*, $Mg_4(PO_4)_2(OH,O)(F, \Box)$. American Mineralogist, 1980. **65**(5-6): p. 488-498.
- 16. Morrison, S.M., R.T. Downs, and H. Yang, *Redetermination of kovdorskite*, $Mg_2PO_4(OH) \cdot 3H_2O$. Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online, 2012. **68**(2): p. 12-13.
- Chopin, C., G. Ferraris, M. Prencipe, F. Brunet, and O. Medenbach, *Raadeite*, *Mg*₇(*PO*₄)₂(*OH*)₈: a new dense-packed phosphate from Modum (Norway). European Journal of Mineralogy, 2001. **13**(2): p. 319-327.
- Baies, R., V. Caignaert, V. Pralong, and B. Raveau, *Copper hydroxydiphosphate with a one-dimensional arrangement of copper polyhedra: Cu*₃[P₂O₆OH]₂. Inorganic Chemistry, 2005. 44(7): p. 2376-2380.
- 19. Yamashita, A., A. Kawahara, and N. Sasaki, *Synthetic Copper Monophosphate.* Acta Crystallographica Section C, 1995. **51**: p. 1483-1485.
- 20. Effenberger, H., *Cu*₃(*PO*₄)₂.*H*₂*O*: *Synthese und Kristallstruktur*. Journal of Solid State Chemistry, 1985. **57**(2): p. 240-247.

- 21. Kongshaug, K.O., H. Fjellvåg, and K.P. Lillerud, *The synthesis and crystal structure of a hydrated magnesium phosphate* $Mg_3(PO_4)_2.4H_2O$. Solid State Sciences, 2001. **3**(3): p. 353-359.
- 22. Catti, M., M. Franchini-Angela, and G. Ivaldi, *A case of polytypism in hydrated oxysalts: the crystal structure of Mg*₃(*PO*₄)₂.22*H*₂*O-II.* Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 1981. **155**(1-4): p. 53-64.
- Schroeder, L.W., M. Mathew, and W.E. Brown, XO₄ⁿ⁻ ion hydration. The crystal structure of magnesium phosphate docosahydrate. The Journal of Physical Chemistry, 1978. 82(21): p. 2335-2340.
- 24. Kongshaug, K.O., H. Fjellvåg, and K.P. Lillerud, *Synthesis and crystal structure of the hydrated magnesium diphosphate Mg*₂*P*₂*O*₇*.*3*.*5*H*₂*O and its high temperature variant Mg*₂*P*₂*O*₇*.H*₂*O.* Solid State Sciences, 2000. **2**(2): p. 205-214.
- 25. Souhassou, M., C. Lecomte, and R.H. Blessing, *Crystal chemistry of Mg*₂*P*₂*O*₇.*nH*₂*O*, *n*= 0, 2 and 6: magnesium-oxygen coordination and pyrophosphate ligation and conformation. Acta Crystallographica Section B: Structural Science, 1992. **48**(4): p. 370-376.
- 26. Raade, G. and C. Rømming, *The crystal structure of* ε -Mg₂PO₄OH, a synthetic hightemperature polymorph. Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 1986. **177**(1-4): p. 1-14.
- 27. Raade, G. and C. Rømming, *The crystal structure of β-Mg₂PO₄OH, a synthetic hydroxyl analogue of wagnerite.* Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 1986. **177**(1-4): p. 15-26.
- 28. Cordsen, A., *A Crystal-Structure Refinement of Libethenite.* Canadian Mineralogist, 1978. **16**: p. 153-157.
- 29. Rodriguez Carvajal, J., *Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction.* Physica B, 1993. **192**(1-2): p. 55-69.
- 30. Martens, W.N. and R.L. Frost, *An infrared spectroscopic study of the basic copper phosphate minerals: Cornetite, Libethenite, and Pseudomalachite.* American Mineralogist, 2003. **88**: p. 37-46.
- 31. Nakamoto, K., *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. 6th ed.* 2009, Hoboken, New Jersey: John Wiley & Soncs. 419.
- 32. Brunel-Laügt, M., A. Durif, and J.C. Guitel, *Structure Cristalline de Cu*₄(*PO*₄)₂*O.* Journal of Solid State Chemistry, 1978. **25**: p. 39-47.
- 33. Zema, M., S.C. Tarantino, and A.M. Callegari, *Thermal behaviour of libethenite from room temperature up to dehydration*. Mineralogical Magazine, 2010. **74**(3): p. 553-565.
- 34. Roumila, Y., K. Abdmeziem, G. Rekhila, and M. Trari, *Semiconducting properties of hydrothermally synthesized libethenite application to orange G photodegradation*. Materials Science in Semiconductor Processing, 2016. **41**: p. 470-479.
- 35. Shannon, R.D., *Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides.* Acta Crystallographica Section A, 1976. **32**(5): p. 751-767.
- 36. Bih, H., I. Saadoune, L. Bih, M. Mansori, H. ToufiK, H. Fuess, and H. Ehrenberg, Synthesis, Rietveld refinements, Infrared and Raman spectroscopy studies of the sodium diphosphate $NaCr_yFe_{1-y}P_2O_7$ ($0 \le y \le 1$). Journal of Molecular Structure, 2016. **1103**: p. 103-109.
- 37. Steger, E. and B. Käßner, *Die infrarotspektren von wasserfreien schwermetall-diphosphaten*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy, 1968. **24**(5): p. 447-456.
- 38. Baran, E.J., I.L. Botto, and A.G. Nord, *The vibrational spectrum and the conformation of the* $P_2O_7^{4-}$ anion in Fe₂P₂O₇. Journal of Molecular Structure, 1986. **143**: p. 151-154.
- 39. Santha, N., V.U. Nayar, and G. Keresztury, *Vibrational spectra of* $M^{"}Pb(P_2O_7)_2$ ($M^{"} = Ni$, *Co*). Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy, 1993. **49**(1): p. 47-52.
- 40. Nyquist, R.A., C.L. Putzig, and M.A. Leugers, Handbook of infrared and raman spectra of inorganic compounds and organic salts: infrared spectra of inorganic compounds. Volume 1: Infrared and Raman Spectral Atlas of Inorganic Compounds and Organic Salts: Text and Explainations. Vol. 1. 1997, London: Academic Press Inc.

- 41. Robertson, B.E. and C. Calvo, *The Crystal Structure and Phase Transformation of* α -Cu₂P₂O₇. Acta Crystallographica, 1967. **22**: p. 665-672.
- 42. Robertson, B.E. and C. Calvo, *Crystal structure of* β -*Cu*₂*P*₂*O*₇. Canadian Journal of Chemistry, 1968. **46**: p. 605-612.
- 43. Calvo, C., *Refinement Of the Crystal Structure of* β – $Mg_2P_2O_7$. Canadian Journal of Chemistry, 1965. **43**: p. 1139-1146.
- 44. Calvo, C., *The Crystal Structure of* α -*Mg*₂*P*₂*O*₇. Canadian Journal of Chemistry, 1965. **43**: p. 289-295.
- 45. Boukhari, A., A. Moqine, and S. Flandrois, *Synthesis and characterization of new copper (II)* mixed diphosphates $(M,Cu)_2P_2O_7$ with M = Mg, Ca, Sr, and Ba. Journal of Solid State Chemistry, 1990. **87**(2): p. 251-256.
- 46. Cornilsen, B.C. and R.A. Condrate, *The vibrational spectra of magnesium pyrophosphate polymorphs*. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 1977. **38**(12): p. 1327-1332.
- 47. Baitahe, R., N. Vittayakorn, and S. Maensiri, *Correlation between the chromaticity, dielectric properties and structure of the binary metal pyrophosphates,* Cu_{2-x}Zn_xP₂O₇. RSC Advances, 2015. **5**(108): p. 88890-88899.
- 48. Nord, A.G. and P. Kierkegaard, *The Crystal Structure of Mg*₃(PO_4)₂. Acta Chemica Scandinavia, 1968. **22**: p. 1466-1474.
- 49. Shoemaker, G.L., J.B. Anderson, and E. Kostiner, *Copper(II) Phosphate*. Acta Crystallographica Section B, 1977. **33**: p. 2969-2972.
- 50. Moqine, A., A. Boukhari, and E.M. Holt, *Cation Distribution in the* $(Mg_{1-x}Cu_x)_3(PO_4)_2$ Solid Solution, x = 0.46 and x = 0.79. Journal of Solid State Chemistry, 1994. **108**: p. 193-197.
- 51. Brunel-Laügt, M. and J.C. Guitel, *Structure Cristalline de Cu*₅ $O_2(PO_4)_2$. Acta Crystallographica Section B, 1977. **33**: p. 3465-3468.
- 52. Anderson, J.B., G.L. Shoemaker, and E. Kostiner, *The crystal structure of* $Cu_4(PO_4)_2O$. Journal of Solid State Chemistry, 1978. **25**(1): p. 49-57.
- 53. Ning, C., X. Wang, L. Li, Y. Zhu, M. Li, P. Yu, L. Zhou, Z. Zhou, J. Chen, G. Tan, Y. Zhang, Y. Wang, and C. Mao, *Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism.* Chemical Research in Toxicology, 2015. **28**(9): p. 1815-1822.
- 54. Foster, J.W., *Escherichia coli acid resistance: tales of an amateur acidophile.* Nature Reviews Microbiology, 2004. **2**(11): p. 898-907.
- 55. Gorden, J. and P. Small, *Acid resistance in enteric bacteria*. Infection and immunity, 1993. **61**(1): p. 364-367.
- 56. Lin, J., M.P. Smith, K.C. Chapin, H.S. Baik, G.N. Bennett, and J.W. Foster, *Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology, 1996. **62**(9): p. 3094-3100.
- 57. Conner, D.E. and J.S. Kotrola, *Growth and survival of Escherichia coli O157: H7 under acidic conditions*. Applied Environmental Microbiology, 1995. **61**(1): p. 382-385.
- 58. Oulkheir, S., K. Ounine, N.E. Elhaloui, and B. Attarassi, *Survie d'Escherichia coli dans des conditions acides*. Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux, 2006. **145**(1): p. 41-52.
- 59. Bamberger, C.E. and E.D. Specht, *Orthophosphates and diphosphates containing zinc and copper and zinc and cobalt.* Journal of the American Ceramic Society, 1998. **81**(1): p. 252-256.

Chapitre V - Etude de composés plus stables : les phosphates

Chapitre VI - Les Fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?

1. Les fluorures MF ₂ (M = Mg, Cu, Zn)	303
1.1. Structures cristallines des fluorures MgF ₂ , CuF ₂ , et ZnF ₂	
1.2. La nouvelle solution solide $Mg_{1-x}Cu_xF_2$	305
1.2.1. Synthèse et caractérisation structurale	305
1.2.2. Caractérisations de l'ordre local par RMN-MAS du solide	308
1.2.3. Morphologie des particules	312
1.3. La nouvelle solution solide Mg _{1-x} Zn _x F ₂	316
1.3.1. Synthèse et caractérisation structurale	316
1.3.2. Caractérisations de l'ordre local par RMN-MAS du solide	319
1.3.3. Morphologie des particules	321
2. Les hydroxyfluorures M(OH)F (M = Mg, Cu, Zn), produits d'hydrolyse des fluorures	323
2.1. Structures cristallines des hydroxyfluorures Mg(OH)F, Zn(OH)F et Cu(OH)F	323
2.2. Synthèse de l'hydroxyfluorure de magnésium Mg(OH)F	325
2.3. L'hydroxyfluorure de cuivre Cu(OH)F	326
2.3.1. Synthèse	326
2.3.2. Identification et caractérisation de l'hydroxyfluorure obtenu	326
2.4 L'hydroxyfluorure de zinc Zn(OH)F	330
2.4.1. Synthèse	330
2.4.2. Détermination du taux d'hydroxylation du composé $Zn(OH)_{1+x}F_{1-x}$	330
2.4.3. Caractérisation structurale de l'hydroxyfluorure obtenu	332
2.5. Essais de substitutions : Cu _{1-x} Zn _x (OH)F et Zn _{1-x} Cu _x (OH)F	
3. Les fluorophosphates M_2PO_4F (M = Mg, Cu, Zn)	340
3.1. Structures cristallines de Mg ₂ PO ₄ F, Cu ₂ PO ₄ F et Zn ₂ PO ₄ F	340
3.2. Synthèse	341
3.3. Caractérisations structurales et morphologiques des particules	342
3.4. Substitution du cuivre par le magnésium et le zinc : Cu _{2-x} (Mg,Zn) _x PO ₄ F	348
4. Stabilité des fluorures et des fluorophosphates vis-à-vis de l'hydrolyse	351
4.1. Stabilité des fluorures Mg _{1-x} Cu _x F ₂ et Mg _{1-x} Zn _x F ₂	351
4.2. Stabilité des fluorophosphates Cu_2PO_4F -nano et Zn_2PO_4F -nano	353
5. Evaluation de l'activité bactéricide des composés vis-à-vis d'E. coli	355
5.1. Activité bactéricide des fluorures Mg _{1-x} (Cu,Zn) _x F ₂	355
5.2. Activité bactéricide des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F	
5.3. Activité bactéricide des fluorophosphates	362
6. Conclusion	
Références du chapitre VI	

1. Les fluorures MF₂ (M = Mg, Cu, Zn)

De par l'activité antibactérienne de l'ion fluorure F⁻ démontrée notamment vis-à-vis des bactéries cariogènes, les composés inorganiques à base de fluor peuvent présenter un intérêt particulier dans la recherche de nouveaux composés antibactériens utilisables dans la lutte contre les infections nosocomiales. On a vu dans l'étude bibliographique que MgF₂ présentait une activité bactériostatique ^(1, 2) et fongicide ⁽³⁾. Mais du fait de son protocole d'élaboration, il n'est pas exclu qu'une substitution isoélectrique OH⁻/F⁻ existe, qui pourrait conditionner son caractère antimicrobien. Comme on l'a vu dans le chapitre III, la substitution du magnésium par le cuivre dans la structure de Mg(OH)₂ et MgO permettait d'exacerber l'activité bactéricide du composé parent. Il est alors attendu que cette même substitution puisse conférer une activité bactéricide au fluorure MgF₂. Au-delà du gain potentiel qu'apporterait la substitution cationique sur l'activité de MgF₂, aucune solution solide de type Mg_{1-x}Cu_xF₂ ou Mg_{1-x}Zn_xF₂ n'est répertoriée dans la littérature.

1.1. Structures cristallines des fluorures MgF₂, CuF₂, et ZnF₂

Les fluorures de magnésium et de zinc cristallisent dans le groupe d'espace quadratique $P4_2/mnm$ (n°136) ^(4, 5). Ils présentent la même structure que la variété rutile de TiO₂. Le fluorure de magnésium est aussi appelé Sellaite, du nom du minéral dont il est issu. Les cations métalliques Mg²⁺ ou Zn²⁺ occupent les sites 2a de coordonnées réduites (0,0,0) et les anions F⁻ les sites 4f de coordonnées réduites (x,x,0). Les positions atomiques, les distances M-F et les angles F-M-F sont rassemblées dans le tableau 1. Les ions métalliques sont en coordinence [6] formant des octaèdres [MF₆]⁴⁻ avec un rapport entre les distances axiales et équatoriales proche de 1. Les octaèdres [MF₆]⁴⁻ sont connectés entre eux par arêtes F-F, formant ainsi des chaînes se propageant selon l'axe c. Chaque chaîne d'octaèdres partage des sommets F avec 4 autres chaînes voisines orientées à 90° par rapport à celleci. Ces chaînes d'octaèdres dessinent en projection suivant l'axe c un échiquier déformé (figure 1).

La structure cristalline de $CuF_2^{(6)}$ est également de type rutile comme celles des deux autres fluorures MgF₂ et ZnF₂ décrits précédemment, mais sa symétrie est monoclinique (groupe d'espace $P2_1/n$ (n°14), Z = 2). Les ions Cu²⁺ occupent les sites 2a de coordonnées réduites (0,0,0) et les ions F⁻ les sites 4e de coordonnées réduites (x,y,y). L'effet Jahn-Teller de l'ion Cu²⁺ allonge fortement son octaèdre de coordinence suivant l'axe 4 (rapport entre les distances axiales et équatoriales > 1, tableau 1). Cette déformation [4+2] des octaèdres [CuF₆]⁴⁻ n'altère en rien leurs connexions par arêtes et sommets, caractéristiques de la structure rutile (figure 2). Dans la structure monoclinique de CuF₂, les chaînes d'octaèdres se propagent suivant l'axe a et se connectent entre elles par sommets dans le plan (b,c).

		Groupe d'espa		ce	a (Å) b (Å)		(Å)	c (Å)		β (°)		
	Mg	F ₂ ⁽⁴⁾	P4 ₂ /mnm	4	4,6213(1)	4,62	13(1)	3,051	L9(1)	90	0	
	Znl	F ₂ ⁽⁵⁾	P4₂/mnm		4,704(2)	4,70	04(2)	3,133	86(7)	90	0	
	Cul	F ₂ ⁽⁶⁾	P2₁/n		3,307(2)	4,54	46(3)	4,59	9(3)	96,5	7(3)	
	d(M-F _{ax})	(Å) d	(M-F _{éq}) (Å)	d(M-	F _{ax}) / d(M-	·F _{éq})	ω (°)	δ (°)	φ (°)	ε (°)
MgF ₂ ⁽⁴⁾	1,9798((3)	1,9968(2)		0,9915(2)		99,66	9(9)	80,331	L(9)	90	90
ZnF ₂ ⁽⁵⁾	2,0189((5)	2,0405(4)		0,9894(3)		100,32(1) 79,68		(1)	90	90	
CuF ₂ ⁽⁶⁾	2,3045((2)	1,949(3) 1,182(2)			102,38(8) 77,6		77,62	(8)	90,80(8)	89,20(8)	
			Atome	Site x		У		2	2	-		
	MaE) Mg	2a	0		C)	()		
		IVIGI 2	F	4f	0,3029	3(6)	0,302	93(6)	()		
		7nE- ⁽⁵⁾	Zn	2a	0		C)	()		
	2111 2		F	4f	0,3035	0(9)	0,303	50(9)	()		
		Cu.E. ⁽⁶⁾) Cu	2e	0		C)	()		
		Cur ₂	F	4e	0,0401	1(6)	0,298	30(4)	0,294	17(5)		

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des paramètres de maille, des distances M-F, des angles F-M-F et des positions atomiques pour les trois fluorures MgF₂, ZnF₂ et CuF₂. D'après⁽⁴⁻⁶⁾



Figure 1 : Octaèdre de coordinence $[MgF_6]^{4^-}$ situé au centre de la maille dans la structure de MgF_2 Sellaite. Définition des atomes de fluor axiaux et équatoriaux et des angles F-M-F (ω , δ , ϕ et ε). Vue en perspective et projection selon l'axe c de la structure

Figure 2 : Octaèdre de coordinence $[CuF_6]^4$ situé au centre de la maille dans la structure de CuF_2 . Définition des atomes de fluor axiaux et équatoriaux et des angles F-M-F (ω , δ , ϕ et ϵ). Vue en perspective et projection selon l'axe a de la structure

Malgré la proximité entre les structures MgF_2 et CuF_2 , et tout particulièrement entre MgF_2 et ZnF_2 , aucune solution solide de type $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ ou $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ n'a été répertoriée dans la littérature à ce jour. Des tentatives de substitution des ions magnésium par les ions cuivrique ou zinc ont donc été effectuées.

1.2. La nouvelle solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂

1.2.1. Synthèse et caractérisation structurale

Les composés de formulation Mg_{1-x}Cu_xF₂ ont été préparés par mécanosynthèse à sec à partir des fluorures commerciaux MgF₂ et CuF₂. Quelle que soit la composition préparée, une masse d'un gramme de produit fini est visée. Les réactifs pulvérulents sont préalablement dégazés sous vide secondaire à 150°C puis pesés en boîte à gants dans des proportions stœchiométriques. Pour une composition donnée, les 2 réactifs sont introduits un par un dans une jarre en zircone (ZrO₂) comportant 10 billes. La jarre est ensuite hermétiquement fermée. Toutes ces opérations sont entièrement effectuées en boîte à gants sous atmosphère d'argon. Le broyeur planétaire utilisé étant équipé de deux jarres, deux mécanosynthèses peuvent être réalisées en parallèle (figure 3). La mécanosynthèse comporte 24 cycles de 15 minutes de broyage à 400 tours par minute entrecoupés de 15 minutes de pause (soit 6h de broyage effectif au total). Le contenu des jarres est ouvert puis stocké en boîte à gants si aucune caractérisation n'est planifiée.



Figure 3 : Elaboration des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ par mécanosynthèse

La figure 4 suivante présente la superposition des diagrammes de rayons X des composés de formulation $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ collectés à température ambiante puis normalisés et corrigés du décalage de zéro. Tous ces composés présentent la structure de type MgF_2 Sellaite ⁽⁴⁾. L'effet de la substitution des ions magnésium par les ions cuivrique se manifeste par un décalage des pics de diffraction de type (00*l*) vers les faibles angles 2 θ alors que la position des pics de diffraction de type (*hk*0) reste quasiment inchangée (figure 4).



Figure 4 : Diffractogrammes de rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂

Afin de déterminer l'incidence de cette substitution sur la structure cristalline de MgF₂, les diffractogrammes ont été ensuite affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ sur la plage en 20 comprise entre 20° et 110° (28 réflexions considérées). Le modèle structural de départ utilisé est celui du fluorure de magnésium décrit dans la littérature et dont les données cristallographiques ont été rassemblées dans le tableau 1 ⁽⁴⁾. Le résultat de l'affinement du diffractogramme du composé Mg_{0,9}Cu_{0,1}F₂, représentatif de la série, est présenté à la figure 5 à titre d'exemple.



Figure 5 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du fluorure Mg_{0.9}Cu_{0.1}F₂

La figure 6 suivante montre l'évolution des paramètres de maille a et c avec le taux de substitution x en cuivre déduite des affinements. Comme attendu suite aux observations des positions des pics (002) et (220), le paramètre de maille c augmente linéairement avec le taux de substitution x suivant ainsi une loi de Vegard classique ⁽⁸⁾. En revanche, le paramètre a varie très peu. Si la variation du paramètre c est conforme avec le fait qu'en coordinence [6], le rayon ionique de l'ion cuivrique (0,73 Å) est légèrement supérieur à celui de l'ion magnésium (0,72 Å) ⁽⁹⁾, pourquoi le paramètre a n'évolue-il pratiquement pas ?



Figure 6 : Evolution des paramètres de maille a et c et du volume de maille avec le taux de substitution x en cuivre dans les fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂

Les évolutions des distances métal-fluor (M-F avec M = Mg, Cu) et des angles F-M-F avec le taux de substitution x sont présentées sur la figure 7. Dans le plan équatorial de l'octaèdre [MF₆]⁴⁻, les ions fluorures s'éloignent du cation métallique M²⁺ lorsque la teneur en cuivre x augmente. A cette élongation des distances équatoriales M-F, s'ajoute une ouverture de l'angle ω et à l'inverse une fermeture de l'angle δ dans le plan équatorial. Les longueurs moyennes des liaisons M-F axiales diminuent très légèrement avec le taux de substitution x. Les angles Fax-M-Féq notés ϵ et ϕ restent constants et mesurent 90° comme dans la structure du composé parent MgF₂. L'ion Cu²⁺ est connu pour présenter un effet Jahn-Teller qui déforme son octaèdre de coordinence soit en le comprimant suivant l'axe 4 (rapport entre les distances axiales et équatoriales < 1 = déformation [2+4]) soit en l'étirant suivant l'axe 4 (rapport entre les distances axiales et équatoriales > 1 = déformation [4+2]). L'introduction d'ions cuivrigues dans le réseau d'octaèdres [MF₆]⁴⁻ de MgF₂ induit une déformation [2+4] de ces derniers qui est contraire à celle observée dans CuF₂. Cette déformation augmente avec le taux de substitution x dans la série $Mg_{1-x}Cu_xF_2$. L'augmentation du paramètre de maille c résulte donc à la fois de l'élongation des distances équatoriales M-F et de l'ouverture de l'angle ω . La fermeture de l'angle δ et la légère compression de l'octaèdre suivant l'axe 4 devraient avoir comme effet de diminuer le paramètre a avec la teneur en cuivre x. Mais cette diminution est en partie compensée par l'élongation des distances équatoriales M-F et l'ouverture de l'angle ω , de sorte que la variation du paramètre a est très faible avec x.



Figure 7 : Evolutions des distances M-F, du rapport M-F_{ax} / M-F_{éq} et des angles F_{éq}-M-F_{éq} dans la solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂

1.2.2. Caractérisations de l'ordre local par RMN-MAS du solide

Dans la structure du composé parent MgF₂, chaque ion fluorure est entouré par 3 cations magnésium formant ainsi un triangle de coordinence distordu [FMg₃]. La substitution des ions magnésium par les ions cuivriques induit nécessairement des changements dans cet environnement triangulaire des ions fluorure que nous avons étudiés par spectroscopie RMN-MAS de ¹⁹F. La substitution OH⁻/F⁻ pouvant avoir un impact sur l'activité bactéricide des composés, une caractérisation par RMN-MAS de ¹H a également été réalisée. Les rotors ont été remplis en boîte à gants avec un échantillon au préalable dégazé sous vide secondaire à 150°C.

Cette étude a débuté par l'enregistrement des spectres RMN-MAS ¹⁹F de MgF₂ et CuF₂ (figures 8 et 9). Comme il a été vu précédemment en introduction de ce chapitre, les atomes de fluor occupent dans la structure de ces deux composés un seul site cristallographique. Une seule raie est donc attendue sur les spectres RMN-MAS ¹⁹F de MgF₂ et CuF₂. C'est le cas pour MgF₂, une raie de déplacement chimique isotrope δ_{iso} de -197,7 ppm est observée, en accord avec les études antérieures sur ce composé (-197,3 ppm) ⁽¹⁰⁾. Un spectre RMN-MAS ¹⁹F a également été enregistré pour un échantillon de MgF₂ commercial mécanobroyé puis comparé à celui du même composé non mécanobroyé. Aucune différence n'a été notée entre ces deux spectres. Etant donné le caractère paramagnétique des ions Cu²⁺ (configuration 3d⁹), le spectre RMN-MAS ¹⁹F de CuF₂ était réputé très difficile à enregistrer ⁽¹¹⁾. Le spectre RMN-MAS ¹⁹F de CuF₂ a pu être acquis et est donc présenté pour la première fois. Il est constitué d'un massif très large centré à -122 ppm qui ne peut être reconstruit de manière satisfaisante qu'avec quatre raies. Le spectre RMN-MAS ¹H de CuF₂ est constitué d'un massif très large, de -60 à 80 ppm, au-delà de la gamme usuelle des déplacements chimiques du noyau ¹H (0-10 ppm). Ces raies larges sont dues à l'interaction entre les électrons célibataires des ions Cu²⁺ et les noyaux (¹H et ¹⁹F). Ce phénomène a déjà été observé pour des fluorures de terres rares dans la littérature (12-14).



Figure 8 : Spectre RMN-MAS ¹⁹F de MgF₂ enregistré à 64kHz en mode «one pulse». Les astérisques correspondent aux bandes de rotation



Figure 9 : Spectres RMN-MAS ¹⁹F et ¹H de CuF₂ enregistrés à 64kHz en mode «one pulse». Les astérisques correspondent aux bandes de rotation. Contributions utilisées pour la reconstruction du spectre de ¹⁹F (en rouge)

Suite à la substitution, l'environnement cationique autour des ions fluorure dans la structure est modifié. Quatre environnements différents peuvent exister dans la structure des composés de la solution solide $Mg_{1-x}Cu_xF_2$: un correspondant aux atomes de fluor entourés par 3 atomes de magnésium [FMg₃], un correspondant aux atomes de fluor entourés par 2 atomes de magnésium et un de cuivre [FMg₂Cu], un correspondant aux atomes de fluor entourés par un atome de magnésium et 2 atomes de cuivre [FMgCu₂], et enfin le cas où des atomes de fluor entourés par 3 atomes de cuivre [FCu₃]. Ainsi, en supposant une répartition statistique de x ions Cu^{2+} et (1-x) ions Mg^{2+} , la probabilité P(m,x) qu'un ion fluorure soit entouré par m premiers voisins Cu^{2+} est donnée par la fonction binomiale de distribution :

$$P(m,x) = x^m \times (1-x)^{3-m} \times \frac{3!}{m!(3-m)!} (m = 3, 2, 1 \text{ ou } 0)$$

Les proportions relatives de chaque environnement calculées, selon cette hypothèse, pour les quatre taux de substitution x étudiés sont rassemblées dans le tableau 2 suivant. Quatre raies sont donc attendues, d'intensités relatives égales aux proportions calculées. Leurs déplacements chimiques sont supposés croître avec le nombre d'atomes de cuivre dans l'environnement du fluor et être compris entre ceux du fluor dans MgF₂ (δ_{iso} = -197,7 ppm) et CuF₂ (δ_{iso} ≈ -122 ppm) qui correspondent respectivement aux environnements [FMg₃] et [FCu₃].
	F-Mg₃	F-Mg₂Cu	F-MgCu₂	F-Cu₃
x = 0	100	0	0	0
x = 0,05	85,7	13,5	0,7	0
x = 0,10	72,9	24,3	2,7	0,1
x = 0,15	61,4	32,5	5,7	0,3
x = 0,20	51,2	38,4	9,6	0,8

 Tableau 2 : Proportions relatives (en %) de chaque environnement cationique autour des ions fluorure en fonction du taux de substitution x

La figure 10 présente les spectres RMN-MAS de ¹⁹F des quatre compositions d'étude. Aucun signal lié à la présence de CuF₂ n'est détecté, ce qui confirme que la substitution des ions magnésium par les ions cuivriques est effective. Les spectres RMN-MAS de ¹⁹F des composés x = 0,1, 0,15 et 0,2 ont pu être reconstruits de manière satisfaisante avec trois contributions puisque la proportion des environnements [FCu₃] est négligeable pour ces valeurs de x. Une attribution des différentes raies est proposée (figure 10). La raie très intense centrée autour de -197,5 ppm (en moyenne) est attribuée à l'environnement [FMg₃], tandis que les deux épaulements vers -186 ppm et -98 ppm (en moyenne) correspondraient aux environnements [FMg₂Cu] et [FMgCu₂], respectivement. La différence de déplacement chimique δ_{iso} de près de 90 ppm entre l'environnement [FMg₂Cu] et [FMgCu₂] est surprenante, tout comme la valeur de δ_{iso} de [FMgCu₂], plus grande que celle de l'environnement [FCu₃] dans le composé parent CuF₂ (≈-122 ppm). Néanmoins, l'environnement du fluor est sensiblement plus distordu dans le fluorure CuF_2 (tableau 1) que dans MgF₂ et les fluorures mixtes de la solution solide $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ (Figure 7). D'après le tableau 1, un des trois atomes de cuivre dans l'environnement du fluor [FCu₃] dans CuF₂ est plus éloigné que les deux autres (dû à l'effet Jahn-Teller). Le fluor a donc une interaction plus faible avec cet atome de cuivre éloigné qu'avec les deux autres plus proches, ce qui peut expliquer la valeur de déplacement chimique moins élevée ($\delta_{iso} \approx -122$ ppm) de l'environnement [FCu₃] dans CuF₂.

Pour la composition x = 0,05, deux raies ont été utilisées pour reconstruire de manière satisfaisante la contribution principale correspondant à l'environnement [FMg₃] du spectre RMN. De plus, la valeur du déplacement chimique de la raie attribuée à l'environnement [FMg₂Cu] dans le composé x = 0,05 a été imposée identique à celle trouvée pour cet environnement dans le composé x = 0,10 (-187,0 ppm). Un accord globalement satisfaisant, un peu moins pour x = 0,20, est obtenu entre les intensités calculées à partir de la reconstruction et celles prédites en considérant une répartition des environnements purement statistique (tableau 2). Ce constat indique que la répartition des ions Cu²⁺ semble homogène dans les fluorures mixtes de la solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂. Les écarts entre intensités relatives et proportions calculées pourraient avoir comme origine soit l'incertitude sur les intensités relatives des deux contributions principales [FMg₃] et [FMg₂Cu] qui se recouvrent ou soit le caractère non parfaitement quantitatif des spectres RMN ¹⁹F pour les plus fortes teneurs en ions Cu²⁺ paramagnétiques.



Figure 10 : (a-d) Spectres RMN-MAS ¹⁹F enregistrés à 64kHz en mode «one pulse» des compositions de la solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂. Les astérisques correspondent aux bandes de rotation. Contributions utilisées pour la reconstruction du spectre de ¹⁹F (en rouge) avec leurs caractéristiques et attributions rassemblées dans le tableau

Au bilan, la valeur de δ_{iso} de l'environnement [FMg₃] n'est pas (ou peu) impacté par la substitution, et celle de l'environnement [FMgCu₂] augmente presque linéairement avec le teneur en cuivre x, passant de -102,9 ppm pour Mg_{0,95}Cu_{0,05}F₂ à -92,9 ppm pour Mg_{0,80}Cu_{0,20}F₂. La valeur de δ_{iso} de l'environnement [FMg₂Cu] augmente elle aussi avec x mais de manière erratique. Ceci est lié notamment au recouvrement des signaux attribués aux environnements [FMg₃] et [FMg₂Cu] (Figure 10). Le spectre RMN-MAS ¹H présenté en figure 11 confirme une faible hydroxylation des échantillons, avec des spectres d'allures très similaires à celle du spectre RMN-MAS ¹H de CuF₂. Le taux d'hydroxylation n'a pas pu être quantifié par RMN-MAS.



Figure 11 : Superposition des spectres RMN-MAS¹H enregistrés à 64kHz de quelques compositions de la solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂ et de CuF₂

1.2.3. Morphologie des particules

La taille des particules ainsi que leur degré d'agglomération étant susceptible d'avoir une incidence sur leur activité bactéricide, une étude morphologique a été réalisée par diffraction des rayons X, microscopie électronique en transmission et adsorption de diazote.

Le mécanobroyage est connu pour produire de sévères déformations plastiques des grains à mesure que leur taille se réduit. Les densités de défauts (joints entre domaines, dislocations et défauts ponctuels) générés par cette action mécanique sont extrêmement élevées (15, 16). Ces microdéformations induisent des variations locales Δd_{hkl} des distances réticulaires d_{hkl} que l'on peut exprimer en pourcentage $\varepsilon = \Delta d_{hkl}/d_{hkl} \times 100$. D'après la littérature, ces variations de distances réticulaires d_{hkl} peuvent atteindre 0,6-0,7% après plusieurs dizaines d'heures de broyage ⁽¹⁵⁾. Ces micro-contraintes, comme la faible taille des domaines de diffraction cohérente contribuent à l'élargissement notable des pics du diffractogramme. La taille des domaines de diffraction cohérente et les micro-contraintes ont donc été estimées à partir de la largeur intégrale des pics des diffractogrammes des fluorures $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ (voir chapitre II). Les affinements des diffractogrammes ont été réalisés par la méthode de Le Bail en utilisant la fonction instrumentale déterminée à partir du diffractogramme du composé de référence Na₂Ca₃Al₂F₁₄ (NAC) ⁽¹⁷⁾. La taille des domaines de diffraction cohérente est d'environ 7 nm, et est pratiquement identique pour toutes les compositions (tableau 3). Au bout de 12h de broyage, des variations de distances réticulaires d_{hkl} de l'ordre de 0,13% sont observées pour tous les fluorures mixtes alors qu'elles sont pratiquement trois fois plus faible pour le composé parent (0,05%). Ces valeurs sont comparables à celles déterminées par Zhao et coll. ⁽¹⁵⁾ sur des nanoparticules de fer métallique (≈30nm) obtenues après une douzaine d'heures de broyage. Dans les fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂, la très faible taille des domaines de diffraction cohérente induit un élargissement des pics de diffraction tel que ceux situés au-delà de 70° en 2 θ deviennent extrêmement diffus. Ce problème est à l'origine des valeurs très élevées (entre 2 et 3.5 Å²) des facteurs de Debye-Waller B_{iso} des cations et anions issus des affinements de Rietveld (Annexe 1). Dans la littérature, il est considéré que ce facteur de Debye-Waller B_{iso} possède deux contributions ⁽¹⁸⁾. La première contribution d'ordre statique (B_{iso}(S)) correspond aux déplacements quadratiques moyens de l'atome autour de sa position d'équilibre induits par la nanostructuration (coordinence des atomes incomplète en surface des particules, par exemple). La deuxième contribution d'ordre dynamique (B_{iso}(D)) est liée aux déplacements quadratiques moyens de l'atome autour de sa position d'équilibre induits par la nanostructuration (coordinence dynamique (B_{iso}(D)) est liée aux déplacements quadratiques moyens de l'atome autour de sa position d'équilibre sous l'effet de l'agitation thermique. Cette dernière contribution est par nature indépendante de la nanostructuration. Azzaza *et coll.* ⁽¹⁹⁾ ont ainsi montré que l'atome de fer au sein de particules de fer métallique d'une douzaine de nanomètres de diamètre obtenues par mécanobroyage possédaient un facteur de Debye-Waller B_{iso} pratiquement quatre fois plus élevé que celui de ce même atome au sein d'une plaque en fer ⁽²⁰⁾. Dans le cas de particules de taille micrométrique de composés ioniques, les valeurs de B_{iso} usuelles sont comprises entre 0,5 et 1,5 Å². Il est important de souligner que l'allure des diffractogrammes ne peut être reproduite en imposant de telles valeurs de B_{iso}. Les valeurs élevées des facteurs de Debye-Waller B_{iso} dans les fluorures mixtes Mg_{1-x}Cu_xF₂ sont donc le reflet d'une nanostructuration forte des particules.

Les clichés de microscopie électronique en transmission des échantillons $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ sont présentés sur la figure 12. Des amas de très petites particules sans forme particulière sont observés sur ces clichés. Le diamètre moyen de ces amas est d'une centaine de nanomètres. Pour la composition x = 0,20, un cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée (DEAS) de plusieurs amas a été pris (figure 12f). Les cinq anneaux de diffraction présents sur ce cliché ont des distances inter-réticulaires comparables à celles des 5 premières raies du diffractogramme de rayons X du composé $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$ (figure 4).



Figure 12 : Clichés de microscopie électronique en transmission des compositions de la solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂ (a-e). Cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée du fluorure Mg_{0.8}Cu_{0.2}F₂ (f)

Ces composés sont instables sous le faisceau électronique, surtout lorsque le grossissement est élevé. Quelques clichés de microscopie haute résolution d'un amas ont malgré pu être pris (figure 13). La transformée de Fourier de la zone délimitée par un carré noir sur le cliché de la composition x = 0,10 présenté en figure 13 présente plusieurs taches toutes situées à une distance réticulaire (d = 3,27 Å) correspondant au plan (110). Ces taches de diffraction sont le signe que plusieurs plans (110) ayant des orientations différentes diffractent le faisceau. Ceci est confirmé par la présence de plusieurs séries de franges de diffraction parallèles orientées différemment sur le grossissement de la zone délimitée par un carré noir. Chaque série de franges correspond à un domaine de diffraction cohérente dont la taille (5-10 nm) est en très bon accord avec celle (7 nm) déterminée par diffraction des rayons X. Par conséquent la taille des domaines de diffraction cohérente correspond à la taille des particules constituant ces amas.



Figure 13 : Cliché de microscopie électronique en transmission haute résolution de Mg_{0,9}Cu_{0,1}F₂. Les séries de franges en rouge correspondent aux réflexions (110), celles en vert correspondent aux plans (111) ou (210)

Le diamètre des amas peut être estimé par la mesure de la surface spécifique par adsorption de diazote (BET), en les assimilant à des sphères. Les résultats présentés dans le tableau 2 sur deux échantillons montrent une corrélation acceptable entre la taille des amas observée par microscopie et celle calculée par adsorption de diazote.

Mg _{1-x} Cu _x F ₂	Ø _{MET} (nm)	Ø _{BET} (nm)	Ø _{DRX} (nm)	ε (%)
x = 0		120	7,5	0,052
x = 0,05		-	7,0	0,139
x = 0,10	≈ 100	-	7,3	0,163
x = 0,15		-	6,9	0,126
x = 0,20		180	6,9	0,110

Tableau 3 : Estimation du diamètre des particules par MET et adsorption de diazote (BET), détermination de la taille des domaines de diffraction cohérente et des micro-contraintes ε par diffraction des rayons X des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂

1.3. La nouvelle solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂

Par analogie avec les oxydes bactéricides MgO, CuO et ZnO, une substitution partielle du magnésium par le zinc pourrait aussi conférer à MgF₂ une activité bactéricide. A la différence de CuF₂, ZnF₂ adopte la structure de type rutile de symétrie quadratique comme MgF₂, pouvant laisser penser qu'une solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂ non référencée dans la littérature existe dans tout le domaine de composition.

1.3.1. Synthèse et caractérisation structurale

Le protocole de synthèse, similaire à celui des fluorures mixtes Mg_{1-x}Cu_xF₂, utilise comme réactifs de départ les fluorures élémentaires commerciaux MgF₂ et ZnF₂ préalablement dégazés sous vide secondaire à 150°C. Le broyage s'opère dans les mêmes jarres en zircone selon le cycle broyage/pause décrit pour la synthèse des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂. Les échantillons sont stockés en boîte à gants.

La figure 14 suivante présente la superposition des diagrammes de rayons X des composés de formulation $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ collectés à température ambiante, puis normalisés et corrigés du décalage de zéro. Les paramètres de maille a et c de ZnF_2 sont très proches mais supérieurs à ceux de MgF_2 . Ceci est lié au fait qu'en coordinence [6], le rayon ionique de l'ion Zn^{2+} (0,74 Å) est supérieur à celui de l'ion magnésium (0,72 Å) ⁽⁹⁾. Le diagramme de ZnF_2 est donc légèrement décalé vers les bas angles 20 par rapport à celui de MgF_2 . Pour toutes les compositions $Mg_{1-x}Zn_xF_2$, les diagrammes sont d'allures similaires à celui du composé parent MgF_2 et se décalent vers les bas angles 20 avec l'augmentation de la teneur en zinc x comme attendu. A mesure que la teneur x augmente, les diagrammes des composés $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ se rapprochent ainsi de celui de ZnF_2 . Avec ce rapprochement, la largeur importante des pics de diffraction engendre des recouvrements, rendant difficile la détection de ZnF_2 lorsque le seuil de solubilité est dépassé. Néanmoins, un épaulement vers 34° est discernable à gauche du pic (101) (rendant le pic asymétrique) sur le diagramme du composé x = 0,20, compatible avec la présence en faible quantité d'un excès de ZnF_2 (figure 14).



Figure 14 : Diffractogrammes des rayons X (normalisés et corrigés du décalage de zéro) des fluorures Mg_{1-x}Zn_xF₂

Afin de déterminer l'incidence de cette substitution Mg/Zn sur la structure cristalline de MgF₂, les diffractogrammes ont été ensuite affinés par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ sur la plage en 20 comprise entre 20° et 110° (29 réflexions considérées). Le modèle structural de départ utilisé est celui du fluorure de magnésium décrit dans la littérature ⁽⁴⁾ et dont les données cristallographiques ont été rassemblées dans le tableau 1. Le résultat de l'affinement du diffractogramme du composé Mg_{0,9}Zn_{0,1}F₂ représentatif de la série, est présenté à la figure 15 à titre d'exemple.



Figure 15 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du fluorure Mg_{0.9}Zn_{0.1}F₂

La figure 16 suivante montre l'évolution des paramètres de maille a et c et du volume de maille. L'évolution des distances métal-fluor (M-F avec M = Mg, Zn) et des angles $F_{éq}$ -M- $F_{éq}$ avec le taux de substitution x en zinc est présentée sur la figure 17. Les deux paramètres de maille a et c augmentent linéairement jusqu'à une teneur en zinc de x = 0.15 comme attendu d'après les observations précédentes, suivant ainsi une loi de Vegard classique ⁽⁸⁾. Les deux compositions x = 0,15 et x = 0,2 ayant les mêmes valeurs de paramètres de maille, nous en déduisons que la solubilité du zinc dans MgF₂ est limitée à x = 0,15.



Figure 16 : Evolutions des paramètres de maille et du volume de maille au sein des solutions solides Mg_{1-x}M_xF₂ (M = Cu, Zn)

L'amplitude des variations des paramètres a et c est presque identique au sein de la série $Mg_{1-x}Zn_xF_2$, respectivement de 0,36 et 0,38% contrairement à celle observée dans Mg_{1-x}Cu_xF₂. Elle s'explique par le fait que l'ion Zn²⁺ n'induit pas d'effet Jahn-Teller et par conséquent, l'expansion de la maille des composés $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ est isotrope. Contrairement à ce qui est observé dans la solution solide $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ _xCu_xF₂, ce sont les distances M-F axiales qui augmentent avec le taux de substitution x, alors que les distances équatoriales n'évoluent pratiquement pas (figure 17). L'écart entre les distances équatoriales et axiales se réduit avec x, diminuant la distorsion de l'octaèdre de coordination (rapport d(M- F_{ax})/d(M- F_{ea}) qui augmente avec x) (figure 17). Malgré cette quasi invariance des distances équatoriales M-F, une ouverture de l'angle ω et à l'inverse une fermeture de l'angle δ dans le plan équatorial sont toutefois constatées avec le taux de substitution x (figure 17). Cette ouverture de l'angle ω devrait induire une augmentation forte du paramètre de maille c, mais cet effet est minimisé par la quasi invariance des distances équatoriales M-F au sein de la série Mg_{1-x}Zn_xF₂. L'expansion du paramètre de maille a due à l'élongation des distances axiales dans le plan (a,b) avec le taux de substitution x (figure 16) est, elle aussi, minimisée par l'effet combiné de la quasi invariance des distances équatoriales M-F et de la fermeture de l'angle δ . Les angles F_{ax} -M- F_{eq} notés ϵ et ϕ restent constants et mesurent 90° comme dans la structure du composé parent MgF₂.



Figure 17 : Evolutions des distances M-F, du rapport M- F_{ax} / M- F_{eq} et des angles F_{eq} -M- F_{eq} dans les solutions solides $Mg_{1-x}M_xF_2$ (M = Cu, Zn)

1.3.2. Caractérisations de l'ordre local par RMN-MAS du solide

L'environnement local autour du fluor dans la solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂ a été sondé par RMN-MAS ¹⁹F. Afin de pouvoir déceler les effets de la substitution du magnésium par le zinc sur les spectres RMN-MAS ¹⁹F des composés Mg_{1-x}Zn_xF₂, le fluorure commercial ZnF₂ a également été mécanobroyé et son spectre RMN-MAS enregistré. La figure 18 présente la superposition des spectres RMN-MAS ¹⁹F de ZnF₂ avant et après broyage. Une raie intense est observée vers -204 ppm sur les deux spectres, en accord avec des travaux précédents (-204,5 ppm) ⁽²¹⁾. Plusieurs pics sont aussi présents entre -200 et -185 ppm, surtout sur le spectre de ZnF₂ mécanobroyé. Ils peuvent être attribués à une substitution partielle des ions fluorure par des groupements OH⁻, comme plusieurs auteurs l'ont montré à l'aide de la RMN-MAS de ¹⁹F dans d'autres hydroxyfluorures MgF_{2-x}(OH)_x ⁽²²⁾ et AlF_{3-x}(OH)₃ ^(23, 24). Les épaulements étant plus marqués dans le composé mécanobroyé, le broyage apporterait donc une hydroxylation supplémentaire. En revanche, le spectre de MgF₂ mécanobroyé (figure 19) présente une seule raie symétrique démontrant sa stabilité vis-à-vis de l'hydroxylation.

Afin de confirmer l'hydroxylation de ZnF₂ mécanobroyé, un spectre RMN-MAS de ¹H a également été enregistré sur ce fluorure (figure 20). Sur ce spectre, les deux raies fines observées à faible déplacement chimique sont attribuées à des groupements OH⁻ libres (non liés par liaisons hydrogène) substituant les ions fluorure. Un massif large à un déplacement chimique plus élevé est aussi visible. Ces raies sont caractéristiques d'hydrogène liés par liaison hydrogène à des atomes d'oxygène ou de fluor. L'étanchéité des jarres n'est donc pas suffisante pour éviter toute entrée d'air humide pendant le broyage.



Figure 18 : Spectres RMN-MAS ¹⁹F enregistrés à 64kHz en mode «one pulse» de ZnF₂ non broyé et mécanobroyé



Figure 19 : Spectres RMN-MAS ¹⁹F enregistrés à 64kHz en mode «one pulse» de MgF₂ et ZnF₂ mécanobroyés

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?



Figure 20 : RMN-MAS¹H (non normés) enregistrés à 64kHz des échantillons de la solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂

Les spectres RMN-MAS ¹⁹F de la série Mg_{1-x}Zn_xF₂ sont superposés à la figure 21 ci-dessous. Aucune raie à -204 ppm liée à la présence de ZnF2 n'est détectée sur ces spectres, ce qui confirme que la substitution des ions magnésium par les ions zinc est bien effective jusqu'à x = 0,15. Ce résultat est consistant avec l'étude structurale précédente. La faible hydroxylation des composés Mg_{1-x}Zn_xF₂ n'induit pas l'apparition de pics à -190 et -195 ppm comme dans le cas du ZnF₂ mécanobroyé. Seule une asymétrie du pic à environ -197 ppm est constatée dans cette zone. Comme dans la série Mg₁-_xCu_xF₂, quatre environnements différents doivent exister dans la structure des composés de la solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂ : [FMg₃], [FMg₂Zn], [FMgZn₂], et [FZn₃]. Leurs déplacements chimiques sont supposés croître avec le nombre d'atomes de zinc dans l'environnement du fluor et être compris entre ceux du fluor dans MgF₂ (δ_{iso} = -197,7 ppm) et ZnF₂ ($\delta_{iso} \approx$ -204 ppm) qui correspondent respectivement aux environnements [FMg₃] et [FZn₃]. Seul un élargissement du pic à ≈-197 ppm est observé vers les faibles valeurs de déplacement chimique (figure 21). Ceci n'est pas surprenant compte tenu de la faible différence de déplacements chimiques (environ 7 ppm) entre les deux environnements extrêmes [FMg₃] et [FZn₃]. Les valeurs de déplacements chimiques δ_{iso} des différents environnements [FMg₂Zn] et [FMgZn₂] semblent plus élevée qu'attendu. Les deux raies de ces environnements ne produisent qu'un élargissement du pic vers les faibles déplacements chimiques. D'après l'analyse structurale précédente, les distances M-F équatoriales restent inchangées avec la teneur en zinc x dans la série Mg_{1-x}Zn_xF₂ (figure 17) alors qu'elles auraient dû augmenter compte tenu du fait que l'ion Zn²⁺ a une taille supérieure à celle de l'ion Mg²⁺. Les déplacements chimiques du fluor dans ces trois environnements sont donc plus élevés qu'attendus.

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?



Figure 21 : Spectres RMN-MAS ¹⁹F enregistrés à 64kHz en mode «one pulse» des échantillons de la solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂

1.3.3. Morphologie des particules

Une étude de la morphologie des particules a également été menée. La taille des domaines de diffraction cohérente déterminée par diffraction des rayons X est d'environ 7 nm dans les fluorures mixtes Mg_{1-x}Zn_xF₂ (tableau 4), comme pour leurs analogues au cuivre (tableau 3). Les variations de distances réticulaires d_{hkl} dans les fluorures mixtes à base de zinc sont comprises entre 0,05% et 0,1%.

Des clichés de microscopie électronique en transmission des échantillons $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ sont présentés sur la figure 22. Comme pour les fluorures mixtes $Mg_{1-x}Cu_xF_2$, des amas de très petites particules sans forme particulière sont observés. Ces amas présentent une forte distribution en termes de taille, entre 100 et 200 nm de diamètre. Pour la composition x = 0,15, un cliché de diffraction électronique en aire sélectionnée de plusieurs amas a été pris (figure 22d). Les cinq anneaux de diffraction présents sur ce cliché ont des distances inter-réticulaires comparables à celles des 5 premières raies du diffractogramme de rayons X du composé $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$ (figure 14). Le diamètre des amas peut être estimé par la mesure de la surface spécifique par adsorption de diazote (BET). Les valeurs sont similaires à celles des fluorures mixtes $Mg_{1-x}Cu_xF_2$, et confirment que les particules sont agglomérées en amas de 100 à 200 nm de diamètre (tableau 4).

Tableau 4 : Estimation du diamètre des particules par MET et adsorption de diazote (BET), détermination de la taille des domaines de diffraction cohérente et des micro-contraintes ε par diffraction des rayons X des fluorures Mg_{1-x}Zn_xF₂

	$Mg_{1-x}Zn_xF_2$	Ø _{MET} (nm)	Ø _{BET} (nm)	Ø _{DRX} (nm)	ε (%)
	x = 0		120	7,5	0,052
	x = 0,05	~ 100	-	7,3	0,069
	x = 0,10	~ 100	-	6,9	0,045
	x = 0,15		140	6,8	0,101
(a)	nm	x = 0,0	05. (b) 100 nm		x=0,10
(c)	R &	x = 0, 1	5 (d)	ABE A	x = 0,15
	a				(110) (101) (111) (210) (211)
100	nm	Cor	10 1/nm	1	

Figure 22 : Clichés de microscopie électronique en transmission des compositions de la solution solide Mg_{1-x}Zn_xF₂ (a-c). Diffraction électronique en aire sélectionnée du fluorure Mg_{0.85}Zn_{0.15}F₂ (d)

2. Les hydroxyfluorures M(OH)F (M = Mg, Cu, Zn), produits d'hydrolyse des fluorures

Les hydroxyfluorures métalliques présentent un intérêt dans la recherche de composés à forte activité bactéricide. Ils sont le plus souvent les produits finaux de l'hydrolyse des fluorures élémentaires. Un seul hydroxyfluorure de formulation M(OH)F existe pour le magnésium⁽²⁵⁾ et le zinc⁽²⁶⁻²⁹⁾. Mg(OH)F et Zn(OH)F possèdent tous les deux la même structure de symétrie orthorhombique (groupe d'espace *Pnma*, n°62) isotype du diaspore α -AlO(OH). Quatre hydroxyfluorures de cuivre sont répertoriés dans la littérature : Cu₃(OH)₂F₄, Cu₂(OH)F₃, Cu(OH)F et Cu₂(OH)₃F ^(30, 31). Seules les structures cristallines de Cu(OH)F et Cu₃(OH)₂F₄ ont été déterminées ⁽³¹⁾. Cu₃(OH)₂F₄ n'est pas stable à l'air ambiant et s'hydrolyse très rapidement ⁽³²⁾. Parmi tous ces hydroxyfluorures, trois possèdent le même rapport OH/F et existent avec les 3 cations métalliques (*i.e.* M(OH)F avec M = Mg, Cu et Zn). L'ion fluorure possédant aussi une activité antibactérienne, fixer sa teneur permettra de déterminer l'incidence du cation métallique sur l'éventuelle activité bactéricide des hydroxyfluorures M(OH)F.

2.1. Structures cristallines des hydroxyfluorures Mg(OH)F, Zn(OH)F et Cu(OH)F

L'hydroxyfluorure de magnésium cristallise dans le groupe d'espace orthorhombique *Pnma* (n°62, Z = 4) ⁽²⁵⁾. Tous les atomes occupent des sites 4c, de coordonnées réduites (x, ¾, z) pour le magnésium et l'oxygène et (x, ¼, z) pour le fluor. Sa structure est construite à partir d'un seul type d'octaèdre de formulation $[Mg(OH)_3F_3]^{4-}$ dont le plan équatorial est défini par deux atomes de fluor et deux atomes d'oxygène situés à une distance moyenne du cation de 2,03 et 2,06 Å, respectivement (figure 23). Le troisième atome de fluor et d'oxygène selon l'axe 4 de l'octaèdre sont à des distances Mg-F et Mg-O respectives de 2,06 et 2,07 Å (figure 23). Ces octaèdres quasiment réguliers se connectent suivant l'axe b par arête HO-F et forment des chaînes infinies de type rutile se propageant suivant l'axe b (figure 23). Deux chaînes, décalées de la moitié du paramètre b, mettent en commun leurs arêtes HO-OH et construisent des doubles files ou rubans. La particularité de ces doubles files est que tous les atomes de fluor se trouvent en périphérie. C'est donc par ces atomes de fluor que les doubles files se connectent entre elles par sommet dans la plan (a,c) (figure 23). Il en résulte la formation de "tunnels" à section parallélépipédique vers le centre desquels les atomes d'hydrogène des groupements hydoxyl pointent (figure 23).



Figure 23 : Octaèdre [Mg(OH)₃F₃]⁴⁻ (à gauche), double file d'octaèdres (au milieu) et structure cristalline complète de Mg(OH)F (à droite) d'après le modèle de Crichton *et coll.* ⁽²⁵⁾

Malgré une isotypie avec la structure de Mg(OH)F, la structure de Zn(OH)F est décrite dans la littérature dans le sous-groupe d'espace orthorhombique $Pna2_1$ (n°33, Z = 4) ^(27, 29), sans aucune justification. Dans le plan équatorial de l'octaèdre $[Zn(OH)_3F_3]^{4-}$, qui est le même que celui de $[Mg(OH)_3F_3]^{4-}$ dans Mg(OH)F présenté sur la figure 23 ci-dessus, les deux atomes d'oxygène sont bien plus éloignés du cation que les atomes de fluor, avec des distances Zn-F et Zn-O respectives de 2,05 et 2,13 Å (contre respectivement 2,03 et 2,06 Å dans Mg(OH)F). Cet éloignement de l'oxygène se retrouve suivant l'axe 4 de l'octaèdre, avec des distances Zn-F et Zn-O respectives de 2,01 et 2,12 Å (contre respectivement 2,06 et 2,07 Å dans Mg(OH)F). Ainsi, les trois atomes d'oxygène se situent tous à une distance supérieure à 2,10 Å. L'octaèdre de coordinence autour de l'ion zinc présente donc une déformation trigonale non observée pour l'octaèdre $[Mg(OH)_3F_3]^{4-}$ dans la structure de Mg(OH)F (figure 23).

L'hydroxyfluorure de cuivre Cu(OH)F cristallise dans le groupe d'espace monoclinique $P2_1/a$ (n°14, Z = 4) ⁽³¹⁾. Cette structure est très proche de celle de la Brucite Mg(OH)₂ décrite au chapitre III de cette thèse. Tous les atomes occupent des sites 4e de coordonnées réduites (x,y,z). Comme dans la structure de Mg(OH)F, le cuivre occupe un octaèdre de formulation [Cu(OH)₃F₃]⁴⁻ dans Cu(OH)F. Ici le plan équatorial est défini par un atome de fluor et 3 atomes d'oxygène situés à une distance moyenne de 1,97 Å du cation (figure 24). Deux autres atomes de fluor complètent la sphère de coordinence du cuivre, avec des distances Cu-F presque égales de 2,32 et 2,33 Å (figure 24). De ce fait, l'effet Jahn-Teller de l'ion cuivrique induit comme dans CuF₂ un étirement de cet octaèdre suivant l'axe 4 (déformation [4+2]). Ces octaèdres partagent des arêtes O-F et forment ainsi des feuillets infinis légèrement ondulés et parallèles au plan (a,b) (figure 24). L'empilement suivant l'axe c de ces feuillets définit des galeries dont la hauteur est d'environ 2,56 Å. La cohésion de l'édifice est assurée par des liaisons hydrogène O-H..F entre feuillets.



Figure 24 : Octaèdre [Cu(OH)₃F₃]⁴⁻ (à gauche), feuillet d'octaèdres (au milieu) et structure cristalline complète de Cu(OH)F (à droite) d'après le modèle de Giester *et coll*. ⁽³¹⁾

Le tableau 5 suivant regroupe les paramètres de maille et le groupe d'espace des trois hydroxyfluorures étudiés dans le cadre de cette thèse.

	Groupe d'espace	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
Mg(OH)F ⁽²⁵⁾	Pnma	10,1299(9)	3,0723(3)	4,676(4)	90
Zn(OH)F ⁽²⁹⁾	Pna21	10,2276(4)	4,7161(2)	3,1130(1)	90
Cu(OH)F ⁽³¹⁾	P21/a	5,301(1)	6,376(1)	5,074(1)	112,90(1)

Tableau 5 : Groupe d'espace et paramètres de maille de Mg(OH)F, Zn(OH)F et Cu(OH)F

2.2. Synthèse de l'hydroxyfluorure de magnésium Mg(OH)F

Ce composé a été décrit pour la première fois en 1969 par Crane et Elhers ⁽³³⁾. Cette phase est particulièrement difficile à obtenir de par les conditions extrêmes de température (> 400°C) et de pression (1000 bars) nécessaires à son obtention. Il n'a pu être isolé qu'en 2012 par Crichton *et coll.* ⁽²⁵⁾ en le préparant par voie hydrothermale, à partir d'un mélange équimolaire de MgF₂ et Mg(OH)₂ dans un excès d'eau à 250°C pendant 8 jours. A l'issue de ce traitement, une petite fraction des produits de départ est néanmoins présente.

Dans le cadre de cette thèse, des essais ont été réalisés en appliquant strictement le protocole de Crichton *et coll.* ⁽²⁵⁾. Une très faible proportion de phase Mg(OH)F est obtenue. Deux voies alternatives ont été tentées mais sans succès. La coprécipitation d'ions Mg²⁺ sous forme de chlorures à température ambiante par ajout de solution aqueuse de NH₄F ou HF (1 mol/L) conduit systématiquement à la formation de MgF₂ ou MgF_{2-x}(OH)_x de structure rutile. Enfin, les essais de mécanosynthèse à partir de mélanges (Mg(OH)₂ + 2 NH₄F) ou (1 Mg(OH)₂ + 1 MgF₂) conduisent aux mêmes phases, en plus d'une réaction avec la zircone de la jarre (phase de type Mg_{1-x}Zr_{0,5x}F₂).

2.3. L'hydroxyfluorure de cuivre Cu(OH)F

2.3.1. Synthèse

D'après Wheeler *et coll.* ⁽³⁴⁾, l'hydroxyfluorure de cuivre peut être préparé en faisant bouillir une suspension aqueuse de fluorure de cuivre dihydraté CuF₂.2H₂O. Cette voie de synthèse implique une libération de HF gazeux. Dans cette thèse, la voie hydrothermale a été privilégiée car les réactifs sont placés dans un réacteur en Téflon inerte vis-à-vis de HF et clos. Le protocole est le suivant : de l'oxyde cuivrique (0,1591 g, 2.10⁻³ mol) est disposé dans le réacteur en Téflon d'une contenance de 23mL. Puis, 5 mL d'HF à 1 mol/L sont ajoutés et le réacteur est fermé. Le réacteur en Téflon est alors inséré dans un autoclave en acier de type Paar. L'autoclave est ensuite placé dans une étuve, puis porté à 175°C pendant 48 heures (vitesse de montée et descente de 10°C/min). Une fois le surnageant éliminé, la poudre obtenue de couleur vert clair est lavée à l'éthanol puis séchée à l'air libre et à température ambiante (figure 25).



Figure 25 : Protocole d'élaboration de Cu(OH)F par voie hydrothermale

2.3.2. Identification et caractérisation de l'hydroxyfluorure obtenu

Afin de contrôler que le composé Cu(OH)F a bien été obtenu, plusieurs techniques d'analyses ont été employées. Tout d'abord le nombre de groupements OH dans la structure a été quantifié par une analyse thermogravimétrique couplée à la spectrométrie de masse (ATG-SM). D'après Wheeler *et coll.* ⁽³⁴⁾, la décomposition thermique de l'hydroxyfluorure de cuivre a lieu en deux étapes:

$$4Cu(OH)F \xrightarrow{345^{\circ}C} Cu_2(OH)F_3 + 2CuO + CuF_2 + HF + H_2O$$
$$Cu_2(OH)F_3 \xrightarrow{420^{\circ}C} CuO + CuF_2 + HF$$

La première étape de la décomposition est observée par Le Van *et coll.* ⁽³⁵⁾ à 350°C. La perte de masse théorique suite à ces deux décompositions successives est de 14,57%. D'après le protocole de synthèse utilisé, une substitution OH^-/F^- peut avoir lieu. Dans ce cas, l'hydroxyfluorure de cuivre aurait une formulation générale $Cu(OH)_{2-x}F_x$. Ce cas de figure n'a jamais été pris en compte par Wheeler *et coll.* ⁽³⁴⁾ et Le Van *et coll.* ⁽³⁵⁾. En tenant compte de cette hypothèse, les deux équations précédentes s'écrivent :

$$4Cu(OH)_{2-x}F_x \to xCuF_2 + (4-x)CuO + 2xHF + (4-x)H_2O$$

La figure 26 suivante montre le thermogramme de l'hydroxyfluorure de cuivre enregistré sous atmosphère d'argon. Contrairement aux travaux cités précédemment, le composé se décompose en une seule étape. Si une décomposition en une étape a été également observée par Ramamurthy et Secco entre 300-430°C ⁽³⁰⁾, elle a lieu dans notre cas entre 200 et 400°C. Un pic est observé vers 340-350°C sur chaque spectre correspondant aux masses m/z = 18 et 19 (figure 26). Ces deux pics sont attribués respectivement à la libération de l'eau et à la fragmentation du fluorure d'hydrogène HF en ion F⁺ dans le spectromètre de masse. Enfin, comme pour tous les composés à base de cuivre, une perte de masse a lieu à partir de 700°C et correspond à la réduction partielle de l'oxyde cuivrique CuO en oxyde cuivreux Cu₂O due à la faible pression partielle en dioxygène présente sous atmosphère d'argon.



Figure 26 : Résultat de l'ATG-SM réalisée sous argon sur le composé "Cu(OH)F"

A partir de l'équation précédente et de la perte de masse expérimentale, on peut alors remonter à la valeur de x dans la formulation de l'hydroxyfluorure. La formulation obtenue : $Cu(OH)_{1,06}F_{0,94}$ est très proche du ratio OH^{-}/F^{-} de 1:1.

Un diffractogramme de rayons X a été ensuite collecté et affiné par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ sur la plage en 20 comprise entre 10° et 135° (562 réflexions considérées). Le modèle structural de départ utilisé est celui décrit dans la littérature ⁽³¹⁾ et présenté précédemment. Dans l'affinement, il est considéré, dans un premier temps, que les groupements HO⁻ surnuméraires (0,06) viennent en substitution des ions fluorure sur leur site cristallographique 4e afin de tenir compte de la formulation déterminée par analyse thermique. La position des atomes d'hydrogène n'a pas été affinée. Le résultat de l'affinement du diffractogramme est présenté sur la figure 27. Les paramètres de maille et les positions atomiques déterminés sont rassemblés dans le tableau 6 ci-dessous. Les coefficients de reliabilité sont tout à fait acceptables, mais le paramètre χ^2 est relativement élevé (11,2) en raison de la très bonne statistique de comptage (R_{exp} très faible et

réflexion (001) (vers $2\theta = 19^{\circ}$) mesurée à 600000 coups). Le modèle structural obtenu est très proche de celui déterminé par Giester et Libowitzky à partir de données de diffraction enregistrées sur un monocristal ⁽³¹⁾ et confirme que les groupements OH⁻ et les ions fluorure sont ordonnés dans la structure.

		a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°))	
Littérature	(31)	5,301(1)	6,376(1)	5,074(1)	112,90	(1)	
Ce trava	il	5,2914(3)	6,3734(3)	5,0746(3)	112,844	4(3)	
Atome	Site	х	У		z	B _{iso} (Ų)	
Cu	4e	0,251(2)	0,120(1	.) -0,0	05(1)	1,63(6)	
0	4e	0,163(2)	0,368(5) 0,17	27(2)	1,63(6)	
F/O	4e	0,372(5)	0,379(4	.) 0,73	844(2)	1,63(6)	
н	4e	0,198	0,369	0,	337	1,00	
$R_p = 9,63\%$ $R_{wp} = 7,71\%$ $R_{Bragg} = 2,46$ $R_{Expected} = 2,$	30%	T _{amb} CuK _{a14}		Cu(OF	1)_{1,06}F ₀ os alc os-Calc agg Posit	ion	
10 ž	20	30	40 2θ (°)	50	60] 70	

Tableau 6 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'hydroxyfluorure Cu(OH)_{1,06}F_{0,94} (groupe d'espace *P2*₁/*a*)

Figure 27 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'hydroxyfluorure Cu(OH)1.06F0.94

Le spectre infrarouge présenté en figure 28 révèle la présence de plusieurs bandes de vibration dans la région 2900 - 3400 cm⁻¹ dont la plus intense est centrée sur 3150 cm⁻¹. Elles correspondent aux vibrations d'élongation v de la liaison O-H et sont en accord avec les travaux de Giester et Libowitzky ⁽³¹⁾. La présence d'au moins trois bandes dans cette région peut s'expliquer par l'environnement autour du groupement OH⁻, qui est relié à trois atomes de cuivre avec des distances Cu-O différentes. L'occupation très partielle par l'oxygène du site 4e majoritairement peuplé par les ions fluorure peut également contribuer à cette distribution autour de 3150 cm⁻¹.

Si l'on compare le spectre infrarouge de Cu(OH)_{1,06}F_{0,94} avec celui de l'hydroxyde de cuivre Cu(OH)₂, la vibration d'élongation v de la liaison O-H dans l'hydroxyfluorure a lieu à des énergies bien plus faibles. Mikenda *et coll.* ont montré que plus la distance HO..X (avec X = N, O, S, Se, F, Cl, Br, I) diminue, plus la vibration d'élongation v_{OH} est décalée vers les faibles nombres d'ondes ⁽³⁶⁻³⁸⁾. Or

d'après le tableau 7 ci-dessous, la distance O..F/O dans Cu(OH)F est plus courte (2,619 Å $^{(39)}$) que la distance O..O dans Cu(OH)₂ (2,90 Å $^{(31)}$). Cette différence explique le décalage de la bande v_{OH} observé.

Les deux bandes de vibration δ de déformation angulaire des liaisons Cu-O-H vers 950 et 970 cm⁻¹ (épaulement) du spectre infrarouge de Cu(OH)F sont également présentes sur celui de Cu(OH)₂. Cette similitude entre Cu(OH)F et Cu(OH)₂ est liée au fait que la déformation [4+2] des octaèdres de coordinence du cuivre (effet Jahn-Teller) est de même amplitude dans les deux composés. L'apparition de deux autres vibrations δ de déformation angulaire des liaisons Cu-OH de plus faible intensité et à plus grande nombre d'ondes (1008 et 1015 cm⁻¹) sur le spectre de Cu(OH)F est vraisemblablement liée à la faible proportion de groupements OH⁻ présents sur le site occupé majoritairement par les ions F⁻. Les premières harmoniques de ces vibrations dans Cu(OH)F sont aussi détectées dans la région 1850 - 2000 cm^{-1 (31)}. Les bandes de vibration vers 650 cm⁻¹ sur le spectre de Cu(OH)₂ sont attribuées aux modes de vibration des groupements OH⁻, que l'on n'observe pas dans l'hydroxyfluorure. Les bandes en dessous de 500 cm⁻¹ sur les 2 spectres correspondent aux modes de vibration des octaèdres [Cu(OH)₆]⁴⁻ ou [Cu(OH)₃F₃]⁴⁻.

Tableau 7 : Distances O-H, OH..F/O, O..F/O ainsi que l'angle O-H-F/O dans Cu(OH)_{1,04}F_{0,96} et Cu(OH)₂ d'après ^(31, 39)



Figure 28 : Comparaison des spectres infrarouge des composés Cu(OH)_{1,06}F_{0,94} et Cu(OH)₂

2.4 L'hydroxyfluorure de zinc Zn(OH)F

2.4.1. Synthèse

L'hydrolyse contrôlée de $ZnF_2.4H_2O$ dans l'eau bouillante ⁽²⁶⁾ et la précipitation par ajout d'une solution de $ZnCl_2$ à une solution concentrée d'acide fluorhydrique HF (40%) ⁽²⁹⁾ sont les deux voies utilisées dans la littérature pour l'obtention de poudre de "Zn(OH)F". Comme pour Cu(OH)F, nous avons opté pour une synthèse de Zn(OH)F menée par voie hydrothermale. Mais cette fois, le fluorure métallique est utilisé comme réactif au lieu de l'oxyde. Dans le réacteur en Téflon, 5 mL d'eau désionisée sont ajoutés à 2 mmol de ZnF₂. Par hydrolyse forcée de ZnF₂ en portant le mélange à 175°C pendant 48 heures, l'hydroxyfluorure de zinc Zn(OH)_{1+x}F_{1-x} est obtenu.

2.4.2. Détermination du taux d'hydroxylation du composé Zn(OH)_{1+x}F_{1-x}

D'après Serier *et coll.*, l'hydroxyfluorure de zinc peut avoir un rapport OH/F différent de l'unité ⁽²⁹⁾. Une analyse thermogravimétrique couplée à la spectrométrie de masse (ATG-SM) a donc été réalisée pour quantifier ce taux d'hydroxylation dans notre composé (figure 29). Ce composé se décompose en trois étapes successives entre 300 et 600°C, comme l'atteste la présence de plusieurs pics observés sur les spectres correspondant aux masses m/z = 18 (vers 350°C puis 400°C) et m/z = 19 (vers 350°C puis 500°C). Ces pics sont attribués à la libération d'eau et à une fragmentation du fluorure d'hydrogène HF en ion F⁺ dans le spectromètre de masse. Cette observation, ainsi que l'analyse par diffraction des rayons X du résidu, sont en accord avec le mécanisme proposé par Srivastava et Secco ⁽²⁶⁾ :

 $2Zn(OH)F \xrightarrow{372-447^{\circ}C} ZnF_2 + ZnO + H_2O$ $ZnF_2 + H_2O \rightarrow ZnO + 2HF$

Ce mécanisme implique une déshydratation de Zn(OH)F conduisant à la formation transitoire de ZnF₂ qui s'hydrolyse ensuite par la vapeur d'eau générée. Les quantités de HF ainsi libérées par l'hydrolyse sont relativement faibles, mais suffisent pour fausser la détermination du taux d'hydroxylation par surestimation de la perte de masse. La prise en compte du processus d'hydrolyse de ZnF₂ par la vapeur d'eau doit être considérée dans le calcul de la perte de masse. La perte de masse associée à ce phénomène entre 300 et 400°C ne peut pas être directement déterminée car elle est confondue avec celle de l'hydroxyfluorure. Toutefois, celle qui a lieu entre 450 et 600°C est calculable. Si on suppose que le signal de l'ion F⁺ est proportionnel à la quantité de molécules HF formées, il est possible par intégration des aires sous les pics et la connaissance de la seconde perte de masse de quantifier la contribution de ce phénomène à la perte de masse totale du composé (tableau 8).



Tableau 8 : Perte de masse de Zn(OH)_{2-x}F_x corrigée de l'hydrolyse de ZnF₂

Figure 29 : Résultat de l'ATG-SM réalisée sous argon sur le composé Zn(OH)F

La perte de masse corrigée de 9,13%, très légèrement supérieure à ce que prédit la théorie (8,87%), conduit à la formulation suivante : $Zn(OH)_{1,03}F_{0,97}$. La formulation de l'hydroxyfluorure sans effectuer cette correction est $Zn(OH)_{1,17}F_{0,83}$. Il est important de préciser que les bornes choisies pour l'intégration des aires sous le signal m/z = 19 imposent la formulation de l'hydroxyfluorure, tout en supposant que le signal soit bien proportionnel au nombre de molécules de HF formées. Une incertitude de l'ordre de ± 0,10 sur la formulation doit donc être considérée. Afin de confirmer ces observations, une quantification du fluor par RMN-MAS du ¹⁹F à été réalisée sur l'échantillon ⁽⁴⁰⁾. Elle conduit à une concentration massique de 18%, soit une formulation en $Zn(OH)_{1,04}F_{0,96}$, très proche de celle obtenue par ATG-SM. Ici encore, une incertitude sur la formulation existe qui est de l'ordre de ± 0,05 sur la formulation finale du composé.

331

2.4.3. Caractérisation structurale de l'hydroxyfluorure obtenu

Un diffractogramme de rayons X a été collecté et affiné par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ sur la plage en 20 comprise entre 10° et 135° (321 réflexions considérées). Deux modèles structuraux ont été utilisés : celui de Mg(OH)F décrit par Crichton *et coll.* ⁽²⁵⁾, et celui proposé par Serier *et coll.* ⁽²⁹⁾. Dans le modèle de Crichton *et coll.* (appelé modèle n°1 par la suite), un ordre parfait existe entre les ions F⁻ et les groupements OH⁻ qui occupent des sites cristallographiques distincts, appelés respectivement sites 1 et 2. Ces auteurs considèrent que le rapport OH/F est de 1 sans même avoir déterminé la teneur en fluor de l'échantillon.

Dans le modèle structural proposé par Serier *et coll.* ⁽²⁹⁾ (appelé modèle n°2 par la suite), le sous groupe d'espace $Pna2_1$ a été utilisé sans justification particulière. De plus, la formulation proposée par les auteurs ($Zn(OH)_{1,38}F_{0,62}$) ne correspond pas à celle déterminée par EDX ni par dosage du fluor avec une électrode spécifique ⁽²⁹⁾. Trois sites cristallographiques sont occupés par les anions, dont un est occupé uniquement par l'oxygène (site 2) et les deux autres (appelés sites 1-1 et 1-2) présentent une occupation mixte OH:F correspondant à la formulation $Zn(OH)_{1,38}F_{0,62}$. Le site 1-1 est occupé par le fluor et le site 1-2 par l'oxygène.

Afin de pouvoir comparer les affinements entre eux, le modèle n°2 a été transposé dans le groupe d'espace conventionnel *Pnma* (ce qui correspond à un changement d'origine de la maille cristalline) et l'atome d'hydrogène du modèle 1 a été retiré du modèle. Dans les deux cas, les groupements OH⁻ surnuméraires occupent le site anionique 1 initialement occupé par le fluor. Les résultats de l'affinement à partir du modèle n°1 sont présentés dans le tableau 9 et sur la figure 30 suivants. Il ne permet pas de rendre compte de manière satisfaisante de l'allure du diffractogramme, avec un calcul incorrect de certaines raies. Il n'a pas été possible non plus d'affiner correctement le diagramme de rayons X à partir du modèle n°2. En effet, l'oxygène du site 1-2 se décale vers la position de l'oxygène du site 2, ce qui est caractéristique d'un modèle structural incompatible avec les données expérimentales. Au contraire, le modèle proposé par Crichton *et coll.* ⁽²⁵⁾ permet, malgré des problèmes évidents au niveau des intensités de certaines raies, de rendre compte de l'allure du diagramme de rayons X.

332



Tableau 9 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits des affinements par la méthode de Rietveld du diffractogramme de Zn(OH)_{1,04}F_{0,96} en utilisant le modèle de Crichton *et coll.* (modèle n°1) dans lequel l'hydrogène a été retiré du modèle

Figure 30 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'hydroxyfluorure Zn(OH)_{1,04}F_{0,96} en utilisant le modèle de Crichton *et coll.* (modèle n°1)

Il est mentionné dans la littérature que Co(OH)_{0,86}F_{1,14} et Fe(OH)F ⁽⁴¹⁾ sont également isotypes de Mg(OH)F. Dans les structures de ces deux composés, les deux sites cristallographiques 1 et 2 (occupés respectivement par les ions F⁻ et oxyde O²⁻ dans Mg(OH)F) présentent une occupation mixte. Une occupation mixte des anions sur les deux sites a donc été testée sur le modèle 1, appelé modèle 3 par la suite. Elle améliore sensiblement la qualité de l'affinement (figure 31) et montre une occupation des atomes de fluor pratiquement à l'opposée du modèle 1 (82% des ions F⁻ localisés sur le site 2, tableau 10). Par contre, les distances Zn-OH sont les plus courtes et Zn-F les plus longues, ce qui est contraire aux distances calculées à partir des rayons ioniques tabulés par Shannon (Zn-OH = 2,08 Å et Zn-F = 2,04 Å en considérant les ions Zn²⁺ et OH⁻ en coordinence [6] et [3], respectivement)⁽⁹⁾.

Мос	dèle 3	а	(Å)	b (Å)	c (Å)	
Zn(OH) _{1,06} F _{0,94}	10,13	321(6)	3,1192(1)	4,7461(3)	
	х		у	Z	Occ.	B _{iso} (Ų)
Zn1	0,358	D(2)	1⁄4	0,5548(6)	1	1,98(9)
F1/01	0,192	5(9)	1⁄4	0,308(2)	0,15(6)/0,85(6)	1,6(2)
F2/O2	0,4468	8(9)	3⁄4	0,299(1)	0,79(6)/0,21(6)	1,6(2)

Tableau 10 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de Zn(OH)_{1.04}F_{0.96} dans le groupe d'espace *Pnma* et en affinant les taux d'occupation (modèle n°3)



Figure 31 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'hydroxyfluorure Zn(OH)_{1,04}F_{0,96} en affinant les taux d'occupation (modèle n°3)

A ce stade, nous avons souhaité insérer dans notre modèle n°3 les deux positions des atomes d'hydrogène des groupements OH. Une des deux positions est celle du modèle structural de Mg(OH)F et l'autre a été calculée en tenant compte de la longueur de la liaison O-H proche de 1 Å d'un groupement OH⁻ et de l'espace disponible dans la structure. Une optimisation des positions de ces atomes d'hydrogène a ensuite été réalisée en deux étapes par calculs DFT (Density Functional Theory en anglais) en idéalisant la formulation du composé en Zn(OH)_{1.00}F_{1.00} et en utilisant deux modèles parfaitement ordonnés différents. Le premier modèle correspond à celui de la structure de Mg(OH)F (modèle n°1 auquel est ajouté la position de l'atome H). Le second modèle (modèle n°1bis) dérive du premier en inversant les sites occupés par les ions F⁻ et oxyde O²⁻ dans Mg(OH)F. Cette optimisation permet aussi de tester la robustesse de notre modèle n°3 pour leguel des distances Zn-O et Zn-F sont *a priori* surprenantes au regard des valeurs de rayons ioniques. Dans les deux modèles n°1 et n°1bis, les calculs DFT montrent que les distances Zn-O sont bien plus courtes que les distances Zn-F, comme dans le modèle 3 (tableau 11). Les calculs DFT réalisés avec le modèle de Serier et coll. (29) conduisent aux mêmes observations. Enfin, il faut mentionner que les calculs de valence de liaison ⁽⁴²⁾ à partir des trois modèles n°1, n°1bis et n°3 ne sont pas discriminants, c'est-àdire qu'ils sont satisfaisants quel que soit le modèle considéré.

 Tableau 11 : Distances interatomiques extraites du modèle n°3 (expérimental) et de l'optimisation de la structure par calculs DFT sur le modèle n°1 (structure ordonnée) et n°1bis (structure inversée ordonnée)

			Modèle n°	3 (expériment	al)		
		Atome 1	Atome 2	Multiplicité	Distance	(Å)	
		Zn1	01/F1	1x	2,019(9))	
			01/F1	2x	2,062(6	5)	
			F2/02	1x	2,112(9))	
			F2/O2	2x	2,145(6	5)	
	Modèl	e n°1 (DFT)			Modèle	e n°1bis (DFT)	
Atome 1	Atome 2	Multiplicité	Distance (Å)	Atome 1	Atome 2	Multiplicité	Distance (Å)
Zn1	01	1x	2,0296	Zn1	01	2x	2,0275
	01	2x	2,044		01	1x	2,0775
	F1	1x	2,1444		F1	1x	2,0952
	F1	2x	2,1796		F1	2x	2,1431
H1	01	1x	0,9914	H1	01	1x	0,9815
	F1	1x	1,6835		F1	1x	1,7679

Pour terminer, les deux positions optimisées par DFT des atomes d'hydrogène (modèles n°1 et n+1bis) ont été insérées dans le modèle n°3. Un dernier affinement du diffractogramme a été réalisé en utilisant cette dernière version du modèle n°3. Le résultat de ce dernier affinement du diffractogramme est présenté sur la figure 32. Une bonne concordance existe entre l'augmentation du rayon ionique des cations métalliques en coordinence [6] et l'augmentation du volume de maille des hydroxyfluorures Mg(OH)F, Co(OH)_{0.86}F_{1.14}, Fe(OH)F et Zn(OH)_{1.04}F_{0.96} (tableau 12).

Tableau 12 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld de Zn(OH)_{1,04}F_{0,96} (modèle n°3 avec ajout des positions des H issus de la DFT)

M(OH)F	a (Å)		b (Å)	c (Å)	V (Å	³) r(M ²⁺) (Å) ⁽⁹⁾
Mg(OH)F ⁽²⁵⁾	10,1299(9)	3,0723(3)	4,676(4)	145,53	(1)	0,86
Zn(OH) _{1,04} F _{0,96} (ce trav	ail) 10,1322(6)	3,1192(2)	4,7460(3)	150,00	(9)	0,88
Co(OH) _{0,86} F _{1,14} ⁽⁴¹⁾	10,2753(3)	3,1181(1)	4,6844(1)	150,09	(1) (D,88 (HS)
Fe(OH)F ⁽⁴¹⁾	10,471(3)		3,206(1)	4,698(1)	157,70	(8)	0,92 (HS)
	х	у	Z	Occ.	F/O	B _{iso} (Ų)	_
Zn	0,3579(2)	1⁄4	0,5448(6)) 1		2,04(9)	-
F1/01	0,1950(3)	1⁄4	0,3003(6)) 0,16(6)/	0,84(6)	2,0(2)	
H1	0,37832	3⁄4	0,97450	0,84	(6)	2,0(2)	
F2/02	0,4474(9)	1⁄4	0,304(2)	0,78(6)/	0,22(6)	1,6(2)	
H2	0,58651	3⁄4	0,90153	0,22	(6)	1,6(2)	



Figure 32 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme de l'hydroxyfluorure Zn(OH)_{1,04}F_{0,96} (modèle n°3) en ajoutant les positions des atomes d'hydrogène déterminés par DFT

Le spectre RMN-MAS ¹⁹F du composé Zn(OH)F a été enregistré et est présenté sur la figure 33 suivante. On distingue une multitude de raies isotropes sur une plage importante de déplacements chimiques δ_{iso} compris entre -135 et -195 ppm. Comme observé sur le spectre de ZnF₂ mécanobroyé et dans la littérature ^(22-24, 43), la substitution partielle des ions fluorure par des groupements OH⁻ induit l'apparition de pics à des valeurs de δ_{iso} plus élevées que celles correspondant à un environnement [FZn₃] dans ZnF₂ ($\delta_{iso} \approx$ -204 ppm). Le calcul des constantes d'écran isotrope à partir des modèles 1 et 1bis par DFT conduit à des valeurs de déplacement chimique dans la même gamme de déplacement chimique (-136 ppm et -152 ppm pour le modèle 1 et 1b, respectivement).



Figure 33 : Spectre RMN-MAS ¹⁹F enregistré à 64 kHz du composé Zn(OH)_{1,04}F_{0,96}. Contributions utilisées pour la reconstruction du spectre de ¹⁹F (en rouge) avec leurs caractéristiques rassemblées dans le tableau

La structure complexe du spectre et l'étendue des déplacements chimiques s'expliquent par la multitude d'environnements chimiques possibles autour du fluor, les ions $X = OH^-$ ou F⁻ se répartissant sur les deux sites anioniques 1 et 2. En tenant compte des 3 atomes de zinc premiers voisins et des 12 atomes X seconds voisins, l'environnement du fluor dans la structure a comme formulation générale F-Zn₃X₁₂, avec X = OH ou F. Mais, en tenant compte des distances F-X différentes selon que l'atome de fluor sondé et son second voisin occupent le site 1 ou le site 2 (tableau 13), les formulations des environnements des atomes de fluor deviennent F(1)-Zn₃X(1)₆X(2)₆ et F(2)-Zn₃X(2)₂X(1)₆X(2)₄. Au total, 154 environnements différents sont répertoriés suivant la nature de X (OH ou F). En pratique, près des deux tiers sont hautement improbables (probabilité inférieure à 0,1%), comme par exemple avoir 6 groupements OH seconds voisins sur le site 2 dans F(1)-Zn₃X(1)₆X(2)₆. Attribuer la cinquantaine restante aux 13 raies utilisées pour reconstruire le spectre RMN-MAS ¹⁹F est impossible sans calcul DFT (figure 33).

La réduction de la largeur de la raie des spectres RMN-MAS de ¹H enregistrés à 44 et 64 kHz (figure 34) montre de forts couplages homo- (¹H-¹H) et hétéronucléaire (¹H-¹⁹F). A 64 kHz, la plage de fréquence est comprise entre 2 et 7 ppm, avec un maxima centré sur \approx 4,5 ppm. Des liaisons hydrogène plus ou moins fortes existent donc dans ce composé.

	F(1)-Z	n ₃ X(1) ₆ X(2) ₆		F(2)-Zn ₃ X(2) ₂ X(1) ₆ X(2) ₄				
Atome 1	Atome 2	Multiplicité	Distance (Å)	Atome 1	Atome 2	Multiplicité	Distance (Å)	
01 F1	Zn1	1x	2,008(9)	F2 O2	Zn1	1x	2,105(9)	
	Zn1	2x	2,053(6)		Zn1	2x	2,140(6)	
	F2 02	1x	2,777(12)		F2 02	2x	2,670(9)	
	F2 02	1x	2,781(12)		01 F1	1x	2,777(12)	
	F2 02	2x	2,987(12)		01 F1	1x	2,781(12)	
	F2 02	2x	3,003(12)		01 F1	2x	2,987(12)	
	01 F1	4x	3,045(12)		01 F1	2x	3,003(12)	
	O1 F1	2x	3,119(12)		F2 02	2x	3,119(12)	
					F2 02	2x	3,431(12)	

Tableau 13 : Distances F-Zn₃X₁₂ à considérer dans l'environnement local autour de l'atome de fluor sondé. Distances extraites des positions atomiques présentées dans le tableau 11

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?



Figure 34 : Spectre RMN-MAS ¹H enregistré à 44 et 64 kHz du composé Zn(OH)_{1,04}F_{0,96}

Le spectre infrarouge de Zn(OH)F présenté en figure 35 montre deux bandes distinctes d'intensités différentes, respectivement à 3352 et 3554 cm⁻¹ caractéristiques des vibrations d'élongation v respectives des liaisons O(1)-H et O(2)-H. Ces observations sont en accord avec les travaux de Weckler et Lutz ⁽⁴⁴⁾ et ceux de Srivastava et Secco ⁽²⁶⁾. L'analyse cristallographique précédente fournit une explication claire à ces observations : les atomes d'oxygène sont répartis sur les deux sites 1 et 2 (82% du nombre total des groupements OH⁻ sur le site 1 et 18% sur le site 2). Les bandes dans la région 650 – 1050 cm⁻¹ sont caractéristiques des vibrations associées aux déformations angulaires des liaisons Zn-OH. L'attribution précise de chaque bande n'est pas évidente car d'une part chaque groupement –OH est relié à trois cations Zn²⁺ avec deux distances Zn-O différentes, et d'autre part la distance X(1)-X(2) à l'intérieur des « tunnels » est suffisamment faible (2,73 Å) pour que des liaisons hydrogène O(1)H..O(2), O(1)H..F(2), O(2)H..O(1) ou O(2)H..F(1) existent. La dispersion importante des déformations angulaires sur la plage de nombre d'onde (400 cm⁻¹, contre 200 cm⁻¹ dans Cu(OH)F) serait également une conséquence de la répartition des atomes d'oxygène sur les deux sites anioniques.



Figure 35 : Comparaison des spectres infrarouge de l'hydroxyfluorure de zinc et de l'hydroxyfluorure de cuivre

2.5. Essais de substitutions : Cu_{1-x}Zn_x(OH)F et Zn_{1-x}Cu_x(OH)F

Quelques composés mixtes d'hydroxyfluorures sont répertoriés dans la littérature surtout avec Co(OH)F, un isotype de Mg(OH)F. Rodriguez *et coll.* ⁽⁴⁵⁾ font état d'une solution solide Co_{1-x}Cu_x(OH)F ($0 \le x \le 0,20$) obtenue en faisait réagir l'oxyde CuO avec une solution de CoF₂ ou Co(OH)F à 100°C. L'hydroxyfluorure mixte de formulation Co_{0,67}Ni_{0,33}(OH)F peut être préparé par voie hydrothermale à partir des chlorures métalliques, de NH₄F et d'urée à 120°C ⁽⁴⁶⁾. Enfin, l'équipe de Wang *et coll.* ont récemment montré l'existence d'une solution solide Co_{1-x}Zn_x(OH)F ($0 \le x \le 0,67$) *via* un protocole similaire ⁽⁴⁷⁾. Malgré des différences structurales évidentes entre Cu(OH)F et Zn(OH)F, des tentatives de substitution du cuivre par le zinc dans Cu(OH)F ou du zinc par le cuivre dans Zn(OH)F non référencées dans la littérature ont été effectuées. La deuxième raison est le potentiel effet de synergie sur l'activité bactéricide du composé M(OH)F que cette substitution pourrait apporter.

Partant des chlorures métalliques, une optimisation d'une synthèse hydrothermale a été réalisée pour obtenir les hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F purs et dans les mêmes conditions. Parmi tous les essais rassemblés dans le tableau 14, les meilleures conditions utilisent NH₄F comme source de fluor, sans contrôle du pH. Il est également à noter que le cuivre ne réagit jamais complètement (surnageant de couleur bleu ciel caractéristique de l'ion Cu²⁺ en solution), même en augmentant la température (200°C) et/ou le temps de synthèse (48 heures).

150°C - 12 heures	CuCl₂ 1éq.	ZnCl ₂ 1éq.
Volume total : 5 mL	(10 ⁻³ mol)	(10 ⁻³ mol)
NH₄F 2éq.	Cu(OH)F	Zn(OH)F
NH₄F 2éq. + urée 2éq (pH = 8)	[Cu(NH ₃) ₄] ²⁺	Zn(OH)F + (NH ₄) ₂ ZnF ₄
HF 2éq.	tout	en solution
HF 2éq. + NaOH 2éq.	Cu(OH)F	$Zn(OH)F + NaZnF_3$
HF 2éq. + NaOH 4éq.	CuO	ZnO

Tableau 14 : Bilan des tentatives de synthèse de Cu(OH)F et Zn(OH)F par voie hydrothermale en utilisant des précurseurs chlorures

Cependant, il n'a pas été possible de substituer le cuivre par le zinc dans Cu(OH)F (ou l'inverse) en partant des chlorures métalliques pesés en proportions stœchiométriques et en milieu NH_4F . D'autres essais de substitution en changeant les précurseurs (hydrolyse forcée des fluorures), la température (200°C) ou les temps de synthèse (48 heures) conduisent aux mêmes résultats, à savoir un mélange de phases Cu(OH)F et Zn(OH)F. L'absence de décalage de pic est le signe qu'aucune solution solide n'existe.

3. Les fluorophosphates M₂PO₄F (M = Mg, Cu, Zn)

Les verres de fluorophosphates, en particulier ceux dopés par des terres rares (lanthanides), ont longtemps été étudiés pour leurs propriétés optiques ^(48, 49). Les recherches actuelles sur les fluorophosphates se focalisent sur leurs propriétés électrochimiques, en tant que matériaux de cathodes pour des batteries à ion lithium ⁽⁵⁰⁾ ou sodium ⁽⁵¹⁾. Dans notre recherche de composés inorganiques à base de cuivre potentiellement bactéricides, les fluorophosphates, et tout particulièrement celui au cuivre (Cu₂PO₄F), ont attiré notre attention. Ils permettent également de dépasser la frontière entre les phosphates et hydroxy- ou oxo-phosphates présentés dans le chapitre V et les fluorures, en réalisant une combinaison des deux anions (PO₄³⁻ et F⁻) au sein d'un même composé.

3.1. Structures cristallines de Mg₂PO₄F, Cu₂PO₄F et Zn₂PO₄F

Le fluorophosphate de cuivre Cu₂PO₄F cristallise dans le groupe d'espace monoclinique *C2/c* (n°15, Z = 8) ⁽⁵²⁾. Tous les atomes occupent des positions générales 8f de coordonnées réduites (x,y,z), avec 2 sites possibles pour le cuivre notés Cu(1) et Cu(2), 1 pour le phosphore, 4 pour l'oxygène et 1 pour le fluor. Tous les ions cuivriques sont au centre d'octaèdres fortement déformés de formulation $[Cu(O_{éq})_2(F_{éq})_2(O_{ax})_2]^{8-}$. La déformation des octaèdres est telle qu'aucun axe 4 ne peut être défini (angles O_{ax} -Cu(1)- O_{ax} et O_{ax} -Cu(2)- O_{ax} compris entre 161-163° contre 180° pour un octaèdre régulier). La déformation observée ici ne peut donc pas être qualifiée de déformation [2+4] ou [4+2]. Les chaînes d'octaèdres [Cu(1)O_4F_2]^{8-} se propagent selon b, suivant une direction orthogonale à celle des chaînes d'octaèdres [Cu(2)O_4F_2]^{8-} qui se propagent dans le plan (a,c) (figure 36). Une connexion entre les deux types de chaînes s'opère par arêtes O-F pour former un maillage tridimensionnel au sein duquel les atomes de phosphore en environnement tétraédrique [PO₄]³⁻ s'insèrent.



Figure 36 : Projection selon c (à gauche) et selon b (à droite) de la structure cristalline du composé Cu₂PO₄F. Les octaèdres de coordinence du cuivre en site 1 et 2 sont matérialisés en bleu et en rouge, respectivement.

Le fluorophosphate de magnésium ⁽⁵³⁾ et le fluorophosphate de zinc ⁽⁵⁴⁾ cristallisent dans le même type structural de groupe d'espace monoclinique $P2_{1}/c$ (n°14, Z = 16). La structure est particulièrement complexe, avec 8 sites possibles pour le cation métallique, 16 sites pour l'oxygène, 4 sites pour le fluor et 4 sites pour le phosphore. Tous occupent des positions générales 4e de coordonnées réduites (x,y,z). Cinq cations métalliques présentent une coordinence [6] de géométrie octaédrique (4 de formulation $[MO_4F_2]^{8-}$ et 1 de formulation $[MO_5F]^{9-}$), et les trois autres sont en coordinence [5] de géométrie bipyramide trigonale ($[MO_4F]^{7-}$).

La structure complexe peut être décrite à partir de deux réseaux tridimensionnels de polyèdres. Le premier réseau (appelé réseau 1) est formé à partir uniquement d'octaèdres $[MO_4F_2]^{8-}$ connectés entre eux par arêtes O-O et O-F (figure 37, à gauche). Le second réseau (appelé réseau 2) est formé à partir d'octaèdres $[MO_5F]$ et de bipyramides trigonales $[MO_4F]^{7-}$ connectés entre eux à la fois par sommet O et par arêtes O-O et O-F (figure 38, à droite). Ces deux réseaux 1 et 2 s'interpénètrent. En effet, chaque réseau présente deux types de tunnels orientés suivant l'axe b et c, respectivement. Les tunnels du réseau 1 sont occupés par les polyèdres formant le réseau 2 et *vice versa* (figure 38). Les atomes de phosphore en coordinence tétraédrique $[PO_4]^{3-}$ complètent cet édifice dense.



Figure 37 : Vue en perspective du réseau 1 d'octaèdres $[MgO_4F_2]^{8-}$ (a) et du réseau 2 de bipyramides trigonales $[MgO_4F]^{7-}$ (b) dans le composé Mg_2PO_4F

3.2. Synthèse

Ces composés ont été dans un premier temps préparés par une traditionnelle voie céramique dans un tube scellé en platine, à partir du phosphate $M_3(PO_4)_2$ et du fluorure MF_2 correspondant. Le phosphate $M_3(PO4)_2$ est élaboré au préalable suivant le protocole décrit dans le chapitre V. Toutefois, les difficultés rencontrées au niveau de la reproductibilité des synthèses des composés M_2PO_4F (seul Cu_2PO_4F à pu être obtenu par voie céramique) ont conduit à l'adoption de la mécanosynthèse à partir des mêmes réactifs. Même si la synthèse hydrothermale a déjà été utilisée pour préparer, par exemple, $Zn_2PO_4(OH,F)$ ⁽⁵⁴⁾, la mécanosynthèse réalisée à sec et en atmosphère inerte a été privilégiée car elle a permis de s'affranchir des problèmes d'hydroxylation. Les paramètres de broyage sont assez proches de ceux des fluorures $Mg_{1-x}M_xF_2$ (M = Cu, Zn). Les pesées des réactifs ont lieu en boîte à gants. Le broyage s'opère à 400 tours par minute avec 32 cycles de broyage de 15 minutes entrecoupés de 15 minutes de pause (8 heures de broyage effectif au total). Le composé Mg_2PO_4F n'a pas pu être obtenu du fait de la réaction du mélange $Mg_3(PO_4)_2 + MgF_2$ avec la zircone de la jarre, conduisant à une phase mal cristallisée constituée d'un mélange de ZrO_2 et d'un fluorure de magnésium mixte $Mg_{1-x}Zr_{0,5x}F_2$ identifiés par diffraction des rayons X. Pour les deux autres fluorophosphates Cu_2PO_4F et Zn_2PO_4F , l'analyse EDX montre une pollution mineure (moins de 1%) des poudres par du zirconium, mais aucune phase de type ZrO_2 ou ZrF_4 n'a été détectée lors de l'analyse par diffraction des rayons X.

3.3. Caractérisations structurales et morphologiques des particules

L'affinement par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ du diagramme de rayons X de Cu_2PO_4F préparé par voie céramique utilise comme modèle structural de départ celui référencé dans la littérature (1237 réflexions considérées sur la plage 20 comprise entre 10 et 135°) ⁽⁵²⁾. Les résultats, présentés dans le tableau 15 et sur la figure 38 suivants sont plutôt en accord avec le modèle publié, avec des coefficients de reliabilité excellents.

	-		-	
	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)
Littérature ⁽⁵²⁾	12,737(3)	6,182(1)	9,962(2)	119,15(2)
Ce travail	12,7700(2)	6,19108(9)	9,9854(2)	119,1666(6)
Atome	x	У	Z	B _{iso} (Ų)
Cu(1)	0,0616(2)	0,2631(3)	0,0025(2)	0,71(3)
Cu(2)	0,3463(2)	0,3837(3)	0,6477(2)	0,71(3)
Р	0,1722(3)	0,3922(6)	0,8020(6)	0,71(3)
O(1)	0,3130(5)	0,079(2)	0,5952(9)	0,30(9)
O(2)	0,2057(6)	0,1546(9)	0,1880(6)	0,30(9)
O(3)	0,4238(6)	0,0673(9)	0,3640(9)	0,30(9)
O(4)	0,3649(6)	0,3019(9)	0,1356(9)	0,30(9)
F	0,0231(6)	0,1182(9)	0,4012(6)	0,30(9)

Tableau 15 : Paramètres de maille et positions atomiques extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Cu₂PO₄F-micro préparé par voie céramique



Figure 38 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Cu₂PO₄F-micro préparé par voie céramique

L'affinement par la méthode de Rietveld du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ du même composé obtenu par mécanosynthèse est nettement plus compliqué. En effet, une des quatre distances P-O extraite de l'affinement est incompatible avec la somme des rayons ioniques des ions P⁵⁺ en coordinence [4] et O²⁻ en coordinence [2] tabulés par Shannon ⁽⁹⁾. Par comparaison avec le diagramme du même composé Cu₂PO₄F élaboré par voie céramique (figure 38), l'intensité des pics de diffraction décroit très rapidement entre 35 et 65° en 2 θ sur le diagramme de la poudre nano-structurée (figure 39). Dans ces conditions, il est illusoire de pouvoir affiner les positions des atomes P, O et F qui diffusent peu le rayonnement X. L'affinement de structure proposé est celui qui utilise les positions atomiques du composé préparé par voie céramique, dans lequel seules les deux positions des atomes de cuivre (diffusant le plus le rayonnement X) sont affinés. Le Biso de l'ensemble des atomes a été fixé à 1,5. Le diffractogramme peut être reproduit entièrement et de manière satisfaisante avec une seule phase Cu₂PO₄F. L'affinement partiel reste malgré tout de bonne qualité, comme en témoigne les coefficients de reliabilité (figure 39). Une légère différence au niveau des paramètres de maille par rapport au composé préparé par voie céramique est à relever (tableau 16). De telles variations ont déjà été observées dans le chapitre III entre des échantillons Mg_{1-x}Cu_xO de même composition mais ayant des tailles de grains différentes.

Tableau 16 : Paramètres de maille et positions atomiques des cations Cu²⁺ extraits de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Cu₂PO₄F-nano préparé par mécanosynthèse. Les positions des atomes d'oxygène, de phosphore et de fluor correspondent à celles issues de l'affinement par la méthode de Rietveld de Cu₂PO₄F-micro (tableau 15)

		a (Å)	b (Å)	c (Å)	β	(°)
Cu₂PC	D₄F-nano	12,782(3)	6,186(2)	9,980(3)	119,1	85(9)
Atome	Atome	site	х		у	B _{iso} (Ų)
Cu(1)	8f	0,0599(4) 0,2612	(9) 0,00	025(6)	1,5
Cu(2)	8f	0,3448(5	6) 0,3870	(9) 0,64	468(6)	1,5



Figure 39 : Résultat de l'affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme du composé Cu₂PO₄F-nano préparé par mécanosynthèse

Le diffractogramme du fluorophosphate de zinc s'est également révélé difficile à affiner par la méthode de Rietveld pour les mêmes raisons que précédemment. Un affinement des huit positions des atomes de zinc diffusant le plus le rayonnement X a été mené mais il n'arrive pas à converger. L'affinement par la méthode de Le Bail du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ est proposé à la place, dont les résultats sont présentés dans le tableau 17 et la figure 40 sur la plage 20 comprise entre 10 et 115° (1932 réflexions considérées). Le diffractogramme peut être reproduit entièrement et de manière satisfaisante avec une seule phase Zn_2PO_4F . Les facteurs de reliabilité sont tout à fait corrects, et les paramètres de maille calculés diffèrent de l'ordre de 0,4% par rapport à ceux de la littérature ⁽⁵⁴⁾.



Tableau 17 : Paramètres de maille extraits de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme du composéZn2PO4F-nano préparé par mécanosynthèse

Figure 40 : Résultat de l'affinement par la méthode de Le Bail du diffractogramme du composé Zn₂PO₄F-nano préparé par mécanosynthèse

La filiation des modes de vibration du groupement phosphate dans les deux composés est présentée dans le tableau 18 suivant. Quel que soit le composé considéré Cu_2PO_4F et Zn_2PO_4F , le groupe ponctuel de symétrie C_{2h} est identique et tous les atomes occupent des sites de symétrie C_1 . Dans les deux structures, les groupements phosphate sont indépendants les uns des autres. Seuls les modes de vibrations A_u et B_u de ces groupements sont actifs en spectroscopie infrarouge. Cu_2PO_4F n'ayant qu'un groupement phosphate, la théorie des groupes prédit que son spectre infrarouge devrait présenter 8 bandes de vibrations d'élongation des liaisons v_{PO} et 10 bandes de vibrations de déformation angulaire δ_{OPO} . La structure de Zn_2PO_4F comporte 4 fois plus de groupements phosphate indépendants que la structure de son homologue au cuivre. Par conséquent, le spectre IR de Zn_2PO_4F devrait présenter 4 fois plus de bandes de vibrations que sur celui de Cu_2PO_4F , soit 32 bandes v_{PO} et 40 bandes δ_{OPO} .

Type de vibration	Symétrie du groupement	Symétrie des positions	Symétrie du cristal
	$PO_4^{3-}(T_d)$	atomiques (C ₁)	C _{2h}
V _{(s) PO4}	A ₁	А	$A_g + B_g + A_u + B_u$
$\delta_{(s) \text{ PO4}}$	E	2A	$2A_g + 2B_g + 2A_u + 2B_u$
$ u_{(as)}$ PO4	T ₂	3A	$3A_g + 3B_g + 3A_u + 3B_u$
$\delta_{\text{(as) PO4}}$	T ₂	3A	$3A_g + 3B_g + 3A_u + 3B_u$

Tableau 18 : Affiliation des modes de vibration du groupement phosphate dans Cu₂PO₄F et Zn₂PO₄F

La figure 41 suivante présente les spectres infrarouges expérimentaux des fluorophosphates de cuivre et de zinc élaborés (*i.e.* Cu₂PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano) par mécanosynthèse sur la plage de nombre d'ondes 400 - 4000 cm⁻¹. Aucune hydroxylation des fluorures ne se produit lors de la mécanosynthèse de Cu₂PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano car aucune bande de vibration d'élongation de liaison v_{OH} n'est détectée dans la région 3000 - 4000 cm⁻¹. Ces fluorophosphates et surtout celui au zinc sont donc plus stables que les fluorures des mêmes éléments vis-à-vis de l'hydroxylation. Les deux fluorophosphates présentent plusieurs bandes de vibrations d'élongation P-O dans la région $800 - 1200 \text{ cm}^{-1}$ et de déformations δ_{PO4} et/ou élongation des liaisons M-O en-dessous de 700 cm⁻¹. Le fort recouvrement des bandes entre elles est à l'origine de la diminution apparente du nombre de bandes observées sur le spectre infrarouge par rapport à ce que prédit la théorie des groupes. Le tableau 19 suivant attribue les bandes observées, les épaulements étant marqués d'un astérisque (*).


Tableau 19 : Attributions des bandes observées sur les spectres IR des composés Cu₂PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano. Les épaulements sont marqués d'un astérisque

Figure 41 : Superposition des spectres IR des composés Cu₂PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano

La taille des particules ou des amas étant susceptible d'avoir une incidence sur leur activité bactéricide, une étude morphologique a été réalisée. La figure 42 suivante présente les clichés de MET des deux fluorophosphates Cu₂PO₄F et Zn₂PO₄F préparés par mécanosynthèse. Les amas de particules sont particulièrement volumineux par rapport aux fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ et Mg_{1-x}Zn_xF₂ obtenus par la même technique, avec un diamètre apparent compris entre 200 et 500 nm. Les surfaces spécifiques mesurées par adsorption de diazote (BET), inférieures à 2 m²/g, conduisent même un diamètre d'amas encore plus important, supérieur à 600 nm. La présence d'une gangue amorphe qui entoure la matière cristallisée dans les deux fluorophosphates est également observée sur les clichés de microscopie (figure 42). La taille des domaines de diffraction cohérente a été extraite des diffractogrammes de rayons X. Cette taille, estimée à 12,8 nm pour Cu₂PO₄F et 20 nm pour Zn₂PO₄F, correspond à la taille des particules constituant les amas observés sur les clichés de MET. La variation de distances réticulaires d_{hkl} est de 0,069% pour les deux fluorophosphates, comparable à celle déterminée pour le fluorure de magnésium MgF₂ préparé par mécanobroyage.



Figure 42 : Clichés de microscopie électronique en transmission des composés Cu₂PO₄F-nano (a) et Zn₂PO₄F-nano (b) préparés par mécanosynthèse

Comme pour les fluorures MF₂, ces composés se caractérisent par une forte instabilité sous le faisceau électronique. Quelques clichés de microscopie haute résolution ont toutefois pu être pris. Le cliché MET haute résolution de Cu₂PO₄F montre plusieurs séries de franges de diffraction parallèles orientées différemment (matérialisées en rouge, vert ou bleu sur la figure 43a). La première série, dont la distance inter-réticulaire est de 4,5 ± 0,2 Å peut être attribuée sans ambigüité à la famille de plans (002). La résolution du microscope, les paramètres de maille ainsi que la symétrie cristalline ne permettent cependant pas de déterminer avec certitude l'indexation des deux autres familles de plans. En effet, au moins 4 indexations sont possibles pour chaque famille de plans en tenant compte de l'incertitude sur la mesure de la distance inter-réticulaire (en rouge et en vert sur la figure). Les indexations possibles correspondent à des plans dont les pics sont très intenses sur le diffractogramme de rayons X de la phase Cu₂PO₄F ((202), I = 100%, d = 2,8286 Å ; (021), I = 80%, d = 2,9148 Å ; (-402), I = 57,3%, d = 3,1479 Å, (-313), I = 53,7%, d = 2,8096 Å).

Le phénomène est encore plus marqué pour le composé Zn_2PO_4F qui présente une multitude de séries de franges de diffraction parallèles orientées différemment (dont une partie seulement est matérialisée en rouge sur la figure 43b), avec une distance inter-réticulaire comprise entre 2,8 et 3,2 Å. 28 plans ont des distances inter-réticulaires situées dans cette gamme dont trois correspondent aux pics les plus intenses du diffractogramme de rayons X de la phase Zn_2PO_4F ((-204), I = 100%, d = 2,8547 Å ; (-1-41), I = 84,2%, d = 2,9896 Å ; (202), I = 66,6%, d = 3,1379 Å). 8 familles de plans, d'intensité faible et de même ordre de grandeur peuvent correspondre aux séries de franges de diffraction parallèles matérialisées en bleu sur la figure (en bas à droite). Ces clichés de microscopie haute résolution prouvent néanmoins l'existence de nano-domaines cristallisés et orientés aléatoirement dont les tailles correspondent à la taille des domaines de diffraction cohérente extraite des affinements des diagrammes de rayons X.



Figure 43 : Clichés MET haute résolution des composés Cu₂PO₄F-nano (a) et Zn₂PO₄F-nano (b)

3.4. Substitution du cuivre par le magnésium et le zinc : Cu_{2-x}(Mg,Zn)_xPO₄F

Afin de potentiellement exacerber l'activité bactéricide de Cu₂PO₄F, quelques substitutions du cuivre par le magnésium et le zinc ont été entreprises. Auh et Hummel font mention de quelques substitutions cationiques dans la structure de Cu₂PO₄F. Une solution solide complète Cu_{2-x}Mg_xPO₄F et une autre partielle Cu_{2-x}Zn_xPO₄F limitée à x = 1,2 (60 mol%) sont répertoriées ⁽⁵⁵⁾. L'existence de la première solution solide Cu_{2-x}Mg_xPO₄F reste toutefois discutable, car les auteurs pensaient à l'époque que Mg₂PO₄F et Cu₂PO₄F cristallisaient dans le même groupe d'espace et donc avaient les mêmes structures, ce qui a été contredit par la détermination de la structure de Cu₂PO₄F effectuée par Rea et Kostiner ⁽⁵²⁾ quelques années plus tard. Depuis, les structures cristallines des fluorophosphates de cuivre substitués par le magnésium ou le zinc n'ont jamais été réétudiées. Ce travail va donc également permettre de réexaminer l'influence de la substitution cationique sur l'évolution des paramètres de mailles du composé parent Cu₂PO₄F.

Le même protocole de synthèse que celui utilisé pour préparer Cu_2PO_4F et Zn_2PO_4F a été employé. Partant du phosphate de cuivre $Cu_3(PO_4)_2$ et des fluorures métalliques MF_2 (M=Mg, Cu et Zn), on peut espérer substituer au maximum jusqu'à 25% des atomes de cuivre par le zinc ou le magnésium (formulation limite $Cu_{1,5}M_{0,5}PO_4F$). Pour la substitution avec le magnésium, seules les compositions x = 0,1 et x = 0,25 ont été préparées et sont monophasiques. La composition x = 0,5 n'a pas pu être obtenue du fait de la réaction du mélange avec la zircone de la jarre, conduisant à une phase mal cristallisée similaire à celle obtenue après la tentative de mécanosynthèse de Mg_2PO_4F . Dans le cas de la substitution avec le zinc, les compositions x = 0,1, 0,25 et 0,5 ont été obtenues à partir du phosphate de cuivre et des fluorures CuF_2 et ZnF_2 . Les compositions x = 0,75 et x = 1 ont été préparées en partant d'un phosphate de cuivre mixte $Cu_2Zn(PO_4)_2$ préparé par voie solide (900°C) à partir d'un mélange stœchiométrique de CuO, ZnO et $NH_4H_2PO_4$ et des fluorures CuF₂ et ZnF₂. Les composés ainsi synthétisés sont appelés Cu_{2-x}M_xPO₄F-nano dans la suite de ce chapitre.

La figure 44 suivante présente les diagrammes de rayons X de ces différents fluorophosphates substitués. Ils adoptent tous la structure de Cu_2PO_4F , ce qui laisse supposer que des solutions solides de type $Cu_{2-x}Mg_x(PO_4)F$ (x $\leq 0,25$) et $Cu_{2-x}Zn_x(PO_4)F$ (au moins jusqu'à x ≤ 1) existent.



Figure 44 : Diffractogrammes de rayons X des composés Cu_{2-x}M_xPO₄F-nano (M = Mg, Zn)

L'évolution des paramètres de maille des fluorophosphates extraits des diagrammes de rayons X affinés à l'aide du programme FULLPROF ⁽⁷⁾ et avec la même méthode que celle utilisée pour le composé parent Cu₂PO₄F-nano est présentée sur la figure 45 (affinement des positions atomiques et des taux d'occupation des cations M^{2+} uniquement). Quelle que soit la substitution cationique, les paramètres de maille a, b et c ainsi que le volume présentent la même évolution en fonction du cation substituant. Seul l'angle β présente une évolution opposée, avec une augmentation dans le cas du magnésium et une diminution dans le cas du zinc. Certains paramètres de maille de la solution solide Cu_{2-x}Zn_x(PO₄)F-nano présentent une évolution quadratique plutôt que linéaire. Il s'agit du paramètre de maille a et de l'angle β . Les autres paramètres ainsi que le volume de maille présentent une évolution linéaire avec le taux de substitution. La substitution du cuivre par le magnésium se fait préférentiellement sur le site métallique 1. Dans le cas de la substitution du cuivre par le zinc, la substitution ne se fait que sur le site 1 pour les compositions x = 0,1 et x = 0,25. Pour les compositions supérieures (x ≥ 0,5), la substitution se fait préférentiellement sur le site 2.

L'absence de modèle structural (positions atomiques des oxygène, du phosphore et du fluor non affinées) ne permet pas de déterminer l'origine des variations des paramètres de maille par mesure des distances cation-anion. D'après Shannon, le rayon ionique de l'ion Zn^{2+} (0,74 Å) est supérieur à celui de l'ion Cu^{2+} (0,73 Å) en coordinence [6] ⁽⁹⁾. Par conséquent, une augmentation des paramètres de maille doit être observée. Si c'est bien le cas pour les paramètres de maille a et b (augmentations avec x), l'évolution dans le sens contraire du paramètre de maille c est surprenante. Dans le cas de la substitution par le magnésium, les évolutions sont encore plus inattendues car identiques à celles observées dans le cas de la substitution par le zinc (sauf pour l'angle β), alors que le rayon ionique de l'ion Mg^{2+} est inférieur (0,72 Å) à celui de l'ion Cu^{2+} en coordinence [6] ⁽⁹⁾. La substitution du cuivre par le magnésium ou le zinc doit donc entraîner des effets complexes sur la géométrie des polyèdres de coordination, qui expliqueraient l'évolution des paramètres de maille observée.



Figure 45 : Evolutions des paramètres de maille, du volume de maille et du taux d'occupation du site cationique n°1 avec le taux de substitution x dans les composés Cu_{2-x}M_xPO₄F-nano (M = Mg, Zn)

4. Stabilité des fluorures et des fluorophosphates vis-à-vis de l'hydrolyse

4.1. Stabilité des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ et Mg_{1-x}Zn_xF₂

L'activité bactéricide des produits est évaluée dans l'eau. Par ailleurs, tout agent bactéricide utilisé est exposé à l'air ambiant humide. Il est donc primordial de connaître la stabilité des produits dans les conditions d'évaluation de l'activité bactéricide et d'utilisation potentielle du produit. Le fluorure de cuivre est connu pour être particulièrement instable vis-à-vis de l'humidité. Il se transforme en quelques minutes en fluorure de cuivre dihydraté CuF2.2H2O, puis en hydroxyfluorure de cuivre Cu(OH)F, ce qui n'est pas le cas du fluorure de magnésium. Qu'en est-il des composés mixtes Mg₁-_xCu_xF₂ ? Une première étude a consisté à suivre par diffraction des rayons X le comportement des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ vis-à-vis de l'air ambiant humide sur une période de six semaines (figure 46). Pour les composés les plus substitués (x = 0,15 et x = 0,20), un pic de diffraction vers 19° en 2θ correspondant à la réflexion (110) du fluorure de cuivre dihydraté CuF₂.2H₂O apparaît dès la première semaine d'exposition. Une exsolution du cuivre provoquée par l'hydratation a donc lieu. Pour la composition x = 0,10, ce pic n'est détecté qu'au bout de trois semaines. Enfin, aucune trace de fluorure de cuivre dihydraté n'est perceptible sur le diffractogramme de la composition x = 0,05au bout de six semaines d'exposition à l'air ambiant humide. La quantité de CuF2.2H2O formée est probablement trop faible dans ce dernier échantillon pour être détectable par diffraction des rayons Х.



Figure 46 : Suivi par diffraction des rayons X de la stabilité en conditions ambiantes de température et d'humidité des compositions de la solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂

La stabilité dans l'eau a également été étudiée sur deux composés emblématiques de la série MgF_2 (le plus stable à l'atmosphère) et $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$ (le moins stable à l'atmosphère). Le suivi de l'hydratation a été réalisé par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. Comme attendu, la composition x = 0 reste stable vis-à-vis de l'hydrolyse même après 16 heures d'immersion dans l'eau (figure 47a). Aucune trace de fluorure de cuivre dihydraté n'est perceptible sur le diffractogramme de la composition x = 0,20 après 16 heures d'immersion (figure 47b). Par ailleurs, aucune bande de vibration v_{OH} n'est détectée dans la gamme de nombre d'ondes 3000-4000 cm⁻¹ des spectres infrarouge des deux composés MgF₂ et Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂. Par conséquent, aucune substitution partielle des ions fluorure par des groupements OH⁻ ne se produit, qui aurait pu conduire *in fine* à la formation de Cu(OH)F. Si d'après ces mesures, le composé Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂ semble *a priori* stable, ce résultat est surprenant. Il était attendu que la cinétique d'exsolution du cuivre provoquée par l'hydratation du composé Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂ soit considérablement accélérée par l'immersion prolongée dans l'eau. La seule hypothèse vraisemblable est qu'une dissolution partielle de la particule se produise dans l'eau avec le temps, conduisant à la dissolution de la seconde phase CuF₂.2H₂O.



Figure 47 : Diffractogrammes et spectres IR des fluorures MgF₂ (a) et Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂ (b) après 16 heures d'immersion dans l'eau

Comme pour les fluorures $Mg_{1-x}Cu_xF_2$, la stabilité des fluorures $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ vis-à-vis de l'humidité a été évaluée. La figure 49 présente les diagrammes de rayons X et les spectres infrarouge des fluorures $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ collectés après six mois passés à l'extérieur de la boîte à gants (stabilité vis-à-vis de l'humidité relative ambiante). Aucun produit d'hydrolyse n'a été détecté par diffraction, prouvant la stabilité accrue de cette solution solide vis-à-vis de l'humidité ambiante, contrairement à la série $Mg_{1-x}Cu_xF_2$. Par ailleurs, aucune bande de vibration v_{OH} n'est détectée dans la gamme de nombre d'ondes 3000-4000 cm⁻¹ des spectres infrarouge des composés $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ (figure 48). Par conséquent, la faible substitution des ions fluorure par des groupements OH⁻ mise en évidence par RMN-MAS n'est pas détectable par spectroscopie infrarouge et ne semble pas s'accentuer avec le temps d'exposition à l'humidité de l'air. La stabilité de la composition x = 0,15 a également été évaluée par immersion dans l'eau en appliquant le même protocole que pour les fluorures mixtes Mg_{1-x}Cu_xF₂. Aucun produit d'hydrolyse n'a été détecté après 16 heures (figure 49).



Figure 48 : Diffractogrammes et spectres IR des fluorures Mg_{1-x}Zn_xF₂ collectés au bout de 6 mois passés à l'extérieur de la boîte à gants



Figure 49 : Diffractogrammes et spectres IR du fluorureMg_{0,85}Zn_{0,15}F₂ après 16 heures d'immersion dans l'eau

4.2. Stabilité des fluorophosphates Cu₂PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano

La stabilité de Cu₂PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano dans l'eau a été évaluée sur une période allant jusqu'à 16h d'immersion dans l'eau. Le suivi de l'hydratation éventuelle a été réalisé par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. Aucun produit d'hydrolyse n'est détecté par diffraction après l'immersion du fluorophosphate de cuivre pendant 16 heures, ce qui laisse supposer que ce composé est stable sur cette période (figure 50a). En revanche, d'après les diffractogrammes collectés, le fluorophosphate de zinc n'est pas stable dans l'eau puisqu'un phosphate de zinc hydraté Zn₃(PO₄)₂.4H₂O se forme au bout de 3 heures d'immersion, et dont la quantité augmente ensuite avec le temps (figure 50b). Sur tous les diffractogrammes, le fluorophosphate de zinc reste encore présent en grande quantité même après 16 heures d'immersion, ce qui signifie que le processus d'hydrolyse est tout de même lent. L'équation bilan de cette réaction d'hydrolyse/décomposition serait : Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?

$$Zn_2(PO_4)F \xrightarrow{hydrolyse} (1-x)Zn_2(PO_4)F + \frac{3}{2}x Zn_3(PO_4)_2 \cdot 4H_2O + \frac{1}{2}x ZnF_2$$

Cette équation fait apparaître la formation de ZnF₂. Pourtant, aucune trace de ZnF₂ ou de ZnF₂.4H₂O n'est détectée sur les diffractogrammes. L'explication réside dans la forte solubilité de ZnF₂.4H₂O, qui est de 15,16 g/L d'après Carter ⁽⁵⁶⁾. Compte tenu des quantités de fluorophosphate de départ (30 mg dans 3 mL d'eau), le ZnF₂ éventuellement formé doit se dissoudre intégralement dans l'eau, expliquant ainsi l'absence de pics de diffraction caractéristiques de ZnF₂ ou de ses produits d'hydrolyse (ZnF₂.4H₂O, Zn(OH)F). L'absence de bandes de vibration d'élongation de liaison v_{OH} dans la région 3000 - 4000 cm⁻¹ du spectre infrarouge étaye cette hypothèse.



Figure 50 : Diffractogramme de rayons X et spectres IR des fluorophosphates Cu₂PO₄F-nano (a) et Zn₂PO₄F-nano (b) après 16 heures d'immersion dans l'eau

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?

5. Evaluation de l'activité bactéricide des composés vis-à-vis d'E. coli

Par manque de temps, l'activité bactéricide de l'ensemble des fluorures mixtes préparés dans le cadre de cette thèse à été évaluée uniquement vis-à-vis d'*E. coli* sur un temps de contact maximal de 3 heures.

5.1. Activité bactéricide des fluorures Mg_{1-x}(Cu,Zn)_xF₂

Les activités bactéricides à différents temps de contact sont rassemblées dans le tableau 20 cidessous. Il ressort que MgF₂ ne présente presque aucune activité bactéricide, et confirme de ce fait le caractère uniquement bactériostatique de son action mise en évidence par Lellouche *et coll.* ^(1, 2). Cependant, une activité bactéricide apparaît dès lors qu'une fraction des ions magnésium et substituée par les ions cuivriques. Elle devient particulièrement significative au bout de 3 heures de contact, avec une réduction log comprise entre 2,7 et plus de 7 en fonction de la teneur en cuivre dans le fluorure (figure 51).

Tableau 20 : Activité bactéricide des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ exprimées en pourcentage et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*), n=1)

	Temps de contact (min)	log(N₀)	% Réduction	Log(N₀/N)
	0	7,01±0,01	-	-
	15		63,7±5,5	0,44±0,07
x = 0	30		60,8±4,2	0,41±0,05
	60		58,3±10,4	0,39±0,11
	180		64,5±3,9	0,45±0,05
	0	6,81±0,13	-	-
	15		93,9±5,4	1,32±0,45
x = 0,05	30		95,8±5,0	1,64±0,75
	60		98,3±2,2	2,12±0,90
	180		99,7±0,4	3,49±1,69
	0	6,81±0,13	-	-
	15		97,0±1,2	1,54±0,18
x = 0,10	30		98,6±1,1	1,95±0,41
	60		99,1±0,7	2,11±0,38
	180		100,0±0,1	3,80±0,79
	0	6,86±0,21	-	-
	15		98,9±1,5	3,34±2,36
x = 0,15	30		99,7±0,4	3,46±1,73
	60		99,8±0,3	4,05±2,32
	180		100,0±0,1	6,13±1,24

	Temps de		%	Log(N₀/N)	
	contact (min)	log(IN ₀)	Réduction		
x = 0,20	0 (*)	7,01	-	-	
	15 (*)		100,0	5,73	
	30 (*)		100,0	6,23	
	60 (*)		100,0	7,01	
	180 (*)		100,0	7,01	

Tableau 20 (suite) : Activité bactéricide des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ exprimées en pourcentage et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*), n=1)





Figure 51 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des fluorures Mg_{1-x}Zn_xF₂ vis-à-vis d'*E*. *coli* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour la composition x=0,2 ; n=1)

L'activité bactéricide des fluorures substitués zinc n'a été évaluée qu'au bout de 3 heures de contact vis-à-vis d'*E. coli*, les activités associées étant particulièrement faibles (< 1 log de réduction) comparées à celles des fluorures de magnésium substitués cuivre. Les résultats, présentés sur la figure 52, sont ainsi exprimés en pourcentages de réduction au lieu de réductions logarithmiques. L'activité des échantillons diminue même avec la teneur en zinc pour n'atteindre que 29,5% au bout de 3 heures de contact pour la composition x = 0,15. Le composé parent ZnF_2 est plus actif que la composition x = 0,15 et réduit la viabilité d'*E. coli* de 73,5% sur le même laps de temps.

 Tableau 21 : Activité bactéricide au bout de 3 heures des fluorures Mg_{1-x}Zn_xF₂ vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

Mg _{1-x} Zn _x F ₂	log(N₀)	% Réduction	Log(N₀/N)
x = 0,05	6,95±0,01	51,5±14,3	0,32±0,13
x = 0,10	6,92±0,03	35,1±7,2	0,19±0,05
x = 0,15	6,85±0,07	29,5±13,0	0,16±0,08
x = 1	6,84±0,14	73,5±2,3	0,58±0,04



Figure 52 : Comparaison des activités bactéricides au bout de 3 heures des fluorures Mg_{1-x}Zn_xF₂ vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

D'après la littérature, les ions Cu²⁺ et Zn²⁺ présentent une activité bactéricide significative même à des concentrations faibles ⁽⁵⁷⁾. Toutefois, nous avons montré dans les chapitres précédents que les ions Cu²⁺ issus de la dissolution des particules au contact de l'eau avaient un impact limité (voire nul pour certains composés) sur l'activité bactéricide observée. La concentration en ions Mg²⁺, Cu²⁺ et Zn²⁺ déterminée par spectroscopie d'émission atomique a toutefois été mesurée sur MgF₂, Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂, Mg_{0,85}Zn_{0,15}F₂ et ZnF₂. Les résultats sont présentés dans le tableau 22 suivant. La concentration en ions Mg²⁺ relevée dans le surnageant de MgF₂ après son immersion dans l'eau atteint 21,5 mg/L au bout de 3 heures. D'après la littérature, la constante de solubilité de MgF₂ est de 5,16.10⁻¹¹. La concentration théorique en ions Mg²⁺ dans le surnageant devrait donc être voisine de 5,62 mg/L. Les valeurs reportées dans le tableau 22 au bout de 3 heures et 24 heures d'immersion dans l'eau sont plus de quatre fois supérieures à celle prédite par la théorie. Une dissolution des particules de MgF₂ se produit donc.

Tableau 22 : Concentrations en ions M ²⁺ déterminées par spectroscopie d'émission d'absorption atomique dans le
surnageant après immersion de particules des fluorures MgF ₂ , Mg _{0,8} Cu _{0,2} F ₂ et Mg _{0,85} Zn _{0,15} F ₂ et ZnF ₂ (1g/L) dans l'eau
pendant 3 et 24 heures à température ambiante

	MgF ₂	$Mg_{0,80}Cu_{0,20}F_2$		$Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_{2}$		ZnF ₂
[M ²⁺] en mg/L [M ²⁺] en μmol/L	Mg ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺	Zn ²⁺	Zn ²⁺
3 houros	21,5	23,6	30,2	28,0	34,1	473
Sheares	885	971	475	1152	522	7234
24 hours	20,2	23,4	36,8	26,0	44,6	-
24 neures	831	963	579	1070	682	-

Pour la composition $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$, la concentration en ions Mg^{2+} libérés dans l'eau est supérieure à celle mesurée pour MgF_2 , bien que la teneur en magnésium soit 20% plus faible dans le fluorure mixte. Il est également attendu que la concentration en ions cuivriques libérés dans l'eau soit quatre fois plus faible (\approx 243 µmol/L) que celle en ions magnésium. Or la concentration en ions Cu^{2+} déterminée expérimentalement au bout de 3 heures d'immersion est deux fois plus élevée que la concentration prédite. Elle atteint en effet 30,2 mg/L au bout de 3 heures. Il s'agit d'une valeur assez élevée, proche de celle observée pour l'hydroxypyrophosphate de cuivre $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ du chapitre V. Or, on a vu qu'il présentait une activité assez limitée vis-à-vis d'*E. coli* (réduction de 70,9% au bout de 3 heures de contact). Il n'est pas exclu qu'une partie de l'activité bactéricide des fluorures $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ soit liée aux ions Cu^{2+} présents dans le surnageant.

Le mécanisme à l'origine de la forte concentration en ions Cu²⁺ relevée dans le surnageant du fluorure mixte Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂ par rapport à celle de Mg²⁺ doit être discuté. Dans l'étude de la stabilité des fluorures Mg_{1-x}Cu_xF₂ vis-à-vis de l'hydrolyse (paragraphe 4.1 de ce chapitre), dans le cas d'une réaction entre le solide et la vapeur d'eau, la phase hydratée CuF₂.2H₂O a été détectée par diffraction des rayons X (figure 49) car elle ne peut se dissoudre. Dans le cas d'une réaction entre le solide et l'eau liquide, aucun produit d'hydrolyse n'a été observé sur les diffractogrammes (figure 50). D'après la littérature, CuF₂ présente une solubilité élevée (750 mg/L) ⁽⁵⁶⁾, contrairement à MgF₂ (14,6 mg/L) ⁽⁵⁸⁾. La solubilité de CuF₂.2H₂O, qui n'est pas connue dans la littérature, doit être également tout aussi élevée. Lorsque les particules de Mg_{1-x}Cu_xF₂ sont immergées, tout le CuF₂.2H₂O potentiellement formé par exsolution du cuivre se dissout dans l'eau, induisant ainsi une forte concentration en ions Cu²⁺ relevée dans le surnageant de Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂ par rapport à celle de Mg²⁺.

Pour le composé $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$, la concentration en ions Mg^{2+} libérés dans l'eau par la composition $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$ est également supérieure à celle mesurée pour MgF_2 , bien que la teneur en magnésium soit 15% plus faible (tableau 22). Comme dans le cas de $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$, la concentration en ions Zn^{2+} relevée dans le surnageant de $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$ est largement supérieure à ce que prédit la théorie. Elle s'explique par la très forte solubilité de ZnF_2 , de 0,75 g/L au bout de 3 heures d'immersion d'après les analyses par spectroscopie d'émission atomique. Le fluorure de zinc hydraté $ZnF_2.4H_2O$ est encore plus soluble d'après la littérature (15,16 g/L d'après ⁽⁵⁶⁾). Pour les mêmes raisons que dans le cas de $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$, la plus faible solubilité de MgF_2 par rapport à ZnF_2 (et $ZnF_2.4H_2O$) devrait expliquer pourquoi la concentration en ions Zn^{2+}

Le rôle des ions Zn^{2+} libérés par la dissolution des fluorures $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ sur l'activité bactéricide vis-àvis d'*E. coli* doit encore être discuté. Les activités de $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$ et de ZnF_2 vis-à-vis d'*E. coli* sont relativement faibles (respectivement 29,5% et 73,5% au bout de 3 heures de contact), alors que les concentrations en ions Zn^{2+} relevées dans les surnageants sont importantes (respectivement 34,1 mg/L et 473 mg/L au bout de 3 heures d'immersion dans l'eau). Compte tenu de ces valeurs et des activités bactéricides observées, l'ion Zn²⁺ pourrait participer à l'activité bactéricide du composé. Toutefois, son effet est vraisemblablement faible car les concentrations à atteindre seraient très élevées (473 mg/L pour ZnF₂), pour au final ne conférer qu'une activité assez limitée (réduction de seulement 73,5% au bout de 3 heures de contact).

Comme vu dans les chapitres précédents, le pH des surnageants, même acide (cas de l'hydroxypyrophosphate de cuivre $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ du chapitre V) a un rôle limité sur l'activité bactéricide des composés synthétisés. Il a été malgré tout mesuré sur quelques fluorures. Les résultats sont présentés sur la figure 53. Tous les surnageants sont légèrement acides, avec un renforcement de l'acidité en présence de cuivre ou de zinc. Toutefois, il faut garder à l'esprit que l'eau désionisée utilisée est en équilibre avec le CO₂ atmosphérique, et est donc aussi légèrement acide (pH = 5,75). Les surnageants restent surtout bien moins acides que celui de l'hydroxypyrophosphate de cuivre (pH inférieur à 3 dès les 15 premières minutes d'immersion). Au bout de 3 heures de contact, le pH est de 6,26 pour MgF₂, contre 5,73 pour Mg_{0.9}Cu_{0.1}F₂ et 5,65 pour Mg_{0.8}Cu_{0.2}F₂. Cette valeur est de 6,17 pour Mg_{0.85}Zn_{0.15}F₂ et 6,03 pour ZnF₂. Il n'y a donc pas eu d'acidification du milieu autre que celle provenant de l'eau désionisée elle-même. Compte tenu de la littérature ⁽⁵⁹⁻⁶³⁾ et des résultats des chapitres précédents, il improbable que le caractère légèrement acide du surnageant soit responsable de l'activité bactéricide des fluorures aux temps d'immersion considérés (inférieurs à 3 heures). Cette hypothèse est validée par les valeurs d'UFC/mL observées dans l'eau désionisée aux temps d'analyse considérés (témoins réalisés pour chaque série d'essais).



Figure 53 : Evolution du pH du surnageant après immersion de particules des fluorures MgF₂, Mg_{0,9}Cu_{0,1}F₂ et Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂ d'une part (a) et des fluorures MgF₂, Mg_{0,85}Zn_{0,15}F₂ et ZnF₂ d'autre part (b) relevés sur une période de 3 heures

5.2. Activité bactéricide des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F

Le potentiel bactéricide des hydroxyfluorures a été évalué vis-à-vis d'*E. coli.* Les résultats des dénombrements d'UFC/mL et des réductions logarithmiques sont présentés respectivement dans le tableau 23 et sur la figure 54. Zn(OH)F présente une faible activité bactéricide (inférieures à 90% soit 1 log) pour les temps de contact courts de 15 et 30 minutes. L'activité bactéricide de Cu(OH)F est bien plus forte. Elle atteint déjà 2,70 log dès 15 minutes et détruit l'intégralité de l'*inoculum* au bout de 3 heures de contact. La réduction ne dépasse pas 2,53 log pour Zn(OH)F.

Tableau 23 : Activité bactéricide des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*), n=1)

	Temps de	log(N_)	%	Log(N₀/N)	
	contact (min)	10g(1v ₀)	Réduction		
	0	6,93±0,02	-	-	
	15 (*)		99,8	2,70	
Cu(OH)F	30 (*)		100,0	3,55	
	60		100,0±0,1	6,21±0,20	
	180		100,0±0,1	> 6,93	
	0	6,82±0,07	-	-	
	15		75,4±23,2	0,74±0,49	
Zn(OH)F	30		88,8±9,0	1,04±0,40	
	60		94,7±6,0	1,50±0,67	
	180		99,7±0,1	2,53±0,12	



Figure 54 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F vis-à-vis *d'E. coli* exprimée en log de réduction (moyenne ± ET, n=2, sauf pour les temps à 15 et 30 min de Cu(OH)F ; n=1)

Comme précédemment pour les fluorures MF_2 , la solubilité de Cu(OH)F dans l'eau a été évaluée en déterminant la quantité d'ions Cu²⁺ libérés au bout de 3 et 24 heures dans le surnageant par spectroscopie d'émission atomique (tableau 24). Les concentrations déterminées pour Cu(OH)F sont plus faibles que celles mesurées pour $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$ dont la fraction molaire en cuivre est 5 fois plus faible. La présence de groupements OH⁻ dans la formulation a donc pour effet de réduire la

dissolution des particules fluorées dans l'eau. Les concentrations mises en jeu restent importantes par rapport à la plupart des composés inorganiques à base de cuivre étudiés dans le cadre de cette thèse. La solubilité calculée de Cu(OH)F est de 37 mg/L au bout de 24 heures, se rapprochant de celle de l'hydroxyde Cu(OH)₂ (1,5 mg/L) plutôt que de celle du fluorure CuF₂ (750 mg/L d'après ⁽⁵⁶⁾). Comme dans le cas des fluorures $Mg_{1-x}Cu_xF_2$, les ions Cu^{2+} n'auraient pas de rôle sur l'activité bactéricide de Cu(OH)F. En effet, la concentration en ions Cu^{2+} mesurée dans le surnageant n'est que de 23,5 mg/L au bout de 24 heures d'immersion. Celle mesurée pour l'hydroxypyrophosphate de cuivre $Cu_3(P_2O_6OH)_2$ était de 45 mg/L, composé pour lequel l'activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* était très limitée (réduction de seulement 70,9% au bout de 3 heures de contact).

Zn(OH)F est encore plus soluble dans l'eau que Cu(OH)F, avec une solubilité calculée de 103 mg/L au bout de 24 heures (tableau 24). De plus, l'équilibre de dissolution de Zn(OH)F est plus lent à atteindre, avec une augmentation de la concentration en ions Zn²⁺ de 24% entre 3 heures et 24 heures alors qu'elle n'était que de 2,6% pour Cu(OH)F. Un constat similaire à celui réalisé pour Mg₁₋ $_x$ Zn_xF₂ et ZnF₂ peut être fait pour Zn(OH)F, à savoir que les ions Zn²⁺ participent peu à l'activité bactéricide observée. En effet, l'activité bactéricide de Zn(OH)F est bien plus forte que celle de ZnF₂, alors qu'il est bien moins soluble (concentration en ions Zn²⁺ de 53,7 mg/L au bout de 3 heures d'immersion pour Zn(OH)F, contre 473 mg/L pour ZnF₂).

La figure 55 présente l'évolution du pH des surnageants après leur immersion dans l'eau. Le pH du surnageant de Cu(OH)F est plus acide que celui de Zn(OH)F, dont ce dernier est proche de la neutralité (pH = 6,70 après 3 heures d'immersion). En revanche, le surnageant de Cu(OH)F est légèrement moins acide que celui de $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$ (pH de 6,02 contre 5,65 au bout de 3 heures). Par conséquent, il est fort peu probable que le pH du surnageant ait un rôle dans l'activité bactéricide du composé.

Tableau 24 : Concentrations en ions Cu²⁺ déterminées par spectroscopie d'émission d'absorption atomique dans le surnageant après immersion de particules des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F (1g/L) dans l'eau pendant 3 et 24 heures à température ambiante

	[Cu ²⁺] en ppm <i>(en µmol/L)</i>	[Zn ²⁺] en ppm <i>(en µmol/L)</i>
3 heures	22,9 (360)	53,7 (821)
24 heures	23,5 <i>(370)</i>	66,6 <i>(1019)</i>

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?



Figure 55 : Evolution du pH du surnageant après immersion de particules des hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F relevés sur une période de 3 heures

5.3. Activité bactéricide des fluorophosphates

Comme montré dans le chapitre III, la taille des particules a un effet important sur l'activité bactéricide du composé. Cette tendance est vérifiée lorsque l'on compare l'activité de Cu_2PO_4F préparé par voie céramique (« micro ») avec celle du composé préparé par mécanosynthèse (« nano ») vis-à-vis d'*E. coli* (tableau 25 et figure 56). Au bout de 15 minutes de contact, la réduction est de 0,65 log (soit 77,69%) pour Cu_2PO_4F -micro alors qu'elle est de 1,93 log (soit 98,8%) pour Cu_2PO_4F -nano. Au bout de 3 heures, la réduction est de respectivement 2,85 log et 6,36 log pour le composé micro et nano. L'activité de Zn_2PO_4F -nano est nettement plus faible que celle de Cu_2PO_4F -nano préparé dans les mêmes conditions, avec une réduction maximale de seulement 0,60 log (soit 75%) au bout de 3 heures.

Compte tenu des écart-types associés, la substitution du cuivre par le magnésium ou le zinc dans le composé Cu₂PO₄F-nano n'apporte pas de gain majeur au niveau de la cinétique de bactéricidie du composé vis-à-vis d'*E. coli* (tableau 26 et figure 57). Quel que soit le temps de contact considéré, l'activité bactéricide du composé substitué est identique, aux écart-types près, à celle de Cu₂PO₄F-nano. Pour les mêmes raisons, la substitution n'impacte pas non plus de manière négative la bactéricidie du fluorophosphate.

	Temps de	Femps de		
	contact (min)	10g(14 ₀)	76 Neudection	
	0 (*)	7,29	-	-
	15 (*)		72,0	0,55
micro	30 (*)		81,9	0,74
	60 (*)		95,1	1,31
	180 (*)		99,8	2,75
	0	7,09±0,29	-	-
Cu₂PO₄F	15		99,1±0,9	2,23±0,60
nano	30 (*)		99,9	3,56
	60 (*)		100,0	4,53
	180		100,0±0,1	6,56±0,45
	0	7,04±0,20	-	-
Zn ₂ PO ₄ F	15		51,1±17,9	0,33±0,16
nano	30		67,2±1,5	0,48±0,02
	60		64,5±9,9	0,46±0,12
	180		72,6±11,3	0,58±0,18
C	Cu ₂ PO ₄ F Cu ₂ PO ₄ F micro nano	Zn ₂ PO ₄ F Cu ₂ PO nano micro	0₄F Cu₂PO₄F Zn₂ o nano na	PO₄F ano
7 6	min	_ 30 min		
5 - 4 -				- 5
lité ¹ N →				E. cc
g(N g(N			_	uctio
				0 → 0n 7 @ ≤
oli e	min	- 180 mi	n	6 (No/
Réo F. C				4 Z te
3 - 2 -				- 3 - 2
1 - 0				- 1 - 0
C	Cu ₂ PO ₄ F Cu ₂ PO ₄ F micro nano	Zn ₂ PO ₄ F Cu ₂ PO nano micro	₄ F Cu ₂ PO ₄ F Zn ₂ o nano na	PO₄F ano

Tableau 25 : Activité bactéricide des fluorophosphates Cu₂PO₄F-micro et nano et Zn₂PO₄F-nano exprimées en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour les points marqués d'un astérisque (*), n=1)

Figure 56 : Comparaison pour chaque temps de contact des activités bactéricides des fluorophosphates Cu₂PO₄F-micro et nano et Zn₂PO₄F-nano vis-à-vis d'*E. coli* exprimées en log de réduction (moyenne ± ET, n=2 sauf pour Cu₂PO₄F-micro et nano ; n=1)

Tableau 26 : Activité bactéricide des fluorophosphates Cu_{2-x}Mg_xPO₄F-nano et Cu_{2-x}Zn_x(PO₄)F-nano (préparés par mécanosynthèse) exprimée en pourcentages et en log de réduction (moyenne ± ET, n=2)

	Temps de contact (min)	log(N₀)	% Réduction	Log(N₀/N)
	0	6,95±0,33	-	-
	15		98,7±0,6	1,92±0,23
Cu _{1,9} Mg _{0,1} (PO ₄)F	30		99,8±0,1	2,64±0,02
	60		100,0±0,1	3,78±0,01
	180		100,0±0,1	6,41±0,44
	0	7,03±0,20	-	-
	15		99,5±0,5	2,45±0,51
Cu _{1,75} Mg _{0,25} (PO ₄)F	30		99,9±0,1	3,23±0,47
	60		100,0±0,1	4,33±0,89
	180		100,0±0,1	6,40±1,08
	0	7,00±0,07	-	-
	15		99,3±0,2	2,16±0,14
Cu _{1,75} Zn _{0,25} (PO ₄)F	30		99,8±0,2	2,91±0,48
	60		99,8±0,3	3,60±1,71
	180		100,0±0,1	5,95±1,43
	0	7,03±0,20	-	-
	15		99,5±0,2	2,39±0,42
Cu _{1,5} Zn _{0,5} (PO ₄)F	30		99,9±0,1	2,87±0,25
	60		100,0±0,1	3,67±0,40
	180		100,0±0,1	6,03±1,22







Les concentrations en ions métalliques dans les surnageants après immersion dans l'eau de quelques fluorophosphates (Cu₂PO₄F-nano, Cu_{1,75}Mg_{0,25}PO₄F-nano, Cu_{1,75}Zn_{0,25}PO₄F-nano et Zn₂PO₄F-nano) préparés par mécanobroyage ont été déterminées. Les résultats montrent que tous les fluorophosphates de cuivre sont très peu solubles, avec une concentration en ions Cu²⁺ comprise entre 2,56 et 4,19 mg/L au bout de 24 heures d'immersion. Elles sont 4 fois plus faible que la quantité d'ions Cu²⁺ libérée par l'hydroxyfluorure Cu(OH)F. Pourtant, les teneurs en cuivre dans les deux composés sont assez comparables : 527 mg/L pour Cu₂PO₄F, et 638 mg/L pour Cu(OH)F. La solubilité calculée de Cu₂PO₄F est de 7,4 mg/L, contre 37 mg/L pour Cu(OH)F. La quantité d'ions Cu²⁺ libérés par les composés dans le surnageant est donc liée à leur comportement vis-à-vis de la dissolution, et non pas de leur teneur en cuivre. Ceci est encore plus vrai si on compare les quantités d'ions Cu²⁺ libérés par Cu₂PO₄F et Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂. Elle est 8 fois plus importante pour Mg_{0,8}Cu_{0,2}F₂, alors que ce composé contient 3 fois moins de cuivre (181 mg/L) que Cu₂PO₄F.

Ces fluorophosphates de cuivre substitués se caractérisent aussi par une très faible augmentation de la concentration en ions Cu^{2+} , Mg^{2+} et Zn^{2+} avec le temps, de quelques dixièmes de mg/L. L'introduction de groupements phosphate dans les formulations de fluorures de cuivre a donc eu un effet bénéfique sur leur stabilité. Le ratio Cu^{2+}/M^{2+} n'est pas non plus respecté au niveau des concentrations dans le surnageant comme dans le cas des fluorures $Mg_{1-x}(Cu,Zn)_xF_2$, avec une concentration en ions Mg^{2+} ou Zn^{2+} supérieure à ce que prédit la formulation du composé. Compte tenu des faibles concentrations en ions Cu^{2+} et Zn^{2+} , et des travaux précédents, le rôle de ces ions sur l'activité bactéricide des fluorophosphates $Cu_{2-x}(Mg,Zn)_xPO_4F$ parait négligeable.

Le fluorophosphate de zinc est plus soluble que son homologue au cuivre et surtout la concentration en ions Zn^{2+} continue d'augmenter après 3 heures d'immersion. Ceci est en accord avec une dissolution du ZnF_2 libéré par la décomposition, hypothèse émise précédemment (voir paragraphe 4.2). La concentration en ions Zn^{2+} déterminée après 24h d'immersion pour Zn_2PO_4F reste néanmoins 5 et 8 fois plus faible que la concentration libérée respectivement par $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$ et Zn(OH)F, malgré des teneurs en zinc comparables (534 mg/L pour Zn_2PO_4F , 645 mg/L pour Zn(OH)F) ou nettement supérieures (143 mg/L pour $Mg_{0,85}Zn_{0,15}F_2$). Comme dans le cas des fluorophosphates de cuivre, la quantité d'ions Zn^{2+} libérés par les composés dans le surnageant ne dépend que de son comportement vis-à-vis de la dissolution. La solubilité calculée pour Zn_2PO_4F est de 14,4 mg/L au bout de 24 heures d'immersion. Elle est 7 fois supérieure dans le cas de Zn(OH)F (103 mg/L) et surtout, elle est 50 fois inférieure à celle de Zn_2P_2 , alors que ce composé est tout aussi peu actif que Zn_2PO_4F . L'activité bactéricide de Zn_2PO_4F n'est donc pas expliquée par la concentration en ions Zn^{2+} dans le surnageant. Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?

L'évolution du pH des surnageants de quelques fluorophosphates a également été suivie sur un temps maximal de 3 heures d'immersion dans l'eau. Les résultats sont présentés en figure 58. Aucun fluorophosphate ne présente une acidité plus forte que celle des fluorures $Mg_{1-x}(Cu,Zn)_xF_2$. Par conséquent, il est fort probable qu'il n'ait pas un rôle quelconque sur l'activité bactéricide observée.

Tableau 27 : Concentrations en ions M²⁺ déterminées par spectroscopie d'émission atomique dans le surnageant après immersion de particules de Cu₂PO₄F-nano, Zn₂PO₄F-nano, Cu_{1,75}Mg_{0,25}PO₄F-nano et Cu_{1,75}Zn_{0,25}PO₄F-nano (1g/L) (préparés par mécanosynthèse) dans l'eau pendant 3 et 24 heures à température ambiante.

	Cu ₂ PO ₄ F	Zn ₂ PO ₄ F	Cu _{1,75} M	g _{0,25} PO ₄ F	Cu _{1,75} Zı	n _{0,25} PO ₄ F
[M ²⁺] en ppm <i>(µmol/L)</i>	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺
3 heures	3 <i>,</i> 80 <i>(60)</i>	4,75 (73)	2,37 (37)	0,29 <i>(12)</i>	3,94 <i>(62)</i>	0,81 <i>(13)</i>
24 heures	3,92 <i>(62)</i>	7,70 (118)	2,56 <i>(40)</i>	0,40 (16)	4,19 <i>(66)</i>	0,92 (14)
		6.5 6.5 6.0 5.5 5.0 0 Temp	2u ₂ PO ₄ F 2u _{1,75} Mg _{0,25} PO ₄ 2u _{1,75} Zn _{0,25} PO ₄ I 2n ₂ PO ₄ F	F F 2 3 ion (heures)		

Figure 58 : Evolution du pH du surnageant après immersion de particules de quelques fluorophosphates Cu₂₋ _x(Mg,Zn)_xPO₄F-nano (préparés par mécanosynthèse) sur une période de 3 heures

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?

6. Conclusion

Ce chapitre avait pour vocation de rechercher des composés inorganiques fluorés avec comme point de départ les travaux menés par l'équipe de Lellouche *et coll.* ^(1, 2) sur le fluorure MgF₂. Afin de confirmer leurs observations (activité seulement bactériostatique de MgF₂), et éventuellement conférer à ce fluorure une propriété bactéricide, des essais de substitutions cationiques de Mg²⁺ par Cu²⁺ ou Zn²⁺ ont été réalisés. Ils ont conduit à la mise en évidence de deux solutions solides Mg_{1-x}Cu_xF₂ et Mg_{1-x}Zn_xF₂ inédites. Ces deux solutions solides ont fait l'objet de caractérisations par diffraction des rayons X, microscopie électronique et RMN-MAS du solide, qui ont confirmé la substitution des ions Mg²⁺ par Cu²⁺ et Zn²⁺ dans la structure de MgF₂. La RMN-MAS a aussi révélé un phénomène d'hydroxylation des échantillons, et ce malgré les précautions mises en place pour l'éviter (dégazage des réactifs sous vide à 150°C, pesées et stockage des produits en boîte à gants). MgF₂ est caractérisé par une faible activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli*. Par contre, cette activité croit significativement lorsque l'ion Mg²⁺ est substitué par Cu²⁺. Une activité est également relevée pour les composés Mg_{1-x}Zn_xF₂, mais elle est beaucoup plus faible. Dans les deux cas, l'activité bactéricide observée n'a pas pu être imputée en totalité à la libération d'ions Cu²⁺ ou Zn²⁺ dans le milieu. Le pH n'a vraisemblablement aucune incidence sur l'activité bactéricide des composés.

Les fluorures CuF₂ et ZnF₂ se caractérisent par leur instabilité vis-à-vis de l'hydrolyse, conduisant à la formation de fluorures hydratés et d'hydroxyfluorures. Partant de ce constat, l'activité bactéricide d'hydroxyfluorures devait aussi être évaluée. Elle a conduit à une réévaluation de la structure cristalline de Zn(OH)F, validée par des calculs DFT. Son spectre RMN-MAS ¹⁹F, particulièrement complexe, est une conséquence de la multitude d'environnements chimiques autour de l'atome de fluor sondé. Cu(OH)F et Zn(OH)F sont tous les deux actifs vis-à-vis d'*E. coli* ; l'activité bactéricide de Cu(OH)F étant plus forte que celle de Zn(OH)F. Ni le pH, ni les concentrations en ions M²⁺ libérés dans les surnageants ne peuvent expliquer la forte activité bactéricide de ces 2 hydroxyfluorures. L'étude de la production de ROS par ces hydroxyfluorures pourrait apporter une réponse à la question.

L'étude des fluorophosphates s'est inscrite dans le cadre d'une perspective du travail réalisé sur les phosphates et les fluorures. Une première étape a consisté à synthétiser les fluorophosphates Cu₂PO₄F, Mg₂PO₄F et Zn₂PO₄F décrits dans la littérature. Devant la difficulté de la synthèse par voie céramique, la mécanosynthèse a été utilisée. Seuls Cu₂PO₄F et Zn₂PO₄F ont pu être obtenus à l'aide de cette technique. Ces deux composés ont fait l'objet d'une caractérisation structurale et morphologique, ainsi que d'une étude de leur stabilité vis-à-vis de l'hydrolyse. Il s'est avéré que Zn₂PO₄F s'hydrolyse au contact de l'eau, ce qui n'est pas le cas de Cu₂PO₄F. Dans une seconde étape, l'étendue des solutions solides Cu_{2-x}Mg_xPO₄F et Cu_{2-x}Zn_xPO₄F a été réévaluée. L'activité bactéricide de l'ensemble des compositions a été déterminée vis-à-vis d'*E. coli*. Elle n'apparait pas corrélée à la

faible solubilité de ces composés ou au pH légèrement acide des surnageants, proche de celui de l'eau désionisée. Comme montré par Applerot *et coll.* ⁽⁶⁴⁾ sur CuO et Makhluf *et coll.* sur MgO ⁽⁶⁵⁾, ainsi que par le travail sur les oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO présentés au chapitre III, l'activité du composé augmente lorsque la taille des particules diminue. Dans le cas présent, les particules micrométriques de Cu₂PO₄F (préparées par voie céramique) présentent une activité bactéricide nettement plus faible que les particules nanométriques de ce même composé (préparées par mécanosynthèse). Ceci pourrait être lié à la meilleure adsorption des nanoparticules à la surface des bactéries par rapport aux microparticules. Cette hypothèse doit être vérifiée en même temps que l'évaluation de la production de ROS par ce fluorophosphate Cu₂PO₄F. L'activité de Zn₂PO₄F est relativement limitée par rapport à celle de Cu₂PO₄F, que ce dernier soit préparé par voie céramique (microparticules) ou mécanosynthèse (nanoparticules). La substitution du cuivre par le magnésium ou le zinc n'augmente, ni ne diminue la bactéricide des particules nanométriques de Cu₂PO₄F.

Chapitre VI - Les fluorures et hydroxyfluorures, composés potentiellement bactéricides ?

Références du chapitre VI

- 1. Lellouche, J., E. Kahana, S. Elias, A. Gedanken, and E. Banin, *Antibiofilm activity of nanosized magnesium fluoride*. Biomaterials, 2009. **30**(30): p. 5969-5978.
- 2. Lellouche, J., A. Friedman, J.P. Lellouche, A. Gedanken, and E. Banin, *Improved antibacterial and antibiofilm activity of magnesium fluoride nanoparticles obtained by water-based ultrasound chemistry*. Nanomedicine, 2012. **8**(5): p. 702-711.
- 3. Usmani, S.M., I. Stephan, T. Hübert, and E. Kemnitz, *Nano metal fluorides for wood protection against fungi.* Applied Nano Materials, 2018. **1**(4): p. 1444-1449.
- 4. Baur, W.H., *Rutile-type compounds. V. Refinement of MnO*₂ and MgF₂. Acta Crystallographica Section B, 1976. **32**(7): p. 2200-2204.
- 5. O'Toole, N.J. and V.A. Streltsov, *Synchrotron X-ray analysis of the electron density in CoF*₂ and *ZnF*₂. Acta Crystallographica Section B: Structural Science, 2001. **57**(2): p. 128-135.
- 6. Taylor, J.C. and P.W. Wilson, *The structures of fluorides VI. Precise structural parameters in copper difluoride by neutron diffraction.* Journal of the Less Common Metals, 1974. **34**(2): p. 257-259.
- 7. Rodriguez Carvajal, J., *Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction.* Physica B, 1993. **192**(1-2): p. 55-69.
- 8. Vegard, L., *Die konstitution der mischkristalle und die raumfüllung der atome*. Zeitschrift für Physik, 1921. **5**(1): p. 17-26.
- 9. Shannon, R.D., *Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides.* Acta Crystallographica Section A, 1976. **32**(5): p. 751-767.
- 10. Sadoc, A., M. Body, C. Legein, M. Biswal, F. Fayon, X. Rocquefelte, and F. Boucher, *NMR* parameters in alkali, alkaline earth and rare earth fluorides from first principle calculations. Physical Chemistry Chemical Physics, 2011. **13**(41): p. 18539-50.
- 11. Yamakawa, N., M. Jiang, and C.P. Grey, *Investigation of the Conversion Reaction Mechanisms* for Binary Copper(II) Compounds by Solid-State NMR Spectroscopy and X-ray Diffraction. Chemistry of Materials, 2009. **21**(14): p. 3162-3176.
- 12. Bessada, C., A. Rakhmatullin, A.L. Rollet, and D. Zanghi, *High temperature NMR approach of mixtures of rare earth and alkali fluorides: An insight into the local structure.* Journal of Fluorine Chemistry, 2009. **130**(1): p. 45-52.
- Dieudonné, B., J. Chable, M. Body, C. Legein, E. Durand, F. Mauvy, S. Fourcade, M. Leblanc, V. Maisonneuve, and A. Demourgues, *The key role of the composition and structural features in fluoride ion conductivity in tysonite Ce*_{1-x}Sr_xF_{3-x} solid solutions. Dalton Transactions, 2017. 46(11): p. 3761-3769.
- 14. Dieudonné, B., J. Chable, F. Mauvy, S. Fourcade, E. Durand, E. Lebraud, C. Legein, M. Body, V. Maisonneuve, and A. Demourgues, *Exploring the* $Sm_{1-x}Ca_xF_{3-x}$ *Tysonite Solid Solution as a Solid-State Electrolyte: Relationships between Structural Features and* F^- *Ionic Conductivity.* The Journal of Physical Chemistry C, 2015. **119**(45): p. 25170-25179.
- 15. Zhao, Y.H., H.W. Sheng, and K. Lu, *Microstructure evolution and thermal properties in nanocrystalline Fe during mechanical attrition.* Acta Materialia, 2001. **49**(2): p. 365-375.
- 16. Scardi, P. and M. Leoni, *Whole powder pattern modelling*. Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography, 2002. **A58**(190-200): p. 190.
- 17. Courbion, G. and G. Ferey, *Na*₂*Ca*₃*Al*₂*F*₁₄: A new example of a structure with "independent F"-A new method of comparison between fluorides and oxides of different formula. Journal of Solid State Chemistry, 1988. **72**(2): p. 426-431.
- 18. Kuhs, W.F., *International Tables for Crystallography, Vol. D, Physical Properties of Crystals, 1st ed.*, ed. A. Authier. 2006: Chester International Union of Crystallography.
- 19. Azzaza, S., S. Alleg, and J.J. Suňol, *Microstructure characterization and thermal stability of the ball milled iron powders.* Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2015. **119**(2): p. 1037-1046.

- 20. Butt, N.M., J. Bashir, B.T.M. Willis, and G. Heger, *Compilation of temperature factors of cubic elements*. Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography, 1988. **A44**: p. 396-398.
- 21. Biswal, M., Determination and first principles calculations, using the PAW/GIPAW method, of NMR parameters in inorganic fluorides, Université du Maine, 2013, 213.
- 22. Scholz, G., C. Stosiek, J. Noack, and E. Kemnitz, *Local fluorine environments in nanoscopic magnesium hydr(oxide) fluorides studied by 19F MAS NMR*. Journal of Fluorine Chemistry, 2011. **132**(12): p. 1079-1085.
- Dambournet, D., A. Demourgues, C. Martineau, E. Durand, J. Majimel, C. Legein, J.Y. Buzaré,
 F. Fayon, A. Vimont, H. Leclerc, and A. Tressaud, *Microwave synthesis of an aluminum fluoride hydrate with cationic vacancies: Structure, thermal stability, and acidic properties.* Chemistry of Materials, 2008. **20**(22): p. 7095-7106.
- 24. Dambournet, D., A. Demourgues, C. Martineau, E. Durand, J. Majimel, A. Vimont, H. Leclerc, J.C. Lavalley, M. Daturi, C. Legein, J.Y. Buzaré, F. Fayon, and A. Tressaud, *Structural investigations and acidic properties of high surface area pyrochlore aluminium hydroxyfluoride.* Journal of Materials Chemistry, 2008. **18**(21): p. 2483.
- 25. Crichton, W.A., J.B. Parise, H. Müller, J. Breger, W.G. Marshall, and W.D. Welch, *Synthsis and structure of magnesium hydroxide fluoride, Mg(OH)F : a topological intermediate between brucite- and rutile-type structures.* Mineralogical Magazine, 2012. **76(1)**: p. 25-36.
- 26. Srivastava, O.K. and E.A. Secco, *Studies on metal hydroxy compounds. I. Thermal analyses of zinc derivatives* ε-*Zn*(*OH*)₂, *Zn*₅(*OH*)₈*Cl*₂.*H*₂*O*, *β*-*ZnOHCl, and ZnOHF.* Canadian Journal of Chemistry, 1967. **45**(6): p. 579-583.
- 27. Volkova, L.M., L.V. Samarents, S.A. Polishchuk, and N.M. Lantash, *Kristallicheskie struktury gidroksifrotidov tsinka i kadmiya.* Kristallografiva, 1978. **23**(5): p. 951-955.
- 28. Peter, S., B. Weckler, H.D. Luitz, and T. Roisnel, *Linear, bent and trifurcated OH-… F-hydrogen bonds: neutron powder diffraction, infrared and Raman spectroscopies of Zn(OD)F I and Zn(OD)F Ia.* Glasnik na hemicharite i tehnolozite na Makedonija, 1997. **16**(1): p. 21-32.
- 29. Serier, H., M. Gaudon, A. Demourgues, and A. Tressaud, *Structural features of zinc hydroxyfluoride*. Journal of Solid State Chemistry, 2007. **180**(12): p. 3485-3492.
- 30. Ramamurthy, P. and E.A. Secco, *Studies on metal hydroxy compounds VII. Thermal analyses of copper derivatives.* Canadian Journal of Chemistry, 1969. **47**: p. 2185-2190.
- 31. Giester, G. and E. Libowitzky, *Crystal structures and Raman spectra of Cu(OH)F and* $Cu_3(OH)_2F_4$. Zeitschrift für Kristallographie, 2003. **218**: p. 351-356.
- Danilovich, I.L., A.V. Merkulova, I.V. Morozov, E.A. Ovchenkov, F.M. Spiridonov, E.A. Zvereva,
 O.S. Volkova, V.V. Mazurenko, Z.V. Pchelkina, A.A. Tsirlin, C. Balz, S. Holenstein, H. Luetkens,
 A.A. Shakin, and A.N. Vasiliev, *Strongly canted antiferromagnetic ground state in Cu₃(OH)₂F₄.* Journal of Alloys and Compounds, 2019. **776**: p. 16-21.
- 33. Crane, R.L. and E.G. Ehlers, *The system MgF*₂-*MgO*-*H*₂*O*. American Journal of Science, 1969. **267**(9): p. 1105-1111.
- 34. Wheeler Jr, C.M. and H.M. Haendler, *The Thermal Decomposition of Copper (II) Fluoride Dihydrate.* Journal of the American Chemical Society, 1954. **76**(1): p. 263-264.
- 35. Le Van, M., G. Perinet, and P. Bianco, Étude microcalorimétrique de la décomposition thermique des sels hydratés de cuivre et de nickel. Journal de Chimie Physique, 1965. **63**: p. 719-724.
- 36. Mikenda, W., Stretching frequency versus bond distance correlation of O-D(H)...Y (Y = N, O, S, Se, Cl, Br, I). Journal of Molecular Structure, 1986. **147**(1-2): p. 1-15.
- Mikenda, W. and S. Steinböck, Stretching frequency versus bond distance correlation of O-D(H)...F hydrogen bonds in solid hydrates. Journal of Molecular Structure, 1994. 326: p. 123-130.
- 38. Libowitzky, E., *Correlation of O-H Stretching Frequencies and O-H...O Hydrogen Bond Lengths in Minerals* Monatshefte für Chemie, 1999. **130**: p. 1047-1059.

- 39. Oswald, H.R., A. Reller, H.W. Schmalle, and E. Dubler, *Structure of Copper(II) Hydroxide, Cu(OH)*₂. Acta Crystallographica Section C, 1990. **46**: p. 2279-2284.
- 40. Li, W., D. Corradini, M. Body, C. Legein, M. Salanne, J. Ma, K.W. Chapman, P.J. Chupas, A.-L. Rollet, C. Julien, K. Zhagib, M. Duttine, A. Demourgues, H. Groult, and D. Dambournet, *High Substitution Rate in TiO*₂ *Anatase Nanoparticles with Cationic Vacancies for Fast Lithium Storage*. Chemistry of Materials, 2015. **27**(14): p. 5014-5019.
- 41. Ben Yahia, H., M. Shikano, M. Tabuchi, H. Kobayashi, M. Avdeev, T.T. Tan, S. Liu, and C.D. Ling, Synthesis and characterization of the crystal and magnetic structures and properties of the hydroxyfluorides Fe(OH)F and Co(OH)F. Inorganic Chemistry, 2014. **53**(1): p. 365-374.
- 42. Brese, N.E. and M. O'Keeffe, *Bond-valence parameters for solids*. Acta Crystallographica Section B: Structural Science, 1991. **47**(2): p. 192-197.
- 43. Dambournet, D., A. Demourgues, C. Martineau, S. Pechev, J. Lhoste, J. Majimel, A. Vimont, J.C. Lavalley, C. Legein, J.Y. Buzaré, F. Fayon, and A. Tressaud, *Nanostructured aluminium hydroxyfluorides derived from β*-*AlF*₃. Chemistry of Materials, 2008. **20**(4): p. 1459-1469.
- Weckler, B. and H.D. Lutz, Near-infrared spectra of M(OH)Cl (M= Ca, Cd, Sr), Zn(OH)F, γ-Cd(OH)₂, Sr(OH)₂, and brucite-type hydroxides M(OH)₂ (M= Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cd). Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 1996. 52(11): p. 1507-1513.
- 45. Rodriguez, M.A., P. Millan, R.M. Rojas, and O. Garcia Martinez, *Thermal Behaviour of The Copper-Substituted Cobalt Hydroxide Fluoride Series Cu_xCo_{1-x}(OH)F. Journal of Thermal Analysis*, 1995. **44**: p. 395-404.
- 46. Chen, H., Y. Zhang, J. Yang, Z. Dai, N. Fu, W. Huang, and X. Dong, *Ni*_{0.33}*Co*_{0.66}(*OH*)*F* hollow hexagons woven by MWCNTs for high-performance lithium-ion batteries. Journal of Materials Chemistry A, 2015. **3**(41): p. 20690-20697.
- 47. Wang, S., B. Zhang, C. Gao, J. Guo, and D. Yang, *Hydrolysis of Zn Ions: Controllable Synthesis of Zn_xCo_{1-x}(OH)F Nanostructures with Their Electrochemical and Optical Properties.* The Journal of Physical Chemistry C, 2019. **123**(14): p. 8649-8655.
- 48. Matecki, M. and M. Poulain, *Transition metal fluorophosphate glasses*. Journal of Non-Crystalline Solids, 1983. **56**(1-3): p. 111-116.
- 49. Tanabe, S., S. Yoshii, K. Hirao, and N. Soga, Upconversion properties, multiphonon relaxation, and local environment of rare-earth ions in fluorophosphate glasses. Physical Review B, 1992.
 45(9): p. 4620-4625.
- 50. Ellis, B.L., W.R. Makahnouk, Y. Makimura, K. Toghill, and L.F. Nazar, *A multifunctional 3.5 V iron-based phosphate cathode for rechargeable batteries.* Nature Materials, 2007. **6**(10): p. 749-753.
- 51. Dacek, S.T., W.D. Richards, D.A. Kitchaev, and G. Ceder, *Structure and Dynamics of Fluorophosphate Na-Ion Battery Cathodes.* Chemistry of Materials, 2016. **28**(15): p. 5450-5460.
- 52. Rea, J.R. and E. Kostiner, *The crystal structure of copper fluorophosphate, Cu*₂(*PO*₄)*F.* Acta Crystallographica Section B, 1976. **32**(7): p. 1944-1947.
- 53. Coda, A., G. Guiussepe, and C. Tadini, *The Crystal Structure of Wagnerite*. Atti Della Accademia Nazionale Dei Lincei Rendiconti-Classe Di Scienze Fisiche-Matematiche & Naturali, 1967. **43**(3-4): p. 212-224.
- 54. Taasti, K.I., A.N. Christensen, P. Norby, J.C. Hanson, B. Lebech, H.J. Jakobsen, and J. Skibsted, *Hydrothermal Synthesis, Single-Crystal Structure Analysis, and Solid-State NMR Characterization of Zn*₂(*OH*)_{0.14(3)}*F*_{0.86(3)}(*PO*₄). Journal of Solid State Chemistry, 2002. **164**(1): p. 42-50.
- 55. Auh, K. and F.H. Hummel, *Solid solution in the wagnerite structure.* Canadian Mineralogist, 1974. **12**: p. 346-351.
- 56. Carter, R.H., Solubilities of Some Inorganic Fluorides in Water at 25° C. Industrial & Engineering Chemistry, 1928. **20**(11): p. 1195.

- 57. Ning, C., X. Wang, L. Li, Y. Zhu, M. Li, P. Yu, L. Zhou, Z. Zhou, J. Chen, G. Tan, Y. Zhang, Y. Wang, and C. Mao, *Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism.* Chemical Research in Toxicology, 2015. **28**(9): p. 1815-1822.
- 58. Lide, D.R., *CRC Handbook of Chemistry and Physics.* 85th edition. Boca Raton, ed. C. Press. 2005.
- 59. Foster, J.W., *Escherichia coli acid resistance: tales of an amateur acidophile.* Nature Reviews Microbiology, 2004. **2**(11): p. 898-907.
- 60. Gorden, J. and P. Small, *Acid resistance in enteric bacteria*. Infection and immunity, 1993. **61**(1): p. 364-367.
- 61. Lin, J., M.P. Smith, K.C. Chapin, H.S. Baik, G.N. Bennett, and J.W. Foster, *Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology, 1996. **62**(9): p. 3094-3100.
- 62. Conner, D.E. and J.S. Kotrola, *Growth and survival of Escherichia coli O157: H7 under acidic conditions.* Applied Environmental Microbiology, 1995. **61**(1): p. 382-385.
- 63. Oulkheir, S., K. Ounine, N.E. Elhaloui, and B. Attarassi, *Survie d'Escherichia coli dans des conditions acides*. Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux, 2006. **145**(1): p. 41-52.
- 64. Applerot, G., J. Lellouche, A. Lipovsky, Y. Nitzan, R. Lubart, A. Gedanken, and E. Banin, *Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress.* Small, 2012. **8**(21): p. 3326-3337.
- 65. Makhluf, S., R. Dror, Y. Nitzan, Y. Abramovich, R. Jelinek, and A. Gedanken, *Microwave-Assisted Synthesis of Nanocrystalline MgO and Its Use as a Bacteriocide.* Advanced Functional Materials, 2005. **15**: p. 1708-1715.

Conclusion générale et perspectives

Le travail de cette thèse s'est inscrit dans le cadre de la recherche de composés inorganiques à base d'ions cuivriques et d'autres cations métalliques divalents (Mg²⁺, Zn²⁺) comme alternative au cuivre métallique et ses alliages dans la lutte contre les infections nosocomiales. Deux bactéries, *E. coli* et *S. aureus*, ont été retenues pour évaluer l'activité bactéricide des composés étudiés, car elles sont responsables de plus de 40% des infections nosocomiales dans les établissements de santé en France.

Dans le cadre de cette thèse, des substitutions partielles des ions magnésium par les ions cuivriques ou *vice versa* ont été entreprises dans le but d'exacerber les activités de composés bactéricides connus (effet de synergie) voire même de procurer des propriétés bactéricides à des composés inactifs. De ce fait, de nombreux composés élaborés appartiennent à des solutions solides. Au bilan, 13 solutions solides ont été explorées et caractérisées, dont plus de la moitié (7) n'ont jamais été répertoriées dans la littérature. Quelques composés uniques du cuivre complètent cette vaste gamme de produits élaborés dans le cadre de cette thèse. La diffraction des rayons X, mais également des techniques spectroscopiques et la microscopie électronique ont permis de caractériser finement l'ensemble des composés tant au niveau de leur structure cristalline que de la morphologie des particules. A chaque fois, le potentiel bactéricide des composés, pour des temps de contact de 15mn à 180mn, a été évalué.

L'étude de la partie riche en magnésium du diagramme binaire MgO-CuO (fraction molaire x_{Cu} <0.5) avait pour objectif d'évaluer l'impact de la substitution cationique sur l'activité bactéricide du composé parent MgO, faiblement actif vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus*. Des particules de taille micrométrique ont été obtenues par décomposition thermique et réaction à haute température (1050°C) d'un mélange stœchiométrique de nitrates. Afin de diminuer la taille des particules, une seconde voie mettant en jeu la coprécipitation de précurseurs hydroxydes a été explorée. Elle a conduit à la découverte d'une solution solide inédite Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y.zH₂O isotype de la Brucite. L'évaluation de l'activité bactéricide des différentes compositions a révélé que la substitution du magnésium par le cuivre dans les composés parents MgO et Mg(OH)₂ permettait d'exacerber grandement leur pouvoir bactéricide. Des études de stabilité vis-à-vis de l'hydrolyse des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO ont confirmé qu'ils s'hydrolysaient rapidement pour former des hydroxydes. La nanostructuration accélère ce processus d'hydrolyse. Par conséquent, l'activité des bactéries. L'étude du vieillissement sous atmosphère humide des particules micro- et nanométriques des oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO a révélé que les quelques molécules de dioxyde de carbone présentes de

l'air ambiant induisait une carbonatation des échantillons. Une carbonatation forcée sous 9 bars de CO₂ en présence d'eau et à 30°C des hydroxydes "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" et des oxydes Mg_{1-x}Cu_xO a donc été entreprise en regardant l'effet de la taille des particules sur cette interaction environnement/matière. Cette étude avait pour objectif d'évaluer la pérennité de l'activité bactéricide des hydroxydes et des oxydes dans le temps. Les hydroxydes mixtes "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂", comme les oxydes mixtes, présentent une instabilité vis-à-vis du CO₂ humide, entraînant la formation d'un mélange de carbonate de magnésium hydraté, la Nesquehonite MgCO₃,yH₂O et d'un hydroxycarbonate de cuivre, la Malachite Cu₂CO₃(OH)₂. Avec le temps d'exposition à l'atmosphère, une carbonatation de la surface des particules est donc à craindre, quelle que soit leur composition et même lorsque leur taille est micrométrique. Mais il a été montré, à travers l'étude de la solution solide inédite Mg_{1-x}Cu_xCO₃.yH₂O isotype de la Nesquehonite, que cette carbonatation pouvait avoir un effet bénéfique sur l'activité bactéricide des oxydes mixtes initiaux vis-à-vis d'E. coli. Une fois formés, ces particules micrométriques de carbonates mixtes hydratés demeurent très stables dans le temps, leur garantissant ainsi un niveau d'activité bactéricide élevé voire plus élevé que les particules d'oxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_xO de taille comparable. Il peut être envisagé de les utiliser directement comme agent bactéricide.

Aucune solution solide n'était répertoriée dans la partie riche en cuivre du diagramme binaire MgO-CuO (fraction molaire $x_{Cu}>0,5$). Pourtant, des solutions solides $Cu_{1-x}Co_xO$ sont répertoriées dans la littérature. Le même protocole de synthèse que pour les oxydes riches en magnésium a dont été adopté. La coprécipitation de précurseurs hydroxydes a révélé également qu'une solution solide de formulation $Cu_{1-x}Mg_x(OH)_2$ existait mais dont l'étendue était limitée à 10% molaire (x = 0,1). La calcination à basse température (400°C) de ces hydroxydes mixtes a permis de préparer des oxydes mixtes $Cu_{1-x}Mg_xO$, dont la limite de solubilité du magnésium est également de 10% molaire (x = 0,1). Contrairement aux oxydes de magnésium, les oxydes de cuivre sont relativement stables dans l'eau, et par conséquent les activités bactéricides des hydroxydes Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂, bien plus forte que celle des oxydes $Cu_{1-x}Mg_xO$, diminue sensiblement avec la teneur x en magnésium. La carbonatation forcée des hydroxydes et oxydes mixtes entraîne la formation d'hydroxycarbonates mixtes isotypes de la Malachite. Cette solution solide $Cu_{2-x}Mg_xCO_3(OH)_2$ étant non référencée dans la littérature, elle a donc été étudiée et l'activité bactéricide de plusieurs compositions a été évaluée.

Afin de diminuer la réactivité des oxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_xO$ vis-à-vis de l'eau et du CO_2 , la combinaison des oxydes de cations divalents avec l'oxyde acide, P_2O_5 , a été envisagée, conduisant à l'exploration du diagramme ternaire CuO-MgO- P_2O_5 . A partir des données de la littérature, huit composés définis ont tout d'abord été synthétisés et caractérisés. Si ces derniers sont bien plus

stables vis-à-vis de l'hydrolyse, peu d'entre eux se sont révélés très actifs sur le plan bactéricidie. Aucun lien n'a pu être démontré entre la fraction de cuivre des composés et leur activité bactéricide. La substitution du magnésium par le cuivre dans la structure de $Mg_3(PO_4)_2$ s'est toutefois révélée particulièrement intéressante, car elle permettait de conférer une activité bactéricide significative à un composé initialement inactif.

L'ion fluorure est connu pour son caractère antibactérien vis-à-vis des bactéries cariogènes. Dans la littérature, il est rapporté que le fluorure de magnésium MgF₂ présente une activité seulement bactériostatique. Ces constats ont marqué le point de départ de l'étude du potentiel bactéricide des fluorures. Par analogie avec les oxydes Mg_{1-x}Cu_xO et hydroxydes "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂", des essais de substitution du magnésium par le cuivre ont été tout d'abord menés dans MgF₂. La mécanosynthèse à partir des fluorures simples MgF₂ et CuF₂ a conduit à la synthèse de fluorures mixtes Mg_{1-x}Cu_xF₂ nanostructurés dont l'étendue de la solution solide est limitée à 20% molaire (x=0,2). L'existence de la solution solide a été mise en évidence par diffraction des rayons X et RMN du solide du fluor ¹⁹F. Ce travail s'est étendu par la suite au binaire MgF₂-ZnF₂, dont les deux fluorures élémentaires sont isostructuraux. Une solution solide $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ existe également, dont l'étendue est limitée à 15% molaire (x=0,15), cette fois. L'hydrolyse des fluorures CuF₂ et ZnF₂ conduisant aux hydroxyfluorures Cu(OH)F et Zn(OH)F, ces deux composés ont également été synthétisés et caractérisés. Rapidement, il est apparu que le modèle structural de la littérature du composé Zn(OH)F ne permettait pas de rendre compte de son diffractogramme de rayons X. Une nouvelle étude cristallographique a donc été menée. Un nouveau modèle structural s'appuyant sur des calculs par la fonctionnelle de la densité (DFT) a ainsi été proposé.

En raison de leur sensibilité à l'hydrolyse des fluorures mixtes $Mg_{1-x}M_xF_2$ (M=Cu,Zn) et par analogie avec les oxydes mixtes $Mg_{1-x}Cu_xO$, la combinaison des fluorures de cations divalents avec l'oxyde acide P_2O_5 a également été envisagée comme solution. Dans le diagramme ternaire $M(1)F_2-M(2)O-P_2O_5$ (M(1,2) = Cu, Mg, Zn), un seul fluorophosphate M_2PO_4F existe. L'impact de la substitution du cuivre par le magnésium ou le zinc sur la structure de $Cu_2(PO_4)F$ a ainsi été réévalué. Le magnésium est très peu soluble dans cette structure, avec une substitution ne dépassant pas 5% molaire. En revanche, le zinc est lui particulièrement soluble, car il a été possible de substituer jusqu'à 50% des ions Cu^{2+} (formulation limite $CuZn(PO_4)F$).

L'activité bactéricide de l'ensemble des fluorures, hydroxyfluorures et fluorophosphates a été évaluée vis-à-vis d'*E. coli*. MgF₂ est, comme attendu, très peu actif vis-à-vis d'*E. coli*. Par contre, les fluorures mixtes Mg_{1-x}Cu_xF₂ sont particulièrement actifs, au moins aussi actifs que les hydroxydes "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂". La substitution du magnésium par le zinc dans MgF₂ s'avère en revanche inefficace,

probablement liée à la faible activité du fluorure élémentaire ZnF_2 . Le fait que les composés contenant des ions Cu^{2+} soient nettement plus bactéricides que ceux à base d' ions Zn^{2+} est confirmée en comparant les activités de Cu(OH)F et Zn(OH)F, ainsi que celles de Cu₂(PO₄)F et Zn₂(PO₄)F. La substitution du cuivre par le magnésium ou le zinc dans Cu₂(PO₄)F n'a pas permis, compte tenu des écart-types importants sur les réductions d'activité, de conclure sur un gain ou pas d'activité bactéricide par rapport au composé parent.

Au cours de cette thèse, de très nombreux composés inorganiques à base de cuivre ont été préparés et caractérisés finement. L'activité bactéricide de la majorité d'entre eux a pu être évaluée au moins vis-à-vis d'E. coli. Les questions que l'on est à même de se poser sont les suivantes : existe-il un lien entre la quantité de cuivre contenue dans le composé, la nature du composé (oxyde, hydroxyde, phosphate, fluorure....) ou la structure du composé (à travers la coordinence de l'ion Cu²⁺) et son activité bactéricide ? La figure 1 suivante se propose de répondre à cette interrogation en représentant l'activité bactéricide en fonction, soit du pourcentage massique en cuivre du composé, soit de la coordinence de l'ion Cu²⁺. Pour établir cette figure, seuls les composés ou compositions (dans le cas des solutions solides) les plus actifs vis-à-vis d'E. coli au bout d'une heure de contact ont été considérés. Ce sont le temps de contact et la bactérie pour lesquels l'activité bactéricide de chaque composé a pu être évaluée. Lorsque les ions cuivriques occupent plusieurs sites de coordinence différents dans un composé, une coordinence moyenne a été calculée en tenant compte du taux d'occupation de ces sites. Dans le cas des solutions solides, l'activité du composé parent a également été prise en compte. La première conclusion à laquelle on aboutit est qu'il n'existe pas de lien direct entre la quantité de cuivre contenue dans le composé et son activité bactéricide vis-à-vis d'E. coli. Les particules d'oxyde de cuivre CuO de taille nanométrique, composé de référence dans le domaine des agents bactéricides inorganiques, sont finalement assez peu actives (réduction \approx 3 log), compte tenu de leur fraction massique en cuivre élevée (≈80%). Les nanoparticules d'oxyde mixte Mg_{0,95}Cu_{0,05}O-nano et d'hydroxyde mixte "Mg_{0,85}Cu_{0,15}(OH)₂" sont plus actifs que l'oxyde CuO-nano (réductions supérieures à 4 log), tout en réduisant d'un facteur 4 la fraction massique en cuivre du composé (<20%). En dépit d'une taille de particules micrométrique, le carbonate mixte Mg_{0.95}Cu_{0.05}CO₃.yH₂O est un des trois composés étudiés dans cette thèse à présenter une réduction avoisinant 7 log. Les composés parents (MgO, Mg(OH)₂, MgCO₃.yH₂O) dont sont issus ces 3 candidats sont, quant à eux, très peu, voire pas du tout actifs vis-à-vis d'*E. coli* (<1 log) (figure 1a).



Figure 1 : Activité bactéricide de plusieurs composés vis-à-vis d'*E. coli* au bout d'une heure de contact en fonction de la fraction massique en cuivre du composé. (a) En rouge : activité bactéricide des oxydes, hydroxydes, carbonates et hydroxycarbonates (chapitres III et IV). (b) En rose : activité bactéricide des phosphates (chapitre V). (c) En vert : activité bactéricide des fluorures (chapitre VI). (d) Activité bactéricides des différents composés en fonction de la coordinence (moyenne) de l'ion Cu²⁺

Comparativement, les phosphates (figure 1b) figurent parmi les composés testés les moins actifs visà-vis d'*E. coli*. avec une activité qui, dans le cas du phosphate $Cu_{2,8}Mg_{0,2}(PO_4)_2$ et de l'oxyphosphate $Cu_5O_2(PO_4)_2$, est comparable à celle de l'oxyde de référence CuO (~3 log) malgré une fraction massique en cuivre 20 à 30% plus faible. Les fluorures, hydroxyfluorures et fluorophosphates (figure 1c) sont bien plus actifs de ce point de vue. Les nanoparticules de fluorophosphates Cu_2 . $_x(Mg,Zn)_xPO_4F$ préparées par mécanosynthèse ont une activité (~4-5 log) et une fraction massique en cuivre comparables à celles des hydroxycarbonates de cuivre $Cu_2CO_3(OH)_2$ et $Cu_{1.8}Mg_{0.2}CO_3(OH)_2$. Bien que les particules de taille nanométrique du fluorure mixte $Mg_{0,8}Cu_{0,2}F_2$ présentent une

réduction avoisinant 7 log identique à celle des microparticules du carbonate mixte $Mg_{0.95}Cu_{0.05}CO_3.yH_2O$, ce fluorure s'hydrolyse rapidement avec le temps alors que le carbonate reste stable. L'hydroxyfluorure Cu(OH)F est le seul composé fluoré associant une bonne stabilité et une activité supérieure à 6 log. Le dernier graphique (figure 1d) présente l'activité bactéricide des composés en fonction de la coordinence moyenne de l'ion Cu²⁺ dans la structure cristalline des composés étudiés. Ce graphique montre que les ions cuivriques dans les quatre composés $Mg_{0.95}Cu_{0.05}CO_3.yH_2O$, $Mg_{0.8}Cu_{0.2}F_2$, Cu(OH)F et Cu_{1.8} $Mg_{0.2}CO_3(OH)_2$ présentant des réductions de viabilité supérieures à 5 log ont la particularité d'être tous en coordinence octaédrique. Néanmoins, cette caractéristique n'en fait pas une règle puisque malgré cette coordinence octaédrique des ions Cu²⁺, le composé Cu₂P₂O₇ ne possède aucune activité bactéricide et la majorité de ces composés de coordinence [6] ont des réductions de viabilité s'échelonnant entre 1 log et 5 log. En revanche, une diminution de l'activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* des différents phosphates (hydroxy-, fluoro, oxy-et pyro-)-avec la coordinence de l'ion Cu²⁺ est notée.

Les perspectives de ce travail sont nombreuses. L'activité bactéricide de certains composés doit tout d'abord être réévaluée vis-à-vis d'E. coli afin de confirmer certaines observations et de garantir la reproductibilité des cinétiques de bactéricidie. Dans un second temps, l'activité bactéricide vis-à-vis de S. aureus, inconnue pour un certain nombre de composés doit être évaluée ; au-delà de l'activité vis-à-vis de cette espèce, d'autres bactéries (incluant des bactéries présentant des mécanismes de résistance acquis) et d'autres microorganismes (levures, moisissures, virus) doivent être intégrés à nos essais afin de définir le spectre d'activité des différents composés et appréhender leur intérêt potentiel, voire leur(s) mécanisme(s) d'action. Afin de préciser le rôle exact que pourraient avoir les ions Cu²⁺ et Zn²⁺ issus de la dissolution partielle des composés, l'évaluation du potentiel bactéricide des surnageants après immersion des particules dans l'eau devra être réalisée. L'influence du pH devra aussi être réexaminée, car la survie des bactéries dans de tels milieux (acides ou basiques) est a priori dépendante de la souche microbienne d'étude. Parallèlement, Ballo et coll. (1) ont démontré le large spectre d'activité de surfaces additivées en cuivre même en absence d'oxygène et pour des bactéries produisant de fortes quantités de catalases. Ceci semble démontrer que la production de ROS n'est pas le mécanisme majoritaire impliqué. L'ensemble de nos observations, ainsi que les données issues de la littérature doivent nous conduire à confirmer les conditions d'expression de l'activité bactéricide (essais sous anaérobiose) et ainsi mieux définir les mécanismes sous-jacents.

Pour être utilisés, notamment en milieu hospitalier, un travail important devra se focaliser sur la stabilité des composés bactéricides vis-à-vis de la désinfection et le nettoyage des surfaces et objets souillés (détergents - action mécanique) réalisés dans les établissements de santé. Cette étude

380

permettra de compléter celle qui a été réalisée dans le cadre de cette thèse, à savoir la tenue et la stabilité vis-à-vis de l'eau et du CO₂ atmosphérique.

Pour les composés présentant une activité significative, une réflexion devra être menée au niveau de leur incorporation au sein d'une matrice (textile ou surface, par exemple). Ce travail constituerait une nouvelle étape dans la confection de textiles ou surfaces bactéricides pour une application dans le domaine médical et hospitalier. L'activité de ces nouveaux matériaux, leur stabilité et leur tenue dans le temps devront être évaluées. Une dernière étape serait enfin de pouvoir les évaluer en milieu hospitalier, *via* une étude *in situ*, afin d'étudier leur impact sur i) le niveau de contamination des textiles ou surfaces conditionnées et ii) la diminution du nombre d'infections nosocomiales. Ces deux étapes correspondent à des échelles de temps différentes ; la dernière induisant une surveillance sur le long terme et sur différentes services/établissements.

Le travail présenté au chapitre III a montré que l'incorporation d'ions cuivriques dans les feuillets d'octaèdres des hydroxydes mixtes Mg_{1-x}Cu_x(CO₃)_{2-2y}(OH)_y.zH₂O isotype de la Brucite permettait d'augmenter de manière très significative l'activité bactéricide de Mg(OH)₂. Cette stratégie pourrait être appliquée aux hydroxydes doubles lamellaires (HDL). Ces derniers composés sont d'autant plus intéressants qu'il a été montré qu'ils pouvaient permettre la libération contrôlée de molécules d'antibiotiques (dérivés de la pénicilline par exemple), intercalées entre les feuillets d'octaèdres ^(2, 3). L'incorporation d'ions cuivriques combinée à l'intercalation de molécules d'antibiotiques est à même de faire des hydroxydes doubles lamellaires des candidats très intéressants sur le plan applicatif.

Enfin, dans la continuité de l'étude du diagramme binaire MgO-CuO des chapitres III et IV, puis de l'étude du diagramme ternaire MgO-CuO-P₂O₅ du chapitre V, une étude complète du diagramme ternaire ZnO-CuO-P₂O₅ pourrait être intéressante à mener, compte tenu du fait que l'oxyde de zinc ZnO présente comme CuO une activité bactéricide vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus*. L'activité bactéricide du fluorophosphate de zinc Zn₂PO₄F présenté au chapitre VI est relativement faible vis-à-vis d'*E. coli*. Aucune solution solide de type Zn_{2-x}Cu_xPO₄F isotype de Zn₂PO₄F n'est répertoriée dans la littérature. Cette substitution de l'ion Zn²⁺ par l'ion Cu²⁺ pourrait exacerber l'activité bactéricide de ce fluorophosphate Zn₂PO₄F.

381
Références de la conclusion

- 1. Ballo, M.K., Rtimi, S., Mancini, S., Kiwi, J., Pulgarin, C., Entenza, J.M. and Bizzini, A., *Bactericidal activity and mechanism of action of copper-sputtered flexible surfaces against multidrug-resistant pathogens.* Applied Microbiology and Biotechnology, 2016. **100**(13): p. 5945-5953.
- 2. Rives, V., Del Arco, M. and Martín, C., *Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review.* Applied Clay Science, 2014. **88-89**: p. 239-269.
- 3. Taviot-Guého, C., Prévot, V., Forano, C., Renaudin, G., Mousty, C. and Leroux, F., *Tailoring Hybrid Layered Double Hydroxides for the Development of Innovative Applications*. Advanced Functional Materials, 2018. **28**(27): p. 1703868.

Annexe 1 - Bilan des affinements des différentes solutions solides par la méthode de Le Bail et par la méthode de RietveldE
1. Solutions solides du chapitre IIE
1.1. Solution solide Mg _{1-x} Cu _x (OH) ₂ E
1.2. Solution solide $Mg_{1-x}Cu_xO$ (voie céramique)E
1.3. Solution solide $Mg_{1-x}Cu_xO$ (voie coprécipitation)F
1.4. Solution solide Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ .xH ₂ OF
2. Solutions solides du chapitre IIIG
2.1. Solution solide Cu _{1-x} Mg _x (OH) ₂ G
2.2. Solution solide $Cu_{1-x}Mg_xO$ G
Solution solide Cu _{2-x} Mg _x CO ₃ (OH) ₂ H
3. Solutions solides du chapitre IV I
3.1. Solution solide $Cu_{3-x}Mg_x(PO_4)_2$ I
3.2. Solution solide $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$
4. Solutions solides du chapitre V M
4.1. Solution solide $Mg_{1-x}Cu_xF_2$ M
4.2. Solution solide $Mg_{1-x}Zn_xF_2$ M
4.3. Solution solide Cu _{2-x} Mg _x (PO ₄)FN
4.4. Solution solide Cu _{2-x} Zn _x (PO ₄)FO
Annexe 2 : Evolution des angles O-M-O et P-O-M dans Cu _{3-x} Mg _x (PO ₄) ₂ et Mg _{3-x} Cu _x (PO ₄) ₂ P

Annexe 1 - Bilan des affinements des différentes solutions solides par la méthode de Le Bail et par la méthode de Rietveld

Plusieurs solutions solides ont été caractérisées par diffraction des rayons X. Les diffractogrammes de toutes les compositions ont été affinées par la méthode de Le Bail ou par la méthode de Rietveld. Cette annexe répertorie et présente les résultats de tous les affinements.

1. Solutions solides du chapitre II

1.1. Solution solide Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂

Tableau 1 : Résultats des affinements (paramètres de maille) par la méthode de Le Bail (groupe d'espace P-3m1, n°164)

	a (Å)	c (Å)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	χ²
x = 0	3,1466(3)	4,7768(2)	7,29	6,76	4,73
x = 0,05	3,1450(3)	4,7750(6)	8,19	7,59	5,24
x = 0,10	3,1456(3)	4,7778(9)	10,6	9,77	5,78
x = 0,15	3,1440(6)	4,7964(9)	10,9	10,1	3,08

1.2. Solution solide Mg_{1-x}Cu_xO (voie céramique)

 Tableau 2 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace Fm-3m, n°225)

	a (Å)	R _P	R _{wi}	0	R _{Bragg}	χ²
x = 0	4,2128(2)	10,1	10,4	4	5,16	11,7
x = 0,05	4,2135(2)	12,3	12,9	Э	7,62	33,6
x = 0,10	4,21668(9)	11,3	11,9	Э	5,65	34,7
x = 0,15	4,21842(6)	10,7	11,2	2	4,26	53,9
x = 0,20	4,21988(9)	11,9	11,9	Э	4,64	50,7
	Atome	site	х	у	z	B _{iso} (Ų)
x = 0	Mg(1)	4a	0	0	0	2,47(6)
	O(1)	4b	1⁄2	1/2	1/2	2,07(6)
x = 0,05	Mg(1)/Cu(1)	4a	0	0	0	2,00(9)
	O(1)	4b	1⁄2	1⁄2	1/2	1,56(6)
x = 0,10	Mg(1)/Cu(1)	4a	0	0	0	1,52(6)
	O(1)	4b	1⁄2	1/2	1/2	1,28(9)
x = 0,15	Mg(1)/Cu(1)	4a	0	0	0	1,27(6)
	O(1)	4b	1⁄2	1⁄2	1/2	1,4(1)
x = 0,20	Mg(1)/Cu(1)	2a	0	0	0	1,35(6)
	O(1)	4f	1/2	1/2	1/2	1,5(1)

1.3. Solution solide Mg_{1-x}Cu_xO (voie coprécipitation)

Tableau 3 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe
d'espace Fm-3m, n°225). Le paramètre de déplacement isotrope B_{iso} a été fixé à 1,5.

Mg _{1-x} Cu	_« O a(Å)	R _p	R	vр	R_{Bragg}	χ²
x = 0	4,2230(6)	11,0	9,8	32	3,14	3,36
x = 0,0	5 4,2258(6)	11,9	9,6	51	2,45	3,39
x = 0,1	0 4,2260(6)	13,7	10	,6	1,12	2,41
x = 0,1	5 4,2290(6)	11,0	9,6	50	1,25	2,68
x = 0,20	0 4,230(1)	11,6	9,3	36	1,70	2,98
	Atome	site	х	у	z	B _{iso} (Ų)
x = 0	Mg(1)	4a	0	0	0	1,5
x - 0	O(1)	4b	1/2	1/2	1/2	1,5
x = 0.05	Mg(1)/Cu(1)	4a	0	0	0	1,5
x - 0,05	O(1)	4b	1⁄2	1/2	1/2	1,5
x = 0.10	Mg(1)/Cu(1)	4a	0	0	0	1,5
x - 0,10	O(1)	4b	1⁄2	1/2	1/2	1,5
v = 0.15	Mg(1)/Cu(1)	4a	0	0	0	1,5
X - 0,15	O(1)	4b	1⁄2	1/2	1/2	1,5
x = 0.20	Mg(1)/Cu(1)	2a	0	0	0	1,5
x - 0,20	O(1)	4f	1/2	1/2	1/2	1,5

1.4. Solution solide Mg_{1-x}Cu_xCO₃.xH₂O

Tableau 4 : Résultats des affinements (paramètres de maille) par la méthode de Le Bail (groupe d'espace P21/n, n°14)

Mg _{1-x} Cu _x CO ₃ . 3H ₂ O	a(Å)	b(Å)	c(Å)	β(°)	R _p	R _{wp}	χ²
x = 0	7,7006(3)	5,3630(3)	12,1186(6)	90,385(2)	9,30	6,21	1,72
x = 0,05	7,7034(3)	5,3652(3)	12,1242(9)	90,420(6)	4,92	4,44	4,33
x = 0,10	7,7044(3)	5,3657(3)	12,1270(6)	90,387(6)	6,82	5,30	2,47
x = 0,15	7,7036(3)	5,3652(3)	12,1256(6)	90,394(6)	7,43	5,61	2,35
x = 0,20	7,7039(3)	5,3656(3)	12,1270(9)	90,387(6)	8,06	5,66	1,81

2. Solutions solides du chapitre III

2.1. Solution solide Cu_{1-x}Mg_x(OH)₂

Tableau 5 : Résultats des affinements (paramètres de maille) par la méthode de Le Bail (groupe d'espace Cmc2₁, n°36).

	a (Å)	b (Å)	c (Å)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	χ²
x = 0	2,94970(9)	10,598(2)	5,2636(9)	6,34	6,13	6,41
x = 0,05	2,9576(6)	10,598(2)	5,2545(9)	6,37	6,28	5,00
x = 0,10	2,9628(6)	10,608(3)	5,232(1)	6,29	6,27	3,83
x = 0,15	2,9595(6)	10,590(2)	5,219(1)	5,70	6,11	4,92
x = 0,20 (*)	2,9597(6)	10,600(4)	5,220(1)	7,30	6,91	5,77

(*) Composé affiné avec une seconde phase Mg(OH)₂

2.2. Solution solide Cu_{1-x}Mg_xO

Tableau 6 : Résultats des affinements (paramètres de maille) par la méthode de Le Bail (groupe d'espace C21/c, n°15)

	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)	R _P	R_{wp}	χ²
x = 0	4,6837(6)	3,4265(6)	5,1310(6)	99,485(6)	10,1	7,74	7,23
x = 0,05	4,7063(9)	3,4090(6)	5,1293(9)	99,786(9)	7,96	5,90	3,41
x = 0,10	4,751(2)	3,381(2)	5,129(2)	100,16(2)	10,3	7,29	3,98
x = 0,15	4,757(2)	3,366(3)	5,117(2)	100,10(1)	10,1	7,31	3,47
x = 0,20	4,767(2)	3,361(2)	5,119(2)	100,13(1)	8,61	6,84	2,78

Solution solide Cu_{2-x}Mg_xCO₃(OH)₂

Tableau 7 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace P2₁/a, n°14). Les positions atomiques des atomes d'oxygène, d'hydrogène et de carbone correspondent à celles déterminées dans ⁽¹⁾ (en italique). Le paramètre de déplacement isotrope B_{iso} a été fixé à 1.

		а	(Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)	R _P	R _{wp}	R _{Bragg}	χ²
X	= 0	9,5	02(1)	11,92	22(2)	3,2525(3)	98,646(6)	14,3	12,8	5,89	23,9
x = 0,05 9,493		938(9)	11,94	1(1)	3,2485(3)	98,599(5)	12,4	11,4	5,50	13	
x = 0,10 9,4945(6		945(6)	11,91	12(1)	3,2542(3)	98,506(5)	11,4	10,6	5,40	10,8	
x =	0,15	9,48	889(6)	11,91	84(7)	3,2518(3)	98,473(3)	9,73	8,55	3,93	7,45
x =	0,20	9,4	82(2)	11,94	13(2)	3,2393(5)	98,313(9)	13,3	12,9	4,51	10,5
x =	0,25	9,4	79(1)	11,93	32(1)	3,2417(3)	98,262(5)	10,4	9,45	3,97	7,26
			Ato	me	site	х	У		z	B _{iso} (Ų	²)
			Cu	(1)	4e	0,4900(9)	0,2872(6)	0,89	95(2)	1	
			Cu	(2)	4e	0,2325(9)	0,3920(4)	0,40	00(3)	1	
	x = 0		С(1)	4e	0,3289(2)	0,2999(2)	0,318	827(7)	1	
			0(1)	4e	0,1036(3)	0,3995(2)	0,331	.58(9)	1	
			0(2)	4e	0,4501(3)	0,2080(2)	0,417	727(9)	1	
			O(3)		4e	0,4313(3)	0,2960(2)	0,207	736(9)	1	
			O(4)		4e	0,0727(2)	0,8115(2)	0,445	530(9)	1	
			H(1)		4e	0,1802(2)	0,8005(4)	0,369	0,3694(4)		
	x = 0	05	Cu(1)/	'Mg(1)	4e	0,4934(6)	0,2881(4)	0,89	96(2)	1	
	A - C	,00	Cu	(2)	4e	0,2324(5)	0,3919(3)	0,39	95(2)	1	
	x = 0	.10	Cu(1)/	'Mg(1)	4e	0,4944(6)	0,2883(3)	0,90	01(2)	1	
	~ •	,,0	Cu	(2)	4e	0,2315(5)	0,3934(3)	0,39	96(2)	1	
	x = 0	15	Cu(1)/	'Mg(1)	4e	0,4952(6)	0,2877(3)	0,90)1(1)	1	
	A - C	,10	Cu	(2)	4e	0,2318(4)	0,3934(2)	0,39	96(2)	1	
	x = 0	.20	Cu(1)/	'Mg(1)	4e	0,4964(9)	0,2876(6)	0,89	94(3)	1	
		,_0	Cu	(2)	4e	0,2308(8)	0,3905(5)	0,40	00(3)	1	
	x = 0		Cu(1)/	'Mg(1)	4e	0,4976(6)	0,2870(4)	0,90)2(2)	1	
	x = 0,2	,	Cu	(2)	4e	0,2308(5)	0,3937(3)	0,39	98(2)	1	

(1) Zigan, F., Joswig, W., Schuster, H.D. and Mason, S.A., *Verfeinerung der Struktur von Malachit, Cu₂(OH)₂CO₃, durch Neutronenbeugung.* Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Materials, 1977. **145**(1-6): p. 412-426.

3. Solutions solides du chapitre IV

3.1. Solution solide Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂

Tableau 8 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace *P-1*, n°2)

	a (Å)	b ((Å) c (Å	()	α (°)	β (°)	γ (°)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	\mathbf{R}_{Bragg}	χ²
x = 0	4,8582(3)	5,290	02(2) 6,1882	2(3)	72,361(1)	87,002(1)	68,528(1)	9,86	7,60	4,94	4,45
x = 0,1	4,8558(3)	5,28	52(3) 6,1950	D(3)	72,331(1)	87,011(1)	68,529(1)	9,66	7,90	4,24	5,39
x = 0,2	4,8561(3)	5,283	34(3) 6,2050	D(2)	72,315(1)	87,026(1)	68,525(1)	8,84	7,04	3,58	4,27
x = 0,3	4,8546(3)	5,279	97(3) 6,2149	9(3)	72,261(1)	87,013(1)	68,534(1)	9,96	8,23	4,38	5,79
x = 0,4	4,8528(3)	5,275	53(3) 6,2254	4(3)	72,225(1)	87,018(2)	68,535(1)	7,95	7,23	3,97	14,1
x = 0,5	4,8524(1)	5,273	31(1) 6,233	8(1)	72,194(1)	87,015(1)	68,536(1)	8,96	7,60	4,26	6,47
	-		Atome	site	х	У	Z	B _{iso} (Ų)	_		
	Ī		Cu(1)	1a	0	0	0	0,39(6)	T		
			Cu(2)	2i	0,2782(6)	0,2233(6)	0,31642(6)	0,39(6)			
			P(1)	2i	0,3580(12)	0,3500(9)	0,7757(6)	0,39(6)			
		x = 0	O(1)	2i	-0,153(2)	0,348(2)	0,338(1)	0,39(6)			
			O(2)	2i	0,335(2)	0,651(2)	0,168(1)	0,39(6)			
			O(3)	2i	0,236(2)	0,224(2)	0,009(1)	0,39(6)			
			O(4)	2i	0,376(2)	0,158(2)	0,638(1)	0,39(6)			
			Cu(1)	1a	0	0	0	0,87(6)			
			Cu(2)/Mg(2)	2i	0,2785(6)	0,2256(5)	0,3153(4)	0,87(6)			
			P(1)	2i	0,3602(9)	0,3530(9)	0,7764(6)	0,87(6)			
		x = 0,1	O(1)	2i	-0,152(2)	0,347(2)	0,339(2)	0,87(6)			
			O(2)	2i	0,330(2)	0,653(2)	0,167(2)	0,87(6)			
			O(3)	2i	0,234(2)	0,223(2)	0,004(2)	0,87(6)			
			O(4)	2i	0,377(2)	0,152(2)	0,637(1)	0,87(6)			
			Cu(1)	1a	0	0	0	0,37(6)			
			Cu(2)/Mg(2)	2i	0,2795(5)	0,2274(5)	0,3149(3)	0,37(6)			
			P(1)	2i	0,3603(9)	0,3522(6)	0,7775(6)	0,37(6)			
		x = 0,2	O(1)	2i	-0,154(6)	0,344(5)	0,342(4)	0,37(6)			
			O(2)	2i	0,328(5)	0,649(4)	0,174(4)	0,37(6)			
			O(3)	2i	0,229(5)	0,225(5)	0,001(4)	0,37(6)			
			O(4)	2i	0,375(5)	0,154(5)	0,636(4)	0,37(6)			

	Atome	site	x	У	Z	B _{iso} (Ų)
	Cu(1)	1a	0	0	0	0,40(6)
	Cu(2)/Mg(2)	2i	0,2792(5)	0,2257(5)	0,3139(4)	0,40(6)
	P(1)	2i	0,3610(9)	0,3517(9)	0,7749(6)	0,40(6)
x = 0,3	O(1)	2i	-0,153(2)	0,346(2)	0,336(2)	0,40(6)
	O(2)	2i	0,330(2)	0,648(2)	0,172(1)	0,40(6)
	O(3)	2i	0,229(2)	0,223(2)	0,006(1)	0,40(6)
	O(4)	2i	0,377(2)	0,155(2)	0,634(2)	0,40(6)
	Cu(1)	1a	0	0	0	1,06(6)
	Cu(2)/Mg(2)	2i	0,2797(6)	0,2274(6)	0,3148(6)	1,06(6)
	P(1)	2i	0,361(1)	0,3505(9)	0,7771(9)	1,06(6)
x = 0,4	O(1)	2i	-0,152(2)	0,344(9)	0,337(2)	1,06(6)
	O(2)	2i	0,331(2)	0,651(2)	0,172(2)	1,06(6)
	O(3)	2i	0,232(2)	0,228(2)	0,000(2)	1,06(6)
	O(4)	2i	0,378(2)	0,156(2)	0,6311(2)	1,06(6)
	Cu(1)	1a	0	0	0	1,30(6)
	Cu(2)/Mg(2)	2i	0,2780(5)	0,2312(5)	0,3141(4)	1,30(6)
	P(1)	2i	0,3587(9)	0,3530(9)	0,7758(6)	1,30(6)
x = 0,5	O(1)	2i	-0,149(2)	0,342(2)	0,3360(1)	1,30(6)
	O(2)	2i	0,328(2)	0,649(2)	0,174(1)	1,30(6)
	O(3)	2i	0,235(2)	0,221(2)	-0,002(1)	1,30(6)
	O(4)	2i	0,386(2)	0,149(2)	0,634(1)	1,30(6)

 Tableau 8 (suite) : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace P-1, n°2)

3.2. Solution solide $Mg_{3-x}Cu_x(PO_4)_2$

Tableau 9 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace *P2*₁/*n*, n°14)

		а	(Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)	R _P	R _{wp}	\mathbf{R}_{Bragg}	χ²
x =	= 0	7,60)72(3)	8,2442	(3)	5,0797(3)	94,026(2)	7,46	7,90	3,99	6,64
x =	0,1	7,60	071(3)	8,2283	(3)	5,0820(3)	93,967(1)	7,20	7,11	3,63	5,23
x =	0,2	7,60	074(3)	8,2107	(6)	5,0838(3)	93,869(1)	6,82	6,04	2,81	3,46
x =	0,3	7,60	063(3)	8,1957	(3)	5,0846(3)	93,7952(9)	8,47	7,20	4,27	4,45
x =	0,4	7,69	920(3)	8,1798	(3)	5,0886(3)	93,6855(9)	6,58	5,58	3,18	2,95
x =	0,5	7,60	060(3)	8,1828	(3)	5,0879(3)	93,697(1)	8,31	6,57	2,68	2,76
x =	0,8	7,63	358(3)	8,1303	(3)	5,0996(3)	93,383(1)	7,86	7,10	4,24	5,14
x =	= 1	7,63	335(3)	8,0984	(3)	5,1014(3)	93,224(2)	11,6	9,21	5 <i>,</i> 03	4,65
x =	1,2	7,62	220(3)	8,0708	(3)	5,1125(3)	93,025(2)	12,3	11,6	7,87	16
			Ato	me	site	х	У		z	B _{iso} (Ų)
			Mg	(1)	4e	0,6094(4)	0,1433(3)	0,09	940(5)	0,39(6))
			Mg	(2)	2b	0	0		1/2	0,39(6))
			P(2	1)	4e	0,1985(3)	0,1951(3)	0,03	358(5)	0,39(6))
	x =	= 0	O(:	1)	4e	0,0583(6)	0,1435(5)	0,81	192(9)	0,53(6))
			O(2	2)	4e	0,1244(6)	0,1987(6)	0,30	073(9)	0,53(6))
			O(3	3)	4e	0,2590(6)	0,3649(5)	0,94	419(9)	0,53(6))
			0(4	4)	4e	0,3568(6)	0,0758(5)	0,04	470(9)	0,53(6))
			Mg(1)/	′Cu(1)	4e	0,6095(3)	0,1427(3)	0,09	959(5)	0,57(1)	
			Mg	(2)	2b	0	0		1/2	0,57(1)	
			P(2	1)	4e	0,1996(9)	0,1951(9)	0,03	350(5)	0,57(1))
	x =	0,1	O(:	1)	4e	0,0576(6)	0,1450(6)	0,81	185(9)	0,57(2)	
			0(2	2)	4e	0,1249(6)	0,2002(6)	0,30	058(9)	0,57(2)	
			0(3	3)	4e	0,2600(6)	0,3660(6)	0,94	416(9)	0,57(2)	
			0(4	4)	4e	0,3548(6)	0,0753(6)	0,04	468(9)	0,57(2)	
			Mg(1)/	′Cu(1)	4e	0,6092(3)	0,1430(2)	0,09	987(5)	1,44(3))
			Mg	(2)	2b	0	0		1/2	1,44(3))
			P(:	1)	4e	0,1983(3)	0,1955(3)	0,03	356(5)	1,44(3))
	x =	0,2	0(:	1)	4e	0,0574(6)	0,1462(6)	0,81	172(9)	1,17(6)	
			0(2	2)	4e	0,1229(6)	0,1990(6)	0,30	031(9)	1,17(6)	
			O(3	3)	4e	0,2590(6)	0,3663(6)	0,94	437(9)	1,17(6)	
			0(4	4)	4e	0,3540(6)	0,0744(6)	0,04	484(9)	1,17(6))

	Atome	site	х	У	Z	B _{iso} (Ų)
	Mg(1)/Cu(1)	4e	0,6104(1)	0,1424(9)	0,1005(2)	2,09(6)
	Mg(2)	2b	0	0	1/2	2,09(6)
	P(1)	4e	0,2002(4)	0,1962(4)	0,0359(5)	2,09(6)
x = 0,3	O(1)	4e	0,0584(6)	0,1463(6)	0,8156(6)	1,72(9)
	O(2)	4e	0,1212(6)	0,1984(6)	0,3020(6)	1,72(9)
	O(3)	4e	0,2621(6)	0,3654(6)	0,9405(6)	1,72(9)
	O(4)	4e	0,3561(6)	0,0754(6)	0,0451(6)	1,72(9)
	Mg(1)/Cu(1)	4e	0,6111(3)	0,1422(2)	0,1013(4)	2,52(3)
	Mg(2)	2b	0	0	1/2	2,52(3)
	P(1)	4e	0,1988(3)	0,1954(3)	0,0352(4)	2,52(3)
x = 0,4	O(1)	4e	0,0589(6)	0,1468(6)	0,8147(6)	2,01(6)
	O(2)	4e	0,1220(6)	0,1984(6)	0,3006(9)	2,01(6)
	O(3)	4e	0,2622(6)	0,3649(6)	0,9428(6)	2,01(6)
	O(4)	4e	0,3548(6)	0,0756(6)	0,0460(9)	2,01(6)
	Mg(1)/Cu(1)	4e	0,6118(3)	0,1421(3)	0,1035(4)	1,54(3)
	Mg(2)	2b	0	0	1/2	1,54(3)
	P(1)	4e	0,1987(4)	0,1959(3)	0,0361(5)	1,54(3)
x = 0,5	O(1)	4e	0,0583(6)	0,1474(6)	0,8201(9)	1,22(6)
	O(2)	4e	0,1224(6)	0,1996(6)	0,3032(9)	1,22(6)
	O(3)	4e	0,2609(6)	0,3661(6)	0,9408(9)	1,22(6)
	O(4)	4e	0,3529(6)	0,0742(6)	0,0473(9)	1,22(6)
	Mg(1)/Cu(1)	4e	0,6125(3)	0,1417(3)	0,1062(4)	1,07(3)
	Mg(2)	2b	0	0	1/2	1,07(3)
	P(1)	4e	0,1977(4)	0,1962(3)	0,0367(5)	1,07(3)
x = 0,8	O(1)	4e	0,0585(6)	0,1482(6)	0,8139(9)	0,8(1)
	O(2)	4e	0,1178(6)	0,2004(6)	0,2979(9)	0,8(1)
	O(3)	4e	0,2656(6)	0,3696(6)	0,9427(9)	0,8(1)
	O(4)	4e	0,3522(9)	0,0745(6)	0,0451(9)	0,8(1)
	Mg(1)/Cu(1)	4e	0,6140(4)	0,1407(4)	0,1088(5)	1,11(6)
	Mg(2)	2b	0	0	1/2	1,11(6)
	P(1)	4e	0,2005(5)	0,1977(5)	0,0367(9)	1,11(6)
x = 1	O(1)	4e	0,0538(12)	0,1521(9)	0,8249(1)	0,9(1)
	O(2)	4e	0,1208(9)	0,1970(9)	0,2912(2)	0,9(1)
	O(3)	4e	0,2639(9)	0,3688(9)	0,9407(2)	0,9(1)
_	O(4)	4e	0,3526(9)	0,0785(9)	0,0476(2)	0,9(1)
	Mg(1)/Cu(1)	4e	0,6133(4)	0,1412(4)	0,1127(6)	1,17(6)
	Mg(2)	2b	0	0	1/2	1,3(6)
	P(1)	4e	0,6133(4)	0,1412(4)	0,1127(6)	1,3(6)
x = 1,2	O(1)	4e	0,1965(6)	0,199(2)	0,0367(9)	1,3(1)
	O(2)	4e	0,055(1)	0,151(1)	0,815(2)	1,3(1)
	O(3)	4e	0,124(2)	0,196(1)	0,308(2)	1,3(1)
	O(4)	4e	0,264(1)	0,373(1)	0,954(2)	1,3(1)

4. Solutions solides du chapitre V

4.1. Solution solide Mg_{1-x}Cu_xF₂

		a (Å)	C	(Å)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	\mathbf{R}_{Bragg}	χ²	
	x = 0	4,6349(9)	3,05	604(6)	8,16	8,52	1,91	8,82	
	x = 0,0	05 4,6354(9)	3,05	572(6)	7,67	7,73	1,75	6,42	I
	x = 0,2	10 4,6374(12)	3,06	82(9)	8,39	7,83	1,99	5,30	
	x = 0,2	15 4,6336(9)	3,07	28(6)	8,88	8,14	2,40	5,47	I
	x = 0,2	20 4,6309(9)	3,07	86(6)	8,14	7,59	1,83	4,24	
		Atome	site	х		У	Z	B _{iso} (Å	²)
	x = 0	Mg(1)	2a	C)	0	0	3,46(9)
	x – 0	F(1)	4f	4f 0,301		0,3013(3) 0	2,65(9)
x	= 0 05	Mg(1)/Cu(1)	2a	0		0	0	3,01(Э)
~	0,00	F(1)	4f	0,301	.1(3)	0,3011(3) 0	1,68(Э)
x	= 0 10	Mg(1)/Cu(1)	2a	C)	0	0	3,40(Э)
^	- 0,10	F(1)	4f	0,301	.0(3)	0,3010(3) 0	2,14(Э)
x	= 0 15	Mg(1)/Cu(1)	2a	C		0	0	3,1(1	.)
~	0,20	F(1)	4f	0,3011(3)		0,3011(3) 0	1,9(1	.)
x	= 0.20	Mg(1)/Cu(1)	2a	C)	0	0	3,46(9)
	- 0,20	F(1)	4f	0,300	8(3)	0,3008(3) 0	2,65(Э)

Tableau 10 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace P4₂/mnm, n°136).

4.2. Solution solide $Mg_{1-x}Zn_xF_2$

Tableau 11 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace P4₂/mnm, n°136).

	a (Å)	c (Å)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	\mathbf{R}_{Bragg}	χ²
x = 0	4,6349(9)	3,0504(6)	8,16	8,52	1,91	8,82
x = 0,05	4,641(2)	3,0541(9)	9,05	8,09	2,05	9,90
x = 0,10	4,647(2)	3,0598(9)	8,90	9,16	2,13	13,6
x = 0,15	4,652(2)	3,0633(9)	8,76	9,10	2,65	11,8

	Atome	site	х	У	z	B _{iso} (Ų)
x = 0	Mg(1)	2a	0	0	0	3,5(9)
x - 0	F(1)	4f	0,3013(3)	0,3013(3)	0	2,7(9)
x = 0.05	Mg(1)/Cu(1)	2a	0	0	0	4,9(2)
x – 0,05	F(1)	4f	0,3028(3)	0,3011(3)	0	3,6(2)
x = 0.10	Mg(1)/Cu(1)	2a	0	0	0	3,9(2)
x - 0,10	F(1)	4f	0,3027(6)	0,3010(6)	0	2,9(2)
v = 0.15	Mg(1)/Cu(1)	2a	0	0	0	3,1(2)
x - 0,15	F(1)	4f	0,3009(6)	0,3009(6)	0	1,9(2)

4.3. Solution solide Cu_{2-x}Mg_x(PO₄)F

Tableau 12 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace C2₁/c, n°15). Le paramètre de déplacement isotrope B_{iso} a été fixé à 1. Les positions atomiques des anions et du phosphore sont celles extraites de l'affinement de Cu₂PO₄F-micro (tableau 15 page 341).

-			a (Å)		b (Å)	C	(Å)	β	5 (°)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	\mathbf{R}_{Bragg}	χ²	
	х	= 0	12,782(3)	6,186(2)	9,9	80(3)	119,	185(9)	8,05	7,59	3,76	3,53	
	x =	0,1	12,813(3)	6,194(2)	9,9	60(3)	119,	244(9)	7,30	6,57	3,25	2,88	
	x =	0,25	12,836(3)	6,201(2)	9,9	41(3)	119,	297(9)	7,41	6,60	3,11	2,31	
		Ato	ome	site	e x		У	,	z		B _{iso} (Ų)	Taux	cocc Cu	/Mg
x = (n	Cu	ı(1)	8f	0,0599	9(4)	0,261	.2(9)	0,0025	5(6)	1,5			
x - v	5	Cu	ı(2)	8f	0,3448	8(5)	0,387	'0(9)	0,6468	8(6)	1,5			
v = 0	10	Cu(1),	/Mg(1)	8f	0,0604	4(4)	0,266	52(9)	0,0026	5(6)	1,5	0	,92/0,0	8
x - 0,	10	Cu(2),	/Mg(2)	8f	0,3444	4(5)	0,387	/1(9)	0,6454	4(2)	1,5	0	,98/0,0	2
v = 0	25	Cu(1),	/Mg(1)	8f	0,0615	5(5)	0,264	8(9)	0,0039	9(6)	1,5	0	,84/0,1	6
x = 0,	23	Cu(2),	/Mg(2)	8f	0,3444	4(5)	0,385	54(9)	0,6449	9(6)	1,5	0	,91/0,0	9

4.4. Solution solide Cu_{2-x}Zn_x(PO₄)F

Tableau 13 : Résultats des affinements (paramètres de maille et positions atomiques) par la méthode de Rietveld (groupe d'espace C21/c, n°15). Le paramètre de déplacement isotrope B_{iso} a été fixé à 1,5. Les positions atomiques des anions et du phosphore sont celles extraites de l'affinement de Cu₂PO₄F-micro (tableau 15 page 341).

•		a (Å)		b (Å)	c (Å)	β (°)	R _P	\mathbf{R}_{wp}	\mathbf{R}_{Bragg}	χ²	
	x = 0	12,782	(3)	6,186(2)	9,980(3)	119,185(9) 8 <i>,</i> 05	7,59	3,76	3,53	
	x = 0,1	12,804	(3)	6,192(2)	9,965(3)	119,181(9) 8,83	7,89	4,17	3,39	
	x = 0,25	12,824	(2)	6,202(1)	9,962(2)	119,189(9) 7,33	6,67	3,00	3,03	
	x = 0,5	12,853	(2)	6,214(1)	9,935(2)	119,142(6	5) 5,94	5,33	2,41	2,07	
	x = 0,75	12,876	(2)	6,234(1)	9,908(2)	119,055(6	5) 6,75	6,58	4,02	6,03	
	x = 1	12,886	(2)	6,252(1)	9,876(2)	119,936(6	6,91 (6,86	4,12	6,78	
	At	ome	site	x	у	,	Z	B _{iso} (Ų) Tá	aux occ	Cu/Zn
x = 0	C	u(1)	8f	0,0599	(4) 0,261	.2(9) 0,0	025(6)	1,5	;		
	C	u(2)	8f	0,3448	(5) 0 <i>,</i> 387	'0(9) 0,6	6468(6)	1,5	;		
v = 0 1	Cu(1)/Zn(1)	8f	0,0594	(4) 0,261	.1(9) 0,0	014(6)	1,5	;	0,9/0	,1
x - 0,1	Cu(2)/Zn(2)	8f	0,3447	(5) 0,386	52(9) 0, 6	6470(6)	1,5	;	1/0	
x = 0.2	Cu(1)/Zn(1)	8f	0,0601	(4) 0,266	62(9) 0,0	025(2)	1,5	5	0,75/0	,25
x - 0,2	Cu(2)/Zn(2)	8f	0,3441	(4) 0,390	00(9) 0,6	6466(6)	1,5	;	1/0	
x = 0	Cu(1)/Zn(1)	8f	0,0609	(3) 0,264	7(6) 0,0	026(4)	1,5	5	0,96/0	,04
x - 0,	Cu(2)/Zn(2)	8f	0,3444	(3) 0,387	'4(6) 0, 6	5459(5)	1,5	5	0,54/0	,46
x = 0.7	Cu(1)/Zn(1)	8f	0,0617	(3) 0,267	'5(6) 0,0	060(4)	1,5	;	0,71/0	,29
x - 0,7	Cu(2)/Zn(2)	8f	0,3436	(4) 0,390	05(6) 0, 6	5443(5)	1,5	;	0,54/0	,46
v – 1	Cu(1)/Zn(1)	8f	0,0617	(5) 0,267	'9(9) 0,0	062(6)	1,5	;	0,59/0	,41
x = 1	Cu(2)/Zn(2)	8f	0,3428	(5) 0,390	0(9) 0,6	6437(6)	1,5	;	0,41/0	,59



Annexe 2 : Evolution des angles O-M-O et P-O-M dans Cu_{3-x}Mg_x(PO₄)₂ et Mg_{3-x}Cu_x(PO₄)₂

Figure 1 : Evolution des angles Oxygène-Métal-Oxygène (O-M-O) au sein des polyèdres de coordinence M(1) et M(2) et Phosphore- Oxygène-Métal (P-O-M) dans la structure de Cu₃(PO₄)₂ en fonction du taux de substitution x



Figure 2 : Evolution des angles Oxygène-Métal-Oxygène (O-M-O) au sein des polyèdres de coordinence des sites M(1) et M(2) et Phosphore- Oxygène-Métal (P-O-M) dans la structure de Mg₃(PO₄)₂ en fonction du taux de substitution x

Liste des communications et actions de diffusion de la culture scientifique

Liste des communications

1 Communication orale invitée internationale

"Antibacterial activity of micro- and nano-crystalline copper substituted periclase" B. Clavier, T. Baptiste, A. Guiet, S. Zafeiratos, C. Roques, <u>G. Corbel</u> FIMPART17 : International Conference On Frontiers In Materials Processing Applications Research & Technology, 9-12 Juillet 2017, Bordeaux (France).

1 Communication orale internationale

"Enhanced antibacterial activity of synthetic magnesium-containing minerals" <u>B. Clavier</u>, T. Baptiste, A. Zhadan, A. Guiet, C. Roques, G. Corbel 3rd International Conference on Applied Mineralogy & Advanced Materials, 24-26 Juillet 2018, Bari (Italie)

2 Communications orales nationales

- "Synthèse et caractérisation d'agent biocide de type periclase"
<u>B. Clavier</u>, T. Baptiste, A. Guiet, C. Roques, G. Corbel
Journées Scientifiques SCF Bretagne-Pays de Loire, Le Mans, 2-5 mai 2017.
- "Copper substituted magnesium oxide as biocidal agent in textiles"
<u>B. Clavier</u>, T. Baptiste, A. Zhadan, A. Guiet, V. Fernandez, C. Roques, G. Corbel
Journée de l'Ecole Doctorale 3M 2018, Rennes, 29 octobre 2018.

1 Communication internationale par affiche

"Effect of magnesium substitution on the antibacterial activity of synthetic tenorite" B. Clavier, T. Baptiste, A. Zhadan, A. Guiet, F. Porcher, C. Roques, <u>G. Corbel</u> 3rd International Conference on Applied Mineralogy & Advanced Materials, 24-26 Juillet 2018, Bari (Italie)

1 Communication nationale par affiche

"Copper substituted brucite as antibacterial agent" <u>B. Clavier</u>, T. Baptiste, A. Guiet, C. Roques, G. Corbel Journée de l'Ecole Doctorale 3MPL 2017, Angers, 30 juin 2017.

Concours "Expose ta thèse" "Le cuivre : tueur de bactéries?" <u>B. Clavier</u> Le Mans, décembre 2018

Actions de diffusion de la culture scientifique

Participations à la fête de la science

Abbaye de l'Epau, Le Mans Editions 2017 et 2018 Animation des stands dédiés à la cristallographie, à plusieurs éléments de la classification périodique et présentation de la pile à combustible destinés prioritairement à un jeune public (action de vulgarisation scientifique)

"Apérau'labo"

29 novembre 2018 dans les locaux de l'Institut des Molécules et Matériaux du Mans Présentation de l'équipe "Oxydes et Fluorures" au grand public (environ 30 personnes)

"Histoires magiques et chimiques"

20 mars 2019 à La Maison pour Tous Jean Moulin, Le Mans Animation du stand "chimie" (vulgarisation scientifique) et participation à l'aménagement de la salle

Accueil de jeunes de l'association "Planète Sciences"

8 avril 2019 : présentation de l'équipe "Oxydes et Fluorures" à un public âgé de 6 à 14 ans 4 groupes de 8 enfants répartis sur une matinée

Accueil de stagiaires de 3^e en 2017 et 2018

Visites de collègiens/lycéens tous les ans

Publication : "Enhanced bactericidal activity of brucite through partial copper substitution"

Journal of Materials Chemistry B



PAPER



Cite this: J. Mater. Chem. B, 2020, 8, 100

Enhanced bactericidal activity of brucite through partial copper substitution[†]

Batiste Clavier,^a Téo Baptiste,^a Florian Massuyeau,^b Alain Jouanneaux,^a Amandine Guiet,^a Fabien Boucher,^c Vincent Fernandez,^b Christine Roques^d and Gwenaël Corbel^b*^a

Brucite Mg(OH)₂ belongs to a family of two-dimensional compounds with a Cdl₂-type structure built up from layers of edge-sharing octahedra delineating 2D galleries. In the current study, nanometer-sized platelets of copper substituted Mg(OH)₂ were prepared by co-precipitation at room temperature in mixed alkaline (NaOH/Na₂CO₃) medium. Very weak substitution of a few hydroxyl ions by carbonate groups was highlighted at first by infrared spectroscopy and then quantified by thermogravimetric (TG) and mass spectrometric (MS) evolved gas analyses. The presence in a very low amount of water molecules in the galleries induces disorder in the stacking of layers of edge-sharing octahedra along the c-axis. The dehydration of the hydroxides taking place below 225 °C preserves the brucite-type structure of the samples while suppressing the stacking disorder. Copper substitution greatly enhances the bactericidal activity of nanometer-sized platelets of brucite against two bacteria frequently involved in healthcare-associated-infections. 10 mol% of cupric ions in Mg(OH)₂ (a copper loading of 0.102 mg mL⁻¹ in the suspension) were sufficient to induce, after 3 h in contact, 100% and 99.3% reductions in viability of Gram-negative E. coli and Gram-positive S. aureus, respectively (reductions as low as 23% and 48% are reported for the parent compound $Mg(OH)_2$ in the same conditions). A good compromise between fast bactericidal kinetics and a high reduction in viability is reached by the 15 mol% copper-substituted Mq(OH)₂ hydroxide. Its use gives the opportunity to five-fold reduce the copper loading of the bactericidal agent while being at least equally or even more efficient compared to the conventional CuO (a Cu loading of 0.799 mg mL⁻¹ and 0.154 mg mL⁻¹ in the suspension of CuO and 15 mol% copper substituted Mg(OH)₂ particles, respectively).

Received 5th September 2019, Accepted 13th November 2019

DOI: 10.1039/c9tb01927h

rsc.li/materials-b

1. Introduction

Bacterial pathogens causing healthcare-associated-infections (HAIs) pose ongoing and increasing challenges to hospitals, both in the clinical treatment of patients and in the prevention of their person-to-person transmission. In 2012, a report of the

French Institute for Public Health Surveillance¹ pointed out that three pathogens are responsible for more than half of the number of HAIs in France: the Gram-positive Staphylococcus aureus (S. aureus, 15.9%) and two Gram-negative bacteria Escherichia coli (E. coli, 26%) and Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa, 8.4%). By designing bactericidal compounds having no or very low ecotoxicity, the impact of engineered materials on the environment and the risk of resistance acquisition to antimicrobial agents will be reduced by limiting their uses. Certain oxides such as periclase MgO²⁻⁴ and tenorite CuO⁵⁻⁷ exhibit bactericidal activity towards these pathogenic bacteria. Due to their long-term geological availabilities, these oxides could therefore be substituted, with advantages, for metallic silver, frequently used as a bactericidal agent. But CuO has ecotoxic effects while MgO has not.8 However, hydration of MgO by water vapour^{9,10} or in aqueous solution^{11,12} occurs leading with time to the growth onto the grain surface of a layer of brucite Mg(OH)₂. Then, the hydration of the grain core occurs thanks to a diffusion process from the outer surface. The hydration rate depends to a great extent on the particle size of

 ^a Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMMM), UMR-6283 CNRS, Le Mans Université, Avenue Olivier Messiaen, 72085 Le Mans Cedex 9, France.
 E-mail: gwenael.corbel@univ-lemans.fr; Fax: +33 (0)2 43 83 35 06; Tel: +33 (0)2 43 83 26 48

^b Institut des Matériaux Jean Rouxel (IMN), UMR-6502 CNRS, Université de Nantes, 2 rue de la Houssinière, BP32229, 44322 Nantes cedex 3, France

^c Institut Universitaire de Technologie du Mans, Le Mans Université,

Avenue Olivier Messiaen, 72085 Le Mans Cedex 9, France

^d Laboratoire de Génie Chimique, UMR-5503 CNRS, Faculté de Pharmacie, Université Paul Sabatier - Toulouse III, 35, chemin des maraîchers, 31 062 Toulouse Cedex 4, France

[†] Electronic supplementary information (ESI) available: (1) Experimental. (2) Origin of the lattice expansion when dehydrating samples. (3) Chemical state of surface particles probed by X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). See DOI: 10.1039/c9tb01927h

MgO and the temperature. For nanometer-sized particles of MgO with a specific surface area of $\approx 81 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (corresponding to an average $\emptyset \approx 20$ nm), Smithson and Bakshi¹¹ showed that complete conversion into Mg(OH)₂ occurred after ≈ 100 min of immersion in water at 38 °C. Makhluf et al.⁴ have evaluated the activity of MgO particles towards E. coli in the culture medium at 37 °C. These authors showed that the activity is only significant when the size of MgO particles is lower than 10 nm.⁴ which in turn drastically increases its sensitivity to moisture. Sawai et al.13 considered that the alkaline effect caused by the hydration of MgO is one of the primary factors in its antibacterial activity against yeasts (Saccharomyces cerevisiae and Candida albicans) and filamentous fungi (Aspergillus niger and Rhizopus stolonifer). Dong et al.¹⁴ have reported that nanometer-sized platelets of Mg(OH)₂ (a thickness of ≈ 10 nm and a face diameter of $\approx 200-300$ nm) also exhibit bactericidal activity towards E. coli at 37 °C. A complete eradication of E. coli is reached after 24 h of bacteria incubation with Mg(OH)₂ particles. Since Mg(OH)₂ is active and rapidly formed when nanometer-sized particles of oxide were immersed in the culture medium, the bactericidal activity of MgO particles mainly originates from the hydroxide formed at the surface. Akhavan et al.15 evaluated the antibacterial activity of nano-structured CuO layers grown on the surface of copper foil by immersion in a diluted sodium hydroxide solution (0 to 3 \times 10 $^{-2}$ mol L $^{-1})$ maintained at 60 $^\circ C$ for 20 h. High antibacterial activity against E. coli (with a reduction in viability around 5 log10 or 99.999% after 90 min) was observed when a NaOH concentration of 3 \times 10⁻² mol L⁻¹ was used. These authors ascribed this very high activity to the presence of Cu(OH)₂ detected in a large amount at the foil surface by XPS analysis. The limit for using Mg(OH)₂ as a bactericidal agent is that its performance depends on the shape and aggregation of particles with a reduction in E. coli viability not exceeding 90% in the best case after 4 h.¹⁶ The partial substitution of magnesium ions with cupric ones could greatly enhance the bactericidal activity of Mg(OH)₂ particles, whether in terms of kinetics or the reduction level in cell viability.

While apparently simple, such an approach has not been yet reported in the literature because the synthesis of $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ particles is challenging. The synthetic route to prepare $Mg(OH)_2$

nanoparticles consists in precipitating them by dropwise addition of an alkaline solution (ammonia or sodium hydroxide) to a solution of magnesium salt (chloride, sulfate or nitrate) maintained at constant temperature, typically in the range RT to $60 \,^{\circ}C.^{17}$ Unfortunately, Cudennec *et al.*¹⁸ observed that precipitation carried out at room temperature from a solution of copper salt with sodium hydroxide solution transiently gives rise to weakly crystallized particles of copper hydroxide which quickly transform into CuO within a few hours of ageing. For these authors, progressive dissolution of Cu(OH)₂ particles occurs with time in hydroxide ion rich-medium, leading to the formation of the soluble square planar [Cu(OH)₄]²⁻ complex. This anion is considered as the elementary building unit which enables the precipitation of copper oxide by condensation/dehydration.¹⁹

In the present study, nanometer-sized particles of several coppersubstituted magnesium hydroxides $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ ($0 \le x \le 0.15$) are successfully prepared at room temperature by adding Na₂CO₃ to the precipitating sodium hydroxide solution. Only the combination of temperature-controlled X-ray diffraction, infrared spectroscopy, optical absorption spectroscopy, thermogravimetric (TG) and mass spectrometric (MS) evolved gas analyses and X-ray photoelectron spectroscopy enables one to determine the chemical composition of the as-prepared samples $(Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} \cdot zH_2O)$. For each composition, evaluation of its bactericidal activity is carried out against two bacteria frequently involved in healthcare-associatedinfections: the Gram-positive S. aureus and the Gram-negative E. coli. Because the morphology, size, specific surface area and dissolution of particles are parameters which can possibly affect their bactericidal activity, these features are determined by transmission electron microscopy, X-ray diffraction, N2 adsorption and atomic emission spectroscopy, respectively. A bactericidal mechanism is finally proposed.

2. Results and discussion

2.1 Sample identification

Within the synthesis conditions described in the ESI† (Section 1.2), the XRPD patterns of raw powders show a single Mg(OH)₂ brucite type phase up to a copper content of x = 0.15 (Fig. 1a). For x = 0.2,



Fig. 1 Room-temperature (RT) XRPD patterns of as-prepared (a) and dehydrated (b) $(Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2)$ powder samples for different copper contents x. Insets: Effect of the sample dehydration on the profile shape of the (001) diffraction peak.



Fig. 2 Perspective view of the crystal structures of brucite, pyroaurite and aurichalcite. The location of the hydrogen atoms in the structure of aurichalcite is not reported in ref. 21.

a trace of Cu(OH)₂ is detected (one peak at around 24° in 2θ), thus indicating that the limit of the solid solution "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" is exceeded. The structure of brucite, Mg(OH)₂²⁰ (Fig. 2), is built up from layers of edge-sharing octahedra occupied by magnesium cations (6-fold coordinated to hydroxyl groups). The hydroxyl groups OH⁻, which are directed along the threefold axes of the structure, point out of both sides of each layer. The stacking along the *c* direction of these layers delineates infinite bi-dimensional galleries (Fig. 2).

As shown in Fig. 1a, the narrow and symmetric (001) peak of $Mg(OH)_2$ (x = 0) phase transforms into a broad and asymmetric peak upon substitution, thus revealing disorder in the stacking of the layers along the *c* direction. A close structural inspection of two layered hydroxides, $Mg_6Fe_2(OH)_{16}(CO_3) \cdot 4H_2O^{22,23}$ and $Zn_3Cu_2(OH)_6(CO_3)_2$,²¹ has helped us to find an explanation for this disorder.

The rhombohedral structure of pyroaurite $Mg_6Fe_2(OH)_{16}(CO_3)$. $4H_2O^{22,23}$ (Fig. 2) is built up from layers of edge-sharing octahedra as in brucite, except that a quarter of these octahedra are occupied by Fe³⁺ ions. To balance the positive charge in the brucite-type layers $[Mg_6Fe_2(OH)_{16}]^{2+}$ generated by this partial aliovalent substitution, carbonate anions are hosted in the galleries delineated by these layers stacked along the c direction. The orientation of triangular CO_3^{2-} anions is parallel to the brucite-type layers. Water molecules also find a place in these galleries. A second form with hexagonal symmetry, named sjögrenite,^{23,24} is reported in the literature for the Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃)·4H₂O hydroxycarbonate. Both structures only differ in the stacking sequences of brucite-type layers and oxygen atoms (from carbonate ions and water molecules) located in the interlayer space along the c direction. The sequences are called three-layer rhombohedral (3R) and two-layer hexagonal (2H) with reference to the pyroaurite and sjögrenite polytypes, respectively.²⁵ Whatever the polytype, Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃)·4H₂O belongs to the large family of layered double hydroxides (LDH)²⁶ with the general formula $[M_{1-x}^{II}M_{x}^{III}(OH)_{2}][A^{n-}]_{x/n} \cdot mH_{2}O$, where M^{II} is a divalent metal cation which can be partially substituted by a M^{III} trivalent cation, and A^{n-} is a charge compensating anion such as NO_3^{-} or CO_3^{2-} for instance. Disorder in the stacking frequently occurs in LDH.²⁷ Stacking faults can originate from a difference in water content from one interlayer gallery to the others. Since the amount of intercalated anions A^{n-} in the gallery is linked to the content of trivalent cations, stacking faults can help the structure to locally adapt to a non homogeneous cationic distribution between brucite-type layers.

To some extent, aurichalcite Zn₃Cu₂(OH)₆(CO₃)₂²¹ is structurally related to brucite (Fig. 2). The monoclinic unit cell of aurichalcite contains four crystallographically independent metal sites (M1-M4). The M3 site is only occupied by zinc and both divalent cations are equally distributed on the three remaining metal sites. The M1 and M2 sites are both 6-fold coordinated to oxygen atoms in octahedral coordination (green octahedra in Fig. 2), while the M3 and M4 sites are in tetrahedral and 5-fold (3+2) distorted coordination (orange polyhedra in Fig. 2), respectively. In aurichalcite, the octahedra share edges to form infinite layers parallel to the (b, c) basal plane. However, these layers of edge-sharing octahedra are not as dense as in brucite. When compared to a brucite-type layer, one-fifth of the octahedra are empty in layers of aurichalcite. The remaining M3 and M4 sites are both located outside these cationic deficient layers in such way that the two opposite triangular faces of each empty octahedron correspond to a triangular face of the coordination polyhedra of M3 and M4 sites. In aurichalcite (Fig. 2), all carbonate ions are bidentate and share one oxygen atom with three octahedra of a deficient brucite-type layer. Half of the carbonate ions share a second oxygen atom with [M3O₄] tetrahedra in order to form pillars linking two adjacent layers of edge-sharing octahedra. The remaining carbonate ions share a second oxygen with [M4O₅] polyhedra lying on the layer to which they are already linked.

It is worth noting that the precipitation of mixed hydroxydes occurred when a solution of magnesium and copper nitrates is added dropwise to a mixture of NaOH and Na₂CO₃ solutions. From the above structural considerations, one cannot rule out that carbonate or nitrate anions as well as water molecules might be incorporated into the galleries of the brucite-type hydroxide "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" we obtained. To detect the presence of foreign anions and water, infrared spectra were collected at room temperature on raw powders. Fig. 3a and b show the superimposition of the different spectra as a function of the copper content *x*.

In each IR spectrum displayed in Fig. 3a, the intense vibration band observed at around 3700 cm⁻¹ is attributed to the stretching vibration ν of the hydroxyl group.²⁸ The frequency of the OH stretching vibration in the x = 0 sample is in very good agreement with the value of 3697 cm⁻¹ determined by Martens and Freud on Mg(OH)₂ powder prepared by vapour phase hydroxylation of MgO.²⁹ In Fig. 3b, the weak absorption band at around 1650 cm⁻¹ would correspond to the bending vibration δ of water molecules²⁸ either present in a low amount in the interlayer gallery or physisorbed at the grain surface. This point will be clarified later. Two additional bands are also detected at lower frequencies in each IR spectrum shown in Fig. 3b. These bands could be ascribed to stretching vibrations ν of either carbonate or nitrate groups.²⁸ Along the series, the ratio between the integrated band areas of



Fig. 3 (a) and (b) Selected portions of infrared transmission spectra collected at room temperature on " $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_2$ " raw powder samples showing the bands arising from the stretching vibrations ν of hydroxyl OH⁻ ions, the bending vibration δ of water molecules and stretching vibrations ν of either carbonate or nitrate ions. (c) Variation with the copper content x of the ratio between integrated band areas of carbonate/nitrate and hydroxyl ions.

carbonate/nitrate and hydroxyl ions first slightly increases in the substitution range $0 \le x \le 0.1$ before nearly doubling between x = 0.1 and 0.15. It clearly shows that the amount of foreign anions in the sample increases with the copper content x without being directly proportional to it.

The nature of the foreign anions was determined by analyzing the gas released when the sample decomposes upon heating. For this purpose, a thermogravimetric analyser coupled to a mass spectrometer was used. In parallel, the thermal decomposition has been followed by temperature-controlled XRPD to provide information about the transformation process. Thermograms, mass spectra and thermal evolutions of diffraction patterns for three selected samples x = 0, 0.1 and 0.2 are all displayed in Fig. 4. The thermograms and mass spectra recorded on the two remaining samples of the series (x = 0.05 and 0.15) are similar to those of the x = 0 and 0.1 samples. These data are thereby not displayed in Fig. 4. In Fig. 4, two distinct weight losses are clearly observed in the thermograms of the x = 0 and x = 0.1 samples. A first small weight loss takes place in the temperature range 100-225 °C, which ends up with a plateau. This weight loss is only associated with release of water molecules since a bump is observed at around 125 °C in the m/z = 18 spectrum. Temperature-controlled diffraction reveals that the brucite-type structure is preserved in this temperature range (Fig. 4). Because a bending vibration δ of water molecules has been detected by IR spectroscopy for all samples, this first weight loss can only be associated with a dehydration process. In addition to the bump at around 125 $^{\circ}C$ ascribed to the dehydration of the brucite-type hydroxide, a second bump is clearly observed at around 175 °C in the m/z = 18 spectrum of the x = 0.2 sample. As shown in the room temperature diffraction patterns displayed in Fig. 1a and 4, a secondary phase $Cu(OH)_2$ is present in a very low amount with a major brucite-type hydroxide for the as-prepared x = 0.2 sample. $Cu(OH)_2$ is a metastable phase which decomposes into copper oxide CuO at 145-160 °C,30 which is a very low decomposition temperature for a hydroxide-type compound. In Fig. 4, the only diffraction peak of Cu(OH)₂ at around 24° in 2θ disappears at

175 °C, which corresponds to the temperature at which the second bump is detected in the m/z = 18 spectrum. No trace of copper oxide is however detected in the diffraction patterns collected on the x = 0.2 sample in the temperature range 175–225 °C within which the dehydrated brucite-type hydroxide still exists. In their study, Günter et al.³⁰ have observed that the diffraction lines of CuO, resulting from the decomposition of $Cu(OH)_2$, are broad, which means that the coherent diffraction domains are small in size. Starting with a very low amount of $Cu(OH)_2$ present in the x = 0.2 sample, it is not so surprising that no diffraction lines of CuO are detected in the background of the XRPD pattern collected in the temperature range 175-225 °C because of the small amount and the small grain size of the copper oxide produced. Finally, the absence of a plateau in the thermogram of the x = 0.2 sample originates from the successive weight losses caused by the dehydration of the brucitetype hydroxide and the decomposition of $Cu(OH)_2$. In the RT-225 °C range, the successive dehydration of the brucitetype hydroxide and the decomposition of Cu(OH)₂ do not allow one to determine the water content *z* of the x = 0.2 sample. In Table 1, the water content z determined from the first weight loss of the thermograms increases with the copper content x but remains relatively small even for highly copper substituted magnesium hydroxides ($z \approx 0.11$ for a copper content x = 0.15).

In layered double hydroxides (LDH), water molecules are both physisorbed at the grain surface and located within the interlayer galleries.^{31,32} The former are easily removed by drying the raw powder at around 60 °C, while subsequent heating above 250 °C is necessary for releasing the latter.³² Only inter-layered water molecules are counted in the unit formula of LDH with a metal/H₂O ratio that does not exceed 0.5, as for instance in pyroaurite Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃)·4H₂O.^{22,23} For the "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" samples, there are concerns about whether the dehydration taking place in the temperature range 100–225 °C corresponds to release of water molecules located within the interlayer galleries of the brucite-type structure or adsorbed at the particle surface or both together. This question



Fig. 4 (Left) TGA thermograms and mass spectra of released water and carbon dioxide collected upon heating in argon on "Mg(OH)₂", "Mg_{0.9}Cu_{0.1}(OH)₂" and "Mg_{0.8}Cu_{0.2}(OH)₂" raw powder samples. (Right) Thermal evolution of the XRPD patterns of the same samples when annealed in air from RT to 400 °C.

is of vital importance since the temperature at which the dehydration occurs in "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" is lower than the temperature characteristic of the release of inter-layered water molecules in LDH. As mentioned in the ESI[†] (Section 1.5), raw "Mg_{1-r}Cu_r(OH)₂" powders were dried in static air at 60 °C prior to any analysis, which normally allows the desorption of water molecules physisorbed at the particle surface. When in situ studying the dehydration of the hydroxides by temperaturecontrolled diffraction, the asymmetric broadening of the (001) diffraction peak progressively disappears as the temperature increases in the range RT-225 °C in Fig. 4. Because the layers of edge-sharing octahedra are stacked along the c axis of the $Mg(OH)_2$ structure, this change in the peak profile is a sign that the dehydration affects this stacking, a process that any desorption of water molecules physisorbed at the particle surface cannot obviously cause. Thereby, the observed dehydration should mainly correspond to the loss of water molecules located in a low amount within the interlayer galleries. Now, why does the dehydration affect the stacking of layers? With such a small content of water in the dried samples (Table 1),

 Table 1
 Evolution of the content of water z and carbonate anions y determined from the weight losses of thermogravimetric analyses as a function of the copper content x in mixed hydroxides $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y'}zH_2O$

	Dehydration		Decomposition			
Copper content <i>x</i>	Weight loss %	$z(H_2O)$	Weight loss %	y(CO ₃)		
0	1.84	0.062	31.33	0.034		
0.05	1.91	0.066	30.57	0.043		
0.1	2.36	0.085	29.56	0.045		
0.15	3.51	0.114	30.12	0.129		

certain galleries of the mixed hydroxides are certainly free of water molecules, while others are partially filled. Note that the height of the galleries in fully dehydrated $Mg(OH)_2$ is around 2.689 Å,²⁰ which is more than 2 times smaller than the height of the galleries (5.688 Å) in pyroaurite $Mg_6Fe_2(OH)_{16}(CO_3)$ · $4H_2O$,^{22,23} which contain a huge amount of water molecules. To accommodate these water molecules and the variation in water content from one gallery to the others, layers of edge-sharing octahedra cannot be stacked in an orderly manner as in

an idealized brucite structure (*i.e.* an increase in the height of galleries containing water molecules along the *c* axis). Disorder in the stacking then exists involving the asymmetric broadening of the (001) peak towards low 2θ scattering angles observed in the XRPD patterns (Fig. 1a). In this figure, the broadening becomes significant for a copper content higher than x = 0.1 when the water content exceeds $\approx 8 \mod \%$ (Table 1). Note that the position of the (001) peak for a given composition has slightly shifted towards low scattering 2θ angles after dehydration. It means that the interlayer galleries weakly expand in height along the *c* axis when removing water molecules in Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO₃)_y·*z*H₂O hydroxides. With the bactericidal properties of materials being not related to their thermal dehydration, the origin of the lattice expansion when dehydrating samples is only discussed in the ESI† (Section 2).

Above 250-300 °C, the sample starts decomposing by simultaneously releasing water and a few CO₂ molecules as shown at m/z = 18 and m/z = 44 in the mass spectra displayed in Fig. 4. No traces of NO₂ molecules resulting from thermal decomposition of nitrates anions are detected by mass spectrometry (not shown in Fig. 4). Thereby, carbonate anions are present in the interlayer galleries within the structure of the mixed hydroxides obtained. Because of the isovalent character of the magnesium ion substitution by divalent copper, the layers of edge-sharing octahedra in mixed "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" hydroxides are neutral in charge, contrary to what is observed in pyroaurite and sjögrenite polytypes of Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃)· 4H₂O. The presence of carbonate anions in "Mg_{1-x}Cu_x(OH)₂" then implies that they share oxygen atoms between layers, as observed in the structure of aurichalcite $Zn_3Cu_2(OH)_6(CO_3)_2^{21}$ for instance (Fig. 2). The consequence of that is a partial substitution of a few hydroxyl ions by carbonate groups in the formulation of mixed hydroxides as follows: $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y \cdot zH_2O$. Note that the metal/H₂O ratio in pyroaurite Mg₆Fe₂(OH)₁₆(CO₃)·4H₂O (= 0.5) is more than 4 times larger than that found in Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)_{1.742}(CO₃)_{0.129}·0.114H₂O for a similar metal/ CO_3^{2-} ratio ($\approx 1/8$). Finally, the XRPD pattern collected above 300 °C (Fig. 4) shows that the only decomposition product is a single mixed periclase-type oxide $Mg_{1-x}Cu_xO$ even for the composition x = 0.2, which originally contains a trace of copper hydroxide Cu(OH)₂. From the above thermal and temperature-controlled diffraction analyses, the dehydration and decomposition reactions are the following:

$$Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2y}(CO_{3})_{y} \cdot zH_{2}O \rightarrow Dehydration$$

$$\rightarrow Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2y}(CO_{3})_{y} + zH_{2}O_{(g)}$$

$$Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2y}(CO_{3})_{y} \rightarrow Decomposition$$

$$\rightarrow Mg_{1-x}Cu_{x}O + yCO_{2(g)} + (1 - y) H_{2}O_{(g)}$$

From the structural correlation with aurichalcite $Zn_3Cu_2(OH)_6(CO_3)_2$,²¹ a small fraction of divalent cations must be 4-fold or 5-fold coordinated to oxygen atoms and outside the brucite-type layers in order to take into account the partial substitution of a few hydroxyl ions by carbonate groups in

 $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu}$:zH₂O compounds. The small content y of carbonate ions calculated from the second weight loss of the thermograms (Fig. 4 and Table 1) means that this fraction of Mg^{2+}/Cu^{2+} cations in 4-fold or 5-fold coordination should be also small. The coordination environment of a transition metal ion such as Cu²⁺ in the crystal lattice directly influences the energy levels of its d-orbitals through crystal field splitting (*i.e.* octahedral splitting, tetrahedral splitting). The position in wavelength of the absorption band in the UV-visible-NIR spectrum is directly related to the energy required for d-d electronic transitions to occur. Absorption spectroscopy can be then used to probe the coordination of copper ions in $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} zH_2O$ compounds. The visible-NIR absorption spectra of all compositions of the series are displayed in Fig. 5a. For the white x = 0 sample (*i.e.* Mg(OH)₂), only two weak absorptions occurred in the NIR region of the spectrum with maxima at around 7150 and 7250 cm⁻¹. Martens and Freund²⁹ showed that these bands correspond to the first fundamental overtones of the stretching vibrations ν of hydroxyl OH^- ions observed for Mg(OH)₂ in the range 3500-4000 cm⁻¹. When cupric ions are tetrahedrally coordinated to oxygen atoms in copper doped ZnO³³ or in CuAl₂O₄ spinel,³⁴ a broad absorption is measured in the wavenumber range 5550 cm^{-1} (1800 nm) to 8330 cm⁻¹ (1200 nm). Apart from the overtones of ν_{OH} vibrations, no additional absorption band is detected in this NIR region of the spectra displayed in Fig. 5a, thus clearly indicating that no cupric ions are 4-fold or 5-fold coordinated to oxygen atoms in $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} zH_2O$ compounds. However, a broad absorption band appears at higher wavenumbers in the spectra of the x > 0 samples with a maximum at around 13 900 cm⁻¹ (\approx 720 nm). Its intensity grows as the copper content x increases in the series (hyperchromic effect). It means that copper containing samples absorb light in the red region of the visible absorption spectrum, which is in agreement with the complementary blue color of the powder (Fig. 5b). In the hexaaquacuprate complex $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$, the transition of one electron from the E_g orbital to the T_{2g} orbital of divalent copper (3d⁹) in an octahedral crystal field gives rise to a single absorption at about 12 500 cm⁻¹ $(\approx 800 \text{ nm})$ ³⁵ In the spectrochemical series, the strength of the hydroxo ligand is slightly weaker than the strength of the aqua ligand. By replacing six agua ligands with six hydroxo ligands, the



Fig. 5 (a) UV-visible-NIR spectra collected at room temperature and (b) pictures of raw powder $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y}$ -zH₂O samples.

absorption is expected to occur at a wavelength lower than 800 nm. Thereby, the absorption band at around $13\,900$ cm⁻¹ (\approx 720 nm) corresponds to the ${}^{2}E_{g}(D) \rightarrow {}^{2}T_{2g}(D)$ electronic transition of divalent copper 6-fold coordinated by hydroxyl groups. The optical absorption spectrum of malachite $Cu_2(CO_3)(OH)_2^{36}$ shows two broad bands in the UV-visible-NIR range, an intense band centered at around 12346 cm⁻¹ (810 nm) with a weak band at lower wavenumber 8696 cm⁻¹ (1150 nm). In the structure of malachite,37 divalent copper resides in an octahedron with two copper-oxygen distances longer than the four remaining ones. This tetragonal distortion [4+2], frequently encountered for an octahedron occupied by Cu²⁺ ions, is ascribed to a Jahn-Teller effect. In the spectra displayed in Fig. 5a, no additional absorption band or shoulder is present in the range of wavenumbers 7500–10000 cm⁻¹. Furthermore, the band at around 13 900 cm⁻¹ has an almost symmetric shape. Both observations suggest that the Jahn-Teller distortion of the octahedra occupied by Cu^{2+} ions in $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} \cdot zH_2O$ compounds, if it exists, is weak in magnitude. The above analyses of diffuse reflectance spectra clearly demonstrate that all cupric ions are located within layers of edge-sharing octahedra of the structure, as are most of the magnesium ions. Thereby, one has to admit that the divalent ions located outside the layers, in a small amount and in 4-fold or 5-fold coordination, are Mg^{2+} .

The morphology and crystallinity of hydroxide particles were determined by transmission electron microscopy (TEM) and selected area electron diffraction (SAED), respectively. TEM micrographs reveal that particles of magnesium hydroxide (x = 0) have smooth edges and a platelet-like shape. The particles have a face diameter ranging from ≈ 10 to 50 nm with a thickness lower than ≈ 10 nm. For copper containing samples, the platelets tend to aggregate in a face-to-face fashion and rest on the edge when deposited on the TEM grid, making difficult their observations, as shown in Fig. 6b and Fig. 6c.

Platelets tend to form larger and larger shapeless aggregates as their copper content *x* increases (Fig. 6d). All SAED patterns of copper substituted hydroxide appear similar and show four distinct rings. These four rings are well indexed to the crystal planes (001), (011), (012) and (110) of the brucite-type hydroxide, confirming the high crystallinity of the as-prepared particles. For each single phase hydroxide (x = 0-0.15), the copper to magnesium atomic ratio, determined by EDX analysis, is in very good agreement with the nominal ratio (Fig. 6f). Both the absorption spectrum collected on the colorless supernatant (Fig. S2 in the ESI†) and the EDX analyses of the platelets clearly demonstrate that divalent copper and magnesium ions present in the mixed nitrate solution completely precipitate after its addition to 150 mL of the mixed NaOH/Na₂CO₃ solution.

2.2 Effect of copper substitution on the brucite $Mg(OH)_2$ structure

The disorder in the stacking of layers of edge-sharing octahedra along the *c*-axis for hydrated and highly copper substituted hydroxides induces a strong asymmetric broadening of the (001) diffraction peak (Fig. 1a). This disorder makes impossible the refinement of the unit cell parameters through diffraction pattern fitting by the Le Bail method.³⁸ Temperature-controlled XRPD and thermal analyses have revealed that this broadening disappears and the brucite-type structure is preserved when the samples are dehydrated in the temperature range RT-225 °C (Fig. 4). With the aim of determining the unit cell parameters from the diffraction data, sample dehydration was undertaken under static air conditions. In order to avoid any decomposition of the brucite-type hydroxide, the temperature at which the dehydration has been carried out was chosen 25 °C below the end of the plateau at 225 °C observed in the thermograms displayed in Fig. 4. Thus, all powder samples were dehydrated in air for 4 h at 200 °C. XRPD patterns were then collected at



Fig. 6 (a–d) TEM micrographs of raw powder $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y'}zH_2O$ samples. (e) SAED pattern of the x = 0.05 sample. Specific surface areas determined from N₂ adsorption measurements are given. (f) Evolution of the Cu/Mg atomic ratio determined by EDX analysis as a function of the nominal copper content x.

room temperature on the dehydrated powders and are shown in Fig. 1b.

In Fig. 1b, an anisotropic line broadening is highlighted for the dehydrated powders with a significantly narrower line breath for the (100) and (110) reflections than for the (001), (011) and (012) ones. This anisotropic broadening is inherent to the platelet-like shape of the particles. From the TEM analyses and the larger breath of the (00l) line, one can conclude that the crystallographic c axis is perpendicular to the platelet faces and the platelet thickness $\langle H \rangle$ is smaller than the long diagonals $\langle D \rangle$ of hexagonal platelet faces (Fig. 7a). Moreover all the Bragg peaks have a symmetric Voigt-type profile, which makes possible a microstructure analysis from XRPD data using the integral breadth method.³⁹ Attempts to satisfactorily fit the diffraction patterns by the Le Bail method³⁸ were then undertaken selecting the "platelet vector size" model of the Fullprof program⁴⁰ with a [001] direction normal to the hexagonal platelet faces. In this model, a single hexagonal platelet can be circumscribed into a cylinder. The long diagonals $\langle D \rangle$ of the hexagonal platelet faces correspond to the diameter of this cylinder, while the platelet thickness $\langle H \rangle$ is the height of this cylinder. In the microstructural analysis, the peak broadening is assumed to only originate from the nanometer size of the particles (the "size broadening" effect) rather than lattice distortion (the "microstrain broadening" effect). The two parameters of the Lorentzian component of the TCH-Z profile shape function were only refined to calculate the average integral-breadth apparent size $\langle S_{\beta} \rangle$ for each (*hkl*) reflection. As shown in Fig. 7a, the patterns can be satisfactorily fitted with this model. The average diameter $\langle D \rangle$ and thickness $\langle H \rangle$ of the platelet-like particles were determined from the apparent sizes $\langle S_{\beta} \rangle$ along the [*hh*0] and [00l] directions, respectively. The variations of the unit cell parameters and $\langle D \rangle$ and $\langle H \rangle$ for the dehydrated Mg_{1-x}Cu_x- $(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu}$ compounds are shown in Fig. 7b as a function of the copper content *x*.

Very small linear expansions of both cell parameters *a* and *c* are expected since divalent copper is slightly larger than the magnesium ion in 6-fold coordination (ionic radii 0.73 Å versus 0.72 Å⁴¹). In Fig. 7b, only the cell parameter c exhibits such an increase, the cell parameter *a* remaining constant in the whole compositional range. It is worth noting that in aurichalcite Zn₃Cu₂(OH)₆(CO₃)₂,²¹ [M3O₄] tetrahedra and carbonate ions form pillars linking two adjacent layers of octahedra. In aurichalcite, the average height of the galleries is \approx 5.1 Å, which is almost two times the height of the galleries in dehydrated brucite Mg(OH)₂ (2.689 $Å^{20}$). In Fig. 2, the layers of octahedra in aurichalcite are not as flat as in brucite but are slightly corrugated where three octahedra share one oxygen atom with the carbonate ion of one pillar. Within a layer, this corrugation shortens and lengthens the distances between cations residing in the octahedra. In the dehydrated $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu}$ compounds, the presence of bridging carbonate ions must induce a similar deformation of the Mg(OH)₂-type structure (*i.e.* expansion in height of the interlayer galleries and corrugation of layers). The deformation is expected to be small in magnitude due to the low amount of carbonate ions present in copper substituted magnesium hydroxides. In our opinion, the elongation of the unit cell along the *c* axis with $x (\Delta c \approx +0.034 \text{ Å over the whole})$ compositional range) reflects the combined effects of copper substitution and the expansion in height of the interlayer galleries caused by the increasing amount of bridging carbonate ions. The absence of variation of the *a* parameter suggests that the shortening and lengthening of the cation-cation distances in the corrugated layer are fully balanced. One plausible reason for this behavior lies in the flexibility of divalent copper coordination polyhedra.

In Fig. 7b, a homothetic size reduction of the platelet-like particles is noted as the copper content *x* increases along the series. Indeed, both the average diameter $\langle D \rangle$ and thickness $\langle H \rangle$ dropped by half for samples ranging from *x* = 0 to *x* = 0.2.



Fig. 7 (a) Comparison of the observed (red dots) X-ray powder diffraction pattern of the dehydrated $Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$ (x = 0.15) sample with the pattern calculated (black line) through fitting by the Le Bail method and assuming a hexagonal platelet-like shape of nanometer-sized particles. Vertical markers give the Bragg peak positions of the trigonal space group $P\bar{3}m1$ (no 164). (b) Variations of the average diagonal $\langle D \rangle$ and thickness $\langle H \rangle$ of hexagonal platelets as well as the unit cell parameters *a* and *c* with the copper content *x* in dehydrated $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$ raw powder samples.

The particle shape is therefore significantly affected by the substitution, as shown by the increase of the $\langle D \rangle / \langle H \rangle$ ratio with the copper content x in Fig. 7b. For the x = 0.1 and 0.15 samples, the average thicknesses of platelet-like particles deduced from their XRPD patterns are $\langle H \rangle \approx 34$ Å and ≈ 23 Å, respectively. These values are in good agreement with the average thicknesses of the black edges in the TEM images ≈ 40 Å and ≈ 28 Å for the x = 0.1 (Fig. 6c) and x = 0.15 (Fig. 6d) samples, respectively. It confirms that the size of coherent diffraction domains corresponds to the size of the platelets. As the $\langle D \rangle / \langle H \rangle$ ratio increases, the platelets tend to rest on the edge when deposited on the TEM grid.

2.3 Bactericidal activity

The bactericidal activity of the as-prepared hydroxides was determined in sterile distilled water rather than in growth medium, as frequently done in numerous studies (MgO,⁴ $Mg(OH)_2^{14}$ or ZnO^{42} nanoparticles in lysogeny broth (LB)). The reason is that any direct interaction between particles and peptides/proteins present in nutrient media must be avoided since it has been suspected to weaken and even to inhibit the adherence of the particles to the bacteria cells, thus decreasing their bactericidal activity.⁴ This direct interaction of particles with the bacteria cells is of vital importance in the present study because Dong et al.¹⁴ and Pan et al.¹⁶ have demonstrated that Mg(OH)₂ particles can only kill E. coli by adhering to its cell membrane. Another point to be considered is the temperature and the relative humidity (RH) at which the antibacterial activity is determined. Michels et al.⁴³ have clearly demonstrated that silver ion-containing materials, as a conventional antibacterial agent, exhibit no activity towards methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) at $T \approx 22$ °C and RH $\approx 50\%$ within the first 360 min of exposure. A measurable efficacy (reduction in bacteria viability $> 6 \log_{10}$) was however observed by these authors at a higher humidity level (RH > 90%), higher temperature (35 °C) and longer contact time (24 h), the conditions recommended in Japanese Industrial Standard methodology JIS Z 2801 for antibacterial surfaces. At $T \approx 22$ °C and RH $\approx 50\%$, Michels et al.43 have found that copper alloys exhibit a reduction in bacteria viability greater than $7 \log_{10}$ within 75 min of exposure. When tested under the JISZ 2801 test conditions, this high antibacterial activity of copper alloys was preserved. From the above considerations and for application purposes, the efficacy of any bactericidal surface must, in our opinion, be evaluated at a temperature typical of indoor environments such as hospitals $(\approx 20 \text{ °C})$, directly in sterile distilled water (to avoid variations in RH during the test) and for a short contact time.

In the present study and for comparison purposes, the concentration of 1 mg mL⁻¹ of particles within the water suspension of bacteria was identical to the one chosen by Dong *et al.*¹⁴ and Makhluf *et al.*⁴ to determine the antibacterial activity of nanometer-sized particles of Mg(OH)₂ and MgO, respectively. For each mixed hydroxide tested, the sterile water suspension of particles in contact with a bacterial strain was maintained at 20 °C for 15, 30, 60 and 180 min. After each contact time *t*, a counting of the number N_t of CFU was

performed to estimate the reduction in cell viability. For each mixed hydroxide tested, the number N_t of CFU is displayed in Table 2 at the different contact times for both *E. coli* and *S. aureus*. For three contact times 15, 60 and 180 min, the percentage reduction in viability of both *E. coli* and *S. aureus* is plotted as a function of the copper content *x* in Fig. 8.

All copper containing hydroxides exhibit a reduction in viability of E. coli greater than 40% within the first 15 min, the higher the copper content the larger the amount of killed bacteria (Table 2 and Fig. 8). At the same time, the pure magnesium hydroxide remains completely inactive. After 1 h, 6.6% of *E. coli* bacteria stay alive in contact with the x = 0.1mixed hydroxide, while this percentage drastically drops to less than 0.1% (a $3 \log_{10}$ reduction) for the x = 0.15 and 0.2 samples (Table 2 and Fig. 8). After 3 h, the culture medium is completely free of *E. coli* and a reduction higher than 6.3 log₁₀ was achieved whatever the copper content x of the mixed hydroxides (Table 2). In contrast, the reduction in viability of E. coli does not exceed 23% after 3 h in contact with pure magnesium hydroxide nanometer-sized particles (Table 2 and Fig. 8). Such low bactericidal activity towards E. coli has been reported by Pan *et al.*¹⁶ on hexagonal Mg(OH)₂ nanoplatelets ($\emptyset \approx 700$ nm) forming small micrometer-sized aggregates ($\approx 1.2 \ \mu m$) and very recently by Halbus et al.44

To the best of our knowledge, the antibacterial activity of nanometer-sized brucite Mg(OH)₂ particles towards Grampositive S. aureus has been only reported in the literature by Vatsha et al.45 The activity of polyester fabrics coated by micrometer-sized Mg(OH)₂ particles (average size > $2.5 \mu m$) was also evaluated by Wang et al.46 In this latter study, the reduction in cell viability was 92 to 97% $(1 \log_{10} \text{ to } 1.58 \log_{10})$ after 24 h in contact with micrometer-sized Mg(OH)₂ particles at 37 °C. Our results displayed in Table 2 and Fig. 8 show that the bactericidal activity of nanometer-sized brucite Mg(OH)₂ particles is slightly higher towards Gram-positive S. aureus than towards Gram-negative E. coli bacteria. However, half of S. aureus bacteria still stay alive after 3 h in contact with the particles (reduction in cell viability $\approx 48\%$). This low activity indicates that the bactericidal kinetics of brucite $Mg(OH)_2$ remains very low despite the use of nanometer-sized particles. A longer contact time would be therefore required to inactivate the whole S. aureus culture, as in the study of Wang et al.46 In Fig. 8, copper substitution enhances the bactericidal activity of $Mg(OH)_2$ in a similar trend to that observed for Gram-negative *E. coli*: the higher the copper content *x* the faster the bactericidal kinetics. A huge reduction in the counts of viable S. aureus bacteria is observed after 3 h when at least 10 mol% (x = 0.1) of magnesium in brucite Mg(OH)₂ is substituted by cupric ions (<1% of viable cells for x = 0.1 and $\approx 48\%$ for Mg(OH)₂). When comparing the activities of copper-substituted Mg(OH)₂ nanoparticles towards the two types of bacteria tested in the present study, one can note that the reduction in viability after 3 h in contact is however only around 2 log10 for S. aureus bacteria while it was higher than $6.3 \log_{10}$ for *E. coli* ones.

Makhluf *et al.*⁴ have evaluated the activity of MgO particles with different sizes (8, 11, 15, 18 and 23 nm) towards *E. coli* and

Journal of Materials Chemistry B

Table 2 Bactericidal activity of mixed hydroxides $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_{y'}zH_2O$ (1 mg mL⁻¹) against *E. coli* and *S. aureus* as a function of the copper content *x* (average value \pm standard deviation over 2 assays). The bactericidal activity of CuO determined in the same conditions was added for reference. The diameter *D* and thickness *H* of the particles measured from TEM images are also given

Conner content	Particle size	Contact time (min)	E. coli			S. aureus			
<i>x</i> /composition	D/H (nm)		$Log_{10}N_0$	$\log_{10}(N_0/N_t)$	Reduction (%)	$Log_{10}N_0$	$\log_{10}(N_0/N_t)$	Reduction (%)	
		15		0	0	6.26 ± 0.01	0.04 ± 0.02	9.6 ± 4.5	
0	10 - 50/10	30	6.31 ± 0.03	0	0		0.13 ± 0.06	25.2 ± 9.7	
		60		0	0		0.20 ± 0.05	$\textbf{36.9} \pm \textbf{6.8}$	
		180		0.11 ± 0.02	23.2 ± 2.8		0.29 ± 0.07	$\textbf{48.4} \pm \textbf{7.9}$	
		15	6.31 ± 0.03	0.24 ± 0.04	42.6 ± 5.8	6.26 ± 0.01	0.34 ± 0.08	53.6 ± 9.0	
0.10	10 - 50/10	30		0.37 ± 0.01	57.0 ± 0.8		0.69 ± 0.05	79.3 ± 2.5	
		60		1.19 ± 0.09	93.4 ± 1.3		1.17 ± 0.09	93.2 ± 1.3	
		180		6.31	100		$\textbf{2.14} \pm \textbf{0.01}$	99.3 ± 0.1	
		15	6.31 ± 0.03	0.49 ± 0.15	66.5 ± 11.4	6.26 ± 0.01	0.65 ± 0.09	$\textbf{77.2} \pm \textbf{4.8}$	
0.15	10 - 50/10	30		0.86 ± 0.05	86.2 ± 1.5		0.91 ± 0.19	87.1 ± 5.4	
		60		2.98 ± 0.10	99.9 ± 0.1		1.23 ± 0.10	94.0 ± 1.4	
		180		6.31	100		2.01 ± 0.16	99.0 ± 0.4	
		15	6.31 ± 0.03	0.67 ± 0.12	78.5 ± 5.8	6.26 ± 0.01	0.73 ± 0.03	81.5 ± 1.3	
0.20	(biphasic)	30		0.87 ± 0.06	86.3 ± 2.0		0.80 ± 0.08	84.2 ± 2.7	
		60		3.02 ± 0.10	99.9 ± 0.1		1.24 ± 0.24	93.8 ± 3.3	
		180		6.31	100		1.91 ± 0.03	98.8 ± 0.1	
		15	6.52 ± 0.02	2.30 ± 0.11	99.5 ± 0.1	6.18 ± 0.12	0.07 ± 0.06	13.8 ± 11.9	
CuO	50/50	30		2.43 ± 0.03	99.6 ± 0.1		0.08 ± 0.16	$11,\!3\pm32.6$	
		60		2.91 ± 0.01	99.9 ± 0.1		0.07 ± 0.12	12.7 ± 23.6	
		180		4.70 ± 0.01	100		2.01 ± 0.49	98.7 ± 1.2	



Fig. 8 Time dependence of the reduction in viability of *E. coli* and *S. aureus* in contact with nanometer-sized $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$. zH_2O particles with different copper content *x* (% average value \pm standard deviation over 2 assays).

S. aureus in the culture medium at 37 $^{\circ}$ C after 1 h or 4 h in contact. The activity is only significant (reduction in cell viability >95%) when the size of the particles is around 8 nm and the contact time is at least 4 h. For nanometer-sized

particles of MgO with a specific surface area of $\approx 81 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (corresponding to an average $\varnothing \approx 20$ nm), Smithson and Bakshi¹¹ showed that complete conversion into Mg(OH)₂ occurred after only ≈ 100 min of immersion in water at 38 °C. Any size reduction of MgO particles below ≈ 20 nm inevitably speeds up the hydration kinetics, the time required for the full conversion into Mg(OH)₂ being shorter than 100 min in that way. One has to therefore consider the bactericidal activities of "MgO" nanoparticles reported by Makhluf et al.⁴ after 4 h in contact as those of $Mg(OH)_2$ nanoparticles. Note that the size of $Mg(OH)_2$ platelets we have prepared by precipitation (Fig. 7b $\langle D \rangle \approx 20$ nm and $\langle H \rangle \approx 7$ nm) is roughly equal to the largest particles in Makhluf's study $(23 \pm 2 \text{ nm})$, thus allowing a direct comparison of their activities. In Makhluf's study, the reduction in cell viability is slightly higher for S. aureus than for E. coli at the same time of treatment and it remains below 50% for both bacteria after 4 h of treatment. These results are very similar to those displayed in the present study for Mg(OH)₂. Nevertheless, our study shows that copper substitution can enhance these activities, in particular towards E. coli, thus greatly exceeding the 3 log10 reduction reported by Makhluf et al.⁴ for 8 nm-sized particles of hydrated MgO.

The bactericidal performance of nanometer-sized particles of the mixed hydroxides $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y \cdot zH_2O$ ($0 \le x \le 0.2$) was then compared with that of the conventional inorganic antibacterial agent CuO. For this purpose, the bactericidal activity of CuO particles must be determined in conditions similar to those used for the mixed hydroxides (1 mg mL⁻¹) and ideally with particles of comparable size. 50 nm-sized CuO particles have been therefore synthesized by thermally decomposing nanometer-sized Cu(OH)_2

particles. The copper hydroxide was prepared beforehand by the same synthetic route used for the mixed hydroxides. The evaluation of the bactericidal activity of those CuO particles has been then performed and the reduction in viability of both E. coli and S. aureus is displayed in Table 2 as well. At first, the reduction in viability of E. coli does not exceed 4.7 log after 3 h in contact with those 50 nm-sized particles of CuO, which is lower than the 6.3 log reductions determined with all copper-substituted Mg(OH)₂ particles at t = 3 h (*i.e.* the x = 0.1, 0.15 and 0.2 samples in Table 2). Secondly, the reduction in viability of S. aureus remains below $\approx 14\%$ within the first hour in contact with 50 nm-sized CuO particles. This reduction drastically rises to $\approx 99\%$ (2 log) after 3 h in contact, thus overtaking the bactericidal performance of all copper-substituted Mg(OH)₂ (*i.e.* the x = 0.1, 0.15 and 0.2 samples in Table 2). As stated above, all copper-substituted Mg(OH)₂ hydroxides, whatever their copper content, kill more than half of the S. aureus inoculum within the first 15 min in contact with a reduction in viability continuing to gradually rise with the time. By discarding the biphasic x = 0.2 sample, a good compromise between fast bactericidal kinetics and a high reduction in viability is reached by the 15 mol% coppersubstituted $Mg(OH)_2$ hydroxide (Table 2). Its use gives the opportunity to five-fold reduce the copper loading of the bactericidal agent while being at least equally or even more efficient compared to the conventional CuO (a Cu loading of 0.799 mg mL⁻¹ and 0.154 mg mL⁻¹ in the suspension of CuO and 15 mol% copper substituted Mg(OH)2 particles, respectively). This is a significant step towards the design of more environmentally friendly bactericidal agents than the ecotoxic copper oxide.

2.4 Bactericidal mechanism

Makhluf et al. and Applerot et al. have determined the bactericidal mechanism of nanometer-sized MgO⁴ and CuO⁵ particles, respectively. For both oxides, the mechanism would result from the following successive actions: (i) generation of exogenic Reactive Oxygen Species (ROS) by the particles attached to the bacterial cell membrane, (ii) an increase in the permeability of the cell envelope due to the damage induced by exogenic ROS, (iii) penetration of individual particles into the cell and (iv) cell lysis with loss of vital intracellular content (proteins, DNA and RNA) damaged by endogenic ROS generation. In ref. 47, it was postulated that the ROS production by metal oxide nanoparticles originates from the electron-donating nature of the surface defect sites (superoxide anion ${}^{\bullet}O_2^{-}$ radicals in nanometer-sized MgO⁴ and CuO⁵). Pan et al.¹⁶ showed that large micrometer-sized aggregates of Mg(OH)₂ nanoparticles prepared by precipitation from MgCl₂ salt (average $\varnothing \approx 5.5 \,\mu\text{m}$ and a reduction in *E. coli* viability around 90% after 24 h) have higher bactericidal activity than poorly agglomerated nanoplatelets resulting from the hydration of MgO particles (aggregates of $\varnothing \approx 1.2 \ \mu m$ and a reduction in viability around 50% after 24 h). These authors relate the high activity of large micrometer-sized aggregates of particles to their better adsorption onto the cell envelopes of *E. coli*, highlighted by imaging the bacteria exposed to particles with an electron microscope. After exposition to Mg(OH)₂ slurries, observations made by

fluorescence microscopy on stained bacteria revealed that lethality of E. coli was due to cell lysis. Both observations made by Pan et al.¹⁶ are similar to those of Applerot et al.⁵ for CuO particles. It gives clear evidence that Mg(OH)₂ and CuO particles exhibit the same bactericidal mechanism. In the Applerot et al. study,⁵ the reductions in viability of *E. coli* and *S. aureus* after 3 h in contact with \approx 7 nm-sized CuO particles were 99.9% and 97%, respectively. These reductions are similar to those reported by Makhluf et al.⁴ after 4 h in contact with ≈ 8 nm-sized hydrated MgO particles (*i.e.* $Mg(OH)_2$). In addition, the bactericidal kinetics of CuO nanoparticles is as fast as that of $Mg(OH)_2$ ones. It would mean that the ability of CuO and Mg(OH)₂ nanoparticles to be adsorbed onto the cell envelope of bacteria and to produce ROS is comparable when they are of equivalent size. Cu⁺₂O also exhibits antibacterial activity towards E. coli and S. aureus.48 This activity originates from the ability of the oxide to strongly adsorb and damage fumarase A enzymes found in the cell membrane of bacteria. A significant decrease of enzyme catalytic activity, vital for the bacteria, is then observed, which is ascribed to a displacement of iron from the catalytic [4Fe-4S] clusters by cuprous ions (thiophilic character).⁴⁹ This mechanism was later confirmed by Meghana *et al.*⁵⁰

Although the bactericidal mechanism of the $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}$ -(CO₃)_y·zH₂O samples should be similar to that of the brucite $Mg(OH)_2$, one might wonder why the copper substitution greatly enhances the bactericidal properties, whether in terms of the kinetics or of the activity level: the higher the copper content the faster the kinetics and the higher the activity level.

Nano-structuring is known to promote the formation of surface defects (an incomplete coordination sphere of cations at the grain surface), which could also lead locally to a slight reduction of cupric ions to cuprous ones. A thorough examination of the chemical state of the surface was performed on all $Mg_{1-x}Cu_{x}(OH)_{2-2\nu}(CO_{3})_{\nu} zH_{2}O$ samples by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) in order to determine the oxidation state(s) of the copper ions. The results are presented in the ESI⁺ (section 3). From this XPS study, the presence of cuprous ions detected at the grain surface would result from partial photoreduction of cupric ions when the samples are exposed to X-rays in the secondary vacuum condition. Because of the absence of cuprous ions at the grain surface of as-prepared powders, the enhancement of the bactericidal activity of $Mg(OH)_2$ through copper substitution cannot be ascribed to a decrease of the enzyme catalytic activity.

Sawai *et al.*¹³ considered that the alkaline effect caused by the hydration of MgO is one of the contributing factors to its biocidal activity against eukaryotic cells like yeasts (*Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans*) and filamentous fungi (*Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*). Mendonca *et al.*⁵¹ showed that the reduction in viability was around $8 \log_{10}$ after only 15 min in contact with a sterile NaHCO₃–NaOH buffer at pH = 11, while it was only 0.5 log₁₀ at pH = 10. This latter study demonstrates the deleterious effect of one pH unit increase on the cell viability. The significant enhancement of the bactericidal activities through copper substitution in brucite Mg(OH)₂ could originate from a copper dependent increase in pH of the water suspension of
nanoparticles. To clarify this point, the pH was measured for water suspensions of x = 0 and x = 0.15 nanoparticles at the same specified time and concentration (1 mg mL^{-1}) used in the antibacterial tests. The values are gathered together in Table 3. For both samples, a strong rise in pH occurs in the first 15 min after immersing the nanoparticles in water. After 180 min of immersion, the pH values are around 11 and 10.4 for the x = 0 and x = 0.15 samples, respectively. This is in good agreement with the value of 10 and 10.6 measured on broth media containing $Mg(OH)_2^{52}$ and MgO^4 nanoparticles, respectively. At this basic pH, the reduction in cell viability determined by Makhluf et al.⁴ was however zero for E. coli and less than 6% for S. aureus after 4 h in contact with hydrated MgO nanoparticles. Thereby, the high antibacterial activity of copper-substituted Mg(OH)₂ does not originate from a stronger alkaline effect because copper substitution tends to slightly lower the pH of the water suspension of particles (Table 3).

It is well known that free hydrated cupric ions can catalyze ROS generation from aqueous H₂O₂ through Fenton-like redox cycling between Cu²⁺ and Cu⁺ ions.^{53,54} Any release of cupric ions due to the partial dissolution of particles in the culture medium could catalyze exogenic ROS production from H₂O₂, a by-product of the normal metabolism of oxygen. The higher the release, the higher the bactericidal activity. This however presupposes that the dissolution rate of $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu}$ zH_2O particles would rise as the copper content x increases. Atomic emission spectroscopy has been therefore used for measuring the amount of magnesium and copper elements possibly released from particles of the Mg(OH)_{2-2y}(CO₃)_y·zH₂O (x = 0) and Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)_{2-2v}(CO₃)_v·zH₂O (x = 0.15) hydroxides when they are immersed in deionized water at the tested concentration of 1 mg mL^{-1} . The measurement was performed on the supernatant after 3 h and 24 h of immersion. Table 3 displays the results of these analyses. For both the x = 0 and x = 0.15 samples, the magnesium concentration in the supernatant almost reaches the same value of \approx 7.4 mg L⁻¹ and \approx 10 mg L⁻¹ after 3 h and 24 h of immersion, respectively. The solubility of Mg(OH)2 in pure water calculated from its solubility product ($K_{\rm sp}$ = 5.61 × 10⁻¹² in ref. 55) cannot theoretically exceed $\approx 1.12 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ or ≈ 6.53 mg L⁻¹. Our measurements show that this solubility limit is attained for an immersion time of 3 h (Table 3). A slight acidification of water occurs with time (Table 3), which could explain why the magnesium

Table 3 Time dependence evolution of the pH and of the magnesium and copper concentrations for the water suspension of the x = 0 and x = 0.15 samples

Immersion time (min)	x = 0		<i>x</i> = 0.15		
	рН	$\mathop{\rm Mg}\limits_{\rm (mg\ L^{-1})}$	рН	$\mathop{\rm Mg}\limits_{\rm (mg\ L^{-1})}$	$\begin{array}{c} {\rm Cu} \\ ({\rm mg}~{\rm L}^{-1}) \end{array}$
0	5.7		5.7	_	_
15	9.54	_	8.18	_	_
30	9.85	_	8.35	_	_
60	9.62	_	8.70	_	_
180	10.96	7.35	10.38	7.46	0.44
1440	10.51	9.86	9.85	10.52	0.10

concentration is slightly higher than the theoretical solubility limit for 24 h. When $Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} zH_2O$ particles start dissolving in the supernatant, it is expected that the amount of released copper ions is proportional to that of released magnesium ions in compliance with the Cu/Mg ratio of the composition. If it is respected, the copper concentration in the supernatant calculated from the magnesium concentration should be equal to $\approx 3.44 \text{ mg L}^{-1}$ and $\approx 4.85 \text{ mg L}^{-1}$ after 3 h and 24 h of immersion, respectively. Surprisingly, the copper concentration in the supernatant is only around 0.5 mg L^{-1} after 3 h and even drops to 0.1 mg L^{-1} after 24 h. These low copper concentrations in the supernatant are certainly related to the solubility product of Cu(OH)₂ in pure water ($K_{\rm sp}$ = 2.2 × 10⁻²⁰ in ref. 56), which is much lower than that of $Mg(OH)_2$. With magnesium ions being released from the particles in a larger amount that copper ions, it would mean that surface enrichment of copper of the $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$. zH_2O particles or precipitation of Cu(OH)₂ from the solvated copper ions occurs with the immersion time. In our opinion, the second hypothesis remains the most likely because the copper concentration of the supernatant decreases with the immersion time (Table 3). The presence of $Cu(OH)_2$ in the powder recovered by filtration of the water suspension of $Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} zH_2O$ particles was not however detected by XRPD certainly because of its small amount. It is worth noting that the magnesium concentration in the supernatant is very close for both $Mg(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} zH_2O(x=0)$ and $Mg_{0.85}Cu_{0.15}(OH)_{2-2\nu}(CO_3)_{\nu} zH_2O (x = 0.15)$ hydroxides despite their different magnesium contents. Copper substitution would therefore increase the dissolution rate of the nanoparticles in water and at the same time would favor the precipitation of $Cu(OH)_2$ particles: the higher the copper content x the larger the amount of precipitated Cu(OH)₂ particles. Akhavan *et al.*¹⁵ have demonstrated that copper hydroxide exhibits bactericidal activity. In that way, the precipitation of Cu(OH)₂ particles could be one factor contributing to the enhancement of the bactericidal activity of brucite Mg(OH)₂. But, the low amount of $Cu(OH)_2$ particles in the water suspension makes too small its contribution to the activity. The majority of ROS are therefore produced from copper-substituted Mg(OH)₂ particles rather than from the very low amount of free hydrated cupric ions or $Cu(OH)_2$ particles.

In Fig. 7b, a homothetic size reduction of the platelet-like particles is noted as the copper content *x* increases along the $Mg_{1-x}Cu_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y \cdot zH_2O$ series. Despite that, all raw powders have similar specific surface area whatever their copper content *x* (Fig. 6a–d). As the TEM images showed (Fig. 6), this feature originates from the tendency of platelets to form larger and larger shapeless aggregates as the platelet shape changes with the copper content *x* (an increase of the $\langle D \rangle / \langle H \rangle$ ratio with the copper content *x* in Fig. 7b). The agglomeration thus annihilates the beneficial effect of the size reduction on the specific surface area. Pan *et al.*¹⁶ showed that the bactericidal activity of Mg(OH)₂ nanoparticles can be greatly enhanced when they are mass adsorbed onto cell envelopes of *E. coli* bacteria. In this latter study, poorly agglomerated and

large nanoplatelets ($\emptyset_{\text{particle}} \approx 700 \text{ nm}, \emptyset_{\text{aggregate}} \approx 5.5 \,\mu\text{m}$) exhibit lower bactericidal activity than large and shapeless micrometer-sized aggregates of small nanoflakes ($\emptyset_{\text{particle}} \approx$ 10 nm, $\emptyset_{\text{aggregate}} \approx 5.5 \,\mu\text{m}$). In the present study, copper substitution enhances the antibacterial activity of Mg(OH)₂ nanoparticles by promoting the formation of shapeless aggregates with better mass adsorption onto cell envelopes of bacteria. It has been shown that the carotenoid pigments, giving the golden color to the S. aureus bacteria envelope, have antioxidant properties.⁵⁷ These pigments can help these bacteria to detoxify ROS produced by copper-substituted Mg(OH)₂ nanoparticles adsorbed onto their envelopes, thus decreasing their susceptibility to antimicrobial treatment, especially for contact times as long as 3 h (Table 2). Deprived of this antioxidant molecule, no Gram-negative E. coli survive to 3 h of treatment with copper-substituted $Mg(OH)_2$ nanoparticles (Table 2).

3. Conclusion and perspective

Improvement of the surface driven properties of a material originates from the combination of its appropriate chemical modification with the nano-structuring of particles. Copper substitution was here applied with the aim to increase the bactericidal performance of brucite-type magnesium hydroxide nanoparticles. The partial substitution of magnesium ions in Mg(OH)₂ by Cu²⁺, which cannot exceed \approx 15 mol%, promotes the reduction in size and the aggregation of nanometer-sized platelets. Because the platelets are prepared at room temperature by a precipitation route in mixed alkaline (NaOH/Na₂CO₃) medium, a very few hydroxyl ions are substituted by carbonate groups, which form pillars between two consecutive layers of edge-sharing octahedra in the brucite-type structure of the mixed hydroxides. This controlled incorporation of cupric ions in Mg(OH)₂ nanoparticles significantly enhances their bactericidal performance against two bacteria frequently involved in healthcare-associated-infections. 10 mol% of cupric ions in $Mg(OH)_2$ (a copper loading of 0.102 mg mL⁻¹ in the suspension) were sufficient to induce after 3 h in contact 100% and 99.3% reductions in viability of Gram-negative E. coli and Grampositive S. aureus, respectively (reductions as low as 23% and 48% are reported for the parent compound Mg(OH)₂ in the same conditions). This higher antibacterial activity of copper-substituted $Mg(OH)_2$ nanometer-sized platelets is likely due to their better mass adsorption onto cell envelopes of bacteria. A good compromise between fast bactericidal kinetics and high reduction in viability is reached by the 15 mol% copper-substituted Mg(OH)₂ hydroxide. Its use gives the opportunity to five-fold reduce the copper loading of the bactericidal agent while being at least equally or even more efficient compared to the conventional CuO (a Cu loading of 0.799 mg mL⁻¹ and 0.154 mg mL⁻¹ in the suspension of CuO and 15 mol% copper substituted Mg(OH)₂ particles, respectively). This is a significant step towards the design of more environmentally friendly bactericidal agents than the ecotoxic copper oxide. Due to the long-term geological availabilities of magnesium and copper together with the simplicity and the low-cost of their

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Acknowledgements

The French Ministry of Higher Education, Research and Innovation and Le Mans University are acknowledged for providing a doctoral grant to BC.

References

- IVS, (Institut de Veille Sanitaire)-Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012 (http://www.invs.sante.fr/enp) 2013, 1–186.
- 2 J. Sawai, H. Kojima, H. Igarashi, A. Hashimoto, S. Shoji, T. Sawaki, A. Hakoda, E. Kawada, T. Kokugan and M. Shimizu, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, 16, 187–194.
- 3 L. Huang, D.-Q. Li, Y.-J. Lin, M. Wei, D. G. Evans and X. Duan, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **99**, 986–993.
- 4 S. Makhluf, R. Dror, Y. Nitzan, Y. Abramovich, R. Jelinek and A. Gedanken, *Adv. Funct. Mater.*, 2005, **15**, 1708–1715.
- 5 G. Applerot, J. Lellouche, A. Lipovsky, Y. Nitzan, R. Lubart, A. Gedanken and E. Banin, *Small*, 2012, **8**, 3326–3337.
- 6 A. Azam, A. S. Ahmed, M. Oves, M. S. Khan and A. Memic, *Int. J. Nanomed.*, 2012, 7, 3527–3535.
- 7 A. F. Halbus, T. S. Horozov and V. N. Paunov, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2019, 11, 12232–12243.
- 8 V. Aruoja, S. Pokhrel, M. Sihtmae, M. Mortimer, L. Madler and A. Kahru, *Environ. Sci.: Nano*, 2015, **2**, 630–644.
- 9 R. I. Razouk and R. S. Mikhail, J. Phys. Chem., 1958, 62, 920-925.
- 10 G. K. Layden and G. W. Brindley, J. Am. Ceram. Soc., 1963, 46, 518–522.
- 11 G. L. Smithson and N. N. Bakhshi, *Can. J. Chem. Eng.*, 1969, 47, 508–513.
- 12 J. Blaha, Ceram.-Silik., 1995, 39, 45-51.
- 13 J. Sawai and T. Yoshikawa, J. Appl. Microbiol., 2004, 96, 803–809.
- 14 C. Dong, D. Song, J. Cairney, O. L. Maddan, G. He and Y. Deng, *Mater. Res. Bull.*, 2011, 46, 576–582.
- 15 O. Akhavan, R. Azimirad, S. Safa and E. Hasani, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 9634–9640.
- 16 X. Pan, Y. Wang, Z. Chen, D. Pan, Y. Cheng, Z. Liu, Z. Lin and X. Guan, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2013, 5, 1137–1142.

Inorg. Chem., 1995, **32**, 1013–1022. 19 Y. Cudennec, A. Riou, Y. Gérault and A. Lecerf, *C. R. Acad.*

R. Cloots, J. Cryst. Grow., 2003, 249, 321-330.

Sci., Ser. IIc: Chim., 2000, **3**, 661–666. 20 L. Desgranges, G. Calvarin and G. Chevrier, *Acta Crystallogr.*,

17 C. Henrist, J. P. Mathieu, C. Vogels, A. Rulmont and

18 Y. Cudennec, A. Lecerf and Y. Gerault, Eur. J. Solid State

- Sect. B: Struct. Sci., 1996, **52**, 82–86.
- 21 M. M. Harding, B. M. Kariuki, R. Cernik and G. Cressey, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.*, 1994, **50**, 673–676.
- 22 R. Allmann, Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Crystallogr. Cryst. Chem., 1968, 24, 972–977.
- 23 L. Ingram and H. F. W. Taylor, Mineral. Mag., 1967, 36, 465-479.
- 24 R. Allmann and H.-H. Lohse, *Neues Jahrb. Mineral., Monatsh.*, 1966, 6, 161.
- 25 R. Allmann, Chimia, 1970, 24, 99.
- 26 F. Cavani, F. Trifirò and A. Vaccari, *Catal. Today*, 1991, **11**, 173–301.
- 27 V. A. Drits and A. S. Bookin, in *Layered Double Hydroxides: Present and Future*, ed. V. Rives, Nova Science, New York, 2001.
- 28 F. A. Miller and C. H. Wilkins, Anal. Chem., 1952, 24, 1253-1294.
- 29 R. Martens and F. Freund, *Phys. Status Solidi A*, 1976, 37, 97–104.
- 30 J. R. Gunter and H. R. Oswald, *J. Appl. Crystallogr.*, 1970, 3, 21–26.
- 31 A. De Roy and J. P. Besse, Solid State Ionics, 1989, 35, 35-43.
- 32 S. K. Yun and T. J. Pinnavaia, Chem. Mater., 1995, 7, 348-354.
- 33 R. Pappalardo, J. Mol. Spectrosc., 1961, 6, 554-571.
- 34 J. J. Freeman and R. M. Friedman, J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1, 1978, 74, 758-761.
- 35 D. N. Sathyanarayana, Electronic Absorption Spectroscopy and Related Techniques, Universities Press, 2001.
- 36 M. Behrens and F. Girgsdies, Z. Anorg. Allg. Chem., 2010, 636, 919–927.
- 37 P. Süsse, Acta Crystallogr., 1967, 22, 146-151.
- 38 A. Le Bail, H. Duroy and J. L. Fourquet, *Mater. Res. Bull.*, 1988, 23, 447–452.
- 39 J. I. Langford, International Conference "Accuracy in Powder Diffraction II", May 26-29, 1992 at NIST, Gaithersburg, MD, USA, 1992, 110–126.

- 40 J. Rodriguez Carvajal, Phys. B, 1993, 192, 55-69.
- 41 R. D. Shannon, Acta Crystallogr., Sect. A: Cryst. Phys., Diffr., Theor. Gen. Crystallogr., 1976, 32, 751–767.
- 42 V. Lakshmi Prasanna and R. Vijayaraghavan, *Langmuir*, 2015, **31**, 9155–9162.
- 43 H. T. Michels, J. O. Noyce and C. W. Keevil, *Lett. Appl. Microbiol.*, 2009, **49**, 191–195.
- 44 A. F. Halbus, T. S. Horozov and V. N. Paunov, *Biomimetics*, 2019, 4, 41.
- 45 B. Vatsha, P. Tetyana, P. Shumbula, J. Ngila, L. Sikhwivhilu and R. Moutloali, *J. Biomater. Nanobiotechnol.*, 2013, 4, 365–373.
- 46 Y. Wang, L. Sha, J. Zhao, Q. Li, Y. Zhu and N. Wang, *Appl. Surf. Sci.*, 2017, 400, 413–419.
- 47 G. E. Brown, V. E. Henrich, W. H. Casey, D. L. Clark, C. Eggleston, A. Felmy, D. W. Goodman, M. Grätzel, G. Maciel, M. I. McCarthy, K. H. Nealson, D. A. Sverjensky, M. F. Toney and J. M. Zachara, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 77–174.
- 48 K. Sunada, M. Minoshima and K. Hashimoto, J. Hazard. Mater., 2012, 235–236, 265–270.
- 49 L. Macomber and J. A. Imlay, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2009, **106**, 8344–8349.
- 50 S. Meghana, P. Kabra, S. Chakraborty and N. Padmavathy, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 12293–12299.
- 51 A. F. Mendonca, T. L. Amoroso and S. J. Knabel, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, **60**, 4009–4014.
- 52 C. Dong, J. Cairney, Q. Sun, O. Maddan, G. He and Y. Deng, *J. Nanopart. Res.*, 2010, **12**, 2101–2109.
- 53 A. N. Pham, G. Xing, C. J. Miller and T. D. Waite, *J. Catal.*, 2013, **301**, 54–64.
- 54 T. T. M. Nguyen, H.-J. Park, J. Y. Kim, H.-E. Kim, H. Lee, J. Yoon and C. Lee, *Environ. Sci. Technol.*, 2013, 47, 13661–13667.
- 55 D. R. Lide, ed. *CRC Handbook of Chemistry and Physics* 2008-2009: A Ready-Reference Book of Chemical and Physical Data, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 2008.
- 56 *Handbook of Inorganic Chemicals*, ed. P. Patnaik, McGraw-Hill, USA, 2003.
- 57 G. Y. Liu, A. Essex, J. T. Buchanan, V. Datta, H. M. Hoffman, J. F. Bastian, J. Fierer and V. Nizet, *J. Exp. Med.*, 2005, 202, 209–215.

Le Mans Université

Titre : Synthèse, caractérisations, et évaluation de l'activité bactéricide de composés inorganiques à base de cuivre

Mots clés : Cuivre, Magnésium, Activité bactéricide, Oxydes, Hydroxydes, Fluorures, Phosphates, Solutions solides

Résumé : Les bactéries pathogènes responsables des infections associées aux soins posent des problèmes permanents et croissants dans les établissements de santé. En France, les bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont responsables de plus de 40% de ces infections. Face à l'adaptation permanente de ces bactéries aux nouveaux antibiotiques mis sur le marché, des solutions complémentaires doivent être trouvées.

Une des solutions proposée dans ce travail de thèse vise à exacerber les performances de composés bactéricides connus (effet de synergie) ou à procurer des propriétés bactéricides à des composés inactifs en substituant partiellement des ions magnésium par les ions cuivriques ou vice versa. De nouvelles solutions solides ont ainsi été découvertes.

Des réactions dans l'état solide, la co-précipitation, la voie hydrothermale ou la mécanosynthèse ont été employées pour synthétiser des particules de taille micro- ou nanométrique des composés désirés. Une fois obtenues, la Diffraction des Rayons X, les Microscopies Electroniques, l'adsorption de diazote, les spectroscopies IR/UV-visible, l'Analyse ThermoGravimétrique couplée à la Spectrométrie de Masse et la Spectrométrie d'Emission Atomique ont été utilisées afin de déterminer la nature, la composition et la taille de ces particules ainsi que leur stabilité dans l'eau ou sous une atmosphère riche en CO2. L'évaluation des propriétés bactéricides dans l'eau et à 20°C révèle que la substitution partielle du magnésium par le cuivre accroît l'activité des composés à la fois en termes d'amplitude et de cinétique. Ces performances accrues ne sont pas nécessairement liées à la teneur en cuivre dans le composé actif.

Title : Synthesis, characterizations and bactericidal activity evaluation of copper-based inorganic compounds

Keywords : Copper, Magnesium, Bactericidal activity, Oxides, Hydroxides, Fluorides, Phosphates, Solid solutions

Abstract : Bacterial pathogens causing healthcareassociated-infections pose ongoing and increasing challenges to care facilities. In France, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* are responsible for more than 40% of these infections. Due to the permanent adaptation of these bacteria to new antibiotics placed on the market, complementary solutions must be found.

One of these solutions proposed in this thesis work aims to exacerbate performances of known bactericidal materials (synergistic effect) or to provide bactericidal properties to nonactive compounds by partially substituting magnesium ions by cupric ones or vice versa. New solid solutions were thus highlighted.

Solid state reaction, co-precipitation, hydrothermal routes or mechanosynthesis were employed to synthesize micrometersized or nanometer-sized particles of those desired compounds. When obtained, X-Ray Diffraction, electron microscopies, IR/UV-visible dinitroaen adsorption, spectroscopies. ThermoGravimetric Analysis-Mass Spectrometry and Atomic Emission Spectroscopy are used to determine the nature, composition and size of those particles as well as their stability in water or CO₂ rich atmosphere. The evaluation of bactericidal properties in water and at 20°C showed that the partial substitution of magnesium by copper enhances the activity of compounds both in terms of magnitude and kinetics. These increased performances are not necessarily related to the copper content in the active compound.