

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE
INORGANIQUE

CENTRE DE RECHERCHE ET
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES, TECHNOLOGIE ET
GEOSCIENCES

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
CHIMIE ET APPLICATIONS



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF
INORGANIC CHEMISTRY

POSTGRADUATE SCHOOL OF
SCIENCE, TECHNOLOGY, AND
GEOSCIENCE

RESEARCH AND DOCTORAL
TRAINING UNIT IN
CHEMISTRY AND
APPLICATIONS

LABORATOIRE DE CHIMIE PHYSIQUE ET ANALYTIQUE APPLIQUEE
APPLIED PHYSICAL AND ANALYTICAL CHEMISTRY LABORATORY

*Matériaux composites obtenus par greffage de la β -
cyclodextrine sur l'hydroxyapatite: caractérisation et
application à l'électroanalyse du diquat et du plomb(II)*

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat/Ph.D

Spécialité : Chimie Inorganique

Option : Chimie Analytique

Par

TCHOFFO Rodrigue

Matricule : 09T0779

Master en Chimie

Soutenue publiquement le 19 Décembre 2022 devant le jury compose de :

Président : NANSEU NJIKI Charles Péguy, *Professeur, Université de Yaoundé I*

Rapporteurs : NGAMENI Emmanuel, *Professeur, Université de Yaoundé I*

TONLE KENFACK Ignas, *Professeur, Université de Dschang,*

Membres : NENWA Justin, *Professeur, Université de Yaoundé I*

TCHAKOUTE K. Hervé, *Maître de Conférences, Université de Yaoundé I*

DJOUFAC WOUMFO Emmanuel, *Professeur, Université de Yaoundé I*

NOUMI Guy Bertrand, *Maître de Conférences, Université de Ngaoundéré*

Année : 2022



UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

BP 812 Yaoundé

Département de Chimie Inorganique



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

P. O. Box 812 Yaoundé

Department of Inorganic Chemistry

ATTESTATION DE CORRECTION DE THESE DE DOCTORAT/Ph.D DE

M. TCHOFFO Rodrigue

Nous soussignés, **NANSEU NJIKI Charles Péguy**, *Professeur*, Président du jury ;
NGAMENI Emmanuel, *Professeur*, Rapporteur et **NENWA Justin**, *Professeur*, Examineur ;

attestons que **M. TCHOFFO Rodrigue** (Matricule 09T0779) a bel et bien effectué toutes les corrections qui lui ont été exigées par les membres du jury lors de sa soutenance du 19 Décembre 2022 dans la salle multimédia de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I sur le sujet « **Matériaux composites obtenus par greffage de la β -cyclodextrine sur l'hydroxyapatite: caractérisation et application à l'électroanalyse du diquat et du plomb(II)** », en vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat/Ph.D en Chimie Inorganique option Chimie Analytique.

En foi de quoi la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Le Président,

NANSEU NJIKI Charles Péguy,
Professeur

Le Rapporteur,

NGAMENI Emmanuel,
Professeur

L'Examineur,

NENWA Justin,
Professeur



Dédicace

- À la mémoire de mon feu père FOBASSO Boniface
- À ma mère LAGMAGO Rebecca Epse FOBASSO
- À mon épouse TCHOFFO Née TIWA FOFIE Alida
 - À mes Enfants

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Physique et Analytique Appliquée (LCPAA) de l'Université de Yaoundé I. Il n'aurait pas pu être achevé sans le soutien d'un certain nombre de personnes que je tiens à remercier.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Professeur NGAMENI Emmanuel, Doyen de la Faculté des Sciences de l'Université de Dschang et Chef de l'équipe de recherche de Chimie Analytique du LCPAA de l'Université de Yaoundé I, pour m'avoir accepté et accueilli au sein de cette grande équipe et pour avoir accepté d'encadrer ce travail. Son sens de l'engagement et sa rigueur ont toujours constitué pour moi une grande source d'inspiration et de motivation.

Je remercie profondément le Professeur TONLE KENFACK Ignas, pour avoir encadré ce travail et pour la belle ambiance qu'il a su installer entre nous depuis mon travail de Master. Malgré la distance et ses multiples occupations, il s'est toujours montré disponible pour les échanges scientifiques.

J'adresse mes vifs remerciements au Docteur NGASSA PIEGANG Guy Bertrand, pour sa participation à l'élaboration de ce travail, son soutien, ses conseils, ses encouragements et ses critiques constructives.

Je remercie également le Professeur NANSEU CHARLES NJIKI Péguy pour son soutien, ses encouragements et ses conseils.

Mes remerciements s'adressent également aux Docteurs KENNE DEDZO Gustave, SEUMO TCHEKWAGEP Patrick, NJINE BEMEMBA Charles Baudouin, TCHEUMI Hervé, YANKE MBOKANA Jenna, KAMENI Aude, NGUELO Boniface Bruno pour les multiples échanges très enrichissants que nous avons eus, notamment lors des groupes meetings.

Je voudrais remercier mes camarades et aînés de laboratoire, particulièrement NGOUNE Bertrand, FOZING Ariane, NGANA NGATCHOU Beaufiles, TCHOUMENE DEDZO Rolland, MOUAFO Edwige, SIEUGAING Marie, POUANGAM GALANI Giles, MATANGOUO Baudelaire, WAMBA TCHIO Odilon Romaric pour l'ambiance fraternelle.

Je remercie DOUNGMO Giscard et KAMDEN TAMO Arnaud pour leur soutien lors des caractérisations (DRX, ATG et MEB) des matériaux utilisés dans ce travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements à tous les membres de l'équipe de recherche de Chimie Analytique du LCPAA de l'Université de Yaoundé I, pour les multiples échanges très enrichissants que nous avons eus, et pour toute l'aide qu'ils m'ont apportée.

Je remercie les membres du jury qui malgré leurs occupations me font l'honneur en acceptant d'examiner ce travail.

Je remercie les Universités de Yaoundé I et de Dschang à travers tous les enseignants des Départements de Chimie Inorganique et Organique pour leur contribution à ma formation académique durant toutes ces années d'étude.

Je tiens enfin à remercier les membres de ma famille et de ma belle-famille pour leurs encouragements.

Sommaire

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE	iv
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES FIGURES	ix
RESUME	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE	5
I.1 Les calcium(II) phosphates	5
I.1.1 Généralités sur les calcium(II) phosphates.....	5
I.1.2 Calcium(II) phosphates apatitiques.....	7
I.1.3 Hydroxyapatite.....	8
I.2 Le plomb et la pollution de l'environnement	26
I.2.1 Généralités sur le plomb.....	26
I.2.2 Utilisation du plomb par l'homme.....	28
I.2.3 Effets toxiques du plomb sur l'homme.....	29
I.2.4 Effets du plomb sur l'environnement.....	30
I.2.5 Mécanisme d'adsorption des ions Pb^{2+} par l'hydroxyapatite..... ;	31
I.3 Le diquat (DQ) et la pollution de l'environnement	32
I.3.1 Propriétés physico-chimiques du DQ.....	32
I.3.2 Origine, utilisation et mécanisme d'action du DQ.....	33
I.3.3 Toxicité par le DQ.....	35
I.4 Les capteurs électrochimiques	35
I.4.1 Définition	35
I.4.2 Types de capteurs électrochimiques.....	37
I.5 Les types d'électrodes modifiées en électrochimie	39
I.5.1 Electrode de carbone vitreux.....	40
I.5.2 Electrode à pâte de carbone.....	40
I.5.3 Electrodes sérigraphiées.....	41
I.6 Conclusion	41
CHAPITRE II : MATERIAUX, REACTIFS ET METHODES EXPERIMENTALES ..	43
II.1 Matériaux et réactifs chimiques	43
II.1.1 Matériaux.....	43
II.1.2 Réactifs.....	43

II.2 Procédure d'obtention de l'hydroxyapatite naturelle et de sa modification par la β-cyclodextrine.....	46
II.2.1 Procédure d'obtention de l'hydroxyapatite naturelle.....	46
II.2.2 Modification de l'hydroxyapatite naturelle par greffage de la β -cyclodextrine.....	49
II.3 Méthodes physico-chimiques de caractérisation des matériaux.....	49
II.3.1 Diffraction de rayons X (DRX)	50
II.3.2 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)	51
II.3.3 Analyse thermogravimétrique (ATG)	54
II.3.4 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	55
II.4 Elaboration des capteurs ampérométriques utilisés.....	57
II.4.1 Dispositif expérimental	57
II.4.2 Préparation et modification de l'électrode de travail.....	58
II.4.3 Protocole d'analyse électrochimique.....	60
II.5 Techniques électrochimiques utilisées.....	61
II.5.1 Voltammétrie cyclique (VC)	61
II.5.2 Voltammétrie Impulsionnelle Différentielle (VID)	63
II.5.3 Voltammétrie impulsionnelle différentielle en mode de redissolution anodique (VID/RA).....	65
II.6 Conclusion.....	66
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	67
III.1 Caractérisation physico-chimique de l'hydroxyapatite naturelle ou modifiée	67
III.1.1 Diffractogrammes de rayons X.....	67
III.1.2 Spectre infrarouges.....	69
III.1.3 Thermogrammes.....	71
III.1.4 Micrographes.....	73
III.1.5 Conclusion partielle.....	74
III.2 Caractérisation électrochimique de l'hydroxyapatite naturelle ou modifiée.....	74
III.2.1 Caractérisation avec les ions hexacyanatoferate(III)	75
III.2.2 Caractérisation avec les ions hexamine ruthénium(III)	77
III.2.3 Etude de la désorption des ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ sur CV/NHAP _{P0,5} -CA- β -CD.....	81
III.2.4 Conclusion partielle.....	82
III.3 Application analytique de l'organohydroxyapatite à la détection électrochimique du diquat.....	82
III.3.1 Comportement du diquat en voltammétrie cyclique.....	82
III.3.2 Détection électrochimique du diquat par VID.....	86
III.3.3 Conclusion partielle.....	99

III.4 Application analytique du capteur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD à l'électroanalyse du plomb(II)	100
III.4.1 Impact de la modification de l'hydroxyapatite naturelle sur la détection électrochimique du plomb(II)	101
III.4.2 Etude de la stabilité du signal.....	103
III.4.3 Optimisation des paramètres d'accumulation et de détection du plomb(II)	104
III.4.5 Conclusion partielle.....	116
III.5 Conclusion	117
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	118
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	121
LISTE DES COMMUNICATIONS ET ARTICLES SCIENTIFIQUES TIRES DE CE TRAVAIL	139

Liste des abréviations

ATG : analyse thermogravimétrique

CA- β -CD : polymère de β -cyclodextrine

CV nu : électrode de carbone vitreux nue

CV/CA- β -CD : électrode de carbone vitreux modifiée par le polymère de β -cyclodextrine

CV/NHAP_{P0,5} : électrode de carbone vitreux modifiée par l'hydroxyapatite naturelle imprégnée

CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD : électrode de carbone vitreux modifiée par l'hydroxyapatite naturelle imprégné puis modifiée avec la β -cyclodextrine

DQ : diquat

DRX : diffractométrie de rayons X

EAD : électrode d'amalgame dentaire

EGM : électrode à goutte de mercure

EPC : électrode à pâte de carbone

HAP : Hydroxyapatite

IRTF : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

MEB : Microscopie électronique à balayage

NHAP : hydroxyapatite naturelle

NHAP_{P0,5} : hydroxyapatite naturelle imprégnée

NHAP_{P0,5}-CA- β -CD : hydroxyapatite naturelle imprégné puis modifiée par greffage de la de β -cyclodextrine

UV : ultraviolet

VC : voltammétrie cyclique

VID : voltammétrie impulsionnelle différentielle

VID/RA : voltammétrie impulsionnelle différentielle en mode de redissolution anodique

β -CD : béta-cyclodextrine

Liste des tableaux

Tableau I : Différentes familles de calcium(II) phosphates	7
Tableau II : Rayons ioniques de quelques cations.....	16
Tableau III . Effets du plomb sur le corps humain.....	30
Tableau IV . Propriétés du dibromure de diquat.....	33
Tableau V : Réactifs chimiques utilisés au cours de ce travail.....	44
Tableau VI : Caractéristiques physico-chimiques de la β -cyclodextrine.....	45
Tableau VII : Bandes IR caractéristiques des hydroxyapatites.....	71
Tableau VIII : Comparaison des domaines de linéarité et des limites de détection obtenus dans ce travail avec ceux de quelques travaux de la littérature.	96
Tableau IX : Taux de variation du courant de pic du diquat 10 $\mu\text{mol/L}$, enregistré sur CV/NHAP _{P0,5} -CA- β -CD en l'absence (100%) et la présence d'autres espèces interférentes introduites à une concentration fonction de celle du diquat	97
Tableau X : Comparaison de la performance analytique de CV/NHAP _{P0,5} -CA- β -CD à celles d'autres électrodes modifiées rapportés dans la littérature pour la détection des ions Pb^{2+}	113
Tableau XI : Taux de variation du courant de pic des ions Pb^{2+} 2 $\mu\text{mol/L}$, enregistré sur CV/NHAP _{P0,5} -CA- β -CD en l'absence (100%) et la présence d'autres espèces interférentes introduites à une concentration fonction de celle du plomb(II).	115
Tableau XII : Détermination du Pb^{2+} dans de l'eau de source et de puits sur CV/NHAP _{P0,5} -CA- β -CD.....	116

Liste des figures

Figure 1 : Projection de la structure de HAP sur le plan (001)	9
Figure 2 : Les groupements actifs à la surface de l'HAP.....	19
Figure 3 : Protonation-déprotonation des groupements à la surface de l'HAP.....	20
Figure 4 : Schéma représentatif du greffage de molécules à la surface de l'hydroxyapatite.....	22
Figure 5 : (a) Diagramme de prédominance du plomb à 10^{-5} M en fonction du pH. (b) Diagramme de précipitation du plomb en fonction sa concentration dans l'eau.....	27
Figure 6 : Structure du dibromure de diquat.	34
Figure 7 . Schéma du principe de fonctionnement d'un capteur électrochimique.....	36
Figure 8 : Représentation schématique de la β -CD. (a) structure chimique, (b) architecture tridimensionnelle	44
Figure 9 : Processus de formation d'un complexe d'inclusion de type 1:1.....	46
Figure 10 : Description des étapes de traitement des os de bovins utilisés.....	48
Figure 11 : Protocole de greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle.....	49
Figure 12 : Réflexion des rayons X par une famille de plans réticulaires.....	51
Figure 13 : Potentiel anharmonique et niveaux d'énergie.....	52
Figure 14 : Schéma du principe du microscope électronique à balayage.....	56
Figure 15 : Dispositif expérimental utilisé pour les analyses électrochimiques.....	58
Figure 16 : Schéma du protocole de nettoyage et de modification de l'électrode de travail. ...	59
Figure 17 : Protocole expérimental de détection électrochimique du diquat sur électrode à film d'hydroxyapatite naturelle fonctionnalisée.	60
Figure 18 : Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique, pour deux cycles.....	61
Figure 19 : Voltammogramme obtenu dans le cas d'un système réversible idéal.	62
Figure 20 : Séquence de balayage de potentiel utilisée en VID.....	64
Figure 21 : Réponse en courant typique d'un voltammogramme à impulsion différentiel.....	64
Figure 22 : (a) Différentes étapes de la VID/RA, (b) allure du voltammogramme obtenu.....	65
Figure 23 : Diffractogrammes de NHAP (a), NHAP _{P0,5} (b), CA- β -CD (c) et NHAP _{P0,5} -CA- β -CD (d)	68
Figure 24 : Spectres infrarouges (IR) des matériaux (a) NHAP, (b) NHAP _{P0,5} et (c) NHAP _{P0,5} -CA- β -CD enregistrés entre 4000 et 400 cm^{-1}	70

Figure 25 : Courbes ATG et ATD de NHAP_{P0,5} (a et a'), NHAP_{P0,5}-CA-β-CD (b et b') et de CA-β-CD (c et c').72

Figure 26 : Micrographes de NHAP, NHAP_{P0,5}, CA-β-CD, et de NHAP_{P0,5}-β-CD.....73

Figure 27 : Voltammogramme cyclique enregistré pour une solution contenant les ions [Fe(CN)₆]³⁻ 10⁻³ M sur électrode de carbone vitreux nue, en milieu KCl 0,1 M (v = 100 mV/s).....75

Figure 28 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions [Fe(CN)₆]³⁻ 10⁻³ M sur CV/NHAP_{P0,5} (a) et CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD (b) en milieu KCl 0,1 M (v = 100 mV/s)76

Figure 29 : Voltammogramme cyclique enregistré pour une solution contenant les ions [Ru(NH₃)₆]³⁺ 10⁻³ M sur électrode de carbone vitreux nue, en milieu KCl 0,1 M (v = 100 mV/s).....77

Figure 30 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions [Ru(NH₃)₆]³⁺ 10⁻³ M sur CV/NHAP_{P0,5}, en milieu KCl 0,1 M, à la vitesse de balayage v = 100 mV/s.78

Figure 31 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions [Ru(NH₃)₆]³⁺ 10⁻³ M sur CV/CA-β-CD, en milieu KCl 0,1 M (v = 100 mV/s).....79

Figure 32 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions [Ru(NH₃)₆]³⁺ 10⁻³ M sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD en milieu KCl 0,1 M (v = 100 mV/s)..... 80

Figure 33 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD en milieu KCl 0,1 M (v = 100 mV/s) après accumulation dans une solution contenant les ions [Ru(NH₃)₆]³⁺ 10⁻³ M..... 81

Figure 34 : Voltammogrammes multicycliques d'une solution 1 x 10⁻⁴ M de diquat en milieu KCl 0,1 M (pH 5,6) sur (a) CV nue, (b) CV/NHAP_{P0,5}, (c) CV/CA-β-CD et (d) GCE/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD, (v = 100 mV/s).83

Figure 35 : (a) Premier voltammogramme cyclique du DQ 1 x 10⁻⁴ mol/L en milieu KCl 0,1 M (pH 5,6) obtenu sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD à des vitesse de balayage allant de 25 à 175 mV/s, (b) Variation des courants de pics cathodiques du DQ en fonction de la racine carré de la vitesse de balayage, (c) Variation du logarithme des courants de pics cathodiques du DQ en fonction du logarithme de la vitesse de balayage.85

Figure 36: Voltammogrammes VID d'une solution de diquat obtenus sur (a) CV nu, (b) CV/NHAP_{P0,5} (c) CV/CA-β-CD et (d) CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD, après 2 minutes

d'accumulation en milieu aqueux (pH 6) en présence de 10 $\mu\text{mol/L}$ de DQ. Détection en milieu KCl 0,1 mol/L à pH 5,688

Figure 37: Variation du courant de pic du DQ en fonction des mesures répétitives. En inset : huit voltammogrammes obtenus en VID sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD après 2 minutes d'accumulation en milieu aqueux (pH 6) en présence de 10 $\mu\text{mol/L}$ de DQ (Détection en milieu KCl 0,1 mol/L à pH 5,6)89

Figure 38 : Effet de la solution électrolytique sur le courant de pic du diquat (10 $\mu\text{mol/L}$), après 2 minutes d'accumulation en milieu aqueux (pH 6). Milieu de détection : sodium chlorure, sodium nitrate, tampon acétate, tampon phosphate tous à la concentration de 0,1M.90

Figure 39 : Effet du pH du milieu d'accumulation sur le courant de pic du diquat (10 $\mu\text{mol/L}$) sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD. Temps d'accumulation : 2 minutes ; milieu de détection : KCl 0,1 M (pH 5,6).92

Figure 40 : Effet du pH du milieu de détection sur le courant de pic du diquat (10 $\mu\text{mol/L}$) sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD. Temps d'accumulation : 2 minutes ; milieu d'accumulation : solution aqueuse de diquat 10 $\mu\text{mol/L}$ (pH 6) ; milieu de détection : KCl 0,1 M.93

Figure 41 : Effet du temps d'accumulation sur la réponse électrochimique du Diquat. (a) courbes de VID obtenues sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD après accumulation en milieu aqueux (pH 6) en présence de 10 $\mu\text{mol/L}$ de diquat, suivie d'une détection dans du KCl 0,1M (pH 5). (b) Tracé de l'évolution du courant de pic en fonction du temps d'accumulation.94

Figure 42 : Effet de la concentration sur la réponse électrochimique du diquat. (a) Voltammogrammes VID obtenus sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD dans les conditions optimales pour des concentrations allant de $5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ à $50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. (b) droite de calibration.....95

Figure 43: (a) Voltammogrammes VID résultant de la détection du diquat sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD dans une eau de source pour des concentrations allant de $5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ à $45 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$. (b) Droite d'étalonnage correspondante.99

Figure 44 : Voltammogrammes obtenus par VID/RA sur (a) CV/NHAP_{P0,5}, (b) CV/CA- β -CD, (c) CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD. Temps d'accumulation : 3 minutes ; Milieu d'accumulation : milieu aqueux à pH 6 contenant 2 $\mu\text{mol/L}$ d'ions Pb^{2+} ; Milieu de détection : tampon acétate 0,1M à pH 5 ; potentiel d'électrolyse : -0,8V ; temps d'électrolyse : 15 s102

Figure 45 : Proposition du processus d'accumulation des ions Pb^{2+} par NHAP_{P0,5}-CA- β -CD.....103

- Figure 46** : Variation du courant de pic pour des mesures successives. En inset : voltammogrammes successifs obtenus par VID/RA sur GCE/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD après 3 minutes d'accumulation dans une solution aqueuse (pH 6) contenant 2 μmol/L de Plomb(II). Détection dans du tampon acétate 0,1 M (pH 5) après 15 s d'électrolyse à - 0,8 V.104
- Figure 47** : Influence du pH du milieu de détection. (a) Voltammogrammes obtenus en VID/RA sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD en variant le pH du milieu de détection (tampon acétate) entre 3,5 et 6,5. (b) Evolution du courant de pic en fonction du pH du milieu de détection. Temps d'accumulation : 3 minutes ; potentiel d'électrolyse : -0,8V ; temps d'électrolyse : 15 s.....105
- Figure 48** : Variation du potentiel de pic de Pb²⁺ en fonction du pH du milieu de détection...106
- Figure 49** : Evolution du courant de pic de Pb²⁺ en fonction du pH du milieu d'accumulation. Temps d'accumulation : 3 minutes ; milieu de détection : tampon acétate pH 5 ; potentiel d'électrolyse : -0,8 V ; temps d'électrolyse : 15 s.107
- Figure 50** : Variation du courant de pic de Pb²⁺ en fonction du potentiel d'électrolyse. Temps d'accumulation : 3 minutes ; milieu de détection : tampon acétate pH 5 ; temps d'électrolyse : 15 secondes.....109
- Figure 51** : Influence du temps d'électrolyse sur la réponse électrochimique du Pb²⁺ (2 μmol/L) obtenu par VID/RA sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD après 3 minutes d'accumulation. Milieu de détection : tampon acétate pH 5 ; potentiel d'électrolyse : -0,8V.....110
- Figure 52** : (a) Effet du temps d'accumulation en milieu aqueux sur la réponse électrochimique de Pb²⁺ (2 μmol/L) enregistrée sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD. Temps d'électrolyse : 30 s ; potentiel d'électrolyse : -0,8 V. (b) tracé de l'évolution du courant de pic en fonction du temps d'accumulation.111
- Figure 53** : (a) Signaux VID/RA enregistrés sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD pour des concentrations en ions Pb²⁺ allant de 0,025 à 0,200 μmol/L ; après 10 minutes d'accumulation en milieu aqueux pH 5. Temps d'électrolyse : 30 s ; potentiel d'électrolyse : -0,8 V. (b) droite de calibration traduisant l'influence de la concentration sur l'intensité du courant du plomb(II).....112

Résumé

Dans ce travail, une hydroxyapatite a été fonctionnalisée en greffant à sa surface la β -cyclodextrine (β -CD), afin d'améliorer ses propriétés d'échange ionique. L'hydroxyapatite a été naturellement obtenu à partir des os de bovins suivant une procédure en trois étapes comprenant : la pré-calcination à 450 °C, le traitement chimique avec du diammonium phosphate et la calcination à 700 °C. Le greffage de la β -cyclodextrine à la surface du matériau résultant s'est fait en utilisant l'acide citrique comme liant et le sodium hydrogénophosphate comme catalyseur. Les différents matériaux élaborés ont été caractérisés par diffractométrie de rayons X (DRX), spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), analyse thermique gravimétrique (ATG) et par microscopie électronique à balayage (MEB). De ces caractérisations, il ressort que l'hydroxyapatite naturelle extraite des os de bovins est pure et cristallisée, le traitement au diammonium phosphate induit au sein de ce matériau un caractère amorphe sans toutefois affecter sa structure ; le greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle a été effectué avec succès sans pour autant affecter les phases cristallines présentes dans le matériau. L'organohydroxyapatite obtenu possède une structure plus poreuse et des particules mieux dispersées que le matériau non modifié. La caractérisation électrochimique des matériaux par voltammétrie cyclique a permis de confirmer la bonne porosité du matériau fonctionnalisé tout en montrant que le greffage effectué a considérablement amélioré les propriétés d'échange cationique de l'hydroxyapatite naturelle. Les différents matériaux élaborés ont été par la suite utilisés pour modifier une électrode de carbone vitreux et les capteurs électrochimiques résultants ont été appliqués pour détecter le diquat d'une part, puis le plomb(II) d'autre part. Dans l'ensemble, l'électrode à film modifiée par l'organohydroxyapatite a présenté la meilleure sensibilité. Dans le cas du diquat, des études préliminaires effectuées en voltammétrie cyclique ont permis d'élucider son comportement électrochimique. La voltampérométrie impulsionnelle différentielle (VID) a par la suite été utilisée pour optimiser les paramètres de détection. Cela a permis de tracer une droite de calibration dans un domaine de concentration compris entre 5×10^{-8} et 50×10^{-8} M et d'avoir une limite de détection de $4,6 \times 10^{-10}$ M. Pour ce qui est du plomb(II), la VID exploitée par le biais de la méthode par redissolution anodique a permis d'optimiser les paramètres liés à l'étape de détection et d'accumulation du capteur. Dans ces conditions optimales, une droite de calibration a été tracée dans un domaine de concentration compris entre $2,5 \times 10^{-8}$ et 20×10^{-8} M, ce qui a permis d'obtenir une limite de détection égale à $5,06 \times 10^{-10}$ M.

Mots clés : β -cyclodextrine, greffage, hydroxyapatite naturelle, capteurs électrochimiques, diquat, plomb(II).



Abstract

In this work, hydroxyapatite was functionalized by grafting β -cyclodextrin (β -CD) to its surface in order to improve its ion-exchange properties. Hydroxyapatite was naturally obtained from bovine bones following a three-step procedure comprising: pre-calcination at 450 °C, chemical treatment with diammonium phosphate, and calcination at 700 °C. The grafting of β -cyclodextrin to the surface of the resulting material was done using citric acid as a linker and sodium hydrogenphosphate as a catalyst. The different materials obtained were characterized by X-ray Diffractometry (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Thermal Analysis (ATG), and Scanning Electron Microscopy (SEM). From these characterizations, it emerges that the natural hydroxyapatite extracted from bovine bones is pure and crystallized, the treatment with diammonium phosphate induces within this material an amorphous character without however affecting its structure, the grafting of β -CD to the surface of the natural hydroxyapatite has been carried out successfully without affecting the crystalline phases present in the material. The resulting organohydroxyapatite has a more porous structure and better dispersed particles than the unmodified material. The electrochemical characterization of the materials by cyclic voltammetry confirmed the good porosity of the functionalized material while showing that the grafting carried out considerably improved the cation exchange properties of natural hydroxyapatite. The various materials developed were subsequently used to modify a glassy carbon electrode and the resulting electrochemical sensors were applied to detect diquat on the one hand, then lead(II) on the other. Overall, the electrode modified with organohydroxyapatite showed the best sensitivity. In the case of diquat, preliminary studies carried out in cyclic voltammetry have made it possible to elucidate its electrochemical behavior. Differential pulse voltammetry was subsequently used to optimize detection parameters. This made it possible to draw a calibration line in a range ranging from 5×10^{-8} to 50×10^{-8} M and to have a detection limit of 4.6×10^{-10} M. With regard to lead(II), the Differential pulse voltammetry exploited by means of the anodic redissolution method made it possible to optimize the parameters related to the detection and accumulation step of the sensor. Under these optimal conditions, a calibration line was plotted in a concentration range between 2.5×10^{-8} to 20×10^{-8} M, which made it possible to obtain a detection limit equal to 5.06×10^{-10} M.

Key words: β -cyclodextrin, grafting, natural hydroxyapatite, electrochemical sensors, diquat, lead(II).

Introduction générale

L'homme au quotidien utilise une large gamme de produits qui contribuent dans une certaine mesure à améliorer son bien-être. Malheureusement, cela n'est pas sans contrepartie puisque ces produits ont des conséquences autres que celles directement recherchées. En effet, l'utilisation non contrôlée de certaines substances chimiques (ions des métaux lourds, pesticides, engrais chimiques à titre d'exemple) engendre des conséquences néfastes sur l'environnement [1, 2]. Ceci suscite depuis quelques années beaucoup d'inquiétude partout dans le monde. Il faut noter que la présence de certains micropolluants dans l'environnement à partir d'un certain seuil de concentration est un problème écologique majeur car ils influent directement sur la santé des êtres vivants. Malgré cela, ils sont quasiment incontournables vu qu'ils permettent de façon indirecte de répondre aux besoins multiples d'une population mondiale sans cesse croissante.

On distingue plusieurs groupes de micropolluants dont les micropolluants minéraux (plomb, mercure, cadmium, arsenic...) et les micropolluants organiques (pesticides, composés aromatiques, colorants ...). Les micropolluants minéraux en raison de leurs bonnes propriétés sont utilisés dans divers domaines. Parmi ces derniers, le plomb est vraisemblablement un métal beaucoup sollicité et ceci depuis l'antiquité où il a servi par exemple dans la fabrication des peintures et des tuyaux d'évacuation d'eau [3, 4]. De nos jours, il est par exemple exploité en industrie pour la fabrication des accumulateurs, des câbles électriques et de la verrerie. Cette utilisation intensive favorise sa diffusion dans les sols, l'eau, et l'air ; engendrant de ce fait son accumulation à des seuils très élevés. Malheureusement, le plomb est un élément très toxique. Sa toxicité est directement liée à sa grande réactivité et surtout à sa très faible biodégradabilité [5, 6]. En effet, lorsqu'il est ingéré même à très faible dose, il s'accumule progressivement dans l'organisme et cause plusieurs maladies comme le cancer, l'anémie, l'hypertension artérielle et des troubles neurologiques [6]. Parmi les micropolluants organiques, les pesticides et particulièrement les herbicides sont beaucoup utilisés. Leur usage est aujourd'hui quasiment incontournable pour soutenir un rythme de production agricole convenable pour l'alimentation de la population mondiale. En conséquence, des millions de tonnes d'herbicides sont déversés dans les exploitations agricoles chaque année, parfois en violation des restrictions fixant les concentrations des produits actifs dans les formulations ou dans les fréquences d'utilisation. Cela s'accompagne malheureusement d'une pollution difficilement maîtrisable à cause de la facilité avec laquelle ils se dispersent lors de l'épandage. Ils s'infiltrent dans les eaux de consommation ainsi que les produits agricoles, provoquant au sein des consommateurs de nombreuses pathologies (cancers, maladies dermatologiques, troubles neurologiques) [2].

Parmi ces herbicides, l'un des plus couramment utilisés est le diquat (DQ). Il est employé comme agent de dessiccation avant la récolte sur une variété de cultures destinées à la consommation humaine ou animale. Il est aussi employé pour le désherbage chimique des zones non cultivées et pour la lutte contre les mauvaises herbes aquatiques [2]. Tout comme le plomb, le diquat lorsqu'il est ingéré par l'homme au-delà du seuil de concentration maximal toléré (à travers les eaux de consommation ou des aliments souillées, ou par inhalation dans un environnement contaminé) l'expose à des graves problèmes de santé. Le seuil maximal de concentration toléré dans l'eau de consommation fixé par l'Organisation Mondiale de la Santé et l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis est de $4,82 \times 10^{-8}$ mol/L pour le plomb [7] et de $5,52 \times 10^{-8}$ mol/L pour le diquat [8].

Si accumuler et éliminer ces micropolluants dans les milieux souillés représente un enjeu capital pour garder un environnement sain, détecter et contrôler leurs teneurs dans les milieux contaminés constitue un réel défi pour la protection efficace de l'environnement. Parmi les méthodes analytiques les plus utilisées ces dernières années à cet effet, figurent en bonne place les méthodes électrochimiques. A l'opposé des autres méthodes (la chromatographie, la spectroscopie UV, la spectroscopie par fluorescence et l'électrophorèse capillaire haute performance...), elles ont un appareillage simple et facile à entretenir, sont faciles de mise en œuvre, sont assez sensibles et ont un temps d'acquisition de données court [9, 10]. La performance de ces méthodes est grandement liée au matériau constituant l'électrode de travail. Les électrodes classiques (carbone vitreux, or, platine, goutte de mercure...) ont pendant longtemps été utilisées comme électrode de travail. Cependant, leur toxicité, leur faible sélectivité et leur sensibilité limitée ont favorisé ces dernières années le développement d'une multitude d'électrodes dites modifiées qui sont plus sensibles, sélectives et ont une surface active beaucoup moins sensible au phénomène de passivation [10]. De nos jours de nombreux matériaux tels que la sciure de bois [11], les zéolites [12], les argiles [13, 14] et les hydroxyapatites (HAP) [15, 16] sont généralement utilisés comme modifiants d'électrodes. Parmi ces matériaux, les HAP en raison de leurs biocompatibilité, leurs excellente capacité d'adsorption, leurs propriétés acido-basiques et leur faible coût semblent présenter un grand intérêt [17, 18]. Elles possèdent une structure bien connue et leurs sites chimiquement réactifs sont facilement accessibles [19]. De plus, elles peuvent facilement s'obtenir naturellement en valorisant les déchets d'os d'animaux [20-23]. En raison de leurs propriétés, elles sont utilisées dans divers domaines : en médecine elles sont utilisées comme substitut osseux ; en catalyse elles sont employées comme support de phase active [17] ; en chimie environnementale elles

se sont révélées être bons adsorbants d'une large gamme de polluants tant minéraux qu'organiques (métaux lourds, colorants, pesticides...) [23-26]. Elles s'obtiennent généralement de manière synthétique mais depuis quelques années celles obtenues via des ressources naturelles (NHAP) sont de plus en plus prisées. En effet, bien que des méthodes synthétiques permettent d'obtenir avec succès des HAP pures possédant des structures bien définies, elles sont assez chères et potentiellement dangereuses pour l'environnement (elles utilisent des réactifs parfois toxiques). Par contre, celles obtenues via des ressources naturelles sont plus écologiques et ont un coût de revient très faible.

Pris à l'état brut, les HAP possèdent une capacité de rétention et une sélectivité relativement faible vis-à-vis de certains micropolluants, ce qui constitue une limitation à leur utilisation intensive. Cependant, plusieurs équipes de recherches ont montré la possibilité d'accroître leur sélectivité et leur capacité de fixation des espèces micropolluantes en greffant à leur surface des molécules organiques. Les matériaux hybrides organo-inorganiques ainsi obtenus sont non seulement plus réactifs mais ils forment des films plus stables physiquement lorsqu'ils sont employés comme modifiant d'électrode. Plusieurs travaux portant sur la fonctionnalisation des HAP existent dans la littérature [15, 27, 28]. Parmi les agents modifiants pouvant être utilisés, la bêta-cyclodextrine (β -CD) fait l'objet d'une attention particulière. En effet, la β -CD est un oligosaccharide cyclique, qu'on obtient naturellement par dégradation enzymatique de l'amylose [29, 30]. Non seulement elle est non toxique, mais aussi sa structure lui confère d'avantageuses propriétés d'inclusion [30]. Compte tenu des propriétés des NHAP d'une part et celles de la β -CD d'autre part, les matériaux composites hydroxyapatite/ β -CD sont très prisés ces dernières années pour l'adsorption des métaux lourds et des micropolluants organiques [31-33]. Cependant, leur utilisation comme matériaux d'électrodes pour la détection et l'électroanalyse de ces polluants reste un domaine non exploré.

Ainsi, dans le présent travail nous nous proposons d'élaborer un matériau composite organo-inorganique (de faible coût et respectueux de l'environnement) en greffant la β -CD à la surface d'une NHAP. L'hydroxyapatite naturelle s'obtiendra à partir des déchets d'os de bovins en utilisant une procédure à trois étapes qui comprendra entre autres la précalcination, le traitement chimique et la calcination. Le matériau composite sera synthétisé en utilisant l'acide citrique comme liant et le sodium hydrogénophosphate comme catalyseur. Le matériau synthétisé servira après caractérisation à élaborer une électrode à film stable, performante et hautement sensible à la fixation, à la détection et à l'électroanalyse du diquat puis du plomb(II) dans un milieu aqueux contaminé.

En se basant sur ces objectifs, le travail présenté dans ce document est subdivisé en trois chapitres. Le premier chapitre présente tout d'abord une synthèse bibliographique qui rassemble des données essentielles sur les HAP, notamment en ce qui concerne leurs structures, leurs propriétés, leurs applications, leurs méthodes d'obtention et leurs techniques de fonctionnalisation. Ensuite, les généralités sur le plomb et le diquat sont décrites. Enfin, nous présentons quelques types d'électrodes modifiées.

Le second chapitre est consacré à la présentation des matériaux et des différents réactifs utilisés dans ce travail. Il décrit aussi la procédure d'obtention de l'hydroxyapatite naturelle à partir des os de bovins ainsi que la méthode de synthèse du matériau composite hydroxyapatite/ β -CD. Les techniques de caractérisation des matériaux, ainsi que les techniques électrochimiques d'analyse du diquat et du plomb y sont également décrites.

Le troisième chapitre, quant à lui, est réservé à la présentation essentielle des résultats obtenus. Il est structuré en trois parties dont la première est consacrée aux résultats des caractérisations physicochimiques et électrochimiques des poudres des matériaux élaborés. La seconde partie traite de l'application du capteur électrochimique mis en œuvre à la détection du diquat. La troisième et dernière partie de ce chapitre traite de l'application de ce capteur à l'électroanalyse de plomb(II).

Une conclusion générale résumant l'ensemble des résultats obtenus et la présentation de quelques perspectives clôture cette étude.

Chapitre I : Revue de la littérature

Les Hydroxyapatites sont des matériaux inorganiques qui en raison de leurs intéressantes propriétés attirent de nos jours un intérêt de plus en plus grandissant. En effet, leurs propriétés acido-basiques, capacité d'échange d'ions, capacité d'adsorption et surtout leur haute biocompatibilité font d'elles des matériaux utilisés dans des domaines aussi variés que la biologie, la médecine, la chimie et la géologie [34]. Faciles à obtenir, leur structure offre des possibilités d'échange ionique qui font d'elles des matériaux de plus en plus utilisés pour l'adsorption des métaux lourds et des polluants organiques par les chimistes soucieux de la protection de l'environnement [15, 20, 35-38]. De plus elles possèdent des groupements fonctionnels de surface qui offrent la possibilité d'être modifiés chimiquement, permettant ainsi d'accroître leur spécificité et leur réactivité [27, 39]. Fort de tout cela, elles sont depuis quelques années, utilisées avec succès pour modifier les électrodes classiques afin d'améliorer leur sensibilité à la détection et à l'électroanalyse des espèces chimiques à caractère polluant.

Ce chapitre présentera tout d'abord les généralités sur les phosphates de calcium, un accent particulier sera accordé aux phosphates de calcium apatitique et plus précisément à l'hydroxyapatite qui est le matériau utilisé dans le cadre de ce travail. Nous présenterons ensuite les effets du plomb et du diquat sur l'homme et l'environnement. Enfin le dernier volet de ce chapitre portera sur les types d'électrodes modifiées en électrochimie.

I.1 Les calcium(II) phosphates

I.1.1 Généralités sur les calcium(II) phosphates

Les calcium(II) phosphates représentent une famille de matériaux minéraux issus de la combinaison des différentes formes acides de l'acide phosphorique H_3PO_4 avec l'ion Ca^{2+} [40]. Ils sont caractérisés par leur rapport atomique Ca/P. Pour une même valeur de ce rapport, il peut exister différentes formules chimiques, et une même composition chimique peut correspondre à plusieurs structures cristallographiques. En dehors des ions phosphate et calcium, d'autres éléments tels que le zinc, l'argent, le cuivre ou encore des ions tels que SiO_4^{4-} , CO_3^{2-} peuvent se substituer ou s'insérer dans la maille des calcium(II) phosphates, engendrant ainsi des matériaux présentant de nouvelles propriétés [41, 42].

Les calcium(II) phosphates de par leurs propriétés jouent un rôle important dans divers domaines. Dans l'industrie, ces matériaux sont la source principale des engrais phosphatés et ils servent aussi à préparer l'acide phosphorique [43]. Leurs propriétés électroniques sont

largement mises à profit dans la conception des lampes fluorescentes [43] et des matériaux pour laser [44]. Ils sont également utilisés en chromatographie pour la séparation et la purification des molécules organiques [45, 46]. Outre leur importance industrielle, les calcium(II) phosphates ont connu un grand essor dans le domaine des biomatériaux. C'est ainsi que depuis plus de vingt ans, ils sont parmi les biomatériaux ayant fait l'objet de plusieurs travaux fondamentaux qui ont débouché sur des applications variées. En chirurgie osseuse ou dentaire, ils sont utilisés lorsque des apports de matériaux de comblement sont nécessaires. Leurs compositions chimiques et leurs propriétés de biocompatibilité et de bioactivité les rendent utilisables comme substitut osseux [47]. En outre, ils ont aussi une forte capacité à immobiliser des ions quand ils sont mis au contact de solutions aqueuses. Ils sont de ce fait utilisés dans les procédés de décontamination et de traitement des eaux usées ou des eaux souterraines contaminées.

Les calcium(II) phosphates forment une famille de composés chimiques de structures et de compositions variables pouvant apparaître sous différentes formes : hydratés, hydroxydes ou anhydres. Ils représentent une famille de composés avec une composition de base commune (cations calcium et anions phosphate) mais des rapports Ca/P (stœchiométrie) variables et des structures (cristallines ou non) variées. Ainsi, en fonction du rapport molaire Ca/P, nous pouvons définir plusieurs familles de calcium(II) phosphate [48].

Le Tableau I présente les formules chimiques ainsi que les rapports atomiques Ca/P de quelques calcium(II) phosphates. La nature chimique du calcium(II) phosphate est dépendante de la méthode et des conditions de synthèse utilisées. Le ratio Ca/P initial, le pH ainsi que la température de la solution sont les paramètres déterminants de leur composition chimique. Ceux possédant des rapports atomiques Ca/P < 1,67, telles que les phosphates monocalcique, et octocalcique sont obtenus en milieu aqueux [48]. Tandis que le phosphate tétracalcique et l'oxyapatite qui possèdent un rapport Ca/P > 1,67 sont obtenus par traitement thermique à haute température de précurseurs de phosphates et de calcium. Cependant, les phosphates tricalcique anhydre bien que possédant un rapport Ca/P < 1,67, sont aussi obtenus par traitement thermique [49, 50]. Dans ce cas particulier, les paramètres déterminants sont le rapport Ca/P initial ainsi que la température du traitement thermique. L'HAP stœchiométrique, de ratio Ca/P = 1,67, peut s'obtenir aussi bien en milieux aqueux ou par traitement thermique [48].

Tableau I : Différentes familles de calcium(II) phosphates [51]

Nom	Formule	Ca/P
Phosphate tétracalcique	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,00
Hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Oxyapatite	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	1,67
Phosphate tricalcique anhydre	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.50
Phosphate tricalcique apatitique	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$	1.50
Phosphate tricalcique amorphe	$\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6, n\text{H}_2\text{O}$	1.50
Phosphate octocalcique triclinique	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6, 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Phosphate octocalcique apatitique	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_{2,5}(\text{PO}_4)_{3,5}(\text{OH})_{0,5}$	1,33
Phosphate octocalcique amorphe	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2, n\text{H}_2\text{O}$	1,33
Phosphate dicalcique dihydraté	$\text{CaHPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Phosphate dicalcique anhydre	$\text{CaH}(\text{PO}_4)$	1,00
Phosphate de calcium	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}$	1,00
Phosphate monocalcique monohydraté	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2, \text{H}_2\text{O}$	0,50
Phosphate monocalcique anhydre	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,50

I.1.2 Calcium(II) phosphates apatitiques

Le terme apatite vient du mot grec « apaticin » qui veut dire tromper. C'est un nom qui a été utilisé pour la première fois en 1808 par le géologue allemand Abraham Gottlob Werner pour décrire un groupe de cristaux minéraux apparaissant avec diverses teintes (jaune, vert, rose, etc.) [52]. Ce terme a été donné à la famille de minéraux (calcium(II) phosphate) répondant à la formule générique $\text{Me}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Y}_2$ où Me représente un cation divalent (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} ...), XO_4 un groupement anionique trivalent (PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , MnO_4^{3-} ...), et Y un anion monovalent (HO^- , Cl^- , F^- ...) [53].

Les apatites sont naturellement présentes dans la croûte terrestre et sont le constituant principal des os et de l'émail dentaire [47]. Elles constituent la principale source naturelle de phosphate [54]. La forme d'apatite la plus abondante sur terre est la fluoroapatite phosphocalcique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ [55]. Il existe aussi d'autres compositions d'apatites phosphocalciques dans la nature comme la chloroapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ et l'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ qui est la forme utilisé dans ce travail. Les apatites forment une grande famille de composés inorganiques isomorphes qui cristallisent dans un système hexagonal avec un

groupe spatial $P6_3/m$. Les valeurs des paramètres de maille a , c et β dépendent de la nature des entités Me , XO_4 et Y [53, 56].

I.1.3 Hydroxyapatite

La plupart des études menées sur les apatites sont basées sur les calcium(II) phosphates, et plus précisément sur l'hydroxyapatite en raison de sa biocompatibilité et de sa structure cristalline permettant diverses substitutions de cations et/ou d'anions [57]. En effet, l'hydroxyapatite a une forte capacité à immobiliser des ions quand elle est mise en contact de solutions aqueuses : les ions Ca^{2+} peuvent être substitués par des cations tels que les métaux lourds [58] et les ions PO_4^{3-} peuvent être remplacés par des anions tels que AsO_4^{3-} , CO_3^{2-} ...etc [59]. Afin de mieux cerner le fonctionnement de ce matériau qui présente souvent une réactivité basique atypique mais très intéressante en terme de conversion et de sélectivité, il faut s'intéresser aux différents paramètres (formule chimique, structure, substitution, stœchiométrie...) qui font de lui un système singulier tant pour des applications en chimie environnementale que dans divers autres domaines.

I.1.3.1 Définition et formule chimique

L'hydroxyapatite est l'une des formes les plus répandues des calcium(II) phosphates. Elle peut être d'origine synthétique ou naturelle vu qu'elle représente le composant majoritaire de la phase minérale osseuse (environ 67% de la masse de l'os). De ce fait, c'est un matériau très souvent utilisé comme substitut osseux et pour la fabrication de prothèses oculaires (implants) car elle présente une parfaite biocompatibilité avec la formation rapide d'un lien biologique avec le tissu osseux [60]. De formule chimique $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, l'hydroxyapatite stœchiométrique a une composition théorique massique de 39,68 % de calcium, 18,45 % de phosphore et un ratio molaire Ca/P égale à 1,667. Les hydroxyapatites naturelles sont le plus souvent non stœchiométriques car elles présentent généralement un rapport calcium sur phosphore (Ca/P) inférieur à 1,667 en raison de l'incorporation dans leur structure d'autres constituants (cations, anions) provenant de l'environnement [57].

I.1.3.2 Structure cristalline

La structure cristalline de l'hydroxyapatite est connue depuis 1930 après les travaux de Náráy-Szabó et Mehmél sur la fluoroapatite [53]. De formule chimique $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, elle appartient à la famille cristallographique des apatites. Sa structure résulte d'un empilement

tétraédrique de groupements PO_4^{3-} , qui forment deux types de tunnels parallèles à l'axe (c) dans lesquels se localisent les ions Ca^{2+} . Une particularité de cette structure réside dans sa capacité à former des solutions solides et à accepter un grand nombre de substituants anioniques et cationiques [57]. L'HAP cristallise selon un système hexagonal avec un groupement spatial de symétrie $\text{P6}_3/\text{m}$ [61]. Cependant, des études théoriques récentes ont montré qu'une forme monoclinique de groupe spatial $\text{P2}_1/\text{b}$ existe mais demeure instable [62, 63]. Dans le cas de l'HAP stœchiométrique (sans substitution ou lacune), les paramètres cristallographiques de maille a, b, c et β sont respectivement égaux à 9,418 Å, 9,418 Å, 6,881 Å et 120°. Le volume de la maille est égal à 528,80 Å³ (données extraites de la fiche ICDD-PDF 9-432) [64]. La maille contient 10 cations Ca^{2+} , 6 ions PO_4^{3-} et 2 ions hydroxyles OH^- . Les dix cations Ca^{2+} sont de deux types (Ca(I) et Ca(II)) dépendant de leur environnement. Les six ions tétraédriques PO_4^{3-} définissent le squelette de la structure apatitique [65]. Contrairement aux sites Ca^{2+} ou OH^- , aucune lacune n'a jamais été observée sur les sites PO_4^{3-} . La Figure 1 présente la structure cristallographique de la maille d'une hydroxyapatite. L'une des particularités structurales de ce minéral est qu'elle présente deux sites cationiques distincts car, l'arrangement compact des ions tétraédriques PO_4^{3-} constituant le squelette de la structure fait apparaître deux types de tunnels notés I et II perpendiculaires au plan (001) (parallèles à l'axe Oz).

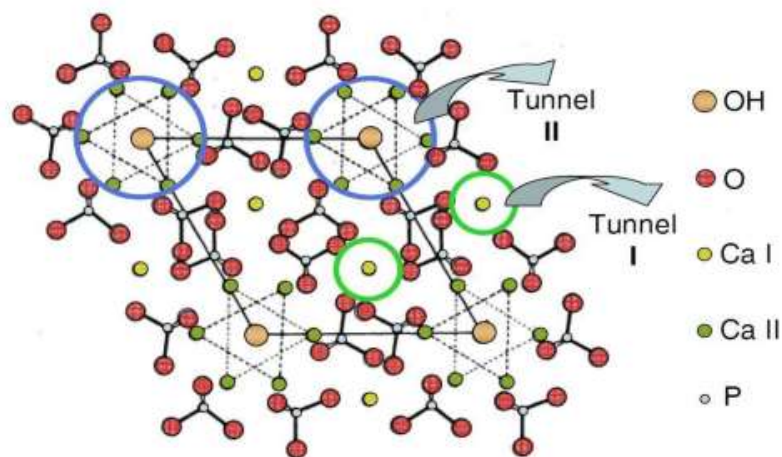


Figure 1 : Projection de la structure de HAP sur le plan (001) [62].

Les premiers types de tunnels sont occupés par des cations calcium de type I (noté Ca_I). Ils ont un diamètre égal à environ 2,5 Å et sont entourés par 6 groupes PO_4^{3-} . Les sites de ces cations sont au nombre de quatre par maille. Ils sont placés sur les axes ternaires et sont en coordination 9 avec les atomes d'oxygènes des tétraèdres PO_4 [66, 67]. Les seconds types de tunnels ont quant à eux un diamètre plus grand, compris entre 3 et 4,5 Å. Ils contiennent le reste

des cations calcium qui sont de type II (noté Ca_{II}), soit six cations Ca_{II} par maille. De coordinance 7, ils sont entourés de six atomes d'oxygène des groupements tétraédriques PO_4 et du groupement anionique OH [66].

La présence de ces deux tunnels joue un rôle très important dans les propriétés physico-chimiques des hydroxyapatites. En effet, la grande réactivité chimique de ces matériaux découle de la présence de ces canaux qui rendent possible le remplacement partiel ou total des ions situés dans les tunnels par d'autres ions. Ils permettent aussi le stockage de petites molécules comme O_2 et H_2O [68]. Du fait de l'existence de ces tunnels, les hydroxyapatites peuvent se comporter comme des échangeurs d'ions.

I.1.3.3 Méthodes d'obtention des hydroxyapatites

En raison de leurs propriétés intéressantes, les HAP trouvent des applications dans de nombreux domaines. Ainsi pour répondre aux besoins incessants de matériaux présentant des propriétés spécifiques, plusieurs méthodes d'obtention ont été mises en œuvre. On distingue entre autres des méthodes d'obtention par voie de synthèse et des méthodes d'obtention par voie naturelle. Les méthodes synthétiques se font soit en utilisant des réactifs en solution, on parle alors de synthèse par voie humide, soit en utilisant des précurseurs mélangés à l'état solide, on parle dans ce cas de synthèse par voie sèche.

I.1.3.3.1 Synthèse par voie humide

Les méthodes de synthèse par voie humide sont les méthodes les plus utilisées pour obtenir les HAP synthétiques [21, 69-71]. Elles font appel à la précipitation à partir de solutions aqueuses ou à l'hydrolyse d'un calcium(II) phosphate. Généralement, elles permettent d'obtenir de fines particules d'HAP possédant une grande surface spécifique. Cependant, les HAP obtenues par ces processus de synthèse ne sont pas toujours stœchiométriques et ont une basse cristallinité. Cette cristallinité dépend de plusieurs paramètres tels que le pH, la température, le temps de vieillissement des solutions ainsi que la nature et la concentration des réactifs mis en jeu [70, 72]. Ces méthodes regroupent entre autre la synthèse par précipitation, la synthèse par voie hydrothermale, la synthèse par irradiation micro-ondes et la synthèse sol-gel.

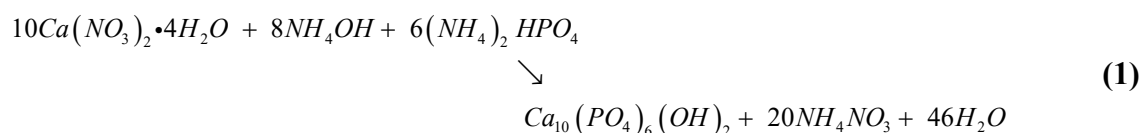
- **Synthèse par précipitation**

La synthèse par précipitation est la méthode de synthèse des HAP la plus utilisée, certainement en raison de son faible coût de revient [21]. Elle ne fait pas intervenir des

températures élevées et permet par conséquent d'obtenir des matériaux peu cristallisés présentant des surfaces spécifiques élevées [70]. Elle se fait en utilisant deux types de réactif à base de calcium et de phosphate. Le principe général de cette méthode est d'ajouter goutte à goutte ou d'un seul coup l'un des réactifs en phase aqueuse dans l'autre réactif toujours en phase aqueuse avant de laisser le mélange, mis au pH voulu, sous agitation à une température comprise entre 25°C et 100°C pendant un temps variant de 5h à 24h. Il existe deux approches de synthèse dépendant du type de réactifs utilisés: la précipitation par double décomposition et par neutralisation.

- La précipitation par double décomposition

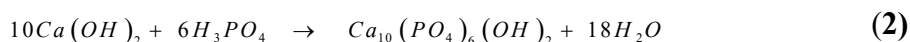
L'approche par double décomposition consiste à ajouter de façon contrôlée une solution d'un sel cationique des ions Ca^{2+} dans une solution des ions PO_4^{3-} à une température de 80°C. Le précipité obtenu est ensuite lavé et séché [70, 71]. Cette technique permet également d'obtenir des HAP mixtes contenant deux cations différents. Les sels des deux cations sont introduits simultanément dans le réacteur avec le rapport atomique désiré. L'étude bibliographique révèle une variété de réactifs de sels de calcium et de phosphore employés par cette méthode. La préparation la plus courante est celle décrite par la réaction suivante [73] :



L'hydroxyde d'ammonium permet d'ajuster le pH du milieu réactionnel. Il est introduit au fur et à mesure que les réactifs se mélangent. Bien qu'il soit possible de retrouver des traces d'ions nitrate et d'ions ammonium dans le matériau final, ces ions sont facilement éliminés par lavage et chauffage.

- La précipitation par neutralisation

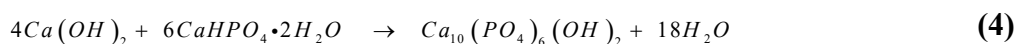
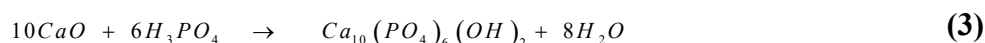
Cette approche consiste à neutraliser une solution de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en y ajoutant une solution d'acide phosphorique. Cette réaction permet d'obtenir rapidement de grandes quantités d'hydroxyapatite phosphocalcique. Elle présente l'avantage de ne pas laisser de contre ions résiduels dans le matériau. En revanche les HAP résultantes sont souvent assez carbonatées, ce qui peut rendre complexe l'évaluation de leur réactivité basique [74]. La réaction mise en jeu est la suivante [40] :



L'inconvénient majeur de la méthode de synthèse par précipitation réside dans les risques de non reproductibilité surtout en terme de stœchiométrie. En effet le nombre de paramètre à contrôler avec précision est plus important pour cette méthode que pour les autres (pH, vitesse d'ajout, température de synthèse, réactifs de départ, vitesse d'agitation...) [74]. Mais cette versatilité est aussi l'avantage principal de cette technique puisqu'il est possible de faire varier un à un ces paramètres pour étudier leur impact sur le matériau final en terme de morphologie, de stœchiométrie ou d'activité catalytique et donc d'obtenir une grande variété d'échantillons. Avec cette méthode de synthèse, les particules obtenues sont souvent très fines et de surface spécifique élevée [21].

• Synthèse par voie hydrothermale

La synthèse hydrothermale consiste à chauffer au-dessus de 100°C un mélange de réactifs en solution sous pression suffisamment haute de manière à permettre une élévation de la température tout en empêchant l'eau de s'évaporer. Elle peut être simplement considérée comme une précipitation chimique dans laquelle l'étape de vieillissement est conduite à haute température (généralement au-dessus du point d'ébullition de l'eau) à l'intérieur d'un autoclave ou d'un appareil à pression [21]. Cette méthode permet d'obtenir des poudres d'hydroxyapatites de cristallinité et de morphologie désirées [72]. Les réactifs utilisés sont variés, nous citons à titre d'exemple les couples (CaO, H₃PO₄) et (Ca(OH)₂, CaHPO₄, 2H₂O) qui réagissent selon les réactions suivantes [75]:



Elle a pour avantage d'être simple à mettre en place mais nécessite un temps de synthèse assez long (plusieurs jours) lorsqu'on désire obtenir un matériau pur. Son coût énergétique très élevé est aussi un handicap qui limite son application industrielle [76].

• Synthèse par irradiation micro-ondes

La méthode d'irradiation par micro-ondes est une variante des méthodes plus classiques. Elle utilise donc principalement les mêmes précurseurs (nitrate de calcium et phosphate

d'ammonium). En effet par rapport à une synthèse en autoclave classique, le temps de synthèse et la température nécessaires sont largement abaissés [74]. Néanmoins les propriétés, les textures et la morphologie des matériaux obtenus sont modifiées par rapport à une synthèse hydrothermale typique. Dans ces synthèses sont parfois ajoutés des agents chélatants type EDTA qui vont former des complexes Ca-EDTA [77]. Ces chélatants jouent un rôle important dans le contrôle de la morphologie et la taille des poudres synthétisées [77]. De même, par rapport à la méthode par précipitation, le temps de synthèse est bien plus court : on passe de 19 à 45 minutes contre 5 à 24h dans des cas classiques. De plus, cette méthode de chauffage offre l'avantage d'une meilleure reproductibilité et d'une distribution de particules plus étroite puisque la chaleur est générée de l'intérieur des matériaux et non en provenance d'une source extérieure de chaleur comme dans les autres méthodes de chauffage. [77].

- **Synthèse sol-gel**

La méthode sol-gel a été l'une des premières méthodes proposées pour la synthèse des HAP par voie humide [21, 78]. C'est une technique appropriée pour synthétiser des poudres de grande pureté [79]. Au cours de cette synthèse, on utilise généralement des alkoxydes de phosphore et de calcium dans des conditions de pH et de température adéquates. Cette méthode présente le double avantage d'utiliser des températures très proches de l'ambiante et d'être donc économe en énergie et de permettre un mélange des précurseurs calcium et phosphore au niveau moléculaire, ce qui engendre une augmentation de l'homogénéité de l'HAP finale [21, 78, 79]. Elle est surtout développée dans le domaine des applications biologiques où elle propose une alternative à la projection thermique pour la fabrication de revêtements constitués de couches minces qui est un procédé difficile à contrôler et qui requiert des températures extrêmement hautes. De plus, elle autorise un meilleur contrôle de la formation de certaines phases et garantit la pureté de ces dernières [80, 81]. En revanche, la majeure limitation du procédé sol-gel réside dans le risque d'hydrolyse des précurseurs phosphate utilisés et le coût élevé des réactifs [21, 82].

I.1.3.3.2 Synthèse par voie sèche

Les méthodes de synthèse par voie sèche sont assez singulières car contrairement aux méthodes de synthèse par voie humide, elles font intervenir des réactifs à l'état solide et n'utilisent donc pas de solvant [18, 21, 74]. En effet leur principe repose sur la calcination, généralement entre 900°C et 1100°C de réactifs solides en quantités stœchiométriques. Les

réactifs utilisés doivent être parfaitement homogènes pour permettre une réaction totale. Ces méthodes ont le grand avantage qu'elles permettent d'obtenir des HAP stœchiométriques (Ca/P = 1,67) en comparaison avec les méthodes de synthèse par voie humide [72]. Elles permettent aussi d'obtenir des produits de grande pureté même si leur coût énergétique reste élevé. C'est pourquoi elles ne sont envisageables que dans le cas d'une synthèse de produits à haute valeur ajoutée, tels que les biomatériaux utilisés pour les prothèses [83]. Les caractéristiques d'une poudre synthétisée par une méthode sèche ne sont pas fortement influencées par les paramètres de traitement, par conséquent la plupart des méthodes par voie sèche ne nécessitent pas des conditions contrôlées avec précision, les rendant adaptées à la production de grande quantité de matériaux [21].

I.1.3.3 Obtention à partir des sources naturelles

Les hydroxyapatites peuvent aussi s'obtenir à partir des sources naturelles telles que les os (os de bovins, os de poissons), les coquillages (coquillage d'organismes marins) et des gisements naturels de calcaire et de phosphate [21, 22]. Ces méthodes d'obtention naturelles sont de plus en plus sollicitées car les HAP obtenus présentent l'avantage d'hériter certaines propriétés de la matière première telles que sa composition chimique et sa structure. De plus ces méthodes présentent un avantage économique et environnemental certain dû au fait qu'elles utilisent une matière première non toxique et disponible en grande quantité [84, 85]. En effet, bien que les méthodes d'obtention synthétiques permettent de produire avec succès des particules d'HAP pures et bien définies, elles sont assez chères mais aussi potentiellement dangereuses pour l'environnement car elles utilisent parfois des réactifs toxiques. Cependant, ceux fabriqués à partir de déchets animaux (hydroxyapatite naturelle (NHAP)) ont une réponse plus dynamique à l'environnement et un coût de revient très faible par rapport à ceux mentionnés précédemment.

L'obtention des HAP à partir des ressources naturelles est un processus simple qui se fait généralement en deux étapes. La première étape consiste à prétraiter la matière première afin d'éliminer toute trace d'impureté. Ce prétraitement dans le cas des NHAP obtenus à partir des os de bovins par exemple consiste à laver les os et à éliminer la saleté, les graisses, les protéines et d'autres composants tels que les moelles osseuses et les tissus mous. Certains auteurs pour éliminer les composants organiques de l'os utilisent de l'eau bouillante pendant des durées de 8 h ou plus [86, 87]. D'autres utilisent une combinaison d'eau bouillante et de solvants tels que l'acétone et le chloroforme pour laver les os [88, 89]. Une autre méthode de

prétraitement largement utilisée consiste à laver les os en alternance avec des solutions tensioactives et alcalines pour éliminer les tissus mous et les décellulariser [90]. Pendant le prétraitement, les os sont également coupés en petits morceaux avant ou après l'élimination des constituants organiques. Ceci permet d'éliminer les composants indésirables tels que la moelle osseuse, situés à l'intérieur de l'os [88-90]. La seconde étape couramment appelée phase de traitement permet de purifier le matériau obtenu après le prétraitement, ce qui permet d'obtenir une hydroxyapatite naturelle débarrassé de toute impureté. Dépendant du type de source naturelle utilisée, différentes méthodes de traitement peuvent être utilisées, on peut citer entre autres : la calcination, le traitement chimique, l'hydrolyse enzymatique, le traitement au plasma et l'hydrolyse hydrothermale alcaline [87, 90]. En plus de ces traitements, certains chercheurs associent aussi d'autres procédures pour par exemple réduire la taille des particules [87, 91]. Ruksudjarit et al. [87] ont par exemple dans cette logique pu obtenir des nano-cristaux d'HAP à partir d'os bovins traités par calcination puis broyés. Ils ont démontré que la méthode de vibro-broyage permet de séparer et disperser les nano-cristaux d'HAP de sa structure osseuse. À cet effet, les os de bovins après avoir été calcinés à 800 °C, sont réduits en poudre fine à l'aide d'un vibro-broyeur pendant différentes durées de broyage. On obtient ainsi, des fines particules de diamètre inférieur à 100 nm après deux heures de broyage.

La diversité des méthodes d'obtention des HAP permet d'avoir des matériaux aux propriétés physico-chimiques spécifiques pour des applications spécifiques. Dans la section suivante, nous présenterons les diverses propriétés physico-chimiques qui font de ce matériau un outil tant convoité dans divers domaines.

I.1.3.4 Propriétés physico-chimiques des hydroxyapatites

Les HAP possèdent de nombreuses applications résultant de leurs multiples propriétés qui elles-mêmes découlent de leur microstructure cristalline et de leur composition chimique. L'utilisation de ces matériaux pour la dépollution de l'environnement ou dans n'importe quel autre domaine repose essentiellement sur leurs propriétés physico-chimiques qui sont entre autres : la capacité d'échange ionique, la charge de surface, la stabilité chimique, la stabilité thermique et la solubilité.

I.1.3.4.1 Propriété d'échange d'ions

La charpente des hydroxyapatites phosphocalciques est particulièrement flexible et permet d'accueillir une variété de types d'ions aussi bien sur le site des ions calcium que sur le site des ions phosphate ou des ions hydroxydes. Ces substitutions permettent de comprendre pourquoi les HAP d'origines naturelles peuvent renfermer de nombreuses impuretés en quantités très variables, en fonction de leurs conditions de formation et d'évolution [92]. Cette aptitude aux substitutions est largement mise à profit pour la synthèse d'innombrables HAP aux propriétés physico-chimiques intéressantes et très variables dépendant beaucoup de leur composition chimique. Les matériaux ainsi obtenus trouvent des applications dans des domaines variés tels que la médecine, le nucléaire, la biologie, la géologie et la chimie environnementale [93, 94]. Si l'on considère l'hydroxyapatite phosphocalcique, chaque groupement ionique peut être remplacé en substitution par un autre groupement ionique de même valence ou de valence différente.

✓ Substitutions cationiques

Les ions calciums (Ca^{2+}) des HAP peuvent être substitués avec plus ou moins de succès par une très grande variété de cations. De précédentes études rapportent que l'ion calcium peut être substitué par les ions tels que : Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , mais aussi Ti^{4+} ou encore Cu^{2+} , Li^+ et Na^+ [58, 59]. Néanmoins, il faut noter que tous les cations ne se substituent pas avec la même facilité et les quantités insérées dépendent aussi bien de la taille du cation que de sa charge. Le Tableau II rappelle les rayons ioniques de quelques cations.

Tableau II : Rayons ioniques de quelques cations [74].

Ions	Ti^{4+}	Mg^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Ca^{2+}	Pb^{2+}	Ba^{2+}
Rayon (nm)	0,061	0,072	0,074	0,095	0,100	0,119	0,142

Dans le cas d'une substitution par des cations de même charge, les paramètres importants qui influencent le processus d'échange sont la taille du cation échangeur comparée à celle du cation de référence et la méthode de synthèse de l'HAP. Ainsi, on note par exemple que l'ion Mg^{2+} avec un rayon ionique (0,72Å) relativement faible comparé à celui de l'ion Ca^{2+} (1Å), ne se substitue qu'en faible quantité (15%) [95] dans les HAP obtenus par précipitation, alors que pour ceux obtenus par voie hydrothermale la substitution peut être poussée jusqu'à 50% [96]. Cependant, un taux de substitution aussi important que 50% semble compliqué à

atteindre car à partir de 12%, certains auteurs rapportent une déstabilisation de la structure du matériau qui se traduit par une baisse de la cristallinité et une diminution de la stœchiométrie [97]. Les hydroxyapatites substituées au magnésium semblent avoir d'excellentes propriétés biologiques. C'est pourquoi elles sont largement utilisées pour des applications dentaires et orthopédiques [74]. Les ions Ba^{2+} vont aussi se substituer aux ions Ca^{2+} , avec un taux de substitution atomique qui variera de 25% à 43% [98]. Contrairement à ces derniers, certains cations comme les ions Sr^{2+} , Pb^{2+} et Cd^{2+} se substituent totalement aux ions Ca^{2+} sans trop perturber la structure du matériau [99, 100].

Dans le cas d'une substitution par des cations de charges différentes, le taux de substitution demeure très faible [74]. Il est par exemple d'environ 5% dans le cas des ions Ti^{4+} [101]. En dehors de la différence de taille, on peut aussi s'interroger sur les mécanismes qui seraient mis en place pour compenser l'excès de charges positives que créerait l'introduction de Ti^{4+} en site calcium. Wakamura et al montrent que la substitution se fait sous la forme de complexes divalents tels que $[Ti(OH)_2]^{2+}$ ou $[Ti(HPO_4)]^{2+}$ [102]. Cependant la taille de ces complexes semble trop importante pour l'espace disponible en site Ca^{2+} . Ribero et al [103] par contre, montrent que cette substitution s'effectue plutôt en site tétraédrique anionique sous la forme d'un complexe $[TiO_4]^{4-}$ pour donner une hydroxyapatite de formulation $Ca_{10}(PO_4)_{6-x}(TiO_4)_x(OH)_{2-x}$. Ce qui s'accompagne d'une réorganisation dans la structure l'HAP. La substitution par les ions Li^+ va aussi se traduire par une diminution des paramètres de maille, mais entrainer également l'incorporation d'ions HPO_4^{2-} pour compenser le déficit de charges positives [74]. La substitution par des ions de charges différentes est donc un problème complexe qui peut entrainer une réorganisation du réseau de HAP.

Au-delà de la seule question portant sur la possibilité d'insérer le cation dans la structure de l'hydroxyapatite, une deuxième problématique porte sur la nature cristallographique Ca_I ou Ca_{II} du site substitué. Dans leurs travaux publiés en 2006, Zhu et al montrent que les gros cations occupent préférentiellement les sites Ca_{II} tandis que les cations de rayons plus petits se substitueront en site Ca_I [104]. En effet les sites Ca_{II} sont en arrangement décalé, permettant l'empilement de cations plus volumineux. Par contre, les sites Ca_I rigoureusement alignés souffrent plus fortement du problème de répulsion [74].

✓ Substitutions anioniques

Les hydroxyapatites peuvent également être le lieu de substitutions anioniques avec le remplacement total ou partiel des ions PO_4^{3-} par CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , VO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , SiO_4^{4-} ou encore la substitution des ions HO^- par les ions F^- , Cl^- ou CO_3^{2-} [59, 105]. Ici aussi, les substitutions par des ions de charges différentes vont être accompagnées de processus de compensation de charge. Dans le cas des ions silicates SiO_4^{4-} , la substitution en site phosphate s'accompagne également d'une diminution de la teneur en hydroxyles pour obtenir une HAP de formulation $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ alors que la substitution par les ions carbonates CO_3^{2-} ou sulfates SO_4^{2-} va entraîner la diminution du nombre d'ion Ca^{2+} [74]. Ce type de substitution permet non seulement de modifier les propriétés chimiques mais aussi la cristallinité du matériau. En particulier, les modifications structurales induites au sein du matériau par ces substitutions, notamment pour compenser les variations de charges, font varier les teneurs relatives des différents ions (Ca^{2+} , OH^- , PO_4^{3-}), ou en font apparaître de nouveaux (HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} ...), ce qui induit sans doute des modifications des propriétés de surface [74]. Le cas particulier de substitution par les ions carbonates CO_3^{2-} est un peu spécial car ces ions ont une affinité particulière pour les HAP et peuvent se substituer aussi bien en position hydroxyle qu'en position phosphate. On parle alors respectivement de carbonates de type A et de carbonates de type B. La substitution sur les deux sites engendre des hydroxyapatites carbonatées mixtes de type AB [65, 106]. La limite d'incorporation des groupements carbonate dans les HAP de type A est de 5,7% en masse de CO_3 . Par contre, elle est de 14,6% en masse dans les HAP de type B. Si les HAP carbonatées de type B gardent leur structure quelle que soit la teneur en ions carbonates, celles de type A changent de structure cristalline lorsque la teneur en masse d'ions carbonate dépasse 5,6% [106]. La structure et la composition chimique des hydroxyapatites carbonatées tendent vers celles des HAP biologiques.

La substitution des groupements hydroxyle par les ions halogènes F^- et Cl^- est aussi possible et elle peut être partielle ou totale [107, 108]. Les composés qui résultent de la substitution totale sont la fluoroapatite et la chloroapatite de formule chimique respective $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ et $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$. Les teneurs massiques de fluor et chlore de ces deux apatites sont respectivement de 3,77 et 6,8% alors qu'en moyenne, l'os naturel contient moins de 1,00% massique de fluor et 0,13% massique de chlore [41, 109]. Les HAP fluorées ont fait l'objet de nombreuses études pour leurs propriétés stimulantes sur les tissus durs (matériaux de restauration) et leur effet favorable sur la repousse osseuse [41]. En faible quantité dans

l'hydroxyapatite, le fluor peut agir sur l'environnement cellulaire et ainsi augmenter la formation osseuse tout en évitant l'accumulation indésirable dans le corps [110]. Les fluoroapatites et les chloroapatites ne sont pas de bons biomatériaux. En effet, la grande stabilité chimique de la fluoroapatite ainsi que son taux de fluor trop important ne jouent pas en sa faveur.

I.1.3.4.2 Charge de surface de l'hydroxyapatite

La réactivité chimique des minéraux est étroitement liée aux propriétés de leur surface, telles que la surface spécifique, la nature des groupements fonctionnels de surface, la charge de surface ... [111].

A la surface des minéraux, le réseau cristallin est généralement cassé, ce qui laisse apparaître des atomes insaturés du point de vue de leur coordination. En milieu aqueux, la tendance à satisfaire la coordinence de ces ions est le moteur de la chimi-sorption de l'eau qui entraîne sa dissociation, laissant apparaître les groupes fonctionnels de surface. Il apparaît ainsi à la surface des minéraux une charge électrique variable, déterminée par la densité des sites de surface chargés et contrôlés par le pH. Le pH pour lequel la charge nette du minéral est nulle est le « pH de point de charge nulle » noté PH_{PCN} ou PH_{ZPC} (zero point charge). Au-dessus et en-dessous de cette valeur de pH, la charge de surface du minéral est respectivement négative et positive.

L'hydroxyapatite possède incontestablement une charge de surface. En se basant sur des considérations liées à la cristallographie, à la solubilité et à l'évaluation de la concentration en sites de surface à l'aide de traceurs radioactifs ^{45}Ca et ^{32}P , plusieurs auteurs ont montré l'existence des groupements fonctionnels phosphatés et hydroxylés (Figure 2) qui de par leurs propriétés amphotères sont responsables de la charge de surface de ce matériau [112, 113].

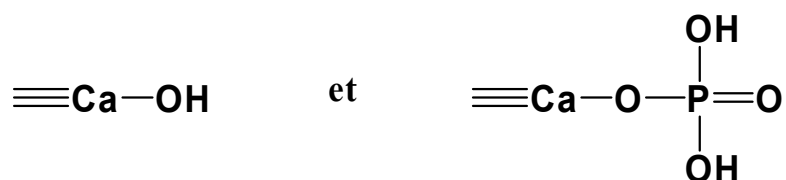


Figure 2: Les groupements actifs à la surface de l'HAP

Ces groupements fonctionnels sont susceptibles d'adsorber ou de libérer les ions hydrogène selon les réactions présentées à la Figure 3.

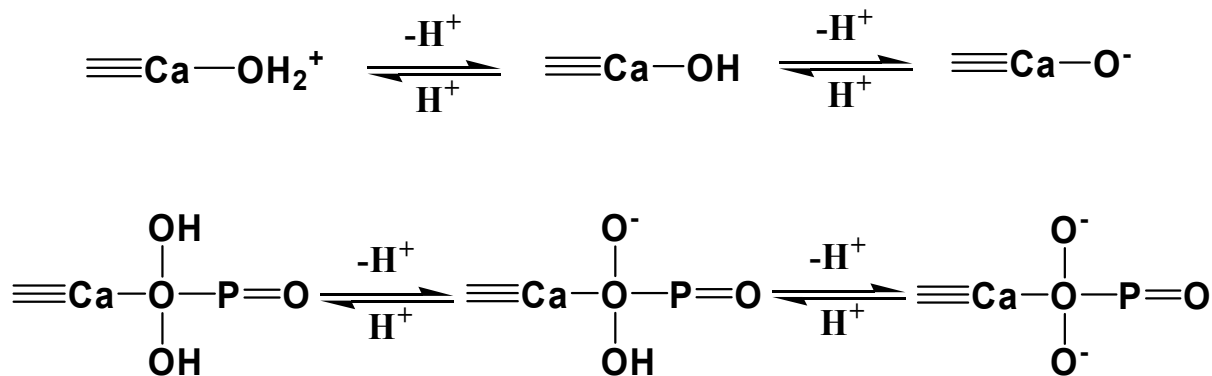


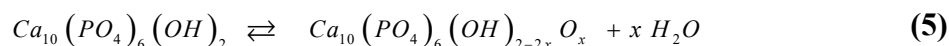
Figure 3: Protonation-déprotonation des groupements à la surface de l'HAP [114].

Certains auteurs ont montré que les groupements phosphates peuvent aussi être liés à deux atomes de calcium de surface pour assurer l'électroneutralité de l'interface. Selon eux, les deux types de sites calcium (calcium hydroxylé et calcium phosphaté) ont un comportement différent. Les atomes de calcium hydroxylés ont une nature amphotère et ceux phosphatés sont complètement ionisés pour une valeur de $\text{pH} > 5$ [114].

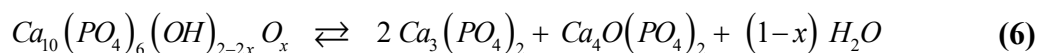
I.1.3.4.3 Stabilité thermique

La stabilité thermique de l'hydroxyapatite est un point fondamental à connaître lorsque des méthodes d'élaboration et/ou de mise en forme à haute température sont mises en jeu. C'est le minéral le plus stable thermiquement dans la famille des calcium(II) phosphates. Son comportement thermique et en particulier les températures de décomposition dépendent fortement de sa composition chimique, de la méthode de synthèse, des paramètres opératoires, de l'atmosphère de chauffage et de la taille des particules. Elle est thermodynamiquement très stable et en raison de cela, elle ne se décompose en absence d'eau, qu'à des températures très élevées. Son comportement à haute température dépend aussi du rapport molaire Ca/P [74].

Lors de la calcination, la déstabilisation proprement dite de l'hydroxyapatite débute par sa déshydroxylation en oxyhydroxyapatite à partir de 850°C sous air selon l'équation 5.



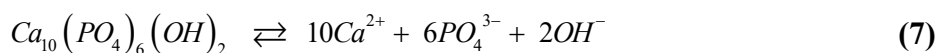
Dès que la température de décomposition est atteinte, soit environ 1400°C , l'oxyhydroxyapatite se dissocie selon l'équation 6 en phosphate tétracalcique et en phosphate tricalcique α , qui est une variété allotropique plus stable au-dessus de 1180°C [114].



En conclusion, même si la stabilité thermique des HAP est fonction de plusieurs paramètres, ceux qui sont stœchiométriques sont stables pour une température inférieure à 900°C.

I.1.3.4.4 Solubilité

L'hydroxyapatite est pratiquement insoluble dans l'eau, c'est pour cette raison que les études portées sur ce paramètre sont souvent effectuées dans des solutions d'acide phosphorique dilué. La réaction 7 donne l'équilibre de solubilité de l'hydroxyapatite dans l'eau.



Cet équilibre est régi par une constante de dissolution précipitation K_S , appelée produit de solubilité, défini comme suit :

$$K_S = (Ca^{2+})^{10}(PO_4^{3-})^6(OH^-)^2 \quad (8)$$

Les parenthèses délimitent l'activité chimique de l'espèce considérée (assimilée à la concentration dans le cas des solutions diluées). A 25°C, Elliott a déterminé un produit de solubilité de $6,62 \times 10^{-126}$ (à force ionique nulle) [65]. D'autres valeurs sont reportées dans la littérature et elles restent toutes dans le même ordre de grandeur et mettent en avant la très faible solubilité de l'HAP dans l'eau. Cela explique le fait que la plupart des calcium(II) phosphates de rapport atomique Ca/P inférieur à 1,667 évoluent en solution aqueuse dans des conditions de température et de pH bien définies vers l'hydroxyapatite stœchiométrique [111].

L'équilibre de solubilité est contrôlé par les équilibres acido-basiques des ions phosphate et calcium, et par le processus interfacial d'adsorption-désorption. En effet l'hydroxyapatite placée au contact d'une solution aqueuse est capable de libérer ou de fixer des quantités non négligeables des ions calcium et phosphate avant d'atteindre l'équilibre de dissolution précipitation [115]. La solubilité de l'HAP dépend de la composition chimique initiale et de l'environnement des ions constitutifs. Elle diminue lorsque le pH ou la température de précipitation augmente ($K_S = 2,2 \times 10^{-117}$ à 25°C, $K_S = 5,5 \times 10^{-118}$ à 37°C). Notons aussi que la présence des carbonates va augmenter sa solubilité tandis que la présence des fluorures va la diminuer [65].

I.1.3.5 Modification de la surface des hydroxyapatites par greffage

La fonctionnalisation de la surface d'un matériau est une opération qui consiste à modifier la structure de sa surface afin de l'utiliser pour des objectifs bien précis ou spécifiques. Il s'agit donc d'une opération qui consiste à traiter spécifiquement la surface d'un matériau en vue de lui conférer des propriétés spécifiques.

La fonctionnalisation par greffage consiste à lier par voie chimique une molécule (organique le plus souvent) ou ses fragments, à la surface d'un matériau minéral solide (hydroxyapatite), en vue de changer puis de contrôler les propriétés chimiques du substrat solide et du modifiant. Lorsque la fixation d'une molécule à la surface d'un matériau se fait par des liaisons chimiques (covalentes ou iono-covalentes), cela confère au matériau hybride obtenu une certaine stabilité chimique. Cette modification nécessite aussi parfois l'emploi de molécules intermédiaires (agent de couplage) qui permettent d'établir le lien entre le substrat solide et le modifiant. L'utilisation de ces intermédiaires permet non seulement de contrôler la densité de greffage mais aussi de limiter l'encombrement stérique des molécules greffées. La Figure 4 illustre l'architecture générale du greffage de molécules à la surface de l'hydroxyapatite.

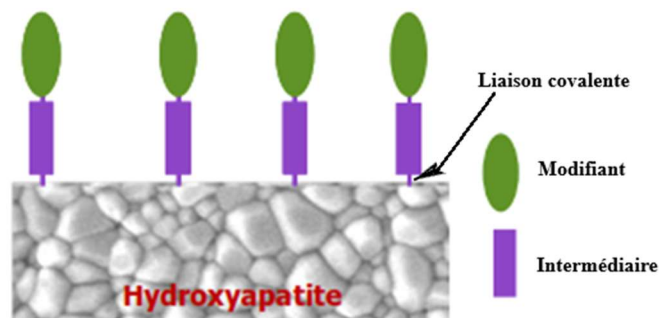


Figure 4 : Schéma représentatif du greffage de molécules à la surface de l'hydroxyapatite

Les matériaux hybrides organiques-inorganiques qu'on obtient permettent de répondre à la demande toujours croissante de matériaux présentant des propriétés et des fonctionnalités nouvelles. L'association à l'échelle moléculaire d'entités organiques et inorganiques permet ainsi d'obtenir des matériaux hybrides possédant à la fois les propriétés (mécaniques, électroniques, magnétiques...) de la composante inorganique et les propriétés (optiques, chimiques, biologiques...) de la composante organique.

La modification de la surface de l'hydroxyapatite apparaît très intéressante vu le rôle joué par ce minéral dans divers domaines. De plus, elle possède des groupements de surface

(Ca-OH et P-OH) capables d'interagir avec les molécules organiques pour former des hybrides organique-inorganiques stables. Bien qu'il existe de nombreuses méthodes de fonctionnalisation de surface des HAP, nous nous limitons ici à la présentation de la modification par greffage qui est celle que nous avons exploitée dans cette thèse.

Plusieurs travaux visant à greffer des molécules organiques à la surface des HAP existent dans la littérature. Ainsi, Tanaka et al. [116] ont modifié l'HAP à l'aide des acides décanoïque et hexanoïque, et ces composés se sont fortement liés aux P-OH de surface de l'HAP. La fonctionnalisation des HAP par les acides carboxyliques à longue chaîne permet ainsi d'obtenir des HAP hydrophobes. Les mêmes auteurs ont par la suite modifié la surface d'une HAP en utilisant l'hexamethyldisilane (HMDS) sans aucune influence sur sa cristallinité [19]. Les groupements $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ observés à la surface du matériau modifié (devenu hydrophobe) ont été formés par la réaction des groupements P-OH de cette surface avec l'HMDS. Par calcination à 500 °C des matériaux modifiés à l'air libre, ils ont pu créer des groupements Si-OH à la surface des HAP en faisant disparaître les groupements $-\text{CH}_3$. Dans le même sens, d'autres chercheurs ont plutôt greffé par polymérisation des modifiants à la surface des HAP. C'est ainsi que Hong et al. [39] ont greffé le L-lactide sur une HAP en utilisant une polymérisation par ouverture de cycle. Le matériau résultant a montré une grande stabilité dans le chloroforme (solvant organique) pendant plusieurs semaines.

I.1.3.6 Domaines d'application des hydroxyapatites

Les hydroxyapatites ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés physico-chimiques qui leur confèrent une large gamme d'application dans différents domaines. Leur structure ouverte permet non seulement d'accueillir une grande variété d'ions dans chaque site du réseau mais aussi de greffer aisément des molécules organiques à leur surface. Ceci permet une fois de plus d'obtenir des matériaux aux propriétés spécifiques utilisables pour diverses applications.

I.1.3.6.1 Applications médicales

De nombreux travaux dans la recherche fondamentale et clinique ont montré l'intérêt des HAP dans le domaine médical [94]. En effet, en tant que constituant minéral principal des os et de l'email dentaire, les HAP possèdent de très bonnes propriétés de biocompatibilité et notamment des propriétés d'adsorption spécifique des cellules ou des protéines [94, 117]. Elles sont donc utilisées fréquemment dans le domaine de la médecine.

Les HAP servent par exemple de matériaux de substitution pour le remplacement ou la régénération de tissus osseux malades ou endommagés. Par couplage d'une HAP à un polymère il est possible de créer des implants composites céramique-polymère bioactifs et mieux tolérés par l'organisme. Les HAP sont également fréquemment utilisées comme « enduit » sur des prothèses en titane pour faciliter l'ostéointégration ou encore pour empêcher l'usure due à des micromouvements oscillatoires à l'interface entre l'implant et l'os conduisant même parfois à une rupture de la prothèse [118]. On trouve quelques exemples d'utilisation en tant que ciment employé dans la chirurgie faciale afin de remplacer les greffes osseuses et un nombre croissant d'applications en tant que vecteur de médicaments. En effet, grâce à leur structure poreuse, ils permettent le relargage de principes actifs vers des cellules cibles [119, 120]. Néanmoins, dans certaines conditions, ce même matériau peut présenter un caractère pathogène pour l'organisme. En effet, suite à certains dysfonctionnements, le corps peut produire des HAP de morphologies particulières qui peuvent être à l'origine de la formation de calculs rénaux ou de la calcification de cartilages [74], ce qui est dangereux pour l'organisme. Dans toutes ces applications, c'est toujours la réactivité de surface de l'HAP avec le milieu biologique qui est le point clé [74]. C'est la raison pour laquelle de nombreuses études fondamentales traitent de l'interaction de molécules biologiques avec l'HAP, l'objectif étant de rationaliser les propriétés d'adhésion des protéines sur ce support.

I.1.3.6.2 Applications en archéologie et en climato-paléontologie

L'analyse des HAP provenant des restes d'animaux (dents, os) permet une reconstitution des modes d'alimentation des animaux. Cela permet aussi de reconstituer le climat [54]. C'est la raison pour laquelle les HAP sont étudiés en archéologie et en paléontologie. En effet, il a été démontré que le rapport strontium sur calcium (Sr/Ca) permet d'identifier le type d'alimentation de l'animal et même de faire le distinguo entre carnivores, herbivores et omnivores. De la même façon, il est reporté que la quantité et la répartition (site A ou B) des carbonates au sein de ces apatites fossiles permet d'identifier, la nature des plantes ingérées par les animaux, et donc d'en déduire des données climatologiques de l'époque à l'endroit où ils vivaient [74].

I.1.3.6.3 Applications en catalyse

Avec une structuration de surface particulière présentant à la fois des sites actifs acides et basiques, les HAP ont fait récemment l'objet de nombreuses recherches dans le domaine de la catalyse hétérogène. En effet, l'intérêt de ces matériaux s'est étendu au secteur de la catalyse hétérogène soit comme support de phase active, soit comme phase active en catalyse acidobasique ou bien comme catalyseur bifonctionnel aux propriétés acido-basiques/redox [17]. Elles sont par exemple utilisées dans l'oxydation sélective des alcools en aldéhyde ou en cétone [121], en co-action avec un métal de type ruthénium ou nickel. Dans ce type de réactions, les espèces actives sont métalliques (Ruthénium ou Nickel). L'hydroxyapatite sert simplement de support qui se révèle d'une grande stabilité. Dans la réaction de water-gas shift par exemple, l'hydroxyapatite est aussi utilisée comme support de particules d'or, et cette combinaison Au/HAP permet une bonne activité dans cette réaction pour des températures aussi basses que 110°C [122].

En catalyse acide, l'HAP peut être utilisée en substitution au chlorure d'aluminium (AlCl_3) dans les réactions de Friedel-Crafts [34, 123] afin de rendre le procédé moins polluant. En catalyse basique, les propriétés acido-basiques intrinsèques de l'HAP sont mises à profit [124]. Dans certains cas, ces propriétés peuvent être améliorées comme dans la réaction de Knoevenagel [124, 125] où l'incorporation du fluorure de potassium va permettre d'augmenter la basicité qui préexiste avant le dopage. Les auteurs attribuent cette recrudescence d'activité à un changement de morphologie induit par le dopage au fluorure de potassium, ce qui n'est pas surprenant puisque le fluor se substitue facilement aux groupements hydroxyles et que des substitutions par des ions de charge différente (comme K^+) ont déjà été rapportées et qu'elles se traduisent souvent par une réorganisation du matériau pour compenser la charge. De même, sans aucun dopage, l'HAP se révèle être un très bon catalyseur basique dans certaines réactions en chimie fine [17]. Dans l'addition de Michael par exemple, elle permet d'obtenir de hauts rendements tout en évitant les réactions indésirables et ce, dans des conditions relativement douces [34, 126]. Zahouily et al rapportent que la réaction d'addition a lieu à la surface de l'HAP et non au sein des canaux présents dans sa structure ; et que l'excellente activité de ces matériaux est due à la nature acido-basique de leur surface. La réaction de Guerbet est un autre exemple probant de l'activité basique particulière des HAP [127].

Jusqu'ici, peu d'études ont été menées pour identifier les sites basiques et acides qui sont impliqués dans la réactivité des HAP. Au vu de sa structure il est possible d'imaginer deux

espèces pouvant potentiellement jouer le rôle de sites basiques : d'une part, les groupements hydroxyyles qui sont des bases faibles susceptibles de présenter une réactivité intéressante et ; d'autre part, les groupements PO₄ qui sont également de potentielles bases faibles. Pour ce qui est des sites acides susceptibles d'intervenir, deux types peuvent à priori être considérés comme des sites de type acide de Lewis que sont les ions calcium et des sites de type acide de Bronsted représentés par les P-OH [74].

I.1.3.6.4 Applications dans le domaine environnemental

Les hydroxyapatites se sont révélées être des candidats prometteurs en tant qu'adsorbants de métaux lourds [23, 24, 36, 37], mais aussi de pesticides [25, 26] et de colorants [93, 128, 129] pour la dépollution des eaux et des sols contaminés. Grâce à leur capacité d'échange d'ions, et à leurs propriétés de surface, elles sont utilisées pour dépolluer les milieux contaminés. C'est dans ce sens que Xu et al ont montré en 2008 qu'il est possible de réduire de 99% la concentration des ions Pb²⁺ dans un milieu contaminé en utilisant une hydroxyapatite [130]. Ils ont réussi à obtenir une concentration finale de 5 mg/L d'ions Pb²⁺ partant d'une teneur initiale de 1000 mg/L, à température ambiante, avec un temps de contact de 30 minutes, à pH = 2 et une concentration de 5g/L d'adsorbant. D'autres investigations ont été menées sur d'autres métaux lourds : Cd²⁺, Cu²⁺, Al³⁺, Co²⁺, Cr³⁺, Fe²⁺, Ni²⁺ [23, 24, 36, 37, 131, 132], pesticides [25, 26] et colorants : bleu de méthylène [128], rouge congo [93] démontrant ainsi le pouvoir de rétention de ces éléments par l'HAP.

Les propriétés d'adsorption remarquables des hydroxyapatites sont également mises à profit en électrochimie. C'est ainsi qu'elles sont de plus en plus sollicitées comme matériau d'électrode. Les électrodes modifiées par ce matériau sont par la suite appliquées pour la détection des polluants cibles [16, 133]. C'est dans ce sens que nous nous proposons dans ce travail d'utiliser une hydroxyapatite naturelle obtenue à partir des déchets d'os de bovins que nous fonctionnaliserons pour élaborer de nouvelles électrodes et les appliquerons à la détection des traces de plomb(II) et de diquat dans les milieux aqueux contaminés.

I.2 Le plomb et la pollution de l'environnement

I.2.1 Généralités sur le plomb

Le plomb (*du latin plumbum*) est un métal gris-bleu assez malléable, de numéro atomique 82 et de masse molaire 207,2 g.mol⁻¹ [134]. Au moyen âge, il était associé à saturne

(d'où le saturnisme) car il était considéré comme le métal le plus ancien. Sa configuration électronique autorise deux degrés d'oxydation (+II) et (+IV), en plus de la forme métal de degré d'oxydation (0) [135]. Dans les milieux naturels, les espèces inorganiques du plomb incorporent cet élément sous le degré d'oxydation (+ II). Le degré d'oxydation (+ IV) n'est représenté que dans des conditions très oxydantes, non rencontrées dans les sols; il se retrouve majoritairement dans les composés organiques dont la source est principalement anthropique. La forme 0 (plomb natif) n'est quant à elle que rarement représentée car elle nécessite des conditions peu courantes dans un sol (conditions très réductrices). Le plomb est naturellement présent dans la croûte terrestre où il représente environ 0,013% de sa masse. Il est aussi présent dans l'atmosphère, la stratosphère, la biosphère et l'hydrosphère. Il est assez rare à l'état natif et entre dans la composition de près de 240 minéraux identifiés dont les principaux sont la galène (PbS), la cérusite (PbCO₃), l'anglésite (PbSO₄) ou le minium (Pb₃O₄). Comme la plupart des métaux lourds, son origine peut être naturelle ou anthropique. Il possède 4 isotopes stables : ²⁰⁴Pb, ²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb et ²⁰⁸Pb [136]. L'isotope 204 est non radiogénique et les autres isotopes dits radiogéniques sont utilisés pour dater les événements moyens de l'histoire de notre planète [136].

Selon la valeur du pH du milieu ou de sa concentration dans un milieu donné, le plomb peut se trouver sous différentes formes complexes: Pb²⁺, Pb(OH)⁺, Pb(OH)₂, Pb(OH)₃⁻. Ainsi, durant ces 25 dernières années, plusieurs études ont été menées pour le spécifier afin de pouvoir le quantifier dans le sol et l'eau. Les diagrammes de la Figure 5 décrivent les domaines de prédominance et de précipitation des différentes formes du plomb en fonction du pH.

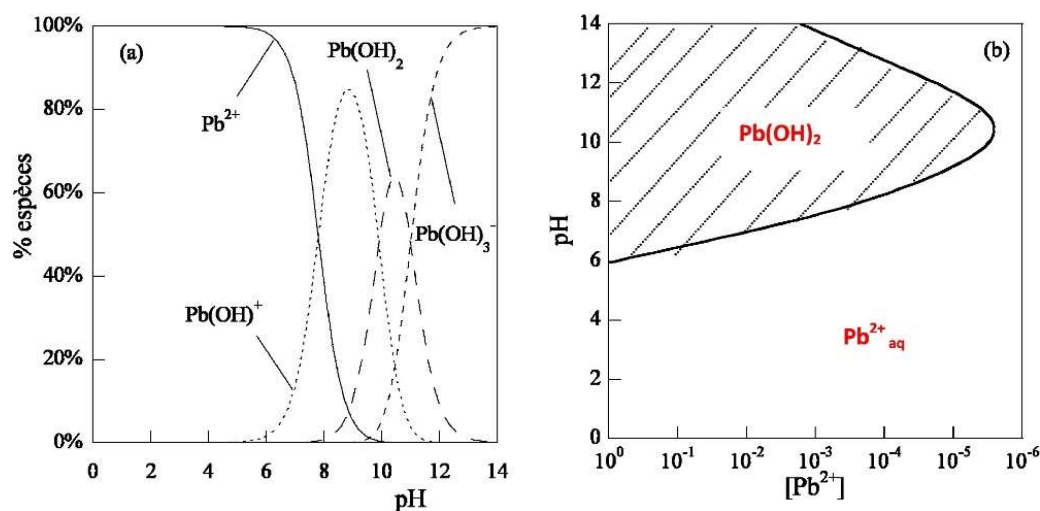


Figure 5 : (a) Diagramme de prédominance du plomb à 10⁻⁵ M en fonction du pH. (b) Diagramme de précipitation du plomb en fonction de sa concentration dans l'eau [135].

Il ressort de cette figure que pour une concentration de plomb de 10^{-5} M, celui-ci est sous sa forme libre Pb^{2+} jusqu'à $pH = 6$. A partir de cette valeur, les formes hydroxylées du plomb commencent à apparaître. Pour un $pH > 8$, le plomb commence à précipiter à partir d'une concentration $C > 3 \times 10^{-6}$ M.

I.2.2 Utilisation du plomb par l'homme

Le plomb comme la plupart des métaux lourds est beaucoup utilisé dans l'industrie en raison de sa grande diffusion, sa facilité d'extraction, sa grande malléabilité et son bas point de fusion. Très facile à fondre et à mettre en forme, il a notamment pendant l'antiquité été utilisé par des hommes comme pigment pour recouvrir les tombes et dépouilles préhistoriques [137]. Dans l'empire romain par exemple, il a été utilisé pour la fabrication de tuyaux d'évacuation d'eau en raison de ses propriétés mécaniques [3]. Il était aussi utilisé dans les cosmétiques (comme le fard blanc) et dans l'élaboration de pigments (comme le minium) retrouvés dans des peintures murales ou des fresques [3, 4]. Son utilisation a par la suite été encadrée ou restreinte lorsqu'on a découvert son caractère nocif [5].

Actuellement, le plomb est utilisé majoritairement en industrie pour la fabrication des piles et batteries d'accumulateurs, des pigments et stabilisants, des gaines pour câbles électriques, de la verrerie (verre cristal), des plombs (pour pêche, chasse et tir sportif) et les alliages divers [1, 138]. Le plomb dans la cristallerie est utilisé sous forme d'oxyde (PbO) afin d'abaisser la température de fusion du verre [138]. Selon le pourcentage massique on aura un verre simple ou un verre cristal de haute gamme. En alliage avec d'autres métaux, il permet de produire des fils, des bâtons de soudure (Pb/Sn), des caractères d'imprimerie (Pb/Sb), des bronzes à ciseler et des projectiles de munitions [6]. La capacité qu'a le plomb d'absorber les rayonnements X et gamma permet de l'utiliser aussi dans la production du matériels de radioprotection. Le minium de plomb (Pb_3O_4) a longtemps été le matériau de choix pour protéger les pièces de fer ou de fonte de la corrosion. Divers oxydes et sels de plomb sont (ou ont été) employés pour la production de peintures, d'encres, d'émaux, de matières plastiques, de colorants capillaires. Certains sels organiques de plomb entrent dans la composition de lubrifiants [139].

Bien qu'il soit beaucoup utilisé, sa forte toxicité pose de nos jours de nombreux problèmes. C'est pourquoi il est de moins en moins sollicité dans de nombreux domaines.

I.2.3 Effets toxiques du plomb sur l'homme

Au Moyen-Âge, les alchimistes associaient le plomb à la planète Saturne, c'est pourquoi l'intoxication au plomb porte le nom de saturnisme. L'ingestion de plomb peut provenir de certains aliments, comme les végétaux, les produits de la mer, les boissons et les viandes susceptibles d'être contaminés [5, 140, 141]. Le plomb peut également être ingéré à travers l'eau de consommation car il peut se retrouver dans l'eau potable suite à la corrosion des tuyaux d'adduction [137]. Ce métal ne joue aucun rôle dans le corps humain et ne compte pas parmi les éléments nécessaires à la vie, il n'a que des effets nocifs. Lorsqu'il pénètre dans l'organisme, il s'accumule, notamment dans les os et diffuse dans le sang. Même à de faibles concentrations dans le sang, cet élément peut provoquer des troubles irréversibles (voir Tableau III) [137]. Il agit préférentiellement sur le système nerveux (central et périphérique), le rein et la moelle osseuse.

Sur le système nerveux, son action neurotoxique se traduit par une encéphalopathie convulsivante (maux de tête violents, hallucinations, crises convulsives...) pouvant aboutir à un coma mortel [142]. En cas d'intoxication sévère, on peut observer des troubles neuro-comportementaux et une détérioration intellectuelle. On peut aussi observer une atteinte vasculaire provoquée par une hypertension artérielle. Le système nerveux des enfants est particulièrement exposé du fait qu'il est en état de maturation.

Dans la moelle osseuse et le sang, le plomb entraîne une diminution du nombre de globules rouges ce qui peut conduire à une anémie sévère [143]. Dans le sang en particulier, il agit sur de nombreux métabolismes mais plus particulièrement sur la synthèse de l'hémoglobine où il bloque plusieurs enzymes nécessaires à sa synthèse. Cela engendre alors une diminution du nombre des globules rouges, d'où l'apparition d'anémies plus ou moins marquées. Lorsqu'il se retrouve dans les testicules, il peut entraîner une diminution du taux de spermatozoïdes chez l'homme. Chez la femme enceinte, il peut facilement traverser la barrière placentaire et aller s'accumuler dans les os du fœtus. Des études récentes ont montré que sa présence à forte dose dans le sang peut être à l'origine de cancer [144].

Cette toxicité du plomb a été prise en compte par les instances décisionnaires. Ainsi, la concentration maximale en plomb contenu dans l'eau destinée à la consommation a été fixée par l'Union Européenne à 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en 1998 et a été abaissée à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ conformément à la valeur recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé [7, 137].

Tableau III. Effets du plomb sur le corps humain [137]

Concentration du plomb dans le sang ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Effets du plomb sur le corps humain
50-100	hypertension artérielle, troubles cognitifs, retard de développement chez l'enfant, risques de maladies rénales, diminution de l'acuité visuelle
100-500	risque d'infertilité, problèmes de développement du fœtus, inhibition d'hémoglobine et de la synthèse de la vitamine D, troubles mentaux (saturnisme), risque de maladies encéphaliques
500-1000	anémie, troubles digestifs
>1000	coma, risque d'intoxication mortelle

I.2.4 Effets du plomb sur l'environnement

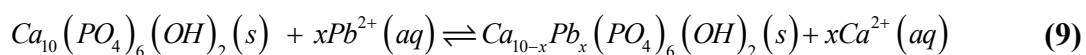
Le plomb est naturellement présent dans l'environnement. Cependant avec l'activité humaine, les concentrations de plomb dans la nature peuvent devenir trop élevées et mettre en péril les écosystèmes. La majeure partie de la contamination dans l'environnement provient d'activités industrielles telles que l'activité minière, l'imprimerie ou la métallurgie qui déversent des quantités non-négligeables de plomb(II) dans la nature [141]. Au travers de processus d'adsorption, ce métal a tendance à s'accumuler dans les sols et la chaîne alimentaire. A cause de son utilisation par l'homme, son cycle naturel a été modifié. C'est ainsi que son utilisation dans les moteurs des voitures par exemple génère des sels de plomb (chlorures, bromures, oxydes) qui pénètrent dans l'environnement par l'intermédiaire des fumées d'échappement [3]. Ces particules (les plus grandes) retombent et polluent les sols et les eaux de surface. Les particules plus petites parcourent de longues distances dans l'air et restent dans l'atmosphère où retombent sur l'effet des pluies. Il n'y a pas seulement l'essence au plomb qui augmente les concentrations dans l'environnement, d'autres activités à l'exemple des procédés industriels et la combustion des déchets solides y contribuent aussi. Il se retrouve alors dans les eaux et les sols à cause de la corrosion des tuyauteries en plomb des systèmes de transport d'eau et de l'usure des peintures au plomb par exemple. Une fois dans l'eau, il s'accumule dans les corps des organismes aquatiques causant de ce fait des empoisonnements. Il affecte aussi sévèrement les fonctions des phytoplanctons ce qui impacte directement sur les animaux aquatiques. Dans les sols il agit en perturbant les fonctions du sol, spécialement près des

autoroutes et des terres agricoles, où des concentrations extrêmes peuvent être présentes. Les organismes du sol souffrent alors de l'empoisonnement au plomb [145].

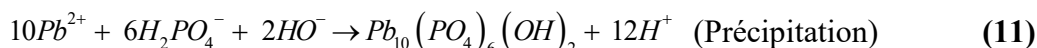
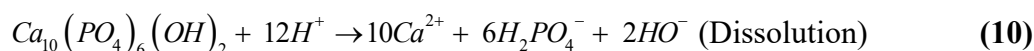
Il apparait ainsi que le plomb est un produit chimique particulièrement dangereux car il peut non seulement s'accumuler dans des organismes individuels, mais aussi affecter toute une chaîne alimentaire. Sa toxicité et sa capacité de bioaccumulation est un souci majeur pour l'homme et son environnement. C'est pourquoi il est nécessaire de disposer des méthodes efficaces et fiables pouvant permettre de le détecter dans les milieux souillés et ceci même à de très faibles concentrations.

I.2.5 Mécanisme d'adsorption des ions Pb^{2+} par l'hydroxyapatite

A cause de leur structure microcristalline, leur groupement fonctionnel de surface, leur structure microporeuse, leur composition chimique et leur bonne capacité d'échange ionique, les hydroxyapatites sont très prisées pour l'adsorption des micropolluants organiques et inorganiques [35-37, 111, 114, 117, 146]. L'adsorption est une opération au cours de laquelle un support généralement appelé adsorbant fixe via les interactions physiques (physisorption) ou chimiques (chimisorption) une espèce chimique appelée adsorbat. L'adsorption des métaux lourds dans les milieux souillés en particulier représente pour les chimistes soucieux de la protection de l'environnement un enjeu considérable. L'hydroxyapatite de par ses propriétés est l'un des matériaux les plus sollicités de nos jours pour l'adsorption du plomb à cause non seulement de sa biocompatibilité mais également en raison de la stabilité du précipité formé à la fin de la réaction d'adsorption de cet élément [146]. Plusieurs études ont été menées dans l'objectif de déterminer les mécanismes d'adsorption des ions Pb^{2+} par les hydroxyapatites [76, 147, 148]. Sur la base des résultats expérimentaux, le mécanisme de fixation des ions Pb^{2+} a été décrit comme une adsorption sur la surface de l'HAP, suivi par une substitution cationique avec les ions Ca^{2+} comme l'illustre la réaction chimique suivante [76].



Parallèlement à ce mécanisme, plusieurs auteurs ont évoqué le phénomène d'adsorption selon deux processus : la dissolution de l'HAP suivie de la précipitation d'un plomb(II) phosphate appelé hydroxypyromorphite de formule brute $Pb_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Ces deux processus sont décrits par les deux équations suivantes [111].



Parfois ces deux mécanismes (substitution et dissolution-précipitation) sont difficiles à dissocier puisqu'ils peuvent avoir lieu en même temps et que le produit final soit similaire (hydroxyapatite dont le calcium est plus ou moins substitué par le plomb). Un autre mécanisme composé de deux étapes a été aussi proposé par Sandrine et al. [149]. Selon ces auteurs, la première étape correspondant au processus de fixation du plomb par l'HAP est le résultat d'une complexation des ions Pb^{2+} par les sites $\equiv POH$ de l'hydroxyapatite, induisant la diminution du pH selon la réaction :



La seconde étape est caractérisée par la dissolution du calcium suivie de la précipitation d'une apatite de formule $Ca_{10-x}Pb_x(PO_4)_6(OH)_2$ [150]. Les différentes formes des pyromorphytes qui précipitent à la fin des réactions sont plus stables que l'hydroxyapatite. En outre, l'évolution du précipité de plomb(II) phosphate vers la forme la plus stable $Pb_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ dépend du temps de contact entre le calcium de l'hydroxyapatite et les ions Pb^{2+} . On peut donc dire que le mécanisme de fixation des ions Pb^{2+} sur les HAP est lié à la cinétique d'adsorption [149, 151]. Cette cinétique d'adsorption est conditionnée par plusieurs paramètres à savoir le pH, la température, la concentration initiale du métal, le temps de contact et la surface spécifique de l'adsorbant. Certains auteurs ont montré que la présence d'autres métaux affecte aussi (négativement) la capacité de fixation des ions Pb^{2+} par les HAP [147, 151, 152]. Ceci serait certainement dû à une compétition entre les métaux pour les échanges cationiques [152] et/ou par une modification de la solubilité de l'HAP [147, 151].

Les hypothèses proposées sur les mécanismes de fixation des ions Pb^{2+} sont nombreuses mais ne permettent pas de dégager un mécanisme satisfaisant. Ainsi, la complexation à la surface, la coprécipitation et la diffusion dans le solide sont suggérées.

I.3 Le diquat (DQ) et la pollution de l'environnement

I.3.1 Propriétés physico-chimique du DQ

Le diquat (1,1'-éthylène-2,2'-dipyridinium) est un herbicide et algicide de la famille des

dipyridyles [153]. Il est employé comme agent de dessiccation avant la récolte sur une variété de cultures destinées à la consommation humaine ou animale, sur des cultures industrielles de graines oléagineuses et de plantes à fibres, comme défoliant (pour le défanage de la pomme de terre par exemple), pour le désherbage chimique de zones non cultivées et pour la lutte contre les mauvaises herbes aquatiques et les algues [2]. Il est exclusivement commercialisé sous forme de dibromure de diquat monohydraté, et se présente sous forme d'un solide cristallin inodore de couleur jaune pâle. Il est très soluble dans l'eau et se dissocie rapidement en ion diquat [2]. Le tableau IV résume quelques-unes des propriétés physico-chimiques du dibromure de diquat.

Tableau IV. Propriétés du dibromure de diquat [154].

Données physicochimiques		Interprétation
Formule moléculaire	$C_{12}H_{12}Br_2N_2$	/
Masse moléculaire (g/mol)	344,00	/
Densité à 20 °C	1,20	/
Point de fusion	180 °C	/
Point d'ébullition	300 °C	/
Solubilité dans l'eau (g/L)	700 à 25 °C	Très soluble dans l'eau
Pression de vapeur (volatilité) < 0,01 mPa à 20 °C		Faible volatilité, présence peu probable dans l'air
Constante de la loi d'Henry	$5 \times 10^{-9} \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}$	Faible volatilité
Constante de dissociation		Dissociation complète

Le bromure de diquat est stable en solution neutre ou acide mais il est hydrolysé par les solutions alcalines [154]. La Figure 6 présente sa structure chimique [2].

I.3.2 Origine, utilisation et mécanisme d'action du DQ

Fabriqué en industrie, le diquat n'existe pas à l'état naturel. Il est produit par copulation oxydante de deux molécules de pyridine en présence de nickel de Raney chauffé comme catalyseur [155]. On obtient ainsi du 2'2'-dipyridinium qu'on fait réagir sur le dibromure

d'éthylène en milieu aqueux pour obtenir le diquat. On utilise des formulations de diquat dibromure dans plus de 100 pays répartis dans le monde entier, principalement comme produit de dessiccation mais également comme dés herbant. Dans de nombreux pays, la formulation est préparée localement avec la matière active importée. Il est employé pour détruire les mauvaises herbes à larges feuilles dans les cultures et les plantes aquatiques flottantes ou submergées, pour détruire les fanes de pommes de terre et pour dessécher les plantes à graines (riz, tournesol, etc.). La pulvérisation du produit se fait au moyen de pulvérisateurs au sol à raison de 200 à 500 litres de solution à l'hectare ou par épandage aérien à raison de 40 à 50 litres de solution par hectare.

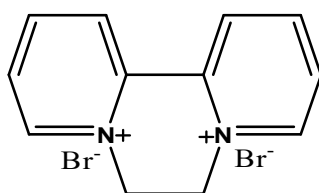
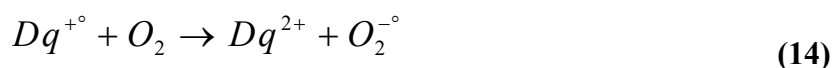


Figure 6 : Structure du dibromure de diquat.

Conning et al ont résumé le mécanisme d'action herbicide du diquat [156]. On note que la lumière et l'oxygène sont indispensables à cette action qui s'exerce uniquement sur les parties vertes de la plante [155, 156]. Ainsi, le diquat en présence de la lumière se réduit facilement pour former un radical libre de couleur vert vif et stable en solution aqueuse en l'absence d'oxygène (équation 13) [157].



En présence d'oxygène, dans les systèmes biologiques, le radical se réoxyde rapidement en cation avec la production concomitante d'anion superoxyde [157].



Ainsi, une fois que le diquat entre dans une cellule, il subit une réduction suivie d'une réoxydation, un processus connu sous le nom de cycle redox. Le radical oxygéné (anion superoxyde) formé lors de ce processus agit en attaquant les membranes des cellules végétales conduisant directement ou indirectement à la mort de la plante [157].

I.3.3 Toxicité par le DQ

Bien qu'il rende grandement service à l'homme, le diquat lorsqu'il est mal utilisé représente un danger. En effet, il peut être mortel s'il est avalé ou inhalé à de fortes doses [155, 158]. Les solutions concentrées peuvent provoquer une grave irritation de la bouche, de la gorge, de l'œsophage et de l'estomac, suivie de nausées, de vomissements, de diarrhées, de dessèchement sévère des tissus corporels, d'inconfort gastro-intestinal, de douleurs thoraciques, d'insuffisance rénale et de lésions hépatiques toxiques [155, 158]. De très fortes doses de cet herbicide peuvent entraîner des convulsions et des tremblements [159]. Les rats ayant reçu des doses létales de dibromure de diquat ont montré peu de signes de maladie au cours des 24 premières heures. Cependant, ils ont ensuite présenté une léthargie, une dilatation de la pupille, une détresse respiratoire et finalement la mort est intervenue 2 à 14 jours après l'administration [160].

Le dibromure de diquat est extrêmement toxique lorsqu'il est absorbé par la peau et la possibilité d'empoisonnement augmente avec une exposition répétée. Lorsqu'elles sont absorbées par la peau, certaines formulations commerciales concentrées de diquat peuvent provoquer des symptômes similaires à ceux qui surviennent lors de la consommation. L'adsorption cutanée est plus élevée là où la peau présente une blessure ouverte [159]. Bien que l'absorption soit apparemment faible après une exposition cutanée, la toxicité démontrée de ce composé est suffisante pour soulever de graves problèmes de santé humaine. Il provoque également une irritation des yeux. En effet, plusieurs cas de blessures graves aux yeux humains ont été signalés après des éclaboussures accidentelles. Dans chaque cas, l'irritation initiale était légère, mais après plusieurs jours, de graves brûlures et parfois des cicatrices de la cornée se sont développées. L'inhalation excessive de brouillard de pulvérisation de dibromure de diquat ou de poussière peut entraîner une irritation buccale ou nasale, de la toux, des maux de gorge et des symptômes similaires à ceux résultant de l'ingestion du diquat [157]. Malgré qu'il soit moins toxique que le paraquat, des rapports indiquent qu'une dose orale unique de 6 à 12 g de dibromure de diquat est fatale pour l'homme [157].

I.4 Les capteurs électrochimiques

I.4.1 Définition

Les capteurs électrochimiques sont des dispositifs souvent simples et compacts permettant de détecter quantitativement la présence d'une espèce chimique ou biologique en

transformant une réaction électrochimique en un signal électrique facilement exploitable, généralement une tension, un courant électrique ou une impédance. Ils sont généralement constitués d'une partie sélective, appelée couche sensible (qui peut être une enzyme, une espèce chimique électroactive, un groupement fonctionnel) et d'un système transducteur qui transforme en signal électrique les modifications physicochimiques induites par la reconnaissance dans la couche sensible. Ils disposent également d'un environnement d'exploitation qui permet l'amplification et le traitement des signaux électriques [161].

Le principe des capteurs électrochimiques repose sur l'association d'une électrode et d'une méthode d'analyse électrochimique. La Figure 14 présente le schéma du principe de fonctionnement d'un capteur électrochimique permettant d'obtenir, à partir de l'espèce à détecter dans un échantillon, toute information utile à son évaluation.

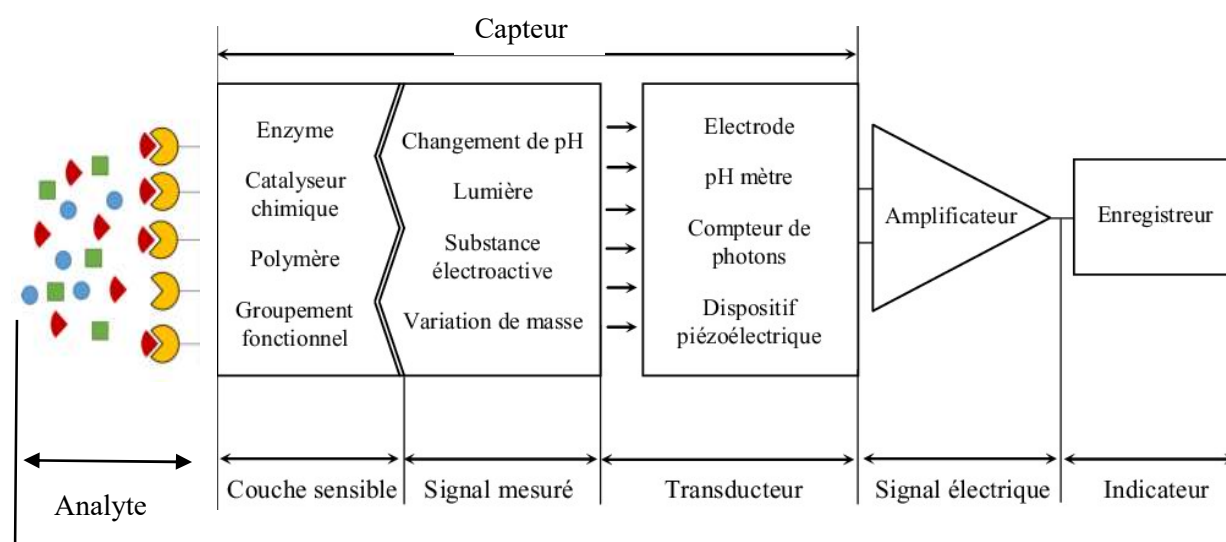


Figure 7. Schéma du principe de fonctionnement d'un capteur électrochimique [161].

La couche sensible représente la surface de l'électrode de travail. Elle constitue l'élément essentiel du capteur ; elle est responsable du processus de reconnaissance de l'espèce cible, dont elle détermine les performances de détection. En effet, les travaux de recherche visant l'élaboration de nouveaux capteurs se concentrent, en particulier, sur le développement de nouvelles couches sensibles plus performantes en termes de sensibilité et de sélectivité. Le choix du transducteur est fonction du type des modifications chimiques ou biochimiques se produisant au niveau de la couche sensible en présence de l'espèce cible. Cette adéquation entre l'élément transducteur et la couche électroactive du capteur permet d'obtenir une réponse sensible, facilement exploitable et avec un minimum de bruit de fond [161].

Les capteurs électrochimiques présentent plusieurs avantages qui sont liés entre autre à leur faible encombrement, leur faible consommation énergétique, leur faible coût (achat et entretien) et leur temps de réponse relativement court. Tous ces avantages en font des instruments idéaux pour les mesures sur site et le contrôle des procédés en ligne. Les performances des capteurs sont caractérisées par les paramètres suivants : la sensibilité, la limite de détection, la sélectivité, la sensibilité vis-à-vis des interférents [162].

Afin d'accéder à des niveaux de sensibilité comparables à ceux atteints par d'autres techniques de laboratoire plus usuelles mais plus onéreuses, de nombreuses recherches sont effectuées au quotidien pour améliorer les caractéristiques des capteurs électrochimiques. Ses recherches sont essentiellement axées sur l'élaboration des couches sensibles de plus en plus performantes.

I.4.2 Types de capteurs électrochimiques

Les capteurs électrochimiques se distinguent au niveau de leurs modes de transduction : ceux-ci peuvent être potentiométrique, conductimétriques ou ampérométrique. Il importe de noter que cette classification des capteurs électrochimiques est la plus couramment adoptée dans la littérature.

I.4.2.1 Capteurs potentiométriques

Ce type de capteurs est basé sur la mesure des variations de potentiel entre une électrode de référence, dont le potentiel est constant et reproductible, et l'électrode indicatrice sur laquelle est déposée l'élément sensible. Dans ce type de système, un équilibre local s'établit à la surface du capteur et conduit à la génération d'un potentiel proportionnel au logarithme de la concentration (activité) des espèces générées ou consommées au cours du processus de reconnaissance. Dans le cas d'un capteur redox, cette relation est représentée par l'équation de Nernst (Eq. 15) [162] :

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{A_{ox}}{A_{red}}\right) \quad (15)$$

Où E est le potentiel du couple redox, E_0 est le potentiel standard du couple redox, R est la constante des gaz parfaits ($8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$), T est la température absolue en Kelvin (K), n est le nombre de moles d'électrons échangés, F est la constante de Faraday (96500 C/mol) et A l'activité de l'espèce.

Dans le cas de ce type de capteurs électrochimiques, un équilibre local s'établit à l'interface électrode-électrolyte et l'information sur la concentration de l'échantillon en analyte est obtenue à partir de la différence de potentiel mesurée entre l'électrode de travail (récepteur) et l'électrode de référence. Cette technique a l'avantage d'être peu coûteuse, simple d'utilisation et rapide, cependant elle est peu sensible et manque de reproductibilité.

I.4.2.2 Capteurs conductimétriques

La conductimétrie est une technique qui permet de mesurer la capacité d'une solution à conduire le courant entre deux électrodes. Le capteur conductimétrique est basé sur des variations de conductivité électrique d'un film ou d'un matériau, générées par la présence de l'analyte en solution [163, 164]. La conductance observée dépend de la surface immergée des deux électrodes nécessaires à la mesure, et de la distance qui les sépare. Ces paramètres sont en général fixés et parfaitement connus pour déterminer directement la conductivité des solutions. La mesure s'effectue par l'application d'une tension sinusoïdale (pour éviter le phénomène d'électrolyse) entre deux électrodes en solution, et l'observation du courant résultant permet de remonter à la résistivité ou la conductivité du milieu.

Tout comme les capteurs potentiométriques, les capteurs conductimétriques sont fondamentalement non sélectifs et ce n'est qu'avec une fonctionnalisation de surface judicieuse que la sélectivité de ces capteurs s'est considérablement améliorée [163]. L'application la plus courante est le suivi de la qualité de l'eau dans les systèmes de production d'eau déminéralisée à partir de kits échangeurs d'ions, où l'augmentation importante de la conductivité signale une augmentation de la concentration en ions et donc l'apparition d'ions indésirables dans l'eau.

I.4.2.3 Capteurs ampérométriques

Dans le cas des capteurs ampérométriques, c'est une relation entre l'intensité du courant (en ampères) et la concentration de l'analyte en solution qui est exploitée [162]. Les informations inhérentes à l'analyte considéré sont obtenues par l'application d'un potentiel à l'électrode de travail qui provoque l'oxydation ou la réduction de l'analyte (à condition qu'il soit électroactif) avec apparition d'un courant qui est mesuré. Ce type de capteurs présente une bonne sélectivité intrinsèque étant donné que les processus redox des analytes électroactifs se font à des potentiels caractéristiques bien définis et l'intensité du signal du pic de réduction ou d'oxydation de l'analyte considéré est proportionnelle à sa concentration.

Les capteurs ampérométriques sont sélectifs en termes d'espèces puisque le niveau de surtension permet de distinguer les espèces parce que chacune est caractérisée par son potentiel. Ils permettent également de quantifier les espèces cibles avec une assez bonne précision et pour des seuils de détection assez bas. L'utilisation de ces capteurs est associée à un protocole analytique reposant sur une technique électrochimique ampérométrique faisant intervenir plusieurs paramètres que le manipulateur pourra choisir.

1.5 Les types d'électrodes modifiées en électrochimie

L'électrochimie est l'étude des techniques qui emploient l'électrostimulation pour analyser la réactivité chimique d'un système. Plus particulièrement, elle analyse la perte et le gain des électrons c'est-à-dire les mécanismes d'oxydation et de réduction dans une réaction.

Les méthodes électrochimiques se servent électriquement des sondes ou des électrodes conductrices qui sont habituellement liées aux appareils électroniques qui mesurent la réactivité électrochimique des réactifs en solution. La plupart des techniques électroanalytiques utilisent trois électrodes, à savoir ; l'électrode de travail, l'électrode de référence et la contre électrode. Ces électrodes sont branchées à un potentiostat qui régule la tension de l'électrode de travail et détermine le courant de pic. L'électrode de travail est un élément indispensable d'une expérience électrochimique car c'est sur elle que les réactions principales ont lieu. Les performances analytiques d'un capteur électrochimique dépendent fortement de l'électrode de travail qui doit fournir un haut rapport signal sur bruit (s/n) et une bonne reproductibilité. Elle est habituellement faite d'un matériau conducteur présentant des propriétés de polarisation particulières sur un large domaine de potentiel. Le choix de ce matériau dépend d'un certain nombre de facteurs qui sont entre autres : le comportement électrochimique du matériau en présence de l'espèce à analyser, le domaine de potentiel accessible, la conductivité électrique, la stabilité mécanique, le courant résiduel, le coût, la disponibilité, la toxicité, etc. Les principales classes de matériaux qui offrent a priori de telles qualités impliquent : le mercure, certaines formes allotropiques du carbone (graphite, carbone vitreux, des fibres de carbone), et les métaux nobles (particulièrement l'or, le platine et l'argent).

Dans le but d'améliorer les performances d'analyse des dispositifs de détection (capteurs), de nombreux travaux de recherche ont porté ces dernières années essentiellement sur la modification des électrodes de travail conventionnelles par l'addition d'autres espèces à leur surface. Cette démarche a permis de développer de nouvelles électrodes dites modifiées auxquelles correspondent une réactivité chimique variée et des comportements

électrochimiques différents. De façon générale, modifier une électrode de travail conventionnelle consiste à fixer délibérément à sa surface une espèce chimique (molécule organique ou inorganique, assemblage moléculaire, film polymère, matériau hybride organo-inorganique, etc.) aux propriétés spécifiques en vue de lui apporter de nouvelles propriétés chimiques, électriques, optiques, magnétiques, électrochimiques, ou afin d'améliorer ses propriétés existantes [165, 166]. Plusieurs types d'électrodes modifiées ont été développées parmi lesquelles les plus couramment employées sont les électrodes de carbone vitreux, les électrodes à pâte de carbone et les électrodes sérigraphiées.

1.5.1 Electrodes de carbone vitreux

Le carbone vitreux est une forme allotropique du carbone qui appartient à la famille du graphite. Il est utilisé sous forme massive comme matériau d'électrode pour des applications électroanalytiques depuis 1972 en raison de ses propriétés intéressantes (faible porosité, large fenêtre d'électroactivité, stabilité thermique) [167]. Les électrodes de carbone vitreux possèdent l'avantage d'être simples d'utilisation et faciles à entretenir. De plus, elles peuvent être facilement modifiées afin d'améliorer leur spécificité et leur sensibilité. Parmi les techniques de modification généralement employées, la modification par dépôt physique d'un film de microparticule de modifiant est l'une des procédures largement utilisée du fait non seulement de sa simplicité de mise en œuvre mais aussi en raison d'excellentes propriétés des électrodes qui en découlent. C'est pourquoi elles sont largement utilisées pour la détection de micropolluants. C'est d'ailleurs ce type d'électrode qui sera utilisé dans le cadre de ce travail.

1.5.2 Electrodes à pâte de carbone

L'électrode à pâte de carbone (EPC) est un exemple d'électrode composite, fabriquée à partir d'un mélange de plusieurs composés. Elle a été décrite pour la première fois par Adams en 1958 [162]. L'électrode à pâte de carbone se confectionne en mélangeant de la poudre de carbone avec un liant adapté comme de la paraffine liquide ou de la graisse de silicone. La pâte parfaitement homogène obtenue est introduite dans un embout en téflon creux muni d'une tige conductrice qui assure le contact électrique. Avant son utilisation, la surface active est polie sur une feuille de papier jusqu'à l'obtention d'une surface lisse. La préparation des électrodes à pâte de carbone modifiées suit le même processus, avec cependant l'ajout du matériau modifiant à un pourcentage bien défini.

Comparées aux autres types d'électrodes modifiées, les électrodes à pâte de carbone modifiées présentent plusieurs avantages dont leur simplicité d'élaboration, leur faible coût, leur courant résiduel faible et leur surface active facile à renouveler [168]. Elles permettent par ailleurs d'introduire, d'une manière simple, une large gamme de modifiants chimiques (par exemple des ligands sélectifs d'un analyte) sans avoir recours à un greffage covalent. Leur plus gros inconvénient provient du fait qu'une bonne homogénéité de la pâte est primordiale pour assurer une bonne reproductibilité des mesures. De plus, même si leur utilisation est particulièrement facile en laboratoire, elle s'avère être difficile sur site pour des applications en continu ou en semi-continu pour des raisons de robustesse liées à leur friabilité.

1.5.3 Electrodes sérigraphiées.

La sérigraphie, largement utilisée dans l'industrie de la microélectronique, a permis la production de nouveaux types de capteurs peu coûteux, reproductibles et fiables. La sérigraphie offre en effet un contrôle précis des dimensions des électrodes, une bonne homogénéité (épaisseur de l'encre déposée, etc.). Par conséquent, l'utilisation de la sérigraphie dans la production en série d'électrodes jetables et de faible coût pour la détection électrochimique d'une large variété de substances connaît actuellement une croissance généralisée [162, 169].

Les électrodes sérigraphiées sont composées d'un support inerte sur lequel est déposée une encre conductrice. Elles peuvent avoir une nature différente (carbone mais aussi or, platine, argent, bismuth), prendre des formes et des dimensions variables et utiliser différents supports (plastique, verre, céramique, tissus) pour s'adapter aux spécificités voulues. Ces électrodes ont la particularité qu'elles intègrent sur le même support toutes les trois électrodes nécessaires à l'analyse, ce qui permet la réduction considérable des volumes d'analyse.

Ces électrodes peuvent elles aussi être modifiées. La modification chimique de leur surface a ainsi ouvert la voie à de nombreux champs d'applications, suscitant un engouement pour leur intégration dans des capteurs [162, 169, 170].

1.6 Conclusion

Le but de ce chapitre était de présenter une revue de la littérature sur les calcium(II) phosphates et plus précisément sur l'hydroxyapatite. Il ressort de cette étude que l'hydroxyapatite possède une structure cristalline bien définie qui résulte d'un empilement tétraédrique de groupements PO_4^{3-} formant deux types de tunnels dans lesquels se localisent les ions Ca^{2+} . Elle peut s'obtenir synthétiquement ou à partir des sources naturelles. Les

groupements fonctionnels quelle possède rendent possible sa modification par greffage des molécules à sa surface, permettant ainsi d'améliorer ses propriétés et d'accroître ses domaines d'applications. Les effets du plomb(II) et du diquat sur l'environnement ont également été présentés. On note que ces polluants sont aussi bien toxiques pour l'homme que pour l'environnement, d'où l'intérêt de développer des moyens efficaces permettant de les détecter afin de contrôler leurs teneurs dans les milieux contaminés. Nous avons également présenté quelques types d'électrodes modifiées utilisées en électrochimie. Le chapitre qui suit présentera les différents réactifs, le protocole d'obtention et de modification de l'hydroxyapatite naturelle ainsi que les techniques d'analyse utilisés tout au long de ce travail.

Chapitre II : Matériaux, réactifs et méthodes expérimentales

Ce chapitre décrit tout d'abord la procédure d'obtention de l'hydroxyapatite naturelle utilisée dans ce travail ainsi que le protocole utilisé pour sa modification. Ensuite, la description des méthodes de caractérisation physicochimiques et électrochimiques utilisées pour la caractérisation des matériaux, la détection électrochimique du diquat et l'électroanalyse du plomb est abordée. Enfin la procédure d'élaboration des électrodes modifiées est succinctement décrite.

II.1 Matériaux et réactifs chimiques

II.1.1 Matériaux

Le matériau de base de ce travail est une hydroxyapatite naturelle obtenue à partir des os de bovins. Nous avons opté pour cette source naturelle en raison de son abondance sur le marché Camerounais. En effet, des enquêtes menées dans les abattoirs et auprès des bouchers de la ville de Yaoundé (capitale politique du Cameroun) nous ont permis de constater que les déchets d'os de bovins sont rejetés dans la nature une fois la viande commercialisée. Seule une infime fraction est utilisée en provenderie pour la fabrication des aliments pour les animaux (poulets, porcs). Les os de bovins utilisés dans le cadre de ce travail ont été obtenus gratuitement auprès des bouchers à l'abattoir d'Edoudi situé dans la ville de Yaoundé. Dans le souci d'assurer une certaine homogénéité, nous n'avons utilisé que les os provenant de la partie thoracique du squelette osseux du bœuf.

II.1.2 Réactifs

Les réactifs chimiques utilisés pour le prétraitement du matériau brut, la modification de l'hydroxyapatite naturelle et les analyses électrochimiques réalisées dans ce travail sont regroupés dans le Tableau V.

La β -cyclodextrine (β -CD) est la molécule organique ayant servi à la modification de l'hydroxyapatite naturelle. C'est un oligosaccharide cyclique non réducteur obtenu par dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme d'origine bactérienne : la cyclodextrine glucosyltransférase. Elle est constituée de 7 sous unités D-glucopyranosiques, liées entre elles par des liaisons glycosidiques (Figure 7) [171]. Chaque unité de glucose est chirale. Elles sont en conformation chaise et donnent au macrocycle la forme d'un cône tronqué creux. Ce cône est formé par les squelettes carbonés des unités de glucose et les atomes d'oxygène glycosidiques.

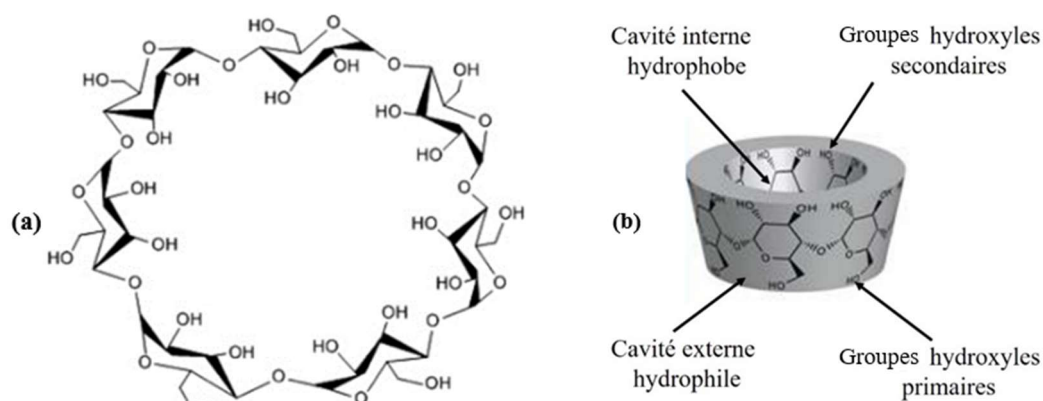


Figure 8 : Représentation schématique de la β -CD. (a) structure chimique, (b) architecture tridimensionnelle.

Tableau V : Réactifs chimiques utilisés au cours de ce travail

Nom	Origine	Pureté	Formule chimique
Sodium acétate	Labsynth	99%	CH_3COONa
Acide acétique	Scharlau	99,8%	CH_3COOH
Acide Citrique	Prolabo	98%	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$
Acide nitrique	Scharlau	60%	HNO_3
Béta-Cyclodextrine	Sigma Aldrich	98%	$\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{35}$
Bleu de méthylène	Riedel-de-Haën	99,8	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$
Cadmium nitrate	Prolabo	99%	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2, 4\text{H}_2\text{O}$
Cuivre(II) sulfate	Prolabo	99%	$\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$
Diquat	Acros Organic	98%	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Cl}_2$
Potassium hydroxyde	BDH	86,3%	KOH
Magnésium(II) sulfate	Prolabo	99%	$\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$
Méthyl parathion	Prolabo	99%	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_5\text{PS}$
Nikel(II) nitrate	Prolabo	99%	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2, 6\text{H}_2\text{O}$
Plomb(II) nitrate	Prolabo	99,5%	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
Para-nitrophénol	Sigma Aldrich	99,7%	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$
phosphate d'ammonium dibasique	Anachemia	99%	$(\text{NH}_4)\text{HPO}_4$
Potassium Chlorure	Prolabo	99,5%	KCl
Potassium Hexacyanatoferate(III)	Prolabo	98%	$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$
Potassium hydrogenophosphate	Prolabo	99,9%	K_2HPO_4
Ruthénium(III) hexaamine trichlorure	Acros Organic	98%	$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3]$

Toutes les fonctions hydroxyles des unités de glucose sont situées à l'extérieur de la cavité, donnant à la β -CD un caractère hydrophile [171]. Plus particulièrement, les groupes hydroxyles primaires des unités de glucose sont situés au niveau de l'ouverture étroite (face primaire) du cône tandis que les groupes hydroxyles secondaires sont localisés au niveau de l'autre ouverture (face secondaire) (Figure 7). Sa cavité possède une densité électronique élevée et un caractère de base de Lewis. La paroi extérieure est hydrophile tandis que la paroi intérieure est apolaire et hydrophobe. Cette structure est stabilisée par une véritable ceinture de liaisons hydrogène inter-résidus entre les -OH d'une unité de glucose et les -OH de l'unité voisine. Cette ceinture de liaisons hydrogène rend sa structure très rigide ce qui peut justifier sa faible solubilité dans l'eau par rapport aux autres cyclodextrines. Les principales caractéristiques structurales et physico-chimiques de la β -cyclodextrine sont rassemblées dans le Tableau VI.

Tableau VI : Caractéristiques physico-chimiques de la β -cyclodextrine [29]

Nombre d'unités de glucoses	7
Formule brute	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅
Masse molaire (g/mol)	1135
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/L)	18,5
Diamètre de la cavité (Å) (petite face-grande face)	6,0 - 6,5
Hauteur du cône (Å)	7,9 ± 0,1
Volume approximatif de la cavité (Å³)	262
Nombre moyen de molécules d'eau	12

Le caractère apolaire de la cavité de la β -CD permet de former des complexes d'inclusion avec des molécules invitées hydrophobes dans des solutions aqueuses [30]. Il faut noter que le phénomène de formation de complexe d'inclusion se produit sous l'effet d'interactions faibles. Aucune liaison covalente n'est créée, ce qui permet une dissociation facile du complexe formé. Selon la taille de la molécule, la β -CD peut inclure partiellement ou en totalité le composé invité. Cette propriété peut aussi conduire à des complexes comportant plusieurs molécules invitées ou inversement plusieurs molécules de β -CD. Le type de complexe le plus connu correspond à la formation de complexes d'inclusion 1:1 (Figure 8).

Ce processus de formation des complexes d'inclusion (hôte-invité) permet que les molécules complexées restent en équilibre avec les molécules libres en solution. La stabilité des complexes formés dépend non seulement de la nature du substrat mais aussi du milieu

réactionnel. Un complexe d'inclusion ne peut être formé que si les dimensions de la cavité de la β -CD correspondent avec la taille de la molécule invitée [171]. La plus importante caractéristique de la β -CD est sa grande réactivité chimique qui permet de l'utiliser comme précurseur pour la synthèse de nouveaux matériaux. En effet, tout comme les autres cyclodextrines, la β -CD possède des groupements hydroxyles très réactifs chimiquement. Surtout les hydroxyles en position 6 qui peuvent réagir avec des agents de couplage pour former des polymères qui selon les réactifs utilisés peuvent être solubles ou insolubles dans l'eau [30]. C'est ainsi qu'au cours de ces dernières années, un intérêt majeur a été porté au développement de nouveaux matériaux aux propriétés diversifiées à partir de la β -CD pour de nombreuses applications, notamment dans le domaine pharmaceutique, dans l'industrie alimentaire, la chimie, la catalyse, la chromatographie, la cosmétique, les industries agricoles etc [30, 171].

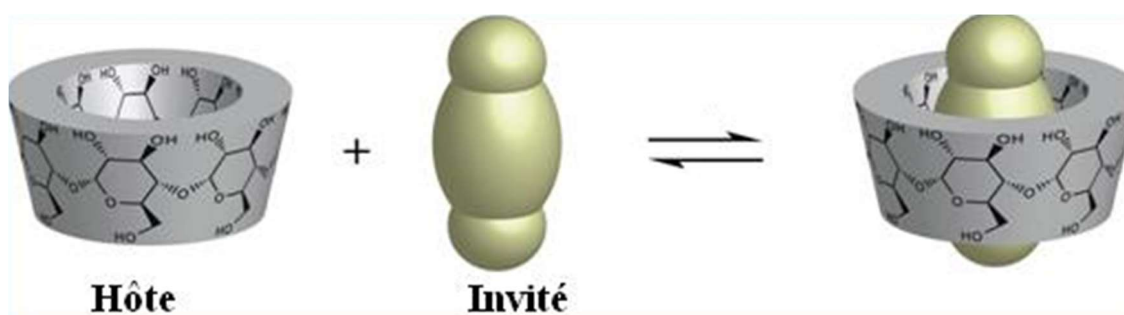


Figure 9 : Processus de formation d'un complexe d'inclusion de type 1:1 [171]

Dans ce travail, cette bonne réactivité de la β -CD a été exploitée pour greffer cette dernière à la surface d'une hydroxyapatite naturelle en utilisant l'acide citrique comme agent de couplage.

II.2 Procédure d'obtention de l'hydroxyapatite naturelle et de sa modification par la β -cyclodextrine

II.2.1 Procédure d'obtention de l'hydroxyapatite naturelle

L'hydroxyapatite utilisée dans ce travail a été obtenue naturellement à partir des déchets d'os de bovins. La section suivante décrit de façon détaillée les différentes étapes de traitement du matériau brut jusqu'à l'obtention du matériau pur.

II.2.1.1 Récolte et nettoyage des os de bovins

Les os de bovins prélevés sur le marché local sont nettoyés avant d'être utilisés. Ils sont à cet effet d'abord coupés en petits morceaux de 2 à 5 cm, puis bouillis dans de l'eau pendant 30 minutes pour éliminer les tissus étroits et les graisses. Les résidus de viande sont ensuite retirés et les os lavés plusieurs fois avec de l'eau du robinet puis laissés à l'air libre pendant plusieurs jours pour les débarrasser des odeurs. Enfin, la moelle sèche est raclée, les os une fois de plus sont lavés avec de l'eau distillée, séchés à l'étuve puis emballés et conservés.

II.2.1.2 Pré-calcination

Les os nettoyés et séchés sont pré-calcinés dans un four électrique. Cette pré-calcination est faite avec une vitesse de chauffage de 12,5 °C/min suivie d'un temps de séjour de 3 heures à 450 °C. Ce matériau pré-calciné est ensuite broyé dans un mortier en porcelaine puis passé dans un tamis et les particules de taille inférieure à 50 µm sont retenues et stockées dans un récipient hermétique pour une utilisation ultérieure.

II.2.1.3 Imprégnation et calcination

L'imprégnation effectuée à cette étape vise à obtenir un matériau final cristallisé et présentant après calcination des particules très fines et cristallisées. Le protocole utilisé, s'inspire des travaux de Iriarte-Velasco et al [172]. À cet effet, 2 g de matériau pré-calciné sont introduits dans une bouteille en verre contenant 40 ml d'une solution 0,5 M d'ammonium phosphate dibasique ((NH₄)₂HPO₄). Ce réactif est choisi de façon à éviter la destruction de la structure de l'hydroxyapatite. Le mélange obtenu est mis sous une table agitante à la vitesse de 150 tours par minute pendant 48 heures. Le matériau résultant est ensuite lavé plusieurs fois avec de l'eau désionisée afin d'éliminer les ions solubles, puis séché à 80°C à l'étuve pendant 24 heures. Après cette étape, le matériau imprégné obtenu ainsi que le matériau pré-calciné n'ayant subi aucun traitement sont calcinés à 700 °C dans des conditions opératoires similaires à celles utilisées lors de l'étape de pré-calcination (vitesse de chauffage de 12,5 °C/min suivie d'un temps de séjour de 3 heures). Les matériaux obtenus sont enfin lavés soigneusement avec de l'eau déionisée (jusqu'à l'obtention d'un surnageant à pH 7) puis séchés et dénommés NHAP_{p0,5} et NHAP pour le matériau calciné à 700 °C obtenu à partir respectivement des os pré-calcinés puis imprégnés et des os pré-calcinés non imprégnés. La Figure 9 récapitule les différentes étapes de traitement des os de bovins utilisés.

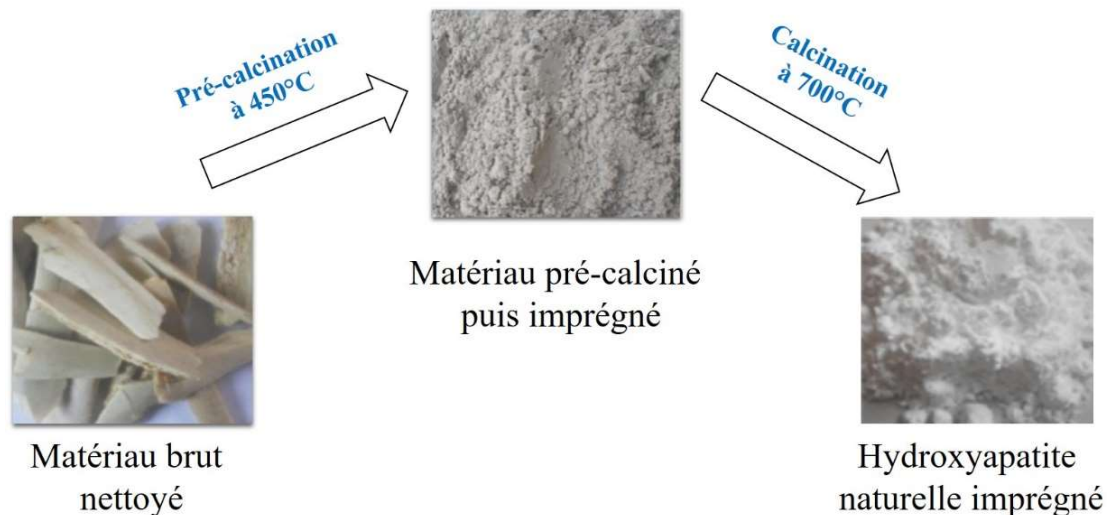


Figure 10 : Description des étapes de traitement des os de bovins utilisés

II.2.1.4 Collecte de la fraction fine de l'hydroxyapatite naturelle

Cette opération vise à récupérer les particules d'hydroxyapatite naturelle de taille inférieure à 3 μm . La récolte de la fraction fine n'a été effectuée que sur NHAP_{p0,5} car des tests réalisés sur NHAP ont montré qu'elle est constituée des particules très denses qui sédimentent instantanément lorsqu'elles sont mises en suspension dans l'eau. Ainsi, après la calcination, 5 g de NHAP_{p0,5} sont placés dans 500 mL d'eau désionisée puis l'ensemble est agité à l'aide d'un barreau aimanté pendant 20 minutes. Après un passage aux ultrasons, la suspension est transvasée dans une éprouvette où la fraction fine est collectée sur la base de la loi de Stokes (Eq. 16) qui donne une relation entre la distance parcourue par les particules de NHAP_{p0,5} par unité de temps en fonction de leur taille et de leur densité.

$$v = \frac{2r^2(\varphi^s - \varphi^f)}{9\eta} g = cr^2 = \frac{x}{t} \quad (16)$$

Avec η étant la viscosité du fluide (en Poise), v la vitesse de chute des particules (cm/s), r le rayon de la particule supposée sphérique (cm), φ^s la densité du solide, φ^f la densité du fluide, c la constante de Stokes, g l'accélération de la pesanteur (cm/s²) et x la distance parcourue par les particules en (cm) juste avant le siphonage au temps t (s).

En considérant $g = 9,78 \text{ m/s}^2$ à Yaoundé, $\varphi^s = 3,187$, $\eta = 8,904 \cdot 10^{-3}$ poises à 25°C on trouve que pour les particules de diamètre $< 3 \mu\text{m}$, le siphonage doit se faire après 2 heures 30 minutes sur une distance $x = 10 \text{ cm}$. Ainsi, après avoir laissé au repos la suspension de NHAP_{p0,5} dans une colonne pendant 2 h 30 min, le surnageant est prélevé par siphonage à une profondeur de 10 cm. Le processus est répété plusieurs fois jusqu'à ce que le surnageant ne contienne

presque plus de particule de $\text{NHAP}_{p0,5}$ après sédimentation. Ce qui se traduit par son éclaircissement. Le solide recueilli est séché à l'air libre puis à l'étuve avant d'être conservé dans un flacon hermétiquement fermé pour la suite des travaux.

II.2.2 Modification de l'hydroxyapatite naturelle par greffage de la β -cyclodextrine

Le matériau hybride hydroxyapatite naturelle imprégné/ β -CD est obtenu par polymérisation de la β -CD sur $\text{NHAP}_{p0,5}$. La Figure 10 présente le protocole de cette modification. L'opération en pratique a consisté dans un premier temps à disperser soigneusement 0,500 g d'hydroxyapatite naturelle imprégnée ($\text{NHAP}_{p0,5}$) à l'ultrason pendant 5 minutes dans 5 ml d'eau désionisée. À cette solution, on ajoute 0,250 g de β -CD, 0,250 g d'acide citrique (CA) (utilisé comme liant) et 0,083 g de Na_2HPO_4 (catalyseur). La masse de β -CD est choisie de manière à avoir un rapport en masse de 1/2 par rapport à celle de l'hydroxyapatite naturelle ($\text{NHAP}_{p0,5}$). L'ensemble est de nouveau dispersé pendant 5 minutes et le mélange homogène obtenu est transféré dans un four électrique et maintenu à 100 °C pendant 2 heures. Le four est par la suite porté à 180 °C pendant 45 minutes avant d'être refroidi jusqu'à la température ambiante. Le résidu solide obtenu est soigneusement broyé, lavé plusieurs fois à l'eau désionisée puis séché à l'étuve. Le matériau hybride ainsi synthétisé est dénommé par $\text{NHAP}_{p0,5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$. Pour obtenir le polymère de β -cyclodextrine et d'acide citrique sans hydroxyapatite ($\text{CA-}\beta\text{-CD}$), le même protocole a été suivi, hormis le fait qu'on n'utilise plus d'hydroxyapatite naturelle imprégnée ($\text{NHAP}_{p0,5}$).

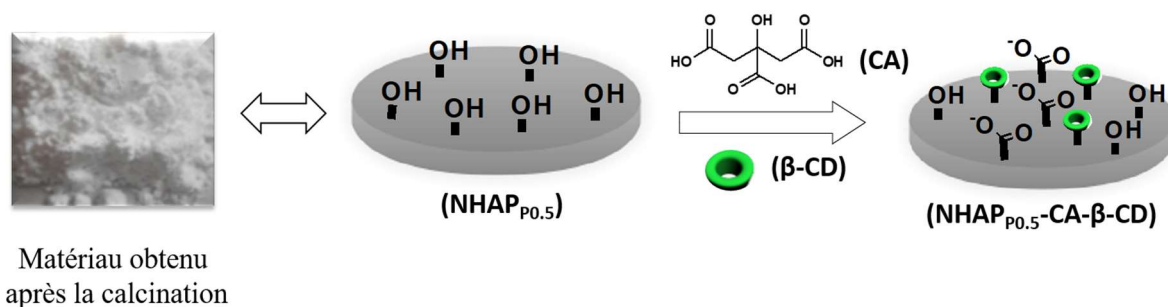


Figure 11 : Protocole de greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle

II.3 Méthodes physico-chimiques de caractérisation des matériaux

Plusieurs méthodes d'analyse physico-chimiques ont été appliquées dans ce travail. Ces méthodes ont permis d'une part de déterminer les propriétés structurales du matériau brut afin de confirmer qu'il s'agit d'une hydroxyapatite, et d'autre part de s'assurer de l'effectivité du greffage de la β -cyclodextrine.

II.3.1 Diffractométrie de Rayons X (DRX)

II.3.1.1 Principe de la méthode

La diffraction de rayons X est une méthode de caractérisation structurale incontournable dans le domaine des matériaux. Elle permet l'identification des phases cristallines et de ce fait ne s'applique qu'aux matériaux cristallins (mono ou polycristallins) [173]. Elle donne des informations sur la pureté, la cristallinité et la valeur des paramètres cristallographiques. Elle permet notamment de déterminer la structure des matériaux étudiés, d'en différencier les phases, mais aussi de déterminer les contraintes résiduelles, la forme et la taille des cristallites. Son principe repose sur l'interaction entre un faisceau de rayons X de longueur d'onde λ donnée et les atomes ou les groupes d'atomes qui se répètent de manière périodique dans les trois dimensions de l'espace du réseau cristallin observé. La diffraction a lieu seulement dans les matériaux cristallisés et lorsque la relation de Bragg (équation 16) est vérifiée. Dès lors, pour obtenir la valeur des différentes distances inter-réticulaires, il suffit de déterminer les valeurs de θ pour lesquelles le matériau diffracte [174].

II.3.1.2 Loi de Bragg

La loi de Bragg est une loi empirique qui interprète le processus de la diffraction des radiations sur un cristal et par conséquent elle permet de déterminer la nature du cristal et ses propriétés cristallines. La Figure 11 représente une coupe de plans réticulaires passant par les centres des éléments (atomes ou molécules) espacés d'une distance d . La répétition périodique tridimensionnelle de ces éléments appelés nœuds y est symbolisée par les disques noirs. L'angle θ (angle de Bragg) détermine l'incidence d'un faisceau parallèle de rayons X sur ces plans réticulaires. Notez que θ est le complémentaire de l'angle d'incidence usuel en optique. La différence de chemin optique entre les deux rayons lumineux particuliers représentés vaut $AC + CB = 2d\sin\theta$. Ils interfèrent de manière constructive lorsque la différence de marche est égale à un nombre entier p de longueur d'onde. C'est la loi de Bragg [174] :

$$2d_{hkl} \sin \theta = n\lambda \quad (17)$$

Avec :

- n : nombre entier positif qui désigne l'ordre de l'intensité maximale diffractée ;
- λ : longueur d'onde du rayon X ;
- d : distance entre plans réticulaires ;
- θ : angle entre le rayon X et le plan réflecteur.

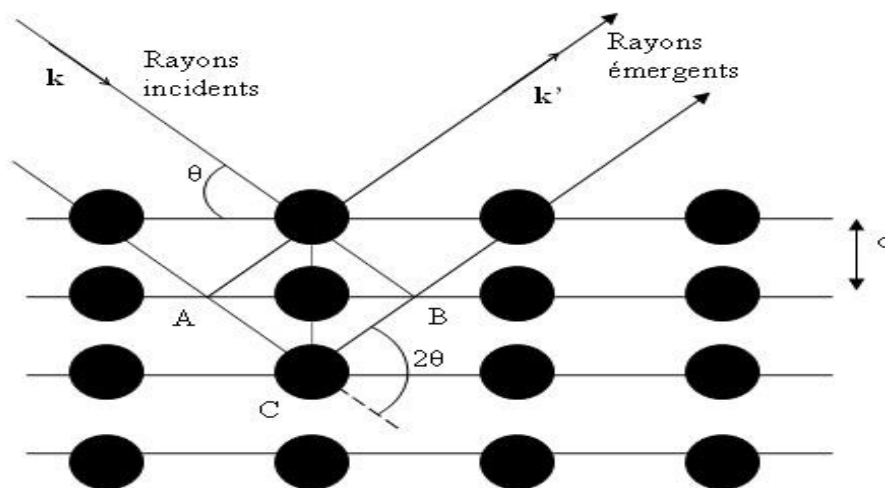


Figure 12: Réflexion de rayons X par une famille de plans réticulaires espacés [173].

Les expériences de diffractions de rayons X fournissent une liste de pics (ou raies) de diffractions ; chaque pic correspond à une famille de plan réticulaire d'indices (hkl). L'identification de la phase et de ses paramètres de maille est ensuite réalisée par comparaison avec les bases de données existantes sur les matériaux (cartes ICDD pour International Centre for Diffraction Data). Ces informations peuvent être utilisées pour estimer la taille des cristallites grâce à la méthode de Scherrer (équation 18) basée sur l'évaluation de l'élargissement des pics de diffraction [175] :

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (18)$$

où D est le diamètre moyen des cristallites dans la direction perpendiculaire à la famille de plans (hkl), k est un facteur de forme (il vaut 0,9 pour des cristallites de forme isotrope ou quasi-isotrope), λ est la longueur d'onde de rayons X, β est la largeur de la raie (hkl) considérée, et θ est l'angle de diffraction de la raie (hkl).

Dans le cadre de ce travail, la diffractométrie de rayons X a été utilisée pour vérifier la pureté cristalline des matériaux utilisés et les diffractogrammes résultants ont permis d'estimer la taille des cristallites par la méthode de Scherrer. Les diffractogrammes ont été enregistrés sur des matériaux en poudre à l'Université de Kiel en Allemagne. L'appareil utilisé est un diffractomètre de marque Stoe Stadi-P, disposant d'une cathode de cuivre produisant un faisceau de rayons X de longueur d'onde $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$.

II.3.2 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier est un outil sensible qui renseigne sur la nature des groupements fonctionnels présents à la surface d'un matériau [176]. Elle a été exploitée dans ce travail pour caractériser les matériaux obtenus d'une part et pour vérifier l'effectivité du greffage réalisé d'autre part.

Le rayonnement infrarouge est une radiation de nature électromagnétique, correspondant à la partie du spectre comprise entre 12800 et 10 cm^{-1} [176, 177]. Des trois catégories du domaine infrarouge, seul la région du moyen infrarouge qui s'étend de 4000 à 400 cm^{-1} de nombre d'onde (soit de $2,5$ à $25\text{ }\mu\text{m}$ de longueur d'onde) est généralement exploitée. Ce domaine correspond aux transitions moléculaires de type vibration et rotation, lesquelles conduisent à des absorptions [177].

Lorsqu'une molécule est irradiée par un rayonnement IR, elle peut absorber partiellement et sélectivement ce rayonnement. Les liaisons chimiques qui la composent doivent être considérées comme des oscillateurs anharmoniques (voir Figure 12), car une liaison n'est pas parfaitement élastique.

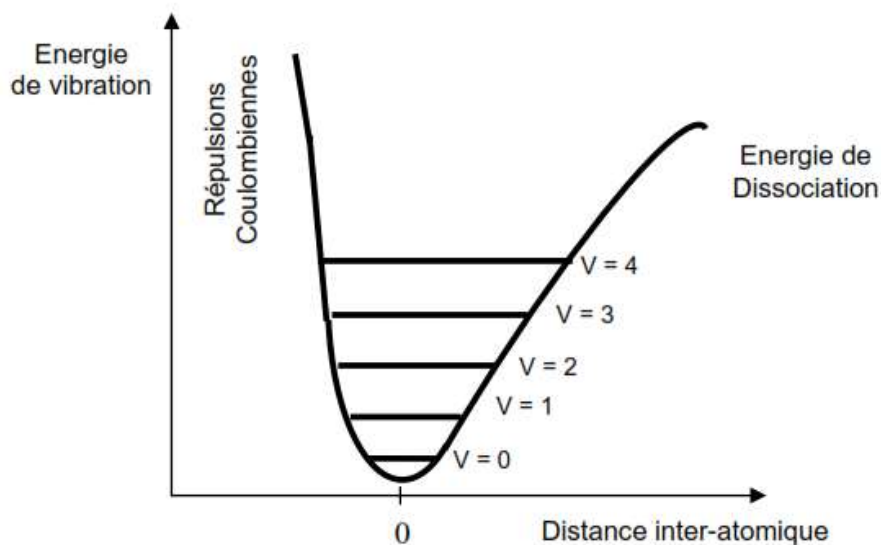


Figure 13: Potentiel anharmonique et niveaux d'énergie [176].

Si une liaison oscille à la même fréquence que la composante électrique de l'onde lumineuse IR, celle-ci pourra transmettre son énergie à la liaison. Plus précisément, un rayonnement de fréquence donnée pourra être absorbé ce qui conduira à l'état excité, caractérisé par une amplitude de vibration plus élevée. De ce fait, l'énergie du rayonnement IR se retrouve

diminuée après l'interaction, conduisant à l'apparition d'une bande d'absorption à cette fréquence. L'énergie absorbée (ν_0) est donc caractéristique de chacune des liaisons chimiques de la molécule analysée. Notons que s'il n'y a pas de dipôle permanent, c'est-à-dire si les charges électriques sont parfaitement symétriques, il n'y aura pas de couplage possible avec l'onde électromagnétique. Il n'y aura donc aucune absorption d'énergie. Les molécules non polaires sont « transparentes » dans l'IR, on parle de transition inactive. Une transition active possède donc nécessairement un dipôle dont le module fluctue avec la distance interatomique.

Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé. La fréquence de l'onde électromagnétique qui induit la vibration entre deux atomes A et B est donnée par la loi de Hook (Eq 19):

$$\nu(\text{Hz}) = \frac{1}{2\pi C} \sqrt{\frac{k_{AB}}{\mu_{AB}}} \quad (19) \quad \text{Avec} \quad \mu_{AB} = \frac{m_A m_B}{m_A + m_B} \quad (20)$$

Où ν est la fréquence de vibration (cm^{-1}), C est la vitesse de la lumière (cm/s), K_{AB} représente une constante de force de la liaison AB et μ_{AB} est la masse réduite du couple d'atome AB.

Le spectre IR ainsi obtenu est alors exploité pour déterminer les différents groupements fonctionnels et liaisons interatomiques présents dans l'échantillon analysé. La position des bandes d'absorption sur le spectre va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau. L'étude des spectres permet de tirer deux types d'informations :

✓ **informations qualitatives** : les liaisons chimiques absorbent à une longueur d'onde caractéristique. Des tables IR permettent d'attribuer les absorptions aux différents groupes chimiques en présence et donc d'identifier la ou les molécules présentes.

✓ **informations quantitatives** : l'intensité de la bande d'absorption rend compte de la concentration du groupe chimique caractéristique de cette absorption (loi de Beer-Lambert).

Dans le cadre de ce travail, la spectroscopie infrarouge a été réalisée au Laboratoire de Chimie Analytique de l'Université de Yaoundé I. Nous avons utilisé à cet effet un spectrophotomètre IRTF de marque Alpha de la firme Bruker Alpha-P, opérant en mode transmission dans la gamme spectrale comprise entre 400 cm^{-1} et 4000 cm^{-1} avec une résolution

de 4 cm⁻¹. Avant toute analyse, une pincée de l'échantillon à analyser est broyée longuement dans un excès de KBr jusqu'à obtention d'un mélange homogène. La pastille utilisée pour l'analyse est ensuite préparée à partir de cette poudre en utilisant une presse manuelle.

II.3.3 Analyse Thermogravimétrique (ATG)

II.3.3.1 Définition

L'analyse thermogravimétrique est une technique d'analyse thermique qui consiste en la mesure de la variation de masse d'un échantillon en fonction du temps, pour une température ou un profil de température donné [178]. Elle permet ainsi d'identifier au sein d'un matériau des processus susceptibles d'affecter sa masse. Il s'agit entre autres de la déshydratation, la déshydroxylation, l'oxydation, etc...

II.3.3.2 Principe

L'ATG est définie par la propriété d'un échantillon de répondre à certains phénomènes physiques, chimiques ou physico-chimiques par des variations de masse lorsque cet échantillon est soumis à un changement de température avec une vitesse constante [178]. Il s'agit donc d'une analyse quantitative qui consiste dans son principe à suivre l'évolution du poids d'un échantillon soumis à un programme de température (dynamique ou isotherme) et maintenu sous une atmosphère donnée (oxydante, inerte, hydratante...). Cette technique est principalement utilisée dans l'étude de la dégradation des matériaux.

De façon pratique, le dispositif expérimental est constitué d'un porte échantillon, d'un four et d'une thermo-balance. L'ensemble est connecté à un système d'acquisition automatique de données. Pour réaliser les mesures, les échantillons sont placés dans le porte échantillon et l'ensemble est placé à l'intérieur du four sur le portoir de la thermo-balance. Une fois les conditions expérimentales définies, le four est chauffé et le système automatique d'acquisition de données enregistre la masse de l'échantillon en fonction de la température. En dehors de la vitesse de chauffe qui est généralement réglée, on contrôle aussi le plus souvent l'atmosphère du four pour éviter les dégradations oxydatives.

Les courbes d'analyse thermogravimétrique sont souvent reportées avec leurs dérivées pour faciliter l'exploitation des résultats. Les courbes dérivée présentent l'avantage d'avoir une

meilleure résolution et permet d'obtenir avec plus de précision les températures de début et de fin des pertes de masses [179].

Les analyses thermogravimétriques effectuées dans ce travail ont été enregistrés à l'Université de Freiburg en Allemagne sur un appareil de marque TA Instruments Netzsch. Dans chaque cas, on a utilisé environ 10 mg de matériau et les analyses ont été faites entre 50 °C et 800 °C sous atmosphère d'azote à une vitesse de 10 °C min⁻¹.

II.3.4 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

II.3.4.1 Bref historique

La Microscopie Electronique à Balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy en anglais) est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon [113]. Elle permet d'observer la topographie des surfaces, apportant des informations sur la structure et la texture d'un échantillon mais aussi sur la taille et la forme des grains élémentaires ou agglomérats selon le grossissement choisi.

La conception du microscope électronique à balayage date de 1929 (par Stintzing) et la première réalisation de 1938 (par Von Ardenne) [180]. Il a fallu attendre le début des années 1960 pour voir la première commercialisation mais depuis, la technique s'est considérablement développée grâce aux progrès réalisés dans les domaines de l'électronique et le MEB est maintenant considéré comme un outil standard d'imagerie.

II.3.4.2 Principe de fonctionnement

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images de surface de pratiquement tous les matériaux solides, à des échelles allant de celle de la loupe (x10) à celle du microscope électronique en transmission (x500.000 ou plus). Son principe est basé sur le bombardement de l'échantillon à analyser par un faisceau d'électrons accélérés. A la suite de ce bombardement, l'échantillon émet des électrons rétrodiffusés, des électrons secondaires, des rayons x et des rayonnements visibles. Différents détecteurs placés dans la chambre de l'échantillon captent les signaux ainsi émis et les transmettent à un écran. La détection étant synchronisée avec le faisceau incident, l'écran génère une image traduisant la morphologie du matériau analysé. Ce processus est réalisé en chaque point de l'échantillon par un balayage du

microscope. L'ensemble des signaux permet de reconstruire la typographie de l'échantillon et de fournir une image en relief. Parmi les faisceaux émis à la suite du bombardement de l'échantillon, les électrons rétrodiffusés et les électrons secondaires sont les plus exploités en microscopie électronique à balayage [179].

Le MEB conventionnel fonctionne dans un vide ordinaire (10^{-5} à 10^{-6} mbar); les échantillons peuvent être massifs, de dimension allant de quelques $1\mu\text{m}$ (particules) à une dizaine de cm de diamètre, voire plus (prélèvements industriels). Ils doivent supporter le vide sans le polluer et être conducteurs [181].

Le MEB à pression contrôlée (dit environnemental ou low vacuum) permet l'observation dans un vide allant jusqu'à 30 mbar, rendant ainsi possible l'examen d'échantillons humides ou gras (échantillons biologiques), d'isolants sans métallisation préalable (céramiques, métaux corrodés), voire en présence de liquide. Equipé de détecteurs appropriés, le MEB permet de faire entre autres de la microanalyse X et l'analyse élémentaire locale [181].

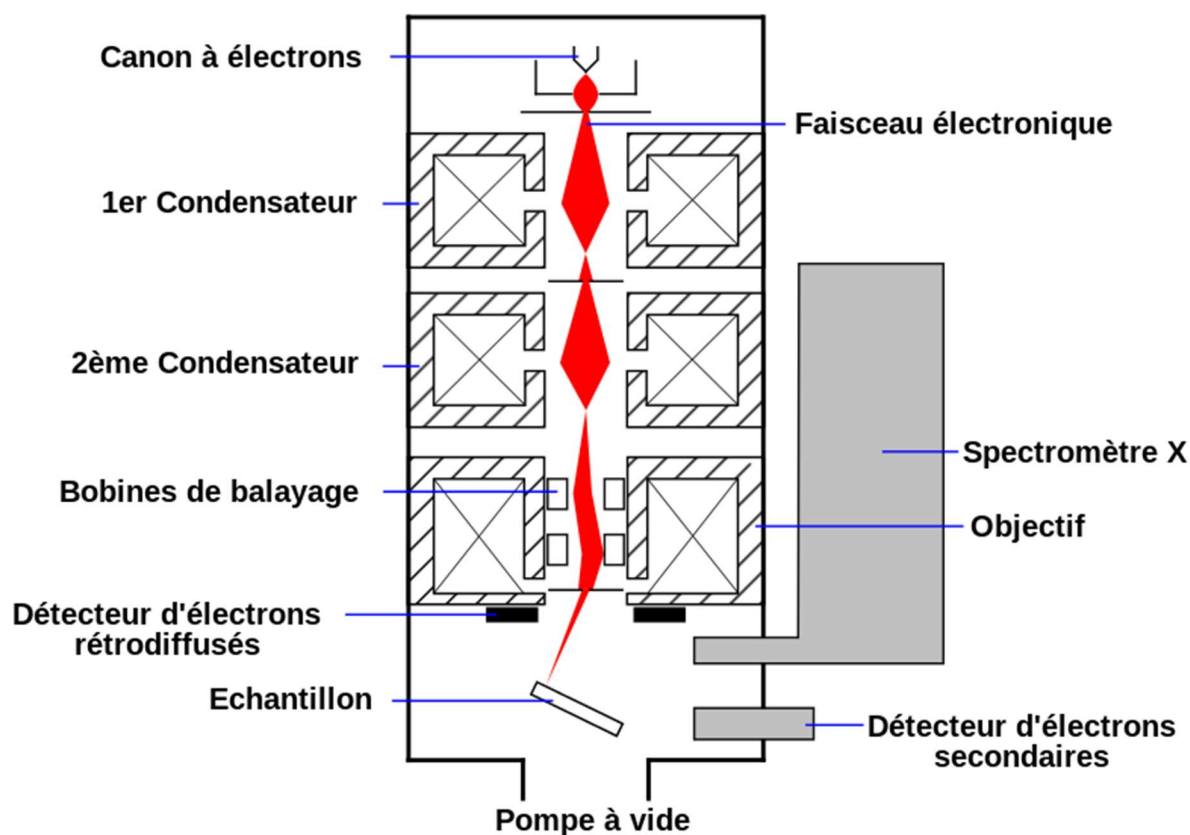


Figure 14 : Schéma du principe du microscope électronique à balayage.

Il faut noter que le microscope électronique à balayage n'est pas proprement dit un microscope conventionnel dans le sens optique du terme. En effet, il n'y a pas formation d'une image par une lentille objective comme le cas de la microscopie optique et de la microscopie électronique en transmission. Ici, l'image est formée de manière séquentielle en balayant la surface de l'échantillon et en recueillant les particules émises. Suivant le type de particules détectées, le microscope électronique à balayage fournit des images différentes dont les informations peuvent être complémentaires. La Figure 13 décrit le principe de fonctionnement général du microscope électronique à balayage, avec les différents éléments de l'appareil.

Les observations par microscopie électronique à balayage effectués dans le cadre de ce travail ont été effectuées à l'Université de Freiburg en Allemagne sur un appareil de marque Amray 1610 Turbo. Avant l'analyse, les échantillons ont été déposés sur une languette conductrice, pressée sur un porte-échantillon et enduits d'or sous vide.

II.4 Elaboration des capteurs ampérométriques utilisés

Les analyses électrochimiques réalisées dans cette thèse ont été effectuées avec un capteur ampérométrique. Le paragraphe suivant décrit comment nous avons élaboré ce capteur.

II.4.1 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé dans ce travail pour les analyses électrochimiques est constitué d'un potentiostat μ -autolab piloté par un ordinateur muni du logiciel GPES (General Purpose Electrochemical System). Le montage classique à trois électrodes est utilisé, il comprend : une électrode de travail, une électrode de référence et une électrode auxiliaire.

L'électrode de travail est appelé électrode indicatrice. C'est à sa surface que se produit la réaction d'oxydation ou de réduction de l'analyte suite à la variation de potentiel. L'électrode de travail utilisée dans ce travail est une électrode de carbone vitreux. Selon le besoin sa surface sera modifiée par l'hydroxyapatite naturelle (NHAP_{P0.5}), l'hydroxyapatite naturelle fonctionnalisée (NHAP_{P0.5}-CA- β -CD) ou le polymère de β -cyclodextrine (CA- β -CD).

L'électrode de référence est une électrode dont le potentiel est remarquablement stable même lorsqu'elle débite de faibles courants. Comme son nom l'indique, elle sert de référence au potentiostat afin d'appliquer une différence de potentiel exacte entre elle et l'électrode de travail, et ainsi de faire varier de façon exacte et connue le potentiel appliqué à l'électrode de

travail. Dans ce travail nous avons utilisé une électrode de référence d'argent (Ag/AgCl/KCl 3M).

L'électrode auxiliaire ou contre électrode a pour rôle d'assurer le passage du courant engendré par les réactions redox qui ont lieu à l'électrode de travail. Elle est choisie de telle sorte que ses propriétés électrochimiques n'affectent pas le comportement de l'électrode de travail. Les travaux de cette thèse ont été effectués en utilisant une électrode auxiliaire en platine.

Dans la pratique, ces trois électrodes plongent dans une cellule en verre, et l'ensemble est relié à un potentiostat (voir Figure 15) qui a pour rôle de faire varier le potentiel imposé à l'électrode de travail dans un domaine de potentiel convenablement choisi.

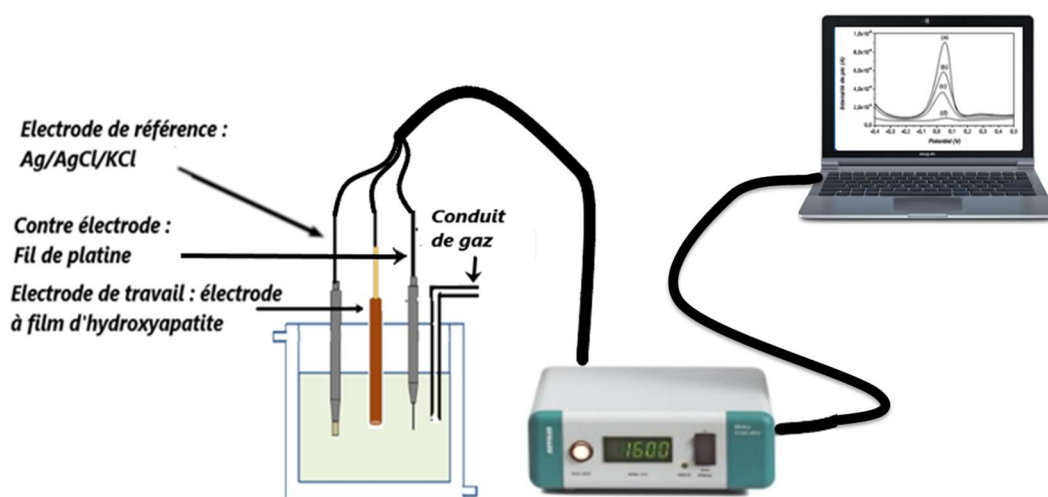


Figure 15 : Dispositif expérimental utilisé pour les analyses électrochimiques.

De façon pratique, le potentiostat permet de réguler la tension entre l'électrode de travail et la contre électrode de manière à maintenir constante la différence de potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence [182]. L'ensemble électrodes et potentiostat est relié à un ordinateur. Une fois le choix de la méthode d'analyse et des paramètres d'enregistrement renseignés, les expérimentations sont faites et les données résultantes sont collectées par le potentiostat, transmises à l'ordinateur qui les traite à l'aide du logiciel GPES et donne le résultat sur un écran sous la forme de courbe intensité-potential facile à exploiter.

II.4.2 Préparation et modification de l'électrode de travail

L'électrode de carbone vitreux en raison de ses bonnes propriétés (faible porosité, large fenêtre d'électroactivité, bonne stabilité thermique) est l'électrode de travail que nous avons

utilisée. Avant toute utilisation, cette électrode est d'abord soigneusement nettoyée. A cet effet, elle est dans un premier temps polie sur un tapis imprégné par une suspension aqueuse d'alumine dont le diamètre des particules est de $1\ \mu\text{m}$. Elle est ensuite rincée à l'eau déionisée, puis polie à nouveau sur un tapis imprégné par une suspension aqueuse d'alumine dont le diamètre des particules est de $0,3\ \mu\text{m}$. Elle est enfin rincée abondamment avec un jet d'eau déionisée pour enlever toutes les particules résiduelles d'alumine.

La modification de l'électrode de carbone vitreux consiste à disposer à sa surface une suspension de chaque matériau (hydroxyapatite naturelle imprégnée, polymère de β -cyclodextrine, hybride hydroxyapatite naturelle imprégnée et β -cyclodextrine). La préparation de la suspension consiste à disperser pendant 30 minutes sur un agitateur magnétique 2 mg de matériau dans 1 ml d'eau désionisée.

Le dépôt de la suspension de matériau à la surface du CV s'est fait par la technique de « *drop coating* ». De manière pratique, l'électrode de carbone vitreux est modifiée par dépôt de $10\ \mu\text{L}$ de suspension à sa surface. Après cela, l'électrode à film obtenue est séchée à l'air libre pendant deux heures de temps avant d'être utilisée. La Figure 16 illustre le protocole de nettoyage et de modification employé.

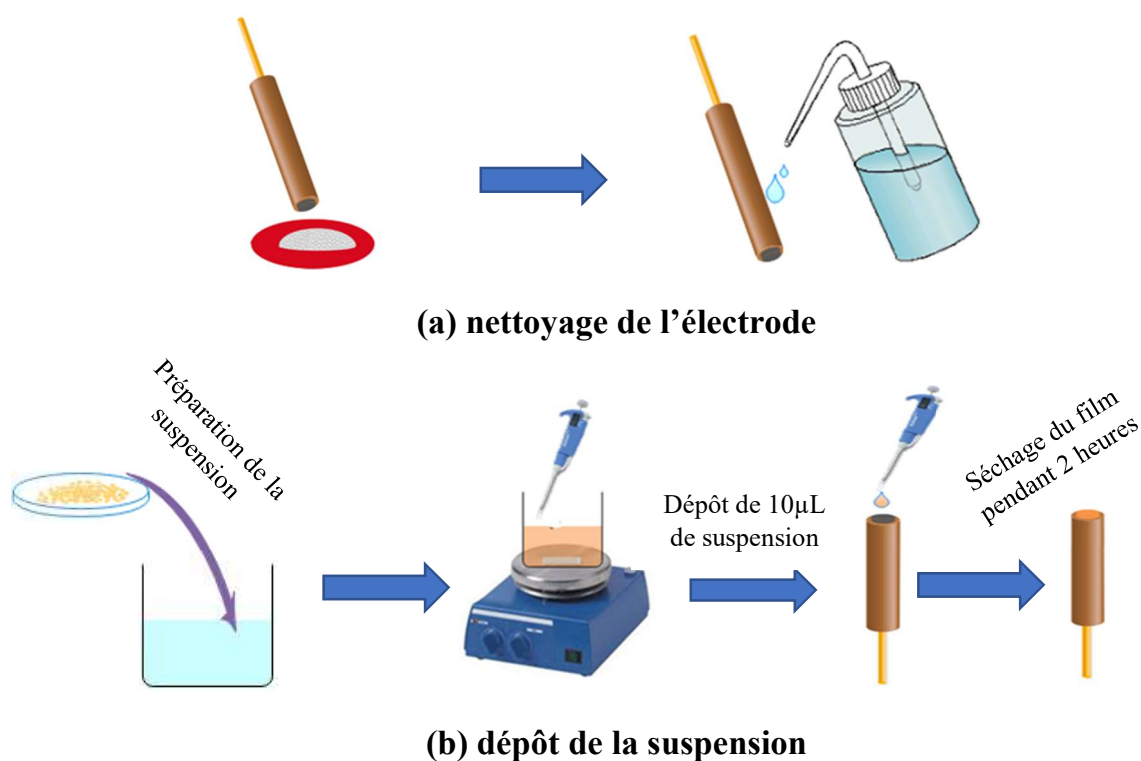


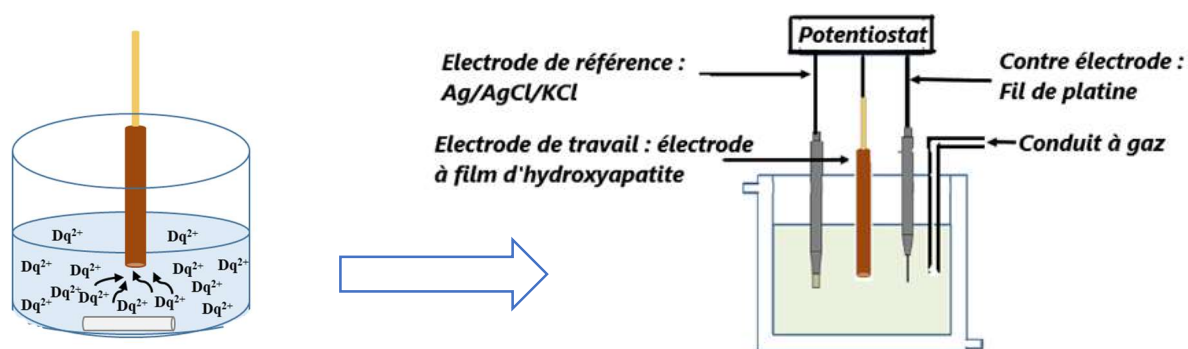
Figure 16 : Schéma du protocole de nettoyage (a) et de modification (b) de l'électrode de travail.

Les électrodes modifiées ainsi élaborées ont servi dans un premier temps à caractériser la surface des différents matériaux élaborés (hydroxyapatite naturelle imprégnée, polymère de β -cyclodextrine et hydroxyapatite naturelle imprégnée puis fonctionnalisée) par étude du comportement électrochimique des ions hexacyanatoferate(III) $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ et hexaamineruthénium(III) $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, et dans un second temps à la détection et à l'électroanalyse individuelle du diquat et du plomb(II).

II.4.3 Protocole d'analyse électrochimique

Les analyses électrochimiques effectuées dans ce travail ont été réalisées suivant deux protocoles dépendant de la technique d'analyse utilisée. Ainsi pour les expériences réalisées en voltammétrie cyclique comme les caractérisations électrochimiques, nous avons effectué une accumulation et une détection dans le même milieu d'analyse. À cet effet, l'analyte est introduit dans le milieu de détection avec le sel de fond et les analyses sont effectuées.

En ce qui concerne les expériences réalisées en voltammétrie différentielle impulsionnelle et en voltammétrie différentielle impulsionnelle en mode de redissolution anodique, le milieu d'accumulation est séparé du milieu de détection comme l'illustre la Figure 17.



Etape 1 : accumulation des ions DQ^{2+} sur l'électrode à film

Étapes 2 et 3 : détection électrochimique en milieu KCl puis désorption dans ce même milieu.

Figure 17 : Protocole expérimental de détection électrochimique du diquat sur électrode à film d'hydroxyapatite naturelle fonctionnalisée.

Plus précisément, le protocole de détection électrochimique s'articule autour de trois phases : **la phase d'accumulation** à circuit ouvert où l'analyte est pré-concentré à la surface de l'électrode de travail dans un milieu aqueux souillé, **la phase de détection** proprement dite et **la phase de désorption** qui permet de régénérer la surface de l'électrode de travail. Il est important de noter que la phase d'accumulation est réalisée dans un milieu différent du milieu

de détection. Aussi, après l'étape d'accumulation, l'électrode est rincée dans de l'eau déionisée avant d'être introduite dans le milieu de détection. Toutefois, dans le cas particulier de l'électroanalyse du diquat, nous avons noté lors des études préliminaires que l'oxygène se réduit au voisinage de - 0,45 V. Cela est successible d'influencer le signal électrochimique du diquat. Pour éviter cette perturbation, un barbotage d'azote est toujours effectué pendant 10 minutes dans l'électrolyte support avant la manipulation pour chasser l'oxygène dissout dans ce milieu.

II.5 Techniques électrochimiques utilisées

Dans ce travail, trois techniques électrochimiques ont été utilisées : la voltammétrie cyclique (CV), la voltammétrie différentielle impulsionnelle (VID) et la voltammétrie différentielle impulsionnelle en mode de redissolution anodique.

II.5.1 Voltammétrie cyclique (VC)

La voltammétrie cyclique est l'une des plus importantes techniques d'électroanalyse et l'une des plus largement utilisées. Sa force réside dans sa simplicité de mise en œuvre et la richesse des informations qu'elle permet de collecter lors de l'étude des processus rédox. En effet, elle est utilisée lorsqu'on étudie le comportement des espèces en solution (système rapide, réversible, nombre d'électrons échangés...) et lorsqu'on veut avoir des renseignements tant sur les processus qui ont lieu à la surface de l'électrode (adsorption, diffusion, passivation...) [168, 183].

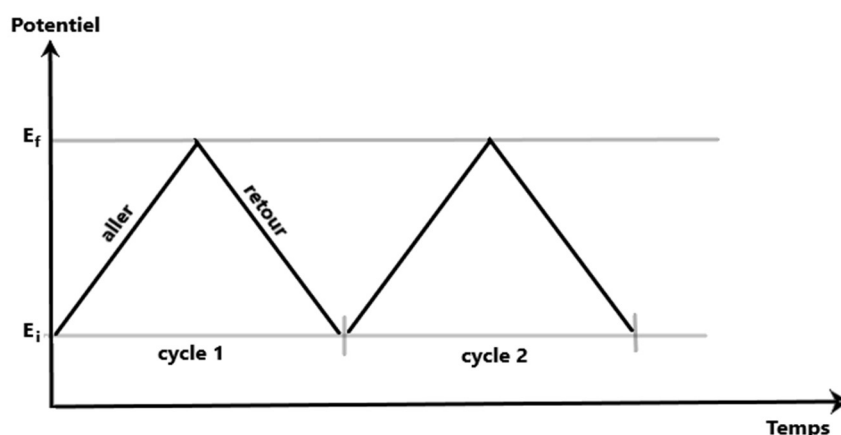


Figure 18 : Evolution du potentiel en fonction du temps en voltammétrie cyclique, pour deux cycles.

C'est une méthode électrochimique basée sur la mesure du courant en fonction du potentiel appliqué à l'électrode de travail. Elle est considérée comme la plus universelle des

méthodes électrochimiques, pouvant servir à la fois comme méthode d'élucidation de mécanismes de réactions ou comme technique analytique. Le principe de la technique consiste à faire varier linéairement avec le temps, le potentiel de l'électrode de travail entre deux limites: le potentiel initial E_i et le potentiel final E_f , par un balayage aller-retour et de mesurer le courant qui en résulte (voir Figure 18). Le balayage du potentiel se fait dans un sens puis dans l'autre, définissant ainsi un cycle de mesure.

Le voltammogramme obtenu (courbe intensité-potential) est caractérisé par plusieurs paramètres. Il donne un certain nombre d'informations sur le système étudié, par exemple le potentiel de demi-vague ($E_{1/2}$) nous renseigne sur la nature de l'espèce électroactive, et le courant de diffusion quant à lui nous renseigne sur la concentration et le nombre d'électrons échangés. Dans le cas d'un système réversible ou le balayage se fait dans une solution électrolytique contenant une espèce chimique réductrice Red appartenant à un couple redox Ox/Red, on obtient le voltammogramme typique représenté sur la Figure 19.

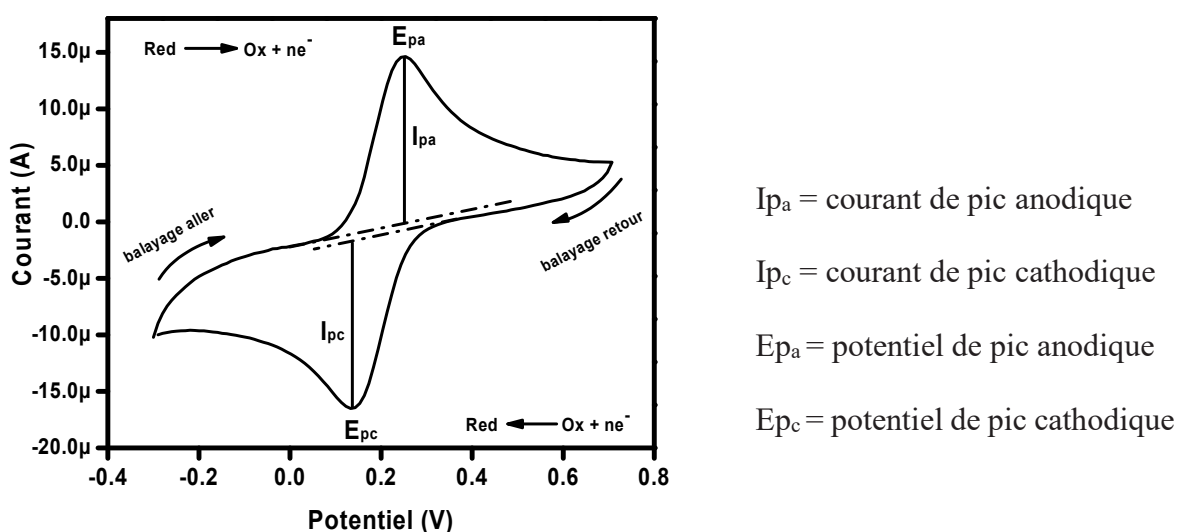


Figure 19 : Voltammogramme obtenu dans le cas d'un système réversible idéal.

Au balayage aller, on assiste à l'oxydation de Red conduisant à la formation de Ox et faisant apparaître un courant de pic d'oxydation I_{pa} . Lors du balayage retour, la réduction de Ox en Red fait apparaître un courant de pic de réduction I_{pc} . Le voltampérogramme obtenu permet aussi d'avoir les potentiels de pics anodique et cathodique (E_{pa} et E_{pc}) [168].

Dans le cas d'un système réversible, les courants de pic I_{pa} et I_{pc} sont identiques et proportionnels à la concentration en espèce électroactive. Ils augmentent avec la racine carrée

de la vitesse de balayage comme le montrent les équations 21 et 22 connues sous le nom d'équation de Randles-Sevich [183]:

$$I_p = 0,4463 \frac{(nF)^{3/2}}{(RT)^{1/2}} SD^{1/2} v^{1/2} C \quad (21)$$

Soit à 25 °C $I_p = (2,69.10^5) n^{3/2} SD^{1/2} v^{1/2} C \quad (22)$

Avec F : la constante de Faraday (96500 C mol⁻¹)

n : le nombre d'électrons échangés

R : la constante des gaz parfaits (8,31 J K⁻¹mol⁻¹)

K : la température en Kelvin (K)

S : la surface active de l'électrode (cm²)

D : le coefficient de diffusion de l'espèce qui arrive à l'électrode (cm² s⁻¹)

C : la concentration de l'espèce considérée (mol cm⁻³)

v : la vitesse de balayage (V s⁻¹)

I_p: la valeur du courant au niveau du pic (A)

II.5.2 Voltammétrie Impulsionnelle Différentielle (VID)

Dans le but d'améliorer la sensibilité et la sélectivité des méthodes voltammétriques, les techniques impulsionnelles ont été développées dans les années 60 par Barker et Gardner [184]. L'approche utilisée dans ces techniques consiste à appliquer des impulsions de potentiel à l'électrode de travail, et de mesurer le courant à des instants précis de l'impulsion.

L'une des techniques impulsionnelles développées est la voltammétrie impulsionnelle différentielle (VID). Elle a été utilisée dans ce travail pour l'électroanalyse du diquat. Elle consiste à superposer des impulsions d'amplitude constante à une tension continue qui varie linéairement avec le temps. L'amplitude de l'impulsion E_{pulse} est en général grande (de l'ordre de 10 à 50 mV) devant l'incrément de potentiel ΔE et sa durée est courte (de l'ordre de 20 à 100 ms) devant la durée du palier de potentiel [185]. Le courant est mesuré juste avant et juste à la fin de chaque impulsion. Il comporte, outre la composante faradique continue, une composante capacitive qui diminue rapidement et une composante faradique due à l'impulsion. La mesure du courant est réalisée deux fois: une première fois avant que l'impulsion ne soit donnée, c'est-à-dire avant que tout courant qui n'est pas dû à l'impulsion est mesuré et mis en mémoire; une deuxième fois à la fin de l'impulsion, afin que le courant capacitif dû à

l'impulsion ait le temps de s'annuler. Le voltammogramme est construit en portant la différence $I = I_2 - I_1$, des courants échantillonnés à la fin de l'impulsion I_2 et juste avant l'impulsion I_1 en fonction du potentiel E de la marche de l'escalier de potentiel, d'où le nom de voltammétrie différentielle. La Figure 20 présente la séquence de potentiel utilisée.

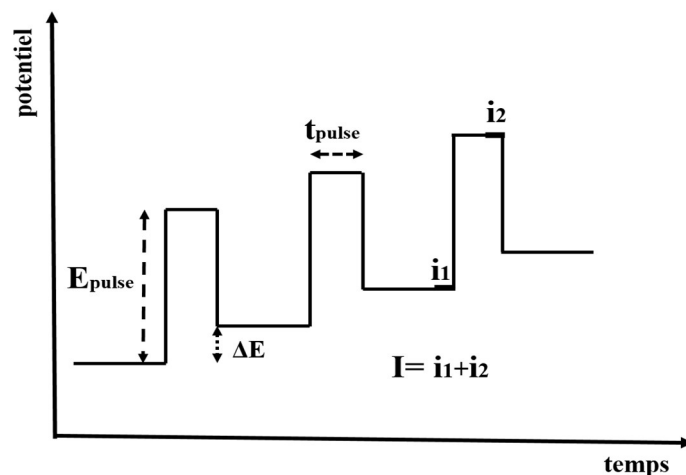


Figure 20 : Séquence de balayage de potentiel utilisée en VID [185].

Le signal d'oxydation de la courbe intensité-potentiel obtenue a l'allure d'une gaussienne comme le montre la Figure 21. L'intensité de courant du pic est directement proportionnelle à la concentration de l'analyte en solution et le potentiel de pic E_{pic} est proche du $E_{1/2}$ obtenu en voltammétrie cyclique. La largeur du pic à mi-hauteur est d'autant plus faible que le système est réversible.

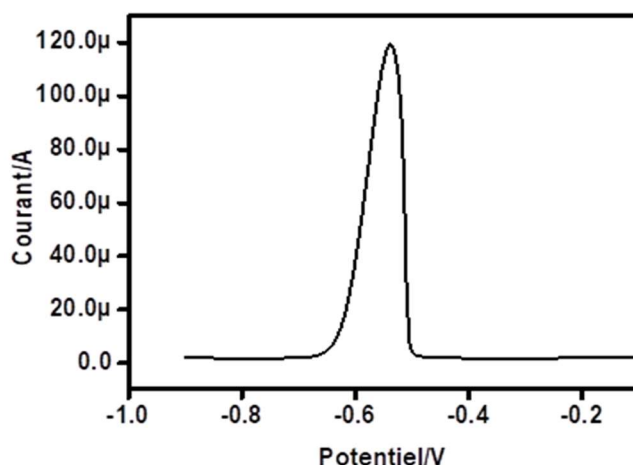


Figure 21 : Réponse en courant typique d'un voltammogramme à impulsion différentielle.

Cette technique, de par son aspect différentiel, a pour avantage de supprimer une partie du courant résiduel ce qui permet d'augmenter le ratio signal / bruit et donc la sensibilité. De

plus, dans le cas de signaux de faible intensité, il est plus facile d'identifier un pic plutôt qu'une vague et également de différencier deux pics successifs plutôt que deux vagues. L'inconvénient majeur de la technique est la vitesse de balayage qui se doit d'être faible (l'ordre de 1 à 20 mV/s) [185].

II.5.3 Voltammétrie impulsionnelle différentielle en mode de redissolution anodique (VID/RA)

La voltammétrie impulsionnelle différentielle en mode de redissolution anodique est la technique électrochimique utilisée pour l'électroanalyse des traces de plomb(II) dans ce travail. Il s'agit d'une technique extrêmement sensible couramment utilisée pour l'électroanalyse des cations métalliques dissouts en solution même à l'état de traces [186]. Elle s'articule autour de deux étapes principales : la préconcentration et la redissolution.

Dans l'étape de **préconcentration**, l'électrode de travail est maintenue à un potentiel suffisamment négatif (potentiel de dépôt) pour réduire électrochimiquement et concentrer les ions métalliques (Pb^{2+}) en solution (libres ou complexés) à la surface de l'électrode de travail.

L'étape de **détection par redissolution** quant à elle est réalisée par un balayage de potentiel des valeurs négatives vers les plus positives. Les ions métal Pb^{2+} précédemment accumulés sont alors réoxydés lorsque le balayage atteint son potentiel d'oxydoréduction et les cations métalliques résultant sont redissouts loin de l'électrode de travail. Le courant généré lors de cette réoxydation est échantillonné et utilisé pour la quantification du cation métallique en solution. Les deux étapes d'accumulation et de redissolution peuvent être résumées par la Figure 22.

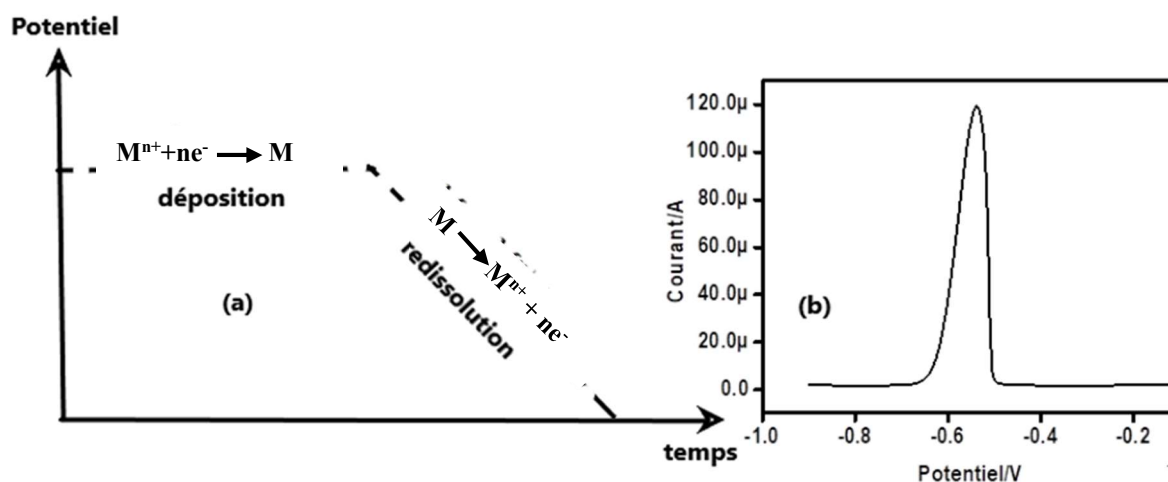


Figure 22 : (a) Différentes étapes de la voltammétrie impulsionnelle différentielle en mode de redissolution anodique, (b) allure du voltammogramme obtenu.

II.6 Conclusion

Dans ce chapitre, les réactifs chimiques utilisés ainsi que la procédure d'obtention de l'hydroxyapatite ont été présentées. La méthode de de synthèse du matériau hybride a été décrite de façon explicite. Les différentes techniques physico-chimiques utilisées pour la caractérisation des matériaux préparés ont été également décrites. La description des méthodes électrochimiques utilisées pour la caractérisation des matériaux d'une part et pour leurs applications en électroanalyse d'autre part a fait l'objet d'une attention particulière. La méthode de modification des électrodes classique a été également présentée. Ces électrodes modifiées seront exploitées dans le chapitre suivant pour la détection et l'électroanalyse du diquat et du plomb(II)

Chapitre III : Résultats et discussion

Ce chapitre est divisé en quatre parties principales. La première partie englobe et illustre tous les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques et électrochimiques réalisées sur les poudres d'hydroxyapatites brutes ou modifiées, élaborées à partir des os de bovins. Il s'agit de recueillir le maximum d'information sur leurs structures. La deuxième partie détaille les résultats des caractérisations électrochimiques obtenues à partir des capteurs à film élaborés avec les différents matériaux préparés. La troisième partie quant à elle, présente les résultats des analyses électrochimiques obtenues à partir des capteurs à film élaborés, puis appliqués à l'électroanalyse du diquat. La quatrième et dernière partie présente les résultats obtenus avec ces mêmes capteurs électrochimiques pour l'électroanalyse du plomb(II) en milieu aqueux.

III.1 Caractérisation physico-chimique de l'hydroxyapatite naturelle ou modifiée

Dans le souci de confirmer la structure du matériau naturel obtenu à partir des os de bovins et l'effectivité des modifications effectuées sur ce matériau d'autre part, des caractérisations physico-chimiques ont été effectuées en utilisant la diffractométrie de rayons X, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, l'analyse thermogravimétrique et la microscopie électronique à balayage.

III.1.1 Diffractogrammes de rayons X

La diffractométrie de rayons X est une technique qui permet de fournir des informations sur l'organisation structurale des matériaux cristallisés. Elle donne des informations sur la pureté, la cristallinité et les valeurs des paramètres cristallographiques. Cette méthode d'analyse a été utilisée pour caractériser les poudres d'hydroxyapatite naturelle brutes ou modifiées élaborées dans ce travail.

Plusieurs matériaux ont été préparés dans ce travail. Tout d'abord, nous avons l'hydroxyapatite naturelle (NHAP) obtenue après calcination des os de bovins à 700 °C. Ensuite on a l'hydroxyapatite naturelle imprégnée (NHAP_{P0,5}) obtenue toujours à partir des os de bovins mais après une pré-calcination (450 °C), un traitement chimique doux et une calcination (700 °C). Nous avons aussi le matériau fonctionnalisé (NHAP_{P0,5}-CA-β-CD) obtenu en greffant la β-CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle imprégnée. Enfin, le dernier matériau élaboré est le polymère de la bêta-cyclodextrine (CA-β-CD). Il a été obtenu en polymérisant la β-CD en présence de l'acide citrique et sans hydroxyapatite. La Figure 23 présente les diffractogrammes de rayons X de tous ces matériaux.

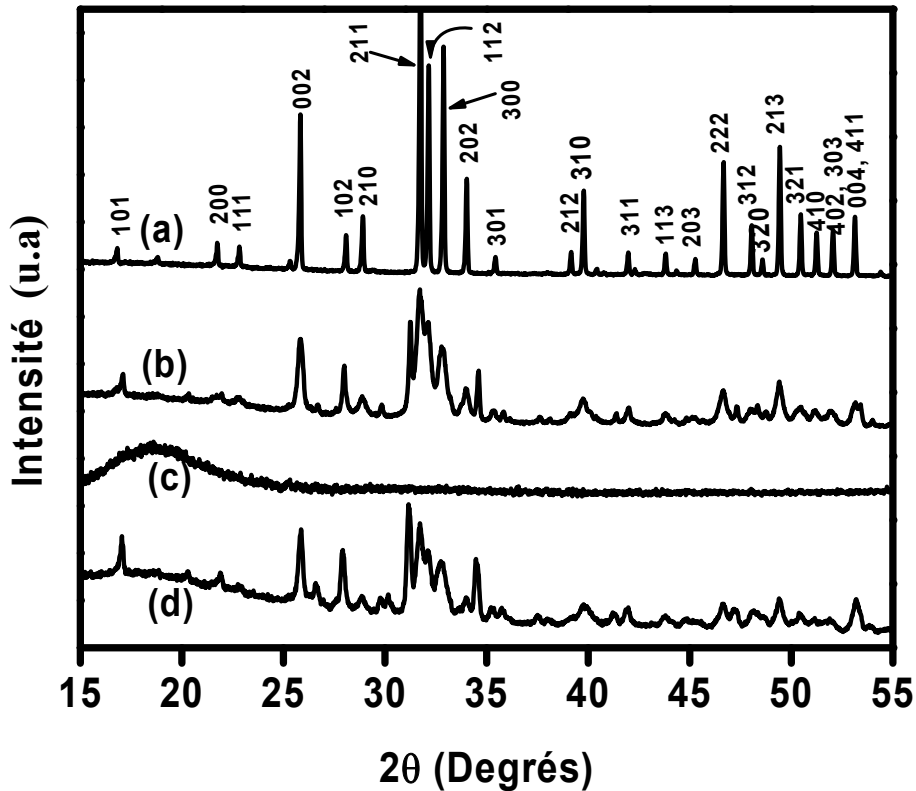


Figure 23 : Diffractogrammes de NHAP (a), NHAP_{P0,5} (b), CA-β-CD (c) et NHAP_{P0,5}-CA-β-CD (d)

On note à l'analyse de cette figure que les diffractogrammes des matériaux élaborés à partir de l'hydroxyapatite naturelle (NHAP, NHAP_{P0,5} et NHAP_{P0,5}-CA-β-CD) présentent tous les raies caractéristiques des hydroxyapatites à structure hexagonale [71]. On peut cependant remarquer que le matériau de départ (Fig. 23(a)) présente une bonne cristallinité traduite par des pics de diffraction bien définis et fins. Les principaux pics caractéristiques situés aux plans cristallographiques spécifiques (002), (102), (210), (211), (212), (300), (202), (310), (222) et (213) apparaissant respectivement à des valeurs d'angles 2θ égales à $25,80^\circ$, $28,08^\circ$, $28,92^\circ$, $31,70^\circ$, $32,16^\circ$, $32,90^\circ$, $34,04^\circ$, $40,00^\circ$, $46,70^\circ$, et $49,44^\circ$ ont été mis en correspondance avec le fichier de diffraction ICDD standard N°00-009-0432 des hydroxyapatites [71]. Ce qui suggère que le matériau naturel obtenu à partir des os de bovins est bien de l'hydroxyapatite cristallisée. On remarque que le traitement avec le phosphate d'ammonium dibasique a induit au sein du matériau une diminution de sa cristallinité (Fig. 23(b)) bien que les principales raies de diffraction restent visibles. Cependant, aucune phase secondaire telle que le phosphate tricalcique et l'oxyde de calcium n'a été observée, ce qui montre que le matériau imprégné est

pur. La taille moyenne des différentes particules obtenues a été estimée en utilisant l'équation de Scherrer (équation 23) [187]:

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (23)$$

θ représente l'angle de Bragg, β la largeur à mi-hauteur de la raie de diffraction en radian, λ la longueur d'onde du faisceau utilisé pour la mesure ($\lambda_{Cu} = 1,54056 \text{ \AA}$), et K la constante de Scherrer qui dépend de la forme des cristallites ($K = 0.9$).

Les valeurs trouvées pour NHAP, NHAP_{P0,5} et NHAP_{P0,5}-CA- β -CD sont 279,65, 36,61 et 99,22 nm respectivement. On note à l'analyse de ces données que le traitement au phosphate d'ammonium dibasique induit une réduction significative de la taille des cristaux. On pense que ce traitement provoque une réorganisation structurale du matériau, ce qui permet d'avoir un matériau moins dense constitué de particules plus dispersées. Lorsque le matériau imprégné est fonctionnalisé avec la β -CD, on observe une augmentation de la taille des particules. Cela est probablement dû au greffage de la β -CD qui en se polymérisant à la surface du matériau conduit forcément à une augmentation de la taille des particules qui le constituent. En comparant les diffractogrammes DRX de NHAP_{P0,5} et NHAP_{P0,5}-CA- β -CD (Fig.23 (b) et (d)), on peut constater que les diffractions caractéristiques de ces deux matériaux sont presque identiques, ce qui montre que les modifications effectuées à la surface du matériau imprégné n'ont pas affecté de manière significative les phases cristallines des particules d'hydroxyapatite naturelle. Comme on pouvait bien s'y attendre, le polymère de béta-cyclodextrine (CA- β -CD) présente une structure amorphe (Fig. 23 (c)), ce qui est cohérent avec les travaux précédents effectués par d'autres auteurs [188, 189].

III.1.2 Spectres infrarouges

La Figure 24 présente le spectre IR de l'hydroxyapatite naturelle (NHAP) superposé à ceux de l'hydroxyapatite naturelle imprégnée (NHAP_{P0,5}) et de l'hydroxyapatite naturelle imprégnée puis fonctionnalisée (NHAP_{P0,5}-CA- β -CD). Ces spectres ont été tous enregistrés dans les mêmes conditions (entre 400 et 4000 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1}).

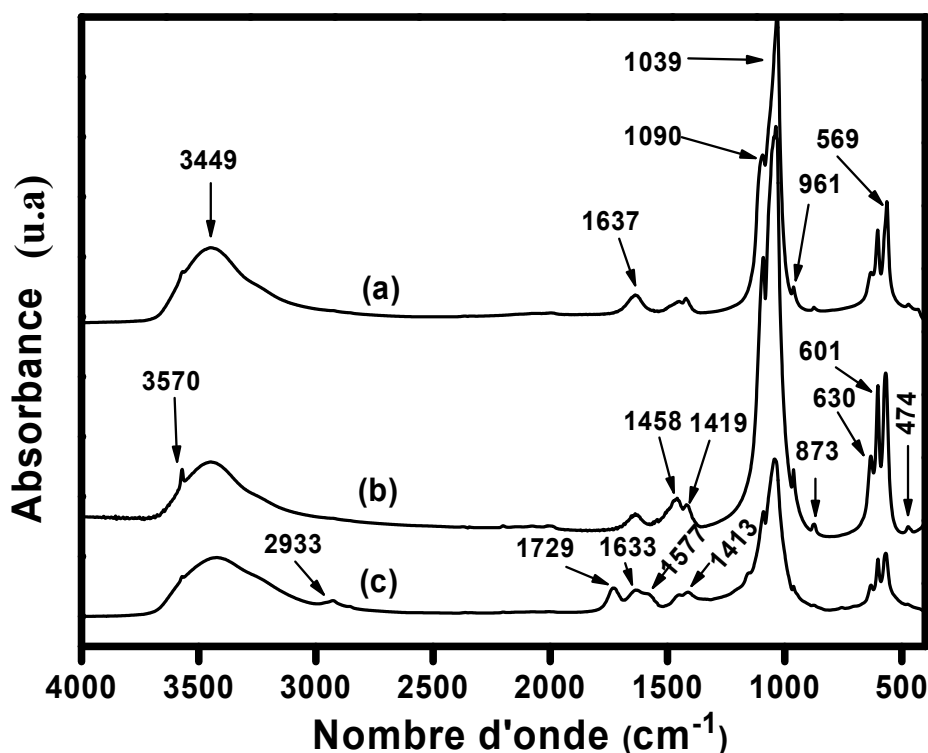


Figure 24 : Spectres infrarouges des matériaux (a) NHAP, (b) NHAP_{P0,5} et (c) NHAP_{P0,5}-CA-β-CD enregistrés entre 4000 et 400 cm⁻¹.

Il ressort de l'analyse de cette figure que tous ces matériaux présentent les pics fondamentaux caractéristiques des hydroxyapatites résumés dans le Tableau VII. Il s'agit entre autres des bandes de vibration d'élongation (3570 cm⁻¹) et de déformation (630 cm⁻¹) des groupements hydroxyles OH, des bandes de vibration des molécules d'eau adsorbées (large bande entre 3700 et 3000 cm⁻¹ et pic centré à 1637 cm⁻¹), des bandes de vibration des liaisons C-O des groupes carbonates CO₃²⁻ (doublet entre 1500 et 1350 cm⁻¹ et pic centré entre 900 et 850 cm⁻¹), des bandes de vibration associées aux groupements phosphates (élongations antisymétrique ν_3 entre 1120 et 1020 cm⁻¹, élongation symétrique ν_1 entre 965 et 960 cm⁻¹, déformation antisymétrique ν_4 entre 605 et 550 cm⁻¹, déformation asymétrique à 474 cm⁻¹).

On remarque que le matériau imprégné présente un spectre identique à celui obtenu pour le matériau brut. Ceci est la preuve que le traitement au phosphate d'ammonium dibasique n'affecte pas la structure du matériau comme mentionné lors de l'interprétation des données de la diffraction de rayons X. Lorsque nous comparons le spectre du matériau hybride avec ceux des matériaux non fonctionnalisés, on observe l'apparition des pics additionnels à 2933 cm⁻¹ et

1729 cm^{-1} qui sont respectivement attribués aux bandes de vibration des groupements C-H de la β -CD et C=O des esters formés pendant la polymérisation [189]. Cela montre clairement que le greffage de la β -CD à la surface de $\text{NHAP}_{\text{P}0,5}$ a été effectué avec succès.

Tableau VII : Bandes IR caractéristiques des hydroxyapatites [71].

Bandes IR (cm^{-1})	Intensité	Attribution
3700-3000	Moyenne	O-H, H_2O adsorbée
3570	Faible	O-H, des groupes $\text{Ca}(\text{OH})_2$
3580	Épaulement	O-H, vibration de valence symétrique des ions OH^- , ν_s
1500-1350	Faible	C-O des groupes CO_3 , ν_3
1120-1020	Forte	P-O élongation antisymétrique des ions PO_4^{3-} , ν_3
965-960	Moyenne	P-O élongation symétrique des ions PO_4^{3-} , ν_1
900-850	Faible	C-O des groupes CO_3 , ν_2
880-865	Faible	Elongation P-OH des groupes HPO_4
630	Épaulement	O-H mouvement de libration des ions O-H^- , ν_L
605-550	Forte	P-O ₄ déformation antisymétrique des ions PO_4^{3-} , ν_4
474	Faible	P-O ₄ déformation symétrique des ions PO_4^{3-} , ν_2

III.1.3 Thermogrammes

L'analyse thermogravimétrique est une méthode de caractérisation particulièrement pratique et utile pour la caractérisation des matériaux composites. Elle permet de suivre en fonction de la température la variation de la masse d'un matériau. Une étude comparative des données qu'on obtient permet de vérifier aisément l'effectivité des modifications réalisées sur le matériau.

La Figure 25 présente les thermogrammes ATG de l'hydroxyapatite imprégnée (Fig. 25 (a)), du matériau composite hydroxyapatite/ β -CD (Fig. 25 (b)) et du polymère de β -CD (Fig. 25 (c)) avec leurs premières dérivés. Sur le thermogramme de $\text{NHAP}_{\text{P}0,5}$, aucune perte significative de masse ni effet thermique n'a été observé dans la plage de températures étudiées (de 50 à 800 $^\circ\text{C}$), indiquant que toutes les traces de composés organiques (comme le collagène, les protéines, les polysaccharides et les lipides) ont été complètement éliminées des os pendant la calcination.

Le thermogramme du polymère de β -CD (Fig. 25 (c)) montre deux événements thermiques principaux. Une première perte de masse de 11% dans la plage de températures allant de 50 à 180°C correspondant à l'évaporation des molécules d'eau et de gaz liées au matériau. La deuxième perte de masse d'environ 55% apparaissant entre 200 et 500°C est due certainement à la combustion du polymère de β -CD comme le montrent les travaux antérieurs [188]. De plus, sur la courbe ATD de CA- β -CD on observe que cette combustion se produit en deux étapes marquées par la présence de deux pics centrés à 270 et 340°C. Ces deux événements thermiques sont certainement liés à la décomposition de l'acide citrique d'une part et de la β -cyclodextrine d'autre part [188]. Le thermogramme de NHAP_{P0.5}-CA- β -CD présente deux étapes distinctes de perte de masse. La première d'environ 8% survient en dessous de 200°C et est certainement due à l'évaporation de molécules d'eau ou de gaz résiduels adsorbés physiquement sur l'échantillon. La seconde perte de masse à hauteur de 28% observée dans la plage de températures allant de 200 à 500°C est attribuée à la décomposition thermique de la β -CD greffée sur l'hydroxyapatite naturelle imprégnée [188, 190]. Dans l'ensemble, les analyses thermiques confirment également le succès du greffage de la β -CD sur la surface de NHAP_{P0.5}.

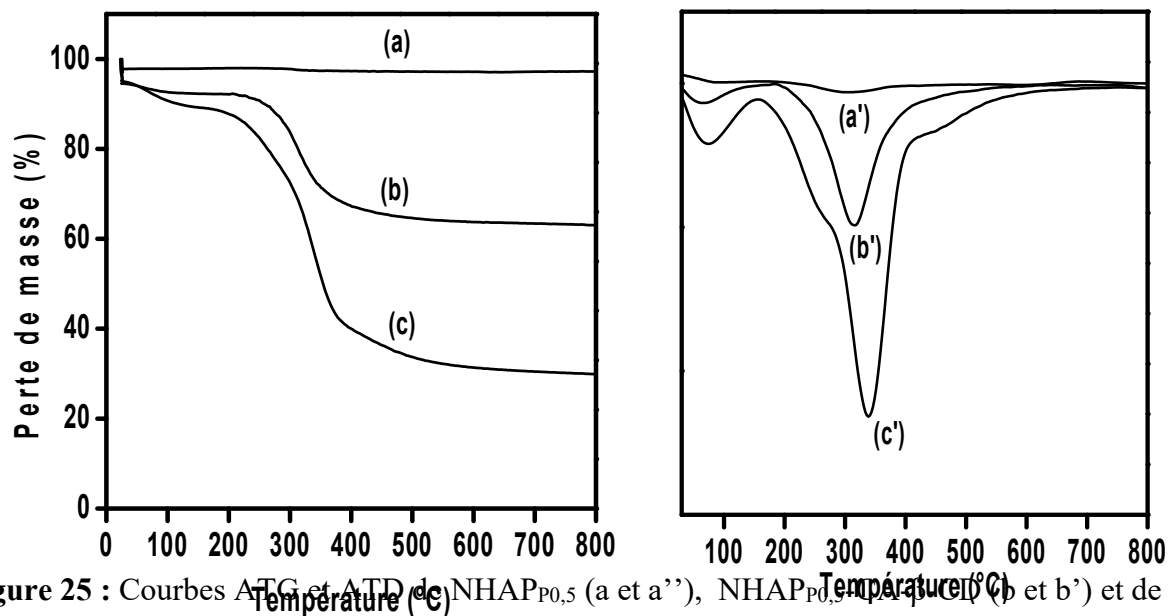


Figure 25 : Courbes ATG et ATD de NHAP_{P0.5} (a et a'), NHAP_{P0.5}-CA- β -CD (b et b') et de CA- β -CD (c et c').

III.1.4 Micrographes

L'étude morphologique des différents matériaux a également été réalisée par microscopie électronique à balayage (MEB). Les images obtenues sont présentées à la Figure 26. On note à l'observation de ces images que les particules d'hydroxyapatite naturelle brute ou imprégnée sont caractérisées par une forme irrégulière (Fig. 26 (a) et (b)). Leur morphologie présente un réseau poreux suite certainement à l'élimination des composés organiques (tels que le collagène, les protéines, les polysaccharides et les lipides) durant la calcination. Comme le montre la Figure 26 (c), le polymère de β -CD présente une structure amorphe. Ce qui est en accord avec les résultats précédemment obtenus avec la diffraction aux rayons X.

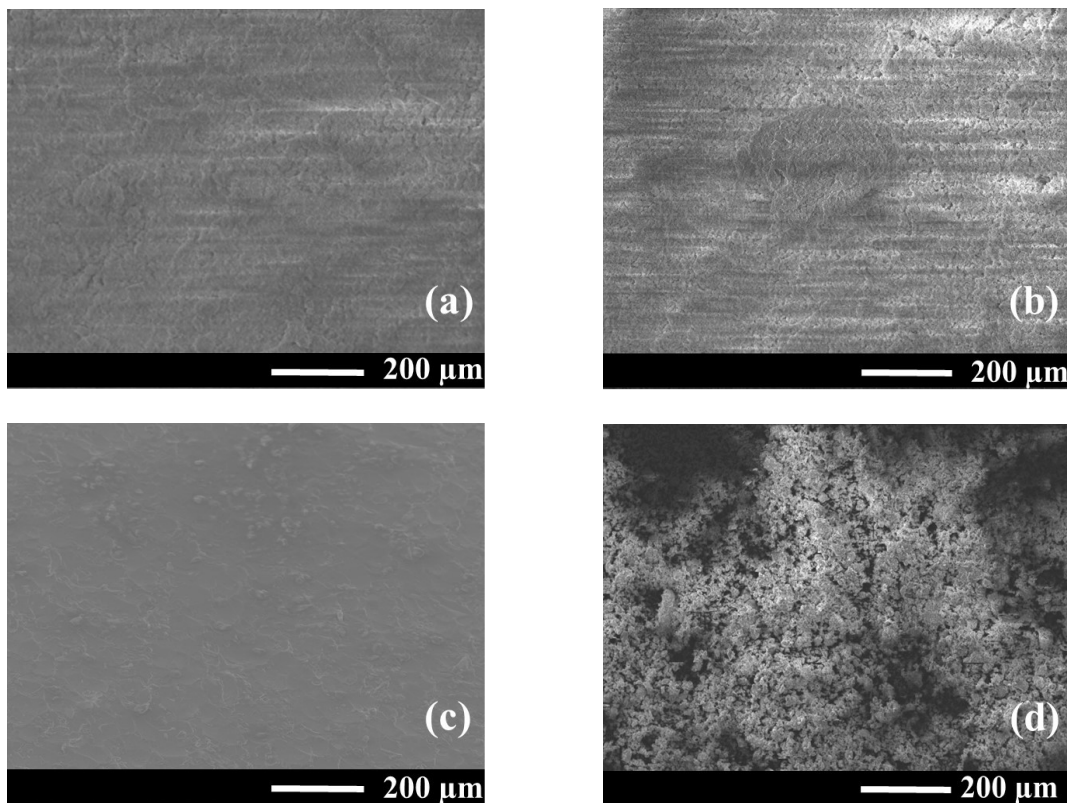


Figure 26 : Micrographes de NHAP (a), NHAP_{P0.5} (b), CA- β -CD (c), et de NHAP_{P0.5}- β -CD (d)

Lorsque l'hydroxyapatite naturelle est fonctionnalisée avec la β -CD (Figure 26 (d)), cela conduit à un matériau possédant des particules mieux dispersées. De nombreux micropores apparaissent également sur ce matériau, rendant ainsi plus disponibles les groupements fonctionnels de surface présents sur le matériau. Il s'agit entre autres des groupes hydroxyles et des groupements carboxylates libres de l'acide citrique n'ayant pas participé au processus de greffage.

III.1.5 Conclusion partielle

Au terme de cette partie qui portait sur la caractérisation physico-chimique des matériaux préparés, l'analyse des résultats obtenus permet de dégager plusieurs informations :

➤ La caractérisation DRX montre que le matériau naturel (NHAP) obtenu à partir des os de bovins est une hydroxyapatite pure cristallisée. Le traitement du matériau naturel avec le phosphate d'ammonium dibasique diminue sa cristallinité. Le greffage de la β -CD à la surface du matériau imprégné n'affecte pas de manière significative les phases cristallines présentes dans le matériau.

➤ Les analyses infra rouge et les événements thermiques observés lors des analyses thermiques ont montré clairement que le greffage de la β -CD à la surface de NHAP_{P0,5} a été effectué avec succès.

➤ Les images obtenues grâce à la MEB montrent que le matériau fonctionnalisé possède une structure plus poreuse, marquée par des particules mieux dispersées, ce qui rend plus disponibles les groupements fonctionnels de surface présents sur ce matériau

III.2 Caractérisation électrochimique de l'hydroxyapatite naturelle ou modifiée

Afin d'obtenir des informations précises sur la porosité et l'influence des groupes fonctionnels sur les matériaux obtenus, nous avons étudié le comportement à l'échange d'ions au moyen d'une électrode de carbone vitreux modifiée en utilisant la voltammétrie cyclique comme technique d'analyse. En effet, cette technique d'analyse permet aisément d'évaluer la perméabilité et les propriétés d'échange d'ions de films minces déposés à la surface des électrodes. En général, lorsque des interactions chimiques favorables se produisent entre le matériau modifiant de l'électrode et une sonde redox en solution, on observe une amélioration des réponses de courant.

De façon pratique, nous avons utilisé une électrode de carbone vitreux qui selon le besoin, a été modifiée en déposant par « **drop coating** » à sa surface 10 μ L de suspension de film de matériau à caractériser. Les analyses ont été réalisées en milieu KCl 0,1M. Les sondes électrochimiques utilisées sont entre autres : une sonde cationique (hexamine ruthénium(III)) et une sonde anionique (hexacyanatoferate(III)).

III.2.1 Caractérisation avec les ions hexacyanoferrate(III)

La Figure 27 présente le voltammogramme cyclique obtenu sur une électrode de carbone vitreux (CV) d'une solution d'ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ à la concentration de 10^{-3} M enregistré entre -0,3 et 0,7 V, à une vitesse de balayage de 100 mV/s. L'électrolyte support est une solution de KCl 0,1 M. L'examen de cette figure indique que le signal obtenu est caractérisé par un potentiel de demi-pic $E_{1/2} = 0,120$ V, une différence des potentiels de pic ΔE_p égale à 80 mV et un rapport de courants de pics $I_{pa}/I_{pc} = 1,03$, ce qui suggère une transformation mono électronique, rapide et réversible traduite par l'équation 24 :

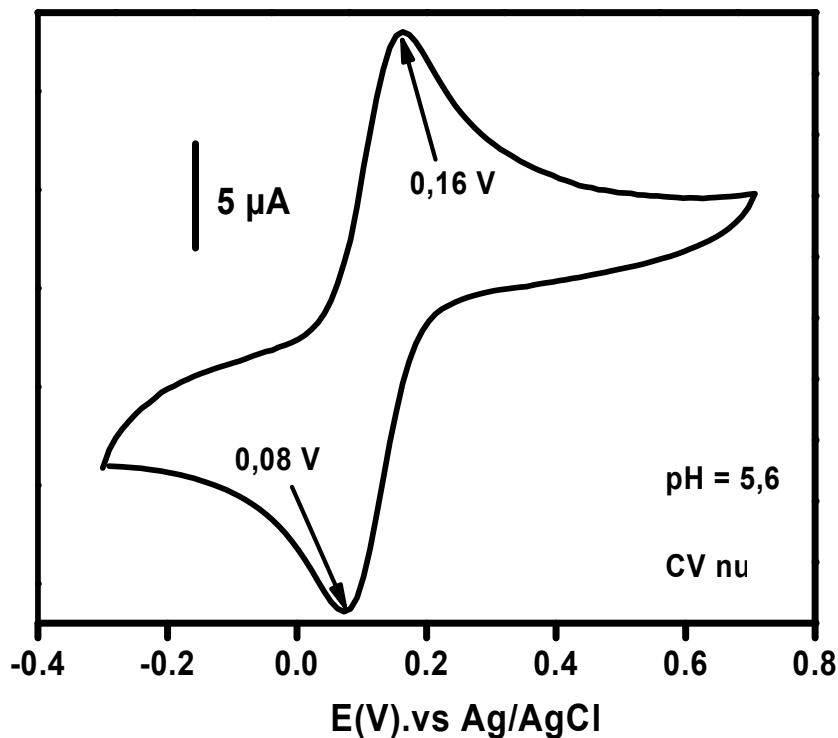
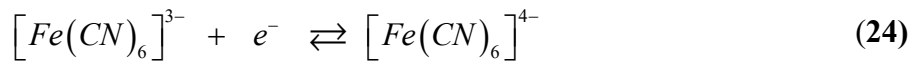


Figure 27 : Voltammogramme cyclique enregistré pour une solution contenant les ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ à 10^{-3} M sur électrode de carbone vitreux nue, en milieu KCl 0,1 M ($v = 100$ mV/s).

Après plusieurs balayages, la forme de ce signal reste inchangée, ce qui montre que la concentration des ions hexacyanoferrates est constante à la surface de l'électrode.

Lorsque l'électrode est recouverte par un film de d'hydroxyapatite imprégnée (NHAP_{0.5}) ou d'hydroxyapatite imprégnée puis fonctionnalisée (NHAP_{0.5}-CA- β -CD), on observe dans les mêmes conditions d'analyse la présence du signal du système $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$

$/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ avec cependant des courants de pic beaucoup plus faibles (Figure 28) que ceux obtenus sur CV nue. On note cependant que sur ces électrodes modifiées, le système obtenu est plus lent ($\Delta E = 510 \text{ mV}$). Tout comme avec CV nue la forme du signal ne change pas après plusieurs balayages.

Tout ceci montre que l'hydroxyapatite naturelle et le matériau composite à base d'hydroxyapatite naturelle et de β -CD ne favorisent pas la diffusion des ions hexacyanoferrate vers la surface de l'électrode. Néanmoins, une faible quantité d'ions parvient à y arriver, certainement à travers des micropores présents dans le film. Ceci est en désaccord avec les informations trouvées dans la littérature puisque d'après les travaux antérieurs, les hydroxyapatites sont des échangeurs anioniques [191]. Cette observation contraire à celles connues dans la littérature pourrait probablement s'expliquer par la taille de l'anion qui entrave ici l'échange d'ions étant donné que les ions hexacyanoferrate sont beaucoup plus volumineux que les ions phosphates.

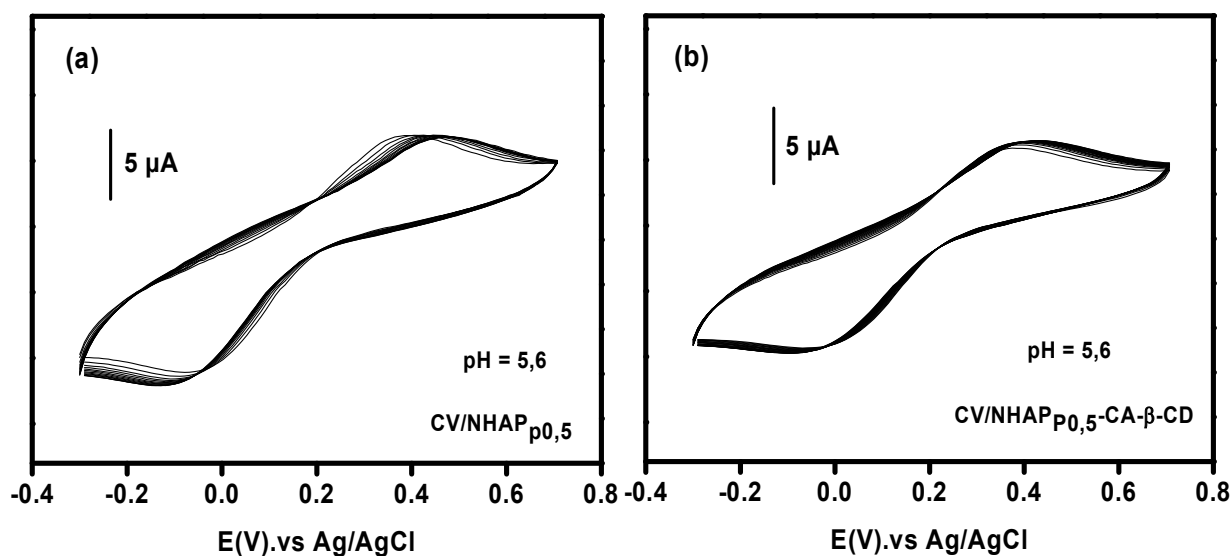


Figure 28 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ à 10^{-3} M sur CV/NHAP_{P0,5} (a) et CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD (b) en milieu KCl 0,1 M ($v = 100 \text{ mV/s}$).

III.2.2 Caractérisation avec les ions hexaamine ruthénium(III)

La sonde hexaamine ruthénium a également été utilisée pour caractériser les différents matériaux élaborés. La Figure 29 présente le voltammogramme cyclique obtenu sur une électrode de carbone vitreux (CV) d'une solution de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ à la concentration de 10^{-3} M enregistré entre -0,4 et 0,1 V, à une vitesse de balayage de 100 mV/s en milieu KCl 0,1 M.

L'examen du voltammogramme cyclique présenté sur cette figure indique que le signal obtenu est caractérisé par un potentiel de demi-pic $E_{1/2} = 0,15$ V, une différence de potentiel de pic ΔE_p égale à 60 mV et un rapport de courants de pics $I_{pa}/I_{pc} = 1,10$, ce qui suggère une transformation mono électronique, rapide et réversible traduite par l'équation 25 :



Tout comme dans le cas des ions hexacyanoferrate(III), la forme de ce signal reste inchangée après plusieurs balayages.

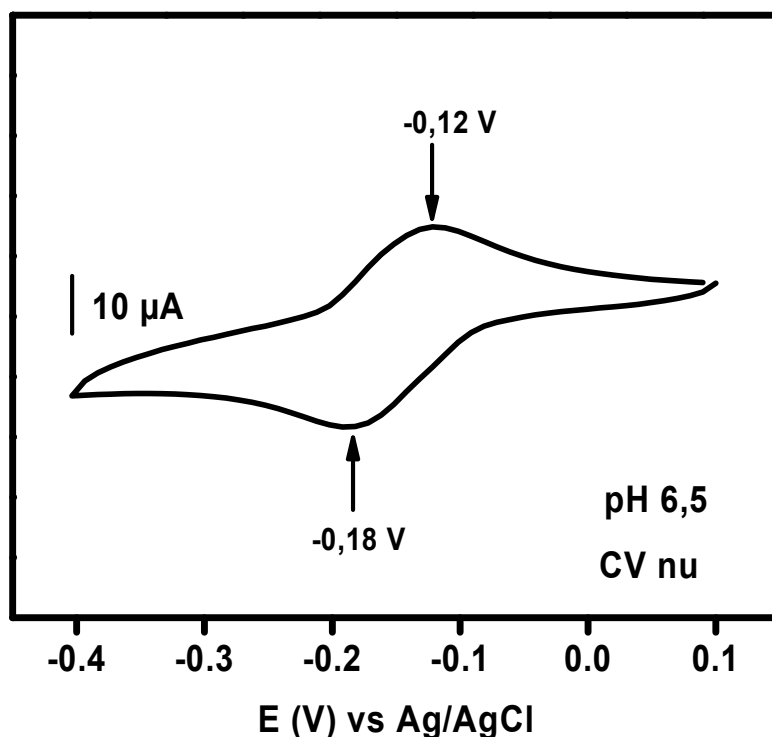


Figure 29 : Voltammogramme cyclique enregistré pour une solution contenant les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ à 10^{-3} M sur une électrode de carbone vitreux nue, en milieu KCl 0,1 M ($v = 100$ mV/s).

Lorsque l'électrode est modifiée par le film d'hydroxyapatite naturelle imprégnée et mise en contact d'une solution de KCl 0,1 M contenant 10^{-3} M d'ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, nous obtenons après balayage multicyclique le voltammogramme de la Figure 30.

De l'analyse des voltammogrammes multicycliques présentés sur cette figure, on note une faible accumulation des ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ sur le film d'hydroxyapatite naturelle imprégné. Cependant le courant de saturation obtenu est comparable à celui obtenu sur CV nue. Ceci montre que l'hydroxyapatite naturelle imprégnée accumule par échange ionique les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ vers la surface de l'électrode. Cependant, la taille de l'analyte joue en défaveur de ce processus vu que les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ sont beaucoup plus volumineux que les ions calciums qui sont susceptibles d'être substitués.

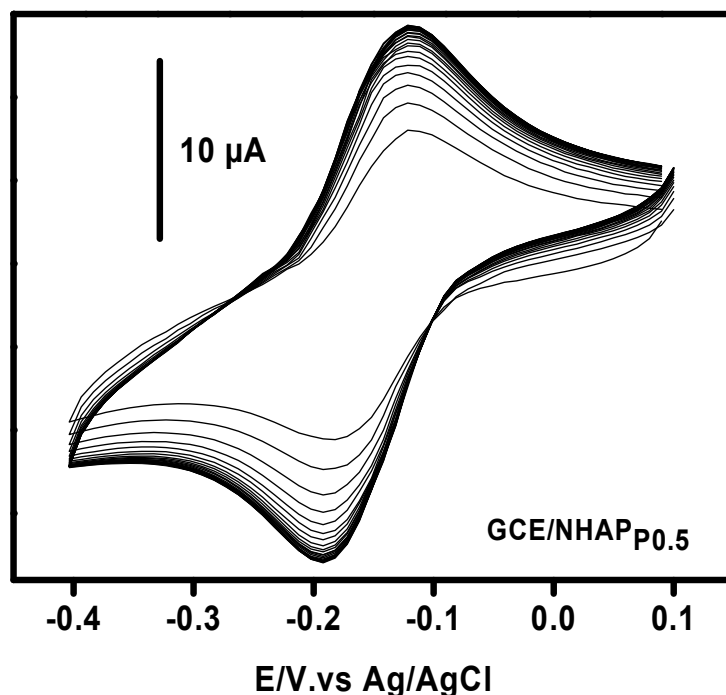


Figure 30 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 10^{-3} M sur CV/NHAP_{0,5}, en milieu KCl 0,1 M, à la vitesse de balayage $v = 100$ mV/s.

L'électrode de travail a été par la suite modifiée avec un film de polymère de β -CD (matériau obtenu en polymérisant la β -CD en absence d'hydroxyapatite) et nous l'avons aussi soumis à un balayage multicyclique dans les mêmes conditions que ce qui a été fait précédemment. La Figure 31 présente les voltammogrammes multicycliques obtenus.

On note de l'analyse des voltammogrammes présents sur cette figure que le balayage multicyclique sur CV/CA- β -CD induit une accumulation progressive des ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ par le polymère (CA- β -CD) à la surface de l'électrode. La présence de la couche mince de CA- β -CD a progressivement favorisé le libre accès de la sonde électroactive chargée positivement à la surface de l'électrode. Ceci en raison des interactions électrostatiques favorables qui ont lieu entre les fonctions hydroxyles ou les groupements carboxylates libres disponibles sur CA- β -CD et la sonde redox. On note que malgré cette interaction favorable, l'accumulation de la sonde est très lentement et limitée (courants de saturation faibles) en raison de sa diffusion restreinte dans les micropores du film.

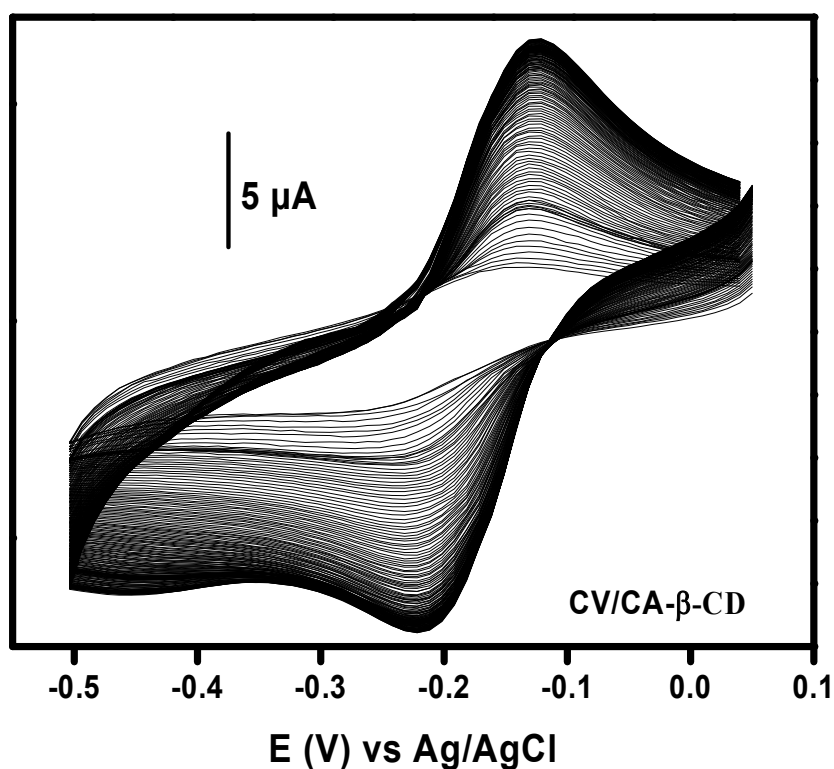


Figure 31 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 10^{-3} M sur CV/CA- β -CD, en milieu KCl 0,1 M ($v = 100$ mV/s).

Lorsque l'électrode de carbone vitreux est par la suite modifiée avec le film du composite hydroxyapatite/ β -CD, on obtient après un balayage multicyclique dans les mêmes conditions que précédemment, le résultat illustré à la Figure 32. On observe à l'analyse de cette figure une croissance progressive et rapide des intensités des courants de pic avec le balayage multicyclique. Ce qui traduit une accumulation rapide et progressive des ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ vers la surface de l'électrode. Ce résultat indique une interaction favorable entre le matériau

d'électrode et l'analyte. Cette interaction résulte probablement de l'attraction électrostatique qui existe entre les fonctions hydroxyles libres disponibles à la surface du matériau et l'analyte ou entre les groupements carboxylates libres de l'acide citrique et les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$. Le courant stationnaire traduisant la saturation du film à la surface de l'électrode en ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ est atteint après 75 cycles. Les intensités des courants de pic d'oxydation et de réduction correspondant sont respectivement $I_{pa} = 44,12 \mu\text{A}$ (anodique) et $I_{pc} = 28,61 \mu\text{A}$ (cathodique). Ces valeurs sont respectivement environ 3 et 2,2 fois plus élevées que celles obtenues sur CV nue. On observe aussi sur cette électrode modifiée une diminution des potentiels de pic (-40 mV comparé aux valeurs obtenues sur CV nue). Cependant, la différence de potentiel obtenue ($\Delta E = 101 \text{ mV}$) et le rapport des courants de pic ($I_{pa}/I_{pc} = 1,54$) montre que le système obtenu est quasi-réversible.

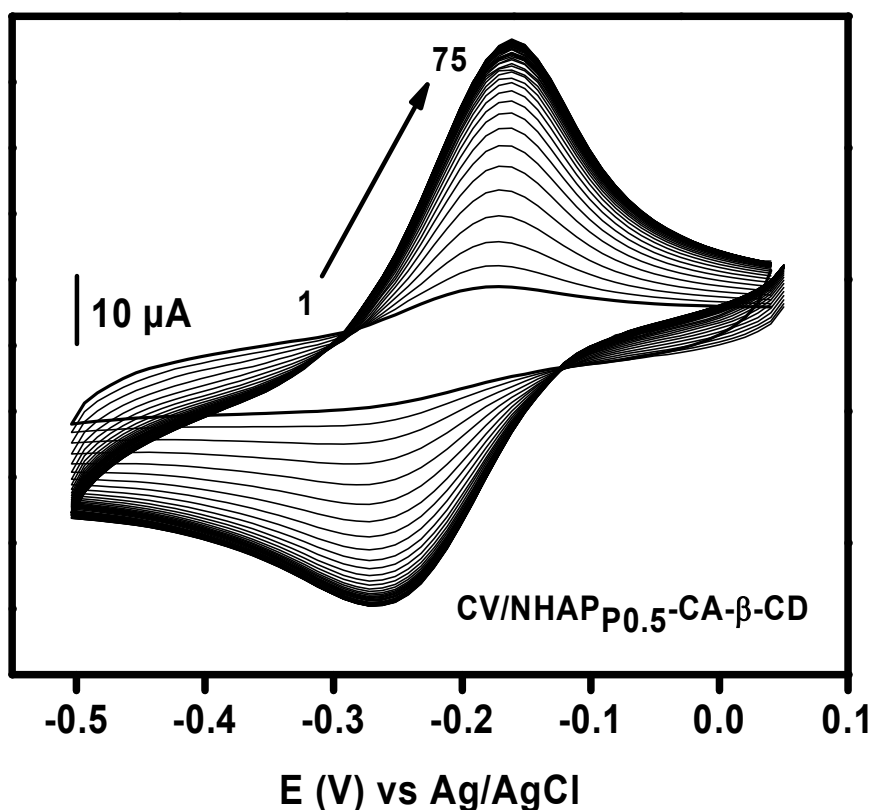


Figure 32 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés pour une solution contenant les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+} 10^{-3} \text{ M}$ sur CV/NHAP_{0,5}-CA- β -CD en milieu KCl 0,1 M à la vitesse de balayage $v = 100 \text{ mV/s}$.

III.2.3 Etude de la désorption des ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ sur $\text{CV}/\text{NHAP}_{\text{P}0,5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$

Cette étude a été menée dans le but d'évaluer la stabilité du film du composite hydroxyapatite/ $\beta\text{-CD}$ et la force d'interaction entre les ions hexaamine ruthénium (III) et ce film. De manière pratique, les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ sont au préalable accumulés jusqu'à saturation sur $\text{CV}/\text{NHAP}_{\text{P}0,5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$, puis l'électrode est rincée à l'eau déionisée puis transférée dans une solution d'électrolyte support (KCl 0,1M) ne contenant pas d'analyte. Enfin, un balayage multicyclique est effectué dans les mêmes conditions que précédemment. La Figure 33 présente les voltammogrammes obtenus. A l'analyse de cette figure, on observe dès le premier signal, une chute de courant de pic en oxydation comme en réduction. Cette diminution évolue progressivement avec le balayage de potentiels jusqu'à l'obtention d'un signal plat (signal sans courant) après 75 cycles. Cela traduit le relargage progressif des ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ préalablement accumulés dans la solution due au fort gradient de concentration existant entre le film et la solution d'électrolyte. Ceci montre que les interactions entre le film et l'analyte sont essentiellement physiques.

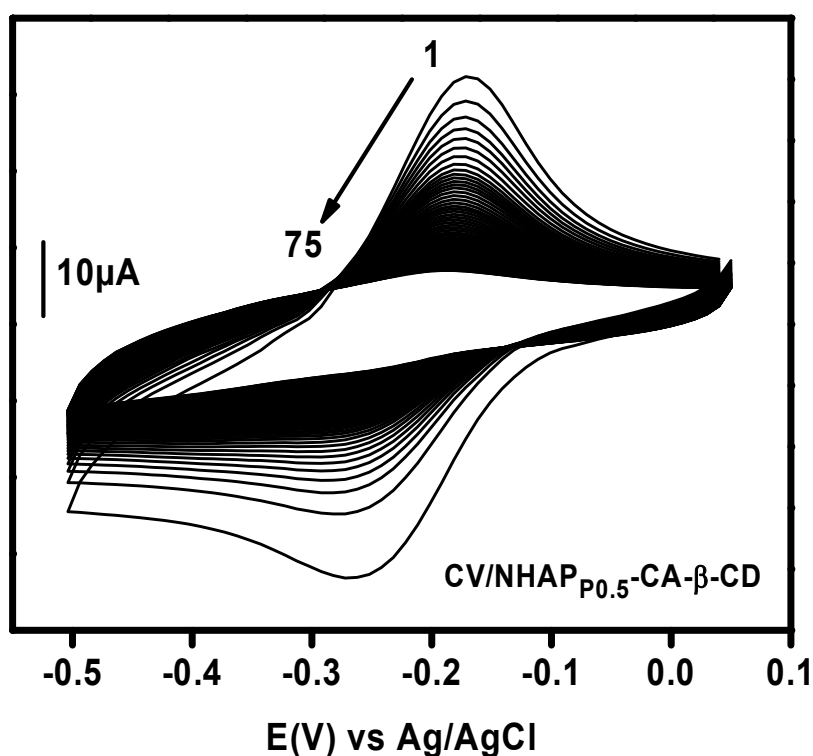


Figure 33 : Voltammogrammes multicycliques enregistrés sur $\text{CV}/\text{NHAP}_{\text{P}0,5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$ en milieu KCl 0,1 M ($v = 100$ mV/s) après accumulation dans une solution contenant les ions $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 10^{-3} M.

III.2.4 Conclusion partielle

Au terme de cette partie du travail qui portait sur la caractérisation électrochimique des matériaux élaborés, il ressort que l'électrode modifiée par le composite hydroxyapatite/ β -CD fixe quantitativement les ions hexaamine ruthénium (III). Ce qui montre que le greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle imprégnée améliore considérablement ses propriétés d'échange cationique. L'étude de la désorption des ions hexaamine ruthénium montre qu'ils sont facilement relargués en solution sur l'effet d'un gradient de concentration. Tout ceci suggère que l'électrode modifiée par ce matériau peut être appliquée à la détection des polluants cationiques tels que le diquat et le plomb(II).

III.3 Application analytique de l'organohydroxyapatite à la détection électrochimique du diquat

Après avoir caractérisé les différents matériaux élaborés, nous les avons utilisés pour l'élaboration des capteurs électrochimiques. Dans cette section, nous exploitons ces capteurs pour l'électroanalyse du diquat. Nous avons tout d'abord étudié le comportement électrochimique du diquat au moyen de la voltamétrie cyclique (VC). Ensuite, les facteurs qui influent sur la détection électrochimique du diquat ont été étudiés en utilisant cette fois-ci la voltampérométrie différentielle à impulsion qui est une technique d'analyse plus sensible que la VC. Une fois les conditions optimales de détection définies, l'influence de la concentration du diquat sur l'intensité de son courant de pic a été étudiée. Ceci a permis de tracer une droite de calibration et de déterminer les caractéristiques analytiques du capteur élaboré. Enfin, une application de ce capteur à l'analyse du diquat dans un échantillon réel a été effectuée.

III.3.1 Comportement du diquat en voltamétrie cyclique

La voltamétrie cyclique est une technique électrochimique indiquée pour les études préliminaires du comportement d'un composé en électrochimie [183]. Cette technique a été utilisée pour étudier le comportement électrochimique du diquat sur le CV nu, puis sur la même électrode recouverte d'un film mince de tous les matériaux élaborés. Les analyses ont été réalisées dans une solution de KCl 0,1 M (pH 5,6) contenant des ions DQ^{2+} à la concentration de 10^{-4} M. Avant l'étape de détection, un barbotage d'azote est toujours effectué pour chasser l'oxygène présent dans la solution. Ceci dans le but d'éviter qu'il n'interfère sur le signal enregistré puisqu'il est susceptible de se réduire dans le domaine de potentiel utilisé.

La Figure 34 présente les voltammogrammes multicycliques obtenus respectivement sur CV nue (a), CV/NHAP_{P0.5} (b), CV/CA-β-CD (c) et CV/NHAP_{P0.4}-CA-β-CD (d). On observe à l'analyse des voltammogrammes multicycliques présentés sur cette figure que la réponse électrochimique du diquat est constituée de deux paires de systèmes réversibles (sur CV nu et CV/NHAP_{P0.5}) ou quasi-réversibles (sur CV/CA-β-CD et CV/NHAP_{P0.4}-CA-β-CD), centrés à 0,63 V et 1,03 V, correspondant respectivement aux systèmes redox DQ²⁺/DQ⁺ et DQ⁺/DQ. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans les travaux antérieurs effectués par d'autres chercheurs [192, 193].

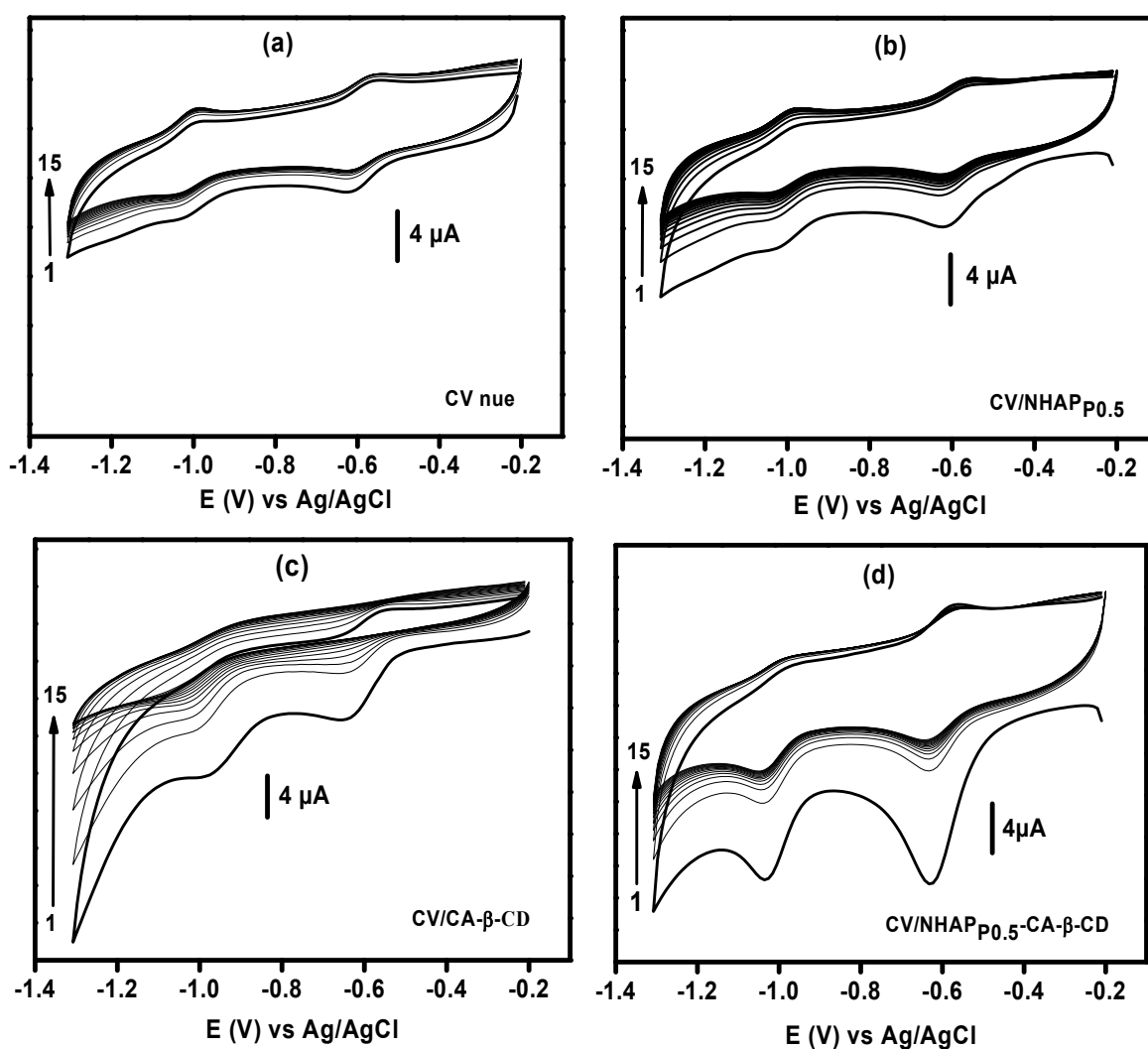
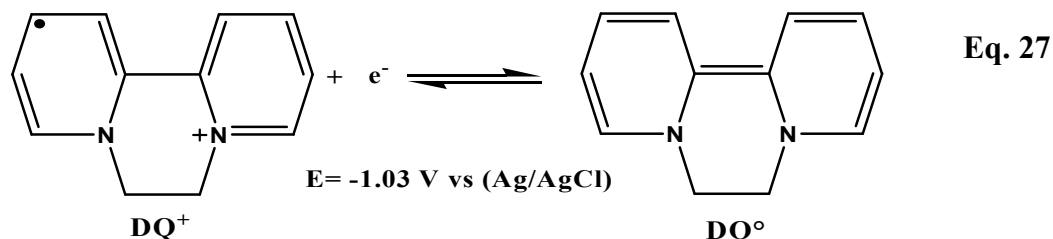
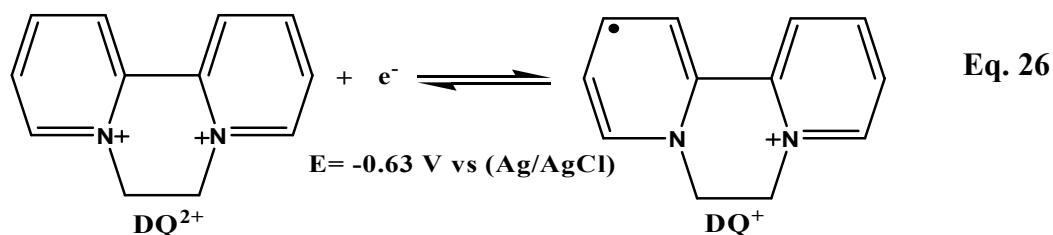


Figure 34 : Voltammogrammes multicycliques d'une solution 1×10^{-4} M de diquat en milieu KCl 0,1 M (pH 5,6) sur (a) CV nue, (b) CV/NHAP_{P0.5}, (c) CV/CA-β-CD et (d) GCE/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD, ($v = 100$ mV/s).

Les équations 26 et 27 présentent les mécanismes électrochimiques des réactions correspondantes [192].



On note à l'analyse des voltammogrammes obtenus que, sur CV nu, le balayage continu des potentiels induit une diminution progressive des courants de pic des deux systèmes. Un état stationnaire est rapidement atteint en raison de la passivation de la surface active de l'électrode par des nouveaux composés formés (DQ^+ et DQ). En revanche, sur les électrodes modifiées, on observe de nouveau que le premier voltammogramme cyclique est plus significatif en termes de courant, puis celui-ci diminue aussi progressivement avec le balayage de potentiel pour atteindre une valeur constante après 15 cycles. Ce phénomène est certainement dû comme dans le cas de CV nu à la diminution de la surface active de l'électrode de travail résultant de l'adsorption des composés chimiques générés lors de la réduction électrochimique de DQ^{2+} .

Bien que la chute progressive du courant de pic du diquat avec le balayage multicyclique soit commun pour toutes les électrodes, le courant de pic de réduction du premier voltammogramme enregistré sur CV/NHAP_{0.5}-CA- β -CD est plus intense que ceux obtenus sur d'autres électrodes, probablement en raison des trois processus majeurs suivants: (i) l'encapsulation des molécules diquat par la β -CD à travers sa structure en cage, (ii) l'accumulation par interaction électrostatique des ions DQ^{2+} par les groupements carboxylates libres de l'acide citrique, et (iii) la présence de l'hydroxyapatite qui par la présence de groupes -OH disponibles à sa surface possède une inhérente capacité d'adsorption.

L'effet de la vitesse de balayage sur le voltammogramme du diquat a été étudié sur CV/NHAP_{0.5}-CA- β -CD. Ainsi, les voltammogrammes cycliques du diquat ($1 \times 10^{-4} \text{ M}$) ont été enregistrés pour des vitesses de balayage allant de 25 à 175 mV/s avec un pas de 25 mV/s. La Figure 35 présente en (a) les voltammogrammes cycliques obtenus, en (b) la courbe qui donne l'évolution des intensités des courants de pic de réduction en fonction de la racine carrée de la

vitesse de balayage et en (c) la courbe donnant l'évolution du logarithme des intensités des courants de pic de réduction en fonction du logarithme de la vitesse de balayage.

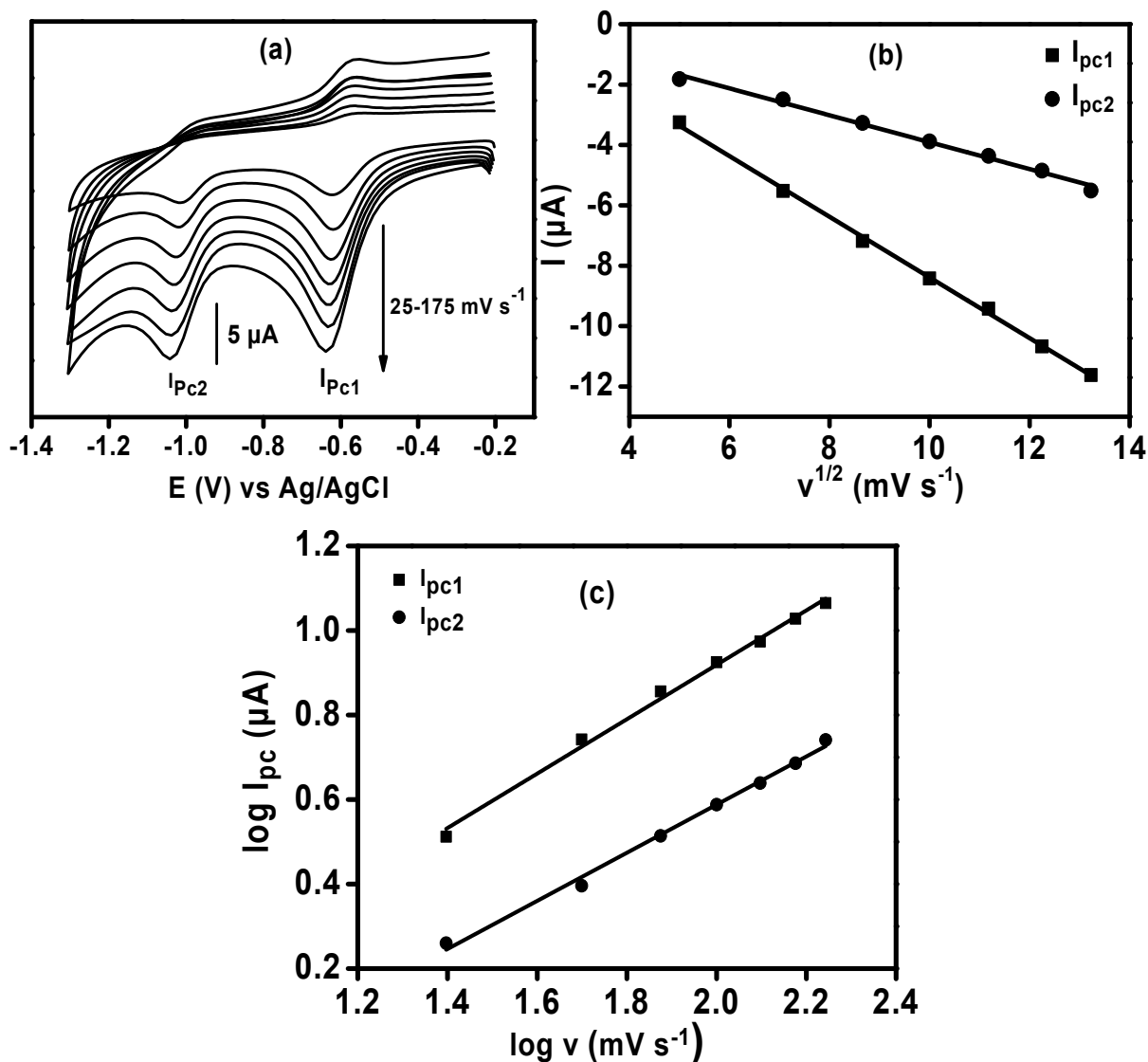


Figure 35 : (a) Premier voltammogramme cyclique du DQ 1×10^{-4} mol/L en milieu KCl 0,1 M (pH 5,6) obtenu sur CV/NHAP_{0,5}-CA- β -CD à des vitesses de balayage allant de 25 à 175 mV/s, (b) Variation des courants de pics cathodiques du DQ en fonction de la racine carré de la vitesse de balayage, (c) Variation du logarithme des courants de pics cathodiques du DQ en fonction du logarithme de la vitesse de balayage.

A l'analyse de cette figure, on constate que l'intensité des courants de pics de réduction des deux systèmes redox croît avec la vitesse de balayage. L'examen des courbes présentées sur la Figure 35 (b) montre que la croissance des courants de pic de réduction des deux systèmes est linéaire avec la racine carrée de la vitesse de balayage avec des valeurs de coefficient de corrélation (R^2) de 0,998 et 0,991 respectivement pour le premier et le deuxième pic cathodique;

ce qui démontre que le transfert de la matière (DQ^{2+}) de la solution vers la surface de l'électrode est contrôlé par la diffusion. De plus, l'examen des courbes de la Figure 35 (c) montre une relation linéaire entre le logarithme des courants de pics de réduction obtenus et le logarithme de la vitesse de balayage, avec des équations correspondantes suivantes:

$$\log(I_{pc1}) = 0,644 \log(v) - 0,369 \quad \text{Eq. 28} \quad \text{et} \quad \log(I_{pc2}) = 0,559 \log(v) - 0,551. \quad \text{Eq. 29}$$

Les pentes de 0,644 et 0,559 obtenues sont proches de la valeur théoriquement attendue (0,5) et confirment une fois de plus que le processus de transfert de la matière est contrôlé par la diffusion [194].

On note à l'issue de cette section que la réduction du diquat est possible en milieu acide et que cette réduction est plus quantitative sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD. Cette électrode sera dans la suite utilisée pour la mise en œuvre d'un capteur électrochimique pour la détection du diquat.

III.3.2 Détection électrochimique du diquat par VID

La voltampérométrie impulsionnelle différentielle est l'une des techniques voltammétriques les plus avancées et les plus efficaces, généralement utilisée pour la détection de composés inorganiques et organiques dans des milieux où ils sont présents à très faible concentration [184]. Cette technique est exploitée dans cette section pour la détection du diquat. Afin de limiter les interférences lors du processus d'accumulation et accroître ainsi la sensibilité des électrodes, nous avons séparé le milieu d'accumulation du milieu de détection. Ainsi, l'analyte est d'abord accumulé à la surface de l'électrode de travail dans le milieu d'accumulation en circuit ouvert avant d'être détecté dans le milieu de détection. Avant de plonger l'électrode dans le milieu de détection, un barbotage d'azote est toujours effectué comme en voltammétrie cyclique pour chasser l'oxygène présent dans la solution.

Des investigations préliminaires ont été effectuées afin d'évaluer dans un premier temps l'impact de la modification apportée à l'hydroxyapatite naturelle sur la réponse électrochimique du diquat en VID, puis dans un second temps de la bonne reproductibilité des résultats obtenus.

III.3.2.1 Impact de la modification de l'hydroxyapatite naturelle sur la réponse électrochimique du diquat

Pour mieux apprécier l'impact du greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle sur la réponse électrochimique du diquat en VID, une étude comparée des réponses électrochimiques obtenues sur diverses électrodes élaborées a été effectuée.

Ainsi la Figure 36 présente les voltammogrammes VID du DQ^{2+} ($10 \mu\text{molL}^{-1}$) obtenues successivement sur CV nu, CV/NHAP_{p0,5}, CV/CA- β -CD et CV/NHAP_{p0,5}-CA- β -CD après 2 minutes d'accumulation en milieu aqueux (pH 6), suivi d'une détection électrochimique en milieu KCl 0,1 mol/L (pH 5,6).

Il ressort de l'analyse de cette figure, que l'intensité du courant de pic des ions DQ^{2+} enregistrée sur l'électrode de CV nue (Fig. 36 (a)) est d'environ $1,31 \mu\text{A}$. Lorsque l'électrode est modifiée avec un film mince d'hydroxyapatite naturelle imprégnée, le courant de pic obtenu est de $2,46 \mu\text{A}$ (Fig. 36 (b)), soit un gain en courant de pic observé comparativement à CV nue. Cette augmentation de l'intensité du courant de pic serait certainement due aux groupements OH disponibles à la surface de l'hydroxyapatite naturelle qui favoriseraient l'adsorption du diquat à la surface de l'électrode. Lorsque l'électrode est modifiée avec le film du polymère de β -CD l'intensité du courant de pic des ions DQ^{2+} obtenue est de $5,42 \mu\text{A}$ (Fig. 36 (c)). Ce qui indique certainement une bonne capacité de la β -CD à piéger les molécules du diquat à travers sa structure en forme de cage. Enfin, on note que lorsque l'électrode de carbone vitreux est modifiée avec un film du matériau composite hydroxyapatite/ β -CD, sa sensibilité est significativement améliorée (Fig. 36 (d)). Le courant de pic mesuré ($59,7 \mu\text{A}$) sur cette électrode est environ 11 fois plus intense que celui obtenu sur le film du polymère de β -CD et environ 25 fois plus élevé que celui obtenu sur le film d'hydroxyapatite naturelle imprégnée ($2,46 \mu\text{A}$). Cette amélioration serait due d'une part à la β -CD qui à travers sa structure en cage accumule les molécules de diquat. D'autre part, on a les groupements carboxylates libres de l'acide citrique qui par interaction électrostatique accumuleraient aussi fortement les ions DQ^{2+} . Enfin, on a les fonctions hydroxyles libres de l'hydroxyapatite ou de la β -CD qui devenues plus accessibles sur ce matériau (NHAP_{p0,5}-CA- β -CD) augmentent sa capacité d'adsorption et de ce fait favorise l'accumulation du diquat à la surface de l'électrode. Tout cela est boosté par la structure du matériau composite qui d'après la SEM est bien dispersée et très poreuse, ce qui contribue à rendre disponibles, accessibles et donc plus réactifs tous les groupements fonctionnels présent à sa surface.

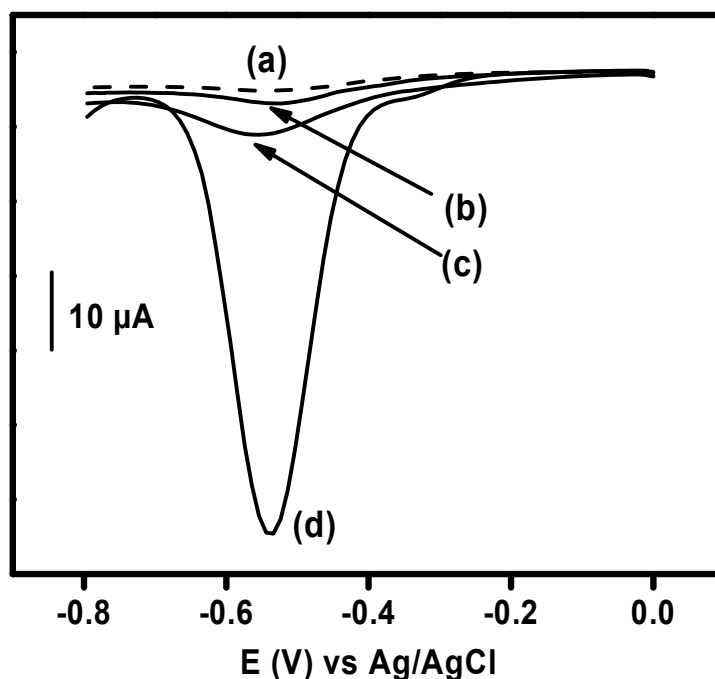


Figure 36: Voltammogrammes VID d'une solution de diquat obtenus sur (a) CV nu, (b) CV/NHAP_{P0,5} (c) CV/CA-β-CD et (d) CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD, après 2 minutes d'accumulation en milieu aqueux (pH 6) en présence de 10 µmol/L de DQ. Détection en milieu KCl 0,1 mol/L à pH 5,6.

Au vu de tout cela, nous avons décidé d'utiliser CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD pour la suite des travaux en raison de sa bonne sensibilité.

III.3.2.2 Etude de la stabilité du signal

La stabilité du signal obtenu sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD a été étudiée. Ceci dans le but de s'assurer que l'électrode élaborée est capable de produire des résultats comparables dans des conditions expérimentales similaires. A cet effet, une série de huit voltammogrammes a été enregistrée avec une même électrode modifiée par le film du matériau composite NHAP_{P0,5}-CA-β-CD. L'étape de préconcentration a été réalisée en plongeant l'électrode modifiée dans une solution aqueuse de diquat 10 µmol/L (pH 6) pendant 2 minutes. Après cela, l'électrode est rincée puis transférée dans le milieu de détection constitué d'une solution 0,1 mol/L de KCl à pH 5,6.

La Figure 37 présente les résultats obtenus. L'analyse statistique des intensités des courants de pic de ces voltammogrammes donne un écart-type moyen d'environ 1,46%, ce qui

montre que la réponse électrochimique du diquat sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD est reproductible avec un taux de reproductibilité d'environ 98,54%. Cette bonne reproductibilité du signal traduit une bonne stabilité du film à la surface de l'électrode de carbone vitreux. Ceci nous permet d'envisager une application de ce capteur pour l'électroanalyse du diquat. Mais avant d'y parvenir, il convient d'abord d'étudier l'influence de certains paramètres qui gouvernent les étapes d'accumulation et de détection sur la réponse électrochimique de ce polluant

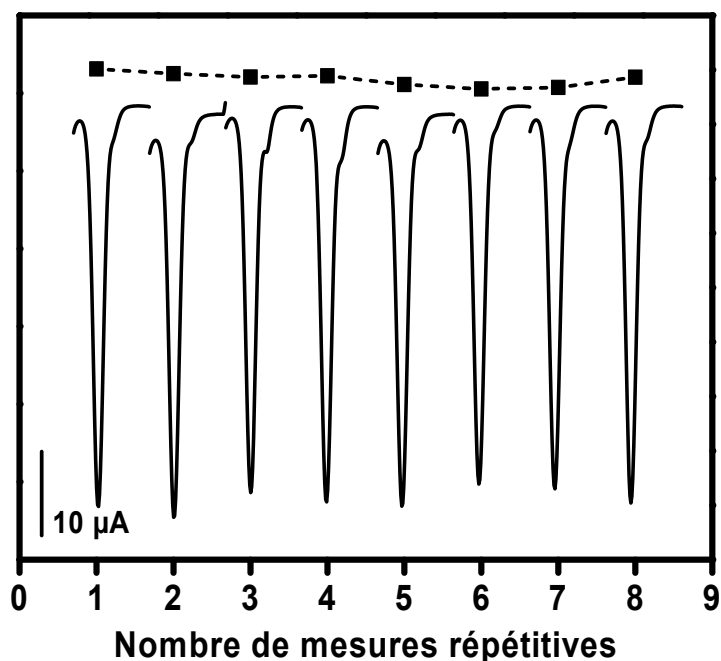


Figure 37: Variation du courant de pic du DQ en fonction des mesures répétitives. En inset : huit voltammogrammes obtenus en VID sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD après 2 minutes d'accumulation en milieu aqueux (pH 6) en présence de 10 µmol/L de DQ (Détection en milieu KCl 0,1 mol/L à pH 5,6).

III.3.2.3 Optimisation des paramètres de détection du diquat

Dans cette partie, nous cherchons à optimiser les conditions de détection sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD en vue d'une application pour l'électroanalyse du diquat. Plusieurs paramètres expérimentaux sont optimisés en vue d'accroître la sensibilité du capteur. Ces paramètres incluent aussi bien l'étape d'accumulation que de détection.

III.3.2.3.1 Influence de la nature de l'électrolyte support

La nature de l'électrolyte support est un élément clé lorsque le processus de détection fait intervenir des électrodes modifiées. En effet, pendant la phase de détection, l'analyte qui au préalable a été accumulé à circuit ouvert par le matériau d'électrode pendant la phase d'accumulation doit grâce au gradient de concentration et par échange ionique quitter les sites de fixation et diffuser jusqu'à la surface active de l'électrode pour y être détecté. Ainsi, la nature de l'électrolyte support va considérablement affecter la vitesse de diffusion de l'analyte vers la surface active de l'électrode de travail et par conséquent l'intensité du courant de pic obtenu. Dans ce travail, les solutions décimolaire de tampon phosphate, tampon acétate, sodium nitrate et de potassium chlorure ont été testées comme électrolyte support.

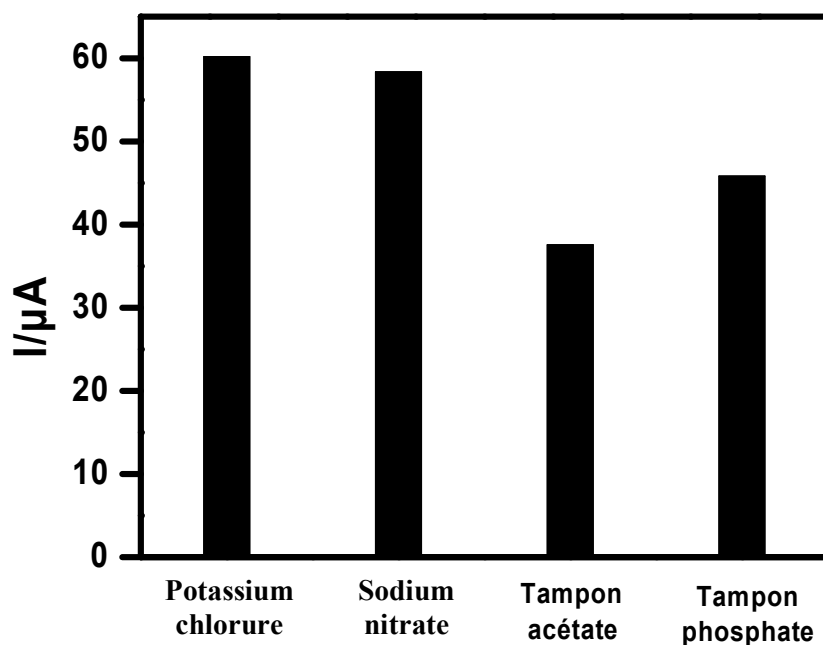


Figure 38 : Effet de la nature de la solution électrolytique sur le courant de pic du diquat ($10 \mu\text{mol/L}$), après 2 minutes d'accumulation en milieu aqueux (pH 6). Milieu de détection : potassium chlorure, sodium nitrate, tampon acétate, tampon phosphate tous à la concentration de $0,1 \text{ M}$.

De façon pratique, l'électrode de carbone vitreux modifiée par le matériau composite est au préalable utilisée pour accumuler le diquat pendant 2 minutes en milieu aqueux (pH 6), puis rincée à l'eau déionisée et transférée dans une solution électrolytique où le diquat préalablement accumulé est détecté. Les résultats obtenus lors de cette étude sont présentés sous

forme d'histogramme sur la Figure 38. Cet histogramme présente les valeurs des intensités des courants de pic de réduction du premier système en fonction du milieu de détection. L'examen de cette figure montre que les milieux KCl et NaNO₃ offrent des réponses électrochimiques comparables et meilleures que les autres électrolytes. Ceci certainement parce qu'ils rendent plus favorable la diffusion du diquat vers la surface de l'électrode. Face à ce constat, nous avons décidé de retenir KCl comme électrolyte support pour la suite des manipulations en raison non seulement de sa disponibilité, mais aussi parce qu'il permet une désorption quasi-instantanée de l'analyte après la détection.

III.3.2.3.2 Effet du pH du milieu d'accumulation

Dans la plupart des réactions et processus chimiques, le pH joue un rôle clé, c'est pourquoi l'influence du pH du milieu d'accumulation sur la réponse électrochimique du diquat a été étudiée. Pour cette étude, nous avons fait varier le pH du milieu d'accumulation entre 3 et 10 en utilisant des solutions diluées d'acide nitrique et d'hydroxyde de potassium. La Figure 39 présente l'évolution du courant de pic de réduction obtenu en fonction du pH. Il faut préciser qu'après chaque enregistrement, l'électrode de travail est soigneusement rincée dans une solution d'eau déionisée avant d'être introduite de nouveau dans le milieu d'accumulation.

Comme le montre cette figure, le courant de pic du diquat augmente lorsque le pH du milieu d'accumulation évolue de 3 à 6. Il ne varie presque pas entre pH 6 et pH 8, puis chute au-delà de pH 8. Les faibles courants obtenus en milieu acide proviendraient d'une éventuelle dégradation du matériau composite déposé à la surface de l'électrode de carbone vitreux d'une part et de la compétition entre les ions DQ²⁺ et les protons H⁺ pour les sites d'adsorption disponibles à la surface de l'électrode d'autre part. En effet, une forte quantité de protons dans le milieu d'accumulation peut induire la dégradation du matériau composite par hydrolyse de certains sites actifs. De plus, ces protons peuvent facilement en raison de leur forte mobilité occuper tous les sites d'adsorption du matériau au détriment des ions DQ²⁺.

On note que la capacité d'accumulation de l'électrode est optimale lorsque le pH du milieu d'accumulation est égal à 6. Ceci résulte probablement du fait que ce pH est supérieur au point de charge nulle (PCN) du matériau qui d'après les tests réalisés est égal à 5,7. Ce point de charge nulle fournit en réalité des informations sur le pH pour lequel la charge de surface nette d'un matériau est égale à zéro. Ainsi, lorsque le pH du milieu d'accumulation devient supérieur au PCN du matériau, sa charge de surface globale devient négative, rendant plus

réactive les groupements carboxylates libres de l'acide citrique, et favorisant de ce fait l'accumulation des ions DQ^{2+} . La chute du courant obtenue en milieu fortement alcalin provient probablement de la dégradation du diquat qui se comporte ici comme tous les composés viologènes [194]. Le pH du milieu d'accumulation sera fixé à 6 dans la suite des analyses.

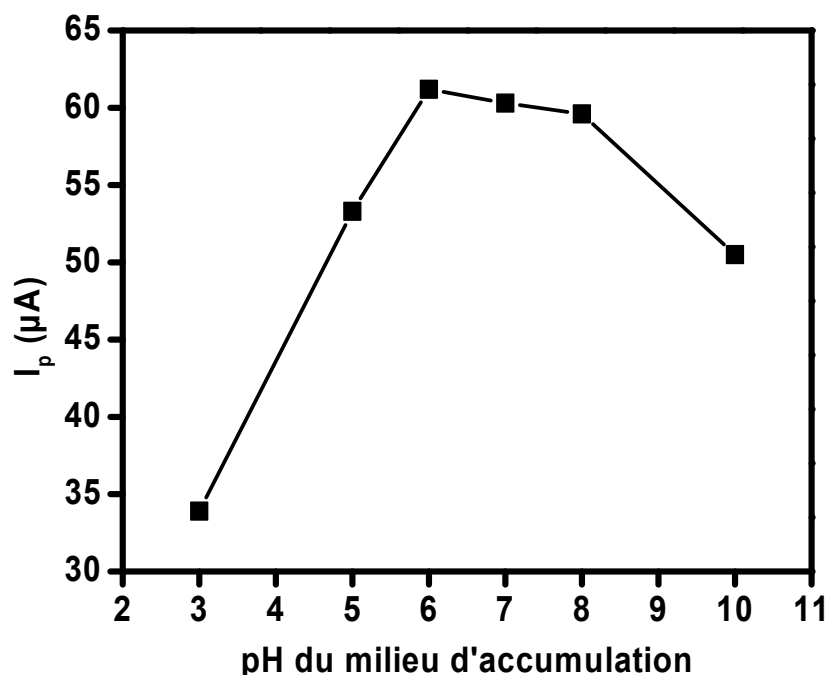


Figure 39 : Effet du pH du milieu d'accumulation sur le courant de pic du diquat ($10 \mu\text{mol/L}$) sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD. Temps d'accumulation : 2 minutes ; milieu de détection : KCl 0,1 M (pH 5,6).

III.3.2.3.3 Effet du pH du milieu de détection

La dépendance de la réponse électrochimique du signal du diquat en fonction du pH du milieu de détection a été aussi évaluée. La Figure 40 illustre l'évolution du courant de pic lorsque le pH du milieu de détection est varié de 3 à 11 en maintenant le milieu d'accumulation à pH 6. De l'analyse de cette figure, on constate que l'intensité du courant de pic de réduction du diquat croît progressivement avec le pH du milieu de détection pour atteindre une valeur optimale à pH 5. Au-delà de ce pH, on note plutôt une diminution du courant de pic. Cependant, on observe que la valeur du potentiel de pic reste constante avec l'augmentation du pH du milieu de détection. Ce qui indique que les protons n'interviennent pas dans la réaction de réduction électrochimique du diquat comme l'illustre le mécanisme proposé à l'équation 26. Cela est en

accord avec les travaux antérieurs rencontrés dans la littérature [192, 193]. Au vu de ces résultats, le pH du milieu de détection sera fixé à 5 dans la suite des travaux.

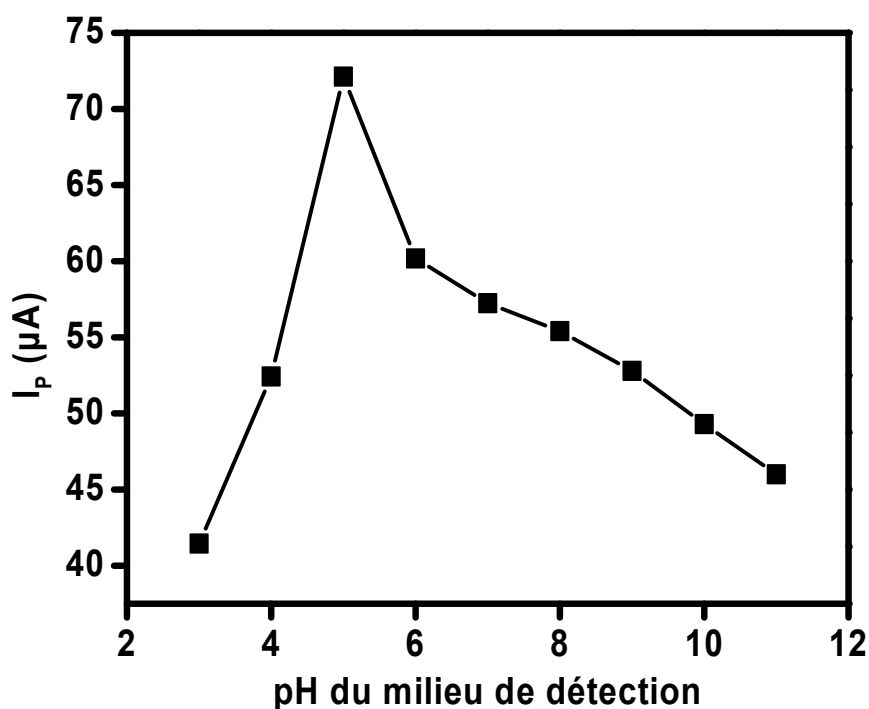


Figure 40 : Effet du pH du milieu de détection sur le courant de pic du diquat ($10 \mu\text{mol/L}$) sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD. Temps d'accumulation : 2 minutes ; milieu d'accumulation : solution aqueuse de diquat $10 \mu\text{mol/L}$ (pH 6) ; milieu de détection : KCl 0,1 M.

III.3.2.3.4 Effet du temps d'accumulation

L'accumulation du diquat sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD n'est pas un processus instantané. Il est donc important d'utiliser un temps d'accumulation approprié pour obtenir une réponse optimale. C'est pour cette raison que l'effet du temps d'accumulation a été étudié entre 30 et 330 secondes en maintenant tous les autres paramètres d'analyse constants. La Figure 41 présente en (a) l'effet de ce paramètre sur les voltammogrammes différentiels impulsométriques et en (b) la courbe donnant l'intensité du courant de pic en fonction du temps d'accumulation pour une concentration de DQ^{2+} égale à $10 \mu\text{mol/L}$. Comme on pouvait s'y attendre, l'intensité du courant de réduction des ions DQ^{2+} augmente avec le temps de contact de l'électrode dans le milieu d'accumulation. En effet, plus l'électrode séjourne dans le milieu d'accumulation, plus grande est la quantité de diquat adsorbée à sa surface. Lorsque le temps d'accumulation devient supérieur à 210 secondes, la courbe tend vers un palier, ce qui traduit la saturation des

sites d'adsorption des ions DQ^{2+} à la surface de l'électrode. Le temps d'accumulation sera fixé à 300 secondes dans la suite du travail.

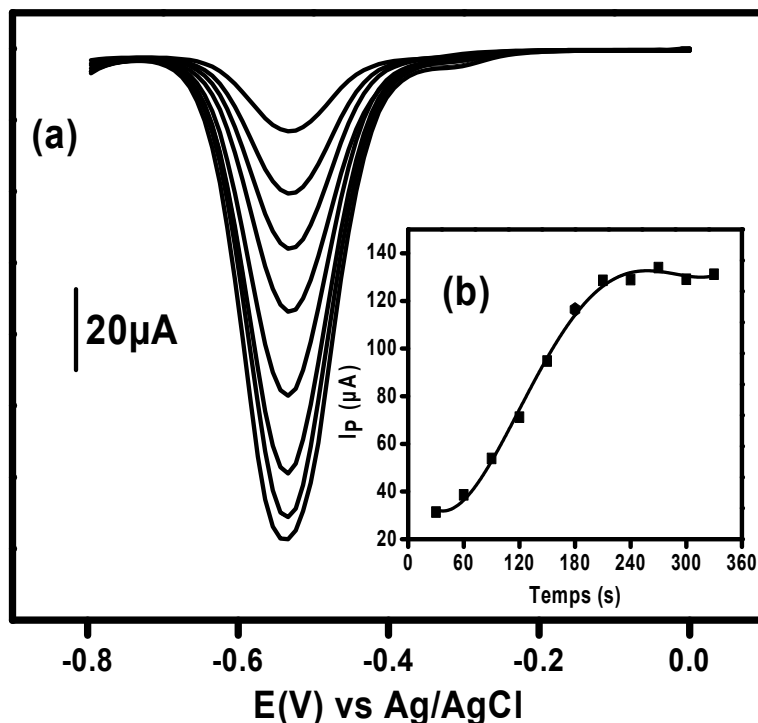


Figure 41 : Effet du temps d'accumulation sur la réponse électrochimique du Diquat. (a) courbes de VID obtenus sur CV/NHAP_{0,5}-CA-β-CD après accumulation en milieu aqueux (pH 6) en présence de 10 μmol/L de diquat, suivie d'une détection dans du KCl 0,1M (pH 5). (b) Tracé de l'évolution du courant de pic en fonction du temps d'accumulation.

III.3.2.3.5 Effet de la concentration sur la réponse électrochimique du diquat : droite de calibration et calcul de seuil de détection

Sur la base des conditions optimales obtenues dans les sections précédentes, l'étude de l'influence de la concentration du diquat a été réalisée et les résultats obtenus sont présentés à la Figure 42. Cette figure présente en (a) l'effet de la concentration du diquat sur les voltammogrammes différentiels impulsionnels enregistrés dans un domaine de concentration allant de 5×10^{-8} mol/L à 50×10^{-8} mol/L.

On note de l'analyse de ces voltammogrammes que l'intensité du courant de pic du diquat croît avec la concentration. Le tracé de la courbe donnant l'intensité du courant de pic de réduction du diquat en fonction de la concentration (figure 42 b), montre que cette croissance

du courant de pic est linéaire avec la concentration du DQ dans le domaine de concentration choisi avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9959$ et une sensibilité de $38,37 \mu\text{A}/\text{M}$. En utilisant l'équation de la droite obtenue ($I(\mu\text{A}) = 38,37C_{\text{DQ}}(\text{M}) - 0,17$), et sur la base du rapport signal/bruit de fond égal à 3, nous avons trouvé une limite de détection du capteur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD égale à $4,6 \times 10^{-10} \text{ M}$ pour la détection du diquat. Cette valeur est inférieure à la concentration limite de diquat permise dans les eaux de consommation ($5,52 \times 10^{-8} \text{ M}$) [8] et est comparable à celles obtenues par d'autres chercheurs lors de la détection électrochimique du diquat sur des électrodes chimiquement modifiées comme l'indique le Tableau VIII.

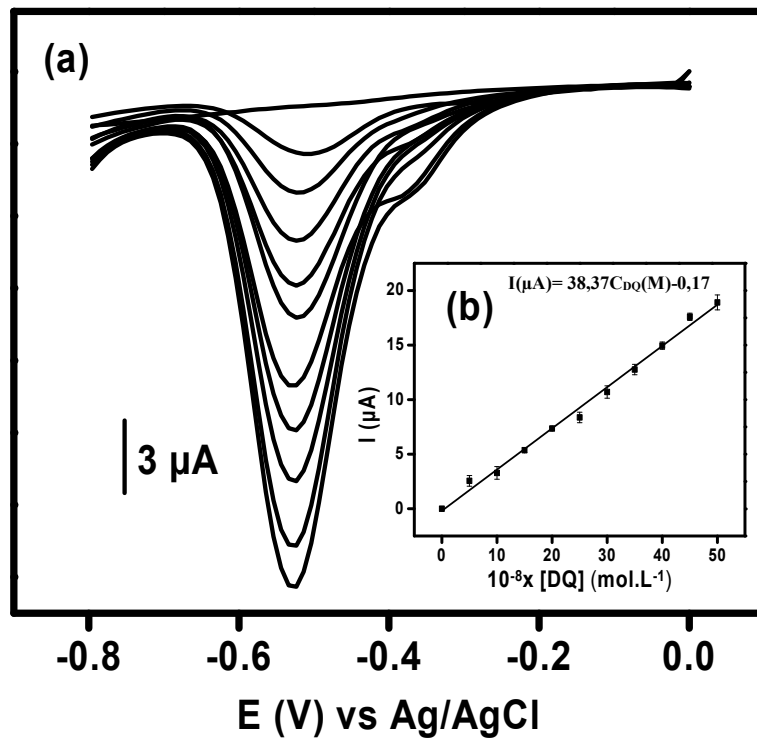


Figure 42 : Effet de la concentration sur la réponse électrochimique du diquat. (a) Courbes de VID obtenues sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD dans les conditions optimales pour des concentrations allant de $5 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ à $50 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$. (b) droite de calibration.

Tableau VIII: Comparaison des domaines de linéarité et des limites de détection obtenues dans ce travail avec ceux de quelques travaux de la littérature.

Electrode	Méthode d'analyse	Modifiant	Limite de détection	Reference
Electrode en diamant	VOC	-	$1,6 \times 10^{-10}$ M	[195]
Mini capteur jetable	VOC	Bismuth	$8,9 \times 10^{-8}$ M	[192]
Electrode d'or	VOC	-	8×10^{-9} M	[196]
EAD	VOC	-	$2,76 \times 10^{-8}$ M	[197]
Electrode de platine	VOC	Phosphate naturel	$5,32 \times 10^{-9}$ M	[198]
EPC	VOC	Fluoroapatite	$3,1 \times 10^{-8}$ M	[193]
Carbone vitreux	VID	Nafion	6×10^{-10} M	[199]
EPC	VID	Kaolin	$4,21 \times 10^{-9}$ M	[200]
EGM	VOC	-	$1,5 \times 10^{-8}$ M	[201]
Carbone vitreux	VOC	Amidon de manioc	$1,1 \times 10^{-7}$ M	[202]
EPC	VC	Argile naturelle	$5,33 \times 10^{-8}$ M	[203]
Carbone vitreux	VID	Composite hydroxyapatite/ β -CD	$4,6 \times 10^{-10}$ M	Ce travail

III.3.2.3.6 Effet des ions interférents

La détection du diquat en milieu réel sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD peut être perturbée par la présence d'autres espèces interférentes dans le milieu d'accumulation. Afin d'évaluer la sélectivité du capteur élaboré pour la détection du diquat dans des matrices complexes et d'identifier d'éventuels perturbations dues à la présence d'autres espèces interférents, nous avons étudié l'effet de plusieurs ions et molécules sur la détection du diquat. A cet effet, des quantités connues d'espèces interférentes (allant de 1 à 1000 $\mu\text{mol/L}$) ont été progressivement ajoutées à la solution d'accumulation contenant 10 $\mu\text{mol/L}$ de DQ. De façon pratique, on introduit dans un premier temps 10 $\mu\text{mol/L}$ de diquat dans le milieu d'accumulation et on enregistre son signal, puis dans un second temps on ajoute progressivement à des concentrations variables l'espèce interférente dans le milieu afin d'évaluer son impact sur l'intensité du courant. Les résultats obtenus dans des conditions optimisées sont résumés dans le Tableau IX. Les espèces interférentes choisies sont regroupées en trois principaux groupes. Les espèces inorganiques anioniques, les espèces inorganiques cationiques et les espèces organiques.

Tableau IX : Taux de variation du courant de pic du diquat 10 $\mu\text{mol/L}$, enregistré sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD en l'absence (100%) et la présence d'autres espèces interférentes introduites à une concentration fonction de celle du diquat.

Espèces interférentes	Quantité ajoutée par rapport à la concentration du diquat	Taux de recouvrement de l'intensité du courant du diquat (%)
Cu²⁺	0,2	97,26
	0,5	100,01
	1	104,25
	5	112,25
Ni²⁺	0,2	100,70
	0,5	98,78
	1	100,70
	5	90,00
Cd²⁺	0,2	98,04
	0,5	95,11
	1	95,04
	5	94,79
Al³⁺	0,2	93,51
	0,5	91,20
	1	83,53
	5	79,15
Mg²⁺	1	101,5
	10	99,12
	100	96,65
K⁺	1	99,47
	10	102,60
	100	98,91
Na⁺	1	100,21
	10	101,12
	100	98,23
Cl⁻	1	99,47
	10	102,60
	100	98,91
NO₃⁻	1	100,21
	10	101,12
	100	98,23
Para-nitrophenol	0,1	99,51
	0,5	98,20
	1	95,70
	5	92,30
Methyl parathion	0,1	99,47
	0,5	101,2
	1	98,9
	5	95,05
Bleu de Méthylène	0,1	101,33
	0,5	97,45
	1	91,22
	5	78,52

De l'analyse des résultats obtenus, il ressort que les espèces chimiques étudiées n'interfèrent pas lorsque leurs concentrations sont inférieures à 10 $\mu\text{mol/L}$. Cependant, pour des concentrations beaucoup plus élevées (environ 5 fois), une diminution du courant attendu a été constatée pour certains ions et molécules. Ainsi, on observe une baisse de l'intensité du courant attendu d'environ 10,00% pour Ni^{2+} , 5,21% pour Cd^{2+} , 20,85% pour Al^{3+} , 7,70% pour le para-nitrophénol, 4,95% pour le méthyl parathion et 21,48% pour le bleu de méthylène. On note également pour une concentration plus élevée (5 fois) d'ions Cu^{2+} , une augmentation d'environ 12,25% du courant de pic attendu. Cela pourrait suggérer un effet catalytique conduisant à une réponse électrochimique accrue pour le diquat. Il est également à noter que pour les ions Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Cl^- et NO_3^- , la réponse électrochimique du diquat est juste légèrement perturbée même pour des concentrations 100 fois supérieures.

On note que pour toutes les espèces interférentes étudiées, le taux de recouvrement du signal du diquat reste élevé. Ceci montre que le capteur élaboré dans ce travail présente une forte affinité pour le diquat et peut par conséquent être utilisé comme capteur ampérométrique pour la détection de ce composé dans les milieux complexes. Ainsi, dans la suite de ce travail, nous avons appliqué le capteur mis en œuvre pour la détection du diquat dans une eau de source.

III.3.2.3.7 Application analytique du capteur pour la détection du diquat dans l'eau de source

Afin d'évaluer l'applicabilité du capteur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD pour la détermination du diquat dans des échantillons réels, nous l'avons utilisé pour analyser le diquat dans un échantillon d'eau de source prélevé au quartier Nkolondom situé dans la ville de Yaoundé (Cameroun). L'eau prélevée de cette source a été au préalable filtrée à l'aide d'un papier filtre pour la débarrasser des particules solides avant d'être utilisée comme milieu d'accumulation. Tout d'abord, une analyse préliminaire de cette eau de source a été effectuée et aucun courant de pic autour de -0,52 V n'a été obtenu, ce qui indique l'absence de diquat dans le milieu d'analyse ou alors qu'il serait présent mais à une concentration inférieure au seuil de détection du capteur. Après cela, l'eau de source utilisée comme milieu d'accumulation a été enrichie avec des quantités connues de DQ^{2+} et les signaux électrochimiques correspondant à chaque concentration ont été enregistrés en utilisant la même procédure employée pour les expériences sur l'effet de la concentration dans l'eau désionisée.

La Figure 43 présente les voltammogrammes obtenus ainsi que la droite d'étalonnage correspondante. Ces résultats révèlent que les courants de pic obtenus sont proportionnels à la concentration de l'herbicide ajouté, car on note une évolution linéaire entre la réponse de l'électrode et la concentration du diquat avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,994. Cependant, la sensibilité obtenue ici ($14,69 \mu\text{A}\cdot\text{M}^{-1}$) est inférieure à celle relevée en milieu artificiel (eau déionisée). Cette diminution de la sensibilité pourrait s'expliquer par la présence de certaines espèces interférentes dans l'eau de source. La limite de détection du capteur estimée sur la base d'un rapport signal/bruit de fond égale à 3 est de $1,21 \times 10^{-9} \text{ mol/L}$.

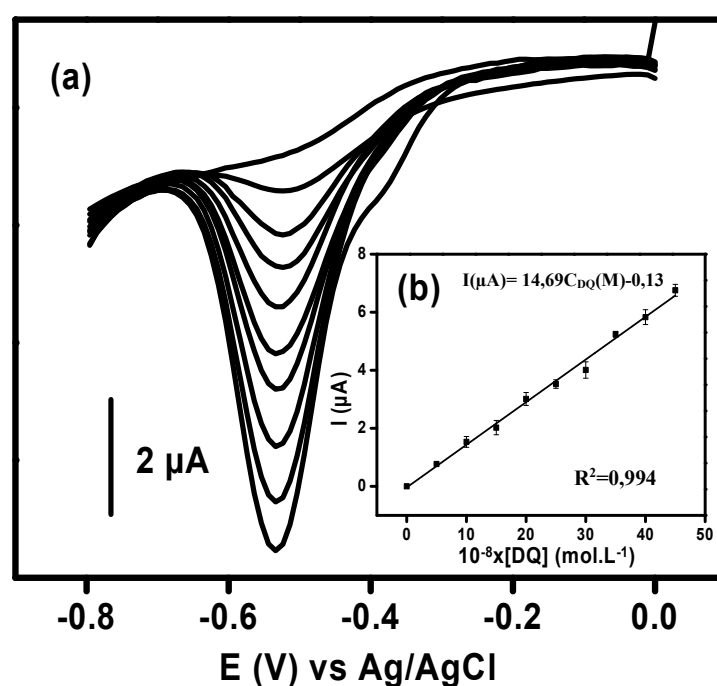


Figure 43: (a) Courbes de VID résultant de la détection du diquat sur CV/NHAP_{0,5}-CA- β -CD dans une eau de source pour des concentrations allant de $5 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ à $45 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Droite d'étalonnage correspondante.

Dans l'ensemble, les données obtenues ici démontrent que la méthodologie proposée peut être appliquée avec succès à la détermination de la concentration du diquat dans des échantillons d'eau naturelle et d'autres matrices.

III.3.3 Conclusion

Dans cette partie, les électrodes élaborées ont servi à la détection électrochimique du diquat en utilisant la voltampérométrie différentielle à impulsion comme technique d'analyse.

De l'analyse des résultats obtenus, il ressort que l'électrode à film d'organohydroxyapatite est très stable et plus sensible à la détection du diquat avec un courant de pic 25 fois plus intense que celui obtenu sur l'électrode modifiée par l'hydroxyapatite naturelle, montrant ainsi l'importance de la modification apportée à cette dernière. Dans les conditions optimales d'accumulation et de détection du diquat sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD l'influence de la concentration sur les voltammogrammes VID a été étudiée dans un domaine allant de 5×10^{-8} mol/L à 50×10^{-8} mol L⁻¹. Le tracé de la courbe donnant l'évolution de l'intensité du courant de pic du diquat en fonction de la concentration a donné une droite linéaire avec un coefficient de corrélation proche de l'unité (0,995) et une sensibilité de 38,37 μA/M. Sur la base du rapport signal sur bruit de fond de 3, et en utilisant l'équation de droite obtenue on a relevé que la limite de détection du diquat sur ce capteur est égale à $4,6 \times 10^{-10}$ M. Ce capteur a été aussi appliqué avec succès à la détection des traces de DQ dans un milieu naturel (eau de source). Il ressort de l'analyse des données obtenues dans ce milieu que le courant de pic du diquat évolue également linéairement ($R^2 = 0,994$) avec la concentration. L'exploitation de la droite de calibration obtenue a permis d'évaluer la limite de détection du diquat dans cette eau de source à $1,21 \times 10^{-9}$ mol/L, et la sensibilité de l'électrode à 14,69 μA/M.

III.4 Application analytique du capteur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD à l'électroanalyse du plomb(II)

Dans les parties précédentes, la caractérisation électrochimique a montré que le matériau hybride obtenu par greffage de la β-CD sur l'hydroxyapatite naturelle possède une excellente capacité d'échange cationique. Ainsi, le capteur élaboré à partir de ce matériau a été utilisé avec succès pour la détermination et l'électroanalyse d'un herbicide cationique appelé diquat.

Dans cette section, nous nous proposons d'utiliser ce même capteur pour la détection électrochimique d'un polluant toujours cationique mais cette fois de nature inorganique : le plomb(II). La technique d'investigation électrochimique utilisée est la voltampérométrie différentielle à impulsion, exploitée cette fois ci par le biais de la méthode par redissolution anodique. Dans la pratique, nous allons tout d'abord optimiser les conditions expérimentales afin d'obtenir une bonne performance de détection. Une fois que les conditions optimales de détection seront définies, une droite de calibration sera ensuite élaborée et les caractéristiques analytiques du capteur seront déterminées. Au terme de cette partie, une application dudit capteur à l'électroanalyse des ions Pb²⁺ dans des échantillons d'eaux naturelles sera faite.

III.4.1 Impact de la modification de l'hydroxyapatite naturelle sur la détection électrochimique du plomb(II)

Une étude préliminaire a été réalisée afin d'évaluer la capacité de chaque matériau élaboré à servir comme modifiant d'électrode pour la détection électrochimique du plomb(II). A cet effet, l'hydroxyapatite naturelle imprégnée, le polymère de β -CD et le composite hydroxyapatite naturelle/ β -CD ont été tour à tour utilisés pour modifier l'électrode de carbone vitreux nue en y déposant par *drop coating* 10 μ L de suspension (de concentration 2g/L) de chaque matériau. Après deux heures de séchage à l'air libre, ces capteurs ont servi à la détection des ions Pb^{2+} (2 μ mol/L). La procédure expérimentale utilisée implique une accumulation en circuit ouvert à partir d'une solution aqueuse 2 μ mol/L de Pb^{2+} à pH 6, suivie de la détection de l'analyte pré-concentré dans une solution de tampon acétate pH 5. La Figure 44 présente la réponse voltammétrique enregistrée après un temps d'accumulation de 180 secondes, pour un potentiel d'électrolyse de - 0,8 V et un temps d'électrolyse de 15 secondes sur l'électrode à film d'hydroxyapatite naturelle CV/NHAP_{P0,5} (a), superposée à celles obtenues sur CV/CA- β -CD (b) et CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD (c).

On note à l'analyse de cette figure que lorsque l'électrode est modifiée par l'hydroxyapatite naturelle imprégnée, on obtient un courant d'intensité 14,4 μ A (Figure 44(a)) correspondant à l'oxydation du plomb(II) préalablement réduit par redissolution anodique à la surface de l'électrode. Le courant obtenu résulte certainement des ions Pb^{2+} accumulés par l'hydroxyapatite naturelle imprégnée pendant la phase d'accumulation. En effet, l'hydroxyapatite grâce à sa structure peut accumuler le plomb(II) suivant deux processus. D'une part, il peut être facilement adsorbé par complexation sur les sites \equiv POH disponibles à la surface de l'hydroxyapatite selon la réaction illustrée à l'équation 30 [149].



D'autre part, lorsque la concentration du plomb(II) en solution atteint une certaine valeur et si le temps de contact est suffisamment long, on assiste à la dissolution de l'hydroxyapatite suivie de la précipitation d'une hydroxyapatite riche en plomb comme l'illustre l'équation 31 [149, 150].

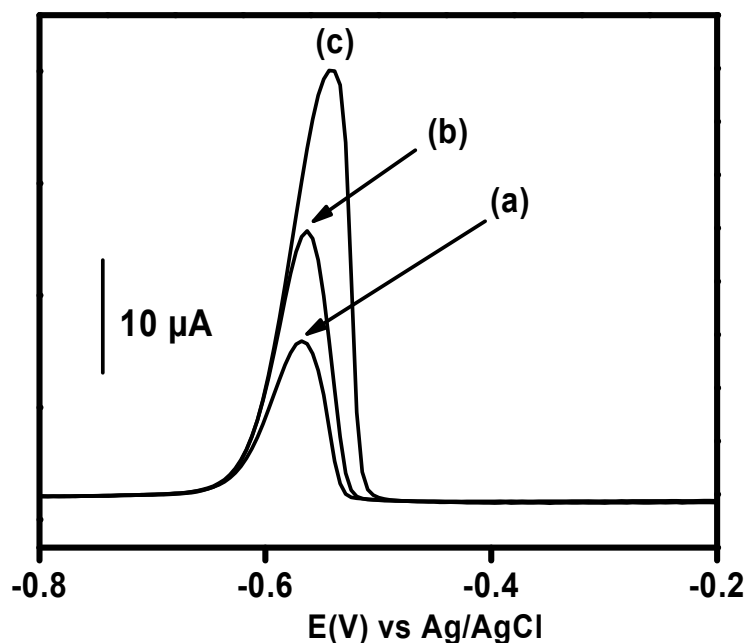
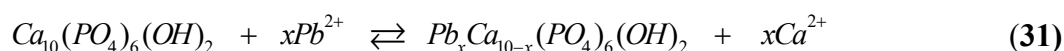


Figure 44 : Voltammogrammes obtenus par VID/RA sur (a) CV/NHAP_{P0,5}, (b) CV/CA-β-CD, (c) CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD. Temps d'accumulation : 3 minutes ; Milieu d'accumulation : milieu aqueux à pH 6 contenant 2 µmol/L d'ions Pb²⁺ ; Milieu de détection : tampon acétate 0,1 M à pH 5 ; potentiel d'électrolyse : - 0,8 V ; temps d'électrolyse : 15 s.

Dans les mêmes conditions, un courant de 23,98 µA a été obtenu lorsque l'électrode de carbone vitreux est modifiée avec le polymère de bêta-cyclodextrine. On note que ce courant est 1,7 fois plus intense que celui obtenu sur CV/NHAP_{P0,5}, ce qui traduit une bonne accumulation des ions Pb²⁺ par le polymère de β-CD. Ceci serait dû d'une part à l'aptitude de la β-CD à former des complexes d'inclusion réversibles avec les métaux lourds tels que le plomb(II) [204, 205], et d'autre part à la capacité des groupements hydroxyles et des fonctions carboxylate libres générés à la surface du matériau après la polymérisation à complexer les ions Pb²⁺ [206]. Lorsque l'électrode modifiée par le matériau composite NHAP_{P0,5}-CA-β-CD est utilisée, on obtient dans les mêmes conditions un courant de pic de 38,60 µA. Cette réponse est 1,61 fois plus intense que l'intensité du courant de pic obtenu sur CV/CA-β-CD et 2,75 fois plus élevé que le courant de pic obtenu sur CV/NHAP_{P0,5}. Cela peut être attribué à trois facteurs majeurs comme l'illustre le protocole proposé à la Figure 45. Tout d'abord (1), on a la β-CD qui à travers sa forme en cage encapsule les ions Pb²⁺ en formant des complexes d'inclusion réversibles [204]. Ensuite (2), nous avons les fonctions hydroxyles de surface et les

groupements carboxylates libres générés à la surface du matériau lors du greffage qui par complexation et par attraction électrostatique respectivement contribuent à piéger les ions Pb^{2+} . Enfin (3), on a l'hydroxyapatite naturelle qui non seulement adsorbe certains ions Pb^{2+} par échange ionique mais contribue également à une meilleure dispersion du matériau, rendant ainsi plus disponibles et donc plus réactives les sites actifs du matériau. En plus d'être électrochimiquement plus réactif, cette électrode est physiquement plus stable que CV/NHAP_{P0,5} et CV/CA-β-CD.

A l'issue de cette étude nous pouvons constater que le composite NHAP_{P0,5}-CA-β-CD est le meilleur des trois matériaux apte pour la détection électrochimique des ions Pb^{2+} . Par conséquent, CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD sera donc utilisé pour la suite des analyses.

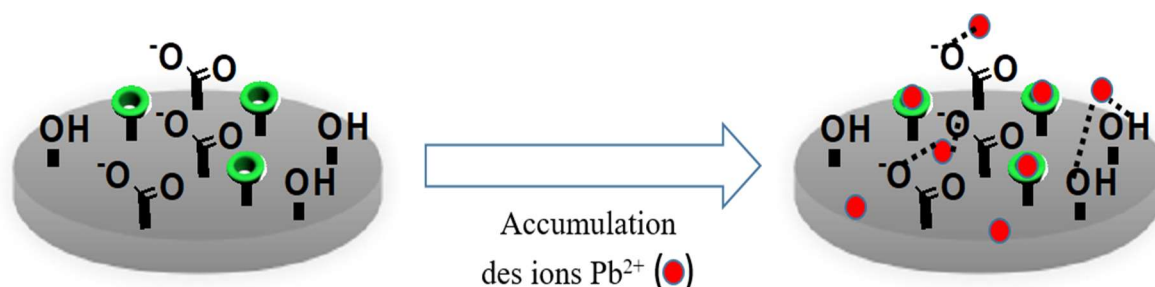


Figure 45 : Proposition du processus d'accumulation des ions Pb^{2+} par NHAP_{P0,5}-CA-β-CD

III.4.2 Etude de la stabilité du signal

L'étude de la stabilité du signal des ions Pb^{2+} obtenu sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD a été effectuée, ceci dans le but de s'assurer que l'électrode élaborée est capable de produire des résultats comparables dans des conditions expérimentales similaires. A cet effet, une série de huit voltammogrammes a été enregistrée avec une même électrode modifiée par le film du matériau composite NHAP_{P0,5}-CA-β-CD. À des intervalles de temps régulier, l'étape d'accumulation a été réalisée en plongeant l'électrode modifiée dans une solution aqueuse (pH 6) contenant 2 $\mu\text{mol/L}$ de plomb(II) pendant 3 minutes. Après cela, l'électrode est rincée puis transférée dans le milieu de détection constitué d'une solution de tampon acétate 0,1 mol/L à pH 5. La Figure 46 présente les résultats obtenus.

L'analyse statistique des intensités de ces voltammogrammes donne un écart-type moyen d'environ 1,27%, ce qui montre que la réponse électrochimique de détection des ions Pb^{2+} sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD est reproductible avec un taux de reproductibilité d'environ 98,73%. Cette bonne reproductibilité du signal traduit une bonne stabilité du film à la surface

de l'électrode de carbone vitreux. De plus, une série de mesures effectuées dans ces mêmes conditions sur cinq électrodes préparées avec un mode opératoire identique nous donne un écart type relatif de 3,75%, ce qui indique une bonne homogénéisation de la suspension ayant servi à préparer le film du matériau composite déposé à la surface de l'électrode. Plus encore, nous avons constaté que ce capteur peut être utilisé à plusieurs reprises et pendant une longue période sans que sa surface soit dégradée. L'ensemble de ces observations traduisent une bonne stabilité du film du matériau composite à la surface de l'électrode de carbone vitreux. Cela nous permet d'envisager une application de ce capteur pour l'électroanalyse du plomb(II). Mais avant d'y arriver, nous allons tout d'abord étudier l'influence de certains paramètres qui gouvernent les étapes d'accumulation et de détection sur la réponse électrochimique de ce polluant.

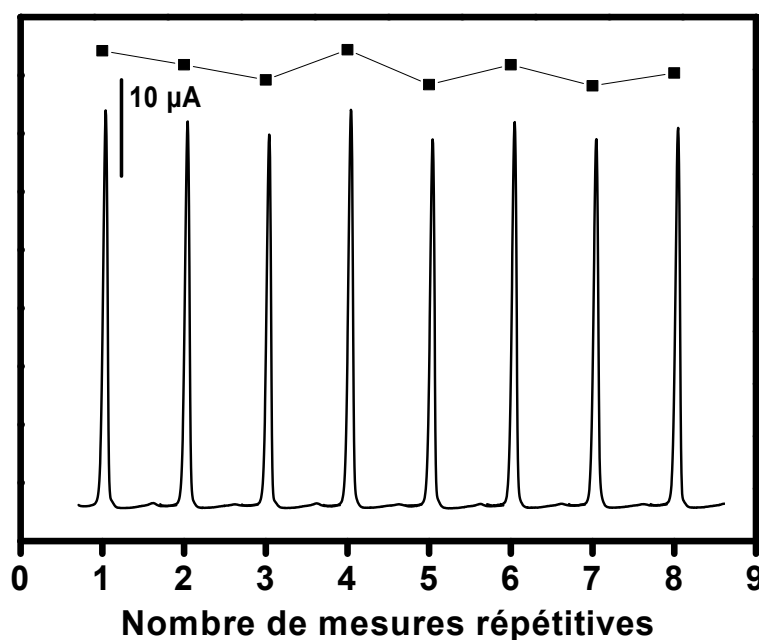


Figure 46: Variation du courant de pic pour des mesures successives. En inset : voltammogrammes successifs obtenus par VID/RA sur GCE/NHAP_{0.5}-CA-β-CD après 3 minutes d'accumulation dans une solution aqueuse (pH 6) contenant 2 µmol/L de Plomb(II). Détection dans du tampon acétate 0,1 M (pH 5) après 15 s d'électrolyse à - 0,8 V.

III.4.3 Optimisation des paramètres d'accumulation et de détection du plomb(II)

Dans cette partie, plusieurs paramètres expérimentaux sont optimisés en vue d'accroître la sensibilité du capteur CV/NHAP_{0.5}-CA-β-CD vis-à-vis du plomb(II). Ces paramètres incluent aussi bien l'étape d'accumulation que de détection.

III.4.3.1 Effet du pH du milieu de détection

Etant donné que la redissolution des ions Pb^{2+} sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD dépend fortement de l'acidité du milieu de détection, nous avons jugé important d'étudier l'influence du pH du milieu de détection sur le courant de pic enregistré. C'est dans cette optique que l'influence du pH du tampon acétate sur le courant de pic enregistré sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD a été étudiée pour des valeurs de pH allant de 3,5 à 6,5. La Figure 47 présente en (a) les voltammogrammes VID/RA obtenus et en (b) l'évolution du courant de pic enregistré en fonction du pH. Comme nous l'observons à la Figure 47(b), la réponse de l'électrode est faible en milieu fortement acide. Lorsque le pH augmente, la réponse électrochimique du capteur croît et la valeur optimale est atteinte à pH = 5. Au-delà de ce pH le courant de pic diminue progressivement.

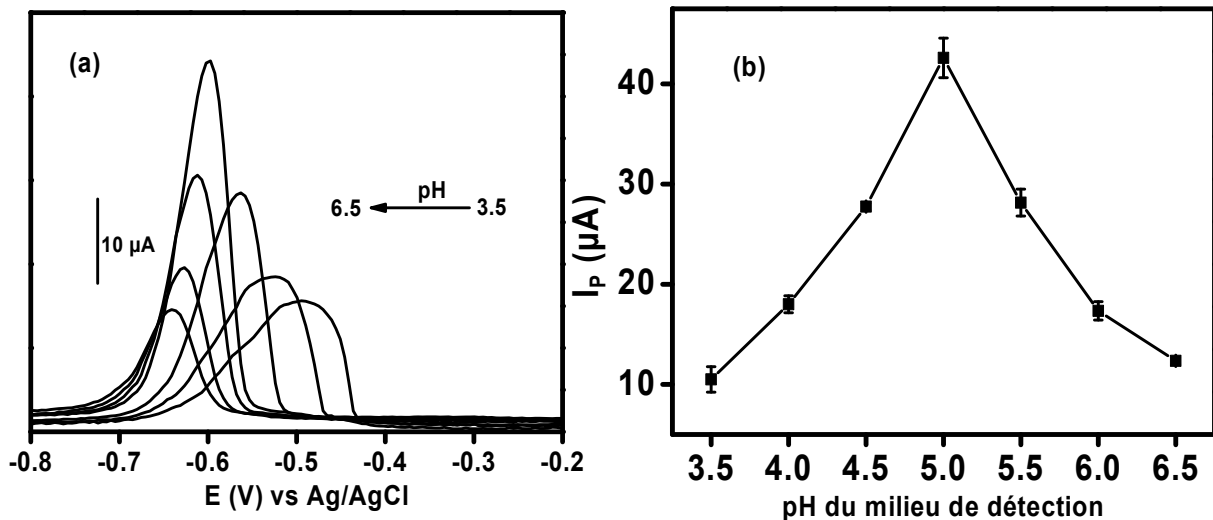


Figure 47 : Influence du pH du milieu de détection. (a) Voltammogrammes obtenus en VID/RA sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD en variant le pH du milieu de détection (tampon acétate) entre 3,5 et 6,5. (b) Evolution du courant de pic en fonction du pH du milieu de détection. Temps d'accumulation : 3 minutes ; potentiel d'électrolyse : -0,8V ; temps d'électrolyse : 15 s.

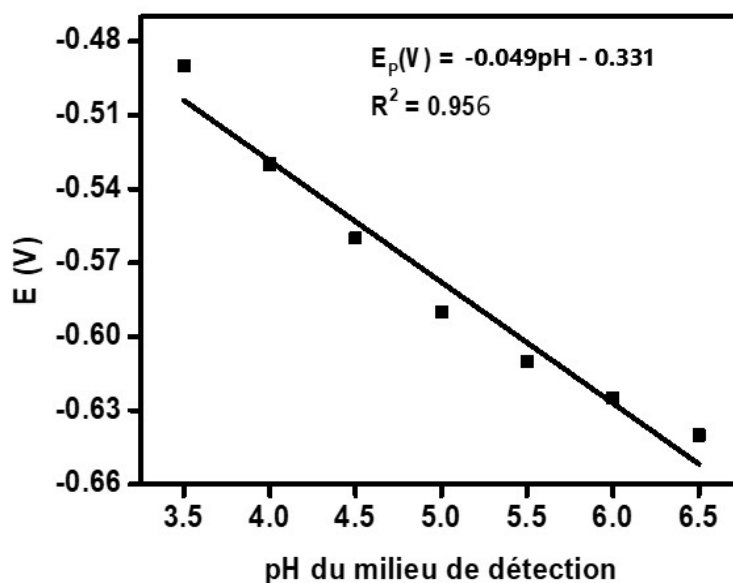


Figure 48 : Variation du potentiel de pic de Pb^{2+} en fonction du pH du milieu de détection.

L'analyse de la Figure 47 (a) indique un déplacement du potentiel de pic lorsque le pH du tampon acétate varie. Le tracé de l'évolution du potentiel de pic en fonction du pH (Figure 48) montre que cette variation est une fonction linéaire ($R^2 = 0,946$) du pH, avec une pente de $-0,049 \text{ V/pH}$. Ce constat qui a été également rapporté par certains auteurs montre que les protons H^+ sont impliqués dans le processus redox [207, 208]. La valeur de la pente obtenue est proche de la valeur théorique ($-0,058 \text{ V/pH}$), ce qui suggère que le nombre de protons et d'électrons impliqués dans ce processus redox est identique. Compte tenu de tout cela, le tampon acétate à pH 5 est sélectionné comme milieu de détection pour les mesures ultérieures.

III.4.3.2 Effet du pH du milieu d'accumulation

La fixation des ions Pb^{2+} à la surface de CV/NHAP_{0,5}-CA- β -CD pendant la phase d'accumulation à circuit ouvert dépend de plusieurs facteurs. Non seulement elle dépend du processus d'échange ionique qui se déroule à la surface de l'électrode. Mais aussi, elle est fonction du mécanisme de complexation entre ces ions Pb^{2+} et les fonctions hydroxyles et/ou les groupements carboxylates libres de l'acide citrique disponibles à la surface de l'électrode. Si nous tenons aussi compte du fait que les ions Pb^{2+} peuvent être sous la forme ionique libre ou sous forme d'hydroxydes neutres ou ioniques lorsque le pH du milieu varie [209], leur adsorption à la surface du capteur par échange cationique ou par complexation va dépendre fortement de la concentration du milieu d'accumulation en ions H^+ . En tenant compte de tout cela et du phénomène de compétition naturelle existant entre les ions H^+ et Pb^{2+} pour les sites

de fixation disponibles à la surface de l'électrode, il nous a semblé utile d'étudier l'effet du pH du milieu d'accumulation sur la réponse électrochimique des ions Pb^{2+} . La Figure 49 présente les courants de pic des voltammogrammes obtenus lorsqu'on a varié ce pH entre 4 et 6,5. Le pH est alors ajusté par ajout de très petites quantités d'hydroxyde de potassium ou d'acide nitrique dilué.

L'analyse de cette figure révèle que la réponse électrochimique des ions Pb^{2+} est très faible en milieu fortement acide ($\text{pH} < 4$). Cela serait certainement dû au fait que lorsque le milieu d'accumulation est fortement concentré en proton H^+ , il s'établit une forte compétition entre les protons H^+ et les ions Pb^{2+} pour les sites d'adsorption disponibles à la surface de l'électrode de travail. En effet, les protons en raison de leur forte mobilité peuvent facilement occuper tous les sites d'adsorption du matériau au détriment des ions Pb^{2+} . En plus de ce phénomène, nous pouvons noter qu'en milieu fortement acide, on pourrait aussi observer une dégradation du matériau d'électrode. Il est connu qu'une forte quantité de proton dans le milieu d'accumulation peut induire la dégradation du matériau composite par hydrolyse de certains sites actifs, ce qui entraîne la diminution de sa capacité d'adsorption et des courants faibles.

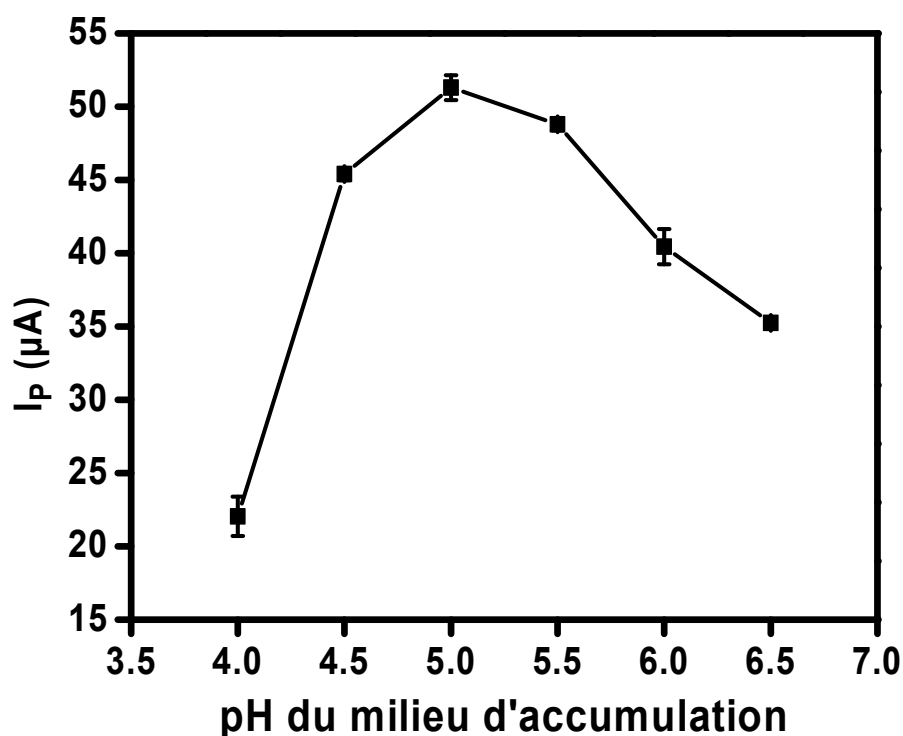


Figure 49 : Evolution du courant de pic de Pb^{2+} en fonction du pH du milieu d'accumulation. Temps d'accumulation : 3 minutes ; milieu de détection : tampon acétate pH 5 ; potentiel d'électrolyse : $-0,8$ V ; temps d'électrolyse : 15 s.

Lorsqu'on augmente le pH du milieu d'accumulation, on observe une croissance du courant de pic qui atteint une valeur optimale à pH 5. Cette augmentation résulte d'une part de la diminution de l'effet de compétition entre les protons H^+ et les ions Pb^{2+} puisque l'augmentation du pH entraîne systématiquement la diminution des protons H^+ . D'autre part, l'augmentation du pH du milieu d'accumulation favorise la formation d'ions carboxylates à la surface de l'électrode, par déprotonation des groupements carboxyles libres disponibles à la surface du matériau. Ce qui par interaction électrostatique favorise la fixation des ions Pb^{2+} .

Au-delà du pH 5, la chute du courant de pic observée serait liée à la diminution de la quantité d'ions Pb^{2+} libres en solution attribuable probablement à la réaction de cet ion avec les ions OH^- qui le ramènent sous ses formes hydroxylées cationiques $Pb_4(OH)_4^{4+}$ et $Pb_6(OH)_8^{4+}$, neutre $Pb(OH)_2$ ou anionique $Pb(OH)_3^{2-}$ et $Pb(OH)_4^{2-}$ [209] difficiles à complexer pour les uns ou n'ayant aucune affinité avec le film de NHAP_{P0,5}-CA- β -CD pour les autres.

Pour la suite des travaux, nous avons choisi le milieu aqueux de pH 5 comme milieu d'accumulation.

III.4.3.3 Effet du potentiel d'électrolyse

La méthode d'analyse électrochimique utilisée dans ce travail est la redissolution anodique couplée à la voltampérométrie impulsionnelle différentielle. Cette méthode comporte plusieurs étapes clés parmi lesquelles l'étape de redissolution anodique au cours de laquelle l'ion métallique cible qui au préalable a été accumulé à la surface de l'électrode de travail est réduit. Pour effectuer cette réduction, on impose à l'électrode de travail un potentiel appelé potentiel d'électrolyse. Pour que la détection soit convenable, ce potentiel doit être judicieusement choisi pour permettre une réduction optimale, d'où l'importance d'étudier l'effet du potentiel d'électrolyse sur le courant de pic du plomb(II). La Figure 50 présente la courbe donnant l'évolution du courant de pic des ions Pb^{2+} enregistré sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD après 3 minutes d'accumulation pour les potentiels d'électrolyse allant de - 0,1 à - 1 V, la variation se faisant par pas de - 0,1 V.

A l'examen de cette figure, nous remarquons qu'entre - 0,1 et - 0,4 V, les courants de pic obtenus sont faibles et constants. Ceci indique que dans cet intervalle de potentiel, l'électrode de travail ne reçoit pas suffisamment d'énergie pour provoquer la réduction d'une quantité suffisante d'ions Pb^{2+} . Lorsque le potentiel appliqué chute de - 0,5 à - 0,7 V, on note une augmentation considérable du courant de pic, traduisant une augmentation de la quantité

d'ions Pb^{2+} réduits à la surface de l'électrode. Ceci résulte du fait que la quantité d'énergie reçue par l'électrode de travail est de plus en plus grande, lui permettant de réduire des quantités plus importantes d'ions Pb^{2+} . Entre -0,8 et -1 V, les courants de pic obtenus sont très intenses et forment un palier : la quantité d'énergie reçue par l'électrode de travail dans cet intervalle de potentiel lui permet de réduire une quantité maximale d'ions Pb^{2+} . Nous avons par conséquent choisi -0,8 V comme potentiel d'électrolyse idéal pour la suite des expériences étant donné que pour des potentiels plus élevés, nous observons une dégradation du film après plusieurs séries de mesures.

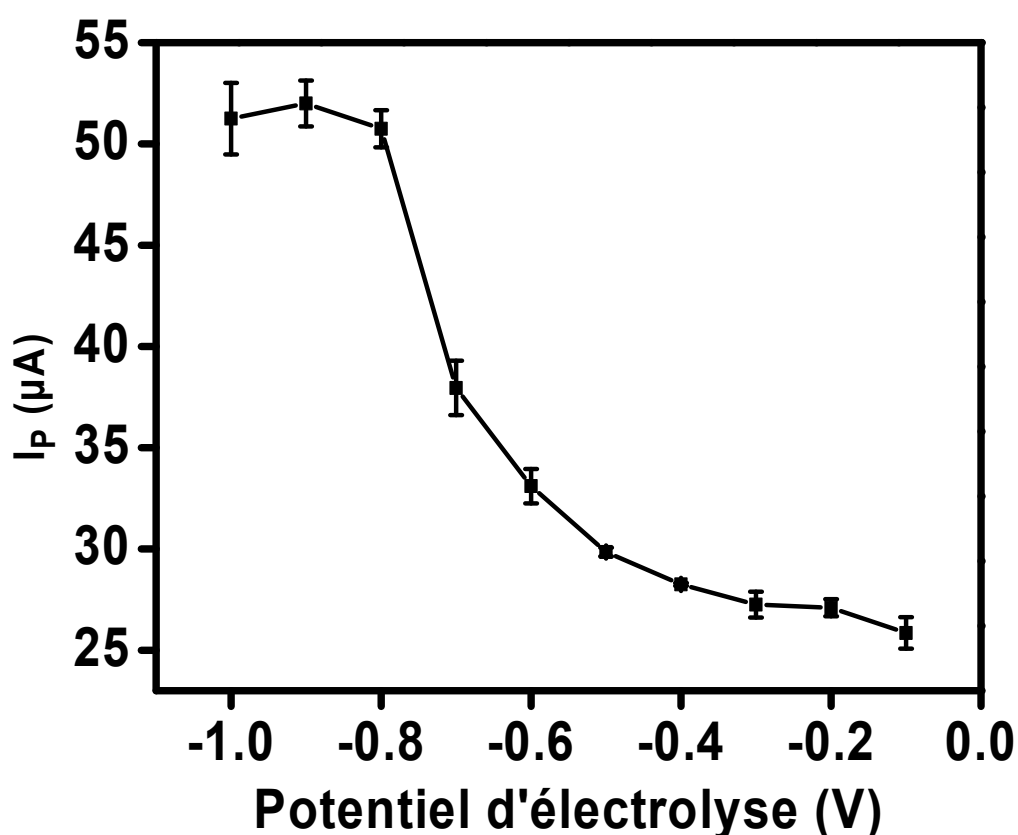


Figure 50 : Variation du courant de pic de Pb^{2+} en fonction du potentiel d'électrolyse. Temps d'accumulation : 3 min ; milieu de détection : tampon acétate pH 5 ; temps d'électrolyse : 15 s.

III.4.3.4 Effet du temps d'électrolyse

A l'instar du potentiel d'électrolyse, le temps d'électrolyse est un paramètre étroitement lié à la méthode électrochimique d'analyse choisie à savoir la redissolution anodique par VID. De façon pratique, il s'agit du temps qui permet pour un potentiel d'électrolyse donné de réduire une quantité d'ions Pb^{2+} pré-concentrés à l'électrode de travail avant sa détection par oxydation.

Il affecte considérablement la quantité de Pb(II) déposée durant la redissolution anodique et par conséquent, il influence aussi l'intensité du courant enregistré. Il convient alors pour une meilleure sensibilité de l'électrode d'étudier son influence sur la réponse électrochimique du Plomb(II). La Figure 51 présente la courbe donnant l'évolution du courant de pic de Pb(II) enregistré sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD après 3 min d'accumulation pour les temps d'électrolyse allant de 0 à 30 secondes.

On observe à l'analyse de cette figure que l'intensité du courant augmente lorsque le temps d'électrolyse croît jusqu'à atteindre un palier après 20 secondes. Cette augmentation de l'intensité du courant traduit l'augmentation de la quantité d'ions Pb²⁺ réduits à la surface de l'électrode et le palier obtenu rend compte de la saturation qui intervient lorsque le maximum d'ions Pb²⁺ a été réduit. Une durée d'électrolyse de 30 secondes apparaît donc comme suffisante pour une réduction maximale d'ions Pb²⁺.

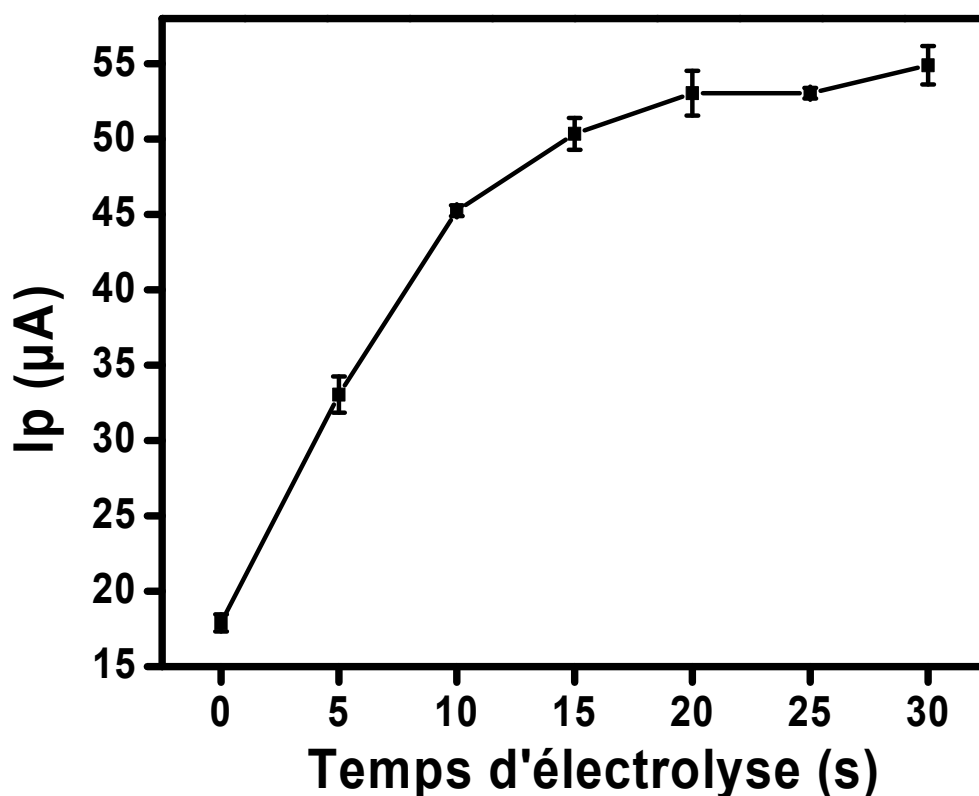


Figure 51 : Influence du temps d'électrolyse sur la réponse électrochimique du Pb²⁺ (2 µmol/L) obtenue par VID/RA sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD après 3 minutes d'accumulation. Milieu de détection : tampon acétate pH 5 ; potentiel d'électrolyse : -0,8V.

III.4.3.5 Effet du temps d'accumulation

Pendant la phase d'accumulation à circuit ouvert, l'adsorption des ions Pb^{2+} à la surface de CV/NHAP_{0,5}-CA- β -CD dépend non seulement du pH du milieu d'accumulation mais aussi du temps d'accumulation. Ce temps représente la durée requise pour que la majorité des ions Pb^{2+} diffusent vers la surface de l'électrode et occupent les sites de fixation disponibles. En maintenant les autres paramètres d'analyses constants, l'évolution du courant de pic des ions Pb^{2+} en fonction du temps d'accumulation en milieu aqueux pH 5 a été étudiée entre 1 et 30 minutes. La Figure 52 présente en (a) les voltammogrammes obtenus pour les 9 première minutes d'accumulation et en (b) l'évolution du courant de pic obtenu en fonction du temps d'accumulation.

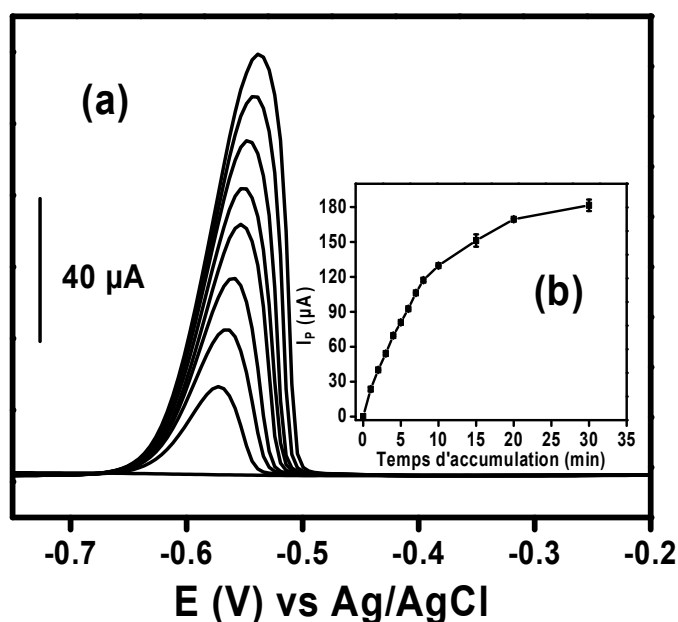


Figure 52 : (a) Effet du temps d'accumulation en milieu aqueux sur la réponse électrochimique de Pb^{2+} ($2 \mu\text{mol/L}$) enregistrée sur CV/NHAP_{0,5}-CA- β -CD. Temps d'électrolyse : 30 s ; potentiel d'électrolyse : -0,8 V. (b) tracé de l'évolution du courant de pic en fonction du temps d'accumulation.

On note à l'analyse de cette figure que pendant les 9 première minutes d'accumulation, l'intensité du courant de pic évolue linéairement avec le temps d'accumulation, ce qui traduit une accumulation progressive des ions Pb^{2+} sur les sites de fixation disponibles à la surface de l'électrode. Au-delà de 9 minutes, on observe toujours un accroissement progressif du courant de pic avec le temps de d'accumulation ; cependant, cette évolution n'est plus linéaire ; ce qui

traduit une saturation progressive de la surface de l'électrode lorsque le temps d'accumulation augmente. Cependant même après 30 minutes d'accumulation, on observe toujours une augmentation du courant de pic, ce qui montre que tous les sites de fixation disponibles ne sont pas toujours occupés.

III.4.3.6 Droite de calibration et calcul de la limite de détection du capteur

Après avoir optimisé les différentes conditions expérimentales pouvant influencer sur la détection des ions Pb^{2+} sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'évaluer la limite de détection de ce capteur. C'est dans cet objectif que sur la base des conditions optimales obtenues, l'étude de l'influence de la concentration des ions Pb^{2+} sur le courant de pic obtenu a été réalisée. La figure 53 présente les résultats obtenus. Elle présente en (a) l'effet de la concentration du plomb(II) sur les voltammogrammes VID/RA enregistrés dans un domaine de concentration compris entre $2,5 \times 10^{-8}$ mol/L et 20×10^{-8} mol/L.

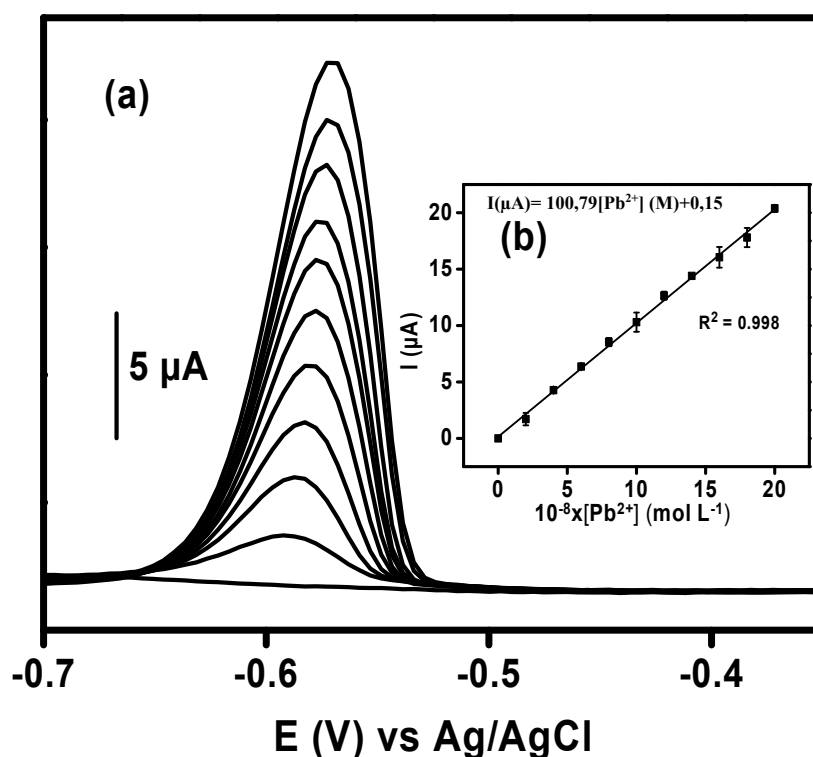


Figure 53 : (a) Signaux VID/RA enregistrés sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD pour des concentrations en ion Pb^{2+} allant de 0,025 à 0,200 $\mu\text{mol/L}$; après 10 minutes d'accumulation en milieu aqueux pH 5. Temps d'électrolyse : 30 s ; potentiel d'électrolyse : -0,8 V. (b) droite de calibration traduisant l'influence de la concentration sur l'intensité du courant du plomb(II).

On note de l'analyse des voltammogrammes obtenus que le courant de pic des ions Pb^{2+} augmente avec la concentration. Le tracé de la courbe donnant le courant de pic obtenu en fonction de la concentration (Figure 53 (b)), montre que cette évolution du courant est linéairement proportionnelle à la concentration des ions Pb^{2+} dans le domaine allant de 0,025 à 0,200 $\mu\text{mol/L}$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,998$. La droite d'étalonnage obtenue est $I_p(\mu\text{A}) = 100,79 [Pb^{2+}] (\text{M}) + 0,15$, ce qui permet d'évaluer la sensibilité du capteur élaboré à 100,79 $\mu\text{A/M}$. Grâce à cette équation, et sur la base du rapport signal/bruit de fond égal à 3, nous évaluons la limite de détection du capteur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD à $5,06 \times 10^{-10}$ M. Cette limite de détection est comme l'illustre le Tableau X meilleure comparée à plusieurs autres études réalisées par d'autres auteurs et consacrées à la détermination électrochimique du plomb(II) sur des électrodes à film modifiées par des hydroxyapatites [210, 211] ou d'autres matériaux [14, 207, 208, 212-215].

Tableau X: Comparaison de la performance analytique de CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD à celles d'autres électrodes modifiées rapportés dans la littérature pour la détection des ions Pb^{2+} .

Nature de l'électrode	Méthode d'analyse	Modifiant	Limite de détection	Référence
EPC	VOC	Hydroxyapatite	$7,68 \times 10^{-8}$ M	[210]
CV	VID/RA	Composite hydroxyapatite/nafiction	$1,00 \times 10^{-9}$ M	[211]
CV	VOC/RA	Composite β -CD/hydroxypropyle/ oxyde de graphène réduit	$9,42 \times 10^{-11}$ M	[207]
EPC	VID/RA	Composite coquille d'œuf magnétique/ nanotubes de carbone	$4,52 \times 10^{-7}$ M	[208]
CV	VID/RA	Composite β -CD/graphène réduit	$5,00 \times 10^{-10}$ M	[212]
CV	VID	Nanoparticules de polypyrrole	$5,50 \times 10^{-9}$ M	[213]
CV	VOC/RA	Smectite fonctionnalisée par l'ion cetyltriméthylammonium et la thio-urée	$2,9 \times 10^{-11}$ M	[14]
CV	VOC/RA	Nanofibres d'oxyde de zinc fonctionnalisées par la L-cystéine	$1,20 \times 10^{-9}$ M	[214]
CV	VOC/RA	Nanotubes de carbone	$1,88 \times 10^{-8}$ M	[215]
CV	VID/RA	Composite hydroxyapatite/ β -CD	$5,06 \times 10^{-10}$ M	Ce travail

Compte tenu du faible coût du matériau d'électrode et de la simplicité de préparation de l'électrode de travail, on peut dire que la méthode d'analyse électrochimique développée dans ce travail est une méthode efficace pour la détection du plomb(II). De plus, la limite de détection atteinte ici est inférieure à la concentration limite de plomb(II) recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé ($4,83 \times 10^{-8}$ mol/L) dans les eaux de consommations [216]. Cela permet d'envisager l'utilisation de ce capteur pour la quantification des ions Pb^{2+} en milieu réel. Mais avant cela nous allons étudier l'impact de quelques ions interférents qu'on peut facilement rencontrer en milieu réel sur la réponse de ce capteur.

III.4.3.7 Etude de l'effet des ions interférents sur la réponse électrochimique des ions Pb^{2+}

Les milieux naturels sont en général fortement chargés en divers ions. Ces ions sont susceptibles d'interagir plus ou moins fortement avec l'analyte lorsqu'on réalise des analyses en milieu réel. La présente étude vise à évaluer l'impact de la présence de certaines espèces ioniques qu'on peut retrouver dans un environnement réel sur la réponse électrochimique du capteur vis-à-vis du plomb(II).

De manière pratique, il est question dans un premier temps d'enregistrer dans les conditions optimal le signal du plomb(II) à une concentration donnée puis dans un second temps d'ajouter progressivement à des concentrations variables l'ion interfèrent dans le milieu d'accumulation afin d'observer son impact sur l'intensité du courant. Le Tableau XI présente les taux de variations des intensités des courants de pic obtenus en fonction des concentrations des espèces interférentes.

Il ressort de l'analyse de ce tableau que les ions K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} et Cl^- , n'ont aucune influence sur la réponse du plomb(II), même à une concentration 100 fois supérieur à celle de l'analyte. Cependant, les ions Cd^{2+} , Ni^{2+} et Cu^{2+} à partir d'une concentration 10 fois plus grande que celle du plomb(II) perturbent le signal de ce dernier en diminuant son intensité. Cela est plus accentué dans le cas de l'ion Cu^{2+} ou l'on observe une chute de courant de 50,76%. Cela peut s'expliquer d'une part par la possibilité d'avoir plus facilement un échange ionique entre les ions Ca^{2+} du matériau et les ions Cu^{2+} et d'autre part par l'affinité relative affichée par les ions Cu^{2+} envers les fonctions chimiques (groupements carboxylates d'acides citrique libres) disponibles à la surface du matériau composite. Compte tenu de cela nous proposons d'éliminer l'ion Cu^{2+} de toutes matrices avant la quantification du plomb(II).

Tableau XI : Taux de variation du courant de pic des ions Pb^{2+} 2 $\mu\text{mol/L}$, enregistré sur CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD en l'absence (100%) et la présence d'autres espèces interférentes introduites à une concentration fonction de celle du plomb(II).

Espèces interférentes	Quantité ajoutée par rapport à la concentration du plomb(II)	Taux de recouvrement de l'intensité du courant de Pb^{2+} (%)
Cd^{2+}	0,1	101,30
	1	98,60
	10	96,53
Ni^{2+}	0,1	102,65
	1	96,96
	10	97,30
Cu^{2+}	0,1	99,14
	1	101,11
	10	49,24
K^+	1	100,24
	10	101,30
	100	99,70
Mg^{2+}	1	103,60
	10	99,24
	100	98,10
SO_4^{2-}	1	103,60
	10	99,24
	100	98,10
Cl^-	1	100,24
	10	101,30
	100	99,70

III.4.3.8 Application analytique du capteur pour la détection des ions Pb^{2+} en milieu réel

La détermination des ions Pb^{2+} dans des échantillons réels d'eau de source, de puits de rivière et de robinet (collectés au centre-ville de Yaoundé, au Cameroun) a été réalisée afin de vérifier l'applicabilité du capteur élaboré. De manière pratique, ces échantillons d'eau ont été prélevés puis filtrés à l'aide d'un papier filtre et utilisés comme milieu d'accumulation. Dans les conditions optimales aucun courant de pic autour de -0,56 V n'a été observé lorsqu'ils ont été utilisés sans être pollués par plomb(II), indiquant l'absence de ce dernier ou sa présence à des concentrations non détectables dans ces échantillons réels. Par la suite nous avons pollué ces solutions avec 0,15 $\mu\text{mol/L}$ d'ions Pb^{2+} et toujours dans les conditions optimales, 3 voltammogrammes ont été enregistrés pour chaque échantillon. A partir de la moyenne des

intensités de courant de pic des trois signaux, et sur la base de la méthode d'ajout dosée, les concentrations de plomb(II) déterminées sont regroupées dans le tableau XII.

L'analyse de ces résultats montre que les taux recouvrement de 96,67%, 98,00%, 95,33% et 97,33% ont été respectivement obtenus pour des échantillons d'eau de source, de puits de rivière et de robinet. Ce qui révèle que CV/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD peut être efficacement appliqué pour la détermination du Pb²⁺ dans des échantillons réels d'eau.

Tableau XII: Détermination du Pb²⁺ dans divers échantillons d'eau sur CV/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD

Milieu réel	Plomb(II) ajouté (10 ⁻⁸ mol/L)	Plomb(II) trouvé ^a (10 ⁻⁸ mol/L)	Taux de recouvrement (%)
Eau de source	15	14,50 ± 0,04	96,67
Eau de puits	15	14,70 ± 0,04	98,00
Eau de rivière	15	14,30 ± 0,06	95,33
Eau de robinet	15	14,60 ± 0,03	97,33

^a Nombre d'essai par échantillon = 3.

III.4.5 Conclusion partielle

Dans cette partie, les capteurs préparés ont servi à la détection du plomb(II) en utilisant la voltampérométrie différentielle impulsionnelle en mode de redissolution anodique. L'intensité du courant de pic enregistré sur l'électrode modifiée par le matériau composite (NHAP_{P0.5}-CA-β-CD) est 1,61 fois plus élevé que celui enregistré sur l'électrode modifiée par le polymère de béta-cyclodextrine (CA-β-CD) et 2,75 fois plus élevé que celui obtenu sur l'électrode modifiée par le matériau brut (NHAP_{P0.5}), ce qui indique l'importance de la modification apportée à l'hydroxyapatite naturelle imprégnée. Dans les conditions optimales de détection sur CV/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD l'influence de la concentration a été étudiée dans un domaine compris entre $2,5 \times 10^{-8}$ mol/L et 20×10^{-8} mol/L. Le tracé de la courbe donnant l'évolution de l'intensité du courant de pic de Pb²⁺ en fonction de la concentration a donné une droite linéaire ($R^2 = 0,998$). Ceci a permis de déterminer sur la base du rapport signal sur bruit de fond de 3, une limite de détection de $5,06 \times 10^{-10}$ M. Une comparaison de cette valeur à celles trouvées dans la littérature a permis de constater que la limite de détection est particulièrement faible et donc que le capteur élaboré reste compétitif. Après étude de l'influence de quelques ions interférents, ce capteur a été appliqué avec succès à la détection des traces de plomb(II)

dans l'eau de source, l'eau de puits, l'eau de rivière et l'eau de robinet avec des taux de recouvrement de 96,67%, 98,00% , 95.33% et 97.33% respectivement.

III.5 Conclusion

Ce chapitre avait pour objectif de présenter les résultats des différentes caractérisations physico-chimique et électrochimique des matériaux préparés et de leurs applications comme capteur ampérométriques pour la détection électrochimique du diquat et du plomb(II).

Des différentes caractérisations réalisées il ressort que le matériau obtenu à partir des os de bovins est une hydroxyapatite pure cristallisée. Le greffage de la β -CD à la surface de NHAP_{P0,5} a été effectué avec succès. Le matériau composite obtenu possède une structure poreuse marquée par des particules bien dispersées. Le greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle imprégnée améliore considérablement ses propriétés d'échange cationique. De l'analyse des différents résultats électrochimiques obtenus, il ressort que l'électrode à film d'organohydroxyapatite (CV/NHAP_{P0,5}-CA- β -CD) est très stable et très sensible à la détection du diquat et du plomb(II). De plus, les analyses en milieu réel ont montré que ce capteur peut être utilisé pour la surveillance des traces de ces polluants dans l'environnement.

Conclusion générale et perspectives

Le présent travail avait pour but de fonctionnaliser une hydroxyapatite naturelle en greffant à sa surface de la β -cyclodextrine, puis d'appliquer l'organohydroxyapatite obtenu à la mise en œuvre d'un capteur électrochimique stable et sensible pour la détection électrochimique du diquat et du plomb(II).

Pour y arriver, l'hydroxyapatite utilisée a tout d'abord été obtenue naturellement à partir des os de bovins. A cet effet, les os de bovins obtenus sur le marché local ont subi après nettoyage et séchage plusieurs traitements qui se résument en trois étapes : une pré-calcination à 450 °C, un traitement chimique doux en présence du diammonium phosphate et enfin une calcination à 700 °C. Au terme de ces traitements, les particules d'hydroxyapatite naturelle de taille inférieure à 3 μm ont été recueillies, séchées puis symbolisées par NHAP_{P0.5}. Ce matériau a ensuite été modifié en greffant à sa surface la β -cyclodextrine. Cette modification s'est faite en utilisant l'acide citrique comme liant et le sodium hydrogénophosphate comme catalyseur. En fin de synthèse, l'organohydroxyapatite obtenu a été symbolisé par NHAP_{P0.5}-CA- β -CD. Plusieurs caractérisations physico-chimiques ont été par la suite effectuées sur les différents matériaux élaborés (DRX, IRTF, ATG, MEB). Il ressort de l'analyse des résultats obtenus de cette caractérisation que l'hydroxyapatite naturelle obtenue des os de bovins est pure et cristallisée. On note également que le traitement au diammonium phosphate induit au sein de ce matériau un caractère amorphe sans toutefois affecter sa structure. Le greffage de la β -CD à la surface de l'hydroxyapatite naturelle a été effectué avec succès sans pour autant affecter les phases cristallines présentes dans le matériau. L'organohydroxyapatite obtenu possède une structure plus poreuse marquée par des particules mieux dispersées.

Les matériaux élaborés ont été par la suite utilisés pour la confection des capteurs électrochimiques, en modifiant une électrode de carbone vitreux par la technique de drop-coating. Par le biais de la voltammétrie cyclique, la caractérisation électrochimique a démontré une affinité du matériau composite NHAP_{P0.5}-CA- β -CD vis-à-vis des ions hexamine ruthénium (III). Ce qui indique que le greffage de la β -CD a permis d'améliorer de façon considérable les propriétés d'échange cationique de l'hydroxyapatite naturelle. Cette affinité résulte d'une part de l'attraction électrostatique favorable entre les groupements carboxylate libre générés lors du greffage et les ions hexamine ruthénium (III) et d'autre part de la β -CD qui grâce à ses propriétés forme facilement des complexes d'inclusion réversibles avec cet analyte. Ensuite, les capteurs électrochimiques ont été appliqués à la détection du diquat et du plomb(II) en milieu aqueux. Les études préliminaires en voltammétrie cyclique ont au préalable été effectuées pour élucider le comportement électrochimique du diquat. Cette technique

d'analyse a également permis, en faisant varier la vitesse de balayage, de montrer que le processus de transfert du diquat est contrôlé par la diffusion.

Dans un premier temps, les électrodes élaborées ont servi à la détection électrochimique du diquat en utilisant la voltampérométrie différentielle à impulsion comme technique d'analyse. De l'analyse des résultats obtenus, il ressort que l'électrode à film d'organohydroxyapatite est très stable et plus sensible à la détection du diquat avec un courant de pic 25 fois plus intense que celui obtenu sur l'électrode modifiée par l'hydroxyapatite naturelle, montrant ainsi l'importance de la modification apportée à cette dernière. Dans les conditions optimales d'accumulation et de détection du diquat sur CV/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD (électrolyte support : KCl 0,1M ; pH du milieu d'accumulation : 6 ; pH du milieu de détection : 5 ; temps d'accumulation : 5 minutes), l'influence de la concentration sur les voltammogrammes VID a été étudiée dans un domaine allant de 5×10^{-8} mol/L à 50×10^{-8} mol/L. Le tracé de la courbe donnant l'évolution de l'intensité du courant de pic du diquat en fonction de la concentration a donné une droite linéaire avec un coefficient de corrélation proche de l'unité (0,995) et une sensibilité de 38,37 $\mu\text{A/M}$. Sur la base du rapport signal sur bruit de fond de 3, et en utilisant l'équation de droite obtenue on a évalué la limite de détection du diquat sur ce capteur égale à $4,6 \times 10^{-10}$ M. Une comparaison de cette limite de détection avec les résultats tirés de la littérature a montré que ce capteur compte parmi les plus performants pour la détection du diquat. L'étude de l'influence de quelques ions et molécules interférents a été effectuée. De l'analyse des résultats obtenus, il apparait que pour toutes les espèces interférentes étudiées, le taux de recouvrement du signal de DQ reste élevé, montrant que ce capteur présente une forte affinité pour cet analyte. Un effet catalytique a par ailleurs été observé lorsque les ions Cu^{2+} ont été ajoutés dans le milieu d'accumulation. Ce capteur a été aussi appliqué avec succès à la détection des traces de DQ dans un milieu naturel (eau de source). Il ressort de l'analyse des données obtenues dans ce milieu que le courant de pic du diquat évolue également linéairement ($R^2 = 0,994$) avec la concentration. L'exploitation de la droite de calibration obtenue a permis d'évaluer la limite de détection du diquat dans cette eau de source à $1,21 \times 10^{-9}$ mol/L, et la sensibilité de l'électrode à 14,69 $\mu\text{A/M}$. L'ensemble des résultats obtenus montre que le capteur élaboré dans ce travail peut permettre de détecter la présence de DQ à des concentrations inférieures à la limite permise par l'agence de protection de l'environnement des États-Unis dans les eaux de consommation ($5,52 \times 10^{-8}$ M).

En second lieu, ces capteurs ont également servi à la détection du plomb(II) en utilisant la voltampérométrie différentielle à impulsion exploitée cette fois par le biais de la méthode par

redissolution anodique. Dans les conditions optimales de détection sur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD (milieu de détection : tampon acétate 0,1 M ; pH du milieu de détection : 5 ; pH du milieu d'accumulation : 5 ; potentiel d'électrolyse : - 0,8 V ; temps d'électrolyse : 30 secondes ; temps d'accumulation : 10 minutes), l'influence de la concentration a été étudiée dans un domaine compris entre $2,5 \times 10^{-8}$ mol/L et 20×10^{-8} mol/L. Le tracé de la courbe donnant l'évolution de l'intensité du courant de pic de Pb²⁺ en fonction de la concentration a donné une droite linéaire ($R^2 = 0,998$). La limite de détection obtenue pour un rapport signal/bruit de fond égal à 3 est de $5,06 \times 10^{-10}$ M. Une comparaison de cette valeur à celles trouvées dans la littérature a permis de constater que la limite de détection est particulièrement faible et donc que le capteur élaboré reste compétitif. Après étude de quelques ions interférents, le capteur CV/NHAP_{P0,5}-CA-β-CD a été appliqué avec succès à la détection des traces de plomb(II) dans l'eau de source, l'eau de puits, l'eau de rivière et l'eau de robinet avec des taux de recouvrement respectivement de 96,67%, 98,00% , 95.33% et 97.33%.

Ce travail ouvre un nouvel horizon pour l'élaboration d'une large gamme de nouveaux matériaux d'électrode prometteurs, non couteux et respectueux de l'environnement. Ainsi, afin de compléter cette étude, quelques perspectives sont envisagées. Dans la suite, il sera question d'exploiter d'avantage le capteur élaboré pour l'électroanalyse d'autres micropolluants cationiques. On pourra aussi greffer sur ce matériau naturel d'autres molécules organiques portant des groupes fonctionnels spécifiques (thiol, amine, acide carboxylique...).

Références bibliographiques

- [1] T. Ohzuku and K. Ariyoshi, Lead-free accumulators for renewable and clean energy technologies, *Chemistry Letters*, 2006. **35**(8): 848-849.
- [2] A. Akhavein and D. Linscott, The dipyridylum herbicides, paraquat and diquat, in *Residue Reviews/Rückstands-Berichte*, Springer, 1968. **23** p. 97-145.
- [3] R.M. Harrison and D. Laxen, Lead pollution, in causes and control, Chapman and Hall, London and New York, 1981.
- [4] J.P. Petushkova and N.N. Lyalikova, Microbiological degradation of lead-containing pigments in mural paintings, *Studies in Conservation*, 1986. **31**(2): 65-69.
- [5] R.A. Goyer, Lead toxicity: current concerns, *Environmental Health Perspectives*, 1993. **100**: 177-187.
- [6] Y. Oulhote, Contribution de l'environnement résidentiel à l'exposition au plomb des enfants de 6 mois à 6 ans en France, 2008-2009, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine (France), 2012, pp. 191
- [7] M. Payne, Lead in drinking water, *Canadian Medical Association Journal*, 2008. **179**(3): 253-254.
- [8] N.A.Ghalwa, H.M. Abu-shawish, M. Hamada, K. Hartani, A.H. Basheer, Studies on degradation of diquat pesticide in aqueous solutions using electrochemical method. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2012, **3**: 99-105
- [9] G.B. Ngassa, I.K. Tonle and E. Ngameni, Square wave voltammetric detection by direct electroreduction of paranitrophenol (PNP) using an organosmectite film-modified glassy carbon electrode, *Talanta*, 2016. **147**: 547-555.
- [10] G.B. Ngassa, Matériaux composites inorgano-organiques a base de smectites, obtenus par co-intercalation de la thiouree et des ions cetyltriméthylammonium (cta⁺) : caractérisations et applications electroanalytiques, Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé I (Cameroun), 2015, pp. 191
- [11] B.N. Ngana, G.K. Dedzo, C.P. Nansu-Njiki and E. Ngameni, cationic dye modified sawdust as electrode modifier for electrochemical detection of anions, *Electroanalysis*, 2019, **31**(2): 383-389.
- [12] L. Cao, J. Jia and Z. Wang, Sensitive determination of Cd and Pb by differential pulse stripping voltammetry with in situ bismuth-modified zeolite doped carbon paste electrodes, *Electrochimica Acta*, 2008. **53**(5): 2177-2182.
- [13] I.K. Tonle, E. Ngameni, F.M.M. Tchieno and A. Walcarius, Organoclay-modified electrodes: preparation, characterization and recent electroanalytical applications. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 2015. **19**(7): 1949-1973.

- [14] G.B. Ngassa, I.K. Tonle, A. Walcarius and E. Ngameni, One-step co-intercalation of cetyltrimethylammonium and thiourea in smectite and application of the organoclay to the sensitive electrochemical detection of Pb (II), *Applied Clay Science*, 2014. **99**: 297-305.
- [15] V.D. Doan, V.T. Le, D.D. Nguyen, H.T. Nguyen, O.P. Ngo, T.K.N. Tran and H.S. Le, A novel cross-linked magnetic hydroxyapatite/chitosan composite: preparation, characterization and application for Ni (II) ion removal from aqueous solution. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2018. **229**(3): 101.
- [16] M. Sun, Z. Li, S. Wu, Y. Gu and Y. Li, Simultaneous detection of Pb²⁺, Cu²⁺ and Hg²⁺ by differential pulse voltammetry at an indium tin oxide glass electrode modified by hydroxyapatite. *Electrochimica Acta*, 2018. **283**: 1223-1230.
- [17] S. Petit, Influence de l'incorporation du vanadium dans l'hydroxyapatite sur la réaction d'oxydation déshydrogénante du propane ? Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie de Paris 6 (France), 2017, pp. 289.
- [18] C. Silva, A.G. Pinheiro, M.A.R. Miranda, J.C. Goes and A.S.B. Sombra, Structural properties of hydroxyapatite obtained by mechanosynthesis. *Solid State Sciences*, 2003. **5**(4): 553-558.
- [19] H. Tanaka, T. Watanabe, M. Chikazawa, K. Kandori and T. Ishikawa, Surface structure and properties of calcium hydroxyapatite modified by hexamethyldisilazane. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1998. **206**(1): 205-211.
- [20] S. El Asri, A. Laghzizil, T. Coradin, A. Saoiabi, A. Alaoui and R. M'hamedi, Conversion of natural phosphate rock into mesoporous hydroxyapatite for heavy metals removal from aqueous solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2010. **362**(1-3): 33-38.
- [21] M. Sadat-Shojai, M.T. Khorasani, E. Dinpanah-khoshdargi and A. Jamshidi, Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*, 2013. **9**(8): 7591-7621.
- [22] N.A.S.M. Pu'ad, P. Koshy, H.Z. Abdullah, M.I. I dris and T.C. Lee, Syntheses of hydroxyapatite from natural sources, *Heliyon*, 2019. **5**(5): e01588.
- [23] H. Hernández-Cocoletzi, R.A. Salinas, E.Aguila-Almanza, E. Rubio-rosas, W. S. Chai, K.W. Chew, C.M. Hernandez and P.L. Show, Natural hydroxyapatite from fishbone waste for the rapid adsorption of heavy metals of aqueous effluent, *Environmental Technology & Innovation*, 2020. **20**: 101109.
- [24] X.Y. Zhao, Y.J. Zhu, J.Z. Zhao, B.Q. Lu, F. Chen, C. Qi and J.Wu, Hydroxyapatite nanosheet-assembled microspheres: Hemoglobin-templated synthesis and adsorption for heavy metal ions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2014. **416**: 11-18.

- [25] P. Sharma, D. Rohilla, S. Chaudhary, R. Kumar, A.N. Singh, Nanosorbent of hydroxyapatite for atrazine: A new approach for combating agricultural runoffs, *Science of The Total Environment*, 2019. **653**: 264-273.
- [26] S. Pai, S.M. Kini, R. Selveraj and A. Pugazhendhi, A review on the synthesis of hydroxyapatite, its composites and adsorptive removal of pollutants from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 2020. **38**: 101574.
- [27] H.V. Tran, C.D. Huynh, T.D. Le and H.S. Hoang, Hydroxyapatite nano-rods/chitosan modified glassy carbon electrode for Cu (II) ions determination. *Electronic Materials Letters*, 2020. **16**: 396-403.
- [28] A.V. Bystrova, Y.D. Dekhtyar, A.I. Popov, J. Coutinho and V.S. Bystrov, Modified hydroxyapatite structure and properties: modeling and synchrotron data analysis of modified hydroxyapatite structure. *Ferroelectrics*, 2015. **475**(1): 135-147.
- [29] S. Moutard, Relation entre la structure et les propriétés d'organisation de nouvelles cyclodextrines amphiphiles, Thèse de Doctorat, Université de Picardie Jules Verne Picardie (France), 2003, pp. 281.
- [30] J. Szejtli, Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical reviews*, 1998. **98**(5): 1743-1754.
- [31] W.J. Yi, L.J. Li, H. He, Z. Hao, B. Liu, Z.S. Chao and Y. Shen, Synthesis of poly (l-lactide)/ β -cyclodextrin/citrate network modified hydroxyapatite and its biomedical properties. *New Journal of Chemistry*, 2018. **42**(18): 14729-14732.
- [32] D. Predoi, M.V. Predoi, S.L. Iconaru, M.E.C. Kettani, D. Leduc and A.M. Prodan, ultrasonic measurements on β cyclodextrin/hydroxyapatite composites for potential water depollution. *Materials*, 2017. **10**(6): 681.
- [33] F. Mzyène, S. Moulay, K. Bal and F. Madi, Biomimetic approach towards the preparation of hydroxyapatite and hydroxyapatite/chitosan/ β -cyclodextrin nanoparticles: application to controlled drug release. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2018. **92**(3): 381-394.
- [34] A. Fihri, C. Len, R.S. Varma and A. Solhy, Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. *Coordination Chemistry Reviews*, 2017. **347**: 48-76.
- [35] I. Mobasherpour, E. Salahi and M. Pazouki, Comparative of the removal of Pb^{2+} , Cd^{2+} and Ni^{2+} by nano crystallite hydroxyapatite from aqueous solutions: Adsorption isotherm study. *Arabian Journal of Chemistry*, 2012. **5**(4): 439-446.

- [36] A. Ramdani, A. Kadeche, M. Adjdir, Z. Taleb, D. Ikhrou, S. Taleb and A. Deratani, Lead and cadmium removal by adsorption process using hydroxyapatite porous materials. *Water Practice & Technology*, 2020. **15**(1): 130-141.
- [37] K. Ulucan-Altuntas, H.I. Uzun, C.B. Ustundag and E. Debik, Adsorption of copper ion from aqueous solutions by well-crystallized nanosized hydroxyapatite. *Materials Research Express*, 2020. **6**(12): 125545.
- [38] M. Harja and G. Ciobanu, Studies on adsorption of oxytetracycline from aqueous solutions onto hydroxyapatite. *Science of the Total Environment*, 2018. **628**: 36-43.
- [39] Z. Hong, X. Qiu, J. Sun, M. Deng, X. Chen and X. Jing, Grafting polymerization of L-lactide on the surface of hydroxyapatite nano-crystals. *Polymer*, 2004. **45**(19): 6699-6706.
- [40] S. Le Grill, Composite chitosane/phosphate de calcium: synthèse par atomisation séchage et caractérisation structurale, Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III-Paul Sabatier (France), 2018, pp. 189.
- [41] Y. Chen and X. Miao, Thermal and chemical stability of fluorohydroxyapatite ceramics with different fluorine contents. *Biomaterials*, 2005. **26**(11): 1205-1210.
- [42] Y. Lin, Z. Yang and J. Cheng, Preparation, characterization and antibacterial property of cerium substituted hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of Rare Earths*, 2007. **25**(4): 452-456.
- [43] J. P. Budin, J.C. Michel and F. Auzel, Oscillator strengths and laser effect in Na₂Nd₂Pb₆(PO₄)₆Cl₂ (chloroapatite), a new high-Nd-concentration laser material. *Journal of Applied Physics*, 1979. **50**(2): 641-646.
- [44] A.O. Wright and M.D. Seltzer, Site-selective spectroscopy and determination of energy levels in Eu³⁺ doped strontium fluorophosphate. *Journal of Applied Physics*, 1995. **78**(4): 2456-2467.
- [45] M.J. Gorbunoff, The interaction of proteins with hydroxyapatite: I. Role of protein charge and structure. *Analytical Biochemistry*, 1984. **136**(2): 425-432.
- [46] Y. Shibusawa, N. Miwa, T. Hirashima and U. Matsumoto, Separation of low density and very low density lipoproteins from human serum by hydroxyapatite chromatography. *Journal of Liquid Chromatography*, 1994. **17**(6): 1203-1217.
- [47] M. Vallet-Regi and J.M. González-Calbet, Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry*, 2004. **32**(1-2): 1-31.
- [48] Q. Picard, Biomatériaux hybrides: Tissu de fibres de carbone/phosphates de calcium: Synthèse, caractérisation et biocompatibilité, Thèse de Doctorat, Université d'Orléans (France), 2015, pp. 278.

- [49] F. Zhang, K. Lin, J. Lu and C. Ning, Spark plasma sintering of macroporous calcium phosphate scaffolds from nanocrystalline powders. *Journal of the European Ceramic Society*, 2008. **28**(3): 539-545.
- [50] P.A. Mouthuy, A. Crossley and H. Ye, Fabrication of calcium phosphate fibres through electrospinning and sintering of hydroxyapatite nanoparticles. *Materials Letters*, 2013. **106**: 145-150.
- [51] M. Ahmed, S.F. Mansour, S.I. El-dek, S.M. Abd-ehwabh and M.K. Ahmed, Characterization and annealing performance of calcium phosphate nanoparticles synthesized by co-precipitation method. *Ceramics International*, 2014. **40**(8): 12807-12820.
- [52] A. Nounah, Les apatites calcocadmées: introduction, localisation et extraction du cadmium. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse (France), 1992.
- [53] J.M. Hughes and J. Rakovan, The crystal structure of apatite, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{OH}, \text{Cl})$. *Reviews in mineralogy and geochemistry*, 2002. **48**(1): 1-12.
- [54] B. Reynard, C. Lécuyer and P. Grandjean, Crystal-chemical controls on rare-earth element concentrations in fossil biogenic apatites and implications for paleoenvironmental reconstructions. *Chemical Geology*, 1999. **155**(3-4): 233-241.
- [55] A. Coulon, Incorporation d'iode dans des phosphates de calcium de structure apatitique, Thèse de Doctorat, Université de Limoges (France), 2014, pp. 293.
- [56] J.M. Hughes, M. Cameron and K.D. Crowley, Structural variations in natural F, OH and Cl apatites. *American Mineralogist*, 1989. **74**(7-8): 870-876.
- [57] M. Šupová, Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: a review. *Ceramics International*, 2015. **41**(8): 9203-9231.
- [58] T. Tite, A.C. Popa, L.M. Balescu, L.M. Bogdan, L. Pasuk and J.M.F. Ferreira, Cationic substitutions in hydroxyapatite: Current status of the derived biofunctional effects and their in vitro interrogation methods. *Materials*, 2018. **11**(11): 2081.
- [59] Y. Jiang, Z. Yuan and J. Huang, Substituted hydroxyapatite: a recent development. *Materials Technology*, 2020. **35**(11-12): 785-796.
- [60] S. Samavedi, A.R. Whittington and A.S. Goldstein, Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior. *Acta Biomaterialia*, 2013. **9**(9): 8037-8045.
- [61] M.I. Kay, R. Young and A. Posner, Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature*, 1964. **204**(4963): 1050-1052.

- [62] J.C. Elliott, P. Mackie and R. Young, Monoclinic hydroxyapatite. *Science*, 1973. **180**(4090): 1055-1057.
- [63] G. Ma and X.Y. Liu, Hydroxyapatite: hexagonal or monoclinic? *Crystal Growth and Design*, 2009. **9**(7): 2991-2994.
- [64] A. Boyer, Synthèse, caractérisation et évaluation biologique d'apatites phosphocalciques carbo silicatées. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne (France), 2014, pp. 225.
- [65] J.C. Elliott, Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates, *Studies in inorganic chemistry*, Elsevier, 2013. **18**: 389.
- [66] H. Arab, Activation du CO₂ sur l'hydroxyapatite. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri De Tizi Ouzou, (Algérie), 2019, pp. 46.
- [67] F. Errassifi, Mécanismes d'adsorption du risédronate par des phosphates de calcium biologiques: applications aux biomatériaux. Thèse de Doctorat, Université Cadi Ayyad (Maroc), 2011, pp. 267.
- [68] J.C. Elliott, Calcium phosphate biominerals. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 2002. **48**(1): 427-453.
- [69] P. Gentile, C.J. Wilcock, C.A. Miller, R. Moorehead and P.V. Hatton, Process optimisation to control the physico-chemical characteristics of biomimetic nanoscale hydroxyapatites prepared using wet chemical precipitation. *Materials*, 2015. **8**(5): 2297-2310.
- [70] K. Donadel, M.C.M. Laranjeira, V.L. Goncalves, V.T. Favere, J.C. De lima and L.H.M. Prates, Hydroxyapatites produced by wet-chemical methods. *Journal of the American Ceramic Society*, 2005. **88**(8): 2230-2235.
- [71] S. Koutsopoulos, Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: a review study on the analytical methods. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 2002. **62**(4): 600-612.
- [72] H.S. Liu, T.S.Chin, L.S. Chiu, K.H. Chung, C.S. Chang and M.T. Lui, Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method. *Ceramics International*, 1997. **23**(1): 19-25.
- [73] M. Jarcho, C.H. Bolen, M.B. Thomas, J. Bobick, J.F. Kay and R.H. Doremus, Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *Journal of Materials Science*, 1976. **11**(11): 2027-2035.

- [74] S.D. Garcia, Les Hydroxyapatites, un système basique atypique modulable par la synthèse: vers l'identification des sites actifs. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI (France) 2012, pp. 281.
- [75] J. Liu, X. Ye, H. Wang, M. Zhu, B. Wang and H. Yan, The influence of pH and temperature on the morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method. *Ceramics International*, 2003. **29**(6): 629-633.
- [76] S. El Asri, Nouveaux matériaux de structure apatite préparés à partir du phosphate naturel marocain à applications environnementales. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V de Rabat (Maroc), 2009, pp. 157.
- [77] S.J. Kalita and S. Verma, Nanocrystalline hydroxyapatite bioceramic using microwave radiation: Synthesis and characterization. *Materials Science and Engineering: C*, 2010. **30**(2): 295-303.
- [78] S.K. Padmanabhan, A. Balakrishnan, M.C. Chu, Y.J. Lee, T.N. Kim and S.J. Cho, Sol-gel synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods. *Particuology*, 2009. **7**(6): 466-470.
- [79] K.P. Sanosh, M.C. Chu, A. Balakrishnan, Y.J. Lee, T.N. Kim and S.J. Cho, Synthesis of nano hydroxyapatite powder that simulate teeth particle morphology and composition. *Current Applied Physics*, 2009. **9**(6): 1459-1462.
- [80] A. Jilavenkatesa and R. Condrate, Sol-gel processing of hydroxyapatite. *Journal of Materials Science*, 1998. **33**(16): 4111-4119.
- [81] S.R. Ramanan and R. Venkatesh, A study of hydroxyapatite fibers prepared via sol-gel route. *Materials Letters*, 2004. **58**(26): 3320-3323.
- [82] J. Livage, P. Barboux, M.T. Vandenborre, C. Schmutz, F. Taulelle, Sol-gel synthesis of phosphates. *Journal of Non-crystalline Solids*, 1992. **147**: 18-23.
- [83] Y. Sabeha, Modification de la surface de l'hydroxyapatite par greffage de polymère (polypyrrole). Mémoire de Master, Université de Béjaïa-Abderrahmane Mira (Algérie), 2010, pp. 91.
- [84] K. Haberko, M.M. Bucko, J.B. Miecznik, M. Haberko, W. Mozgawa, T. Panz, A. Pyda and J. Zarebski, Natural hydroxyapatite-its behaviour during heat treatment. *Journal of the European Ceramic Society*, 2006. **26**(4-5): 537-542.
- [85] M. Javidi, S. Javadpour, M.E. Bahroloom and J. Ma, Electrophoretic deposition of natural hydroxyapatite on medical grade 316L stainless steel. *Materials Science and Engineering: C*, 2008. **28**(8): 1509-1515.
- [86] M. Ayatollahi, M.Y. Yahya, H.A. Shirazi and S.A. Hassan, Mechanical and tribological properties of hydroxyapatite nanoparticles extracted from natural bovine bone and the

- bone cement developed by nano-sized bovine hydroxyapatite filler. *Ceramics International*, 2015. **41**(9): 10818-10827.
- [87] A. Ruksudjarit, K. Pengpat, G. Rujijanagul and T. Tunkasiri, Synthesis and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite from natural bovine bone. *Current Applied Physics*, 2008. **8**(3-4): 270-272.
- [88] N.A.M. Barakat, M.S. Khil, A.M. Omran, F.A. Sheikh and H.Y. Kim, Extraction of pure natural hydroxyapatite from the bovine bones bio waste by three different methods. *Journal of Materials Processing Technology*, 2009. **209**(7): 3408-3415.
- [89] E. Hosseinzadeh, M. Davarpanah, N.H. Nemati and S.A. Tavakoli, Fabrication of a hard tissue replacement using natural hydroxyapatite derived from bovine bones by thermal decomposition method. *International Journal of Organ Transplantation Medicine*, 2014. **5**(1): 23
- [90] R.X. Sun, Y. Lv, Y.R. Niu, X.H. Zhao, D.S. Cao, J. Tang, X.C. Sun and K.Z. Chen, Physicochemical and biological properties of bovine-derived porous hydroxyapatite/collagen composite and its hydroxyapatite powders. *Ceramics International*, 2017. **43**(18): 16792-16798.
- [91] T.M. Coelho, E.S. Nogueira, A. Steimacher, A.N. Medina, W.R. Weinand, W.M. Lima, M.L. Baesso and A.C. Bento, Characterization of natural nanostructured hydroxyapatite obtained from the bones of Brazilian river fish. *Journal of Applied Physics*, 2006. **100**(9): 094312.
- [92] K. Achelhi, *Organo-apatites et nanocomposites zircone-hydroxyapatite pour le piégeage des métaux*. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI (France), 2012, pp. 120.
- [93] H. Hou, R. Zhou, P. Wu and L. Wu, Removal of Congo red dye from aqueous solution with hydroxyapatite/chitosan composite. *Chemical Engineering Journal*, 2012. **211**: 336-342.
- [94] K. M. Mucalo, *Hydroxyapatite (HAp) for biomedical applications*. 2015, Vol. 1. Cambridge, UK: Woodhead Publishing, Elsevier.
- [95] A. Yasukawa, S. Ouchi, K. Kandori and T. Ishikawa, Preparation and characterization of magnesium–calcium hydroxyapatites. *Journal of Materials Chemistry*, 1996. **6**(8): 1401-1405.
- [96] W.L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R.E. Riman, V.F. Janas and K.S. Tenhuisen, Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical-hydrothermal method. *Biomaterials*, 2004. **25**(19): 4647-4657.

- [97] E. Bertoni, A. Bigi, G. Cojazzi, M. Gandolfi, S. Panzavolta and N. Roveri, Nanocrystals of magnesium and fluoride substituted hydroxyapatite. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1998. **72**(1-2): 29-35
- [98] A. Yasukawa, E. Ueda, K. Kandori and T. Ishikawa, Preparation and characterization of carbonated barium–calcium hydroxyapatite solid solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2005. **288**(2): 468-474.
- [99] T. Ishikawa, H. Saito, A. Yasukawa and K. Kandori, Adsorption of CO₂ on non-stoichiometric strontium–calcium hydroxyapatites. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 1993. **89**(20): 3821-3825.
- [100] A. Bigi, E. Boanini, C. Capuccini, M. Gazzano, Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals. *Inorganica Chimica Acta*, 2007. **360**(3): 1009-1016.
- [101] C. Ergun, Effect of Ti ion substitution on the structure of hydroxylapatite. *Journal of the European Ceramic Society*, 2008. **28**(11): 2137-2149.
- [102] M. Wakamura, K. Hashimoto and T. Watanabe, Photocatalysis by calcium hydroxyapatite modified with Ti (IV): albumin decomposition and bactericidal effect. *Langmuir*, 2003. **19**(8): 3428-3431.
- [103] C.C. Ribeiro, I. Gibson and M.A. Barbosa, The uptake of titanium ions by hydroxyapatite particles-structural changes and possible mechanisms. *Biomaterials*, 2006. **27**(9): 1749-1761.
- [104] K. Zhu, K. Yanagisawa, R. Shimanouchi, A. Onda and K. Kajiyoshi, Preferential occupancy of metal ions in the hydroxyapatite solid solutions synthesized by hydrothermal method. *Journal of the European Ceramic Society*, 2006. **26**(4-5): 509-513.
- [105] L. Borkowski, A. Przekora, A. Belcarz, G. Jozefaciuk and G. Ginalska, Modification of hydroxyapatite by anionic substitution. *Engineering of Biomaterials*, 2019. **22**(153).
- [106] G. Bonel, Contribution à l'étude de la carbonatation des apatites. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse (France).
- [107] N. Senamaud, D. B. Assollant, E. Champion, M. Heughebaert and C. Rey, Calcination and sintering of hydroxyfluorapatite powders. *Solid State Ionics*, 1997. **101**: 1357-1362.
- [108] S. Kannan, A. Rebelo, A.F. Lemos, A. Barba and J.M.F. Feireira, Synthesis and mechanical behaviour of chlorapatite and chlorapatite/ β -TCP composites. *Journal of the European Ceramic Society*, 2007. **27**(5): 2287-2294.
- [109] S. Kannan, A. Rebelo and J. Ferreira, Novel synthesis and structural characterization of fluorine and chlorine co-substituted hydroxyapatites. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2006. **100**(10): 1692-1697.

- [110] M. Palard., Synthèse et frittage d'hydroxyapatites phosphocalciques silicatées. Thèse de Doctorat, Université de Limoges ((France), 2007, pp. 184.
- [111] C. Verwilghen, Fixation des métaux lourds par des phosphates de calcium dans le traitement des fumées d'Usines d'Incineration d'Ordures Ménagères. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse 3 (France), 2006, pp. 198.
- [112] L. Wu, W. Forsling and P.W. Schindler, Surface complexation of calcium minerals in aqueous solution: 1. Surface protonation at fluorapatite-water interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1991. **147**(1): 178-185.
- [113] H. MAHROUG, Formulation des composites macroporeux Pam-pvp-Hydroxyapatite applications à la fixation des métaux lourds et des micropolluants. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen (Algérie), 2019, pp. 175.
- [114] D. Marchat, Fixation du cadmium par une hydroxyapatite phosphocalcique: étude cinétique et thermodynamique. 2005, Thèse de Doctorat, Université de Limoges (France), 2005, pp. 206.
- [115] S.V. Dorozhkin, A review on the dissolution models of calcium apatites. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 2002. **44**(1): 45-61.
- [116] H. Tanaka, T. Watanabe, NM. Chikazawa, K. Kandori and T. Ishikawa, TPD, FTIR and molecular adsorption studies of calcium hydroxyapatite surface modified with hexanoic and decanoic acids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1999. **214**(1): 31-37.
- [117] M. Tagaya, T. Ikoma, N. Hanagata, T. Yoshioka and J. Tanaka, Competitive adsorption of fibronectin and albumin on hydroxyapatite nanocrystals. *Science and Technology of Advanced Materials*, 2011. **12**(3): 034411.
- [118] P. Choudhury and D. Agrawal, Sol-gel derived hydroxyapatite coatings on titanium substrates. *Surface and Coatings Technology*, 2011. **206**(2-3): 360-365.
- [119] M.H. Hong, D. Oh and Y.-K. Lee, Drug release from porous hydroxyapatite spheres as a synthetic bone-graft material, *Bone*, 2011. **48**(2): p186
- [120] H.W. Kim, J.C. Knowles and H.-E. Kim, Hydroxyapatite/poly (ϵ -caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. *Biomaterials*, 2004. **25**(7-8): 1279-1287.
- [121] Z. Opre, J.D. Grunwaldt and A. Baiker, Selective oxidation of alcohols with oxygen on Ru-Co-hydroxyapatite: A mechanistic study. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2005. **242**(1-2): 224-232.
- [122] A. Venugopal and M.S. Scurrell, Hydroxyapatite as a novel support for gold and ruthenium catalysts: Behaviour in the water gas shift reaction. *Applied Catalysis A: General*, 2003. **245**(1): 137-147.

- [123] S. Sebti, R. Tahir, R. Nazih, S. Boulaajaj, Comparison of different Lewis acid supported on hydroxyapatite as new catalysts of Friedel–Crafts alkylation. *Applied Catalysis A: General*, 2001. **218**(1-2): 25-30.
- [124] A. Smahi, A. Solhy, H. El Badaoui, A. Amoukal, A. Tikad, M. Maizi and S. Sebti, Potassium fluoride doped fluorapatite and hydroxyapatite as new catalysts in organic synthesis. *Applied Catalysis A: General*, 2003. **250**(1): 151-159.
- [125] S. Sebti, R. Tahir, R. Nazih, A. Saber and S. Boulaajaj, Hydroxyapatite as a new solid support for the Knoevenagel reaction in heterogeneous media without solvent. *Applied Catalysis A: General*, 2002. **228**(1-2): 155-159.
- [126] M. Zahouily, Y. Abrouki, B. Bahlaoun, A. Rayadh and S. Sebti, Hydroxyapatite: new efficient catalyst for the Michael addition. *Catalysis Communications*, 2003. **4**(10): 521-524.
- [127] L. Silvester, J.F. Lamonier, C. Lamonier, M. Capron, R.N. Vannier, A.S. Mamede and F. Dumeignil, Guerbet reaction over strontium-substituted hydroxyapatite catalysts prepared at various (Ca⁺ Sr)/P ratios. *ChemCatChem*, 2017. **9**(12): 2250-2261.
- [128] Y. Guesmi, H. Agougui, R. Lafi, M. Jabli and A. Hafiane, Synthesis of hydroxyapatite-sodium alginate via a co-precipitation technique for efficient adsorption of methylene blue dye. *Journal of Molecular Liquids*, 2018. **249**: 912-920.
- [129] M. Chahkandi, Mechanism of Congo red adsorption on new sol-gel-derived hydroxyapatite nano-particle. *Materials Chemistry and Physics*, 2017. **202**: 340-351.
- [130] H.Y. Xu, L. Yang, P. Wang, Y. Liu and M.S. Peng Kinetic research on the sorption of aqueous lead by synthetic carbonate hydroxyapatite. *Journal of Environmental Management*, 2008. **86**(1): 319-328.
- [131] I.D. Smičiklas, S.K. Milonjič, P. Pfenndt and S. Raičević, The point of zero charge and sorption of cadmium (II) and strontium (II) ions on synthetic hydroxyapatite. *Separation and Purification Technology*, 2000. **18**(3): 185-194.
- [132] J. Reichert and J. Binner, An evaluation of hydroxyapatite-based filters for removal of heavy metal ions from aqueous solutions. *Journal of Materials Science*, 1996. **31**(5): 1231-1241.
- [133] H. Yin, Y. Zhou, S. Ai, X. Liu, L. Zhu and L. Lu, Electrochemical oxidative determination of 4-nitrophenol based on a glassy carbon electrode modified with a hydroxyapatite nanopowder. *Microchimica Acta*, 2010. **169**(1-2): 87-92.
- [134] M.A. Assi, M.N.M. Hezmee, A.W. Haro, M.Y.M. Sabri and M.A. Rajion, The detrimental effects of lead on human and animal health. *Veterinary World*, 2016. **9**(6): 660.

- [135] D. Faye, Détection fluorimétrique en circuit microfluidique des ions Pb^{2+} , Hg^{2+} et Cd^{2+} en milieu aqueux. Thèse de Doctorat, Ecole normale supérieure de cachan (France), 2011, pp. 281.
- [136] B.R. Doe, Lead isotopes. Vol. 3. 2012: Springer Science & Business Media.
- [137] W. René, Polymères à empreintes ioniques fluorescents: un outil innovant pour la détection du plomb en milieu marin. Université de Toulon (France), 2019, pp. 235.
- [138] I.B. Kacem, Du cristal au plomb jusqu'aux déchets domestiques: rôle du plomb dans les verres et les vitrocéramiques: étude des systèmes $PbO-SiO_2$, $PbO-CaO-SiO_2$ et $PbO-Al_2O_3-SiO_2$. Thèse de Doctorat, Université de Paris Est (France), 2017, pp. 213.
- [139] R. Garnier, Toxicité du plomb et de ses dérivés. EMC-Toxicologie-pathologie, 2005. **2(2)**: 67-88.
- [140] G. Abdul, Effect of lead toxicity on growth, chlorophyll and lead (Pb^{+}) contents of two varieties of maize (*Zea mays* L.). Pakistan Journal of Nutrition, 2010. **9(9)**: 887-891.
- [141] S. Tiwari, I.P. Tripathi and H. Tiwari, Effects of lead on Environment. International Journal of Emerging Research in Management & Technology, 2013. **2(6)**: 1-5.
- [142] J. Hsiang and E.D. Diaz, Lead and developmental neurotoxicity of the central nervous system. Current Neurobiology, 2011. **2(1)**: 35-42.
- [143] M.B. Rabinowitz, Toxicokinetics of bone lead. Environmental health perspectives, 1991. **91**: 33-37.
- [144] E.K. Silbergeld, M. Waalkes and J.M. Rice, Lead as a carcinogen: experimental evidence and mechanisms of action. American journal of industrial medicine, 2000. **38(3)**: 316-323.
- [145] O. Chanel, C. Dolfus, J.M. Haguenoer, P. Hartemann, G. Huel, B. Larroque, D. Lison, S. Marret, G.P. Lataillade, J. Prémont, H. de Verneuil and D. Zmirou, Plomb dans l'environnement: quels risques pour la santé? 1999. Eddition INSERM:461.
- [146] Q.Y. Ma, J.T. Samuel, T.J. Logan and J.A. Ryan, In situ lead immobilization by apatite. Environmental Science & Technology, 1993. **27(9)**: 1803-1810.
- [147] Y. Takeuchi and H. Arai, Removal of coexisting Pb^{2+} , Cu^{2+} and Cd^{2+} ions from water by addition of hydroxyapatite powder. Journal of Chemical Engineering of Japan, 1990. **23(1)**: 75-80.
- [148] N. Arnich, M.C. Lanhers, F. Laurensort, R. Podor, A. Montiel and D. Burnel, In vitro and in vivo studies of lead immobilization by synthetic hydroxyapatite. Environmental Pollution, 2003. **124(1)**: 139-149.

- [149] B. Sandrine, N. Ange, B.-A. Didier, C. Eric and S. Patrick, Removal of aqueous lead ions by hydroxyapatites: equilibria and kinetic processes. *Journal of Hazardous Materials*, 2007. **139**(3): 443-446.
- [150] L. El Hammari, Synthèse et études physico-chimiques des phosphates de calcium poreux greffés par des molécules organiques: Structure et processus d'adsorption. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V Agdal (Maroc), 2007, pp. 184.
- [151] X. Cao, L.Q. Ma, D.R. Rhue and C.S. Appel, Mechanisms of lead, copper and zinc retention by phosphate rock. *Environmental pollution*, 2004. **131**(3): 435-444.
- [152] I. Smičiklas, A. Onjia, S. Raičević, D. Janačković and M. Mitrić, Factors influencing the removal of divalent cations by hydroxyapatite. *Journal of Hazardous Materials*, 2008. **152**(2): 876-884.
- [153] J.G. Jović-Stošić, G. Babić and V. Todorović, Fatal diquat intoxication. *Vojnosanitetski pregled*, 2009. **66**(6): 477-481.
- [154] A.M. Ritter, J.L. Shaw, W.M. Williams and K.Z. Travis, Characterizing aquatic ecological risks from pesticides using a diquat dibromide case study. I. Probabilistic exposure estimates. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 2000. **19**(3): 749-759.
- [155] J.R. Roede and G.W. Miller, Diquat in *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, P. Wexler, Editor, Academic Press: Oxford, 2014, 202-204.
- [156] D. Conning, K. Fletcher and A. Swan, Paraquat and related bipyridyls. *British Medical Bulletin*, 1969. **25**(3): 245-249.
- [157] G.M. Jones and J.A. Vale, Mechanisms of toxicity, clinical features and management of diquat poisoning: a review. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 2000. **38**(2): 123-128.
- [158] D.M. Schmidt, D. Schmidt, J. Neale and K.R. Olson, Clinical course of a fatal ingestion of diquat. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 1999. **37**(7): 881-884.
- [159] C. Beste, *Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America*. 1983: Weed Science Society of America.
- [160] W.J. Hayes, E.R. Laws, *Handbook of Pesticide Toxicology*. 1991, vol. 2. Academic Press, San Diego, CA.
- [161] H. Imen, H., Etudes physico-chimique de capteurs à base de nanomatériaux pour des applications biomédicales. Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard Lyon (France), 2009.
- [162] R.N. Adams, Carbon paste electrodes. *Analytical chemistry*, 1958, **30**(9): 1576-1576.

- [163] N.R. Stradiotto, H. Yamanaka and M.V.B. Zanoni, Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2003. **14**(2): 159-173.
- [164] J.I. Janata, Conductometric sensors, in *Principles of Chemical Sensors*, Springer, 2009. p. 241-266.
- [165] J.L.Anderson, L.A. Coury and J. Leddy, Dynamic electrochemistry: methodology and application. *Analytical chemistry*, 2000. **72**(18): 4497-4520.
- [166] R. Durst, Chemically modified electrodes: recommended terminology and definitions (IUPAC Recommendations 1997). *Pure and applied chemistry*, 1997. **69**(6): 1317-1324.
- [167] W. Van der Linden and J.W. Dieker, Glassy carbon as electrode material in electro-analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 1980, **119**(1): 1-24.
- [168] Y.M.J. Geralde, Électroanalyse de la carbendazime et du glyphosate sur des électrodes modifiées par des smectites organophiles. Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé I. (Cameroun), 2020.
- [169] O.D. Renedo, M. Alonso-Lomillo and M.A. Martínez, Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. *Talanta*, 2007, **73**(2): 202-219.
- [170] R. Couto, J. Lima and M. Quinaz, Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. *Talanta*, 2016, **146**: 801-814.
- [171] S. Khaoulani, Traitement d'eaux usées par adsorption sur des polymères de cyclodextrine et développement de capteurs chimiques à base de membranes de verres de chalcogénures destinées à la détection des ions Hg²⁺. Thèse de Doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale (France), 2015, pp. 268.
- [172] U. Iriarte-Velasco, I. Sierra, L. Zudaire, J.L. Ayastuy, Conversion of waste animal bones into porous hydroxyapatite by alkaline treatment: effect of the impregnation ratio and investigation of the activation mechanism. *Journal of materials science*, 2015. **50**(23): 7568-7582
- [173] M.L. Ettorche, Etude des propriétés structurales de matériaux semiconducteurs finement cristallisés incorporés dans des matrices hôtes. Thèse de Doctorat, Université de constantine 1 (Algerie), 2014, pp. 102.
- [174] H. Stanjek and W. Häusler, Basics of X-ray Diffraction. *Hyperfine Interactions*, 2004. **154**(1-4): 107-119.

- [175] V. Uvarov and I. Popov, Metrological characterization of X-ray diffraction methods at different acquisition geometries for determination of crystallite size in nano-scale materials. *Materials Characterization*, 2013. **85**: 111-123.
- [176] J. Keirse, Spectroscopie infrarouge déportée: mise au point d'un biocapteur pour l'imagerie métabolique et la sécurité microbiologique. Thèse de Doctorat, Université Rennes 1 (France), 2003, pp. 139.
- [177] D. Bertrand and E. Dufour, La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Editions Tec et Doc, Paris 2000.
- [178] R. Bottom, Chapitre 3: Thermogravimetric analysis, in *Principles and applications of thermal analysis*, 2008, Ed: Gabbott, Oxford: Blackwell Publishing. pp 87-118.
- [179] Bruno, N.B., Greffage de liquides ioniques dans la kaolinite : contrôle simultané de l'espacement basal et des fonctionnalités greffées et application à l'électroanalyse des anions thiocyanate et iodure. Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé I (Cameroun), 2019, pp. 157.
- [180] C. Bernard, Propriétés mécaniques des nanotubes de carbone en tant que nanosondes et leur fonctionnalisation par bio-nanoparticules, Thèse de Doctorat, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I (France), 2007, pp. 188.
- [181] A. Ourad and M. Ouazar, Etude comparative du comportement mécanique de l'ABS: injection presse-impression 3D, Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou (Algérie), 2017.
- [182] I.K. Tonlé, Capteurs électrochimiques à base d'argiles smectitiques camerounaises fonctionnalisées par les groupements thiol et amine : Elaboration, caractérisation et application au piégeage de métaux lourds à effet polluant. Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé I (Cameroun), 2004, pp. 167.
- [183] H. Günzler and A. Williams, *Handbook of analytical techniques*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany 2001.
- [184] G. Barker and A. Gardner, Pulse polarography. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, 1960. **173**(1): 79-83.
- [185] D. Sébastien, Détection électrochimique du nitrométhane pour un détecteur de traces d'explosifs par concentration en milieu liquide, Thèse de Doctorat, Université François-Rabelais de tours (France), 2013, pp. 193.
- [186] Z. Haddi, Conception et développement d'un système multicapteurs en gaz et en liquide pour la sécurité alimentaire. Thèse de Doctorat, Université Moulay Ismaïl (Maroc), 2013, pp. 239.

- [187] A. Monshi, M.R. Foroughi and M.R. Monshi, Modified Scherrer equation to estimate more accurately nano-crystallite size using XRD. *World Journal of Nano Science and Engineering*, 2012. **2**(3): 154-160.
- [188] S. Bednarz, W. Mazela, M. Pajda and W. Kasprzyk, Chemical structure of poly (β -cyclodextrin-co-citric acid). *Journal of Applied Polymer Science*, 2011. **119**(6): 3511-3520.
- [289] A. Heydari and H. Sheibani, Fabrication of poly (β -cyclodextrin-co-citric acid)/bentonite clay nanocomposite hydrogel: thermal and absorption properties. *RSC Advances*, 2015. **5**(100): 82438-82449.
- [190] V.S. Ghorpade, A.V. Yadav and R.J. Dias, Citric acid crosslinked β -cyclodextrin/carboxymethylcellulose hydrogel films for controlled delivery of poorly soluble drugs. *Carbohydrate Polymers*, 2017. **164**: 339-348.
- [191] Yu, X., S. Tong, M. Ge and J. Zuo, Removal of fluoride from drinking water by cellulose@hydroxyapatite nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 2013. **92**(1): 269-275.
- [192] L.C.S. de Figueiredo-Filho, M. Baccarin, B.C. Janegitz and O. Fatibello-Filho, A disposable and inexpensive bismuth film minisensor for a voltammetric determination of diquat and paraquat pesticides in natural water samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017. **240**: 749-756.
- [193] M. El Mhammedi, M. Bakasse and A. Chtaini, Investigation of square wave voltammetric detection of diquat at carbon paste electrode impregnated with $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$: Application in natural water samples. *Materials Chemistry and Physics*, 2008. **109**(2-3): 519-525.
- [194] H.L. Tcheumi, V.N. Tassontio, I.K. Tonle and E. Ngameni, Surface functionalization of smectite-type clay by facile polymerization of β -cyclodextrin using citric acid cross linker: application as sensing material for the electrochemical determination of paraquat. *Applied Clay Science*, 2019. **173**: 97-106.
- [195] L.C. Melo, D. De Souza, P. de Lima-Neto and A.N. Correia, Sensitive Determination of the Diquat Herbicide in Fresh Food Samples on a Highly Boron-Doped Diamond Electrode. *Electroanalysis*, 2010. **22**(21): 2502-2510.
- [196] D. De Souza and S.A. Machado, Use of multiple square wave voltammetry for the detection of diquat herbicide in environmental water, foods and river sediments. *Journal of Analytical Chemistry*, 2018. **73**(6): 593-601.
- [197] L.C. Melo, G.R. Salazar-Banda, S.A.S. Machado, P. de Lima-Neto, D. De Souza and A.N. Correia, A simple and sensitive detection of diquat herbicide using a dental

- amalgam electrode: a comparison using the chromatographic technique. *Talanta*, 2009. **79**(5): 1216-1222.
- [198] H. El Harmoudi, M. Achak, L.A. Farahi, L. El Gaini, M. Bakasse and M.A. El Mhammedi, Square wave voltammetric determination of diquat using natural phosphate modified platinum electrode. *Arabian Journal of Chemistry*, 2017. **10**: S671-S676
- [199] T.H. Lu and I.W. Sun, Determination of diquat at a Nafion film modified glassy carbon electrode using electrocatalytic voltammetry. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 2000. **12**(8): 605-609.
- [200] M. El Mhammedi, M. Bakasse, R. Najih and A. Chtaini, A carbon paste electrode modified with kaolin for the detection of diquat. *Applied Clay Science*, 2009. **43**(1): 130-134.
- [201] A. Walcarius and L. Lamberts, Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1996. **406**(1-2): 59-68.
- [202] N.A. Zambianco, T.A. Silva, H. Zanin, O. Fatibello-Filho and B.C. Janegitz, Novel electrochemical sensor based on nanodiamonds and manioc starch for detection of diquat in environmental samples. *Diamond and Related Materials*, 2019. **98**: 107512.
- [203] H. EL Ouafy, O.T.O. Mustapha, I.M.E. Malika, H.A. El, M. Mohamed, O. Hassan, Electroanalysis of the herbicide diquat by electrochemical detector containing particles of clay in environmental water. *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, 2020. **12**(2): 168-179.
- [204] E. Norkus and R. Vaitkus, Interaction of lead (II) with β -cyclodextrin in alkaline solutions. *Carbohydrate Research*, 2002. **337**(18): 1657-1661.
- [205] H.-T. Zhao, S. Ma, S.-Y. Zheng, S.-W. Han, F.-X. Yao, X.-Z. Wang, S.-S. Wang and K. Feng, β -cyclodextrin functionalized biochars as novel sorbents for high-performance of Pb²⁺ removal. *Journal of Hazardous Materials*, 2019. **362**: 206-213.
- [206] J. He, Y. Li, C. Wang, K. Zhang, D. Lin, L. Kong and J. Liu, Rapid adsorption of Pb, Cu and Cd from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers. *Applied Surface Science*, 2017. **426**: 29-39.
- [207] M. Lv, X. Wang, J. Li, X. Yang, C. Zhang, J. Yang and H. Hu, Cyclodextrin-reduced graphene oxide hybrid nanosheets for the simultaneous determination of lead (II) and cadmium (II) using square wave anodic stripping voltammetry. *Electrochimica Acta*, 2013. **108**: 412-420.

- [208] S. Mohammadi, M.A. Taher and H. Beitollahi, Synthesis and application of a natural-based nanocomposite with carbon nanotubes for sensitive voltammetric determination of lead (II) ions. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2020. **100**(1): 65-81.
- [209] M. Barysz, J. Leszczyński and A. Bilewicz, Hydrolysis of the heavy metal cations: Relativistic effects. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2004. **6**(19): 4553-4557.
- [210] M.A. El Mhammedi, M. Achak and A. Chtaini, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ -modified carbon-paste electrode for the determination of trace lead (II) by square-wave voltammetry. *Journal of Hazardous Materials*, 2009. **161**(1): 55-61.
- [211] D. Pan, Y. Wang, Z. Chen, T. Lou and W. Qin, Nanomaterial/ionophore-based electrode for anodic stripping voltammetric determination of lead: an electrochemical sensing platform toward heavy metals. *Analytical Chemistry*, 2009. **81**(12): 5088-5094.
- [212] F. Zhan, F. Gao, X. Wang, L. Xie, F. Gao and Q. Wang, Determination of lead (II) by adsorptive stripping voltammetry using a glassy carbon electrode modified with β -cyclodextrin and chemically reduced graphene oxide composite. *Microchimica Acta*, 2016. **183**(3): 1169-1176.
- [213] T. Xu, H. Dai and Y. Jin, Electrochemical sensing of lead (II) by differential pulse voltammetry using conductive polypyrrole nanoparticles. *Microchimica Acta*, 2020. **187**(1): 1-7.
- [214] V.H. Oliveira, F. Rechetnek, E.P. da Silva, V. S. de Marques, A.F. Rubira, R. Silva, AS.A. Lourenço and E.C. Muniz, A sensitive electrochemical sensor for Pb^{2+} ions based on ZnO nanofibers functionalized by L-cysteine. *Journal of Molecular Liquids*, 2020. **309**: 113041.
- [215] X. Li, H. Zhou, C. Fu, F. Wang and Y. Kang, A novel design of engineered multi-walled carbon nanotubes material and its improved performance in simultaneous detection of Cd (II) and Pb (II) by square wave anodic stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016. **236**: 144-152.
- [216] MR. Awual, an efficient composite material for selective lead (II) monitoring and removal from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2019. **7**(3): 103087.



**Liste des communications et articles
scientifiques tirés de ce travail**

Communications scientifiques :

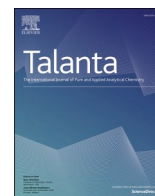
1-R. Tchoffo, G.B. Ngassa, I.K. Tonle and E. Ngameni, Electroanalyse du diquat (DQ) sur une électrode de carbone vitreux modifiée avec un matériau hybride Hydroxyapatite/ β -cyclodextrine. Journées de Chimie Analytique, 10^{ème} édition Yaoundé, Cameroun, 2019.

2-R. Tchoffo, G.B. Ngassa, G. Doungmo, A. T. Kamdem I.K. Tonle and E. Ngameni, Fonctionnalisation de la surface d'une d'hydroxyapatite par la β -cyclodextrine : application comme matériau d'électrode pour la détection électrochimique du Plomb(II). Journées de Chimie Analytique, 11^{ème} édition Yaoundé, Cameroun, 2022.

Articles scientifiques :

1-R. Tchoffo, G.B. Ngassa, I.K. Tonle and E. Ngameni, Electroanalysis of diquat using a glassy carbon electrode modified with natural hydroxyapatite and β -cyclodextrin composite, Talanta, 2021. **222**: 121550.

2-R. Tchoffo, G.B. Ngassa, G. Doungmo, A.T. Kamdem, I.K. Tonle and E. Ngameni, Surface functionalization of natural hydroxyapatite by polymerization of β -cyclodextrin: application as electrode material for the electrochemical detection of Pb(II), Environmental Science and Pollution Research, 2022. **19**(1): 222-235.



Electroanalysis of diquat using a glassy carbon electrode modified with natural hydroxyapatite and β -cyclodextrin composite

Rodrigue Tchoffo^a, Guy B. Piegang Ngassa^{a,b}, Ignas K. Tonlé^{a,c,*}, Emmanuel Ngameni^a

^a Laboratory of Analytical Chemistry, Faculty of Science, The University of Yaounde 1, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

^b Department of Chemistry, University of Douala, P.O. Box 24157, Douala, Cameroon

^c Electrochemistry and Chemistry of Materials, Faculty of Science, University of Dschang, P.O. Box 67, Dschang, Cameroon

ARTICLE INFO

Keywords:

Hydroxyapatite
 β -Cyclodextrin
 Voltammetry
 Diquat

ABSTRACT

The present work reports the development of a low-cost and reliable differential pulse adsorptive stripping voltammetric procedure for the detection of diquat (DQ) in water, using a glassy carbon electrode (GCE) modified with β -cyclodextrin (β -CD)/Natural hydroxyapatite (NHAP_{p0.5}) composite material. The structural characterization of the natural hydroxyapatite and its modified counterpart was achieved using several techniques including X-ray Diffraction, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Thermal Analysis. By comparing the physico-chemical characteristics of hydroxyapatite material before and after reaction with β -CD, all of these techniques have demonstrated the successful grafting process of β -CD on the surface hydroxyl groups of hydroxyapatite, using citric acid (CA) as cross linker. The electrochemical features and permeability properties of the obtained materials, coated as thin film onto the GCE surface were characterized using ion exchange multisweep cyclic voltammetry. The β -cyclodextrin modified hydroxyapatite (NHAP_{p0.5}-CA- β -CD) was evaluated as electrode modifier for DQ sensing. The electroanalytical procedure followed two steps: the chemical pre-concentration of DQ under open-circuit conditions, and the differential pulse voltammetric detection of the preconcentrated pesticide. Various experimental parameters likely to influence the sensibility of electrode were fully investigated and optimized. A linear calibration curve for DQ in the concentration range of 5×10^{-8} – 4.5×10^{-7} mol L⁻¹ was obtained at GCE/NHAP_{p0.5}-CA- β -CD, with a detection limit of 4.66×10^{-10} mol L⁻¹ (DL = 3S/M). The proposed method was successfully applied to the determination of DQ in spring water.

1. Introduction

In most countries, the use of pesticides of different chemical classes is necessary to increase the quantity and improve the quality of agricultural products. Although agricultural yields are upgraded, the intensive and inappropriate use of these chemicals promote a serious environmental hazard since residues of pesticides are usually found in waters, soils and fresh foods [1]. Herbicides and crop protection products in general are essential in modern agriculture. Among the more commonly used herbicides, DQ (1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylium dibromide), of the bipyridilium class, is a non-selective defoliating herbicide, which means that it kills a wide range of annual grasses and broad-leaved weeds, as well as the tops of established perennial weeds. It is a potential contaminant of waters due to its high solubility (about 620 g L⁻¹ at 25 °C) [2]. It exhibits mutagenic and lethal effects on human health and

as a result has been banned in some countries [1–3]. However, it is still largely used in more than 130 countries principally for its biological inactivation upon contact with soil, very fast action and rain-fastness within minutes of application [1]. For this reason, a great effort has been made in analytical sciences towards sensitive methodologies for the quantification of DQ residues, mainly in complex samples such as natural waters and fresh foods.

In the past, several methods such as X-ray fluorescence [4], high performance liquid chromatography [5,6], and capillary electrophoresis [7] have been developed to detect and quantify this compound. For the sensitive determination of this compound, the methods mentioned above are not more convenient because they require expensive equipment. Additionally, they require long sample pretreatment and highly qualified operators. These limitations have promoted the development of electrochemical techniques that imply by cheap instrumentation,

* Corresponding author. Electrochemistry and Chemistry of Materials, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Dschang, PO Box 67, Dschang, Cameroon.

E-mail addresses: itonle@yahoo.com, ignas.tonle@univ-dschang.org (I.K. Tonlé).

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121550>

Received 25 April 2020; Received in revised form 9 August 2020; Accepted 10 August 2020

Available online 29 August 2020

0039-9140/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

simple operation and high sensitivity. A number of electrochemical sensors have been described in the literature for monitoring the presence of DQ in the environment. Figueiredo-Filho *et al.* developed a disposable sensor for DQ consisting of a bismuth film working electrode [8]. Shawish *et al.* used a carbon paste electrode for the detection of DQ in water and urine samples [9]. De souza *et al.* applied a gold microelectrode for the detection of DQ herbicide in environmental water, food and river sediment [10]. However, electrodes modified with natural and modified inorganic materials displaying affinity towards target pollutants have been given considerable attention. Thus, new sensing strategies can be developed in order to meet the detectability criteria with modified electrodes constructed with high performance, lower cost and biodegradable materials. Among these materials, hydroxyapatites (HAP) appear to be of great interest due to its low-cost, its acid-base properties and ion-exchange ability, biocompatibility and adsorption capacity [11,12]. They possess a well-known structure and their chemically reactive sites are easily accessible. These robust materials can be easily obtained naturally by valuing animal waste [13–17].

HAP with the chemical formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ is a mineral form of calcium apatite that has been used in medicine and dentistry for over 20 years because of its excellent biocompatibility with human tissue [18]. Coating of HAP has been extensively applied to metallic implants to improve surface properties owing to its bioactivity, porous structure and multi-adsorbing sites. Thus, it has been widely used in dental implants [19], biomedical implants [20], orthopedics prostheses [21,22], maxillofacial surgery [23], drug delivery [24], and stem cell [25]. Hydroxyapatite is generally synthesized by chemical methods using calcium hydroxide or nitrate as precursors [18,26,27]. In recent years, the synthesis of HAP using natural sources or wastes such as bovine bone, egg shell or fish scale has attracted great interest pertinent topic [13–17]. HAP synthesized from chemical processes may successfully produce pure and well-defined nanoparticles; they are meanwhile quite expensive and potentially dangerous to the environment. However, those manufactured from animal waste (natural hydroxyapatite (NHAP)) have a more dynamic response to the environment and a very low cost compared to the previously mentioned ones. Also, they inherit some properties of the raw material such as its chemical composition and structure [13,14].

The modification of surfaces is an efficient way to obtain materials having specific properties. The modification of HAP surface appears to be of great interest owing to the role played by this mineral in biomaterials or as support for catalysts [11,17,28]. The most abundant functional groups on HAP surface are P–OH groups [17,18], that were successfully exploited for the coupling of various organic or inorganic substances on HAP [17,28–33].

The grafting of organic molecules on HAP has several goals: (i) the bound molecules may constitute a matrix for encapsulation of specific analyte, (ii) the guest molecule can improve the physical properties of HAP powder such as specific surface area and porosity, rendering thereby the obtained hybrid material more reactive [34,35].

Polysaccharides form a class of friendly environmental organic molecules usually used to prepare various hybrid materials. Nowadays, there are many reports that exclusively focused on β -cyclodextrin (β -CD) as a natural molecule derived from cellulose. It is well known as a series of oligosaccharides comprising seven D-glucopyranose units. During the past decades, many β -CD derivatives have been elaborated in polymer science [36,37]. The formation of β -CD polymer networks is accomplished by the chemical crosslinking of β -CD with compounds bearing precise functional groups, such as citric acid [28,36,37], epichlorohydrin [38], and glutaraldehyde [39]. These cross linkers have been used to obtain different kinds of water-soluble and insoluble polymers. The insoluble β -CD polymer can be used as an efficient sorbent to remove various pollutants from the contaminated water [36,37,40]. The usual method for synthesis of β -CD based composites polymers or materials proceeds by crosslinking the hydroxyl groups of β -CD with functional molecules to form a stable network. Several molecules have been used as

crosslinking agents, the most described being epichlorohydrin, diisocyanates, anhydrides and polycarboxylic acids such as citric acid [36, 37]. However, epichlorohydrin and diisocyanates are toxic and hazardous substances, potentially harmful to human health and the environment. Additionally, the reaction of diisocyanates with β -CD requires organic solvents. By contrast, citric acid has a low toxicity and is more friendly to the environment. Moreover, the coupling of β -CD and citric acid can be performed at relatively low temperature and without any organic solvent or harmful additives. Research works devoted to the synthesis of inorganic-organic composites based on the grafting of β -CD on HAP surface are scarce in the literature [28,33]. In the present work, NHAP obtained from bovine bone waste was converted into structured porous hydroxyapatite by three-step process: pre-calcination, chemical treatment and calcination. The obtained material (NHAP_{P0.5}) was afterwards modified by the grafting of β -CD using citric acid (CA) as cross linker. The final hybrid material (NHAP_{P0.5}-CA- β -CD) was characterized using X-ray diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared (FTIR) and thermogravimetric analysis. Finally, it was exploited to modify the surface of a glassy carbon electrode (GCE), and the obtained thin film modified GCE modified was applied to the electrochemical detection of DQ. The optimal operating parameters were studied and optimized, and the sensor applied for the quantification of DQ in spring water.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and reagents

All chemicals and reagents used in the synthesis of materials and electrochemical experiments were of analytical grade and used as received. The solutions were prepared with purified water (18 M Ω cm⁻¹) from a Millipore milli-Q water purification system. A stock solution containing 10⁻² M of DQ (99%, Riedel-de-Haën) was prepared in deionized water, which was stored at -4 °C for further use. Ru(NH₃)₆Cl₃ (98%, Aldrich) was reagent grade, (NH₄)₂HPO₄ (Anachemia) was used for the chemical treatment of NHAP. β -cyclodextrin (Aldrich), Citric acid (99%, Sigma-Aldrich) and Na₂HPO₄ (Anachemia) were used for the modification of natural hydroxyapatite. KCl (99%, Synth) was used as an electrolyte. The pH was adjusted by small amounts of molar solutions of KOH (BDH) and HNO₃ (60%, Scharlau).

2.2. Synthesis of β -CD modified hydroxyapatite

2.2.1. Bovine bones preparation and pre-calcination

Bovine bones collected from a local market were cleaned and abundantly washed with water, then cut into pieces of 2–5 cm in size. The pieces were rinsed with tap water several times and then boiled for 30 min in deionized water to remove any trace of meat. This step was followed by drying at ambient temperature for about a month to remove odors. The bone marrow was then scraped, and the cleaned bone obtained were pre-calcined in an electric oven. This pre-calcination step was carried out in a rectangular muffle furnace with a limited supply of air and at a heating rate of 12.5 °C min⁻¹ followed by a residence time of 3 h at 450 °C, and then the bones were cooled slowly to room temperature. The pre-calcined material was then crushed, sieved and the particles smaller than 50 μ m were retained and stored in an airtight container for later use. This pre-calcined material stands for the precursor in this work.

2.2.2. Chemical treatment and calcination

For the chemical treatment, 2 g of precursor was added to 40 mL of a solution containing the activating agent ((NH₄)₂HPO₄) at a concentration of 0.5 M chosen to avoid the destruction of hydroxyapatite structure. The impregnation step was carried out in glass vial under constant stirring at 150 rpm, in a reciprocating shaker at room temperature (20 \pm 2 °C) for 48 h. The samples were then washed several times with deionized water, filtered and then dried in an oven for 24 h at 80 °C.

Finally, the samples were calcined at 700 °C under operating conditions similar to those used during the pre-calcination stage (heating rate 12.5 °C min⁻¹ and residence time 3 h). The final materials were washed with deionized water until the neutral pH of solution was reached. The fine particles of the impregnated material were then collected. For this purpose, the particles obtained in the previous step were dispersed in 200 mL of deionized water and the suspension was placed in a sedimentation tube, the fraction below 3 µm was separated by sedimentation according to the Stokes law and then recovered by centrifugation. Afterwards, more deionized water was added in the tube and the procedure repeated until a clear liquid was obtained at the top of the tube. The resulting material (hereafter denoted as NHAP_{p0.5}) and not impregnated material (hereafter denoted as NHAP) were dried in an oven for 24 h at 80 °C and stored in an airtight container for later use.

2.2.3. Functionalization of natural hydroxyapatite with β-CD

Natural hydroxyapatite was functionalized by grafting β-CD on its surface according to the previous method reported elsewhere [28]. Briefly, the practical operation consisted of dispersing carefully 0.500 g of NHAP_{p0.5} in ultrasound for 5 min in 5 mL of deionized water. Then 0.250 g of β-CD, 0.250 g of citric acid (used as cross linker agent) and 0.083 g of Na₂HPO₄ (used as catalyst agent) were added to this mixture. The mass of β-CD was chosen to have a ratio of 1:2 (w/w) compared to that of the natural hydroxyapatite. After dispersing the assembly for 5 min, the solution obtained was transferred to an electric oven at 100 °C for 2 h; then, the mixture was maintained at 180 °C for 45 min. The solid residue obtained was carefully milled, washed with deionized water and dried in an oven. The composite material thus synthesized was labeled NHAP_{p0.5}-CA-β-CD. To obtain the β-CD polymer alone without hydroxyapatite (CA-β-CD), the same protocol was followed except that natural hydroxyapatite was no longer used.

2.3. Apparatus

X-ray diffraction (XRD) patterns were recorded at room temperature using a classical powder diffractometer (Stoe Stadi-P) equipped with a Cu anode (transmission geometry, Cu-K_α radiation (λ = 1.54056 Å)).

KBr pellets were prepared for FTIR analysis and the spectra recorded at room temperature in the spectral range from 4500 to 400 cm⁻¹ with a resolution of 4 cm⁻¹ on a spectrometer (Alpha, Bruker Optics) equipped with the Opus/Mentor software which provides an intuitive interface and facilitates the analysis of scans.

Thermal gravimetric analysis (TGA) was performed using a TA Instruments TGA, Netzsch. Approximately 10 mg of each dried sample were weighed and heated from 50 to 800 °C under nitrogen atmosphere, with a heating rate of 10 °C min⁻¹.

Electrochemical experiments were performed in a standard three electrodes cell containing the Ag/AgCl (3.00 mol L⁻¹ KCl) reference electrode, a platinum wire as counter electrode and GCE, GCE/NHAP_{p0.5}, GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD or GCE/CA-β-CD as working electrode. These electrodes were connected to an Autolab PGSTAT 12 potentiostat controlled by the GPES (General Purpose Electrochemical System) electrochemical analysis software.

2.4. Preparation of the working electrode and electrochemical procedure

The working electrode was prepared as follow: The GCE was first polished with an aqueous suspension of 0.05 µm alumina and ultrasonically cleaned for 5 min in deionized water. The suspensions of the materials (NHAP_{p0.5}, NHAP_{p0.5}-CA-β-CD or CA-β-CD) were prepared by dispersing 4 mg of each material in 2 mL of deionized water. 8 µL of the well-dispersed suspension was casted on the GCE active surface (3 mm in diameter). The thin film electrode was dried at room temperature for about 2 h to ensure their complete drying and used without any pre-treatment.

The ion-exchange and permselectivity capabilities of modified

electrode were examined by multisweep cyclic voltammetry (MSCV) using [Ru(NH₃)₆]³⁺ as redox probe in 0.1 M KCl aqueous solution (pH 5.6). The accumulation process was appreciated by comparing the signal obtained with those recorded using the bare GCE.

Deaeration was performed by purging the nitrogen for 10 min in the detection medium before any analysis. Multisweep cyclic voltammograms of DQ (1 × 10⁻⁴ mol L⁻¹) were recorded in 0.1 M KCl solution (pH 5.6) at room temperature by immersing the working electrode in the “analyte + electrolyte” solution at a scan rate of 100 mV s⁻¹, between -0.2 and -1.3 V. The electrochemical procedure for DQ analysis by differential pulse adsorptive voltammetry (DPAdSV) involved two successive steps: an open-circuit accumulation followed by a voltammetric detection in the supporting electrolyte. Several solutions were tested as detection medium, including decimolar solutions of phosphate buffer, acetate buffer, NaCl and KCl. The best electrode response in terms of peak shape and current density was obtained in 0.1 M KCl which has also shown rapid desorption of DQ upon detection. Other optimized experimental conditions for DPAdSV measurements were the following: 0 s equilibration time, 0.01 V potential step and 0.10 V amplitude. The preconcentration step was achieved by dipping the working electrode in a beaker containing an aqueous solution of DQ at a given concentration. The solution was kept under constant stirring, and after a predetermined time, the electrode was promptly removed, rapidly rinsed with deionized water and transferred into the electrochemical cell containing the detection solution where the accumulated species of DQ were analysed by DPAdSV. After each voltammetric detection, the surface of the electrode was renewed by simply shaking the detection medium in the presence of the electrode until a flat signal was obtained before used for the next accumulation. When required, the pH of the solution was adjusted by using a decimolar solution of either KOH or HNO₃. All solutions used were prepared with high-purity water (18 MΩ cm⁻¹) obtained from a Millipore milli-Q water purification system.

3. Results and discussions

3.1. Physicochemical characterization of materials

3.1.1. Fourier Transform Infrared (FTIR)

The FTIR spectra of NHAP, NHAP_{p0.5} and NHAP_{p0.5}-CA-β-CD sample between 4000 and 400 cm⁻¹ are given in Fig. 1. These spectra were almost identical, and displayed fundamental peaks characteristic of hydroxyapatites [18]. Yet, absorption bands at 1039 and 1090 cm⁻¹ corresponding to ν₃ vibrational mode of the PO₄³⁻ tetrahedral are

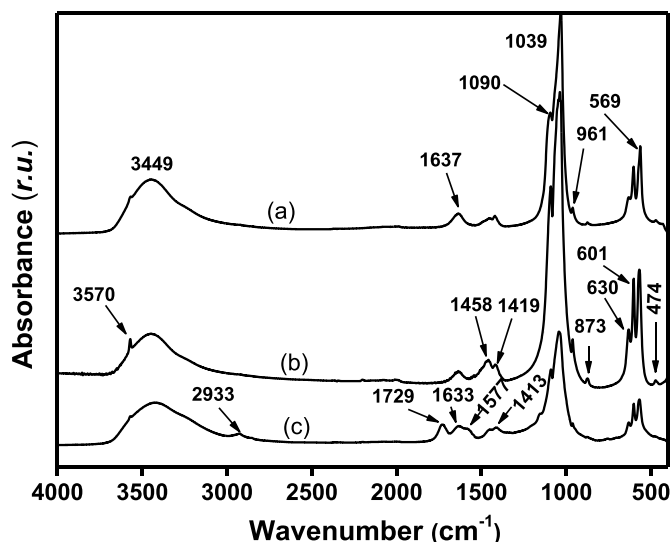


Fig. 1. FTIR spectra of (a): NHAP, (b): NHAP_{p0.5} and (c): NHAP_{p0.5}-CA-β-CD.

observed [32,41,42]. The bands in the range 600–565 cm^{-1} correspond to ν_4 symmetric P–O stretching vibration of the PO_4^{3-} ion [16,18,41]. Also, this spectrum shows bands in the range between 1470 and 1410 cm^{-1} , and at 873 cm^{-1} corresponding to ν_3 and ν_2 vibrational modes of carbonates, respectively. The bands assigned to the stretching vibration of hydroxyl groups at 3570 and 630 cm^{-1} are also clearly observed on these spectra [42].

Moreover, compared with those of non-functionalized materials, the spectra of functionalized sample (NHAP_{0.5}-CA- β -CD) clearly showed some additional peaks at 2933 and 1729 cm^{-1} which that are respectively attributed to the vibrations bands of C–H groups of β -CD and C=O of ester bonds formed during the polymerization [28,33,34]. These data clearly suggest that β -CD grafting was successfully performed on NHAP_{0.5}.

3.1.2. X-ray diffraction (XRD)

Fig. 2 depicts the XRD patterns of NHAP, NHAP_{0.5}, CA- β -CD and NHAP_{0.5}-CA- β -CD that are typical of the patterns of pure and synthetic hydroxyapatite [42]. One can however notice that the starting material (Fig. 2(a)) presents a good crystalline structure traduced by well-defined and thin diffraction peaks. The main peaks located at specific crystallographic plane (002), (102), (112), (211), (300), (130), (202) and (310) appearing at 25.80°, 28.92°, 31.71°, 32.21°, 32.90°, 34.13°, 40°, 46.70° and 49.44° theta angles were matched with standard ICDD Diffraction File No. 00-009-0432 of hydroxyapatite [32].

The treatment of NHAP with ammonium phosphate dibasic induced a certain amorphous character (Fig. 2(b)) although the main peaks remain visible. However, no secondary phase such as tricalcium phosphate and calcium oxide were obtained, showing that the impregnated material is pure. The average crystallite size of natural hydroxyapatite particles was estimated using Scherrer's equation [12] $D = K\lambda/\beta\cos\theta$ where K is the shape factor (0.9), β is the full width at half-maximum of diffraction peaks measured in radians, λ is the wavelength of the antiscatter ($\lambda_{\text{Cu}} = 1.54056 \text{ \AA}$) and θ is the Bragg's diffraction angle. The average crystallite size of NHAP, NHAP_{0.5} and NHAP_{0.5}-CA- β -CD were estimated as 279.65, 36.61 and 99.22 nm respectively. The treatment with dibasic ammonium phosphate induces a significant reduction of crystal sizes. It is believed that this treatment caused a structural reorganization of the material making it better dispersed. When the treated material was functionalized with β -CD, an increase in particle size was noticed, certainly due to the grafting of β -CD on the surface of the material.

Comparing the XRD patterns of NHAP_{0.5}-CA- β -CD and NHAP_{0.5}

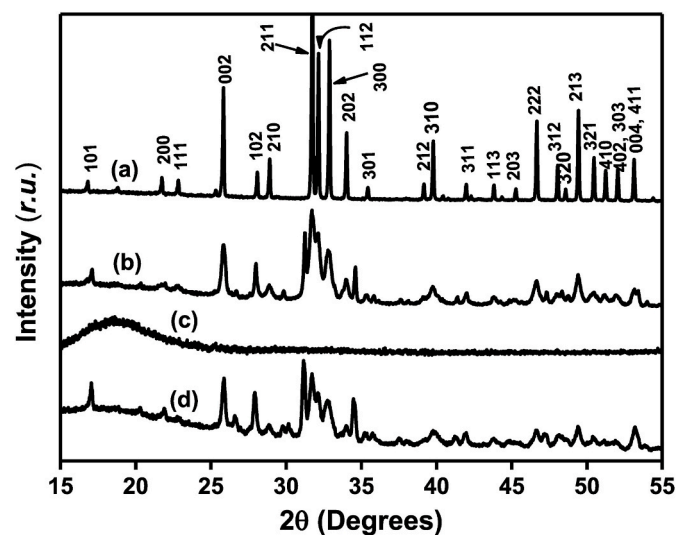


Fig. 2. XRD patterns of (a): NHAP, (b): NHAP_{0.5}, (c): CA- β -CD and (d): NHAP_{0.5}-CA- β -CD.

(Fig. 2(b) and (d)), it can be found that the characteristic diffractions of both materials are nearly the same, which shows that the surface modifications did not significantly affect the crystalline phases of hydroxyapatite particles as shown in previous studies [28]. As expected, CA- β -CD exhibited an amorphous structure (Fig. 2(c)), which is consistent with previous works [43].

3.1.3. Thermal Analysis

The thermal behaviour of the materials was studied, and Fig. 3 presents the thermogravimetric plots of the impregnated hydroxyapatite (Fig. 3 (a)), the hydroxyapatite/ β -CD composite material (Fig. 3 (b)), and the β -CD polymer (Fig. 3 (c)), along with their first derivatives. For NHAP_{0.5}, no mass loss nor thermal effects were observed in the investigated temperature range of 50–800 °C, indicating that all traces of organic compounds (as collagen, proteins, polysaccharides, and lipids) have been completely removed from the bones during calcination. The β -CD polymer curve shows two main thermal events. The first one (11% weight loss) occurred in the temperature range between 50 and 180 °C, assigned to the loss of bounded water and gas molecules. The second weight loss (55%) ranging from 200 to 500 °C is assigned to the combustion of CA- β -CD [33,34]. In addition, the DTG curve of CA- β -CD exhibits two notable peaks centered at 270 and 340 °C. These two thermal events are related to mass losses from the decomposition of the copolymer.

The decomposition of the citric acid fraction occurred at 270 °C, while the mass loss due to the thermal degradation of β -CD was centered at 340 °C [34,44]. The curve of NHAP_{0.5}-CA- β -CD showed two distinct weight loss steps. Below 200 °C, the weight loss of about 8% is attributed to the evaporation of water molecules or residual gases physically adsorbed on the sample. In addition, the weight loss of 28% observed within the temperature range from 200 to 500 °C can be attributed to the thermal decomposition of β -CD grafted onto natural hydroxyapatite [33, 34,44]. Overall, the thermal analyses also confirm the successful grafting of β -CD onto the natural hydroxyapatite surface.

3.1.4. Charge characterization by permeation studies using $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ ion

Multisweep cyclic voltammetry (MSCV) is a convenient electrochemical method for evaluating the permeability and ion exchange properties of thin films on electrode surfaces [45]. Generally, an enhancement of current responses is observed when favourable chemical interactions occur between the electrode modifier and the redox probe in solution, and the kinetics associated to the process are usually governed by the rate of mass transport through the film [45,46]. In order to gain precise information about the porosity and the influence of the functional groups of the obtained materials, we investigated their ion-exchange and permselectivity behaviour by the means of film modified electrodes using $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ as a redox probe. The corresponding MSCV curves recorded at 100 mV s^{-1} in 0.1 M KCl containing 10^{-3} M $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, on GCE/NHAP_{0.5}, GCE/CA- β -CD and GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD are provided in Fig. SI(1) (Supporting information). Before to this experiment, the probe was analysed at the bare GCE, and gave rise to the expected reversible cyclic voltammograms of constant intensity upon continuous cycling (Fig. SI(1a)). A peak potentials difference (ΔE) of 61 mV and the ratio of anodic/cathodic peak currents ($I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}} = 1.10$) has confirmed the monoelectronic and reversible character of the electrochemical reaction. When the bare GCE was modified by a thin film of impregnated hydroxyapatite (NHAP_{0.5}), the recorded multisweep cyclic voltammograms gave rise to signals almost similar to those obtained on the bare GCE, upon stabilization as shown curve (b) in Fig. SI(1). Only a slight buildup of the probe was observed on the surface of the electrode. However, the current obtained at saturation was comparable to that obtained on the bare GCE. On the GCE subsequently modified using the β -CD polymer (CA- β -CD) film, multisweep scanning induced a progressive uptake of $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ by the polymer at the electrode surface (Fig. SI(1c)). Yet, the presence of the

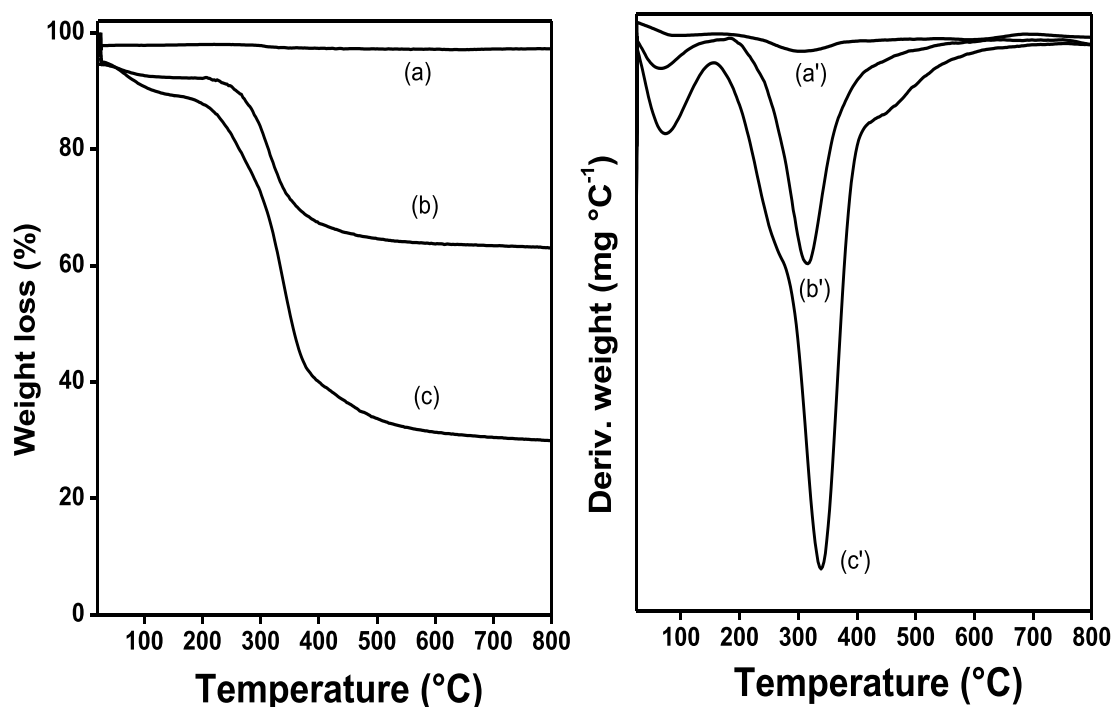


Fig. 3. TGA and DTG curves of NHAP_{p0.5} (curves a & a'), NHAP_{p0.5}-CA-β-CD (curves b & b') and CA-β-CD polymer (curves c & c').

thin film of CA-β-CD gradually favoured the free access of the positively charged $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ electroactive probe to the electrode surface, due to favourable electrostatic interactions between free acid function of citric acid and the redox probe. Despite the electrostatic attraction between the positively charged probe and the negative surface of this polymer, the accumulation effect was significantly limited due to the restricted diffusion of the probe into the film micropores. Finally, by modifying the GCE by a thin film of NHAP_{p0.5}-CA-β-CD composite material, performing MSCV in the same conditions led to a fast and progressive uptake of $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ probe (Fig. SI(1d)). This may indicate that the functionalization of the natural hydroxyapatite by β-CD has generated new adsorption sites, while making more accessible the cages of β-CD and the free acid functions of citric acid. All of this has favoured a better accumulation of the cationic probe on the electrode surface. The peak current obtained on GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD reached its maximum steady-state value after 75 cycles and the peak current values obtained were I_{pa} 44.12 μA (anodic) and I_{pc} 28.61 μA (cathodic), corresponding to about 3 and 2.2-fold the value obtained on GCE, respectively. Concomitantly, a slight shift of the peak potential was observed (−40 mV). However, the value of peak potentials difference ($\Delta E = 101$ mV) and the ratio of the anodic/cathodic peak currents ($I_{pa}/I_{pc} = 1.54$) showed that the system is quasi-reversible. The effective surface area of the modified electrode can be determined using the Randles-Sevcik equation [47]: $I_{pa} = (2.69 \times 10^5) \cdot A \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2}$ where I_{pa} refers to the anodic peak current (A), n is the number of electrons involved in the redox reaction, A stands for the electrode area (cm²), D is the diffusion coefficient (cm² s⁻¹), C the analyte concentration (mol cm⁻³) and v the potential scan rate (V.s⁻¹). The diffusion coefficients of $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ and $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ in 0.1 M of KCl at 298 K is 8.43×10^{-6} cm² s⁻¹ [48]. Based on this method, the effective surface areas of the bare GCE and GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD were calculated as 0.061 cm² and 0.180 cm² respectively. So, the effective surface area of GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD was 3-fold greater than that of bare GCE, showing that the bare electrode was modified efficiently by the composite material film. As conclusion for this section on the characterization of materials, the obtained data revealed that the modification by grafting β-CD on NHAP_{p0.5} was effective. Moreover, the presence of β-CD induced new

patterns of reactivity on NHAP_{p0.5}. In the next section, the obtained composite material has been exploited to build a sensor for the electroanalysis of DQ.

3.2. Application of GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD to the electroanalytical detection of DQ

3.2.1. Study of DQ behavior by cyclic voltammetry

Prior to the exploitation of the hydroxyapatite-β-CD modified GCE to the voltammetric detection of DQ pesticide, the electrochemical behaviour of this later was studied on the bare GCE, then on the same electrode covered by a thin film of all prepared materials, i.e. NHAP_{p0.5}, CA-β-CD and NHAP_{p0.5}-CA-β-CD. Fig. 4 shows the multicyclic voltammograms obtained on each electrode, in the presence of DQ (1×10^{-4} mol L⁻¹) in 0.1 M KCl at pH 5.6. One can observe that the electrochemical response of DQ is made of two pairs of reversible peaks (bare GCE and GCE/NHAP_{p0.5}) and quasi-reversible peaks (GCE/CA-β-CD and GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD), centered at −0.63 V and −1.03 V and corresponding to the $\text{DQ}^{2+}/\text{DQ}^+$ and DQ^+/DQ^0 redox systems, respectively.

These results are consistent with previous works, and the obtained signals correspond to the electrochemical mechanism shown in Scheme 1 [8,10] for the redox behaviour of DQ.

It should also be noticed that, on the bare GCE, continuous potentials scanning induced a decrease in the peak currents of the both systems, from the 1st cyclic scan to the followings. A steady state was rapidly achieved due to the passivation of the active surface of the electrode by DQ^+ and DQ^0 formed compounds. By contrast, on modified GCE, it was again observed that the first cyclic voltammogram was more significant in terms of current, then this later decreased progressively with cyclic potential scanning, reaching a constant value upon 15 cycles. This phenomenon was attributed to the reduction of the active surface of the electrode resulting from the adsorption of the chemical compounds generated during the reduction of DQ.

Although this behaviour was common for GCE/NHAP_{p0.5}, GCE/CA-β-CD and GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD, the reduction peak current of the first system recorded on GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD was more intense than those obtained on other electrodes, presumably due to the following

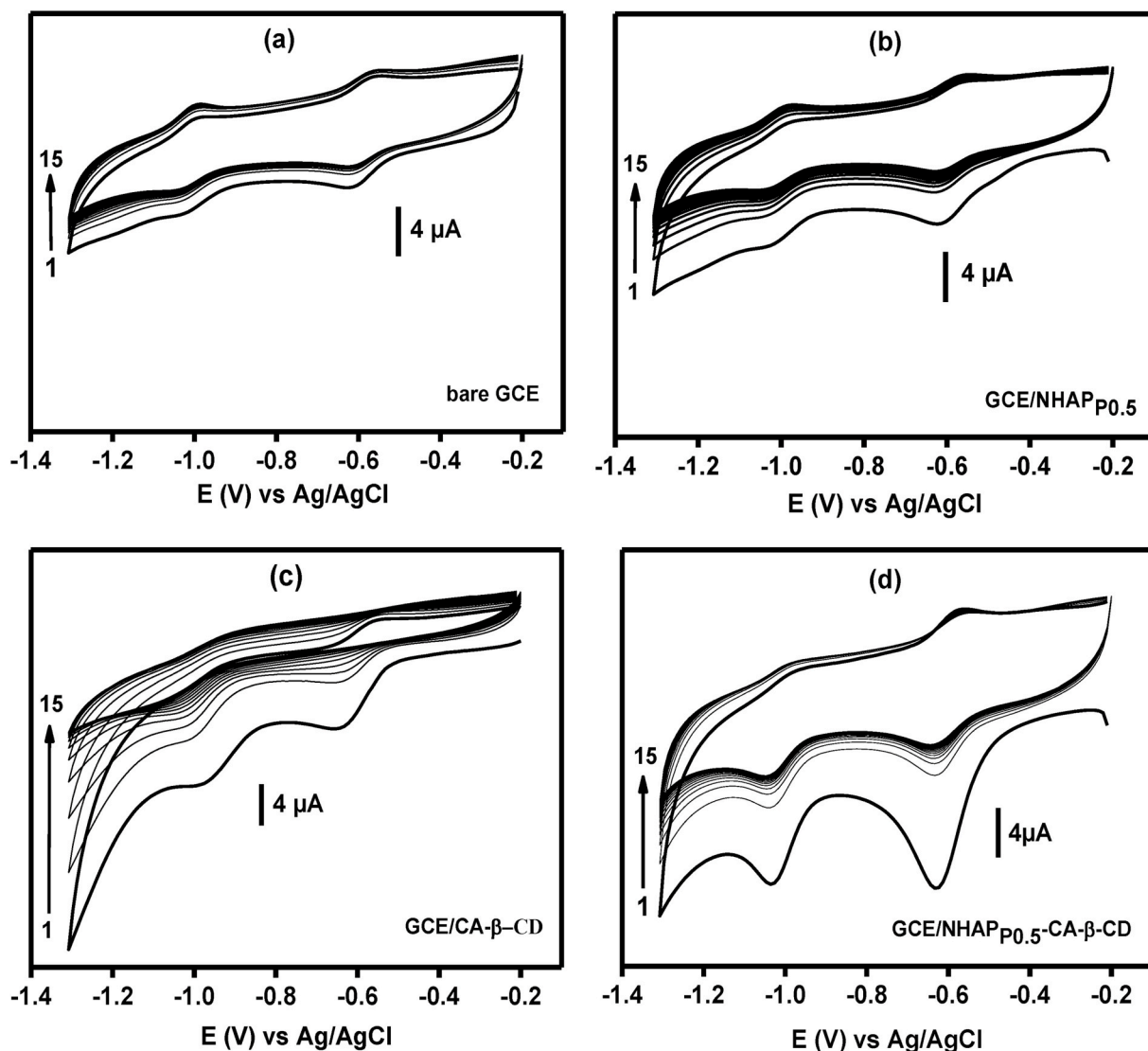
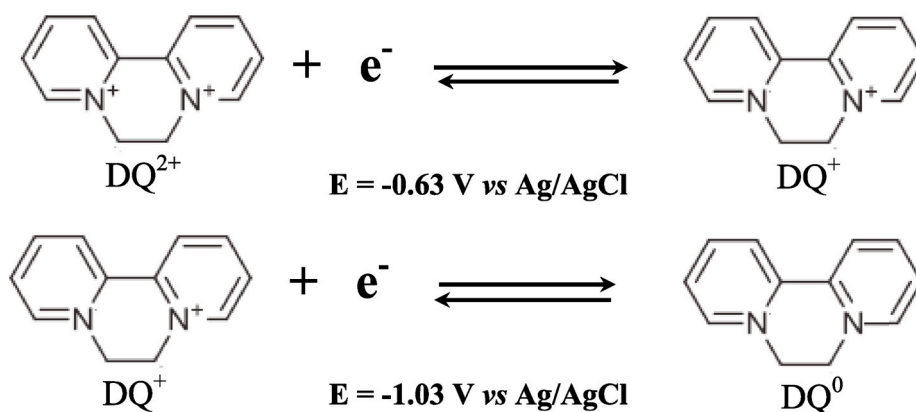


Fig. 4. MSCV recorded in 0.1 M KCl (pH 5.6) + 1×10^{-4} M of DQ, on (a): the bare GCE, (b): GCE/NHAP_{0.5}, (c): GCE/CA- β -CD and (d): GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD. Potential scan rate: 100 mV s^{-1} .



Scheme 1. Proposed mechanism for the electrochemical reactions of DQ.

three major processes: (i) the encapsulation prior to reduction of DQ^{2+} molecules by the β -CD through the cages found on its structure, (ii) the accumulation by electrostatic interactions of DQ^{2+} by the free acid functions of citric acid, and (iii) the presence of hydroxyapatite which

possesses inherent adsorption ability traduced by the presence of active $-\text{OH}$ groups on its surface.

The effect of the scan rate on the peak current of $100 \mu\text{M}$ DQ on the surface of GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD in a 0.1 M KCl (pH 5.6) was

investigated (Fig. SI(2a)), Supporting information). The cyclic voltammetric results indicated that both cathodic peak intensities increase continuously with an increase of the scan rate. A good linear relationship between the peak current and the square root of the scan rate ($v^{1/2}$) from 25 to 175 mV s^{-1} was obtained, with correlation coefficient values (R^2) of 0.998 and 0.991 for the first and second cathodic peak respectively (Fig. SI(2b)). This indicates that the electrode process was controlled by diffusion [49]. In addition, there was a linear relation between $\log(I_{pc})$ and $\log(v)$, corresponding to the following equations: $\log(I_{pc1}) = 0.644 \log(v) - 0.369$, $\log(I_{pc2}) = 0.559 \log(v) - 0.551$ (Fig. SI(2c)). The slopes of 0.644 and 0.559 obtained were close to the theoretically expected value of 0.5 for a diffusion controlled process [49].

As a main conclusion of this section, it was noted that the reduction of DQ is possible in acidic medium, the reaction being more quantitative on GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD which was afterwards appropriately exploited for the quantification of the DQ using differential pulse voltammetry.

3.2.2. Direct differential pulse voltammetry determination of DQ

Differential pulse adsorptive stripping voltammetry (DPAdSV) is one of the most advanced and efficient pulse voltammetric technique, usually used for the detection of inorganic and organic compounds in media where they are present at very low concentration [8,10,46,49]. This technique has been exploited in this section for the detection of DQ. Preliminary investigations were performed to get confirmation of the results obtained with cyclic voltammetry on the reactivity of GCE/CA- β -CD, GCE/NHAP_{0.5} and GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD towards the detection of DQ. Fig. 5 displays the DPAdSV curves of 10 μM DQ obtained successively on GCE, GCE/CA- β -CD, GCE/NHAP_{0.5} and GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD after 2 min preconcentration in aqueous medium (pH 6), followed by detection in 0.1 M KCl (pH 5.6).

On the bare GCE, the signal of DQ was very low, a current of about 1.31 μA being recorded (Fig. 5(a)). Upon modification of the GCE by a thin film of impregnated hydroxyapatite, this signal was raised to 2.46 μA (Fig. 5(b)) due to the adsorption of the pesticide on the material casted on the electrode. The electrode response was more improved with

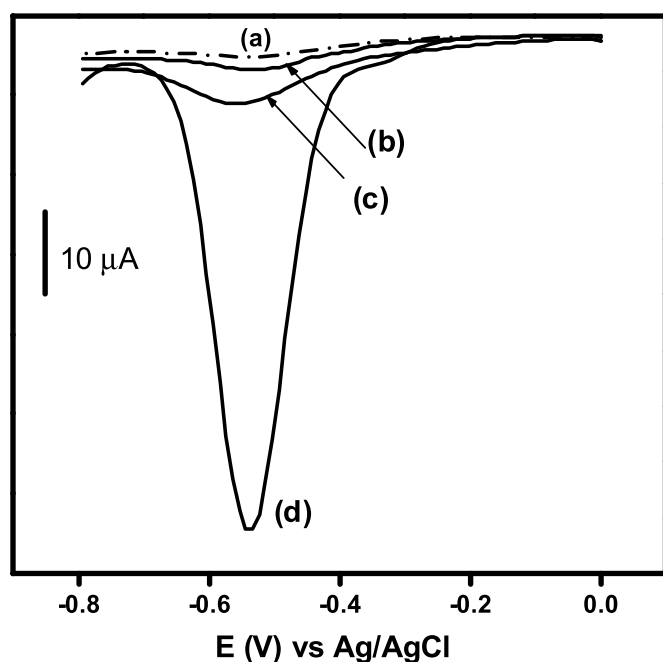


Fig. 5. DPAdSV recorded after 2 min accumulation in an aqueous solution (at pH 6) containing 10 μM DQ on (a): GCE, (b): GCE/NHAP_{0.5}, (c): GCE/CA- β -CD and (d): GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD. Detection was achieved in 0.1 M KCl (pH 5.6).

the β -CD polymer film used to modify the GCE (the corresponding peak current was 5.42 μA (Fig. 5(c)). Finally, it was noted that when the GCE was modified with a film of NHAP_{0.5}-CA- β -CD, its sensitivity was significantly improved (Fig. 5(d)) due to the high affinity between the organophilic material and DQ as already stated. The peak current measured was found to be equal to 59.7 μA , that is more than 11-fold higher than at the β -CD polymer film, and about 25-fold more significant than at the natural hydroxyapatite film (2.46 μA). The result proved the β -CD-hydroxyapatite composite material can be advantageously exploited as prominent and efficient GCE modifier, for the building of an electrochemical sensor useful in the quantification of DQ. Some key experimental parameters that may strongly affect the electroanalytical and quantitative detection of DQ were further optimized.

3.2.3. Optimization of DQ detection parameters

3.2.3.1. Effect of the pH of the accumulation and detection media. In most chemical reactions and processes, the pH plays a key role, and the influence of the pH of the accumulation medium on the electrochemical response of DQ on GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD was the first to be investigated, in the range between 3 and 10 (See Fig. SI(3a), Supplementary material). The peak current of DQ was pH dependant, and increased with pH values between 3 and 6, becoming almost constant from pH 6 to pH 8, and then decreased to 10. In the strongest acidic media (pH 3), the observed low current could be explained by a possible degradation of the composite material at the electrode, followed in mild acidic media by a competition between H^+ and DQ^{2+} for the adsorption sites of NHAP_{0.5}-CA- β -CD on the GCE. The sensitivity of the electrode is optimal at pH 5. This may be due to the fact that the point of zero charge (pzc) of the material is equal to 5.7. This pzc was evaluated according to the protocol described elsewhere [50]. It provides information on the pH at which the net surface charge of a material is equal to zero. Thus, when the pH of the accumulation medium becomes higher than the pzc of the material, its surface becomes negatively charged. This makes the free acid functions available on the surface of the material more reactive, thus promoting the accumulation of DQ^{2+} ions. In a strong alkaline medium, the current has decreased because of the degradation of the DQ which behaves here as the viologen compounds [51,52]. For further experiments, the pH of the accumulation medium was set at 6.

The dependence of the electrochemical response of DQ on the pH of the detection medium was also investigated in the pH range between 3 and 11, by keeping the pH of accumulation medium at 6. The results obtained indicated that the electrode response increased in the pH range from 3 to 5 which is the optimal value reached, and then it decreased to pH 11 (Fig. SI(3b), Supplementary material). In the meantime, no shift in the peak cathodic potential with pH was noticed, indicating the absence of any intervention of protons in the electrochemical reduction of DQ as illustrated by the mechanism proposed in Scheme 1, which is in close agreement with previous works [53,54]. For subsequent experiments, the pH of the detection medium was set at 5.

3.2.3.2. Effect of the accumulation time. Accumulation time is an important parameter for the DPV technique. The accumulation of DQ on the NHAP_{0.5}-CA- β -CD film is not an instantaneous process, and it was thus necessary to select properly the optimal accumulation time that may lead to great peak currents. For accumulation time ranging between 30 and 330 s, the current response increased with the accumulation time from 30 to 210 s, reaching almost a steady state when DQ was pre-concentrated for duration time between 210 and 300 s (See Fig. SI(4), Supporting material). The formation of the plateau indicates the saturation of the adsorption sites present within the material. Thus, for further measurements, an optimal accumulation time of 300 s was employed.

3.2.3.3. Influence of DQ concentration and calibration curve. Under

optimal experimental conditions obtained in previous sections, a calibration curve was established when DQ concentration in the accumulation medium was varied between in a working range of 5×10^{-8} mol L⁻¹ – 4.5×10^{-7} mol L⁻¹. Thus, aliquots from a pesticide stock solution were consecutively added to the measurement cell, and the DPAdSV responses were recorded for each addition. The DPAdSV voltammograms obtained are presented in Fig. 6. The peak current (I_p) increased with DQ concentration (C_{DQ}) as shown by the inset in Fig. 6, the relationship between the involved parameters being linear according to the equation $I_p(\mu A) = 38.37 C_{DQ}(M) - 0.17$, with a correlation coefficient of 0.9976. A detection limit (DL) obtained from the equation $DL = 3S/M$ (where S is the standard deviation of the peak currents for ten runs and M is the slope of the calibration curve) was 4.66×10^{-10} mol L⁻¹, while the calculated sensitivity was $38.37 \mu A M^{-1}$. According to the literature, these values are comparable with data obtained from other recent sensors on the electrochemical determination of the same analyte at chemically modified electrodes as shown in Table 1 [2,8,53–57], especially in the terms of detection limit. In addition, they are better than data reported from potentiometric [9], electrophoretic [7] and mainly chromatographic [6,60,62,63] methods also used for the determination or quantification of DQ and which usually require complex solid-phase extraction steps.

3.3. Interference study

The selectivity of the sensor was tested in the presence of various inorganic ions and organics molecules that are likely to influence the signal of DQ, especially in water and soils. Thus, known amounts of these species (with concentration ranging from 1 to 1000 μM) were progressively added to the preconcentration solution containing 10 μM DQ. The resulting solutions were then analysed and the results obtained under optimized conditions are summarized in Table 2. It was observed that the studied chemical species did not interfere when their concentration was less than DQ concentration. However, for much higher concentrations (about 5-fold), a decrease in the expected current was noticed for some ions and organic compounds. Indeed, there was a current drop of 10.00% for Ni²⁺, 5.21% for Cd²⁺, 7.70% for para-

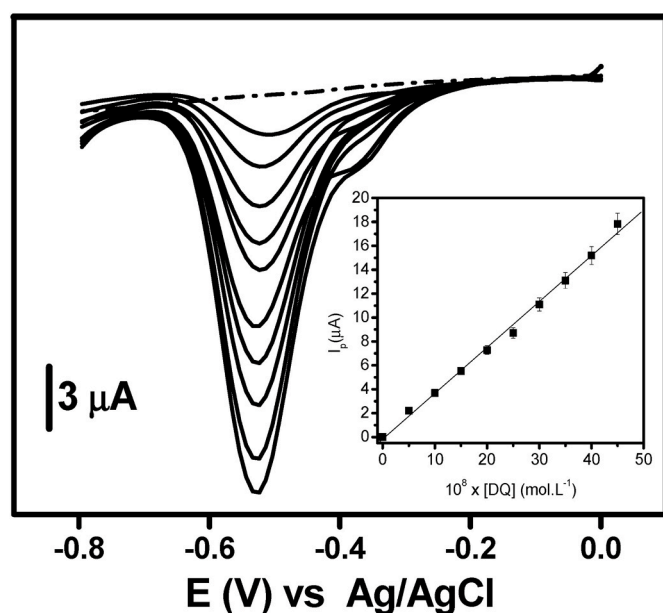


Fig. 6. DPAdSV curves recorded at GCE/NHAP_{0.5}-CA-β-CD under optimized conditions, after 5 min accumulation in an aqueous medium containing DQ in the range of 5×10^{-8} to 4.5×10^{-7} M. The inset shows the corresponding calibration curve. Other experimental conditions: 0 s equilibration time, 10 mV potential step and 100 mV amplitude.

Table 1

Comparison of the performance of various modified electrodes, towards the voltammetric detection of DQ.

Nature of electrode	Technique	Limit of detection (M)	Linear range (mol.L ⁻¹)	Reference
Highly boron-doped/DE ^a	SWV	1.6×10^{-10}	9.9×10^{-8} – 9.9×10^{-7}	[1]
Modified CPE ^b	SWV	9×10^{-7}	3.6×10^{-6} – 1.0×10^{-3}	[2]
Disposable bismuth film minisensor	SWV	8.9×10^{-8}	0.19×10^{-6} – 9.3×10^{-6}	[8]
Gold microelectrode	SWV	8×10^{-9}	1.5×10^{-6} – 1.24×10^{-5}	[10]
Dental amalgam electrode	SWV	2.76×10^{-8}	4.98×10^{-7} – 1.96×10^{-6}	[43]
Phosphate modified platinum electrode	SWV	5.32×10^{-9}	9.5×10^{-8} – 160×10^{-6}	[54]
CPE impregnated with Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂	SWV	3.1×10^{-8}	4×10^{-6} – 100×10^{-6}	[55]
Nafion film modified GCE ^c	DPV	6×10^{-10}	3×10^{-9} – 4×10^{-7}	[56]
CPE modified with kaolin	SWV	4.21×10^{-9}	1.2×10^{-7} – 7.95×10^{-5}	[57]
Mercury drop electrode	SWV	1.5×10^{-8}	5×10^{-8} – 1×10^{-5}	[58]
ND-MS ^d /GCE	SWV	1.1×10^{-7}	5.0×10^{-7} – 4.6×10^{-5}	[59]
CPE-Clay	CV	5.33×10^{-8}	1×10^{-5} – 5×10^{-5}	[61]
β-CD ^e /hydroxyapatite modified GCE	DPV	4.6×10^{-10}	5×10^{-8} – 5×10^{-7}	This work

^a DE: Diamond electrode.

^b CPE: Carbon paste electrode.

^c GCE: Glassy carbon electrode.

^d ND-MS: Nano diamonds and manioc starch.

^e β-CD: β-cyclodextrin.

nitrophenol, 4.95% for methyl parathion. It also appeared that for Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Cl⁻ and NO₃⁻ ions, the electrochemical response of DQ was not significantly disturbed, even for concentrations 100-fold larger. By contrast, the DQ signal was greatly affected by Al³⁺, Cu²⁺ and methylene blue for which a decrease in peak current of 20.85%, 12.25% and 21.48% was recorded, respectively.

3.4. Reproducibility, stability, validation studies and analytical application of the sensor

To further apply the GCE/NHAP_{0.5}-CA-β-CD sensor to the electroanalysis of DQ in a real sample, its operational reproducibility and stability were evaluated, followed by the validation of the proposed method. Thus, a series of eight GCE/NHAP_{0.5}-CA-β-CD were prepared in parallel using the same procedure, and tested towards the detection of 10 μM DQ. A variation coefficient less than 2% was registered between the DPAdSV signals of these electrodes, demonstrating the reproducibility of the preparation procedure. Afterwards, a single GCE/NHAP_{0.5}-CA-β-CD electrode was used to explore the same solution, without renewing its surface. As shown by Fig. SI(5) (Supporting information), no noticeable difference was observed for a series of eight DPAdSV signals of a 10 μM DQ solution, successively recorded using the same accumulation/detection/desorption sequence. A coefficient of variation of 1.46% was noticed, leading to a reproducibility rate of 98.54%. Finally, the precision and long-term stability of the electrode were evaluated by recording the response of a 10 μM DQ solution within days and for 7 days, the electrode being stored in 0.1 M KCl (pH 5.6) solution. The electrode retained about 96% of its original activity for the same DQ solution. This indicates a good adhesion of NHAP_{0.5}-CA-β-CD film on the surface of the GCE, added to the long-term storage stability.

Finally, for analytical application, the elaborated sensor was

Table 2

Variation in the peak current of 10 μM DQ, recorded in the absence (100%) and the presence of others ionic species introduced in relation to DQ concentration.

Interfering species	Added amount over DQ concentration	Variation in the cathodic peak current of DQ (%)
Cu^{2+}	0.2	97.26
	0.5	100.01
	1	104.25
	5	112.25
Ni^{2+}	0.2	100.70
	0.5	98.78
	1	100.70
	5	90.00
Cd^{2+}	0.2	98.04
	0.5	95.11
	1	95.04
	5	94.79
Al^{3+}	0.2	93.51
	0.5	91.20
	1	83.53
	5	79.15
Mg^{2+}	1	101.5
	10	99.12
	100	96.65
	100	99.47
K^+	1	102.60
	10	98.91
	100	100.21
	100	101.12
Na^+	1	98.23
	10	99.47
	100	102.60
	100	98.91
NO_3^-	1	100.21
	10	101.12
	100	98.23
	100	98.23
Para-nitrophenol	0.1	99.51
	0.5	98.20
	1	95.70
	5	92.30
Methyl parathion	0.1	99.47
	0.5	101.2
	1	98.9
	5	95.05
Methylene blu	0.1	101.33
	0.5	97.45
	1	91.22
	5	78.52

employed for detecting DQ by DPAdSV under the optimized conditions in a spring water sample collected in natural environment (downtown Yaounde, Cameroon). Upon collection, the sample was filtered using a 0.45 μm filter paper and stored in a refrigerator. A known amount of KCl salt was added to reach a concentration of 0.1 M, and then a known volume of the solution was transferred into the voltammetric cell. A first voltammetric analysis by DPAdSV in the optimal conditions established in this study did not show any DQ signal. The water sample, used as accumulation medium was then spiked with known amounts of DQ. The electrochemical signals were recorded using the procedure applied for calibration curve experiments in deionized water. Three different concentrations (5, 10 and 15 μM) were investigated in triplicate, and recovery rates between 95 and 99% were obtained, demonstrating that the proposed methodology can be successfully applied to the analytical determination of DQ herbicide in water and obviously and other matrices.

4. Conclusion

In summary, natural hydroxyapatite issued from bovine bones following a three-step procedure including pre-calcination, chemical treatment with $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and calcination was functionalized by the grafting of β -CD on its surface using citric acid as a cross-linker. Upon

characterization by several physicochemical techniques, the composite material was used to build a reliable sensor successfully applied to DQ electroanalysis. The procedure, based on organohydroxyapatite thin film modified glassy carbon electrode is very simple, rapid and inexpensive. The optimization of some parameters governing the accumulation and detection steps gave rise to a detection limit of 4.66×10^{-10} mol L $^{-1}$. The developed sensor was very stable, with a reproducibility of 98.54%. This electrode has also been used successfully for the detection of DQ in spring water, and it has also been shown that some interfering ions or small quantities of organic molecules do not affect its performance. The results obtained indicated that the hydroxyapatite organically modified by β -CD displayed better detection properties for DQ in comparison with the starting material. Prospectively, the grafting on same material of organic molecules bearing other functional groups (thiol, amine, and carboxylic acid, e.g.) could lead to promising and low-cost and non-hazardous electrode modifiers. In addition, the GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD sensor could be advantageously exploited as alternative for the electroanalysis of heavy metals or other various cationic organic pollutants in aqueous environmental matrices.

Credit author statement

Rodrigue Tchoffo: Laboratory investigation; Data collection, Conceptualization. Guy B. P. Ngassa: Data collection; Formal analysis; Ignas K. Tonlé: Original draft preparation; Review & editing; Conceptualization. Emmanuel Ngameni: Funding acquisition; Investigation; Supervision.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The authors thank the International Science Program (ISP) for financial support of the African Network of Electroanalytical Chemists (ANEC). The support of The World Academy of Sciences (TWAS) for the advancement of science in developing countries (RGA N $^{\circ}$ 19–257 RG/CHE/AF/AC.G–FR3240310134) is acknowledged. G. Doungmo (Kiel University, Germany) and A. Kamdem (Freiburg University, Germany) are thanked for facilitation in the characterization of materials.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121550>.

References

- [1] L.C. Melo, D. Souza, P.L. Neto, A.N. Correia, Determination of the diquat herbicide in fresh food samples on a highly boron-doped diamond electrode, *Electroanalysis* 22 (2010) 2502–2510.
- [2] M. Anastassiades, D.I. Kolberg, D. Mack, I. Sigalova, D. Roux, D. Fügél, EU Reference laboratory for residues of pesticides, quick method for the analysis of residues of numerous highly polar pesticides in foods of plant origin involving simultaneous extraction with methanol and LC-MS/MS determination (QuPpeMethod), Available at, <http://www.eurl-pesticides.eu>, 2013. (Accessed 30 July 2020). Version 7.1.
- [3] A. Selypes, L. Nagymajtenyi, G. Berencsi, Mutagenic and embryotoxic effects of paraquat and diquat, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25 (1980) 513–517.
- [4] C.C. Carrión, B.M. Simonet, M. Valcárcel, Rapid fluorescence determination of diquat herbicide in food grains using quantum dots as new reducing agent, *Anal. Chim. Acta* 692 (2011) 103–108.
- [5] M. Zougagh, M. Bouabdallah, R. Salghi, A. Hormatallah, A. Rios, Supercritical fluid extraction as an on-line clean-up technique for rapid amperometric screening and alternative liquid chromatography for confirmation of paraquat and diquat in olive oil samples, *J. Chromatogr. A* 1204 (2008) 56–61.

- [6] J.A. Oh, J.B. Lee, S.H. Lee, H.S. Shin, Ultratrace level determination of diquat and paraquat residues in surface and drinking water using ion-pair liquid chromatography with tandem mass spectrometry: a comparison of direct injection and solid-phase extraction methods, *J. Separ. Sci.* 37 (2014) 2900–2910.
- [7] O. ONúñez, E. Moyano, L. Puignou, M.T. Galceran, Sample stacking with matrix removal for the determination of paraquat, diquat and difenzoquat in water by capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A* 912 (2001) 353–361.
- [8] C.S.L. de Figueiredo-Filho, M. Baccarin, B.C. Janegitz, O.F. Filho, A disposable and inexpensive bismuth film minisensor for a voltammetric determination of diquat and paraquat pesticides in natural water samples, *Sens. Actuators, B* 240 (2017) 749–756.
- [9] H.M.A. Shawish, N.A. Ghalwa, M. Hamada, A.H. Basheer, Modified carbon paste electrode for potentiometric determination of diquat dibromide pesticide in water and urine samples, *Mater. Sci. Eng. C* 32 (2012) 140–145.
- [10] D. De Souza, S.A. Machado, Use of multiple square wave voltammetry for the detection of diquat herbicide in environmental water, foods and river sediments, *J. Anal. Chem.* 73 (2018) 593–601.
- [11] W. Chen, Z. Huang, Y. Liu, Q. He, Preparation and characterization of a novel solid base catalyst hydroxyapatite loaded with strontium, *Catal. Commun.* 9 (2008) 516–521.
- [12] R.J. Farrauto, M.C. Hobson, Catalyst characterization, in: *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, third ed., 2003, pp. 501–526.
- [13] K. Hberko, M.M. Bućko, J.B. Miecznik, M. Haberko, W. Mozgawa, T. Panz, A. Pyda, J. Zarebski, Natural hydroxyapatite-its behaviour during heat treatment, *J. Eur. Ceram. Soc.* 26 (2006) 537–542.
- [14] C.C. Ooi, M. Hamdi, S. Ramesh, Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone, *Ceram. Int.* 33 (2007) 1171–1177.
- [15] A. Ruksudjarit, K. Pengpat, G. Rujijjanagul, T. Tunkasiri, Synthesis and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite from natural bovine bone, *Curr. Appl. Phys.* 8 (2008) 270–272.
- [16] U.I. Velasco, I. Sierra, L. Zudaire, J.L. Ayastuy, Conversion of waste animal bones into porous hydroxyapatite by alkaline treatment: effect of the impregnation ratio and investigation of the activation mechanism, *J. Mater. Sci.* 50 (2015) 7568–7582.
- [17] S. Yal, H. Khireddine, D. Sidane, S. Ziani, F. Bir, Surface modification of natural and synthetic hydroxyapatites powders by grafting polypyrrole, *J. Mater. Sci.* 48 (2013) 7215–7223.
- [18] S. Koutsopoulos, Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: a review study on the analytical methods, *J. Biomed. Mater. Res.* 62 (2002) 600–612.
- [19] J. Ong, D. Chan, Hydroxyapatite and their use as coatings in dental implants: a review, *Biomed. Eng.* 28 (2000) 667–707.
- [20] M. Razavi, M. Fathi, O. Savabi, D. Vashae, L. Tayebi, In vivo assessments of bioabsorbable AZ91 magnesium implants coated with nanostructured fluoridated hydroxyapatite by MAO/EPD technique for biomedical applications, *Mater. Sci. Eng. C* 48 (2015) 21–27.
- [21] G. Neary, A.W. Blom, A.I. Shiel, G. Wheway, J.P. Mansell, Development and biological evaluation of fluorophosphonate-modified hydroxyapatite for orthopaedic applications, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 29 (2018) 122–131.
- [22] H. Oonishi, Orthopaedic applications of hydroxyapatite, *Biomaterials* 12 (1991) 171–178.
- [23] K.F.B. Payne, I. Balasundaram, Tissue engineering technology and its possible applications in oral and maxillofacial surgery, *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 52 (2014) 7–15.
- [24] M.H. Hong, H.J. Choi, Y.M. Ko, Y.K. Lee, Engineered microstructure granules for tailored drug release rate, *Biotechnol. Bioeng.* 112 (2015) 1936–1947.
- [25] G. Mattei, C. Ferretti, A. Tirella, A. Ahluwalia, M.M. Belmonte, Decoupling the role of stiffness from other hydroxyapatite signalling cues in periosteal derived stem cell differentiation, *Sci. Rep.* 5 (2015) 10778–10787.
- [26] A.K. Nayak, Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview, *Int. J. Chem. Technol. Res.* 2 (2010) 903–907.
- [27] E. Andronescu, E. Stefan, E. Dinu, C. Ghitulica, Hydroxyapatite synthesis, *Key Eng. Mater.* 206 (2002) 1595–1598.
- [28] S. Leprêtre, F. Chai, J.C. Hornez, G. Vermet, C. Neut, M. Descamps, H. F. Hildebrand, B. Martel, Prolonged local antibiotics delivery from hydroxyapatite functionalised with cyclodextrin polymers, *Biomaterials* 30 (2009) 6086–6093.
- [29] S. Saoiabi, K. Achelhi, S. Masse, A. Saoiabi, A. Laghzizil, T. Coradin, Organopapatites for lead removal from aqueous solutions: a comparison between carboxylic acid and aminophosphonate surface modification, *Colloids Surf., A* 419 (2013) 180–185.
- [30] M. Othmani, A. Aissa, C.G. Bac, F. Rachdi, M. Debbi, Surface modification of calcium hydroxyapatite by grafting of etidronic acid, *Appl. Surf. Sci.* 274 (2013) 151–157.
- [31] S.B. Moussa, H. Bachoua, M. Gruselle, P. Beaunier, A. Flambard, B. Badraoui, Hybrid organic-inorganic materials based on hydroxyapatite structure, *J. Solid State Chem.* 248 (2017) 171–177.
- [32] S. Rehman, K. Khan, M. Mujahid, S. Nosheen, Synthesis of nano-hydroxyapatite and its rapid mediated surface functionalization by silane coupling agent, *Mater. Sci. Eng. C* 58 (2016) 675–681.
- [33] W. Tang, J. Zhao, B. Sha, Adsorption and drug release based on β -cyclodextrin-grafted hydroxyapatite composite, *J. Appl. Polym. Sci.* 127 (2013) 2803–2808.
- [34] A. Heydari, H. Sheibani, Fabrication of poly (β -cyclodextrin-co-citric acid)/ bentonite clay nanocomposite hydrogel: thermal and absorption properties, *RSC Adv.* 5 (2015) 82438–82449.
- [35] Q. Liu, J.R. de Wijn, K. de Groot, C.V. Blitterswijk, Surface modification of nano-apatite by grafting organic polymer, *Biomaterials* 19 (1998) 1067–1072.
- [36] D. Zhao, L. Zhao, C. Zhu, Z. Tian, X. Shen, Synthesis and properties of water-insoluble β -cyclodextrin polymer crosslinked by citric acid with PEG-400 as modifier, *Carbohydr. Polym.* 78 (2009) 125–130.
- [37] D. Zhao, L. Zhao, C.S. Zhu, X. Shen, X. Zhang, B. Sha, Comparative study of polymer containing β -cyclodextrin and -COOH for adsorption toward aniline, 1-naphthylamine and methylene blue, *J. Hazard Mater.* 171 (2009) 241–246.
- [38] N. Morin-Crini, G. Crini, Environmental applications of water-insoluble β -cyclodextrin-epichlorohydrin polymers, *Prog. Polym. Sci.* 38 (2013) 344–368.
- [39] M.H. Mohamed, L.D. Wilson, D.Y. Partt, R. Guo, C. Wu, J.V. Headley, Evaluation of the accessible inclusion sites in copolymer materials containing β -cyclodextrin, *Carbohydr. Polym.* 87 (2012) 1241–1248.
- [40] D. Zhao, L. Zhao, C.S. Zhu, W.Q. Huang, J.L. Hu, Water-insoluble β -cyclodextrin polymer crosslinked by citric acid: synthesis and adsorption properties toward phenol and methylene blue, *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.* 63 (2009) 195–201.
- [41] S. Patel, J. Han, W. Qiu, W. Gao, Synthesis and characterisation of mesoporous bone char obtained by pyrolysis of animal bones, for environmental application, *J. Environ. Chem. Eng.* 3 (2015) 2368–2377.
- [42] P. Kanchana, C. Sekar, EDTA assisted synthesis of hydroxyapatite nanoparticles for electrochemical sensing of uric acid, *Mater. Sci. Eng. C* 42 (2014) 601–607.
- [43] Z. Wang, P. Zhang, F. Hu, Y. Zhao, L. Zhu, A crosslinked β -cyclodextrin polymer used for rapid removal of a broad-spectrum of organic micropollutants from water, *Carbohydr. Polym.* 177 (2017) 224–231.
- [44] T. Girek, V. Ciesielski, Polymerization of β -cyclodextrin with succinic anhydride and thermogravimetric study of the polymers, *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.* 69 (2011) 439–444.
- [45] G.B.P. Ngassa, I.K. Tonle, A. Walcarius, E. Ngameni, One-step co-intercalation of cetyltrimethylammonium and thiourea in smectite and application of the organoclay to the sensitive electrochemical detection of Pb (II), *Appl. Clay Sci.* 99 (2014) 297–305.
- [46] H.L. Tcheumi, I.K. Tonle, E. Ngameni, Electrochemical analysis of methylparathion pesticide by a gemini surfactant-intercalated clay-modified electrode, *Talanta* 81 (2010) 972–979.
- [47] W. Sun, P. Qin, R. Zhao, K. Jiao, Direct electrochemistry and electrocatalysis of hemoglobin on gold nanoparticle decorated carbon ionic liquid electrode, *Talanta* 80 (2010) 2177–2181.
- [48] Y. Wang, J.G. Limon-Petersen, R.G. Compton, Measurement of the diffusion coefficients of $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ and $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ in aqueous solution using microelectrode double potential step chronoamperometry, *J. Electroanal. Chem.* 652 (2011) 13–17.
- [49] H.L. Tcheumi, V. Tassontio, I.K. Tonle, E. Ngameni, Surface functionalization of smectite-type clay by facile polymerization of β -cyclodextrin using citric acid cross linker: application as sensing material for the electrochemical determination of paraquat, *Appl. Clay Sci.* 173 (2019) 97–106.
- [50] B.M. Babić, S.K. Milonjić, M.J. Polovina, B.V. Kaludriević, Point of zero charge and intrinsic equilibrium constants of activated carbon cloth, *Carbon* 37 (1999) 477–481.
- [51] H.L. Tcheumi, I.K. Tonle, A. Walcarius, E. Ngameni, Electrocatalytic and sensors properties of natural smectite type clay towards the detection of paraquat using a film-modified electrode, *Am. J. Anal. Chem.* 3 (2012) 746–754.
- [52] M.H. Florencio, E. Pires, A.L. Castro, M.R. Nunes, C. Borges, F.M. Costa, Photodegradation of diquat and paraquat in aqueous solutions by titanium dioxide: evolution of degradation reactions and characterisation of intermediates, *Chemosphere* 55 (2004) 345–355.
- [53] A. Walcarius, L. Lamberts, Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution, *J. Electroanal. Chem.* 406 (1996) 59–68.
- [54] H. El Harmoudi, M. Achak, S. Lahrach, A. Farahi, L. El Gaini, M. Bakasse, M.A. El Mhammedi, Square wave voltammetric determination of diquat using natural phosphate modified platinum electrode, *Arabian J. Chem.* 10 (2017) S671–S676.
- [55] M.A. El Hhammedi, M. Bakasse, A. Chtaini, Investigation of square wave voltammetric detection of diquat at carbon paste electrode impregnated with $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$: application in natural water samples, *Mater. Chem. Phys.* 109 (2008) 519–525.
- [56] T.H. Lu, I.W. Sun, Determination of diquat at a nafion film modified glassy carbon electrode using electrocatalytic voltammetry, *Electroanalysis* 12 (2000) 605–609.
- [57] M.A. El Mhammedi, M. Bakasse, R. Najih, A. Chtaini, A carbon paste electrode modified with kaolin for the detection of diquat, *Appl. Clay Sci.* 43 (2009) 130–134.
- [58] A. Walcarius, L. Lamberts, Square wave voltammetric determination of paraquat and diquat in aqueous solution, *J. Electroanal. Chem.* 406 (1996) 59–68.
- [59] N.A. Zambianco, T.A. Silva, H. Zanin, O. Fatiello-Filho, B.C. Janegitz, Novel electrochemical sensor based on nanodiamonds and manioc starch for detection of diquat in environmental samples, *Diam. Relat. Mater.* 98 (2019) 107512–107517.
- [60] L.C. Melo, G.R. Salazar-banda, S.A.S. Machado, P. de Limaneto, D. de Souza A. N. Correia, A simple and sensitive detection of diquat herbicide using a dental amalgam electrode: a comparison using the chromatographic technique, *Talanta* 79 (2009) 1216–1222.
- [61] H.E. Ouafy, T.E. Ouafy, M. Oubenali, M.E. Idrissi, M. Echajia, A.E. Haimouti, M. Mbarki, H. Oulfajrite, Electroanalysis of the herbicide diquat by electrochemical detector containing particles of clay in environmental water, *Anal. Bioanal. Chem.* 12 (2020) 168–179.
- [62] I.R. Pizzutti, G.M.E. Vela, A. de Kok, J.M. Scholten, J.V. Dias, C.D. Cardoso, G. Concenco, R. Vivian, Determination of paraquat and diquat: LC-MS method optimization and validation, *Food Chem.* 209 (2016) 248–255.
- [63] D.I.S. Kolberg, D. Mack, M. Anastassiades, M.T. Hetmanski, R.J. Fussell, T. M. Meijer, H.G.J. Mol, Development and independent laboratory validation of a

simple method for the determination of paraquat and diquat in potato, cereals and pulses, *Anal. Bioanal. Chem.* 404 (2012) 2465–2474.



Surface functionalization of natural hydroxyapatite by polymerization of β -cyclodextrin: application as electrode material for the electrochemical detection of Pb(II)

Rodrigue Tchoffo¹ · Guy B. P. Ngassa^{1,2} · Giscard Doungmo³ · Arnaud T. Kamdem⁴ · Ignas K. Tonlé^{1,5}  · Emmanuel Ngameni¹

Received: 22 April 2021 / Accepted: 18 July 2021

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021

Abstract

A composite material prepared by polymerization of β -cyclodextrin (β -CD) on the surface of natural hydroxyapatite using citric acid as cross linker, was employed as electrode material for the detection of Pb(II). Hydroxyapatite was obtained from bovine bones, following a three-step procedure including pre-calcination, chemical treatment with $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, and calcination. The structure and morphology of the pristine hydroxyapatite ($\text{NHAP}_{\text{p}0.5}$) and its functionalized counterpart ($\text{NHAP}_{\text{p}0.5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$) were examined using XRD, FTIR, and SEM. Upon deposition as thin film on a glassy carbon electrode (GCE), the ion exchange ability of $\text{NHAP}_{\text{p}0.5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$ was exploited to elaborate a sensitive sensor for the detection of lead. The electroanalytical procedure was based on the chemical accumulation of Pb(II) ions under open-circuit conditions, followed by the detection of the preconcentrated species using differential pulse anodic stripping voltammetry. The reproducibility of the proposed method, based on a series of 8 measurements in a solution containing 2 μM Pb(II) gave a coefficient of variation of 1.27%. Significant parameters that can affect the stripping response of Pb(II) were optimized, leading to a linear calibration curve for lead in the concentration range of $2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1} - 20 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.998$). The detection limit (3S/m) and the sensitivity of the proposed sensor were $5.06 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ and $100.80 \mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1}$, respectively. The interfering effect of several ions expected to affect the determination of lead was evaluated, and the proposed sensor was successfully applied in the determination of Pb(II) ions in spring water, well water, river water and tap water samples.

Keywords Hydroxyapatite · β -cyclodextrin · Lead · Electroanalysis

Guy B. P. Ngassa and Ignas K. Tonlé contributed equally to this work.

Responsible Editor: Weiming Zhang

✉ Guy B. P. Ngassa
guyngassa@yahoo.fr

✉ Ignas K. Tonlé
ignas.tonle@univ-dschang.or

¹ Laboratory of Analytical Chemistry, Faculty of Science, The University of Yaounde 1, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

² Department of Chemistry, University of Douala, P.O. Box 24157, Douala, Cameroon

³ Institute of Inorganic Chemistry, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Max-Eyth-Straße 2, 24118 Kiel, Germany

⁴ Freiburg Materials Research Center (FMF), University of Freiburg, Stefan Meier Strasse 21, 79104 Freiburg, Germany

⁵ Chemistry of Materials and Electrochemistry, Faculty of Science, University of Dschang, P.O. Box 67, Dschang, Cameroon

Introduction

Due to their nonbiodegradability and especially their toxicity, inorganic pollutants such as heavy metals pose a major threat to the environment because of their involvement in many natural and industrial processes (Adebisi et al. 2017). Among heavy metals, lead is particularly toxic, with negative effects on human health. Yet, it is known that the ingestion of lead can induce damages on the nervous system, the main pathologies being severe headaches, encephalopathy, sleepiness, psychosis, memory deterioration, and reduced consciousness (Flora et al. 2012). The safe disposal of lead is always a concern in industrialized countries. The World Health Organization (WHO), the European Union (EU), and the US Environmental Protection Agency (USEPA) set the permissible level of lead in drinking water at 0.01, 0.01 and 0.015 mg L^{-1} , respectively (Awwal 2019). To quantify and monitor lead ions, the development of analytical devices has attracted

increasing interest in recent decades. For this purpose, a range of different analytical methods have been utilized, such as inductively coupled plasma-mass spectrometry (Longerich et al. 1987), X-ray fluorescence spectrometry (Lau and Ho 1993), and atomic absorption spectrometry (Chen and Teo 2001). These techniques operate quiet well but usually they require expensive equipment, highly trained staff for their implementation, and long time for analyzes. To overcome these limitations, the development of electrochemical techniques based on modified electrodes has been promoted as these techniques can be easily implemented, and are characterized by high selectivity and sensitivity, good repeatability, and cheap instrumentation (Ngassa et al. 2014; Tonle et al. 2015). Moreover, modified electrodes offer the advantage of using several types of electrode materials, depending on their availability and on their specific properties (Fairuz et al. 2016; Musa et al. 2020). This has boosted in the past recent years the development of a wide variety of electrochemical sensors for environmental applications (Shetti et al. 2019; Ilager et al. 2020a; Ilager et al. 2020b; Ilager et al. 2021; Malode et al. 2021). Among the electrode materials used, hydroxyapatite (HAP) with the formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ has been shown to be a prominent material. Due to its microcrystalline structure, its acid-base properties, ion-exchange ability, adsorption capacity, and its chemically reactive sites (Chen et al. 2008), HAP is exploited in various fields (Sun et al. 2018; Ajab et al. 2019; El Mhammedi et al. 2009a; Li et al. 2009; Prongmanee et al. 2019). Thus, several studies have reported the use of this material as electrode modifier for the detection of different organic pollutants (El Mhammedi et al. 2007; El Mhammedi et al. 2009a; Li et al. 2009; Yin et al. 2010; Tchoffo et al. 2021). Also, HAP modified electrodes have been applied for the detection of heavy metal ions, including Pb^{2+} (Pan et al. 2009; El Mhammedi et al. 2009b; El Mhammedi et al. 2013), Cd^{2+} (Li et al. 2009; Gao et al. 2016), Cu^{2+} , and Hg^{2+} (Sun et al. 2018). HAP can be synthesized via various chemical routes (Sadat-Shojai et al. 2013) such as mechanochemical (Fakharzadeh and Ebrahimi-Kahrizsangi 2017; Youness et al. 2017), precipitation (Horta et al. 2019), hydrothermal (Nouri-Felekori et al. 2019), sol-gel (Turk et al. 2019), and polymer-assisted methods (Sinha et al. 2008; Tseng et al. 2009) that are relatively high in cost (Esmailkhanian et al. 2019; Yala et al. 2013). More interesting, HAP can be extracted from several natural sources such as clam shell (Pal et al. 2017), cuttlefish bone (Faksawat et al. 2015; Goto and Sasaki 2016), bovine bones (Hammood et al. 2017; Amna 2018), and corals (Nandi et al. 2015). Several investigations have shown that natural HAP (referred as NHAP hereafter) obtained from these sources is more bioactive and has a more dynamic response to the environment, along with a better metabolic activity compared to the synthetic HAP (Yala et al. 2013; Esmailkhanian et al. 2019). NHAP is not only easy to obtain but is also simple to process; in addition it is available in

unlimited quantities as bone waste (Yala et al. 2013; Mohd et al. 2019).

HAP has on its surface numerous hydroxyl groups (P-OH and Ca-OH) that can allow their modification by grafting of either organic or inorganic compounds (Saoiabi et al. 2010). Therefore, the modification of HAP surface with various organic substances has been the subject of many studies (Liu et al. 1998; Leprêtre et al. 2009; Othmani et al. 2013; Tang et al. 2013; Yala et al. 2013). These modifications are of great interest as they induce to the material new properties. Among the organic modifiers generally used, natural polymers are increasingly solicited. Nowadays, many reports focus exclusively on β -cyclodextrin (β -CD) which is a natural macrocyclic oligosaccharide composed of seven glucose molecules. It is toroidal in shape, with a hydrophilic outer side which provides water solubility and a hydrophobic inner cavity (Niu et al. 2018; Tcheumi et al. 2019). These interesting characteristics provide the materials functionalized by β -CD a wide field of application, especially in electroanalysis (Alam et al. 2018; Tcheumi et al. 2019; Tchoffo et al. 2021; Yang et al. 2015; Zhu et al. 2016). Thus, Alam et al. (2018) used multiwalled carbon nanotube and β -CD for the electrochemical sensing of acetaminophen. Liu et al. (2017) exploited SH/ β -CD functionalized graphene-palladium nanoparticles for the sensitive electrochemical detection of rutin and isoquercitrin. In the recent past years, our research unit is involved in the valorization of β -CD for the protection of environment. In these lines, the exploitation of smectite/ β -CD composite material for the detection of paraquat has been achieved (Tcheumi et al. 2019). Also, we have reported the use of a hydroxyapatite/ β -CD hybrid material for the electrochemical detection of diquat (Tchoffo et al. 2021). In the framework of that program, the present study describes the electroanalysis and detection of Pb^{2+} ions in aqueous medium. To our knowledge, no study on the use of a composite material based on natural hydroxyapatite and β -CD as electrode modifier for the electrochemical quantification of Pb^{2+} has been reported in the literature. Thus, a simple, sensitive and low cost lead electrochemical sensor was expected by creating a favorable environment on hydroxyapatite surface, for more efficient adsorption of Pb^{2+} ions. This was achieved by immobilizing β -CD molecules bearing complexing functional groups, and citric acid molecules dotted with free carboxylate functions that can uptake Pb^{2+} ions via electrostatic interactions, in addition to the intrinsic cation exchange properties of NHAP.

Experimental

Chemicals and reagents

All chemicals and reagents used in both the material synthesis and the electrochemical sections were of analytical grade, and used as received. The 0.01 M stock solution of $\text{Pb}(\text{II})$

(Prolabo) was prepared by dissolving $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ in deionized water. $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ (98%) was purchased from Aldrich. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Anachemia) was used for the chemical treatment of precursor. β -cyclodextrin (98%, Aldrich), citric acid (99%, Sigma-Aldrich), and Na_2HPO_4 (Anachemia) were used for the surface modification of hydroxyapatite. CH_3COOH (99.8%, Scharlau) and CH_3COONa (99%, Synth) were mixed with different ratios for the preparation of the 0.1 M acetate buffer at different pH values. The pH of the accumulation medium was adjusted using dilute solutions of KOH (BDH) or HNO_3 (60%, Scharlau). All solutions were prepared with deionized water (18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$) obtained from a Millipore milli-Q water purification system.

Preparation and characterization of the β -cyclodextrin/hydroxyapatite composite

Starting bovine bones material: pre-treatment, calcination and impregnation

The preparation and characterization of β -CD/hydroxyapatite composite material is fully described elsewhere (Tchoffo et al. 2021). Briefly, the starting materials were bovine bones collected at local market. They were carefully cleaned and cut into small pieces of about 2 to 5 cm, then boiled for 30 min in deionized water. The pieces were finally washed several times using water, in order to remove all traces of remaining meat and fat. Upon drying at room temperature for about 30 days, the bone marrow was scraped, and the resulting cleaned bone was pre-calcined in an electric oven with the heating rate set at $12.5 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$; followed by a residence time of 3 h at $450 \text{ }^\circ\text{C}$. The bones were cooled slowly to room temperature and the calcined material was then crushed, sieved, and the particles smaller than $50 \text{ }\mu\text{m}$ were retained for later use. This pre-calcined material (referred as precursor) was chemically treated as follows: 2 g of precursor were added to 40 mL of a 0.5 M solution of activating agent ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) chosen to avoid the destruction of hydroxyapatite structure. The impregnation step was achieved in a glass vial under constant stirring at 150 rpm at $(20 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ for 48 h. The sample was then washed several times with deionized water, filtered, and then dried in an oven for 24 h at $80 \text{ }^\circ\text{C}$. The final material was washed with deionized water until the neutral pH of solution was reached. The fine particles of the impregnated material were then collected. For this purpose, the particles obtained in the previous step were dispersed in 200 mL of deionized water and the suspension was placed in a sedimentation tube, the fraction below $3 \text{ }\mu\text{m}$ was separated by sedimentation according to the Stokes law and then recovered by centrifugation. Afterwards, more deionized water was added in the tube and the procedure repeated until a clear liquid was obtained at the top of the tube. The resulting material (hereafter denoted as $\text{NHAP}_{\text{P}0.5}$) and not impregnated material (hereafter denoted as NHAP) were

dried in an oven for 24 h at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ and stored in plastic containers for later use.

Coupling of β -cyclodextrin to hydroxyapatite

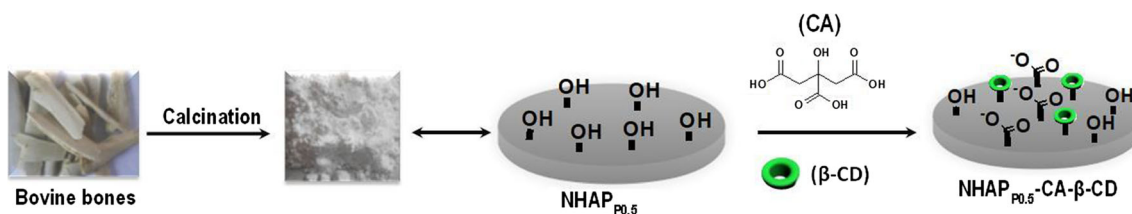
The synthesis of the β -CD natural hydroxyapatite composite was adapted from a published procedure (Leprêtre et al. 2009). An amount of 0.5 g of $\text{NHAP}_{\text{P}0.5}$ was carefully dispersed in 5 mL deionized water in an ultrasonic bath for 5 min. Afterwards, 0.25 g of β -CD, 0.25 g citric acid (cross linker agent), and 0.083 g of Na_2HPO_4 (catalytic agent) were added to this mixture. The mass ratio of β -CD and natural hydroxyapatite was set at 1:2 (w/w). The resulting mixture was sonicated for 5 min and the solution obtained was transferred to an electric oven at $100 \text{ }^\circ\text{C}$ for 120 min. The obtained residue was then placed in an electric oven at $180 \text{ }^\circ\text{C}$ for 45 min, followed by cooling at ambient temperature. The solid residue obtained was carefully crushed, washed with deionized water, and dried in an oven. The final composite material thus synthesized was referred as $\text{NHAP}_{\text{P}0.5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$. All steps involved in the preparation of $\text{NHAP}_{\text{P}0.5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$ are given in Scheme 1. For comparison purposes, the same protocol was followed to prepare the β -CD polymer (without hydroxyapatite, denoted $\text{CA-}\beta\text{-CD}$), excepted that natural hydroxyapatite was no longer used.

Physic-chemical characterization of materials

The structural properties and the morphological structure of the starting hydroxyapatite, the precursor, and the lysine/ NHAP materials were determined by Powder X-Ray diffraction (PXRD), Fourier Transformed Infrared (FTIR) spectroscopy and Scanning Electron Microscopy (SEM). The PXRD patterns were recorded at room temperature using powder diffractometer (Stoe Stadi-P) operating with a $\text{Cu-K}\alpha$ radiation ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$). FTIR spectra were registered also at room temperature using KBr pellets, in the spectral range from 4500 to 400 cm^{-1} on an Alpha IR spectrometer from Bruker. SEM images were obtained using an Amray 1610 Turbo instrument.

Electrochemical experiments

Electrochemical measurements were performed by a computerized Potentiostat instrument (Metrohm μ -Autolab, Netherlands) using the GPES software. All voltammograms were recorded at room temperature with a single compartment three-electrode cell comprising a platinum grid as counter electrode, an Ag/AgCl/KCl (3 M) reference electrode, and a working electrode that was either a bare glassy carbon electrode (GCE), or the GCE modified by a thin film of $\text{CA-}\beta\text{-CD}$, $\text{NHAP}_{\text{P}0.5}$ or $\text{NHAP}_{\text{P}0.5}\text{-CA-}\beta\text{-CD}$ material. The GCE was first polished on billiard cloth covered by alumina paste



Scheme 1. Representation of the successive steps involved in the preparation of β -CD functionalized hydroxyapatite

(0.05 μm particle size), then ultrasonically cleaned for 5 min in deionized water. Dispersions of the materials (NHAP_{P0.5}, NHAP_{P0.5}-CA- β -CD or CA- β -CD) were prepared by diluting 4 mg of each material in 2 mL of deionized water. Eight microliter of the dispersion was then casted on the active surface (3 mm in diameter) of the GCE. The thin film electrode was dried at room temperature for about 2 h to ensure complete drying, then used without any pre-treatment in the electrochemical cell. These electrodes will be hereafter referred as GCE/NHAP_{P0.5}, GCE/CA- β -CD, and GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD for the GCE modified by NHAP_{P0.5}, CA- β -CD, and NHAP_{P0.5}-CA- β -CD; respectively.

Cyclic voltammetry was used to evaluate the active surface area of the bare GCE and modified electrodes, while the electrochemical analysis of Pb^{2+} ions was carried out using differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV). The procedure was based on two successive steps: (i) the open-circuit accumulation of the analyte was achieved by dipping the working electrode in a beaker kept at constant stirring and containing the Pb^{2+} solution at a given concentration; and (ii) the voltammetric detection of the accumulated analyte between -0.90 and -0.20 V in 0.1 M acetate buffer solution. DPASV measurements were performed by applying the following optimized parameters: 0.00 s equilibration time, 5 mV potential step increments, and 100 mV potential amplitude. After each voltammetric detection and before the next accumulation, the surface of the working electrode was renewed by simply shaking it in the detection medium for approximately 3 min.

Results and discussion

Physicochemical characterization of materials

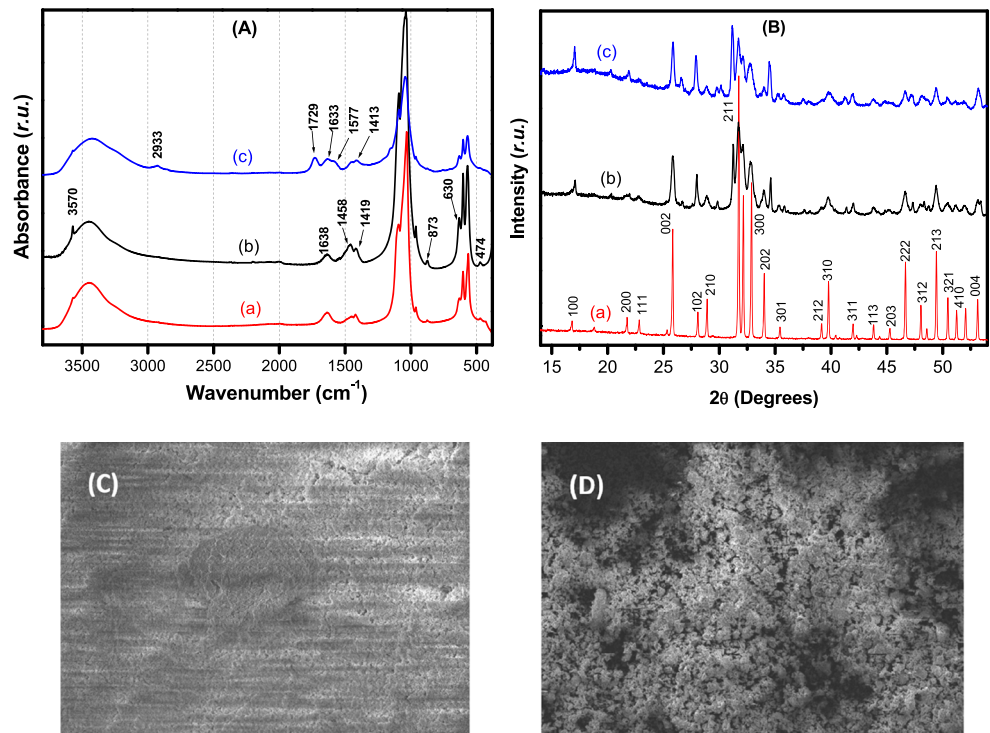
Figure 1A presents the FTIR spectra between 3800 and 380 cm^{-1} of NHAP, NHAP_{P0.5}, and NHAP_{P0.5}-CA- β -CD materials. On all spectra, fundamental peaks characteristic of hydroxyapatites are observed (Koutsopoulos 2002). The absorption bands which appear around 3450 and 1638 cm^{-1} correspond to the bending vibrations of water molecules adsorbed on the materials (Koutsopoulos 2002; Patel et al. 2015; Kanchana and Sekar 2014). The visible vibration bands of OH groups were identified at 3570 and 630 cm^{-1} (Kanchana and Sekar 2014). The absorption peaks observed at 1458, 1419, and 873 cm^{-1} are attributed to

the binding vibrations of carbonate (CO_3^{2-}) in the structure of the material (Koutsopoulos 2002; Kanchana and Sekar 2014). The vibrations bands of phosphate PO_4^{3-} were also detected at 1090, 1039, 961, 601, and 569 cm^{-1} , respectively (Yala et al. 2013; Koutsopoulos 2002). On the basis of these results, it can be deduced that all the collagens and other organic compounds present in the raw bones have been eliminated during calcination. After treatment with dibasic ammonium phosphate, the spectrum of the resulting material (NHAP_{P0.5}) displays bands similar to those of NHAP. This confirms that this treatment had not affected the structure of the material. Furthermore, comparing the spectra of pristine HAP and NHAP_{P0.5}-CA- β -CD samples clearly showed additional peaks at 2933 and 1729 cm^{-1} that are respectively attributed to the vibrations bands of C-H groups of β -CD and C=O bands of ester bonds formed during the polymerization (Leprêtre et al. 2009; Tang et al. 2013; Tcheumi et al. 2019; Heydari and Sheibani 2015). The observed absorption bands of ester groups indicated that hydroxyl groups of β -CD have reacted with the carboxyl groups of citric acid, leading to the formation of a three-dimensional polymer network (Tcheumi et al. 2019).

The crystalline phase analyzes of obtained materials were carried out by XRD as shown in Fig. 1B. The pattern of NHAP starting material (Fig. 1B(a)) presents well-defined and thin diffraction peaks, proving that the material has a good crystallinity. Some typical and specific crystallographic plane (002), (102), (112), (211), (300), (130), (202), and (310) appearing at 25.80°, 28.92°, 31.71°, 32.21°, 32.90°, 34.13°, 40°, 46.70°, and 49.44° 2θ angles were matched with standard ICDD Diffraction File No. 00-009-0432 of hydroxyapatite (Kanchana and Sekar 2014). This confirms the results obtained in FTIR, from which it appeared that the material obtained from bovine bones after calcination was pure hydroxyapatite.

Upon the impregnation of NHAP with ammonium phosphate dibasic, the material becomes somewhat amorphous (Fig. 1B(b)) although the main diffraction peaks remain visible. By comparing the XRD pattern of the hybrid material (NHAP_{P0.5}-CA- β -CD) with that of unmodified hydroxyapatite (NHAP_{P0.5}), it can be seen that the characteristic diffractions of two materials are almost the same, which shows that the grafting of β -CD had not affected the crystalline phases of the hydroxyapatite particles as previously observed by Leprêtre et al. (2009) in similar materials. By exploiting the Scherrer's equation (Elkabouss et al. 2004) expressed by $D = K\lambda/(\beta\cos\theta)^{-1}$ where K is the shape factor

Fig. 1 **A** FTIR spectra, **B** PXRD patterns of (a): NHAP, (b): NHAPP0.5 and (c): NHAPP0.5-CA- β -CD materials; SEM pictures of **C** NHAP_{P0.5} and **D** NHAP_{P0.5}-CA- β -CD materials



(0.9), β the full width at half-maximum of diffraction peaks measured in radians, λ the wavelength of the used anticathode ($\lambda_{Cu} = 1.54056 \text{ \AA}$), and θ is Bragg's diffraction angle, the average crystallite size of NHAP, NHAP_{P0.5}, and NHAP_{P0.5}-CA- β -CD were estimated as 279.65, 36.61, and 99.22 nm, respectively. The treatment of NHAP with dibasic ammonium phosphate induces a significant reduction of the crystal size. Yet, this treatment caused a structural reorganization of the material making it better dispersed. When the treated material was functionalized with β -CD, particle size increased, probably due to the grafting of β -CD on the surface of the material.

SEM was used to examine the morphological structure of the pristine hydroxyapatite (NHAP_{P0.5}) and its functionalized counterpart (NHAP_{P0.5}-CA- β -CD). Figures 1C and 1D present the obtained images. It was noticed that the natural hydroxyapatite particles, after chemical impregnation are characterized by an irregular shape (Fig. 1C). The morphology exhibited a porous network remaining after the removal of organic materials from the bones. The functionalization of the natural hydroxyapatite with β -CD (Fig. 1D) led to better dispersed particles of the obtained material. Many micropores also appeared on this material, probably making available the free acid groups of citric acid not involved in the grafting process.

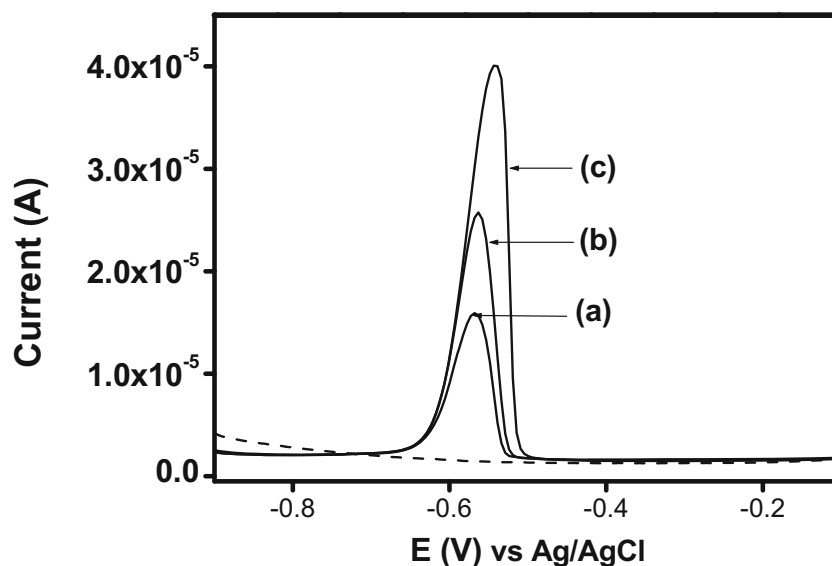
Preliminary electrochemical investigations

A preliminary investigation was performed in view of selecting the most sensitive material to be used as GCE

modifier for the electrochemical sensing of Pb^{2+} ions, the ability of the prepared materials was investigated. Thus, GCE/NHAP_{P0.5}, GCE/CA- β -CD, and GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD devices were used in turn to analyze a 2×10^{-6} M Pb^{2+} solution, and the DPASV curves obtained are shown in Fig. 2. As one can observe, a peak current of about $14.04 \mu A$ in intensity was generated at the GCE electrode modified by raw hydroxyapatite (NHAP_{P0.5}). This signal is due to the ability of hydroxyapatite to easily adsorb positive ions by a cation exchange mechanism (El Mhammedi et al. 2009b; Mobasherpour et al. 2011).

When the bare GCE was modified by β -cyclodextrin polymer, the anodic peak current obtained was enhanced ($23.98 \mu A$), giving rise to intensity more than 1.7-fold larger than that obtained in the same conditions on GCE/NHAP_{P0.5}. This result is due in one hand to the capacity of β -CD to form reversible inclusion complexes with Pb^{2+} metal ions (Zhao et al. 2019), and in the other hand to the ability of the free carboxylate functions of citric acid to trap Pb^{2+} ions (He et al. 2017; Celebioglu et al. 2019). Finally, when the film on the GCE was formed by the composite material (NHAP_{P0.5}-CA- β -CD), the anodic peak current obtained was substantially improved. The peak current obtained ($38.60 \mu A$) was 1.61-fold and 2.75-fold more intense than the signals recorded on GCE/CA- β -CD and GCE/NHAP_{P0.5}, respectively. This observation can be reasonably attributed to three major factors: (i) the complexation of Pb^{2+} ions by β -CD; (ii) the ability of free carboxylate functions of citric acid that can also contribute by electrostatic attraction to accumulate Pb^{2+} ions; and (iii) the

Fig. 2 DPASV recorded after 3 min accumulation from an aqueous 2×10^{-6} M Pb^{2+} solution at pH 6 using, **a** GCE/NHAP_{P0.5}, **b** GCE/CA- β -CD, and **c** GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD. Detection in 0.1 M acetate buffer (pH 5) after 15 s electrolysis at -0.8 V. Other experimental conditions: 0 s equilibration time, 5 mV potential step and 100 mV amplitude



adsorption of Pb^{2+} ions by natural hydroxyapatite present in the film, following an ion exchange process. From these investigations, the composite material was thus chosen for further experiments as it led to the most sensitive detection of Pb^{2+} ions.

Furthermore, it was useful to determine the exposed surface area of the GCE before and after its modification by the thin film of NHAP_{P0.5}-CA- β -CD material. Thus, the effective surface area of GCE and GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD was measured using the following Randles-Sevcik equation (Bukkitgar and Shetti 2017; Shetti et al. 2015).

$$I_{pa} = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A_0 D_0^{1/2} \nu^{1/2} C_0 \quad (1)$$

where I_{pa} refers to the anodic peak current (A), n is the number of electrons transferred during the electrode reaction, A_0 represents the working surface area of the electrode (cm^2), D_0 is the diffusion coefficient ($8.43 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ for $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ ion), ν is the scan rate (V s^{-1}), and C_0 is the concentration of $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ (mol cm^{-3}). Experiments were performed by cyclic voltammetry in a 0.1 M KCl supporting solution containing 1×10^{-3} M $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ as redox probe, at different scan rates. From the plot of I_{pa} vs ν , the active surface area of the bare GCE was calculated to be 0.061 cm^2 whereas the area of NHAP_{P0.5}-CA- β -CD modified GCE was found to be 0.181 cm^2 .

The reproducibility and stability of the composite material coated on the GCE were then evaluated. For this purpose, a series of 8 repetitive measurements were performed by using the same GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD sensor for the detection of $2 \mu\text{M}$ Pb^{2+} ions. As shown on Fig. SI(1) (Electronic Supporting Material), highly reproducible stripping currents were obtained with a relative standard deviation of 1.27%. Moreover, a series of measurements on five electrodes

prepared with an identical procedure gave a relative standard deviation of 3.75%. This indicates a good reproducibility of the proposed sensor for the detection of Pb^{2+} ions. The long-term stability of the proposed sensor was also evaluated by recording daily the signal of a $2 \mu\text{M}$ Pb^{2+} solution, the electrode being kept in 0.1 M acetate buffer (pH 5) in a fridge. It was found that GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD can retain more than 96% of its original response, without regenerating or reactivating the surface during the process of successive determinations. In order to obtain the highest sensitivity of the modified electrode for the electrochemical determination of Pb^{2+} , the operating parameters of the accumulation and detection steps have been optimized in the coming sections.

Optimization of key parameters involved in the accumulation step

The pH of the accumulating medium is an important parameter, expected to affect the electrode signal. It was investigated on GCE/NHAP_{P0.5}-CA- β -CD in the range between 4.0 and 6.5 by DPASV in aqueous solution containing $2 \mu\text{M}$ of Pb^{2+} . It is important to mention that in highly acidic media ($\text{pH} < 3$), no real signal was obtained, probably due to the mineralization of the hydroxyapatite backbone. Basic media were not studied as they may induce the precipitation of Pb^{2+} . The obtained results are given in Fig. 3A: in moderate acidic media, the stripping peak current of Pb^{2+} increased as the pH was changed from 4.0 to 5.0, then it decreased to 6.5. The poor sensor signal obtained for pH values less than 4 was attributed to a competition between H^+ and the Pb^{2+} ions, and to the protonation of the free carboxylic acid functions available on the surface of the composite material. As noticed, the optimal pH for the detection of Pb^{2+} ions is 5, that was chosen for further investigations.

The duration of the accumulation step is the second factor that can influence the sensor response. It was thus necessary to study its effect on the peak current of Pb^{2+} . The DPASV curves recorded at GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD dipped in an aqueous solution (pH 5) containing 2 μM Pb^{2+} for accumulation time varied between 1 and 30 min are shown in Fig. 3B. It can be noted the peak current increased linearly with increasing accumulation time up to 8 min, showing a rapid and progressive occupation of the binding sites on the working electrode. Afterwards, the peak current leveled as these sites are almost all occupied. For further measurements, an accumulation time of 600 s was employed.

Optimization of the detection parameters

pH of the detection solution

Since the deposition of Pb^{2+} ions on GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD strongly depends on the pH, the effect of the acidity of the detection solution on the stripping peak current was studied in 0.1 mol L⁻¹ acetate buffer with pH ranging from 3.5 to 6.5. The results given in Fig. 4A show that the pH of the detection medium greatly affects the peak current of Pb^{2+} as reported by some previous studies (Lv et al. 2013; Mohammadi et al. 2020). From Fig. 4B, the electrode response increased from pH 3.5 to reach a maximum at pH 5, then decreased for pH value between 5 and 6.5. Thus, pH 5 was selected as optimum value and used in coming sections.

Deposition potential and electrolysis time

In electroanalysis technique based on adsorptive stripping voltammetry, the deposition potential and its duration are determining factors to achieve high sensitivity. The effect of both parameters was studied and the data obtained are shown on Fig. 5. Varying the deposition potential in the range from -0.1 to -1.0 V revealed that the peak currents increased slightly when the deposition potential was decreased from 0 to -0.5 V, then increased significantly for potential values between

-0.6 V and -0.8 V, to stabilize beyond (Fig. 5A). Thus, for a quantitative reduction of Pb^{2+} ions, the deposition should be operated at a potential lying between -0.8 V and -1.0 V.

Furthermore, the effect of deposition duration on the electrode signal of 2 μM Pb^{2+} was investigated in the range from 0 to 30 s (after 3 min of preconcentration). The results on Fig. 5B indicated that the electrode signal increased rapidly with the electrolysis time to reach a maximum from 20 s. This phenomenon is ascribed to the progressive and rapid occupation of the analyte on the accumulation sites at the working electrode. Upon saturation of these sites, the peak current became constant. Therefore, for subsequent experiments, the deposition of Pb^{2+} ions was achieved at -0.8 V for 30 s.

Influence of lead concentration and calibration curve

By using the optimized parameters selected in previous sections on the optimization of accumulation and detection steps, DPASV experiments were conducted for Pb^{2+} concentration varied between 2.00×10^{-8} mol L⁻¹ and 20.00×10^{-8} mol L⁻¹. As shown in Fig. 6, the stripping peak current increased with increasing Pb^{2+} concentration. As shown by the inset in Fig. 6, a linear relationship was obtained for the peak current (I_p) and concentration of Pb^{2+} , which obeyed to the following equation:

$$I_p(\mu A) = 100.80 [Pb^{2+}](\mu M) + 0.15 \times 10^{-6} \quad (R^2 = 0.998) \quad (2)$$

The sensitivity of the electrode was 100.80 μA.μM⁻¹, while a limit of detection of 5.06×10^{-10} mol L⁻¹ was calculated for a signal-to-noise ratio equal to 3.

Such analytical performances of GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD sensor for Pb^{2+} detection were confronted with some other electrochemical sensors, and the data were summarized in Table 1.

Fig. 3 A: Evolution of peak current at GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD as a function of the pH of accumulating medium, after 3 min accumulation from a 2 μM Pb^{2+} aqueous solution. B Effect of accumulation time on the current recorded at GCE/NHAP_{p0.5}-CA-β-CD in aqueous solution (pH 5) containing 2 μM Pb^{2+} . Detection in 0.1 M acetate buffer (pH 5) after 30 s electrolysis at -0.8 V

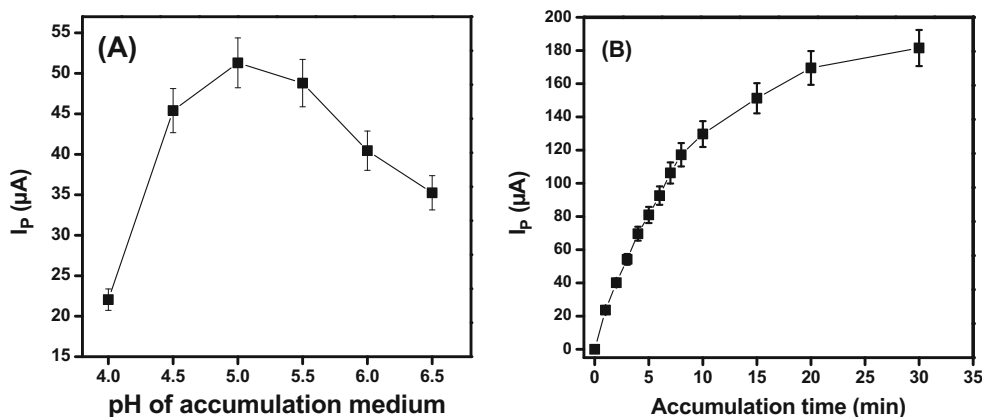


Fig. 4 A: DPASV recorded at GCE/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD for different pH of detection medium after 3 min accumulation from an aqueous 2×10^{-6} M Pb²⁺ solution (pH 6). Detection after 15 s electrolysis at -0.8 V. **(B)**: the corresponding peak current variation

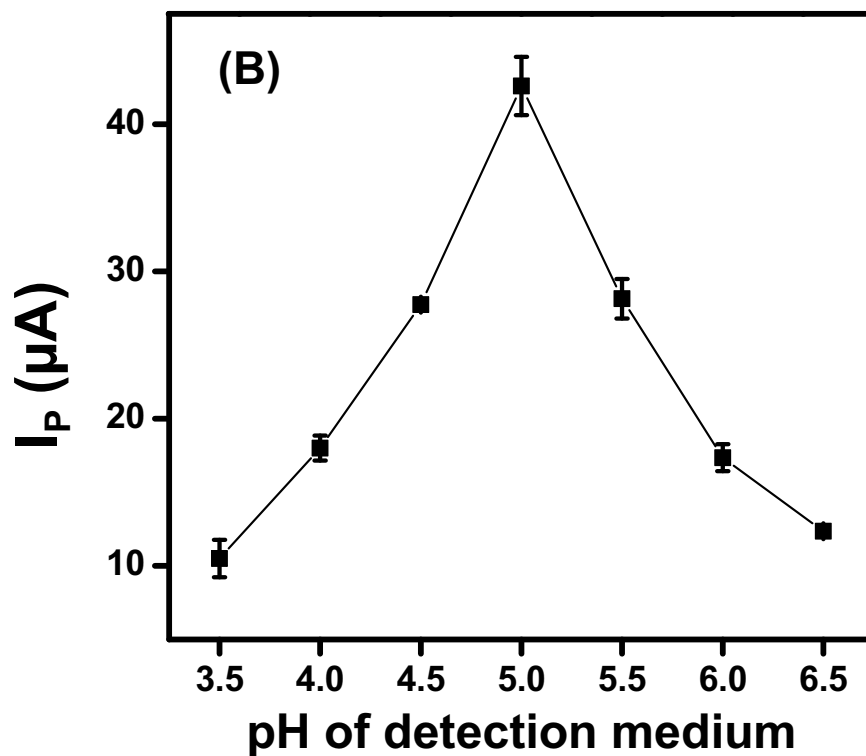
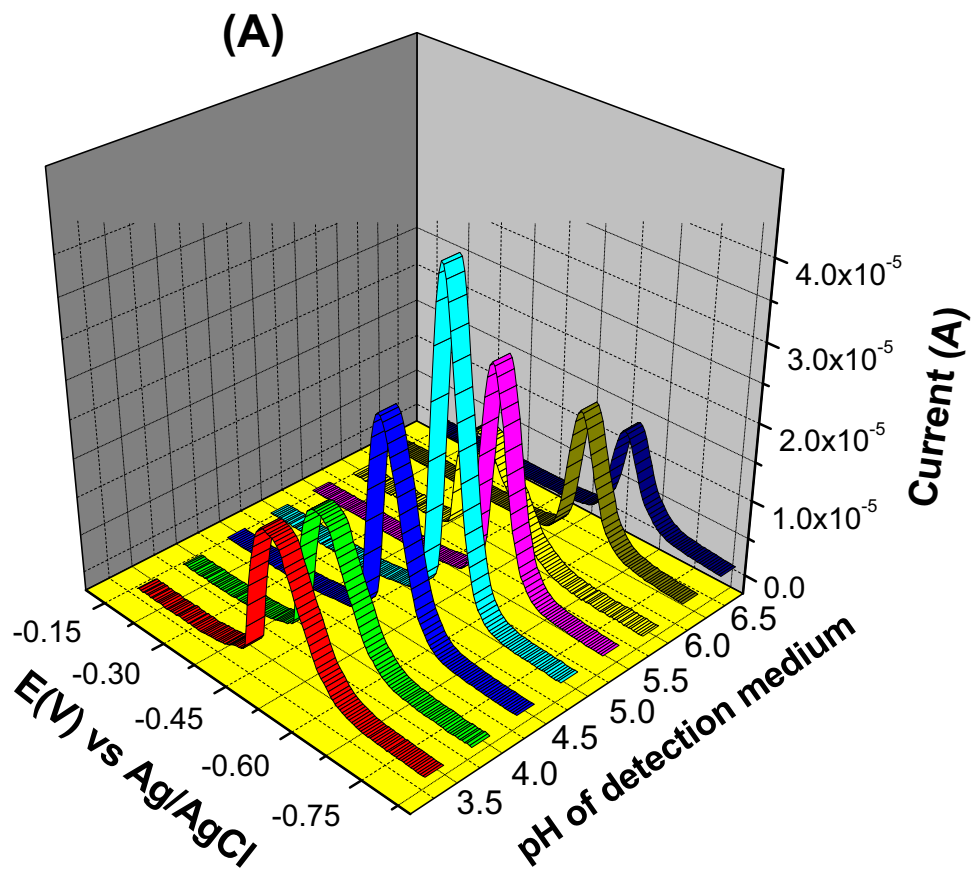
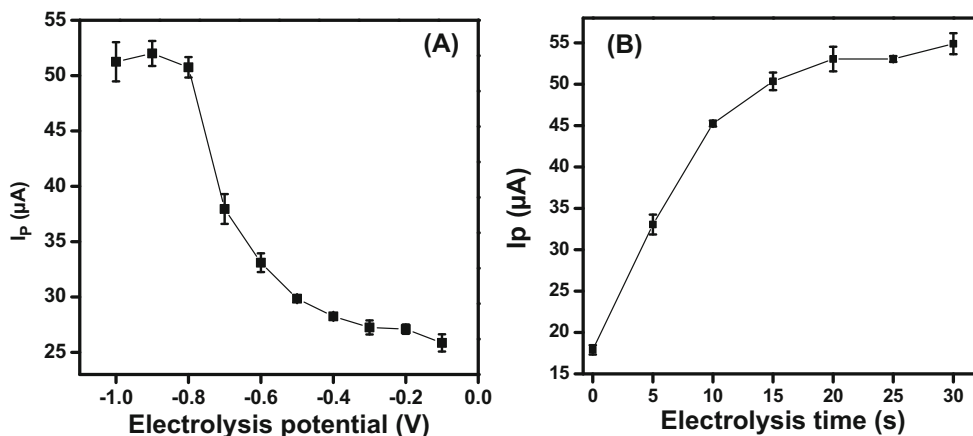


Fig. 5. **A:** Dependence of Pb(II) peak current on electrolysis potential, after 3 min pre-concentration in 2 μM Pb^{2+} (pH 5), on GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD. Detection in 0.1 M acetate buffer (pH 5) after 15 s electrolysis. **B:** Variation of Pb(II) peak intensities at GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD with electrolysis duration. Other conditions as in (A)



By analyzing these data, it appears that the analytical performance of GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD is better in comparison with some previously reported sensors (El Mhammedi et al. 2009b; Pan et al. 2009; Li et al. 2016; Mohammadi et al. 2020; Oliveira et al. 2020; Xu et al. 2020), or relatively low (Lv et al. 2013; Zhan et al. 2016). However, considering the low cost of the electrode material and the simplicity of preparation of the working electrode, the electrochemical analysis method developed in this work is an efficient and cost-effective for the detection of lead. In addition, the detection limit achieved herein is much lower than $4.83 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, the value recommended by the World Health Organization (Awwal 2019). This suggested that the method developed in this work could be applied to the monitoring and quantification of Pb^{2+} in food and in aqueous environment.

Interference study and real sample determination

The selectivity of the sensor was tested under optimal conditions, by analyzing the effect of potential interfering cations

and anions on the detection of Pb^{2+} ions. Thus, each of the selected ions was intentionally introduced at known concentrations into the accumulation solution containing 2 μM Pb^{2+} . After 3 min pre-concentration at open-circuit, the electrode response was recorded and compared to that of Pb^{2+} previously registered alone in the same conditions. The results obtained are summarized in Table 2. As observed, the studied chemical species did not interfere when their concentration was less than Pb^{2+} concentration.

However, for much higher concentrations (about 10-fold), a decrease in the expected current was noticed for some ions. Indeed, there was a current drop, for about 3.47% for Cd^{2+} , 2.70% for Ni^{2+} , and 50.76% for Cu^{2+} . This observation can be explained by the relative good affinity displayed by these ions toward the carboxylate groups of free carboxylic acid present on the composite material (He et al. 2017; Celebioglu et al. 2019). It also appeared that for K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , and Cl^- the electrochemical response of Pb^{2+} was slightly disturbed, even for concentrations 100-fold greater.

Fig. 6. DPASV signal recorded at GCE/NHAP_{0.5}-CA- β -CD under optimized conditions, after 10 min accumulation in an aqueous medium containing Pb^{2+} in the range from 2×10^{-8} to 2×10^{-7} M. Other experimental conditions are as follows: 0 s equilibration time, 5 mV potential step and 100 mV amplitude. The inset shows the corresponding calibration curve

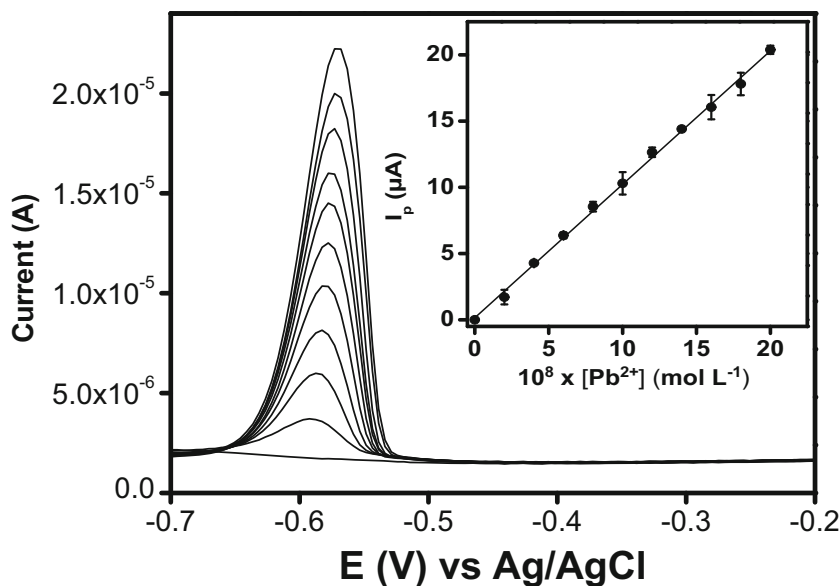


Table 1 Comparison of the performance of some recent modified electrodes, towards the voltammetric detection of lead (II)

Electrode configuration	^(a) LOD (mol.L ⁻¹)	Linear range (mol.L ⁻¹)	Reference
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ modified ^(b) CPE	7.68 × 10 ⁻⁸	2.0 × 10 ⁻⁹ – 2.4 × 10 ⁻⁷	El Mhammedi et al. 2009b
Nanosized HA nafion modified ^(c) GCE	1.00 × 10 ⁻⁹	5.0 × 10 ⁻⁹ – 8.0 × 10 ⁻⁷	Pan et al. 2009
β-CD ^(d) reduced GO ^(e) hybrid nanosheets	9.42 × 10 ⁻¹¹	1.0 × 10 ⁻¹⁰ – 9.0 × 10 ⁻⁹	Lv et al. 2013
CPE modified with magnetic eggshell nanocomposite and ^(f) MWCNTs	4.52 × 10 ⁻⁷	1.5 × 10 ⁻⁶ – 6.0 × 10 ⁻⁴	Mohammadi et al. 2020
GCE modified with β-CD and chemically reduced GO	5.00 × 10 ⁻¹⁰	1.0 × 10 ⁻⁹ – 1.0 × 10 ⁻⁷	Zhan et al. 2016
GCE modified with conductive polypyrrole nanoparticles	55.00 × 10 ⁻⁹	1.0 × 10 ⁻⁷ – 50.0 × 10 ⁻⁶	Xu et al. 2020
GCE covered by Zinc oxide nanofibers functionalized by L-cysteine	1.20 × 10 ⁻⁹	3.0 × 10 ⁻⁸ – 4.2 × 10 ⁻⁷	Oliveira et al. 2020
GCE covered by engineered MWCNTs	1.88 × 10 ⁻⁸	0.4 × 10 ⁻⁶ – 80.0 × 10 ⁻⁶	Li et al. 2016
GCE modified with β-CD hydroxyapatite composite	5.06 × 10 ⁻¹⁰	2.0 × 10 ⁻⁸ – 2.0 × 10 ⁻⁷	This work

^(a) LOD: Limit of detection

^(b) CPE: Carbon paste electrode

^(c) GCE: Glassy carbon electrode

^(d) β-CD: β-cyclodextrin

^(e) GO: Graphene oxide

^(f) MWCNT: Multi-walled carbon nanotubes

Table 2 Variation in the peak current of 2 μM Pb²⁺, recorded in the absence (100%) and in the presence of others ionic species introduced in relation to Pb²⁺ ions concentration

Interference ions	Added amount over Pb ²⁺ concentration	Variation (%) in the peak current of Pb ²⁺ ions
Cd ²⁺	0.1	101.3
	1	98.60
	10	96.53
Ni ²⁺	0.1	102.65
	1	96.96
	10	97.30
Cu ²⁺	0.1	99.14
	1	101.11
	10	49.24
K ⁺	1	100.24
	10	101.30
	100	96.70
Mg ²⁺	1	103.60
	10	99.24
	100	98.10
SO ₄ ²⁻	1	103.60
	10	99.24
	100	98.10
Cl ⁻	1	100.24
	10	101.30
	100	96.70

Table 3 Recoveries of Pb²⁺ in spring water, well water, river water and tap water samples at GCE/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD

	Added (10 ⁻⁷ mol L ⁻¹)	Found ^a (10 ⁻⁷ mol L ⁻¹)	Recovery (%)
Spring water	1.5	(1.45 ± 0.04)	96.67
Well water	1.5	(1.47 ± 0.04)	98.00
River water	1.5	(1.43 ± 0.06)	95.33
Tap water	1.5	(1.46 ± 0.03)	97.33

^a Number of samples assayed = 3

In order to evaluate the potential application of GCE/NHAP_{P0.5}-CA-β-CD sensor, the detection of Pb²⁺ ions in spring water, well water, river water and tap water samples (all collected in downtown Yaounde, Cameroon) was conducted. A volume of 50 mL of each sample was taken and used without further treatment as the accumulation medium. It should be noted that for both real samples, no Pb²⁺ signal was found in operational conditions, indicating the absence of any trace of Pb²⁺ ion above the detection limit previously obtained. The determination by DPASV of Pb²⁺ was thus performed using the optimized parameters, by the standard addition method. Each sample was spiked with 1.5 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ Pb²⁺ and analyzed in triplicate, and the results achieved are listed in Table 3. The obtained values are in good agreement with the spiked ones, indicating that the proposed method could serve for the determination of lead (II) in real samples.

Conclusion

A novel and sensitive sensor for Pb²⁺ detection, based on a glassy carbon electrode modified by a thin of hydroxyapatite/β-cyclodextrin composite material was proposed. The organohydroxyapatite exploited as electrode modifier was synthesized by grafting β-cyclodextrin on the surface of natural hydroxyapatite, using citric acid as a cross-linked. Upon, physic-chemical characterization by several techniques, the hydroxyapatite-based composite was used to build a highly sensitive, selective, and reliable sensor that was successfully applied for the electrochemical determination of Pb²⁺ ions in spring water, well water, river water, and tap water samples. Considering the results obtained, this study demonstrated the resort to hydroxyapatite as low-cost for the preparation of analytical devices that may find application in pollution control and environment protection.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15578-8>.

Acknowledgements IKT acknowledges the support of the Alexander von Humboldt foundation (Germany).

Availability of data and materials Not applicable.

Authors contributions Rodrigue Tchoffo: data collection and formal analysis. Guy BP Ngassa: conceptualization and original draft writing. Giscard Doungmo: lab investigation. Arnaud T. Kamdem: data collection and analysis. Ignas K. Tonle: writing and editing, funding acquisition. Emmanuel Ngameni: project administration, supervision.

Funding This work was funded by the International Science Program (ISP, Sweden), via the support of the African Network of Electroanalytical Chemists (ANEC).

Declarations

Ethics approval and consent to participate Not applicable.

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Adebisi GA, Chowdhury ZZ, Alaba PA (2017) Equilibrium, kinetic, and thermodynamic studies of lead ion and zinc ion adsorption from aqueous solution onto activated carbon prepared from palm oil mill effluent. *J Clean Prod* 148:958–968. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.047>
- Ajab H, Khan AAA, Nazir MS (2019) Cellulose-hydroxyapatite carbon electrode composite for trace plumbum ions detection in aqueous and palm oil mill effluent: interference, optimization and validation studies. *Environ Res* 176:108563–108569. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108563>
- Alam AU, Qin Y, Howlader MMR, Hu NX, Deen MJ (2018) Electrochemical sensing of acetaminophen using multi-walled carbon nanotube and β-cyclodextrin. *Sensors Actuators B Chem* 254: 896–909. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.07.127>
- Amna T (2018) Valorization of bone waste of Saudi Arabia by synthesizing hydroxyapatite. *Appl Biochem Biotechnol* 186:779–788. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2768-5>
- Awual MR (2019) An efficient composite material for selective lead (II) monitoring and removal from wastewater. *J Environ Chem Eng* 7(3):103087. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103087>
- Bukkitgar SD, Shetti NP (2017) Fabrication of a TiO₂ and clay nanoparticle composite electrode as a sensor. *Anal Methods* 9(30):4387–4393. <https://doi.org/10.1039/C7AY01068K>
- Celebioglu A, Toput F, Yildiz ZI, Uyar T (2019) Efficient removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals from water by electrospun nanofibrous polycyclodextrin membranes. *ACS Omega* 4:7850–7860. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00279>
- Chen J, Teo KC (2001) Determination of cadmium, copper, lead and zinc in water samples by flame atomic absorption spectrometry after

- cloud point extraction. *Anal Chim Acta* 540:215–222. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01367-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01367-8)
- Chen W, Huang Z, Liu Y, He Q (2008) Preparation and characterization of a novel solid base catalyst hydroxyapatite loaded with strontium. *Catal Commun* 9:516–521. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2007.02.011>
- El Mhammedi MA, Bakasse M, Chtaini A (2007) Square-Wave Voltammetric Determination of Paraquat at Carbon Paste Electrode Modified with Hydroxyapatite. *Electroanalysis* 19:1727–1733. <https://doi.org/10.1002/elan.200703927>
- El Mhammedi MA, Achak M, Bakasse M, Chtani A (2009a) Electrochemical determination of para-nitrophenol at apatite-modified carbon paste electrode: application in river water samples. *J Hazard Mater* 163:323–328. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.126>
- El Mhammedi MA, Achak M, Chtaini A (2009b) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ modified carbon-paste electrode for the determination of trace lead (II) by square-wave voltammetry. *J Hazard Mater* 160:55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.03.057>
- El Mhammedi MA, Achak M, Bakasse M (2013) Evaluation of a platinum electrode modified with hydroxyapatite in the lead(II) determination in a square wave voltammetric procedure. *Arab J Chem* 6:299–305. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.10.010>
- Elkabouss K, Kacimi M, Ziyad M, Ammar S, Verduraz FB (2004) Cobalt-exchanged hydroxyapatite catalysts: magnetic studies, spectroscopic investigations, performance in 2-butanol and ethane oxidative dehydrogenations. *J Catal* 226:16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2004.05.007>
- Esmaeilkhanian A, Sharifianjazi F, Abouchenari A, Rouhani A, Parvin N, Irani M (2019) Synthesis and Characterization of Natural Nano-hydroxyapatite Derived from Turkey Femur-Bone Waste. *Appl Biochem Biotechnol* 189:919–932. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03046-6>
- Fairuz L, Mohd RS, Mohamad NS, Abdul MHR, Nodeh (2016) Electrochemical determination of 24-dichlorophenol at β -cyclodextrin functionalized ionic liquid modified chemical sensor: voltammetric and amperometric studies. *RSC Advances* 6(102):100186–100194. <https://doi.org/10.1039/C6RA19816C>
- Fakharzadeh A, Ebrahimi-Kahrizangi R (2017) Effect of dopant loading on the structural features of silver-doped hydroxyapatite obtained by mechanochemical method. *Ceram Int* 43:12588–12598. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.06.136>
- Faksawat K, Sujinnapram S, Limsuwan P, Hoonnivathana E, Naemchanthara K (2015) Preparation and characteristic of hydroxyapatite synthesized from cuttlefish bone by precipitation. *Method Adv Mat Res* 1125:421–425. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1125.421>
- Flora G, Gupta D, Tiwari A (2012) Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdiscip Toxicol* 5:47–58. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0009-2>
- Gao F, Gao N, Nishitani A, Tanaka H (2016) Rod-like hydroxyapatite and Nafion nanocomposite as an electrochemical matrix for simultaneous and sensitive detection of Hg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} and Cd^{2+} . *J Electroanal Chem* 775:212–218. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.05.032>
- Goto T, Sasaki K (2016) Synthesis of morphologically controlled hydroxyapatite from fish bone by urea-assisted hydrothermal treatment and its Sr^{2+} sorption capacity. *Powder Technol* 292:314–322. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.01.041>
- Hammood AS, Hassan SS, Alkhaifagy MT (2017) Access to Optimal Calcination Temperature for Nanoparticles Synthesis from Hydroxyapatite Bovine Femur Bone Waste. *Nano Biomed Eng* 3:228–235. <https://doi.org/10.5101/nbe.v9i3>
- He J, Li Y, Wang C, Zhang K, Lin D, Kong L, Liu J (2017) Rapid adsorption of Pb, Cu and Cd from aqueous solutions by β -cyclodextrin polymers. *Appl Surf Sci* 426:29–39. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.07.103>
- Heydari A, Sheibani H (2015) Fabrication of poly (β -cyclodextrin-citric acid)/bentonite clay nanocomposite hydrogel: thermal and absorption properties. *RSC Adv* 5:82438–82449. <https://doi.org/10.1039/C5RA12423A>
- Horta M, Aguilar M, Moura F, Campos J, Ramos V, Quizunda A (2019) Synthesis and characterization of green nanohydroxyapatite from hen eggshell by precipitation method. *Mater Today Proceed* 14:716–721. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.02.011>
- Ilager D, Seo H, Shetti NP, Kalanur SS, Aminabhavi TM (2020a) Electrocatalytic detection of herbicide, amitrole at $\text{WO}_3 \cdot 0.33\text{H}_2\text{O}$ modified carbon paste electrode for environmental applications. *Sci Total Environ* 743:140691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140691>
- Ilager D, Seo H, Shetti NP, Kalanur SS (2020b) CTAB modified Fe-WO_3 as an electrochemical detector of amitrole by catalytic oxidation. *J Environ Chem Eng* 8(6):104580. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104580>
- Ilager D, Seo H, Kalanur SS, Shetti NP, Aminabhavi TM (2021) A novel sensor based on $\text{WO}_3 \cdot 0.33\text{H}_2\text{O}$ nanorods modified electrode for the detection and degradation of herbicide, carbendazim. *J Environ Manag* 279:111611. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111611>
- Kanchana P, Sekar C (2014) EDTA assisted synthesis of hydroxyapatite nanoparticles for electrochemical sensing of uric acid. *Mater Sci Eng C* 42:601–607. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.05.072>
- Koutsopoulos S (2002) Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: a review study on the analytical methods. *J Biomed Mater Res* 62:600–612. <https://doi.org/10.1002/jbm.10280>
- Lau OW, Ho SW (1993) Simultaneous determination of traces of iron, cobalt, nickel, copper, mercury and lead in water by energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry after preconcentration as their piperazino-1,4-bis(dithiocarbamate) complexes. *Anal Chim Acta* 280:269–277. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)85131-3](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)85131-3)
- Leprêtre S, Chai F, Hildebrand JC, Martel B (2009) Prolonged local antibiotics delivery from hydroxyapatite functionalised with cyclodextrin polymers. *Biomaterials* 30:6086–6093. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.045>
- Li Y, Liu X, Zeng X, Liu Y, Wei W, Luo S (2009) Simultaneous determination of ultra-trace lead and cadmium at a hydroxyapatite-modified carbon ionic liquid electrode by square-wave stripping voltammetry. *Sensors Actuators B Chem* 139:604–610. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2009.03.045>
- Li X, Zhou H, Fu C, Wang F, Ding Y, Kuang Y (2016) A novel design of engineered multi-walled carbon nanotubes material and its improved performance in simultaneous detection of Cd(II) and Pb(II) by square wave anodic stripping voltammetry. *Sensors Actuators B Chem* 236:144–152. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.05.149>
- Liu Q, de Wijn JR, de Groot K, van Blitterswijk CA (1998) Surface modification of nano-apatite by grafting organic polymer. *Biomaterials* 19:1067–1072. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(98\)00033-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(98)00033-7)
- Liu Z, Xue Q, Guo Y (2017) Sensitive electrochemical detection of rutin and isouercitrin based on SH- β -cyclodextrin functionalized graphene-palladium nanoparticles. *Biosens Bioelectron* 89:444–452. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.04.056>
- Longerich HP, Fryer BJ, Strong DF (1987) Determination of lead isotope ratios by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 42:39–48. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(87\)80048-4](https://doi.org/10.1016/0584-8547(87)80048-4)

- Lv M, Wang X, Li J, Yang X, Zhang C, Yang J, Hu H (2013) Cyclodextrin-reduced graphene oxide hybrid nanosheets for the simultaneous determination of lead (II) and cadmium (II) using square wave anodic stripping voltammetry. *Electrochim Acta* 108:412–420. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.06.099>
- Malode SJ, Shetti NP, Reddy KR (2021) Highly sensitive electrochemical assay for selective detection of aminotriazole based on TiO₂/poly (CTAB) modified sensor. *Environ Technol Innov* 21:101222. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101222>
- Mobasherpour IL, Salahi E, Pazouki M (2011) Removal of divalent cadmium cations by means of synthetic nano crystallite hydroxyapatite. *Desalination* 266:142–148. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.08.016>
- Mohammadi S, Taher MA, Beitollahi H (2020) Synthesis and application of a natural-based nanocomposite with carbon nanotubes for sensitive voltammetric determination of lead (II) ions. *Int J Environ Anal Chem* 100:65–81. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1631300>
- Musa Y, Pudza ZZ, Abidin S, Abdul-Rashid F, Yasin ASM, Noor J, Abdullah (2020) Selective and simultaneous detection of cadmium lead and copper by tapioca-derived carbon dot–modified electrode. *Environ Sci Pollut Res* 27(12):13315–13324. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07695-7>
- Nandi SK, Kundu B, Mukherjee J, Mahato A, Datta S, Balla VK (2015) Converted marine coral hydroxyapatite implants with growth factors: in vivo bone regeneration. *Mater Sci Eng C* 49:816–823. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.078>
- Ngassa GBP, Tonle IK, Walcarus A (2014) One-step co-intercalation of cetyltrimethylammonium and thiourea in smectite and application of the organoclay to the sensitive electrochemical detection of Pb(II). *Appl Clay Sci* 99:297–305. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2014.07.014>
- Niu X, Mo Z, Yang X, Sun M, Zhao P, Li Z, Ouyang M, Liu Z, Gao H, Guo R, Liu N (2018) Advances in the use of functional composites of β -cyclodextrin in electrochemical sensors. *Microchim Acta* 185:328–344. <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2859-6>
- Nouri-Felekor M, Khakbiz M, Nezaferi N (2019) Synthesis and characterization of Mg, Zn and Sr-incorporated hydroxyapatite whiskers by hydrothermal method. *Mater Lett* 243:120–124. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.01.147>
- Oliveira VHB, Rechotnek F, da Silva EP, Marques VS, Rubira AF, Silva R, Lourenco SA, Muniz EC (2020) A sensitive electrochemical sensor for Pb²⁺ ions based on ZnO nanofibers functionalized by L-cysteine. *J Mol Liq* 309:113041. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113041>
- Othmani M, Aissa A, Bac CG, Rachdi F, Debbabi M (2013) Surface modification of calcium hydroxyapatite by grafting of etidronic acid. *Appl Surf Sci* 274:151–157. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.03.002>
- Pal A, Maity S, Chabri S, Bera S, Chowdhury AR, Das M, Sinha A (2017) Mechanochemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from mercenaria clam shells and phosphoric acid. *Biomed Phys Eng Expr* 3:015010. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aa54f5>
- Pan W, Wang Y, Chen Z, Lou T, Qin W (2009) Nanomaterial/ionophore-based electrode for anodic stripping voltammetric determination of lead: an electrochemical sensing platform toward heavy metals. *Anal Chem* 81:5088–5094. <https://doi.org/10.1021/ac900417e>
- Patel S, Han J, Qiu W, Gao W (2015) Synthesis and characterisation of mesoporous bone char obtained by pyrolysis of animal bones, for environmental application. *J Environ Chem Eng* 3:2368–2377. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.07.031>
- Prongmanee W, Alam I, Asanithi P (2019) Hydroxyapatite/Graphene oxide composite for electrochemical detection of L-Tryptophan. *J Taiwan Inst Chem Eng* 102:415–423. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2019.06.004>
- Sadat-Shojai M, Khorasani MT, Dinpanah-Khoshdargi E, Jamshidi H (2013) Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomater* 9:7591–7621. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>
- Saoiabi S, EL Asri S, Laghzizil A, Coradin T, Lahlil K (2010) Nanoporous surface of organofunctionalized hydroxyapatite fabricated from natural phosphate rock. *Mater Lett* 64:2679–2681. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2010.09.013>
- Shetti NP, Malode SJ, Nandibewoor ST (2015) Electro-oxidation of captopril at a gold electrode and its determination in pharmaceuticals and human fluids. *Anal Methods* 7(20):8673–8682. <https://doi.org/10.1039/C5AY01619C>
- Shetti NP, Malode SJ, Malladi RS, Nargund SL, Shukla SS, Aminabhavi TM (2019) Electrochemical detection and degradation of textile dye Congo red at graphene oxide modified electrode. *Microchem J* 146:387–392. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.033>
- Sinha A, Mishra T, Ravishankar N (2008) Polymer assisted hydroxyapatite microspheres suitable for biomedical application. *J Mater Sci Mater Med* 19:2009–2013. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3286-0>
- Sun M, Li Z, Wu S, Gu Y, Li Y (2018) Simultaneous detection of Pb²⁺, Cu²⁺ and Hg²⁺ by differential pulse voltammetry at an indium tin oxide glass electrode modified by hydroxyapatite. *Electrochim Acta* 283:1223–1230. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.07.019>
- Tang W, Zhao J, Sha B, Liu H (2013) Adsorption and drug release based on β -cyclodextrin-grafted hydroxyapatite composite. *J Appl Polym Sci* 127:2803–2808. <https://doi.org/10.1002/app.37607>
- Tcheumi HL, Tassontio VN, Tonle IK, Ngameni E (2019) Surface functionalization of smectite-type clay by facile polymerization of β -cyclodextrin using citric acid cross linker: application as sensing material for the electrochemical determination of paraquat. *Appl Clay Sci* 173:97–106. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.03.013>
- Tchoffo R, Ngassa GBP, Tonle IK, Ngameni E (2021) Electroanalysis of diquat using a glassy carbon electrode modified with natural hydroxyapatite and β -cyclodextrin composite. *Talanta* 222:121550. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121550>
- Tonle IK, Ngameni E, Tchieno FMM, Walcarus A (2015) Organoclay-modified electrodes: preparation, characterization and recent electroanalytical applications. *J Solid State Electrochem* 19:1949–1973. <https://doi.org/10.1007/s10008-014-2728-0>
- Tseng YH, Kuo CS, Li YY, Huang CP (2009) Polymer-assisted synthesis of hydroxyapatite nanoparticle. *Mater Sci Eng C* 29:819–822. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.07.028>
- Turk S, Altinsoy I, Efe G, Ipek M, Ozacar M, Bindal C (2019) Effect of Solution and Calcination Time on Sol-gel Synthesis of Hydroxyapatite. *J Bionic Eng* 16:311–318. <https://doi.org/10.1007/s42235-019-0026-3>
- Xu T, Dai D, Jin Y (2020) Electrochemical sensing of lead (II) by differential pulse voltammetry using conductive polypyrrole nanoparticles. *Microchim Acta* 187:23–29. <https://doi.org/10.1007/s00604-019-4027-z>
- Yala S, Khiredine H, Sidane D, Ziane S, Bir F (2013) Surface modification of natural and synthetic hydroxyapatites powders by grafting polypyrrole. *J Mater Sci* 48:7215–7223. <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7538-8>
- Yang L, Zhao H, Li CP, Fan S, Li B (2015) Dual β -cyclodextrin functionalized Au@SiC nanohybrids for the electrochemical determination of tadalafil in the presence of acetonitrile. *Biosens Bioelectron* 64:126–130. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.08.068>
- Yin H, Zhou Y, Ai S, Liu X, Zhu L, Lu L (2010) Electrochemical oxidative determination of 4-nitrophenol based on a glassy carbon electrode modified with a hydroxyapatite nanopowder. *Microchim Acta* 169:87–92. <https://doi.org/10.1007/s00604-010-0309-1>
- Youness AR, Taha MA, Elhaes H, Ibrahim M (2017) Molecular modeling FTIR spectral characterization and mechanical properties of carbonated-hydroxyapatite prepared by mechanochemical synthesis. *Mater Chem Phys* 190:209–218. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.01.004>

- Zhan F, Gao F, Wang X, Xie L, Gao F, Wang Q (2016) Determination of lead (II) by adsorptive stripping voltammetry using a glassy carbon electrode modified with β -cyclodextrin and chemically reduced graphene oxide composite. *Microchim Acta* 183:1169–1176. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1754-2>
- Zhao HT, Ma S, Zheng SY, Han SW, Yao FX, Wang XZ, Wang SS, Feng K (2019) β -cyclodextrin functionalized biochars as novel sorbents for high-performance of Pb^{2+} removal. *J Hazard Mater* 362: 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.09.027>
- Zhu G, Yi Y, Chen J (2016) Recent advances for cyclodextrin-based materials in electrochemical sensing. *Trends Anal Chem* 80:232–241. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.03.022>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.