

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Sciences de Matériaux

Structure de Recherche : Laboratoire de matériaux, nanotechnologies et environnement

Discipline : Chimie

Spécialité : Matériaux, nanomatériaux et environnement

Présentée et soutenue le 01/12/2018 par :

Raphaél MULONGO MASAMBA

Synthèse et caractérisation d'un nouveau hybride β -chitine/dicalcium phosphate anhydre (DCPA) comme support de nanoparticules de cuivre : Application dans la catalyse environnementale

JURY

Mohammed HALIM	PES, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Président
Said ARSALANE	PES, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Directeur de Thèse
Jamil TOYIR	PES, Faculté Polydisciplinaire de Taza, USMBA	Rapporteur
F. MPONA-MINGA M.	PES, Directeur Général de l'Institut Supérieur des Techniques Médicales, Kinshasa, R. D. Congo	Examineur
Mouloud EL MOUDANE	PH, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Rapporteur
Mohammed ASSOUAG	PH, ENSAM-MEKNES	Examineur
Adnane EL HAMIDI	PA, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Invité

N° d'ordre: 3153

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Sciences de Matériaux

Structure de Recherche : Laboratoire de matériaux, nanotechnologies et environnement

Discipline : Chimie

Spécialité : Matériaux, nanomatériaux et environnement

Présentée et soutenue le 01/12/2018 par :

Raphaél MULONGO MASAMBA

Synthèse et caractérisation d'un nouveau hybride β -chitine/dicalcium phosphate anhydre (DCPA) comme support de nanoparticules de cuivre : Application dans la catalyse environnementale

JURY

Mohammed HALIM	PES, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Président
Said ARSALANE	PES, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Directeur de Thèse
Jamil TOYIR	PES, Faculté Polydisciplinaire de Taza, USMBA	Rapporteur
F. MPONA-MINGA M.	PES, Directeur Général de l'Institut Supérieur des Techniques Médicales, Kinshasa, R. D. Congo	Examineur
Mouloud EL MOUDANE	PH, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Rapporteur
Mohammed ASSOUAG	PH, ENSAM-MEKNES	Examineur
Adnane EL HAMIDI	PA, Faculté des Sciences de Rabat, UM5	Invité

Dédicace

A Dieu tout puissant, pour sa grâce, sa bonté et sa miséricorde envers moi durant toute ma formation ;
A mes regrettés parents, pour l'éducation que vous nous avez donnée et vous m'aviez toujours motivé et conseillé à
demeurer intègre, honnête, humble et sincère ;
A ma très chère épouse, Georgine BAMENI L. MULONGO, pour tant de privation, de patience et d'attachement ;
A mes frères et sœurs, pour votre affection et votre soutien ;
A mes amis, pour vos encouragements ;
Aux noms de tous les miens,
Je dédie ce travail.

Raphaël MULONGO MASAMBA

Remerciements

*Ce travail de recherche a été effectué au sein du centre sciences des Matériaux, au Laboratoire des Matériaux, Nanotechnologie et Environnement, Equipe de Physico-chimie des Matériaux, Catalyse et Environnement, de la Faculté des Sciences de Rabat. La direction de cette thèse a été assurée conjointement par les Professeurs **Said ARSALANE** et **Mohammed HALIM**. Je tiens à les remercier pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire durant ma formation.*

La réalisation de ce travail de recherche a été possible grâce à l'implication et au soutien de diverses personnes, qui ont apporté leur contribution dans la concrétisation de mon projet de recherche, lesquelles je souhaite remercier ici.

*Pour débiter, je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à Monsieur **Mourad EL BELKACEMI** le Doyen de la Faculté des Sciences de Rabat, pour ses encouragements envers les chercheurs, et pour les efforts qu'il ne cesse de déployer pour promouvoir la recherche scientifique.*

*Je remercie profondément le professeur **Mohammed HALIM**, Vice-Doyen des affaires générales et Directeur du Centre d'Études Doctorales en Sciences et Technologies de la Faculté des Sciences de Rabat (CEDESTR), pour m'avoir accueilli au Maroc et adopté dans son équipe, ainsi que pour sa posture de tuteur et d'encadrant idéal, ses directives, ses encouragements mais aussi sans oublier la logistique nécessaire qu'il a su mettre à ma disposition pour mener à bien ce travail. Enfin, je lui présente ma reconnaissance la plus dévouée pour avoir accepté de présider le jury de soutenance de cette thèse.*

*Je tiens à remercier avec toute ma profonde gratitude Monsieur **Said ARSALANE**, Professeur de l'enseignement supérieur et Responsable de la plateforme d'analyses de la Faculté des Sciences de Rabat. Maître à penser de cette thèse, il m'a orienté durant ces années avec beaucoup de patience et de professionnalisme. Mes remerciements les plus chaleureux, non seulement pour son degré d'implication dans ces travaux, la qualité de son encadrement et la pertinence de ses remarques, mais également pour sa rigueur scientifique, sa patience, sa disponibilité et sa générosité font de lui un intellectuel complet. Sans ses encouragements et son aide je ne serai jamais arrivé à ce stade de formation.*

*Je suis sensible à l'honneur que me fait Monsieur **Jamil TOYIR**, Professeur de l'enseignement supérieur à la Faculté Polydisciplinaire de Taza, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès, en acceptant d'être rapporteur de ce travail et de faire partie du jury. Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude.*

*Je remercie très chaleureusement Monsieur **Mouloud El MOUDANE**, Professeur habilité à la Faculté des Sciences de Rabat pour avoir accepté de lire mon manuscrit et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse en tant que rapporteur. Je le remercie aussi pour sa gentillesse et ses conseils.*

*Mes vifs remerciements vont également à Monsieur **Mohammed ASSOUAG**, Professeur habilité à l'Ecole Nationale Supérieure d'Arts et Métiers de Meknès pour avoir accepté de juger et d'évaluer ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude d'avoir fait le déplacement.*

*Je remercie Monsieur **Adnane EL HAMIDI**, Professeur assistant à la Faculté des Sciences de Rabat pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'être parmi le jury. Qu'il soit permis de vous présenter toute ma gratitude et ma reconnaissance pour votre suivi au cours de ce travail, vos conseils, votre soutien, vos services que vous m'avez rendus pour dépasser les moments difficiles, et votre disponibilité que j'ai reçu en toute circonstance avec sourire et bienveillance.*

*Je suis très honoré que Monsieur **François MPONA MINGA MISHAMA**, Professeur de l'enseignement supérieur, Directeur Général de l'Institut Supérieur des Techniques Médicales (ISTM/Kinshasa) ait fait le déplacement pour sceller les accords entre les deux institutions et son souci pour le renforcement des capacités du personnel scientifique de l'ISTM/Kinshasa. Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse gratitude.*

J'adresse encore mes remerciements à toute l'équipe de Physico-Chimie des Matériaux, Catalyse et Environnement notamment les personnes que j'ai côtoyées pendant ces années au laboratoire : les professeurs, les thésards et les stagiaires qui ont rendu mon séjour au Maroc très agréable.

Je ne manquerai pas d'adresser mes remerciements à la Plateforme d'analyses de la Faculté des Sciences de Rabat, l'UATRS-CNRST, le service de la spectroscopie RMN-MAS ¹³C de MAScIR et le Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de Rabat pour leurs collaborations dans la caractérisation, les analyses chimiques et microbiologiques.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous ceux qui ont participé à la réalisation de cette thèse en particulier ma famille, aux corps diplomatiques de l'Ambassade de la R.D. Congo au Maroc et tous mes amis qui ont rendu mon séjour au Maroc si agréable, plein d'encouragement et d'espoir, surtout sans oublier ceux qui n'ont jamais hésité à m'apporter des précieux conseils, motivations et aides.

Finalement, ma gratitude s'adresse à toutes les personnes qui ont contribué à cette étude de près ou de loin.

Liste des publications et communications

Publications :

- 1. Kinetics modeling in liquid phase sorption of copper ions on brushite di-calcium phosphate di-hydrate $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD),** *Desalination and Water Treatment* 56(3) (2015) 779-791.
Adnane El Hamidi, **Raphaël Mulongo Masamba**, Mariam Khachani, Mohammed Halim, Said Arsalane.
- 2. Synthesis and thermal dehydroxylation kinetic of anhydrous calcium phosphate monetite CaHPO_4 ,** *Journal of thermal analysis and calorimetry* 124 (2016) 171-180.
Raphaël Mulongo-Masamba, Taoufik El Kassri, Mariam Khachani, Said Arsalane, Mohammed Halim, Adnane El Hamidi.
- 3. Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application,** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 520 (2017) 686-693.
Raphaël Mulongo-Masamba, Adnane El Hamidi, Mariam Khachani, Mohammed Halim, Said Arsalane.
- 4. A novel hybrid of β -chitin/Calcium phosphate functionalized with copper nanoparticles for antibacterial applications,** *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6 (2018) 6399-6406.
Raphaël Mulongo-Masamba, Adnane El Hamidi, Abdelhakim Bouyahya, Mohammed Halim, Said Arsalane.
- 5. New functional β -chitin/calcium phosphate hybrid material as promising support of copper-nanocatalyst for the degradation reductive of hazardous organic dyes,** *International Journal of Environmental Science and Technology* (2018). (Submitted)
Raphaël Mulongo-Masamba, Mouatamid El Hazzat, Adnane El Hamidi, Mohammed Halim, Said Arsalane.

Communications Internationales:

- 1. Synthesis and characterization of monetite DCPA/chitin nanocomposite materials for adsorption applications**, 5^{ème} Edition du congrès international : Eaux, Déchets & Environnement, un défi millénaire (EDES), FST Settat-Université Hassan 1^{er} Maroc, du **24 au 26 Novembre 2015**. « Poster »

Raphaél Mulongo-Masamba, Adnane El Hamidi, Mohammed Halim and Said Arsalane.

- 2. Comparative study of copper removal by monetite and natural composite monetite/chitin**, International Conference on Water, Energy & Climate Change (WECC-2016) Marrakech - Morocco, **June 1- June 4, 2016**. « Poster »

Raphaél Mulongo-Masamba, Adnane El Hamidi, Mohammed Halim and Said Arsalane.

Communications nationales:

- 1. Chemical synthesis and thermal behavior of bioceramic calcium phosphate monetite CaHPO_4** , 4^{ème} édition des Doctoriales de la Faculté des Sciences de Rabat, du **19 au 21 Février 2015**, Rabat, Morocco. « Poster »

Raphaél Mulongo Masamba, Adnane El Hamidi, Mohammed Halim and Said Arsalane.

- 2. Modelisation cinétique de la sorption du cuivre en phase liquide sur le phosphate dicalcique de type brushite $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$** , 5^{ème} édition des Doctoriales de la Faculté des Sciences de Rabat, du **09 au 11 Mars 2016**. « Présentation orale »

Raphaél Mulongo Masamba, Adnane El Hamidi, Mohammed Halim and Said Arsalane.

Principaux symboles et abréviations

A	Facteur pré-exponentiel ou fréquence de collisions des molécules
ATG (TG)	Analyse thermogravimétrique
ATD (DTA)	Analyse thermique différentielle
DTG	Dérivé de la thermogravimétrie
DSC	Calorimétrie à balayage différentielle
β	Vitesse de chauffe ($^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$)
CMB (MBC)	Concentration minimale bactéricide (Minimal bactericidal concentration) ($\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$)
CMi (MIC)	Concentration minimale inhibitrice (Minimum inhibitory concentration) ($\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$)
Cu(NPs)	Nanoparticules de cuivre
DCPA	Dicalcium phosphate anhydre
DCPD	Dicalcium phosphate dihydraté
E_a	Energie d'activation ($\text{kJ}.\text{mol}^{-1}$)
JMA	Johnson-Mehl-Avrami
KAS	Kissinger-Akahira-Sunose
OFW	Ozawa- Flynn-Wall
ICTAC	Confédération internationale pour l'analyse thermique et la calorimétrie (International confederation of thermal analysis and calorimetry)
α	Degré de conversion ou taux de conversion
$f(\alpha)$	Modèle de la réaction
$g(\alpha)$	Intégrale du modèle de la réaction
k_{app}	Constante de vitesse apparente
BM (MB)	Bleu de méthylène (Methylene blue)
a.u.	Unité arbitraire
LSPR	Résonance plasmonique de surface localisée (Localized surface plasmon resonance)
MNPs	Nanoparticules métalliques (Metal nanoparticles)

NPs	Nanoparticules
BET	Brunauer-Emmett-Teller
DRX (XRD)	Diffraction des rayons X (X-ray diffraction)
DRS	Spectroscopie de réflexion diffuse UV-Visible
MEB (SEM)	Microscopie électronique à balayage (Scanning electron microscopy)
MET (TEM)	Microscopie électronique à transmission (Transmission electronic microscopy)
EDX (EDS)	Spectroscopie de rayons X par dispersion d'énergie (Energy dispersive scanning)
NC	Nanocalorimétrie
UPS	Photoémission ultraviolette
X/UV PS	Spectroscopie de photoélectrons par UV ou par rayons X
RMN	Résonance magnétique nucléaire
UV-Vis	Spectrophotométrie ultraviolet-visible
SAA	Spectroscopie d'absorption atomique
AES	Spectroscopie d'électrons Auger
SF	Spectroscopie par fluorescence
IRTF (FTIR)	Spectroscopie Infrarouge par transformées de Fourier
FTIR-ATR	Spectroscopie Infrarouge par transformées de Fourier couplée avec la réflectance totale atténuée (Attenuated Total Reflectance)
SR	Spectroscopie Raman
RSE	Spectroscopie de résonance spin-spin électronique
STM	Microscopie à effet tunnel
XPS	Spectroscopie photo-électronique par rayons X
ICP	Plasma couplé par induction (Inductively coupled plasma)
ICP-SM	Spectroscopie de masse avec plasma couplé par Induction
ICP-AES	Spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par Induction

Liste des figures

Fig. I.1 : Diagramme de solubilité des phosphates de calcium.....	8
Fig. I.2 : Diagramme de diffraction RX de la structure du phosphate DCPD.....	10
Fig. I.3 : Projection de la structure de DCPD selon [100]	11
Fig. I.4 : Spectre IR du phosphate DCPD	11
Fig. I.5 : Spectres RMN-MAS ^1H et ^{31}P du phosphate DCPD.....	12
Fig. I.6 : Profils thermiques du phosphate DCPD	13
Fig. I.7 : Schéma de la synthèse sol-gel du DCPA et du DCPA sous forme de film	17
Fig. I.8 : Schéma de synthèse hydrothermale du DCPA (a) et Réacteur à pression (b)	18
Fig. I.9 : Schéma de synthèse mécano-chimique du DCPA.....	19
Fig. I.10 : Vue en perspective de la structure de DCPA	20
Fig. I.11 : Projection de la structure DCPA selon le plan normal pour les variétés (P1) et (P $\bar{1}$).....	20
Fig. I.12 : Diagramme DRX du phosphate DCPA	21
Fig. I.13 : Spectre IRTF de la Monetite CaHPO_4	22
Fig. I.14 : Spectres RMN-MAS ^1H et RMN-MAS ^{31}P du DCPA.....	23
Fig. I.15 : Représentation spatiale de la structure $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	25
Fig. I.16 : Diagrammes DRX du α , β et $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	26
Fig. I.17 : Spectres IRTF du α , β , $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	26
Fig. II.1 : Taille des nanoparticules (NP) et des colloïdes.....	29
Fig. II.2 : Structures des MNPs déterminées par la taille de leurs éléments structuraux. 0D: zéro dimensionnel ; 1D: unidimensionnel ; 2D: bidimensionnel ; 3D:3 dimensions	30
Fig. II.3 : (a) Flacons à l'extrême gauche contenant des nanoparticules d'or et les six autres à droite contiennent des NPs creuses de diamètres et épaisseurs de parois différents ; (b) Illustration schématique de la résonance plasmonique de surface dans des nanoparticules sphériques (en haut), des nanosphères creuses (au milieu) et des nanotiges (en bas) dans un champ de lumière polarisée. Pour les nanotiges, seul le mode longitudinal est représenté. Le mode transverse est essentiellement le même que dans les nanoparticules sphériques; et (c) Schéma de l'oscillation plasmonique pour une nanoparticule métallique, montrant le déplacement du nuage de charge d'électrons de conduction par rapport aux noyaux.....	33

Fig. II.4 : Les deux principales voies de préparation des nanoparticules métalliques.....	35
Fig. II.5 : Méthodes typiques de synthèse des MNPs	37
Fig. II.6 : Formation de colloïdes métalliques nanostructurés par réduction d'un sel	39
Fig. II.7 : Quelques méthodes couramment utilisées pour la caractérisation des différentes propriétés des nanoparticules	44
Fig. II.8 : LSPR et photographies des nanoparticules de cuivre colloïdes (D1-D5) synthétisés à différentes concentrations de réducteur	46
Fig. II.9 : Bandes d'absorption LSPR pour les nanoparticules d'Au, d'Ag et de Cu.....	47
Fig. II.10 : Spectres de réflexion diffuse des photocatalyseurs P25 pur et modifiés avec des nanoparticules métalliques et bimétalliques Au-Cu	48
Fig. II.11 : (a) Schéma de croissance de la réaction redox catalysée par des MNPs et (b) mécanisme de la réduction du colorant	53
Fig. II.12 : Divers mécanismes d'activités antimicrobiennes exercées par les nanomatériaux...	58
Fig. III.1 : XRD patterns of cuttlebone (a), calcite (b), β -chitin/DCPA composite (c) and pure DCPA (d).....	78
Fig. III.2 : FTIR spectra of cuttlebone (a), calcite (b), β -chitin/DCPA composite (c) and pure DCPA (d).....	80
Fig. III.3 : TG/DTA curves of cuttlebone (a), calcite (b), β -chitin/DCPA composite (c) and pure DCPA (d).....	82
Fig. III.4 : SEM micrographs of β -chitin/DCPA composite (a) and pure DCPA (b)	83
Fig. III.5 : Isotherms of Cu^{2+} retention on β -chitin/DCPA composite and pure DCPA.....	85
Fig. IV.1 : XRD patterns of a) DCPA and b) its calcined form at 500°C	99
Fig. IV.2 : FTIR-ATR patterns of a) DCPA and b) its annealed form at 500°C	100
Fig. IV.3 : TEM-EDS analysis of a) DCPA and b) its calcined form at 500°C	101
Fig. IV.4 : Thermal decomposition curves of DCPA at 10°C.min ⁻¹	102
Fig. IV.5 : TG and DTG curves of thermal decomposition of DCPA at different heating rates	103
Fig. IV.6 : Variation of activation energy E_a vs. conversion degree α for thermal decomposition of DCPA	104
Fig. IV.7 : Variation of $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ as function of conversion degree α at different heating rates	105
Fig. IV.8 : Test of applicability of the JMA model	106
Fig. IV.9 : Simulated kinetic curves at different heating rates and their residuals plotted underneath.....	107

Fig. V.1 :	XRD diagrams of DCPA (a), Cu(II)/DCPA (b) and Cu(NPs)/DCPA (c): (A), β-chitin/DCPA (a), Cu(II)/β-chitin/DCPA (b) and Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (c): (B).	120
Fig. V.2 :	FTIR-ATR spectra of DCPA (a), Cu(II)/DCPA (b) and Cu(NPs)/DCPA (c): (A), β-chitin/DCPA (a), Cu(II)/β-chitin/DCPA (b) and Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (c): (B)	121
Fig. V.3 :	Solid-state ¹³ C CP/MAS NMR spectrum of β-chitin/DCPA	122
Fig. V.4 :	UV-Vis spectra of colloidal Cu(NPs) and corresponding color changes with catalyst supports DCPA (a) and β-chitin/DCPA (b);	123
Fig. V.5 :	Absorbance spectra of MB reduction by NaBH ₄ , in absence of catalysts (a), with Cu(NPs)/DCPA(b) and with Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (c);	124
Fig. V.6 :	First order plots for reductive degradation of MB onto DCPA and β-chitin/DCPA immobilized Cu(NPs)	126
Fig. V.7 :	Mechanism of catalytic reduction of MB to LMB on Cu(NPs)/β-chitin/DCPA	127
Fig. V.8 :	Recyclability test of supported Cu(NPs)-catalysts in the reduction of MB to LMB using NaBH ₄	128
Fig. VI.1 :	UV-Vis absorbance spectra of Cu ^{II} -β-chitin/DCPA after chemical reduction by NaBH ₄ at different time intervals	143
Fig. VI.2 :	XRD diagrams of DCPA (a), β-chitin/DCPA (b), Cu ^{II} -β-chitin/DCPA (c) and Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (d)	144
Fig. VI.3 :	FTIR spectra of DCPA (a), β-chitin/DCPA (b), Cu ^{II} -β-chitin/DCPA (c) and Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (d)	145
Fig. VI.4 :	DRS spectra of β-chitin/DCPA (a), Cu ^{II} -β-chitin/DCPA (b) and Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (c)	146
Fig. VI.5 :	Simultaneous TG/DTA analysis of β-chitin/DCPA and Cu ^{II} -β-chitin/DCPA materials	147
Fig. VI.6 :	SEM images and EDS analysis of β-chitin/DCPA (a,d), Cu ^{II} -β-chitin/DCPA (b,e) and Cu(NPs)/β-chitin/DCPA (c,f) materials	148

Liste des tableaux

Tableau I-1: Les phosphates de calcium et leurs stabilités chimiques dans l'eau.....	6
Tableau I-2: Paramètres RMN-MAS ^1H et ^{31}P de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	12
Tableau I-3: Coordonnées atomiques de la structure de DCPA.....	21
Tableau I-4: Paramètres cristallographiques des pyrophosphates de calcium.....	25
Tableau I-5: Domaines d'applications des phosphates de calcium (Ca/P=1)	28
Table III-1: Thermal characteristics of β -chitin/DCPA composite and DCPA from calcite.....	81
Table III-2: Adsorption capacities of some calcium phosphates for retention of Cu^{2+}	84
Table IV-1: Mathematical expressions for different reaction models and their mechanistic significances.....	97
Table IV-2 : EDS analysis of DCPA and its calcined form at 500°C	101
Table IV-3: Values of α_m , α_p and α_p^∞ at different heating rates and their corresponding standard deviations (SD)	105
Table IV-4: Parameters of the double logarithm plot	106
Table IV-5: Kinetic parameters obtained using JMA (n) model and their corresponding standard deviations (SD)	107
Table IV-6: Thermodynamic parameters of thermal decomposition of DCPA.....	108
Table V-1: Elemental chemical analysis of the synthesized copper-catalysts.....	122
Table V-2: Degradation kinetic data corresponding to catalytic reduction of MB using Cu(NPs) immobilized onto DCPA and β -chitin/DCPA supports under conditions	126
Table V-3: Comparison of rate constants for MB degradation by metal (NPs) supported on various materials	127
Table VI-1: EDS and chemical analysis of copper-based materials.....	148
Table VI-2: Minimum inhibitory concentration MIC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).....	149
Table VI-3: Minimum bactericidal concentration MBC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).....	149
Table VI-4: MIC and MBC values per unit mass of copper ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).....	149

Sommaire

Introduction générale	1
------------------------------------	---

**PREMIERE PARTIE:
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I: Les phosphates de calcium de rapport atomique Ca/P = 1: Rappel bibliographique

I.1. Généralités sur les phosphates de calcium	5
<i>I.1.1. Définition et nomenclature</i>	5
<i>I.1.2. Origine naturelle</i>	6
<i>I.1.3. Solubilité des phosphates de calcium</i>	7
I.2. Phosphates de calcium (Ca/P=1)	8
<i>I.2.1. Le phosphate dicalcique dihydraté (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)</i>	9
<i>I.2.1.1. Condition de stabilité</i>	9
<i>I.2.1.2. Méthode de synthèse</i>	9
<i>I.2.1.3. Caractérisation structurale du phosphate DCPD</i>	9
<i>I.2.1.4. Analyse thermique du phosphate $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$</i>	13
<i>I.2.2. Le phosphate dicalcique anhydre (DCPA, CaHPO_4)</i>	14
<i>I.2.2.1. Voies de synthèse</i>	14
<i>I.2.2.2. Synthèse par voie sèche</i>	14
<i>I.2.2.3. Synthèse par voie humide</i>	15
<i>I.2.2.4. Autres méthodes de synthèse</i>	16
<i>I.2.2.4.1. Méthode sol-gel</i>	17
<i>I.2.2.4.2. Méthode hydrothermale</i>	17
<i>I.2.2.4.3. Méthode mécano-chimique</i>	19
<i>I.2.2.5. Caractéristiques physico-chimiques du phosphate de calcium DCPA</i>	19
<i>I.2.2.5.1. Structure du phosphate dicalcique DCPA</i>	19

I.2.2.5.2. Spectroscopie IRTF	22
I.2.2.5.3. Spectrométrie RMN-MAS ^1H et RMN-MAS ^{31}P	23
I.2.2.5.4. Analyse thermique du phosphate CaHPO_4	23
I.3. Les pyrophosphates de calcium anhydre (Ca/P=1)	24
I.3.1. Présentation des pyrophosphates de calcium	24
I.3.2. Stabilité des pyrophosphates	24
I.3.3. Synthèse des pyrophosphates de calcium anhydres	24
I.3.4. Propriétés physico-chimiques des pyrophosphates de calcium	25
I.3.4.1. Structure cristalline	25
I.3.4.2. Spectroscopie IRTF	26
I.4. Quelques applications des phosphates de calcium (Ca/P=1)	27
 Chapitre II: Les nanoparticules métalliques dans la catalyse environnementale	
II.1. Définition.....	29
II.2. Classification des nanoparticules métalliques (MNPs)	30
II.3. Intérêt et propriétés physico-chimiques des MNPs.....	31
II.3.1. Intérêt	31
II.3.2. Propriétés physico-chimiques	31
II.3.2.1. Propriétés morphologiques et structurales	31
II.3.2.2. Propriétés physiques	32
II.3.2.3. Propriétés catalytiques.....	32
II.3.2.4. Propriétés électroniques et optiques	32
II.3.2.5. Propriétés magnétiques.....	34
II.3.2.6. Propriétés mécaniques	35
II.4. Méthodes de synthèse des nanoparticules métalliques	35
II.4.1. Approche descendante	35

<i>II.4.2. Approche ascendante</i>	<i>36</i>
<i>II.4.2.1. Synthèse des nanoparticules métalliques colloïdales</i>	<i>37</i>
II.4.2.1.1. Décomposition thermique, photochimique ou sonochimique.....	38
II.4.2.1.2. Déplacement de ligands des complexes organométalliques.....	38
II.4.2.1.3. Synthèse par condensation des vapeurs métalliques	38
II.4.2.1.4. Synthèse par réduction électrochimique.....	38
II.4.2.1.5. Réduction chimique de sels métalliques	39
II.4.2.1.6. Procédé sol-gel	40
II.4.2.1.7. Biosynthèse	40
<i>II.4.2.2. Méthodes de préparation des MNPs supportées.....</i>	<i>41</i>
II.4.2.2.1. Co-précipitation.....	41
II.4.2.2.2. Imprégnation, adsorption et échange d'ions	42
II.4.2.2.3. Dépôt-Précipitation.....	42
<i>II.4.2.3 Supports utilisés</i>	<i>43</i>
II.4.2.3.1. Choix du support	43
II.4.2.3.2. Interaction métal-support	43
II.5. Techniques de caractérisation.....	44
<i>II.5.1. Caractérisation optique et spectrophotométrie UV-Visible</i>	<i>46</i>
II.5.1.1. Coloration de la solution ou du mélange réactionnel.....	46
II.5.1.2. Spectrophotométrie UV-Visible	46
<i>II.5.2. Spectroscopie de réflexion diffuse UV-Visible (DRS).....</i>	<i>47</i>
<i>II.5.3. Diffraction des rayons X (DRX).....</i>	<i>48</i>
<i>II.5.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....</i>	<i>48</i>
<i>II.5.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)</i>	<i>49</i>
<i>II.5.6. Microscopie électronique en transmission (MET).....</i>	<i>49</i>
<i>II.5.7. L'analyse chimique par ICP (Inductively Coupled Plasma)</i>	<i>49</i>

II.5.8. Analyse thermique ATG/ATD	49
II.6. Applications des nanoparticules métalliques	49
II.6.1. Catalyse	50
II.6.1.1 Catalyse chimique	50
II.6.1.2. Catalyse environnementale en phase liquide	50
II.6.1.2.1. Dégradation de pesticides : la déshalogénation réductrice.....	51
II.6.1.2.2. Traitement des eaux contaminées par des métaux lourds	52
II.6.1.2.3. Dégradation des colorants par les MNPs	52
II.6.1.2.3.1. Processus d'oxydo-réduction des colorants	52
II.6.1.2.3.2. Mécanisme	53
II.6.2. Applications médicales	54
II.6.2.1. Imagerie médicale	54
II.6.2.2. Traitement à base de MNPs et délivrance ciblée de médicaments	54
II.6.2.3. Capteurs à base de nanoparticules métalliques : Biosenseurs	55
II.6.2.4. Activités microbiennes des nanoparticules métalliques.....	56
II.6.2.4.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices.....	56
II.6.2.4.2. Mécanisme de l'activité antimicrobienne.....	57
II.6.3. Traitement biologique de l'eau : désinfection.....	58
Références bibliographiques	60

DEUXIEME PARTIE:
RESULTATS EXPERIMENTAUX

Chapitre III: Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application

Graphical abstract	73
Highlights	73

Abstract	74
1. Introduction	74
2. Material and methods	76
2.1. Chemicals and reagents	76
2.2. Synthesis	76
2.3. Characterization methods	76
3. Results and discussion	77
3.1. XRD analysis	77
3.2. FTIR spectroscopy	78
3.3. Thermal measurements.....	80
3.4. SEM-EDS analysis.....	82
3.5. Adsorption capacity of copper ions	83
Conclusion	85
Acknowledgements	86
References	86

***Chapitre IV: Synthesis and non-isothermal decomposition kinetics of DiCalcium Phosphate
Anhydrous CaHPO₄***

Abstract	92
1. Introduction	93
2. Materials and methods	94
2.1. Synthesis	94
2.2. Characterization.....	94
2.3. Kinetic study	95
2.3.1. Determination of the activation energy Ea.....	95

2.3.2. Determination of reaction model	96
2.4. Thermodynamic parameters	97
3. Results and discussion.....	98
3.1. XRD analysis	98
3.2. FTIR-ATR spectroscopy	99
3.3. TEM-EDS analysis	100
3.4. Thermal analysis	101
3.5. Kinetic study	103
3.5.1. Model-Free estimation of activation energy E_a	103
3.5.2. Determination of reaction model	104
3.5.3. Thermodynamic parameters	108
Conclusion.....	108
Acknowledgements.....	109
References	109
 <i>Chapitre V: New functional β-chitin/calcium phosphate hybrid material as promising support of copper-nanocatalyst for the degradation reductive of hazardous organic dyes</i>	
Graphical abstract.....	113
Highlights	113
Abstract	114
1. Introduction	114
2. Materials and methods.....	116
2.1. Materials.....	116
2.2. Synthesis of catalytic materials	116
2.2.1. Preparation of DCPA and β -chitin/DCPA supports.....	116
2.2.2. Synthesis of Cu(II)/DCPA and Cu(II)/ β -chitin/DCPA.....	116

2.2.3. Preparation of Cu(NPs)/DCPA and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA catalysts	117
2.3. Characterization methods	117
2.4. Catalytic test for the reductive degradation of MB	118
3. Results and discussion.....	119
3.1. XRD analysis	119
3.2. FTIR-ATR analysis	120
3.3. Solid state ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopy.....	121
3.4. Chemical analysis.....	122
3.5. Optical characterization of copper nanoparticles Cu(NPs)	122
3.6. Catalytic reduction of MB on Cu(NPs)-catalysts	124
3.7. Kinetic study	125
3.8. Recovery and reuse of Cu(NPs)	128
Conclusion.....	129
Acknowledgments.....	129
References	130
 <i>Chapitre VI: A novel hybrid of β-chitin/Calcium phosphate functionalized with copper nanoparticles for antibacterial applications</i>	
Graphical abstract.....	136
Highlights	136
Abstract	137
1. Introduction	137
2. Materials and methods.....	139
2.1. Synthesis of β -chitin/DCPA hybrid material	139
2.2. Preparation of copper supported on β -chitin/DCPA	140

2.3. Materials characterization	140
2.4. Antibacterial tests	141
2.4.1. Antibacterial activity.....	141
2.4.2. Determination of MIC and MBC of synthesized materials.....	141
3. Results and discussion.....	142
3.1. Materials characterization	142
3.1.1. Optical properties of Cu(NPs).....	144
3.1.2. XRD analysis.....	144
3.1.3. FTIR-ATR study	145
3.1.4. DRS analysis.....	145
3.1.5. Thermal analysis TG/DTA.....	146
3.1.6. Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS).....	147
3.2. Antibacterial activity	148
Conclusion.....	150
Acknowledgments.....	151
References	151
Conclusion générale et perspectives.....	157

Introduction générale

Les phosphates de calcium constituent une grande classe de matériaux attractifs dans de nombreux domaines de la science et de la technologie en raison de leur diversité de structures et de compositions qui peuvent conduire à plusieurs formulations chimiques, de rapports atomiques Ca/P allant de 0.5 à 2. De nombreuses phases de structure bi et tridimensionnelle ont été isolées et différentes stratégies d'élaboration ont été développées. Les phosphates de calcium 3D de rapport atomique Ca/P=1 tels que le dicalcium phosphate dihydraté ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD) et le dicalcium phosphate anhydre (CaHPO_4 , DCPA) sont parmi les phases connues. Ces deux compositions ont été largement documentées compte tenu de leurs applications uniques comme des précurseurs potentiels pour la synthèse de certains biomatériaux comme l'Hydroxyapatite (HAp), le Tricalcium phosphate (α -TCP ou β -TCP) et le Tetracalcium phosphate (TTCP). En effet, l'HAp présente une grande similitude chimique et structurale avec la composante minérale de l'os et des dents et par ailleurs, elle est très étudiée en tant qu'implants dans l'ingénierie orthopédique et dentaire à cause de son excellente biocompatibilité, bioactivité et biorésorbabilité avec les tissus osseux.

Dans le domaine environnemental, certaines compositions des phosphates de calcium ont été utilisées comme adsorbants sélectifs pour l'élimination des polluants organiques (pesticides et colorants) et des métaux lourds des eaux usées, grâce à leurs structures poreuses qui peuvent conduire à des surfaces spécifiques élevées, le cas des phosphates de structures tridimensionnelles tels que l'HAp et ses dérivés, DCPD et DCPA. Les phosphates de calcium peuvent également être fonctionnalisés par greffage des entités organiques en vue de l'amélioration de leurs propriétés de surface et d'adsorption. Ils ont également servi comme matrices de stockage et de conditionnement des déchets radioactifs.

En catalyse, les phosphates de calcium ont montré des performances significatives vis-à-vis de nombreuses réactions comme matrices hôtes ou supports de phases actives, formées le plus souvent par des ions métalliques (3d). Certaines formulations catalytiques sont couvertes de brevets, en particulier pour les processus de déshydrogénation. La conversion simple et oxydante des alcools, la déshydrogénation oxydante d'alcanes, l'hydratation du chlorobenzène et l'hydroxylation des composés aromatiques sont parmi les réactions catalytiques les plus étudiées. L'avantage de l'utilisation des phosphates de calcium réside dans la flexibilité et la stabilité thermique de certaines structures, l'exemple de l'HAp et ses dérivées déficitaires en calcium.

Ces dernières années, les phosphates de calcium nano-structurés tels que le DCPA et le DCPD avec des morphologies nanométriques contrôlées ont suscité un vif intérêt suite au

développement des techniques de synthèse incluant de nouveaux protocoles dans l'objectif de maîtriser la texture et la taille des particules formant le solide. Il en résulte alors d'autres nouvelles voies d'application de ces phosphates, en particulier dans les hautes technologies afférant à l'industrie médicale et aussi dans les processus catalytiques.

D'autre part, les développements récents en biocéramique ont conduit à une nouvelle classe de matériaux appelée matériaux hybrides ou composites. Ces matériaux sont constitués de composantes minérales dont la plupart ; les phosphates de calcium et organiques comme les polymères (cellulose, chitosane, chitine...) et présentent l'avantage de conjuguer les propriétés physico-chimiques des deux différents constituants qui les composent pour former ou améliorer les performances des matériaux cibles. Cette conception de synthèse a été inspirée de la nature. En effet, dans le monde vivant ; la composition de la matière est souvent constituée de matériaux hybrides ; les os, les coquillages, les carapaces des crustacés et les métallos-enzymes sont des exemples bien connus de la mixité entre des composantes minérales et organiques. L'approche biomimétique a donc conduit à des nouvelles formulations de structures hiérarchiques auto-assemblées qui peuvent répondre aux besoins des nouvelles technologies telles que l'optique, la microélectronique et la médecine.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente thèse de doctorat. Il s'agit d'élaborer un nouveau matériau hybride, constitué du phosphate dicalcique anhydre (DCPA) et de la chitine, préparé à partir d'un constituant biogénique qui est l'os de seiche (*Sepia officinalis*), très disponible dans les cotes marines marocaines. La chitine étant un composé de N-acétyl-D-glucosamine, c'est le deuxième polysaccharide naturel le plus abondant. Elle se trouve naturellement dans l'os du *Sepia officinalis*, les coquilles de certains organismes marins, sur la coque du corps des crustacés comme dans les crabes et les crevettes, etc. La chitine est connue pour ses nombreux avantages dont sa biocompatibilité, sa biodégradabilité, ses propriétés mécaniques et microbicides.

L'objectif au cours de nos travaux était double, il s'agit d'une part de préparer un biomatériau composite à partir de déchets de l'industrie halieutique, très répandus en raison de la forte activité de pêche du *Sepia officinalis* dans les cotes marocaines. Dans un premier temps, l'os de sépia collecté a été sujet de plusieurs caractérisations pour identifier ses principaux constituants, en particulier la phase minérale et le polymorphe de la chitine. D'autre part, le biocomposite ; formé du phosphate DCPA et la chitine ; a été utilisé comme support actif des nanoparticules de cuivre générées par voie chimique en vue de le tester dans la catalyse environnementale.

Ainsi, la présente thèse est divisée de deux parties :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique. Elle regroupe deux chapitres dans lesquelles nous avons mis au point une synthèse des données de la littérature sur les phosphates de calcium de structure tridimensionnelle et de rapport atomique Ca/P=1, leur occurrence, leurs propriétés structurale, physico-chimique et leurs principales applications et d'autre part ; des généralités sur les nanoparticules métalliques, leurs conditions d'obtention et de caractérisation, leurs principales propriétés physico-chimiques et leurs applications, en particulier dans le domaine de la catalyse environnementale.

La deuxième partie de ce travail est réservée aux résultats expérimentaux. Elle est scindée en quatre chapitres comme suit :

Le troisième chapitre porte sur les résultats de la synthèse d'un nouveau biocomposite constitué de β -chitine et du dicalcium phosphate anhydre (β -chitine/DCPA). Le biocomposite a été préparé à partir de l'os de seiche comme source de calcium et de β -chitine et, de l'acide phosphorique concentré. Le DCPA pur a été également synthétisé en utilisant la calcite et l'acide phosphorique et avec les mêmes conditions que celles adoptées pour le biocomposite β -chitine/DCPA. Une étude comparative des caractéristiques structurales de deux phosphates de calcium a été réalisée par différentes techniques physico-chimiques adéquates telles que : DRX, IRTF, MEB- EDX, ATG/DTA. L'aptitude des deux matériaux synthétisés à retenir l'ion cuivrique Cu^{2+} ; en milieu aqueux ; a aussi été examinée et discutée.

La cinétique de dégradation thermique du dicalcium phosphate anhydre (DCPA) a fait l'objet du quatrième chapitre. Le DCPA pur a été choisi comme référence pour la suite de notre travail. De ce fait, l'étude de la dégradation thermique du phosphate de calcium DCPA à différentes vitesses de chauffe a été abordée pour déterminer les paramètres cinétiques de son processus de dégradation thermique. Le comportement thermique du DCPA a été examiné par analyse thermique en simultanée ATG/DTG/ATD entre l'ambiante et 800°C en adoptant les dernières recommandations du comité de la Confédération Internationale pour l'Analyse Thermique et la Calorimétrie (ICTAC).

L'effet de la chitine sur les propriétés physico-chimiques du biocomposite β -chitine/DCPA et sur la dispersion des nanoparticules de cuivre issue de la réduction chimique in situ par le borhohydrure de sodium (NaBH_4) a été évalué aux cinquième et sixième chapitres. La mise en évidence des nanoparticules de cuivre a été réalisée par la spectroscopie UV-visible, diffraction

RX (DRX), spectroscopie IR doté d'un accessoire ATR (Attenuation Total Reflection) (IRTF-ATR) et la microscopie électronique à balayage (MEB-EDX).

Dans le cinquième chapitre, nous avons décrit les résultats de la catalyse de dégradation réductive d'un colorant basique en milieu aqueux en utilisant les nanoparticules de cuivre Cu(NPs) supportées sur le matériau hybride β -chitine/DCPA. Il s'agit du bleu de méthylène pris comme modèle des colorants organiques nocifs. Les résultats de la cinétique de dégradation réductive des matériaux β -chitine/DCPA, Cu(II)/ β -chitine/DCPA et Cu(NPs)/ β -chitine/DCPA ont été obtenus en utilisant la spectroscopie UV-visible et, discutés sur la base d'une réaction du premier ordre. Les valeurs des paramètres cinétiques ont été comparées par rapport aux données de la littérature.

Le sixième chapitre a été destiné pour examiner l'effet antibactérien des différents biocomposites préparés et caractérisés, notamment le β -chitine/DCPA, le Cu^{II}/ β -chitine/DCPA et Cu(NPs)/ β -chitine/DCPA. L'activité antibactérienne a été évaluée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). L'activité antibactérienne a été étudiée en utilisant différentes catégories de bactéries dont deux incluant des gram-négatives (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et deux autres appartenant aux gram-positives (*Listeria monocytogenes* serovar, *Staphylococcus aureus*). L'effet des Cu(NPs) dispersées sur l'hybride β -chitine/DCPA a été mis en évidence et discuté en comparant les résultats obtenus avec ceux d'autres supports et certains résultats antérieurs de la littérature.

Enfin, notre manuscrit se termine par une conclusion générale dans laquelle nous soulignons les principaux résultats obtenus lors de la synthèse du biocomposite β -chitine/DCPA, des matériaux correspondants à base du cuivre et également les résultats d'activité obtenus dans la catalyse environnementale. Elle illustre aussi la projection de nos perspectives pour la continuité du présent sujet.

PREMIERE PARTIE:

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I:

Les phosphates de calcium de rapport atomique $\text{Ca/P} = 1$: Rappel bibliographique

Dans le présent chapitre, nous allons présenter un aperçu bibliographique sur les phosphates de calcium, notamment leur origine naturelle et leur solubilité en milieu aqueux. Nous nous intéressons plus particulièrement au système présentant un rapport atomique Ca/P égal à 1. Ce système qui est riche en propriété physico-chimique conduit à plusieurs compositions et structures selon les conditions de synthèse et de pH. Il s'agit en particulier des orthophosphates tridimensionnels tels que le dicalcium phosphate dihydraté (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, appelé Brushite) et le dicalcium phosphate anhydre (DCPA, CaHPO_4 , appelé Monetite), ainsi que les différentes formes de pyrophosphate de calcium anhydre ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$). Nous présentons également quelques applications de ces phosphates en particulier dans le domaine de la catalyse.

I.1. Généralités sur les phosphates de calcium

I.1.1. Définition et nomenclature

Les phosphates de calcium sont issus de diverses combinaisons du système binaire $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ et/ou du système ternaire $\text{Ca(OH)}_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ et peuvent conduire à plusieurs variétés de compositions et structures qui se distinguent par le type d'anions phosphates qui les composent : Ortho- (PO_4^{3-}) , Méta- (PO_3^-) , Pyro- $(\text{P}_2\text{O}_7^{4-})$ et Poly- $((\text{PO}_3)_n^-)$. Dans la catégorie des anions multichargés tels que les orthophosphates et les pyrophosphates, on peut classer les différents phosphates de calcium par le nombre de protons H^+ liés à l'anion phosphate, tels que le mono- $(\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2)$, di- (CaHPO_4) , tri- $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ et le tétra- $(\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7)$ phosphates de calcium [1]. Le préfixe "mono", "di", "tri" et "tétra" se rapporte au nombre de protons remplacés par le calcium de la structure.

En général, les phosphates peuvent se subdiviser en deux principaux groupes, à savoir les orthophosphates et les phosphates condensés. Les orthophosphates sont dérivés de sels d'acide phosphorique H_3PO_4 et renferment des groupements PO_4^{3-} dans leurs formulations chimiques. L'unité moléculaire (PO_4^{3-}) est disposée en géométrie tétraédrique avec un atome de phosphore central entouré de quatre atomes d'oxygènes. Quant aux phosphates condensés, ils proviennent de la condensation des unités orthophosphates en partageant des oxygènes pour former une ou plusieurs liaisons $\text{P} - \text{O} - \text{P}$. Ce type de liaison est souvent formée par la réaction de condensation de deux orthophosphates d'hydrogène $[\text{HPO}_4]^{2-}$ pour libérer une molécule d'eau et former la liaison $\text{P} - \text{O} - \text{P}$, selon la réaction suivante :



Chapitre I : Les phosphates de calcium de rapport atomique Ca/P =1 : Rappel bibliographique

Il existe de nombreuses phases du phosphate de calcium, classées selon leurs rapports atomiques (Ca/P). Plus le rapport Ca/P est faible, plus le phosphate de calcium sera soluble dans l'eau et plus il est acide. Ainsi, le phosphate monocalcique monohydraté (MCPM) de formule $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ présente la plus grande solubilité et acidité dans l'eau [2]. Le **tableau I-1** récapitule les principales compositions du phosphate de calcium les plus connues ainsi que leurs stabilités chimiques dans l'eau à 25°C.

Tableau I-1: Les phosphates de calcium et leurs stabilités chimiques dans l'eau [2]

Ca/P (Rapport atomique)	Composés et leurs Abréviations	Formule chimique	Solubilité dans l'eau à 25°C, g/L
0,5	Monocalcium phosphate monohydrate (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	~ 18
0,5	Monocalcium phosphate anhydrous (MCPA or MCP)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	~ 17
1,0	Dicalcium phosphate dihydrate (DCPD), mineral brushite	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	~ 0,088
1,0	Dicalcium phosphate anhydrous (DCPA or DCP), mineral monetite	CaHPO_4	~ 0,048
1,33	Octacalcium phosphate (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	~ 0,0081
1,5	α -Tricalcium phosphate (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	~ 0,0025
1,5	β -Tricalcium phosphate (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	~ 0,0005
1,5-1,67	Calcium-deficient hydroxyapatite (CDHAor Ca-def HA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	~ 0,0094
1,67	Hydroxyapatite (HA, HAp or OHAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	~ 0,0003
1,67	Fluorapatite (FA or FAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	~ 0,0002
1,67	Oxyapatite (OA, OAp or OXA) , mineral voelckerite	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	~ 0,087
2,0	Tetracalcium phosphate (TTCP or TetCP), mineral hilgenstockite	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	~ 0,0007

I.1.2. Origine naturelle

Les phosphates de calcium sont largement présents dans notre planète. La surface terrestre contient environ 3,4% de calcium et 0,1% de phosphore [3]. La combinaison des oxydes de ces deux éléments ; avec ou sans présence d'eau ; conduit à différentes compositions de phosphates de calcium. La couleur de ces derniers est en majorité blanche sauf s'ils sont dopés naturellement par des métaux de transition.

Les orthophosphates de calcium sont les plus abondants dans la nature et sont présents géologiquement en dépôts apatitiques, sous forme de fluoroapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, ou phosphorites [4]. Presque tous les environnements géologiques contiennent des phosphates de calcium en quantité mineure (<5%). Dans certaines roches sédimentaires (phosphorites) ou rarement dans les ségrégations volcaniques, la concentration du phosphate de calcium est suffisamment élevée pour permettre leurs exploitations. Selon le rapport publié par la commission géologique américaine sur les roches phosphatées, les réserves mondiales de ce minerai s'élèvent à 68 billions de tonnes dont les plus importantes sont localisées au Maroc (70 %), Chine, Russie, Kazakhstan et aux USA [5]. Les phosphates de calcium naturels se présentent souvent en forme de cristaux non purs, dans lesquelles d'autres éléments chimiques remplacent partiellement le calcium comme le Sr, Ba, Mg, K, Na et Fe ou bien remplacent les ions phosphates comme AsO_4^{2-} , CO_3^{2-} , VO_4^{3-} . Les ions hydroxyde, chlorure, bromure et carbonate peuvent également substituer l'ion fluorure F^- dans la fluoroapatite naturelle [6-8].

Les phosphates de calcium sont également les principaux constituants inorganiques des calcifications normales des êtres vivants (dents, os, email de poissons et certains crustacés) et pathologiques (calculs dentaires et rénaux et les lésions des parois artérielles) [9]. Ils se présentent sous forme d'hydroxyapatite déficiente, faiblement cristalline appelée dahllite [10].

1.1.3. Solubilité des phosphates de calcium

La solubilité est une propriété thermodynamique qui décrit l'état d'équilibre entre le solide et les composés dissouts en solution et dépend de plusieurs paramètres comme le pH, la concentration des ions et la température [11]. La découverte du premier ciment des phosphates de calcium était le résultat de décennies d'études sur la solubilité des phosphates de calcium. En effet, les phosphates (MCPM, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et (DCPA, CaHPO_4) se sont avérés plus solubles que l'hydroxyapatite (HA, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) dans des conditions de pH neutre ou physiologique.

La vitesse de dissolution des phosphates de calcium à pH neutre est donnée dans l'ordre suivant [11] :



La **figure I.1** montre les courbes de solubilité des principaux phosphates de calcium, obtenues par la méthode de titrage solide à 25°C [12].

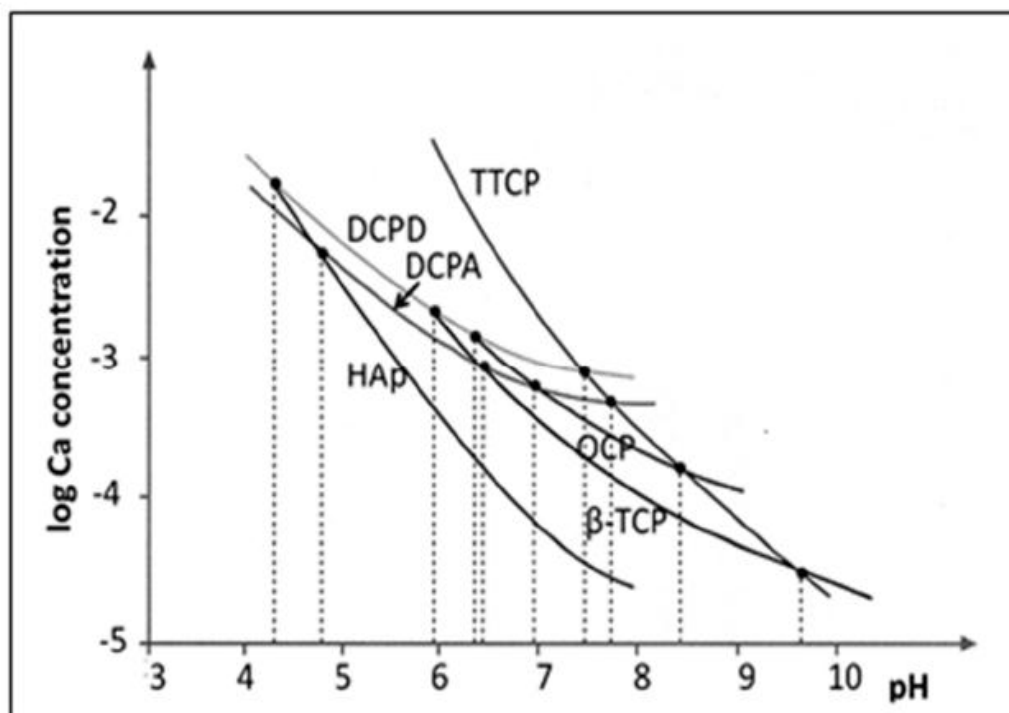


Fig. I.1 : Diagramme de solubilité des phosphates de calcium [12]

En général, la solubilité et l'acidité des orthophosphates de calcium augmentent avec la décroissance du rapport atomique Ca/P (**Tableau I-1**). La majorité des orthophosphates sont peu soluble dans l'eau, mais tous se dissolvent dans les acides. La phase la plus stable est l'hydroxyapatite HAp qui est très peu soluble jusqu'à pH de 2,9 [13,14]. Le phosphate de calcium DCPD possède une solubilité accrue et sa dissolution dans l'eau peut conduire dans des conditions basiques à la cristallisation de l'HAp [15]. Quant au phosphate de calcium DCPA, il est moins soluble que le phosphate DCPD à cause de l'absence des molécules d'eau de cristallisation. Il se dissout et/ou s'hydrolyse lentement en formant l'HAp, dans les conditions physiologiques [16]. Le phosphate DCPA est physiquement stable et résiste à l'hydratation même quand il est dispersé dans l'eau pendant plus de 7 mois à températures entre 4 - 50°C [17].

I.2. Phosphates de calcium (Ca/P=1)

Il existe deux types de phosphates de calcium de rapport atomique Ca/P = 1, qui se distinguent par l'association des groupements phosphates à l'atome de calcium. Il y a les orthophosphates dicalciques, de formules chimiques (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Brushite), (DCPA, CaHPO_4 , Monetite) et les différentes formes de pyrophosphate de calcium anhydre, de composition $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ou hydratées de formule $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

I.2.1. Le phosphate dicalcique dihydraté (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Le dicalcium phosphate dihydraté (DCPD), appelé aussi Brushite, de formule $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ est présent dans les calcifications pathologiques et dans certaines lésions carieuses [18]. Le minéral Brushite a été découvert en 1865 par Moore et Julien dans les guanos phosphatés d'Avis dans les Île Caraïbes [19].

I.2.1.1. Condition de stabilité

Le DCPD est métastable, il se dissout à $\text{pH} < 4,2$ et se converti en octacalcium phosphate (OCP), $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à $\text{pH} = 6 - 7$ ou en HAp à pH basique [20]. Il cristallise à l'ambiante dans l'intervalle de pH entre 4 – 6 et se transforme en solution, en phosphate dicalcique anhydre (Monetite) à des températures supérieures à 60 °C [21]. Le chauffage à température modérée en présence des vapeurs d'eau augmente la vitesse de conversion de la Brushite en Monetite. Il est aussi thermodynamiquement métastable par rapport à l'HAp en raison de sa solubilité élevée. Le DCPD in vivo est converti en HAp ou biodégradé [22]. La présence des métaux divalents tels que le Fe^{2+} , Co^{2+} diminue relativement sa solubilité et modifie la morphologie des particules de DCPD. Chez les êtres humains, cette modification favorise la formation des calculs urinaires très discutés dans la littérature [23,24].

I.2.1.2. Méthode de synthèse

Historiquement, la préparation du DCPD ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a été effectuée par Jensen et coll. [25], dans un milieu aqueux par double décomposition à partir des précurseurs de sel de calcium et de phosphate. Peu après, il a été synthétisé par une méthode de neutralisation entre l'acide phosphorique et la chaux [26]. Ensuite, le phosphate DCPD a été élaboré dans des solutions aqueuses à température ambiante en utilisant des sels de calcium solubles ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) et des sels de phosphate solubles ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 ou K_2HPO_4), pris dans des rapports stœchiométriques [25-27]. Des composites de DCPD ont également été préparés en utilisant des polymères, tensioactifs et biomatériaux d'origines marines [28-30].

I.2.1.3. Caractérisation structurale du phosphate DCPD

Le phosphate DCPD est l'un des orthophosphates de calcium les plus étudiés, en raison de son aptitude à se transformer en hydroxyapatite, dans le milieu physiologique ($\text{pH} \sim 7$) et son utilisation potentielle dans le domaine médical. La morphologie de ses particules est généralement formée de plaquettes ou aiguilles, selon la méthode de synthèse et la présence d'impuretés

métalliques [31].

La résolution structurale du phosphate DCPD a été effectuée par diffraction des RX et des Neutrons [32,33]. Le diagramme RX de poudre du phosphate est représenté dans la **figure I.2**. Le DCPD cristallise dans le système monoclinique (groupe d'espace : Ia) avec les paramètres cristallographiques suivants [33] :

$$a = 5,810 \text{ \AA} \quad b = 15,177 \text{ \AA} \quad c = 6,359 \text{ \AA} \quad \beta = 118,5^\circ \text{ et } Z = 4$$

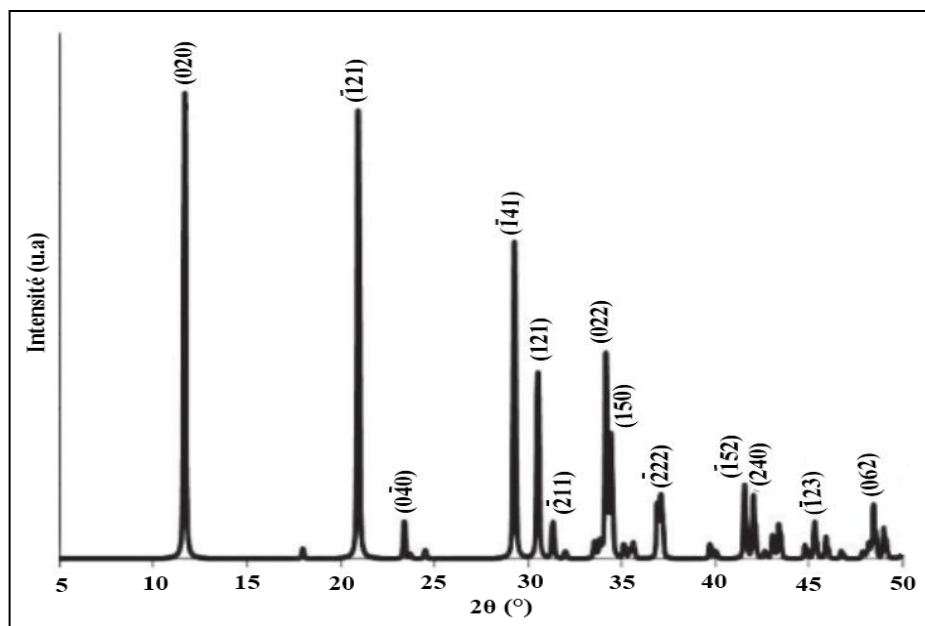


Fig. I.2 : Diagramme de diffraction RX de la structure du phosphate DCPD [32]

Le squelette structural du phosphate DCPD (**Figure I.3**) est constitué d'un arrangement linéaire de feuillets ondulés de composition CaHPO_4 , parallèle à l'axe $[010]$. Ces feuillets sont reliés entre eux par deux types de molécules d'eau (W_1 et W_2) formant un réseau pseudo hexagonal. Le calcium est entouré par six oxygènes des tétraèdres PO_4 et deux autres oxygènes appartenant aux molécules d'eau constituant ainsi une coordinence 8. La diffraction neutronique réalisée sur ce composé a montré qu'il y a un seul type de phosphore dont les liaisons P-O sont totalement asymétriques. La plus longue d'entre elles est celle portant le proton acide H^+ [34]. Les molécules d'eau de cristallisation W_1 et W_2 sont formées de deux couches adjacentes liées au squelette CaHPO_4 par des liaisons hydrogènes fortes. La **figure I.3** montre une projection selon l'axe cristallographique $[100]$ d'un fragment de la structure de DCPD avec l'illustration des liaisons hydrogènes [35].

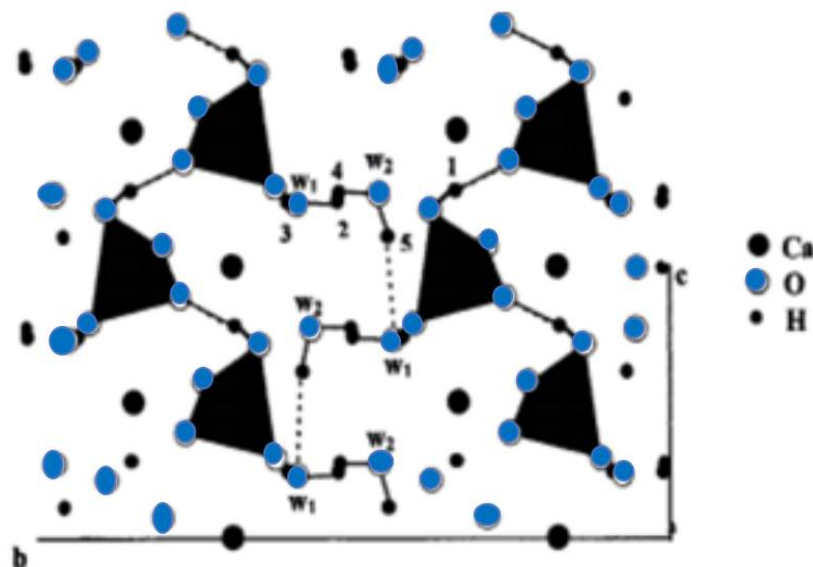


Fig. I.3 : Projection de la structure de DCPD selon [100] [34]

La **figure I.4** représente le spectre IR du phosphate DCPD ainsi que l'attribution des principales bandes observées. L'analyse de ces bandes montre qu'il y a présence de deux molécules d'eau différentes et également la présence de l'espèce PO(H), en accord avec les données structurales obtenues par diffraction des RX et des Neutrons. Le squelette structural formé par les groupements PO₄ est aussi confirmé par l'observation de bandes IR caractéristiques des liaisons P-O de l'orthophosphate [34].

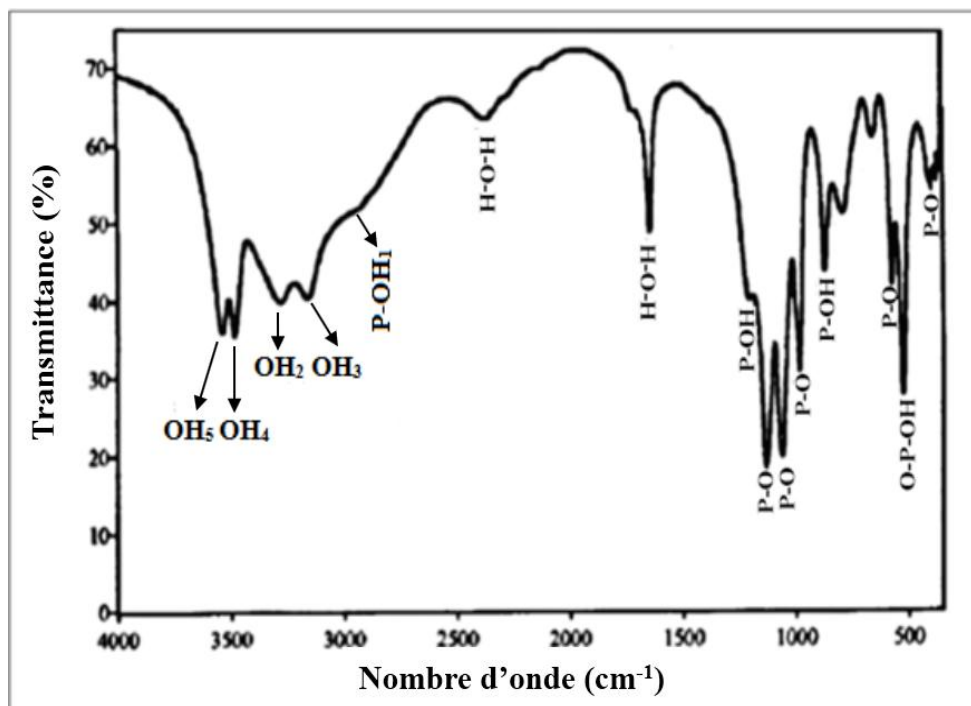


Fig. I.4 : Spectre IR du phosphate DCPD [34]

En complément à la diffraction RX et à la spectroscopie IRTF, la RMN-MAS ^1H et RMN-MAS ^{31}P ont permis de mettre en évidence les différentes liaisons O-H et P-O susceptibles d'exister dans la structure du phosphate DCPD. En effet, les spectres RMN-MAS ^1H expérimental et celui modélisé (**Figure I.5**) [35] confirment la présence dans la structure de deux espèces de molécules d'eau avec 4 différentes liaisons O-H, en accord avec les résultats de la spectroscopie IRTF. Le proton H^+ situé sur les groupements (PO_4) a aussi été identifié par l'apparition d'une bande à $\delta=10,2$ ppm. De même, la RMN-MAS ^{31}P de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**Tableau I - 2**) n'a montré qu'une seule position cristallographique du phosphore à $\delta=1,6$ ppm, justifiant ainsi les résultats obtenus lors de l'étude structurale.

Tableau I-2: Paramètres RMN-MAS ^1H et ^{31}P de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [35]

	Déplacement chimique δ_{ppm}	
	Calculé	Expérimental
P1	2,0	1,6
H1(POH) ₁	10,2	
H2(H ₂ O) ₁	6,0	
H3(H ₂ O) ₁	6,9	
H4(H ₂ O) ₂	4,6	
H5(H ₂ O) ₂	3,5	

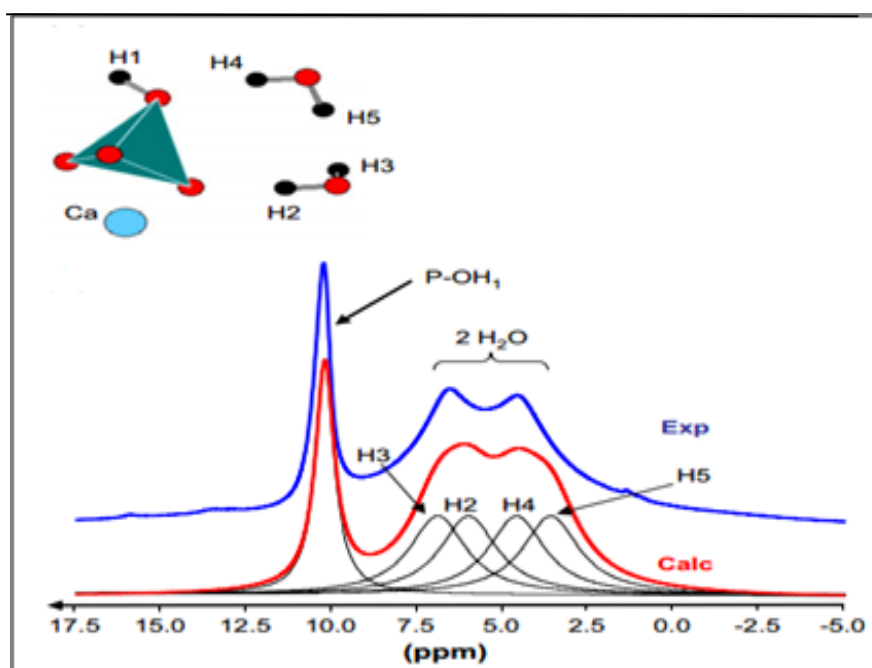


Fig. I.5 : Spectres RMN-MAS ^1H et ^{31}P du phosphate DCPD [35]

I.2.1.4. Analyse thermique du phosphate $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Le phosphate DCPD a été objet de plusieurs études en analyse thermique. En effet, la dégradation thermique du phosphate DCPD présente un comportement complexe et plusieurs réactions de décomposition sont possibles en fonction de la température. Le profil thermique généralement obtenu est représenté dans la **figure I.6** [36]. Ainsi, on observe deux pertes de masse entre 80 et 240°C, avec deux effets endothermiques. Elles correspondent à la déshydratation du phosphate DCPD conduisant à la formation de la Monetite DCPA, selon la réaction suivante :



Une troisième perte de masse, de nature endothermique est également observée à 415°C. Elle est attribuée à la réaction de condensation des orthophosphates conduisant à la formation du pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ suivant la réaction :



Un phénomène exothermique vers 550°C a été enregistré dans le profil DSC mais sans variation de masse. Il est assigné à la transformation allotropique du phosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$:

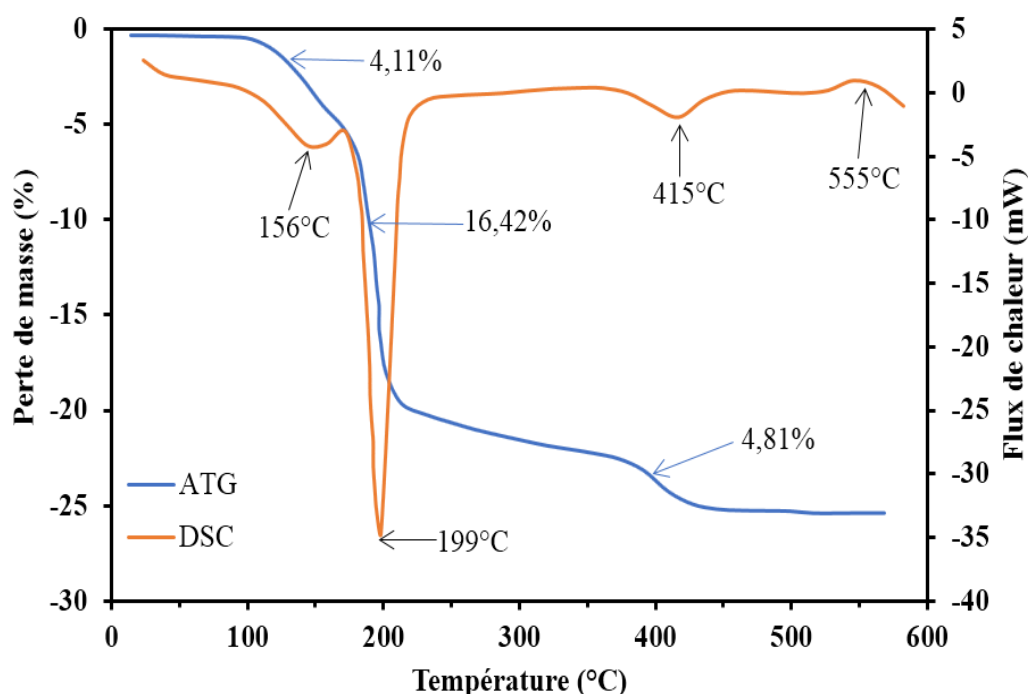


Fig. I.6 : Profils thermiques du phosphate DCPD [36]

I.2.2. Le phosphate dicalcique anhydre (DCPA, CaHPO_4)

Le phosphate dicalcique anhydre appelé aussi Monetite, de formule chimique CaHPO_4 est la forme déshydratée du phosphate DCPD. Il a été découvert pour la première fois par Shepard en 1882 dans les dépôts de roches phosphatées [37]. Le phosphate de calcium DCPA est également présent dans les calcifications pathogènes et comme ses homologues (DCPD, HAp et β -TCP), il est utilisé comme biomatériau de substitution osseuse [38].

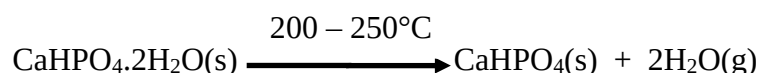
Le DCPA est parmi les phases stables d'orthophosphates de calcium en milieu acide mais il est peu soluble à pH neutre et résiste au phénomène de l'hydratation pendant plusieurs mois à des températures basses [1, 17]. La Monetite peut cristalliser à des températures supérieures à 80°C et se convertit en pyrophosphate de calcium $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ dès 415°C [39]. La conversion chimique du DCPA en milieu alcalin conduit à la formation de l'HAp par un mécanisme de dissolution-précipitation [40].

I.2.2.1. Voies de synthèse

Il existe deux principales voies de synthèse qui sont utilisées dans la préparation du phosphate de calcium DCPA notamment la réaction par voie humide, en utilisant des réactifs solubles de calcium et de phosphate et la réaction par voie sèche qui fait intervenir le traitement thermique du phosphate DCPD. Les méthodes chimiques humides offrent des réactions de synthèse à plus basse température entre 60 et 100°C alors que le traitement thermique du DCPD est généralement effectué entre 200 et 250°C. Les techniques par voie humide à basse température peuvent fournir un matériau nano-particulaire avec des morphologies variées (plaquette, lame, bâtonnet, aiguille...) et la cristallinité de la poudre de DCPA obtenue dépend fortement des conditions de préparation.

I.2.2.2. Synthèse par voie sèche

Le phosphate de calcium DCPA peut être obtenu par déshydratation à l'air du phosphate dicalcique dihydraté $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD) à des températures allant de 200 à 250°C dans un four. Plusieurs auteurs ont utilisé cette méthode pour obtenir le phosphate DCPA [41,42]. La réaction mise en jeu lors de cette transformation est la suivante :



L'obtention du DCPA par ce procédé est confrontée à un défi majeur. Il y a souvent manque de contrôle de la taille et de la morphologie des particules du produit final ce qui limite l'usage de

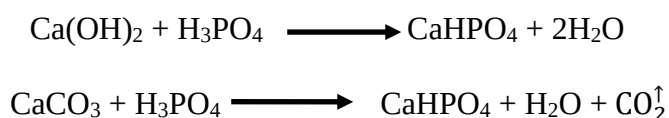
la voie sèche surtout dans le domaine d'élaboration des biocéramiques qui nécessite une microstructure contrôlée. La texture du DCPA, obtenue par la voie sèche est généralement constituée de grosses particules très hétérogènes, de diamètres variables, allant de 15 à 40 μm [43].

1.2.2.3. Synthèse par voie humide

La synthèse par voie humide peut être réalisée en se basant sur deux processus : La neutralisation et la double décomposition. Le choix des réactifs de synthèse permet ainsi de déterminer le type de réaction à mettre en œuvre. Cette voie de synthèse a été développée pour élaborer des poudres de la Monetite avec de bonnes cristallinités et à l'échelle nanométrique. Plusieurs méthodes ont été proposées dans la littérature, certaines utilisent des solvants non usuels autre que l'eau comme l'alcool [43], mais aussi avec d'autres additifs organiques tels que l'alginate et la gélatine pour former des hybrides de type inorganique-organique [44,45].

Dans le cas de neutralisation, deux systèmes ternaires très connus sont utilisés dans la préparation du DCPA, à savoir le système $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ et le système $\text{CaCO}_3\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$. La réaction est réalisée en milieu acide, $\text{pH} < 6$ et consiste à neutraliser une suspension de lait de chaux ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) ou de CaCO_3 en ajoutant une solution aqueuse d'acide phosphorique, dans les conditions stœchiométriques [46]. L'exploitation de carbonates de calcium comme réactif de départ pour produire le DCPA et les autres phosphates de calcium est plus économique compte tenu de leur abondance et de leur prix bon marché.

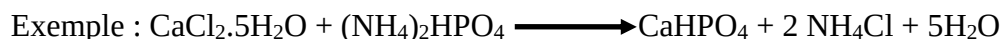
La synthèse par neutralisation présente plusieurs avantages, on peut citer la mise en œuvre qui est relativement simple par rapport aux autres méthodes et l'absence de sous-produits pouvant contaminer le DCPA formé, comme illustré dans les exemples qui suivent :



Quant à la double décomposition, elle est réalisée en ajoutant de façon contrôlée une solution d'un sel de calcium dans une solution de phosphate (HPO_4^{2-}), à une température supérieure à 60°C [47]. Le pH du mélange est généralement ajusté dans la plage de [5 – 6,5] par l'ajout d'ammoniac $\text{NH}_4(\text{OH})$ [48]. Cette zone de pH constitue l'intervalle approprié pour la formation et la stabilité du phosphate DCPA. Les réactifs utilisés pour la synthèse de DCPA sont les sels de calcium solubles CaX et les sels de phosphate solubles MY , ajoutés dans les conditions stœchiométriques [49] :

Où $\text{X} = \text{Cl}^-$, NO_3^- , CH_3COO^- , HCOO^- (chlorure, nitrate, acétate et formiate) et $\text{M} = \text{Na}^+$,

K^+ , NH_4^+ et $Y = HPO_4^{2-}$ ou $H_2PO_4^-$. Quelques sels de calcium les plus couramment utilisés sont : $CaCl_2 \cdot 5H_2O$, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Ca(CH_3COO)_2$, et pour les phosphates : $(NH_4)_2HPO_4$, K_2HPO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 et $NH_4H_2PO_4$.



Néanmoins, la réaction par double décomposition présente un inconvénient, car elle exige plusieurs lavages pour éviter la contamination du DCPA par les sous-produits résiduels provenant des sels solubles tels que les ions chlorures, ammonium, nitrate... [49].

1.2.2.4. Autres méthodes de synthèse

Plusieurs procédés de synthèse du phosphate de calcium DCPA ont été décrits dans la littérature, selon les applications prévues pour ce matériau soit dans le domaine médical, dans la technologie avancée ou encore dans le domaine de l'environnement [50,51]. Historiquement, la Monetite a été synthétisée la première fois par Smith et coll. en 1955 [52] par double décomposition, et ensuite par neutralisation en 1961 par Mooney et Aia [53]. Depuis plus d'une soixante années, les méthodes de synthèse se sont développées pour répondre aux besoins technologiques surtout dans le domaine de la chirurgie osseuse. La manufacture du phosphate Monetite avec plusieurs formes y compris les ciments, les granules, les mastics et les matrices tridimensionnelles (scaffolds) est à la base d'amélioration des conditions de synthèses jusqu'à utiliser même des solvants non-aqueux (alcool, huiles ou mélange de solvants) [43,54] et même des surfactants tels que le Sodium dodecyl sulfate (SDS) ou le Cetyltriméthylammonium bromide (CTAB) [54,55].

Différentes méthodes de préparation du DCPA ont été bien établies et sont couramment utilisées par la communauté scientifique et industrielle. Lin et coll. [56] ont passé en revue les techniques habituellement employées pour la synthèse des phosphates de calcium en général, et pour le DCPA en particulier. Cette revue résume l'état de l'art actuel sur la synthèse des cristaux de phosphates de calcium avec des tailles contrôlées allant de l'échelle nanométrique à l'échelle micrométrique et ayant diverses morphologies telles que les formes unidimensionnelles constituées de tiges, fibres, filons, les formes bidimensionnelles représentées par des feuilles, disques, plaques et flocons et enfin, les formes tridimensionnelles (3D) de structures poreuses, creuses et biomimétiques semblables aux os et aux dents biologiques.

Les techniques les plus couramment utilisées sont [56] : la précipitation, la voie hydrothermale, micro-ondes, l'électrodéposition, l'émulsion, sol-gel, mécano-chimique, vaporisation, irradiation ultrasonique, cristallisation et récemment l'ultra-sonication.

I.2.2.4.1. Méthode sol-gel

La technique sol-gel utilise souvent les alcools (éthanol ou méthanol) comme solvant, les alkoxydes sont fréquemment utilisés comme précurseurs de calcium et de phosphore. Après solvolysé (ou hydrolyse), il y a précipitation du DCPA amorphe, qui après un traitement thermique conduit à une poudre cristallisée [57,58]. Cette procédure présente un 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 au niveau moléculaire. La synthèse par sol-gel conduit généralement à une poudre de DCPA très homogène [59,60]. La polyvalence de la méthode permet d'ouvrir d'autres voies de synthèse, en particulier pour la production des couches minces en remplaçant la pulvérisation thermique, notamment pour les applications biomédicales surtout dans la fabrication de revêtements osseux [61,62].

Cependant, l'application de la technique sol-gel ; pour la préparation du DCPA engendre un coût très élevé en raison de la particularité des matières premières utilisées et la longue durée de maturation ou de séchage lors de la synthèse. Les précurseurs utilisés varient entre des précurseurs classiques tels que $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ou H_3PO_4 et des précurseurs moins classiques comme le triéthylphosphite $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{P}$ [39], diéthoxyde de calcium $(\text{Ca}(\text{OEt})_2)$ et H_3PO_4 dans l'éthanol [59,63]. L'organigramme de la **figure I.7** présente le protocole opératoire général de la synthèse sol-gel.

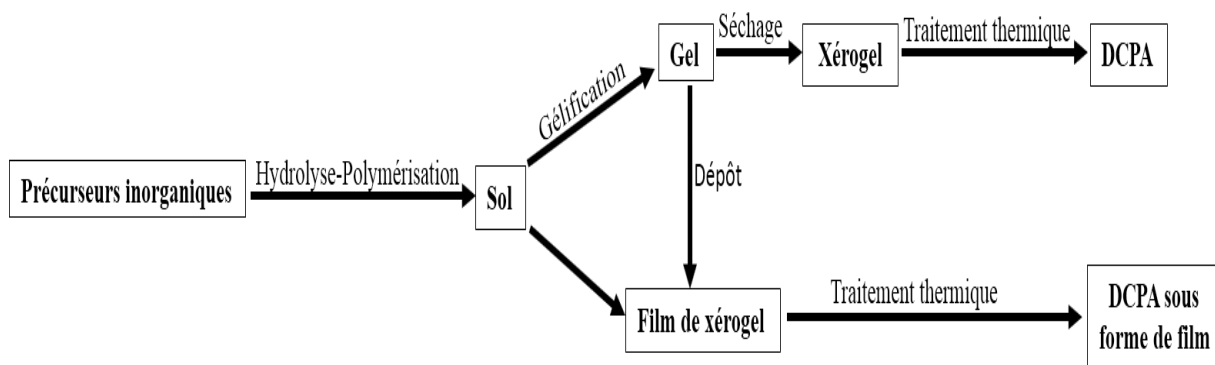


Fig. I.7 : Schéma de la synthèse sol-gel du DCPA et du DCPA sous forme de film

I.2.2.4.2. Méthode hydrothermale

La synthèse du DCPA par la méthode hydrothermale est l'une des techniques la plus décrite dans la littérature en raison de la diversité des précurseurs disponibles [64-66]. La variété des précurseurs utilisés dans cette méthode est assez large : pour les précurseurs de calcium, on utilise les réactifs conventionnels $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ et non conventionnels (CaCO_3) mais également des

précurseurs moins usuels comme $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ et $\text{Ca}(\text{OH})_2$ qui jouent le rôle de source de phosphore et de calcium, respectivement [66].

La synthèse hydrothermale utilise l'eau comme solvant dans des conditions de température et de pression élevées pour dissoudre et recristalliser des matériaux avec des microstructures contrôlées [67]. Les procédés de synthèse hydrothermale peuvent être classés en fonction de la température et de la pression dans le milieu réactionnel au point critique de l'eau ($T_c = 374\text{ °C}$ et $P_c = 22,1\text{ MPa}$). Le protocole opératoire typique pour la préparation du DCPA utilise des températures de préparation comprises entre 100 et 300 °C et des pressions entre 1 et 2 MPa ; ces conditions produisent des poudres de Monetite avec des morphologies et des tailles variées [64,66].

Les avantages de cette méthode sont la diversité des précurseurs qui permet de varier la morphologie et la taille de particules de DCPA à préparer, car les réactifs ont une grande influence sur la synthèse des phosphates de calcium [68]. En outre, cette méthode conduit à l'obtention d'une poudre fine ou parfois ultrafine, homogène et bien cristallisée [69]. Cependant, cette méthode présente certains problèmes tels que la durée de synthèse trop longue, les risques de contamination chimique et un travail fastidieux. En plus, la nécessité d'un équipement spécialisé et son application difficile à l'échelle industrielle. La **figure I.8** montre le schéma de synthèse hydrothermale et l'équipement correspondant.

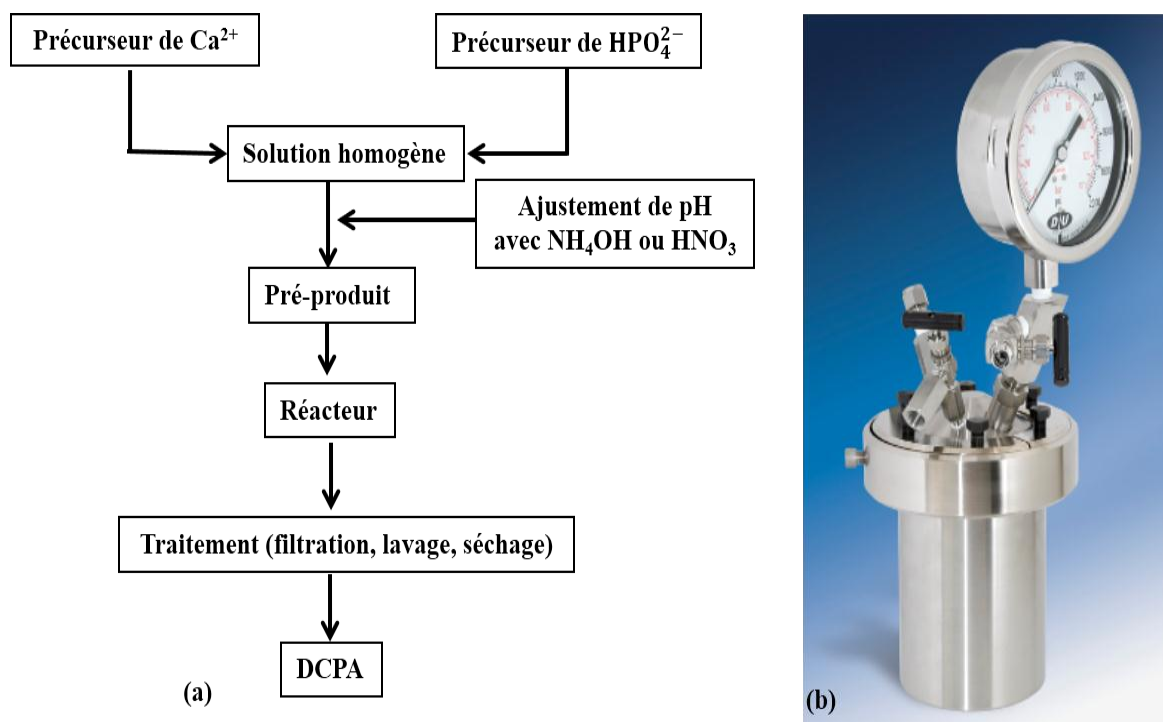


Fig. I.8 : Schéma de synthèse hydrothermale du DCPA (a) et Réacteur à pression (b)

I.2.2.4.3. Méthode mécano-chimique

La synthèse mécano-chimique, en tant que méthode simple de préparation de poudre a été conçue à l'origine pour des alliages renforcés par dispersion d'oxyde. Au cours des dernières décennies, il a été développé pour la préparation d'une large gamme de matériaux avancés, de composition métallique et non métallique [70]. Récemment, les carbonates biogéniques ont été convertis en phosphates de calcium par la méthode mécano-chimique. Le DCPA été synthétisé par activation mécanique et la régularité des réactions mécano-chimiques a été établie [71,72]. La synthèse mécano-chimique est une méthode simple, rapide et accessible pour la préparation des composés inorganiques [73]. Cependant, elle est moins connue comme méthode qui peut conduire à des particules nano-dispersées [74]. La taille des particules peut être contrôlée par la variation de la température et de la durée de traitement des mélanges activés par chauffage. La **figure I.9** représente le schéma de synthèse mécano-chimique du DCPA.

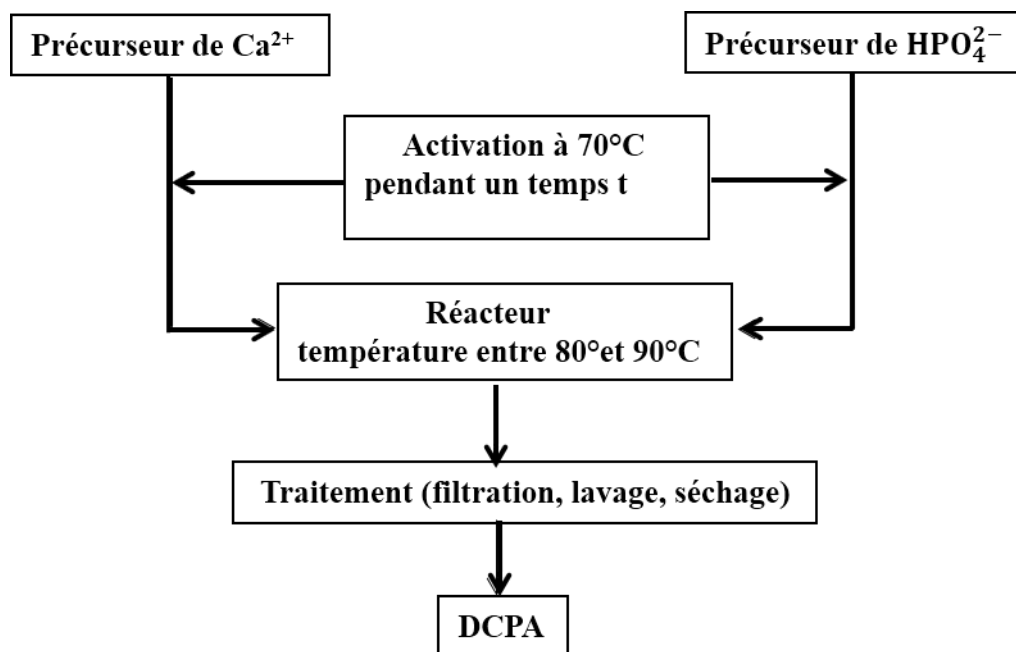


Fig. I.9 : Schéma de synthèse mécano-chimique du DCPA

I.2.2.5. Caractéristiques physico-chimiques du phosphate de calcium DCPA

I.2.2.5.1. Structure du phosphate dicalcique DCPA

La structure du phosphate de calcium DCPA est constituée de chaînes ondulées de motif $[\text{CaPO}_4]$, disposées parallèlement et reliées entre elles par des liaisons Ca-O. La maille primitive contient deux types de (PO_4) ainsi que trois différents protons H^+ [75]. La **figure I.10** montre une vue en perspective du réseau structural de DCPA.

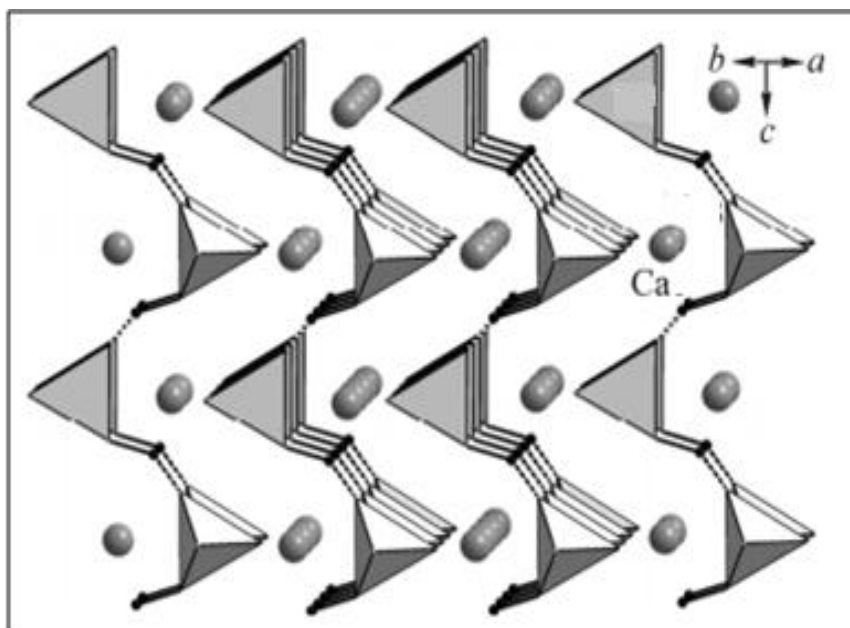


Fig. I.10 : Vue en perspective de la structure de DCPA [76]

L'étude structurale par diffraction des RX et des Neutrons a montré qu'à basse température (270-290K), la Monétite présente une transition de phase réversible (ordre/désordre) où seuls les atomes d'hydrogène sont impliqués [35]. Les phases dites basses et hautes températures appartiennent respectivement à deux groupes spatiaux différents $P1$ (centrosymétrique, pour la variété ordonnée) et $P\bar{1}$ (non centrosymétrique, pour la variété désordonnée). Sachant que le phosphate DCPA présente un faible effet piézoélectrique, son groupe spatial doit obligatoirement être non centrosymétrique [77]. Il en résulte alors qu'un proton se trouve statistiquement entre deux positions désordonnées comme cela est illustré dans la **Figure I.11**.

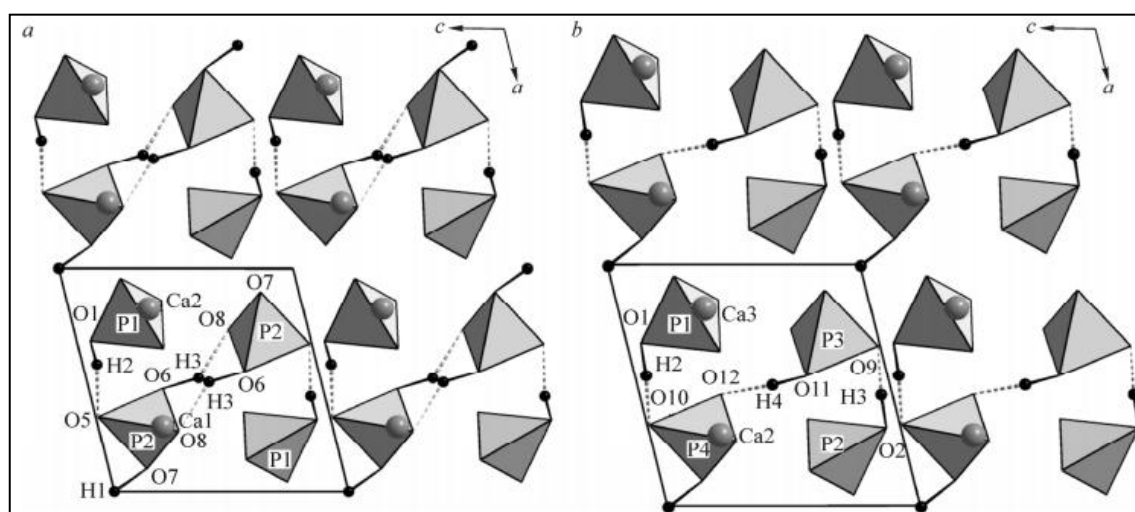


Fig. I.11 : Projection de la structure DCPA selon le plan normal pour les variétés ($P1$) et $P\bar{1}$ [76]

A l'ambiante, la Monetite cristallise dans un système triclinique (G.E. $P\bar{1}$) avec les paramètres cristallographiques [75] :

$$a = 6,910 \text{ \AA}, b = 6,627 \text{ \AA}, c = 6,998 \text{ \AA}, \alpha = 96,3^\circ, \beta = 103,8^\circ, \gamma = 88,3^\circ \text{ et } Z = 4$$

Le diagramme DRX du phosphate DCPA est représenté dans la **figure I.12**. Les positions des différents atomes sont consignées dans le **tableau I-3**.

Tableau I-3: Coordonnées atomiques de la structure de DCPA [78]

Atomes	x	Y	z
Ca (1)	0,2947	0,4353	0,2719
Ca (2)	0,1754	0,8373	0,6664
P (1)	0,2077	0,3790	0,7207
P (2)	0,2962	0,9436	0,2082
O (1)	0,3234	0,3322	0,9373
O (2)	0,3514	0,4919	0,6324
O (3)	0,1390	0,1806	0,5964
O (4)	0,0394	0,5228	0,7459
O (5)	0,3329	0,8363	0,0168
O (6)	0,4592	0,1042	0,3007
O (7)	0,0994	0,0673	0,1637
O (8)	0,2880	0,7917	0,3537
H (1)	0,0000	0,0000	0,0000
H (2)	0,4605	0,2588	0,9506
H (3)	0,5293	0,1160	0,4683

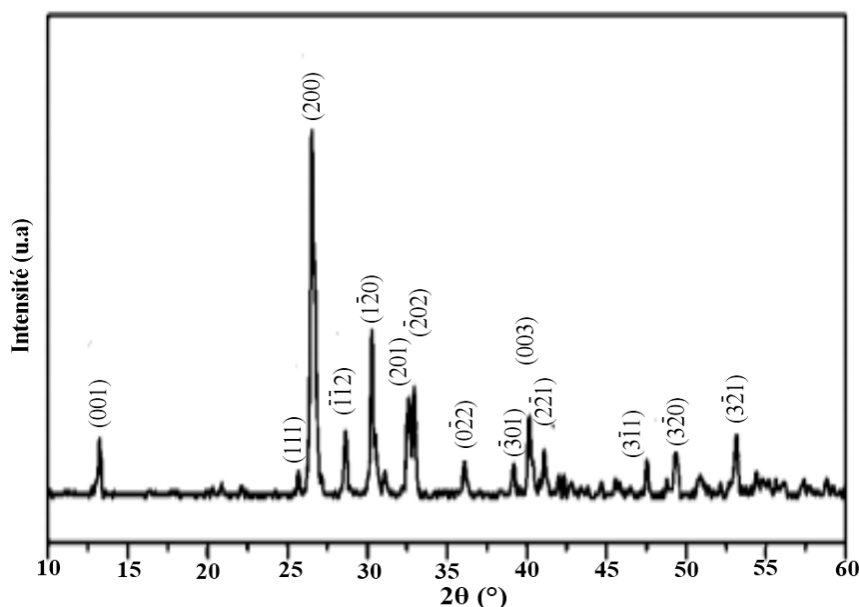


Fig. I.12 : Diagramme DRX du phosphate DCPA [55]

I.2.2.5.2. Spectroscopie IRTF

L'analyse par spectroscopie IRTF a permis de mettre en évidence les bandes de vibration de différents groupements existants dans le phosphate de calcium DCPA (**Figure I.13**).

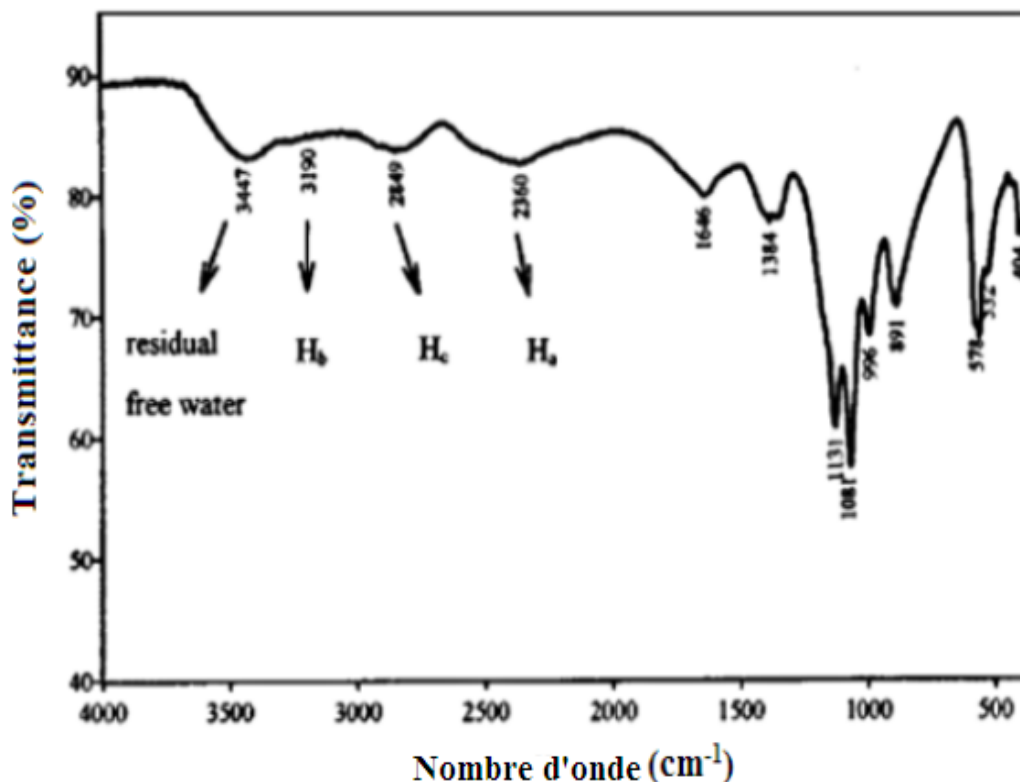


Fig. I.13 : Spectre IRTF de la Monétite CaHPO_4 [35]

Ainsi le spectre infrarouge montre, dans la région située entre 4000-2000 cm^{-1} , les bandes caractéristiques des vibrations d'élongation des liaisons O — H. La bande située vers 3447 cm^{-1} est relative à la liaison OH de l'eau physisorbée tandis que les trois autres bandes situées vers 3190, 2849 et 2360 cm^{-1} sont dues à la présence de trois types de liaisons O—H, en accord avec les résultats d'analyse par diffraction RX.

La deuxième région située entre 1700 à 400 cm^{-1} met en évidence les modes de vibration suivants :

- 1646 cm^{-1} : Vibration de déformation angulaire de l'eau H-O-H (H_2O)
- 1384 cm^{-1} : Déformation dans le plan des liaisons P-O-H
- Les quatre bandes entre 1170-996 cm^{-1} : Elongation des liaisons P-O
- 890 cm^{-1} : Elongation de la liaison P-O(H)
- En dessous de 600 cm^{-1} : Déformation des liaisons O-P-O(H) et O-P-O.

I.2.2.5.3. Spectrométrie RMN-MAS ^1H et RMN-MAS ^{31}P

L'analyse par spectroscopie RMN ^1H et RMN ^{31}P a permis de montrer la présence de trois types de protons H^+ dans la structure du phosphate de calcium DCPA (**Figure I.14**), ce qui est en concordance avec les analyses de diffraction RX et spectroscopie IRTF. La présence de trois pics en RMN-MAS ^{31}P avec des déplacements chimiques respectifs de -1,59 ; -0,36 et 1,26 ppm, met en évidence l'existence de trois types d'atome de phosphore non équivalents dans la structure du phosphate. En effet, la position désordonnée du proton H^+ dans la structure engendre une déformation des tétraèdres $[\text{PO}_4]$ et conduit donc à deux positions non équivalentes du phosphore. Le troisième phosphore étant exclu de cette déformation car le proton H^+ qui lui est lié se trouve dans un centre de symétrie.

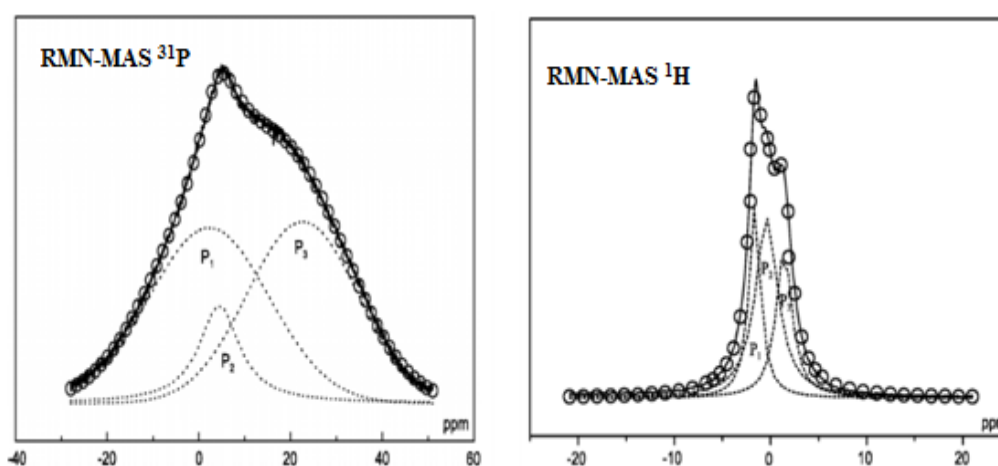


Fig. I.14 : Spectres RMN-MAS ^1H et RMN-MAS ^{31}P du DCPA [79]

I.2.2.5.4. Analyse thermique du phosphate CaHPO_4

Le traitement thermique du phosphate de calcium DCPA a été étudié par de nombreux auteurs [41,80]. En effet, il se décompose à température supérieure à 320°C en pyrophosphate de calcium $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ avec départ de l'eau, selon la réaction suivante :



Comme le montre la **figure I.6**, cette conversion thermique se produit de manière discrète suivant une réaction lente et irréversible. Elle a été qualifiée comme un processus de déshydratation-condensation suivit d'une réorganisation brutale de l'environnement de l'atome de phosphore [81]. Le solide ainsi formé est de structure faiblement cristalline et de formule $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. A température plus élevée, le pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ se transforme en $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ vers 750°C et enfin en $\alpha\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ à température supérieure à 1000°C [21].

I.3. Les pyrophosphates de calcium anhydre (Ca/P=1)

I.3.1. Présentation des pyrophosphates de calcium

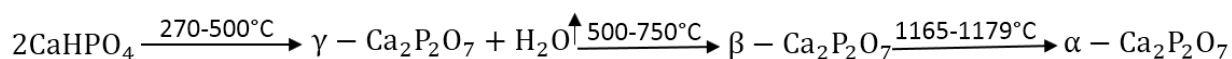
Les pyrophosphates de calcium sont des composés renfermant dans leurs formulations chimiques des anions $P_2O_7^{4-}$. Ce sont des matériaux insolubles et stables par rapport aux orthophosphates de calcium. Dans la littérature, plusieurs formes ont été rapportées, il y a la forme anhydre $Ca_2P_2O_7$ qui présente plusieurs variétés allotropiques et il y a également deux autres formes hydratées : Le dihydrate $Ca_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$ et le tétrahydrate $Ca_2P_2O_7 \cdot 4H_2O$. Ces deux dernières formes ont été trouvées dans le corps humain et jouent le rôle de réservoir d'apport de phosphates [82]. Leur présence en excès et leur accumulation dans les cartilages provoquent plusieurs maladies articulaires sévères telles que la pseudo-goutte et l'arthrose [83]. Le pyrophosphate anhydre $Ca_2P_2O_7$ est couramment utilisé comme agent abrasif doux dans les dentifrices [84].

I.3.2. Stabilité des pyrophosphates

Les pyrophosphates de calcium anhydres sont stables thermiquement et résistants aux attaques chimiques. Toutefois, les formes hydrates possèdent une faible stabilité hydrolytique. Ainsi, toutes les liaisons P-O-P des pyrophosphates ; sous conditions appropriées peuvent subir une hydrolyse en hydrogéo-phosphates (DCPD) et celui-ci s'hydrolyse en HAp en milieu alcalin [85]. Les orthophosphates de calcium (Ca/P=1) perdent leurs molécules d'eau à des températures supérieures à 400 °C [86].

I.3.3. Synthèse des pyrophosphates de calcium anhydres

Les pyrophosphates de calcium anhydres, $Ca_2P_2O_7$ (CPP) peuvent être préparés par décomposition thermique du phosphate dicalcique dihydraté, $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ (Brushite, DCPD), ou du phosphate dicalcique anhydre, $CaHPO_4$ (Monetite, DCPA). Trois polymorphes sont connus : γ -CPP est formé à partir de DCPA à des températures relativement basses, entre 270-500 °C, β -CPP est formé à partir de γ -CPP dans la gamme de 500-750 °C, et β -CPP se transforme à haute température (> 1150 °C) en α -CPP [87]. La réaction de décomposition du phosphate dicalcique anhydre DCPA est la suivante [21] :



Peu de données cinétiques ont été obtenues et beaucoup sont controversées. Par exemple, l'énergie d'activation pour la transformation du DCPA en γ -CPP a été rapportée avec une valeur

égale à 205 kJ mol⁻¹ [80] et à 135 kJ mol⁻¹ [87]. La poudre synthétisée par voie sèche souffre d'une inhomogénéité stœchiométrique et d'une large distribution granulométrique [88].

I.3.4. Propriétés physico-chimiques des pyrophosphates de calcium

I.3.4.1. Structure cristalline

La forme allotropique γ du pyrophosphate de calcium est une phase intermédiaire formée lors de la déshydratation du phosphate de calcium DCPA. Sa structure probable est le résultat de la déshydratation aléatoire du CaHPO₄. Elle est donc sous forme d'enchaînement en plans des ions $P_2O_7^{4-}$ et Ca^{2+} en absence d'une régularité suivant l'axe c [21]. En d'autres termes, la forme γ -Ca₂P₂O₇ est un état de minimum énergie dans lequel les anions $P_2O_7^{4-}$ sont liés aux cations Ca^{2+} suivant une orientation tridimensionnelle aléatoire. Par application d'un chauffage progressif, cette structure s'organise pour conduire à la forme allotropique stable β -Ca₂P₂O₇.

La structure cristalline du β -Ca₂P₂O₇ est sous forme d'une chaîne ondulée de groupements pyrophosphates [$P_2O_7^{4-}$] et de [Ca^{2+}] dont lesquelles la maille contient quatre groupements $P_2O_7^{4-}$ reliés aux quatre ions Ca^{2+} en configuration éclipsée (**figure I.15**). La forme β -Ca₂P₂O₇ cristallise dans un système quadratique avec le groupe spatial $P4_1$. A l'issu d'un chauffage supplémentaire supérieur à 1150 °C, le β -Ca₂P₂O₇ se transforme en α -Ca₂P₂O₇. Celui-ci présente une structure monoclinique (groupe d'espace $P2_1/n$). Les paramètres cristallographiques de ces deux variétés sont groupés dans le **tableau I-4**.

Tableau I-4: Paramètres cristallographiques des pyrophosphates de calcium [89]

Variété	a (Å)	b (Å)	c (Å)	β (°)	Groupe d'espace	Nombre de coordination
β -Ca ₂ P ₂ O ₇	6,684	6,684	24,144	90,0	$P4_1$	8
α -Ca ₂ P ₂ O ₇	12,660	8,542	5,315	90,3	$P2_1/n$	4

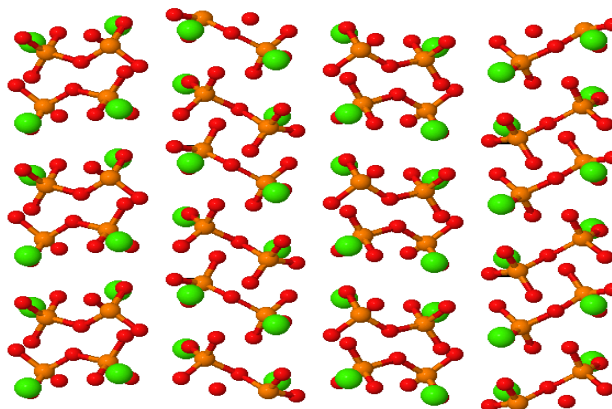


Fig. I.15 : Représentation spatiale de la structure β -Ca₂P₂O₇ [90]

Les diagrammes DRX des différentes variétés de pyrophosphates de calcium sont reportés dans la **figure I.16**.

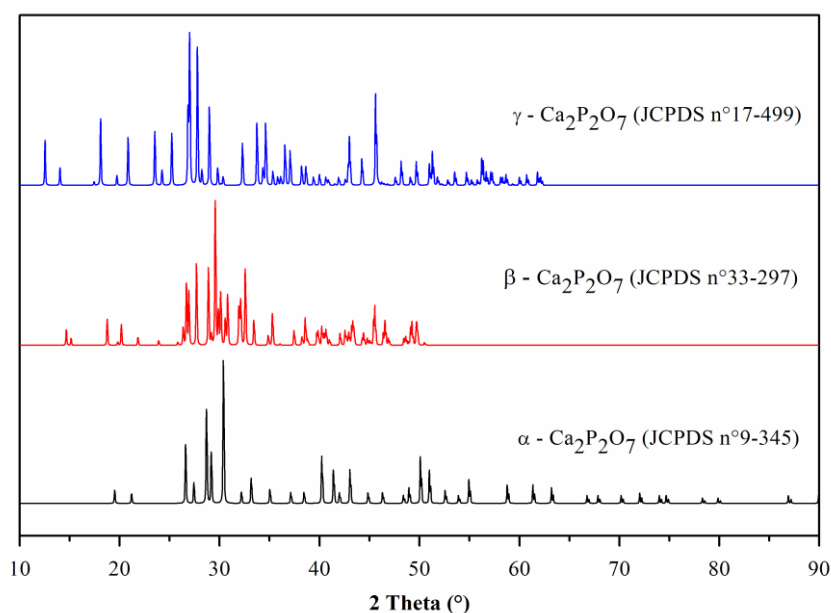


Fig. I.16 : Diagrammes DRX du α , β et γ - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ [91]

I.3.4.2. Spectroscopie IRTF

L'analyse par spectroscopie infrarouge IRTF des différents pyrophosphates de calcium est caractérisée par les vibrations typiques d'élongation et de déformation du pyrophosphate observées à 1215-941 et 723 cm^{-1} respectivement. Les bandes à 613-494 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations de déformation du phosphate [92]. La **figure I.17** représente les spectres IRTF des différentes formes de CPP.

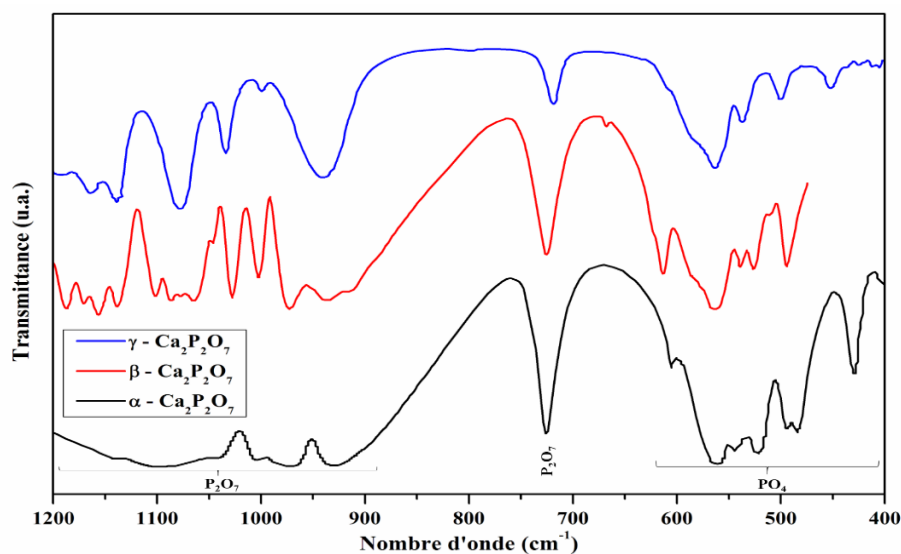


Fig. I.17 : Spectres IRTF du α , β , γ - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ [91]

I.4. Quelques applications des phosphates de calcium (Ca/P=1)

Les phosphates de calcium jouent un rôle fondamental dans plusieurs domaines technologiques, notamment la médecine, la biologie et en sciences des matériaux, en raison de leurs remarquables propriétés physico-chimiques engendrées par la diversité de leurs compositions et structures [5,86]. L'incorporation par dopage ou par substitution de cations métalliques dans la structure des phosphates de calcium leur confère d'autres voies d'applications, comme matériaux pour l'optique ou présentant des propriétés électriques intéressantes [93].

Les phosphates de calcium constituent environ 70% du tissu osseux humain et peuvent donc être utilisés comme des biomatériaux de choix pour l'implantation et la réparation des os endommagés. Les biomatériaux à base de phosphate de calcium ont été utilisés pour la première fois en 1920 pour traiter les fractures [9]. A partir de 1970, ils ont été largement utilisés comme biomatériaux en orthopédie et en chirurgie dentaire [2]. Les nanoparticules de phosphates de calcium ont été utilisées dans la délivrance de biomolécules (ADN, ARN ainsi que d'autres oligonucléotides) dans le corps ou également dans les cellules [94,95]. La stabilité des phosphates de calcium dans les solutions aqueuses est étroitement liée à leurs structures, leurs compositions et leurs solubilités. Elle dépend des interactions en surface, leurs transformations selon le pH du milieu. Un exemple d'application classique du concept de stabilité est la mise au point de ciments au phosphate de calcium à prise automatique [86].

Grace à leurs indéniables propriétés d'adsorption, les phosphates de calcium ont également servi en chromatographie pour la séparation des biomolécules comme l'acide nucléique [95]. Les orthophosphates de calcium de rapport molaire Ca/P=1 ont été utilisés dans les applications environnementales, dans la dépollution des eaux par les polluants inorganiques tels que les métaux lourds et les métaux divalents [96,97], les anions par exemple les fluorures [98], mais également les polluants organiques comme les pesticides [99]. Ils ont aussi montré leur efficacité dans le traitement des sols pollués [100].

En outre, les phosphates dicalcium ont des propriétés superficielles très remarquables et font d'eux des bons catalyseurs hétérogènes essentiellement dans les réactions faisant intervenir les processus acido-basiques de surface [101]. Ils se sont avérés de bons conducteurs ioniques à cause de la présence dans leurs structures des protons H^+ très labiles. A cela, s'ajoute les remarquables propriétés électriques que peut offrir le phosphate Monetite de groupe d'espace non centro-symétrique [77]. Aux cours de ces dernières décennies, leurs propriétés physico-chimiques, biologiques et leur stabilité thermique ont incité les chercheurs vers la recherche et le

développement des méthodes d'élaboration des matériaux dérivées dans la technologie avancée [34,86]. Les pyrophosphates sont aussi très utilisés dans la technologie avancée comme agents luminescents, photoluminescents ou fluorescents [93,102].

Bien qu'il soit difficile de citer de manière exhaustive toutes les applications des matériaux de phosphates de calcium, nous pouvons néanmoins, les regrouper dans trois grandes catégories suivantes : domaines d'agriculture et agroalimentaire, domaines médical et pharmaceutique, et les domaines de technologie et de l'industrie chimique. Le **tableau I-5** regroupe quelques applications des phosphates dicalciques anhydre et dihydraté.

Tableau I-5: Domaines d'applications des phosphates de calcium (Ca/P=1)

Domaines	Applications	Références
Agro-alimentaires	- Fabrication des engrais et fertilisants	[1,5]
	- Additif Alimentaire et régulateur de pH	[1,5]
	- Supplément alimentaire calcique (bétails, volailles, etc)	[1,5]
	- Emulsifiant (food additive number : E 341 pour l'UE et E 540 (boissons gazeuse et charcuterie) et Conditionneur de pate dans l'industrie alimentaire	[1,5, 8]
Médicale et pharmaceutique	- Préparation des ciments des implants squelettique et dentaire (Fabrication de prothèses dentaire et osseuses)	[8,31,33]
	- Matériaux d'ingénierie tissulaires (bioactifs et biorésorbables)	[1,33,84]
	- Agent polissant des pates dentifrices	[1,5]
	- Excipient des médicaments et adjuvant vaccinaux	[8]
	- Support de médicament et délivrance de principe actif	[1,5]
Technologie et industrie	- Conducteur protonique et agent antiagglomérant	[79]
	- Fabrication de batterie et pile combustible	[79]
	-Retardateurs de flamme	[79]
	- Adsorbants	[96-100]
	- Luminophores dans les tubes fluorescents	[93,102]
Sciences et techniques	- Fabrication de verres et porcelaines à caractères spéciaux	[103]
	- Colonne chromatographique et transfert des nucléides	[95]
	- Inhibiteur de corrosion et Catalyseurs	[1, 101]

CHAPITRE II:

Les nanoparticules métalliques dans la catalyse environnementale

Le présent chapitre regroupe des informations générales sur les nanoparticules métalliques, leurs intérêts et leurs propriétés physico-chimiques. Il décrit aussi les principales techniques de synthèse des nanoparticules métalliques ainsi que les techniques physiques permettant de les caractériser. Plusieurs applications des nanoparticules métalliques sont reportées dans la littérature. Nous nous sommes intéressés essentiellement à quelques-unes liées aux domaines de la catalyse environnementale et de la médecine. En effet, l'utilisation des nanoparticules métalliques dans la catalyse environnementale a suscité une attention accrue ces dernières années en raison de leurs structures contrôlées et de leurs uniques propriétés physico-chimiques. Dans ce qui suit, nous exposerons quelques applications catalytiques environnementales en phase liquide, en particulier la dégradation des polluants organiques. Les nanoparticules ont également été utilisées dans le domaine de la microbiologie pour évaluer leurs activités biologiques. Ils ont prouvé une grande efficacité vis-à-vis de certaines bactéries dans différents milieux de culture, supérieures à celles obtenues avec les antibiotiques commerciaux.

II.1. Définition

On définit les nanoparticules métalliques (MNPs) comme étant de la matière à l'échelle nanoparticulaire ayant une ou plusieurs dimensions, de diamètre nominal moins de 100 nm. Ce sont des nano-objets présentant des tailles inférieures à celle d'une cellule humaine. Cette définition décrit ; en fait ; un sous ensemble de l'échelle colloïdale, comme le montre la figure II.1.

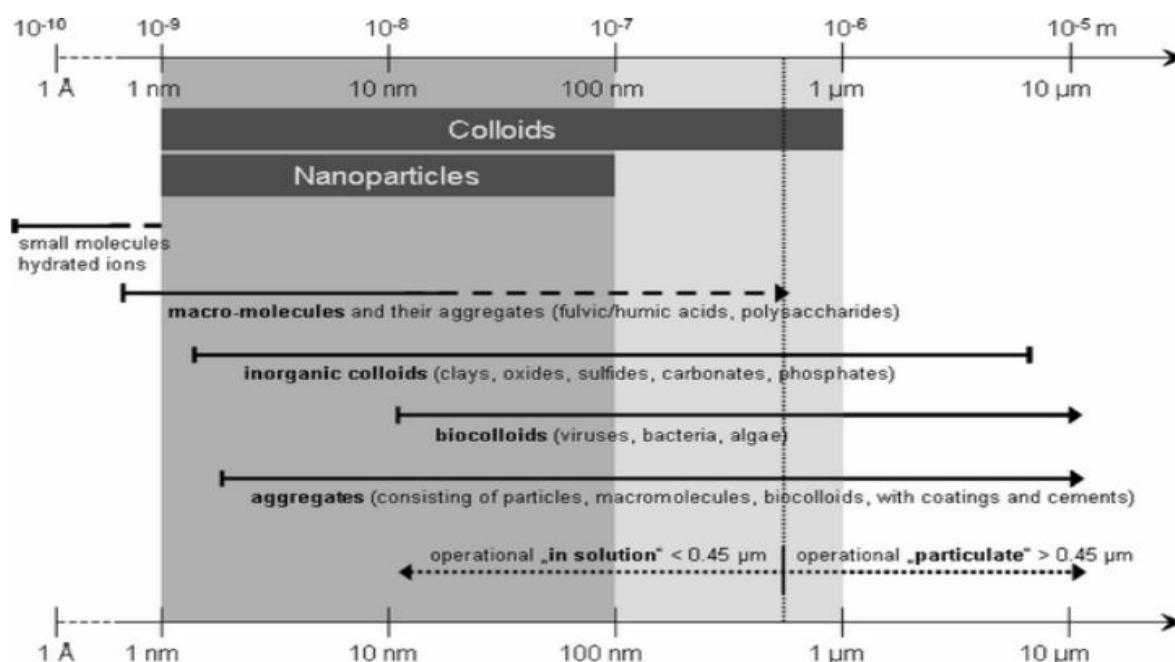


Fig. II.1 : Taille des nanoparticules (NP) et des colloïdes [104]

Les nanoparticules métalliques (MNPs) existent dans la nature et sont produites non intentionnellement dans les fumées des gaz et lors des éruptions volcaniques. Actuellement, elles sont fabriquées pour être utilisées dans de nombreux domaines technologiques.

II.2. Classification des nanoparticules métalliques (MNPs)

Les nanoparticules métalliques peuvent être classées en fonction de leurs dimensions, de leurs compositions chimiques et de leurs applications [105].

- Selon leurs dimensions : les nanoparticules existent sous forme de particules de dimension zéro (0D), dimension un (1D) et dimension 2 (2D). La figure II.2 montre les différentes structures existantes des MNPs. Les nanoparticules à 0D, telles que les nanosphères et nanoclusters, sont inférieures à 100 nm dans toutes les dimensions. Les MNPs à 1D, telle que les nanotiges sont inférieurs à 100 nm dans au moins une dimension. Les MNPs à 2D sont des films par exemples le disulfure de molybdène et germanium (un cristal monocouche composé de germanium d'une épaisseur inférieure à 100 nm). Les propriétés physiques des nanoparticules métalliques sont par exemple modifiées lorsque la forme des nanoparticules évolue d'une sphère à une tige ou un nanofil.

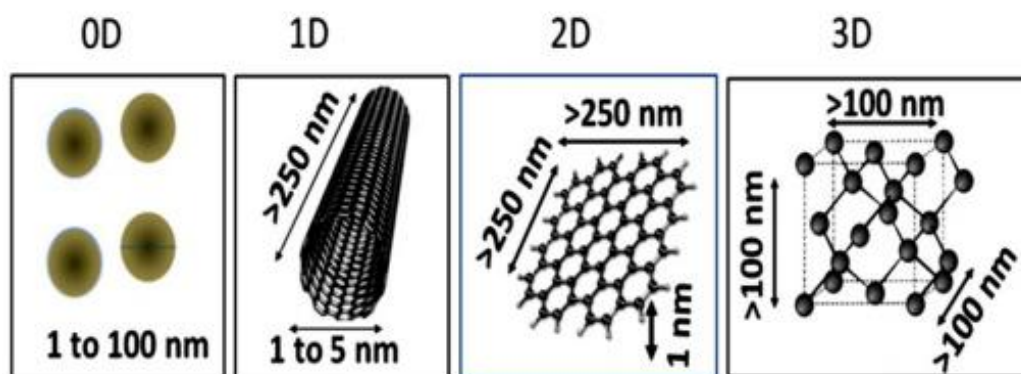


Fig. II.2 : Structures des MNPs déterminées par la taille de leurs éléments structuraux. 0D: zéro dimensionnel ; 1D: unidimensionnel ; 2D: bidimensionnel ; 3D: 3 dimensions [105]

- Selon leurs compositions chimiques : Les MNPs sont classées en deux catégories, les métaux comme AgNPs, AuNPs, CuNPs, etc et les oxydes métalliques comme CuONPs, ZnONPs, etc. Les nanoparticules métalliques sont des assemblages plus ou moins ordonnés d'atomes métalliques possédant une taille de l'ordre du nanomètre. Leurs structures atomiques et électroniques dépendent de leurs tailles et présentent une évolution intermédiaire entre les deux états extrêmes de la matière, l'atome et le solide massif, ce qui entraîne l'apparition de propriétés physiques (magnétiques, optiques, etc...) et chimiques (réactivité de surface, catalyse...) très originales différentes de celles observées habituellement dans les matériaux à l'état massif.

- Classification des nanoparticules selon leurs applications : Les MNPs sont actuellement utilisées dans des domaines très variés comme la médecine, l'assainissement de l'environnement, la cosmétique, la photonique, l'électronique et dans le stockage de l'énergie.

Il existe une autre classification des structures de nanoparticules proposée en 2007 par Buzea et al. [106], basée sur un classement en fonction des dimensions des nanoparticules en trois catégories : la première comprend les films minces et les revêtements de surface inférieurs à 100 nm ; la deuxième comprend les revêtements épais et les filtres nanoporeux et la troisième englobe les nanoparticules sous forme compacte de structure polyédrique ou sphéroïde. Cette dernière structure peut être simple (nanoparticule libre) ou plus complexe, formées des agrégats ou des clusters.

II.3. Intérêt et propriétés physico-chimiques des MNPs

II.3.1. Intérêt

L'intérêt croissant porté aux systèmes nano-dimensionnels appelés aussi nanomatériaux provient des propriétés physiques et chimiques particulières que possèdent les nanoparticules métalliques qu'elles forment. En raison de leurs petites tailles, de leurs grandes surfaces par rapport au volume, les nanoparticules métalliques possèdent des propriétés électroniques, mécaniques, magnétiques et chimiques uniques, différentes de façon mesurable de celles de leur analogue macro-dimensionnelle [107]. En effet, la surface d'interaction des nanoparticules avec leur environnement est plus conséquente et produit une réactivité potentiellement plus importante. Pour ces raisons, les nanoparticules métalliques ont trouvé des applications dans différents domaines, en particulier dans la nano-médecine pour un usage à la fois diagnostique et thérapeutique.

II.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés des nanoparticules métalliques sont surtout influencées par leurs tailles, leurs morphologies, leurs degrés de cristallinité et leurs compositions chimiques. Cependant un contrôle judicieux de ces paramètres est très difficile. Par conséquent, les propriétés des nanoparticules d'un même matériau peuvent être différentes selon les méthodes de synthèse mises en œuvre [108].

II.3.2.1. Propriétés morphologiques et structurales

A l'échelle nanométrique, le rapport surface/volume (S/V) augmente et joue un rôle prédominant dans les propriétés mettant en jeu des échanges à l'interface entre l'objet considéré et son milieu environnant. L'augmentation du rapport S/V confère aux MNPs des propriétés

catalytiques spéciales, induites par les effets de surface. L'énergie de surface devient de plus en plus importante et peut entraîner un changement de structure cristallographique des particules pour laisser le système dans un état avec une énergie surfacique plus faible [107].

II.3.2.2. Propriétés physiques

Les nanoparticules métalliques présentent des caractéristiques physiques et chimiques différentes des métaux massifs, telles que la surface totale plus élevée et un point de fusion plus faible. Les propriétés physiques et chimiques des nanomatériaux dépendent non seulement de leurs compositions mais également de la taille et de la forme des particules [109].

II.3.2.3. Propriétés catalytiques

La capacité des MNPs d'être des catalyseurs dans un système spécifique dépend de leurs natures chimiques et de leurs propriétés de surface. L'efficacité de MNPs est liée à son mode de préparation. Elle est essentiellement due au degré de perfection du réseau cristallin et aux propriétés semi-conductrices (lacunes, atomes en positions interstitiels, etc...).

II.3.2.4. Propriétés électroniques et optiques

Les propriétés optiques et électroniques des NP sont interdépendantes dans une plus large mesure. Les nanostructures métalliques sont bien connues pour produire des couleurs, en raison de leurs fortes absorptions de lumière et de leurs diffusions dans la région visible du spectre comme le montre la figure **II.3 (a)**. Cet effet est induit par l'un des types d'interactions les plus importants des nanoparticules métalliques avec le champ électromagnétique. Les métaux sont caractérisés par la présence d'électrons libres, qui peuvent être favorisés par des transitions intra-bandes pour libérer les niveaux d'énergie ou à des niveaux libres d'une bande de recouvrement vide, par l'absorption de photons de basse énergie. Un champ électromagnétique incident peut provoquer des oscillations collectives de ces électrons libres [110,111]. De telles oscillations deviennent rapidement résonnantes avec le champ électromagnétique, et l'énergie du rayonnement entrant est absorbée puis transformée en chaleur (absorption) et de nouveau en lumière (diffusion). Ces oscillations collectives et cohérentes d'électrons provoquent un déplacement des électrons des noyaux, conduisant à la formation de diverses distributions possibles dans les charges de surface (Figure **II.3 (b)**). Ce phénomène crée à son tour des interactions de Coulomb entre les charges positives et négatives, ce qui induit des forces d'oscillation restantes agissant sur ces électrons libres. Chaque type de distribution de charge de surface est caractérisé par un mode d'oscillation collective, également appelé résonance plasmonique de surface localisée (LSPR) [111]. La bande

dite LSPR a lieu lorsque la fréquence de la lumière entre en résonance avec des oscillations collectives d'électrons qui peuvent produire une forte absorption et une diffusion de la lumière incidente (figure II.3 (c)).

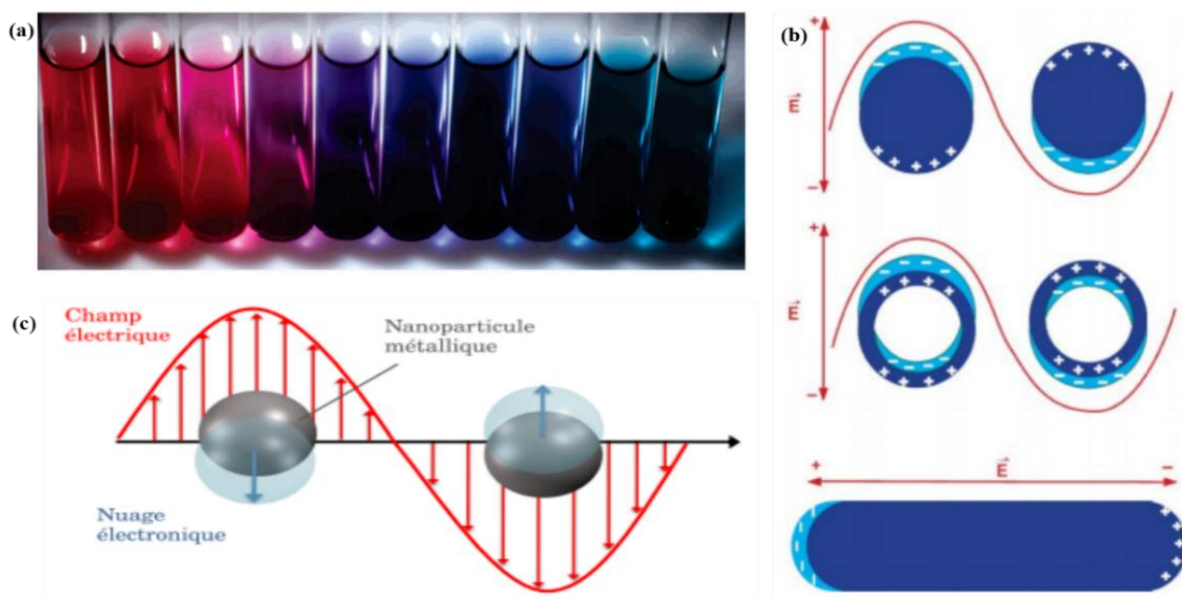


Fig. II.3 : (a) Flacons à l'extrême gauche contenant des nanoparticules d'or et les six autres à droite contiennent des NPs creuses de diamètres et épaisseurs de paroi différents [111] ; (b) Illustration schématique de la résonance plasmonique de surface dans des nanoparticules sphériques (en haut), des nanosphères creuses (au milieu) et des nanotiges (en bas) dans un champ de lumière polarisée. Pour les nanotiges, seul le mode longitudinal est représenté. Le mode transverse est essentiellement le même que dans les nanoparticules sphériques [111] ; et (c) Schéma de l'oscillation plasmonique pour une nanoparticule métallique, montrant le déplacement du nuage de charge d'électrons de conduction par rapport aux noyaux [108]

Les nanoparticules métalliques présentent un comportement optique intéressant connu sous le nom de résonance plasmonique de surface (SPR) lorsque le diamètre des nanoparticules devient comparable ou inférieur à la longueur d'onde de la lumière incidente. Ce comportement dépend de la taille, de la forme ainsi que de l'environnement diélectrique des nanoparticules métalliques. Sa fréquence de résonance dépend de la géométrie de la NP et du matériau qui la compose. Si le métal est un très bon conducteur (cas des métaux nobles), la distribution de charge ainsi produite permet d'annuler le champ interne dans la particule et provoque une augmentation du champ à l'extérieur près de la surface de cette dernière [112].

Il existe plusieurs facteurs qui influencent les différents types des bandes SPR possibles dans la nanostructure et les fréquences auxquelles ils sont observés. D'autres types d'interactions de nanoparticules métalliques avec le rayonnement électromagnétique sont : (1) Les processus d'absorption dus aux transitions électroniques des électrons liés entre les bandes occupées et les

bandes libres (transitions inter-bandes) ; (2) Les processus de diffusion dus aux accélérations d'électrons dans les nanostructures causées par le rayonnement électromagnétique, ce qui conduit à un rayonnement isotrope. Les transitions électroniques inter-bandes dans les nanoparticules métalliques sont plutôt insensibles à la taille des particules (sauf dans le cas des amas métalliques inférieurs à 2 nm, constitués de quelques atomes), et sont situées à haute énergie (par exemple supérieure à 3,8 eV dans les nanoparticules d'argent) [111].

Pour les nanoparticules de diamètres compris entre 10 et 30 nm, l'effet dominant dans le visible est l'excitation des modes plasmon. Dans ce régime de taille, et dans le cas simple des nanoparticules sphériques, un seul mode plasmonique de caractère dipolaire est excité et sa longueur d'onde est indépendante de la taille des particules, mais dépend fortement de la fonction diélectrique du milieu environnant, ainsi que de la largeur de la bande de résonance plasmonique qui reste faiblement corrélée avec la taille. Pour les particules inférieures à 10 nm, taille significativement plus petite que le libre parcours moyen des électrons, les électrons libres entrent en collision fréquemment avec la surface des nanoparticules, ce qui conduit à un élargissement de la bande de résonance plasmon due aux effets de déphasage. A des tailles supérieures à 30 nm, d'autres effets deviennent non négligeables, ce qui conduit à un élargissement et une perte d'intensité de la bande plasmonique, ainsi qu'à un décalage spectral vers les faibles longueurs d'onde. Pour les tailles supérieures à 100 nm, les propriétés optiques des particules sont dominées par la diffusion de la lumière [111].

II.3.2.5. Propriétés magnétiques

Le superparamagnétisme est le terme utilisé pour décrire l'absence de coercivité et d'aimantation rémanente dans les particules qui maintiennent encore une quantité considérable de spins polarisables sous l'effet d'un champ magnétique externe [113,114]. Le moment magnétique par atome augmente lorsque la taille des particules diminue. Cette augmentation est attribuée à la diminution des distributions en énergie des états à l'échelle nanométrique. Les effets d'hybridation des orbitales sont réduits et les largeurs de bandes sont plus faibles dans une nanostructure par rapport à l'état massif, si bien que la densité d'état au niveau de Fermi augmente en entraînant une augmentation de la valeur du moment magnétique. Les propriétés magnétiques des nanoparticules métalliques sont exploitées actuellement dans le domaine de l'électronique et dans le stockage de l'information [114,115]. Les nanoparticules magnétiques intéressent aussi les chercheurs d'un éventail ouvert des disciplines, dont la catalyse hétérogène et homogène, la biomédecine, les fluides magnétiques, l'imagerie par résonance magnétique (IRM), l'assainissement de

l'environnement, la décontamination de l'eau et aux techniques de biodétection et de bioséparation [114,116].

II.3.2.6. Propriétés mécaniques

Différents paramètres mécaniques tels que le module d'élasticité, la dureté, la contrainte et la déformation, l'adhérence et la friction ont été étudiés pour connaître la nature mécanique exacte des nanoparticules. En plus de ces paramètres, le revêtement de surface, la coagulation, la lubrification, etc. améliorent également les propriétés mécaniques des NPs. Les NP montrent des propriétés mécaniques dissemblables par rapport aux microparticules et à leurs matériaux massifs [117].

II.4. Méthodes de synthèse des nanoparticules métalliques

Plusieurs méthodes sont employées pour la synthèse des MNPs et peuvent être regroupées en deux catégories principales [118]: (1) Approche ascendante et (2) Approche descendante comme indiqué dans la figure II.4. Ces approches se répartissent elles aussi en diverses sous-classes selon les conditions de réaction et les protocoles adoptés.

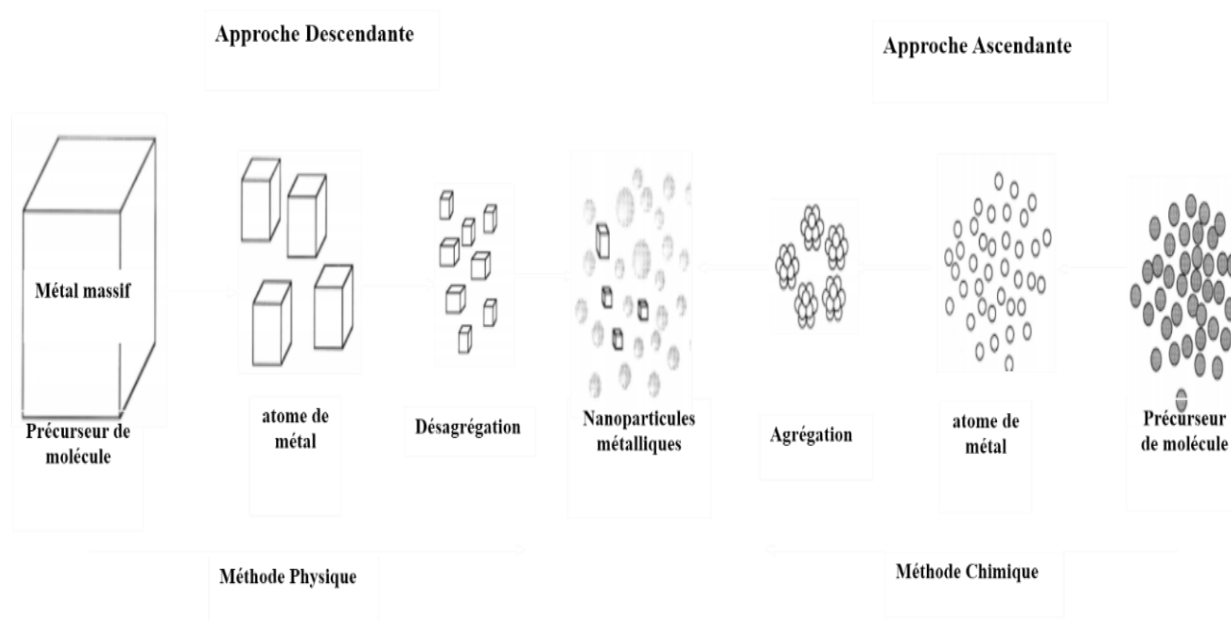


Fig. II.4 : Les deux principales voies de préparation des nanoparticules métalliques [119]

II.4.1. Approche descendante

Dans cette technique, une approche destructive est employée. Les plus grandes molécules se décomposent en unités plus petites qui ensuite vont se convertir en NPs appropriés. Elle repose sur la fragmentation de la matière par application d'une contrainte physique. La méthode descendante peut être divisée en trois grandes catégories telles que le processus physique (broyage

à haute énergie), le processus physico-chimique (broyage mécano-chimique) et l'alliage mécanique [119,120]. Parmi les plus fréquentes, on retrouve la méthode mécanique (broyage), la méthode thermique ou encore la méthode irradiante (ablation laser). Les exemples de cette méthode sont le broyage/fraisage, gravure chimique, pulvérisation cathodique, ablation laser, électro-explosion et d'autres techniques de décomposition [120]. L'inconvénient majeur de cette approche est le coût élevé de ces techniques avec notamment l'utilisation d'appareillage très coûteux ainsi que la nécessité de grande quantité d'énergie.

II.4.2. Approche ascendante

Cette approche est utilisée à l'inverse, car les NPs sont formées à partir de substances relativement plus simples, c'est pourquoi cette approche est également appelée méthode de construction. Elle consiste à produire ou à assembler des atomes en nanostructures et sont en général des méthodes chimiques. Les méthodes chimiques dites ascendantes consistent ; le plus souvent ; en la réduction chimique d'un sel de précurseur métallique en présence d'un solvant. Cette procédure permet l'obtention d'atomes de valence nulle (M^0) qui, après coalescence et croissance, forment des assemblages de quelques dizaines de nanomètres. Les méthodes ascendantes paraissent plus intéressantes car elles permettent un bon contrôle des tailles et formes des nanoparticules métalliques, fortement recommandées dans la plupart des applications technologiques. La réduction chimique permet ainsi d'obtenir des résultats reproductibles et plus faciles à mettre en œuvre. Cette approche comprend la réduction chimique, le sol-gel, la synthèse verte, la synthèse biochimique, etc. [120].

Bien que les méthodes chimiques soient relativement faciles à mettre en œuvre, l'inconvénient majeur réside dans la modification importante des propriétés des nanostructures par leur environnement. En effet, elles sont en général plus liées à la matrice hôte (chimisorption) que des matériaux obtenus par des « méthodes physiques ». De plus, la topologie finale est régie par les conditions d'équilibre chimique et il n'est pas toujours évident de contrôler de manière indépendante la taille, la forme et la composition des nanostructures.

Les nanoparticules métalliques peuvent être préparées dans différents milieux réactionnels. Elles peuvent en effet être préparées en milieu aqueux, organique ou dans des liquides ioniques [121]. En plus, ces nanoparticules peuvent rester en suspension dans le milieu ou être déposées sur différents supports soit par imprégnation ou soit par adsorption. Au cours de la synthèse des NPs, on distingue deux étapes : la nucléation et la croissance. La nucléation est la formation des germes cristallins ou nuclei, qui correspondent aux premiers atomes réduits, tandis que la croissance

correspond au développement progressif d'atomes ou de groupes d'atomes sur les noyaux (ou germes) déjà existants. Le défi majeur de ce type de synthèse est la cinétique des étapes réactionnelles de nucléation et de croissance qui n'est pas souvent facile à contrôler.

On peut aussi regrouper les procédés de synthèse selon les différents mécanismes responsables de leurs formations [122] : les procédés chimiques, les procédés physiques et les procédés biologiques. Les méthodes de synthèse typiques pour les nanoparticules métalliques (MNPs) pour les deux approches (descendante et ascendante) sont regroupées dans la figure II.5.

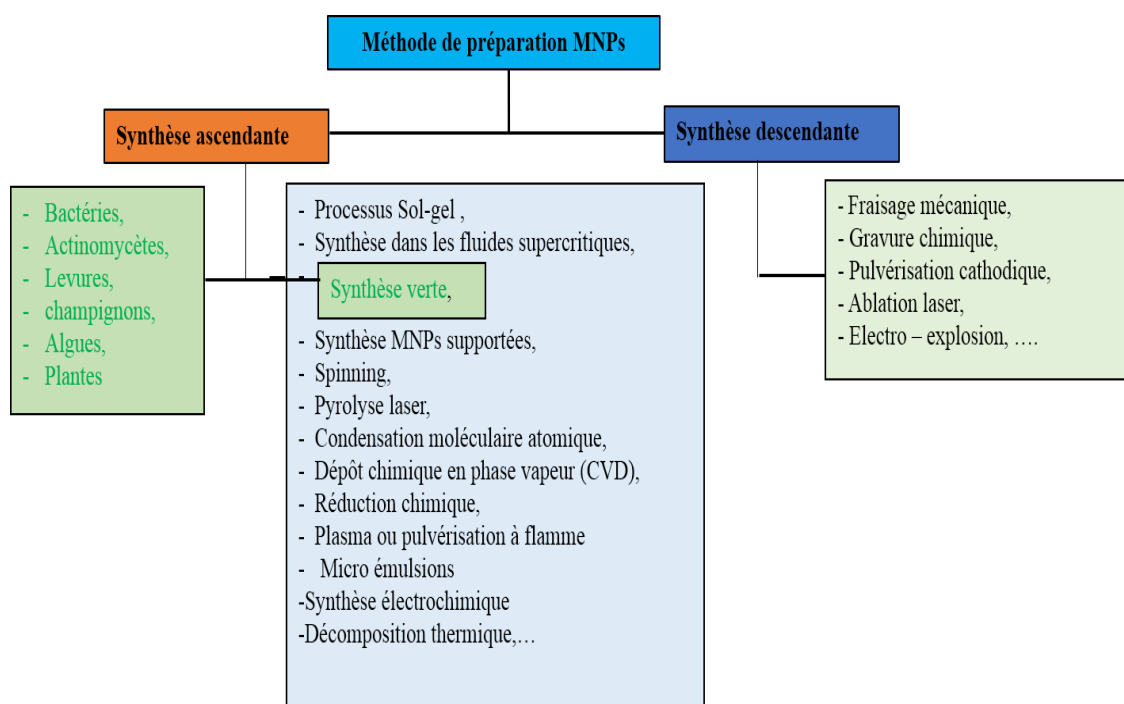


Fig. II.5 : Méthodes typiques de synthèse des MNPs [120]

II.4.2.1. Synthèse des nanoparticules métalliques colloïdales

Pour obtenir des nanoparticules métalliques dispersées en phase liquide, il existe plusieurs méthodes mais nous décrivons quelques-unes des plus couramment utilisées pour la réduction de métaux allant de la décomposition à la réduction chimique de complexes ou sels métalliques. Néanmoins, quelle que soit la méthode utilisée, un agent stabilisant est toujours nécessaire pour empêcher l'aggrégation des colloïdes formés en particules plus grosses. Cette aggrégation conduit à la perte des propriétés associées à l'état colloïdal de ces particules métalliques. On distingue quatre types de procédures de stabilisation : (i) la stabilisation électrostatique par les anions adsorbés en surface, (ii) la stabilisation stérique par la présence de groupes volumineux, (iii) combinaison de ces deux types de stabilisation avec des stabilisateurs électrostatiques tels que les tensioactifs, et enfin (iv) la stabilisation avec la présence d'un ligand [123].

II.4.2.1.1. Décomposition thermique, photochimique ou sonochimique

Ces méthodes consistent en la formation de suspensions colloïdales à partir des sels métalliques ou des complexes organométalliques par décomposition directe de ceux-ci ou grâce à la présence d'agent réducteur formé par la décomposition d'autres composés. Ces réactions peuvent être obtenues respectivement par thermolyse, photolyse (par rayon γ , rayon X ou irradiation UV-visible) ou par réduction sonochimique.

II.4.2.1.2. Déplacement de ligands des complexes organométalliques

La décomposition de certains complexes organométalliques généralement zérovalents permet la synthèse des nanoparticules métalliques de tailles contrôlées. Ces NPs métalliques sont synthétisées sous pression variable de dihydrogène et/ou de monoxyde de carbone. Les nanoparticules générées peuvent être stabilisées par des polymères tels que le PVP, des solvants tels que le THF ou des ligands tels que l'hexadécylamine. Quelques complexes métalliques sont utilisés tels que le Bis(1,5-Cyclooctadiène) de Nickel(0), ($C_{16}H_{24}Ni$ ou $[Ni(COD)_2]$) ; le Tris(dibenzylidène acétone) de dipalladium(0), ($C_{51}H_{42}O_3Pd_2$ ou $[Pd_2(dba)_3]$) ; le Tris(dibenzylidène acétone) de diplatine(0), ($C_{51}H_{30}O_3Pt_2$ ou $[Pt_2(dba)_3]$) et le (1,5-Cyclooctadiène)(1, 3, 5-Cyclooctatriène) de Ruthenium(0), ($C_{16}H_{20}Ru$ ou $[Ru(COD)(COT)]$). Le gaz présent permet la décomposition du complexe organométallique et ainsi la formation des nanoparticules [123].

II.4.2.1.3. Synthèse par condensation des vapeurs métalliques

Les MNPs sont synthétisées par décomposition des composés métalliques relativement volatils sous pression réduite suivie de la co-condensation des vapeurs émanées à basse température en présence de vapeurs d'un solvant organique. Les nanoparticules dans les suspensions ainsi formées vont croître lors du retour à température ambiante du mélange métal/solvant initialement gelé [123]. Cependant, la principale difficulté de cette méthode réside dans le contrôle de la croissance des nanoparticules

II.4.2.1.4. Synthèse par réduction électrochimique

La synthèse par réduction électrochimique consiste en la dissolution d'une anode constituée du métal cible. Les cations ainsi dissous sont ensuite réduits à la cathode en présence de sels d'ammonium quaternaire, qui servent à la fois d'électrolytes et d'agents stabilisants. Des nanoparticules de tailles contrôlées par stabilisation électrostatique peuvent ainsi être obtenues. Des liquides ioniques possédant un groupement ammonium sont également couramment utilisés lors de ce type de synthèse [123].

II.4.2.1.5. Réduction chimique de sels métalliques

La méthode par réduction chimique est l'une des techniques la plus utilisée dans le domaine de la synthèse des nanoparticules métalliques. En plus, parmi toutes les techniques de synthèse, elle offre le meilleur contrôle de la taille, de la forme et la meilleure versatilité [124]. Dans cette méthode, les sels métalliques se dissocient pour former des ions métalliques. Les ions métalliques sont ensuite réduits par un agent réducteur chimique pour former des nanoparticules métalliques, souvent stabilisées par l'ajout d'un stabilisant. Le mécanisme proposé pour l'obtention des NPs comporte trois étapes : la nucléation, la croissance et l'agglomération.

Le mécanisme de l'obtention des MNPs par la réduction chimique est illustré dans la figure II.6. De nombreuses méthodes ont été développées et se différencient par la nature du réducteur et/ou de l'agent stabilisant. Le sel métallique est réduit pour donner des atomes métalliques de valence zéro qui entrent en collision en solution avec des ions, atomes ou clusters afin de former un noyau stable irréversible. Le diamètre de ces noyaux dépend de la force des liaisons métal-métal et de la différence entre les potentiels d'oxydoréduction du sel métallique et de l'agent réducteur utilisé [125].

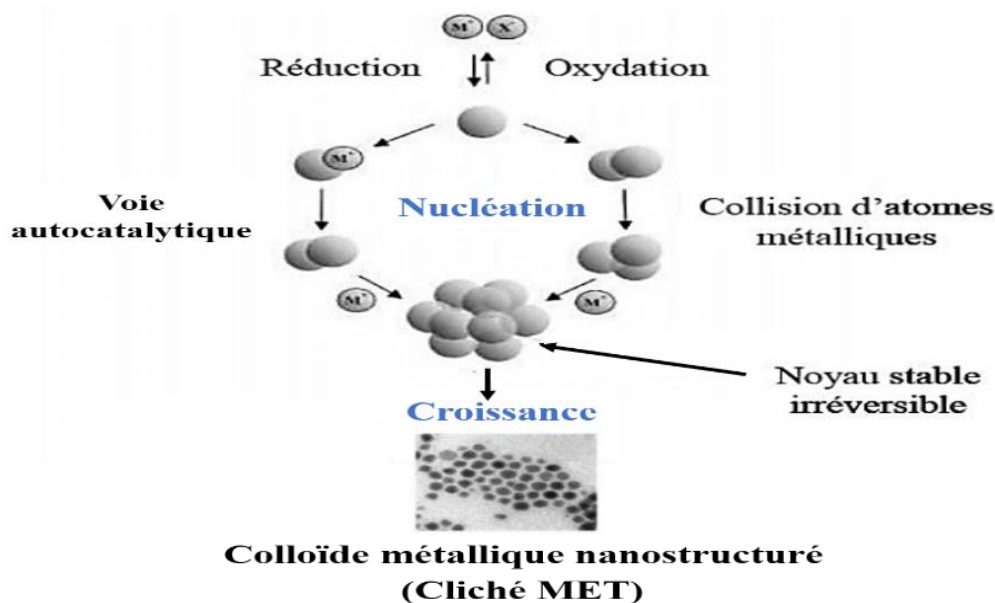


Fig. II.6 : Formation de colloïdes métalliques nanostructurés par réduction d'un sel [126]

De nombreux agents réducteurs peuvent être utilisés parmi lesquels les gaz tels que (H_2 , H_2S , SO_2 , CO), les hydrures (borohydrure de sodium ($NaBH_4$) ou de potassium (KBH_4)), les citrates, les composés oxydables (tels que les alcools), l'hydrazine, le formaldéhyde ($HCHO$), l'acide ascorbique (Vitamine C), l'acide formique, le formate de sodium, le glycérol, le benzaldéhyde, l'hydroxylamine et récemment les extraits de plantes pour des raisons écologiques [125]. Le chlorure

de tetrakis(hydroxyméthyl)-phosphonium (THPC) est un agent réducteur qui permet de contrôler à la fois la taille et la morphologie dans la synthèse des nanoparticules provenant des sels métalliques (Ag, Cu, Pt et Au) [127]. Les agents stabilisants incluent les sels ioniques, les surfactants, les polymères, les dendrimères, des biomolécules ainsi qu'un ensemble de ligands comportant un groupement fonctionnel comme des phosphines, des thiols, des amines ou des acides carboxyliques.

Le choix du réducteur est souvent associé à la nature des agents protecteurs, du métal et éventuellement du solvant. Par exemple, le dihydrogène et les sels de borohydrure tels que NaBH_4 ou KBH_4 sont les réducteurs les plus utilisés pour la synthèse de MNPs. Le dihydrogène est notamment utilisé pour la synthèse des nanoparticules d'or, argent, iridium, platine, palladium, rhodium et ruthénium [128].

II.4.2.1.6. Procédé sol-gel

Le procédé sol-gel consiste en une réaction de polymérisation inorganique effectuée en phase liquide à partir des composés moléculaires ou ioniques. Cette polymérisation met en jeu des réactions d'hydrolyse et de condensation qui s'effectuent en solution, le plus souvent à température ambiante, ce qui nécessite des précurseurs solubles. La possibilité d'obtenir des rhéologies diverses (sols, gels ou précipités) est conditionnée par la cinétique des réactions d'hydrolyse et de condensations. Les sols sont des suspensions colloïdales formées de fines particules (1 - 300 nm) dispersées dans un solvant. Si la taille des colloïdes n'excède pas une centaine de nanomètres, on parle de nanoparticules. Ils permettent le dépôt de couches minces sur des supports de formes très variées. Les gels sont des réseaux tridimensionnels renfermant du solvant et permettent en général l'élaboration de matériaux sous forme de fibres. Les précipités, qui sont composés de particules dont la taille est supérieure à 500 nm, permettent l'obtention de poudres fines [129]

II.4.2.1.7. Biosynthèse

Il convient de noter qu'il existe une méthode émergente sur la synthèse de MNPs très écologique introduite pour la première fois en 2002 [130]. Il s'agit de la biosynthèse qui fait intervenir des composés biologiques pour réduire les précurseurs métalliques. Les composés biologiques pouvant servir d'agent réducteur sont variés et peuvent être des extraits de plantes (*Centella asiatica* L., Aloe vera, Thé, Géranium, Citronnelle, etc.), ou d'organismes cellulaires comme des bactéries, des champignons ou des levures [131-133]. Le contrôle des nanoparticules obtenues en termes de taille et de composition est très difficile et la synthèse met en jeu des mécanismes encore incompris, expliquant la marginalité de la méthode, mais son originalité et son impact environnemental supposé moindre que les autres synthèses physico-chimiques.

Il ressort que les méthodes colloïdales demeurent les plus pratiques et permettent de préparer de grandes quantités de produits et sont adaptées à la production des nanoparticules à grande échelle. Ces méthodes sont basées sur des principes assez simples bien qu'il reste difficile de contrôler certaines réactions de façon uniforme. Elles présentent l'avantage d'être assez peu coûteuse et nécessite moins d'énergie que les autres procédés de synthèse des nanoparticules. Ce sont également les plus simples à mettre en œuvre et sont à la base d'une grande partie de la production des nanomatériaux.

II.4.2.2. Méthodes de préparation des MNPs supportées

Les nanoparticules peuvent être stabilisées par immobilisation sur des particules de support. Ceci peut être obtenu soit par adsorption des nanoparticules, soit par génération in situ des nanoparticules à l'intérieur du support [134]. Les nanoparticules métalliques des métaux de transition peuvent être adsorbées sur des supports inorganiques tels que les argiles [135], les phosphates [136], le carbone activé, les nanotubes de carbone, la silice, l'alumine ou les oxydes tels que le TiO_2 ou MgO ou liées chimiquement à des supports polymères [123]. Il existe en principe deux façons de préparer des catalyseurs supportés [137] :

(1) En Coprécipitant le composant catalytique actif et le support pour donner un mélange qui est ensuite séché, calciné (chauffé dans l'air) et réduit pour donner un matériau poreux avec une surface élevée. Cette procédure est utilisée lorsque les matériaux sont peu coûteux et l'obtention de l'activité catalytique optimale par unité de volume de catalyseur est la principale considération.

(2) En chargeant des matériaux de support préexistants sous la forme de corps moulés avec la phase catalytique active par imprégnation ou précipitation à partir de la solution. Ceci est le procédé préféré lorsque les précurseurs de catalyseur sont coûteux et l'objectif est de déposer la phase catalytiquement active sous la forme de particules de taille nanométrique sur le support. Presque tous les catalyseurs à base de métaux nobles sont fabriqués de cette manière.

II.4.2.2.1. Co-précipitation

Des solutions de sels du matériau catalytique actif et du support sont préparées, auxquelles un agent de précipitation est ajouté, tel que NaOH ou NaHCO_3 . En conséquence, les hydroxydes ou les sels hydroxylés se précipitent et forment un mélange homogène qui est ensuite filtré. Pendant le séchage et la calcination, l'eau et le CO_2 sont éliminés respectivement, puis le dégagement de l'oxygène au cours de la réduction en produisant un catalyseur poreux. Le processus est difficile à contrôler ; il est essentiel de maintenir la solution homogène pour permettre

aux deux composants de précipiter simultanément, et les variations de pH dans toute la solution doivent être évitées. Par exemple, les catalyseurs commerciaux Cu/ZnO/ZrO₂ et CuO/ZnO/Al₂O₃ ont été préparés par co-précipitation et sont utilisés pour le reformage et la synthèse du méthanol [138,139].

II.4.2.2.2. Imprégnation, adsorption et échange d'ions

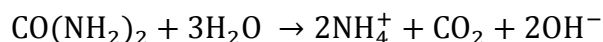
L'imprégnation, l'adsorption et l'échange ionique sont effectuées par voie humide. L'imprégnation consiste en la mise en contact du support avec la solution contenant le précurseur métallique pendant un temps donné. Elle peut être mise en œuvre de deux façons selon la quantité de solution contenant le précurseur métallique employé : soit par contacts successifs, soit une seule fois par une solution dont la concentration en précurseur est en excès. Le choix entre ces deux possibilités repose principalement sur deux contraintes : la taille du support (utilisation de grosses billes dans le premier cas et de grains plus fins dans le deuxième) et le prix de la solution contenant le précurseur métallique (perte de solution non négligeable lors de l'imprégnation par une solution en excès). Ces deux voies sont : l'imprégnation sans interaction et imprégnation avec interaction. Cette méthode consiste au remplissage des pores du support avec une solution de l'élément catalytiquement actif, après quoi le solvant est éliminé par séchage. C'est un moyen simple de charger un support avec du matériau actif [123].

L'adsorption se déroule généralement comme suit : (i) préparation par réduction d'une suspension liquide du métal colloïdal stabilisé, (ii) imprégnation des nanoparticules sur le support, et enfin (iii) lavage du solide obtenu. Le principal avantage de ce procédé est que la taille des nanoparticules colloïdales est généralement indépendante du support, ce qui n'est pas le cas pour la catalyse hétérogène où la réduction se produit après l'imprégnation du précurseur métallique. Cependant dans ce procédé, diverses interactions sont possibles entre le précurseur de catalyseur dissous et la surface du support, qui peut être utilisé pour obtenir une bonne dispersion du composant actif sur le support (attraction électrostatique, complexation, échange ionique, etc). Une autre façon d'immobiliser les nanoparticules métalliques consiste à greffer des colloïdes sur un support solide. Une large gamme de liaisons chimiques a été testée pour immobiliser des nanoparticules sur des supports [140].

II.4.2.2.3. Dépôt-Précipitation

L'essence de ce procédé est que les petites cristallites d'hydroxyde de métal ou de carbonate précipitent à partir de la solution, de préférence par nucléation hétérogène à l'interface entre le liquide et le support. A cette fin, la poudre du support est suspendue dans la solution métallique,

et une base est ajoutée pour augmenter le pH. Étant donné que le pH doit être homogène dans toute la solution, une agitation rigoureuse est nécessaire, ce qui pose des problèmes dans de grands volumes, ainsi que dans des systèmes poreux. Une alternative effective est d'ajouter de l'urée $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ à la solution. Après mixage, la température est élevée à 70-90 °C, l'urée s'hydrolyse lentement selon la réaction :



Par conséquent, le pH augmente de manière homogène tout au long de la solution et à un certain pH, commence la nucléation des nanoparticules sur le support [141]. Cette méthode a été utilisée pour préparer des catalyseurs de vanadium, de molybdène, de manganèse, de fer, de nickel et de cuivre supportés avec une répartition homogène sur toute la surface du support. Après précipitation, le solide est filtré, lavé, séché et ensuite mis en forme. Enfin, le catalyseur est calciné et activé par la réduction ou la sulfuration.

II.4.2.3 Supports utilisés

II.4.2.3.1. Choix du support

Le choix des supports est généralement guidé par leur comportement mécanique et thermique. D'autres propriétés telles que l'équilibre hydrophobe/hydrophile, la stabilité chimique, biocompatibilité, optiques et/ou électroniques et les fonctionnalités chimiques (à savoir solvation, mouillabilité, effet de texturation, etc.) doivent être considérés pour sélectionner les hôtes [142]. L'objectif de la catalyse supportée est la récupération rapide des métaux catalytiques à la fin de l'étape de réaction.

II.4.2.3.2. Interaction métal-support

L'interaction des ions métalliques avec le support est un critère clé pour le développement de ces matériaux, ainsi que le conditionnement du catalyseur (changement des propriétés de diffusion du support, par exemple, ou activation du métal). L'immobilisation des métaux catalytiques peut provenir de différents mécanismes, y compris des mécanismes actifs (basés sur des interactions chimiques ou physico-chimiques) ou des phénomènes passifs (précipitation in situ de métaux catalytiques à l'intérieur de la structure poreuse du support ou inclusion de métal catalytique dans un gel), selon le couple métal/support.

La fonctionnalisation (via le revêtement et la modification chimique) est un processus intermédiaire qui prépare les nanomatériaux à utiliser pour certaines applications. Elle est une étape fondamentale qui permet d'utiliser la chimie de surface pour l'ingénierie des nanomatériaux

en améliorant les propriétés physico-chimiques et en évitant les interactions nocives ou inhibitrices aux nanoparticules. Par conséquent, la fonctionnalisation est une étape importante pour le développement de nanotechnologies respectueuses de l'environnement ou durables [143].

II.5. Techniques de caractérisation

La caractérisation est définie comme l'étude des caractéristiques d'un matériau, telles que la composition chimique et diverses propriétés physiques, chimiques, électriques et magnétiques. Puisque les propriétés physico-chimiques des nanoparticules métalliques varient exponentiellement avec les variations de leurs tailles, la caractérisation précise des nanoparticules est essentielle à leurs applications. Les méthodes couramment utilisées pour la caractérisation des nanoparticules sont énumérées dans la figure II.7. En général, les propriétés des nanoparticules peuvent être divisées en groupes suivants : propriétés de surface, physico-chimiques, électroniques, mécaniques, magnétiques et thermodynamiques.

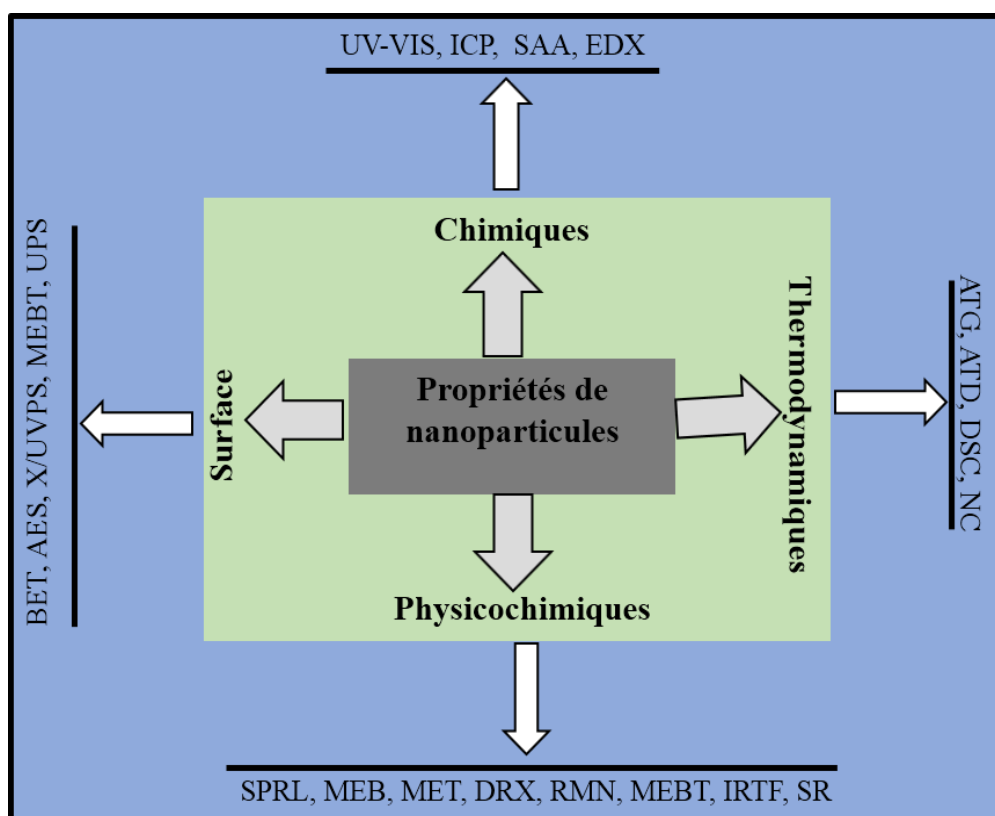


Fig. II.7 : Quelques méthodes couramment utilisées pour la caractérisation des différentes propriétés des nanoparticules [144]

Les indices couramment mesurés pour évaluer les propriétés chimiques d'une nanoparticule métallique comprennent sa composition atomique et moléculaire, l'analyse des éléments et la détermination de la fonctionnalisation de la surface. La surface est caractérisée par la

détermination de la surface spécifique, du volume poreux, la pureté, la structure électronique, les groupes fonctionnels, la forme, la texture et de la rugosité de la particule. L'évaluation des propriétés physiques comprend la détermination de la dispersion et de l'aggrégation, la taille et la distribution, ainsi que les propriétés mécaniques. Les propriétés thermodynamiques sont évaluées en mesurant la température de fusion, l'enthalpie de fusion, l'entropie de fusion, la température d'évaporation, la température de Curie, la température de Debye et la capacité calorifique spécifique.

Les propriétés magnétiques des MNPs sont évaluées en mesurant la susceptibilité magnétique (χ), le moment magnétique (μ) et de l'hystérésis. χ est défini comme le rapport entre l'aimantation d'un matériau et l'intensité du champ magnétique. Le μ d'un aimant est une quantité qui détermine le coupleur magnétique (tendance d'une force à faire tourner un objet autour d'un axe) qu'il subira dans un champ magnétique externe. Le moment magnétique d'un électron est dû à son spin de rotation et à son moment angulaire. L'hystérésis magnétique définit le comportement d'une particule ferromagnétique dans un champ magnétique : elle dépend non seulement de l'intensité du champ appliqué, mais aussi de l'histoire précédente. La particule peut conserver le magnétisme même lorsque le champ est enlevé [144].

Les méthodes de caractérisation dépendent de la nature des MNPs, si elles sont colloïdales ou supportées. L'objectif des différentes méthodes de caractérisations appliquées actuellement aux nanoparticules en solution est de déterminer les propriétés suivantes : la taille, la morphologie, l'état d'aggrégation et l'état de surface (présence de ligand en surface). Par contre, les objectifs pour les NPs supportées sont la stabilité chimique et thermique, la résistance, le contrôle de la microstructure (microporeuse, mésoporeuse) et la maîtrise de la dispersion de NPS dans la matrice. La plupart des techniques de caractérisation des nanoparticules peuvent être classées en deux grandes catégories [145]. Primo, les techniques locales de sondage (individuel ou unitaire) : (i) Microscopie électronique à balayage (MEB), (ii) Microscopie électronique en transmission (MET), (iii) Microscopie à effet tunnel (STM), (iv) Microscopie à force atomique (AFM). Secundo, les techniques sensibles aux matériaux dans l'ensemble (NPs dispersée et/ou supportée): (i) Spectroscopie d'absorption optique, (ii) Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRFT), (iii) Spectroscopie de résonance spin-spin électronique (RSE), (iv) Diffusion Raman, (v) Techniques à base de rayons X (par exemple la diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie photo-électronique par rayons X (XPS)). Nous décrivons brièvement quelques méthodes de caractérisation qui sont le plus communément utilisées.

II.5.1. Caractérisation optique et spectrophotométrie UV-Visible

II.5.1.1. Coloration de la solution ou du mélange réactionnel

Les nanostructures métalliques sont bien connues pour produire des couleurs, en raison de leur forte absorption de la lumière et de leur diffusion dans la région visible du spectre UV-visible. Cet effet est produit par les interactions entre les nanoparticules métalliques et le champ électromagnétique. En effet, lorsque les particules commencent à s'agréger la solution change d'une couleur à une autre et se manifeste par le changement d'intensité (décroissance) avec déplacement de la bande LSPR en spectrophotométrie. Une caractéristique des NPs métalliques (essentiellement les métaux nobles) est la couleur de leurs solutions colloïdales, due à une forte absorption dans le spectre du visible comme le montre la figure **II.8**.

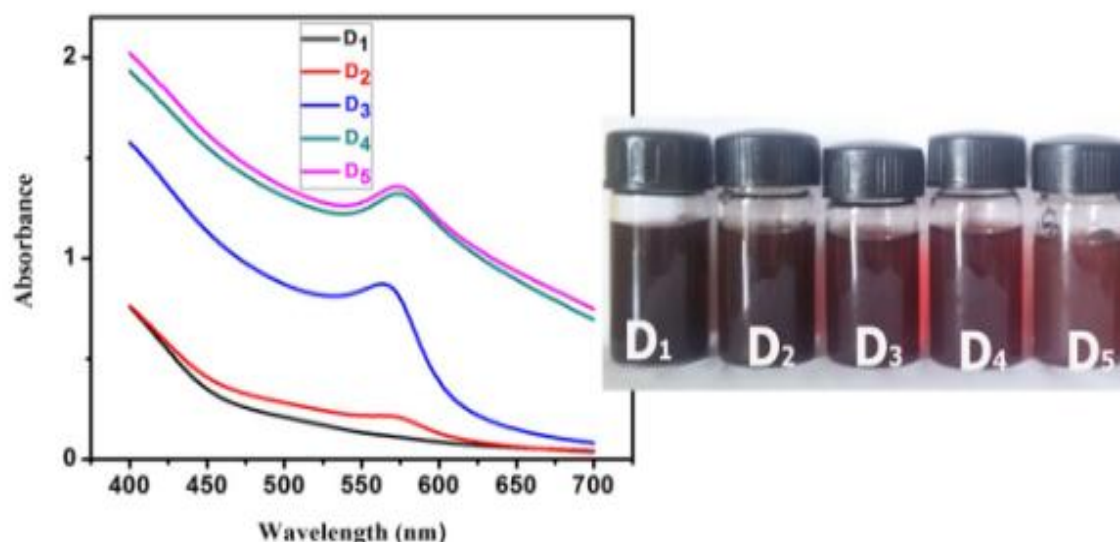


Fig. II.8 : LSPR et photographies des nanoparticules de cuivre colloïdales (D1-D5) synthétisés à différentes concentrations de réducteur [146]

II.5.1.2. Spectrophotométrie UV-Visible

Bien que la plupart des métaux puissent supporter un plasmon, ce sont essentiellement les métaux nobles (or, argent, cuivre) qui sont utilisés puisque leur forte densité d'électrons libres leur confère une résonance plasmonique dans le visible. Les électrons de conduction des nanoparticules d'or (Au), d'argent (Ag) et du cuivre (Cu) peuvent acquérir de l'énergie lumineuse visible grâce à l'effet LSPR, comme le montre la figure **II.9**. La présence de LSPR dont le maximum se situe à une longueur d'onde absorption caractéristique d'un métal détermine la nature, la taille et la dispersion des NPs métalliques.

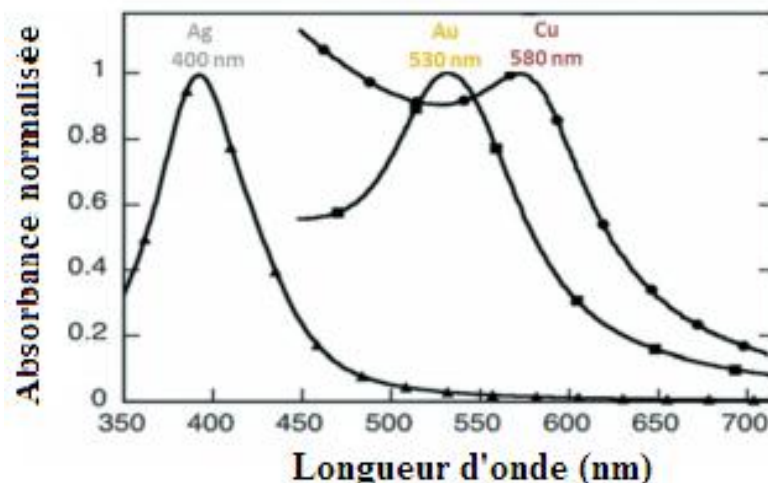


Fig. II.9 : Bandes d'absorption LSPR pour les nanoparticules d'Au, d'Ag et de Cu [147]

La spectroscopie d'absorption UV-Visible joue un rôle très important pour étudier les propriétés optiques des nanoparticules. Elle permet de suivre les effets de plusieurs paramètres tels que le pH et les concentrations des réactifs (réducteur ou polluant), comme le montre la figure II.8. La formation des nanoparticules peut être examinée suivant la position et la forme de la bande plasmonique LSPR, dans le spectre optique. Il s'agit essentiellement d'étudier la réponse aux ondes électromagnétiques dans la gamme de longueurs d'ondes 190-800 nm, par l'échantillon [148]. L'étude de l'intensité d'absorbance, de la localisation du pic et de la forme de la bande LSPR fournit des informations précieuses sur la forme et la taille des NPs, leurs états d'agrégaions (la distance entre les particules) et/ou leurs environnements. En plus, les interactions inter-particulaires et les interactions entre un stabilisant ou un surfactant et les NPs sont mises en évidence par la position de la bande LSPR, selon son déplacement vers les hautes ou basses longueurs d'ondes.

II.5.2. Spectroscopie de réflexion diffuse UV-Visible (DRS)

Les nanoparticules supportées peuvent être caractérisées par spectroscopie de réflexion diffuse, pour mettre en évidence les transitions possibles entre la bande de valence et la bande de conduction, ainsi que d'autres transitions possibles en raison des impuretés [149, 150]. La réflexion est due à l'abondance d'électrons libres qui peuvent se déplacer à travers la conduction et la bande de valence. L'intensité de réflexion dépend des propriétés physico-chimiques du support ainsi que celles du métal. La figure II.10 montre un spectre de réflexion diffuse des échantillons des nanoparticules métalliques de l'or et du cuivre supportées sur TiO₂ (P25).

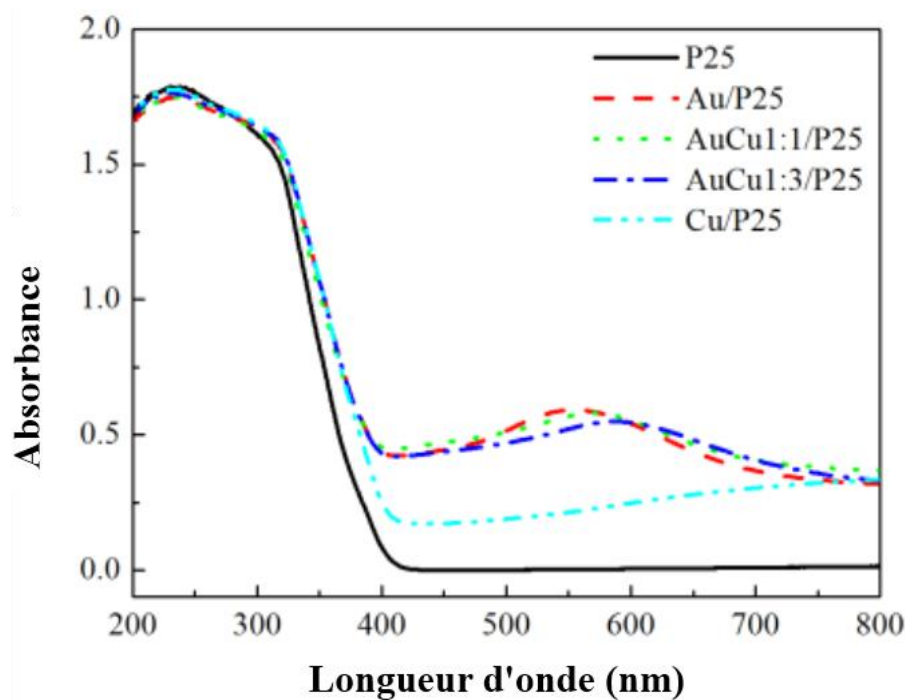


Fig. II.10 : Spectres de réflexion diffuse des photocatalyseurs P25 pur et modifiés avec des nanoparticules métalliques et bimétalliques Au-Cu [149]

II.5.3. Diffraction des rayons X (DRX)

La caractérisation par Diffraction des rayons X (DRX) de poudres est une méthode d'utilisation courante pour la recherche d'informations structurales sur les matériaux et les nanomatériaux. Les caractéristiques structurales sont d'une importance primordiale pour étudier la composition et la nature des liaisons de matériaux. Il fournit des informations diverses sur les propriétés globales du matériau étudié. La DRX est l'une des techniques de caractérisation les plus importantes pour révéler les propriétés structurales des NPs. Elle donne suffisamment d'informations sur la cristallinité des NPs et il fournit également une idée approximative de la taille des particules grâce à la formule de Debye Scherrer [151].

II.5.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie IRTF est appliquée pour obtenir des informations sur les différents groupements fonctionnels à partir des positions de bandes observées dans le spectre IR. Des informations sur l'enrobage (capping) et la stabilisation des nanoparticules peuvent également être déduites de cette analyse. Plusieurs études récentes mettent en évidence les applications de la spectroscopie IRTF dans la caractérisation des nanoparticules métalliques [131,135]. Les interactions entre les nanoparticules métalliques avec le stabilisant et/ou le support peuvent être élucidées avec cette technique d'analyse [148].

II.5.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) avec un détecteur électronique secondaire peut visualiser la forme cristalline, la morphologie de surface, la nature de dispersion et de l'agglomération des nanoparticules et, des fonctionnalisations de surface [27]. La microscopie MEB peut examiner la topologie globale de la surface, y compris les particules agrégées individuellement ainsi, la méthode est considérée comme une mesure absolue de la taille des particules. Elle peut être couplée à des systèmes d'analyse d'image pour l'examen de la distribution de particules à chaque champ examiné. Cependant, la profondeur de focalisation n'est que de 0,5 mm à x1000 et les effets de diffraction augmentent avec de petites particules, ce qui provoque un flou sur les bords dans la détermination de la taille des particules.

II.5.6. Microscopie électronique en transmission (MET)

La microscopie électronique en transmission (MET) est un outil fondamental pour l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique. Utilisée en mode conventionnel, cette technique permet en effet de déterminer la morphologie, la taille, la polydispersité et la cristallinité des nanoparticules synthétisées [131].

II.5.7. L'analyse chimique par ICP (Inductively Coupled Plasma)

La spectrométrie de masse couplée à l'ICP (ICP) est une méthode sensible pour l'analyse et la confirmation des ions métalliques avec une gamme dynamique linéaire élevée [152]. Cette technique est capable d'analyser presque tous les éléments du tableau périodique et peut être appliquée aux solutions, aux solides et aux gaz.

II.5.8. Analyse thermique ATG/ATD

Le comportement thermique, le mécanisme et la cinétique de l'oxydation des nanoparticules peuvent être étudiés par analyse thermique ATG/ATD. L'effet de l'exposition des MNPs à l'air provoquant une oxydation qui est détecté sur les thermogrammes où il se traduit souvent par un gain de masse dans une plage de température donnée selon la nature du métal étudié [153].

II.6. Applications des nanoparticules métalliques

Les nanoparticules métalliques (MNPs) constituent une grande classe de matériaux attractive dans la nanotechnologie en raison de leurs grandes variétés d'applications dans des domaines tels que la catalyse (chimique et environnementale), la médecine, l'électronique, la

photonique, et traitement de l'eau. Dans ce qui suit, nous décrivons quelques applications les plus communément retrouvées dans la littérature.

II.6.1. Catalyse

Le catalyseur est une substance qui augmente la vitesse de réaction en abaissant l'énergie d'activation (E_a) nécessaire pour convertir les réactifs en produits et oriente la réaction vers le produit ciblé. En utilisant un catalyseur, le produit désiré peut être obtenu plus rapidement qu'à son absence.

II.6.1.1 Catalyse chimique

Les MNPs sont les catalyseurs très utilisés dans l'industrie chimique, pharmaceutique et pétrochimique. Elles sont réparties en deux catégories : la catalyse semi-hétérogène ou catalyse colloïdale qui utilise les NPS métalliques colloïdales, et la catalyse hétérogène qui utilise les MNPs supportées. L'application de suspensions liquides de nanoparticules métalliques en catalyse est limitée par plusieurs inconvénients. En effet, avec ces systèmes, la séparation des produits et le recyclage du catalyseur ne sont pas simples. Les deux types de catalyseurs sont très actifs, sélectifs et recyclables. Plusieurs réactions sont catalysées par les nanoparticules métalliques de métaux de transition et majoritairement par les métaux nobles, exemple des réactions d'oxydation, réactions d'hydrogénation, réductions, réactions de couplage, réactions photocatalytiques, etc. [122,123].

II.6.1.2. Catalyse environnementale en phase liquide

La catalyse environnementale est un terme largement utilisé, qui signifie l'application de catalyseurs pour la production d'alternatives moins polluantes. La catalyse joue un rôle majeur dans l'amélioration de notre environnement et la réduction de la pollution [154,155]. La catalyse environnementale permet d'expliquer (i) la minimisation des déchets en fournissant une synthèse catalytique alternative de composés importants sans formation de sous-produits écologiquement inacceptables, et (ii) la réduction des émissions au moyen de la décomposition de composés éco-incompatibles sur le plan environnemental en utilisant des catalyseurs [156]. La minimisation des déchets est étroitement liée à la sélectivité des réactions et par conséquent, le choix approprié du catalyseur joue un rôle décisif [137].

Les processus d'oxydo-réduction sont utilisés pour le traitement des flux de polluants ou la compréhension des processus naturels qui peuvent modifier la nature des polluants [157,158]. L'oxydation chimique dans le traitement des eaux usées est un processus dans lequel des espèces chimiques indésirables sont converties par réaction d'oxydo-réduction en des espèces chimiques qui ne

sont ni nocives ni répréhensibles. Elle modifie la structure des polluants dans les eaux usées en ajoutant un agent oxydant ou réducteur. Au cours de l'oxydation chimique, un ou plusieurs électrons passent de l'oxydant au polluant ciblé, provoquant sa destruction. La matière organique (y compris les micro-organismes) et les substances inorganiques peuvent être oxydées. Des exemples de matières organiques pour l'oxydation chimique comprennent les acides humiques, les phénols, les amines et les bactéries. Les substances inorganiques courantes qui sont toxiques ou répréhensibles peuvent inclure des ions tels que Cr^{6+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , S^{2-} , CN^- et SO_3^{2-} . L'oxydation chimique in situ (ISCO) est une technique intéressante d'assainissement environnemental.

Pour répondre au besoin toujours croissant de protection de l'environnement et de processus écologiques (respectueux de l'environnement ou durables), les réactions catalytiques devraient jouer un rôle actif dans les domaines des sciences de l'environnement et de la science des matériaux. En général, l'utilisation des MNPs pour les applications environnementales dépend fortement de leurs propriétés physiques et chimiques. L'application de la chimie à base de nanoparticules métalliques pour la purification de l'eau potable est résumée pour quatre principaux types de contaminants : les composés organiques halogénés, y compris les pesticides [159], les métaux lourds, les colorants et les micro-organismes [160].

II.6.1.2.1. Dégradation de pesticides : la déshalogénation réductrice

Depuis 2003, il a été établi que les nanoparticules métalliques (MNPs) réagissent avec les composés organiques halogénés d'une manière similaire aux autres métaux (c'est-à-dire, la déshalogénation réductrice) conduisant à la formation d'halogénures métalliques sans sous-produits de réaction [159]. La réaction a ensuite été étendue à plusieurs composés organohalogénés et a été jugée complètement efficace avec les MNPs à température ambiante ou modérée pour l'élimination des pesticides, largement utilisés tels que l'endosulfan [161], malathion et le chlorpyrifos [162].

Des études ultérieures ont montré que les MNPs supportées sur alumine étaient très efficaces pour l'élimination des pesticides de l'eau. Un grand nombre des pesticides présents dans les eaux polluées sont des pesticides organochlorés (simazine, lindane, atrazine, etc.) ou organosulfurés (triazophos, quinalphos, etc.) ou des groupes fonctionnels à base d'azote (carbaryl, carbofuran, monochrotofos, etc.) ont été complètement éliminés de l'eau en utilisant les MNPs supportées. Cet aspect de la suppression complète d'une large variété de pesticides a fait des MNPs supportées des catalyseurs uniques pour la purification de l'eau [163].

II.6.1.2.2. Traitement des eaux contaminées par des métaux lourds

L'un des domaines d'application intéressants des nanoparticules de métaux nobles dans la purification de l'eau potable est la réduction et la séquestration des métaux lourds. Les MNPs peuvent être utilisées comme catalyseur ou comme adsorbants, nous citons par exemple le fer à valence zéro (Fe^0). L'assainissement des eaux souterraines contaminées en utilisant des nanoparticules contenant du Fe^0 constitue l'un des exemples les plus frappants d'une technologie émergente rapide avec des avantages potentiels considérables [114]. Le Fe^0 élimine les contaminants aqueux par dé-chloration réductive, dans le cas de solvants chlorés ou en les réduisant à une forme insoluble, dans le cas des ions métalliques aqueux. Différents aspects de matériaux et d'ingénierie des nanoparticules de Fe^0 utilisées pour l'élimination des polluants environnementaux ont été discutés [114,163]. Ces nanoparticules ont été utilisées pour la séparation et l'immobilisation de Cr(VI) et de Pb(II) à partir d'une solution aqueuse par réduction du Cr(VI) en Cr(III) et du Pb(II) en Pb^0 [164]. Il a été rapporté que le Fe^0 a été utilisé pour l'élimination des nitrates dans l'eau, la dé-chloration du polychlorobiphényle (PCB) en produits moins chlorés dans les conditions ambiantes et dans l'oxydation des composés organiques en présence d'oxygène [163]

II.6.1.2.3. Dégradation des colorants par les MNPs

La pollution de l'eau due aux rejets d'effluents colorés provenant des industries et d'autres activités anthropogéniques est l'une des principales préoccupations environnementales. Les colorants et les pigments synthétiques échappent aux procédés conventionnels de traitement des eaux usées et persistent dans l'environnement en raison de leur nature hydrophile et de leur grande stabilité contre la lumière, la température, l'eau, les produits chimiques, etc. Les catalyseurs à base des nanoparticules métalliques (par exemple, Cu, Au, Ag, Pd, Pt, et Ru) ont suscité un intérêt immense pour la dégradation des colorants ces dernières années en raison de leurs activités élevées et de leurs efficacités. Lorsqu'un métal massif se trouve à l'état nanométrique, les nanoparticules deviennent des agents de transfert d'électrons efficaces en raison du déplacement du potentiel de Fermi vers des valeurs très faibles (plus négatives) [165]. En conséquence, les nanoparticules métalliques présentent une activité catalytique pour de nombreuses réactions de transfert d'électrons [166,167].

II.6.1.2.3.1. Processus d'oxydo-réduction des colorants

Les réactions de réduction ou d'oxydation de la plupart des colorants tels que le bleu de méthylène (BM), 4-nitrophénol (4-NP) ou morine par un réducteur chimique (Borohydrure de sodium (NaBH_4)) ou par un agent oxydant comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sont thermodynamiquement réalisable ($\Delta E > 0,34 \text{ V}$), mais cinétiquement limitées (durée de la réaction trop

longue). La réaction n'est quantitativement possible que si la force électromotrice ΔE est grande, cette différence devrait être supérieure à 0,3 V. Ainsi, des métaux fortement électropositifs comme Au, Pt, Pd, Ag, Rh ($E_0 \geq 0,7$) réagissent même avec des agents réducteurs doux dans des conditions normales, alors que d'autres métaux électronégatifs ($E_0 \leq -0,2$) nécessitent des agents réducteurs très forts et, souvent avec des conditions extrêmes de température et de pression. En effet, plus la valeur ΔE est grande, plus la réaction peut être plus facile [168]. Cependant, ces réactions se déroulent très efficacement en présence de catalyseurs à base de nanoparticules métalliques (par exemple, Ag, Au, Cu, Mn et Pt) [167].

II.6.1.2.3.2. Mécanisme

Lorsque les nanoparticules métalliques sont utilisées comme catalyseur pour la réduction des colorants en présence de NaBH_4 , la réduction se produit par le relais d'électrons du donneur (BH_4^-) à l'accepteur (colorants). Dans la première étape du procédé, le BH_4^- et le colorant diffusent de la solution aqueuse à la surface des nanoparticules métalliques. Ensuite, les atomes d'hydrogène, qui sont formés à partir de BH_4^- , après transfert d'électrons à des molécules de colorant attaquent les nanoparticules métalliques. Cette réaction conduit à la production d'une forme réduite du colorant généralement incolore [169,170]. Les nanoparticules métalliques jouent un rôle essentiel de stockage des électrons après le transfert d'électrons de l'hydruire [170]. En plus les nanoparticules métalliques chargées négativement agissent comme des nanoélectrodes avec un potentiel négatif (Fig. II.11 (a)). Le mécanisme de la réaction catalytique est représenté dans la figure II.11 (b).

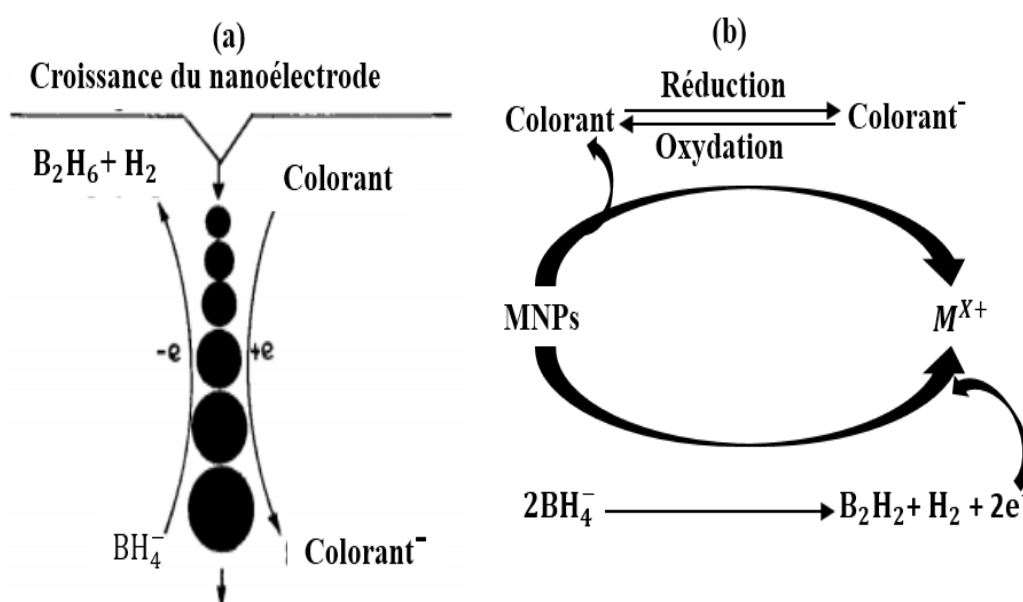


Fig. II.11 : (a) Schéma de croissance de la réaction redox catalysée par des MNPs [165] et (b) mécanisme de la réduction du colorant

Les MNPs possèdent une grande surface qui agit comme des substrats sur lesquels se produisent les réactions de transfert d'électrons. Initialement, les deux réactifs sont adsorbés sur la surface des particules de métal. Ensuite, le réducteur libère deux électrons à la surface des nanoparticules métalliques à partir duquel le colorant les capte en se réduisant.

II.6.2. Applications médicales

Les utilisations en médecine des MNPs comprennent l'imagerie in vivo, le dépistage (biosenseurs ou les capteurs), les transporteurs de médicaments et le traitement [171].

II.6.2.1. Imagerie médicale

L'imagerie monomodale utilisant des nanoparticules mono-fonctionnalisées (particules contenant des colorants, des nanocristaux semi-conducteurs, ou des nanoparticules fonctionnalisées au guanidinium et de l'oxyde de fer super-paramagnétique) est courante en imagerie diagnostique. Cependant, l'imagerie multifonctionnelle permet le diagnostic et la thérapie combinés du cancer, visualisant ainsi la tumeur pour évaluer la récupération in vivo. Les nanopolymères biodégradable à base de polyacide lactique-co-glycolique (PLGA) fonctionnalisés avec les groupes suivants sont utilisés : (i) nanoparticules magnétiques et doxorubicine pour l'imagerie multimodale et la délivrance de médicaments ; (ii) le chitosane galactosylé (CG) ciblant sélectivement les récepteurs glycoprotéiques hépatocarcinome et permettant l'endocytose des nanoparticules dans le carcinome ; (iii) et le EGFP-N2 (plasmide de protéine de fluorescence écologique) qui agit comme agent de contraste pour l'imagerie de fluorescence [172].

Les MNPs synthétiques ont permis à l'imagerie par résonance multimodale de faire la destruction des cellules cancéreuses par hyperthermie et la dégradation sélective des nanoparticules pour la libération de médicaments sur la place cible [173]. Les micrographes de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ainsi que les images de fluorescence ont montré une amélioration du contraste dans les organes internes du corps (comme le foie et la rate) en utilisant les produits fluorescents comme agent de contraste et les nanoparticules métalliques. Plusieurs nouvelles technologies à base des MNPs sont actuellement très utilisées en IRM qui permettent d'obtenir des vues en deux ou en trois dimensions de l'intérieur du corps de façon non invasive avec une résolution en contraste relativement élevée [172].

II.6.2.2. Traitement à base de MNPs et délivrance ciblée de médicaments

Les médicaments allopathiques traditionnels, bien qu'extrêmement efficaces, présentent certains désavantages, tels qu'une liaison non spécifique aux cellules sanguines et aux protéines,

une diffusion rapide dans les tissus sains, une demi-vie courte dans le sang et un taux de clairance global élevé [174]. Cela réduit leur efficacité dans le corps parce que des quantités relativement faibles du médicament administré atteignent le site cible. La distribution dans des tissus sains peut entraîner des effets secondaires graves qui rendent souvent indésirables de nombreux médicaments excellents. Les nanoparticules peuvent être conçues pour contourner les inconvénients de la formulation traditionnelle des médicaments en améliorant leur biodisponibilité, en les transportant vers le site cible, puis en les libérant au besoin [175].

La performance des nanoparticules en tant que vecteurs médicamenteux dépend de la taille et des fonctionnalités de surface des particules, du taux de libération des médicaments et de la désintégration des particules. Les NPs vecteurs de médicaments ont plusieurs avantages : (1) transporte simultanément les médicaments vers le site d'infection et fournit une imagerie multimodale ; (2) améliore la biodisponibilité en améliorant la solubilité aqueuse ; (3) augmente le temps de résidence dans le corps en augmentant la demi-vie et/ou en diminuant leur phagocytose ; (4) permet une réduction de la quantité de médicament nécessaire ; et (5) ne provoque aucune toxicité connue [172]. Un ligand sélectif de transporteur permet aux systèmes transporteurs de médicaments de passer à travers des barrières d'organes telles que la barrière hémato-encéphalique, la membrane cellulaire, etc... [176].

II.6.2.3. Capteurs à base de nanoparticules métalliques : Biosenseurs

Les MNPs couramment utilisées dans la détection des agents pathogènes et/ou des analytes sont les nanoparticules magnétiques, les nanocristaux semi-conducteurs, et les métaux nobles [177]. Les principales procédures de détection sont la surface plasmon résonance localisée (LSPR), l'amélioration de la fluorescence/absorbance, la diffusion Raman en surface (SERS) et l'activité électrochimique [178]. L'amélioration SERS est généralement considérée comme le produit de deux contributions, l'une électromagnétique et l'autre chimique. La première contribution doit répondre à deux exigences : (a) le substrat doit être composé d'un métal à haute réflectivité optique et (b) il est nécessaire que la longueur d'onde du rayonnement d'excitation tombe dans la bande plasmonique des nanoparticules métalliques.

En raison de leur simplicité et de leur portabilité, les approches colorimétriques sont les méthodes les plus prometteuses pour le diagnostic au point de service. Les biocapteurs à base de nanoparticules métalliques présentent une sensibilité élevée pour les acides nucléiques, les protéines, les anticorps, les enzymes et d'autres molécules biologiques. Les nanoparticules d'or, d'argent et de platine sont largement utilisées dans les biocapteurs. Un nanocomposite magnétique

commercial, Dynabead[®], est disponible sur le marché pour développer divers kits de détection de pathogènes [177].

II.6.2.4. Activités microbiennes des nanoparticules métalliques

La résistance multi drogue des micro-organismes pathogènes aux médicaments antimicrobiens est devenue un obstacle majeur à la réussite du diagnostic et de la prise en charge des maladies infectieuses. Les progrès récents dans le domaine des médicaments à base de nanotechnologie ont ouvert de nouveaux horizons pour lutter contre la multirésistance aux micro-organismes. En particulier, l'utilisation des MNPs (AgNPs, CuNPs, AuNPs, etc) en tant que des agents antibactériens puissants ont reçus beaucoup d'attention. Les paramètres physico-chimiques les plus critiques qui affectent le potentiel antimicrobien des MNPs incluent la taille, la forme, la charge de surface, la concentration à l'état colloïdal. Les MNPs présentent leurs potentiels antimicrobiens grâce à des mécanismes multifacettes [179].

Les nanoparticules de métal et d'oxyde métallique, en particulier, démontrent une activité microbicide remarquable. Compte tenu de leur activité antimicrobienne distincte, le rôle de ces nanoparticules dans un certain nombre de produits biomédicaux est déjà proposé et fait l'objet d'un examen approfondi. Des produits de santé contenant des nanomatériaux manufacturés, tels que des pansements, des cathéters, des crèmes pour la peau et des sutures, sont déjà disponibles sur le marché [180]. Leur efficacité est évaluée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB).

II.6.2.4.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices

L'étude de l'interaction des nanoparticules métalliques avec les bactéries est de plus en plus intéressante ces dernières années en raison de sa large application dans les domaines de la biomédecine, du textile et de la protection de l'environnement [181,182]. Les effets de divers types de nanoparticules métalliques notamment le cuivre (Cu), le fer (Fe), l'argent (Ag), l'or (Au) et le titane (Ti) sur la croissance bactérienne ont été étudiés. L'influence de la croissance des bactéries était différente selon le type des nanoparticules, les concentrations, le temps d'interaction et le type de bactéries. La propriété antibactérienne des nanoparticules est induite soit par des nanoparticules conduisant à une rupture de la paroi cellulaire, soit par des nanoparticules provoquant des contraintes oxydatives cellulaires [180]. Les effets bactéricides et bactériostatiques des nanoparticules métalliques des métaux nobles sont évalués par des études de cinétiques de croissance [183,184].

Deux méthodes sont utilisées pour tester l'activité bactérienne d'un produit : la méthode par diffusion en milieu solide et la méthode de dilution. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la valeur de référence *in vitro* pour décrire l'activité d'un antibactérien contre les microorganismes. Elle est définie comme la plus faible concentration d'un antimicrobien qui inhibera la croissance visible d'un microorganisme après une incubation durant une durée déterminée et la concentration minimale bactéricide (CMB) comme la plus faible concentration d'antimicrobien qui empêchera la croissance d'un organisme après sous-culture sur des milieux sans antibiotiques. La CMI est utilisée par les laboratoires de diagnostic principalement pour confirmer la résistance, mais le plus souvent comme un outil de recherche pour déterminer l'activité *in vitro* des nouveaux antimicrobiens, et les données de ces études sont utilisées pour déterminer les points d'arrêt de la CMI. Les méthodes normalisées pour déterminer la CMI et la CMB sont décrites dans plusieurs documents [184]. Comme toutes les procédures normalisées, la méthode doit être respectée et ne peut pas être adaptée par l'utilisateur.

II.6.2.4.2. Mécanisme de l'activité antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes des MNPs (Ag et Cu) et de leurs ions (Ag^+ et Cu^{2+}) ont toujours été reconnues et appliquées dans un large éventail d'applications allant de la désinfection de dispositifs médicaux et d'appareils ménagers au traitement de l'eau [160,163]. Cependant, le mécanisme de toxicité n'est encore que partiellement compris. À ce jour, plusieurs mécanismes controversés ont été postulés pour la propriété antimicrobienne des MNPs. Trois mécanismes semblent plus plausibles pour expliquer l'action antimicrobienne des MNPs : (1) l'adhésion des nanoparticules à la surface modifiant les propriétés de la membrane. Il a été rapporté que des particules de AgNPs dégradent les molécules de lipopolysaccharides, s'accumulent à l'intérieur de la membrane en formant des "ouvertures" et provoquent d'importantes augmentations de la perméabilité membranaire ; (2) les MNPs pénétrant à l'intérieur de la cellule bactérienne entraînent des dommages à l'ADN ; (3) la dissolution de MNPs libère des ions M^{n+} antimicrobiens. La figure II-12 présente les différents mécanismes qui peuvent exister [185].

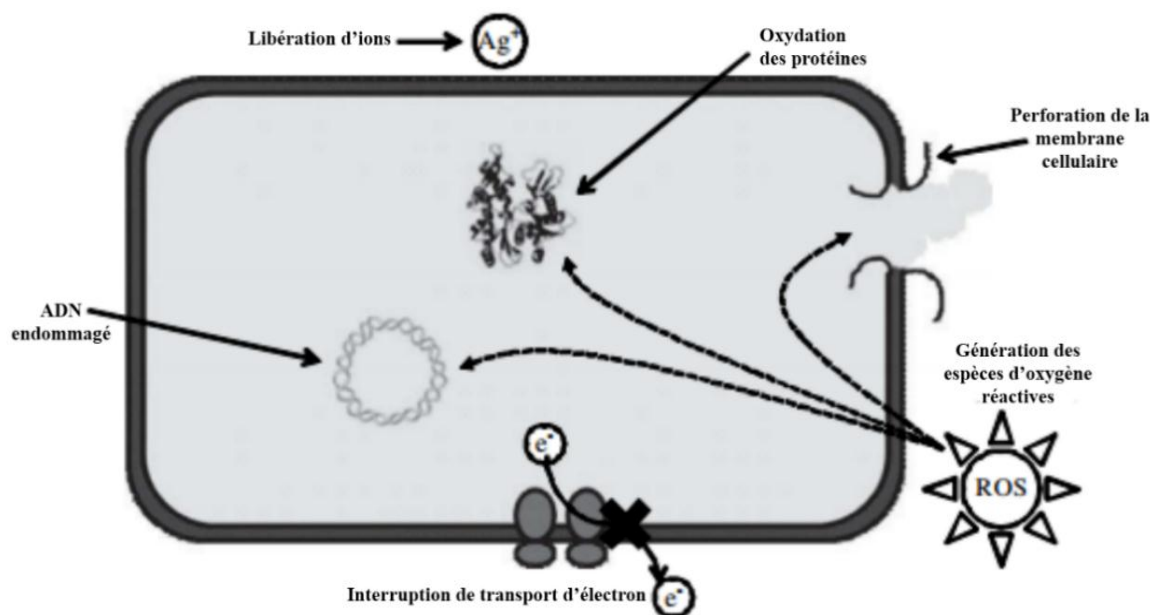


Fig. II. 12 : Divers mécanismes d'activités antimicrobiennes exercées par les nanomatériaux

II.6.3. Traitement biologique de l'eau : désinfection

Dans le domaine de l'eau, la nanotechnologie offre la possibilité d'une élimination efficace des polluants et des germes. Nous avons vu que les substances chimiques tels que les métaux lourds (Cd, Cu, Pb, Hg, Ni et Zn), les anions (phosphate, nitrate, nitrite, cyanure), les composés organiques (les colorants, hydrocarbures, les pesticides, les antibiotiques, etc...), les virus, les bactéries et les parasites peuvent être éliminés par les MNPs. Les MNPs ont montré des bons résultats par rapport aux autres techniques couramment utilisées dans le traitement de l'eau en raison de leurs rapports surface/volume élevés [186].

Le traitement biologique consiste à éliminer les germes pathogènes de l'eau. Les MNPs de Ag, Cu, ZnO, TiO₂ et CeO₂ sont actuellement les nanomatériaux antimicrobiens les plus largement utilisés [160,163,181-183,185]. Leurs fortes activités antimicrobiennes, leurs larges spectres antimicrobiens, leurs faibles toxicités pour l'homme et leurs facilités d'utilisation en font un choix prometteur pour la désinfection de l'eau et le contrôle microbien. Les MNPs antimicrobiens sont envisagés pour trouver leurs applications dans trois défis critiques concernant les systèmes eau/eaux usées : la désinfection, le contrôle de l'encrassement membranaire et le contrôle du biofilm sur d'autres surfaces pertinentes. Les MNPs ont un bon potentiel d'application dans le traitement de l'eau potable au point d'utilisation (POU). Elles peuvent améliorer la qualité de l'eau pour une utilisation haut de gamme ou fournir une autre barrière contre les agents pathogènes d'origine hydrique pour les populations vulnérables [185]. Il existe déjà sur le marché des

dispositifs commerciaux utilisant les AgNPs, par exemple Marathon et Aquapure. Les AgNPs ont également été incorporées dans des microfiltres céramiques comme une barrière pour les agents pathogènes, qui peuvent être utilisés dans les zones reculées dans les pays en développement [187].

Références bibliographiques

- [1] S.V. Dorozhkin, Calcium orthophosphate (CaPO_4): Occurrence and properties, *Progress in Biomaterials* 5(1) (2016) 9-70.
- [2] J.A. Jansen, B. Leon, *Thin calcium phosphate coatings for medical implants*, (Vol. 390), Springer, New York (2009).
- [3] D.R. Lide, The CRC handbook of chemistry and physics. 86th Edition, *CRC Press: Boca Raton*, Florida, USA (2005).
- [4] A.J.G. Notholt, R. P. Sheldon, D. Davidson, Phosphate deposits of the world. Volume 2: phosphate rock resources. *Cambridge University Press*, UK (2005).
- [5] S.V. Dorozhkin, Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine, *Materials* 2 (2009) 399-498.
- [6] N.A. Trueman, Substitutions for phosphate ions in apatite, *Nature* 210 (1966) 937-938.
- [7] Y. Pan, M.E. Fleet, Compositions of the apatite-group minerals: substitution mechanisms and controlling factors. Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance, Series: Reviews in Mineralogy and Geochemistry, J.M. Hughes, M. Kohn, J. Rakovan, (Eds.), *Mineralogical Society of America*, Washington D.C., USA, (2002).
- [8] S.V. Dorozhkin, Calcium orthophosphates: occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification, and biomimetic applications, *Biomatter* 1 (2011) 121-164
- [9] J.D. Pasteris, B. Wopenka, E. Valsami-Jones, Bone and tooth mineralization: why apatite?, *Elements* 4 (2008) 97-104.
- [10] N.Y. Zanin, The classification of calcium phosphates of phosphorites, *Lithology and Mineral Resources* 39 (2004) 281-282.
- [11] L.C. Chow, Next generation calcium phosphate-based biomaterials, *Dental Materials Journal* 28(1) (2009) 1-10.
- [12] H.B. Pan, B.W. Darvell, Calcium phosphate solubility: the need for re-evaluation, *Crystal Growth and Design* 9(2) (2008) 639-645.
- [13] Z.F. Chen, B.W. Darvell, V.H. Leung, Hydroxyapatite solubility in simple inorganic solutions, *Archives of Oral Biology* 49(5) (2004) 359-367.
- [14] H.B. Pan, B.W. Darvell, Solubility of hydroxyapatite by solid titration at pH 3-4, *Archives of Oral Biology* 52(7) (2007) 618-624.
- [15] H.B. Pan, B.W. Darvell, Solubility of dicalcium phosphate dihydrate by solid titration, *Caries Research* 43(4) (2009) 254-260.
- [16] B.R. Constantz, B.M. Barr, I.C. Ison, M.T. Fulmer, J. Baker, L. McKinney, S.B. Goodman, S. Gunasekaran, D.C. Delaney, J. Ross, R.D. Poser, Histological, chemical and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit osseous sites, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 43(4) (1998) 45-461.

- [17] T. Miyazaki, K. Sivaprakasam, J. Tantry, R. Suryanarayanan, Physical characterization of dibasic calcium phosphate dihydrate and anhydrate, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 98(3) (2009) 905-916.
- [18] R.Z. LeGeros, Formation and transformation of calcium phosphates: relevance to vascular calcification, *Zeitschrift für Kardiologie* 90(Suppl 3) (2001) III116–III125
- [19] G.E. Moore, On brushite, a new mineral occurring in phosphatic guano, *American Journal of Science* 39 (1865) 43-44
- [20] R. Boistelle, I. Lopez-Valero, Growth units and nucleation: the case of calcium phosphates, *Journal of Crystal Growth* 102(3) (1990) 609-617.
- [21] S.V. Safronova, V.I. Putlyaev, M.A. Shekhirev, A.V. Kuznetsov, Composite ceramic containing a bioresorbable phase, *Glass and Ceramics* 64(3) (2007) 102-106.
- [22] M. Bohner, Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements, *Injury* 31 (2000) D37-D47.
- [23] T.K. Anee, M. Palanichamy, M. Ashok, N.M. Sundaram, S.N. Kalkura, Influence of iron and temperature on the crystallization of calcium phosphates at the physiological pH, *Materials Letters* 58 (3-4) (2004) 478-482.
- [24] T.K. Anee, N.M. Sundaram, D. Arivuoli, P. Ramasamy, S.N. Kalkura, Influence of an organic and an inorganic additive on the crystallization of dicalcium phosphate dihydrate, *Journal of Crystal Growth* 285(3) (2005) 380-387.
- [25] A. T. Jensen, J. Rathlev, Haisty, R. W. Calcium Dihydrogen Orthophosphate 1-Hydrate, *Inorganic Syntheses* 4 (1953) 19-22
- [26] P.S. Pierre, The preparation of dicalcium phosphate dihydrate and calcium pyrophosphate, *Journal of the American Chemical Society* 77(8) (1955) 2197-2198.
- [27] T. Hagio, K. Yamauchi, K. Iwai, Magnetically Induced Crystal Alignment of Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate, *Journal of Materials Science Research* 3(2) (2014) 38- 43.
- [28] A. Lagazzo, F.Barberis, C. Carbone, G. Ramis, E. Finocchio, Molecular level interactions in brushite-aminoacids composites, *Materials Science and Engineering: C* 70 (2017) 721-727.
- [29] S. Rattanachan, C. Lorprayoon, P. Boonphayak, Synthesis of chitosan/brushite powders for bone cement composites, *Journal of the Ceramic Society of Japan* 116(1349) (2008) 36-41.
- [30] H. Lim, A. Kassim, N. Huang, R. Hashim, S. Radiman, P. Khiewe, W. Chiu, Fabrication and characterization of 1D brushite nanomaterials via sucrose ester reverse microemulsion, *Ceramics International* 35 (2009) 2891-2897.
- [31] M. Tămășan, L.S. Ozyegin, F.N. Oktar, V. Simon, Characterization of calcium phosphate powders originating from *Phyllacanthus imperialis* and Trochidae *Infundibulum concavus* marine shells, *Materials Science and Engineering: C* 33(5) (2013) 2569-2577.

- [32] P. F. Schofield, K. S. Knight, J. A. M. van der Houwen, E. Valsami-Jones, The role of hydrogen bonding in the thermal expansion and dehydration of brushite, di-calcium phosphate dehydrate, *Physics and Chemistry of Minerals* 31 (2004) 606-624.
- [33] N.A. Curry, D.W. Jones, Crystal structure of brushite, calcium hydrogen orthophosphate dihydrate: a neutron-diffraction investigation, *Journal of the Chemical Society A: Inorganic, Physical, Theoretical* (1971) 3725-3729.
- [34] L. Tortet, J. R. Gavarri, G. Nihoul, A. J. Dianoux, Study of Protonic Mobility in $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Brushite) and CaHPO_4 (Monetite) by Infrared Spectroscopy and Neutron Scattering, *Journal of Solid State Chemistry* 132(1) (1997) 6-16.
- [35] F. Pourpoint, C. Gervais, L. Bonhomme-Courty, F. Mauri, B. Alonso, C. Bonhomme, Calcium phosphates: First-principles calculations vs. solid-state NMR experiments, *Comptes Rendus Chimie* 11(4) (2008) 398-406.
- [36] V. Bourcier, Influence des ions monohydrogénophosphates et fluorophosphates sur les propriétés des phosphogypses et la réactivité des phosphoplâtres. *Thèse de doctorat*, Ecole Nationale des Mines de Saint-Etienne (2007).
- [37] J.C. Elliot, Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. Studies in Inorganic Chemistry 18, *Elsevier Science B.V.*, Amsterdam, Netherlands (1994)
- [38] F. Tamimi, J. Torres, D. Bassett, J. Barralet, E.L. Cabarcos, Resorption of monetite granules in alveolar bone defects inhuman patients, *Biomaterials* 31 (2010) 2762-2769.
- [39] N. Kanari, N. Menad, F. Diot, E. Allain, J. Yvon, Phosphate valorization by dry chlorination route, *Journal of Mining and Metallurgy, Section B: Metallurgy* 52 (1) (2016) 17-24.
- [40] H.C. Hsu, W.H. Tuan, H.Y. Lee, In-situ observation on the transformation of calcium phosphate cement into hydroxyapatite, *Materials Science and Engineering: C* 29(3) (2009) 950-954.
- [41] M. Landin, R.C. Rowe, P. York, Structural changes during the dehydration of dicalcium phosphate dihydrate, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2 (1994) 245-252.
- [42] J.G. Rabatin, R.H. Gale, A.E. Newkirk, The mechanism and kinetics of the dehydration of calcium hydrogen phosphate dihydrate, *The Journal of Physical Chemistry* 64(4) (1960) 491-493.
- [43] A.C. Tas, Monetite (CaHPO_4) synthesis in ethanol at room temperature, *Journal of the American Ceramic Society* 92(12) (2009) 2907-2912.
- [44] W. Amer, K. Abdelouahdi, H.R. Ramananarivo, A. Fihri, M. El Achaby, M. Zahouily, A. Barakat, A. Fihri, K. Djessas, J. Clark, A. Solhy, Smart designing of new hybrid materials based on brushite-alginate and monetite-alginate microspheres: Bio-inspired for sequential nucleation and growth, *Materials Science and Engineering: C* 35(2014) 341-346.
- [45] B. Kruppke, J. Farack, A.S. Wagner, S. Beckmann, C. Heinemann, K. Glenske, S. Rößler, H-P. Wiesmann, S. Wenisch, T. Hanke, Gelatine modified monetite as a bone substitute material: an in vitro assessment of bone biocompatibility, *Acta Biomaterialia* 32 (2016) 275-285.

- [46] L. Sun, L.C. Chow, S.A. Frukhtbeyn, J.E. Bonevich, Preparation and properties of nanoparticles of calcium phosphates with various Ca/P ratios, *Journal of research of the National Institute of Standards and Technology* 115(4) (2010) 243-255.
- [47] S. Chen, K. Grandfield, S. Yu, H. Engqvist, W. Xia, Synthesis of calcium phosphate crystals with thin nacreous structure, *CrystEngComm* 18(6) (2016) 1064-1069.
- [48] H.E. Lundager Madsen, G. Thorvardarson, Precipitation of calcium phosphate from moderately acid solution, *Journal of Crystal Growth* 66 (1984) 369-376.
- [49] T. Safronova, A. Kuznetsov, S. Korneychuk, V. Putlyaev, M. Shekhirev, Calcium phosphate powders synthesized from solutions with $[Ca^{2+}]/[PO_4^{3-}] = 1$ for bioresorbable ceramics, *Open Chemistry* 7(2) (2009) 184-191.
- [50] R. Gilmour, Phosphoric acid: purification, uses, technology, and economics. *CRC Press Taylor and Francis Group*, Boca Raton, USA (2013).
- [51] M. Chkir, Synthèse de gels phosphocalciques issus de déchets industriels carbonatés : caractérisation physico-chimique, thermique et rhéologique, *Thèse de doctorat*, INPT Université de Toulouse (2011).
- [52] J.P. Smith, J.R. Lehr, W.E. Brown, Crystallography of monocalcium and dicalcium phosphates, *American Mineralogist* 40(9-10) (1955) 893-899.
- [53] R.W. Mooney, M.A. Aia, Alkaline Earth Phosphates, *Chemical Reviews* 61(5) (1961) 433-462.
- [54] G.G. Chen, G.S. Luo, L.M. Yang, J.H. Xu, Y. Sun, J.D. Wang, Synthesis and size control of $CaHPO_4$ particles in a two-liquid phase micro-mixing process, *Journal of Crystal Growth* 279 (2005) 501-507.
- [55] Q. Ruan, Y. Zhu, Y. Zeng, H. Qian, J. Xiao, F. Xu, L. Zhang, D. Zhao, Ultrasonic-irradiation-assisted oriented assembly of ordered monetite nanosheets stacking, *The Journal of Physical Chemistry B* 113(4) (2009) 1100-1106.
- [56] K. Lin, C. Wu, J. Chang, Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape, *Acta Biomaterialia* 10(10) (2014) 4071-4102.
- [57] G.R. Sivakumar, E.K. Girija, S. Narayana Kalkura, C. Subramanian, Crystallization and characterization of calcium phosphates: brushite and monetite, *Crystal Research and Technology* 33(2) (1998) 197-205.
- [58] E. D'Amen, Synthesis and Characterization of Functional Inorganic Nano-Micro Particles and their Role in Innovative Practical Applications, *Doctoral dissertation*, alma, (2016).
- [59] H. Eshtiagh-Hosseini, M.R. Houssaindokht, M. Chahkandhi, A. Youssefi, Preparation of anhydrous dicalcium phosphate, DCPA, through sol-gel process, identification and phase transformation evaluation, *Journal of Non-Crystalline Solids* 354 (2008) 3854-3857.
- [60] Y. Tokudome, A. Miyasaka, K. Nakanishi, T. Hanada, Synthesis of hierarchical macro/mesoporous dicalcium phosphate monolith via epoxide-mediated sol-gel reaction from ionic precursors, *Journal of Sol-gel Science and Technology* 57(3) (2011) 269-278.

- [61] B. Ben-Nissan, Besim, A.H. Choi, Sol-gel production of bioactive nanocoatings for medical applications. Part 1: an introduction, *Nanomedicine* 1(3) (2006) 311-319.
- [62] S. Shadanbaz, J. Walker, T.B. Woodfield, M.P. Staiger, G.J. Dias, Monetite and brushite coated magnesium: in vivo and in vitro models for degradation analysis, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 25(1) (2014) 173-183.
- [63] Y. Tokuoka, Y. Ito, K. Kitahara, Y. Niikura, A. Ochiai, N. Kawashima, Preparation of monetite (CaHPO_4) with hexagonally packed mesoporous structure by a sol-gel method using cationic surfactant aggregates as a template, *Chemistry Letters* 35(11) (2006) 1220-1221.
- [64] K.H. Park, S.J. Kim, W.Y. Lee, H.J. Song, Y.J. Park, Hydrothermal fabrication and characterization of calcium phosphate anhydrous/chitosan composites, *Ceramics International* 43(2) (2017) 2786-2790.
- [65] Y. Fujishiro, H. Yabuki, K. Kawamura, T. Sato, A. Okuwaki, Preparation of needle-like hydroxyapatite by homogeneous precipitation under hydrothermal conditions, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 57(4) (1993) 349-353.
- [66] S. Jinawath, D. Pongkao, W. Suchanek, M. Yoshimura, Hydrothermal synthesis of monetite and hydroxyapatite from monocalcium phosphate monohydrate, *International Journal of Inorganic Materials* 3 (2001) 997-1001.
- [67] K. Byrappa, M. Yoshimura, *Handbook of hydrothermal technology*. William Andrew, USA (2012).
- [68] M. Shafie, E. Raudhoh, Z.A. Ahmad, N. Ahmad, Study on Conversion Time of Brushite to Monetite via Hydrothermal Method. In *Materials Science Forum*, Trans Tech Publications 888 (2017) 319-323)
- [69] M. Karimi, M.R. Ramsheh, S.M. Ahmadi, M.R. Madani, One-step and low-temperature synthesis of monetite nanoparticles in an all-in-one system (reactant, solvent, and template) based on calcium chloride-choline chloride deep eutectic medium, *Ceramics International* 43(2) (2017) 2046-2050.
- [70] K.C.B. Yeong, J. Wang, S.C. Ng, Mechanochemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from CaO and CaHPO_4 , *Biomaterials* 22(20) (2001) 2705-2712.
- [71] J. Chou, R. Samur, L.S. Ozyegin, B. Ben-Nissan, F. N. Oktar, I.J. Macha, An alternative synthesis method for di calcium phosphate (Monetite) powders from mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) shells, *Journal of The Australian Ceramic Society* 49(2) (2013) 122-128
- [72] R.N.R. Cegla, I.J. Macha, B. Ben-Nissan, D. Grossin, G. Heness, R.J. Chung, Comparative study of conversion of coral with ammonium dihydrogen phosphate and orthophosphoric acid to produce calcium phosphates, *Journal of the Australian Ceramics Society* 50(2) (2014) 154-161.
- [73] A. Nasser, U. Mingelgrin, Mechanochemistry: a review of surface reactions and environmental applications, *Applied Clay Science* 67 (2012) 141-150.

- [74] E.G. Avvakumov, L. Karakchiev, Mechanochemical synthesis as a method for the preparation of nanodisperse particles of oxide materials, *Chemistry of Sustainable Development* 12 (2004) 287-291.
- [75] B. Dickens, J.S. Bowen, W.E. Brown, A Refinement of the Crystal Structure of CaHPO_4 (Synthetic Monetite), *Acta Cryst. B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* 28(3) (1971) 797-806.
- [76] N. Ouerfelli, M.F. Zid, New polymorph of CaHPO_4 , *Journal of Structural Chemistry* 57(3) (2016) 628-631.
- [77] W.A. Denne, D.W. Jones, Neutron diffraction investigation of the hydrogen positions in the crystal structure of monetite, CaHPO_4 , *Journal of Crystal and Molecular Structure* 1 (1971) 347-354.
- [78] M. Catti, G. Ferraris, A. Filhol, Hydrogen bonding in the crystalline state. CaHPO_4 (Monetite), P-1 or P1? A Novel Neutron Diffraction Study, *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry* 33(4) (1977) 1223-1229.
- [79] B. Louati, K. Guidara, M. Gargouri, M. Fourati, ^1H NMR, ^{31}P NMR and Raman Study of CaHPO_4 and SrHPO_4 , *Zeitschrift für Naturforschung A* 60(1-2) (2005) 121-126.
- [80] N.W. Wikholm, R.A. Beebe, J.S Kittelberger, Kinetics of the conversion of monetite to calcium pyrophosphate, *The Journal of Physical Chemistry* 79(8) (1975) 853-856.
- [81] F. Hlel, S. Kamoun, K. Guidara, Investigation of phosphorus site condensation in CaHPO_4 by analysis of ^{31}P MAS-NMR tensor and X-ray powder patterns, *Zeitschrift für Naturforschung A* 61(7-8) (2006) 375-382.
- [82] N. Yoza, S. Onoue, Y. Kuwahara, Catalytic ability of alkaline phosphatase to promote POP bond hydrolyses of inorganic diphosphate and triphosphate, *Chemistry Letters* 26(6) (1997) 491-492.
- [83] A. Beutler, S. Rothfuss, G. Clayburne, M. Sieck, H. Schumacher, Calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition in synovium. Relationship to collagen fibers and chondrometaplasia, *Arthritis & Rheumatology* 36(5) (1993) 704-715.
- [84] M. Cordon and J. Norfleet, James. *Calcium pyrophosphate abrasive system for dentifrice*, U.S. Patent No 3,989,814 (1976).
- [85] B.C. Cornilsen, R.A. Condrate, The vibrational spectra of $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ and $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* 41 (1979) 602-605.
- [86] F. Tamimi, Z. Sheikh, J. Barralet, Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite, *Acta Biomaterialia* 8(2) (2012) 474-487.
- [87] V.S. Joshi, M.J. Joshi, FTIR spectroscopic, thermal and growth morphological studies of calcium hydrogen phosphate dihydrate crystals, *Crystal Research and Technology* 38 (9) (2003) 817-821.
- [88] B. Mehdikhani, G.H. Borhani, Synthesis nano bio-ceramic powder $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, *Journal of Ceramic Processing Research* 16(3) (2015) 308-312.

- [89] C. Calvo, Crystal structure of alpha-calcium pyrophosphate, *Inorganic Chemistry* 7(7) (1968) 1345-1351.
- [90] S. Boudin, A. Grandin, M.M. Borel, A. Leclaire, B. Raveau, Redetermination of the β -Ca₂P₂O₇ structure, *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications* 49(12) (1993) 2062-2064.
- [91] M. Banu, Mise en forme d'apatites nanocristallines: ceramiques et ciments. *Thèse de doctorat*, Institut National Polytechnique de Toulouse, (2005).
- [92] V.C. Ghantani, M.K. Dongare, S.B. Umbarkar, Nonstoichiometric calcium pyrophosphate: a highly efficient and selective catalyst for dehydration of lactic acid to acrylic acid, *Royal Society of Chemistry Advances* 4(63) (2014) 33319-33326.
- [93] I.B. Lozano, J. Roman-Lopez, R. Sosa, J.A.I. Díaz-Góngora, J. Azorín, Preparation of cerium doped calcium pyrophosphate: Study of luminescent behavior, *Journal of Luminescence* 173 (2016) 5-10.
- [94] D. Mulas, J. Garcia-Orellana, N. Casacuberta, A. Hierro, V. Moreno, P. Masqué, Dose assessment to workers in a dicalcium phosphate production plant, *Journal of Environmental Radioactivity* 165 (2016) 182-190.
- [95] J. Anissi, M. El Hassouni, A. Ouardaoui, K. Sendide, A simple method for large-scale purification of nucleic acids from plants using calcium phosphate-type monetite, *Process Biochemistry* 52 (2017) 259-266.
- [96] A. El Hamidi, S. Aarsalane, M. Halim, Kinetics and isotherm studies of copper removal by brushite calcium phosphate: linear and non-linear regression comparison, *Journal of Chemistry* 9(3) (2012) 1532-1542.
- [97] S. Sugiyama, T. Ichii, M. Fujisawa, K. Kawashiro, T. Tomida, N. Shigemoto, H. Hayashi, Heavy metal immobilization in aqueous solution using calcium phosphate and calcium hydrogen phosphates, *Journal of Colloid Interfaces Science* 259 (2003) 408-410.
- [98] C. Shen, L. Wu, Y. Chen, S. Li, S. Rashid, Y. Gao, J. Liu, Efficient removal of fluoride from drinking water using well-dispersed monetite bundles in laid in chitosan beads, *Chemical Engineering Journal* 303 (2016) 391-400.
- [99] M.M. Mirković, T.L. Pašti, A.M. Došen, M.Z. Čebela, A.A. Rosić, B.Z. Matović, B.M. Babić, Adsorption of malathion on mesoporous monetite obtained by mechanochemical treatment of brushite, *Royal Society of Chemistry Advances* 6(15) (2016) 12219-12225.
- [100] A. Falamaki, H. Tavallali, M. Eskandari, S.R. Farahmand, Immobilizing some heavy by mixing contaminated soils with phosphate admixtures, *International Journal of Civil Engineering* 14(2) (2016) 75-81.
- [101] Z. Benzekri, K. El Mejdoubi, S. Boukhris, B. Sallek, B. Lakhrissi, A. Souizi, Dicalcium phosphate dehydrate DCPD as a highly efficient and reusable catalyst for Knoevenagel condensation, *Synthetic Communications* 46(5) (2016) 442-451.

- [102] E.J. Kim, S.W. Choi, S.H. Hong, Synthesis and photoluminescence properties of Eu^{3+} -doped Calcium Phosphates, *Journal of the American Ceramic Society* 90(9) (2007) 2795-2798.
- [103] H. Maeda, T. Miyajima, S. Lee, A. Obata, K. Ueda, T. Narushima, T. Kasuga, Preparation of calcium pyrophosphate glass-ceramics containing Nb_2O_5 , *Journal of the Ceramic Society of Japan* 122(1421) (2014) 122-124.
- [104] P. Christian, F. Von der Kammer, M. Baalousha, T. Hofmann, Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media, *Ecotoxicology* 17(5) (2008) 326-343.
- [105] A.K. Singh, Introduction to Nanoparticles and Nanotoxicology. In *Engineered Nanoparticles: structure, properties and mechanisms of toxicity*, Academic Press (2015) 1-18.
- [106] C. Buzea, I. I. Pacheco, K. Robbie, Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity, *Biointerphases* 2(4) (2007) MR17-MR71.
- [107] U. Kreibig, M. Vollmer, *Theoretical considerations In Optical Properties of Metal Clusters*, Springer, Berlin, Heidelberg, Germany (1995).
- [108] K.L. Kelly, E. Coronado, L.L. Zhao, G.C. Schatz, The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment, *Journal of Physical Chemistry B* 107 (2003) 668-677.
- [109] S. Horikoshi, N. Serpone, *Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, Weinheim, Germany (2013).
- [110] C. Noguez, Optical properties of isolated and supported metal nanoparticles, *Optical Materials* 27(7) (2005) 1204-1211.
- [111] R. Krahne, L. Manna, G. Morello, A. Figuerola, C. George, S. Deka, Optical Properties of Metal Nanorods. In *Physical Properties of Nanorods*, Springer, Berlin, Heidelberg (2013) 87-131.
- [112] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M.A. El-Sayed, Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes, *Chemical Reviews* 105(4) (2005) 1025-1102.
- [113] X.M. Lin, A.C. Samia, Synthesis, assembly and physical properties of magnetic nanoparticles, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 305(1) (2006) 100-109.
- [114] R. Krahne, L. Manna, G. Morello, A. Figuerola, C. George, S. Deka, Magnetic Properties of Nanorods. In *Physical Properties of Nanorods*, Springer, Berlin Heidelberg, Germany (2013) 133-213.
- [115] M.L. Plumer, *The physics of ultra-high-density magnetic recording*. In: M.L. Plumer, J. Van Ek, D. Weller (Eds.), Vol. 41, Springer Science & Business Media, Berlin Heidelberg, Germany (2012).
- [116] S.R. Dave, X. Gao, Monodisperse magnetic nanoparticles for biodetection, imaging, and drug delivery: a versatile and evolving technology, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* 1(6) (2009) 583-609.

- [117] I. Khan, K. Saeed, I. Khan, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, *Arabian Journal of Chemistry* (2017). doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011, in press.
- [118] Y. Wang, Y. Xia, Bottom-up and top-down approaches to the synthesis of mono-dispersed spherical colloids of low melting-point metals, *Nano Letters* 4(10) (2004) 2047-2050.
- [119] N. Toshima, T. Yonezawa, Bimetallic nanoparticles-novel materials for chemical and physical applications? *New Journal of Chemistry* 22(11) (1998) 1179-1201.
- [120] S. Iravani, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chemistry* 13(10) (2011) 2638-2650.
- [121] N. Yan, C. Xiao, Y. Kou, Transition metal nanoparticle catalysis in green solvents, *Coordination Chemistry Reviews* 254(9-10) (2010) 1179-1218.
- [122] R.J. Aitken, M.Q. Chaudhry, A.B.A. Boxall, M. Hull, Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends, *Occupational Medicine* 56(5) (2006) 300-306.
- [123] A. Roucoux, J. Schulz, H. Patin, Reduced transition metal colloids: a novel family of reusable catalysts?, *Chemical Reviews* 102(10) (2002) 3757-3778.
- [124] J.D. Aiken III, R.G. Finke, A review of modern transition-metal nanoclusters: their synthesis, characterization, and applications in catalysis, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 145(1-2) (1999) 1-44.
- [125] H. Bönnehan, R.M. Richards, Nanoscopic Metal Particles-Synthetic Methods and Potential Applications, *European Journal of Inorganic Chemistry* 2001(10) (2001) 2455-2480.
- [126] F. Parveen, B. Sannakki, M.V. Mandke, H.M. Pathan, Copper nanoparticles: Synthesis methods and its light harvesting performance, *Solar Energy Materials and Solar Cells* 144 (2016) 371-382
- [127] D.G. Duff, A. Baiker, P.P. Edwards, A new hydrosol of gold clusters. 1. Formation and particle size variation, *Langmuir* 9(9) (1993) 2301-2309.
- [128] C.K. Tan, V. Newberry, T.R. Webb, C.A. McAuliffe, Water photolysis. Part 2, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* (1987) 1299-1303.
- [129] J. Livage, M. Henry, C. Sanchez, Sol-gel chemistry of transition metal oxides, *Progress in solid state chemistry* 18(4) (1988) 259-341.
- [130] J.L. Gardea-Torresdey, J.M. Parsons, E. Gomez, J. Peralta-Videa, H. E. Troiani, P. Santiago, M. Jose Yacaman, Formation and growth of Au nanoparticles inside live Alfalfa plants, *Nano Letters* 2(4) (2002) 397-401.
- [131] M. Nasrollahzadeh, M. Sajjadi, S.M. Sajadi, Biosynthesis of copper nanoparticles supported on manganese dioxide nanoparticles using *Centella asiatica* L. leaf extract for the efficient catalytic reduction of organic dyes and nitroarenes, *Chinese Journal of Catalysis* 39 (2018) 109-117.

- [132] T. Klaus-Joerger, R. Joerger, E. Olsson, C.G. Granqvist, Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science, *Trends in Biotechnology* 19(1) (2001) 15-20.
- [133] A. Ahmad, S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar, M. Sastry, Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora sp*, *Langmuir* 19(8) (2003) 3550-3553.
- [134] K. Mallick, M.J. Witcomb, M.S. Scurrall, Supported gold catalysts prepared by in situ reduction technique: preparation, characterization and catalytic activity measurements, *Applied Catalysis A: General*, 259(2) (2004) 163-168
- [135] Z. Issaabadi, M. Nasrollahzadeh, S.M. Sajadi, Green synthesis of the copper nanoparticles supported on bentonite and investigation of its catalytic activity, *Journal of Cleaner Production* 142 (2017) 3584-3591.
- [136] F.A.C. Andrade, L.C. de Oliveira Vercik, F.J. Monteiro, E.C. da Silva Rigo, Preparation, characterization and antibacterial properties of silver nanoparticles–hydroxyapatite composites by a simple and eco-friendly method, *Ceramics International* 42(2) (2016) 2271-2280.
- [137] I. Chorkendorff, J.W. Niemantsverdriet, *Concepts of modern catalysis and kinetics*, John Wiley & Sons, Weinheim, Germany (2017).
- [138] X. Dong, F. Li, N. Zhao, F. Xiao, J. Wang, Y. Tan, CO₂ hydrogenation to methanol over Cu/ZnO/ZrO₂ catalysts prepared by precipitation-reduction method, *Applied Catalysis B: Environmental* 191 (2016) 8-17.
- [139] W. Ning, H. Shen, H. Liu, Study of the effect of preparation method on CuO-ZnO-Al₂O₃ catalyst, *Applied Catalysis A: General* 211(2) (2001) 153-157.
- [140] H. Hirai, M. Ohtaki, M. Komiyama, Immobilization of colloidal platinum particles onto polyacrylamide gel having amino groups and their catalyses in hydrogenations of olefins, *Chemistry Letters* 15(3) (1986) 269-272.
- [141] J.W. Geus, A.J. van Dillen, Preparation of supported catalysts by deposition–precipitation. In *Handbook of heterogeneous catalysis*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany (1997) 428-467.
- [142] X. Zhao, L. Lv, B. Pan, W. Zhang, S. Zhang, Q. Zhang, Polymer-supported nanocomposites for environmental application: a review, *Chemical Engineering Journal* 170(2) (2011) 381-394.
- [143] H. Park, H. Choi, Synthesis of Nanoparticles and One-Dimensional Nanomaterials. In *Nanotechnologies for Water Environment Applications*, American Society of Civil Engineers, Virginia, USA (2009) 14-42.
- [144] A. K. Singh, Experimental Methodologies for the Characterization of Nanoparticles. In *Engineered nanoparticles: structure, properties and mechanisms of toxicity*. Academic Press. (2015) 125-170.

- [145] J. Herrera, N. Sakulchaicharoen, Microscopic and spectroscopic characterization of nanoparticles. In: Y. Pathak, D. Thassu (eds) *Nanoparticulate drug delivery systems (NPDDS)-II: formulation and characterization*. Informa Healthcare, New York (2009) 237-249.
- [146] N. Sreeju, A. Rufus, D. Philip, Microwave-assisted rapid synthesis of copper nanoparticles with exceptional stability and their multifaceted applications, *Journal of Molecular Liquids* 221 (2016) 1008-1021.
- [147] S. Peiris, J. McMurtrie, H.Y. Zhu, Metal nanoparticle photocatalysts: emerging processes for green organic synthesis, *Catalysis Science & Technology* 6(2) (2016) 320-338.
- [148] S.L. Upstone, Ultraviolet/visible light absorption spectrophotometry in clinical chemistry, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, London, U.K. (2000) 1-16.
- [149] A.N. Pestryakov, V.P. Petranovskii, A. Kryazhov, O. Ozhereliev, N. Pfänder, A. Knop-Gericke, Study of copper nanoparticles formation on supports of different nature by UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy, *Chemical Physics Letters* 385(3-4) (2004) 173-176.
- [150] H. Ullah, I. Khan, Z.H. Yamani, A. Qurashi, Sonochemical-driven ultrafast facile synthesis of SnO₂ nanoparticles: Growth mechanism structural electrical and hydrogen gas sensing properties, *Ultrasonics Sonochemistry* 34 (2017) 484-490.
- [151] I. Khan, A.A. Ibrahim, M. Sohail, A. Qurashi, Sonochemical assisted synthesis of RGO/ZnO nanowire arrays for photoelectrochemical water splitting, *Ultrasonics Sonochemistry* 37 (2017) 669-675.
- [152] R. Allabashi, W. Stach, A. de la Escosura-Muñiz, L. Liste-Calleja, A. Merkoçi, ICP-MS: A powerful technique for quantitative determination of gold nanoparticles without previous dissolving, *Journal of Nanoparticle Research* 11 (8) (2009) 2003-2011.
- [153] M. Mansour, L. Favergeon, M. Pijolat, Kinetic modeling of low temperature oxidation of copper nanoparticles by O₂, *Thermochimica Acta* 570 (2013) 41-50.
- [154] G. Centi, P. Ciambelli, S. Perathoner, P. Russo, Environmental catalysis: trends and outlook, *Catalysis Today* 75(1) (2002) 3-15.
- [155] J.N. Armor, Environmental catalysis, *Applied Catalysis B: Environmental* 1(4) (1992) 221-256.
- [156] J. Levec, A. Pintar, Catalytic wet-air oxidation processes: a review, *Catalysis Today* 124(3) (2007) 172-184.
- [157] J.C. Fanning, B.C. Brooks, A.B. Hoeglund, D.A. Pelletier, J.A. Wadford, The reduction of nitrate and nitrite ions in basic solution with sodium borohydride in the presence of copper(II) ions, *Inorganica Chimica Acta* 310(1) (2000) 115-119.
- [158] S. Kalidhasan, M. Ben-Sasson, I. Dror, R. Carmieli, E.M. Schuster, B. Berkowitz, Oxidation of aqueous organic pollutants using a stable copper nanoparticle suspension, *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 95(2) (2017) 343-352.

- [159] A.S. Nair, T. Pradeep, Halocarbon mineralization and catalytic destruction by metal nanoparticles, *Current Science-Bangalore* 84(12) (2003) 1560-1563.
- [160] T. Pradeep, Noble metal nanoparticles for water purification: a critical review, *Thin Solid Films* 517(24) (2009) 6441-6478.
- [161] A.S. Nair, R.T. Tom, T. Pradeep, Detection and extraction of endosulfan by metal nanoparticles, *Journal of Environmental Monitoring* 5(2) (2003) 363-365.
- [162] A.S. Nair, T. Pradeep, Extraction of chlorpyrifos and malathion from water by metal nanoparticles, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 7(6) (2007) 1871-1877.
- [163] S. Kar, P.K. Tewari, Nanotechnology for domestic water purification. In: F. Pacheco-Torgal, M.V. Diamanti, A. Nazari, C. Goran-Granqvist (Eds.), *Nanotechnology in Eco-Efficient, Construction Materials, Processes and Applications*, Woodhead Publishing Series in Civil and Structural Engineering (2013) 364-427.
- [164] S.M. Ponder, J.G. Darab, T.E. Mallouk, Remediation of Cr (VI) and Pb (II) aqueous solutions using supported, nanoscale zero-valent iron, *Environmental Science & Technology* 34(12) (2000) 2564-2569.
- [165] N.R. Jana, T.K. Sau, T. Pal, Growing small silver particle as redox catalyst, *The Journal of Physical Chemistry B* 103(1) (1999) 115-121.
- [166] N. Pradhan, A. Pal, T. Pal, Catalytic reduction of aromatic nitro compounds by coinage metal nanoparticles, *Langmuir* 17(5) (2001) 1800-1802.
- [167] B.K. Ghosh, S. Hazra, B. Naik, N.N. Ghosh, Preparation of Cu nanoparticle loaded SBA-15 and their excellent catalytic activity in reduction of variety of dyes, *Powder Technology* 269 (2015) 371-378.
- [168] Q. Liu, D. Zhou, K. Nishio, R. Ichino, M. Okido, Effect of reaction driving force on copper nanoparticle preparation by aqueous solution reduction method, *Materials Transactions* 51(8) (2010) 1386-1389.
- [169] N. Gupta, H.P. Singh, R.K. Sharma, Metal nanoparticles with high catalytic activity in degradation of methyl orange: an electron relay effect, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 335(1-2) (2011) 248-252.
- [170] J.P. Deng, W.C. Shih, C.Y. Mou, Electron transfer-induced hydrogenation of anthracene catalyzed by gold and silver nanoparticles, *The Journal of Physical Chemistry C* 111(27) (2007) 9723-9728.
- [171] L. Dykman, N. Khlebtsov, Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives, *Chemical Society Reviews* 41(6) (2012) 2256-2282.
- [172] A.K. Singh, Structure, Synthesis, and Application of Nanoparticles. In *Engineered Nanoparticles-Structure, Properties and Mechanisms of Toxicity*, Academic Press. (2015) 19-76.
- [173] M. Bañobre-López, A. Teijeiro, J. Rivas, Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment, *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy* 18(6) (2013) 397-400.

- [174] S.D. Brown, P. Nativo, J.A. Smith, D. Stirling, P.R. Edwards, B. Venugopal, D. J. Flint, J. A. Plumb, D. Graham, N.J. Wheate, Gold nanoparticles for the improved anticancer drug delivery of the active component of oxaliplatin, *Journal of the American Chemical Society* 132(13) (2010) 4678-4684.
- [175] J.D. Gibson, B.P. Khanal, E.R. Zubarev, Paclitaxel-functionalized gold nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society* 129(37) (2007) 11653-11661.
- [176] M. Abhilash, Potential applications of Nanoparticles, *International Journal of Pharma and Bio Science*, 1 (1) (2010) 1-12.
- [177] X. Qu, P.J. Alvarez, Q. Li, Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment, *Water Research* 47(12) (2013) 3931-3946.
- [178] G. Doria, J. Conde, B. Veigas, L. Giestas, C. Almeida, M. Assunção, J. Rosa, P.V. Baptista, Noble metal nanoparticles for biosensing applications, *Sensors* 12(2) (2012) 1657-1687.
- [179] T.C. Dakal, A. Kumar, R.S. Majumdar, V. Yadav, Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles, *Frontiers in Microbiology* 7 (2016) 1831-1847.
- [180] S. Sharma, D.K. Gupta, Surgical techniques for esophageal replacement in children, *Pediatric Surgery International* 33(5) (2017) 527-550.
- [181] A. Grumezescu, *Nanobiomaterials in antimicrobial therapy: Applications of nanobiomaterials*, William Andrew, Elsevier, Cambridge, USA (2016).
- [182] N. Cioffi, M. Rai, *Nano-antimicrobials: progress and prospects*. Springer Science & Business Media (2012).
- [183] S. Pal, Y.K. Tak, J.M. Song, Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology* 73(6) (2007) 1712-1720.
- [184] J.M. Andrews, Determination of minimum inhibitory concentrations, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48(suppl 1) (2001) 5-16.
- [185] Q. Li, S. Mahendra, D.Y. Lyon, L. Brunet, M.V. Liga, D. Li, P.J. Alvarez, Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications, *Water Research* 42(18) (2008) 4591-4602.
- [186] D.K. Tiwari, J. Behari, P. Sen, Application of nanoparticles in waste water treatment, *World Applied Sciences Journal* 3 (3) (2008) 417-433.
- [187] M. Peter-Varbanets, C. Zurbrugg, Swartz, W. Pronk, Decentralized systems for potable water and the potential of membrane technology, *Water Research* 43(2) (2009) 245-265.

DEUXIEME PARTIE:

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Chapitre III:

Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application

Colloids and surface A: Physicochemical and Engineering Aspect



Volume 322, 28 September (2018)

ISSN 0022-0748

An International Journal

COLLOIDS AND SURFACES A

Physicochemical and
Engineering Aspects

Journal of Colloid and Interface Science
www.elsevier.com/locate/jcis



Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application

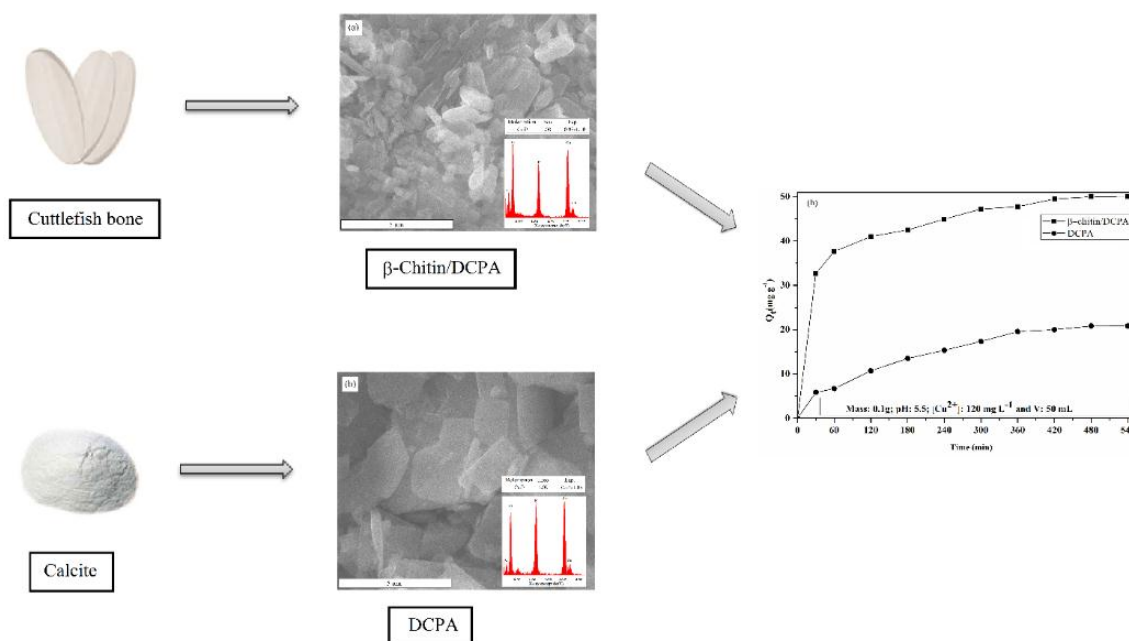
Raphaël Mulongo-Masamba¹, Adnane El Hamidi^{1*}, Mariam Khachani¹, Mohammed Halim¹, Said Arsalane¹

¹. Laboratory of Materials, Nanotechnology and Environment, University of Mohammed V, Faculty of Sciences, Avenue Ibn Battouta, BP: 1014, 10000 Rabat, Morocco.

*Corresponding author: Fax: +212 537 77 54 40; Tel: +212 537 77 54 40; E-mail: Adnane_el@hotmail.com

(Received 19 December 2016, Received in revised form 13 February 2017, Accepted 15 February 2017)

Graphical abstract



Highlights

1. New β -chitin/calcium phosphate DCPA was synthesized from biogenic CaCO_3 structure.
2. The presence of β -chitin distorts the crystal structure of DCPA material.
3. β -chitin in DCPA leads to defined microstructure described by rectangular blocks.
4. High uptake efficiency of β -chitin/DCPA for Cu^{2+} -rich solution compared to DCPA.

Abstract

The synthesis of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite was successfully produced from cuttlefish bone as a source of calcium and β -chitin, and concentrated phosphoric acid by using simple and effective chemical conversion method. Cuttlefish bone is a marine structure; it is a composite biogenic material formed by aragonite calcium carbonate, CaCO_3 and small content of β -chitin with special architecture and composition. It is readily converted to calcium phosphate under moderate conditions of temperature. In this study, the comparison of the structural characterization of new β -chitin/DCPA composite and conventional DCPA prepared from calcite was performed using X-Ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infra-Red (FTIR), Scanning Electronic Microscopy (SEM-EDS) and Thermo-Gravimetry and Differential Thermal Analysis (TG/DTA). The results show that β -chitin/DCPA composite provides some structural changes with respect to the DCPA structure. The presence of β -chitin within the composite implies a decrease of crystallinity and a distortion of the crystal lattice of DCPA. β -chitin/DCPA composite displays a well-defined microstructure characterized by regular rectangular shape with small particle sizes, while the pure DCPA is formed by heterogeneous large plate-like crystals. Adsorption experiments showed the high immobilization efficiency of β -chitin/DCPA composite for Cu^{2+} -rich solution, due to the potential adsorption sites (OH) of β -chitin.

Keywords:

Calcium phosphate, Monetite, Chitin, Composite, Aragonite, Copper immobilization.

1. Introduction

Calcium phosphates represent a wide class of materials with a variety of chemical compositions and structures which have been successfully used in many fields of science and technology. Several formulations have been developed, and some of them like Hydroxyapatite [HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], Tri Calcium Phosphate [β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] and their mixtures have proven to be very efficient for various medical applications [1–3]. Other calcium phosphate materials such as monetite (CaHPO_4); (Di-Calcium Phosphate Anhydrous, DCPA) and its related hydrate form; brushite ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); (Di-Calcium Phosphate Di-hydrate, DCPD) are less frequently investigated, but there is increasing evidence of their potential mostly in medicine research. These biomaterials have high chemical reactivity and can be used as an intermediate for preparing HAp, at moderate pH [4,5]. They have also been used as ion exchangers and as catalysts

in various heterogeneous reactions [6], adsorbents of biomolecules and pollutants [7,8], solid electrolytes in battery devices [9] and food additives [10].

Several chemical synthesis routes of calcium phosphates were available in the literature, depending on the expected microstructural characteristics of materials such as shape, texture and size of particles [11,12]. Amongst the most commonly used techniques, it is noteworthy the precipitation, hydrothermal techniques, hydrolysis process, and sol-gel methods. Recently, much research efforts have been focused on the development of efficient and cost effective methods to produce calcium phosphates from biogenic natural materials [13,14]. Materials from naturally derived resources such as marine structures have been used as a source of calcium for preparing various calcium phosphate bioceramics among other things HAp and DCPA, due to their chemical composition and unique architectural structure made of high porosity [15–17]. In this respect, the synthesis of calcium phosphates from natural materials is conducted by wet chemistry using phosphoric acid or di-ammonium hydrogen phosphate solutions as a source of phosphorous. The DCPA material is preferentially produced by phosphoric acid while the addition of ammonium phosphate mainly leads to biphasic of HAp and β -TCP [18].

Cuttlebone is one of the biogenic materials, readily available as waste products of seafood processing industries. It is a complex material which has an open structure consisting of lamellar matrix, composed primarily by the mineral aragonite; CaCO_3 and entirely enveloped in a layer of β -chitin biopolymer, thus forming a natural composite [19]. The β -chitin form is less abundant than α polymorph and its structure consists of linear chains of poly $\beta(1-4)$ N-acetyl-D-glucosamine, showing some chemical reactivity and excellent adsorption behavior owing to the presence of functional groups such as OH and amide species. Various composite materials containing chitin have been manufactured and reported to exhibit interesting properties and wide potential applications, mainly in wastewater remediation [20–22].

In this study, the aim was focused on synthesizing a new β -chitin/DCPA based composite from cuttlebone as starting materials by using a simple chemical conversion method and compare its structure to that of DCPA synthesized from calcite; CaCO_3 . This method constitutes an alternative for synthesizing various calcium phosphate composites with well-defined morphology and high purity and it is economically cheaper than the other conventional methods. The cuttlebones used in the present synthesis were collected from Moroccan Atlantic coast, Casablanca beach. The new composite obtained was characterized by XRD, FTIR and SEM-EDS techniques. Thermal behavior of the synthesized materials using simultaneous TG/DTA techniques was examined and

their stability has been discussed. The retention capacity of metal ions from Cu^{2+} -rich solution was also evaluated and interpreted in terms of the sorption mechanism.

2. Material and methods

Sepia officinalis (Cuttlefish) is among main abundant cephalopod species in northwest Africa. The economic attraction for this marine species is at the origin of the installation of several fishery industries in the Atlantic zone of Morocco.

2.1. Chemicals and reagents

In this study, cuttlebones of *Sepia officinalis* were collected from the Atlantic coast of Casablanca beach (Morocco). Two pieces of cuttlebones weighting about 30 g were first cleaned and carefully stripped of their hard outer-shell. Then, they were washed repeatedly with distilled water, dried in an oven at 60°C for 24 hours and crushed into small particles. The milled powder was finally sieved to less than 125 μm in average particle size and kept in a vacuum desiccator for further use. The exact content of aragonite form, CaCO_3 , as well as the β -chitin contained in the prepared powder were estimated by thermogravimetric analysis. The other reagents including calcite; CaCO_3 and phosphoric acid are of analytical grade (Sigma-Aldrich) and were used as received.

2.2. Synthesis

β -chitin/DCPA based composite and pure DCPA from calcite were prepared via mechano-chemical route. This method has the advantage of being simple, rapid and cost effective for several syntheses of organic-inorganic compounds. Batches of 3 g of cuttlebones powder and calcite were separately suspended in 100 ml of distilled water and heated in hotplate stirrer equipment at 70°C. A stoichiometric amount of H_3PO_4 pre-heated at 70°C was added dropwise to each initial solution with continuous stirring; to be able to control the reaction which would be vigorous when the acidic reagent was added brutally. Then, the mixture solution was heated at 90°C for 30 min using a reflux apparatus. The formed precipitate was finally filtered, washed with distilled water, dried overnight at 90°C, and kept in a vacuum desiccator.

2.3. Characterization methods

Solid powders of carbonate polymorph precursors, new β -chitin/DCPA and pure DCPA were characterized by X-Ray Diffraction (XRD) using a Siemens D 500 Diffractometer with a $\text{CuK}\alpha$ radiation source ($\lambda = 1.541838 \text{ \AA}$), at scanning speed of $0.02^\circ \text{ s}^{-1}$. The phases were identified by comparing the experimental X-Ray patterns with standard files compiled by the International Centre for Diffraction Data (ICDD). Fourier Transform Infra-Red (FTIR) spectra were obtained

on a Vertex 70 spectrometer equipped with a Digitec detector, via the conventional KBr pellet method. The samples were scanned in transmission mode with 4 cm^{-1} resolution, at the range of 4000 to 400 cm^{-1} . Morphological features were investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM), using a Cambridge Stereoscan 120 instrument, coupled with EDS micro-analyzer. Thermal measurements were performed to examine the degradation behavior and stability of samples. The thermal curves were obtained on simultaneous ThermoGravimetry and Differential Thermal Analysis (TG/DTA) using LabsysTM Evo (1F) Setaram apparatus. The experiments were conducted in air flow atmosphere of 60 mL min^{-1} from room temperature up to 900°C , under a heating rate of $10^\circ\text{C min}^{-1}$. For adsorption experiments, the UV-visible spectrophotometer (Analytik jena Specord 210 plus) was used to measure the residual Cu (II) concentrations at wavelength of 610 nm , after calibrating with copper (II) standards. Adsorption capacity (Q) was calculated as mg of copper per gram of adsorbent by using the expression: $Q_t = \frac{V(C_0 - C_t)}{m}$, where C_0 is the initial Cu^{2+} concentration (mg L^{-1}), C_t is the Cu^{2+} concentration at time t (mg L^{-1}), m is the mass of adsorbent (g) and V is the total volume of solution (L). A solution of copper at 120 mg L^{-1} was prepared from a stock solution of $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (200 mg L^{-1}). The adsorption experiments were monitored in batch method at 20°C by fixing the pH to 5.5 value and were conducted until an equilibrium.

3. Results and discussion

3.1. XRD analysis

Fig. III.1 depicts the XRD patterns of the powdered cuttlebone and calcite, and also includes the XRD diagrams of synthesized calcium phosphates β -chitin/DCPA composite and pure DCPA, for an eventual comparison.

The natural inorganic phase of cuttlebone presents all characteristic diffraction peaks of aragonite polymorph CaCO_3 , in accordance with ICDD 71-2392 (Fig. III.1(a)). No peak belonging to calcite structure was detected in the XRD pattern, indicating that cuttlebone consists of aragonite as the only mineral phase. As for commercial calcite (Fig. III.1(b)), the XRD pattern is consistent with the ICDD 5-586. At above 400°C , CaCO_3 of aragonite polymorph can be transformed into the stable calcite structure [23].

The XRD patterns of calcium phosphate materials prepared from cuttlebone and calcite reveal that all the characteristic peaks of monetite (CaHPO_4 , DCPA) were observed in both samples, in accordance with the standard data ICDD 9-80 (Figs. III.1(c) and (d)). For composite material, it should be noted that slight decrease crystallinity was recorded and some diffraction peaks were

broadened and shifted slightly towards lower 2θ values (Fig. III.1(c)). This is due to the presence of β -chitin embedded in the mineral matrix which creates some distortion in the crystal lattice of DCPA, thereby forming a new composite material β -chitin/DCPA. Similar results have already been reported when chitosan was added to apatite (HAp) to form chitosan/apatite composites [24,25]. In fact, the calcium phosphate monetite crystallizes at room temperature in a triclinic unit cell with space group $P\bar{1}$, $Z = 4$. Its structure consists of CaHPO_4 chains linked together by Ca–O bonds and three types of hydrogen bonds. Two distinct sets of pairs of PO_4^{3-} units are found in each primitive cell and induce a band splitting [26].

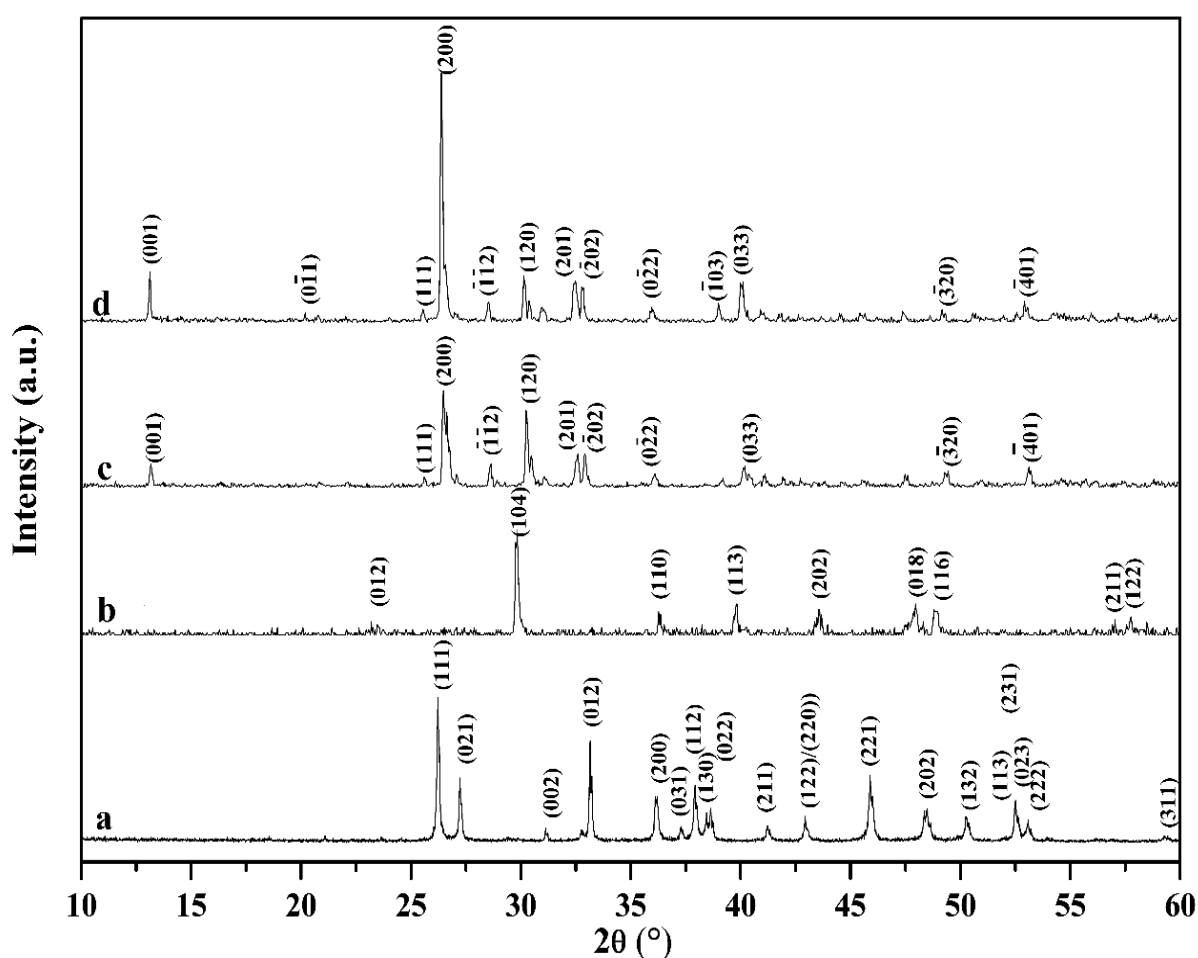


Fig. III.1 : XRD patterns of cuttlebone (a), calcite (b), β -chitin/DCPA composite (c) and pure DCPA (d)

3.2. FTIR spectroscopy

FTIR spectra of cuttlebone and calcite, and the synthesized calcium phosphates are displayed in Fig. III.2. In FTIR spectrum of cuttlebone (Fig. III.2(a)), the observed bands at 1083, 854, 1473 cm^{-1} are attributed to ν_1 , ν_2 , ν_3 vibration modes of CO_3^{2-} ions respectively, and the doublet at 702,

713 cm^{-1} is related to ν_4 vibration mode. The band observed at 1795 cm^{-1} is assigned to C=O groups of the carbonate radicals [27]. The bands appearing above 1600 cm^{-1} is probably due to the presence of β -chitin linked to aragonitic structure [28]. The shoulder at 1640 cm^{-1} can be attributed to the C-O (amide I) and/or C-N (amide II) groups belonging to β -chitin [29]. The vibrations, between 2500-2650 cm^{-1} are assigned to HCO_3^- groups in the crystal lattice or at the mineral-organic interface [30]. The OH and NH stretching modes of β -chitin are observed in the region 3000-3500 cm^{-1} , while the C-H stretching vibrations are found in the region 2800-3000 cm^{-1} [31,32]. On the other hand, the Fig. III.2(b) illustrates the typical IR spectrum of CaCO_3 in calcite form. The large band centred at 1450 cm^{-1} and the bands at 870 and 713 cm^{-1} correspond to ν_3 , ν_2 and ν_4 of calcite respectively.

FTIR spectra of β -chitin/DCPA composite and pure DCPA given in Figs. III.2 (c) and (d) show the main characteristic bands of conventional DCPA in both samples. Indeed, the multiple bands observed in the region 1200-800 cm^{-1} can be assigned to internal vibration modes of P-O (Fig. III.2(d)). This IR region of composite spectrum (Fig. III.2(c)) shows a low resolution bands due to the existence of β -chitin in material thus causing some changes of P-O bonds of phosphate groups, in accordance with the obtained XRD results. Then, the strong vibration bands at 1123, 1054 and 987 cm^{-1} and the shoulder at 1180 cm^{-1} are attributed to stretching vibrations of the P-O bonds, while the band at 881 cm^{-1} is related to stretching vibration of the acidic phosphate group P-O(H) [33]. The observed bands at 554, 520, and 405 cm^{-1} correspond to the O-P-O deformations [33]. The bands at 1644, 2327, 2810 and 3210 cm^{-1} were attributed to three distinguished types of hydrogen bonds in the crystal structure of DCPA (Fig. III.2(d)) [34]. Other weak vibration bands are observed in β -chitin/DCPA spectrum, between 2800-3000 cm^{-1} and 3050-3300 cm^{-1} (Fig. III.2(c)). These vibrations could correspond to the C-H and N-H stretching modes of amide II groups present in β -chitin [31,32].

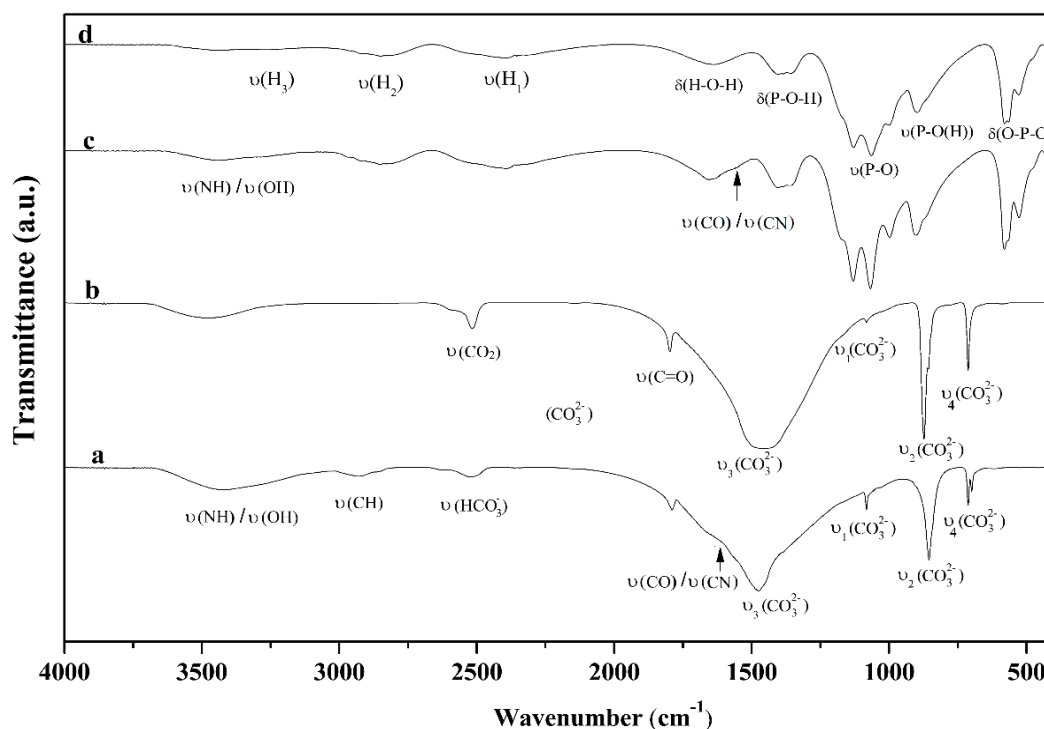
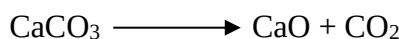


Fig.III.2 : FTIR spectra of cuttlebone (a), calcite (b), β -chitin/DCPA composite (c) and pure DCPA (d)

3.3. Thermal measurements

The presence of β -chitin in cuttlebone powder and in calcium phosphate composite was identified by thermal analysis. Fig. 3 displays the thermograms TG/DTA of studied samples under air flow atmosphere. As can be seen from Fig. III.3(a), the oxidative degradation of cuttlebone shows a small weight loss, approximately 3.84% at 320°C, accompanied by an exothermic effect in DTA curve. According to the literature, this weight loss is attributable to decomposition of extracrystalline β -chitin, associated to aragonite structure of cuttlebone [35,36]. Indeed, it was mentioned that β -chitin presents another weight loss with an exothermic effect at high temperature that corresponds to oxidation of carbon residue [37]. The second weight loss of β -chitin is probably masked by the main thermal degradation reaction of calcite CaCO_3 . Subsequent heating resulted in small exothermic peak without weight loss, at a range of temperature 430-480°C, due to allotropic transformation of aragonite mineral carbonate phase into the stable calcite structure [38]. For both samples, the final weight loss, between 700 and 830°C (Figs. III.3(a) and (b)) which were about (42-43%), corresponds to the endothermic decomposition of carbonate species, according to the following reaction:



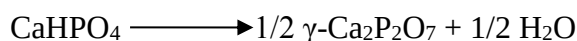
As for thermal analyses of β -chitin/DCPA based composite and DCPA, the obtained TG and DTA curves (Figs. III.3(c) and (d)) present different and complex behavior by comparing to thermal diagrams of calcium carbonates. The main thermal characteristics of calcium phosphates are summarized in Table III-1.

Table III-1: Thermal characteristics of β -chitin/DCPA composite and DCPA from calcite

Samples		T _{onset} (°C)	T _{max} (°C)	T _{offset} (°C)
DCPA		412	464	500
β -chitin/DCPA	First peak	340	350	355
	Second peak	355	445	505

The thermal oxidative decomposition of β -chitin/DCPA composite (Fig. III.3(c)) displays a complex behavior as a function of temperature, characterized by the presence of two weight losses. The first weight loss, at 350°C which is of about 1.77%, is attributed to thermal depolymerisation of β -chitin and the formation of volatile low molecular products, which burned in the oxidative atmosphere, as has been mentioned by V. Georgieva et al and D. Stawski et al [39,40]. This reaction shows an exothermic effect in DTA curve. The second weight loss appears at 445°C and accounts for 7.4% of the initial mass. This value is slightly higher than that found for pure DCPA (Fig. III.3(d)) and even than the theoretical value, which is 6.61%. In addition, the corresponding DTA peak appears large than observed in pure DCPA. This result indicates that there is an overlapping of two parallel weight losses which are connected to the concomitance of the deshydroxylation reaction of DCPA and the thermal oxidative degradation of char formed after the first degradation of β -chitin [41,42]. The later reaction is achieved at low temperature by comparison with results obtained during the oxidative degradation of cuttlebone (Fig. III.3(a)).

As regards thermal decomposition of DCPA, the TG curve showed a single step process with a maximum at 464°C (Fig. III.3(d)). The experimental weight loss is equal to 6.55% which is very close to the theoretical value of 6.61%. This weight loss is accompanied by an endothermic effect, in DTA curve, corresponding to the release of 0.5 mol of water by a deshydroxylation process which relates to crystal nucleation and growth mechanism [43]. Subsequently, there is the formation of calcium pyrophosphate γ -Ca₂P₂O₇ by condensation of orthophosphate groups, according to following decomposition reaction: CaHPO₄



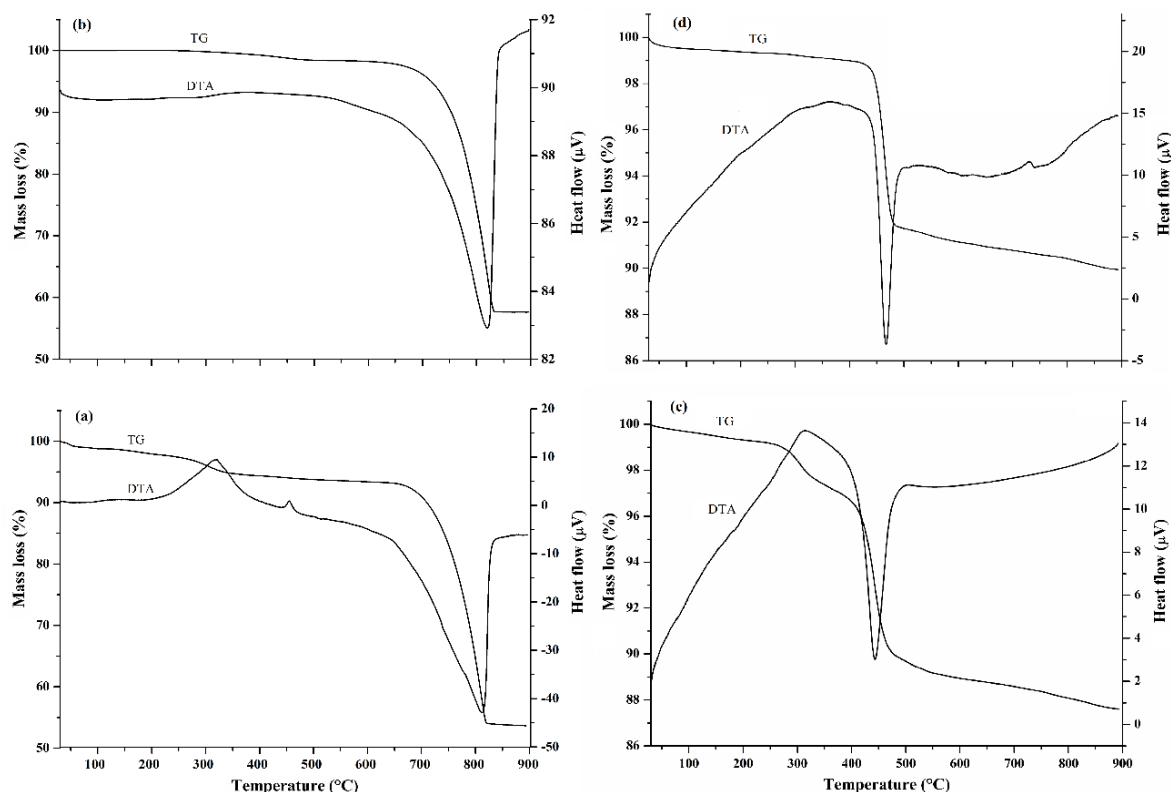


Fig. III.3 : TG/DTA curves of cuttlebone (a), calcite (b), β -chitin/DCPA composite (c) and pure DCPA (d)

3.4. SEM-EDS analysis

SEM images of β -chitin/DCPA and DCPA are displayed in Fig. III.4. The choice of starting materials substantially affects the macro-and microstructure of as-prepared calcium phosphate DCPA. Indeed, the SEM micrograph of β -chitin/DCPA confirmed the formation of single phase as it is shown in Fig. III.4(a), demonstrating the presence of well-defined particles mainly formed by regular blocks of rectangular shapes which were about 0.1-2 μm in length and 0.1-0.5 μm in width. No agglomeration of particles was observed, probably due to the presence of β -chitin in the DCPA structure. However, the morphology of the prepared DCPA from calcite (Fig. III.4(b)) is dominated by heterogeneous repartition of particles characterized by large plate-like crystals which are ranging from 1 to 6 μm . This morphology of particles is frequently observed in numerous DCPA, issued from different methods [44,45]. In both materials, the structure did not show a specific orientation suggesting a more or less isotropic behavior.

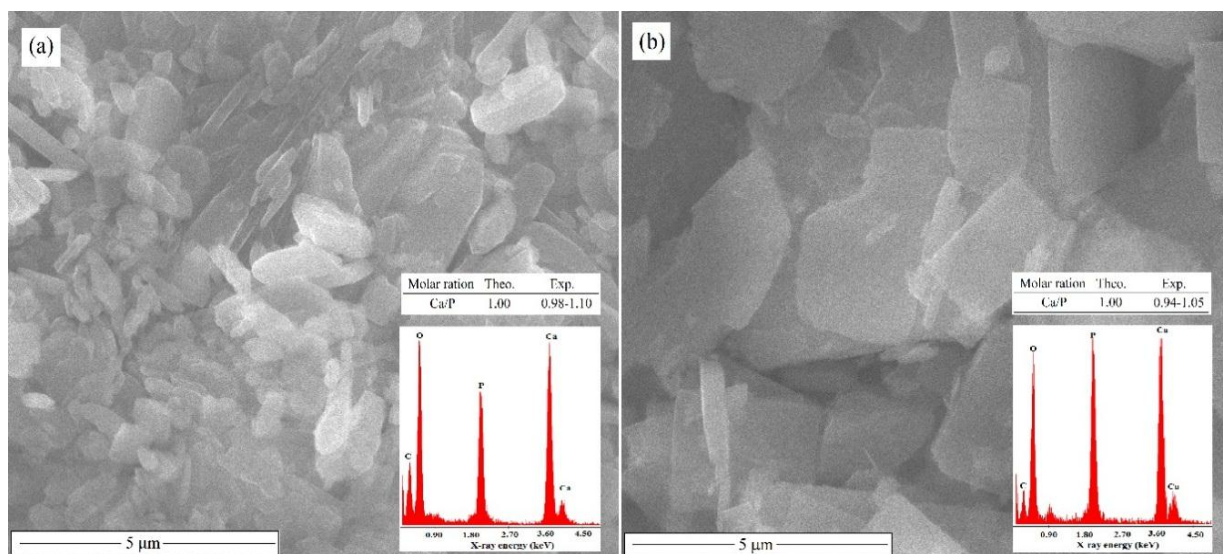


Fig. III.4 : SEM micrographs of β -chitin/DCPA composite (a) and pure DCPA (b)

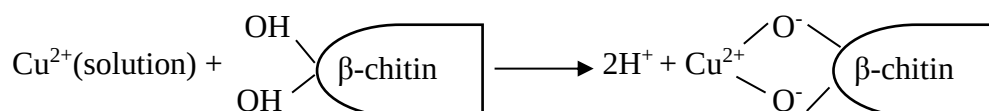
The chemical composition estimated by EDS analysis shows that Ca/P molar ratios is in good agreement with theoretical values (Ca/P=1). As well, the presence of β -chitin in DCPA composite is confirmed by the observation of high carbon content in EDS spectrum, by comparison with the pure DCPA.

3.5. Adsorption capacity of copper ions

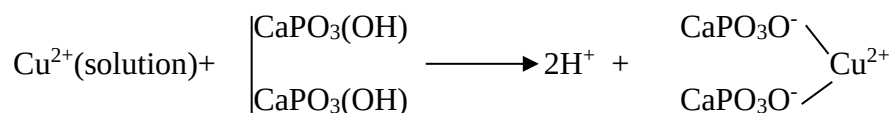
Environmental requirements are becoming of great importance in today's society, since there is an increased interest in the industrial use of renewable resources such as cuttlebone and its based materials which are inexpensive and recycled materials. In this context, calcium phosphates and their derivatives are widely tested in wastewater remediation, because of their potential ability to confine a variety of metal ions in their host structure through several types of bonding [46,47]. In order to evaluate the effect of β -chitin on the adsorptive properties of calcium phosphate DCPA, the experiments were conducted in batch at 20°C, by adding a divalent copper solution of 120 mg L⁻¹ at pH=5.5. The results displayed in Fig. III.5 show that the immobilization of copper was achieved rapidly and significantly for β -chitin/DCPA precursor (Fig. III.5(a)), about 80% of Cu²⁺ was removed from the copper solution. With regard to DCPA material, the retention process is slow and reaches a maximum after a long period. The estimated amounts of copper in materials were 50.03 and 20.82 mg g⁻¹ for β -chitin/DCPA composite and DCPA respectively (Fig. III.5(b)). These results confirm that β -chitin has a great affinity for the immobilization of copper ions in solution, due essentially to the presence of OH groups in its structure. The presence of β -chitin enhances the adsorptive property of DCPA material. As can be seen from Fig. III.5(b), there are

two major mechanisms governing the retention process of β -chitin/DCPA. The first one, wherein the process is fast and only takes a few minutes is due to retention of Cu^{2+} by OH chelation sites of β -chitin and the other, which is slow, is connected to the progressive complexation of Cu^{2+} at surface of calcium phosphate, as can already observed in pure DCPA [48,49]. The both retention mechanisms occur simultaneously and can be globally schematized as following [50]:

1. Fast copper retention reaction



2. Slow copper retention reaction



Concomitantly, a slight decrease in the pH of solutions (0.3-0.5 unities) was observed due to the release of H^+ after immobilization process of copper ions, confirming the above proposed reaction scheme. The same results were also obtained in the case of cadmium adsorption in chitin [51] and copper immobilization on chitosan [52]. The proposed mechanism involves OH chelating species with release of H^+ ions in aqueous solution. As shown in Table III.2, the β -chitin/DCPA based composite presents high efficiency for copper retention compared to other calcium phosphate derivatives, previously reported in the literature.

Table III-2: Adsorption capacities of some calcium phosphates for retention of Cu^{2+}

Calcium phosphates	Q_e (mg g ⁻¹)	References
Nano-hydroxyapatite/chitosan composite	26.11	[53]
Nano-hydroxyapatite/chitin composite	21.45	[53]
CaHPO_4 (DCPA)	19.68	[54]
$\text{CaHPO}_4\text{Si}_1^*$	26.03	[54]
$\text{CaHPO}_4\text{Si}_2^*$	43.18	[54]
$\text{CaHPO}_4\text{Si}_3^*$	50.8	[54]
HAP/HA (Hydroxyapatite/Humic Acid)	58.42	[55]
CaHPO_4 (DCPA)	20.82	This study
β -chitin/DCPA	50.03	This study

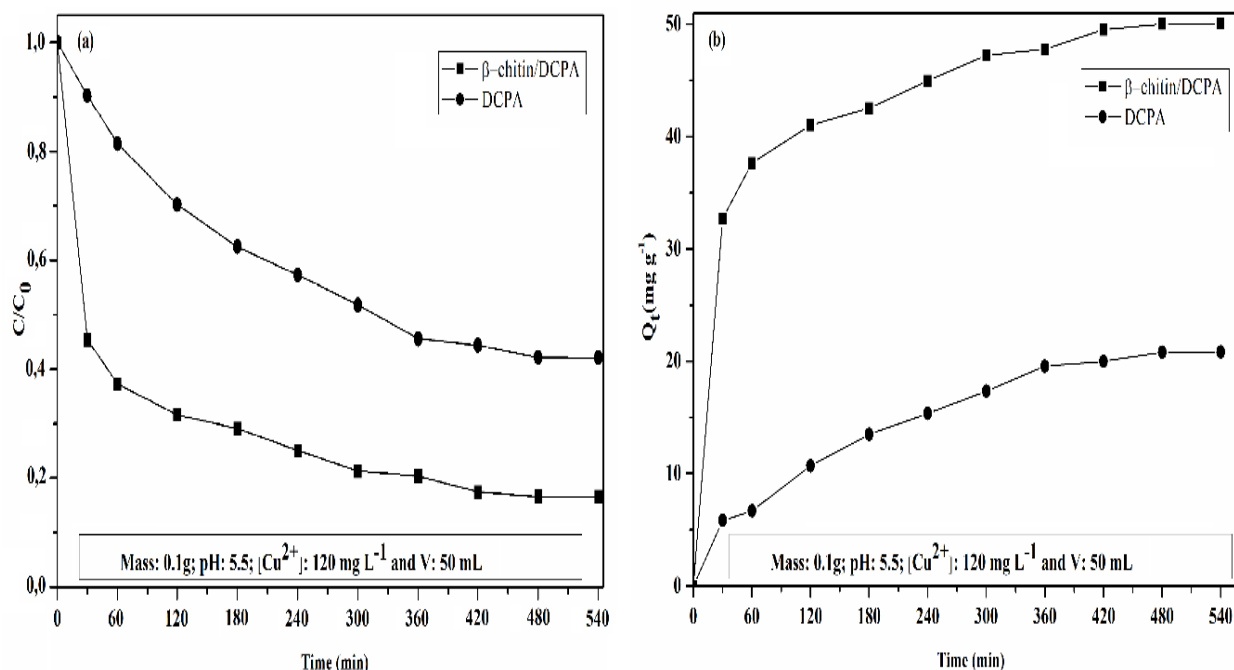


Fig. III.5 : Isotherms of Cu^{2+} retention on β -chitin/DCPA composite and pure DCPA

Conclusion

Cuttlebone consists of aragonitic structure CaCO_3 containing low content of β -chitin which can be easily converted, at moderate conditions, into many calcium phosphates. In the present work, a new β -chitin/DCPA based composite was successfully synthesized by a fast and cost effective wet-chemical route using cuttlebone of *Sepia officinalis* as starting material. The effects of structure and morphology of the as prepared composite have been studied and compared to those of conventional DCPA obtained from calcite. The structural feature of β -chitin/DCPA based composite showed some differences to DCPA material. The presence of β -chitin in the DCPA structure has been confirmed by XRD, FTIR, SEM-EDS and TG/DTA analyses. The crystallinity of the prepared composite decreases slightly and some diffraction peaks become broad in the XRD pattern. The microstructural analysis revealed that β -chitin/DCPA composite is mainly formed by small well-defined particles with regular rectangular shapes, while DCPA material; its surface morphology is dominated by heterogeneous large plate-like crystals, as shown in SEM-EDS analysis. Thermal analysis (TG/DTA) of β -chitin/DCPA displayed a complex behavior compared to pure DCPA. Two weight losses were observed, the first was attributed to thermal depolymerisation of β -chitin and the second weight loss that involved two concurrent processes was connected to dehydroxylation of DCPA and thermal oxidation of char formed from the first degradation of β -chitin. Adsorptive properties of both calcium phosphate materials were evaluated and showed a great affinity of β -chitin/DCPA for copper in solution with respect to other calcium

phosphate derivatives, due to the potential chelation sites of β -chitin constituted mainly by OH species. Apart from adsorption, the new β -chitin/DCPA composite can be used for other applications, due to its attractive microstructural properties and facile synthesis.

Acknowledgements

This research was financially supported by University of Mohammed V-Morocco under the Project No. SCH 04/09. The authors are grateful to CNRST-UATRS for the assistance with microscopy analysis (SEM-EDS).

References

- [1] S.V. Dorozhkin, Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO_4) bioceramics and their biomedical applications, *Ceram. Int.* 42 (2016) 6529–6554.
- [2] S.V. Dorozhkin, Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates, *Acta Biomater.* 8 (2012) 963–977.
- [3] G.S. Kumar, E.K. Girija, A. Thamizhavel, Y. Yokogawa, S.N. Kalkura, Synthesis and characterization of bioactive hydroxyapatite–calcite nanocomposite for biomedical applications, *J. Colloid Interface Sci.* 349 (1) (2010) 56–62.
- [4] A.C. Tas, S.B. Bhaduri, Chemical processing of $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: Its conversion to hydroxyapatite, *J. Am. Ceram. Soc.* 87 (12) (2004) 2195–2200.
- [5] H.E. Lundager Madsen, Influence of foreign metal ions on crystal growth and morphology of brushite ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and its transformation to octacalcium phosphate and apatite, *J. Cryst. Growth* 310 (2008) 2602–2612.
- [6] T. Suzuki, K. Ishigaki, M. Miyake, Synthetic hydroxyapatites as inorganic cation exchangers. Part 3.—Exchange characteristics of lead ions (Pb^{2+}), *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 80 (1984) 3157–3165.
- [7] H. Zeng, K.K. Chittur, W.R. Lacefield, Analysis of bovine serum albumin adsorption on calcium phosphate and titanium surfaces, *Biomaterials* 20 (1999) 377–384.
- [8] T. Yang, C. Kim, J. Jho, I.W. Kim, Regulating fluoride uptake by calcium phosphate minerals with polymeric additives, *Colloids Surf., A* 401 (2012) 126–136.
- [9] L. Tortet, J.R. Gavarri, G. Nihoul, A.J. Dianoux, Proton mobilities in brushite and brushite/polymer composites, *Solid State Ionics* 97 (1997) 253–256.

- [10] S.V. Dorozhkin, Calcium orthophosphates: Occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications, *Biomatter* 1 (2011) 121–164.
- [11] T. Toshima, R. Hamai, M. Tafu, Y. Takemura, S. Fujita, T. Chohji, S. Tanda, S. Li, G.W. Qin, Morphology control of brushite prepared by aqueous solution synthesis, *J. Asian Ceram. Soc.* 2 (1) (2014) 52–56.
- [12] H. Ito, Y. Oaki, H. Imai, Selective synthesis of various nanoscale morphologies of hydroxyapatite via an intermediate phase, *Cryst. Growth Des.* 8 (3) (2008) 1055–1059.
- [13] C. Piccirillo, R.C. Pullar, E. Costa, A. Santos-Silva, M.M.E. Pintado, P.M. L. Castro, Hydroxyapatite-based materials of marine origin: A bioactivity and sintering study, *Mater. Sci. Eng., C* 51 (2015) 309–315.
- [14] D. Milovac, G.G. Ferrer, M. Ivankovic, H. Ivankovic, PCL-coated hydroxyapatite scaffold derived from cuttlefish bone: Morphology, mechanical properties and bioactivity, *Mater. Sci. Eng., C* 34 (2014) 437–445.
- [15] S. Chen, K. Grandfield, S. Yu, H. Engqvist, W. Xia, Synthesis of calcium phosphate crystals with thin nacreous structure, *CrystEngComm.* 18 (2016) 1064–1069.
- [16] S. Bramhe, T.N. Kim, A. Balakrishnan, M.C. Chu, Conversion from biowaste *Venerupis* clam shells to hydroxyapatite nanowires, *Mater. Lett.* 135 (2014) 195–198.
- [17] C.M. Zaremba, D.E. Morse, S. Mann, P.K. Hansma, G.D. Stucky, Aragonite–hydroxyapatite conversion in Gastropod (Abalone) nacre, *Chem. Mater.* 10 (1998) 3813–3824.
- [18] I.J. Macha, C. Charvillat, S. Cazalbou, D. Grossin, U. Boonyang, B. Ben-Nissan, Comparative study of coral conversion, Part 3: Intermediate products in the first half an hour, *J. Aust. Ceram. Soc.* 52 (1) (2016) 177–182.
- [19] M. Florek, E. Fornal, P. Gómez-Romero, E. Zieba, W. Paszkowicz, J. Lekki, J. Nowak, A. Kuczumow, Complementary microstructural and chemical analyses of *Sepia officinalis* endoskeleton, *Mater. Sci. Eng., C* 29 (2009) 1220–1226.
- [20] R. Jayakumar, M. Prabakaran, P.T. Sudheesh Kumar, S.V. Nair, H. Tamura, Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications, *Biotechnol. Adv.* 29 (2011) 322–337.

- [21] G.N. Kousalya, M. Rajiv Gandhi, C. Sairam Sundaram, S. Meenakshi, Synthesis of nano-hydroxyapatite chitin/chitosan hybrid biocomposites for the removal of Fe(III), *Carbohydr. Polym.* 82 (2010) 594–599.
- [22] P.T.S. Kumar, S. Srinivasan, V.-K. Lakshmanan, H. Tamura, S.V. Nair, R. Jayakumar, Synthesis, characterization and cytocompatibility studies of α -chitin hydrogel/nano hydroxyapatite composite scaffolds, *Int. J. Biol. Macromol.* 49 (2011) 20–31.
- [23] H. Ivankovic, G. Gallego Ferrer, E. Tkalec, M. Ivankovic, Preparation of highly porous hydroxyapatite ceramics from cuttlefish bone, *Adv. Sci. Tech.* 49 (2006) 142–147.
- [24] L.F. Sukhodub, L.B. Sukhodub, I.V. Chorna, Chitosan-apatite composites: synthesis and properties, *Biopolym. Cell* 32 (2) (2016) 83–97.
- [25] S.N. Danilchenko, O.V. Kalinkevich, V.N. Kuznetsov, A.N. Kalinkevich, T.G. Kalinichenko, I.N. Poddubny, V.V. Starikov, A.M. Sklyar, L.F. Sukhodub, Thermal transformations of the mineral component of composite biomaterials based on chitosan and apatite, *Cryst. Res. Technol.* 45 (7) (2010) 685–691.
- [26] M.S. Djošić, V.B. Mišković-Stanković, Z.M. Kačarević-Popović, B.M. Jokić, N. Bibić, M. Mitrić, et al., Electrochemical synthesis of nanosized monetite powder and its electrophoretic deposition on titanium, *Colloids Surf., A* 341 (2009) 110–117.
- [27] F.Z. Zakaria, J. Mihály, I. Sajó, R. Katona, L. Hajba, F.A. Aziz, J. Mink, FT-Raman and FTIR spectroscopic characterization of biogenic carbonates from Philippine venus seashell and *Porites* sp. coral, *J. Raman Spectrosc.* 39 (2008) 1204–1209.
- [28] S.M. de Paula, M. Silveira, Studies on molluscan shells: Contributions from microscopic and analytical methods, *Micron* 40 (2009) 669–690.
- [29] A. Dutta, S. Fermani, S.A. Tekalur, A. Vanderberg, G. Falini, Calcium phosphate scaffold from biogenic calcium carbonate by fast ambient condition reactions, *J. Cryst. Growth* 336 (2011) 50–55.
- [30] J. Balmain, B. Hannoyer, E. Lopez, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-Ray Diffraction Analyses of Mineral and Organic Matrix During Heating of Mother of Pearl (Nacre) from the Shell of the Mollusc *Pinctada maxima*, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 48(5) (1999) 749–754.

- [31] A. Kasiopas, T. Geisler, C.V. Putnis, C. Perdikouri, A. Putnis, Crystal growth of apatite by replacement of an aragonite precursor, *J. Cryst. Growth* 312 (2010) 2431–2440.
- [32] J. Brugnerotto, J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal, J. Desbrières, M. Rinaudo, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer* 42 (2001) 3569–3580.
- [33] L. Tortet, J.R. Gavarri, G. Nihoul, A.J. Dianoux, Study of protonic mobility in $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Brushite) and CaHPO_4 (Monetite) by infrared spectroscopy and neutron scattering, *J. Solid State Chem.* 132 (1997) 6–16.
- [34] G.R. Sivakumar, E.K. Girija, S. Narayana Kalkura, C. Subramanian, Crystallization and characterization of calcium phosphates: Brushite and Monetite, *Cryst. Res. Technol.* 33 (1998) 197–205.
- [35] H. Ivankovic, G. Gallego Ferrer, E. Tkalec, S. Orlic, M. Ivankovic, Preparation of highly porous hydroxyapatite from cuttlefish bone, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20 (2009) 1039–1046.
- [36] W. Ogasawara, W. Shenton, S.A. Davis, S. Mann, Template mineralization of ordered macroporous chitin–silica composites using a cuttlebone-derived organic matrix, *Chem. Mater.* 12 (2000) 2835–2837.
- [37] V. Georgieva, D. Zvezdova, L. Vlaev, Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan, *Chem. Cent. J.* 6 (2012) 81.
- [38] J.H.G. Rocha, A.F. Lemos, S. Kannan, S. Agathopoulos, J.M.F. Ferreira, Hydroxyapatite scaffolds hydrothermally grown from aragonitic cuttlefish bones, *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 5007–5011.
- [39] V. Georgieva, D. Zvezdova, L. Vlaev, Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitin, *J. Therm. Anal. Calorim.* 111 (1) (2013) 763–771.
- [40] D. Stawski, S. Rabiej, L. Herczyńska, Z. Draczyński, Thermogravimetric analysis of chitins of different origin, *J. Therm. Anal. Calorim.* 93 (2) (2008) 489–494.
- [41] T. Chae, H. Yang, F. Ko, T. Troczynski, Bio-inspired dicalcium phosphate anhydrate/poly(lactic acid) nanocomposite fibrous scaffolds for hard tissue regeneration: In situ synthesis and electrospinning, *J. Biomed. Mater. Res. A* 102 (2) (2014) 514–522.

- [42] M. Ozawa, S. Suzuki, Microstructural development of natural hydroxyapatite originated from fish-bone waste through heat treatment, *J. Am. Ceram. Soc.* 85 (5) **(2004)** 1315–1317.
- [43] R. Mulongo-Masamba, T. El Kassri, M. Khachani, S. Arsalane, M. Halim, A. El Hamidi, Synthesis and thermal dehydroxylation kinetic of anhydrous calcium phosphate monetite CaHPO_4 , *J. Therm. Anal. Calorim.* 124 (1) **(2016)** 171–180.
- [44] S. Jinawath, P. Sujaridworakun, Fabrication of porous calcium phosphates, *Mat. Sci. Eng., C* 22 **(2002)** 41–46.
- [45] H. Xu, M. Weir, L. Sun, Nanocomposites with Ca and PO_4 release: Effects of reinforcement, dicalcium phosphate particle size and silanization, *Dent. Mater.* 23 **(2007)** 1482–1491.
- [46] A. El Hamidi, R. Mulongo Masamba, M. Khachani, M. Halim, S. Arsalane, Kinetics modeling in liquid phase sorption of copper ions on brushite di-calcium phosphate dihydrate $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD), *Desalin. Water Treat.* 56 **(2015)** 779–791.
- [47] Z. Zhang, M. Li, W. Chen, S. Zhu, N. Liu, L. Zhu, Immobilization of lead and cadmium from aqueous solution and contaminated sediment using nano-hydroxyapatite, *Environ. Poll.* 158 **(2010)** 514–519.
- [48] S. Sugiyama, T. Ichii, M. Fujisawa, K. Kawashiro, T. Tomida, N. Shigemoto, H. Hayashi, Heavy metal immobilization in aqueous solution using calcium phosphate and calcium hydrogen phosphates, *J. Colloid. Interf. Sci.* 259 **(2003)** 408–410.
- [49] G. Camci-Unal, N.L.B. Pohl, Quantitative determination of heavy metal contaminant complexation by the carbohydrate polymer chitin, *J. Chem. Eng. Data* 55 **(2010)** 1117–1121.
- [50] M. Gonzalez-Davila, F.J. Millero, The adsorption of copper to chitin in seawater, *Geochim. Cosmochim. Acta* 54 **(1990)** 761–768.
- [51] M. Bellion, M. Courbot, C. Jacob, D. Blaudez, M. Chalot, Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi, *FEMS Microbiol. Lett.* 254 **(2006)** 173–181.
- [52] R. Schmuhl, H.M. Krieg, K. Keizer, Adsorption of Cu(II) and Cr(VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies, *Water SA* 27 (1) **(2001)** 1–7.

- [53] M. Rajiv Gandhi, G.N. Kousalya, S. Meenakshi, Removal of copper(II) using chitin/chitosan nano-hydroxyapatite composite, *Int. J. Biol. Macromol.* 48 **(2011)** 119–124.
- [54] O.G. da Silva, M.G. da Fonseca, L.N.H. Arakaki, Silylated calcium phosphates and their new behavior for copper retention from aqueous solution, *Colloids Surf., A* 301 **(2007)** 376–381.
- [55] L. Yang, Z. Wei, W. Zhong, J. Cui, W. Wei, Modifying hydroxyapatite nanoparticles with humic acid for highly efficient removal of Cu(II) from aqueous solution, *Colloids Surf., A* 490 **(2016)** 9–21.

Chapitre IV:

***Synthesis and non-isothermal decomposition kinetics of DiCalcium
Phosphate Anhydrous CaHPO_4***

Journal of Thermal Analysis and Calorimetry

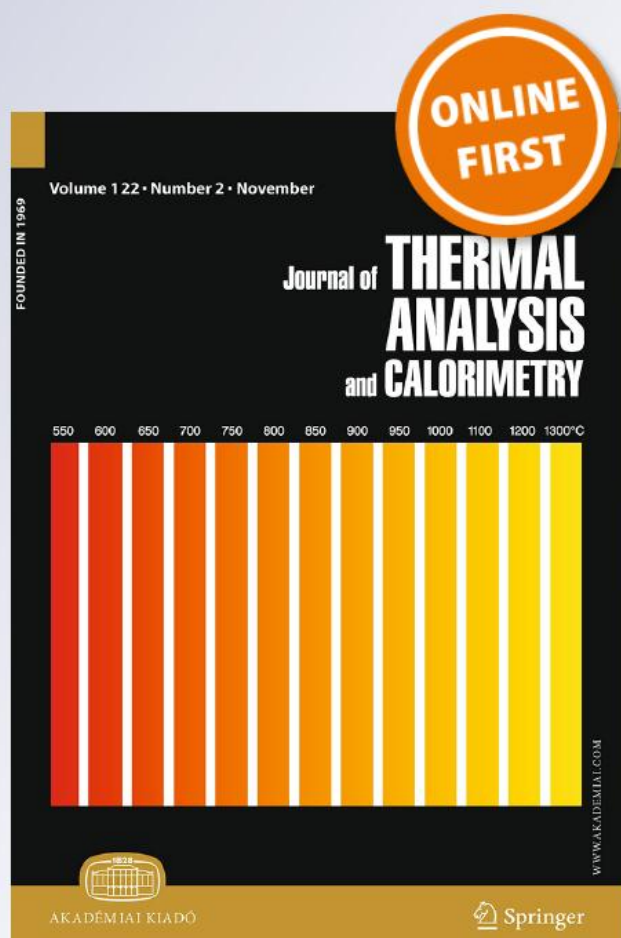
*Synthesis and thermal dehydroxylation
kinetic of anhydrous calcium phosphate
monetite CaHPO_4*

**Raphaël Mulongo-Masamba, Taoufik El
Kassri, Mariam Khachani, Said Aarsalane,
Mohammed Halim & Adnane El Hamidi**

**Journal of Thermal Analysis and
Calorimetry**
An International Forum for Thermal
Studies

ISSN 1388-6150

J Therm Anal Calorim
DOI 10.1007/s10973-015-5130-y



Synthesis and non-isothermal decomposition kinetics of DiCalcium Phosphate Anhydrous CaHPO_4

Raphaël Mulongo-Masamba, Taoufik El Kassri, Mariam Khachani, Said Aarsalane, Mohammed Halim and Adnane El Hamidi

Laboratory of physicochemical of Materials, Catalysis and Environment (CNRST-URAC 26), University of Mohammed V, Faculty of Sciences, Avenue Ibn Battouta, BP: 1014, 10000 Rabat, Morocco.

(Received: 8 July 2015/ Accepted: 24 October 2015)

Abstract

In this study, we have synthesized and performed the thermal decomposition kinetics of dicalcium phosphate anhydrous monetite CaHPO_4 (DCPA) under air atmosphere by TG/DTG and DTA techniques using non-isothermal experiments. The characterization of the prepared and calcined samples by X-ray diffraction (XRD) and Fourier transformed infrared (FTIR) techniques indicated that monetite CaHPO_4 exhibits triclinic structure with space group $P\bar{1}$ and its calcined form at 500°C leads to calcium pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (CPP) by dehydroxylation process and concomitant condensation of orthophosphate groups. The kinetic parameter results carried out by the isoconversional methods and Malek's procedure showed that the thermal dehydroxylation is a single-step process related to crystal nucleation and growth mechanism, according to JMA(n) model, with $n=1.37$ and activation energy of Friedman $E_a=299.4\pm 2.1 \text{ kJ.mol}^{-1}$. The thermodynamic functions (ΔS^* , ΔH^* and ΔG^*) of the thermal dehydroxylation step were calculated using the activated complex theory. The obtained values showed that the reaction is directly related to the introduction of heat and is non-spontaneous process.

Keywords: Calcium phosphate, Thermal analysis, Kinetics, Nucleation and growth, Pyrophosphate

1. Introduction

Ceramics belonging to the family of calcium phosphates constitute an attractive class of compounds rich by their diverse compositions, structures and physico-chemical properties [1,2]. The large variety of these materials can be distinguished by type of phosphate groups bonded to calcium ions. Among them, calcium orthophosphates like dicalcium phosphate dihydrate $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (brushite, DCPD), dicalcium phosphate anhydrous CaHPO_4 (monetite, DCPA) and calcium pyrophosphate $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (CPP) present biological importance in the formation of bones and teeth at the physiological environment and find practical uses in dental cements and restorative materials [3]. Additionally, due to their chemical stability in acidic media, dicalcium phosphates are used as ion exchangers [4], adsorbents [4–6], and solid electrolytes in battery devices [7]. Recently they received great interest in high technology as luminescent products and sensors [8]. The DCPA is one of the most studied calcium phosphates due to its particular structure and stability [9]. Several methods have been proposed for the synthesis of DCPA in order to get a pure crystalline phase with controlled morphologies [10]. It can be conventionally obtained by dehydration of DCPD at 250°C or by methods including wet chemical precipitation, sol-gel synthesis, combustion technique and recently sonochemical process [11,12]. Nevertheless, wet chemistry methods (sol-gel, precipitation) are preferred as the synthesis way for CaHPO_4 due to a series of advantages like the possibility of controlling the final product morphology and phase composition.

The dicalcium phosphate anhydrous DCPA crystallizes at room temperature in a triclinic unit cell with space group $P\bar{1}$, $Z=4$. Its structure consists of CaHPO_4 chains bonded together by Ca-O bonds and three types of hydrogen bonds. Two distinct sets of pairs of PO_4^{3-} units are found in each primitive cell and induce a band splitting [13].

The thermal analysis represents one of convenient way to investigate the thermal stability of materials and determine the kinetic parameters of their conversion process. In this purpose, the conversion of DCPA under various conditions has been the subject of several studies in the literature [14,15]. The calcium pyrophosphate $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (CPP) can be obtained from DCPA by heating in air at the temperature range 325-700°C. This thermal conversion occurs in a discrete step with an irreversible reaction [15]. The solid-state phase change monetite to pyrophosphate was qualified as dehydration-condensation process through abrupt reorganization of phosphorus environment [16] and leads to a poor crystalline phase $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ which its crystallographic identity has not been established.

In the present work, we have undertaken the synthesis and thermal behavior of dicalcium phosphate anhydrous DCPA using simultaneous Thermal Gravimetric and Differential Thermal Analysis (TG-DTA). The purity of synthesized material was controlled by X-Ray diffraction (XRD) and Fourier Transformed Infrared (FTIR) analyses. The texture and morphology of particles were examined by Transmission Electronic Microscopy (TEM-EDS). The activation energy and reaction model were determined under non-isothermal conditions using isoconversional model-free method and Malek's procedure respectively. The kinetic parameters were interpreted and the decomposition mechanism was proposed based on XRD, FTIR and TEM analyses.

2. Materials and methods

2.1. Synthesis

Dicalcium phosphate Anhydrous CaHPO_4 was synthesized by the chemical precipitation method using calcium carbonate CaCO_3 (Calcite) and phosphoric acid (H_3PO_4 , 85% w/w) in stoichiometric molar proportion. Both reagents were of analytical grade and used without purification. Two initial aqueous solutions containing each reagent were prepared in purified water and separately heated up at $85 \pm 5^\circ\text{C}$. H_3PO_4 solution was then added slowly to CaCO_3 suspension under stirring and the mixture was maintained under refluxing at 85°C for 24 hours. The white precipitate product was then filtered, washed several times with hot distilled water, dried overnight at 60°C , and finally placed in desiccator. A sample of prepared CaHPO_4 was calcined at 500°C overnight for further structural characterization.

2.2. Characterization

XRD analysis was carried out to identify and assess phases purity obtained after different heat treatments. The diagrams were collected using a Siemens D500 Powder Diffractometer equipped with copper anticathode ($\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 1.541838 \text{ \AA}$) at scanning speed of $0.02^\circ.\text{s}^{-1}$. FTIR-ATR characterization was performed using a Jasco FT/IR 4600 spectrometer equipped with a Jasco ATR PRO ONE module. The samples were scanned in transmission mode with 4 cm^{-1} resolution at the range $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$. TEM-EDS micrographs were obtained with a Tecnai G2 (FEI company) operating at 120 kV with 0.35 nm resolution and equipped with EDS microanalyzer. The powder sample was dispersed in ethanol and placed on a copper grid coated with carbon. The simultaneous TG/DTG/DTA analyses were carried out on a LabsysTM Evo (1F) Setaram apparatus. ICTAC kinetics committee recommendations for collecting experimental data [17] and performing kinetics computations [18] were followed to evaluate the kinetic parameters. Before analysis, the

thermal analysis system was firstly calibrated for temperature reading with 4N reference metals (99.99% of purity). It was also essential to calibrate the balance for buoyancy effects to allow quantitative estimation of weight changes. The experiments were conducted under non-isothermal conditions in air flow atmosphere of 60 ml.min⁻¹ from room temperature up to 800°C, at various heating rates (5, 10, 15 and 20°C.min⁻¹). The measurements were repeated three times in order to ensure the reproducibility. An initial mass of sample; about 5.0 ± 0.1 mg; was placed in an alumina pan. The sample was well dispersed with negligible depth to minimize heat and mass transfers.

2.3. Kinetic study

The kinetic analysis of thermal decomposition in solid state reactions is based on the transformation rate equation expressed as follows:

$$\frac{d\alpha}{dt} = A \exp\left(\frac{-E}{RT}\right) f(\alpha) \quad (1)$$

Where A is the pre-exponential (frequency) factor, E is the activation energy of the reaction, T is the absolute temperature, R is the gas constant, f(α) is the reaction model that gives information about mechanism of the reaction, and α is the conversion degree. In thermogravimetry, α is defined as:

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_\infty} \quad (2)$$

Where, m₀ is initial mass, m_t is mass at time t, and m_∞ is final mass.

The determination of each parameter of equation (1) (A, E and f(α)) can be done using the model-free computational method, which is considered more accurate especially for detecting complicated processes occurring at different ranges of temperature [18,19]. This approach is based on the isoconversional principle which states that the reaction rate at constant conversion degree depends only on temperature [20]. It allows for evaluating the Arrhenius parameters without prior knowledge of the reaction model but requires a minimum of three heating rates.

2.3.1. Determination of the activation energy E_α

The differential isoconversional method suggested by Friedman [21] is derived from Eq. (1) and it is based on the following equation:

$$\ln\left[\left(\frac{d\alpha}{dt}\right)_{\alpha,\beta}\right] = \ln[Af(\alpha)] - E_\alpha / RT_{\alpha,\beta} \quad (3)$$

The apparent activation energy (E_a) is determined from the slope of the plot of $\ln[(d\alpha/dt)_{\alpha,\beta}]$ versus $1/T_{\alpha,\beta}$, at a constant α value. Compared to other existing methods, Friedman's procedure is rather accurate because it does not include any forms of numerical approximations.

The Ozawa-Flynn-Wall (OFW) method is an integral method that evaluates the temperature integral using the Doyle's approximation [22]. From Eq. (1), we obtain the derived function

$g(\alpha) = \int_0^\alpha \frac{1}{f(\alpha)} d\alpha$ that becomes as follows (Eq. (4)):

$$g(\alpha) = \frac{AE}{R\beta} \left[\frac{\exp(-x)}{x} - \int_x^\infty \left(\frac{\exp(-x)}{x} \right) dx \right] = \frac{AE}{R\beta} p(x) \quad (4)$$

Where $x = E/RT$ is the reduced apparent activation energy, $p(x)$ is a temperature integral function and β is the heating rate. Hence, OFW equation [23] is expressed as Eq. (5):

$$\ln \beta = Cste - 1.05 \frac{E_a}{RT_{\alpha,\beta}} \quad (5)$$

Kissinger, Akahira and Sunose (KAS) used the approximation given by Coats and Redfern [24] to estimate the temperature integral. KAS equation is expressed as follows (Eq. (6)):

$$\ln \left(\frac{\beta}{T_{\alpha,\beta}^2} \right) = Cste - \frac{E_a}{RT_{\alpha,\beta}} \quad (6)$$

Where $Cste$ is a constant

2.3.2. Determination of reaction model

In thermal analysis, the reaction model $f(\alpha)$ is a theoretical and mathematical description of the progress of process that may provide information about the mechanism. In order to find the most suitable reaction model of the investigated process, the Malek's method [25] was considered. With the knowledge of activation energy and if it is almost constant, it can be replaced by an average apparent value E_a . A pair of special functions $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ can then be calculated using Eqs. (7) and (8) below:

$$y(\alpha) = \frac{d\alpha}{dt} \times \exp \left(\frac{E_a}{RT} \right) \quad (7) \quad z(\alpha) = p(x) \times \left(\frac{d\alpha}{dt} \right) \times \frac{T}{\beta} \approx T^2 \times \left(\frac{d\alpha}{dt} \right) \quad (8)$$

Where x is the reduced apparent activation energy (E_a/RT).

$p(x)$ may be accurately estimated by means of the fourth rational expression of Senum and Yang [26] and later on corrected by Flynn [27], (Eq. (9)):

$$p(x) = \left(\frac{e^{-x}}{x} \right) \frac{x^3 + 18x^2 + 86x + 96}{x^4 + 20x^3 + 120x^2 + 240x + 120} \quad (9)$$

The $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ maxima (α_m and α_p^∞ respectively) allow to determine the appropriate reaction model in accordance with the conditions defined by Malek's procedure [25] (table IV-1).

Table IV-1: Mathematical expressions for different reaction models and their mechanistic significances

Reaction Model	Symbol	$f(\alpha)$	$y(\alpha)$	$z(\alpha)$
Reaction n^{th} order model (Nucleation/Decay)	F_n/RO	$(1-\alpha)^n$	$n < 1$: Convex $n > 1$: Concave	α_p^∞ depends on exponents
Phase boundary controlled reaction (contracting area, i.e., bidimensional shape or one-half order kinetics)	R_2	$2(1-\alpha)^{1/2}$	Convex	0.750
Phase boundary controlled reaction (contracting area, i.e., tridimensional shape or two-thirds order kinetics)	R_3	$3(1-\alpha)^{2/3}$	Convex	0.704
Johnson MehlAvrami general Equation (Growth of Nuclei)	$JMA(n)$	$n(1-\alpha)[-\ln(1-\alpha)]^{1-1/n}$	$n < 1$: Concave $n = 1$: Linear $n > 1$: Maximum	0.632
One dimensional diffusion	D_1	$1/2\alpha$		
Two dimensional diffusion	D_2	$-1/\ln(1-\alpha)$	Concave	0.834
Three dimensional diffusion (Jander's Equation)	D_3	$\frac{3(1-\alpha)^{2/3}}{2[1-(1-\alpha)^{1/3}]}$	Concave	0.704
Three dimensional diffusion (Ginstling Equation)	D_4	$\frac{3}{2[(1-\alpha)^{-1/3}-1]}$	Concave	0.776
Sestak Breggren (Autocatalytic Model)	$SB(m,n)$	$f(\alpha) = (\alpha)^m (1-\alpha)^n$		α_p^∞ depends on exponents

2.4. Thermodynamic parameters

The activated complex theory was used by many authors to determine the thermodynamic parameters involved upon thermal decomposition of organic and inorganic materials [28]. Based on the theory developed by Eyring [29], the thermodynamic functions may be calculated according to the following equations, Eqs. (10), (11) and (12):

$$\Delta S^* = R \cdot \ln \left(\frac{A \cdot h}{e \cdot \chi \cdot k_B \cdot T_{p,0}} \right) \quad (10)$$

$$\Delta H^* = E^* - R \cdot T_{p,0} \quad (11)$$

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T_{p,0} \cdot \Delta S^* \quad (12)$$

Where A is the pre-exponential factor, h is the Planck constant, $e = 2.7183$ is the Neper number, χ is the transition factor, which is equal to unity for monomolecular reactions, k_B is the Boltzmann constant, $T_{p,0}$ is the maximum peak temperature in DTA curves and E^* is the apparent activation energy E_a .

The value of peak temperature $T_{p,0}$ corresponds to the temperature taken from an equilibrium state. Because the heat lag of the process depends on the heating rate, the smaller is the heating rate the smaller is the peak shift to higher temperatures, which indicates that the equilibrium state corresponds to $\beta \rightarrow 0$, and it is obtained from Eq. (13) as follow:[30]

$$T_{p,i} = T_{p0} + a \cdot \beta_i + b \cdot \beta_i^2 \quad (13)$$

Where a and b are constants.

3. Results and discussion

3.1. XRD analysis

X-ray powder diffraction patterns of the as-prepared DCPA and its calcined form at 500°C are shown in figure IV.1. The diffractogram of untreated sample (Fig. IV.1a) reveals almost all characteristic diffraction peaks corresponding to CaHPO_4 with a structure comparable to the standard data (JCPDS N°9-80). The XRD pattern of the annealed compound (Fig. IV.1b) presents a poor crystalline phase characteristic to γ form of calcium pyrophosphate ($\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) with standard data (JCPDS N°17-499). The obtained results are consistent with those reported in previous works [14].

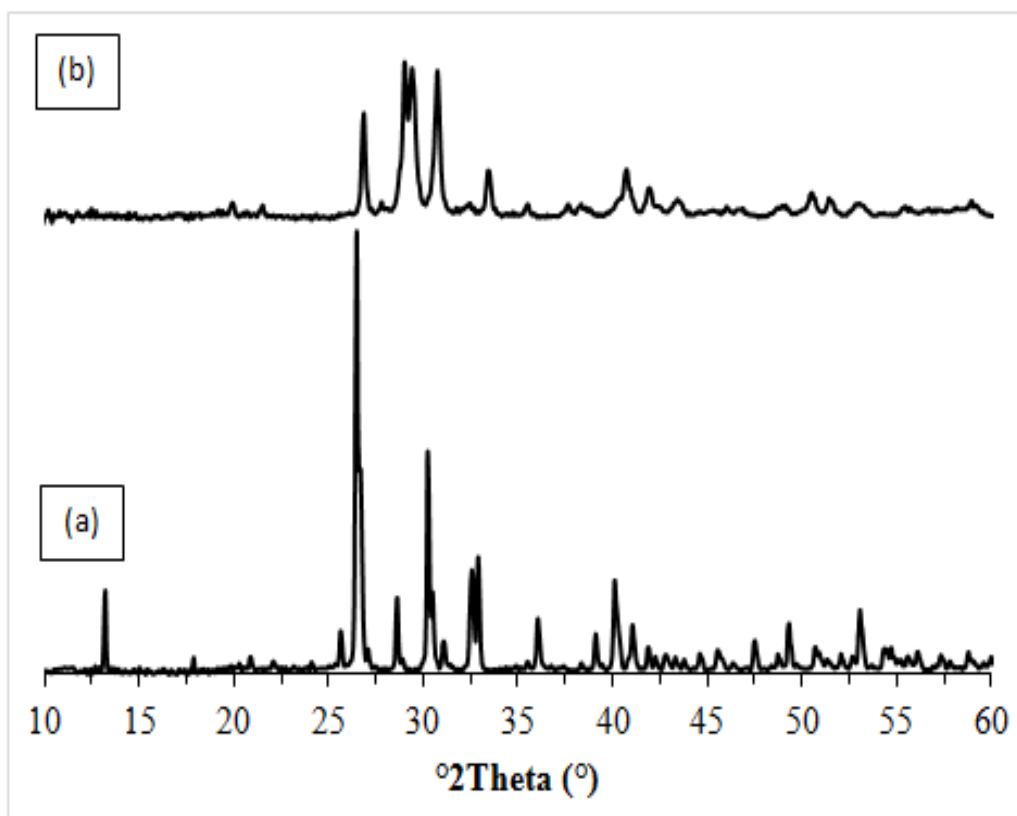


Fig. IV.1 : XRD patterns of a) DCPA and b) its calcined form at 500°C

3.2. FTIR-ATR spectroscopy

The FTIR-ATR spectra of DCPA and its calcined form at 500°C are displayed in figure IV.2. The multiple bands observed in the regions 1200 – 400 cm^{-1} , (Fig. IV.2a) can be assigned to internal vibration modes of P-O in CaHPO_4 . The strong vibration bands at 1123, 1054 and 987 cm^{-1} and the shoulder at 1180 cm^{-1} are attributed to stretching vibrations of the P-O bands, while the band at 881 cm^{-1} is due to stretching vibration of the acidic phosphate group P-O(H). The observed bands at 554, 520 and 405 cm^{-1} are assigned to the O-P-O deformations. The absorption bands related to the acidic hydrogen of CaHPO_4 are observed at 1644 cm^{-1} for bending vibrations and at 2327, 2810 and 3210 cm^{-1} for the stretching vibrations [31]. These latter bands have been assigned to three types of hydrogen bonds in CaHPO_4 [31]. Dehydration of the DCPA at 500°C (Fig. IV.2b) allowed the formation of pyrophosphate $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ with its characteristic sharp band at 717 cm^{-1} assigned to the stretching mode of P-O-P bridges typically observed in pyrophosphate materials.

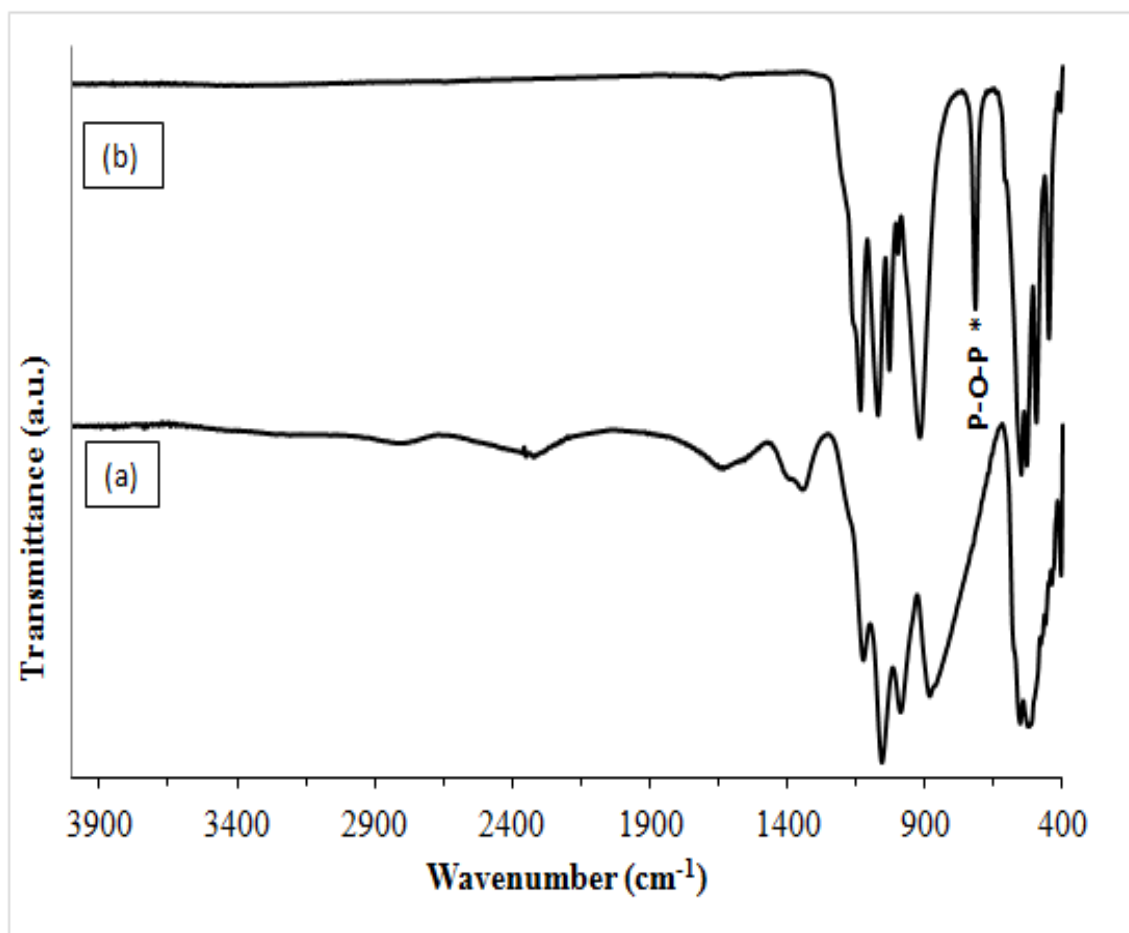


Fig. IV.2 : FTIR-ATR patterns of a) DCPA and b) its annealed form at 500°C

3.3. TEM-EDS analysis

Transmission electron microscopy (TEM) results of DCPA and its calcined form at 500°C are shown in figure IV.3. The particles of the as-prepared DCPA show similar plate-like crystals with dimensions ranging from 1 to 2 μm (fig. IV.3a). After calcination at 500°C, the particles became rod-shaped with an average size of about 25 nm in diameter and vary in length from 20 nm to 100 nm (fig. IV.3b). The nanoparticulate shape of calcium pyrophosphate gives also evidence to the broadness of its XRD peaks displayed in figure IV.1. The calcium/phosphorus molar ratio determined by chemical microanalysis (EDS) was found to be stoichiometric and equal to 1, both for CaHPO_4 and calcium pyrophosphate $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (table IV-2).

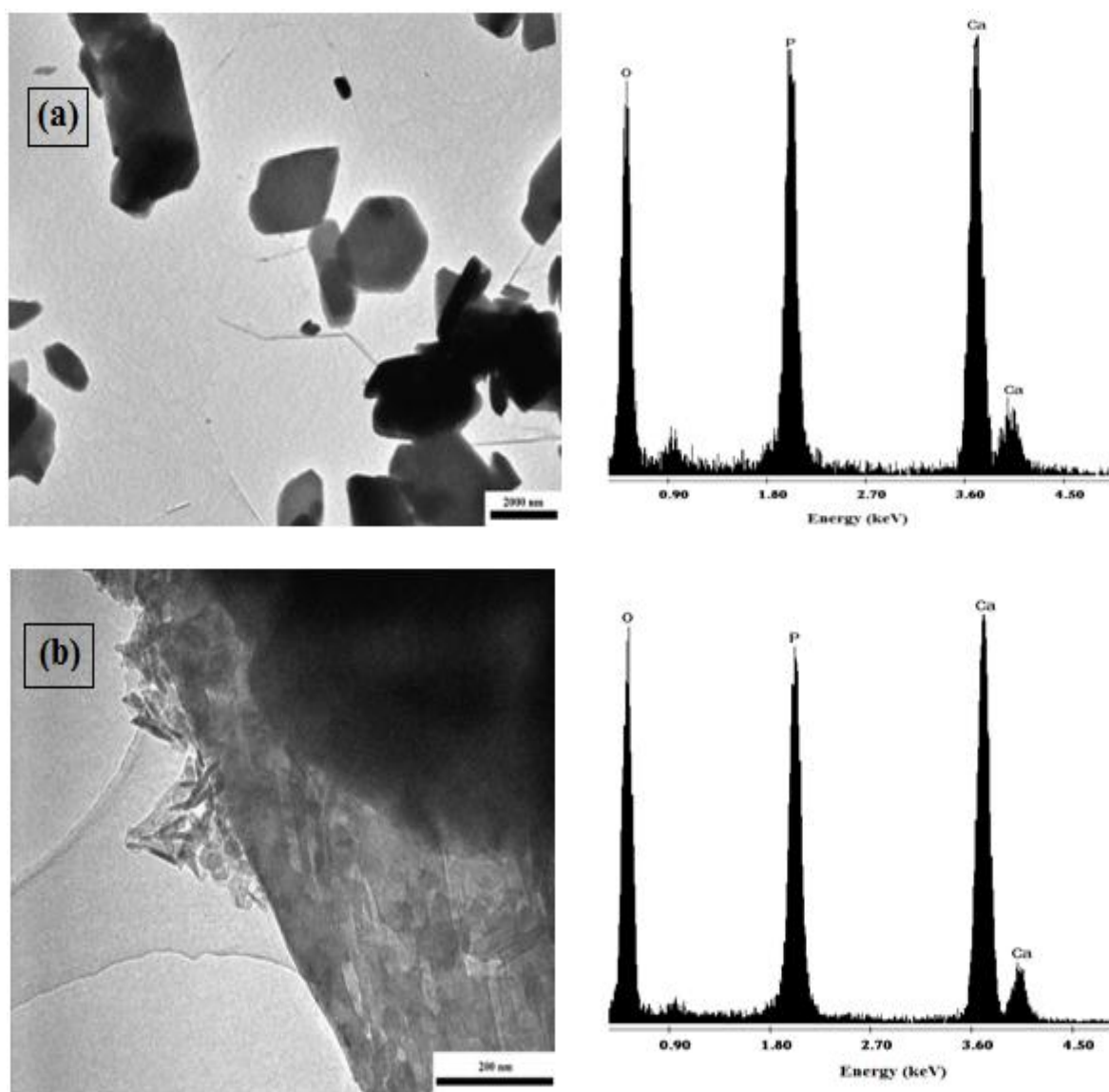


Fig. IV.3 : TEM-EDS analysis of a) DCPA and b) its calcined form at 500°C

Table IV-2 : EDS analysis of DCPA and its calcined form at 500°C

Ca/P molar ratio	DCPA	CPP
EDS analysis	0.93 – 1.03	0.98 - 1.05

3.4. Thermal analysis

The non-isothermal decomposition of DCPA was carried out at $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ under flowing air atmosphere. The typical TG, DTG and DTA curves are presented in figure IV.4.

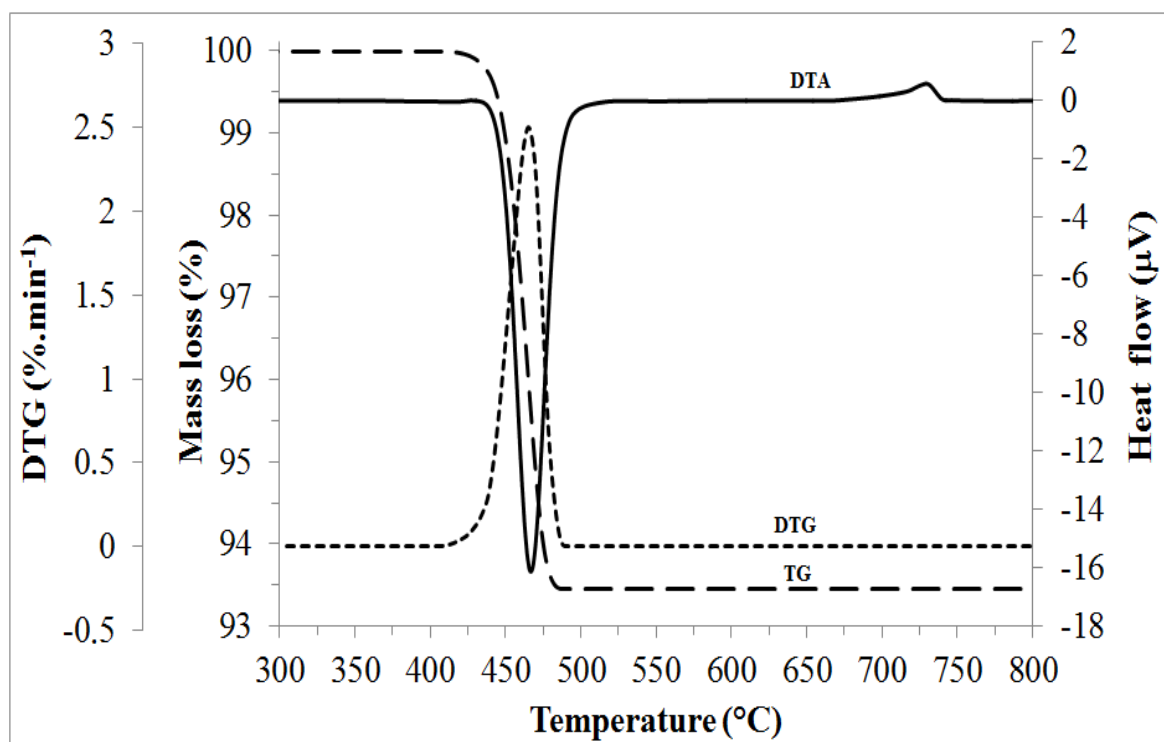


Fig. IV.4 : Thermal decomposition curves of DCPA at $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$

According to thermal analysis measurements, the decomposition of DCPA occurs in one step in the range of temperature between 400 and 500°C , with a maximum DTG at 464°C . The observed mass loss was about 6.55 %, which is very close to the theoretical value of 6.61%, corresponding to removal of 0.5 mol of H_2O . The DTA scan of the decomposition reaction displays an endothermic effect centred at 467°C . This result shows that the thermal decomposition reaction of CaHPO_4 involves an intramolecular dehydration of the deprotonated hydrogenphosphate groups (HPO_4^{2-}) and induces the formation of $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. The dehydroxylation process is formally represented as Eq. (14):



Indeed, the XRD and FTIR results (Fig. IV.1b and Fig. IV.2b) show a beginning of crystallization of calcium pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, after dehydroxylation reaction. Such behavior is frequently observed in thermal dehydroxylation of orthophosphates, which occurs by condensation of PO_4^{3-} groups to $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$.

At higher temperature of about 730°C , calcium pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ is transformed to allotropic form $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ as was observed in previous papers [14].

3.5. Kinetic study

In order to obtain a reliable kinetic data of the decomposition process of DCPA, a series of dynamic scans were used with multiple temperature programs ($\beta = 5, 10, 15$ and $20^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$). The obtained conversion degree α and reaction rate $d\alpha/dt$ curves (Fig. IV.5) at different heating rates have the same shape, characterized by an almost asymmetric behavior, and moves to higher temperature when increasing the heating rate. This is due to the acceleration of variations in the rate of heat transfer with increasing heating rate and the decrease of exposure time at a particular temperature at higher heating rates. It can also be explained by the temperature gradient inside and outside the particles, which is lower at lower heating rate [17].

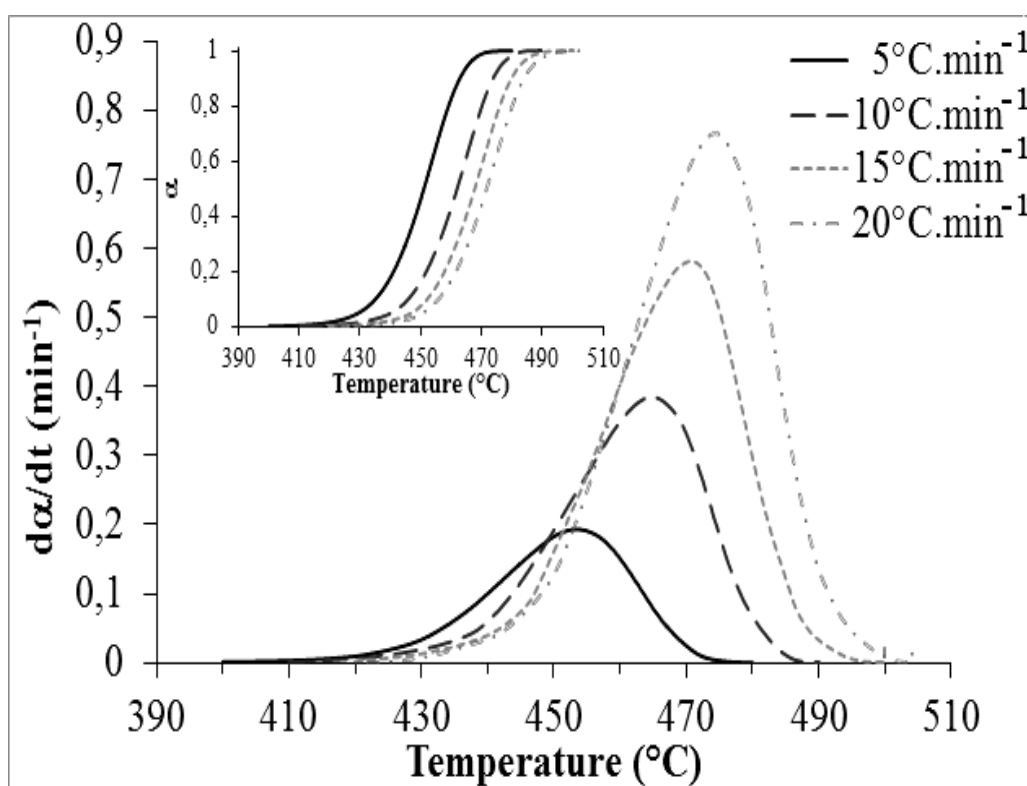


Fig. IV.5 : TG and DTG curves of thermal decomposition of DCPA at different heating rates

3.5.1. Model-Free estimation of activation energy E_a

According to the basic kinetic concepts, the determination of activation energies at different conversion degrees α can provide valuable information about the complexity of reaction mechanism. For this purpose, three isoconversional methods were used: the differential analysis of Friedman (FR), and the integral analyses of Ozawa-Flynn-Wall (OFW) and Kissinger-Akahira-Sunose (KAS). The activation energies were calculated under a range of α between 0.05 and 0.95 with a step of 0.05 (Fig. IV.6).

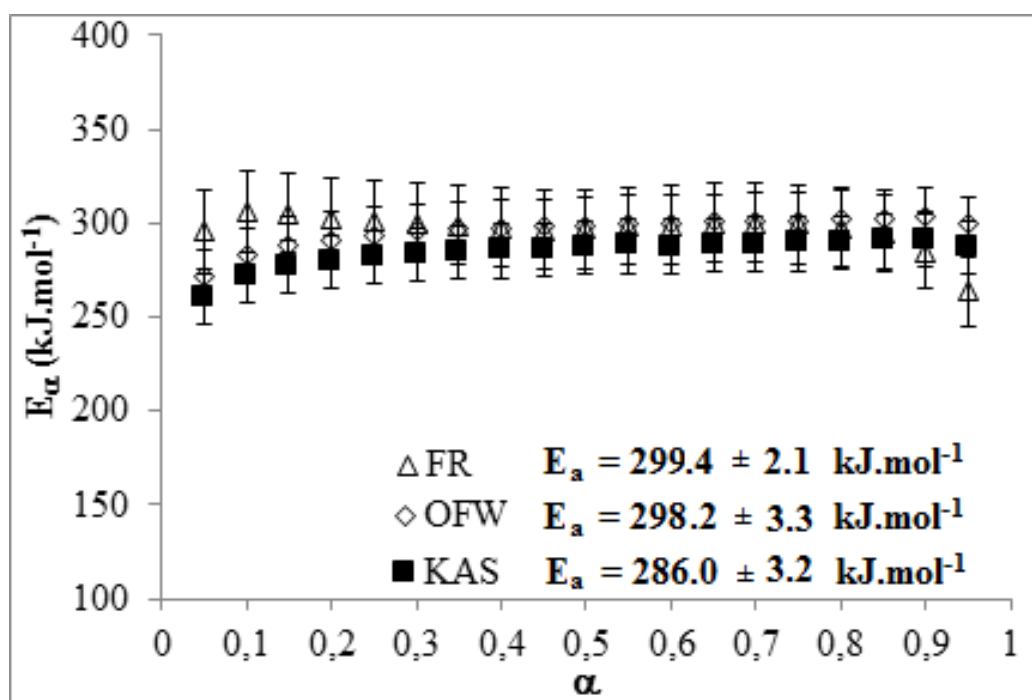


Fig. IV.6 : Variation of activation energy E_a vs. conversion degree α for thermal decomposition of DCPA

The dependency of the activation energy with conversion degree " $E_a = f(\alpha)$ " is observed similar for the three isoconversional methods (fig. IV.6). Some changes may be expected for lower and higher values of α . This is probably due to the errors generated by the temperature integral approximation or in the baseline interpolation for peak tails [32,33]. The values displayed show an almost constant shape in the α range [0.2 – 0.8], which indicates that the decomposition mechanism of DCPA can be fairly regarded as a single-step process. In following, we have considered the activation energy calculated by the Friedman's method whose average value is $E_a = 299.4 \pm 2.1 \text{ kJ.mol}^{-1}$.

3.5.2. Determination of reaction model

The kinetic model of thermal dehydroxylation of DCPA was performed by Malek's methodology by calculating the special functions $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ from Eqs. (7) and (8) respectively. The variation of the above functions with conversion degree were normalized within [0, 1] interval and presented in figure IV.7.

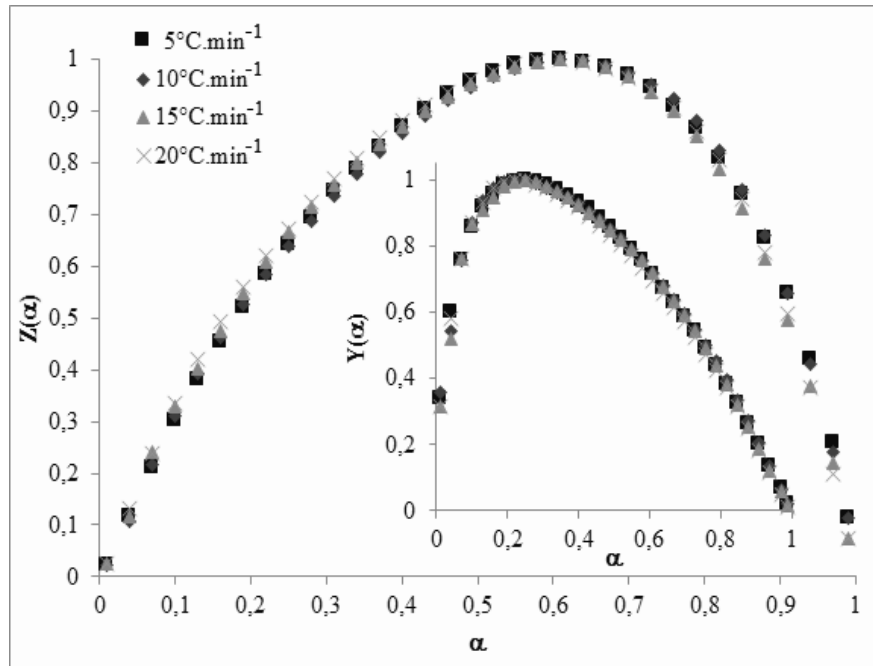


Fig. IV.7 : Variation of $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ as function of conversion degree α at different heating rates

For all heating rates, the shapes of $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ plots are identical and confirm the single-step decomposition process of DCPA. The conversion values corresponding to the maxima of $y(\alpha)$ and $z(\alpha)$ plots, α_m and α_p^∞ respectively, are listed in table IV-3. The displayed average maxima are $\alpha_m = 0.244$ and $\alpha_p^\infty = 0.610$. According to Malek's procedure, if the maximum falls into $0.61 \leq \alpha_p^\infty \leq 0.65$, the Johnson Mehl Avrami (JMA(n)) model represents the best choice to describe the investigated process. Its $f(\alpha)$ function can be expressed as Eq. (15):

$$f(\alpha) = n(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{1-1/n} \quad (15)$$

Where n is the kinetic exponent.

Table IV-3: Values of α_m , α_p and α_p^∞ at different heating rates and their corresponding standard deviations (SD)

β (°C.min ⁻¹)	α_m	α_p	α_p^∞
5	0,252	0,592	0,602
10	0,244	0,605	0,613
15	0,247	0,613	0,623
20	0,234	0,596	0,603
Average	0,244	0,601	0,610
SD	0.009	0.006	0.006

In order to ascertain the chosen model, the linearity of the double logarithmic plot of $\ln[-\ln(1-\alpha)]$ as a function of $1/T$, introduced by Satava [17], was tested. The obtained results, displayed in figure IV.8, are clearly linear with a correlation coefficient greater than 0.99 (table IV-4).

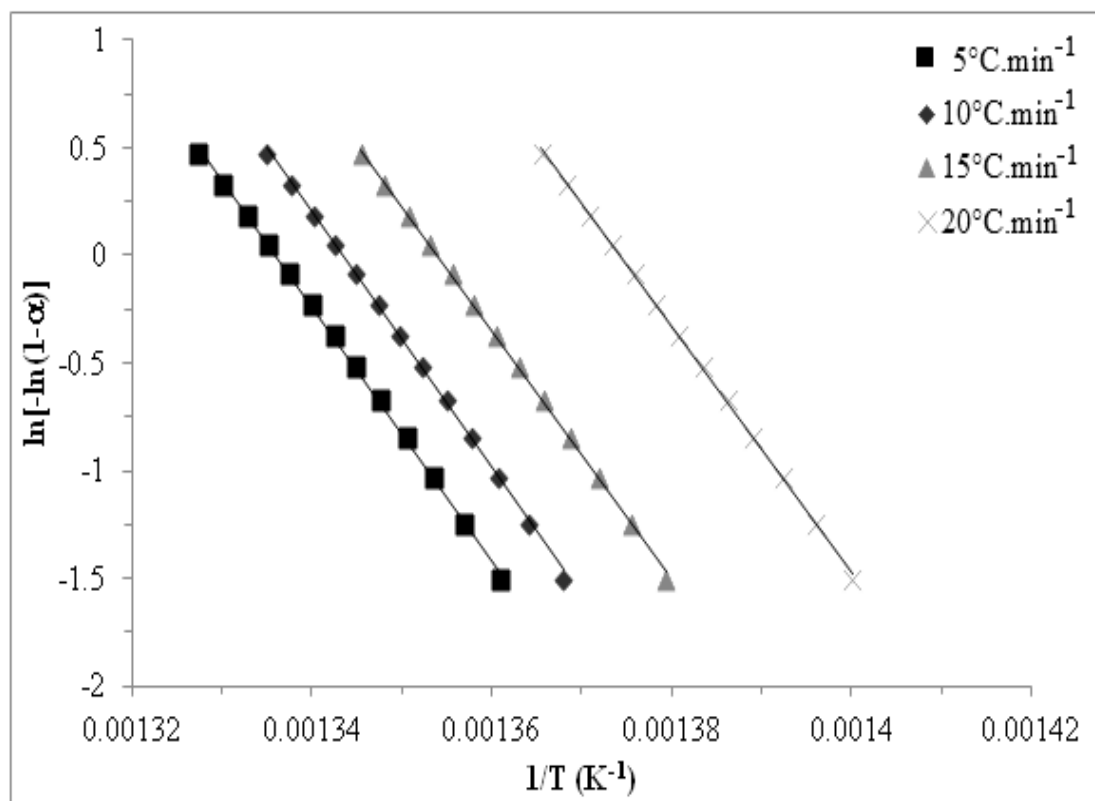


Fig. IV.8 : Test of applicability of the JMA model

Table IV-4: Parameters of the double logarithm plot

β ($^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$)	5	10	15	20
n	1,59	1,61	1,66	1,63
R²	0,9996	0,9997	0,9993	0,9993

The mathematical modeling of the experimental results was carried out by non-linear regression using the error function (S), $S = \sum_{i=0}^N (y_i^{\text{exp}} - y_i^{\text{the}})^2$. The obtained kinetic parameters and the simulated curves at different heating rates are summerized in table IV-5 and figure IV.9 respectively.

Table IV-5: Kinetic parameters obtained using JMA (n) model and their corresponding standard deviations (SD)

β ($^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$)	$\ln A$	n	R^2
5	48,5	1,39	0,9995
10	48,4	1,40	0,9994
15	48,5	1,35	0,9992
20	48,5	1,33	0,9990
Average	48,5	1,37	
SD	0.034	0.028	

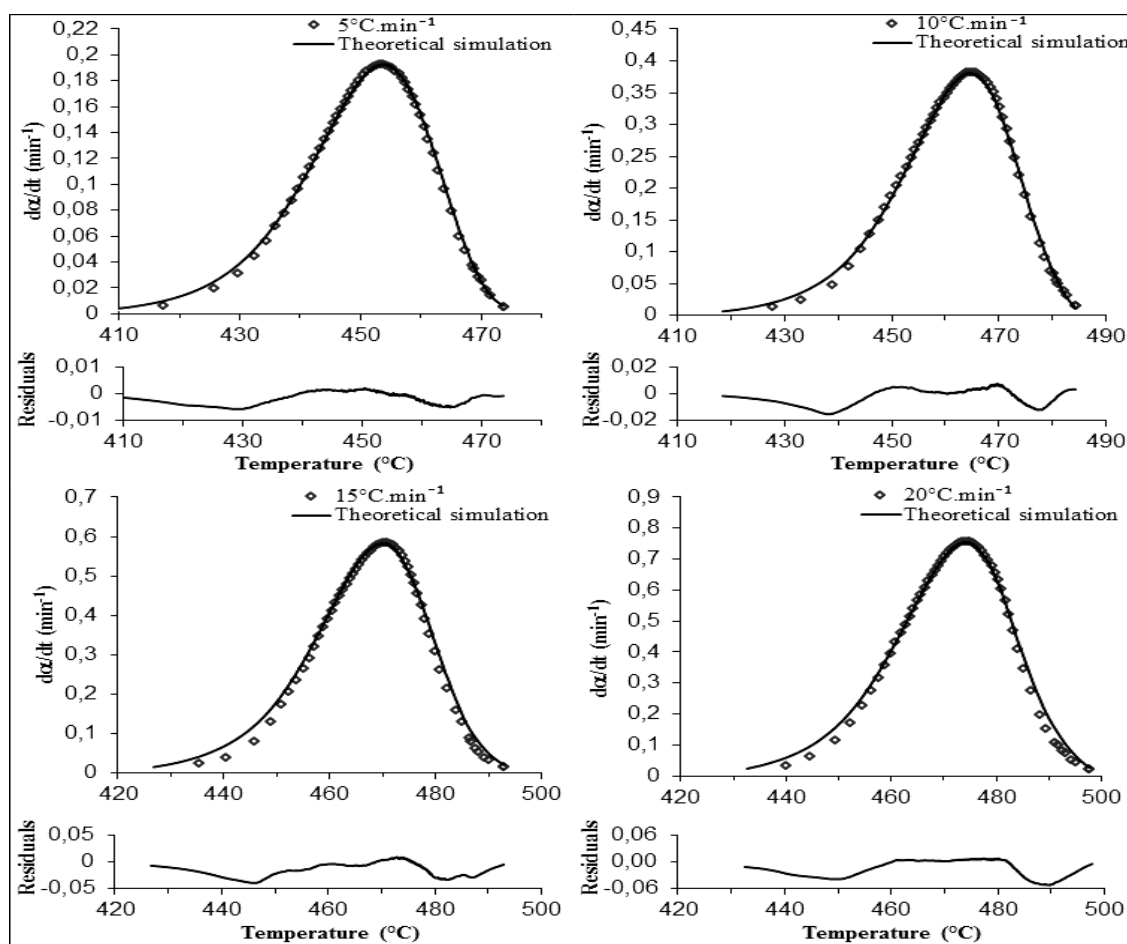


Fig. IV.9 : Simulated kinetic curves at different heating rates and their residuals plotted underneath

The JMA parameters thus obtained may indicate a combination between 1-dimensional and 2-dimensional nucleation and growth mechanism, which is in close relation with the rod-shaped particles observed by TEM analysis. This mechanism was reported to describe the decomposition and dehydration of various solids [34,35]. Such mechanism associated with the decrease in particle

size occurs more probable in three steps as this was reported previously [34]. The decomposition of DCPA can be estimated as a reaction interface process which begins with destruction of the reactant crystalline phase of CaHPO_4 and its structural rearrangement, followed by the instantaneous diffusion of the generated water molecules toward the surface. Afterward, the concomitant formation of rod particles of $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ takes place by the elimination of gaseous H_2O through a bulk nucleation and growth mechanism. This possible mechanism was confirmed by XRD, FTIR and TEM analyses.

3.5.3. Thermodynamic parameters

The thermodynamic parameters ΔS^* , ΔH^* and ΔG^* were calculated using the equations (10), (11) and (12), based on the values of average apparent activation energy E_a of Friedman, pre-exponential factor A obtained by Malek's procedure and the temperature at maximum peak $T_{p,0} = 440.94^\circ\text{C}$ calculated from equation (13). The obtained parameters are summarized in table IV-6.

Table IV-6: Thermodynamic parameters of thermal decomposition of DCPA

$\Delta S^* (\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1})$	$\Delta H^* (\text{kJ.mol}^{-1})$	$\Delta G^* (\text{kJ.mol}^{-1})$
179,3	292,1	164,0

The positive value of activation entropy ΔS^* means that the activated complex has lower degree of arrangement than the initial solid. This increasing disorder is in accordance with the decrease of crystallinity of material beforehand observed by XRD analysis. On the other hand, the positive value of the activated enthalpy ΔH^* corroborates the endothermic nature of the process as was observed by DTA analysis. The positive value of the free Gibbs energy ΔG^* shows that the thermal dehydroxylation of DCPA is non-spontaneous reaction and needs heat to occur under ambient pressure.

Conclusion

Thermal decomposition kinetics of dicalcium phosphate anhydrous CaHPO_4 to calcium pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ has been investigated from a series of analytical experiments at different constant heating rates. The kinetic parameters and the appropriate reaction model were established by applying the isoconversional model-free method and Malek's procedure. The variation of activation energy E_a was found constant, which reveals a single-step reaction of DCPA dehydroxylation. The application of the Malek's kinetic procedure suggested the Johnson-Mehl-Avrami model (JMA(n)), relative to a nucleation and growth mechanism of the thermal

dehydroxylation reaction. This mechanism is regarded as an interface reaction process schematized by a destruction of the reactant crystalline structure followed by the diffusion and removal of the gaseous water molecules to form the rod-shaped particles of γ -Ca₂P₂O₇. This was accomplished through a complex 1-dimensional/2-dimensional bulk nucleation and growth mechanism, controlled by the kinetic model equation $f(\alpha) = 1.37(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{(1-1/1.37)}$. The values of apparent activation energy E, pre-exponential factor A, as well as the changes of entropy, enthalpy and Gibbs free energy for the formation of activated complex gave certain conclusions concerning the mechanism and characteristics of the process.

Acknowledgements

This research was financially supported by University of Mohammed V- Morocco under the Project No. SCH 04/09 and CNRST-Morocco.

References

- [1] Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates. J Mater Sci. 2007;42:1061–95.
- [2] Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. Materials. 2009;2:399–498.
- [3] Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates: Occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications. Biomaterials. 2011;1:121–64.
- [4] El Hamidi A, Mulongo Masamba R, Khachani M, Halim M, Arsalane S. Kinetics modeling in liquid phase sorption of copper ions on brushite di-calcium phosphate di-hydrate CaHPO₄·2H₂O (DCPD). Desalin Water Treat. 2015; 56:779–91.
- [5] Da Silva Filho EC, Da Silva OG, Da Fonseca MG, Arakaki LNH, Airoidi C. Synthesis and thermal characterization of copper and calcium mixed phosphates. J Therm Anal Calorim. 2007;87:775–8.
- [6] Da Silva OG, Da Fonseca MG, Arakaki LNH. Silylated calcium phosphates and their new behavior for copper retention from aqueous solution. Colloid Surface A. 2007;301:376–81.
- [7] Tortet L, Gavarri JR, Nihoul G, Dianoux AJ. Study of protonic mobility in CaHPO₄·2H₂O (Brushite) and CaHPO₄ (Monetite) by infrared spectroscopy and neutron scattering. J Solid State Chem. 1997;132:6–16.
- [8] Doat A, Pellé F, Lebugle A. Europium-doped calcium pyrophosphates: Allotropic forms and photoluminescent properties. J Solid State Chem. 2005;178:2354–62.

- [9] Miyazaki T, Sivaprakasam K, Tantry J, Suryanarayanan R. Physical characterization of dibasic calcium phosphate dihydrate and anhydrate. *J Pharm Sci.* 2009;98:905–16.
- [10] Chen GG, Luo GS, Yang LM, Xu JH, Sun Y, Wang JD. Synthesis and size control of CaHPO_4 particles in a two-liquid phase micro-mixing process. *J Cryst Growth.* 2005;279:501–7.
- [11] Eshtiagh H, Houssaindokht MR, Chahkandhi M, Youssefi A. Preparation of anhydrous dicalcium phosphate, DCPA, through sol-gel process, identification and phase transformation evaluation. *J Non-Cryst Solids.* 2008;354:3854–7.
- [12] Baradaran S, Basirun WJ, Mahmoudian M, Hamdi M, Alias Y. Synthesis and characterization of monetite prepared using a sonochemical method in a mixed solvent system of water/ethylene glycol/N,N -dimethylformamide. *Metall Mater Trans A.* 2013;44:2231–8.
- [13] Dickens B, Bowen JS, Brown WE. A refinement of the crystal structure of CaHPO_4 (synthetic monetite). *Acta Crystall B-Stru.* 1972;28:797–806.
- [14] Wikholm NW, Beebe RA, Kittelberger JS. Kinetics of the conversion of monetite to calcium pyrophosphate. *J Phys Chem.* 1975;79:853–6.
- [15] Berend G, Hegedüs AJ. Thermoanalytical investigation of secondary calcium phosphate dehydrate. *Thermochim Acta.* 1975;11:367–79.
- [16] Hlel F, Kamoun S, Guidara K. Investigation of phosphorus site condensation in CaHPO_4 by analysis of ^{31}P MAS-NMR tensor and X-ray powder patterns. *Z Naturforsch A.* 2006;61:375–82.
- [17] Vyazovkin S, Chrissafis K, Di Lorenzo ML, Koga N, Pijolat M, Roduit B, Sbirrazzuoli N, Suñol JJ. ICTAC Kinetics committee recommendations for collecting experimental thermal analysis data for kinetic computations. *Thermochim Acta.* 2014;590:1–23.
- [18] Vyazovkin S, Burnham AK, Criado JM, Pérez-Maqueda LA, Popescu C, Sbirrazzuoli N. ICTAC Kinetics committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. *Thermochim Acta.* 2011;520:1–19.
- [19] Sbirrazzuoli N, Vincent L, Bouillard J, Elégant L. Isothermal and non-isothermal kinetics when mechanistic information available. *J Therm Anal Calorim.* 1999;56:783–92.
- [20] Brown ME, Gallagher PK. *Handbook of thermal analysis and calorimetry : Recent advances, techniques and applications.* First edit. Amsterdam: Elsevier B.V; 2008.

- [21] Friedman HL. Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry. Application to a phenolic plastic. *J Polym Sci Pol Sym.* 1964;6:183–95.
- [22] Doyle CD. Estimating isothermal life from thermogravimetric data. *J App Polym Sci.* 1962;6:639–42.
- [23] Ozawa T. A new method of analyzing thermogravimetric data. *B Chem Soc Jpn.* 1965;38:1881–6.
- [24] Coats AW, Redfern JP. Kinetic parameters from thermogravimetric data. *Nature.* 1964;201:68–9.
- [25] Málek J. The kinetic analysis of non-isothermal data. *Thermochim Acta.* 1992;200:257–69.
- [26] Senum GI, Yang RT. Rational approximations of the integral of the Arrhenius function. *J Therm Anal.* 1977;11:445–7.
- [27] Flynn JH. The “Temperature Integral” — Its use and abuse. *Thermochim Acta.* 1997;300: 83–92.
- [28] Shannon RD. Activated complex theory applied to the thermal decomposition of solids. *Trans Faraday Soc.* 1964;60:1902–13.
- [29] Eyring H. The Activated complex in chemical reactions. *J Chem Phys.* 1935;3:107–15.
- [30] Ma H, Yan B, Li J, Ren Y, Chen Y, Zhao F, Song J, Hu R. Molecular structure, thermal behavior and adiabatic time-to-explosion of 3,3-dinitroazetidinium picrate. *J Mol Struct.* 2010;981:103–10.
- [31] Petrov I, Šoptrajanov B, Fuson N, Lawson JR. Infra-red investigation of dicalcium phosphates. *Spectrochim Acta A-M.* 1967;23:2637–46.
- [32] Šimon P, Thomas P, Dubaj T, Cibulková Z, Peller A, Veverka M. The mathematical incorrectness of the integral isoconversional methods in case of variable activation energy and the consequences. *J Therm Anal Calorim.* 2013;115:853–9.
- [33] Sbirrazzuoli N, Vincent L, Mija A, Guigo N. Integral, differential and advanced isoconversional methods: Complex mechanisms and isothermal predicted conversion–time curves. *Chemometr Intell Lab.* 2009;96:219–26.
- [34] Koga N, Tanaka H. A physico-geometric approach to the kinetics of solid-state reactions as exemplified by the thermal dehydration and decomposition of inorganic solids. *Thermochim Acta.* 2002;388:41–61.

- [35] Koga N, Takemoto S, Tatsuya N, Haruhiko T. A kinetic study of the thermal decomposition of iron(III) oxide-hydroxides. Part 3. Shape control and thermal decomposition of $\alpha\text{-FeO(OH)}$. *Thermochim Acta*. 1996;282/283:81–90.

Chapitre V:

New functional β -chitin/calcium phosphate hybrid material as promising support of copper-nanocatalyst for the degradation reductive of hazardous organic dyes

International Journal of Environmental Science and Technology

Volume 11 Number 3 August 2019

ISSN 1544-0704

International Journal of Environmental Science and Technology

 Springer

New functional β -chitin/calcium phosphate hybrid material as promising support of copper-nanocatalyst for the degradation reductive of hazardous organic dyes

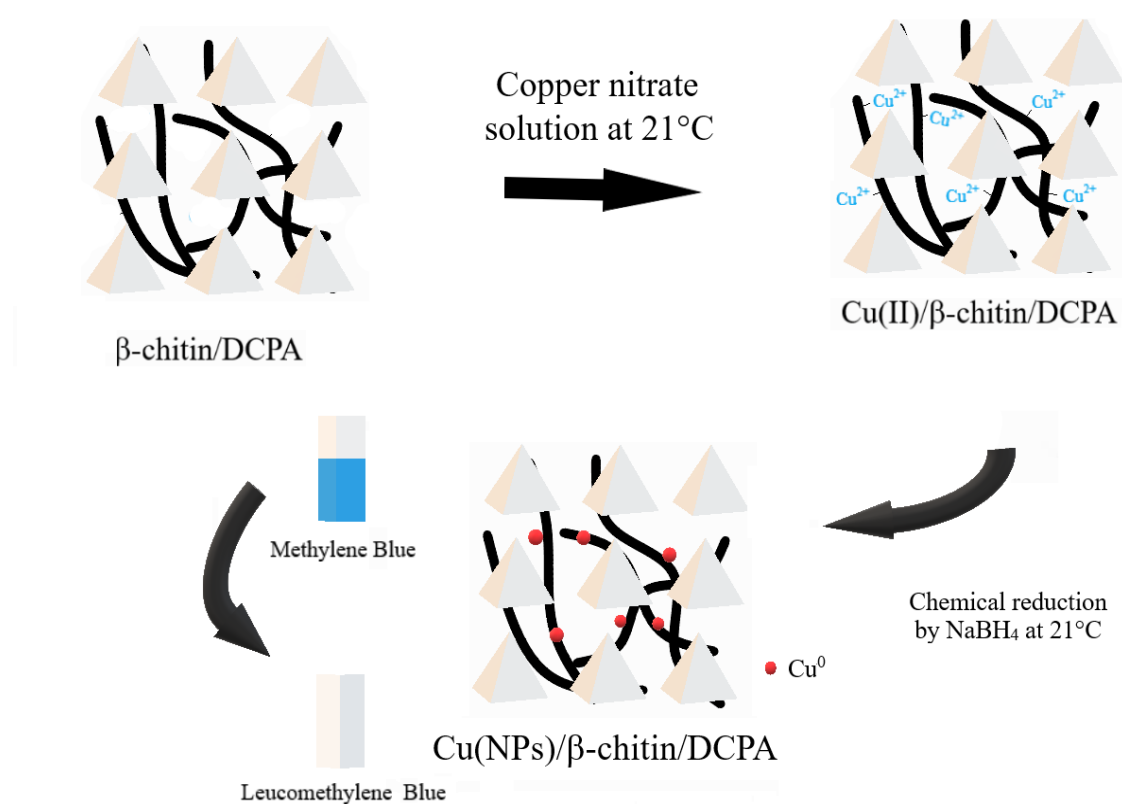
R. Mulongo-Masamba, M. El Hazzat, A. El Hamidi, M. Halim, S. Aarsalane*

Laboratory of Nanomaterials, Nanotechnologies and Environment, Center of Materials, University of Mohammed V, Faculty of Sciences, Avenue Ibn Battouta, BP:1014, 10000 Rabat, Morocco.

**Corresponding author: Fax: +212 537 77 54 40; Tel: +212 537 77 54 40;*

E-mail: pr.saidarsalane@gmail.com (S. Aarsalane)

Graphical abstract



Highlights

- β -chitin/calcium phosphate was prepared from bioresource by mechano-chemical way
- β -chitin improves the physico-chemical and catalytic properties of calcium phosphate
- β -chitin/calcium phosphate is a promising support for stabilizing Cu nanoparticles
- Better catalytic performance was obtained in the degradation of hazardous dyes
- Strong copper-support interaction leads to stability and dispersion of nanoparticles

Abstract

A new hybrid material consisting of β -chitin and dicalcium phosphate anhydrous (DCPA) with interesting functional properties was successfully prepared at moderate temperature via mechano-chemical route and served as a support for copper nanocatalyst (Cu(NPs)) in the degradation of methylene blue (MB). Cu(NPs) were obtained from the in situ chemical reduction of copper ions using an aqueous solution of NaBH₄. The resulting Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA was characterized by several analytical techniques and the obtained results were compared to those of Cu(NPs) supported on pure DCPA (Cu(NPs)/DCPA). The physicochemical analysis showed that the incorporation of β -chitin enhances the chemical stability and physical properties of the DCPA structure as well as the retention capacity of copper ions at the surface of β -chitin/DCPA. Catalytic performances obtained on Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA show a first-order kinetic and exhibited excellent reductive activity of MB with rate constant of $57.8 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, higher than that of Cu(NPs)/DCPA ($9.5 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$). By comparison with other reported Cu-catalysts, Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA presents better catalytic efficiency due to the anchoring effect of β -chitin which maintains good dispersion and prevents Cu(NPs) against agglomeration without the addition of capping agents or surfactants templates. The high catalytic efficiency of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA material was confirmed by the recyclability test which after four cycles, the MB is entirely degraded without any delay of the process.

Keywords β -chitin/dicalcium phosphate anhydrous · Copper nanoparticles · Methylene blue dye · Catalytic degradation

1. Introduction

Phosphates belonging to CaO-P₂O₅ system constitute a large class of materials very attractive in various chemical and industrial fields (Dorozhkin **2010**; Fihri et al. **2017**; Morgan et al. **2008**). Due to their flexibility of structures and variety of compositions, many phases have been synthesized by different methods and diverse strategies have been developed (Lin et al. **2014**). Among them, calcium phosphates with atomic ratio Ca/P=1 have been widely documented because of their unique applications, like precursors for the efficient synthesis of hydroxyapatite biomaterial (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, HAp) which is known for its high biocompatibility in bone and teeth repair and also in tissue engineering (Dorozhkin **2016**). Calcium phosphates were also used as selective adsorbents in environmental remediation, especially for removal of pollutants from wastewater and for the confinement of radioactive elements (Tomar et al. **2015**; Rigali et al **2016**). In heterogeneous catalysis, some calcium phosphate formulations were used as potential supports of active phases for methane dry reforming (Boukha et al. **2007**), dehydration and dehydrogenation

reactions (Tsuchida et al. **2006**) and photocatalytic processes (Mohamed and Baeissa **2013**). As for the environmental catalysis, the degradation of dyes is among the most studied catalytic reactions in liquid phase and numerous composites containing oxide semiconductors and HAp have been developed to support plasmonic nanoparticles, like Au/TiO₂/HAp for methylene blue (MB) degradation under visible light (Guo et al. **2018**) and Ag/HAp-sodium lignosulphonate for the degradation of basic blue 41 (BB 41) using a Fenton-like process (Ignat et al. **2017**), to name but a few.

In recent years, a special renewed interest has been focused on the synthesis of nanostructured calcium phosphate bioceramics with various structures and morphologies by using raw materials from natural resources including corals, egg shells, oyster shells and fish/bovine bones and, the phosphoric acid (Lim et al. **2014**; Bahrololoom et al. **2009**). These biological ceramics have many advantages in the design and development of smart materials, which could be useful in medical uses and catalysis (Balazsi et al. **2007**; Eliaz and Metoki **2017**)

On the other hand, the presence of noble metal in catalytic formulations has been much interest mainly in the synthesis of nanoparticles for the development of novel applications, among others electrochemical sensors (Luo et al. **2006**), raman-based optical sensors (Kundu **2013**), heterogeneous catalysis (Astruc et al. **2005**) and antibacterial agents (Ruparelia et al. **2008**). More recently, it was reported that copper nanocatalyst (Cu(NPs)) is a good alternative material for noble metals due to its low cost and unique property which can easily be controlled depending on the synthesis method. The popular method for synthesizing Cu(NPs) is a chemical process such as chemical reduction, photochemical reduction, electrochemical techniques and thermal decomposition (Park et al. **2007**; Lee et al. **2008**; Kim et al. **2006**). In fact, Cu(NPs) loaded on suitable catalytic supports could tune up and improve the catalytic performance of the resulting material as compared with the initial catalysts (Zhu and Xu **2006**; Ghosh et al. **2015**). The surface properties of supports associated with good thermo-mechanical stability play a crucial role and may also act in synergy with the metallic nanoparticles guests, enhancing the overall catalytic efficiency (Shah et al. **2016**).

In the present study, a new β -chitin/DCPA hybrid material was synthesized from biogenic aragonite; naturally present in cuttlebone and characterized by several analytical techniques for promising dispersion support of copper nanocatalyst. The generation of Cu(NPs) was carried out using in situ chemical reduction by an aqueous solution of NaBH₄ at ambient temperature. Comparative catalytic study of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA and Cu(NPs)/DCPA in the reductive degradation of methylene blue MB; chosen as reaction model; was conducted in order to identify

the inherent effect of support on the dispersion of Cu(NPs), especially the existence of β -chitin and its role in the catalytic act. To the best of our knowledge, no similar study has been reported in the literature except those cited herein on HAp.

2. Materials and methods

2.1. Materials

All chemical reagents included CaCO_3 , H_3PO_4 , $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, NaBH_4 and MB were pure of analytical grade and used as received without further purification. Regarding the synthesis of β -chitin/DCPA, a natural biogenic calcium carbonate from *Sepia officinalis* (Cuttlebone fish) locally available was used as a source of both calcium and β -chitin. Details of the preparation of cuttlebone powder have been reported in our previous work (Mulongo-Masamba et al. 2017). Before use, cuttlebone powder was characterized by X-ray diffraction (XRD) and Thermogravimetric analysis (TG) to examine the polymorph of the calcium carbonate and assess the β -chitin content. The results show that the cuttlebone powder is exclusively constituted by the aragonite polymorph of CaCO_3 with 3.84 (wt.%) of β -chitin (Mulongo-Masamba et al. 2017). This feature should be taken into account during the synthesis process of new β -chitin/DCPA hybrid material.

2.2. Synthesis of catalytic materials

2.2.1. Preparation of DCPA and β -chitin/DCPA supports

The pure DCPA (CaHPO_4) and β -chitin/DCPA materials were synthesized at ambient temperature using the mechano-chemical route (Mulongo-Masamba et al. 2017). Briefly, masses of calcite and β -chitin/aragonite were separately suspended in 100 mL of deionized water and mixed gently under stirring at 70 °C, to which were added stoichiometric proportions of hot phosphoric acid H_3PO_4 (85 wt.%). Then, the mixtures were refluxed at 90 °C, for an optimized time of 60 min and controlled pH of 5-5.5. The resulting precipitates were isolated by centrifugation at 4500 rpm for 15 min, washed several times with deionized water and finally dried at 90°C overnight. The visual colors of the prepared catalyst supports are white and white skim for DCPA and β -chitin/DCPA, respectively.

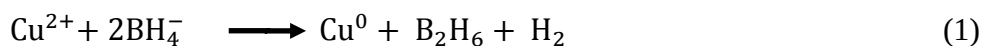
2.2.2. Synthesis of Cu(II)/DCPA and Cu(II)/ β -chitin/DCPA

Cu(II)/DCPA and Cu(II)/ β -chitin/DCPA were prepared by adsorption of copper ions onto catalytic supports (DCPA, β -chitin/DCPA) using the batch method at ambient temperature. A mass (1g) of each catalytic support was suspended in 50 mL of a titrated solution of copper nitrate (1.2 g L^{-1}) with the pH beforehand adjusted at 5.5 by adding a few drops of HCl (0.1 M). After 12 hours of

stirring, the mixtures were centrifuged at 4500 rpm for 15 min, and then the collected powder were washed abundantly with deionized water and subsequently with absolute ethanol, finally dried at 90 °C overnight. Colors of the end products are pale blue for Cu(II)/DCPA and relatively dark blue for Cu(II)/ β -chitin/DCPA.

2.2.3. Preparation of Cu(NPs)/DCPA and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA catalysts

Copper nanoparticles Cu(NPs) supported on DCPA and β -chitin/DCPA materials were obtained using a procedure similar to that adopted for the catalytic tests, via a wet chemical reduction route at ambient temperature (21 °C). In typical synthesis, 0.2 g of Cu(II)/calcium phosphate precursors is suspended in 50 mL flask containing 40 mL of deionized water. Then, 10 mL of fresh aqueous solution of NaBH₄ (40 mM) was added under stirring to the suspension solution. After 60 min of continuous stirring, the catalyst powders were separated by centrifugation at 4500 rpm for 15 min, washed with deionized water and subsequently rinsed with absolute ethanol. The process of reducing copper ions is due to the decomposition of NaBH₄ with release of hydrogen gas, according to the following reaction (Saad et al. **2016**; Naseem et al. **2018**).



The visual color change of initial Cu(NPs)/DCPA and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA solutions from blue to a darker final shade after chemical reduction is an indicator of Cu(NPs) formation. The generated Cu(NPs) are very reactive and could easily be oxidized without a protective atmosphere of inert gas. For this reason, the catalytic reduction reaction of MB was conducted in situ in excess of NaBH₄ to prevent the oxidation of Cu(NPs).

2.3. Characterization methods

Catalytic materials were characterized by X-ray diffraction (XRD) using a Shimadzu 6100 diffractometer with a CuK α radiation source ($\lambda=1.541838$ Å). The diagrams were recorded at room temperature under constant conditions of 40 kV and 30 mA, scanning speed of 0.02°s⁻¹ and the range of $2\theta=10$ -55°. The observed phases were identified using standard files of joint committee on powder diffraction standards (JCPDS) databases. FTIR-ATR analysis was used to examine the structural change after the addition of copper ions to catalyst supports. Fourier transform infrared (FTIR) spectra were recorded on a Jasco 4600 spectrometer equipped with an attenuated total reflection (ATR) module (Pro-One). The samples were scanned in transmission mode with 4 cm⁻¹ resolution and 40 scans, in the range of 2000 to 400 cm⁻¹. The presence of chitin in β -chitin/DCPA support was investigated by the solid state ¹³C cross-polarization (CP) technique combined with

magic angle spinning (MAS) nuclear magnetic resonance (NMR) (^{13}C CP/MAS NMR) using a 600 MHz Bruker NMR spectrometer at the resonance frequency of 150 MHz with the use of 4 mm rotors and MAS frequency of 8 kHz. The CP experiment was achieved with a contact time of 2 ms and relaxation delay of 5 s between two consecutive scans. The spectrum was recorded at 93 K. The chemical shifts were referenced to the CDCl_3 with adamantane as an external standard. Copper content in catalysts was estimated by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) using Jobin-Yvon 2000 spectrometer after the mineralization process in the presence of the HF/HNO_3 mixture. The UV absorption spectra of colloidal $\text{Cu}(\text{NPs})$ resulting from the reduction process by using aqueous solution of NaBH_4 were measured with a UV-visible spectrophotometer (Analytik Jena, Specord 210 plus). All spectra were recorded using wavelengths in the range between 400-800 nm with 1 cm path length spectrometric quartz cells and deionized water used as blank.

2.4. Catalytic test for the reductive degradation of MB

The catalytic performance of the synthesized $\text{Cu}(\text{II})/\text{DCPA}$ and $\text{Cu}(\text{II})/\beta\text{-chitin}/\text{DCPA}$ catalysts was evaluated on the reductive degradation of MB dye ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$) taken as model reaction, at ambient temperature (21°C). The reaction was directly conducted on 1 cm quartz cells UV-spectrometer at constant initial ratio of MB/NaBH_4 . Briefly, a 10 mg of each catalyst was mixed with 0.5 mL of fresh NaBH_4 solution (40 mM) to which was added 2 mL of MB aqueous solution (5.10^{-2} mM). The progress of the catalytic degradation reaction was monitored at ambient temperature as function of time by recording the visible absorption spectra between 400-800 nm. The concentrations of MB were estimated based on a calibration curve of the absorbance values versus dye contents at maximum absorbance peak ($\lambda=664$ nm). Preliminary blank experiments were carried out and the results showed that the catalytic reaction under the selected conditions proceeded very slowly in the explored time and did not exceed 15%. The catalytic efficiency of the as-synthesized catalysts for MB degradation was determined using the formula (2):

$$\text{Fraction of degraded dye } \chi = \frac{C_0 - C_t}{C_0} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} = \frac{C}{C_0} = \frac{A_t}{A_0} \quad (2)$$

Where A_0 , C_0 are the initial absorbance and concentration before the addition of the catalyst and A_t , C_t are the absorbance and concentration at time "t" after the addition of the catalyst, $A = A_0 - A_t$ and $C = C_0 - C_t$. When working in large excess of NaBH_4 relative to MB, the reaction rate constant " k_{app} " was evaluated using the first-order kinetic equation (3):

$$\ln \frac{C}{C_0} = \ln \frac{A_t}{A_0} = -k_{app}t \quad (3)$$

3. Results and discussion

3.1. XRD analysis

Fig. V.1 depicts XRD diagrams of all prepared materials. From pattern in Fig. V.1A(a), the prepared DCPA exhibits all characteristic diffraction peaks of Monetite structure (DCPA); CaHPO_4 ; with JCPDS card No. 9-80. Monetite crystallizes in the triclinic structure with space group $P\bar{1}$ (Dosen and Giese **2011**; Mulongo-Masamba et al. **2016**). The addition of copper ions induces no change in the DCPA structure as shown in Fig. V.1A(b) and no extra phase was observed. This is quite normal since the pH of the initial mixture did not exceed the stability zone of the DCPA which lies between 4 and 6. On the other hand, the reduction process in aqueous media by the sodium borohydride leads to partial formation of hydroxyapatite (HAp) with JCPDS card No. 09-0432 (Rogina et al. **2013**) and the concomitant appearance of unprotected Cu(NPs). After separation and washing with deionized water and absolute ethanol, the resulting Cu(NPs)/DCPA is rapidly oxidized under ambient atmosphere to CuO (NPs) with an XRD profile similar to that of JCPDS card No. 04-0836 (Fig. V.1A(c)). The formation of HAp is related to the dissolution-precipitation mechanism of DCPA which is promoted under basic pH conditions. In fact, the addition of Cu(II)/DCPA to aqueous solution of sodium borohydride that has an initial pH value greater than 8, affects the structural stability of DCPA. In this pH zone, the DCPA phosphate partially dissolves and then the precipitation process of HAp takes place by low loss of phosphate ions, as has already been reported in previous works (Liu X et al. **2014**). It is not excluded that copper can also integrate the structure of HAp by ion exchange process (Yang et al. **2016**).

The structural examination of the new β -chitin/DCPA hybrid by XRD was represented in Fig. V.1B. The XRD pattern has similar signature as the DCPA structure (Triclinic crystal system) (Fig. V.1B(a)), with the exception of some differences in peak intensity probably related to the presence of β -chitin in the DCPA structure. Analogous results were also observed on HAp synthesized from bio wastes (Chakraborty and RoyChowdhury **2013**; Rocha et al. **2005**) and layered DCPA- chitosan nanocomposite (Ruan et al. **2016**). Contact with a solution of copper ions at ambient conditions generates a new phase of Cu(II)/ β -chitin/DCPA with blue color and having an XRD pattern similar to that of β -chitin/DCPA (Fig. V.1B(b)). The chemical reduction by the sodium borohydride solution shows the conservation of DCPA structure with the appearance of supplementary Bragg diffraction peaks at 43.2° and 50.8° (2θ), attributed to diffraction plane (111) and (200) of metallic copper with JCPDS card No. 85-1326 (Fig. V.1B(c)). The low relative intensity of Cu^0 peak could be due to the presence of β -chitin in the catalyst and small copper

particles as Cu(NPs), in accordance with the results obtained with ligand-modified mesoporous silver/silica SBA-16 hybrids (Shah et al. **2016**). Despite the pH value of mixing solution which is basic (> 8), the framework stability is maintained owing to the existence of β -chitin within the DCPA structure. This novel property improves the physico-chemical and mechanical characteristics of the DCPA crystal lattice, similar to that observed on the synthesized chitosan/HAp biocomposite (Nazeer et al. **2017**). The present result could be very interesting because the chemical stability of DCPA can be extended even in high basic conditions and thus prevents its conversion to HAp. To our knowledge, such result has never been reported elsewhere.

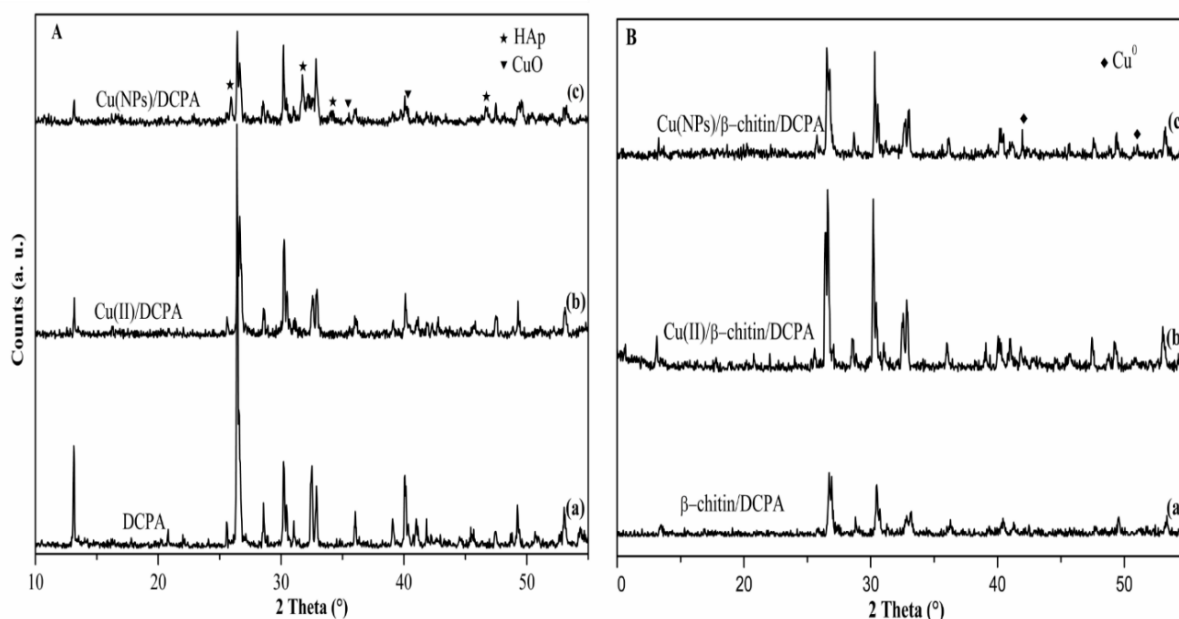


Fig. V.1 : XRD diagrams of DCPA (a), Cu(II)/DCPA (b) and Cu(NPs)/DCPA (c): (A), β -chitin/DCPA (a), Cu(II)/ β -chitin/DCPA (b) and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA (c): (B)

3.2. FTIR-ATR analysis

FTIR spectroscopy was used as a useful complementary technique for the structural investigation. Fig. V.2 shows the FTIR-ATR spectra of the as-synthesized materials at a frequency range between 2000 and 400 cm^{-1} . According to FTIR literature data (Mulongo-Masamba **2017**; Karampas and Kontoyannis **2013**; Tortet et al. **1997**), the synthesized DCPA displays all characteristic IR bands of Monetite with triclinic structure (Fig. V.2A(a)). The presence of copper ions in the DCPA did not alter the initial structure as shown in Fig. V.2A(b), except for the band at 520 cm^{-1} which becomes more intense. This band could be attributed to Cu-O bond (Moniri et al. **2017**). FTIR spectrum of Cu(NPs)/DCPA obtained after the reduction by sodium borohydride (Fig. V.2A(c)) shows the apparition of additional bands at 1040 and 567 cm^{-1} indicating the partial formation of HAp as previously demonstrated by XRD studies (Fig. V.1A(c)). On the other hand,

no structural change was recorded when β -chitin is incorporated in the DCPA structure (Fig. V.2B(a)). According to XRD results, the presence of β -chitin prevents the structure modification of the DCPA, this is also observed when the copper ions are connected to β -chitin/DCPA (Fig. V.2B(b)). In contrast to chemical reduction of Cu(II)/DCPA by sodium borohydride, the formation of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA under basic conditions induces no structural change of DCPA as shown in the spectrum of Fig. V.2B(c), thus confirming the XRD results. The band that was assigned to the Cu-O bond is not observed demonstrating the absence of isolated CuO.

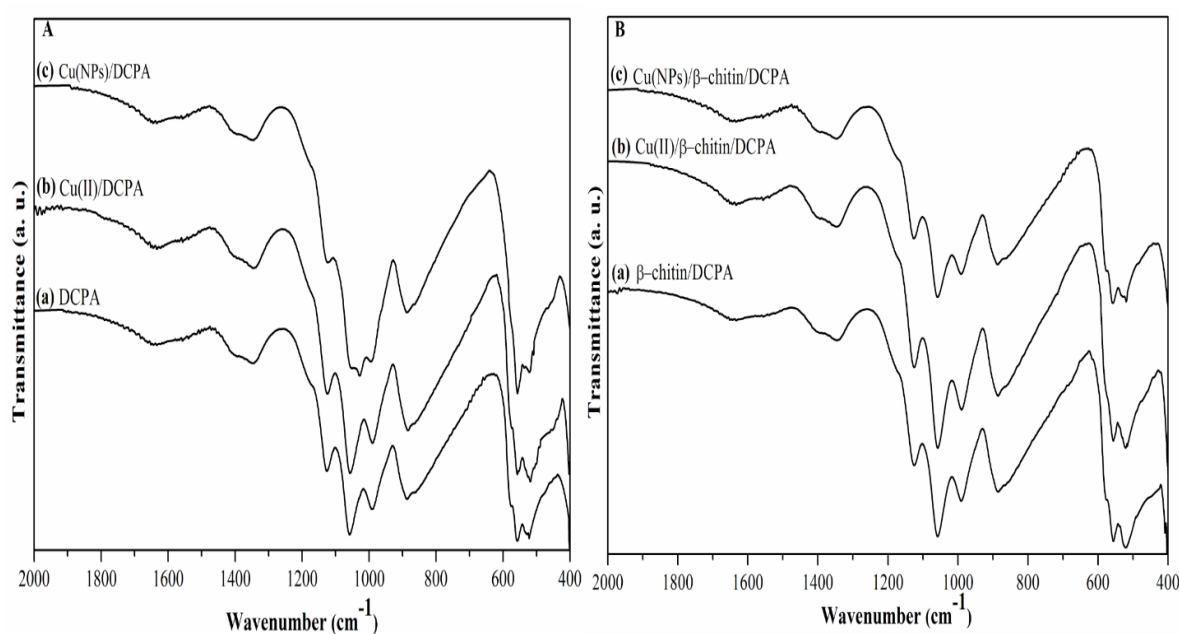


Fig. V.2 : FTIR-ATR spectra of DCPA (a), Cu(II)/DCPA (b) and Cu(NPs)/DCPA (c): (A), β -chitin/DCPA (a), Cu(II)/ β -chitin/DCPA (b) and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA (c): (B)

3.3. Solid state ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy

In order to confirm the presence of β -chitin within the structure of DCPA, solid state ¹³C CP/MAS NMR was used and the recorded spectrum of β -chitin/DCPA hybrid is depicted in Fig. V.3. β -chitin is a polymer consisting of an infinite chain of β -(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine (NAG) units. According to bibliographic data (Kumirska et al. **2010**; Rinaudo **2006**), all signals observed in ¹³C NMR spectrum of β -chitin/DCPA are characteristics of chitin in β configuration. Therefore, the individual signal that appears at about 75 ppm is attributed to the C-3 and C-5 carbon sites of the β -chitin structure. This signal is usually observed in doublet for α and γ -chitin (Kono **2004**). The other signals that are observed at 105, 55.85 and 60 ppm correspond to the different carbon sites C-1, C-2, C-4 and C-6 of the β -chitin, respectively. The signal observed at about 25 ppm is assigned to the presence of the methyl species (-CH₃) belonging to the acetyl group. The carbonyl group (C=O) of chitin produces a signal at 175 ppm. The last two signals, when were observed

very weak or absent, indicate the transformation of chitin by deacetylation into chitosan (Tanner et al. 1990). It should be recalled that the presence of β -chitin polymer in DCPA confers a high rigidity and stability of the phosphate structure in a wide pH range.

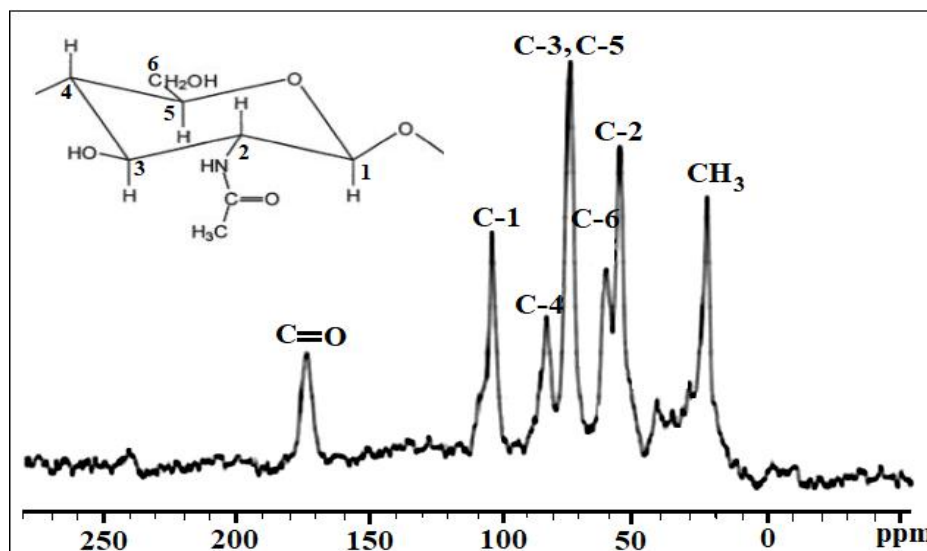


Fig. V.3 : Solid-state ^{13}C CP/MAS NMR spectrum of β -chitin/DCPA

3.4. Chemical analysis

The copper content in the synthesized catalysts Cu(II)/DCPA and Cu(II)/ β -chitin/DCPA was assessed by ICP-AES technique. The elemental chemical analysis results are shown in Table V-1. The experimental weight ratios Ca/P for both catalysts were found very close to theoretical values (Ca/P=1.29) indicating the stoichiometry of the materials. The copper content in catalysts was evaluated to 2.1 wt.% and 5.0 wt.% for Cu(II)/DCPA and Cu(II)/ β -chitin/DCPA, respectively. These values reported to the copper content that was initially set during the adsorption process correspond to copper yields of 34.7% and 83.4%, in accordance with our previous study (Mulongo-Masamba 2017).

Table V-1: Elemental chemical analysis of the synthesized copper-catalysts

Catalysts	Weight ratio Ca/P		Cu(wt.%)	Cu(yield%)
	Experimental	Theoretical		
Cu(II)/DCPA	1.31	1.29	2.1	34.7
Cu(II)/ β -chitin/DCPA	1.29	1.29	5.0	83.4

3.5. Optical characterization of copper nanoparticles Cu(NPs)

The presence of Cu(NPs) in colloids can be easily identified by the appearance of optical bands characteristic of NPs in the visible absorption region, known as localized surface plasmon

resonance (LSPR) (Sepúlveda et al. **2009**). The phenomenon is the origin of the strong interaction of visible electromagnetic waves with the conduction-band electrons of plasmonic Cu(NPs) and can be observed using UV-Vis spectrometer. The position and shape of the LSPR band are sensitive to the size of particle. Therefore, when the metal particle size decreases, the LSPR band blue-shifts and broadens (Dhas et al. **1998**). The optical spectra of the synthesized Cu(NPs)-catalysts by using NaBH_4 as a reduction reagent were recorded in the wavelength of 400–800 nm at every color change. The obtained optical results are shown in Fig. V.4.

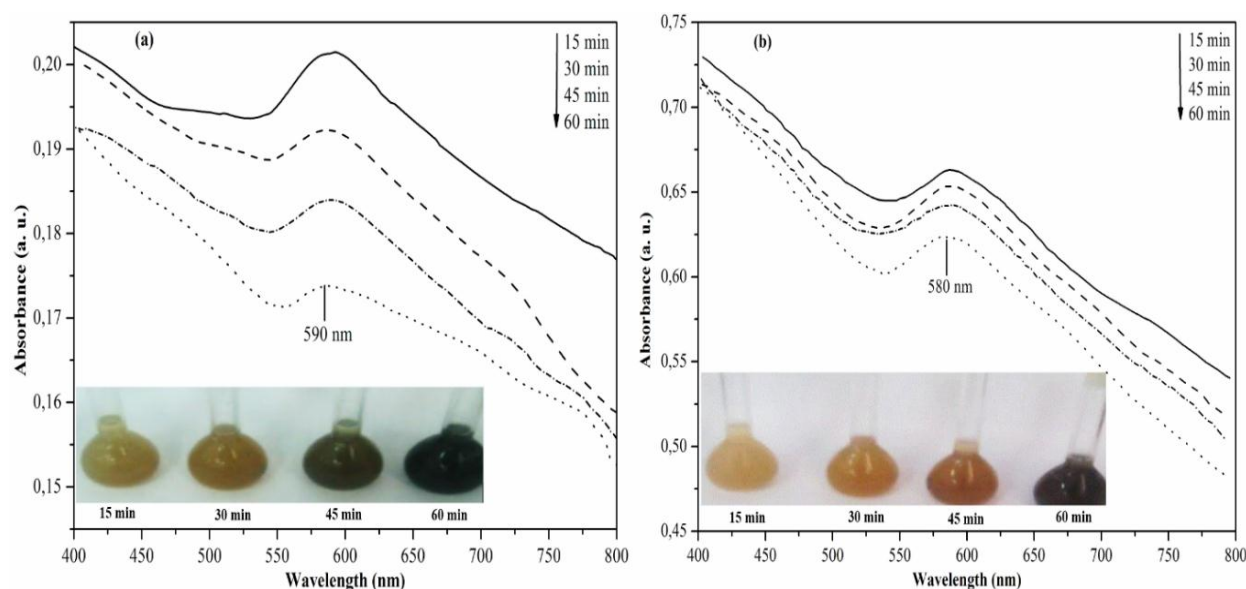


Fig. V.4 : UV-Vis spectra of colloidal Cu(NPs) and corresponding color changes with catalyst supports DCPA (a) and β -chitin/DCPA (b);
[0.2 g of catalysts, $[\text{NaBH}_4]$: 40 mM, total volume: 50 mL]

From Fig. V.4, two distinct observations can be made concerning the generation of Cu(NPs) over calcium phosphate (DCPA). The first one is related to the color change of the catalysts that occurs with NaBH_4 solutions at different time intervals and the second, to the position of the corresponding LSPR bands in UV-Vis spectra. The production of NPs at different reduction steps is not similar for both catalysts. In the case of Cu(II)/DCPA, the chemical reduction produces dark black color with the LSPR band observed at 590 nm after a residence time of 60 min. The black nuance is an indicator of the presence of small copper clusters that form after the reduction process, as previously reported in the literature (Usman et al. **2012**). Indeed, copper is less bound to the DCPA surface with substantial absence of any interactions at the interface. These copper species can easily agglomerate into metal clusters without the presence of capping agents and their LSPR bands progressively disappear as indicated in Fig. V.4(a). On the other hand, the color change on Cu(II)/ β -chitin/DCPA towards red wine during the chemical reduction indicates the formation of

Cu(NPs) with the apparition of LSPR band at 580 nm. Unlike results obtained on Cu(II)/DCPA catalyst, the copper ions in β -chitin/DCPA involve strong interactions at the catalyst surface due to the presence of β -chitin. In fact, it is well known that β -chitin may accommodate a variety of divalent metal ions including copper through the exchange reaction and/or complexation mechanisms, promoted by the presence of functional groups which acting as an anchoring agent (Vold et al. 2003; Jeon and Höll 2003). In this case, the copper resulting from the chemical reduction shows no metal agglomeration and this is supported in the optical spectra (Fig. V.4(b)) by the subsistence of the LSPR band of Cu(NPs) after 60 min. It can be suggested that the β -chitin biopolymer plays an important role like polymeric stabilizer for protecting Cu(NPs) species as reported for the green synthesis of Cu-chitosan (Manikandan and Sathiyabama 2015). The observation of a unique plasmon band at about 580 nm demonstrates that Cu(NPs) acquires a spherical shape whilst the cylindrically shaped particles have a double band in absorbance spectrum (El-Sayed 2004).

3.6. Catalytic reduction of MB on Cu(NPs)-catalysts

The catalytic performances of the as-synthesized Cu-catalysts were examined in the reductive degradation of MB over a time period at ambient temperature (21°C). The reduction reaction was monitored by UV-Vis spectrometer as well as by visual inspection of the color change of initial MB. Preliminary, blank experiments were run without catalysts under similar catalytic conditions. The progress of the reaction was controlled by the decrease of the optical bands of MB in the visible spectra. Fig. V.5 displays the effect of copper in DCPA and β -chitin/DCPA catalysts on the degradation of MB.

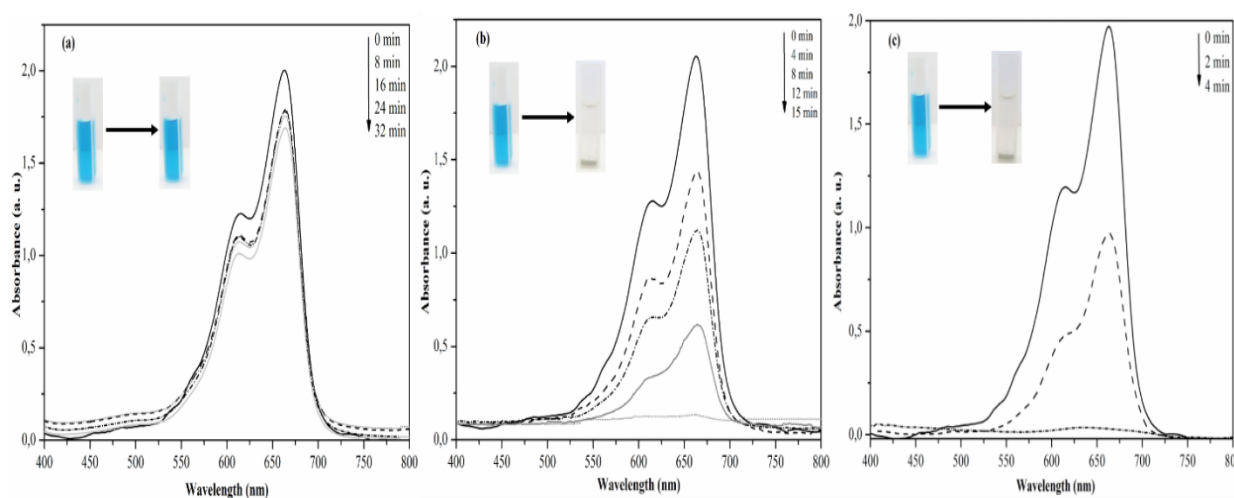


Fig. V.5 : Absorbance spectra of MB reduction by NaBH_4 , in absence of catalysts (a), with Cu(NPs)/DCPA(b) and with Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA (c); [Catalyst dose=10 mg, 2 mL of $[\text{MB}]_0=0.05 \text{ mM}$, 0.5mL of $[\text{NaBH}_4]_0=40 \text{ mM}$, Total volume: 2.5 mL, pH=10 and $T=21^\circ\text{C}$]

UV-Vis spectra of the uncatalyzed reaction showed only a slight activity of reducing MB degradation over time, as shown in Fig. V.5(a). However, the use of nanoscale metals in the reductive reaction of dyes has been widely documented and discussed in the literature (Issaabadi et al. **2017**; Naik et al. **2012**). It was reported that the catalytic efficiency and stability of NPs are often confronted with the agglomeration phenomenon in the absence of capping agent or surfactant template. This is due to the interparticle interactions resulting from Van Der Waals forces and high surface energies (Jiang et al. **2009**). Several investigations state that the effectiveness of the catalytic reduction of dyes depends on the size and surface morphology as well as the dispersion nature of metal particles which provides high surface area per unit volume (Kamat **2002**). In the present study, the generation of Cu(NPs) from the synthesized Cu(II)-catalysts was performed in situ prior to the addition of MB. The reduction time was dictated by the previous experiments shown in Fig. V.4. As can be seen, the time required for the reduction of copper ions to Cu(NPs) was estimated at 45 min. Then, the progress degradation reaction after adding MB at fixed initial concentration of the reactants is illustrated in Fig. V.5(b and c). For the Cu(NPs)/DCPA catalyst, the complete reductive degradation of MB dye was achieved within 14 min, as shown in Fig. V.5(b) whereas Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA catalyst; conducted under similar conditions (Fig. V.5(c)); is occurred in just 4 min. The reaction rate of MB degradation in presence of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA was enhanced more than 3 times with 100% degradation efficiency by comparing with results of Cu(NPs)/DCPA catalyst. The high catalytic activity observed in Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA was correlated to the high dispersion of Cu(NPs) generated during the in situ reduction by NaBH₄. These Cu(NPs) have probably a spherical structure, according to results depicted in Fig. V.4 which showed a unique stable absorption band at 580 nm (El-Sayed **2004**). The special catalytic property of the generated Cu(NPs) from Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA without the usage of capping agents results from the existence of β -chitin biopolymer in the synthesized β -chitin/DCPA hybrid material. In fact, the β -chitin plays a dual role, both as potential template to house copper ions and stabilizer to protect Cu(NPs) against agglomeration. As expected, the Cu(NPs)/DCPA displays a long time for MB reduction when compared with catalytic results of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA. This is primarily due to some copper clusters formed during the chemical reduction process of copper ions which considered less reactive in the catalytic degradation of MB (Sherazi et al. **2014**).

3.7. Kinetic study

The kinetic study is an important way to explore any catalytic reactions and is able to identify the processes involving during the reaction as well as the reaction orders of the mechanistically

significant reactants. In this respect, kinetic plots of the reductive MB degradation over Cu(NPs)-catalysts are represented in Fig. V.6. From kinetic results, the both catalysts were found to follow first-order kinetics as given by equation (3). Table V-2 summarizes the degradation kinetic data of MB catalyzed by in situ generated Cu(NPs) and immobilized onto DCPA and β -chitin/DCPA supports.

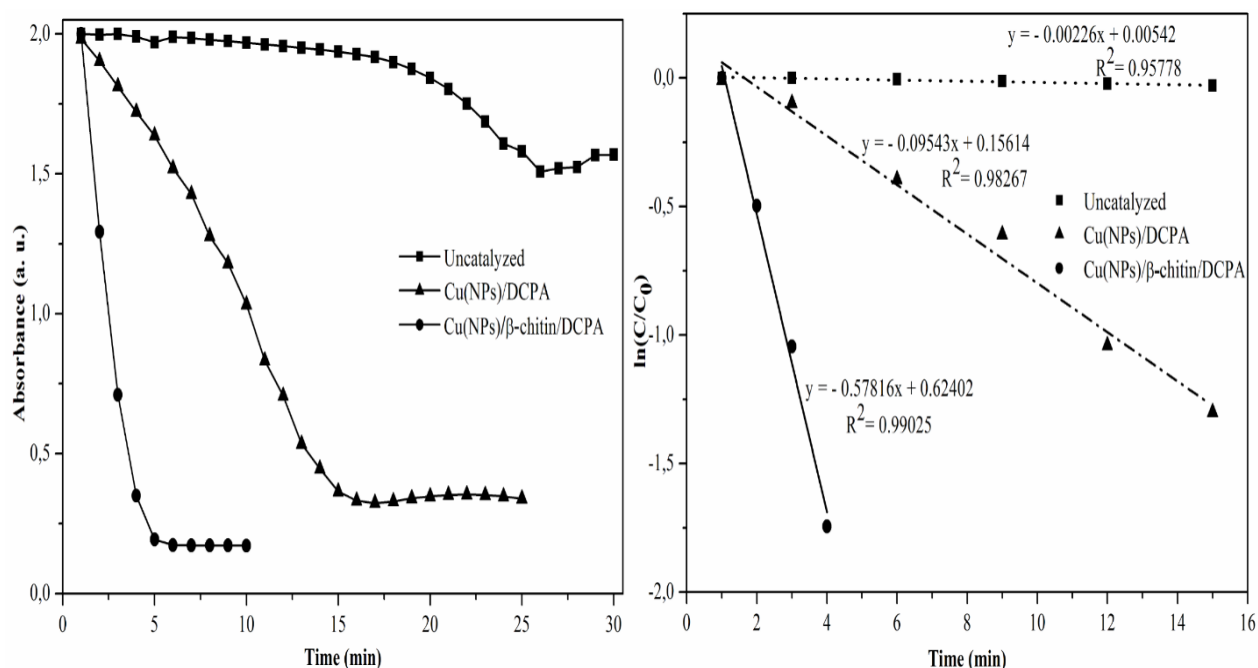


Fig. V.6 : First order plots for reductive degradation of MB onto DCPA and β -chitin/DCPA immobilized Cu(NPs) [Catalyst dose=10 mg, 2 mL of $[MB]_0=0.05$ mM, 0.5mL of $[NaBH_4]_0=40$ mM, Total volume: 2.5 mL, pH=10 and $T=21^\circ C$]

Table V-2: Degradation kinetic data corresponding to catalytic reduction of MB using Cu(NPs) immobilized onto DCPA and β -chitin/DCPA supports under conditions: [Catalyst dose =4 g L⁻¹, $[MB]_0=0.05$ mM, $[NaBH_4]_0=40$ mM, pH=10 and temperature 21°C]

Catalysts	%MB degradation	Completion Time (min)	k_{app} (min ⁻¹)
Cu(NPs)/DCPA	100	15	0.0954
Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA	100	4	0.5782

Comparison of rate constants for the reductive degradation of MB dye using Cu(NPs)- catalysts (Table V-2) reveals that Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA has a higher k_{app} value than that found on Cu(NPs)/DCPA. This means that the reduction of MB by $NaBH_4$ occurs more rapidly with Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA thus leading to better catalytic activity due to high dispersion of Cu(NPs) and their stability in the presence of β -chitin. Similar results were also found in various supports/stabilizers like mesoporous solids (Shah et al. **2016**), clays (El-Sayed **2004**), organic ligands (Nemanashi and Meijboom **2013**), polymers (Omidvar **2017**) and carbon materials (Xu et

al. **2018**). Table V-3 compares the catalytic performances of various metals (NPs) used in MB dye degradation with those studied in the present work.

Table V-3: Comparison of rate constants for MB degradation by metal (NPs) supported on various materials

Catalysts	Completion time (min)	k_{app} (min^{-1})	References
Cu nanoparticle loaded SBA-15	8	0.5100	Ghosh et al. 2015
CuNPs@Gelatin (1.0%)	16	0.5368	Musa et al. 2016
Cu-AT-MMT*	120	0.0213	Mekewi et al. 2016
Ag(seed)-SiO ₂ **	9	0.2418	Muthuchamy et al. 2015
Ag(E)-SiO ₂ ***	5	0.8040	Muthuchamy et al. 2015
(AgNPs)-containing hybrid	28	0.0540	Tang et al. 2015
Au/CeO ₂ -TiO ₂ nano-hybrid	10.5	0.3336	Saikia et al. 2017
Glass beads coated with AuNPs	51	0.0413	Das and Velusamy 2014
Cu(NPs)/ β -chitin/D CPA	4	0.5782	This study
Cu(NPs)/D CPA	15	0.0954	This study

* Copper nanoparticles (Cu(NPs)) supported on acid activated Montmorillonite clay (MMT).

** AgNPs embedded in SiO₂ functionalized with negative charge p-toluene sulfonic acid ion.

*** Silver nanoparticles (Ag(NPs)) enriched silica (SiO₂).

The effective reduction of MB by Cu(NPs)-catalysts is occurred by an electron transfer mechanism. In fact, the transfer of electrons from Cu(NPs) to MB (blue color, oxidized form) leads to Leucomethylene Blue (LMB, colorless form) and subsequently accompanied by the progressive decrease in optical absorbance until a colorless solution which indicates a complete reduction of dye. The catalytic degradation of MB on Cu(NPs)/ β -chitin/ D CPA is probably governed by a redox mechanism where Cu(NPs) play an intermediate of electrons transfer between donor BH_4^- and acceptor MB with reaction scheme similar to that proposed in Fig. V.7 (Saad et al. **2016**; Naseem et al. **2018**). Indeed, the formation of Cu(NPs) in the functionalized β -chitin /D CPA is a consequence of reduction of Cu^{2+} ions which are attracted by the functional groups leading to well dispersed and highly reactive copper species.

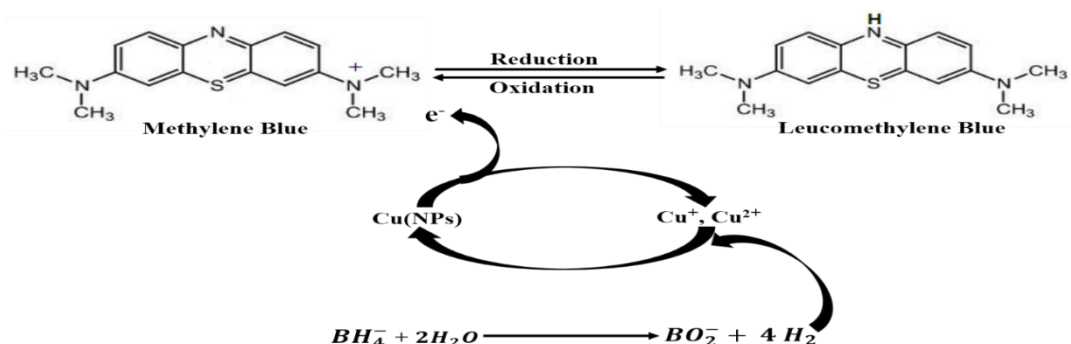


Fig. V.7 : Mechanism of catalytic reduction of MB to LMB on Cu(NPs)/ β -chitin/D CPA

3.8. Recovery and reuse of Cu(NPs)

The recyclability test was performed to evaluate the catalytic stability of the Cu(NPs) catalysts through four consecutive experiments, conducted under similar reaction conditions. After the first run, the catalysts were washed several times with water and absolute ethanol to remove any residual reactions products formed during the previous experience. Then, the catalysts were further used for another run and so forth. Fig. V.8 displays the catalytic efficiency of Cu(NPs)/DCPA and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA during four consecutive cycles. No loss of catalytic activity was observed on Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA after each recycling, indicating that the catalyst maintains its catalytic performance due to the existence of β -chitin which stabilizes the Cu(NPs) on the surface during the catalytic reaction and preserves their dispersion against poisoning by the reaction products. Conversely, the decrease in catalytic stability is due to loss in surface activity which related to morphological modifications of metal (NPs) or poisoning active sites (Muthuchamy et al. 2015). In the case of Cu(NPs)/DCPA, the catalytic efficiency decreases to 74% for the fourth cycle (Fig. V.8), this is attributed to agglomeration of unprotected Cu(NPs) species. From these experimental results, Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA exhibits a high stability and good catalytic performance better than found in other metals (NPs) (Table V-3).

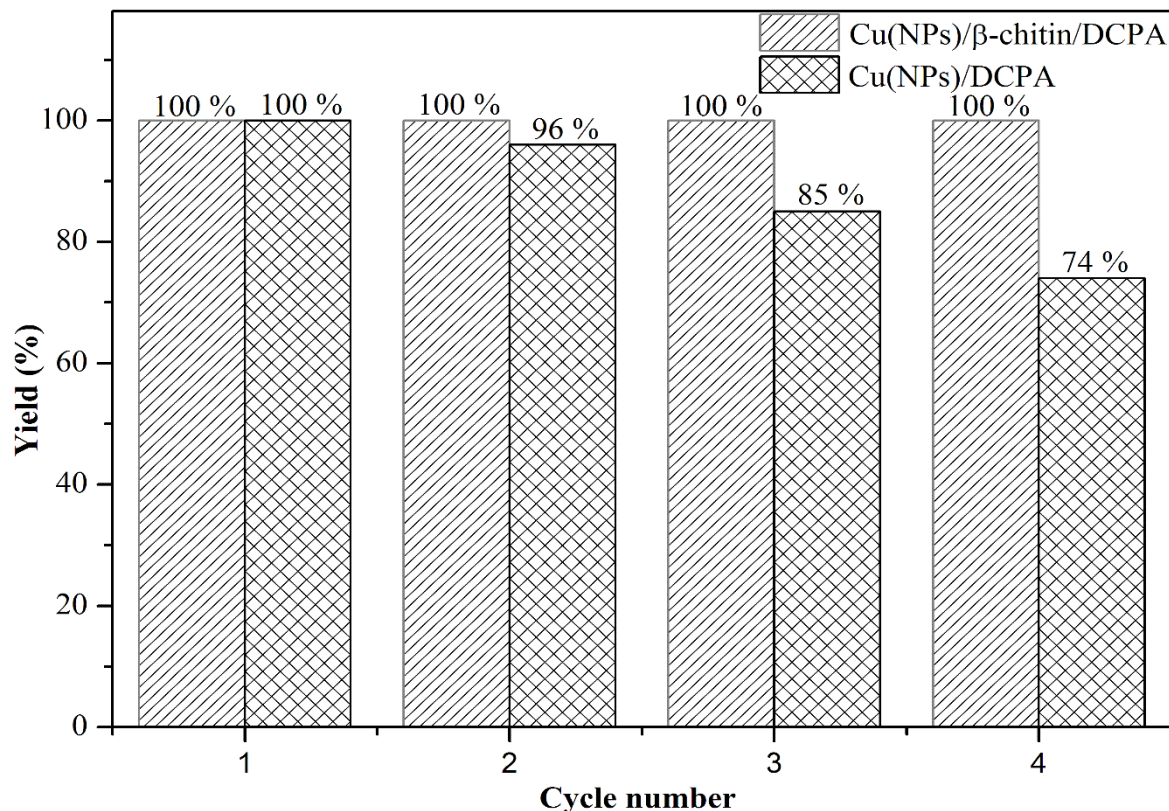


Fig. V.8 : Recyclability test of supported Cu(NPs)-catalysts in the reduction of MB to LMB using NaBH_4

Conclusion

In this study, new Cu(NPs) catalysts supported on calcium phosphate DCPA and β -chitin/DCPA hybrid material were successfully synthesized via a mechano-chemical route without the use of capping agents or surfactants templates and characterized by several analytical techniques such as XRD, FTIR spectroscopy, ICP-AES chemical analysis, ^{13}C CP/MAS NMR and UV-Vis spectroscopy. The comparative characterization results of catalysts show that the incorporation of biopolymer β -chitin in DCPA structure improves the physico-chemical and mechanical properties of β -chitin/DCPA support compared to pure DCPA. The presence of β -chitin acts as stabilizer and anchoring agent for nanocatalyst Cu(NPs) generated in situ during the aqueous reduction by sodium borohydride. Interestingly, the structure of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA after reduction process remains unaltered while in the Cu(NPs)/DCPA, a supplementary phase of HAp appeared due to chemical instability of DCPA in basic pH conditions. The Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA hybrid material exhibits an excellent catalytic efficiency towards the degradation reductive of MB. The apparent rate constant of the first order reduction reaction was determined to be $57.8 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ and found higher than value of $9.5 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ for Cu(NPs)/DCPA. The presence of β -chitin in structure of the DCPA enhances the catalytic efficiency of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA three times by comparing with the result obtained of Cu(NPs)/DCPA. These results were correlated with the Cu(NPs) content and the surface dispersion in both catalysts which are very poor in the case of Cu(NPs)/DCPA due to the absence of an anchoring agent like polymer. The recyclability tests show that Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA keeps substantially the total catalytic performance after the fourth cycle while a partial loss of activity was observed in the Cu(NPs)/DCPA catalyst due to agglomeration of Cu(NPs) leading to formation of small copper clusters. The novel β -chitin/DCPA hybrid material described herein provides a potential support for the design of several supported metal (NPs) catalysts for catalytic reduction not only for MB but could also be extended for the degradation of other dyes.

Acknowledgments

This research was supported financially by the University of Mohammed V, Morocco under the Project No. SCH 04/09, and Hassan II Academy of Science and Technology, Morocco. The authors thank Prof. Sekkat Zouheir for his valuable assistance in solid-state ^{13}C CP/MAS NMR analysis.

References

- Astruc D, Lu F, Aranzaes JR **(2005)** Nanoparticles as recyclable catalysts: the frontier between homogeneous and heterogeneous catalysis. *Angew Chem Int Ed* 44:7852-7872
- Bahrololoom M, Javidi M, Javadpour S, Ma J. **(2009)** Characterisation of natural hydroxyapatite extracted from bovine cortical bone ash. *J Ceram Process Res* 10:129-138
- Balazsi C, Wéber F, Kövér Z, Horváth E, Németh C **(2007)** Preparation of calcium–phosphate bioceramics from natural resources. *J Eur Ceram Soc* 27:1601-1606
- Boukha Z, Kacimi M, Pereira MFR, Faria JL, Figueiredo JL, Ziyad M **(2007)** Methane dry reforming on Ni loaded hydroxyapatite and fluoroapatite. *Appl Catal A* 317:299-309
- Chakraborty R, Roychowdhury D **(2013)** Fish bone derived natural hydroxyapatite-supported copper acid catalyst: Taguchi optimization of semibatch oleic acid esterification. *Chem Eng J* 215:491-499
- Das J, Velusamy P **(2014)** Catalytic reduction of methylene blue using biogenic gold nanoparticles from *Sesbania grandiflora* L. *J Taiwan Inst Chem Eng* 45:2280-2285
- Dhas NA, Raj CP, Gedanken A **(1998)** Synthesis, characterization, and properties of metallic copper nanoparticles. *Chem Mater* 10:1446-1452
- Dorozhkin SV **(2010)** Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials* 31:1465-1485
- Dorozhkin SV **(2016)** Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO_4) bioceramics and their biomedical applications. *Ceram Int* 42:6529-6554
- Dosen A, Giese RF **(2011)** Thermal decomposition of brushite, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ to monetite CaHPO_4 and the formation of an amorphous phase. *Am Mineral* 96:368-373
- Eliaz N, Metoki N **(2017)** Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials* 10:334-438
- El-Sayed MA **(2004)** Small is different: shape-, size-, and composition-dependent properties of some colloidal semiconductor nanocrystals. *Acc Chem Res* 37:326-333
- Fihri A, Len C, Varma RS, Solhy A **(2017)** Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. *Coord Chem Rev* 347:48-76

- Ghosh BK, Hazra S, Naik B, Ghosh NN **(2015)** Preparation of Cu nanoparticle loaded SBA-15 and their excellent catalytic activity in reduction of variety of dyes. Powder Technol 269:371-378
- Guo J, Dong F, Zhong S, Zhu B, Huang W, Zhang S **(2018)** TiO₂–Hydroxyapatite composite as a new support of highly active and sintering-resistant gold nanocatalysts for catalytic oxidation of CO and photocatalytic degradation of methylene blue. Catal Lett 148:359-373
- Ignat L, Ignat ME, Gradinaru I **(2017)** Hydroxyapatite-supported Silver nanoparticles and preliminary investigations of their catalytic potential. Rev Chim (Bucharest) 68:1371-1374
- Issaabadi Z, Nasrollahzadeh M, Sajadi SM **(2017)** Green synthesis of the copper nanoparticles supported on bentonite and investigation of its catalytic activity. J Clean Prod 142: 3584-3591
- Jeon C., Höll WH **(2003)** Chemical modification of chitosan and equilibrium study for mercury ion removal. Water Res 37:4770-4780
- Jiang J, Oberdörster G, Biswas P **(2009)** Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. J Nanopart Res 11:77-89
- Kamal T, Khan SB, Asiri AM **(2016)** Nickel nanoparticles-chitosan composite coated cellulose filter paper: an efficient and easily recoverable dip-catalyst for pollutants degradation. Environ Pollut 218:625-633
- Kamat PV **(2002)** Photophysical, photochemical and photocatalytic aspects of metal nanoparticles. J Phys Chem, 106:7729-7744
- Karampas IA, Kontoyannis CG **(2013)** Characterization of calcium phosphates mixtures. Vib Spectrosc 64:126-133
- Kim YH, Lee DK, Jo BG, Jeong JH, Kang YS **(2006)** Synthesis of oleate capped Cu nanoparticles by thermal decomposition. Colloids Surf A 284:364-368
- Kono H **(2004)** Two-dimensional magic angle spinning NMR investigation of naturally occurring chitins: Precise ¹H and ¹³C resonance assignment of α - and β -chitin. Biopolymers 75: 255-263

- Kumirska J, Czerwicka M, Kaczyński Z, Bychowska A, Brzozowski K, Thöming J, Stepnowski P **(2010)** Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Mar Drugs* 8:1567-1636
- Kundu S **(2013)** A new route for the formation of Au nanowires and application of shape-selective Au nanoparticles in SERS studies. *J Mater Chem* 1:831-842
- Lee Y, Choi JR, Lee KJ, Stott NE, Kim D **(2008)** Large-scale synthesis of copper nanoparticles by chemically controlled reduction for applications of inkjet-printed electronics. *Nanotechnology* 19:415604-415610
- Lim KT, Kim JW, Kim J, Chung JH **(2014)** Development and Evaluation of Natural Hydroxyapatite Ceramics Produced by the Heat Treatment of Pig Bones. *J Biosystems Eng* 39:227-234
- Lin K, Wu C, Chang J **(2014)** Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape. *Acta Biomater* 10:4071-4102
- Liu X, Lin K, Wu C, Wang Y, Zou Z, Cheng J **(2014)** Multilevel Hierarchically Ordered Artificial Biomineral. *Small* 10:152-159
- Luo X, Morrin A, Killard AJ, Smyth MR **(2006)** Application of nanoparticles in electrochemical sensors and biosensors. *Electroanalysis* 18:319-326
- Manikandan A, Sathiyabama M **(2015)** Green Synthesis of Copper-Chitosan Nanoparticles and Study of its Antibacterial Activity. *J Nanomed Nanotechnol* 5:251
- Mekewi MA, Darwish AS, Amin MS, Eshaq G, Bourazan HA **(2016)** Copper nanoparticles supported onto montmorillonite clays as efficient catalyst for methylene blue dye degradation. *Egypt J Pet* 25:269-279
- Mohamed RM, Baeissa ES **(2013)** Preparation and characterisation of Pd–TiO₂–hydroxyapatite nanoparticles for the photocatalytic degradation of cyanide under visible light. *Appl Catal A* 464:218-224
- Moniri S, Ghoranneviss M, Hantehzadeh RM, Asadabad MA **(2017)** Synthesis and optical characterization of copper nanoparticles prepared by laser ablation. *Bull Mater Sci* 40:37-43

- Morgan TT, Muddana HS, Altinoglu EI, Rouse SM, Tabakovic A, Tabouillot T, Russin TJ, Shanmugavelandy S S, Butler PJ, Eklund PC, Yun JK, Kester M, Adair JH **(2008)** Encapsulation of organic molecules in calcium phosphate nanocomposite particles for intracellular imaging and drug delivery. *Nano Lett* 8: 4108-4115
- Mulongo-Masamba R, El Kassri T, Khachani M, Arsalane S, Halim M, El Hamidi A **(2016)** Synthesis and thermal dehydroxylation kinetic of anhydrous calcium phosphate monetite CaHPO_4 . *J Therm Anal Calorim* 124:171-180
- Mulongo-Masamba R, El Hamidi A, Khachani M, Halim M, Arsalane S **(2017)** Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application. *Colloids Surf A* 520:686-693
- Musa A, Ahmad MB, Hussein MZ, Saiman MI, Sani HA **(2016)** Effect of gelatin-stabilized copper nanoparticles on catalytic reduction of methylene blue. *Nanoscale Res Lett* 11: 438-450
- Muthuchamy N, Gopalan A, Lee KP **(2015)** A new facile strategy for higher loading of silver nanoparticles onto silica for efficient catalytic reduction of 4-nitrophenol. *RSC Advances* 5:76170-76181
- Naik B, Prasad VS, Ghosh NN **(2012)** Preparation of Ag nanoparticle loaded mesoporous γ -alumina catalyst and its catalytic activity for reduction of 4-nitrophenol. *Powder Technol* 232:1-6
- Naseem K, Farooqi ZH, Begum R, Irfan A **(2018)** Removal of Congo red dye from aqueous medium by its catalytic reduction using sodium borohydride in the presence of various inorganic nano-catalysts: A review. *J Clean Prod* 187:296-307
- Nazeer MA, Yilgör E, Yilgör I **(2017)** Intercalated chitosan/hydroxyapatite nanocomposites: promising materials for bone tissue engineering applications. *Carbohydr Polym* 175:38-46
- Nemanashi M, Meijboom R **(2013)** Synthesis and characterization of Cu, Ag and Au dendrimer-encapsulated nanoparticles and their application in the reduction of 4-nitrophenol to 4-aminophenol. *J Colloid Interface Sci* 389:260-267
- Omidvar A, Jaleh B, Nasrollahzadeh M **(2017)** Preparation of the GO/Pd nanocomposite and its application for the degradation of organic dyes in water. *J Colloid Interface Sci* 496:44-50
- Park BK, Jeong S, Kim D, Moon J, Lim S, Kim JS **(2007)** Synthesis and size control of monodisperse copper nanoparticles by polyol method. *J Colloid Interface Sci* 311:417-424

- Rigali MJ, Brady PV, Moore RC **(2016)** Radionuclide removal by apatite. *Am Mineral* 101: 2611-2619
- Rinaudo M **(2006)** Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci* 31:603-632
- Rocha JHG, Lemos AF, Agathopoulos S, Valério P, Kannan S, Oktar FN, Ferreira JMF **(2005)** Scaffolds for bone restoration from cuttlefish. *Bone*, 37:850-857
- Rogina A, Ivanković M, Ivanković H **(2013)** Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite within chitosan matrix. *Mater Sci Eng C* 33:4539-4544
- Ruan Q, Liberman D, Zhang Y, Ren D, Zhang Y, Nutt S, Moradian-Oldak J **(2016)** Assembly of Layered Monetite-Chitosan Nanocomposite and Its Transition to Organized Hydroxyapatite. *ACS Biomater Sci Eng* 2:1049-1058
- Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S **(2008)** Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomater* 4:707-716
- Saad A, Snoussi Y, Abderrabba M, Chehimi MM **(2016)** Ligand-modified mesoporous silica SBA-15/silver hybrids for the catalyzed reduction of methylene blue. *RSC Advances* 6: 57672-57682
- Saikia P, Miah AT, Das PP **(2017)** Highly efficient catalytic reductive degradation of various organic dyes by Au/CeO₂-TiO₂ nano-hybrid. *J Chem Sci* 129:81-93
- Sepúlveda B, Angelomé PC, Lechuga LM, Liz-Marzán LM **(2009)** LSPR-based nanobiosensors. *Nano Today* 4:244-251
- Shah AT, Ahmad S, Kashif M, Khan MF, Shahzad K, Tabassum S, Mujahid A **(2016)** In situ synthesis of copper nanoparticles on SBA-16 silica spheres. *Arab J Chem* 9:537-541
- Sherazi STH, Soomro RA, Uddin S, Memon N **(2014)** Synthesis and characterizations of highly efficient copper nanoparticles and their use in ultrafast catalytic degradation of organic dyes. *Adv Mater Res* 829:93-99
- Tang Y, Wu T, Hu B, Yang Q, Liu L, Yu B, Ding Y, Ye S **(2015)** Synthesis of thermo-and pH-responsive Ag nanoparticle-embedded hybrid microgels and their catalytic activity in methylene blue reduction. *Mater Chem Phys* 149:460-466
- Tanner SF, Chanzy H, Vincendon M, Roux JC, Gaill F **(1990)** High-resolution solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance study of chitin. *Macromolecules* 23:3576-3583

- Tomar G, Thareja A, Sarkar S **(2015)** Enhanced fluoride removal by hydroxyapatite-modified activated alumina. *Int J Environ Sci Technol* 12:2809-2818
- Tortet L, Gavarri JR, Nihoul G, Dianoux AJ **(1997)** Study of protonic mobility in $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Brushite) and CaHPO_4 (Monetite) by infrared spectroscopy and neutron scattering. *J Solid State Chem* 132:6-16
- Tsuchida T, Sakuma S, Takeguchi T, Ueda W **(2006)** Direct synthesis of n-butanol from ethanol over nonstoichiometric hydroxyapatite. *Ind Eng Chem Res* 45:8634-8642
- Usman MS, Ibrahim NA, Shameli K, Zainuddin N, Yunus WM **(2012)** Copper nanoparticles mediated by chitosan: synthesis and characterization via chemical methods. *Molecules* 17:14928-14936
- Vold IM, Vårum KM, Guibal E, Smidsrød O **(2003)** Binding of ions to chitosan-selectivity studies. *Carbohydr Polym* 54:471-477
- Xu P, Cen C, Chen N, Lin H, Wang Q, Xu N, Tang J, Teng Z **(2018)** Facile fabrication of silver nanoparticles deposited cellulose microfiber nanocomposites for catalytic application. *J Colloid Interface Sci* 526:194-200
- Yang L, Wei Z, Zhong W, Cui J, Wei W **(2016)** Modifying hydroxyapatite nanoparticles with humic acid for highly efficient removal of Cu(II) from aqueous solution. *Colloids Surf A* 490:9-21
- Zhu QL, Xu Q **(2006)** Immobilization of ultrafine metal nanoparticles to high-surface-area materials and their catalytic applications. *Chem* 1:220-245

Chapitre VI:

A novel hybrid of β -chitin/Calcium phosphate functionalized with copper nanoparticles for antibacterial applications

Journal of Environmental Chemical Engineering



ISSN 0950-4230
Volume 10, Number 1
January 2010

JOURNAL OF
ENVIRONMENTAL
CHEMICAL
ENGINEERING





Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Environmental Chemical Engineering

journal homepage: www.elsevier.com



A novel hybrid of β -chitin/Calcium phosphate functionalized with copper nanoparticles for antibacterial applications

Raphaël Mulongo-Masamba¹, Adnane El Hamidi¹, Abdelhakim Bouyahya², Mohammed Halim¹, Said Aarsalane^{1*}

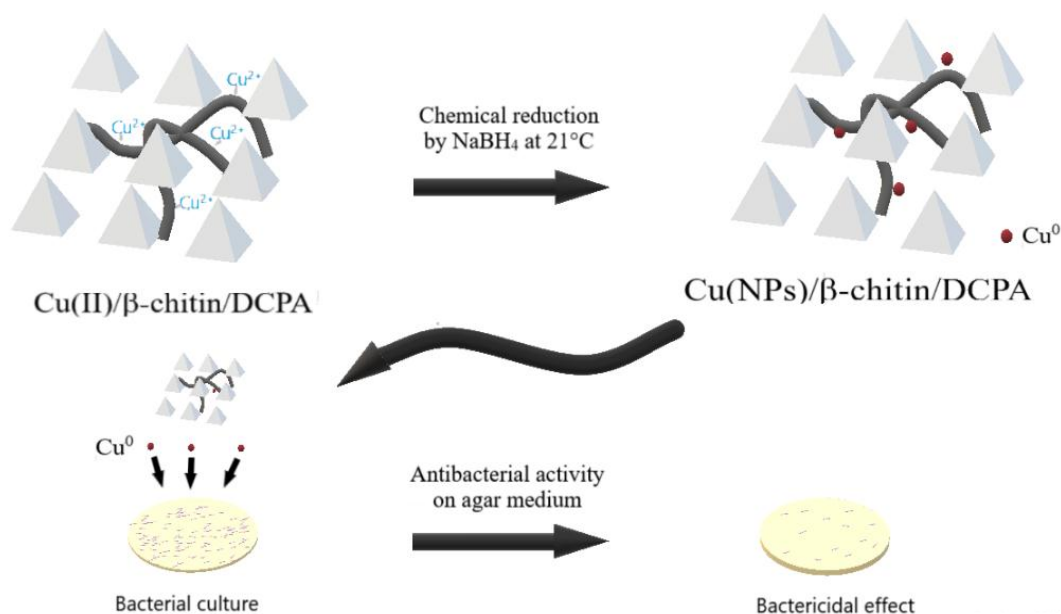
1. Laboratory of Nanomaterials, Nanotechnologies and Environment, Center of Materials, University of Mohammed V, Faculty of Sciences, Avenue Ibn Battouta, BP:1014, 10000 Rabat, Morocco.

2. Laboratory of Biochemistry-Immunology, University of Mohammed V, Faculty of Sciences, Avenue Ibn Battouta, BP:1014, 10000 Rabat, Morocco.

*Corresponding author: Fax: +212 537 77 54 40; Tel: +212 537 77 54 40;

E-mail: pr.saidarsalane@gmail.com (S. Aarsalane)

Graphical abstract



Highlights

- Cu^{II}- β -chitin/calcium phosphate hybrid was prepared using ultrasound assisted method
- Cu(NPs) loaded onto β -chitin/calcium phosphate was obtained by chemical reduction
- β -chitin acts as an anchoring agent for Cu(NPs) without the use of surfactants
- Copper materials show a high sensitivity against Gram (positive and negative) strains
- Cu(NPs) exhibits the best antibacterial activity toward gram-positive bacteria

Abstract

In the present work, a newly synthesized hybrid β -chitin/dicalcium phosphate anhydrous (DCPA) loaded with copper nanoparticles Cu(NPs) was investigated as an antibacterial agent using various strains. The hybrid β -chitin/DCPA was obtained via a mechano-chemical route and the Cu(NPs) supported over β -chitin/DCPA matrix was successfully synthesized from Cu(II) ions using the ultrasound-assisted method followed by in situ chemical reduction with sodium borohydride. All the prepared materials were characterized using X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy (DRS), simultaneous thermogravimetry/differential thermal analysis (TG/DTA), and scanning electron microscopy (SEM-EDS). The localized surface plasmon resonance (LSPR) of Cu(NPs) after the reduction process was identified by the optical absorption spectroscopy, in the visible light region around 600 nm. The antibacterial activity of Cu-based materials was investigated against series of Gram-positive bacteria (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) and Gram-negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*) strains, using the microtitration assay by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC). Among the materials tested, Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA exhibited a high antibacterial effect exceeding Cu^{II} - β -chitin/DCPA and many others reported antibacterial agents, with a MIC value of $125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of copper). The excellent antibacterial result was related to high dispersion properties of the hybrid support (β -chitin/DCPA) which avoid the aggregation of Cu(NPs) via various surface bonds with β -chitin biopolymer. Copper-based materials synthesized here exhibit promising antibacterial activities which can be explored in more details in others bacterial strains.

Keywords: calcium phosphate, copper nanoparticles, chemical reduction, antibacterial activity

1. Introduction

Calcium orthophosphates represent an important class of inorganic materials widely used in various biomedical and environmental applications [1,2]. In addition to their excellent biocompatibility, mouldability, and self-setting properties, they constitute a privileged research field in the biomaterials development because of their structural similarity to human mineral phase of bone [3]. Indeed, calcium orthophosphate like hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HAp), tricalcium phosphate $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (β -TCP), dicalcium phosphate dihydrate $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD), and dicalcium phosphate anhydrous CaHPO_4 (DCPA), have already been used in bone tissue engineering, including grafting, prosthesis coating and drug delivery [4,5]. However, the implementation of these biomaterials in orthopedic surgery is; in most cases; associated with major

complications due to bacterial emergence leading to implant failure [6]. In recent decades, significant efforts have been made to improve osteointegration and prevent bacterial proliferation and adhesion at the bone-implant interface. Antibacterial agents such as organic antibiotics constitute a promising way to overcome the impacts of implant infections and their uses are formally recommended to prevent orthopedic implant infections [7,8]. However, some bacterial communities as well as their rapid proliferation at the implant site induce highly resistance to both the immune system and multiple conventional antibiotics and cause more serious infection complications that are difficult to reduce and treat [9]. Recently, there has been a particular interest in the development of new effective antibacterial materials free of resistance and without harming health. In that respect, a new class of metal nanoparticles-based materials have been the subject of intense studies because of their sensitive ability to damage a wide range of microorganisms [10]. Among these, gold, silver, copper and zinc have paid more attention due to their outstanding properties that are generally limited in bulk materials [11,12]. The unique properties of metal nanoparticles can be attributed to their high surface to volume ratio, high thermal conductivity and the variety of processes controlling their physical and chemical characteristics [13]. Moreover, they are also known for their small size, high surface area and high dispersion which make them potentially useful in many advanced applications [14]. Several methods have been proposed to produce nanoparticles, of which chemical processes using reducing agents are considered the most popular because of their simplicity and performance in controlling the size, stability and physicochemical properties of the nanoparticles [15,16]. The use of capping agents or surfactant templates is one of the important factors in controlling the size of nanoparticles and preventing them from the agglomeration into microparticles, which are inactive in several application processes including antibacterial activity [17].

Recent studies have reported the antibacterial activity of supported metal nanoparticles and metal ions doped on calcium orthophosphates using different techniques [18,19]. One of the most known metal nanoparticles for its antibacterial activity is silver. Silver-doped hydroxyapatite showed good antibacterial activity against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacterial strains [20,21]. Copper in its different forms has a broad spectrum of antimicrobial activity against various bacteria and constitutes a good alternative material for silver nanoparticles because of its low price, high electrical conductivity and low toxicity [22,23]. As a result, copper is used in many antibacterial applications such as a purifier agent, fungicide and antifouling [22-25]. In addition, copper embedded into calcium orthophosphate materials exhibits high efficiency against pathogen bacterial strains

(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) and pathogen yeast (*Candida albicans*) [26,27], and also presents multifunctional properties of angiogenesis capacity and osteostimulation [28,29].

In a previous work, we successfully synthesized a new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) hybrid, from natural cuttlebone fish and phosphoric acid, using a simple and effective mechano-chemical method [30]. In this study, the β -chitin/DCPA hybrid was used as promising support for copper nanoparticles produced by the in situ reduction process of divalent copper incorporated β -chitin/DCPA and as a protective agent of Cu(NPs) against aggregation. The antibacterial activity of Cu^{II}- β -chitin/DCPA and Cu(NPs) supported on β -chitin/DCPA material was investigated and discussed against four different bacterial strains which are *Listeria monocytogenes* serovar, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Materials and methods

2.1. Synthesis of β -chitin/DCPA hybrid material

The new β -chitin/DCPA hybrid was synthesized via mechano-chemical method using cuttlebone fish (*Sepia officinalis*) as a source of calcium and β -chitin; according to the procedure described in our previous report [30]. The method involves two steps, the first is to prepare the cuttlebone powder and then to synthesize the new β -chitin/DCPA hybrid as follows:

In a first step, fresh specimens of cuttlebone were cleaned, washed several times with deionized water and carefully stripped of their external envelope. Then, the isolated internal matrix is crushed in a mortar and subsequently sieved to less than 125 μ m, finally stored in a desiccator. The content of calcium in term of calcium carbonate with aragonite polymorph and the β -chitin were formerly evaluated using thermogravimetric analysis and the results showed weight percentages of 3.84 wt% and 96.16 wt% for β -chitin and CaCO₃, respectively [30].

The preparation of β -chitin/DCPA hybrid was carried out by introducing a known mass of cuttlebone powder into 50 ml of deionized water initially heated at 70 °C, under stirring. To this mixture solution was added a stoichiometric mass of H₃PO₄ (85 wt%, Sigma Aldrich) pre-heated at 70 °C. After stirring, the mixture solution was heated at 90 °C for 30 min, using a reflux condenser. The resulting precipitate was separated by centrifugation at 4500 rpm, washed with excess deionized water then dried overnight at 90 °C and finally placed under vacuum in a desiccator.

2.2. Preparation of copper supported on β -chitin/DCPA

Cu^{II}- β -chitin/DCPA material was prepared using ultrasound-assisted method. A 100 mg of β -chitin/DCPA hybrid was added to 50 mL of copper nitrate solution Cu(NO₃)₂·3H₂O (98.9 wt%, Merck) containing 120 mg.L⁻¹ of Cu²⁺ and 5 ml of NaCl solution with 0.01 M. NaCl solution was introduced to reduce ionic strength during the reaction process. After 30 min of stirring, the solution was sonicated in a water bath at 40 °C for another 30 min. The blue powder product was isolated by centrifugation at 4500 rpm, washed with deionized water and dried at 60 °C overnight.

Copper nanoparticles (Cu(NPs)) supported on β -chitin/DCPA hybrid was obtained by in situ reduction of Cu^{II} ions with an aqueous solution of sodium borohydride NaBH₄ (99 wt%, Merck). 1 g of Cu^{II}- β -chitin/DCPA was suspended in 50 mL of deionized water, to which was added 50 ml of freshly prepared NaBH₄ solution with concentration of 40 mM. Immediately, the solution mixture develops a wine-red colour indicating the formation of zero-valent copper. After 1 h of stirring and repeated centrifugation at 4500 rpm, the resulting material Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA was washed several times with deionized water and subsequently with absolute ethanol, finally dried under vacuum.

2.3. Materials characterization

The as-synthesized phosphates-based materials (β -chitin/DCPA, Cu^{II}- β -chitin/DCPA) and copper supported (Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA) were characterized using various technical analyses. The crystallinity and structural composition of the as-synthesized materials were ensured by X-ray diffraction (XRD) analysis at room temperature using a Shimadzu 6100 diffractometer with CuK α radiation source ($\lambda = 1.541838$ Å), operated at 40 kV and 30 mA, at scanning speed of 0.02 °s⁻¹. Phase identification was performed using standard files of JCPDS databases. Fourier transform infrared equipped with ATR module (FTIR-ATR) was carried out using a Jasco FT/IR 4600 (ATR Pro One) spectrometer. The spectra were obtained in the range of 4000-400 cm⁻¹ at a resolution scan of 4 cm⁻¹. UV-Vis by diffuse reflectance spectra (DRS) were recorded between 200 and 2400 nm with a Perkin Elmer spectrometer UV/Vis (Lambda 900) equipped with integrating sphere. The spectra were collected using BaSO₄ as the standard reference. Thermogravimetry/differential thermal analysis (TG/DTA) was performed using a LabsysTM Evo (1F) Setaram apparatus. The experiments were conducted from room temperature until 900 °C under air flow atmosphere (30 mL.min⁻¹) at constant heating rate of 10 °C.min⁻¹. Surface topology and morphology of particles were investigated using a Jeol JSM-IT100 InTouchScopeTM scanning electron microscope equipped with energy dispersive spectroscopy (SEM-EDS). The copper content incorporated into

β -chitin/DCPA material was estimated by chemical analysis using inductively coupling plasma-atomic emission spectroscopy ICP-AES (Jobin Yvon, Ultima 2), after mineralization process. The UV-Vis absorption measurements were used to identify the Cu(NPs) by observing its characteristic optical band due to the localized surface plasmon resonance (LSPR). Spectra were recorded using an Analytik jena, Specord 210 plus spectrophotometer in the range between 400-800 nm with 1 cm path length spectrometric quartz cells and deionized water used as blank.

2.4. Antibacterial tests

2.4.1. Antibacterial activity

Bacterial growth inhibition tests were performed using the standard microdilution method to evaluate the antibacterial properties of the synthesized copper-based materials against four bacterial strains including two Gram-negative: *Escherichia coli* K12 (Laboratory of food microbiology, UCL, Belgium: MBLA) and *Pseudomonas aeruginosa* IH (Institute of hygiene, Rabat, Morocco: IH) as well as two Gram-positive *Staphylococcus aureus* MBLA (Laboratory of food microbiology, UCL, Belgium: MBLA) and *Listeria monocytogenes* serovar 4b CECT 4032 (Spanish Type Culture Collection: CECT). Strains are maintained on an inclined agar medium at 4 °C. Before use, the bacteria were revived by two subcultures in an appropriate culture medium: Lysogeny broth (LB) (Biokar Diagnostics, Beauvais, France) at 37 °C for 18 to 24 h. For the test, final inoculum concentrations of 10^6 Colony Forming Unit (CFU.mL⁻¹) bacteria were used according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA (NCCLS 1999). The antibacterial activity was evaluated in batch cultures using two important complementary concepts represented by the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimal bactericidal concentration (MBC).

2.4.2. Determination of MIC and MBC of synthesized materials

The minimum inhibitory concentration (MIC) is defined as the lowest concentration of an antimicrobial agent that inhibits the visible growth of a microorganism after overnight incubation, usually expressed in mg.L⁻¹ or μ g.mL⁻¹. It is determined using the standard resazurin assay [31]. Briefly, Agar at 0.15 % (w/v) was used as a stabilizer of the extract-water mixture and Resazurin as a bacterial growth indicator. 50 μ L of bacteriological agar (0.15 % w/v) was distributed from the 2nd to the 8th well of a 96-well polypropylene microtitre plate. The different amounts of synthesized samples were prepared in Mueller Hinton Broth supplemented with bacteriological agar (0.15% w/v), to reach a final concentration of 1000 μ g.mL⁻¹. 100 μ L of this suspension was added to the first test well of each microtiter line, and then 50 μ L of scalar dilution was transferred

from the 2nd to the 7th well with an 8th well; without sample; was used as a negative control. Afterward, 50 μ L of a bacterial suspension was added to each well at a final concentration of approximately 10^6 CFU.mL⁻¹. The final concentration of the sample was between 1000 and 31.125 μ g.mL⁻¹. Plates were incubated at 37 °C for 18 h. After incubation, 10 μ L of Resazurin was added to each well to assess bacterial growth. After further incubation at 37 °C for 2 h, the MIC was determined as the lowest molecular concentration that prevented a change in Resazurin color. Bacterial growth was detected by reduction of blue dye Resazurin to pink Resorufin. A control test was carried out to ensure that; at the tested concentrations; the sample did not cause a color change in Resazurin.

The minimum bactericidal concentration (MBC) corresponded to the lowest concentration of antibacterial agent yielding negative subcultures after incubation at an appropriate temperature, for 24 h. It is determined from broth dilution of MIC tests by sub-culturing 10 μ L from negative wells on plate count agar (PCA) medium. All antibacterial tests were performed in triplicate to ensure reproducibility of results.

3. Results and discussion

3.1. Materials characterization

3.1.1. Optical properties of Cu(NPs)

Figure VI.1 displays the UV-Vis spectra obtained after the reduction process of Cu^{II}- β -chitin/DCPA by an aqueous solution of NaBH₄ (20 mM), at different time intervals. The production of Cu(NPs) after the chemical reduction process was initially confirmed by the color change of the solution mixture from blue to wine-red and by the appearance in the visible light of an optical absorption band at 596 nm, which corresponds to the localized surface plasmon resonance (LSPR) of Cu(NPs) [32]. The LSPR band is considered as a frequency where conduction electrons of the metal surface oscillate in response to the alternating electric field of incident electromagnetic radiation and its spectral position and intensity are sensitive to the size and shape of nanoparticles, dielectric constant of the medium and temperature [13]. UV-Vis spectra (Figure VI.1) also show a shift in the LSPR band over time from 596 to 580 nm, related to the evolution of the shape and morphology of the copper nanoparticles. According to the literature, this behaviour is governed by a nucleation-growth process of the nanoparticles, which begins with the formation of some copper nuclei whose LSPR band appears around 600 nm. Then, the resulting nuclei grow into stable nanostructures with the LSPR band shifts toward 580 nm after 30 min, indicating the formation of small copper nanoparticles [16]. The presence of a unique broadened plasmon band indicates a

spherical shape of Cu(NPs) whilst the cylindrically shaped particles have a double band in the visible absorption spectrum, as has been reported by several authors [33]. The reduction process of metal ions by sodium borohydride has raised tremendous interest in recent years as a cost-effective and efficient synthesis technique to produce nanoparticles. Several studies have focused on the mechanism of formation of metallic nanoparticles resulting from the chemical reduction process as well as on their sintering process. Among them, Glavee et al. [34] have studied in detail the reduction of copper and nickel ions by aqueous solutions of NaBH₄. Their results show that Cu²⁺ in aqueous solution is reduced to metallic copper by BH₄⁻ (Eq. 1) while for Ni²⁺, there is the formation of a Ni₂B precipitate which is confirmed by XRD analysis. The situation herein is fairly different, copper ions are chemically associated with calcium phosphate through β-chitin biopolymer and their reduction by NaBH₄ could be different. The chemical reduction of copper ions in the Cu^{II}-β-chitin/DCPA material is achieved by the exchange reaction between Cu²⁺ and H⁺ of β-chitin, in the same way as the heterogeneous reduction processes [35,36]. On the other hand, β-chitin plays an important role in the dispersion process of nanoparticles and acts as an anchoring agent for protecting Cu(NPs), without the presence of capping agents of surfactants templates as shown on chitosan-Cu(NPs) [37]. In this case, the probable mechanism of the chemical reduction of Cu^{II}-β-chitin/DCPA could be schematized by the equations 1 and 2.

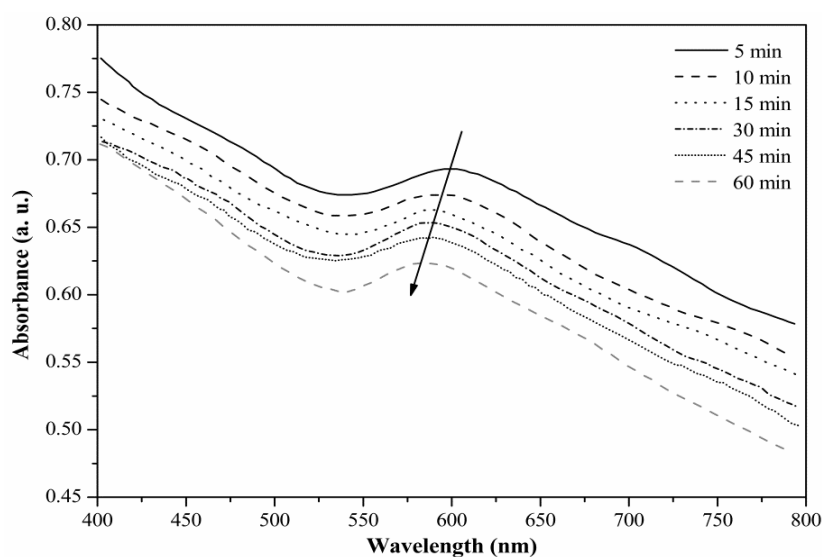
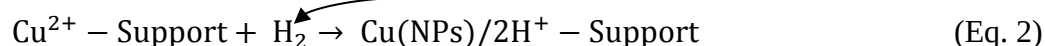


Fig. VI.1 : UV-Vis absorbance spectra of Cu^{II}-β-chitin/DCPA after chemical reduction by NaBH₄ at different time intervals

3.1.2. XRD analysis

XRD patterns of the synthesized materials β -chitin/DCPA, Cu^{II}- β -chitin/DCPA, and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA are depicted in Figure VI.2 and exhibit a great similarity between them. All diffraction peaks correspond to triclinic structure of DCPA, with a space group of $P\bar{1}$ (Figure VI.2(a)). The incorporation of β -chitin does not alter the crystal structure of DCPA as shown in Figure VI.2(b) and its presence leads to the formation of a new β -chitin/DCPA hybrid, in analogy with XRD results obtained on the hydroxyapatite (HAp)-chitosan composite [38]. Likewise, the addition of copper ions shows no change in the XRD profile of β -chitin/DCPA, with the exception of a slight shift of the main reflections toward low Bragg angles (Figure VI.2(c)). This is probably due to the incorporation of Cu²⁺ ions in the β -chitin/DCPA structure by exchange reaction and/or complexation process as has been reported in our previous work [30] and in the interaction study of calcium phosphates with copper ions [34,39]. Moreover, additional Bragg lines with very low intensity were observed in Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA at 43.3° and 50.6° (2 θ) which are corresponding to diffraction planes (111) and (200) of cubic copper (JCPDS card N° 85-1326) (Figure VI.2(d)). No displacement of XRD diagram was detected in Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA material; this means that the chemical reduction of the copper ions is accompanied concomitantly with the total regeneration of the β -chitin/DCPA structure during the exchange reaction between the copper ions and protons H⁺. Similar findings were also observed in the reduction of Ag⁺-substituted HAp [40], thus confirming the mechanism proposed above in equations 1 and 2.

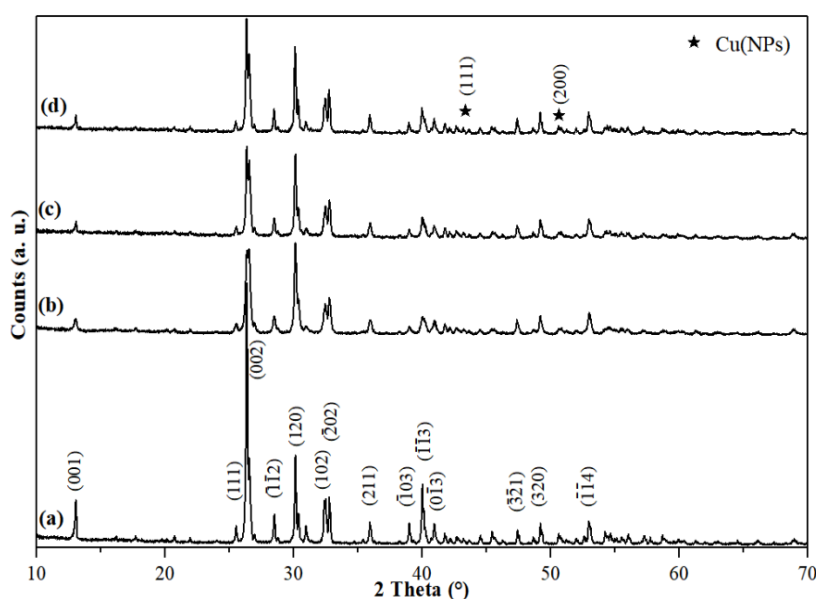


Fig. VI.2 : XRD diagrams of DCPA (a), β -chitin/DCPA (b), Cu^{II}- β -chitin/DCPA (c) and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA (d)

3.1.3. FTIR-ATR study

FTIR-ATR analysis of the as-synthesized materials is displayed in Figure VI.3. As can be seen, all FTIR spectra are similar to each other and exhibit an identical signature to that of pure DCPA [41]. Based on the literature data, the spectra show multiple bands in the region $1200\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ assigned to internal vibration modes of P-O. The strong vibration bands at 1123 , 1054 and 987 cm^{-1} and the shoulder at 1180 cm^{-1} are attributed to stretching vibrations of the P-O bonds. Whereas, the bands at 1644 and 881 cm^{-1} are related to vibration modes of the acidic phosphate group P-O(H) [42]. The observed bands at 554 , 520 and 405 cm^{-1} are ascribed to the O-P-O deformations. The bands at 2327 , 2810 and 3210 cm^{-1} are attributed to three distinguished types of hydrogen bonds in the crystal structure of DCPA, in accordance with the literature data [42]. Other weak vibration bands are observed in β -chitin/DCPA spectrum, between 2800 and 3000 cm^{-1} and $3050\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$. These vibrations could correspond to the C-H and N-H stretching modes of amide II groups present in β -chitin [43]. The presence of Cu^{2+} in $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-}\beta\text{-chitin/DCPA}$ was confirmed by the increase in the intensity of the band at 520 cm^{-1} which is attributed to Cu-O bond (Figure VI.3(c)). This band is absent in $\beta\text{-chitin/DCPA}$ (Figure VI.3(b)) and $\text{Cu(NPs)/}\beta\text{-chitin/DCPA}$ (Figure VI.3(d)).

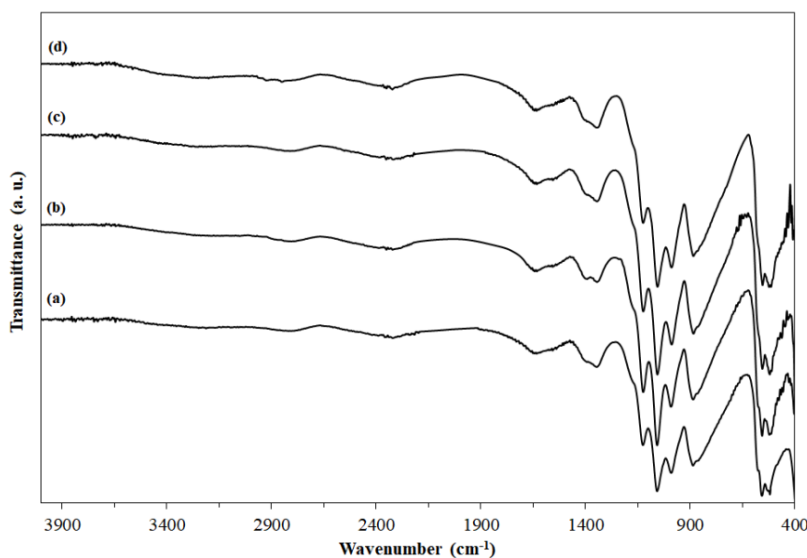


Fig. VI.3 : FTIR spectra of DCPA (a), β -chitin/DCPA (b), $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-}\beta\text{-chitin/DCPA}$ (c) and $\text{Cu(NPs)/}\beta\text{-chitin/DCPA}$ (d)

3.1.4. DRS analysis

Diffuse reflectance spectra of β -chitin/DCPA, $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-}\beta\text{-chitin/DCPA}$ and $\text{Cu(NPs)/}\beta\text{-chitin/DCPA}$ are given in Figure VI.4. The three materials show strong absorption band in the high frequency region with a maximum centred at 280 nm . This band is due to the $\text{O}^{2-} \rightarrow \text{Ca}^{2+}$ electronic charge

transfer. In the spectrum of Cu^{II}- β -chitin/DCPA, supplementary broad band appeared between 1400-500 nm, corresponding to d-d transitions of Cu²⁺ in distorted octahedral sites by analogy with many Cu²⁺-based materials [44]. The reduction of Cu²⁺ ions with NaBH₄ is confirmed by the apparition of a new absorption band between 400 and 500 nm, due to the presence of Cu(NPs). This band is ascribed to reduced Cu⁰ species whose particle size is less than 10 nm, in accordance with the optical absorption results and the literature data [45,46]. The presence of d-d transitions in the spectrum of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA indicates a partial oxidation of Cu(NPs) to form CuO, during UV-Vis experiments. A similar phenomenon was also observed in previous studies showing the high reactivity of Cu(NPs) toward air atmosphere [47].

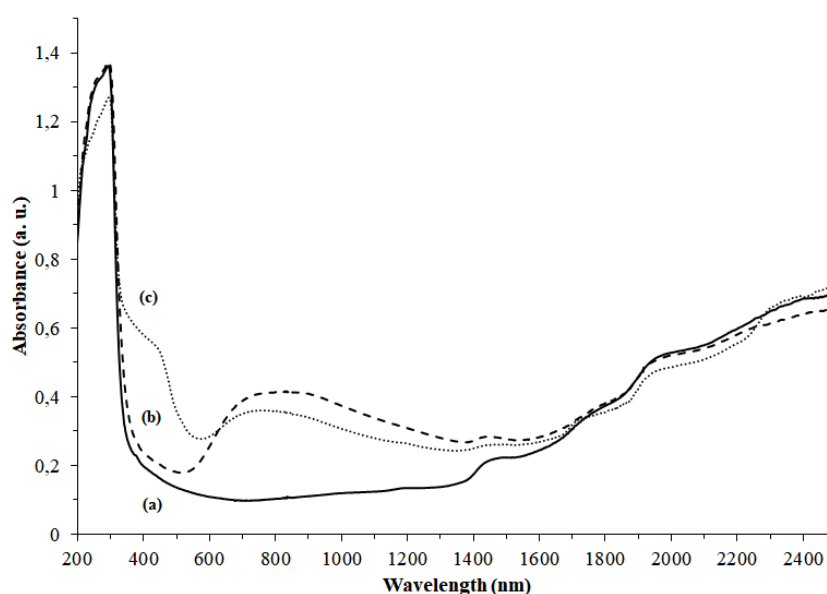
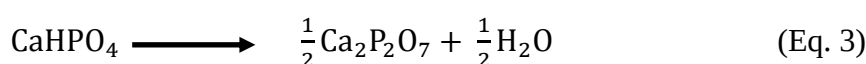


Fig.VI.4 : DRS spectra of β -chitin/DCPA (a), Cu^{II}- β -chitin/DCPA (b) and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA (c)

3.1.5. Thermal analysis TG/DTA

Fig. VI.5 illustrates a simultaneous TG/DTA analysis of the as-synthesized materials, monitored at heating rate of 10 °C.min⁻¹ under air flow rate of 30 mL.min⁻¹. The TG profile of the β -chitin/DCPA hybrid shows two thermal steps. The first one, ranged from 240 to 340 °C with an exothermic DTA effect, exhibits a mass loss of 2.58% which is assigned to the decomposition of organic β -chitin. The second mass loss between 400 and 500 °C of about 7.08% corresponds to the deshydroxylation of calcium phosphate DCPA into calcium pyrophosphate γ -Ca₂P₂O₇, according to the reaction scheme:



The experimental mass loss was found to be slightly higher than the theoretical value (6.61%), this is probably due to the thermal oxidation of residual char formed after the decomposition process of β -chitin as already reported in literature [48]. On the other hand, the thermal profile of Cu^{II}- β -chitin/DCPA showed two mass losses of about 1.10% and 6.74%, corresponding to the decomposition of the complex Cu^{II}/ β -chitin and deshydroxylation of calcium phosphate DCPA, respectively. Compared to pure β -chitin/DCPA, the low mass losses are due to the presence of copper ions in the biopolymer.

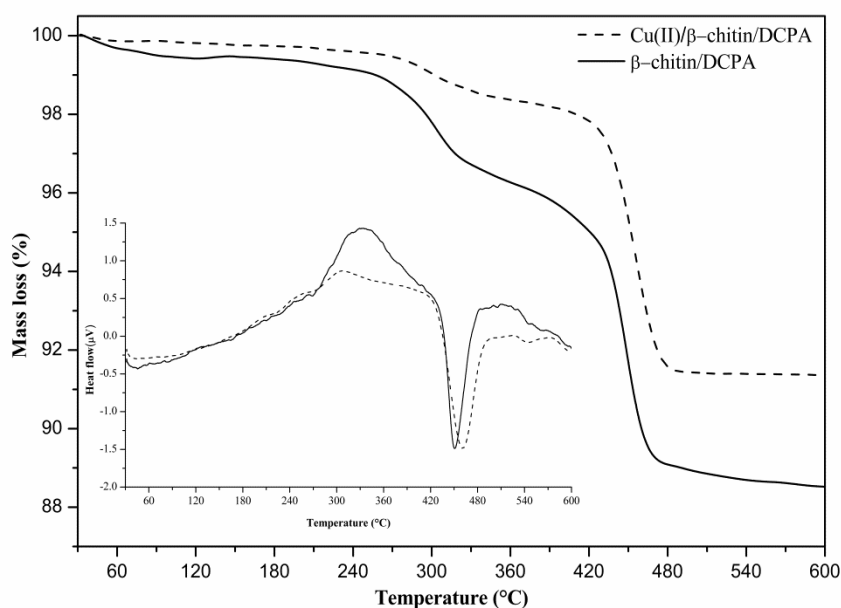


Fig. VI.5 : Simultaneous TG/DTA analysis of β -chitin/DCPA and Cu^{II}- β -chitin/DCPA materials

3.1.6. Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS)

SEM micrographs and EDS analysis of β -chitin/DCPA, Cu^{II}- β -chitin/DCPA and Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA materials are shown in Figure VI.6. As can be seen in the SEM micrographs, all materials exhibit a heterogeneous surface morphology with different particle sizes related to the incorporation of β -chitin into the DCPA structure and the presence of copper. In general, the morphology of the pure DCPA crystal is characterized by a plate-like structure that develops through a two-dimensional nucleation mechanism [49,50]. The incorporation of β -chitin into the DCPA structure changes the texture of the particles which becomes dominated by a rod-shaped morphology (Figure VI.6(a)). The addition of copper ions in the DCPA shows a heterogeneous surface consisting of plate and rod-shaped structures as can be seen in Figure VI.6b. The appearance of rod-like crystals is confirmed by the XRD analyses which are evidenced by the increase intensity of reflection (120), compared to its corresponding in the XRD diagram of DCPA

(Figure VI.2(b) and (c)). The chemical reduction of copper ions in Cu^{II} - β -chitin/DCPA shows a change in microstructure of particles (Figure VI.6(c)), which is dominated by large platelet morphology. This is confirmed in the XRD results by the decrease of (120) peak (Figure VI.2(d)). EDS microanalysis of samples shows the presence of C and N belonging to β -chitin (Figure VI.6(d)) and, β -chitin and copper (Figure VI.6(e)) and VI.6(f)). The molar ratio Ca/P was found to be between 0.96-0.98, very close to theoretical value of pure DCPA. Table VI-1 displays the copper content in copper-based materials measured by EDS and chemical analysis.

Table VI-1: EDS and chemical analysis of copper-based materials

Copper content (wt%)	EDS analysis	Chemical analysis
Cu^{II} - β -chitin/DCPA	4.3	4.9
$\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitin/DCPA	4.0	4.6

From table VI-1, most of the incorporated copper is disposed on the surface of β -chitin/DCPA hybrid as demonstrated by EDS microanalysis. The copper retention by β -chitin/DCPA during impregnation process shows an average value of 4.8 wt%. This value, relative to the initial quantity of copper (6 mg) brought into contact with β -chitin/DCPA material, corresponds to a retention efficiency of 80 %.

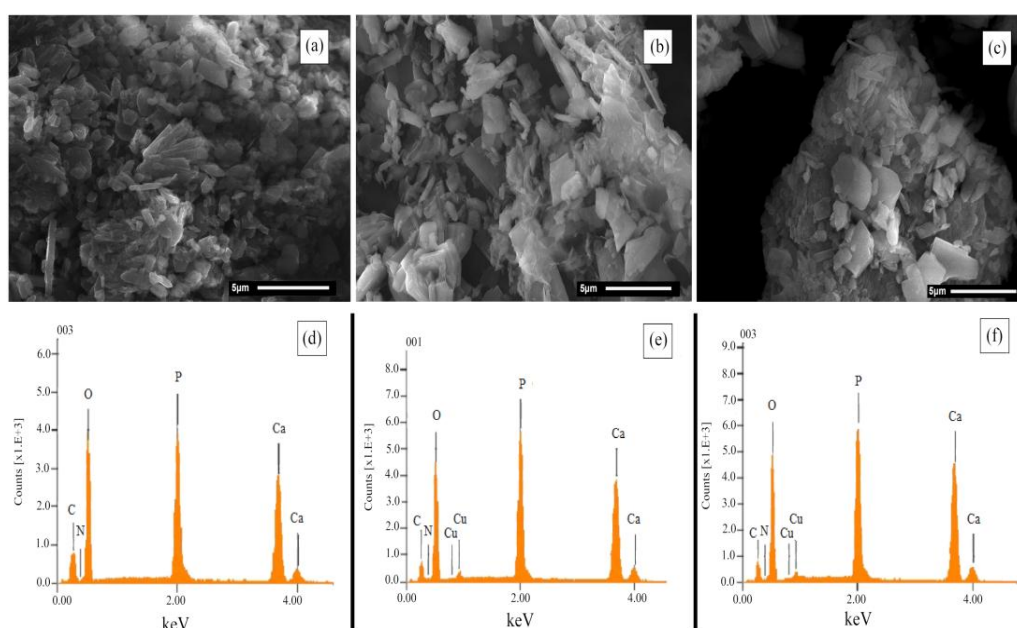


Fig. VI.6 : SEM images and EDS analysis of β -chitin/DCPA (a,d), Cu^{II} - β -chitin/DCPA (b,e) and $\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitin/DCPA (c,f) materials

3.2. Antibacterial activity

The antibacterial activity of Cu^{II} - β -chitin/DCPA and $\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitin/DCPA was evaluated against various microbial including Gram-positive (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) and Gram-

negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*) by determining the MIC and MBC values for each strain. The growth inhibition of the tested microorganisms is summarized in Tables VI-2 and VI-3. A significant antibacterial effect was observed in the presence of varying concentration of copper-based materials compared with the β -chitin/DCPA free copper. As can be seen in Tables VI-2 and VI-3, the Cu(NPs) supported on β -chitin/DCPA presents the best antibacterial activity with MIC values of all the strains tested ranged between 500 and 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and the MBC values ranged between 1000 and 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Whilst for Cu^{II} - β -chitin/DCPA, these values are ranged between 1000 and 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and, >1000 and 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively.

Table VI-2: Minimum inhibitory concentration MIC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)

Material/Culture	Gram-negative		Gram-positive	
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
β -chitin/DCPA	>1000	>1000	500	1000
Cu^{II} - β -chitin/DCPA	1000	1000	125	500
Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA	500	500	125	125

Table VI-3: Minimum bactericidal concentration MBC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)

Material/Culture	Gram-negative		Gram-positive	
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
β -chitin/DCPA	ND*	ND*	1000	>1000
Cu^{II} - β -chitin/DCPA	>1000	>1000	500	1000
Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA	1000	500	125	500

ND*: Not determined

Taking into account the weight percentage of copper contained in the tested materials and which is found equal to an average value of 4.8% (Table VI-1), the antibacterial activity can be reassessed per mass unit of copper as indicated in table VI-4. These values are lower than those found in many other copper-based materials like copper embedded into sepiolite and copper loaded onto chitosan [51,52] and reveal the efficacy of the synthesized materials towards the tested bacterial strains.

Table VI-4: MIC and MBC values per unit mass of copper ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)

Culture/Material		Cu^{II} - β -chitin/DCPA		Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA	
		MIC	MBC	MIC	MBC
Gram-negative	<i>E. coli</i>	48	>48	24	48
	<i>P. aeruginosa</i>	48	>48	24	24
Gram-positive	<i>S. aureus</i>	6	24	6	6
	<i>L. monocytogenes</i>	24	48	6	24

From the antibacterial activity results, it should be emphasized that the bacterial susceptibility of all the tested materials is higher towards Gram-positive bacteria than Gram-negative strains.

Similar findings were also observed in various antibacterial copper nanoparticles prepared from different methods and copper-based materials [53,54]. This result could be explained by the difference in cell wall structure and the composition between the types of bacterial strains. Up to now, the exact mechanism of antibacterial action of copper nanoparticles towards bacterial strains is not yet well known and several hypotheses have been described in the literature [26,55]. It was suggested that Cu(NPs) may interact with phosphorus and sulphur-containing biomolecules such as DNA and protein leading to disruption of their structure and thus bring considerable damage to the enzymatic processes [56]. The cell killing is caused by the Cu(NPs)-mediated superoxide radicals production inside the cells, then resulting in cellular lipid peroxidation, protein oxidation, and DNA degradation [57]. According to several authors, copper ions generated from the oxidation of the Cu(NPs) are the main components responsible for bacterial cell damage than other mechanisms proposed in the literature [58].

The best antibacterial results of Cu(NPs)/ β -chitin/DCPA are related to several factors including the nature, dispersion and size of the copper nanoparticles and also the types and concentration of the tested bacterial strains [59]. In fact, the UV-Vis results (Figure VI.1) confirmed the presence of nano-sized copper by the appearance of a large and unique optical LSPR band around 600 nm. This band and its subsistence versus time indicates that the Cu(NPs) have a spherical forms [33] and well dispersed on the β -chitin/DCPA matrix, as can be seen in SEM micrographs (Figure VI.6). The incorporation of β -chitin into DCPA framework avoids the agglomeration process of Cu(NPs) and acts as a protective agent against oxidation without the use of capping agents or surfactants, in accordance with the results obtained on chitosan-copper nanoparticles [37].

Conclusion

In summary, a new β -chitin/DCPA hybrid was successfully synthesized via mechano-chemical way and selected as a host matrix to accommodate copper ions. Copper hybrid material obtained Cu^{II}- β -chitin/DCPA; with 3.8 wt.% of copper; was used to prepare copper nanoparticles in aqueous medium following the chemical reduction process by sodium borohydride. All copper-based materials were characterized using several analytical techniques and compared to initial β -chitin/DCPA matrix. The formation of colloidal copper nanoparticles with spherical morphology was confirmed by observing the unique LSPR band around 600 nm in the visible light region and by the appearance of a supplementary absorption band between 400 and 500 nm in diffuse reflectance spectra (DRS). The stability and dispersion of Cu(NPs) over β -chitin/DCPA matrix was revealed by the subsistence of LSPR band presumably due to the effect of β -chitin which acted as a protective agent for copper species against oxidation and agglomeration. The antibacterial

tests showed that Cu-based synthesized materials were active for both Gram-positive and Gram-negative bacteria, but Gram-positive bacteria were more sensitive to copper species than Gram-negative strains, even more in the presence of Cu(NPs).

Acknowledgments

This research was supported financially by the University of Mohammed V, Rabat, Morocco under the Project No. SCH 04/09. The authors thank Pr. EL BAKRI Youssef, Director of Microbiology Laboratory (FSR, Morocco) for his valuable assistance in antibacterial tests.

References

- [1] S.V. Dorozhkin, Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO_4) bioceramics and their biomedical applications, *Ceramics International* 42(6) (2016) 6529-6554.
- [2] N. Lyczko, A. Nzihou, P. Sharrok, Calcium phosphate sorbent for environmental application, *Procedia Engineering* 83 (2014) 423-431.
- [3] S. Bose, S. Tarafder, Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: A review, *Acta Biomaterialia* 8(4) (2012) 1401-1421.
- [4] K.J. Burg, S. Porter, J.F. Kellam, Biomaterial developments for bone tissue engineering, *Biomaterials* 21(23) (2000) 2347-2359.
- [5] M. Bohner, Resorbable biomaterials as bone graft substitutes, *Materials Today* 13(1-2) (2010) 24-30.
- [6] W. Zimmerli, P.E. Ochsner, Management of infection associated with prosthetic joints, *Infection* 31(2) (2003) 99-108.
- [7] D. Ionita, D. Bajenaru-Georgescu, G. Totea, A. Mazare, P. Schmuki, I. Demetrescu, Activity of vancomycin release from bioinspired coatings of hydroxyapatite or TiO_2 nanotubes, *International Journal of Pharmaceutics* 517(1-2) (2017) 296-302.
- [8] J.G.E. Hendriks, J.R. Van Horn, H.C. Van Der Mei, H.J. Busscher, Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection, *Biomaterials* 25(3) (2004) 545-556.
- [9] H. Qin, H. Cao, Y. Zhao, C. Zhu, T. Cheng, Q. Wang, X. Peng, M. Cheng, J. Wang, G. Jin, Y. Jiang, X. Zhang, X. Liu, P.K. Chu, In vitro and in vivo anti-biofilm effects of silver nanoparticles immobilized on titanium, *Biomaterials* 35(33) (2014) 9114-9125.

- [10] G.R. Rudramurthy, M.K. Swamy, U.R. Sinniah, A. Ghasemzadeh, Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes, *Molecules* 21(7) (2016) 836-866.
- [11] B.H. Patel, M.Z. Channiwala, S.B. Chaudhari, A.A. Mandot, Biosynthesis of copper nanoparticles; its characterization and efficacy against human pathogenic bacterium, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 4(2) (2016) 2163-2169.
- [12] I. Sondi, B. Salopek-Sondi, Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria, *Journal of Colloid and Interface Science* 275(1) (2004) 177-182.
- [13] F. Parveen, B. Sannakki, M.V. Mandke, H.M. Pathan, Copper nanoparticles: Synthesis methods and its light harvesting performance, *Solar Energy Materials and Solar Cells* 144 (2016) 371-382.
- [14] S. Iravani, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chemistry* 13(10) (2011) 2638-2650.
- [15] A. Roucoux, J. Schulz, H. Patin, Reduced transition metal colloids: A novel family of reusable catalysts?, *Chemical Reviews* 102(10) (2002) 3757-3778.
- [16] B.K. Park, S. Jeong, D. Kim, J. Moon, S. Lim, J.S. Kim, Synthesis and size control of monodisperse copper nanoparticles by polyol method, *Journal of Colloid and Interface Science* 311(2) (2007) 417-424.
- [17] V. Kumar, D.K. Singh, S. Mohan, R.K. Gundampati, S.K. Hasan, Photoinduced green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Physalis angulata* and its antibacterial and antioxidant activity, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 5(1) (2017) 744-756.
- [18] S. Chen, S. Gururaj, W. Xia, H. Engqvist, Synthesis of Ag doped calcium phosphate particles and their antibacterial effect as additives in dental glass ionomer cements, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 27(11) (2016) 172-178.
- [19] V. Stanić, S. Dimitrijević, J. Antić-Stanković, M. Mitrić, B. Jokić, I.B. Plečaš, S. Raičević, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders, *Applied Surface Science* 256(20) (2010) 6083-6089.
- [20] F.A.C. Andrade, L.C. de Oliveira Vercik, F.J. Monteiro, E.C. da Silva Rigo, Preparation, characterization and antibacterial properties of silver nanoparticles-hydroxyapatite

- composites by a simple and eco-friendly method, *Ceramics International* 42(2) **(2016)** 2271-2280.
- [21] S. Saravanan, S. Nethala, S. Pattnaik, A. Tripathi, A. Moorthi, N. Selvamurugan, Preparation, characterization and antimicrobial activity of a bio-composite scaffold containing chitosan/nano-hydroxyapatite/nano-silver for bone tissue engineering, *International Journal of Biological Macromolecules* 49(2) **(2011)** 188-193.
- [22] A. Azam, A.S. Ahmed, M. Oves, M.S. Khan, S.S. Habib, A. Memic, Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: A comparative study, *International Journal of Nanomedicine* 7 **(2012)** 6003-6009.
- [23] J.O. Noyce, H. Michels, C.W. Keevil, Potential use of antimicrobial applications, copper surfaces to reduce survival of epidemic meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment, *Journal of Hospital Infection* 63(3) **(2006)** 289-297.
- [24] I. Perelshtein, G. Applerot, N. Perkash, E. Wehrsuetz-Sigl, A. Hasmann, G. Gübitz, A. Gedanken, CuO-cotton nanocomposite: Formation, morphology, and antibacterial activity, *Surface and Coatings Technology* 204(1-2) **(2009)** 54-57.
- [25] D. Longano, N. Ditaranto, L. Sabbatini, L. Torsi, N. Cioffi, Synthesis and antimicrobial activity of copper nanomaterials, in: N. Cioffi, M. Rai (Eds.), *Nano- Antimicrobials*, Springer, Berlin, **2012** pp 85-117.
- [26] M. Vincent, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch, Antimicrobial applications of copper, *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 219(7) **(2016)** 585-591.
- [27] F. Shi, Y. Liu, W. Zhi, D. Xiao, H. Li, K. Duan, S. Qu, J. Weng, The synergistic effect of micro/nano-structured and Cu²⁺-doped hydroxyapatite particles to promote osteoblast viability and antibacterial activity, *Biomedical Materials* 12(3) **(2017)** 035006-035017.
- [28] J. Barralet, U. Gbureck, P. Habibovic, E. Vorndran, C. Gerard, C.J. Doillon, Angiogenesis in calcium phosphate scaffolds by inorganic copper ion release, *Tissue Engineering Part A*, 15(7) **(2009)** 1601-1609.
- [29] A. Ewald, C. Käppel, E. Vorndran, C. Moseke, M. Gelinsky, U. Gbureck, The effect of Cu(II)-loaded brushite scaffolds on growth and activity of osteoblastic cells, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100A(9) **(2012)** 2392-2400.

- [30] R. Mulongo-Masamba, A. El Hamidi, M. Khachani, M. Halim, S. Aarsalane, Synthesis and characterization of new β -chitin/calcium phosphate (DCPA) based composite using natural resources for environmental application, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 520 (2017) 686-693.
- [31] S.D. Sarker, L. Nahar, Y. Kumarasamy, Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals, *Methods* 42(4) (2007) 321-324.
- [32] P.K. Khanna, P. More, J. Jawalkar, Y. Patil, N.K. Rao, Synthesis of hydrophilic copper nanoparticles: Effect of reaction temperature, *Journal of Nanoparticle Research* 11(4) (2009) 793-799.
- [33] M.A. El-Sayed, Small is different: Shape-, size-, and composition-dependent properties of some colloidal semiconductor nanocrystals, *Accounts of Chemical Research* 37(5) (2004) 326-333.
- [34] G.N. Glavay, K.J. Klabunde, C.M. Sorensen, G.C. Hadjipanayis, Borohydride reduction of nickel and copper ions in aqueous and nonaqueous media. Controllable chemistry leading to nanoscale metal and metal boride particles, *Langmuir* 10(12) (1994) 4726-4730.
- [35] A. Saad, Y. Snoussi, M. Abderrabba, M.M. Chehimi, Ligand-modified mesoporous silica SBA-15/silver hybrids for the catalyzed reduction of methylene blue, *RSC Advances* 6(62) (2016) 57672-57682.
- [36] K. Naseem, Z.H. Farooqi, R. Begum, R. Irfan, Removal of Congo red dye from aqueous medium by its catalytic reduction using sodium borohydride in the presence of various inorganic nano-catalysts: A review, *Journal of Cleaner Production* 187 (2018) 296-307.
- [37] N.M. Zain, A.G.F. Stapley, G. Shama, Green synthesis of silver and copper nanoparticles using Ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications, *Carbohydrate Polymers* 112 (2014) 195-202.
- [38] R. Chakraborty, D. Roychowdhury, Fish bone derived natural hydroxyapatite-supported copper acid catalyst: Taguchi optimization of semibatch oleic acid esterification. *Chemical Engineering Journal* 215 (2013) 491-499.
- [39] A. El Hamidi, M. Halim, S. Aarsalane, M. Kacimi, M. Ziyad, Synthesis and characterization of new copper (II) substituted dicalcium phosphate dihydrate ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), *Asian Journal of Chemistry* 24(6) (2012) 2698-2702.

- [40] J. Kolmas, E. Groszyk, D. Kwiatkowska-Różycka, Substituted hydroxyapatites with antibacterial properties. *BioMed Research International* 2014 **(2014)** 1-15.
- [41] I. Petrov, B. Šoptrajanov, N. Fuson, J.R. Lawson, Infra-red investigation of dicalcium phosphates, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy* 23(10) **(1967)** 2637-2646.
- [42] L. Tortet, J.R. Gavarri, G. Nihoul, A.J. Dianoux, Study of protonic mobility in $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Brushite) and CaHPO_4 (Monetite) by Infrared Spectroscopy and Neutron Scattering, *Journal of Solid State Chemistry* 132(1) **(1997)** 6-16.
- [43] J. Brugnerotto, J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W. Argüelles-Monal, J. Desbrières, M. Rinaudo, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer* 42 **(2001)** 3569-3580.
- [44] M. Purnima, A. Edukondalu, K.S. Kumar, S. Rahman, EPR and Optical Absorption Studies of Cu^{2+} in Boro-Arsenate Glasses, *Materials Research* 20(1) **(2017)** 46-52.
- [45] N. Ahmed, Y. Shibata, N. Taniguchi, Y. Izumi, Photocatalytic conversion of carbon dioxide into methanol using zinc-copper-M (III) (M= Aluminum, Gallium) layered double hydroxides, *Journal of Catalysis* 279(1) **(2011)** 123-135.
- [46] O.V. Komova, A.V. Simakov, V.A. Rogov, D.I. Kochubei, G.V. Odegova, V.V. Kriventsov, E.A. Paukshtis, V.A. Ushakov, N.N. Sazonova, T.A. Nikoro, Investigation of the state of copper in supported copper–titanium oxide catalysts, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 161(1-2) **(2000)** 191-204.
- [47] A.N. Pestryakov, V.P. Petranovskii, A. Kryazhov, O. Ozhereliev, N. Pfänder, A. Knop-Gericke, Study of copper nanoparticles formation on supports of different nature by UV-Vis diffuse reflectance spectroscopy, *Chemical Physics Letters* 385 **(2004)** 173-176.
- [48] R. Mulongo-Masamba, T. El Kassri, M. Khachani, S. Aarsalane, M. Halim, A. El Hamidi, Synthesis and thermal dehydroxylation kinetic of anhydrous calcium phosphate monetite CaHPO_4 , *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 124(1) **(2016)** 171-180.
- [49] H.H. Xu, M.D. Weir, L. Sun, Nanocomposites with Ca and PO_4 release: Effects of reinforcement, dicalcium phosphate particle size and silanization. *Dental Materials* 23(12) **(2007)** 1482-1491.
- [50] M.S. Djošić, V.B. Mišković-Stanković, Z.M. Kačarević-Popović, B.M. Jokić, N. Bibić, M. Mitrić, M. Milonjić, R. Jančić-Heinemann, J. Stojanović, Electrochemical synthesis of

- nanosized monetite powder and its electrophoretic deposition on titanium, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 341(1-3) **(2009)** 110-117.
- [51] A. Esteban-Cubillo, C. Pecharromán, E. Aguilar, J. Santarén, J.S. Moya, Antibacterial activity of copper monodispersed nanoparticles into sepiolite, *Journal of Materials Science* 41 **(2006)** 5208-5212.
- [52] C. Covarrubias, D. Trepiana, C. Corral, Synthesis of hybrid copper-chitosan nanoparticles with antibacterial activity against cariogenic *Streptococcus mutans*, *Dental Material Journal* 37(3) **(2018)** 379-384.
- [53] K.Y. Yoon, J.H. Byeon, J.H. Park, J. Hwang, Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles, *Science of the Total Environment* 373 (2-3) **(2007)** 572-575.
- [54] M. Agarwala, B. Choudhury, R.N.S. Yadav, Comparative study of antibiofilm activity of copper oxide and iron oxide nanoparticles against multidrug resistant biofilm forming uropathogens, *Indian Journal of Microbiology* 54(3) **(2014)** 365-368.
- [55] A.P. Ingle, N. Duran, M. Rai, Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98(3) **(2014)** 1001-1009.
- [56] A. Pramanik, D. Laha, D. Bhattacharya, P. Pramanik, P. Karmakar, A novel study of antibacterial activity of copper iodide nanoparticle mediated by DNA and membrane damage, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 96 **(2012)** 50-55.
- [57] Q. Lv, B. Zhang, X. Xing, Y. Zhao, R. Cai, W. Wang, Q. Gu, Biosynthesis of copper nanoparticles using *Shewanella loihica* PV-4 with antibacterial activity: Novel approach and mechanisms investigation, *Journal of Hazardous Materials* 347 **(2018)** 141-149.
- [58] M. Moritz, M. Geszke-Moritz, The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles, *Chemical Engineering Journal* 228 **(2013)** 596-613.
- [59] M. Araghi, M. Ghahari, M.S. Afarani, Synthesis and investigation of antimicrobial properties of SiO₂@Cu rods with core-shell structure, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(2) **(2017)** 1780-1790.

Conclusion générale et perspectives

Les travaux décrits dans cette thèse apportent une nouvelle contribution sur l'utilisation des phosphates fonctionnalisés par des macromolécules organiques naturelles en vue de les tester dans la catalyse environnementale. Le choix a été porté sur le phosphate de calcium DCPA, de structure tridimensionnelle et de rapport atomique Ca/P =1. En effet, ce choix a été dicté par la nature structurale du DCPA qui peut abriter une variété d'espèces chimiques sans que celle-ci ne soit altérée et, peut conduire à des matériaux hybrides avec des fonctions exceptionnelles.

Ainsi, nous avons montré qu'il est possible d'obtenir un nouveau matériau hybride, constitué du DCPA et β -chitine en utilisant la méthode mécano-chimique, à partir de l'os de sépia (céphalopode marin) et de l'acide phosphorique. Cette méthode d'élaboration nous a permis de contrôler le processus de cristallisation du matériau hybride formé ainsi que le rendement de la réaction. Les résultats de la caractérisation par diffraction RX et par spectroscopie IRTF-ATR ont montré que le nouveau hybride β -chitine/DCPA présente les mêmes caractéristiques structurales que celles du DCPA pur, seule une variation sensible des paramètres cristallins est enregistrée, due à l'incorporation de la chitine dans la structure de DCPA et qui se traduit par une légère augmentation du volume de la maille élémentaire. La mise en évidence de la chitine dans le biocomposite a été confirmée par les analyses thermiques en simultanées ATG/ATD et par microscopie MEB-EDX. En effet, la microstructure du phosphate DCPA a été modifiée quand la chitine est introduite, la topologie de la surface a été dominée par la présence des particules sous forme de bâtonnets alors qu'elle était formée uniquement de plaquettes de différentes dimensions. La variété du polymorphe de la β -chitine dans le biocomposite β -chitine/DCPA a été confirmée par spectroscopie RMN-CP/MAS ^{13}C .

Nous avons ensuite examiné la cinétique de dégradation thermique du DCPA pur, préparé à partir de la calcite et l'acide phosphorique. L'objectif était d'identifier les phases qui peuvent se former au cours du traitement thermique et d'examiner leurs stabilités. Les expériences ont été conduites en phase non-isotherme en utilisant différentes vitesses de chauffe. Les résultats de l'étude cinétique ont montré que la dégradation du DCPA s'effectue en une seule étape selon un mécanisme de condensation de type JMA avec les paramètres cinétiques ($E_a = 299.44 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $n = 1.37$ et $\ln A = 48.50$) et, conduit à la formation d'un pyrophosphate de type $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ et aucune autre phase n'apparaît dans le processus thermique. La formation du pyrophosphate $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ a été confirmée par les analyses DRX, IRTF et MET-EDX.

D'autre part, la capacité de rétention du cuivre ionique par les supports DCPA et β -chitine/DCPA a été examinée en solution aqueuse. Les résultats obtenus ont montré que la

présence de la chitine dans l'hybride β -chitine/DCPA a fortement augmenté la capacité de rétention du cuivre comparée à celle observée sur le DCPA pur. Ce résultat a été corrélé à l'existence de réactions d'échanges qui peuvent se produire entre les ions de cuivre et les espèces actives de la chitine, telles que les hydroxydes et les radicaux carboxyliques et/ou à la complexation chimique du cuivre à la surface de β -chitine/DCPA, favorisée par la présence de la chitine conduisant ainsi à une nouvelle formulation composée de Cu(II)- β -chitine/DCPA. La caractérisation physico-chimique a montré que la structure du β -chitine/DCPA a été conservée et n'a subi aucun changement lors de l'ajout du cuivre (II). La même remarque a été faite dans le cas de l'ajout du cuivre (II) sur le DCPA pur.

La réduction chimique à l'ambiante de Cu(II)- β -chitine/DCPA par du NaBH₄ a engendré la production des nanoparticules de cuivre Cu(NPs), mise en évidence par l'observation dans la lumière visible de la bande LSPR à environ 580 nm. La nature et la forme de cette bande optique indique qu'il y a présence des Cu(NPs) de tailles sphériques, bien dispersées sur la surface de l'hybride β -chitine/DCPA. Les nanoparticules de cuivre ainsi produites sont liées à la chitine par différentes liaisons physiques, ce qui garde leurs bonnes dispersions à la surface. Ce résultat est d'un grand intérêt puisque la synthèse des Cu(NPs) et leurs stabilités n'ont pas suscité l'ajout d'agents d'encapsulation ou des surfactants, contrairement à ce qui a été reporté dans de nombreux travaux de la littérature. D'autre part, la réduction du cuivre (II) supporté sur le DCPA a fait apparaître une nouvelle phase constituée de l'HAp, en raison de l'instabilité chimique du DCPA en présence du NaBH₄.

Les matériaux contenant les nanoparticules de cuivre supportées ont ensuite été examinés dans la catalyse environnementale pour évaluer leurs efficacités, en particulier dans la dégradation catalytique du bleu de méthylène (BM) et dans la dégradation ou inhibition de certaines bactéries les plus communément utilisées dans l'étude d'activité antimicrobienne. Les résultats de l'activité catalytique de dégradation réductrice du BM ont exhibé le rôle de la présence de la chitine dans la matrice du DCPA en tant que stabilisant et agents d'ancrage pour les nano-catalyseurs de Cu(NPs). En effet, le mécanisme de dégradation du BM semble suivre une réaction du premier ordre avec la valeur de la constante cinétique égale à $57.8 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, pour Cu(NPs)/ β -chitine/DCPA, largement supérieure à celle obtenue sur le catalyseur Cu(NPs)/DCPA ($k = 9.5 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$). Ce résultat est en bon accord avec ceux des tests de recyclabilité qui ont montré qu'aucune perte d'activité n'a été enregistrée pour le catalyseur Cu(NPs)/ β -chitine/DCPA, après quatre cycles de fonctionnement.

Enfin, l'effet antimicrobien des différents matériaux préparés, notamment β -chitine/DCPA, Cu^{II} - β -chitine/DCPA et $\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitine/DCPA a été évalué par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) vis à vis de quatre bactéries (*Escherichia coli* K12 et *Pseudomonas aeruginosa* IH, *Staphylococcus aureus* MBLA et *Listeria monocytogenes* serovar 4b CECT 4032) en utilisant la méthode de microdilution. La meilleure activité antimicrobienne a été obtenue avec le catalyseur $\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitine/DCPA, en raison de la présence des nanoparticules du cuivre qui peuvent interagir avec les protéines et l'ADN de la bactérie entraînant une perturbation de leur structure et causant ainsi des dommages considérables aux processus enzymatiques. La sensibilité antimicrobienne de tous les matériaux testés a été observée plus forte pour les bactéries gram-positives que pour les gram-négatives. Ce résultat pourrait s'expliquer par la différence de structure de la paroi cellulaire (membrane) et la composition entre les types de souches bactériennes testées.

Les perspectives pour la suite de ce travail sont nombreuses et s'ouvrent sur plusieurs domaines technologiques, en particulier la médecine. Des études de propriétés mécaniques du précurseur β -chitine /DCPA sont en cours pour évaluer son aptitude comme implant osseux ou dentaire et comparer ses performances par rapport à l'HAp. Il a été également décidé de contrôler la quantité de la matrice organique contenue dans l'os de sépia pour des fins catalytiques ; entre autres ; dans les réactions de déshydrogénations qui ne nécessitent pas des températures élevées dans leurs exécutions.

Résumé

Le dicalcium phosphate anhydre (DCPA) est utilisé dans de nombreux domaines de la technologie. L'adjonction d'une matrice organique à la structure de DCPA améliore ses propriétés physico-chimiques. Dans cette thèse, un nouveau matériau hybride β -chitine/DCPA a été synthétisé par la méthode mécano-chimique et caractérisé par plusieurs méthodes analytiques. L'incorporation de la chitine ne modifie pas les propriétés structurales du DCPA mais elle agit sur sa microstructure en rendant sa structure plus résistante aux attaques chimiques, en particulier dans la catalyse en phase liquide. Ce matériau hybride a été utilisé comme support des nanoparticules de cuivre, produites in situ en utilisant le processus de réduction avec le NaBH_4 . Le produit résultant a ensuite été testé comme catalyseur dans la dégradation réductive du bleu de méthylène (BM) et dans la dégradation et l'inhibition de certaines bactéries incluant des gram-positives et gram-négatives. Les résultats catalytiques de la dégradation réductive du BM ont montré le rôle potentiel qu'a joué la chitine sur les propriétés structurale et mécanique du DCPA par comparaison avec le DCPA pur. La chitine agit comme un agent stabilisant et d'ancrage des nanoparticules de cuivre et les préserve contre toute agglomération. L'effet antimicrobien des matériaux β -chitine/DCPA, Cu^{II} - β -chitine/DCPA et $\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitine/DCPA a été examiné pour quatre types de bactéries.

Mots-clefs (5) : β -chitine/dicalcium phosphate anhydre (DCPA), matériaux hybrides, nanoparticules de cuivre, catalyse environnementale, dégradation catalytique, activité antimicrobienne

Abstract

Anhydrous dicalcium phosphate (DCPA) is used in many fields of technology. The addition of organic matrix to DCPA structure improves its physicochemical properties. In this thesis, a new hybrid β -chitin/DCPA material was synthesized using mechano-chemical method and characterized by several analytical methods. The incorporation of chitin does not cause any significant modification of the structural properties of DCPA but acts on its microstructure making the structure more resistant to different chemical media, especially in liquid phase catalysis. This hybrid material was used as a support for copper nanoparticles, produced in situ using the reduction process with NaBH_4 . The resulting product was tested as a catalyst in the reductive degradation of methylene blue (MB) and in the degradation and inhibition of selected bacteria including gram-positive and gram-negative. The catalytic results of the reductive degradation of MB showed the potential role of chitin on the structural and mechanical properties of DCPA compared to pure DCPA. Chitin acts as a stabilizing and anchoring agent for copper nanoparticles and preserves them against agglomeration. The antimicrobial effect of β -chitin/DCPA, Cu^{II} - β -chitin/DCPA and $\text{Cu}(\text{NPs})/\beta$ -chitin/DCPA materials was examined on four types of bacteria.

Key Words (5) : β -chitin/dicalcium anhydrous phosphate (DCPA), hybrid materials, copper nanoparticles, environmental catalysis, catalytic degradation, antimicrobial activity
