



HAL
open science

Développement de nouvelles biocéramiques par consolidation à basse température d'apatites nanocristallines biomimétiques

Sabrina Rollin-Martinet

► **To cite this version:**

Sabrina Rollin-Martinet. Développement de nouvelles biocéramiques par consolidation à basse température d'apatites nanocristallines biomimétiques. Matériaux. Université de Limoges, 2011. Français. NNT : 52-2011 . tel-00768461

HAL Id: tel-00768461

<https://theses.hal.science/tel-00768461>

Submitted on 21 Dec 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE LIMOGES

École Doctorale Sciences et Ingénierie en Matériaux,

Mécanique Energétique et Aéronautique

Faculté des Sciences et Techniques

Laboratoire Science des Procédés Céramiques et de Traitements de Surface

Thèse N° [52-2011]

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Limoges

Spécialité : Matériaux Céramiques et Traitements de Surface

Présentée par

Sabrina ROLLIN – MARTINET

**DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES BIOCERAMIQUES PAR
CONSOLIDATION A BASSE TEMPERATURE
D'APATITES NANOCRISTALLINES BIOMIMETIQUES**

Thèse dirigée par Eric CHAMPION

Co-direction : Christophe DROUET

Soutenue le 10 novembre 2011 devant la commission d'examen

Président : Mme A. LERICHE _____ Université de Valenciennes et du Hainaut Cambresis

Rapporteurs : M. F. BERNARD _____ Université de Bourgogne

M. J. CHEVALIER _____ Institut National des Sciences Appliquées de Lyon

Examineurs : Mme D. EICHERT _____ Sincrotrone Trieste (Italie)

M. E. CHAMPION _____ Université de Limoges

M. C. DROUET _____ Université de Toulouse

M. D. GROSSIN _____ Université de Toulouse

M. F. ROSSIGNOL _____ Université de Limoges

*« Ce n'est pas parce que les choses sont difficiles que nous n'osons pas,
c'est parce que nous n'osons pas qu'elles sont difficiles »*

Sénèque

À ma princesse, Annabelle

À ma famille...

À mes amis...

À toi qui lit ce manuscrit...

Remerciements

Le travail de recherche présenté dans ce manuscrit est le résultat de trois années passées au sein de plusieurs équipes et laboratoires de recherches : l'équipe de Phosphates, Pharmacotechnie, Biomatériaux du Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux (CIRIMAT) de Toulouse, ainsi que l'équipe biomatériaux de l'axe 1, au laboratoire "Sciences des Procédés Céramiques et de Traitements de Surface" de l'Université de Limoges. Je tiens à exprimer toute ma gratitude aux responsables d'équipe, Monsieur Fabrice Rossignol (SPCTS, axe 1), Monsieur Christian Rey et Madame Christèle Combes (CIRIMAT, équipe PPB), qui m'ont accueillie au sein de leur laboratoire et m'ont fait confiance pour la réalisation de ce projet.

De la même façon, je suis reconnaissante à l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) pour le financement de l'ANR blanc NanoBiocer.

Plus spécifiquement, je tiens à exprimer mes remerciements à mes directeurs de thèse qui m'ont encadrée tout au long de cette étude. Monsieur Christophe Drouet, chargé de recherche CNRS au CIRIMAT, et Monsieur Eric Champion, professeur de l'université de Limoges, sachez combien j'ai apprécié votre rigueur scientifique ainsi que les conseils et la formation que vous m'avez prodigués avec beaucoup de patience. Christophe, je vous suis également très reconnaissante de m'avoir offert l'opportunité d'une expérience en Californie.

Je remercie Madame Anne Leriche, professeur à l'Université de Valenciennes et du Hainaut, Cambresis, pour avoir accepté la présidence du jury.

Que Monsieur Frédéric Bernard, professeur à l'Université de Bourgogne, et Monsieur Jérôme Chevalier, professeur à l'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, trouvent ici toute ma reconnaissance pour avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse.

Je remercie Madame Diane Eichert, chercheur au Sincrotrone de Trieste (Italie), Monsieur David Grossin, maître de conférence à l'Ecole Nationale Supérieure en Ingénierie des Arts Chimiques et Techniques de Toulouse, et Monsieur Fabrice Rossignol, chargé de recherche CNRS de l'université de Limoges, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également Monsieur Claude Estournès, directeur de chercheur CNRS au CIRIMAT et Geoffroy Chevallier pour avoir permis de consolider mes échantillons à la Plateforme Nationale de Frittage Flash de Toulouse (PNF2).

Je remercie le professeur Alexandra Navrotsky de m'avoir intégrée dans son équipe, au sein du laboratoire de thermochimie Peter A. Rock de l'Université de Californie à Davis. Mon séjour, bien trop bref à mon goût, fut 2 mois très riche autant professionnellement que humainement.

Je tiens également à remercier Madame Véronique Santran de la société ICELLTIS pour sa persévérance dans la réalisation des essais *in vitro* et *in vivo*.

Je tiens également à exprimer tous mes remerciements aux personnes avec lesquelles j'ai été amenée à collaborer. En particulier, Chantal Damia et David Grossin, merci pour votre disponibilité et vos discussions fructueuses. Je n'oublie pas non plus l'ensemble des membres des différents laboratoires que j'ai fréquentés, ni toutes les autres personnes qui ont contribué de près ou de loin à rendre ces années chargées de souvenirs : Hiva et Marie, merci pour votre gentillesse, votre écoute, votre sincérité. A bientôt avec d'autres histoires à se raconter ! Vive les Bourguignons Amal, Solenn et Guillaume ; Imane, je te remercie pour ton amitié et ta grande gentillesse. Ahmed et Nathalie, je vous souhaite sincèrement d'obtenir un poste à l'université. Merci David H pour avoir prêté l'oreille chaque fois que j'en ai eu besoin. Félicitation à Anne et Marie-Alix pour l'arrivée de leur petit bonheur. Un chapitre de thèse entier serait nécessaire pour remercier individuellement tous les collègues et amis, si nombreux, des laboratoires Toulousains et Limougeauds ...

Thank you very much Karen for your kindness and your welcome. Take care of you and Mogli. Thanks to Olga, Mahboob, Radha for meals and talks shared in the office!!! Thanks to Gustavo, Kristina, Krasen, we had such a nice time together and I'll never forget this period.

Pour achever mes remerciements, ces dernières lignes s'adresseront à celle qui rythme mon quotidien. Sa petite taille est inversement proportionnelle à l'importance qu'elle occupe dans ma vie : Annabelle, ma Princesse, tu n'as pas bien compris pourquoi ta maman n'a plus été aussi disponible au cours de ces derniers mois. Un jour, sans doute, tu me poseras des questions... mais sache que rien ni personne ne peut assombrir la magie que tu m'apportes chaque jour !!!

Sommaire

SOMMAIRE

Introduction générale2

Chapitre I : Revue bibliographique.....6

I.1.	Les biomatériaux et le tissu osseux.....	6
I.1.1.	Définition générale des biomatériaux	7
I.1.2.	Le tissu osseux	10
I.1.2.a.	La morphologie des os	11
I.1.2.b.	La composition chimique du tissu osseux	14
I.1.2.c.	Le mécanisme de remodelage osseux	18
I.1.3.	Comment remplacer l'os : les biomatériaux de substitution osseuse.....	20
I.1.3.a.	Les caractéristiques des substituts osseux	21
I.1.3.b.	Les biocéramiques de substitution osseuse	26
I.1.4.	Les biocéramiques phosphocalciques	27
I.1.4.a.	Généralités sur les orthophosphates de calcium	27
I.1.4.b.	Le phosphate dicalcique anhydre	30
I.1.4.c.	Le pyrophosphate de calcium.....	30
I.1.4.d.	Les phosphates tricalciques.....	31
I.1.4.e.	L'hydroxyapatite	32
I.1.5.	Les apatites lacunaires	35
I.1.5.a.	L'écart à la stœchiométrie	35
I.1.5.b.	Les apatites nanocristallines « biomimétiques » analogues au minéral osseux	37
I.2.	Méthodes de mise en forme et de frittage des céramiques	42
I.2.1.	La mise en forme	43
I.2.2.	Le principe du frittage.....	43
I.2.3.	Mise en forme et consolidation des apatites nanocristallines biomimétiques.....	45
I.2.3.a.	Mise en forme puis consolidation par frittage sous charge à basse température.....	46
I.2.3.b.	Frittage flash ou Spark Plasma Sintering (SPS).....	47
I.3.	Objectifs de notre étude	48

Chapitre II : Synthèse et caractérisation des poudres d'ANB52

PARTIE A.....52

II.1.	L'élaboration des poudres.....	52
II.1.1.	La synthèse des apatites nanocristallines biomimétiques	52
II.1.2.	La synthèse de l'hydroxyapatite stœchiométrique.....	54
II.1.2.a.	Le montage et le protocole de synthèse.....	55
II.1.2.b.	Les paramètres de synthèse de l'HA	56

PARTIE B.....57

II.2.	La morphologie et la surface spécifique des ANB	57
II.2.1.	La mesure de la surface spécifique	57
II.2.2.	Les observations microscopiques	58
II.2.2.a.	Protocole de préparation des échantillons	59
II.2.2.b.	Les observations dans le milieu de précipitation	59
II.2.2.c.	Les observations des ANB après lyophilisation	63
II.3.	La caractérisation des poudres	65
II.3.1.	La diffraction des rayons X appliquée aux poudres synthétisées	65
II.3.2.	La détermination du rapport molaire Ca/P des ANB	80
II.3.2.a.	Par la méthode de diffraction des rayons X	80
II.3.2.b.	Par la méthode des dosages chimiques	82
II.3.3.	L'analyse thermogravimétrique	84
II.3.4.	La spectroscopie vibrationnelle FTIR	91
II.3.4.a.	Rappels bibliographiques	92
II.3.4.b.	Résultats	95
II.3.5.	Les échanges ioniques	104
II.3.5.a.	Les échanges de surface $\text{HPO}_4^{2-} / \text{CO}_3^{2-}$	104
II.3.5.b.	L'échange des ions calcium Ca^{2+}	112
II.3.6.	La spectroscopie vibrationnelle Raman	116
II.3.6.a.	Rappels bibliographiques	116
II.3.6.b.	Résultats	118
II.4.	Etude thermodynamique d'apatites nanocristallines par calorimétrie de chute (<i>drop solution calorimetry</i>)	123
II.4.1.	Le principe de la calorimétrie de chute (ou <i>drop calorimetry</i>)	123
II.4.2.	Les échantillons testés	125
II.5.	Conclusion	132

Chapitre III : Mise en forme de céramiques massives.....136**PARTIE A.....136**

III.1.	Le frittage des ANB	136
III.1.1.	Le <i>Spark Plasma Sintering</i> ou <i>SPS</i> ou frittage flash – le principe	138
III.1.2.	Mise en place du protocole <i>SPS</i>	140
III.1.2.a.	Etude préliminaire des paramètres <i>SPS</i> de frittage des ANB	140
III.1.2.b.	Matériaux utilisés pour les moules de frittage <i>SPS</i>	143
III.1.3.	Le frittage des ANB maturées	145
III.1.3.a.	La régulation des données de consigne du <i>SPS</i>	146
III.1.3.b.	Les données in situ du frittage des ANB maturées	146

PARTIE B.....149

III.2.	Les observations microscopiques	149
III.3.	La caractérisation des échantillons consolidés par diffraction des rayons X	151

III.3.1.	La DRX appliquée aux échantillons consolidés massifs	151
III.3.2.	La DRX appliquée au cœur broyé des ANB consolidées	155
III.3.3.	Estimation des dimensions des cristallites, selon le modèle de Scherrer.....	157
III.3.4.	Evolution de la taille et du désordre cristallin, selon le modèle de Hosemann et Vogel.....	159
III.3.5.	Evaluation des paramètres de maille.....	164
III.4.	La vérification du rapport molaire Ca/P après traitement <i>SPS</i>	165
III.5.	Les analyses thermiques	167
III.6.	La spectroscopie vibrationnelle FTIR.....	170
III.6.1.	Etude des échantillons consolidés - suivi de la décomposition thermique	170
III.6.2.	L'évolution des espèces ioniques dans les ANB après consolidation par <i>SPS</i>	172
III.6.2.a.	Evolution des différentes espèces ioniques en fonction de l'état de maturation initial	173
III.6.2.b.	Evolution des espèces chimiques pendant le traitement <i>SPS</i>	176
III.7.	Les mesures de densité.....	179
III.7.1.a.	La densité apparente.....	179
III.7.1.b.	La densité par la méthode de pycnométrie	181
III.8.	L'évaluation mécanique des ANB consolidées	182
III.8.1.	La détermination des modules élastique et de cisaillement par la méthode de la fréquence de résonance Grindo Sonic.....	183
III.8.2.	Les essais de flexion biaxiale.....	186
III.9.	Conclusion	190
Conclusion générale.....		196
Annexe. Les analyses chimiques		202
I.	Le dosage des cations.....	202
I.a	Le dosage des ions calcium alcalino-terreux	202
I.b	Le dosage des ions calcium et magnésium	202
II.	Le dosage des ions phosphate	203
II.a	Le dosage des ions orthophosphate.....	203
II.b	Le dosage des ions pyrophosphate.....	203
Références bibliographiques.....		216

Introduction générale

Introduction générale

Le tissu osseux est un organe biologique de nature et de composition chimique complexes. On admet de nos jours que la partie minérale de l'os est assimilable à une apatite phosphocalcique faiblement cristallisée et lacunaire, qui constitue un grand réservoir d'ions minéraux indispensables à la vie et participe activement à l'homéostasie. Le perpétuel renouvellement du tissu osseux est nécessaire à la conservation des propriétés mécaniques de l'os et à la cicatrisation des lésions, ainsi qu'au maintien de la réactivité chimique du minéral osseux. Cependant, dans certaines situations, le processus naturel de restauration est insuffisant, et justifie le recours à un apport extérieur. La disponibilité des greffes (autologues ou allogreffes) étant limitée, l'utilisation des matériaux de substitution osseuse s'est largement développée.

Parmi ces matériaux, les biocéramiques en phosphate de calcium se sont imposées grâce à une composition chimique proche de celle de l'os, ainsi que des propriétés de biocompatibilité et d'ostéoconduction vis-à-vis des tissus environnants qui les rendent particulièrement attractives. Actuellement, les céramiques phosphocalciques implantables disponibles sur le marché, telle l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, sont obtenues par frittage à haute température (typiquement supérieure à 1000°C) conduisant à des matériaux ne présentant qu'une faible réactivité de surface et un caractère peu ou pas résorbable. Cela limite notamment leur capacité à fixer des ions biologiquement actifs et à adsorber des molécules organiques comme les protéines.

A l'inverse, les apatites nanocristallines biomimétiques sont prometteuses. Leurs caractéristiques physico-chimiques ainsi que leur réactivité sont en effet similaires à celles des nanocristaux constituant le minéral osseux. En particulier, leur non-stœchiométrie, qui permet de moduler la solubilité des apatites, est directement corrélée au taux de résorption *in vivo* [Daculsi1984]. De la même façon que les nanocristaux du minéral osseux, les nanocristaux d'apatite biomimétique synthétique continuent d'évoluer en solution (maturation). Cette propriété est liée à la présence d'une couche phosphocalcique hydratée à la surface du cœur apatitique des nanocristaux [Rey1995], au sein de laquelle les espèces ioniques non-

apatitiques présentent une forte mobilité qui confère à ces apatites une grande réactivité de surface [Eichert2007, Rey2007]. En mûrissant en solution, le domaine apatitique croît au détriment de la couche hydratée, et diminue la réactivité de l'apatite, de même que la vitesse de résorption *in vivo*.

En vue d'être utilisées en tant que biocéramiques hautement bioactives et résorbables, les apatites nanocristallines biomimétiques sont intéressantes dans la mesure où leurs propriétés, liées à la présence de la couche phosphocalcique hydratée, sont conservées. Mais, il est également nécessaire de conserver la taille nanométrique des cristaux qui est directement liée aux propriétés de résorption et de bioactivité. De plus, une résistance mécanique suffisamment élevée est indispensable pour la mise en place, par le chirurgien, de la céramique dans le site osseux receveur. De plus, elle assure un soutien mécanique durant le temps nécessaire à la recolonisation du matériau par les cellules et fluides biologiques environnants.

Au regard des particularités physico-chimiques de ces apatites biomimétiques, les méthodes classiques d'élaboration et de mise en forme de biocéramiques ne permettent pas de conserver les propriétés avantageuses de ces composés. Il est alors nécessaire de recourir à des méthodes de consolidation moins conventionnelles, à plus basse température. Diverses méthodes dites « basse température » ont été testées (formation d'un gel, pressage à chaud ou à froid associé à un traitement thermique n'excédant pas 200°C [Banu2005]), mais il n'a pas encore été possible d'obtenir à la fois des propriétés mécaniques satisfaisantes et un maintien de la présence des environnements hydratés non-apatitiques, ainsi que la taille nanométrique des cristaux d'apatite. Les premiers essais de consolidation avec une méthode non-conventionnelle, le frittage flash (ou *Spark Plasma Sintering*, ou *SPS*) [Drouet2006], semblent prometteurs pour l'obtention d'une nouvelle génération de céramiques biomimétiques bioactives et résorbables.

C'est dans ce contexte qu'un projet financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) intitulé "*Nouvelle génération de biocéramiques résorbables par consolidation à basse température d'apatites nanocristallines biomimétiques*" a débuté en 2007 entre deux partenaires : l'Institut Carnot CIRIMAT (Centre Interuniversitaire de Recherche et d'Ingénierie des Matériaux, UMR CNRS 5085) de Toulouse et le laboratoire SPCTS (Science des Procédés Céramiques et de Traitements de Surface, UMR CNRS 6638) de l'Université de Limoges ("NanoBiocer", ANR 2007 - BLAN – 0373 CSD3). Ce projet avait comme objectif principal de développer

plus amplement la méthode de consolidation des apatites nanocristallines par frittage flash, et de caractériser finement les biocéramiques obtenues. Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre de ce projet ANR. Ils sont présentés en trois parties.

Une mise au point bibliographique (Chapitre I) rappelle l'intérêt des biomatériaux et notamment l'importance des biocéramiques de substitution osseuse. Elle décrit le tissu osseux et explique le mécanisme de reconstruction osseuse afin de mieux comprendre l'intérêt des apatites non-stœchiométriques et plus particulièrement la bioactivité liée aux apatites nanocristallines biomimétiques. La fin de cette revue bibliographique est consacrée au principe de frittage des céramiques d'un point de vue général. Elle comporte également une présentation des travaux antérieurs sur la consolidation d'apatites nanocristallines et des difficultés rencontrées.

Le Chapitre II s'intéresse à la caractérisation des poudres d'apatites nanocristallines biomimétiques, avant consolidation. Plusieurs synthèses d'apatites nanocristallines ont été réalisées. Nous avons étudié en particulier l'influence du temps de maturation sur les propriétés physico-chimiques. La composition chimique et les principales caractéristiques physico-chimiques de chaque échantillon ont été finement déterminées. Une étude thermodynamique a également été menée pour la première fois sur de tels matériaux, dans le cadre d'un projet soutenu par le France-Berkeley-Fund et par un cofinancement BQR-mobilité de l'INP de Toulouse, lors d'un séjour de 2 mois au sein du Peter A. Rock Thermochemistry Laboratory de l'Université de Californie à Davis, (groupe du Prof. A. Navrotsky), dans le but de quantifier les enthalpies et énergies libres de formation des apatites nanocristallines préparées.

Enfin, le Chapitre III s'intéresse à la consolidation par frittage flash (*SPS*) des apatites nanocristallines étudiées dans le précédent chapitre, et à leurs caractéristiques physico-chimiques. L'évolution chimique, structurale, morphologique des céramiques et la caractérisation de propriétés mécaniques ont permis d'apporter des éléments de compréhension sur le mécanisme de frittage par *Spark Plasma Sintering* de ces apatites.

Ce travail vise à constituer une base pour la future évaluation biologique (*in vitro* puis *in vivo*) de telles biocéramiques nanocristallines biomimétiques.

Chapitre I

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les biomatériaux et le tissu osseux

Depuis le III^{ème} siècle avant J.C., l'Homme a essayé de remplacer en partie ou en totalité des parties lésées du corps humain : par exemple, on a retrouvé dans la bouche de Ramsès II, la plus ancienne forme de prothèse dentaire réalisée à partir de dent naturelle, préalablement traitée de façon à éviter le pourrissement, puis ligaturée, aux dents voisines du Pharaon, avec du fil d'or. Il s'agira plus tard de substituer des membres, des tissus biologiques, des organes... Le remplacement de ces organes était alors réalisé par des matériaux biologiques naturels. De nos jours, ces greffes proviennent soit du patient lui-même (autogreffe), soit d'un autre patient (allogreffe), soit d'un animal (xéno greffe). Dans ces deux derniers cas, des traitements préalables de purification sont nécessaires afin d'éliminer tout risque de contamination ou de rejet dû à d'éventuels résidus de nature organique. Les traitements envisageables sont la congélation, la stérilisation par rayonnement gamma, la lyophilisation ou le chauffage [Ranz1996]. Parmi ces options, le recours à la greffe autogène est privilégié car celle-ci permet de s'affranchir des risques de transmission de pathologies induites par des greffons étrangers (xéno greffes ou allogreffes). Néanmoins, l'autogreffe nécessite un second site d'intervention qui induit une augmentation des risques d'infection, d'où l'intérêt de recourir aux allogreffes, bien que des risques immunologiques peuvent entraîner le rejet de l'allogreffe. Malgré leurs risques immunologiques, les allogreffes d'organes sont une nécessité, comme cela est reporté dans le rapport d'activité 2009 de l'Agence de la Biomédecine [Agence de la biomédecine 2009]. En France, en 2009, 13403 patients ont eu besoin d'une greffe, 4580 greffes ont été réalisées, 437 personnes sont décédées faute de greffons, et 403 ont dû être sorties de la liste d'attente en raison d'une aggravation de la maladie ou de complications médicales rendant la greffe incompatible avec leur état. Parmi les 108 donneurs décédés après arrêt cardiaque et les 3081 personnes en état de mort encéphalique, seules 1543 personnes ont été prélevées. A ces chiffres s'ajoutent 247 donneurs vivants qui ont été prélevés d'un organe. Parmi les organes greffés sur 4580 personnes, le rein

reste la première opération de greffe réalisée en France avec 2826 patients greffés en 2009, tandis que la greffe d'intestin reste anecdotique avec 7 interventions (Figure 1).

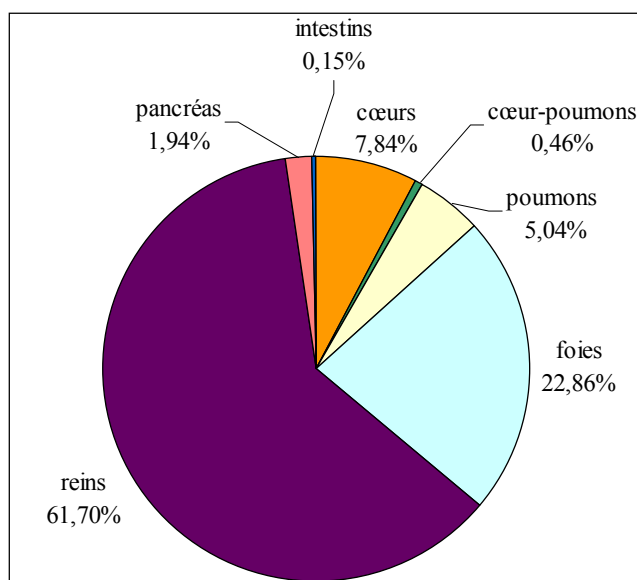


Figure 1. Répartition des greffes d'organes réalisées en 2009, selon le rapport annuel 2009 de l'Agence de la Biomédecine [Agence de la biomédecine2009]

Du point de vue des conditions médicales, psychologiques et éthiques, les greffes de tissus composites vascularisés s'apparentent aux greffes d'organes. En 2009, les banques de tissus ont réceptionné 8880 cornées, 34,55 m² de peau, 2463 membranes amniotiques, 610 artères, 2832 veines, 199 cœurs, 659 valves cardiaques, 181 os massifs et 16319 têtes fémorales.

Ce rapport met en évidence le problème majeur des greffes, leur rareté. Les problèmes de tolérance et la pénurie de greffes expliquent pourquoi les matériaux synthétiques sont l'objet d'études de plus en plus nombreuses.

I.1.1. Définition générale des biomatériaux

Le terme « biomatériau » est polysémique. Une définition a été retenue en 1986 par la Société Européenne des Biomatériaux (European Society for Biomaterials, ESB) puis complétée en 1991, lors de la conférence de Chester (GB), dite de consensus : un biomatériau est un « matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical, destiné à interagir avec les systèmes

biologiques, qu'il participe à la constitution d'un dispositif à visée diagnostique ou à celle d'un substitut de tissu ou d'organe ou encore à celle d'un dispositif de suppléance (ou d'assistance) fonctionnelle ». Cette notion de biomatériaux est donc très vaste et regroupe de nombreux produits d'origine naturelle ou issus de la synthèse de matériaux. Le biomatériau est destiné à être implanté dans le corps humain où il sera, à moyen ou à long terme, en contact avec les tissus (tissus mous et durs) et fluides biologiques. Une qualité essentielle est l'absence d'effet délétère pour l'organisme [Williams1987] c'est-à-dire sa biocompatibilité. Depuis les années 1980, cette notion est en perpétuelle évolution. Afin de lui donner un sens plus précis, les scientifiques enrichissent le vocabulaire et font intervenir les notions de biofonctionnalité, bioactivité, biodégradation. De façon encore plus précise, les biomatériaux peuvent également être classés en fonction de leur réactivité biologique après implantation : ils sont alors biocompatibles ou biotolérés, bioinertes ou bioactifs, biorésorbables ou non-résorbables, ou encore ostéoconducteurs ou ostéoinducteurs [Osborn1980].

Etant donné l'étendue de la définition des biomatériaux, il est coutumier de les classer en 4 groupes en fonction de leur nature chimique : les métaux et alliages métalliques, les céramiques, les polymères et les matériaux d'origine naturelle [Ratner2004].

Le champ d'applications médicales des biomatériaux est très large. Le Tableau 1 mentionne les différents systèmes physiologiques susceptibles d'être suppléés, réparés ou assistés par un biomatériau. La Figure 2, quant à elle, regroupe les principales utilisations de matériaux synthétiques comme implants.

Tableau 1. Systèmes physiologiques concernés par les biomatériaux [Lemaître2004]

Système physiologique	Organe ou tissu
Système cardio-vasculaire	Vaisseaux sanguins (artères, veines, capillaires), sang
	Cœur (valves cardiaques, stimulateurs...)
	Circulation extracorporelle (dialyse rénale, oxygénateur...)
Système squelettique	Os : longs (tibia...), plats (crâne...), complexes (vertèbres...)
	Articulations (épaule, hanche, genou...)
	Cartilages (oreille, nez, articulations...)
Système musculaire	Muscles lisses (intestins...), striés (appareil locomoteur)
Système nerveux	Cerveau, moelle épinière, terminaisons nerveuses
	Organes des sens (oreille, œil, peau...)
Système digestif	Bouche (mâchoire, dents...)
	Tractus digestif (œsophage, estomac, intestins...)
	Foie (cirrhose...), pancréas (diabète...)
	Reins (insuffisance rénale, calculs...)
Système tégumentaire	Peau (brûlures, mélanomes...)

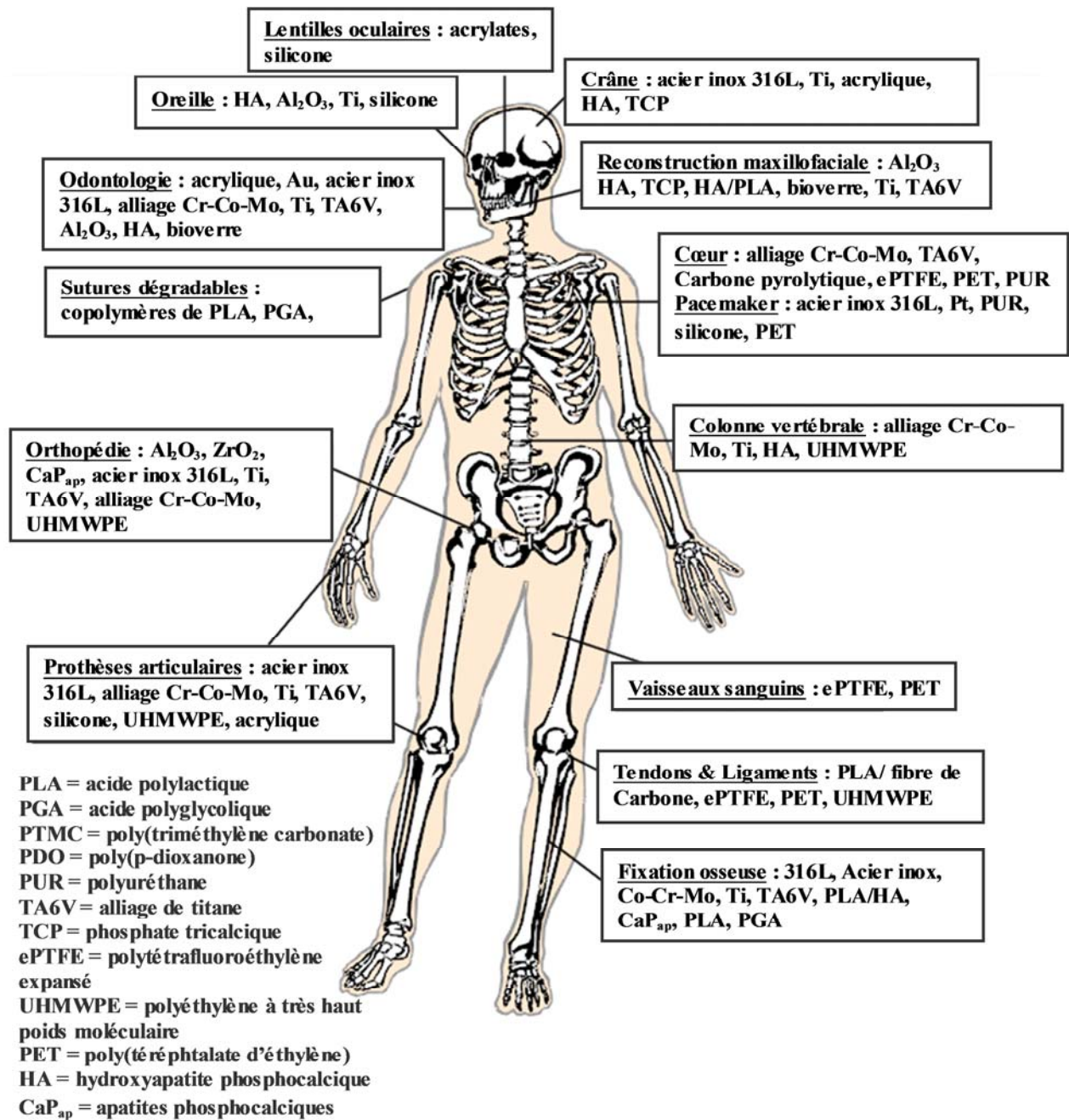


Figure 2. Exemples d'applications médicales de matériaux synthétiques implantables
 [Taniguchi2006]

Il n'est pas possible d'utiliser n'importe quel type de matériau pour n'importe quelle application : le choix du matériau est une tâche souvent critique dans le processus de développement d'un dispositif biomédical dont les performances sont largement déterminées par celles du matériau utilisé. Ce choix dépend de la fonction envisagée (en lien avec les caractéristiques mécaniques, physico-chimiques et biologiques) et de l'environnement biologique dans lequel il sera implanté.

I.1.2. Le tissu osseux

A l'âge adulte, le squelette du corps humain (représenté sur la Figure 3) comptabilise 206 os constants et d'autres inconstants (les sésamoïdes par exemple), dont le nombre peut varier entre les individus, contre un total de 350 os à la naissance. Cette différence vient de la fusion ultérieure de petits os au niveau du crâne, de la colonne vertébrale et du bassin.

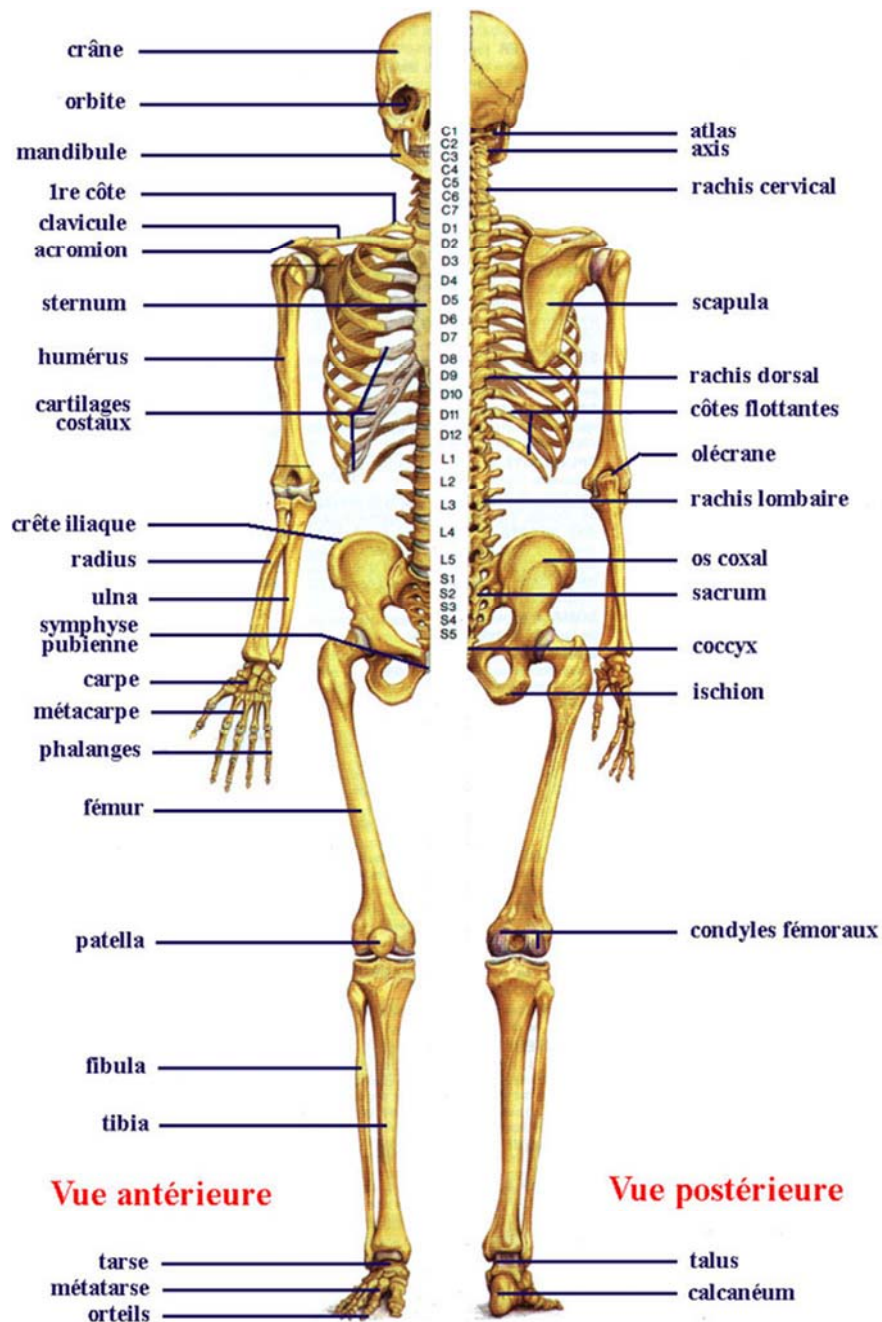


Figure 3. Squelette humain [Boutillier2011]

Les os du squelette remplissent plusieurs fonctions : [Posner1985, Marieb2007, Thomas2008]

→ Protection des organes vitaux : cette fonction concerne les os de la cage thoracique, du bassin, ceux du crâne, et de la colonne vertébrale

→ Soutien des organes mous : les os jouent un rôle de charpente du corps. Ils répondent aux contraintes et aux déformations en remodelant le tissu osseux.

→ Biomécanique : les os possèdent des propriétés mécaniques qui leur permettent de supporter les effets de la pesanteur, de résister aux contraintes mécaniques externes et de résister aux forces de contraction musculaires (les muscles s'attachant sur les os, via les tendons). Les os assurent le mouvement au niveau des articulations. Ils sont articulés entre eux et des ligaments les relient afin de maintenir l'articulation en place lors des mouvements.

→ Métabolique : les os sont des réservoirs métaboliques et chimiques. Ils participent à la régulation de minéraux (homéostasie), en particulier du calcium (98 % du calcium de l'organisme) et du phosphore (90 % du phosphore de l'organisme) qui jouent un rôle biologique prépondérant dans la vie cellulaire, la transmission nerveuse et la coagulation sanguine. Inversement le minéral osseux sert de lieu de stockage aux ions toxiques, tels le plomb, le strontium,... éventuellement présents dans l'organisme.

→ Hématopoïétique : les cellules de la moelle osseuse rouge qui remplissent les lamelles osseuses de l'os spongieux, produisent les globules rouges. De plus, la moelle osseuse jaune renferme un tissu adipeux de réserve.

I.1.2.a. La morphologie des os

Les os peuvent être classifiés en 4 catégories en fonction de leur morphologie [Marieb2004].

La répartition des os du squelette dans cette classification anatomique est la suivante :

- Les os long : os des membres (fémur, radius, cubitus...)
- Les os plats : le sternum, les côtes, les vertèbres, les os du bassin, les os du crâne,
- Les os courts : os des phalanges, poignets, chevilles...
- Les os irréguliers : vertèbres, os iliaques, ...

L'os peut être considéré comme un matériau subdivisé en deux types d'architecture [Marieb2007]. On distingue ainsi :

→ L'os compact (ou cortical) : 80 % du squelette : paroi externe, solide, continue, dense de l'os (5 à 30 % de porosité [Toppets2004]) [Thomas2008].

→ L'os spongieux (ou trabéculaire) [Thomas2008] : 20 % du squelette adulte : partie interne, poreuse (30 à 90 % de porosité [Toppets2004]), située sous la corticale, et constitué de lamelles osseuses, les trabécules.

D'un point de vue biologique, la structure de l'os spongieux lui fournit une surface d'échange plus importante avec les liquides interstitiels et un renouvellement plus rapide que l'os compact. Par conséquent l'os spongieux joue un rôle majeur dans l'équilibre phosphocalcique. Du fait du taux élevé de porosité, les propriétés mécaniques de l'os spongieux sont nettement inférieures à celles de l'os compact, mais restent malgré tout élevées (Tableau 4, p27).

Notons qu'il n'existe pas de limite franche entre ces deux types de tissu osseux. Le passage de l'un à l'autre se fait par une transition progressive. Tandis que les os longs sont essentiellement constitués d'os compact et les os courts d'os spongieux, les os plats sont formés d'une couche d'os spongieux entre deux couches d'os compact.

Prenons comme exemple un os long (Figure 4) afin d'examiner les différentes régions qui forment sa structure :

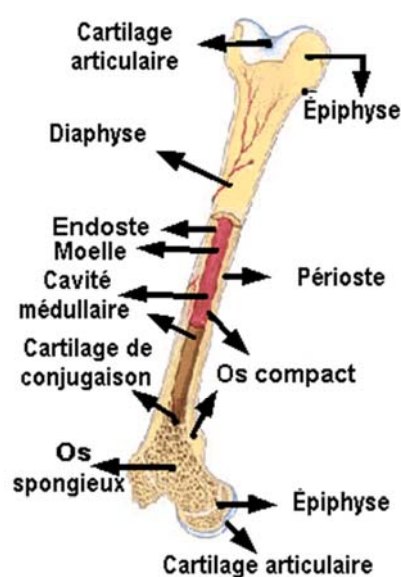


Figure 4. Schéma d'un os long

→ Diaphyse

La diaphyse est le corps de l'os long (entre les épiphyses). Elle occupe presque toute la longueur de l'os et est constituée d'os compact délimitant une cavité centrale appelée canal ou cavité médullaire, remplie de moelle osseuse jaune lipidique.

→ Épiphyses

Les épiphyses sont les extrémités de l'os long. Elles sont formées d'une fine couche d'os compact entourant la région centrale faite d'os spongieux et emplie de moelle osseuse rouge où se forment les cellules sanguines.

→ Cartilage épiphysaire (de conjugaison)

Cartilage situé dans la métaphyse, région à la jonction de l'épiphyse et de la diaphyse chez les enfants, qui assure la croissance en longueur de l'os long, en direction de la diaphyse sous l'influence d'hormones. A la fin de la puberté, la croissance cesse et ce cartilage sera remplacé chez l'adulte par de l'os spongieux [Toppets2004] qui symbolise la fusion de l'épiphyse et de la diaphyse.

→ Cavité médullaire

Cavité au centre de la diaphyse remplie de moelle jaune (tissu adipeux de réserve) chez l'adulte.

→ Périoste

Membrane qui revêt la surface externe de tous les os, sauf au niveau des cartilages articulaires et aux sites d'insertion des tendons et ligaments. Le périoste est constitué de tissu conjonctif spécialisé, organisé en deux couches : la couche externe fibreuse, dense, qui sert d'attache à de nombreux tendons et ligaments, et la couche interne riche en cellules qui assurent la croissance de l'os en épaisseur ou sa cicatrisation lors des fractures. On y trouve aussi des capillaires sanguins et une riche innervation.

→ Endoste

Fine membrane de tissu conjonctif qui tapisse les parois de toutes les cavités vascularisées (cavité médullaire de la diaphyse des os longs, les canaux de Havers, les espaces médullaires de l'os spongieux) du tissu osseux. Cette membrane renferme des cellules produisant ou détruisant la substance osseuse (ostéoblastes et ostéoclastes) et pouvant former les éléments sanguins.

→ Cartilage articulaire

Membrane faite de cartilage hyalin lisse (translucide, constitué de cellules cartilagineuses, et qui constitue le squelette de l'embryon avant ossification) qui recouvre la face externe des épiphyses (il n'y a pas de périoste à ce niveau). Dans une articulation, lors du mouvement, ce cartilage a pour fonction de réduire la friction et la pression entre les os.

I.1.2.b. La composition chimique du tissu osseux

L'os est un tissu conjonctif, constitué de 2 éléments de base :

★ **les cellules**

Deux types de cellules se distinguent selon qu'elles jouent un rôle dans la construction du tissu osseux (les ostéoblastes ou cellules ostéoformatrices) ou dans sa destruction (les ostéoclastes ou cellules ostéorésorbantes).

Deux autres types cellulaires qui correspondent à des ostéoblastes différenciés, les ostéocytes et les cellules bordantes de l'os, sont présents dans l'os et ont un rôle majeur dans la régulation de ces phénomènes. Toutes ces cellules agissent de manière coordonnée lors du remodelage osseux [Matsuo2008].

★ **la matrice osseuse (matrice extra-cellulaire, MEC)**

Elle est formée en moyenne à 69 % en masse d'une partie minérale inorganique et à 22 % d'éléments organiques. Après l'émail des dents, le tissu osseux est un des tissus les moins

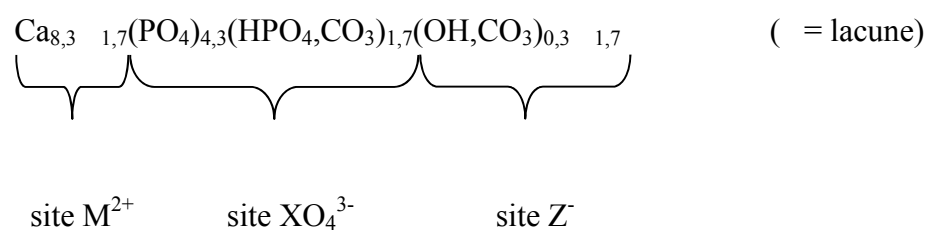
hydratés : seulement 9 % d'eau est contenu dans sa matrice extra-cellulaire [Bank1993]. Ce taux d'hydratation varie en fonction de l'âge et du degré de minéralisation [Toppets2004].

La partie organique de la MEC est composée à 85-90 % de fibres de collagène de type I [Posner1985, Thomas2008], de 10 % de protéoglycans, et d'une grande variété de protéines non collagéniques intervenant dans de nombreux mécanismes de la physiologie osseuse [Thomas2008]. Par exemple, les cytokines et les facteurs de croissance, sécrétés par les ostéoblastes, jouent un rôle fondamental dans la régulation du remodelage du tissu osseux et de la minéralisation [Toppets2004].

Tandis que la partie minérale apporte dureté et rigidité, la partie organique confère élasticité et flexibilité [Thomas2008]. Par conséquent, c'est l'association des composantes minérale et organique qui confère la résistance mécanique nécessaire au soutien du corps [Posner1985, Thomas2008].

Le calcium et le phosphore, avec respectivement 27 % et 12 % en masse, sont les éléments minéraux les plus abondants de la MEC, les autres ions minéraux sont le magnésium, les carbonates, le sodium, et divers autres éléments à l'état de trace, ainsi que de l'eau. Les sels minéraux contenus dans la phase minérale de l'os prennent progressivement la place de l'eau au cours de la minéralisation qui a lieu pendant la croissance osseuse [Toppets2004].

La composition du minéral osseux varie en fonction des espèces vertébrées (facteurs génétiques), de l'âge, de la contrainte (facteurs environnementaux), du type d'os, des apports alimentaires et médicamenteux, nerveux, vasculaires et hormonaux [Rey1998, Toppets2004, Thomas2008]. Elle est constituée de phosphate de calcium carbonaté et présente globalement une structure apatitique (se rapprochant de la formule générique $M_{10}(XO_4)_6Z_2$) mais non-stœchiométrique et faiblement cristallisée. Selon les travaux de Legros, la composition chimique globale pour un os long peut être moyennée par la formule chimique suivante [Legros1987] :



Les ions carbonate sont les ions de substitution prépondérants dans le minéral osseux apatitique. Au sein de la structure, ils peuvent se placer soit dans les sites habituellement occupés par les ions hydroxyde (substitution de type A) soit dans ceux habituellement occupés par les ions phosphate (substitution de type B). Les deux types de substitutions peuvent avoir lieu simultanément, ce qui conduit à des apatites carbonatées de type AB, telles que celles de la phase minérale des tissus osseux, contenant par ailleurs des espèces carbonatées labiles.

La quantité d'ions hydrogénophosphate et d'ions carbonate peut varier considérablement mais la somme de ces ions divalents reste relativement constante dans l'ensemble des tissus osseux [Rey1998]. Dans ses travaux, Elliot a comparé la composition chimique du minéral osseux avec celle de l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (notée HA) [Elliot1994]. Ces données sont rassemblées dans le Tableau 2.

Tableau 2. Composition chimique du minéral osseux et de l'hydroxyapatite stœchiométrique [Elliot1994]

Constituant	Minéral osseux	HA stœchiométrique
Ca (%massique)	36,6	39
P (%massique)	17,1	18,5
CO ₂ (%massique)	4,8	/
Na (%massique)	1,0	/
K (%massique)	0,07	/
Mg (%massique)	0,6	/
Sr (%massique)	0,05	/
Cl (%massique)	0,1	/
F (%massique)	0,1	/
Rapport atomique Ca/P	1,65	1,667
Cristallinité	faible	bonne

Avec un rapport atomique Ca/P inférieur à celui de l'hydroxyapatite stœchiométrique, le tissu osseux admet une grande variété de constituants minoritaires. Les apatites biologiques qui constituent la partie minérale des os n'ont cependant pas la structure cristalline « idéale » de l'HA stœchiométrique. Elle est lacunaire, faiblement cristallisée et carbonatée. La moitié des ions carbonate est localisée en surface des cristaux, l'autre moitié est incorporée dans la structure, dans les sites anioniques trivalents et monovalents. Notons également la présence des ions hydrogénophosphate HPO_4^{2-} qui induit une distorsion de la maille cristallographique

[Mackay1953]. Dans les années 80, les travaux de Grynpas [Grynpas1984] ont suggéré que le minéral osseux était composé d'une phase nanocristalline et d'une phase amorphe non détectable. Cette phase amorphe, probablement du phosphate octocalcique triclinique selon Brown [Brown1987b], pourrait être à l'origine de la formation de l'apatite biologique [Termine1966].

La composition chimique, ainsi que la structure et la microstructure de l'os complexifient sa caractérisation physico-chimique et rendent potentiellement délicate la synthèse d'une apatite biomimétique ; par conséquent, l'HA stœchiométrique a longtemps été, à tort, considérée comme un matériau « idéal » pour l'élaboration de substituts osseux. La synthèse, la caractérisation et l'élaboration de matériaux de comblement osseux à base d'apatites carbonatées, nanocristallines et non-stœchiométriques, analogues au minéral osseux, est beaucoup plus récente [Eichert2007].

L'utilisation de techniques spectroscopiques telles la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) [Boskey1992a, Boskey1992b, Rey1989, Rey1990, Rey1991a, Rey1991b], et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) appliquée au solide, en particulier du phosphore 31 (^{31}P) [Herzfeld1980, Aue1984, Wu1994] ont permis de renseigner sur l'ordre à courte distance et sur l'environnement cristallin des ions dans l'os :

→ L'existence d'environnements ioniques dits « non-apatitiques » a été mise en évidence. Ces environnements sont différents de ceux présents dans les apatites bien cristallisées, et sont spécifiques aux cristaux du minéral osseux et aux apatites biomimétiques de synthèse, préparées dans des conditions proches des conditions physiologiques.

→ Le minéral osseux nouvellement formé présente certaines caractéristiques : un taux bas d'ions carbonate (entre 4 % et 8 %) et un taux élevé d'ions hydrogénophosphate [Legros1987, Vallet-Regi2004]. Au cours du vieillissement de l'os, les quantités d'espèces chimiques non-apatitiques et d'ions hydrogénophosphate diminuent, alors que la proportion en ions carbonate augmente [Vallet-Regi2004]. De plus le minéral osseux évolue vers une apatite carbonatée avec un meilleur état de cristallinité et probablement vers un rapport atomique calcium sur phosphore plus carbonate, noté $\text{Ca}/(\text{P}+\text{C})$, plus proche de sa valeur stœchiométrique (10/6). Ce processus s'appelle la maturation [Rey1998].

→ Les cristaux sont de taille nanométrique, avec des dimensions moyennes de 50 nm de long, 25 nm de large et 2 à 5 nm d'épaisseur. Leur petite taille est un paramètre très

important en relation directe avec la solubilité des apatites biologiques, contrairement aux apatites bien cristallisées [Vallet-Regi2004].

Les dimensions nanométriques et la faible cristallinité sont deux particularités spécifiques aux apatites biologiques. Ces particularités, en plus de la non-stœchiométrie, du désordre cristallin interne et de la présence des ions carbonate, permettent de comprendre leur comportement distinctif.

I.1.2.c. Le mécanisme de remodelage osseux

Une caractéristique majeure du tissu osseux est sa capacité à se renouveler, tout au long de la vie. Ce processus lui permet de réguler l'équilibre minéral, de s'adapter à son environnement mécanique, et de s'auto-régénérer (ou s'auto-réparer suite à une fracture) grâce à l'activité continue des cellules osseuses.

Le remodelage résulte de l'activité de multiples unités cellulaires, les *basal multicellular units* (BMU). Cette activité est l'enchevêtrement dans le temps et l'espace de cycles de résorption (par les ostéoclastes) et de croissance (par les ostéoblastes) [Thomas2008]. Chez l'adulte, le remodelage a une durée de 3 à 6 mois, la phase de croissance étant plus longue que la phase de résorption.

La vie de la BMU est régie en 3 étapes [Thomas2008] :

- naissance en un lieu et à un moment donné d'une BMU (ou *origination*).
- déplacement sur la surface osseuse de la BMU (ou **progression**). Les cellules précurseurs des ostéoclastes agissent en amont de la progression, tandis que celles précurseurs des ostéoblastes agissent en aval.
- disparition de la BMU une fois la zone osseuse remplacée (ou **termination**).

Le remodelage osseux a lieu au sein de la BMU et se déroule selon les 5 étapes illustrées sur la Figure 5 :

→ Phase d'activation ① : les cellules bordantes qui recouvrent une surface osseuse inactive sont activées. Dans un premier temps elles se rétractent, ce qui engendre la

dégradation de la couche collagénique sous-jacente, puis attirent par chimiotactisme les préostéoclastes sur la zone osseuse ainsi exposée.

→ Phase de résorption ② : les préostéoclastes fusionnent et se différencient en ostéoclastes actifs qui se fixent à la matrice osseuse pour commencer la résorption. Ils dissolvent la partie minérale, dégradent la partie organique. Un défaut de matrice osseuse se forme et les ostéoclastes viennent s'y déposer.

→ Phase d'inversion ③ : remplacement des ostéoclastes par des cellules mononucléées de type macrophages qui nettoient le défaut osseux. Par leur action, ces cellules amorceraient le comblement du défaut osseux : des lignes cémentantes (cellules ostéoprogénitrices) viennent recouvrir le fond du défaut.

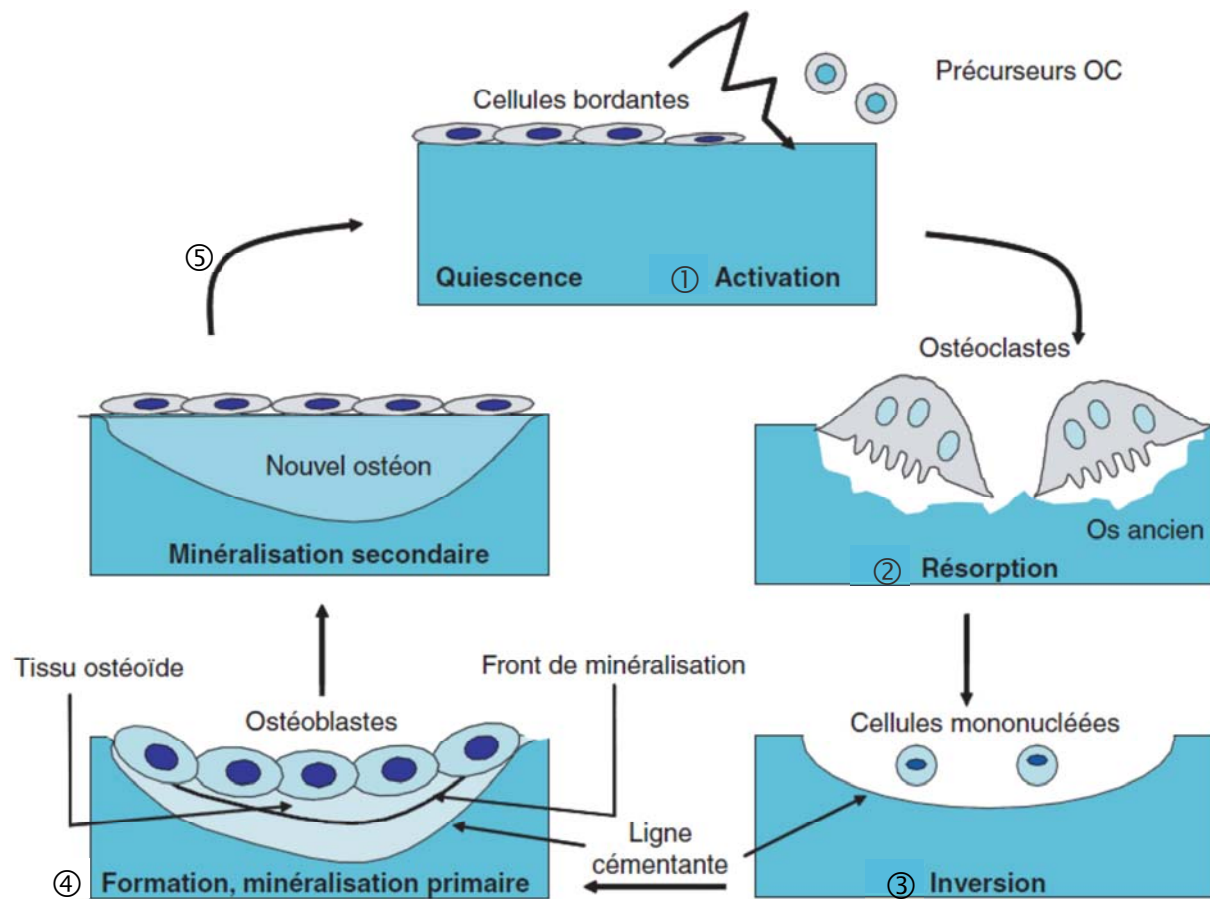


Figure 5. Les différentes séquences du remodelage osseux [Thomas2008]

→ Phase de formation ④ : les ostéoblastes issus de la différenciation des cellules ostéoprogénitrices interviennent et comblent le défaut osseux en formant une nouvelle matrice organique (l'ostéoïde). La minéralisation progressive s'ensuit depuis l'interface de l'ostéoïde

néoformée avec la partie minérale initialement présente et progresse jusqu'à la surface de la matrice organique. Au fur et à mesure que l'ostéoïde est minéralisé, les ostéoblastes deviennent moins actifs. Certains sont incorporés à la matrice organique minéralisée et deviennent des ostéocytes, d'autres se différencient et donnent des cellules bordantes, et les derniers sont éliminés par apoptose (mort cellulaire programmée).

→ Phase de quiescence ⑤ : cette étape appelée minéralisation secondaire, correspond à une accumulation de minéral dans la matrice alors que les cellules bordantes forment déjà une couche cellulaire attachée et alignée le long de la surface osseuse inactive.

L'auto-réparation du tissu osseux par remodelage est possible lorsque le défaut est de taille inférieure à une taille critique. Cette taille est définie comme « *la plus petite taille de plaie intraosseuse, dans un os donné et dans le cas d'une certaine espèce animale, qui ne peut cicatriser spontanément au cours de la vie de cet animal* » [Schmitz1986, Holliger1990]. L'usage de biomatériaux de comblement devient alors nécessaire pour les défauts osseux de taille plus importante.

I.1.3. Comment remplacer l'os : les biomatériaux de substitution osseuse

Les pertes de substances osseuses peuvent avoir plusieurs origines. En effet, elles peuvent être congénitales, traumatiques, orthopédiques, infectieuses ou tumorales [Mainard2007]. Les chirurgiens (chirurgie orthopédique, maxillo-faciale, dentaire) doivent minimiser voire supprimer les conséquences par un comblement adéquat et satisfaisant afin d'obtenir, à terme, une bonne consolidation osseuse et la meilleure récupération fonctionnelle possible. Les premières tentatives de reconstruction datent de plusieurs siècles, mais c'est en 1810 à Amsterdam que le premier succès fut publié par Van Merren [Poitout1985]. Les premiers essais de substitution avec des matériaux non-osseux tels l'ivoire, le bois, l'or, sont également apparus au XIXe siècle, mais l'unique succès fut le plâtre de Paris [Dreesman1892], encore d'actualité.

La greffe d'os autogène (du même individu) est longtemps apparue comme la meilleure méthode de reconstruction face à une perte osseuse, en termes de biocompatibilité,

d'ostéointégration (connexion structurelle et fonctionnelle de l'os avec la surface du matériau), d'ostéoconduction (permettant la colonisation cellulaire puis le repousse osseuse), d'ostéoinduction (induisant la repousse osseuse), de performances mécaniques et de résorption (remplacement progressif du matériau de substitution par du tissu osseux sans limiter le processus de régénération). Selon le glossaire médical, ce type de greffe est défini comme un procédé consistant à prélever un « petit morceau » d'os d'une partie du corps pour réduire une lésion osseuse située dans une autre partie du corps. Cependant cela induit un second site opératoire pouvant potentiellement être infecté et ainsi un risque accru de morbidité. De plus, en fonction de la taille du défaut osseux ou de la qualité osseuse du patient, la quantité d'os disponible à prélever est limitée. En 1942, [Inclan1942] Inclan découvre comment conserver par le froid, les prélèvements d'os. Il est ainsi le précurseur des premières banques d'os, créées dans les années 1950, qui offrent une quantité de greffes osseuses (allogreffes) plus importante. Néanmoins le nombre de greffons disponibles reste également limité.

Pour remédier aux contraintes de prélèvement et de conservation de l'os, de nombreux biomatériaux sont élaborés depuis les années 1960. Ils se présentent sous forme de poudre, granules, blocs denses, ciments, gels ou matrices poreuses afin de répondre aux besoins chirurgicaux [Bongio2010].

I.1.3.a. Les caractéristiques des substituts osseux

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les substituts osseux peuvent être amenés à remplir différentes fonctions. En vue de leur utilisation en clinique, ils doivent répondre à certains critères. Ces caractéristiques définissent les qualités et l'efficacité du matériau de comblement.

★ **Biocompatibilité**

La biocompatibilité des substituts employés est primordiale. Ces matériaux ainsi que leurs produits de dégradation ne doivent, en effet, ni présenter de cytotoxicité ni s'accompagner d'une forte réaction inflammatoire.

★ **Résistance mécanique**

Selon le site d'implantation du substitut osseux, le matériau sera plus ou moins sous charge et doit répondre à des critères mécaniques variés permettant au squelette de continuer de jouer par exemple son rôle de charpente osseuse. Il est donc important que ces matériaux présentent des propriétés mécaniques adéquates afin d'éviter leur effritement lors de la mise en place durant l'opération chirurgicale, ou leur fracture au moment de la mise en charge (cas des substituts implantés en sites porteurs).

La résistance mécanique des substituts osseux est dépendante principalement de leur nature chimique, de leur mode de fabrication et de leur architecture (structure, microstructure).

★ **Porosité**

L'architecture des substituts osseux est un paramètre majeur qui conditionne leur efficacité. La présence de pores interconnectés est en effet nécessaire afin de permettre la colonisation du matériau par les cellules (ostéogéniques et endothéliales) et les fluides physiologiques, et ainsi favoriser la formation de nouveaux tissus osseux au sein du matériau. Il a été montré que deux gammes de porosités doivent être présentes pour assurer une reconstruction osseuse optimale :

→ Une macroporosité

La macroporosité correspond en général à des pores de diamètre supérieur à 100 μm , et classiquement compris entre 300 et 600 μm . La présence de ces macropores assure l'envahissement du matériau par les cellules, avec mise en place de la vascularisation [Hulbert1987] permettant un apport des fluides biologiques nécessaires à la survie et à la différenciation cellulaire. Une porosité minimale de 40-70 μm est indispensable pour l'envahissement de vaisseaux et la formation d'os. Klenke et al. ont montré que la taille des macropores était directement corrélée à la quantité d'os et au nombre de vaisseaux formés après implantation de céramiques de phosphates de calcium biphasiques sur des crânes de rats. Les valeurs obtenues sont significativement plus importantes pour des gammes de porosités supérieures à 140 μm et augmentent avec la taille des pores [Klenke2008].

→ Une microporosité

La présence de mésopores de diamètre inférieur à 10 μm , communément appelés micropores dans le domaine des biomatériaux, joue un rôle important dans l'efficacité de reconstruction osseuse, notamment sur leurs propriétés ostéoconductrices et/ou ostéoinductrices. Il a été évoqué que ces micropores étaient susceptibles de jouer un rôle à plusieurs niveaux : augmentation de la surface spécifique des matériaux, création d'un microenvironnement spécifique à l'intérieur de ces pores, augmentation de la rugosité, augmentation de la résorbabilité. Ces différents paramètres, associés à la réactivité du matériau, pourraient donc avoir une influence sur la bioactivité du matériau ou ses capacités d'adsorption [Habibovic2008, Zhu2009].

Un matériau de substitution osseuse doit donc servir à la fois de « charpente » (qui stabilise mécaniquement l'intégrité structurale osseuse, le temps du remodelage osseux) et d'« architecture » avec une porosité interconnectée afin de faciliter la croissance osseuse en même temps que la biodégradabilité du matériau, assurant ainsi le remplacement par du tissu osseux nouvellement formé [Babis2005].

★ **Bioactivité**

Les matériaux utilisés sont en contact intime avec des tissus calcifiés qui se régénèrent spontanément. Les réactions entre le biomatériau et l'os varient en fonction des propriétés physico-chimiques, mécaniques, morphologiques et biologiques du matériau implanté. Dans les années 1990, Hench proposait de classer ces biomatériaux de substitution osseuse suivant les différents phénomènes observés à l'interface os/matériau [Hench1991, Cao1996] comme indiqué dans le Tableau 3. Dans son étude, Bongio conforte ce classement et situe les matériaux inertes dans les biomatériaux de 1^{ère} génération, et les matériaux bioactifs, ostéointégrateurs et ostéoconducteurs dans la 2^{ème} génération [Bongio2010]. Les biomatériaux biodégradables viennent élargir la gamme des substituts osseux de la seconde génération, et esquissent la 3^{ème} et toute récente génération, en cours de développement.

Les matériaux de 1^{ère} génération [Bongio2010] ou matériaux « inertes » [Hench1991, Cao1996] sont liés aux tissus via une couche fibreuse dont l'épaisseur dépend de l'implant, du tissu hôte, des mouvements, de l'ajustement de l'implant et de la charge mécanique. Du point de vue de l'efficacité de la reconstruction, dans le cas extrême d'un matériau dense (non-

poreux), utilisé sous charge tel qu'il supporte des mouvements à l'interface os/matériau, le descellement rapide de l'implant peut être observé, causé par la fissure de l'implant ou des tissus adjacents.

Tableau 3. **Classification des matériaux de substitution osseuse [Hench1991 ; Cao1996 ; Bongio2010]**

Génération*	Type de matériaux	Exemples	Attachement implant/tissu
1 ^{ère} génération*	Matériaux inertes**	alliage de titane (TA6V), alliage de Cr-Co-Mo, alumine (Al ₂ O ₃), zircon (ZrO ₂), polyméthacrylate de méthyle (PMMA), polyéthylène (PE)	« fixation morphologique » : formation d'une capsule fibreuse non adhérente
2 ^{ème} génération*	Matériaux bioactifs**	hydroxyapatite (HA), bioverres, vitrocéramiques, vitrocéramique Apatite/Wollastonite (A/W), composites, bioverre renforcé avec des fibres d'acier inox, mélanges polyéthylène (PE)-HA	« fixation bioactive » : formation de liaisons chimiques à l'interface implant/tissu
	Matériaux biorésorbables**	<u>Céramiques phosphocalciques</u> : phosphate tricalcique β (β-TCP), phosphate de calcium carbonaté, céramiques phosphocalciques biphasiques, <u>Matériaux à base de polymère</u> : <i>Origine synthétique</i> : acide polylactique (PLA), acide polyglycolique (PGA) <i>Origine biologique</i> : Allogreffe de matrice osseuse déminéralisée (DBM) seule ou intégrée sur différents supports (lécithine, gélatine, hydrogel, glycérol, amidon, collagène, hyaluronate de sodium) <u>Matériaux hybrides</u> composés à la fois de phosphate de calcium et de collagène ou de DBM	absence de fixation : remplacement progressif par du tissu régénéré
3 ^{ème} génération*	Matériaux ostéoinducteur*	Biomatériaux du génie tissulaire, biomatériaux intelligents, biomatériaux biomimétiques : matériaux céramiques et matériaux polymériques	fixation cellulaire

*[Bongio2010], **[Hench1991, Cao1996]

Les matériaux de 2^{ème} génération [Bongio2010] ou matériaux « bioactifs » [Hench1991, Cao1996] entraînent des réactions biophysiques et biochimiques à l'interface avec les tissus, et créent un environnement minéral favorable à la croissance osseuse. Cette définition donnée par Hench [Hench1972] situe les matériaux bioactifs dans un état intermédiaire entre les matériaux inertes et les matériaux résorbables [Hench 1991]. L'efficacité de la reconstruction osseuse est liée au temps de formation de la fixation dite bioactive, à la résistance de la

fixation, au mécanisme de formation des liaisons et à l'épaisseur de la zone de fixation. L'ensemble de ces paramètres est propre à chaque matériau. Dans la plupart des cas, la résistance d'adhésion à l'interface est au moins équivalente à la résistance de cohésion de l'implant ou des tissus liés à l'implant bioactif. Ainsi dans le cas d'un échec, la rupture a toujours lieu dans l'os, ou dans l'implant, mais jamais au niveau de la jonction interfaciale.

Les matériaux « résorbables » [Hench1991, Cao1996] font la transition entre la 2^{ème} génération et la 3^{ème} génération [Bongio2010]. Ils se dégradent avec le temps et sont progressivement remplacés par du tissu osseux régénéré. Les produits de dégradation sont métabolisés par l'organisme. Pour obtenir une reconstruction osseuse performante, ces matériaux doivent posséder une cinétique de résorption voisine de la cinétique d'ossification [de Groot1983]. De plus, l'interface doit rester stable et résistante pendant toute cette période de résorption/régénération. Ces matériaux sont généralement utilisés avec succès dans le cas où l'implant est soumis à de faibles contraintes mécaniques (en sites non-porteurs). Les matériaux de substitution osseuse commercialisés jusqu'en 2009 [Bongio2010] sont de 2^{ème} génération, ostéoconducteurs et résorbables. Parmi ceux-ci, les matrices osseuses déminéralisées (DBM) présentent l'avantage d'être ostéoinductrices [Lee2005], néanmoins leur performance ostéogénique est variable en fonction de la méthode de préparation, du support, de la technique de stérilisation, du stockage et du donneur.

La recherche sur les biomatériaux est d'autant plus importante que leur nécessité croît en raison du vieillissement régulier de la population et du refus de l'homme d'accepter la douleur ou le handicap. La préservation de l'intégrité corporelle et de l'autonomie des personnes est en effet un enjeu majeur de notre société. Plusieurs axes de recherche sont élaborés pour concevoir et développer de nouveaux matériaux destinés à remplir des tâches que le corps n'est plus capable d'assurer seul. Aujourd'hui, un grand nombre de professions travaillent dans ce domaine et l'approche interdisciplinaire est essentielle. La 3^{ème} génération de matériaux de substitution osseuse doit être capable d'amorcer activement le processus de formation du tissu osseux (ostéoinduction) et du système vasculaire (angiogénèse) [Bongio2010]. Ces matériaux de dernière génération devront intégrer l'ensemble des considérations multidisciplinaires élaborées par de nombreux experts du milieu médical (médecins, biologistes et chirurgiens) et ceux du milieu scientifique (ingénieurs en mécanique, scientifiques en matériaux, physico-chimistes) afin d'influencer l'environnement physiologique du site d'implantation pour obtenir une réponse biologique spécifique en vue d'une réelle intégration du matériau au sein

du tissu osseux hôte [Hutmacher2007]. Pour cela la composition chimique ne doit pas être considérée seule, les propriétés mécaniques au moment de l'implantation, l'évolution de ces propriétés après implantation, ainsi que les propriétés physiques influencent les réponses biologiques et l'efficacité de la reconstruction osseuse du matériau de substitution.

Toute la difficulté de cette tâche, mais qui en fait également sa noblesse, consiste ainsi à faire évoluer et communiquer tous ces acteurs de façon à atteindre le but fixé par tous : faire progresser la médecine de l'os au service du patient.

I.1.3.b. Les biocéramiques de substitution osseuse

Sur le marché des matériaux de substitution osseuse, les céramiques tiennent une place importante. Leur biocompatibilité et ostéoconductivité leur permettent d'être utilisées au niveau de diverses lésions du squelette, comme comblement osseux pour le traitement de défauts osseux, traitement de fracture, en particulier en orthopédie et en reconstruction maxillo-faciale [Rahaman2007, Best2008]. Du point de vue clinique, il est reconnu que le succès d'une biocéramique requiert à la fois une interface stable avec les tissus en contact et un comportement mécanique de l'implant similaire à celui des tissus lésés [Hench1991]. Le Tableau 4 donne quelques exemples de biocéramiques avec leurs propriétés mécaniques, en comparaison avec celles des os humains.

Outre une bioactivité souvent limitée, l'un des problèmes des céramiques actuelles concerne les propriétés mécaniques : tandis que la ténacité à la rupture est trop faible, le module d'Young est trop élevé, comme par exemple celui de l'HA stœchiométrique qui est 3 à 16 fois supérieur à celui de l'os cortical [Kokubo2003].

Tableau 4. Propriétés mécaniques de biocéramiques et de l'os cortical et spongieux humain [Kokubo1998,2003, Hench1991,1998, Rho1998]

	Densité	Résistance (MPa)			Module d'Young (GPa)	Ténacité à la rupture (MPa.m ^{1/2})
		Compression	Tension			
Alumine >99.8 wt%	>3,93	4500	550	380		5-6
Zircone partiellement stabilisée	5,6-6,12		1200	200		15
Bioglass® (45S5)	2,6572	–	42	35		–
HA >99.2 wt%	3,156	500-1000	115-200	80-110		1,0
Whitlockite >99.7 wt%	3,07	460-687	140-154	33-90		
Vitrocéramique Bioverit	2,8	500	100-160	70-88		0,5-1,0
Vitrocéramique Ceravital		500		100-150		
Vitrocéramique Cerabone A-W	3,07	1080	215	218		2,0
Os humain	spongieux		2-12	10-20	0,05-0,5	–
	cortical	1,6-2,1	100-230	50-150	7-30	2-12

I.1.4. Les biocéramiques phosphocalciques

Ces matériaux sont étudiés depuis 1920 avec la première implantation du phosphate tricalcique (TCP) réalisée par Albee et Morrison [Albee1920]. Tandis que la biocéramique phosphocalcique industrielle la moins coûteuse reste l'hydroxyapatite (HA), le phosphate tricalcique (TCP) est facilement disponible à l'échelle industrielle [Rey1998]. L'intérêt porté à ces matériaux, accru dès les années 1970, est dû à leur ressemblance chimique voire structurale avec le minéral osseux.

I.1.4.a. *Généralités sur les orthophosphates de calcium*

Les phosphates de calcium existent sous de nombreuses phases comme le montre le diagramme de phases CaO-P₂O₅ proposé par Kreidler et Hummel (Figure 6) [Kreidler1967].

A l'exception du pyrophosphate de calcium, de formule chimique $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, la majeure partie des phosphates de calcium utilisés *in vivo* sont des orthophosphates de calcium (que nous noterons CaP). En effet ils contiennent le groupement orthophosphate PO_4 , éventuellement protoné. Les CaP sont les sels de l'acide orthophosphorique (H_3PO_4) et constituent une grande famille de composés, dont le plus connu est l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique (HA) de rapport atomique Calcium sur Phosphore, que nous écrirons Ca/P, égal à $10/6 = 1,67$.

Le Tableau 5 regroupe les différents orthophosphates de calcium que comprend le système $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$ et donne leur rapport atomique Ca/P. Parmi ces composés, on distingue ceux obtenus par voie humide (précipitation) et ceux obtenus par voie sèche (décomposition ou synthèse à haute température) [Bohner2000].

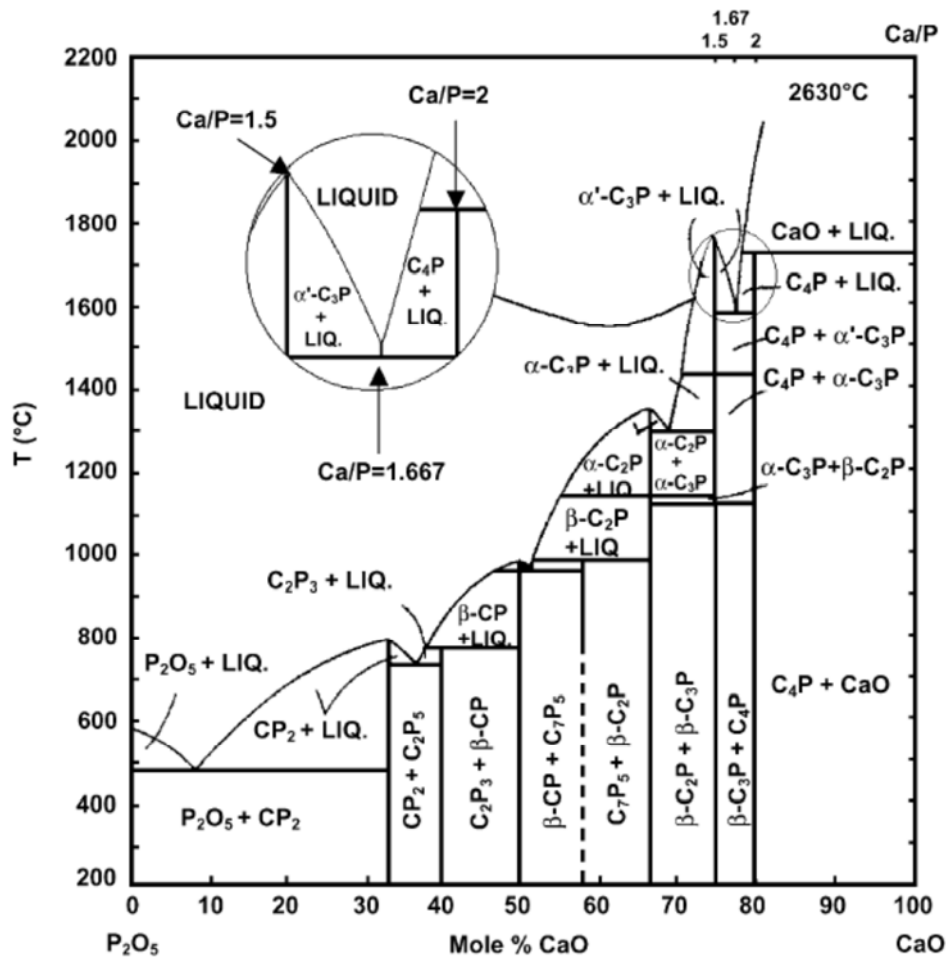


Figure 6. Diagramme de phases du système $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ ($\text{C}=\text{CaO}$, $\text{P}=\text{P}_2\text{O}_5$) [Kreidler1967]

Tableau 5. Les différents orthophosphates de calcium [Bohner2000, Banu2005]

Nom	Formule chimique	Ca/P (atomique)	Symbole
Phosphate monocalcique anhydre ¹	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	MCPA
Phosphate monocalcique monohydraté ¹	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5	MCPM
Phosphate dicalcique anhydre (monétite) ¹	CaHPO_4	1,00	DCPA
Phosphate dicalcique dihydraté (brushite) ¹	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	DCPD
Phosphate octocalcique triclinique ¹	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	OCPt
Phosphate octocalcique apatitique ¹	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_{2,5}(\text{PO}_4)_{3,5}(\text{OH})_{0,5}$	1,33	OCPa
Phosphate octocalcique amorphe ¹	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,33	OCPam
Phosphate tricalcique apatitique ¹	$\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)(\text{OH})$	1,50	TCPa
Phosphate tricalcique amorphe ¹	$\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,50	TCPam
Phosphate tricalcique α , α' ou β ²	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	α - (β -) TCP
(Hydroxy)apatite non-stœchiométrique ¹	$\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$	1,33-1,67	PCA
Hydroxyapatite stœchiométrique ^{1,2}	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	HA
Oxyapatite ²	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	1,67	OXA
Phosphate tétracalcique (hilgenstockite) ²	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,00	TTCP

¹: Orthophosphates obtenus par voie humide

²: Orthophosphates obtenus à haute température (>650°C) par voie sèche

Différentes phases peuvent être utilisées, selon leur capacité à se résorber dans le corps. Une caractéristique fondamentale des phosphates de calcium résorbables est leur solubilité dans l'eau car leur comportement *in vivo* peut être pressenti en grande partie à partir de ce paramètre [Driessens1988]. Si dans l'eau, le CaP se solubilise moins vite que la partie minérale de l'os, alors *in vivo*, sa dégradation sera extrêmement lente. En revanche, si le CaP se solubilise plus rapidement que le minéral osseux, alors *in vivo* sa dégradation sera effective. Même si la solubilité dans l'eau ne permet pas de prédire exactement la vitesse de dégradation *in vivo*, il est possible de classer les CaP en fonction de leur vitesse de dégradation attendue (à pH 7,0). En 2000, Bohner proposait notamment l'ordre suivant : TTCP \approx α -TCP > DCPD > DCPA > OCPt > β -TCP > HA [Bohner2000].

Le classement des phosphates de calcium en fonction de leur rapport atomique Ca/P est très courant. Cette valeur est un paramètre important des céramiques phosphocalciques, et joue un rôle sur la vitesse de résorption *in vivo*, de même que la valeur du pH, les concentrations ioniques de la solution environnante (fluides biologiques), la température et l'état de surface du matériau [Schmidt1999].

Dans la suite de cette présentation, nous allons approfondir les phosphates de calcium que nous avons rencontrés au cours de ce travail, leurs caractéristiques et leur voie de synthèse.

I.1.4.b. Le phosphate dicalcique anhydre

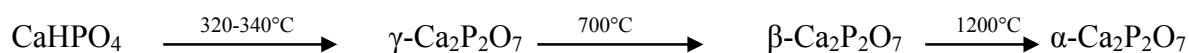
Le DCPA ou monétite, de composition chimique CaHPO_4 , peut être obtenu à partir de solutions de calcium et d'acide phosphorique par neutralisation de la première acidité de H_3PO_4 [Mooney1961], double décomposition de solutions de calcium et de phosphate à pH acide (≈ 3), $T \approx 85^\circ\text{C}$ [Frèche1989, Martin1997], voie sol-gel [Eshtiagh-Hosseini2008], ou décomposition thermique du DCPD entre 60°C et 100°C [Kanazawa1989].

La monétite cristallise dans le système triclinique dans le groupe spatial P-1 [Catti1980].

Elle est utilisée dans la formulation de ciments orthopédiques [Brown1987a], et peut être rencontrée associée à d'autres CaP.

I.1.4.c. Le pyrophosphate de calcium

Les pyrophosphates de calcium, que nous nommerons CPP, répondent à la formule chimique $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, et ont un rapport atomique Ca/P = 1. Ils proviennent notamment de la condensation du DCPA. Les CPP cristallisent sous 3 formes allotropiques α , β et γ en fonction de la température :



La forme γ est orthorhombique, la forme β est tétragonale (groupe d'espace $P4_1$) [Webb1966] et la forme α est monoclinique (groupe d'espace $P2_1/n$) [Safronova2007].

Comme précisé dans le paragraphe I.1.4.a, les CPP n'appartiennent pas à la famille des orthophosphates puisqu'ils sont composés de groupements $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$.

Les CPP sont naturellement présents dans les articulations des personnes souffrant d'arthrite et d'arthrose. Ceci explique que la communauté scientifique ne prête pas beaucoup d'intérêt à leur utilisation en tant que substitut osseux. Néanmoins, les ions pyrophosphate s'apparentent à l'unité structurale principale des biphosphonates [Tanko2003], c'est-à-dire la base des médicaments pour certains traitements actuels de l'ostéoporose et de diabète [Mattano2004].

I.1.4.d. Les phosphates tricalciques

Comme l'indique le Tableau 5, l'appellation phosphate tricalcique regroupe une famille de composés dont le rapport atomique Ca/P est égal à 1,5. Cette famille comprend :

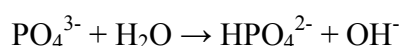
- Le phosphate tricalcique amorphe : $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6, n\text{H}_2\text{O}$
- Le phosphate tricalcique apatitique : $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)(\text{OH})$
- Les phosphates tricalciques cristallisés α , α' ou β : $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

★ Le phosphate tricalcique amorphe (TCPam)

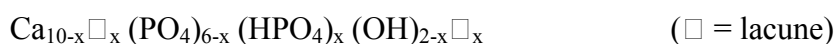
Le TCPam de formule $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6, n\text{H}_2\text{O}$ peut être une phase de transition avant la cristallisation d'apatite non-stœchiométrique. Il peut être obtenu par hydrolyse de la brushite (DCPD) [Montel1953] en milieu aqueux, ou par double décomposition de solutions de calcium et de phosphate en milieu aqueux [Heughebaert1977] ou en milieu hydroalcoolique [Zahidi1984].

★ Le phosphate tricalcique apatitique (TCPap)

Le TCPap est la forme (mal) cristallisée basse température du TCPam. Lors de la cristallisation, l'hydrolyse interne d'un groupe PO_4^{3-} par unité formulaire [Heughebaert1977] conduit à une composition chimique différente de celle du TCPam, selon l'équation chimique suivante :



Il se forme alors un composé de formule générale suivante :

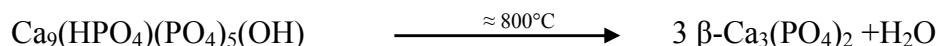


Dans le cas du TCPap, x est égal à 1 et le composé répond à la formule $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$.

Il peut être obtenu à partir des mêmes voies de synthèse que le TCPam, le gel étant séché à l'étuve (ex : à 70°C) au lieu d'être lyophilisé.

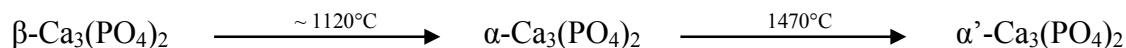
★ **Les phosphates tricalciques cristallisés α , α' ou β**

Les phosphates tricalciques α , α' ou β sont des composés anhydres obtenus par calcination du TCPap au-dessus de 800°C [Macarovicic1966, Heughebaert1977].



Le phosphate tricalcique cristallise sous trois formes allotropiques : α , β et α' de même composition chimique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, mais avec des structures cristallographiques différentes. La stabilité de chaque forme dépend de la température.

La forme β , rhomboédrique (groupe d'espace R3c) [Dickens1974], (notée β -TCP) est la plus utilisée pour la fabrication de substituts osseux en raison de sa vitesse de résorption adaptée à la vitesse de repousse osseuse *in vivo*. Elle est stable à température ambiante, jusqu'à 930°C, 1120°C ou 1200°C selon les publications [Ababou1994, Bignon2002, Mathew1977, Monma1983, Royer1992, Tampieri1997, Yubao1993]. Cette température définit la transition métastable-stable du TCP en phase α , monoclinique (groupe d'espace P2₁/a), qui est stable jusqu'à 1470°C. Au-delà de 1470°C, la phase α' , orthorhombique, est stable [Nurse1959].



Immergé en milieu aqueux, l' α -TCP se transforme en apatite par hydrolyse [Bohner2000]. Cette propriété lui permet d'être utilisé dans la composition de ciments phosphocalciques.

I.1.4.e. L'hydroxyapatite

L'hydroxyapatite (HA) est une apatite de la famille des orthophosphates de calcium. En raison de sa ressemblance avec le minéral osseux, sa structure cristalline, sa composition chimique, l'HA, de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ est le phosphate de calcium le plus utilisé pour la fabrication des dispositifs implantables phosphocalciques, sous forme de céramiques, de revêtements, de ciments ou de composites. Néanmoins, en raison de sa stoechiométrie, l'HA pure, avec un rapport atomique Ca/P = 1,667 n'est pas rencontrée dans les systèmes biologiques, et malgré son excellente biocompatibilité, elle montre une bioactivité très faible.

★ Les voies de synthèse

Plusieurs méthodes de préparation de l'HA ont été reportées dans la littérature scientifique. Il est possible de les classer selon deux familles, à savoir l'utilisation de la voie humide et les réactions à l'état solide [Kurosawa1986]. D'autres méthodes alternatives sont également envisageables.

En fonction de la technique utilisée, le produit final sera différent en termes de morphologie, stœchiométrie et cristallinité [Young1982].

- Les réactions à l'état solide

Les réactions à l'état solide, telle la synthèse par traitement mécano-chimique [Rhee2002], conduisent majoritairement à des composés stœchiométriques et bien cristallisés. Le frittage de ces poudres est simple, mais le point négatif est le besoin d'effectuer un long traitement thermique à haute température (au-delà de 1000°C) [Suchanek1998].

- La synthèse par voie humide

Différentes méthodes d'obtention par voie humide sont envisageables :

→ La précipitation en voie aqueuse par double décomposition de sels de calcium et de phosphate [Hayek1963, Trombe1972, Arends1987, Rodriguez-Lorenzo2000] ou par neutralisation de la chaux par de l'acide phosphorique [Trombe1972, saka1991]

Le taux de cristallinité et le rapport Ca/P dépendent fortement des conditions de synthèse. Cependant, les apatites obtenues par précipitation sont parfois déficitaires en calcium avec un rapport Ca/P légèrement inférieur à celui de l'HA stœchiométrique bien cristallisée (Ca/P = 1,667).

→ L'hydrolyse d'autres phosphates de calcium, tel l' α -TCP [Sinitsyna2005]

→ La synthèse par voie hydrothermale [Raynaud2002]

- L'élaboration par des techniques alternatives

Voici quelques exemples qui conduisent à l'élaboration de poudres d'HA pure :

- La voie sol-gel [Deptula1992]
- L'irradiation micro-onde [Lerner1991]
- La méthode de l'émulsion [Lim1997]
- La pyrolyse d'un aérosol [Vallet-Regi1993]

Notons que les voies de synthèse de choix qui conduisent à une apatite qui, contrairement à l'HA stœchiométrique, imite l'apatite biologique, permettent l'obtention de particules de taille nanométrique. Ces synthèses impliquent généralement la voie humide telle la technique de pyrolyse d'un aérosol ou la précipitation en solution aqueuse. Cette dernière est par ailleurs la base de la synthèse des apatites biomimétiques qui font l'objet de ce travail.

★ **Structure de l'HA**

L'HA cristallise dans une structure cristallographique hexagonale du groupe spatial $P6_3/m$ [Elliot1994]. Ses paramètres de maille sont les suivants [ICDD-PDF 00-09-0432] :

$$a = b = 9,418 \text{ \AA} ; c = 6,884 \text{ \AA} \quad \beta = 120^\circ$$

La maille cristalline de l'HA représentée sur la Figure 7 contient un motif $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. La structure cristallographique consiste en un empilement de groupements phosphate qui forment deux types de tunnels. Un premier type de tunnels est occupé par 4 des 10 cations calcium contenus dans la maille élémentaire hexagonale, notés Ca(I). Les 6 autres cations calcium, notés Ca(II) forment par ailleurs des triangles équilatéraux bordant le second type de tunnels dits « tunnels apatitiques ». Les ions OH^- sont localisés au centre de ces tunnels en position légèrement décalée du barycentre de chaque triangle équilatéral formé par les cations Ca(II). La taille de ce second type de tunnels confère aux apatites des propriétés remarquables d'échangeur d'ions et d'accepteur de petites molécules [Montrejaud1973, Rey1978, Rey1984]. Les ions qui se trouvent dans ces tunnels sont peu liés au reste du réseau qui constitue l'édifice stable [Boyer1998].

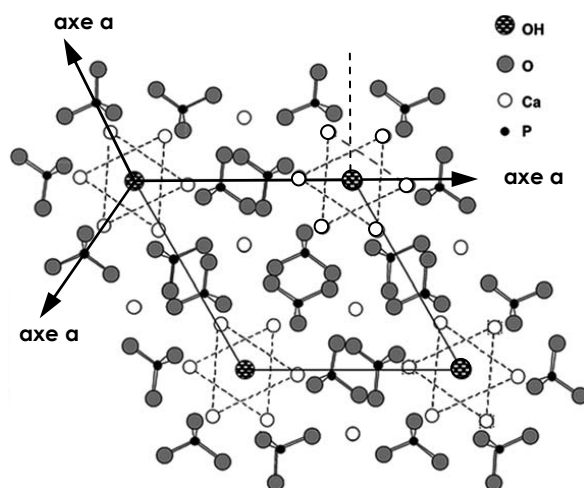


Figure 7. Structure cristalline de l'HA (Projection sur le plan de base (004) de la maille de l'HA selon [Young1973])

I.1.5. Les apatites lacunaires

I.1.5.a. *L'écart à la stœchiométrie*

Il y a 150 ans, le nom « apatite », d'origine grecque, a été donné à un groupe de minéraux. Il signifie « décevant » car ces minéraux avaient été confondus avec des améthystes. Cette famille de composés peut être représentée en termes de cations bivalents (M^{2+}), d'anions trivalents (XO_4^{3-}), et d'anions monovalents (Z^-), par la formule $M_{10}(XO_4)_6Z_2$. La plupart des apatites cristallisent dans le système hexagonal (groupe d'espace $P6_3/m$) qui est celui de l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique (HA), mais la majorité des apatites sont non-stœchiométriques, avec notamment un défaut de calcium, contrairement à l'HA. Le rapport atomique M/X , compris entre 1,33 et 1,667 caractérise alors cet écart à la stœchiométrie.

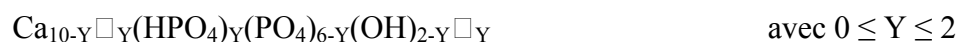
La structure apatitique admet ainsi de larges écarts à la stœchiométrie et permet par ailleurs un grand nombre de substitutions anioniques et cationiques (Tableau 6) [Young1975, LeGeros1980]. Deux cas limites de substitutions ioniques sont possibles. Dans un cas, un ion peut être substitué par un autre ion de même charge mais de taille différente, ce qui aura pour conséquence une déformation de la maille et une variation des paramètres cristallins a et c . Dans l'autre cas, l'ion peut être échangé par un ion de charge différente. Par un mécanisme de

compensation des charges [Montel1981], la création de lacunes (notées \square) interviendra alors en sites M^{2+} et en site Z . Il est à noter qu'aucune apatite possédant des lacunes en site XO_4^{3-} n'a été décrite dans la littérature à notre connaissance.

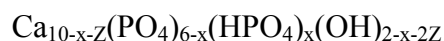
Tableau 6. Exemples de substitutions dans la structure apatitique

M^{2+}			XO_4^{3-}			Z		
Ca^{2+}	Sr^{2+}	Cd^{2+}						
Mg^{2+}	Ba^{2+}	Pb^{2+}	PO_4^{3-}	SiO_4^{4-}	AsO_4^{3-}	OH^-	F^-	Cl^-
Cu^{2+}	Zn^{2+}	Mn^{2+}	SO_4^{2-}	MnO_4^-	VO_4^{3-}	Br^-	I^-	\square
Ni^{2+}	Co^{2+}	Pb^{2+}	CrO_4^{2-}	CO_3^{2-}	HPO_4^{2-}	S^{2-}	O^{2-}	CO_3^{2-}
\square	Na^+	K^+						
	Y^{3+}	Eu^{3+}						

L'état de cristallinité est d'autant plus faible et la solubilité d'autant plus grande que l'apatite s'éloigne de la stœchiométrie. Afin de valoriser la présence des ions HPO_4^{2-} , les apatites non-stœchiométriques de synthèse, de même que les apatites biologiques, s'écrivent fréquemment sous la forme [Winand1961] :



où $Y = 0$ correspond à l'hydroxyapatite stœchiométrique de rapport $Ca/P = 1,667$. Certains auteurs ont réussi à synthétiser en milieu hydroalcoolique des apatites de rapport atomique Ca/P égal à 1,33 [Zahidi1985], ce qui correspond à $Y = 2$ (OCP apatitique). Néanmoins, cette formule chimique ne prend pas en compte les variations de composition des apatites synthétiques qui ont des lacunes en ions Ca^{2+} liées au défaut de remplissage des tunnels apatitiques par les ions OH^- . Un paramètre Z est alors nécessaire afin de compenser les charges [Kuhl1963] :



★ Le comportement des apatites non-stœchiométriques à haute température

Les apatitiques phosphocalciques non-stœchiométriques se comportent différemment à haute température selon leur composition chimique de départ. Ainsi, lors de la calcination à $1000^\circ C$ pendant 15h d'un solide de rapport atomique Ca/P [AFNOR2008] :

→ supérieur à 1,667, on obtient la formation d'hydroxyapatite de rapport Ca/P = 1,667 et la formation de chaux (CaO).

→ égal à 1,667, on obtient la formation d'une hydroxyapatite stœchiométrique de rapport Ca/P = 1,667. Cela revient à dire que l'hydroxyapatite stœchiométrique n'est pas modifiée lors de la calcination.

→ compris entre 1,50 et 1,667, l'apatite non stœchiométrique se décompose en phosphate tricalcique β de rapport Ca/P = 1,50 et en hydroxyapatite stœchiométrique de rapport Ca/P = 1,667 [Gibson2000, Raynaud2002].

→ égal à 1,5, le solide se décompose en phosphate tricalcique β de rapport Ca/P = 1,5.

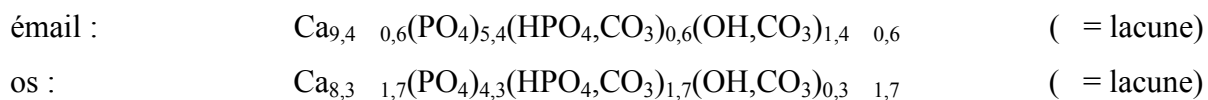
→ inférieur à 1,50, le solide se décompose en pyrophosphate de calcium de rapport Ca/P = 1 et phosphate tricalcique β de rapport Ca/P = 1,5.

I.1.5.b. Les apatites nanocristallines « biomimétiques » analogues au minéral osseux

★ Quelques rappels sur les apatites biologiques

Rappelons que les apatites biologiques sont généralement nanocristallines, carbonatées et non-stœchiométriques, avec des lacunes en ions Ca^{2+} et OH^- . La composition chimique, le taux de minéralisation, la taille et l'orientation des cristaux jouent un rôle dans la faculté d'adaptation des apatites biologiques à leur fonction dans l'organisme [Cazalbou2004c]. Par exemple, l'émail dentaire, dont le taux de dissolution est très faible, possède un taux de minéralisation de 100 %, des cristaux larges avec une faible surface spécifique. En opposition, le minéral osseux offre différents taux de minéralisation, les plus faibles étant présents dans les zones, telle l'épiphyse, où le remodelage osseux est très rapide [Cazalbou2004c]. Les cristaux sont de taille nanométrique avec une surface spécifique élevée qui favorise la dissolution. De plus l'orientation des cristaux est plus aléatoire dans le minéral osseux que dans l'émail dentaire [Camacho1999].

Concernant la composition chimique, la présence de nombreuses lacunes et de substitutions dans les apatites biologiques leur permet un large panel de propriétés physico-chimiques. Par exemple, la composition chimique moyenne de l'émail dentaire [Legros1987], proche de la stœchiométrie [Eanes 1979], contrairement à celle du minéral osseux [Legros1987] :



permet une faible solubilité et favorise une meilleure résistance aux attaques buccales. A l'inverse, le nombre important de lacunes dans la composition chimique du minéral osseux, contribue à améliorer sa capacité de dissolution, et est à l'origine de sa grande capacité de stockage des ions de l'organisme [Cazalbou2004c]. De plus, la teneur en ions OH⁻ dans le minéral osseux reste très faible, quel que soit l'âge de l'individu, et ces ions sont à peine détectables [Rey1995, Pasteris2004].

Mais la définition d'une composition moyenne, dans le cas du minéral osseux par exemple, ne reflète pas les variations importantes de compositions au sein même des unités structurales de l'os, voire entre les cristaux d'apatite [Paschalis1996]. De plus, plusieurs propriétés du minéral osseux, telle que leur réactivité ionique, suggèrent l'existence de modifications de la surface et même une composition chimique de la surface des nanocristaux, différente de celle du cœur [Eichert2007].

★ Les apatites nanocristallines biomimétiques

Parmi les différentes voies de synthèse qui conduisent à la formation d'apatites non-stœchiométriques, de rapport Ca/P < 1,667, la synthèse par précipitation conduit à une apatite plus ou moins bien cristallisée et plus ou moins déficitaire (en ions calcium et hydroxyde), en fonction notamment du pH, de la température de synthèse [Eichert2007] et de la méthode de séchage [Lebugle1986, Dabbarh2000].

En l'absence de traitement thermique qui conduit à des composés biphasiques bien cristallisés, comme décrit précédemment, les apatites non-stœchiométriques, de la même façon que les apatites biologiques, sont nanocristallines et faiblement cristallisées comme le montre les diffractogrammes (Figure 8C et D) d'apatites nanocristallines, respectivement biomimétique (que nous nommerons ANB) et biologique, comparées aux diffractogrammes de l'HA (Figure 8A et B), respectivement après (A) et avant (B) traitement thermique à 1000°C pendant 15h.

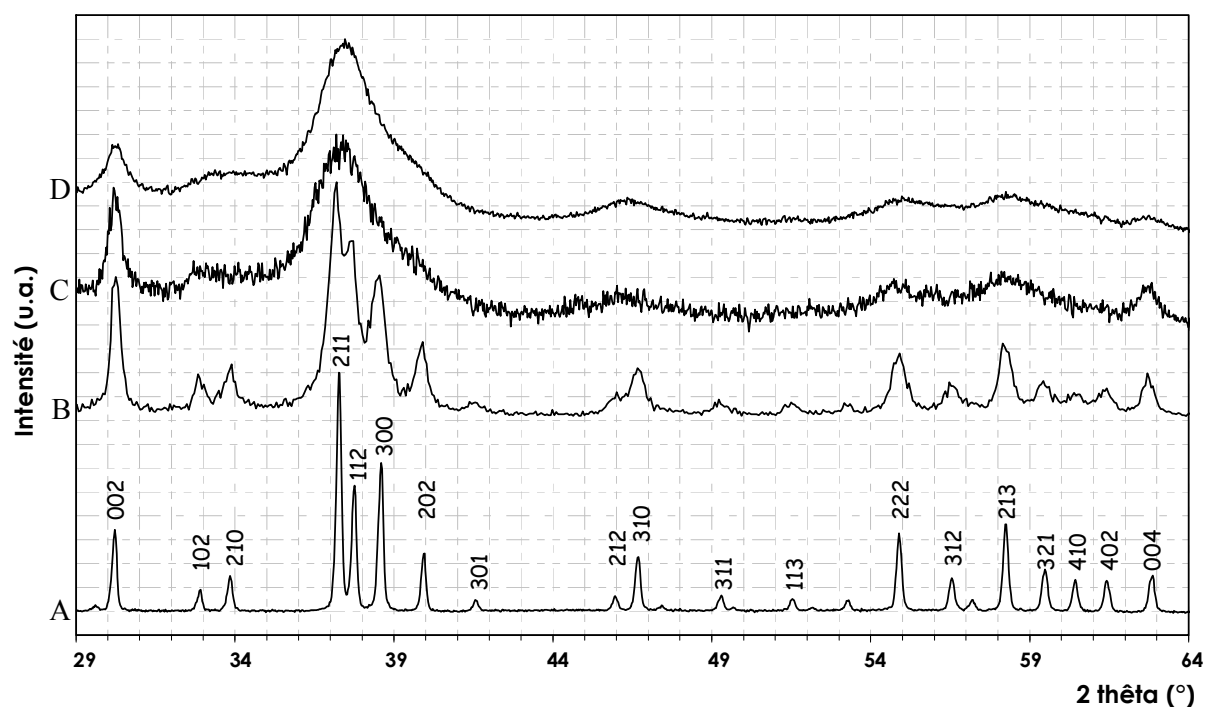


Figure 8. Diagramme de diffraction des rayons X de l'HA stœchiométrique après (A) et avant (B) traitement thermique à 1000°C pendant 15h, d'une apatite nanocristalline biomimétique (ANB) (C) et du minéral osseux de rat âgé d'1 mois (D)

Une caractéristique majeure supplémentaire des apatites biologiques et des ANB est la présence d'environnements ioniques qui n'existent pas dans les apatites bien cristallisées. Ces environnements, dont certains (ions phosphate, carbonate) sont visibles par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (Figure 9B), ont été attribués à la présence, à la surface des cristaux, d'une couche hydratée organisée contenant des ions minéraux labiles [Rey1989, Eichert2002].

Cette couche hydratée, qui contient des espèces ioniques relativement mobiles et facilement échangeables (Figure 10) [Ouizat1999, Cazalbou2000], évolue au cours du temps. Elle serait responsable de la très grande réactivité de surface des apatites biologiques, qui présentent de très fortes capacités d'échanges ioniques et d'adsorption de protéines (Pr) disponibles dans les fluides biologiques.

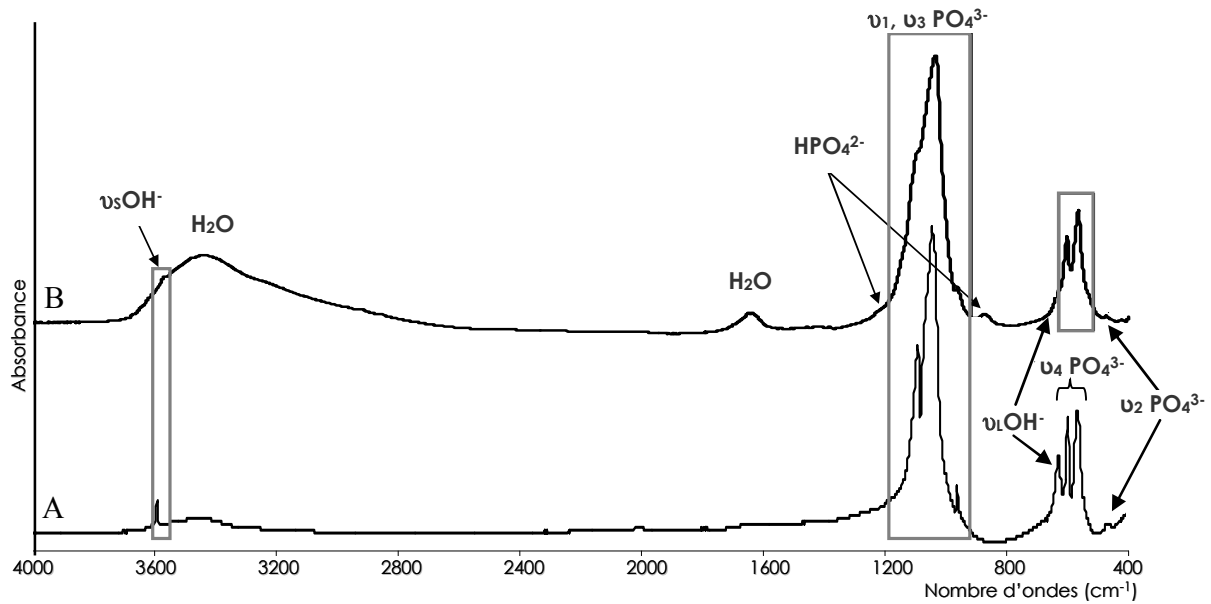


Figure 9. Spectre IR de l'HA stœchiométrique (A) et d'une apatite nanocristalline biomimétique (ANB) non carbonatée (B)

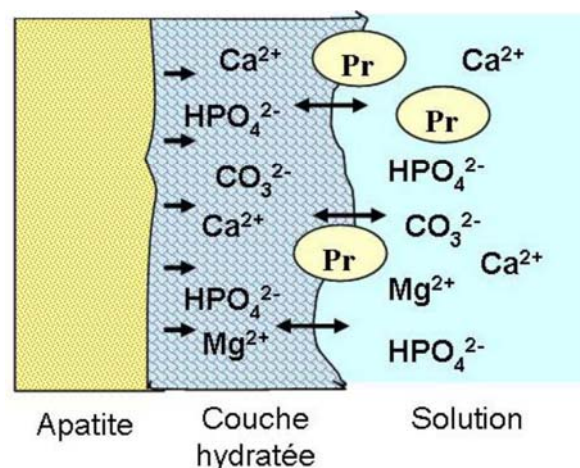


Figure 10. Schéma de la couche hydratée en surface des nanocristaux d'apatite non-stœchiométrique. Les ions présents dans la couche hydratée peuvent être facilement échangés avec les ions présents en solution, et participer à l'adsorption de protéines (Pr) à la surface des cristaux

Ainsi, les apatites non-stœchiométriques de synthèse possèdent des caractéristiques qui miment la composition et la (micro)structure du minéral osseux. Au cours de la synthèse de ces apatites nanocristallines biomimétiques (ANB), les conditions de précipitation et de vieillissement des nanocristaux en milieu aqueux (maturation) influencent directement l'étendue de la couche hydratée à la surface de ces nanocristaux [Rey2007]. Ainsi, au début

de leur formation, grâce à une couche hydratée importante, c'est-à-dire à une grande proportion d'espèces ioniques faiblement liées et mobiles à la surface des nanocristaux, ces apatites biomimétiques sont très réactives. Ce comportement est assimilable à celui de l'os d'enfant qui se renouvellera rapidement, mais qui aura également la capacité d'adsorber aisément, essentiellement au niveau des épiphyses (zone où le remodelage osseux est très rapide), des espèces ioniques toxiques pour l'organisme, tels les ions Pb^{2+} ... Cette forte réactivité des os des enfants s'explique par leur immaturité osseuse [Eichert2007]. Avec un temps de maturation croissant, la réactivité des apatites biomimétiques va diminuer. Les espèces ioniques mobiles vont s'organiser et s'incorporer dans les domaines apatitiques qui vont croître au détriment de la couche hydratée. Ce comportement est assimilable au remodelage osseux d'une personne adulte qui nécessitera davantage de temps [Cazalbou1999]. La Figure 11 montre cette évolution.

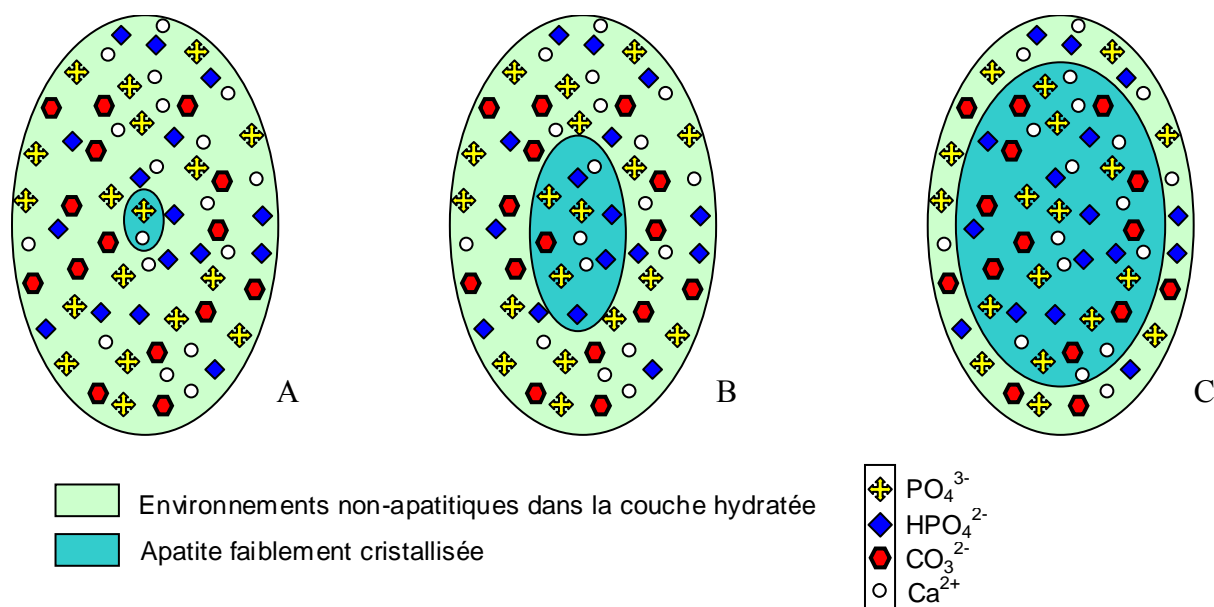


Figure 11. Représentation de l'évolution des environnements non-apatitiques et du cœur apatitique d'un nanocristal, au cours de la maturation d'une ANB [Eichert2001, Banu2005]

Les espèces ioniques qui vont réagir dans la solution mère sont principalement les ions orthophosphate (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$) et les ions Ca^{2+} (et carbonate CO_3^{2-} dans le cas de la synthèse d'ANB carbonatées). Les espèces ioniques précipitent sous forme d'apatite très faiblement cristallisée. Sur la Figure 11A, le centre correspond à la partie cristallisée, au cœur d'un cristal d'apatite qui précipite. Ce cœur est dit « cœur apatitique ». Dans la couche hydratée formée autour du cœur apatitique, les espèces ioniques dans des environnements

chimiques non-apatitiques, sont plus désorganisées, et très mobiles. Cette couche n'est pas thermodynamiquement stable. Par conséquent, au fur et à mesure du vieillissement du précipité en solution, à la surface du cœur apatitique, les espèces non-apatitiques évoluent, et l'apatite se développe en une apatite présentant un meilleur état de cristallinité, plus proche de la stœchiométrie [Cazalbou2004a] (Figure 11C). Ainsi, le cœur apatitique, plus stable, croît au détriment de la couche hydratée. En disparaissant, la couche hydratée (siège des échanges ioniques) responsable de la forte réactivité de surface des ANB, voit sa capacité d'échange s'amenuiser. Bien que les possibilités de substitution dans la couche hydratée ne soient pas encore totalement connues, elles sont nettement plus importantes dans la couche hydratée que dans le cœur apatitique [Rey2006].

Il faut noter que dans la solution de départ, les contre-ions et les ions réactifs excédentaires sont toujours présents lors de la maturation du précipité. En plus de la température et du pH des solutions qui précipitent, la nature des contre-ions a également un impact potentiel sur l'avancement de la maturation, et donc sur l'état cristallin. Certains peuvent inhiber la croissance cristalline des phosphates de calcium [Campbell1991] (les ions Mg^{2+} ou pyrophosphate $P_2O_7^{4-}$ par exemple), ou l'accélérer (ex : les ions F^-) [Legeros1994].

I.2. Méthodes de mise en forme et de frittage des céramiques

Le procédé d'élaboration d'une céramique passe généralement par trois étapes principales : la synthèse de poudre, la mise en forme et enfin le frittage. Cette dernière étape consiste à densifier le matériau via un traitement thermique adapté à la composition initiale de la poudre.

I.2.1. La mise en forme

La mise en forme d'une céramique est indépendante et préalable au procédé de frittage. La géométrie ainsi que l'architecture de la pièce céramique sont déterminées au cours de cette étape. Les deux principales voies classiques de mise en forme de céramiques sont le pressage et le coulage en barbotine. D'autres voies se sont développées au cours de ces dernières années, telles l'injection ou les techniques de prototypage rapide par exemple. Le choix de la méthode dépend des dimensions et de la complexité de la pièce.

La mise en forme de l'HA dense se fait par des procédés classiques : coulage de suspension [Yasuda2000], pressage uni-axial [Slosarczyk1996] ou pressage isostatique [Van Landuyt1995]. Ce dernier permet l'obtention d'une bonne densité à cru et donc de bonnes propriétés mécaniques.

Quelle que soit la méthode de mise en forme, la tenue mécanique est dépendante de la porosité.

I.2.2. Le principe du frittage

Le frittage est un procédé de consolidation d'une poudre (matériau granulaire non cohésif) par acquisition de cohésion entre les grains avec la température. Le milieu devient un matériau cohésif, en même temps qu'il organise la microstructure (taille et forme des grains, taux et nature de la porosité, ...) [Boch2001]. Dans le cas des céramiques phosphocalciques, la microporosité est aussi corrélée à la température de frittage : plus la température de frittage est faible, plus la microporosité sera importante [Wilson2006].

Il existe deux formes de frittage, en phase liquide ou en phase solide en fonction des conditions de réaction. Le frittage en phase liquide est un procédé d'élaboration de poudres ayant au moins deux constituants. Ils doivent former un eutectique « basse » température qui, à la température de frittage, conduit à la présence d'une phase liquide [Chaix1993, German1996] qui permet le réarrangement des grains et la formation de ponts entre les grains afin d'assurer la densification du matériau. Dans le cas du frittage en phase solide, il n'y a

fusion d'aucun des constituants de la poudre de départ au cours du cycle thermique. La consolidation a lieu par diffusion de matière essentiellement à l'état solide.

Le cycle de frittage a une influence décisive aussi bien sur la densité finale obtenue que sur la microstructure, c'est-à-dire la taille des grains et la porosité, et par conséquent sur les propriétés du matériau compact.

Comme indiqué sur la Figure 12, l'étape de frittage peut être réalisée selon divers procédés. D'un point de vue technologique le frittage naturel se distingue du frittage assisté. Dans le premier cas le frittage est effectué par activation thermique seule, sans contrainte mécanique (chauffage sous air ou sous atmosphère contrôlée). Sa mise en œuvre est simple mais nécessite souvent des températures élevées qui peuvent entraîner une croissance granulaire importante et ainsi limiter l'élimination de la porosité. Dans le second cas, le frittage est effectué sous charge (sous charge uniaxiale ou sous pression isostatique) en appliquant une pression extérieure simultanément au chauffage. Ce dernier cas est particulièrement utilisé pour les matériaux difficiles à fritter ou pour obtenir des densités proches de la densité maximale théorique [Bernache-Assollant2005], car l'effet combiné de la température et de la pression prévient une croissance granulaire trop importante.

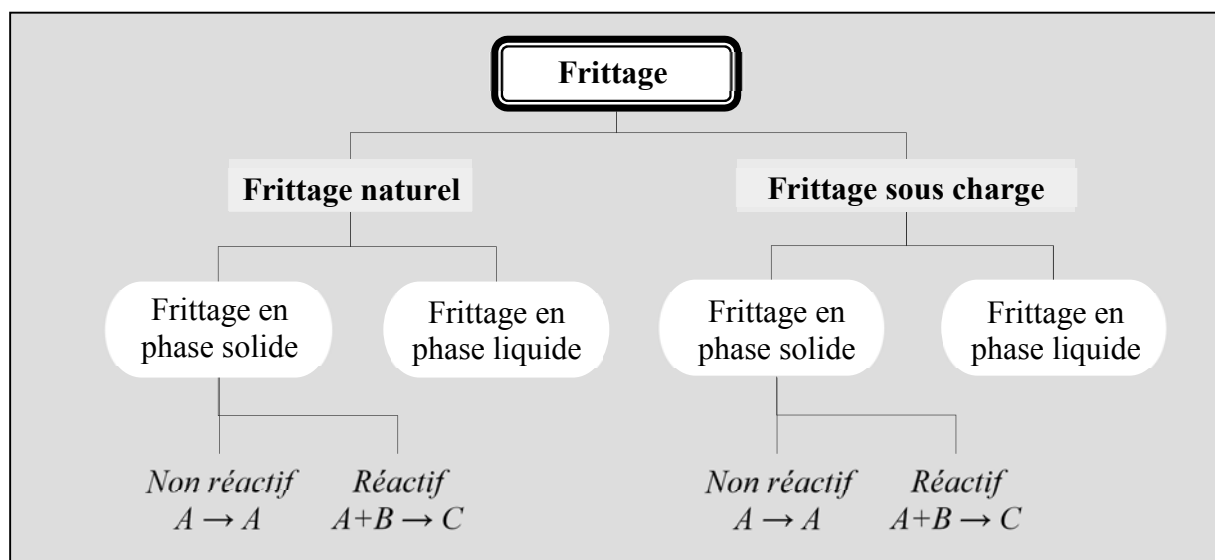


Figure 12. Les différents types de frittage [Bernache-Assollant2005]

Le frittage sous charge engendre un produit dense en combinant deux opérations : une montée et un palier de température, ainsi qu'une mise sous pression.

L'HA est thermodynamiquement très stable. Sa décomposition thermique n'intervient qu'à des températures élevées (1300°C) en l'absence de vapeur d'eau. Du fait de cette très grande stabilité thermique, des céramiques à base d'HA peuvent être élaborées par frittage naturel, sans décomposition thermique, au environ de 1200°C [Raynaud2002].

La technique de pressage à chaud, utilisée par plusieurs auteurs [Halouani1994, Raynaud1997] permet d'abaisser légèrement la température de frittage et de limiter la croissance des grains, même si les propriétés mécaniques ne sont pas véritablement modifiées.

I.2.3. Mise en forme et consolidation des apatites nanocristallines biomimétiques

Nous avons pu voir précédemment, que les méthodes traditionnelles de frittage nécessitent de chauffer à « haute » température (typiquement avec un palier au-delà de 1000°C) ce qui n'est pas envisageable dans le cas des ANB, puisqu'il est indispensable de minimiser la dégradation de la couche hydratée très sensible à la température. A la fin des années 90, Donazzon [Donazzon1998] a utilisé la voie des ciments, qui est une méthode de consolidation à basse température, afin de mettre en forme les apatites non-stœchiométriques. Toutefois, les propriétés mécaniques obtenues sont très médiocres.

Dans le but d'élaborer une céramique massive possédant la bioactivité des ANB, il ne semblerait pas déraisonnable d'envisager de mettre à contribution la mobilité ionique de surface pour une consolidation à relativement « basse » température (pour le domaine des céramiques), typiquement inférieure ou égale à 300°C, afin de maintenir au maximum l'intégrité de la couche hydratée contenant des environnements labiles non-apatitiques. Il serait alors possible d'imaginer que la réactivité de surface des ANB soit conservée au moins en partie, après consolidation.

1.2.3.a. Mise en forme puis consolidation par frittage sous charge à basse température

En se rapprochant davantage des conditions du frittage sous charge, Banu [Banu2005] a tenté de consolider les ANB en utilisant leur réactivité ionique de surface.

Dans un premier temps, les essais de compaction à froid suivis d'un chauffage à très « basse » température (50°C et 100°C) n'ont pas permis de fritter la poudre d'apatite.

Dans un second temps, les essais de traitement thermique à l'air (précédés d'un préchauffage entre 200°C et 600°C, et d'une étape de compaction à froid) à des températures beaucoup plus élevées (> 700°C) ont conduit à la décomposition des apatites (Ca/P < 1,5) en céramiques biphasiques (β -CPP et β -TCP). Ce frittage à « haute » température, se rapprochant des conditions de frittage naturel couramment utilisées pour réaliser des céramiques de phosphate de calcium denses ou poreuses, ne permet pas de conserver la structure des apatites non-stœchiométriques. L'autre point négatif est la dégradation de la couche hydratée dès $T \approx 200^\circ\text{C}$.

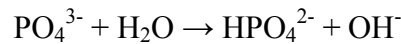
Suite à ces résultats, Banu a mis en place un procédé qui rappelle celui de la méthode de frittage par pressage à chaud, mais réalisé à « basse » température : les apatites nanocristallines non-stœchiométriques sont chauffées sous pression (75MPa) à 150°C. Bien que les céramiques obtenues aient une densification très faible ($\rho_{\text{relative}} = 0,56$), le matériau obtenu est essentiellement apatitique et cohésif avec de bonnes propriétés mécaniques ($\sigma_{\text{compression MAX}} = 147 \text{ MPa}$, $E = 11 \text{ GPa}$), en comparaison avec celles de l'os cortical (Tableau 4, p27).

L'eau contenue dans la couche hydratée à la surface des cristallites semble avoir un rôle prépondérant dans la consolidation des apatites nanocristallines. C'est l'effet de la mise sous charge en continu qui favorise le contact et la mobilité ionique entre les cristallites. Ce phénomène a été décrit comme une « fusion cristalline ».

Néanmoins une décomposition partielle de l'apatite nanocristalline entraîne la formation de monétite et d'hydroxyapatite stœchiométrique sous l'effet de la pression. Ce phénomène rappelle la décomposition du phosphate octocalcique (OCP) selon l'équation chimique proposée par Brown [Brown1957, 1962b] :



La taille des cristallites augmente également sous l'effet de la température et la couche hydratée est altérée, en faveur des domaines apatitiques, en raison de la réaction d'hydrolyse interne des PO_4^{3-} en présence d'eau résiduelle selon la réaction suggérée par Heughebaert [Heughebaert1977] :



Par conséquent, les travaux de Banu [Banu2005] ont montré que la consolidation des apatites nanocristallines non-stœchiométriques était envisageable à « basse » température et sous pression. Afin de modérer l'altération de la couche hydratée et ainsi conserver la réactivité de surface des nanocristaux, les conditions de traitement (alliant mise sous charge et traitement thermique à basse température) doivent résulter d'un compromis entre l'élimination de l'eau de la couche hydratée et la mobilité des espèces non-apatitiques.

Dans cette optique, Drouet [Drouet2006] s'est intéressé à la méthode de frittage flash par *Spark Plasma Sintering*, ou SPS.

I.2.3.b. Frittage flash ou Spark Plasma Sintering (SPS)

Ce procédé non conventionnel permet la densification rapide d'un matériau grâce à la combinaison d'une pression et de trains de courant électrique (pulses). Il présente également l'avantage d'autoriser des vitesses de montée et de descente en température et/ou pression très rapides. Des travaux préliminaires antérieurs [Drouet2006, 2009] ont montré que contrairement à la consolidation par pressage uniaxial à chaud réalisée à basse température [Banu2005], la consolidation par *SPS* à basse température ($\leq 200^\circ\text{C}$), dans les conditions mises en œuvre par les auteurs, présente les avantages suivants :

- la non-stœchiométrie des nanocristaux d'apatite est préservée,
- la résistance mécanique est qualitativement élevée,
- la couche hydratée est moins altérée,
- l'augmentation des dimensions nanométriques des cristallites est notablement inférieure,

- la perte d'eau est inférieure,
- aucune phase secondaire n'est détectée.

En conséquence, la forte mobilité ionique de surface est non seulement une caractéristique essentielle des apatites nanocristallines non-stœchiométriques biomimétiques (ANB), en terme de bioactivité, mais aussi une particularité qui conduit à un processus de consolidation malgré des températures faibles limitant les phénomènes d'activation thermique. La technique *SPS* de frittage/consolidation laisse ainsi présager l'élaboration de nouvelles céramiques biocompatibles, résorbables et présentant potentiellement une forte bioactivité, contrairement à l'HA.

I.3. Objectifs de notre étude

L'objectif de ce travail a donc été de consolider un matériau présentant de fortes similitudes avec la phase minérale de l'os du point de vue de la structure faiblement cristallisée, composé de cristaux de taille nanométrique, et de la composition physico-chimique ; dans le but de conférer, à terme, une réponse biologique qui mime le comportement du minéral osseux.

L'origine de la bioactivité est la présence d'environnements ioniques non-apatitiques identifiés à la fois dans les apatites biologiques et dans les apatites nanocristallines biomimétiques (ANB) de synthèse. Il s'agit d'espèces ioniques mobiles organisées au sein d'une couche phosphocalcique, hydratée, à la surface d'un cœur apatitique, qui confère au matériau une grande réactivité de surface. Des études antérieures menées au sein du laboratoire CIRIMAT [Cazalbou2000, Eichert2007, Drouet2008] ont montré que les espèces ioniques de la couche hydratée étaient capables de s'échanger avec des protéines ou d'autres espèces ioniques présentes dans les fluides environnants. Des réactions d'échange d'ions calcium d'une part et d'ions hydrogénophosphate d'autre part, ainsi que la réversibilité des échanges ont été testées. Il a été mis en évidence que les réactions d'échange ionique contre d'autres ions et/ou des macromolécules sont faciles et rapides. De plus les espèces restent échangeables tant qu'elles restent présentes dans la couche hydratée de surface [Eichert2007].

Cependant, lors du vieillissement en solution de ces apatites (appelé maturation), les espèces ioniques non-apatitiques s'organisent pour devenir thermodynamiquement plus stables et deviennent « progressivement apatitiques » en faisant croître le cœur apatitique (moins réactif), au détriment de la couche phosphocalcique hydratée. Parallèlement, la structure des nanocristaux évolue vers une plus grande stabilité qui s'accompagne d'une perte de solubilité. Cette évolution a des effets à la fois sur la composition chimique et la structure des ANB et par conséquent sur leurs propriétés [Eichert2007]. Ainsi, la capacité d'échange des ANB biomimétiques évolue avec la maturation.

Au cours de ce travail nous avons synthétisé des poudres d'ANB biomimétiques correspondant à des temps de maturation variés. Puis nous avons mis en œuvre un procédé de consolidation non-conventionnel (frittage flash ou *SPS*) visant à préserver au maximum les caractéristiques « biomimétiques » des ANB synthétisées. Afin de mieux appréhender les mécanismes de consolidation, l'impact du temps de maturation sur les ANB et ses conséquences sur le phénomène de consolidation, une caractérisation physico-chimique détaillée a été réalisée sur ces échantillons.

La première partie de ce travail porte ainsi sur la synthèse et la mise en œuvre de techniques de caractérisation physico-chimique qui nous ont permis de déterminer la composition chimique globale des ANB pour chaque temps de maturation, ainsi que les caractéristiques, physico-chimiques et thermodynamiques, principales des composés. Une étude approfondie par spectroscopie infrarouge a notamment été entreprise à ce stade.

Dans une deuxième partie, nous avons procédé à la consolidation des différentes poudres d'ANB par une méthode non-conventionnelle de frittage : le frittage flash (*SPS*). La composition chimique des échantillons consolidés a été évaluée de la même façon que pour les poudres initiales. La mise en parallèle des compositions et autres caractéristiques, avant et après traitement par *SPS*, nous a permis de mieux comprendre les phénomènes de consolidation lors du traitement par *SPS*.

Une étude de morphologie a par ailleurs été réalisée par microscope électronique à balayage à haute résolution, en mode cryogénique (cryo-MEB-FEG), pour chaque étape de conception des échantillons maturés, depuis la précipitation, jusqu'à la consolidation. Elle nous a permis de suivre l'impact de la maturation en solution, du séchage et de la consolidation sur la microstructure des céramiques d'ANB.

Chapitre II

CHAPITRE II : SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DES POUDRES D'ANB

PARTIE A.

Cette partie porte sur la synthèse (et la calcination dans le cas du matériau de référence) des poudres d'ANB. La précipitation en voie aqueuse est la voie de synthèse qui a été envisagée.

II.1. L'élaboration des poudres

II.1.1. La synthèse des apatites nanocristallines biomimétiques

Les analogues de synthèse du minéral osseux ont été obtenus par précipitation en voie aqueuse. Les réactifs de départ, utilisés pour la synthèse des poudres, sont le nitrate de calcium tétrahydrate $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck, qualité : pour analyses, pureté : 99 %), et l'hydrogénophosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Carlo Erba, qualité : pour analyses, pureté : 98 %). La mise en solution des précurseurs dans l'eau déionisée ne pose pas de problème de dissolution.

La précipitation [Drouet2009] se fait à température ambiante (environ 22°C), entre une solution aqueuse d'hydrogénophosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ à 0,6M) et une solution aqueuse de nitrate de calcium $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ à 0,3M). L'un des avantages de cette synthèse est dû aux concentrations utilisées des solutions de sels. Contrairement à la synthèse de l'HA réalisée par voie hydrothermale [Raynaud2002] dans des conditions stœchiométriques (rapport molaire des réactifs Ca/P = 10 / 6 \approx 1,67), la préparation des ANB est réalisée avec un large excès en ions phosphate (rapport molaire des réactifs Ca/P = 0,5), ce qui permet de tamponner le milieu de synthèse à un pH (7,2) proche de la valeur physiologique, sans ajout d'ions ou de molécules étrangères. De plus, cette voie de synthèse restreint l'apparition de phases étrangères au cours de la précipitation et limite les phénomènes de dissolution – reprécipitation.

La solution contenant les cations calcium (solution A, Figure 13) est versée manuellement, de façon rapide dans la solution contenant les anions phosphate (solution B, Figure 13). Après avoir agité quelques secondes pour assurer l'homogénéité, le pH de la solution est de 7,2, proche de la valeur du pH physiologique (7,4). Le précipité ainsi formé est vieilli en solution (maturation), à température ambiante, dans des récipients fermés pendant différentes durées déterminées, de 20 minutes à 3 semaines. Au terme de la maturation, le précipité est filtré sur büchner et rincé abondamment à l'eau déionisée, avant d'être séché par lyophilisation.

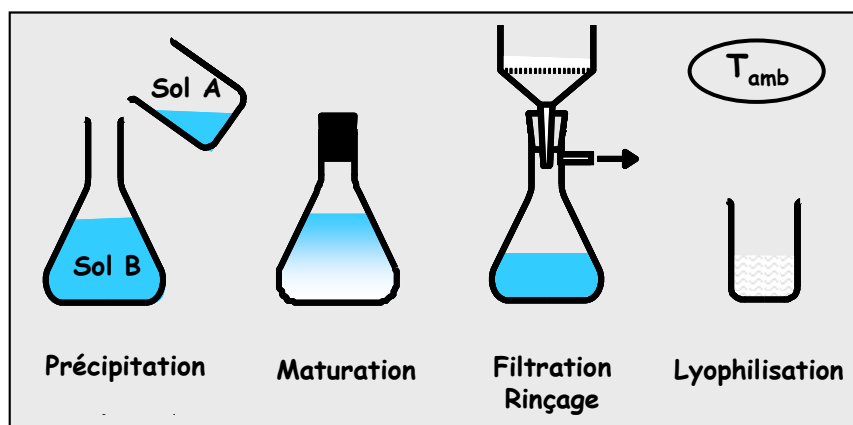


Figure 13. Schéma du déroulement de la synthèse des ANB

L'étape de lavage est très importante car il est nécessaire d'éliminer tous les ions phosphate en excès ainsi que les contre-ions présents dans les solutions de départ.

Le gel recueilli après filtration du précipité étant assez épais, il a été choisi de diviser la filtration sur 4 büchners (≈ 5 g de poudre d'ANB recueillie par büchner) et de laver avec 5L d'eau par büchner afin de favoriser l'élimination des espèces ioniques n'intervenant pas dans la composition de l'apatite ainsi synthétisée. Le mode de séchage par lyophilisation permet ensuite d'éliminer la majorité de l'eau non liée résiduelle tout en limitant les altérations de la couche hydratée présente sur les nanocristaux d'ANB.

Après lyophilisation, les poudres sont conservées au congélateur (-18°C) afin de modérer toute évolution. Un tamisage de la poudre permet de conserver les agglomérats de poudre de taille inférieure à $400\ \mu\text{m}$ ($\approx 80\%$ massique de la poudre synthétisée) qui seront utilisés pour la réalisation des céramiques et les différentes expérimentations.

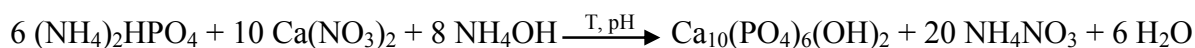
Les ions ammonium et les ions nitrate, respectivement pour les solutions de phosphate et de calcium, ont été choisis en raison de leur interférence négligeable avec le réseau apatitique. Il a été montré que ces ions ne pénètrent que très peu dans le réseau [LeGeros1984].

Comme évoqué dans le chapitre précédent (§ I.1.2.b), la composition chimique du minéral osseux varie en fonction des individus, de leur âge, des apports alimentaires, des facteurs génétiques ou environnementaux, et de l'état de maturation du minéral osseux. Dans le cas des ANB, le temps de maturation des ANB a une incidence directe sur l'étendue de la couche hydratée constituée d'espèces ioniques non-apatitiques labiles qui sont responsables de la grande réactivité de surface et de la capacité des ANB à évoluer [Cazalbou2004a].

Au cours de ce travail, des ANB synthétisées et maturées pendant différentes durées ont été analysées au moyen de différentes techniques de caractérisations physico-chimiques complémentaires afin de suivre l'effet de la maturation sur ces analogues de synthèse du minéral osseux.

II.1.2. La synthèse de l'hydroxyapatite stœchiométrique

L'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique (HA) est un matériau qui a été utilisé comme référence tout au long de ces travaux. Le laboratoire SPCTS maîtrise depuis longtemps sa méthode de préparation [Raynaud1999]. Comme pour la synthèse des ANB, la synthèse de l'hydroxyapatite stœchiométrique s'effectue par précipitation en voie aqueuse à partir d'une solution de nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma Aldrich, pureté : 99 %), et d'une solution d'hydrogénophosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Merck, pureté : 99 %). Mais contrairement à la synthèse des ANB, la précipitation de l'HA se fait en milieu basique, à pH égal à 8,5, et à 90°C suivant l'équation de réaction ci-dessous :



De plus la méthode de synthèse utilisée est de type « inverse » : Elle consiste à ajouter à débit contrôlé la solution de phosphate à la solution de calcium à pH et température réglés.

II.1.2.a. Le montage et le protocole de synthèse

La mise en solution des précurseurs de synthèse dans l'eau distillée se fait sans difficulté. Le schéma du montage de synthèse de l'HA est présenté à la Figure 14.

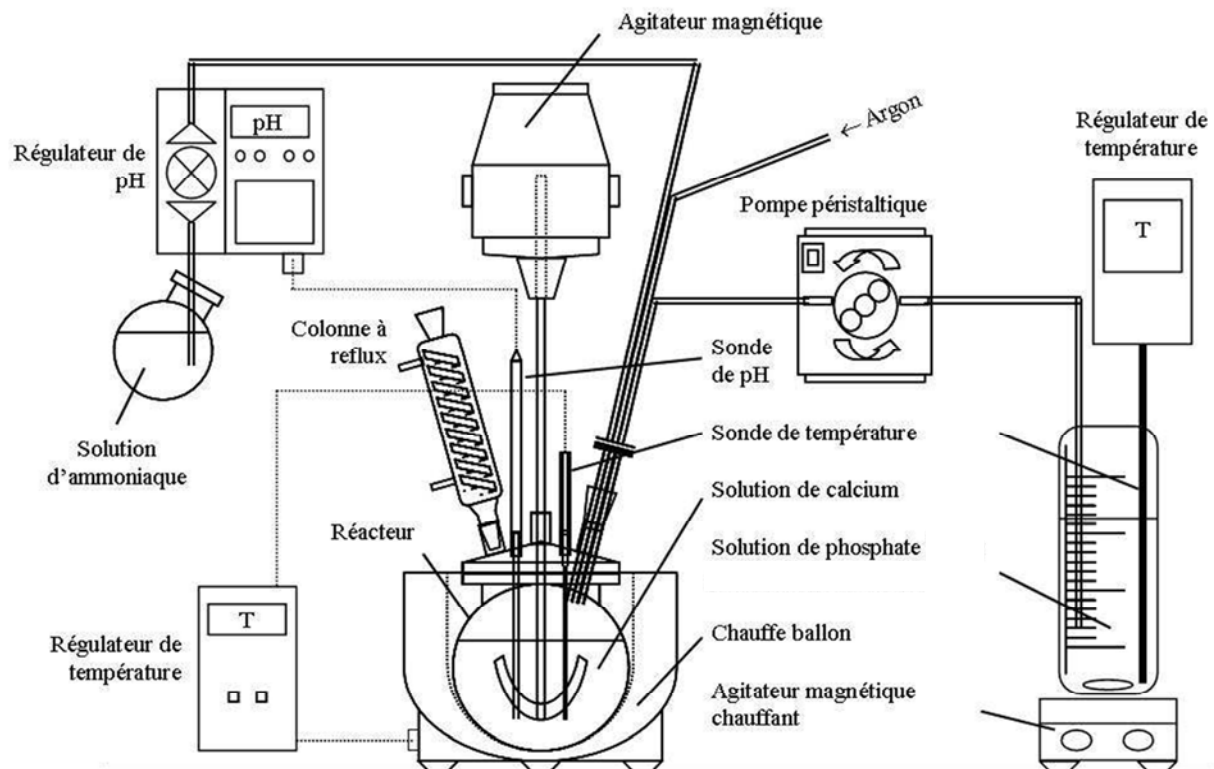


Figure 14. Dispositif de synthèse de l'hydroxyapatite par précipitation

La solution de nitrate de calcium est introduite dans le réacteur, puis chauffée, agitée (RZR 2102 Control, Heidolph) et maintenue à une température de consigne. Le contrôle de la température se fait à l'aide d'une sonde (Horst) plongeant dans la solution. La température est régulée par chauffe-ballon. Une colonne à reflux permet la recondensation des gaz émis durant la synthèse. Le pH du milieu réactionnel doit être maintenu constant à sa valeur de consigne. Il est contrôlé par un régulateur de pH relié à une pompe doseuse (Pompe gamma/L, ProMinent) permettant son ajustement par ajout automatique d'une solution d'ammoniaque NH_4OH à 3 mol.L^{-1} (Merck).

La solution contenant le précurseur de phosphate, placée dans un second réacteur, est également maintenue à une température de consigne *via* une plaque chauffante régulatrice munie d'une sonde de température (IKA Labortechnik). Afin d'éviter une éventuelle carbonatation des produits de synthèse, le réacteur est placé sous balayage d'argon. Lorsque les solutions de calcium et de phosphate ont atteint leur température de consigne, la solution

de phosphate est introduite à débit contrôlé dans le réacteur principal à l'aide d'une pompe péristaltique (Pumpdrive 5206, Heidolph). Après ajout complet, le mélange est maintenu sous agitation mécanique constante et balayage d'argon pendant le temps de maturation. Les régulations en température et en pH sont également maintenues durant cette période. A l'issue de la maturation, le précipité est récupéré par centrifugation (IEC CL40 Centrifuge, Thermo Scientific) à 2500 rpm pendant 5 min. Pour éliminer un maximum de résidus de synthèse, il est ensuite lavé deux fois à l'eau distillée. Le « gâteau » récolté est alors séché dans une étuve ventilée (Mettler) à 80°C pendant 24 h.

II.1.2.b. Les paramètres de synthèse de l'HA

De nombreux paramètres sont à contrôler lors d'une précipitation aqueuse car ce sont eux qui vont conditionner la nature et la qualité de la poudre :

- la température de réaction
- le pH de la réaction
- le temps de maturation
- les concentrations en réactifs
- le rapport molaire Ca/P en solution
- la vitesse d'introduction de la solution de phosphate
- l'atmosphère de la réaction

La concentration des solutions de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ sont identiques et égales à $0,6413 \text{ mol.L}^{-1}$. Les quantités de solution sont ajustées afin de conserver le rapport molaire Ca/P égal à $10/6 = 1,67$ qui correspond au rapport final de l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique. Ces conditions sont issues d'un précédent travail effectué au sein du laboratoire SPCTS [Raynaud2002].

La température du milieu réactionnel est régulée à $90,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ tandis que la solution phosphate est maintenue à $75,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Le pH du milieu réactionnel est fixé à $8,5 \pm 0,1$ et la vitesse d'addition du précurseur de phosphate est maintenue à $2,4 \text{ L.h}^{-1}$. Afin d'obtenir des composés monophasés, un temps de maturation de 90 min est appliqué. De plus, un débit d'argon à 30 L.h^{-1} et une vitesse d'agitation du milieu réactionnel à 120 rpm sont imposés tout au long de la synthèse.

PARTIE B.

II.2. La morphologie et la surface spécifique des ANB

II.2.1. La mesure de la surface spécifique

La surface spécifique des poudres est déterminée par la méthode B.E.T. (Brunauer-Emmett-Teller) d'adsorption d'azote à huit points (Analyzer Micromeritics ASAP2010). Par définition, la surface spécifique représente la surface totale par unité de masse du produit. Il s'agit donc de considérer toute la surface de chaque particule, porosité ouverte comprise.

Le cycle d'adsorption-désorption est réalisé grâce à la circulation d'un mélange gazeux He/N₂. Dans un premier temps, l'échantillon est refroidi à l'aide d'azote liquide. L'hélium permet alors de calculer le volume non occupé par l'échantillon dans le tube hermétiquement fermé (volume mort) et l'azote s'adsorbe à la surface de la poudre. Dans un second temps, le bain réfrigérant se retire et le tube est chauffé, ce qui entraîne la désorption du gaz de la surface de la poudre.

L'appareil, en fin de mesure, donne la valeur de la surface mesurée. La surface spécifique (S_{BET}) de l'échantillon est alors calculée selon l'équation suivante :

Surface spécifique (m²/g) = surface mesurée (m²) / masse de l'échantillon introduite pesée (g)

Nous avons vu précédemment, dans l'étude thermogravimétrique (II.3.3) que les pertes d'eau avaient lieu dès le début du chauffage à 30°C. L'eau évaporée à température ambiante est principalement de l'eau physisorbée à la surface des cristaux. Par conséquent elle ne peut être prise en compte dans la structure de l'ANB. Habituellement, une étape de dégazage est

réalisée au-delà de 200°C. Dans le cas des ANB, il y a risque d'altérer l'eau structurant la couche hydratée. Ainsi, avant d'effectuer les mesures comparatives entre les différents échantillons d'ANB avec des temps de maturation variés, le dégazage est réalisé sous vide à 33°C pendant 1 h. Les valeurs de surface sont ensuite obtenues à partir de la mesure de l'isotherme d'adsorption du diazote N₂.

Lorsque le temps de maturation de l'ANB augmente, la surface spécifique de l'ANB diminue (Tableau 7), néanmoins les valeurs restent très élevées. Dans le cas d'une hydroxyapatite, avant frittage, la surface spécifique de la poudre est d'environ 30 m²/g [Palard2007], par conséquent, les S_{BET} des ANB participent également à l'importante réactivité de surface de ces poudres.

Tableau 7. Surface spécifique des poudres d'ANB en fonction du temps de maturation

Temps de maturation	S _{BET} (m ² /g) ± 1
ANB 20 minutes	260
ANB 3 heures	203
ANB 1 jour	212
ANB 3 jours	191
ANB 5 jours	207
ANB 1 semaine	158
ANB 3 semaines	156

II.2.2. Les observations microscopiques

La morphologie des ANB a été étudiée en microscopie électronique à balayage (MEB) à haute résolution avec un canon à émission de champ (« field emission gun » ou FEG, JEOL 7400). La platine cryogénique haute résolution (Gatan Alto 2500), refroidie à l'azote liquide, dont est équipé le MEB-FEG nous a permis d'observer les précipités d'ANB directement dans le milieu de précipitation en cours de maturation. Nous nous sommes intéressés à l'influence de la maturation sur la morphologie, puis nous avons comparé la morphologie des poudres d'ANB mûries et lyophilisées. Les observations microscopiques de poudres ont été réalisées sans le système cryogénique du MEB-FEG.

II.2.2.a. Protocole de préparation des échantillons

Alors qu'en l'absence de la platine cryogénique, l'échantillon (poudre ou massif) est simplement fixé sur le porte échantillon avant d'être introduit dans la chambre d'observation, la platine cryogénique permet d'observer des échantillons hydratés, préalablement congelés. La préparation de l'échantillon hydraté consiste à prélever une goutte à l'aide d'une pipette pasteur et de la déposer sur le porte échantillon. L'échantillon est ensuite congelé et transféré sur un support refroidi à l'azote liquide. A cette température on sait que l'eau contenue dans l'échantillon ne peut pas être sublimée quel que soit le vide dans la chambre du microscope. Avant d'introduire l'échantillon dans la chambre d'observation sous vide, il est nécessaire de fracturer l'échantillon, avant de sublimer la glace de l'échantillon fracturé sur quelques nanomètres pour mettre en relief les structures. La sublimation de la glace est une étape délicate car si elle n'est pas suffisante, ou l'échantillon ne sera pas visible en surface ou il va s'effondrer au moment de l'observation, sous l'effet du faisceau d'électron qui va réchauffer la glace, squelette du précipité dispersé. Si la sublimation est trop importante, l'échantillon aura perdu l'organisation spatiale qu'il possède en milieu liquide.

II.2.2.b. Les observations dans le milieu de précipitation

Pour cette étude, nous avons procédé à un prélèvement directement dans le réacteur de préparation, et ce après divers temps croissants de maturation à 25°C. La Figure 15 reporte les micrographies de l'état du précipité entre 1 minute et 1 semaine de maturation.

Cette figure montre une évolution nette de la morphologie du précipité au cours de la maturation en solution. A notre connaissance, il s'agit des premières analyses cryo-microscopiques effectuées directement sur prélèvements liquides sur de telles apatites biomimétiques.

Après 1 minute de maturation, le précipité semble pouvoir être décrit comme un réseau tridimensionnel de nodules de type sphéroïde présentant un diamètre moyen de l'ordre de 15 nm, ces sphéroïdes tendant à s'organiser en pseudo-filaments ou « chaînes » relativement linéaires. Les nœuds de croisement, en forme de « patte d'oie », correspondent à la rencontre de 3 chaînes.

Il est à ce stade difficile d'identifier avec certitude ces sphéroïdes à un précipité apatitique ou à du phosphate de calcium amorphe. En effet, depuis longtemps, de nombreux auteurs [Terminé1966, Eanes1977] considèrent le phosphate de calcium amorphe comme un précurseur de l'apatite. C'est pourquoi nous avons synthétisé, par précipitation selon la méthode de Heughebaert, du phosphate tricalcique amorphe ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, ou TCP_{am}) [Heughebaert1977] que nous avons ensuite observé au MEB-FEG afin de comparer sa morphologie avec les nodules précédemment observés. Bien que le grossissement soit peu élevé, l'observation de la poudre lyophilisée de TCP_{am} montre des nodules de tailles variées (Figure 16).

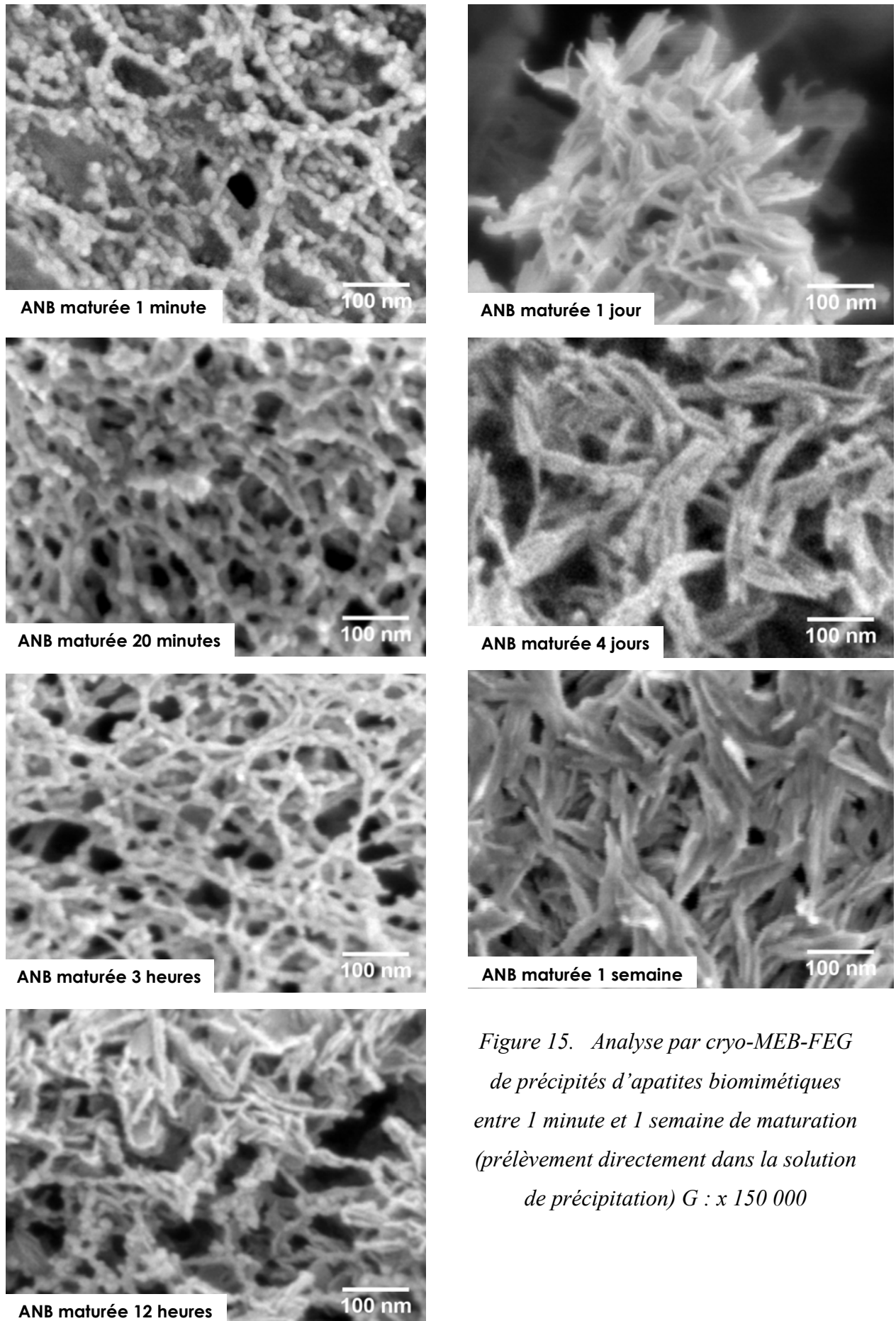


Figure 15. Analyse par cryo-MEB-FEG de précipités d'apatites biomimétiques entre 1 minute et 1 semaine de maturation (prélèvement directement dans la solution de précipitation) $G : \times 150\,000$

Une majorité des nodules du TCP_{am} semble avoir un diamètre de l'ordre de 20 nm (> Ø des sphéroïdes dans le précipité d'ANB mûré 1 et 20 minutes). L'organisation linéaire des nodules dans les précipités mûrés 1 et 20 min nous incite à éliminer l'hypothèse que l'eau prélevée avec le précipité et non sublimée soit à l'origine d'artefacts en forme de sphéroïdes. De plus, ces nodules disparaissent progressivement avec le vieillissement du précipité. Ils sont absents après t = 12 h. A t = 3 h, les sphéroïdes initiaux sont moins nombreux. Des filaments de diamètre moyen 10 nm semblent prendre leur place. Les nodules et/ou filaments sont organisés selon le réseau tridimensionnel initial. La distance entre 2 nœuds est inchangée (≈ 70 nm). Le diamètre des filaments, inférieur à celui des nodules, laisse penser à un réarrangement par réaction de dissolution / reprécipitation. A t = 12 h, les sphéroïdes ont laissé place quasi-totalement à un réseau tridimensionnel de particules allongées en forme d'aiguilles, avec une longueur moyenne de 70-80 nm et un diamètre moyen proche de 10 nm, soit légèrement inférieur au diamètre moyen des sphéroïdes initiaux. A t = 1 jour, le « réseau 3D » a disparu, des aiguilles indépendantes, de longueur 70-80 nm s'entrecroisent. Il est possible que les nœuds du réseau se soient rompus car la nouvelle longueur des aiguilles correspond à la distance qui séparait deux nœuds. A t = 4 jours, puis 1 semaine, les aiguilles précédentes sont clairement identifiables, elles présentent une longueur moyenne d'environ 100 nm et une largeur d'environ 7-8 nm, et semblent s'organiser en fagots. Par ailleurs, nos observations tendent à montrer que ces fagots d'aiguilles semblent eux-mêmes être appariés pour former des associations de fagots entre lesquels une zone d'interaction de type « gangue » semble présente.

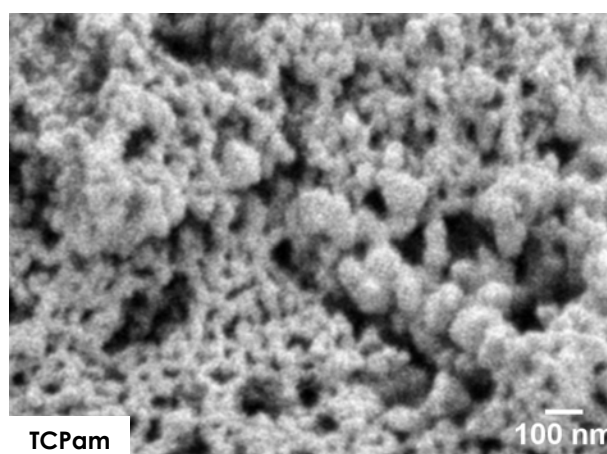


Figure 16. Observation MEB-FEG de la poudre de phosphate tricalcique amorphe ($Ca_3(PO_4)_2$, ou TCP_{am}), G : x 60 000

La Figure 17 donne une représentation schématique de l'évolution du précipité. La taille moyenne des sphéroïdes (visualisables sur les étapes 1 et 2) est du même ordre de grandeur que la taille moyenne des cristallites estimées à partir des données de DRX (Tableau 10) suggérant probablement une identification des sphéroïdes à des cristallites individualisées. En revanche, pour des temps de maturation plus longs, les aiguilles observées (étapes 3 et 4) présentent une longueur moyenne proche de 100 nm, et cette dimension apparaît alors notablement supérieure à celles des cristallites individuelles. On peut alors présumer la formation de particules polycristallines faisant intervenir des cristallites en forte interaction (agglomération).

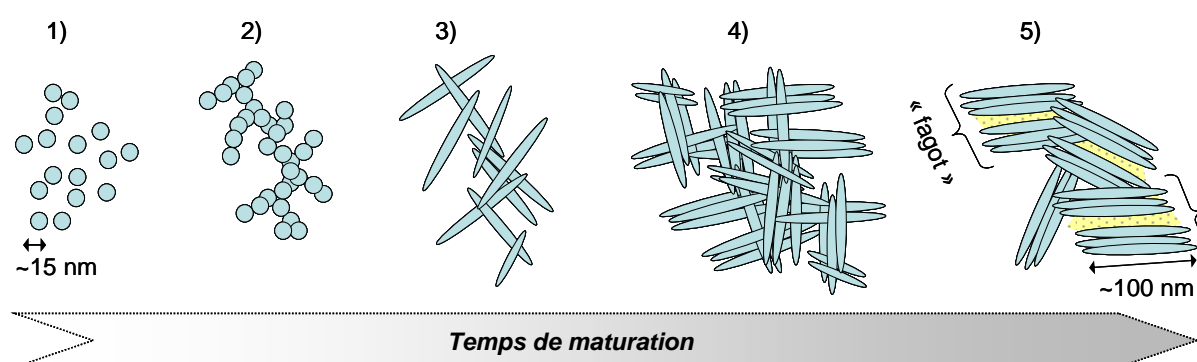


Figure 17. Représentation schématique de nos observations en cryo-microscopie pendant la maturation (à 25°C) d'apatites biomimétiques

Nous avons étudié l'effet de la dilution du milieu de précipitation sur l'aspect général du précipité. Les mêmes conclusions morphologiques ont été tirées. En particulier, la présence de fagots d'aiguilles en interaction (étape 5) est toujours observée, formant alors des îlots plus dispersés dans l'eau.

II.2.2.c. Les observations des ANB après lyophilisation

La Figure 18 montre la morphologie des ANB après lyophilisation du précipité. La lyophilisation stoppe le processus de maturation dans le milieu réactionnel. Les mêmes caractéristiques morphologiques que dans le milieu réactionnel sont observées. Cela tend à indiquer qu'il s'agit bien de l'état réel du système apatitique en présence.

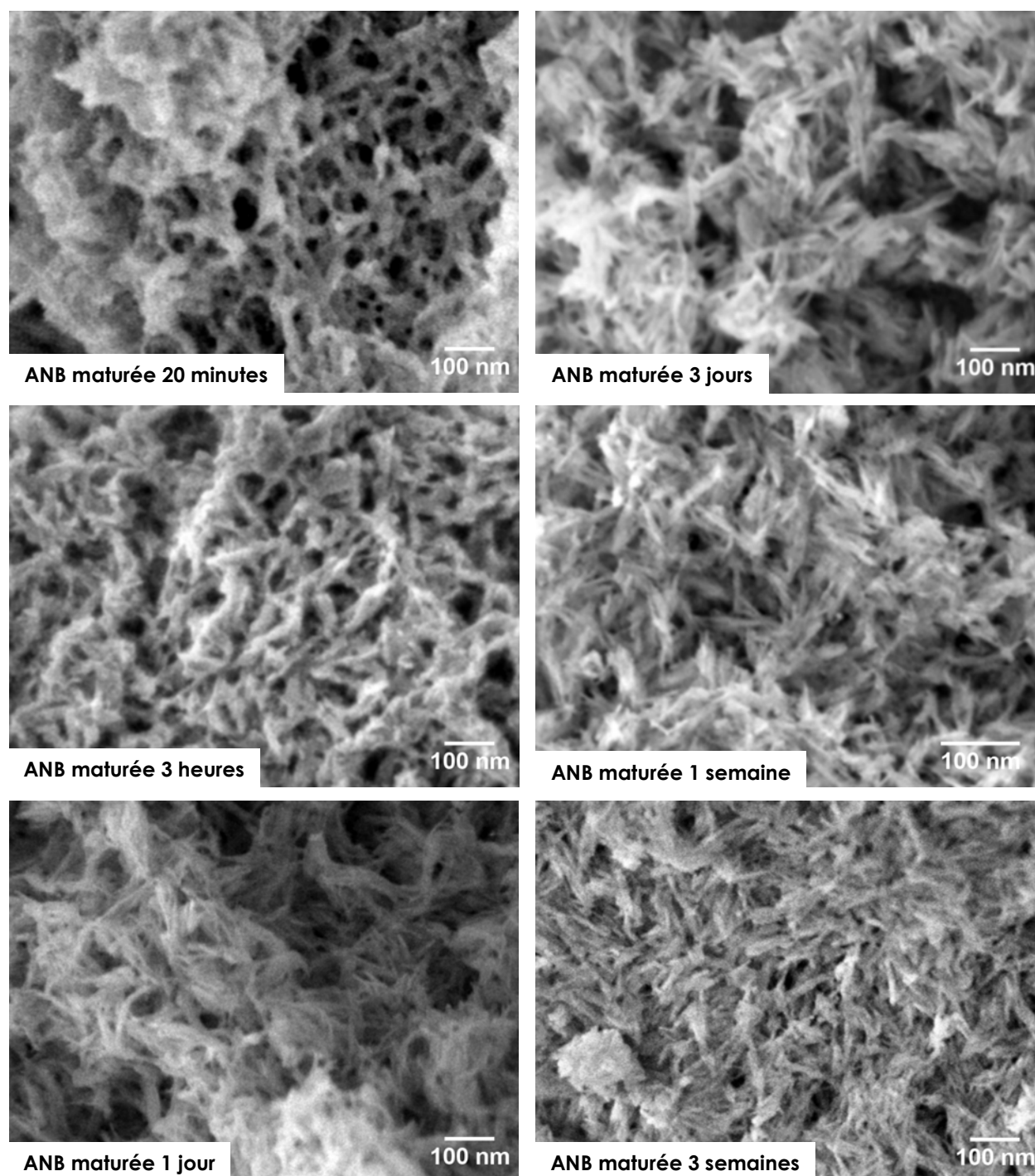


Figure 18. Analyse par MEB-FEG de poudre d'apatites biomimétiques lyophilisées, entre 20 minutes et 3 semaines de maturation $G : \times 100\,000$

II.3. La caractérisation des poudres

II.3.1. La diffraction des rayons X appliquée aux poudres synthétisées

Les poudres d'ANB préparées avec différents temps de maturation ont été étudiées par diffraction des rayons X (DRX). Dans ce cas, la poudre est considérée comme un composé avec un grand nombre de cristallites orientées de façon aléatoire les unes par rapport aux autres. Les cristallites de la famille de plan (hkl) répondant à la condition de Bragg vont diffracter.

Les diffractogrammes sur poudres sont acquis avec la radiation $K\alpha$ du cuivre. Les phases en présence sont identifiées par comparaison avec les références du fichier *International Center for Diffraction Data – Powder Diffraction Files* (ICDD-PDF) sur le logiciel EVA (Brüker AXS).

★ **Analyse DRX sur la poudre brute d'hydroxyapatite stœchiométrique**

Les diffractogrammes de la poudre d'HA, avant et après calcination, sont acquis dans l'intervalle $[29^\circ - 64^\circ]$. Les conditions d'acquisition des diffractogrammes sont indiquées dans le Tableau 8.

Tableau 8. Appareillages et conditions d'acquisition des diffractogrammes, obtenus pour la poudre d'HA synthétisée sur le réacteur, avant et après calcination

Conditions	poudre brute	poudre calcinée pendant 15h à 1000°C
diffractomètre $\theta/2\theta$	Siemens D5000	Brüker D8 Advance équipé d'un monochromateur avant
$CuK\alpha_1/K\alpha_2$	1,54056 Å / 1,54439 Å	1,5406 Å
pas	0,05°	0,021°
temps de comptage	4s	2s

La Figure 19A présente le diffractogramme de la poudre brute d'hydroxyapatite stœchiométrique synthétisée dans le réacteur. Tous les pics ont été identifiés comme appartenant à la structure cristalline de l'hydroxyapatite (fiche ICDD-PDF n° 09-0432). Les

pics de diffraction possèdent des largeurs à mi-hauteur (*Full Width at Half Maximum* ou FWHM) larges et sont mal définis, ce qui correspond à un faible état de cristallinité. De plus selon les directions des plans cristallographiques (perpendiculaire ou parallèle à l'axe « c » de la structure apatitique), les FWHM ne sont pas identiques. Ce phénomène peut être lié à la croissance préférentielle des cristallites selon un axe (anisotropie des grains).

La poudre d'hydroxyapatite brute, en sortie du réacteur, est constituée d'une apatite monophasée mal cristallisée.

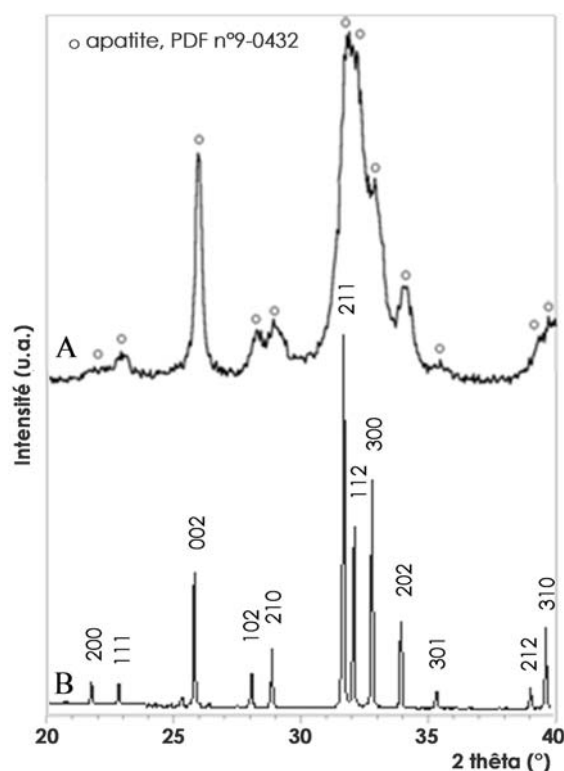


Figure 19. Diagramme DRX de la poudre d'HA brute issue de la synthèse sur le réacteur (A) et cristallisée après calcination pendant 15h à 1000°C (B)

Afin de vérifier la pureté du précipité, il est nécessaire d'effectuer des analyses complémentaires. Une calcination à 1000°C pendant 15h permet d'améliorer l'état de cristallinité de la phase apatitique. Ce traitement est préconisé par la norme AFNOR ISO 13779-3 [AFNOR2008] afin d'identifier les phases cristallines présentes dans les matériaux dont le rapport molaire Ca/P est compris entre 1,500 et 1,667 [AFNOR2008]. La Figure 19B montre le diffractogramme du produit de synthèse de l'hydroxyapatite préparée dans les conditions stœchiométriques, après calcination. Tous les pics sans exception peuvent être indexés avec la fiche PDF 09-0432 de l'hydroxyapatite. Il s'agit d'un composé monophasé.

Les pics fins et très bien définis correspondent à l'hydroxyapatite pure très bien cristallisée. Cette hydroxyapatite sera utilisée comme matériau de référence pour la suite des travaux.

★ **Analyse des précipités d'apatite nanocristalline biomimétique (ANB) après maturation**

Les acquisitions des diffractogrammes ont été réalisées à plus haute résolution afin d'amplifier le signal et de minimiser le bruit de fond. L'appareillage utilisé est un diffractomètre Brüker D8 Advance (Cu $K\alpha_1$ 1,5406 Å), équipé d'un monochromateur. Les paramètres d'acquisition sont mentionnés dans le Tableau 9.

Tableau 9. Conditions expérimentales pour l'acquisition des diffractogrammes RX des poudres d'ANB

Plage angulaire 2θ (°)	Pas en 2θ (°)	temps de pause (s)
20,00 – 3,98	0,021	2
36,99 – 66,97	0,021	2,7
66,99 – 90,00	0,021	5

Tous les précipités obtenus fournissent des diffractogrammes similaires (Figure 20). Quel que soit le temps de maturation du précipité dans la solution, toutes les raies sont identifiées sur la fiche PDF 09-0432 correspondant à l'hydroxyapatite. Les profils montrent cependant des raies larges et mal résolues. Les profils de diffraction obtenus sont caractéristiques des profils de diffraction collectés à partir d'apatites biologiques telles que la partie minérale de l'os [Eichert2007]. La diffraction des rayons X indique que les précipités d'ANB obtenus sont constitués d'apatite faiblement cristallisée (comme le minéral osseux) et exempte de phase cristalline étrangère détectable.

En plus de la détermination de la pureté du composé, le profil des raies de diffraction des rayons X permet également d'obtenir des informations sur la structure et la microstructure du matériau :

- informations structurales : paramètres de maille, groupe d'espace
- informations microstructurales : taille de grains, contraintes, texture

En effet, sur le profil de diffraction, la variation de l'intensité diffractée est fonction de l'angle de Bragg (θ), ainsi chaque raie donne accès à 3 informations distinctes :

→ l'intensité intégrée, combinée à la position des raies, est utilisée pour l'identification des phases cristallines. L'intensité intégrée est liée à la position des atomes dans la maille (via le facteur de structure F_{hkl}), à l'angle de diffraction θ et à la quantité de cristallites pouvant diffracter, c'est-à-dire de domaines cohérents de diffraction. Les cristallites qui diffractent sont elles-même fonction de l'orientation préférentielle des grains (ou texturation).

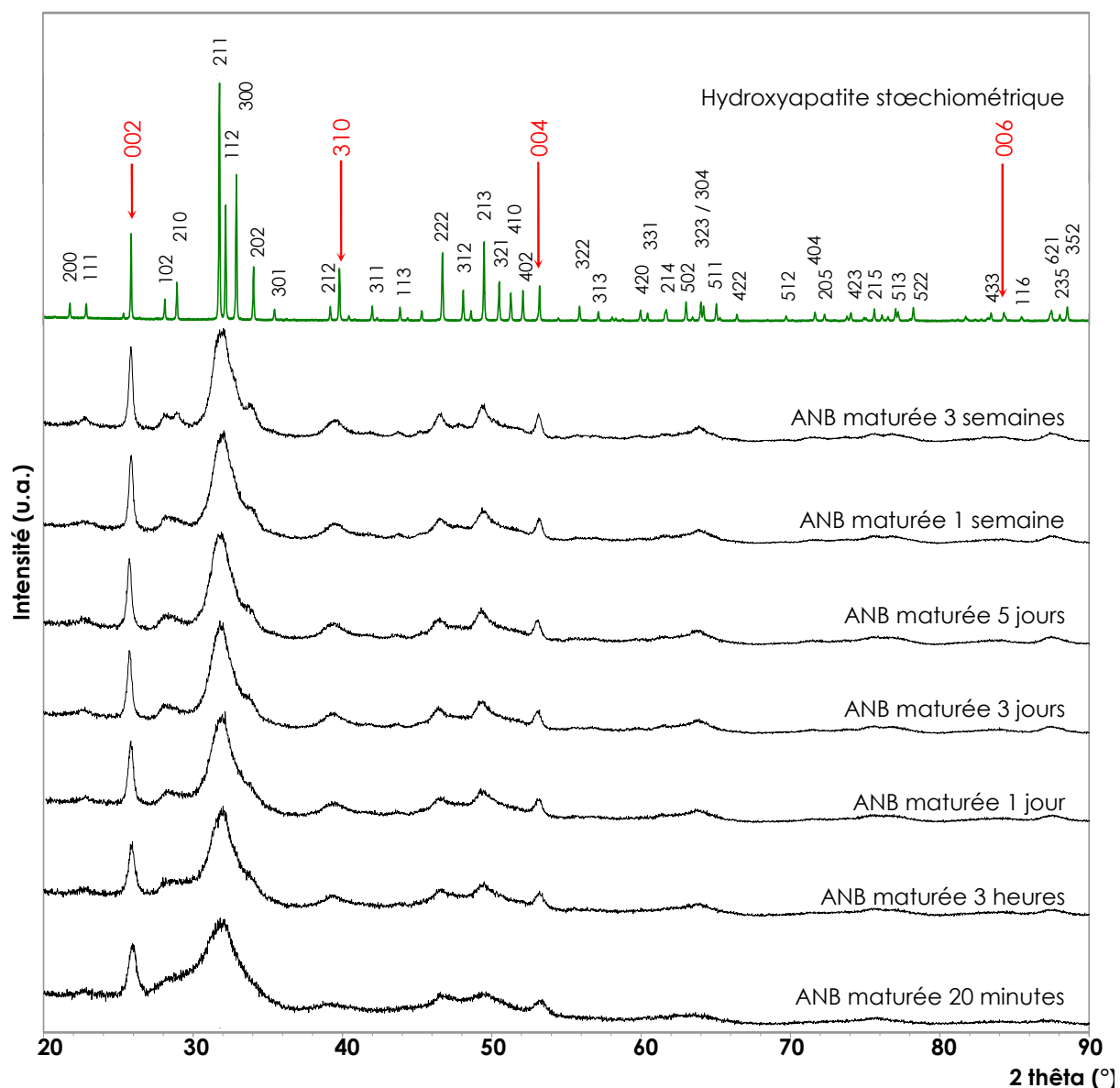


Figure 20. Diffractogrammes d'apatites ANB en fonction de la maturation

Dans le cas des apatites faiblement cristallisées, la FWHM importante des raies crée de nombreuses juxtapositions de raies. Ainsi, les raies très larges observées sont multiples, c'est-à-dire qu'elles correspondent à plusieurs contributions, ce qui rend la détermination de l'intensité de chaque raie peu exploitable et l'interprétation des résultats particulièrement imprécise.

→ la position donne des informations structurales sur le groupe d'espace (SG) et les paramètres cristallographiques de maille ($a, b, c, \alpha, \beta, \gamma$) ;

Les apatites, et notamment l'hydroxyapatite, ont une structure cristalline hexagonale (§ I.1.4.e). Etant donné les profils de raies obtenus pour les apatites faiblement cristallisées synthétisées, nous pouvons considérer que leur structure cristallographique est également hexagonale avec le groupe spatial $P6_3/m$ [Elliot1994].

→ la largeur à mi-hauteur des pics (*Full Width at Half Maximum* ou FWHM) est liée à l'instrumentation, et est sensible à la périodicité du réseau cristallin. Elle dépend de l'inverse de la taille des cristallites, et de l'existence de micro-contraintes (présence de lacunes et décalage des atomes par rapport à la position apatitique, générant des distorsions dans la périodicité). Dans le cas de particules nanométriques, la FWHM est majoritairement reliée à la contribution de la taille des cristallites.

Une estimation de la dimension moyenne des cristallites peut alors être déterminée en première approximation, à partir de la largeur à mi-hauteur des raies. La raie (002) et la raie (310) (partiellement superposée à la raie (212) de plus faible intensité), sont généralement exploitées (Figure 20). Elles renseignent respectivement sur la dimension des cristallites le long de l'axe « c » de la maille hexagonale (raie (002)) et dans une direction perpendiculaire à celui-ci (raie (310)). Les diffractogrammes ont été ajustés en mode *pattern matching*, (c'est-à-dire en tenant compte sur diffractogramme complet, mais sans préciser la position des atomes) à l'aide du logiciel JANA2006.

Des informations telles que les paramètres de maille (a et c), la position des raies et leur largeur à mi-hauteur ont alors pu être ajustées.

- Estimation des dimensions des cristallites, selon le modèle de Scherrer

En supposant que les micro-contraintes sont négligeables, la formule de Scherrer (Equation (1)) [Scherrer1918] permet d'estimer la dimension des domaines cristallisés dans une direction perpendiculaire au plan de diffraction (hkl) donné :

$$\text{Equation (1)} \quad \beta^* = \frac{K \cdot \lambda}{L_{\text{hkl}} \cdot \cos(\theta_{\text{hkl}})} = \sqrt{\beta^2 - \beta_0^2}$$

avec :

L_{hkl} : taille apparente dans la direction perpendiculaire au plan de diffraction (hkl) (Å)

K : constante de Scherrer - K = 0,94 (considérant, en première approximation, la poudre formée de grains sphériques avec une orientation aléatoire)

λ : longueur d'onde du rayonnement X ($\lambda_{\text{CuK}\alpha 1} = 1,5406 \text{ \AA}$)

θ_{hkl} : angle de diffraction correspondant à la raie (hkl) considérée (°)

β^* : largeur à mi-hauteur corrigée de la raie (hkl) (rad)

β : largeur à mi-hauteur mesurée de la raie (hkl) (rad)

β_0 : largeur à mi-hauteur (FWHM) mesurée de la raie (hkl) d'une hydroxyapatite bien cristallisée (rad) et constitué de cristaux de taille nanométrique

De façon générale, les différents travaux sur les apatites nanocristallines biomimétiques montrent que les nanocristaux en forme d'aiguille ont une longueur et un diamètre moyens compris respectivement entre 200 - 400 Å et entre 20 - 80 Å [Eichert2007]. D'autre part, Eichert s'est intéressée aux dimensions des nanocristaux appartenant à différents spécimens de minéral osseux (Tableau 10) [Eichert2001].

Les valeurs obtenues dans le Tableau 10, et illustrées sur la Figure 21B confirment le caractère nanocristallin des ANB synthétisées, ainsi que la forme allongée des cristallites. Avec l'augmentation du temps de maturation, les valeurs calculées à partir de la formule de Scherrer, témoignent d'une augmentation de la longueur et de l'épaisseur des cristallites des

ANB synthétisées. La croissance est très rapide le premier jour et ralentit ensuite selon une fonction sensiblement logarithmique.

Tableau 10. Dimensions apparentes des cristallites des ANB en fonction du temps de maturation et pour quelques apatites biologiques

	L(002) $\sigma = 4 \text{ \AA}$	L(310) $\sigma = 1 \text{ \AA}$
ANB maturée 20 minutes	143	19
ANB maturée 3 heures	165	31
ANB maturée 1 jour	211	35
ANB maturée 3 jours	237	43
ANB maturée 5 jours	260	44
ANB maturée 1 semaine	267	46
ANB maturée 3 semaines	319	58
os de poulet [Eichert2001]	207	66
os de lapin [Eichert2001]	190	Non Evaluée
os humain d'un adulte [Eichert2001]	213	72

La Figure 20 montre très bien que même après 3 semaines de maturation, les raies des RX restent très larges. Néanmoins, avec l'augmentation du temps de maturation, la définition des raies s'améliore (Figure 21A) : la diminution des FWHM des raies suggère une amélioration de la cristallinité et/ou une augmentation de la taille moyenne des domaines cohérents et/ou une diminution des microcontraintes.

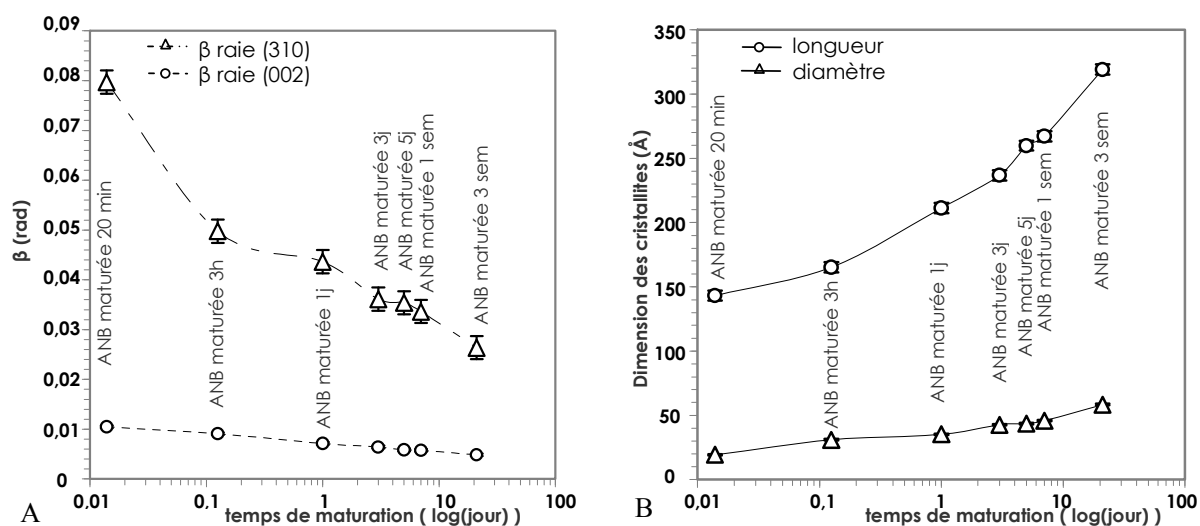


Figure 21. Evolution, selon la formule de Scherrer, de la FWHM des raies (310) et (002) (A) et de la taille des cristallites (B)

Nous considérons que la largeur des raies de l'HA stœchiométrique cristallisée (calcination à 1000°C – 15 h) est liée à l'incertitude de l'appareillage. Ainsi, pour écarter les erreurs liées à cette incertitude, chaque largeur de raie de l'HA a été soustraite à la largeur de raie correspondante de l'ANB. Toutefois cette appréciation de la taille des cristallites considère que la largeur des raies de diffraction est uniquement liée à la taille des cristallites. En réalité, comme indiqué précédemment, l'existence de micro-contraintes a une influence sur la FWHM qui peut s'avérer non négligeable sur la FWHM.

- Evaluation de la taille et du désordre des cristallites selon le modèle de Hosemann et Vogel

Il apparaît intéressant de suivre l'évolution du désordre cristallin au cours de la maturation des apatites faiblement cristallisées.

Afin de déterminer l'amplitude des imperfections du réseau cristallin, le modèle de Hosemann et Vogel [Hosemann1962, Vogel1970] a été utilisé. Etant donné le phénomène d'anisotropie des apatites nanocristallines, nous devons considérer une même famille de plans. Comme il n'est pas possible d'utiliser la famille (310), (620), (930) car la plage angulaire est trop grande et que les raies sont de moins en moins bien définies pour les 2θ élevés, nous nous sommes intéressés à la famille de plans (00 l) : (002) à $2\theta \approx 25,88^\circ$, (004) à $2\theta \approx 53,22^\circ$, (006) à $2\theta \approx 84,43^\circ$.

La relation entre la largeur des raies de diffraction et le paramètre de désordre cristallin, respectivement nommés β^* et g , est donnée, conformément aux travaux de Vogel et Hosemann, par l'Equation (2):

$$\text{Equation (2)} \quad \beta^* = \frac{1}{L_{hkl}} + \pi^2 \frac{g_{hkl}^2}{d_{hkl}} \quad m^2 = \sqrt{\beta^2 - \beta_o^2}$$

avec :

β^* : largeur à mi-hauteur corrigée de la raie (hkl) (rad)

β : largeur à mi-hauteur mesurée de la raie (hkl) (rad)

β_o : largeur à mi-hauteur (FWHM) mesurée de la raie (hkl) d'une hydroxyapatite bien cristallisée (rad)

d_{hkl} : distance interréticulaire pour une famille de plan (hkl) dans une direction cristallographique donnée

g_{hkl} : paramètre de distorsion dans la même direction cristallographique

L_{hkl} : taille apparente dans la direction perpendiculaire au plan de diffraction (hkl) (Å)

m : ordre de réflexion, $m^2 = (h^2 + k^2 + l^2)$

Selon la formule de Hosemann et Vogel, la largeur à mi-hauteur corrigée (β^*) s'exprime selon deux termes : un lié à la taille des cristallites, et l'autre lié au désordre cristallin. L'évolution de β^* en fonction de m^2 (Equation (2)) peut être représentée par une droite de la forme « $\beta^* = a.m^2 + b$ ».

La Figure 22 montre deux exemples de régression linéaire $\beta^* = f(m^2)$ obtenues pour la famille de plan (00 l). Les coefficients de corrélation sont égaux à 0,9976 et 0,9990, pour les ANB respectivement maturées 20 minutes et 1 semaine.

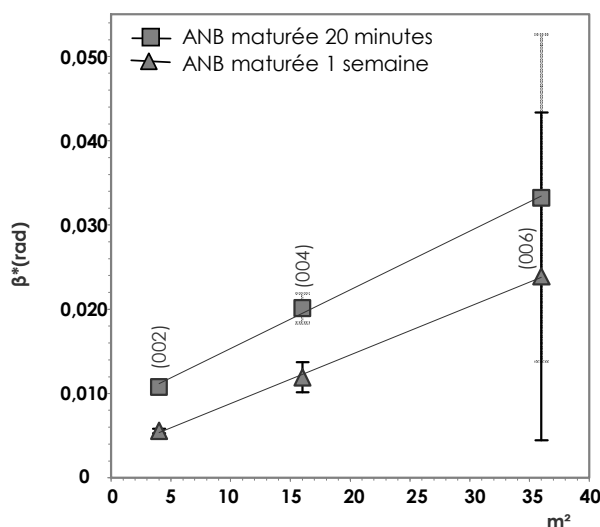


Figure 22. Droites $\beta^* = f(m^2)$ correspondants aux plans (00 l), pour 2 exemples d'ANB maturées (20 minutes et 1 semaine)

Alors que la pente de la droite d'équation $\beta^* = a.m^2 + b$ est fonction du paramètre g de distorsion, l'ordonnée à l'origine est inversement proportionnelle à la taille des cristallites. La contribution de chacun des deux termes à la valeur de β^* est reportée dans le Tableau 11. Les

valeurs indiquent que le phénomène de désordre cristallin n'est pas négligeable, même aux faibles angles où le terme « a » représente une vingtaine de pourcent de la valeur de β^* .

Etant donné la faible résolution des diffractogrammes due à la faible cristallinité des ANB et à la taille nanométrique des cristallites, il est possible d'affirmer que les contributions des termes « a » et « b », pour une raie donnée, sont du même ordre de grandeur pour toutes les ANB. De plus, quel que soit le temps de maturation de l'ANB, la contribution du terme « a » lié au désordre est environ 2 fois et 3 fois plus importante respectivement pour les raies (004) et (006) que pour la raie (002). Inversement, la contribution du terme « b » lié à la taille des cristallites est divisée par 2 et par 3 respectivement pour les raies (004) et (006).

Tableau 11. Equation de droite $\beta^* = f(m^2)$ sous la forme $\beta^* = a.m^2 + b$ pour chaque ANB maturée : contribution des termes a et b à la valeur de β^*

temps de maturation	$a = \pi^2 \frac{g_{hkl}^2}{d_{hkl}}$			$b = \frac{1}{L_{hkl}}$		
	Contribution à β^*			Contribution à β^*		
	raie (002)	raie (004)	raie (006)	raie (002)	raie (004)	raie (006)
20 minutes	22 %	59 %	75 %	78 %	42 %	25 %
3 heures	29 %	52 %	74 %	71 %	48 %	26 %
1 jour	18 %	45 %	79 %	83 %	55 %	21 %
3 jours	36 %	65 %	82 %	64 %	35 %	18 %
5 jours	13 %	54 %	69 %	87 %	46 %	31 %
1 semaine	38 %	71 %	86 %	62 %	29 %	14 %
3 semaines	18 %	59 %	67 %	82 %	41 %	33 %

Quel que soit le modèle utilisé, la longueur des cristallites augmente (Figure 23B) et le désordre cristallin diminue (Figure 23A) avec le temps de maturation. Notons que la dispersion des points obtenus avec la formule de Hoseman et Vogel (Figure 23B) ne tient pas compte de l'orientation préférentielle possible.

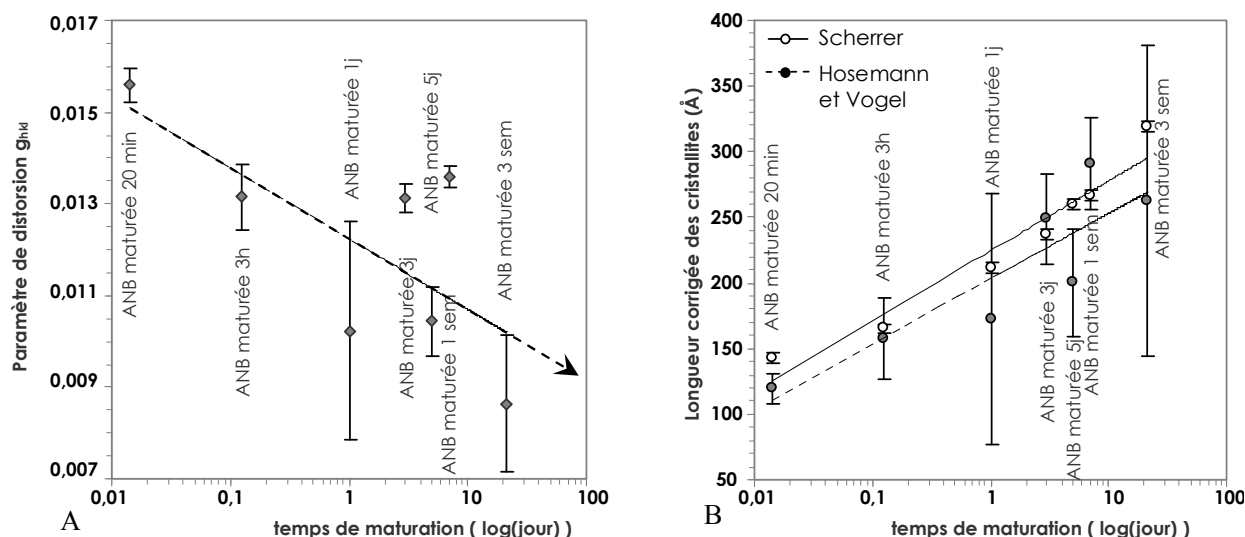


Figure 23. Variation du paramètre de distorsion g_{hkl} calculé à partir du modèle de Hosemann et Vogel (A) et évolution de la longueur des cristallites selon les deux modèles (B) en fonction du temps de maturation

En effet les cristallites sont mieux ordonnées après des temps longs de maturation ; les espèces ioniques occupant progressivement des sites cristallographiques apatitiques. Globalement, comme nous le verrons ultérieurement (§ II.3.2), en vieillissant en solution, les cristallites d'ANB tendent vers la stœchiométrie (sans l'atteindre), donc vers un état plus ordonné.

- Evaluation des paramètres de maille

Comme nous l'avons précédemment vu dans le § I.1.5, dans la structure apatite les ions OH^- jouissent d'une grande mobilité et peuvent donc être facilement substitués. Des substitutions sont également possibles en sites Ca^{2+} ainsi qu'en sites PO_4^{3-} . Afin de maintenir l'électroneutralité au sein de la maille, les échanges ioniques peuvent mettre en jeu des espèces de valences différentes et entraînent la création de lacunes sur les sites Ca^{2+} et/ou sur les sites OH^- . Dans la littérature, les apatites substituées voient leurs paramètres de maille varier en fonction des ions de substitution et du taux de substitution. De nombreuses substitutions ioniques peuvent être recensées. A l'échelle atomique, que ce soit par la création de lacunes et/ou pour des raisons d'encombrement stérique, les substitutions ioniques modifient les paramètres de maille de la structure.

Par exemple, l'introduction de silicium dans la maille apatitique, en substitution au phosphore, entraîne la variation des paramètres de la maille hexagonale apatitique. Cependant, tous les résultats sur ce point ne concordent pas. Le paramètre de maille « c » augmente dans la majorité des cas avec le taux de silicium, il peut également rester constant [Palard2007] alors que le paramètre de maille « a » peut croître [Balas2003, Kim2003, Arcos2004, Palard2007] ou décroître [Gibson1999, Tang2005]. Si « a » décroît, le volume de maille ne varie quasiment pas alors que lorsque « a » augmente, la maille se dilate. Malgré le même mode de synthèse, les résultats diffèrent de manière significative selon les études.

Dans les hydroxyapatites calcocadmées [Nounah1992, Marchat2005], ainsi que dans les apatites calco-magnésiennes hydroxylées [Abdelkader2001], la substitution des ions calcium, respectivement par des ions cadmium et magnésium, se traduit par une diminution des paramètres de maille « a » et « c ».

Dans ses travaux, Bonel montre qu'en fonction du taux de carbonatation des sites A (site OH), le paramètre « a » augmente de façon importante avec une diminution significative de « c » [Bonel1972]. Les travaux de Labarthe se rapportent à la carbonatation de type B (site PO₄) et mettent en évidence l'importante diminution du paramètre de maille « a » en fonction du taux de carbonatation de l'apatite [Labarthe1973]. La carbonatation de type B n'entraîne aucune variation du paramètre de maille « c ».

Dans le cadre de ce travail, rappelons que les sites M sont occupés par des ions Ca²⁺ ou laissés vacants. Les sites Z sont partiellement hydroxylés, tandis que les ions PO₄³⁻ et HPO₄²⁻ se partagent l'occupation des sites XO₄. La Figure 24 donne un aperçu des évolutions globales des paramètres de maille « a » et « c » (A) et du volume de la maille (B), que nous avons observées dans les ANB en fonction du temps de maturation. Rappelons néanmoins qu'en plus des incertitudes liées à la préparation de l'échantillon lors de l'acquisition et aux calculs, ces diffractogrammes ont été recueillis à partir d'ANB faiblement cristallisées (les raies sont mal définies) avec une structure complexe : un cœur de structure apatitique, et une couche phosphocalcique hydratée structurée mais non-apatitique. Par conséquent, les résultats d'affinement peuvent comporter une grande incertitude et doivent être considérés avec précaution.

Le paramètre « c » a tendance à augmenter, tandis que le paramètre « a » semble légèrement diminuer. Les évolutions du volume de maille sont similaires à celles du paramètre « a ».

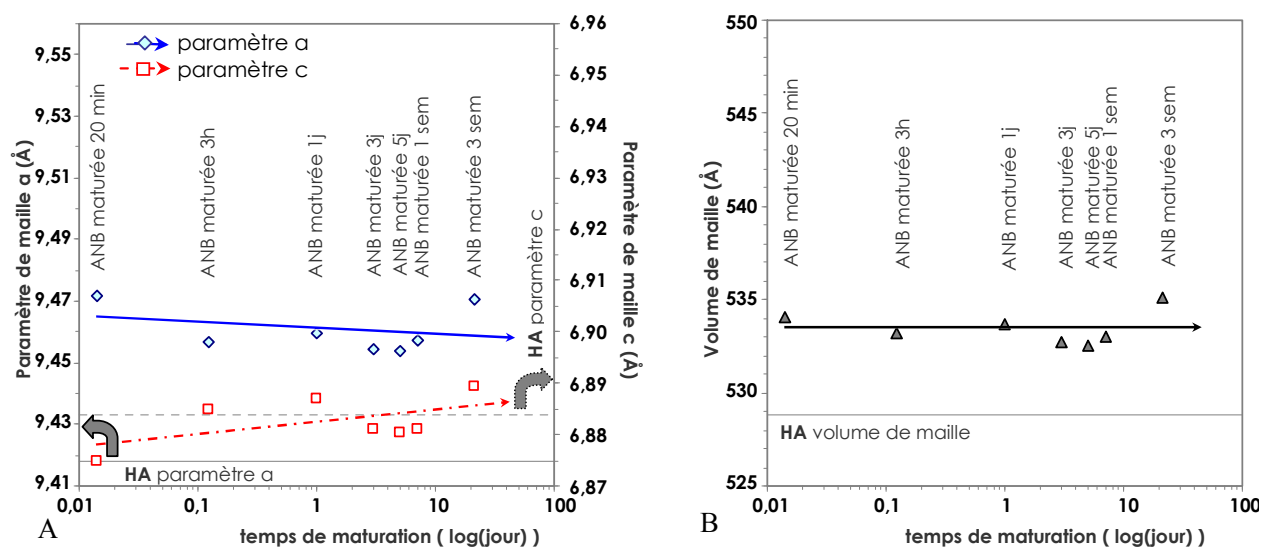


Figure 24. Paramètres de maille a et c (A) et volume de maille des ANB (B) en fonction du temps de maturation, comparés aux données de l'HA stœchiométrique selon la fiche ICDD-PDF 09-0432

★ Caractérisation des poudres calcinées

La calcination à 1000°C pendant 15h est un traitement thermique recommandé selon la norme internationale ISO 13779-3 : 2008 [AFNOR2008] afin de déterminer la pureté de la phase d'hydroxyapatite. Il a été vu dans le § I.1.5.a que dans le cas des apatites phosphocalciques dont la composition présente un écart à la stœchiométrie, le traitement thermique à 1000°C peut conduire à un matériau biphasique. Les phases cristallines en présence dépendent du rapport molaire Ca/P de l'apatite initiale. Les apatites possédant un rapport molaire compris entre 1 et 1,67 conduiront, après traitement thermique à 1000°C, à un matériau cristallin monophasique dans les cas où Ca/P est égal à 1 (le pyrophosphate de calcium β , ou β -CPP), 1,5 (le phosphate tricalcique β , ou β -TCP) ou 1,67 (l'hydroxyapatite, ou HA), ou biphasique pour les Ca/P intermédiaires. Le Tableau 12 regroupe les phases cristallines rencontrées après calcination, leur rapport molaire Ca/P, et les numéros des fiches PDF correspondantes.

Tableau 12. Fiches PDF de référence pour l'indexation des différents composés

Formule chimique	Nom du composé	Ca/P molaire	N° de fiche ICDD-PDF
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hydroxyapatite (HA)	1,67	00-09-0432
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Phosphate tricalcique β (β -TCP)	1,5	00-09-0169
$\text{Ca}_2(\text{P}_2\text{O}_7)$	Pyrophosphate de calcium β (β -CPP)	1	00-09-0346

Dans le cas des poudres d'ANB mûries, la calcination à 1000°C a conduit à des matériaux biphasiques avec une phase majoritaire de β -TCP (fiche PDF 09-0169) (Figure 25) quel que soit le temps de maturation du précipité entre 20 minutes et 3 semaines. La raie principale du diffractogramme correspond à la raie principale (0210) d'intensité relative 100 % du β -TCP (Tableau 13), à $2\theta = 31,2^\circ$ encadrée en bleu sur la Figure 25.

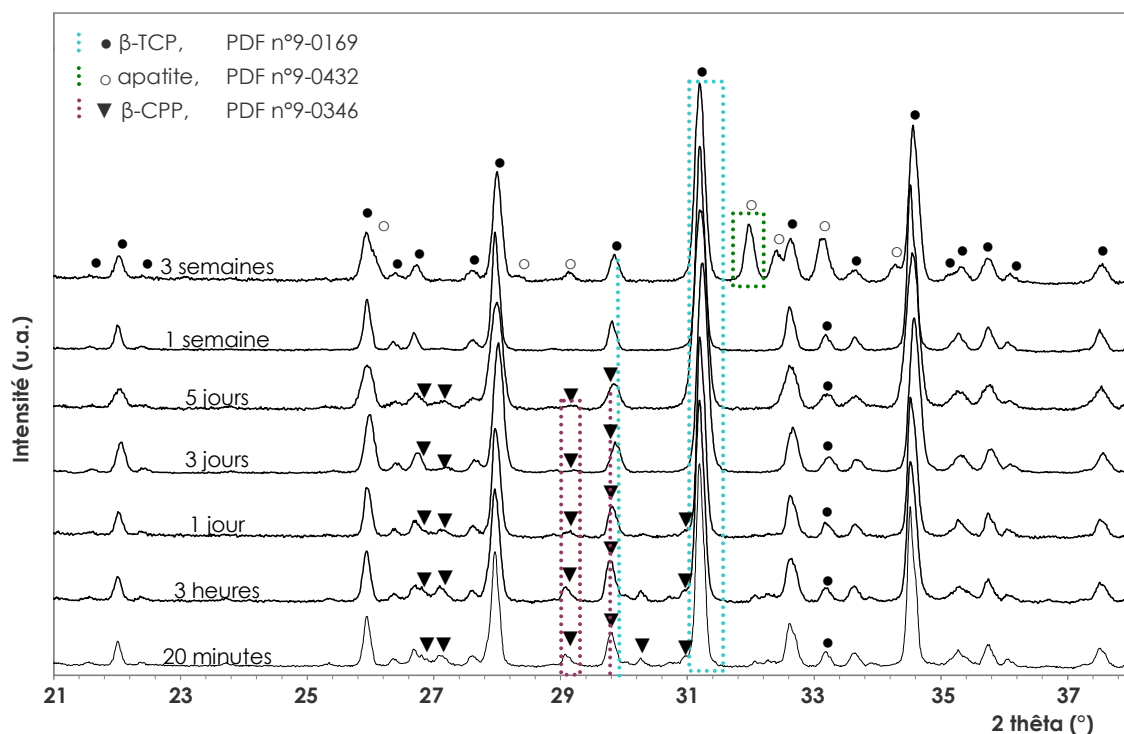


Figure 25. Diffractogrammes d'ANB à différents temps de maturation, après calcination pendant 15h à 1000°C [AFNOR2008]

Pour les temps de maturation inférieurs à 1 semaine, des pics supplémentaires ont été identifiés correspondant à la fiche PDF n°09-0346 : la phase cristalline secondaire est le β -CPP. La raie (008) d'intensité relative $I/I_0 = 100\%$ du β -CPP (à $2\theta = 29,8^\circ$ mise en évidence par la droite violette sur la Figure 25) apparaît comme un épaulement au niveau de la raie (300) d'intensité relative 16 % du β -TCP (à $2\theta = 29,85^\circ$ mise en évidence par la droite bleue sur la Figure 25). Les raies (200), (201), (203) isolées (à $2\theta = 29,1^\circ$ dans l'encadrement violet sur la Figure 25), (211) et (212) de la phase β -CPP sont distinctes. Leur position et intensité relative I/I_0 sont indiquées dans le Tableau 13.

Pour l'ANB mûrie pendant 1 semaine, seul le β -TCP est identifié.

Pour l'ANB maturée pendant 3 semaines, la comparaison avec la fiche PDF 09-0432 (hydroxyapatite) a mis en évidence la présence d'hydroxyapatite au côté du β -TCP. La raie principale (211) de l'HA, à $2\theta = 31,9^\circ$, est encadrée en vert sur la Figure 25. Les autres raies identifiables sont les raies (002), (112), (300) et (202) de l'HA dont les positions et intensités relatives sont mentionnées dans le Tableau 13.

Tableau 13. Distances interréticulaires $d_{\text{théorique}}$ et intensités relatives des principales raies du β -TCP [PDF n°9-0169], du β -CPP [PDF n°9-0346] et de l'HA [PDF n°9-0432]

$d_{\text{théorique}}$ (Å)	I/I_0			raie (hkl)		
	β -TCP	β -CPP	HA	β -TCP	β -CPP	HA
5,21	20			110		
4,06	16			024		
3,45	25			<u>1010</u>		
3,44			40			002
3,34		35			200	
3,31		35			201	
3,22		50			202	
3,21	55			214		
3,09		45			203	
3,02		100			008	
3,01	16			300		
2,966		30			211	
2,903		30			212	
2,88	100			<u>0210</u>		
2,81			100			211
2,78			60			112
2,76	20			128		
2,749		45			205	
2,72			60			300
2,63			25			202
2,61	65			220		
2,26			20			310
1,94			30			222
1,84			40			213
1,81			20			321
1,72			20			004

II.3.2. La détermination du rapport molaire Ca/P des ANB

II.3.2.a. *Par la méthode de diffraction des rayons X*

La détermination du rapport atomique Ca/P d'une apatite par diffraction des rayons X est une méthode bien connue [Raynaud2001]. La norme (AFNOR ISO 13779-3 (2008), Association Française de NORmalisation) [AFNOR2008] permet le contrôle de la pureté d'un matériau cristallisé d'hydroxyapatite. Le comportement des phosphates de calcium à haute température est également bien connu : par calcination à 900°C, un solide, de rapport molaire Ca/P compris entre 1,50 et 1,667, se décompose en du phosphate tricalcique β et de l'HA. Dans le cas où le matériau serait biphasé (HA / β -TCP), pour déterminer le rapport Ca/P compris entre 1,5 et 1,667, la norme utilise le fait que les raies de plus grande intensité de l'HA ($2\theta = 2,81$ Å) et du β -TCP ($2\theta = 2,88$ Å) sont dissociées et visibles même dans le cas de faibles proportions.

Nous avons tenté de déterminer le rapport Ca/P, à partir de la diffraction des rayons X, pour chaque matériau obtenu à partir des ANB calcinées. Les diffractogrammes ont été collectés avec la radiation $K\alpha$ du cuivre ($CuK\alpha_1$ 1,54056 Å) sur un diffractomètre $\theta/2\theta$ Siemens équipé d'un monochromateur. Un pas de 0,02° en 2θ , pour un temps de comptage de 6s, a été fixé sur l'intervalle [25 - 35°]. Le rapport R_1 des intensités relatives des pics de diffraction caractéristiques des phases cristallines en présence est utilisé [Raynaud2001], pour les mélanges biphasés HA + β -TCP :

$$R_1 = \frac{I_{HA(211)}}{I_{\beta-TCP(0210)}}$$

Les pics de diffraction retenus pour calculer ces rapports d'intensité sont :

le pic de diffraction de la raie (0210) du β -TCP, d'intensité relative 100 % à $2\theta = 31,0^\circ$,

le pic de diffraction de la raie (211) de l'HA, d'intensité relative 100 % à $2\theta = 31,8^\circ$.

Le rapport R_1 est fonction des pourcentages massiques des phases en présence. Le seuil de détection de l'HA par diffraction des rayons X est de 0,5 % massique [Raynaud2001], tandis que le β -TCP n'est quantifiable qu'entre 10 % et 4 % massique [Destainville2003].

Dans le cas des ANB mûrées 3 jours, 5 jours et 1 semaine, la raie (202) du β -CPP n'est pas séparable du bruit de fond. Cela laisse présager un pourcentage massique de β -CPP $\leq 4\%$, ce qui correspond à un Ca/P compris entre 1,476 et 1,5 (= Ca/P du β -TCP pur).

Dans le cas des ANB mûrées 20 minutes, 3 heures et 1 jour, la raie (202) du β -CPP apparaît clairement. La teneur en β -CPP doit être au-delà de la limite établie par Destainville, c'est-à-dire supérieure à 10 % massique (soit un Ca/P $< 1,44$).

La méthode de détermination du rapport molaire Ca/P par la méthode des DRX [Raynaud2001] appliquée au matériau biphasé HA + β -TCP, obtenu à partir de la calcination de l'ANB mûrée 3 semaines, conduit à une valeur évaluée à 1,539.

Cependant le suivi des raies isolées (0210) pour le β -TCP, (203) pour le β -CPP, (211) pour l'HA, respectivement encadrées en bleu, violet et vert sur la Figure 25 et le Tableau 13 montrent que la teneur en phase cristalline β -CPP diminue quand le temps de maturation augmente, et que la teneur en phase cristalline d'hydroxyapatite n'est détectable que pour la plus longue maturation. Le profil des diffractogrammes permet ainsi de hiérarchiser les ANB mûrées (Figure 26) et de les classer par rapport au Ca/P molaire des matériaux de référence (Tableau 12).

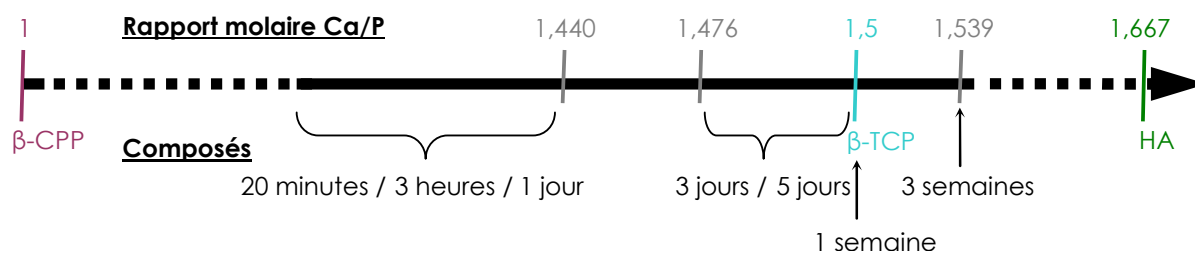


Figure 26. Classement des ANB mûrées pendant différentes durées, en fonction du rapport Ca/P molaire des matériaux de référence de rapport compris entre 1 et 1,667

En vue de connaître précisément la composition chimique des ANB en fonction du temps de maturation, une détermination plus précise a été envisagée, par dosage chimique des ions calcium et des ions phosphate.

II.3.2.b. Par la méthode des dosages chimiques

Les teneurs en ions calcium et orthophosphate (PO_4^{3-} et HPO_4^{2-}) ont été déterminées pour tous les échantillons.

★ Dosage des ions calcium par complexométrie

Les ions calcium ont été dosés par complexométrie [Charlot1966, Meyer1978]. L'agent complexant est le sel disodique de l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), introduit en excès et en présence d'ammoniaque. L'excès d'EDTA est ensuite dosé par une solution titrée de chlorure de zinc. L'indicateur de virage est le noir ériochrome. L'erreur relative sur la détermination de la teneur en ions calcium est de l'ordre de 0,5 %.

★ Dosage des ions phosphate par colorimétrie

Les ions phosphate présents dans les poudres d'ANB sont sous forme d'ions orthophosphate. Ils ont été dosés par colorimétrie selon la méthode de Gee et Dietz [Gee1953]. L'analyse par spectrophotométrie d'absorption dans le visible ($\lambda = 460 \text{ nm}$) repose sur la formation d'un complexe phosphovanadomolybdique $\text{VO}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$, de couleur jaune, formé en milieu acide. Les absorbances des différentes solutions sont mesurées, dans des cuves en quartz, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible Hitachi Scientific Instruments U-1100 à simple faisceau. L'erreur relative sur le dosage des ions orthophosphate est de l'ordre de 0,5 %.

Entre l'ANB maturée 20 minutes et celle maturée 3 semaines, le rapport molaire Ca/P croît de 1,42 à 1,53 (Tableau 14).

Tableau 14. Rapports molaires Ca/P des ANB obtenues après différents temps de maturation, et phases cristallines en présence après décomposition thermique pendant 15h à 1000°C [AFNOR2008]

Temps de maturation	Rapport molaire Ca/P	Phases en présence après décomposition à 1000°C/15h
20 minutes	1,42(5)	β -TCP + β -CPP
3 heures	1,42(4)	β -TCP + β -CPP
1jour	1,43(9)	β -TCP + β -CPP
3 jours	1,47(6)	β -TCP + β -CPP
5 jours	1,48(6)	β -TCP + β -CPP
1 semaine	1,49(0)	β -TCP
3 semaines	1,53(6)	β -TCP + HA

Les résultats obtenus sont en conformité avec les observations faites sur les différentes maturations, calcinées à 1000°C pendant 15h (Figure 25). L'ANB maturée pendant 3 semaines est la seule à avoir un rapport supérieur à 1,5 (= Ca/P des phosphates tricalciques), ce qui corrobore l'apparition d'hydroxyapatite après calcination.

★ **Distinction entre les différents types d'ions orthophosphate**

La valeur de la teneur en ions hydrogénophosphate résulte du dosage des ions orthophosphate totaux réalisé précédemment, et du dosage des ions PO_4^{3-} uniquement, après condensation des ions hydrogénophosphate en ions pyrophosphate non dosables par cette méthode. Cette méthodologie est couramment utilisée au laboratoire CIRIMAT (Annexe) et permet ainsi de dissocier les deux types d'ions orthophosphate (PO_4^{3-} et HPO_4^{2-}) en fonction du temps de maturation. Rappelons que dans une apatite de formule générale $\text{M}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Z}_2$, les lacunes sont présentes uniquement en site M^{2+} et Z , et n'ont jamais été détectées, à notre connaissance, en site XO_4^{3-} car ces anions volumineux assurent le maintien de la structure apatite. Dans le cas des phosphates de calcium, les sites XO_4^{3-} , au nombre de 6 par maille, sont occupés par des ions orthophosphate PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} . En partant du principe que la structure globale est électriquement neutre, par un mécanisme de compensation des charges [Montel1981], la présence d'anions bivalents (HPO_4^{2-}) en site XO_4^{3-} , engendre la création de lacunes en sites M^{2+} et Z . La Figure 27 montre le taux d'occupation des 6 sites XO_4^{3-} présents dans la maille d'apatite, par les 2 types d'anions orthophosphate (PO_4^{3-} et HPO_4^{2-}), en fonction du temps de maturation des ANB.

Quel que soit le temps de maturation des ANB, les sites XO_4 sont majoritairement occupés par des ions PO_4^{3-} (bien que la teneur en HPO_4^{2-} ne soit pas négligeable). La diminution de la teneur en ions hydrogénophosphate, avec le temps de maturation, est en accord avec les valeurs mentionnées dans le Tableau 15, pour des ANB synthétisées dans une autre étude dans des conditions similaires [Farlay2010].

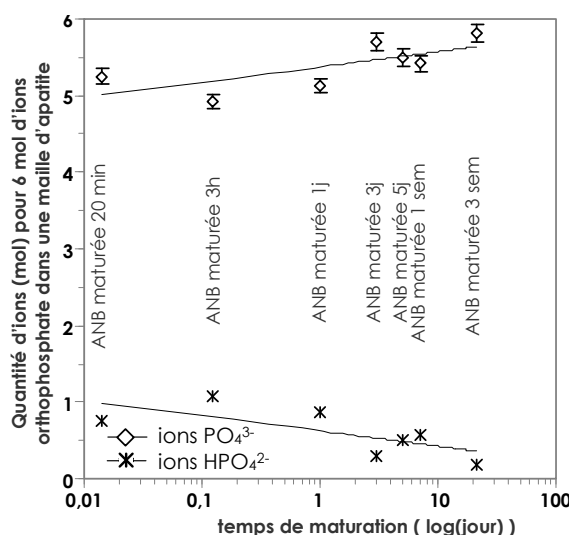


Figure 27. Dosage des ions orthophosphate PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} dans les ANB, maturées pendant différentes durées

Au cours de la maturation, les ions HPO_4^{2-} sont quant à eux progressivement remplacés par des ions PO_4^{3-} . Par conséquent, la composition des ANB tend vers la stœchiométrie, lorsque le temps de maturation augmente.

Tableau 15. Comparaison de la teneur en ions HPO_4^{2-} dosés ci-dessus avec les valeurs obtenues par Farlay et al., dans des ANB présentant différents temps de maturation

Temps de maturation	HPO_4^{2-} (%)	HPO_4^{2-} (%) [Farlay2010]
0 jour		22
20 minutes	17,1	
3 heures	17,1	
1 jour	18,6	22,8
3 jours	12,5	18,4
5 jours	16,0	
1 semaine	14,9	
2 semaines		13
3 semaines	12,0	
2 mois		9,8

II.3.3. L'analyse thermogravimétrique

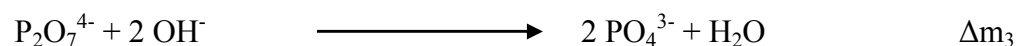
Le comportement thermique des différentes ANB maturées a été suivi par analyse thermogravimétrique (ATG) réalisée sous air sur un appareillage Setaram SETSYS Evolution. L'acquisition des données est réalisée avec une vitesse de montée en température de 2,5°C/min

jusqu'à 900°C. Les expériences sont effectuées dans des creusets en platine et les masses de poudres analysées sont adaptées au volume du creuset. Un blanc est réalisé avec le creuset contenant une poudre d'alumine inerte. Ce blanc est ensuite retranché des analyses TG des échantillons.

Les courbes obtenues par analyse thermogravimétrique (Figure 28) permettent d'observer trois pertes de masse principales. La première (Δm_1), entre 25°C et 300°C correspond à la perte d'eau faiblement liée (physisorbée) sur les nanocristaux et à l'eau associée aux environnements non-apatitiques (couche hydratée). La deuxième perte de masse (Δm_2) observée entre 300°C et 650°C correspond à la condensation des ions HPO_4^{2-} en ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ selon la réaction ci-dessous (réaction totale) ; voire à des résidus d'eau plus fortement liée, peut-être intracristalline [Heughebaert1977].



La troisième perte de masse (Δm_3) se produit entre 650°C et 750°C. Elle correspond à la réaction des ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ avec les ions OH^- du cœur apatitique de l'ANB, initialement présents dans la poudre [Winand1961], selon la réaction suivante :



Pour cette dernière réaction il faut différencier les cas où l'une ou l'autre des deux espèces est limitante. Tandis que le cas n°1, présenté ci-dessous, décrit la réaction lorsque les ions OH^- sont limitants, le cas n°2 la décrit lorsque les ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ sont concernés.

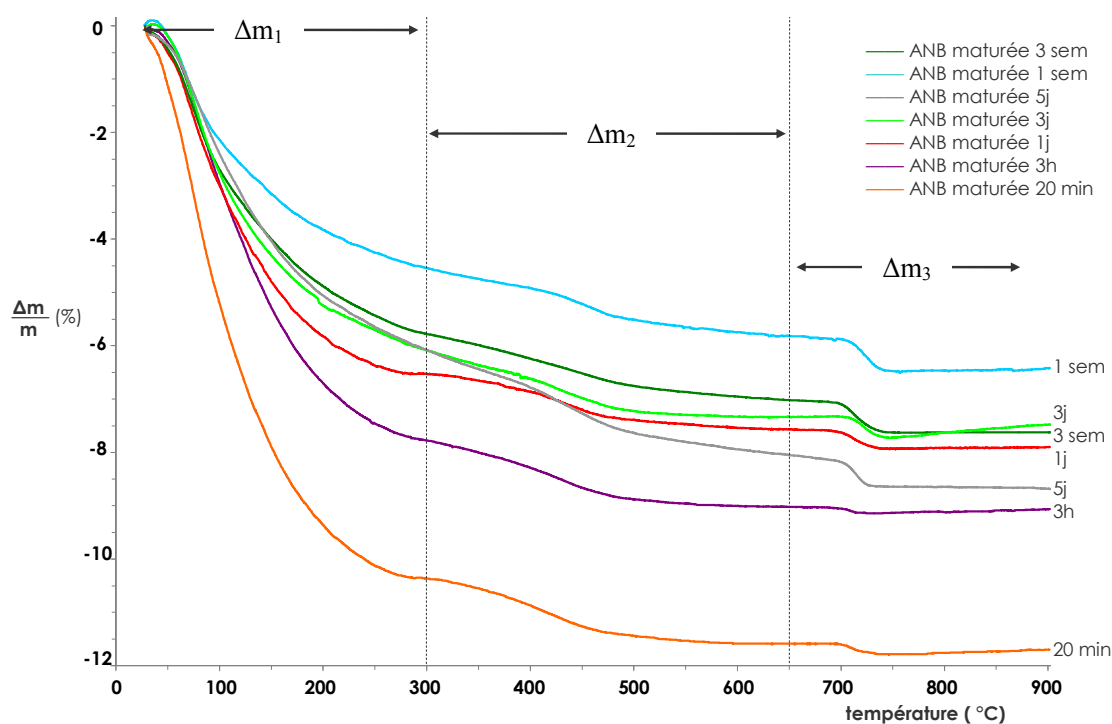


Figure 28. Courbes de perte de masse obtenues par ATG, pour chaque ANB mûrie

Cas n°1 : Si les ions hydroxyde sont limitants, après leur consommation pour l'hydrolyse partielle des ions pyrophosphate, il restera des ions $P_2O_7^{4-}$ dans la poudre après décomposition thermique. Les ions PO_4^{3-} formés contribuent à la formation de phosphate tricalcique, tandis que les ions $P_2O_7^{4-}$ en excès forment le pyrophosphate de calcium. Cette décomposition thermique correspond au comportement à haute température d'une apatite non-stœchiométrique de rapport atomique $Ca/P < 1,5$ (§ I.1.5.a) [Banu2005]. Dans ce cas, la perte d'eau Δm_3 permet d'évaluer la teneur initiale en ions OH^- de la phase apatitique.

Cas n°2 : Si les ions pyrophosphate (soient les ions HPO_4^{2-} initiaux) sont limitants, après formation des ions PO_4^{3-} , il restera des ions hydroxyde non consommés. Les ions PO_4^{3-} ainsi formés contribuent à la formation de phosphate tricalcique, de la même façon que dans le cas n°1, tandis que les ions OH^- restant participent à la formation d'hydroxyapatite. Cette décomposition thermique correspond au comportement à « haute température » d'une apatite non-stœchiométrique de rapport atomique $Ca/P > 1,5$ (§ I.1.5.a) [Gibson2000, Raynaud2002]. Dans ce cas, la perte d'eau Δm_3 permet d'évaluer la teneur en ions HPO_4^{2-} dans la poudre initiale.

Au regard des diffractogrammes des poudres d'ANB après calcination à $1000^\circ C$ (Figure 25) et des rapports atomiques Ca/P obtenus par dosage chimique pour chaque ANB mûrie (§

II.3.2.b), il est possible de conclure que pour les temps courts et jusqu'à une semaine de maturation, la réaction correspondant au Δm_3 se déroule selon le cas n°1 (ions OH^- limitants), contrairement à l'ANB maturée pendant 3 semaines qui suit le cas n°2 (ions HPO_4^{2-} limitants).

Les courbes obtenues par analyse thermogravimétrique (Figure 28) permettent d'évaluer la quantité d'eau résiduelle (eau adsorbée sur les nanocristaux et eau associée aux environnements non-apatitiques) associée à la poudre, et de suivre son évolution en fonction du temps de maturation (Δm_1 sur la Figure 29). Il n'a pas été possible de distinguer ici les différents types de molécules d'eau. La courbe de suivi de Δm_1 montre une diminution avec le temps de maturation de l'ANB, particulièrement marquée au cours des premiers jours de maturation. En supposant que l'influence du temps de maturation sur la quantité d'eau physisorbée à la surface des nanocristaux reste négligeable, la variation de Δm_1 entre les différentes ANB maturées s'explique par une diminution de l'eau contenue dans la couche hydratée lorsque l'ANB est maturée plus longuement.

Lorsque le temps de maturation des ANB est plus long, la diminution globale de Δm_2 montre que la teneur en ions HPO_4^{2-} diminue, tandis que l'augmentation de Δm_3 indique que la teneur en ions hydroxyde augmente (Figure 29). Ces évolutions sont en accord avec l'augmentation du rapport Ca/P, et avec l'évolution vers la stœchiométrie.

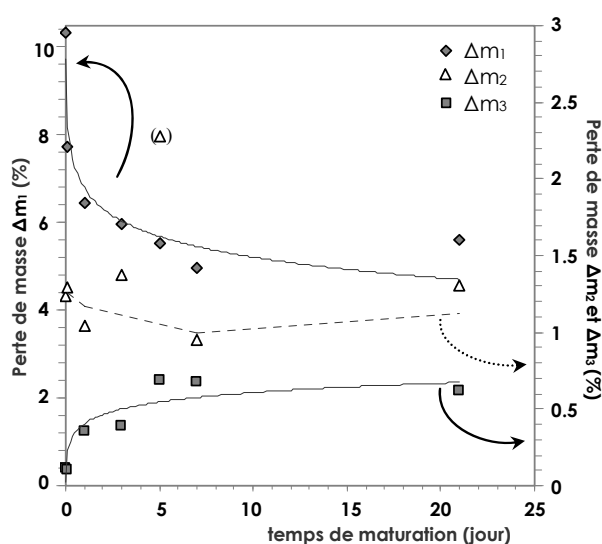


Figure 29. Suivi des différentes pertes de masse au cours de la décomposition thermique par ATG, pour chaque ANB maturée

La réaction de condensation qui conduit à la perte de masse Δm_2 n'est pas simple à isoler puisque la réaction débute avant que la perte de masse Δm_1 ne semble totalement terminée. Cependant il reste possible en première bonne approximation, de les séparer et d'estimer la quantité d'eau présente dans les échantillons, à partir de Δm_1 . Les valeurs de Δm_3 obtenues pour chaque ANB maturée permettent de calculer la quantité d'ions ayant réagi, qui correspond, par conséquent, à la quantité de l'espèce limitante (entre 650-750°C), selon qu'il s'agisse du cas n°1 ou 2.

En tenant compte des résultats des précédentes caractérisations physico-chimiques (dosages chimiques, DRX, ATG) de chaque ANB maturée, et en s'appuyant sur le principe d'électroneutralité d'une mole d'apatite, il est possible d'en déduire les quantités de chaque espèce ionique, en fonction du temps de maturation (Figure 30). Un écart existe entre les ions phosphate dosés et ceux déterminés à partir de l'ATG (Figure 30A pour les ions PO_4^{3-} , Figure 30B pour les ions HPO_4^{2-}). Rappelons que les ions HPO_4^{2-} sont déduits du dosage des ions orthophosphate totaux (ions PO_4^{3-} + ions HPO_4^{2-}) moins le dosage des ions PO_4^{3-} seuls (Annexe, § II.b). Par conséquent, les valeurs plus élevées (aux valeurs obtenues par ATG) du dosage des ions PO_4^{3-} seuls sont cohérentes avec les valeurs inférieures (aux valeurs obtenues par ATG) du dosage des ions HPO_4^{2-} seuls. Plus précisément, pour chaque maturation, le même écart relatif (pour une structure apatite avec 6 moles de P) est répercuté entre la valeur dosée et la valeur issue de l'ATG dans le cas des ions PO_4^{3-} et des ions HPO_4^{2-} (Tableau 16). Il s'agit alors probablement d'une erreur systématique directement liée à l'expérience de dosage elle-même : Il semblerait qu'une faible quantité d'ions HPO_4^{2-} ne se soit pas condensée sous forme d'ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$. Les ions non condensés sont ainsi comptabilisés avec les ions PO_4^{3-} . Cela induit une sur-évaluation des ions PO_4^{3-} tandis que les ions HPO_4^{2-} sont sous-évalués.

Tableau 16. Ecart relatif (% pour une mole d'apatite avec 6 moles de P) entre les ions phosphate dosés et calculés à partir de l'ATG

ANB maturée	ANB 20 min	ANB 3 h	ANB 1 j	ANB 3 j	ANB 5 j	ANB 1 sem	ANB 3 sem
écart (ions PO_4^{3-})	+4,75 %	-0,74 %	+4,16 %	+7,64 %	+7,57 %	+5,15 %	+8,81 %
écart (ions HPO_4^{2-})	-4,71 %	+0,78 %	-4,13 %	-7,61 %	-7,58 %	-5,17 %	-8,85 %

L'évolution des différentes espèces ioniques avec la maturation indique que la composition chimique des ANB tend vers la stoechiométrie lorsque le temps de maturation est allongé ; cela se traduit par une augmentation des teneurs en espèces ioniques Ca^{2+} , PO_4^{3-} (Figure 30A) et OH^- (Figure 30B). En maturant, le déficit en ions Ca^{2+} des ANB diminue, en effet l'augmentation de la teneur en ions Ca^{2+} (Figure 30A) est simultanée à la diminution de la teneur en ions HPO_4^{2-} (Figure 30B).

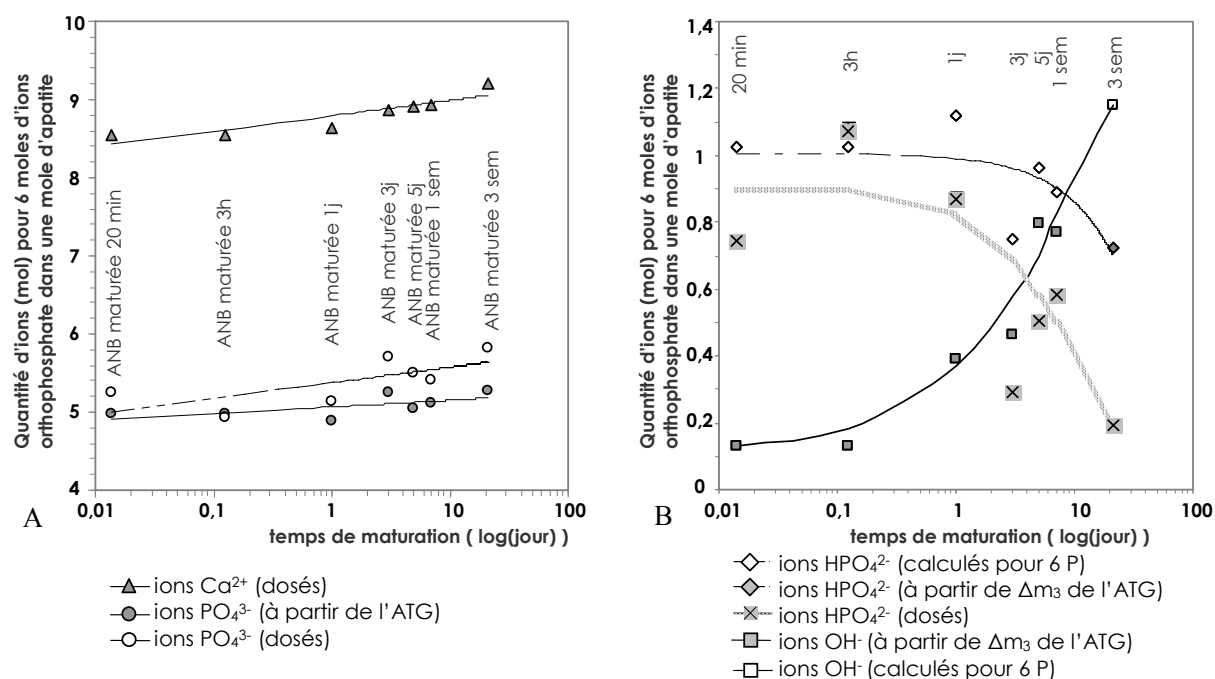


Figure 30. Quantités d'espèces ioniques Ca^{2+} et PO_4^{3-} calculées à partir du rapport atomique Ca/P, et comparées avec PO_4^{3-} dosés (A), et HPO_4^{2-} dosés comparé avec HPO_4^{2-} et OH^- calculées à partir de Δm_3 en ATG ou en considérant l'électronéutralité de la maille d'apatite (B) contenant les ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} dosés en (A)

Les résultats de dosages par spectroscopie UV, des ions PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} sont plus dispersés et nous servent uniquement à confirmer la conformité des quantités obtenues par ATG et/ou calculées en considérant l'électronéutralité d'une unité formulaire d'apatite contenant 6 moles d'ions phosphate.

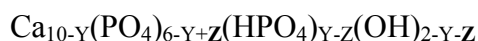
La composition chimique de chaque ANB, retenue pour la suite des travaux, est reportée sur le Tableau 17.

Tableau 17. **Composition chimique des ANB**

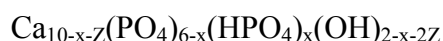
Temps de maturation	Rapport molaire Ca/P	En nombre de moles par unité formulaire d'apatite (hydratée)				
		Ca ²⁺	PO ₄ ³⁻	HPO ₄ ²⁻	OH ⁻	H ₂ O*
20 minutes	1,43	8,55	4,97	1,03	0,13	5,94
3 h	1,42	8,54	4,97	1,03	0,12	4,18
1 jour	1,44	8,64	4,88	1,12	0,39	3,60
3 jours	1,48	8,86	5,25	0,75	0,46	3,53
5 jours	1,49	8,92	5,04	0,96	0,80	3,21
1 semaine	1,49	8,94	5,11	0,89	0,77	2,86
3 semaines	1,54	9,21	5,28	0,72	1,15	3,28

* déterminé à partir des analyses thermiques

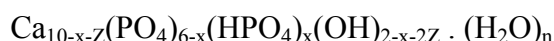
La formule chimique générale $Ca_{10-Y}(PO_4)_{6-Y}(HPO_4)_Y(OH)_{2-Y}$ est souvent utilisée pour décrire en première approximation les apatites phosphocalciques non-stœchiométriques. Dans cette formule, la somme des teneurs en ions OH⁻ et en HPO₄²⁻ vaut alors 2. Cette formule semble néanmoins montrer quelques limites pour décrire les apatites à faibles temps de maturation. La comparaison entre cette formule théorique et les valeurs expérimentales (Tableau 17) montre qu'il est nécessaire d'introduire un paramètre « Z » tel que :



L'introduction de ce paramètre rend compte du fait que la compensation de charge liée aux lacunes en cations bivalents est davantage liée au faible remplissage des tunnels apatitiques en ions OH⁻ qu'à la protonation d'ions PO₄³⁻ en HPO₄²⁻. En posant $x = Y-Z$, on retrouve la notation équivalente suivante, déjà proposée par Kühl et Nebergall [Kühl1963] :



Soit encore, en prenant en compte la présence de « n » molécules d'eau dans les poudres à l'issue de la lyophilisation :



Afin de mieux différencier la composition chimique du cœur apatitique et de la couche hydratée, et de suivre l'évolution des différents environnements ioniques en fonction du temps

de maturation, nous nous sommes intéressés aux méthodes de spectroscopie vibrationnelle, notamment la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).

II.3.4. La spectroscopie vibrationnelle FTIR

Les différentes techniques de spectroscopie vibrationnelle permettent d'obtenir des informations sur la matière à partir de son interaction avec le rayonnement incident, émis avec une fréquence donnée. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ou FTIR) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau étudié. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des molécules, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

Lorsque la longueur d'onde apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration d'une liaison chimique, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise

Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce à la Théorie des Groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse.

Par conséquent à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau. Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé et de leur environnement. Un même groupe peut donner lieu à plusieurs types de vibrations et donc à des absorptions à différentes fréquences.

II.3.4.a. *Rappels bibliographiques*

Les ions libres PO_4^{3-} possèdent une symétrie tétraédrique et 4 modes fondamentaux de vibration, à 938 cm^{-1} (ν_1 , mode élongation symétrique de la liaison P–O), 420 cm^{-1} (ν_2 , mode déformation angulaire de la liaison O–P–O), 1017 cm^{-1} (ν_3 , mode élongation antisymétrique de la liaison P–O) et 567 cm^{-1} (ν_4 , mode déformation angulaire de la liaison O–P–O) [Fowler1974, Nakamoto1997, Cusco1998]. La symétrie de l'ion phosphate est diminuée lorsqu'il se trouve dans un environnement apatitique [Winston1949] et il existe des couplages forts entre les modes de vibration des ions PO_4^{3-} dans la maille élémentaire qui modifient le profil du spectre de vibration [Blakeslee1971, Rey1990].

Pour chaque mode de vibration des groupements phosphate, les massifs peuvent être décomposés en plusieurs bandes de vibration. Certains auteurs ont utilisé la dérivée seconde du spectre d'absorption IR de l'hydroxyapatite stœchiométrique afin d'identifier les différentes bandes de vibration constitutives des massifs dans les régions spectrales $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$, $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ et $\nu_3\text{PO}_4^{3-}$. Le Tableau 18 mentionne les positions des pics identifiés, et leur attribution selon la littérature. Au delà des attributions, il est possible d'analyser les paramètres d'une bande en termes de hauteur, largeur à mi-hauteur, intensité intégrée, et ainsi de comparer les bandes entre elles à l'aide de ratios. De part sa morphologie asymétrique, ou par la présence d'un épaulement révélant l'addition de plusieurs signaux, une bande peut être amenée à être décomposée mathématiquement. Suivant les paramètres cités ci-dessus, les pics décomposés peuvent être comparés entre eux. Les attributions, et par la suite, les interprétations varient selon les auteurs, surtout pour les tissus biologiques rendus plus compliqués à analyser par la présence de la phase organique (exemple de la dentine ou de l'os). Les vibrations asymétriques donnent lieu à des régions complexes liées à la multiplicité des signaux. Le Tableau 18 référence les attributions des pics identifiés au sein des bandes d'absorption IR de l'HA stœchiométrique et d'apatites nanocristallines (biologiques et synthétiques ou ANB), dans le domaine spectral $\nu_2\nu_4$ des groupements phosphate PO_4 et ν_L des ions hydroxyde. Les incertitudes des attributions touchent essentiellement les apatites non-stœchiométriques substituées car les distorsions créées par des environnements ioniques différents induisent des bandes larges qui limitent la résolution des bandes [Eichert2007]. Pour des apatites non-stœchiométriques, la présence d'ions HPO_4^{2-} et de sites vacants dans le réseau, complexifient la différenciation des groupements phosphate.

Tableau 18. Positions des pics d'absorption IR (en cm^{-1}), dans l'HA stœchiométrique et les apatites nanocristallines, dans les régions spectrales ν_2 , ν_4 des phosphates, bandes de libration (ν_L) et de translation (ν_T) des ions OH^- apatitiques, et leur attribution selon la littérature

Attributions	[Fowler1966]	[Fowler1974]	[Nelson1982]	[Leung1990]	[Miller2001] ^s	[Markovic2004] ^s	[Eichert2007]	[Nelson1982]	[Rey1990] ^s	[Ou-Yang2000] ^s	[Miller2001] ^b	[Banu2005] ^s	[Eichert2007]
	HA stœchiométrique							Apatite nanocristalline					
ν_{tOH}						342							
$\nu_2\text{PO}_4$			462 474	476		462 474	464 474					470	469
HPO_4 non- ap									525-535		≈ 530	535	533
HPO_4 ap									540-550	540	535-540	550	551
$\nu_4\text{PO}_4$	574	574*	565 574	569 574 588	564 576	565.1 575.3 586.4	567 572	656 581	560 575 585 ^f	563 575 587 ^{TC Pam}	560 578	560 575	562 575
	602		602	602** 615	603 615	601.8 605.4	602	606	600	603	603	601	603
PO_4 non- ap								617	610-615	617	615		617
									620-625 ^f				
$\nu_{\text{L}}\text{OH}$	632		632		632	633	633	630		632	632		

ap : apatitique * (corrélée à $\nu_{\text{L}}\text{OH}$) **position controversée [Iqbal1977] s : apatite de synthèse

b : apatite biologique f : bande de faible intensité, visible dans les apatites « s » ou « b » jeunes

En comparaison avec la bande de vibration $\nu_4\text{PO}_4$ sur le spectre IR de l'HA stœchiométrique, les apatites nanocristallines biologiques [Terminé1973] (principalement peu matures) et/ou de synthèse [Fowler1960] montrent plusieurs bandes supplémentaires de part et d'autre de cette bande de vibration [Rey1990].

A haut nombre d'onde (dans le domaine spectral $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$), Rey et al. [Rey1990] décrit pour la première fois une bande à $610\text{-}615\text{ cm}^{-1}$. Cette bande est identifiée à la fois sur les spectres d'apatite biologique après déprotéination et de phosphates de calcium synthétiques, par conséquent cette bande ne peut correspondre à la matière organique [Rey1990]. En considérant plus particulièrement l'émail jeune (dépourvu d'ions OH^- [Blumenthal1973, Legros1986]), cette bande est bien visible, avec un maximum à 610 cm^{-1} , et attribuée aux ions

PO_4^{3-} . Notons que cette bande diminue d'intensité avec le vieillissement des apatites biologiques et la maturation des ANB [Rey1990].

Rappelons quelques structures cristallines de phosphates de calcium (CaP) de référence :

→ la structure de la brushite, ou phosphate dicalcique dihydraté ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) :

Elle se présente sous forme de feuillets ondulés de composition CaHPO_4 , arrangés parallèlement les uns aux autres, et liés entre eux par une double couche de molécules d'eau.

→ La structure du phosphate octocalcique, ou OCP ($\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) :

Elle est composée de deux couches, une couche dite apatitique, très proche de l'hydroxyapatite et une couche dite hydratée contenant notamment toutes les molécules d'eau. La couche hydratée comporte des ions phosphate et calcium très espacés environnés de molécules d'eau. Les ions phosphate contenus dans la couche hydratée et à l'interface sont protonnés (HPO_4^{2-}). Ces couches sont liées entre elles essentiellement par des liaisons hydrogène [Fowler1993]. L'OCP possède deux types d'environnements pour les ions HPO_4^{2-} [Brown1962a]. Etant donné la structure de l'OCP, un environnement HPO_4 correspondrait à la couche hydratée de l'OCP et serait voisin des environnements phosphate dans la brushite, tandis que l'autre environnement HPO_4 correspondrait à la couche apatitique et serait similaire à celui d'une apatite déficitaire en ions calcium (avec des ions HPO_4^{2-}) [Rey1990].

Le Tableau 19 montre les bandes supplémentaires de la bande $\nu_4\text{PO}_4$ pour chaque composé possédant des groupements HPO_4 .

Tableau 19. Position des bandes supplémentaires de décomposition, dans le domaine spectral $\nu_4\text{PO}_4$, pour chaque CaP apatitique et non-apatitique possédant des groupements HPO_4 [Rey1990]

Attributions	brushite	OCP	β -TCP	whitlockite	apatite avec HPO_4^{2-} ap
HPO_4^{2-} non-ap	530	530			
HPO_4^{2-} ap		545			550
PO_4^{3-} non-ap (indépendant des HPO_4^{2-})		610-615	610-615	610-615	/

ap = apatitique

La présence de deux bandes supplémentaires, observées aux faibles nombres d'ondes (dans le domaine spectral $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$) dans les apatites nanocristallines, rappelle l'intercalation des

couches hydratées / apatitiques de l'OCP, mais l'intensité de la bande à 610-615 cm^{-1} diffère, donc la composition des apatites nanocristallines est différente de celle de l'OCP.

C'est la connaissance précise de la position des bandes de décomposition spectrale de la bande de vibration ν_4 des groupements PO_4 pour l'HA stœchiométrique, et la comparaison des bandes supplémentaires identifiées dans les apatites nanocristallines (biologiques et de synthèse) avec des CaP de référence, qui a permis l'attribution des bandes.

II.3.4.b. Résultats

Les environnements ioniques des ions phosphate ont été analysés par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Les poudres initiales ont été caractérisées avec un spectromètre FTIR Nicolet 5700. Tous les échantillons ont été analysés sous forme de poudre dispersée dans une pastille de KBr entre 4000 et 400 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} et un nombre de scans de 64. Les spectres ont été acquis avec une absorbance maximale de l'ordre de $1 \pm 0,2$.

Les bandes d'absorption IR caractéristiques des apatites bien cristallisées telle l'HA (Figure 31A) et communes aux ANB (Figure 31B) ont été clairement identifiées dans des travaux antérieurs [Fowler1974, Leung1990, Rey1990, Rey1991b, Penel1997]. Plusieurs domaines spectraux sont distincts et communs à l'ensemble des apatites phosphocalciques hydroxylées, fluorées, carbonatées en totalité ou en mélange : régions 3510-3560 cm^{-1} , 1100-900 cm^{-1} et 650-400 cm^{-1} [Rey1989, Rey1990, Penel1997].

Une première analyse des spectres FTIR relatifs aux poudres initiales d'ANB (Figure 31) indique la présence de bandes d'absorption IR caractéristiques attribuables aux modes de vibration des groupements PO_4^{3-} dans la structure apatitique : 1081 et 1030 cm^{-1} (mode $\nu_3\text{PO}_4^{3-}$), 960 cm^{-1} (mode $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$), 601 et 570 cm^{-1} (mode $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$) et 474 cm^{-1} (mode $\nu_2\text{PO}_4^{3-}$). Les bandes $\nu_3\text{PO}_4$ et $\nu_4\text{PO}_4$ sont les plus intenses et les plus sensibles à leur environnement. Dans les apatites faiblement cristallisées comme l'os, la bande $\nu_1\text{PO}_4$ apparaît comme un épaulement de la $\nu_3\text{PO}_4$, et la bande $\nu_2\text{PO}_4$ s'évanouit au pied de la bande $\nu_4\text{PO}_4$ [Tochon1979]. L'introduction d'ions HPO_4^{2-} dans la structure apatitique se traduit par des distorsions du tétraèdre formé par l'ion libre PO_4^{3-} . Leur présence est visible sur le spectre IR

avec l'apparition de bandes attribuables aux ions HPO_4^{2-} , en particulier à 1180, 1250 et 875 cm^{-1} .

On note également la présence de bandes caractéristiques dues aux ions OH^- : mode de libration, ν_L à 630 cm^{-1} et mode élongation, ν_S à 3560 cm^{-1} . Les bandes d'absorption des ions OH^- apparaissent comme des élargissements des bandes voisines. De plus l'intensité et la largeur des bandes correspondant aux molécules d'eau (1630 et 3000 – 3400 cm^{-1}) sont très importantes. Les spectres IR révèlent la présence d'eau dans les ANB [LeGeros1978, Nakamoto1997]. Selon Joris et al., la largeur de la bande correspondant au mode d'élongation de la liaison O-H est liée à une liaison hydrogène entre l'eau adsorbée et un groupement hydroxyde de l'apatite [Joris1971].

La présence des ions HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} et OH^- au sein des ANB, est cohérente avec le fait qu'il s'agit d'apatites non-stœchiométriques. Le caractère hydraté ainsi que la largeur des bandes qui révèle une faible cristallinité des ANB, rappellent le spectre d'une apatite biologique [Rey1989,1990,1991b]. Les premières identifications effectuées sur les spectres d'absorption IR des ANB confirment qu'il s'agit d'apatites nanocristallines comparables aux apatites biologiques.

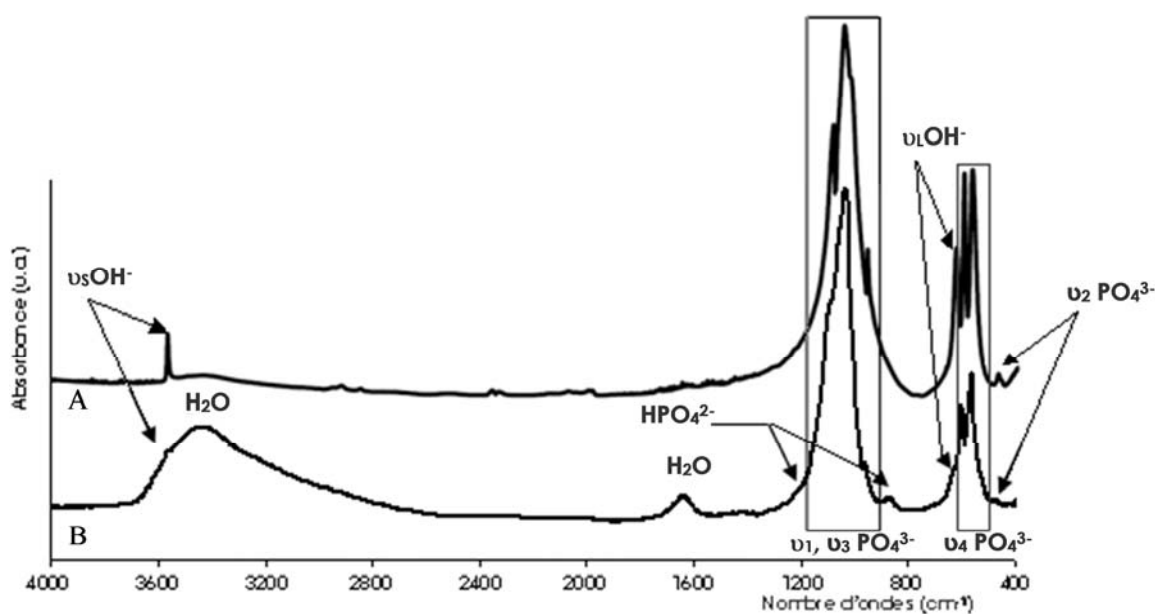


Figure 31. Spectre d'absorption infrarouge de l'hydroxyapatite stœchiométrique (A) et d'une ANB maturée 1 semaine (B)

★ **La décomposition de la région spectrale autour de la bande $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$**

Selon Kauppinen, le domaine spectral autour de la bande $\nu_4\text{PO}_4$ est préférentiellement étudié car il est non seulement plus facile à décomposer mathématiquement que celui de la bande $\nu_3\text{PO}_4$ [Kauppinen1981], mais il donne également des informations sur les ions HPO_4^{2-} [Rey1990]. La décomposition mathématique spectrale consiste à ajuster les différentes bandes afin que le modèle mathématique suive le spectre original. Elle permet ainsi d'améliorer la résolution des bandes qui se chevauchent, en modifiant une à une la largeur de bande de chaque composant du massif de bandes et de suivre les proportions relatives de chaque contribution.

La région spectrale englobant les modes de vibrations ν_2 et ν_4 des groupements phosphate PO_4^{3-} a donc été choisie pour la décomposition mathématique des spectres car les différents types d'environnement chimique des ions phosphate y sont particulièrement visibles, de plus la bande ν_4 présente une largeur de bande bien adaptée à la décomposition [Rey1990]. Par la suite nous noterons ce domaine spectral $\nu_2\nu_4\text{PO}_4^{3-}$.

→ Méthodologie

Les décompositions spectrales [Kauppinen1981] pour l'HA stœchiométrique, ainsi que pour les poudres d'ANB obtenues après différents temps de maturation ont été réalisées à l'aide du logiciel ORIGIN[®], afin de suivre l'évolution des environnements chimiques (apatitiques et non-apatitiques) en fonction du temps de maturation. Après soustraction d'une ligne de base linéaire, la décomposition mathématique est réalisée entre 800 et 400 cm^{-1} (Figure 32) car la $\nu_2\text{PO}_4^{3-}$ ne peut pas être dissociée du massif de bandes formé par la $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$. La $\nu_{\text{L}}\text{OH}^-$ est également incluse dans la décomposition mathématique car elle se juxtapose à la $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$. Les données de la bibliographie ont servi de point de départ pour le positionnement de chaque bande existant dans la région spectrale $\nu_2\nu_4\text{PO}_4^{3-}$. Le Tableau 20 indique les données initiales entrées dans le logiciel de décomposition.

Tableau 20. Modèle initial utilisé pour décomposer le domaine d'absorption infrarouge 400 – 800 cm⁻¹ en huit bandes d'absorption distinctes, quel que soit le temps de maturation de l'ANB [Banu2005]

Attribution des bandes	Positions (cm ⁻¹)	Paramètre des bandes			
		Position	Largeur	Aire	Forme
$\nu_2\text{PO}_4^{3-}$	470	libre	fixée à 15 cm ⁻¹	fixée ≥ 0	Lorentzienne
HPO_4^{2-} non-apatitique	535	fixée à 535 cm ⁻¹	libre		
HPO_4^{2-} apatitique	550	fixée à 550 cm ⁻¹	fixée à 25 cm ⁻¹		
PO_4^{3-} apatitique	560	libre	libre		
PO_4^{3-} apatitique	575	libre	libre		
PO_4^{3-} apatitique	601	libre	libre		
PO_4^{3-} non-apatitique	617	fixée à 617 cm ⁻¹	libre		
OH apatitique	631	libre	libre		

Cette méthode de décomposition peut paraître hasardeuse, dans la mesure où 8 bandes coexistent. C'est pourquoi nous avons cherché à vérifier la reproductibilité et la justesse de la décomposition. Les paramètres libres (l'aire et la largeur de bande) mentionnés dans le Tableau 20 ont fait l'objet de différents essais (Tableau 21), pour chaque temps de maturation. Les différences entre les essais ont été choisies soit en évitant de diriger l'ajustement des bandes (essais n^o1 à 3), soit en les initialisant avec des valeurs proches des résultats obtenus dans la majorité des cas (essais n^o4 à 7). Quatre échantillons de chaque temps de maturation ont été décomposés selon les 7 essais. Afin de comparer les teneurs des différentes espèces ioniques en fonction des échantillons, l'intensité intégrée (= Aire) de chaque bande de décomposition est divisée par la somme des intensités intégrées des bandes qui constituent la $\nu_4\text{PO}_4$. Les intensités intégrées relatives de chaque bande ainsi calculées peuvent ensuite être comparées entre bandes d'un même spectre ou d'un autre.

Tableau 21. Variations des paramètres initiaux de décomposition IR (Aire ou « A » et Largeur ou « L »)

Positions (cm ⁻¹)	470		535		550		560 / 575 / 601		617		631	
	A	L	A	L	A	L	A	L	A	L	A	L
Essais												
essai n ^o 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
essai n ^o 2	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5	1	5
essai n ^o 3	1	15*	5	25	5	25	6	18	5	25	5	25
essai n ^o 4 [#]	1	15*	5	25	5	25*	6	18	5	35	1	35
essai n ^o 5	1	15*	5	25	5	25*	6	18	5	35	5	35
Cas des maturations avec un épaulement à 631 cm⁻¹ (maturation 1 semaine)												
essai n ^o 6	1	15*	5	25	5	25*	6	18	1	15	5	35
Cas des maturations avec un fort épaulement à 631 cm⁻¹ (maturation 3 semaines)												
essai n ^o 7	1	15*	5	25	5	25*	6	18	0,5	6	8	33

*Paramètres fixés selon le Tableau 20

[#]Dans l'essai n^o4, les valeurs d'initialisation se rapprochent des valeurs approximatives finales.

Pour une même maturation courte (l'épaulement de la bande $\nu_{\text{L}}\text{OH}$ est inexistant ou imperceptible), quel que soit l'essai, la position de chaque bande reste identique (Tableau 22) et correspond aux données de la littérature (Tableau 18).

Tableau 22. Position (cm^{-1}) des bandes IR de la bande $\nu_4\text{PO}_4$, obtenues par décomposition mathématique des ANB maturées et d'une HA stœchiométrique

Attributions	ANB 20 min	ANB 3h	ANB 1jour	ANB 3jours	ANB 5jours	ANB 1 semaine	ANB 3semaines	HA stœchiométrique
HPO_4^{2-} non-ap	535	535	535	535	535	535	535	/
HPO_4^{2-} ap	550	550	550	550	550	550	550	550
PO_4^{3-} ap	561,8	561,2	561,6	562,3	562,2	562,3	563,1	566,1
PO_4^{3-} ap	572,9	574,6	574,3	572,5	573,6	572,2	574,6	573,6
PO_4^{3-} ap	602,5	601,8	602,1	603,1	602,7	602,9	602,9	602,2
PO_4^{3-} non-ap	617	617	617	617	617	617	617	/

Dans le cas où la bande $\nu_{\text{L}}\text{OH}$ est visible, les différents essais conduisent à 2 possibilités mathématiques pour lesquelles la différence majeure présentée dans le Tableau 23 concerne la bande $\nu_{\text{L}}\text{OH}$:

Tableau 23. Position et Aire associée de la bande $\nu_{\text{L}}\text{OH}$ dans le cas des 2 possibilités issues de la décomposition du massif de bandes $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ des ANB maturées 1 et 3 semaines

Maturation	Essai	Position $\nu_{\text{L}}\text{OH}$	Aire $\nu_{\text{L}}\text{OH}$
1 semaine	n°6	629,2	15,4 %
	n°3	636,6	2,9 %
3 semaines	n°7	632,7	15,5 %
	n°3	635,0	3,8 %

Notons cependant que l'essai n°3 conduit systématiquement à une solution où la position de la bande $\nu_{\text{L}}\text{OH}$ est nettement décalée vers les hautes fréquences, ce qui ne semble pas avoir de signification physique par rapport aux données de la littérature. En revanche les essais n°6 et n°7, respectivement pour l'ANB maturée 1 semaine et 3 semaines, sont retenus pour aboutir à une solution de décomposition physiquement plausible, et en conformité avec la littérature.

→ Validation de la méthode de décomposition

Afin de contrôler l'efficacité de la méthode de décomposition, même dans le cas où certaines espèces ioniques sont inexistantes, les méthodes de décomposition citées dans le Tableau 21 ont été appliquées pour la décomposition de la bande $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ de l'HA stœchiométrique. Comme indiqué sur la Figure 32A, bien que 8 bandes soient initialisées dans le logiciel de décomposition, l'affinement mathématique converge vers une situation qui élimine les contributions non-apatitiques. La Figure 32 présente également la décomposition mathématique d'une apatite maturée 1 semaine (B), cette dernière étant représentative du type de décomposition mathématique effectué sur l'ensemble des ANB étudiées.

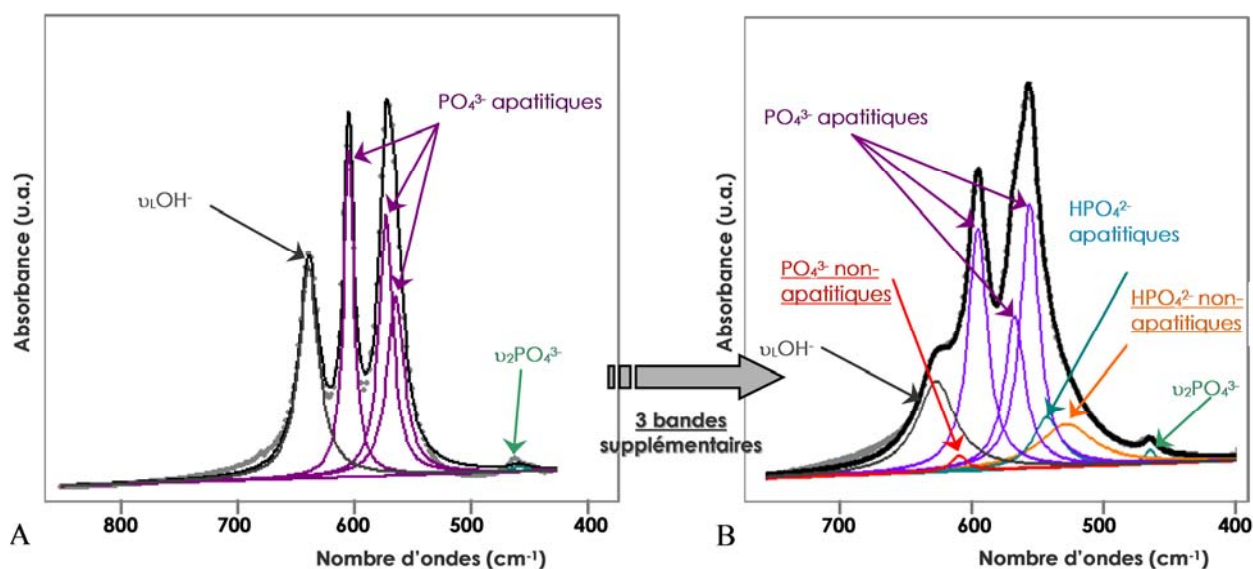


Figure 32. Décomposition FTIR dans le domaine spectral 800-400 cm^{-1} de l'hydroxyapatite stœchiométrique (A) et d'une ANB maturée 1 semaine (B)

Dans le cas de l'HA stœchiométrique (Figure 32A), le massif d'absorption IR peut être décomposé en 5 bandes relatives à des ions ayant un environnement apatitique : une pour le mode de vibration $\nu_1\text{OH}^-$, 3 pour le mode de vibration $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$, la dernière correspondant au mode $\nu_2\text{PO}_4^{3-}$. En revanche, sur le spectre IR obtenu avec l'ANB, 3 bandes de vibration supplémentaires sont observées (Figure 32B). Ces bandes correspondent aux espèces ioniques HPO_4^{2-} (apatitiques et non-apatitiques), ainsi qu'aux ions PO_4^{3-} dans un environnement chimique non-apatitique [Rey1990]. Comme l'ont montré de précédentes études, ces environnements non-apatitiques (également présents pour diverses minéralisations biologiques) correspondent aux ions présents dans la couche hydratée [Cazalbou2004b].

→ Test statistique

Les résultats présentés correspondent à la moyenne des différentes valeurs de décompositions \pm l'écart-type. Pour évaluer l'évolution de la teneur en différentes espèces ioniques en fonction du temps de maturation, la loi de Fisher-Snedecor, qui permet de comparer au moins deux échantillons indépendants, a été utilisée (test ANOVA). Le niveau de différence significative est fixé pour $p > 0,05$.

→ Suivi de l'évolution des espèces ioniques en fonction du temps de maturation

Globalement, la Figure 33A montre une forte augmentation des ions hydroxyde, une légère diminution des ions hydrogénophosphate totaux (= apatitiques + non-apatitiques) et une diminution de l'ensemble des espèces non-apatitiques lorsque le temps de maturation est plus long. De façon plus détaillée, l'évolution des différentes espèces ioniques n'est pas régulière au cours de la maturation :

- Ions OH^- apatitiques

Au début de la maturation, les ions OH^- sont quasiment inexistantes. La formation de ces ions est significative à partir de 1 jour de maturation, puis se stabilise après 1 semaine. L'augmentation très importante de la teneur en ions OH^-_{ap} traduit le développement des domaines apatitiques.

- Ions HPO_4^{2-} totaux

Au début de la maturation (jusqu'à 1 jour), la quantité d'ions hydrogénophosphate totaux est stable (écarts non significativement différents), avec 4 fois plus d'ions HPO_4^{2-} dans la couche hydratée (espèces non-apatitiques) que dans le cœur apatitique (Figure 33B). En comparaison avec la teneur en début de maturation (ANB maturée 20 minutes), la teneur de ces ions est significativement plus faible à partir de 1 jour de maturation. De plus, avec le temps de maturation, la teneur en ions apatitiques augmente contrairement à celle en ions non-apatitiques ; l'écart entre les deux se resserre avec toujours une majorité d'ions HPO_4^{2-} dans la couche hydratée (Figure 33B).

La teneur élevée en ions HPO_4^{2-} , dans les ANB maturée 20 minutes et 3 heures, rappelle la teneur dans l'os jeune qui présente une faible cristallinité [Miller2001]. En effet, la teneur en ions HPO_4^{2-} et le taux de cristallinité sont inversement reliés [Miller2001].

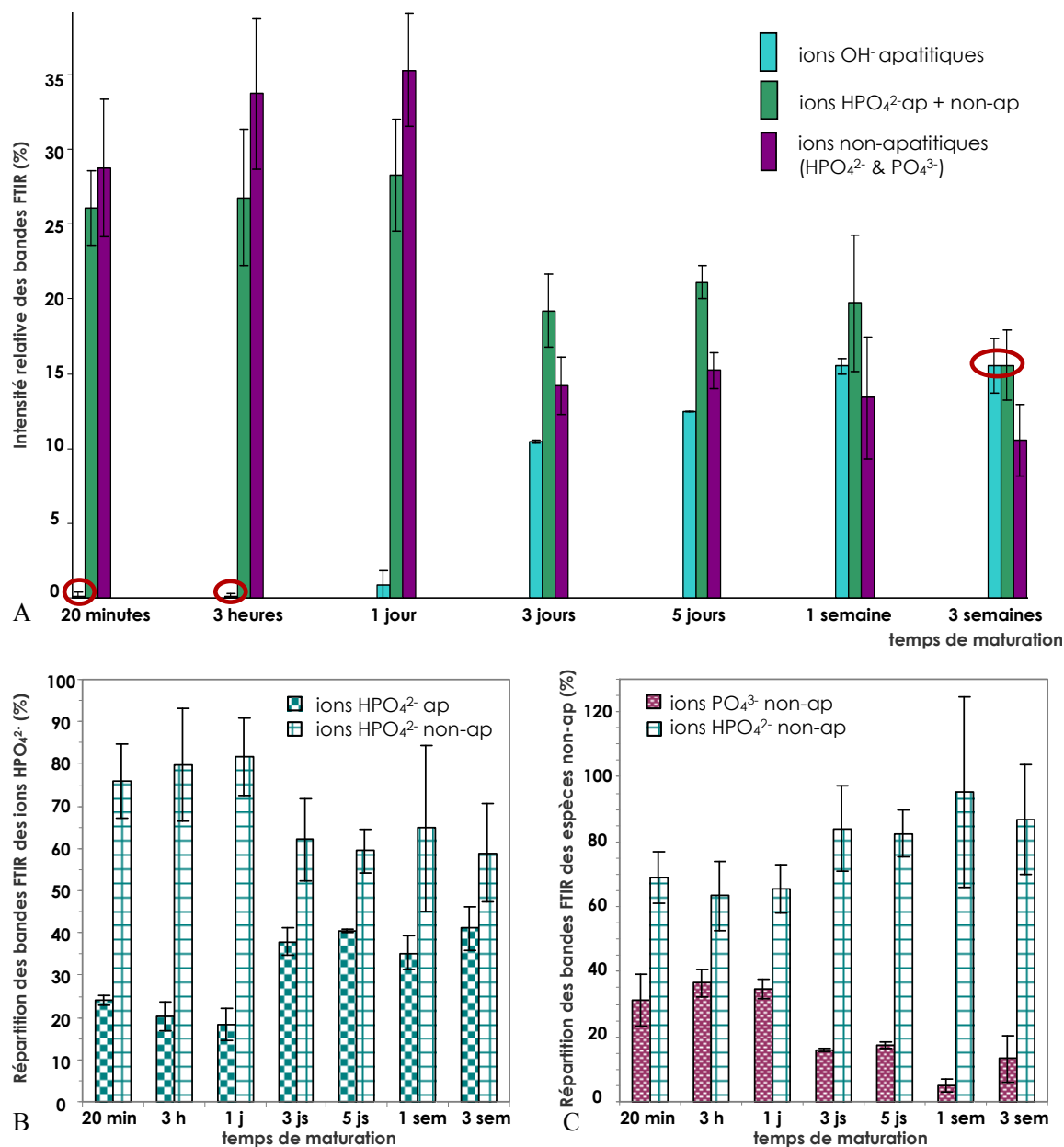


Figure 33. Suivi de l'évolution des espèces ioniques dans la couche hydratée et dans le cœur apatitique (A), de la répartition apatitique et non-apatitique des ions HPO_4^{2-} (B) et de la répartition des différentes espèces non-apatitiques (HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}) dans les ANB (C), en fonction du temps de maturation

- Espèces chimiques non-apatitiques

Une légère augmentation des teneurs en espèces non-apatitiques semble être significative entre 20 minutes et 3 heures de maturation, avant de stagner jusqu'à 1 jour. La chute significative après 3 jours de maturation est due à la diminution importante de la teneur en ions PO_4^{3-} dans la couche hydratée, alors que la teneur en ions HPO_4^{2-} n'est pas significativement différente lorsque le temps de maturation augmente (Figure 33C). La diminution de la quantité d'espèces non-apatitiques avec le temps de maturation traduit une réduction de la proportion de la couche hydratée quand le temps de maturation augmente.

En comparant les proportions relatives des différentes espèces pour une même durée de maturation, notamment les ions hydroxyde et les ions hydrogénophosphate, il apparaît que les ions OH^- ont une intensité relative inférieure à celle des ions HPO_4^{2-} totaux, mais après 3 semaines de maturation, l'écart d'intensité IR entre les deux espèces est largement diminué.

L'évolution des teneurs relatives en ions OH^- et HPO_4^{2-} vient conforter les identifications de phases réalisées par DRX, après calcination des ANB maturées (§ II.3.1, Figure 25) : formation d'HA stœchiométrique après calcination de l'ANB maturée 3 semaines ; ainsi que l'évolution de la perte de masse Δm_3 obtenue par ATG (§ II.3.3, Figure 29) : perte infime avant 1 jour de maturation suivi d'une augmentation importante qui tend vers une limite après 1 semaine de maturation.

Nos ANB maturées sont comparables au minéral osseux pour les faibles temps de maturation (20 minutes et 3 heures), car contrairement à la dentine et à l'émail, l'os ne contient quasiment pas d'ions hydroxyde [Pasteris2004]. Les ions labiles, non-apatitiques, présents dans la couche hydratée des ANB ont un comportement similaire aux ions labiles présents dans le minéral osseux. Ainsi, la maturation des cristaux d'ANB s'apparente au vieillissement des cristaux du minéral osseux au cours duquel la disparition progressive des environnements non-apatitiques est associée au développement des environnements apatitiques stables [Cazalbou2004a]. Dans nos ANB maturées, les évolutions des différentes espèces ioniques sont rapides au début de la maturation. Elles tendent vers une stabilité plus grande avec le temps.

II.3.5. Les échanges ioniques

Les apatites possèdent plusieurs sites cristallographiques où les échanges ioniques peuvent avoir lieu, et où divers éléments avec des charges ioniques différentes peuvent s'adapter [Pan2002, Piccoli2002]. Comme nous l'avons précédemment expliqué dans le § I.1.5.b, dans le cas des apatites biologiques, ou des ANB, les cristaux possèdent de plus à leur surface une couche hydratée au sein de laquelle des ions, dits non-apatitiques (ions HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} ...), sont très mobiles et réactifs [Green1994, Cazalbou2000,2004a]. Ces ions labiles peuvent être facilement échangés au sein de la couche hydratée, de façon généralement réversible.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à l'échange des groupements HPO_4^{2-} non-apatitiques (dans la couche hydratée) par des ions CO_3^{2-} en vue vérifier la capacité d'échange ionique de la couche hydratée et son évolution lorsque le temps de maturation des ANB augmente. Si la décomposition mathématique des spectres IR confirme la diminution de la bande correspondant aux ions HPO_4^{2-} non-ap, alors les échanges ioniques nous permettrons de conforter les hypothèses de décomposition IR. En effet, en cherchant à évaluer la quantité maximale d'ions CO_3^{2-} pouvant être incorporés dans les ANB non carbonatées, en fonction de la maturation de l'apatite, Eichert [Eichert2001] a observé que l'incorporation de ces ions entraîne une diminution importante de la teneur en ions HPO_4^{2-} non-apatitiques.

Dans un second temps, nous avons cherché à échanger les ions Ca^{2+} de surface (non-apatitiques) par des ions Mg^{2+} afin de quantifier la proportion des ions calcium présents dans la couche hydratée et dans le cœur apatitique, au cours de la maturation.

II.3.5.a. Les échanges de surface HPO_4^{2-} / CO_3^{2-}

Les apatites biologiques [LeGeros1968] et les apatites carbonatées de synthèse [Rey1989] peuvent contenir des ions carbonate dans la couche hydratée (les ions CO_3^{2-} labiles) ainsi que dans deux sites cristallographiques : en site « phosphate », les ions CO_3^{2-} sont de type B, tandis que dans les tunnels formés par les ions calcium Ca II (§ I.1.4.e, Figure 7), les ions CO_3^{2-} de type A prennent la place des ions OH^- .

★ **Protocole expérimental**

→ Préparation des échantillons

Les poudres d'ANB utilisées pour les échanges ont été préparées précédemment selon la réaction de précipitation détaillée dans la PARTIE A. § II.1.1. Les 7 temps de maturation compris entre 20 minutes et 3 semaines ont été étudiés dans cette section. Afin d'optimiser le temps d'échange des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques par les ions carbonate, sans modification significative de l'état de maturation de l'ANB, nous avons effectué les premiers essais avec une ANB dont le temps de maturation a été fixé à 24 heures, afin que la réaction d'échange ne soit pas masquée ou gênée par un processus de post-maturation. Hina a montré dans une précédente étude que la capacité d'échange diminuait considérablement lorsque la durée de maturation augmentait, mais à 24 heures, celle-ci est encore très importante [Hina1996]. De plus, les résultats de spectroscopie IR obtenus sur chaque ANB maturée (§ II.3.4.b) ont montré que l'évolution de la maturation est très rapide au début, mais ralentit après un jour. Le choix de l'ANB maturée 1 jour doit donc permettre d'évaluer le taux d'ions CO_3^{2-} incorporés après différentes durées d'échange plus courtes que le temps de maturation. Le cœur apatitique ne doit pas être modifié et la bande d'absorption $\nu_3\text{PO}_4^{3-}$ doit rester inchangée pour des courts temps d'échange. Une fois cette durée optimale déterminée pour l'ANB maturée 1 jour, ce temps sera appliqué à l'ensemble des ANB maturées.

→ Réalisation de l'échange

La poudre d'ANB maturée 1 jour ($m_{\text{ANB}} = 200 \text{ mg}$) est mise en suspension dans une solution aqueuse de NaHCO_3 (Merck, qualité pour analyses, pureté : 99,7 %) contenant des ions carbonate en large excès par rapport à la quantité de solide ($[\text{CO}_3^{2-}] = 1 \text{ mol.L}^{-1}$, $V = 50 \text{ mL}$). La suspension est sous agitation à température ambiante pendant toute la durée de l'échange, puis filtrée sur un fritté, lavée soigneusement avec 500 mL d'eau distillée, et enfin lyophilisée. Une fois sèche, la poudre ayant subi l'échange est placée au congélateur afin d'éviter toute altération avant d'être caractérisée. La spectroscopie IR est privilégiée pour suivre l'évolution et la quantification relative de l'incorporation des ions carbonate dans la structure des ANB.

→ Rappels bibliographiques

Le Tableau 24 rassemble les positions des bandes de vibration IR des ions carbonate dans différentes apatites carbonatées de synthèse ou biologiques. Notons que la bande d'absorption correspondant au domaine de la $\nu_1\text{CO}_3$ (à 950 cm^{-1} et 957 cm^{-1} respectivement pour les ions CO_3^{2-} type A [LeGeros1969] et type B [Barralet1995]) est difficilement observable car elle est masquée par la bande d'absorption ν_1 des ions phosphate à 960 cm^{-1} .

Tableau 24. Positions des pics d'absorption IR, identifiés dans les apatites nanocristallines carbonatées biologiques ou de synthèse, dans les régions spectrales ν_2 , ν_3 des ions carbonate, et leur attribution selon la littérature

Attributions	[LeGeros1968] ^b	[Vignoles1973] ^s	[Nelson1982] ^s	[Elhot1985] ^b	CO_3 type B [Rey1989] ^s	CO_3 type B [Rey1989] ^s	CO_3 type AB [Rey1989] ^{s & b}	[Feki1991] ^s
$\nu_4\text{CO}_3$			671 711 716 761					670 ^A 692 ^B 718 ^B 757 ^A
$\nu_2\text{CO}_3$	871 ^B 878*	871 ^B 878 ^A	873 ^B 878 ^A	878 ^A	878 ^A	866 ^m 871 ^B	866 ^m 871 ^B 878 ^A	
$\nu_3\text{CO}_3$		1420-1470 ^{B1} ou 1420-1460 ^{B2} 1465-1540 ^A ou 1465-1500 ^A	1415 1454 1469 1500		1463 ^A 1535 ^A	1422 ^B 1456 ^B	1416 ^{AB} 1452 ^{AB} 1470 ^{AB} 1500 ^{AB} 1545 ^{AB} 1568 ^{AB}	

s : apatite de synthèse b : apatite biologique A : CO_3 en site OH (type A) B : CO_3 en site PO_4 (type B)
 B1 : site PO_4 (type B) occupé par CO_3^{2-} + lacune d'oxygène B2 : site PO_4 (type B) occupé par CO_3^{2-} + OH^- m : CO_3 labile

*ne possèdent pas les caractéristiques cristallographiques et analytiques des CO_3 type A

Les bandes d'absorption IR ν_2 et ν_3 des ions carbonate (Figure 35) sont particulièrement intéressantes car elles sont clairement identifiables et leur combinaison « profil + position des bandes » renseigne sur le type de substitution (A, B ou labile). Cependant, seule la bande $\nu_2\text{CO}_3$, à notre connaissance, renseigne sur la présence des 3 types d'ions carbonate : CO_3^{2-} labile à 866 cm^{-1} , CO_3^{2-} type B à 871 cm^{-1} (substitution des groupes PO_4) et CO_3^{2-} type A à 878 cm^{-1} (substitution des groupes OH^-) (Tableau 24).

Dans un premier temps, nous avons déterminé la position de la bande $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ afin d'identifier après combien de temps les ions HPO_4^{2-} non-apatitiques cessaient d'être échangés, et où d'autres ions apatitiques commençaient à être échangés. Initialement positionnée vers 866 cm^{-1} , la bande $\nu_2\text{CO}_3^{2-}$ se décalera d'autant plus vers les plus grands nombres d'ondes que des ions apatitiques, (OH^-) seront échangés (Figure 34).

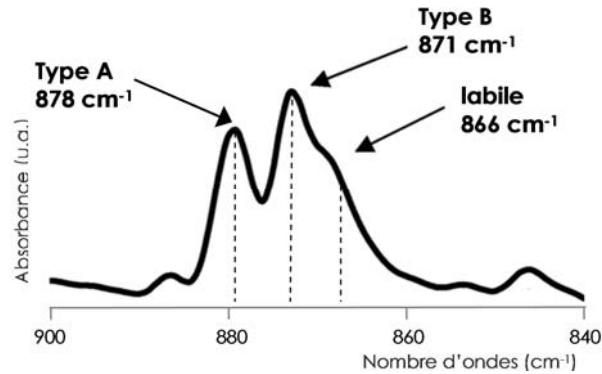


Figure 34. Détails de la bande d'absorption $\nu_2\text{CO}_3$ dans une apatite carbonatée

Ensuite, nous nous sommes intéressés à la bande $\nu_3\text{CO}_3^{2-}$ pour suivre l'évolution de l'incorporation des ions carbonate dans l'ANB, en fonction du temps d'échange. Pour cela, le rapport des intensités intégrées (= Aire) des bandes d'absorption $\nu_3\text{CO}_3^{2-} / \nu_3\text{PO}_4^{3-}$ a été calculé comme illustré sur la Figure 35, en considérant que l'intensité intégrée de la bande $\nu_3\text{PO}_4^{3-}$ reste inchangée pendant les échanges car la post-maturation de l'ANB est négligeable.

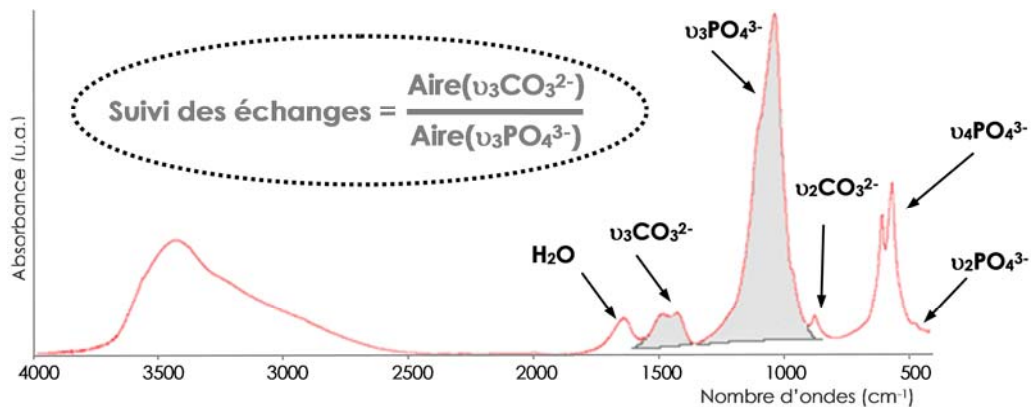


Figure 35. Spectre d'absorption IR d'une ANB maturée 1 jour, après échange de 20 minutes dans une solution carbonatée

→ Optimisation de l'échange des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques sur l'ANB maturée 1 jour

L'évolution des échanges ioniques a été suivie par spectroscopie FTIR, sur un spectromètre Perkin Elmer spectrum one. Tous les spectres ont été analysés sous forme de poudre dispersée dans une pastille de bromure de potassium (KBr) entre 4000 et 400 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} et un nombre de scans de 64. Les spectres ont été acquis avec une absorbance maximale de l'ordre de $1 \pm 0,2$.

Des échanges ont été réalisés entre 1 minute (la poudre versée dans la solution de carbonate sous agitation est immédiatement filtrée et lavée) et 1 jour. Sur la Figure 36B, la bande de vibration $\nu_2\text{CO}_3$ se décale progressivement vers les plus grands nombres d'ondes lorsque le temps d'échange de l'ANB maturée 1 jour augmente dans la solution carbonatée. Après 4 heures d'échange, la bande $\nu_2\text{CO}_3$ se positionne au-delà de 873 cm^{-1} . Cela suggère que des ions CO_3^{2-} type A ont commencé à être échangés. Effectivement, la position des ions OH^- (substitution type A) dans les tunnels (formés par les Ca II), dans la structure apatite, les rend plus accessibles que les ions phosphate apatitiques (substitution type B). Ainsi les ions OH^- sont préférentiellement échangés après les ions HPO_4^{2-} non-apatitiques.

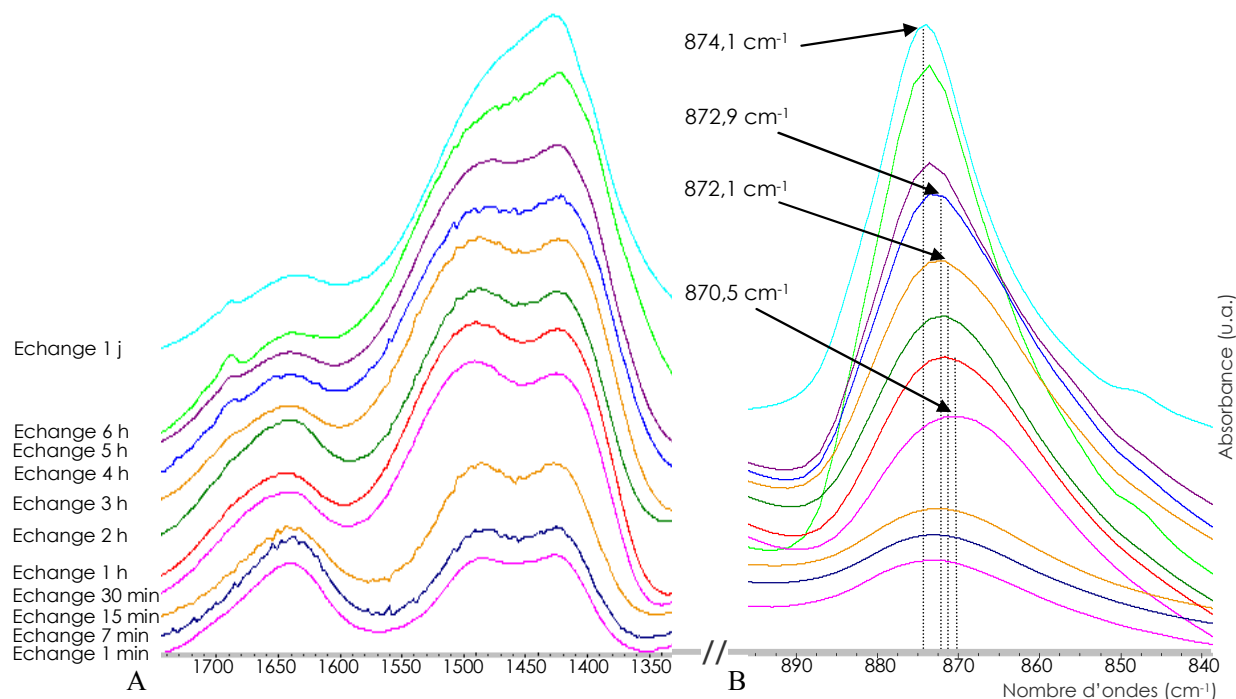


Figure 36. Domaines spectraux $\nu_3\text{CO}_3$ (A) et $\nu_2\text{CO}_3$ (B), de l'ANB maturée 1 jour, en fonction du temps de contact avec la solution d'ions carbonate

De plus le profil de la bande de vibration $\nu_3\text{CO}_3$ (Figure 36A) se modifie à partir de 4 heures d'échange ionique. Concernant la bande $\nu_3\text{CO}_3^{2-}$, deux pics à 1430 cm^{-1} et 1482 cm^{-1} sont visibles sur la Figure 36A quel que soit le temps d'échange, mais celui à 1482 cm^{-1} s'estompe en ne formant plus qu'un épaulement au pic à 1430 cm^{-1} . Cette modification apparaît clairement après 5 heures d'échange.

La quantité relative d'ions carbonate incorporés dans la structure correspond au rapport des intensités intégrées des bandes $\nu_3\text{CO}_3$ sur $\nu_1\nu_3\text{PO}_4$ comme le montre la Figure 35. La Figure 37A permet de suivre l'évolution de l'incorporation des ions CO_3^{2-} en fonction du temps d'échange dans l'ANB maturée 1 jour.

Il est possible de distinguer 3 périodes d'échange. Pendant la première heure (zone I), l'incorporation est très rapide. Les ions échangés pendant cette période sont des espèces non-apatitiques. Au cours de la période n°II, entre 1 heure et 4 heures d'échange, peu d'espèces sont échangées, un équilibre d'échange a été atteint. Ensuite, au cours de la période n°III la quantité d'ions échangés croît brutalement. Les ions échangés dans cette seconde zone d'échange sont des espèces apatitiques plus difficilement échangeables que les ions non-apatitiques.

Nous avons vu sur la Figure 36A que le profil de la bande $\nu_3\text{CO}_3$ se modifiait après 5h, accompagné d'un décalage vers les plus grands nombres d'ondes de la $\nu_2\text{CO}_3$, suggérant l'échange d'autres ions. Souhaitant échanger uniquement des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques, un temps d'échange maximal de 3 heures a été fixé comme durée maximale d'échange. Ce temps a été appliqué à l'ensemble des ANB maturées.

→ Teneur relative des espèces ioniques dans les ANB maturées, après échange de 3h dans la solution carbonatée

Lorsque le temps de maturation augmente la quantité relative d'ions incorporés diminue, ce qui est cohérent avec la diminution de la teneur en espèces non-apatitiques échangeables lorsque la maturation de l'ANB est plus importante (Figure 33). Pour l'échange ionique avec les ANB maturées au-delà de 3 jours, la diminution de la quantité relative d'ions incorporés est plus lente, ce qui corrobore l'évolution des espèces non-apatitiques dans la couche hydratée, en fonction du temps de maturation.

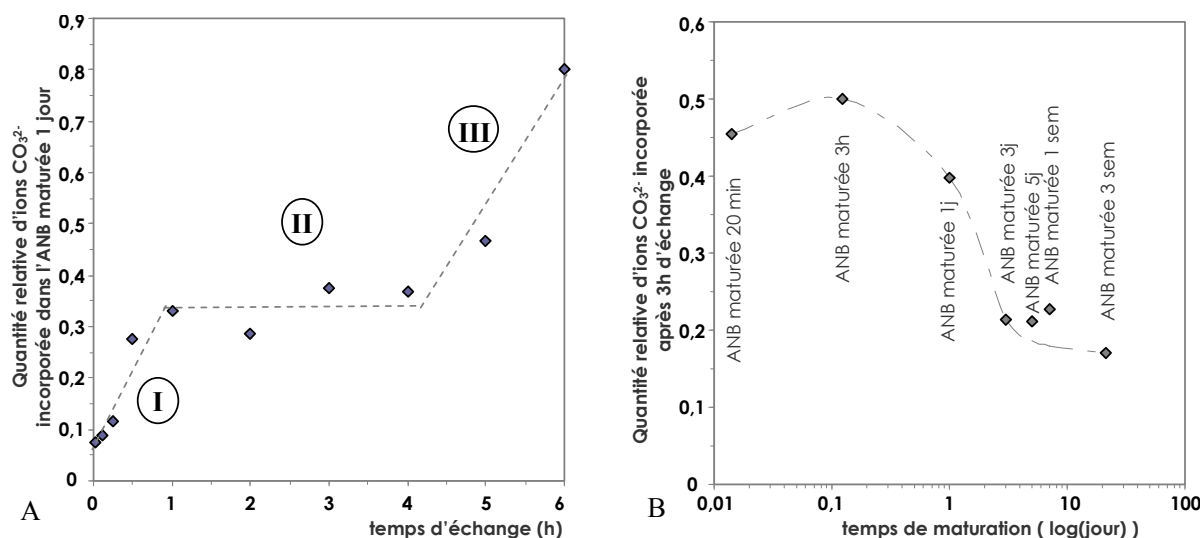


Figure 37. Quantité relative d'ions carbonate incorporés dans l'ANB maturée 1 jour après différents temps d'échange (A), dans chaque ANB maturée, immergée pendant 3h dans la solution d'échange(B)

Afin de vérifier l'échange des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques, présents dans la couche hydratée (Figure 38A), ainsi que le non-échange des ions OH^- apatitiques (Figure 38B), la bande d'absorption $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ a été décomposée mathématiquement de la même façon que précédemment (§ II.3.4.b). L'intensité (= Aire) de chaque bande de décomposition est divisée par la somme des intensités des bandes qui constituent la $\nu_4\text{PO}_4$ afin de comparer les teneurs des différentes espèces ioniques d'un même échantillon ou d'un autre.

Quelle que soit l'ANB maturée :

→ les ions OH^- paraissent être concernés, mais de façon limitée, par la substitution avec les ions CO_3^{2-} après 3 heures d'échange ;

→ la teneur en ions HPO_4^{2-} non-apatitiques est inférieure après échange, néanmoins tous les ions HPO_4^{2-} non-apatitiques n'ont pas été échangés.

La proportion d'ions échangés diminue lorsque l'ANB est maturée plus longtemps. Dans le cas par exemple de l'ANB maturée 20 minutes, la teneur en ions HPO_4^{2-} non-ap était de 20 % avant l'échange. Elle a chuté à 5,5 % après l'échange. Ainsi 73 % de la teneur relative en ions HPO_4^{2-} non-ap présent dans l'ANB avant échange, ont été échangés. Dans le cas de l'ANB maturée 3 semaines, seulement 50 % des ions HPO_4^{2-} non-ap ont été échangés.

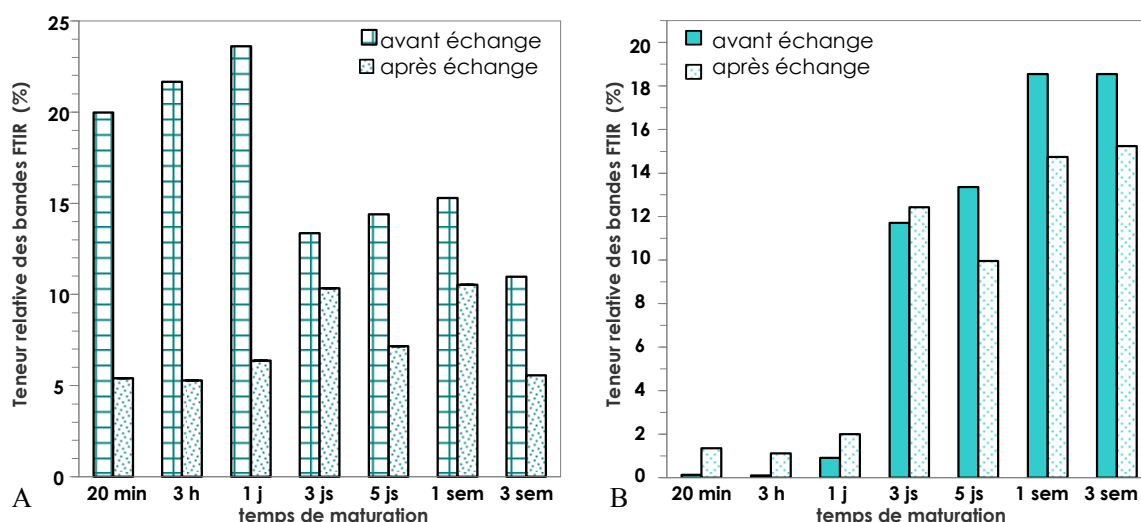


Figure 38. Suivi des espèces ioniques HPO_4^{2-} non-apatitiques (A) et OH^- apatitiques (B) avant et après échange de 3h dans la solution carbonatée

→ Affinement de la position des bandes vibrationnelles FTIR dans le domaine spectral $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$

Bien que tous les ions HPO_4^{2-} non-ap n'aient été échangés, le profil de la bande $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ est modifié. En effet, la bande de vibration (à $\approx 535 \text{ cm}^{-1}$) qui correspond aux ions HPO_4^{2-} non-ap, située à l'extrémité du massif de bandes du côté des petits nombres d'ondes, est diminuée d'intensité. Si des ions OH^- ont commencé à être échangés, seul l'épaule (à $\approx 632 \text{ cm}^{-1}$) du massif de bande $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ du côté opposé à la bande des ions HPO_4^{2-} non-ap sera affectée. Les autres bandes d'absorption qui constituent le massif de bande $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$, n'ont pas été affectées de façon significative pendant les échanges ioniques.

Les échanges ioniques effectués pour chaque ANB maturée ont ainsi mené à une variation du profil de la région spectrale $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$. La connaissance de la teneur des différentes espèces ioniques avant l'échange, et la position des différentes bandes dans le massif de la $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$, nous a permis d'affiner la position FTIR de chaque bande après l'échange ionique (Tableau 25).

Les paramètres initialement fixés, selon la méthodologie décrite plus haut, ont été libérés. Les positions de bande définies pour chaque espèce ionique, dans le massif $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$, sont très peu différentes des hypothèses de décomposition utilisées au début de ce travail. De plus, les positions évoluent légèrement en fonction de l'état de maturation de l'ANB. Elles sont en

accord avec les données de la littérature pour les apatites nanocristallines mentionnées dans le Tableau 18.

Tableau 25. Position (cm^{-1}) des bandes vibrationnelles, obtenues par décomposition mathématique du massif $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$, dans les ANB mûries après échange ionique

Attributions	ANB 20min	ANB 3h	ANB 1jour	ANB 3jours	ANB 5jours	ANB 1semaine	ANB 3semaines
HPO_4^{2-} non-ap	527,8	526,8	526,2	533,1	531,8	531,1	530,9
HPO_4^{2-} ap	549,3	547,2	544,6	551,5	552,3	552,5	551,8
PO_4^{3-} ap	560,9	560,8	560,6	562,0	562,3	562,3	562,6
PO_4^{3-} ap	576,2	576,6	576,9	573,7	573,6	573,9	574,0
PO_4^{3-} ap	601,6	601,4	601,8	601,9	602,1	601,7	601,7
PO_4^{3-} non-ap	612,4	612,0	614,6	610,6	611,6	609,7	608,6

Les échanges d'ions HPO_4^{2-} non-apatitiques contre des ions CO_3^{2-} ont mis en évidence la réactivité de surface des ANB. Elle diminue lorsque le temps de maturation des ANB croît.

Les résultats de décomposition après échange nous ont permis de valider la position des bandes, ainsi que les teneurs relatives des différents environnements phosphate dans chaque ANB mûrie (sans échange ionique).

II.3.5.b. L'échange des ions calcium Ca^{2+}

Dans cette section, le but est de faire la distinction entre les ions Ca^{2+} présents dans la couche hydratée, de ceux appartenant aux domaines apatitiques. De ce fait, l'idée est de réaliser des échanges uniquement avec les ions calcium mobiles de la couche hydratée, sans modifier le cœur apatitique. Etant donné que seuls les ions dans un environnement non-apatitique peuvent être échangés (rapidement), et que la surface de la couche hydratée diminue au cours de la maturation, la quantité d'ions échangeables diminue avec le temps de maturation [Cazalbou2005]. Néanmoins tous les ions présents dans la couche hydratée ne sont pas forcément échangés. La réversibilité de l'échange et l'impact sur l'avancement de la maturation sont fonctions de la nature de l'ion qui vient se substituer à l'ion calcium [Cazalbou2000,2005] : si cet ion reste dans la couche hydratée, c'est-à-dire qu'il ne peut que difficilement entrer dans le domaine apatitique (cas de l'ion Mg^{2+}), il peut être rééchangé et

peut stabiliser parfois l'évolution de la couche hydratée. Au contraire, si cet ion peut aisément entrer dans le domaine apatitique (cas de l'ion Sr^{2+}), il ne gêne pas significativement le vieillissement des cristaux, mais il ne peut plus être échangé. D'autre part, le choix du magnésium comme cation échangeur est motivé par le fait qu'il s'agit d'un élément essentiel à considérer lors d'études d'analogues au minéral osseux car en plus d'être indispensable à la vie, le corps des vertébrés contient en moyenne 25 g de magnésium dont 65 % sont situés dans les os [Pasteur1861, Raulin1870, Canals1920].

★ **Protocole expérimental**

Dans de précédents travaux, Cazalbou a mis en évidence la rapidité de tels échanges de surface : l'équilibre est atteint en quelques minutes à température ambiante [Cazalbou2005]. Le mode opératoire est similaire à celui utilisé dans le cas des ions carbonate.

La poudre d'ANB est mise en suspension dans une solution aqueuse de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck, qualité pour analyses, pureté : 99,0 %) contenant des ions Mg^{2+} en large excès par rapport à la quantité de solide ($[\text{Mg}^{2+}] = 1 \text{ mol.L}^{-1}$, $V = 50 \text{ mL}$). La suspension est sous agitation à température ambiante pendant toute la durée de l'échange, puis filtrée sur un fritté, lavée soigneusement avec 500 mL d'eau distillée, et enfin lyophilisée. Une fois sèche, la poudre ayant subi l'échange est placée au congélateur afin d'éviter toute altération avant d'être caractérisée. Le suivi de l'échange ne peut être réalisé par dosage en retour avec l'EDTA, car celui-ci se complexe indifféremment avec les ions calcium et magnésium. Les dosages des cations sont ainsi réalisés par ICP/AES. L'erreur relative sur la détermination de la teneur en alcalino-terreux est de l'ordre de 5 % (soit 10 fois supérieure à l'erreur du dosage par EDTA), c'est pourquoi un dosage des ions calcium a également été réalisé avant échange ionique, pour comparaison.

→ Optimisation de l'échange des ions Ca^{2+} non-apatitiques sur l'ANB maturée 1 jour, et application aux autres ANB

Afin d'optimiser l'échange des ions Ca^{2+} non-apatitiques, nous avons procédé de la même façon que pour l'étude de l'échange avec les ions carbonate. Des échanges ont été réalisés entre 20 minutes et 1 heure avec l'ANB maturée 1 jour. La Figure 39A met en évidence l'équilibre d'échange atteint après 30 minutes d'immersion de l'ANB maturée 1 jour dans la solution contenant le magnésium. Cette durée d'échange est ensuite appliquée à chaque

maturation. Les Figure 39B et C montrent que la quantité d'ions calcium échangeables (dosés par ICP/AES) diminue avec l'allongement du temps de maturation de l'ANB. Dans une ANB maturée 20 minutes, 91,7 % des ions calcium ne sont pas échangeables, alors que dans l'ANB maturée 3 semaines, la teneur en ions calcium non échangeables s'élève à 96,4 %. Ces ions non échangeables sont stables dans la structure apatitique.

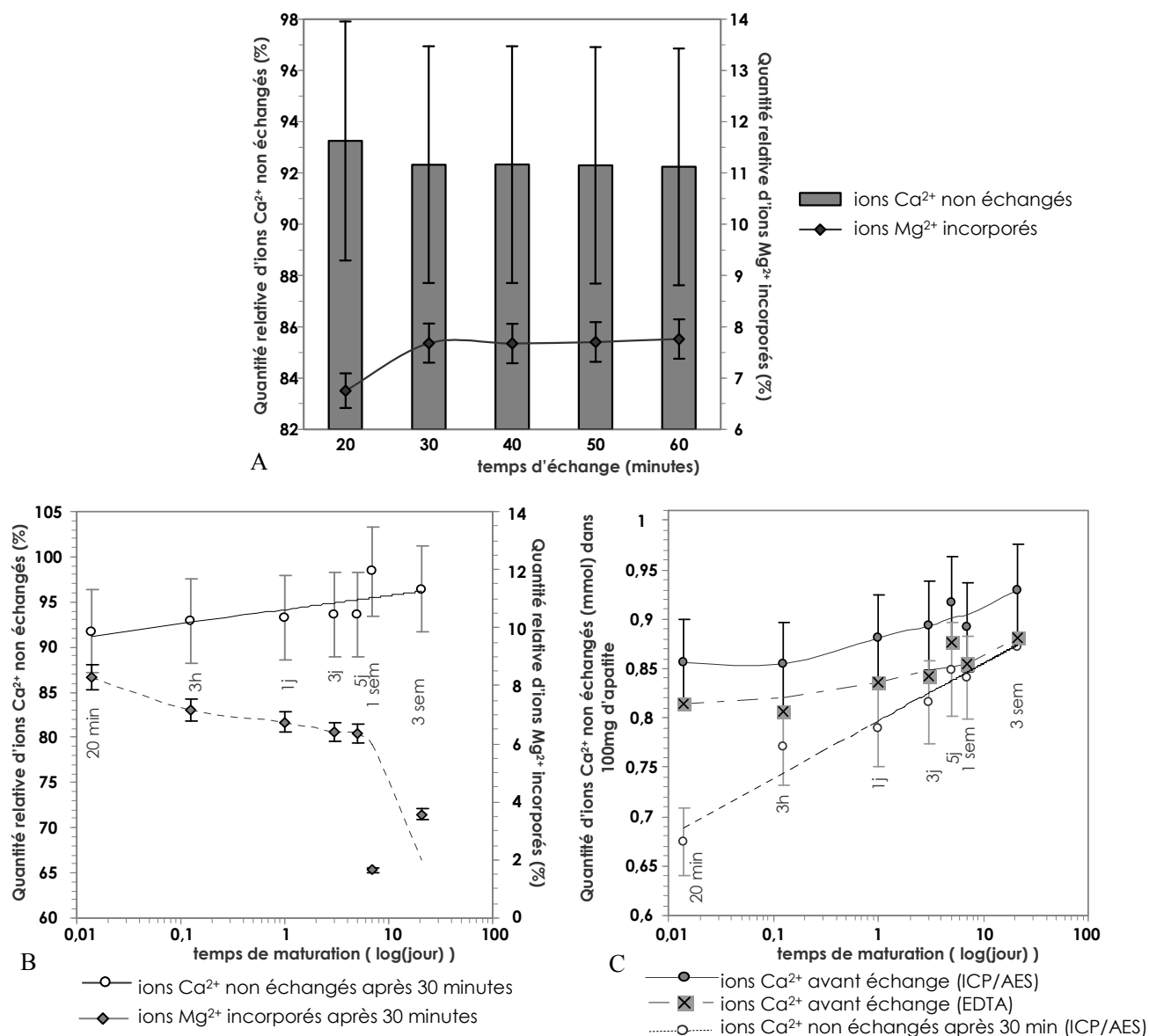


Figure 39. Quantité relative d'ions calcium non échangeables, et d'ions magnésium incorporés dans une ANB maturée 1 jour, en fonction du temps d'échange (A), échange pendant 30 minutes des ions Ca^{2+} par des ions Mg^{2+} pour chaque ANB maturée (B), et comparaison des deux techniques de dosage (analyse par ICP-AEP et dosage retour par EDTA) (C)

Sur la Figure 39C, un écart constant de 4 % est visible entre la quantité d'ions Ca^{2+} dosés avant échange par volumétrie en retour (EDTA) et par ICP/AES (valeur inférieure). Il serait logique de considérer le dosage par volumétrie en retour comme étant le plus fiable car les précédents résultats ont été confirmés notamment par la diffraction X. De plus, l'erreur sur la mesure est 10 fois plus importante par ICP/AES. Ainsi, il est raisonnable de penser que les dosages par analyse ICP/AES sont légèrement (4 %) sous évalués.

Les valeurs de la teneur totale en ions Ca^{2+} dosés par volumétrie en retour sont utilisées pour estimer, en première approximation, les proportions d'ions Ca^{2+} présents dans la couche hydratée (les ions Ca^{2+} échangés par des ions Mg^{2+}), et ceux présents dans le cœur apatitique (Figure 40). La Figure 40 illustre l'augmentation de la quantité d'ions calcium apatitiques au détriment des ions Ca^{2+} non-apatitiques présents.

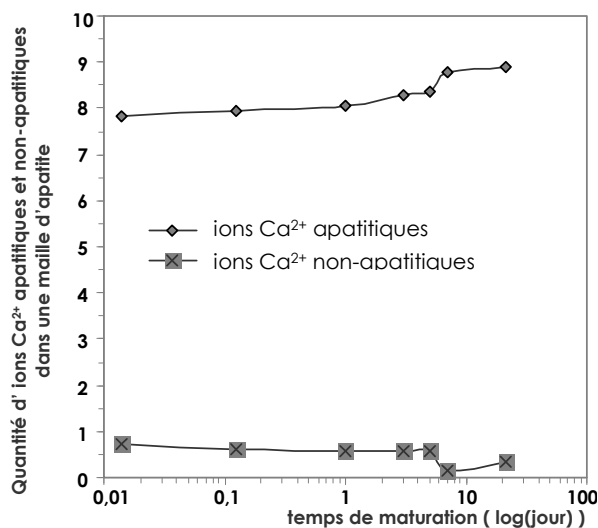


Figure 40. Quantité d'ions calcium apatitiques et non-apatitiques dans une maille d'apatite contenant 6 atomes de phosphore

Ces évolutions corroborent la réorganisation progressive des ions de la couche hydratée lorsque le temps de maturation augmente ; l'ANB tendant progressivement vers la stabilité. Ces résultats confortent les données recueillies par spectroscopie FTIR.

II.3.6. La spectroscopie vibrationnelle Raman

Les spectroscopies vibrationnelles IR et Raman sont complémentaires. Elles donnent des informations détaillées sur les vibrations moléculaires, sur l'environnement moléculaire et dans une certaine mesure sur l'état de cristallinité des échantillons.

En spectrométrie Raman, l'analyse se fait par excitation du matériau. Porté à un niveau énergétique virtuel par une puissante source lumineuse monochromatique de type laser, le matériau émet ensuite une radiation qui est collectée puis analysée par un détecteur adéquat. Cette radiation comporte deux types de signaux. Le premier très majoritaire correspond à la diffusion Rayleigh (radiation incidente diffusée élastiquement sans changement d'énergie, donc sans variation de longueur d'onde). Toutefois, quelques photons restreints peuvent interagir avec la matière qui absorbe (ou cède) de l'énergie aux photons incidents produisant ainsi les radiations Stokes (ou anti-Stokes). La variation d'énergie observée sur le photon nous renseigne alors sur les niveaux énergétiques de rotation et de vibration de la molécule concernée.

L'activité vibrationnelle est différemment perçue en spectroscopie Raman et infrarouge : certaines bandes sont actives à la fois en Raman et en IR, d'autres le sont uniquement en IR ou en Raman. Un mode normal de vibration sera actif en IR si le mouvement correspondant s'accompagne d'une variation du moment dipolaire électrique de la molécule. Un mode normal de vibration sera actif en Raman si le mouvement correspondant s'accompagne d'une variation de la polarisabilité de la molécule.

Contrairement à la spectroscopie IR, la spectroscopie Raman ne demande aucune préparation de l'échantillon, elle permet une analyse directe et non-destructive de celui-ci.

II.3.6.a. Rappels bibliographiques

Trois régions spectrales peuvent être identifiées sur le spectre Raman de l'hydroxyapatite phosphocalcique [Penel1997,1998], entre 650-400 cm^{-1} , entre 1100-900 cm^{-1} et entre 3510-3650 cm^{-1} . Dans les apatites, la présence des ions phosphate avec différents types d'environnements (apatitique et non-apatitique) affecte les modes de vibration en spectroscopie Raman, de même qu'en spectroscopie IR [Trombe1973], même s'ils sont plus

difficiles à observer [Penel1998]. Le Tableau 26 indique les modes de vibration des groupements phosphate (PO_4 et HPO_4) visibles en spectroscopie Raman.

Tableau 26. Positions des bandes de vibration des groupements phosphate, visibles par spectroscopie Raman, et leur attribution selon la littérature

Attributions	[Klee1970] ^{HA}	[Nelson1982] ^{HA}	[Penel1997,1998] ^{HA}	[Pasteris2004] ^{HA}	[Markovic2004] ^{HA SRM}	[Antonakos2007] ^{HAc}	[Awonusi2007] ^{HAc}	[Eichert2007] ^{HA}	[Penel1998] ^{émail}	[Penel1998] ^{dentine}	[Penel1998] ^{os}	[Pasteris2004] ^{os}	[Eichert2007] ^{ANB}
$\nu_2\text{PO}_4$	429 446 451		432 449		431 447	431 446 561	430 449	433 448	433 450	432 450	432 452		432 452
$\nu_4\text{PO}_4$	580 591 606 615	580 593 608 615	581 592 608 614		579 590 607 614	579 592 610	581 590 609	580 591 607 614	579 588 608	580 590 610	584 590 611		584 590 611
P—OH de HPO_4					880					873	873		873
espèce non- ap ?										920	924		
$\nu_1\text{PO}_4$	963		964	962,2	962	963	960	964	959	959	961	960	961
$\nu_1\text{HPO}_4$					1005				1002	1003	1005		1005
$\nu_3\text{PO}_4$	1033 1040	1028 1039 1045	1029 1034 1042 1048	1047	1028.5 1040 1047	1032	1029 1040 1047	1029 1034 1041	1026 1043	1031 1046	1032 1044	NC	1032 1044
	1051 1059 1078	1053 1061 1075	1057 1064 1077	1076	1052 1076	1052	1053 1061 1076	1057 1064 1077	1071	1069	1071	1072	1071

NC : position non-communiquée HA_c : hydroxyapatite carbonatée

HA_{SRM} : Standard Reference Material (contient des HPO_4^{2-} et de CO_3^{2-}) [McDowell1977]

La bande à 1003 cm^{-1} , observée pour la première fois par Penel et al. [Penel1998] dans les apatites biologiques, a été attribuée au mode ν_1 des ions HPO_4^{2-} , car cette bande est également présente sur les spectres d'apatite cristallisée contenant des ions HPO_4^{2-} [Markovic2004], de phosphates de calcium autres qu'apatitiques tel l'OCP [Fowler1993], du minéral biologique [Sauer1994] ; et elle est absente sur les spectres d'apatites carbonatées de synthèse, obtenues dans des conditions alcalines [Penel1998]. La bande à 873 cm^{-1} ou à 880 cm^{-1} visible respectivement sur les spectres Raman des apatites biologiques [Penel1998] et de l'HA

contenant des ions HPO_4^{2-} [Markovic2004] est attribuée au mode d'élongation de la liaison P—OH de l'ion HPO_4^{2-} .

Néanmoins, la détection des espèces ioniques HPO_4^{2-} est plus difficile par spectroscopie Raman que par IR [Penel1998].

La bande de vibration $\nu_1\text{PO}_4$ est la bande la plus intense sur le spectre Raman de l'HA stœchiométrique [Ou-Yang2000], de plus elle est sensible aux changements d'environnement des ions phosphate [Penel1998], et à l'état de cristallinité de l'ANB [Zou2005]. C'est pourquoi, dans ce travail, nous avons étudié cette bande afin de suivre l'influence de la maturation sur le profil spectral de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ en spectroscopie Raman.

II.3.6.b. Résultats

Les spectres Raman sont enregistrés dans le domaine $350\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ sur un spectromètre Labraham HR 800 de chez Horiba Jobin Yvon. Les spectres sont acquis à température ambiante, avec un temps d'exposition de 90 s (3 accumulations) pour une longueur d'onde excitatrice de 514,532 nm (avec une puissance de 280 mW au niveau de l'échantillon). La résolution du spectre est de 2 cm^{-1} . Un objectif de microscope, avec un grossissement $\times 100$, a été utilisé dans une configuration confocale, ce qui donne une taille de spot micrométrique ($200\text{ }\mu\text{m}$).

Afin de pouvoir comparer les spectres entre eux, ceux-ci sont moyennés, c'est-à-dire que chaque valeur d'intensité Raman est divisée par la moyenne de l'ensemble des intensités constituant le spectre Raman, ce qui permet une normalisation.

Quel que soit le temps de maturation de l'ANB, le mode de vibration ν_1 des phosphates à 962 cm^{-1} (Figure 41) montre un épaulement du côté des plus faibles fréquences, vers $955\text{ - }959\text{ cm}^{-1}$.

La flèche sur le spectre indique la réduction de l'épaulement, simultanément au décalage de la position de la $\nu_1\text{PO}_4$ vers les plus hautes fréquences, lorsque le temps de maturation augmente. Au contraire, du côté des plus hautes fréquences, le profil des spectres est identique, ils se rejoignent la ligne de base au même endroit. Selon la littérature, l'épaulement correspondrait à la présence des ions PO_4^{3-} non-apatitiques [Rey1995].

Cette région spectrale a été décomposée afin de suivre l'évolution des espèces non-apatitiques au cours de la maturation. Contrairement à la méthode de décomposition effectuée en spectroscopie FTIR (dans la région spectrale des bandes $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$, qui comprenait 8 bandes juxtaposées) ; en spectroscopie Raman, la bande $\nu_1\text{PO}_4$ à décomposer ne contient plus que deux contributions. Afin de ne pas négliger le pied de la bande, la région à décomposer a été étendue entre 800 et 1100 cm^{-1} (Tableau 27). La Figure 42 illustre la décomposition mathématique de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ ainsi que les bandes voisines de plus faible intensité prises en compte.

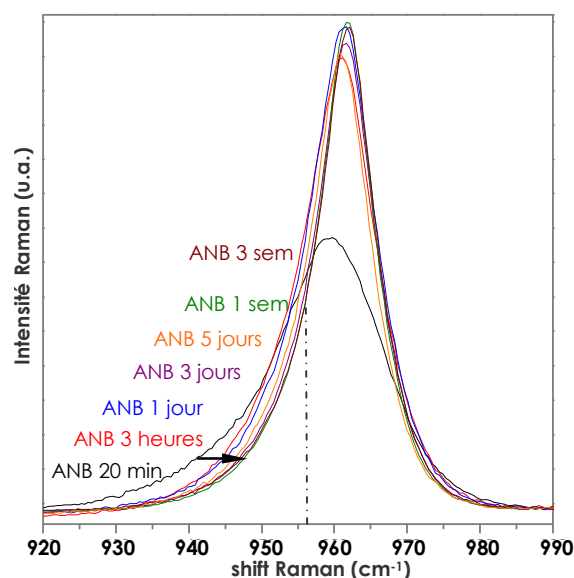


Figure 41. Spectres Raman dans la région du mode de vibration $\nu_1\text{PO}_4$ en fonction du temps de maturation de l'ANB

Tableau 27. Position des bandes de décomposition dans le domaine spectral entre 800 et 1100 cm^{-1} , et leur attribution selon la littérature (Tableau 26)

Attribution		Position (cm^{-1})	forme
P—OH de HPO_4		880,4	Gauss-Lorentzienne
?		904,1	
$\nu_1\text{PO}_4$	PO_4^{3-} non-ap [Rey1995]	953,0	
	PO_4^{3-} ap	961,7	
$\nu_1\text{HPO}_4$ non-ap [Rey1995]		1003,2	
$\nu_3\text{PO}_4$		1030,1	
		1046,5	
		1077,5	

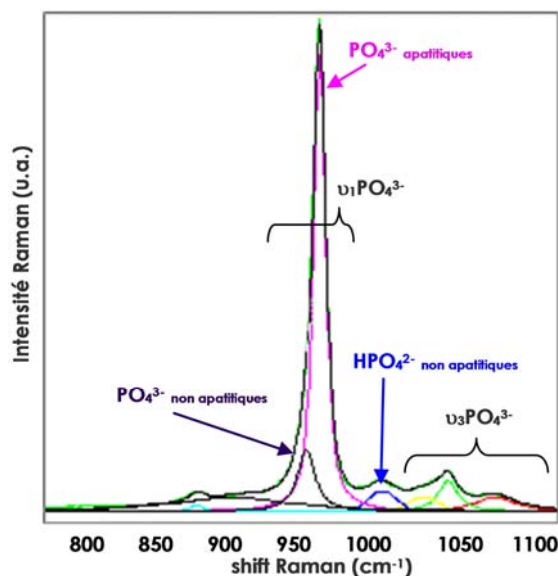


Figure 42. Décomposition mathématique du spectre Raman de la bande $\nu_1\text{PO}_4$, pour une ANB maturée 3 jours

Afin de suivre l'évolution des espèces non-apatitiques, au cours de la maturation, le rapport des intensités intégrées est calculé pour chaque temps de maturation. L'histogramme sur la Figure 43 montre une diminution de la teneur en ions PO_4^{3-} non-apatitiques lorsque le temps de maturation s'allonge, ce qui est en accord avec les résultats de décomposition de la bande $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ en FTIR (Figure 33C). Cela confirme par ailleurs la diminution progressive de la couche hydratée avec la maturation des ANB.

D'autre part, plusieurs auteurs se rejoignent sur le fait qu'en Raman, la position et la largeur de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ renseignent sur l'état de cristallinité du matériau [Sauer1994, Choo-Smith2005, Zou2005]. Sur la Figure 43, la largeur à mi-hauteur (FWHM) de la bande Raman $\nu_1\text{PO}_4$ est directement liée à la contribution de l'épaule attribuée aux ions PO_4^{3-} non-apatitiques : La FWHM diminue proportionnellement avec la diminution de la teneur en ions PO_4^{3-} non-apatitiques lorsque le temps de maturation augmente.

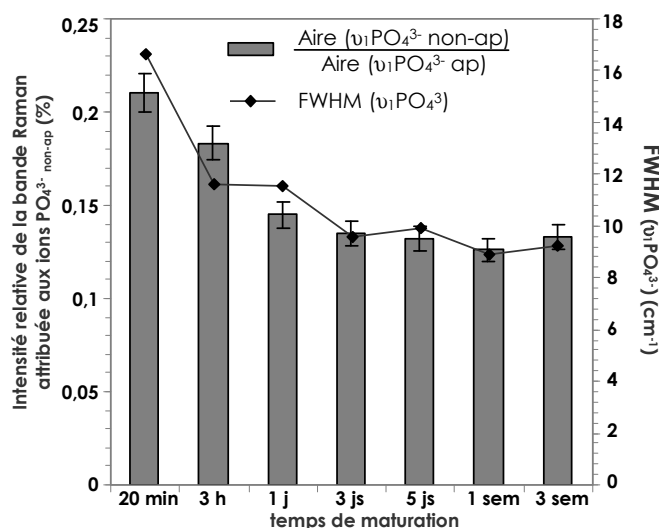


Figure 43. Suivi de l'évolution des espèces non-apatitiques (histogramme) et corrélation avec la FWHM de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ (courbe), au cours de la maturation des ANB

De plus, le Tableau 28 indique que la bande $\nu_1\text{PO}_4$ se déplace vers les plus hauts nombres d'ondes, et tend vers la position dans l'hydroxyapatite stœchiométrique bien cristallisée (Tableau 26). Ce déplacement traduit une amélioration de la cristallinité [Choo-Smith2005]. D'autre part, Zou et al. ont mis en évidence une relation entre l'état de cristallinité d'une apatite substituée, la taille des cristallites et la FWHM de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ en spectroscopie Raman [Zou2005]. La diminution de la FWHM de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ avec l'augmentation du temps de maturation rappelle l'évolution de la FWHM de la raie de diffraction X (310) montrée précédemment (Figure 21B, § II.3.1). Cette diminution de FWHM (de la raie (310) et de la bande $\nu_1\text{PO}_4$) indique une augmentation de la taille des cristallites, et ainsi une amélioration de l'état cristallin des ANB lorsque le temps de maturation est plus long.

Tableau 28. Position de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ en fonction du temps de maturation

ANB maturée	20 min	3heures	1 jour	3 jours	5 jours	1semaine	3 semaines
Position $\nu_1\text{PO}_4$ (cm ⁻¹)	959,9	961,2	961,4	961,7	961,7	961,9	962,0

Ainsi, à la fois le profil et la position de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ indiquent que le temps de maturation de l'ANB permet d'améliorer l'état cristallin du matériau : les données obtenues par spectroscopie Raman peuvent donc corroborer les résultats de DRX qui mentionnent une augmentation de la taille des cristallites.

Il serait également possible par la suite, de suivre l'évolution de la $\nu_s\text{OH}$ en fonction de la contribution des ions PO_4^{3-} apatitiques dans la bande $\nu_1\text{PO}_4$. En effet, les molécules d'eau diffusent très peu en Raman, contrairement à l'IR. Ainsi le mode d'élongation de la liaison O—H ($\nu_s\text{OH}$) à 3573 cm^{-1} est bien distinct et spécifique au composé. Parmi les apatites biologiques, le minéral osseux est l'ANB la plus éloignée de la stœchiométrie, et le pic de la $\nu_s\text{OH}$ n'est pas détecté, alors que des pics d'intensité faible et forte sont respectivement identifiés sur les spectres Raman de la dentine et de l'émail dentaire [Pasteris2004]. Lorsque le pic de la $\nu_s\text{OH}$ est présent sur le spectre des ANB biologiques, une corrélation existe entre la concentration du groupe hydroxyde (= rapport des aires des pics $\nu_s\text{OH} / \nu_1\text{PO}_4$), le degré d'ordre atomique (largeur relative du pic de la $\nu_1\text{PO}_4$) et la taille des cristallites. Pasteris et al. émet la théorie suivant laquelle plus la taille des cristallites est petite et plus le désordre atomique est grand au sein de la maille élémentaire du cristal, moins il est énergétiquement favorable pour l'apatite d'incorporer les ions OH^- dans les sites formés par les tunnels délimités par les CaII [Pasteris2004]. Etant donné que l'étude du désordre cristallin nous a montré qu'il était important dans les ANB maturées, et que les données de décomposition IR indiquent que la teneur en ions OH^- est quasi-nulle pour une maturation inférieure à 3 heures, puis augmente avec le temps de maturation, une étude complémentaire en spectroscopie Raman dans le domaine de la $\nu_s\text{OH}$ pourrait permettre de les isoler et de croiser les résultats physico-chimiques relatifs à la cristallinité des ANB maturées.

D'autres informations pourraient être également accessibles à partir du spectre Raman, telle la variation de position des pics sur le profil témoignant de variations de composition du matériau [Pasteris2004]. Nous n'avons pas, dans ce travail, disposé du temps nécessaire pour développer davantage l'étude par spectroscopie Raman ; et ceci pourrait faire l'objet de travaux ultérieurs.

II.4. Etude thermodynamique d'apatites nanocristallines par calorimétrie de chute (*drop solution calorimetry*)

Les précédentes caractérisations physico-chimiques ont montré, en accord avec les travaux antérieurs, que les apatites nanocristallines avaient tendance à évoluer naturellement, lorsqu'elles étaient laissées en milieu humide, vers une composition chimique plus proche de la stœchiométrie et vers un meilleur état de cristallinité. Des études antérieures réalisées au CIRIMAT (non publiées) ont montrées la mise en place d'un traitement « interruptif » de type lyophilisation était nécessaire pour conserver les phases apatitiques avec un état de maturation donné. Cette métastabilité a donc été observée, à ce stade, de façon « indirecte », et nous avons alors souhaité quantifier l'effet thermodynamique relié au phénomène de maturation par des déterminations d'enthalpies de formation (sur une base expérimentale) pour des apatites correspondant à un état de maturation croissant.

Ce travail, par calorimétrie de chute, a été effectué lors d'un séjour de 2 mois au sein du Peter A. Rock Thermochemistry Laboratory de UC Davis, dans le groupe du Professeur A. Navrotsky.

II.4.1. Le principe de la calorimétrie de chute (ou *drop calorimetry*)

La calorimétrie de chute [Navrotsky1997] est réalisée sur un calorimètre double Tian-Calvet illustré par la Figure 44, dont la technologie a été élaborée par le Professeur Navrotsky. Il est composé de deux compartiments à échantillon jumeaux, chacun entouré d'une thermopile qui est encastrée dans un bloc métallique. Les deux thermopiles sont reliées en opposition, chaque compartiment à échantillon agit comme une référence pour l'autre, comme des réactions chimiques qui ont lieu alternativement, d'un côté, puis de l'autre [Navrotsky2000].

Le but de la calorimétrie de chute est la transformation des réactifs et des produits en éléments dans le même état physique final, soit une solution diluée des ions dissouts dans un bain d'oxydes. Contrairement à la calorimétrie de chute en voie sèche pour laquelle l'échantillon

est préalablement équilibré à la température du calorimètre avant d'être introduit, lors de la calorimétrie de chute en milieu oxydes fondus, l'échantillon est directement introduit à température ambiante (298 K) (sous forme de pastille de 5 mg) via le tube du calorimètre (Figure 44), dans 20 à 30 g de solvant oxyde fondu (molybdate de sodium $3 \text{ Na}_2\text{O}, 4 \text{ MoO}_3$) à 973 K (Figure 44B). Au cours de l'expérience, un flux d'air circule au-dessus du solvant en fusion ($\approx 80 \text{ mL/min}$) afin d'éliminer rapidement les gaz éventuellement produits (par exemple $\text{H}_2\text{O}, \text{CO}_2 \dots$). Le gaz bulleur (Figure 44B) est utilisé en fonction des échantillons testés ($\approx 6 \text{ mL/min}$), pour améliorer le mélange des oxydes dissouts dans le solvant, en aidant leur dissolution, et pour contrôler l'état d'oxydation [Putnam1999].

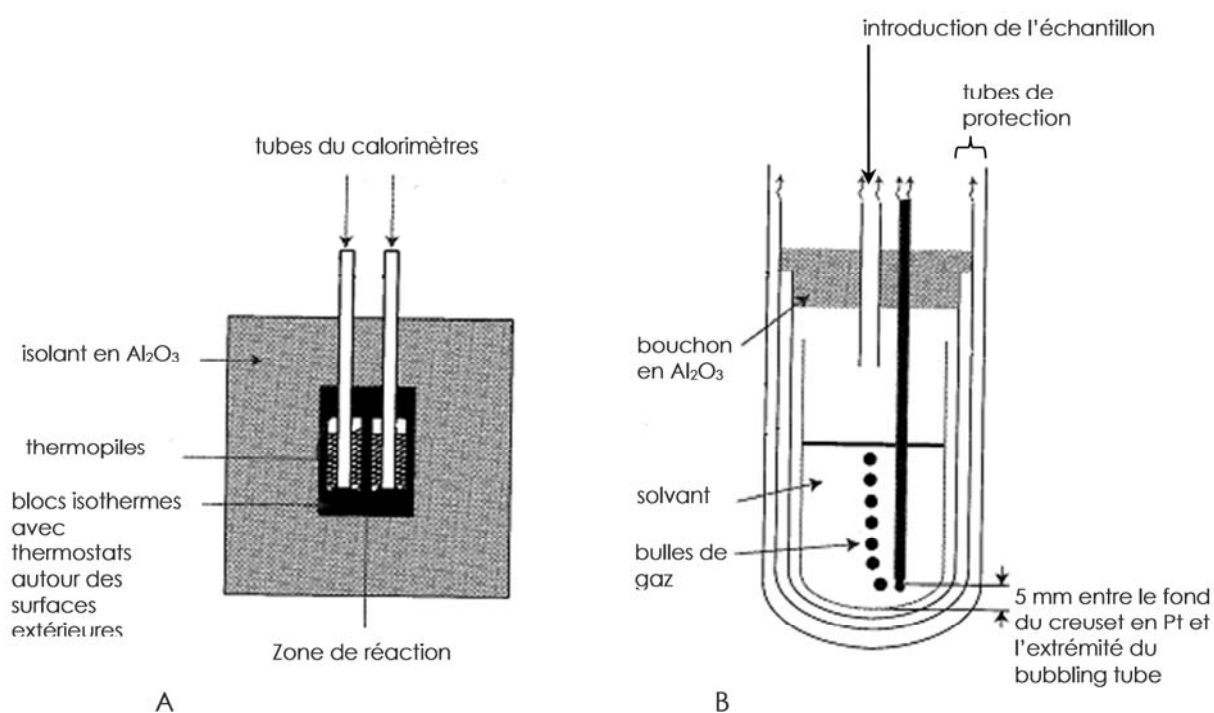


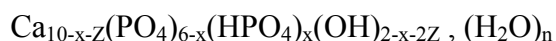
Figure 44. Géométrie du calorimètre de chute (A) et détail d'un tube de calorimètre (B)
[Putnam1999]

Les pastilles sont introduites alternativement dans l'un puis l'autre tube d'insertion jusqu'à saturation du solvant. Le temps de dissolution est inférieur à 1h, quel que soit l'échantillon. La réaction de dissolution est considérée comme finie lorsque la ligne de base revient à sa valeur initiale (retour à la ligne de base).

II.4.2. Les échantillons testés

Nous avons ici mené des expériences de calorimétrie de chute dans le molybdate de sodium afin de déterminer l'enthalpie standard de formation ΔH_f° d'apatites maturées pendant 20 minutes, 3 heures, 1 jour, 3 jours, 5 jours, 1 semaine et 3 semaines. La composition chimique (déterminée à l'issue des caractérisations physico-chimiques) des apatites nanocristallines utilisées dans cette étude thermodynamique est reportée sur le Tableau 17, page 90. Nous avons également employé deux échantillons de référence : l'hydroxyapatite stœchiométrique (HA) et le phosphate tricalcique bêta (β -TCP).

Rappelons la formule chimique des ANB :



avec "n" correspondant à l'eau restant après lyophilisation.

La détermination des enthalpies de formation ΔH_f° de ces composés à partir des enthalpies de chute mesurées expérimentalement nécessite l'application d'un cycle thermodynamique. Le cycle utilisé ici est reporté sur le Tableau 29. Notons que la valeur de $\Delta H_{ds}(\text{P}_2\text{O}_5)$ est la seule à ne pas avoir été déterminée directement ici compte tenu de la difficulté à manipuler P_2O_5 ; l'obtention de cette valeur avait fait l'objet d'un travail antérieur au sein du Peter A. Rock Thermochemistry laboratory [Ushakov2001].

Les valeurs expérimentales des enthalpies de chute ΔH_{ds} , et ΔH_f° déterminées à l'aide de ce cycle sont rassemblées dans le Tableau 30. Les enthalpies de formation déterminées pour les deux composés de référence β -TCP ($-4090,2 \pm 10,6$ kJ/mol) et HA stœchiométrique ($-13431,0 \pm 22,7$ kJ/mol) sont également indiquées. Ces deux valeurs sont en bon accord (à $\approx 0,7$ % près) avec les valeurs reportées dans la littérature ($-4120,8 \pm 5,0$ kJ/mol et $-13477,0 \pm 10,0$ kJ/mol respectivement [Robie1995]), validant ainsi ces mesures.

Tableau 29. Cycle thermodynamique utilisé pour la détermination de ΔH_f° pour les apatites nanocristallines préparées

Réactions	ΔH
(1) $\text{Ca}_{10-x-z}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x-2z}(\text{H}_2\text{O})_n \rightarrow (10-x-z) \text{CaO (soln, 973)} + 3 \text{P}_2\text{O}_5 \text{ (soln, 973)} + (1-Z+n) \text{H}_2\text{O (g, 973)}$	$\Delta H_{\text{ds}}(\text{apatite hydratée})$
(2) $\text{CaCO}_3 \text{ (s, 298)} \rightarrow \text{CaO (soln, 973)} + \text{CO}_2 \text{ (g, 973)}$	$\Delta H_{\text{ds}}(\text{CaCO}_3)$
(3) $\text{Ca (s, 298)} + \text{C (s, 298)} + 3/2 \text{O}_2 \text{ (g, 298)} \rightarrow \text{CaCO}_3 \text{ (s, 298)}$	$\Delta H_f^\circ(\text{CaCO}_3)$
(4) $\text{CO}_2 \text{ (g, 298)} \rightarrow \text{CO}_2 \text{ (g, 973)}$	$\Delta H_{\text{hc}}(\text{CO}_2 \text{ (g)})$
(5) $\text{C (s, 298)} + \text{O}_2 \text{ (g, 298)} \rightarrow \text{CO}_2 \text{ (g, 298)}$	$\Delta H_f^\circ(\text{CO}_2 \text{ (g)})$
(6) $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ (s, 298)} \rightarrow \text{P}_2\text{O}_5 \text{ (soln, 973)}$	$\Delta H_{\text{ds}}(\text{P}_2\text{O}_5)$
(7) $2 \text{P (s, 298)} + 5/2 \text{O}_2 \text{ (g, 298)} \rightarrow \text{P}_2\text{O}_5 \text{ (s, 298)}$	$\Delta H_f^\circ(\text{P}_2\text{O}_5)$
(8) $\text{H}_2\text{O (g, 298)} \rightarrow \text{H}_2\text{O (g, 973)}$	$\Delta H_{\text{hc}}(\text{H}_2\text{O(g)})$
(9) $\text{H}_2 \text{ (g, 298)} + 1/2 \text{O}_2 \text{ (g, 298)} \rightarrow \text{H}_2\text{O (g, 298)}$	$\Delta H_f^\circ(\text{H}_2\text{O(g)})$
Formation d'apatite nanocristalline (hydratée) :	
(10) $(10-x-z) \text{Ca (s, 298)} + 6 \text{P (s, 298)} + (1-Z+n) \text{H}_2 \text{ (g, 298)} + (26-x-2Z+n)/2 \text{O}_2 \text{ (g, 298)} \rightarrow \text{Ca}_{10-x-z}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x-2z}(\text{H}_2\text{O})_n$	$\Delta H_f^\circ \text{ (apatite hydratée)}$
$\Delta H_f^\circ \text{ (apatite hydratée)} = -\Delta H_1 + (10-x-z) \Delta H_2 + (10-x-z) \Delta H_3 - (10-x-z) \Delta H_4 - (10-x-z) \Delta H_5 + 3 \Delta H_6 + 3 \Delta H_7$ $+ (1-Z+n) \Delta H_8 + (1-Z+n) \Delta H_9 \equiv \Delta H_f^\circ \text{ (apatite)} + n \Delta H_f^\circ(\text{H}_2\text{O(l)})$	
d'où, pour l'apatite anhydre :	
$\Delta H_f^\circ \text{ (apatite)} = -\Delta H_1 + (10-x-z) \Delta H_2 + (10-x-z) \Delta H_3 - (10-x-z) \Delta H_4 - (10-x-z) \Delta H_5 + 3 \Delta H_6 + 3 \Delta H_7 + (1-Z+n) \Delta H_8$ $+ (1-Z+n) \Delta H_9 - n \Delta H_f^\circ(\text{H}_2\text{O(l)})$	

Dans ce tableau, nous avons reporté, d'une part, l'enthalpie de formation du composé lyophilisé tel qu'il a été utilisé dans les expériences de calorimétrie (comportant une quantité « n » de molécules d'eau) notée « $\Delta H_f^\circ(\text{apatite hydratée})$ », et d'autre part, l'enthalpie de formation de l'apatite nanocristalline dépourvue de l'eau d'hydratation (celle-ci pouvant généralement s'apparenter d'un point de vue thermodynamique à de l'eau liquide), notée « $\Delta H_f^\circ(\text{apatite})$ ». Comme on peut le constater, lorsque le temps de maturation augmente, cette dernière devient de plus en plus négative (exothermique), se rapprochant ainsi progressivement de la valeur de l'enthalpie de formation de l'hydroxyapatite stœchiométrique.

Tableau 30. Valeurs expérimentales de ΔH_{ds} et valeurs déterminées pour ΔH_f° pour diverses apatites et composés de référence

Echantillons	ΔH_{ds} (kJ/mol)	ΔH_f° (composé) (kJ/mol)	
Composés de référence :			
β -TCP	267,3 \pm 9,7 (6)	-4090,2 \pm 10,6	
HA stœchiométrique	1027,7 \pm 21,4 (11)	-13431,0 \pm 22,7	
Echantillons	ΔH_{ds}	ΔH_f° (apatite hydratée)* (kJ/mol)	ΔH_f° (apatite) (kJ/mol)
Apatites nanocristallines :			
20 min	1197,7 \pm 10,0 (10)	-13756,8 \pm 12,2	-12058,9 \pm 12,2
3 h	1198,2 \pm 15,0 (9)	-13370,7 \pm 16,5	-12174,9 \pm 16,5
1 jour	1241,7 \pm 9,5 (8)	-13393,4 \pm 11,8	-12364,4 \pm 11,8
3 jours	1088,6 \pm 9,1 (9)	-13352,3 \pm 11,5	-12342,1 \pm 11,5
5 jours	1077,4 \pm 5,1 (9)	-13373,3 \pm 8,7	-12457,0 \pm 8,7
1 semaine	1137,2 \pm 9,1 (10)	-13362,2 \pm 11,5	-12546,1 \pm 11,5
3 semaines	1172,8 \pm 20,2 (9)	-13708,7 \pm 21,4	-12771,0 \pm 21,4

* incluant les "n" molécules d'eau associées à la poudre d'apatite lyophilisée

La Figure 45 reporte sous forme graphique l'évolution de ΔH_f° (apatite) en fonction du temps de maturation, mettant en évidence une décroissance monotone (de type décroissance exponentielle en première approximation), et un rapprochement vers la valeur de l'HA stœchiométrique.

Cette étude permet ainsi, pour la première fois à notre connaissance, d'évaluer les enthalpies standards de formation d'apatites biomimétiques, et de suivre leur évolution en fonction de leur état de maturité.

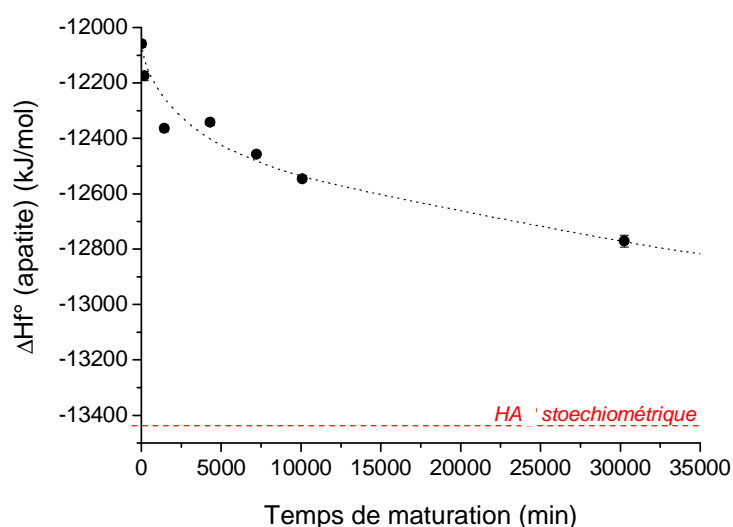


Figure 45. Evolution de l'enthalpie de formation ΔH_f° (apatite) d'apatites nanocristallines maturées entre 20 min. et 3 semaines

Les valeurs d'entropie pour de telles apatites nanocristallines non-stœchiométriques ne sont pas accessibles dans la littérature, où seules sont reportées des données portant sur des hydroxy-, fluor- et chlor-apatites stœchiométriques [Jemal1995,2004, Ben Cherifa2004] (Tableau 31).

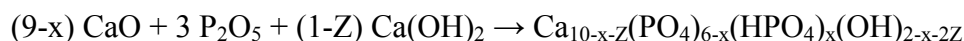
Tableau 31. Données thermodynamiques de la littérature [Jemal1995,2004, Ben Cherifa2004] sur des hydroxy-, fluor- et chlor-apatites stœchiométriques

Composés	ΔG_f° (kJ/mol)	ΔH_f° (kJ/mol)	ΔS_f° (kJ/mol.K)
hydroxyapatites			
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	-12 674	- 13 477	- 2,69
$\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	-12 587	- 13 373	- 2,64
$\text{Pb}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	- 7 482	- 8 261	- 2,61
$\text{Cd}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	- 7 873	- 8 652	- 2,61
$\text{Ba}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	- 12 553	- 13 309	- 2,54
fluoroapatites			
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	-12 781	- 13 558	- 2,61
$\text{Cd}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	- 8 045	- 8 795	- 2,52
$\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	- 12 845	- 13 604	- 2,55
$\text{Pb}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	- 7 782	- 8 529	- 2,51
$\text{Ba}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	- 12 834	- 13 564	- 2,45
chloroapatites			
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$	-12 418	- 13 180	- 2,56
$\text{Cd}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$	- 7 719	- 8 463	- 2,50
$\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$	- 12 478	- 13 233	- 2,53
$\text{Pb}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$	- 7 458	- 8 220	- 2,56
$\text{Ba}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$	- 12 418	- 13 246	- 2,78

On peut cependant relever que pour l'ensemble de ces composés stœchiométriques, la composante enthalpique de l'énergie libre de formation (ΔG_f°) est largement prédominante par rapport à la composante entropique. Dans ces conditions, la stabilité relative des phases en question peut être déduite, avec une approximation satisfaisante, à partir des valeurs relatives des enthalpies de formation ΔH_f° (Figure 45). Dans ce contexte, la plus forte exothermie de l'enthalpie de formation des apatites nanocristallines observée en fonction du temps de maturation permet de mettre en évidence une stabilité thermodynamique des phases apatitiques d'autant plus grande que les phases sont mûries.

Il est néanmoins intéressant de tenter d'estimer l'entropie des apatites nanocristallines préparées dans ce travail. Une telle estimation est généralement rendue possible par la considération d'une réaction (même hypothétique) faisant intervenir uniquement des phases solides. En effet, dans ce cas la variation d'entropie de réaction $\Delta S^\circ_{\text{réact}}$ est généralement

négligeable (très faible variation de volume de réaction). Nous pouvons par exemple considérer la réaction :



L'application de $\Delta S^\circ_{\text{réact}} = 0$ pour l'HA stœchiométrique ($x = Z = 0$) mène alors à l'entropie absolue $S^\circ(\text{HA stœchiométrique}) \approx 769,5 \text{ J}/(\text{mol.K})$. Cette valeur présente un bon accord (à 1,5 % près) par rapport à la valeur $780,8 \text{ J}/(\text{mol.K})$ reportée dans la littérature [Robie1995]. L'entropie absolue S° relative à chaque apatite nanocristalline a alors été évaluée de façon similaire (Tableau 32) ; les valeurs de S° ainsi estimées varient entre 695 et 737 $\text{J}/(\text{mol.K})$, avec une incertitude d'environ 20 $\text{J}/(\text{mol.K})$. A partir de ces valeurs, les entropies standard de formation ΔS_f° (à partir des éléments pris dans leur état standard) ont également été évaluées et reportées dans le Tableau 32.

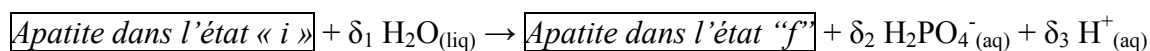
Tableau 32. Estimation des valeurs de S° et ΔS_f° pour les apatites nanocristallines maturées entre 20 minutes et 3 semaines, et pour l'HA stœchiométrique

Echantillon	à 298 K			
	S° estimé J/(mol.K) [$\pm 20 \text{ J}/(\text{mol.K})$]	ΔS_f° estimé J/(mol.K) [$\pm 20 \text{ J}/(\text{mol.K})$]	Rappel de ΔH_f° kJ/mol	ΔG_f° estimé kJ/mol
Apatites nanocristallines				
20 min	695,2	-2 469	-12 058,9 \pm 12,2	-11 323,1 \pm 12,2
3 h	694,6	-2 467	-12 174,9 \pm 16,5	-11 439,7 \pm 16,5
1 jour	706,6	-2 512	-12 364,4 \pm 11,8	-11 616,0 \pm 11,8
3 jours	708,2	-2 507	-12 342,1 \pm 11,5	-11 595,0 \pm 11,5
5 jours	722,9	-2 565	-12 457,0 \pm 8,7	-11 692,6 \pm 8,7
1 semaine	721,4	-2 558	-12 546,1 \pm 11,5	-11 783,9 \pm 11,5
3 semaines	736,5	-2 607	-12 771,0 \pm 21,4	-11 994,2 \pm 21,4
Composé de référence				
HA stœchiométrique	769,5	-2 704	-13 477 \pm 10	-12 674,2 \pm 10

A partir de la connaissance des enthalpies de formation ΔH_f° et de ces estimations de ΔS_f° , il est alors possible d'évaluer l'énergie libre de formation ΔG_f° de ces composés, et les valeurs obtenues sont également indiquées dans le Tableau 32. Comme on peut le voir, là encore, la composante enthalpique de l'énergie libre est largement majoritaire par rapport à la composante entropique, et comme attendu ΔG_f° devient de plus en plus exothermique (négative) lorsque le temps de maturation augmente, ce qui confirme nos précédentes conclusions indiquant la stabilité croissante de ces apatites avec leur état de maturation (se rapprochant progressivement de l'HA stœchiométrique).

Connaissant ces valeurs de ΔG_f° , il serait alors intéressant d'estimer la variation d'énergie libre $\Delta G_{f \text{ maturation}(i \rightarrow f)}^\circ$, en solution, entre un état de maturation initial « i » et un état final « f » correspondant à une maturation plus avancée. En effet, s'il est crucial de connaître l'enthalpie ou l'énergie libre de formation des ANB, il est également nécessaire de prendre en compte les données thermodynamiques correspondant aux ions aqueux qui sont incorporés ou libérés pendant le processus de maturation afin d'avoir une vision globale de l'évolution de ces phases en milieu humide. Cette tâche est cependant plus ardue qu'il n'y paraît à prime abord. En effet, le processus de maturation est un phénomène très complexe mettant probablement en jeu, en plus d'une évolution de composition chimique vers la stœchiométrie, diverses réactions secondaires comme des réactions de dissolution-reprécipitation, des réactions de surface, et l'évolution de la distribution des ions à l'interface entre la couche hydratée et le domaine apatitique sous-jacent. De plus, compte-tenu de l'existence de cette couche hydratée « non-apatitique », la composition chimique mesurée pour l'état « initial » et l'état « final » ne peut que correspondre à une moyenne sur l'ensemble du cristal et ne rend pas compte de l'existence de deux types de sous-domaines (apatitique au cœur et non-apatitique en surface) pouvant présenter des caractéristiques thermodynamiques différentes.

Si l'on ne considère qu'un scénario extrêmement simplifié, où seul est pris en compte le changement de composition chimique globale qui accompagne l'augmentation de l'état de maturation d'une apatite à partir d'un stade « i » vers le stade « f », on peut néanmoins tenter de rendre compte du rapprochement observé vers la composition de l'HA stœchiométrique. Dans les conditions de synthèse en question ici, la concentration en ions calcium en solution est très faible, alors que les ions phosphate sont présents en grande quantité. La possibilité d'une incorporation additionnelle d'ions Ca^{2+} , depuis la solution vers le précipité, apparaît donc peu probable pour expliciter le processus de maturation. Au contraire, la possibilité de libérer des ions phosphate (probablement sous la forme d'ions H_2PO_4^- qui sont particulièrement solubles à pH neutre/physiologique) depuis le solide vers la solution apparaît bien plus probable. En effet, il est raisonnable d'envisager des mouvements de protons, en surface des nanocristaux d'apatite, entre ions HPO_4^{2-} voisins (très nombreux en début de précipitation) pouvant alors mener à la formation d'ions H_2PO_4^- potentiellement libérés en solution (ce qui a alors pour effet d'augmenter le rapport molaire Ca/P par diminution du dénominateur, et donc de se rapprocher de la composition stœchiométrique). Dans ces conditions, ce scénario simpliste pourrait alors être décrit par le biais d'une équation bilan du type :



où les espèces $\text{H}_2\text{O}_{(\text{liq})}$ et $\text{H}^+_{(\text{aq})}$ ont été préférées à $\text{OH}^-_{(\text{aq})}$ compte-tenu du pH (voisin de 7) auquel ces maturations sont effectuées. Dans ce contexte, à partir des données reportées sur le Tableau 32, on peut alors estimer la variation d'énergie libre à 298 K entre deux états de maturation caractérisés chacun par une composition chimique donnée, et la Figure 46 reporte l'évolution de la différence d'énergie libre ainsi calculée (en prenant la maturation 20 minutes comme point de référence).

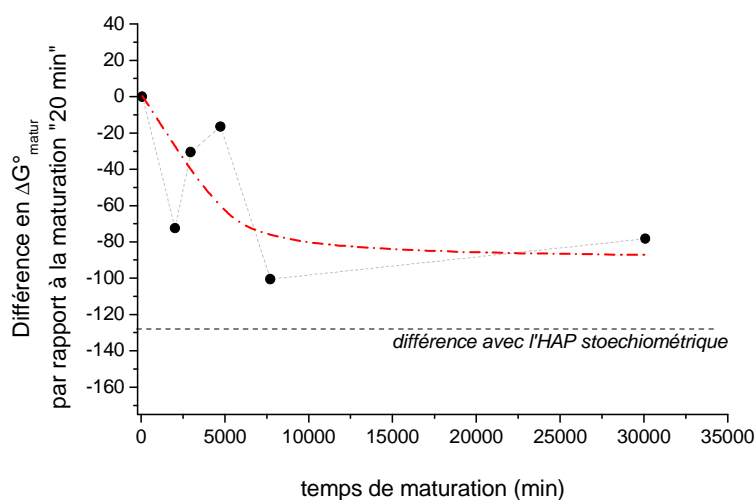


Figure 46. Evolution de la différence en énergie libre évaluée pour le processus de maturation de la phase apatitique, par rapport à la maturation 20 minutes prise pour référence

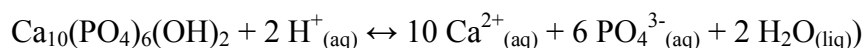
Bien que ces considérations soient, par définition, approximatives pour évaluer la force thermodynamique à l'origine du processus de maturation, et malgré une dispersion non négligeable des points, l'évolution générale de cette grandeur (diminution dans les valeurs négatives) va bien dans le sens attendu d'une évolution spontanée, et conforte ainsi nos observations expérimentales. Ce type de calcul doit bien entendu être considéré avec précaution car, comme nous l'indiquions précédemment, il ne tient compte que de la variation globale de composition chimique au cours de la maturation alors que le phénomène de maturation implique également diverses autres modifications non prises en compte dans ce calcul simple.

Dans un autre ordre d'idée, les valeurs expérimentales de ΔG_f° pour les différentes apatites plus ou moins maturées pourraient théoriquement aussi être utilisées dans le but d'estimer la

variation d'énergie libre $\Delta G^\circ_{\text{diss}}$ accompagnant la réaction de dissolution de telles apatites, permettant alors d'évaluer leur produit de solubilité K_{sp} à partir de l'équation :

$$\Delta G^\circ_{\text{diss}} (\text{apatite}) = - 2\,303 \cdot RT \cdot \text{Log}(K_{\text{sp}}(\text{apatite}))$$

Par exemple, pour l'HA stœchiométrique, la réaction de dissolution peut s'écrire :

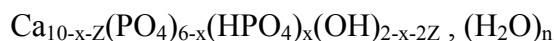


Cependant, plusieurs études de la littérature ont indiqué qu'il n'était pas possible d'établir une valeur constante du produit de solubilité pour ces apatites nanocristallines, contrairement au cas de l'HA stœchiométrique par exemple. Cette observation a mené au concept d'équilibre métastable de solubilité (« Metastable Equilibrium Solubility », ou « MES ») et a été longuement étudié par divers auteurs [Hsu1994, Baig1996, Chhetry1999]. Ce pseudo-équilibre ne correspond pas à l'équilibre thermodynamique vrai et peut s'en trouver nettement déplacé. Il identifie une situation où la dissolution (relativement rapide au début) a pratiquement stoppé et où l'on ne discerne pas, à l'échelle temporelle des manipulations, de phénomènes de germination / croissance. Ce comportement a été notamment relié à l'état de cristallinité de ces composés (les quantités dissoutes dépendant de l'état de cristallinité « local ») et à l'existence de microcontraintes au sein des cristaux [Baig1999].

II.5. Conclusion

Dans ce chapitre, l'objectif était de caractériser finement chaque échantillon d'ANB après différents stades de maturation en solution, en vue notamment d'apporter des éléments de compréhension sur ce processus. Les résultats corroborent les travaux antérieurs, tout en apportant divers compléments d'ordre physico-chimique et thermodynamique. Les ANB sont structurées en un cœur apatitique entouré d'une couche hydratée où les espèces mobiles dites non-apatitiques évoluent avec la maturation, sous l'effet d'un élan thermodynamiquement favorable.

Dans cette étude, la synthèse des apatites biomimétiques par précipitation à température ambiante et à pH voisin du pH physiologique ($\text{pH} \approx 7,4$) a conduit à des apatites monophasiques faiblement cristallisées de taille nanométrique, et de composition chimique globale pouvant être décrite par la formule :



Le temps de maturation en solution du précipité d'apatite biomimétique a une influence importante sur les caractéristiques physico-chimiques des poudres d'ANB, que nous avons suivie :

→ Leur composition chimique se rapproche de la stœchiométrie, avec un rapport molaire Ca/P qui augmente et passe au-delà de la valeur de 1,5 (caractéristique des phosphates tricalciques) après 1 semaine de maturation.

→ La teneur en eau des composés est quasiment divisée par deux entre les ANB maturées 20 minutes et 3 semaines : elle évolue respectivement de $n = 5,94$ moles à 3,28 moles par unité formulaire d'ANB (contenant 6 moles de phosphate).

→ Les ions HPO_4^{2-} sont majoritaires dans la couche hydratée et représentent 70 % et 90 % des ions phosphate non-apatitiques respectivement dans les ANB maturées 20 minutes et 3 semaines.

→ Les ions OH^- , présents uniquement dans le cœur apatitique, ne sont discernables qu'au-delà de 3 heures de maturation.

→ Les ions Ca^{2+} sont présents à plus de 80 % dans le cœur apatitique.

Du point de vue morphologique, au début de la maturation, des nodules sphériques ($\varnothing \approx 15$ nm) sont observés, rappelant la morphologie du TCP amorphe, considéré dans la littérature comme un précurseur de la phase apatite. L'évolution morphologique des grains est très rapide. Au début de la précipitation, l'ANB est sous forme d'un réseau tridimensionnel, constitué de ces nodules, qui semblent mener à des filaments interconnectés après 12h de maturation, probablement via un phénomène de « dissolution – reprécipitation ». Le réseau tridimensionnel se rompt ensuite et laisse place à des filaments individuels après 1 jour de maturation qui s'assemblent ensuite côte-à-côte, probablement via la couche hydratée de surface.

L'augmentation de l'état de cristallinité des ANB maturées se traduit par une augmentation de la taille nanométrique des cristallites et une diminution du désordre cristallin. Cela rend compte d'une meilleure organisation au sein des cristallites. En effet, la teneur en espèces chimiques non-apatitiques décroît en faveur des espèces ioniques du cœur apatitique, dont la composition évolue vers la stœchiométrie.

Le phénomène de maturation de ces apatites biomimétiques a pu être caractérisé quantitativement par le biais de mesures de calorimétrie qui ont permis de montrer le caractère de plus en plus exothermique de l'enthalpie de formation (ΔH_f°) et de l'énergie libre de formation (ΔG_f°) standards des ANB lorsque le temps de maturation augmente. Ces valeurs se rapprochent ainsi progressivement de celles de l'hydroxyapatite stœchiométrique et mettent en évidence une stabilité thermodynamique croissante des phases apatitiques avec la durée de maturation en solution.

Les quantités d'espèces ioniques non-apatitiques $\text{Ca}^{2+}_{\text{non-ap}}$ et $\text{HPO}_4^{2-}_{\text{non-ap}}$ échangés en fonction du temps de maturation sont en accord avec les travaux antérieurs. Ces environnements confèrent aux ANB une réactivité de surface qui diminue parallèlement à la réduction de la teneur des espèces non-apatitiques, présentes dans la couche hydratée, lorsque le temps de maturation de l'ANB augmente.

Ces apatites nanocristallines biomimétiques ont alors fait l'objet d'une étude de consolidation par frittage flash *SPS*, que nous décrivons au Chapitre III, avec comme objectif, l'obtention de biocéramiques cohésives qui préservent une forte réactivité de surface liée au caractère labile d'espèces non-apatitiques présentes au sein d'une couche hydratée en surface des cristaux, que nous avons tenté de préserver après consolidation.

Chapitre III

CHAPITRE III : MISE EN FORME DE CERAMIQUES MASSIVES

PARTIE A.

III.1. Le frittage des ANB

Comme énoncé dans le chapitre bibliographique, le frittage est l'ensemble des transformations qui permettent l'obtention d'un matériau massif et cohérent à partir d'un matériau pulvérulent auquel on a donné la géométrie de la pièce à réaliser.

La grande réactivité de surface des ANB, due à la présence d'espèces ioniques labiles, n'est plus à démontrer [Cazalbou2000,2004b, Eichert2001,2002]. Les différentes caractérisations physico-chimiques réalisées dans le chapitre précédent ont mis en évidence l'influence du temps de maturation de l'apatite en solution, sur la présence des différentes espèces non-apatitiques structurant la couche hydratée, siège de la réactivité.

Eichert et al. ont compris le rôle de la grande mobilité ionique au cœur de la couche hydratée, et toute sa fonctionnalité lors de la formation de matériau massif [Eichert2002]. La Figure 47 illustre l'implication de la couche hydratée dans l'évolution des cristallites. Elles peuvent coexister indépendamment l'une de l'autre, avec chacune une surface hydratée (étape I), lorsque 2 cristallites sont à proximité, la grande mobilité des ions de surface leur permet de partager leur surface ionique (étape II) qui peut conduire à la maturation des cristallites (étape III) ou à leur consolidation à basse température (étape IV).

Tandis que l'étape III correspond au phénomène observé par MEB-FEG, lors du rapprochement des filaments individuels qui paraissent s'assembler via leur couche hydratée, l'étude du mécanisme de consolidation (étape IV) fait l'objet de ce Chapitre, dans le cas du frittage par *Spark Plasma Sintering* à température typiquement inférieure à 200°C.

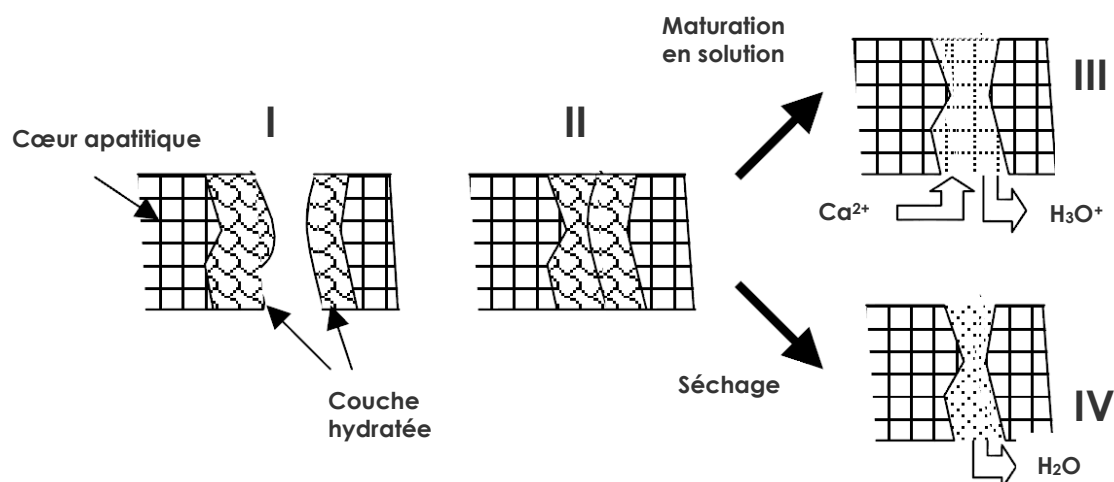


Figure 47. Rôle de la couche hydratée dans la formation d'une céramique massive à partir de poudre nanocristalline d'ANB. Jonction intercrystalline (étape I et II), « Fusion cristalline » (étape III) correspondant à l'évolution de la couche hydratée en structure apatite, et « frittage à basse température » (étape IV) au cours duquel des interactions ioniques directes sont rendues possibles par une perte d'eau

Le phénomène de « fusion cristalline » qui a lieu au cours du frittage à « basse » température est particulièrement intéressant car il génère des liaisons fortes entre les cristaux, indispensable à la formation d'une biocéramique massive en vue d'être utilisée en tant que dispositif implantable (comme matériau de substitution osseuse). La conservation de la couche hydratée lors de la consolidation à basse température est particulièrement intéressante, car elle est non seulement capable d'échanger des espèces ioniques avec les fluides environnants, mais elle peut aussi adsorber des protéines, de la même façon que le minéral osseux. Ainsi, il paraît favorable de conserver cette propriété dans la biocéramique massive, afin de faciliter son intégration osseuse dans le site receveur, et favoriser la colonisation par les protéines et les cellules pour la reconstruction osseuse.

Les méthodes de frittage classiques à haute température (1200°C) ne sont pas souhaitables pour consolider les poudres d'ANB, car la couche hydratée et la mobilité de surface induite seraient détruites et le caractère nanocristallin perdu. Différentes méthodes de frittage à basse température, présentées précédemment (Chapitre I, § I.2.3), se sont inspirées des méthodes conventionnelles, mais ne permettent pas de concilier les propriétés physico-chimiques de l'ANB et de bonnes propriétés mécaniques [Banu2005].

Une technique non-conventionnelle de frittage a donné des premiers résultats encourageants pour l'élaboration d'une biocéramiques réunissant les propriétés mentionnées ci-dessus [Drouet2006,2009]. Le frittage par *Spark Plasma Sintering* communément appelé *SPS* ou « frittage flash » montre une consolidation des ANB possible à 200°C, avec des altérations (en termes de perte d'eau et d'augmentation de la taille des cristallites) moindres par rapport aux dommages créés par les techniques conventionnelles de frittage [Drouet2006,2009].

Dans ce chapitre, la consolidation des poudres d'ANB par *SPS* est approfondie pour chaque ANB maturée dont la caractérisation a été détaillée dans le Chapitre II. La caractérisation des biocéramiques obtenues seront comparées avec celles des poudres initiales pour essayer de mieux comprendre le mécanisme de consolidation par *SPS*.

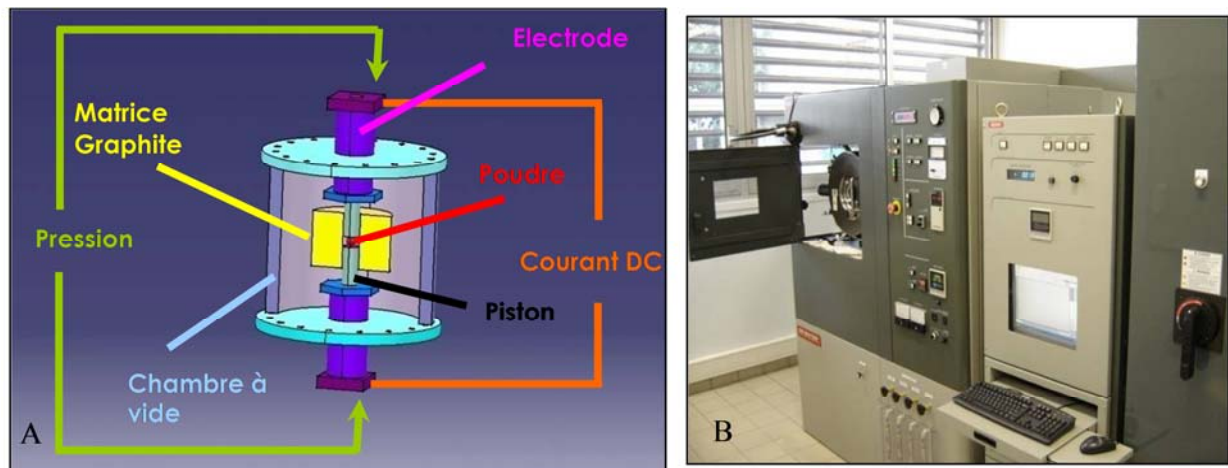
III.1.1. Le *Spark Plasma Sintering* ou *SPS* ou frittage flash – le principe

L'appareil utilisé pour les essais est un SPS SUMITOMO 2080 accessible à la Plateforme Nationale de Frittage Flash du CNRS (PNF2/CNRS) à Toulouse (Figure 48B).

Contrairement au frittage conventionnel ou au pressage à chaud, pour lesquels l'énergie nécessaire au frittage est apportée thermiquement par chauffage du substrat (convection puis rayonnement), la particularité du frittage flash permet de réaliser l'opération de frittage en chauffant la poudre non pas thermiquement par rayonnement mais directement par effet joule. De nombreuses techniques permettant de fritter des poudres à partir d'un courant électrique ont été développées depuis 1933 (concept initié par Taylor). Il est maintenant assez accepté que le frittage activé par un champ électrique permet une densification plus rapide [Khor2003]. Mais c'est seulement au début des années 1960 que le procédé *SPS* a été réellement développé par l'équipe de Inoue [Honda1964]. Il permet d'obtenir des matériaux frittés en appliquant simultanément une pression et un courant électrique (Figure 48A). Les pulses de courant électrique du SPS SUMITOMO 2080 peuvent atteindre jusqu'à 8000 A alors que la différence de potentiel reste égale à quelques volts (10 V). L'ensemble presse uniaxiale se rapproche de l'architecture d'une presse hydraulique, qui peut développer de 5 à 200 kN en force uniaxiale. Les efforts appliqués via les pistons sont mesurés par une cellule de force qui est limitée à 200 kN.

Le temps de frittage est généralement compris entre 2 et quelques dizaines de minutes, ce qui est largement inférieur au temps de frittage pour les procédés conventionnels qui peut atteindre plusieurs heures. Des temps de frittage courts permettent de conserver une microstructure fine. C'est l'un des avantages du frittage *SPS* par rapport aux autres procédés de frittage, permettant d'accroître les propriétés mécaniques en minimisant l'impact du traitement thermique.

Les échantillons de poudre sont placés au sein d'une matrice en graphite et pressés entre deux pistons de diamètre identique. Une fine feuille de graphite (Papyex[®]) est insérée entre la poudre et les parois du moule « matrice + pistons » pour faciliter le démoulage de l'échantillon consolidé. Cet ensemble, placé à l'intérieur de la chambre, est positionné entre deux jeux de pièces cylindriques en graphite qui assurent ainsi une première protection thermique tout en favorisant l'amenée de courant électrique. Ces protections, qui sont des entretoises, sont généralement appelées « *spacers* ».



De part et d'autre des *spacers* se trouve l'ensemble du système d'électrodes qui est constitué de deux pièces métalliques. Une première pièce en inconel (Ni 76 % Cr 17 % Fe 7 %) sert de second bouclier thermique après les *spacers*. La deuxième pièce, refroidie par circulation d'eau, sert de zone tampon et de protection entre les parties mises en température par effet joule (échantillon, pistons, matrice, *spacers*) et les pistons de la presse. L'enceinte contenant l'ensemble de ce système (électrodes + *spacers* + pistons + matrice) est refroidie par circulation d'eau. Une fois la porte de l'enceinte fermée, le vide est établi par deux pompes

connectées en série, une pompe de vide primaire et une de vide secondaire. Une fois le vide établi dans l'enceinte, une pression d'1 atm d'argon constitue l'atmosphère durant tout le procédé de frittage.

III.1.2. Mise en place du protocole SPS

Le but de cette étude est de consolider les ANB présentant différents temps de maturation, en préservant au mieux les caractéristiques physico-chimiques intrinsèques des nanocristaux c'est-à-dire la présence de la couche hydratée et des espèces ioniques qui y sont liées. Dans le cadre des ANB étudiées dans le programme ANR « NanoBiocer », une étude préliminaire [Grossin2010] a permis d'établir les paramètres de température et de pression du procédé thermique qui sont rappelés ci-dessous.

III.1.2.a. *Etude préliminaire des paramètres SPS de frittage des ANB*

Dans des travaux préliminaires réalisés sur le procédé de frittage SPS d'une ANB maturée pendant un 1 jour, l'influence de la température et de la pression mécaniques maximales atteintes au cours du traitement thermique ont été étudiées suivant le procédé décrit sur la Figure 49. Les résultats de cette étude ont fait l'objet d'une publication détaillée dans la revue Acta Biomaterialia [Grossin2010]. Seuls les principaux résultats d'intérêt pour la suite des travaux sont présentés ici.

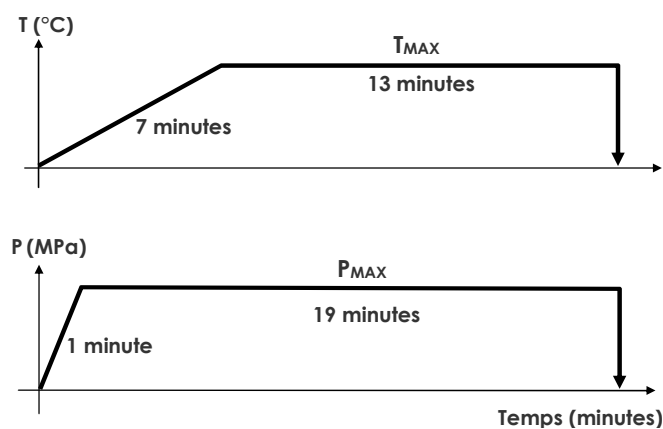


Figure 49. Description schématisée du protocole SPS

Les échantillons de poudre d'ANB (8,5 g) sont préparés dans une matrice de diamètre 36 mm. Tout au long du procédé *SPS*, des pulses de courant sont limités à 4000 A selon un schéma de 12 pulses de 3,3 ms suivis de 2 étapes de 3,3 ms sans courant.

★ Influence de la température maximale (T_{MAX})

Dans un premier temps, en fixant la pression mécanique à 100 MPa (101,6 kN pour une matrice \varnothing 36 mm), des températures maximales (T_{MAX} , sur la Figure 49) entre 25 °C et 500°C ont été testées. Quelle que soit la température, deux phénomènes de retrait apparaissent de façon évidente sur la Figure 50.

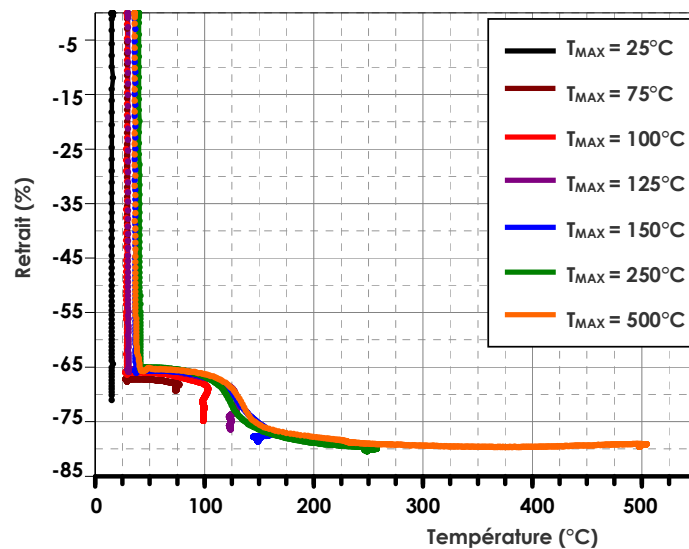


Figure 50. Retrait in situ en fonction de la T_{MAX} du traitement SPS, avec $P_{MAX} = 100$ MPa

Le premier à T_{MAX} inférieure à 100°C correspond à la réorganisation de la poudre sous l'effet de l'application de la pression mécanique, tandis que le second entre 100°C et 175°C est lié au procédé de frittage. Différentes techniques de caractérisation (DRX, FTIR,...) ont permis de montrer que jusqu'à T_{MAX} égale à 150°C, la couche hydratée était présente et sa dégradation limitée. Par ailleurs le taux relatif d'hydroxylation de la phase apatitique augmente lorsque T_{MAX} augmente. En revanche, au-delà de 200°C, une phase cristalline secondaire de monétite (CaHPO_4) apparaît, ainsi que des traces de pyrophosphate de calcium ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), et l'hydroxylation de l'apatite ainsi que la dégradation de la couche hydratée deviennent très importantes. Le regroupement de ces informations a conduit à étudier l'effet de P_{MAX} avec une T_{MAX} fixée à 150°C, suivant le même cycle *SPS* décrit sur la Figure 49.

★ **Influence de la pression mécanique maximale (P_{MAX})**

Une P_{MAX} comprise entre 5 et 100 MPa a été testée. Les deux étapes de retrait sont toujours présentes (Figure 51), quelle que soit la pression maximale appliquée. Le second retrait lié au procédé de frittage débute vers 130°C.

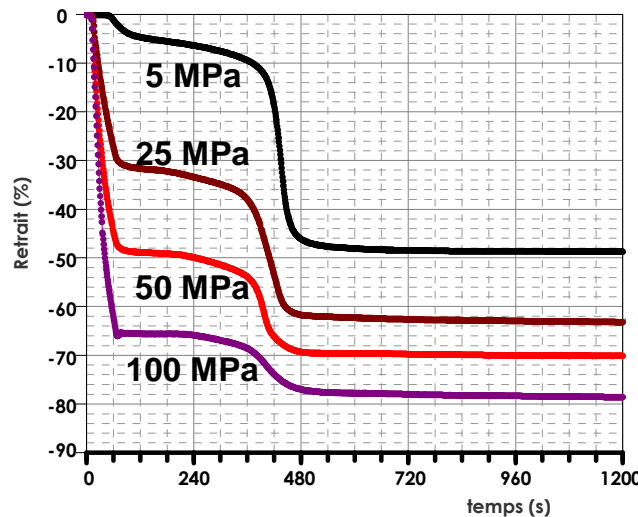


Figure 51. Retrait in situ en fonction de la P_{MAX} du traitement SPS, avec $T_{MAX} = 150^{\circ}C$

De plus, quelle que soit la pression P_{MAX} , les caractérisations effectuées ont montré que la couche hydratée semble relativement épargnée [Grossin2010] ; en revanche, la P_{MAX} a un effet direct sur les phases cristallines secondaires. En effet, la monétite disparaît de façon significative lorsque P_{MAX} augmente, jusqu'à ne plus être détectable sur l'échantillon issu du traitement à 100 MPa ($T_{MAX} = 150^{\circ}C$). La présence de la monétite semble également étroitement liée à la perte d'eau car elle est la moins importante lorsque P_{MAX} vaut 100 MPa. A l'inverse, la densité varie entre 0,7 et 2,0 lorsque P_{MAX} passe de 5 MPa à 100 MPa, ce qui s'accompagne d'une réduction de la porosité intercrystalline et de l'orientation préférentielle des cristallites suivant l'axe parallèle à la surface de l'échantillon (perpendiculaire à l'axe de compression).

Ainsi, afin de minimiser la détérioration de la couche hydratée, tout en s'abstenant de la présence des phases cristallines secondaires, la P_{MAX} de 100 MPa (à $T_{MAX} = 150^{\circ}C$) est retenue en vue de poursuivre l'étude du frittage des ANB maturées par SPS.

La performance qui consiste à obtenir un matériau massif et cohésif à seulement 150°C, tout en maintenant la présence de la couche hydratée semble liée aux deux paramètres suivants :

→ un palier relativement court en température (13 minutes) qui minimise les pertes d'eau,

→ l'application extrêmement rapide de la pression (montée à 100 MPa en 1 minute) qui favorise la fusion intercrystalline, précédemment décrite (étape IV, Figure 47).

III.1.2.b. Matériaux utilisés pour les moules de frittage SPS

Le but final de l'étude des biocéramiques obtenues par *SPS* étant de développer une nouvelle génération de biocéramiques de substitution osseuse, une évaluation biologique en présence de cellules (essais *in vitro* puis *in vivo*) sera nécessaire ultérieurement. Or les résidus de papyex[®] laissés à la surface des échantillons pourraient influencer la biocompatibilité des biocéramiques. Le carbone graphite peut notamment s'insérer à la surface de l'échantillon consolidé, d'autant plus qu'il apparaît clairement après démoulage que la surface de la feuille de papyex[®], en contact avec la poudre, est altérée. C'est pourquoi nous avons tenté d'utiliser un moule (ensemble « matrice + pistons ») réalisé dans un matériau inerte vis-à-vis des ANB, qui nous abstienne d'utiliser le papyex[®].

★ Moule en carbure de tungstène

L'ensemble « matrice + pistons » en graphite, avec la feuille en papyex[®] a été remplacé uniquement par un ensemble « matrice + pistons » en carbure de tungstène nuance G1 (WC 93,5 % /Co 6,5 %), sans aucune feuille pour aider au démoulage.

Le démoulage de l'échantillon consolidé par *SPS* est aisé. Néanmoins, la surface de l'échantillon s'est avérée être de couleur violette. En plus des éléments (P, Ca, O) entrant dans la composition des apatites phosphocalciques, une analyse EDX (Figure 52) a révélé la présence de cobalt (très probablement des ions Co^{2+} étant donné la couleur), dont la toxicité est reconnue depuis longtemps : il est classé comme "cancérogène possible" par le Centre international de recherche sur le cancer. (Il provoque un cancer lorsqu'il est introduit dans un muscle ou sous la peau, mais il ne semble pas être cancérogène lorsqu'il y a contact par inhalation ou injection via la nourriture ou l'eau.)

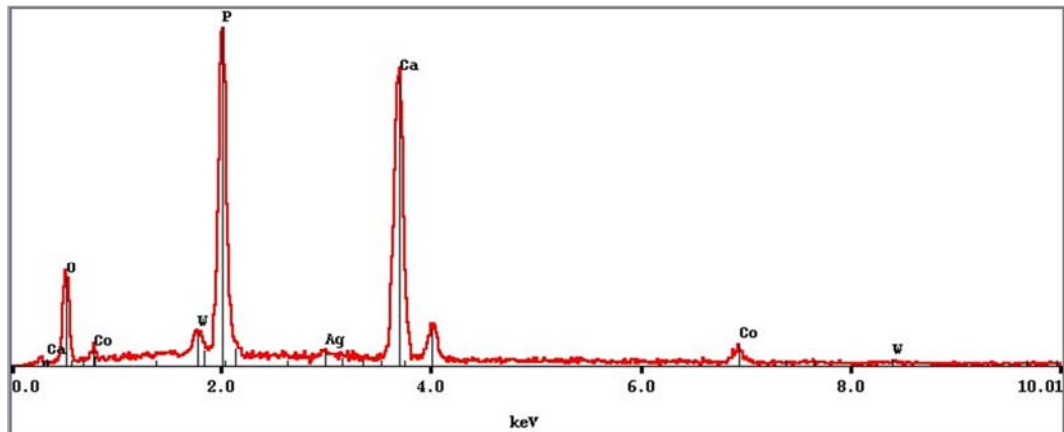


Figure 52. Spectre EDX réalisé à la surface de la pastille violette

La migration des ions cobalt présents dans l'alliage était inattendue dans les conditions de température et de pression utilisées. Elle a très certainement été favorisée par la présence de la couche hydratée de l'ANB, en plus du fait que le procédé *SPS* est une méthode de frittage non-conventionnelle dont les mécanismes ne sont pas parfaitement connus.

★ **Moule en acier 316L / Moule en alliage de titane TA6V**

Il est donc apparu intéressant, vis-à-vis de la biocompatibilité, de s'intéresser à des alliages validés pour leur utilisation dans la réalisation des dispositifs médicaux (DM). L'acier 316L, d'une part, et l'alliage TA6V, d'autre part, ont été retenus. Des matrices et des pistons ont été réalisés dans chacun de ces deux matériaux, puis testés. Le démoulage des échantillons consolidés par *SPS* s'est alors avéré assez problématique, car la présence d'eau dans les poudres d'ANB (la couche hydratée) crée une adhérence entre l'échantillon consolidé et la matrice, rendant le démoulage quasiment impossible. Notons également que le refroidissement du moule en acier est plus lent que celui du moule en graphite.

Les moules *SPS* doivent impérativement supporter une pression uniaxiale de 100 MPa, pendant 19 minutes, avec une montée très rapide à P_{MAX} . Notre choix de matériau pour la réalisation des moules *SPS* aurait également pu s'orienter vers d'autres alliages biocompatibles reconnus sur le marché des DM, tels les alliages de chrome-cobalt (Cr-Co), ou des métaux purs, inertes comme le tantale et le niobium, mais ces derniers matériaux sont très onéreux. C'est pourquoi nous nous sommes orientés vers une autre alternative pour mettre la surface de poudre en contact avec un métal inerte.

★ Moule en graphite + pastille de Niobium (Nb)

Nous avons évalué l'utilisation de pastilles de niobium (Nb) en remplacement du papyex[®]. Celles-ci sont insérées entre la poudre et les pistons pour éviter la migration du carbone graphite contenu dans le papyex[®], dans l'échantillon consolidé. L'utilisation de la feuille de papyex[®] est conservée entre la poudre et la matrice, sur la surface génératrice du cylindre. En effet, cette surface de contact est minimale, et la feuille n'est pas directement soumise à la pression uniaxiale, contrairement aux surfaces en contact avec les pistons.

La présence plus importante d'eau dans les ANB mûries (déterminée par ATG, § II.3.3, Figure 28) pendant un temps court (20 minutes, 3 heures) accroît l'adhésion de la pastille en Nb avec l'ANB. Il semble plus raisonnable de douter de l'inertie parfaite du Nb avec les ANB, compte-tenu de la légère coloration grisée à la surface de la pastille d'ANB. Il n'est pas possible, par EDX, de contrôler aisément l'absence de migration du niobium à la surface des échantillons consolidés (contrairement au cobalt). En effet, par cette technique, le spectre du Nb se superpose à l'un des pics du phosphore. Nous avons cependant pu mettre en évidence la présence du Nb à la surface des pastilles par spectroscopie XPS. Pour plus de précautions, nous avons alors choisi de ne pas utiliser le Nb, et préférer conserver l'utilisation de la feuille de papyex[®] pour séparer la poudre du moule « matrice + pistons ». Les résidus de graphite présents en surface seront éliminés mécaniquement.

III.1.3. Le frittage des ANB mûries

L'étude préliminaire précédente a été étendue à l'ensemble des ANB mûries du Chapitre II. Les poudres d'ANB synthétisées avec différents temps de maturation, lyophilisées et enfin tamisées selon la méthode décrite dans le paragraphe II.1.1 ont été frittées par *SPS*, suivant le traitement de température et de pression décrit sur la Figure 49, avec :

$$T_{\text{MAX}} = 150^{\circ}\text{C} \quad \text{et} \quad P_{\text{MAX}} = 100 \text{ MPa}$$

Des moules « matrice + pistons » en graphite, de diamètre 36 mm, ainsi que du papyex[®] ont été utilisés, comme décrit précédemment § III.1.1. Un tel diamètre est nécessaire en vue des essais mécaniques qui seront réalisés à l'issue de cette étude. Les échantillons seront

directement testés sans être ajustés. En effet, le collage, le chauffage ou même l'usinage (en milieu humide ou à sec) des échantillons d'ANB sont délicats, sous peine de transformer l'échantillon : destruction de la couche hydratée par montée en température, ou pollution de l'échantillon avec la colle ou l'eau qui serait adsorbée dans les pores.

III.1.3.a. La régulation des données de consigne du SPS

Avant tout nouveau protocole, il est nécessaire d'ajuster le régulateur PID (ou « Proportionnel Intégrale Dérivé ») afin de limiter tout dépassement (ou *overshoot*) éventuel des consignes (température et/ou pression). L'erreur observée est la différence entre la consigne et la mesure. Le PID permet 3 actions en fonction de cette erreur :

- Une action Proportionnelle : l'erreur est multipliée par un gain G
- Une action Intégrale : l'erreur est intégrée sur un intervalle de temps s , puis divisée par un gain T_i
- Une action Dérivée : l'erreur est dérivée suivant un temps s , puis multipliée par un gain T_d

Le réglage d'un PID consiste à déterminer les coefficients G , T_d et T_i afin d'obtenir une réponse adéquate du procédé et de la régulation. L'objectif est d'être rapide et précis.

Dans le cas de l'utilisation des moules en graphite de diamètre 36 mm, pour le traitement *SPS* des ANB, les PID que nous avons sélectionnés sont les suivants :

→ PID en température : $G = 25$; $T_i = 20$; $T_d = 2$

→ PID en pression : $G = 60$; $T_i = 5$; $T_d = 0$

III.1.3.b. Les données in situ du frittage des ANB maturées

De la même façon que dans l'étude menée avec l'ANB maturée 1 jour [Grossin2010], deux phénomènes de retraits sont distincts au cours du traitement *SPS* (Figure 53A):

→ Le premier retrait correspond à la réorganisation de la poudre sous l'effet de l'application de la pression mécanique. Plus l'ANB est maturée, moins le retrait est important.

Il est $1/5^{\text{ème}}$ moins important pour l'ANB maturée 3 semaine ($\approx 56\%$) que pour l'ANB maturée 20 minutes ($\approx 70\%$). Cette différence de comportement peut être corrélée aux différences morphologiques observées dans les précipités, puis dans les poudres d'ANB lyophilisées avec différents temps de maturation (§ II.2). En effet, les aiguilles, individuelles (ANB maturée autour de 1 jour) ou assemblées côte-à-côte (ANB maturée au-delà de 3 jours) constituent un réseau enchevêtré qui bloque / limite la réorganisation et rend les aiguilles difficilement orientables. A l'inverse, dans les ANB faiblement maturées, le réseau tridimensionnel constitué de sphéroïdes (ANB dans les premières minutes de la maturation) puis de filaments (ANB maturée moins de 3 heures) tendent à s'effondrer plus facilement sous l'effet de la pression, ce qui favorise le réarrangement des grains.

→ Le second retrait est plus faible, et peut être relié au procédé de frittage (§ I.2.2). Ce phénomène débute vers 70°C . Plus l'ANB est maturée longtemps, moins ce retrait est important (de 15% pour l'ANB maturée 20 minutes à 9% pour l'ANB maturée 3 semaines). Ce second retrait peut être mis en parallèle avec une perte d'eau au cours du procédé (Figure 53B).

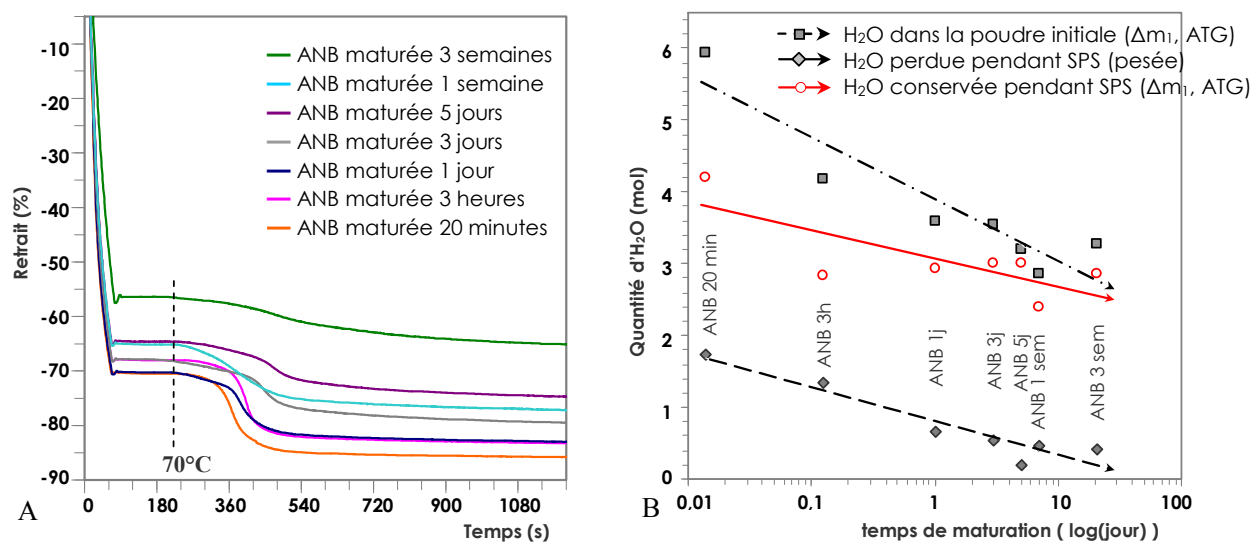


Figure 53. Courbes de retrait *in situ* au cours du procédé SPS, pour chaque ANB maturée (A) et quantité d'eau perdue pendant le traitement SPS par rapport à la quantité initialement présente dans les poudres, par unité formulaire d'apatite (avec 6 moles de phosphate), en fonction du temps de maturation de l'ANB (B)

Le profil de l'évolution de la perte d'eau en fonction de l'état de maturation de l'ANB est en effet identique à celui de la perte de masse liée à l'eau contenue dans la couche hydratée (Δm_1 , Figure 29, § II.3.3). Si le pourcentage de ce retrait est effectivement lié à la quantité

d'eau contenue dans l'ANB, alors le profil des courbes de retrait met en évidence le rôle de la couche hydratée dans le phénomène de frittage des ANB : fusion intercrystalline avec mise en commun des couches hydratées (étape IV, Figure 47, § III.1). La perte d'eau représente alors entre 30 % (ANB_{20min}) et 12 % (ANB_{3sem}) de l'eau initialement présente dans la couche hydratée, par conséquent, la quantité d'eau non éliminée par le traitement SPS est encore importante, notamment pour les faibles maturations (Figure 53B).

En supposant en première approche que les pertes de masse pendant le traitement *SPS* correspondent à de l'eau de la couche hydratée, la diminution de la perte de masse peut être reliée à la morphologie des ANB (Figure 15 dans le précipité et Figure 18 après lyophilisation, § II.2.2, Chapitre II). En effet, pour les maturations où les ANB forment des filaments organisés côte-à-côte, probablement via la couche hydratée, l'eau de la couche hydratée, piégée entre des filaments, est plus fortement liée.

PARTIE B.

III.2. Les observations microscopiques

La morphologie des ANB consolidés par *SPS*, a été observée par MEB-FEG, sur la surface brute (en contact avec les parois du moule), puis sur une tranche interne de l'échantillon. Le faible grossissement des micrographies que nous avons réussi à obtenir est dû à l'instabilité des échantillons sous le faisceau d'électrons, rendant la mise au point compliquée. Les échantillons consolidés avec des maturations initiales entre 20 minutes et 5 jours ont été étudiés (Figure 54).

Il ne semble pas y avoir de différence de morphologie entre la surface et l'intérieur de l'échantillon consolidé sur l'échantillon consolidé le plus mûr ($ANB_{5\text{jours}}$), alors que les surfaces des trois autres échantillons ($ANB_{20\text{ minutes}}$, $ANB_{3\text{heures}}$ et $ANB_{1\text{jour}}$) présentent un aspect « moussieux » qui est absent au sein de l'échantillon. Les précédents résultats de DRX ont également montré la présence de traces de phase(s) secondaire(s) cristalline(s) entre la surface (Figure 55) contrairement au cœur (Figure 57). Les DRX des échantillons $ANB_{20\text{ minutes}}$, $ANB_{3\text{heures}}$ et $ANB_{1\text{jour}}$ montrent la présence de monétite uniquement à la surface des échantillons consolidés. Il est possible que la différence d'aspect observée par MEB-FEG corresponde donc aux traces de monétite. En nous intéressant au cœur de l'échantillon, le faible grandissement ne nous permet pas clairement de détailler l'aspect des particules. Des aiguilles semblent progressivement se former entre l' $ANB_{3\text{heures}}$ et l' $ANB_{5\text{jours}}$.

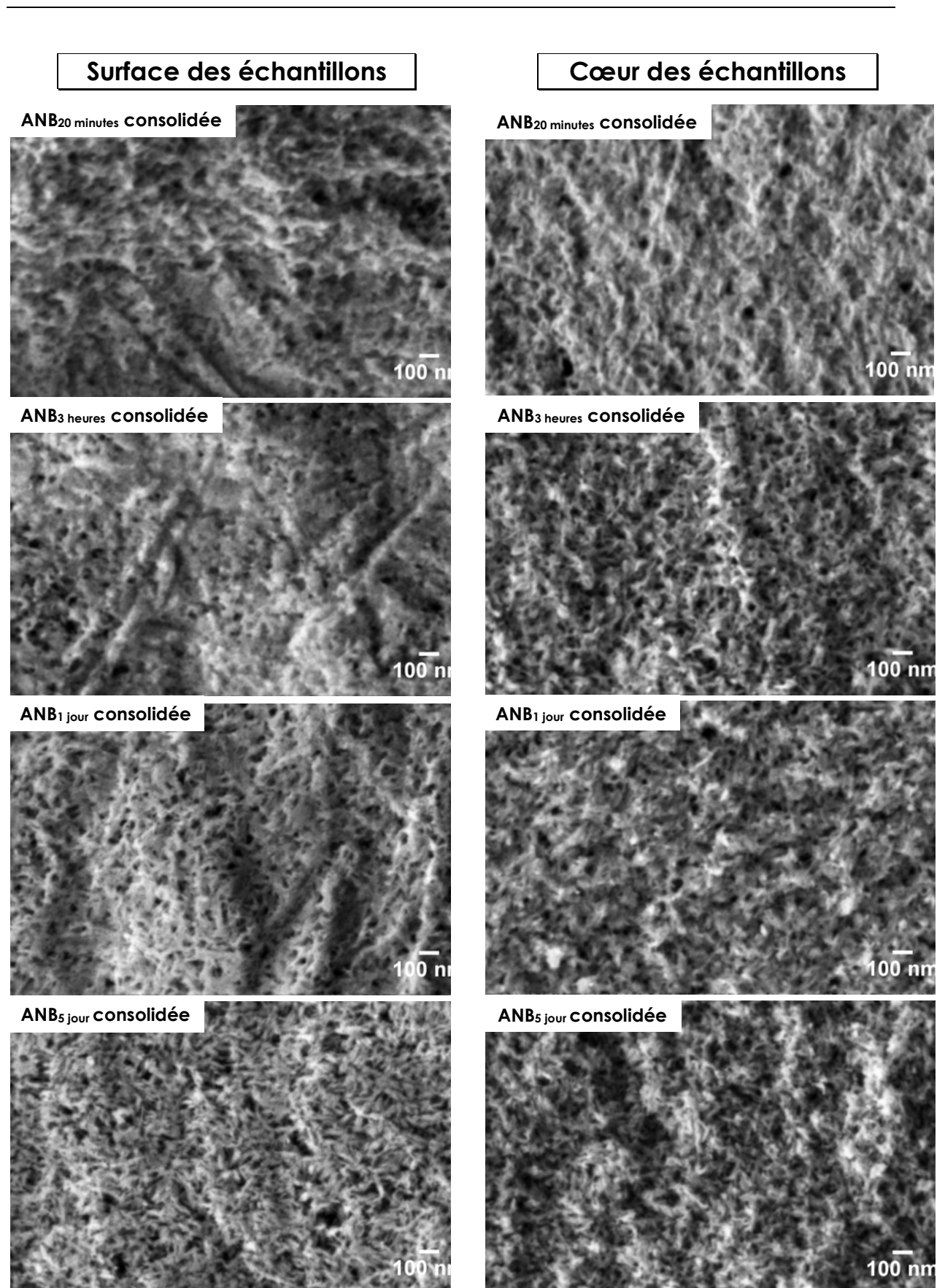


Figure 54. Analyse par MEB-FEG à la surface et au cœur des échantillons d'ANB consolidées par SPS, initialement maturées entre 20 minutes et 5 jours, $G : \times 50\ 000$

III.3. La caractérisation des échantillons consolidés par diffraction des rayons X

Les échantillons consolidés à partir des ANB à différents états de maturation ont été caractérisés par DRX. Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à la surface des échantillons massifs, obtenus par *SPS*, puis nous avons exploité le cœur de l'échantillon après broyage.

Les diffractogrammes sur les échantillons consolidés sont acquis avec la radiation $K\alpha$ du cuivre, dans l'intervalle $[20^\circ-90^\circ]$. Les phases en présence sont identifiées par comparaison avec les références du fichier ICDD-PDF disponible sur le logiciel EVA. Les différences entre les deux types d'appareillage utilisé pour les échantillons massifs et pour le cœur broyé des échantillons, sont indiquées dans le Tableau 33.

Tableau 33. Appareillages et conditions d'acquisition des diffractogrammes, obtenus pour les échantillons consolidés, à la surface de l'échantillon massif et à partir du cœur du massif broyé

Conditions	surface des massifs	poudre issue du cœur du massif
diffractomètre $\theta/2\theta$	Brüker D4 Endeavour ($K\alpha_1/K\alpha_2$)	Brüker D8 Advance équipé d'un monochromateur
CuK α	1,5418 Å	1,5406 Å
pas	0,016°	0,021°
temps de comptage	0,16s	2s

Les diffractogrammes ainsi acquis sont comparés aux diffractogrammes réalisés sur les poudres d'ANB maturées et l'HA, présentés dans le Chapitre II, Figure 20.

III.3.1. La DRX appliquée aux échantillons consolidés massifs

La diffraction des rayons X sur un matériau massif permet non seulement d'accéder à l'identification des phases cristallines en présence, et à des informations sur la structure cristalline, mais renseigne aussi sur la texturation du matériau, influencée par la méthode de mise en forme.

La Figure 55 indique que la phase cristalline principale correspond à une phase apatitique.

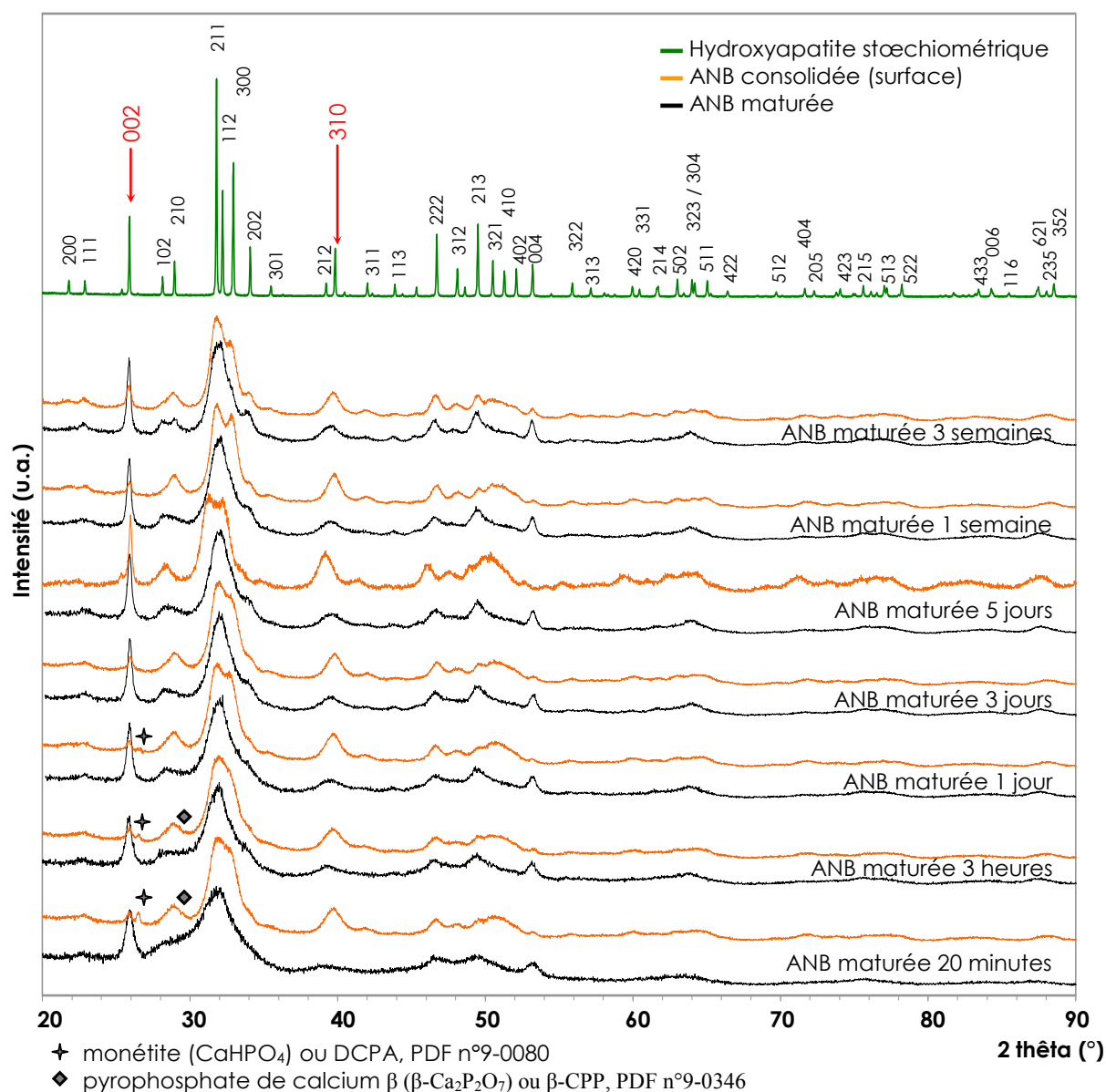
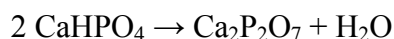


Figure 55. Comparaison des diffractogrammes des poudres d'ANB maturées (en noir), et de la surface des échantillons consolidés par SPS (en orange), en fonction du temps de maturation

Pour les ANB consolidées avec un état de maturation initial de 20 minutes, 3 heures et 1 jour, une phase cristalline secondaire minoritaire est identifiée comme étant de la monétite (CaHPO_4 ou DCPA) selon la fiche PDF 09-0080 (pic à $2\theta = 26,5^\circ$). La teneur en monétite diminue lorsque l'état de maturation de l'ANB consolidée augmente. De plus, des traces de pyrophosphate de calcium β ($\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ou $\beta\text{-CPP}$) peuvent être soupçonnées (pic à $2\theta = 29^\circ$)

selon la fiche PDF 00-09-0346, pour les ANB 20 minutes et 3 heures consolidées. Le β -CPP peut être formé par décomposition thermique de la monétite suivant la réaction suivante :



Le profil des diffractogrammes donne également des informations sur la microstructure. Quel que soit l'état de maturation de l'ANB consolidée, les FWHM sur les diffractogrammes sont encore larges et les pics mal définis, ce qui correspond à un faible état de cristallinité et/ou des cristallites de dimension nanométrique. Néanmoins, la Figure 55 montre de façon évidente que l'état de cristallinité est amélioré après le procédé *SPS*. Les pics sont mieux définis avec l'avancement de l'état de maturation de l'ANB consolidée, ainsi la consolidation d'ANB maturée pendant une plus longue durée conduit qualitativement à un état de cristallinité d'autant plus important. (Le résultat sera confirmé ultérieurement, § III.3.4.)

De la même façon que sur les diffractogrammes des poudres d'ANB maturées, le phénomène d'anisotropie des grains est observable : les raies (00 ℓ) sont plus étroites que les (hk0).

Sur les diffractogrammes des ANB consolidées, certains raies (hkl) ont une intensité relative plus faible que la valeur attendue en comparaison avec les données de la fiche PDF 09-0432 de l'hydroxyapatite (Tableau 13, § II.3.1). Ce phénomène est évident pour les raies (002) à $2\theta = 26^\circ$, (300) à $2\theta = 33^\circ$, (310) à $2\theta = 39,5^\circ$ et (004) à $2\theta = 53,5^\circ$ (Tableau 34) : tandis que les raies de la famille (00 ℓ) des ANB consolidées ont des intensités relatives (I/I_0) inférieures, celles des familles (hk0) sont plus élevées.

Tableau 34. Intensités relatives des principales raies des diffractogrammes de poudres d'ANB et de la surface des échantillons consolidés, comparées à celles de l'HA (PDF n°9-0432)

		I/I_0			
		raie (002)	raie (300)	raie (310)	raie (004)
Hydroxyapatite		40	60	20	20
ANB consolidée (surface)	20 minutes	30	85	33	11
	3 heures	30	84	30	14
	1 jour	25	88	35	12
	3 jours	25	85	30	12
	5 jours	30	93	48	19
	1 semaine	28	88	31	12
	3 semaines	35	77	30	11

Cela suggère un effet de texturation après traitement *SPS* qui peut être quantifié par un indice de texturation (I_{tex}) défini selon l'Equation (3). L'indice I_{tex} correspond au rapport des intensités intégrées (= Aire) de la raie (002) et de la raie (310) illustrées sur la Figure 56A. Le programme « *profile fitting* » intrinsèque au logiciel Fullprof permet d'ajuster l'intensité intégrée de chaque raie, sans négliger les pics voisins et le bruit de fond du diffractogramme.

$$I_{\text{tex}} = \frac{A_{(002)}}{A_{(310)}}$$

Equation (3)

Si la valeur de I_{tex} est faible, les cristallites sont majoritairement positionnées avec l'axe « c » parallèle à la surface de l'échantillon.

Si la valeur de I_{tex} est élevée, les cristallites sont majoritairement positionnées avec l'axe « c » perpendiculaire à la surface de l'échantillon.

L'augmentation de I_{tex} sur la Figure 56B, lorsque l'état de maturation des ANB consolidées augmente, est importante entre la maturation 20 minutes et celle de 3 heures, puis elle double entre 5 jours et 3 semaines. Cette évolution indique que l'axe « c » des cristallites est de moins en moins orienté parallèlement à la surface des échantillons consolidés.

Ce résultat est cohérent avec l'organisation des cristallites en un enchevêtrement d'aiguilles, après une maturation de longue durée. Ainsi, même sous influence mécanique, il est moins aisé de leur imposer une orientation perpendiculaire à l'axe de compression unidirectionnel (c'est-à-dire parallèlement à la surface de l'échantillon) au cours du procédé *SPS*. Ces conclusions sont également en accord notamment avec le 1^{er} retrait enregistré (dû à la mise sous pression) qui est moins important lorsque l'état de maturation de l'ANB est plus avancé (Figure 53A, § III.1.3.b).

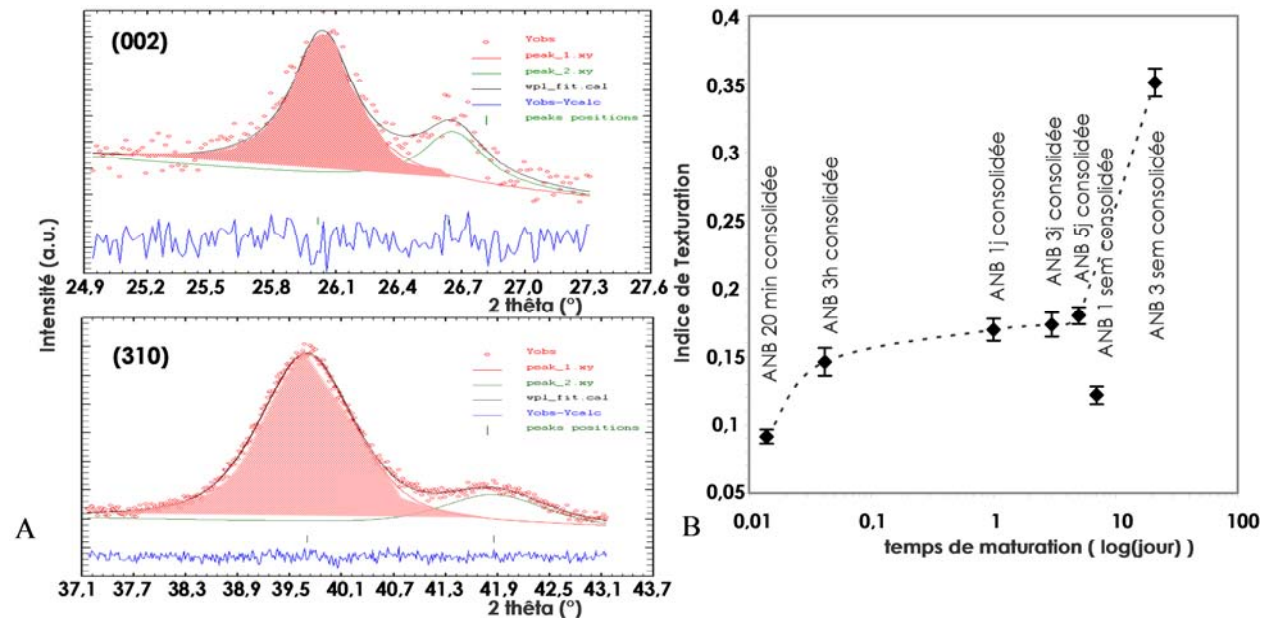


Figure 56. Représentation des intensités intégrées (= Aire) des raies (002) et (310) obtenues à l'aide du logiciel Fullprof (A) pour le calcul de I_{tex} en fonction de l'état de maturation de l'ANB consolidée (B)

III.3.2. La DRX appliquée au cœur broyé des ANB consolidées

Afin d'éliminer l'effet de texturation, sur les diffractogrammes réalisés à la surface des échantillons consolidés, et de s'affranchir d'un éventuel effet de surface (celle-ci étant en contact avec les éléments conducteurs de courant au cours du procédé *SPS*), seul le cœur des échantillons consolidés est récupéré puis broyé manuellement dans un mortier. Des diffractogrammes de poudres du cœur des échantillons (Figure 57) sont enregistrés dans les mêmes conditions, avec le même appareillage, que les diffractogrammes sur poudres d'ANB maturées avant consolidation (Tableau 9, § II.3.1).

Contrairement aux diffractogrammes obtenus par diffraction des RX des échantillons consolidés (Figure 55), la diffraction des poudres issues du cœur montre des intensités relatives de raies conformes à celles mentionnées sur la fiche PDF 09-0432 de l'hydroxyapatite. Cette différence entre les deux types d'acquisition de diffractogrammes confirme l'effet de texturation mentionné précédemment.

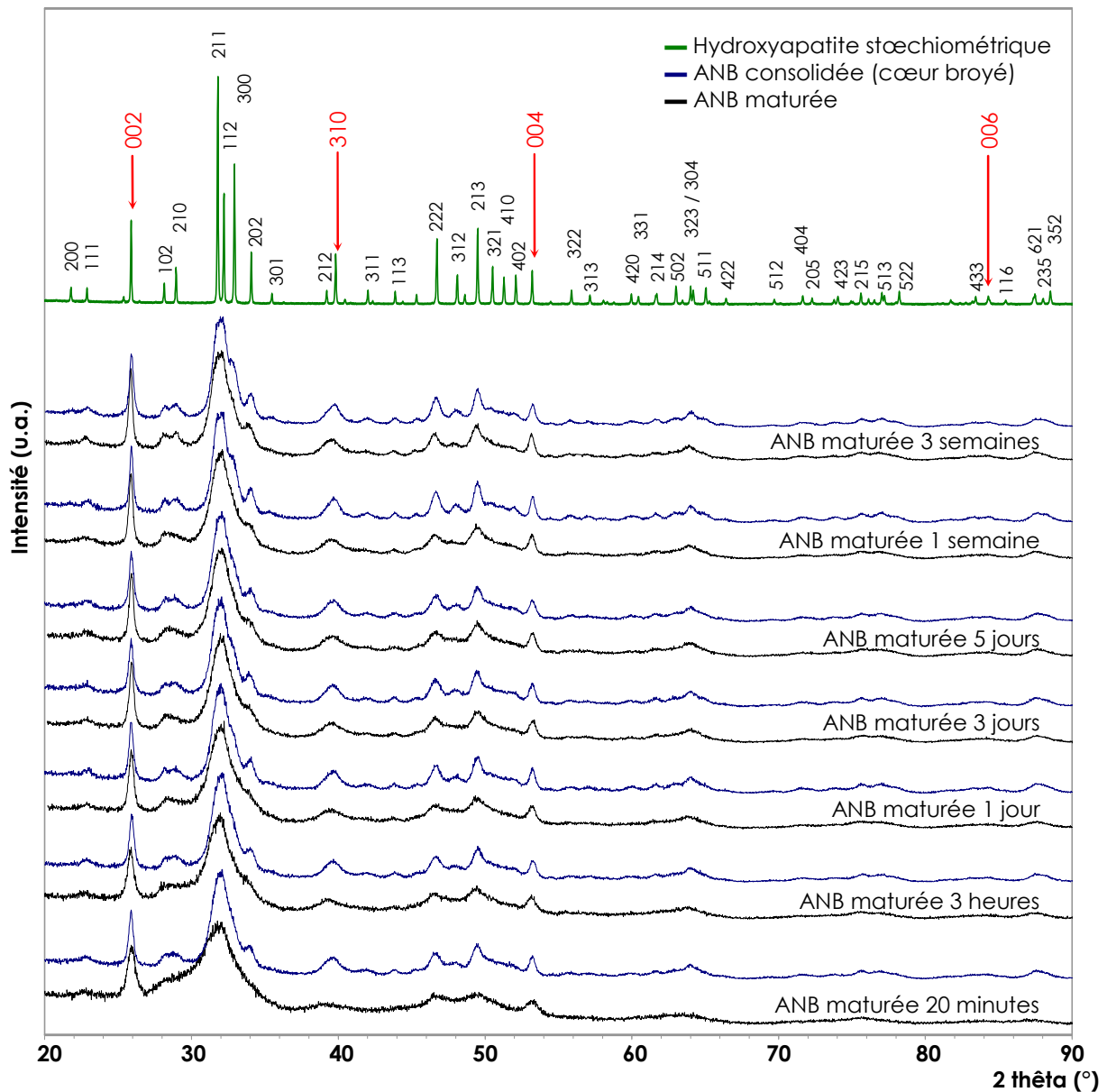


Figure 57. Comparaison des diffractogrammes des poudres initiales d'ANB mûries (en noir), et des poudres broyées prélevées au cœur des échantillons consolidés par SPS (en bleu)

Une autre différence avec la Figure 55 est l'absence de phase cristalline secondaire, au cœur des échantillons consolidés. Quel que soit l'état de maturation de l'ANB consolidée, toutes les raies sont identifiées sur la fiche PDF 09-0432 correspondant à l'hydroxyapatite. La présence de la monétite et/ou du β -CPP à la surface des massifs résulte probablement de deux effets combinés :

→ la nature de l'interface « poudre / moule » thermodynamiquement différente de l'interface « poudre / poudre » au cœur de l'échantillon

→ le mode de chauffage non-conventionnel du procédé *SPS* au niveau des surfaces conductrices du moule qui peut conduire à un effet de « surchauffe » au niveau de la surface de l'échantillon. Un tel phénomène entraînant un gradient de densité au sein de pastilles de AlN, transparentes en périphérie (100 % dense) et opaques à l'intérieur (dense inférieure) [Xiong2005].

En comparant les diffractogrammes réalisés sur la poudre des échantillons consolidés avec ceux des poudres d'ANB maturées, les pics apparaissent un peu moins larges et il y a une légère amélioration de leur définition. Cependant les profils de diffraction après traitement *SPS* sont encore caractéristiques d'apatites faiblement cristallisées (comme le minéral osseux). De la même façon que dans le cas des poudres initiales ANB maturées, lorsque le temps de maturation des ANB consolidées est plus long, les raies sont mieux définies, ce qui signifie une amélioration de l'état cristallin, une augmentation de la taille des cristallites et/ou une diminution des microcontraintes.

III.3.3. Estimation des dimensions des cristallites, selon le modèle de Scherrer

L'équation de Scherrer présentée précédemment (Equation (1), § II.3.1, Chapitre II) est appliquée de la même façon que sur les diffractogrammes des ANB maturées, avec les mêmes restrictions d'interprétation. Pour ce faire, nous avons exploité les diffractogrammes réalisés sur le cœur des échantillons consolidés (Figure 57). Le Tableau 35, illustré par la Figure 58B, montre que les cristallites conservent leur taille nanocristalline en forme d'aiguilles. Quel que soit l'état de maturation initial des ANB, la largeur des aiguilles a augmenté au cours du traitement *SPS*, mais l'état de maturation a moins d'influence sur les valeurs après consolidation (entre 60 et 90 Å). Avant traitement *SPS*, l'écart entre les largeurs des cristallites, en fonction du temps de maturation, était plus étendu (de 20 à 60 Å). L'effet de la consolidation sur l'évolution de la longueur des aiguilles, en fonction de la maturation initiale de l'ANB, semble plus aléatoire. Les cristallites sont légèrement plus longues dans le cas des ANB avec un état de maturation plus avancé. Néanmoins, après traitement *SPS*, la longueur

des cristallites ne semble plus autant être fonction du temps initial de maturation de l'ANB, avec $L(002) \approx 237 \text{ \AA}$. La tendance vers un système stationnaire se justifie par la densification et donc la réactivité qui décroît lorsque le temps de maturation initiale de l'ANB augmente.

Tableau 35. Dimensions apparentes des cristallites des ANB consolidées, calculées selon le modèle de Scherrer (en fonction de l'état de maturation initiale), comparées avec les dimensions avant traitement

	$L(002) \sigma = 4 \text{ \AA}$		$L(310) \sigma = 1 \text{ \AA}$	
	avant SPS	après SPS	avant SPS	après SPS
ANB 20 minutes	143	225	19	60
ANB 3 heures	165	228	31	61
ANB 1 jour	211	261	35	72
ANB 3 jours	237	235	43	72
ANB 5 jours	260	218	44	71
ANB 1 semaine	267	305	46	88
ANB 3 semaines	319	259	58	90

L'amélioration de la définition des raies en fonction du temps de maturation initial de l'ANB, ainsi que l'anisotropie de la taille des grains, toutes deux visibles sur la Figure 57, peuvent être mises en évidence par la largeur à mi-hauteur (FWHM, ou β) des raies (310) et (002) (Figure 58A). La diminution des FWHM des raies suggère une augmentation de la cristallinité, voire une diminution du taux de microcontraintes (défauts, fautes d'empilement, ...). Cette évolution était déjà présente dans les poudres d'ANB maturées (Figure 21B, § II.3.1). La poudre initiale d'ANB maturée 3 semaines possède la plus grande cristallinité.

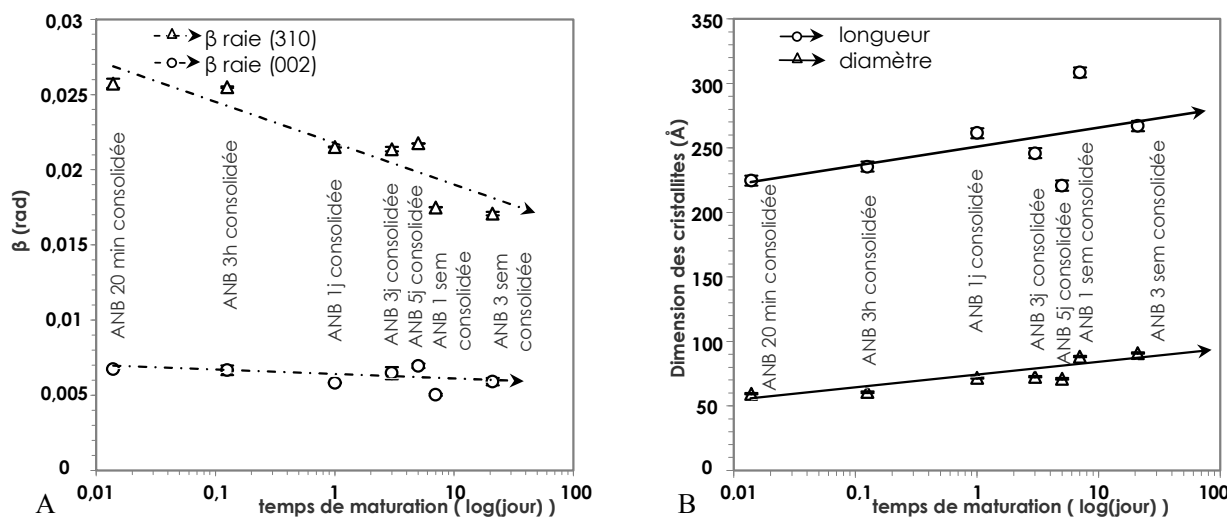


Figure 58. Evolution de la FWHM des raies (A) et de la taille des cristallites selon le modèle de Scherrer (B) après traitement SPS

L'évolution croissante de la cristallinité en fonction du temps de maturation est toujours visible après traitement *SPS*, mais le processus de frittage l'amplifie. Par exemple pour la raie (310), la FWHM (sur le profil des raies) varie entre 0,08 et 0,03 rad dans le cas des ANB maturées (poudres initiales), tandis qu'elle varie entre 0,025 et 0,02 rad après consolidation.

Nous avons vu précédemment, dans le cas des ANB maturées, avant consolidation, que la contribution des microcontraintes dans la largeur des raies de diffraction n'était pas à négliger. Après consolidation, la taille nanométrique des cristallites est conservée, et les diffractogrammes correspondent encore à des apatites faiblement cristallisées, ce qui sous-entend l'existence d'un certain désordre à l'échelle des cristallites.

III.3.4. Evolution de la taille et du désordre cristallin, selon le modèle de Hosemann et Vogel

De la même façon que pour les ANB maturées, l'expression de Hosemann et Vogel (Equation (2), § II.3.1) a été utilisée pour suivre l'évolution du désordre cristallin des ANB maturées, après traitement *SPS*. Pour les mêmes raisons que précédemment, les raies (002) à $2\theta \approx 25,88^\circ$, (004) à $2\theta \approx 53,22^\circ$, (006) à $2\theta \approx 84,43^\circ$ ont été étudiées.

Rappel : Selon la formule de Hosemann et Vogel (Equation (2), § II.3.1, Chapitre II), la largeur à mi-hauteur corrigée (β^*) s'exprime selon deux termes : un lié à la taille des cristallites, et l'autre lié au désordre cristallin. L'évolution de β^* en fonction de m^2 peut être représentée par une droite de la forme « $\beta^* = a.m^2 + b$ » où l'ordonnée à l'origine "b" est inversement proportionnelle à la taille des cristallites dans cette direction, et la pente "a" est fonction du paramètre g de distorsion.

La Figure 59 montre quelques exemples de régression linéaire $\beta^* = f(m^2)$ obtenues pour la famille de plan (00 l). Les coefficients de corrélation sont égaux à 0,99775, 0,99988, 0,99982 et 0,99368 respectivement pour les échantillons consolidés ANB_{20 min}, ANB_{3h}, ANB_{1j} et ANB_{5j}.

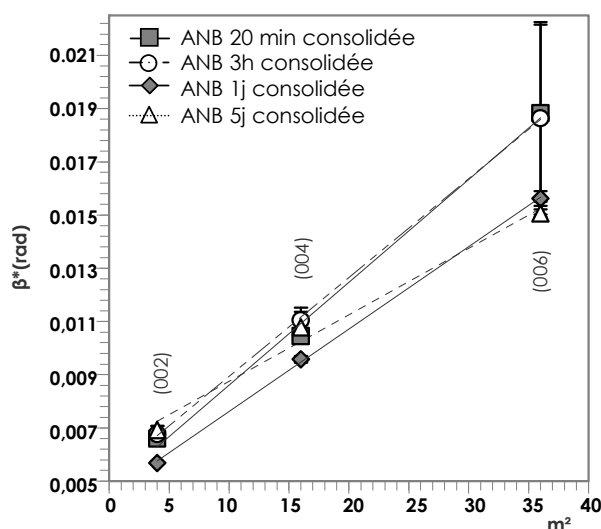


Figure 59. Droites $\beta^* = f(m^2)$ correspondant aux plans (004), pour quelques ANB consolidées

La contribution de chacun des deux termes “a” et “b” à la valeur de β^* est reportée dans le Tableau 36. Les valeurs obtenues permettent de distinguer deux catégories d'échantillons consolidés.

→ Pour les échantillons consolidés après une durée de maturation initiale entre 20 minutes et 1 jour (ANB_{20 min}, ANB_{3h} et ANB_{1j}), les valeurs des contributions sont du même ordre de grandeur que celles calculées sur les poudres avant consolidation : le phénomène de désordre cristallin n'est pas négligeable, même aux faibles angles où le terme “a” représente entre 20 et 30 % de la valeur de β^* . Dans le cas de ces échantillons, il semblerait que l'importance de la couche hydratée (Figure 53B, § III.1.3.b) ait un impact très important sur le désordre et masque ou inhibe l'influence du traitement SPS sur l'organisation des cristallites au sein de l'échantillon. La contribution de la couche hydratée sur la diffraction des RX apparaît très importante pour les maturations inférieures à 1 jour.

→ Pour les échantillons consolidés après une durée de maturation initiale d'au moins 3 jours (ANB_{3j}, ANB_{5j}, ANB_{1sem} et ANB_{3sem}), la contribution du terme “a” est très faible aux faibles angles (moins de 10 %). Dans le cas par exemple de la raie (002), sa largeur β^* est essentiellement due à la taille des cristallites ($b \approx 95\%$ de β^*). En effet, au-delà de 3 jours de maturation, les grains sont beaucoup mieux formés et ont eu davantage le temps de se structurer.

Tableau 36. Equation de droite $\beta^* = f(m^2)$ sous la forme $\beta^* = a.m^2 + b$ pour chaque ANB consolidée : contribution des termes a et b à la valeur de β^*

temps de maturation	a = $\pi^2 \frac{g_{hkl}^2}{d_{hkl}}$			b = $\frac{1}{L_{hkl}}$		
	Contribution à β^*			Contribution à β^*		
	raie (002)	raie (004)	raie (006)	raie (002)	raie (004)	raie (006)
20 minutes	28 %	55 %	75 %	72 %	46 %	25 %
3 heures	22 %	52 %	72 %	79 %	48 %	29 %
1 jour	21 %	53 %	71 %	79 %	47 %	29 %
3 jours	7 %	36 %	51 %	94 %	64 %	48 %
5 jours	10 %	42 %	59 %	90 %	58 %	42 %
1 semaine	3 %	44 %	56 %	97 %	56 %	44 %
3 semaines	4 %	40 %	52 %	96 %	61 %	48 %

La Figure 60A confirme que le traitement SPS a une influence sur l'organisation interne des cristallites. Tandis qu'avant consolidation, le paramètre de distorsion g_{hkl} varie entre $15,5 \cdot 10^{-3}$ (ANB maturée 20 min) et $8,5 \cdot 10^{-3}$ (ANB maturée 3 semaines), il est divisé par un facteur 1000 après consolidation (Figure 23, § II.3.1, Chapitre II). Cela indique une amélioration de l'état cristallin qui tend vers celui d'une apatite bien cristallisée (sans l'atteindre).

Même si les conditions de température sont relativement basses et de courte durée pour l'obtention d'une céramique ($T_{MAX} = 150^\circ C$ pendant 13 min), l'échantillon final est un matériau cohésif. Il y a donc eu frittage, ce qui suggère une croissance cristalline possible. La Figure 60B compare les longueurs des cristallites calculées selon le modèle de Scherrer ou selon le modèle de Hosemann et Vogel. L'évolution de la longueur est différente d'un modèle à l'autre. Tandis que les cristallites semblent s'allonger selon le modèle de Scherrer, le modèle de Hosemann et Vogel montre une diminution de la taille des cristallites avec l'avancement de l'état de maturation de l'ANB initiale. Bien que le modèle de Hosemann et Vogel ne tienne pas compte de l'orientation préférentielle plausible des cristallites au sein des grains, la prise en compte du désordre cristallin a donc une incidence importante sur l'estimation de la longueur des cristallites (le modèle de Hosemann et Vogel menant à des résultats moins approximatifs que celui de Scherrer).

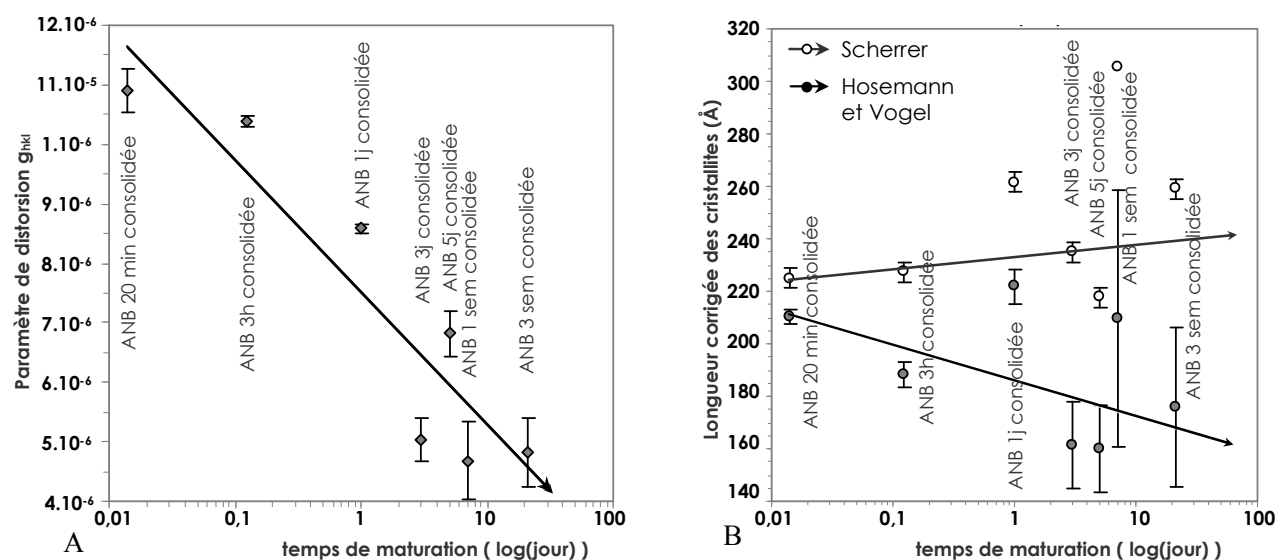


Figure 60. Variation du paramètre de distorsion g_{hkl} calculé à partir du modèle de Hosemann et Vogel (A) et évolution de la longueur des cristallites selon les deux modèles (B) en fonction du temps de maturation initial de l'ANB consolidée

En étudiant les valeurs plus en détail, deux phénomènes se distinguent : tandis que la longueur des cristallites est plus importante, pour l'ANB_{20 min}, après consolidation qu'avant, la tendance est inversée pour les ANB consolidées dont le temps de maturation est supérieur à 3 jours (Tableau 37, Figure 61).

Tableau 37. Comparaison des longueurs des cristallites (Å), obtenues selon le modèle de Hosemann et Vogel, dans les ANB avant et après traitement SPS, en fonction du temps de maturation

Temps de maturation	Longueur des cristallites (Å)	
	avant traitement SPS	après traitement SPS
20 minutes	119 Å	210 Å
3 heures	157 Å	188 Å
1 jour	172 Å	222 Å
3 jours	200 Å	161 Å
5 jours	200 Å	160 Å
1 semaine	291 Å	210 Å
3 semaines	263 Å	176 Å

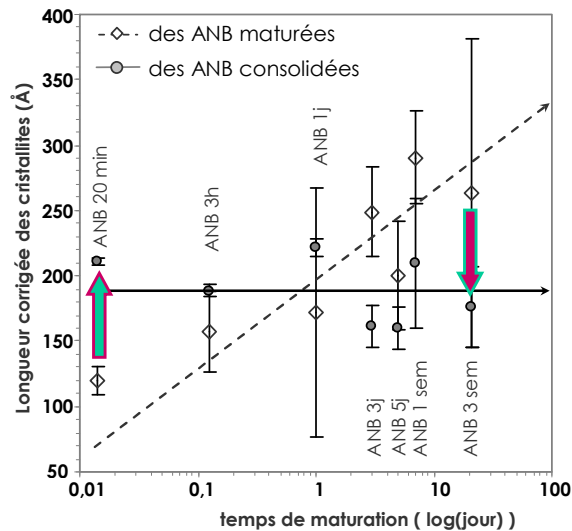


Figure 61. Comparaison de la longueur des cristallites d'ANB avec différents états de maturation, avant et après frittage par SPS, calculée à partir du modèle de Hoseman et Vogel [Hosemann1962, Vogel1970]

Pour les temps de maturation courts (≤ 1 jour), la diminution résulte de la croissance cristalline pendant le frittage. En revanche, au-delà de 1 jour de maturation, la longueur des cristallites est plus courte après le frittage par SPS. Deux hypothèses peuvent être avancées :

(1) Nous avons constaté précédemment (§ III.3.1), que l'axe « c » des cristallites s'oriente de moins en moins parallèlement à la surface (I_{tex} augmente) lorsque l'état de maturation de l'ANB est plus important. Sous l'effet de la pression appliquée pendant le frittage (100 MPa), de nombreuses zones de compression se créent et fragilisent les cristallites jusqu'à induire leur rupture dans le sens de la longueur. Ce phénomène, déjà observé lors du frittage sous charge de composites à fibres, conforterait l'idée d'une organisation plus grande des cristallites lorsque le temps de maturation est plus long.

(2) La diminution peut aussi s'expliquer par une réaction de dissolution / précipitation en réponse à la pression mécanique appliquée pendant le traitement SPS (100 MPa). Il y a alors diffusion de matière depuis les extrémités des cristallites vers leur centre. L'exploitation des données ne nous permet pas de corroborer cette hypothèse en confirmant l'élargissement des cristallites au détriment de la diminution de leur longueur.

Etant donné la valeur très élevée de la pression mécanique pendant le frittage par SPS, la coexistence des deux phénomènes est envisageable.

III.3.5. Evaluation des paramètres de maille

Tandis qu'avant le traitement *SPS*, le paramètre « a » évolue entre 9,47 Å (ANB maturée 20 min) et 9,45 Å (ANB maturée 5j), la Figure 62A montre qu'après consolidation, le paramètre « a » semble globalement diminuer et tendre lentement vers la valeur dans l'HA stœchiométrique, lorsque le temps initial de maturation est plus long. Le paramètre « c » semble globalement augmenter vers la valeur dans l'HA stœchiométrique. Le volume de la maille de l'échantillon consolidé est plus faible qu'avant le traitement *SPS* (Figure 62B), et dans l'ensemble, il se rapproche lentement du volume de la maille d'HA stœchiométrique. Cela traduit ici aussi une évolution de la cristallinité après frittage par traitement *SPS*.

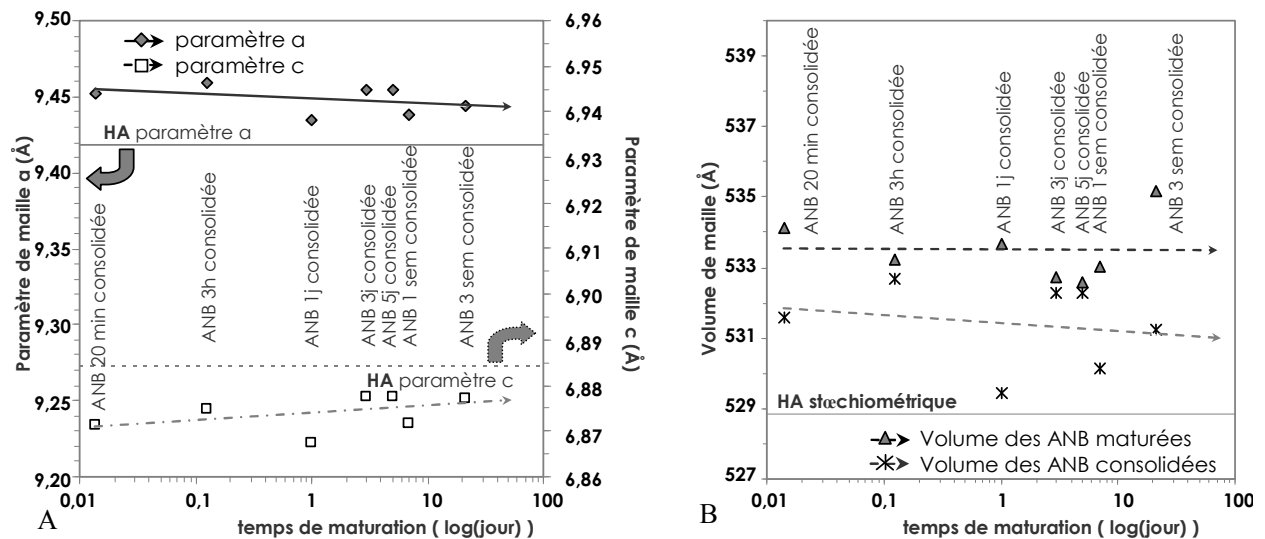


Figure 62. Paramètres de maille a et c (A) et volume de maille des ANB avant et après consolidation (B) en fonction du temps de maturation, comparés aux données de l'HA stœchiométrique selon la fiche ICDD-PDF 09-0432

III.4. La vérification du rapport molaire Ca/P après traitement *SPS*

Dans la suite de la caractérisation physico-chimique réalisée sur les échantillons consolidés, seul le cœur des échantillons a été utilisé afin de prévenir au maximum la présence éventuelle des phases cristallines secondaires.

Les dosages chimiques des ions calcium et orthophosphate, réalisés sur les poudres d'ANB maturées, ont montré leur fiabilité (Chapitre II). Nous avons procédé de même sur les échantillons après traitement *SPS*.

Les ions Ca^{2+} ont été dosés par complexométrie, et les ions PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} , dosés ensemble ou séparément, selon les protocoles décrits dans l'Annexe. Le dosage des différentes espèces ioniques conduit à la détermination du rapport molaire Ca/P.

Le Tableau 38 permet de comparer les rapports molaires Ca/P des ANB avant et après traitement *SPS*. Les rapports molaires Ca/P sont du même ordre, avant et après traitement *SPS*, pour un même état de maturation.

Tableau 38. Rapports molaires Ca/P des ANB consolidés, comparés aux rapports des ANB maturées, avant traitement *SPS*

Temps de maturation	Rapport molaire Ca/P ($\pm 1\%$)	
	ANB maturée	ANB consolidée
20 minutes	1,43	1,36
3 heures	1,42	1,40
1 jour	1,44	1,42
3 jours	1,48	1,46
5 jours	1,49	1,48
1 semaine	1,49	1,49
3 semaines	1,54	1,53

Rappelons que les diffractogrammes des surfaces des échantillons consolidés (Figure 55) montrent la présence de phases cristallines secondaires parasites, notamment de monétite jusqu'à l'ANB_{1j}.

En considérant l'absence de monétite, il est possible, pour chaque ANB après traitement *SPS*, de représenter la proportion d'ions PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} présents dans une maille d'apatite avec 6

sites XO_4^{3-} (Figure 63). Après comme avant consolidation (Figure 27), les ANB contiennent majoritairement des ions PO_4^{3-} . La proportion d'ions HPO_4^{2-} diminue au profit des ions PO_4^{3-} en fonction du temps de maturation initiale. Il semble cependant que le taux d'ions PO_4^{3-} après traitement *SPS* soit légèrement plus faible qu'avant le traitement, principalement pour les maturations 20min à 3j (Tableau 39).

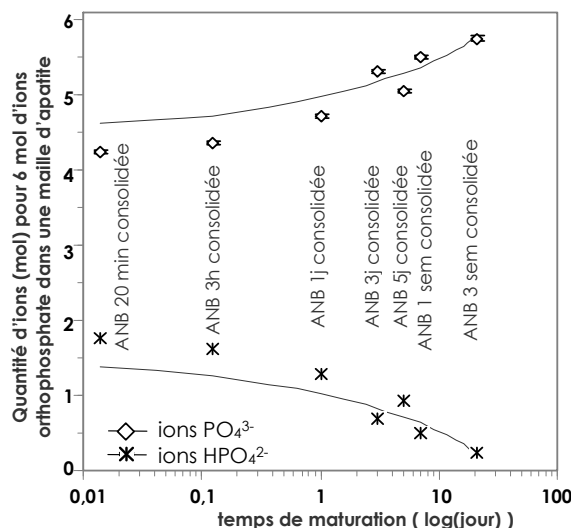


Figure 63. Dosage des ions orthophosphate PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} dans les différentes ANB consolidées

A l'issue des dosages chimiques, il nous est possible d'identifier en partie la composition chimique des différentes ANB consolidées (Tableau 39).

Tableau 39. Composition chimique partielle des ANB consolidées

Temps de maturation	Rapport molaire Ca/P	En nombre de moles par unité formulaire d'apatite (hydratée)		
		Ca^{2+}	PO_4^{3-}	HPO_4^{2-}
20 minutes	1,36	8,18	4,24 (<)	1,76 (>)
3 h	1,40	8,42	4,37 (<)	1,63 (>)
1 jour	1,42	8,49	4,71 (<)	1,29 (>)
3 jours	1,46	8,76	5,31 (<)	0,69 (>)
5 jours	1,48	8,87	5,06 (≈)	0,94 (≈)
1 semaine	1,49	8,95	5,50 (>)	0,50 (<)
3 semaines	1,53	9,16	5,75 (>)	0,25 (<)

En revanche, deux situations se distinguent pour les ions phosphate :

→ Avant 5 jours de maturation, la quantité d'ions PO_4^{3-} est moins importante que dans les ANB avant consolidation, et inversement pour la quantité d'ions HPO_4^{2-} .

→ Pour l'ANB maturée 5 jours, les valeurs sont équivalentes avant et après traitement SPS.

→ Puis pour les temps de maturation supérieurs à 5 jours, la quantité d'ions PO_4^{3-} devient plus importante dans les ANB consolidées que dans les ANB avant la consolidation.

Il est envisageable que ce changement à 1 et 3 semaines ait un lien avec le passage du rapport molaire Ca/P au dessus de 1,5, la valeur seuil correspondant à la composition du phosphate tricalcique stœchiométrique.

Nous essaierons de proposer ultérieurement une explication à cette différence (§ III.6.2.b).

III.5. Les analyses thermiques

Le comportement thermique des différentes ANB consolidées a été suivi par analyse thermogravimétrique (ATG) et analyse différentielle (ATD) réalisées sous air sur un appareillage LABSYS evo, Setaram. Les creusets de 500 μL permettent une analyse fine de l'évolution thermogravimétrique des échantillons avec une précision de 0,2 μg . Bien que l'instrument soit différent entre l'analyse réalisée sur les poudres initiales et les échantillons consolidés, les conditions d'analyses sont rigoureusement identiques (II.3.3).

La Figure 65 montre les courbes d'analyses thermiques réalisées sur les ANB consolidées. Plusieurs pertes de masse sont observables sur les courbes ATG (Figure 65A). Alors que 3 pertes de masse, correspondant à des départs de molécules d'eau, étaient identifiables pour les ANB maturées (Δm_1 entre 25 et 300°C : eau physisorbée + eau de la couche hydratée, Δm_2 entre 300 et 650°C : réaction de condensation des ions HPO_4^{2-} en ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ et Δm_3 entre 650 et 750°C : réaction des ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ avec les ions OH^-), les intervalles ne sont plus aussi distincts pour les ANB consolidées. L'observation de la dérivée 1^{ère} des courbes ATG (Figure 65B) permet de distinguer un premier domaine de température noté I, inférieur à 200°C et un domaine, noté IV, à température supérieure à 650°C. Ils se distinguent par des cinétiques de pertes de masse distinctes. Entre ces deux températures, les courbes d'ATD (Figure 65C)

permettent de séparer les domaines notés II (entre 200 et 350°C) et III (entre 350 et 650°C) pour lesquels les différentes pertes se chevauchent. Ainsi le premier domaine de température est perturbé par le domaine II à partir de 200°C et ne permet donc pas de quantifier l'eau éliminée de la couche hydratée.

Isoler et quantifier les pertes d'eau associées à l'élimination de l'eau de la couche hydratée et à la réaction de condensation des ions HPO_4^{2-} en ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ sur les courbes ATG des ANB consolidées est discutable étant donné la présence du domaine II.

Quelle que soit l'origine de la perte d'eau, la réaction est endothermique, or dans le domaine II, des réactions exothermiques sont identifiées sur les courbes ATD (Figure 65C). La gamme de température pourrait correspondre à l'élimination de résidus azotés. L'hypothèse serait qu'ils proviennent des contre-ions des réactifs de synthèse qui auraient été mal éliminés pendant le rinçage.

Des analyses spectroscopiques IR ont été réalisées pour tenter d'identifier l'origine de la réaction exothermique (présentées au § III.6.1).

La perte de masse Δm_{IV} associée au domaine IV dans les ANB après traitement *SPS*, augmente avec l'état de maturation initial de l'ANB (Figure 64). Elle correspond à la transformation des ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ en ions PO_4^{3-} par réaction des ions OH^- en présence, de plus en plus nombreux lorsque le temps de maturation augmente (Figure 32, § II.3.4.b, Chapitre II).

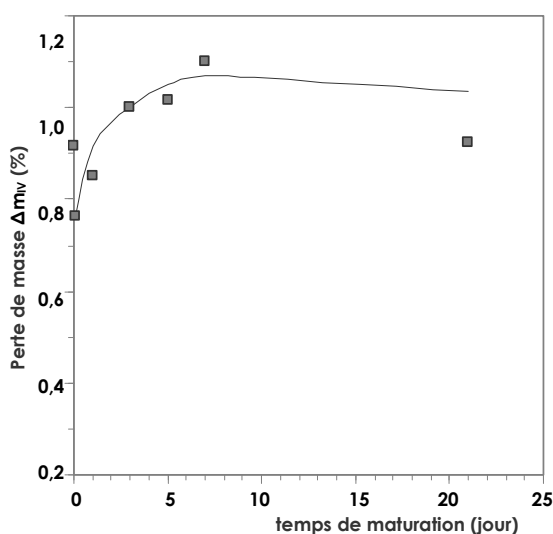


Figure 64. Courbe de perte (TG) de masse du domaine IV, en fonction de l'état de maturation des ANB consolidées

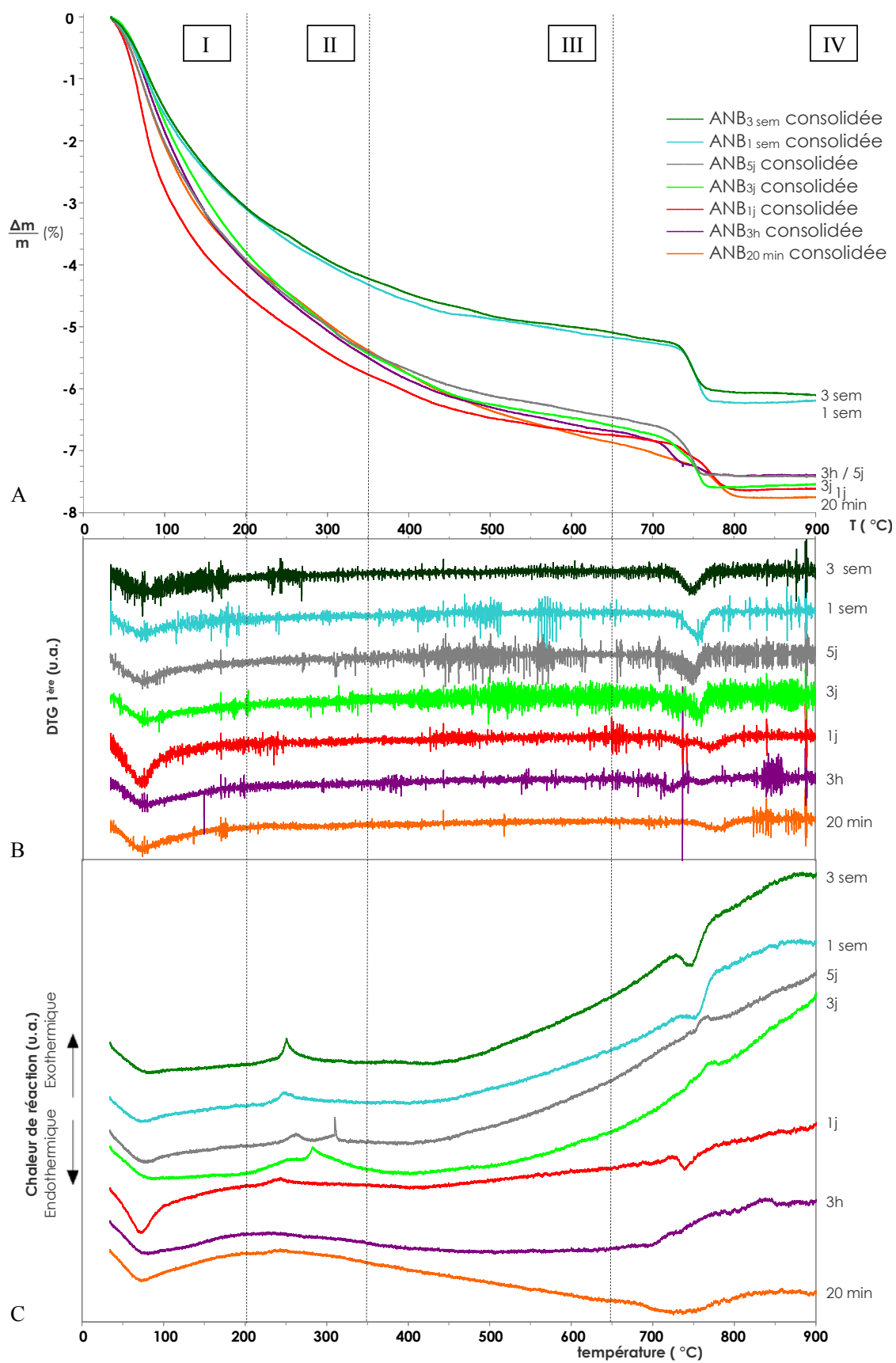


Figure 65. Courbes thermogravimétriques (TG) (A), dérivées des courbes TG (DTG 1^{ère}) (B) et courbes d'analyses thermiques différentielles (ATD) (C) des différentes ANB consolidées

III.6. La spectroscopie vibrationnelle FTIR

Les spectres infrarouge (FTIR) des poudres ont été enregistrés en transmission à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier Perkin Elmer, Spectrum One. Les analyses ont été réalisées dans la gamme de nombres d'onde entre 4000 à 400 cm^{-1} avec une résolution de 2 cm^{-1} . Des pastilles de KBr sont préparées de la même façon que dans le protocole décrit au Chapitre II, § II.3.4.b.

III.6.1. Etude des échantillons consolidés - suivi de la décomposition thermique

En vue de donner un début d'explication au comportement exothermique, inattendu, observé par ATD (Figure 65C), les échantillons consolidés ont été calcinés à différentes températures (350°C, 600°C et 900°C), sous air, avec une montée en température (2,5°C/min) identique à celle appliquée pour l'analyse thermique décrite précédemment (§ III.5). Les températures de calcination ont été choisies en fonction des domaines de température observés sur les courbes d'analyse thermique TG, DTG 1^{ère} et ATD (Figure 65). Les échantillons d'ANB consolidés, puis calcinés à différentes températures, ont ensuite été analysés par spectroscopie FTIR (exemple de l'ANB_{3j} consolidée sur la Figure 66).

Avant calcination, le spectre FTIR (Figure 66) de l'ANB consolidée montre les mêmes bandes d'absorption caractéristiques des apatites phosphocalciques que la poudre initiale d'ANB mûrée (Chapitre II, § II.3.4.b).

La coloration orange-brunâtre observée après calcination à 600°C ainsi que le(s) pic(s) exothermique(s) identifiés par ATD vers 300°C, nous a conduit à rechercher par analyse FTIR d'éventuelles traces de résidus azotés provenant de la synthèse (Figure 66).

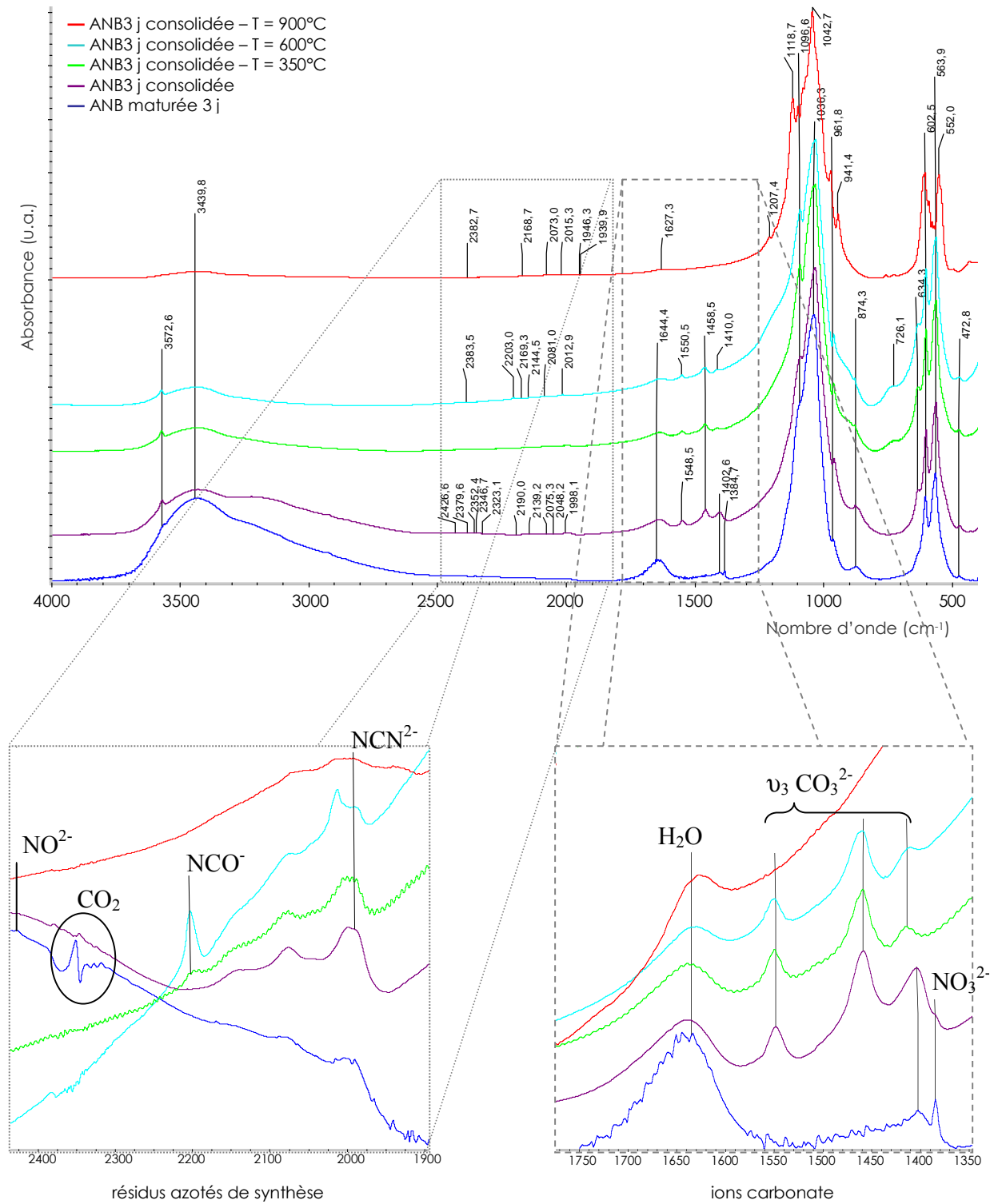


Figure 66. Exemple du spectre FTIR de l'ANB maturée 3 jours, avant et après traitement SPS, puis après calcination à 350°C, 600°C et 900°C (2,5°C/min)

Jusqu'à 600°C, le spectre FTIR est caractéristique des apatites phosphocalciques. Après calcination à 900°C, le spectre correspond à celui du β-TCP. En effet, nous avons vu

précédemment (Tableau 14) que l'ANB maturée 3j, se décompose majoritairement en phosphate tricalcique β .

En zoomant dans la région spectrale entre 1350 et 2500 cm^{-1} , il y a possibilité d'identifier différentes espèces ioniques supplémentaires :

→ des ions carbonate présents dans l'ANB consolidée et après calcination jusqu'à 600°C (bande $\nu_3\text{CO}_3$ entre 1350 et 1750 cm^{-1}),

→ d'infimes traces de résidus azotés :

- NO^{2-} à 2426 cm^{-1} , visible dans l'ANB maturée, avant et après traitement *SPS*;
- NCO^- à 2203 cm^{-1} visible après calcination à 350°C et 600°C ; et
- NCN^{2-} à 2013 cm^{-1} visible sur le spectre de l'ANB consolidée et après calcination (quelle que soit la température).

Il est probable que, aussi faibles qu'elles soient, les traces de dérivés azotés viennent perturber les pertes de masse identifiées par ATG. Une analyse TG couplée à de la spectrométrie de masse permettrait probablement d'identifier les produits de décomposition. Ce travail n'a pas pu être réalisé dans les temps pour une question d'indisponibilité d'équipement, et fera l'objet d'une étude ultérieure.

III.6.2. L'évolution des espèces ioniques dans les ANB après consolidation par *SPS*

La région spectrale autour de la bande de vibration ν_4 des phosphates a été décomposée selon la même méthode que celle mise en place dans le chapitre précédent avec les poudres initiales d'ANB maturées (§ II.3.4) :

La décomposition mathématique est réalisée entre 800 et 400 cm^{-1} (Figure 32, § II.3.4.b, Chapitre II) car la $\nu_2\text{PO}_4^{3-}$ ne peut pas être dissociée du massif de bandes formé par la $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$. La $\nu_{\text{L}}\text{OH}^-$ est également incluse dans la décomposition mathématique car elle se juxtapose à la $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$.

Afin de comparer les teneurs des différentes espèces ioniques en fonction des échantillons, l'intensité (= Aire) de chaque bande de décomposition est divisée par la somme des intensités des bandes qui constituent la $\nu_4\text{PO}_4$. Les intensités relatives de chaque bande ainsi calculées peuvent ensuite être comparées entre bandes d'un même spectre ou d'un autre.

La loi de Fisher – Snedecor a été utilisée (test ANOVA) afin d'évaluer dans un premier temps l'évolution des différentes espèces ioniques en fonction de l'état de maturation des ANB consolidées, puis de comparer la présence des différentes espèces ioniques avant et après consolidation. Le niveau de différence significative est fixé pour $p > 0,05$.

III.6.2.a. Evolution des différentes espèces ioniques en fonction de l'état de maturation initial

Nous avons vu précédemment (§ II.3.4.b), que lorsque le temps de maturation des ANB augmente, la quantité relative d'espèces non-apatitiques diminue. Ces espèces chimiques sont caractéristiques de la présence de la couche hydratée. L'enjeu de la consolidation des ANB selon le procédé *SPS*, est de maintenir l'existence de la couche hydratée qui confère aux ANB leur grande réactivité de surface. La Figure 67 met en évidence l'évolution de différentes espèces ioniques après traitement *SPS*, en fonction de la maturation initiale des ANB :

→ Les environnements non-apatitiques (Figure 67A)

La quantité relative de l'ensemble des espèces non-apatitiques (ions PO_4^{3-} et HPO_4^{2-}) diminue lorsque les ANB consolidées ont une maturation initiale plus longue. Cette évolution n'est pas liée au traitement *SPS*. La même variation est observée dans les ANB initiales et confirme que les ANB, avant et/ou après traitement *SPS*, tendent vers une structure plus stable, exempte de couche hydratée. Cependant, l'information essentielle de la Figure 67A est la présence de la quantité relative importante des espèces non-apatitiques, même dans le cas de l'ANB_{3sem} consolidée où 13 % des ions phosphate sont non-apatitiques. La présence d'une couche hydratée dans toutes les ANB consolidées est ainsi attestée.

Dans la couche hydratée, quel que soit l'état de maturation initiale de l'ANB consolidée, les ions phosphate sont majoritairement sous forme d'ions HPO_4^{2-} non-ap, avec une teneur supérieure à 92 % des ions orthophosphate non-apatitiques présents. Etant donnée la

prédominance des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques par rapport aux ions PO_4^{3-} non-apatitiques, l'évolution de l'ensemble des espèces non-apatitiques suit la diminution des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques.

Ces derniers varient de 34 % à 13 % entre l' $\text{ANB}_{20 \text{ min}}$ et l' $\text{ANB}_{3 \text{ sem}}$. La teneur relative en espèces non-apatitiques dans l' $\text{ANB}_{3 \text{ sem}}$ représente, approximativement, à peine plus d'1/3 des espèces non-apatitiques présentes dans l' $\text{ANB}_{20 \text{ min}}$.

A l'inverse, la teneur en ions PO_4^{3-} non-apatitiques, de 2,5 % dans l' $\text{ANB}_{20 \text{ min}}$, présente une diminution significative pour quasi-complètement disparaître dans l' $\text{ANB}_{3 \text{ sem}}$ ($\approx 1 \%$).

→ Les ions hydrogénophosphate (Figure 67B)

La teneur globale en ions HPO_4^{2-} (non-ap & ap) diminue lorsque l'ANB consolidée a un état de maturation initiale plus long. Ces observations concordent avec les dosages chimiques des différents ions phosphate (Figure 63 et Tableau 39, § III.4).

Parmi la totalité des ions HPO_4^{2-} (non-ap & ap), 91 % sont non-apatitiques dans l' $\text{ANB}_{20 \text{ min}}$, et seulement 64 % dans l' $\text{ANB}_{3 \text{ sem}}$. Tandis que la teneur en ions HPO_4^{2-} non-apatitiques diminue avec le temps de maturation initial de l'ANB consolidée, la teneur en ions HPO_4^{2-} apatitiques augmente très lentement, mais de façon significative entre l' $\text{ANB}_{20 \text{ min}}$ et l' $\text{ANB}_{5 \text{ jours}}$, puis est doublée à partir de l' $\text{ANB}_{1 \text{ sem}}$.

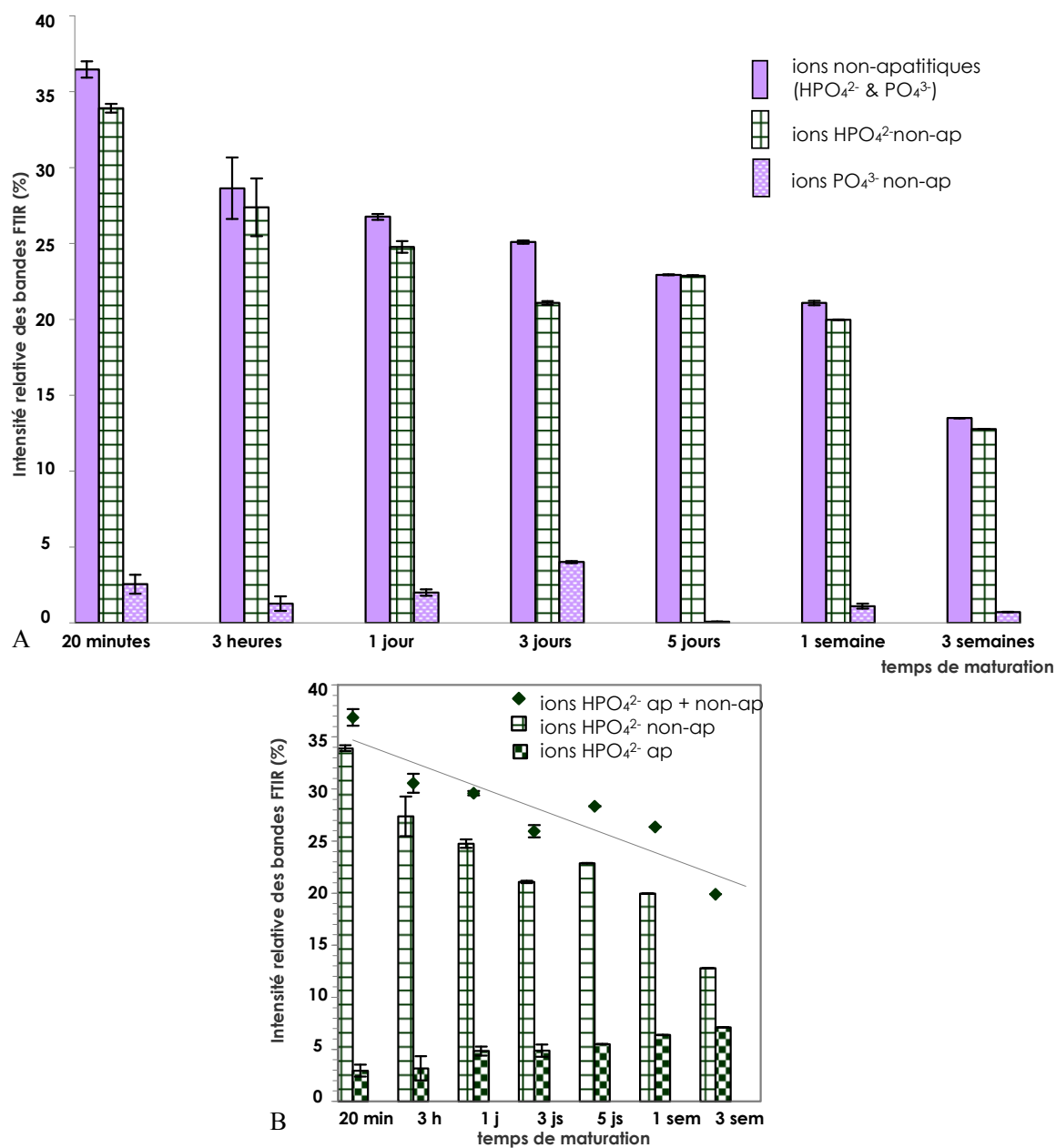


Figure 67. Suivi par FTIR de l'évolution des espèces non-apatitiques (A) et des différents ions HPO_4^{2-} apatitiques et non-apatitiques (B) après traitement SPS

Ainsi, après traitement SPS, et quel que soit l'état de maturation de l'ANB, les ions hydrogénophosphate sont majoritairement présents dans la couche hydratée, comme avant consolidation (Figure 33, § II.3.4.b).

III.6.2.b. Evolution des espèces chimiques pendant le traitement SPS

Afin de mieux comprendre l'évolution de la teneur des différentes espèces ioniques, comparons les variations dues au traitement *SPS* lui-même.

Il a été mis en évidence dans le paragraphe précédent que la teneur en espèces ioniques caractéristiques de la présence de la couche hydratée est relativement importante après le traitement *SPS*. La Figure 68 détaille l'effet du traitement sur la teneur en ions PO_4^{3-} non-apatitiques (Figure 68A) et la teneur en ions HPO_4^{2-} non-apatitiques (Figure 68B).

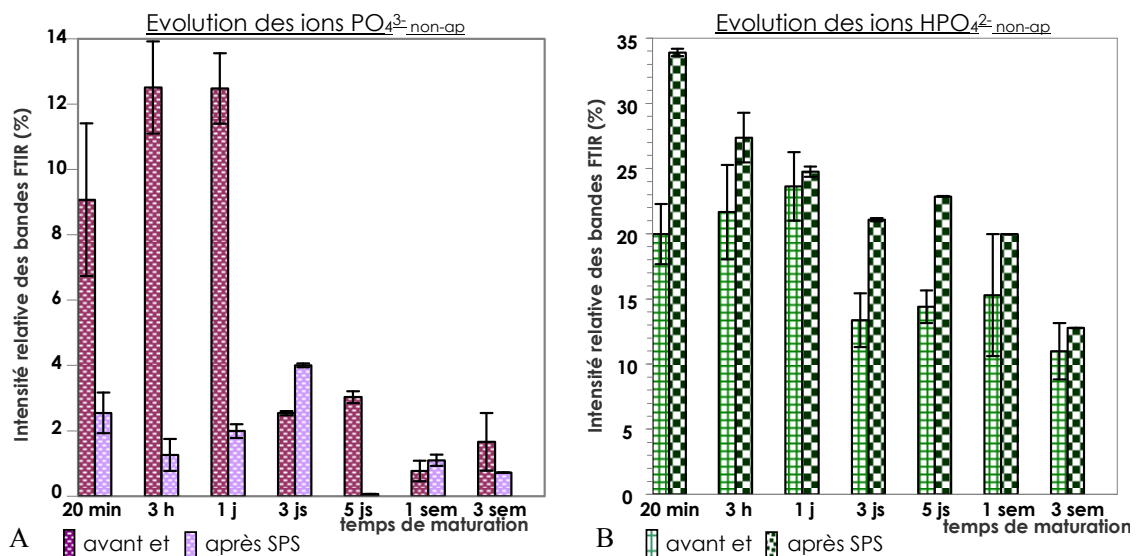


Figure 68. Comparaison avant et après traitement *SPS* des espèces ioniques PO_4^{3-} non-apatitiques (A) et HPO_4^{2-} non-apatitiques (B), contenues dans la couche hydratée

→ Les ions PO_4^{3-} non-apatitiques

Globalement, la teneur en ions PO_4^{3-} non-apatitiques chute de façon significative au cours du frittage (excepté pour l' ANB_{3j} et l' $\text{ANB}_{1\text{sem}}$ où la teneur augmente de façon significative, et pour l' $\text{ANB}_{3\text{sem}}$, où elle n'est pas significativement différente).

→ Les ions HPO_4^{2-} non-apatitiques

A l'inverse de l'évolution des ions PO_4^{3-} non-apatitiques au cours du traitement *SPS*, la teneur en ions HPO_4^{2-} non-apatitiques augmente de façon significative pendant le traitement, excepté pour les maturations 1 jour et 3 semaines, pour lesquelles l'augmentation n'est pas statistiquement significative.

La Figure 69 montre les évolutions de la globalité des espèces ioniques (apatitiques et non-apatitiques confondues), au cours du traitement SPS.

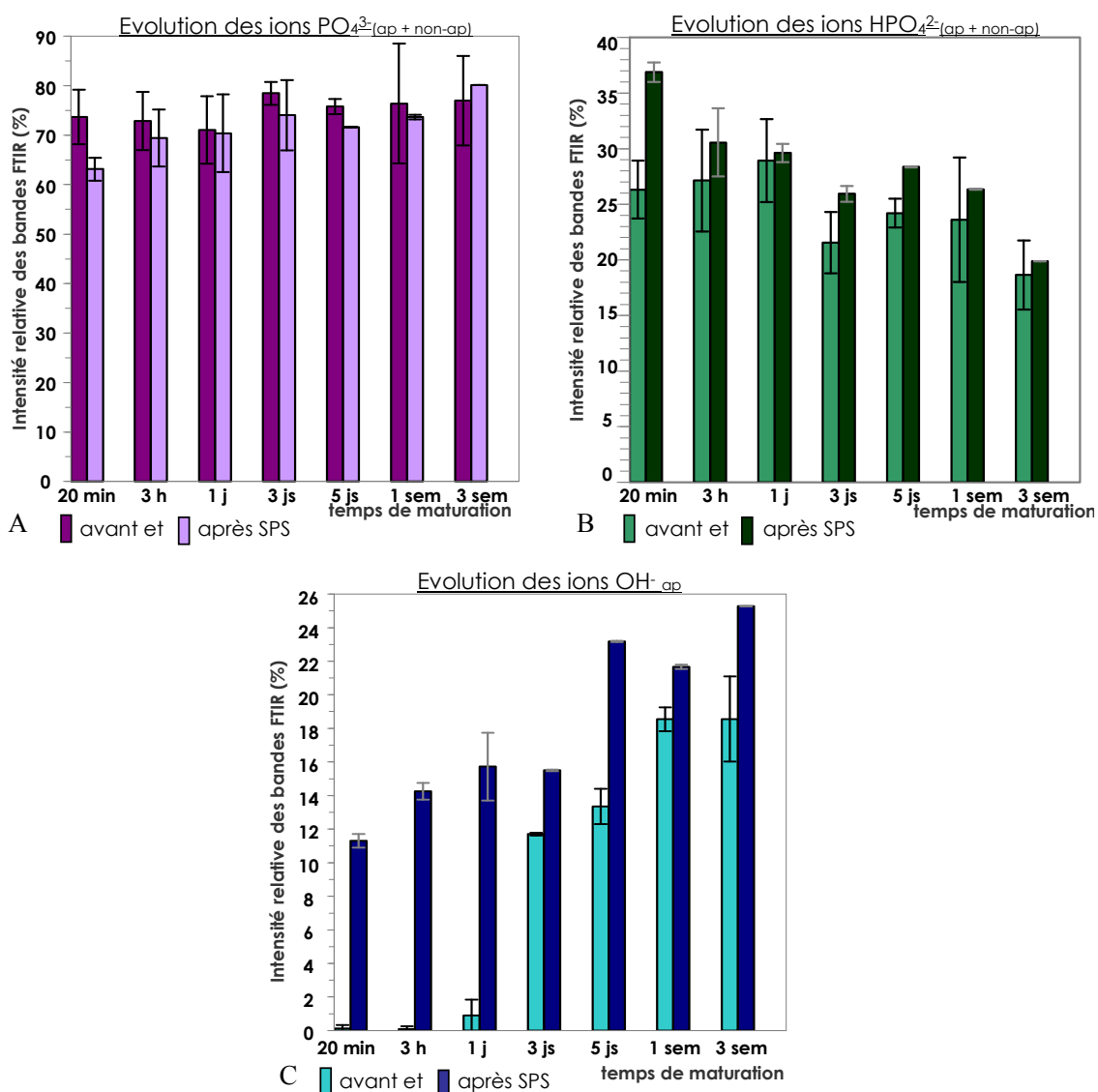


Figure 69. Comparaison avant et après traitement SPS des espèces ioniques PO_4^{3-} (ap + non-ap) (A), HPO_4^{2-} (ap + non-ap) (B) OH^- ap (C)

→ Les ions PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} (apatitiques et non-apatitiques)

Globalement, quel que soit l'état de maturation initiale de l'ANB, au cours du traitement, les ions PO_4^{3-} tot diminuent tandis que les ions HPO_4^{2-} tot augmentent. Notons cependant que certaines différences (maturations 1 jour, 1 semaine et 3 semaines) ne sont pas statistiquement significatives.

L'ensemble des résultats de décomposition des spectres IR sont en accord avec les quantités d'ions $PO_4^{3-}_{tot}$ et $HPO_4^{2-}_{tot}$ dosés.

→ Les ions OH^- apatitiques

La teneur en ions OH^- augmente de façon significative avec la maturation, avant et après consolidation (Figure 69C). De plus, cette teneur est importante dans les ANB consolidées, quel que soit le temps de maturation considéré. Cette observation est d'autant plus surprenante entre les maturations 20 minutes et 1 jour car les ions OH^- étaient quasiment absents (ANB maturée 20min et 3h), ou en faible quantité (ANB maturée 1 jour) dans les poudres initiales.

Une hypothèse serait envisageable pour expliquer en partie les deux phénomènes : disparition des ions $PO_4^{3-}_{non-ap}$ et augmentation simultanée de la teneur en ions $HPO_4^{2-}_{non-ap}$. Rappelons qu'une cristallite d'ANB est formée d'un cœur apatitique « enrobé » dans une couche phosphocalcique hydratée (Figure 10, § I.1.5.b, Chapitre I). Le procédé *SPS* peut, de façon plausible, induire, à la surface du cœur apatitique ou à l'interface « cœur apatitique / couche hydratée », la protonation d'ions PO_4^{3-} en présence de l'eau de la couche hydratée. Ainsi, une partie des ions $HPO_4^{2-}_{non-ap}$ se reformerait.

Les 3 évolutions ioniques globales au cours du traitement *SPS* (diminution de la teneur en ions $PO_4^{3-}_{tot}$ et augmentations simultanées des teneurs en ions $HPO_4^{2-}_{tot}$ et OH^-) viennent conforter cette hypothèse qui peut alors être décrite par une réaction d'hydrolyse interne selon l'Equation (4).



Cette réaction rappelle la réaction d'hydrolyse suggérée par Heughebaert lors du phénomène de cristallisation de l'apatite lors de la synthèse par précipitation [Heughebaert1977]. Ainsi, une réaction d'hydrolyse interne suivant l'Equation (4) met en évidence une modification partielle de la composition chimique des ANB pendant le procédé *SPS*.

Néanmoins, il est possible que cette réaction (Equation (4)) n'explique pas à elle seule tous les phénomènes qui font varier les teneurs en ions PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} et/ou OH^- pendant le traitement *SPS*. En effet, la teneur relative en ions OH^- est significativement plus élevée après le traitement *SPS* (en accord avec l'Equation (4)).

L'augmentation de l'hydroxylation des ANB, au cours du traitement SPS, et/ou en fonction de l'état de maturation initial de l'ANB va dans le sens de l'augmentation de l'état de cristallinité déjà mis en évidence par diffraction des RX (§ **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

La teneur relative en ions OH^- , suivie par FTIR, ne peut pas être comparée de façon quantitative à la teneur en ions HPO_4^{2-} tot pour chaque ANB consolidée. Les résultats de décompositions FTIR montrent que la teneur en ions est bien plus élevée après consolidation, pour chaque état de maturation, mais il est impossible, en l'état, d'affirmer quelle teneur molaire en ions HPO_4^{2-} tot ou OH^- est majoritaire l'une par rapport à l'autre. De plus, le rapport molaire Ca/P de chaque ANB est inchangé après consolidation (§ III.4). Par conséquent, dans la réaction de transformation des ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ en PO_4^{3-} conduisant à la perte de masse Δm_{IV} par ATG (§ III.5), nous ne pouvons pas à ce stade identifier l'espèce ionique qui limite la réaction.

III.7. Les mesures de densité

III.7.1.a. La densité apparente

Les échantillons consolidés sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse et pesés directement après le traitement SPS. La Figure 70A montre les pastilles obtenues par frittage SPS (avant élimination des résidus de papyex[®] inséré entre les parois du moule et l'échantillon) à masse égale. L'augmentation de l'épaisseur de l'échantillon en fonction de l'état de maturation de l'ANB est évidente. La densité apparente après SPS diminue lorsque la maturation initiale de l'ANB est plus longue (Figure 70B).

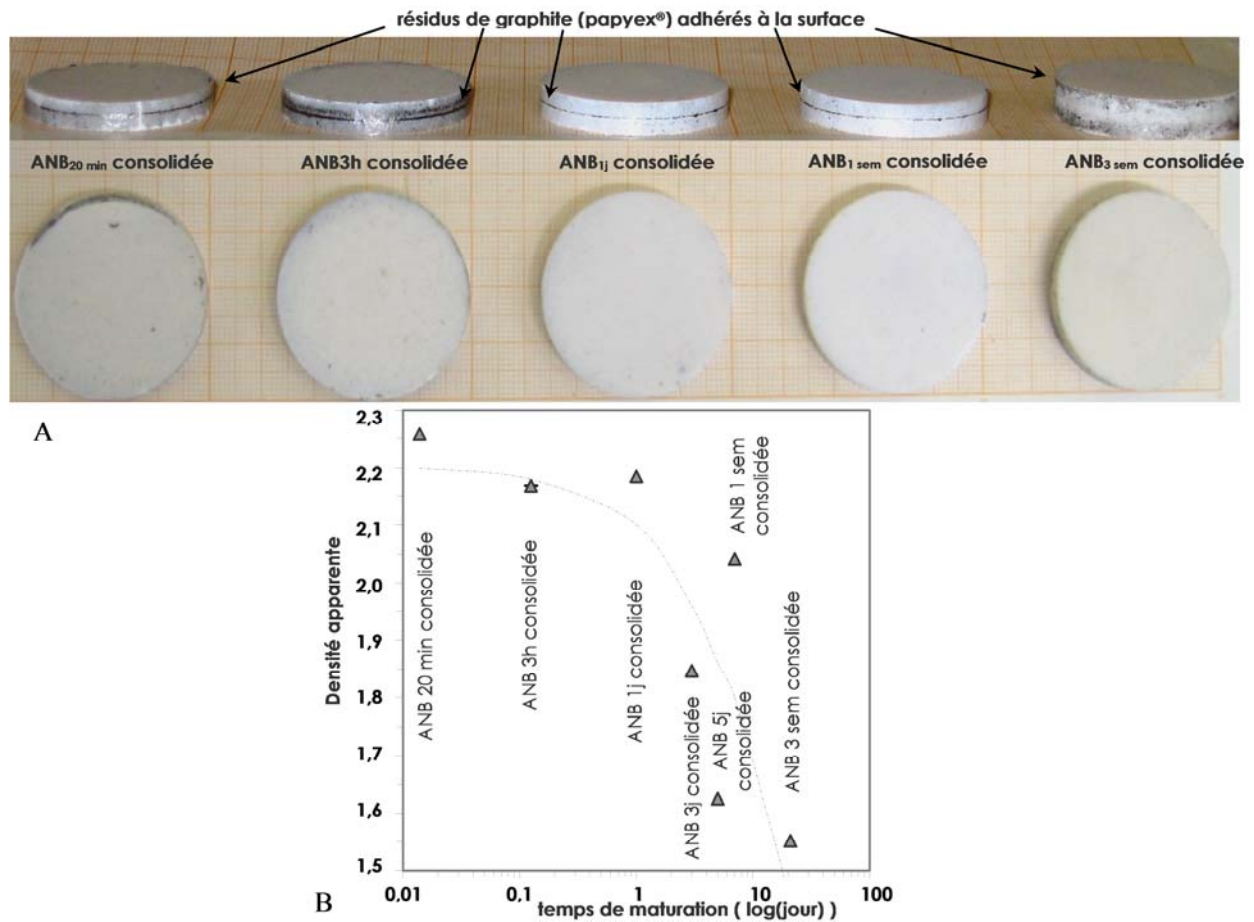


Figure 70. Photographies des échantillons consolidés (pastilles de $\varnothing 36$ mm) (A) et densité apparente des céramiques en fonction de l'état de maturation de l'ANB (B)

La densité théorique de l'HA stœchiométrique dense est de 3,156. La densité apparente de l'ANB_{20min} représente 71,5 % de la densité de l'HA, tandis que l'ANB_{3sem} n'en représente plus que 49,2 %. Certes le matériau contient de l'eau de densité inférieure, mais les écarts entre la densité de l'HA et celle des ANB consolidées suggèrent un taux de porosité important.

Alors que l'ensemble des biomatériaux de substitution osseuse possède une densité relativement élevée (supérieure à 2,6), la densité des ANB dans cette étude est voisine de celle de l'os cortical qui varie entre 1,6 et 2,1 (Tableau 4, § I.1.3.b, Chapitre I).

III.7.1.b. La densité par la méthode de pycnométrie

La poudre utilisée pour réaliser ces mesures est prélevée selon la même méthode que celle pour réaliser les diffractogrammes de RX sur le cœur des ANB consolidées (§ III.3.2). La masse volumique des poudres (ρ), obtenue après broyage du cœur des céramiques d'ANB, a été mesurée par pycnométrie à hélium à l'aide d'un appareillage Micromeritics AccuPyc 1330. Un calibrage de l'appareil est nécessaire avant chaque essai, puis la valeur pour chaque échantillon est établie à partir de 10 mesures successives. La méthode de pycnométrie à l'hélium permet de mesurer le volume de gaz (He) déplacé par une masse connue de poudre, ce qui permet de connaître la densité réelle du matériau.

Nous n'avons pas de valeur de comparaison avec les poudres d'ANB avant consolidation par SPS, car il n'est pas possible d'utiliser suffisamment de poudre pour permettre d'obtenir des valeurs physiquement acceptables (le volume maximal de la cellule de mesure de l'appareil étant insuffisant). La Figure 71A montre l'évolution de la densité vraie pour les différentes ANB consolidées.

A partir de la densité apparente et de la densité vraie, il est alors possible de calculer la compacité des différentes ANB, suivant l'Equation (5) :

$$\text{Equation (5)} \quad \text{Compacité} = \frac{\text{Densité apparente}}{\text{Densité vraie}}$$

La compacité diminue lorsque le temps de maturation initiale augmente. Il est de 77 % pour l'ANB_{20 min}, et de 53 % pour l'ANB_{3 sem}. L'une des explications de cette chute est le réarrangement initiale des grains lors de l'application de la pression, qui se traduit par le 1^{er} retrait (Figure 53, § III.1.3.b). Dans le cas des ANB consolidée avec un état de maturation faible (présence de grains de forme sphéroïde), pendant la phase de pressage, la compacité est plus importante, les contacts entre les grains sont plus nombreux que dans les ANB de forme acciculaire (ANB_{3sem}). De plus, la surface spécifique des ANB consolidées diminue lorsque le temps de maturation initiale augmente. Par conséquent, les ANB consolidées après une maturation courte (ANB_{20 min}) seront mieux frittées. Et les ANB consolidées, dont la maturation initiale est comprise entre 3 jours et 3 semaines, évoluent très peu en termes de morphologie et de frittage.

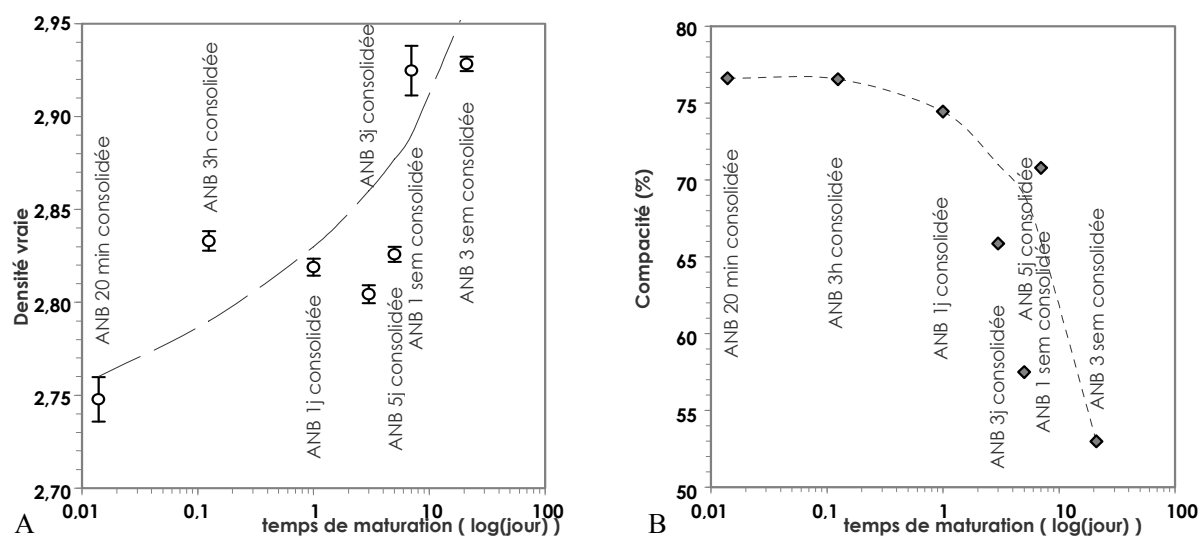


Figure 71. Densité vraie (pycnométrique) (A) et compacité (B) des ANB consolidées en fonction de leur état de maturation

III.8.L'évaluation mécanique des ANB consolidées

En vue d'une utilisation en tant que biomatériau de substitution osseuse, les échantillons doivent présenter une tenue mécanique suffisante pour être manipulables par le chirurgien sans se rompre ou s'effriter, et assurer un soutien mécanique qui permet la reconstruction osseuse en site non porteur (en chirurgie maxillo-faciale par exemple). Les propriétés mécaniques doivent être satisfaisantes le temps de la recolonisation du biomatériau par les cellules et fluides biologiques environnants.

Comme nous l'avons expliqué précédemment (§ III.1.3), les échantillons d'ANB ne peuvent ni être aisément collés, humidifiés, ou chauffés, tout au moins sans étude spécifique préliminaire, de peur de polluer et/ou de détériorer la couche hydratée qui enrobe les cristaux. La forme de pastille cylindrique a été choisie pour les échantillons en prévision des essais mécaniques de résistance à la rupture réalisés en flexion biaxiale.

III.8.1. La détermination des modules élastique et de cisaillement par la méthode de la fréquence de résonance Grindo Sonic

La plupart des matériaux possèdent une zone de déformation linéaire réversible, le matériau se déforme en réponse à une contrainte extérieure, puis revient à sa forme initiale une fois la contrainte annulée. Pour un matériau isotrope, cette déformation élastique est caractérisée par les modules d'élasticité (E) et de cisaillement (G), ainsi que le coefficient de Poisson (ν).

Notons que plus le module d'Young est élevé, plus le matériau est rigide. Par exemple, le diamant ($E = 1000$ GPa) est très rigide alors que l'os cortical ($E = 10$ GPa) est relativement souple et le cartilage ($E = 0,024$ GPa) ainsi que le collagène ($E = 0,006$ GPa) sont très élastiques. Des valeurs de modules d'Young sont mentionnées dans le Tableau 4, § I.1.3.b, Chapitre I, pour quelques exemples de biocéramiques et d'os humain.

Dans le cas de matériaux isotropes, le module de cisaillement (G) est relié au module d'Young (E) et au coefficient de Poisson (ν) par l'Equation (6) :

$$\text{Equation (6)} \quad E = 2(1 + \nu) \cdot G$$

Ce coefficient fait partie des constantes élastiques. Sa valeur est comprise entre -1 et 0,5. Les valeurs expérimentales obtenues dans le cas d'un matériau parfaitement isotrope sont très proches de la valeur 0,25. Pour la plupart des matériaux, on obtient en moyenne 0,3. Il existe également des matériaux à coefficient de Poisson négatif : on parle alors parfois de matériaux auxétiques.

★ **Principe de l'essai et réalisation**

Les modules d'Young (E) et le module de cisaillement (G) ont été déterminés à l'aide d'une méthode acoustique dont les atouts majeurs sont la rapidité et le caractère non destructif. La méthode est basée sur la fréquence de résonance propre du matériau.

Le principe de l'instrument Grindo Sonic (Mk5 « Industrial ») utilisé se base sur la mesure de phénomènes vibratoires dissipant l'énergie générée par le choc entre cette pièce et un objet quelconque [Spinner1961].

Ces phénomènes vibratoires sont complexes et dépendent de la nature de la matière, de la force de l'impact ainsi que des caractéristiques physiques du corps mis en vibration [NBN1976, Chatre1978, Croiset1980]. L'amortissement des vibrations, variable d'une matière à l'autre, peut, dès lors, être une caractéristique de la nature de cette matière.

L'instrument Grindo Sonic transforme le signal reçu de cette fréquence naturelle en courant électrique de même fréquence et de même amplitude relative, sur une durée de huit périodes, à l'aide d'une horloge à quartz dont le cristal de référence oscille à 2 MHz [Lemmens].

Les essais ont été réalisés sur au moins 2 échantillons consolidés par *SPS*, pour chaque temps de maturation initiale des ANB. Les échantillons consolidés, de diamètre 36 mm et d'épaisseur moyenne 4 mm, ont pu être testés sans être redimensionnés.

Au cours de l'essai, l'échantillon repose sur une mousse afin de ne pas empêcher la propagation des ondes dans le matériau (Figure 72). La sonde est positionnée dans la mousse, au dessous du centre (détermination de E) (Figure 72A) ou de la périphérie (détermination de G) (Figure 72B) de l'échantillon cylindrique, à 1 ou 2 millimètres de sa surface, c'est-à-dire suffisamment près pour recueillir les ondes, mais sans toucher l'échantillon pour ne pas les empêcher de se propager.

Le choc initial est appliqué perpendiculairement à l'éprouvette. Pour la détermination de E, le choc est appliqué au centre de l'échantillon (Figure 72A), sur la face opposée à la sonde, tandis qu'il est appliqué à la périphérie du cylindre, perpendiculairement à la sonde (Figure 72B), pour la détermination de G.

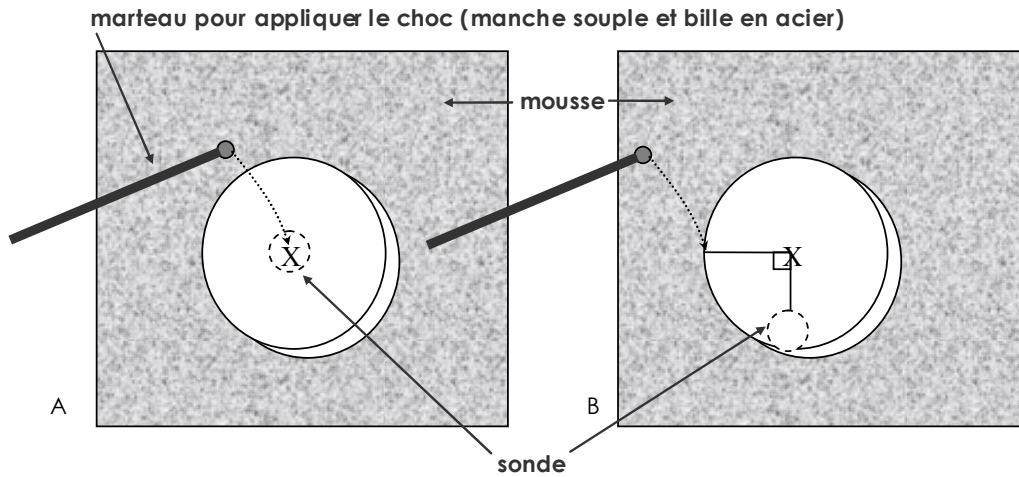


Figure 72. Schéma de réalisation des essais acoustiques par la méthode Grindo Sonic, pour déterminer le module d'Young E (A) et le module de cisaillement G (B)

★ Résultats

La Figure 73 montre que les modules d'Young et de cisaillement (respectivement E et G) diminuent sensiblement lorsque le temps de maturation initiale augmente. Leur évolution est similaire à celle de la densité apparente des échantillons (Figure 70B).

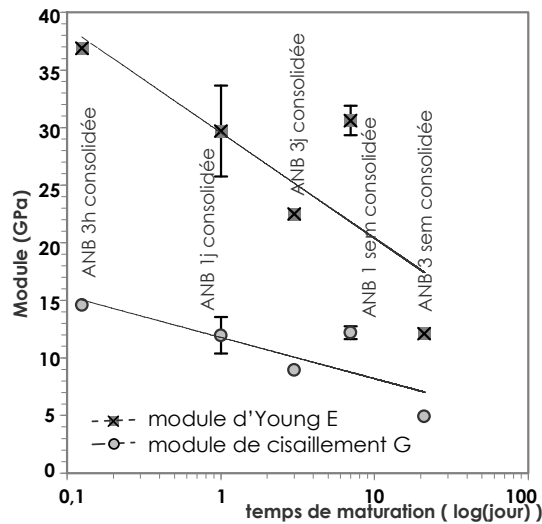


Figure 73. Evolution de module d'Young E et du module de cisaillement des échantillons consolidés, en fonction du temps de maturation initiale

- Le module Young E

Le module E varie entre 36,9 et 12,1 GPa respectivement pour les ANB_{3h} et ANB_{3sem} consolidées, ce qui correspond à un matériau peu rigide :

→ même ordre de grandeur que le module d'Young de l'os cortical (E entre 7 et 30 GPa) (Tableau 4, § I.1.3.b)

→ plus faible que celui des biomatériaux actuels de substitution osseuse (Tableau 4, § I.1.3.b) ; Al₂O₃ et HA denses possèdent par exemple un module E respectivement 10 et 3 fois plus élevé que celui de l'ANB_{3h}.

- Le module de cisaillement

Il est environ 3 fois plus faible pour l'ANB_{3sem} (G = 4,94 GPa) que l'ANB_{3h} (G= 14,6 GPa) consolidées. Plus la maturation initiale de l'ANB est élevée, plus l'échantillon est capable de se déformer sous l'effet d'une contrainte de cisaillement.

L'évolution des 2 modules est cohérente avec l'évolution de la densité apparente. La densité plus faible pour les maturations plus longues indique une augmentation du taux de porosité, qui fait diminuer la rigidité du matériau, et améliore la capacité du matériau à se déformer par cisaillement.

- Le coefficient de Poisson

Il est compris entre 0,26 et 0,23 respectivement pour les ANB_{3h} et ANB_{3sem} consolidées. Les valeurs sont similaires et proches de 0,25. Par conséquent les ANB consolidées sont des matériaux dont les propriétés mécaniques peuvent être considérées comme proche de l'isotropie.

III.8.2. Les essais de flexion biaxiale

Différents types d'essais de flexion sont possibles : la flexion 3 points, la flexion 4 points, ou la flexion biaxiale. Parmi ceux-ci, l'essai de résistance en flexion biaxiale permet de déterminer les résistances optimales de matériaux fragiles, en testant un volume d'échantillon

plus important qu'en flexion linéaire. Par rapport aux autres tests de flexion, la flexion biaxiale présente l'avantage d'utiliser des éprouvettes en forme de disque ou de carré, plus faciles à réaliser que des barreaux rectangulaires. De plus, les arêtes des éprouvettes ne sont pas problématiques car l'application des contraintes maximales ne se situe plus au niveau de ces zones. Néanmoins, alors que les essais de résistance en flexion conduits sur des barreaux sont bien maîtrisés et clairement définis selon des normes, les essais en flexion biaxiale semblent plus complexes. En effet, un large panel de géométries de montage est disponible pour réaliser ce test, et toutes présentent leurs inconvénients [Morrel2007].

Néanmoins cette technique a été retenue car elle permet de tester les échantillons d'ANB sans préparation spécifique (découpe, restification...) qui pourrait dénaturer le matériau.

Les différentes géométries possibles pour la réalisation des essais de flexion biaxiale sont les suivants référencés dans le Tableau 40.

Tableau 40. Les différentes géométries disponibles pour le montage de l'essai de flexion biaxiale

forme du support de l'échantillon	forme du piston de charge
anneau	anneau ou bille aplatie
couronne de billes	couronne de billes
3 billes	poinçon ou bille ou bille aplatie
anneau support sous pression	

Dans notre cas, nous avons utilisé un anneau comme support et un piston plat avec une bille au sommet pour la mise en charge de l'échantillon (Figure 74).

Cette géométrie présente l'avantage d'être automatiquement bien alignée, dans l'axe de la charge (grâce à la bille), mais elle nécessite un échantillon parfaitement plan [Morrel2007]. Avec les ANB consolidées, une pression importante est appliquée de façon uniaxiale lors du traitement *SPS*, ainsi les échantillons sont plans.

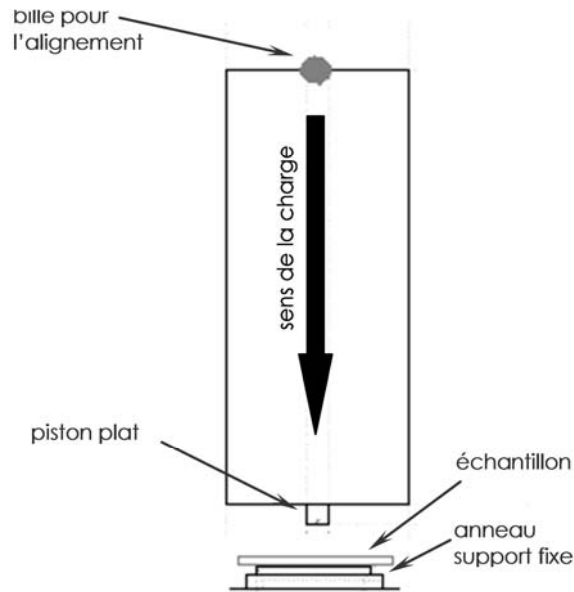


Figure 74. Schéma du montage de l'essai de résistance en flexion biaxiale

La maturation 1 jour a été choisie pour la réalisation des échantillons testés en flexion biaxiale car elle rassemble les caractéristiques physico-chimiques recherchées : les espèces non-apatitiques de la couche hydratée sont présentes en quantité importante, et les observations microscopiques ont montré que les sphéroïdes ont évolués des batônnets (Chapitre II).

Les échantillons cylindriques de diamètre $36,20 \pm 0,09$ mm et d'épaisseur $3,67 \pm 0,24$ mm ont été préparés par frittage suivant le traitement *SPS* décrit au début de ce chapitre, dans le § III.1.3. Les échantillons ont été testés en flexion biaxiale avec le montage « support anneau / bille-piston plat ». L'anneau sur lequel repose l'échantillon a un diamètre de 22 mm. Le piston, de diamètre 5 mm, vient reposer sur le centre de l'échantillon, avant la mise en charge.

Les essais de flexion biaxiale sont réalisés à l'aide d'une machine d'essai mécanique universelle Instron (modèle 4466). Les essais sont réalisés à sec, à l'air, avec une vitesse de mise en charge de 0,2 mm/min. Dans ces conditions, la rupture a lieu de façon quasi-instantanée. L'essai est validé lorsque la rupture est en forme d'« étoile », illustrée sur la Figure 75.

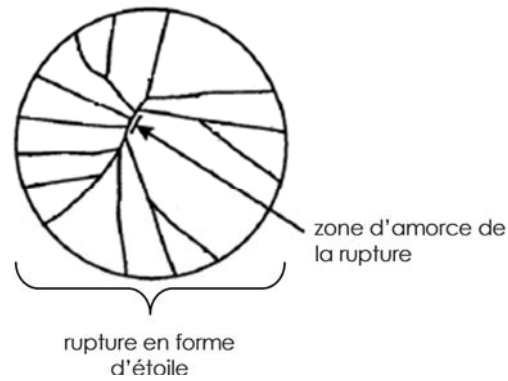


Figure 75. Schéma de la rupture d'un essai de flexion biaxiale

La contrainte à la rupture σ_R (en MPa) est calculée suivant l'Equation (7) suivante :

$$\text{Equation (7)} \quad \sigma_R = \frac{3 \cdot P_R}{4\pi \cdot e^2} \cdot (Y - X)$$

avec :

P_R : la pression appliquée (kN)

e : l'épaisseur de l'échantillon (mm)

X et Y : coefficients définis par les formules :

$$X = (1 + \nu) \cdot \left[1 + \text{Ln} \left(\frac{A}{C} \right)^2 \right] + (1 - \nu) \cdot \left(\frac{A}{C} \right)^2 \quad Y = (1 + \nu) \cdot \text{Ln} \left(\frac{B}{C} \right)^2 + \left(\frac{1 - \nu}{2} \right) \cdot \left(\frac{B}{C} \right)^2$$

ν : coefficient de Poisson (GPa), évalué précédemment (§ III.7)

A : diamètre de l'anneau support (mm)

B : diamètre du piston poussoir (mm)

C : diamètre de l'échantillon (mm)

La contrainte à la rupture déterminée sur 7 échantillons ANB_{ij} en flexion biaxiale est de 11,30 ± 5,92 MPa. Cette valeur est relativement élevée pour un matériau fritté à 150°C. L'écart type important des valeurs met en évidence les nombreux défauts du matériau brut issus du traitement SPS et notamment ceux à la surface.

Meganck et al. ont comparé plusieurs matériaux de référence en ingénierie tissulaire en flexion biaxiale réalisée à sec avec une vitesse de charge de 0,5 mm/min : l'HA dense, le β -TCP dense et un mélange biphasé dense (60 % volumique de HA / 40 % volumique de β -TCP). L'HA est le composé avec la contrainte à la rupture la plus élevée (130 MPa), puis le mélange biphasique et le β -TCP donnent des valeurs voisines, respectivement de 23 MPa et 22,8 MPa [Meganck2005]. L'ANB_{ij} n'est que 2 fois moins résistante en flexion que le β -TCP ou le mélange biphasique, et environ 10 fois moins résistante que l'HA. Or la compacité de l'ANB_{ij} n'est que de 74 %, donc les échantillons testés sont très poreux.

Il est en effet connu que la résistance décroît de façon sensiblement exponentielle avec la porosité. Pour comparer avec notre ANB_{ij}, une HA avec environ 25 % de porosité (comparable à l'ANB_{ij}) possède une résistance en compression de l'ordre de 10 MPa [Wagoner Johnson2011].

Nous avons vu dans le chapitre bibliographique (§ I.1.3.b, Tableau 4) que le problème mécanique majeur des matériaux de substitution osseuse sur le marché, était un module d'élasticité (E) beaucoup trop élevée. Non seulement le module d'Young et la densité apparente des différentes ANB sont de l'ordre de grandeur de ceux de l'os cortical, mais la contrainte à la rupture est également relativement élevée. Ainsi, au regard des propriétés mécaniques des différentes céramiques d'ANB consolidées, elles représentent des candidates potentielles particulièrement intéressantes pour la substitution osseuse, en sites non porteur.

III.9. Conclusion

Dans ce chapitre, l'objectif était de confirmer la possibilité d'une consolidation de telles apatites biomimétiques par le procédé de frittage flash, puis de caractériser les céramiques obtenues, de comparer les caractéristiques physico-chimiques des ANB consolidées par SPS à celles des poudres initiales, et enfin apporter des premiers éléments de réponse sur le mécanisme de frittage SPS des ANB.

Loin de chercher à densifier au maximum les poudres d'ANB pour l'obtention d'une biocéramique dense, l'un des buts que nous visions était au contraire de conserver une porosité résiduelle qui pourrait assurer, après implantation, la colonisation de la céramique par les cellules (macroporosité) et les fluides physiologiques environnants (microporosité), favorisant ainsi les échanges d'ions et de molécules biologiques.

Le traitement *SPS* à basse température, i.e. 150°C, et sous haute pression mécanique uniaxiale de 100 MPa, avec un palier court en température (13 minutes), sur des poudres d'ANB correspondant à différents états de maturation a conduit à l'obtention de céramiques cohésives et poreuses. Notons que :

→ La compacité diminue avec l'état de maturation initiale de l'ANB consolidée, entre 77 % dans l'ANB_{20min} et 53 % dans l'ANB_{3sem}. Elle suggère une porosité importante dès les courtes maturations, qui augmente avec l'avancement de la maturation.

→ Les observations morphologiques, au cœur du matériau, permettent de visualiser l'importante porosité résiduelle.

En vue d'être utilisées en tant que biocéramique de substitution osseuse, les ANB consolidées ont été testées mécaniquement :

→ Contrairement à l'ensemble des biocéramiques qui possèdent un module d'élasticité trop élevé, celui des ANB consolidées est similaire à celui de l'os cortical.

→ La valeur moyenne de contrainte à la rupture en flexion (11 MPa) de l'ANB_{ij} ne permet certes pas une utilisation du matériau avec de fortes contraintes comme c'est le cas dans les sites porteurs (par exemple pour les ostéotomies tibiales), mais est très satisfaisante, étant donné sa compacité (77 %), pour des applications osseuses en sites non porteurs.

Afin de répondre à nos objectifs, non seulement la couche hydratée doit être préservée par le processus de consolidation, mais également la conservation de la taille nanométrique et du caractère hydraté des cristallites de l'apatite est essentielle. Tandis qu'un faible état de cristallinité va faciliter la résorption du matériau par les cellules osseuses, la présence résiduelle de la couche hydratée devrait permettre de favoriser la croissance du tissu osseux par ostéoconduction voire ostéoinduction. Les résultats physico-chimiques prouvent que ces critères sont respectés.

Contrairement à l'ensemble des autres méthodes de consolidation, les nanocristaux constitutifs des céramiques d'ANB obtenues par *SPS* à « basse » température (150°C) restent constitués d'un cœur apatitique recouvert d'une couche hydratée, bien que celle-ci soit partiellement altérée.

Nous pouvons établir que :

→ L'eau éliminée au cours de la consolidation représente entre 30 % et 6 % molaire, respectivement pour les ANB_{20min} et ANB_{3sem}.

→ La teneur relative en espèces chimiques non-apatitiques, essentiellement des ions HPO_4^{2-} , diminue avec l'augmentation du temps de maturation initiale de l'ANB, mais elle est toujours présente en grande quantité après consolidation, même pour l'ANB_{3sem}.

Ces espèces chimiques non-apatitiques, responsables de la forte réactivité de surface des ANB, traduisent le maintien des propriétés d'échange ionique et d'adsorption nécessaires à la bioactivité de tels matériaux consolidés.

→ Dans le cas des temps de maturation inférieurs à 1 jour, la contribution du désordre cristallin dans les ANB consolidées, est du même ordre de grandeur que dans les poudres initiales : le paramètre de désordre contribue par exemple à une vingtaine de pourcent à la largeur de la raie (002) et le paramètre lié à la taille des cristaux contribue à environ 75 % à la largeur de la raie (002). En revanche, après 3 jours de maturation, la largeur de la raie (002) est due à plus de 90 %, à la taille des cristallites.

La diminution du désordre cristallin avec l'augmentation du temps de maturation traduit alors une augmentation de la cristallinité, au cours du traitement *SPS*. Elle est mise en évidence par l'amélioration de la définition du profil des diffractogrammes de RX, et est corrélable à l'augmentation de la teneur en ions OH^- .

Le traitement *SPS* semble cependant limiter l'influence du temps de maturation initiale sur la taille des cristallites. Globalement, les dimensions nanométriques des cristallites sont plus grandes après traitement *SPS*, sauf pour la longueur des ANB initialement maturée au moins 5 jours. Les longueurs ainsi que les diamètres, des cristallites des différentes ANB consolidées, sont quasi-uniformisés, quel que soit l'état de maturation initiale de l'ANB.

La morphologie des grains en forme de sphéroïdes pour les maturations courtes (< 3 heures) et la présence importante de la couche phosphocalcique hydratée sont favorables à la croissance cristalline pendant le traitement *SPS*, pour les composés les plus immatures. A l'inverse, avec une morphologie en forme d'aiguilles enchevêtrées et avec une couche hydratée moins importante que dans les faibles maturations, les résultats indiquent que les effets du traitement *SPS* sont moins visibles par rapport aux autres ANB :

→ augmentation moindre de la teneur en ions OH^- : < 10 %, contre ≈ 15 % dans les ANB maturées moins de 1 jour

→ diminution très faible de la taille des cristallites lorsque l'ANB consolidée a un état de maturation plus avancé.

→ augmentation de la taille des cristallites pendant le traitement *SPS*, pour les maturations initiales n'excédant pas 1 jour, résultant de la croissance cristalline pendant le frittage

→ diminution de la taille des cristallites pendant le traitement *SPS*, pour les maturations initiales supérieures à 1 jour, en réponse à la pression appliquée pendant le traitement *SPS* (100 MPa). Les cristallites des ANB peuvent s'être rompues et/ou une réaction de dissolution / précipitation peut avoir permis une diffusion de la matière depuis les extrémités des cristallites vers leur centre.

Le traitement *SPS* a aussi un impact sur la surface des ANB consolidées :

→ Au moins une phase cristalline secondaire de monétite (CaHPO_4) est détectée, par DRX, à la surface de l'échantillon, lorsque la couche hydratée est très développée dans l'ANB initiale.

L'effet de texturation est cohérent avec l'évolution des cristaux d'ANB avant consolidation. Il est d'autant plus important que la couche hydratée est développée dans les ANB initiales et que la morphologie de l'ANB reste basée sur les particules sphéroïdales. Pour les composés les plus maturés, l'enchevêtrement des aiguilles diminue le réarrangement et réduit la densification.

Les caractérisations physico-chimiques permettent de donner un début d'explication au mécanisme réactionnel mis en œuvre au cours du traitement *SPS* des ANB maturées. La forte

mobilité ionique en surface des nanocristaux (au sein de la couche hydratée) peut probablement permettre la diffusion de matière entre cristaux adjacents (fusion cristalline), malgré une température peu élevée, et donc l'absence d'activation thermique forte. Nos résultats indiquent par ailleurs qu'une réaction partielle d'hydrolyse interne d'ions PO_4^{3-} accompagne le frittage des poudres.

Conclusion générale

Conclusion générale

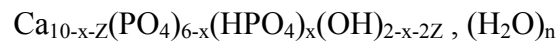
L'objectif de ce travail était d'étudier le frittage d'apatites nanocristallines biomimétiques (ANB) en vue d'obtenir une nouvelle génération de biocéramiques résorbables, voire ostéoconductrices qui représente la 3^{ème} et nouvelle génération de biomatériaux dits biomimétiques). Les ANB sont particulièrement intéressantes pour répondre à ce cahier des charges car elles sont nanocristallines, ce qui est favorable à la biorésorption. De plus, elles présentent un atout structurel majeur : elles possèdent une couche peu organisée, hydratée contenant des espèces ioniques labiles. Cependant ces nanocristaux doivent être mis en forme et les matériaux céramiques obtenus doivent être cohésifs et poreux afin de permettre leur imprégnation par les fluides physiologiques environnants après implantation et favoriser la formation de nouveaux tissus osseux par prolifération cellulaire et résorption progressive de la céramique. De plus, leur résistance mécanique doit permettre une utilisation facile par le chirurgien. Après implantation, le soutien mécanique doit être assuré le temps de la recolonisation du site osseux receveur. Les mécanismes de dégradation qui fragilisent la céramique se mettent en place, et sont contrebalancés par les mécanismes de néoformation osseuse ; l'os néoformé assurant au final la tenue mécanique.

L'influence du vieillissement (maturation) en solution de précipités d'ANB maturés entre 20 minutes et 3 semaines sur les propriétés physico-chimiques des poudres a été caractérisée. Les cristallites d'ANB sont composées d'un cœur apatitique, avec des espèces ioniques localisées en sites cristallographiques apatitiques, entouré d'une couche hydratée de surface phosphocalcique, contenant des environnements ioniques labiles dits « non-apatitiques ». Ces derniers engendrent une grande capacité d'échange qui confère aux ANB une réactivité de surface élevée (bioactivité). Les échanges réalisés avec les ions Mg^{2+} (substitution des ions Ca^{2+}_{non-ap}) et les ions carbonate (substitution des ions $HPO_4^{2-}_{non-ap}$) confirment la réactivité de surface des ANB. Lorsque le temps de maturation de l'ANB s'accroît, cette réactivité diminue car les espèces non-apatitiques s'organisent à la surface des cristallites, et ainsi le cœur apatitique croît au détriment de la couche hydratée.

L'état d'organisation structurale de cette couche hydratée est moins avancé que celui du cœur apatitique, néanmoins il permet la diffraction des rayons X, ce qui induit un désordre cristallin important lié à la présence de cette couche hydratée.

L'augmentation du rapport molaire Ca/P qui prend une valeur supérieure à 1,5 (caractéristique des phosphates tricalciques) après 1 semaine de maturation ainsi que de la teneur en ions OH⁻ apatitiques lorsque le temps de maturation augmente, corrobore l'évolution de la composition chimique des ANB vers la stœchiométrie. De plus, la maturation engendre une croissance cristalline dans une direction privilégiée (axe c) qui mène à la formation de cristaux de forme aciculaire à partir de nodules sphériques initialement précipités. L'ensemble de ces évolutions s'accompagne d'une augmentation de l'état de cristallinité.

Une caractérisation détaillée des cristaux précipités d'ANB a montré qu'ils sont monophasés, faiblement cristallisés, de taille nanométrique et de composition chimique globale répondant à la formule :



Une première évaluation de la composition chimique du cœur apatitique d'une part et de la couche hydratée non-apatitique d'autre part a également pu être proposée.

Une étude thermodynamique, réalisée pour la première fois à notre connaissance sur des apatites biomimétiques, a permis de caractériser quantitativement le phénomène de maturation. Les données thermodynamiques des ANB, lorsque le temps de maturation augmente, mettent en évidence la stabilité thermodynamique croissante des phases apatitiques.

Afin de répondre au mieux au cahier des charges initial, une méthode non-conventionnelle de frittage, le *Spark Plasma Sintering* (SPS ou frittage flash), a été choisie pour la réalisation des biocéramiques. Les ANB maturées ont été consolidées par SPS, à 150°C sous une pression mécanique uniaxiale de 100 MPa. La basse température ainsi qu'un temps court de palier (13 minutes) limitent la détérioration de la couche phosphocalcique hydratée, la pression élevée favorise la cohésion du matériau par « fusion intercristalline » via cette couche hydratée.

L'impact du temps de maturation sur les propriétés des ANB persiste après consolidation. La teneur en espèces chimiques non-apatitiques (majoritairement des ions HPO₄²⁻) diminue avec

l'état de maturation initiale des ANB, mais leur présence certifie la présence de la couche hydratée même après traitement *SPS*, quel que soit le temps de maturation initiale de l'ANB. De plus, les pertes de masse occasionnées par le procédé diminuent avec l'état de maturation initial de l'ANB, et représentent moins du tiers de l'eau contenue initialement dans la couche hydratée des ANB. La couche hydratée, siège des échanges ioniques responsables de la réactivité de surface des ANB, est donc préservée en quantité relativement importante après traitement *SPS*.

Après consolidation *SPS*, le rapport molaire Ca/P des céramiques d'ANB maturées est inchangé, néanmoins, la teneur en ions hydroxyde est nettement accrue au cours du frittage, spécifiquement pour les maturations inférieures ou égale à 3 heures, puis augmente lorsque l'état de maturation initiale de l'ANB est plus développé. Ainsi, l'évolution de la composition chimique vers la stœchiométrie résulte à la fois de la maturation et du phénomène de frittage. L'hydroxylation plus importante des ANB, après consolidation des poudres, et lorsque l'état de maturation initiale augmente, s'accompagne logiquement d'une amélioration de la cristallinité au cours du frittage.

Des premiers éléments de réponse peuvent être avancés pour expliquer le processus de frittage par *SPS* des ANB. En effet, une réaction partielle d'hydrolyse interne des ions PO_4^{3-} en ions OH^- et HPO_4^{2-} permet d'expliquer l'accroissement soudain des ions OH^- apatitiques, et des ions HPO_4^{2-} non-apatitiques ainsi que la diminution des ions PO_4^{3-} non-apatitiques au cours du procédé de frittage. Cette réaction se déroulerait dans la couche hydratée ou à l'interface entre celle-ci et le cœur apatitique.

La morphologie des grains d'ANB au cours de la maturation a un impact direct sur la compacité des cristallites après traitement *SPS*. Le système tridimensionnel observé, constitué de grains sphéroïdes (jusqu'à 3 heures de maturation), évolue en filaments ($\text{ANB}_{1\text{jour}}$), probablement par un mécanisme de « dissolution - précipitation ». Des fagots de filaments associés côte-à-côte (ANB initialement maturée plus de 3 jours) s'enchevêtrent les uns avec les autres, et sous application d'une pression uniaxiale, leur orientation préférentielle parallèlement à la surface des échantillons, est plus difficile. Cela engendre une compacité inférieure lorsque le temps de maturation initiale augmente, ainsi que la diminution des modules d'élasticité et de cisaillement des céramiques. Par ailleurs, la quantité importante de couche hydratée après précipitation crée un désordre cristallin qui semble favoriser la croissance cristalline au cours du frittage (notamment pour les $\text{ANB}_{20\text{min}}$ à $\text{ANB}_{3\text{jours}}$).

De nombreux éléments de réponse sont encore à apporter afin de clairement comprendre les mécanismes de frittage des ANB par *SPS* à 150°C et 100 MPa.

Concernant les propriétés mécaniques des céramiques d'ANB, il est très intéressant de noter que les modules d'Young, généralement trop élevés dans les biocéramiques actuellement sur le marché, présentent des valeurs comparables à celles de l'os cortical. La résistance de contrainte à la rupture en flexion de l'ANB_{1j}, de l'ordre de 11 MPa, est très satisfaisante étant donné sa compacité (77 %). Elle est comparable à celle de l'HA avec une porosité similaire et démontre la forte cohésion obtenue dans des conditions de température du procédé de frittage *SPS*, pourtant extrêmement basses pour des céramiques (150°C pendant 13 minutes).

Au regard des caractérisations physico-chimiques, morphologiques et mécaniques, les échantillons d'ANB frittées par *SPS* sont des candidats très prometteurs pour la reconstruction osseuse en tant que céramique bioactive et résorbable. Cependant, leur efficacité en termes de propriétés biologiques devra être démontrée.

Une évaluation biologique *in vitro*, des échantillons consolidés, est en cours de réalisation dans le cadre du projet ANR "NanoBiocer". Elle vise, dans un premier temps, à examiner l'adhésion cellulaire sur le matériau, puis la prolifération des cellules et la différenciation de ces cellules en contact avec le matériau. Une évaluation *in vivo* prévue chez le lapin devra également permettre de confirmer le comportement biologique *in situ* des céramiques d'ANB consolidées. Leur bioactivité sera contrôlée et suivie en fonction du temps d'implantation jusqu'à 12 semaines.

Annexe

Annexe. Les analyses chimiques

I. Le dosage des cations

I.a *Le dosage des ions calcium alcalino-terreux*

Le calcium a été dosé par volumétrie en retour [Meyer1978, Charlot1966]. L'agent complexant est le sel disodique de l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) en présence d'ammoniaque. L'excès d'EDTA est ensuite dosé par une solution titrée de chlorure de zinc. L'indicateur de virage est le noir ériochrome. Il est à noter que cette méthode permet de doser tous les ions formant un complexe avec l'EDTA, notamment les alcalino-terreux et en particulier le magnésium. Dans le cas des poudres contenant à la fois les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} , ces deux ions seront donc dosés.

L'erreur relative sur la détermination de la teneur en alcalino-terreux est de l'ordre de 0,5 %.

I.b *Le dosage des ions calcium et magnésium*

Seuls ou tous les deux présents dans les phosphate de calcium, les ions calcium et magnésium sont dosés par analyse chimique élémentaire ICP/AES (*Inductively Coupled Plasma/Atomic Emission Spectroscopy*), à l'aide d'un appareillage Thermo-Opteck de modèle Iris. Les poudres lyophilisées sont préalablement dissoutes en milieu acide. Une contrainte de l'analyse impose une concentration totale des ions à doser comprise entre 0 et 100 ppm. La solution fille à doser est pompée puis nébulisée afin d'obtenir un aérosol. Cet aérosol est transporté jusqu'au plasma où il est vaporisé, atomisé, excité et/ou ionisé. Des solutions étalons (0 et 40 mg.L^{-1} de chaque élément) sont préalablement analysées pour tracer une droite d'étalonnage. Au cours de l'analyse des échantillons, des solutions étalon à 20 et 40 mg.L^{-1} en calcium et en magnésium sont régulièrement analysées afin de contrôler qu'il n'y a pas de dérive du signal. L'erreur relative sur la détermination de la teneur en alcalino-terreux est de l'ordre de 5 % (soit 10 fois supérieure à l'erreur du dosage retour par EDTA).

II. Le dosage des ions phosphate

Dans les solides étudiés, le phosphore peut se présenter sous forme de divers groupements : orthophosphate PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} ou pyrophosphate $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$.

II.a *Le dosage des ions orthophosphate*

Ils ont été dosés par spectrophotométrie du complexe phosphovanadomolybdique $\text{VO}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$, formé en milieu acide, à $\lambda = 460 \text{ nm}$. Les absorbances des différentes solutions ont été mesurées, dans des cuves en quartz, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible Hitachi Scientific Instruments U-1100 à simple faisceau.

L'erreur relative sur le dosage du phosphore est de l'ordre de 0,5 %.

II.b *Le dosage des ions pyrophosphate*

Les ions HPO_4^{2-} se condensent à haute température, typiquement au-delà de 450°C , pour donner des ions $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ suivant la réaction :



Il a été montré [Gee1955, Rodrigues1998] que le taux maximal de condensation de HPO_4^{2-} en $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ était atteint pour un chauffage à 600°C pendant 1 heure. Les ions pyrophosphate ne donnent pas de réaction colorée avec la solution de vanadomolybdate et ne sont donc pas dosés. La détermination spectro-photométrique porte donc sur les ions orthophosphate PO_4^{3-} de l'apatite. Les ions pyrophosphate peuvent cependant être ultérieurement hydrolysés et analysés. La comparaison des résultats obtenus avant et après hydrolyse fournit la teneur en ions HPO_4^{2-} .

Il faut cependant noter que, dans certains cas, cette méthode n'est pas valide. Par exemple, en présence d'ions carbonate, les ions hydrogénophosphate réagissent vers $200\text{-}300^\circ\text{C}$:



et ne donnent pas des ions pyrophosphate [Greefield1974, Heughebaert1977].

La teneur en ions hydrogénophosphate peut être obtenue avec une erreur relative de 2 %.

Table des figures

Table des figures

Figure 1.	Répartition des greffes d'organes réalisées en 2009, selon le rapport annuel 2009 de l'Agence de la Biomédecine [Agence de la biomédecine2009]	7
Figure 2.	Exemples d'applications médicales de matériaux synthétiques implantables [Taniguchi2006].....	9
Figure 3.	Squelette humain [Boutillier2011].....	10
Figure 4.	Schéma d'un os long	12
Figure 5.	Les différentes séquences du remodelage osseux [Thomas2008]	19
Figure 6.	Diagramme de phases du système CaO-P ₂ O ₅ (C=CaO, P=P ₂ O ₅) [Kreidler1967]	28
Figure 7.	Structure cristalline de l'HA (Projection sur le plan de base (00 \bar{l}) de la maille de l'HA selon [Young1973])	35
Figure 8.	Diagramme de diffraction des rayons X de l'HA stœchiométrique après (A) et avant (B) traitement thermique à 1000°C pendant 15h, d'une apatite nanocristalline biomimétique (ANB) (C) et du minéral osseux de rat âgé d'1 mois (D)	39
Figure 9.	Spectre IR de l'HA stœchiométrique (A) et d'une apatite nanocristalline biomimétique (ANB) non carbonatée (B).....	40
Figure 10.	Schéma de la couche hydratée en surface des nanocristaux d'apatite non-stœchiométrique. Les ions présents dans la couche hydratée peuvent être facilement échangés avec les ions présents en solution, et participer à l'adsorption de protéines (Pr) à la surface des cristaux	40
Figure 11.	Représentation de l'évolution des environnements non-apatitiques et du cœur apatitique d'un nanocristal, au cours de la maturation d'une ANB [Eichert2001, Banu2005].....	41
Figure 12.	Les différents types de frittage [Bernache-Assollant2005].....	44
Figure 13.	Schéma du déroulement de la synthèse des ANB.....	53
Figure 14.	Dispositif de synthèse de l'hydroxyapatite par précipitation.....	55
Figure 15.	Analyse par cryo-MEB-FEG de précipités d'apatites biomimétiques entre 1 minute et 1 semaine de maturation (prélèvement directement dans la solution de précipitation) G : x 150 000	61
Figure 16.	Observation MEB-FEG de la poudre de phosphate tricalcique amorphe (Ca ₃ (PO ₄) ₂ , ou TCP _{am}), G : x 60 000	62
Figure 17.	Représentation schématique de nos observations en cryo-microscopie pendant la maturation (à 25°C) d'apatites biomimétiques	63
Figure 18.	Analyse par MEB-FEG de poudre d'apatites biomimétiques lyophilisées, entre 20 minutes et 3 semaines de maturation G : x 100 000	64

Figure 19.	Diagramme DRX de la poudre d'HA brute issue de la synthèse sur le réacteur (A) et cristallisée après calcination pendant 15h à 1000°C (B).....	66
Figure 20.	Diffractogrammes d'apatites ANB en fonction de la maturation	68
Figure 21.	Evolution, selon la formule de Scherrer, de la FWHM des raies (310) et (002) (A) et de la taille des cristallites (B)	71
Figure 22.	Droites $\beta^* = f(m^2)$ correspondants aux plans (00 l), pour 2 exemples d'ANB maturées (20 minutes et 1 semaine).....	73
Figure 23.	Variation du paramètre de distorsion g_{hkl} calculé à partir du modèle de Hosemann et Vogel (A) et évolution de la longueur des cristallites selon les deux modèles (B) en fonction du temps de maturation	75
Figure 24.	Paramètres de maille a et c (A) et volume de maille des ANB (B) en fonction du temps de maturation, comparés aux données de l'HA stœchiométrique selon la fiche ICDD-PDF 09-0432	77
Figure 25.	Diffractogrammes d'ANB à différents temps de maturation, après calcination pendant 15h à 1000°C [AFNOR2008].....	78
Figure 26.	Classement des ANB maturées pendant différentes durées, en fonction du rapport Ca/P molaire des matériaux de référence de rapport compris entre 1 et 1,667.....	81
Figure 27.	Dosage des ions orthophosphate PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} dans les ANB, maturées pendant différentes durées	84
Figure 28.	Courbes de perte de masse obtenues par ATG, pour chaque ANB maturée	86
Figure 29.	Suivi des différentes pertes de masse au cours de la décomposition thermique par ATG, pour chaque ANB maturée	87
Figure 30.	Quantités d'espèces ioniques Ca^{2+} et PO_4^{3-} calculées à partir du rapport atomique Ca/P, et comparées avec PO_4^{3-} dosés (A), et HPO_4^{2-} dosés comparé avec HPO_4^{2-} et OH^- calculées à partir de Δm_3 en ATG ou en considérant l'électroneutralité de la maille d'apatite (B) contenant les ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} dosés en (A).....	89
Figure 31.	Spectre d'absorption infrarouge de l'hydroxyapatite stœchiométrique (A) et d'une ANB maturée 1 semaine (B).....	96
Figure 32.	Décomposition FTIR dans le domaine spectral 800-400 cm^{-1} de l'hydroxyapatite stœchiométrique (A) et d'une ANB maturée 1 semaine (B).....	100
Figure 33.	Suivi de l'évolution des espèces ioniques dans la couche hydratée et dans le cœur apatitique (A), de la répartition apatitique et non-apatitique des ions HPO_4^{2-} (B) et de la répartition des différentes espèces non-apatitiques (HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}) dans les ANB (C), en fonction du temps de maturation	102
Figure 34.	Détails de la bande d'absorption ν_2CO_3 dans une apatite carbonatée.....	107
Figure 35.	Spectre d'absorption IR d'une ANB maturée 1 jour, après échange de 20 minutes dans une solution carbonatée.....	107
Figure 36.	Domaines spectraux ν_3CO_3 (A) et ν_2CO_3 (B), de l'ANB maturée 1 jour, en fonction du temps de contact avec la solution d'ions carbonate.....	108

Figure 37.	Quantité relative d'ions carbonate incorporés dans l'ANB maturée 1 jour après différents temps d'échange (A), dans chaque ANB maturée, immergée pendant 3h dans la solution d'échange(B).....	110
Figure 38.	Suivi des espèces ioniques HPO_4^{2-} non-apatitiques (A) et OH^- apatitiques (B) avant et après échange de 3h dans la solution carbonatée	111
Figure 39.	Quantité relative d'ions calcium non échangés, et d'ions magnésium incorporés dans une ANB maturée 1 jour, en fonction du temps d'échange (A), échange pendant 30 minutes des ions Ca^{2+} par des ions Mg^{2+} pour chaque ANB maturée (B), et comparaison des deux techniques de dosage (analyse par ICP-AEP et dosage retour par EDTA) (C).....	114
Figure 40.	Quantité d'ions calcium apatitiques et non-apatitiques dans une maille d'apatite contenant 6 atomes de phosphore	115
Figure 41.	Spectres Raman dans la région du mode de vibration $\nu_1\text{PO}_4$ en fonction du temps de maturation de l'ANB	119
Figure 42.	Décomposition mathématique du spectre Raman de la bande $\nu_1\text{PO}_4$, pour une ANB maturée 3 jours	120
Figure 43.	Suivi de l'évolution des espèces non-apatitiques (histogramme) et corrélation avec la FWHM de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ (courbe), au cours de la maturation des ANB	121
Figure 44.	Géométrie du calorimetre de chute (A) et détail d'un tube de calorimètre (B) [Putnam1999].....	124
Figure 45.	Evolution de l'enthalpie de formation ΔH_f° (apatite) d'apatites nanocristallines maturées entre 20 min. et 3 semaines	127
Figure 46.	Evolution de la différence en énergie libre évaluée pour le processus de maturation de la phase apatitique, par rapport à la maturation 20 minutes prise pour référence	131
Figure 47.	Rôle de la couche hydratée dans la formation d'une céramique massive à partir de poudre nanocristalline d'ANB. Jonction intercristalline (étape I et II), « Fusion cristalline » (étape III) correspondant à l'évolution de la couche hydratée en structure apatite, et « frittage à basse température » (étape IV) au cours duquel des interactions ioniques directes sont rendues possibles par une perte d'eau.....	137
Figure 48.	Schéma du principe du SPS (A), Appareillage de la plateforme Nationale de frittage Flash PNF2, à Toulouse (B).....	139
Figure 49.	Description schématisée du protocole SPS.....	140
Figure 50.	Retrait in situ en fonction de la T_{MAX} du traitement SPS, avec $P_{\text{MAX}} = 100 \text{ MPa}$	141
Figure 51.	Retrait in situ en fonction de la P_{MAX} du traitement SPS, avec $T_{\text{MAX}} = 150^\circ\text{C}$	142
Figure 52.	Spectre EDX réalisé à la surface de la pastille violette.....	144
Figure 53.	Courbes de retrait in situ au cours du procédé SPS, pour chaque ANB maturée (A) et quantité d'eau perdue pendant le traitement SPS par rapport à la quantité initialement présente dans les poudres, par unité formulaire d'apatite (avec 6 moles de phosphate), en fonction du temps de maturation de l'ANB (B).....	147

Figure 54.	Analyse par MEB-FEG à la surface et au cœur des échantillons d'ANB consolidées par SPS, initialement maturées entre 20 minutes et 5 jours, G : x 50 000.....	150
Figure 55.	Comparaison des diffractogrammes des poudres d'ANB maturées (en noir), et de la surface des échantillons consolidés par SPS (en orange), en fonction du temps de maturation.....	152
Figure 56.	Représentation des intensités intégrées (= Aire) des raies (002) et (310) obtenues à l'aide du logiciel Fullprof (A) pour le calcul de I_{tex} en fonction de l'état de maturation de l'ANB consolidée (B)	155
Figure 57.	Comparaison des diffractogrammes des poudres initiales d'ANB maturées (en noir), et des poudres broyées prélevées au coeur des échantillons consolidés par SPS (en bleu).....	156
Figure 58.	Evolution de la FWHM des raies (A) et de la taille des cristallites selon le modèle de Scherrer (B) après traitement SPS	158
Figure 59.	Droites $\beta^* = f(m^2)$ correspondant aux plans (00 l), pour quelques ANB consolidées	160
Figure 60.	Variation du paramètre de distorsion g_{hkl} calculé à partir du modèle de Hosemann et Vogel (A) et évolution de la longueur des cristallites selon les deux modèles (B) en fonction du temps de maturation initial de l'ANB consolidée	162
Figure 61.	Comparaison de la longueur des cristallites d'ANB avec différents états de maturation, avant et après frittage par SPS, calculée à partir du modèle de Hosemann et Vogel [Hosemann1962, Vogel1970]	163
Figure 62.	Paramètres de maille a et c (A) et volume de maille des ANB avant et après consolidation (B) en fonction du temps de maturation, comparés aux données de l'HA stœchiométrique selon la fiche ICDD-PDF 09-0432.....	164
Figure 63.	Dosage des ions orthophosphate PO_4^{3-} et HPO_4^{2-} dans les différentes ANB consolidées	166
Figure 64.	Courbe de perte (TG) de masse du domaine IV, en fonction de l'état de maturation des ANB consolidées.....	168
Figure 65.	Courbes thermogravimétriques (TG) (A), dérivées des courbes TG (DTG 1 ^{ère}) (B) et courbes d'analyses thermiques différentielles (ATD) (C) des différentes ANB consolidées.....	169
Figure 66.	Exemple du spectre FTIR de l'ANB maturée 3 jours, avant et après traitement SPS, puis après calcination à 350°C, 600°C et 900°C (2,5°C/min).....	171
Figure 67.	Suivi par FTIR de l'évolution des espèces non-apatitiques (A) et des différents ions HPO_4^{2-} apatitiques et non-apatitiques (B) après traitement SPS	175
Figure 68.	Comparaison avant et après traitement SPS des espèces ioniques PO_4^{3-} non-ap (A) et HPO_4^{2-} non-ap (B), contenues dans la couche hydratée	176
Figure 69.	Comparaison avant et après traitement SPS des espèces ioniques PO_4^{3-} (ap + non-ap) (A), HPO_4^{2-} (ap +non-ap) (B) OH^- ap (C).....	177
Figure 70.	Photographies des échantillons consolidés (pastilles de \varnothing 36 mm) (A) et densité apparente des céramiques en fonction de l'état de maturation de l'ANB (B) ..	180

Figure 71.	Densité vraie (pycnométrique) (A) et compacité (B) des ANB consolidées en fonction de leur état de maturation	182
Figure 72.	Schéma de réalisation des essais acoustiques par la méthode Grindo Sonic, pour déterminer le module d'Young E (A) et le module de cisaillement G (B)	185
Figure 73.	Evolution de module d'Young E et du module de cisaillement des échantillons consolidés, en fonction du temps de maturation initiale	185
Figure 74.	Schéma du montage de l'essai de résistance en flexion biaxiale	188
Figure 75.	Schéma de la rupture d'un essai de flexion biaxiale	189

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1.	Systèmes physiologiques concernés par les biomatériaux [Lemaître2004].....	8
Tableau 2.	Composition chimique du minéral osseux et de l'hydroxyapatite stœchiométrique [Elliot1994]	16
Tableau 3.	Classification des matériaux de substitution osseuse [Hench1991 ; Cao1996 ; Bongio2010].....	24
Tableau 4.	Propriétés mécaniques de biocéramiques et de l'os cortical et spongieux humain [Kokubo1998,2003, Hench1991,1998, Rho1998]	27
Tableau 5.	Les différents orthophosphates de calcium [Bohner2000, Banu2005]	29
Tableau 6.	Exemples de substitutions dans la structure apatitique	36
Tableau 7.	Surface spécifique des poudres d'ANB en fonction du temps de maturation ...	58
Tableau 8.	Appareillages et conditions d'acquisition des diffractogrammes, obtenus pour la poudre d'HA synthétisée sur le réacteur, avant et après calcination	65
Tableau 9.	Conditions expérimentales pour l'acquisition des diffractogrammes RX des poudres d'ANB	67
Tableau 10.	Dimensions apparentes des cristallites des ANB en fonction du temps de maturation et pour quelques apatites biologiques	71
Tableau 11.	Equation de droite $\beta^* = f(m^2)$ sous la forme $\beta^* = a.m^2 + b$ pour chaque ANB maturée : contribution des termes a et b à la valeur de β^*	74
Tableau 12.	Fiches PDF de référence pour l'indexation des différents composés	77
Tableau 13.	Distances interréticulaires $d_{théorique}$, et intensités relatives des principales raies du β -TCP [PDF n°9-0169], du β -CPP [PDF n°9-0346] et de l'HA [PDF n°9-0432]79	
Tableau 14.	Rapports molaires Ca/P des ANB obtenues après différents temps de maturation, et phases cristallines en présence après décomposition thermique pendant 15h à 1000°C [AFNOR2008]	82
Tableau 15.	Comparaison de la teneur en ions HPO_4^{2-} dosés ci-dessus avec les valeurs obtenues par Farlay et al., dans des ANB présentant différents temps de maturation	84
Tableau 16.	Ecart relatif (% pour une mole d'apatite avec 6 moles de P) entre les ions phosphate dosés et calculés à partir de l'ATG	88
Tableau 17.	Composition chimique des ANB	90
Tableau 18.	Positions des pics d'absorption IR (en cm^{-1}), dans l'HA stœchiométrique et les apatites nanocristallines, dans les régions spectrales ν_2 , ν_4 des phosphates, bandes de libration (ν_L) et de translation (ν_t) des ions $OH^-_{apatitiques}$, et leur attribution selon la littérature	93

Tableau 19.	Position des bandes supplémentaires de décomposition, dans le domaine spectral $\nu_4\text{PO}_4$, pour chaque CaP apatitique et non-apatitique possédant des groupements HPO_4 [Rey1990]	94
Tableau 20.	Modèle initial utilisé pour décomposer le domaine d'absorption infrarouge 400 – 800 cm^{-1} en huit bandes d'absorption distinctes, quel que soit le temps de maturation de l'ANB [Banu2005].....	98
Tableau 21.	Variations des paramètres initiaux de décomposition IR (Aire ou « A » et Largeur ou « L »)	98
Tableau 22.	Position (cm^{-1}) des bandes IR de la bande $\nu_4\text{PO}_4$, obtenues par décomposition mathématique des ANB maturées et d'une HA stœchiométrique	99
Tableau 23.	Position et Aire associée de la bande $\nu_1\text{OH}$ dans le cas des 2 possibilités issues de la décomposition du massif de bandes $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$ des ANB maturées 1 et 3 semaines	99
Tableau 24.	Positions des pics d'absorption IR, identifiés dans les apatites nanocristallines carbonatées biologiques ou de synthèse, dans les régions spectrales ν_2 , ν_3 des ions carbonate, et leur attribution selon la littérature.....	106
Tableau 25.	Position (cm^{-1}) des bandes vibrationnelles, obtenues par décomposition mathématique du massif $\nu_2\nu_4\text{PO}_4$, dans les ANB maturées après échange ionique.....	112
Tableau 26.	Positions des bandes de vibration des groupements phosphate, visibles par spectroscopie Raman, et leur attribution selon la littérature.....	117
Tableau 27.	Position des bandes de décomposition dans le domaine spectral entre 800 et 1100 cm^{-1} , et leur attribution selon la littérature (Tableau 26)	119
Tableau 28.	Position de la bande $\nu_1\text{PO}_4$ en fonction du temps de maturation	121
Tableau 29.	Cycle thermodynamique utilisé pour la détermination de ΔH_f° pour les apatites nanocristallines préparées	126
Tableau 30.	Valeurs expérimentales de ΔH_{ds} et valeurs déterminées pour ΔH_f° pour diverses apatites et composés de référence	127
Tableau 31.	Données thermodynamiques de la littérature [Jemal1995,2004, Ben Cherifa2004] sur des hydroxy-, fluor- et chlor-apatites stœchiométriques	128
Tableau 32.	Estimation des valeurs de S° et ΔS_f° pour les apatites nanocristallines maturées entre 20 minutes et 3 semaines, et pour l'HA stœchiométrique	129
Tableau 33.	Appareillages et conditions d'acquisition des diffractogrammes, obtenus pour les échantillons consolidés, à la surface de l'échantillon massif et à partir du cœur du massif broyé	151
Tableau 34.	Intensités relatives des principales raies des diffractogrammes de poudres d'ANB et de la surface des échantillons consolidées, comparées à celles de l'HA (PDF n°9-0432).....	153
Tableau 35.	Dimensions apparentes des cristallites des ANB consolidées, calculées selon le modèle de Scherrer (en fonction de l'état de maturation initiale), comparées avec les dimensions avant traitement	158

Tableau 36. Equation de droite $\beta^* = f(m^2)$ sous la forme $\beta^* = a.m^2 + b$ pour chaque ANB consolidée : contribution des termes a et b à la valeur de β^*	161
Tableau 37. Comparaison des longueurs des cristallites (\AA), obtenues selon le modèle de Hosemann et Vogel, dans les ANB avant et après traitement SPS, en fonction du temps de maturation	162
Tableau 38. Rapports molaires Ca/P des ANB consolidés, comparés aux rapports des ANB mûrées, avant traitement <i>SPS</i>	165
Tableau 39. Composition chimique partielle des ANB consolidées.....	166
Tableau 40. Les différentes géométries disponibles pour le montage de l'essai de flexion biaxiale	187

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ababou A.**, Etude expérimentale et théorique du préfrittage et du frittage de l'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, Thèse de doctorat d'université, Limoges : Université de Limoges (1994), 142p.
- AFNOR ISO 13779-3 : 2008**, Implants chirurgicaux - hydroxyapatite - Partie 3 : Analyse chimique et caractérisation de la cristallinité et de la pureté de phase, AFNOR (2008)
- Agence de la biomédecine**, Rapport annuel 2009 de l'Agence de la biomédecine, Saint-Denis La Plaine, 227p.
- Albee F., Morrison H.**, Studies in bone growth, Ann Surg (1920), 71, p.32-38
- Arcos D., Rodriguez-Carvajal J., Vallet-Regi M.**, Silicon Incorporation in hydroxyapatite obtained by controlled crystallization, Chem Mater (2004), 16, p.2300-2308
- Arends J., Christoffersen J., Christoffersen M.R., et al.**, A calcium hydroxyapatite precipitated from aqueous solution - An international multimethod analysis, J Cryst Growth (1987), 84, p.515-532
- Aue W.P., Roufosse A.H., Glimcher M.J., et al.**, Solid-state phosphorous-31 nuclear magnetic resonance studies of synthetic solid phases of calcium phosphate : potential models of bone mineral, Biochemistry-US (1984), 23, p.6110-6114
- Awonusi A., Morris M.D., Tecklenburg M.M.J.**, Carbonate assignment and calibration in the Raman spectrum of apatite, Calcified Tissue Int (2007), 81, p.46-52
- Babis G.C., Soucacos P.N.**, Bone scaffolds : the role of mechanical stability and instrumentation, Injury (2005), 36 (4), p.S38-S44
- Baig A.A., Fox J.L., Hsu J., et al.** Effect of carbonate content and crystallinity on the metastable equilibrium solubility behavior of carbonated apatites, J. Coll. Interf. Sci. (1996), 179, p.608-617
- Baig A.A., Fox J.L., Young R.A., et al.** Relationships among carbonated apatite solubility, crystallite size, and microstrain parameters, Calcified Tissue Int. (1999), 64, p.437-449
- Balas F., Perez-Pariente J. and Vallet-Regi M.**, In vivo bioactivity of siliconsubstituted hydroxyapatites, J Biomed Mater Res (2003), 66(A), p.364-375
- Banu M.**, Mise en forme d'apatites nanocristallines : céramiques et ciments, Thèse de doctorat d'université, Toulouse : INP Toulouse (2005), 183p.
- Barralet J.E.**, Processing and sintering of carbonate hydroxyapatite, Queen Mary and Westfield College (1995), London University, UK
- Ben Cherifa A., Jemal M.**, Enthalpy of formation and mixing of calcium-cadmium Phosphoapatites, Phosph. Res. Bull. (2004), 15, p.113-118

- Bernache-Assollant D.**, Bonnet J.-P., Frittage : aspects physico-chimiques, Partie 1 : frittage en phase solide, Techniques de l'ingénieur (2005), AF 6 620, p.1-20
- Best S.M.**, Porter A.E., Thian E.S., et al. Bioceramics : Past, present and for the future, J Eur Ceram Soc (2008), 28(7), p.1319-1327
- Bignon A.**, Optimisation de la structure poreuse d'implants en phosphate de calcium pour application de comblement osseux et relargage *in situ* d'un principe actif, Thèse de doctorat d'université, Lyon : I.N.S.A. de Lyon (2002), 183p.
- Blakeslee K.C.**, Sr. Condrate R.A., Vibrational spectra of hydrothermally prepared hydroxyapatites, J Am Ceram Soc (1971), 54(11), p.559-563
- Blumenthal N.C.**, Posner A.S., Hydroxyapatite : Mechanism of formation and properties, Calc Tiss Res (1973), 13, p.235-243
- Boch P.**, Chapitre 3. Frittage et microstructure des céramiques, In : Matériaux et processus céramiques, Paris : Hermès Science Publications (2001), p.73-112
- Bohner M.**, Calcium orthophosphates in medicine : from ceramics to calcium phosphate cements, Injury (2000),31 (4), p.S-D37-47
- Bonel G.**, Contribution à l'étude de la carbonatation des apatites - 1 - Synthèse et étude des propriétés physico-chimiques des apatites carbonatées du type A, Annales de Chimie (1972), 7, p.65-88
- Bongio M.**, Van den Beucken J.J.J.P., Leeuwenburgh S.C.G., et al. Development of bone substitute materials: from "biocompatible" to "instructive", J Mater Chem (2010), 20, p.8747-8759
- Boskey AL**, Camacho N.P., Mendelshn R., et al., FT-IR microscopic mappings of early mineralization in chick limb bud mesenchymal cell cultures, Calcified Tissue Int (1992a), 51, p.443-448
- Boskey AL**, Pleshko N., Doty S.B., et al., Applications of Fourier transform infrared (FT-IR) microscopy to the study of the mineralization in bone and cartilage, Cell Mater (1992b), 2, p.209-220
- Boutillier B.**, Outrequin G., Anatomie [en ligne], site disponible sur http://www.anatomie-humaine.com/Squelette-umain.html?id_document=16 (Page consultée le 02/11/2011)
- Boyer L.**, Synthèse et caractérisation d'apatites phospho-silicatées aux terres rares : application au nucléaire, Thèse de doctorat d'état, Toulouse, INP Toulouse (1998), 198p.
- Brown W.E.**, Lehr J.R., Smith J.P., et al. Crystallography of octocalcium phosphate, J Am Chem Soc (1957), 79, p.5318-5319
- Brown W.E.**, Crystal structure of octocalcium phosphate, Nature (1962a), 196, p.1048-1050

- Brown W.E.**, Smith J.P., Lehr J.R., et al. Octocalcium phosphate and hydroxyapatite : Crystallographic and chemical relations between octocalcium phosphate and hydroxyapatite, Nature (1962b), 196, p.1050-1055
- Brown W.E.**, Chow L.C., A new calcium phosphate, water-setting cement, In: Brown P.W. Ed.: Cements Research Progress, J Am Ceram Soc (1987a), 99, p.352-379
- Brown W.E.**, Eidelman N., Tomazic B., Octocalcique phosphate as a precursor in biomineral formation, Adv Dent Res (1987b), 1(2), p.306-313
- Canals**, Thèse d'état, Paris (1920)
- Camacho N.P.**, Rinnerthaler S., Paschalis E.P., et al. Complementary information on bone ultrastructure from scanning small angle X-ray scattering and Fourier-transform infrared microspectroscopy, Bone (1999), 25(3), p.287-293
- Campbell A.C.**, LoRe M., Nancollas G.H., The influence of carbonate and magnesium ions on the growth of hydroxyapatite and carbonated apatite and human powdered enamel, Colloid Surface A (1991), 54, p.25-31
- CaO W.**, Hench L.L., Bioactive materials, Ceram Int (1996), 22, p.493-507
- Catti M.**, Ferraris G., Mason S.A., Low temperature ordering of hydrogen atoms in CaHPO₄ (monetite) : X-Ray and neutron diffraction study at 145 K, Acta Crystall B-Stru (1980), B36, p.254-259
- Cazalbou S.**, Hina A., Rey C., Interactions between trace elements and bone mineral matrix, In : Abdulla M., Bost M., Gamon S. et al. Eds, New Aspects of trace element research, London : Smith-Gordon (1999), p.58-62
- Cazalbou S.**, Echanges cationiques impliquant des apatites nanocristallines analogues au minéral osseux, Thèse de doctorat de l'université, Toulouse, INP Toulouse (2000)
- Cazalbou S.**, Combes C., Eichert D., et al. Poorly crystalline apatites: evolution and maturation in vitro and in vivo, J Bone Miner Metab (2004a), 22, p.310-317
- Cazalbou S.**, Eichert D., Drouet C., et al. Minéralisations biologiques à base de phosphate de calcium, C. R. Palevol 3 (2004b), p.563-572
- Cazalbou S.**, Combes C., Eichert D. et al. Adaptative physico-chemistry of bio-related calcium phosphates, J. Mater. Chem. (2004c), 14, p.2148-2153
- Cazalbou S.**, Eichert D., Ranz X. et al. Ion exchanges in apatites for biomedical applications, J Mater Sci-Mater M (2005), 16, p.405-409
- Chaix J.M.**, Le frittage en phase liquide, In : Bernache-Assollant D., Chimie physique du frittage, Paris : Hermès (1993), p.251-283
- Charlot G.**, Les méthodes de la chimie analytique; Analyse quantitative et minérale (5ème édition), 658-659, 742-743, 853-854, Paris, Masson, (1966)

- Chatre M.**, Gourlaouen J.C., Poirson G., Application de détermination de la fréquence de résonance au contrôle des produits réfractaires, Conférence présentée au congrès de contrôle non-destructif à Mayence (1978)
- Chhetry A.**, Wang Z., Hsu J., et al. Metastable equilibrium solubility distribution of carbonated apatite as a function of solution composition, J. Coll. Interf. Sci. (1999), 218, p.57-67
- Choo-Smith LP**, Ko ACT, Hewko M, et al. Detection and monitoring of changes in mineralized tissues or calcified deposits by optical coherence tomography and Raman spectroscopy (Can.). U.S. Patent, 2005
- Croiset G.**, Leclercq A., Lecomte H., et al. Étude comparative de deux méthodes de détermination du module d'élasticité du bois et de ses dérivés, Station de Technologie forestière, CRA, Gembloux, Rapport interne (1980), 52p.
- Cusco R.**, Guitian F., Aza S. de et al. Differentiation between hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate by means of micro-raman spectroscopy, J Europ Ceram Soc (1998), 18, p.1301-1305
- Dabbarh F.**, Lebugle A., Taitai A., et al., Influence du séchage sur la composition de phosphates de calcium carbonatées, analogues osseux, Ann Chim-Sci Mat (2000), 25, p.339-348
- Daculsi G.**, Menanteau J., Kerebel L.M., et al. Length and shape of enamel crystals, Calcified Tissue Int (1984), 36, p.550-555
- De Groot K.** Bioceramics of calcium phosphates, Boca Raton (FL) : CRC Press (1983), 9 (1), p.1-32
- Deptula A.**, Lada W., Olczak T., et al., Preparation of spherical powders of hydroxyapatite by sol-gel process, J Non-Cryst Solids (1992), 147-148, p.537-541
- Destainville A.**, Champion E., Bernache-Assollant D. et al. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate Materials, Chemistry and Physics (2003), 80(1), p.269-277
- Dickens B.**, Brown W.E., Crystallographic studies of the role of Mg as a stabilizing impurity in beta- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, I. The crystal structure of pure beta- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, S.L.W., J Solid State Chem (1974), 10(3), p.232-248
- Donazzon B.**, Céramiques apatitiques basse température : élaboration - propriétés, Thèse de doctorat d'état, Toulouse, INP Toulouse (1998)
- Dreesman H.**, Über Knochenplombierung, Beitr Kil Chir (1892), 9, p.804-810
- Driessens F.C.M.**, Verbeek R.M.H., Relation between physico-chemical solubility and biodegradability of calcium phosphates, In : de Putter C., de Lange G.L., de Groot K., et al. Eds. Implant materials in biofunction, Advances in biomaterials, Amsterdam : Elsevier (1988), p.105-111

- Drouet C.**, Largeot C., Raimbeaux G. et al. Bioceramics : Spark Plasma Sintering (SPS) of calcium phosphates, Adv Sci Tech (2006), 49, p.45-50
- Drouet C.**, Carayon M.-T., Combes C., et al. Surface enrichment of biomimetic apatites with biologically-active ions Mg²⁺ and Sr²⁺ : a preamble to the activation of bone repair materials, Mat Sci Eng C (2008), 28(8), p.1544-1550
- Drouet C.**, Bosc F., Banu M. et al. Nanocrystalline apatites : from powders to biomaterials, Powder Technol (2009), 190, p.118-122
- Eanes E.D.**, Meyer J.L., The maturation of crystalline calcium phosphate in aqueous suspensions at physiological pH, Calcified Tissue Int (1977), 23, p.259-269
- Eanes E.D.**, Enamel apatite : Chemistry, Structure and Properties, J Dent Res (1979), 58, p.829-836
- Eichert D.**, Etude de la réactivité de surface d'apatites de synthèse nanocristallines, Thèse de doctorat de l'université, Toulouse, INP Toulouse (2001), 191p.
- Eichert D.**, Sfihi H., Banu M., et al. Surface structure of nanocrystalline apatites for bioceramics and coating, Proceeding of CIMTEC, Materials in clinical applications (2002), Faenza, Italie
- Eichert D.**, Drouet C., Sfihi H., et al., Nanocrystalline apatite-based biomaterials : synthesis, processing and characterization, In : Bergeron E., Combes C., Drouet C., et al., Biomaterials Research Advances, Ed. JB Kendall, New York : Nova Science Publishers (2007), p. 93-143
- Elliott J.C.**, Holcomb D.W., Young R.A., Infrared determination of the degree of substitution of hydroxyl by carbonate ions in human dental enamel , Calcified Tissue Int (1985), 37(4), p.372-375
- Elliott J.C.**, Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates, 18^{ème} éd., Amsterdam, New York : Elsevier (1994) Studies in Inorganic Chemistry, 387p.
- Eshtiagh-Hosseini H.**, Houssaindokht M.R., Chahkandhi M., et al. Preparation of anhydrous dicacium phosphate, DCPA, through sol-gel process, identification and phase transformation evaluation, J Non-Cryst Solids (2008), 354, p.3854-3857
- Farlay D.**, Panczer G., Rey C., et al. Mineral maturity and cristallinity index are distinct characteristics of bone mineral, J Bone Miner Metab (2010), 28(4), 433-445
- Fowler B.O.**, Moreno E.C., Brown W.E., Infrared spectra of hydroxyapatite, octocalcium phosphate and pyrolysed octocalcium phosphate, Arch Oral Biol (1960), 11, p.477-496
- Fowler B.O.**, Moreno E.C., Brown W.E., Infrared spectra of hydroxyapatite, octocalcium phosphate and pyrolysed calcium phosphate, Arch Oral Biol (1966), 11, p.477-492

- Fowler B.O.**, Infrared studies of apatites I. Vibrational assignments for calcium, strontium, and barium hydroxyapatite utilizing isotopic substitution, Inorg Chem (1974), 13 (1), p.194-207
- Fowler B.O.**, Markovic M., Brown W.E., Octocalcium phosphate 3: Infrared and Raman vibrational spectra, Chem Mater (1993), 5, p.1417-1423
- Frèche M.**, Heughebaert J.C., Calcium phosphate precipitation in the 60-80°C range, J Cryst Growth (1989), 94, p.947-954
- Gee A.**, Deitz V.R., Determination of phosphate by differential spectrophotometry, Anal Chem (1953), 25(9), p.1320-1324
- Gee A.**, Deitz V.R., Pyrophosphate Formation upon Ignition of Precipitated Basic Calcium Phosphates, J Am Chem Soc (1955), 77(11), p.2961-2965
- German R.M.**, Messing G.L., Cornwall R.G., Sintering technology, New York : Marcel Dekker Inc (1996), 560p.
- Gibson I.R.**, Huang J., Best S.M. et al. Enhanced in vitro cell activity and surface apatite layer formation on novel silicon-substituted hydroxyapatites, Bioceramics, Nara, Japan (1999), 12, p.191-194
- Gibson I.R.**, Rehman I., Best S.M., et al, Characterization of the transformation from calcium-deficient apatite to β -tricalcium phosphate, J Mater Sci-Mater M (2000), 11(12), p.799-804
- Greffield D.J.**, Termine J.D., Eanes E.D., A chemical study of apatites prepared by hydrolysis of amorphous calcium phosphate in carbonate-containing aqueous solution, Calc Tiss Res (1974) 14, p. 131-138
- Green J.**, The physicochemical structure of bone : cellular and noncellular elements, Miner Electrol metab (1994), 20, p.7-15
- Grossin D.**, Rollin-Martinet S., Estournès C. et al. Biomimetic apatite sintered at very low temperature by spark plasma sintering : physico-chemistry and microstructure aspects, Acta Biomater (2010), 6, p.577-585
- Grynopas M.D.**, Bonar L.C., Glimcher M.J., X-ray diffraction radial distribution function studies of bone mineral and synthetic calcium phosphate, J Mater Sci (1984), 19, p.723-736
- Habibovic P.**, Kruyt M.C., Juhl M.V., et al. Comparative in vivo study of six hydroxyapatite-based bone graft substitutes, J Orthopaed Res (2008), 26(10), p.1363-1370
- Halouani R.**, Bernache-Assollant D., Champion E., et al., Microstructure and related mechanical properties of hot pressed hydroxyapatite ceramics, J Mater Sci-Mater M (1994), 5, p.563-568

- Hench L.L.**, Splinter R.J., Allen W.C., et al. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials, J Biomed Mater Res (1972), 5 (1), p.117-141
- Hench L.L.**, Bioceramics : From concept to clinic, J. Am Ceram Soc (1991), 74 (7), p.1487-1510
- Hench L.L.**, Bioceramics, J Am Ceram Soc (1998), 81 (7), p.1705-1728
- Herzfeld J.**, Berger S.E., Sideband intensities in NMR spectra of samples spinning at the magic angle, J Chem Phys (1980), 73, p.6021-6030
- Heughebaert J. C.**, Contribution à l'étude de l'évolution des orthophosphates de calcium précipités amorphes en orthophosphates apatitiques, Thèse de doctorat d'état, Toulouse, INP Toulouse (1977), 148p.
- Hina A.**, Etude de la réactivité, en milieu aqueux, d'apatites phosphocalciques d'intérêt biologique, Thèse de doctorat de l'université, Toulouse, INP Toulouse (1996), 156p.
- Holliger J.O.**, Kleinschmidt J.C., The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials, J Craniofac Surg (1990), 1, p.60-68
- Honda H.**, Sanada Y., Inoue K., Diamond synthesis by electric discharge shock technique, Carbon (1964), 1 (2), p.127-128
- Hosemann R.**, Bagchi S.N., Direct analysis of diffraction by matter, Amsterdam : North Holland Publishing Company (1962), Acta Crystallogr (1964) 17, Book Review p.463-464
- Hulbert S.F.**, Bokros J.C., Hench L.L., et al. Ceramics in clinical applications : Past, present and future, In High Tech Ceramics, Ed. P. Vincenzini., Amsterdam : Elsevier (1987), p.189-213
- Hutmacher D.W.**, Schantz J.T., Lam C.X.F., et al. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective, J. Tissue Eng Regen M (2007), 1 (4), p.245-260
- Hsu J.**, Fox J.L., Higuchi W.I., et al. Metastable equilibrium solubility behavior of carbonated apatites, J. Colloid Interf. Sci. (1994), 167, p.414-423
- Inclan A.** The use of preserved bone grafts in orthopaedic surgery, J Bone Joint Surg (1942), 24, p.81-96
- Iqbal Z.**, Tomaselli V.P., Fahrenfeld O. et al. Polarized Raman scattering and low frequency infrared study of hydroxyapatite, J Phys Chem solids (1977), 38(8), p.923-927
- Jemal M.**, Ben Cherifa A., Khattech I., et al. Standard enthalpies of formation and mixing of hydroxy- and fluorapatites, Thermochim. Acta (1995), 259, p.13-21
- Jemal M.**, Thermochemistry and relative stability of apatite phosphates, Phosph. Res. Bull (2004), 15, p.119-124

- Joris S.J.**, Amberg C.H., The nature of deficiency in non-stoichiometric hydroxyapatites. II. Spectroscopic studies of calcium and strontium hydroxyapatites, J Phys Chem-US (1971), 75(20), p.3172-3178
- Kanazawa T.**, Inorganic phosphate materials (traduction russe), Tokyo et Amsterdam : Kodansha & Elsevier Science & Technology (1989), 288p.
- Kauppinen J.K.**, Moffatt D. J., Mantsch H.H., et al. Fourier self-deconvolution : A method for resolving intrinsically overlapped bands, Appl Spectrosc (1981), 35 (3), p.271-276
- Khor K.A.**, Yu L.G., Anderson O. et al. Effect of spark plasma sintering (SPS) on the microstructure and mechanical properties of randomly packed hollow sphere (RHS) cell wall, Materials Science & Engineering A (2003), 356(1-2), p.130-135
- Kim S.R.**, Lee J.H., Kim Y.T., et al., Synthesis of Si, Mg substituted hydroxyapatites and their sintering behaviors, Biomaterials (2003), 24, p.1389-1398
- Klee W.E.**, The Vibrational spectra of the phosphate ions in fluoroapatite, Z Kristallogr (1970) 131, p.95-102
- Klenke F.M.**, Liu Y., Yuan H., et al. Impact of pore size on the vascularization and osseointegration of ceramic bone substitutes in vivo, J Biomed Mater Res A (2008), 85(3), p.777-786
- Kokubo T.**, Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment, Acta Metall (1998), 46 (7), p.2519-2527
- Kokubo T.**, Hyung-Min K., Kawashita M., Novel bioactive materials with different mechanical properties, Biomaterials (2003), 24, p.2161-2175
- Kreidler E.R.**, Hummel F.A., Phase relations in the system SrO-P₂O₅ and the influence of water on the formation of Sr₄P₂O₉, Inorg Chem (1967), 6(5), p.884-891
- Kuhl G.**, Nebergall W.H., Hydrogenphosphat- und Carbonatapatite, Z. Anorg. Allg. Chem. (1963), 324, p.313-320
- Kurosawa H.**, Aoki H., Akao M., Tissue reactions to calcified graft, Biomaterials (1986), 7(2), p.132-136
- Labarthe J.C.**, BONEL G. et al. Sur la structure et les propriétés des apatites carbonatées de type B phospho-calciques, Annales de Chimie (1973), 8, p.289-301
- Lebugle A.**, Zahidi E., Bonel G., Effect of structure and composition on the thermal decomposition of calcium phosphates (Ca/P = 1,33), React Solid (1986), 2, p.151-161
- Lee K.J.**, Roper J.G., Wang J.C., Demineralized bone matrix and spinal arthrodesis, Spine J (2005), 5 (6), p.217S-223S
- LeGeros R.Z.**, Trautz O.R., Legeros J.P., et al. Carbonate Substitution in Apatite Structure (1), B Soc Chim Fr (1968), p.1712-1718

- LeGeros R.Z.**, Trautz O.R., Two types of substitution in the apatite structure, *Experientia* (1969), 24, p.5-7
- LeGeros R.Z.**, Bonel G, Legros R., Types of "H₂O" in human enamel and in precipitated apatites, *Calc Tiss Res* (1978), 26, p.111-118
- LeGeros R.Z.**, Taheri M.H., Quirolgico G.B. et al. Formation and stability of apatites : effects of some cationic substituents, In : 2nd Int Congr on Phosphorus Compounds (1980 ; Boston) p.89-103
- LeGeros R.Z.**, Incorporation of magnesium in synthetic and biological apatites : a preliminary report, In : Tooth enamel IV, Eds. Fearnhead R.W., Suga S., New York : Elsevier Publisher (1984), p.32-36
- LeGeros R.Z.**, Biological and synthesized apatites, In : Brown P.W., Constantz B. Eds, Hydroxyapatite and related materials (1994), Boca Raton, CRC Press, p.3-28
- Legros R.**, Balmain N., Bonel G., Structure and composition of the mineral phase of periosteal bone, *J Chem Res, Synopses* (1986), 1, p.8-9
- Legros R.**, Balmain N., Bonel G., Age related changes in mineral of rat and bovine cortical bone, *Calcified Tissue Int* (1987), 41, p.137-144
- Lemaître J.**, Biomatériaux : Introduction (2004) [en ligne], In : Laboratoire de Technologie des Poudres, Lausanne, Suisse, disponible sur : <http://ltp.epfl.ch/Cours/Biomat/BioMat-01.pdf> (Page consultée le 09/11/2010)
- Lemmens J.X.**, Operating instructions for Grindo-Sonic MK3 equipment, Note technique, 23p.
- Lerner E.**, Sarig S., Azoury R., Enhanced maturation of hydroxyapatite from aqueous solution using microwave irradiation, *J Mater Sci-Mater M* (1991), 2(3), p.138-141
- Leung Y.**, Walters M.A., LeGeros R.Z., Second derivated infrared spectra of hydroxyapatite, *Spectrochim Acta A.* (1990), 46, p.1453-1459
- Lim G.K.**, Wang J., Ng S.C., et al., Processing of hydroxyapatite via microemulsion and emulsion routes, *Biomaterials* (1997), 18, p.1433-1439
- Macarovici D.**, Les reactions de synthèse du phosphate tertiaire de calcium par voie thermique, *Revue Roumaine de chimie* (1966), 11, p.725-731
- Mackay A.L.**, A preliminary examination of the structure of α -Ca₃(PO₄)₂, *Acta Crystallogr* (1953), 6, p.743-744
- Mainard D.**, Les substituts osseux, In: Conférences d'enseignement 2007, Cahiers d'enseignement de la SOFCOT, 94, Collection dirigée par Duparc J., Ed. Elsevier Masson, p.298

- Marchat D.**, Fixation du cadmium par une hydroxyapatite phosphocalcique - Etude cinétique et thermodynamique, Thèse de doctorat, Limoges : Université de Limoges (2005), 206p
- Marieb E.N.**, Hoehn K., Bones and skeletal tissues, In : Human anatomy and physiology, 7^{ème} éd., Chapitre 6, San Francisco, Pearson Education Ed. (2007), p.175-201
- Markovic M.**, Fowler B.O., Tung M.S., Preparation and comprehensive characterization of a calcium hydroxyapatite reference material, J Res Natl Inst Stan (2004), 109(6), p.553-568
- Martin R.**, Brown P., Phase equilibria among acid calcium phosphates, J Am Ceram Soc (1997), 80, p.1263-1266
- Mattano L.A.**, Strategic approaches to osteoporosis in transplantation, Pediatr Transplant (2004), 8(suppl.5), p.51-55
- Mathew M.**, Schroeder L.W., Dickens B., et al. The crystal structure of α -Ca₃(PO₄)₂, Acta Crystall B-Stru (1977), B33(5), p.1325-1333
- Matsuo K.**, Irie N., Osteoclast-osteoblast communication, Arch Biochem Biophys (2008), 473(2), p.201-209
- McDowell H.**, Gregory T.M., Brown W.E., Solubility of Ca₅(PO₄)₃(OH) in the system Ca(OH)₂-H₃PO₄-H₂O at 5, 15, 25 and 37°C, J Res Natl Bur Stand (1977), 81A, p.273-281
- Meganck J.A.**, Baumann M.J., Case E.D., et al. Biaxial flexure testing of calcium phosphate bioceramics for use in tissue engineering, J Biomed Mater Res A (2005), 72A, 1, p.115-126
- Meyer J.L.**, Eanes E.D., A thermodynamic analysis of the amorphous to crystalline calcium phosphate transformation, Calcified Tissue Int (1978), 25(1), p.59-68
- Miller L.V.**, Vairavamurthy V., Chance M.R., et al. In situ analysis of mineral content and crystallinity in bone using infrared micro-spectroscopy of ν_4 PO₄³⁻ vibration, Biochim Biophys Acta (2001), 1527, p.11-19
- Monma H.**, Goto M., Behavior of the α - β -phase transformation in tricalcium phosphate, Yogyo Kyokaishi (1983), 91(10), p.473-475
- Montel G.**, The formation and the decomposition of fluoroapatite, Bulletin de la société de chimie Française (1953), 8-9, p.2923-2924
- Montel G.**, Bonel G. Heughebaert J.C. et al. New concepts in the composition, crystallization and growth of the mineral component of calcified tissue, J Cryst Growth (1981), 53, p.74-99
- Montrejaud M.**, Rey C. Trombe J.C. et al. Sur l'aptitude du réseau apatitique à fixer des molécules d'oxygène, Physico-chimie et cristallographie des apatites d'intérêt biologique, Colloque international (1973 ; Paris), Ed. du CNRS, p.481-486

- Mooney R.W.**, Aia M.A., Alkaline earth phosphates, Chem Rev (1961), 61, p.433-462
- Morrel R.**, Biaxial flexural strength testing of ceramic materials, In : A national measurement Good Practice Guide No. 12 (2007), 52p.
- Nakamoto K.**, Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds, Part A, Theory and Applications in Inorganic Chemistry, 5ème édition, New York : John Wiley & Sons Inc (1997), 408p.
- Navrotsky A.**, Progress and new directions in high temperature calorimetry revisited, Phys. Chem. Miner. (1997), 24, p.222-241
- Navrotsky A.**, Thermochemistry of Complex Perovskites, Aip. Conf. Proc. (2000), 535, p.288-296
- NBN B 15-230**, Essais des bétons, Essais non destructifs, Mesure de la Fréquence de résonance, (1976), 8p.
- Nelson G.A.**, Featherstone J.D.B., Preparation, analysis and characterization of carbonated apatites, Calcified Tissue Int (1982), 34S, p.69-81
- Nounah A.** Les Apatites Calcocadmées : Introduction, Localisation et Extraction du Cadmium, Thèse de doctorat, Toulouse, INP Toulouse (1992)
- Nurse R.W.**, Welch J.H., Gutt W., High temperature phase equilibria in the system dicalcium silicate tricalcium phosphate, J Chem Soc (1959), 220, p.1077-1083
- Ou-Yang H.**, Paschalis E.P., Boskey A.L., et al. Two-dimensional vibrational correlation spectroscopy of in vitro hydroxyapatite maturation, Biopolymers (2000), 57, 129-139
- Ouizat S.**, Barroug A., Legrouri A. et al. Adsorption of bovine serum albumin on poorly crystalline apatite : influence of maturation, Mater Res Bull (1999), 34 (14-15), p.2279-2289
- Osborn J.F.**, Newesely H., Dynamic aspect of the implant bone interface, In : Dental Implants, Heinke G. Ed., Munich : Carl Hanser Verlag (1980), 111, p.719-726
- Palard M.**, Synthèse et frittage d'hydroxyapatites phosphocalciques silicatées, Thèse de doctorat, Limoges : Université de Limoges (2007), 184p
- Pan Y.**, Fleet M.E., Compositions of the apatite-group minerals: substitution mechanisms and controlling factors, Review Mineral Geochem (2002), 48(1), p.13-49
- Paschalis E.P.**, Di Carlo E., Betts F., et al. FTIR microspectroscopic analysis of human osteonal bone, Calcified Tissue Int (1996), 59(6), p.480-487
- Pasteris J.D.**, Wopenka B., Freeman J.J. et al. Lack of OH in nanocrystalline apatite as a function of degree of atomic order: implication for bone and biomaterials, Biomaterials (2004), 25, p.229-238

- Pasteur L.**, Ann Chem Phys (1861), tome 64(5)
- Penel G.**, Leroy G., Rey C., et al. Infrared and Raman microspectroscopy study of fluor-fluor-hydroxy and hydroxyl-apatite powders, J Mater Sci-Mater M (1997), 8, p.271-276
- Penel G.**, Leroy G., Rey C., et al. MicroRaman spectral study of the PO₄ and CO₃ vibrational modes in synthetic and biological apatites, Calcified Tissue Int (1998), 63, p.475-481
- Piccoli P.M.**, Candela P.A., Apatite in igneous system, Review Mineral Geochem (2002), 48(1), p.255-292
- Poitout D.** Conservation et utilisation de l'os de banque, In : Cahiers d'enseignement de la SOFCOT (n°23, 1985, Paris), Expansion scientifique française, p.157-177
- Posner A.S.**, The mineral of bone, Clin Orthop Relat R (1985), 200, p.87-99
- Putnam R. L.**, Navrotsky, A., Woodfield, B. F., et al. Thermochemistry of Hf-Zirconolite, CaHfTi₂O₇, MRS Conference Proceedings 556, Pittsburgh, PA: Materials Research Society (1999), p. 11-18
- Rahaman M.N.**, Yao A.H., Bal B.S., et al. Ceramics for prosthetic hip and knee joint replacement, J Am Ceram Soc (2007) 90(7), p.1965-1988
- Ratner B.D.**, Hoffman A.S., Schoen F.J., et al. Biomaterials science: An introduction to materials in medicine, 2nd Ed., Boston, MA : Elsevier Academic Press (2004), 864p.
- Raulin**, Thèse d'état, Paris (1870)
- Raynaud S.**, Champion E., Bernache-Assollant D., Mechanical fatigue of hot pressed hydroxyapatite, Bioceramics (1997), 10, p.75-78
- Raynaud S.**, Champion E., Bernache-Assollant D., Characterization of hydroxyapatite-tricalcium phosphate bioceramics issued from Ca-deficient hydroxyapatite powders : influence of Ca/P ratio, Phosphorus Research Bulletin (1999), 10, p.214-219
- Raynaud S.**, Champion E., Bernache-Assollant D. et al. Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatites using X-ray diffractometry, J Am Ceram Soc (2001), 84(2), p.359-366
- Raynaud S.**, Champion E., Bernache-Assollant D. et al. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powder, Biomaterials (2002), 23(4), p.1065-1072
- Rey C.**, Trombe J.C. Montel G., Sur la fixation de la glycine dans le réseau des phosphates à structure apatitique, J Chem Res (1978), p.2401-2416
- Rey C.** Etude des relations entre apatites et composés moléculaires, Thèse de doctorat d'état, Toulouse, INP Toulouse (1984), 364p.

- Rey C., Collins B., Goehl T., et al., The carbonate environment in bone mineral : a resolution-enhanced Fourier transform infrared spectroscopy study, *Calcified Tissue Int* (1989), 45, p.157-164
- Rey C., Shimizu M., Collins B., et al. Resolution-enhanced Fourier transform infrared spectroscopy study of the environment of phosphate ions in the early deposits of a solid phase of calcium-phosphate in bone and enamel, and their evolution with Age. I : Investigations in the ν_4 PO₄ domain, *Calcified Tissue Int* (1990), 46, p.384-394
- Rey C., Renugopalakrishnan V., Collins B. et al. Fourier transform infrared spectroscopy study of the carbonate ions in bone mineral during aging, *Calcified.Tissue Int* (1991a), 49(4), p.251-258
- Rey C., Shimizu M., Collins B., et al. Resolution-enhanced Fourier transform infrared spectroscopy study of the environment of phosphate ions in the early deposits of a solid phase of calcium-phosphate in bone and enamel, and their evolution with Age: 2. Investigations in the ν_3 PO₄ domain, *Calcified Tissue Int* (1991b), 49(6), p.383-388
- Rey C., Hina A., Tofighi A. et al. Maturation of poorly crystalline apatites : chemical and structural aspects *in vivo* and *in vitro*, *Cell Mat* (1995), 5, p.345-356
- Rey C., Calcium phosphates for medical applications, In : Amjad Z., Ed. Calcium phosphates in biological and industrial systems, Boston USA : Kluwer Academic Publishers (1998), p.217-251
- Rey C., Combes C., Drouet C. et al. Chemical diversity of apatites, *Adv Sci Tech* (2006), 49, p.27-36
- Rey C., Combes C., Drouet C. et al. Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites : implication for biominerals and biomaterials, *Mater Sci Eng C* (2007), 27, p.198-205
- Rhee S.H., Synthesis of hydroxyapatite via mechanochemical treatment, *Biomaterials* (2002), 23(4), p.1147-1152
- Rho J.Y., Kuhn-Spearing L., Zioupos P., Mechanical properties and the hierarchical structure of bone, *Med Eng Phys* (1998), 20, p.92-102
- Robie R.A., Hemingway B.S., Thermodynamic properties of minerals and related substances at 298.15 K and 1 bar (10⁵ pascals) pressure and at higher temperatures, U.S. geological survey bull (1995), p.2131
- Rodrigues A., Comportement d'orthophosphates de calcium amorphes ou cristallisés en présence d'eau ; Toulouse, Thèse INP Toulouse (1998), 180p.
- Rodriguez-Lorenzo L.M., Vallet-Regi M., Controlled crystallization of calcium phosphate apatites, *Chem Mater* (2000), 12(8), p.2460-2465
- Royer A., Viguie J.C., Heughebaert M., et al., Stoichiometry of hydroxyapatite : influence on the flexural strength, *J Mater Sci-Mater M* (1992), 3, p.1-7

- Safronova T.V.,** Putlyaev V.I., Shekhirev M.A., et al. Composite ceramic containing a bioresorbable phase, *Biomaterials* (2007), 64(3), p.31-35
- Sauer G.R.,** Zunic W.B., Durig J.R., et al. Fourier transform Raman spectroscopy of synthetic and biological calcium phosphates, *Calcified Tissue Int* (1994), 54, p.414-420
- Scherrer P.,** Gött. Narch. (1918), 2, p.98
- Schmidt R.,** Comportement des matériaux dans les milieux biologiques : Applications en médecine et biotechnologie, 1^{ère} édition, *Traité des matériaux tome 7*, Lausanne, Presses polytechnique et universitaires romandes (1999), 455p.
- Schmitz J.P.,** Holliger J.O., The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions, *Clin Orthop Relat R* (1986), 205, p.299-308
- Sinitsyna O.V.,** Veresov A.G., Kovaleva E.S., et al., Synthesis of hydroxyapatite from hydrolysis of α -Ca₃(PO₄)₆, *Russ Chem B+* (2005), 54(1), p.79-86
- Slosarczyk A.,** Stobierska E., Paszkiewicz Z., et al. Calcium phosphate materials prepared from precipitates with various calcium:phosphorus molar ratios, *J Am Ceram Soc* (1996), 10, p.2539-2544
- Spinner S.,** Tefft W.E., A method for determining mechanical resonance frequencies and for calculating elastic moduli from these frequencies, in : *Proceedings ASTM Vol.61*, (1961), p. 1221-1238.
- Suchanek W.,** Yoshimura M., Processing and properties of hydroxyapatites-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants, *J Mater Res* (1998), 13 (1), p.94-117
- Tampieri A.,** Celotti G., Szontagh F., et al., Sintering and characterization of HA and TCP bioceramics with control of their strength and phase purity, *J Mater Sci-Mater M* (1997), 8, p.29-37
- Tang X.L.,** Xiao X.F. , Liu R.F., Structural characterization of siliconsubstituted hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method, *Mater Lett*, (2005), 59, p.3841-3846
- Taniguchi I.,** Lecture1. Intro. to biomaterials: Structural hierarchy in materials & biology, [en ligne], In : *MitOpenCourseware*, Massachusetts Institute of Technology, Etats-Unis, Site disponible sur <http://ocw.mit.edu/courses/materials-science-and-engineering/3-051j-materials-for-biomedical-applications-spring-2006/lecture-notes/> (2006) (Page consultée le 31/01/2011)
- Tanko L.V.,** Felsenberg D., Czerwinski E., et al. Oral weekly ibandronate prevents bone loss in postmenopausal woman, *J Intern Med* (2003), 254, p.159-167
- Termine J.D.,** Posner A.S., Infrared analysis of rat bone: age dependency of amorphous and crystalline fractions, *Science* (1966), 153, p.1523-1525

- Termine J.D.**, Eanes E.D., Greenfield D.J., et al. Hydrazine-deproteinated bone mineral. Physical and chemical properties, Calc Tiss Res (1973), 12(1), p.73-90
- Thomas T.**, Martin A., Lafage-Proust M.-H., Physiologie du tissu osseux, Encycl Méd Chir (EMC) (2008), 14-002-B-10
- Tochon-Danguy**, Contribution à l'étude physicochimique de la substance minérale dans les tissus calcifiés, Thèse de doctorat de l'université, Université de Paris VII (1979)
- Toppets V.**, Pastoret V., De Behr V., et al., Morphologie, croissance et remaniement du tissu osseux, Les annales de Médecine Vétérinaire (2004), 148(1), p.1-13
- Trombe J.C.**, Contribution à l'étude de la décomposition et de la réactivité de certaines apatites hydroxylées, carbonatées ou fluorées alcalino-terreuses, Thèse de doctorat d'état, Toulouse, INP Toulouse (1972), 194p.
- Trombe J.C.**, Montel G., Sur le spectre d'absorption infrarouge des apatites dont les tunnels contiennent des ions bivalents et des lacunes, CR Acad Sci II C (1973), 276, p.1271-1274
- Ushakov S.**, Helean K.B., Navrotsky A., et al. Thermochemistry of rare-earth orthophosphates, J. Mater. Res. (2001), 16, p.2623-2633
- Vallet-Regi M.**, Ragel V., Roman J., et al., Texture evolution of SnO₂ synthesized by pyrolysis of an aerosol, J Mater Res (1993), 8 (1), p.138-144
- Vallet-Regi M.**, Gonzalez-Calbet J.M., Calcium phosphates as substitution of bone tissues, Prog Solid State Ch (2004), 32, p.1-31
- Van Landuyt P.**, Li F., Keustermans J.P., et al. The influence of high sintering temperatures on the mechanical properties of hydroxyapatite, J Mater Sci-Mater M (1995), 6, p.8-13
- Vogel W.**, Hosemann R., Evaluation of paracrystalline distortions from line broadening, Acta Crystallogr (1970), A26, p.272-277
- Wagoner Johnson A. J.**, Herschler B.A., A review of the mechanical behaviour of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair, Acta Biomaterialia (2011), 7, p.16-30
- Webb N.C.**, The crystal structure of β -Ca₂P₂O₇, Acta Crystallogr (1966), 21, p.942-948
- Williams D.F.**, Definitions in Biomaterials, In : Progress in biomedical engineering Vol 4, New York, 1987 : Elsevier, 72p.
- Wilson C.E.**, Kruyt M.C., de Bruijn J.D., et al. A new in vivo screening model for posterior spinal bone formation: comparison of ten calcium phosphate ceramic material treatments, Biomaterials (2006), 27(3), p.302-314
- Winand L.**, Etude physico-chimique du phosphate tricalcique hydrate et de l'hydroxylapatite, Ann Chim (1961), Paris : 13^{ème} Ed., 6, p.951-967

- Winston H.**, Halford R.S., Motions of molecules in condensed systems: V. Classification of motions and selection rules for spectra according to space symmetry, J Chem Phys (1949), 17(7), p.607-616
- Wu Y.**, Glimcher M.J., Rey C., et al., Unique protonated group in bone mineral not present in synthetic calcium phosphates - Identification by phosphorous-31 solid state NMR spectroscopy, J Mol Biol (1994), 244, p.423-435
- Xiong Y.**, Fu Z.Y., Wang H., et al. Microstructure and IR transmittance of spark plasma sintering translucent AlN ceramics with CaF₂ additive, Mater Sci Eng B (2005), 123, p.57-62
- Yasuda H.Y.**, Mahara S., Umakoshi Y., et al. Microstructure and mechanical property of synthesized hydroxyapatite prepared by colloidal process, Biomaterials (2000), 21, p.2045-2049
- Young R.A.**, Some aspect of crystal structural modelling of biological apatites, In : Colloque international, Ed. du CNRS, Paris : Physico-Chimie et cristallographie des apatites d'intérêt biologique, (1973), p.21-40
- Young R.A.**, Some aspects of crystal structural modeling of biological apatites, Colloque international (230 ; 1975 ; Paris), Ed. du CNRS, p.21-39
- Young R.A.**, Holcomb D.W., Variability of hydroxyapatite preparations, Calcified Tissue Int (1982), 34, p.517-532
- Yubao L.**, Klein C.P.A.T., Xingdong Z., et al., Relationship between the colour change of hydroxyapatite and the trace element manganese, Biomaterials (1993), 14(13), p.969-972
- Zahidi E.**, Etude du système phosphate de calcium-amino, 2 éthyl phosphate de calcium, en milieu eau/ethanol, Thèse de doctorat d'état, Toulouse, INP Toulouse (1984)
- Zahidi E.**, Lebugle A., Bonel G., Sur une nouvelle classe de matériaux pour prothèses osseuses ou dentaires, B Soc Chim Fr (1985), 4, p.523-527
- Zhu X.D.**, Fan H.S., Xiao Y.M., et al. Effect of surface structure on protein adsorption to biphasic calcium-phosphate ceramics in vitro and in vivo, Acta Biomater (2009), 5(4), p.1311-1318
- Zou S.**, Huang J., Best S., et al. Crystal imperfection studies of pure and silicon substituted hydroxyapatite using Raman and XRD, J Mater Sci-Mater M (2005), 15, p.1143-1148

Mots clés : Apatite phosphocalcique ; Biocéramique nanocristalline ; Biomimétisme ; Frittage flash (*Spark plasma sintering, SPS*) ; Consolidation basse température

Résumé

Des apatites nanocristallines biomimétiques (ANB), de formule $\text{Ca}_{10-x-z}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x-2z}, (\text{H}_2\text{O})_n$, ont été synthétisées par précipitation en milieu aqueux puis consolidées par frittage flash (*Spark Plasma Sintering, SPS*). Elles sont composées de nanocristaux munis d'un cœur apatitique entouré d'une couche phosphocalcique hydratée de surface contenant des ions phosphate, hydrogénophosphate et calcium "non-apatitiques" mobiles et facilement échangeables, qui leur confère une forte réactivité. La composition chimique, la structure et la morphologie des nanocristaux synthétisés évoluent avec le vieillissement en solution et ils tendent vers une plus grande stabilité thermodynamique. Bien que la teneur en espèces chimiques non-apatitiques diminue dans la couche hydratée, leur présence reste importante même après une longue maturation.

Le procédé de frittage par *SPS* à basse température (150°C) de ces ANB a permis d'élaborer des céramiques poreuses fortement cohésives. Le phénomène de frittage ainsi observé suggère une consolidation de type "fusion cristalline" qui met à contribution la forte réactivité de surface des nanocristaux *via* leur couche hydratée de surface. Le module d'élasticité (12 à 35 GPa) et la résistance à la rupture en flexion (environ 10 MPa) de ces céramiques sont voisins de ceux du minéral osseux. De plus, la taille nanométrique des cristaux, bénéfique à la biorésorption après implantation en site osseux, et la présence d'espèces ioniques non-apatitiques mobiles favorable à la bioactivité sont préservées après *SPS*. Ces propriétés offrent aux céramiques d'ANB un potentiel particulièrement intéressant pour des applications en ingénierie tissulaire osseuse.

Keywords: Calcium phosphate apatite ; Nanocrystalline bioceramic ; Biomimetism ; Spark Plasma Sintering (SPS) ; Low temperature consolidation

Abstract

Biomimetic nanocrystalline apatites (BNA) $\text{Ca}_{10-x-z}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x-2z}, (\text{H}_2\text{O})_n$ were synthesized by precipitation in aqueous medium, then consolidated by Spark Plasma Sintering (or SPS). They are constituted of nanocrystals involving an apatitic core and a surface phospho-calcic hydrated layer containing "non-apatitic" phosphate, hydrogenphosphate and calcium ions, highly "labile" (easily exchangeable), responsible for their high reactivity. The chemical composition, structure and morphology of the nanocrystals of BNA evolve upon maturation in solution, and they tend toward greater thermodynamic stability. Although the amount of non-apatitic chemical species decreases upon maturation, their presence is still significant after a long maturation.

Low temperature (150°C) SPS sintering of matured BNA allowed us to obtain highly-cohesive, porous ceramics. The sintering phenomenon observed in such conditions suggests a "crystal fusion" consolidation process, involving the high surface reactivity of the nanocrystals by way of their hydrated layer. The mechanical properties (elastic modulus between 12 and 35 GPa, flexure strength close to 10 MPa) of the ceramics obtained are close to those of bone mineral. Moreover, the nanometer-scale dimensions of the crystals, beneficial to bioresorption after implantation in osseous site, as well as the presence of labile non-apatitic ionic species, favorable to bioactivity, are preserved after SPS. These properties confer to BNA ceramics a particularly promising potential in view of applications in the field of bone tissue engineering.