



Synthèse, caractérisations structurales par spectroscopie et mise en forme d'hydroxyapatites dopées au cuivre ou au fer

Tiphaine Bazin

► To cite this version:

Tiphaine Bazin. Synthèse, caractérisations structurales par spectroscopie et mise en forme d'hydroxyapatites dopées au cuivre ou au fer. Matériaux. Université de Bordeaux, 2020. Français. NNT : 2020BORD0118 . tel-03784315

HAL Id: tel-03784315

<https://theses.hal.science/tel-03784315>

Submitted on 23 Sep 2022

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.

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE

SPÉCIALITÉ PHYSICO CHIMIE DE LA MATIERE CONDENSEE

Par Tiphaine BAZIN

**SYNTHESE, CARACTÉRISATIONS STRUCTURALES
PAR SPECTROSCOPIES ET MISE EN FORME
D'HYDROXYAPATITES DOPÉES AU CUIVRE OU AU FER**

Sous la direction de : Manuel GAUDON, Eric CHAMPION,
Alain DEMOURGUES et Isabelle JULIEN

Soutenue le 22/09/2020

Membres du jury :

M. MAGLIONE Mario	Directeur de recherche - ICMCB, Bordeaux	Président
M. STIEVANO Lorenzo	Professeur - ICGM, Montpellier	Rapporteur
Mme COMBES Christèle	Professeur - CIRIMAT, Toulouse	Rapporteur
M. GRENECHE Jean-Marc	Directeur de recherche - IMMM, Le Mans	Examineur
Mme JULIEN Isabelle	Maître de conférences - IRCER, Limoges	Examineur
M. DEMOURGUES Alain	Directeur de recherche - ICMCB, Bordeaux	Examineur
M. CHAMPION Eric	Professeur - IRCER, Limoges	Examineur
M. GAUDON Manuel	Maître de conférences - ICMCB, Bordeaux	Directeur de thèse
M. DUTTINE Mathieu	Ingénieur d'études – ICMCB, Bordeaux	Invité

Remerciements

Ce travail de recherche a été réalisé en collaboration entre l'Institut de Chimie de la Matière Condensée de Bordeaux (ICMCB) et l'Institut de Recherche sur les Céramiques (IRCER) à Limoges. Je tiens donc d'abord à remercier les directeurs des deux laboratoires Messieurs Mario Maglione (ICMCB) et Thierry Chartier, puis Philippe Thomas (IRCER) pour m'avoir accueillie au sein de leur institut respectif. Je remercie également la région Nouvelle Aquitaine et le Labex Sigma-Lim pour le financement de ces travaux de thèse.

Merci aux membres du jury, Monsieur Lorenzo Stievano, Madame Christèle Combes, Monsieur Jean-Marc Grenèche et Monsieur Mario Maglione pour avoir accepté de juger ce travail et pour les discussions enrichissantes lors de la soutenance.

Je tiens particulièrement à remercier mes encadrants de thèse Manuel Gaudon, Eric Champion, Alain Demourgues et Isabelle Julien pour leur disponibilité et le savoir qu'ils m'ont transmis, chacun dans leur domaine. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous.

Merci Manu pour ton suivi régulier et ton sens pédagogique, je me suis sentie vraiment soutenue alors que je nageais dans cet océan de la chimie du solide ! J'ai aussi apprécié ton esprit de synthèse et de mise en avant des résultats dont je me souviendrai pour mes rapports et présentations futurs. Et merci pour toutes ces « Gaudon » totalement incroyables que tu as partagées avec nous !

Merci Eric pour vos précieux conseils scientifiques sur l'élaboration des biocéramiques qui m'ont permis d'apprendre de nombreuses choses dans ce domaine que j'apprécie particulièrement.

Merci Alain pour ton énergie, ta passion, ta volonté de toujours aller au fond des choses et de te démenier pour tes étudiants, que ce soit sur le plan scientifique (les mesures EXAFS faites au Brésil !) ou personnel (les cafouillages du début de contrat, ta volonté de m'aider pour trouver un travail en fin de thèse).

Merci Isa pour ta gentillesse et ta bienveillance qui m'ont permis de me sentir immédiatement bien et en confiance au début de ma thèse, à mon arrivée à Limoges.

Un grand merci à Amandine Magnaudeix et Mathieu Duttine, qui ont eu une part active dans cette thèse, pour tout le temps qu'ils m'ont accordé, que ce soit au niveau des expériences ou des explications, et pour avoir toujours répondu à mes questions à répétition avec bienveillance

et compréhension. J'ajouterai merci Amandine pour ta bonne humeur, ta gentillesse et pour avoir effectué des expériences supplémentaires lorsque j'étais à Bordeaux et merci Mathieu pour avoir analysé les milliards d'échantillons que je t'amenais et pour le temps que tu as passé à simuler les graphs !

Je remercie grandement toutes les personnes qui ont contribué à ce projet. Dans un premier temps, je tiens particulièrement à remercier Emeline Renaudie pour m'avoir formée sur les synthèses en petit réacteur, pour les longues heures passées devant le gros réacteur et pour avoir toujours répondu présente quand j'en avais besoin. Merci aussi à Marion Vandenhende (traitements thermiques), Marina Soustre (caractérisations morphologiques et thermiques), Richard Mayet et Eric Lebraud (DRX), Julie Cornette (FTIR), Yann Launay, Eloise Hyvernaud et Sonia Buffière (MEB) pour la formation sur les équipements et pour leurs conseils. Je remercie Pierre Carles pour avoir réalisé les cartographies STEM-EDX ainsi que Etienne Laborde et Christine Labrugère pour avoir effectué les analyses XPS. Enfin, merci à Santiago Figueroa (LNLS, Brésil) et Carmelo Prestipino (Université de Rennes I) pour les mesures et la simulation des données XANES-EXAFS.

Je remercie tous les membres de l'équipe biocéramique à Limoges, notamment Chantal et Patricia pour leurs conseils, Nathalie et Nadia pour avoir animé le bureau ! Merci aussi à tous les membres du groupe 3 à Bordeaux et plus particulièrement Etienne, Alex, Inès, Clément, François, Florian, Réda, Théo, Sandrine, Fouad pour les nombreuses pauses cafés/gâteaux et pour avoir rendu la vie d'équipe bien agréable.

Merci à tous ceux qui ont apporté de la bonne humeur au labo : impossible de ne pas rementionner le fameux trio Emeline, Marion et Marina ainsi que Sébastien Chenu, Jean-René Duclère, Nicolas Penin et Sébastien Fourcade.

Je tiens à remercier les teams des doctorants limougeauds et bordelais sans qui ces trois années n'auraient pas été les mêmes et avec qui j'ai noué de belles amitiés, particulièrement Camille, Cassandre, Léna, Lucas, Mariana, Simon B. ainsi que Antho, Baptiste, Béa (co-bureau en or), Elise B., Erwan, Laura, Nico, Thomas et Simon GG (merci pour cette belle année qui m'a beaucoup fait évoluer). Merci aussi à Romain, Elise W., Lucile et surtout Maeva et Amaury (team Rennes) pour tous ces bons moments passés ensemble et pour leur amitié à toute épreuve.

Je remercie enfin ma famille qui m'a toujours soutenue et qui est venue en force lors de ma soutenance malgré les conditions particulières.

Table des matières

Abréviations.....	1
Introduction.....	1
Chapitre I. Etude bibliographique	7
I.1. Reconstruction osseuse naturelle ou artificielle	7
I.1.1. Le tissu osseux.....	7
I.1.2. Greffes osseuses	11
I.1.3. Substituts osseux synthétiques	12
I.2. Hydroxyapatite : propriétés et substitutions.....	16
I.2.1. Généralités sur l’hydroxyapatite.....	16
I.2.2. Substitutions dans l’hydroxyapatite	22
I.3. Mise en forme par frittage laser sélectif.....	35
I.3.1. Intérêt de la fabrication additive.....	35
I.3.2. Principe du frittage laser sélectif (SLS).....	37
I.3.3. Mécanismes de frittage.....	38
I.3.4. Paramètres influençant la microstructure de la pièce 3D	39
I.3.5. Limites	43
I.3.6. Exemples de frittage laser sélectif de phosphates de calcium	45
I.4. Conclusions et objectifs de l’étude.....	49
Chapitre II. Techniques expérimentales	52
II.1. Elaboration des HA dopées au cuivre ou au fer.....	52
II.1.1. Synthèse par coprécipitation et calcinations	52
II.1.2. Synthèse par voie solide et frittage	54
II.2. Caractérisations des HA dopées au cuivre ou au fer.....	56
II.2.1. Diffraction des rayons X (DRX)	56
II.2.2. Analyses thermiques	60

II.2.3. Analyses chimiques.....	60
II.2.4. Analyses morphologiques	61
II.2.5. Microscopie électronique	62
II.2.6. Spectroscopies optiques	62
II.2.7. Caractérisation du degré d'oxydation et de l'environnement de l'élément dopant	63
II.2.8. Caractérisations des poudres initiales	70
II.3. Evaluation des propriétés biologiques des HA dopées au cuivre	73
II.3.1. Préparation des substrats céramiques.....	73
II.3.2. Culture cellulaire et ensemencement	73
II.3.3. Viabilité cellulaire	74
II.3.4. Différenciation cellulaire.....	75
II.3.5. Statistiques	77
II.4. Mise en forme par frittage laser sélectif	77
II.4.1. Préparation des suspensions.....	77
II.4.2. Dip coating sur lame de verre	78
II.4.3. Frittage laser sélectif	79
Chapitre III. Hydroxyapatites substituées au cuivre.....	84
III.1. Hydroxyapatites substituées au cuivre par coprécipitation	84
III.1.1. Synthèse à partir des nitrates de calcium et de cuivre	84
III.1.2. Synthèse à partir d'hydroxyde de calcium et de nitrate de cuivre	100
III.2. Hydroxyapatites substituées au cuivre synthétisées par voie solide.....	104
III.2.1. Réaction par voie solide entre l'HA et CuO	104
III.2.2. Caractérisations des hydroxyapatites dopées au cuivre synthétisées par voie solide.....	109
III.2.3. Frittage des HA dopées au cuivre synthétisées par voie solide	123
III.3. Conclusions	128
Chapitre IV. Hydroxyapatites substituées au fer.....	132

IV.1. Hydroxyapatites substituées au fer synthétisées par coprécipitation	132
IV.1.1. Hydroxyapatites substituées au fer(III)	132
IV.1.2. Hydroxyapatites substituées au fer(II).....	139
IV.2. Hydroxyapatites substituées au fer synthétisées par voie solide.....	144
IV.2.1. Détermination de la température de réaction HA-précurseurs de fer	145
IV.2.2. Hydroxyapatites substituées au fer(III)	148
IV.2.3. Hydroxyapatites substituées au fer(II) et au fer(III)	157
IV.2.4. Hydroxyapatites substituées au fer(II).....	160
IV.2.5. Comparaison optique et structurale entre les phases d'HA substituées au fer à différents degrés d'oxydation	166
IV.2.6. Frittage des HA substituées au fer par voie solide	175
IV.3. Conclusions	181
Chapitre V. Applications des HA substituées au cuivre.....	186
V.1. Evaluation des propriétés biologiques des céramiques CuHA	186
V.1.1. Evaluation de la biocompatibilité	186
V.1.2. Evaluation de la différenciation cellulaire	189
V.2. Mise en forme d'HA substituée au cuivre par SLS	192
V.2.1. Frittage-réactif d'un substrat HA-CuO par SLS	193
V.2.2. Elaboration de couches minces de CuHA par dip-coating	195
V.2.3. Frittage laser sélectif (SLS)	196
V.3. Conclusions	207
Conclusion générale	210
Annexes	216
Bibliographie.....	224

Abréviations

ALP : phosphatase alcaline

ARNm : acide ribonucléique messager

BMP : bone morphogenic protein / protéine de la morphogénèse osseuse

CAO : conception assistée par ordinateur

COL I : collagène de type I

DM : differentiation medium / milieu différenciant

DO : degré d'oxydation

CuHA : hydroxyapatite dopée au cuivre

FeHA : hydroxyapatite dopée au fer

GM : growth medium / milieu de croissance (ou milieu non différenciant)

HA : hydroxyapatite

MEC : matrice extracellulaire

OPN : ostéopontine

RUNX2 : facteur de transcription lié à Runt 2

SLM : selective laser melting / fusion sélective par laser

SLS : selective laser sintering / frittage laser sélectif

TCP : phosphate tricalcique

VEGF : vascular endothelial growth factor / facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Introduction

Le tissu osseux est un organe biologique qui se régénère en permanence de façon à conserver l'intégrité du squelette. Ce remodelage osseux permet une réparation tissulaire lors de fractures mais il peut s'avérer insuffisant dans le cas de lésions importantes. La chirurgie moderne permet, lorsque c'est nécessaire de remplacer des tissus osseux endommagés par des matériaux de substitution naturels ou synthétiques. Parmi les substituts synthétiques, les phosphates de calcium sont les plus couramment utilisés du fait de leur composition chimique proche de celle de l'os [1]–[3]. Ils présentent une excellente biocompatibilité et sont bioactifs. L'hydroxyapatite (HA), de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, a notamment fait l'objet de nombreuses études [4]–[6]. Cependant, ses propriétés ostéoconductrices ne permettent pas une recolonisation cellulaire et vasculaire efficace au sein d'implants poreux de grande dimension. Au cours des dernières années, de nombreuses recherches se sont donc portées sur l'amélioration des propriétés biologiques de l'HA. La création d'une architecture contrôlée et optimisée au sein des implants, leur fonctionnalisation de surface par des protéines adéquates ou encore le dopage de l'HA par des éléments chimiques variés font partie des approches envisagées pour conférer des propriétés ostéoinductrices, angiogéniques ou ostéogéniques au biomatériau [7]–[9].

La reconstruction de la zone endommagée peut nécessiter la conception de substituts osseux avec une forme adaptée à l'anatomie du patient. La fabrication additive par CAO/FAO (conception/fabrication assistée par ordinateur) s'est largement développée ces dernières années pour mettre en forme des pièces de géométries complexes et notamment d'implants pour le domaine biomédical [10]–[13]. La photopolymérisation en cuve, ou stéréolithographie, est la principale technique utilisée pour concevoir des pièces céramiques de grandes dimensions avec une haute résolution [14], [15]. Cette technique nécessite la préparation d'une suspension photosensible avant la mise en forme ainsi que des traitements thermiques postérieurs afin d'éliminer les produits organiques et de densifier la pièce finale. Des pièces frittées peuvent également être obtenues directement à partir d'un lit de poudre sans traitement thermique postérieur grâce au frittage laser sélectif (ou Selective Laser Sintering, SLS, en anglais). Ce procédé qui permet un gain de temps et le design d'architectures complexes s'est largement développé pour les métaux et polymères. Il nécessite que la poudre absorbe une partie du rayonnement laser pour que l'échauffement local soit efficace. Pour être applicable aux

matériaux céramiques, celles-ci doivent posséder cette propriété ce qui n'est en général pas le cas avec les longueurs d'ondes habituelles des sources laser utilisables.

Ce projet cherche à répondre à un double objectif : stimuler la recolonisation cellulaire et vasculaire au sein d'implants en HA de grandes dimensions en utilisant le dopage par des ions métalliques et ouvrir la porte à la conception de pièces 3D en HA par SLS. Pour répondre à ces problématiques, l'hydroxyapatite est dopée avec des éléments de transition susceptibles de conférer aux céramiques à la fois des propriétés biologiques intéressantes et responsables de phénomènes d'absorption à la longueur d'onde du laser (1 μm dans le cas présent). Le choix des dopants s'est tourné vers le cuivre et le fer. Le cuivre, reconnu pour ses propriétés antibactériennes, est étudié en vue de limiter les risques d'infections lors de l'implantation de substituts osseux synthétiques [16], [17]. Il possède également des propriétés angiogéniques, c'est-à-dire qu'il favorise la vascularisation au sein des substituts osseux en stimulant la sécrétion du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (Vascular Endothelial Growth Factor en anglais, VEGF), responsable de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins [18], [19]. Concernant le fer, il a récemment été prouvé que sa présence au sein de biomatériaux pourrait favoriser l'activité des cellules osseuses via des stimulations électromagnétiques [20], [21]. Concernant leur caractère chromophore, c'est-à-dire leur pouvoir absorbant, les ions fer (II) possèdent une bande d'absorption à la longueur d'onde souhaitée de 1 μm [22], [23] tandis que les ions cuivre (II) présentent une large bande d'absorption dans le proche infra-rouge [24]. Le dopage de l'HA par ces deux éléments améliorerait donc la capacité d'absorption de la poudre favorisant ainsi le frittage laser sélectif. Par ailleurs, la localisation et le degré d'oxydation de ces éléments de transition ($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ et $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) sont sujets à controverses dans la littérature et vont dépendre fortement de la voie de synthèse mise en œuvre. Cette thèse porte donc sur la synthèse, la caractérisation et la mise en forme par SLS d'hydroxyapatites dopées au cuivre ou au fer.

Le premier chapitre de ce mémoire est une étude bibliographique visant à expliciter le fonctionnement du tissu osseux et les propriétés essentielles que doivent avoir les substituts osseux synthétiques pour permettre une ostéointégration complète. L'étude se focalise ensuite sur l'hydroxyapatite et le rôle des substitutions ioniques sur les propriétés biologiques et structurales de ce matériau. Les cas du cuivre et du fer sont plus particulièrement détaillés. Le principe de la mise en forme par frittage laser sélectif ainsi que l'influence des paramètres de fabrication sur la microstructure des pièces 3D font l'objet de la dernière partie. Des exemples concrets de frittage laser de phosphates de calcium seront évoqués.

Le deuxième chapitre s'emploie à détailler les voies de synthèses et les techniques expérimentales utilisées pour élaborer et caractériser les HA dopées au cuivre ou au fer. Le principe de certaines techniques sera précisé pour une meilleure compréhension. Les tests biologiques effectuées ainsi que les méthodes utilisées pour la mise en forme par frittage laser seront également détaillés.

Le troisième et le quatrième chapitre sont consacrés à l'élaboration et la caractérisation des HA dopées respectivement au cuivre et au fer. L'influence des voies de synthèses utilisées sur la localisation de l'élément dopant et son état de valence et d'hybridation au sein de la structure apatitique est étudiée. Une attention particulière est portée sur la pureté des phases, leur stabilité thermique ainsi que sur la localisation du dopant dans la maille cristalline, son degré d'oxydation et le cas échéant la covalence des liaisons engagées avec les anions du proche environnement. C'est à partir de techniques de sondes locales, comme les spectroscopies RPE (Cu^{2+} , Fe^{3+}), RMN (^1H , ^{31}P), XANES-EXAFS (Cu) et Mössbauer (Fe), associées à une analyse précise par DRX, que nous pourrions obtenir toutes ces informations. Enfin, l'influence du dopage sur la frittabilité de l'HA est précisée.

Le dernier chapitre porte sur une première évaluation biologique *in vitro* des céramiques d'HA dopées au cuivre et sur la faisabilité de pièces 3D par frittage laser sélectif en vue d'une application en reconstruction osseuse. Dans une première partie, la biocompatibilité des céramiques dopées avec différents taux de cuivre ainsi que la capacité des cellules à se différencier en cellules osseuses à leur surface sont évaluées. La seconde partie présente les premiers essais de mise en forme par frittage laser sélectif direct. L'optimisation des paramètres du procédé sur des motifs 1D et 2D est détaillée avant un essai de frittage en 3D.

Chapitre I. Etude bibliographique

Chapitre I. Etude bibliographique

I.1. Reconstruction osseuse naturelle ou artificielle

I.1.1. Le tissu osseux

Dans notre organisme, l'os assure deux fonctions principales : une fonction biomécanique pour soutenir le corps et protéger les organes vitaux et une fonction biologique pour assurer le métabolisme phosphocalcique, le stockage des minéraux et la production des cellules sanguines. Cette diversité fonctionnelle implique une structure et une composition complexes de l'os.

I.1.1.1. Composition de l'os

Au niveau macroscopique, l'os est constitué d'une enveloppe externe dense (5 à 30% de porosité) et d'une partie interne spongieuse (30 à 90% de porosité, [25]), respectivement appelées os cortical et os trabéculaire. Au centre de l'os, se trouve la moelle osseuse (Figure 1). L'os cortical représente 85 à 90% de la masse totale du squelette et remplit principalement une fonction mécanique du fait de sa rigidité. L'os trabéculaire, qui ne représente qu'approximativement 15% du squelette, joue quant à lui un rôle important dans les échanges métaboliques [26]. Afin d'apporter l'oxygène et les nutriments nécessaires aux cellules constituant l'os, des canaux au sein de l'enveloppe externe permettent au réseau vasculaire (veines, artères) de traverser l'os de part en part. Les échanges entre les différents constituants de l'os nécessitent un réseau de porosité ouverte important et de pores de taille variable : de l'ordre du millimètre et plus pour la moelle osseuse, de quelques dizaines de microns pour le réseau vasculaire et nerveux et de quelques microns pour les cellules [27].

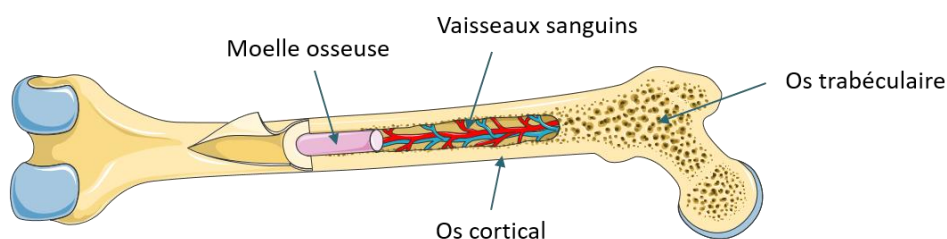


Figure 1 : Schéma de la coupe d'un os. Source : Servier Medical Art.

Au niveau microscopique, les os sont constitués d'une matrice extracellulaire renfermant un réseau cellulaire. La matrice extracellulaire est composée à 30% (en masse) d'une phase organique et à 70% d'une phase minérale. La phase organique contient 90% de collagène de type I, assemblé sous forme de fibrilles, qui confère à l'os une certaine élasticité et permet d'absorber partiellement les chocs. Elle contient également 10% de protéines non-collagéniques dont des facteurs de croissance tels que le VEGF ou la BMP (Bone Morphogenic Protein, protéine de la morphogénèse osseuse) [26]. La phase minérale apporte la rigidité nécessaire à l'os ; elle est majoritairement constituée d'une apatite phosphocalcique non stœchiométrique. L'apatite biologique du minéral osseux ne possède pas de composition fixe ; elle peut être assimilée à une hydroxyapatite carbonatée mal cristallisée pouvant subir diverses substitutions. Certains ions ou groupements sont présents en quantités non négligeables, comme les ions Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Sr^{2+} , Cl^- , F^- ou CO_3^{2-} . D'autres, en revanche, sont seulement présents à l'état de traces, comme les ions Si^{4+} , Zn^{2+} , ou Mn^{2+} . Le Tableau 1 recense les quantités massiques des éléments présents dans l'apatite biologique, constituant minéral du tissu osseux, et par comparaison, dans l'hydroxyapatite stœchiométrique (HA) de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Tableau 1 : Concentrations des éléments chimiques constituant l'os et l'hydroxyapatite [28]

Eléments	Unité concentration	Os	HA stœchiométrique
Calcium (Ca)	(% mass.)	34.80 – 36.60	39.6
Phosphore (P)		15.20 – 17.10	18.5
Carbonates (CO_3)		4.80 – 7.40	-
Sodium (Na)		0.90 – 1.00	-
Magnesium (Mg)		0.60 – 0.72	-
Chlore (Cl)		0.10 – 0.13	-
Fluore (F)		0.03 – 0.10	-
Potassium (K)		0.03 – 0.07	-
Strontium (Sr)		0 – 0.05	-
Silicium (Si)	(ppm)	0 - 500	-
Zinc (Zn)		0 – 39	-
Chrome (Cr)		0 – 0.33	-
Cobalt (Co)		0 – 0.025	-
Manganèse (Mn)		0 – 0.17	-

Dans la littérature, Legros *et al.* proposent ainsi une composition « moyenne » de l'os : $\text{Ca}_{8,3}\square_{1,7}(\text{PO}_4)_{4,3}(\text{HPO}_4, \text{CO}_3)_{1,7}(\text{OH}, 0,5\text{CO}_3)_{0,3}\square_{1,7}$ [29] tandis que Skinner *et al.* [30] prennent en considération tous les éléments de substitutions pouvant être présents dans l'HA : $(\text{Ca}, \text{Na}, \text{Mg}, \text{Sr}, \text{Pb}, \dots)_{10}(\text{PO}_4, \text{CO}_3, \text{SO}_4 \dots)_6(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl}, \text{CO}_3)_2$. Les concentrations exactes des éléments dopants varient d'un os à l'autre et également en fonction de l'âge des individus. La réactivité chimique élevée de l'apatite biologique est due à la taille des cristaux, typiquement de l'ordre de la dizaine de nanomètres, offrant ainsi un rapport surface/volume élevé.

Deux grands types de cellules, constituant le tissu osseux, assurent le renouvellement de la matrice minérale : les ostéoblastes et les ostéoclastes. Les ostéoclastes permettent localement à la matrice osseuse de se résorber tandis que les ostéoblastes participent, par opposition, à la synthèse de nouveaux tissus pour combler les zones résorbées. Les ostéoblastes sont ainsi à l'origine du processus d'ostéogenèse. Cette génération de nouveaux tissus confère à l'os des propriétés d'autoréparation le rendant capable de se régénérer en cas de lésion.

I.1.1.2. Remodelage osseux

Les millions d'unités fonctionnelles de remodelage contenues dans l'os sont à la base du remodelage osseux. Ces unités font intervenir les différents types de cellules osseuses : ostéoclastes, ostéoblastes et ostéocytes. Le remodelage constitue un cycle comprenant quatre phases distinctes : l'activation, la résorption, l'inversion et la formation (Figure 2). Les ostéocytes sont à l'origine de l'initiation du remodelage osseux. Ces cellules, capables de détecter des stimuli (contraintes mécaniques, lésions...), vont envoyer des messages chimiques et/ou électriques pour activer la différenciation des cellules souches du sang ou de la moelle osseuse en ostéoclastes. En réponse à ces messages, les cellules bordantes sécrètent des facteurs de croissance (FC) qui vont permettre la différenciation cellulaire des pré-ostéoclastes. Les cellules bordantes, qui recouvrent normalement la surface du tissu osseux, laissent alors libre accès aux ostéoclastes. Ces derniers vont activer la résorption du tissu osseux au niveau de la zone à remodeler ; cette zone est appelée lacune de résorption. Ils dissolvent la matrice minérale par acidification du milieu puis dégradent la matrice organique sous l'action d'enzymes. Une fois le travail des ostéoclastes terminé, ils meurent par apoptose. Les macrophages activent alors la différenciation des cellules pré-ostéoblastiques en ostéoblastes via la sécrétion de facteurs de croissance : c'est la phase d'inversion. Les ostéoblastes assurent ensuite la formation de la matrice osseuse en deux temps. Une nouvelle matrice collagénique est d'abord produite. Cette matrice extracellulaire non minéralisée (MEC) est appelée ostéoïde. Sa minéralisation se fait dans un deuxième temps à la jonction entre l'ostéoïde et le tissu osseux déjà existant. Des

cristaux d'hydroxyapatite se déposent entre les fibres de collagène ce qui confère à l'os sa résistance à la rupture, en plus de sa résistance à l'étirement. Cette phase de formation dure environ trois mois. Lors de la formation du nouveau tissu osseux, certains ostéoblastes deviennent des ostéocytes en s'emmurant dans la matrice osseuse qu'ils viennent de synthétiser tandis que d'autres deviennent des cellules bordantes. Un réseau de canaux, qui s'étend entre les cellules bordantes et les ostéocytes, permet la circulation de nutriments, minéraux et autres molécules entre la surface et l'os profond. On entre alors dans une phase de repos, appelée quiescence, jusqu'à ce qu'un nouveau stimulus engendre un nouveau cycle de remodelage [26], [31], [32].

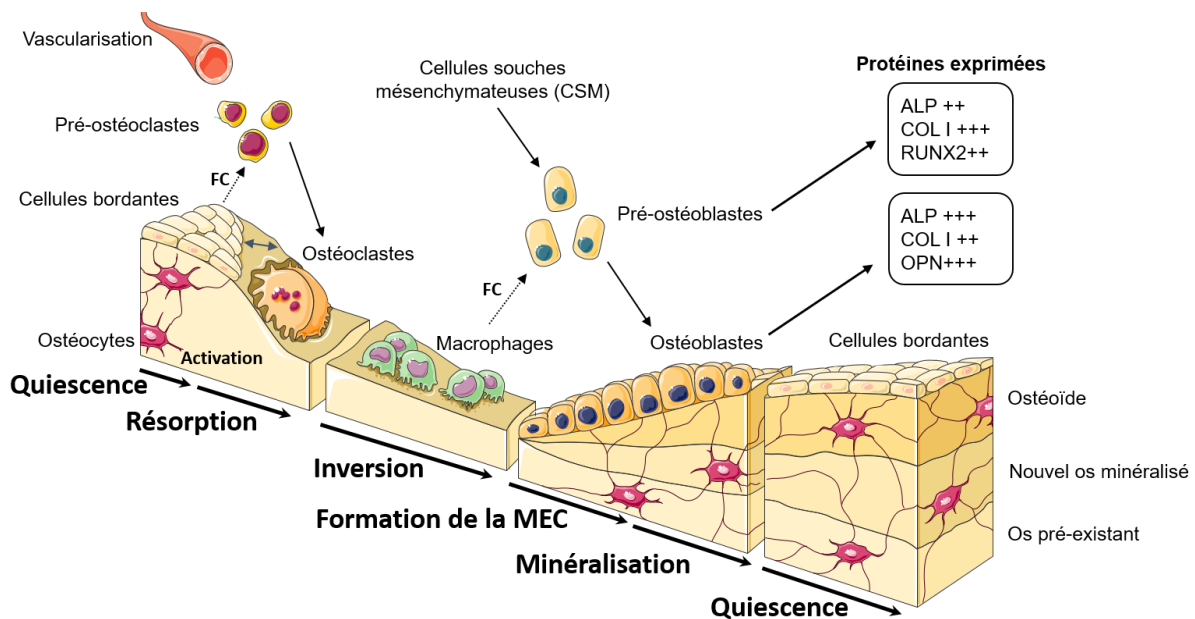


Figure 2 : Schéma du remodelage osseux [33]

Lors de la synthèse et de la minéralisation de la MEC, les pré-ostéoblastes et les ostéoblastes, issus de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses (cellules de la moelle osseuse), sécrètent de multiples protéines (Figure 2), telles que la phosphatase alcaline (ALP), le collagène de type I (COL I), le facteur de transcription lié à Runt 2 (RUNX2) ou encore l'ostéopontine (OPN), qui jouent un rôle majeur dans l'ostéogénèse [33]. L'expression de ces protéines, sous la forme de gaussienne, dépend du stade d'avancement de la minéralisation de la MEC (Figure 3) et peut être quantifiée afin de déterminer, par exemple, l'influence d'un biomatériau sur la différenciation cellulaire et donc sur sa capacité à recevoir ou activer la formation d'un nouvel os minéralisé.

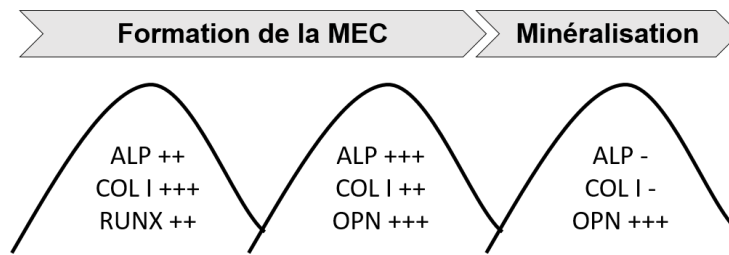


Figure 3 : Expression des protéines par les cellules selon le stade d'avancement de la minéralisation de la MEC [34], [35]

Les réparations tissulaires s'accompagnent au préalable de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. En effet, ces derniers permettent d'apporter l'oxygène et les nutriments indispensables au fonctionnement des cellules et des tissus osseux. La néo-vascularisation à partir de vaisseaux sanguins préexistants est appelée angiogenèse. Les cellules endothéliales, tapissant la paroi des vaisseaux sanguins, sont à l'origine de ce processus. A la suite d'un stimulus, les cellules endothéliales migrent vers la zone à vasculariser. Une étape de prolifération permet ensuite de fournir de nouvelles cellules pour la croissance et l'élongation d'un nouveau vaisseau sanguin qui se forme grâce à la différenciation de ces cellules en une structure de type capillaire. L'angiogenèse est régulée via de multiples facteurs tels que le VEGF qui stimule la migration et la prolifération des cellules endothéliales [36].

Au cours de notre vie, les os subissent fréquemment un processus de remodelage. L'os trabéculaire, par sa nature spongieuse, présente une plus grande surface accessible aux cellules osseuses, il est donc renouvelé environ cinq fois plus intensément que l'os cortical [31]. La présence d'une fracture déclenche également ce processus de renouvellement de l'os. Cependant, dans certains cas, des problèmes mécaniques ou biologiques empêchent l'os de se régénérer tout seul. De plus, certaines interventions chirurgicales, telles que l'ablation de tumeurs, conduisent à une perte importante de tissu osseux que l'ostéogénèse ne suffit pas à combler. La reconstruction de l'os doit alors être assistée.

I.1.2. Greffes osseuses

Pour permettre à l'os de retrouver toute son intégrité quand il ne peut le faire par lui-même, des greffes osseuses peuvent être envisagées. La structure et la porosité des os de certains mammifères, notamment des bovins, étant proches de celles des Hommes, il est possible d'implanter des tissus osseux d'origine animale dans le corps humain : on parle de xélogreffe. Ces greffons ont une mauvaise compatibilité immunologique et peuvent transmettre des maladies infectieuses, leur utilisation en tant que substituts osseux a donc été abandonnée. Dans le cas des allogreffes, le greffon provient d'un individu donneur, autre que le patient lui-même,

mais il est tout de même assimilé à un corps étranger par l'organisme qui développe des anticorps, entraînant à terme la résorption du greffon et son rejet. Pour limiter ce rejet, des immunosuppresseurs sont prescrits à vie aux patients. Le problème de compatibilité immunologique peut être résolu en prélevant le greffon sur le patient lui-même : on parle de greffe autologue. Cette greffe est d'autant plus efficace que le greffon est vascularisé puisque les vaisseaux vont permettre d'apporter l'énergie et les nutriments nécessaires à la prolifération cellulaire. L'os est prélevé sur des sites disposant d'un grand volume, généralement au niveau du bassin, sur la crête iliaque. Néanmoins, le greffon doit rester de petite dimension pour ne pas handicaper le patient au niveau du site prélevé. De plus, la greffe autologue comporte deux limitations principales : deux opérations (prélèvement puis greffe) doivent être réalisées sur le patient et des risques de morbidité du site prélevé sont possibles [37], [38]. Afin de pallier ces limites, la conception et l'implantation de substituts osseux synthétiques se développent.

I.1.3. Substituts osseux synthétiques

Les substituts osseux synthétiques sont des biomatériaux implantés dans l'organisme afin de renforcer une structure osseuse ou de combler une perte de substance osseuse. Le terme de biomatériau a été défini en 1991 par la Société Européenne des Biomatériaux comme « un matériau conçu pour 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 » [39]. Le domaine des biomatériaux est donc très vaste et regroupe des milliers de composés parmi les métaux et alliages métalliques, les céramiques, les polymères et autres matières molles et les matériaux d'origine naturelle.

I.1.3.1. Classification des biomatériaux

La nature et la réactivité des biomatériaux vis-à-vis de l'organisme jouent un rôle essentiel dans la réponse des tissus environnants conditionnant l'intimité de l'interface implant-tissu et la bonne adhésion du biomatériau au tissu environnant. En 1991, Hench [40] a établi quatre catégories de biomatériaux selon le mécanisme de fixation avec les tissus.

Les matériaux biotolérés : ils restent séparés des tissus environnants par une encapsulation fibreuse qui empêche tout échange avec la matrice biologique. L'os « s'accroche » aux irrégularités de surface de l'implant, on parle de fixation morphologique. L'absence de liaison biologique ou chimique à l'interface peut provoquer un certain mouvement de l'implant, ces matériaux sont donc généralement utilisés dans des situations de compression dans les

domaines dentaires et orthopédiques [41], [42], [43]. L'acier inoxydable, l'alliage chrome-cobalt et les ciments polyacryliques font partie de cette catégorie.

Les matériaux bioinertes sont liés aux tissus par une fixation biologique c'est-à-dire que les tissus se développent dans les pores à la surface de l'implant. L'augmentation de la zone interfaciale accroît l'inertie de l'implant et améliore la biocompatibilité. Ces matériaux ne se décomposent pas ou peu avec le temps, ils sont donc surtout utilisés pour remplacer des fonctions mécaniques, notamment dans les domaines orthopédiques et dentaires [44], [45], [46]. L'alumine, la zircone et l'alliage de titane Ti-6Al-4V en sont des exemples.

Les matériaux bioactifs se lient aux tissus environnants par l'intermédiaire de liaisons chimiques. Le contact intime qui se crée à l'interface améliore considérablement la bioactivité et la résistance aux forces mécaniques. Lorsque ce type de matériau présente une porosité supérieure à 100 μm , l'ostéointégration, c'est-à-dire la formation d'une « jonction fonctionnelle directe entre l'os et la surface de l'implant » [47] et la réparation tissulaire se trouvent favorisées. L'hydroxyapatite phosphocalcique et les bioverres sont des exemples majeurs de cette catégorie.

Les matériaux biorésorbables assurent, dans un premier temps, une fonction mécanique en comblant le défaut osseux, puis ils se résorbent, laissant place à la régénération de l'os naturel. L'interface tissu-implant est *in fine* très mince, voire inexistante, ce qui en fait la solution optimale. Néanmoins, les cinétiques de résorption et de néoformation osseuse doivent être similaires pour que le matériau joue pleinement son rôle de support et pour éviter l'apparition de contraintes mécaniques dans le cas d'une dissolution trop lente. Dans cette catégorie, on peut citer le phosphate tricalcique (TCP).

Parmi ces différentes catégories de biomatériaux, les matériaux bioactifs et biorésorbables sont les plus à même de favoriser la repousse osseuse du fait de la création d'un contact intime entre le substitut et l'os améliorant la biocompatibilité. En plus de leur bioactivité (et biorésorbabilité), d'autres propriétés, intrinsèques et extrinsèques aux biomatériaux, sont également nécessaires pour permettre la formation d'un nouvel os.

I.1.3.2. Propriétés nécessaires à la repousse osseuse

❖ Biocompatibilité

En premier lieu, un substitut osseux doit être biocompatible. La biocompatibilité implique, d'une part, que le matériau ne soit pas à l'origine de phénomènes nocifs pour la santé du

receveur (toxicité, carcinogénicité) et, d'autre part, que les tissus et fluides physiologiques du receveur n'altèrent pas le matériau. La réponse de l'organisme dépend de la nature du biomatériau et de sa zone d'implantation (tissus, organes). La Société Européenne des Biomatériaux a ainsi défini la biocompatibilité comme la « capacité d'un matériau à induire une réponse appropriée de l'hôte dans une application spécifique » [48].

❖ **Ostéoconduction, ostéoinduction**

Les substituts osseux doivent également répondre à deux autres propriétés essentielles : l'ostéoconduction et l'ostéoinduction. L'ostéoconduction est la capacité passive d'un matériau à supporter la repousse osseuse par invasion vasculaire et cellulaire. Les matériaux ostéoconducteurs favorisent la repousse osseuse lorsqu'ils sont en contact direct avec l'os ; l'invasion vasculo-cellulaire ne s'effectue donc que sur un faible volume à la surface de l'implant (environ 1 cm³) [49], [50]. Pour permettre l'ostéointégration complète de substituts de grandes dimensions, les matériaux implantés doivent être capables d'induire la prolifération et la différenciation des cellules pré-ostéoblastiques en ostéoblastes matures au sein de l'implant, on parle de matériaux ostéoinducteurs. Une nouvelle matrice osseuse minéralisée peut alors être créée sans un contact direct substitut/os.

Les substituts osseux synthétiques étant généralement de nature ostéoconducteurs, de nombreuses études cherchent à modifier leurs propriétés pour les rendre ostéoinducteurs. L'ostéoinductivité peut être améliorée via l'immobilisation de molécules, telles que des facteurs de croissance, à la surface des biomatériaux. En effet, la libération locale de ces protéines dans l'organisme est à l'origine de la cascade biologique nécessaire à la formation osseuse. Il a été prouvé que la fonctionnalisation surfacique de divers matériaux par la BMP-2 (protéine de la morphogénèse osseuse) favorise *in vitro* la différenciation ostéogénique des cellules souches ainsi que l'expression des gènes impliqués dans la formation osseuse, comme l'ostéocalcine et le collagène de type I. La croissance osseuse est ainsi favorisée *in vivo* [51]–[53].

Certains matériaux, comme les phosphates de calcium ou le titane, peuvent acquérir des propriétés ostéoinductives, dites intrinsèques, par le biais d'une modification de leur architecture [54]–[57] telle que la géométrie de surface, la topographie et la porosité en jouant plus particulièrement sur la taille des pores [58]–[60]. Les macropores de 300 à 500 µm favorisent le développement de la vascularisation et donc la croissance de nouveaux tissus osseux minéralisés [61], [62] tandis que les micropores (< 50 µm) permettent l'invasion cellulaire, l'accumulation de facteurs de croissance (comme les BMPs) ainsi que la formation

de tissus fibreux [59], [63]. L'interconnexion entre les macro- et micropores assure la circulation des fluides physiologiques permettant les échanges ioniques ainsi que le transport des nutriments et des cellules nécessaires à la formation osseuse. Des structures poreuses multi-échelles sont ainsi de plus en plus développées en ingénierie tissulaire afin de favoriser l'ostéointégration [64]–[66].

❖ **Ostéogénèse, angiogénèse**

Pour permettre la formation d'un tissu osseux minéralisé, l'ostéogénèse et l'angiogénèse sont deux phénomènes indispensables. L'ostéogénèse correspond au processus d'élaboration du tissu osseux tandis que l'angiogénèse correspond au processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux pré-existants. Il est important de noter que la capacité à stimuler l'ostéogénèse est intimement liée à l'angiogénèse : l'ostéogénèse ne peut avoir lieu sans l'angiogénèse. En effet, l'apport de nutriments aux cellules osseuses capables de régénérer l'os se fait via le réseau de vaisseaux sanguins. L'ostéogénèse est favorisée par le caractère ostéoinducteur du matériau, quant à l'angiogénèse, elle peut être améliorée via une fonctionnalisation de surface par des facteurs de croissance tels que le VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) [19], [67]. Ce dernier favorise la prolifération et la migration des cellules endothéliales qui tapissent l'intérieur des vaisseaux sanguins. L'utilisation de protéines recombinantes (c'est-à-dire produites par une cellule génétiquement modifiée) telles que les BMPs et le VEGF a cependant été limitée par les autorités de santé car un relargage important et non contrôlé de ces substances pourrait conduire à des effets secondaires [8], [19]. L'utilisation des oligo-éléments naturellement présents dans le corps humain (sodium, fer, iode, chrome, cuivre...) serait une alternative. En effet, il a été prouvé que ces éléments jouent un rôle majeur au niveau biologique. Le lithium, le zinc, le strontium et le manganèse ont été reconnus pour favoriser l'ostéogénèse tandis que le magnésium, le cuivre et le cobalt stimulent l'angiogénèse [8]. Ainsi de récentes études cherchent à améliorer ces deux processus au sein des biomatériaux grâce au dopage par ces éléments [19], [68]–[71].

I.1.3.3. Intérêt des céramiques de phosphates de calcium

Les phosphates de calcium présentent l'avantage majeur d'avoir une composition chimique proche de celle du minéral osseux ; ces céramiques sont donc parfaitement biocompatibles. De plus, elles présentent des propriétés ostéo-conductrices et bioactives ce qui en fait de très bonnes candidates pour la reconstruction osseuse. Les phosphates de calcium peuvent être utilisés en tant que matériaux de comblement osseux sous la forme de blocs ou de granules [72], de ciment [4], [73] ou encore en tant que pièces volumineuses pour la reconstruction de défauts osseux

importants [74]. Leur fragilité et leur faible résistance mécanique restreignent leur utilisation dans des zones soumises à de fortes contraintes (hanches, genoux). Dans ce cas, des matériaux bio-inertes sont préférés et un revêtement de phosphate de calcium est appliqué à leur surface pour améliorer leur bioactivité [75], [76].

Parmi les phosphates de calcium, l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique beta (β -TCP) sont les deux composés les plus étudiés. La principale différence entre ces deux composés est au niveau de leur solubilité. L'hydroxyapatite est un composé stable avec une faible solubilité ce qui limite son remplacement par l'os naturel. En revanche, le β -TCP se résorbe beaucoup plus rapidement (6 à 24 mois). La libération locale d'ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} qui en résulte favorise la bioactivité et la néoformation osseuse. La synthèse de composés biphasés contenant des rapports HA/ β -TCP variables permet de moduler la solubilité et donc de contrôler la vitesse de résorption du matériau. Ces composés semblent être des candidats prometteurs dans la reconstruction osseuse [77]–[79]. Néanmoins, la résorption du substitut osseux n'est requise que dans des zones soumises à une certaine contrainte, pour combler l'os du tibia par exemple. Dans ces cas, le remplacement à terme de l'implant par l'os naturel permet de renforcer la résistance mécanique. La zone crânienne n'étant à l'inverse soumise à aucune contrainte, la reconstruction osseuse peut se faire via l'implantation de substituts permanents en hydroxyapatite [80].

I.2. Hydroxyapatite : propriétés et substitutions

I.2.1. Généralités sur l'hydroxyapatite

I.2.1.1. Structure cristallographique

L'hydroxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, fait partie de la famille des apatites de formule générale $\text{M}_{10}(\text{XO}_4)_6\text{Z}_2$ où M représente généralement un cation métallique divalent, XO_4 un groupe anionique trivalent et Z un anion monovalent. Elle présente une structure hexagonale dont les paramètres de maille sont : $a = b = 9,421 \text{ \AA}$, $c = 6,884 \text{ \AA}$ et $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$ [81]. Son groupe d'espace, $\text{P6}_3/\text{m}$, est caractérisé par un axe 6 principal selon c perpendiculaire à deux axes 3/m selon a et b . La structure cristallographique de l'HA est représentée sur la Figure 4. Les dix calcium sont répartis sur deux sites non équivalents. Quatre calcium, notés Ca(1), occupent les sites de Wyckoff 4f. Ils sont coordonnés à neuf atomes d'oxygène associés à six groupements phosphate PO_4^{3-} différents qui forment un tunnel selon l'axe c (tunnel I). Les ions Ca(1) sont au centre de ce tunnel, deux au niveau $z = 0$ et deux autres au niveau $z = 0,5$. Les six

autres calcium, notés Ca(2), occupent les sites 6h de la structure : trois à la cote $z = 0,25$ et trois autres en $z = 0,75$, formant eux-mêmes un nouveau tunnel hexagonal selon l'axe c (tunnel II). Ces six calcium sont coordonnés à six atomes d'oxygène associés à cinq groupements phosphates et à un oxygène d'un groupement hydroxyle situé au centre de chaque triangle formé par les ions calcium. Ils ont donc une coordinence de 7. Les six tétraèdres PO_4 forment un arrangement hélicoïdal de $z = 0,25$ à $z = 0,75$ [82]–[84].

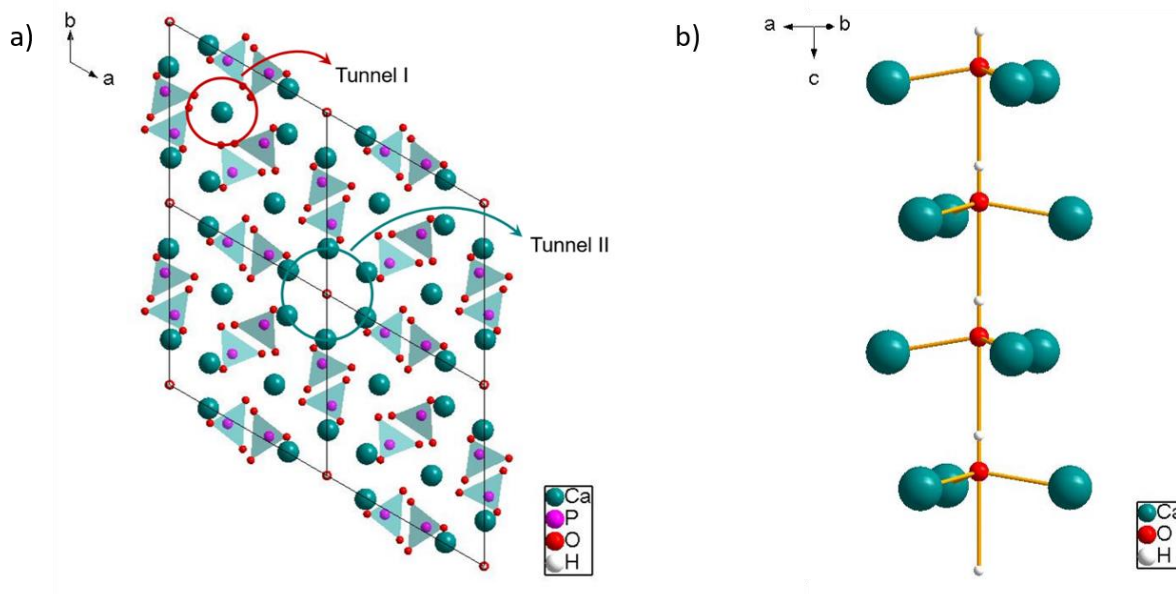


Figure 4 : Structure cristallographique de l'hydroxyapatite vue selon une projection suivant l'axe c (a) ; tunnel II vu parallèlement à l'axe c (b)

1.2.1.2. Conditions d'existence

La famille des phosphates de calcium, dont fait partie l'hydroxyapatite, regroupe de nombreux composés chimiques sous différentes formes : hydrates, hydroxydes ou anhydres. Les conditions d'existence des composés stables à 25°C ont été définies par Brown à travers le diagramme ternaire $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}$ (Figure 5). L'hydroxyapatite est un composé défini de rapport atomique $\text{Ca}/\text{P} = 1,667$. Diverses phases de phosphates de calcium définies par leur rapport Ca/P peuvent être obtenues en fonction du pH et de la température. Elles sont présentées dans le Tableau 2.

En milieu aqueux, dans le système ternaire CaO , P_2O_5 , H_2O , les différentes phases de phosphates de calcium sont stables sur une large gamme de pH dépendant de leur rapport Ca/P . Le classement de leur solubilité dans un ordre décroissant a été établi comme suit : phosphate de calcium amorphe (ACP), phosphate dicalcique dihydraté (DCPD, brushite), phosphate dicalcique anhydre (DCPA, monétite), phosphate octacalcique (OCP), phosphate tricalcique

(TCP) et hydroxyapatite. La monétite et la brushite sont ainsi thermodynamiquement stables uniquement à pH acide (< 4) tandis que l'HA est l'espèce la plus stable, notamment sous conditions physiologiques. La formation de l'hydroxyapatite se fait via un mécanisme de dissolution – précipitation passant par la formation de certains des intermédiaires cités précédemment en fonction des conditions de synthèse [85]. L'obtention de l'HA nécessite donc un temps de maturation plus ou moins long dépendant du rapport Ca/P, de la température et du pH. Le respect de la stœchiométrie et les conditions de synthèse jouent ainsi un rôle essentiel dans la pureté finale de l'hydroxyapatite.

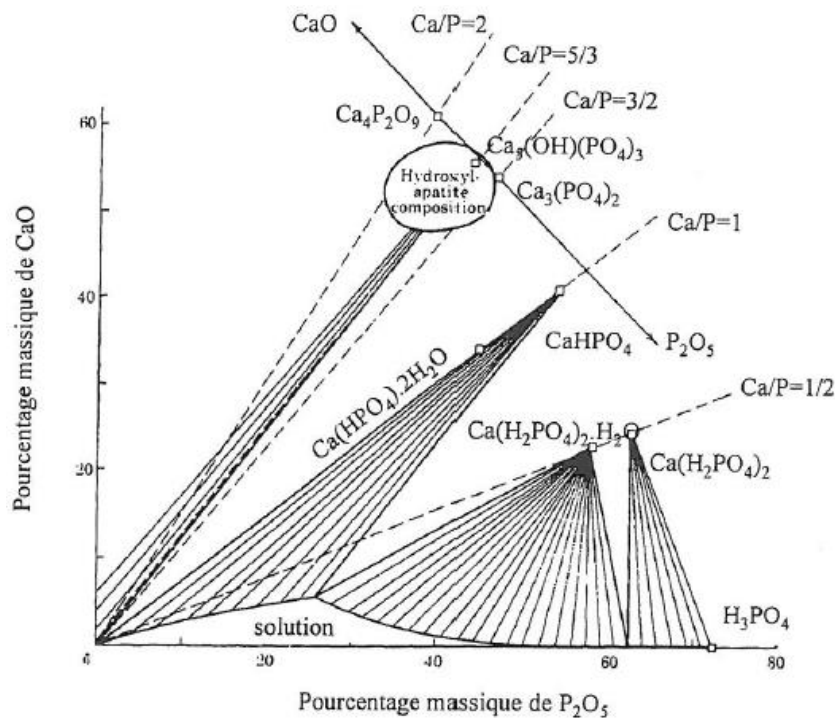
Figure 5 : Diagramme CaO-P₂O₅-H₂O à 25°C [86]

Tableau 2 : Formule chimique et rapport Ca/P des différents phosphates de calcium

Composé	Abréviation	Formule chimique	Ca/P atomique
Phosphate monocalcique monohydraté	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,50
Phosphate monocalcique anhydre	MCPA	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,50
Phosphate dicalcique dihydraté (brushite)	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Phosphate dicalcique anhydre (monétite)	DCPA	CaHPO_4	1,00
Phosphate octacalcique	OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Phosphate tricalcique (α/β)	TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50
Hydroxyapatite	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Phosphate tétracalcique	TTCP	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,00

I.2.1.3. Voies de synthèses

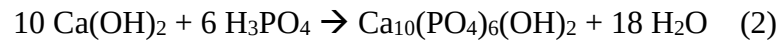
La synthèse de l'hydroxyapatite a fait l'objet de nombreuses études. Les différentes techniques utilisées peuvent être classées en deux grandes catégories : les synthèses par voie sèche (voie solide, mécanochimie) et les synthèses par voie humide (précipitation, sol-gel, hydrothermale). Les paragraphes suivants s'attachent à la description des synthèses effectuées par voie solide et par précipitation.

❖ Synthèse par voie solide

La synthèse par voie solide est une technique relativement simple à mettre en œuvre, basée sur une diffusion activée thermiquement des atomes de solides précurseurs initialement co-broyés et compactés ensemble. Cette technique conduit à l'obtention de produits très bien cristallisés mais nécessitant des températures élevées et des temps de traitement longs conduisant à des tailles de cristallites importantes. Cette technique conduit généralement à l'obtention de particules de l'ordre du micron présentant des formes irrégulières [87]. La frittabilité des poudres obtenues est ainsi relativement faible. Les précurseurs sont mélangés en quantités stœchiométriques et broyés avant de subir un cycle thermique allant jusqu'à des températures de 1250°C pendant plusieurs heures. On peut citer comme couples de précurseurs le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ et l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ [84], [88] ou la brushite $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et le carbonate de calcium CaCO_3 [89]. Des phases secondaires sont souvent observées après calcination [88], [89]. Ces hétérogénéités dans la composition finale des poudres sont dues aux trop faibles coefficients de diffusion atomique atteints, même à haute température. Pour ces raisons, les synthèses en voie humide ont souvent été privilégiées et plus particulièrement la synthèse par précipitation qui est une des voies les plus classiques.

❖ Synthèse par précipitation

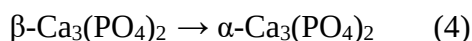
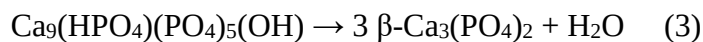
Les synthèses en voie humide présentent l'avantage d'atteindre en solution une homogénéisation parfaite des ions constituant l'HA. Le contrôle précis des paramètres de synthèse permet également un meilleur contrôle des propriétés physiques et chimiques des poudres finales obtenues en comparaison à la voie sèche. La synthèse par précipitation s'effectue généralement en ajoutant goutte à goutte une solution de phosphate PO_4^{3-} dans une solution contenant les ions calcium Ca^{2+} tout en contrôlant le pH (contrôle de la concentration en groupements OH^-). Les couples de réactifs calcium-phosphate couramment utilisés sont le nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et l'hydrogénophosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ou l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ et l'acide phosphorique H_3PO_4 . Les réactions chimiques associées peuvent être mises en équations telles que proposées ci-dessous.



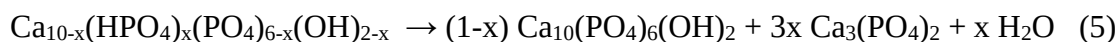
Le pH et la température sont les paramètres ayant la plus grande influence sur la composition chimique et la microstructure du composé final. La synthèse s'effectue le plus souvent à pH basique et à une température proche de la température d'ébullition de l'eau mais de nombreuses conditions ont été testées dans la littérature. La température a une forte influence sur la cinétique de la réaction. Liu *et al.* [90] ont montré qu'à température ambiante, le rapport Ca/P présent dans la phase précipitée, initialement inférieur à 1,667, atteint cette valeur après un temps de maturation de 24h. En revanche, une augmentation de la température accélère la réaction permettant la formation de l'HA en seulement 5 min à 60°C. Une augmentation de la température permet également d'accroître la cristallinité du produit final ainsi que la taille des cristallites [91], [92]. La réduction du pH favorise la formation de l'hydrogénophosphate HPO_4 dans la structure de l'apatite ce qui conduit à la réduction du rapport Ca/P (i.e. HA déficitaire en calcium : $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$) [93], [94] et/ou à la formation de phosphates de calcium plus stables à pH acide telle que la brushite $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, notamment dans des conditions défavorables à l'obtention d'une HA (*e.g.* température ambiante et temps de maturation court).

La stabilité thermique de l'HA affecte ses propriétés mécaniques, sa biocompatibilité, sa solubilité et sa morphologie. Or, selon les conditions de synthèse utilisées, une décomposition de phase peut être observée lors de traitements thermiques appliqués à la poudre obtenue par coprécipitation. En effet, de faibles écarts de rapport Ca/P au sein de la phase précipitée engendrent des écarts de propriétés importants, notamment de stabilité thermique. Quatre cas de figure sont explicités ci-après.

Si le rapport molaire des quantités de matières initiales Ca/P est égal à 1,5, la poudre d'hydroxyapatite brute obtenue est déficitaire en calcium, l'électroneutralité de la structure se fait alors grâce à la substitution partielle des groupements phosphates PO_4^{3-} par des groupes hydrogénophosphates HPO_4^{2-} . Seule une structure apatite est détectée en diffraction des rayons X (DRX) jusqu'à des températures de calcination de 700°C. Entre 700 et 800°C, la décomposition totale de l'HA sous-stœchiométrique en β -TCP est observée (3). A 1125°C, le β -TCP (système hexagonal) subit une transformation polymorphique (4) en α -TCP (système monoclinique).



Pour un rapport Ca/P compris entre 1,5 et 1,667, l'hydroxyapatite est toujours sous-stœchiométrique, le même comportement thermique que précédemment est donc observé jusqu'à 700°C. L'HA se décompose ensuite partiellement en β -TCP entre 700 et 800°C (5).



avec $0 < x < 1$

Dans le cas où le rapport Ca/P est égal à 1,667, l'hydroxyapatite obtenue est stœchiométrique ce qui conduit à l'obtention d'une poudre thermodynamiquement stable jusqu'à environ 1450°C. A cette température, elle se décompose en α -TCP et en phosphate tétracalcique (6).



Finalement, lorsque le rapport Ca/P est compris entre 1,667 et 2, une phase secondaire d'hydroxyde de calcium se forme en plus de l'hydroxyapatite. Cette phase se décompose en chaux CaO sous l'effet de la chaleur (7). La Figure 6 récapitule les espèces obtenues après calcination de l'HA à des températures supérieures à 800°C en fonction du rapport Ca/P.

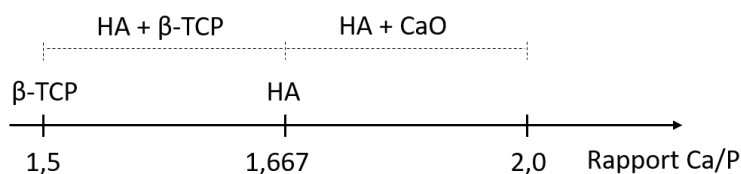


Figure 6 : Phases obtenues après calcination de l'HA au-delà de 800°C en fonction du rapport Ca/P initial

Ainsi, bien qu'une phase apatitique unique puisse être détectée en DRX jusqu'à des températures de calcination de 700°C, la sous- ou sur-stœchiométrie en calcium entraîne la formation de phases secondaires au-delà de cette température. Un traitement thermique à haute température est donc nécessaire pour s'assurer de la pureté de la phase. Le respect de la stœchiométrie peut être vérifié par DRX après calcination de la poudre à 1000°C durant 15h [95] en application de la norme ISO 13779-3 [96].

I.2.2. Substitutions dans l'hydroxyapatite

I.2.2.1. Substitutions d'intérêt biologique dans les apatites

Comme mentionné dans la partie I.1.1.1, l'os naturel s'apparente à une hydroxyapatite carbonatée mal cristallisée contenant différents éléments traces. Ces derniers ont été reconnus pour avoir un rôle majeur au sein de l'organisme et notamment dans la reconstruction osseuse. De plus, la substitution du calcium, des phosphates ou encore des groupements hydroxyles par des ions de tailles variables entraîne la création de lacunes et de distorsions au sein de la maille

Tableau 3 : Effets de diverses substitutions au sein de l'HA sur sa structure cristalline, sa stabilité thermique et ses propriétés biologiques. Abréviations : OB : ostéoblastes, OC : ostéoclastes, CSM : cellules souches mésenchymateuses [28], [81], [97], [8]. Rappel : $r(\text{Ca}^{2+}) = 0,99 \text{ \AA}$

Elément	Taille (Å)	Ion/groupe substitué	Microstructure	Intérêt biologique
Na ⁺	1,02	Ca	↓ a ↑ c ↓ cristallinité Stable jusqu'à 700°C	↑ prolifération OB
Cu ²⁺	0,72	Ca	↓ a ↓ c ↓ cristallinité	↑ angiogenèse Effet antibactérien
Mg ²⁺	0,72	Ca	↓ a ↓ c ↓ cristallinité ↑ solubilité Stable jusqu'à 660-700°C selon le taux de Mg	↑ angiogenèse
Mn ²⁺	0,82	Ca	↑ a ↑ c ↓ cristallinité Stable jusqu'à 800°C	↑ différenciation OB + minéralisation
Sr ²⁺	1,16	Ca	↑ a ↑ c ↑ cristallinité jusqu'à 15% molaire	↑ stimulation OB ↑ inhibition OC
Zn ²⁺	0,74	Ca	↓ a ↓ c jusqu'à 10% atomique ↓ cristallinité ↑ solubilité	↑ stimulation OB ↑ inhibition OC Effet antibactérien
Fe ²⁺ /Fe ³⁺	0,77/0,65	Ca	↑ a ↓ c ↓ cristallinité Stable jusqu'à 800°C	Pourrait favoriser la prolifération des OB par stimulation électromagn.
Cl ⁻	1,81	OH	↑ a ↓ c Stable jusqu'à 1200°C	↑ ostéoconductivité, prolifération des CSM
F ⁻	1,33	OH	↓ a ↑ cristallinité ↓ solubilité Stable jusqu'à 1300°C	↑ OB dans la limite d'un certain seuil : cytotoxique si > 500 ng/mL
CO ₃ ²⁻		(A) PO ₄ ³⁻ (B) OH ⁻	Site A : ↑ a ↓ c Site B : ↓ a ↑ c ↓ cristallinité ↑ solubilité Stable jusqu'à 700°C	Biorésorbabilité
SiO ₄		PO ₄ ³⁻	↓ a ↑ c Stable jusqu'à 1000°C	↑ prolifération, différenciation OB

cristalline d'HA permettant de moduler ses propriétés telles que sa cristallinité et sa solubilité. Les effets de certains éléments dopants sur la microstructure et les propriétés biologiques de l'apatite sont répertoriés dans le Tableau 3. Seuls les rayons ioniques effectifs des cations en coordinence 6 ont été considérés afin d'établir une comparaison. Pour les cations divalents les plus volumineux, comme Mn^{2+} ou Sr^{2+} , susceptibles d'être stabilisés dans des sites de coordinence supérieure à 6, les paramètres de maille a et c augmentent. En revanche, a et c diminuent lorsque les cations sont plus petits (Cu, Mg, Zn), excepté pour le fer. Dans ce cas, l'augmentation du paramètre a et la diminution de c pourraient être liées aux environnements locaux et aux degrés d'oxydations (DO) différents.

Les études sur les différentes substitutions présentées dans la littérature montrent que la nature du dopant et la quantité incorporée influe sur sa localisation et son effet sur la structure cristalline. Or ces modifications structurales vont jouer sur la stabilité thermique du matériau, sa solubilité, sa bioactivité et également sur sa cytotoxicité dans l'environnement physiologique. Il est donc important de s'attacher avec précision à la structure du matériau dopé en vue d'évaluer ses propriétés biologiques pour une application dans la reconstruction osseuse. Une étude bibliographique détaillée est donc réalisée sur les HA substituées par les deux éléments dopants d'intérêt dans cette thèse : le cuivre et le fer.

I.2.2.2. Hydroxyapatite dopée au cuivre

Dans le domaine des biomatériaux, l'emploi de cuivre, présent à l'état de trace dans le corps humain, est de plus en plus étudié du fait de ses propriétés antibactériennes et angiogéniques. Toutefois, la forme sous laquelle se trouve le cuivre et les quantités libérées dans l'organisme peuvent être nocives pour les cellules [98]–[100]. La biocompatibilité de l'HA dopée au cuivre dépend ainsi du taux de cuivre incorporé et de sa localisation dans la structure.

a) Intérêt biologique

❖ Propriétés antibactériennes

Après l'implantation de substituts osseux, les complications post-opératoires, telles que les infections, sont récurrentes. Des matériaux biocompatibles et antibactériens pourraient permettre de résoudre ce problème. Bien que son mécanisme d'action soit toujours en cours d'étude, l'incorporation de cuivre dans divers matériaux et l'activité antibactérienne qui en résulte ont largement été étudiées dans la littérature. L'évaluation bactériologique *in vitro* de divers matériaux ou revêtements dopés au cuivre en présence de colonies de bactéries *Escherichia coli* a montré une diminution conséquente du nombre de bactéries comparé au

matériau non dopé [82], [101], [102]. Cependant, les tests de viabilité cellulaire réalisés sur des HA dopées au cuivre, par Li *et al.* [82], indiquent que les échantillons dopés présentent une cytotoxicité envers les ostéoblastes, après 1 jour de culture, dès 0,1% mol. de cuivre. Il faut toutefois noter que dans cette étude l'incorporation du cuivre s'est faite par échange d'ions, ce qui entraîne une substitution en surface et donc provoque un relargage aisé des ions cuivre dans le milieu physiologique.

❖ Propriétés angiogéniques

Les propriétés angiogéniques du cuivre ont également été prouvées. Raju *et al.* [103] ont incorporé différentes molécules greffées ou non avec du cuivre dans la cornée de lapins et ont montré qu'une réponse positive à l'angiogenèse était détectée seulement en présence de cuivre. Un résultat similaire a été observé par Barralet *et al.* [19]. L'adsorption et la pénétration du cuivre dans une structure poreuse de brushite présentant un macropore en forme de Y conduit au relargage du cuivre et à la vascularisation du macropore. La formation de nouveaux tissus dans le macropore est également observée ce qui confirme le lien étroit entre angiogenèse et ostéogénèse. Ces résultats peuvent s'expliquer par une augmentation de la prolifération des cellules endothéliales en présence de cuivre, comme il a été montré *in vitro* par Hu [104]. Dans son étude, des tests de prolifération ont été réalisés dans un milieu de culture contenant des cellules endothéliales humaines de la veine ombilicale ensemencées directement sur des puits recouverts de fibronectine. L'addition croissante de sulfate de cuivre dans ce milieu permet d'augmenter la prolifération des cellules jusqu'à une concentration maximale de cuivre de 200 $\mu\text{mol/L}$. Ceci a été confirmé plus récemment par Wu *et al.* [105] qui ont montré que la sécrétion du VEGF par des cellules stromales humaines de la moelle osseuse à la surface de bioverres contenant différents taux de cuivre était nettement plus importante en présence de 5% molaire de dopant.

b) Influence des voies de synthèse sur la structure apatitique

Dans la littérature, les principales voies utilisées pour synthétiser des HA dopées au cuivre sont la co-précipitation, la voie solide et la voie sol-gel.

❖ Co-précipitation

Le protocole de synthèse d'une hydroxyapatite dopée cuivre par coprécipitation est similaire à celui d'une HA pure. Un précurseur de cuivre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, CuSO_4 ou encore CuO) est ajouté à la solution contenant les ions calcium. La température est généralement maintenue

entre 80 et 100°C à un pH supérieur à 10 avec un temps de maturation allant de 1 h à 24 h [106]–[110].

La substitution par coprécipitation du calcium par le cuivre conduit à l'obtention d'un composé théorique de formule $\text{Ca}_{10-x}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Dans la littérature, ces HA dopées au cuivre ne sont souvent étudiées qu'à des températures inférieures à 400°C. Dans cette gamme de température, des phases pures de couleur bleue claire sont obtenues confirmant la présence d'ions Cu^{2+} . Néanmoins, les rapports $(\text{Ca}+\text{Cu})/\text{P}$ inférieurs à 1,677 obtenus après synthèse indiquent une perte de cuivre au sein de la solution de précipitation [106], [109], [110]. La substitution du calcium par le cuivre ne modifie pas la symétrie hexagonale de l'HA mais entraîne de légères modifications de la structure selon les diffractogrammes DRX. Une diminution des paramètres de maille des HA dopées est observée par rapport à l'HA pure. Certains auteurs notent en plus une corrélation entre l'importance de la diminution des paramètres de maille et le taux de cuivre [107], [109] tandis que d'autres n'observent aucun changement [108] entre différents taux de cuivre. Les modifications structurales peuvent être expliquées par la configuration électronique particulière des ions cuivre (II). En effet, le cuivre, de configuration électronique d^9 , subit un effet Jahn-Teller provoquant une distorsion en symétrie octaédrique, par exemple. De plus, des contraintes stériques peuvent apparaître dans la structure car les ions cuivre (II) ont une taille inférieure aux ions calcium ($r_{\text{Cu}^{2+}} = 0,72 \text{ \AA}$; $r_{\text{Ca}^{2+}} = 0,99 \text{ \AA}$). Par ailleurs, l'élargissement des pics observés avec l'augmentation du taux de cuivre [107], [108] peut être dû à une diminution de la taille des cristallites [107], [110], de l'HA obtenue par coprécipitation.

La position occupée par le cuivre, étudiée par certains auteurs, ne semble pas encore totalement identifiée. Elle fait en tout cas l'objet de controverses. Sutter *et al.* [110] placent le cuivre au niveau du site du Ca(2) grâce à un affinement structural par méthode de Rietveld. Néanmoins, d'après Othmani *et al.* [107], une contraction plus importante du paramètre c selon la direction (002) pour des quantités de dopant inférieures à 10% atomique suggère que le cuivre occupe le site du Ca(1), à la position $(1/3, 2/3, z)$ tandis qu'une réduction du paramètre a selon la direction (310) pour des quantités supérieures à 10% atomique suggère l'occupation du site du Ca(2), à la position $(x, y, 1/4)$.

L'étude de la stabilité thermique des HA substituées au cuivre conduit à leur décomposition avec formation en proportion grandissante de β -TCP avec le taux de cuivre [106], [107]. De plus, la décomposition se fait à des températures d'autant plus basses que le taux de cuivre est

élevé : 800°C pour $x = 0,05$ mole et 650°C pour $x = 0,25$ mole [108]. Ce comportement indique que le cuivre est à l'origine de la déstabilisation thermique de l'HA à des températures bien inférieures à celles observées pour l'HA stœchiométrique.

❖ Voie solide

Lors des synthèses par voie solide d'HA dopées au cuivre, les réactifs sont broyés et mélangés dans un mortier avant de subir plusieurs cycles de calcination-rebroyage d'au moins 24 h jusqu'à une température de 1150°C. Les précurseurs utilisés sont généralement les suivants : CaCO_3 , CuO et $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ou bien CaHPO_4 [111]–[115]. Kato *et al.* [116], en revanche, ont directement imprégné une hydroxyapatite pure avec du nitrate de cuivre avant d'effectuer un traitement thermique de 3 h à 1100°C. Par cette voie de synthèse, un changement de couleur des poudres obtenues du gris au violet est observé après traitement thermique [111], [113], [114]. Des phases pures d'HA dopées au cuivre sont obtenues à haute température et tous les auteurs se rejoignent sur la position du cuivre. Le cuivre s'insère au niveau du tunnel hexagonal en position de Wyckoff 2b (0,0,0) et substitue un proton du groupement hydroxyle (Figure 7). La formule théorique suivante est ainsi considérée : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cu}_x\text{O}_y\text{H}_z$. Zykin *et al.* [115] ont montré que l'insertion du cuivre est d'autant plus importante que la température de calcination augmente. Suivant leur protocole opératoire, le taux de cuivre incorporé croît de $x = 0,06$ mole après traitement à 800°C à $x = 0,58$ mole à 1200°C, ce qui s'accompagne d'une augmentation des paramètres de maille de l'apatite. Un effet similaire sur les paramètres de maille est observé avec l'augmentation du taux de cuivre dans d'autres publications [111], [112], [116]. Ces résultats divergent donc fortement de ceux obtenus avec des synthèses par coprécipitation. La voie de synthèse utilisée influence donc la localisation du cuivre et les modifications structurales engendrées sur la structure apatitique.

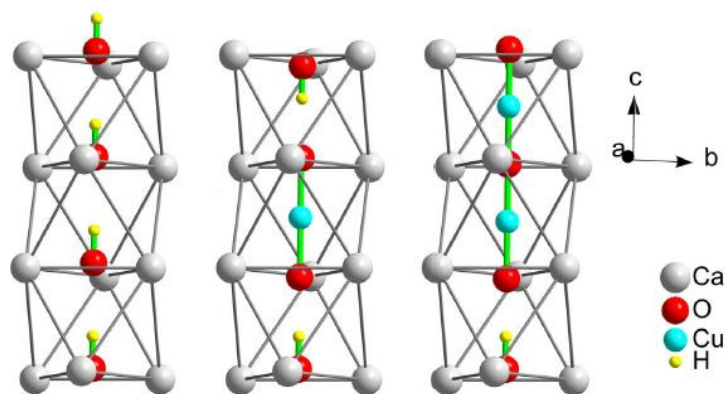


Figure 7 : Fragment de l'axe hexagonal de l'HA. Gauche – HA non dopée. Milieu – Insertion d'un atome de cuivre isolé. Droite – insertion de deux atomes de cuivre successifs [115]

Les données vibrationnelles en spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) confirment l'insertion du cuivre dans le tunnel hexagonal avec substitution des ions hydrogènes (Figure 8a). En effet, des bandes liées aux vibrations des liaisons Cu-O apparaissent dans la région $750 - 850 \text{ cm}^{-1}$ [113]. De plus, les bandes de vibrations des groupements hydroxyles libres à 631 et 3572 cm^{-1} diminuent avec l'augmentation du taux de cuivre et de nouvelles bandes liées à la perturbation des groupements hydroxyles par le cuivre apparaissent dans la région $3100-3500 \text{ cm}^{-1}$ [112], [113].

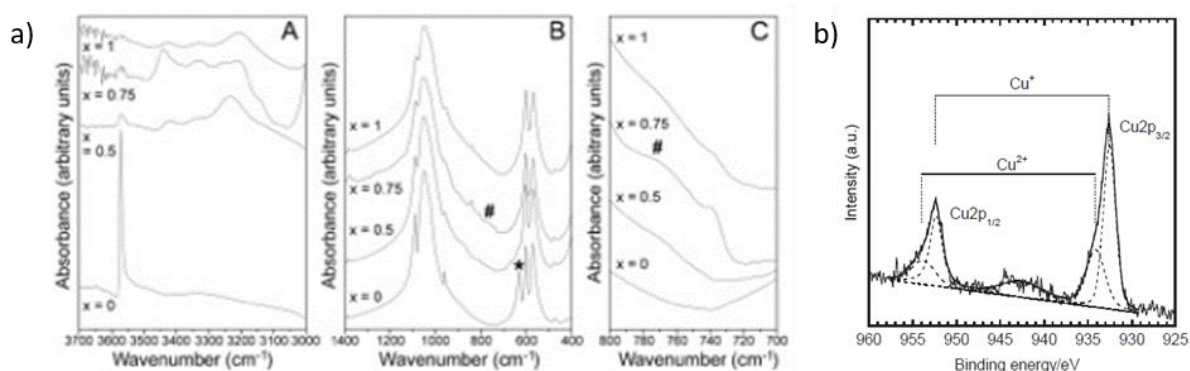


Figure 8 : Spectres FTIR d'HA dopées avec différents taux de cuivre, focalisés sur la région des groupements OH (A) des groupements phosphates et du groupement OH libre marqué par * (B) ainsi que de la liaison Cu^+-O marquée par # (C) [112] (a) ; spectre XPS d'une HA synthétisée pour un taux de cuivre $x=0,6$ [116] (b)

En revanche, le degré d'oxydation du cuivre au sein du réseau HA n'est pas nettement établi. Selon deux études, le cuivre serait présent sous les deux degrés d'oxydation +I et +II. Les analyses XPS réalisées par Kato *et al.* démontrent que les ions Cu^+ sont majoritaires au sein de l'apatite [116] (Figure 8b). La présence de ces ions est confirmée par Imrie *et al.* [112] qui attribuent la bande infra-rouge observée à $771-778 \text{ cm}^{-1}$ à la vibration d'élongation de la liaison Cu^+-O dans les groupements $\text{O}-\text{Cu}-\text{O}$. La présence d'ions Cu^{2+} est également détectée via l'acquisition des spectres UV-visible qui montrent deux bandes à 515 et 774 nm dues aux transitions $d-d$ du cuivre(II) en coordinence 2 (sites interstitiels en haltère). En revanche, Baikie *et al.* [111] détectent une majorité de Cu^{2+} par XPS avec une minorité de Cu^{3+} . La présence d'ions cuivre trivalents est confirmée par Kazin *et al.* [117] qui ont identifié la présence d'un chromophore $[\text{OCu}^{\text{III}}\text{O}]^-$ dans des hydroxyapatites au strontium dopées cuivre grâce à des caractérisations spectroscopiques et magnétiques. La longueur des chaînes oligomères $[\text{OCuOCuO}]$ susceptibles de se former a été discutée par Zykin *et al.* [115]. Dans les hydroxyapatites au strontium, la valeur de $c/4$ ($1,83 \text{ \AA}$, [118]), proche de la distance Cu-O dans Cu_2O ($1,85 \text{ \AA}$, [119]), permet bien la formation de chaîne oligomérique $[\text{OCuOCuO}]$, déjà suggérée par Kazin *et al.* [120]. En revanche, les hydroxyapatites au calcium ont un paramètre

de maille c plus faible ($c/4 < 1.74 \text{ \AA}$) ce qui ne permettrait pas, *a priori*, d'adopter une telle configuration. Une chaîne dimérique peut être envisagée mais elle impliquerait un déplacement important de l'oxygène terminal situé au centre du triangle formé par les calciums $\text{Ca}(2)$.

❖ Voie sol-gel

Des résultats similaires à ceux décrits pour la voie solide sont obtenus sur les HA substituées au cuivre préparées par voie sol-gel. En effet, Gomes *et al.* [121] ont étudié le mécanisme d'insertion du cuivre dans des phosphates de calcium biphasiques par voie sol-gel via les précurseurs $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ et P_2O_5 . Cette voie de synthèse conduit à la formation de nombreuses phases secondaires, et notamment d'oxyde de cuivre CuO pour des taux de cuivre supérieurs à 1,5% molaire. Des poudres de couleur grise sont obtenues après calcination entre 500 et 1000°C puis violette à partir de 1100°C. Ce changement de couleur s'accompagne d'une augmentation des paramètres de maille a et c de l'HA et du taux d'occupation du cuivre à la position de Wyckoff 2b (0,0,0) confirmant l'insertion du dopant dans l'apatite. Des mesures EXAFS et XPS indiquent respectivement la formation de groupement oxocuprate OCuO et la présence d'une valence mixte $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$, le cuivre(I) étant cette fois minoritaire. La substitution de deux hydrogènes par le cuivre(II) est alors considérée conduisant à la formule théorique $\text{Ca}_{10-x}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_{2x}$. La présence d'ions Cu^+ , Cu^{2+} , Cu^{3+} en proportions variables ayant été décrite dans la littérature, le degré d'oxydation du cuivre reste encore à clarifier.

Des tests de biocompatibilité ont été effectués seulement sur les céramiques biphasiques (HA/TCP) dopées avec 1% mol. de cuivre, frittées à 1200°C et ne contenant pas de phases secondaires. Le taux de viabilité cellulaire normalisé sur le contrôle, correspondant à des cellules cultivées sur le plastique des plaques de culture, indique que les céramiques dopées ne sont pas cytotoxiques après 7 jours de culture. Néanmoins, si l'on considère l'HA comme référence, une réduction de la viabilité de plus de 30% est observée ce qui est considéré comme un effet cytotoxique par la norme ISO 10993-5 [122]. De plus, pour 1% mol. de cuivre et après un temps d'incubation de 1 jour, la quantité de cuivre dosée en solution, égal à 3 ppm, est bien supérieur au taux mesuré par Li *et al.* [84] de 0,73 ppm. Or, dans leur étude, les céramiques ont été considérées comme cytotoxiques. Le degré d'oxydation du cuivre pourrait être à l'origine de ces différences. La biocompatibilité des céramiques dopées au cuivre demeure donc à préciser.

1.2.2.3. Hydroxyapatite dopée au fer

Le fer, et plus particulièrement le fer(II), présente, par sa configuration électronique, lorsqu'il est en site octaédrique, une bande d'absorption centrée à 1 μm due à une transition électronique entre les niveaux $3d$, avec passage d'un électron des orbitales t_{2g} à e_g [123]. Le dopage de l'HA par ces ions permettrait donc, si le fer pouvait s'insérer dans un site octaédrique au sein de la structure au degré d'oxydation +II, d'augmenter la capacité d'absorption de la poudre sous le faisceau laser (en vue d'un frittage éventuel par SLS). En plus de ses propriétés optiques intéressantes, le fer est largement utilisé dans le domaine biomédical.

a) Intérêt biologique

Le fer, naturellement présent dans le corps humain, est utilisé dans de nombreuses applications médicales du fait de ses propriétés magnétiques. Les nanoparticules magnétiques de maghémite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ et de magnétite Fe_3O_4 sont les plus populaires mais les hydroxyapatites dopées au fer font également l'objet d'un intérêt particulier. Ces dernières, sous forme de nanoparticules, ont été reconnues comme de potentiels candidats en tant que médiateur dans la thérapie contre le cancer par hyperthermie [124], [125], en tant qu'agent de contraste en imagerie médicale [126], [127] ou encore comme système d'administration de médicaments [128], [129]. Il a également été récemment montré que les stimulations électromagnétiques au sein de nanocomposites magnétiques favoriseraient la différenciation des ostéoblastes [21]. Les propriétés magnétiques des phosphates de calcium dopés au fer permettraient donc d'améliorer l'ostéoinductivité du matériau [20], [130].

b) Influence des voies de synthèse sur la structure apatitique

Différentes voies de synthèse ont été utilisées dans la littérature pour synthétiser des HA dopées au fer(II) et/ou au fer(III). L'oxydation partielle des ions fer(II) lors de la synthèse peut conduire à l'obtention de composés de valence mixte.

❖ Coprécipitation

De nombreuses synthèses par coprécipitation ont été réalisées dans la littérature dans le but de substituer partiellement le calcium par du fer(II) ou du fer(III). Un protocole identique à celui de la substitution au cuivre est utilisé avec généralement $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, FeCl_2 ou FeCl_3 [83], [131]–[140] comme précurseurs du fer.

Les HA dopées au fer ont principalement été étudiées à basse température (inférieure à 600°C). En DRX, une phase pure et mal cristallisée est obtenue. Toutefois, l'apparition de magnétite ou d'hématite peut être observée notamment pour des taux de fer supérieurs à 10%

mol. [133], [136], [141]. La diminution de l'intensité des pics de diffraction ainsi que leur élargissement avec le taux de fer [138]–[140] indiquent une diminution de la cristallinité de l'hydroxyapatite. La diminution de la taille des cristallites a été confirmée par des observations microscopiques [136], [139]. L'élargissement des pics de diffraction peut également être attribué à l'augmentation des contraintes dans la structure apatitique [110], [136], [138]. Le décalage des pics observé traduit une modification des paramètres de maille et prouve indirectement l'incorporation du fer dans la structure. La substitution du calcium par les ions fer(II) ou fer(III), tous deux de taille inférieure au calcium ($r\text{Fe}^{2+} = 0,77 \text{ \AA}$; $r\text{Fe}^{3+} = 0,65 \text{ \AA}$ en coordinence 6), laisserait présager une diminution des paramètres de maille. Néanmoins, les variations des paramètres de maille avec le taux de fer diffèrent d'un auteur à l'autre. Wu *et al.* [139] observent une augmentation des deux paramètres a et c tandis que l'inverse est constaté par Gamal *et al.* [131]. Enfin, plusieurs auteurs se rejoignent sur l'augmentation du paramètre a et la diminution du paramètre c avec le taux de fer [133], [135], [141]. Ces résultats divergents sont probablement liés à des méthodes de préparation des échantillons différentes conduisant à des ions fer soit intégrés au sein de la structure avec des degrés d'oxydation variable, soit dans des sites d'accueil différents. En effet, l'utilisation de précurseurs de fer(II) en solution n'empêche pas son éventuelle oxydation partielle dans le milieu de précipitation, or souvent aucune distinction n'est faite entre les effets du fer(II) et du fer(III). Les conditions expérimentales utilisées, le degré d'oxydation du fer et la présence d'autres éléments dopants ont ainsi toute leur importance.

En spectroscopie FTIR, les bandes de vibrations caractéristiques de l'hydroxyapatite sont identifiées. La disparition des bandes de vibrations des groupements hydroxyles à 3560 et 630 cm^{-1} [134], [135], [139] ainsi que l'élargissement des signaux en RMN du phosphate ^{31}P avec des quantités croissantes de fer, quel que soit son degré d'oxydation, [135] indiquent que la substitution du calcium par le fer affecte à la fois les groupements hydroxyles et phosphates.

La localisation du fer(III) a été étudiée en résonance paramagnétique électronique (RPE). Deux signaux à $g = 4,3$ et $g = 8,9$, caractéristiques du fer(III) haut spin isolé en site octaédrique et/ou tétraédrique distordu, confirment l'incorporation du fer dans la structure apatitique (Figure 9). La proximité et l'interaction entre certains ions paramagnétiques Fe^{3+} donnent également lieu à un signal large à $g = 2,1$ [83], [135]. Concernant le fer(II), des analyses structurales par méthode de Rietveld confirment la substitution du calcium par le fer(II) avec une occupation préférentielle du site Ca(2) [110], [133]. Néanmoins, dans ces articles, le degré d'oxydation du fer dans la structure apatitique n'a pas été vérifié. La spectroscopie Mössbauer permet d'obtenir

des informations plus précises quant au degré d'oxydation et à la coordinence du fer. Les calculs de structure électronique et les simulations atomiques combinés aux spectroscopies RPE et Mössbauer effectuées par Jiang *et al.* [83] montrent que le fer(III) serait plus stable dans le site Ca(1) en coordinence 4 tandis que le fer(II) occuperait préférentiellement le site Ca(2) en coordinence

6. Leurs expérimentations ne suivent pas tout à fait leur prédiction puisque les signaux $\delta = 1,20$

mm/s, $\Delta = 2,43$ mm/s (31% en intensité) et $\delta = 1,14$ mm/s, $\Delta = 1,80$ mm/s (27% en intensité) ont été attribués à du fer(II) en site octaédrique respectivement au sein des sites Ca(1) et Ca(2) tandis que les composantes $\delta = 0,23$ mm/s, $\Delta = 1,72$ mm/s (6% en intensité) et $\delta = 0,22$ mm/s, $\Delta = 1,80$ mm/s (18% en intensité) ont été assignées à du fer(III) en site tétraédrique au sein du site Ca(1) ou Ca(2). D'autres auteurs, comme Low *et al.* [135], qui ont initialement utilisé un précurseur de fer(II), ne détectent que des signaux liés au fer(III) ce qui prouve l'oxydation du fer(II) en fer(III) au cours de la synthèse. Ils attribuent les signaux $\delta = 0,33$ mm/s, $\Delta = 1,65$ mm/s et $\delta = 0,27$ mm/s, $\Delta = 1,02$ mm/s respectivement à du fer(III) en coordinence 6 dans le site Ca(1) et en coordinence 4 dans le site Ca(2). La méthode de préparation des échantillons pourrait être à l'origine des différences observées. Les techniques de RPE et spectroscopie Mössbauer seront détaillées dans le chapitre suivant.

La biocompatibilité des hydroxyapatites substituées au fer synthétisées à basse température a été démontrée par plusieurs auteurs [135], [136], [141]. Sheikh *et al.* [136], par exemple, ont évalué, après 7 jours de culture, la cytotoxicité de FeHA contenant jusqu'à 10% mol. de fer (pour un rapport (Ca+Fe)/P = 10/6). Quel que soit le taux de dopant, une amélioration de l'adhésion et de la prolifération cellulaire, comparée à l'HA pure, est observée. Cependant, l'étude de leur stabilité thermique conduit à une décomposition en β -TCP ou FeTCP [132], [135], [137], [138], [141]. Gross *et al.* [132] observent en plus l'apparition d'hématite Fe_2O_3 sous air.

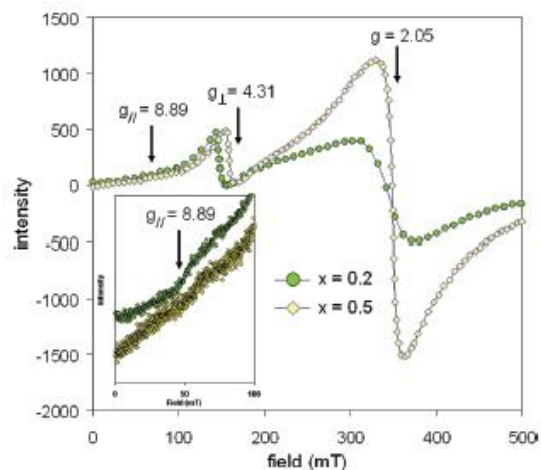


Figure 9 : Spectres RPE d'HA dopées avec différents taux de fer par coprécipitation [141]

❖ Voie solide

Dans la littérature, peu d'articles font référence à des synthèses d'HA dopées au fer par voie solide. Dans la publication de Salviulo *et al.* [142], les précurseurs CaCO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ et Fe_2O_3 sont broyés et soumis à des cycles de calcination-rebroyage jusqu'à 1450°C . Les quantités de matière de calcium et de fer sont calculées en considérant un rapport $(\text{Ca}+\text{Fe})/\text{P} = 1,67$. Seul le composé contenant le taux de fer le plus faible (0,5% mol.) est monophasique. L'augmentation du

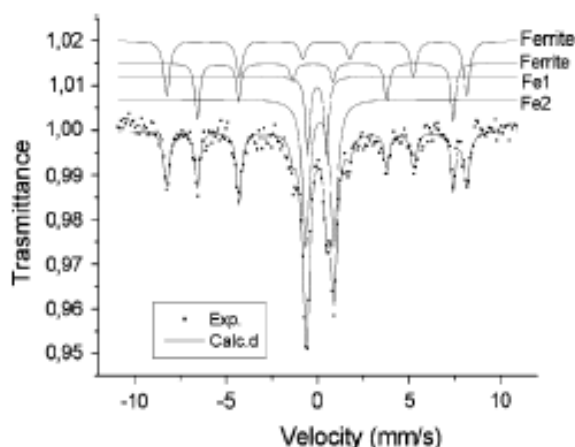


Figure 10 : Spectres Mössbauer du ^{57}Fe , enregistrés à T_{amb} , d'une phase pure FeHA contenant 5% molaire de dopant

taux de dopant conduit à une proportion grandissante en phase secondaire β -TCP. A partir de 10% mol. de fer, l'apatite n'est plus formée et l'apparition d'hématite marque la limite de solubilité du fer dans les phases de phosphate de calcium. Le composé monophasé apatitique a été étudié en spectroscopie Mössbauer (Figure 10). Les deux sextuplets correspondent aux composantes magnétiques de la ferrite $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$ ($\delta = 0,34$ mm/s, $2\varepsilon = -0,53$ mm/s, $H = 50,8$ T et $\delta = 0,17$ mm/s, $2\varepsilon = 0,69$ mm/s, $H = 43,4$ T). La faible quantité de ferrite, non visible en DRX, est probablement en dessous du seuil de détection. Les deux autres composantes (Fe(1) : $\delta = 0,07$ mm/s, $\Delta = 1,03$ mm/s et Fe(2) : $\delta = 0,24$ mm/s, $\Delta = 1,55$ mm/s) sont respectivement attribuées à du fer(III) dans le site Ca(1) en coordinence 4 et dans le site Ca(2) en coordinence 6. D'après l'auteur, le site Ca(1) est une cavité de large dimension dans laquelle le fer(III) pourrait s'excentrer pour n'être lié qu'aux quatre oxygènes les plus proches. Le site Ca(2) peut facilement accueillir un atome de fer en coordinence 6 ce qui explique les attributions faites et rejoint les simulations de Jiang *et al* [83].

En se basant sur les travaux réalisés sur le cuivre, Kato *et al.* [143] ont synthétisé des HA dopées au fer par imprégnation de l'HA dans une solution de nitrate de fer puis par traitement thermique à 1150°C pendant 3 h sous air. La formule théorique suivante est considérée : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Fe}_x\text{O}_y\text{H}_z$. Une phase pure est obtenue pour $x < 0,5$ mole. L'insertion du fer est confirmée par l'évolution des paramètres de maille ainsi que par les analyses FTIR. En effet, avec l'augmentation de la quantité de dopant (en site Ca(2) selon les auteurs), le paramètre de maille a diminue légèrement tandis que le paramètre c et le volume de la maille augmentent plus fortement. En spectroscopie infra-rouge (Figure 11a), la bande de vibration vers 700 cm^{-1}

est attribuée aux vibrations d'élongations du tétraèdre FeO_4 . De plus, les bandes relatives aux groupements PO_4 , entre 900 et 1200 cm^{-1} , sont fortement affectées avec l'augmentation de la quantité de fer indiquant une distribution d'environnements autour de ces groupements. Les groupements hydroxyles sont également affectés par l'insertion du fer puisque l'intensité des bandes de vibrations des groupements OH (à 630 et 3570 cm^{-1}) diminue avec le taux de fer, comme dans le cas de la coprécipitation. Enfin, l'affinement d'un diffractogramme des rayons X par méthode de Rietveld démontre que le fer est inséré à la position de Wyckoff 12i (0,12, 0, 0). Cette position, légèrement désaxée de l'axe hexagonal, se situe entre les triangles formés par les ions calcium $\text{Ca}(2)$ et non sur le site du calcium lui-même (Figure 11b).

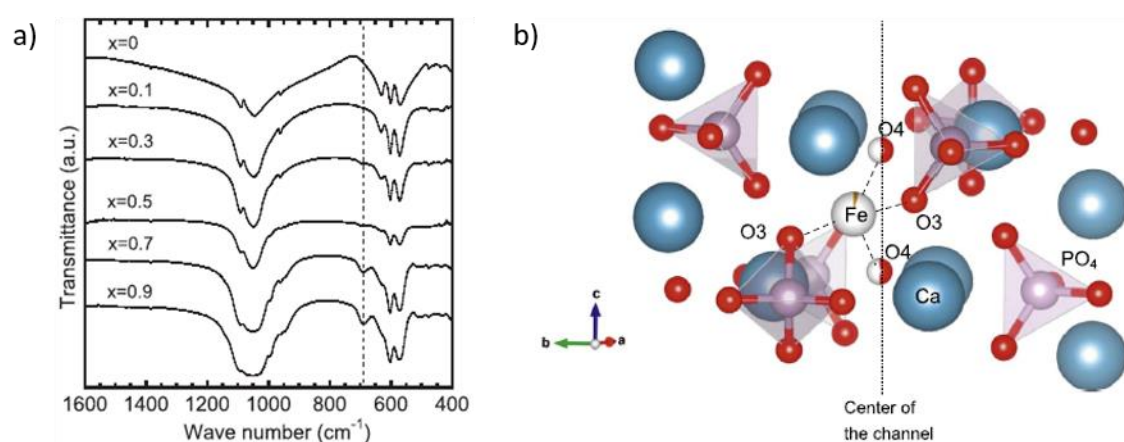


Figure 11 : Spectres FTIR d'HA contenant différents taux de fer, la ligne en pointillée marque la bande de vibration du groupement FeO_4 (a) ; position et environnement de l'ion Fe^{3+} au sein du tunnel hexagonal (b) [143]

❖ Voie sol – gel

Gomes *et al.* [144] ont étudié de manière détaillée la localisation du fer(III) et son influence sur la structure de composés biphasiques de phosphates de calcium (HA/TCP) après dopage par voie sol-gel. Les précurseurs $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ et P_2O_5 sont utilisés en considérant un rapport $\text{Ca/P} = 1,67$. Des phases secondaires sont détectées jusqu'à 1000°C quelle que soit la quantité de dopant. En revanche, à 1100°C, une phase pure est obtenue sauf pour 7% molaire de fer où de l'hématite est identifiée, ce qui signifie que la limite de solubilité du fer a été atteinte. A cette température, une diminution du paramètre a ainsi qu'une augmentation conséquente du paramètre c et du volume de la maille sont observées. Ces variations sont d'autant plus importantes que la quantité de dopant augmente. L'ion Fe^{3+} étant plus petit que l'ion Ca^{2+} , l'augmentation du volume de la maille n'est pas cohérente avec un mécanisme de substitution et suggère l'insertion du fer dans la structure apatitique au sein de sites interstitiels libres.

Un affinement structural par méthode de Rietveld ainsi que des mesures EXAFS et Mössbauer, révèlent qu'une petite quantité de fer est localisée à la position de Wyckoff 2b (0, 0, 0) dans tous les échantillons, quelle que soit la température de calcination. Le fer est ainsi coordonné linéairement à deux atomes d'oxygène O4 (distances de 1,7 Å, $\delta = 0,15$ mm/s, $\Delta = 1,07$ mm/s) ce qui demeure un environnement très inusuel pour le fer quel que soit son état de valence (+II ou +III). On peut noter que ce positionnement est en accord avec celui vu précédemment pour le dopage au cuivre ou encore avec le positionnement des ions Zn^{2+} pour des hydroxyapatites dopées au zinc [145]. Du fer physisorbé à la surface de l'HA est également détecté à 500°C. Entre 600 et 1000°C, le fer s'insère principalement dans la phase secondaire de β -TCP. En revanche, à 1100°C, le β -TCP disparaît et le dopant, par diffusion dans l'HA, s'insère au sein du tunnel hexagonal, majoritairement en position de Wyckoff 12i (0,12, 0, 0). Des lacunes au niveau du calcium Ca(2) sont détectées par affinement de Rietveld et leur quantité augmente avec le taux de dopant ce qui indique que le calcium participe à la compensation des charges au cours du mécanisme d'insertion. En plus du site linéaire mentionné ci-dessus, du fer en coordinence 3 au sein de l'HA ($\delta = 0,22$ mm/s, $\Delta = 1,52$ mm/s) est également détecté par spectroscopie Mössbauer (Figure 12, Tableau 4). Un dernier signal indiquerait la présence de fer en coordinence 4 ($\delta = 0,28$ mm/s, $\Delta = 2,20$ mm/s) à la surface des particules d'HA. Des phases pures d'HA dopées fer ont ainsi pu être synthétisées jusqu'à une quantité maximale de dopant de 4,9% molaire conduisant à un composé de formule $\text{Ca}_{9,75}\text{Fe}_{0,50}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})\text{O}$.

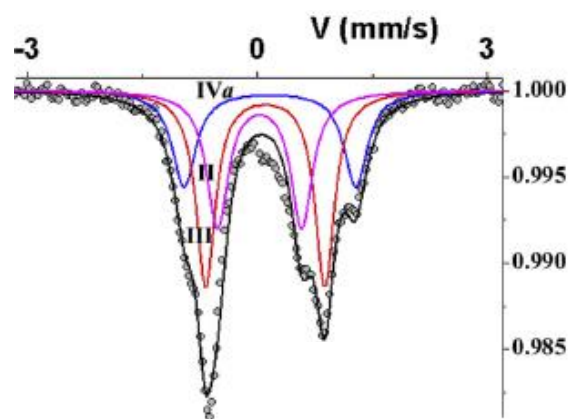


Figure 12 : Spectres Mössbauer ^{57}Fe d'une HA dopée au fer ($x = 0,5$) calcinée à 1100°C [150]

Tableau 4 : Paramètres hyperfins affinés du spectre ^{57}Fe d'une HA dopée au fer ($x = 0,5$) calcinée à 1100°C. δ : déplacement isomérique, Δ : éclatement quadrupolaire, Γ : largeur de raie à mi-hauteur [144]

δ (mm/s)	Δ (mm/s)	Γ (mm/s)	Int. relative (%)	Attribution
0,15	1,07	0,34	33(5)	Fer linéaire (II) inséré dans l'HA
0,22	1,52	0,30	42(5)	Fer triangulaire (III) inséré dans l'HA
0,28	2,20	0,37	25(5)	Fer tétraédrique à la surface des particules d'HA (IVa)

Ainsi, en résumé, lorsqu'un rapport $(\text{Ca}+\text{Fe})/\text{P} = 1,67$ est considéré, une hydroxyapatite pure substituée au fer est obtenue à basse température par coprécipitation. Toutefois, le site

d'occupation préférentiel du fer dans la structure apatitique ainsi que son degré d'oxydation ne semblent alors pas clairement identifiés. De plus, l'instabilité thermique du matériau conduit à sa décomposition au-dessus de 600°C quel que soit le taux de dopant. En revanche, la synthèse d'HA dopée au fer par des voies hautes températures, en considérant un rapport $\text{Ca/P} = 1,67$, conduit à l'insertion du dopant dans la structure apatitique. Le fer(III) occupe alors préférentiellement la position (0,12, 0, 0) légèrement désaxée de l'axe hexagonal avec une coordinence 3 ou 4. L'insertion du fer semble avoir un impact sur tous les groupements environnants (Ca, PO_4 , OH).

I.3. Mise en forme par frittage laser sélectif

I.3.1. Intérêt de la fabrication additive

Les techniques de mise en forme conventionnelles (pressage, coulage, injection, extrusion) impliquent souvent la nécessité de production de pièces en grande série pour assurer une rentabilité économique du fait du coût élevé de mise en œuvre. Le développement de l'impression 3D a favorisé la fabrication de pièces en petite série tout en réduisant le temps de production puisque certaines étapes comme la fabrication de moules ne sont plus utiles. L'évolution des outils numériques de modélisation et de simulations permet la production de formes complexes à différentes échelles (microscopique à macroscopique). En effet, des objets avec des cavités, des inclusions ou des structures de type alvéolaires peuvent être aisément imprimés [146]–[148]. Cette complexité de forme conduit généralement à un allègement du produit final ce qui est très recherché dans les domaines automobile et aérospatial par exemple [149], [150]. Une même pièce peut également être imprimée avec plusieurs matériaux ce qui rend possible la fabrication de matériaux composites [151], [152]. De nombreuses techniques de fabrication additive ont ainsi vu le jour en fonction du type de matériau utilisé et de l'application visée. Toutes ces techniques s'appuient sur le même principe de fabrication : la mise en forme d'une pièce tridimensionnelle par un empilement de couches successives dont chacune subit une structuration bidimensionnelle. Les procédés permettant de réaliser des pièces céramiques sont classés dans la Figure 13 selon l'état du matériau initial (solide, liquide, pâte).

Dans le domaine biomédical, et notamment de la reconstruction osseuse, la fabrication additive a pris un essor considérable ces dernières années [154], [155]. En effet, elle offre la possibilité de reconstruire des zones endommagées grâce à la conception de pièces personnalisées avec une architecture complexe, adaptées à la morphologie du patient [156]. Les

principales étapes de la reconstruction osseuse par fabrication additive sont représentées schématiquement sur la Figure 14.

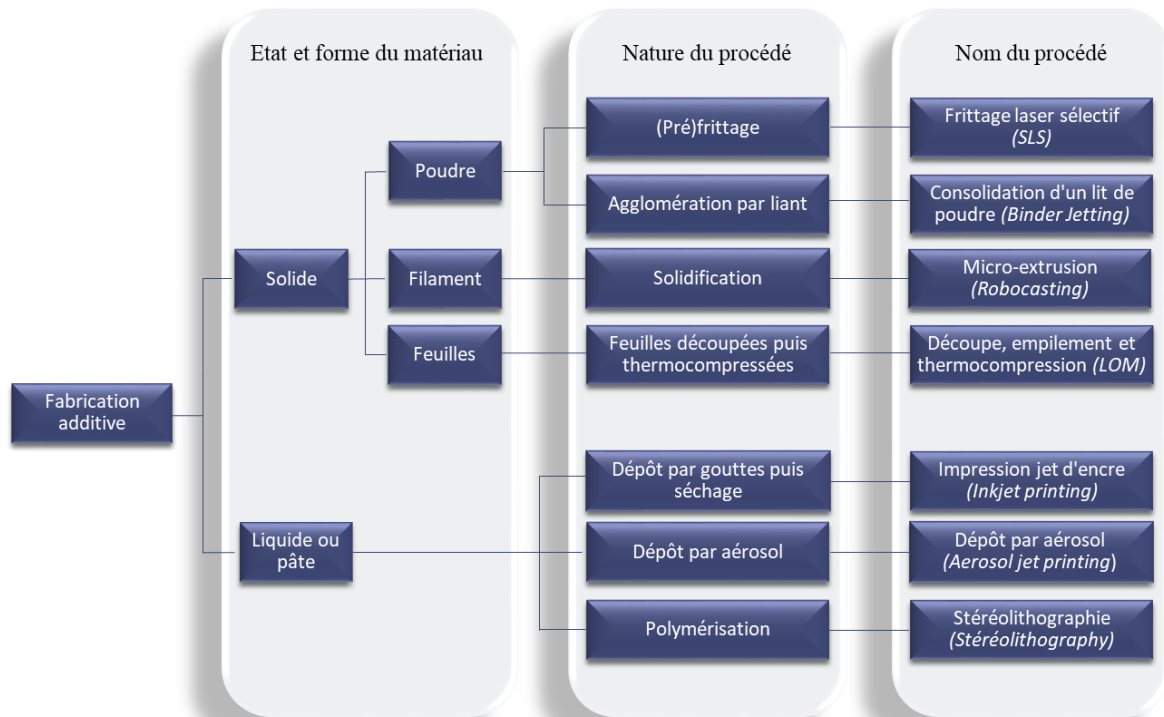


Figure 13 : Classification des techniques de fabrication additive des céramiques [153]

A partir d'un scanner ou d'une radiographie de la zone à reconstruire, l'objet à imprimer est représenté numériquement en 3D grâce à la conception assistée par ordinateur. Le fichier, contenant toutes les informations nécessaires à la construction de la pièce, est ensuite découpé en plans successifs parallèles 2D pour permettre l'impression couche à couche de la pièce 3D [157]. Enfin, le substitut osseux synthétique est implanté chez le patient via une opération de chirurgie. Les implants sont généralement réalisés en céramiques, et plus particulièrement en phosphates de calcium, pour favoriser un contact intime avec l'os naturel. Leur mise en forme par fabrication additive se fait majoritairement par stéréolithographie qui est la technique la plus répandue et la plus populaire aujourd'hui pour concevoir des pièces céramiques [14], [15]. Cette technique permet de fabriquer des pièces de forme complexe avec une résolution de l'ordre de 10 μm via la photopolymérisation laser d'une suspension céramique. Deux étapes de déliantage et de frittage sont ensuite nécessaires afin de consolider la pièce finale. La technique de frittage laser sélectif est également de plus en plus attractive dans le domaine biomédical [158]–[162]. En effet, des pièces customisées de forme complexe peuvent être frittées

directement à partir d'un lit de poudres, sans l'intermédiaire d'additifs. Le frittage laser sélectif de matériaux biocompatibles fait donc l'objet d'un gain d'intérêt ces dernières années.

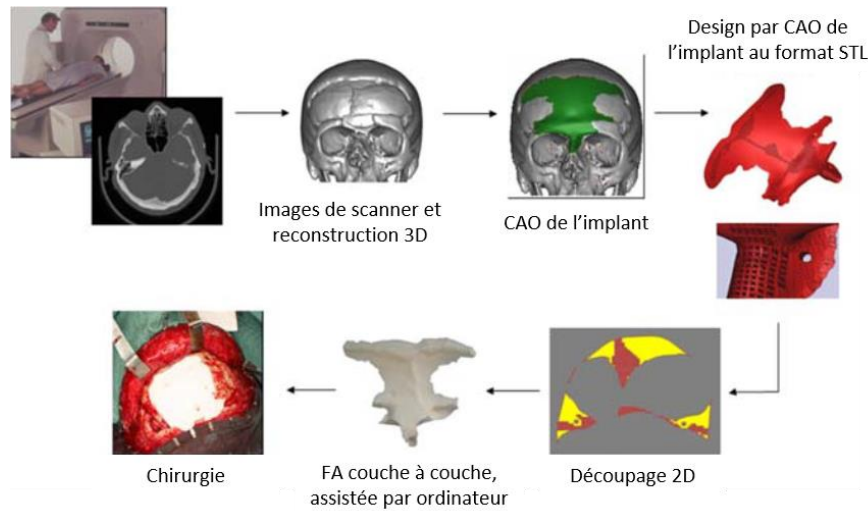


Figure 14 : Représentation schématique des principales étapes de la reconstruction osseuse par fabrication additive. CAD : conception assistée par ordinateur, STL : standard tessellation language en anglais, FA : fabrication additive [156]. Avec l'autorisation de 3D Ceram (Limoges, France, <http://3dceram.com/>) et le centre hospitalier universitaire de Limoges (France)

I.3.2. Principe du frittage laser sélectif (SLS)

Le procédé de frittage laser sélectif consiste à fritter sélectivement les particules d'un lit de poudres (métal, céramique, polymère, verre) à l'aide d'un faisceau laser infrarouge, formant couche par couche, un solide en 3D. Les deux principaux types de lasers utilisés en SLS sont le laser CO₂ dont la longueur d'onde de rayonnement est de 10,6 μm et le laser Nd:YAG, de longueur d'onde 1,06 μm . Le schéma de fonctionnement d'un dispositif de SLS est représenté sur la Figure 15.

Dans un premier temps, un lit de poudre est déposé sur la plateforme de construction typiquement à l'aide d'un rouleau ou d'un bras recouvreur (racleur). Grâce au miroir, le laser balaie ensuite la surface de la poudre selon les directions x et y et irradie sélectivement la matière en suivant les sections transversales fournies par le fichier numérique. L'interaction du faisceau laser avec la matière permet la consolidation du lit de poudre. La plateforme s'abaisse ensuite d'une hauteur correspondant à l'épaisseur d'une couche et un nouveau lit de poudre est déposé. Le processus se répète jusqu'à l'obtention de la pièce finale qui est nettoyée de l'excès de poudre non frittée. Pendant la fabrication, la poudre non frittée joue le rôle de support ce qui permet de réaliser des pièces complexes et poreuses.

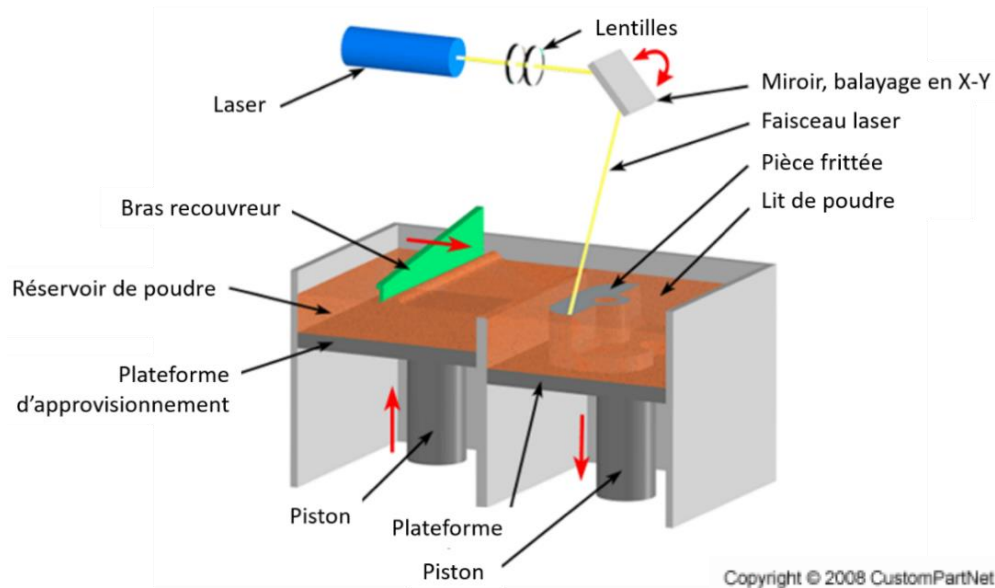


Figure 15 : Schéma de fonctionnement d'un dispositif de frittage laser sélectif

I.3.3. Mécanismes de frittage

Lors du procédé de frittage laser sélectif, deux principaux types de mécanismes de frittage entrent en jeu : le frittage en phase solide, aussi appelé frittage laser direct, et le frittage en phase liquide, dénommé frittage laser indirect [163], [164].

I.3.3.1. Frittage en phase solide

Le frittage laser direct consiste à consolider le lit de poudre par diffusion des atomes en voie solide. Ce mécanisme intervient dans le cas de matériaux (métal ou céramique) avec une température de fusion élevée. L'irradiation de la poudre par le faisceau laser, à une température inférieure à son point de fusion, active thermiquement la diffusion des atomes entraînant la formation de ponts à l'interface entre les particules adjacentes. Si l'irradiation est suffisamment longue, le lit de poudre finit de se consolider via une diffusion superficielle, en volume ou aux joints de grains des atomes. Ce mécanisme, dont la force motrice provient de la réduction de l'énergie de surface des particules, est relativement lent. Il peut être accéléré via la formation d'une phase liquide.

I.3.3.2. Frittage en phase liquide

Le frittage laser indirect consiste à fondre de manière superficielle les particules d'un lit de poudre monophasée à une température proche de son point de fusion créant ainsi une phase liquide qui sert de liant entre les particules solides. Lorsque que la fusion des grains est totale, on parle de fusion sélective par laser ou selective laser melting en anglais (SLM). Ce mécanisme

peut également être utilisé pour accélérer le frittage des poudres avec une température de fusion élevée. En effet, ces dernières peuvent être enrobées ou mélangées (par simple broyage ou via la création d'un matériau composite) avec un matériau, organique ou minéral, à plus bas point de fusion [165]–[167]. L'énergie du laser est alors ajustée de façon à faire fondre totalement le matériau à bas point de fusion créant une phase liquide entre les particules solides de la poudre à haut point de fusion. Le mélange de plusieurs poudres métalliques ou céramiques à hauts points de fusion permet également d'abaisser la température de fusion du mélange grâce à la formation d'un eutectique [164], [168]. Dans tous les cas, les forces capillaires exercées par le liquide entraînent le réarrangement des particules solides facilitant ainsi le transport de matière et le frittage du lit de poudre. Des traitements thermiques postérieurs sont généralement effectués afin d'éliminer le liant organique et d'augmenter la densité de la pièce finale. Cette dernière dépend ainsi du mécanisme de frittage mais d'autres facteurs, liés principalement aux caractéristiques de la poudre et aux paramètres de fabrication, sont aussi à prendre en considération.

I.3.4. Paramètres influençant la microstructure de la pièce 3D

I.3.4.1. Caractéristiques de la poudre

Les propriétés morphologiques des matières premières ont un rôle essentiel quant à la coulabilité et la compacité du lit de poudre. Or l'amélioration de ces deux paramètres contribue à l'augmentation de la densité finale de la pièce et à la réduction de la rugosité de surface. Des particules de forme sphérique favorisent la compaction et la coulabilité du lit de poudre en améliorant l'empilement des grains et en réduisant le coefficient de friction entre les particules [169]. La compression du lit de poudre par le rouleau ainsi qu'une distribution étroite de taille de particules avec une taille moyenne préférentiellement 10 fois inférieure à l'épaisseur de la couche désirée sont aussi bénéfiques à l'élaboration d'un dépôt de poudre dense et homogène [170], [171]. La taille des particules affecte également le frittage du lit de poudres et donc la densité de l'objet 3D. En effet, lorsque les particules sont plus fines, la surface spécifique de la poudre augmente, le laser interagit donc avec une plus grande surface par unité de volume de poudre. L'énergie absorbée et la température atteinte au sein des couches sont alors plus importantes favorisant leur frittage et leur densification [172]–[174]. Simchi *et al.* [174] ont ainsi observé que le taux de densification de la pièce frittée augmente de 73 à 81% en diminuant la taille moyenne des particules de fer métallique de 51 à 26 μm , pour des couches d'épaisseur 50 μm . En revanche, lorsque la taille des grains se rapproche du micron ($d_{50} = 10 \mu\text{m}$), leur agglomération provoque la réduction du taux de densification à 71%.

Les propriétés physiques de la poudre vont quant à elles avoir un impact sur l'énergie transférée par le laser à la matière. En effet, le point de fusion du matériau détermine la quantité d'énergie à appliquer pour fondre superficiellement les particules. Or l'énergie absorbée par les grains en surface du lit de poudre varie en fonction de la conductivité thermique du matériau et de son absorption optique à la longueur d'onde du laser. Pour une énergie appliquée identique, plus le matériau possède une conductivité thermique faible, plus les grains surfaciques vont absorber une quantité d'énergie importante augmentant fortement la température atteinte au sein de ces grains. En revanche, si la conductivité thermique du matériau est élevée, la chaleur va se propager plus rapidement vers l'intérieur de la couche réduisant la température maximale atteinte au sein du lit de poudre. De même, plus l'absorption du matériau à la longueur d'onde du laser est forte, plus l'énergie absorbée et la température atteinte par le lit de poudre vont être élevées. Ainsi, l'énergie appliquée lors de la fabrication, doit être d'autant plus importante que le matériau possède un point de fusion et une conductivité thermique élevés ainsi qu'une absorption du rayonnement laser faible [169]. Chaque matériau doit donc faire l'objet d'une étude afin de déterminer l'énergie optimale à appliquer pour obtenir une matrice dense.

I.3.4.2. Paramètres de fabrication

a) Influence de l'énergie appliquée

Lors de la fabrication, si l'énergie appliquée est trop faible, la consolidation entre les particules et les différentes couches sera insuffisante provoquant la création de pores et la délamination des couches. D'une façon générale, l'augmentation de l'énergie appliquée accroît la densité finale des pièces. En effet, l'énergie plus importante délivrée aux particules favorise leur fusion et la création d'une phase liquide augmentant ainsi le nombre et la force des liaisons entre les particules solides ainsi que le transport de matière au sein des pores. Une structure plus dense et plus résistante mécaniquement est alors obtenue [174], [175]. Cependant, à de très hautes énergies, la fusion totale des particules provoque leur réarrangement sous la forme de gouttelettes afin de minimiser leur énergie de surface ce qui accentue la porosité de la pièce crue. De plus, l'amplification du gradient thermique induit des contraintes plus importantes au sein du matériau pouvant conduire à la délamination des différentes couches, à la formation de fissures et à des phénomènes de recourbements. Pour des énergies extrêmes, des pièces de plus faibles densités sont donc obtenues (Figure 16a) [176]. Néanmoins, il a été prouvé que des échantillons irradiés avec une même densité d'énergie mais avec des couples puissance/vitesse distincts présentent une microstructure différente affectant la densité et les propriétés mécaniques finales de la pièce (Figure 16b) [177], [178]. L'énergie (J/mm) appliquée à une

ligne (ci-après dénommée cordon) ou à un volume (appelée densité d'énergie volumique en J/mm^3) est en effet proportionnelle à la puissance du laser et inversement proportionnelle à la vitesse de balayage (Equations 8 et 9) [179]. D'autres facteurs, tels que l'épaisseur de la couche et l'espacement entre les cordons, affectent également la densité d'énergie volumique reçue par le lit de poudres lors de son frittage sélectif. Le contrôle des caractéristiques finales de la pièce 3D, via les paramètres de fabrication, ne repose donc pas uniquement sur l'énergie du laser mais également sur tous les paramètres entrant en jeu dans la formule de la densité d'énergie volumique.

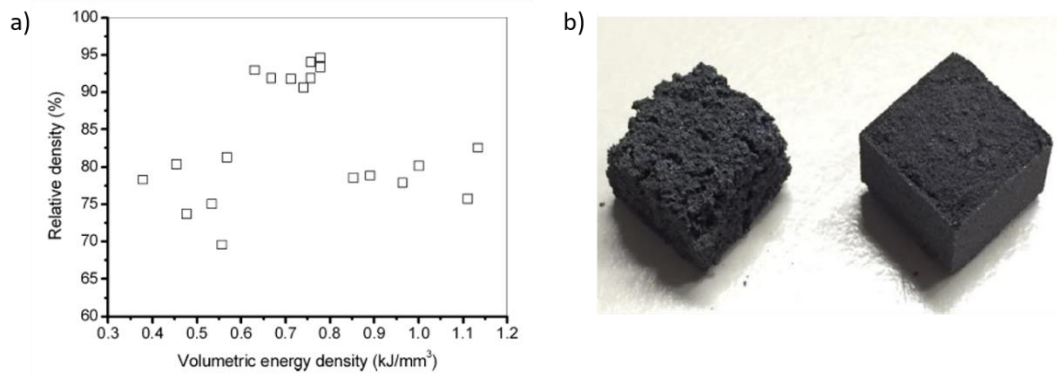


Figure 16 : Influence de la densité d'énergie volumique sur la densité relative d'un composite W-Cu (valable pour des vitesses comprises entre 20 et 60 mm/s) [176] (a) ; Effet de la puissance et de la vitesse de balayage sur la microstructure d'un composé SiC réalisé avec la même densité d'énergie volumique $E \approx 43 \text{ J}/\text{mm}^3$: $P = 40\text{W}$, $v = 200\text{mm/s}$ (gauche) – $P = 20 \text{ W}$, $v = 100 \text{ mm/s}$ (b) [177]

$$\text{Energie} = \frac{\text{puissance}}{\text{vitesse}} \quad (8)$$

$$\text{Densité d'énergie volumique} = \frac{\text{puissance}}{\text{vitesse} \times \text{épaisseur de la couche} \times \text{espacement entre cordons}} \quad (9)$$

b) Influence de la puissance du laser et de la vitesse de balayage

Comme évoqué précédemment, la densité des pièces frittées s'accroît, dans une certaine limite, avec l'énergie du laser. D'après les équations mentionnées ci-dessus, la même observation devrait être faite avec l'augmentation de la puissance et/ou la diminution de la vitesse, ce qui a été confirmé expérimentalement. L'augmentation du taux de densification, grâce aux variations de puissance et de vitesse, confère à la pièce frittée une résistance mécanique accrue [172], [180], [181]. Le frittage laser est notamment plus efficace à faibles vitesses pour une puissance donnée. En effet, la diminution de la vitesse de balayage accroît le temps d'interaction laser-matière et donc la quantité d'énergie absorbée par le lit de poudre. La zone de fusion partielle devient alors plus large et plus profonde favorisant le réarrangement

des particules et leur frittage. Le même comportement est observé en augmentant la puissance du laser [180]. A l'inverse, à des vitesses de balayage trop élevées, le temps d'interaction laser/matière devient insuffisant pour consolider correctement les particules entre elles [162], [164]. De plus, l'énergie transférée au lit de poudres étant moins importante, la zone de fusion devient de plus en plus fine jusqu'à se briser et se réarranger sous la forme de billes du fait de la tension de surface élevée des céramiques se trouvant proche de leur point de fusion et une mouillabilité insuffisante avec la couche précédente [182], [183]. L'augmentation de la vitesse de balayage provoque donc l'accroissement de la porosité. Bien que l'augmentation de la puissance et/ou la diminution de la vitesse aient un effet bénéfique sur la densité des pièces fabriquées, ces variations provoquent également l'augmentation de la rugosité de surface selon les études menées par Tan *et al.* sur différents matériaux en silice et en alliage de cuivre [181], [184]. Le couple puissance-vitesse doit donc être optimisé en fonction des propriétés finales désirées.

c) Influence de l'épaisseur du lit de poudres

L'épaisseur du lit de poudre joue un rôle essentiel quant à la précision géométrique et à la densité du produit final. En effet, lorsque le laser balaie le lit de poudre, l'énergie du laser est absorbée par une fine couche de particules induisant une forte température au sein des particules en surface, comme explicité précédemment. Plus la conductivité thermique du matériau est faible, plus la chaleur générée durant l'interaction laser-matière est difficile à transférer jusqu'à la limite inférieure du lit de poudre, notamment pour une couche épaisse. Les particules n'étant pas complètement fusionnées du fait de la pénétration insuffisante du laser, des pores se créent entraînant une faible adhésion entre les couches adjacentes. Pour assurer une meilleure consolidation de la pièce 3D, l'épaisseur de la couche doit être réduite afin que le laser pénètre entièrement la dernière couche mais également une partie de la précédente favorisant ainsi le frittage entre les couches adjacentes [175]. Lorsque les couches sont plus fines, la fusion partielle des particules est plus homogène au sein du lit de poudre ce qui permet l'amélioration de la précision géométrique, la diminution de la rugosité de surface et l'augmentation de la densité relative de la pièce finale [169], [174], [175]. Juste *et al.* [185], ont ainsi observé une réduction du pourcentage de porosité de 23 à 15% en diminuant l'épaisseur du lit de poudre de 100 à 50 μm (Figure 17). Le frittage de couches fines permet également de minimiser le gradient de température et le retrait volumique du lit de poudre, réduisant ainsi les contraintes au sein du matériau.

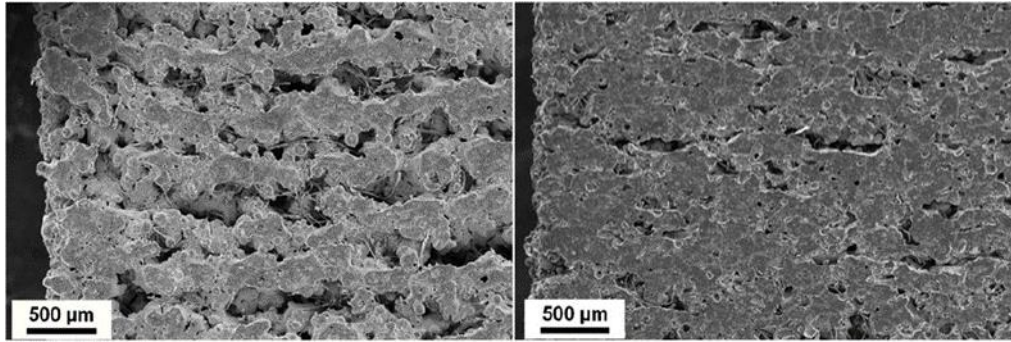


Figure 17 : Images MEB d'une pièce crue d'alumine obtenue par SLM dont l'épaisseur des couches est égale à 100 µm (gauche) et 50 µm (droite)

d) Influence de la distance entre 2 cordons

L'influence de la distance entre deux lignes sur la microstructure de la pièce frittée est similaire à celle de l'épaisseur d'une couche : la réduction de l'espacement entre les cordons améliore la précision géométrique, diminue la rugosité de surface et augmente le taux de densification des pièces et donc leur résistance mécanique [169], [174], [175], [180]. En effet, plus la distance entre deux lignes est importante, plus les cordons frittés successifs s'éloignent formant une pièce de forte porosité. En revanche, lorsque la distance est suffisamment courte pour que les lignes se recouvrent, le faisceau laser irradie le cordon en cours mais également le précédent, de manière partielle. Le transport de matière qui s'opère alors entre les lignes adjacentes favorise leur adhésion et la consolidation de la pièce. De plus, le recouvrement partiel des cordons permet de compenser le profil d'intensité gaussien du faisceau laser qui provoque un gradient de température décroissant du centre vers l'extérieur du cordon.

La combinaison des paramètres appropriés permettrait ainsi de moduler la microstructure finale de la pièce 3D telles que sa précision géométrique, sa rugosité de surface et sa porosité. Toutefois, l'amélioration d'une de ces propriétés peut parfois se faire au détriment d'une autre, un compromis doit donc être réalisé en fonction de l'application visée. Cette technique de mise en forme ne convient d'ailleurs pas à tous les domaines d'applications au vu de la faible résolution du procédé.

I.3.5. Limites

I.3.5.1. Microstructure « grossière »

Bien que le frittage laser sélectif permette de concevoir des pièces avec des formes très complexes, leur résolution, autour de 50 - 100 µm [156], est relativement faible, notamment comparée à la stéréolithographie qui possède une résolution de l'ordre de 10 µm. La précision

géométrique et la rugosité de surface en sont donc fortement affectées. De plus, la faible compaction du lit de poudre (autour de 40 - 60% [186]) ainsi que le temps d'interaction laser-matière très court engendrent une macroporosité importante au sein du solide 3D. En effet, un certain temps est requis pour que le réarrangement des particules, en phase liquide, ou la diffusion des atomes, en phase solide, soient achevés. Pour des vitesses de balayage allant jusqu'à 2000 mm/s, la durée d'exposition du matériau à l'irradiation laser est inférieure à 10 ms. Or, les céramiques et les polymères possèdent une diffusivité thermique de l'ordre de $0,5 - 1.10^6 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$, le temps de diffusion thermique radial se situe donc autour de 40 - 80 ms [174]. La durée d'irradiation est donc trop courte pour assurer une diffusion des atomes et une consolidation de la pièce efficace. Un traitement thermique postérieur est donc généralement effectué afin d'obtenir des pièces de densité plus élevée [162], [169], [174].

I.3.5.2. Contraintes thermiques

Lors du frittage laser sélectif, le cycle thermique appliqué comporte une succession de montées en température et de refroidissements de l'ordre de la milliseconde comme indiqué précédemment. Durant ce laps de temps très bref, des températures supérieures à 1000°C peuvent être atteintes. Les gradients thermiques qui en résultent (de l'ordre de 1000°C sur quelques microns) ainsi que le retrait volumique lié au frittage peuvent induire un stress résiduel important dans la pièce fabriquée provoquant des déformations et/ou des microfissures [187]. Ces contraintes sont d'autant plus importantes au sein des matériaux céramiques frittés en phase solide. En effet, le chauffage rapide de la couche supérieure, irradiée par le laser à de très hautes températures (les céramiques se caractérisant par des points de fusion typiquement très élevées), et la conductivité thermique généralement faible accentue le gradient de température au sein du matériau. De plus, la faible limite de déformation à rupture des céramiques, associée à un module d'élasticité élevé, réduit leur résistance aux contraintes de compression et de tension résiduelles et peut ainsi provoquer la fracture de l'échantillon [187]. Le frittage des céramiques en phase liquide permettrait ainsi d'atténuer ces contraintes.

La rugosité de surface et la forte macroporosité sont toutefois bénéfiques à la création de pièces biocompatibles puisqu'elles favoriseraient la bioactivité du matériau en assurant l'adhésion de l'os naturel à la surface de l'implant ainsi que la vascularisation et la néoformation osseuse du substitut osseux synthétique. Des exemples de frittage laser sélectif, indirect et direct, de céramiques utilisées dans le domaine biomédical (plus particulièrement de phosphates de calcium) sont ainsi présentés dans la suite.

I.3.6. Exemples de frittage laser sélectif de phosphates de calcium

I.3.6.1. Frittage laser sélectif indirect

Dans la littérature, très peu d'exemples font référence à la conception d'objets en hydroxyapatite pure par SLS. La plupart des travaux s'oriente essentiellement sur la fabrication de composites HA-polymère dans lesquels la quantité d'HA est minoritaire. Parmi les polymères biocompatibles utilisés, on peut citer le polyétheréthercétone (PEEK) [188], [189], les polyamides [190], [191] ou la polycaprolactone (PCL) [192], [193]. Dans ces composites, le polymère joue le rôle de liant entre les particules d'HA mais il fait surtout partie intégrante de la matrice. L'ajout d'HA sert à renforcer la bioactivité du matériau souvent bioinerte et la résistance à la compression et à la traction de certains composites [190]. La résistance mécanique de bioverres dans le système de composition ternaire $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ a également été améliorée grâce à l'ajout de 10% massique d'HA nanométrique sous la forme d'aiguilles [194]. La proportion d'HA utilisée ici est donc réduite.

Seuls quelques articles traitent de structures contenant majoritairement de l'HA ou des phosphates de calcium. Lee *et al.* ont été les premiers, en 1994, à reporter la fabrication d'implants osseux à partir de phosphates de calcium. Les particules céramiques sont soit mélangées avec un polymère (15% massique au maximum), soit enrobées de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) [195], [196]. Le lit de poudres, d'une épaisseur de 130 μm , est préchauffé autour de 100°C, puis fritté par SLS. Des pièces ont été obtenues à des puissances de 5 - 7 W et des vitesses allant de 350 à 600 mm/s. L'ajout d'une quantité minoritaire de polymère permet ainsi, via la création d'une phase liquide, de lier les particules céramiques formant des pièces 3D manipulables. Celles-ci sont ensuite déliantées pour éliminer le polymère et leur densité est améliorée par infiltration avec une solution de phosphate de calcium.

L'utilisation de verres en tant que liant est également adaptée à un tel mécanisme du fait de leur bas point de fusion. Lorrison *et al.* [197] ont ainsi étudié le frittage laser sélectif de particules d'HA mélangées à un verre du système de composition $\text{Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$. Le mélange de poudres, contenant 10% en volume de verre, est déposé selon des couches de 250 μm , puis fritté à une puissance de 10 à 50 W et une vitesse de 1 à 500 mm/s. Pour des vitesses supérieures à 50 mm/s, un recourbement de l'extrémité des couches est observé. Ce phénomène, associé au retrait rapide du lit de poudres durant le frittage, est limité aux premières couches en réduisant la vitesse à 10 mm/s. Néanmoins, quels que soient les paramètres de fabrication, les pièces produites restent fragiles. La pénétration insuffisante du laser au sein de la couche épaisse et la

forte porosité du lit de poudres pourraient être à l'origine de cette faible cohésion inter- et intra-couches. Le dépôt du lit de poudres est en effet un paramètre critique quant à la densité finale de l'objet. Pour obtenir un dépôt homogène et compact, les particules requièrent des caractéristiques spécifiques, comme mentionné précédemment. De nouveaux modes de déposition ont donc été étudiés dans la littérature, tels que le dépôt de suspensions céramiques par docteur blade ou le dépôt par pulvérisation [198]–[200]. La densité accrue du lit de poudres facilite le frittage des particules céramiques et augmente la densité finale des pièces frittées. Ces modes de déposition posent toutefois de nouvelles problématiques telle que la formation de fissures au sein du lit de poudres lors du séchage.

I.3.6.2. Frittage laser sélectif direct de céramiques

Dans la littérature, très peu d'études ont été menées sur le frittage laser sélectif direct de céramiques probablement à cause des limites liées à un frittage en phase solide. De plus, seuls les matériaux absorbants dans l'infrarouge peuvent faire l'objet d'une mise en forme par SLS. Ce procédé nécessite donc l'emploi de céramiques ayant les propriétés optiques adéquates ou bien l'ajout d'une seconde poudre céramique fortement absorbante. Les travaux suivants de Ferrage *et al.* et de Bertrand *et al.* ne concernent donc pas des céramiques utilisées dans le domaine biomédical.

Ferrage *et al.* [201] ont ainsi conçu des objets 3D à partir de particules sphériques de zircone yttrée mélangées à 0,75% en masse de graphite (éliminé par oxydation sous la forme de CO₂ lors du procédé) augmentant ainsi l'absorption optique de la poudre de 2 à 57% à 1064 nm. Les poudres, avec une taille moyenne de particules inférieure à 20 µm, sont étalées et compactées, puis frittées. Des pièces ont pu être fabriquées en utilisant une puissance de 78 à 87 W et une vitesse de balayage de 60 à 75 mm/s. Cependant, Bertrand *et al.* [170] ont réussi à concevoir des pièces crues à partir de zircone yttrée sans ajouter d'additif. Les particules atomisées, avec une distribution de taille de particules inférieure à 1 µm, sont d'abord étalées et compactées à l'aide d'un rouleau. Elles sont ensuite frittées avec des vitesses de balayage allant de 1250 à 2000 mm/s (puissance non spécifiée) dans une enceinte préchauffée afin de réduire les contraintes dues aux gradients thermiques et l'apparition de microfissures. Des taux de densification autour de 56% sont ainsi atteints. De même, Shuai *et al.*, dont les études sont détaillées dans les paragraphes suivants, ont reporté la mise en forme d'hydroxyapatite nanométrique par SLS direct [202]–[205]. Le réglage des paramètres de fabrication et les caractéristiques initiales de la poudre permettent donc de concevoir des objets à partir de matériaux ayant une faible absorption à la longueur d'onde du laser.

Dans leurs études, Shuai *et al.* se sont intéressés au frittage laser sélectif de particules d'hydroxyapatite de taille nanométrique afin d'améliorer la frittabilité de la poudre et de renforcer la résistance mécanique du matériau final. Un laser CO₂ pulsé est utilisé ce qui permet d'atteindre des températures plus élevées tout en réduisant la puissance moyenne délivrée au lit de poudres. Leur première étude consiste à évaluer l'influence de la vitesse de balayage sur le frittage des particules d'HA ayant une taille moyenne d'environ 40 nm (Figure 18b) [202]. Des pièces frittées avec des couches de 300 µm ont pu être conçues (Figure 18a) à l'aide d'un faisceau laser ayant un diamètre de 4 mm et une puissance de 50 W. Les vitesses faibles utilisées, allant de 50 à 300 mm/min (soit de 0,8 à 5 mm/s), permettent d'accroître le temps d'interaction laser-matière et donc de favoriser la diffusion des atomes. Les tests réalisés montrent que la vitesse de balayage optimale est de 200 mm/min. En effet, à cette vitesse, les images de microscopie électronique révèlent que les particules sont correctement consolidées avec une taille moyenne autour de 100 nm (Figure 18d). Pour une vitesse supérieure de 300 mm/min, bien que les grains aient commencé à se lier entre eux, leur adhésion reste relativement faible signifiant que le frittage est insuffisant (Figure 18c). A l'inverse, à des vitesses inférieures de 100 et 50 mm/min, les particules, fortement liées entre elles, deviennent de plus en plus sphériques et uniformes en taille (Figure 18d,e). La densification entraîne la disparition totale des pores à 50 mm/min. Cependant, la taille des grains augmente fortement, passant de 200 nm

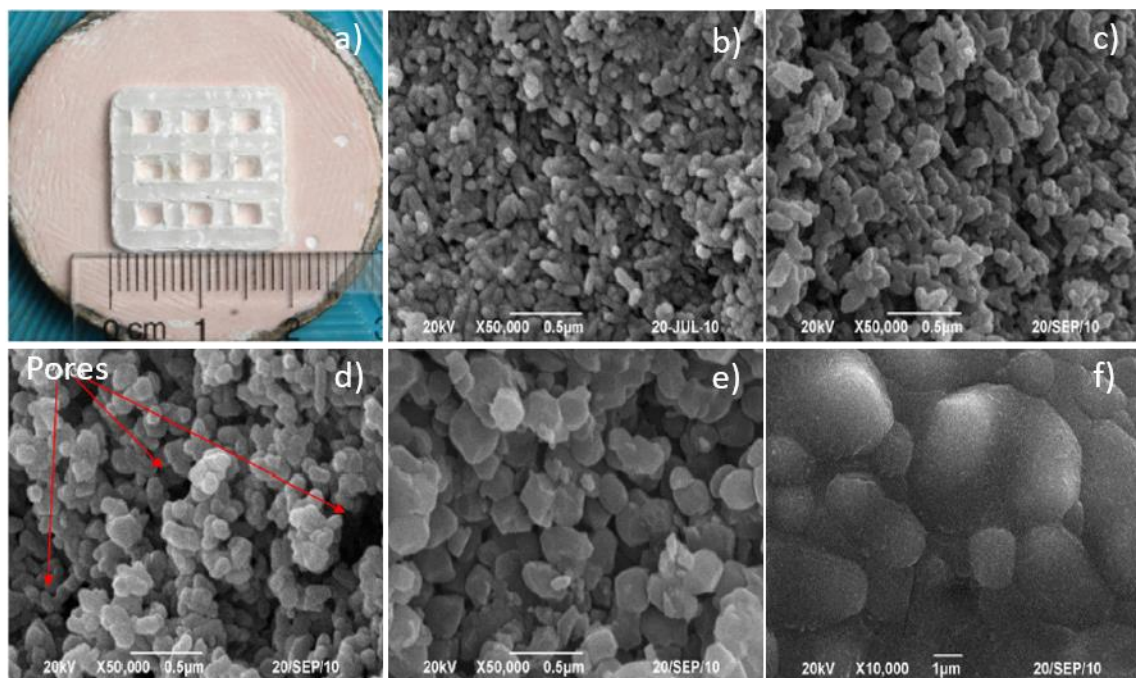


Figure 18 : Photo d'une pièce 3D en HA réalisée par SLS (a) et images MEB de la surface : nanoparticules d'HA initiales (b) et frittées à différentes vitesses : 300 (c), 200 (d), 100 (e) et 50 (f) mm/min [202]

à quelques microns. La structure finale perd donc ses propriétés nanométriques du fait d'un frittage excessif. La pureté des phases frittées est confirmée par DRX, seule la pièce mise en forme avec une vitesse de balayage de 50 mm/min contient de faibles quantités de β -TCP et TTCP. La présence de ces deux phases démontre que des températures proches de 1450°C ont été atteintes provoquant la réaction réversible de décomposition de l'HA. L'augmentation de l'intensité des pics en DRX après frittage ainsi que la diminution de l'épaisseur des couches, de 300 à 200 μm , témoignent d'une cristallinité plus élevée et d'un retrait de la pièce, caractéristiques du frittage. Néanmoins, les couches frittées sont parfaitement distinguables en microscopie électronique ce qui pourrait refléter un manque de consolidation entre elles et entraîner une éventuelle délamination.

Dans les deux études suivantes menées par Shuai *et al.* [203], [204], l'influence de la densité d'énergie (2 - 5 J/mm²) et de la puissance (5 - 10 W) sur le frittage de l'HA nanométrique donne des résultats similaires : à basse énergie ou puissance, le frittage de couches de 200 μm est insuffisant tandis qu'à haute énergie ou puissance, les grains grossissent fortement et des phases secondaires sont identifiées. Les propriétés mécaniques des pièces ont été évaluées dans le cas de l'étude de l'influence de la densité d'énergie ($J = 2, 3, 4$ et 5 J/mm^2). La dureté Vickers et la ténacité des pièces suivent la même tendance : elles augmentent respectivement d'environ 2,7 à 4,0 GPa et de 0,90 à 1,28 MPa.m^{1/2} entre 2 et 4 J/mm² tandis qu'une diminution est observée pour 5 J/mm². Cette baisse est liée à l'apparition de pores au sein de la structure ce qui est cohérent avec les observations faites au paragraphe I.3.4.2. Des ténacités du même ordre de grandeur ont été mesurées au sein de pièces fabriquées par SLS à partir d'un mélange de poudres contenant différents ratios HA/TCP [205]. Cette dernière étude montre que la résistance à la compression (comprise entre 3 et 18 MPa) et la ténacité sont respectivement accrues de 60 et 40% avec l'ajout de 30% massique de TCP. En comparaison, les céramiques d'HA obtenues de manière conventionnelle présentent une ténacité d'environ 1 MPa.m^{1/2}, une résistance à la compression comprise entre 120 et 900 MPa tandis que la dureté Vickers se situe autour de 3 – 7 GPa [206]. Bien que des améliorations quant à la résistance mécanique des pièces puissent être faites, les études de Shuai *et al.* prouvent que la conception de pièces 3D en hydroxyapatite par frittage sélectif laser en phase solide est réalisable et ouvrent la voie à de nouveaux travaux.

I.4. Conclusions et objectifs de l'étude

Malgré la capacité d'autoréparation de l'os, des substituts osseux synthétiques avec une forme adaptée à l'anatomie du patient sont requis pour réparer des zones endommagées de grande dimension. L'HA, qui présente une excellente biocompatibilité et bioactivité du fait de sa composition chimique proche de celle de l'os, est un des matériaux les plus utilisés en reconstruction osseuse. Néanmoins, ses propriétés ostéoconductrices induisent une recolonisation cellulaire et vasculaire seulement à l'interface os/implant ce qui ne permet pas l'ostéointégration complète du substitut osseux. De nombreuses études cherchent donc à améliorer les propriétés biologiques de l'apatite notamment via l'insertion d'éléments naturellement présents dans le corps humain et reconnus pour leur rôle majeur durant le remodelage osseux. Parmi ces éléments dopants, le cuivre et le fer ont été retenus du fait de leurs propriétés biologiques et optiques intéressantes en vue de la conception de substituts osseux synthétiques de forme customisée par SLS.

Cette thèse vise donc à synthétiser et caractériser des HA dopées au cuivre et au fer par les techniques de coprécipitation et de réaction par voie solide qui ont déjà été étudiées dans la littérature. Que ce soit dans le cas du cuivre ou du fer, des phases pures sont obtenues après synthèse par coprécipitation mais les modifications structurales engendrées par l'insertion du dopant et son site de substitution au niveau du Ca(1) ou Ca(2) varient d'un auteur à l'autre du fait de l'utilisation de précurseurs et de méthodes de préparation différentes. De plus, la vérification du DO du fer n'est pas toujours effectuée en fin de synthèse, or les précurseurs contenant des ions Fe^{2+} peuvent subir une oxydation partielle. Par réaction en voie solide, des études approfondies ont été menées dans la littérature sur la structure cristallographique des HA dopées au cuivre bien que le DO du cuivre reste à clarifier. En revanche, peu d'articles font référence à la synthèse d'HA dopées au fer par voie solide. De plus, les articles ne considèrent que des précurseurs de fer(III) et la pureté de la phase n'est pas toujours avérée.

L'objectif, dans le cas des synthèses par coprécipitation, est donc d'établir de manière précise les conditions de synthèse utilisées et d'en déduire l'influence des précurseurs sur la pureté et la stabilité thermique des phases, qui a été peu étudiée, ainsi que sur la localisation de l'élément dopant. Dans le cas du fer, des précurseurs contenant uniquement des ions Fe^{3+} ou Fe^{2+} seront utilisés et le DO de l'élément dopant dans la phase finale sera vérifié par spectroscopie Mössbauer afin de distinguer les effets du DO sur la structure apatitique. Concernant la réaction par voie solide, l'objectif est de synthétiser des phases pures d'HA

dopées au cuivre, de confirmer la position du cuivre déjà établie dans la littérature et de préciser le DO du cuivre ainsi que son environnement. L'influence du dopage au cuivre sur la frittabilité de l'HA, la densification des céramiques et leur microstructure sera également établie, aucune donnée n'étant disponible dans la littérature. Enfin, les propriétés biologiques des HA dopées au cuivre seront évaluées selon un protocole précis et des essais de mise en forme par SLS seront réalisés. Pour améliorer la densité du lit de poudre, des couches minces seront déposées à partir d'une suspension céramique, comme mentionné dans la littérature. Finalement, des HA dopées au fer(III) ou au fer(II) seront synthétisées par voie solide dans le but d'évaluer l'influence du DO du fer sur la pureté des phases, sur la localisation du dopant et son environnement au sein de la structure apatitique ainsi que sur la frittabilité de l'HA.

Chapitre II. Techniques expérimentales

Chapitre II. Techniques expérimentales

Ce chapitre vise à présenter les techniques d'élaboration et de caractérisations des poudres et céramiques de CuHA et FeHA ainsi qu'à donner une description des appareillages utilisés. Dans le cadre de l'utilisation potentielle des matériaux CuHA dans le domaine biomédical, les différents tests biologiques mis en place seront détaillés ainsi que les étapes menant au frittage laser sélectif.

II.1. Elaboration des HA dopées au cuivre ou au fer

II.1.1. Synthèse par coprécipitation et calcinations

Le protocole de synthèse par précipitation de l'hydroxyapatite pure (HA) a été établi lors de travaux précédents au sein du laboratoire IRCER [207]. La synthèse consiste à additionner à vitesse contrôlée une solution de phosphates à une solution de calcium, les quantités de matière des réactifs étant calculées de façon à obtenir un rapport molaire $\text{Ca/P} = 10/6$. Les conditions de synthèse fixées dans les travaux précédents (pH, température et temps de maturation) ont été légèrement modifiées afin que l'HA pure, servant de référence, soit réalisée dans les mêmes conditions que les HA dopées. Le schéma du montage utilisé est représenté sur la Figure 19.

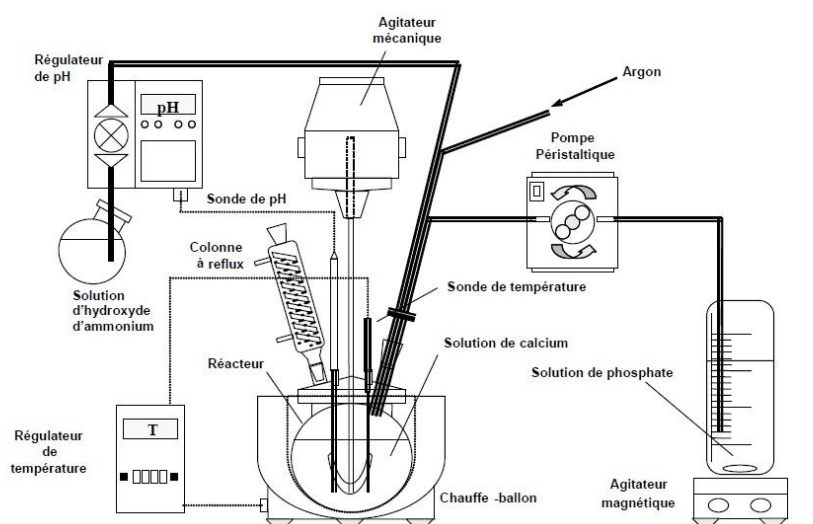


Figure 19 : Schéma du montage de la synthèse d'HA en voie aqueuse

Une solution de nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ diluée dans de l'eau distillée ($C = 0,64$ M, $V = 250$ mL, Aldrich) est introduite dans un ballon de 2 L. Un flux d'argon (débit de 0,5

L/min) barbote dans la solution afin de limiter la carbonatation de l'hydroxyapatite par le gaz carbonique atmosphérique. L'agitation mécanique (RZR 2041, Heidolph) est fixée à 150 rpm. Le pH est ajusté à l'aide d'une solution d'hydroxyde d'ammonium NH_4OH (35%, diluée 5 fois, Fisher Scientific) et maintenu à sa valeur de consigne ($\text{pH} = 8$) grâce à une pompe doseuse régulatrice (Black Stone BL 7916, Hanna Instruments) connectée à une sonde de pH. La température est fixée à 80°C et maintenue à l'aide d'un chauffe-ballon relié à une sonde de température. Le réacteur est placé sous reflux afin d'éviter l'évaporation des composés volatils. Une solution d'hydrogénophosphate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, diluée dans de l'eau distillée ($C = 0,64 \text{ M}$, $V = 150 \text{ mL}$, Fisher Scientific) et préalablement chauffée à 70°C dans un réacteur secondaire, est ajoutée dans le ballon grâce à une pompe péristaltique (Pump Drive PD 5001, Heidolph). La solution est alors laissée à maturation pendant 5 h. Elle est ensuite filtrée sur Büchner et lavée 6 fois avec 500 mL d'eau distillée pour chaque lavage, puis séchée dans une étuve à 100°C . L'HA ainsi synthétisée, servant de référence aux produits dopés par coprécipitation (CP), sera dénommée CP01. Les poudres issues de traitement thermique seront notées CP01-T, avec T la température de calcination utilisée. La pureté de la poudre d'HA produite est vérifiée avant utilisation (cf paragraphe II.2.1.2).

Tableau 5 : Nom des synthèses d'HA dopées par coprécipitation, réactifs et conditions de synthèse

Synthèse	Réactifs	Précurseur Cu/Fe	Conditions de synthèse
CP01	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$		$\text{pH} 9$
	NH_4OH		$T = 80^\circ\text{C}$
	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$		Tps maturation : 5 h
CuCP01	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{pH} 8$
	NH_4OH		$T = 80^\circ\text{C}$
	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$		Tps maturation : 5 h
CuCP02	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{pH} 8$
	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$		$T = 80^\circ\text{C}$
			Tps maturation : 5 h
FeCP01	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	$\text{pH} 8$
	NH_4OH		$T = 80^\circ\text{C}$
	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$		Tps maturation : 5 h
FeCP02	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$(\text{NH}_4)_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{SO}_4)$	$\text{pH} 8$
	NH_4OH		$T = T_{\text{amb}}$
	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$		Tps maturation : 24 h

Pour élaborer les HA dopées au cuivre ou au fer, une solution de nitrate de cuivre $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, de nitrate de fer $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ou bien de sel de Mohr $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}^{\text{II}}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a été ajoutée à la solution initiale contenant le nitrate de calcium. Dans certaines synthèses, l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ($\text{pK}_a = 12,6$) a été utilisé en

remplacement du nitrate de calcium et de l'ammoniaque ($pK_a = 9,2$) afin d'éviter la formation du complexe $[Cu(NH_3)_4^{2+}]$ comme nous le verrons ultérieurement. Les quantités de matière des réactifs ont été calculées en considérant un rapport $(Ca+M)/P = 10/6$ (avec M l'élément de transition). Pour éviter toute oxydation des ions Fe^{2+} , la synthèse en présence de sel de Mohr a été réalisée à température ambiante et le temps de maturation a été allongé à 24 h pour compenser la baisse de la température de chauffage. Les réactifs et les conditions utilisées dans chaque synthèse sont récapitulées dans le Tableau 5 avec le nom de synthèse associé.

La stabilité thermique des poudres a été étudiée en effectuant des traitements thermiques sous air à 600, 800 et 1200°C pendant 1 h (rampe 10°C/min) dans un four à moufle. Le produit issu de la synthèse FeCP02, contenant des ions Fe^{2+} , a été calciné sous argon dans un four tubulaire afin d'éviter toute oxydation de l'espèce réduite.

II.1.2. Synthèse par voie solide et frittage

Les réactions par voie solide ont été réalisées directement entre une HA pure stœchiométrique et un précurseur de cuivre ou de fer. La synthèse préalable de l'HA en voie aqueuse permet d'éviter la formation de produits secondaires souvent observés lors de sa synthèse par voie solide [88], [89].

L'HA pure est synthétisée par précipitation selon le protocole établi au paragraphe précédent en apportant quelques modifications afin de produire de grande quantité de poudre. La synthèse est réalisée dans un ballon double paroi de 10 L chauffé par un bain d'huile (B12 phoenix II, ThermoHaake). Les concentrations du nitrate de calcium ($V = 2$ L) et de l'hydrogénophosphate de diammonium ($V = 1,2$ L) sont ajustées à 1,3 M. Ces ajustements ont été réalisés de façon à obtenir une phase pure après maturation. Le pH est fixé à 8,5 et la température à 85°C. L'agitation mécanique (RZR 2102 control, Heidolph) est fixée à 120 rpm. La solution contenant les phosphates est ajoutée à l'aide d'une pompe péristaltique Pump Drive PD 5205 (Heidolph) et le pH est ajusté à l'aide d'une pompe doseuse régulatrice gamma/ L (Prominent). Après 5 h de maturation, la solution est centrifugée à 1530 rpm pendant 5 min, lavée deux fois avec 500 mL d'eau distillée et séchée à l'étuve à 100°C. Avec les quantités de matière utilisées, environ 200 g de poudre sont récupérés à l'issue de la synthèse. La pureté de la phase est vérifiée (cf paragraphe II.2.1.2), puis la poudre est calcinée à 600°C pendant 1 h (rampe 10°C/min) afin d'éliminer les sous-produits de la réaction tels que les groupements nitrates. L'HA pure servant de référence aux produits issus de la voie solide sera dénommée VS01-T avec T la température de calcination utilisée.

Une quantité variable de précurseur de cuivre ou de fer est ajoutée à la poudre d'HA calcinée à 600°C selon le taux de dopant visé. Pour le dopage au cuivre, des quantités allant de 0,8 à 10,7% en pourcentage massique d'oxyde de cuivre(II) CuO (Alfa Aesar) sont additionnées à l'HA, ce qui correspond à un taux de cuivre final x_{Cu} allant de 0,1 à 1,5 mole dans la formule théorique hypothétique $Ca_{10}(PO_4)_6Cu_xO_yH_z$. Dans le cas du fer, des précurseurs avec différents degrés d'oxydation sont étudiés. Les oxydes de fer α -Fe₂O₃ (Sigma-Aldrich) et Fe₃O₄ (Alfa Aesar) ainsi que l'acétate de fer(II) Fe(CH₃COO)₂ (Sigma-Aldrich) sont ainsi utilisés. Les quantités de dopant ajoutées sont calculées de façon à viser trois taux de fer finaux x_{Fe} : 0,25 ; 0,5 et 1,0 mole dans la formule générale $Ca_{10}(PO_4)_6Fe_xO_yH_z$. Le Tableau 6 récapitule le pourcentage massique de précurseur utilisé, le taux final hypothétique de dopant dans la formule générale et le nom associé à chaque échantillon après réaction par voie solide.

Tableau 6 : Récapitulatif des précurseurs, pourcentages massiques et taux de dopant utilisés pour chaque composition

Précurseurs	% massique	x	Nom échantillon
CuO	0,8	0,1	CuVS0,1
CuO	2,3	0,3	CuVS0,3
CuO	3,8	0,5	CuVS0,5
CuO	5,3	0,7	CuVS0,7
CuO	10,7	1,5	CuVS1,5
α -Fe ₂ O ₃	2,0	0,25	Fe ^{III} VS0,25
α -Fe ₂ O ₃	3,9	0,5	Fe ^{III} VS0,5
α -Fe ₂ O ₃	7,4	1,0	Fe ^{III} VS1,0
Fe ₃ O ₄	1,9	0,25	Fe ^{II/III} VS0,25
Fe ₃ O ₄	3,8	0,5	Fe ^{II/III} VS0,5
Fe ₃ O ₄	7,3	1,0	Fe ^{II/III} VS1,0
Fe(CH ₃ COO) ₂	4,4	0,25	Fe ^{II} VS0,25
Fe(CH ₃ COO) ₂	15,4	1,0	Fe ^{II} VS1,0

Le mélange de poudres HA-précurseur (environ 20 – 25 g) est intimement broyé par attrition (attriteur NETSCHZ) afin de réduire la taille des particules et de favoriser la réaction par voie solide. L'attrition est réalisée dans un bol en Téflon de 100 mL en présence d'environ 50 mL d'eau distillée, de 1% massique de dispersant Darvan CN (Vanderbilt Minerals) par rapport à la masse totale de poudre et de 75 g billes de zircone yttrée de 1 mm de diamètre. Une vitesse de 800 rpm est appliquée pendant 3 h. Les distributions volumiques des particules sont déterminées par granulométrie (décrite au paragraphe II.2.4.1). La suspension est ensuite

séchée à l'étuve à 100°C, et des pastilles de 10 et 18 mm de diamètre sont réalisées en appliquant une pression uniaxiale de 100 MPa. Enfin, les pastilles sont calcinées dans un four Nabertherm LHT 04/17 (rampe 10°C/min) pendant 1 h à une température de 1100°C pour les HA dopées au cuivre et à différentes températures pour les HA dopées au fer : 1000, 1100, 1200, 1300 et 1400°C. Les échantillons contenant les précurseurs CuO et Fe₂O₃ sont traités thermiquement sous air tandis que les échantillons contenant les précurseurs Fe₃O₄ et Fe(CH₃COO)₂ sont traités sous argon afin d'éviter l'oxydation des ions Fe²⁺. Le frittage des pastilles dopées au fer est réalisé selon le même cycle thermique que les calcinations. En revanche, les pastilles dopées au cuivre sont frittées tous les 50°C entre 1050 et 1200°C pendant 30 minutes (rampe 10°C/min). Les pastilles de 18 mm de diamètre sont broyées au mortier pour des caractérisations ultérieures. Les matériaux élaborés par voie solide seront ainsi notés Cu/FeVS_x-T avec x le taux de dopant et T la température de calcination.

II.2. Caractérisations des HA dopées au cuivre ou au fer

Les poudres synthétisées par les deux voies précédemment décrites sont caractérisées par diverses techniques dont les conditions expérimentales sont détaillées dans la suite. Certains résultats concernant l'HA pure, les précurseurs et suspensions initiales seront également présentés ici.

II.2.1. Diffraction des rayons X (DRX)

II.2.1.1. Température de réaction par voie solide

La température de réaction par voie solide entre l'HA et les précurseurs CuO et Fe₂O₃ a été déterminée grâce au suivi en température des diffractogrammes des rayons X de pastilles contenant le mélange de poudres. La pastille est placée sur un support en alumine au sein d'un four HTK1200N (Anthon PAAR, T_{max} = 1150°C) monté à l'intérieur d'un diffractomètre Brüker D8 Advance Da Vinci de géométrie Bragg-Brentano. Une acquisition *in situ* des diffractogrammes est réalisée tous les 50°C entre 900 et 1150°C selon le cycle suivant : rampe de montée de 10°C/min, palier de 15 min à la température désirée pour stabiliser le système, puis acquisition durant 30 min. Une anticathode de cuivre est utilisée avec une tension de 40 kV et une intensité de 40 mA. Les diffractogrammes sont collectés entre 23 et 43° (2θ) avec un pas de 0,02° et un temps de comptage par pas de 1,5 s.

II.2.1.2. Identification des phases

La stœchiométrie et la pureté des HA non dopées, primordiale notamment pour la voie solide, est vérifiée selon la norme ISO 13779-3 [96] qui préconise d'effectuer une calcination à 1000°C pendant 15 h suivie d'un palier à 400°C. A cette température, l'échantillon est trempé et un test à la phénolphthaléine permettant de révéler la présence de chaux est effectué. En effet, cet indicateur coloré vire de l'incolore en milieu acide au rose en milieu basique ($\text{pH} > 8$). Une analyse DRX est ensuite effectuée en utilisant le diffractomètre Brüker D8 Advance Da Vinci à température ambiante. Les diffractogrammes sont collectés entre 27 et 41° (2 θ) avec un pas de 0,02° et un temps de pose/pas de 1,9 s.

Pour tous les autres échantillons, l'identification des phases est assurée via l'acquisition de diffractogrammes entre 10 et 60° (2 θ) avec un pas de 0,02° et un temps de pose/pas de 1,2 s. Les poudres sont mises en rotation lors de la mesure à une vitesse de 10 rpm afin de s'affranchir de l'orientation préférentielle des particules. La tension et l'intensité de travail sont respectivement fixées à 40 kV et 40 mA. Les mesures ont été réalisées sur les diffractomètres Bruker D8 Advance Da Vinci (radiation $\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) et Bruker D8 Advance Serie II équipé d'un monochromateur avant (radiation $\text{CuK}\alpha_1$).

Les phases sont identifiées par comparaison des diffractogrammes expérimentaux avec les diffractogrammes issus des fiches ICDD-PDF (International Center for Diffraction Data – Powder Diffraction Files) dont les numéros sont répertoriés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Fiches ICDD-PDF de référence utilisées pour l'indexation des phases

Composé	N° fiche PDF
Hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	9 - 432
β -TCP $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (système hexagonal)	55 - 898
α -TCP $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (système monoclinique)	29 - 359
TCP $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (système orthorhombique)	9 - 348
Oxyde de cuivre(II) CuO	48 - 1548
Oxyde de cuivre(I) Cu_2O	5 - 667
Hématite Fe_2O_3	33 - 664
Magnétite Fe_3O_4	19 - 629
$\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$	47 - 1744
CaFe_2O_4	32 - 168

II.2.1.3. Affinement des diffractogrammes des rayons X

❖ Affinement par la méthode de Le Bail

Les paramètres de maille et la taille des cristallites des phases apatitiques sont déterminés en affinant les diffractogrammes des rayons X selon la méthode de Le Bail via le logiciel FullProf. Cette méthode consiste à affiner les variables associées à la position et à la forme des raies des pics de diffraction, leur intensité étant ajustée de manière non contrainte afin de minimiser la différence entre diffractogrammes expérimental et calculé.

La phase apatitique est affinée en considérant le groupe d'espace $P6_3/m$. Pour tous les échantillons, le fond continu est créé manuellement à partir de points répartis au niveau de la ligne de base du diffractogramme sur tout le domaine d'angles analysé. Les paramètres affinés sont le décalage d'origine, les paramètres de maille a , b et c , l'asymétrie des raies ainsi que les paramètres liés au profil de raie dépendant de la fonction utilisée pour le décrire. En effet, les profils de raies sont assimilés à des fonctions pseudo-voigt (PV) de deux types selon la morphologie des cristallites.

Si l'échantillon est constitué de grains isotropes, la fonction pseudo-Voigt élémentaire, qui est une combinaison linéaire d'une fonction gaussienne G et d'une fonction lorentzienne L , est utilisée. Elle fait intervenir un facteur de mélange η selon la relation $PV = \eta L + (1-\eta)G$ qui sera affiné ($0 \leq \eta \leq 1$). Lorsque cette fonction est utilisée, la largeur à mi-hauteur de la raie k H_k peut être décrite en utilisant la relation de Caglioti : $H_k^2 = U \tan^2(\theta) + V \tan(\theta) + W$ avec U , V , W des constantes ajustables.

Lorsque les cristallites présentent une anisotropie, le profil des raies est décrit selon la fonction de profil pseudo-Voigt modifiée de Thompson-Cox-Hastings (TCH) qui permet d'accéder à des informations microstructurales telles que la dimension moyenne des cristallites selon différents plans. En effet, les contributions gaussiennes H_g et lorentziennes H_l de l'enveloppe du pic de diffraction sont affinées séparément, la largeur à mi-hauteur est alors définie de la manière suivante :

$$H_g = U \tan^2(\theta) + V \tan(\theta) + W + Z/\cos^2(\theta)$$

$$H_l = X \tan(\theta) + Y/\cos(\theta).$$

La détermination des deux composantes H_g et H_l permet de remonter à la largeur intégrale du pic β qui décrit l'élargissement global des pics. Il est alors possible de calculer la taille des cristallites L grâce à la formule de Debye-Scherrer : $L = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}$ avec $K = 0,9$.

❖ Affinement par la méthode de Rietveld

La structure cristallographique des phases apatitiques (paramètres de maille, positions atomiques, taux d'occupation des sites et facteur de déplacement isotrope voire anisotrope) peut être affinée via le logiciel FullProf en utilisant la méthode de Rietveld. Dans ce cas, les diffractogrammes sont collectés à température ambiante avec un diffractomètre D8 Advance Serie II équipé d'un tube à rayons X à rayonnement $\text{CuK}\alpha_1$ et d'un monochromateur avant. Les acquisitions sont réalisées à 40 kV et 40 mA, de 10 à 60° (2 θ) avec un pas de 0,02° et un temps de pose/pas de 19 s.

Comme pour la méthode Le Bail, la méthode de Rietveld consiste à ajuster par affinement des moindres carrés les points du diffractogramme calculé à ceux du diffractogramme expérimental [208]. Les variables associées à la position des raies, à leur forme et à leur intensité sont affinées de façon à minimiser la fonction $\chi^2 = \sum_i \omega_i (y_i - y_{ci})^2$ avec ω_i l'inverse de la variance, y l'intensité mesurée et y_c l'intensité calculée. L'intensité des raies, variable introduite de manière supplémentaire par rapport à la méthode Le Bail, est calculée à partir des facteurs de structure qui dépendent de la position des atomes (coordonnées x , y , z), de leur nature (facteur de diffusion propre à chaque atome), du coefficient de déplacement isotrope B_{iso} associé à chaque position cristallographique et du taux d'occupation des atomes sur chacune de leur position dans la maille. Le degré d'accord entre les diffractogrammes calculé et mesuré est quantifié grâce à différents facteurs de confiance : les facteurs R_p et R_{wp} , qui ne dépendent pas du fond continu et rendent compte de la forme des raies, le facteur R_{Bragg} , particulièrement sensible à l'ajustement de l'intensités des pics et qui est considéré comme le meilleur indicateur cristallographique, c'est-à-dire le plus sensible aux paramètres structuraux (ce dernier facteur est nul pour la méthode Le Bail). L'affinement est jugé satisfaisant si leur valeur est inférieure à 8-10%.

La transformée de Fourier du facteur de structure issu du diffractogramme différence permet d'établir une cartographie de Fourier-différence correspondant aux résidus de densité électronique au sein de la maille. Ces transformées de Fourier ont été utilisées afin de déterminer la position des ions dopants. En effet, dans le cas des HA dopées, l'absence de prise en compte des ions fer et cuivre en sites interstitiels dans les paramètres des affinements

Rietveld devrait mettre en évidence des résidus électroniques élevés révélant la position de ces atomes au sein de la maille apatitique. L'élément dopant peut alors être ajouté au modèle structural.

L'ensemble des paramètres structuraux (groupe d'espace, positions atomiques, paramètres de maille) déterminés par les affinements donne lieu à la création de fichiers sources (.cif) permettant une représentation en 3D des réseaux cristallographiques à l'aide du logiciel Diamond.

II.2.2. Analyses thermiques

II.2.2.1. Analyse thermogravimétrique couplée à une analyse thermique différentielle (ATG-ATD)

Le comportement thermique des HA dopées et non dopées est étudié par thermogravimétrie couplée à une analyse thermique différentielle (STA 449 F3 Jupiter, NETZSCH). Des mélanges de poudres contenant 80% massique d'HA calcinée à 600°C et 20% massique d'un précurseur de cuivre ou de fer utilisé pour la voie solide sont analysés. Ce taux de dopant volontairement élevé a été utilisé dans le but d'identifier au mieux les réactions entre précurseurs. Les mesures sont réalisées jusqu'à une température de 1500°C avec une rampe de 20°C/min, sous flux d'air pour les précurseurs CuO et Fe₂O₃ et d'argon pour les précurseurs contenant des ions Fe²⁺ (débit de 20 mL/min).

II.2.2.2. Dilatométrie

Le comportement au frittage des mélanges de poudres utilisés pour les synthèses par voie solide est suivi par dilatométrie avec un analyseur thermomécanique SETSYS evolution (SETARAM instrumentation). Des pastilles de 10 mm de diamètre et d'environ 2 mm d'épaisseur, contenant le mélange de poudres, sont pressées à 100 MPa. Une force de contact de « 5 g » est appliquée sur ces pastilles crues et un cycle thermique allant jusqu'à 1400°C avec un palier de 30 min (rampe 10°C/min) est effectué. Le chauffage est réalisé sous flux d'air ou d'argon pour les échantillons contenant des espèces réduites (débit 20 mL/min).

II.2.3. Analyses chimiques

II.2.3.1. Spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)

La quantité de dopant introduite dans les phases CuHA ou FeHA est mesurée par spectrométrie ICP-OES (Perkin Elmer Optima 8300). Les échantillons sont préparés en

dissolvant par radiations micro-ondes environ 15 mg de poudre dans 6 mL d'un mélange d'acides $\text{HNO}_3\text{-HCl}$ (3:2). La solution est ensuite diluée dans de l'eau distillée afin d'atteindre un volume de 100 mL. L'appareil est calibré à partir de solutions standards contenant l'élément dopant considéré et une moyenne sur trois mesures par échantillon est calculée.

II.2.3.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres infrarouges des poudres sont enregistrés à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier Spectrum One (Perkin Elmer). Une pastille, contenant quelques milligrammes d'échantillon et 135 mg de poudre de bromure de potassium KBr préalablement séchés à l'étuve et broyés, est mise en forme, puis 32 scans sont enregistrés entre 4000 et 400 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} . Une mesure référence est préalablement réalisé sur une pastille de KBr pur.

II.2.3.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN du ^1H et du ^{31}P ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance III 300 WB (7,05 T ; fréquences de Larmor : 300 MHz pour ^1H et 121,5 MHz pour ^{31}P) en rotation à l'angle magique (fréquence de rotation : 30 kHz ; sonde MAS-DVT 2,5 mm) avec une séquence d'échos de Hahn ($\pi/2 - \pi$) synchronisée à un tour de rotor (33,33 μs). Le délai de relaxation, noté D_1 , qui correspond au temps entre deux acquisitions, a été optimisé afin que l'intensité des signaux observés soit maximale. L'échelle de déplacement chimique δ a été calibrée à l'aide d'une référence de H_2O milliQ ($\delta(^1\text{H}) = 4,7\text{ ppm}$) ou d'une solution d'acide phosphorique H_3PO_4 ($\delta(^{31}\text{P}) = 0\text{ ppm}$). L'acquisition et le traitement des données RMN ont été réalisés en collaboration avec Mathieu Duttine à l'ICMCB.

II.2.4. Analyses morphologiques

II.2.4.1. Granulométrie

Les distributions volumiques de la taille des particules des poudres sont déterminées grâce au granulomètre Partica LA-950V2 (Horiba). La suspension des poudres dispersées dans de l'eau distillée est agitée sous convection mécanique et les agrégats sont éliminés en appliquant 2 min d'ultrasons avant la mesure.

II.2.4.2. Densités

La densité absolue des phases pures et dopées est mesurée à l'aide d'un pycnomètre à hélium AccuPyc II 1340 (Micromeritics) après broyage des céramiques frittées. Avant chaque

mesure, un blanc est effectué, puis une moyenne sur 10 mesures est réalisée pour chaque échantillon.

La densité relative apparente des pastilles frittées est mesurée par la méthode de la poussée d'Archimède. Après une nuit à l'étuve à 100°C, la masse sèche des pastilles est mesurée, puis trois étapes successives, d'une durée minimale de maintien de 30 minutes chacune, sont réalisées : les pastilles sont placées dans une enceinte fermée et le vide est effectué, elles sont ensuite immergées dans de l'eau distillée, dont la température est mesurée à l'aide d'un thermomètre, toujours sous vide, puis laissées à pression atmosphérique. Les masses immergées et humides sont alors mesurées et la densité relative apparente est calculée selon la formule : $d_{app} = \frac{m_{sèche}}{m_{humide} - m_{immergée}}$. Le ratio de la densité relative apparente des céramiques sur la densité absolue des poudres frittées donne accès au taux de densification.

II.2.5. Microscopie électronique

II.2.5.1. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La surface des céramiques frittées est observée par MEB grâce au microscope LEO 1530 VP (Zeiss). La distance de travail est fixée à 5 mm, la tension électronique à 1 kV et un détecteur d'électrons secondaires est utilisé. Contrairement aux échantillons dopés, les échantillons d'HA pure ont été métallisés par dépôt physique en phase vapeur de platine. La taille moyenne des grains en surface des céramiques frittées est déterminée à l'aide du logiciel ImageJ sur un ensemble d'au moins 300 grains.

II.2.5.2. Microscopie électronique à transmission (MET)

Les cartographies élémentaires des poudres ont été imagées à l'aide d'un microscope électronique à émission de champ JEM 2100F (JEOL, 200kV en émission de champ) couplé à un spectromètre de rayons X à dispersion d'énergie. Une section d'une centaine de nanomètres d'une pastille frittée d'HA dopée au cuivre a également été imagée, grâce à une coupe effectuée par un faisceau d'ions focalisé (FIB-SEM, Zeiss Crossbeam 550). Notons que les porte-échantillon utilisés, en cuivre, empêchent toute analyse quantitative de cet élément dopant.

II.2.6. Spectroscopies optiques

Les propriétés optiques des échantillons sont évaluées par réflexion diffuse à l'aide d'un spectromètre UV-visible-IR Cary 5000 (Varian) équipé d'une sphère d'intégration. Les spectres des poudres, placées dans une cellule fermée par une fenêtre de quartz, sont enregistrés entre 200 et 2500 nm. L'ensemble du domaine spectral est couvert par l'utilisation de trois lampes

différentes : une lampe au deutérium pour l’ultra-violet, une lampe tungstène pour le visible, une lampe mercure pour le proche infrarouge. Une ligne de base est préalablement établie à partir du spectre de réflexion de l’halon qui est un composé blanc réfléchissant la quasi-totalité de la lumière incidente sur toute la gamme de longueur d’onde étudiée.

Les spectres de réflexion diffuse étant principalement la résultante de l’absorption et de la diffusion des particules, l’allure des spectres dépend des transitions électroniques autorisées au sein du matériau ainsi que de la taille et de la morphologie des particules. Lorsque la taille des particules est largement inférieure à la longueur d’onde, les spectres peuvent être transformés selon la relation de Kubelka-Munk : $K/S = (1-R)^2/2R$ avec K, S et R respectivement les coefficients d’absorption, de diffusion et de réflexion. L’intensité spectrale exprimée en coordonnées K/S permet alors de caractériser les phénomènes d’absorption propres au matériau, notamment leur position en longueur d’onde.

II.2.7. Caractérisation du degré d’oxydation et de l’environnement de l’élément dopant

II.2.7.1. Spectroscopie Mössbauer

❖ Principe

La spectroscopie Mössbauer est une technique permettant d’étudier le degré d’oxydation et l’état de spin de certains éléments tel que le fer, ainsi que la nature (iono-covalence) et le nombre (coordinnence) des liaisons chimiques engagées autour de cet élément. Cette méthode repose sur le principe de résonance nucléaire liée à l’émission et à l’absorption de photons γ sans effet de recul du noyau au sein de phases solides. En effet, la désintégration de la source radioactive (^{57}Co pour ^{57}Fe) provoque l’émission d’un photon γ par le noyau émetteur, qui est absorbé par le noyau absorbant passant alors à un état excité. Afin de détecter les transitions permises entre niveaux d’énergie, l’énergie des photons E_γ émis par l’émetteur est modifiée, par effet Doppler, en déplaçant la source à une vitesse relative v par rapport à l’absorbant. Les spectres Mössbauer sont ainsi tracés en fonction de la vitesse relative v en mm/s. Chaque raie de résonance observée correspond à une transition de l’état fondamental vers un état excité. Les paramètres, associés à la position et à la forme des pics, à prendre en considération pour l’analyse des spectres Mössbauer sont le déplacement isomérique δ , l’éclatement quadrupolaire Δ , la largeur des raies Γ , le champ magnétique hyperfin H ainsi que l’intensité relative des signaux.

Le déplacement isomérique δ , dont la valeur est donnée par rapport à un composé-référence (une feuille de fer métallique α pour le fer), dépend directement de la densité électronique au noyau de l'élément considéré. Le déplacement isomérique permet de déterminer le degré d'oxydation de l'atome, son état de spin ainsi que sa coordinence. Dans les espèces phosphatées, les valeurs de déplacement isomérique des ions Fe^{3+} haut spin sont typiquement comprises entre 0,2 et 0,5 mm/s à 300 K tandis que celles des ions Fe^{2+} haut spin se situent entre 0,9 et 1,3 mm/s [209]. Au sein de chacune de ces gammes, les différences de valeurs sont liées essentiellement au nombre de ligands de coordination autour de l'ion fer et également à la covalence des liaisons : la réduction de la coordinence liée à une augmentation de la covalence des liaisons entraîne une diminution du déplacement isomérique. Ce dernier diminue également lorsque la contribution des électrons 4s augmente [210]. D'après la littérature, dans les espèces phosphatées, un déplacement isomérique supérieur à 0,4 mm/s est attribué aux ions Fe^{3+} haut spin en site octaédrique tandis qu'un déplacement isomérique inférieur à 0,3 mm/s est lié à du fer(III) haut spin en site tétraédrique : $\text{Fe}^{3+}(\text{Td}) < 0,3 - 0,4 \text{ mm/s} < \text{Fe}^{3+}(\text{Oh})$. Concernant les ions Fe^{2+} , leur présence en site octaédrique donne lieu à un déplacement isomérique typiquement autour de 1,2 mm/s. Une valeur inférieure révèle une coordinence plus faible [209], [211].

L'éclatement quadrupolaire Δ permet quant à lui d'évaluer la distorsion du site tels que la présence de lacunes de ligands ou l'abaissement de symétrie. En effet, l'éclatement quadrupolaire étant lié au gradient de champ électrique produit par les ligands au niveau du noyau (et dans une moindre mesure, par les seconds voisins cationiques), l'augmentation de ce paramètre hyperfin reflète l'existence d'une symétrie des ligands non sphérique. L'éclatement quadrupolaire dépend également de la distribution des électrons autour du noyau. La valeur associée aux ions Fe^{3+} ($< 1,3 \text{ mm/s}$) est ainsi généralement inférieure à celle des ions Fe^{2+} ($> 1,5 \text{ mm/s}$) [209], ce qui renvoie à leur configuration électronique respective, d^5 (distribution électronique sphérique autour du noyau) et d^6 (asymétrie de la sphère de coordination). Lorsque le fer est distribué au sein de plusieurs environnements, le désordre (l'hétérogénéité des environnements du fer par rapport à un environnement moyen) peut alors être défini par une distribution d'éclatements quadrupolaires (c'est-à-dire une distribution de doublets quadrupolaires) dont la valeur moyenne et l'écart-type sont généralement mentionnés. Dans le cas de la prise en considération d'un seul éclatement quadrupolaire, la largeur de raies Γ donne aussi une indication du désordre d'environnements (Γ augmentant avec le désordre).

Lorsque l'atome de fer subit une influence magnétique, comme dans le cas de Fe_2O_3 ou de Fe_3O_4 , l'interaction quadrupolaire n'intervient alors que comme une perturbation de l'interaction magnétique et est caractérisée par un paramètre hyperfin appelé déplacement quadrupolaire et noté 2ε . L'interaction magnétique (entre le spin nucléaire I et le champ magnétique résultant de l'environnement H) conduit à une levée de dégénérescence totale des niveaux d'énergie (effet Zeeman nucléaire). Le spectre Mössbauer est alors constitué de six raies correspondant aux différentes transitions permises entre ces niveaux d'énergie. Les paramètres hyperfins associés à ce sextuplet (déplacement isomérique δ , déplacement quadrupolaire 2ε et champ magnétique hyperfin H) sont caractéristiques d'un composé donné ou de l'existence d'un ordre magnétique (à plus ou moins longue distance) dans le matériau analysé.

Enfin, l'intensité relative des signaux, qui dépend de la fraction efficace de noyaux résonnants appelée facteur Lamb-Mössbauer ou facteur f , permet de déterminer la proportion d'ions dans chaque environnement considéré. Les différents noyaux de fer peuvent avoir des facteurs f très différents les uns des autres. En effet, la résonance des noyaux à température ambiante dépend de l'environnement local autour de l'atome de fer sondé tels que sa coordinence et les vibrations locales fer-ligands. Les intensités relatives à température ambiante ne donnent que des indications semi-quantitatives au niveau des concentrations de chaque espèce associée à chacun des signaux. Les vibrations du réseau peuvent être réduites en diminuant la température de l'échantillon, provoquant alors l'augmentation de l'intensité des signaux (les facteurs f des différents signaux tendant tous vers 1). De plus, lorsque les spectres sont enregistrés à basse température, seul l'échantillon voit sa température diminuer tandis que la source reste à température ambiante. L'effet Doppler du second ordre qui en résulte provoque alors l'augmentation du déplacement isomérique.

❖ Conditions expérimentales

Les spectres Mössbauer ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre à accélération constante de type Halder équipé d'une source radioactive de ^{57}Co (dans une matrice de rhodium). Les échantillons (environ 200 mg de poudre, soit au maximum 3 mg/cm^2 de fer) ont été analysés en transmission, à température ambiante et à 100 K (dans un cryostat à bain d'azote liquide). Les déplacements isomériques sont donnés par rapport au fer métallique ($\alpha\text{-Fe}^0$) à température ambiante. L'analyse des spectres et l'affinement des paramètres hyperfins ont été réalisés à l'aide d'un programme développé au laboratoire et du logiciel WinNormos

commercialisé par la société WissEl. L'acquisition et le traitement des données Mossbauer ont été réalisés en collaboration avec Mathieu Duttine à l'ICMCB.

II.2.7.2. Résonance paramagnétique électronique (RPE)

❖ Principe

La RPE permet d'obtenir des informations sur l'environnement local d'éléments paramagnétiques. Sous l'action d'un champ magnétique B_0 , le moment magnétique de spin électronique s'aligne dans la direction du champ et peut avoir deux orientations possibles (parallèle ou anti-parallèle) par rapport au champ magnétique externe (effet Zeeman). Ces deux états de spin correspondent à deux niveaux d'énergie séparés par $\Delta E = g\beta B_0$ avec g le facteur g et β le magnéton de Bohr. Une onde électromagnétique, perpendiculaire au champ magnétique, d'énergie $h\nu$ (avec h la constante de Planck et ν la fréquence) égale à ΔE permet alors une transition électronique entre les niveaux avec changement d'état de spin. Le temps de retour à l'état fondamental du système de spin, appelé temps de relaxation, doit être suffisamment long pour qu'un signal puisse être détecté (temps caractéristique : 10^{-10} à 10^{-7} s). Le spectre RPE est alors constitué de raies de résonance associées à des transitions entre des niveaux d'énergie (états de spin) donnés. Le système de spin étudié, et donc le spectre RPE, peut être relativement complexe car il dépend de la nature et de la configuration électronique des ions paramagnétiques, du couplage spin-orbite, de la symétrie et de la force du champ cristallin et de diverses interactions (fine, hyperfine, superhyperfine, d'échange dipolaire, quadrupolaire), liées aux ions environnants plus ou moins négligeables.

L'interaction (super)hyperfine intervient lorsqu'il y a un couplage entre spins électroniques et spins nucléaires. En effet, l'influence des noyaux avec un spin nucléaire I non nul sur l'électron non apparié modifie le champ résultant et provoque une nouvelle levée de dégénérescence des niveaux d'énergie qui sont alors au nombre de $2I + 1$. Le nombre de raies observées sur le spectre RPE reflète alors les différentes transitions permises entre niveaux d'énergie. L'écart entre les raies donne accès à la constante de couplage hyperfin A qui est caractéristique de l'élément de spin nucléaire non nul et de son environnement.

La RPE est très sensible à la concentration de l'élément dopant. Lorsque la concentration en ions paramagnétiques augmente, la distance entre ces derniers diminue, l'interaction magnétique qui en résulte devient non négligeable par rapport aux autres interactions, hyperfine par exemple, et provoque un fort élargissement des signaux.

Le facteur g , caractéristique d'une espèce paramagnétique, dépend de plusieurs facteurs dont les principaux sont le couplage spin-orbite et le champ cristallin (symétrie et force). Dans l'hypothèse où l'électron ne subit aucune interaction, l'électron libre présente une valeur $g = 2,0023$. Dans un système d'axes orthonormés (x, y, z), le facteur g peut être exprimé comme un tenseur diagonal avec 3 valeurs propres g_x, g_y et g_z . Si le système présente une symétrie isotrope, les valeurs de g sont identiques : $g_{iso} = g_x = g_y = g_z$. Le signal qui en résulte est généralement fin et symétrique. Lorsque la symétrie autour du noyau n'est plus sphérique, le facteur g devient anisotrope et peut présenter 2 ou 3 valeurs différentes. Dans le cas d'une symétrie axiale, seules les valeurs de g perpendiculaires au champ sont identiques $g_x = g_y = g_{\perp}$ et $g_z = g_{//}$ tandis que pour une symétrie orthorhombique, toutes les valeurs de g sont différentes : $g_x \neq g_y \neq g_z$. L'allure théorique des spectres obtenus est représentée ci-dessous (Figure 20).

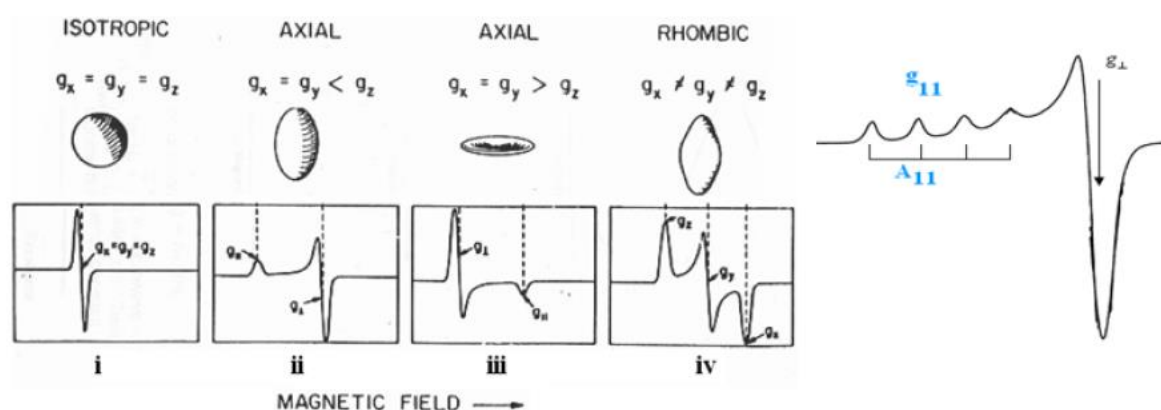


Figure 20 : Allure des spectre RPE en fonction de la symétrie du champ de ligand [212]

❖ Conditions expérimentales

Les spectres RPE ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker ESP300E, équipé d'un cryostat à flux d'hélium liquide, entre la température ambiante et 4 K. La fréquence des micro-ondes est de 9,45 GHz (bande X) et la puissance utilisée est de 1 ou 10 mW. La fréquence de la modulation en champ magnétique est fixée à 100 kHz, son amplitude est ajustée en fonction des signaux observés. Les échantillons ont été analysés sous forme de poudre (entre 10 et 35 mg par tube) et le spectromètre a été calibré en champ magnétique à l'aide d'un échantillon référence de DPPH ((2,2)-diphenyl-1-picrylhydrazyle) ayant une valeur de g égale à 2,0036. Les spectres présentés sont normalisés par rapport à la masse de l'échantillon, au nombre de scans accumulés et aux autres paramètres influençant directement l'intensité des signaux observés. L'analyse des spectres et la simulation des signaux de RPE ont été réalisées

à l'aide des logiciels WinEPR et WinSimFonia (Bruker). L'acquisition et le traitement des données RPE ont été réalisés en collaboration avec Mathieu Duttine à l'ICMCB.

II.2.7.3. Spectroscopie photoélectronique par rayons X (XPS)

L'analyse de surface par XPS des composés CuHA a été réalisée à l'aide d'un spectromètre K-ALPHA (ThermoFischer Scientific) équipé d'une source Al K α monochromatée ($h\nu = 1486,6$ eV) et d'un faisceau de rayons X de diamètre 400 μm . Les composés CuO et Cu₂(OH)₃(NO₃) ont servi de référence. Une pression de 10⁻⁷ Pa a été atteinte dans la chambre au moment du transfert des poudres pressées sur une feuille d'indium. Les spectres complets ont été enregistrés dans la gamme 0 – 1100 eV avec une énergie de passage constante de 200 eV et les spectres haute résolution à une énergie de passage constante de 40 eV. La neutralisation des charges a été réalisée durant l'analyse. Les spectres haute résolution (i.e. C_{1s}, O_{1s}, Cu_{2p}) ont été affinés en utilisant le logiciel Advantage (ThermoFisher Scientific).

II.2.7.4. Spectroscopie d'absorption des rayons X

❖ Principe

L'état de valence (degré d'oxydation et état d'hybridation de la liaison) ainsi que l'environnement atomique du cuivre (nature des premiers et seconds voisins, coordinence, longueur des liaisons) a été étudié par spectroscopie d'absorption des rayons X au seuil K du Cu. L'absorption d'un photon X, gouverné par la loi de Beer-Lambert conduit ainsi à l'éjection d'un électron 1s de l'élément sondé. L'énergie appliquée doit être supérieure à l'énergie de liaison afin que l'atome passe à un état excité avec, dans une première étape autour du seuil, le remplissage des couches 3d et 4p vides (règles de sélection de Laporte), puis dans un second temps, l'émission d'un photoélectron. L'onde photoélectrique sphérique qui en résulte est diffractée par les atomes environnants qui vont à leur tour émettre une onde sphérique interférant avec l'onde incidente. Les mesures d'absorption près du seuil (X-ray Absorption Near Edge Structure, XANES) rendent compte des transitions électroniques entre le niveau 1s et les niveaux supérieurs via les pics de pré-seuil et de seuil (Figure 21) tandis que les mesures à plus haute énergie (Extended X-ray Absorption Fine Structure, EXAFS) représentent les oscillations dues aux interférences entre les ondes photoélectriques. Ces oscillations dépendent donc de la nature des atomes voisins, de leur distance, de leur nombre et de leur agitation thermique.

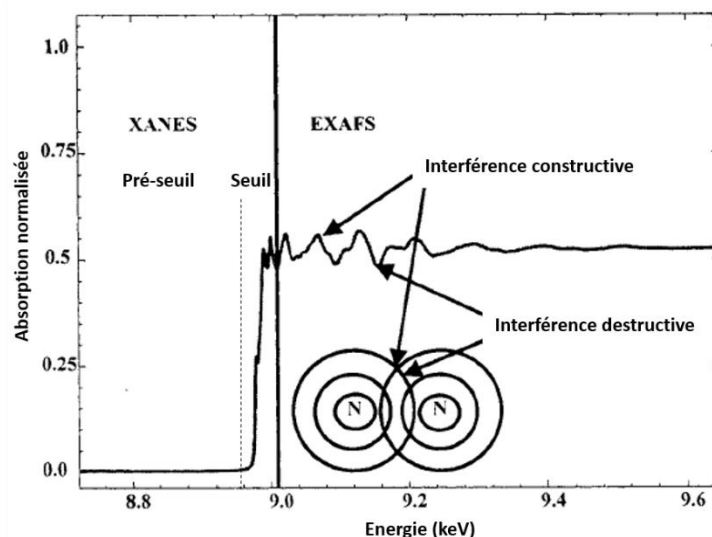


Figure 21 : Spectre d'absorption X au seuil K du cuivre d'une feuille métallique Cu(0). Adapté de [215]

❖ Conditions expérimentales

Les mesures de spectroscopie d'absorption des rayons X au seuil K du cuivre (8959 eV) ont été réalisées dans la ligne de lumière D08B-XAFS2 du laboratoire LNLS (Campinas, Brésil) en utilisant un monochromateur à double cristal (DCM) Si (1 1 1). Les échantillons ont été mélangés avec du nitrure de bore et compactés en pastilles circulaires de 0,7 cm de diamètre. Les mesures sur les CuHA ont été effectuées en mode fluorescence tandis que les composés référence (CuO et Cu₂O) ont été mesurés en mode transmission. Afin de corriger le possible décalage en énergie dû à l'instabilité du faisceau, la bonne calibration de l'énergie a été vérifiée en effectuant en parallèle de la mesure sur l'échantillon, des mesures sur une feuille de cuivre métallique. Les données d'absorption brutes ont été traitées et normalisées à l'aide du logiciel ATHENA en extrayant l'absorption atomique afin d'une part d'analyser les structures autour du seuil associées à l'état de valence du cuivre puis d'obtenir les oscillations EXAFS $\chi(k)$ comprises, dans la plupart des cas, entre $3 < k(\text{\AA}^{-1}) < 13$. Le traitement des données EXAFS a été réalisé à l'aide du logiciel VIPER sur la base de la théorie des ondes planes en considérant dans un premier des chemins de diffusion simple mais également le cas échéant, des chemins de diffusion multiple dès lors que la géométrie locale s'y prête. Des transformées de Fourier directe et inverse, utilisant une fenêtre de Hanning, permettent de remonter à la distribution radiale et aux paramètres géométriques ainsi affinés (nature et nombre de voisins, distance radiale, facteur de Debye-Waller). L'acquisition et le traitement des données ont été réalisés en collaboration avec Santiago Figueroa (LNLS) et Carmelo Prestipino (Université de Rennes).

II.2.8. Caractérisations des poudres initiales

II.2.8.1. Vérification de la pureté des HA

Les diffractogrammes des rayons X des HA CP01 et VS01 calcinées selon la norme ISO 13779-3 à 1000°C pendant 15 h sont représentés sur la Figure 22. La pureté des phases est ainsi vérifiée. Les résultats montrent que les HA de référence utilisées sont monophasées.

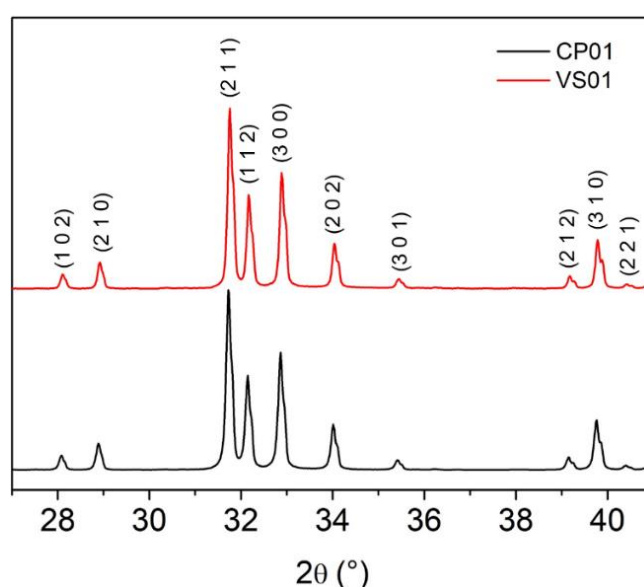


Figure 22 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) des poudres d'HA pures CP01 et VS01 calcinées à 1000°C pendant 15 h

II.2.8.2. Affinement Le Bail et Rietveld des HA pures

❖ Affinement Le Bail de la poudre d'HA CP01

L'HA CP01 servant de référence pour les échantillons synthétisés par coprécipitation est calcinée à 600°C pendant 1 h (notée CP01-600). Le diffractogramme de la poudre calcinée est ensuite affiné par la méthode de Le Bail (Figure 23). Les paramètres et le volume de la maille issus de l'affinement (Tableau 8) sont en accord avec les données théoriques [81]. La taille des

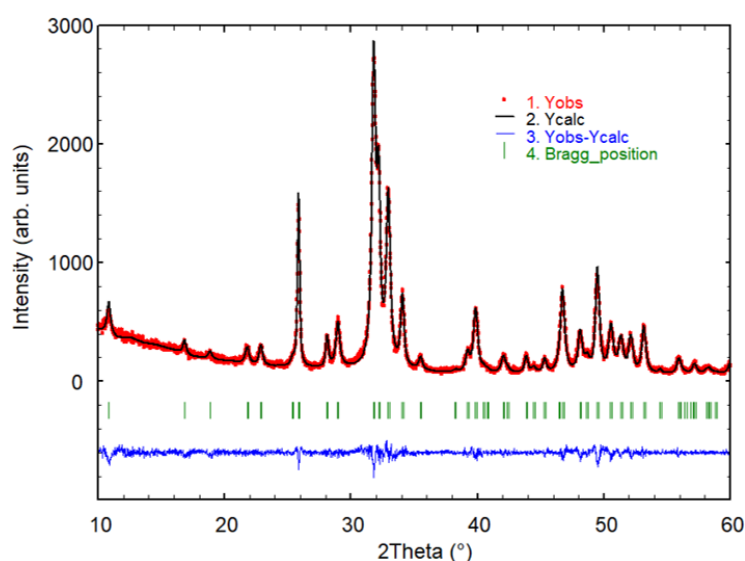


Figure 23 : Diffractogramme des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) de la poudre CP01-600 affiné par la méthode de Le Bail

Tableau 8 : Paramètres de maille, volume et taille des cristallites, issus de l’affinement Le Bail, de la poudre CP01-600. L’écart-type est indiqué entre parenthèses

a (Å)	c (Å)	V (Å ³)
9,4127(4)	6,8885(3)	528,55(4)

(hkl) (nm)	(00l) (nm)
21	48

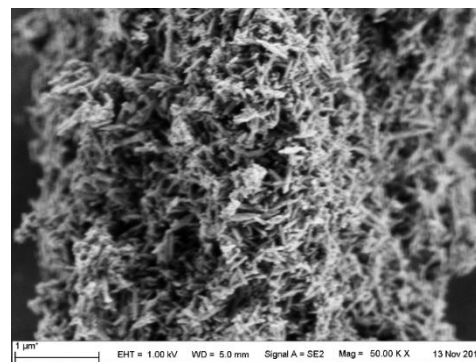


Figure 24 : Images MEB de la poudre CP01-600

cristallites (Tableau 8) qui est supérieure selon le plan (00l) comparée au plan (hkl), révèle que les cristallites présentent une anisotropie selon l’axe *c*. Les images MEB de la poudre (Figure 24) confirment ce résultat, les cristallites ayant une forme d’aiguille, typique des HA calcinées à basse température [207], [213].

❖ Affinement Rietveld de la poudre d’HA VS01

Un affinement par la méthode de Rietveld est réalisé sur l’HA pure VS01 calcinée à 1100°C pendant 1h, notée VS01-1100 (Figure 25). Les taux d’occupation ainsi que les coefficients d’agitation thermique B_{iso} ont été fixés lors de l’affinement (en considérant une formule parfaitement stœchiométrique pour l’HA et avec $B_{iso} = 0,5 \text{ Å}^2$ pour les cations et $1,0 \text{ Å}^2$ pour les anions). Les facteurs d’accord R_p et R_{wp} et le facteur de Bragg sont respectivement inférieurs à 8 et 3% témoignant d’un bon accord entre les diffractogrammes théorique et expérimental. La

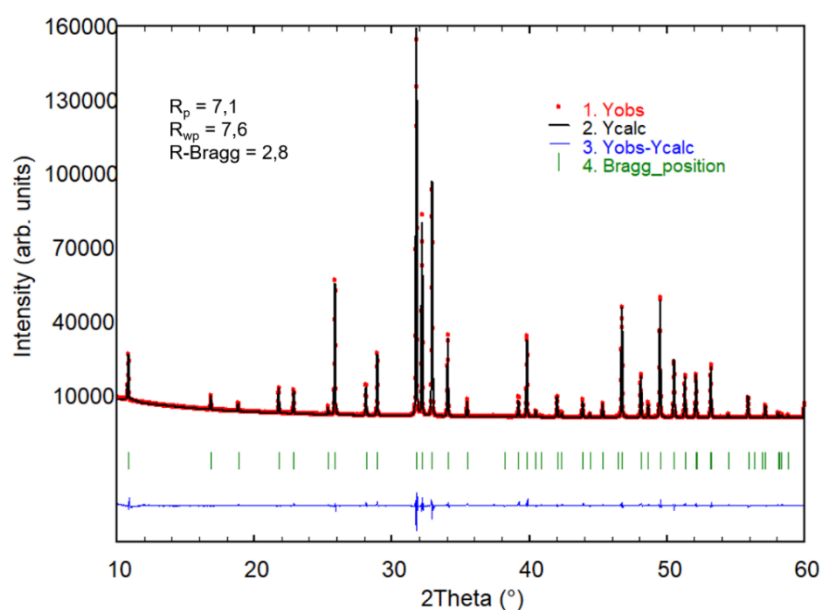


Figure 25 : Diffractogramme des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1$) de l’échantillon VS01-1100 affiné par la méthode de Rietveld

Tableau 9 : Positions atomiques au sein de la maille apatitique VS01-1100

Composé	Atome	Site	x	y	z	Biso	Occ
VS01-1100	Ca1	4f	1/3	2/3	0,0020(7)	0,5	1
P6 ₃ /m	Ca2	6h	0,2460(4)	0,9922(4)	1/4	0,5	1
a = 9,4131(2) Å	P1	6h	0,3989(6)	0,3688(6)	1/4	0,5	1
c = 6,8801(1) Å	O1	6h	0,326(1)	0,483(1)	1/4	1,0	1
V = 527,96(2) Å ³	O2	6h	0,587(1)	0,464(1)	1/4	1,0	1
	O3	12i	0,3400(7)	0,2559(6)	0,0705(8)	1,0	1
	O4	4e	0	0	0,191(3)	1,0	1/2

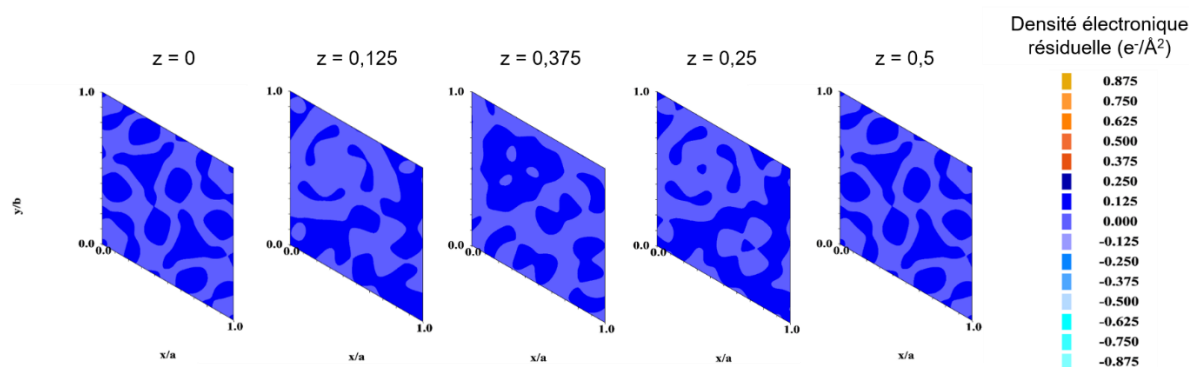


Figure 26 : Cartographies de Fourier-différence représentant les résidus de densité électronique au sein de l'HA VS01-1100 sur différents plans z

position des atomes et leur taux d'occupation au sein de l'apatite (Tableau 9) conduisent à des résidus de densité électronique répartis de manière homogène et inférieurs à $0,25 \text{ e}^-/\text{\AA}^2$ en valeur absolue sur tous les plans z (Figure 26). L'HA pure utilisée dans la réaction par voie solide ne présente donc aucune lacune, site interstitiel partiellement occupé, ou autre défaut.

II.2.8.3. Granulométrie des poudres

La Figure 27 présente la distribution granulométrique (en volume) des deux poudres initiales VS01-600 et CuO utilisées pour la synthèse de CuHA par voie solide. La distribution volumique des particules d'un des mélanges de poudres correspondant à la composition CuVS0,5 est également mesurée après attrition dans les conditions optimales. Les poudres VS01-600 et CuO présentent une distribution monomodale avec respectivement une taille moyenne de particules de 7,2 et 5,2 μm et une largeur de distribution de l'ordre de 9 μm ($d_{10} = 3,8 \mu\text{m}$; $d_{90} = 12,7 \mu\text{m}$) et 6 μm ($d_{10} = 3,0 \mu\text{m}$; $d_{90} = 8,5 \mu\text{m}$). Après attrition du mélange de poudres ($x_{\text{Cu}} = 0,5$), la taille moyenne des particules est réduite à 1,5 μm et la largeur de distribution à 3 μm ($d_{10} = 0,6 \mu\text{m}$; $d_{90} = 3,1 \mu\text{m}$). Ces résultats mettent en évidence l'impact positif de l'étape d'attrition sur la réduction de la taille des particules. La granulométrie des mélanges de poudres HA-précurseurs de fer (5% mol. de fer visés) est présentée en Annexe 1.

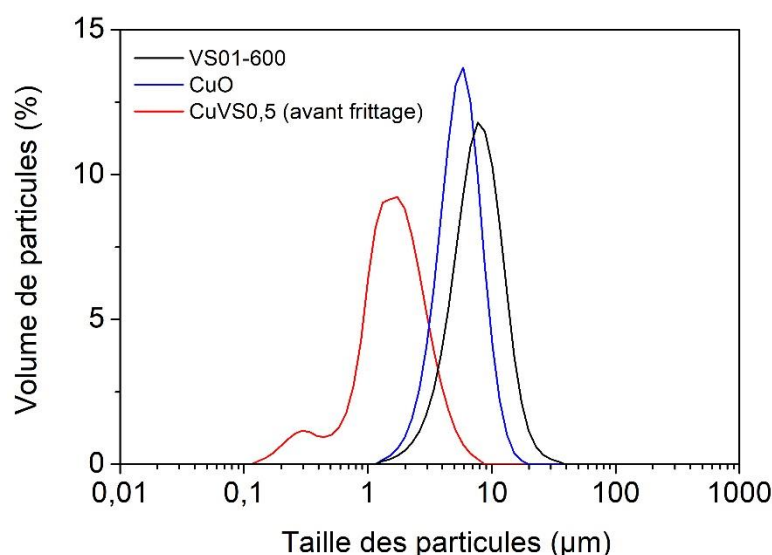


Figure 27 : Distributions volumiques des particules des précurseurs VS01-600 et CuO ainsi que du mélange de poudre CuVS0,5 attrité à 800 rpm pendant 3 h.

II.3. Evaluation des propriétés biologiques des HA dopées au cuivre

II.3.1. Préparation des substrats céramiques

Avant les essais biologiques, des pastilles d'HA pure et de CuVS_x ont été frittées respectivement à 1200 et 1100°C pendant 1 h afin d'obtenir des pièces denses. Les pastilles frittées ont été polies en utilisant divers papiers de carbure de silicium SiC (P600 à P4000) et stérilisés à 200°C, pendant 2h au moins, sous air. Finalement, les pastilles ont été placées dans des plaques de cultures 24 puits (Sarstedt) contenant un milieu de Eagle modifié complet (α -MEM, Gibco) additionné de 10% de sérum de veau fœtal (Invitrogen), 50 UI/mL de pénicilline et 50 μ g/mL de streptomycine (Gibco). Les pastilles ont été immergées pendant 1 h dans ce milieu afin d'atteindre un régime d'équilibre dans un incubateur chauffé à 37°C sous atmosphère humide contenant 5% de CO₂. Le milieu de culture, appelé par la suite milieu de croissance ou milieu non différenciant (GM, growth medium en anglais) contient tous les éléments (nutriments, protéines) normalement présents dans les fluides physiologiques et nécessaires à la croissance et la prolifération des cellules après leur ensemencement mais ne permet pas d'induire leur différenciation en ostéoblastes matures.

II.3.2. Culture cellulaire et ensemencement

Des cellules pré-ostéoblastiques MC3T3-E1, sous-clone 14 (ATCC) ont été cultivées dans un incubateur chauffé à 37°C sous atmosphère humide contenant 5% de CO₂. Le milieu a été renouvelé tous les 2 - 3 jours et les cellules ont été divisées quand la confluence (c'est-à-dire la

surface recouverte par les cellules) a atteint 70 - 80% de la surface de culture. Pour cela, les cellules sont rincées au PBS (Phosphate Buffer Saline) 1X stérile, puis recouvertes de Trypsine-EDTA 0,05% (Gibco) et incubées 3 à 5 minutes à 37°C pour les décoller du support de culture. L'action de la trypsine est stoppée par ajout de milieu de culture complet et les cellules sont centrifugées pendant 5 minutes à 300 g à température ambiante. Le surnageant est éliminé et les cellules sont remises en suspension dans du milieu de culture complet. Elles sont ensuite comptées sur une cellule de Malassez et une quantité définie de cellules estensemencée goutte à goutte sur les pastilles d'HA et de CuVSx dans le milieu GM. Les cellules sont finalement cultivées à 37°C sous atmosphère humide contenant 5% de CO₂ pendant 1, 3 et 5 jours. Une quantité de 25 000 cellules/cm² estensemencée pour des évaluations après un jour de culture tandis que pour des temps supérieurs, la quantité est réduite à 10 000 cellules/cm² afin de ne pas atteindre la confluence des cellules et ainsi permettre la prolifération correcte des cellules lors des tests de viabilité.

II.3.3. Viabilité cellulaire

La viabilité des cellules MC3T3-E1 a été testée en ajoutant, dès le début de la culture, 10% du réactif Alamar Blue® (Thermo Fisher Scientific) par rapport au volume du puits. En effet, ce réactif contient de la résazurine (indicateur coloré bleu) dont la réduction par l'enzyme succinate déshydrogénase, présente au sein des cellules vivantes, provoque un changement de couleur du bleu au rose et une émission de fluorescence dans le rouge. L'activité métabolique des cellules au cours du temps est ainsi reflétée par l'intensité de fluorescence de l'Alamar Blue. Celle-ci est mesurée avant la fin des différentes périodes d'incubation à 585 nm à l'aide d'un spectrophotomètre FLUOstar OPTIMA (BMG Labtech).

Les cellules viables sont ensuite immédiatement marquées avec 10 µM de calcéine AM rouge-orange par incubation à 37°C durant 15 min. La calcéine rouge-orange, intrinsèquement fluorescente, est uniquement retenue dans la membrane des cellules vivantes. Les cellules sont ensuite rincées en milieu de culture complet chaud pour éliminer la calcéine rouge-orange non intégrée dans les cellules puis au PBS 1X (Phosphate Buffer Saline). Elles sont ensuite fixées au paraformaldéhyde 4% (préparé en PBS 1X) pendant 10 minutes à température ambiante. Les cellules sont ensuite rincées trois fois au PBS 1X. Tous les noyaux sont marqués par incubation des cellules en présence de 20 µM de Hoechst 33342 pendant 5 minutes. Les pastilles sont finalement observées au microscope à fluorescence (AxioImager, Zeiss) couplé à une caméra (AxioCam MRm, Zeiss). Le nombre de cellules marquées à la calcéine à la surface des pastilles permet de déterminer la densité cellulaire, c'est-à-dire le nombre de cellules viables ayant

adhéré à la surface des céramiques par unité de surface. De plus, le ratio des cellules viables positives à la calcéine sur le nombre total de cellules (soit le nombre de noyaux) permet d'établir le pourcentage de cellules vivantes et donc le taux de viabilité des cellules. Pour chaque expérience, les analyses sont conduites sur un minimum de 5 images, soit plus de 1000 cellules comptées. La morphologie des cellules est également imagée via ce microscope.

II.3.4. Différenciation cellulaire

Le comportement des cellules, à la surface des pastilles CuVSx, vis-à-vis de la différenciation cellulaire a également été étudié après une incubation de 7 jours à l'aide de deux techniques : la RT-qPCR (réaction en chaîne de polymérisation quantitative en temps réel) et le western blot. La RT-qPCR consiste à quantifier par fluorescence l'expression relative de gènes (séquences d'ADN) codant pour certaines protéines, marqueurs de l'ostéogénèse (RUNX2, ALP, COL I dans notre cas, cf. paragraphe I.1.1.2) tandis que le western blot permet de détecter les niveaux relatifs des protéines exprimées au sein des cellules par électrophorèse (ici RUNX2, OPN). La GAPDH (glycéraldéhyde-3-phosphate deshydroxygénase), protéine responsable du métabolisme cellulaire, est également étudiée en tant que contrôle, car elle est normalement exprimée de manière équivalente dans toutes les cellules. Une variation de la quantité de GAPDH entre les échantillons révèle donc que la même quantité globale de protéines n'a pas analysée. L'expression de chacune des protéines est ainsi normalisée sur l'expression de la protéine GAPDH correspondante.

Les cellules MC3T3-E1 ont étéensemencées à une densité de 15 000 cellules/cm² dans des plaques de culture contenant les pastilles dans un milieu de différenciation (DM) consistant au milieu GM additionné de 100 nM de dexaméthasone (AppliChem), 50 µM d'acide ascorbique (énantiomère L, Sigma Aldrich) et 10 mM de beta-glycérophosphate. Des tests de contrôle ont été effectués en respectant le protocole ci-dessus, mais en l'absence des pastilles CuVSx. Les cellules sont alors placées directement dans les puits en plastique dans les milieux GM et DM, le premier milieu servant de milieu de référence, le second évaluant la réponse (contrôle positif). Les deux milieux sont renouvelés au 3^e jour de culture. Après 7 jours de culture, les cellules sont lysées (la membrane des cellules est détruite par un agent chimique) et les ARN (acide ribonucléique) sont extraits en utilisant un kit commercial selon les instructions du fabricant (RNeasy® Plus Micro kit, Qiagen) et les éluats contenant les protéines cellulaires sont gardés à -20°C en vue des tests western blot.

La quantité d'ARN est d'abord dosée pour chaque échantillon à l'aide d'un spectrophotomètre à fluorescence (Nanodrop 2000, ThermoFisher) à 260 et à 280 nm. Les ARN sont ensuite convertis en ADN complémentaire par une réaction de transcription inverse à l'aide d'un mélange réactionnel commercial (ThermoFisher). Pour cela, une quantité fixe (2 µg) d'ARN est mélangée à un tampon RT Master mix contenant l'enzyme reverse transcriptase et les bases azotées nécessaires à la rétro-transcription. La réaction de transcription inverse se produit au cours de l'incubation de la solution dans un thermocycleur (T100 thermal cycler, Bio RAD) à 25°C pendant 10 min, puis 37°C pendant 120 min et enfin à 85°C pendant 5 min.

Pour faciliter la quantification par fluorescence des ADN, leur quantité est ensuite amplifiée en mélangeant une concentration fixe (25 ng/mL) d'ADN avec un master mix, spécifique à un gène (Applied Biosystems, ThermoFisher). Chaque *master mix* contient l'enzyme polymérase, les bases azotées ainsi que les sondes spécifiques aux gènes qui sont couplées à un fluorophore. Les solutions sont placées dans un appareil de RT-qPCR (QuantStudio – Applied Biosystems, ThermoFisher) dans lequel 40 cycles vont se succéder pendant 30 min alternant entre des paliers à 95°C pendant 1 sec et à 60°C pendant 20 sec. L'intensité de fluorescence est mesurée à la fin de chaque cycle. Le cycle (*cycle threshold*, CT) à partir duquel on considère que le gène est exprimé est fixé et une comparaison entre les différents cycles est réalisée selon la méthode des $\Delta\Delta CT$. Pour chaque céramique, le CT associé à la GAPDH est soustrait au CT de chaque protéine (ΔCT), puis le CT du milieu DM est retranché à ΔCT ($\Delta\Delta CT$). Le niveau d'expression des gènes est enfin quantifié de manière relative par rapport au milieu DM :

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta CT}, \text{ avec } RQ \text{ la quantification relative et } RQ \text{ (DM)} = 1.$$

Afin de comparer l'expression des protéines, les tests western blot sont ensuite réalisés à partir de l'éluat conservé à basse température lors de l'extraction des ARNm. Les protéines sont précipitées et extraites selon le protocole de Morse *et al.* [214], puis re-suspendues en tampon dit de Laemmli (SDS 1%, glycérol 5%, Tris 60 mM, pH 6,8 [215]). Pour chaque échantillon, leur concentration est mesurée par spectrophotométrie à 280 nm (Nanodrop, ThermoFisher), puis 15 µg de protéines dénaturées par chauffage sont chargés sur des gels contenant 10% de polyamide et séparés par électrophorèse. Les protéines sont ensuite transférées sur des membranes de porosité 0,45 µm en polyfluorure de vinylidène (Biorad). Après saturation des sites antigéniques spécifiques dans une solution de lait écrémé 5% en TBS (Tris Buffer Saline) 1X Tween-20 0,05%, les membranes sont d'abord hybridées avec les anticorps primaires une

nuit à 4°C : lapin anti RUNX2 (Abcam), chèvre anti-ostéopontine (R&D) et souris anti-GAPDH (Santa-Cruz Biotechnology), puis avec les anticorps secondaires appropriés (chèvre anti-lapin, chèvre anti-souris ou souris anti-chèvre) couplés à l'enzyme peroxydase de raifort (Dako) pendant 1 h à température ambiante. L'ajout d'un réactif à base de luminol (Millipore), réduit par l'enzyme peroxydase, permet de détecter les protéines d'intérêt par chimioluminescence (système G-box, Syngene). L'expression des protéines est ainsi déterminée grâce à la mesure de la densité optique du signal obtenu (normalisée sur la GAPDH) qui est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans les cellules. L'analyse des western-blot est réalisée à l'aide du logiciel ImageJ.

II.3.5. Statistiques

Les tests de viabilité et de différenciation cellulaire ont été conduits avec trois expériences *in vitro* indépendantes pour chaque groupe de pastilles testées. Dans le cas de la réduction de l'Alamar Blue, une première analyse a été effectuée après le 1^{er} jour de culture, deux analyses indépendantes après 3 jours de culture, 3 analyses indépendantes après 4 et 5 jours de culture. La normalité des résultats est vérifiée via le test Shapiro-Wilk en utilisant le logiciel PAST [216]. Selon l'ensemble des données et les résultats du test de normalité, un test de Kruskal-Wallis suivi d'un test *post-hoc* de Dunn ou une analyse de variance (ANOVA) une voie est effectué suivi d'une comparaison multiple de Tukey en utilisant le GraphPad Prism 6. Les résultats sont considérés significatifs, lorsque le paramètre p décrivant le facteur de variabilité entre analyses est inférieur à 5%. Dans le chapitre V, par exemple, un résultat significatif comparé à l'HA, sera marqué d'un symbole et indiqué dans la légende de la manière suivante : * : vs. HA, $p < 0,05$. La baisse du pourcentage jusqu'à des valeurs de 0,01% indique une significativité d'autant plus conséquente.

II.4. Mise en forme par frittage laser sélectif

Comme mentionné dans le paragraphe I.4., le frittage laser sélectif des CuHA est envisagé sur un lit de poudre issu du dépôt d'une suspension céramique. La technique de dip-coating consistant à immerger et retirer, à vitesse contrôlée, un substrat au sein d'une suspension a ici été retenue. La préparation de la suspension et le dépôt par dip-coating de couches minces d'épaisseur 5-30 μm sur une lame de verre font donc l'objet d'une étude préliminaire au frittage.

II.4.1. Préparation des suspensions

Une fois la synthèse par réaction par voie solide des CuHA réalisée (1100°C, 1h) selon le protocole établi au paragraphe II.1.2, les pastilles sont broyées au mortier, puis tamisées sur un

tamis 100 μm . La poudre (environ 20 - 25g) est alors attritée (attriteur NETZSCH) dans environ 50 mL d'éthanol en présence du dispersant Bey-costat 123 (2% massique par rapport à la masse totale de poudre). Un mélange 50/50 de billes de zircone yttrée de 1 et 2 mm de diamètre est ajouté (75 g total). L'attrition est réalisée à 800 rpm pendant 6 h. La distribution volumique des particules du mélange attrité est déterminée à l'aide du granulomètre Mastersize2000 (Malvern Instrument). La taille moyenne des particules de la poudre calcinée à 1100°C est ainsi réduite de 60 - 65 μm à environ 0,5 - 1 μm (Figure 28). Le dépôt par dip-coating de couches minces d'épaisseur contrôlée allant de 5 à 30 μm sur une lame de verre peut ainsi être envisagé. La suspension obtenue est ensuite séchée à l'étuve, la poudre récupérée est alors à nouveau tamisée sur un tamis 100 μm pour éliminer les gros agrégats formés lors du séchage. Une suspension finale contenant 30% massique de cette poudre CuHA additionnée de dispersant, broyée par attrition, tamisée deux fois, est préparée par dispersion dans l'éthanol. Des ultrasons sont appliqués pendant 5 min et la suspension est ensuite mise sous agitation magnétique pendant 1 h.

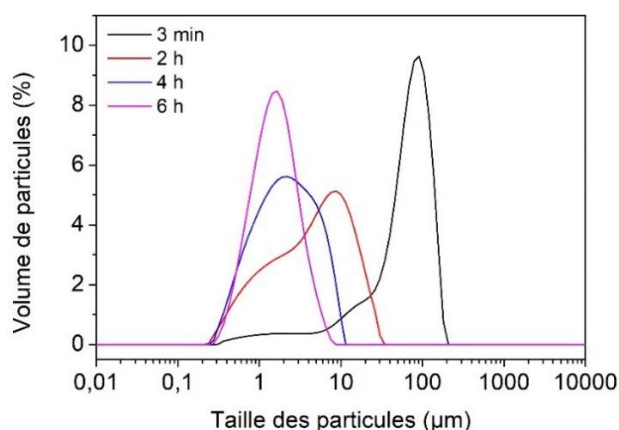


Figure 28 : Distributions volumiques des particules de CuVS0,5 après différentes durées d'attrition dans l'éthanol en présence de dispersant

II.4.2. Dip coating sur lame de verre

II.4.2.1. Conditions expérimentales

Le dépôt des couches minces est effectué par dip coating de la suspension optimisée sur une lame de verre préalablement nettoyée à l'éthanol. La lame de verre est insérée dans la suspension puis retirée à une vitesse contrôlée pouvant aller de 50 à 400 mm/s. Deux méthodes sont employées pour augmenter l'épaisseur de la couche déposée : la vitesse de retrait peut être augmentée afin de réduire l'effet des forces de gravitation sur l'écoulement de la suspension et plusieurs dépôts successifs à vitesse de retrait identique peuvent être réalisés avec une étape de séchage à l'étuve entre chaque dépôt.

II.4.2.2. Caractérisations

L'épaisseur des dépôts est mesurée grâce à l'acquisition d'images MEB (JEOL JSM 6360A) réalisées sur une coupe préalablement métallisée par dépôt physique en phase vapeur d'or (JEOL JFC-1200 Fine Coater). La tension est fixée à 10 kV et la distance de travail à 10 mm. Un détecteur d'électrons secondaires est utilisé. L'épaisseur du dépôt est ensuite mesurée à l'aide du logiciel ImageJ, une moyenne étant faite sur au moins 3 zones différentes et 10 mesures par zone.

II.4.3. Frittage laser sélectif

II.4.3.1. Conditions expérimentales

Le frittage des couches minces (obtenues par dip coating) par SLS est réalisé à l'aide d'un laser continu à fibre ytterbium YLM-400-AC-Y11 (IPG Photonics) absorbant à 1070 nm et intégré dans un montage de la société ES LASER. Le faisceau laser possède une puissance maximale de 400 W (la puissance minimale de travail étant de 40 W) et un diamètre de 50 μm . La lame de verre est placée sur un support en aluminium et la distance de focalisation est ajustée à 199 mm. La matière est alors irradiée selon des motifs bidimensionnels (simple cordon, motif carré) avec différents paramètres de lasage : puissance du laser, vitesse de déplacement linéique du laser, espacement entre les cordons (lignes) de lasage ; ces différents paramètres de lasage étant contrôlés à l'aide du logiciel SAM light.

II.4.3.2. Caractérisations

Les surfaces des pastilles irradiées, contenant un mélange HA/CuO (x_{Cu} final = 0,5), ont été imagées en mode réflexion à l'aide du microscope optique Leica DMLM tandis que la coupe d'une pastille a été observée à l'aide d'un microtomographe à rayons X Versa XRM500 (Zeiss). L'acquisition des images a été réalisée à une intensité de 83 μA et une tension de 120 kV avec un temps d'exposition de 1s.

Les couches minces irradiées ont été observées macroscopiquement à l'aide d'une loupe binoculaire Olympus SZH équipée d'une source lumineuse à lampe halogène GLI 154 (Fort Imaging Systems). La microstructure des cordons frittés a été évaluée à l'aide du microscope optique Leica DMI3000M en mode réflexion. La largeur des cordons est mesurée via le logiciel Leica Application Suite V4.3, au moins 10 mesures étant faites sur 3 zones différentes. La microstructure des couches frittées a également été étudiée à l'aide du microscope électronique à balayage JSM 6360A (JEOL) dans les conditions citées au paragraphe précédent II.4.2.2.

La pureté de la phase apatitique après frittage a été vérifiée à l'aide d'un diffractomètre PANalytical de type Empyrean à géométrie Bragg-Brentano θ - θ équipé d'un détecteur X-celerator et d'une anticathode de cuivre ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$, tension de travail 45 kV, intensité de travail 40 mA). Les mesures ont été faites sur un domaine angulaire de 8 à 80° en 2θ avec un pas de mesure de 0,017° pour une durée totale d'acquisition de 24 h.

Chapitre III. Hydroxyapatites substituées au cuivre

Chapitre III. Hydroxyapatites substituées au cuivre

Ce chapitre porte sur l'élaboration, la caractérisation et le frittage d'HA substituées au cuivre (CuHA) selon deux voies de synthèse afin de mettre en avant leur influence sur l'incorporation de l'élément dopant au sein de l'apatite. La synthèse par coprécipitation fait l'objet de la première partie. Le rôle des précurseurs sur la pureté et la position du cuivre au sein de l'apatite est établi avant d'évaluer la stabilité thermique des phases. Dans une seconde partie, la réaction par voie solide met l'accent sur la localisation et le degré d'oxydation (DO) du cuivre au sein de la structure apatitique ainsi que sur les interactions du dopant avec les atomes environnants. Des techniques de sonde locale comme les spectroscopies RMN (^{31}P , ^1H), RPE, UV-Visible, XPS et enfin XANES-EXAFS, tout en prenant en compte l'analyse par diffraction des RX, vont nous permettre de mieux appréhender l'état de valence du cuivre ainsi que sa localisation et les interactions avec les proches voisins. Le frittage des céramiques d'HA substituées au cuivre est étudié dans un dernier point. Les propriétés optiques des phases élaborées via les deux voies de synthèse sont également évaluées en vue d'une application en frittage laser sélectif.

III.1. Hydroxyapatites substituées au cuivre par coprécipitation

III.1.1. Synthèse à partir des nitrates de calcium et de cuivre

III.1.1.1. Synthèse

Une première synthèse en voie aqueuse d'HA substituées au cuivre est réalisée en présence de nitrates de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et de cuivre $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, d'hydrogénophosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ et d'ammoniaque (NH_3 , H_2O) selon le protocole établi dans le chapitre 2. La substitution du calcium par 5% molaire de cuivre dans la formule hypothétique $\text{Ca}_{9,5}\text{Cu}_{0,5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ est visée. Les quantités de matière des réactifs sont donc calculées en considérant un rapport $(\text{Ca}+\text{Cu})/\text{P} = 10/6$. On dénommera les composés issus de cette voie de synthèse CuCP01. Un précipité bleu clair, formé lors de l'ajout de l'hydrogénophosphate de diammonium dans la solution basique contenant les ions calcium et cuivre, est récupéré par filtration après 5 h de maturation. Après séchage à l'étuve et calcination à 600°C , une phase pure d'hydroxyapatite est identifiée en DRX (Figure 29), notée CuCP01-600. La couleur bleue de la poudre et la pureté de la phase confirment la bonne incorporation des ions Cu^{2+} au sein de l'HA. Néanmoins, le pourcentage molaire de cuivre dosé par ICP-OES est seulement de 2,2%.

Le filtrat de coloration bleue foncée collecté lors de la filtration témoigne de la formation du complexe $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ par réaction des ions Cu^{2+} en solution avec l'ammoniaque. Ce complexe, soluble dans l'eau, explique l'incorporation uniquement partielle de cuivre au sein de la phase d'HA dopée. La poudre CuCP01-600 est caractérisée dans la suite via des analyses chimiques et microstructurales et comparée à l'HA pure stœchiométrique calcinée à 600°C, notée CP01-600.

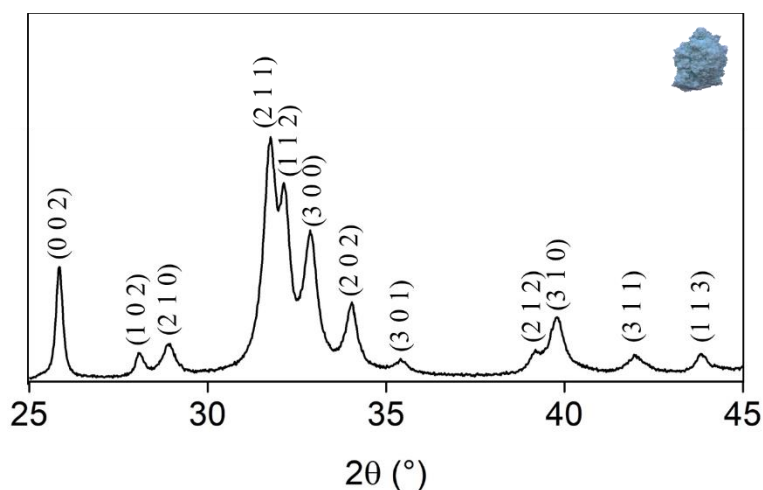


Figure 29 : Diffractogramme des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) de la poudre CuCP01-600

III.1.1.2. Influence du cuivre sur les liaisons chimiques au sein de l'HA

L'influence du cuivre sur les atomes environnants est étudiée par spectroscopies FTIR et RMN ^1H , ^{31}P . Des zooms des spectres FTIR sont représentés sur la Figure 30a, les spectres complets étant présentés en Annexe 2. La poudre d'HA dopée CuCP01-600 présente les mêmes bandes de vibrations que l'HA pure CP01-600 (Figure 30a). La zone entre 400 et 1200 cm^{-1} est typique des groupements phosphates. Entre 950 et 1100 cm^{-1} , les bandes sont assignées à la vibration d'élongation des PO_4 (ν_1 à 962 cm^{-1} ; ν_3 à 1033, 1042, 1062 et 1094 cm^{-1}) tandis que les bandes entre 470 et 610 cm^{-1} correspondent aux vibrations de déformation de ces mêmes groupements (ν_2 à 475 cm^{-1} ; ν_4 à 564 et 603 cm^{-1}). Les bandes de vibration d'élongation des groupements hydroxyles se situent à 3572 et 633 cm^{-1} . Enfin, la large bande à 3430 cm^{-1} et celle à 1635 cm^{-1} sont dues à de l'eau adsorbée [207], [217]. Le Tableau 10 récapitule l'attribution des différentes bandes de l'échantillon CuCP01-600. Pour cet échantillon dopé au cuivre, aucun décalage dans la position des bandes relatives aux groupements phosphates ou hydroxyles n'est observée en comparaison à l'HA pure, l'insertion des ions Cu^{2+} au sein de l'apatite ne perturbe donc pas de façon significative les liaisons chimiques entre les atomes P-O, d'une part et O-H d'autre part.

Lors de la synthèse, la perte de cuivre dans le filtrat pourrait avoir entraîné la formation d'une HA sous-stœchiométrique dans laquelle certains groupements phosphates PO_4^{3-} sont substitués partiellement par les groupements HPO_4^{2-} . Au-delà d'une température de 250°C , ces derniers se condensent pour former des groupements $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$. Pour vérifier la présence de groupes HPO_4^{2-} , le spectre FTIR de la poudre CuCP01 non calcinée a donc été réalisé. Sur le zoom entre 450 et 1250 cm^{-1} (Figure 30b), on peut identifier la présence d'une faible bande à 875 cm^{-1} , caractéristique des groupements HPO_4^{2-} . Toutefois, cette bande a aussi été observée au sein de la poudre brute CP01 dont la stœchiométrie a été vérifiée. La présence de cette bande pourrait provenir des résidus de synthèse adsorbés en surface ce qui ne permet pas de statuer sur la valeur du rapport $(\text{Ca}+\text{Cu})/\text{P}$ au sein de la phase CuCP01. D'autres techniques de caractérisations, telle que la RMN, pourraient permettre de préciser les résultats.

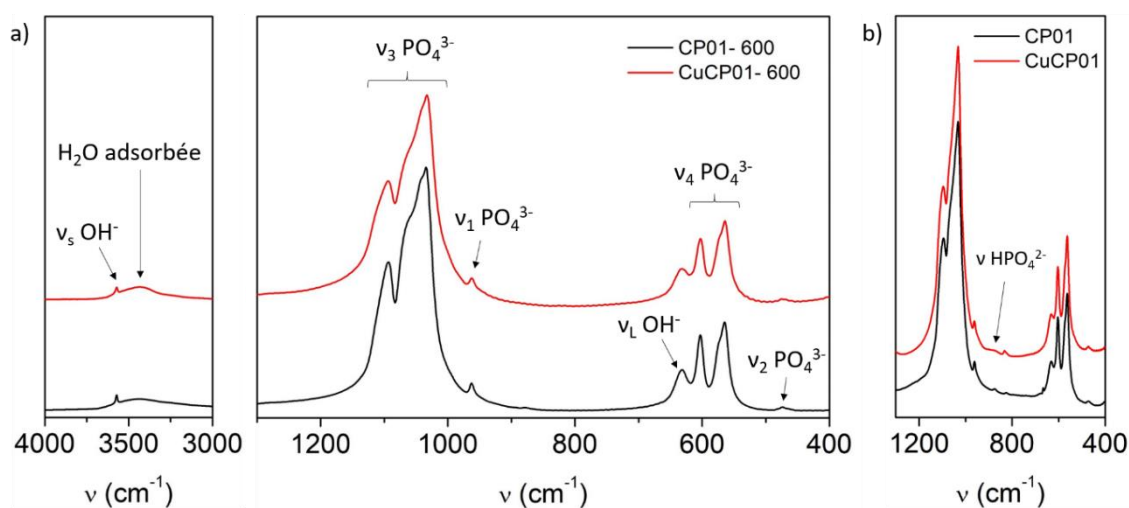


Figure 30 : Spectres FTIR zoomés des poudres d'HA pure et dopée CP01 et CuCP01 calcinées à 600°C pendant 1 h (a) et des poudres brutes (b)

Tableau 10: Attribution des bandes FTIR de l'échantillon CuCP01-600

Bande IR (cm^{-1})	Mode
633	$\nu_L (\text{OH}^-)$
3572	$\nu_s (\text{OH}^-)$ Elongation
962	$\nu_1 (\text{PO}_4^{3-})$ Elongation symétrique
1033 - 1042 1062 - 1094	$\nu_3 (\text{PO}_4^{3-})$ Elongation antisymétrique
475	$\nu_2 (\text{PO}_4^{3-})$ Déformation symétrique
564 603	$\nu_4 (\text{PO}_4^{3-})$ Déformation antisymétrique
1635	$\delta (\text{H}_2\text{O})$ Déformation angulaire
3430	$\nu (\text{H}_2\text{O})$ Elongation
Eau adsorbée	

En RMN ^1H (Figure 31a), le signal majoritaire (fin et intense) à $\delta = 0,01$ ppm, observé sur le spectre de l'HA pure, est attribué aux protons des groupes hydroxyles situés au sein des canaux hexagonaux de l'apatite. L'attribution des autres pics reste controversée dans la littérature. Les signaux à 5,35 et 7,0 ppm sont assignés à la présence de molécules d'eau physisorbée ou à de l'eau de structure piégée dans les tunnels de l'apatite [218], [219]. Les pics avec un déplacement chimique voisin de 1 ppm correspondraient à la présence de liaisons hydrogènes au sein de ces molécules d'eau [220], [221] tandis que le signal à 3,67 ppm pourrait être lié à des molécules d'eau avec une force de liaison hydrogène différente [222]. En RMN ^{31}P (Figure 31a), seul le signal à 2,67 ppm, typique des groupements phosphates au sein de l'apatite, est observé [221], [223].

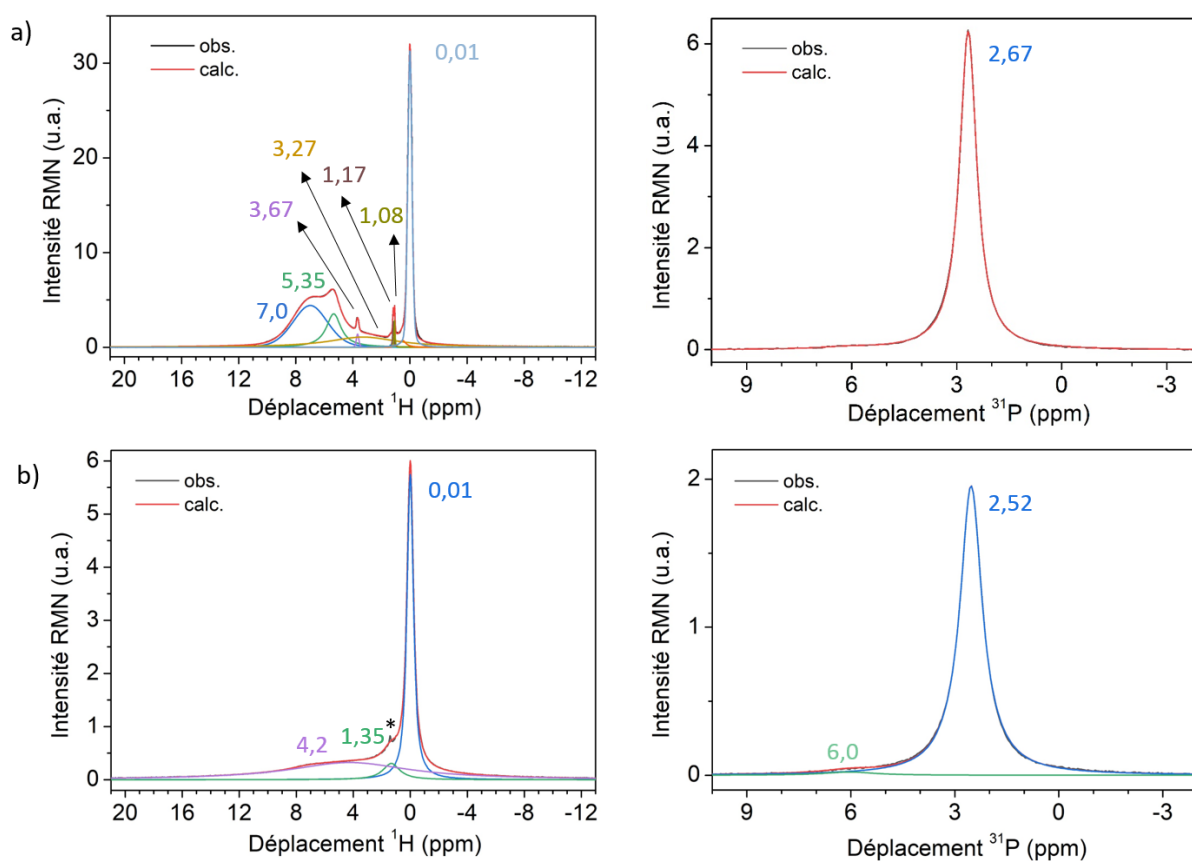


Figure 31 : Spectres expérimentaux et simulés RMN du ^1H et du ^{31}P de l'HA pure CP01-600 (a) et de l'HA dopée au cuivre CuCP01-600 (b) tracés après optimisation du délai de recyclage

Dans le cas de l'HA dopée au cuivre (Figure 31b), on retrouve en RMN ^1H le signal majoritaire à 0,01 ppm propre aux protons des groupements hydroxyles de la structure apatite. Le signal observé à 1,35 ppm est à nouveau attribué à la présence de liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau tandis que le pic fin de faible intensité à ce même déplacement chimique, marqué par une étoile, est lié à la présence de molécules d'eau au niveau de la sonde de mesure.

Le large signal centré à environ 4 ppm s'étendant d'environ - 9 à + 18 ppm pourrait être dû à la somme de plusieurs composantes liées à la présence de molécules d'eau, de groupements HPO_4^{2-} (généralement observés entre 3 et 17 ppm [221], [223]) ou à des protons perturbés par la présence de cuivre à proximité. En RMN ^{31}P , on retrouve le signal principal propre aux groupements phosphates au sein de l'apatite à 2,52 ppm. Le faible décalage par rapport à l'HA pure indiquerait une légère différence d'environnements. Un deuxième signal large de faible intensité, centré à 6,0 ppm et s'étendant d'environ 3,5 à 8,5 ppm, pourrait être lié à la présence de groupements HPO_4^{2-} [221]. Les résultats de RMN ^1H et ^{31}P appuient donc l'hypothèse de la formation d'une HA dopée au cuivre sous-stœchiométrique (associée à la présence de groupes HPO_4^{2-}) après synthèse. En revanche, les signaux relatifs au proton et au phosphore ne permettent pas d'établir directement la présence de cuivre au sein de l'apatite.

Néanmoins, le dopant pourrait avoir un impact sur la relaxation du système de spin des atomes d'hydrogène et de phosphore. En effet, l'interaction d'un proton ou d'un phosphore avec une espèce paramagnétique possédant des électrons non-appariés raccourcit de façon drastique le délai de recyclage D_1 , lié au temps de relaxation spin - réseau T_1 . Rappelons que D_1 est optimal lorsque le temps entre deux acquisitions est suffisamment long pour que les spins aient le temps de retourner à l'équilibre correspondant à une intensité de signal maximale. Dans le cas de l'HA pure, on constate que le délai optimal des signaux principaux en RMN ^1H et ^{31}P est très long, de l'ordre de quelques minutes (Tableau 11) ce qui est cohérent avec l'environnement purement diamagnétique entourant l'hydrogène et les groupements phosphates. En revanche, le délai de recyclage des signaux principaux de l'HA dopée au cuivre est beaucoup plus court, de l'ordre de quelques secondes ce qui traduit l'interaction des ions paramagnétiques Cu^{2+} avec les protons et les phosphores. Le cuivre est donc bien inséré au sein de l'apatite bien qu'il n'affecte que de façon mineure la iono-covalence des différents groupements de la phase. Un effet plus important sur la structure pourrait avoir lieu.

Tableau 11 : Délais de recyclage optimisés en RMN ^1H et ^{31}P pour les échantillons CP01-600 et CuCP01-600

Délai de recyclage	CP01-600	CuCP01-600
RMN ^1H	≈ 250 s	≈ 5 s
RMN ^{31}P	> 700 s	≈ 20 s

III.1.1.3. Influence du cuivre sur la structure de l'HA

Pour évaluer l'influence du cuivre sur la structure des HA, les paramètres et le volume de la maille ainsi que la taille des cristallites de la phase CuCP01-600 sont calculés grâce à l'affinement de son diffractogramme des rayons X par la méthode de Le Bail (Figure 32). Les données obtenues sont comparées à celles de l'HA pure CP01-600 (Tableau 12), déjà mentionnées dans le paragraphe II.2.8.2. En présence de cuivre, une faible augmentation du paramètre a associée à une diminution tout aussi faible du paramètre c est observée, le volume de la maille restant similaire. Ainsi, bien que le rayon ionique du cuivre soit inférieur à celui du calcium ($r_{\text{Cu}^{2+}} = 0,72 \text{ \AA}$; $r_{\text{Ca}^{2+}} = 0,99 \text{ \AA}$), l'insertion du cuivre n'affecte que très légèrement le réseau de l'HA. Ceci peut être dû à la faible quantité de cuivre incorporée dans l'apatite.

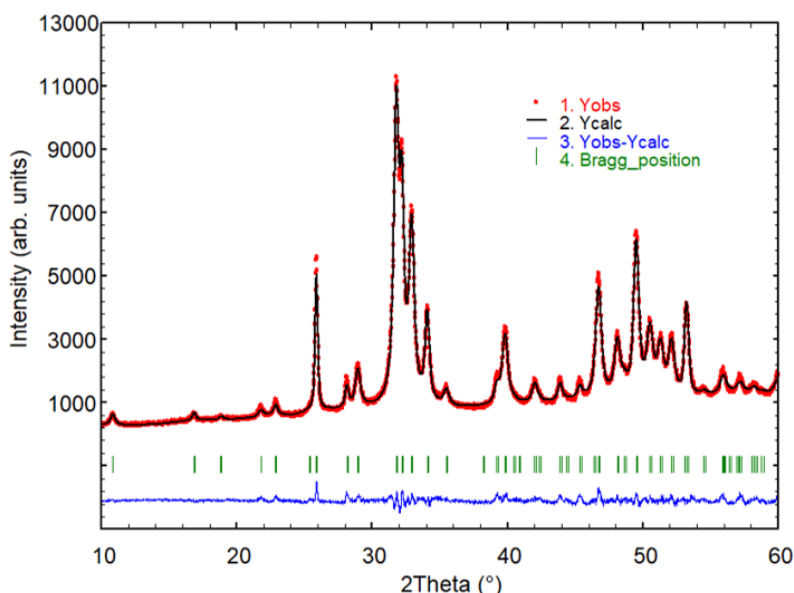


Figure 32 : Diffractogramme des rayons ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) de la poudre CuCP01-600 affiné par la méthode de Le Bail

Tableau 12 : Paramètres de maille, volume et taille des cristallites selon des orientations cristallographiques différentes pour des phases CP01-600 et CuCP01-600

	a (Å)	c (Å)	V (Å ³)	(hkl) (nm)	(00l) (nm)
CP01-600	9,4127(4)	6,8885(3)	528,55(4)	21	48
CuCP01-600	9,420(1)	6,8808(6)	528,7(1)	19	51

La poudre CuCP01-600 présente une taille moyenne de cristallites similaire à celle de l'HA pure avec une même forme allongée selon la direction (00l). L'anisotropie des cristallites est confirmée par les images STEM (Figure 33) sur lesquelles on retrouve la forme d'aiguille typique des HA (cf paragraphe II.2.8.2). Les cartographies STEM-EDX (Figure 33) montrent que le cuivre est distribué de façon homogène au sein de ces aiguilles. La position exacte du

cuivre au sein de la structure apatitique ne peut être, en revanche, identifiée à partir des diffractogrammes des rayons X. La largeur importante des raies de diffraction et le trop faible taux de cuivre incorporé rendent impossible la localisation de l'élément de transition à partir d'un affinement du diffractogramme RX par la méthode de Rietveld. L'environnement du cuivre doit être confirmé par de nouvelles méthodes de caractérisation.

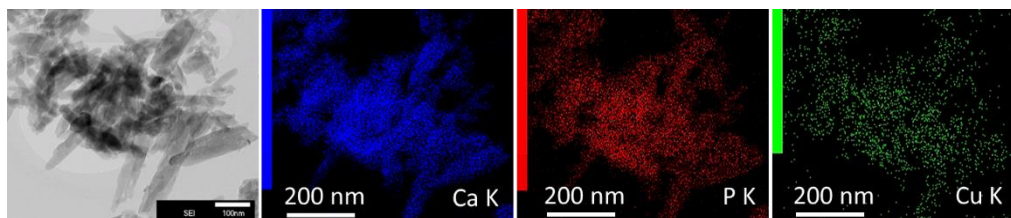


Figure 33 : Image et cartographies des cristallites d'HA dopée au cuivre réalisées par STEM-EDX

III.1.1.4. Environnement du cuivre

Le degré d'oxydation ou l'état de valence ainsi que l'environnement local du cuivre au sein de la poudre CuCP01-600 sont étudiés en couplant les spectroscopies RPE, XPS, XANES-EXAFS et UV-Visible.

a) RPE

Dans un premier temps, la poudre CuCP01-600 est analysée par RPE. Le spectre expérimental, réalisé à température ambiante, et les composantes simulées sont représentés sur la Figure 34. La simulation donne lieu à deux signaux distincts dont la résultante est en accord avec le spectre expérimental. Le premier signal (courbe bleue) est constitué de 4 raies dues à une interaction hyperfine entre les spins électronique et nucléaire d'un noyau présentant un spin nucléaire $I = 3/2$. Ce signal présentant à la fois une anisotropie de facteur g ($g_{xx} = 2,06$; $g_{yy} = 2,12$; $g_{zz} = 2,43$) et une anisotropie de la constante de couplage hyperfin ($A_{xx} \cong A_{yy} < 1,0$ mT ; $A_{zz} = 8,6$ mT) est caractéristique des ions Cu^{2+} au sein d'un site octaédrique subissant une distorsion orthorhombique [224], [225] en accord avec l'effet Jahn-Teller propre à la configuration électronique des ions Cu^{2+} . Les valeurs g_{xx} et g_{yy} étant relativement proches l'une de l'autre comparées à g_{zz} , la distorsion orthorhombique du site semble peu prononcée, se rapprochant ainsi d'une distorsion quadratique.

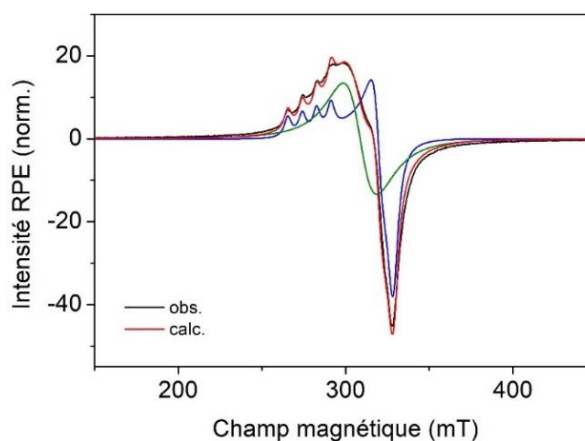


Figure 34 : Spectre expérimental RPE, réalisé à température ambiante, de la poudre CuCP01-600

En considérant que le cuivre se situerait en substitution des ions calcium, le site du calcium Ca(2) serait plus favorable que le site Ca(1). En effet, dans le site Ca(1), les oxygènes O1 et O2 à la côte $z = 0,25$ forment un prisme trigonal avec un axe de symétrie d'ordre 3 difficile à moduler. En revanche, le site Ca(2), correspondant à une bipyramide pentagonale constituée d'un ligand OH^- et 6 ligands O^{2-} , présente une plus faible symétrie, avec un seul axe d'ordre 2, et une importante distorsion initiale (Figure 35). Ce site pourrait donc s'accommoder d'une substitution par les ions Cu^{2+} et des effets de distorsion propres à son effet Jahn-Teller.

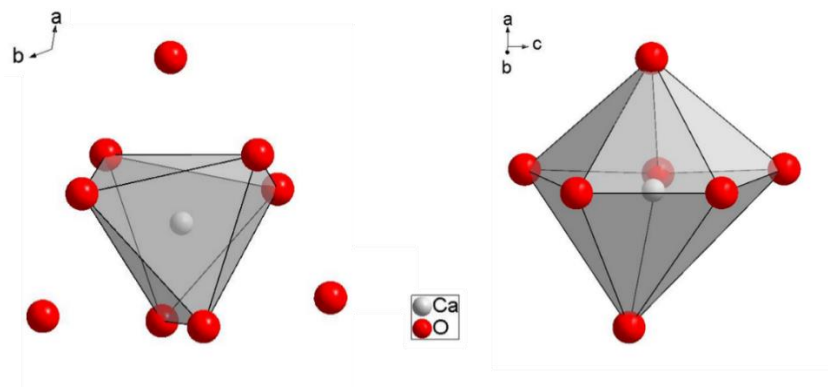


Figure 35 : Prisme trigonal occupé par Ca(1) (gauche) et bipyramide pentagonale occupée par Ca(2) (droite)

Le second signal (courbe verte), caractérisé par une valeur de g effective $g_{\text{eff}} = 2,19$ et une largeur de raie d'environ 20,0 mT, est dû à des ions Cu^{2+} en interaction. Ce signal indique que certains ions Cu^{2+} se trouvent à proximité les uns des autres au sein de la structure apatitique. En considérant le site de substitution précédemment décrit, on peut supposer que l'insertion de cuivre au sein de l'apatite provoquerait la substitution de plusieurs atomes de calcium au sein d'un même triangle perpendiculaire à l'axe c ou à des plans z successifs, entraînant des interactions cuivre - cuivre indirectes (via les liaisons Cu-O-Cu, angle de 120° environ) ou directes (Cu spatialement proches).

b) XPS

Le spectre XPS expérimental de la poudre CuCP01-600 est représenté sur la Figure 36a. Le zoom sur le signal du cuivre et les composantes simulées (Figure 36b), dont les pics sont référencés dans le Tableau 13, apporte des précisions quant à l'environnement du dopant et notamment sur le type de liaisons iono-covalentes engagées avec les ligands. En effet, le spectre simulé est constitué de deux composantes distinctes. Le premier signal, avec la composante la plus intense à 933,4 eV, est proche de celui détecté pour l'oxyde de cuivre CuO (Figure 36c) qui ne contient que des ions Cu^{2+} dans un environnement plan-carré CuO_4 avec quatre distances

Cu-O voisins de 1,95 Å et donc des liaisons Cu-O particulièrement covalentes. Le deuxième signal, dont la composante principale se situe à 935,4 eV avec une intensité presque deux fois inférieure au premier, est comparable à celui de l'hydroxyde de cuivre $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$ (Figure 36d). Ce composé contient deux octaèdres CuO_6 très distordus avec des groupements OH^- et des ions O^{2-} (provenant des nitrates) comme ligands à des distances entre 2,05 et 2,40 Å. L'élargissement de la largeur à mi-hauteur du pic principal du spectre de l'hydroxy-nitrate comparé à CuO reflète la distribution de distances plus importante.

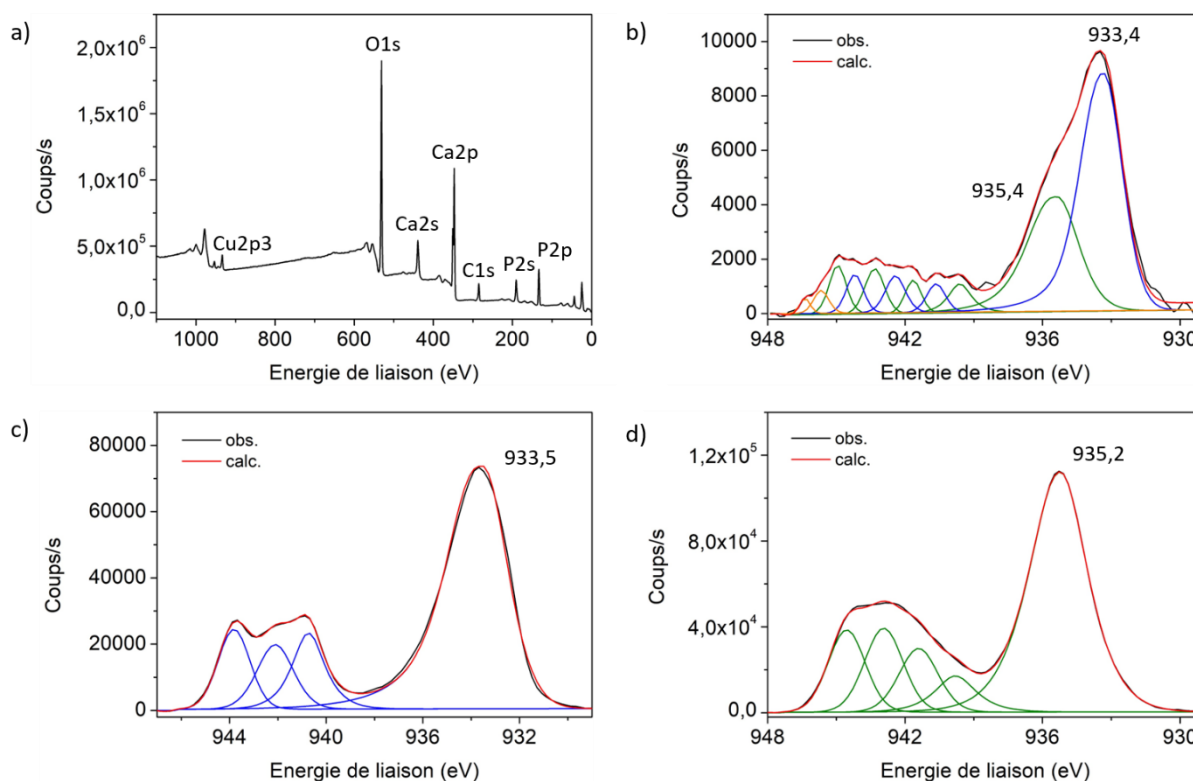


Figure 36 : Spectre XPS de la poudre CuCP01-600 (a) avec un zoom sur les pics principaux Cu2p3 et satellites (a) ainsi que les pics associés (b). Spectres XPS servant de référence : CuO (c) et $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{NO}_3$ (d)

Tableau 13 : Energies de liaison et largeurs à mi-hauteur des pics affinés des composés CuCP01-600, CuO, et $\text{Cu}_2(\text{OH})_3(\text{NO}_3)$

CuCP01-600	E liaison (eV)	933,4	935,4	939,6	940,7	941,7	942,4	943,4	944,2	945,0
	FWHM	1,98	2,29	1,20	0,98	0,86	1,05	1,03	0,91	0,92
CuO	E liaison (eV)	933,5	940,7	942,1	943,8					
	FWHM	2,48	1,61	1,84	1,60					
$\text{Cu}_2(\text{OH})_3(\text{NO}_3)$	E liaison (eV)	935,2	939,8	941,4	942,9	944,6				
	FWHM	2,91	2,14	2,07	2,04	1,96				

Ainsi, pour l'HA dopée au cuivre, par analogie avec nos composés de référence, le pic XPS majeur à basse énergie serait associé à la présence de liaisons courtes $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O}$ très covalentes.

Le second pic à 935,4 eV serait dû à la présence de deux types de ligands avec de « longues » liaisons $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O-H}$ et $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O}$ au sein de l'HA. Ces deux contributions indiquent donc la présence à la fois de liaisons $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O}$ plus ou moins covalentes (avec une grande disparité de longueurs) mais aussi de liaisons $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O-H}$. Le site de substitution proposé à la suite de l'étude RPE, à savoir le site distordu Ca(2) présentant des ligands O^{2-} et OH^- , est parfaitement en accord avec les résultats obtenus par spectroscopie XPS.

c) EXAFS-XANES

Enfin, des analyses XANES (autour du seuil d'absorption) et EXAFS (quelques dizaines d'eV après le seuil) au seuil K du cuivre (transition $1s^2 \rightarrow 4p^0$ permise par les règles de Laporte) sont réalisées afin de préciser davantage encore la géométrie du site dans lequel se trouve le cuivre (tétraédrique, octaédrique, plan-carré, etc..) et les longueurs des liaisons Cu-O. Les spectres XANES de l'échantillon CuCP01-600 et de l'oxyde de cuivre CuO, servant de référence, sont représentés sur la Figure 37a. Le spectre d'absorption normalisée μ est ainsi tracé en fonction de l'énergie E ou du vecteur d'onde k ($E = \hbar^2 k^2 / 8\pi^2 m$ avec $\hbar$ la constante de Planck, m la masse du photoélectron et k exprimé en $\text{\AA}^{-1}$). Ces spectres peuvent être décomposés en trois parties : le pré-seuil, le seuil et le début des interférences entre les ondes propres au photoélectron issu de l'atome émetteur de cuivre et celles qui repartent des atomes proches voisins. L'étude de ces interférences est détaillée ultérieurement via les spectres EXAFS.

Le pré-seuil, sur lequel un zoom est réalisé (Figure 37b), correspond à la signature de la transition $1s \rightarrow 3d$ au sein du cuivre(II). Cette transition, interdite par les règles de Laporte, est seulement observée au sein d'un site n'ayant pas de centre d'inversion ou qui s'écarte de son caractère centrosymétrique (par exemple un tétraèdre, une pyramide à base carrée ou encore un octaèdre distordu). Ainsi, dans le cas de l'oxyde de cuivre CuO, le site n'est pas exactement plan-carré et présente un très léger écart au caractère centrosymétrique. La position du pré-seuil se décale vers les hautes énergies lorsque l'éclatement E des orbitales d lié au champ cristallin augmente alors que son intensité I diminue avec l'accroissement du caractère centrosymétrique du site : $E(\text{Cu tétraèdre}) < E(\text{Cu octaèdre distordu}) < E(\text{Cu plan carré distordu})$ et $I(\text{Cu tétraèdre}) > I(\text{Cu octaèdre distordu}) > I(\text{Cu plan carré distordu})$ [226].

La position du pré-seuil de CuO à 8978,5 eV est caractéristique de la transition entre les orbitales $1s$ et $3d$ des ions Cu^{2+} [226], [227]. Dans le cas de l'échantillon CuCP01-600, le pré-seuil est décalé vers les basses énergies (8977,2 eV) comparé à l'oxyde de cuivre et son intensité

est plus importante. Ces résultats indiquent que les ions Cu^{2+} au sein de l'apatite se trouvent dans un site octaédrique distordu ou tétraédrique. Le calcul de l'aire intégrée du pré-seuil de l'échantillon CuCP01-600 (égale à 0,023 u.a.), permet de positionner notre échantillon sur le graphique établi par Pickup *et al.* [226] représentant l'aire intégrée en fonction de l'énergie et du site d'occupation du cuivre. La position du centroïde (dans une approximation gaussienne), égale à 8977,1 eV, est ici considérée et non la valeur maximale du pic. Cette valeur a été ajustée en repositionnant la valeur du centroïde de l'oxyde de cuivre CuO à 8977 eV comme établie dans la publication de Pickup *et al.* D'après la variation empirique établie par ces auteurs, le site occupé par le cuivre dans l'échantillon CuCP01-600, intermédiaire entre les sites octaédrique et tétraédrique, semble être plus proche de l'octaèdre. Ce résultat est donc en parfait accord avec les résultats issus des spectroscopies RPE et XPS.

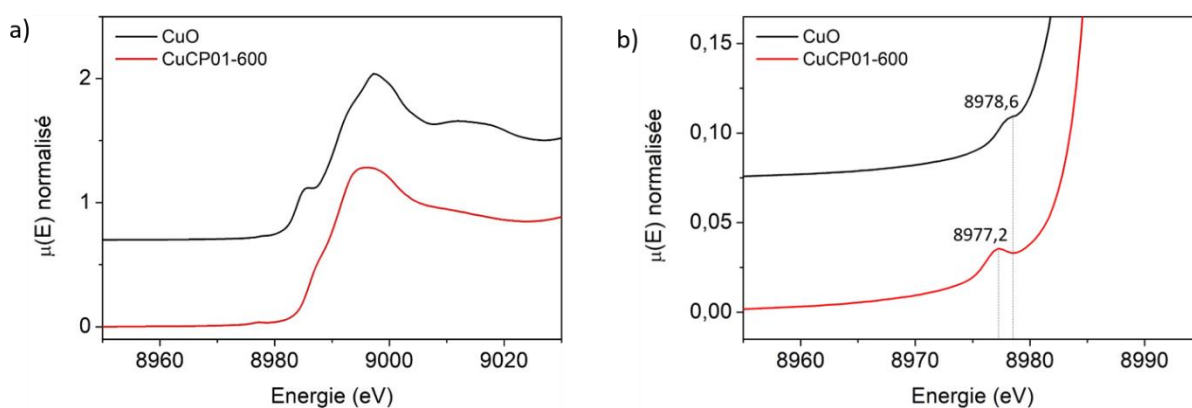


Figure 37 : Spectres XANES des oxydes CuO et CuCP01-600 (a) avec un zoom sur le pré-seuil (b)

Le seuil, sur lequel un zoom est réalisé entre 8980 et 9000 eV (Figure 38), rend compte des transitions $1s \rightarrow 4p_x, 4p_y, 4p_z$ (description moléculaire). Trois ruptures de pente, associées à ces transitions, sont ainsi attendues. La dérivée des courbes $\mu(E)$ est également tracée afin de déterminer les énergies propres à ces transitions. Le cuivre, au sein de CuO, forme un plan carré avec les 4 atomes d'oxygène l'entourant, l'orbitale vide $4p_z$ est donc plus stable par rapport aux deux autres orbitales $4p_x$ et $4p_y$ qui sont dégénérées à plus haute énergie. Ainsi, l'inflexion observée à plus basse énergie, avec un maximum à 8986,3 eV (Figure 38a), est associée à la transition $1s \rightarrow 4p_z$. Les autres transitions observées à plus haute énergie traduisent simplement des effets d'hybridation assez importants des orbitales $4p_x$ et $4p_y$ avec les orbitales $2p_x$ et $2p_y$ de l'oxygène (forte covalence de la liaison Cu-O dans CuO). Dans le cas de l'échantillon CuCP01-600, l'inflexion associée à la transition $1s \rightarrow 4p_z$ est beaucoup moins bien définie (Figure 38b). Le cuivre se situe donc dans un site dans lequel l'orbitale $4p_z$ est moins stabilisée. De plus, la transition ayant lieu à plus haute énergie que pour CuO (8988,1 eV), la levée de dégénérescence

des orbitales $4p$ est plus faible. Enfin, les effets d'hybridation propres à CuO et au site plan-carré des ions Cu^{2+} sont bien moins marqués dans le cas de l'HA dopée au cuivre. Ces observations sont en accord avec la présence de cuivre au sein d'un site octaédrique distordu.

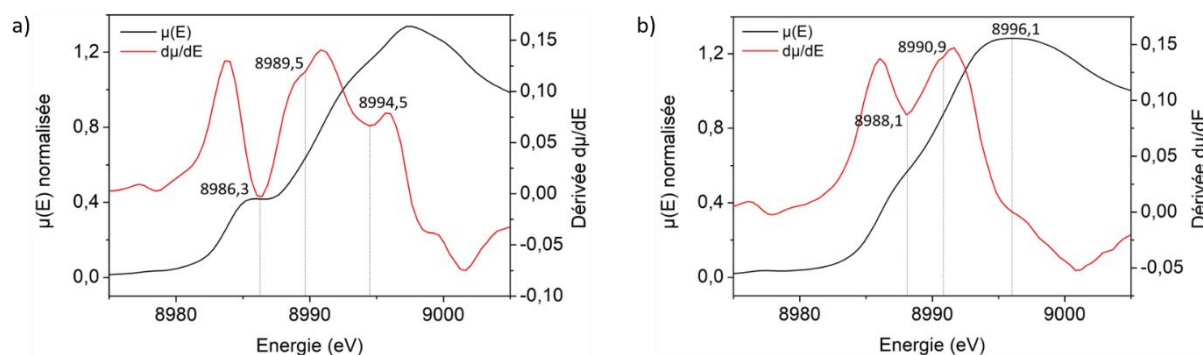


Figure 38 : Zoom sur les seuils et leurs dérivées relatifs aux composés CuO (a) et CuCP01-600 (b)

Dans un deuxième temps, les oscillations EXAFS issues du spectre normalisé de l'échantillon CuCP01-600 ont été affinées à partir du modèle des ondes planes en diffusion simple (Figure 39a). Dans ce cas précis, un simple aller-retour de l'onde entre le ligand et l'atome de cuivre est considéré. Pour analyser ce spectre en distribution radiale, une transformée de Fourier est ensuite effectuée (Figure 39b). Le spectre simulé ne permet d'identifier que les premiers voisins autour du cuivre à une distance inférieure à 2 Å, à savoir 4 oxygènes à une distance de 1,94 Å (Tableau 14). Or les résultats RPE indiquent que les ions Cu^{2+} se situent dans un site octaédrique distordu. La longueur des deux liaisons Cu-O selon l'axe z est probablement assez différente d'un site à l'autre (en restant supérieure à 2 Å) provoquant un désordre important au sein du réseau apatitique et l'atténuation rapide des oscillations.

D'après ces trois techniques de caractérisations, le cuivre se situerait dans un site octaédrique avec une distorsion plutôt orthorhombique (RPE, XANES), comprenant plusieurs types de ligands (XPS), avec une forte modularité au niveau de la distribution des liaisons Cu-O les plus longues d'un site à l'autre (oscillations EXAFS), et enfin, avec la possibilité d'établissement d'interactions Cu-Cu (RPE). Les ions Cu^{2+} semblent donc se situer dans le site $\text{Ca}(2)$ relié aux groupements hydroxyles. Les propriétés optiques de la poudre sont ensuite étudiées afin d'établir son aptitude au frittage laser d'une part mais également de confirmer l'occupation d'un site octaédrique distordu par les ions Cu^{2+} .

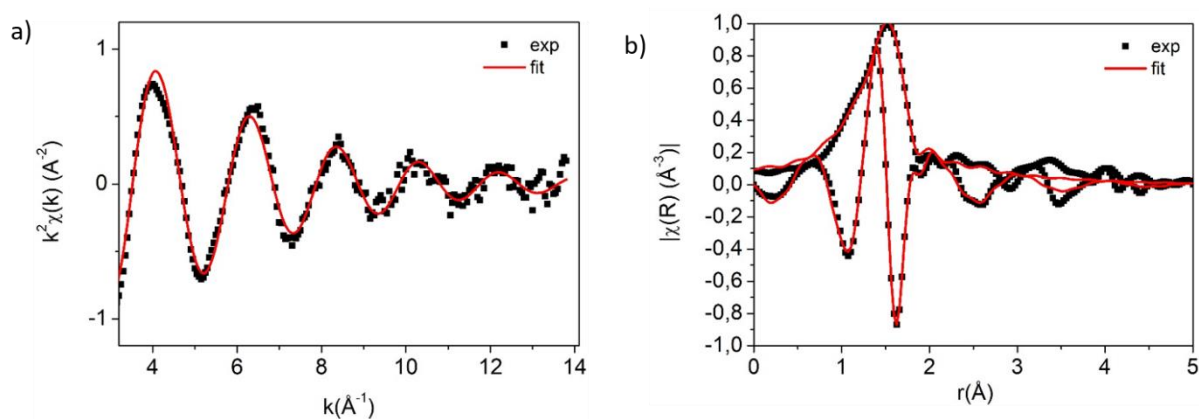


Figure 39 : Spectres expérimentaux et simulés EXAFS du composé CuCP01-600 (a) et sa transformée de Fourier (b)

Tableau 14 : Nombre d'atomes N d'oxygènes entourant le cuivre, ainsi que le facteur d'échelle S_0^2 , le facteur de Debye-Waller σ et la longueur R de la liaison Cu-O

Liaison	N	S_0^2	σ^2 (Å ²)	R (Å)
Cu-O	$4,0 \pm 0,2$	$0,70 \pm 0,04$	$0,0050 \pm 0,0006$	$1,942 \pm 0,005$

III.1.1.5. Propriétés optiques

Les propriétés optiques de la poudre CuCP01-600 sont évaluées par réflexion diffuse. Le coefficient de réflexion (noté R) en fonction de la longueur d'onde est représenté sur la Figure 40a. La large bande d'absorption à 890 nm est caractéristique de la transition électronique entre les niveaux t_{2g} (d_{xy} , d_{yz} , d_{xz}) et e_g (d_{z^2} et $d_{x^2-y^2}$) des orbitales d du cuivre(II) en site octaédrique donnant cette couleur bleue à la poudre [24], [228]. La transmission au travers des particules étant considérée comme nulle, le coefficient d'absorption (noté A) peut être calculé à partir de l'équation $A + R = 1$. A 1070 nm, il est d'environ 46% ce qui est intéressant dans le cadre d'une application en frittage laser sélectif.

A partir de la courbe de réflexion diffuse, il est également possible d'identifier en première approximation les transitions électroniques impliquant les orbitales d du cuivre(II). En effet, étant donné que chaque transition induit une bande d'absorption, un recouvrement partiel peut avoir lieu lorsque plusieurs transitions entrent en jeu donnant lieu *in fine* à une seule large bande. La déconvolution de cette bande permet alors de remonter au nombre de transitions impliquées. Pour cela, la courbe de réflexion diffuse est retracée en fonction de l'énergie en se basant sur la loi de Kubelka-Munk définie dans le chapitre II. Le rapport K/S, correspondant au rapport entre le coefficient d'absorption et le coefficient de diffusion, est représenté en fonction du nombre d'onde sur la Figure 40b. Les transferts de charge de l'oxygène $2p^6$ vers le cuivre $3d^9$ et vers le

calcium $3d^0 4s^0$ sont respectivement observés à $35\,000\text{ cm}^{-1}$ (286 nm) et $46\,720\text{ cm}^{-1}$ (214 nm) [229], [230]. Un zoom est réalisé sur la bande d'absorption des ions Cu^{2+} , visible à $11\,200\text{ cm}^{-1}$ (890 nm), afin d'effectuer des affinements en considérant plusieurs hypothèses.

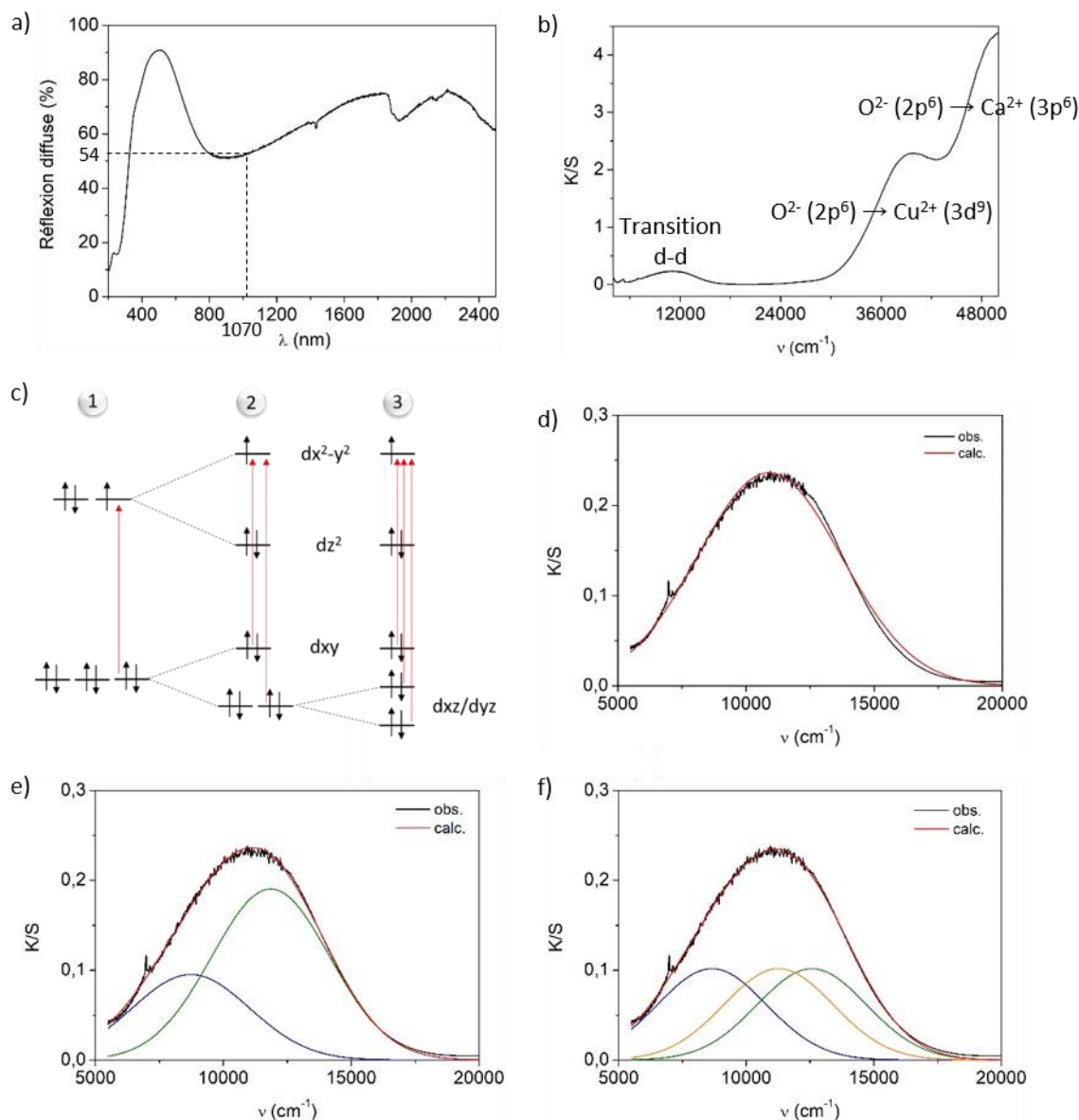


Figure 40 : Spectre de réflexion diffuse de l'échantillon CuCP01-600 (a) retracé en coordonnées de Kubelka-Munk (b) ; transitions d-d possibles entre les niveaux (c) et déconvolutions de la bande centrée à $11\,200\text{ cm}^{-1}$ associées à chacune de ces transitions (d,e,f)

L'analyse RPE, réalisée précédemment, montre que les ions Cu^{2+} se trouvent dans un octaèdre allongé au sein de l'HA. Dans une première approximation, il est donc raisonnable de considérer que le coefficient de mélange des orbitales d_{z^2} et $d_{x^2-y^2}$ est très faible et que la probabilité de la transition du niveau d_{z^2} vers le niveau $d_{x^2-y^2}$ est négligeable. Cette transition

n'étant pas considérée dans le calcul qui suit, la large bande d'absorption observée peut être due à une, deux ou trois transitions.

Tout d'abord, en considérant le cuivre dans un site régulier, une seule transition électronique $t_{2g} \rightarrow e_g$ est possible (Figure 40c₁). Le spectre est donc affiné à l'aide d'une seule bande dont la position est calculée à une énergie de 10 910 cm⁻¹. Bien que le facteur d'accord R^2 soit très proche de 1 (0,9948), la courbe simulée ne semble pas tout à fait optimale (Figure 40d).

L'effet Jahn-Teller est ensuite pris en compte dans la deuxième hypothèse. L'élongation des liaisons selon l'axe z, généralement observée, conduit à la stabilisation des orbitales d_{xz} , d_{yz} et d_{z^2} et à la déstabilisation des orbitales d_{xy} et $d_{x^2-y^2}$ (distorsion quadratique). La levée de dégénérescence des niveaux d induit alors deux transitions électroniques impliquant un saut d'électrons vers le niveau $d_{x^2-y^2}$ partiellement rempli, l'électron provenant pour la première transition des deux niveaux dégénérés d_{xz} , d_{yz} et pour la seconde, du niveau d_{xy} (Figure 40c₂). Le spectre a donc été affiné avec deux bandes de largeurs à mi-hauteur identiques dont le rapport d'intensité (de la bande haute énergie sur la bande basse énergie) a été fixé à 2:1 du fait de l'existence des deux sous-niveaux t_{2g} encore dégénérés. L'affinement donne de très bons résultats, les bandes sont positionnées à des énergies de 8 730 et 11 850 cm⁻¹ avec un coefficient de corrélation de 0,9977 (Figure 40e).

Enfin, en prenant en compte une distorsion orthorhombique de l'octaèdre, une levée additionnelle de dégénérescence entre les niveaux d_{xz} et d_{yz} se produit (Figure 40c₃). La courbe est alors affinée avec trois bandes d'absorption d'intensités et de largeurs égales à des positions de 8 660, 11 270 et 12 570 cm⁻¹ conduisant à un facteur de corrélation très légèrement supérieur à celui de la simulation précédente $R^2 = 0,9979$ (Figure 40f). Cette dernière technique corrobore donc les résultats RPE et XAS : le site du cuivre semble légèrement plus proche d'une distorsion orthorhombique que quadratique, la différence n'étant pas significative.

L'étude des propriétés optiques de l'HA substituée au cuivre par coprécipitation conforte les résultats précédents quant à la présence de cuivre dans un site octaédrique présentant une distorsion légèrement orthorhombique. De plus, l'absorption optique de la poudre autour de 46% à 1070 nm, c'est-à-dire la longueur d'onde du laser de notre appareillage de synthèse additive, est intéressante en vue du frittage laser. Cependant, pour que cette poudre soit utilisable, sa stabilité thermique doit être vérifiée.

III.1.1.6. Stabilité thermique

La stabilité thermique de l'échantillon CuCP01-600 est étudiée via des traitements thermiques à 800 et 1200°C. Les diffractogrammes des rayons X qui en résultent (Figure 41a) montrent que l'HA se décompose en phosphate tricalcique à ces températures. La sous-stœchiométrie potentielle de l'HA engendrée par la perte de cuivre lors de la synthèse et/ou la déstabilisation de l'apatite provoquée par le dopage au cuivre pourraient être à l'origine de cette décomposition. La 2^e hypothèse est appuyée par l'apparition d' α -TCP dès 800°C indiquant que le cuivre(II) stabiliserait cette seconde phase après s'être extrait de l'apatite. Après recuit à 1200°C, un changement de couleur de la poudre du bleu vers le marron clair est observé ce qui révèle une forte implication des ions Cu^{2+} lors de la décomposition de phase. De plus, le calcul des paramètres de maille des HA pures et dopées en fonction de la température de calcination (Figure 41b) confirme qu'une modification structurale de l'HA impliquant les ions cuivre a lieu à haute température. En effet, alors que les paramètres de maille a et c de l'HA pure ont une

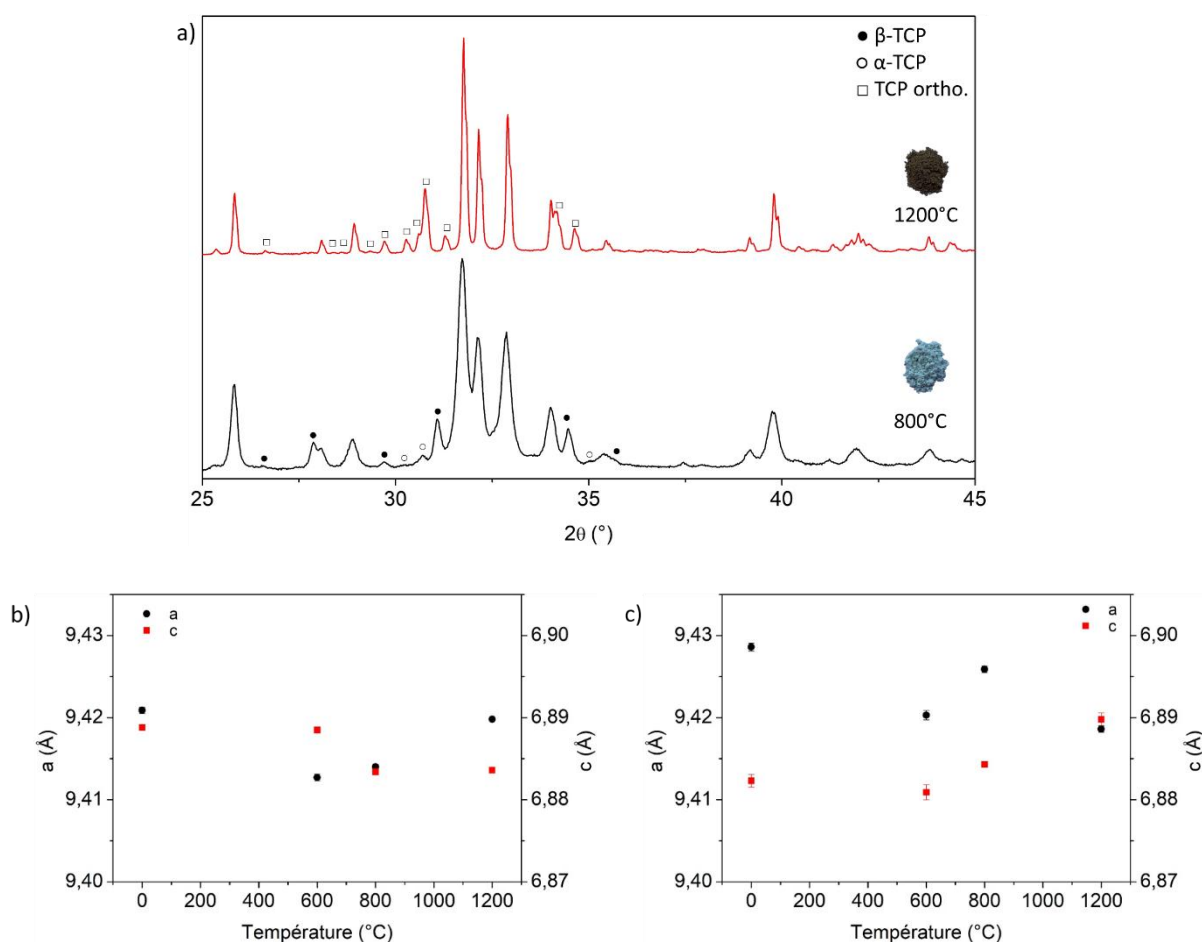


Figure 41 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) des poudres CuCP01 calcinées à 800 et 1200°C (a) ainsi que les paramètres de maille des HA pure (b) et dopée (c) en fonction de la température de calcination.

légère tendance à respectivement augmenter et diminuer après des recuits effectués entre 600 et 1200°C, ceux de l'HA dopée au cuivre présentent la tendance inverse. Ce phénomène sera explicité ultérieurement.

III.1.1.7. Conclusion partielle sur les composés CuCP01

L'utilisation de nitrates de calcium et de cuivre ainsi que d'ammoniaque en tant que précurseurs permet ainsi l'élaboration d'une phase pure d'HA de couleur bleue à basse température de calcination contenant une faible proportion de cuivre divalent (2% environ). Les analyses RPE, XPS et XAS ont permis d'identifier que les ions Cu^{2+} se situent dans un site octaédrique distordu au sein de la structure apatitique et substitueraient le calcium au niveau du site Ca(2).

Cependant, la formation du complexe $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ lors de la synthèse empêche tout contrôle sur la composition finale de l'HA dopée (notamment sur le taux de cuivre incorporé), et sur la proportion HA/TCP après calcination à haute température. D'un point de vue biologique, il sera donc difficile d'établir de manière précise la cytotoxicité du matériau et la quantité de cuivre libérée dans l'environnement physiologique. Ainsi, bien que le spectre UV-visible-NIR présente une transition *d-d* autour de 1 μm intéressante pour l'élaboration de céramiques par frittage laser sélectif à haute température, il serait préférable que les hydroxyapatites développées soient stables jusqu'à des températures d'environ 1200°C afin de maîtriser leurs propriétés biologiques. L'utilisation d'ammoniaque doit donc être limitée pour éviter les pertes en cuivre au sein du filtrat de précipitation et contrôler la décomposition thermique de l'HA dopée au cuivre. L'emploi de bases fortes, tels que les hydroxydes de sodium et de potassium, n'est pas envisageable puisqu'une substitution partielle des ions Ca^{2+} par Na^+ ou K^+ pourrait avoir lieu au sein de l'HA. Le précurseur de nitrate de calcium est donc remplacé par l'hydroxyde de calcium dont la basicité permet d'élever le pH jusqu'à des valeurs de 11 – 12.

III.1.2. Synthèse à partir d'hydroxyde de calcium et de nitrate de cuivre

III.1.2.1. Rapport (Ca+Cu)/P = 10/6

La deuxième série de synthèses, dont les composés seront dénommés CuCP02, est réalisée dans les mêmes conditions que la synthèse CuCP01 : le rapport (Ca/+Cu)/P = 10/6 est conservé avec toujours 5% molaire hypothétique de cuivre en substitution du calcium, seul le nitrate de

calcium est remplacé par l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$, ce précurseur jouant aussi le rôle de base.

L'ajout des ions Cu^{2+} à la solution d'hydroxyde de calcium provoque la formation du précipité $\text{Cu}(\text{OH})_2$ de couleur bleue foncée qui devient gris lors du chauffage à 80°C . Ce changement de couleur témoigne de la déshydratation de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ en CuO [231]. Le précipité prend ensuite une couleur bleue claire à l'ajout de l'hydrogénophosphate de diammonium. Ce changement de couleur indique que soit l'oxyde de cuivre se dissout pour participer soit à la formation de l'HA dopée, soit à la formation d'une phase d'hydroxyde de cuivre ou une phase phosphatée de type $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$. Lors de la filtration, aucune perte de cuivre dans le filtrat n'est notée (le filtrat est parfaitement incolore) et un gâteau bleu clair est récupéré. Après séchage à l'étuve à 100°C , une seule phase cristalline HA est identifiée en DRX (Figure 42). En revanche, la poudre calcinée à 600°C devient à nouveau grise et de l'oxyde de cuivre CuO est détecté sur le diffractogramme. *A priori*, lors de la coprécipitation, une partie importante des ions cuivre participe à la formation d'un composé secondaire amorphe, sans doute de l'hydroxyde de cuivre(II).

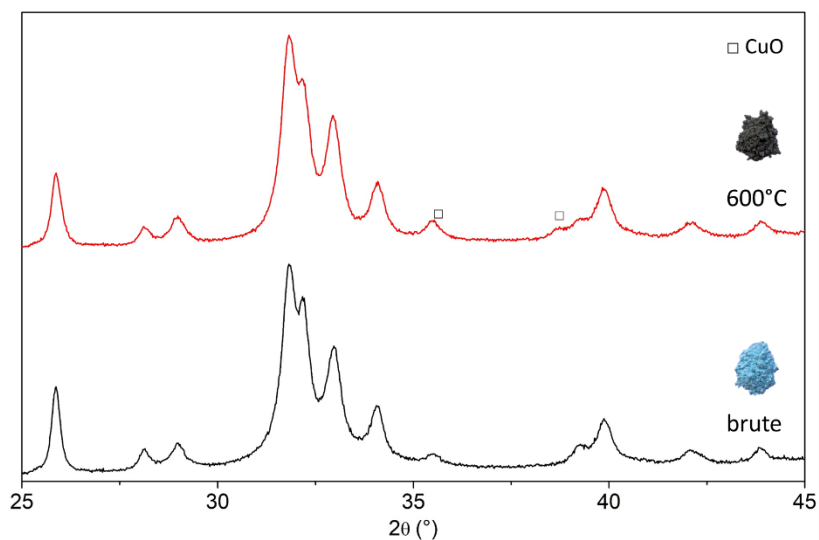


Figure 42 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) des poudres CuCP02 brute et calcinée à 600°C

Dans ces conditions de synthèse, la coprécipitation en présence d'hydroxyde de calcium, ne permet pas d'obtenir un précipité homogène d'HA sans phase secondaire au cuivre, probablement du fait de la précipitation préférentielle de l'hydroxyde de cuivre. Une autre approche a donc été envisagée par la suite. L'idée est de viser la formule hypothétique $\text{Ca}_{10}\text{Cu}_{0,5}(\text{PO}_4)_6\text{O}_x\text{H}_z$ ($\text{Ca}/\text{P} = 10/6$), comme dans le cas des voies solides mentionnées dans le chapitre I, afin de résoudre les problèmes de stabilité thermique observés dans le cas de la

synthèse CuCP01 et d'ouvrir un nouveau moyen d'introduire le cuivre au sein de la structure apatitique. En effet, d'après la littérature, l'utilisation d'un rapport Ca/P stœchiométrique conduit à insérer le cuivre dans la phase apatitique par recuit à haute température. En vue d'une éventuelle réaction par voie solide ultérieure, une nouvelle synthèse par coprécipitation est réalisée en changeant les rapports stœchiométriques entre les constituants de départ avant calcination. Le mélange préalable des réactifs par voie aqueuse permettra d'obtenir une solution homogène mais aussi d'aider au mécanisme de diffusion des atomes par le caractère très divisé (haute surface spécifique) des poudres obtenues par cette voie.

III.1.2.2. Rapport Ca/P = 10/6

Une troisième synthèse, notée CuCP03, est ainsi réalisée dans les mêmes conditions que la précédente mais en prenant un rapport Ca/P = 10/6. La formation des précipités $\text{Cu}(\text{OH})_2$ et CuO est à nouveau observée pendant la synthèse, la présence de l'oxyde de cuivre étant même persistante lors de l'étape de maturation. Après filtration et séchage, deux phases cristallines, l'HA et l'oxyde de cuivre, sont ainsi identifiées par DRX (Figure 43a).

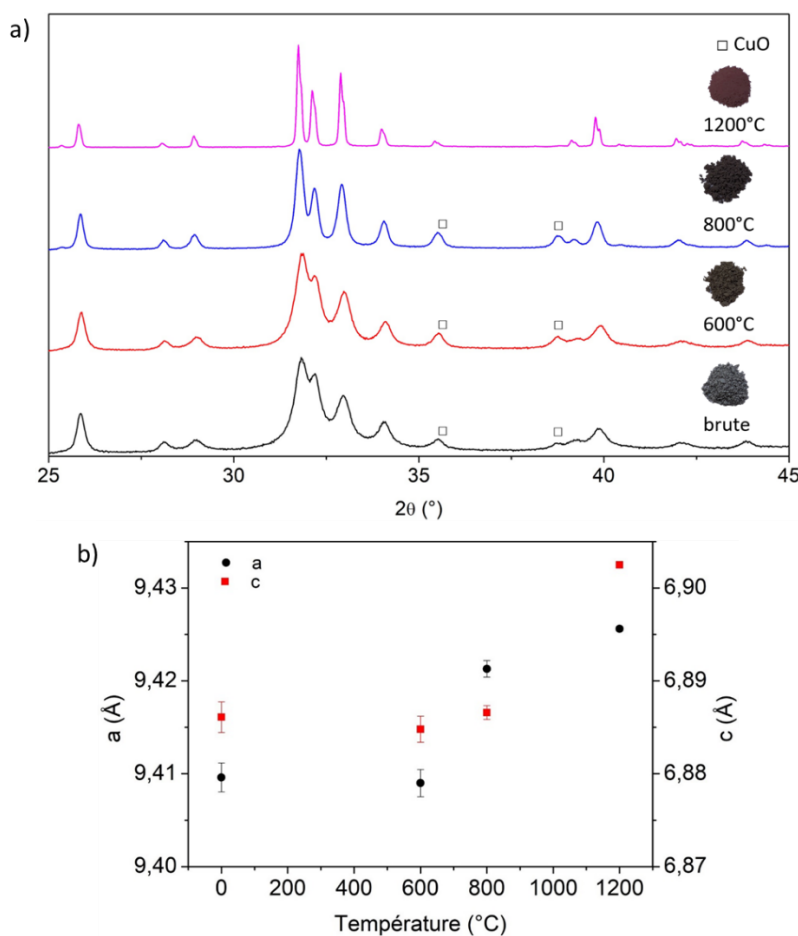


Figure 43 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) des poudres CuCP03 calcinées à différentes températures (a) ainsi que les paramètres de maille associés (b)

Des calcinations à plus hautes températures montrent que la quantité d'oxyde de cuivre augmente jusqu'à 800°C avant de disparaître à 1200°C. A cette température, la poudre devient violette et une hydroxyapatite pure est identifiée par DRX. Aucune phase secondaire riche en calcium ou en cuivre n'est détectée et $5,1 \pm 0,1\%$ mol. de cuivre sont dosés par analyse ICP-OES pour un taux visé de 4,8% mol. (rapport Cu/(Ca+Cu)). Les manipulations lors de la pesée ou de la dilution peuvent être à l'origine de cet écart. De plus, une augmentation significative des paramètres de maille de l'HA avec la température de calcination est observée pour des températures de recuit à partir de 600°C (Figure 43b). Ces résultats tendent donc à confirmer l'insertion du cuivre dans la phase apatitique. La couleur violette de la poudre, proche de celle de l'oxyde de cuivre Cu_2O , pourrait être due à une réduction du cuivre(II) en cuivre(I) lors de la calcination à 1200°C et son incorporation dans la structure apatitique.

Une telle réduction des ions cuivriques en ions cuivreux pourrait être provoquée soit par l'effet de matrice lors de la migration du cuivre au sein de l'HA, soit par le caractère en lui-même oxydant de l'oxyde CuO (qui présente donc une grande facilité de réduction vers l'oxyde Cu_2O), soit par une conjonction des deux effets. Le diagramme d'Ellingham de l'élément cuivre est représenté sur la Figure 44 pour une pression $\text{PO}_2 = 0,2 \text{ atm}$. La droite $RT\ln(\text{PO}_2)$ coupe la droite d'enthalpie libre séparant les domaines d'existence de CuO et Cu_2O à $T \approx 1236 \text{ K}$ soit environ 960°C. La réduction des ions Cu^{2+} en Cu^+ à 1200°C est donc vraisemblable lors des traitements thermiques réalisés, même sans mettre en jeu un effet de matrice « réducteur » de la structure apatitique.

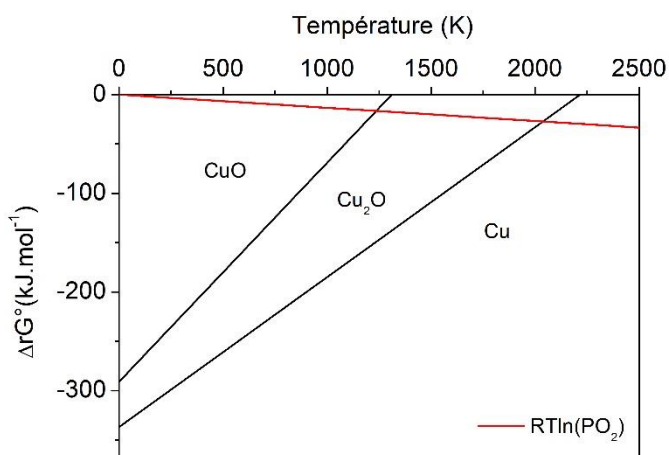


Figure 44 : Diagramme d'Ellingham du cuivre, la droite $RT\ln(\text{PO}_2)$ étant tracée pour $\text{PO}_2 = 0,2 \text{ atm}$

III.1.2.3. Conclusion partielle sur les composés CuCP02 et CuCP03

Dans le cas de l'utilisation d'hydroxyde de calcium jouant le rôle à la fois de source de calcium et de base pour le milieu de coprécipitation, le cuivre forme une phase secondaire CuO pour des températures de recuit de 600°C dans le cas du composé CuCP02 et au sein même du précipité crû dans le cas du composé CuCP03 . Néanmoins, cet oxyde semble ensuite réagir par voie solide avec l'HA à plus haute température ce qui a été confirmé après traitement thermique à 1200°C de la poudre synthétisée avec un rapport $\text{Ca/P} = 10/6$ (CuCP03). Une phase pure

d'HA de couleur violette, contenant probablement du cuivre au degré d'oxydation +I, a pu être élaborée. Une réaction par voie solide semble ainsi être la voie de synthèse la plus appropriée pour élaborer des HA dopées au cuivre pures et stables thermiquement. Dans la suite, la synthèse par voie solide de CuHA est donc directement envisagée entre une HA stoechiométrique synthétisée par précipitation et de l'oxyde de cuivre CuO.

III.2. Hydroxyapatites substituées au cuivre synthétisées par voie solide

III.2.1. Réaction par voie solide entre l'HA et CuO

Pour que la réaction par voie solide entre l'HA et CuO soit la plus efficiente possible, les paramètres optimaux, que sont la température de réaction et le temps de palier, sont dans un premier temps établis.

III.2.1.1. Détermination de la température de réaction

La température de réaction entre l'HA et CuO a été en première approximation déterminée par diffraction des rayons X en température sur une pastille d'un mélange HA - CuO contenant une quantité de cuivre finale visée de 4,76% mol., soit $x = 0,5$ dans la formule hypothétique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cu}_x\text{O}_y\text{H}_z$. Les diffractogrammes montrent que les deux phases sont présentes jusqu'à une température de 950°C (Figure 45). Au-delà de cette température, une phase pure d'hydroxyapatite est détectée, la réaction par voie solide se produit donc autour de 1000°C. La présence d'alumine est due au porte échantillon.

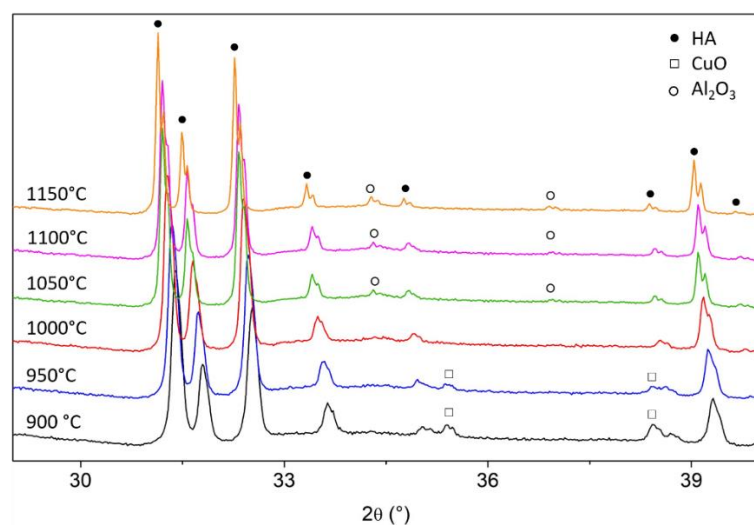


Figure 45 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) réalisés en température (*in situ*) sur une pastille contenant un mélange HA – CuO (x_{Cu} visé = 0,5)

Des mesures ATD ont également été effectuées jusqu'à 1500°C (rampe 20°C/min) pour déterminer le comportement thermodynamique du mélange de poudres HA – CuO (80 – 20% massique). Un très fort taux de cuivre a été choisi pour cette expérience avec l'objectif de révéler le plus significativement possible l'effet du cuivre. Sur la courbe de l'HA pure (Figure 46), le large effet endothermique démarrant à 950°C et le pic associé, à 1370°C, sont dus à sa déshydroxylation (Eq. 10). L'oxyapatite formée se décompose ensuite en phosphate tricalcique α et en phosphate tétracalcique à 1460°C (Eq. 11). Ces deux réactions endothermiques, typiques de l'HA, sont réversibles [207], [232]. Un pic exothermique est notamment observé à 1440°C lors du refroidissement dans le cas de l'équation 5. La réhydroxylation de l'oxyhydroxyapatite étant plus diffuse, aucun pic exothermique lié à ce phénomène n'est observé.

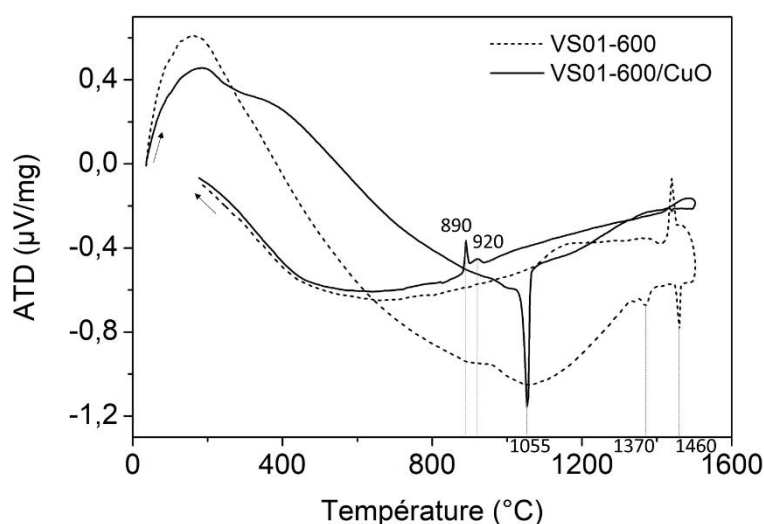


Figure 46 : ATD de l'HA pure CP01-600 et d'un mélange de poudre HA - CuO (20% mass.).

En présence de cuivre, un pic endothermique fin et intense est observé durant le chauffage avec un maximum à 1055°C. De plus, durant le refroidissement, deux pics exothermiques avec des maximums à 920 et 890°C sont observés. D'après le diagramme d'Ellingham, ces deux dernières températures sont proches de la température associée à une réaction d'oxydation liée à la transformation de l'oxyde Cu_2O en CuO . Or dans cette expérience, une quantité importante d'oxyde de cuivre a été utilisée (i.e. 20% massique - $x = 3,15$) ce qui est largement au-dessus de la quantité de cuivre pouvant être incorporée dans l'HA, comme exposé dans le paragraphe suivant (voir Figure 48 pour $x = 1,5$). Le pic endothermique à 1055°C est donc associé à la

réduction de l'oxyde CuO et pourrait simultanément être attribué à sa réaction avec l'HA, la température étant en accord avec la gamme de température de réaction établie par DRX en température. Les deux pics autour de 900°C lors du refroidissement pourraient être associés à la réoxydation du Cu₂O n'ayant pas réagi avec l'HA et d'une partie des ions Cu⁺ déjà insérés dans la structure. L'HA dopée au cuivre ne subit aucune déshydratation ou décomposition jusqu'à 1500°C, la présence de cuivre dans l'apatite semble donc stabiliser la phase hydroxylée au dépend des phases oxyapatites se formant à plus haute température.

Ces résultats montrent qu'une phase pure d'HA dopée au cuivre et stable jusqu'à au moins 1500°C peut être élaborée par réaction par voie solide à partir de 1000°C. L'introduction de cuivre dans la structure apatitique semble concomitante à la réduction partielle du cuivre divalent. L'introduction du cuivre dans la structure apatitique en insertion semble donc directement liée à l'état d'oxydation du cuivre et la réoxydation observée lors du refroidissement pourrait conduire à une démixtion partielle du cuivre de l'apatite. Pour établir de manière plus précise les étapes réactionnelles lors de l'incorporation du cuivre dans l'HA, l'influence de la température, du temps de palier et de la quantité de cuivre sur la structure de l'apatite est étudiée par la suite.

III.2.1.2. Influence de la température de calcination, du temps de palier et du taux de cuivre sur la structure apatitique

Pour évaluer l'influence de la température de calcination, du temps de palier et du taux de cuivre sur la structure apatitique, les paramètres de maille de l'HA sont affinés par la méthode de Le Bail à partir des diffractogrammes de rayons X réalisés pour chacune des différentes conditions (Figure 47a). Dans un premier temps, des pastilles d'HA pure et contenant des mélanges HA - CuO (x_{Cu} final = 0,3 et 0,7) sont chauffées à différentes températures allant de 600 à 1200°C pendant 30 minutes (rampe de 10°C/min). Dans le cas de l'HA pure, bien que le paramètre c demeure parfaitement constant sur toute la gamme de températures de recuit étudiée, le paramètre a , après une légère augmentation entre l'ambiante et 1000°C, diminue pour des recuits à des températures supérieures à 1000°C et tend vers une asymptote vers 1200°C. La diminution du paramètre a de l'HA pure entre 1000 et 1100°C serait due à sa déshydroxylation selon les résultats de l'ATD.

Pour les HA dopées, le paramètre de maille a augmente très progressivement entre 600 et 950°C tandis que le paramètre c reste constant. Une augmentation abrupte des deux paramètres de maille dépendant de la concentration en cuivre est ensuite observée entre 950 et 1000°C. Ce

phénomène est beaucoup plus marqué pour le paramètre c . Au-delà de 1000°C, les deux paramètres de maille n'évoluent plus avec la température de recuit, l'incorporation du cuivre apparaît donc totale dès 1000°C quel que soit le taux de dopant. Pour une rampe de 10°C/min, la réaction entre l'HA et CuO a donc lieu entre 950 et 1000°C. Par la suite, la température de 1100°C est donc retenue comme température de réaction par voie solide afin de s'assurer de l'incorporation complète du cuivre et que la structure de l'HA pure, qui sert de référence, soit stable

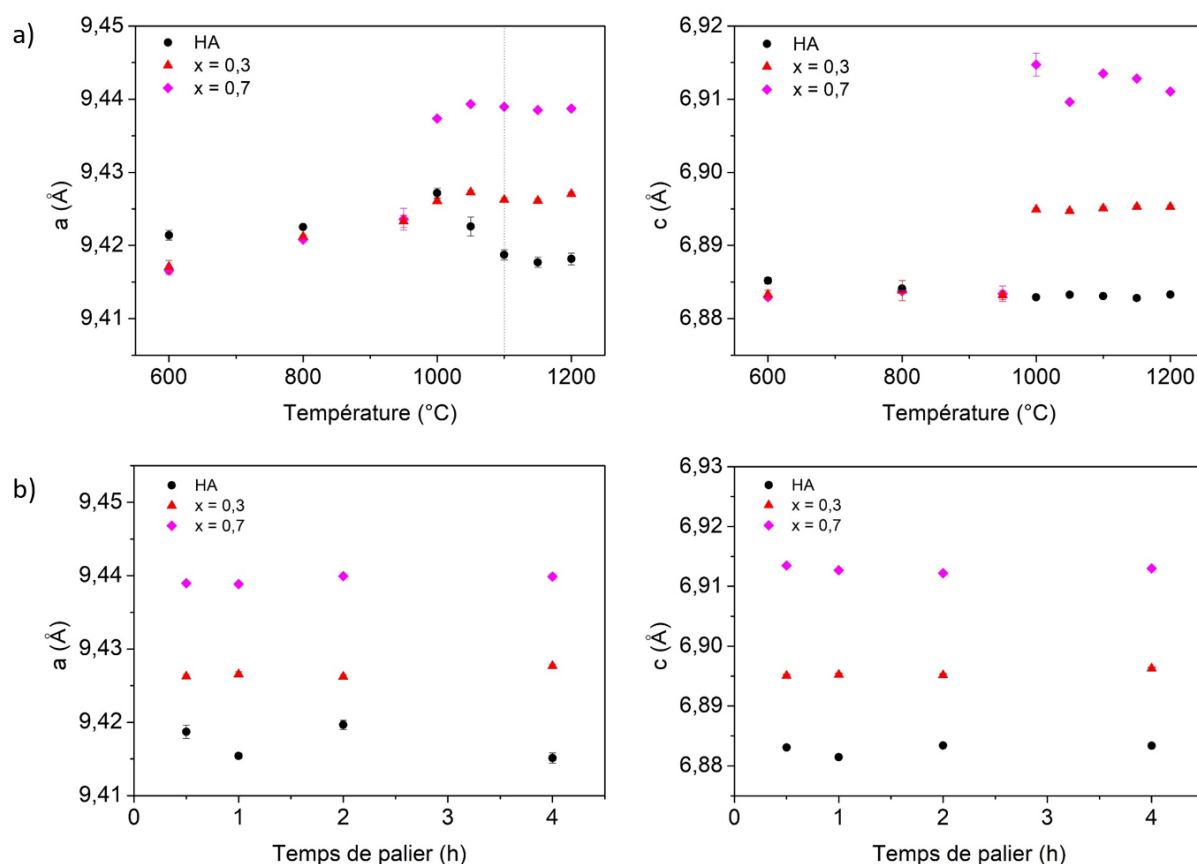


Figure 47 : Influence de la température (a) et du temps de palier (b) ainsi que du taux de cuivre sur les paramètres de maille de l'HA pure et des CuHA

L'influence du temps de palier à cette température est évaluée dans un second temps. De nouvelles pastilles sont alors calcinées entre 0,5 et 4 h. Sur cette échelle de temps, les paramètres de maille restent constants quelle que soit la quantité d'élément dopant (Figure 47b). La cinétique d'insertion du cuivre au sein de l'apatite à 1100°C est donc plutôt rapide puisque la réaction est totale dès 30 min de calcination. Un temps de palier de 1 h est choisi afin de s'assurer de l'incorporation complète du cuivre. Les paramètres de traitement thermique ainsi déterminés dans ce paragraphe seront donc utilisés pour réaliser les réactions suivantes par voie solide.

III.2.1.3. Synthèse par voie solide

La synthèse par voie solide des HA dopées au cuivre est ainsi réalisée via un traitement thermique à 1100°C pendant 1 h (rampe 10°C/min). Trois nouveaux taux de cuivre ont été étudiés en plus des deux précédents ($x = 0,1$; 0,5 et 1,5). Les échantillons calcinés sont dénommés CuVS x . Les pastilles, initialement grises, subissent un changement de couleur, du gris au violet, lors du traitement thermique. Les poudres obtenues après broyage des pastilles sont représentées sur la Figure 48a. La couleur violette foncée est d'autant plus prononcée que le taux de cuivre augmente ce qui suggère une insertion croissante de l'élément dopant puisque de toute évidence, c'est le cuivre inséré au sein du réseau apatitique qui joue le rôle de chromophore violet.

La pureté des phases CuVS x est confirmée par DRX pour des taux de cuivre $x \leq 0,7$ (Figure 48b). De plus, notons que les quantités de cuivre dosées par ICP-OES dans les phases pures nous ont permis de vérifier qu'elles correspondent bien à celles initialement introduites. La présence des deux oxydes CuO et Cu₂O résiduels pour $x = 1,5$ confirme la réduction partielle de Cu^{II} en Cu^I, déjà observée en ATG. Une réduction du cuivre divalent au sein des HA dopées pourrait expliquer la couleur violette des échantillons, les HA dopées avec des ions Cu²⁺ lors de l'étude précédente étant bleues. Le décalage des raies de DRX vers les petits angles, associé à l'augmentation linéaire des paramètres et du volume de la maille avec le taux de cuivre (Figure 48b), confirme l'incorporation croissante de cuivre dans l'apatite avec l'augmentation du taux cible. La rupture de pente dans l'évolution du volume de la maille en fonction de la concentration en cuivre entre $x = 0,7$ et $x = 1,5$ est en accord avec la présence de phases secondaires d'oxydes de cuivre dans le composé CuVS1,5. La limite de solubilité du cuivre dans la maille apatitique se situe donc entre ces deux valeurs cibles : $x = 0,7$ et $x = 1,5$. La prolongation de la pente aux faibles concentrations de la courbe $V = f(x)$ jusqu'à la valeur de volume obtenue pour $x = 1,5$ nous permet d'estimer grossièrement cette limite de solubilité à $x = 0,8 - 0,9$ mole.

Ainsi, la réaction par voie solide entre une HA stœchiométrique et de l'oxyde de cuivre CuO à 1100°C pendant 1 h permet l'élaboration de phases pures d'hydroxyapatites dopées contenant jusqu'à au moins une quantité $x = 0,7$ mole soit un taux de 6,5% mol. de cuivre (rapport Cu/(Ca+Cu)). L'insertion du cuivre dans la structure apatitique s'accompagne d'une réduction du Cu^{II} en Cu^I conférant aux pastilles une couleur violette. Afin d'étudier la microstructure de ces phases, l'échantillon CuVS0,5 calciné à 1100°C pendant 1h sera essentiellement caractérisé dans la suite.

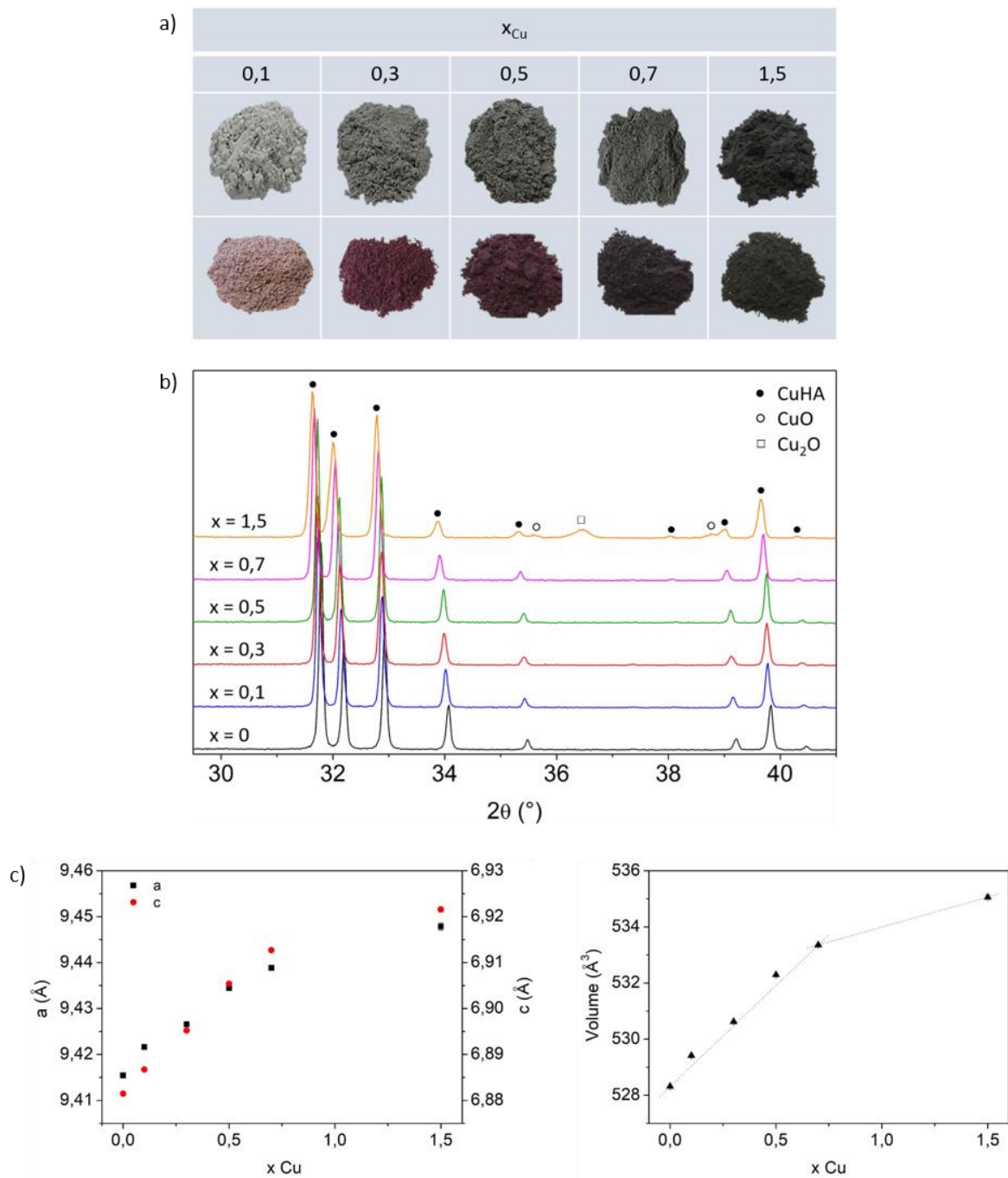


Figure 48 : Changement de couleur des poudres en fonction du taux de cuivre après traitement thermique à 1100°C – 1h (a) Evolution en fonction du taux de cuivre des diffractogrammes des rayons X ($CuK\alpha_1$) (b) et des paramètres et volumes de maille associés (c)

III.2.2. Caractérisations des hydroxyapatites dopées au cuivre synthétisées par voie solide

Cette partie s'attache à détailler la (micro)structure des phases d'HA dopées au cuivre obtenues par voie solide via des caractérisations chimiques et microstructurales. L'étude de la localisation du cuivre dans la maille et de son degré d'oxydation sera également mise en avant.

III.2.2.1. Morphologie des particules et distribution du cuivre

La morphologie de la poudre CuVS0,5 est représentée sur la Figure 49. Contrairement aux poudres synthétisées par coprécipitation calcinées à basse température présentant une forme d'aiguille, ici les grains ont une forme plus isotrope ce qui est cohérent avec la réduction de l'anisotropie des particules avec la température de calcination observée dans la littérature [207]. Les cartographies STEM-EDX (Figure 49) révèlent que la distribution du cuivre au sein de ces grains est homogène. Les interactions entre le cuivre et les atomes environnants au sein de la structure apatitique sont ensuite étudiés.

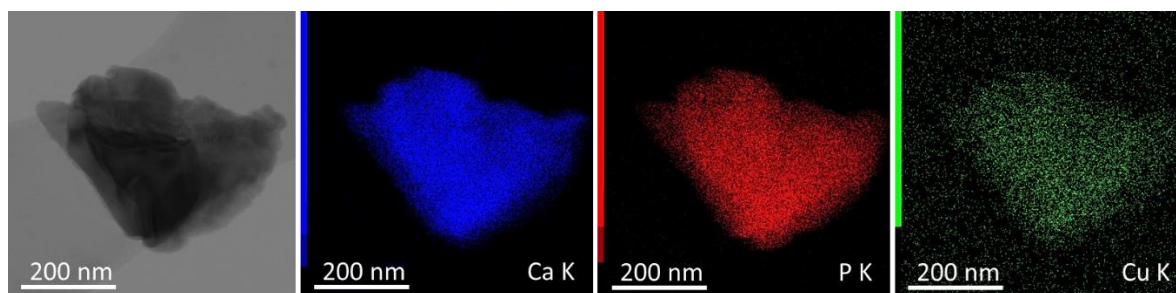


Figure 49 : Image STEM et cartographies STEM-EDX de la poudre CuVS0,5 calcinée à 1100°C – 1h

III.2.2.2. Influence du cuivre sur les atomes environnants

L'influence du cuivre sur les atomes environnants est étudiée par spectroscopie FTIR et RMN ^1H et ^{31}P . Sur les spectres FTIR zoomés des poudres CuVSx (Figure 50, spectres complets en Annexe 3), les bandes de vibrations caractéristiques de l'HA pure, référencées précédemment, sont observées. La présence de la bande de vibration des groupements nitrates à 1385 cm^{-1} est sûrement due à une pollution de surface lors de la préparation des échantillons. La présence de cuivre est confirmée par l'apparition de nouvelles bandes infra-rouges dans la région $675 - 900\text{ cm}^{-1}$ associées aux vibrations de la liaison Cu-O [113], [118], [233]. De plus, l'intensité des bandes de vibration des groupements hydroxyles à 3568 et 628 cm^{-1} diminuent avec le taux de cuivre, ce qui suggère que le cuivre substitue partiellement les atomes d'hydrogène des groupements hydroxyles dans les tunnels hexagonaux. Les trois nouvelles bandes qui apparaissent à 3425 , 3340 et 3230 cm^{-1} , déjà observées dans la littérature [112], [113], sont ainsi attribuées aux vibrations des groupements hydroxyles affectés par la proximité des atomes de cuivre. La création de liaisons directes Cu-OH avec le cuivre et de liaisons hydrogènes indirectes $\text{Cu-O} \leftrightarrow \text{H-O}$ de forces différentes expliquent l'apparition de bandes, relatives aux liaisons Cu-O (entre 650 et 900 cm^{-1}) et O-H (entre 3200 et 3450 cm^{-1}), à différentes fréquences [113], [118], [233]–[235].

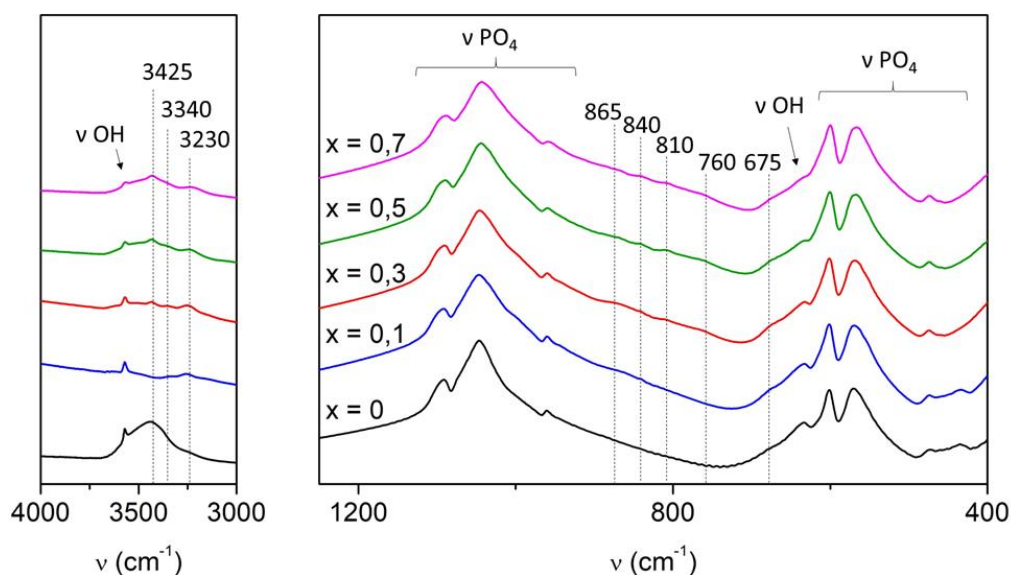


Figure 50 : Spectres FTIR, des phases d'HA pure et dopées, zoomés sur la région des phosphates et des groupements hydroxyles

En RMN du ^1H (Figure 51a), l'HA pure présente un pic fin et intense, autour de 0 ppm, qui est attribué aux hydrogènes des groupements hydroxyles [223], [236]. Le pic autour de 1 ppm est dû à de l'eau adsorbée à la surface des particules [223] tandis que les pics restants ont été observés au sein d'oxyhydroxyapatite, c'est-à-dire d'HA partiellement déshydroxylées [236]. Les pics avec un déplacement chimique négatif sont attribués à des protons dans un environnement local distordu tandis que ceux avec un déplacement chimique supérieur à 2 ppm correspondent à des protons des groupements OH^- à proximité d'ions O^{2-} ou de lacunes d'hydroxyles. En présence de cuivre, en plus du pic intense dû aux groupements OH du réseau apatitique, deux nouveaux pics apparaissent à $\delta = 3,7$ et $4,8$ ppm. Ils sont associés aux atomes d'hydrogène à proximité des atomes de cuivre probablement via des interactions directes et indirectes, comme mentionné au paragraphe précédent. Pour les autres pics à des positions similaires à celles observées pour l'HA pure, les mêmes attributions peuvent être faites. L'apparition de différents environnements autour des groupements hydroxyles, déjà observée en FTIR, est donc confirmée par les résultats de RMN du ^1H .

En RMN du ^{31}P (Figure 51b), quatre pics distincts sont observés au sein de l'HA pure. Le pic à $\delta = 2,58$ ppm, le plus intense, est caractéristique des phosphates des groupements PO_4 au sein de l'hydroxyapatite stœchiométrique. Les trois autres pics ont à nouveau été reportés au sein d'oxyhydroxyapatite [236], [237]. Les pics à 2,18 et 3,25 ppm sont attribués à des groupements phosphates à proximité à la fois de groupements OH^- et O^{2-} (ligands déprotonés) du canal hexagonal de l'apatite, tandis que les groupements PO_4^{3-} , associés au pic à 5,75 ppm,

se situent uniquement à proximité d'ions O^{2-} . Ce dernier pic correspond d'ailleurs à un pic caractéristique des oxyapatites [236]. En présence de cuivre, des décalages et l'élargissement des différents pics sont observés. De plus, l'intensité du pic à 5,97 ppm augmente, comparé à l'HA pure, révélant une déprotonation croissante avec le taux de cuivre incorporé, ce qui est cohérent avec les résultats FTIR.

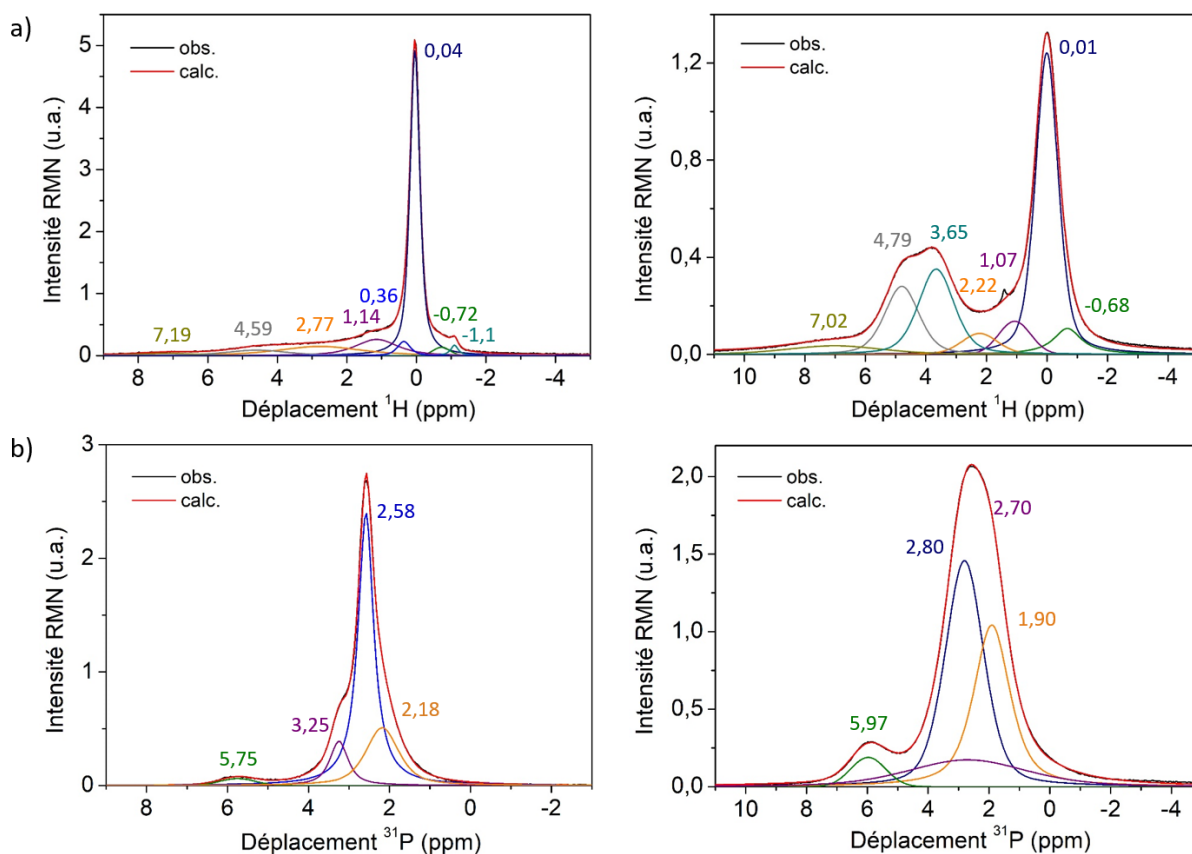


Figure 51 : Spectres expérimentaux et simulés RMN du 1H (a) et RMN du ^{31}P (b) tracés après optimisation du délai de recyclage pour les échantillons VS01-1100 (gauche) et CuVS0,5-1100 (droite)

Le décalage et l'élargissement des pics, notamment en RMN ^{31}P , peuvent provenir d'une distribution d'environnements autour des atomes d'hydrogène et de phosphate, certains étant probablement affectés par la présence de cuivre à leur proximité, par la déprotonation de l'apatite engendrant des désordres locaux ou par la présence d'un élément paramagnétique à proximité. Or, seul le cuivre divalent ($3d^9$) est paramagnétique, le cuivre monovalent de configuration électronique $3d^{10}4s^0$ étant diamagnétique. Pour établir si les atomes d'hydrogène et les groupements phosphate sont en interaction avec des ions Cu^{2+} , le délai de recyclage optimal est évalué (Tableau 15), comme déjà réalisé pour l'échantillon CuCP01-600. Que ce soit pour les spectres RMN du 1H ou du ^{31}P , le délai de recyclage pour l'HA dopée au cuivre, de l'ordre de quelques secondes, est bien inférieur à celui observé pour l'HA pure, de quelques

minutes. On peut donc supposer la présence au moins minoritaire de cuivre au degré d'oxydation +II. Par ailleurs, une autre hypothèse serait que l'état d'hybridation particulier du Cu^+ dans l'HA, pourrait développer au moins partiellement des états paramagnétiques. Ce point sera discuté ultérieurement avec des informations complémentaires sur l'état de valence du cuivre.

Tableau 15 : Délais de recyclage optimisés en RMN ^1H et ^{31}P pour les échantillons VS01-1100 et CuVS0,5-1100

Délai de recyclage	VS01-1100	CuVS0,5-1100
RMN ^1H	≈ 200 s	≈ 5 s
RMN ^{31}P	≈ 600 s	≈ 20 s

Ces résultats suggèrent que le cuivre s'insère dans les tunnels hexagonaux de l'apatite entre les groupements hydroxyles provoquant la substitution des atomes d'hydrogènes. Les liaisons directes Cu-O-H et indirectes Cu-O $\leftrightarrow$ H-O qui en résultent ainsi que la proximité avec les ions O_2^- affectent fortement l'environnement des atomes d'hydrogène et de phosphore à proximité. La position exacte du cuivre au sein des tunnels hexagonaux reste à déterminer.

III.2.2.3. Localisation du cuivre au sein de CuHA synthétisée par voie solide

Dans un premier temps, la localisation du cuivre est déterminée grâce à un affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme des rayons X de la poudre CuVS0,5. Une cartographie de Fourier est ensuite réalisée sur le diffractogramme correspondant à la différence entre les diffractogrammes théorique et expérimental afin d'évaluer les résidus de densité électronique (Figure 52).

Tout d'abord, un premier affinement est réalisé sans ajouter d'atomes de cuivre dans la structure d'apatite (Figure 52a). Les facteurs d'accord R_p et R_{wp} autour de 15 - 20% ainsi que le facteur de R_{Bragg} proche de 10% indiquent que le diffractogramme simulé est relativement éloigné du diffractogramme expérimental. De plus, un résidu de densité électronique supérieur à $0,5 \text{ e}^-/\text{\AA}^2$ est détecté à la position (0, 0, 0) sur la cartographie de Fourier associée. Ce résidu est donc logiquement attribué à la présence de cuivre. Un deuxième affinement est donc réalisé en ajoutant un atome de cuivre sur cette position. Les facteurs d'accord ainsi que le facteur de Bragg diminuent autour de 7 et 3% respectivement tandis que les résidus de densité électronique deviennent homogènes et inférieurs à $0,25 \text{ e}^-/\text{\AA}^2$. L'affinement devient donc d'une qualité identique à celui réalisé auparavant sur l'HA non dopée (cf. partie II.2.1.3). Enfin, notons que le taux d'occupation de cette position de Wyckoff de multiplicité 2 a été calculé à 0,21, en

relativement bon accord avec le taux cible ($x = 0,5$) qui conduirait à un taux d'occupation de 0,25 (Tableau 16). Ainsi, ces résultats confirment sans ambiguïté l'insertion du cuivre à la position de Wyckoff 2b (0, 0, 0).

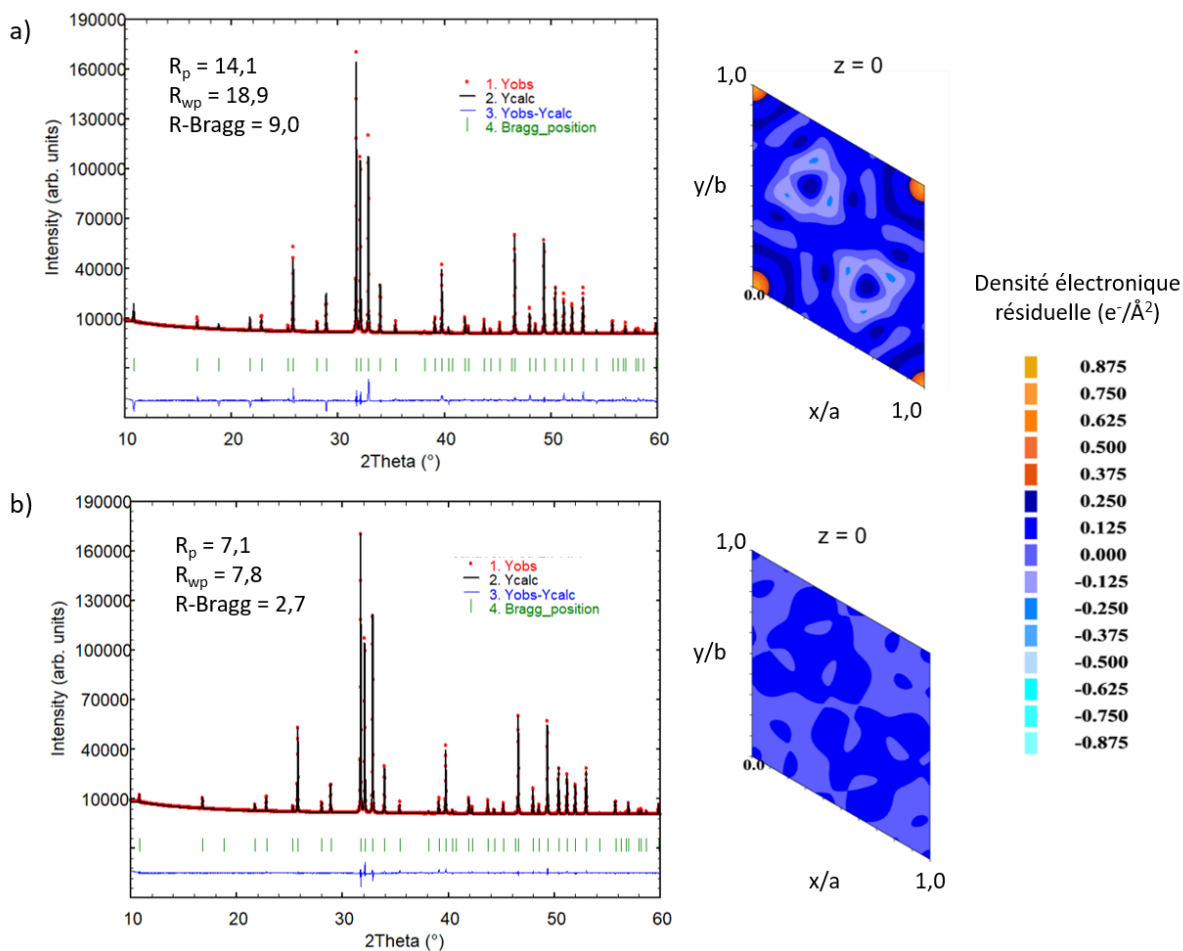


Figure 52 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha 1$) de l'échantillon $\text{CuVS}_{0,5-1100}$ affinés par la méthode de Rietveld ainsi que les cartographies de Fourier associées sans (a) et avec (b) atome de cuivre.

Tableau 16 : Positions atomiques et taux d'occupation au sein de l'échantillon $\text{CuVS}_{0,5}$

Composé	Atome	Site	x	y	z	Biso	Occ
$\text{CuVS}_{0,5-1100}$	Ca1	4f	1/3	2/3	0,002(1)	0,5	1
$\text{P6}_3/\text{m}$	Ca2	6h	0,2478(6)	0,9932(7)	$\frac{1}{4}$	0,5	1
$a = 9,4318(3) \text{ \AA}$	P1	6h	0,3995(9)	0,369(1)	$\frac{1}{4}$	0,5	1
$c = 6,9032(2) \text{ \AA}$	O1	6h	0,329(2)	0,486(2)	$\frac{1}{4}$	1,0	1
$V = 531,82(2) \text{ \AA}^3$	O2	6h	0,588(2)	0,464(2)	$\frac{1}{4}$	1,0	1
	O3	12i	0,343(1)	0,257(1)	0,070(1)	1,0	1
	O4	4e	0	0	0,202(6)	1,0	$\frac{1}{2}$
	Cu1	2b	0	0	0	0,5	0,21(1)

Cette position se situe entre les groupements hydroxyles dans les tunnels hexagonaux de la structure apatitique. Il est donc clair que l'occupation de ce site par le cuivre ne peut que

provoquer le départ du proton positionné sur une position très proche. Des structures 3D de l'axe hexagonal sont représentées sur la Figure 53 en considérant le départ de l'atome d'hydrogène impacté par l'insertion du cuivre. L'insertion du cuivre au degré d'oxydation +I et/ou +II, reste, à ce stade, envisageable. A partir du positionnement extrait des affinements et en ne considérant dans un premier temps, aucune relaxation des atomes voisins de l'ion cuivre inséré, la valence des liaisons et le degré d'oxydation des atomes autour du cuivre inséré ont été calculés grâce à la formule définie par Brown *et al.* [238] :

$$DO_i = \sum_j s_{ij} = \sum_j \exp\left(\frac{r_0 - r_{ij}}{B}\right).$$

Avec DO_i : état d'oxydation de l'atome i

s_{ij} : valence de la liaison entre 2 atomes i et j

r_0 : paramètre liaison-valence (1,68 pour $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O}$; 1,61 pour $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-O}$)

r_{ij} : distance interatomique

B : facteur empirique = 0,37

Dans les représentations directement issues de l'affinement par la méthode de Rietveld, la valence importante (2,20 pour Cu^{I} et 2,65 pour Cu^{II}) associée à la longueur de liaison Cu-O la plus courte ne permet pas de satisfaire les valeurs attendues du DO des ions de transition (Figure 53a et b). Un réarrangement des atomes d'oxygène autour du cuivre est donc nécessaire, et ce réarrangement pourrait concerner notamment les oxygènes relativement labiles situés sur l'axe hexagonal. En jouant sur la position en z des deux oxygènes sur cet axe hexagonal, respectivement au-dessus et en-dessous du cuivre, et notamment en éloignant l'oxygène en interaction la plus forte avec le cuivre pour diminuer la valence de la liaison (0,75 pour Cu^{I} et 1,00 pour Cu^{II}) , il est tout à fait possible d'établir des valences de liaisons qui satisfont aux deux degrés d'oxydations potentiels du cuivre : +I ou +II (Figure 53c et d). Notons que pour satisfaire à un degré d'oxydation +II pour le cuivre, l'atome d'oxygène O4 le plus éloigné (valence de 0,30) doit se rapprocher significativement de l'ion de transition en site interstitiel. De plus, dans ce cas, par souci d'équilibre du degré d'oxydation de cet anion fortement impacté, mais aussi par souci de conservation de l'électroneutralité de la structure, cet anion doit perdre lui aussi son proton. Les contraintes structurales engendrées étant relativement faibles, que l'on considère l'insertion d'ions cuivriques ou cuivreux, il n'est pas directement possible d'écarter une des deux hypothèses quant au degré d'oxydation de ces ions cuivre. Toutefois, cette position en haltère entre les oxygènes est plutôt favorable à la présence de cuivre(I) de par sa configuration électronique $3d^{10}$. De plus, les longueurs expérimentales des liaisons $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-O}$ de

2,07 et 1,74 Å (longueur moyenne de 1,91 Å) sont en accord avec la longueur des deux liaisons Cu-O en haltère dans Cu_2O qui vaut 1,85 Å.

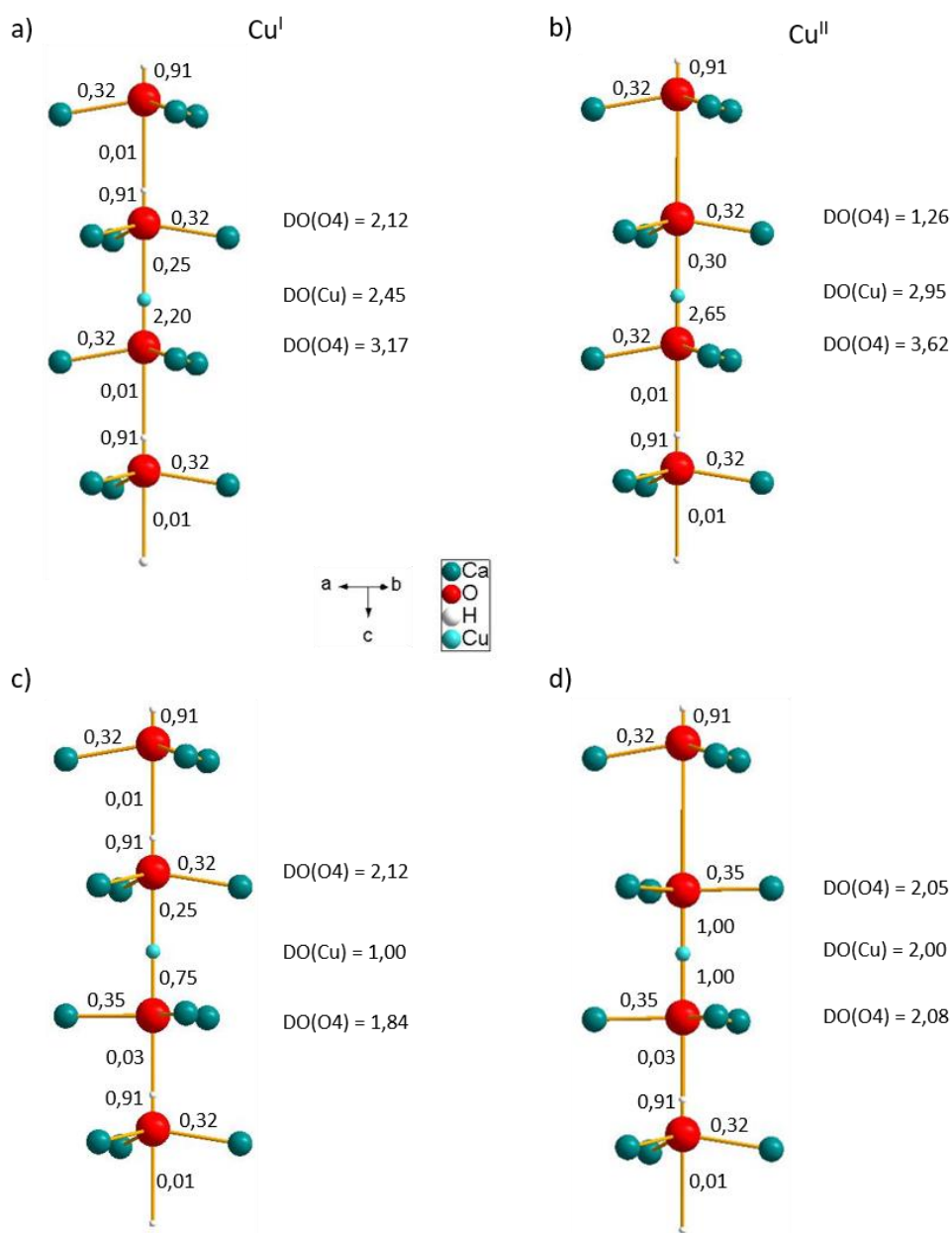


Figure 53 : Représentations de l'axe hexagonal de l'HA dopée au cuivre issues de l'affinement par méthode de Rietveld (a et b) et avec réarrangement des atomes autour du cuivre (c et d) au degré d'oxydation +I (gauche) et +II (droite).

La réaction par voie solide entre l'HA et l'oxyde de cuivre CuO conduit donc à l'insertion du cuivre à la position de Wyckoff 2b (0, 0, 0). Bien que les deux modèles faisant intervenir du Cu^{II} ou du Cu^{I} soient tous deux envisageables par rapport aux valences de liaisons entourant ce cation, la position en haltère entre les groupements hydroxyles de l'élément dopant est plus

favorable au cuivre(I). Pour déterminer avec précision le degré d'oxydation du cuivre, des caractérisations optiques et spectroscopiques sont effectuées.

III.2.2.4. Degré d'oxydation du cuivre et environnement local

a) RPE

Pour établir la présence de cuivre(II) au sein de l'HA, des analyses RPE sont réalisées à température ambiante et à 4 K sur la poudre CuVS0,5 (Figure 54). En effet, cette technique ne permet d'identifier que des espèces paramagnétiques, en l'occurrence les ions Cu^{2+} . A température ambiante, le spectre présente un signal de faible intensité ($g_{xx} = 2,006$; $g_{yy} = 2,090$; $g_{zz} = 2,460$) qui est associé à la présence d'une faible quantité d'ions Cu^{2+} . A basses températures ($T < 100$ K), le spectre RPE est beaucoup plus complexe.

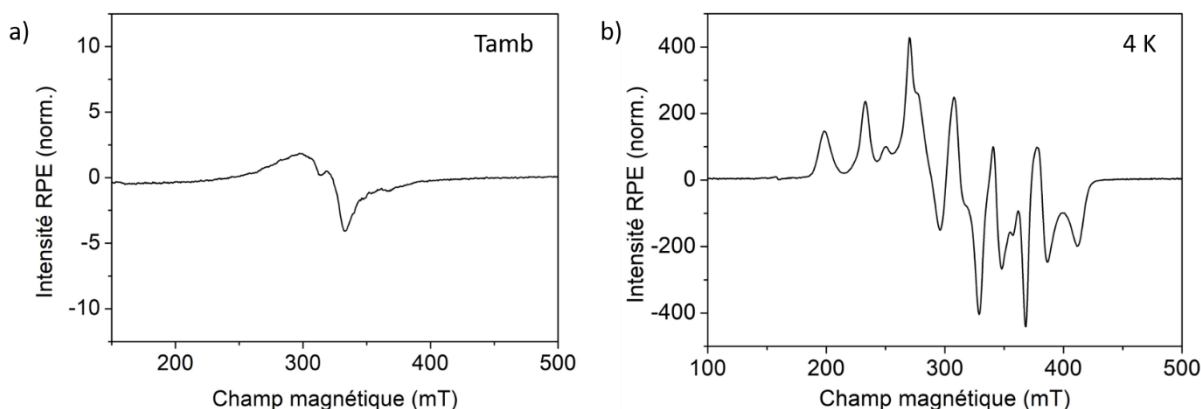


Figure 54 : Spectres RPE de l'échantillon CuVS0,5-1100 réalisés à température ambiante (a) et à très basse température : 4 K (b)

En plus de la composante liée aux ions Cu^{2+} , un nouveau signal anisotrope ($g_{xx} < 1,9$, $g_{yy} \approx 2,0$, $g_{zz} > 2,5$ et $A > 30$ mT), qui ne correspond pas à la signature d'ions Cu^{2+} , apparaît. Ce signal présente une structure hyperfine prononcée (3 x 4 raies) indiquant que l'électron sondé est suffisamment proche du cuivre pour être en interaction avec son spin nucléaire $I = 3/2$. Ce signal pourrait être associé à des centres paramagnétiques de type O^- , de configuration électronique $2p^5$, liés à des ions cuivre au caractère quasi-métallique dès lors dans une configuration $3d^{10}4s^1$ [239]. En effet, la constante de couplage hyperfin relativement élevée ($A > 30$ mT) illustre le renforcement de la covalence de la liaison ionique $\text{Cu}^+-\text{O}^{2-}$. La forte hybridation entre les orbitales $2p$ de l'oxygène et les orbitales $3dz^2-4s$ du cuivre qui en résulte permettrait un transfert de charge du ligand vers le cuivre(I) lui conférant alors un caractère métallique : $\text{Cu}^0-\text{O}^--\text{Cu}^+$. Cette configuration est d'autant plus propice que le second atome cuivre(I) du cluster, facilement oxydable, peut combler le trou de l'oxygène. Un transfert

électronique pouvant être décrit par un équilibre entre les trois formes résonantes $\text{Cu}^+-\text{O}^{2-}-\text{Cu}^+ \leftrightarrow \text{Cu}^0-\text{O}^--\text{Cu}^+ \leftrightarrow \text{Cu}^0-\text{O}^{2-}-\text{Cu}^{2+}$ (associée à une dismutation de Cu^+ pour cette dernière) pourrait ainsi avoir lieu et conduire à la signature RPE observée. L'abaissement de la température lors de la mesure RPE permettrait de localiser l'électron au sein d'une des deux formes résonantes impliquant les orbitales $4s$ du cuivre et/ou les orbitales $2p$ de l'oxygène. Le cuivre serait donc majoritairement inséré au degré d'oxydation +I au sein de l'apatite.

b) XANES - EXAFS

Des analyses XANES – EXAFS sont ensuite réalisées afin de confirmer les résultats RPE quant au DO du cuivre et d'établir de façon plus précise son environnement. Les spectres XANES des échantillons CuVSx ($x = 0,3 ; 0,5$ et $0,7$) et de Cu_2O , servant de référence, sont représentés sur la Figure 55. Pour tous les composés, le pré-seuil identifié précédemment vers 8978 eV lorsque les ions Cu^{2+} sont stabilisés dans l'HA n'est pas détecté ici. Concernant le seuil, un pic fin et intense est observé à 8981,6 et 8983,2 eV respectivement pour Cu_2O et les composés CuVSx. Ce pic, associé à la transition $1s \rightarrow 4p_{x,y}$ du cuivre(I) [227], est très marqué, contrairement à ce qui a été vu dans le cas du cuivre(II), du fait de la déstabilisation des orbitales $4p_z$. Le décalage du seuil vers les plus hautes énergies pour les échantillons CuVSx comparé à Cu_2O ($\Delta = 1,6$ eV) indique que la liaison Cu-O dans les HA dopées au cuivre est plus forte que dans l'oxyde de cuivre. De plus, au-delà de cette première transition (entre 8985 et 9000 eV), on distingue d'autres plateaux assez nets, synonymes d'autres effets de relaxation liés à l'hybridation de la liaison Cu-O, en d'autres termes à des transferts électroniques impliquant les orbitales $2p$ de l'oxygène et $4p$ vide du cuivre.

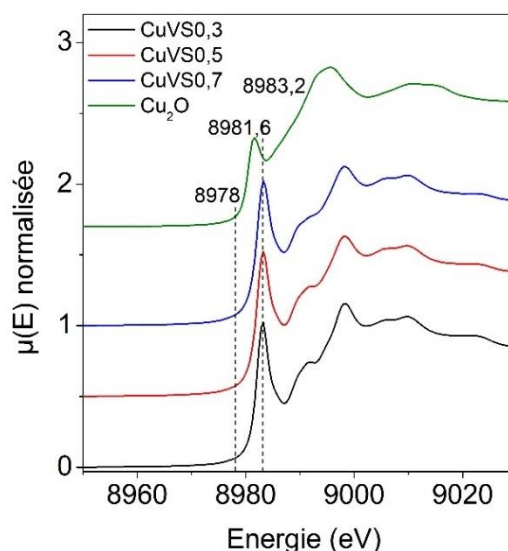


Figure 55 : Spectres XANES des composés CuVSx-1100 et de Cu_2O

Les oscillations pondérées du spectre EXAFS $k^2\chi(k)$ avec leur transformée de Fourier (Figure 56a et b) vont nous permettre d'explicitier l'environnement du cuivre grâce à l'affinement de ces deux spectres. La simulation des spectres du composé CuVS0,5, via différentes composantes, liées aux phénomènes de diffusion simple et de diffusion multiple au sein de la structure apatitique, est représentée sur la Figure 56b et c (l'affinement des composés

CuVS0,3 et CuVS0,7 figure en Annexe 4). La transformée de Fourier inverse est effectuée pour une distance radiale maximale de 3,6 Å, les oscillations n'étant plus significatives au-delà (Annexe 5). Le nombre de voisins, leur nature, la distance radiale et le facteur de Debye-Waller associé à cette distribution radiale (désordre et distribution autour de l'atome central) affinés à partir du modèle de diffusion simple sont reportées dans le Tableau 17.

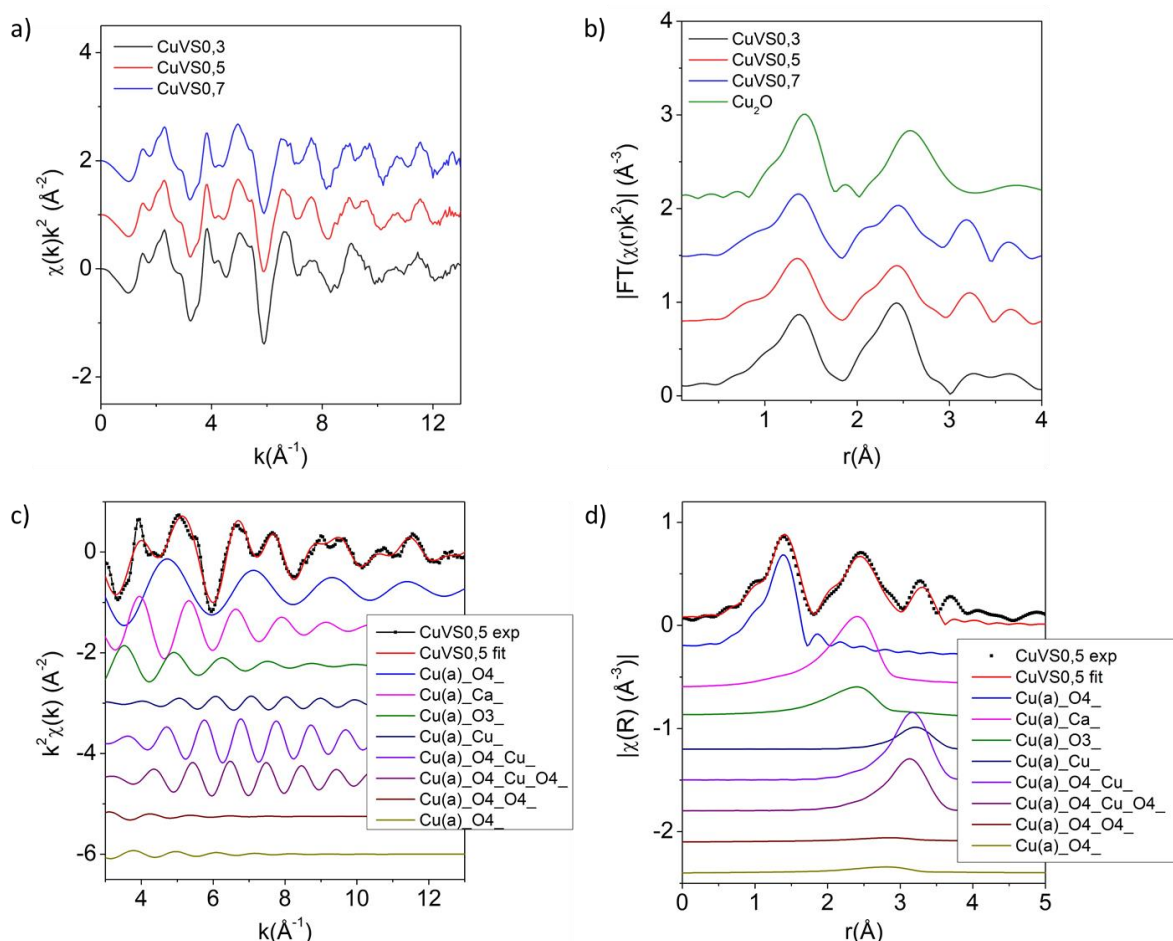


Figure 56 : Oscillations EXAFS (a) sur lesquelles une transformée de Fourier a été réalisée (b) ainsi que les courbes simulées associées (c,d) à l'échantillon CuVS0,5-1100. Au niveau des contributions de chaque couche précisée dans la légende, lorsqu'un seul atome est associé au cuivre, c'est le modèle de diffusion simple avec un seul aller-retour qui est appliqué. Dès lors qu'il y a deux voire trois éléments autour du cuivre, c'est le modèle de diffusion multiple avec plusieurs chemins ou aller-retours de part et d'autre du cuivre associant chacun de ces éléments qui est appliqué.

Quel que soit le taux de dopant, les premiers voisins du cuivre sont deux atomes d'oxygène à une distance d'environ 1,81 Å confirmant l'insertion du cuivre dans un site linéaire. Les seconds voisins correspondent aux 6 atomes de calciums formant des triangles de part et d'autre du cuivre ($d_{\text{moy}} = 2,94$ Å) et aux 6 atomes d'oxygène impliqués dans les groupements phosphates ($d_{\text{moy}} = 2,97$ Å). Enfin, un atome de cuivre en moyenne est détecté à une distance d'environ 3,60 Å égale au double de la distance Cu-O4 révélant un ordre à longue distance avec

la formation de chaîne linéaire OCuOCuO. De plus, les facteurs de Debye-Waller associés aux distributions radiales Cu-O et Cu-Cu au centre de l'axe hexagonal sont relativement bas pour les taux de cuivre les plus grands ($x = 0,5$ et $x = 0,7$), ce cluster semble donc se reproduire d'une façon bien organisée dans le réseau apatitique. Néanmoins, le fort écart-type sur le nombre de cuivre voisins pour le composé CuVS0,3 ne permet pas de statuer précisément sur le nombre de voisins de cuivre.

Par ailleurs, il est important de noter la présence de contributions radiales au-delà de 3 Å, liées majoritairement à des phénomènes de diffusion multiple impliquant plusieurs chemins optiques ou aller-retour des atomes d'oxygène et cuivre proches voisins vers le cuivre. Ce phénomène de diffusion multiple, nettement visible, est tout simplement lié à la configuration de chaînes linéaires OCuOCuO. L'intensité de la couche entre 3 et 3,5 Å sur la Figure 56b, (décalage des distances radiales lié au terme de phase), associée à la présence d'interactions Cu-O4-Cu (contributions liées à la diffusion multiple, Figure 56d), est moins intense pour le taux de cuivre le plus faible. A l'inverse, la contribution liée aux couches Cu-Ca et Cu-O3 (entre 2 et 3 Å), qui est traitée dans le cas d'un modèle de diffusion simple, est plus marquée dans ce même échantillon. Pour les HA plus riches en cuivre ($x = 0,5$ et $0,7$), la diminution de ces deux contributions au profit des couches supérieures (> 3 Å) serait liée à l'accroissement des effets de diffusion multiple et du nombre d'atomes de cuivre alignés au centre de l'axe hexagonal.

Tableau 17 : Distributions radiales Cu-O4, Cu-Ca, Cu-O3 et Cu-Cu affinées selon le modèle de diffusion simple, avec nature et nombre de voisins, distance interatomique et facteurs de Debye Waller associés pour chaque composition $x = 0,3$; $0,5$ et $0,7$.

Composé	Nature et nombre d'atomes voisins	Facteur d'échelle S_0^2	Facteur de Debye-Waller σ^2 (Å ²)	Distance radiale (Å)
CuVS0,3	O4 / 2,0 (2)	0,88(9)	0,0026(9)	1,820(8)
	Ca / 6,0 (6)	0,88(9)	0,011(1)	2,930(9)
	O3 / 6,0 (6)	0,88(9)	0,011(1)	2,950(9)
	Cu / 1 (1)	0,6(5)	0,018(8)	3,64(2)
CuVS0,5	O4 / 2,0 (2)	0,80(7)	0,0017(6)	1,807(8)
	Ca / 6,0 (6)	0,80(7)	0,013(2)	2,94(1)
	O3 / 6,0 (6)	0,80(7)	0,013(2)	2,97(1)
	Cu / 1,0 (4)	0,4(2)	0,006(2)	3,60(2)
CuVS0,7	O4 / 2,0 (3)	0,8(1)	0,002(2)	1,80(1)
	Ca / 6,0 (9)	0,8(1)	0,014(2)	2,95(2)
	O3 / 6,0 (9)	0,8(1)	0,014(2)	2,97(2)
	Cu / 0,8 (3)	0,2(1)	0,002(3)	3,57(2)

Ainsi, pour un taux de substitution des atomes d'hydrogène de l'ordre de 15% ($x_{Cu} = 0,3$), l'incorporation du cuivre dans la structure apatitique se fait essentiellement de manière isolée avec des haltères O-Cu-O aléatoirement distribuées. Pour des taux de cuivre supérieurs (taux de substitution des ions H^+ de 25 à 35%), le cuivre s'organise de façon plus importante sous la forme de chaînes $[CuO]_n$ (avec $n \geq 2$) le long de l'axe des canaux hexagonaux. Ces résultats sont cohérents avec les calculs probabilistes réalisés en se basant sur une loi de voisinage, énoncés ci-après, permettant de déterminer le pourcentage de cuivre en site isolé, formant des paires Cu-Cu ou des chaînes plus longues (Tableau 18). Les pourcentages obtenus montrent bien que le cuivre serait majoritairement isolé (72,25%) pour un taux de cuivre $x = 0,3$ et plutôt sous la forme de paires pour $x = 0,7$ (45,5%).

$$\% \text{ Cu isolé} = (1 - x/2)^2$$

$$\% \text{ Cu en paire} = 2 * x/2 * (1 - x/2)$$

$$\% \text{ Cu en chaîne « triple » et plus} = (x/2)^2$$

Tableau 18 : Pourcentage de cuivre dans un site isolé, formant des paires Cu-Cu ou des chaînes plus longues selon le taux de dopant inséré dans l'apatite

x	Cu isolé	Cu paire	Cu triple ou plus
0,3	72,25	25,5	2,25
0,5	56,25	37,5	6,25
0,7	42,25	45,5	12,25

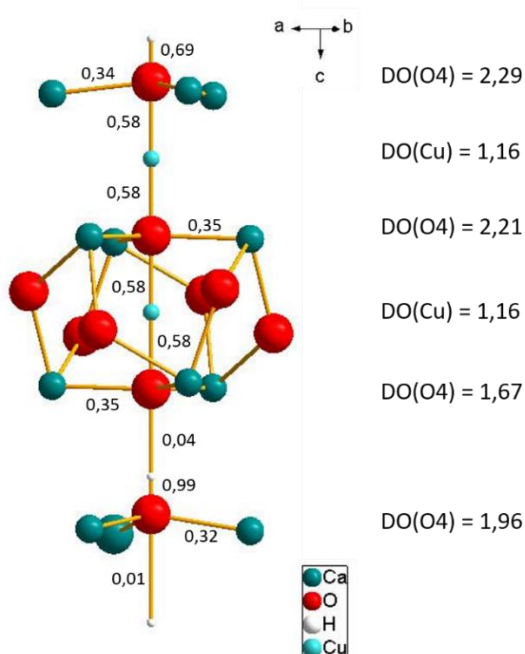


Figure 57 : Structure 3D autour d'un ion Cu^+ au sein de l'axe hexagonal de l'apatite déterminée à partir des affinements Rietveld et EXAFS.

La structure 3D autour de l'axe hexagonal de l'apatite et d'un atome de cuivre a ainsi été réalisée en combinant les résultats issus des affinements Rietveld et EXAFS (Figure 57) en considérant la formation de paires Cu-Cu. Ce schéma montre que l'insertion de deux atomes de cuivre successifs, n'empêche pas de satisfaire les degrés d'oxydation attendus pour les atomes d'oxygènes et de cuivre.

Ces deux techniques de caractérisations confirment ainsi la présence majoritaire de cuivre(I) au sein de l'apatite, même si une très faible quantité de cuivre(II) a été mise en évidence par RPE, technique très sensible aux impuretés à l'état de traces. L'insertion du cuivre en haltère entre les groupements hydroxyles se fait essentiellement de manière isolée pour des taux de cuivre allant jusqu'à $x = 0,3$ tandis qu'au-delà, la proportion de chaînes linéaires $[\text{CuO}]_n$ avec $n \geq 2$ s'accroît. La substitution d'un ion H^+ par un ion Cu^+ nous conduit à proposer la formule suivante pour les HA dopées au cuivre élaborées par voie solide après recuit à 1100°C : $\text{Ca}_{10}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$. Les propriétés optiques des mélanges de poudres HA-CuO reste à étudier en vue d'une application en SLS.

III.2.2.5. Propriétés optiques

Les courbes de réflexion diffuse permettent, dans un premier temps, de déterminer l'absorption des différentes poudres d'HA dopées au cuivre à 1070 nm, en vue d'une application en frittage laser sélectif. En effet, en considérant que la transmission est nulle au travers des particules (soit $A + R = 1$, avec A le coefficient d'absorption et R le coefficient de réflexion), on peut remonter à la valeur de l'absorption de la poudre dopée en fonction du taux de cuivre cible (Figure 58a). L'augmentation linéaire de l'absorption avec le taux de cuivre confirme que la quantité de cuivre insérée dans l'apatite correspond, *a priori*, à la valeur visée et que la limite de solubilité n'est pas atteinte dans la gamme $0 < x < 0,7$. De plus, les valeurs d'absorption comprises entre 5 et 80% à cette longueur d'onde confortent l'idée de pouvoir réaliser une mise en forme des poudres CuVSx par frittage laser, notamment pour $x \geq 0,3$.

A partir des courbes de réflexion diffuse, il est également possible de tracer le spectre d'absorption du matériau $K/S = f(E)$ selon la loi de Kubelka-Munk définie dans le chapitre 2. Les courbes des poudres CuVSx ainsi que de l'oxyde Cu_2O sont ainsi représentées sur la Figure 58b. Le transfert de charge vers $16\,600\text{ cm}^{-1}$ (600 nm), à la fois observé au sein des HA dopées et de Cu_2O , est indubitablement attribué au transfert $\text{O}(2p^6) \rightarrow \text{Cu}^I(3d^{10})$ ce qui confirme une nouvelle fois la présence majoritaire de cuivre(I) au sein de l'HA. Les autres bandes, qui apparaissent à des énergies inférieures et dont l'intensité augmente avec le taux de cuivre,

pourraient être associées à des transitions intra-atomiques. La formation de chaînes linéaires CuOCu en quantité grandissante avec la quantité de dopant, telle qu'établie en EXAFS, et le transfert électronique entre les différentes formes résonantes, établi en RPE, nous conduisent également à considérer des transferts interatomiques entre ions cuivre(I) au sein d'un même cluster en chaîne. Cette deuxième hypothèse est notamment appuyée par l'apparition de la bande vers 8000 cm^{-1} qui n'apparaît qu'à partir d'un taux de cuivre $x = 0,5$.

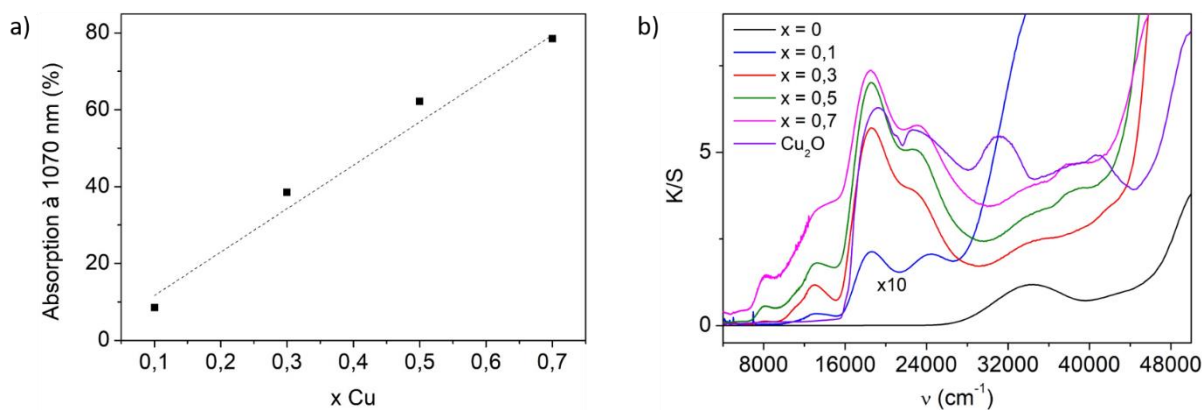


Figure 58 : Absorption des poudres CuVSx à 1070 nm (a) et courbes K/S en fonction du nombre d'onde, la courbe de CuHA0,1 a été multipliée par 10 (b)

Les mesures de réflexion diffuse confortent donc les résultats précédents quant au DO du cuivre et à la formation de chaînes $[\text{CuO}]_n$ avec $n \geq 2$. De plus, l'absorption des poudres CuVSx à $1\text{ }\mu\text{m}$ est propice à une application en frittage laser sélectif. L'aptitude au frittage naturel des mélanges de poudres HA-CuO est étudié dans un premier lieu.

III.2.3. Frittage des HA dopées au cuivre synthétisées par voie solide

III.2.3.1. Influence du cuivre sur l'aptitude au frittage des poudres et la densification des céramiques CuHA

L'aptitude au frittage des poudres CuVSx est étudiée par dilatométrie par comparaison avec l'HA pure. Les courbes de retrait dilatométrique montrent que les températures de début de frittage et de frittage maximal sont similaires entre l'HA pure et les HA dopées (Figure 59a). La température maximale de frittage se situe autour de 1010°C avec un décalage maximal de 20°C vers les hautes températures pour les HA dopées. Le cuivre n'affecte donc que très peu la frittabilité de l'apatite. La température de réaction entre l'HA et CuO étant proche de 1000°C , la densification des poudres d'HA dopées au cuivre peut être envisagée par frittage-réaction. La cinétique d'insertion du cuivre (entre 1000 et 1050°C) étant beaucoup plus rapide que le

frittage (qui s'étale sur une large plage de température entre 800°C et 1200°C), la concomitance des températures de frittage et l'insertion du cuivre n'est probablement que pur hasard.

Des traitements thermiques sont réalisés entre 1000 et 1200°C pendant 30 min (rampe 10°C/min) sur des pastilles contenant les différents mélanges HA - CuO. Des céramiques denses, avec un taux de densification supérieur à 96%, sont obtenues au-dessus de 1100°C (Figure 59b). Les taux de densification de toutes les pastilles n'évoluent que faiblement entre 1100 et 1200°C, s'échelonnant entre 96 et 99%. Cependant, le taux de densification de l'HA pure et de CuVS0,1 augmente entre 1050 et 1200°C tandis que pour des taux de cuivre plus élevés, il reste constant voire diminue. Le phénomène est particulièrement visible à 1200°C où les céramiques avec la plus faible quantité de cuivre ($x \leq 0,1$) ont un taux de densification autour de 99% tandis que les céramiques contenant les quantités les plus élevées de cuivre ($x \geq 0,3$) ont un taux de densification autour de 96%. Le cuivre semble donc provoquer une diminution de la densité des céramiques au-delà d'une certaine température.

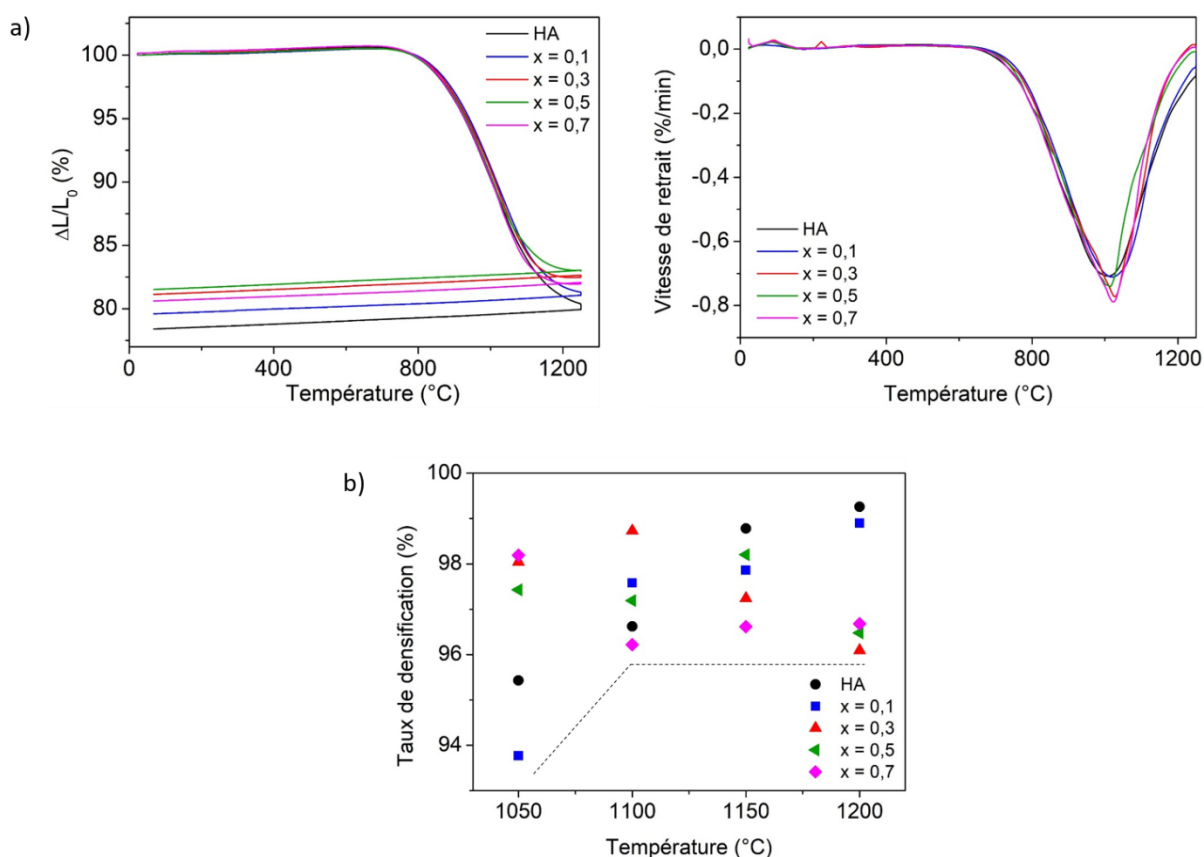


Figure 59 : Courbes de retrait dilatométriques des céramiques d'HA pure et dopées (a) ainsi que leur taux de densification après traitement thermique pendant 30 min, la courbe en pointillé indique la tendance générale suivie par les échantillons (b)

Ainsi, la présence de cuivre au sein des apatites affecte peu leur aptitude au frittage. La température maximale de frittage étant similaire à la température de réaction entre l'HA et CuO, un frittage réactif est possible et a été réalisé avec succès puisque des céramiques denses, avec un taux de densification supérieur à 96% ont été élaborées. Cependant, pour les taux de cuivre les plus élevés, la densité des céramiques diminue au-delà d'une certaine température. Pour tenter d'expliquer ce phénomène, la microstructure des céramiques est étudiée par imagerie.

III.2.3.2. Microstructure des céramiques d'HA dopées au cuivre

La surface des céramiques d'HA pure et de CuVS_x calcinées à différentes températures pendant 30 min est observée par microscopie électronique à balayage (MEB). Les images MEB associées à la composition CuVS_{0,5} sont représentées sur la Figure 60a. La taille des grains, mesurée grâce au logiciel ImageJ, augmente de façon exponentielle avec la température de frittage (Figure 60c). Néanmoins, elle reste submicrométrique jusqu'à 1150°C, l'élaboration de céramiques d'HA dopées au cuivre denses avec des grains fins est donc possible pour des

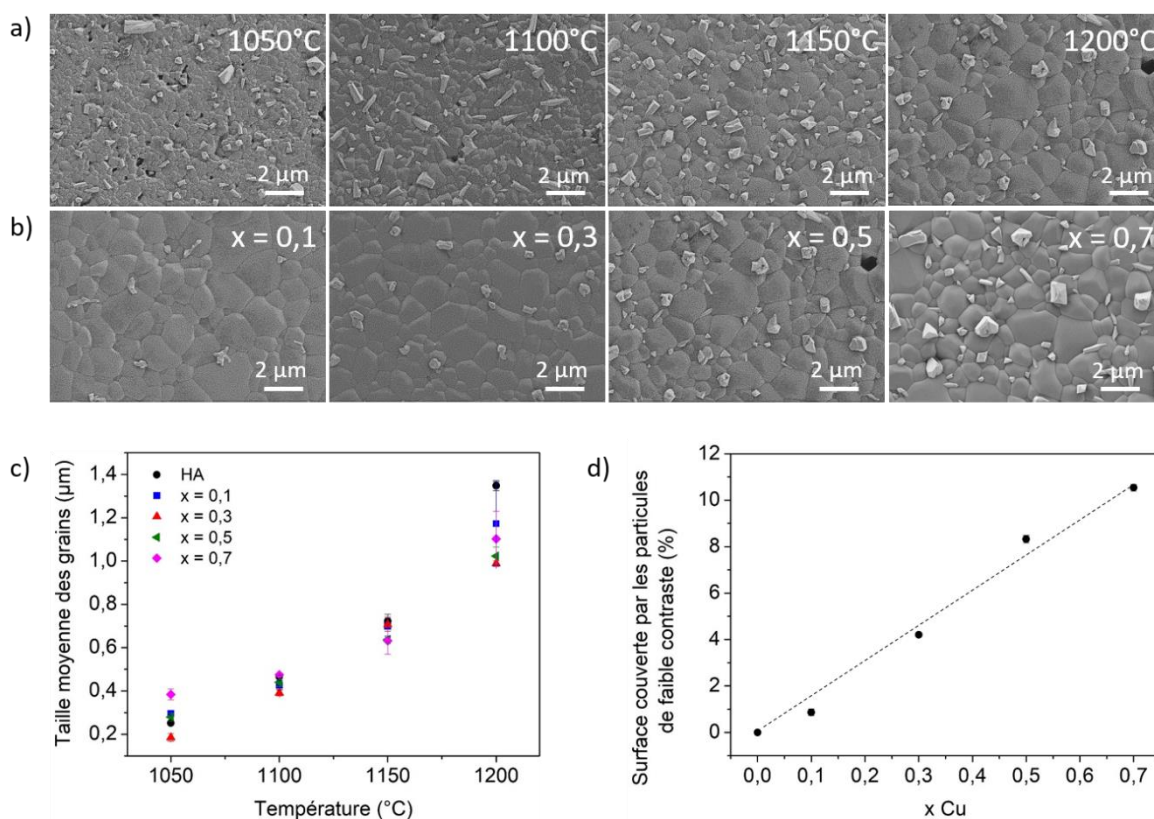


Figure 60 : Images MEB de la surface de la céramique CuVS_{0,5} calcinée à différentes températures (a) ainsi que des céramiques CuVS_x à différentes teneurs en cuivre calcinées à 1200°C (b). La taille moyenne des grains des CuVS_x en fonction de la température de frittage et de la teneur en cuivre (c) ainsi que le pourcentage de surface recouverte par les particules de faible contraste en fonction du taux de cuivre (d) sont mesurés, via le logiciel ImageJ, à partir de ces images MEB.

températures autour de 1100 - 1150°C. La croissance exponentielle de la taille des grains des HA dopées, comparable à celle observée sur l'HA pure, ne permet pas d'expliquer la perte de densification observée précédemment pour les forts taux de cuivre. Le processus de croissance granulaire semble, dans tous les cas, identique.

Les images MEB des pastilles CuVSx calcinées à 1200°C (Figure 60b) montrent également la présence de deux types de grains en surface. La quantité de grains plus clairs (à l'image) augmente proportionnellement au taux de dopant (Figure 60d), il s'agit donc probablement d'une phase secondaire riche en cuivre. La quantité de cette phase reste toutefois relativement faible puisqu'aucune autre phase secondaire n'a été détectée par DRX sur les poudres obtenues par broyage des pastilles. Cette phase secondaire est donc probablement principalement ségrégée en surface des céramiques par un phénomène s'apparentant à du « dessuintage ». Sa nature reste à déterminer.

Les cartographies faites par STEM-EDX (Figure 61), sur une lamelle découpée par FIB-SEM au sein du volume d'une pastille frittée CuVS0,7 calcinée à 1200°C, confirment la présence d'une phase riche en cuivre aux joints de grains, en faible proportion, même au cœur des pastilles. Selon le diagramme d'Ellingham, le cuivre(I) n'est stable sous air qu'au-delà d'une température d'environ 960°C. Lors du refroidissement, les ions Cu^+ pourraient donc s'oxyder et s'extraire de l'apatite formant un oxyde de cuivre. Cette hypothèse est vérifiée grâce à la réalisation d'essais thermiques avec diverses cinétiques de refroidissement sur des pastilles CuVS0,5. Deux pastilles ont été calcinées à 1200°C pendant 30 min et trempées soit à l'air, soit à l'eau. Une troisième pastille, calcinée à 1100°C pendant 1 h a été recuite à nouveau à 500°C pendant 1 h. Contrairement aux pastilles trempées, de couleur violette, une pastille grise est obtenue après recuit à 500°C et de l'oxyde de cuivre CuO est détectée en DRX (Figure 62). En revanche, la quantité de grains en surface diminue après la trempe sous air et devient nulle après

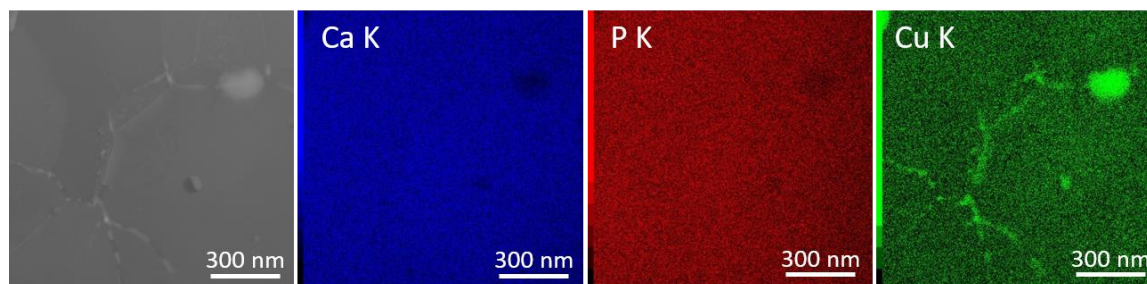


Figure 61 : Cartographies STEM-EDX d'une lamelle de la céramique CuVS0,7-1200

la trempe à l'eau (Figure 63). Ainsi, un refroidissement très rapide des pastilles empêche la réoxydation des ions Cu^+ et permet l'élaboration de phases CuVSx pures. Néanmoins, le gradient thermique important subi par le matériau rend les céramiques fragiles du fait de contraintes accrues.

Ces résultats confirment que la phase $\text{Cu}^{\text{I}}\text{HA}$ est métastable et que la réversibilité de l'oxydo-réduction du cuivre(I) vers le cuivre (II) provoque la réversibilité partielle de la réaction d'insertion, soit, une réaction de démixture. Ce phénomène a déjà été observé dans la littérature [116]. La démixture observée à basse température prouve que le cuivre(II) n'est pas stable au sein de l'HA et qu'il s'extrait de la structure formant une phase d'oxyde de cuivre correspondant certainement aux particules visibles aux joints de grains et en surface des céramiques CuVSx par MEB. La réalisation d'une trempe permet d'éviter cette démixture et d'obtenir des phases CuHA pures.

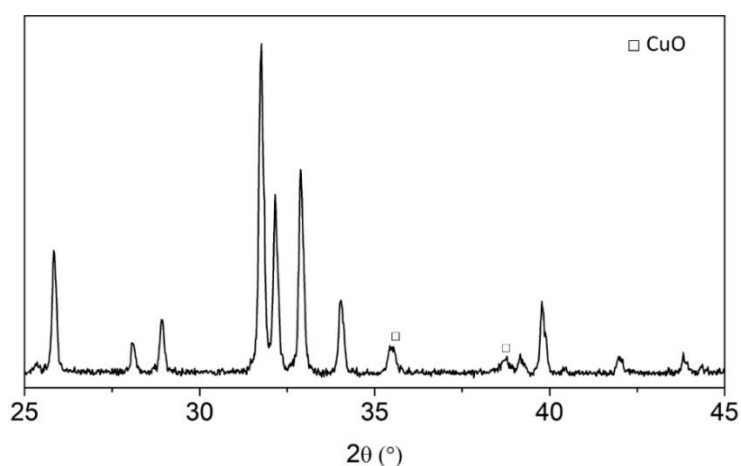


Figure 62 : Diffractogramme des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) d'une pastille $\text{CuVS}_{0,5-1100}$ recuite à $500^\circ\text{C} - 1\text{ h}$

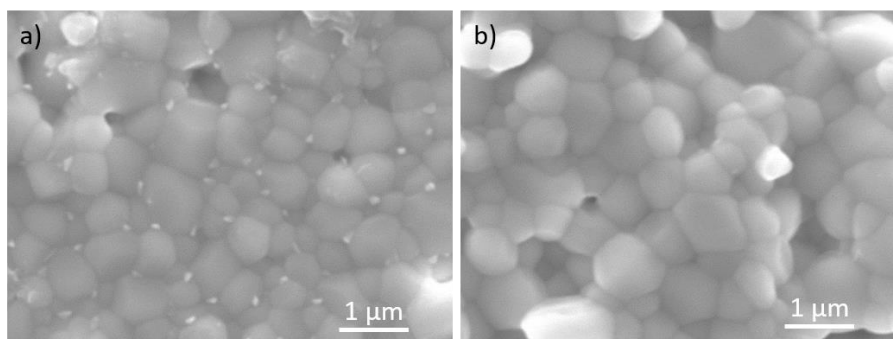


Figure 63 : Images MEB de pastilles $\text{CuVS}_{0,7}$ calcinées à $1200^\circ\text{C} - 30\text{ min}$ trempées à l'air (a) et à l'eau (b)

III.3. Conclusions

Les synthèses d'HA dopées au cuivre par coprécipitation et par voie solide démontrent que la voie de synthèse utilisée a une influence prépondérante sur l'insertion du cuivre au sein de l'apatite, aussi bien au niveau du site d'insertion/substitution que sur le degré d'oxydation du cuivre introduit dans le réseau apatitique.

Dans le cas de l'utilisation de précurseurs de nitrates de calcium et de cuivre, la synthèse par coprécipitation permet d'élaborer une phase pure d'HA dopée au cuivre après synthèse et stable après calcination à basse température ($\leq 600^\circ\text{C}$). Au sein de la phase dopée, des caractérisations avancées ont permis d'identifier la présence d'ions Cu^{2+} en site octaédrique distordu à proximité des groupements hydroxyles. En couplant spectroscopies optique, RPE et XAS, la distorsion du site d'insertion s'est avérée être très probablement orthorhombique, du moins quadratique. Le cuivre substitue donc le calcium, selon la formule théorique $\text{Ca}_{10-x}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, majoritairement au niveau du site Ca(2), site de géométrie initiale en adéquation avec les caractéristiques du site du cuivre et qui permet des interactions cuivre-cuivre d'un site à l'autre telles qu'observées en RPE. Cependant, l'élaboration d'une HA sous-stœchiométrique et/ou la déstabilisation de l'apatite par le cuivre provoqueraient sa décomposition pour des températures de recuit supérieures à 800°C .

La synthèse par voie solide entre une HA stœchiométrique et l'oxyde de cuivre conduit à l'élaboration de phases d'HA dopées au cuivre pures par DRX jusqu'à un taux $x_{\text{Cu}} \leq 0,7$ dans la formule théorique $\text{Ca}_{10}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6\text{O}_y\text{H}_z$. La caractérisation des poudres calcinées à haute température, en couplant dans une étude approfondie, caractérisation structurale (DRX), spectroscopies optique, RMN ^1H et ^{31}P , RPE, XANES et EXAFS, ainsi que l'étude du frittage des céramiques ont permis d'établir que l'insertion du cuivre dans l'apatite se fait uniquement sous la forme de cuivre(I). Celui-ci s'insère au centre des tunnels hexagonaux entre les groupements hydroxyles, à la position (0, 0, 0), substituant un proton afin de respecter l'électroneutralité de la structure. La formule chimique des CuHA peut donc être réécrite de la manière suivante : $\text{Ca}_{10}\text{Cu}_x^{\text{I}}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$. Au sein de cette structure, les études EXAFS ont montré que les ions cuivre(I) ont une tendance à former des chaînes $[\text{CuO}]_n$ ($n \geq 2$) notamment pour des taux de cuivre $x \geq 0,5$, la liaison Cu-O présentant un caractère relativement covalent. Lors du frittage, la métastabilité naturelle de l'ion Cu^+ conduit à son oxydation dans le cas de refroidissement lent et donc à la sortie du cuivre(II), instable au sein de l'apatite, formant une phase secondaire d'oxyde de cuivre aux joints de grains et en surface des céramiques. Une

trempe à l'eau permet néanmoins de pallier cette réoxydation et ainsi d'élaborer des phases CuVSx pures. Ainsi, les HA dopées au cuivre synthétisées par voie solide restent prometteuses dans le domaine biomédical et de la fabrication additive du fait des propriétés angiogéniques potentielles du cuivre et de leurs propriétés optiques intéressantes. Une étude biologique ainsi que des essais préliminaires de mise en forme par frittage laser en vue de telles applications seront réalisés dans le chapitre V. Les cinétiques de chauffage-refroidissement extrêmement rapides d'un frittage laser pourraient permettre par ailleurs d'éviter la réoxydation des ions cuivre(I) en ions cuivre(II) lors du refroidissement et donc leur extraction de la phase apatite.

Chapitre IV. Hydroxyapatites substituées au fer

Chapitre IV. Hydroxyapatites substituées au fer

Ce chapitre porte sur l'élaboration et la caractérisation d'hydroxyapatites substituées au fer(II) et/ou au fer(III) (FeHA). Plusieurs voies de synthèse ainsi que différents précurseurs de fer ont été considérés afin de faire varier le degré d'oxydation (DO) et le positionnement du fer au sein de la structure apatitique. Dans la première partie, des synthèses par coprécipitation sont réalisées dans le but de substituer le calcium par le fer. Les évolutions de l'environnement local et du degré d'oxydation de l'élément dopant avec la température de calcination ont été suivies par spectroscopie Mössbauer. La synthèse d'HA substituée au fer par réaction par voie solide, étudiée dans la seconde partie, met l'accent sur le rôle clé du degré d'oxydation du fer sur la pureté de la phase FeHA ainsi que sur la localisation de l'élément de transition au sein de l'HA. Des techniques de sonde locale, complémentaires à la spectroscopie Mössbauer, comme la RPE, la RMN ^1H et ^{31}P , ou encore les spectroscopies FTIR et UV-Visible-NIR, ont permis de suivre l'état de valence du fer et d'identifier les environnements locaux de l'ensemble des éléments de la structure. La structure et les propriétés optiques des phases FeHA sont finalement mises en lumière avant d'étudier l'aptitude au frittage des poudres en vue de la fabrication de céramiques.

IV.1. Hydroxyapatites substituées au fer synthétisées par coprécipitation

IV.1.1. Hydroxyapatites substituées au fer(III)

IV.1.1.1. Synthèse et comportement thermique

Les hydroxyapatites substituées au fer(III) sont élaborées selon le même protocole que la synthèse CuCP01. Des précurseurs de nitrates de calcium et de fer(III) ainsi que de l'hydrogénophosphate de diammonium sont utilisés, le pH étant maintenu à 8 à l'aide d'ammoniaque. Les quantités de matière des réactifs sont calculées en considérant un rapport $(\text{Ca}+\text{Fe})/\text{P} = 1,667$ et un taux de dopant de 5% molaire. On dénommera cette synthèse FeCP01. L'ajout d'ammoniaque à la solution initiale maintenue à 80°C, contenant les ions calcium et fer, provoque la formation d'un précipité de couleur marron certainement lié à la formation de l'hydroxyde $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Sous l'action du chauffage, ce précipité prend ensuite une couleur rouille illustrant vraisemblablement la déshydratation de l'hydroxyde de fer en oxyhydroxyde puis en

hématite Fe_2O_3 , par analogie avec la synthèse CuCP02 au chapitre précédent, ou en ferrihydrite. La solution est laissée à maturation 5 h une fois l'hydrogénophosphate d'ammonium ajouté. Après séchage à l'étuve et calcination à 600°C sous air, une poudre marron-orangée est obtenue. Une phase pure d'hydroxyapatite est identifiée par DRX (Figure 64a). La pureté de la phase témoigne de l'incorporation d'ions Fe^{3+} au sein de l'HA par dissolution-recristallisation des premières phases formées riches en fer. Cependant, seuls 3,5% mol. de fer sont dosés par ICP-OES. Bien que le filtrat récolté soit incolore, une légère perte d'ions fer au sein du filtrat semble inévitable.

Des calcinations sous air à 800 , 1000 et 1200°C sont réalisées afin d'évaluer le comportement thermique de l'HA dopée au fer. A 800°C , l'HA se décompose en phosphate tricalcique $\beta\text{-TCP}$ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ et une faible quantité d'oxyde de fer Fe_2O_3 est également identifiée par DRX. A 1000°C , la quantité de ces deux phases secondaires continue de s'accroître et une faible proportion d' $\alpha\text{-TCP}$ est stabilisé. A 1200°C , l'hématite n'est plus détectée et la transformation polymorphique du $\beta\text{-TCP}$ en $\alpha\text{-TCP}$ est observée. L'oxyde de fer formé semble donc réagir par voie solide à haute température avec une des phases phosphatées, comme dans le cas du cuivre. Le calcul des paramètres de maille de l'HA en fonction de la température de calcination (Figure 64b) montre une diminution du paramètre de maille a à 1200°C tandis qu'une augmentation du paramètre c est visible dès 1000°C . Ces variations confirment donc la réaction par voie solide entre l'hématite et l'HA. Une analyse par spectroscopie Mössbauer sur une poudre élaborée par réaction par voie solide entre du TCP et de la magnétite Fe_3O_4 (calcination à 1200°C pendant 1h) démontre que les ions Fe^{3+} et Fe^{2+} réagissent de façon très minoritaire avec le phosphate tricalcique (Annexe 6), cette réaction sera donc négligée.

Deux hypothèses peuvent être formulées quant à la formation d'oxyde de fer, détecté notamment après recuit à 800°C : après synthèse soit les ions Fe^{3+} se trouvent au sein d'une phase amorphe, soit ils s'extraient de la structure apatitique avec l'augmentation de la température de calcination formant alors, l'oxyde de fer. Après la coprécipitation, une faible modification des paramètres de maille de la poudre brute d'HA dopée au fer(III) est observée vis-à-vis de l'HA pure (Tableau 19). Pour des écart-types similaires, le paramètre a de la poudre FeCP01 est légèrement supérieur à celui de l'HA pure tandis que le paramètre c est très légèrement inférieur ce qui rejoint les résultats de plusieurs auteurs associés à l'introduction d'ions Fe^{3+} au sein de l'HA [125], [135]. De plus, les cartographies STEM-EDX (Figure 65) montrent que le fer est distribué de façon homogène au sein des aiguilles d'HA calcinées à 600°C . La majeure partie des ions Fe^{3+} semble donc bien incorporée au sein de l'apatite après

la synthèse par coprécipitation, et ces ions demeurent dans la structure au moins jusqu'à des températures de recuit de 600°C. Avec l'augmentation de la température de calcination, la ségrégation en fer augmente, comme le montre l'apparition de zones riches en fer sur les cartographies STEM-EDX. Les ions Fe^{3+} migrent donc sous l'action du chauffage et, par un mécanisme d'exsolution du fer du réseau apatitique, vont former de l'hématite.

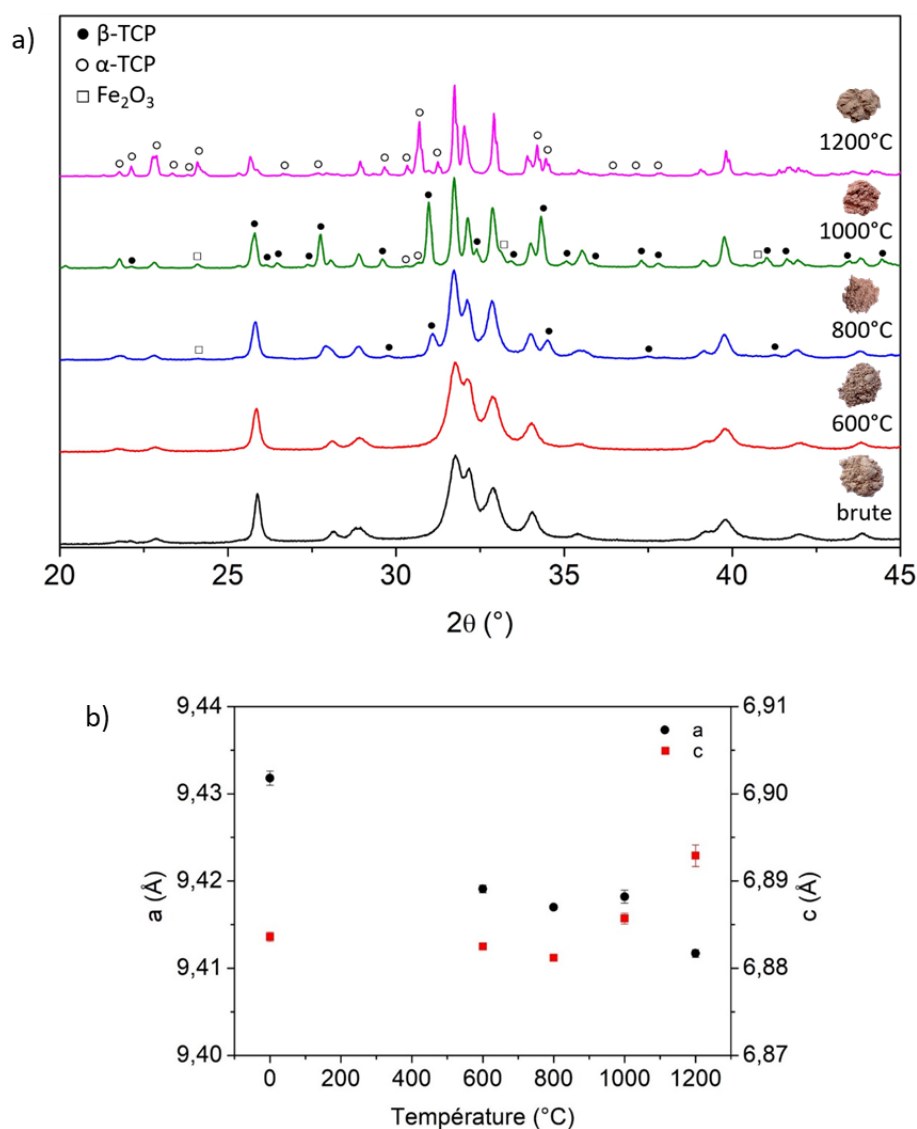


Figure 64 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) de la poudre FeCP01 calcinée à différentes températures (a) ainsi que les paramètres de maille associés (b)

Tableau 19 : Comparaison des paramètres de maille des poudres brutes d'HA pure et dopée, l'écart-type est indiqué entre parenthèses

Poudres brutes	a (Å)	c (Å)
CP01	9,4209(4)	6,8888(3)
FeCP01	9,4318(8)	6,8836(5)

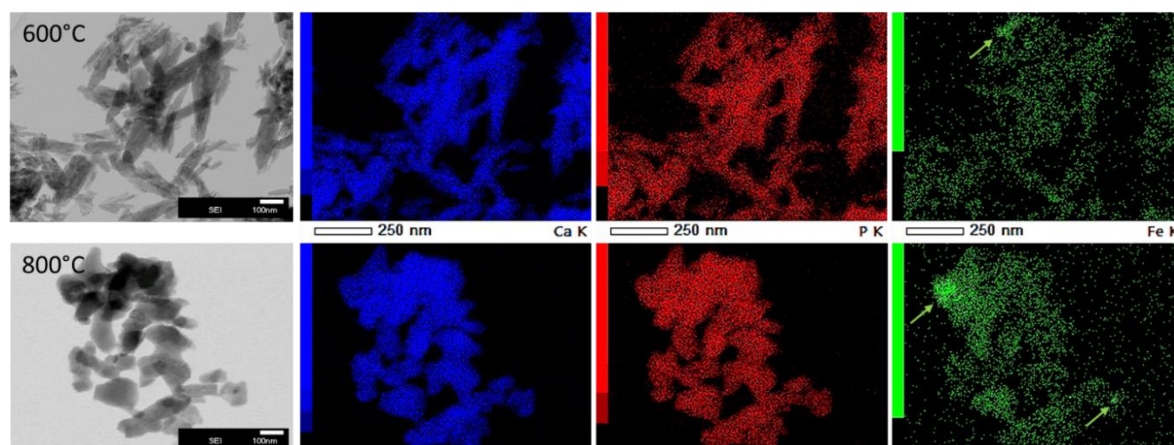


Figure 65 : Images et cartographies STEM-EDX de la poudre FeCP01 calcinée à 600 et 800°C. Les zones riches en fer sont désignées par une flèche.

La synthèse par coprécipitation conduit donc à l'élaboration d'une phase pure d'HA dans laquelle les ions Fe^{3+} sont distribués de façon homogène. Cependant, l'augmentation de la température de calcination provoquerait l'exsolution du fer formant de l'hématite aux températures de recuit intermédiaires (800°C). L'oxyde de fer formé réagit ensuite à nouveau avec l'HA par voie solide pour des températures de recuit supérieures à 1000°C. Pour vérifier ce scénario complexe de « démixture-réinsertion » du fer au sein de l'HA avec l'accroissement des températures de recuit, l'environnement local ainsi que l'état d'oxydation dans lequel se trouve le fer après les différents traitements thermiques doivent être analysés.

IV.1.1.2. Evolution de l'environnement local et du degré d'oxydation du fer avec la température de calcination

Les évolutions de l'environnement local et du degré d'oxydation du fer en fonction de la température de calcination sont analysées par spectroscopie Mössbauer. Les spectres expérimentaux du ^{57}Fe , enregistrés à température ambiante, et les composantes simulées sont représentés sur la Figure 66. Les paramètres hyperfins affinés des différentes composantes, répertoriés dans le Tableau 20, permettent de déterminer si les ions Fe^{3+} sont isolés au sein de l'apatite ou au contraire en interaction au sein d'une phase magnétiquement ordonnée comme l'hématite. La coordinence du fer et la distorsion moyenne du site peuvent également être évaluées.

Les spectres des poudres FeHA brute et calcinée à 600°C présentent un doublet quadrupolaire avec un déplacement isomérique à $\delta = 0,36$ mm/s. Ce signal est assigné à des ions Fe^{3+} haut-spin isolés au sein de l'HA en coordinence 5 ou 6 s'engageant dans des liaisons relativement covalentes. Pour des températures de calcination supérieures, l'intensité du

doublet central diminue au profit d'un sextuplet ($\delta = 0,37$ mm/s ; $2\varepsilon = -0,21$ mm/s ; $H = 51$ T), caractéristique d'un ordre magnétique tel que dans l'hématite Fe_2O_3 [240]. Après recuit à 1000°C , la quantité de fer au sein de l'apatite devient alors très minoritaire (environ 10% en intensité du signal). En revanche, le phénomène inverse est observé après traitement à 1200°C : le sextuplet disparaît pratiquement au profit du « doublet » central qui est en réalité constitué de trois contributions d'après le spectre réalisé avec une échelle de vitesses réduite.

Ces trois contributions sont attribuées à du fer(III) inséré au sein de l'HA d'après les résultats ultérieurs sur les $\text{Fe}^{\text{III}}\text{HA}$ élaborées par voie solide (cf. IV.2.5.2c.). Après calcination à 1200°C , la proportion de fer au sein de la structure apatitique redevient ainsi majoritaire, à hauteur de 80% environ, le dopant étant distribué sur 3 sites. La composante majoritaire (45%

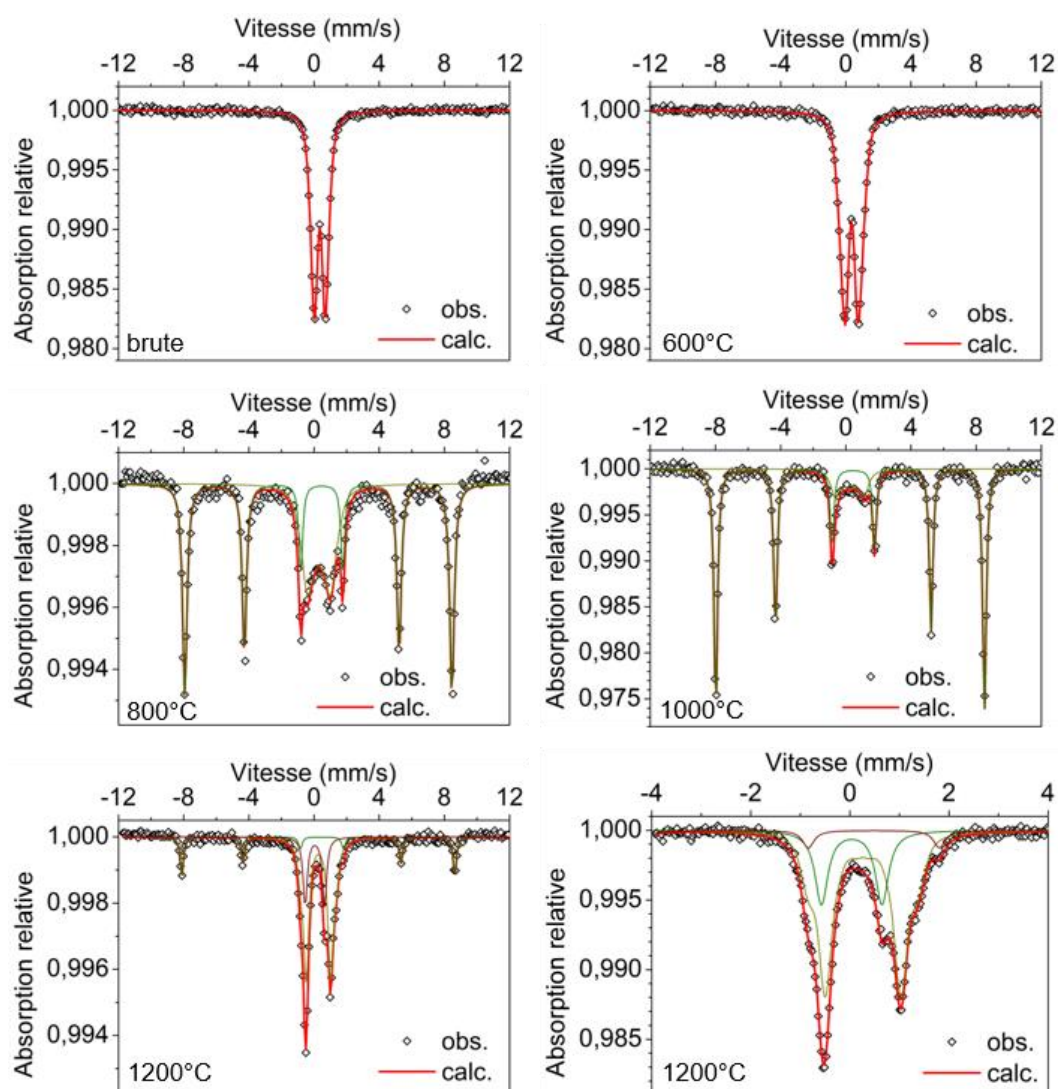


Figure 66 : Spectres Mössbauer du ^{57}Fe , enregistrés à température ambiante, de la poudre FeCP01 calcinée à différentes températures (zoom entre $-4 < v$ (mm/s) $< +4$ pour la poudre calcinée à $T = 1200^\circ\text{C}$)

Tableau 20 : Paramètres hyperfins affinés : δ : déplacement isomérique, Δ : éclatement quadrupolaire, 2ε : déplacement quadrupolaire, Γ : largeur de raie à mi-hauteur, H : champ magnétique hyperfin, Int. rel. : intensité relative, * : valeur moyenne de la distribution d'éclatements quadrupolaires, HS : haut spin. L'écart-type est reporté entre parenthèses ou crochet ; (-) indique que la valeur a été fixée.

Composé	δ (mm/s)	Δ ou 2ε (mm/s)	H (T)	Γ (mm/s)	Int. rel. (%)	Attribution
FeCP01	0,36(1)	0,75* [0,25]	-	0,30(-)	100	Fe ³⁺ HS, HA [5 - 6]
FeCP01-600	0,36(1)	0,97* [0,41]	-	0,30(-)	100	Fe ³⁺ HS, HA [5 - 6]
FeCP01-800	0,29(3)	1,28* [0,58]	-	0,30(-)	36(3)	Fe ³⁺ HS, HA [4 - 5]
	0,37(1)	-0,21(2)	51,2(3)	0,28(2)	64(3)	α -Fe ₂ O ₃
FeCP01-1000	0,23(5)	1,68* [0,44]	-	0,30(-)	9(3)	Fe ³⁺ HS, HA [4]
	0,36(1)	-0,19(1)	51,1(2)	0,26(1)	91(3)	α -Fe ₂ O ₃
FeCP01-1200	0,09(2)	1,12(3)	-	0,35(5)	24(3)	Fe ³⁺ HS, HA [2+x]
	0,24(1)	1,56(1)	-	0,32(3)	45(3)	Fe ³⁺ HS, HA [4]
	0,28(1)	2,19(4)	-	0,33(6)	13(3)	Fe ³⁺ HS, HA [4 - 5]
	0,37(2)	-0,21(3)	51,9(2)	0,25(2)	18(3)	α -Fe ₂ O ₃

en intensité du signal) avec un déplacement isomérique $\delta = 0,24$ mm/s relativement faible ($< 0,30$ mm/s) et un éclatement quadrupolaire $\Delta = 1,56$ mm/s important (> 1 mm/s), qui est également présente dans l'échantillon calciné à 1000°C, est attribuée à des ions Fe³⁺ en site tétraédrique distordu. Une deuxième composante centrée à 0,28 mm/s (13% du signal) est caractérisée par un plus fort éclatement quadrupolaire ($\Delta = 2,2$ mm/s). Elle pourrait être associée à des ions Fe³⁺ localisés dans un site en coordinence 4 ou 5 avec un environnement très dissymétrique. Enfin, le déplacement isomérique de la dernière composante, proche de zéro ($\delta = 0,09$ mm/s ; $\Delta = 1,12$ mm/s, 24% d'intensité relative), a déjà été observé dans la littérature [144] et a été attribué à du fer(III) en site triangulaire ou linéaire. Cependant, ce type de site est très inhabituel pour des ions Fe³⁺ haut spin, généralement en coordinence supérieure à 4. Pour rappel, le déplacement isomérique dépend de la densité électronique autour du noyau dont la contribution prépondérante est celle des électrons 4s. Une hybridation des orbitales 3d et 4s et par voie de conséquence une augmentation de la densité électronique des orbitales 4s conduit donc à la diminution du déplacement isomérique [210]. La faible valeur $\delta = 0,09$ mm/s pourrait être due à la forte covalence de deux liaisons courtes Fe-O au sein d'un site de coordinence supérieure à 4 ce qui entraînerait une hybridation des orbitales 3d-4s du fer avec les orbitales 2p de l'oxygène (par analogie avec les CuHA synthétisées par voie solide). Le fer se trouverait dès lors dans un site de coordinence [2+x].

L'accroissement de la température de calcination, de l'ambiante à 1000°C, provoque une diminution de la valeur du déplacement isomérique du signal lié aux ions Fe³⁺ isolés au sein de

l'HA de 0,36 à 0,23 mm/s ainsi que l'augmentation de la valeur moyenne et de l'écart-type de la distribution d'éclatements quadripolaires indiquant une réduction de la coordinence du fer et l'augmentation du désordre. A ces températures, la structure apatitique semble donc en évolution avec probablement la diffusion du fer d'un site en coordinence 5 ou 6 vers un site en coordinence 4.

Ces résultats confirment l'élaboration d'une phase d'HA substituée au fer(III) pure à basse température et notamment à 600°C à l'air. La coordinence du fer de 5 ou 6 semble indiquer que le fer se situe alors dans un site du calcium. D'un point de vue cristallographique, la même hypothèse que dans le cas du cuivre peut être faite quant à l'identification du site du calcium : la distorsion plus importante du site Ca(2), proche d'une bipyramide pentagonale, comparée au site Ca(1), proche d'un prisme triangulaire, serait plus favorable pour accueillir les ions Fe^{3+} . La déstabilisation de l'HA dopée au fer(III) avec la température de calcination conduisant à l'apparition d'oxyde de fer interroge puisque les ions Fe^{3+} réintègrent l'HA à encore plus haute température. La position occupée initialement par le fer après la synthèse par coprécipitation pourrait être la cause de ce phénomène. Le fer(III), initialement dans un site en coordinence 5 ou 6, serait thermodynamiquement instable à cette position, en tout cas, pour des HA de taille de cristallites importante. Le grand rapport surface/volume de l'HA obtenue après précipitation (sans recuit) aide sans doute à la stabilisation de ces environnements particuliers des ions Fe^{3+} en substitution des ions calcium en permettant notamment une compensation électronique des charges au sein de la structure via des défauts de surface. Sous l'action du chauffage, qui provoque la croissance cristalline, le fer migrerait donc pour se placer dans un site de coordinence 4, moins déstabilisant structuralement, ou quitterait (majoritairement) le réseau apatitique pour former une seconde phase d'oxyde de fer. A plus haute température, la réaction par voie solide entre l'HA et l'hématite (formée lors de la démixtion du fer), nécessaire à la croissance granulaire, provoque également la diffusion du fer(III) vers ce site tétraédrique, renforçant l'augmentation du paramètre c . Ces résultats sont cohérents avec les observations faites en DRX et STEM-EDX quant à l'exsolution et la réinsertion du fer(III) dans l'apatite avec la température de calcination. Ils démontrent que le fer, initialement en substitution du calcium après coprécipitation, se réinsèrent dans un site différent, qui reste encore à déterminer, après réaction par voie solide.

Ainsi, la synthèse par coprécipitation permet l'élaboration d'une phase pure d'HA substituée au fer(III) dans laquelle l'élément de transition se trouve dans un site de coordinence 5 ou 6 correspondant possiblement à un site du calcium. L'instabilité du fer(III) à cette position

conduit simultanément à l'exsolution majoritaire des ions Fe^{3+} et à la migration des ions restants dans un site de coordinence plus faible. Ce site est identique à celui occupé par les ions fer(III) après réaction par voie solide entre l'HA et l'hématite. La voie de synthèse utilisée (et principalement l'histoire thermique du matériau contrôlant directement la taille des cristallites) a donc une influence sur la localisation du fer(III) au sein de l'HA (en substitution ou en insertion au sein de l'HA). Le degré d'oxydation du fer pourrait également avoir un impact sur la position finale de l'élément dopant. Des HA substituées au fer(II) ont donc également été synthétisées par coprécipitation.

IV.1.2. Hydroxyapatites substituées au fer(II)

IV.1.2.1. Synthèse et comportement thermique

Pour synthétiser une HA substituée au fer(II), le nitrate de fer(III) est remplacé par le sel de Mohr $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ et la synthèse est conduite à température ambiante pendant 24 h. La substitution de 5% mol. d'ions Ca^{2+} par les ions Fe^{2+} est visée dans la formule hypothétique $\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,5}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Cette synthèse, dans laquelle un rapport $(\text{Ca}+\text{Fe})/\text{P} = 1,667$ est à nouveau considéré, sera dénommée FeCP02. Lors de la coprécipitation, le précipité vert formé devient jaune en fin de maturation attestant de l'oxydation partielle des ions Fe^{2+} en Fe^{3+} . Après séchage et calcination à 600°C sous argon, une HA mal cristallisée est identifiée par DRX (Figure 67a) et 4,5% mol. de fer sont dosés par ICP-OES. La majorité des ions dopants initialement en solution est donc incorporée dans la matrice.

Le comportement thermique de l'HA substituée au fer(II) est évalué via des calcinations à 800 et 1200°C sous argon. Une légère décomposition de l'HA en β -TCP est observée après recuit à 800°C , et de la magnétite Fe_3O_4 est identifiée confirmant l'oxydation partielle du fer(II) en fer(III) lors de la synthèse (Figure 67a). En revanche, l'oxyde de fer n'est plus détecté après recuit à 1200°C tandis que la quantité de β -TCP formée augmente. Une fois encore, l'oxyde de fer formé par démixtion aux températures de recuit intermédiaires semble s'insérer à nouveau par voie solide à 1200°C au sein de l'apatite.

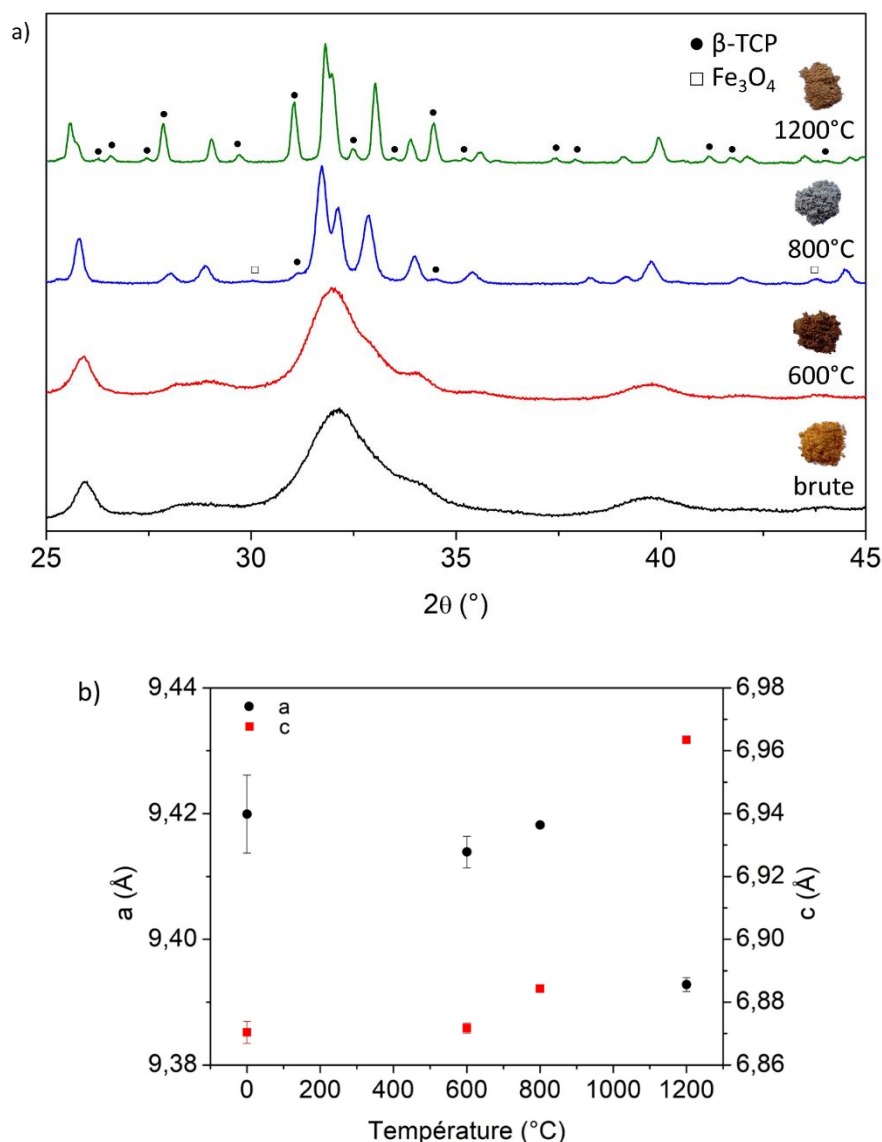


Figure 67 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) de la poudre FeCP02 calcinée à différentes températures (a) et les paramètres de maille associés (b)

Les paramètres de maille de la phase d'HA, calculés en fonction de la température de calcination, changent de façon importante à 1200°C (Figure 67b), ce qui est en corrélation avec la réaction entre l'oxyde de fer et l'apatite à haute température préalablement observée. La diffusion du fer dans l'HA semble toutefois commencer dès 800°C au vu de l'augmentation du paramètre c associée à la diminution du paramètre a après recuit à cette température. Cette évolution structurale pourrait traduire le remplissage de sites situés au sein des canaux hexagonaux de l'HA selon l'axe c au détriment des sites du calcium dans le plan (a , b) qui deviendraient au-delà de 800°C, partiellement lacunaires. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus lors de la coprécipitation en présence de fer(III) à la différence qu'aux côtés de l'HA une forme β -TCP et non α -TCP est majoritairement stabilisée. L'insertion d'une très faible

quantité d'ions Fe^{2+} au sein du β -TCP pourrait suffire à stabiliser cette forme. Pour évaluer le DO du fer sur son site d'occupation dans l'apatite, une étude par spectroscopie Mössbauer est à nouveau réalisée.

IV.1.2.2. Environnements et états d'oxydation du fer

Les spectres Mössbauer expérimentaux du ^{57}Fe , enregistrés à température ambiante, et les composantes simulées sont représentés sur la Figure 68. Les paramètres hyperfins affinés sont référencés dans le Tableau 21. Le spectre de la poudre brute présente un doublet central constitué de deux composantes. Le signal avec un déplacement isomérique $\delta = 0,37$ mm/s et un éclatement quadrupolaire $\Delta = 0,71$ mm/s correspondrait à des ions Fe^{3+} haut spin en coordinence 5 ou 6 au sein de l'HA tandis que celui avec un déplacement isomérique $\delta = 1,24$ mm/s et un éclatement quadrupolaire $\Delta = 2,42$ mm/s est attribué aux ions Fe^{2+} haut spin en site octaédrique [209]. Les ions Fe^{2+} et Fe^{3+} semblent donc être localisés au niveau des sites du calcium. L'intensité relative du signal lié au fer(III) étant proche de 100%, l'oxydation du fer(II) pendant l'étape de maturation lors de la synthèse est pratiquement totale.

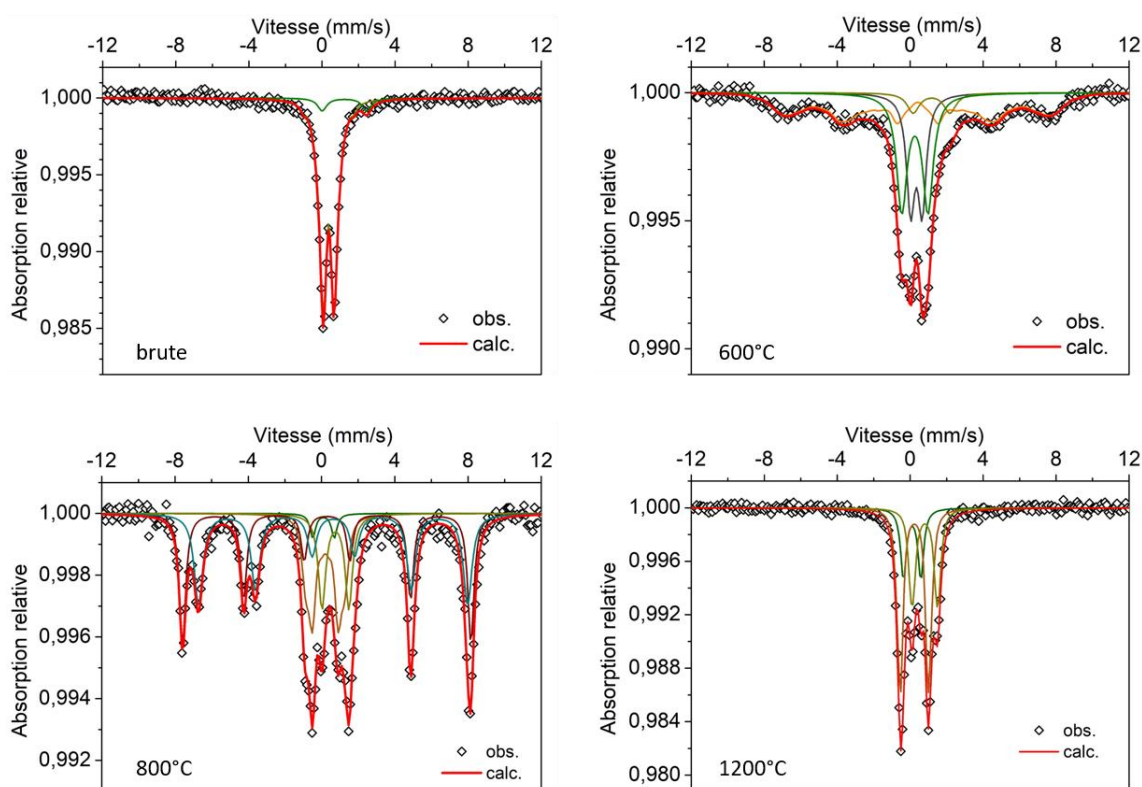


Figure 68 : Spectres Mössbauer du ^{57}Fe , enregistrés à température ambiante, de la poudre FeCP02 calcinée à différentes températures

Tableau 21 : Paramètres hyperfins affinés des composantes Mössbauer de la poudre FeCP02

Composé	δ (mm/s)	Δ ou 2ε (mm/s)	H (T)	Γ (mm/s)	Int. rel. (%)	Attribution
FeCP02	0,37(1)	0,71* [0,32]	-	0,30(-)	95(3)	Fe ³⁺ HS [5 - 6]
	1,24(6)	2,42*[0,26]	-	0,30(-)	5(3)	Fe ²⁺ HS [6]
FeCP02-600	0,25(2)	1,45(6)	-	0,62(5)	26(4)	Fe ³⁺ HS [4]
	0,34(2)	0,62(4)	-	0,55(5)	25(4)	Fe ³⁺ HS [5]
	1,2(2)	2,0(3)	-	0,70(-)	6(4)	Fe ²⁺ HS [6]
	0,43(7)	0,0(-)	38*[10]	0,40(-)	41(4)	Oxyde de fer mal cristallisé
FeCP02-800	0,11(2)	1,17(4)	-	0,36(3)	3(2)	Fe ³⁺ HS [2+x]
	0,20(3)	1,59*[0,51]	-	0,30(-)	21(3)	Fe ³⁺ HS [4]
	0,76(3)	1,47(5)	-	0,48(2)	13(3)	Fe ^{2+/3+} HS
	0,29(2)	-0,02(3)	48,8(2)	0,42(5)	30(3)	} Fe ₃ O ₄ + γ -Fe ₂ O ₃
	0,64(2)	-0,02(3)	45,6(2)	0,57(6)	33(3)	
FeCP02-1200	0,10(2)	0,96(4)	-	0,37(4)	17(3)	Fe ³⁺ HS [2+x]
	0,23(1)	1,58*[0,19]	-	0,30(-)	52(3)	Fe ³⁺ HS [4]
	0,81(1)	1,39*[0,16]	-	0,30(-)	31(3)	Fe ^{2+/3+} HS

La diffusion des ions Fe³⁺, déjà observée pour la synthèse FeCP01, débute ici dès 600°C et s'accroît à 800°C. Le fer(III) migre vers des sites de coordinences plus faibles de 5 et 4 à 600°C ($\delta = 0,34$ mm/s, $\Delta = 0,62$ mm/s et $\delta = 0,25$ mm/s, $\Delta = 1,45$ mm/s respectivement) et 4 et [2+x] à 800°C ($\delta = 0,20$ mm/s, $\Delta = 1,59$ mm/s et $\delta = 0,11$ mm/s, $\Delta = 1,17$ mm/s respectivement). Concernant les ions Fe²⁺, ils occupent après calcination à 600°C le même site octaédrique qu'après synthèse ($\delta = 1,2$ mm/s, $\Delta = 2,0$ mm/s). Après recuit à 800°C, le signal avec la plus forte valeur de déplacement isomérique ($\delta = 0,76$ mm/s, $\Delta = 1,47$ mm/s) pourrait être dû à du fer(II) en site tétraédrique très covalent ou bien à un transfert électronique entre les ions Fe²⁺ et Fe³⁺ situés dans deux sites voisins, comme c'est le cas dans certains composés de valence mixte [209], [241], [242]. Des mesures à basse température permettraient de vérifier cette hypothèse (vérification réalisée dans le cas des FeHA élaborées par voie solide, cf IV.2.5.2c.).

Dès 600°C, on observe également l'apparition d'une composante magnétique associée à la formation d'un oxyhydroxyde ou oxyde de fer mal cristallisé. Son intensité augmente à 800°C permettant d'identifier deux sextuplets caractéristiques de la magnétite Fe₃O₄ : la première contribution ($\delta = 0,29$ mm/s, $2\varepsilon = 0,01$ mm/s) correspond aux ions Fe³⁺ et la seconde ($\delta = 0,64$ mm/s, $2\varepsilon = -0,03$ mm/s) aux transferts électroniques entre les ions Fe²⁺ et Fe³⁺ [243]. Les rapports d'intensité des deux composantes semblent également indiquer la présence de maghémite (γ -Fe₂O₃). Les sextuplets disparaissent ensuite totalement à 1200°C au profit du « doublet » central marquant, comme lors des expériences précédentes, la réaction par voie solide entre l'HA et la phase secondaire riche en fer. La formation et la disparition de la

magnétite prouvent que les ions Fe^{2+} subissent les mêmes phénomènes d'exsolution et de réinsertion que les ions Fe^{3+} .

A 1200°C, les deux premières composantes, relatives aux ions Fe^{3+} , sont similaires à celles obtenues pour la synthèse FeCP01. Les mêmes attributions peuvent donc être faites, à savoir que le fer(III) se situe à la fois dans un site tétraédrique distordu ($\delta = 0,23 \text{ mm/s}$, $\Delta = 1,58 \text{ mm/s}$) et dans un site de coordinence $[2+x]$ ($\delta = 0,10 \text{ mm/s}$, $\Delta = 0,96 \text{ mm/s}$). Le dernier signal ($\delta = 0,81 \text{ mm/s}$, $\Delta = 1,38 \text{ mm/s}$) est similaire à celui observé à 800°C ($\delta = 0,76 \text{ mm/s}$), propre à des ions Fe^{2+} en coordinence tétraédrique ou à un état de valence intermédiaire $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$.

Ainsi malgré les calcinations à haute température sous argon et les précautions prises pour limiter la quantité de fer(III) lors de la précipitation, la majorité du fer se retrouve inévitablement à l'état trivalent quelle que soit la température de recuit. Bien que les ions Fe^{2+} soient présents en très faible proportion, les mêmes phénomènes de diffusion (exsolution, puis réinsertion avec l'augmentation des températures de calcination) sont observés que pour les ions Fe^{3+} . Cependant, sans analyse Mössbauer à basse température, le site d'occupation du fer(II) ou associé à un état de valence mixte $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, obtenu après calcination à haute température, ne peut être identifié.

IV.1.2.3. Conclusion partielle sur les HA dopées au fer par coprécipitation

Quelle que soit la nature du précurseur utilisé, la synthèse en voie aqueuse ne permet pas de contrôler le degré d'oxydation du fer introduit au sein de la structure apatitique conduisant à l'obtention d'HA majoritairement substituées au fer(III). Ces expériences nous permettent d'établir que le site d'insertion du fer dépend de la température de recuit utilisée. La synthèse par coprécipitation conduit à l'insertion du fer dans un site en coordinence 5 ou 6, très vraisemblablement au niveau des sites du calcium et de celui proche des groupements hydroxyles qui paraît moins volumineux et surtout plus distordu. En revanche, la réaction par voie solide qui se produit à haute température entraîne l'insertion du fer(III) dans un site tétraédrique.

L'instabilité thermique des formes obtenues par coprécipitation et la réintroduction du fer au sein de l'HA lors des recuits à très hautes températures nous ont conduits à privilégier, par la suite, la synthèse d'HA dopée au fer(II) et au fer(III) par voie solide. De plus, l'utilisation de précurseurs de fer de divers degrés d'oxydation et les recuits sous différentes atmosphères lors de la réaction par voie solide devraient permettre un contrôle plus précis du DO de l'élément de transition.

IV.2. Hydroxyapatites substituées au fer synthétisées par voie solide

Les traitements thermiques précédents prouvent que la réaction par voie solide entre l'HA et les oxydes de fer se produit au-delà de 1000°C. Une HA de rapport Ca/P stœchiométrique est donc utilisée en tant que précurseur afin d'éviter toute décomposition en TCP autour de 800°C. La synthèse des HA substituées au fer par voie solide est réalisée via des traitements thermiques à haute température sur des pastilles contenant un mélange de poudres d'HA stœchiométrique et de divers précurseurs de fer (oxydes de fer Fe_2O_3 et Fe_3O_4 , sel de Mohr et acétate de fer). Les pastilles contenant des ions Fe^{2+} sont calcinées sous argon afin de limiter leur oxydation. La réduction des ions Fe^{3+} à haute température doit également être prise en considération. En effet, selon le diagramme d'Ellingham du fer (Figure 69), la réduction du fer(III) peut avoir lieu autour de 1480°C sous air ($P_{\text{O}_2} = 0,2$ atm) et de 1150°C sous argon ($P_{\text{O}_2} = 10^{-4}$ atm). Notons que les températures du diagramme d'Ellingham sont établies pour des temps longs (pas d'impacts cinétiques) et considèrent des transformations entre oxydes de fer purs (Fe_2O_3 , Fe_3O_4 et FeO). Les températures d'oxydo-réduction peuvent être altérées en conditions réelles, les températures extraites des diagrammes d'Ellingham ne sont donc que des indications des gammes de températures potentielles des phénomènes d'oxydo-réduction qui peuvent être observés. Une attention particulière sera donc portée sur la vérification du DO de l'élément fer. Les traitements thermiques haute température employés ici peuvent en effet provoquer des oxydo-réductions $\text{fer(II)} \leftrightarrow \text{fer(III)}$.

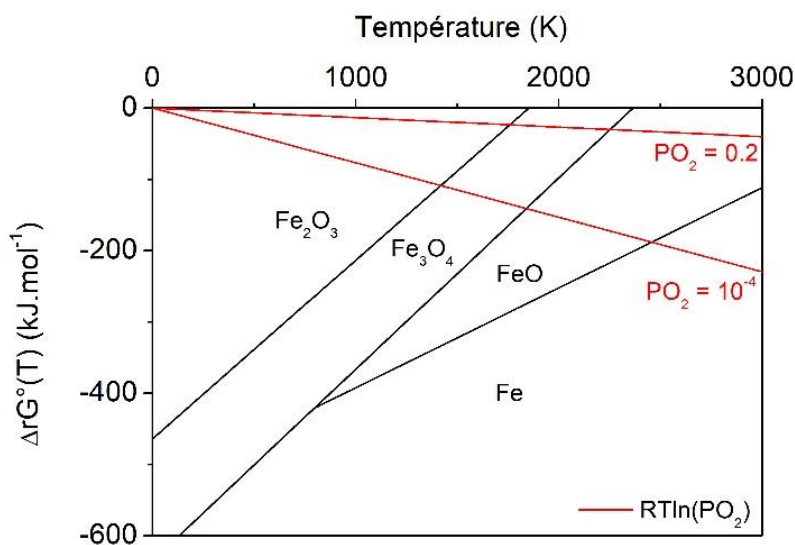


Figure 69 : Diagramme d'Ellingham du fer ainsi que les droites $RT \ln(P_{\text{O}_2})$ tracées pour $P_{\text{O}_2} = 0,2$ et 10^{-4} atm

IV.2.1. Détermination de la température de réaction HA-précurseurs de fer

IV.2.1.1. Analyse ATG-ATD

Dans un premier temps, la température de réaction entre l'HA et les précurseurs de fer est déterminée via des mesures ATG (Figure 70). Un mélange de poudres HA-précurseur de fer (80 - 20% en masse) est ainsi chauffé jusqu'à 1500°C (rampe 20°C/min), sous air dans le cas de Fe₂O₃ et sous argon dans les trois autres cas.

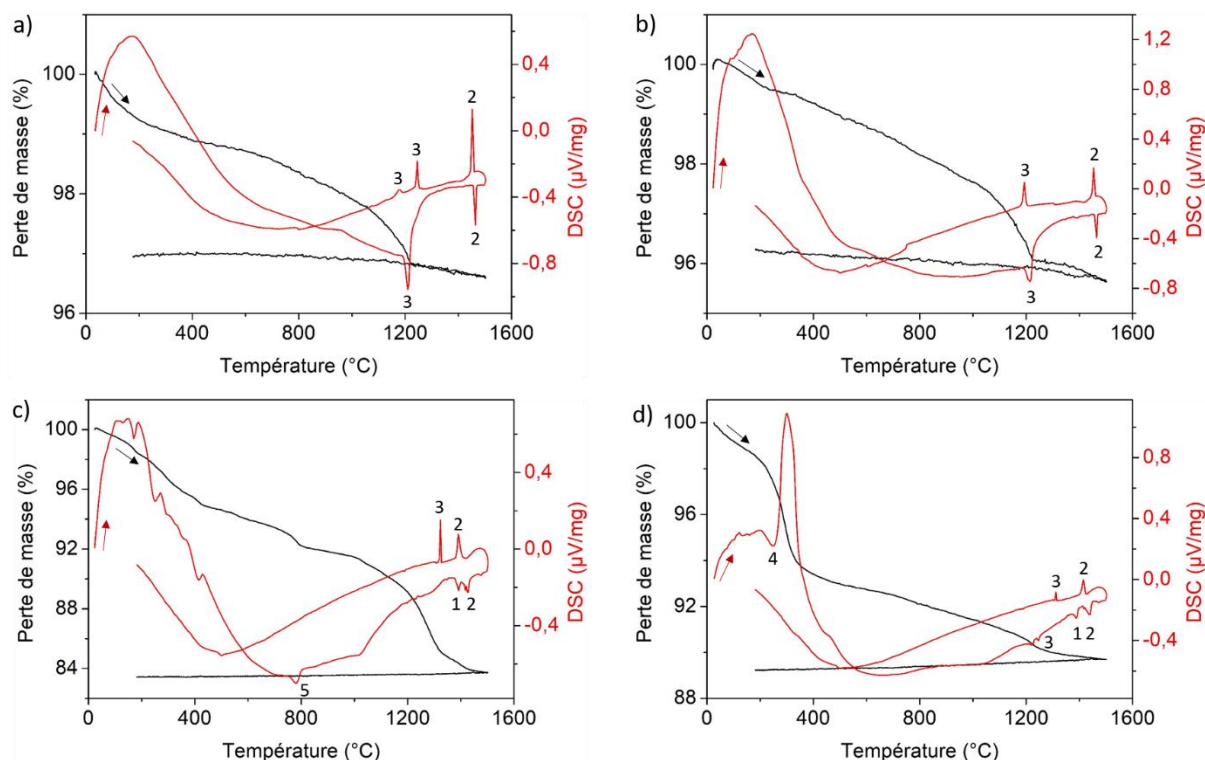
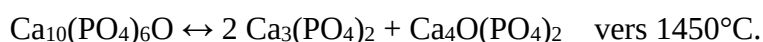


Figure 70 : Courbes ATG et DSC de mélanges de poudres HA-précurseur de fer (80:20) avec comme réactif Fe₂O₃ (a) Fe₃O₄ (b), le sel de Mohr (c) et l'acétate de fer^{II} (d)

Lors d'un cycle de chauffage/refroidissement à très haute température, rappelons que l'HA présente typiquement une déshydratation endothermique (pics n°1) suivie d'une décomposition réversible, endothermique au chauffage et exothermique au refroidissement (pics n°2), selon les équations ci-dessous [42], [43].



Dans le cas des mélanges HA - oxydes de fer (Fe₂O₃ ou Fe₃O₄), seul le phénomène associé à la décomposition de l'HA en α -TCP et TTCP Ca₄O(PO₄)₂ est observée à 1455°C, alors que

les deux phénomènes sont visibles pour les mélanges HA - sels de fer(II). L'incorporation de fer au degré d'oxydation +III impacte donc la déshydratation des HA. Dans une première hypothèse, on peut penser que sur le plan de l'électroneutralité, l'insertion de fer(III) dans l'HA va limiter davantage le taux d'OH au profit d'ions O^{2-} par rapport au fer divalent. Chaque ion Fe^{3+} introduit dans l'HA substituerait 3 H^+ contre seulement 2 dans le cas des ions Fe^{2+} . Ce point sera rediscuté ultérieurement. Le degré d'oxydation du fer pourrait également jouer un rôle sur la stabilisation de la phase apatitique, la réaction de décomposition de l'HA semblant plus importante en présence d'ions Fe^{3+} que d'ions Fe^{2+} .

Les phénomènes d'incorporation du fer au sein de l'HA sont malheureusement peu visibles en ATG/ATD : ils ne sont associés qu'à de faibles pertes de masse et les incorporations étant progressives sur de larges plages de températures, les flux endothermiques ou exothermiques associés sont très diffus. *A priori*, ces réactions donnent lieu typiquement aux larges phénomènes endothermiques observés, en régime de montée en température, sur la gamme de température s'étendant de 600 à 1200°C.

Pour tous les mélanges, la teneur initiale en fer est très importante par rapport aux taux qui peuvent être incorporés dans l'HA. Ainsi, les pics additionnels observés entre 1200 et 1300°C, endothermiques au chauffage et exothermiques au refroidissement (pics n°3), peuvent *a priori* être attribués à des oxydo-réductions du fer en excès. Dans le cas des deux oxydes, ces pics sont associés à la réduction d'ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} qui n'ont pas réagi avec l'HA lors de la montée en température et à la réoxydation des ions Fe^{2+} , lors du refroidissement. En effet, comme mentionné précédemment, la réduction partielle des ions Fe^{3+} est possible au-delà d'une certaine température dépendant de l'atmosphère utilisée. Les températures observées ne sont pas en contradiction avec les oxydo-réductions fer(III) – fer(II) prédites par les diagrammes d'Ellingham pour une pression partielle d'oxygène de 0,2 (traitement sous air).

Concernant le mélange HA-acétate de fer(II), des pics similaires, en plus faibles proportions que pour les mélanges contenant les oxydes, sont observés lors de la montée et de la descente en température. Une faible quantité d'ions Fe^{3+} est donc probablement initialement présente au sein du précurseur de fer. Le premier pic endothermique (pic n°4) suivi d'un important phénomène exothermique autour de 300°C correspond à la décomposition du sel.

Enfin, en présence de sel de Mohr, un pic endothermique avec un maximum à 780°C est observé lors de la montée (pic n°5). Cette température est caractéristique de la décomposition de l'HA en β -TCP qui a été confirmée par DRX après traitement thermique à 1200°C d'une

pastille contenant 16% massique de sel de Mohr. La substitution partielle de groupements phosphate PO_4^{3-} par des groupements sulfate SO_4^{2-} au sein de l'apatite pourrait être à l'origine de cette déstabilisation. Le pic n°3 est associé à l'oxydation des ions Fe^{2+} en excès lors du refroidissement.

Au vu des résultats, le sel de Mohr, associé à la décomposition de l'HA en β -TCP dès 780°C , n'est pas retenu en tant que précurseur de la synthèse d'HA dopée au fer. Dans les autres cas, la réaction entre l'apatite et le précurseur semble démarrer entre 600 et 1000°C et se terminer entre 1200 et 1250°C . Contrairement au cuivre qui stabilise l'HA jusqu'à des températures d'au moins 1500°C , le fer et plus particulièrement le fer(III), n'empêche pas la réaction de décomposition réversible de l'apatite à 1450°C . La position et ou la nature des éléments dopants au sein de l'apatite jouent donc un rôle dans la stabilisation de la phase.

IV.2.1.2. Diffraction des rayons X en température de la réaction HA – Fe_2O_3

Des analyses par DRX en température *in situ* sont réalisés sur une pastille contenant un mélange de poudres HA- Fe_2O_3 (3,8% en masse). La présence des deux phases est observée jusqu'à 1100°C (Figure 71). Quelques traces d'oxyde de fer sont encore visibles à 1150°C ce qui est en accord avec la température de fin de réaction autour de 1200 - 1250°C approchée par ATG couplée à l'ATD. Aucune autre phase secondaire n'est identifiée sur les diffractogrammes. Des phases pures d'hydroxyapatites dopées fer(III) peuvent donc être synthétisées par réaction par voie solide à des températures avoisinant 1150 - 1200°C .

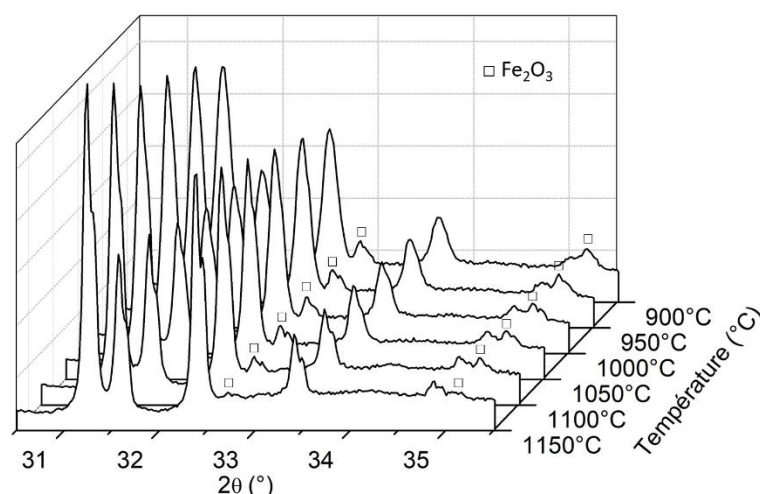


Figure 71 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) en température *in situ* sur une pastille contenant un mélange de poudre HA- Fe_2O_3 (3,8% en masse).

Dans la suite, la pureté des phases et la localisation du fer dans la structure apatitique sont étudiées pour chacun des précurseurs. Dans un premier temps, des caractérisations physico-chimiques diverses permettent de préciser l'influence de l'insertion du fer sur la structure apatitique avec la température de recuit (pureté phasique des poudres, paramètres de maille de l'HA, spectres FTIR). Dans un deuxième temps, la comparaison des propriétés optiques et de la structure des différentes phases via des caractérisations plus « avancées » (spectroscopie RPE, spectroscopie Mössbauer, spectroscopie RMN ^1H et ^{31}P , réflexion diffuse), est effectuée afin de déterminer les sites d'introduction des ions fer et les degrés d'oxydation de ceux-ci sur ces différents sites interstitiels ou de substitution.

IV.2.2. Hydroxyapatites substituées au fer(III)

IV.2.2.1. Synthèse

Les HAs substituées au fer(III) sont synthétisées par réaction par voie solide entre une HA stœchiométrique et l'oxyde de fer Fe_2O_3 . Plusieurs températures de calcination et taux de dopant sont étudiés afin d'évaluer leur influence sur la pureté du produit final. Les taux de fer $x = 0,25$; $0,5$ et $1,0$ sont visés dans la formule générale $\text{Ca}_{10}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6\text{O}_y\text{H}_z$. Des pastilles contenant les différents mélanges de poudres sont ainsi calcinées entre 1000 et 1400°C durant 1 h (rampe $10^\circ\text{C}/\text{min}$). Les échantillons seront respectivement dénommés $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_x$ (VS pour voie solide et x le taux de fer).

Des phases pures d'HA substituées au fer(III) sont identifiées par DRX pour des températures de préparation entre 1100 et 1300°C pour un taux de fer $x = 0,25$ (Figure 72a), uniquement après calcination à 1100°C pour $x = 0,5$ (Figure 72b) et jamais, pour un taux $x = 1,0$ (Figure 72c). La réaction entre l'HA et Fe_2O_3 se produit donc à une température légèrement inférieure à celle établie par ATG et DRX en température. Comme explicité dans le chapitre sur les HA dopées au cuivre, cette différence de température est liée à la cinétique de montée en température utilisée en ATG. Pour la phase contenant le taux de fer le plus élevé, la présence de deux phases riches en calcium et en fer à 1300 et 1400°C , $\text{Ca}_2\text{Fe}_2\text{O}_5$ et CaFe_2O_4 , signifie que la limite de solubilité du fer dans l'apatite a été dépassée.

Les pics liés à l'hématite disparaissent à des températures d'autant plus élevées que le taux de fer du mélange initial augmente tandis que des phases secondaires de TCP se forment à des températures d'autant plus basses : 1400°C pour $x = 0,25$ contre 1200°C pour $x = 1,0$. L' α -TCP et un composé de type phosphate tricalcique présentant un système orthorhombique sont alors identifiés en DRX. La présence pour $x = 1$ de phases secondaires riches en calcium,

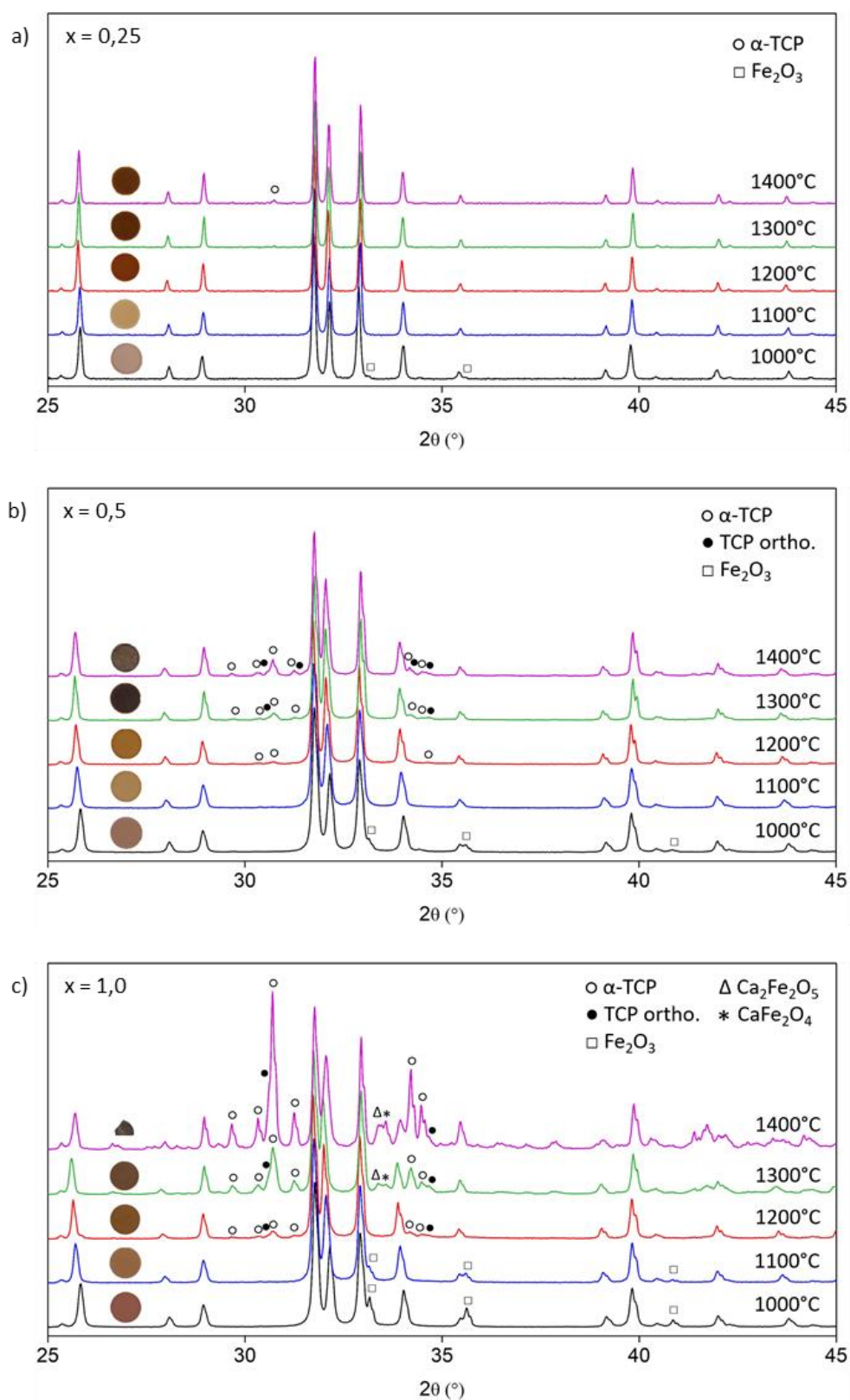


Figure 72 : Diffractogrammes DRX des poudres $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_x$ calcinées à différentes températures ($\text{CuK}\alpha_1$ pour $x = 0,25$ (a), $\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$ pour $x = 0,5$ (b) et 1,0 (c))

bien que la synthèse ait été réalisée avec un rapport $\text{Ca/P} = 10/6$, semble démontrer que l'insertion du fer dans l'HA est liée à un départ concomitant d'ions calcium de la structure apatitique. Cependant, la quantité grandissante de TCP, phases « pauvres en calcium » ($\text{Ca/P} = 3/2$ pour le phosphate tricalcique pur à comparer au rapport $10/6$ dans l'HA), avec l'augmentation du taux de fer tend à contredire cette hypothèse. Quoiqu'il en soit, il est clair que l'incorporation d'ions fer(III) au sein de l'HA s'accompagne d'un fort stress au niveau des équilibres de charges cations-anions à respecter au sein de l'HA. Les expériences menées avec un taux de fer au-delà de la limite de solubilité dans l'HA ($x = 1$) montrent clairement la complexité de la situation, avec une expulsion conjointe de calcium et de groupements phosphates de la structure apatitique pour former en compensation de l'accueil d'ions Fe^{3+} , des phases secondaires phosphates tricalciques et des phases riches en calcium.

Des HA substituées au fer(III) pures dans la limite de détection des DRX ont ainsi été synthétisées par réaction par voie solide pour un taux de fer $x \leq 0,5$ et des températures de calcination intermédiaires ($1100 - 1200^\circ\text{C}$). A plus hautes températures ou pour des quantités de dopant plus élevées, l'insertion du fer dans la structure apatitique est associée au départ de plusieurs ions de la structure formant à la fois des phases secondaires riches et pauvres en calcium à des températures d'autant plus basses que le taux de dopant croît. La substitution d'un ion Ca^{2+} par un ion Fe^{3+} , de DO supérieur, pourrait être à l'origine de réarrangements importants au sein de la structure apatitique.

IV.2.2.2. Influence de l'insertion du fer(III) sur la structure de l'apatite

L'influence de l'insertion du fer(III) sur la structure de l'HA est étudiée via le calcul des paramètres de maille de la phase d'apatite (Figure 73) et les spectres FTIR (Figure 74) réalisés en fonction du taux de dopant et de la température de calcination.

On constate que les paramètres de maille de l'HA pure restent constants avec l'augmentation de la température tandis que le paramètre a et le paramètre c des HA dopées respectivement diminue et augmente avec la température de calcination. La stabilisation des paramètres de maille semble se faire à des températures d'autant plus élevées que le taux de dopant est important. Le paramètre c se stabilise à 1200°C pour $x = 0,25$ contre 1300°C pour $x = 0,5$. De même, la stabilisation du paramètre a n'est observée que pour $x = 0,25$ autour de 1200°C tandis que ce paramètre est en évolution jusqu'à 1400°C pour des taux supérieurs. On constate également qu'à une température de recuit donnée, le paramètre c augmente avec la

quantité de dopant tandis que le paramètre a diminue avec ce taux, notamment pour des températures supérieures à 1300°C.

Ces variations avec le taux de dopant confirment ainsi l'insertion du fer dans la structure apatitique, avec un taux d'insertion qui croît progressivement avec la température. Contrairement à la synthèse par coprécipitation FeCP01 pour laquelle la substitution des ions Ca^{2+} par les ions Fe^{3+} entraînait une augmentation du paramètre a et une diminution du paramètre c , ici l'inverse est observé suggérant que le dopant ne se situe probablement pas dans les mêmes sites d'insertion, et donc ne produit pas les mêmes mécanismes de compensation de charges, que lors de la coprécipitation.

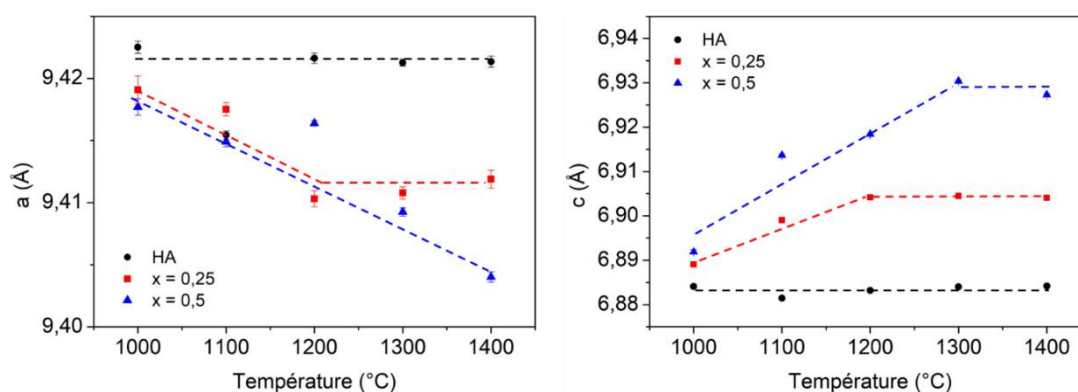


Figure 73 : Evolution des paramètres de maille des poudres $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_x$ en fonction de la température de recuit et du taux de dopant

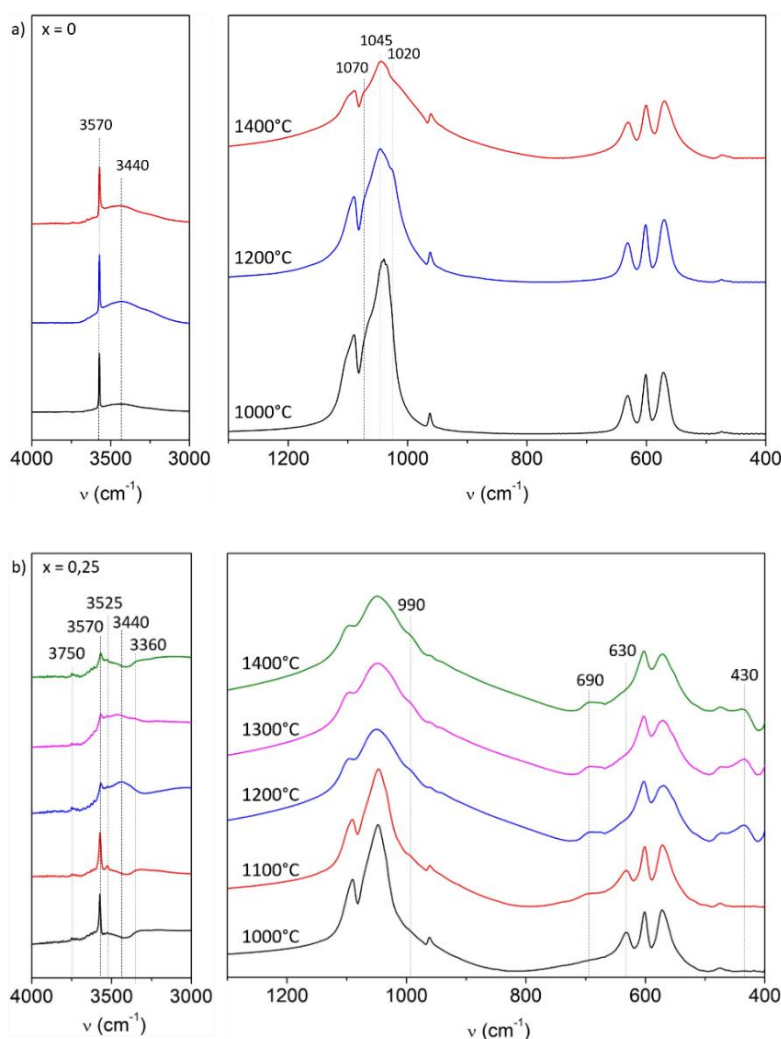
Pour évaluer l'influence de l'insertion du fer au sein de l'apatite sur les liaisons environnantes, des analyses FTIR sur l'HA pure et les FeHAX calcinées à différentes températures ont été effectuées. Des zooms ont été réalisés sur les régions des groupements phosphates et hydroxyles, les spectres complets étant présentés en Annexe 6.

Pour l'HA pure (Figure 74a), on retrouve jusqu'à 1400°C, les bandes de vibrations caractéristiques des groupements PO_4 et OH. Parmi les bandes de vibration ν_3 des phosphates, la bande à 1045 cm^{-1} devient majoritaire devant les deux autres (dans le cas des HA synthétisées par coprécipitation, on observait essentiellement la bande autour de 1030 cm^{-1}). Cette bande a déjà été observée au sein d'oxyhydroxyapatite et d'HA carbonatée [217], [244] et pourrait être due à une distorsion des groupements PO_4 .

Dans le cas des phases FeHAX (Figure 74b,c,d), on retrouve ces mêmes bandes et de nouvelles apparaissent également. Pour le taux de fer le plus élevé, le dédoublement des pics dans les régions $550 - 600$ et $1000 - 1080\text{ cm}^{-1}$ marque la nette apparition de phosphate

tricalcique observé par DRX. La bande de vibration vers 690 cm^{-1} , apparaissant dès 1100°C quel que soit le taux de dopant, est attribuée, dans la littérature, à la vibration d'élongation de la liaison Fe-O dans le polyèdre FeO_5 [245]–[247]. De plus, la bande à 990 cm^{-1} , apparaissant à la même température, a déjà été observée au sein de phosphates à base de fer [248]–[250] et démontre donc l'insertion du fer au sein de l'apatite.

La légère diminution de l'intensité de la bande de vibration (déformation) des groupements OH à 3570 cm^{-1} avec le taux de fer, notamment après calcination à 1300 et 1400°C , pourrait indiquer une déshydroxylation croissante avec la quantité de dopant. Ceci est appuyé par la disparition de la bande à 630 cm^{-1} (élongation des OH), associée à l'apparition d'une bande à 430 cm^{-1} déjà observée au sein d'oxyhydroxyapatite [9]. D'après Eliott et al. [10], la déshydroxylation de l'HA entraîne l'apparition de deux nouvelles bandes à 475 et 430 cm^{-1} qui sont assignées à la vibration du groupement $\text{Ca}_3\text{-O}$. Leur intensité dépend de la composition chimique de la phase. Pour une déshydroxylation inférieure à 50%, la bande à 430 cm^{-1} , ayant une force de liaison faible, est plus intense que celle à 475 cm^{-1} et inversement pour une



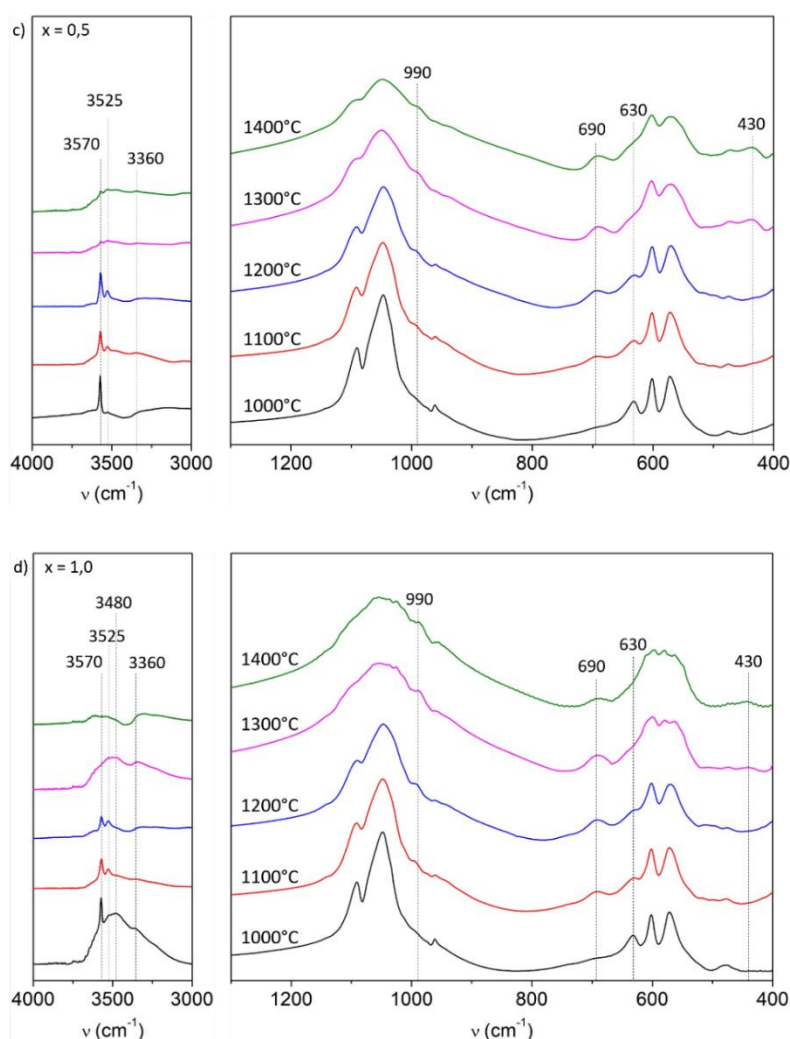


Figure 74 : Spectres FTIR de l'HA pure ainsi que des poudres $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_x$ élaborées par voie solide ($x = 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 1,0$) à différentes températures, zoomés sur les zones $400 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ et $3000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$

déshydroxylation supérieure à 50%. L'apparition de nouvelles bandes vers 3500 cm^{-1} indique que les groupements OH sont affectés par la présence de fer à leur proximité. Les ions Fe^{3+} se situeraient donc au sein des tunnels hexagonaux et substitueraient certains protons lors de leur insertion par voie solide au sein de la structure apatitique.

En résumé, l'évolution des paramètres de maille avec la température de calcination et l'apparition de bandes de vibration relatives aux liaisons Fe-O et « Fe- PO_4 » confirment l'insertion du fer au sein de la structure apatitique. Après recuit à haute température, l'augmentation du paramètre de maille c et la perturbation de l'environnement des groupements OH avec l'introduction d'un taux de fer croissant laissent penser que le fer se situe dans les tunnels hexagonaux, sa position exacte restant à déterminer.

IV.2.2.3. Localisation du fer(III) dans la structure apatitique

La position du fer(III) est déterminée à l'aide d'un affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme des rayons X de la poudre $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS0,5}$ calcinée à 1100°C (pure dans la limite de détection des DRX). Une cartographie de Fourier est ensuite réalisée sur le diffractogramme différence entre les diffractogrammes expérimental et théorique.

Dans un premier temps, l'affinement de Rietveld est effectué sans considérer la présence d'un atome de fer. Le diffractogramme simulé présente des facteurs d'accord d'environ 10% (Figure 75a) et des résidus de densité électronique plus importants sont visibles au niveau de la position de Wyckoff 12i (0, 0,14, 0,45). Le deuxième affinement de Rietveld est donc effectué en ajoutant un atome de fer à cette position. Les facteurs d'accord décroissent (Figure 75b) et les résidus de densité électronique deviennent très faibles et de répartition homogène (Figure 75c) confirmant l'insertion du fer à cette position. En considérant la valeur cible $x = 0,5$, le taux d'occupation du site 12i par les ions Fe^{3+} serait de $0,5/12 = 0,042$. Néanmoins, le taux d'occupation du fer, qui n'est que de 3% sur cette position de multiplicité 12, conduit à un taux molaire de 3,6% mol. (Tableau 22). Ce taux est relativement faible mais cohérent au regard du taux de fer visé de 5% mol., d'autant plus que 4,3% mol. de fer ont été dosés par ICP-OES. Par ailleurs, le site 6h du Ca(2) proche du site Fe(1) est très légèrement lacunaire et s'écrit approximativement $\text{Ca}_{5,7}\square_{0,3}$ au lieu de Ca_6 . Le taux de lacunes dans le site Ca(2) correspond sensiblement au taux de fer(III) inséré en site 12i.

Le site d'occupation du fer à 12 équivalents (pour des oxygènes O4 situés au milieu des triangles de calcium) est situé dans le tunnel hexagonal entre les atomes Ca(2) (Figure 76a) ce qui est cohérent avec l'évolution du paramètre de maille c et les résultats FTIR. Les valences des liaisons ont été calculées d'après la formule de Brown, explicitée dans le chapitre III. Le fer se trouve dans une position légèrement désaxée de l'axe c , à une distance des atomes de calcium supérieure à 2,83 Å, à l'exception d'un calcium se situant à 1,76 Å. Cette distance relativement courte entre ces deux cations ainsi que la distance avec l'hydrogène « premier voisin » sur l'axe c de 1,51 Å devraient entraîner la substitution de cet ion H^+ à proximité mais également de cet ion Ca^{2+} par un ion Fe^{3+} , en accord avec la création de lacunes sur le site Ca(2). Selon la côte z à laquelle se trouve le fer (la position de Wyckoff 12i correspondant à deux jeux de côte z), celui-ci peut substituer soit le calcium « au-dessus » (faible valeur z) lié à un groupement OH (Figure 76b) soit le calcium « au-dessous » (forte valeur z) lié à un oxygène non protoné (Figure 76c). Ainsi, deux environnements quelque peu différents autour du fer peuvent être envisagés pour un positionnement pourtant unique sur le site 12i.

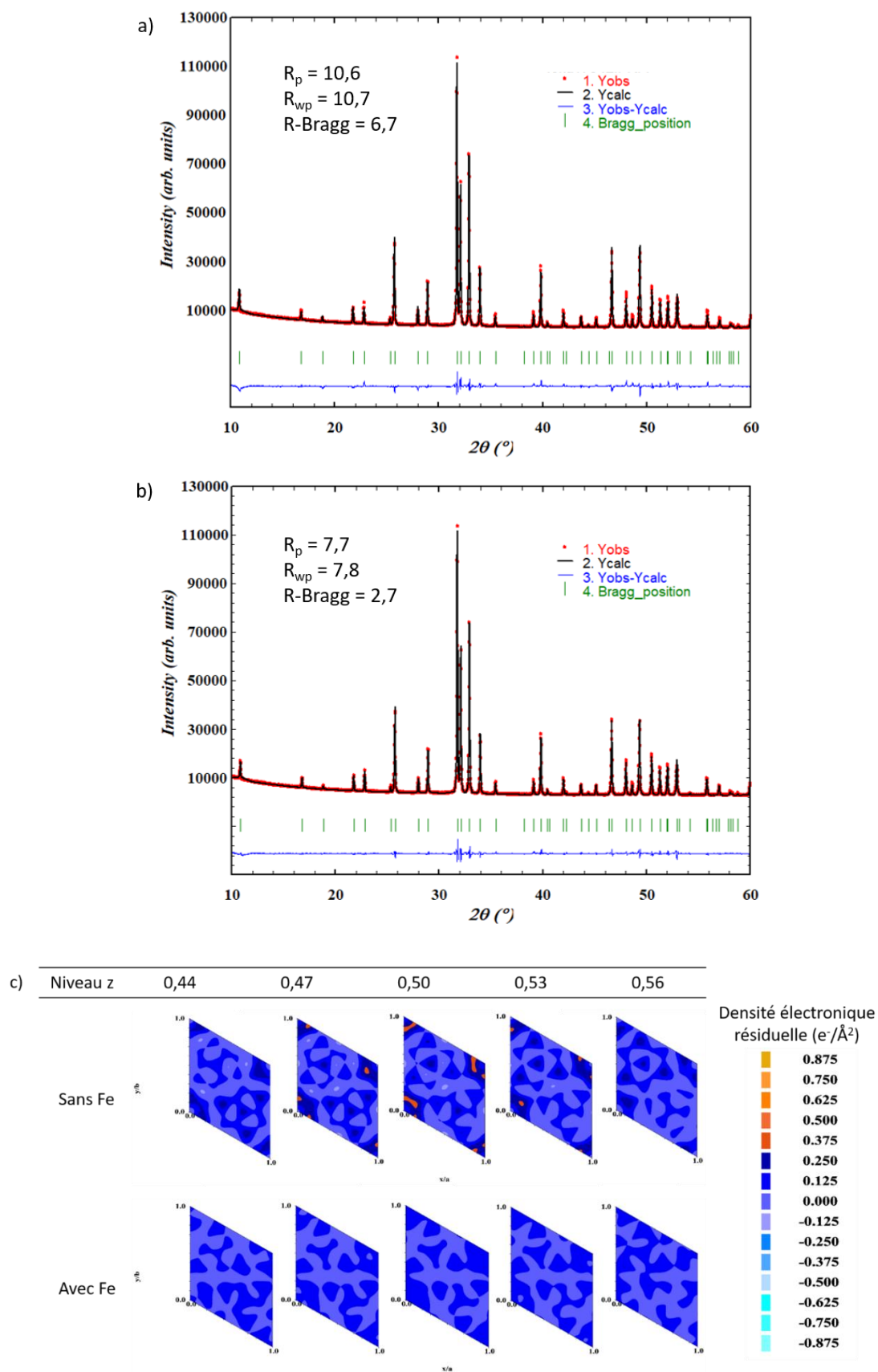


Figure 75 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1$) de la poudre $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_{0,5}$ calcinée à 1100°C affinés par la méthode de Rietveld sans (a) et avec un atome de fer (b) ainsi que les cartographies de Fourier associées pour différentes valeurs de z (c).

Tableau 22 : Positions atomiques issues de l'affinement de Rietveld du diffractogramme de la poudre Fe^{III}VS0,5-1100

Composé	Atome	Site	x	y	z	B _{iso}	Occ
Fe ^{III} VS0,5-1100 P6 ₃ /m a = 9,4129(4) Å c = 6,9118(3) Å V = 530,36(4) Å ³	Ca1	4f	1/3	2/3	0,001(1)	0,5	1
	Ca2	6h	0,2472(6)	0,9924(7)	¼	0,5	0,954(4)
	P1	6h	0,3966(9)	0,367(1)	¼	0,5	1
	O1	6h	0,325(2)	0,484(2)	¼	1,0	1
	O2	6h	0,585(2)	0,464(2)	¼	1,0	1
	O3	12i	0,339(1)	0,254(1)	0,072(1)	1,0	1
	O4	4e	0	0	0,201(5)	1,0	½
	H1	4e	0	0	0,0582	2,0	½
	Fe1	12i	0	0,143(8)	0,45(1)	0,5	0,030(2)

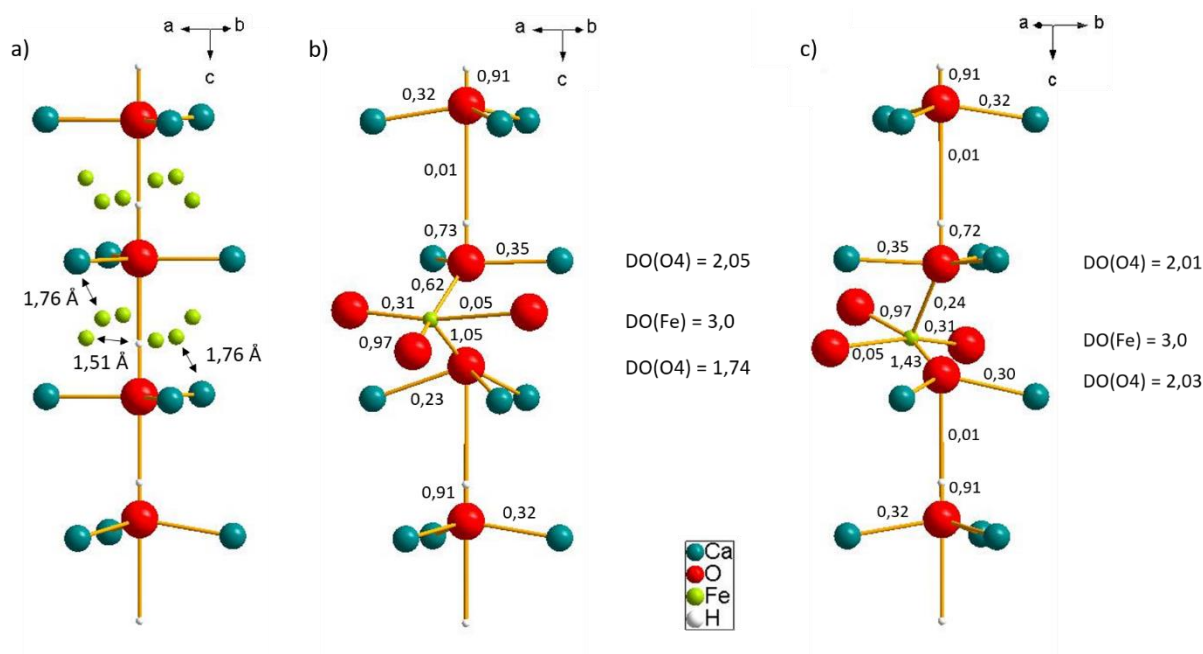


Figure 76 : Structures Diamond de l'axe hexagonal de l'HA dopée au fer(III) : site d'occupation du fer ainsi que les distances fer-cation les plus courtes (a) ; substitution d'un calcium lié à un groupe OH (b) ou d'un calcium lié à un ion O²⁻ déprotoné (c) avec rapprochement des atomes O4 vers le fer pour atteindre la valence théorique du dopant de +III

Il faut noter que les positions des oxygènes sont des positions moyennes établies sur l'ensemble de la structure. Au niveau local, les positions de ces anions autour du fer vont être modifiées afin de satisfaire la valence de cet ion en insertion et des éléments autour de ce défaut d'insertion. Par exemple, une simulation de rapprochement vers le fer des atomes d'oxygènes O4, assez labiles le long de l'axe hexagonal, permet, sans qu'il y ait d'incompatibilité géométrique, d'atteindre facilement la valence théorique du dopant de +III. Le fer se trouverait alors au sein d'une pyramide à base carré, entouré de 5 atomes d'oxygène : deux sur l'axe hexagonal et trois autres impliqués dans les groupements PO₄. Le fer pourrait également être

considéré dans un site tétraédrique au vu de la valence de liaison proche de zéro (0,05) d'une des liaisons Fe-O. On constate néanmoins que dans le premier modèle (Figure 76b), le DO de l'oxygène O²⁻ (1,74) est un peu éloigné de son DO théorique de +II. Ainsi, dans la réalité, un réarrangement plus complexe des atomes autour du fer, notamment des oxygènes O3 associés aux groupements PO₄, pourrait avoir lieu afin de satisfaire les degrés d'oxydation de l'ensemble des atomes impactés.

Ainsi, la réaction par voie solide entre l'oxyde de fer Fe₂O₃ et l'HA stœchiométrique conduit à l'insertion des ions Fe³⁺ au sein de l'apatite à la position de Wyckoff 12i (0, 0,14, 0,45). Le site d'occupation du fer, situé entre les triangles formés par les calciums Ca(2), mais proche d'un des sommets de ces triangles, entraîne donc très certainement le départ d'un ion Ca²⁺ et d'un ion H⁺ sur l'axe hexagonal, en notant la présence de lacunes cationiques sur le site Ca(2) après affinement Rietveld. Bien qu'une seule phase ait été détectée par diffraction des rayons X, des impuretés minoritaires amorphes (ou cristallisées en dessous des seuils de détection) doivent être envisagées. L'utilisation de fer à un degré d'oxydation plus faible (+II), pourrait avoir un effet sur la pureté de la phase apatitique. Des HA substituées à la fois avec des ions fer(III) et fer(II) ont donc été synthétisées.

IV.2.3. Hydroxyapatites substituées au fer(II) et au fer(III)

IV.2.3.1. Synthèse

Les HA substituées au fer(II) et au fer(III) sont synthétisées par réaction en voie solide entre une HA stœchiométrique et différentes quantités de magnétite Fe₃O₄. Les mêmes traitements thermiques et les mêmes taux de fer que dans la synthèse Fe^{III}VS sont ciblés. La formule hypothétique Ca₁₀Fe_x(PO₄)₆O_yH_z est ainsi visée. Les échantillons sont ici référencés respectivement Fe^{II/III}VS_x.

En DRX, des phases apatites pures sans phases secondaires cristallisées sont identifiées entre 1100 et 1300°C pour les deux taux de fer les plus faibles x = 0,25 et x = 0,5 (Figure 77). Pour le taux le plus élevé (x = 1,0), la présence de magnétite et de la phase Ca₂Fe₂O₅ à haute température prouve que la limite de solubilité du fer dans l'HA a été dépassée. De plus, quel que soit le taux de dopant, la présence de TCP est détectée à 1400°C. Toutefois la quantité formée de phases secondaires, riches et pauvres en calcium, est moindre en comparaison aux HA substituées au fer(III) uniquement. Il semblerait donc que l'extraction du calcium en dehors de la structure apatite soit moins importante que dans le cas de l'utilisation de Fe₂O₃, le fer(II)

occuperait donc probablement un site différent de celui du fer(III) au sein de la microstructure de l'HA, site qui n'exigerait pas de devoir extraire un ion calcium de la structure.

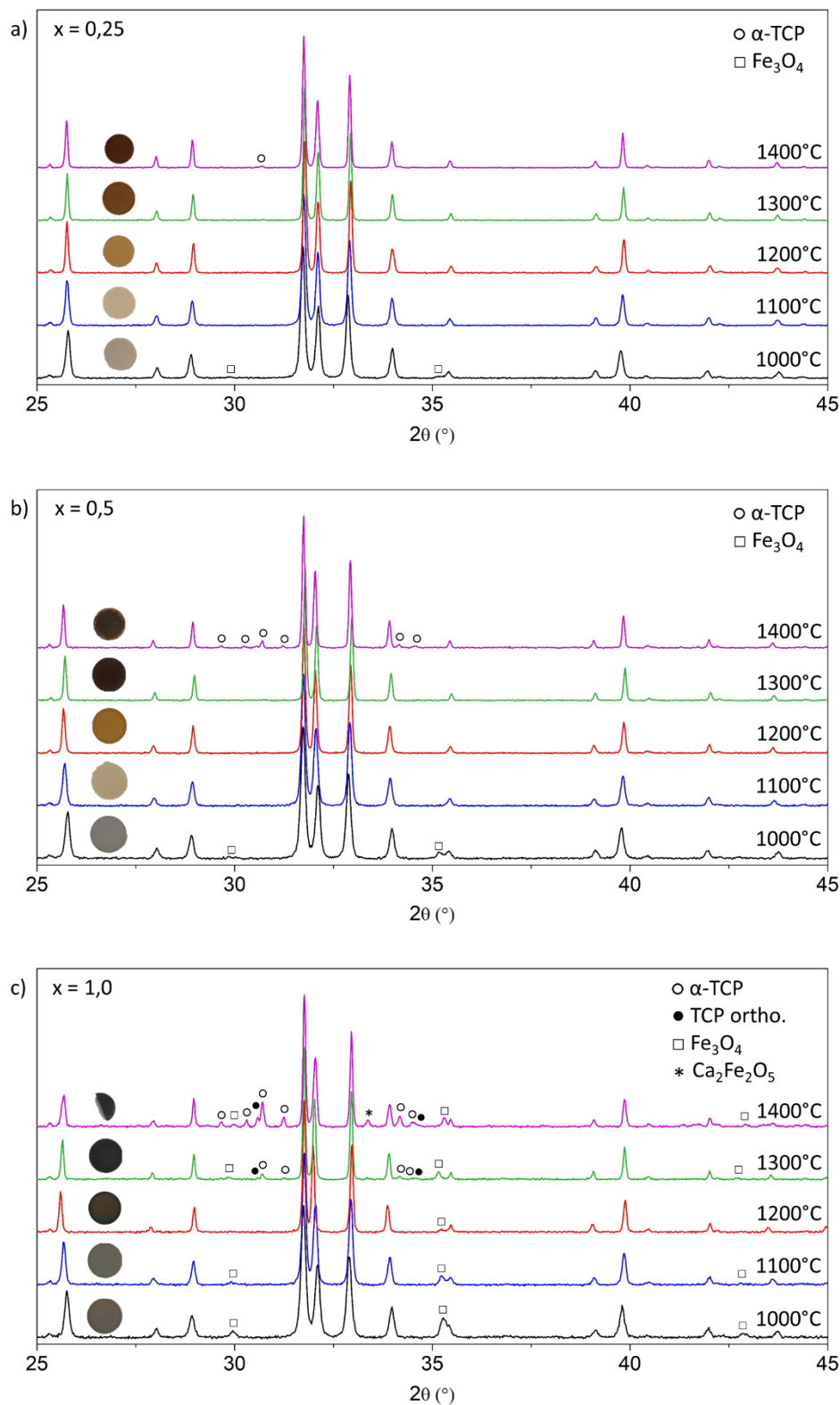


Figure 77 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1$) des poudres $\text{Fe}^{\text{III/III}}\text{VS}_x$ calcinées à différentes températures

IV.2.3.2. Influence de l'insertion des ions Fe^{2+} et Fe^{3+} sur la structure de l'apatite

Comme précédemment, les deux séries de plus bas taux en fer ont été analysées plus finement par diffraction des rayons X et spectroscopie FTIR. L'insertion du fer dans la phase apatitique est confirmée par le calcul des paramètres de maille (Figure 78). En effet, à une température de calcination donnée, le paramètre a diminue tandis que le paramètre c augmente avec le taux de dopant confirmant l'insertion grandissante du fer dans l'HA. Les paramètres de maille évoluent de la même manière avec l'augmentation de la température de calcination avant de devenir constants à 1200°C. Les phases synthétisées se stabilisent donc plus rapidement que dans le cas des substitutions au fer(III).

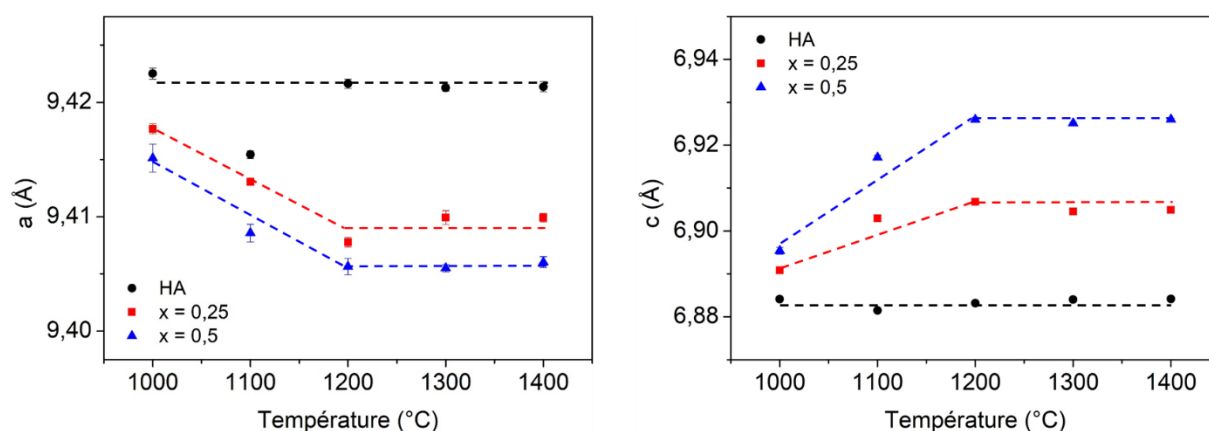
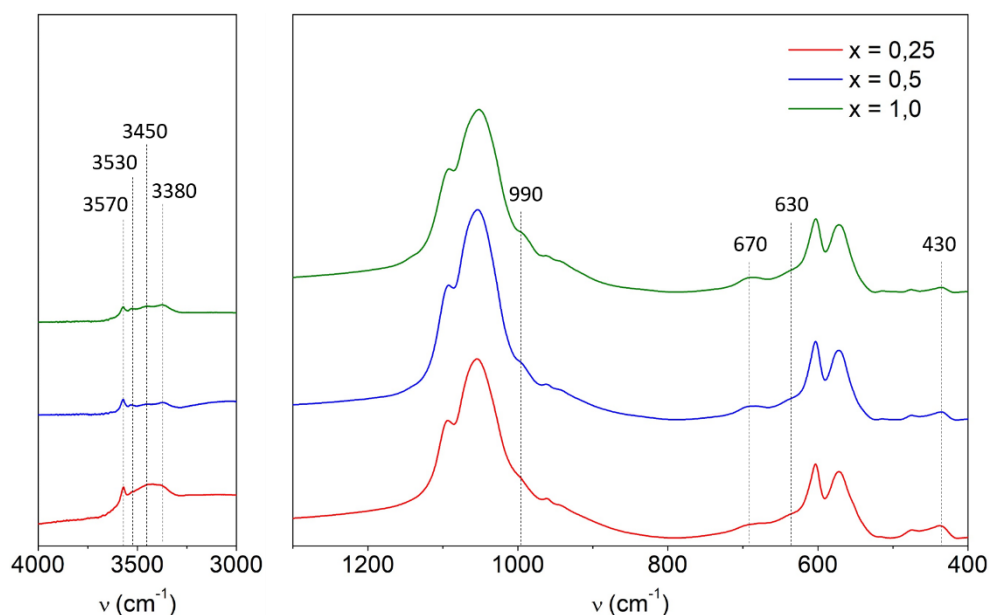


Figure 78 : Evolution des paramètres de maille des poudres $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}_x$ en fonction de la température et du taux de dopant

Les phases synthétisées après recuit à 1100°C ont été analysées par spectroscopie infrarouge. Sur les spectres FTIR zoomés (spectres complets en Annexe 8), la bande de vibration de la liaison Fe-O, observée à 685 cm^{-1} , et l'épaule vers 990 cm^{-1} (Figure 79), attribué à des groupements PO_4 à proximité du fer, certifient à nouveau l'insertion du fer au sein de l'HA. La diminution de l'intensité des bandes de vibration des groupements hydroxyles à 630 et 3570 cm^{-1} comparé aux composés $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_x$ (pour un taux de fer et une température de recuit identique) montre que le fer(II) substituerait une plus grande quantité d'ions H^+ que le fer(III). Son site d'occupation serait donc bien différent de celui du fer(III).

Ainsi, la réaction par voie solide entre l'HA stœchiométrique et la magnétite Fe_3O_4 conduit à la réduction des phases secondaires riches et pauvres en calcium et à la substitution accrue des atomes d'hydrogène comparée à la synthèse $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}$. Le fer(II) et le fer(III) occuperaient donc des sites différents au sein de l'apatite. Pour déterminer la position exacte des ions Fe^{2+} , des HA substituées uniquement au fer(II) sont synthétisées par voie solide.

Figure 79 : Spectres FTIR des poudres $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}_x$ calcinées à 1100°C

IV.2.4. Hydroxyapatites substituées au fer(II)

IV.2.4.1. Synthèse

Les HA substituées au fer(II) sont synthétisées par réaction par voie solide entre une HA stœchiométrique et de l'acétate de fer(II). Les mêmes traitements thermiques que précédemment sont réalisés et les taux de fer $x = 0,25$ et $x = 1,0$ sont visés dans la formule hypothétique $\text{Ca}_{10}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6\text{O}_y\text{H}_z$. Des phases pures d'HA dopées fer sont identifiées par DRX (Figure 80), quelle que soit la température de calcination pour $x = 0,25$ et entre 1200 et 1300°C pour $x = 1,0$. Pour ce dernier taux, la couleur grise foncée persistante des poudres à 1200 et 1300°C suggère qu'une phase secondaire, en quantité inférieure au seuil de détection des DRX, est toujours présente. De plus, de la chaux CaO est détectée à basse température de calcination (1000 et 1100°C). La formation de cette phase suggère la substitution d'une partie des ions Ca^{2+} par les ions Fe^{2+} . En revanche, une très faible quantité seulement d' α -TCP apparaît à 1400°C . Ces deux phases ne pouvant coexister, une réaction entre la chaux et des groupements phosphates de la structure apatitique pourrait être envisagée. La structure de l'HA est donc étudiée plus en détail dans la suite.

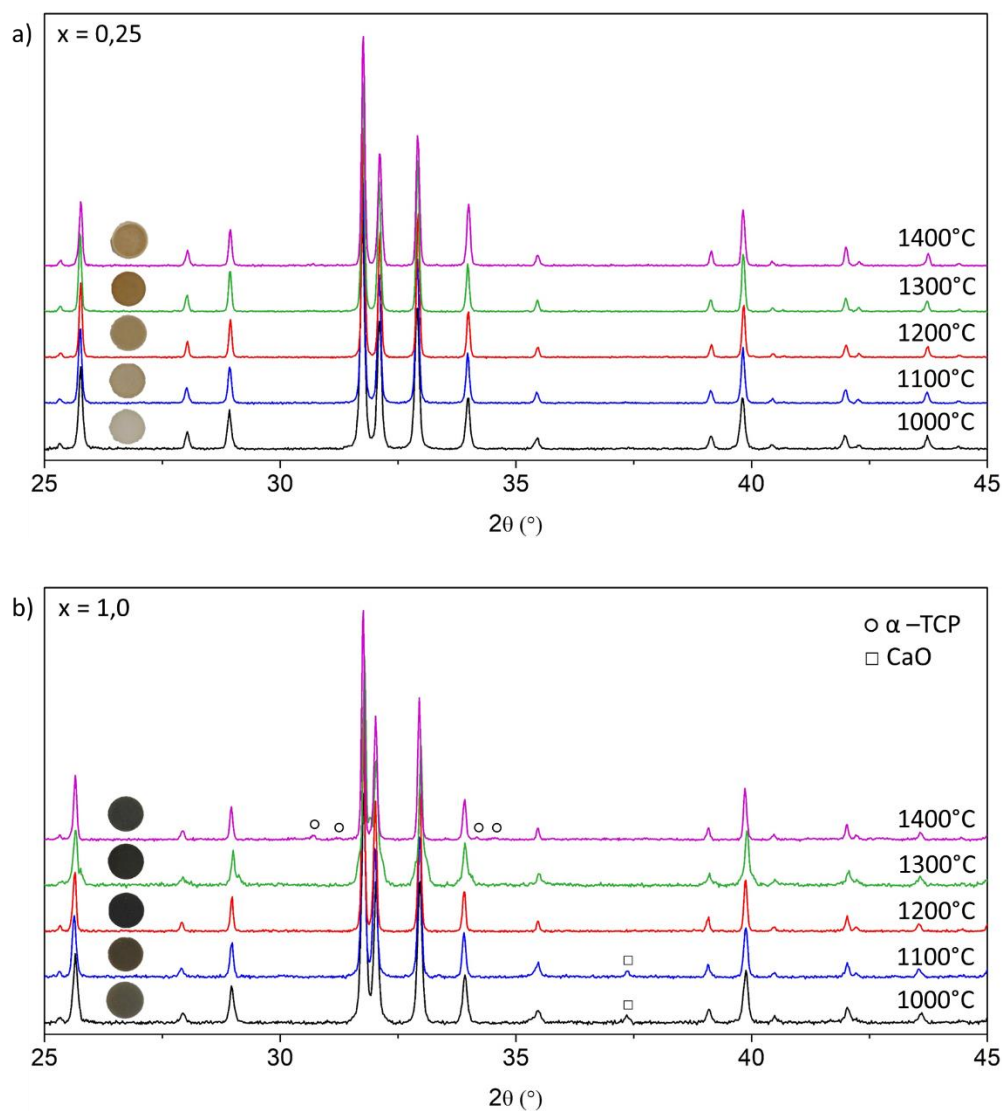
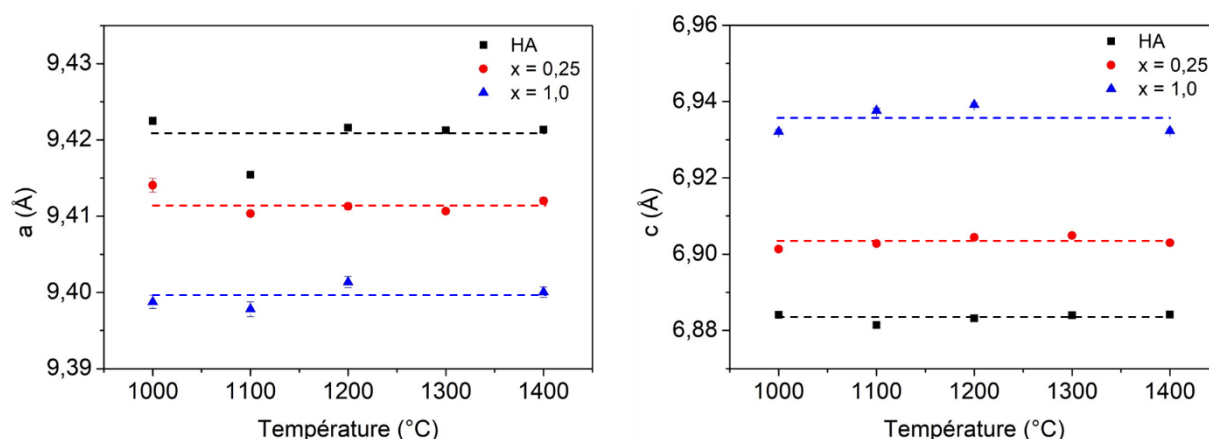


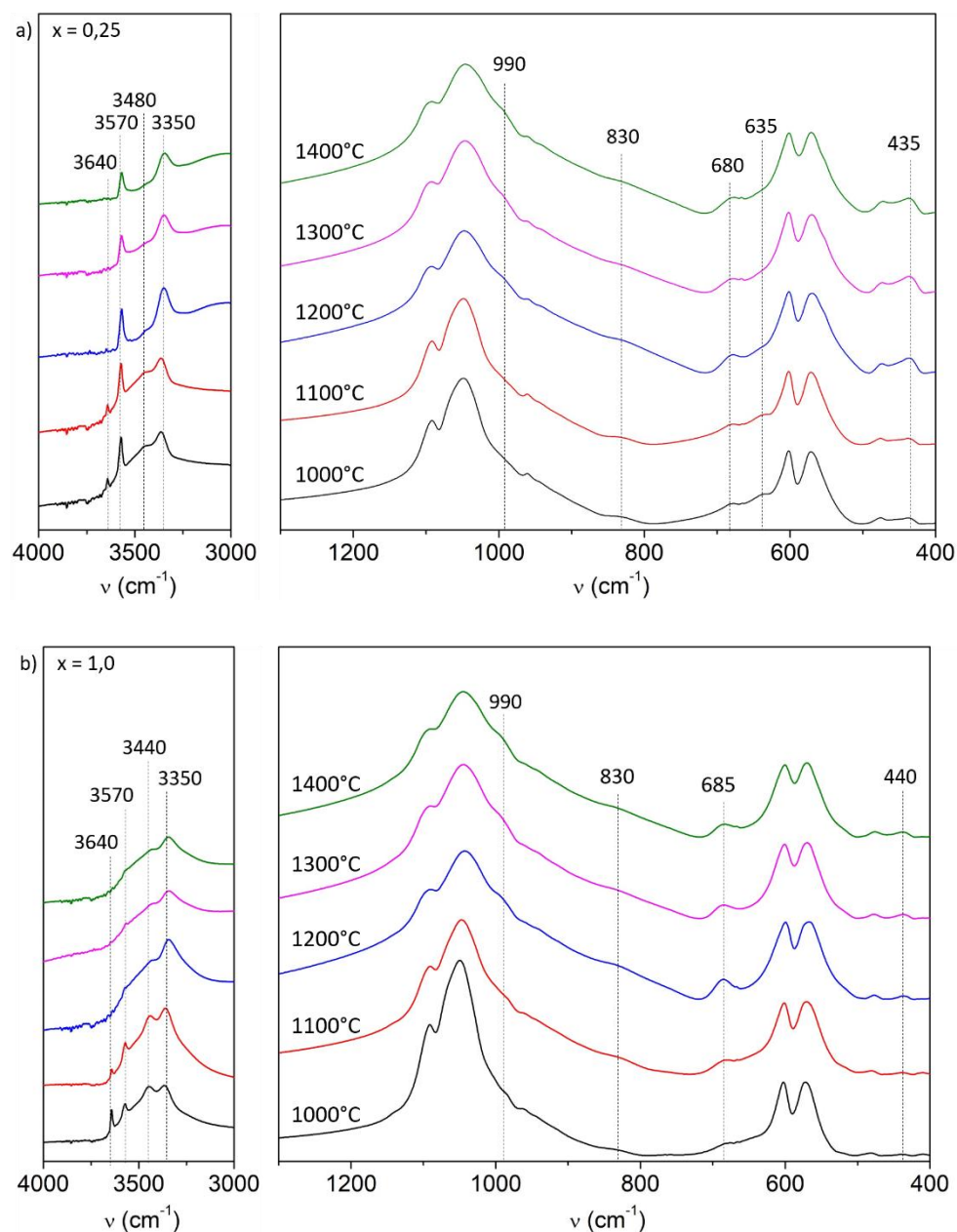
Figure 80 : Diffractogrammes des rayons X (CuK α 1) des poudre Fe^{II}VS_x calcinées à différentes températures

IV.2.4.2. Influence de l'insertion du fer(II) sur la structure de l'apatite

L'insertion du fer(II) dans la structure apatitique est confirmée par le calcul des paramètres de maille et les spectres FTIR. En effet, à une température donnée, le paramètre a diminue tandis que le paramètre c augmente avec la quantité de dopant. En revanche, contrairement aux synthèses précédentes, les paramètres de maille sont constants sur la gamme de température étudiée ce qui indique que la structure est stable dès 1000°C (Figure 81). Les ions fer(II) semblent donc être introduits plus facilement dans la structure que les ions fer(III).

Figure 81 : Evolution des paramètres de maille des poudres Fe^{II}VS_x en fonction de la température

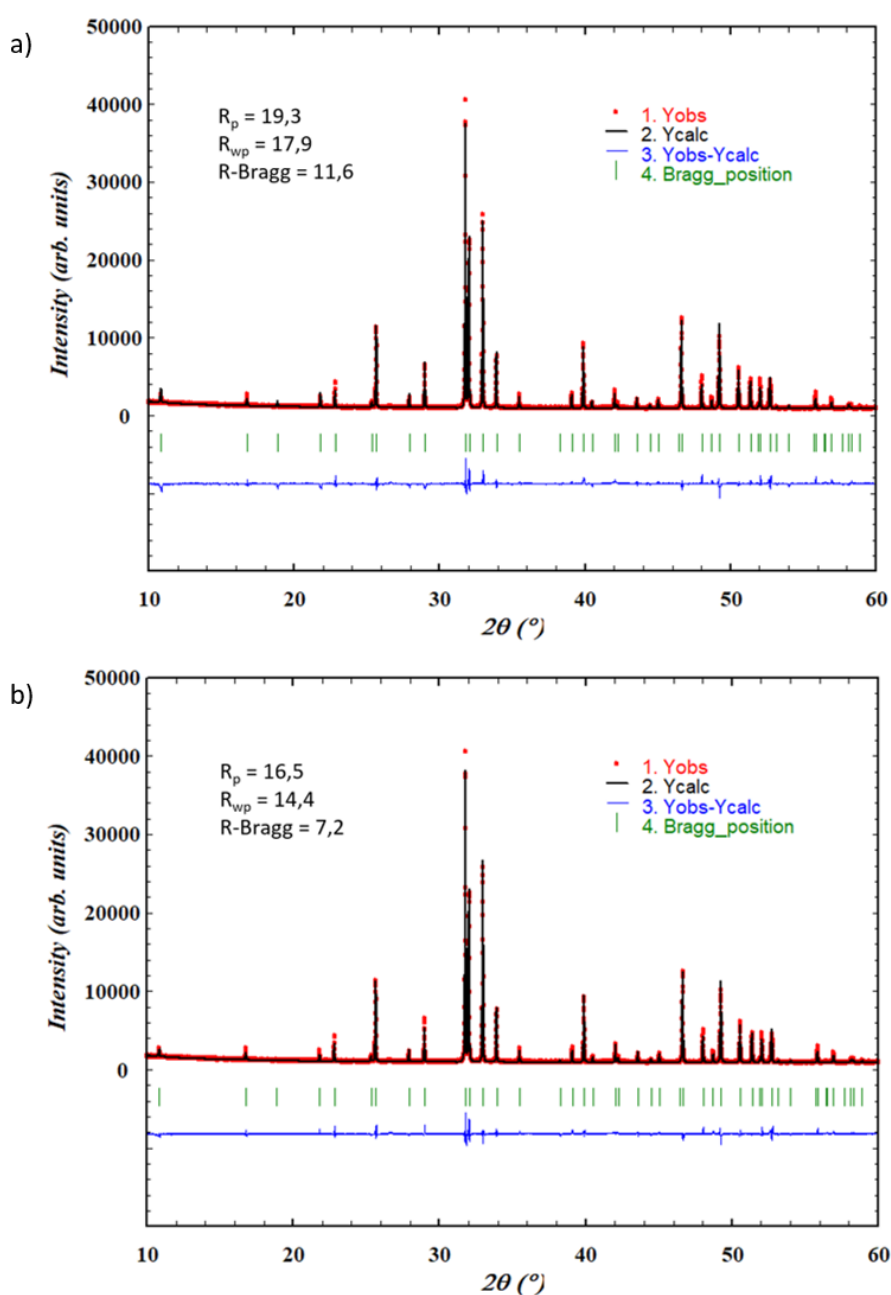
Sur les spectres FTIR zoomés (Figure 82, spectres complets en Annexe 9), en plus des bandes caractéristiques de l'HA, la bande de vibration de la liaison Fe-O à 670 cm^{-1} est à nouveau observée. De nouvelles bandes à 830 , 3340 , 3450 et 3565 cm^{-1} apparaissent également à cette température. La première est assignée à la bande de vibration de groupes Fe-O-H [10] tandis que les trois suivantes, similaires à celles observées dans les HA substituées au cuivre, sont attribuées aux groupements hydroxyles affectés par la présence d'ions Fe^{2+} à proximité. De plus, la disparition des bandes de vibration des groupements OH, caractéristiques de l'HA, à 630 et 3570 cm^{-1} dès 1200°C pour $x = 1,0$ montre la substitution des protons par le fer. Ceci est également confirmé par l'intensité de la bande à 430 cm^{-1} , associée à la présence d'ions O^{2-} , qui est inférieure à celle à 470 cm^{-1} pour $x = 1,0$ et indique donc une déshydroxylation supérieure à 50%. La modification de ces bandes démontre que le fer(II) s'insère à proximité des groupements hydroxyles, probablement donc au sein du tunnel hexagonal de la structure, substituant alors les protons les plus proches. Néanmoins, pour les deux taux de fer étudiés, la formation d'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (issu de l'hydrolyse de la chaux) après calcination à 1000 et 1100°C est illustrée par la bande à 3640 cm^{-1} . Celle-ci confirme le résultat DRX pour $x = 1,0$ et indique de manière paradoxale que du calcium peut toutefois aussi s'extraire de l'HA suite à l'introduction de fer. Le fer(II) serait donc à la fois en substitution des atomes d'hydrogène et de calcium. On peut aussi envisager que l'oxydation partielle du fer(II) en fer(III) serait à l'origine de l'observation de la démixtion et de la formation d'une faible quantité de chaux. Quoiqu'il en soit, la quantité formée de TCP très amoindrie par rapport à l'étude sur le fer(III) et l'apparition d'une bande de vibration associée à la liaison Fe-O-H sous-entendent que le fer(II) serait dans un site différent de celui du fer(III). Sa position précise reste à déterminer.

Figure 82 : Spectres FTIR des poudres $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_x$ en fonction de la température

IV.2.4.3. Localisation du fer(II)

La position du fer(II) est déterminée à l'aide d'un affinement par la méthode de Rietveld du diffractogramme des rayons X de la poudre $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_{1,0}$ calcinée à 1200°C. Une cartographie de Fourier est ensuite réalisée sur le diffractogramme différence. La même démarche que pour l'HA substituée au fer(III) est suivie : un premier affinement est effectué sans atome de fer (Figure 83a). Les facteurs d'accord sont supérieurs à 10% et des résidus de densité électronique sont visibles sur plusieurs zones (Figure 83c), le plus important d'entre eux étant localisé sur la position (0, 0, 0,25). Un atome de fer est donc rajouté à cette position dans le 2^e affinement (Figure 83b). Les facteurs d'accord diminuent et les résidus de densité électronique deviennent

plus faibles et homogènes. Quelques résidus, encore visibles à la même position que les ions Fe^{3+} (0, 0,14, 0,45), confirment l'oxydation partielle des ions Fe^{2+} observée en ATD. La substitution des ions Ca^{2+} par les ions Fe^{3+} explique le plus faible taux d'occupation du calcium sur le site Ca(2) (Tableau 23). Compte tenu de la valeur affinée du taux d'occupation du site 6h Ca(2), ce dernier peut se décliner sous la forme $\text{Ca}_{5,8}\square_{0,2}$ avec un taux de lacunes 5 fois plus faible que le taux de fer(II) ciblé ($x = 1,0$). De plus, le taux d'occupation du fer sur la position 2b, équivalent à un taux molaire de 6,2% mol. est loin des 10% mol. visés et des 9,3% mol. dosés par ICP-OES. Des ions Fe^{2+} ou Fe^{3+} sur d'autres sites en quantités minoritaires sont donc aussi présents au sein de l'HA.



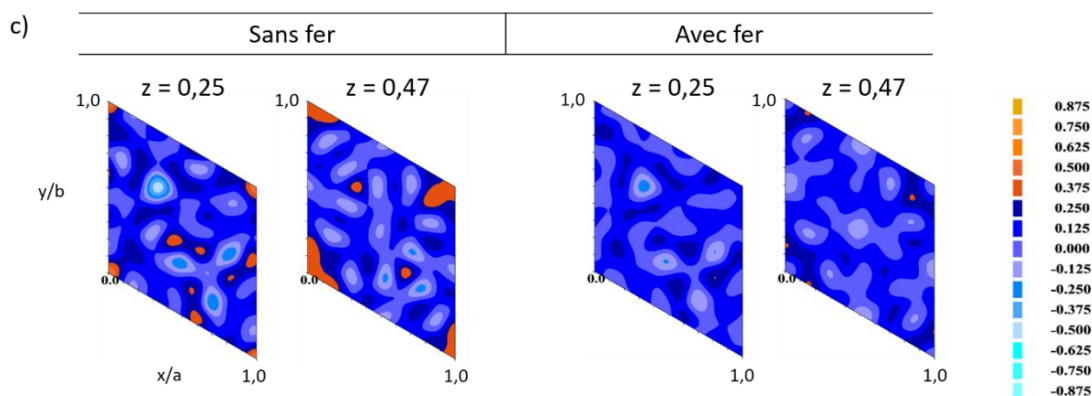


Figure 83 : Diffractogrammes des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1$) de la poudre $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_{1,0}$ calcinée à 1200°C affinés par la méthode de Rietveld sans (a) et avec un atome de fer (b) ainsi que les cartographies de Fourier associées (c)

Tableau 23 : Positions atomiques au sein de la phase $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_{1,0}$ calcinée à 1200°C

Composé	Atome	Site	x	y	z	B_{iso}	Occ
$\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_{1,0-1200}$ $\text{P6}_3/\text{m}$ $a = 9,40(4) \text{ \AA}$ $c = 6,9118(3) \text{ \AA}$ $V = 530,36(4) \text{ \AA}^3$	Ca1	4f	1/3	2/3	0,001(1)	0,5	1
	Ca2	6h	0,2461(7)	0,9929(8)	$\frac{1}{4}$	0,5	0,968(3)
	P1	6h	0,396(1)	0,366(1)	$\frac{1}{4}$	0,5	1
	O1	6h	0,330(2)	0,489(2)	$\frac{1}{4}$	1,0	1
	O2	6h	0,581(2)	0,461(2)	$\frac{1}{4}$	1,0	1
	O3	12i	0,343(1)	0,256(1)	0,071(1)	1,0	1
	O4	4e	0	0	0,0873(5)	1,0	$\frac{1}{2}$
	H1	4e	0	0	0,0582	2,0	$\frac{1}{2}$
	Fe1	2b	0	0	0,25	0,5	0,186(2)

La position (0, 0, 0,25) du fer(II) se situe au centre du triangle formé par les atomes de calcium Ca(2) et conduit à une très forte valence de liaison avec l'oxygène supérieur sur l'axe hexagonal : la valence de liaison calculée en ne considérant aucune réorganisation structurale est de 5,15. Un réarrangement important autour de l'atome de fer(II) est donc inévitable. On peut noter un assez grand degré de liberté dans l'arrangement des différents éléments au sein de ces canaux selon l'axe z : les ions H^+ , O^{2-} et Fe^{2+} en insertion sont en effet en partie labiles le long de cet axe z. Si les rayons X montrent que le fer(II) se localise majoritairement au sein de ces canaux, les positionnements exacts de ce dernier et des proches voisins sont difficiles à déterminer.

Ainsi sur le modèle Diamond (Figure 84), qui a été établi en considérant la substitution de deux atomes d'hydrogène par un atome de fer afin de respecter l'électroneutralité de la structure, l'éloignement du fer de l'oxygène supérieur O4 afin de réduire la forte valence et le rapprochement de l'oxygène inférieur permettent de satisfaire la valence +II du fer. Outre les

deux ions O^{2-} de part et d'autre du fer alignés selon l'axe z (avec deux distances Fe-O très courtes de 1,75 Å), les ions O3 des groupements phosphates pourraient également participer à la stabilisation du fer(II). En effet, contrairement à l'augmentation des paramètres de maille a et c observée dans le cas des phases CuHA élaborées par voie solide, ici, la réduction du paramètre de maille a de l'apatite et la coordinence linéaire peu favorable pour les ions Fe^{2+} haut spin laissent penser que les groupements phosphates se rapprochent de l'axe hexagonal, les ions O3 participant ainsi à la sphère de coordinence du fer. Le dopant pourrait ainsi posséder deux liaisons très covalentes avec les oxygènes O4 sur l'axe z et des liaisons plus longues avec 3 oxygènes O3 conduisant à une coordinence de 5.

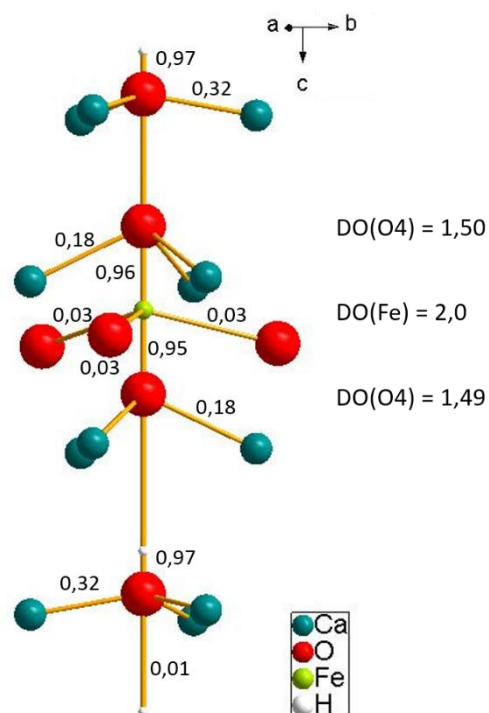


Figure 84 : Structure Diamond de l'axe hexagonal de l'HA dopée au fer(II)

Les derniers résultats détaillés aux paragraphes précédents démontrent que le degré d'oxydation du fer joue un rôle primordial quant à la pureté de la phase d'HA substituée au fer synthétisée par réaction en voie solide. Le fer(III) s'insère majoritairement au sein de l'apatite à la position de Wyckoff 12i (0, 0,14, 0,45) substituant un atome de calcium et un atome d'hydrogène afin de respecter l'électroneutralité de la structure. Ces substitutions entraînent la formation de phases secondaires pauvres et riches en calcium. En revanche, le fer(II) s'insère majoritairement selon l'axe hexagonal de l'apatite autour de la position de Wyckoff 2b (0, 0, 0,25) substituant très probablement deux atomes d'hydrogènes, localisés eux aussi dans les canaux hexagonaux en (0, 0, z). Des techniques spectroscopiques de sonde locale pourraient permettre d'éclaircir encore certains points.

IV.2.5. Comparaison optique et structurale entre les phases d'HA substituées au fer à différents degrés d'oxydation

Cette partie porte sur la comparaison des propriétés optiques et de la structure des HA substituées au fer(III) et/ou au fer(II) par des techniques de spectroscopie optique, et des spectroscopies de sonde locale : Mössbauer, RMN des noyaux 1H et ^{31}P et RPE. Seules les poudres calcinées à 1200°C contenant 2,5% mol. de fer ont été analysées. A cette température,

les phases élaborées par voie solide entre une HA stœchiométrique et des précurseurs de fer Fe_2O_3 , Fe_3O_4 ou d'acétate de fer(II), sont pures ou contiennent une très faible quantité de TCP.

IV.2.5.1. Comparaison des propriétés optiques des FeHA

Les propriétés optiques des poudres d'HA substituées au fer sont étudiées par réflexion diffuse. Les variations du rapport K/S (modèle de Kubelka-Munk pour illustrer l'absorbance) en fonction du nombre d'onde sont représentées sur la Figure 85.

La bande d'absorption à 9765 cm^{-1} (1024 nm ou 1,21 eV) est caractéristique des transitions électroniques entre les niveaux $3d$ du fer(II) avec passage d'un électron de l'orbitale de plus basse énergie (occupée par un doublet électronique) vers une orbitale de plus haute énergie (en configuration haut-spin, les quatre autres orbitales d , en configuration d^6 , sont occupées par un seul électron). Une telle bande a notamment été observée dans de nombreux complexes de fer(II), sa position en énergie variant sensiblement avec la coordinence (champ cristallin) du fer. A partir de la valeur de 1,21 eV correspondant en première approximation à l'éclatement dû au champ cristallin, il s'agit plutôt d'un champ faible tel que celui mesuré dans le complexe octaédrique $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ qui vaut $10\,000\text{ cm}^{-1}$ ou 1,24 eV et correspondant à la transition $^5\text{T}_2 \rightarrow ^5\text{E}$ [251]. La valeur ainsi trouvée est donc très proche d'un champ octaédrique d'ions O^{2-} . Ce résultat n'entre pas en contradiction avec notre description du site du fer(II) qui serait en coordinence $[2 + x]$ d'après la DRX.

En s'appuyant sur la littérature dévolue aux propriétés optiques des oxydes de fer(III), la bande centrée autour de $20\,900\text{ cm}^{-1}$ (480 nm) pourrait être liée à des bandes de transfert de charges $\text{O} \rightarrow \text{Fe}$ associées à des liaisons $\text{Fe}^{3+}-\text{O}^{2-}$ assez fortes (courtes distances) notamment impliquées dans des sites tétraédriques [252]. Par ailleurs, les épaulements à $14\,600$ et $19\,200\text{ cm}^{-1}$ sont en accord avec les transitions $d-d$ attendues pour un champ faible, tel qu'un champ tétraédrique voisin de 1 eV (7936 cm^{-1}) avec un paramètre de Racah B de l'ordre de 600 cm^{-1} : $^6\text{A}_1 \rightarrow ^4\text{T}_1$ à 14400 cm^{-1} et $^6\text{A}_1 \rightarrow ^4\text{A}_1$ à $19\,200\text{ cm}^{-1}$. La troisième transition attendue $^6\text{A}_1 \rightarrow ^4\text{T}_2$ à $18\,000\text{ cm}^{-1}$ est en revanche peu visible.

Avec l'augmentation du degré d'oxydation du fer, l'intensité de la bande à 9765 cm^{-1} diminue tandis que celle de la bande à $20\,900\text{ cm}^{-1}$ augmente, les attributions sont donc cohérentes avec les degrés d'oxydation du fer attendus. La bande d'absorption à 9765 cm^{-1} , proche de la longueur d'onde du laser utilisé au laboratoire à 9346 cm^{-1} (1070 nm), est intéressante en vue du frittage laser sélectif de la poudre. Le dopage des HA avec des ions Fe^{2+}

est donc à privilégier pour de telles applications. La meilleure pureté phasique obtenue pour les apatites dopées au fer(II) constitue un élément supplémentaire prometteur.

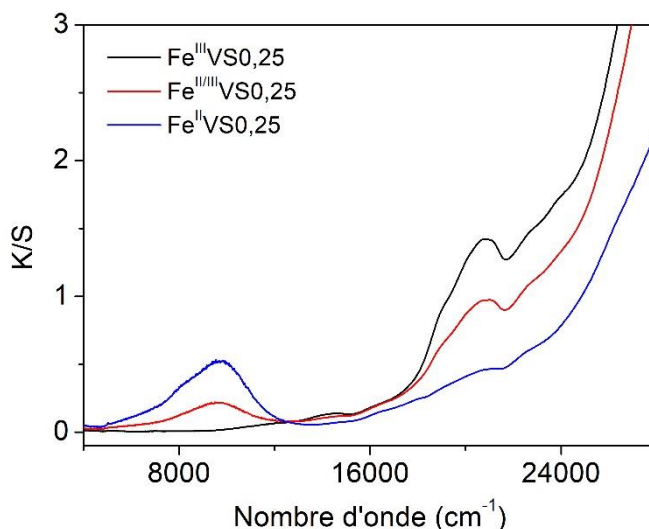


Figure 85 : Courbes K/S en fonction du nombre d'onde pour les poudres FeHA contenant 2,5% mol. de fer calcinées à 1200°C

IV.2.5.2. Comparaison de la structure des FeHA

L'environnement local des ions ferreux et ferriques ainsi que des groupements phosphates et hydroxyles au sein des phases FeHA synthétisées par réaction en voie solide est comparée à l'aide des mesures RMN ^1H et ^{31}P ainsi que par résonance paramagnétique électronique (RPE) et spectroscopie Mössbauer.

a) RMN ^1H - ^{31}P

Sur les spectres RMN enregistrés en rotation (30 kHz) à l'angle magique (Figure 86), l'HA pure présente des pics fins et intenses à un déplacement chimique $\delta = 0,05$ ppm en RMN du ^1H et $\delta = 2,5$ ppm en RMN du ^{31}P . Ces signaux sont caractéristiques, respectivement, des ions H^+ des groupements hydroxyles et des atomes de phosphores des groupements PO_4 de la structure apatitique. On retrouve également les pics liés à la déshydroxylation de l'apatite ($\delta > 2$ ppm en RMN du ^1H et $\delta = 6,3$ ppm en RMN du ^{31}P , déjà observés dans le cas des CuHA et associés à des atomes d'hydrogène ou de phosphore à proximité d'ions O^{2-} .

En RMN du ^1H , parmi les HA dopées au fer, seul le composé $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS0,25}$ présente le signal (de très faible intensité) attribué à des protons des groupements hydroxyles de la structure apatitique. Dans la littérature, les signaux à 5,1 et 7,0 ppm ont été attribués respectivement à des protons à proximité à la fois de groupements OH^- et O^{2-} et uniquement à proximité d'ions O^{2-} [236]. Les ions Fe^{2+} comme Fe^{3+} provoquent donc bien une déprotonation de l'apatite, mais

les ions Fe^{2+} la provoquent de manière plus importante que les ions Fe^{3+} , ce qui rejoint nos hypothèses formulées au regard des résultats FTIR et de DRX.

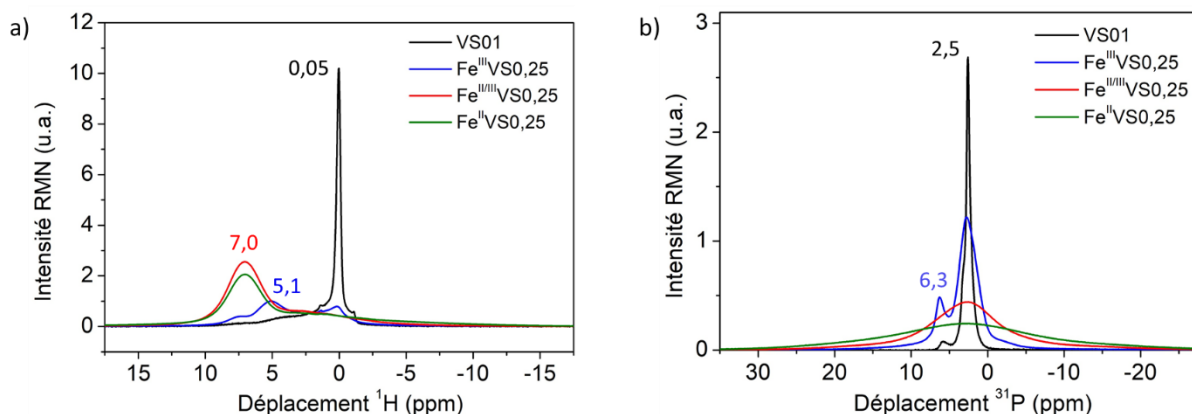


Figure 86 : Spectres RMN MAS (30kHz) du ^1H (a) et du ^{31}P (b) de l'HA pure et des HA dopées par voie solide calcinées à $1200^\circ\text{C} - 1\text{ h}$

En RMN du ^{31}P , l'échantillon $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS0,25}$ présente des signaux identiques à ceux observés dans l'HA pure. L'augmentation de l'intensité du signal à 6,3 ppm, attribués aux atomes de phosphore à proximité d'ions O^{2-} , confirme à nouveau que l'insertion des ions Fe^{3+} au sein de l'HA entraîne la substitution d'ions H^+ . Dans le cas des échantillons contenant du fer(II), un seul signal large est obtenu. Le fort élargissement des signaux, également observé en RMN ^1H , suggèrent que les atomes d'hydrogène et de phosphore sont impactés par la présence d'éléments paramagnétiques à proximité. Les ions Fe^{2+} et Fe^{3+} se trouveraient donc à proximité des groupements hydroxyles au sein des tunnels hexagonaux ce qui est en accord avec les résultats DRX et FTIR. La RPE et la spectroscopie Mössbauer permettront de clarifier l'environnement des éléments de transition.

b) RPE

Les HA substituées au fer sont étudiées par RPE. Seuls les signaux liés au fer(III) sont observables. L'observation du fer(II) haut spin est possible mais uniquement à haut champ ou haute fréquence (supérieure à 34 GHz). Les spectres expérimentaux des HA substituées au fer, réalisés à température ambiante et à 10 K, sont représentés sur la Figure 87. L'intensité de tous les signaux diminue avec le DO du fer confirmant bien leur attribution à du fer(III). L'hypothèse de la présence d'une faible quantité d'ions Fe^{3+} dans l'échantillon $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS0,25}$ formulée suite aux études en ATG/ATD et aux affinements Rietveld, est par ailleurs confirmée par le faible signal caractéristique du fer(III) en RPE.

A température ambiante, 4 signaux sont observés. Le signal le plus intense à $g = 4,2$ ainsi que les deux autres à $g = 6,0$ et $g = 8,9$ sont attribués à des ions Fe^{3+} haut spin dans un site présentant une distorsion du polyèdre de coordination intermédiaire entre les distorsions axiales et orthorhombiques [253], [254]. Le signal large, qui s'étale de 200 à 600 mT, n'est plus observé à 10 K du fait d'une diminution en intensité et d'un élargissement du pic. Ce comportement est caractéristique des interactions ferromagnétiques entre éléments paramagnétiques Fe^{3+} - Fe^{3+} et/ou Fe^{2+} - Fe^{3+} . Certains ions se trouvent donc à proximité les uns des autres au sein de l'HA. A basse température, le nouveau signal, qui apparaît à $g = 2,0$, a déjà été observé dans la littérature [253] et a été attribué à des ions Fe^{3+} haut-spin soumis à un fort champ cristallin. Ce signal, non observé à température ambiante, serait dû à des transitions électroniques inhabituelles.

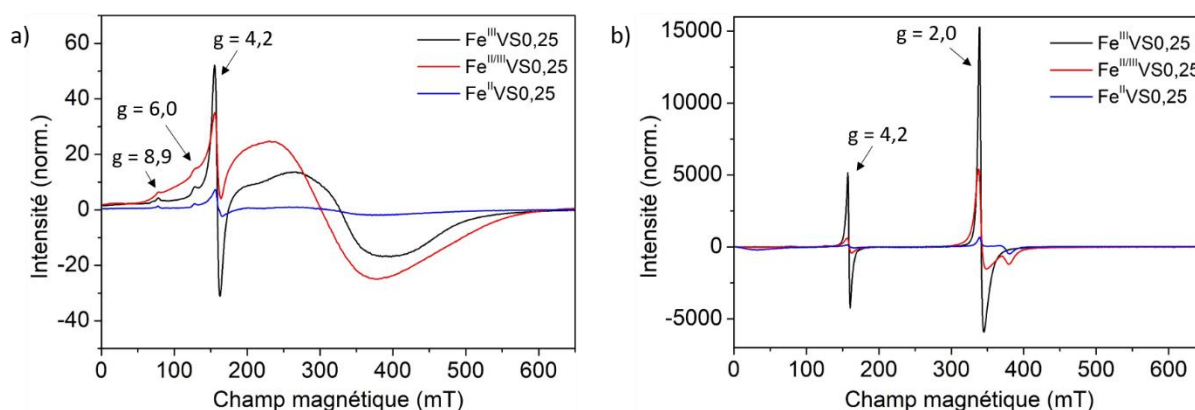


Figure 87 : Spectres RPE des HA dopées au fer réalisés à température ambiante (a) et à 10 K (b)

Les mesures RPE permettent de prouver que le fer trivalent se situe dans deux environnements distincts au sein de l'apatite. La RPE ne permet pas de statuer sur la nature du site dans lequel se trouve le fer. Les affinements par la méthode de Rietveld prônent plutôt pour un site tétraédrique ou en coordinence 5. L'étude par spectroscopie Mössbauer devrait permettre d'affiner cette interprétation.

c) Spectroscopie Mössbauer

Les spectres Mössbauer du ^{57}Fe , enregistrés à température ambiante et à 100 K, des poudres dopées au fer ainsi que les paramètres hyperfins affinés des différentes composantes identifiées sont reportés respectivement sur la Figure 88 et le Tableau 4.

Le spectre de l'échantillon $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS0,25}$ peut être décrit à l'aide de trois composantes caractérisées par des déplacements isomériques de 0,09 ; 0,24 et 0,30 mm/s, toutes les trois associées à des ions Fe^{3+} haut spin dans différents environnements dont la coordinence

augmente avec le déplacement isomérique. Le signal à 0,09 mm/s est, en regard des études précédentes, à nouveau attribué à des ions Fe^{3+} en coordinence $[2+x]$. Ce site pourrait se déduire à partir de la position de Wyckoff 12i (0, 0,14, 0,45), générée par les cartes de Fourier, en éloignant ou en rapprochant les oxygènes O3 des groupements phosphates et O4 sur l'axe hexagonal. Au vu des résultats obtenus par DRX et RPE, les deux autres signaux liés au fer(III) avec les paramètres $\delta = 0,24$ mm/s, $\Delta = 1,54$ mm/s et $\delta = 0,30$ mm/s, $\Delta = 2,11$ mm/s peuvent être attribués à du fer(III) respectivement en coordinence 4 et en coordinence 5 avec un environnement à la fois plus distordu et plus désordonné pour le dernier signal du fait des valeurs de l'éclatement quadrupolaire et de la largeur Γ plus importantes que pour le signal attribué à un site tétraédrique. Ainsi, le fer(III) pourrait se trouver soit dans plusieurs sites distincts, soit au sein d'un même site d'insertion avec différents environnements en ajustant, selon diverses manières, la position des atomes d'oxygène l'entourant (établie précédemment par DRX) donnant lieu à diverses coordinences.

Le spectre de l'échantillon $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}_{0,25}$ présente, en plus des trois composantes décrites précédemment, un signal supplémentaire : un doublet quadrupolaire centré à 0,70 mm/s (15% d'intensité relative). Ce signal peut être dû à un transfert électronique entre un ion Fe^{2+} et un ion Fe^{3+} situés dans deux sites voisins, comme c'est le cas dans certains composés de valence mixte [209], [241], [242]. Cette attribution est confirmée par les mesures enregistrées à basse température. A 100 K, le transfert électronique d'inter-valence n'intervient plus et on détecte alors un signal à $\delta = 1,02$ mm/s avec un éclatement quadrupolaire d'environ 1,7 mm/s, caractéristique d'ions Fe^{2+} haut spin en coordinence 5 ou 6 (Tableau 24b). En considérant que

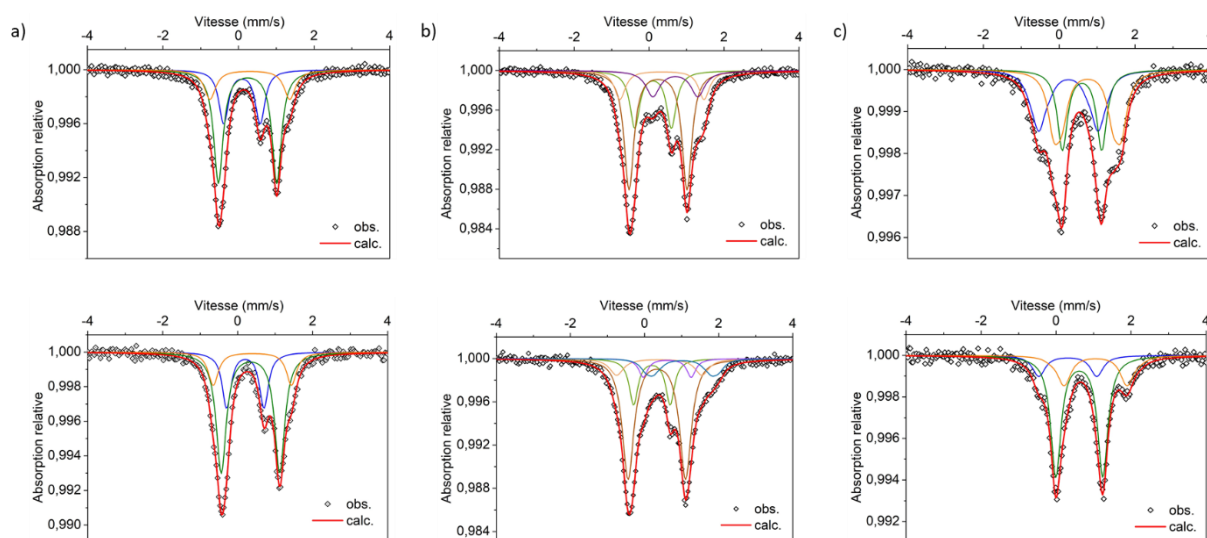


Figure 88 : Spectres Mössbauer du ^{57}Fe , enregistrés à Tamb (haut) et 100 K (bas), des poudres $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_{0,25}$ (a) $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}_{0,25}$ (b) et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_{0,25}$ (c) calcinées à 1200°C

Tableau 24 : Paramètres hyperfins affinés associés aux composés FeHA0,25 à partir de mesures à température ambiante (a) et à 100 K (b)

a)	Composé	δ (mm/s)	Δ (mm/s)	Γ (mm/s)	Int. rel. (%)	Attribution
		0,09(1)	0,96(3)	0,28(3)	26(3)	Fe ³⁺ HS [2+x]
	Fe ^{III} VS0,25	0,24(1)	1,54(1)	0,30(2)	56(3)	Fe ³⁺ HS [4]
		0,30(1)	2,11(4)	0,37(5)	18(3)	Fe ³⁺ HS [5]
		0,11(2)	0,98(2)	0,31(3)	23(3)	Fe ³⁺ HS [2+x]
	Fe ^{III/II} VS0,25	0,24(1)	1,55(2)	0,32(2)	48(3)	Fe ³⁺ HS [4]
		0,34(2)	2,25(5)	0,35(5)	14(3)	Fe ³⁺ HS [5]
		0,70(3)	1,20(6)	0,45(7)	15(3)	Fe ^{2+/3+} HS
	Fe ^{II} VS0,25	0,24(3)	1,55*[0,27]	0,30(-)	33(3)	Fe ³⁺ HS [4]
		0,60(2)	1,04(2)	0,32(3)	28(3)	Fe ²⁺ HS [2+x]
		0,75(2)	1,60*[0,24]	0,30(-)	39(3)	Fe ^{2+/3+} HS
b)	Composé	δ (mm/s)	Δ (mm/s)	Γ (mm/s)	Int. rel. (%)	Attribution
		0,20(1)	1,00(2)	0,28(3)	24(3)	Fe ³⁺ HS [2+x]
	Fe ^{III} VS0,25	0,34(1)	1,56(2)	0,32(3)	60(3)	Fe ³⁺ HS [4]
		0,39(2)	2,09(5)	0,32(6)	16(3)	Fe ³⁺ HS [5]
		0,20(2)	0,99(2)	0,29(3)	17(4)	Fe ³⁺ HS [2+x]
	Fe ^{III/II} VS0,25	0,33(1)	1,58*[0,15]	0,30(-)	55(4)	Fe ³⁺ HS [4]
		0,40(2)	2,30(5)	0,34(5)	10(4)	Fe ³⁺ HS [5]
		0,61(3)	1,29(4)	0,29(3)	7(4)	Fe ²⁺ HS [2+x]
		1,02(4)	1,68*[0,27]	0,30(-)	11(4)	Fe ²⁺ HS [5 - 6]
		0,31(4)	1,55*[0,06]	0,30(-)	14(3)	Fe ³⁺ HS [4]
	Fe ^{II} VS0,25	0,62(1)	1,25(2)	0,33(2)	66(3)	Fe ²⁺ HS [2+x]
		1,05(3)	1,68*[0,09]	0,30(-)	22(3)	Fe ²⁺ HS [5 - 6]

de telles hautes coordinences peuvent se trouver uniquement en positionnant le fer de manière très proche des ions calcium de la structure, une part minoritaire de la population des ions fer(II) substituerait donc les ions Ca²⁺ au sein de l'apatite.

Le même signal ($\delta = 0,75$ mm/s à Tamb), avec le même comportement selon la température d'enregistrement, est également observé pour l'échantillon Fe^{II}VS0,25 (cette fois-ci il s'agit du signal majoritaire avec près de 40% d'intensité relative). Son spectre présente en plus deux autres composantes. On retrouve le signal caractéristique des ions Fe³⁺ haut spin en coordinence 4 confirmant la présence de fer(III) déjà observée en DRX, en RPE et en spectroscopie UV-Visible. A température ambiante, la proportion de ce signal, de l'ordre de 30%, est, de façon surprenante, assez élevée mais est deux fois plus faible à basse température (14%) ce qui illustre mieux la proportion réelle de chacun des sites. Enfin, un doublet quadropolaire caractérisé par un déplacement isomérique d'environ 0,60 mm/s (également détecté à 100 K pour l'échantillon Fe^{III/II}VS0,25) est détecté. Un tel signal a déjà été observé dans la littérature au sein de composés organiques contenant du fer(II) haut spin coordonné linéairement [255], [256]. En se basant sur

la localisation des ions fer(II) au sein des canaux hexagonaux de la structure apatite après affinement Rietveld et sur les spectres d'absorption optique pour lesquels un champ cristallin voisin de 1,2 eV a été mesuré, nous serions plutôt confrontés à un octaèdre aplati (voire un site en coordinence 5 de type bipyramide trigonale), les deux liaisons Fe-O4 étant très covalentes et les liaisons Fe-O3 plus longues.

Concernant l'intensité relative des signaux, il est important de rappeler que la fraction de noyaux résonnants augmente lorsque la température diminue. Or, cette variation d'intensité avec la température dépend aussi fortement des vibrations du réseau et des modes de vibrations locales (vibration des liaisons fer-ligands autour de l'atome de fer sondé) de chaque type d'ions. Les intensités relatives ne donnent donc que des indications semi-quantitatives au niveau des concentrations de chaque espèce associée à chacun des signaux. En effet, lorsque les spectres sont enregistrés à basse température, seul l'échantillon voit sa température diminuer tandis que la source reste à température ambiante. L'effet Doppler du second ordre qui en résulte provoque alors l'augmentation du déplacement isomérique. De plus, le facteur Lamb-Mössbauer (ou facteur f), c'est-à-dire la fraction efficace de noyaux résonnants, dépend fortement de la température et des environnements des atomes résonnant (coordinence du site, vibrations des liaisons fer-ligand). Les différents noyaux de fer peuvent avoir des facteurs f très différents les uns des autres. La proportion relative du signal à 0,60 mm/s passe ainsi, pour le dernier échantillon Fe^{II}VS0,25 par exemple, de 28 à 66% entre 293 et 100 K tandis que celle du signal relatif aux ions Fe³⁺ diminue de 33 à 14%, les 22% restants étant liés à la composante des ions Fe²⁺ autour de 1 mm/s. Les ions Fe²⁺ au centre des tunnels hexagonaux semblent donc majoritaires au sein de la structure apatitique pour cet échantillon, corroborant à nouveau les résultats DRX. Cependant, la forte évolution des proportions relatives, notamment pour le signal à 0,60 mm/s, peut questionner quant au choix du nombre et de la position des signaux simulés. Ces derniers pourraient faire l'objet d'un nouvel affinement, à une température de 4 K, afin de confirmer les tendances observées et d'obtenir les proportions réelles entre les ions Fe²⁺ et Fe³⁺.

Ainsi ces 4 techniques de caractérisations permettent d'établir que le fer(III) se situe dans trois sites distincts, tous proches des groupements hydroxyles qui sont affectées par le voisinage d'un élément paramagnétique. Le site majoritaire correspond à un site tétraédrique distordu tandis que le deuxième site, encore plus déformé, est associé à une coordinence 5 ce qui est en accord avec la DRX. Un dernier site, associé à un déplacement isomérique particulièrement faible pour du Fe³⁺, rendrait compte d'une coordinence $[2 + x]$, très sensible à une hybridation

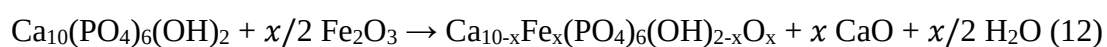
3d-4s qui a pour conséquence la diminution du déplacement isomérique. Concernant le fer(II), deux sites distincts ont été établis. Pour le site majoritaire, le déplacement isomérique très faible déterminé en spectroscopie Mössbauer suggère à nouveau une coordinence [2 + x] ce qui est conforme à un état d'hybridation 3d-4s dans le cas d'un enchaînement linéaire (établi par DRX). Toutefois, les spectres de réflexion diffuse permettent d'établir que le fer se trouve au sein d'un champ octaédrique (voire bipyramide trigonale) faible. Les liaisons Fe-O3, dont la valence de liaison est pourtant proche de 0, participent donc *a priori* à la première sphère de coordination de ces ions fer(II) et donc permettent de stabiliser cet ion au sein d'un octaèdre ou d'un site en coordinence 5 aplati.

IV.2.5.3. Discussion sur la formule hypothétique des FeHA

A partir des caractérisations réalisées, il est possible d'établir plusieurs hypothèses quant aux réactions régissant la synthèse par voie solide des HA dopées au fer(II) ou au fer(III) et de proposer ainsi des équations « simplificatrices ».

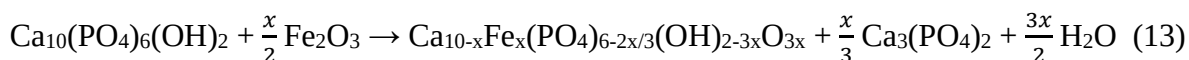
Dans un premier temps, des suppositions sont réalisées sur la formule hypothétique des FeHA obtenues à des températures inférieures à l'apparition de TCP. Selon la spectroscopie Mössbauer et les résultats DRX, le fer(II) s'insère dans deux sites distincts au sein de la structure apatitique entraînant la substitution soit de deux atomes d'hydrogène, soit d'un atome de calcium. Les HA dopées au fer(II) pourraient donc être décrites selon la formule suivante : $\text{Ca}_{10-y}\text{Fe}^{\text{II}}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2z}\text{O}_{2z}$ avec $x = y + z$.

Concernant les ions Fe^{3+} , leur incorporation au sein de la structure apatitique est compensée directement par le départ conjoint d'un ion H^+ et d'un ion Ca^{2+} d'après les résultats DRX. Bien qu'aucune phase secondaire riche en calcium n'ait été détectée par DRX ou FTIR pour les deux taux de fer les plus faibles, la substitution du calcium est appuyée par l'apparition d'une phase riche en calcium et en fer lorsque la limite de solubilité a été dépassée. Une phase de type CaO ou $\text{Ca}(\text{OH})_2$ amorphe ou à la limite de détection de la DRX pourrait avoir été formée lorsque la quantité de fer est inférieure à 5% mol. La première équation (12), qui reste un schéma très simplificateur, illustre ces résultats. La spectroscopie Mössbauer témoigne toutefois de la complexité de la situation, le fer(III) étant situé dans 3 sites distincts.



Cependant, l'apparition non pas d'oxyde calcium mais de phosphate tricalcique, après recuit à plus haute température, nous conduit à proposer, à l'échelle des cristallites, une certaine

réorganisation de la matière, conduisant globalement à une compensation finale de l'introduction des ions Fe^{3+} par une triple déprotonation (équation 13). La formule hypothétique de l'HA dopée au fer satisfait ainsi à la fois la conservation de la matière et l'électroneutralité du composé mais ne représente pas une réalité cristallographique. La situation réelle est très certainement intermédiaire entre ces deux modes extrêmes de compensation de charge.



Dans tous les cas, la substitution du calcium par le fer, c'est-à-dire, la nécessité d'extraire du calcium de la structure apatite pour compenser l'introduction des cations supplémentaires de fer, entraîne inévitablement la formation de phases secondaires. Néanmoins, l'incorporation du fer(II), majoritairement au centre des tunnels hexagonaux, permet d'élaborer des phases FeHA pures dans la limite de détection des DRX via la substitution de deux atomes d'hydrogènes.

IV.2.6. Frittage des HA substituées au fer par voie solide

IV.2.6.1. Influence du fer et de son degré d'oxydation sur la frittabilité de l'apatite

L'influence du fer sur l'aptitude au frittage des HA est étudiée par dilatométrie. Les courbes de retrait dilatométrique des pastilles brutes contenant un mélange de poudres HA-précurseur de fer avec différents taux de fer sont représentées sur la Figure 89. Les échantillons contenant des ions Fe^{2+} sont frittés sous argon afin d'éviter l'oxydation du fer, les deux autres échantillons étant traités sous air. Le retrait des pastilles $\Delta L/L_0$ (%) est tracé en pointillés tandis que la vitesse de retrait (%/min) correspondant à la dérivée de la courbe de retrait, est en trait plein.

Quel que soit le précurseur de fer, deux étapes de retrait sont observées au cours du chauffage jusqu'à 1400°C (rampe 20°C/min). Le premier retrait, débutant vers 650°C quel que soit l'échantillon étudié et dont la température maximale se situe entre 920 et 1010°C selon le précurseur utilisé, est associé à une première étape de frittage des poudres. Les températures de début de frittage sont similaires à celles déjà observées pour l'HA pure (cf. Chapitre III). Cette première phase correspond au début de densification de l'hydroxyapatite. En revanche, la température maximale de retrait, marquée par le sommet du 1^{er} pic de la courbe de vitesse de retrait, se décale d'une centaine de degrés vers les basses températures avec la réduction du degré d'oxydation du fer variant ainsi dans les gammes 970 - 1010°C, 940 - 980°C et 910 - 930°C respectivement pour les composés $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}$, $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}$ et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}$. Pour rappel, la température de frittage maximal de l'HA pure était observée autour de 1010°C. Le frittage de

l'hydroxyapatite, est en réalité affecté par le début de la réaction entre celle-ci et les précurseurs de fer qui semble avoir lieu à des températures d'autant plus basses que le DO du fer diminue. Sans aucun doute, l'incorporation des ions Fe^{2+} est moins coûteuse en énergie que celle des ions Fe^{3+} , qui est associée à une plus forte réorganisation structurale. Le phénomène de frittage est alors interrompu, du moins ralenti, lors de la réaction par voie solide s'effectuant entre les précurseurs de fer et l'HA. Précédemment, un tel ralentissement du frittage de poudres de manière concomitante à la réaction solide-solide entre l'HA et l'oxyde de cuivre n'a pas été observé.

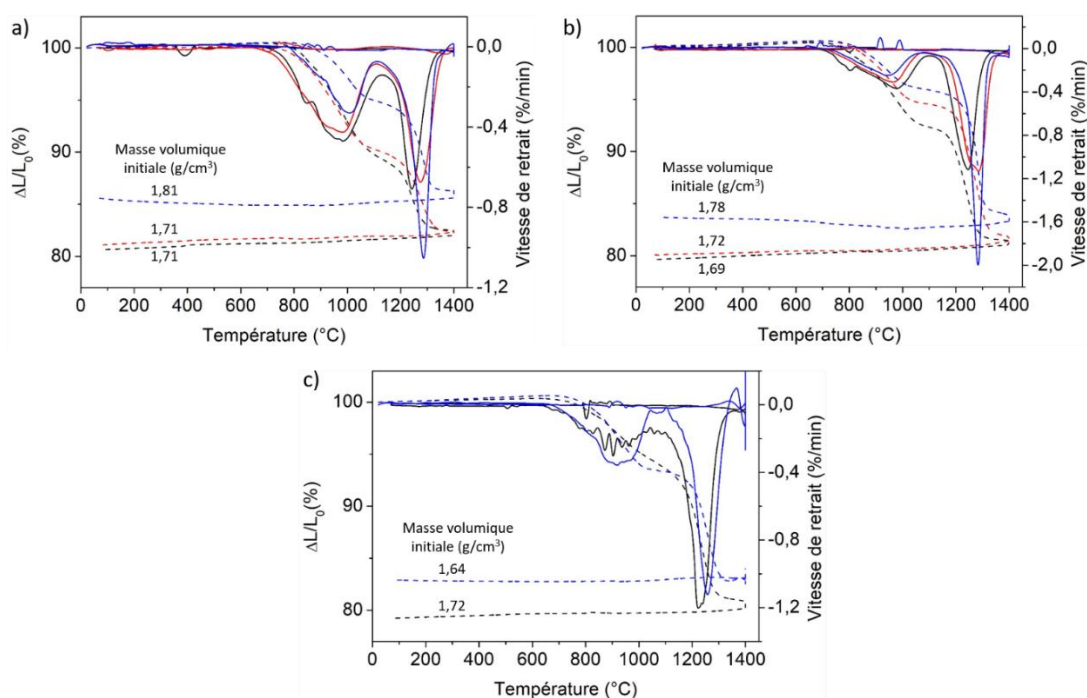


Figure 89 : Courbes dilatométriques des pastilles brutes $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}$ (a) $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}$ 2 (b) et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}$ (c) contenant différents taux de fer : $x = 0,25$ (noir), $x = 0,5$ (rouge), $x = 1,0$ (bleu)

Dans un deuxième temps, aux températures plus élevées, le frittage reprend son avancement, constituant donc une deuxième étape de frittage des phases apatites dopées au fer. La température maximale de frittage du second retrait est à nouveau décalée vers les basses températures avec la réduction du DO du fer, allant de 1275 - 1285°C pour $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}$ à 1220 - 1250°C pour $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}$. En comparaison avec les HA substituées au cuivre pour lesquelles la réaction avec l'oxyde de cuivre est simultanée au frittage, ici, les précurseurs de fer ne réagissent avec l'HA qu'après le début du frittage, conduisant à un frittage en deux étapes avec une température maximale de frittage décalée vers les hautes températures passant de 1010°C pour CuHA aux alentours de 1250°C pour FeHA. L'insertion du fer au sein de l'apatite a donc une forte influence sur son aptitude au frittage. Pour évaluer l'influence du taux de dopant, de

son DO et de la température de frittage sur la densification, des céramiques d'HA substituées au fer sont frittées à différentes températures.

IV.2.6.2. Densification des céramiques d'HA substituées au fer

Pour étudier la densification des céramiques d'HA substituées au fer, des pastilles des poudres $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VSx}$, $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VSx}$ et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VSx}$ sont frittées à des températures allant de 1000 à 1400°C pendant 1 h (rampe de 10°C/min). Les échantillons contenant des ions Fe^{2+} sont frittés sous argon afin d'éviter l'oxydation du fer. La densité relative apparente des pastilles est ensuite mesurée via la méthode de la poussée d'Archimède. Le rapport de la densité relative apparente des pastilles sur la densité absolue des différents composés, mesurée préalablement par pycnométrie sur les poudres frittées aux mêmes températures que les pastilles, donne accès au taux de densification des céramiques (Figure 90).

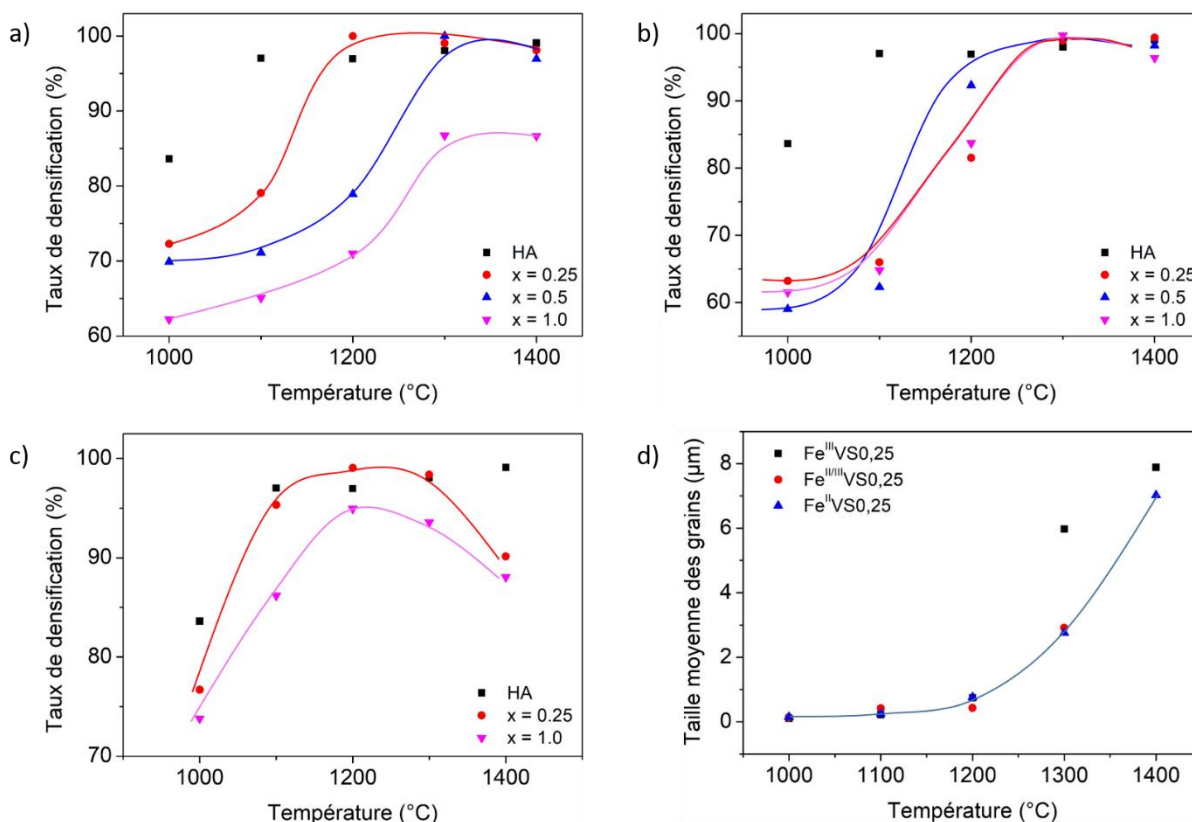


Figure 90 : Taux de densification des céramiques $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VSx}$ (a) $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VSx}$ (b) et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VSx}$ (c) en fonction de la température de frittage ainsi que la taille moyenne des grains associées (d)

Quelle que soit la nature du précurseur utilisé, l'obtention d'une céramique dense se fait à des températures d'autant plus grandes que le taux et le DO du fer sont élevés. En effet, une céramique d'HA pure dense (taux de densification > 95%) est obtenue dès 1100°C. Dans le cas du mélange avec l'oxyde Fe_2O_3 , une céramique dense est obtenue à 1200°C pour $x = 0,25$ et

1300°C pour $x = 0,5$. En revanche, dans le cas de l'acétate de fer(II), le taux de densification atteint 95% dès 1100°C pour $x = 0,25$ et 1200°C pour $x = 1,0$. Notons que dans ce dernier cas, la densité des céramiques obtenues décroît de nouveau ensuite significativement au-delà d'une température critique de densification maximale. Ces résultats confirment bien ceux obtenus par dilatométrie. Bien que la température pour laquelle la densification est maximale soit différente d'une série de composés à l'autre, le taux de densification maximal des céramiques, contenant les deux taux de fer les plus faibles, atteint toujours 99%, tout comme celui de l'HA pure. Il est donc possible d'obtenir des céramiques denses d'HA dopées au fer.

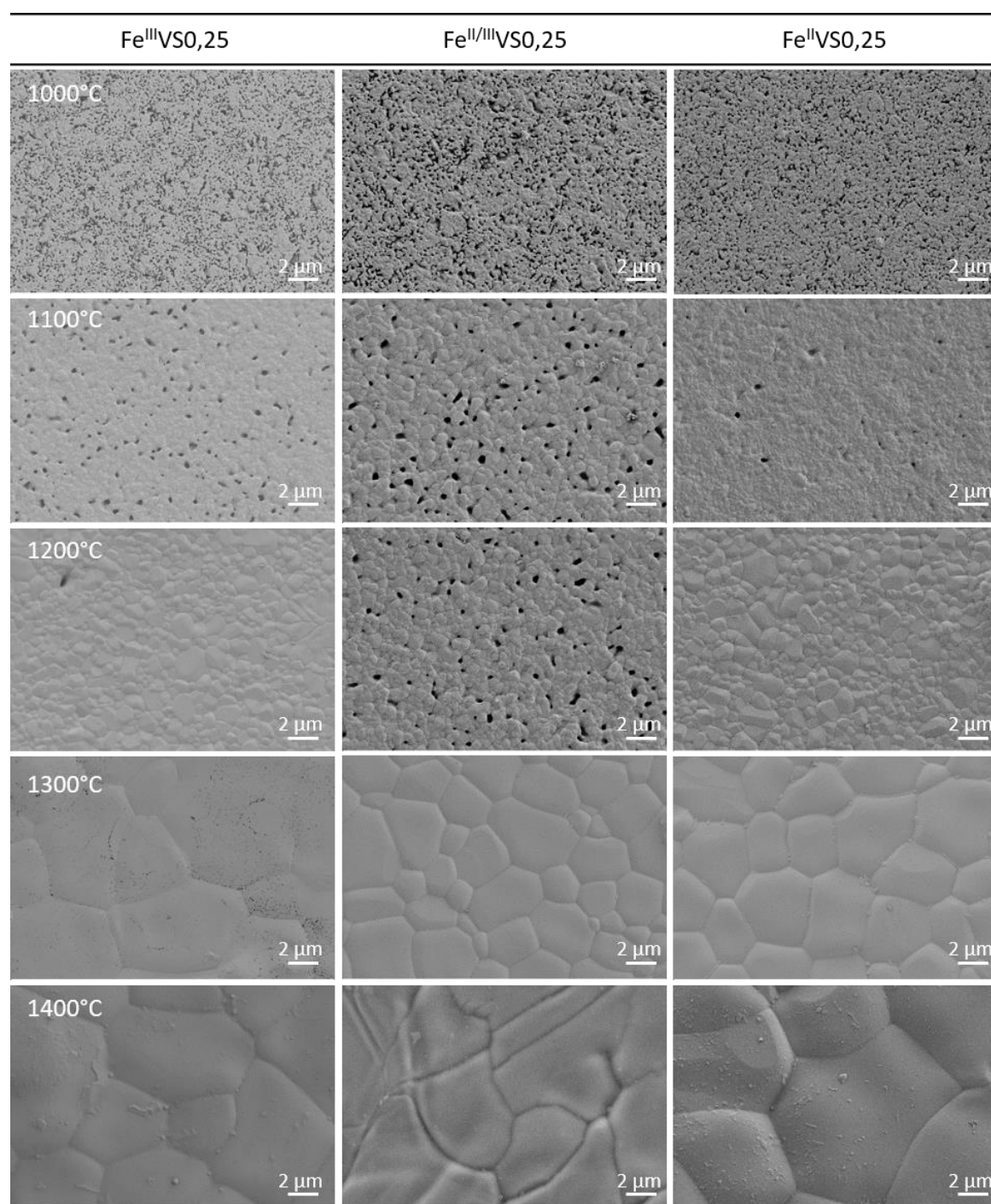


Figure 91 : Images MEB de la surface des pastilles $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS0,25}$, $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS0,25}$ et $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS0,25}$ calcinées à différentes températures

Une comparaison de la taille des grains (Figure 90d), déterminée à partir des images MEB de la surface des pastilles (Figure 91), a été réalisée entre les composés contenant un taux de fer $x = 0,25$. Quel que soit le précurseur de fer utilisé, la taille moyenne des grains évolue peu entre 1000 et 1200°C passant d'environ 0,1 à 0,8 μm . En revanche, une forte augmentation est observée à partir de 1300°C notamment pour la céramique $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS0,25}$ dont la taille moyenne des grains (environ 6 μm) est deux fois supérieure à celle des composés contenant du fer(II)

(environ $2,8\ \mu\text{m}$). La présence d'ions Fe^{2+} au sein de la phase apatitique pourrait donc ralentir le grossissement granulaire. Les images MEB à 1100°C montrent que la densification des céramiques est par contre accélérée en présence de fer(II), comparée au fer(III) ce qui est en accord avec la dilatométrie et les résultats de la poussée d'Archimède. Des céramiques denses (taux de densification $\geq 95\%$) d'HA dopées au fer(II), avec conservation d'une taille de grains submicrométrique, peuvent donc être obtenues à relativement basses températures ($1100\text{-}1200^\circ\text{C}$) ; en comparaison, les HA dopées au fer(III) ne donnent des céramiques denses qu'à plus haute température (1200°C), avec inévitablement une taille de grains alors plus importante.

Après frittage à 1400°C , on constate un grossissement granulaire important quel que soit le degré d'oxydation du fer incorporé. Les images MEB, réalisées à plus faible grossissement (Figure 92), de la surface de la pastille $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}_{0,25}$ (mais aussi, dans une moindre mesure, de la surface de la céramique $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_x$) montrent la présence de zones subissant une coalescence granulaire importante qui conduit localement à la croissance anormale exagérée de grains dès

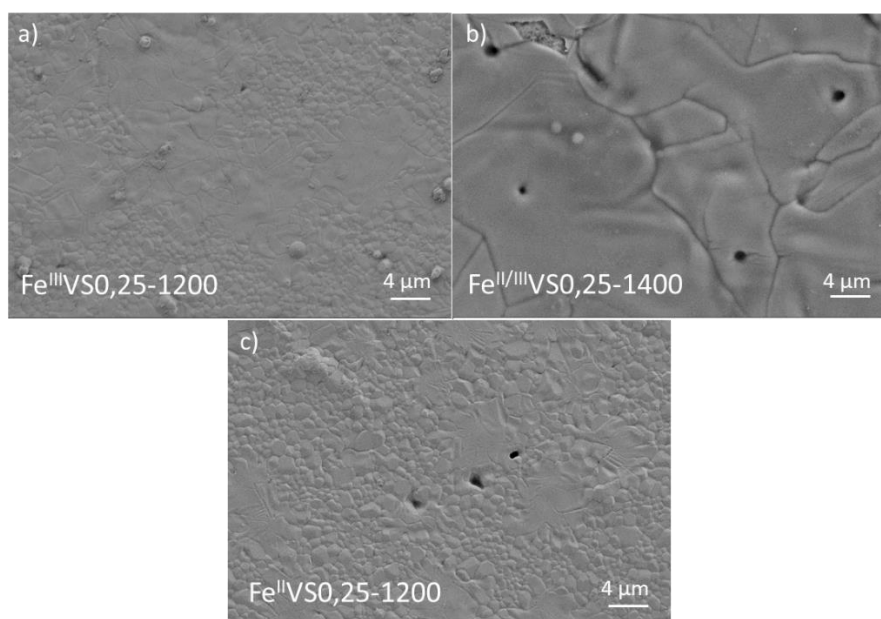


Figure 92 : Images MEB de la surface des pastilles $\text{FeVS}_{0,25}$, calcinées à différentes températures. Des zones de coalescence granulaire et de porosité intra-granulaire sont observées.

1200°C et à la formation de porosité intra-granulaire observée à 1400°C (Figure 92b). On pourrait faire l'hypothèse qu'à haute température (à partir de 1300°C) les mécanismes de diffusion associés à la coalescence granulaire deviennent très actifs et entrent en compétition avec les mécanismes de densification associés à la réduction de porosité intergranulaire. La formation de porosité intragranulaire qui en résulte ne peut ensuite plus être éliminée, ce qui se

traduit par un taux de densification moindre des matériaux frittés à haute température (i.e. à partir de 1300°C, Figure 90c).

IV.3. Conclusions

Les synthèses d'HA dopées au fer(III) et/ou au fer(II) menées par coprécipitation et par réaction en voie solide montrent que la voie de synthèse, la température de calcination et le DO du fer ont une influence sur la pureté de la phase et sur la localisation de l'élément dopant au sein de la structure apatitique.

En effet, la synthèse par coprécipitation conduit à l'élaboration de phases pures d'HA contenant majoritairement du fer(III) quel que soit le précurseur utilisé. Malgré la faible quantité de fer(II) présente au sein de l'HA, la spectroscopie Mössbauer permet d'établir que l'insertion des ions Fe^{2+} et Fe^{3+} se fait dans un site de coordinence 5 ou 6 correspondant probablement aux sites du calcium. La formule hypothétique suivante peut ainsi être établie : $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_{2x/3}\square_{x/3}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (dans l'hypothèse d'une HA ne contenant que des ions Fe^{3+}). Cependant, l'évaluation de la stabilité thermique des phases montre que, pour des températures de calcination autour de 800°C, ces ions sont instables thermodynamiquement au sein de leur site d'occupation provoquant alors à la fois leur exsolution de la structure apatitique et leur migration vers un site de coordinence plus faible. A plus haute température (> 1000°C), le fer se réinsère ensuite dans l'apatite au sein de ce même site de faible coordinence qui semble donc plus stable thermodynamiquement à haute température. Une apatite de formule $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$ serait alors formée. La taille des cristallites ou le rapport surface/volume mais également l'instabilité du site des ions Fe^{3+} partiellement hydroxylé et la plus forte stabilité de l'hématite dans cette gamme de température seraient le moteur de ce phénomène de démixtion. Pour la réinsertion, ce sont les caractéristiques « d'éponge » de la charpente apatitique ou sa capacité à accepter un taux important de lacunes cationique et anionique et donc sa réactivité vis-à-vis de l'hématite qui va provoquer la réincorporation du fer à haute température.

La synthèse par voie solide conduit à l'insertion des ions Fe^{2+} et Fe^{3+} dans l'apatite au sein des mêmes sites que ceux obtenus après traitement thermique à hautes températures des phases synthétisées par coprécipitation. Le fer(III) s'insère dans les tunnels hexagonaux entre les triangles formés par les atomes de calcium Ca(2), majoritairement dans un site tétraédrique relativement régulier à la position de Wyckoff 12i (0, 0,14, 0,45) si on se réfère aux résultats de DRX, RPE et Mössbauer. Par ailleurs, toujours sur la base des études spectroscopiques

utilisant des sondes locales comme la RPE ou le Mössbauer, un deuxième site de coordinence 4+1, particulièrement distordu, pourrait également être généré à partir de la position moyenne 12i précédente en considérant dès lors des distances Fe-O3 légèrement différentes. La présence de phases secondaires à la fois riches et pauvres en calcium à de très hautes températures de calcination révèle que, pour atteindre l'électroneutralité de la structure, l'insertion des ions Fe^{3+} conduit soit à une substitution faisant intervenir uniquement les ions Ca^{2+} et H^+ , soit faisant en plus intervenir les groupements PO_4^{3-} selon les formules hypothétiques respectives suivantes : $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$ et $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_{6-2x/3}(\text{OH})_{2-3x}\text{O}_{3x}$. Dans les deux cas, l'introduction d'ions Fe^{3+} au sein de l'apatite provoque l'extraction d'atomes de calcium et conduit inévitablement à la formation de phases secondaires.

A l'inverse, le dopage de l'HA par du fer(II) permet l'élaboration de phases pures d'HA dans lesquelles les ions Fe^{2+} se situent majoritairement au centre des canaux hexagonaux autour de la position de Wyckoff 2b (0, 0, 0,25). Le fer(II) présente ici une conformation linéaire (construite autour d'une haltère O-Fe-O le long de l'axe z de la structure) mais qui n'exclut pas, dans la première sphère de coordination, la présence d'oxygènes O3 issus des groupements phosphate de son proche voisinage. Le polyèdre d'insertion peut donc être décrit comme un octaèdre (ou bipyramide trigonale) aplati en accord avec le spectre optique traduisant un champ de ligands correspondant à un champ octaédrique faible voisin de 1,2 eV. Les ions Fe^{2+} présents dans la charpente apatitique substitueraient ainsi deux atomes d'hydrogènes selon la formule $\text{Ca}_{10}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_{2x}$. En plus de la pureté des phases, l'absorption optique des poudres autour de 1 μm est prometteuse en vue d'une application en frittage laser sélectif. De plus, ces HA dopées au fer(II) ont montré les meilleures aptitudes vis-à-vis de l'élaboration de céramiques denses. En effet, des densités de 99% ont pu être obtenues par procédé de céramisation conventionnel, tout en conservant pour des températures de recuit modérées de faibles tailles de grains. Ceci laisse la porte ouverte à la réalisation de céramiques contenant des taux de porosité et des tailles de grains contrôlés pour une application en reconstruction osseuse.

Chapitre V. Applications des HA substituées au cuivre

Chapitre V. Applications des HA substituées au cuivre

La pureté des phases d'HA substituées au cuivre et les propriétés biologiques et optiques intéressantes du cuivre font des céramiques CuVSx, des matériaux prometteurs pour des applications dans le domaine biomédical. L'utilisation d'un nouveau matériau dans le domaine de la santé nécessite dans un premier temps d'examiner ses propriétés biologiques. Ainsi, avant de pouvoir évaluer le potentiel angiogénique des HA dopées au cuivre, leur biocompatibilité et leur capacité à favoriser la différenciation des cellules osseuses doivent être établies. Dans un second temps, l'interaction rayonnement-matière au cours du frittage laser sélectif sera évaluée en vue de la mise en forme de pièces céramiques d'architecture contrôlée.

V.1. Evaluation des propriétés biologiques des céramiques CuHA

Le cuivre étant reconnu pour sa cytotoxicité au-delà d'un certain seuil, cette partie s'attache à évaluer la viabilité et la différenciation cellulaire *in vitro* d'une lignée de cellules ostéoblastiques (MC3T3-E1) cultivées à la surface de céramiques CuVSx. Des pastilles d'HA et de CuVSx ($x \leq 0,7$) ont été frittées respectivement à 1200 et 1100°C pendant 1 h afin d'assurer un taux de densification supérieur à 95%. L'HA pure servira de référence.

V.1.1. Evaluation de la biocompatibilité

La biocompatibilité des céramiques a été évaluée en se basant sur quatre critères : la morphologie des cellules, la densité cellulaire, le taux de viabilité cellulaire (correspondant au pourcentage de cellules vivantes, reflété par leur positivité au marquage à la calcéine), et l'activité métabolique des cellules (reflétée par l'intensité de fluorescence de l'Alamar Blue, un réactif contenant de la résazurine qui fluoresce lorsqu'il est réduit par des cellules métaboliquement actives). Pour évaluer la biocompatibilité de façon quantitative, la norme ISO 10993-5 [122] indique qu'une réduction d'un des trois derniers critères de plus de 30% comparée au matériau biocompatible de référence est considérée comme un effet cytotoxique. L'HA étant reconnue pour sa biocompatibilité et sa non-cytotoxicité, la céramique d'HA pure est définie comme matériau de référence au regard de ces critères.

La morphologie des cellules a été observée après 3 et 5 jours de culture (Figure 93) : les cellules sont bien étalées à la surface du matériau avec une morphologie comparable et semblent saines quel que soit le taux de cuivre. Pour 5 jours de culture, seuls quelques cellules à la surface des céramiques contenant les deux taux de dopant les plus élevés (CuVS0,5 et CuVS0,7),

positives à la calcéine, présentent une surface réduite et la morphologie particulière de leur noyau suggère qu'elles sont entrées dans un processus de mort cellulaire par apoptose (cellules désignées par une flèche sur la Figure 93). En revanche, aucune cellule nécrotique n'est observée, c'est-à-dire qu'aucune cellule n'est morte de façon brutale, non programmée (contrairement à l'apoptose qui est un processus programmé génétiquement). La présence de cuivre dans les céramiques n'engendre donc pas de modification importante quant à la morphologie des cellules viables.

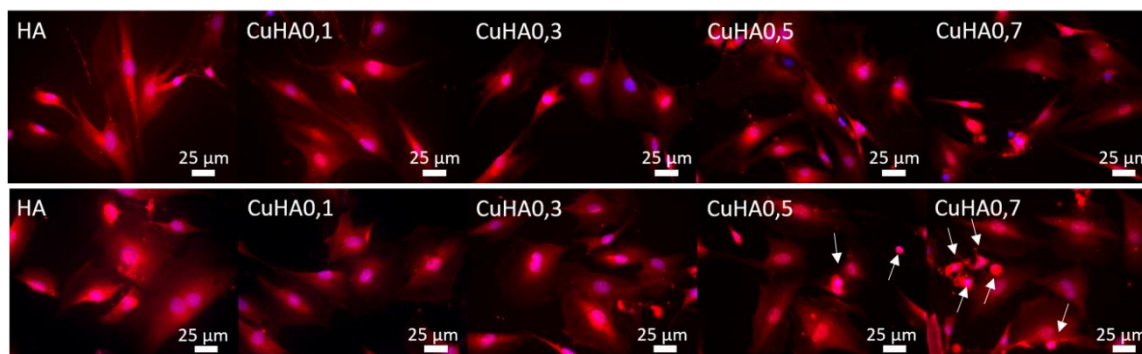


Figure 93 : Morphologies des cellules viables après 3 (haut) et 5 jours de culture (bas). Les flèches indiquent les cellules avec une morphologie apoptotique.

Après chaque temps de culture (3 ou 5 jours), le pourcentage de cellules viables, c'est-à-dire positives à la calcéine, est déterminé par microscopie à fluorescence et normalisé par rapport à l'HA (Figure 94a). Bien qu'une baisse significative du taux de viabilité soit notée pour l'échantillon CuVS0,7 après 5 jours de culture comparée à l'HA pure et l'échantillon CuVS0,1, tous les taux de viabilité cellulaire sont très proches de 100% quel que soit le taux de cuivre et le temps de culture. Ces résultats confirment que les céramiques CuVSx n'induisent pas de mort cellulaire brutale.

La densité cellulaire, c'est-à-dire le nombre de cellules ayant adhéré à la surface des céramiques par unité de surface, a également été déterminée après chaque temps de culture (Figure 94b). La mesure de la densité cellulaire après 1 jour de culture permet d'évaluer l'adhésion des cellules à la surface des céramiques tandis que pour des temps d'incubation supérieurs, la densité cellulaire reflète l'influence du matériau sur la mort (par apoptose ou par nécrose) et la prolifération des cellules. Pour chaque temps de culture, les densités cellulaires sont similaires pour tous les échantillons, aucune variation significative n'est observée. De plus, la densité cellulaire ne passe pas en dessous du seuil de 70% par rapport à l'HA pure, fixé par la norme ISO 10993-5 [122]. Les déviations standards importantes sont dues à une répartition inhomogène des cellules sur les pastilles. Ces résultats révèlent que l'affinité des cellules

MC3T3-E1 envers les céramiques dopées au cuivre est similaire à l'affinité des cellules pour l'HA, le cuivre n'inhiberait donc pas l'adhésion cellulaire. Enfin, la présence de cuivre dans les céramiques ne provoque ni la mort des cellules ni l'inhibition de la prolifération cellulaire.

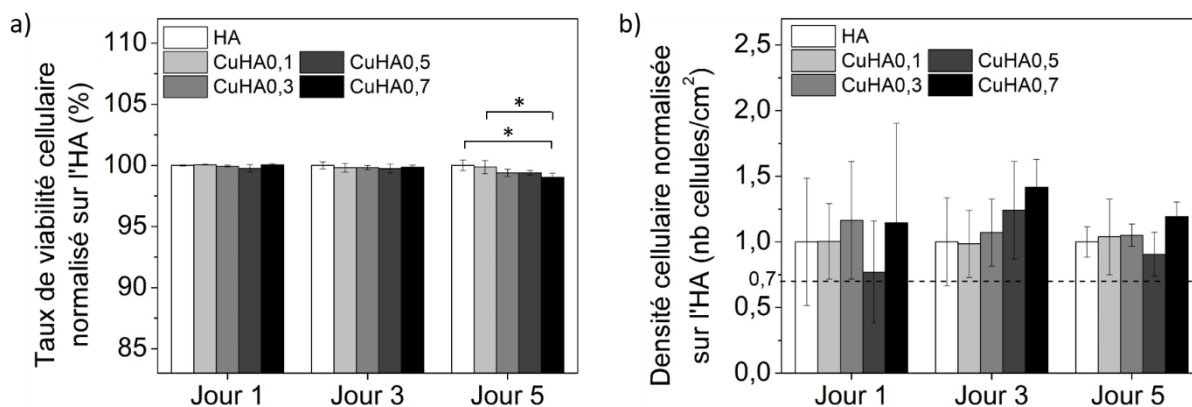


Figure 94 : Taux de viabilité cellulaire (a) et densité cellulaire à la surface des pastilles (b) normalisés sur l'HA après les différents temps de culture. Analyse statistique : ANOVA une voie suivi d'un test post-hoc de Tukey : * : vs. HA, $p < 0,05$

L'activité métabolique des cellules à la surface des céramiques a également été étudiée au cours du temps, d'une part, et par rapport à l'HA pour chaque temps de culture, d'autre part. Pour étudier l'activité métabolique des cellules au cours du temps, les intensités de fluorescence ont été normalisées par rapport à la valeur de l'intensité de fluorescence de l'Alamar Blue dans le milieu de culture contenant la pastille d'HA, après 2 h d'incubation (Figure 95a). Pour tous les échantillons, l'activité métabolique des cellules augmente de 0 à 3 jours avant de devenir constante. Le cuivre n'inhibe donc pas la prolifération des cellules, confirmant les résultats de densité cellulaire. Le ralentissement de la croissance cellulaire après 3 jours de culture ne peut être attribué à la confluence entre cellules puisqu'elle n'a pas été atteinte selon les images de microscopie par fluorescence (Figure 93). En revanche, le ralentissement pourrait être lié à l'absence de renouvellement du milieu de culture durant les 5 jours d'incubation empêchant l'approvisionnement suffisant en nutriments des cellules et l'élimination des déchets métaboliques.

Les intensités de fluorescence sont ensuite normalisées par rapport à l'HA pour chaque temps de culture considéré afin d'établir la cytotoxicité des matériaux (Figure 95b). Quel que soit le taux de dopant et le temps de culture, la croissance cellulaire est plus faible sur les céramiques CuVSx comparée à l'HA. Le cuivre réduit donc l'activité métabolique des cellules. L'altération de la fonctionnalité des cellules en présence de cuivre pourrait être liée à la

génération d'espèces réactives de l'oxygène [257]. En effet, le métal de transition sous sa forme réduite, pourrait provoquer, via son oxydation, la formation de radicaux libres, notamment de radicaux d'hydroxyles qui sont des espèces plus réactives et toxiques que l'oxygène. Cependant, après 5 jours de culture, l'intensité de fluorescence reste supérieure au seuil de 70% fixé par la norme ISO 10993-5 [122]. Pour des temps de culture inférieurs, la réduction de l'intensité de fluorescence en dessous du seuil pour certaines céramiques ne doit être considérée que comme une tendance. Ces résultats n'ont été obtenus respectivement que sur une et deux expériences indépendantes (i.e. sans validation statistique possible) contre trois pour un temps de culture de 5 jours.

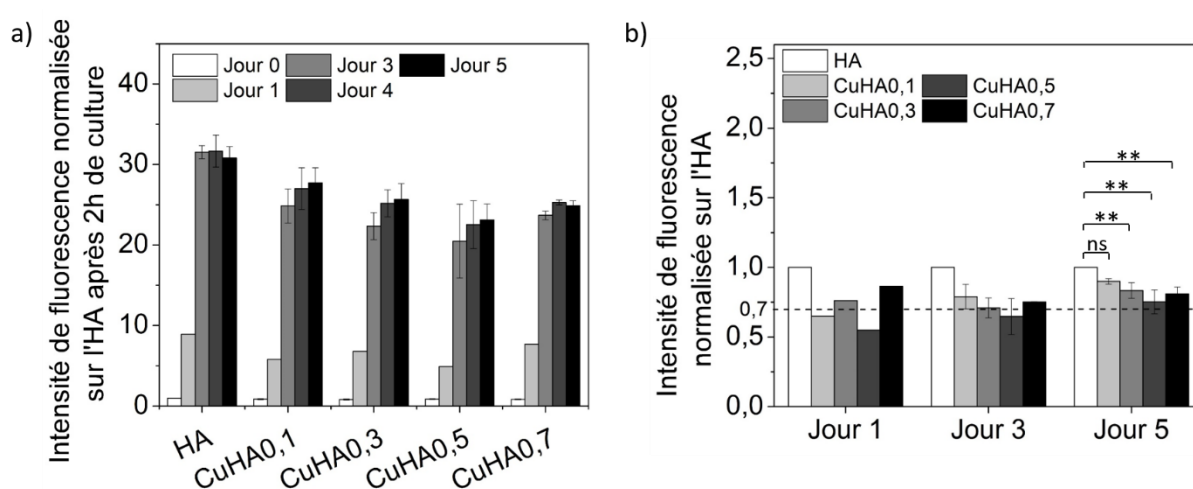


Figure 95 : Activité métabolique des cellules, reflétée par l'intensité de fluorescence de l'Alamar Blue, en fonction du temps de culture et du taux de dopant. Normalisation par rapport à l'HA après 2h de culture (a) et par rapport à l'HA pour chaque temps de culture considéré (b). Analyse statistique : ANOVA une voie suivi d'un test post-hoc de Tukey : ns : non significatif ; * : vs. HA, $p < 0,05$; ** : vs. HA, $p \leq 0,01$; *** : vs. HA, $p \leq 0,0001$

Malgré une légère modification de la morphologie des cellules pour les taux de cuivre les plus élevés et une diminution de l'activité métabolique des cellules sur les céramiques CuVSx, ces résultats, pris dans leur ensemble, prouvent que les céramiques d'HA substituées au cuivre n'entraînent ni la mort des cellules, ni l'inhibition de la prolifération cellulaire. Les céramiques CuVSx sont donc biocompatibles et non-cytotoxiques après 5 jours de culture *in vitro*.

V.1.2. Evaluation de la différenciation cellulaire

Il est également important de vérifier que le cuivre n'affecte pas le mécanisme de différenciation des cellules MC3T3-E1 en cellules osseuses. L'habilité des cellules pré-ostéoblastiques à se différencier à la surface des céramiques est établie par western-blot après 7 jours de culture en milieu différenciant. Les niveaux relatifs des protéines RUNX2 (facteur

de transcription lié à Runt 2) et de l'ostéopontine (OPN) ont été déterminés ici. La protéine RUNX2 a un rôle majeur dans la mise en place et le déroulement des phases précoces de l'ostéogenèse et est donc exprimée tôt dans le processus de différenciation tandis que l'ostéopontine, qui est une protéine de la matrice extracellulaire osseuse associée au processus de minéralisation osseuse, est exprimée à des niveaux élevés plus tardivement (cf paragraphe I.1.1.2). Pour rappel, l'expression des protéines est déterminée grâce à la mesure de la densité optique du signal obtenu (Figure 96a) qui est proportionnelle à la quantité de protéines dans les cellules.

L'expression de la protéine RUNX2, représentée sur la Figure 96b, est significativement plus faible quand la croissance des cellules se fait sur les matériaux céramiques que sur le plastique dans le milieu de différenciation. De plus, l'expression de RUNX2 tend à être réduite avec l'augmentation du taux de cuivre. Une différence significative est observée entre l'HA et l'échantillon CuVS0,7 contenant le plus fort taux de dopant ainsi qu'entre les composés CuVS0,5/CuVS0,7 et GM. Au vu du profil de l'expression de RUNX2 durant l'ostéogénèse, deux hypothèses peuvent être formulées. Le processus ostéogénique est soit inhibé par la présence de cuivre dans l'HA soit, au contraire, la différenciation est accélérée. Les cellules utilisées dans cette étude sont les sous-clones 14 dérivés des cellules pré-ostéoblastiques MC3T3-E1. Elles sont donc sélectionnées pour leur capacité à se différencier facilement. Au temps étudié, il est possible que l'expression du pic associé à l'initiation de l'ostéogénèse soit déjà passé pour les cellules sur les échantillons avec les taux de cuivre les plus élevés et toujours en cours pour les cellules sur le plastique dans le milieu différenciant. La réduction de RUNX2 pour les cellules cultivées sur les céramiques comparées aux cellules sur du plastique en milieu de culture ostéogénique a déjà été observée dans la littérature [258] où elle est attribuée à la seconde hypothèse.

Concernant l'analyse des niveaux d'expression de l'OPN, lorsqu'on compare les cellules cultivées sur plastique, que ce soit en milieu non différenciant et en milieu de différenciation, aucun changement significatif n'est observé. L'expression de l'ostéopontine par les cellules cultivées à la surface de l'HA pure ne diffère pas de ces deux conditions. Les cellules cultivées à la surface des céramiques dopées au cuivre présentent des niveaux d'expression significativement moins importants par rapport au contrôle positif de différenciation (Figure 96c). Après 7 jours de culture, aucun signe de minéralisation n'a été observé au microscope dans les puits contrôle suggérant que le pic d'expression de l'OPN associée à la minéralisation n'a pas été atteint. La seconde hypothèse établie dans le cas de RUNX2 ne peut donc être faite

ici. Il semblerait que la présence de cuivre au sein des céramiques ait un effet négatif sur l'expression de l'OPN.

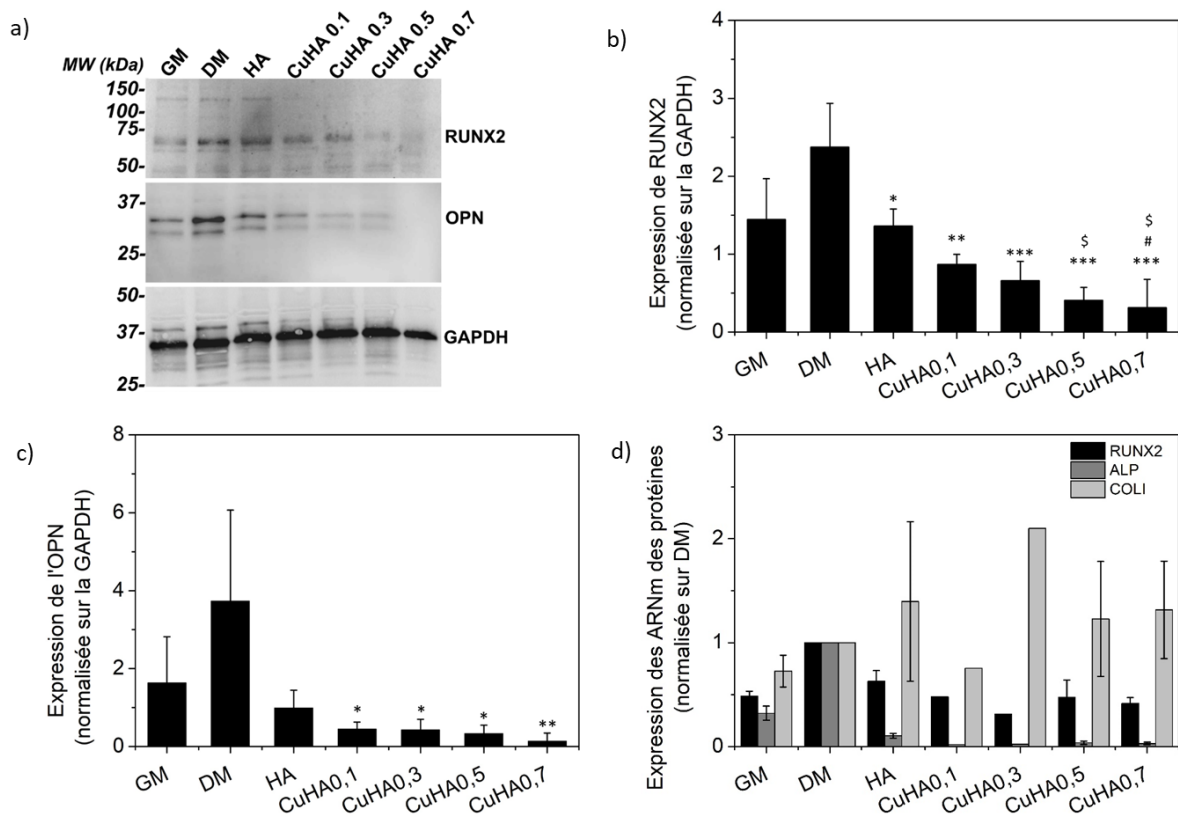


Figure 96 : Tests western-blot établissant l'expression des protéines RUNX2 et OPN dans les cellules MC3T3-E1 après 7 jours de culture (a). Evaluation semi-quantitative de l'expression de RUNX2 (b) et de l'OPN (c) via une analyse densitométrique des résultats de western-blot. Les valeurs sont normalisées par rapport au signal de la GAPDH. GM : milieu non différenciant, DM : milieu différenciant. Analyse statistique : ANOVA une voie suivi d'un test post-hoc de Tukey. *: vs. DM, $p \leq 0,05$; **: vs. DM, $p \leq 0,01$; ***: vs. DM, $p \leq 0,001$; \$: vs. GM, $p \leq 0,05$; # : vs. HA, $p \leq 0,05$; test RT-q-PCR établissant l'expression des ARNm de trois protéines dans les cellules MC3T3-E1 après 7 jours de culture (d)

Les résultats préliminaires d'analyse par q-RT-PCR indiquent que la variation de l'expression génique de l'ARN messager (ARNm) de RUNX2 est similaire à celle observée au niveau protéique par western-blot (Figure 96d). En effet, l'expression de RUNX2 est plus faible lorsque la croissance des cellules a lieu sur les céramiques, comparée au milieu DM, et également lorsque la céramique est dopée. L'expression relative des ARNm de la phosphatase alcaline (ALP), enzyme impliquée dans la minéralisation, et des chaînes α du collagène de type I (COL I) a également été étudiée, leur pic d'expression maximale au cours de l'ostéogénèse étant intermédiaire dans le temps par rapport à celui de RUNX2 et de l'OPN (cf paragraphe I.1.1.2). L'expression des ARNm du COL I par les cellules cultivées à la surface des céramiques à base d'HA pure est sensiblement supérieure à celle du DM ce qui suggère que la céramique

apatitique induit une modification positive des cinétiques ostéogéniques comparé au plastique. Comparativement à l'HA, des résultats sensiblement différents sont obtenus en fonction du taux de cuivre mais sans tendance générale : l'expression du collagène est inférieure pour CuVS0,1, supérieure pour CuVS0,3 et sensiblement égale pour CuVS0,5 et CuVS0,7. Un taux adapté de cuivre pourrait ainsi être favorable à la différenciation des cellules MC3T3-E1 en cellules osseuses mais le petit nombre d'analyses réalisées ne permet pas de validation statistique ni de conclusion nette sur ce point. En revanche, les cellules cultivées sur les céramiques, y compris sur l'HA pure, expriment faiblement l'ARNm de l'ALP comparé au DM. La présence de cuivre semble accentuer la réduction de son expression. Ce résultat reste difficile à interpréter, une analyse de l'activité de l'enzyme devra être effectuée.

Ainsi, comparativement à l'HA, bien qu'une diminution de l'expression de RUNX2 et de l'OPN soit observée avec le cuivre, une différence significative est notée seulement pour le taux de cuivre le plus élevé ($x = 0,7$) suggérant un effet négatif à cette dose. La présence de cuivre au sein de l'apatite pour des taux inférieurs n'affecte pas de manière significative le processus de différenciation des cellules pré-ostéoblastiques MC3T3-E1.

Pour conclure sur cette partie, les tests biologiques effectués prouvent que les céramiques CuVSx sont biocompatibles après 5 jours de culture cellulaire. Des analyses sur des durées de culture plus longues seront nécessaires afin de vérifier si le cuivre en quantité adaptée dans le matériau pourrait favoriser l'activité ostéogénique, notamment via la production de collagène de type I. Ces résultats prometteurs nous permettent d'envisager d'étudier le comportement biologique de ces biocéramiques vis-à-vis des cellules endothéliales, responsables de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. Ils permettent également d'envisager la mise en forme de céramiques biocompatibles d'HA dopées au cuivre.

V.2. Mise en forme d'HA substituée au cuivre par SLS

Cette deuxième partie porte sur l'interaction rayonnement-matière entre une poudre d'HA dopée au cuivre par voie solide et le laser à fibre ytterbium absorbant à 1070 nm. L'absorption de la poudre à cette longueur d'onde est donc primordiale. Les mesures d'absorbance réalisées dans le chapitre III sur les poudres CuVSx montrent que l'échantillon CuVS0,7 absorbe à hauteur de 76% la lumière proche infrarouge, ce qui est très prometteur. Cependant, la quantité de dopant incorporée dans l'HA pour cette composition est proche de la limite de solubilité, la poudre CuVS0,5 dont l'absorption est autour de 60% est donc retenue pour éviter toute

formation de phases secondaires. Le frittage-réactif du mélange de poudres HA-CuO, qui a été réalisé avec succès par méthode conventionnelle, est à nouveau envisagé par SLS.

V.2.1. Frittage-réactif d'un substrat HA-CuO par SLS

La prise en main de l'appareil est réalisée sur une pastille, d'environ 2 mm d'épaisseur et 10 mm de diamètre, contenant un mélange HA/CuO (x_{Cu} final = 0,5), placée dans un support en aluminium recouvert par une lame de verre pour éviter toute éjection de la matière. Après des tests préliminaires consistant à irradier, sous la forme d'un cordon, la surface des pastilles compactées par pressage uniaxial à 100 MPa à différentes puissances et vitesses de balayage, la puissance du laser est fixée à 48 W et la vitesse à 160 mm/s. En effet, pour ces paramètres, un cordon apparaît nettement à la surface de la pastille avec un changement de couleur du gris au violet attestant de la réaction entre l'HA et CuO.

Néanmoins, le passage du laser entraîne la formation de fissures et un écaillage de la matière, visible à la surface de la pastille ainsi qu'en profondeur (largeur de 360 μm et profondeur de 60 μm) (Figure 97a et c). Ce phénomène est probablement dû au frittage de la poudre sous irradiation laser, provoquant son retrait et donc une fracture avec la poudre non soumise à l'action du laser. On peut noter que la largeur de fissuration est beaucoup plus importante que le diamètre du faisceau laser de 50 μm . En comparaison, l'écaillage sur une profondeur de 60 μm seulement montre que la profondeur de pénétration du rayonnement électromagnétique est relativement faible (de l'ordre du micron ou une dizaine de micron). La dimension des écailles semble démontrer que l'échauffement se fait de façon anisotrope, peut-être de par une conductivité thermique de surface plus importante que la conductivité thermique de volume.

De plus, les grains de CuO, encore nettement distinguables au sein du cordon, sont entourés d'un gradient de couleurs violettes signifiant que la réaction entre les particules de CuO et celles de la matrice d'HA se fait seulement de façon partielle (Figure 97b). La durée d'exposition du matériau à l'irradiation laser étant très brève (de l'ordre de la milliseconde en considérant un faisceau de 50 μm de diamètre et une vitesse de balayage allant jusqu'à 2000 mm/s, cf paragraphe I.3.5.1), le temps de réaction est certainement insuffisant pour permettre la diffusion totale du cuivre dans l'HA. En outre, les particules d'oxyde de cuivre, dont l'absorption est beaucoup plus importante que les grains d'HA à 1070 nm ($A_{\text{CuO}} = 86,5\%$; $A_{\text{HA}} = 6,6\%$), pourraient jouer le rôle de points chauds lors de l'interaction avec le laser résultant en un chauffage inhomogène du lit de poudre.

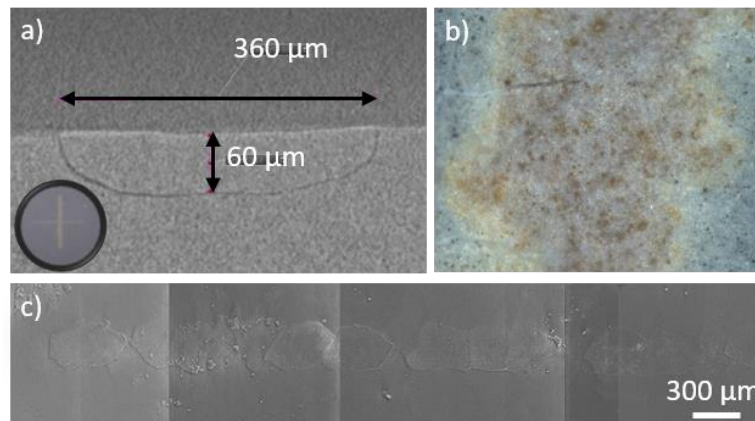


Figure 97 : Photo de la surface d'une pastille irradiée à 40 W et 160 mm/s selon le cordon vertical et image prise par microtomographie de la coupe de cet échantillon (a) ; écaillage observée en surface par MEB (b) et diffusion partielle de l'oxyde CuO au sein de l'HA observée par microscopie optique (c)

Ainsi, dans le cas d'un frittage laser sélectif, la réaction entre l'HA et CuO ne peut se faire de façon simultanée au frittage, contrairement au frittage conventionnel. De plus, l'apparition de fissures est observée alors que la répartition du cuivre n'est pas encore homogène. L'HA dopée au cuivre sur lequel a déjà été opéré un frittage réactif a donc ensuite été utilisée comme matériau de départ afin de permettre la bonne incorporation du cuivre dans la matrice (poudre CuHA rose contenant du cuivre au degré d'oxydation +I). Par ailleurs, ces premières expériences montrent que sur des pastilles de poudres compactées, l'apparition de craquelures et fissures semble être difficilement évitable. Pour augmenter les chances de réussite quant à une densification sans apparition de fissures sous irradiation laser, les expériences suivantes ont été menées sur des couches minces. En effet, d'une part, le dépôt en couche mince pourrait conférer un caractère plus élastique aux céramiques d'HA et d'autre part, l'adhésion avec le substrat pourrait limiter l'apparition des fissures.

Dans la suite, le frittage par SLS de couches minces d'HA préalablement dopée au cuivre et « pré-frittée » est donc étudié. La poudre CuVS0,5-1100 a d'abord été considérée mais après des essais de frittage laser sur un lit de poudre de 5 μm d'épaisseur, il s'est avéré que la forte absorption de la poudre (environ 60%) entraîne, à la puissance minimale de l'appareil de 40 W, la fusion de la matière à faible vitesse (10 mm/s) et son arrachement à vitesse plus élevée (150 mm/s) (Figure 98). La poudre CuVS0,1-1100, absorbant autour de 8%, a donc finalement été étudiée (on note ici que les puissances très importantes du laser permettent de s'affranchir d'une absorption élevée du matériau à la longueur d'onde du laser). Des couches minces d'épaisseur variable ont été réalisées avant frittage laser.

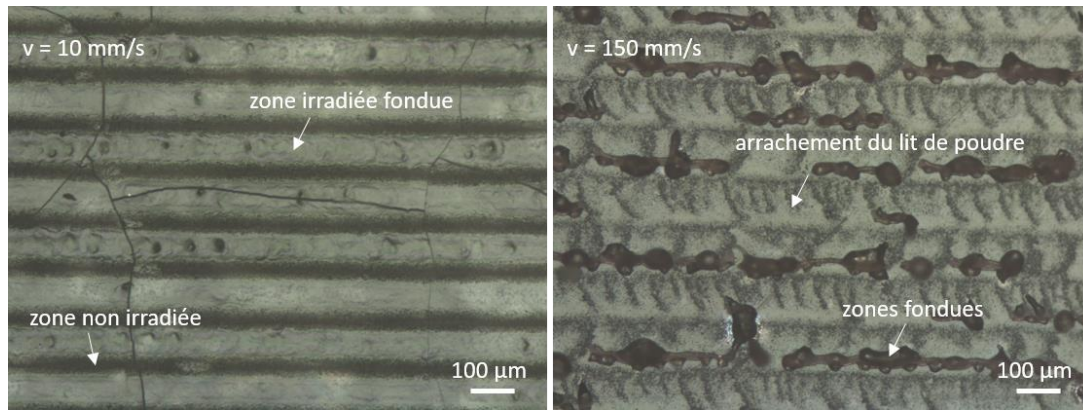


Figure 98 : Images de microscopie optique d'une couche mince de 5 µm d'épaisseur du composé CuVS0,5-1100 frittée par SLS à une puissance de 40 W et différentes vitesses (espacement entre les cordons de 100 µm)

V.2.2. Elaboration de couches minces de CuHA par dip-coating

Pour élaborer des couches minces d'épaisseur contrôlée, la technique de dip-coating a été utilisée. Cette méthode consiste à plonger un substrat, une lame de verre dans le cas présent, dans une suspension céramique et à le retirer à une vitesse fixe permettant de contrôler l'épaisseur du dépôt. En effet, l'augmentation de la vitesse de retrait du substrat conduit à une variation du rapport des forces de mouillabilité et des forces de gravité sur la suspension au profit des premières et permet donc d'accroître la quantité de matière déposée sur la lame de verre.

La suspension céramique est réalisée en ajoutant dans l'éthanol 30% massique de poudre CuVS0,1-1100 contenant 2% massique de dispersant par rapport à la masse totale de poudres. Le dépôt du film mince est effectué à une vitesse de retrait de 400 mm/min. A cette vitesse, correspondant pratiquement à la vitesse maximale de l'appareil, un film de quelques microns d'épaisseur ($< 5 \mu\text{m}$) est obtenu. Pour augmenter l'épaisseur totale de la couche mince, plusieurs couches successives (2, 6 ou 12) sont déposées sur la lame de verre à la vitesse de 400 mm/min. Entre chaque dépôt, le substrat est placé à l'étuve à 100°C pendant environ 1 minute afin d'assurer le séchage de la couche juste déposée. La tranche des 3 dépôts finaux est imagée par microscopie électronique à balayage (Figure 99a) afin de déterminer leur épaisseur à l'aide du logiciel ImageJ (Figure 99b). Des films minces de 5, 13 et 30 µm d'épaisseur sont ainsi obtenus respectivement pour des dépôts successifs de 2, 6 et 12 couches, l'épaisseur des films étant proportionnel au nombre de dépôts, comme attendu. Ces trois films sont ensuite frittés par SLS afin d'évaluer l'influence de l'épaisseur sur le frittage de la couche mince.

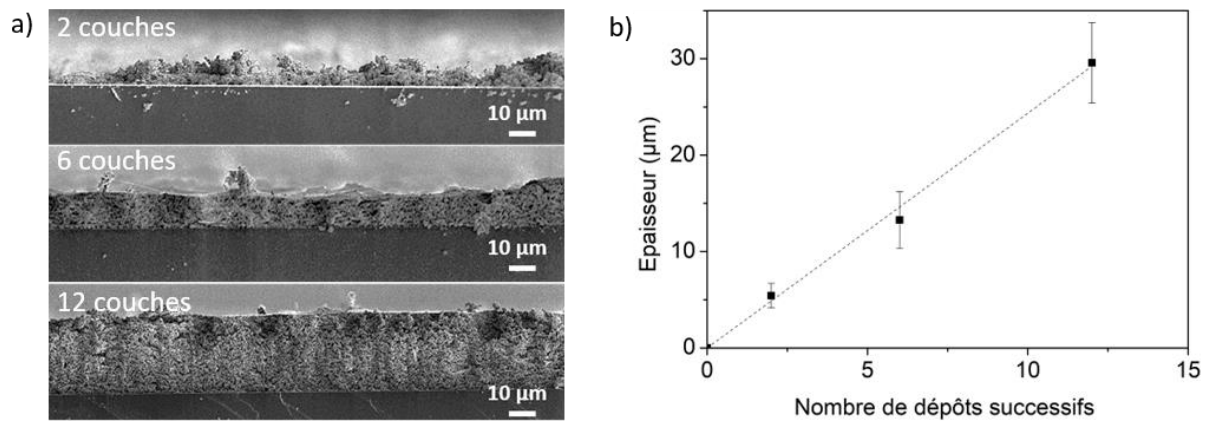


Figure 99 : Images MEB de la tranche de dépôts réalisés par dip-coating (a) et leur épaisseur respective (b)

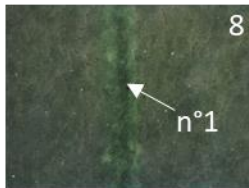
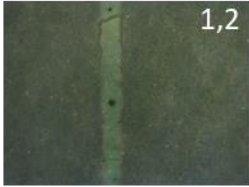
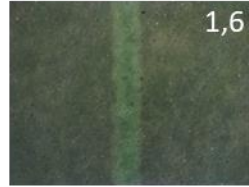
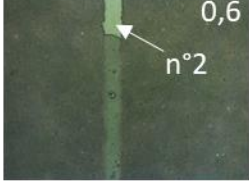
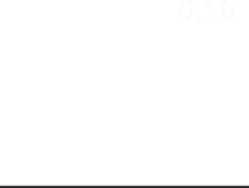
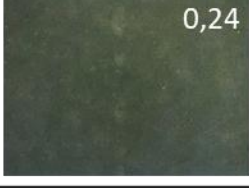
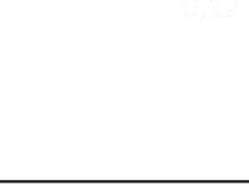
V.2.3. Frittage laser sélectif (SLS)

V.2.3.1. Frittage de cordons

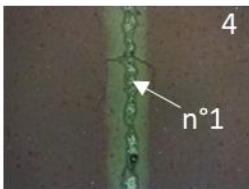
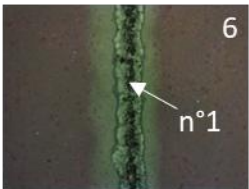
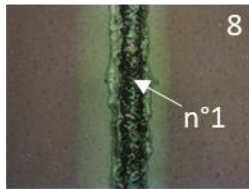
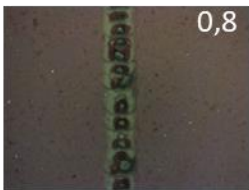
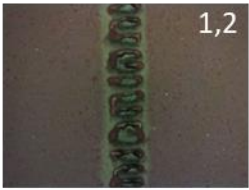
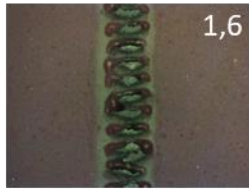
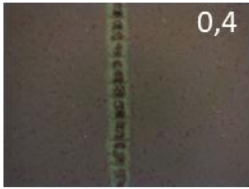
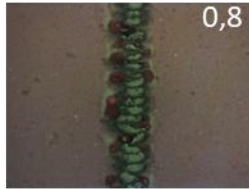
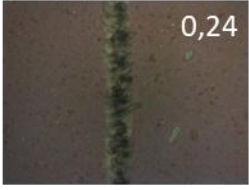
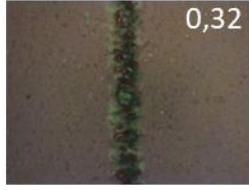
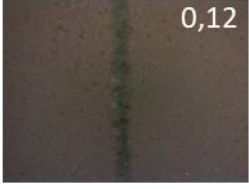
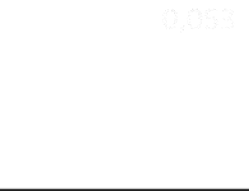
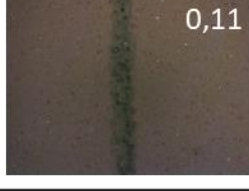
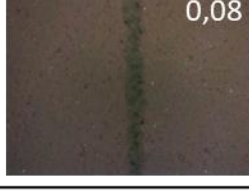
Dans un premier temps, les paramètres optimaux du procédé pour chacun des trois films minces sont déterminés en frittant un cordon de 0,5 cm de long à différentes puissances et vitesses de balayage du laser. Des puissances de 40, 60 et 80 W sont étudiées ainsi que des vitesses de balayage allant de 10 à 1000 mm/s. Les images des cordons frittés, prises par microscopie optique, sont présentées sur la Figure 100. Le changement de couleur de la surface des films d'une coloration violette franche à une coloration plus claire (désaturée) atteste du passage du laser. Ce changement de coloration a été attribué à un plus fort coefficient de diffusion de la lumière des zones irradiées qui peut être provoqué par une modification de la rugosité de surface des films ou de la taille des pores (centres diffusants) lors du frittage sous laser.

Pour un film d'épaisseur 5 µm, parmi les paramètres utilisés, les couples puissances - vitesses optimaux, c'est-à-dire ceux pour lesquels on observe un trait continu sans phénomène de fusion ni de fissuration sont : 40 W - 10 mm/s (énergie linéique $E = 4 \text{ J/mm}$), 60 W - 10 mm/s ($E = 6 \text{ J/mm}$) et 80 W - 50 mm/s ($E = 1,6 \text{ J/mm}$). L'application d'une énergie supérieure à 6 J/mm (80 W - 10 mm/s, $E = 8 \text{ J/mm}$) provoque la fusion de la zone centrale du cordon, commençant à laisser apparaître une phase vitreuse (zone n°1). En revanche, pour des énergies inférieures à 1,5 J/mm obtenues avec des vitesses de balayage élevées, des fissures apparaissent et l'arrachement du cordon est parfois observé (zones n°2). La fissuration pourrait être liée à la vitesse de balayage élevée qui provoque un gradient thermique plus important renforçant les contraintes au sein du lit de poudre. L'énergie linéique reçue ne semble donc pas un paramètre

discriminant (et donc pertinent) à prendre en compte en vue d'une optimisation du frittage. Les deux paramètres du couple vitesses – puissance du laser, sont tous deux à étudier séparément. Quelle que soit la puissance, à très hautes vitesses de balayage du laser, le cordon devient beaucoup plus fin et discontinu avant de disparaître.

Epaisseur : 5 μm			
Vitesse de balayage (mm/s)	Puissance (W)		
	40 E (J/mm)	60 E (J/mm)	80 E (J/mm)
10			
50			
100			
250			
500			

0,053

Epaisseur : 13 μm			
Vitesse de balayage (mm/s)	Puissance (W)		
	40 E (J/mm)	60 E (J/mm)	80 E (J/mm)
10			
50			
100			
250			
500			
750			
1000			

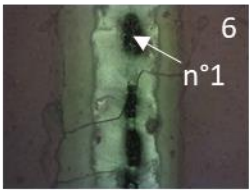
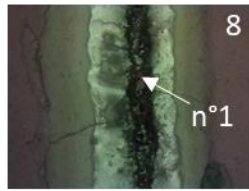
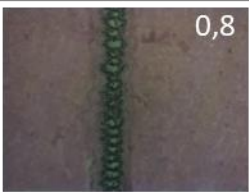
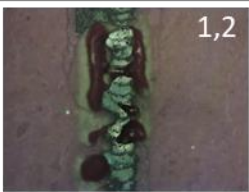
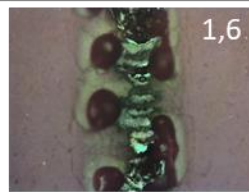
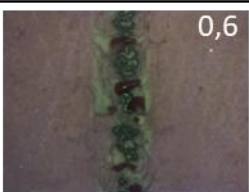
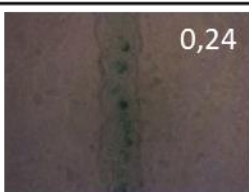
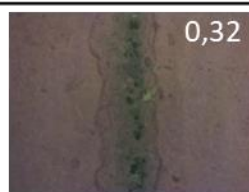
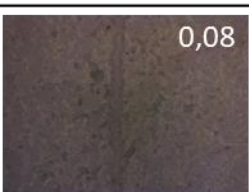
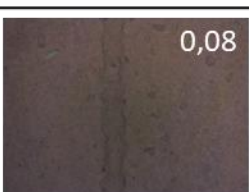
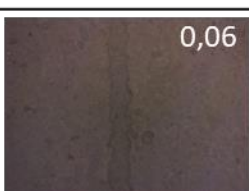
Epaisseur : 30 μm			
Vitesse de balayage (mm/s)	Puissance (W)		
	40 E (J/mm)	60 E (J/mm)	80 E (J/mm)
10			
50			
100			
250			
500			
750			
1000			

Figure 100 : Images de microscopie optique des cordons irradiés avec différentes puissances et vitesses de balayage sur des films de trois épaisseurs différentes

Pour des films d'épaisseur 13 et 30 μm , les mêmes observations peuvent être faites dans les deux cas. A vitesse minimale, quelle que soit la puissance, la zone centrale du cordon subit un phénomène de fusion laissant parfois apparaître le verre. Les fissures visibles suggèrent que le lit de poudre subit de fortes contraintes lors du cycle de chauffage-refroidissement. L'augmentation de la vitesse, induisant une diminution de l'énergie fournie, réduit la présence de zones de fusions. Les zones de frittage avancé provoqué par conduction thermique, sans fusion, autour de la zone irradiée, sont blanches, alors que les zones plus éloignées du passage du laser ont conservé la coloration violette d'origine (Figure 101). Cependant, pour tous les cordons, des écailles se forment et se décollent du substrat jusqu'à des vitesses de 1000 mm/s. On peut supposer que lorsque la profondeur de pénétration du laser demeure inférieure à l'épaisseur du film (la faible conductivité de la poudre empêchant la conduction de la chaleur jusqu'à l'interface film/substrat), la faible adhésion entre les grains de poudre irradiés et non irradiés conduit à l'arrachement de la couche supérieure (portée à haute température) du reste du film (demeurant à « basse » température). Les phénomènes de fusion et d'écaillement étant simultanés sur les dépôts les plus épais, le frittage semble plus approprié sur des films de faible épaisseur.

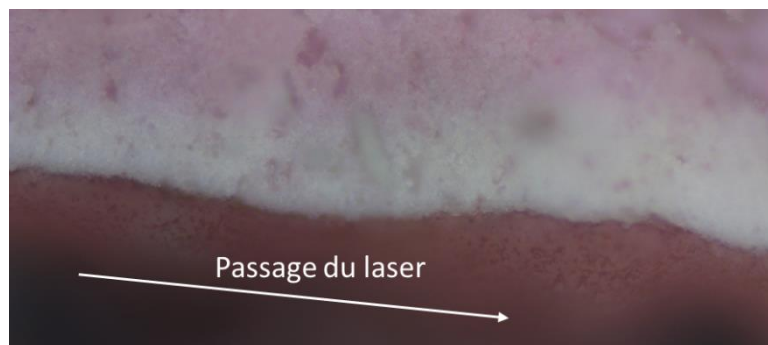


Figure 101 : Image de microscopie optique au bord du cordon irradié selon les paramètres : $P = 40 \text{ W}$, $v = 75 \text{ mm/s}$, $e = 25 \mu\text{m}$, $h_s = 100 \mu\text{m}$

Pour les trois films, on constate que la largeur du cordon dépend des trois paramètres que sont la vitesse de balayage, la puissance du laser et l'épaisseur du film. La largeur observée du cordon a ainsi été tracée en fonction de la vitesse de balayage et de l'épaisseur des films à une puissance de 60 W (Figure 102a) et en fonction de la vitesse de balayage et de la puissance du laser pour le film de 13 μm d'épaisseur (Figure 102b). La largeur du cordon, qui obéit à une loi de puissance de la forme $y = a \cdot x^b$ (avec $a > 300$ et $b < 0$), subit une augmentation très importante et brutale sous une vitesse « critique » d'environ 50 - 100 mm/s. Pour élaborer des pièces denses, le frittage sera optimal si un recouvrement partiel s'opère entre les cordons successifs.

La largeur du cordon devra donc être adaptée à chaque jeu de paramètres puissance-vitesse-épaisseur.

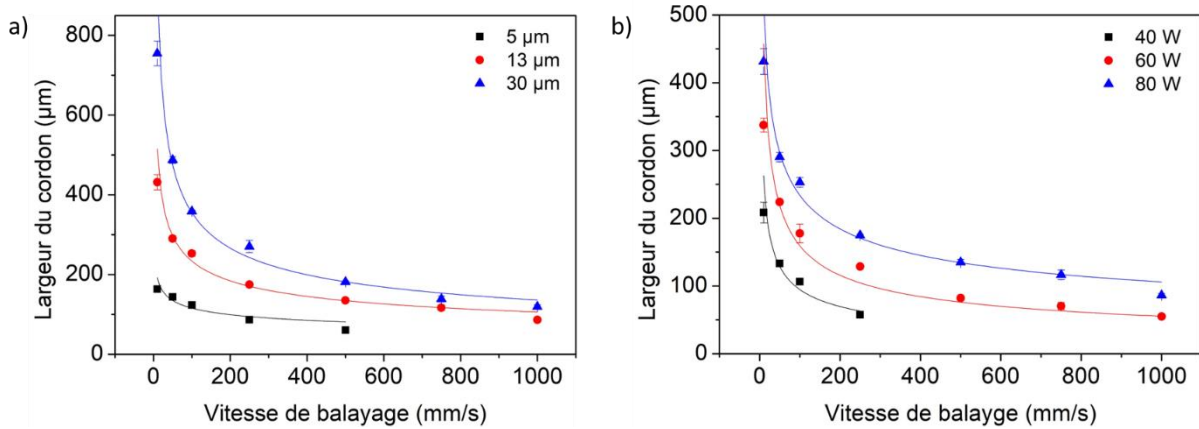


Figure 102 : Largeur du cordon en fonction de la vitesse de balayage du laser pour une puissance de 60 W (a) pour des films de 3 épaisseurs différentes et pour une épaisseur de film de 13 µm pour 3 puissances laser différentes (b)

Ces résultats montrent ainsi l'importance de l'épaisseur du dépôt sur le frittage. L'épaisseur de 5 µm semble la plus optimale puisque les films associés sont les seuls pour lesquels l'absence totale de fissures, pour certains jeux de paramètres (vitesse/puissance) du laser, est observée. Cependant, la réalisation de motifs de forme carrée, par succession de lignes de lasage parallèles et adjacentes, pourrait modifier l'interaction rayonnement-matière puisqu'un nouveau paramètre entre en compte dans le calcul de l'énergie appliquée au motif 2D : l'espacement entre les cordons.

V.2.3.2. Frittage de motif carré

Des motifs de forme carrée sont ainsi réalisés à une puissance de 40 W afin de limiter la fusion de la matière, notamment pour les deux films les plus épais. L'espacement entre les cordons est fixé égal à la largeur du cordon, déterminée précédemment pour chaque couple puissance/vitesse, afin d'éviter des zones subissant un « double » échauffement.

Deux tests de lasage de motifs carrés, pour des films de 13 et 30 µm d'épaisseur, ont été effectués respectivement à une vitesse de 250 et 750 mm/s et avec un espacement entre les cordons de 60 et 40 µm. Les images MEB des motifs carrés (zones frittées) confirment les résultats précédents de microscopie optique obtenus sur les films irradiés selon un simple cordon, à savoir que l'irradiation de la matière par le laser entraîne la formation d'écailles et un arrachement de la poudre (Figure 103). Le frittage d'un motif bidimensionnel, comme attendu, ne résout pas la problématique d'écailage.

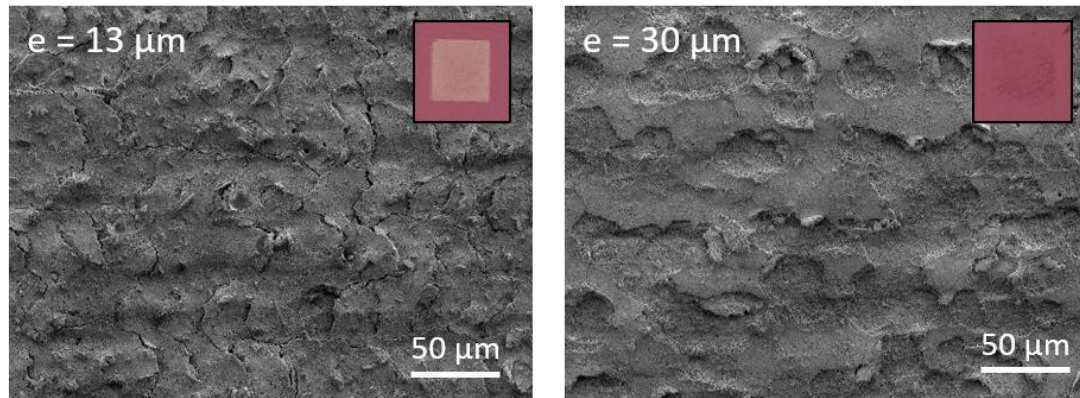


Figure 103 : Images MEB de carrés frittés avec les paramètres suivants : $e = 13 \mu\text{m}$, $P = 40 \text{ W}$, $v = 250 \text{ mm/s}$, $h_s = 60 \mu\text{m}$ (a) et $e = 30 \mu\text{m}$, $P = 40 \text{ W}$, $v = 750 \text{ mm/s}$, $h_s = 40 \mu\text{m}$ (e : épaisseur du lit de poudre, P : puissance du laser, v : vitesse de balayage, h_s : espacement entre les cordons)

Pour un lit de poudre d'épaisseur $5 \mu\text{m}$, le frittage a été réalisé à des vitesses de 5, 10 et 30 mm/s, à une puissance de 40 W. L'espacement entre les cordons a été fixé à $80 \mu\text{m}$, quelle que soit la vitesse de balayage, car la largeur du cordon reste grossièrement autour de cette valeur sur cette gamme de vitesse. Pour des vitesses de 5 et 10 mm/s, des motifs carrés continus de coloration blanche en comparaison des parties non irradiées du film sont observés tandis que des rubans se forment et se détachent du substrat pour 30 mm/s (Figure 104). Le diffractogramme des rayons X de la zone irradiée à 40 W et 5 mm/s montre qu'après frittage, la phase apatitique reste monophasée (Figure 105).

Des images MEB (Figure 104) ont été réalisées sur chacun des échantillons ainsi que sur une zone non frittée. A vitesse minimale (5mm/s), la couche est uniforme, aucun phénomène de fusion ou fissuration n'est observée tandis qu'à une vitesse de 10 mm/s, des fissures commencent à apparaître pour finalement former des rubans (déposés sur un adhésif en carbone) correspondant à chaque ligne irradiée à une vitesse de 30 mm/s. L'irradiation de la matière à une très faible vitesse pourrait ainsi permettre d'atténuer le gradient thermique et de promouvoir une relaxation des contraintes plus diffuse le long du cordon. Au contraire, malgré une énergie linéique plus faible, les frittages laser pour de plus hautes vitesses de balayage, induisent des gradients thermiques et donc des contraintes plus importantes, et provoquent le décollement de chaque cordon indépendamment les uns des autres. La vitesse de 5 mm/s rejoint la vitesse optimale de 3,3 mm/s déterminée par Shuai *et al.* dans leurs études sur la mise en forme d'HA nanométrique pure par SLS [202]–[204].

La cohésion mécanique des rubans (facilement manipulables après leur décollement) obtenus à une vitesse de 30 mm/s laisse penser que les zones frittées à plus faible vitesse (donc

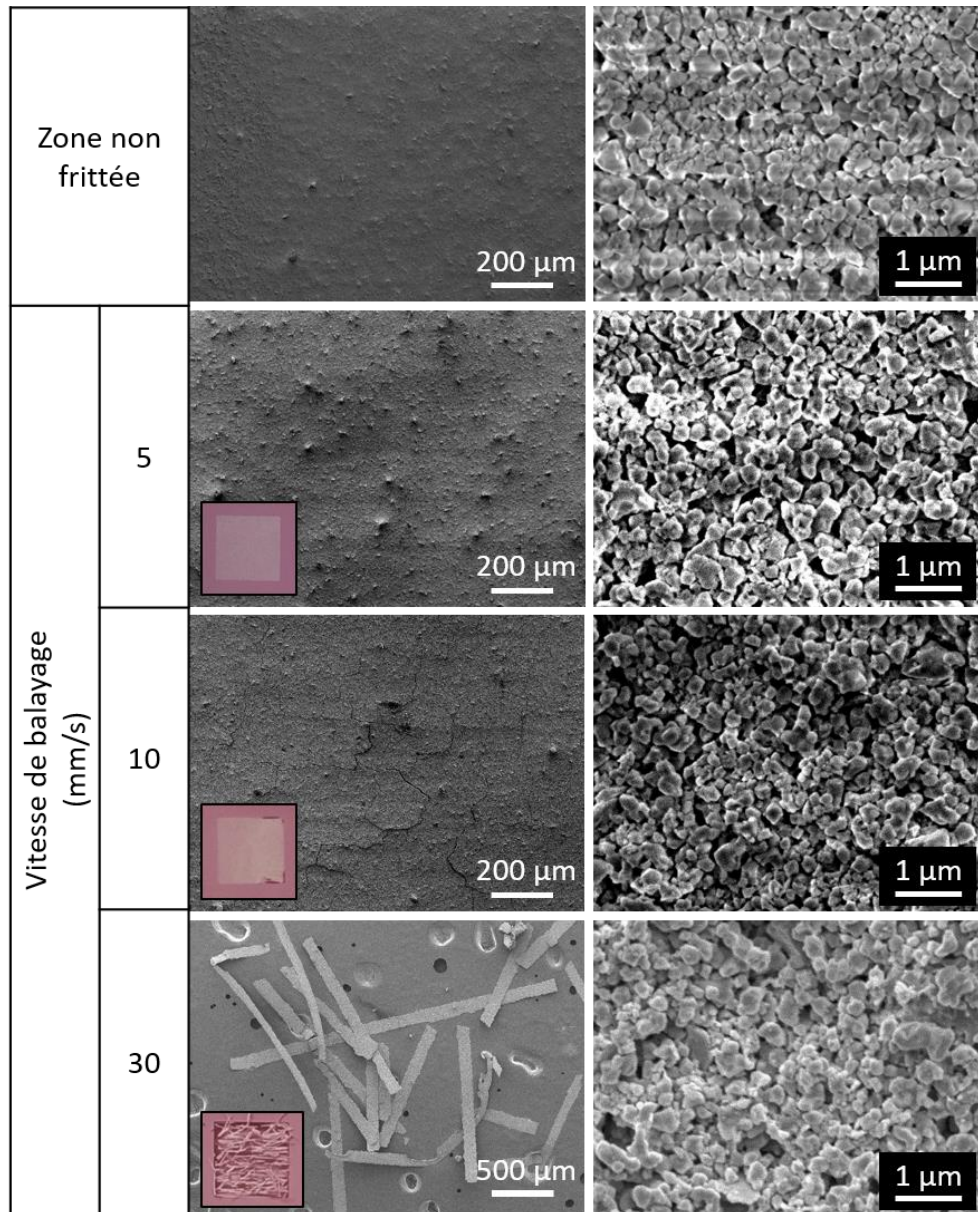


Figure 104 : Images MEB d'une zone non frittée et de motifs carrés frittés avec $P = 40 \text{ W}$, $h_s = 80 \text{ μm}$ et différentes vitesses de balayage.

à plus haute énergie) possèdent également une certaine tenue mécanique. En effet, si les gradients thermiques ont pu pour ces faibles vitesses être minimisés, permettant une réorganisation de la matière frittée sans arrachement du substrat, l'énergie reçue par la matière étant plus importante, les températures moyennes atteintes lors de l'irradiation laser ne peuvent être que plus élevées. L'avancement du frittage est donc plus important pour les faibles vitesses. Néanmoins, les images MEB à fort grossissement ne rendent pas compte d'un avancement dans le frittage visible pour les zones lasées en comparaison des zones non irradiées : absence de cols de frittage bien identifiés, conservation de la porosité. Pourtant, l'observation de rubans se décollant pour les vitesses de balayage rapides, laisse imaginer que l'irradiation de la matière

par le faisceau laser pourrait avoir permis la consolidation du lit de poudre grâce au développement de cols de frittage entre les particules correspondant à la première étape du processus. Ainsi, sur les couches de plus faibles épaisseurs, un frittage sélectif d'avancement très partiel mais permettant d'assurer une cohésion mécanique aux zones frittées, pourrait être poursuivi par une étape de frittage naturel qui renforcerait la densification de la pièce. Les rubans obtenus à haute vitesse de balayage ont ainsi été soumis à des traitements thermiques à haute température.

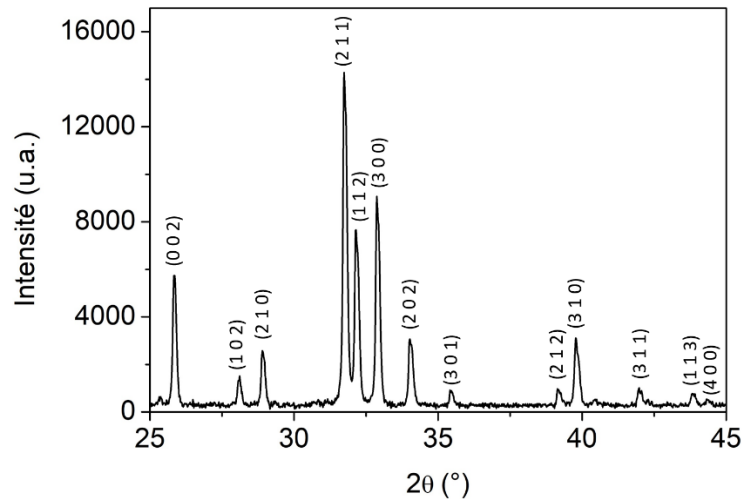


Figure 105 : Diffractogramme des rayons X ($\text{CuK}\alpha_1\text{K}\alpha_2$) de la zone frittée selon un motif carré à 40 W et 5 mm/s ($h_s = 80 \mu\text{m}$)

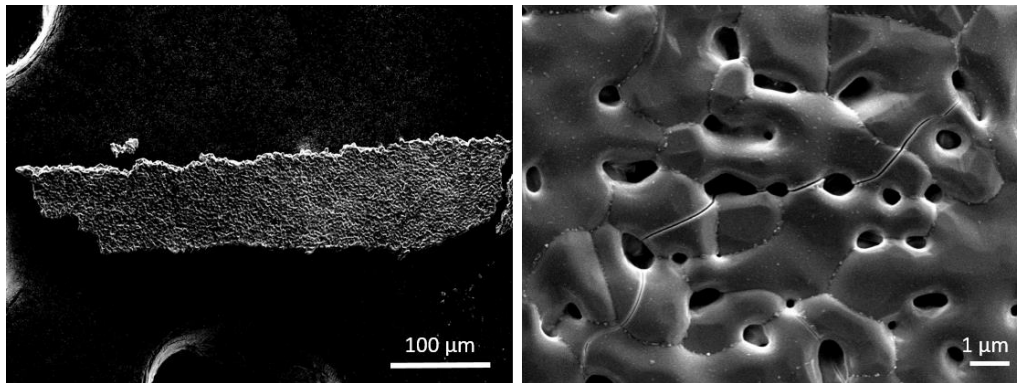


Figure 106 : Images MEB après frittage à 1300°C - 1h (trempe à l'air) des rubans obtenus par SLS pour $e = 5 \mu\text{m}$, $P = 40 \text{ W}$, $v = 5 \text{ mm/s}$ et $h_s = 80 \mu\text{m}$

Le recuit des rubans à 1300°C pendant 1 h, suivi d'une trempe à l'air, permet effectivement au processus de frittage de se poursuivre. Les images MEB des rubans recuits (Figure 106) montrent la formation de joints de grains entre les particules. Un retrait dans la largeur du ruban d'environ 10% est par ailleurs noté. L'apport de matière insuffisant du fait de la faible épaisseur des rubans pourrait être à l'origine de la porosité restante, évaluée à environ 7% à l'aide du

logiciel ImageJ. En effet, la taille des grains de ces rubans étant maintenant égale à l'épaisseur du ruban, la densification de ces rubans « monocouches de grains » est donc difficile. Les petites particules visibles aux joints de grains correspondent probablement à de l'oxyde de cuivre CuO, par analogie avec les résultats obtenus en frittage conventionnel au chapitre III. Des fissures, possiblement apparues lors du frittage laser, de la manipulation des rubans ou de la trempe à l'air, sont également observées en surface.

L'élaboration d'un film pré-fritté, sans phénomène de fissuration, a ainsi pu être réalisée par frittage laser sélectif d'un lit de poudre de 5 μm d'épaisseur à une puissance de 40 W et une vitesse de 5 mm/s ($h_s = 80 \mu\text{m}$). L'irradiation de la matière à une vitesse très lente permettrait la formation de col de frittage entre les particules et la minimisation du gradient thermique le long du cordon empêchant ainsi la fissuration du lit de poudre. Il faut noter que c'est en abaissant l'épaisseur des films que les meilleurs comportements sous frittage laser sont observés. Ceci pourrait davantage provenir d'une diminution de l'énergie reçue par le film que d'une augmentation des propriétés élastiques du film. En effet, des travaux calculatoires réalisés dans le cadre de la thèse de François Rouzé l'Alzit (en cours) démontrent que l'énergie volumique reçue par la couche mince est proportionnelle à la poire de pénétration du laser. Dans le cas du film le plus mince, son épaisseur de 5 μm est supposée inférieure à la profondeur de pénétration du rayonnement laser diminuant ainsi l'énergie appliquée à la couche mince. Cet abaissement de l'énergie reçue a ainsi permis d'explorer des vitesses de balayage beaucoup plus faibles, paramètre clé pour permettre la relaxation des contraintes engendrées par le début de frittage créé sous laser.

L'ensemble de ces résultats montre que la technique de SLS pourrait permettre la création de pièces de forme complexe pré-frittées et manipulables grâce à la tenue mécanique conférée par les ponts de frittage. Pour le moment, seuls des rubans de largeur d'une centaine de microns pour une épaisseur de 5 μm ont été produits mais dans l'avenir, l'abaissement de la puissance du laser dans le but de diminuer davantage les vitesses de balayage pourrait permettre d'accroître la densification du lit de poudre et donc de fabriquer des films autosupportés ou des objets de géométrie plus complexe.

V.2.3.3. Frittage multi-couches

Des essais de frittage laser sur plusieurs dépôts successifs de 5 μm d'épaisseur ont finalement été réalisés à une puissance de 40 W, une vitesse de 5 mm/s et un espacement entre les cordons de 300 ou 500 μm . Le premier dépôt est d'abord irradié selon une direction

horizontale, un nouveau dip-coating de la lame de verre est effectué et la matière est à nouveau irradiée avec les mêmes paramètres selon une direction verticale. Ces étapes sont répétées jusqu'à obtenir 6 dépôts successifs frittés. Des images des couches frittées à différents stades ont été réalisées à l'aide d'un microscope binoculaire (Figure 107).

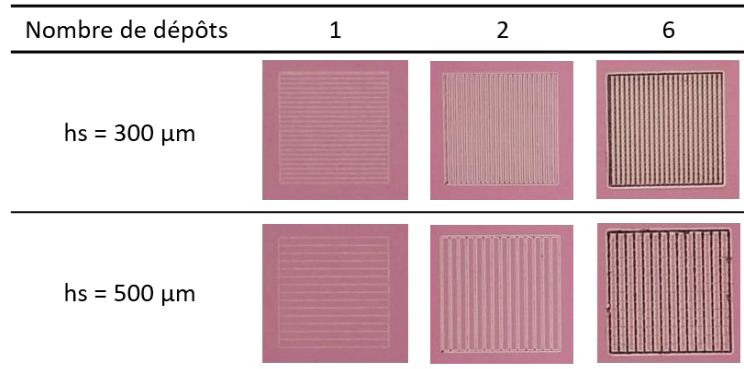


Figure 107 : Images, prises à l'aide d'une loupe binoculaire, de carrés frittés à 40 W, 5 mm/s et pour deux espacements de cordons h_s . Le frittage SLS est réalisé entre chaque dépôt de 5 μm jusqu'à un nombre de dépôts égal à 6.

Ces essais ont mis en lumière la problématique liée à l'épaisseur des couches minces déjà observée précédemment. En effet, dès la deuxième irradiation, le cordon central entre en fusion et des fissures apparaissent dans une direction perpendiculaire au passage du laser (Figure 108a). De plus, les cordons frittés précédemment dans une direction horizontale ne sont pas visibles, toute la matière semblant s'être réarrangée sous l'effet du laser du fait des gradients de tension de surface créés [259]. L'accroissement du nombre de dépôts entraîne un élargissement de la zone de fusion, l'épaisseur des films conservant dans ce procédé multicouche un impact sur les largeurs de cordon, comme précédemment observé sur des monocouches d'épaisseurs variables. Avec l'augmentation du nombre de couches, des cavités de surfaces, liées à la fusion-solidification de zones de plus en plus larges, apparaissent au centre des cordons, tandis que la zone non frittée devient de plus en plus déformée en raison des irradiations horizontales précédentes. Des images MEB avec un fort grossissement, qui ont été réalisées dans une zone non soumise à l'action du laser à proximité (dizaines de μm) de la partie centrale fondue, montrent des cols de frittage nettement visibles (Figure 108b). En modulant la puissance du laser, il serait donc possible de former des ponts conséquents entre les particules et ainsi d'augmenter la tenue mécanique de la pièce. Ce premier test de fabrication réellement additive (couche-par-couche), en comparaison avec les études sur monocouches, montre surtout qu'il est possible ici d'achever des films cohérent d'un point de vue mécanique, assez peu fissurés, alors que des températures extrêmement élevées au-delà de la température de fusion ont été

atteintes. La construction d'un film d'une épaisseur donnée obtenu couche-à-couche permet donc bien une relaxation des contraintes bien plus conséquente que pour un film monocouche de même épaisseur.

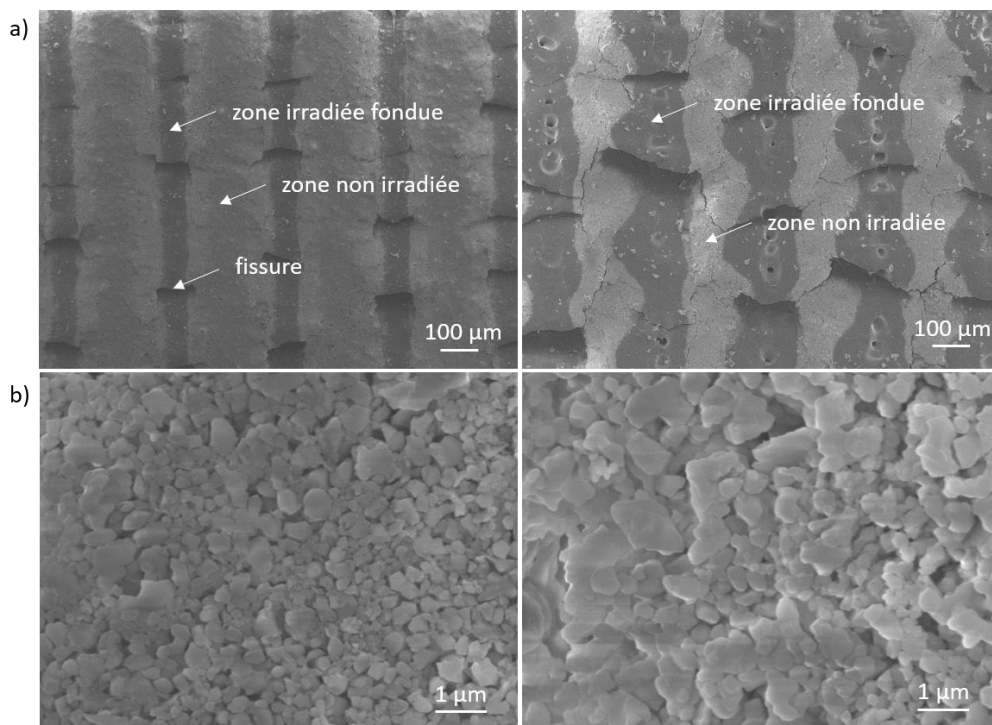


Figure 108 : Images MEB après 2 (gauche) et 6 (droite) dépôts avec frittage entre chaque dépôt (a) ; zone non soumise à l'action du laser, à proximité de la zone centrale fondue (b)

Ces résultats laissent donc entrevoir la possibilité, après optimisation des paramètres du procédé (épaisseur des couches, puissance et vitesse du balayage du laser, adaptation d'un nouveau jeu de paramètres à chaque nouvelle couche sur les premiers dépôts, etc...) d'obtenir des céramiques denses par frittage sélectif laser.

V.3. Conclusions

Malgré un léger effet négatif du cuivre sur la morphologie et l'activité métabolique des cellules MC3T3-E1, les tests biologiques ont montré que les composés CuVS_x ($x \leq 0,7$) sont biocompatibles et non cytotoxiques après 5 jours de culture *in vitro*. La biocompatibilité des matériaux sur des durées de culture plus longues devra être vérifiée. De même, un faible effet négatif du cuivre sur l'habilité des cellules à se différencier a été observée dans le cas des protéines RUNX2, OPN et ALP, cependant seule une différence significative comparée à l'HA a été notée pour le composé CuVS_{0,7} dans le cas de l'expression de RUNX2. L'expression du collagène de type I semble en revanche peu affectée par la présence de cuivre, l'activité

ostéogénique pourrait donc être favorisée par la production de COL I. De nouvelles expériences indépendantes devront être réalisées pour le confirmer.

Des couches minces d'une poudre CuVS_{0,1}, préalablement calcinée à 1100°C, réalisées par dip-coating sur lame de verre à partir d'une suspension céramique, ont pu être mises en forme par SLS. En effet, malgré la faible absorption du matériau à la longueur d'onde du laser (environ 8%), un lit de poudre de 5 µm d'épaisseur a pu être pré-fritté selon un motif carré à une puissance de 40 W et une vitesse de 5 mm/s ($h_s = 80 \mu\text{m}$). La vitesse de balayage très lente permet avantageusement de réduire le gradient de température le long du cordon et donc la présence de contraintes locales, limitant ainsi l'apparition de fissures. Bien que les images MEB ne rendent pas compte du processus de frittage, la formation de rubans manipulables à une vitesse de 30 mm/s témoigne d'une certaine cohésion entre les particules via la formation de cols de frittage.

En outre, les premiers essais de frittage de films plus épais obtenus couche-par-couche à partir de dépôt d'épaisseurs fines (avec irradiation entre chaque dépôt) sont encourageants, et montrent que la propagation de fissures et la formation d'écailles délaménées peuvent être drastiquement limitées par rapport aux premières tentatives de frittage de monocouches plus épaisses. Ces résultats ouvrent la voie à de larges études d'optimisation paramétrique.

Par ailleurs, l'étude du frittage sur une gamme de puissance plus faible (< 40 W, limite basse de l'appareil) serait intéressante pour pouvoir réduire encore davantage les vitesses de balayage du laser afin d'accentuer le processus de frittage sans pour autant engendrer la formation de fissures, mais également pour mettre en forme des composés CuVS_x avec un taux de cuivre plus élevé et donc d'absorption plus importante à la longueur d'onde du laser. L'utilisation de filtres (diffusifs ou absorbants) pourrait permettre de réduire de façon contrôlée la puissance délivrée par le laser au niveau de la surface des échantillons.

Cette étude exploratoire montre d'ores et déjà que la technique de SLS pourrait ainsi être envisagée pour élaborer des revêtements de céramiques frittées sur différents substrats voire de films céramiques autosupportés. Plusieurs champs d'application comme dans le domaine biomédical mais également électronique ou optique pourraient être explorés. Par exemple, l'équipe envisage le frittage laser sélectif de films minces de VO₂ pour des applications dans les fenêtres intelligentes de contrôle solaire/thermique (largement développés à l'ICMCB [260]–[262]).

Conclusion générale

Ce travail avait pour but de synthétiser, par coprécipitation et par voie solide, et de caractériser des hydroxyapatites dopées au cuivre ou au fer. L'étude de leur frittabilité ainsi que l'évaluation de leurs propriétés biologiques et leur mise en forme par frittage laser sélectif faisaient également partie des objectifs de cette thèse.

Une première partie, s'est intéressée à la préparation de phases hydroxyapatite (HA) dopées au cuivre. La synthèse par coprécipitation, à partir de nitrates de calcium et de cuivre, d'hydrogénophosphate d'ammonium avec un rapport molaire $(\text{Ca}+\text{Cu})/\text{P} = 10/6$ a permis l'élaboration de phases pures $\text{Cu}^{\text{II}}\text{HA}$ de couleur bleue après calcination du produit à relativement basse température (600°C). Le cuivre(II) se situe dans un site octaédrique avec une distorsion orthorhombique (du moins quadratique), sur la base des études RPE et de la spectroscopie UV-visible-NIR, comprenant plusieurs types de ligands : OH^- et O^{2-} . Parmi les liaisons Cu-O et Cu-OH, identifiées par XPS, 4 oxygènes se situent à une distance de $1,94 \text{ \AA}$ tandis que les deux autres, distribués aléatoirement d'un site à l'autre, se situent à des distances supérieures à $2 \text{ \AA}$ sur la base de l'affinement des oscillations EXAFS. Les interactions Cu-Cu identifiées en RPE témoignent d'une certaine proximité entre les éléments dopants. Ces résultats suggèrent que le cuivre substitue le calcium au niveau du site distordu $\text{Ca}(2)$ proche des groupements hydroxyles et capable de s'accommoder aux effets de distorsion propres à l'effet Jahn-Teller du cuivre. Cependant, la formation du complexe $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ lors de la synthèse empêche un contrôle précis sur la composition finale de l'HA dopée, notamment sur le taux de cuivre incorporé.

L'utilisation de nouveaux précurseurs (hydroxyde de calcium, nitrate de cuivre et hydrogénophosphate d'ammonium), toujours avec un rapport $(\text{Ca}+\text{Cu})/\text{P} = 10/6$, permet d'éviter la formation du complexe $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ mais, en revanche, ne permet pas d'obtenir un précipité homogène d'HA sans phase secondaire au cuivre. Une nouvelle approche a alors été envisagée : incorporer le cuivre au sein de l'apatite par réaction à haute température entre un précurseur au cuivre et une HA stoechiométrique.

La réaction par voie solide entre une HA stœchiométrique et l'oxyde de cuivre CuO à des températures supérieures à 1100°C a permis l'élaboration de phases CuHAX pures (dans la limite de détection de la DRX), de couleur violette, pour $x \leq 0,7$ dans la formule théorique $\text{Ca}_{10}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6\text{O}_y\text{H}_z$. Le cuivre, dont la position a été établie par des analyses DRX, se situe au

centre des tunnels hexagonaux, entre deux ligands hydroxyles, à la position de Wyckoff 2b (0,0,0). Lors du traitement thermique, la réduction des ions Cu^{2+} en Cu^+ est concomitante à la stabilisation du cuivre dans l'HA dans le tunnel hexagonal. L'incorporation du cuivre au degré d'oxydation +I au sein de l'apatite mis en évidence par spectroscopie XANES, explique la couleur violette des échantillons. L'incorporation des ions Cu^+ , procédant par substitution d'un atome d'hydrogène par le cuivre(I), mise en évidence par spectroscopie FTIR, engendre la formation de chaînes linéaires O-Cu-O majoritairement isolées pour $x \leq 0,3$. De plus, l'étude EXAFS a montré, grâce à la géométrie linéaire de ces clusters qui se traduit par des effets de diffusion multiple, l'existence de chaînes $[\text{Cu-O}]_n$ avec $n \geq 2$ qui n'apparaissent clairement que pour de plus forts taux de cuivre : $x \geq 0,5$. La forte covalence de la liaison Cu-O dans une telle configuration en haltère conduirait à une forte hybridation entre les orbitales $3d-4s$ du cuivre et les orbitales $2p$ de l'oxygène. La formation de centres paramagnétiques transitoires par transfert métal-ligand-métal le long des clusters linéiques Cu-O-Cu de type O^- , de configuration électronique $2p^5$, et de type Cu^0 dès lors dans une configuration $3d^{10}4s^1$ expliquerait l'observation d'un signal RPE à basse température.

La frittabilité de l'HA est très peu affectée par le dopage au cuivre, la température maximale de frittage se décalant seulement de 20°C vers les plus hautes températures par rapport à l'HA pure ($T_{\text{max}} \approx 1000^\circ\text{C}$). Des céramiques CuHA_x denses, avec un taux de densification supérieur à 95%, ont pu être obtenues par traitement thermique à des températures supérieures ou égales à 1100°C . La présence d'une phase riche en cuivre en surface et aux joints de grains ainsi que l'apparition d'oxyde de cuivre CuO par recuit additionnel des phases CuHA_x à 700°C sous air confirment que l'insertion du cuivre au sein de l'apatite n'est possible que très majoritairement sous la forme de Cu^{I} . En effet, la métastabilité du cuivre(I) additionnée à l'instabilité du cuivre(II) au sein de l'HA provoquent la démixtion de phases riches en cuivre avec l'oxydation de Cu^{I} lors de la descente en température. Après insertion du cuivre à haute température, la réalisation d'une trempe rapide empêche la réoxydation du cuivre(I) et permet donc l'élaboration de phases CuHA pures de formule générale $\text{Ca}_{10}\text{Cu}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$. La mise en forme des phases CuHA a donc pu être envisagée par frittage laser sélectif : au vu de la rapidité des montées et descentes en température lors du procédé, la démixtion du cuivre pourrait être évitée. Des couches minces de $5\text{ }\mu\text{m}$ d'épaisseur, déposées par dip-coating sur des lames de verre transparentes (insensibles au laser), ont ainsi pu être pré-frittées selon des cordons ou des motifs carrés (espacement entre les cordons de $80\text{ }\mu\text{m}$), grâce à l'optimisation des paramètres de frittage. L'utilisation d'une vitesse de balayage du laser très lente de 5 mm/s ,

à une puissance de 40 W, permet de réduire les gradients thermiques subis par le film céramique et donc assure la relaxation des contraintes locales inhérentes au frittage, empêchant ainsi l'apparition de fissures. De plus, la formation de rubans manipulables, après leur décollement du substrat, obtenue pour une vitesse de balayage du laser de 30 mm/s témoigne indubitablement d'une certaine cohésion entre les particules via la formation de cols de frittage. Finalement, les premiers essais de mise en forme 3D couche-à-couche, réalisés en alternant le dépôt d'une couche de 5 μm d'épaisseur et une étape d'irradiation, sont encourageants puisque la propagation des fissures et la formation d'écailles peuvent être drastiquement limitées par rapport au frittage de monocouches plus épaisses. Ces résultats ouvrent la voie à de larges études d'optimisation paramétrique.

L'évaluation de la biocompatibilité des céramiques indique que les phases CuHA_x ($x \leq 0,7$) sont biocompatibles et non-cytotoxiques sur des temps de culture jusqu'à 5 jours. Bien que les matériaux contenant les taux de cuivre les plus élevés ($x \geq 0,5$) semblent avoir un léger impact négatif sur l'activité métabolique des cellules et sur l'expression de certaines protéines, marqueurs de l'ostéogénèse, telle que l'ostéopontine ou la phosphatase alcaline, aucune différence significative au regard de l'HA pure n'est observée. En outre, selon la quantité de dopant utilisée, l'insertion du cuivre pourrait avoir un impact positif sur l'expression du collagène de type I comparé à l'HA pure.

Une seconde partie, a traité de la préparation de phases d'hydroxyapatites dopées au fer, réalisées par voie solide, en se donnant les moyens de maîtriser le degré d'oxydation du fer (Fe^{II} ou Fe^{III}) par le choix du précurseur et de l'atmosphère de recuit. Des phases $\text{Fe}^{\text{III}}\text{HA}_x$ pures, dans la limite de détection des DRX, ont été synthétisées par réaction par voie solide sous air entre l'hématite Fe_2O_3 et l'HA à des températures de recuit comprises entre 1100°C et 1200°C pour $x \leq 0,5$ dans la formule théorique $\text{Ca}_{10}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6\text{O}_y\text{H}_z$. Dans ces phases, le fer(III) s'insère majoritairement dans les tunnels hexagonaux entre les triangles formés par les ions calcium $\text{Ca}(2)$ à la position de Wyckoff 12i (0, 0,14, 0,45). Un deuxième site, identifié par spectroscopie Mössbauer, présente un signal avec un déplacement isomérique très faible ($\delta = 0,09$ mm/s) et pourrait être dû à un rapprochement du fer vers l'axe hexagonal. L'insertion du fer(III) au sein du site majoritaire, en coordinence 4 ou 5, entraîne la substitution d'un ion Ca^{2+} (présence de lacunes cationique dans le site 6h de $\text{Ca}(2)$) et d'un ion H^+ selon la formule $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$. La formation de phases à la fois riches en calcium et en fer, pour un taux de dopant $x = 1,0$ (qui est au-delà de la limite de solubilité du fer dans l'apatite), confirme la substitution du calcium. Cependant, selon la température de calcination, ce sont des phases

de phosphate tricalcique pauvres en calcium qui apparaissent majoritairement quel que soit le taux de dopant. La charge élevée (pouvoir polarisant accru) et la localisation des ions Fe^{3+} stabilisés entre les sites Ca(2) dans les canaux hexagonaux seraient à l'origine d'une réorganisation structurale de l'apatite plus complexe.

Des phases $\text{Fe}^{\text{II}}\text{HA}_x$ pures ont également été élaborées par réaction par voie solide sous argon entre l'acétate de fer(II) $\text{Fe}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ et l'HA jusqu'à des températures de 1300°C pour $x \leq 1,0$ dans la formule théorique $\text{Ca}_{10}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6\text{O}_y\text{H}_z$. Les ions Fe^{2+} s'insèrent majoritairement au centre du tunnel hexagonal autour de la position de Wyckoff 2b (0, 0, 0,25), c'est-à-dire au sein de sites différents des ions Fe^{3+} , par ailleurs très proches du site d'insertion des ions Cu^+ précédemment observés. A ce propos, si on note une augmentation des deux paramètres de maille lors de la réaction par voie solide pour le cuivre, il faut mentionner une diminution du paramètre a alors que le paramètre c s'accroît dans le cas du fer. La réduction du paramètre a pourrait dès lors être lié aux rapprochements des atomes O3 des groupements phosphates vers la sphère de coordination du fer, ce qui n'est pas le cas avec l'environnement local en haltere du cuivre monovalent. La conformation linéaire du fer(II) est confirmée par le faible déplacement isomérique ($\delta = 0,6$ mm/s) établi par spectroscopie Mössbauer mais cela n'exclut pas la présence de 4 oxygènes O3 issus des groupements phosphate dans son proche voisinage, de façon à décrire un octaèdre volumineux mais aplati (coordinnence $[2 + x]$) en accord avec le spectre optique traduisant un champ octaédrique faible voisin de 1,2 eV. Ainsi tout comme le cuivre monovalent et étant donné la faible valeur du déplacement isomérique déterminé par spectroscopie Mossbauer, ici dans le cas du fer divalent localisé au centre des canaux hexagonaux, une hybridation $3d-4s$ doit être prise en compte au sein d'une liaison Fe-O avec un caractère covalent assez marqué (liaisons Fe-O très courtes selon l'axe hexagonal). Les spectres Mössbauer montrent par ailleurs qu'une partie des ions Fe^{2+} se situe également dans un site de coordinnence 5 ou 6, correspondant probablement à un site du calcium (présence de lacunes dans le site Ca(2)) tandis qu'une faible proportion de dopant s'est oxydée en ions Fe^{3+} . La substitution majoritaire de deux atomes d'hydrogène par les ions Fe^{2+} , situés au centre des canaux hexagonaux entre les groupes hydroxyles, nous conduit à décrire les $\text{Fe}^{\text{II}}\text{HA}$ selon la formule suivante $\text{Ca}_{10}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_{2x}$.

La frittabilité des HA dopées au fer est fortement influencée par la présence des réactifs contenant du fer(II) comme du fer(III). Le frittage se déroule en deux étapes avec une température maximale de frittage qui se décale de plus de 200°C en comparaison avec l'HA pure pour se situer entre 1200 et 1300°C. L'introduction du fer retarde donc le frittage,

probablement à cause de l'insertion plus tardive du fer au sein de l'apatite comparé au cuivre. Des céramiques denses, avec un taux de densification supérieur à 95%, ont tout de même été produites pour des températures de frittage comprises entre 1100 et 1300°C. De plus, la pureté des phases à bas taux de fer(II), conservée à haute température, et leur propriété d'absorption optique autour de 1 μm notamment, sont prometteuses en vue d'une application en frittage laser sélectif sous atmosphère neutre.

Ces travaux de thèse offrent diverses perspectives. On peut noter que les analyses par DRX couplées à plusieurs techniques de spectroscopie, uniquement sensibles aux éléments de transition, comme les spectroscopies RPE, Mössbauer ou optiques, ont permis de mettre en lumière les environnements locaux autour de ces éléments fer et cuivre au sein des phases phosphatées dopées et pourraient faire l'objet d'une méthodologie applicable à d'autres éléments de transition. Des analyses XAS sur les phases FeHA pourraient être effectuées afin de déterminer avec plus de précision l'environnement local autour du fer, au degré d'oxydation +II notamment, et ainsi pouvoir statuer sur la coordinence du fer au centre du tunnel hexagonal.

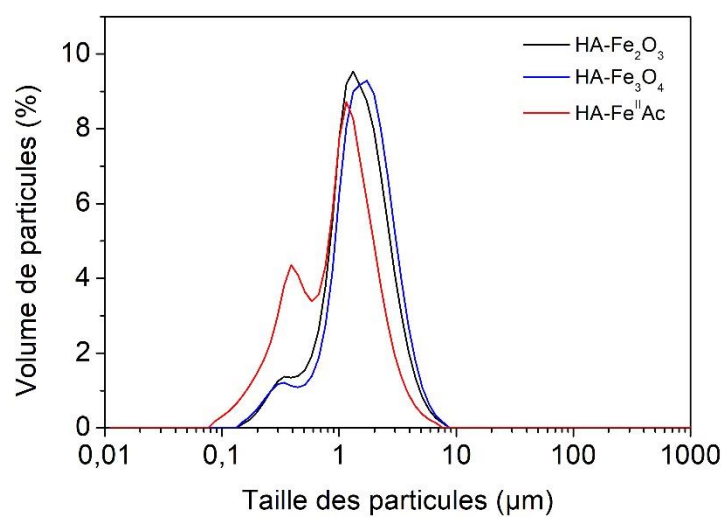
Concernant les tests biologiques, les résultats encourageants obtenus pour les phases CuHAX restent à approfondir : la biocompatibilité des matériaux sur des durées de culture plus longues devra être vérifiée et de nouvelles expériences indépendantes devront être réalisées pour confirmer les résultats de différenciation cellulaire. Ces tests préliminaires ont permis d'envisager l'étude du comportement biologique de ces biocéramiques vis-à-vis des cellules endothéliales, responsables de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, ainsi que celle de l'influence de l'architecture de céramiques CuHAX mises en forme par fabrication additive (robocasting) sur la vascularisation et l'ostéogénèse (thèse en cours du Dr. Julie Usseglio-Grosso). Dans le cas du dopage au fer, la biocompatibilité des phases Fe^{II}HAX et leur capacité à induire la différenciation cellulaire pourront également être évaluées, la majorité des articles de la littérature font référence à des phases apatitiques contenant du fer à l'état trivalent.

Enfin, concernant la mise en forme des matériaux, des céramiques denses de CuHA ou FeHA ont pu être élaborées laissant la porte ouverte à la réalisation de céramiques contenant différents taux de porosité pour une application en reconstruction osseuse. De plus, les premiers essais de frittage laser sélectif sur les phases CuHA, même s'ils restent à optimiser, ont montré des résultats encourageants. L'ouverture d'un nouvel axe paramétrique : la puissance du laser, qu'il faut pouvoir contrôler, apparaît comme nécessaire pour l'optimisation morphologique des films obtenus après frittage laser. En effet, l'abaissement de la puissance du laser via

l'utilisation de filtres absorbants ou diffusifs pourrait permettre de diminuer encore la vitesse de balayage du laser appliquée aux films de céramiques (les résultats après frittage laser avec les vitesses de balayage les plus faibles se sont avérés être les meilleurs) ou encore d'étudier des composés plus fortement absorbants à la longueur d'onde du laser (thèse en cours de François Rouzé l'Alzit). La technique de SLS pourrait ainsi être envisagée pour élaborer des revêtements de céramiques frittées sur différents substrats voire de films céramiques autosupportés dans le domaine biomédical mais aussi dans d'autres domaines. Par exemple, l'ICMCB envisage d'étudier suite à ces travaux le frittage laser sélectif de films minces de VO_2 pour des applications dans les fenêtres intelligentes de contrôle solaire/thermique (largement développés dans le laboratoire [260]–[262]). La mise en forme d'architectures 3D couche-par-couche pourra également faire l'objet de nouveaux tests paramétriques suite à la mise en place des filtres pour contrôler la puissance du laser. Enfin, le frittage laser sélectif des phases $\text{Fe}^{\text{II}}\text{HA}$ absorbant à $1\text{ }\mu\text{m}$ semble tout-à-fait envisageable au vu des caractéristiques de frittabilité de ces poudres mais devra être effectué au sein d'une enceinte avec une atmosphère neutre (l'adaptation de l'appareillage au frittage SLS sous atmosphère contrôlée étant en phase d'achèvement à l'ICMCB).

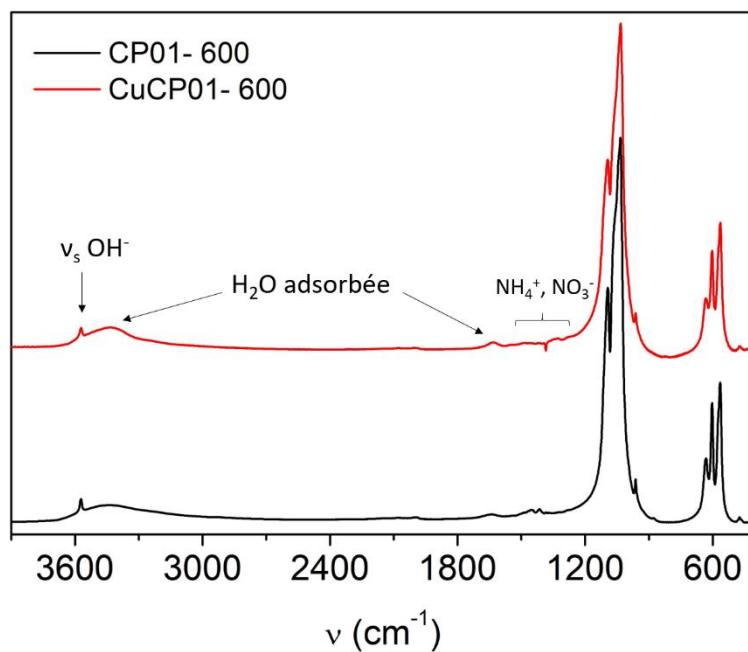
Annexes

Annexe 1 : Courbes granulométriques des mélanges de poudres HA-précurseur de fer (5% mol. de fer visés) attritées à 800 rpm pendant 3 h, ainsi que les tailles de particules associées D10 et D90



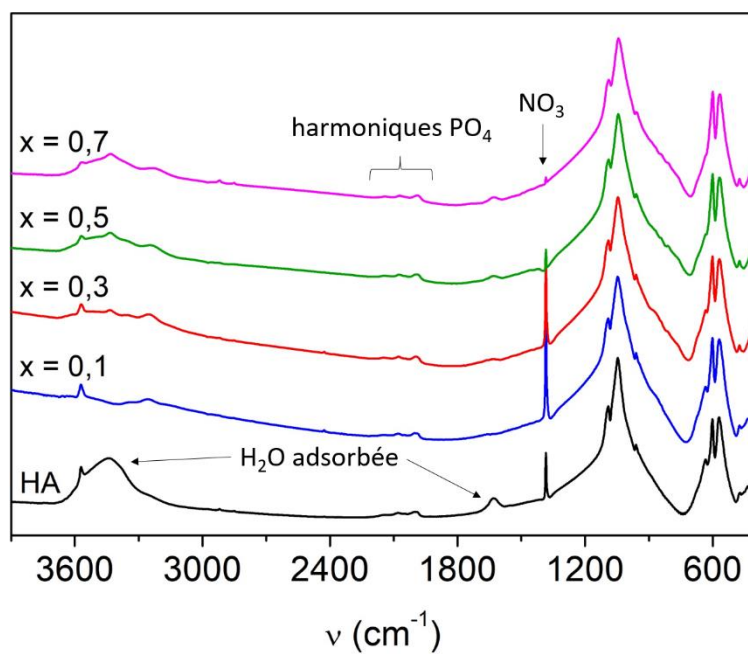
	HA-Fe ₂ O ₃	HA-Fe ₂ O ₃	HA-Fe ^{II} Ac
D10 (μm)	0,6	0,6	0,3
D90 (μm)	2,8	3,0	2,1

Annexe 2 : Spectres FTIR des poudres CP01 et CuCP01 calcinées à 600°C pendant 1 h

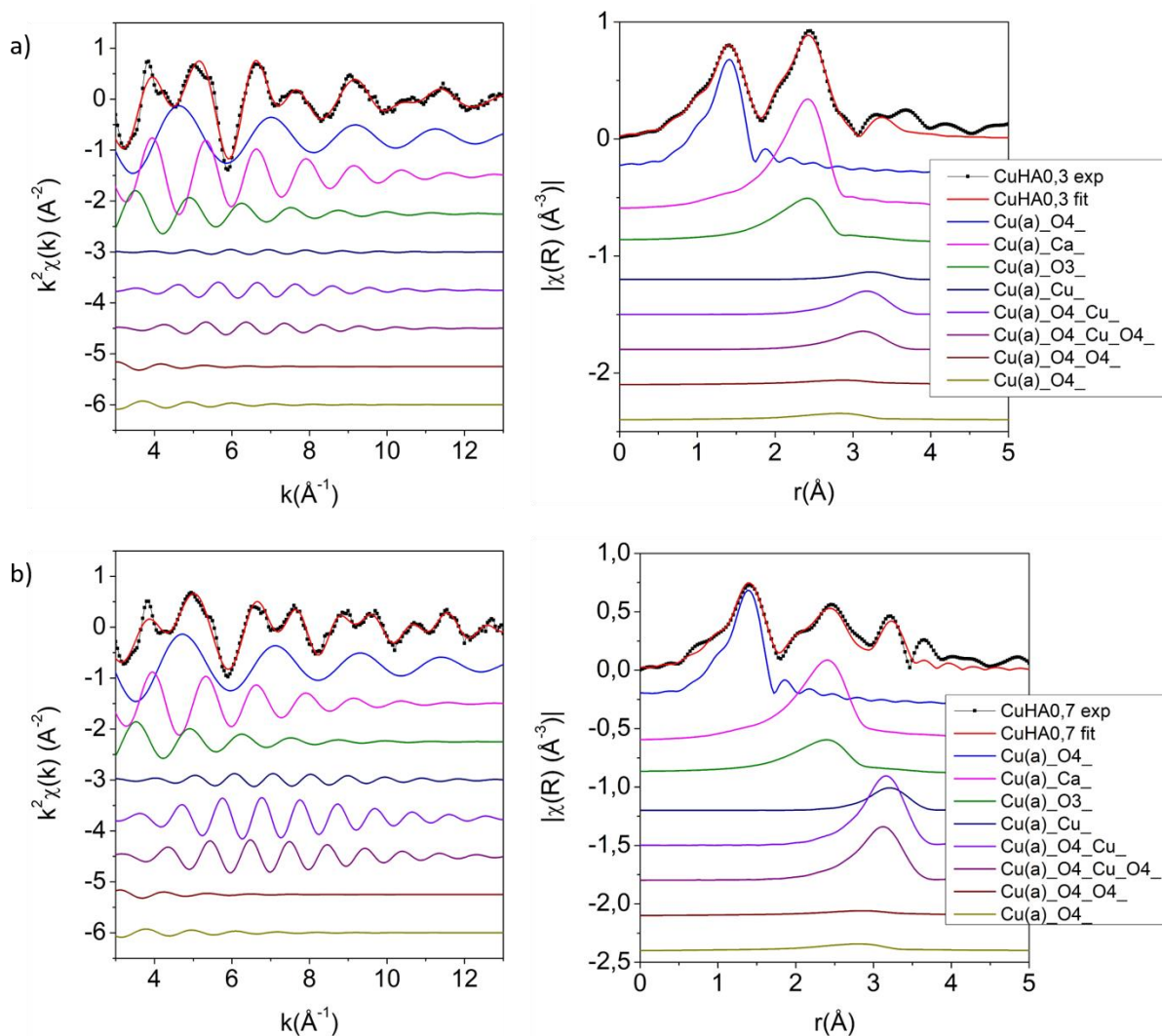


Annexe 3 : Spectres FTIR des poudres CuVSx calcinées à 1100°C pendant 1h

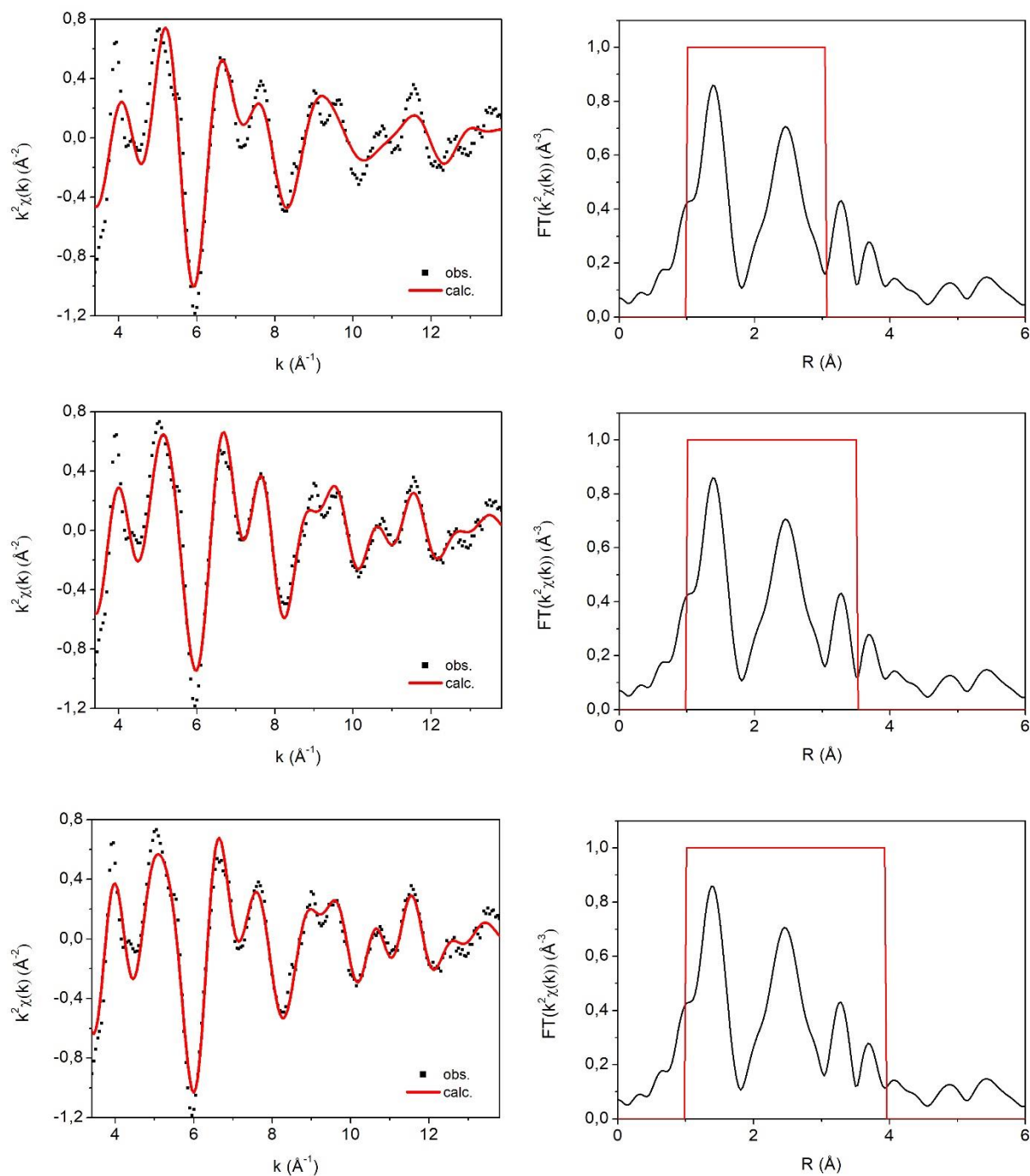
La présence de la bande de vibration des groupements nitrates à 1385 cm^{-1} est sûrement due à une pollution de surface lors de la préparation des échantillons.



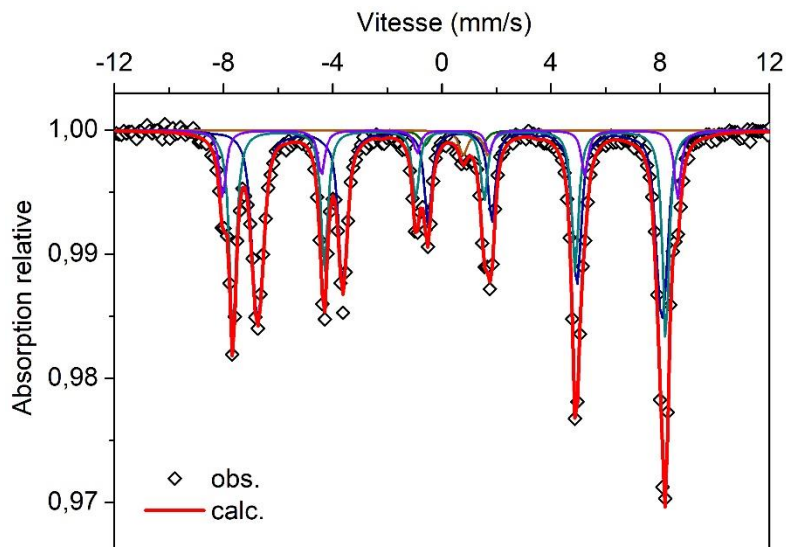
Annexe 4 : Oscillations EXAFS, transformée de Fourier et courbes simulées, associées aux échantillons CuHA0,3 (a) et CuHA0,7 (b)



Annexe 5 : Représentation des oscillations EXAFS et de leur transformée de Fourier directe et inverse en fonction de la largeur de la fenêtre de Hanning

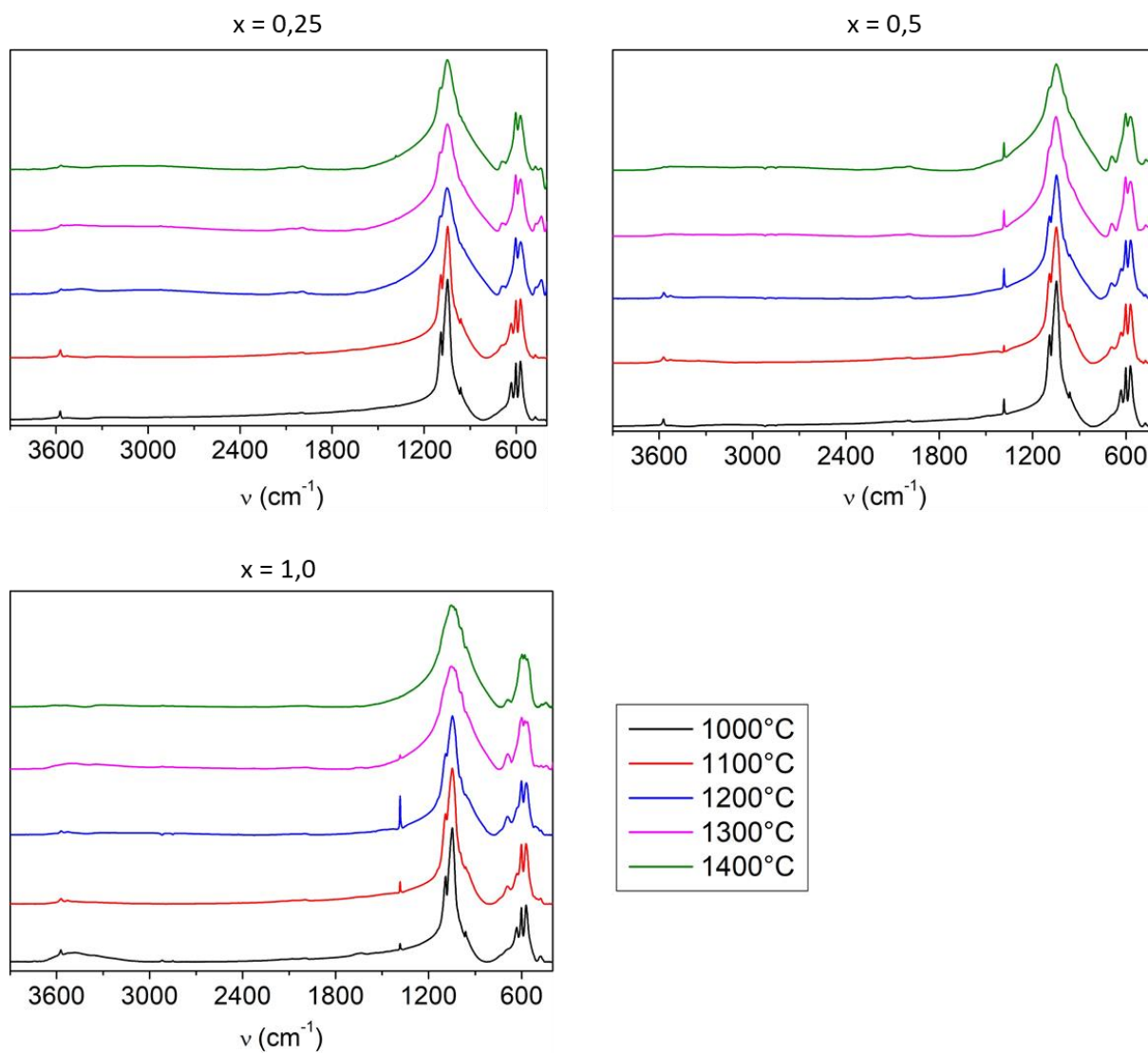


Annexe 6 : Spectre Mössbauer du ^{57}Fe , réalisé à température ambiante, d'un mélange de poudres $\beta\text{-TCP/Fe}_3\text{O}_4$ (5% mol. visé) calcinées à 1200°C pendant 1 h ainsi que les composantes hyperfines affinées associées

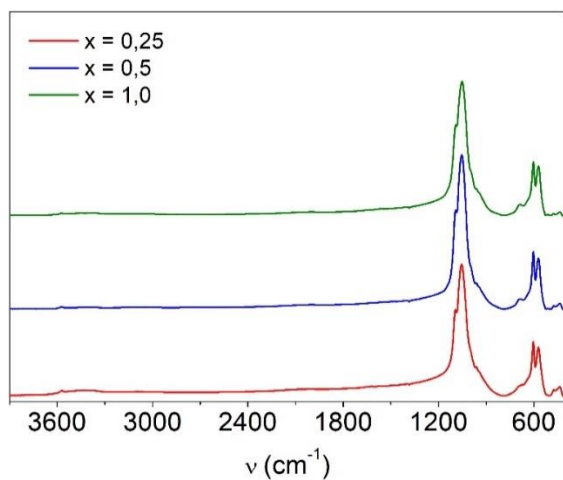


δ (mm/s)	Δ ou 2ε (mm/s)	H (T)	Γ (mm/s)	Int. rel. (%)	Attribution
0,29(2)	1,60(8)	-	0,26(4)	2(2)	Fe^{3+} HS - HA
1,23(3)	1,02(6)	-	0,28(3)	3(3)	Fe^{2+} HS - HA
0,28(1)	-0,02(1)	49,2(3)	0,29(2)	35(3)	Fe^{3+} HS - Fe_3O_4
0,66(1)	0,0(1)	45,9(3)	0,39(2)	49(3)	$\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ HS - Fe_3O_4
0,36(1)	-0,11(1)	51,7(6)	0,29(3)	11(3)	Fe^{3+} HS - Fe_2O_3

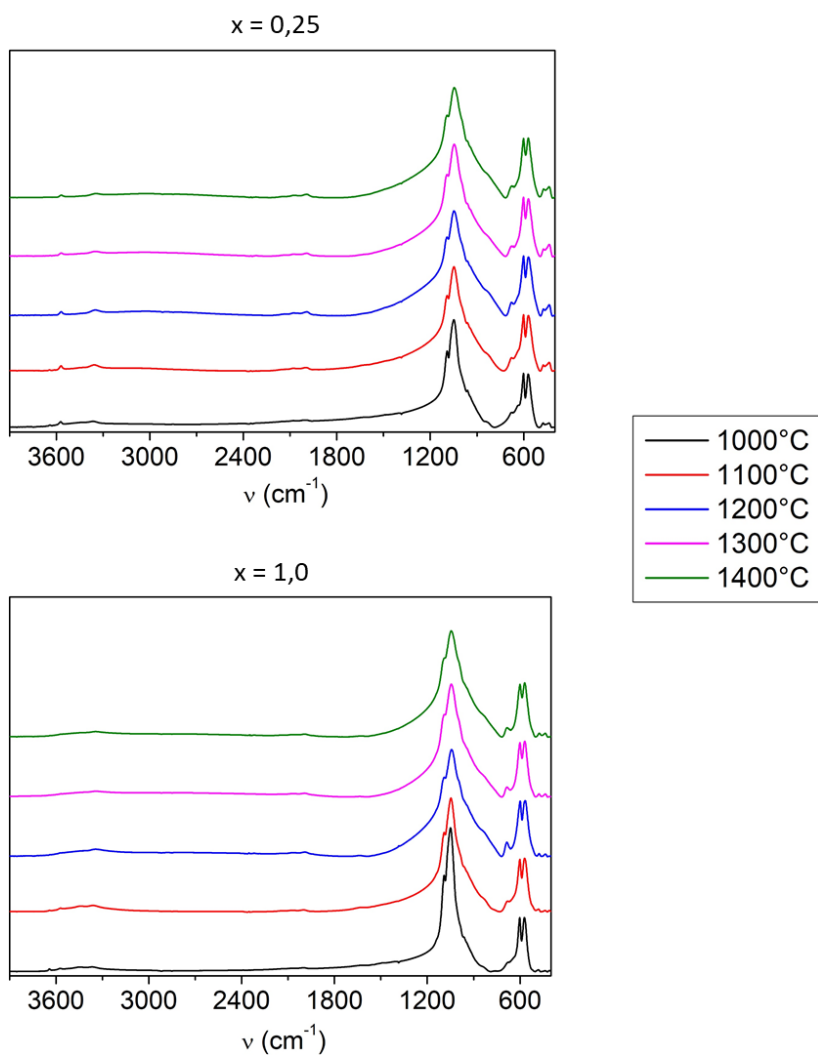
Annexe 7 : Spectres FTIR des composés $\text{Fe}^{\text{III}}\text{VS}_x$ ($x = 0,25 ; 0,5 ; 1,0$) calcinés à différentes températures



Annexe 8 : Spectres FTIR des composés $\text{Fe}^{\text{II/III}}\text{VS}_x$ ($x = 0,25 ; 0,5 ; 1,0$) calcinés à 1100°C -1h



Annexe 9 : Spectres FTIR des composés $\text{Fe}^{\text{II}}\text{VS}_x$ ($x = 0,25 ; 0,5 ; 1,0$) calcinés à différentes températures



Bibliographie

- [1] G. Daculsi, « Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute », *Biomaterials*, vol. 19, n° 16, p. 1473-1478, août 1998.
- [2] M. Bohner, « Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements », *Injury*, vol. 31, p. D37-D47, déc. 2000, doi: 10.1016/S0020-1383(00)80022-4.
- [3] S. J. Kalita, A. Bhardwaj, et H. A. Bhatt, « Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, n° 3, p. 441-449, avr. 2007, doi: 10.1016/j.msec.2006.05.018.
- [4] C. D. Friedman, P. D. Costantino, S. Takagi, et L. C. Chow, « BoneSourceTM hydroxyapatite cement: a novel biomaterial for craniofacial skeletal tissue engineering and reconstruction », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 43, n° 4, p. 428-432, 1998, doi: 10.1002/(SICI)1097-4636(199824)43:4<428::AID-JBM10>3.0.CO;2-0.
- [5] H. Yoshikawa et A. Myoui, « Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics », *J. Artif. Organs*, vol. 8, n° 3, p. 131-136, oct. 2005, doi: 10.1007/s10047-005-0292-1.
- [6] H. Zhou et J. Lee, « Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering », *Acta Biomater.*, vol. 7, n° 7, p. 2769-2781, juill. 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2011.03.019.
- [7] T.-M. G. Chu, D. G. Orton, S. J. Hollister, S. E. Feinberg, et J. W. Halloran, « Mechanical and in vivo performance of hydroxyapatite implants with controlled architectures », *Biomaterials*, vol. 23, n° 5, p. 1283-1293, mars 2002, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00243-5.
- [8] S. Bose, G. Fielding, S. Tarafder, et A. Bandyopadhyay, « Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics », *Trends Biotechnol.*, vol. 31, n° 10, p. 594-605, oct. 2013, doi: 10.1016/j.tibtech.2013.06.005.
- [9] E. Quinlan, A. López-Noriega, E. M. Thompson, A. Hibbitts, S. A. Cryan, et F. J. O'Brien, « Controlled release of vascular endothelial growth factor from spray-dried alginate microparticles in collagen-hydroxyapatite scaffolds for promoting vascularization and bone repair: functionalized CHA scaffolds for controlled release of VEGF to enhance bone repair », *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, vol. 11, n° 4, p. 1097-1109, avr. 2017, doi: 10.1002/term.2013.
- [10] B. Leukers *et al.*, « Hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering made by 3D printing », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, n° 12, p. 1121-1124, déc. 2005, doi: 10.1007/s10856-005-4716-5.
- [11] J. A. Inzana *et al.*, « 3D printing of composite calcium phosphate and collagen scaffolds for bone regeneration », *Biomaterials*, vol. 35, n° 13, p. 4026-4034, avr. 2014, doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.064.
- [12] H. N. Chia et B. M. Wu, « Recent advances in 3D printing of biomaterials », *J. Biol. Eng.*, vol. 9, n° 1, déc. 2015, Consulté le: sept. 30, 2019. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.jbioleng.org/content/9/1/4>.
- [13] S. C. Cox, J. A. Thornby, G. J. Gibbons, M. A. Williams, et K. K. Mallick, « 3D printing of porous hydroxyapatite scaffolds intended for use in bone tissue engineering applications », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 47, p. 237-247, févr. 2015, doi: 10.1016/j.msec.2014.11.024.
- [14] M. L. Griffith et J. W. Halloran, « Freeform fabrication of ceramics via stereolithography », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 79, n° 10, p. 2601-2609, mars 1996.
- [15] T. Chartier, C. Chaput, F. Doreau, et M. Loiseau, « Stereolithography of structural complex ceramic parts », *J Mater Sci*, vol. 37, p. 3141-3147, 2002.

- [16] E. A. Abou Neel, I. Ahmed, J. Pratten, S. N. Nazhat, et J. C. Knowles, « Characterisation of antibacterial copper releasing degradable phosphate glass fibres », *Biomaterials*, vol. 26, n° 15, p. 2247-2254, mai 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.07.024.
- [17] H. Gollwitzer, M. Haenle, W. Mittelmeier, F. Heidenau, et N. Harrasser, « A biocompatible sol-gel derived titania coating for medical implants with antibacterial modification by copper integration », *AMB Express*, vol. 8, n° 1, déc. 2018, doi: 10.1186/s13568-018-0554-y.
- [18] X. Wang *et al.*, « Introducing copper and collagen (via poly(DOPA)) coating to activate inert ceramic scaffolds for excellent angiogenic and osteogenic capacity », *RSC Adv.*, vol. 8, n° 28, p. 15575-15586, avr. 2018.
- [19] J. Barralet, U. Gbureck, P. Habibovic, E. Vorndran, C. Gerard, et C. J. Doillon, « Angiogenesis in calcium phosphate scaffolds by inorganic copper ion release », *Tissue Eng. Part A*, vol. 15, n° 7, p. 1601-1609, juill. 2009, doi: 10.1089/ten.tea.2007.0370.
- [20] S. Panseri *et al.*, « Intrinsically superparamagnetic Fe-hydroxyapatite nanoparticles positively influence osteoblast-like cell behaviour », *J. Nanobiotechnology*, vol. 10, n° 1, p. 32, juill. 2012, doi: 10.1186/1477-3155-10-32.
- [21] H.-M. Yun *et al.*, « Magnetic nanocomposite scaffolds combined with static magnetic field in the stimulation of osteoblastic differentiation and bone formation », *Biomaterials*, vol. 85, p. 88-98, avr. 2016, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.01.035.
- [22] M. Elisa *et al.*, « Optical and structural investigations on iron-containing phosphate glasses », *J. Mater. Sci.*, vol. 46, n° 6, p. 1563-1570, mars 2011, doi: 10.1007/s10853-010-4963-9.
- [23] J. K. Crowley, D. E. Williams, J. M. Hammarstrom¹, N. Piatak, J. C. Mars, et I.-M. Chou, « Spectral reflectance properties (0.4-2.5 μ m) of secondary Fe-oxide, Fe-hydroxide, and Fe-sulfate-hydrate minerals associated with sulfide-bearing mine waste », *Geochem-Explor Env A*, vol. 3, p. 219-228, 2003, doi: 10.1144/1467-7873/03-001.
- [24] B.-S. Bae et M. C. Weinberg, « Optical absorption of copper phosphate glasses in the visible spectrum », *J. Non-Cryst. Solids*, vol. 168, n° 3, p. 223-231, mars 1994, doi: 10.1016/0022-3093(94)90333-6.
- [25] P. Lasaygues, « Tomographie ultrasonore osseuse : Caractérisation de la diaphyse des os par inversion d'un champ acoustique diffracté ; Intérêt pour l'imagerie pédiatrique », HDR, Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique, Marseille, 2006.
- [26] J. Desoutter, R. Mentaverri, M. Brazier, et S. Kamel, « Le remodelage osseux normal et pathologique », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2012, n° 446, p. 33-42, nov. 2012, doi: 10.1016/S1773-035X(12)71733-1.
- [27] A. Gourrier et I. Reiche, « Chapitre 3. L'os : morphologie, structure et composition chimique », in *Message d'os, archéométrie du squelette animal et humain*, Ed. des Archives Contemporaines (EAC), 2015, p. 23-37.
- [28] M. Šupová, « Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: a review », *Ceram. Int.*, vol. 41, n° 8, p. 9203-9231, sept. 2015, doi: 10.1016/j.ceramint.2015.03.316.
- [29] B. N. Legros R et B. G., « Structure and composition of the mineral phase of periosteal bone », *J Chem Res Synop*, vol. 5, p. 8, 1986.
- [30] H. C. W. Skinner, « Biominerals », *Mineral. Mag.*, vol. 69, n° 5, p. 621-641, oct. 2005.
- [31] M. Vernejoul et P. Marie, « Cellules osseuses et remodelage osseux. », *Med Sci Paris*, vol. 9, n° 11, p. 1192, nov. 1993, doi: 10.4267/10608/2832.
- [32] J. Soulié, « Synthèse par voie sol-gel et réactivité in vitro de verres bioactifs dopés, mésostructurés et macrostructurés. Caractérisation par micro-faisceaux d'ions », Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2011.

- [33] D. Lopes, C. Martins-Cruz, M. B. Oliveira, et J. F. Mano, « Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies », *Biomaterials*, vol. 185, p. 240-275, déc. 2018, doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.09.028.
- [34] G. S. Stein *et al.*, « Runx2 control of organization, assembly and activity of the regulatory machinery for skeletal gene expression », *Oncogene*, vol. 23, n° 24, p. 4315-4329, mai 2004, doi: 10.1038/sj.onc.1207676.
- [35] L. Malaval, D. Modrowski, A. K. Gupta, et J. E. Aubin, « Cellular expression of bone-related proteins during in vitro osteogenesis in rat bone marrow stromal cell cultures », *J. Cell. Physiol.*, vol. 158, n° 3, p. 555-572, mars 1994, doi: 10.1002/jcp.1041580322.
- [36] M. Pepper, « Angiogenèse et morphogenèse de l'arbre vasculaire : de la biologie cellulaire à la clinique. », *Med Sci Paris*, vol. 16, n° 12, p. 1378, déc. 2000, doi: 10.4267/10608/1593.
- [37] L. L. Hench, « Biomaterials: a forecast for the future », *Biomaterials*, vol. 19, n° 16, p. 1419-1423, août 1998, doi: 10.1016/S0142-9612(98)00133-1.
- [38] O. Malard, P. Corre, P. Bordure, P. Weiss, G. Grimandi, et A. Saffarzadeh, « Biomateriaux de reconstruction et de comblement osseux en ORL et chirurgie cervicofaciale », *Ann. Otolaryngol. Chir. Cervico-Faciale*, vol. 124, n° 5, p. 252-262, nov. 2007, doi: 10.1016/j.aorl.2007.02.003.
- [39] D. F. Williams, *Definitions in biomaterials, second consensus meeting*, Eur. Soc. Biomat., Ed Elsevier. Chester, England, 1991.
- [40] L. L. Hench, « Bioceramics: from concept to clinic », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 74, n° 7, p. 1487-1510, juill. 1991, doi: 10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x.
- [41] D.-M. Liu, Q. Yang, et T. Troczynski, « Sol-gel hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates », *Biomaterials*, vol. 23, n° 3, p. 691-698, févr. 2002, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00157-0.
- [42] H. F. Hildebrand, C. Veron, et P. Maxtin, « Nickel,chromium,cobaltdental alloys and allergicroactions: an overview », vol. 10, p. 4, oct. 1989.
- [43] I. Espigares, C. Elvira, J. F. Mano, B. Vázquez, J. San Román, et R. L. Reis, « New partially degradable and bioactive acrylic bone cements based on starch blends and ceramic fillers », *Biomaterials*, vol. 23, n° 8, p. 1883-1895, avr. 2002, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00315-5.
- [44] S. M. Kurtz, S. Kocagöz, C. Arnholt, R. Huet, M. Ueno, et W. L. Walter, « Advances in zirconia toughened alumina biomaterials for total joint replacement », *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 31, p. 107-116, mars 2014, doi: 10.1016/j.jmbbm.2013.03.022.
- [45] D. Tang, H.-B. Lim, K.-J. Lee, C.-H. Lee, et W.-S. Cho, « Evaluation of mechanical reliability of zirconia-toughened alumina composites for dental implants », *Ceram. Int.*, vol. 38, n° 3, p. 2429-2436, avr. 2012, doi: 10.1016/j.ceramint.2011.11.009.
- [46] D. D. Deligianni, N. Katsala, S. Ladas, D. Sotiropoulou, J. Amedee, et Y. F. Missirlis, « Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption », *Biomaterials*, vol. 22, p. 1241-1251, 2001.
- [47] R. Adell, U. Lekholm, B. Rockler, et P.-I. Brånemark, « A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw », *Int. J. Oral Surg.*, vol. 10, n° 6, p. 387-416, janv. 1981, doi: 10.1016/S0300-9785(81)80077-4.
- [48] D. F. Williams, « Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials », vol. 4. Chester, England, 1986.
- [49] H. Petite *et al.*, « Tissue-engineered bone regeneration », *Nat. Biotechnol.*, vol. 18, n° 9, p. 959-963, sept. 2000, doi: 10.1038/79449.
- [50] J. C. Reichert *et al.*, « A tissue engineering solution for segmental defect regeneration in load-bearing long bones », *Sci. Transl. Med.*, vol. 4, n° 141, juill. 2012, doi: 10.1126/scitranslmed.3003720.

- [51] S. E. Bae, J. Choi, Y. K. Joung, K. Park, et D. K. Han, « Controlled release of bone morphogenetic protein (BMP)-2 from nanocomplex incorporated on hydroxyapatite-formed titanium surface », *J. Controlled Release*, vol. 160, n° 3, p. 676-684, juin 2012, doi: 10.1016/j.jconrel.2012.04.021.
- [52] E. Ko, K. Yang, J. Shin, et S.-W. Cho, « Polydopamine-assisted osteoinductive peptide immobilization of polymer scaffolds for enhanced bone regeneration by human adipose-derived stem cells », *Biomacromolecules*, vol. 14, n° 9, p. 3202-3213, sept. 2013, doi: 10.1021/bm4008343.
- [53] G. H. Lee, P. Makkar, K. Paul, et B. Lee, « Development of BMP-2 immobilized polydopamine mediated multichannelled biphasic calcium phosphate granules for improved bone regeneration », *Mater. Lett.*, vol. 208, p. 122-125, déc. 2017, doi: 10.1016/j.matlet.2017.05.017.
- [54] R. Z. LeGeros, « Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials », *Chem. Rev.*, vol. 108, n° 11, p. 4742-4753, nov. 2008, doi: 10.1021/cr800427g.
- [55] M. Tamaddon, S. Samizadeh, L. Wang, G. Blunn, et C. Liu, « Intrinsic osteoinductivity of porous titanium scaffold for bone tissue engineering », *Int. J. Biomater.*, vol. 2017, p. 1-11, juill. 2017, doi: 10.1155/2017/5093063.
- [56] A. Barba *et al.*, « Osteoinduction by foamed and 3D-printed calcium phosphate scaffolds: effect of nanostructure and pore architecture », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 9, n° 48, p. 41722-41736, déc. 2017, doi: 10.1021/acsami.7b14175.
- [57] X. Pei *et al.*, « Creating hierarchical porosity hydroxyapatite scaffolds with osteoinduction by three-dimensional printing and microwave sintering », *Biofabrication*, vol. 9, n° 4, p. 045008, nov. 2017, doi: 10.1088/1758-5090/aa90ed.
- [58] V. Karageorgiou et D. Kaplan, « Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis », *Biomaterials*, vol. 26, n° 27, p. 5474-5491, sept. 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.02.002.
- [59] J. X. Lu *et al.*, « Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo », *J Mater Sci Mater Med*, vol. 10, p. 111-120, 1999.
- [60] M. Mastrogiacomo *et al.*, « Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics », *Biomaterials*, vol. 27, n° 17, p. 3230-3237, juin 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.031.
- [61] E. Tsuruga, H. Takita, H. Itoh, Y. Wakisaka, et Y. Kuboki, « Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis », *J Biochem*, vol. 121, n° 2, p. 317-324, 1997.
- [62] Y. Kuboki, Q. Jin, M. Kikuchi, J. Mamood, et H. Takita, « Geometry of artificial ECM: sizes of pores controlling phenotype expression in BMP-induced osteogenesis and chondrogenesis », *Connect. Tissue Res.*, vol. 43, n° 2-3, p. 529-534, janv. 2002, doi: 10.1080/03008200290001104.
- [63] K. Zhang, Y. Fan, N. Dunne, et X. Li, « Effect of microporosity on scaffolds for bone tissue engineering », *Regen. Biomater.*, vol. 5, n° 2, p. 115-124, mars 2018, doi: 10.1093/rb/rby001.
- [64] J. G. Dellinger, J. Cesarano, et R. D. Jamison, « Robotic deposition of model hydroxyapatite scaffolds with multiple architectures and multiscale porosity for bone tissue engineering », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 82A, n° 2, p. 383-394, août 2007, doi: 10.1002/jbm.a.31072.
- [65] D. W. Weisgerber, K. Erning, C. L. Flanagan, S. J. Hollister, et B. A. C. Harley, « Evaluation of multi-scale mineralized collagen-polycaprolactone composites for bone tissue engineering », *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 61, p. 318-327, août 2016, doi: 10.1016/j.jmbbm.2016.03.032.

- [66] S. K. Lan Levengood *et al.*, « Multiscale osteointegration as a new paradigm for the design of calcium phosphate scaffolds for bone regeneration », *Biomaterials*, vol. 31, n° 13, p. 3552-3563, mai 2010, doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.052.
- [67] E. Wernike *et al.*, « VEGF incorporated into calcium phosphate ceramics promotes vascularisation and bone formation in vivo », *Eur Cells Mater*, vol. 19, p. 30-40, févr. 2010, doi: 10.22203/eCM.v019a04.
- [68] J. Wang, K. de Groot, C. van Blitterswijk, et J. de Boer, « Electrolytic deposition of lithium into calcium phosphate coatings », *Dent. Mater.*, vol. 25, n° 3, p. 353-359, mars 2009, doi: 10.1016/j.dental.2008.07.013.
- [69] A. Ito *et al.*, « Zinc-releasing calcium phosphate for stimulating bone formation », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 22, n° 1, p. 21-25, oct. 2002, doi: 10.1016/S0928-4931(02)00108-X.
- [70] M. Tian *et al.*, « In vivo study of porous strontium-doped calcium polyphosphate scaffolds for bone substitute applications », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 20, n° 7, p. 1505-1512, juill. 2009, doi: 10.1007/s10856-009-3713-5.
- [71] B. Bracci, P. Torricelli, S. Panzavolta, E. Boanini, R. Giardino, et A. Bigi, « Effect of Mg^{2+} , Sr^{2+} , and Mn^{2+} on the chemico-physical and in vitro biological properties of calcium phosphate biomimetic coatings », *J. Inorg. Biochem.*, vol. 103, n° 12, p. 1666-1674, déc. 2009, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2009.09.009.
- [72] A. Uchida, N. Araki, Y. Shinto, H. Yoshikawa, E. Kurisaki, et K. Ono, « The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumour surgery », *J. Bone Joint Surg. Br.*, vol. 72-B, n° 2, p. 298-302, mars 1990, doi: 10.1302/0301-620X.72B2.2155908.
- [73] S. S. Bajammal *et al.*, « The use of calcium phosphate bone cement in fracture treatment: a meta-analysis of randomized trials », *J. Bone Jt. Surg.*, vol. 90, n° 6, p. 1186-1196, juin 2008, doi: 10.2106/JBJS.G.00241.
- [74] J. Brie *et al.*, « A new custom made bioceramic implant for the repair of large and complex craniofacial bone defects », *J. Cranio-Maxillofac. Surg.*, vol. 41, n° 5, p. 403-407, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2012.11.005>.
- [75] L. Sun, C. C. Berndt, K. A. Gross, et A. Kucuk, « Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: A review », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 58, n° 5, p. 570-592, janv. 2001, doi: 10.1002/jbm.1056.
- [76] M. Roy, B. Vamsi Krishna, A. Bandyopadhyay, et S. Bose, « Laser processing of bioactive tricalcium phosphate coating on titanium for load-bearing implants », *Acta Biomater.*, vol. 4, n° 2, p. 324-333, mars 2008, doi: 10.1016/j.actbio.2007.09.008.
- [77] E. B. Nery, R. Z. LeGeros, K. L. Lynch, et K. Lee, « Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta-TCP in periodontal osseous defects », *J Periodontol*, vol. 63, n° 9, p. 729-735, sept. 1992.
- [78] S. E. Lobo et T. Livingston Arinzeh, « Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications », *Materials*, vol. 3, n° 2, p. 815-826, janv. 2010, doi: 10.3390/ma3020815.
- [79] J. M. Bouler, P. Pilet, O. Gauthier, et E. Verron, « Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response », *Acta Biomater.*, vol. 53, p. 1-12, avr. 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.076.
- [80] W. Gotz et S. N. Papageorgiou, « Molecular, cellular and pharmaceutical aspects of synthetic hydroxyapatite bone substitutes for oral and maxillofacial grafting », *Curr. Pharm. Biotechnol.*, vol. 18, n° 1, p. 95-106, janv. 2017.
- [81] J. T. B. Ratnayake, M. Mucalo, et G. J. Dias, « Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends », *J Biomed Mater Res Part B*, vol. 105, n° 5, p. 1285-1299, 2017, doi: 10.1002/jbm.b.33651.

- [82] Y. Li, J. Ho, et C. P. Ooi, « Antibacterial efficacy and cytotoxicity studies of copper (II) and titanium (IV) substituted hydroxyapatite nanoparticles », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 30, n° 8, p. 1137-1144, oct. 2010, doi: 10.1016/j.msec.2010.06.011.
- [83] M. Jiang, J. Terra, A. M. Rossi, M. A. Morales, E. M. Baggio Saitovitch, et D. E. Ellis, « $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ substitution in hydroxyapatite: theory and experiment », *Phys. Rev. B*, vol. 66, p. 224107, déc. 2002, doi: 10.1103/PhysRevB.66.224107.
- [84] R. Z. LeGeros et J. P. LeGeros, « Dense hydroxyapatite », in *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific, 1993, p. 139-180.
- [85] M. S.-A. Johnsson et G. H. Nancollas, « The role of brushite and octacalcium phosphate in apatite formation », *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, vol. 3, n° 1, p. 61-82, janv. 1992, doi: 10.1177/10454411920030010601.
- [86] P. W. Brown, « Phase Relationships in the Ternary System $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}$ at 25°C », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 75, n° 1, p. 17-22, janv. 1992, doi: 10.1111/j.1151-2916.1992.tb05435.x.
- [87] M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, et A. Jamshidi, « Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures », *Acta Biomater.*, vol. 9, n° 8, p. 7591-7621, août 2013, doi: 10.1016/j.actbio.2013.04.012.
- [88] R. R. Rao, H. N. Roopa, et T. S. Kannan, « Solid state synthesis and thermal stability of HAP and HAP – beta-TCP composite ceramic powders », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 8, p. 511-518, doi: 10.1023/A:1018586412270.
- [89] X. Yang et Z. Wang, « Synthesis of biphasic ceramics of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate with controlled phase content and porosity », *J. Mater. Chem.*, vol. 8, n° 10, p. 2233-2237, 1998, doi: 10.1039/A802067A.
- [90] C. Liu, Y. Huang, W. Shen, et J. Cui, « Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 1 », *Biomaterials*, vol. 22, p. 301-306, 2001, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00166-6.
- [91] S. Lazić, S. Zec, N. Miljević, et S. Milonjić, « The effect of temperature on the properties of hydroxyapatite precipitated from calcium hydroxide and phosphoric acid », *Thermochim. Acta*, vol. 374, n° 1, p. 13-22, juin 2001, doi: 10.1016/S0040-6031(01)00453-1.
- [92] N. Vandecandelaere, C. Rey, et C. Drouet, « Biomimetic apatite-based biomaterials: on the critical impact of synthesis and post-synthesis parameters », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 23, n° 11, p. 2593-2606, nov. 2012, doi: 10.1007/s10856-012-4719-y.
- [93] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache-Assollant, et Philippe Thomas, « Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders », *Biomaterials*, vol. 23, n° 4, p. 1065-1072, févr. 2002, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00218-6.
- [94] A. Afshar, M. Ghorbani, N. Ehsani, M. R. Saeri, et C. C. Sorrell, « Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite », *Mater. Des.*, vol. 24, n° 3, p. 197-202, mai 2003, doi: 10.1016/S0261-3069(03)00003-7.
- [95] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache-Assollant, et J.-P. Laval, « Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatites using X-ray diffractometry », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 84, n° 2, p. 359-66, déc. 2004, doi: 10.1111/j.1151-2916.2001.tb00663.x.
- [96] « Norme ISO 13779-3 : Implants chirurgicaux - Hydroxyapatite - Partie 3 : analyse chimique et caractérisation du rapport de cristallinité et de la pureté de la phase », sept. 2009.
- [97] E. Boanini, M. Gazzano, et A. Bigi, « Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature », *Acta Biomater.*, vol. 6, n° 6, p. 1882-1894, juin 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.12.041.

- [98] B. Fahmy et S. A. Cormier, « Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells », *Toxicol. In Vitro*, vol. 23, n° 7, p. 1365-1371, oct. 2009, doi: 10.1016/j.tiv.2009.08.005.
- [99] A. M. Studer *et al.*, « Nanoparticle cytotoxicity depends on intracellular solubility: Comparison of stabilized copper metal and degradable copper oxide nanoparticles », *Toxicol. Lett.*, vol. 197, n° 3, p. 169-174, sept. 2010, doi: 10.1016/j.toxlet.2010.05.012.
- [100] B. Cao *et al.*, « Concentration-dependent cytotoxicity of copper ions on mouse fibroblasts in vitro: effects of copper ion release from TCu380A vs TCu220C intra-uterine devices », *Biomed. Microdevices*, vol. 14, n° 4, p. 709-720, août 2012, doi: 10.1007/s10544-012-9651-x.
- [101] J. Liu *et al.*, « Effect of Cu content on the antibacterial activity of titanium–copper sintered alloys », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 35, p. 392-400, févr. 2014, doi: 10.1016/j.msec.2013.11.028.
- [102] Y. Huang, X. Zhang, R. Zhao, H. Mao, Y. Yan, et X. Pang, « Antibacterial efficacy, corrosion resistance, and cytotoxicity studies of copper-substituted carbonated hydroxyapatite coating on titanium substrate », *J. Mater. Sci.*, vol. 50, n° 4, p. 1688-1700, févr. 2015, doi: 10.1007/s10853-014-8730-1.
- [103] K. S. Raju, G. Alessandri, M. Ziche, et P. M. Gullino, « Ceruloplasmin, copper ions and angiogenesis », *JNCI*, vol. 69, n° 5, p. 1183-1189, nov. 1982.
- [104] G. Hu, « Copper stimulates proliferation of human endothelial cells under culture », *J. Cell. Biochem.*, vol. 69, n° 3, p. 326-335, juin 1998, doi: 10.1002/(SICI)1097-4644(19980601)69:3<326::AID-JCB10>3.0.CO;2-A.
- [105] C. Wu *et al.*, « Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity », *Biomaterials*, vol. 34, n° 2, p. 422-433, janv. 2013, doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.066.
- [106] C. Moseke, M. Gelinsky, J. Groll, et U. Gbureck, « Chemical characterization of hydroxyapatite obtained by wet chemistry in the presence of V, Co, and Cu ions », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, n° 3, p. 1654-1661, avr. 2013, doi: 10.1016/j.msec.2012.12.075.
- [107] M. Othmani, H. Bachoua, Y. Ghandour, A. Aissa, et M. Debbabi, « Synthesis, characterization and catalytic properties of copper-substituted hydroxyapatite nanocrystals », *Mater. Res. Bull.*, vol. 97, p. 560-566, janv. 2018, doi: 10.1016/j.materresbull.2017.09.056.
- [108] S. Shanmugam et B. Gopal, « Copper substituted hydroxyapatite and fluorapatite: Synthesis, characterization and antimicrobial properties », *Ceram. Int.*, vol. 40, n° 10, p. 15655-15662, déc. 2014, doi: 10.1016/j.ceramint.2014.07.086.
- [109] V. Stanić *et al.*, « Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 256, n° 20, p. 6083-6089, août 2010, doi: 10.1016/j.apsusc.2010.03.124.
- [110] B. Sutter, D. W. Ming, A. Clearfield, et L. R. Hossner, « Mineralogical and chemical characterization of iron-, manganese-, and copper-containing synthetic hydroxyapatites », *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol. 67, n° 6, p. 1935, 2003, doi: 10.2136/sssaj2003.1935.
- [111] T. Baikie *et al.*, « The crystal chemistry of the alkaline-earth apatites $A_{10}(PO_4)_6Cu_xO_yH_z$ (A = Ca, Sr and Ba) », *Dalton Trans.*, n° 34, p. 6722-6726, 2009, doi: 10.1039/B906639J.
- [112] F. E. Imrie et J. M. Skakle, « Preparation of copper-doped hydroxyapatite with varying x in the composition $Ca_{10}(PO_4)_6Cu_xO_yH_z$ », *Bioceram. Dev. Appl.*, vol. 3, n° s1, 2013, doi: 10.4172/2090-5025.S1-005.
- [113] A. S. Karpov, J. Nuss, M. Jansen, P. E. Kazin, et Y. D. Tretyakov, « Synthesis, crystal structure and properties of calcium and barium hydroxyapatites containing copper ions in

- hexagonal channels », *Solid State Sci.*, vol. 5, n° 9, p. 1277-1283, sept. 2003, doi: 10.1016/S1293-2558(03)00152-3.
- [114] P. E. Kazin, M. A. Zykin, Yu. D. Tret'yakov, et M. Jansen, « Synthesis and properties of colored copper-containing apatites of composition $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cu}_y\text{O}_{y+\delta}(\text{OH})_{0.5-y-\delta}\text{X}_{0.5}$ (X = OH, F, Cl) », *Russ. J. Inorg. Chem.*, vol. 53, n° 3, p. 362-366, mars 2008, doi: 10.1134/S0036023608030042.
- [115] M. A. Zykin, A. V. Vasiliev, L. A. Trusov, R. E. Dinnebier, M. Jansen, et P. E. Kazin, « Solid state solubility of copper oxides in hydroxyapatite », *J. Solid State Chem.*, vol. 262, p. 38-43, juin 2018, doi: 10.1016/j.jssc.2018.03.003.
- [116] S. Kato, T. Endo, et M. Ogasawara, « Reversible incorporation/deposition behavior of Cu on hydroxyapatites by heat treatment at elevated temperatures », *Chem. Lett.*, vol. 44, n° 11, p. 1518-1520, nov. 2015, doi: 10.1246/cl.150712.
- [117] P. E. Kazin, M. A. Zykin, Y. V. Zubavichus, O. V. Magdysyuk, R. E. Dinnebier, et M. Jansen, « Identification of the chromophore in the apatite pigment $[\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{Cu}_x\text{OH}_{1-x-y})_2]$: linear OCuO^- featuring a resonance raman effect, an extreme magnetic anisotropy, and slow spin relaxation », *Chem. - Eur. J.*, vol. 20, n° 1, p. 165-178, janv. 2014.
- [118] P. E. Kazin, A. S. Karpov, M. Jansen, J. Nuss, et Y. D. Tretyakov, « Crystal structure and properties of strontium phosphate apatite with oxocuprate ions in hexagonal channels », *Z. Für Anorg. Allg. Chem.*, vol. 629, n° 2, p. 344-352, févr. 2003, doi: 10.1002/zaac.200390055.
- [119] A. Kirfel et K. Eichhorn, « Accurate structure analysis with synchrotron radiation. The electron density in Al_2O_3 and Cu_2O », *Acta Crystallogr. A*, vol. 46, n° 4, p. 271-284, avr. 1990, doi: 10.1107/S0108767389012596.
- [120] P. E. Kazin, A. S. Karpov, M. Jansen, J. Nuss, et Y. D. Tretyakov, « Crystal Structure and Properties of Strontium Phosphate Apatite with Oxocuprate Ions in Hexagonal Channels », *Z. Für Anorg. Allg. Chem.*, vol. 629, n° 2, p. 344-352, févr. 2003, doi: 10.1002/zaac.200390055.
- [121] S. Gomes *et al.*, « Cu-doping of calcium phosphate bioceramics: from mechanism to the control of cytotoxicity », *Acta Biomater.*, vol. 65, p. 462-474, janv. 2018, doi: 10.1016/j.actbio.2017.10.028.
- [122] « Norme ISO 10993-5 : Evaluation biologique des dispositifs médicaux - Partie 5 : Essais concernant la cytotoxicité in vitro », p. 34, juin 2009.
- [123] Y. Tanabe et S. Sugano, « On the absorption spectra of complex ions II », *J Phys Soc Jpn.*, vol. 9, n° 5, p. 766-779, oct. 1954.
- [124] C.-H. Hou, S.-M. Hou, Y.-S. Hsueh, J. Lin, H.-C. Wu, et F.-H. Lin, « The in vivo performance of biomagnetic hydroxyapatite nanoparticles in cancer hyperthermia therapy », *Biomaterials*, vol. 30, n° 23-24, p. 3956-3960, août 2009, doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.020.
- [125] A. Tampieri *et al.*, « Intrinsic magnetism and hyperthermia in bioactive Fe-doped hydroxyapatite », *Acta Biomater.*, vol. 8, n° 2, p. 843-851, févr. 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2011.09.032.
- [126] M. S. Laranjeira *et al.*, « Different hydroxyapatite magnetic nanoparticles for medical imaging: Its effects on hemostatic, hemolytic activity and cellular cytotoxicity », *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 146, p. 363-374, oct. 2016, doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.06.042.
- [127] A. Adamiano *et al.*, « On the use of superparamagnetic hydroxyapatite nanoparticles as an agent for magnetic and nuclear in vivo imaging », *Acta Biomater.*, vol. 73, p. 458-469, juin 2018, doi: 10.1016/j.actbio.2018.04.040.

- [128] V. Sarath Chandra *et al.*, « Blood compatibility of iron-doped nanosize hydroxyapatite and its drug release », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 4, n° 3, p. 1200-1210, mars 2012, doi: 10.1021/am300140q.
- [129] S. S. Syamchand et G. Sony, « Multifunctional hydroxyapatite nanoparticles for drug delivery and multimodal molecular imaging », *Microchim. Acta*, vol. 182, n° 9-10, p. 1567-1589, juill. 2015, doi: 10.1007/s00604-015-1504-x.
- [130] S. Y. Park *et al.*, « Osteoinductive superparamagnetic Fe nanocrystal/calcium phosphate heterostructured microspheres », *Nanoscale*, vol. 9, n° 48, p. 19145-19153, 2017, doi: 10.1039/C7NR06777A.
- [131] G. A. Gamal, F. A. Al-Mufadi, et A. H. Said, « Effect of iron additives on the microstructure of hydroxyapatite », *Eng Technol Appl Sci Res*, vol. 3, n° 6, p. 532-539, 2013.
- [132] K. A. Gross, R. Jackson, J. D. Cashion, et L. M. Rodriguez-Lorenzo, « Iron substituted apatites: a resorbable biomaterial with potential magnetic properties », *Eur Cells Mater*, vol. 3, n° 2, p. 114-117, mai 2002.
- [133] A. Kyriacou *et al.*, « Combined X-ray and neutron diffraction Rietveld refinement in iron-substituted nano-hydroxyapatite », *J. Mater. Sci.*, vol. 48, n° 9, p. 3535-3545, mai 2013, doi: 10.1007/s10853-013-7148-5.
- [134] Y. Li, C. T. Nam, et C. P. Ooi, « Iron(III) and manganese(II) substituted hydroxyapatite nanoparticles: characterization and cytotoxicity analysis », *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 187, p. 012024, sept. 2009, doi: 10.1088/1742-6596/187/1/012024.
- [135] H. R. Low *et al.*, « The crystal chemistry of ferric oxyhydroxyapatite », *Inorg. Chem.*, vol. 47, n° 24, p. 11774-11782, déc. 2008, doi: 10.1021/ic801491t.
- [136] L. Sheikh, S. Sinha, Y. N. Singhababu, V. Verma, S. Tripathy, et S. Nayar, « Traversing the profile of biomimetically nanoengineered iron substituted hydroxyapatite: synthesis, characterization, property evaluation, and drug release modeling », *RSC Adv.*, vol. 8, n° 35, p. 19389-19401, 2018, doi: 10.1039/C8RA01539B.
- [137] B. Singh, A. Tandon, A. K. Pandey, et P. Singh, « Enhanced dielectric constant and structural transformation in Fe-doped hydroxyapatite synthesized by wet chemical method », *J. Mater. Sci.*, vol. 53, n° 12, p. 8807-8816, juin 2018, doi: 10.1007/s10853-018-2225-4.
- [138] J. Wang, T. Nonami, et K. Yubata, « Syntheses, structures and photophysical properties of iron containing hydroxyapatite prepared by a modified pseudo-body solution », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 19, n° 7, p. 2663-2667, juill. 2008, doi: 10.1007/s10856-007-3365-2.
- [139] H.-C. Wu, T.-W. Wang, J.-S. Sun, W.-H. Wang, et F.-H. Lin, « A novel biomagnetic nanoparticle based on hydroxyapatite », *Nanotechnology*, vol. 18, n° 16, p. 165601, avr. 2007, doi: 10.1088/0957-4484/18/16/165601.
- [140] K.-H. Zuo, Y.-P. Zeng, et D. Jiang, « Synthesis and magnetic property of iron ions-doped hydroxyapatite », *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 12, n° 9, p. 7096-7100, sept. 2012, doi: 10.1166/jnn.2012.6578.
- [141] A. Tampieri *et al.*, « Intrinsic magnetism and hyperthermia in bioactive Fe-doped hydroxyapatite », *Acta Biomater.*, vol. 8, n° 2, p. 843-851, févr. 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2011.09.032.
- [142] G. Salviulo, M. Bettinelli, U. Russo, A. Speghini, et L. Nodari, « Synthesis and structural characterization of Fe³⁺-doped calcium hydroxyapatites: role of precursors and synthesis method », *J. Mater. Sci.*, vol. 46, n° 4, p. 910-922, févr. 2011, doi: 10.1007/s10853-010-4834-4.

- [143] S. Kato, S. Ikeda, K. Saito, et M. Ogasawara, « Fe incorporation into hydroxyapatite channels by Fe loading and post-annealing », *J. Solid State Chem.*, vol. 265, p. 411-416, sept. 2018, doi: 10.1016/j.jssc.2018.06.032.
- [144] S. Gomes, A. Kaur, J.-M. Grenèche, J.-M. Nedelec, et G. Renaudin, « Atomic scale modeling of iron-doped biphasic calcium phosphate bioceramics », *Acta Biomater.*, vol. 50, p. 78-88, mars 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2016.12.011.
- [145] S. Gomes, J.-M. Nedelec, E. Jallot, D. Sheptyakov, et G. Renaudin, « Unexpected mechanism of Zn^{2+} insertion in calcium phosphate bioceramics », *Chem. Mater.*, vol. 23, n° 12, p. 3072-3085, juin 2011, doi: 10.1021/cm200537v.
- [146] T. Chartier, « Additive manufacturing to produce complex 3D ceramic parts », *J Ceram Sci Tech*, vol. 06, n° 02, p. 95-104, 2015, doi: 10.4416/JCST2014-00040.
- [147] Y. Chen, T. Li, Z. Jia, F. Scarpa, C.-W. Yao, et L. Wang, « 3D printed hierarchical honeycombs with shape integrity under large compressive deformations », *Mater. Des.*, vol. 137, p. 226-234, janv. 2018, doi: 10.1016/j.matdes.2017.10.028.
- [148] I. Yadroitsev, P. Krakhmalev, et I. Yadroitsava, « Hierarchical design principles of selective laser melting for high quality metallic objects », *Addit. Manuf.*, vol. 7, p. 45-56, juill. 2015, doi: 10.1016/j.addma.2014.12.007.
- [149] R. Leal *et al.*, « Additive manufacturing tooling for the automotive industry », *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, vol. 92, n° 5, p. 1671-1676, sept. 2017, doi: 10.1007/s00170-017-0239-8.
- [150] R. Liu, Z. Wang, T. Sparks, F. Liou, et J. Newkirk, « 13 - Aerospace applications of laser additive manufacturing », in *Laser Additive Manufacturing*, M. Brandt, Éd. Woodhead Publishing, 2017, p. 351-371.
- [151] L. S. Dimas, G. H. Bratzel, I. Eylon, et M. J. Buehler, « Tough Composites Inspired by Mineralized Natural Materials: Computation, 3D printing, and Testing », *Adv. Funct. Mater.*, vol. 23, n° 36, sept. 2013, doi: 10.1002/adfm.201300215.
- [152] F. Ning, W. Cong, J. Qiu, J. Wei, et S. Wang, « Additive manufacturing of carbon fiber reinforced thermoplastic composites using fused deposition modeling », *Compos. Part B Eng.*, vol. 80, p. 369-378, oct. 2015, doi: 10.1016/j.compositesb.2015.06.013.
- [153] T. Chartier, V. Pateloup, et C. Chaput, « Élaboration de pièces céramiques par fabrication additive », *Techniques de l'ingénieur*, févr. 2018. réf N14807 v1.
- [154] K. F. Leong, C. M. Cheah, et C. K. Chua, « Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs », *Biomaterials*, vol. 24, n° 13, p. 2363-2378, juin 2003, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00030-9.
- [155] A. Butscher, M. Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler, et R. Müller, « Structural and material approaches to bone tissue engineering in powder-based three-dimensional printing », *Acta Biomater.*, vol. 7, n° 3, p. 907-920, mars 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.09.039.
- [156] E. Champion, A. Magnaudeix, P. Pascaud-Mathieu, et T. Chartier, « Advanced processing techniques for customized ceramic medical devices », in *Advances in Ceramic Biomaterials*, Elsevier, 2017, p. 433-468.
- [157] F. Rengier *et al.*, « 3D printing based on imaging data: review of medical applications », *Int. J. Comput. Assist. Radiol. Surg.*, vol. 5, n° 4, p. 335-341, juill. 2010, doi: 10.1007/s11548-010-0476-x.
- [158] N. K. Vail, L. D. Swain, W. C. Fox, T. B. Aufdemorte, G. Lee, et J. W. Barlow, « Materials for biomedical applications », *Mater. Des.*, vol. 20, n° 2, p. 123-132, juin 1999, doi: 10.1016/S0261-3069(99)00018-7.
- [159] F. Edith Wiria, N. Sudarmadji, K. Fai Leong, C. Kai Chua, E. Wei Chng, et C. Chai Chan, « Selective laser sintering adaptation tools for cost effective fabrication of

- biomedical prototypes », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 16, n° 2, p. 90-99, mars 2010, doi: 10.1108/13552541011025816.
- [160] B. Duan et M. Wang, « Selective laser sintering and its application in biomedical engineering », *MRS Bull.*, vol. 36, n° 12, p. 998-1005, 2011, doi: 10.1557/mrs.2011.270.
- [161] A. Mazzoli, « Selective laser sintering in biomedical engineering », *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 51, n° 3, p. 245-256, mars 2013, doi: 10.1007/s11517-012-1001-x.
- [162] S. F. S. Shirazi *et al.*, « A review on powder-based additive manufacturing for tissue engineering: selective laser sintering and inkjet 3D printing », *Sci. Technol. Adv. Mater.*, vol. 16, n° 3, p. 033502, juin 2015, doi: 10.1088/1468-6996/16/3/033502.
- [163] M. Agarwala, D. Bourell, J. Beaman, H. Marcus, et J. Barlow, « Direct selective laser sintering of metals », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 1, n° 1, p. 26-36, 1995, doi: 10.1108/13552549510078113.
- [164] J. Kruth, P. Mercelis, J. Van Vaerenbergh, L. Froyen, et M. Rombouts, « Binding mechanisms in selective laser sintering and selective laser melting », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 11, n° 1, p. 26-36, févr. 2005, doi: 10.1108/13552540510573365.
- [165] N. Tolochko, S. Mozzharov, T. Laoui, et L. Froyen, « Selective laser sintering of single- and two-component metal powders », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 9, n° 2, p. 68-78, mai 2003, doi: 10.1108/13552540310467077.
- [166] L. Cardon *et al.*, « Polystyrene-coated alumina powder via dispersion polymerization for indirect selective laser sintering applications », *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 128, n° 3, p. 2121-2128, mai 2013, doi: 10.1002/app.38388.
- [167] K. Shahzad, J. Deckers, Z. Zhang, J.-P. Kruth, et J. Vleugels, « Additive manufacturing of zirconia parts by indirect selective laser sintering », *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 34, n° 1, p. 81-89, janv. 2014, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2013.07.023.
- [168] J. Wilkes, Y. Hagedorn, W. Meiners, et K. Wissenbach, « Additive manufacturing of $ZrO_2-Al_2O_3$ ceramic components by selective laser melting », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 19, n° 1, p. 51-57, janv. 2013, doi: 10.1108/13552541311292736.
- [169] S. Kumar, « Selective laser sintering/melting », in *Comprehensive Materials Processing*, vol. 10, Elsevier, 2014, p. 93-134.
- [170] Ph. Bertrand, F. Bayle, C. Combe, P. Goeuriot, et I. Smurov, « Ceramic components manufacturing by selective laser sintering », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 254, n° 4, p. 989-992, déc. 2007, doi: 10.1016/j.apsusc.2007.08.085.
- [171] H. Zhang et S. LeBlanc, « Processing parameters for selective laser sintering or melting of oxide ceramics », in *Additive Manufacturing of High-performance Metals and Alloys - Modeling and Optimization*, InTechOpen., I. V. Shishkovsky, Éd. 2018.
- [172] P. Kamatchi Subramanian, J. W. Barlow, et H. L. Marcus, « Effect of particle size on SLS and post-processing of alumina with polymer binders », présenté à International solid freeform fabrication symposium, Austin, Texas, 1995, [En ligne]. Disponible sur: <http://hdl.handle.net/2152/69880>.
- [173] H. C. H. Ho, W. L. Cheung, et I. Gibson, « Effects of graphite powder on the laser sintering behaviour of polycarbonate », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 8, n° 4, p. 233-242, oct. 2002, doi: 10.1108/13552540210441148.
- [174] A. Simchi, « Direct laser sintering of metal powders: mechanism, kinetics and microstructural features », *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 428, n° 1-2, p. 148-158, juill. 2006, doi: 10.1016/j.msea.2006.04.117.
- [175] F. L. Amorim, A. Lohrengel, V. Neubert, C. F. Higa, et T. Czelusniak, « Selective laser sintering of Mo-CuNi composite to be used as EDM electrode », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 20, n° 1, p. 59-68, janv. 2014, doi: 10.1108/RPJ-04-2012-0035.

- [176] D. Gu et Y. Shen, « Effects of processing parameters on consolidation and microstructure of W–Cu components by DMLS », *J. Alloys Compd.*, vol. 473, n° 1-2, p. 107-115, avr. 2009, doi: 10.1016/j.jallcom.2008.05.065.
- [177] S. Meyers, J.-P. Kruth, et J. Vleugels, « Direct selective laser sintering of reaction bonded silicon carbide », Austin, Texas, août 2015, p. 1750-1758.
- [178] K. G. Prashanth, S. Scudino, T. Maity, J. Das, et J. Eckert, « Is the energy density a reliable parameter for materials synthesis by selective laser melting? », *Mater. Res. Lett.*, vol. 5, n° 6, p. 386-390, nov. 2017, doi: 10.1080/21663831.2017.1299808.
- [179] B. Vandenbroucke et J. Kruth, « Selective laser melting of biocompatible metals for rapid manufacturing of medical parts », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 13, n° 4, p. 196-203, août 2007, doi: 10.1108/13552540710776142.
- [180] Y.-A. Song et W. Koenig, « Experimental study of the basic process mechanism for direct selective laser sintering of low-melting metallic powder », *CIRP Ann.*, vol. 46, n° 1, p. 127-130, 1997, doi: 10.1016/S0007-8506(07)60790-2.
- [181] Y. Tang, J. Y. H. Fuh, H. T. Loh, Y. S. Wong, et L. Lu, « Direct laser sintering of a silica sand », *Mater. Des.*, vol. 24, n° 8, p. 623-629, déc. 2003, doi: 10.1016/S0261-3069(03)00126-2.
- [182] S. Das, « Physical aspects of process control in selective laser sintering of metals », *Adv. Eng. Mater.*, vol. 5, n° 10, p. 701-711, oct. 2003, doi: 10.1002/adem.200310099.
- [183] N. K. Tolochko *et al.*, « Balling processes during selective laser treatment of powders », *Rapid Prototyp. J.*, vol. 10, n° 2, p. 78-87, avr. 2004, doi: 10.1108/13552540410526953.
- [184] Y. Tang, H. T. Loh, Y. S. Wong, J. Y. H. Fuh, L. Lu, et X. Wang, « Direct laser sintering of a copper-based alloy for creating three-dimensional metal parts », *J. Mater. Process. Technol.*, vol. 140, n° 1-3, p. 368-372, sept. 2003, doi: 10.1016/S0924-0136(03)00766-0.
- [185] E. Juste, F. Petit, V. Lardot, et F. Cambier, « Shaping of ceramic parts by selective laser melting of powder bed », *J. Mater. Res.*, vol. 29, n° 17, p. 2086-2094, sept. 2014, doi: 10.1557/jmr.2014.127.
- [186] M. M. Sun, J. C. Nelson, J. J. Beaman, et J. Barlow, « A model for partial viscous sintering », Austin, Texas, 1991, p. 46-55.
- [187] J. P. Kruth, L. Froyen, J. Van Vaerenbergh, P. Mercelis, M. Rombouts, et B. Lauwers, « Selective laser melting of iron-based powder », *J. Mater. Process. Technol.*, vol. 149, n° 1-3, p. 616-622, juin 2004, doi: 10.1016/j.jmatprotec.2003.11.051.
- [188] K. H. Tan *et al.*, « Scaffold development using selective laser sintering of polyetheretherketone–hydroxyapatite biocomposite blends », *Biomaterials*, vol. 24, n° 18, p. 3115-3123, août 2003, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00131-5.
- [189] Y. Zhang, L. Hao, M. M. Savalani, R. A. Harris, L. Di Silvio, et K. E. Tanner, « *In vitro* biocompatibility of hydroxyapatite-reinforced polymeric composites manufactured by selective laser sintering », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 91A, n° 4, p. 1018-1027, déc. 2009, doi: 10.1002/jbm.a.32298.
- [190] T. Kumaresan, R. Gandhinathan, M. Ramu, M. Ananthasubramanian, et K. B. Pradheepa, « Design, analysis and fabrication of polyamide/hydroxyapatite porous structured scaffold using selective laser sintering method for bio-medical applications », *J. Mech. Sci. Technol.*, vol. 30, n° 11, p. 5305-5312, nov. 2016, doi: 10.1007/s12206-016-1049-x.
- [191] F. Dabbas, S. L. Stares, J. M. Mascheroni, D. Hotza, et G. V. Salmoria, « Selective laser sintering of polyamide/hydroxyapatite scaffolds », in Meyers M. *et al* (eds) *Proceedings of the 3rd Pan American Materials Congress*, Springer, Cham, 2017, p. 95-103.
- [192] J. M. Williams *et al.*, « Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering », *Biomaterials*, vol. 26, n° 23, p. 4817-4827, août 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.11.057.

- [193] S. Eosoly, D. Brabazon, S. Lohfeld, et L. Looney, « Selective laser sintering of hydroxyapatite/poly- ϵ -caprolactone scaffolds », *Acta Biomater.*, vol. 6, n° 7, p. 2511-2517, juill. 2010, doi: 10.1016/j.actbio.2009.07.018.
- [194] C. Shuai, Y. Cao, C. Gao, P. Feng, T. Xiao, et S. Peng, « Hydroxyapatite Whisker Reinforced 63s Glass Scaffolds for Bone Tissue Engineering », *BioMed Res. Int.*, vol. 2015, p. 1-8, 2015, doi: 10.1155/2015/379294.
- [195] G. Lee et J. W. Barlow, « Selective laser sintering of bioceramic materials for implants », présenté à Solid freeform fabrication proceedings symposium, Austin, Texas, 1993.
- [196] G. Lee et J. W. Barlow, « Selective laser sintering of calcium phosphate powders », présenté à International solid freeform fabrication symposium, Austin, Texas, 1994.
- [197] J. C. Lorrison, K. W. Dalgarno, et D. J. Wood, « Processing of an apatite-mullite glass-ceramic and an hydroxyapatite/phosphate glass composite by selective laser sintering », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, n° 8, p. 775-781, août 2005, doi: 10.1007/s10856-005-2616-3.
- [198] F. Klocke, C. Derichs, C. Ader, et A. Demmer, « Investigations on laser sintering of ceramic slurries », *Prod. Eng.*, vol. 1, n° 3, p. 279-284, oct. 2007, doi: 10.1007/s11740-007-0047-3.
- [199] Y. Wu, J. Du, K.-L. Choy, et L. L. Hench, « Laser densification of alumina powder beds generated using aerosol assisted spray deposition », *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 27, n° 16, p. 4727-4735, janv. 2007, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2007.02.219.
- [200] H.-H. Tang, M.-L. Chiu, et H.-C. Yen, « Slurry-based selective laser sintering of polymer-coated ceramic powders to fabricate high strength alumina parts », *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 31, n° 8, p. 1383-1388, juill. 2011, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2011.02.020.
- [201] L. Ferrage, G. Bertrand, et P. Lenormand, « Dense yttria-stabilized zirconia obtained by direct selective laser sintering », *Addit. Manuf.*, vol. 21, p. 472-478, mai 2018, doi: 10.1016/j.addma.2018.02.005.
- [202] C. Shuai, C. Gao, Y. Nie, H. Hu, Y. Zhou, et S. Peng, « Structure and properties of nano-hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering with a selective laser sintering system », *Nanotechnology*, vol. 22, n° 28, p. 285703, juill. 2011, doi: 10.1088/0957-4484/22/28/285703.
- [203] C. Shuai *et al.*, « The microstructure evolution of nanohydroxyapatite powder sintered for bone tissue engineering », *J. Exp. Nanosci.*, vol. 8, n° 5, p. 762-773, juill. 2013, doi: 10.1080/17458080.2011.606507.
- [204] C. Shuai, P. Feng, C. Cao, et S. Peng, « Processing and characterization of laser sintered hydroxyapatite scaffold for tissue engineering », *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 18, n° 3, p. 520-527, juin 2013, doi: 10.1007/s12257-012-0508-1.
- [205] C. Shuai, P. Li, J. Liu, et S. Peng, « Optimization of TCP/HAP ratio for better properties of calcium phosphate scaffold via selective laser sintering », *Mater. Charact.*, vol. 77, p. 23-31, mars 2013, doi: 10.1016/j.matchar.2012.12.009.
- [206] M. Prakasam, J. Locs, K. Salma-Ancane, D. Loca, A. Largeteau, et L. Berzina-Cimdina, « Fabrication, properties and applications of dense hydroxyapatite: a review », *J. Funct. Biomater.*, vol. 6, n° 4, p. 1099-1140, déc. 2015, doi: 10.3390/jfb6041099.
- [207] S. Raynaud, « Synthèse, frittage et propriétés mécaniques de phosphates de calcium dans le système hydroxyapatite - phosphate tricalcique », Thèse, Université de Limoges, 1999.
- [208] H. M. Rietveld, « A profile refinement method for nuclear and magnetic structures », *J. Appl. Crystallogr.*, vol. 2, n° 2, p. 65-71, juin 1969, doi: 10.1107/S0021889869006558.

- [209] M. D. Dyar *et al.*, « Mossbauer parameters of iron in phosphate minerals: Implications for interpretation of martian data », *Am. Mineral.*, vol. 99, n° 5-6, p. 914-942, mai 2014, doi: 10.2138/am.2014.4701.
- [210] L. R. Walker, G. K. Wertheim, et V. Jaccarino, « Interpretation of the Fe^{57} isomer shift », *Phys. Rev. Lett.*, vol. 6, n° 3, p. 98-101, févr. 1961, doi: 10.1103/PhysRevLett.6.98.
- [211] K. Hirose, T. Honma, Y. Doi, Y. Hinatsu, et T. Komatsu, « Mössbauer analysis of Fe ion state in lithium iron phosphate glasses and their glass-ceramics with olivine-type LiFePO_4 crystals », *Solid State Commun.*, vol. 146, n° 5-6, p. 273-277, mai 2008, doi: 10.1016/j.ssc.2008.02.013.
- [212] S. Lakshmi, T. Endo, et G. Siva, « Electronic (absorption) spectra of 3d transition metal complexes », in *Advanced Aspects of Spectroscopy*, M. Akhyar Farrukh, Éd. InTech, 2012.
- [213] M. Palard, « Synthèse et frittage d'hydroxyapatites phosphocalciques silicatées », Thèse, Université de Limoges, 2007.
- [214] S. M. J. Morse, G. Shaw, et S. F. Larner, « Concurrent mRNA and protein extraction from the same experimental sample using a commercially available column-based RNA preparation kit », *BioTechniques*, vol. 40, p. 54, 2006, doi: 10.2144/000112100.
- [215] U. K. Laemmli, « Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 », *Nature*, vol. 227, n° 5259, p. 680-685, août 1970, doi: 10.1038/227680a0.
- [216] O. Hammer, D. A. T. Harper, et P. D. Ryan, « PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis », *Paleontol. Electron.*, vol. 4, n° 1, art. 4, p. 1-9, mai 2001.
- [217] I. Rehman et W. Bonfield, « Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 8, n° 1, p. 1-4, 1997, doi: 10.1023/A:1018570213546.
- [218] T. Isobe, S. Nakamura, R. Nemoto, M. Senna, et H. Sfihi, « Solid-state double nuclear magnetic resonance study of the local structure of calcium phosphate nanoparticles synthesized by a wet-mechanochemical reaction », *J. Phys. Chem. B*, vol. 106, n° 20, p. 5169-5176, mai 2002, doi: 10.1021/jp0138936.
- [219] M. Frasnelli *et al.*, « Synthesis and characterization of strontium-substituted hydroxyapatite nanoparticles for bone regeneration », *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 71, p. 653-662, févr. 2017, doi: 10.1016/j.msec.2016.10.047.
- [220] J. P. Yesinowski et H. Eckert, « Hydrogen environments in calcium phosphates: proton MAS NMR at high spinning speeds », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 109, n° 21, p. 6274-6282, oct. 1987, doi: 10.1021/ja00255a009.
- [221] M. Ben Osman *et al.*, « Discrimination of Surface and Bulk Structure of Crystalline Hydroxyapatite Nanoparticles by NMR », *J. Phys. Chem. C*, vol. 119, n° 40, p. 23008-23020, oct. 2015, doi: 10.1021/acs.jpcc.5b08732.
- [222] A. Vyalikh, P. Simon, T. Kollmann, R. Kniep, et U. Scheler, « Local environment in biomimetic hydroxyapatite–gelatin nanocomposites as probed by NMR spectroscopy », *J. Phys. Chem. C*, vol. 115, n° 5, p. 1513-1519, févr. 2011, doi: 10.1021/jp1082399.
- [223] C. Jäger, T. Welzel, W. Meyer-Zaika, et M. Epple, « A solid-state NMR investigation of the structure of nanocrystalline hydroxyapatite », *Magn. Reson. Chem.*, vol. 44, n° 6, p. 573-580, mai 2006, doi: 10.1002/mrc.1774.
- [224] B. Sutter, T. Wasowicz, T. Howard, L. R. Hossner, et D. W. Ming, « Characterization of iron, manganese, and copper synthetic hydroxyapatites by electron paramagnetic resonance spectroscopy », *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol. 66, n° 4, p. 1359, 2002, doi: 10.2136/sssaj2002.1359.

- [225] C. Oliva *et al.*, « FTIR and EPR characterisation of copper-exchanged mordenites and beta zeolites », *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, vol. 93, n° 15, p. 2603-2608, 1997, doi: 10.1039/a701477e.
- [226] D. M. Pickup *et al.*, « X-ray absorption spectroscopy and high-energy XRD study of the local environment of copper in antibacterial copper-releasing degradable phosphate glasses », *J. Non-Cryst. Solids*, vol. 352, n° 28-29, p. 3080-3087, août 2006, doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2006.02.094.
- [227] F. Farges, M.-P. Etcheverry, A. Scheidegger, et D. Grolimund, « Speciation and weathering of copper in “copper red ruby” medieval flashed glasses from the Tours cathedral (XIII century) », *Appl. Geochem.*, vol. 21, n° 10, p. 1715-1731, oct. 2006, doi: 10.1016/j.apgeochem.2006.07.008.
- [228] Y. Li, W. Lu, Q. Huang, C. Li, et W. Chen, « Copper sulfide nanoparticles for photothermal ablation of tumor cells », *Nanomed.*, vol. 5, n° 8, p. 1161-1171, oct. 2010, doi: 10.2217/nnm.10.85.
- [229] A. Lenestour, « Corrélation structure - propriété d'absorption UV-Vis-IR associée aux états de valence du cuivre dans des oxydes à base de zinc de type spinelle et würtzite », Thèse, Université de Bordeaux 1, 2006.
- [230] A. Benarafa, M. Kacimi, S. Gharbage, J.-M. M. Millet, et M. Ziyad, « Structural and spectroscopic properties of calcium-iron $\text{Ca}_2\text{Fe}(\text{PO}_4)_7$ phosphate », *Mater. Res. Bull.*, vol. 35, n° 12, p. 2047-2055, sept. 2000, doi: 10.1016/S0025-5408(00)00403-7.
- [231] W. Wang, O. K. Varghese, C. Ruan, M. Paulose, et C. A. Grimes, « Synthesis of CuO and Cu_2O crystalline nanowires using $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanowire templates », *J. Mater. Res.*, vol. 18, n° 12, p. 2756-2759, déc. 2003, doi: 10.1557/JMR.2003.0384.
- [232] C.-J. Liao, F.-H. Lin, K.-S. Chen, et J.-S. Sun, « Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere », *Biomaterials*, vol. 20, n° 19, p. 1807-1813, oct. 1999, doi: 10.1016/S0142-9612(99)00076-9.
- [233] C. Henrist, K. Traina, C. Hubert, G. Toussaint, A. Rulmont, et R. Cloots, « Study of the morphology of copper hydroxynitrate nanoplatelets obtained by controlled double jet precipitation and urea hydrolysis », *J. Cryst. Growth*, vol. 254, n° 1-2, p. 176-187, juin 2003, doi: 10.1016/S0022-0248(03)01145-X.
- [234] A. Stoch, J. Stoch, J. Gurbiel, M. Cichocińska, M. Mikołajczyk, et M. Timler, « FTIR study of copper patinas in the urban atmosphere », *J. Mol. Struct.*, vol. 596, n° 1-3, p. 201-206, sept. 2001, doi: 10.1016/S0022-2860(01)00718-9.
- [235] S. Švarcová, M. Klementová, P. Bezdička, W. Łasocha, M. Dušek, et D. Hradil, « Synthesis and characterization of single crystals of the layered copper hydroxide acetate $\text{Cu}_2(\text{OH})_3(\text{CH}_3\text{COO})\cdot\text{H}_2\text{O}$ », *Cryst. Res. Technol.*, vol. 46, n° 10, p. 1051-1057, oct. 2011, doi: 10.1002/crat.201100262.
- [236] P. Hartmann, C. Jäger, St. Barth, J. Vogel, et K. Meyer, « Solid state NMR, X-Ray diffraction, and infrared characterization of local structure in heat-treated oxyhydroxyapatite microcrystals: an analog of the thermal decomposition of hydroxyapatite during plasma-spray procedure », *J. Solid State Chem.*, vol. 160, n° 2, p. 460-468, sept. 2001, doi: 10.1006/jssc.2001.9274.
- [237] H. Sfihi, A. P. Legrand, X. Ranz, et C. Rey, « Characterization of oxyhydroxyapatite by ^{31}P solide-state nuclear magnetic resonance », *Phosphorus Res Bull*, vol. 6, p. 13-16, 1996.
- [238] I. D. Brown et D. Altermatt, « Bond-valence parameters obtained from a systematic analysis of the inorganic crystal structure database », *Acta Cryst.*, p. 244-247, 1985, doi: 10.1107/S0108768185002063.
- [239] V. F. Anufrienko *et al.*, « Detection of O^- radical anions in Cu-ZSM-5 zeolites after heat treatment », *Dokl Chem*, vol. 386, n° 4-6, p. 273-276, 2002, doi: 10.1023/A:1020739307397.

- [240] R. Zboril, M. Mashlan, et D. Petridis, « Iron(III) oxides from thermal processes synthesis, structural and magnetic properties, mössbauer spectroscopy characterization, and applications », *Chem. Mater.*, vol. 14, n° 3, p. 969-982, mars 2002, doi: 10.1021/cm0111074.
- [241] G. Amthauer et G. R. Rossman, « Mixed valence of iron in minerals with cation clusters », *Phys. Chem. Miner.*, vol. 11, n° 1, p. 37-51, juin 1984, doi: 10.1007/BF00309374.
- [242] J.-M. M. Millet, D. Rouzies, et J. C. Védrine, « Isobutyric acid oxidative dehydrogenation over iron hydroxyphosphates. II. Tentative description of the catalytic sites based on Mössbauer spectroscopic study », *Appl. Catal. Gen.*, vol. 124, p. 205-219, avr. 1995.
- [243] S. J. Oh, D. C. Cook, et H. E. Townsend, « Characterization of iron oxides commonly formed as corrosion products on steel », *Hyperfine Interact.*, vol. 112, p. 59-66, déc. 1998, doi: 10.1023/A:1011076308501.
- [244] L. Pluduma, K. A. Gross, C. Rey, A. Ubelis, et A. Berzina, « Production and characterization of oxyhydroxyapatites », *Key Eng. Mater.*, vol. 762, p. 48-53, févr. 2018, doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.762.48.
- [245] P. Prokúpková, L. Koudelka, et P. Mošner, « Study of the system $\text{FePO}_4\text{-FeVO}_4$ prepared from the solution », *J. Mater. Sci.*, vol. 31, n° 13, p. 3391-3395, juill. 1996, doi: 10.1007/BF00360739.
- [246] S.-J. Bae *et al.*, « Ultrasmall iron oxide nanoparticles: synthesis, physicochemical, and magnetic properties », *Curr. Appl. Phys.*, vol. 9, n° 1, Supplement, p. S19-S21, 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cap.2008.08.039>.
- [247] I. Rychlowska-Himmel et P. Tabero, « Phase equilibria in the system $\text{V}_2\text{O}_5\text{-Fe}_8\text{V}_{10}\text{W}_{16}\text{O}_{85}$ and some properties of the $\text{Fe}_8\text{V}_{10}\text{W}_{16}\text{O}_{85}$ phase », *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 65, p. 37-543, 2001.
- [248] K. Zaghib et C. M. Julien, « Structure and electrochemistry of $\text{FePO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hydrate », *J. Power Sources*, vol. 142, n° 1-2, p. 279-284, mars 2005, doi: 10.1016/j.jpowsour.2004.09.042.
- [249] M. Maccario, L. Croguennec, B. Desbat, M. Couzi, F. Le Cras, et L. Servant, « Raman and FTIR spectroscopy investigations of carbon-coated Li_xFePO_4 materials », *J. Electrochem. Soc.*, vol. 155, n° 12, p. A879, 2008, doi: 10.1149/1.2977961.
- [250] S. V. Stefanovsky *et al.*, « FTIR and Mössbauer spectroscopic study of sodium–aluminum–iron phosphate glassy materials for high level waste immobilization », *J. Nucl. Mater.*, vol. 466, p. 142-149, nov. 2015, doi: 10.1016/j.jnucmat.2015.06.007.
- [251] A. Hauser, « Ligand field theoretical considerations », in *Spin Crossover in Transition Metal Compounds I*, vol. 233, P. Gülich et H. A. Goodwin, Éd. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004, p. 49-58.
- [252] N. Pailhé, A. Wattiaux, M. Gaudon, et A. Demourgues, « Correlation between structural features and vis–NIR spectra of $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ hematite and AFe_2O_4 spinel oxides ($\text{A}=\text{Mg}, \text{Zn}$) », *J. Solid State Chem.*, vol. 181, n° 5, p. 1040-1047, mai 2008, doi: 10.1016/j.jssc.2008.02.009.
- [253] R. M. Golding, M. Kestigian, et C. W. Tennant, « EPR of high-spin Fe^{3+} in calcium tungstate, CaWO_4 », *J. Phys. C Solid State Phys.*, vol. 11, n° 24, p. 5041-5049, déc. 1978, doi: 10.1088/0022-3719/11/24/032.
- [254] D. H. Lin, G. Coudurier, et J. C. Védrine, « Fe-ZSM-5: physicochemical and catalytic properties », in *Studies in Surface Science and Catalysis*, vol. 49, Elsevier, 1989, p. 1431-1448.

- [255] J. M. Zadrozny *et al.*, « Mössbauer spectroscopy as a probe of magnetization dynamics in the linear iron(I) and iron(II) complexes $[\text{Fe}(\text{C}(\text{SiMe}_3)_2)]^{1-/0}$ », *Inorg. Chem.*, vol. 52, n° 22, p. 13123-13131, nov. 2013, doi: 10.1021/ic402013n.
- [256] F. M. MacDonnell, K. Ruhlandt-Senge, J. J. Ellison, R. H. Holm, et P. P. Power, « Sterically encumbered iron(II) thiolate complexes: synthesis and structure of trigonal planar $[\text{Fe}(\text{SR})_3]^-$ (R = 2,4,6-t-Bu₃C₆H₂) and Mössbauer spectra of two- and three-coordinate complexes », *Inorg. Chem.*, vol. 34, n° 7, p. 1815-1822, mars 1995, doi: 10.1021/ic00111a032.
- [257] C. Gérard, L.-J. Bordeleau, J. Barralet, et C. J. Doillon, « The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper », *Biomaterials*, vol. 31, n° 5, p. 824-831, févr. 2010, doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.10.009.
- [258] M.-M. Germaini *et al.*, « Osteoblast and osteoclast responses to A/B type carbonate-substituted hydroxyapatite ceramics for bone regeneration », *Biomed. Mater.*, vol. 12, n° 3, p. 035008, juin 2017, doi: 10.1088/1748-605X/aa69c3.
- [259] D. Gu et Y. Shen, « Effects of processing parameters on consolidation and microstructure of W–Cu components by DMLS », *J. Alloys Compd.*, vol. 473, n° 1-2, p. 107-115, avr. 2009, doi: 10.1016/j.jallcom.2008.05.065.
- [260] S. Guan, M. Gaudon, M. Souquet-Basiège, O. Viraphong, N. Penin, et A. Rougier, « Carbon-reduction as an easy route for the synthesis of VO₂ (M1) and further Al, Ti doping », *Dalton Trans.*, vol. 48, n° 9, p. 3080-3089, févr. 2019, doi: 10.1039/C8DT04914A.
- [261] S. Guan *et al.*, « Toward room-temperature thermochromism of VO₂ by Nb doping: magnetic investigations », *Chem. Mater.*, vol. 31, n° 23, p. 9819-9830, déc. 2019, doi: 10.1021/acs.chemmater.9b03906.
- [262] S. Guan, A. Rougier, O. Viraphong, D. Denux, N. Penin, et M. Gaudon, « Two-step synthesis of VO₂ (M) with tuned crystallinity », *Inorg. Chem.*, vol. 57, n° 15, p. 8857-8865, août 2018, doi: 10.1021/acs.inorgchem.8b00753.

Titre : Synthèse, caractérisations structurales par spectroscopies et mise en forme d'hydroxyapatites dopées au cuivre ou au fer

Résumé : L'hydroxyapatite (HA) de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ fait partie des matériaux les plus utilisés en reconstruction osseuse. L'amélioration de ses propriétés biologiques, notamment via le dopage par des éléments traces présents dans le corps humain, fait l'objet de récentes études. Cette thèse porte ainsi sur l'élaboration, la caractérisation structurale par spectroscopie et la mise en forme d'hydroxyapatites dopées au cuivre ou au fer. Deux voies de synthèse ont été considérées : les synthèses par coprécipitation en milieu aqueux ont permis d'élaborer des HA pures dopées au cuivre(II) ou au fer(III) stables à basse température ($\leq 600^\circ\text{C}$) tandis que les réactions par voie solide à haute température ont conduit à l'élaboration d'HA pures dopées au cuivre(I), au fer(II) ou au fer(III) stables au-delà de 1100°C . Ces phases ont été caractérisées par DRX ainsi que par diverses techniques spectroscopiques : FTIR, RMN, UV-vis-NIR, XPS, RPE, XANES-EXAFS et Mössbauer afin d'évaluer l'influence de l'incorporation des différents éléments de transition sur la structure apatitique et de déterminer la localisation de l'élément dopant, son degré d'oxydation, sa coordinence, ainsi que son environnement local. L'influence du cuivre et du fer sur la frittabilité et la densification des céramiques obtenues par voie solide ainsi que sur la croissance granulaire a ensuite été établie. Dans le cas des céramiques d'HA dopées au cuivre, la biocompatibilité des matériaux a été vérifiée sur des temps de culture de 5 jours avec la lignée cellulaire MC3T3-E1 et la capacité de ces cellules à se différencier en cellules osseuses à la surface des céramiques semble peu affectée par la présence de cuivre (jusqu'à 5,3% massique). Enfin, des films 2D pré-frittés de la phase d'HA contenant 0,8% massique de cuivre ont pu être mis en forme par frittage laser sélectif.

Mots clés : synthèse ; hydroxyapatite ; caractérisations ; spectroscopie ; céramique ; fabrication additive

Title: Synthesis, structural characterizations from spectroscopy and shaping of copper- or iron-doped hydroxyapatite

Abstract: Hydroxyapatite (HA), with formula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, is one of the most used material in bone reconstruction. The improvement of its biological properties, in particular by doping with trace elements present in the body, is the subject of recent studies. Therefore, this work deals with the elaboration, structural characterizations from spectroscopy and shaping of copper- or iron-doped hydroxyapatite. Two synthesis routes have been considered: syntheses by aqueous co-precipitation led to the elaboration of pure HA phases doped with copper(II) or iron(III) stable at low temperature ($\leq 600^\circ\text{C}$) while high temperature solid-state reactions led to the elaboration of pure HA phases doped with copper(I), iron(II) or iron(III) stable above 1100°C . These phases have been characterized by XRD and various spectroscopic techniques: FTIR, NMR, UV-vis-NIR, XPS, EPR, XANES-EXAFS and Mössbauer in order to evaluate the influence of the incorporation of the different transition elements into the apatitic structure and to determine the location of the doping element, its degree of oxidation, its coordination, as well as its local environment. The influence of copper and iron on the sinterability and densification of ceramics obtained by solid-state reaction and on the granular growth has been then established. In the case of copper-doped HA ceramics, the biocompatibility of the materials has been verified over a 5-day culture time using MC3T3-E1 cell line and the presence of copper does not seem to affect the cell differentiation onto the ceramic surface (up to 5.3 wt%). Finally, pre-sintered 2D films of the HA phase containing 0.8 wt% of copper have been shaped by selective laser sintering.

Keywords: synthesis; hydroxyapatite; characterizations; spectroscopy; ceramic; additive manufacturing

ICMCB – IRCER

ICMCB, 87 avenue du Dr. Schweitzer, 33600 Pessac
IRCER, 12 rue Atlantis, 87068 Limoges