

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MENTOURI - CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE PHYSIQUE

N° d'ordre :.....

Série :.....

THESE

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES EN PHYSIQUE

Spécialité

PHYSIQUE DES MATERIAUX

Option

METALLURGIE

**Caractérisations physico-chimiques et Cinétique de bioactivité
des biomatériaux:**

**Hydroxyapatite & Verre bioactif 52S4 élaboré par fusion et par
voie sol-gel**

Présentée Par :

FATIMA-ZOHRA MEZAH

Soutenue le : 04/ 07/ 2009

Devant le jury:

Président :	S. ACHOUR	Prof	Univ. Mentouri-Constantine
Rapporteur :	A. HARABI	Prof	Univ. Mentouri-Constantine
Examineurs :	H. OUDADESSE	Prof	Univ. Rennes 1- France
	S. BOUAOUD	Prof	Univ. Mentouri-Constantine
	N. BOUAOUADJA	Prof	Univ. Ferhat abbas-Sétif
	M. LEGOUIRA	M.C	Univ. 20 Août 1955-Skikda

Dédicace

A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grandes et les meilleures personnes...

A mon Père

A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation...

A ma Mère

A ceux qui j'aime et je les respecte même quand on est sur deux lignes parallèles...

A mes frères & mes soeurs

A mes adorables qui j'aime même quand ils...

A mes neveux & mes nièces

Remerciements

Ce travail a été effectué dans le cadre d'une collaboration entre le laboratoire « Céramiques » de la Faculté des Sciences de l'université Mentouri-Constantine (dirigé par Pr. Slimane Achour) et l'UMR Sciences Chimiques de Rennes UMR CNRS 6226, dirigée par Pr. Jean Yves Saillard).

Je tiens à remercier le directeur de cette thèse, Monsieur Abdelhamid Harabi, Professeur à l'université Mentouri-Constantine. Je leur adresse ma profonde et sincère reconnaissance pour leur suivi quotidien, leurs encouragements et leur soutien continuel durant mes années de recherches. Je leur dois beaucoup.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur Slimane Achour professeur à l'université Mentouri-Constantine pour ces conseils judicieux et d'avoir aimablement accepté la présidence du jury de cette thèse. Je lui témoigne ici mon plus grand respect.

Je tiens à témoigner toute ma gratitude à Monsieur Hassane Oudadesse, Professeur à l'université de Rennes 1, non seulement d'avoir accepté de se déplacer et me faire l'honneur d'avoir accepté d'être membre de jury, mais aussi de m'avoir accueilli dans son laboratoire durant deux ans et d'être omniprésent pour diriger mes travaux. Que Mr H. Oudadesse trouve ici toute ma reconnaissance pour son suivi et ses conseils judicieux.

Ma reconnaissance va également aux Mr : Salah- Eddine Bouaoud : Professeur à l'Université Mentouri-Constantine, Mr Nourdine Bouaouadja : Professeur à l'université de Sétif et Mr Messaoud Legouira : Maître de conférences à l'université de Skikda ; pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail de thèse en tant que examinateurs.

Je suis très reconnaissante envers Madame Anita Lucas-Girot, Maître de conférences à l'université de Rennes1 pour son aide et ses conseils précieux lors de la synthèse et l'étude « in vitro » des échantillons préparés par la voie sol-gel. Je suis entièrement reconnaissante des compétences, des bons conseils et des encouragements que vous m'avez transmis au cours de ces deux années.

Je remercie particulièrement Monsieur Yann Le Gal, membre de l'équipe Chimie des Solides et Matériaux-Rennes 1, pour son aide, ces conseils et les services qu'il m'a rendus tout au long de mon séjour à Rennes pour me faciliter le travail au laboratoire.

Je remercie Malek Bouraiou, Sofiane Bouacida pour leurs aides et pour le soutien moral au cours de mon séjour à Rennes. Ainsi ; Je tiens à remercier Soumia Ghanemi pour sa formidable compagnie qui m'a fait supporter au mieux l'éloignement de ma famille.

Je ne saurais oublier dans ces remerciements les thésards de l'équipe « céramiques », l'université de Constantine et ceux de l'équipe « Biomatériaux », l'université de Rennes 1.

Je remercie infiniment les membres du centre de CMEBA surtout Mr Joseph Le Lannic et Mme Marie Le Floch, université de Rennes1 pour leurs disponibilités lors des analyses MEB-EDS et les analyses RMN.

J'exprime mes vifs remerciements à tout ce qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

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

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES	3
1- Introduction.....	3
2- Domaines d'application des biomatériaux.....	3
3- Classification des biomatériaux.....	4
4- Définitions.....	4
4.a- Biomatériau.....	4
4.b- Bioactivité.....	5
4.c- Ostéoinduction.....	5
4.d- Ostéoconduction.....	5
4.e- Ostéoformation.....	5
5- Tissu osseux	5
5.a- Différents types d'os du point de vue macroscopique.....	6
5- b- Composition de l'os naturel.....	8
5- c- Mécanisme de remodelage osseux.....	10
CHAPITRE 2 : HYDROXYAPATITE ET VERRES BIOACTIFS	12
Partie 1 : HYDROXYAPATITE	12
1- Introduction.....	12
2- Structure et formule chimique.....	12
3- Les différentes hydroxyapatites.....	13
3.a - HA d'origine animale.....	13
3.b - HA synthétisée.....	14
4- Décomposition de HA.....	17
5- Processus de formation de « bone like-apatite ».....	17
6- Facteurs influençant la bioactivité de HA.....	19
Partie 2 : VERRES BIOACTIFS	20
1- Introduction.....	20
2- Définition et description d'un verre.....	21
3- Vitrification.....	21
3.a- Températures caractéristiques des verres.....	21
3.b- Critères de vitrification.....	22

4- Différentes voies pour l'obtention d'un verre.....	23
4.a- Voie « fusion ».....	23
4.b- Méthode sol-gel.....	26
5- Bioactivité du verre.....	30
5.a- Bioactivité dans un milieu physiologique.....	30
5.b- Mécanisme d'attachement au tissu vivant.....	32
5.c- Facteurs influençant la bioactivité.....	32

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : MATERIAUX, APPAREILS ET METHODES EXPERIMENTALES D'ANALYSES UTILISEES

D'ANALYSES UTILISEES	34
1- Introduction.....	34
2- Matériaux étudiés	34
2. a- Hydroxyapatite naturelle et synthétique	34
2.b- Verre 52S4.....	35
2.b.1- Protocole de la synthèse par voie fusion.....	36
2.b.2- Protocole de synthèse par le procédé sol-gel.....	37
3- Appareils et techniques de caractérisation.....	39
3.a- Appareils utilisés.....	39
3.b- Techniques de caractérisation	42
3.b.1- Poussée d'Archimède.....	42
3.b.2- Analyse par la méthode BET	42
3.b.3- Analyse thermique (ATG/DSC).....	43
3.b.4- Diffraction des rayons X (DRX).....	43
3.b.5- Microscopie électronique à balayage (MEB) et Spectroscopie d'énergie dispersive (EDS).....	44
3.b.6- Spectroscopie infrarouge (IR).....	46
3.b.7- La Spectrométrie d'émission au plasma (ICP-OES).....	47
3.b.8- Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	49

RESULTATS EST DISCUSSIONS

CHAPITRE IV : Hydroxyapatite.....	53
A- Caractérisation physico-chimiques avant traitement thermique.....	53

A.1- Composition minérale.....	53
A.2- Etude structurale par DRX et analyse par FTIR.....	54
A.3- Effet de la pression et l'ajout des gouttes d'eau sur la densité.....	57
B- Etude <i>in vitro</i> en fonction de la température de N-HA et S-HA.....	59
B.1- Morphologie des poudres avant le traitement thermique.....	59
B.2- Surface spécifique du N-HA et S-HA.....	59
B.3- Altérations physico-chimiques en fonction de la température (avant immersion)...	60
B.3.a- Variation de densité en fonction de la température.....	60
B.3.b- Variation de rapport molaire (Ca/P) en fonction de la température.....	60
B.3.c- Morphologie des granules en fonction de la température: MEB.....	61
B.3.d- Variation de la surface spécifique en fonction de la température.....	61
B.3.e- Spectroscopie IR des granules frittées.....	63
B.3.f- Diagrammes de diffraction RX des granules frittées..... ;.....	65
B.4- Altérations physico-chimiques après immersion dans le SBF: expériences <i>in vitro</i>	65
B.4.a- Variation de la concentration de Ca et P avec le temps d'immersion dans le SBF.....	65
B.4.b – Micrographie par MEB des granules immergées dans le SBF.....	70
B.4.c- Analyse par IR des granules immergées.....	73
B.5- Bilan des résultats.....	75
B.6- Conclusion.....	76
C- Effet des additions ZrO ₂ , Al ₂ O ₃ , TiO ₂ sur la stabilité thermique, propriétés mécaniques et la bioactivité de N-HA.....	77
C.1- Morphologie des poudres broyées.....	78
C.2- Altérations physico-chimiques après le traitement thermique.....	78
C.3.a- Densité des échantillons traités.....	78
C.3.b- Micrographie par MEB et l'analyse EDS des échantillons traités.....	78
C.3.c- Spectroscopie IR des échantillons traités.....	82
C.3.d- Diagrammes de diffraction R X des échantillons traités.....	82
C.3.e- Perte de masse dans l'acide lactique et la microdureté Vickers.....	84
C.4- Altérations physico-chimiques après immersion dans le SBF	85
C.4.a- Variation de la concentration ionique de Ca et P avec le temps d'immersion dans le SBF.....	85

C.4.b – Micrographie par MEB et l’analyse EDS des granules immergées dans le SBF.....	87
C.4.c- Analyse par IR des granules immergées.....	87
C.5- Bilan des résultats.....	90
C.6- Conclusion.....	91
D- Effet de la porosité sur la cinétique de bioactivité de l’hydroxyapatite.....	92
D.1- Altérations physico-chimiques des pastilles traitées.....	93
D.1.a- Diagramme de diffraction RX et le Spectre IR de N-HA frittée.....	93
D.1.b- Variation de densité et la porosité en fonction du pourcentage du naphthalène.....	93
D.1.c- Morphologie des pastilles poreuses: MEB.....	97
D.2- Altérations physico-chimiques après immersion dans le SBF : expériences "In vitro".....	99
D.2.a- Variation de la concentration de Ca et P avec le temps d’immersion dans le SBF.....	99
D.2.b - Micrographie par MEB des pastilles immergées.....	100
D.2.c- Spectroscopie IR des pastilles immergées.....	100
D.3- Bilan des résultats.....	103
D.4- Conclusion.....	104
E- Conclusion de la partie « hydroxyapatite ».....	105
Chapitre V : Verres synthétisés par voie fusion (52S4F).....	107
1- Propriétés physico-chimiques des verres synthétisés.....	108
1.a- Températures caractéristiques du verre.....	108
1.b- Caractérisation par diffraction RX.....	109
1.c- Analyse par spectrométrie IR.....	109
1.d- Analyse par MEB-EDS.....	109
1.e- Analyse par BET.....	109
1.f- Analyse par RMN-MAS.....	112
2- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F immergés dans le SBF.....	117
2.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le SBF.....	117
2.b- Variation du pH du SBF avec le temps d’immersion.....	118
2.c-Altérations structurales des verres fusion avec le temps d’immersion dans le SBF..	121

c.1- Diagrammes de diffraction RX.....	121
c.2- Spectres IR.....	121
c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés.....	123
2.d- Bilan des résultats.....	126
3- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F immergés dans le PBS.....	127
3.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le PBS.....	127
3.b- Variation du pH du SBF avec le temps d'immersion.....	130
3.c- Altérations structurales des verres 52S4F avec le temps d'immersion dans le PBS.....	130
3.c.1- Diagrammes RX.....	130
3.c.2- Spectres IR.....	130
c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés.....	133
3.d- Bilan de résultats.....	136
4- Conclusion.....	136
Chapitre VI : Verres synthétisés par le procédé sol gel (52S5SG).....	137
1- Propriétés physico-chimiques des verres synthétisés.....	137
1.a- Températures caractéristiques du verre.....	137
1.b- Caractérisation par diffraction des RX.....	138
1.c- Analyse par spectrométrie IR.....	138
1.d- Analyse par MEB-EDS.....	141
1.e- Analyse par BET.....	142
1.f- Analyse par RMN-MAS.....	142
2- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4SG immergés dans le SBF.....	145
2.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le SBF.....	145
2.b- Variation du pH du SBF avec le temps d'immersion.....	147
2.c- Altérations structurales des verres sol-gel avec le temps d'immersion dans le SBF	147
2.c.1- Diagrammes de diffraction RX..... ;.....	147
2.c.2- Spectres IR.....	147
2.c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés.....	150
2.d- Bilan des résultats.....	153

3- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4SG immergés dans le PBS.....	154
3.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le SBF.....	154
3.b- Variation du pH du SBF avec le temps d'immersion.....	155
3.c- Altérations structurales des verres 52S4SG avec le temps d'immersion dans le PBS.....	158
3.c.1- Diagrammes de diffraction RX.....	158
3.c.2- Spectres IR.....	158
3.c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés.....	158
4- Bilan des résultats.....	162
5- Conclusion.....	163
Conclusion générale.....	164
Perspectives.....	166
Références.....	167

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Le comblement de perte de substance ou la reconstruction osseuse nécessite la recherche et le développement des biomatériaux ayant des propriétés spécifiques pour être utilisés dans le corps humain. Les travaux de recherche s'intéressent beaucoup plus aux matériaux biocompatibles et qui forment un lien biochimique direct quand ils sont implantés dans le corps humain, nous citons à titre d'exemple l'hydroxyapatite et les verres bioactifs.

L'hydroxyapatite est l'un des biomatériaux les plus utilisés grâce à sa ressemblance à la matrice osseuse. Alors que le choix des verres est basé sur leur meilleure bioactivité quand ils sont en contact avec le liquide physiologique.

Pour cela, le travail de cette thèse concerne l'étude des propriétés physico-chimiques et la cinétique de bioactivité des biomatériaux:

- Hydroxyapatite naturelle et synthétique.
- Verre quaternaire SiO_2 -CaO- Na_2O - P_2O_5 synthétisé par fusion et par le procédé sol-gel.

On s'est intéressé à réaliser des tests *in vitro* car ils constituent une approche préliminaire du comportement d'un biomatériau en donnant une première évaluation de la bioactivité des matériaux. La capacité des matériaux étudiés de former une couche d'hydroxyapatite lors du contact avec des fluides biologiques synthétiques encouragent les tests *in vivo*.

Pour optimiser les propriétés mécaniques de l'hydroxyapatite, connue par sa bonne biocompatibilité, on a ajouté des oxydes bioinertes ayant des bonnes propriétés mécaniques. Une étude *in vitro* est nécessaire pour évoluer la bioactivité de l'hydroxyapatite dopée par ces oxydes. Alors que pour améliorer sa bioactivité; on a élaboré de l'hydroxyapatite poreuse en ajoutant du porogène pour créer des macropores. Ainsi, pour certaines applications médicales, la porosité est nécessaire pour permettre une vascularisation, une cohésion et une colonisation de l'implant par l'os.

Alors que l'intérêt des verres bioactifs réside dans leur capacité de former une couche d'hydroxyapatite biologique mieux que l'hydroxyapatite synthétique. Ces verres sont généralement synthétisés par voie fusion ou sol-gel. Les études réalisées jusqu'à maintenant ont étudiées et comparées la bioactivité des verres synthétisés par les deux méthodes, mais en prenant deux compositions différentes. Cela nous a incité d'étudier les propriétés physico-chimiques et la bioactivité des verres synthétisés par les deux méthodes (fusion et sol-gel) ayant la même composition chimique.

La thèse englobe deux parties distinctes: la partie théorique et la partie expérimentale.

La partie théorique est constituée de deux chapitres:

- le premier chapitre est consacré aux généralités sur les biomatériaux. On a cité les différents domaines d'application de ces matériaux selon leur réaction quand ils sont implantés dans le corps humain. Une description de la structure de l'os ainsi que le remodelage osseux ont été bien détaillés.
- le deuxième chapitre concerne l'hydroxyapatite et les verres bioactifs. Les différentes méthodes de synthèse de ces matériaux, leurs propriétés physico-chimiques ainsi que le processus de précipitation de « bone like-apatite » à la surface de ces matériaux, quand ils sont immergés dans des solutions physiologiques ou implantés dans le corps humain, ont été décrites.

La partie expérimentale englobe les techniques expérimentales utilisées et les résultats expérimentaux; elle est répartie en quatre chapitres:

- le troisième chapitre donne une description détaillée des hydroxyapatites étudiées et le protocole de synthèse des verres par fusion et par voie sol-gel. Ainsi, il est consacré aux différents matériels et techniques utilisés pour la synthèse et la caractérisation des matériaux étudiés.
- le quatrième chapitre traite les propriétés physico-chimiques de l'hydroxyapatite naturelle et synthétique, l'hydroxyapatite dopée (hydroxyapatite + oxydes inertes) et l'hydroxyapatite poreuse en fonction du temps d'immersion dans un liquide physiologique et la température du traitement thermique.
- Le cinquième et le sixième chapitre sont consacrés aux propriétés physico-chimiques des verres, synthétisés par fusion et par voie sol-gel, en utilisant différentes techniques tels que RMN du solide. On a aussi évalué la cinétique de bioactivité de ces verres dans deux liquides physiologiques différents.

Enfin, une conclusion générale a rassemblé les résultats les plus importants de ce travail; suivie par les perspectives.

**ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I

CHAPITRE I: GENERALITES

1- Introduction

Chez l'homme, les capacités naturelles de réparation de l'os sont limitées surtout pour le traitement de tumeurs, de kystes ou de foyers infectieux qui nécessitent l'utilisation de pièces osseuses de taille trop importante. Alors, le comblement de perte de substance ou la reconstruction osseuse a longtemps nécessité le recours aux autogreffes (prélèvements de tissu sur l'individu) ou aux allogreffes (prélèvements de tissu sur un individu de la même espèce vivant ou mort). Mais l'utilisation des autogreffes pose des problèmes de morbidité, de qualité et de quantité d'os disponible. Ainsi, l'accessibilité des banques osseuses, la disponibilité des greffons et les risques potentiels de transmission d'agents pathogènes ont limité l'utilisation des allogreffes [1]. Ces limites ont constitué le moteur de la recherche et du développement des biomatériaux tels que:

- Les céramiques au sens large.
- Les polymères et la matière molle.
- Les matériaux d'origine naturelle.

2- Domaines d'application des biomatériaux

Ces matériaux sont utilisés dans divers domaines, parmi eux on trouve (tableau I-1) [2]:

Tableau I-1: Domaines d'application de biomatériaux

Domaine d'application	Exemples
Ophthalmologie	<ul style="list-style-type: none">• lentilles• implants• coussinets de récupération
Odontologie- Stomatologie	<ul style="list-style-type: none">• matériaux de restauration et comblement dentaire et osseux• orthodontie• reconstruction maxillo-faciale
Chirurgie orthopédique	<ul style="list-style-type: none">• prothèses articulaires (hanche, coude...)• remplacement osseux pour tumeur ou traumatisme• réparation de fractures (vis, plaques, ...)
Cardiovasculaire	<ul style="list-style-type: none">• valves cardiaques• coeur artificiel• stimulateurs cardiaques
Urologie/ Néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• dialyseurs• poches, cathéters et tubulures pour dialyse péritonéale• rein artificiel portable
Endocrinologie- Chronothérapie	<ul style="list-style-type: none">• pancréas artificiel• pompes portables et implantables• systèmes de libération contrôlée de médicaments
Chirurgie esthétique	<ul style="list-style-type: none">• matériaux et implants pour chirurgie esthétique
Chirurgie générale et divers	<ul style="list-style-type: none">• drains de chirurgie• colles tissulaires• peau artificielle

3- Classification des biomatériaux

L'utilisation des biomatériaux ayant des propriétés spécifiques pour des applications médicales a été bien reconnue dans les années 70. Au début, les recherches étaient concentrées sur les matériaux suscitant une faible réaction avec les tissus hôtes et qui pouvant supporter des fortes charges. L'utilisation de ce type des biomatériaux (appelés matériaux bioinertes) a généré une révolution dans l'industrie céramique. Aujourd'hui les biomatériaux sont largement utilisés pour la réparation de tissus et des organes défectueux surtout avec le progrès de la biologie cellulaire et l'ingénierie tissulaire [3]. Ces biomatériaux ont été classés en se basant sur le type de réaction entre le biomatériau et le tissu vivant. Le tableau I-2 résume les quatre types de réaction [4,5]:

Tableau I-2: classification de biomatériaux

Type de biomatériau	Réaction de l'organisme	Matériau
Biotoxique	le rejet de tissu vivant à la proximité du matériau suite à un procédé chimique, galvanique ou autre procédé.	Alliages contenant le cadmium, vanadium et autres éléments toxiques. Les aciers, les carbures et le méthylméthacrylate.
Bioinerte	Le matériau est lié au tissu vivant par une capsule fibreuse d'épaisseur variante.	Tantale, titane, aluminium et les oxydes de zirconium.
Bioactif	Formation d'un lien biochimique direct avec la surface du matériau accompagné d'une croissance libre.	Hydroxyapatite dense, phosphate tricalcique et certains bioverres.
Biorésorbable	Dissolution graduelle du matériau par le biosystème de l'organisme et son remplacement sans toxicité ou rejection.	Phosphate tricalcique, hydroxyapatite poreuse, sels de phosphate calcique, certain bioverres, polyuréthane.

D'après le tableau I-2, il n'y a pas une grande distinction entre les différents types de biomatériaux, ils peuvent être biotoxiques, bioinertes, bioactifs ou biorésorbables à de degrés variables. Par exemple, l'épaisseur de la couche fibreuse séparant le matériau du tissu vivant peut servir pour mesurer la bioinertie, elle varie de 0.1 mm dans le cas des matériaux faiblement inertes comme les aciers inoxydables à des couches moléculaires dans le cas des matériaux très inertes comme l'alumine et les oxydes de zirconium. En plus, la réaction du matériau avec le tissu vivant dépend de l'état physiologique de l'organisme. Dans certains cas, des éclats d'acier peuvent être encapsulés dans une couche de tissu fibreux et conservés dans un corps humain pendant des dizaines d'années (comme un matériau bioinerte), tandis que dans un autre organisme dans une situation similaire; une toxicité peut se produire en conduisant à la mort [6].

4- Définitions

4.a- Biomatériau est un matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical destiné à interagir avec les systèmes biologiques ».

Cette définition a été retenue au cours de la Conférence de Chester de la Société Européenne des Biomatériaux en 1986 [7].

Dans notre étude on va s'intéresser aux biomatériaux pour comblement osseux qui doivent être reproductibles, biocompatibles et non toxiques. L'étude de l'efficacité de ces biomatériaux ne se base pas seulement sur l'étude de leurs bioactivité mais aussi sur leurs qualités d'ostéoinduction, d'ostéoconduction et d'ostéoformation. En plus, ils doivent avoir des propriétés mécaniques proche de celles de l'os.

4.b- Bioactivité

La bioactivité est liée à la modification de la surface du matériau avec la formation de l'hydroxyapatite carbonatée suite à la dissolution, précipitation et les réactions d'échanges avec l'environnement physiologique [2, 3]. Le lien formé entre le matériau et le tissu vivant permet la fixation et la stabilisation de l'implant ou la prothèse [3].

4.c- Ostéoinduction

L'ostéoinduction est la capacité d'induire la formation osseuse en site extra osseux [1,7].

4.d- Ostéoconduction

L'ostéoconduction correspond à la « propriété passive d'un matériau à recevoir la repousse osseuse, par invasion vasculaire et cellulaire à partir du tissu osseux receveur au contact du matériau » [1,8]. L'ostéoconduction est en partie dépendante de la taille des pores du biomatériau.

4.e- Ostéoformation

L'ostéoformation qui correspond à la construction de la matrice osseuse par des cellules ostéoformatrices [8].

5- Tissu osseux

D'un point de vue biologique, l'os est un tissu vivant important qui peut servir à plusieurs fonctions dans le corps humain. Il fournit non seulement le soutien structurel, la protection des organes, mais il représente l'essentiel des réserves du métabolisme des minéraux tels que le calcium. Aussi, il est le site principal pour la synthèse des cellules sanguines. En outre, il est capable de maintenir une forme et une structure optimale tout au long de la vie par le biais d'un processus continue de renouvellement. Cela lui permet de répondre à l'évolution de l'environnement mécanique par "remodelage" en maintenir un équilibre optimal entre la forme et la fonction [9].

Sur un niveau élémentaire, le tissu osseux est composé de la matrice osseuse « les os », de cellules, de la moelle osseuse et du réseau vasculaire [9].

- L'os fournit une résistance mécanique et la source des minéraux du corps.
- Les cellules osseuses sont responsables du maintien de la structure de la matrice, la régulation de l'oxygène et les nutriments, stockage ou la libération des minéraux en fonction des besoins.
- La moelle et le réseau vasculaire sont responsables de la formation de cellules souches, ainsi ils permettent de se communiquer et d'interagir avec le reste du corps.

Il est très important d'étudier et de comprendre la composition de l'os pour mieux interpréter sa formation dans l'organisme vivant. Certes il y'a plusieurs conditions physico-chimiques nécessaires pour la stimulation de la formation de l'os à partir des éléments dissous dans le fluide physiologique [10].

5.a- Différents types d'os du point de vue macroscopique

Le tissu osseux (fig.I-1) se présente sous deux aspects bien distincts: l'os trabéculaire et l'os cortical.

- L'os spongieux ou trabéculaire est présent dans les extrémités des os longs (fig.I-2(a, b)): les épiphyses et la métaphyse. La métaphyse est la zone de transition entre l'épiphyse et la diaphyse, où il forme un système de lamelles osseuses irrégulières, les trabécules. Il est également présent dans les corps vertébraux. Les travées osseuses formées par les lamelles s'entrecroisent et sont disposées dans le même sens que les forces de pression et de traction exercées sur l'os [11]. Il occupe la partie la plus volumineuse du tissu mais il ne présente que 20% de sa masse. Sa structure macroporeuse tridimensionnelle offre une surface d'échange métabolique importante, alors que l'os cortical n'intervient pas dans ces échanges [12].
- L'os cortical occupe la périphérie de la diaphyse ou le milieu des os longs (fig.I-2 (a, c)), limitant un canal central de forme allongée dans le sens du grand axe de l'os, la cavité médullaire. Il entre également dans la constitution des os courts et des os plats [11]. L'os cortical représente 80 % de l'os squelettique total, il est un empilement lamellaire compact d'unités de construction appelées ostéons ou système de Havers. L'ostéon est un canal neurovasculaire dont la paroi est formée de plusieurs couches concentriques (3-7 μm) de fibres de collagène sur lesquelles se développent les cristaux d'apatite [12]. Ces cristaux s'orientent dans la direction des contraintes appliquées sur l'os [13] (fig.I-3).

L'architecture de l'os est donc édiflée suivant les forces mcaniques auxquelles celui-ci est soumis. Or que les vertbres sont formées de 50 % d'os trabculaire et de 50 % d'os cortical.

Il existe diffrents canaux permettant la vascularisation et l'innervation du tissu: les canaux de Havers au centre de l'axe de l'osteon et les canaux de Wolkman, perpendiculaires ou obliques par rapport aux prcdents. Ils permettent de relier les canaux de Havers, entre eux, avec la surface extrieure et avec les cavits mdullaires.

L'os trabculaire se renouvelle environ cinq fois plus rapidement que l'os cortical [11].

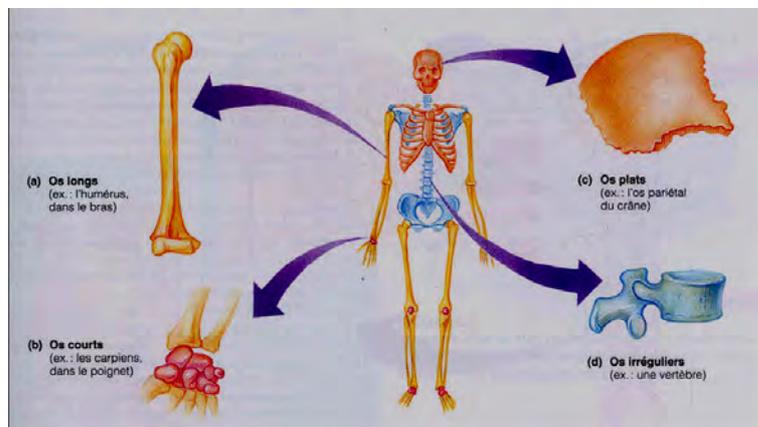


Figure I-1: Diffrent types de l'os [*].

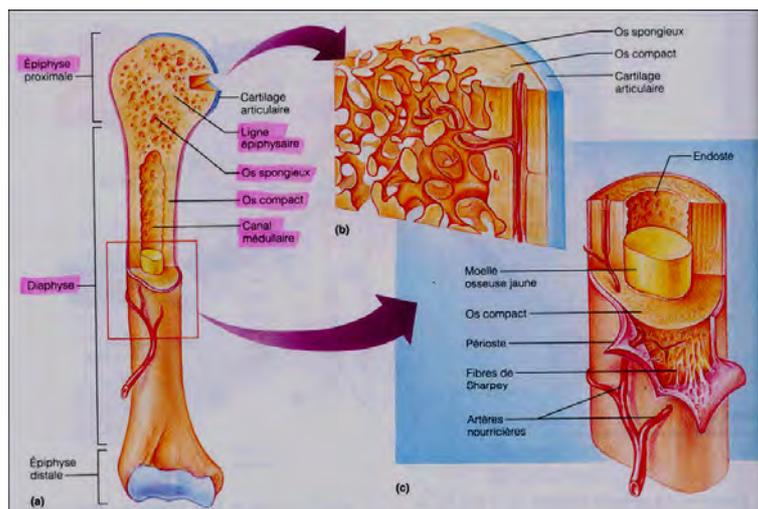


Figure I-2: Structure d'un os long [*].

[*]: slimtr.googlepages.com/Letissuosseuxetlesos.pdf

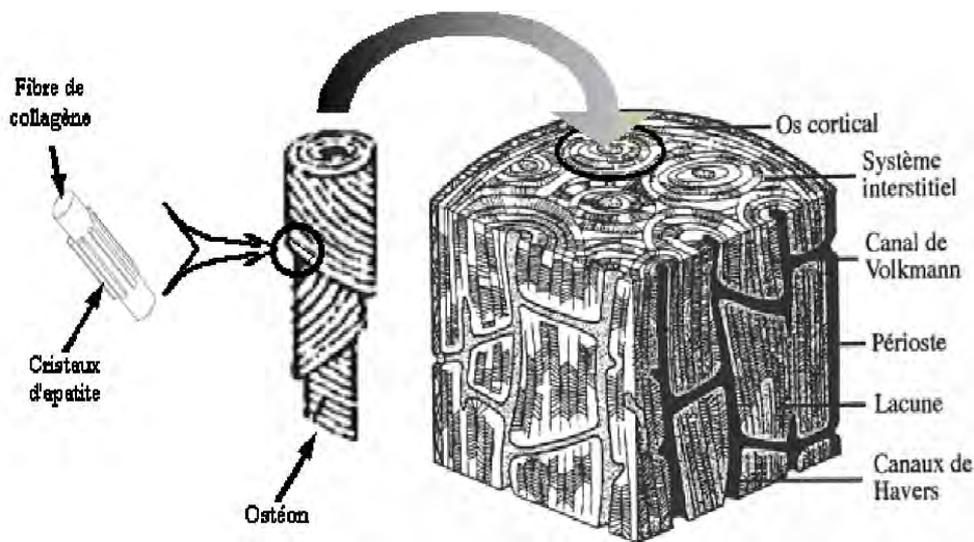


Figure I-3: Localisation des ostéons dans l'os cortical [12].

5.b- Composition de l'os naturel

L'os naturel est approximativement composé de 67% de phase minérale, 21% de phase organique et 12% d'eau [14].

5.b.1 - Phase organique: cellules et matrice organique

5.b.1.1- Les cellules

Trois types de cellules caractérisent le tissu osseux: les ostéoblastes, les ostéocytes et les ostéoclastes. L'os est constitué d'une matrice extracellulaire synthétisée par les ostéoblastes (cellules ostéoformatrices) et résorbée par les ostéoclastes (cellules ostéoresorbantes).

➤ **Ostéoblastes:** ils sont situés côte à côte à la surface des os: le tissu ostéoïde. Ces cellules sont responsables de la synthèse et la calcification de composés organiques de la matrice osseuse. Quand ils sont actifs, leur taille varie de 15 à 80 μm [14-16].

➤ **Ostéocytes:** Les cellules occupant les lacunes dans la matrice osseuse. Ce sont des cellules longues et minces (30 μm sur 10 μm). Ils sont en fait des ostéoblastes transformés en cellules de base du tissu osseux après l'élaboration de la matrice minéralisée [17]. Ils participent au maintien de la matrice osseuse et à l'homéostasie de la calcémie, alors que leurs capacités de synthèse et de résorption sont limitées [18].

➤ **Ostéoclastes:** ils sont responsables du processus de résorption osseuse au niveau du tissu osseux vieilli. La fraction minérale se dissout par un abaissement local du pH au

voisinage de 5, dû à la libération extracellulaire des protons sous l'action d'anhydrase carbonique. La dégradation de la matrice organique se réalise par clivage enzymatique [17, 19-21].

5.b.1.2- La matrice organique: elle est composée de fibres collagène et d'une substance fondamentale.

➤ **Les fibres collagène:** Le collagène représente presque la totalité de la matière organique de l'os (90%) dépourvu de sa substance lipidique. L'unité de base du collagène est la molécule de tropocollagène. Les molécules s'ordonnent parallèlement entre elles selon une organisation précise. La nucléation des cristaux d'apatite débiterait au niveau des espaces entre les molécules de tropocollagène. La formation des fibrilles de collagène, en se groupant en faisceaux épais, donne naissance aux fibres collagènes [16,21].

➤ **La substance fondamentale:** elle est composée de lipides et de protéines non collagéniques, qui interviennent dans le processus de minéralisation. Ils interviennent dans le processus de minéralisation osseuse en se liant au calcium et en le fixant sur les cristaux d'hydroxyapatite [14, 21].

5.b.2- Composition minérale

La phase inorganique dans l'os s'apparente à l'hydroxyapatite de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [22]. L'apatite de l'os est un phosphate de calcium déficient dont le rapport molaire (Ca/P) varie de 1.37 à 1.87 [23, 24]. En plus, elle est caractérisée par un désordre intérieur du cristal et la substitution de différents d'ions en petites quantités comme le sodium, magnésium et d'autres éléments traces [22, 25-27], comme il est présenté dans le tableau I-3. L'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais plutôt à une apatite carbonatée de type A-B [27-28] qui contient des éléments majeurs (Ca et P) et d'autres éléments traces qui jouent un rôle important sur sa bioactivité [9].

La composition de l'os dépend du site, de l'âge, du régime alimentaire et de la présence des maladies. Dans certains états physiologiques, (la vieillesse, la grossesse), quand le métabolisme du calcium est impliqué, les éléments traces se libèrent très rapidement en se transportant par le sang vers d'autres sites [29].

Table I-3: La composition minérale de l'os

référence	[Ca]	[P]	[Na]	[Mg]	[K]	Sr, Zn, Cu	CO3	F	Cl	(Ca/P) (en mole)
[23]	26.7	12.5	0.73	0.44	0.06	Sr = 0.04	3.48	0.07	0.08	1.66
[25]	36.7	16.0	0.77	0.46	—	—	8.00	0.04	—	1.77
[26]	34.0	15.0	0.80	0.50	0.20	—	1.60	0.08	0.2	1.75
[27]	24.5	11.5	0.70	0.55	0.03	traces	5.80	0.02	0.10	1.65

5.c- Mécanisme de remodelage osseux

L'os cortical ou spongieux peut être renouvelé d'une façon continue pour combler la perte de substance osseuse ou pour contrôler le taux de calcium relargué dans l'organisme par échange métabolique. Le remodelage osseux s'effectue par un processus cyclique lié à la résorption du tissu osseux, puis sa reformation, où l'équilibre entre destruction et formation est maintenue par les ostéoclastes et les ostéoblastes. D'autres facteurs influent sur le remodelage osseux comme les facteurs locaux du microenvironnement (cytokines), les facteurs de croissance, et des hormones [9,30].

L'os se renouvelle en cinq étapes [31-33]:

- Phase de quiescence: au cours de cette phase l'os est en repos, sa surface est recouverte de cellules allongées et très fines « cellules bordantes » (fig.I-4(a)).
- Phase d'activation: c'est la phase où les cellules mononuclées coupent les cellules bordantes et se regroupent sur la surface minéralisée de tissu (fig.I-4(b)).
- Phase de résorption du tissu osseux (1 à 2 semaines): les ostéoclastes se repartissent le long du tissu osseux en résorbant un petit volume de l'os et formant une cavité de dimensions bien déterminées. Ensuite, les ostéoclastes sont remplacés par des cellules mononuclées d'origine macrophagique et/ ou précurseurs d'ostéoblastes (fig.I-4(c)).
- Phase intermédiaire: les cellules mononuclées aplanissent la surface de la cavité et engendrent la formation d'un nouveau tissu jeune minéralisé (fig.I-4(e)).
- Phase de production du tissu osseux (3 mois): le processus se poursuit jusqu'à que la lacune soit comblé par l'os jeune et les ostéoblastes synthétisent les fibres collagène et les protéines nécessaires à la minéralisation. L'os retourne à l'état inactif jusqu'au cycle suivant (fig.I-4(F)).

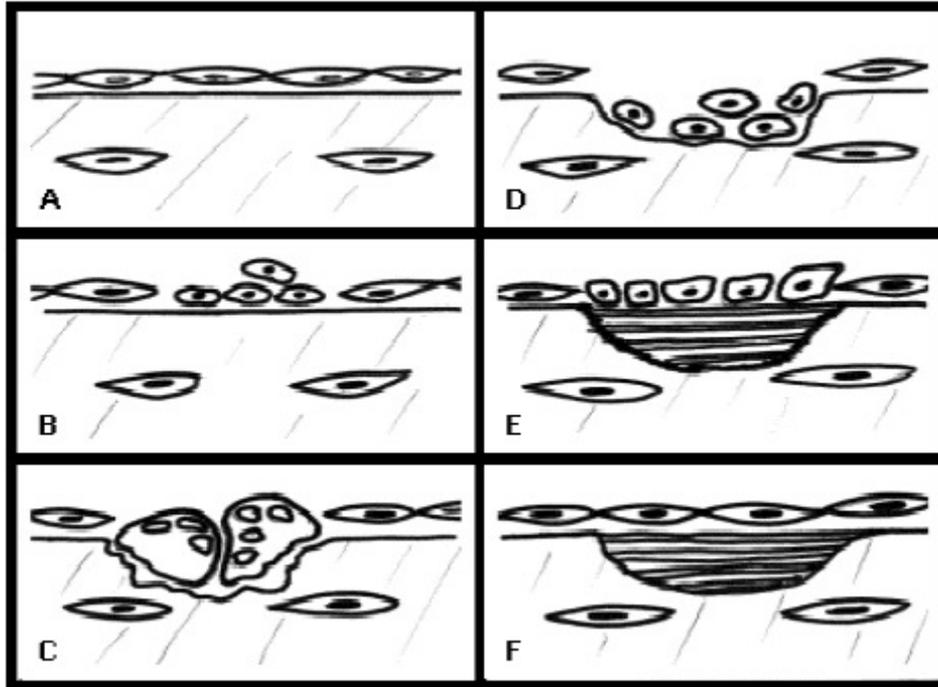


Figure I-4:Les différentes étapes de remodelage osseux [31].

Parmi les biomatériaux les plus utilisés en médecine, on trouve l'hydroxyapatite (HA) et les bioverres qui seront étudiés dans ce travail en deux parties. Le choix de l'hydroxyapatite est basé sur la similarité de sa composition chimique à l'os, alors que l'étude de bioverres est à cause de leur bioactivité supérieur à celle de l'HA.

CHAPITRE II: HYDROXYAPATITE ET VERRES BIOACTIFS

Partie 1: HYDROXYAPATITE

1- Introduction

Depuis des décennies, des études se sont initiées pour la synthèse et l'analyse de l'HA [35-37]. Des phosphates de calcium ont été très utilisés dans les domaines orthopédiques et dentaires à cause de leurs capacités à se lier au tissu vivant. Ils sont soit biodégradables ou bioactifs selon leur structure chimique: stœchiométrie, cristallinité et morphologie de surface. Ils ont des caractéristiques semblables à celles de tissu osseux naturel [3]. La première implantation, en site osseux chez les lapins, de phosphate de calcium a conduit à un remaniement osseux rapide en chirurgie [34].

2- Structure et formule chimique

L'hydroxyapatite est de la famille des apatites de formule chimique $(Me)_{10}(XO_4)_6Y_2$, où Me représente un cation bivalent (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , ...) distribué dans deux sites cristallographiques, XO_4 et Y sont respectivement des anions trivalent (PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , ...) et monovalent (OH^- , F^- , Cl^- , Br^- , ...) [38, 39]. Une particularité de cette structure réside dans sa capacité de former des solutions solides et à accepter un grand nombre d'éléments substituants. Les cations bivalents peuvent être remplacés par des cations monovalents (Na^+ , K^+ , ...) ou trivalents (La^{3+} , Eu^{3+} , Ga^{3+} , ...). Les groupements $(XO_4^{3-})_3$ peuvent être substitué par des anions bivalents (CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} ...) ou tétravalents (SiO_4^{4-}). Même, les groupements Y⁻ peuvent être substitués par des ions bivalents (CO_3^{2-} , O^{2-} , S^{2-} , ...) et/ ou par des lacunes. Les mécanismes de compensation de charges mis en jeu lorsque des ions de valence différente coexistent sur le même site, impliquent des modifications structurales et la création de lacunes cationiques (sites Me) et/ ou anioniques (sites Y). Aucune apatite possédant des lacunes sur les sites XO_4^{3-} n'a cependant été décrite [39].

L'hydroxyapatite de formule chimique $Ca_{10}(PO_4^3)_6(OH^-)_2$ est un phosphate de calcium dont l'anion monovalent est un «OH⁻». Il est abrégé soit: OHA, Hap ou HA. La dernière abréviation (HA) est retenue dans cette thèse.

En général, l'HA cristallise dans le système hexagonal $P6_3/m$, ses paramètres du maille sont: $a=b= 9.432 \text{ \AA}$ et $c = 6.881 \text{ \AA}$. Sa structure cristallographique consiste en un empilement de groupements phosphate qui forment deux types de tunnels parallèles à l'axe c. Le premier

coïncide avec l'axe ternaire de la structure. Ces tunnels sont occupés par des ions calcium notés Ca(I). Le second type de tunnel, dont l'axe coïncide avec l'axe sénaire hélicoïdal du réseau, est bordé par des atomes d'oxygène et les autres ions calcium, notés Ca(II), et est occupé par les ions OH (fig. II-1) [40, 41]. Plus rarement observée par synthèse thermique, l'HA peut avoir une structure monoclinique $P2_1/b$, dont les paramètres de la maille sont: $a = 9.4214 \text{ \AA}$, $b = 2a$, $c = 6.8814 \text{ \AA}$, $\gamma = 120^\circ$ [42].

HA stœchiométrique est caractérisée par le rapport molaire (Ca/P= 1.67), dont le Ca représente 40.3% et 18.4% P (en masse) [43].

Des études théoriques récentes ont montré que les deux structures (monoclinique et hexagonale) sont énergétiquement acceptées pour HA [44].

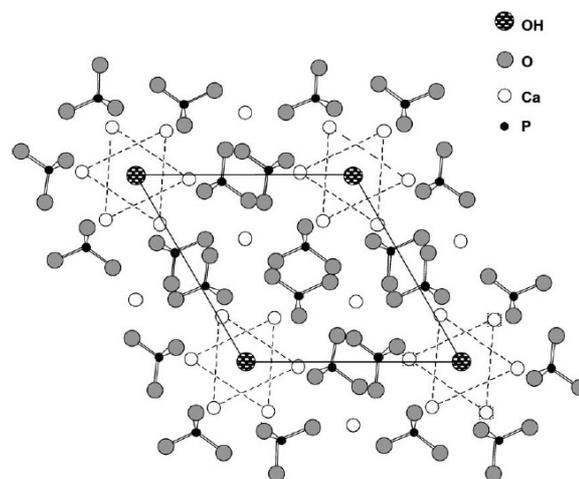


Figure II-1: Projection de la maille de HA sur le plan (001) [40].

3- Les différentes hydroxyapatites

HA peut être d'origine animal ou synthétisée par plusieurs méthodes.

3.a - HA d'origine animale

Le souci de biocompatibilité des implants a orienté les chercheurs vers des matériaux logiquement biocompatibles puisque d'origine naturelle. Ces substituts osseux sont du l'os d'origine animale (généralement bovin) débarrassé de leur moelle osseuse. Selon les différents traitements subits par ces substituts osseux d'origine animale, on peut les classer en fonction de la conservation ou non de la matrice protéinique, en particulier du collagène de type I.

Seuls les produits conservant en partie la matrice protéinique ou le collagène de type I sont considérés comme des substituts osseux d'origine animale. Parmi eux, on trouve les greffes en

général (autogreffes, allogreffes, hétérogreffes), le collagène, d'origine animale (extrait de la peau) ou humaine (extrait du placenta humain) et dont les applications existantes ou envisageables sont très nombreuses [45, 46].

Les autres qui ne conservent pas leur matrice protéinique, sont assimilés à l'hydroxyapatite (HA) [45, 47- 50], ainsi on trouve les répliques de corail en HA, qui pourrait être utilisé en chirurgie orthopédique et/ou maxillo-faciale, grâce à la possibilité de recolonisation de ce matériau par les cellules osseuses [43, 51].

3.b - HA synthétisée

Deux voies sont utilisées pour la synthèse de l'hydroxyapatite: la voie humide et la voie sèche (synthèse à l'état solide). Plusieurs méthodes ont été suivies pour la préparation de l'HA par voie humide, on peut citer:

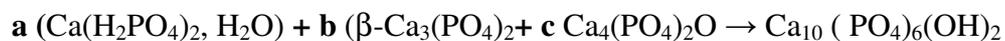
- ◆ Synthèse par voie hydrothermale.
- ◆ Synthèse par voie précipitation.
- ◆ Synthèse par voie sol-gel.

b.1- Voie humide

b.1.1 - Synthèse par voie hydrothermale

Cette voie permet de synthétiser des ciments phosphocalciques grâce à des réactions acido-basiques entre des phosphates de calcium à caractère acide et des phosphates de calcium à caractère basique. Le ciment est constitué par un mélange de trois phosphates de calcium: le phosphate monocalcique ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, H_2O), le phosphate tricalcique ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) et le phosphate tétracalcique ($\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$) [52,53].

Ils réagissent entre eux en présence d'eau selon la réaction suivante:



Les coefficients stoechiométriques a, b et c sont reliés par les relations:

$$b=2-3a \quad \text{et} \quad c=1+2a.$$

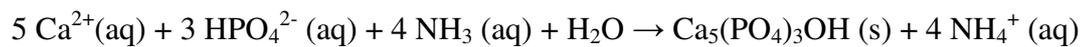
La réaction entre les différents phosphates de calcium s'est produite en milieu hydrothermal (200°C; 1,56 MPa; 48 h); la mise en forme est effectuée préalablement par pastillage des réactifs. Ce procédé permet d'obtenir, à basse température, des céramiques possédant de bonnes propriétés mécaniques, tout en conservant les propriétés remarquables des minéraux de la famille des apatites phosphocalciques.

b.1.2- Synthèse par précipitation

Cette voie de synthèse est souvent utilisée. On ajoute des sels de calcium et un composé de phosphate à l'eau, ou on ajoute, goutte à goutte, le phosphate à une solution aqueuse de sel de calcium. Parmi les sels utilisés, on trouve les nitrates de calcium, l'hydroxyde de calcium, le chlorure de calcium ou l'acétate de calcium. Deux solutions sources de phosphore sont utilisées: hydrogénophosphate de diammonium ou l'acide phosphorique.

Deux réactions ont été étudiées en détail:

➤ La réaction du nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) avec hydrogénophosphate de diammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.



➤ L'ajout d'acide orthophosphorique à l'hydroxyde de calcium [54,55].

La réaction est menée avec des réactifs purs à un pH supérieur à 9, notant que la température du réacteur (entre 25 et 90°C) et le débit d'ajout des réactifs sont bien contrôlés. Le réacteur est sous agitation permanente.

Un rendement de 87% a été obtenu après la réaction de l'acide phosphorique avec l'hydroxyde de calcium, avec une vitesse de 50g / heure. Pour les mêmes conditions de production, on a un rendement de 29% en utilisant les nitrates de calcium et l'hydrogénophosphate de diammonium.

Le rapport molaire (Ca/P) est atteint en moins de 5 heures après l'achèvement de la réaction à 90°C. Pendant la maturation, la forme des cristaux est modifiée et les minces cristaux deviennent des "blocs" avec un ratio molaire (Ca / P) proche de 1,67 [56]. Après maturation, le précipité est lavé plusieurs fois avec l'eau bi-distillée. Une haute pureté de l'eau est indispensable à tout moment, car l'apatite incorpore facilement des éléments étrangers dans la structure. Le précipité est enfin séché et calciné pour éliminer les traces de nitrate d'ammonium.

b.1.3- Synthèse par voie sol-gel

L'avantage de cette méthode c'est qu'elle permet d'avoir un produit très pur à une température basse. En plus, elle permet une forte homogénéisation de la composition. Cette voie a été utilisée par plusieurs chercheurs [57-60]. Seulement pour certains travaux, la synthèse de l'HA a été toujours accompagnée de la formation de l'oxyde de calcium [58, 59]. Pour la synthèse de l'HA, on peut utiliser l'alkoxyde phosphorique et les nitrates de calcium comme précurseurs de P et Ca [57]. Dans un autre travail de recherche, ils ont utilisé l'éthanol comme solvant en milieu alcalin pour obtenir des nanocristaux d'HA stoechiométrique [60]. Ils ont ajouté 0,5 M de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dans l'éthanol de pH 10,5 à 0,5 M $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ avec un débit d'ajout très faible de 5 ml/min. Ils ont maintenu le milieu réactionnel à une température de 85°C avec une forte

agitation pendant 4h. Après avoir laissé le produit refroidir, ils l'ont gardé à l'intérieur du four à 40 ° C pendant la nuit. Le produit est traité pendant 2 h à 400° C ensuite à 750° C, enfin à 1200°C.

b.1.4- Synthèse par précipitation de l'hydroxyapatite carbonatée.

L'apatite carbonatée de type B a été préparée par précipitation continue et rapide en mélangeant une solution aqueuse de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ et $2\text{CO}_3(\text{NH}_4)$ avec une solution aqueuse de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, ajustée au préalable à un pH désiré avec la solution d'ammoniaque. Le précipité obtenu est rapidement filtré pour éviter la cristallisation et séché sous vide.

Les deux solutions sont mélangées dans un récipient de verre à une température définie (0°C à environ 70°C). La température et le pH sont contrôlés en permanence (fig.II-2) [61,62].

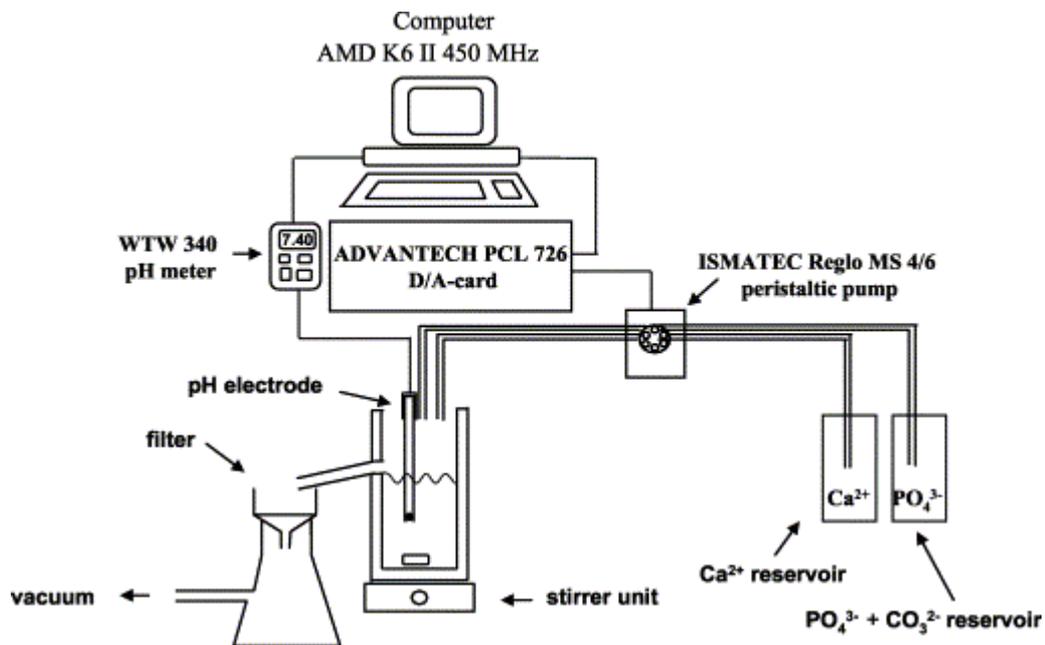


Figure II-2: Schéma réactionnel de la synthèse de l'HA par précipitation continue [62].

b.2- Voie sèche: synthèse par voie solide

Dans la littérature, on trouve peu de travaux qui ont choisi la réaction à l'état solide pour synthétiser l'HA. Cette méthode est relativement simple et elle permet de produire de grandes quantités de matériau ayant la structure et les propriétés désirées [63-65]. Pour les travaux de Young et Thamaraiselvi [63, 64], les échantillons ont été soumis sous une pression isostatique à chaud pour faciliter la réaction à l'état solide. Mais ce processus est cher et complexe en raison

de l'utilisation de pressage à chaud. Par contre dans les travaux de Pramanik [65], ils ont synthétisé l'HA comme suit:

- Mélange des produits inorganiques: CaO (50,52%), P₂O₅ (46,43%), SiO₂ (1,72 %) et des traces (<1%) d'autres additifs (% en masse).
- Compactage des poudres sous pression variable de 46 à 135 MPa pour former des pastilles.
- Frittage des pastilles à des températures différentes (500°C→1250°C).

Les additifs ajoutés sont: l'alumine, l'acide fluorhydrique, la magnésie, l'oxyde de fer et le titane.

Le frittage à haute température conduit à la formation des phases secondaires comme le phosphate tricalcique.

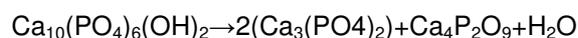
4- Décomposition de HA

Au court de traitement de HA peut se décomposer selon deux modes:

- 1- Décomposition réversible: l'expulsion de l'eau produit l'oxyapatite (Ca₁₀(PO₄)₆O). Aucun effet significatif sur HA, ni altération des propriétés mécaniques.
- 2- Décomposition irréversible qui altère ses propriétés mécaniques [66, 67], sa réactivité chimique [68], sa stabilité dans l'organisme [69].

Pour le premier mode de décomposition, l'eau se libère graduellement de HA, ce qui conduit à la diminution du volume du groupe « OH » en formant Ca₁₀(PO₄)O_x(OH)_{2(1-x)}.

Pour le deuxième mode de décomposition, HA se décompose au phosphate tricalcique (TCP: Ca₃(PO₄)₂) et phosphate tétracalcique (TetCP: Ca₄(PO₄)₂O) en libérant l'eau [70-72].



5- Processus de formation de « bone like-apatite »

La formation de l'apatite carbonatée à la surface de HA dépend de plusieurs facteurs tels que: la densité, la surface spécifique, la composition et la structure [73]. Les études ont montrées que HA frittée s'intègre avec le tissu en formant ce qui est appelé « bone like-apatite » à sa surface surtout dans les défauts [74, 75]. En plus, des études ont montré que l'augmentation de la température de frittage diminue la capacité de formation de « bone like-apatite » [76].

D'après Kim [73], trois changements structuraux se manifestent à la surface de HA immergée dans le liquide physiologique simulé (simulated body fluid: SBF):

- Le premier changement: la formation d'une couche phosphocalcique (ACP) riche en calcium (amorphe ou nano cristallisé). Cette couche formée est le résultat de l'interaction de la surface de l'HA avec les ions du calcium dans le SBF.
- Le deuxième changement: la formation du phosphocalcique pauvre en Ca, les ACP riches en calcium interagissent avec les ions de phosphate du SBF.
- Le troisième changement: la cristallisation progressive de l'ACP pauvre en calcium en « bone like-apatite »; ce qui conduit à la stabilisation de la surface de HA dans le SBF.

Après immersion dans le SBF, HA révèle une surface chargée négativement en exposant ses groupes hydroxyles et phosphates. Cette charge négative va interagir avec les ions du Ca^{2+} , ce qui explique la formation d'ACP riche en calcium. L'accumulation des ions positifs de Ca^{2+} rend la surface de HA positive et qui va attirer les ions négatifs du phosphate existant dans le SBF pour former l'ACP pauvre en calcium (fig. III-3).

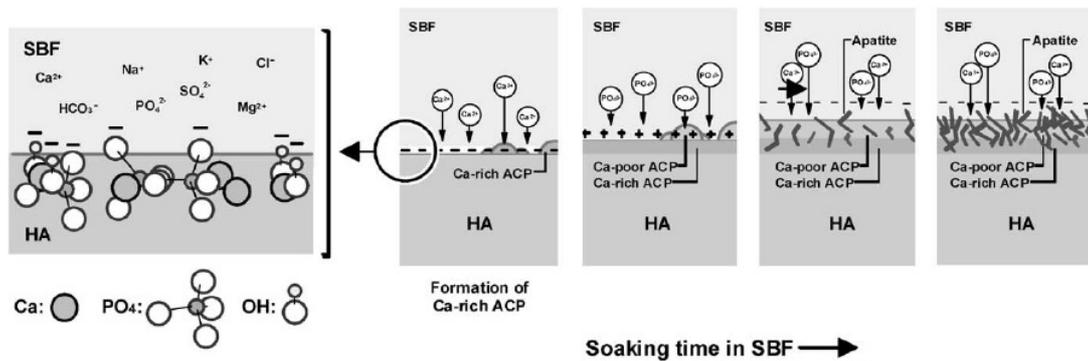


Figure III-3: Processus de formation de bonelike-apatite dans SBF [73].

L'apatite croît spontanément en consommant le calcium du SBF et incorporant d'autres ions tels que les ions de sodium, le magnésium et le carbonate, et donc en développant la phase minérale proche de celle de l'os « bone like-apatite » [73].

D'autres expliquent la formation de « bone like-apatite » par le processus « dissolution - précipitation » [77, 78]. En immergant HA dans le SBF, la concentration en ions issus des éléments Ca et P augmente dans le SBF à cause de l'échange ionique qui se produit entre les ions Ca^{2+} de HA et les ions H^+ dans le SBF. Après que la dissolution ait atteint une valeur maximale, la concentration en éléments Ca et P diminue avec le temps d'immersion dans le SBF. Cette diminution est due à la précipitation de « bone like-apatite ». Les premiers cristaux de l'apatite se forment dans les défauts comme les pores et les microfissures. La dissolution de la surface de HA la rend rigoureuse ce qui favorise l'ancrage des cristaux formés de « bone like-apatite ».

Le microenvironnement où la précipitation de l'apatite a lieu est sûrement où la concentration en éléments Ca et P est élevée [78].

6- Facteurs influençant la bioactivité de HA

Plusieurs facteurs qui peuvent influencer la bioactivité de HA, ainsi que la formation de « bone like-apatite » tels que:

- Le rapport phosphocalcique (Ca /P) [79]: plus le rapport (Ca/P) est loin de la valeur de HA stœchiométrique (soit on a l'HA déficiente ou l'HA plus d'autres phases secondaires comme le phosphate tricalcique ou tétracalcique), plus le produit est bioactif [79-81].
- Les éléments traces (les carbonates, Na, Mg, Sr, Zn, Si, F, Cl...etc) [9,82-85]. Il existe des éléments qui renforcent la stabilité thermique de HA comme le F et le Cl, ce qui conduit à la diminution de la vitesse de dissolution de HA et alors au ralentissement du processus de précipitation du « bone like-apatite » [85 ,86]. Alors que d'autres éléments (Mg, Na, Si...) favorisent et accélèrent la précipitation de l'apatite carbonatée [9,83].
- La morphologie, la texture de l'échantillon et la procédure de calcination, des études ont confirmé que l'induction osseuse est plus active dans le cas d'utilisation de la céramique poreuse [86].

Partie 2: VERRES BIOACTIFS

1- Introduction

Au cours de la dernière décennie, les implants bioactifs ont été très utilisés pour le remplacement de tissu osseux. Ils peuvent former un lien interfacial avec le tissu osseux en formant une couche d'HA biologiquement active et qui à des propriétés mécaniques identiques ou supérieures à celles du l'os [8,87,88].

Une relation décrit le degré de la bioactivité (I_B) d'un matériau en le reliant au temps ($t_{0.5}$) nécessaire pour que 50% de la surface d'un implant soit attachée à l'os [89]:

$$I_B = [100/t_{0.5}] \text{ (jours}^{-1}\text{)}$$

Les matériaux qui ont un I_B supérieur à 8 peuvent se lier au tissu mou comme au tissu osseux, par exemple les bioverres de Hench (45S5). Par contre, les matériaux qui ont un $0 < I_B < 8$ peuvent seulement se lier au tissu osseux, comme les phosphates de calcium (fig. II-4).

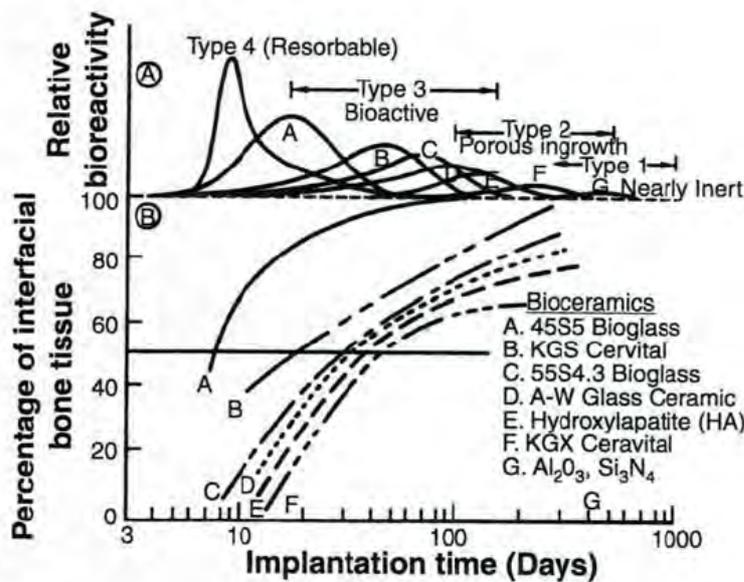


Fig.II-4: Bioactivité de différentes biocéramiques [89].

a: vitesse relative de la bioactivité, b: temps de formation du lien entre l'os et l'implant.

Les verres bioactifs développent à leur surface, après une dissolution superficielle, une couche HA carbonatée similaire à la phase minérale de l'os [90]. Plus le verre est soluble, plus la croissance de tissu osseux est remarquable [86]. Pour cela, les verres bioactifs ont attiré l'attention pour la réparation des défauts osseux.

2- Définition et description d'un verre

Dans le langage courant, le mot « verre » désigne un matériau fragile et transparent, qui est très connu depuis l'antiquité. Par contre, dans le langage scientifique il est difficile de le définir avec précision [91].

D'après Zarzycki, pour définir un verre on a le choix entre:

- une définition opérationnelle: le verre est un solide obtenu par figeage de liquide surfondu qui n'a pas été cristallisé. Cette définition restreint le terme « verre » aux seuls produits obtenus par trempe d'un liquide. Notant que le figeage d'un liquide n'est pas le seul moyen pour l'obtention d'un solide non cristallin.
- une définition structurale: le verre est un solide non cristallin. Cette définition englobe tous les verres synthétisés par différentes méthodes.

On remarque qu'aucune définition n'est pleinement satisfaisante. La définition structurale est trop générale, tout solide non cristallin n'est pas nécessairement un verre. Pour cela, une définition plus précise a été donnée au verre:

« Le verre est un solide non-cristallin présentant le phénomène de transition vitreuse »

Cette définition n'impose aucune restriction à la manière dont est obtenu le matériau vitreux.

Les verres possèdent donc une structure désordonnée dépourvue d'ordre à longue distance, on n'a pas une répartition sur des distances notables d'un même motif (maille élémentaire caractéristique du cristal). Mais ce désordre à longue distance n'interdit pas l'existence d'un ordre à courte distance, qui traduit par l'arrangement mutuel des voisins atomiques proches d'un atome donné.

La différence entre le verre et le liquide que dans ce dernier les atomes ou les molécules peuvent subir librement des déplacements relatifs importants. Par contre, dans le verre ces déplacements sont restreints aux mouvements de vibration thermique autour de positions moyennes fixes [91].

3- Vitrification

3.a- Températures caractéristiques des verres

Si on prend la variation d'une grandeur thermodynamique comme le volume occupé par la phase ou l'enthalpie (H) avec la température, l'état le plus stable pour une température inférieure à la température de fusion (T_f) d'un point thermodynamique est l'état cristallisé. À T_f , on observe alors une variation de H ainsi qu'un changement de pente de H (fig.II-5).

Mais si le refroidissement est rapide, la cristallisation n'a pas le temps de se produire et on a un liquide surfondu; aucune discontinuité de H n'est observée à T_f . En poursuivant le refroidissement, la viscosité du liquide augmente de façon exponentielle et le liquide surfondu devient quasiment solide. Lorsqu'elle atteint 10^{13} poises, la rigidité empêche les mouvements

microscopiques locaux et on observe un changement de pente de l'enthalpie (la pente devient la même que pour celle du composé cristallisé). La température à laquelle se produit ce changement s'appelle température de transition vitreuse, T_g [91].

Le passage continu de l'état liquide à l'état vitreux se fait dans une plage de température délimitée par la température de fusion (T_f) et la température de transition vitreuse (T_g) et appelée zone de transition vitreuse.

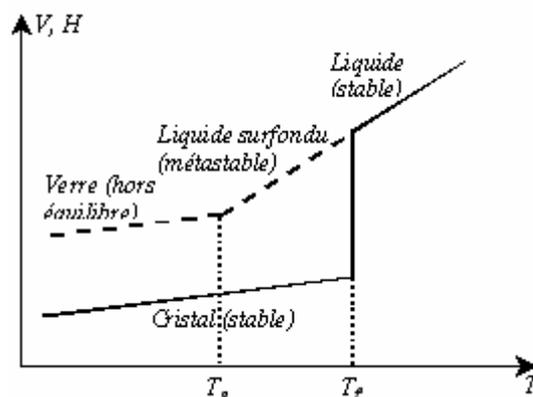


Fig II-5: Variations thermiques du volume spécifique V et de l'enthalpie H lors du passage de l'état liquide à l'état solide (vitreux ou cristallin) [91].

3.b- Critères de vitrification

Goldschmidt a mis comme critère pour la vitrification que le rapport r_A/r_O des rayons ioniques du cation A et de l'oxygène doit être compris entre 0.2 et 0.4. L'intervalle proposé implique seulement une coordination tétraédrique [92].

Ce critère est insuffisant, Zachariasian a repris le problème. Il a montré qu'un oxyde formant un verre devrait satisfaire à l'ensemble de règles suivantes [93]:

- 1- Le nombre d'oxygènes entourant l'atome A doit être 3 ou 4.
- 2- Aucun oxygène ne doit être lié à plus de deux cations A.
- 3- Les polyèdres peuvent avoir des sommets communs mais pas d'arêtes ni de faces communes.
- 4- Au moins trois sommets de chaque polyèdre doivent être partagés avec d'autres polyèdres.

Pour la formation d'un verre d'oxydes plus complexe obtenu en ajoutant aux oxydes (qui satisfont les 4 règles précédentes) plusieurs autres oxydes, alcalins, alcalinoterreux; Zachariasian a modifié légèrement les règles précédentes. Pour qu'un verre d'oxyde puisse se former, il faut:

- que l'échantillon contienne un pourcentage de cations entourés par des tétraèdres ou par des triangles d'oxygène.
- Que ces tétraèdres ou ces triangles n'aient de commun que les sommets.
- Que certains atomes d'oxygène ne soient simplement liés qu'à deux de ces cations et ne forment pas de nouvelles liaisons avec d'autres cations.

Ceci signifie que les verres d'oxydes doivent contenir une proportion limitée de cations susceptibles de former des oxydes vitrifiant tout seuls, d'autres cations pouvant les remplacer de façon isomorphe.

L'usage a consacré le terme d' « oxyde formateur de réseau » pour un oxyde qui fait partie du réseau vitreux et d' « oxyde modificateur de réseau » pour un oxyde qui provoque la rupture d'un certain nombre de liaisons.

4- Différentes voies pour l'obtention d'un verre

Différentes méthodes existent pour synthétiser un verre:

- **Voie fusion:** en partant d'une température située au dessus du point de fusion avec une vitesse de refroidissement suffisamment élevée; le liquide est figé sans cristalliser en formant « un verre » où on dit qu'il a passé à l'état vitreux.
- **Formation à partir d'une phase gazeuse:** La condensation d'une vapeur sur une paroi portée à une température suffisamment basse peut conduire à la formation d'une structure désordonnée, généralement sous forme d'une couche mince. Ce procédé est généralement appliqué aux métaux (Si, Ge) et aux alliages de métaux.
- **Formation à partir d'une phase solide:** Il est possible d'obtenir une structure désordonnée en détruisant l'ordre cristallin par un processus d'amorphisation soit par l'action des radiations ou des actions mécaniques [91].
- **Le procédé « sol-gel »:** consiste à gélifier un sol et de créer progressivement un réseau tridimensionnel d'oxydes par l'hydrolyse suivie de polymérisation ou condensation de précurseurs [94].

On va s'intéresser à deux méthodes: voie fusion et procédé sol-gel pour réaliser la synthèse d'un verre bioactif dans cette étude.

4.a- Voie fusion

Pour certaines substances, la cristallisation pourra ou non se produire suivant la vitesse de refroidissement à partir d'une température située au dessus du point de fusion. Si la vitesse de refroidissement est suffisamment élevée, la cristallisation pourra être totalement évitée. La viscosité du liquide croît progressivement au fur et à mesure que la température baisse. On

appelle dans ce cas le liquide qui s'est figé sans cristalliser « un verre » ou on dit qu'il est passé à l'état vitreux.

Exemples:

- Eléments: seulement qui peuvent se vitrifier le phosphore, le soufre et le sélénium (groupes V et VI)
- Oxydes: SiO_2 , GeO_2 , B_2O_5 , P_2O_5 , As_2O_3 , Sb_2O_3 .
- Chalcogénures: les verres se forment dans les systèmes binaires: As-S, As-Se, P-se, Ge-Se. Des verres plus complexes peuvent être formés en associant des sulfures et séléniures divers ainsi que d'autres éléments tels que Si, Ge, Ga, In, Sn,...etc.
- Halogénures: les seuls halogénures qui forment des verres isolément sont: BeF_2 et ZnCl_2 .
- Certains: sels fondus, solutions aqueuses de sels, composés organiques, polymères organiques, métaux.

Dans le verre de silice, le silicium est au centre d'un tétraèdre d'oxygène. Chaque atome d'oxygène relie deux tétraèdres, ce qui permet d'avoir une structure ouverte (fig.II-5(a)) permettant l'inclusion des cations modificateurs. Cela permet d'avoir une large gamme de verres de silice.

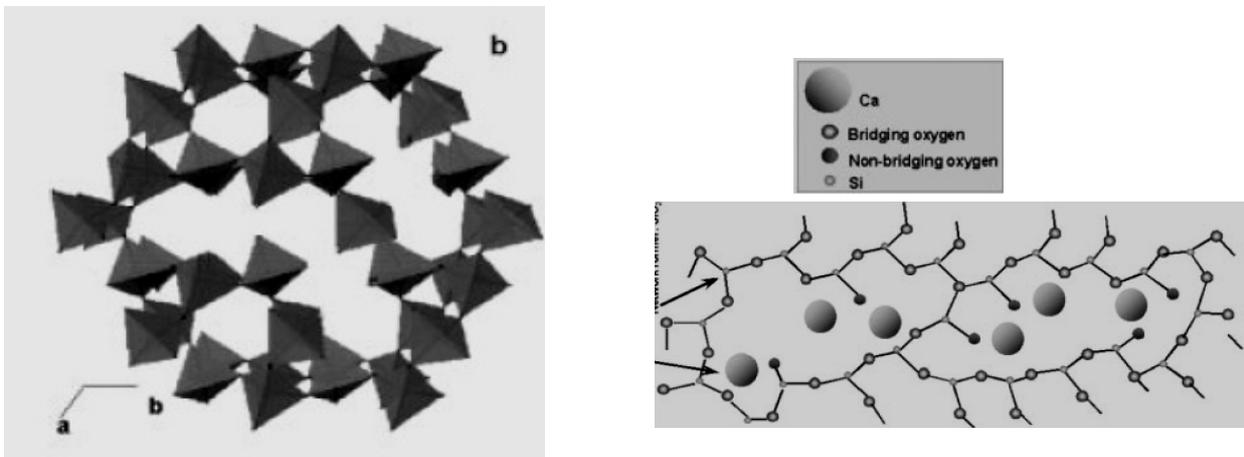


Figure II-5: a: la silice amorphe, b: réseau vitreux du verre de silice en deux dimensions [95].

La présence de cations tels que Na, K et Ca (fig.II-5-b) provoque une discontinuité du réseau vitreux grâce à l'interruption de certaines liaisons Si-O-Si. En conséquence, on a certains atomes d'oxygènes non pontants. Cela veut dire que le Si se relie soit au Si à travers un oxygène pontant ou à un atome du modificateur à travers un oxygène non-pontant. L'ajout des modificateurs a pour but de briser un certain nombre de liaisons Si-O-Si pour diminuer la température de fusion.

Cela conduit à la réduction des coûts économiques de production de verre, tout en assurant un degré élevé de désordre [95].

Cette structure désordonnée renforcée par la présence de modificateurs de réseau, donne lieu à la forte réactivité de ces verres dans un environnement aqueux. Cette forte réactivité est le principal avantage de leur application dans la réparation de l'os, qui se résume à la cristallisation d'une phase apatite similaire à la composante inorganique de l'os [74,97 -100].

Le premier verre bioactif a été élaboré par Hench et qui a pris le nom « bioglass® 45S5 », il présente une grande bioactivité et peut s'attacher facilement à l'os et même au tissu mou. Ce verre contient 45 % SiO_2 , 24,5% CaO , 24,5% de Na_2O et 6% P_2O_5 (en masse). Les études *in vitro* et *in vivo* effectués sur ce verre soit à l'état amorphe, partiellement cristallisé et totalement cristallisé ont donné des bons résultats [101-103]

A partir de bioglass® 45S5, Hench a développé une grande série de verres dont le système quaternaire $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ et qui contiennent 6% P_2O_5 (en masse). Ces verres sont classés suivant leur bioactivité (fig. II-6); la plupart de ces verres contiennent moins de 60% mole de SiO_2 , une augmentation légère de ce pourcentage de silice diminue leur bioactivité. La zone centrale (zone A) est caractérisé par un $I_B > 8$, ces verres s'attachent au tissu dur ainsi qu'aux tissus mous, ils contiennent, en mass, de 42 à 52% en SiO_2 . Les verres de la zone B sont des verres inertes; ils sont encapsulés par un tissu fibreux; ces verres contiennent plus de 60% SiO_2 . Les verres de la région C sont résorbables en quelques jours après l'implantation. Par contre dans la région D, on ne peut pas obtenir de verres [104-106].

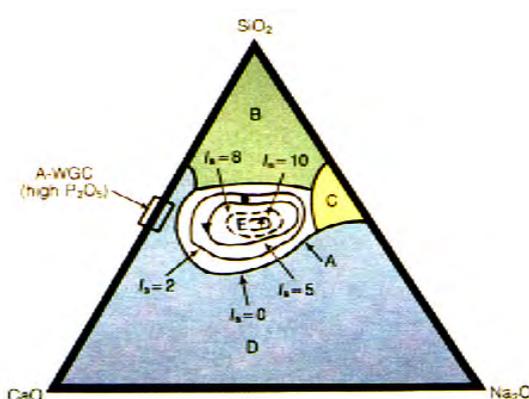


Figure II-6: Diagramme ternaire $\text{SiO}_2\text{-CaO- Na}_2\text{O}$ pour une composition massique de 6 % P_2O_5 [89].

La substitution partielle du CaO par MgO ou CaF_2 , et Na_2O par K_2O , cause peu de changement sur la bioactivité. En revanche, l'ajout de fluor diminue la vitesse de dissolution et modifie la position de la frontière entre les régions A et C. Aussi, B_2O_3 et Al_2O_3 ont été utilisé pour modifier la production de verres et leur taux de dissolution de surface. Le taux d'alumine ajouté doit être soigneusement contrôlé afin d'éviter l'inhibition complète de la bioactivité du verre. Le montant maximal qui peut être utilisé dépend notamment de la composition du verre, mais

dépasse rarement 1,0 ou 1,5% en masse. L'ajout d'autres cations réduit généralement la zone A et peut même éliminer la bioactivité du verre, comme il était prouvé par Gross et Strunz [107, 108], en ajoutant Zr^{4+} , Ta^{5+} , Ti^{4+} et Al^{3+} .

4.b- Méthode sol-gel

Ce procédé dit « sol-gel » permet l'obtention d'un verre par une simple polymérisation de précurseurs moléculaires en solution.

La première synthèse « sol-gel » d'un verre de silice a été décrite par le chimiste français J.J.Ebelmen lors de la séance de l'académie des sciences du 25 Août 1845 « sous l'action d'une atmosphère humide, un éther silicique se transforme progressivement en une masse solide transparente ».

Après un siècle, cette idée a été reprise par l'industrie verrière. En 1939, l'allemand Schott Glaswerk a posé un brevet concernant la réalisation des rétroviseurs par voie sol-gel. Alors que l'intérêt scientifique était plus tardif que le développement scientifique, un groupe de scientifiques (V. Gottardi, H. Sholze et J. Zarzycki,...) a organisé le premier congrès international « glass and glass ceramics from gels » en 1981 à Padoue. Les procédés sol-gel sont étendus aux domaines de céramiques, des hybrides organo- minéraux et même depuis peu aux biomatériaux [94, 109].

Le procédé « sol-gel » consiste à gélifier un sol et de créer progressivement un réseau tridimensionnel d'oxydes par l'hydrolyse suivi de polymérisation ou condensation de précurseurs. Le sol est défini comme une suspension stable, au sein d'un liquide, des particules de faible taille. Le gel formé à basse température sera densifié par recuit thermique pour donner un produit inorganique sous forme de gel sec, de verre ou de poly- cristal [110, 111].

Les réactions de l'hydrolyse et la polycondensation des composés organométalliques ($Si(OR)_4$) est plus adapté pour obtenir un verre pur, en raison de degré élevé de la pureté des composés organométalliques [112].

4.b.1- Elaboration d'un gel

Il existe deux méthodes pour la préparation de gel qui peuvent être utilisée pour la fabrication des verres [112]:

- La première méthode est basée sur la déstabilisation d'un sol colloïdal [113]. La préparation de sols stables s'effectue dans un milieu liquide en utilisant des particules colloïdales. La déstabilisation se produit par une modification du pH ou une augmentation de température qui favorise la collision entre les particules colloïdales.

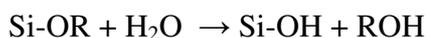
- La deuxième méthode consiste à réaliser l'hydrolyse et la polycondensation des composés organométalliques ($\text{Si}(\text{OR})_4$) dissout dans l'alcool au présence d'une quantité limitée d'eau.

Pour la deuxième méthode, plusieurs précurseurs de phosphore ont été utilisés pour synthétiser des verres à base de silice par la voie sol-gel. Woignier a synthétisé des aérogels de phosphosilicate (P_2O_5 variant de 5 à 50% mol) avec le précurseur phosphate de méthyle ($\text{H}_2\text{PO}_4\text{CH}_3$) [114]. Alors que Vallet-Regi a synthétisé le verre (système ternaire ou quaternaire) en utilisant le précurseur triéthyl phosphate (TEP: $\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$) [95]. Clayden a utilisé le Phosphoryle chlorure (POCl_3) comme un précurseur pour la synthèse des systèmes de composition molaire 90% SiO_2 -10% P_2O_5 et 70% SiO_2 -30% P_2O_5 [115]. Il ya quelques années, d'autres verres de phosphate: P_2O_5 (40-50 mol%)- CaO (20-45 mol%)- Na_2O (5-35 mol%) et SiO_2 (0-25 mol%) ont été synthétisés par le procédé sol-gel en utilisant un alkyle de phosphate $\text{PO}(\text{OR})_x(\text{OH})_{3-x}$ ($x = 1, 2$) comme précurseur moléculaire [116].

L'ajout du CaO et/ou MgO s'effectue par l'ajout du nitrate de calcium ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) et/ou nitrate de magnésium ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) dans une solution aqueuse (eau+acide) (voie inorganique) [95], ou par l'ajout du méthoxyethoxide de calcium ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Ca}$) pour synthétiser un verre ternaire et méthoxyde de calcium ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{O})_2$) et méthoxyde de sodium ($\text{Na}(\text{CH}_3\text{O})$) pour la synthèse d'un verre quaternaire SiO_2 - P_2O_5 - CaO - Na_2O [117] (voie métal-organique). La synthèse de verres quaternaires contenant Na_2O par voie métal-organique est la seule synthèse qui ait été réalisée jusqu'à ce moment pour ce type de système.

On peut décrire les réactions de l'hydrolyse et la polymérisation comme suit [94, 114]:

- l'hydrolyse conduit à la formation des fonctions réactives Si-OH en ajoutant $\text{Si}(\text{OR})_4$ dans une quantité limitée de l'eau. Il (fig.II-7).



R est un groupement alkyle (exemples: R= méthyl: CH_3 ou éthyl: C_2H_5).

L'hydrolyse peut être catalysée par l'ajout d'acide ou de base. On parle alors d'hydrolyse acide ou basique.

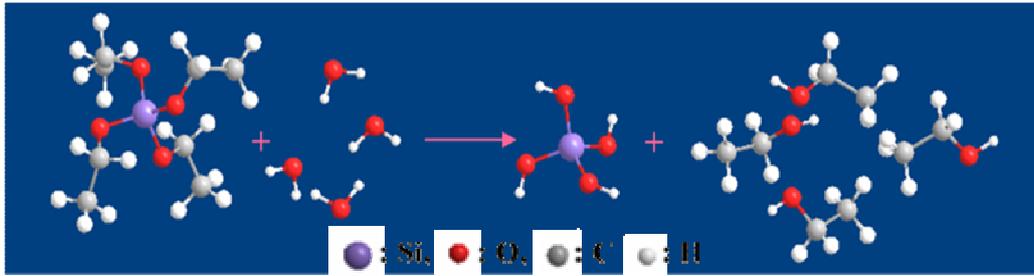
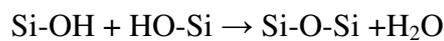


Figure II-7: Schéma réactionnel de l'hydrolyse de $\text{Si}(\text{OR})_4$ [*].

- condensation selon deux mécanismes possibles:

- condensation à partir de deux Si-OH (fig.II-8).



- condensation à partir d'un Si-OH et un Si-OR.

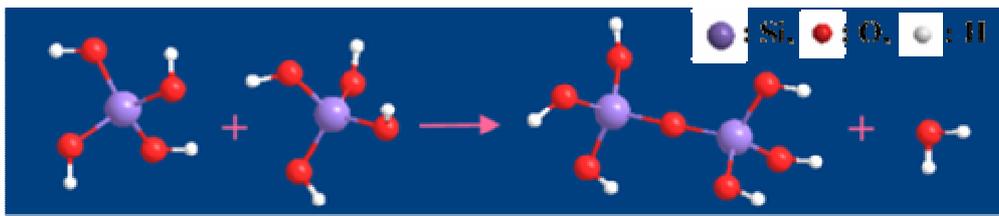
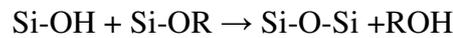


Figure II-8: Schéma réactionnel de la condensation de deux groupements silanols [*].

[*]: <http://fr.wikipedia.org>

4.b.2- Effet du pH sur l'hydrolyse et la polymérisation

Plusieurs paramètres peuvent influencer la structure et la morphologie du matériau obtenu [118]:

- la quantité de l'eau ajoutée: l'augmentation ou la diminution de la concentration de l'eau affecte l'avancement de la réaction d'hydrolyse suivant un sens ou l'autre.
- la nature du catalyseur: l'hydrolyse en milieu basique donne un gel formé d'un ensemble de particules sphériques, alors que celui préparé en milieu acide a une structure fibreuse.
- la température de la réaction: l'augmentation de la température accélère les réactions d'hydrolyse et de condensation.

Deux paramètres influent majoritairement sur la formation du gel: le pH et le rapport $[\text{H}_2\text{O}]/[\text{Si}]$ [114, 119]:

- En milieu acide ($0 < \text{pH} < 7$), l'hydrolyse est rapide par rapport à la condensation ce qui conduit à formation d'une solution polymérique. La libération des monomères conduit à

une formation rapide de petites particules qui s'agrègent pour former des amas polymériques et la viscosité du milieu devient importante et le liquide finit par se figer.

- En milieu neutre ou modérément basique, la condensation est plus rapide que l'hydrolyse, alors le polymère est alimenté progressivement en monomères. Ce mécanisme conduit à la formation de particules denses de taille jusqu'à plusieurs centaines de nanomètres. Puisque ces particules sont chargées négativement, les répulsions électrostatiques empêchent une nouvelle agrégation entre les particules. Pour couper ces interactions coulombiennes, on ajoute des sels ioniques ou on bascule le pH (vers un pH acide).

- Pour un milieu très basique ($\text{pH} > 11$), la dépolymérisation (rupture des ponts siloxanes) l'emporte et dans ce cas la silice est transformée en silicate soluble.

4.b.3- Séchage du gel

Après la gélification, le gel contient deux phases: le réseau solide et le liquide (l'alcool + l'eau). Au cours de séchage classique (évaporation de liquide), des forces capillaires effondrent la structure du squelette de gel, donnant lieu à un verre dur (xérogel) avec un retrait très important. En outre, le séchage induit la formation de fissures et de cassures au niveau du matériau formé.

Pour ralentir le séchage, plusieurs méthodes sont utilisées impliquant un compromis favorable entre les forces capillaires et la résistance mécanique de réseau de gel: le durcissement du gel, réduction de la tension superficielle, l'élargissement de pores [114].

L'objectif du séchage hypercritique est d'éliminer les forces capillaires produites entre la surface (vapeur+ liquide) et la partie solide de gel. Cela permet l'expulsion du solvant sans dégradation de la structure de la phase solide. Ce type de séchage conduit par conséquent à des matériaux très poreux appelés « aérogels » [114]. Ce mode de séchage a été initialement développé par Kistler [120].

Le séchage et la densification de gels de silice à quelques centaines de degrés, conduit à un verre dont les caractéristiques sont tout à fait semblables à celles d'un verre classique [94].

La figure II-9 résume les deux voies de synthèse d'un verre: fusion et sol-gel [95].

4.b.4- Avantages du procédé sol-gel

La préparation de verres par voie sol-gel présente des avantages par rapport à la voie traditionnelle (fusion) qui nécessite des températures élevées de l'ordre de 1400°C . Ces avantages sont [11,111]:

- faible coût énergétique, les gels peuvent être vitrifiés et frittés à plus basse température,

- mise en œuvre simplifiée, la viscosité des sols et des gels permet d'élaborer directement les matériaux sous les formes les plus variées: couches minces, fibres, poudres fines et matériaux massifs,
- des matériaux sur mesure, le contrôle des réactions de condensation permet d'orienter la polymérisation et d'optimiser les caractéristiques du matériau en fonction de l'application envisagée,
- une grande pureté et meilleure homogénéité du matériau.

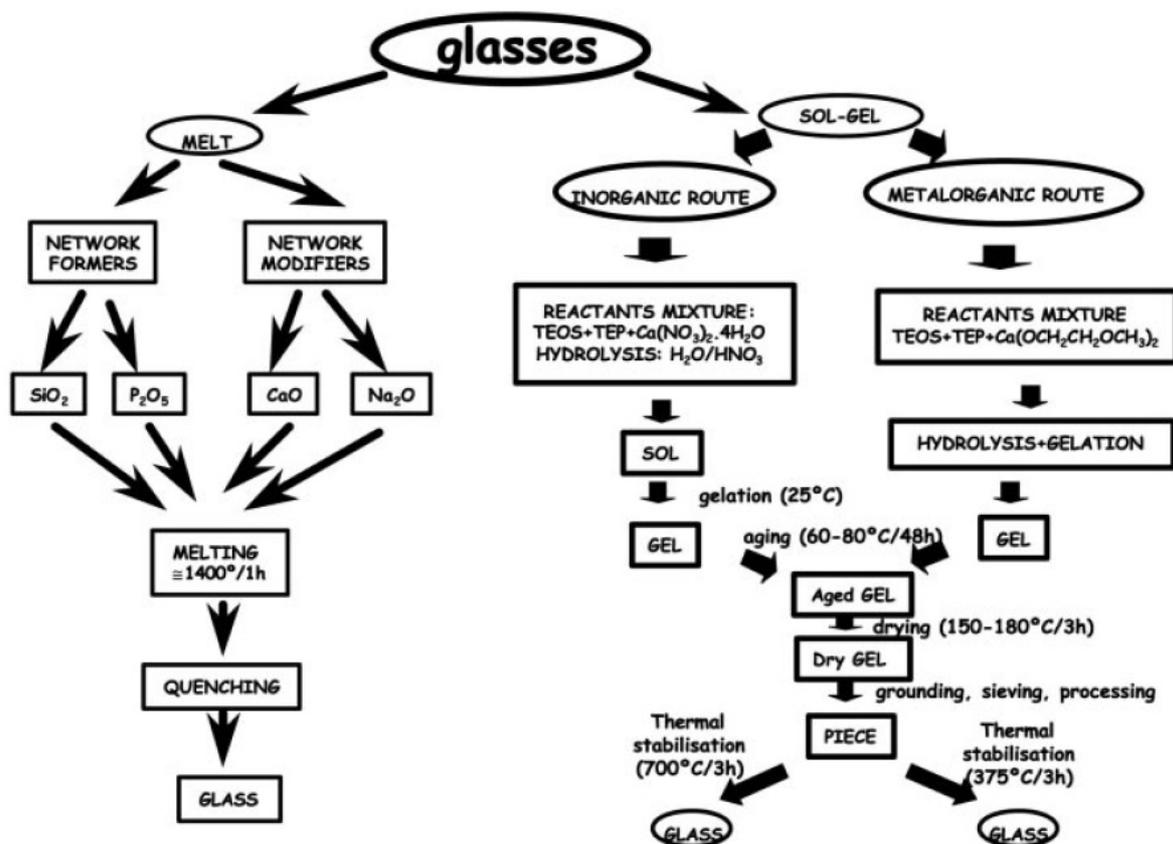


Figure II- 9: Diagramme des principales étapes pour la synthèse des verres bioactifs par fusion et sol-gel [95].

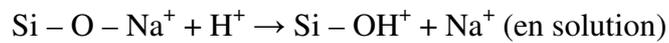
5- Bioactivité du verre

5.a- Bioactivité dans un milieu physiologique

Les verres bioactifs sont les verres qui peuvent former à leur surface, dans un milieu physiologique, une couche d'hydroxyapatite carbonatée. Au cours du temps d'immersion, des changements chimiques et structuraux se produisent à la surface du verre [74,121].

La capacité du verre bioactif de s'attacher au tissu osseux est fortement liée à sa réactivité dans le milieu physiologique. Le mécanisme de formation de HA carbonatée à la surface de verre a été étudié pour la première fois par Hench [74]. Les différentes étapes sont:

1- échange ionique rapide entre les protons (H^+ ou H_3O^+) de la solution et les ions modificateurs du réseau vitreux tels que Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , etc.

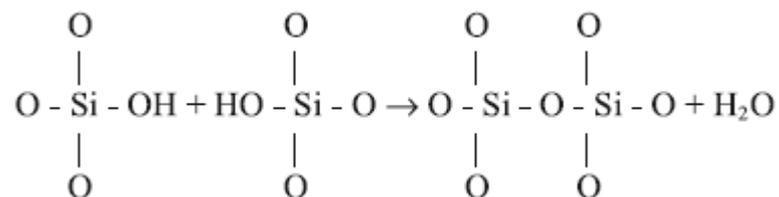


Le pH de la solution augmente en raison du remplacement des H^+ par des cations.

2- La silice soluble passe en solution sous forme de $Si(OH)_4$ suite au rompement des liaisons Si-O-Si et la formation d'autres silanols $Si-OH^+$ à la surface du verre. L'augmentation du pH à l'interface verre/SBF facilite la dissolution du réseau. Des études ont montré que le pH peut augmenter jusqu'à 10.5 [122].



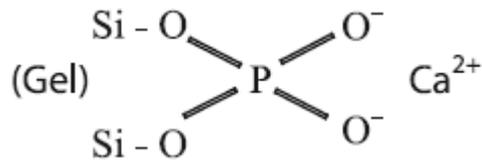
3- La polymérisation d'une couche de SiO_2 à la surface du verre par la condensation des silanols $Si - OH^+$, ce qui conduit à la formation de SiO_2 amorphe.



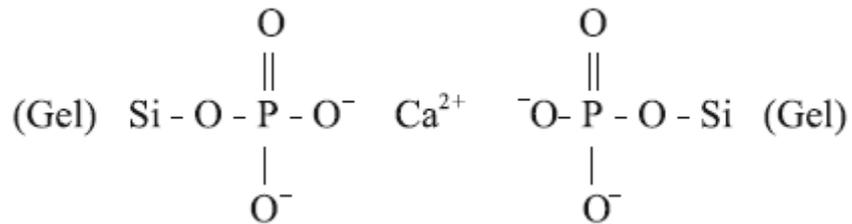
4- La migration des ions de Ca^{2+} et PO_4^{3-} de la solution à la surface riche en silice pour former la couche amorphe riche en $CaO-P_2O_5$, suivie par l'épaississement de cette couche par l'incorporation des ions du Ca^{2+} et PO_4^{3-} présents dans la solution.

5- La cristallisation de la couche amorphe $CaO-P_2O_5$ par l'incorporation des ions OH^- , CO_3^{2-} ou F^- de la solution pour former l'hydroxyapatite carbonatée ou fluorohydroxyapatite carbonatée.

Karlsson a conclu que pour que le verre soit bioactif, il doit former une couche de silice amorphe à sa surface. Le gel de silice fournit un grand nombre de sites favorisant la chélation [123]. En conséquence, la chélation des ions phosphate par le gel de silice donc est le premier stage, les ions de calcium se collent aux ions de phosphate par le processus de compensation de charge comme suit:



Plus tard, Anderson et Karlsson [124] ont modifié l'hypothèse de chélation et ils ont suggéré que un site actif pourrait être constitué de deux ions de phosphate liés à deux atomes séparés de silicium, en se liant par un ion de calcium comme suit:



5.b- Mécanisme d'attachement au tissu vivant

La surface d'un verre implanté subit les cinq étapes décrites ci-dessus. Selon Hench et Andersson [8], les réactions interfaciales se produisent dans l'ordre suivant:

- 1- Adsorption des composantes biologiques sur la couche d'hydroxyapatite carbonatée
- 2- L'action des macrophages pour éliminer les débris du site, ce qui permet aux cellules d'occuper l'espace.
- 3- L'attachement des cellules souches à la surface bioactive.
- 4- La différenciation des cellules souches pour former les cellules responsables de la croissance de l'os, ostéoblastes.
- 5- La production de la matrice.
- 6- La minéralisation de la matrice.

5.c- Facteurs influençant la bioactivité

Plusieurs facteurs influencent la dissolution du verre et par conséquent la précipitation de l'hydroxyapatite carbonatée (HAC) tels que le pH et les concentrations dans la solution d'immersion [125]. Ces deux facteurs varient dans le temps au fur et à mesure que la dissolution progresse et évolue. Si le pH dépasse une valeur critique, il y'a cytotoxicité. Pour le milieu d'immersion, plusieurs solutions sont utilisées:

- solution tampon Tris.
- solution physiologique simulée (SBF) qui à la même composition ionique que le plasma sanguin humain.

- α -MEM et D-MEM qui contiennent les deux composantes inorganiques et organiques (biologiques) du plasma sanguin.

Des études ont montré que [125]:

- L'augmentation du pH et la concentration du Ca^{2+} du SBF induisent la formation du hydroxyapatite carbonatée (HAC).
- La géométrie du matériau altère le rapport entre la surface du matériau et le volume de la solution (SA/V), et par conséquent la vitesse de dissolution. En plus, la surface totale exposée à la solution influence l'échange ionique. Pour des valeurs de (SA/V) élevées, la couche de phosphate de calcium se forme rapidement mais elle est mince, contrairement pour des valeurs (SA/V) petites.
- Pour (SA/V) fixe, la vitesse de formation du HCA est faible sur des petites particules malgré leur dissolution rapide.
- La composition influence la formation de HAC. Pour les verres de fusion, la formation de cette couche est attribuée à la présence du Na_2O et autres alcalins qui conduisent à l'augmentation du pH et par conséquent à la dissolution. Alors que si la concentration de SiO_2 dépasse 60% (mole), le verre de fusion perd sa bioactivité.

CHAPITRE III: MATERIAUX, APPAREILS ET METHODES EXPERIMENTALES D'ANALYSES UTILISEES

1- Introduction

Dans ce travail, deux types de biomatériaux ont été étudiés:

- Hydroxyapatite pure et dopée.
- Verres bioactifs dans le système: SiO_2 - CaO - Na_2O - P_2O_5 .

Le choix de ces deux biomatériaux est basé sur:

➤ Pour l'hydroxyapatite: elle est très connue pour sa forte biocompatibilité, en plus on a voulu réaliser une:

↻ étude pour la compréhension de la bioactivité de HA d'origine animale (N-HA) et la comparant avec une HA synthétisée (S-HA) en variant la température du traitement thermique;

↻ étude de l'effet d'addition d'oxydes inertes (ZrO_2 , TiO_2 et Al_2O_3) sur les propriétés mécaniques et la bioactivité de N-HA;

↻ étude de l'effet de type et le taux de porosité sur la bioactivité de N-HA poreuse.

➤ Pour le verre: les études réalisées ont été motivées par le fait que:

↻ l'étude de l'influence du mode de synthèse sur la bioactivité se faisait entre deux verres de composition chimique différente. Cela nous a incité à synthétiser un verre par les deux méthodes (fusion et sol-gel) en gardant la même composition chimique;

↻ aucune synthèse de verre contenant Na_2O n'a été effectuée par voie inorganique (procédé sol-gel). Une seule synthèse de verres quaternaires SiO_2 - CaO - Na_2O - P_2O_5 a été réalisée en suivant la voie metalorganique en utilisant le tétraethyl orthosilicate (TEOS), TEOS, le phosphate alkyl ($\text{OP}(\text{OR})_x(\text{OH})_{3-x}$, $x=1, 2$), méthoxide de calcium et méthoxide de sodium [116].

2- Matériaux étudiés

2. a- Hydroxyapatite naturelle et synthétique

L'hydroxyapatite étudiée dans ce travail est du l'os d'origine bovine, débarrassé de sa moelle osseuse (noté N-HA). Une hydroxyapatite synthétique (noté S-HA) a été utilisée pour comparer son comportement et ses propriétés physiques à celles de l'hydroxyapatite naturelle; c'est est une hydroxyapatite commerciale (Alfa: Johnson Matthey Compagny). Cette étude sera réalisée avant et après traitement thermique, de même, après expérimentation *in vitro*.

N-HA a été préparée à partir du l'os bovin débarrassé de sa moelle osseuse. Les os ont été brûlés à l'air à l'aide d'un chalumeau puis fracturés à des petits morceaux pour faciliter le départ du CO₂ au cours de la calcination. Les os brûlés ont été calcinés à 800°C pendant une heure avec une vitesse de chauffage de 6°C/min. Le produit calciné était tout à fait blanc car les carbonates ont été éliminés par le traitement thermique (Fig.III-1). Enfin, le produit a été broyé en petites particules moins de 250 µm.

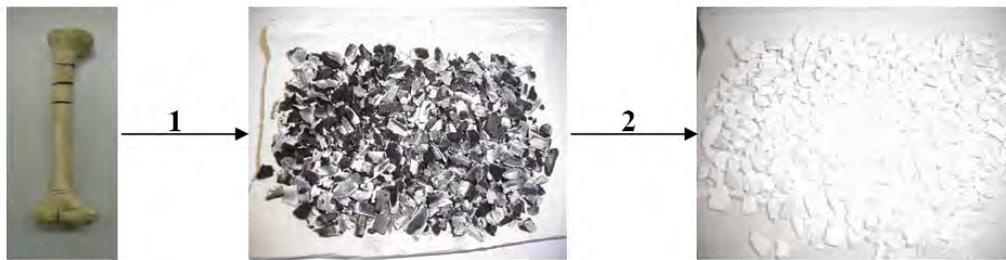


Figure III-1: Différentes étapes de la préparation de N-HA

L'étude de propriétés physico-chimiques de l'hydroxyapatite a été effectuée à la température ambiante ainsi qu'en fonction de: température de frittage (variant de 800°C à 1200°C); type de l'oxyde dopant et taux de porosité. Les conditions expérimentales seront détaillées dans le chapitre 4.

Les études *in vitro* ont été réalisées en immergeant soit les granules ou les pastilles traitées d'hydroxyapatite dans la solution physiologique simulé (SBF).

Les granules ont été obtenues en broyant à main et tamisant les échantillons frittés pour obtenir une granulométrie de l'ordre de 200 - 400 µ m. On a immergé 30 mg de granules dans 60 ml de liquide SBF à 37°C pendant des temps différents (30 min, 3, 6, 9,12 h, 2, 3.5, 7, 15 et 30 j). Alors que pour l'hydroxyapatite poreuse, les tests *in vitro* ont été réalisés, en triplicatas, en immergeant les pastilles traitées à 1225°C dans 60 ml de liquide SBF pendant des temps variés (2, 6, 12 h, 1, 3.5, 7, 15 et 30 j).

Après chaque délai d'immersion dans le liquide SBF; les produits prélevés ont été rincés avec l'éthanol et séchés à l'air.

2.b- Verre 52S4

Le verre quaternaire nommé 52S4, de composition massique 52 % SiO₂, 30 % CaO, 14 % Na₂O et 4% P₂O₅, a été synthétisé par deux méthodes: la voie fusion (noté 52S4F) et le procédé sol-gel (noté 52S4SG).

Les propriétés physico-chimiques de ce verre synthétisé par les deux méthodes seront détaillées dans le chapitre V et VI. Le chapitre V est consacré à l'étude des verres synthétisés par la méthode fusion, tandis que le chapitre VI est consacré à l'étude des verres synthétisés par la méthode sol-gel.

La bioactivité de cette composition est évaluée, *in vitro*, par immersion des verres dans deux solutions physiologiques: SBF (simulated body fluid) et PBS (phosphate buffered solution) en respectant le rapport 0.075 cm^{-1} entre la surface de pastille et le volume du liquide d'immersion. Les produits immergés ont été filtrés, nettoyés avec l'éthanol et séchés à l'air après chaque délai d'immersion qui varie de 30 min jusqu'à 30 jours.

2.b.1- Protocole de la synthèse par voie fusion

La méthode est basée sur la mise en fusion d'un mélange contenant des éléments formateurs de réseau vitreux comme SiO_2 et P_2O_5 associés à des modificateurs de réseau tels que CaO et Na_2O , qui ont la particularité d'abaisser la température de fusion du mélange [91]. Le mélange en fusion est ensuite " trempé " c'est-à-dire que la température du mélange est abaissée brutalement lors de la coulée du verre qui permet sa mise en forme. Un recuit, réalisé à une température voisine de la température de transition du verre, permet alors de relâcher toutes les contraintes mécaniques emmagasinées lors de la coulée.

La synthèse du verre a été effectuée en ajoutant des quantités bien déterminées des produits indiqués dans le tableau III-1.

Tableau III-1: Produits utilisés.

Produit	CaSiO_3	Na_2SiO_3	NaPO_3
Pureté (%)	-	97	97
Fournisseur	Alfa Aesar	Sigma	Sigma

Les produits de départ (tableau III-1) ont été mélangés et homogénéisés pendant 1h en utilisant le mélangeur planétaire. Un traitement thermique du mélange a été effectué à 900°C pendant 1h, dans un creuset de platine, pour éliminer les éventuels de carbonates ou d'autres produits volatiles présents dans les produits. Ce traitement permet d'éviter la formation de bulles dans le liquide au cours de la fusion du mélange. Cette dernière a été effectuée en calcinant le mélange à 1300°C pendant 2h avec une rampe de $20^\circ\text{C}/\text{min}$. Ce mélange fondu a été coulé dans un moule en laiton préchauffé à 500°C . Un recuit au voisinage de la température de transition vitreuse T_g est nécessaire pour relâcher toutes les contraintes mécaniques emmagasinées lors de la coulée du

verre. Enfin, le liquide figé est refroidi jusqu'à la température ambiante avec une vitesse de rampe de 1.5°C/min.

La figure III-2 présente graphiquement les programmes de traitements thermiques subis par le verre.

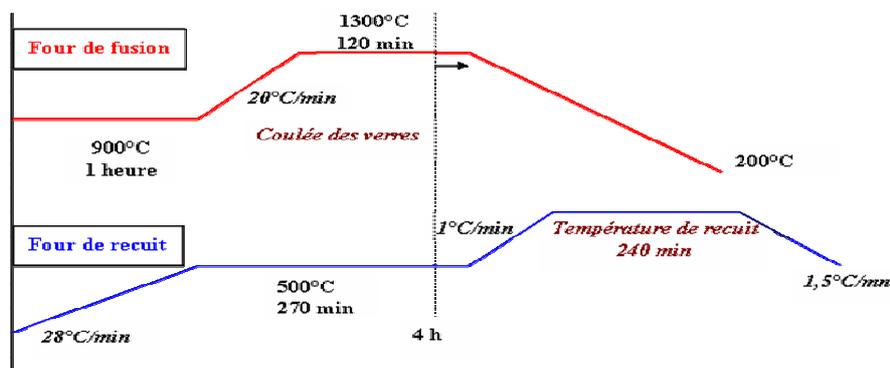


Figure III-2: Programme des traitements thermiques subis par le verre 52S4F.

La température de transition vitreuse T_g est déterminée par l'analyse thermique (DSC) d'un échantillon de verre juste coulé sur une plaque de platine. Le choix de la température du recuit a nécessité plusieurs essais afin d'éviter toute apparition des fissures lors de la coulée du liquide.

Les verres obtenus sont des cylindres de 13 mm de diamètre et 8 mm d'hauteur qui sont découpés en cylindres de 2 mm d'hauteur à l'aide d'une tronçonneuse. Ceux-ci sont ensuite enrobés dans la résine comme il sera décrit ultérieurement.

2.b.2- Protocole de synthèse par le procédé sol-gel

La méthode utilisée pour la synthèse des verres bioactifs par voie sol-gel est une voie inorganique, elle se base sur deux phénomènes: l'hydrolyse et la polycondensation des quantités stœchiométriques des précurseurs: tétraéthyl orthosilicate ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$: TEOS), triéthyl phosphate ($\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$:TEP), carbonate de calcium (CaCO_3) et carbonate de sodium (Na_2CO_3) (tableau III-2).

Pour hydrolyser le TEOS et le TEP, on utilise l'acide acétique (2N) en gardant toujours le rapport $V(\text{acide } (2\text{N})) = 8(V(\text{TEOS}) + V(\text{TEP}))$.

Le tableau III-2 montre les volumes et les masses des produits de départ utilisés pour la synthèse du 52S4SG.

Tableau III-2: Les volumes et les masses utilisés pour la préparation de 0.125 moles de verre 52S4SG.

Produit	V (TEOS)	V (TEP)	m (CaCO ₃)	m (Na ₂ CO ₃)
Volume ou masse	15.0737 ml	0.7277 ml	4.0446 g	1.80818 g
Pureté	>> 98	99.8%	99%	99%
Fournisseur	Fluka	Eastman	Merck	Aldrich

V (acide Acétique (2N))= 126.4056 ml

La synthèse du verre est effectuée dans un grand bécher en téflon en ajoutant les produits précédents à l'acide un après l'autre après chaque heure: on a introduit d'abord l'acide dans le bécher; ensuite on a ajouté le TEOS; après chaque heure, on a ajouté le TEP, le CaCO₃ et le Na₂CO₃ successivement. Le mélange des produits a été effectué sous agitation magnétique.

Après une heure d'ajout du dernier produit, on a arrêté l'agitation et on a fermé le bécher. La polymérisation du gel a été effectuée pendant 6 jours, sous la hotte, à la température ambiante. Pour activer la polymérisation du gel; on a mis le bécher dans l'étuve réglée à 70°C pendant 3 jours. Enfin, on a séché le gel dans l'étuve réglée à 150°C pendant 3 jours.

Après le séchage à 150°C, le gel transparent s'est transformé en produit blanc. Ce dernier est caractérisé par deux aspects différents: un aspect très dense sous forme d'un amas solide au milieu entouré par des fibres très facile à écraser.

Le produit séché est broyé à sec pendant 5 min ensuite homogénéisé pendant une heure à l'aide du mélangeur. Le mélange s'est effectué dans une boîte hermétique.

Les tests de bioactivité *in vitro* sont réalisés par immersion de poudre compactée uniaxialement. Tout d'abord, la poudre broyée a été tamisée pour obtenir une granulométrie entre 40 et 63 µm. Cette poudre (0,5 g) a été compactée en appliquant une pression uniaxiale de 9 tonnes. On a obtenu des pastilles de 13 mm diamètre et de 2,4 mm d'épaisseur. La température de traitement pour la stabilisation thermique du composé après la synthèse, sera choisie en se basant sur les résultats de l'analyse ATG-DSC.

Remarque

Les produits séchés sont maintenus dans une étuve à vide pour éviter qu'ils réagissent avec l'air.

3- Appareils et techniques de caractérisation

Plusieurs appareils ont été utilisés au cours de ce travail pour la préparation des échantillons soit sous forme des pastilles massives soit sous forme de granules. Pour la caractérisation de ces échantillons, plusieurs techniques ont été employées selon le but cherché.

3.a- Appareils utilisés

3.a.1- Broyeur

Deux broyeurs ont été utilisés:

- Un broyeur à billes a permis de broyer la poudre en fines particules dans un milieu aqueux: l'eau distillée. Les billes ont un diamètre de 0.5 cm. On a mis 10 g de poudre dans 100 ml d'eau distillée.
- Un broyeur mécanique: le broyage a été effectué à sec en mettant des petites quantités.

3.a.2- Tamiseur

Les poudres broyées à sec, les poudres obtenues par le procédé sol-gel ainsi que les poudres traitées de l'HA ont été tamisées pour avoir une granulométrie précise selon le but du travail. On a utilisé un tamiseur mécanique et des tamis ayant différents diamètres d'ouverture.

3.a.3- Presse de compactage

Pour réaliser des pastilles à partir des poudres, on a utilisé une presse mécanique et un moule à pastiller qui permet d'obtenir des pastilles de 13 mm de diamètre. On note que le compactage a été effectué sous vide.

3.a.4- Fours et étuves

Plusieurs étuves et fours ont été utilisés dans ce travail:

- Deux étuves: une est réglée à 70°C, l'autre est réglée à 150°C.
- Une étuve sous vide qui nous permet de conserver les poudres de l'humidité.
- Four tubulaire qui nous permet de faire des traitements thermiques à l'air ou sous vide jusqu'à 1000°C.
- Fours programmables pour calcination et recuit jusqu'à 1000°C ou 1400°C.

3.a.5- Incubateur

Les tests de bioactivité *in vitro* ont été effectués par immersion des pastilles (ou des granules) dans un liquide physiologique simulé (SBF: simulated body fluid) ou dans une solution physiologique riche en P (PBS: phosphate buffered solution).

Pour s'approcher des conditions physiologiques; on a placé les flacons (matériau +SBF (ou PBS)) dans un incubateur réglé à 37°C avec une agitation circulaire de 50 tours/min.

Les tests *in vitro* constituent une approche préliminaire du comportement d'un biomatériau en donnant une première évaluation de la bioactivité des matériaux. La capacité des matériaux étudiés de former une couche d'hydroxyapatite lors du contact avec des fluides biologiques synthétiques encouragent les tests *in vivo*.

- Composition chimique et protocole de préparation du SBF-K9

SBF est une solution physiologique qui a une composition ionique très proche de celle du plasma sanguin humain (tableau III-3) [100].

Tableau III-3: Concentration ionique de plasma sanguin et SBF.

Concentrations ioniques (mmol.L ⁻¹)							
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻
Plasma sanguin	142	5	2.5	1.5	103	27	1
SBF	142	5	2.5	1.5	148.8	4.2	1

La solution physiologique SBF a été préparée selon le protocole proposé par Kokubo [100].

Deux solutions séparées ont été préparées; une contient les ions du Ca (Ca-SBF) et l'autre contient seulement les ions du P (P-SBF). Les tableaux III-4 et 5 montrent les concentrations des produits utilisés pour chaque solution.

Tableau III-4: Solution Ca-SBF (fiolle jaugée de 1L)

Produit	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Masse (g)
Tris: C ₄ H ₁₁ NO ₃ (Trishydroxyméthylamine)	121.14	6.057
CaCl ₂	110.98	0.5549
MgCl ₂ .6 H ₂ O	203.3	0.6095

Tableau III-5: Solution P-SBF (fiolle jaugée de 1L)

Produit	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Masse (g)
Tris: C ₄ H ₁₁ NO ₃ (Trishydroxyméthylamine)	121.14	6.057
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	228.20	0.4566
NaHCO ₃	84.01	0.7056
KCl	74.55	0.4473
NaCl	58.4	16.1061

Le pH de deux solutions Ca-SBF et P-SBF a été ajusté à 7.4, avant le mélange, en ajoutant HCl 6N.

Les mêmes étapes ont été suivies pour préparer Ca-SBF et P-SBF séparément:

- 1- Mettre moins de 1 L de l'eau distillée dans le bécher de 2L.
- 2- Mettre l'agitation en marche
- 3- Régler la température à 37°C.
- 4- Ajouter des produits l'un après l'autre (après la stabilisation de la température à 37°C)
- 5- Régler le pH de la solution à 7.4 avec HCl 6N.
- 6- Rincer le pH mètre et le thermomètre avec l'eau distillée dans le bécher de 2L.
- 7- Verser la solution dans une fiole de 1L, en complétant avec l'eau distillée pour avoir 1L.

Remarques

- L'ajout des produits doit se faire l'un après l'autre jusqu'à la dissolution totale de tous les produits.
- Les deux solutions se conservent un mois au réfrigérateur. Après mélange, il faut l'utiliser dans les trois à quatre jours.

- Composition chimique du PBS

PBS est une solution très riche en P, Il s'agit d'un soluté physiologique contenant NaCl, Na_2HPO_4 , KCl et KH_2PO_4 .

Le tableau III-6 indique la concentration molaire des composés existant dans la solution.

Tableau III-6: Composition chimique du PBS.

composé	NaCl	Na_2HPO_4	KCl	KH_2PO_4
Concentration	0,17M	10mM	3,3mM	1,8mM

3.a.6- Tronçonneuse

Les verres synthétisés par voie fusion ont été découpés en petits cylindres de 13 mm de diamètre et 3 mm d'épaisseur. Le découpage a été effectué à l'aide d'une tronçonneuse à outils diamantés (Struers, Secotom - 10); l'épaisseur des scies utilisées est de l'ordre de 0,15 mm.

On a fixé les échantillons sur un support d'aluminium à l'aide de la cire chauffée préalablement à 300°C. Ensuite, on a placé le « support+ verre » dans la tronçonneuse en le bien fixé pour qu'il ne bouge pas au cours de découpage. La vitesse de découpage a été choisie de telle façon de ne pas créer des fissures à l'intérieur du verre. Ainsi le découpage a été effectué avec l'écoulement permanent de l'eau pour éviter le chauffage du verre.

3.a.7- Polisseuse

Avant l'immersion dans le SBF, les cylindres des verres découpés ont été d'abord inclus dans la résine et polis. Le polissage a été effectué à l'aide d'une polisseuse mécanique avec le papier abrasif SiC (320, 800, 1200, 2400) à la présence d'eau. Pour éliminer la couche extérieure formée par la réaction de l'eau avec le verre, un polissage à sec a été exécuté à l'aide du papier 4000. A la fin du polissage, un coup de soufflette a été donné aux échantillons pour enlever les particules du papier abrasif accrochées à la surface du verre.

3.b- Techniques de caractérisation

3.b.1- Poussée d'Archimède

La mesure de la densité apparente des produits (sous forme des pastilles) a été effectuée soit par la méthode directe ou par la poussée d'Archimède.

La méthode directe consiste à mesurer la masse et les dimensions de la pastille (diamètre: d et épaisseur: e); elle est définie comme suit:

$$d = M/V$$

d: la densité en (g/cm^3), M: la masse de l'échantillon en (g) et V: le volume de l'échantillon en (cm^3) avec $V = \pi d^2 e / 4$.

La méthode de la poussée d'Archimède consiste à réaliser la pesée de l'échantillon dans l'air, ensuite dans un liquide de densité connue (l'eau distillée) avec une balance programmable qui nous donne directement la valeur de la densité. Cette méthode n'est pas conseillée en cas d'un échantillon poreux, l'intrusion de l'eau progressive dans les pores de l'échantillon tend à fausser la mesure dans l'eau.

3.b.2- Analyse par la méthode BET

La surface spécifique représente la surface totale par unité de masse d'une poudre ou d'un produit massif. La porosité ouverte est comprise. Le mot BET représente l'initiative du nom de créateurs de la méthode Brunauer, Emmett et Teller.

Le principe physique est basé sur l'adsorption de gaz (azote) à basse température sans modifier la texture géométrique de l'échantillon. Cette méthode permet de déterminer la surface totale des particules de poudre en mesurant le volume de gaz adsorbé:

$$S = [(6.10^{23} \cdot V_m / 22214) S_m] / \text{masse de l'échantillon}$$

V_m : volume de gaz adsorbé, S_m : surface d'une molécule de gaz et S: surface spécifique en m^2/g .

La molécule d'azote est caractérisée par une surface de $16,2 \text{ \AA}^2$ à 77 K.

On procède à un dégazage de l'échantillon sous vide et à température appropriée pour évacuer les molécules d'eau ou de CO_2 qui se sont déposées dans la structure poreuse de l'échantillon (en

prenant soin de respecter les propriétés physiques de l'échantillon). La masse de l'échantillon dégazé est notée afin de l'introduire dans le calcul final de la surface spécifique.

Plus la valeur de la surface spécifique est élevée, plus l'échantillon est réactif.

Les mesures de la surface spécifique des matériaux étudiés ont été effectuées avec un BET mono point, Flowsorb II 2300, Coultronics France SA.

3.b.3- Analyses thermiques (ATG/DSC)

L'analyse thermogravimétrique (ATG) consiste à mesurer la variation de masse d'un échantillon lors d'un cycle thermique. Alors que, l'analyse calorimétrique différentielle (DSC) est basée sur l'étude de l'énergie dégagée ou absorbée par le matériau lors des transformations physiques ou chimiques au cours d'un cycle thermique. Les valeurs obtenues sont issues de l'évolution des paramètres de l'échantillon comparativement à celle d'une référence étalon inerte sous atmosphère contrôlée.

Les analyses thermiques ont été effectuées sous azote dans des creusets en platine avec une vitesse de rampe de 5°C/min à l'aide de l'appareil: Labsys 1600TG-DTA/DSC, Setaram, France. Cette analyse a été effectuée dont le but de déterminer les températures caractéristiques du verre synthétisé.

b.4- Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction de rayons X est une méthode d'analyse physico-chimique, elle permet d'identifier les différentes phases dans la matière cristallisée; elle permet aussi de différencier les structures cristallographiques de même composition chimique dans un produit polyphasique. On l'applique aussi pour révéler l'aspect amorphe des produits non cristallins.

On applique cette analyse soit aux poudres qui doivent être finement broyées ou aux échantillons massifs. Le diffractomètre, à géométrie Bragg-Brentano, consiste en une table de rotation de l'échantillon (angle θ) et du détecteur (angle 2θ) par rapport au faisceau incident de rayons X.

Un faisceau de rayons X, monochromatique et parallèle, arrivant avec un angle d'incidence θ sur une surface d'un poly-cristal est diffracté dans une direction donnée par chacune des familles des plans réticulaires à chaque fois que la condition ou loi de Bragg est réalisée (Fig.III-3):

$$\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta$$

λ : longueur d'onde du faisceau de rayons X.

d_{hkl} : représente la distance entre deux plans réticulaires (hkl).

θ : angle d'incidence des rayons X sur la famille de plan.

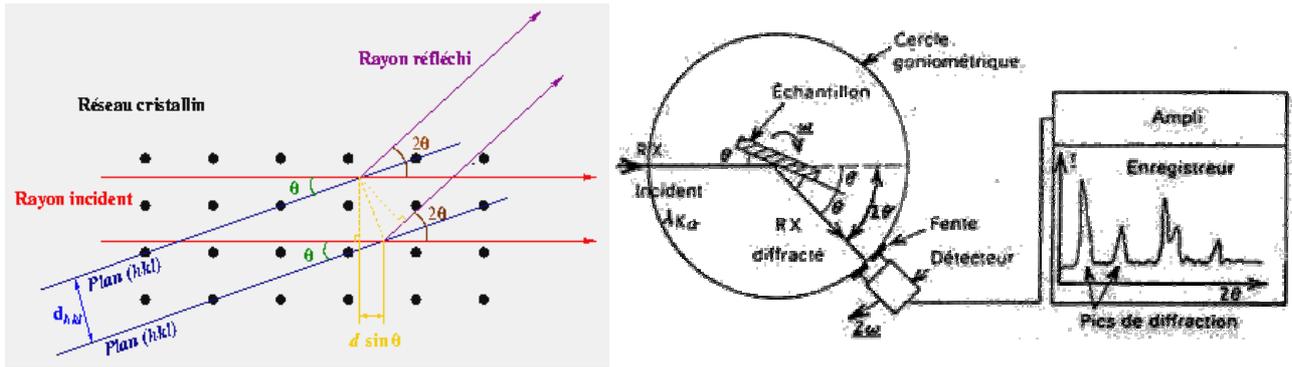


Figure III-3: Schéma d'un diffractomètre à détecteur ponctuel en géométrie Bragg-Brentano.

L'enregistrement réalisé représente l'intensité des rayons X diffractés en fonction des angles de diffraction.

Le canon à rayons X utilisé possède une cathode en cuivre produisant un rayonnement ($K_{\alpha 1} + K_{\alpha 2}$).

Le rayonnement utilisé est monochromatique de longueur d'onde $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$.

Pour l'identification des phases cristallisées dans les matériaux étudiés; trois diffractomètres ont été utilisés:

- Diffractomètre D 800 SIEMENS (20 KV, 10 mA).
- Diffractomètre Philips PW3710 (40 KV, 30 mA).
- Diffractomètre à compteur courbe INEL CPS 120 (40 KV, 25 mA).

3.b.5- Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie d'énergie dispersive (EDS)

Cette technique est basée sur le principe des interactions électrons - matière; elle est capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon.

Si une surface est bombardée par un faisceau d'électrons primaires, plusieurs rayonnements peuvent être émis (Fig.III-4):

- Electrons secondaires: éjection de l'électron de la bande de conduction ce qui conduit à l'ionisation de l'atome. Ces électrons sont caractérisés par une faible énergie. Puisque ces électrons proviennent des couches superficielles, ils permettent d'obtenir des renseignements sur la topographie de l'échantillon.

- Electrons rétrodiffusés: sont des électrons résultant de l'interaction des électrons primaires avec des noyaux d'atomes de l'échantillon. Les électrons sont réémis dans une direction proche de leur direction d'origine avec une faible perte d'énergie. Cette méthode permet de mesurer l'homogénéité chimique d'un échantillon et faire une analyse qualitative. Les atomes les plus lourds réémettront plus d'électrons que les atomes plus légers et donc les zones formées d'atomes avec un nombre atomique élevé apparaîtront plus brillante que d'autres.
- Electrons Auger ou rayons X: si un atome est bombardé par un électron primaire, un électron d'une couche profonde peut être éjecté, et l'atome se trouve dans un état excité. Le retour à l'état d'équilibre s'accompagne par l'émission des photons X ou d'électrons d'Auger. L'électron éjecté se remplace par un électron venant d'une couche supérieure qui perd une certaine quantité de son énergie sous forme de photon X ou la transfère à un électron périphérique qui sera éjecté à son tour. Alors les électrons Auger sont caractéristiques de l'atome, ils permettent de donner des informations sur la composition de l'échantillon et plus particulièrement de la surface de l'échantillon.

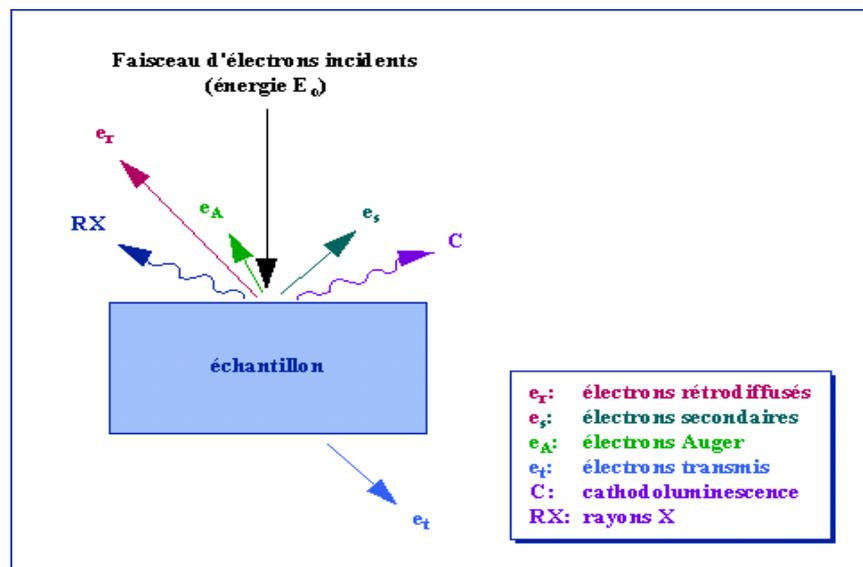


Figure III-4: Différents rayonnements émis par un échantillon bombardé par un faisceau d'électrons.

Avant l'observation les échantillons électriquement isolants sont recouverts d'une fine couche conductrice d'or ou de carbone transparente aux électrons.

On a utilisé deux types de rayonnements résultant des interactions électrons – matière:

- électrons secondaires pour avoir des informations sur la topologie de la surface étudiée en utilisant le MEB: JEOL JSM 6301F.
- photons X, émis avec des énergies différentes, permettant une analyse élémentaire de l'échantillon. L'analyse est effectuée par EDS (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy): JEOL JSM 6400.

3.b.6- Spectroscopie infrarouge (IR)

Le rayonnement infrarouge (IR) est un rayonnement électromagnétique d'une longueur d'onde supérieure à celle de la lumière visible mais plus courte que celle des micro-ondes.

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé.

La fréquence de l'onde électromagnétique qui induit la vibration est donnée par la loi de Hook:

$$\nu \text{ (Hz)} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

K est une constante de force de la liaison, elle est proportionnelle à l'énergie de liaison, et la masse de deux atomes reliés par cette liaison.

Il y'a deux types de vibration (Fig. III-5):

- **élongation**: on l'appelle aussi vibration de valence ou "stretching" (comme un ressort), ce mode concerne les vibrations symétriques et asymétriques (ν_s , ν_{as}) de la molécule le long des liaisons,

- **déformations dans et hors du plan**: En plus de la vibration de valence, l'angle des liaisons peut varier: il y a flexion ou déformation. Ces déformations symétriques et asymétriques (δ_p , δ_{hp}) peuvent avoir lieu dans le plan des deux liaisons concernées ou hors du plan.

Cette technique permet non seulement la caractérisation de groupes moléculaires mais peut aussi donner des informations sur l'arrangement de ces groupes à plus grande distance et de distinguer différentes phases du même composé.

On a utilisé un spectroscope à infrarouge de type (Bruker Equinox 55: 4000-400 cm^{-1}). Les produits à analyser ont été préparés sous forme de pastilles minces en les mélangeant avec 98% masse de KBr sec. Cette technique a été utilisée pour identifier les phases cristallines et amorphes en donnant des informations sur les groupes moléculaires des différentes phases existant dans le produit analysé.

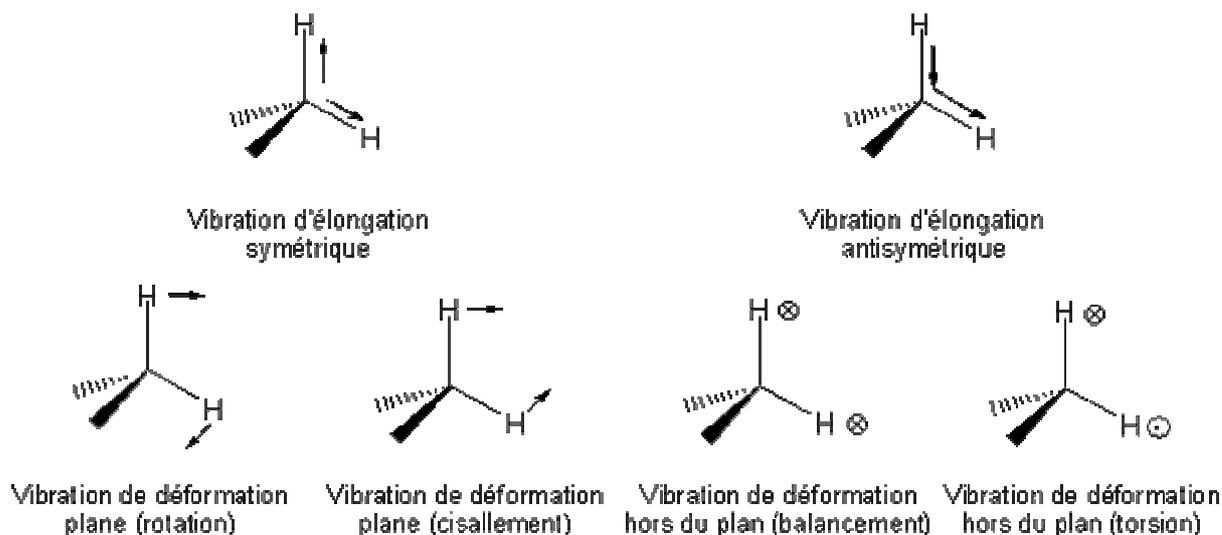


Figure III-5: Différents types de vibrations des molécules.

3.b.7- La Spectrométrie d'émission au plasma (ICP-OES)

Elle est une méthode d'analyse globale qui permet de doser pratiquement tous les éléments de la classification périodique. C'est une méthode destructive, ne nécessitant que peu de matière (quelques mg), elle permet d'analyser un très grand nombre d'éléments aussi bien comme éléments majeurs qu'à l'état de traces (de la dizaine de % à quelques ppm).

Cette technique se base sur la mesure de l'énergie perdue par un atome excité lors du passage de l'un de ses électrons d'un niveau énergétique à un autre. L'énergie est libérée sous forme de rayonnement lumineux de longueur d'onde λ (photon de fréquence ν et d'énergie $h\nu$) comprise entre l'ultra violet lointain et le proche infrarouge. Chaque onde lumineuse est caractéristique de l'atome émetteur. Un détecteur optique est utilisé pour mesurer l'intensité de chaque raie de longueur d'onde après la séparation de différentes longueurs d'ondes émises par un réseau optique (Fig.III-6). L'intensité de la raie est proportionnelle à la concentration de l'élément qui l'a émis.

Pour exciter l'échantillon et dissocier les particules en atomes, on utilise un gaz neutre partiellement ionisé. Le plasma utilisé est un plasma d'argon entretenu au coeur d'une bobine d'induction parcourue par des courants de haute fréquence, ce qui conduit à l'augmentation de la température (10000 K) du plasma. Les échantillons sont injectés sous forme d'aérosol dans le plasma, ils sont dissociés et partiellement ionisés sous l'effet des hautes températures (Fig.III-7).

On obtient l'analyse quantitative de l'échantillon par comparaison avec des étalons de concentrations connues.

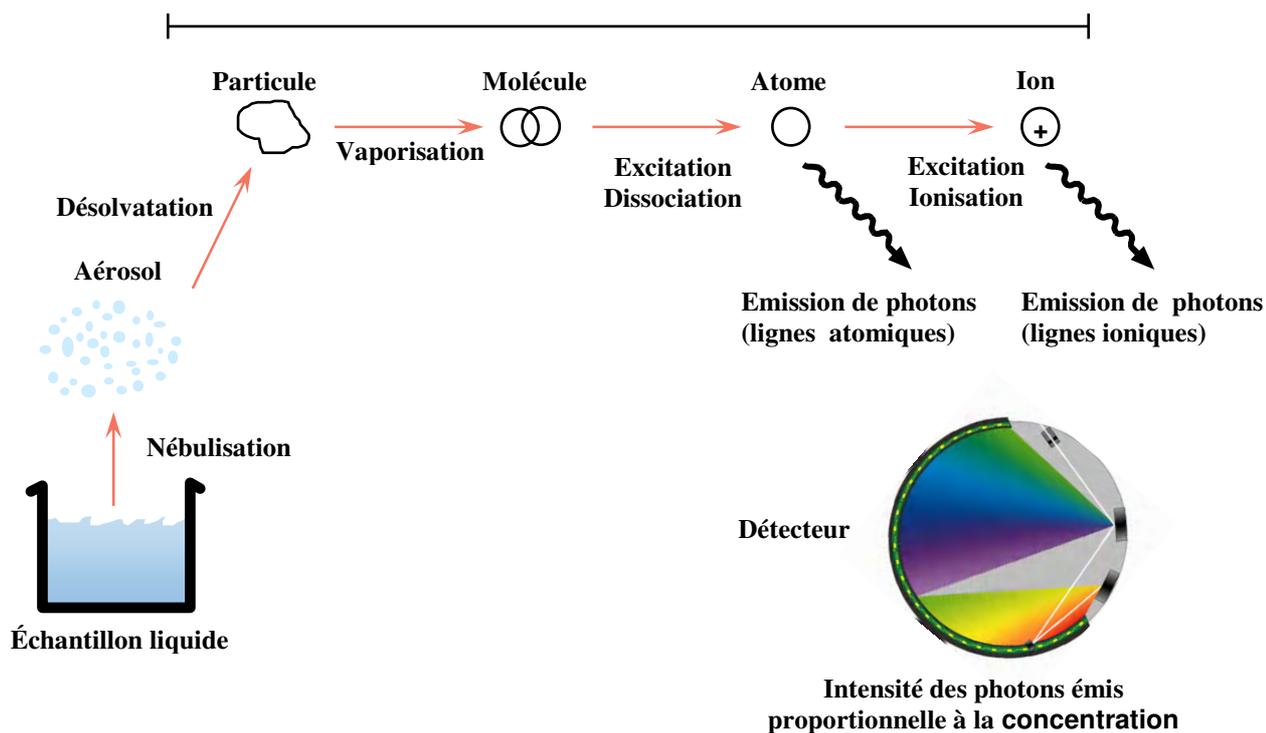


Figure III-6: Principe de l'analyse ICP-OES.

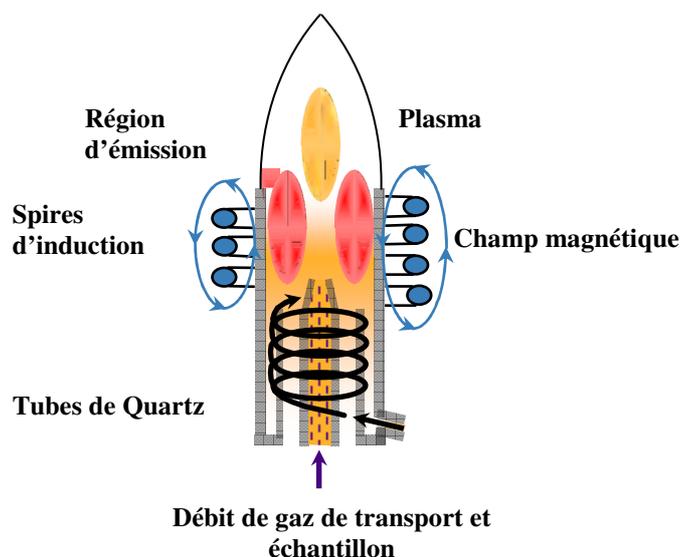


Figure III-7: Torche à plasma

On a utilisé dans ce travail un Spectromètre d'émission au plasma ICP-OES (Spectro, France) pour mesurer:

- la concentration des éléments majeurs dans l'HA (Ca et P) ainsi que les éléments traces.
- la variation de la concentration ionique de solutions d'immersion SBF et PBS avec le temps d'immersion des échantillons dans ces solutions.

Pour la préparation des échantillons, on a dissout la poudre à analyser (ou la solution d'immersion) dans l'acide nitrique HNO₃ (2%), pour les verres on a utilisé l'acide fluorhydrique HF.

b.8- Résonance magnétique nucléaire (RMN)

C'est une technique de spectroscopie appliquée aux particules ou ensemble de particules atomiques qui ont un spin nucléaire non nul. Les noyaux sont caractérisés par un spin nucléaire et un moment magnétique nucléaire (μ) qui est défini par la relation de Larmor:

$$\mu = \gamma S$$

γ : Le rapport gyromagnétique.

S: Le spin nucléaire.

Lorsqu'un noyau atomique avec un spin non nul ($S = 1/2$) est placé dans un champ magnétique, le spin nucléaire peut s'aligner soit dans la même direction soit dans la direction opposée au champ. Ces deux types d'alignement de spin nucléaire sont caractérisés par des énergies différentes. En l'absence de champ magnétique extérieur, tous les noyaux, quel que soit leurs moments magnétiques, ont la même énergie.

Un noyau atomique dont le spin est aligné avec le champ aura une moindre énergie que lorsque son spin est aligné dans la direction opposée du champ (Fig. III-8).

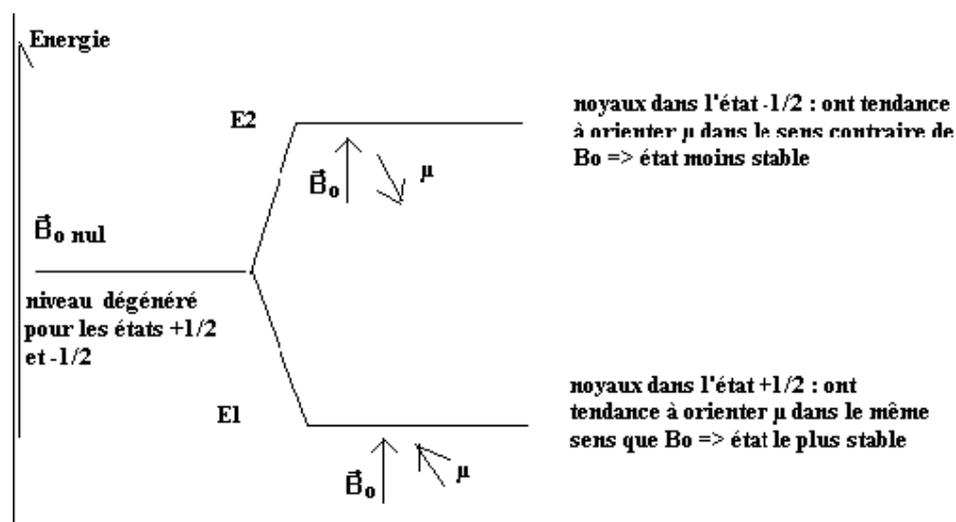


Figure III-8: Différents états d'énergie d'un noyau du spin $1/2$.

En pratique, les noyaux sont toujours dans un environnement qui leur constitue un écran magnétique par rapport au champ extérieur appliqué B_0 . Cet effet d'écran dépend:

- de la place du noyau dans la molécule dont ils font partie.
 - du milieu dans lequel la molécule se trouve (solution, produit pur,...).
- Donc, le champ effectif (B_{effectif}) ressenti par le noyau est donc plus faible que B_0 :

$$B_{\text{effectif}} = B_0 (1 - \sigma)$$

σ : une constante positive, appelée constante d'écran qui caractérise l'environnement du noyau.

Les photons susceptibles d'être absorbés pour faire passer les noyaux du niveau E_1 au niveau E_2 ont donc une fréquence légèrement plus faible que ν_0 . Cependant, ce petit écart qui va permettre de caractériser l'environnement des noyaux étudiés.

On aura autant de fréquences absorbées $\nu_{\text{effective}}$ (notée ν_e) qu'il y a de noyaux de spin $\frac{1}{2}$ ayant un environnement différent.

A l'équilibre thermique ($N_1 > N_2$) et l'application seulement du champ B_0 , l'aimantation résultante est faible et dans la même direction que B_0 en l'absence d'autre champ appliqué.

Dans le cas d'utilisation de RMN à impulsion et transformée de Fourier, pour écarter l'aimantation résultante de B_0 et la faire tourner autour de B_0 , on envoie des impulsions électromagnétiques brèves en appliquant un champ magnétique B perpendiculaire à B_0 de fréquence polychromatique (ν) (radiofréquence de 100 MHz à 1GHz) (contient un large intervalle de fréquence autour de ν_0) (Fig. III-9)

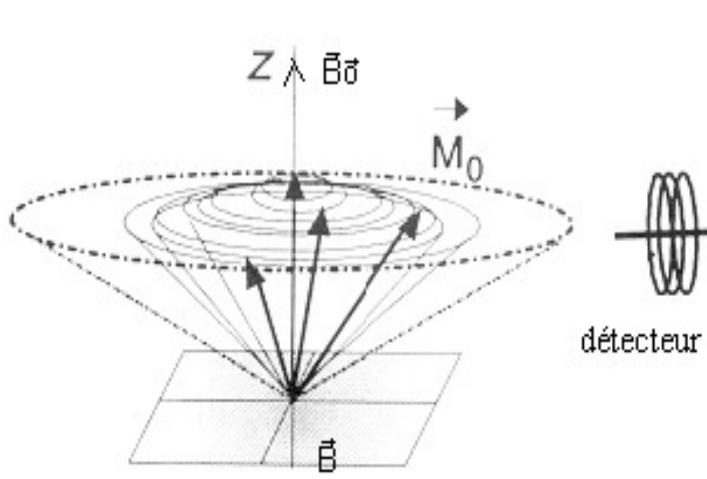


Figure III-9: Aimantation résultante quand on applique un champ B perpendiculaire à B_0 .

Les noyaux de fréquence d'absorption ν_e interagissent fortement avec l'onde de fréquence ν_e : il y a une forte absorption d'énergie, couplage entre B et B_0 pour cette fréquence qu'on détecte par un signal de fréquence ν_e (résonance). Puis quand l'impulsion cesse, l'aimantation se met à osciller pour tendre à reprendre sa position d'équilibre, alignée sur B_0 . L'oscillation induit aux bornes de la bobine détectrice un signal de relaxation décroissant de fréquence correspondant à ν_e (Fig.III-10).

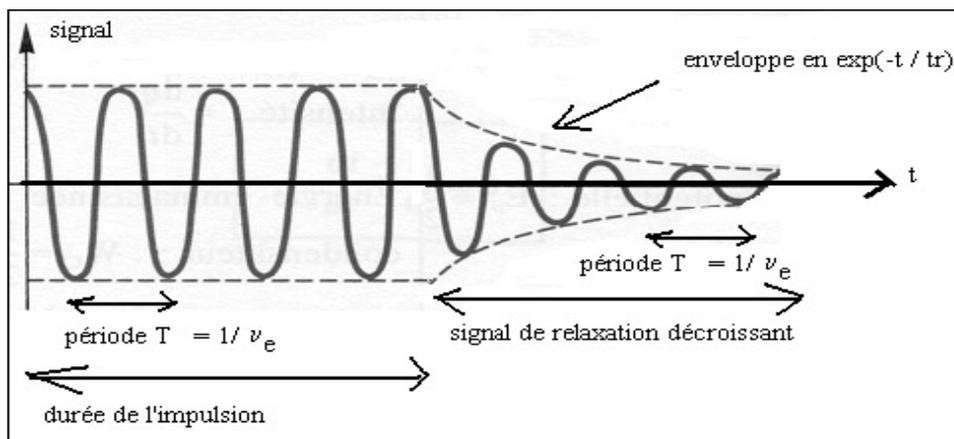


Figure III-10: Signal de relaxation.

Le signal de relaxation « Free Induction Decay » (FID) est de fréquence ν_e . Le temps de relaxation t_r donne des renseignements supplémentaires sur la structure, l'environnement des noyaux.

En pratique, on mesure le déplacement chimique (δ) défini par la relation suivante:

$$\delta = (\nu_e - \nu_{\text{TMS}}) / \nu_0$$

ν_{TMS} : la fréquence de la référence ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$:tétraméthylsilane) pour ^1H .

L'intérêt de définir ce déplacement chimique qui est un rapport de fréquences, est qu'il est indépendant de B_0 . Le déplacement chimique est exprimé en ppm (partie par million).

Parmi les techniques dites de haute résolution, la rotation à l'angle magique (MAS: Magic angle Spinning). Elle permet de supprimer l'interaction dipolaire, l'élargissement des raies, et de moyenniser l'interaction de déplacement chimique. Expérimentalement, le MAS consiste à mettre l'échantillon en rotation autour d'un axe à 54° par rapport à B_0 (angle magique) et à des vitesses pouvant atteindre 30 kHz.

Dans notre étude, les spectres RMN ont été enregistrés en utilisant le spectromètre haute résolution de RMN du solide Bruker Avance 300 (7T) (Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest (CRMPO) de l'université de Rennes 1). Les échantillons utilisés sont sous forme des poudres très fines qui ont été placées dans des rotors en zircone de 3 mm de diamètre et 15 mm de hauteur. Après mettre les rotors dans le spectromètre; on met la rotation en marche (Fig.III-11).

Les spectres enregistrés ont été traités avec le programme dm20071105 [127]. Le tableau III-7 montre les conditions de travail. Cette analyse a été effectuée dont le but de connaître la structure du verre synthétisé par les deux méthodes: fusion et sol-gel.

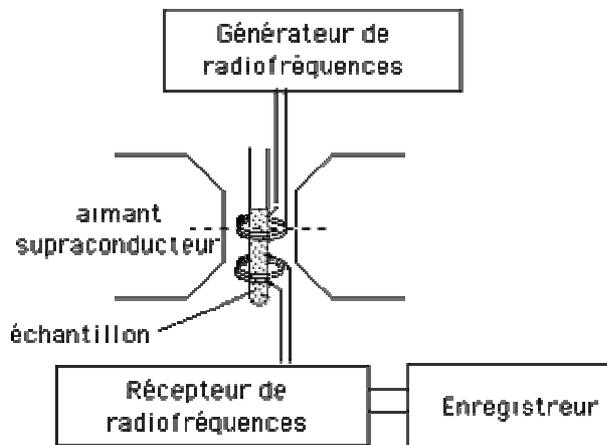


Figure III-11: Schéma descriptif du spectromètre RMN-MAS.

Tableau III-7: Les conditions expérimentales et les noyaux utilisés.

Noyaux	ν résonance (MHz)	Vitesse de rotation (Hz)	Temps de pulse (μ s)	Temps mort (s)	Référence
^{29}Si	59,6	12000	2	10	TMS
^{31}P	121,5	12000	2	5	H_3PO_4

CHAPITRE IV: Hydroxyapatite

Dans ce chapitre on va étudier les propriétés physico-chimiques et la bioactivité de l'hydroxyapatite naturelle en fonction de température, type d'oxyde dopant et taux de porosité. Pour mieux comprendre et connaître les facteurs qui influencent la cinétique de la bioactivité, on a étudié une hydroxyapatite synthétique (S-HA) pour la comparer avec l'hydroxyapatite naturelle (N-HA). Différentes techniques ont été utilisées pour la caractérisation physico-chimique des produits étudiés. La spectroscopie IR, la diffraction de rayons X et l'analyse par MEB-EDS, qui sont des analyses complémentaires, ont été utilisées pour l'étude structurale des matériaux étudiés ainsi que pour l'étude de formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des produits immergés dans le SBF. La spectroscopie ICP-OES a été utilisée pour déterminer la composition élémentaire des produits et l'étude de cinétique de la bioactivité des produits immergés.

A- Caractérisation physico-chimiques des produits utilisés avant traitement thermique

A.1- Composition minérale

La méthode d'analyse ICP-OES, qui permet de réaliser des analyses avec une grande sensibilité et bonne précision, a été utilisée pour déterminer la composition élémentaire de deux hydroxyapatites étudiées (N-HA) et (S-HA).

Le tableau IV-1 résume les résultats d'analyse par ICP. Il montre que les deux hydroxyapatites sont constituées de deux éléments majeurs: le calcium (Ca) et le phosphore (P); ainsi que d'autres éléments traces. Le rapport molaire (Ca/P) a été aussi calculé:

Tableau IV- 1: Concentration massique de Ca, P et les éléments traces dans N-HA et S-HA.

Concentration massique (%)	[Ca]	[P]	[Na]	[Mg]	[Sr]	[Zn]	[Si]	[K]	(Ca/P) molaire
S-HA	37.2±0.6	18.3±0.3	0.79	0.29	0.01	0	0.03	0.02	1.57±0.05
N-HA	38.9±0.6	17.9±0.3	0.78	0.59	0.04	0.005	0.01	0.05	1.68±0.05

On observe que N-HA a presque la même concentration massique en (Ca et P) et le rapport molaire (Ca / P) que HA stœchiométrique (Ca / P = 1.67) qui contient 40.3 % de Ca et 18.4 % de P en masse [43]. Alors que le rapport molaire (Ca / P) dans S-HA (Ca/P =1.57) est inférieur au rapport stoechiométrique 1.67. On peut dire que S-HA est une hydroxyapatite déficiente. D'après la bibliographie; l'apatite de la matrice osseuse est une apatite phosphocalcique

caractérisée par un rapport molaire Ca/P variant de 1.37 à 1.87, le désordre cristallin et la substitution des éléments traces dans la matrice minérale osseuse [23, 24].

Pour les éléments traces, les deux poudres ont le même pourcentage massique de Na. Tandis que la concentration massique de Mg, Sr, K et Zn dans S-HA est inférieure à celle dans N-HA. Au contraire, S-HA contient de Si plus que N-HA.

L'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais à une apatite carbonatée de type A-B [27, 28] qui contient le Ca, le P et d'autres éléments traces. Ces derniers jouent un rôle important sur sa bioactivité [9]. La composition de l'os dépend du site, l'âge, régime alimentaire et la présence des maladies. Dans certains stades physiologiques (la vieillesse ou la grossesse), quand le métabolisme de calcium est impliqué, les éléments traces se libèrent très rapidement en se transportant par le sang aux d'autres sites [29].

Les résultats obtenus sont en accord avec les autres études effectuées sur l'os [23, 25-27].

A.2- Etude structurale par DRX et analyse par FTIR

Les diagrammes de diffraction de rayons X de poudres N-HA et S-HA, avant de les traiter thermiquement, montrent que toutes les poudres sont composées d'une seule phase « hydroxyapatite » de formule chimique: $(Ca_5(PO_4)_3OH)$ (JCDD: file n° 09-0432) (fig.IV- 2).

Les pics de S-HA sont très larges par rapport à celle de N-HA calcinée. Cela peut être attribué à:

- S-HA est moins cristallisée que N-HA qui a été calcinée à 800°C pour éliminer la matière organique,
- où, on peut contribuer l'élargissement des pics à la taille fine des granules S-HA. Selon l'équation de Scherrer, la largeur des raies augmente quand la taille des grains diminue [127]:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta_{1/2} \cos \theta}$$

D: la taille de granules (A^0), k: le facteur de forme, λ : la longueur d'onde utilisée, θ : l'angle de diffraction des rayons X et $\beta_{1/2}$: la largeur à mi-hauteur du pic de diffraction, exprimée en radian.

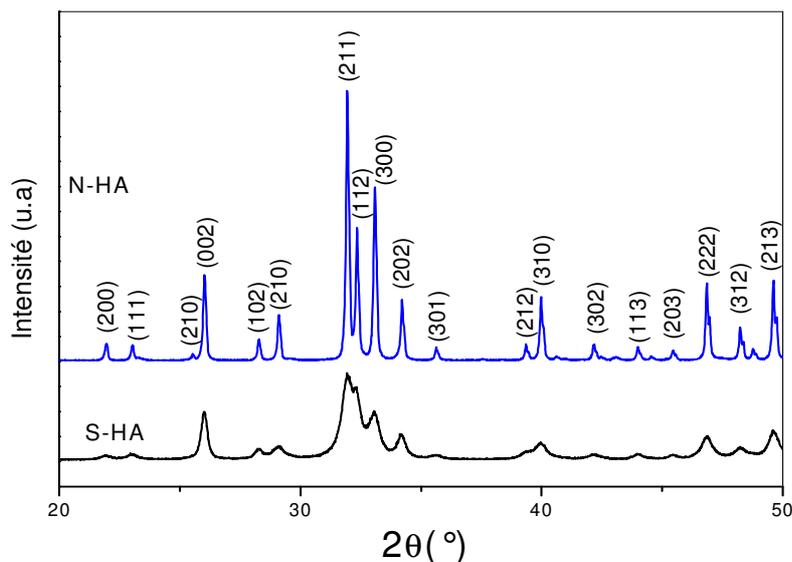


Figure IV-2: Diagrammes de diffraction RX de N-HA et S-HA.

La figure IV- 3 présente les spectres IR de N-HA et S-HA. Ces spectres montrent que les deux poudres ont les mêmes bandes comme il est indiqué dans le tableau IV-2. L'analyse de bandes de l'infra rouge de N-HA et S-HA confirme qu'elles appartiennent à HA. En outre, dans les spectres IR de N-HA, deux bandes faibles sont observées à 3493 et 3540 cm^{-1} qui sont attribuées à l'incorporation de Cl^- [128] ou F^- [128, 129] dans le site OH^- , respectivement.

Ainsi, les spectres IR montrent l'incorporation des ions CO_3^{2-} en hydroxyapatite surtout dans N-HA. Il y'a deux sites d'incorporation des ions CO_3^{2-} dans les apatites d'hydroxyapatite, une dans le site OH^- (site A) et d'autres dans le site PO_4^{3-} (site B) [28, 130].

La matrice osseuse contient du fluor (F), chlore (Cl) et une quantité importante de carbonates qui peuvent remplacer les groupes de phosphate ou d'hydroxyle [29]. Il a été mentionné que l'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais à une apatite carbonatée de type A-B [27, 28], ce qui explique la présence des carbonates dans N-HA dans cette étude. Pour S-HA, la présence de carbonates est due sûrement au mode de synthèse: l'utilisation des carbonates pour la synthèse de l'HA et qui ont restée en petite quantité même après la calcination du produit. En plus, la bande à 874,7 cm^{-1} peut être attribuée à HPO_4^{2-} caractéristique de HA déficiente [131] et non à la présence de CO_3^{2-} dans les sites OH^- (site A) puisque S-HA est caractérisée par un rapport molaire (Ca / P) inférieur à celui de HA stœchiométrique.

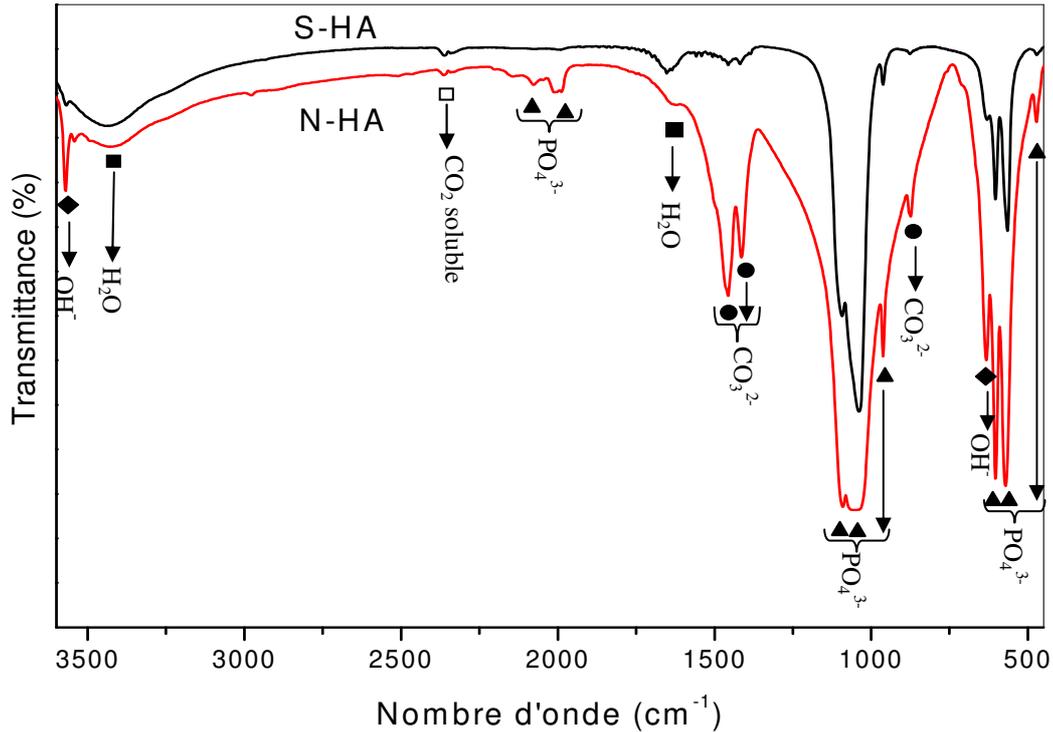


Figure IV-3: Spectres de l'infra rouge de N-HA et S-HA.

Tableau IV-2: Bandes de l'infra rouge de S-HA et N-HA.

Fréquences (cm ⁻¹)	S-HA	N-HA	Assignment
PO ₄ ³⁻	471.7	472.8	vibrations de déformation dégénérée doublée (v ₂) de groupe de phosphate [132].
	565.4, 603.2	571.2, 603.2	vibrations de déformation dégénérée triplée (v ₄) de la bande O-P-O [132].
	962.5	962.2	vibrations d'élongation symétrique non-dégénérée (v ₁) de bandes P-O de groupe de phosphate [132].
	1039, 1093.2	1057.7, 1090.6	vibrations d'élongation asymétrique dégénérée triplée (v ₃) de bandes P-O [133, 134].
		2002.7, 2077.1	combinaison des bandes of PO ₄ ³⁻ [135]
OH ⁻	630.6	632.6	mode libérationnelle (v _L) de groupe hydroxyle, OH ⁻ [134, 135].
	3568.5	3570.4	vibration d'élongation (v _S) de groupe hydroxyle, OH ⁻ [132, 133].
CO ₃ ²⁻	874.7	873.7	due à l'incorporation de CO ₃ ²⁻ dans les sites OH ⁻ (site A) [137] ou de HPO ₄ caractéristique de HA déficiente [131].
	1417.6, 1456.8	1415.6, 1456.9	due à la présence of CO ₃ ²⁻ dans les sites PO ₄ ³⁻ (site B) [137].
H ₂ O	1630, 3432.5	1630, 3429.3	l'eau absorbée [132].
CO ₂ Soluble	2361.9	2364.2	[132]

A.3- Effet de la pression et l'ajout des gouttes d'eau sur la densité

Au cours de nos premiers essais, on a observé que les poudres compactées se fissurent surtout si on applique des pressions élevées. Cela a incité d'étudier l'effet de la pression sur la densité et de trouver un moyen pour faciliter le réarrangement des particules et la solidification des pastilles sans fissuration.

A.3.a- Effet de pression sur la densité de N-HA

On a étudié la variation de la densité en fonction de la pression appliquée (tableau IV-3, fig.IV-4). La poudre N-HA a été broyée pendant 4h avec l'eau distillée, séchée et compactée sous différentes pressions uniaxiales. Le traitement thermique a été effectué à 1200°C, pendant 1h avec une vitesse de chauffage de 6°C/min.

Tableau IV-3: Variation de la densité en fonction de la pression

Pression (MPa)	75	150	225	300
Densité (g/cm ³)	2.66	2.73	2.88	-
% de frittage	84	87	91	-

$$\% \text{ de frittage} = d_{\text{exp}} / d_{\text{théo}} \quad (d_{\text{théo}} = 3.156 \text{ g/cm}^3)$$

On n'a pas pu calculer la densité des pastilles compactées sous la dernière valeur de pression (300 MPa). Elles se sont déjà fissurées au cours de compactage des pastilles.

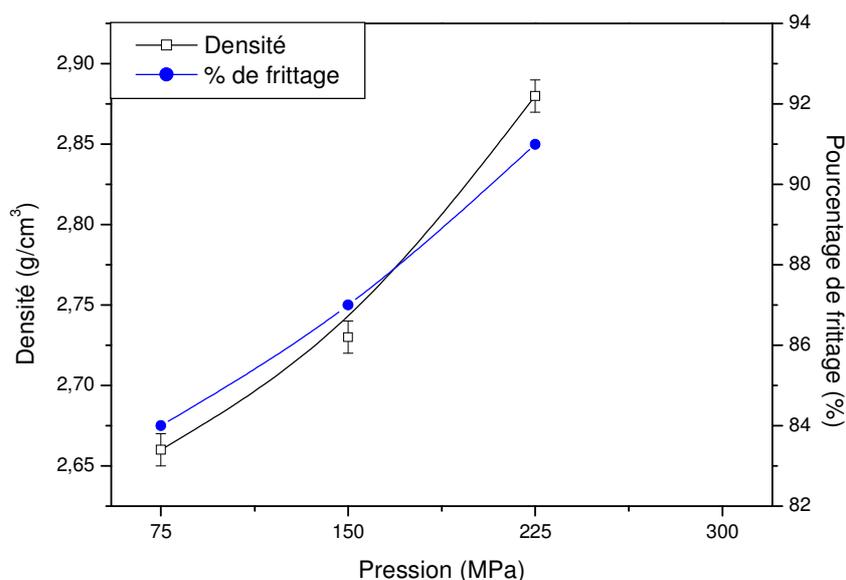


Figure IV-4: Variation de la densité en fonction de la pression de compactage.

On observe que la densité augmente quand la pression augmente de 75 MPa à 225 MPa; mais on avait toujours le même problème de fissuration surtout pour les pastilles compactées sous 225 MPa; c'était très difficile de mesurer les dimensions des pastilles sans qu'elles se cassent. Les fissures étaient déjà formées au cours de compactage, mais elles n'étaient pas seulement visibles. Alors, on a choisie la pression 75 MPa et pour optimiser le compactage de poudres on a ajouté de l'eau distillée.

A.3.b- Effet d'ajout de gouttelettes d'eau distillée sur la densité de N-HA

Avant le compactage, on a ajouté de gouttelettes d'eau distillée à 1 g de N-HA. Les pastilles ont été compactées sous pression de 75 MPa et traitées à 1250°C pendant 2h avec une vitesse de chauffage de 6°C/min. La variation de la densité en fonction de nombre de gouttelettes d'eau distillée est présentée dans le tableau IV-4 et la figure IV-5:

Tableau IV-4: Variation de la densité en fonction de nombre de gouttes de H₂O

Nombre de gouttes de H ₂ O	0	1	2	3	4
Densité (g/cm ³)	2.75	2.92	2.95	2.94	2.94
Pourcentage de frittage (%)	87	92.5	93	93	93

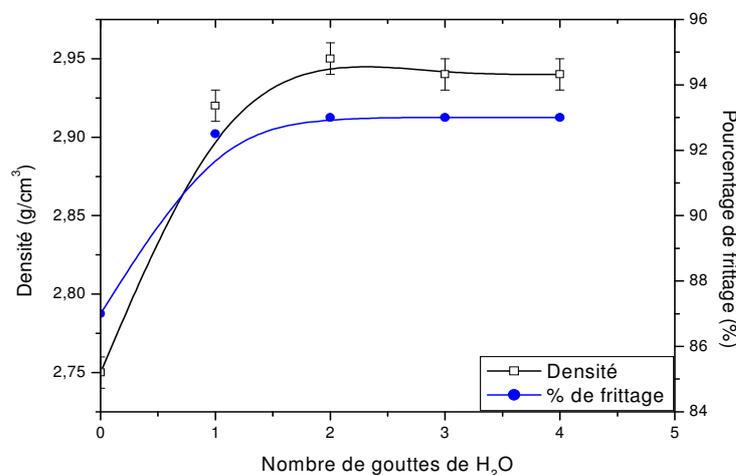


Figure IV-5: Variation de la densité en fonction de gouttes d'eau

On observe que la densité s'optimise avec l'ajout d'eau distillée, en plus aucune fissuration macroscopique ou microscopique n'est apparue dans les pastilles. En plus, l'ajout de plus que deux gouttelettes de H₂O est inutile, la densité ne change pas. Ainsi; au cours de compactage; l'eau se libère de la poudre compactée quand on dépasse deux gouttes de H₂O.

L'ajout de l'eau distillée améliore le compactage en aidant les particules de se glisser entre eux et remplir les pores.

B- Etude *in vitro* de N-HA et S-HA en fonction de la température

Dans cette partie, on a étudié la bioactivité de N-HA en fonction de la température de traitement thermique. Les altérations physico-chimiques des granules N-HA ont été comparées aux celles de S-HA.

Après le broyage de N-HA à sec pendant 30 min; les deux poudres (N-HA et S-HA) ont été tamisées pour obtenir des particules de taille 60 - 100 μ m. Le frittage des poudres compactées à froid sous pression de 75 MPa a été effectué à des températures différentes (800, 900, 1000, 1100, 1200 ° C) pendant 2 heures avec une vitesse de chauffage de 5°C/min.

Les tests *in vitro* ont été réalisés en immergeant des granules de taille 200 - 400 μ m dans le SBF selon le protocole décrit dans le chapitre 3.

B.1- Morphologie des poudres avant le traitement thermique

La figure IV-6 illustre la micrographie par MEB des poudres N-HA et S-HA. La poudre N-HA est formée de petits grains sphériques de 0.1-1 μ m et d'autres d'environ 5 μ m. Cependant, S-HA est une poudre fine, elle est formée de particules agglomérées sous forme de lamelles allongées de taille environ 100 - 500 nm de longueur.

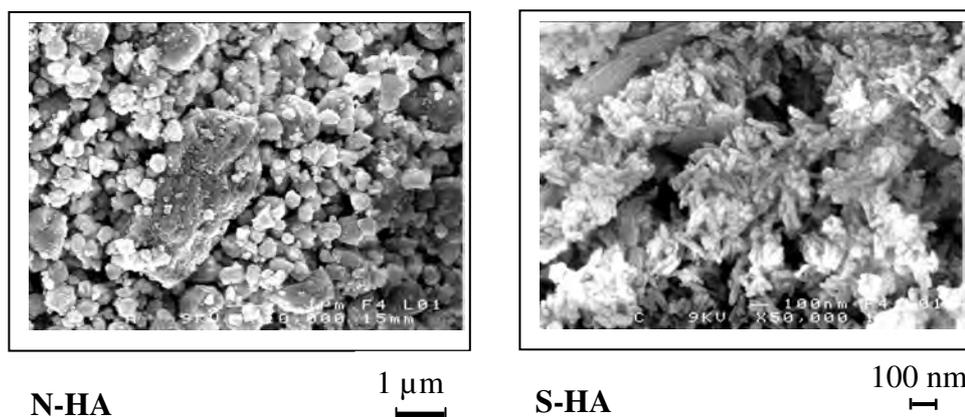


Figure IV-6: micrographie par MEB de poudres N-HA et S-HA.

B.2- Surface spécifique du N-HA et S-HA

La surface spécifique de deux poudres a été mesurée par la méthode BET. Pour une granulométrie entre 63 et 100 μ m, on a les valeurs suivantes:

$$S_{(N-HA)} = 2,2 \text{ m}^2/\text{g}$$

$$S_{(S-HA)} = 63,7 \text{ m}^2/\text{g}$$

On observe que la poudre S-HA est caractérisée par une surface spécifique très élevée par rapport à N-HA. On peut expliquer ce résultat par le fait que la poudre S-HA est très fine par

rapport à N-HA, elle est formée de très petites particules. Plus la taille des particules augmente, plus la surface spécifique diminue [86].

La surface spécifique a un effet important sur la densification et la bioactivité d'un matériau. Plus la surface spécifique est importante, plus la densité et la bioactivité sont meilleures. Sa valeur est très liée à la présence des pores.

B.3- Altérations physico-chimiques en fonction de la température (avant immersion)

B.3.a- Variation de densité en fonction de la température

La densité des échantillons, avant et après traitement thermique, a été calculée par la méthode directe (fig. IV-7). On observe que la densification de toutes les poudres compactées commence à 800°C; ensuite le taux de densification augmente lorsque la température de frittage précède 950°C. Ainsi, on remarque que le taux de densification de S-HA est très grand que celui de N-HA. On peut justifier ce résultat par le fait que la taille des grains de S-HA est inférieure à celle de N-HA. L'utilisation d'une fine poudre provoque une réduction considérable de la porosité et la taille des pores [138], par conséquent, la densité augmente quand la taille des grains diminue.

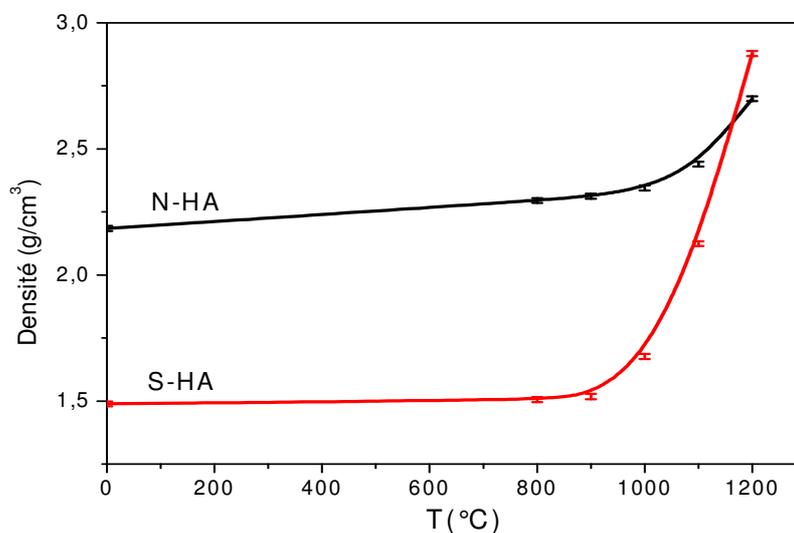


Figure IV-7: Effet de la température de frittage sur la densité de N-HA et S-HA

B.3.b- Variation de rapport molaire (Ca/P) en fonction de la température

L'un des objectifs de ce travail est d'étudier l'effet de la température de frittage sur la stabilité de l'HA, et par conséquent la variation du rapport molaire (Ca/P).

Le rapport (Ca/P) reste constant après le traitement thermique de N-HA pour toutes les températures de frittage. Cela confirme qu'aucune nouvelle phase n'a été formée au cours de

frittage de N-HA. Cependant, la température de frittage a affecté le rapport molaire (Ca/P) de S-HA qui varie de 1.57 avant le traitement thermique à (1.61-1.63) après le traitement thermique. Ce changement est dû à la formation de nouvelles phases en raison de la décomposition de HA en phosphate tricalcique (TCP) ou phosphate tétracalcique (TetCP) comme le montrent les diagrammes de diffraction RX.

B.3.c- Morphologie des granules en fonction de la température: MEB

La micrographie des granules frittées (fig.IV-8) est en bon accord avec les résultats de la densité. On remarque que la porosité diminue et la taille des grains augmente lorsque la température de frittage augmente pour tous les échantillons. En effet, à 1200 ° C, il est difficile de distinguer les joints de grains surtout pour les échantillons S-HA. Par conséquent, la taille des pores observés à la surface des échantillons S-HA est plus faible par rapport à la taille des pores dans N-HA. La calcination conduit à la consolidation de la poudre compactée sous l'effet de la température et la formation de joints de grains fins entre ces particules. Ce phénomène, correspondant à une coalescence des particules, est plus important lorsque le rapport (Ca / P) de la poudre diminue [131] et la poudre compactée est très fine [138].

B.3.d- Variation de la surface spécifique en fonction de la température de frittage

Le tableau IV- 5 illustre les mesures de la surface spécifique par la méthode BET des poudres N-HA et S-HA traitées à des différentes températures.

On observe que la surface spécifique de deux poudres traitées diminue avec la température. En reliant ces valeurs à celles de la densité et la taille des grains, on peut déduire que la surface spécifique diminue avec l'augmentation de la densité et la croissance des grains.

La diminution de la surface spécifique après le traitement thermique à 800°C est très remarquable surtout pour S-HA à cause de la consolidation des nanoparticules pour former des grains de l'ordre du micromètre. Alors que entre 800°C et 1000°C, la surface spécifique de N-HA est constante puisque la densité augmente légèrement dans cet intervalle, ainsi la taille des grains est presque la même pour ces températures. Pour S-HA, la surface diminue légèrement en gardant la même pente que l'augmentation de la densité et la taille des grains. Enfin, entre 1100 et 1200°C, la surface spécifique diminue à nouveau surtout pour S-HA; ce qui est en bon accord avec les mesures de la densité et la croissance des grains.

Le même résultat a été prouvé par d'autres études: plus la température et la taille des grains augmente et la porosité diminue, plus la surface spécifique diminue [139].

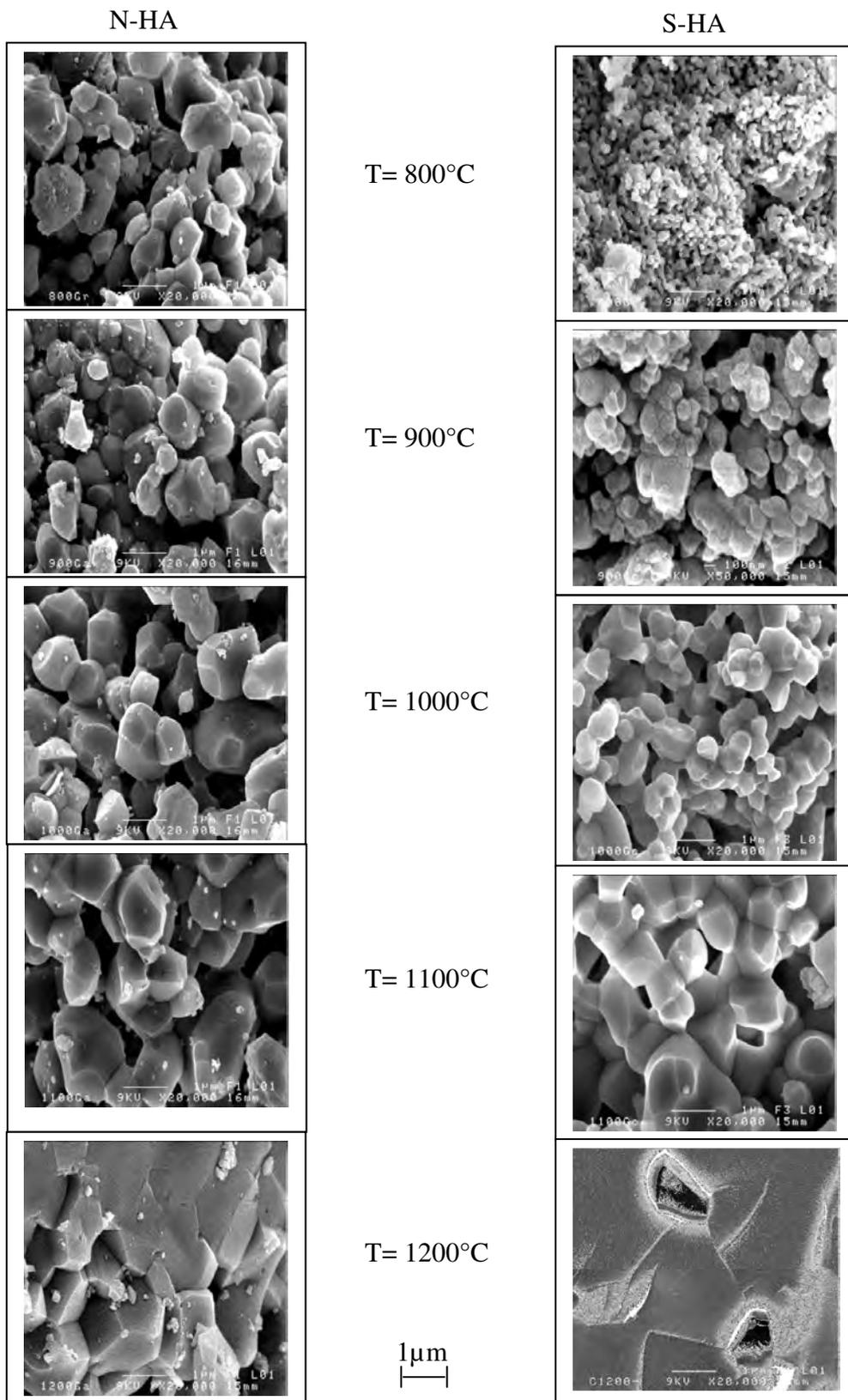


Figure IV-8: Morphologie par MEB des granules frittées N-HA et S-HA en fonction de la température de frittage.

Tableau IV-5: Variation de la surface spécifique en fonction de la température.

	T=25°C	T=800°C	T=900°C	T=1000°C	T=1100°C	T=1200°C
N-HA	2.2	0.9	0.9	0.9	0.7	0.5
S-HA	63.7	12.8	9.9	6.1	2.8	1

B.3.e- Spectroscopie IR des granules frittées

Les spectres IR de granules N-HA sont semblables (fig. IV-9: N-HA) aux ceux avant frittage.

Les différences observées sont les suivantes:

- la diminution de l'intensité des bandes de groupes carbonate et OH^{-1} avec l'augmentation de la température de frittage,
- l'élimination des groupes carbonate, F⁻ et Cl⁻ de l'apatite à 1100°C et 1200°C. Les résultats obtenus par spectroscopie IR confirment qu'aucune formation d'une nouvelle phase n'a eu lieu pendant le traitement thermique de N-HA.

Les spectres IR de granules frittées de S-HA (fig. IV-9: S-HA) montrent l'élimination de groupes carbonate après le frittage pour toutes les températures. En plus, l'intensité des bandes OH^{-} diminue avec la température. Ainsi, de nouvelles phases sont formées au cours de traitement thermique justifier par l'apparition de nouveaux groupes. Des nouvelles bandes sont apparues dans les spectres IR de granules S-HA frittées à une température variant de 800°C à 1100°C, une bande à 1121 cm^{-1} caractéristique de l'allongement de groupe tétraèdre PO_4^{3-} de la phase β -phosphate tricalcique ($\beta\text{-Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8$) [141] et une bande à 981 cm^{-1} correspondant à la phase α -phosphate tricalcique ($\alpha\text{-Ca}_3\text{P}_2\text{O}_8$) (α -TCP) [141]. Rappelant qu'il est difficile de faire la distinction entre les deux phases cristallines du TCP (α et β); les deux phases ont plusieurs bandes au même nombre d'onde [140]. En outre, dans le spectre IR de S-HA/1200, la bande OH^{-} à 631 cm^{-1} est éliminée et la bande à 3571 cm^{-1} est très faible. Cela est dû à la formation de nouvelles phases comme le montrent les diagrammes de diffraction RX (fig. IV-9: (S-HA)/1200). Ainsi, des nouvelles bandes, caractéristiques de groupe PO_4^{3-} de phosphate tétracalcique ($\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$) (TetCP), sont apparues à 1012 et 1117 cm^{-1} [134, 142], ce qui a conduit à l'élargissement de la bande centrée à 1046 cm^{-1} . La faible bande à 3571 cm^{-1} confirme la présence de l'hydroxyapatite.

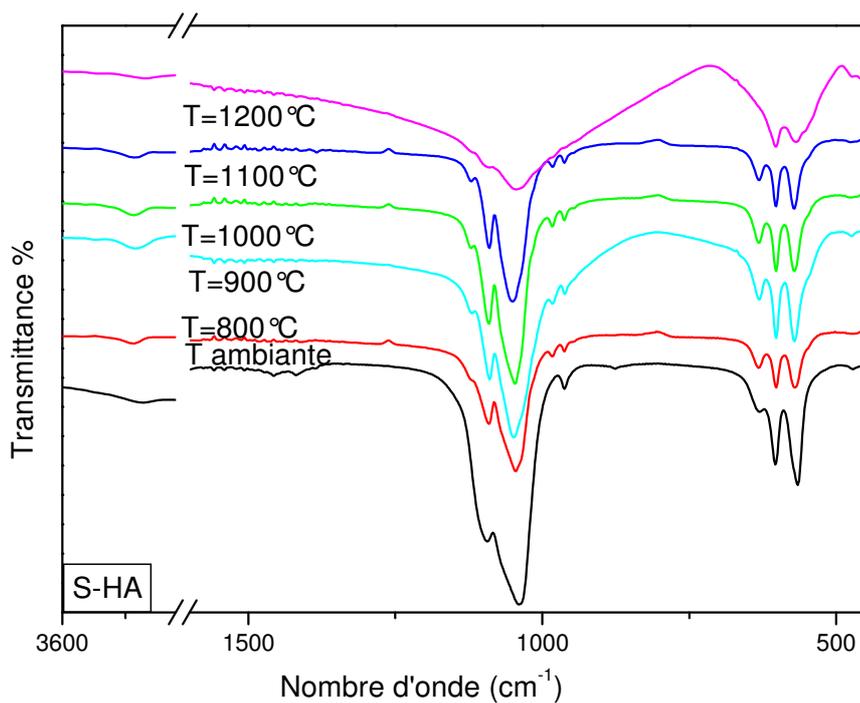
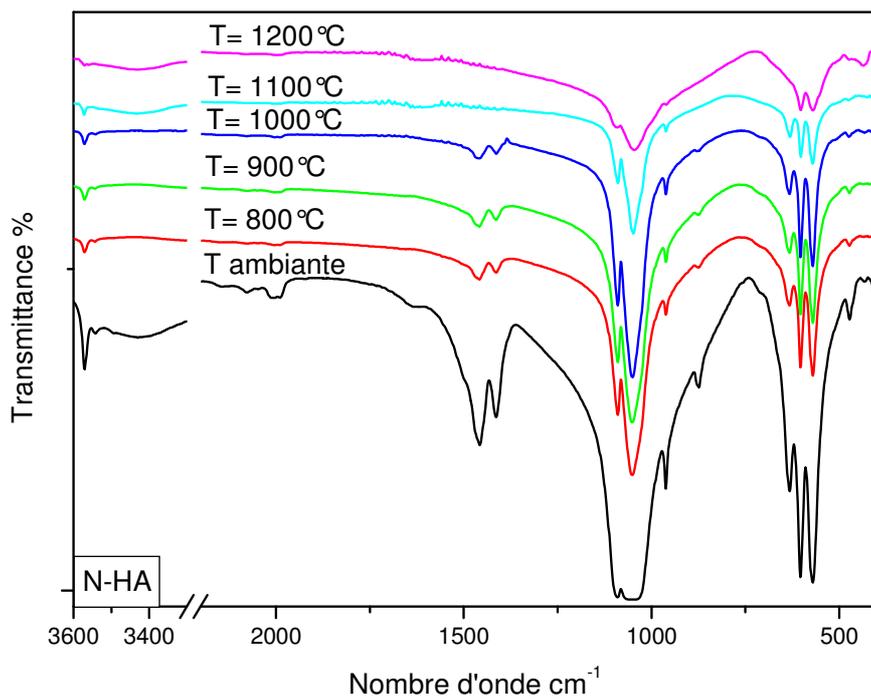


Figure IV-9: Spectres IR des granules frittées N-HA et S-HA en fonction de la température de frittage.

B.3.f- Diagrammes de diffraction RX des granules frittées

Les diagrammes de diffraction RX de N-HA (fig. IV-10: N-HA) ne présentent aucune différence entre eux pour toutes les températures de traitement thermique. Cela confirme que l'augmentation de la température n'a pas modifiée la composition de HA. Il peut être observé que le diagramme de diffraction RX à la température ambiante est décalé par rapport aux restes des diagrammes en fonction de la température, peut être la présence du fluor dans HA initiale est la cause de ce décalage [143].

Alors que le traitement thermique de S-HA a provoqué plusieurs modifications dans les diagrammes RX (fig. IV-10: S-HA). De 800°C à 1000°C, HA est décomposée partiellement en formant une nouvelle phase mineure de phosphate tricalcique (β -TCP). À 1100°C, une phase mineure de α -TCP est apparue au voisinage de β -TCP. Cette phase n'a pas été observée dans les spectres de HA (C)/800, 900, 1000°C bien que l'apparition de sa bande dans les spectres IR. Peut être que cette phase est formée en quantité infime ce qui ne permet pas son apparition dans les diagrammes de diffraction RX. Cependant à 1200°C, les diagrammes de diffraction RX révèlent la formation de phosphate tétracalcique (TetCP), des travaux de recherche ont montrés que l'hydroxyapatite et le phosphate tétracalcique présentent des ressemblances de leur pics de diffraction des rayons X, et d'un point structural elles sont très proches [144, 145]. Cela génère des difficultés pour détecter TetCP en présence de HA. Cette difficulté est aggravée par le fait que les indices de réfraction de TetCP et HA sont proches les uns des autres et la spectrométrie d'infrarouge ne fait pas différencier les bandes de TetCP en présence de HA [134].

Normalement la décomposition de l'hydroxyapatite en TCP et TetCP s'accompagne par la formation de CaO. Ce pic n'est pas indexé sur les diagrammes de diffraction (à 37,37 °) car son intensité est très faible; ce qui veut dire que le CaO est présent en faible quantité.

B.4- Altérations physico-chimiques après immersion dans le SBF: expériences *in vitro*

B.4.a- Variation de la concentration de Ca et P avec le temps d'immersion dans le SBF

La variation de la concentration de calcium et de phosphore dans le SBF en fonction du temps d'immersion est illustrée dans les figures IV-11 et 12.

Pour les granules N-HA, après 30min d'immersion dans la solution SBF, on observe que la concentration ionique de Ca et P dans le SBF augmente avec le temps d'immersion ensuite elle diminue à une valeur moyenne de 57 ppm après 30 jours d'immersion dans le SBF (fig. IV-11).

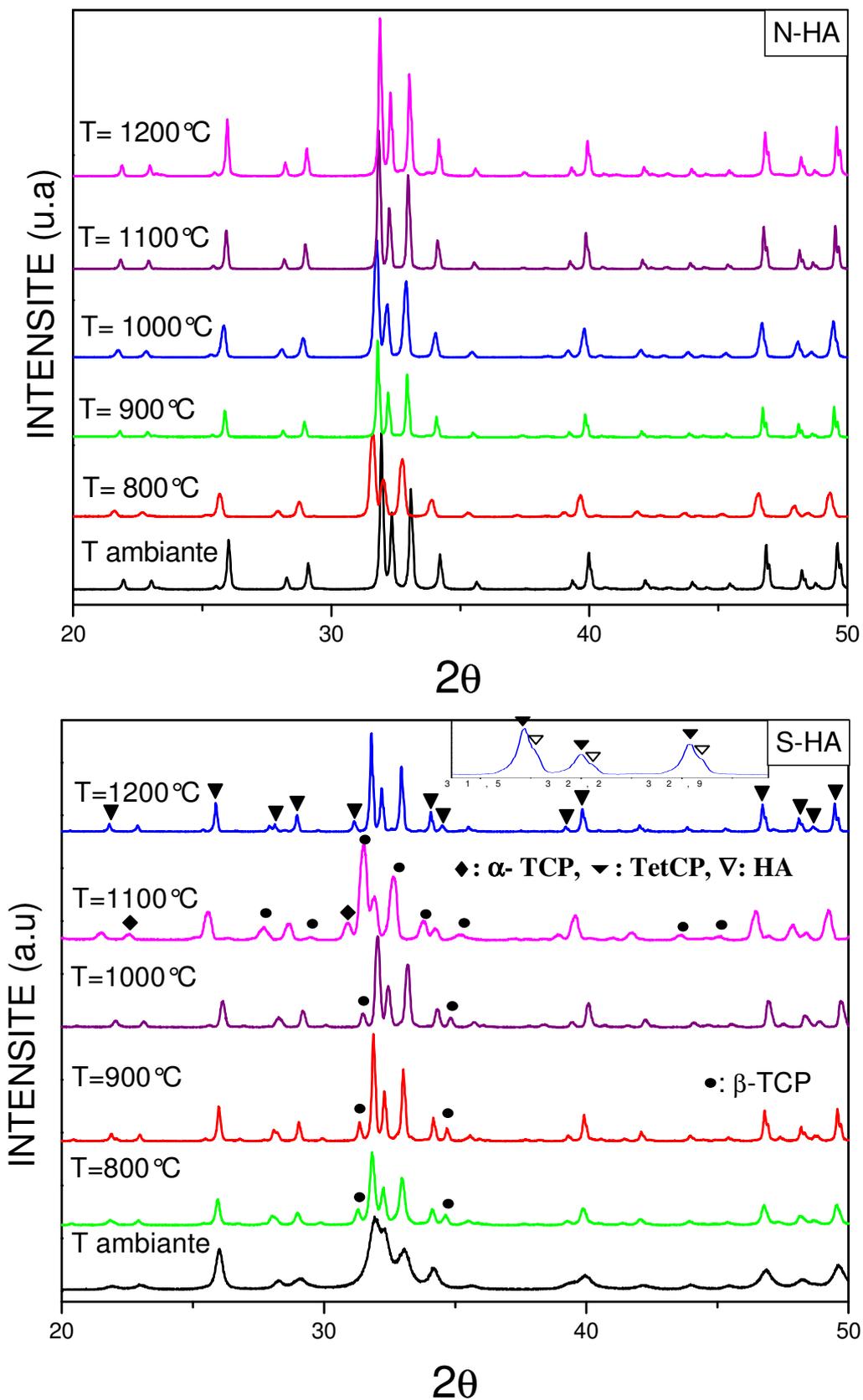


Figure IV-10: Diagrammes de diffraction RX de N-HA et S-HA en fonction de la température.

Pour N-HA/800°C, la concentration en Ca et P augmente avec le temps jusqu'à 2 jours d'immersion où elle se stabilise entre 2 jours et 7 jours. Après ce délai, elle diminue à cause de la migration des ions Ca et P de la solution SBF vers les granules pour former l'apatite carbonatée. On observe que pour N-HA/900/1000/1100/1200°C, la cinétique de variation de Ca (ainsi que pour P) est très proche l'une de l'autre pour toutes les températures indiquées. La concentration ionique de Ca et P augmente avec le temps d'immersion jusqu'à 2 jours, c'est le processus de dissolution qui prédomine le processus de précipitation de l'apatite. Entre 2 et 3.5 jours, la concentration ionique reste stable, ce qui veut dire qu'il y'a un équilibre entre le processus de dissolution des granules et le processus de précipitation de l'apatite à partir de Ca et P présents dans la solution SBF à la surface des granules immergées. Après 3,5 jours, le processus de précipitation du « bone like-apatite » prédomine le processus de dissolution du N-HA puisque on observe une diminution de la concentration en Ca et P dans le SBF jusqu'à 30 jours d'immersion.

La figure IV-12 montre la variation de la concentration ionique de Ca et P dans le SBF, dans le cas d'immersion des granules S-HA. Pour S-HA/800, on observe que la concentration en Ca et P dans le SBF diminue avec le temps d'immersion jusqu'à 30 jours. La diminution de la concentration en Ca et P a été produite avec deux vitesses différentes: une faible diminution de Ca et P entre 30 min et 2 jours; alors que après 2 jours on observe une forte diminution de Ca et P dans le SBF. Plus de 50% des ions de Ca et P ont migré de la solution SBF vers les granules S-HA après 30 jours d'immersion dans SBF. La présence des pores peut activer le processus en raison qu'ils peuvent agir en tant que des sites locaux pour la croissance osseuse. On note que le mécanisme de la croissance osseuse dans les petits défauts n'est pas encore clair [146]. Cependant, pour (S-HA)/900/1000/1100, la concentration en Ca et P reste constante jusqu'à 9h. Ensuite, elle augmente pour atteindre une valeur maximale après 2 jours d'immersion dans le SBF. Après ce délai, la concentration en Ca et P diminue fortement jusqu'à 15j où sa valeur commence à se stabiliser. Ce phénomène correspond au processus de précipitation de l'apatite à la surface des granules traitées à ≤ 1100 ° C. Au contraire, pour S-HA/1200, après 30 minutes d'immersion, la concentration en Ca et P, dans SBF, augmente avec le temps d'immersion jusqu'à 15 jours, ce qui indique la dissolution de phosphate tétracalcique. D'après les travaux de recherche, les produits de décomposition de HA dissolvent plus rapidement que HA dans le liquide physiologique, dans l'ordre suivant: CaO >> TetCP >TCP >> HA [147]. Cette dissolution continue du phosphate tétracalcique inhibe le processus de précipitation de l'apatite « bone like-apatite » comme le montrent les analyses par MEB et IR. Après 15j d'immersion dans le SBF, la

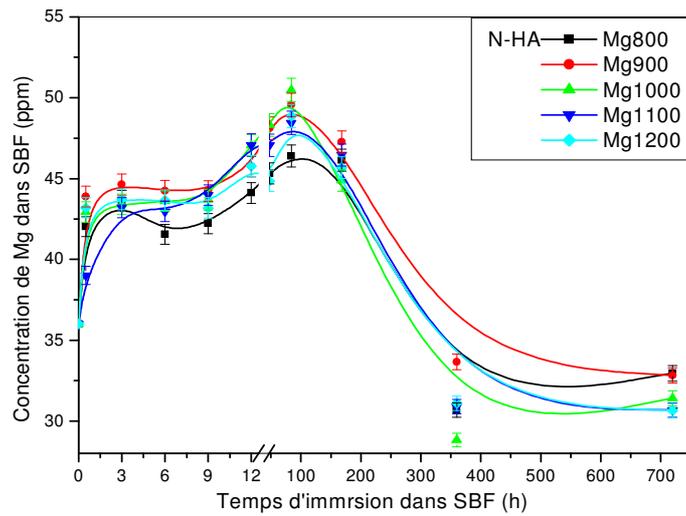
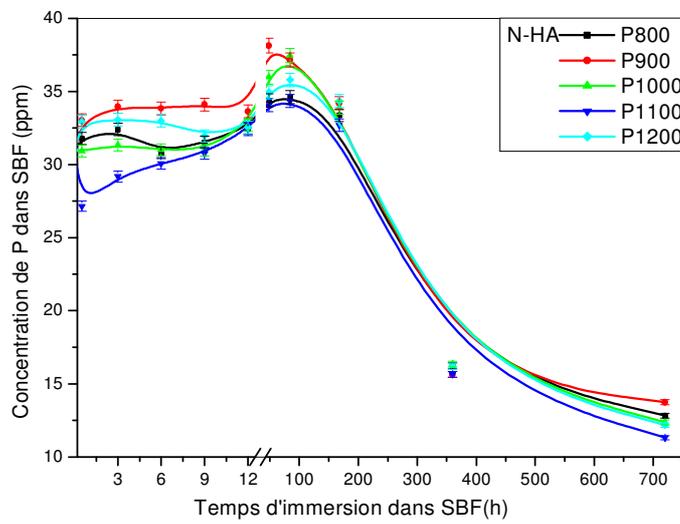
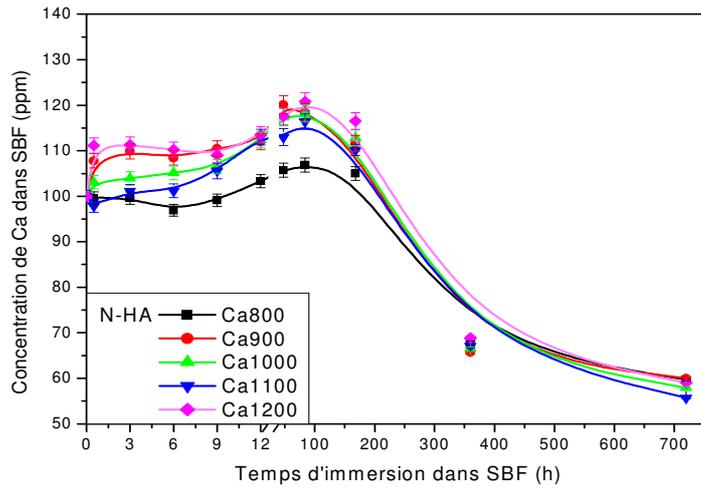


Figure IV-11: Variation de la concentration ionique de Ca, P et Mg dans le SBF en fonction du temps d'immersion des granules N-HA.

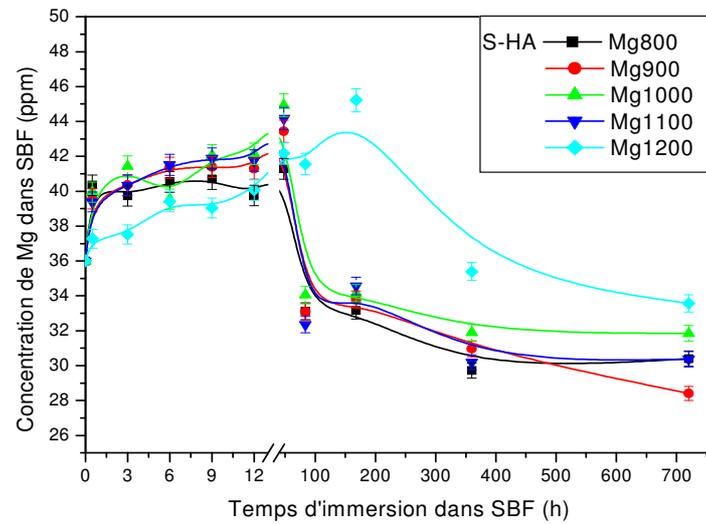
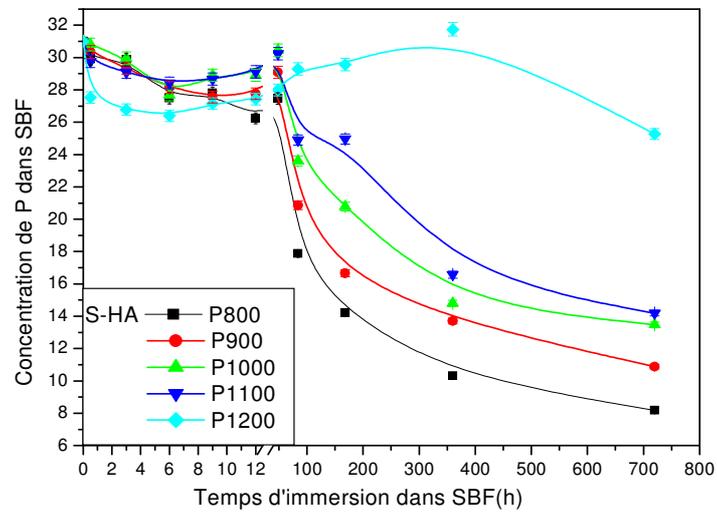
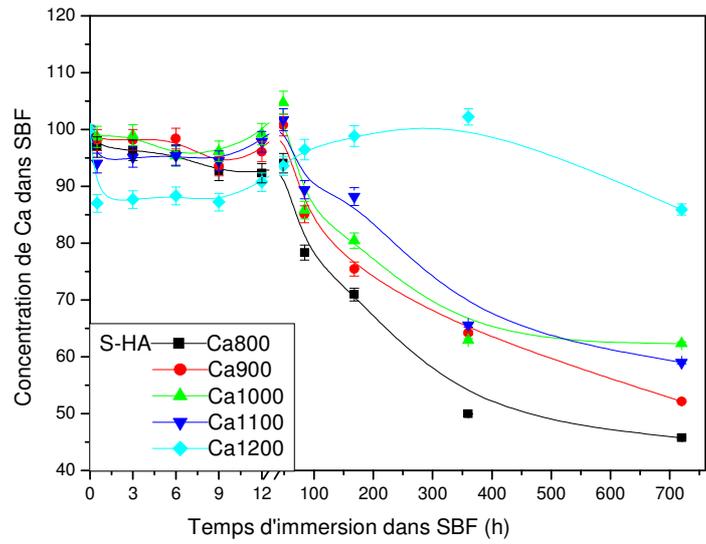
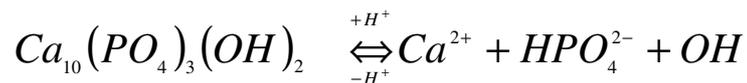


Figure IV-12: Variation de la concentration ionique de Ca, P et Mg dans le SBF en fonction du temps d'immersion des granules S-HA.

concentration de Ca et P diminue de 102 ppm à 86 ppm et de 32 ppm à 26 ppm, respectivement. On peut expliquer cette diminution par le fait que le processus de précipitation de l'apatite est achevé à la surface des granules S-HA/1200°C comme le confirment les images par MEB et les analyses IR.

L'augmentation des concentrations ioniques de Ca et P est due à l'échange ionique entre H⁺ présentes dans une solution aqueuse et les ions Ca²⁺ et les groupes de phosphate qui se trouve à la surface des granules HA [148,149]. Le processus peut être considéré comme une conversion de PO₄³⁻ en HPO₄²⁻ par l'addition de H⁺ qui se produit comme suit [149]:



Après que le processus de dissolution atteint le point maximum, on a une inversion du processus, soit une diminution de la concentration des ions de Ca et P, qui a eu lieu en suggérant une précipitation de « bone like-apatite » [148].

Selon la théorie de Kim, la surface négative des granules HA attire les ions Ca présents dans le SBF pour former une couche phosphocalcique amorphe riche en Ca (Amorphous Calcium Phosphate: ACP). Après immersion dans le SBF, HA expose leurs groupes d'hydroxyle et de phosphate ce qui conduit à avoir une surface négative. La deuxième étape, les ions phosphate dans le SBF interagissent avec les ions Ca de la couche ACP pour former une couche phosphocalcique pauvre de Ca. Enfin, cette couche se cristallise en « bone like-apatite » ce qui permet la stabilisation du HA dans le SBF [73].

On a observé que la variation de Mg et Na dans le SBF soit dans le cas des granules N-HA ou S-HA évolue avec le temps d'immersion de la même façon que Ca et P. Ces deux éléments se substituent dans l'hydroxyapatite formée à la surface des granules immergées [142]. On conclut que les ions Mg et Na jouent un rôle complémentaire comme les ions Ca [150].

B.4.b – Micrographie par MEB des granules immergées dans le SBF

Les figures IV-13 et 14 montrent les images des granules immergées par MEB.

Pour les granules N-HA immergées (fig. IV-13), le phosphate de calcium est formé à la surface de granules frittées pour toutes les températures de 800°C jusqu'à 1200°C, les grains ont été couverts en totalité par l'épaisse couche d'apatite.

Cependant pour les granules S-HA (fig. IV-14), seulement pour les températures de frittage variant de 800 à 1100°C et un délai d'immersion de 7 jours, on observe une couche uniforme de phosphate de calcium. Alors que pour un délai de 30 jours, la formation de l'apatite est produite à la surface des granules pour toutes les températures. Ce résultat est confirmé par les analyses précédentes, réalisées par ICP-OES.

Après 7 j d'immersion

Après 30 j d'immersion

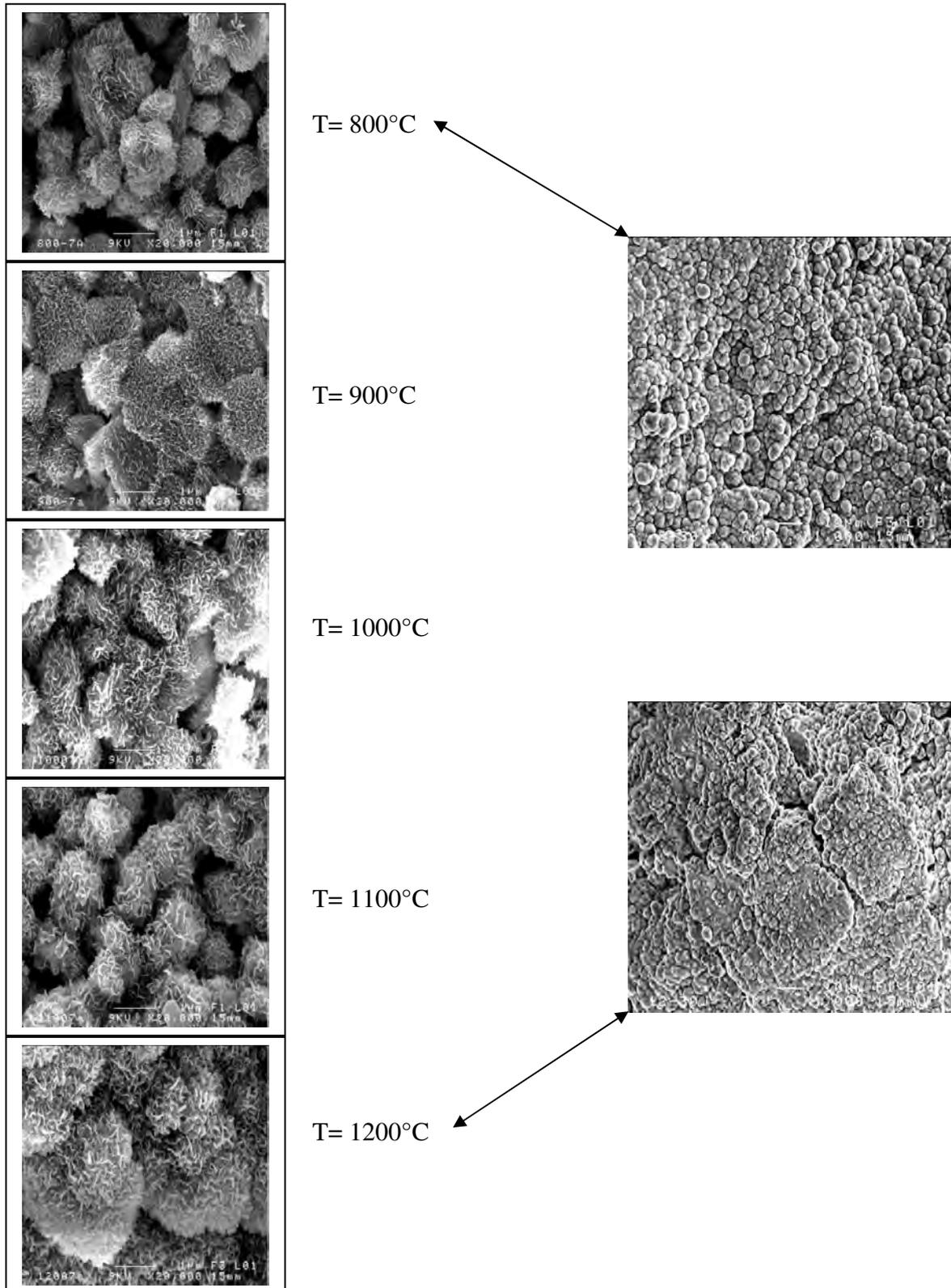


Figure IV-13: Micrographie des granules N-HA immergées dans le SBF en fonction du température de frittage.

Après 30J d'immersion Après 7J d'immersion

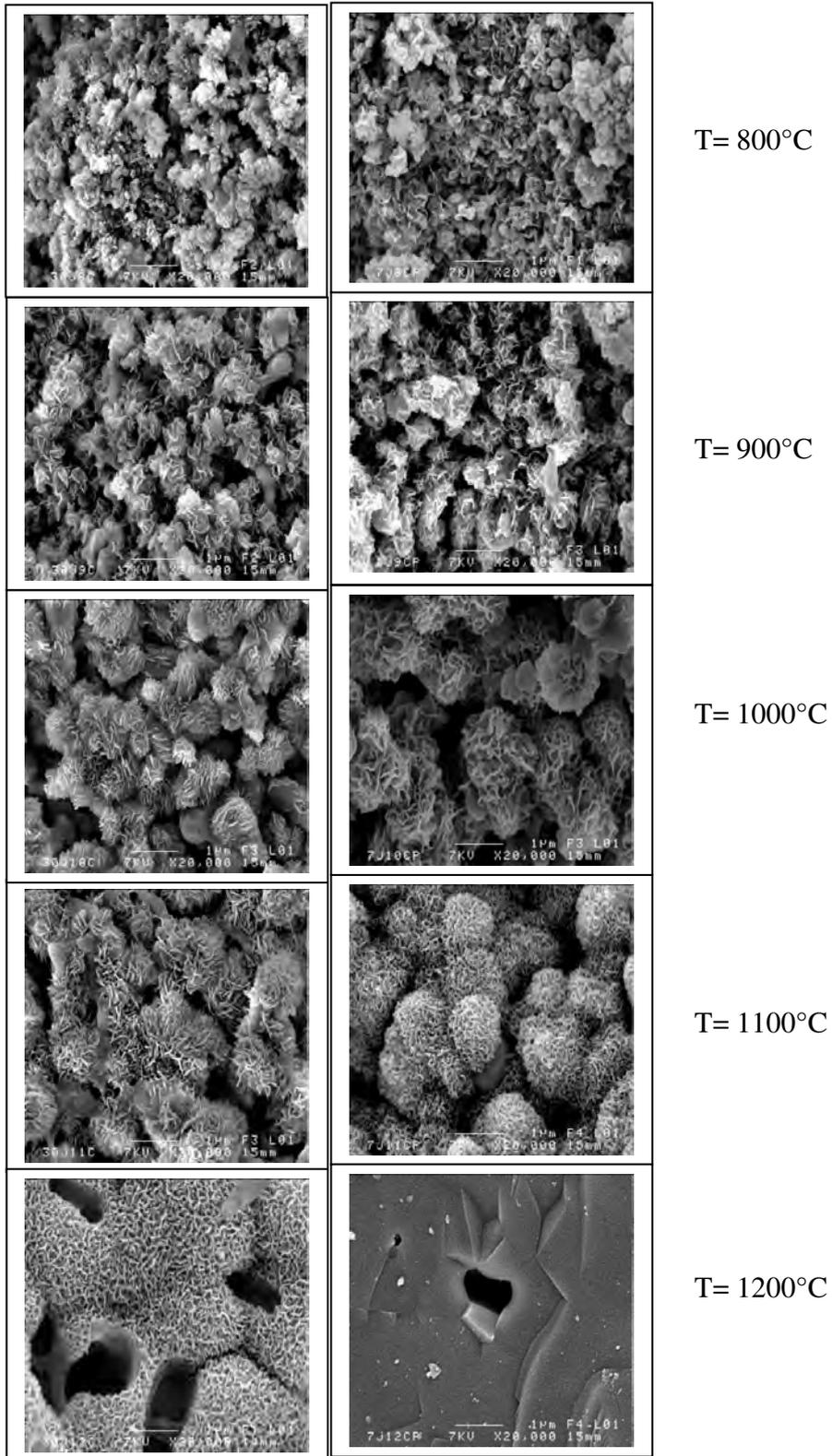


Figure IV-14: Micrographie des granules S-HA immergées dans le SBF en fonction du température de frittage.

L'apatite est formée à la surface des granules S-HA/ 800°C en particulier dans les pores et les cavités pour un délai de 7 jours. On peut conclure que la sursaturation est engendrée dans les pores et, par conséquent, le processus de précipitation est achevé entre les grains. Alors que pour un délai de 30 jours, la précipitation s'est produite dans les pores et à la surface des grains. Cependant, dans le cas de S-HA/900/1000/1100°C, on observe que l'apatite est formée à la surface des grains. La présence de phase soluble comme TCP favorise la formation de l'hydroxyapatite [148]. Mais, dans le cas des granules S-HA/1200°C, aucune phase d'apatite n'a été formée à la surface des grains même pour un délai d'immersion de 7 jours. On peut expliquer ce résultat par le fait que la formation de TetCP conduit à une dissolution des granules frittées à 1200°C, par conséquent, aucune formation d'apatite n'achève à la surface des granules immergées: la dissolution est plus dominante que la précipitation de l'hydroxyapatite. Ce résultat est en bon accord avec la variation de la concentration ionique de Ca dans le SBF, si le processus de dissolution est accéléré, le processus de précipitation est retardé. Le même résultat a été obtenu par Monteiro [77]; le β -phosphate tricalcique fritté présentait une mauvaise capacité d'induire la formation d'une couche phosphocalcique (Ca-P) soit *in vitro* et/ou *in vivo*. Alors, il est préférable d'utiliser la céramique biphasique composée de HA (non-resorbable) et TCP ou TetCP (résorbable) que d'utiliser HA pure ou des produits résorbables purs (TCP et TetCP). C'est qu'à 30 jours qu'on observe une couche uniforme de l'hydroxyapatite formée à la surface des granules immergées. Cela veut dire que la précipitation est déclenchée qu'après une forte dissolution de TetCP.

B.4.c- Analyse par IR des granules immergées

Les spectres IR (fig. IV-15) confirment les résultats d'ICP-OES et MEB.

Les spectres IR montrent que les granules N-HA immergées dans le SBF sont plus réactives que S-HA en formant une couche très dense d'hydroxyapatite carbonatée. Après 7 jours d'immersion, on observe une augmentation de l'intensité de la bande OH^{-1} à 630 et 3570 cm^{-1} , le renforcement des bandes caractéristiques de groupe de phosphate, ainsi que l'apparition de la bande caractéristique de Cl à 3540 cm^{-1} . Cela confirme la formation d'apatite après l'immersion dans le SBF, cette apatite est une apatite carbonatée quelque soit la température du frittage. Pour N-HA/1200°C, l'intensité de la bande de carbonate est faible pour un temps d'immersion de 7 jours; mais cette bande est bien distinguée après 30 jours d'immersion.

Cependant, pour les granules S-HA immergées pendant 7 jours, les spectres IR montrent que seulement pour les températures de frittage variant de 800 à 1100°C, une augmentation de l'intensité de la bande de groupes de phosphate et d'hydroxyle est observée ainsi que

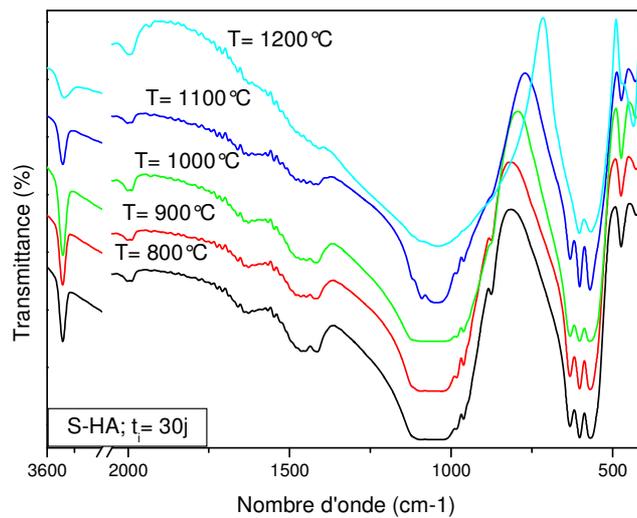
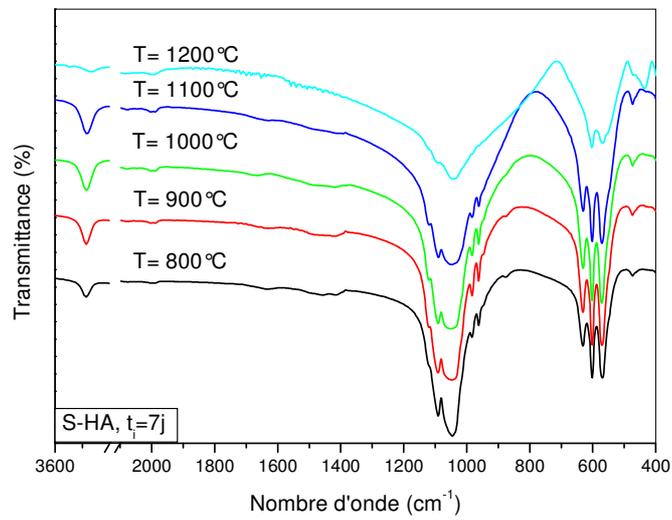
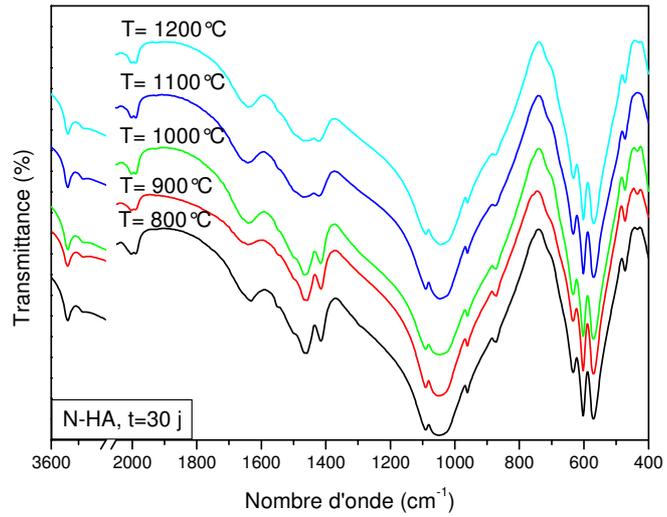


Figure IV-15: Spectres IR des granules N-HA et S-HA immergées dans le SBF en fonction du température de frittage.

l'apparition d'une faible bande de carbonate. Alors que pour les granules S-HA immergées pendant 30 jours, les spectres IR confirment la formation de l'apatite carbonatée pour chaque température de frittage, les bandes de phosphate et d'hydroxyle se sont renforcées ainsi que l'apparition de la bande de carbonate. En comparant l'intensité des bandes IR avant et après 30 jours d'immersion, on observe une diminution de l'intensité des bandes caractéristiques de TCP et TetCP après immersion, ce qui confirme leur forte dissolution dans le SBF par rapport au HA.

B.5- Bilan des résultats

En comparant tous les résultats après immersion de granules S-HA et N-HA, il peut être observé que la formation de l'apatite est liée aux phases formées à chaque température de frittage. La formation du β -TCP au cours de frittage du S-HA favorise la formation de l'hydroxyapatite carbonatée « bone like- apatite », mais la présence de TetCP comme phase majeure n'est pas trop souhaitable en raison de leur forte solubilité dans le SBF. La dissolution de cette phase a retardée la formation de HA carbonatée à plus de 15 jours d'immersion. Ces résultats sont en bon accord avec l'étude de Monteiro [77], ils ont montrés que la présence d'une phase mineure comme TCP a contribué à la dissolution des granules et à la précipitation de l'apatite. Ainsi, il a été signalé que la culture d'un produit biphasique (HA / TCP) conduit à la précipitation et la formation de l'apatite mieux que dans le cas d'un produit pure: β -TCP pure ou HA pure [80, 81].

Dans le cas de granules N-HA immergées, on peut observer que:

- la nouvelle phase d'apatite formée est plus dense dans le cas des granules frittées à des températures plus élevées,
- la nouvelle phase est une hydroxyapatite carbonatée « bone like-apatite »,
- le taux de dissolution augmente avec la température de frittage.

L'apatite de la matrice osseuse est caractérisée par un désordre intérieur du cristal et la substitution de différents d'ions en petites quantités comme le chlore, le fluore et d'autres éléments traces. L'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais à une apatite carbonatée de type A-B [27, 139]. La substitution de fluore dans l'os diminue sa dissolution, tels que dans les dents [84, 85]. En outre, la faible présence des [OH] dans l'apatite de l'os favorise sa dissolution. Il est reconnu que si la vitesse de dissolution de la céramique phosphocalcique augmente, la précipitation de l'apatite biologique dans le SBF est plus active [77]. Les spectres FTIR des granules frittées montrent que l'intensité des bandes caractéristiques du fluore et du chlore diminue avec la température de frittage. En conséquent, le processus de la dissolution et la précipitation s'active avec la température.

La comparaison des cinétiques de dissolution de Ca et P montre que la valeur maximale de la

dissolution de S-HA est moins que N-HA et, par conséquent, la précipitation de la nouvelle phase d'apatite est plus active en N-HA malgré que S-HA est caractérisée par un ratio molaire phosphocalcique (Ca / P) plus faible et d'une surface spécifique plus élevée que celui de N-HA, en plus, elle contient des phases secondaires (TCP et TetCP) plus solubles dans SBF que HA. Peut être la présence des éléments traces tels que le Si, Mg, Zn et Sr dans N-HA avec des quantités plus élevées que dans S-HA a un effet positif sur la bioactivité de HA. La substitution des ions, tels que le C, le Na, le Mg et des traces de Si et de Zn dans l'apatite, améliore la bioactivité du produit [9,83]. Donc différents facteurs peuvent influencer sur le processus de dissolution de HA et, par conséquent, la précipitation. Il est très clair que l'origine de HA; les éléments traces et la température de frittage ont une grande influence sur la formation de l'apatite.

B.6- Conclusion

Cette étude montre que la cinétique de dissolution de l'apatite augmente avec la température de frittage. Par conséquent, « bone like-apatite » se forme avec plus d'épaisseur à la surface de granules frittées à des températures plus élevées. Toutefois, en S-HA, la formation de l'apatite est très sensible à la phase existante à toute température de frittage. La formation du β -TCP active et favorise la formation de HA carbonatée. En revanche, la dissolution continue de TetCP est défavorable pour la précipitation de la phase phosphocalcique; elle retarde la formation de l'apatite carbonatée à plus de 15 jours d'immersion dans le SBF. On ne peut pas lier la formation de l'apatite à un seul facteur; il est très important d'étudier tous les facteurs tels que le ratio molaire (Ca/P), les éléments traces et la température de frittage, qui a un effet sur la densité et la composition chimique de HA, pour bien comprendre le phénomène de précipitation de l'apatite à la surface des granules d'hydroxyapatite.

C- Effet des additions ZrO_2 , Al_2O_3 , TiO_2 sur la stabilité thermique, propriétés mécaniques et la bioactivité de N-HA

Comme il est déjà mentionné dans le chapitre 2, l'hydroxyapatite est l'un des biomatériaux les plus utilisés pour la réparation et le comblement de défauts osseux chez l'homme en raison de sa ressemblance à la phase minérale osseuse et sa bonne biocompatibilité [74]. Cependant, ses propriétés mécaniques faibles sont l'une des plus graves obstacles pour des applications plus larges [8]. Il y'a eu beaucoup de travaux de recherche réalisés pour améliorer les propriétés mécaniques de l'HA par l'addition des oxydes céramiques ou des agents métalliques pour le renforcement de la structure apatitique [151-153].

Parmi les additions utilisés, on trouve: la zircone (ZrO_2) et l'alumine (Al_2O_3) qui améliorent les propriétés mécaniques sans dégrader la biocompatibilité de l'HA [153-156]. En outre, le titane a été aussi utilisé pour le renforcement de l'HA [157] et le phosphate tricalcique (TCP) [158]. Mais, l'ajout de ces oxydes pour renforcer HA conduit à sa décomposition et la formation d'autres phases (phosphate tricalcique (TCP) et le phosphate tétracalcique (TetCP)) [151-154]. Par exemple, l'ajout de ZrO_2 diminue la température de décomposition de HA en α ou β -TCP de 1300-1400°C à environ 1000-1150°C [153, 154]. Cette décomposition a une influence négative sur la densification et les propriétés mécaniques de l'HA puisque elle conduit à la formation d'une seconde phase et de la vapeur d'eau [129,151-153].

L'objectif de cette partie est d'étudier l'effet d'ajout de ces oxydes sur la décomposition, les propriétés mécaniques et la bioactivité de N-HA.

On a ajouté 5% (en masse) de chaque oxyde: ZrO_2 (stabilisé avec 12% de CeO_2), Al_2O_3 et TiO_2 à la poudre N-HA. Le mélange a été broyé pendant 4h avec des billes d'alumine dans l'eau distillée. Après le séchage, les poudres ont été compactées sous pression de 75 MPa (en ajoutant deux gouttelettes de H_2O). Le traitement thermique des pastilles est effectué à 1300°C pendant 2h avec une vitesse de chauffage de 6°C/min. N-HA pure est préparée et traitée thermiquement dans les mêmes conditions.

La densité des produits frittés est mesurée par la méthode d'immersion d'Archimède. Pour visualiser les grains soit avec le microscope optique (MO) ou le microscope électronique à balayage (MEB), la surface polie des pastilles traitées est attaquée par l'acide lactique (0,15 M) pendant 2 minutes. Le changement structural est suivi par le diffractomètre D800 et la spectroscopie infrarouge. La dureté Vickers (HV) est mesurée sous une charge de 300 g pour un temps d'indentation de 15 s. Pour l'essai de dégradation, tous les échantillons ont été placés dans une solution aqueuse d'acide lactique à un pH de 4 pendant 48 heures à 36,5°C. Les échantillons ont été récupérées, rincées avec l'eau distillée et séchées à 100°C pour mesurer le taux de perte

de masse. Les tests *in vitro* ont été réalisés sur des granules selon le protocole décrit dans le chapitre 3.

C.1- Morphologie des poudres broyées

Le broyage humide avec les billes d'alumine permet d'avoir des poudres fines. La figure IV-16 illustre la micrographie du N-HA pure. Cette dernière est constituée de petits grains sphériques de l'ordre de 0.1 - 0.5 μm .

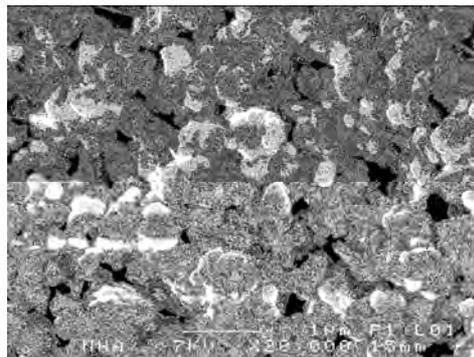


Figure IV-16: micrographie par MEB de la poudre N-HA broyée.

C.2- Altérations physico-chimiques après le traitement thermique

C.2.a- Densité des échantillons traités

Les échantillons N-HA pure (sans dopants) frittés à 1300°C sont très denses, le pourcentage de frittage est 97% de la densité théorique (3,156 g/cm³). On remarque que l'ajout de 5% de ZrO₂ n'affecte pas la densité de N-HA. Alors que, pour N-HA+5%TiO₂, la décomposition partielle de HA s'accompagne d'une diminution de la densité (~ 90% de la densité théorique des phases existantes). Cette diminution de la densité est due à la formation d'une deuxième phase et la vapeur d'eau [129]. Par contre, pour N-HA+5%Al₂O₃, la densité des pastilles est élevée (97% de la densité théorique de β -TCP).

C.2.b- Micrographie par MEB et l'analyse EDS des échantillons traités

L'attaque chimique par l'acide lactique permet de révéler les joints de grains du N-HA pure. Alors que pour les autres produits dopés (N-HA+oxyde); on a pas pu voir les joints de grains. Après l'attaque chimique, on a une surface sombre. Peut être, c'est à cause des oxydes présents dans la matrice ou la formation d'une seconde phase. On remarque que N-HA pure est formée des petits grains (~ 0,5 μm) et des grands grains allongés (~ 5 μm). Cela signifie que les échantillons ont une microstructure bidimensionnelle (fig. IV-17(a)).

La figure IV-17(b) illustre la microstructure des échantillons compactés et traités (sans attaque chimique); elle confirme bien les calculs de la densité. La microstructure de N-HA pure et N-HA+5% ZrO_2 ou Al_2O_3 est une structure très compacte avec la présence de quelques micropores ($\approx 1\mu m$); ce qui explique la densité élevée de ces échantillons ($\approx 97\%$ de la densité théorique). Toutefois, la microstructure de N-HA+5% TiO_2 montre la présence d'un nombre important des micropores fermés et ouverts de l'ordre de (1-3 μm); ce qui explique la diminution de la densité de cet échantillon (90% de la densité théorique des phases existantes).

La figure IV-18 résume les résultats de l'analyse EDS. Pour N-HA pure, on n'observe aucune différence de contraste à la surface de l'échantillon, cette dernière ne contient que les éléments Ca et P. Ainsi, le rapport (Ca/P) est constant sur l'ensemble de la surface de l'échantillon. On peut conclure qu'une seule phase existe: l'hydroxyapatite.

Alors que pour les hydroxyapatites dopées, on peut distinguer la présence de deux phases différentes. Pour les échantillons qui contiennent 5% de ZrO_2 ou TiO_2 , les images et l'analyse EDS révèlent la présence de la phase HA ou β -TCP (régions sombres), alors que la deuxième phase dispersée dans la matrice apatitique est le ZrO_2 ou le $CaZrO_3$ pour N-HA+5% ZrO_2 et TiO_2 ou $CaTiO_3$ pour N-HA+5% TiO_2 (régions brillantes). La densité obtenue, les phases et la microstructure de N-HA+5% ZrO_2 sont en bon accord avec ceux rapportés par Ramachandra [153].

Pour N-HA+5% Al_2O_3 , sa micrographie montre que les particules Al_2O_3 sont relativement fines et très dispersées dans la matrice HA; les phases de HA et Al_2O_3 phases sont distinguées par le contraste des zones brillantes et sombres, respectivement et l'analyse EDS. Le même résultat a été trouvé par Jarcho [159]. Ainsi, les analyses EDS montrent que les régions sombres sont riches en deux éléments Ca et Al qui correspondent à la formation de $CaAl_2O_4$ (le rapport massique entre Ca, Al et O correspond à cette phase).

Il y'a peu de travaux qui ont utilisés le TiO_2 comme dopant pour améliorer les propriétés mécaniques de l'HA [160,161]; en général c'est l'HA qui est utilisée comme revêtement de TiO_2 pour bénéficier de sa bioactivité.

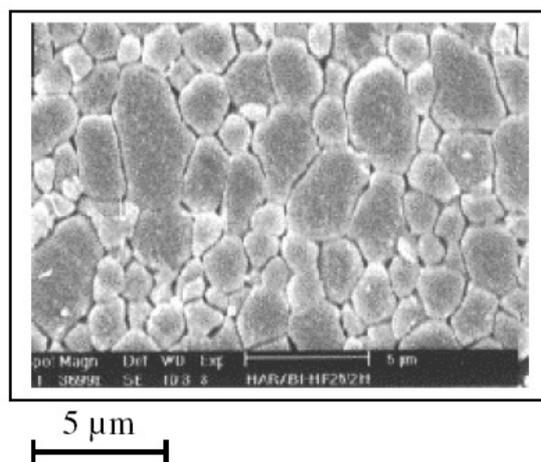
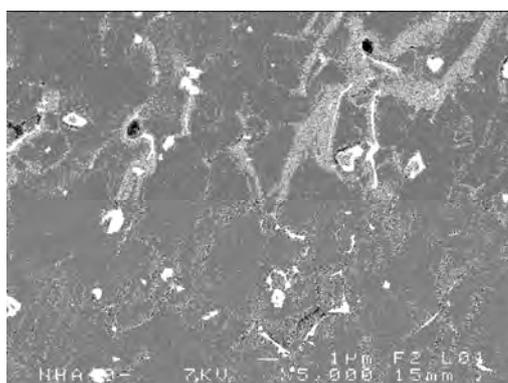
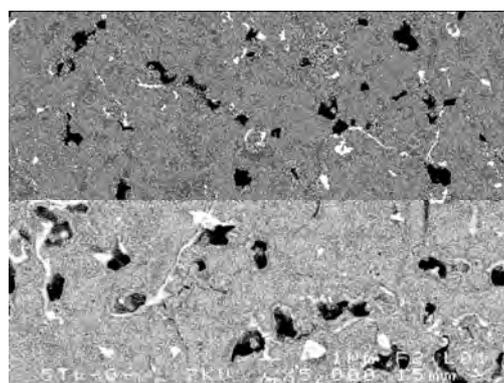


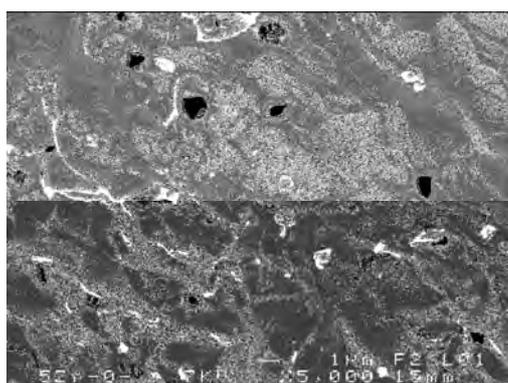
Figure IV-17(a): Morphologie par MEB de la surface du N-HA, traitée à 1300°C, après l'attaque chimique.



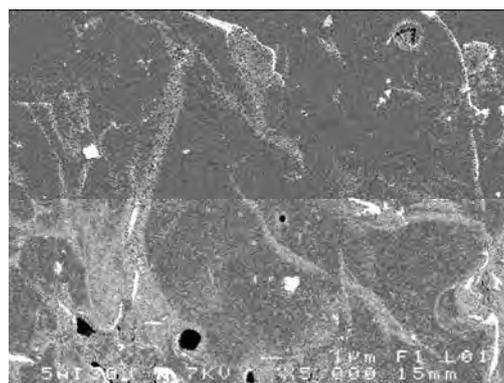
N-HA



N-HA+ 5% TiO₂



N-HA+ 5% ZrO₂



N-HA+ 5% Al₂O₃

Figure IV-17(b): Morphologie par MEB de la surface du N-HA pure et dopées, traitées à 1300°C (sans l'attaque chimique).

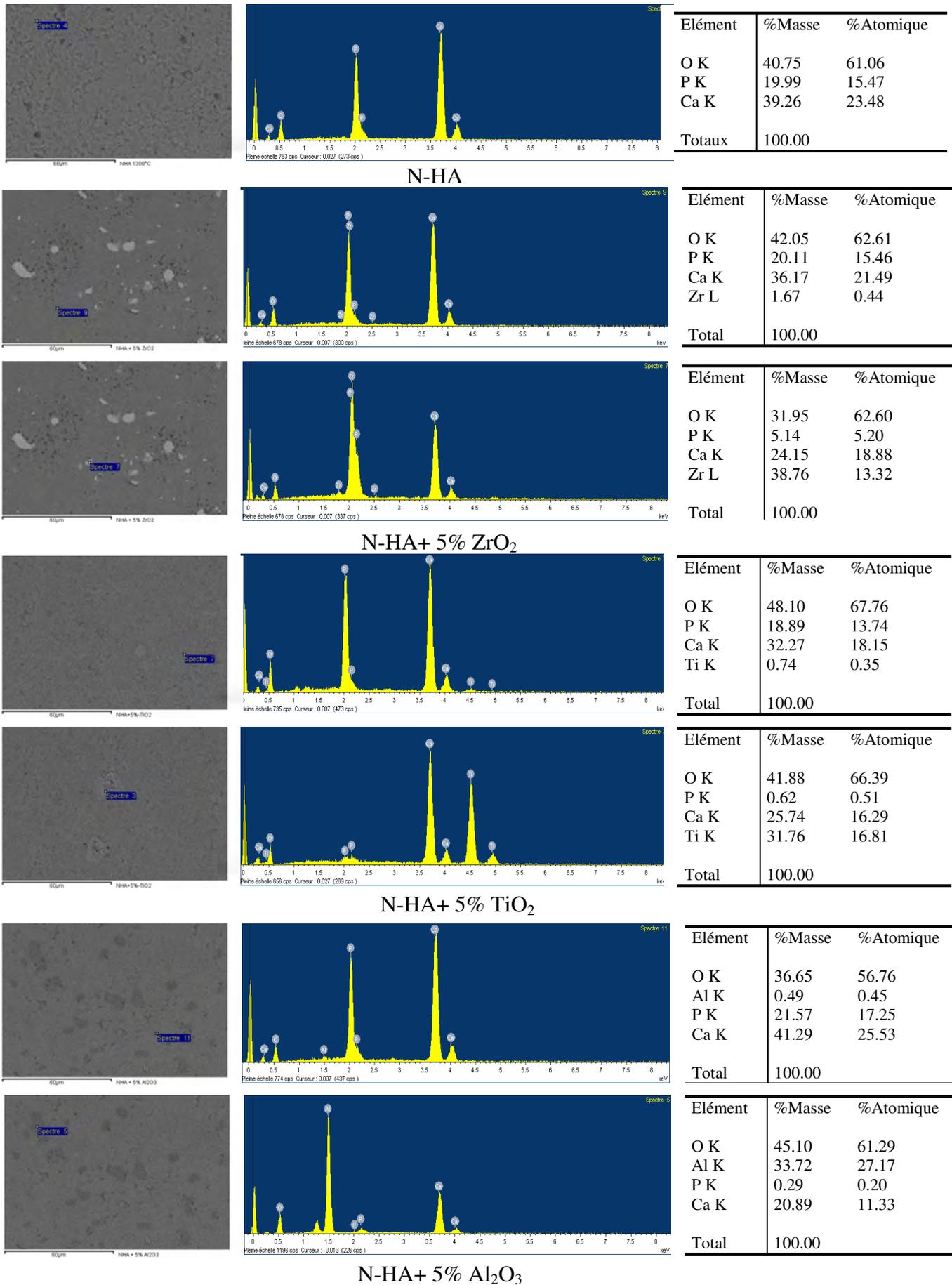


Figure IV-18: Analyses EDS de la surface du N-HA pure et dopées, traitées à 1300°C.

C.2.c- Spectroscopie IR des échantillons traités

La figure IV-19 illustre les résultats d'analyse par le spectromètre IR des échantillons traités à 1300°C.

Les spectres IR confirment qu'aucune formation de la nouvelle phase n'a eu lieu au cours du traitement thermique de N-HA pure, la seule phase présente dans ces échantillons traités à 1300°C c'est l'hydroxyapatite. Au contraire, de nouveaux groupes sont apparus dans des spectres IR des N-HA dopées frittés à 1300°C, les bandes à 943, 975 et 1121 cm^{-1} correspondent aux bandes caractéristiques des groupes PO_4^{3-} de la phase β -TCP [141]. Ces bandes ne sont pas bien distinguées dans le cas de la N-HA+5% ZrO_2 à cause de la faible quantité de β -TCP.

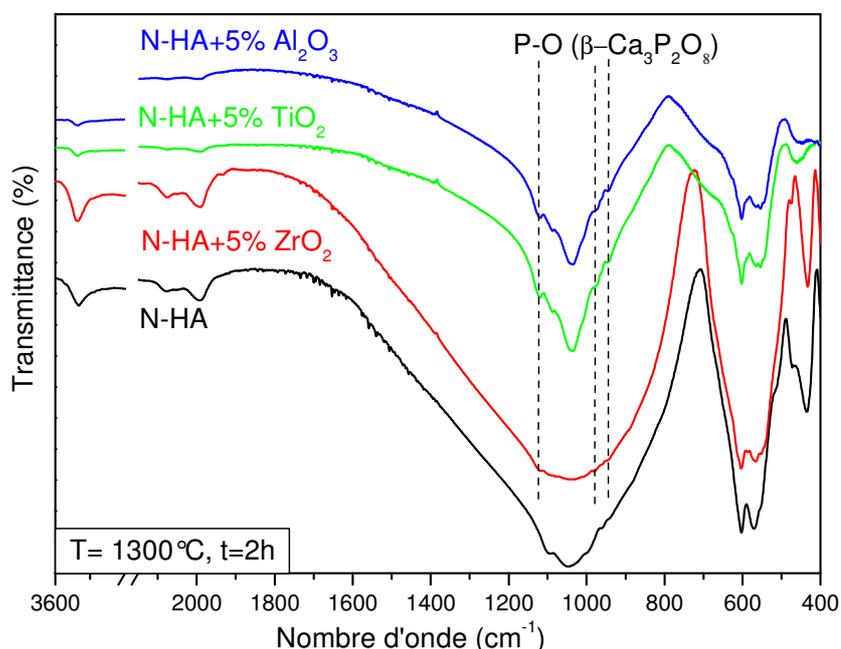


Figure IV-19: Spectres IR de N-HA pure et dopées, traitées à 1300°C.

C.2.d- Diagrammes de diffraction RX des échantillons traités

La figure IV-20 montre les diagrammes de diffraction RX de différentes N-HA dopées traités ainsi que N-HA pure.

Le diagramme de diffraction RX montre que le traitement thermique à 1300°C pendant 2 heures n'affecte pas la structure de N-HA pure (fig. IV-20(a)). Alors que pour les poudres contenant ZrO_2 , le diagramme de diffraction RX montre une faible décomposition de N-HA en phosphate tricalcique (β -TCP) (fig. IV-20(b)). Normalement la décomposition de HA en TCP s'accompagne par l'apparition de CaO qui forme avec le ZrO_2 les carbonate de zirconium (CaZrO_3) [162, 163], on arrive pas à observer cette phase sur le diagramme, peut être elle est présente en faible quantité; en plus on observe un petit élargissement à gauche du pic d'intensité

maximale de l'HA qui correspond probablement à cette phase. Par contre, pour la N-HA dopée par TiO_2 , une décomposition partielle de N-HA en β -TCP s'est produite. Elle s'accompagne par la formation de titane de calcium (CaTiO_3) (fig.IV-20(c)). Cependant la diffraction de RX de N-HA dopée par Al_2O_3 révèle une décomposition presque totale de N-HA en β -TCP (fig. IV-20(d)) et la présence d'une quantité infime de Al_2O_3 libre. En outre, on observe un élargissement du pic à $30,60^\circ$ qui correspond à CaAl_2O_4 détecté précédemment par les analyses EDS. Le pic de diffraction le plus intense de cette phase est très proche de celui de β -TCP ce qui a établie une difficulté à détecter cette phase dans les N-HA+5% Al_2O_3 .

L'analyse DRX est en bon accord avec les résultats de la spectroscopie IR.

Le degré approximatif de décomposition de N-HA en β -TCP a été quantifiée en comparant l'intensité maximale de pic de diffraction de β -TCP (tableau IV-4) à la somme de l'intensité maximale de pic de diffraction de N-HA et β -TCP formées au cours de frittage. On peut apercevoir que Al_2O_3 active la décomposition de N-HA en β -TCP plus que TiO_2 et ZrO_2 successivement.

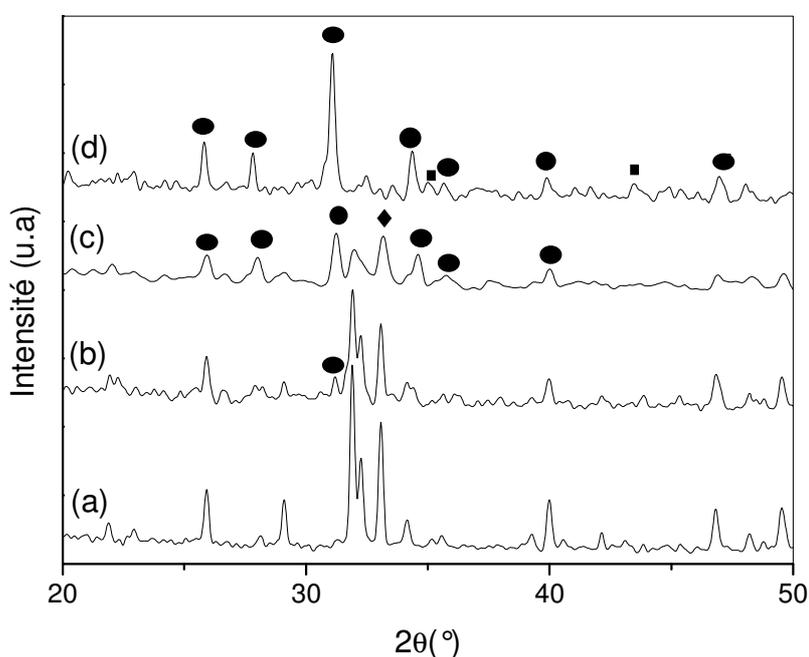
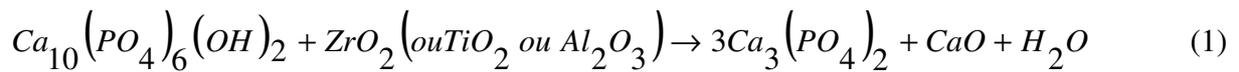


Figure IV-20: Diagrammes de diffraction RX des poudres traitées à 1300°C pendant 2h.

(a): N-HA, (b): N-HA+ 5 wt% ZrO_2 , (c): N-HA+ 5 wt% TiO_2 , (d): N-HA+ 5 wt% Al_2O_3 .
 (●): β -TCP, (◆): CaTiO_3 , (■): Al_2O_3 .

La décomposition HA en présence de ZrO_2 ou TiO_2 ou Al_2O_3 peut être clarifiée par les équations suivantes:



Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Kim, Heimann et Wu [129, 162, 163] pour N-HA+5% ZrO_2 et Kim [164] pour N-HA+5% Al_2O_3 .

C.3.e- Perte de masse dans l'acide lactique et la microdureté Vickers

Les résultats de pourcentage de perte de masse des échantillons traités et imprégnés dans l'acide lactique sont présentés dans le tableau IV-5. On remarque que les pastilles contenant une quantité importante de β -TCP dissolvent plus rapidement que N- HA pure. Par conséquent, le taux de dégradation est proportionnel au pourcentage de β -TCP formée dans N-HA. Cette dissolution des pastilles est à cause de la présence de β -TCP qui est très soluble dans un milieu aqueux par rapport au HA pure [147]. Ce résultat est aussi en accord avec ceux rapportés par Jarcho et Klein [159, 165]. La seule différence, dans cette étude, le taux de dissolution est inférieur à celui observé par Jarcho [159]. On peut suggérer que la présence des céramiques bioinertes tels que: ZrO_2 , TiO_2 et Al_2O_3 restreint la dissolution de HA.

Tableau IV-5: Degré de décomposition de HA, pourcentage de perte de masse et la microdureté Vickers de HA pure et dopées.

	N-HA	N-HA+ 5% ZrO_2	N-HA+5% TiO_2	N-HA+ 5% Al_2O_3
Degré de décomposition de HA *	0	10	51	92
Taux de perte de masse (%)	0.41	0.49	0.54	0.9
Microdureté Vickers (GPa)	0.61	0.94	0.67	0.69

* Degré de décomposition de HA = $I(\beta\text{-TCP})/I((\beta\text{-TCP})+I(\text{HA}))$

Les valeurs de la microdureté Vickers des échantillons frittés sont présentées dans le tableau IV-5. On remarque qu'il y'a une augmentation importante de la microdureté lorsque TiO_2 ou Al_2O_3 ou ZrO_2 sont ajoutés à N-HA. Malgré qu'on ajouté un faible pourcentage de trois oxydes, mais ils ont conduit à une amélioration importante de la microdureté de l'hydroxyapatite. Ces résultats sont en bon accord avec ceux rapportés dans la littérature [153-157]. Une valeur de la microdureté de l'hydroxyapatite pure mentionnée par Hench [4] est 0,6 GPa (même valeur que

celle de cette étude). Alors que dans une autre étude [157], la valeur de la microdureté de HA monolithique frittée jusqu'à 1350°C était de l'ordre de 0,9 GPa. Peut-être, cette différence est due au fait que les échantillons n'étaient pas frittés dans les mêmes conditions. Plus la température augmente, plus la densité et les propriétés mécaniques s'améliorent du produit.

C.4- Altérations physico-chimiques après immersion dans le SBF:

C.4.a- Variation de la concentration ionique de Ca et P avec le temps d'immersion dans le SBF

La variation de la concentration ionique du calcium et le phosphore avec le temps d'immersion dans le SBF est évaluée avec la méthode ICP-OES. Les résultats sont présentés dans la figure IV-21.

Pour N-HA, une faible diminution de la concentration en Ca et P après 45 min d'immersion dans le SBF a été produite. Après 45 min, la variation de Ca et P reste constante jusqu'à 7 jours. Après 15 jours d'immersion dans le SBF, la concentration en Ca et P diminue rapidement et reste constante jusqu'à 30 jours. Environ 20 ppm de Ca et de 8 ppm de P ont migré du SBF à la surface de granules N-HA immergées pour former des cristaux d'apatite.

Pour le N-HA+5% ZrO₂ ou TiO₂, après 30 min d'immersion, la variation de Ca et P reste constante jusqu'à 1 jour. Après ce délai, la concentration en Ca et P diminue rapidement et continue à diminuer lentement jusqu'à 30 jours. Environ 45 ppm de Ca et 23 ppm de P dans le cas de N-HA +5% ZrO₂ et 40 ppm de Ca et 19 ppm de P dans le cas de N-HA+5% TiO₂ ont migré du SBF pour former des cristaux d'apatite à la surface des granules immergées. Pour le N-HA+5% Al₂O₃, la concentration en Ca et P reste constante avec le temps d'immersion. Aucune dissolution importante de granules N-HA+5%Al₂O₃ dans la solution SBF, ou migration des ions Ca et P présents dans le SBF vers la surface des granules, ne s'est produite. Cela nous a conduit à conclure que le processus de précipitation de l'apatite n'a pas engendré à la surface des granules immergées dans le SBF.

Selon la théorie de Kim, la surface HA négative attire les ions Ca présents dans le SBF pour former une couche de phosphate de calcium amorphe riche en Ca (ACP). Après immersion dans le SBF, la surface HA expose leurs groupes négatifs: l'hydroxyle et le phosphate. La deuxième étape, les ions phosphate dans le SBF interagissent avec la première couche précédente pour former une couche ACP pauvre en Ca. Enfin, cette dernière se cristallise pour former « bone like-apatite » [129].

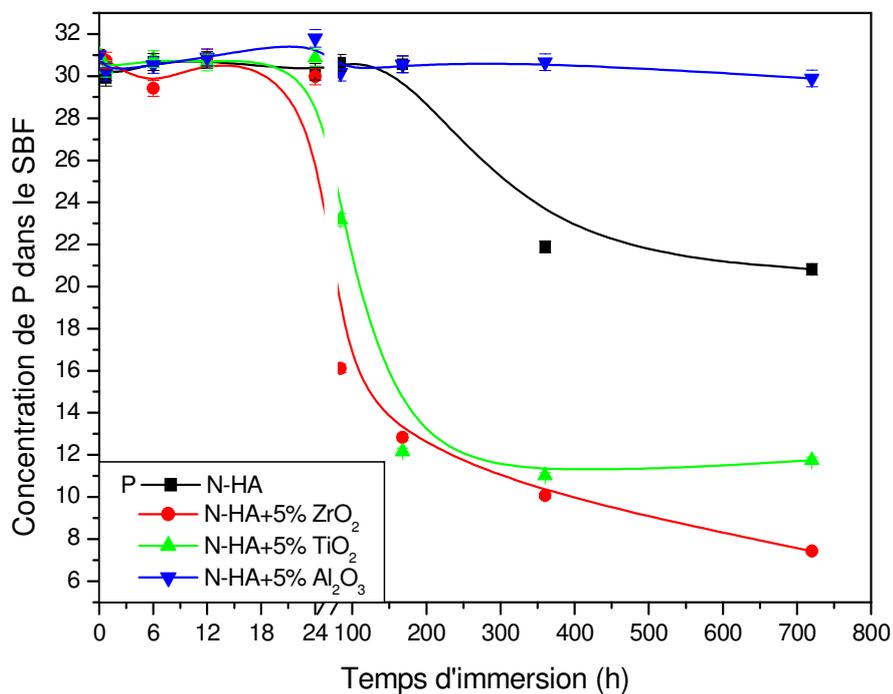
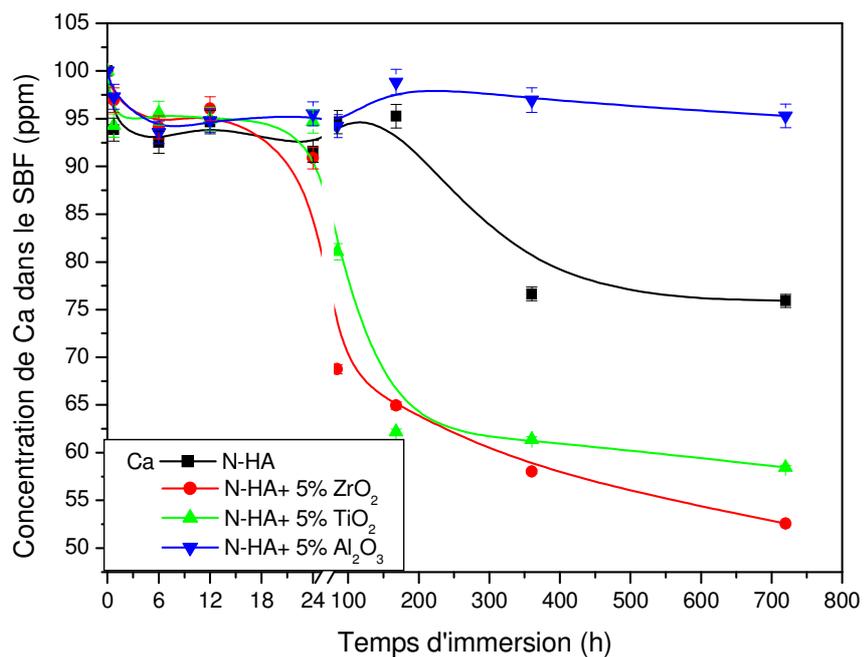


Figure IV-21: Variation de la concentration ionique de Ca et P dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

C.4.b – Micrographie par MEB et l'analyse EDS des granules immergées dans le SBF

La figure IV-22 présente les images par MEB des granules immergées dans le SBF après 7 et 30 jours.

Pour les granules N-HA pure frittées à 1300°C, on observe, qu'après 7 jours, aucune nouvelle phase ne s'est formée à la surface des granules immergées. Toutefois, après 30 jours d'immersion dans le SBF, la surface est recouverte par des cristaux d'apatite en formant une couche épaisse phosphocalcique. Cependant pour le même délai d'immersion, la surface des granules N-HA+5% ZrO₂ ou TiO₂ est recouverte par les cristaux d'apatite. Cette nouvelle couche uniforme est très épaisse après 30 jours d'immersion dans la solution physiologique SBF. Mais, on observe que la surface des granules immergées n'est pas totalement recouverte par la nouvelle phase formée. Alors que pour N-HA+5% Al₂O₃, l'apatite n'a pas été formée à la surface des grains immergés, même après 30 jours d'immersion dans le SBF.

Les analyses EDS (fig.IV-23) montrent que les régions les plus pauvres en Zr ou Ti sont très riches par les deux éléments Ca et P qui représentent les éléments majeurs de l'hydroxyapatite. Cependant, les régions riches en Zr ou Ti sont les plus pauvres en P. Cela nous laisse conclure que la formation de l'apatite n'a pas eu lieu dans ces régions.

La formation de l'hydroxyapatite est accompagnée par la substitution d'autres éléments existants dans le SBF comme: Na, Mg et Cl.

C.4.c- Analyse par IR des granules immergées

Le spectre infrarouge (fig.IV-24) confirme les résultats l'ICP-OES et MEB-EDS.

Pour N-HA pure et N-HA+5% ZrO₂ ou TiO₂, l'intensité des bandes des groupes de phosphate et d'hydroxyle est renforcée. Ainsi, on observe l'apparition des nouvelles bandes à 1420 et 1480 cm⁻¹ caractéristiques des carbonates. La seule différence entre les spectres, c'est que la bande de carbonate dans N-HA pure est faible. Donc l'apatite formée à la surface des granules immergées dans le SBF est une apatite carbonatée. Alors que pour N-HA+5% Al₂O₃, on observe ni renforcement de l'intensité des bandes caractéristiques de l'hydroxyle et de phosphate; ni apparition des bandes caractéristiques des carbonates. Ce qui confirme qu'aucune phase d'apatite n'est formée à la surface de ces granules immergées.

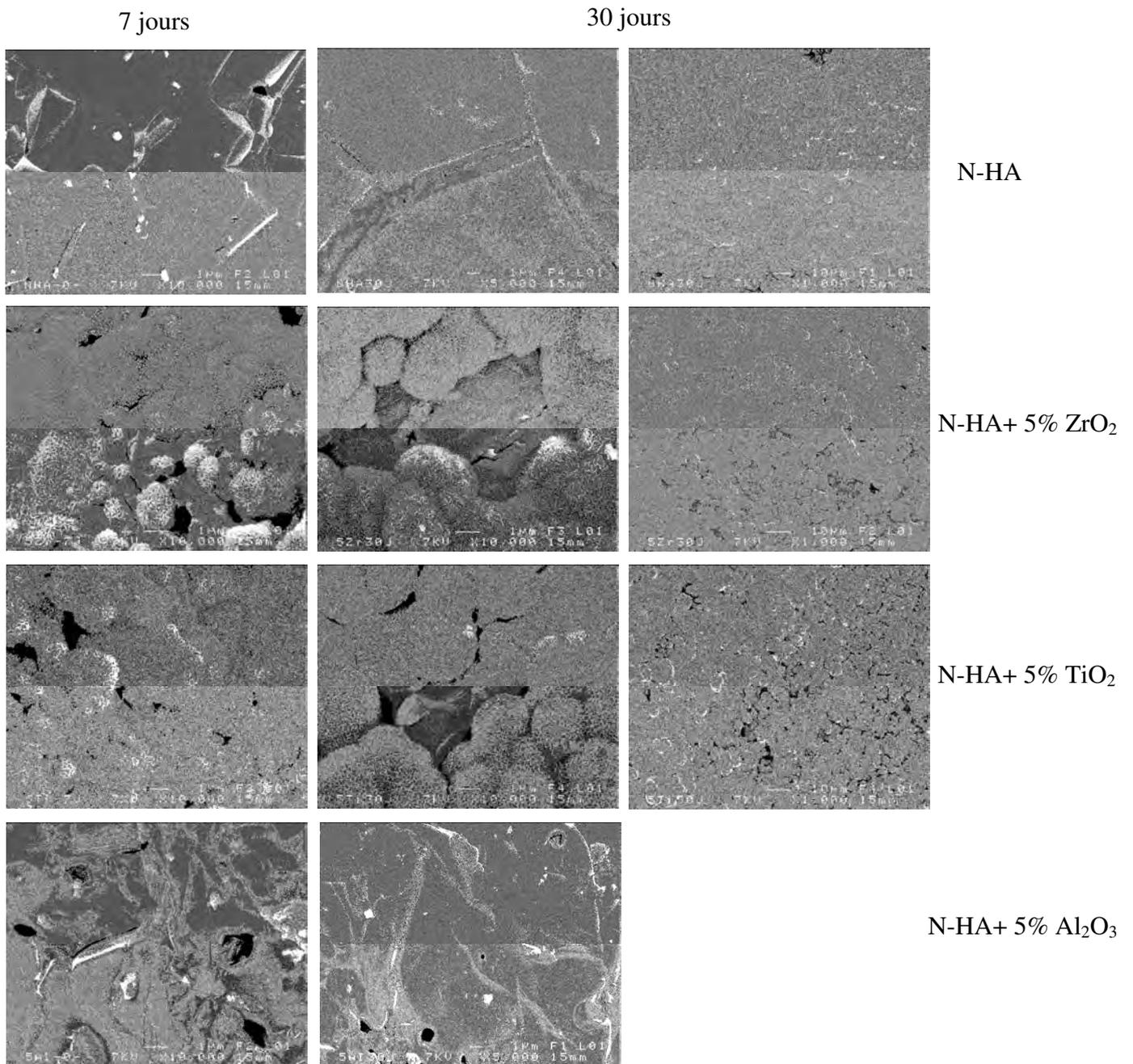


Figure IV-22: Micrographie des granules N-HA pure et dopées après 7 et 30 jours d'immersion dans le SBF.

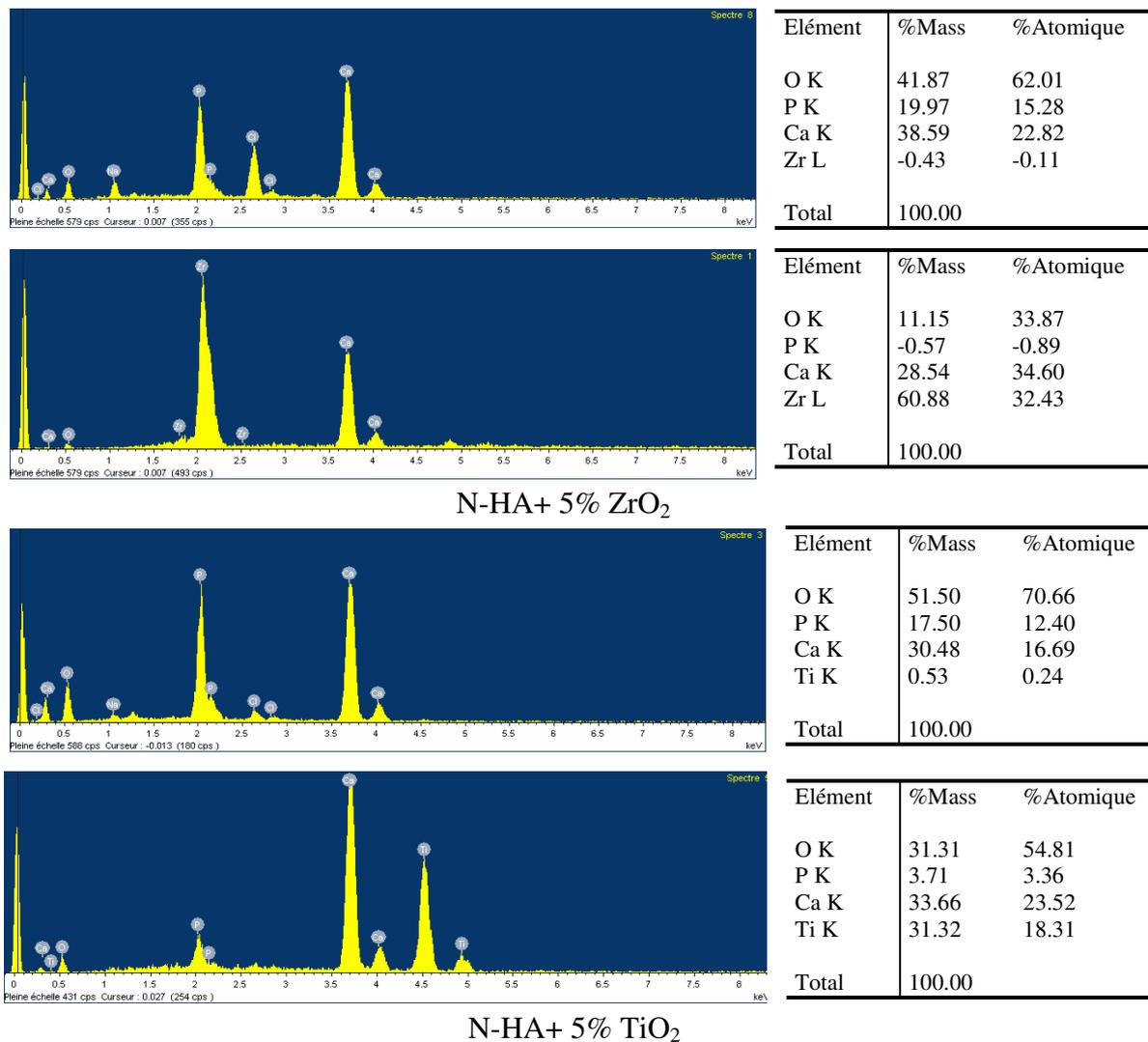


Figure IV-23: Analyses EDS de la surface des granules N-HA+ 5% ZrO₂ et N-HA+ 5% TiO₂ après 30 jours d'immersion dans le SBF.

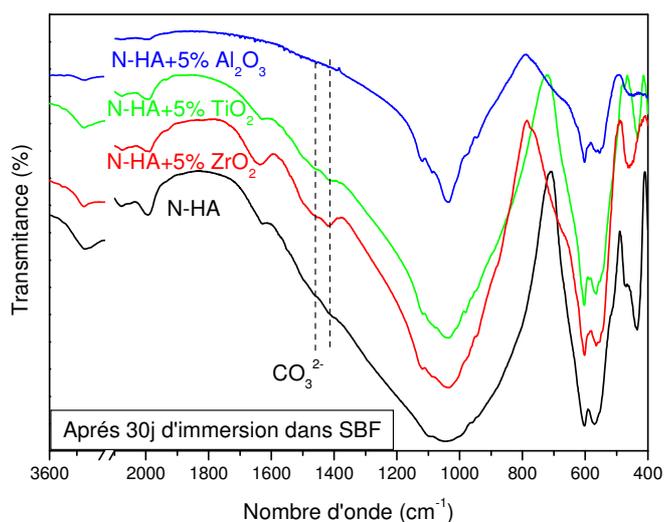


Figure IV-24: Spectres IR de N-HA pure et dopées après 30 jours d'immersion dans le SBF.

C.5- Bilan des résultats

La comparaison des résultats obtenus par ICP-OES de N-HA pure frittée à 1300°C à ceux de N-HA pure frittée à une température moins que 1300°C [166] permet d'observer:

- pas de dissolution des granules N-HA, frittées à 1300°C, a eu lieu dans le SBF;
- la précipitation de l'apatite est retardée à 7 jours d'immersion. Cependant, la précipitation de l'hydroxyapatite à la surface des granules frittées à une température moins que 1300°C est achevée après 12 heures d'immersion dans le SBF.

Les résultats précédents [166] montrent que le processus de dissolution-précipitation est accéléré quand la température augmente. Cependant, pour les granules N-HA frittées à 1300°C, la concentration ionique de Ca et P ne dépasse pas la concentration initiale de ces éléments dans le SBF. Les échantillons N-HA frittés à 1300°C sont très denses (97% de la densité théorique) ce qui explique la non dissolution des granules. Des études ont montrés que le processus de précipitation est activé lorsque la porosité augmente [167, 168]. Niwa a montré que la capacité de formation de l'apatite carbonatée à la surface de l'hydroxyapatite frittée diminue quand la température augmente [76]. Ainsi, Kim a montré que la température de frittage du HA pourrait avoir une influence non pas en terme de processus, mais en terme de cinétique de formation de l'apatite biologique à la surface des produits immergés: plus la température augmente, plus la négativité de la surface d'hydroxyapatite diminue, plus le temps d'immersion correspondant à la formation de l'apatite augmente [48].

La comparaison des résultats de N-HA pure et dopées (N-HA+5% ZrO₂ ou TiO₂) montrent que la présence de β -phosphate tricalcique active la formation de l'apatite. Le processus de formation de l'hydroxyapatite est avancée à 1 jour au lieu de 7 jours; ainsi le taux des ions Ca et P migrés de la solution SBF vers la surface des granules N-HA dopées est plus grand que celui dans le cas de N-HA pure. Ces résultats sont en bon accord avec les études de Monteiro [77], ils ont montrés que la présence d'une phase mineure tel que le β -TCP active le processus de dissolution des granules et par conséquent la précipitation de l'apatite. La culture de biphase (HA/TCP) conduit à la précipitation d'une apatite similaire à celle du l'os mieux que TCP ou HA pure [77,80 ,81].

Mais en revanche, la présence d'oxydes inertes ne conduit à aucune formation d'apatite dans les régions riches en ces oxydes. Ainsi, dans le cas de granules N-HA+5% Al₂O₃, le processus de dissolution-précipitation n'a pas eu lieu, même après 30 jours d'immersion dans le SBF. On peut expliquer ce résultat par:

- la densité élevée des échantillons (97% de la densité théorique) conduit à l'élimination des pores et donc à la désactivation du processus de précipitation [167, 168].
- la présence du β -phosphate tricalcique (β -TCP) qui constitue la phase majeure dans les échantillons N-HA+5% Al₂O₃. La phase β -TCP est caractérisée par sa faible capacité

d'induire la formation de phosphate de calcium *in vitro* et *in vivo* comme il l'a montré Monteiro dans ses travaux [77].

- la dispersion de fines particules Al_2O_3 dans le phosphate tricalcique. Al_2O_3 est un oxyde bioinert: aucune croissance osseuse ne peut se produire à la surface du l'implant inerte, seulement une fine couche fibreuse intermédiaire sans contact direct entre la céramique et l'os se forme. Cela conduit au détachement des prothèses céramiques de ce type [169-171].

Donc, il y'a différents facteurs qui influencent la bioactivité des N-HA + 5% Al_2O_3 .

C.6- Conclusion

L'objectif de cette partie est d'étudier l'effet des oxydes inertes sur les propriétés mécaniques et la bioactivité d'une hydroxyapatite naturelle.

Malgré qu'on ajouté que 5% (en masse) de chaque oxyde, l'hydroxyapatite est décomposée après le traitement thermique en formant le β -phosphate tricalcique. Ainsi, la mesure de la microdureté montre que ces oxydes améliorent les propriétés mécaniques de l'hydroxyapatite.

En ce qui concerne la bioactivité de ces HA dopées, les résultats obtenus ont montrés qu'il existe de nombreux facteurs qui influencent la bioactivité de N-HA tels que: la densité, les phases secondaires formées pendant le traitement thermique et la présence d'oxydes inertes. Pour N-HA pure, le processus de précipitation du l'hydroxyapatite carbonatée a été retardé jusqu'à 7 jours d'immersion dans le SBF. La densité élevée ainsi que la température de frittage des granules N-HA pure stagne la dissolution de granules et, par conséquent, la formation de l'apatite à leur surface. Toutefois, la formation de β -TCP au cours de traitement thermique de N-HA+5% ZrO_2 ou TiO_2 active la précipitation de l'apatite, mais seulement dans les régions les plus pauvres en Zr ou Ti. En plus, l'apatite est formée dès les premières heures d'immersion dans le SBF. Cependant, la densité élevée des échantillons N-HA+5% Al_2O_3 , la présence d'oxyde inerte ainsi que la formation de β -TCP comme une phase majeure ont un effet négatif sur la bioactivité de ces échantillons: l'apatite ne s'est formée pas, même après 30 jours d'immersion dans le SBF.

D- Effet de la porosité sur la cinétique de bioactivité de l'hydroxyapatite

L'hydroxyapatite (HA) ainsi que tout les matériaux phosphocalciques connexes (calcium phosphate: CP) ont été largement utilisés comme implants à cause de la semblance de leurs compositions chimiques à celle de l'os; ainsi ils sont très biocompatibles [159,172 ,173]. Au cours de deux dernières décennies; l'attention est attirée vers l'utilisation des matériaux poreux HA/CP qui permettent une meilleure croissance de l'os et par conséquent un meilleur attachement [174-178]. L'implantation des matériaux poreux HA/CP a montrée l'importance de la macroporosité pour une réponse histologique. La taille des pores doit être suffisante pour recueillir le développement des tissus organiques et inorganiques ainsi que la croissance de l'os [179]. Hulbert a montré qu'une taille de pore de 100 μm est nécessaire pour une bonne fonction d'un implant; alors que l'ostéoconduction exige une taille de pore plus que 200 μm [180]. Cependant, la présence des pores et surtout les macropores dans les implants affaiblie leurs propriétés mécaniques ce qui limite leurs utilisations dans des zones où les contraintes appliquées sont importantes.

Les pores des os sont parfaitement interconnectés pour permettre la vascularisation et le flux de nutriments organiques et inorganiques. La taille des pores est de telle sorte que les ostéoblastes et les ostéoclastes, ainsi que les cellules présentes dans le sang humain, peuvent facilement se lier à ces pores et se déplacer aisément. Pour cela, la biocéramique doit simuler la distribution de taille des pores dans les os pour être désignée comme ostéoconductrice [181].

Donc, la céramique poreuse doit contenir des pores fermés et des pores ouverts:

- les pores ouverts communiquent avec l'extérieur du matériau, ils peuvent être théoriquement remplis avec un fluide,
- alors que les pores fermés sont isolés dans le matériau.

Ainsi, on peut divisé cette porosité selon la taille des pores en:

- microporosité: correspond aux espaces entre les cristaux (ou les granules) de la céramique. Les micropores se caractérisent par une taille réduite (1 à 10 μm); ils permettent seulement aux fluides biologiques de se diffuser. Ils ne peuvent pas être colonisés par les cellules.
- macroporosité: se traduit par l'existence des pores calibrés, créés par l'ajout d'un porogène au cours du frittage. Contrairement aux micropores, les macropores sont de taille comprise entre 100 et 600 μm permettant leur colonisation par les cellules.

Le but de cette partie est d'étudier l'influence de la porosité (le taux de porosité, le type de porosité et la taille des pores) sur la bioactivité du N-HA.

On a ajouté le naphthalène comme porogène pour la création des pores dans l'hydroxyapatite naturelle. Des pourcentages massiques variés du naphthalène (0, 5, 15 et 30 %), ayant une granulométrie de 100-600 μm , ont été ajoutés à N-HA ayant une granulométrie de 40-63 μm . Le mélange de ces deux poudres a été effectué dans le mélangeur pendant 5 min. Ensuite; ces poudres ont été compactées sous une pression de 150 MPa. Pour éliminer le naphthalène, un prétraitement sous vide des pastilles compactées a été effectué à 220°C pendant 3h avec une vitesse de chauffage de 1°C/min. Enfin, pour la consolidation des pastilles, un frittage des pastilles a été réalisé, à 1225°C pendant 2h avec une vitesse de chauffage de 5°C/min.

Les tests *in vitro* ont été réalisés selon le protocole décrit dans le chapitre 3.

D.1- Altérations physico-chimiques des pastilles traitées

D.1.a- Diagramme de diffraction RX et le spectre IR de N-HA frittée

Le traitement thermique de N-HA, à 1225°C, n'a pas effectué aucun changement structural. On a toujours de l'hydroxyapatite seulement, aucune nouvelle phase n'est détectée (fig.IV-25). Ce résultat est confirmé par l'analyse par spectrométrie IR; on a que les bandes caractéristiques de l'hydroxyapatite (fig.IV-26).

D.1.b- Variation de la densité et la porosité en fonction du pourcentage du naphthalène

La densité apparente des pastilles poreuses, après traitement thermique, est calculée selon la méthode directe en mesurant la masse et les dimensions (diamètre et épaisseur) de chaque pastille:

$$\rho = \frac{M}{V}$$

ρ : la densité apparente (g/cm^3).

M: la masse de la pastille frittée (g).

V: le volume de la pastille frittée (cm^3).

La figure IV-27 illustre le calcul de la densité apparente. On observe que la densité apparente diminue de 2.55 à 1.45 g/cm^3 quand le pourcentage du porogène augmente de 0 à 30 % (en masse). Ce résultat est évident; puisque plus on ajoute le porogène, plus on augmente le volume occupé par le porogène dans la pastille. Par conséquent, après le traitement thermique, le volume des pores créés par l'élimination du porogène augmente. La figure IV-28 montre que la porosité augmente et la densité relative diminue quand le pourcentage du porogène varie de 0 à 30 % (en masse).

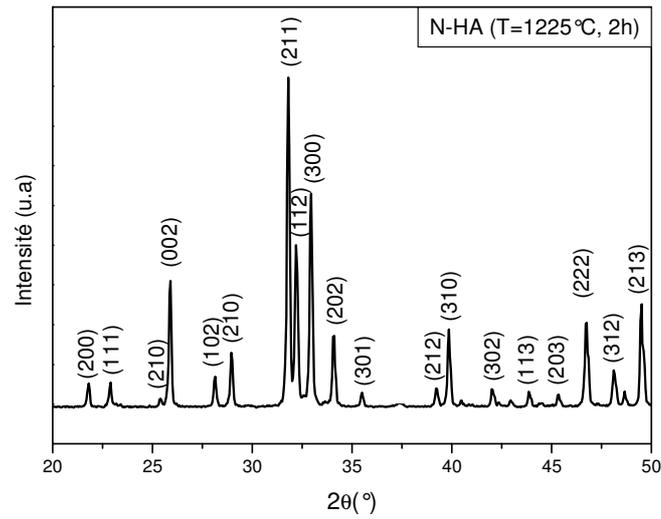


Figure IV-25: Diagramme de diffraction RX de N-HA traitée à 1225°C.

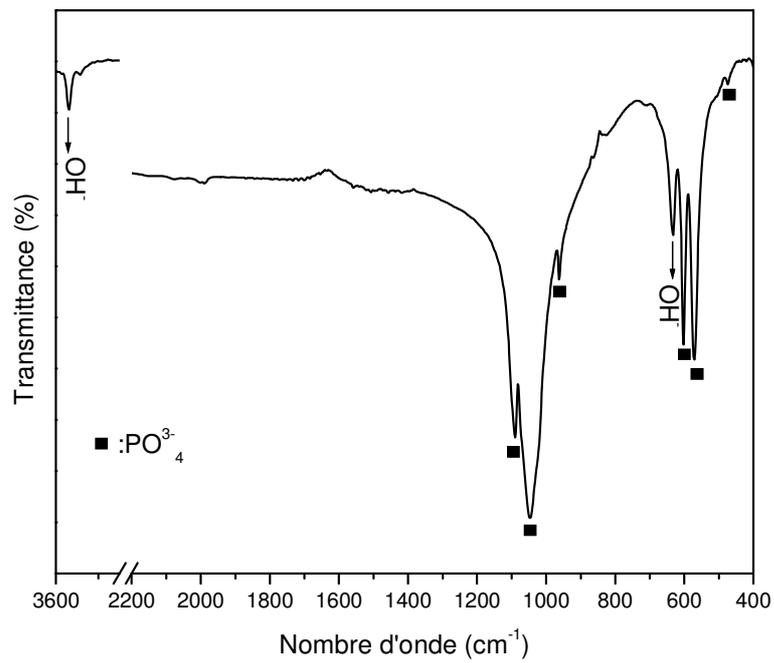


Figure IV-26: Spectre IR de N-HA traitée à 1225°C.

Rappelant que la densité relative est calculée par rapport à la densité théorique de l'hydroxyapatite (3.156 g/cm³).

Pour calculer le volume de la porosité ouverte, on a suivie les étapes suivantes:

- mettre les pastilles dans une étuve réglée à 150°C pendant 24 h.
- mesurer la masse des pastilles dans l'air (M)
- mettre les pastilles sur un support dans une enceinte fermée et qui contient du l'eau distillée.
- mettre l'enceinte fermée sous vide pendant 1h.
- basculer les pastilles pour les faire tomber dans l'eau distillée.
- laisser les échantillons imprégnés dans l'eau pendant 2h en conservant toujours le vide.
- couper le vide et laisser les pastilles 24h dans l'eau.
- faire sortir les pastilles de l'enceinte et essuyer leurs surfaces doucement pour éliminer les gouttelettes d'eau de la surface de la pastille.
- mesurer la masse des pastilles imprégnées dans l'air (m).

Le calcul du volume de la porosité ouverte (V_{PO}) s'effectue selon la relation [182]:

$$V_{PO} = \frac{m - M}{\rho_{eau}}$$

$$\rho_{eau} = 0.971 \text{ g/cm}^3$$

Le volume de la porosité fermée (V_{PF}) est calculé comme suit:

$$V_{PF} = V_{PT} - V_{PO}$$

$$V_{PT} = V_{Pastille} - (M / \rho_{HA(théo)})$$

V_{Pastille}: le volume apparent de l'échantillon, calculé à partir des dimensions de l'échantillon.

(M / ρ_{HA(théo)}): le volume absolue de l'échantillon [182].

Le pourcentage du volume poreux est calculé par rapport au volume de la pastille.

Les résultats sont résumés dans le tableau IV- 5 et la figure IV-29.

Tableau IV- 5: Le volume et le taux des pores totale, pores ouverts et fermés.

Pourcentage massique du naphthalène	0%	5%	15%	30%
Volume poreux (mm ³) (%)	48,95	71,60	112,85	175,87
	19.4	26.4	39.3	53.9
Volume des pores ouverts (mm ³) (%)	35,95	55,49	68,77	80,04
	14	20.5	24	24.6
Volume des pores fermés (mm ³) (%)	13,00	16,10	44,08	95,84
	5	6	15	29.5

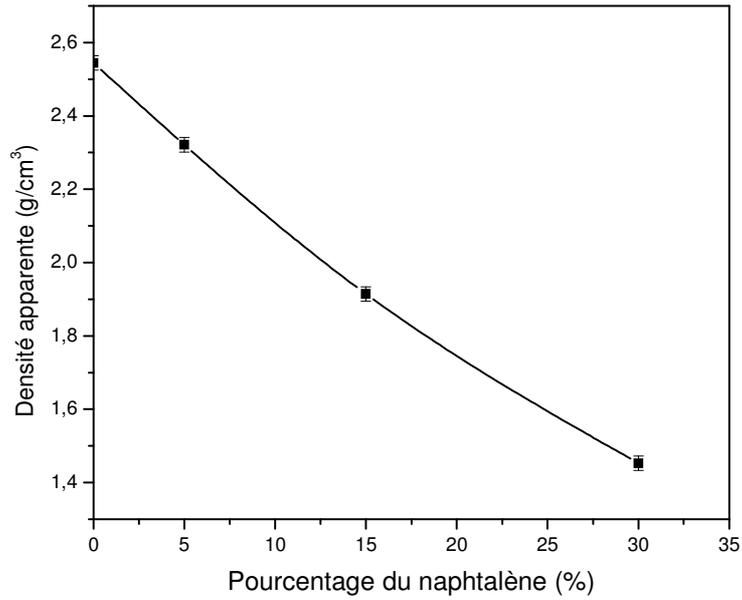


Figure IV-27: Variation de la densité apparente en fonction du taux du naphthalène ajouté.

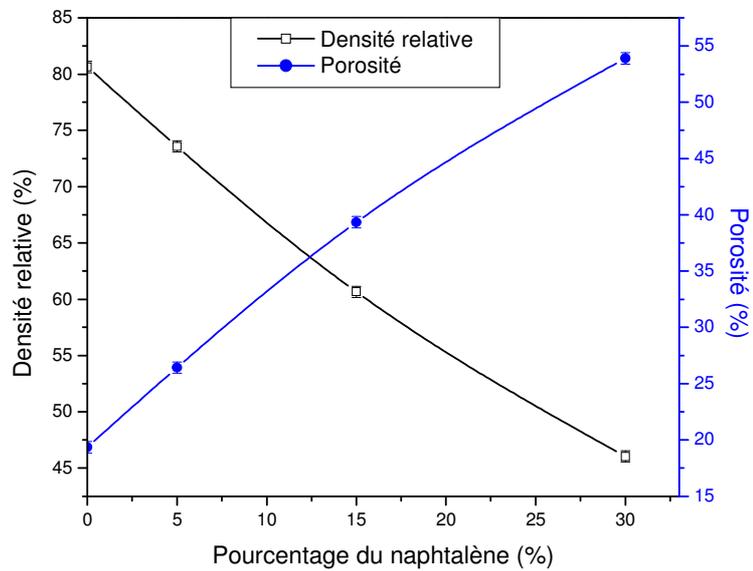


Figure IV-28: Variation de la densité relative et la porosité en fonction du taux du naphthalène ajouté.

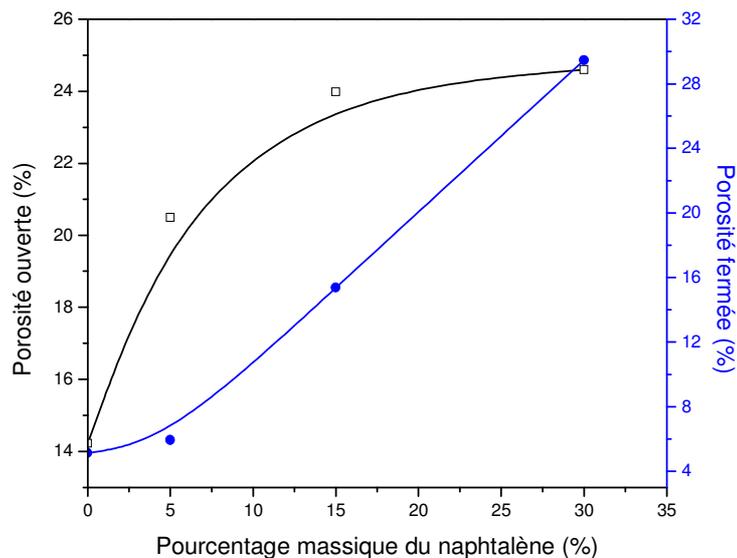


Figure IV-29: Variation du taux de porosité ouverte et fermée en fonction du taux du naphthalène ajouté.

On observe que le volume poreux, la porosité ouverte et fermée augmente avec l'augmentation du pourcentage du naphthalène. Pour la porosité fermée, on observe que la vitesse de croissance de son pourcentage est faible pour des pourcentages moins que 5% du naphthalène. Après cette valeur; le taux de porosité fermée augmente rapidement; presque d'une façon linéaire. Alors que le taux de porosité ouverte augmente rapidement pour l'ajout de 5% du naphthalène; ensuite la vitesse de croissance de ce taux diminue ou elle prend presque une valeur constante entre 15 et 30 % du naphthalène. On observe à 30% du naphthalène que la porosité ouverte est proche de la porosité fermée.

D.1.c- Morphologie des pastilles poreuses: MEB

La figure IV-30 montre la micrographie des différentes pastilles poreuses. On observe, que pour toutes les pastilles, que la taille des grains varie de 0.1 μm à 10 μm . Pour les pastilles N-HA+0%N, la microstructure est caractérisée par une microporosité de quelques micros et qui on la trouve aussi dans les pastilles poreuses. Cette microporosité est créée entre les grains au cours du traitement thermique: le réarrangement entre les grains est incomplet ce qui conduit à la création des vides entre les grains [183].

Après l'ajout du naphthalène; une macroporosité s'est apparue dans toutes les pastilles poreuses, la forme des pores est irrégulière et asymétrique:

- pour les pastilles N-HA+5%N, la macroporosité varie de 50 μm à 500 μm ;

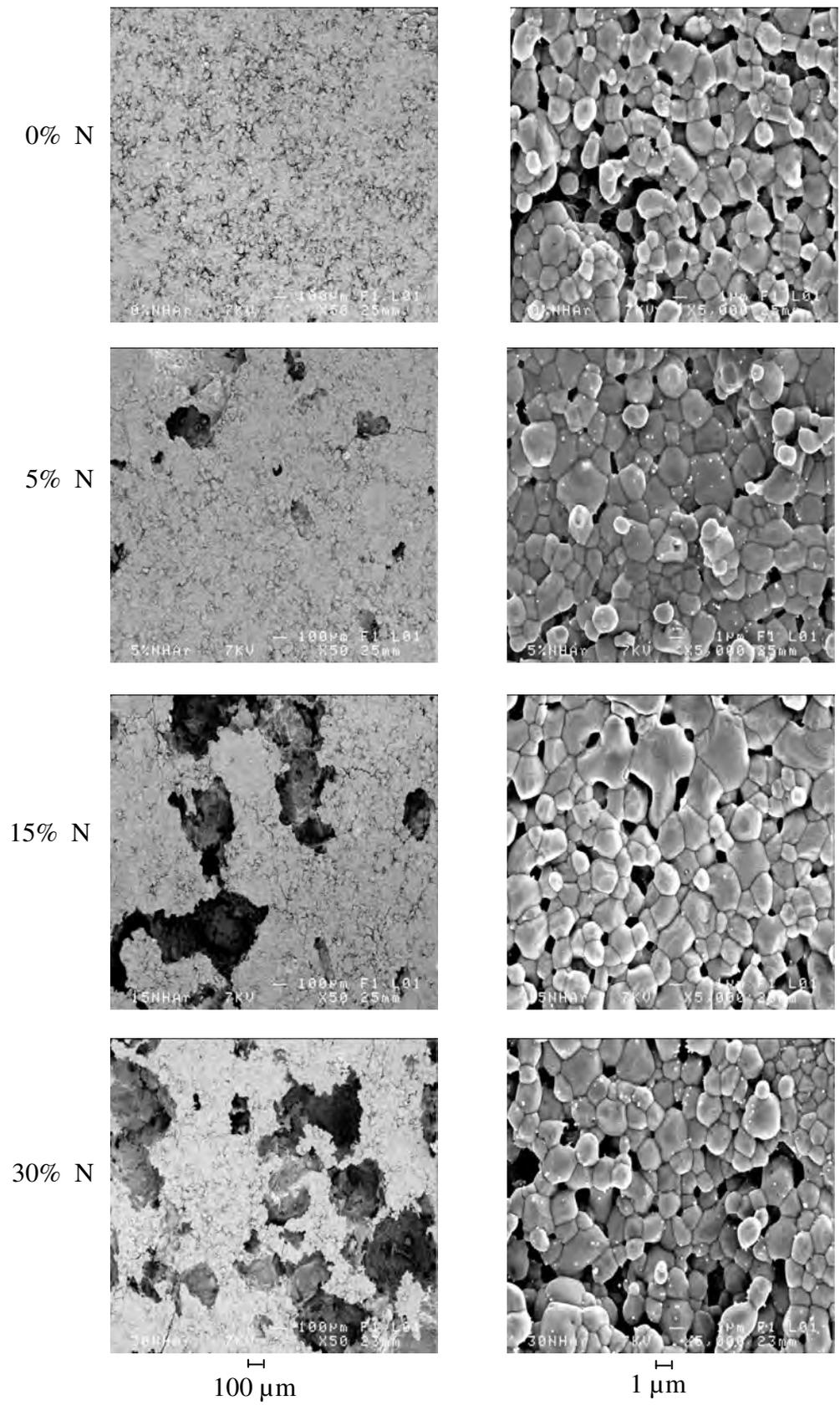


Figure IV-30: Micrographie par MEB des échantillons poreux.

- pour les pastilles N-HA+15%N, la macroporosité dépasse 500 μm . Quelques pores sont de l'ordre de 1 mm;
- pour les pastilles N-HA+30%N, la macroporosité dépasse 1 mm.

On observe que la taille des pores macroscopiques augmente avec l'augmentation du taux du naphthalène. Au cours du traitement thermique, le naphthalène s'évapore en créant des pores de l'ordre de la taille des grains du naphthalène. Pour les pores de taille plus que 600 μm sont formées par l'agglomération des grains du naphthalène.

On peut conclure, en liant les images du MEB aux calculs de la densité et la porosité, que les échantillons les plus denses sont caractérisés par un taux de porosité et une taille de pore faible. Même résultat a été observé par Netz [184].

D.2- Altérations physico-chimiques après immersion dans le SBF: expériences *in vitro*

D.2.a- Variation de la concentration de Ca et P avec le temps d'immersion dans le SBF

La variation de la concentration en calcium et de phosphore dans le SBF en fonction du temps d'immersion est illustrée dans la figure IV-31.

Pour N-HA+0%N, on observe que la concentration en Ca et P dans le SBF augmente avec le temps d'immersion jusqu'à 1 jour; la concentration en Ca et P dans le SBF augmente presque de 60 ppm et 20 ppm, respectivement. Après 3.5 jours, une forte décroissance de la concentration en Ca et P; presque 45 ppm de Ca et 21 ppm de P ont migré de la solution SBF vers la surface du N-HA. Alors qu'entre 3.5 et 7 jours, on observe que la diminution de Ca et P dans le SBF s'est ralentie. Entre 15 et 30 jours, la variation de la concentration ionique de Ca et P dans SBF est presque constante. Après 30 jours d'immersion dans le SBF, 90 ppm de Ca et 45 ppm de P migrent du SBF vers la surface des pastilles.

Cependant, pour N-HA+5%N, la concentration en Ca et P atteint son maximum après 12 h; plus de 80 ppm de Ca et 17 ppm de P sont mesurés dans le SBF. Après ce délai, la concentration ionique de Ca et P commence à décroître surtout après 7 jours d'immersion dans le SBF. Entre 7 et 30 jours; la diminution de la concentration ionique dans le SBF de Ca et P s'est ralentie. Après 30 jours d'immersion; on observe que presque 63 ppm de Ca et 40 ppm de P ont migré de la solution SBF vers la surface de l'échantillon.

Alors que pour N-HA+15%N, la concentration ionique de Ca et P dans le SBF augmente pour atteindre un maximum de 160 ppm de Ca après 12 h d'immersion et 38 ppm de P après 2 h d'immersion dans le SBF. Après ces délais, la concentration en Ca reste constante jusqu'à 3.5 jours; ainsi la concentration en P reste stable entre 2 et 6 h. La migration de Ca et P du SBF est

achevée après ces délais où la concentration atteint la valeur 85 ppm pour Ca et la concentration -5 ppm pour le P.

Dans le cas de N-HA+30%N, la concentration ionique de Ca augmente pour atteindre une valeur maximale de 150 ppm dans le SBF et elle reste constante jusqu'à 1 jour. Après ce délai; la concentration diminue rapidement jusqu'à 7 jours. Entre 15 et 30 jours; la concentration en Ca reste constante. Presque 80 ppm de Ca ont migré de la solution SBF vers la surface de l'échantillon après 30 jours d'immersion, alors que la concentration ionique du P diminue dans le SBF dès les premières heures d'immersion. Entre 6 h et 1 jour; la concentration du P reste constante. Ensuite, entre 1 et 7 jours, la concentration du P diminue à nouveau pour achever une valeur constante de 5 ppm entre 15 et 30 jours.

D.2.b - Micrographie par MEB des pastilles immergées

Les images par MEB des pastilles immergées sont indiquées dans la figure IV-32. D'une vue générale; on observe qu'une nouvelle phase s'est formée à la surface de toutes les pastilles immergées dans le SBF. Cette nouvelle phase s'est formée dès 6 h d'immersion dans le SBF; des petites particules sphériques se sont formées à la surface des échantillons. Ces petites particules ont continuées de se développer avec le temps d'immersion dans le SBF. Après 12 h; les cristaux d'apatite sont bien distingués à la surface des échantillons ainsi à l'intérieur des pores ouverts surtout les pores macroscopiques. Après 1 jour d'immersion; les cristaux d'apatite sont plus dense et ils recouvrent toute la surface de l'échantillon. Ainsi on observe que la taille des micropores diminue avec le temps d'immersion surtout après 30 jours d'immersion où l'apatite formée était très dense et ses cristaux très compactés entre elles. On peut aussi observé que l'apatite formée est plus dense dans les échantillons les plus poreux. Plus le pourcentage du naphtalène augmente, on a plus d'apatite formée à la surface et dans les cavités de l'échantillon.

D.2.c- Spectroscopie IR des pastilles immergées

Les spectres IR (fig. IV-33) confirment les résultats d'ICP-OES et MEB. Ils montrent que tous les échantillons immergés dans le SBF sont réactifs en formant une couche d'hydroxyapatite carbonatée. On observe une augmentation de l'intensité de la bande OH^{-1} à 630 et 3570 cm^{-1} , le renforcement des bandes caractéristiques de groupe de phosphate, ainsi que l'apparition de la bande caractéristique de Cl à 3540 cm^{-1} . Cela confirme la formation d'apatite après l'immersion dans le SBF, cette apatite est associée avec les carbonates quelque soit le pourcentage du naphtalène ajouté.

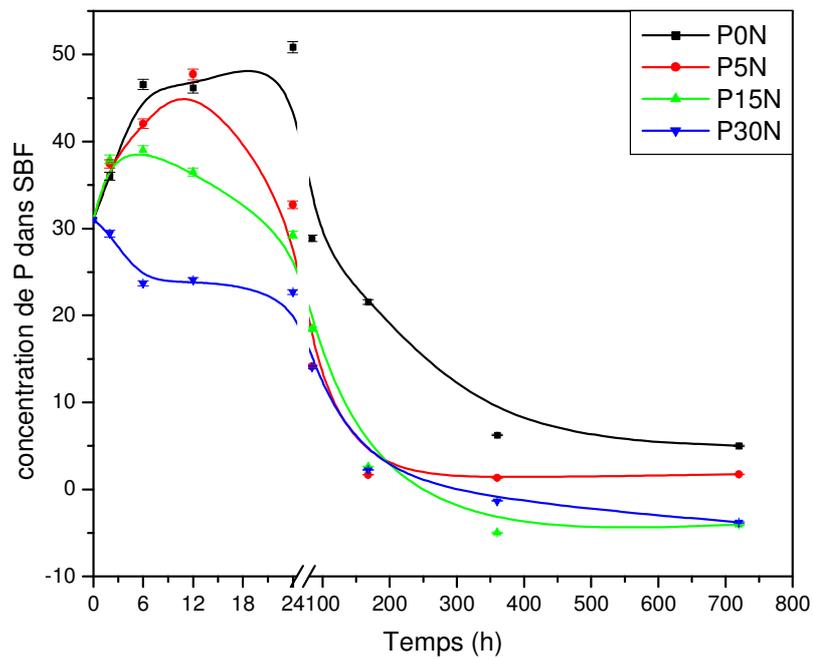
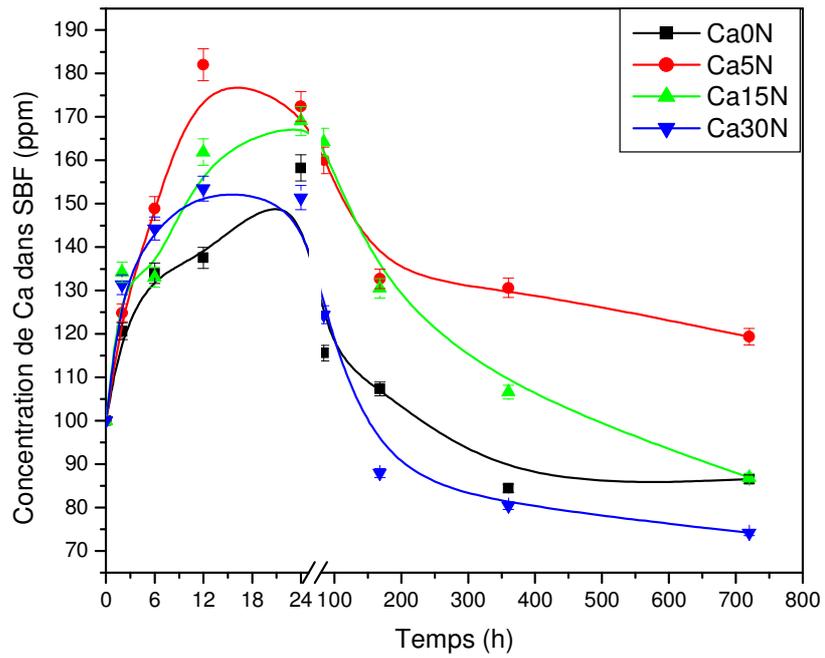


Figure IV-31: Variation de la concentration ionique de Ca et P dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

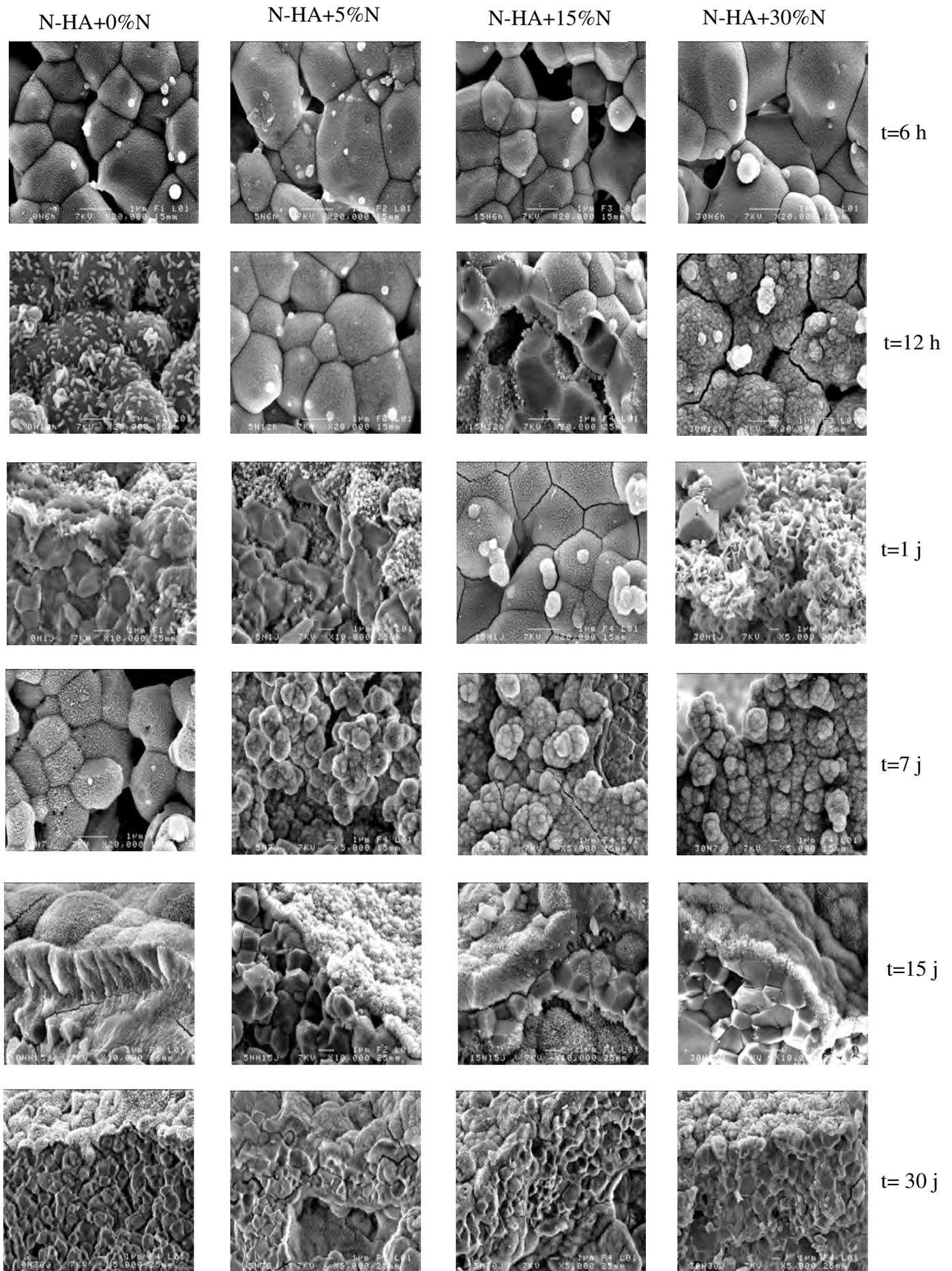


Figure IV-32: Micrographie des pastilles poreuses après 30 jours d'immersion dans le SBF.

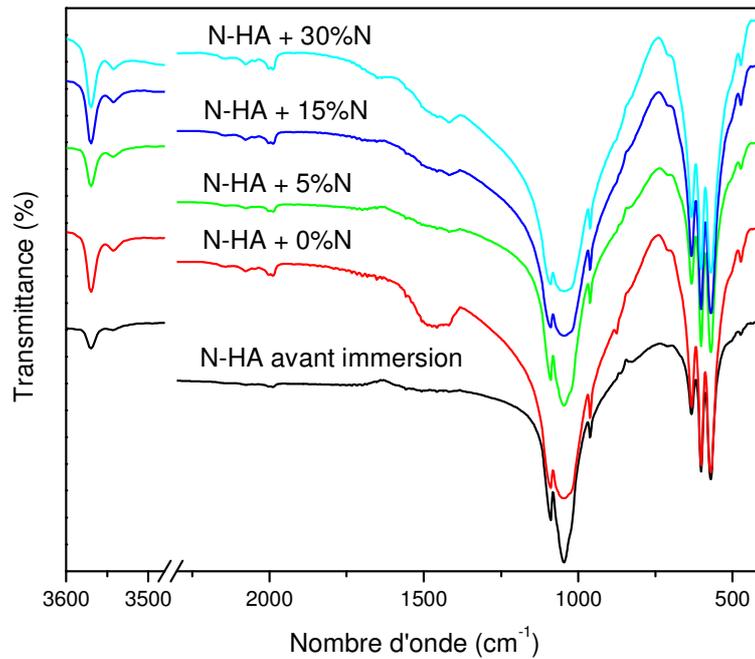


Figure IV-33: Spectres IR des pastilles poreuses avant et après 30 jours d'immersion dans le SBF.

D.3- Bilan des résultats

D'après la littérature, on observe une confusion entre les résultats obtenus concernant la porosité, la microporosité et la macroporosité souhaité pour une meilleure croissance de l'os. L'idéal est de trouver une porosité optimale, afin de conserver un envahissement cellulaire et tissulaire suffisant et donc une bonne colonisation osseuse en maintenant des bonnes propriétés mécaniques.

En général, il est admis que la taille minimale des pores pour l'ostéoconduction est de l'ordre de 80-100 μm . Des études ont montrés qu'une taille de pore de 50- 400 μm est recommandé pour la fixation des implants métalliques qu'une taille de 400-800 μm [185]. Alors que d'autres études ont montrés qu'une meilleure croissance de l'os se produit pour une taille de pore moins que 100 μm [186, 187]. Tandis que d'autres études ont considérés que seulement les pores larges que 100-150 μm peuvent faciliter la croissance de l'os minéral [188 - 191]. Autres ont montrés que la croissance de l'os était meilleure pour une taille de pores de l'ordre de 500 μm que pour 200 μm [189,191 ,192]. Même résultat a été prouvé par Gauthier [193], il a montré que la croissance de l'os est meilleur pour une taille de macropores de 500 μm que pour 300 μm ; ainsi le pourcentage des pores n'a pas une grande influence sur la croissance de l'os: pour deux pourcentages différents (40 et 50%), on a la même quantité d'os formé.

En comparant nos résultats entre eux et avec les résultats d'autres études; on peut conclure que l'ajout du naphthalène conduit à l'apparition de la macroporosité ce qui incite une meilleure formation de l'hydroxyapatite carbonatée dans les échantillons N-HA+5, 15 et 30%N que dans les échantillons où on a seulement de la microporosité (N-HA+0%N). Ainsi, la porosité a un effet important sur la cinétique de formation de l'apatite carbonatée, plus la porosité augmente, plus le temps correspondant au maximum de dissolution des échantillons immergés dans le SBF diminue, et par conséquent, le processus de précipitation de l'HA s'accélère.

En comparant (N-HA+5 %N) avec (N-HA+0 %N), on a plus de Ca dissout dans le SBF et le processus de dissolution- précipitation est avancé. Cela peut être lié à l'augmentation du taux des pores ouverts ainsi que l'apparition de la macroporosité de l'ordre de 500 μm . Pour (N-HA+15 et 30%N), on a presque le même taux de pores ouverts. Alors que la taille des macropores est plus grande dans (N-HA+ 30%N) que dans (N-HA+15 %N). En comparant ces échantillons à (N-HA+5%N), on observe que la quantité de Ca dissout dans le SBF diminue avec l'augmentation du taux de porosité; alors que la quantité des ions Ca migrés du SBF vers les échantillons poreux augmente et elle est la même pour (N-HA+15 et 30 %N). Ainsi, la micrographie par MEB montre que la formation de l'hydroxyapatite est meilleure pour les échantillons (N-HA+ 30 %N). On peut déduire de ces résultats que le taux des pores ouverts et la taille des macropores influencent le processus de formation de l'hydroxyapatite carbonatée.

Donc, de ces résultats on peut conclure que pour une meilleure précipitation du « bone like-apatite », il faut s'intéresser aux deux facteurs: le taux des pores ouverts et la taille des macropores. Ces résultats sont en accord avec les études précédentes [193, 194]. Il a été montré que si la porosité augmente, la surface spécifique augmente et par conséquent la résorption augmente; ainsi le taux de l'os formé est proportionnel à la taille des pores [194].

D.4- Conclusion

Dans cette partie, on a étudié l'effet de la porosité sur la formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des pastilles poreuses immergées dans le SBF. Les résultats obtenus montrent que la porosité incite la formation du « bone like-apatite » à la surface des échantillons ainsi que dans les macropores. Le dépouillement de ces résultats montrent que la bioactivité de l'hydroxyapatite poreuse est influencée par deux facteurs: le taux des pores ouverts et surtout la taille des macropores. Plus la taille des pores est grande, plus le processus de précipitation est accéléré et l'épaisseur de l'hydroxyapatite biologique formée est importante.

E- Conclusion du chapitre IV « hydroxyapatite »

Dans ce chapitre, on a étudié l'effet de plusieurs facteurs sur la bioactivité de l'hydroxyapatite; on a étudié l'effet:

- de la température sur la bioactivité d'une hydroxyapatite naturelle comparer à une hydroxyapatite synthétique,
- d'ajout des oxydes inertes à l'hydroxyapatite naturelle sur ces propriétés mécaniques et sa bioactivité,
- de la porosité sur la cinétique du formation de l'hydroxyapatite biologique à la surface des échantillons immergés dans le SBF.

Les résultats obtenus montrent que plusieurs facteurs influencent la bioactivité de l'hydroxyapatite:

1- le traitement thermique a un effet important sur la bioactivité de l'hydroxyapatite:

- ⇒ le processus de formation de la phase phosphocalcique à la surface des échantillons N-HA immergés dans le SBF est plus actif quand la température augmente,
- ⇒ toutefois, en S-HA, la formation de l'apatite est très sensible à la phase formée au cours du traitement thermique: la formation du β -TCP active et favorise la formation de l'apatite carbonatée. En revanche, la dissolution continue de TetCP est défavorable pour la précipitation du phosphocalcique; elle a retardée la formation de l'apatite carbonatée à plus de 15 jours d'immersion dans le SBF.

2- l'amélioration des propriétés mécaniques par l'ajout des oxydes inertes n'implique pas l'activation du processus de précipitation du « bone like-apatite » à la surface des granules des N-HA dopées immergées dans le SBF:

- ⇒ l'ajout des oxydes inertes améliore les propriétés mécaniques de l'hydroxyapatite naturelle,
- ⇒ en ce qui concerne la bioactivité de ces N-HA dopées, les résultats obtenus montrent qu'il existe de nombreux facteurs qui influencent la bioactivité de N-HA tels que: la densité, les phases secondaires formées pendant le traitement thermique et la présence d'oxydes inertes:
 - La densité élevée des granules N-HA pure stagne la dissolution de granules et, par conséquent, la formation de l'apatite à leur surface.
 - Toutefois, la formation de β -TCP au cours de traitement thermique de N-HA + 5% ZrO₂ ou TiO₂ active la précipitation de l'apatite, mais seulement dans les régions les plus pauvres en Zr ou Ti.

- Cependant, la densité élevée des échantillons N-HA + 5% Al₂O₃, la présence d'oxyde inerte ainsi que la formation de β-TCP comme une phase majeure ont un effet négatif sur la bioactivité des HA dopées: l'apatite ne s'est formée pas, même après 30 jours d'immersion dans le SBF.

3- la présence des pores conduit à la diminution de la densité des échantillons traités N-HA, mais elle améliore sa bioactivité en incitant la formation du « bone like-apatite » à la surface des échantillons ainsi que dans les macropores:

⇒ Plus le taux et la taille des pores sont importants, plus le processus de précipitation est accéléré et l'épaisseur de la couche d'hydroxyapatite biologique formée est importante.

Donc, pour étudier ou améliorer la bioactivité de l'hydroxyapatite, il faut s'intéresser ou prendre en compte plusieurs facteurs cités précédemment ainsi que le rapport phosphocalcique (Ca/P) et les éléments traces existant dans l'hydroxyapatite étudiée. On a montré que les éléments traces ont une grande influence positive sur la bioactivité en activant le processus de dissolution et par conséquent le processus de précipitation du « bone like-apatite » à la surface des granules immergées dans le SBF.

Donc, on propose pour les médecins d'utiliser soit:

- une hydroxyapatite dopée avec les mêmes éléments traces dans la matrice osseuse en respectant le même taux;
- ou apatites biphasiques (HA/TCP ou TetCP) en tenant compte que la deuxième phase soit mineure;
- ou HA poreuse avec un choix étudié du taux et la taille des pores.

Pour optimiser les propriétés mécaniques de HA pour permettre l'utiliser dans des zones soumises à des contraintes importantes; il faut toujours choisir un dopant qui n'inhibe pas la bioactivité de HA.

Chapitre V: Verres synthétisés par voie fusion (52S4F)

Les verres bioactifs sont capables de former à leurs surfaces une couche d'hydroxyapatite carbonatée quand ils sont en contact avec des solutions physiologiques. L'étude de réactivité des verres, synthétisés par la voie fusion ou le procédé sol-gel, nécessite la compréhension d'abord de la structure et les propriétés physico-chimiques de ces verres. Rappelons que les modes de synthèse sont déjà décrits dans le chapitre III.

Plusieurs analyses ont été utilisées au cours de cette partie du travail. Après la détermination des températures caractéristiques du verre par l'analyse DSC, une étude structurale par la diffraction RX et la spectroscopie infrarouge a été réalisée. La diffraction RX ne permet pas d'avoir des informations détaillées sur la structure du verre, elle montre que l'aspect amorphe du verre. Tandis que la spectroscopie infrarouge ne donne que le type des groupements présents dans le verre. Pour mieux comprendre la structure du verre; une analyse par RMN du solide a été effectuée.

L'étude des échanges ioniques à l'interface matériau/solution et de la cinétique de formation de l'apatite carbonatée a été évaluée par l'analyse ICP. Alors que la formation de cette phase est confirmée par la spectroscopie infrarouge, la diffraction RX et l'analyse par MEB-EDS. Les tests *in vitro* ont été effectués dans deux solutions physiologiques différentes: SBF et PBS.

1- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F

1.a- Températures caractéristiques du verre

Les températures caractéristiques du verre synthétisé par voie fusion ont été déterminées par l'analyse thermique DSC.

L'analyse thermique a été effectuée jusqu'à 1400°C, sous azote, avec une vitesse de chauffe de 5°C/min, l'échantillon étant placé dans un creuset en platine.

La figure V-1 montre les températures caractéristiques du verre:

- la température de transition vitreuse ($T_G=620^\circ\text{C}$).
- la température de cristallisation ($T_c=780^\circ\text{C}$).
- la température de fusion ($T_f=1277^\circ\text{C}$).

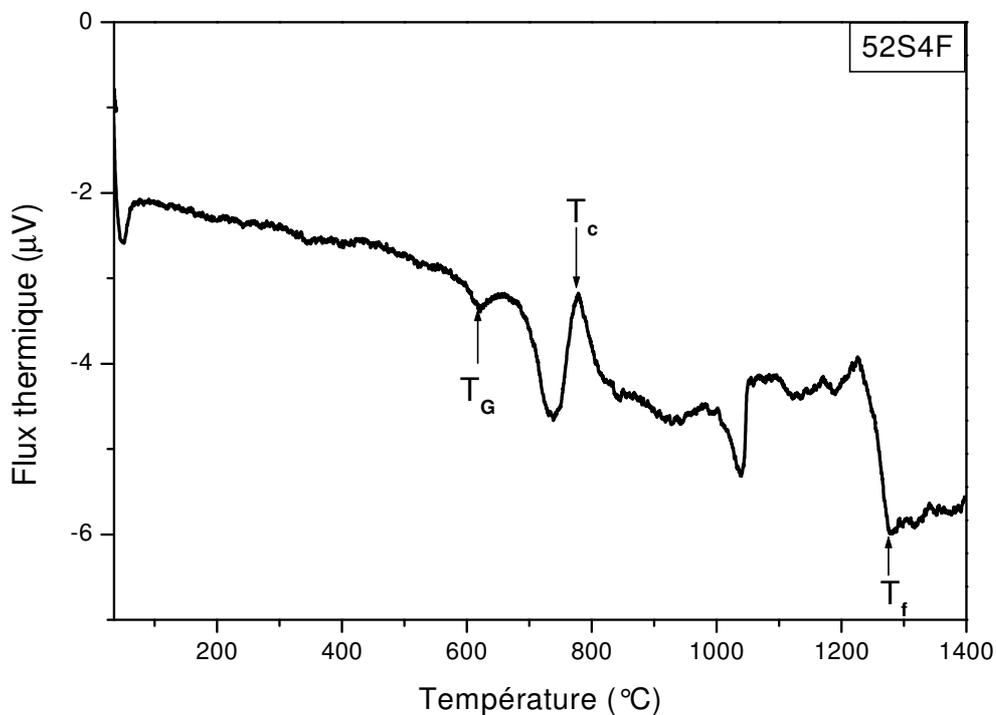


Figure V-1: Courbe DSC du verre 52S4F.

On observe la présence des pics de faible intensité entre le pic de cristallisation et le pic de fusion (endothermiques et exothermiques) qui peut être attribuée à la présence de phases cristallines. Ce phénomène a été observé par Dietrich [195].

1.b- Caractérisation par diffraction RX

Le diagramme de diffraction de rayons X (fig.V-2) présente un halo ($20 < 2\theta < 35^\circ$) correspondant au phénomène de diffusion dans les produits amorphes. Ceci confirme la structure amorphe du verre synthétisé par voie fusion. Le diagramme ne met pas en évidence la présence de phases cristallines, excepté le maximum à environ 32° pouvant être attribué au plan (211) de l'apatite [196].

1.c- Analyse par spectrométrie IR

Le spectre IR montre les bandes caractéristiques des liaisons présentes dans le verre synthétisé (fig.V-3) [195-198]. La bande à 503 cm^{-1} est caractéristique de la vibration de déformation de la liaison Si-O-Si entre les tétraèdres SiO_4 . Tandis que les bandes à 752, 930 et 1039 cm^{-1} sont caractéristiques de la vibration d'élongation de la liaison Si-O dans les tétraèdres SiO_4 . Alors que la bande à 603 cm^{-1} est caractéristique de la vibration de déformation de la liaison O-P-O. La présence de cette bande est liée à la présence du précurseur de l'hydroxyapatite sous forme d'une couche amorphe de phosphate de calcium [197]. La bande à 1650 cm^{-1} correspond à l'eau absorbée par la poudre du verre au cours de l'analyse [132].

1.d- Analyse par MEB-EDS

L'analyse par MEB de la surface des verres après polissage montre bien que les verres synthétisés par fusion sont très denses; on observe l'absence totale des pores (même de taille très petite). L'analyse EDS confirme que les seuls éléments présents dans le verre sont les mêmes éléments qui le forment: Si, Ca, Na et P.

Une Cartographie de la surface du verre montre la distribution homogène de ces éléments (fig.V-4).

1.e- Analyse par BET

L'analyse par BET (monopoint) a été effectuée sur le verre sous forme de poudre. Le verre synthétisé par fusion a été broyé pour avoir une poudre de granulométrie de (40-63 μm). Préalablement à la mesure, la poudre a été dégazée deux fois à 250°C pour supprimer toute trace d'eau adsorbée.

La valeur obtenue après le deuxième dégazage est: $0,20 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$. Cette valeur est très proche de la valeur obtenue par Hench [101]. Elle confirme le résultat d'analyse par MEB; l'absence de la porosité conduit à la diminution de la surface spécifique [139].

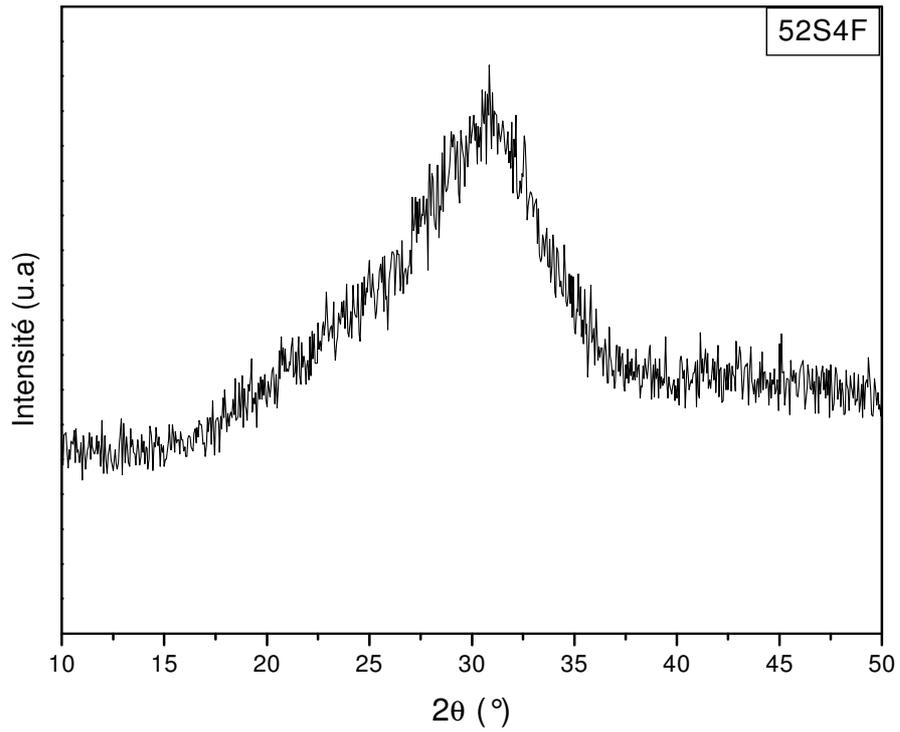


Figure V-2: Diagramme de diffraction RX du verre 52S4F.

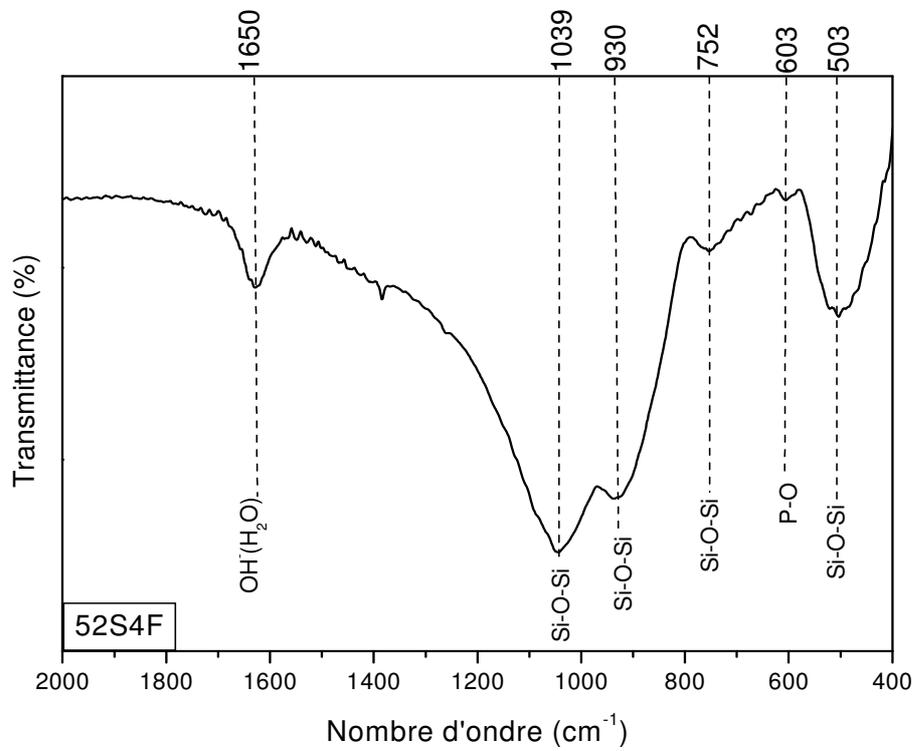
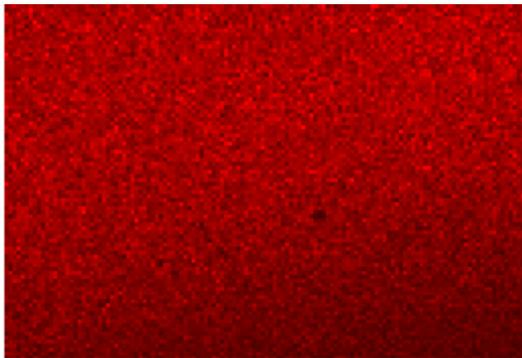
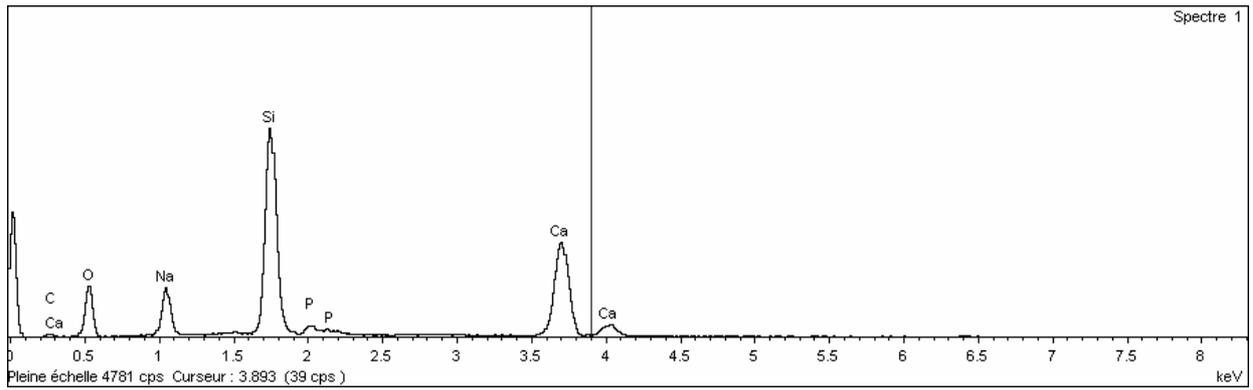
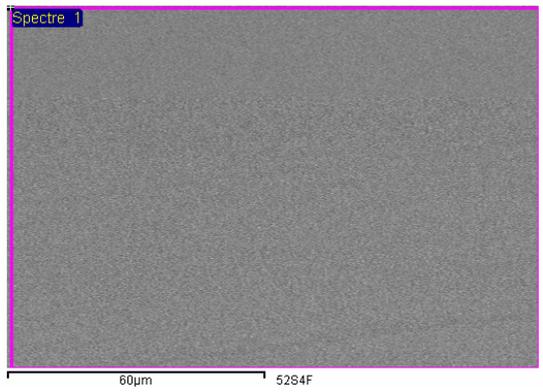
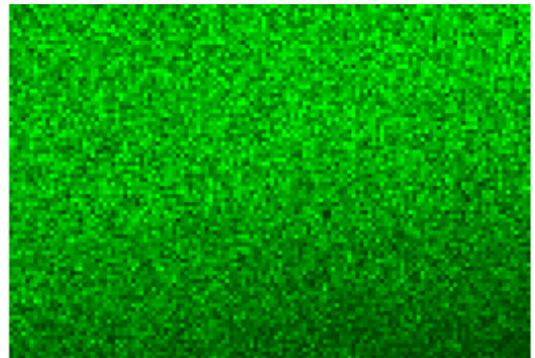


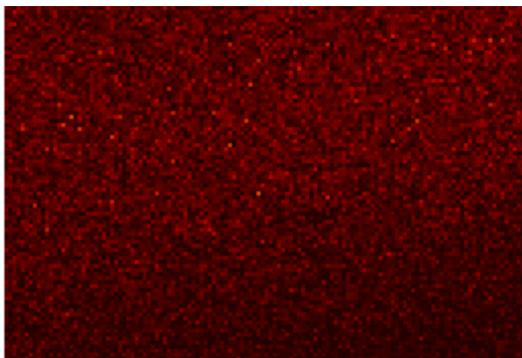
Figure V-3: Spectre IR du verre synthétisé 52S4F.



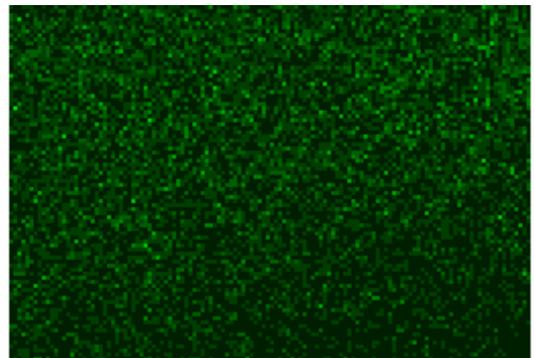
Si Ka1



Ca Ka1



Na Ka1_2



P Ka1

Figure V-4: Micrographie par MEB, analyse EDS et cartographie de la surface du verre synthétisé par fusion.

1.f- Analyse par RMN-MAS

RMN est une technique puissante pour l'étude structurale des phases cristallines ainsi que les verres et les verres bioactifs [195, 199-206]. Elle est la technique de choix pour les verres dont l'étude structurale est impossible par diffraction des rayons X.

La structure du verre est très complexe, on n'a pas de l'ordre à longue distance mais à courte distance. Le réseau vitreux tridimensionnel est formé d'un ensemble des tétraèdres SiO_4 liés par leurs sommets. La présence des oxydes alcalins et alcalins terreux diminue le degré de connectivité dans le réseau en remplaçant les oxygènes pontants (BO: bridging oxygens) par des oxygènes non pontants (NBO). Ces oxydes modificateurs ont une grande importance; ils permettent d'avoir une structure ouverte de la structure du verre et diminuent la température de transition. La compréhension de l'effet des oxydes sur la structure permet de mieux comprendre la relation entre la structure et les propriétés physiques.

L'utilisation de la RMN a permis de développer des modèles concernant la structure du verre. En effet, le déplacement chimique est sensible à l'environnement local d'un isotope donné: la densité électronique local reflète la distribution des atomes autour du noyau étudié [201].

L'environnement d'un noyau au centre d'un tétraèdre d'atomes d'oxygène est noté par l'expression Q^n ; où n représente le nombre d'atomes d'oxygène pontants, par exemple:

- si les quatre atomes d'oxygène du tétraèdre SiO_4 sont liés à d'autres tétraèdres; on note Q^4 ,
- si aucun atome d'oxygène dans le tétraèdre SiO_4 n'est lié à d'autres tétraèdres (tétraèdre isolé); on note Q^0 .

Dans notre étude par RMN, on s'intéresse au deux noyaux: ^{29}Si et ^{31}P . La déconvolution des spectres RMN s'effectue à l'aide d'une ou plusieurs gaussiennes. L'aire sous la courbe de chaque gaussienne est alors prise comme une mesure de la concentration en espèces Q^n [199].

La figure V-5 montre les spectres RMN des noyaux ^{29}Si et ^{31}P ainsi que leurs déconvolutions.

1.f.1- Spectre RMN-MAS ^{29}Si

La capacité de la résolution RMN de ^{29}Si est en général fondée sur le fait que les différentes espèces Q ont différents déplacements chimiques ^{29}Si en raison de la différence de leurs environnements électroniques, ainsi que les légères déviations dans leur géométrie [201].

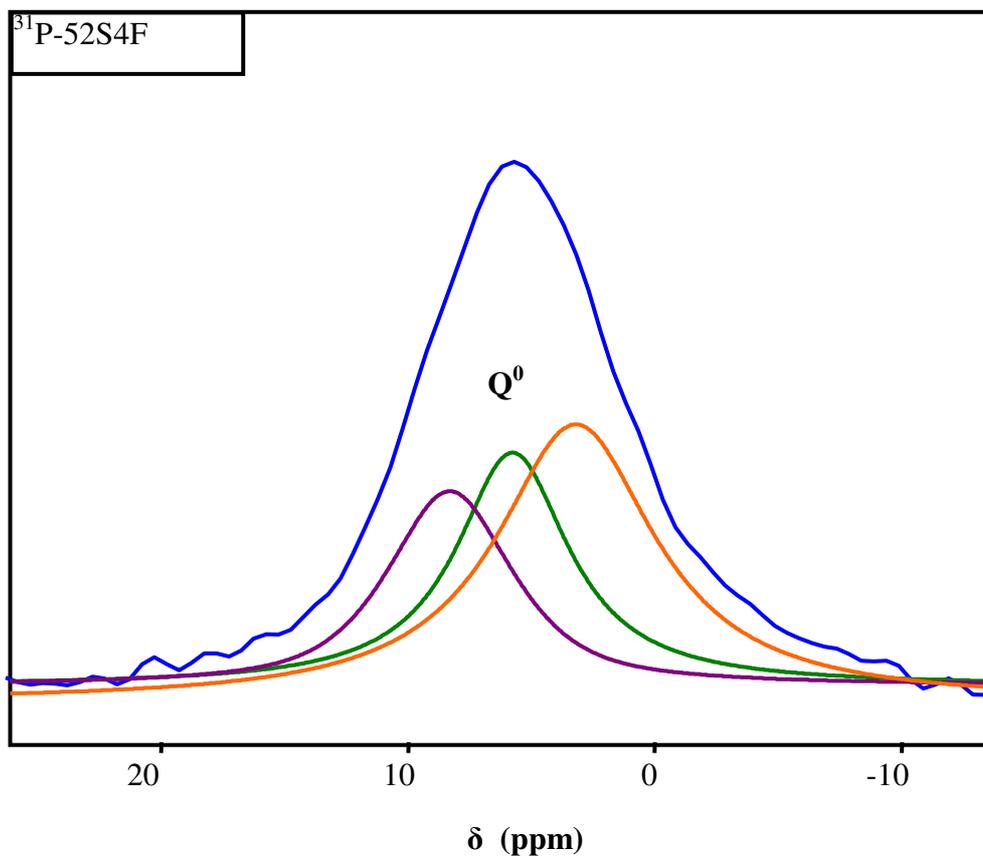
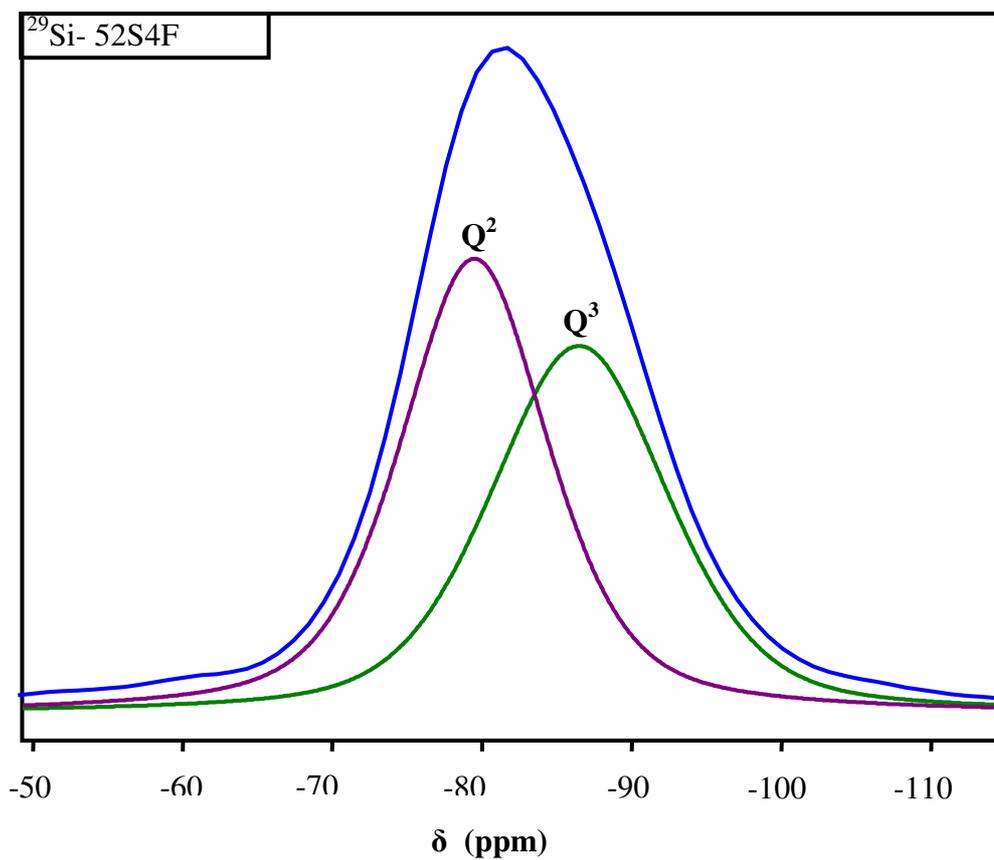


Figure V-5: Spectres RMN-MAS des noyaux ²⁹Si et ³¹P du verre 52S4F.

On observe que la largeur à mi-hauteur du spectre RMN ^{29}Si est large ($\approx 17\text{ppm}$) et le spectre n'est pas symétrique; cela conduit à conclure qu'il y'a plus d'une espèce [201]. La déconvolution de spectre montre qu'il existe deux espèces situées à -79.50 et -86.5 ppm. En comparant ces valeurs aux valeurs cités dans la littérature [199-206], on peut les attribuer comme suit:

- la 1^{ère} espèce, située à -79.50 ppm, correspond à Q^2 où le tétraèdre SiO_4 contient deux atomes d'oxygène pontants. Elle représente 55.3% de l'ensemble des tétraèdres formant le verre 52S4F,
- la 2^{ème} espèce, située à -86.5 ppm, correspond à Q^3 où le tétraèdre SiO_4 contient trois atomes d'oxygène pontants. Elle représente 44.7% de l'ensemble des tétraèdres formant le verre 52S4F.

Le chevauchement de Q^2 et Q^3 est provoquée par la grande largeur à mi-hauteur des pics Q^2 et Q^3 (11.7 et 14 ppm). Cela est dû à la distribution continue des déplacements chimiques ^{29}Si isotropes. Cette dernière est due elle-même à une distribution continue des facteurs structuraux dans les verres, tels que les angles entre les liaisons O-Si-O et les distances métal-oxygène [201]. D'après la littérature, le déplacement chimique ^{29}Si de la silice pure se situe à environ -112 ppm et il est caractéristique de l'espèce Q^4 ; aucune autre espèce existe en plus [124]. Alors que la présence d'oxydes alcalins tels que le Na_2O et/ou CaO modifie ce déplacement et conduit à la création d'autres espèces [199]. Dans les verres binaires $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O}$, on trouve deux espèces Q^2 et Q^3 situées à -76 et -86 ppm. Tandis que les verres binaires $\text{SiO}_2\text{-CaO}$, on trouve aussi les deux espèces, Q^2 et Q^3 , situées à -81.5 et -92 ppm [200].

En comparant nos résultats (Q^2 et Q^3 situées à -79.50 et -86.5 ppm) à ces résultats, on peut conclure que les atomes d'oxygène non-pontants dans Q^2 sont neutralisés beaucoup plus par les cations Ca^{2+} ; alors que les atomes d'oxygène non-pontants dans Q^3 sont neutralisés par les cations Na^+ d'une façon dominante. Notant que le cation Ca^{2+} est partagé entre deux atomes d'oxygène non-pontants appartient à deux tétraèdres SiO_4 ($\text{Si}(\text{OSi})_2(\text{O}\dots 1/2\text{Ca})_2$), alors que Na^+ forme une seule liaison ionique avec une seule atome d'oxygène non-pontant ($\text{Si}(\text{OSi})_2(\text{O}\dots \text{Na})_2$) [200].

1.f.2- Spectres RMN-MAS ^{31}P

On observe que le spectre RMN-MAS ^{31}P est déconvolué en trois gaussienne. On peut observer trois épaulements aux environs du sommet de trois pics qui confirme la présence de plusieurs environnements.

Les trois pics se situent à 3.20 ; 5.76 et 8.30 ppm. En comparant ces déplacements chimiques à ceux de la littérature [199-201], on en conclut qu'ils correspondent à des Q^0 , le phosphore est

donc dans un environnement tétraédrique isolé, type orthophosphate (PO_4^{3-}), il n'est donc pas un formateur du réseau du verre.

La figure V-7 montre l'environnement du P quand il est formateur du réseau (fig. V-6(a)) et quand il est dans un environnement orthophosphate (fig. V-6(b)).

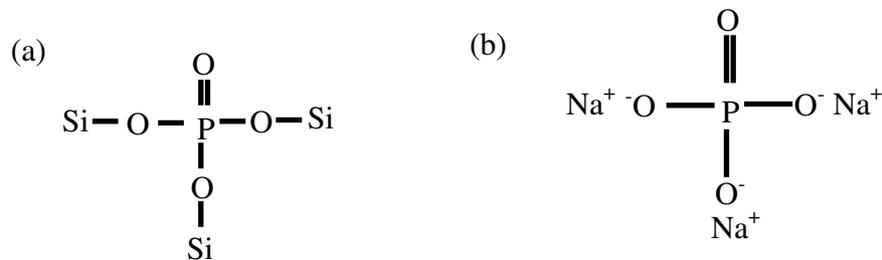


Figure V-6: (a) P comme formateur du réseau, (b) P dans un environnement orthophosphate.

On observe qu'on a que des Q^0 isolés dans le verre, chaque P est lié à travers les atomes d'oxygène non-pontants aux cations Ca^{2+} ou Na^+ non utilisés par les tétraèdres SiO_4 .

Les valeurs des déplacements chimiques du ^{31}P obtenus dans le verre 52S4F (3.20, 5.76 et 8.30 ppm) sont entre le déplacement chimique du ^{31}P en Na_3PO_4 situé à 15.6 ppm et celui du $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ situé entre 0 et 3 ppm [200]. On peut déduire que:

- pour les deux déplacements chimiques 5.76 et 8.30 ppm, qu'il n'y a pas une association préférentielle des groupes orthophosphates avec les cations Ca^{2+} ou Na^+ .
- Pour le déplacement chimique 3.20 ppm, on a une association préférentielle des groupes orthophosphates avec les cations Ca^{2+} .

Lockyer a montré que la substitution de Na_2O par CaO conduit progressivement à rendre le déplacement chimique moins positif. Cela est dû à la différence de l'électronégativité entre Ca^{2+} et Na^+ (1.0 et 0.9 respectivement) [200].

Le calcul de l'intensité des trois pics de déconvolution indique que:

- 60.5 % des groupes orthophosphates ont un environnement tout à fait désordonné et qu'il n'y a pas d'association préférentielle avec les cations Ca^{2+} ou Na^+ .
- 39.5 % des groupes orthophosphates ont un environnement ordonné et qu'il y a d'association préférentielle avec les cations Ca^{2+} .

Hill explique que la présence des espèces orthophosphates est due à la vitesse lente de refroidissement des verres, ce qui favorise la séparation des phases [207]. Toutefois, dans le cas des verres testés par Elgayar et O'Donnell [201-205] ceux-ci ont été rapidement trempés dans

l'eau froide ce qui diminue la possibilité de séparation des phases; mais ils ont tout de même observé la présence du phosphore dans un environnement orthophosphate.

1.f.3- Validation de la structure

Hill a introduit le concept de modèle du polymère inorganique et de la connectivité de réseau (NC) aux verres bioactifs. Le réseau du verre peut être visualisé comme un ensemble de chaînes de polymères inorganiques constitués des atomes d'oxygène et de silicium. La neutralité électronique est assurée par les cations modificateurs tels que Na^+ et Ca^{2+} . En utilisant les pourcentages molaires, NC est calculée selon la relation suivante [207]:

$$NC = 2 + \frac{[(2 \cdot SiO_2) + (2 \cdot P_2O_5)] - [(2 \cdot CaO) + (2 \cdot Na_2O)]}{SiO_2 + (2 \cdot P_2O_5)}$$

Ce modèle peut être aussi utilisé pour prédire la bioactivité des verres dans les systèmes ternaires SiO_2 - CaO - Na_2O . Dans les verres bioactifs, plus NC est faible meilleure est la bioactivité; la plupart des verres bioactifs ont en fait $NC < 2$. Ce modèle calcul NC en considérant que P_2O_5 est un formateur du réseau.

Alors que M.D. O'Donnell a calculé la connectivité du réseau en considérant que le P n'est pas un formateur du réseau et qu'il se trouve dans un environnement orthophosphate (il forme des espèces isolés, Q^0) comme suit [205]:

$$NC' = 2 + \frac{(2 \cdot SiO_2) - [(2 \cdot CaO) + (2 \cdot Na_2O) - (2 \cdot P_2O_5 \cdot 3)]}{SiO_2}$$

Ainsi on peut mesurer la polymérisation du réseau de silice en calculant le nombre moyen des atomes d'oxygène non-pontants par tétraèdre SiO_4 (NBO/T). Cette valeur est calculée selon la formule [206]:

$$NBO/T = \frac{2 \cdot (Na_2O + CaO - (3m + 2n)P_2O_5)}{SiO_2}$$

La composition molaire du verre étudié est:

52.31 % SiO_2 - 32.33 % CaO - 13.65 % Na_2O - 1.71 % P_2O_5

Donc, d'après les relations précédentes, on a:

$$NC' = 2.05$$

$$NBO/T = 1.6$$

Donc, on a 2.4 d'atomes d'oxygène pontants par tétraèdre SiO_4 . Cette valeur est en bon accord avec les résultats de la déconvolution obtenus. D'après les valeurs de Q^2 et Q^3 ($Q^2 = 53.3\%$ et $Q^3 = 46.5\%$), on a 54.7% tétraèdre avec deux atomes d'oxygène pontants et 46.5 % tétraèdres avec trois oxygènes pontant. Le nombre des atomes d'oxygène pontants est donc:

$$BO/T = 0.533 \times 2 + 0.447 \times 3 = 2.4$$

C'est la même valeur obtenue par calcul, ce qui confirme la bonne déconvolution de nos spectres RMN.

2- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F immergés dans le SBF

2.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le SBF

Au cours d'immersion dans le SBF, on observe un relargage continu de l'élément formateur du réseau vitreux Si (fig.V-7). Notant que le relargage du Si dans le SBF n'est observé qu'après 4h d'immersion. Ensuite le taux de Si dans le SBF augmente pour atteindre un maximum après 3 jours d'immersion: presque 30 ppm de Si est détecté dans le SBF. Ce taux diminue après 7 jours d'immersion de 10 ppm pour augmenter une autre fois jusqu'à 40 ppm. Le taux du Si dans le SBF reste presque constant entre 15 et 30 jours.

On observe que le taux de dissolution du verre est important.

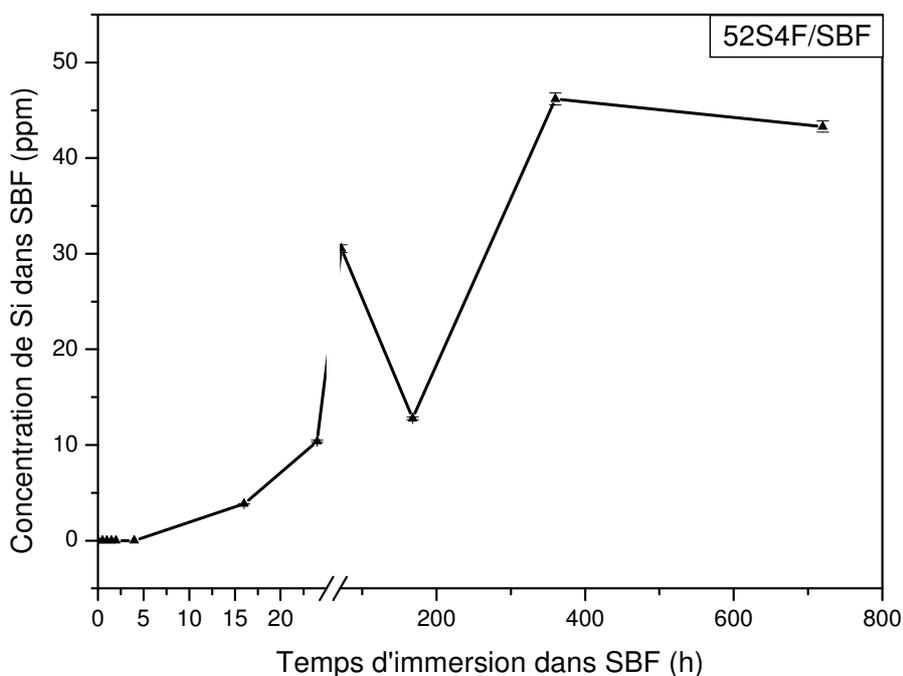


Figure V-7: Variation de concentration ionique du Si dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

La figure V-8 montre les concentrations en Ca et P dans le SBF lors de l'immersion du verre fusion. On observe que pendant les courts délais d'immersion, les concentrations en Ca et P augmentent lentement; quelques ppm de Ca et P, provenant d'un relargage du verre fusion vers la solution SBF. Après 16 h d'immersion, les concentrations de Ca et P augmentent de plus de 50 ppm pour Ca et 10 ppm du P. Ceci témoigne d'un relargage important du Ca et P du verre fusion vers la solution SBF jusqu'à 7 jours d'immersion. Alors qu'au-delà de 7 jours d'immersion, le processus s'est inversé et on observe une migration du Ca et P du SBF vers le verre fusion

jusqu'à 30 jours d'immersion où tout le phosphore présent dans le SBF a migré du SBF vers le verre.

Les évolutions des concentrations en Ca et P témoignent d'un processus en deux étapes: un relargage important provenant du verre jusqu'à 7 jours d'immersion correspondant à une phase de dissolution du verre. Après 7 jours, la migration du Ca et P de la solution vers le verre est en accord avec la précipitation à la surface du verre d'apatite phosphocalcique: « bone like-apatite ». En outre, le processus de formation du « bone like apatite » à la surface du verre s'accompagne d'une migration du Mg de la solution SBF vers le verre, comme le montre la figure V-9, ce qui signifie la substitution de cet élément dans la matrice phosphocalcique formée.

Donc, les résultats d'ICP montrent que deux phénomènes se manifestent à l'interface verre 52S4F/ solution SBF:

- La dissolution du verre fusion dans la solution SBF.
- La formation de « bone like-apatite » confirmée par la migration des ions Ca et P de la solution SBF vers la surface du verre fusion.

2.b- Variation du pH du SBF avec le temps d'immersion

La mesure du pH est très importante pour étudier le processus de dissolution du verre quand il est immergé dans une solution physiologique. On observe, grosso au modo, que le pH de la solution d'immersion (SBF) augmente avec le temps dès que 2 h d'immersion du verre dans le SBF (fig.V-10). Seulement, le pH n'était pas stable au cours d'immersion, entre 1 jours et 7 jours, le pH a diminué pour augmenter après 3 jours d'immersion pour diminuer une autre fois après 7 jours d'immersion.

L'échange ionique entre les protons H^+ de la solution SBF et les cations modificateurs du verre ainsi que la saturation de la solution SBF par l'acide de silice conduit à l'augmentation du pH de la solution SBF. Ces échanges ioniques, manifestés entre la surface du verre et la solution SBF, sont confirmés par les résultats d'ICP précédentes. Alors que la diminution du pH est peut être expliqué par la précipitation de l'hydroxyapatite carbonatée.

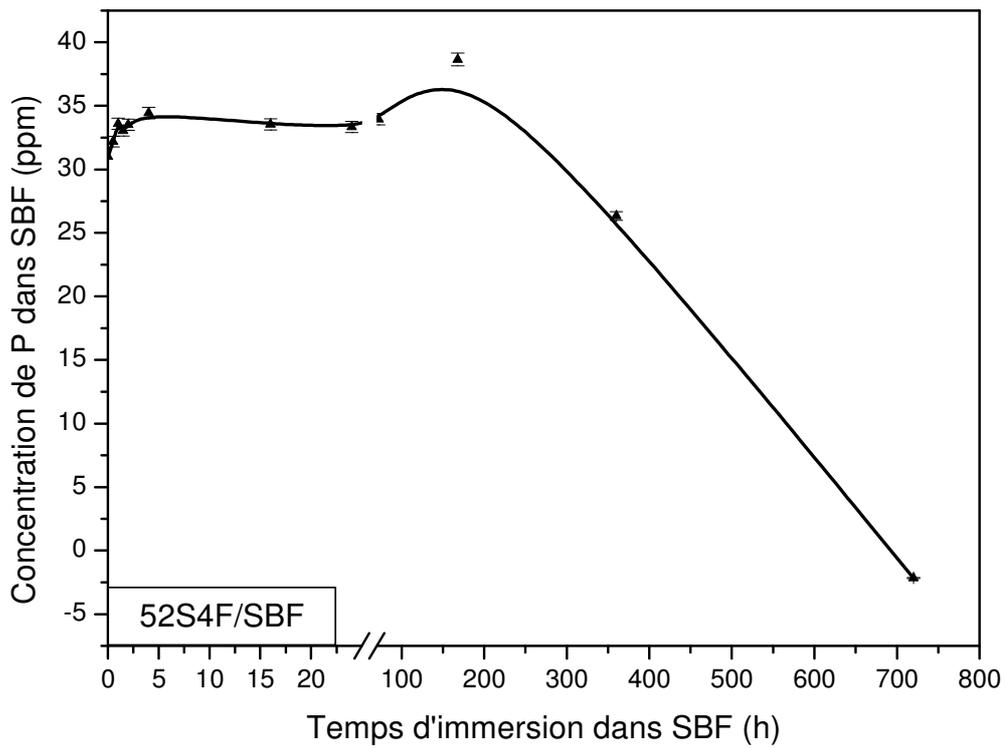
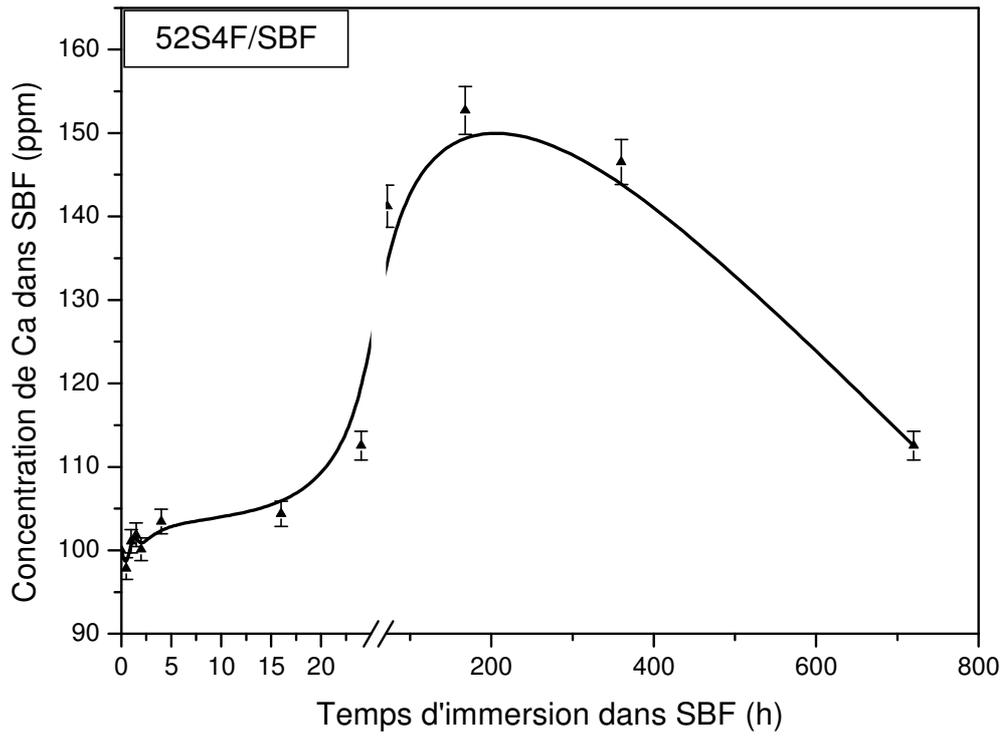


Figure V-8: Variation de la concentration ionique de Ca et P dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

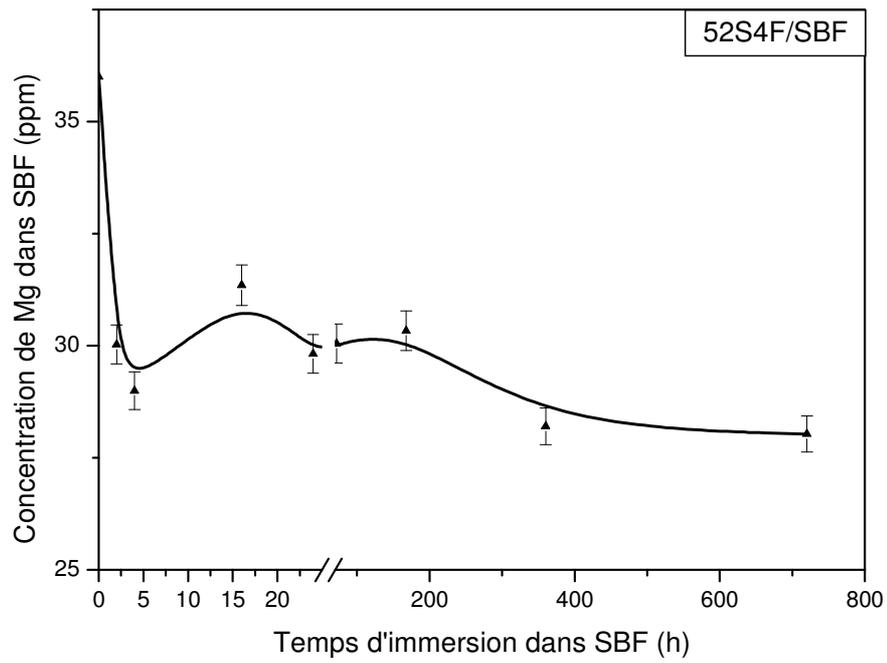


Figure V-9: Variation de la concentration ionique de Mg dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

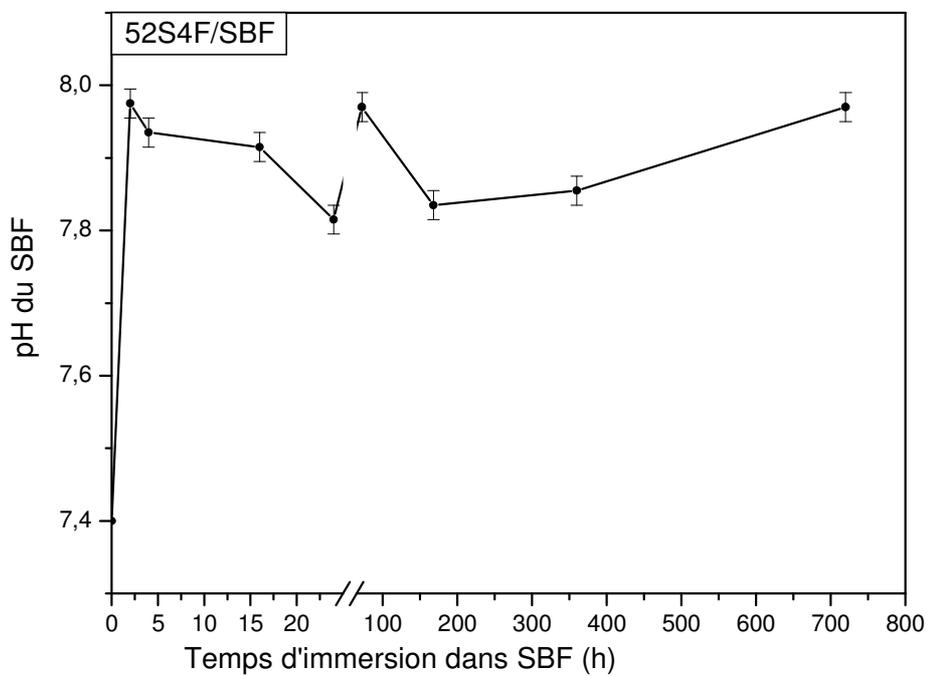


Figure V-10: Variation de pH de la solution SBF en fonction du temps d'immersion.

2.c- Altérations structurales des verres fusion avec le temps d'immersion dans le SBF

2.c.1- Diagrammes de diffraction RX

Selon les diagrammes de diffraction de rayons X (fig.V-11), aucune phase cristallisée n'a été formée à la surface des verres fusion avant 30 jours d'immersion dans le SBF. Le verre a gardé son aspect amorphe au cours de son immersion pendant les temps variant de 2 h jusqu'à 15 jours d'immersion; aucun pic n'a été détecté par les RX. Par contre, après 30 jours d'immersion, des pics correspondant à l'hydroxyapatite sont apparue sur le diagramme RX (on a utilisé N-HA étudiée dans la première partie comme référence).

On observe que le processus de précipitation de l'hydroxyapatite s'effectue selon une direction préférentielle: l'axe \bar{c} de la structure apatite. En effet, l'intensité relative du pic correspondant au plan (002) est plus importante que celle du pic correspondant au plan (211), en théorie plus intense.

2.c.2- Spectres IR

Les résultats de la spectroscopie infrarouge (fig. V-12) montrent que l'hydroxyapatite s'est formée dès 1 jour d'immersion dans la solution SBF bien que l'hydroxyapatite cristallisée ne soit détectée aux rayons X qu'après 30 jours d'immersion.

Après 1 jour d'immersion dans le SBF; plusieurs nouvelles bandes sont apparues par rapport aux bandes caractéristiques du verre fusion avant immersion. La bande à 802 cm^{-1} est caractéristique des vibrations d'élongation symétrique Si-O des atomes d'oxygènes pontant entre les tétraèdres [210- 212]. Alors que la bande à 1070 cm^{-1} est caractéristique des vibrations d'élongation asymétrique O-Si-O correspondant à Q^3 dans les tétraèdres [210, 211, 213]. Ces deux bandes confirment la formation d'un gel de silice et ça correspond au stade 1, 2 et 3 de la formation de « bone like apatite » à la surface d'un verre comme le montre Hench [74]. Ces stades sont suivis par le début de formation d'une hydroxyapatite amorphe (stade 4); des faibles bandes apparaissent à $464, 560$ et 1155 cm^{-1} caractéristiques du P-O dans HA amorphe [210-212]. Entre 3 et 15 jours, les bandes de l'hydroxyapatite amorphe sont bien distinctes. Des bandes caractéristiques du P-O dans HA sont apparue à: $464, 560, 960, 1085, 1155$ et 1259 cm^{-1} [166, 210-212, 214]. Après 30 jours d'immersion, une double bande P-O caractéristique de HA cristallisée est apparue à 560 et 603 cm^{-1} (stade 5) [197,212, 214].

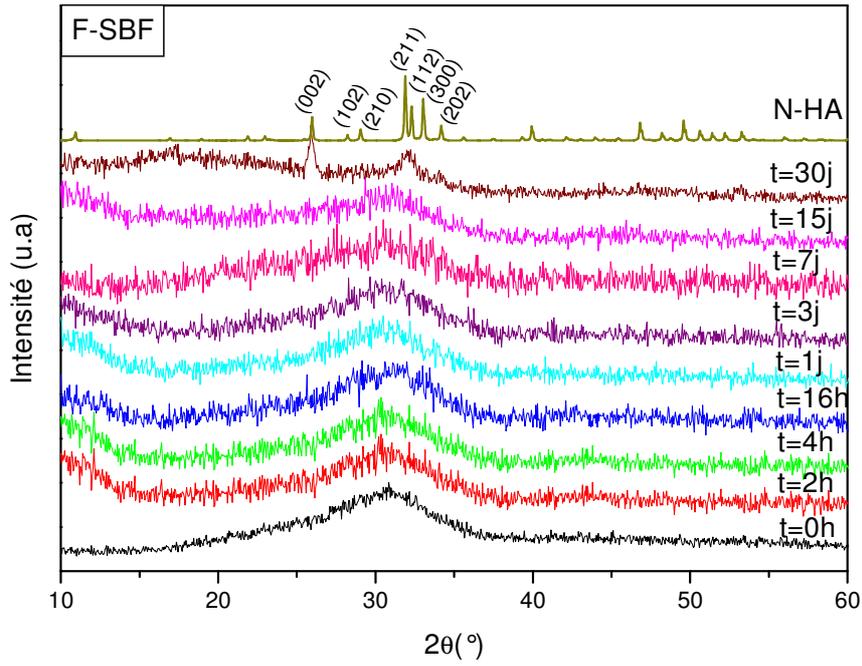


Figure V-11: Diagrammes de diffraction RX des verres 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le SBF.

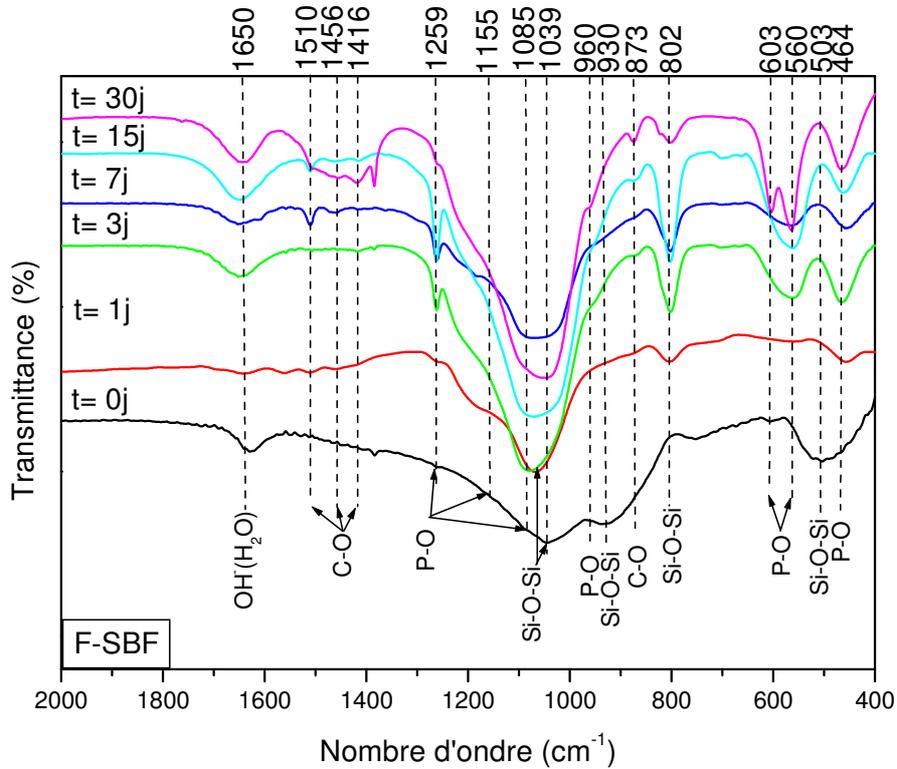


Figure V-12: Spectres IR de la surface de verre 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le SBF.

D'autres bandes apparaissent à 873, 1416 et 1510 cm^{-1} qui appartiennent au groupe de carbonates (C-O) ce qui confirme que l'apatite formée est une hydroxyapatite carbonatée [166, 210, 211, 214].

Les bandes à 503 et 930 cm^{-1} caractéristiques de Si-O-Si dans le verre sont disparues après l'immersion dans le SBF. Ainsi, on observe bien l'élargissement de la bande entre 1039 et 1085 cm^{-1} qu'on peut l'expliquer par le fait que les bandes caractéristiques des groupes P-O et Si-O sont très proches dans cet intervalle [215].

Les résultats de la spectroscopie infrarouge sont en bon accord avec les résultats de diffraction des Rayons X.

Remarque

Pour moins de 1 jour, la poudre récupérée de la surface grattée du verre n'était pas suffisante pour faire l'infrarouge.

Les spectres IR de verre fusion ($t= 0$ et 1 j) se sont aggravés pour mieux voir les bandes.

2.c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés

Les images par MEB (fig.V-13) et l'analyse EDS (fig.V-14) montrent les différents changements morphologiques de la surface du verre 52S4F en fonction du temps d'immersion:

- entre 30 min et 2 h, on observe la formation d'une couche très mince uniforme sur toute la surface en contact avec le SBF et qu'on peut attribuer au gel de silice avec l'apparition à 2h des petits germes sphériques. Cette couche est riche en Si et pauvre en P,
- après 4 h, toute la surface du verre est recouverte par les petits germes sphériques. Cette couche est très riche seulement en Si,
- entre 16 h et 1 jour, la nucléation des germes est effectuée selon des directions préférentielles. La nouvelle phase apparaît comme des petits germes allongés sur une hauteur de 2 μm ; l'un à côté de l'autre. Le fait que cette couche soit riche en Si et Ca et très pauvre en P montre que le processus de précipitation du « bone like-apatite » n'en n'est qu'à ses débuts,
- après 3 jours, une couche mince des petits germes sphériques de 1 μm d'épaisseur s'est formée sur la couche précédente. Cette couche est très riche en Ca et P et pauvre en Si par rapport à la couche formée précédemment. En reliant les résultats de IR aux

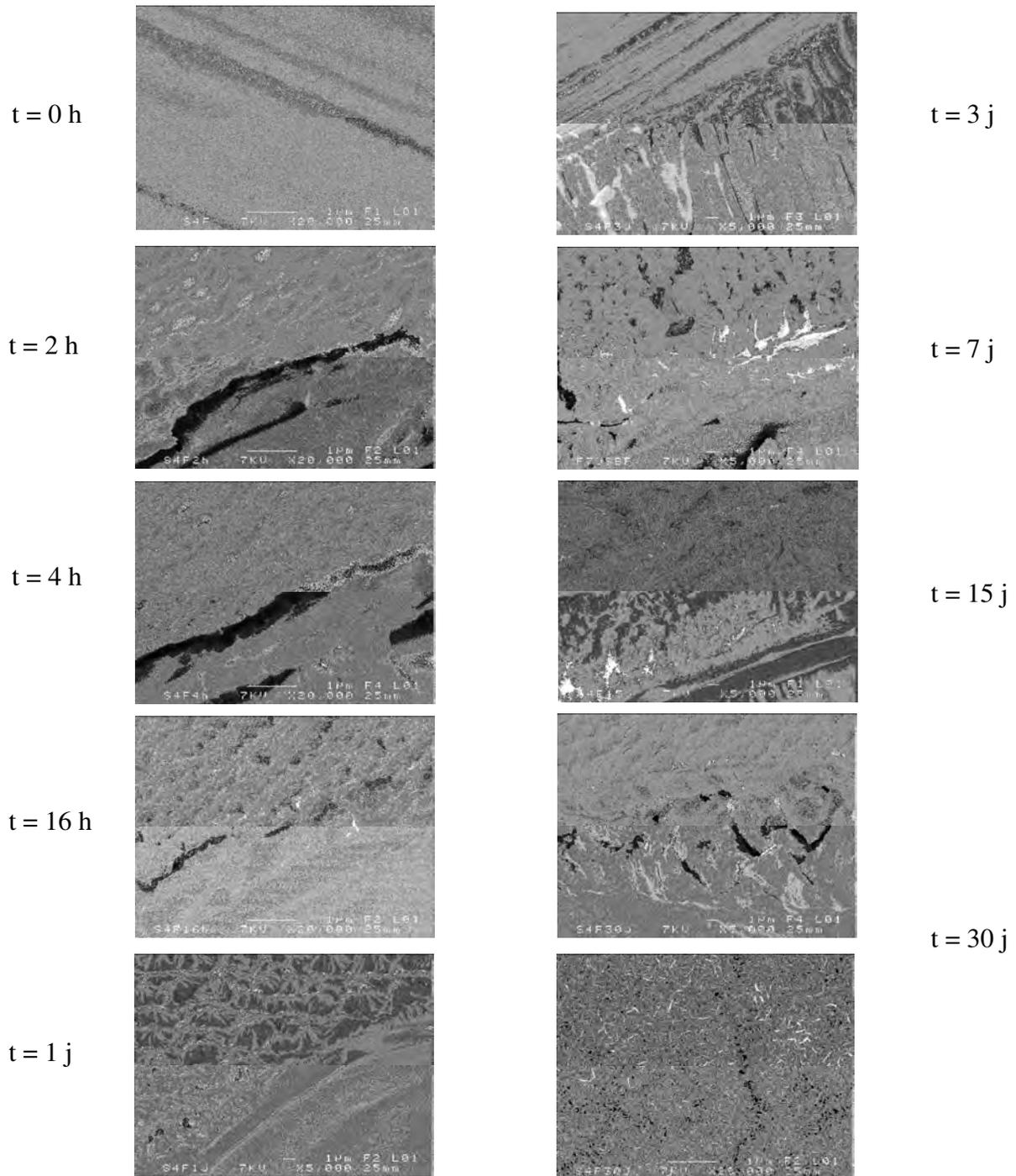


Figure V-13 : Micrographie par MEB de la surface des verres 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le SBF.

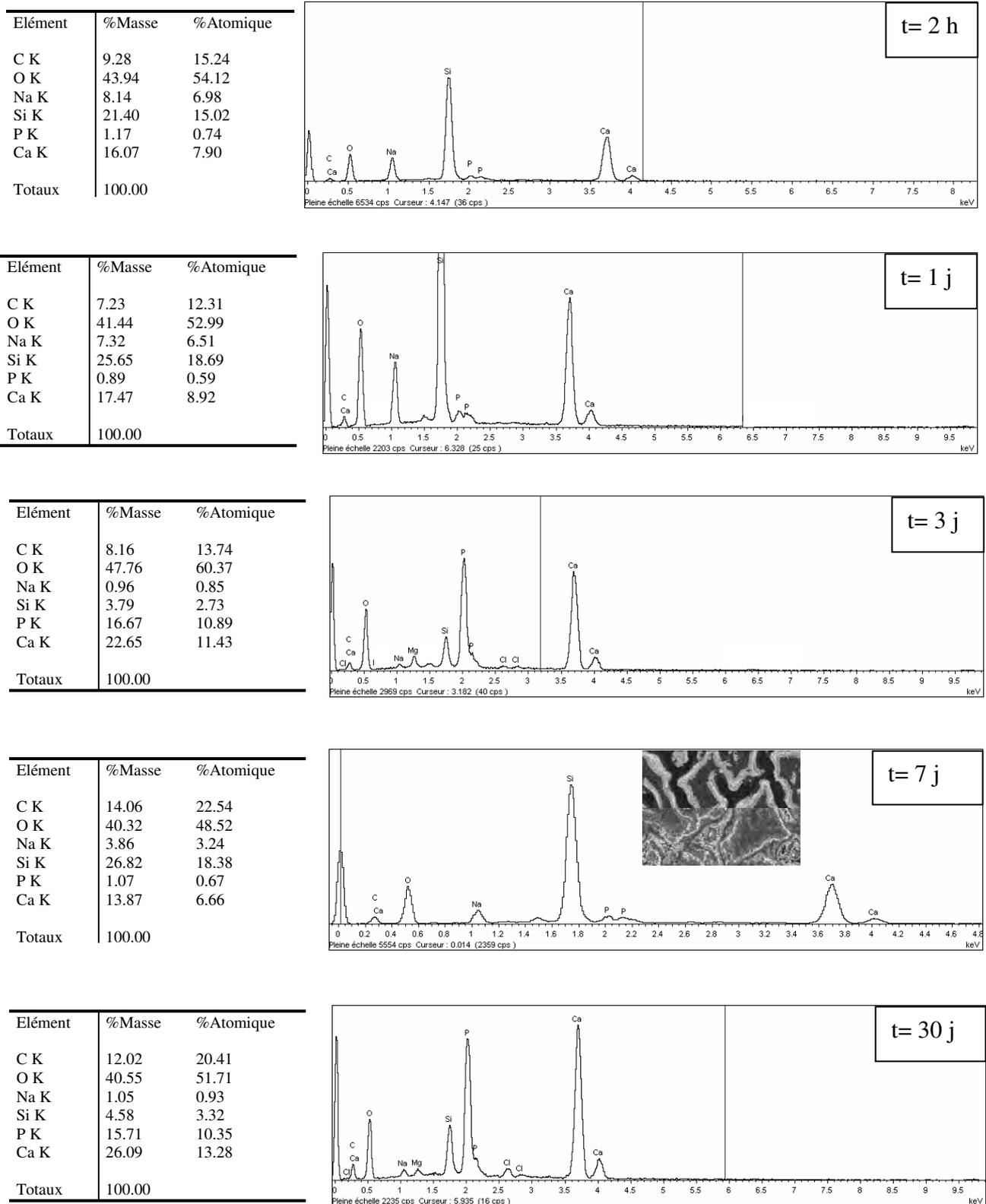


Figure V-14: Analyse par EDS de la surface des verres 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le SBF.

résultats de l'EDS, on peut conclure que la couche formée est une hydroxyapatite carbonatée amorphe.

- Après 7 jours, un phénomène imprévu s'est produit. Une couche très mince et très riche en Si s'est formée sur la couche d'hydroxyapatite amorphe. D'après les résultats d'analyse du SBF par ICP, le relargage du Ca et du P présents dans le verre vers la solution SBF était important pour ce délai d'immersion. En plus, on observe la diminution de la concentration en Si dans le SBF. La couche d'hydroxyapatite amorphe n'a pas été dissoute puisque les bandes caractéristiques du P-O sont encore présentes dans le spectre IR bien qu'elles sont moins intenses qu'après 3 jours d'immersion. On peut conclure qu'un gel de silice s'est formé en dessous de HA amorphe.
- Après 15 jours, une couche riche en Ca et P s'est développée. En tenant compte des spectres IR, cette couche est une hydroxyapatite amorphe qui s'est formée par la combinaison des ions Ca et les ions P migrants de la solution SBF vers la surface du verre. Cette couche épaisse était très poreuse.
- Après 30 jours, la couche précédente s'est développée et elle est devenue plus dense et riche en Ca et P. Toute la surface du verre est recouverte par des petits grains très compactés entre eux; qui correspondent à l'hydroxyapatite carbonatée cristalline. D'autres éléments se sont substitués dans le réseau apatitique comme le Mg, Na et Cl.

2.d- Bilan des résultats

Les résultats observés sont à mettre en parallèle avec ceux obtenus par Hench [74] concernant les verres dits "bioactifs". D'après Hench et en tenant compte des résultats obtenus; on peut expliquer le processus de formation du « bone like-apatite » à la surface du verre fusion 52S4F comme suit [74]:

- Au début (après 2 h), l'échange ionique entre les protons de la solution (H^+) et les cations modificateurs du réseau vitreux, Na^+ et Ca^{2+} , était faible ce qui a ralenti la formation des silanols Si-OH à la surface du verre et par conséquent leur dissolution sous forme de $Si(OH)_4$. Malgré ce faible échange ionique, le pH de la solution SBF augmente de 7,4 à 8 en raison de remplacements des H^+ présents dans la solution par des cations issus du verre. Dans ces conditions de pH (entre 7 et 8), il a été montré précédemment que la dissolution de Si est faible [113] comme dans notre cas. Par conséquent, la polymérisation de la couche de SiO_2 s'effectue lentement par la condensation momentanée des silanols. Pour cette raison, on ne détecte pas du Si dans le SBF.
- Après 4h, la concentration de Ca dans le SBF augmente. Cet échange ionique a incité la formation des silanols et par conséquent la polymérisation de SiO_2 en raison de la saturation de la solution par l'acide silicique [113].

- Après 3 jours d'immersion, la couche de silice présente à la surface du verre a stimulé la formation d'une hydroxyapatite amorphe par la migration de Ca et P présents dans la solution SBF vers le verre. Donc, le pH de la solution SBF a diminué.
- Après 7 jours, un phénomène imprévu s'est produit: au lieu du développement de la couche d'HA; une nouvelle couche de silice s'est à nouveau formée. On peut expliquer ce phénomène par la continuation de relargage de Ca du verre fusion vers la solution SBF et par conséquent l'augmentation du pH de la solution. L'augmentation de l'acidité du SBF facilite la dissolution du réseau vitreux et la formation d'autres silanols et par conséquent la formation d'une autre couche de silice.
- Entre 15 et 30 jours; par la combinaison des ions du Ca et P migrés de la solution SBF vers le verre fusion, on a formation d'une hydroxyapatite, tout d'abord amorphe, qui cristallise à 30 jours.

D'après ces résultats, on déduit que la formation de « bone like-apatite » est très liée au relargage de Ca et P vers la solution. Plus le relargage est important; plus la précipitation de l'hydroxyapatite est activée [196,197].

3- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F immergés dans le PBS

3.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le PBS

Les résultats d'ICP montrent une similitude entre les phénomènes rencontrés à l'interface 52S4F/PBS et ceux rencontrés dans le cas de l'immersion dans le SBF: la dissolution du verre fusion dans la solution PBS et la formation d'une « bone like-apatite ».

Au cours d'immersion dans le PBS, on observe un relargage continue du l'élément formateur du réseau vitreux Si (fig.V-15). Ce relargage du Si dans le PBS est faible au cours de premiers 24 heures d'immersion, 6 ppm du Si sont relargués dans le PBS après 1 jour d'immersion. Ensuite le taux de Si dans le PBS augmente rapidement pour atteindre la valeur ≈ 29 ppm après 3 jours d'immersion. Ce taux s'est diminué après 7 jours d'immersion de 9 ppm pour augmenter à nouveau jusqu'à 76 ppm après 30 jours d'immersion dans le PBS.

On observe qu'après 30 jours, le taux de dissolution du verre 52S4F dans la solution PBS est plus grand par rapport à celui dans le SBF.

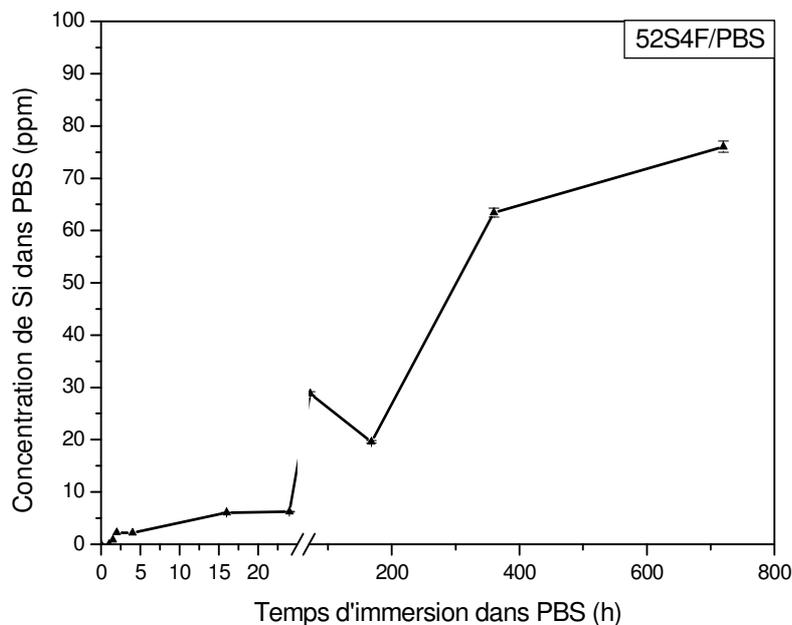


Figure V-15: Concentration ionique du Si dans le PBS en fonction du temps d'immersion.

La figure V-16 montre la variation des concentrations en Ca et P dans le PBS. En ce qui concerne la variation de Ca dans le PBS, on observe que pendant les premiers 16 h d'immersion, il n'y a pas eu d'augmentation de la concentration en Ca dans le PBS. Après 1 jour d'immersion, l'augmentation de la concentration en Ca est faible; presque 3 ppm du Ca relarguent du verre fusion vers la solution PBS. Après 7 jours, le relargage de Ca atteint une valeur maximale de 7 ppm dans le PBS. Au-delà de la dissolution maximale, le processus s'inverse et on observe une migration du Ca du SBF vers le verre fusion jusqu'à 30 jours d'immersion où le taux du Ca atteint la valeur de -4 ppm dans le PBS.

Alors que, pendant les premiers 4 h d'immersion, le taux du P dans le PBS augmente de 54 ppm. Il atteint une valeur maximale de 421 ppm dans la solution PBS. Au-delà de cette valeur, le processus s'inverse et on observe une migration du P de la solution PBS vers le verre fusion. Entre 4 et 16 h d'immersion, la diminution du P est faible; presque 20 ppm du P ont migré du PBS vers la surface du verre fusion. Entre 16 h et 7 jours, le taux de P reste constant dans le PBS. Tandis qu'après 7 jours, le taux de P diminue une autre fois; environ 76 ppm du P ont migré de la solution PBS vers le verre 52S4F après 30 jours d'immersion.

La migration des ions Ca et P de la solution PBS vers le verre, les éléments majeurs de l'apatite phosphocalcique, suggère la précipitation du « bone like apatite ». Ce processus est le plus dominant après 4h d'immersion dans le PBS.

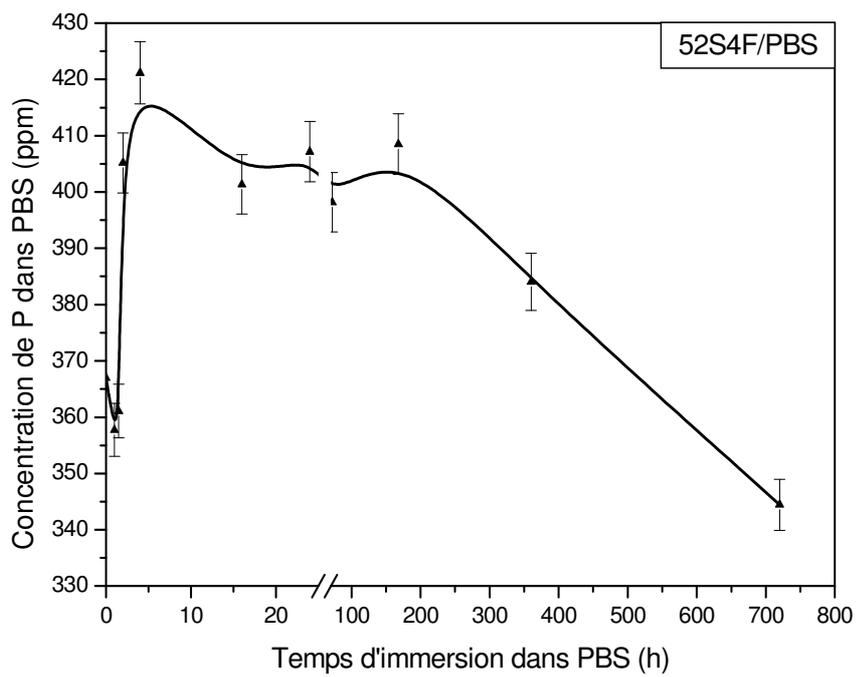
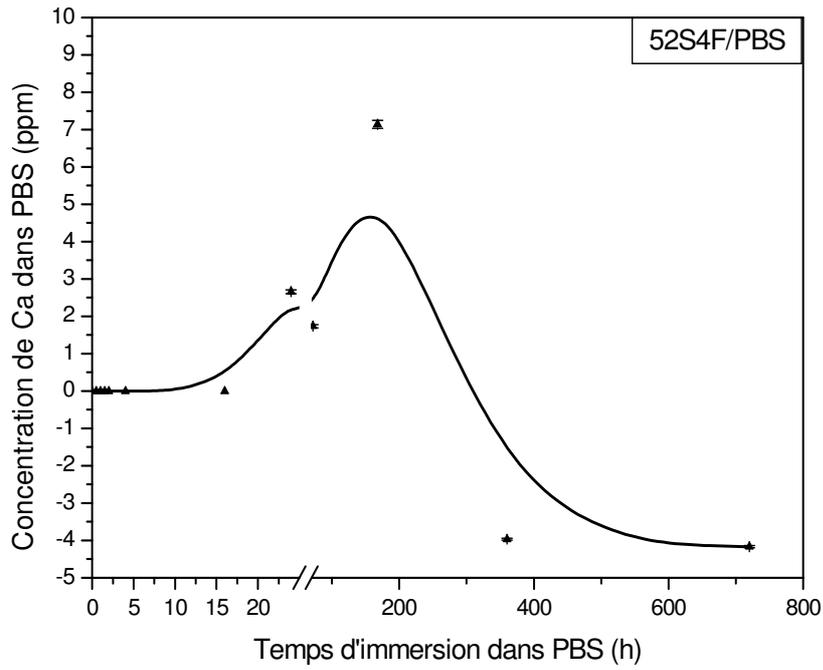


Figure V-16: Variation de la concentration ionique de Ca et P dans le PBS en fonction du temps d'immersion.

Le processus de formation du « bone like-apatite » à la surface du verre est accompagné par la migration du K de la solution PBS vers le verre (fig.V-17) ce qui signifie la substitution de cet élément dans la matrice phosphocalcique formée. La variation du K se produit de la même manière que P

3.b- Variation du pH du SBF avec le temps d'immersion

La mesure du pH de la solution d'immersion (PBS) montre une augmentation sensible du pH de la solution PBS au cours des premiers 24 heures d'immersion (fig.V-18). Ensuite il augmente à la valeur 8.5 après 3 jours d'immersion. Après 7 jours, le pH diminue pour augmenter à nouveau après 15 jours d'immersion et il reste constant jusqu'à 30 jours d'immersion. On observe que le pH varie de la même façon que le Si.

3.c- Altérations structurales des verres 52S4F avec le temps d'immersion dans le PBS

3.c.1- Diagrammes de diffraction RX

Selon les diagrammes de diffraction de rayons X (fig.V-19), aucune phase cristallisée n'a été formée à la surface des verres fusion après 2h d'immersion dans le PBS. Après 4h d'immersion, des pics correspondant à l'hydroxyapatite sont apparues sur le diagramme RX (on a utilisé N-HA étudiée dans le chapitre IV comme référence).

Plus le temps d'immersion augmente; plus l'intensité des pics de l'HA augmente ce qui confirme la croissance de cette phase formée à la surface des verres 52S4F. Après 30 jours d'immersion dans le PBS, presque tout les pics de la phase HA sont bien distingués. En plus; on observe l'absence de l'aspect vitreux du verre ce qui confirme que la couche de HA est épaisse.

On observe bien que le processus de précipitation de l'hydroxyapatite s'est effectué selon des directions préférentielles: l'axe \bar{c} de la structure apatite. En effet, l'intensité relative du pic correspondant au plan (002) est plus importante que celle du pic correspondant au plan (211), en théorie plus intense.

3.c.2- Spectres IR

Les résultats de la spectroscopie infrarouge (fig. V-20) montrent que l'hydroxyapatite cristallisée s'est formée dès les premières heures d'immersion dans la solution PBS. On observe que les bandes caractéristiques du P-O dans HA cristallisée sont apparues à 466, 560, 603, 1095 et 1261 cm^{-1} [166, 210-212, 214]. Entre 15 et 30 jours, les bandes à 873, 1420 et

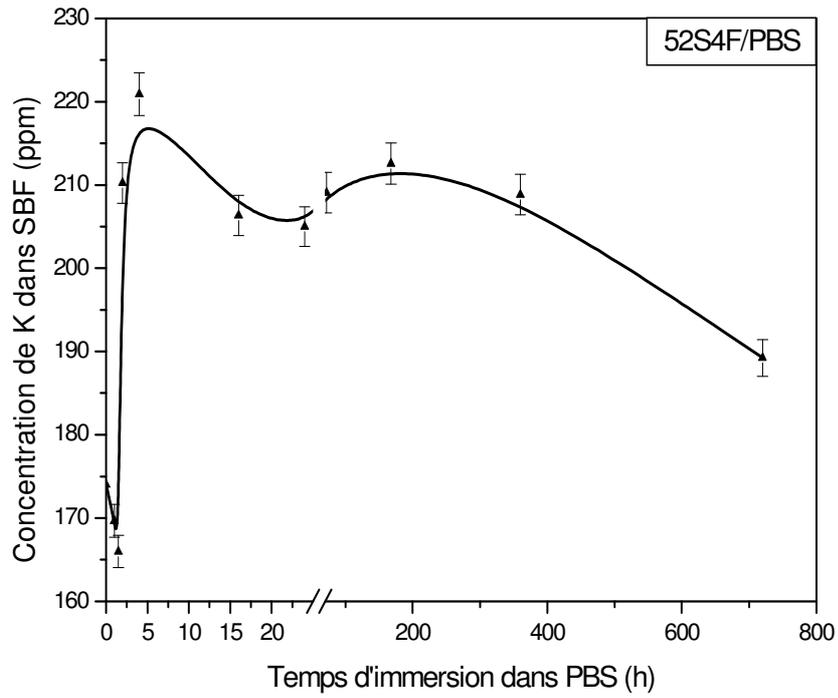


Figure V-17: Variation de la concentration ionique de K dans le PBS en fonction du temps d'immersion.

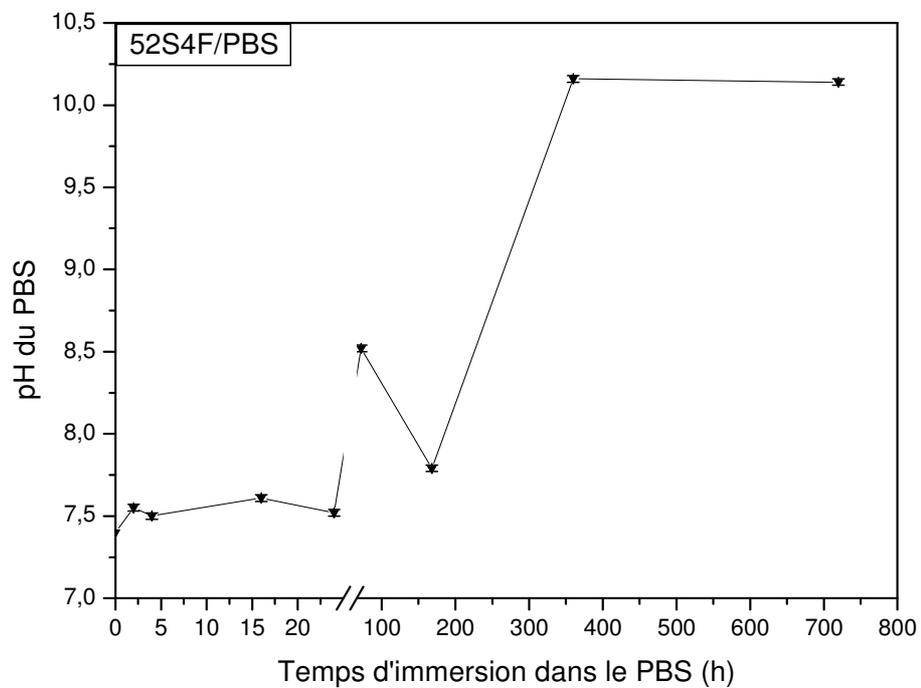


Figure V-18: Variation de pH de la solution PBS en fonction du temps d'immersion.

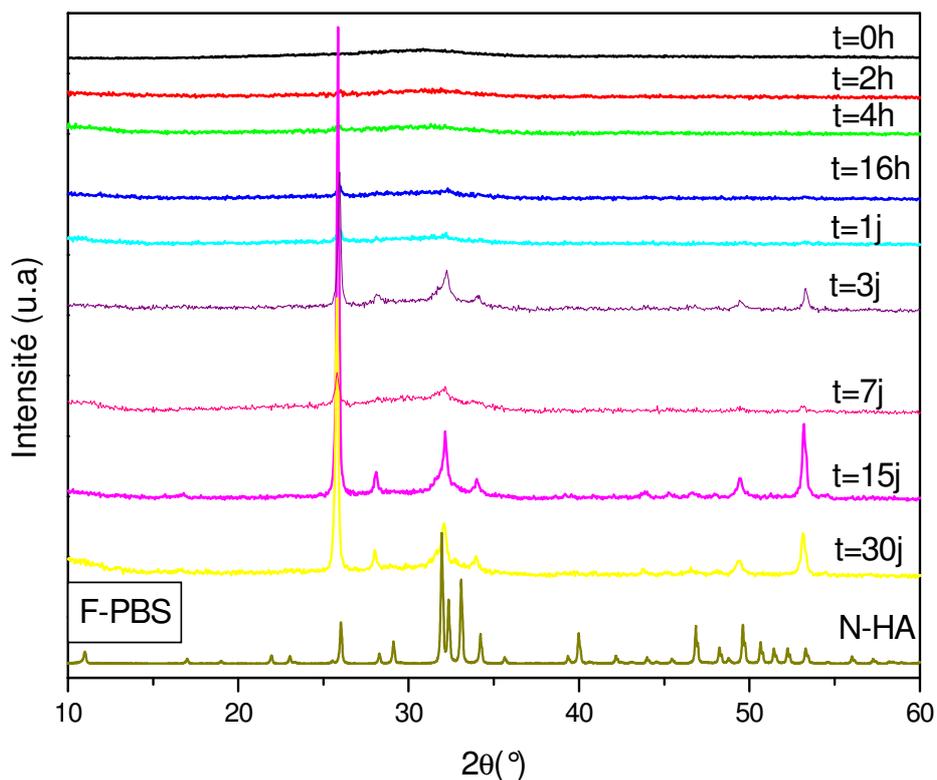


Figure V-19: Diagrammes de diffraction RX des verres 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le PBS.

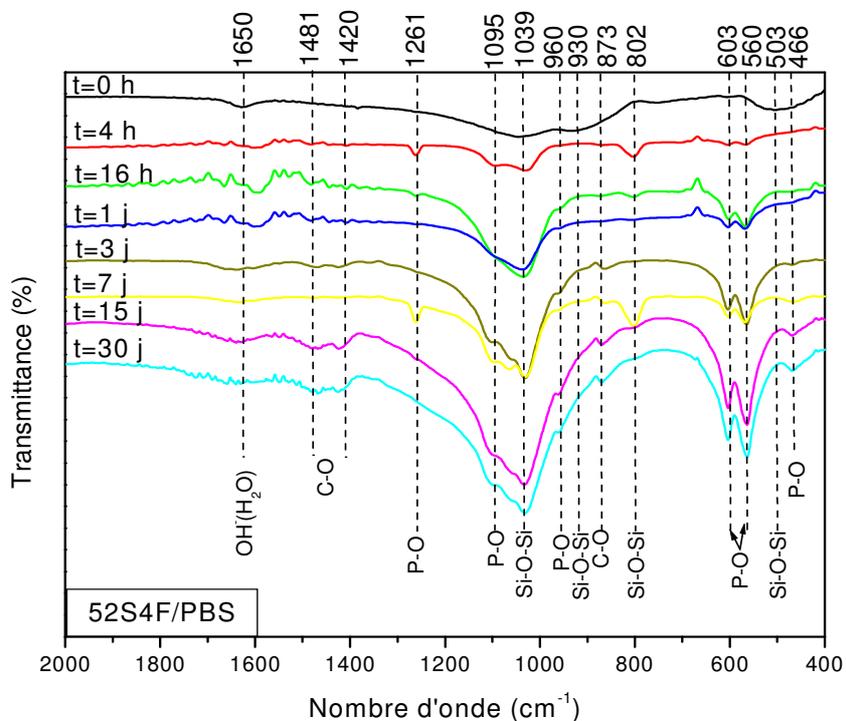


Figure V-20: Spectres IR de la surface de verre 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le PBS.

1481 cm^{-1} appartiennent au groupe de carbonates (C-O) sont plus distinguées ce qui confirme que l'apatite formée est une hydroxyapatite carbonatée. Tandis que la bande à 801 cm^{-1} confirme la formation d'un gel de silice à la surface du verre comme il le montre Hench [74]. Les résultats de l'infrarouge sont en très bon accord avec les résultats de diffraction RX.

c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés

Les images par MEB (fig.V-21) et l'analyse EDS (fig.V-22) montrent les différents changements morphologiques de la surface du verre 52S4F en fonction du temps d'immersion dans le PBS:

- entre 30 min et 1.5h, on observe la formation et la croissance des petits germes sphériques sur toute la surface du verre qui en contact direct avec le PBS. Cette surface contient plus de P et moins de Si par rapport à la surface avant immersion. On peut conclure que les germes sphériques c'est de l'apatite amorphe,
- Après 2h d'immersion, une nouvelle couche mince cristallisée s'est formée, le taux du Ca et P a augmenté par rapport à celui de 1.5 h. Cette couche correspond aux cristaux d'hydroxyapatite qu'on n'a pas pu les détecter par RX probablement à cause de l'épaisseur faible de la couche formée,
- entre 4h et 3 jours, on observe la diminution du taux de Si et l'augmentation importante du taux de Ca et P ce qui confirme la formation de l'HA cristallisée. Ce résultat confirme les résultats de RX et IR. La surface du verre après 4 h d'immersion est recouverte d'un gel de silice puisque la bande caractéristique de ce gel située à 801 cm^{-1} est plus intense par rapport aux autres délais. Après 7 jours, un gel de silice est reformé en dessus de la couche d'HA cristallisée. L'analyse EDS montre que le taux de Si augmente et que le taux de Ca et P diminue à la surface du verre immergé,
- entre 15 et 30 jours, une couche riche en Ca et P se développe en dessus de gel de silice. En tenant compte des spectres IR et les diagrammes RX, cette couche est une hydroxyapatite cristallisée qui s'est formée par la combinaison des ions Ca et les ions P migrés de la solution PBS vers la surface du verre. Cette couche est très dense et uniforme. On peut observer après 30 jours d'immersion les différentes couches formées dans le PBS.

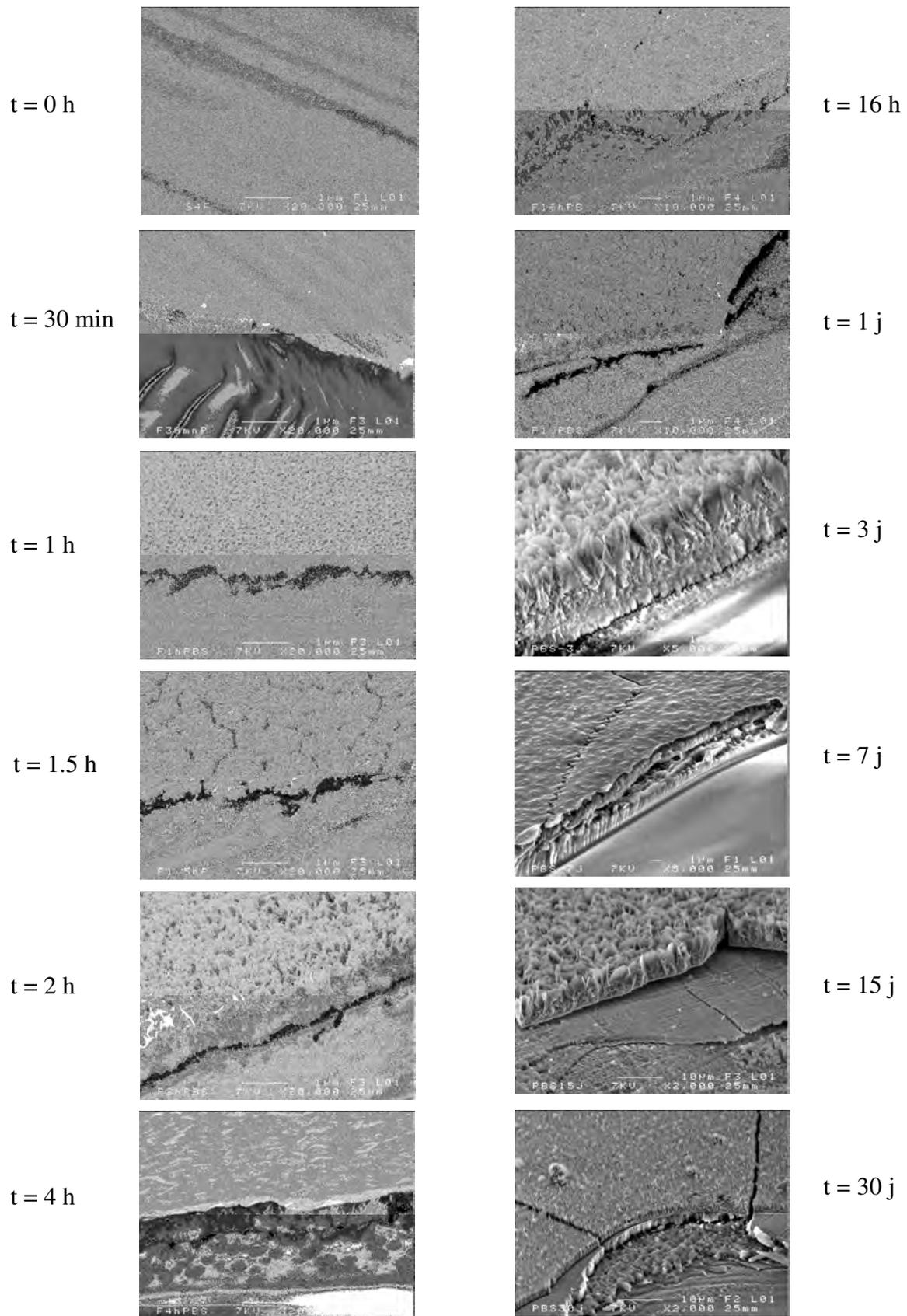


Figure V-21 : Micrographie par MEB des verres 52S4F immergés dans le PBS.

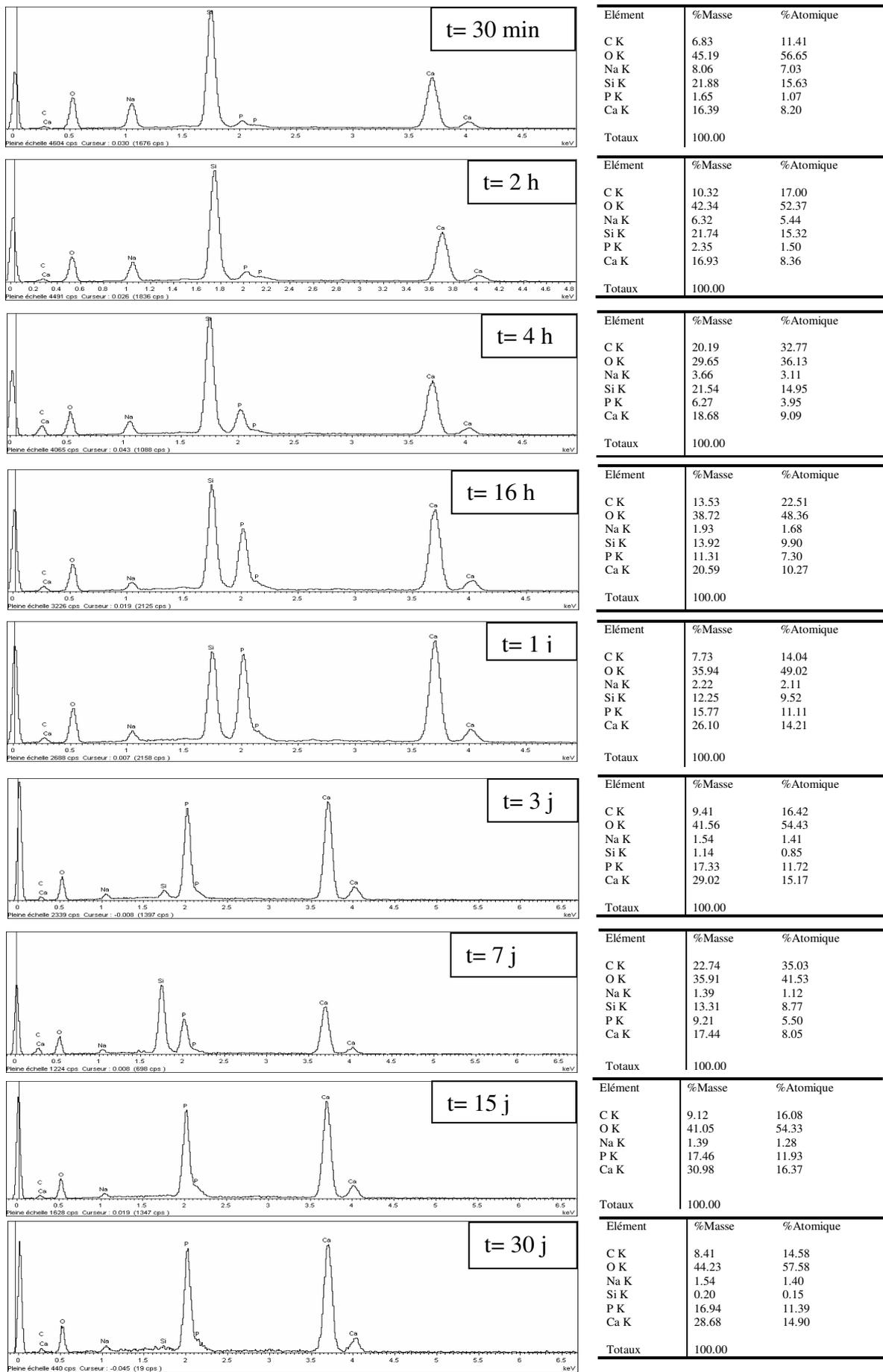


Figure V-22: Analyse par EDS de la surface des verres 52S4 en fonction du temps d'immersion dans le PBS.

3.d- Bilan de résultats

En tenant compte des résultats d'ICP, IR, DRX et MEB-EDS, on observe que:

- une nouvelle phase phosphocalcique se forme dès 30 min d'immersion dans le PBS. Cette phase se cristallise après 2h d'immersion et elle est très dense après 30 jours d'immersion,
- en outre, le gel de silice se forme après 4 heures d'immersion dans le PBS et il se reforme après 7 jours.

Le gel de silice est formé aussi dans les premières minutes d'immersion mais avec une épaisseur très faible puisque son relargage dans le PBS était faible. La formation de l'apatite amorphe dès 30 min n'a pas permis l'observation de ce gel. Ainsi, d'après Hench la formation de l'apatite amorphe se produit après la formation du gel de silice [74].

La reformation de gel de silice après 4h et 7 jours d'immersion a été déjà observée lors de l'immersion des verres 52S4F dans le SBF. On observe toujours que la formation de ce gel correspond au relargage maximale de Ca du verre vers le PBS: le relargage des cations modificateurs du réseau vitreux conduit à l'augmentation du pH de PBS. Par conséquent; l'augmentation de l'acidité du PBS facilite la dissolution du réseau vitreux et la formation d'autres silanols et par conséquent la formation d'une autre couche de silice.

En comparant la réaction du verre 52S4F dans le SBF et le PBS; on peut déduire que la concentration ionique des solutions d'immersion en éléments formateurs de l'HA (Ca et P) a un effet très important sur la cinétique de précipitation de « bone like-apatite »: plus la solution est saturée par Ca ou P (PBS est très riche en P); plus le processus de précipitation est accéléré et la couche formée est très épaisse pour un même délai d'immersion [125].

4- Conclusion

Les verres 52S4F sont des verres bioactifs, une couche de « bone like-apatite » s'est formée à la surface des verres immergés dans deux solutions physiologiques différentes: SBF et PBS.

La cinétique de formation de cette couche est influencé par la concentration de la solution d'immersion en Ca et P: la forte saturation de PBS en P a conduit à la formation de l'apatite amorphe dès les premières minutes d'immersion et l'HA cristallisée après 2h d'immersion. Alors que dans le cas d'immersion dans le SBF, le processus de précipitation de l'apatite n'est achevé que après 1 jour d'immersion.

Quelque soit la solution d'immersion, un gel de silice se forme à nouveau après 7 jours d'immersion. Cela est dû au relargage du Ca du verre vers la solution d'immersion malgré l'engagement du processus de précipitation de « bone like-apatite ».

Chapitre VI: Verres synthétisés par le procédé sol gel (52S5SG)

1- Propriétés physico-chimiques des verres synthétisés 52S4SG

1.a- Températures caractéristiques du verre

Les températures caractéristiques du verre synthétisé par le procédé sol-gel ont été déterminées par l'analyse thermique différentielle ATG-DSC.

L'analyse a été effectuée dans des nacelles de platine en chauffant du verre à 1400°C avec une vitesse de chauffage de 5°C/min (vitesse de refroidissement est 20°C/min).

La figure V-1 montre les températures caractéristiques du verre 52S4SG:

- la température de transition vitreuse ($T_G=596^\circ\text{C}$),
- la température de cristallisation ($T_c=631^\circ\text{C}$),
- la température de fusion ($T_f=1318^\circ\text{C}$).

La température $T_{\text{décomp}}=434^\circ\text{C}$ correspond à la température de décomposition des acétates dans le produit après la synthèse. Un traitement thermique à 550°C, sous vide, avec une rampe de 0,5°C/min a été appliqué aux pastilles pour être sûr de décomposer tout les acétates et les produits volatils restants après la synthèse du verre.

On observe la présence des pics de faible intensité entre le pic de cristallisation et le pic de fusion qui peut être attribuée à la présence de plus d'une phase cristalline. Ce phénomène a été observé précédemment dans les verres synthétisés par voie fusion et par Dietrich [195].

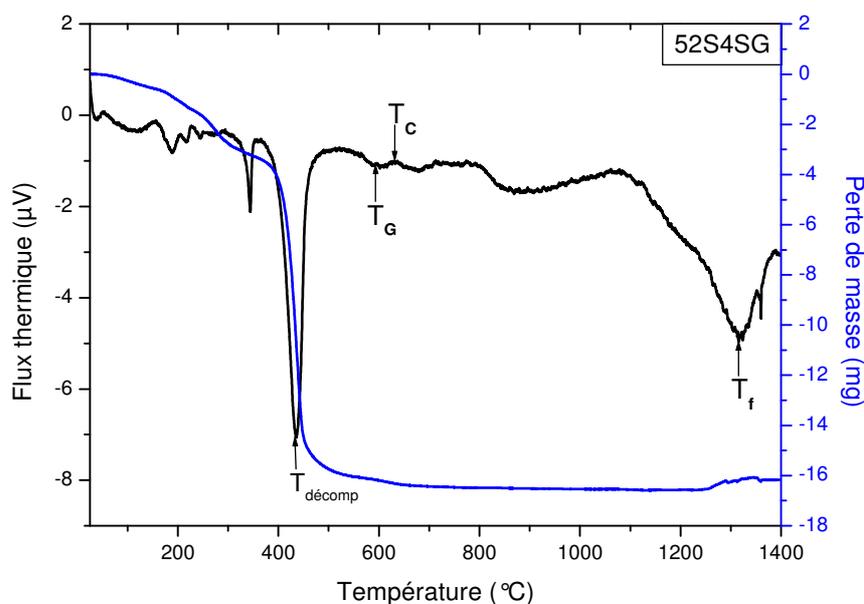


Figure VI-1: Courbe ATG-DSC du verre 52S4SG.

1.b- Caractérisation par diffraction RX

Comme il a été mentionné dans le chapitre 3, le produit obtenu par le procédé sol-gel se forme d'un amas solide entouré par des fibres. Pour mieux comprendre la structure du verre synthétisé; on a traité l'amas solide et les fibres séparément à 550°C, sous vide, pendant 3 h. Le mélange (amas solide+fibrés) a subi le même traitement thermique. La figure VI-2 montre les diagrammes de trois poudres.

On observe que les phases présentes dans les fibres sont:

- une phase majoritaire de CaCO_3 , issue de la décomposition des acétates,
- une faible quantité de Ca(OH)_2 résultant de la décomposition de CaCO_3 en CaO qui s'est hydraté,
- une faible quantité d'une nouvelle phase en raison de la réaction de CaO avec P_2O_5 pour former le phosphate tétracalcique $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ (TetCP).

Alors que le diagramme de diffraction RX de l'amas solide (SG-bloc) montre bien l'aspect amorphe d'un verre avec la présence d'une faible quantité de HA.

Le diagramme du mélange traité à 550°C (SG mélange = amas solide + fibres) montre que le verre synthétisé par le procédé sol-gel est amorphe. Les phases cristallisées ne sont pas distinguées sur le diagramme en raison de leur présence en faible quantité.

1.c- Analyse par spectrométrie IR

La figure VI-3 montre les spectres IR des trois poudres précédentes. Ces derniers confirment les résultats obtenus par RX.

Le spectre IR des fibres confirment la présence de CaCO_3 , Ca(OH)_2 et TetCP. Les bandes à 712, 870, 1440 et 1800 cm^{-1} sont caractéristiques de la liaison C-O de la phase CaCO_3 (on a utilisé comme référence la calcite pure). Tandis que la bande à 3650 cm^{-1} correspond à la liaison OH de la phase Ca(OH)_2 [134]. Alors que les bandes à 501, 960 et 1040 cm^{-1} sont caractéristiques de la bande P-O de la phase TetCP [141].

Le spectre IR du l'amas solide présente les bandes caractéristiques de la liaison Si-O-Si dans le verre situées à 470, 780 et 1045 cm^{-1} [195-198]. La bandes à 570 et 606 cm^{-1} sont caractéristiques de la liaison P-O dans HA [132, 166].

Dans le spectre du produit traité (mélange des fibres et d'amas solide), on trouve l'ensemble des bandes observées dans les fibres et l'amas solide. Seulement, les bandes caractéristiques de la liaison S-O sont un peu décalées de celles observées dans l'amas solide à cause de la présence de HA et TetCP. Ces bandes sont situées à 500, 762 et 1035 cm^{-1} .

La bande à environ 670 cm^{-1} correspond au CO_2 atmosphérique [216].

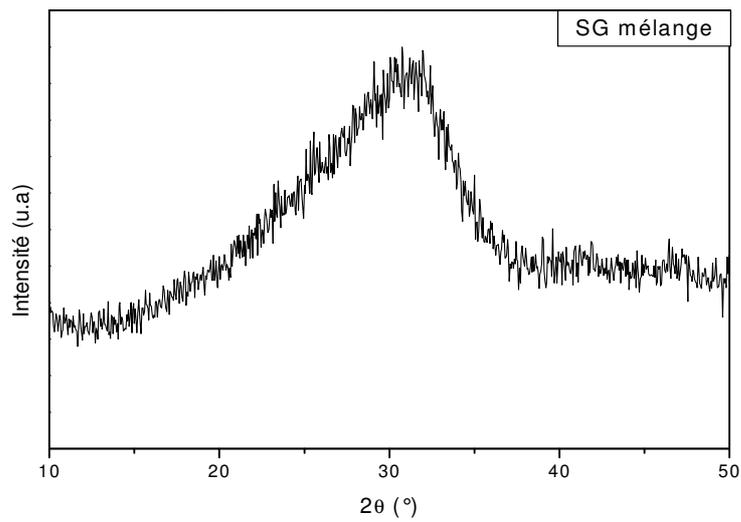
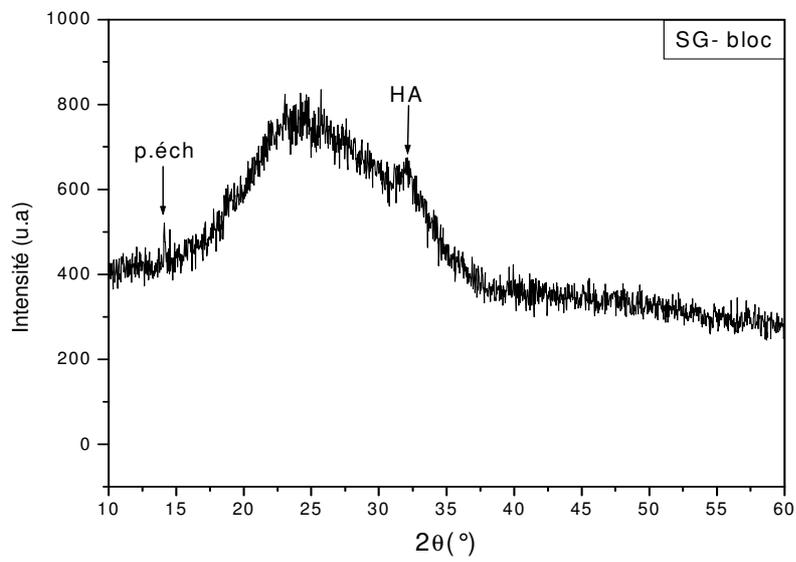
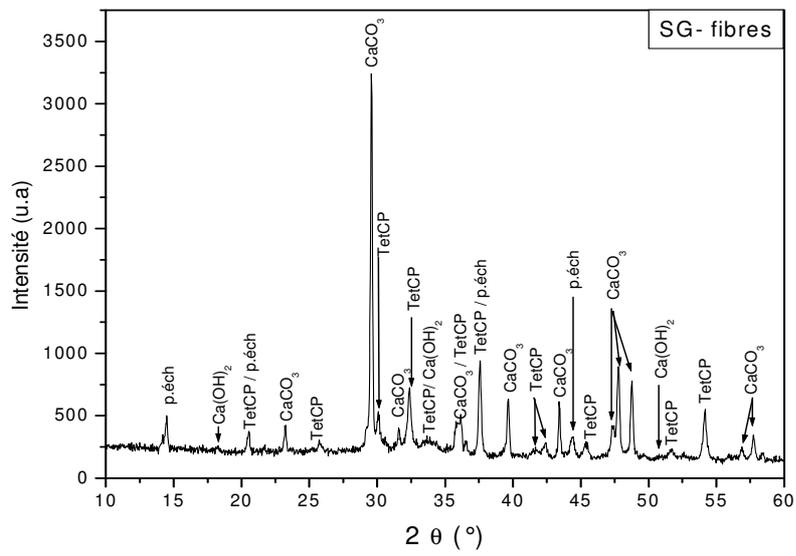


Figure VI-2: Diagrammes de diffraction RX des produits formés au cours de la synthèse, traités à 550°C sous vide.

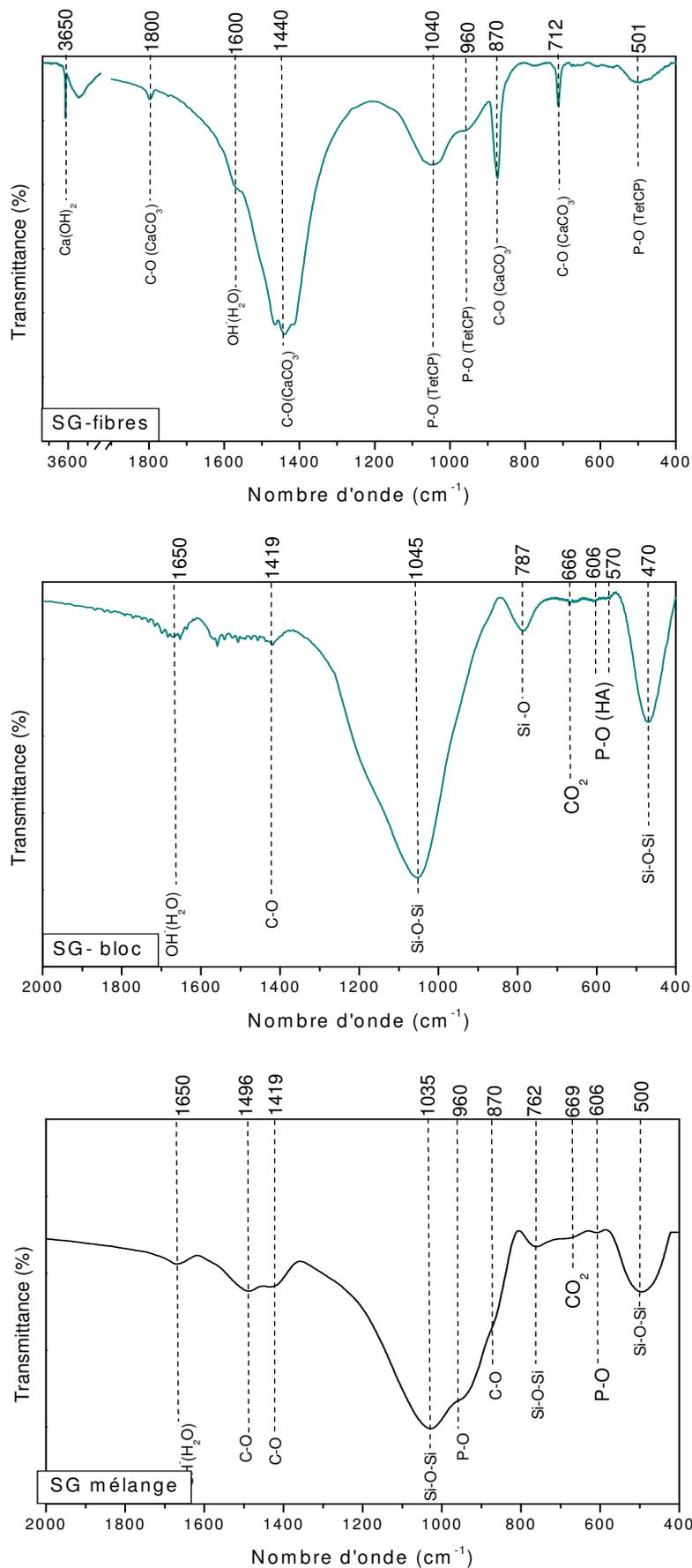


Figure VI-3: Spectres IR des différents produits formés au cours de la synthèse du verre 52S4SG.

1.d- Analyse par MEB-EDS

L'analyse par MEB de la surface des verres traités à 550°C montre bien que les verres synthétisés par le procédé sol-gel ne sont pas denses, ils sont très poreux. La tailles des particules est très petite (<1 µm). Ainsi, on observe la présence de nombre important des mésopores de taille moins que 1 µm ainsi que des pores de taille de 40 µm. L'analyse EDS confirme que les seuls éléments présents dans le verre sont les mêmes éléments qui le forment: Si, Ca, Na et P (fig.VI-3). Une Cartographie de la surface du verre montre la distribution homogène de ces éléments (fig.VI-4).

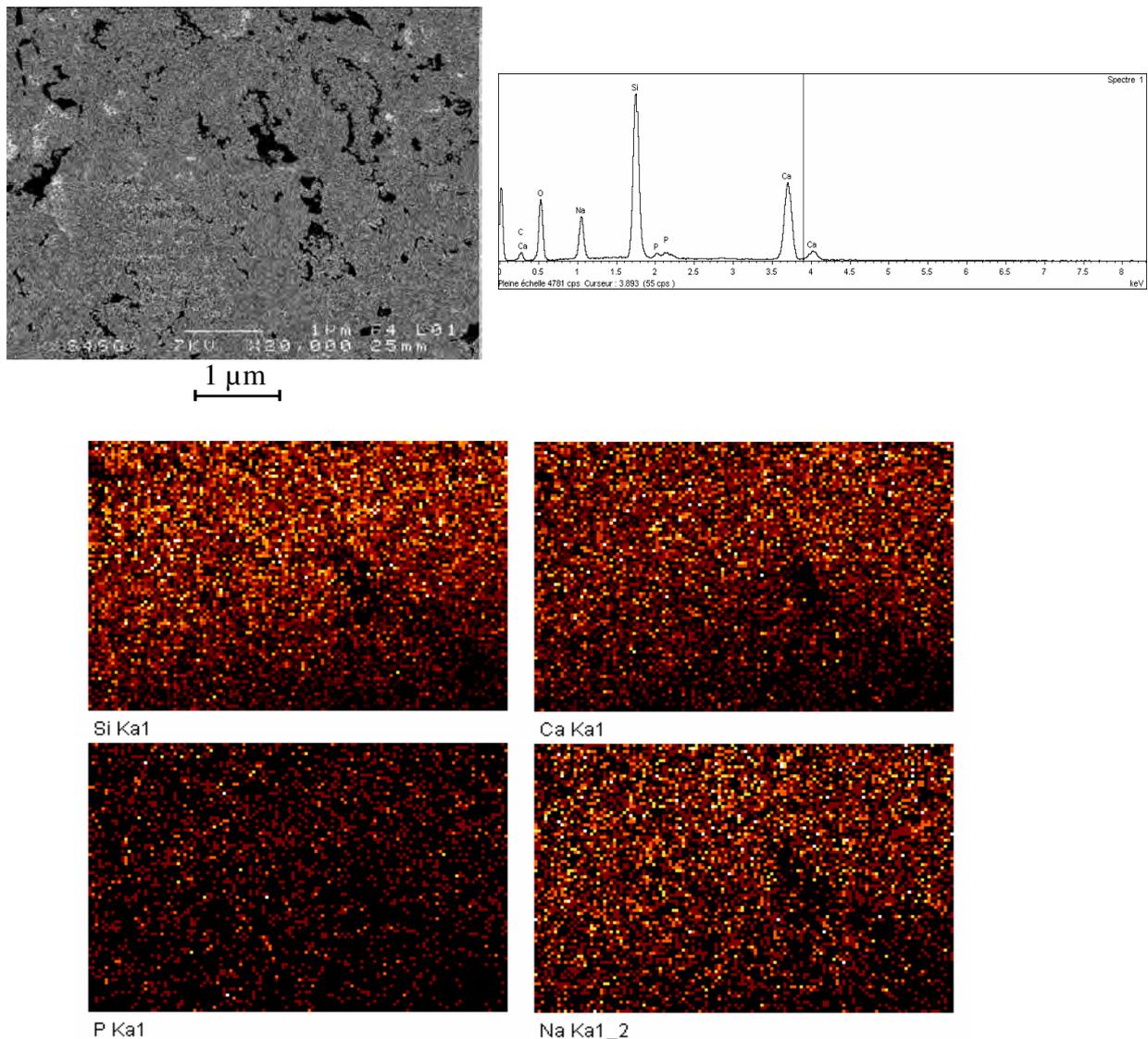


Figure VI-4: Micrographie par MEB, analyse EDS et cartographie de la surface du verre 52S4SG.

1.e- Analyse par BET

L'analyse par BET (monopoint) a été effectuée sur le verre sous forme de poudre de granulométrie de (40-63 µm) (après le traitement thermique à 550°C). La mesure de la surface

spécifique par BET était très difficile; la poudre a été dégazée deux fois à 250°C à cause du l'eau présent dedans.

La valeur obtenue après le deuxième dégazage est: 90,4 m².g⁻¹. Cette valeur est très proche de la valeur obtenue par Roman et Sepulveda [196, 197]. Elle confirme le résultat d'analyse par MEB; la porosité conduit à l'augmentation de la surface spécifique [139].

La décomposition des acétates au cours du traitement thermique conduit à la création des pores. On a observé que la masse d'une pastille avant traitement diminue presque à la moitié après traitement thermique à 550°C. La présence de CaO surtout sous forme des sels organiques favorise la formation des pores [117].

1.f- Analyse par RMN-MAS

La figure VI-5 montre les spectres RMN des noyaux ²⁹Si et ³¹P ainsi que leurs déconvolutions. On a déconvolué les spectres de la même façon que dans le chapitre V.

1.f.1- Spectre RMN-MAS ²⁹Si

La déconvolution du spectre RMN-MAS ²⁹Si montre qu'il existe deux espèces situées à -79.50 et -86.5 ppm. En comparant ces valeurs aux valeurs citées dans la littérature [199-206], on peut les attribuer comme suit:

- la 1^{ère} espèce située à -78.80 ppm correspond à Q² où le tétraèdre SiO₄ contient deux atomes d'oxygène pontants. Elle représente 58.5 % de l'ensemble des tétraèdres formant le verre 52S4SG.
- la 2^{ème} espèce située à -87.65 ppm correspond à Q³ où le tétraèdre SiO₄ contient trois atomes oxygène pontants. Elle représente 41.5 % de l'ensemble des tétraèdres formant le verre 52S4SG.

Le chevauchement de Q² et Q³ est provoquée par la grande largeur à mi-hauteur des pics Q² et Q³ (≈13 ppm) comme on l'a déjà observé pour le verre 52S4F.

Pour mémoire, dans les verres binaires SiO₂-Na₂O, on trouve deux espèces Q² et Q³ situées à -76 et -86 ppm. Tandis que les verres binaires SiO₂-CaO, on trouve aussi les deux espèces Q² et Q³ situées à -81.5 et -92 ppm [200].

En comparant nos résultats (Q² et Q³ situées à -78.80 et -87.85 ppm) à ces résultats, on peut conclure que les atomes d'oxygène non-pontants dans Q² sont neutralisés soit par les cations

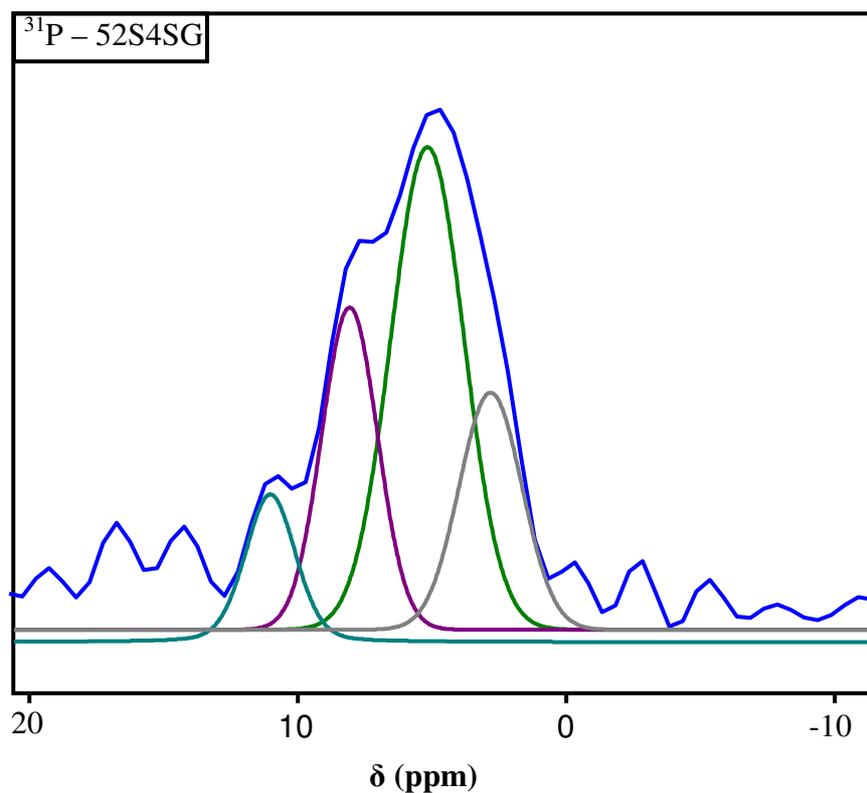
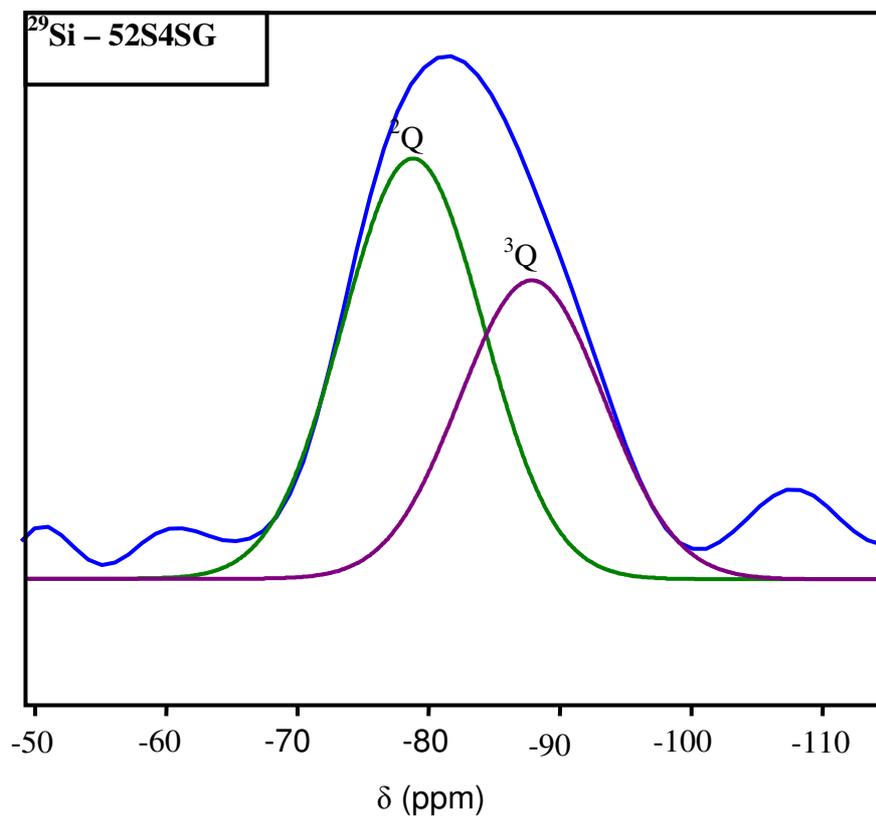


Figure VI-5: Spectres RMN-MAS des noyaux ²⁹Si et ³¹P du verre 52S4SG.
 Ca²⁺ et/ou Na⁺; alors que les atomes d'oxygène non-pontants dans Q³ sont neutralisés par les cations Na⁺ d'une façon dominante [200].

1.f.2- Spectres RMN-MAS ^{31}P

On observe que le spectre RMN-MAS ^{31}P est déconvolué en quatre gaussiennes. Les quatre pics situent à 2.8, 5.10, 8.06 et 11 ppm. En comparant ces déplacements chimiques à celle de la littérature [199-201], on conclue que le phosphore est dans un environnement orthophosphate (PO_4^{3-}), il n'est pas un formateur du réseau du verre. Chaque P est lié à travers les atomes d'oxygène non-pontants aux cations Ca^{2+} ou Na^+ non utilisés par les tétraèdres SiO_4 . Les valeurs des déplacements chimiques du ^{31}P obtenus dans le verre 52S4SG (2.8, 5.10, 8.06 et 11 ppm) sont entre le déplacement chimique du ^{31}P en Na_3PO_4 situé à 15.6 ppm [200] et celui du HA situé à 2.30 ppm [217, 218]. On peut déduire que:

- le déplacement chimique à 2.8 est proche à celui de ^{31}P en HA.
- les déplacements chimiques à 5.10, 8.06 et 11 ppm, montre qu'il n'ya pas une association préférentielle des groupes orthophosphate avec les cations Ca^{2+} ou Na^+ .

Notant que le déplacement chimique à 5.10 ppm est proche de celui de TetCP [217].

Rappelons que la présence de HA et TetCP a été confirmée par la diffraction RX et les analyses IR.

En comparant les déplacements chimiques observés dans le verre 52S4F et celle de 52S4SG, on observe une légère différence entre les valeurs; ainsi que l'apparition d'un nouvel environnement à 11 ppm. Cela est dû probablement à la formation de HA et TetCP; ainsi que la présence du Ca sous forme de CaCO_3 ou $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

1.f.3- Validation de la structure

D'après les calculs précédents, on a: $NBO/T = 1.6$

Donc, on a 2.4 d'atomes d'oxygène pontants par tétraèdre SiO_4 . Cette valeur est en bon accord avec les résultats de la déconvolution obtenus. D'après les valeurs de Q^2 et Q^3 ($Q^2 = 58.5\%$ et $Q^3 = 41.5\%$), on a 58.5% tétraèdre avec deux atomes d'oxygène pontants et 4.5 % tétraèdres avec trois atomes oxygène pontants. Le nombre des atomes d'oxygène pontants est donc:

$$BO/T = 0.585 \times 2 + 0.415 \times 3 = 2.4$$

C'est la même valeur obtenue par calcul, ce qui affirme la bonne déconvolution de nos spectres RMN. On peut dire que le mode de synthèse ne modifie pas le type des environnements présents dans le système étudié.

2- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4SG immergés dans le SBF

2.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le SBF

Au cours d'immersion dans le SBF, on observe un relargage continu de l'élément formateur du réseau vitreux (Si) dès les premières minutes d'immersion dans le SBF (fig.VI-6). Le taux de Si dans le SBF augmente jusqu'à une valeur maximale de 61 ppm de Si, après 3 jours d'immersion. Ce taux diminue après 7 jours d'immersion de 25 ppm pour augmenter une autre fois jusqu'à 66 ppm. Le taux de Si dans le SBF reste presque constant entre 15 et 30 jours.

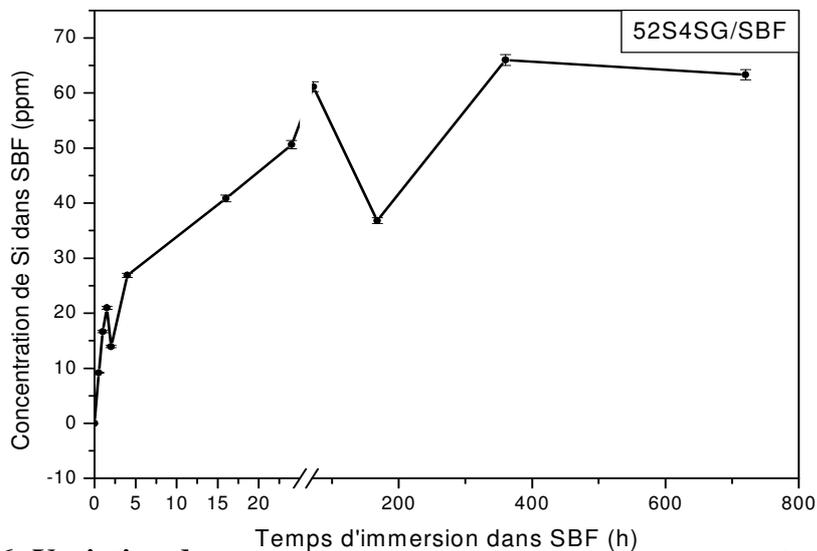


Figure VI-6: Variation de concentration ionique du Si dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

Les résultats d'analyse ICP montrent que les ions (Ca et P) migrent de la solution SBF vers la surface du verre sol-gel (fig. VI-7). Au cours de 4 premières heures; la migration des ions (Ca et P) est relativement importante; 15 ppm de Ca et 4 ppm P ont migré du SBF vers la surface du verre. Entre 4 h et 1 j, les ions (Ca et P) continuent à migrer du SBF vers le verre 52S4SG; la concentration de Ca et P, dans le SBF, a en effet diminué de 40 ppm et 15 ppm respectivement. Alors que entre 1 et 3 j, la concentration de Ca et P dans le SBF reste presque constante. Dès 3 jusqu'à 30 jours d'immersion; la concentration de Ca et P diminue à nouveau; presque tous les ions P ainsi que 75 ppm de Ca ont migré du SBF vers le verre.

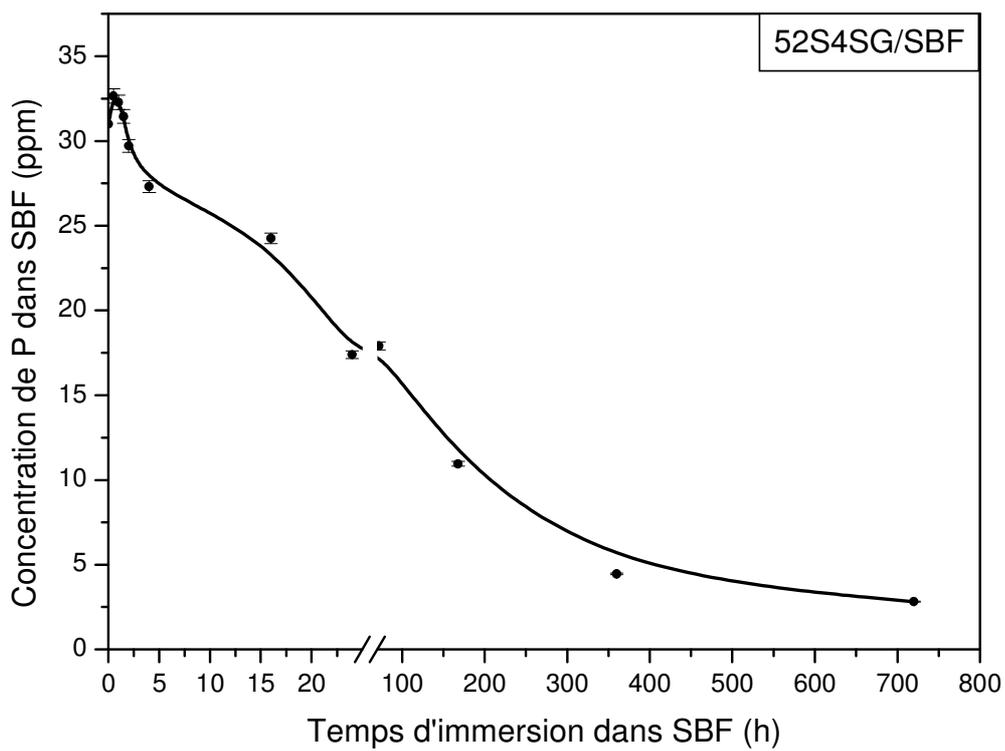
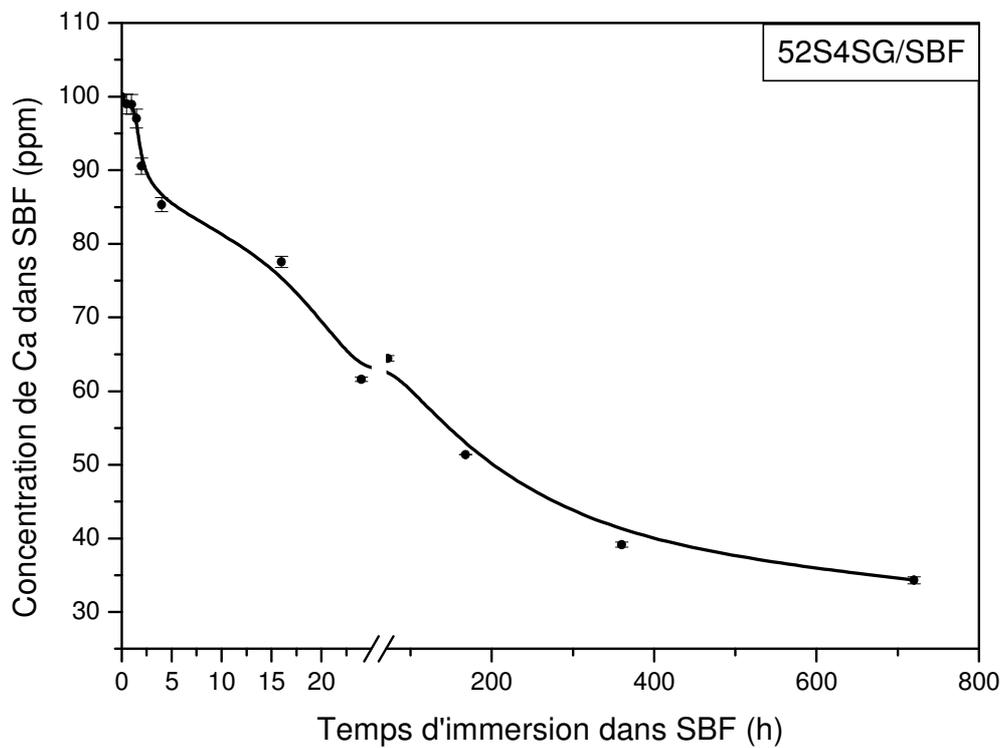


Figure VI-7: Variation de la concentration ionique de Ca et P dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

La migration du Ca et P de la solution vers le verre témoigne la précipitation d'apatite phosphocalcique « bone like-apatite » à la surface du verre 52S4SG.

Le processus de formation du « bone like apatite » à la surface du verre est accompagné par la migration du Mg de la solution SBF vers le verre ce qui signifie la substitution de cet élément dans la matrice apatitique formée à la surface du verre sol-gel (fig. VI-8).

2.b- Variation du pH du SBF avec le temps d'immersion

La mesure du pH de la solution d'immersion (SBF) montre une augmentation du pH de 7.4 à 8.2 après 2 h d'immersion du verre dans le SBF. Le pH a continué à augmenter presque linéairement jusqu'à 7 jours où il atteint la valeur 8.9. Entre 7 et 15 jours, le pH reste presque constant. Après 30 jours d'immersion, le pH augmente à nouveau où il atteint une valeur maximale de 9.2 (fig. VI-9).

2.c- Altérations structurales des verres sol-gel avec le temps d'immersion dans le SBF

2.c.1- Diagrammes de diffraction RX

Selon les diagrammes de diffraction de rayons X (fig. VI-10), aucune phase apatitique cristallisée n'a été formée à la surface des verres sol-gel même après 30 jours d'immersion dans le SBF. Après 2 h d'immersion, la calcite s'est formée à la surface du verre par l'apparition de son pic le plus intense à 29.3°. L'intensité de pics de diffraction de cette phase s'est diminuée avec le temps jusqu'à 7 jours où elle a disparu complètement sur les diagrammes RX. Entre 7 et 30 jours, on n'arrive pas à distinguer aucune phase cristallisée.

La disparition de la calcite peut être expliquée par l'effet qu'une couche amorphe s'est développée en dessous de la calcite; plus cette couche amorphe s'épaissit, plus les pics de diffraction de la calcite diminuent jusqu'à leurs disparitions. Pour confirmer cette proposition, on a gratté la surface du verre sol gel immergé pendant 30 jours dans le SBF. Le diagramme RX de la poudre grattée a bien révélé la présence de la calcite.

2.c.2- Spectres IR

Les résultats de la spectroscopie infrarouge montrent que l'hydroxyapatite s'est formée dès 2 h d'immersion dans la solution SBF (fig. VI-11). Cette hydroxyapatite reste amorphe même après 30 jours d'immersion. Entre 0.5 et 1.5 h d'immersion dans le SBF; aucune nouvelle bande n'est apparue par rapport aux bandes caractéristiques du verre sol gel avant immersion. Seulement, on observe le renforcement des bandes, caractéristiques de C-O, situées à 870, 1419 et 1496 cm^{-1} . Ainsi, on observe l'affaiblissement de la bande à 960 cm^{-1} caractéristique

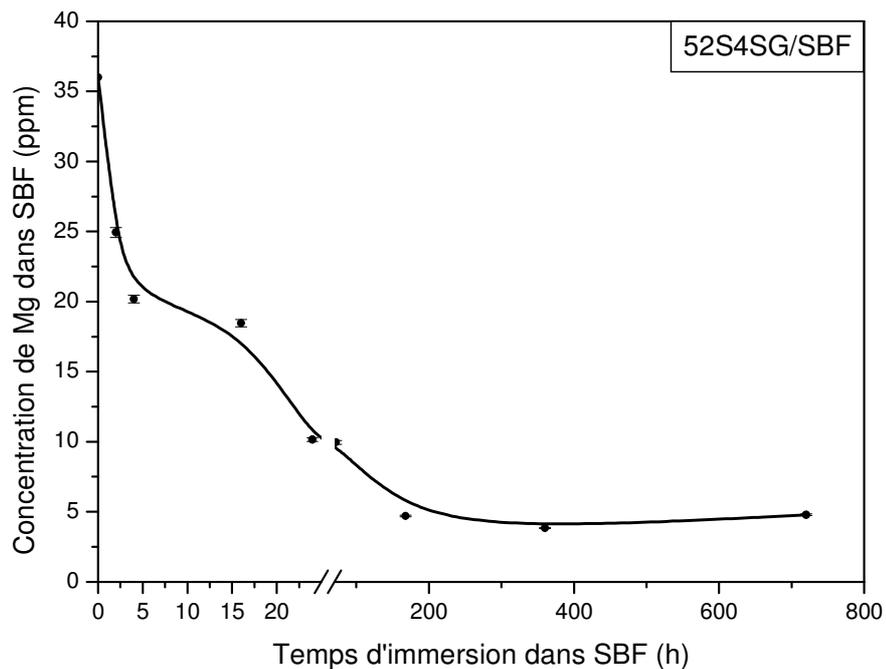


Figure VI-8: Variation de la concentration ionique de Mg dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

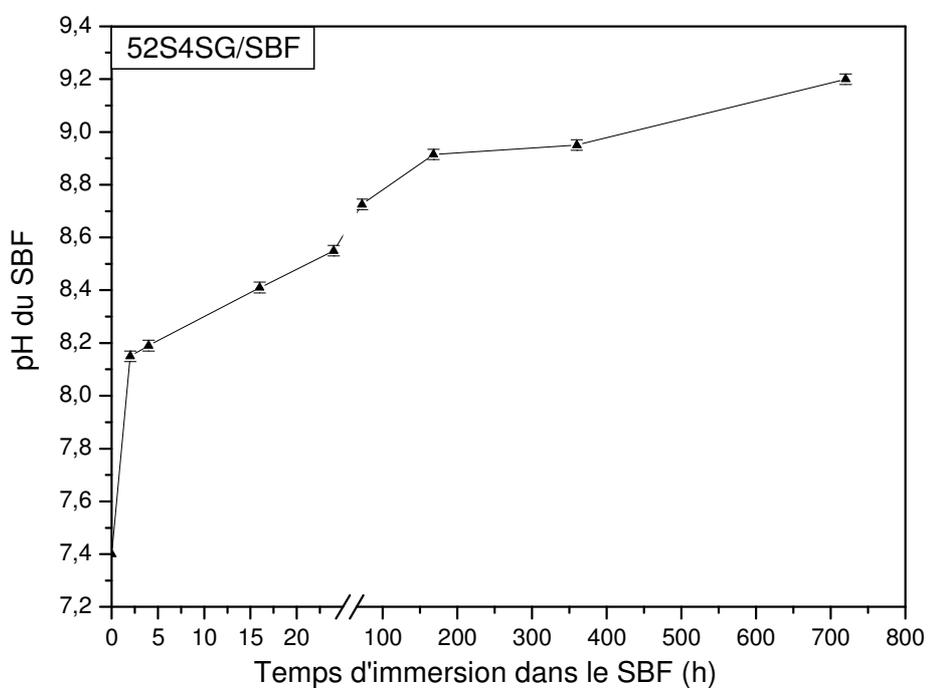


Figure VI-9: Variation de pH de la solution SBF en fonction du temps d'immersion.

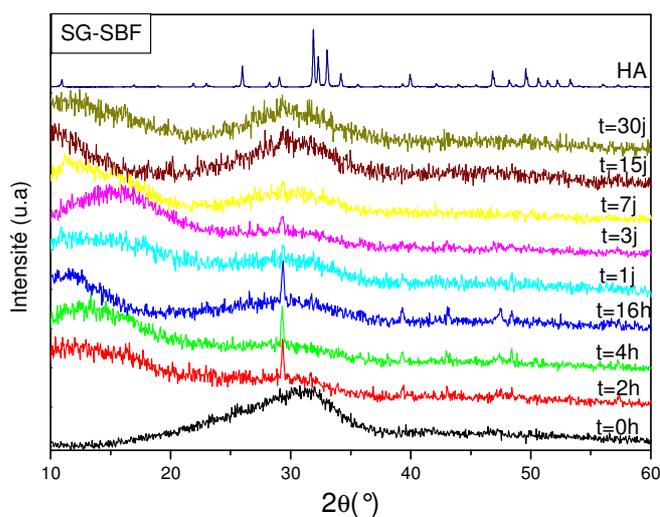


Figure VI-10: Diagrammes de diffraction RX des verres 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le SBF.

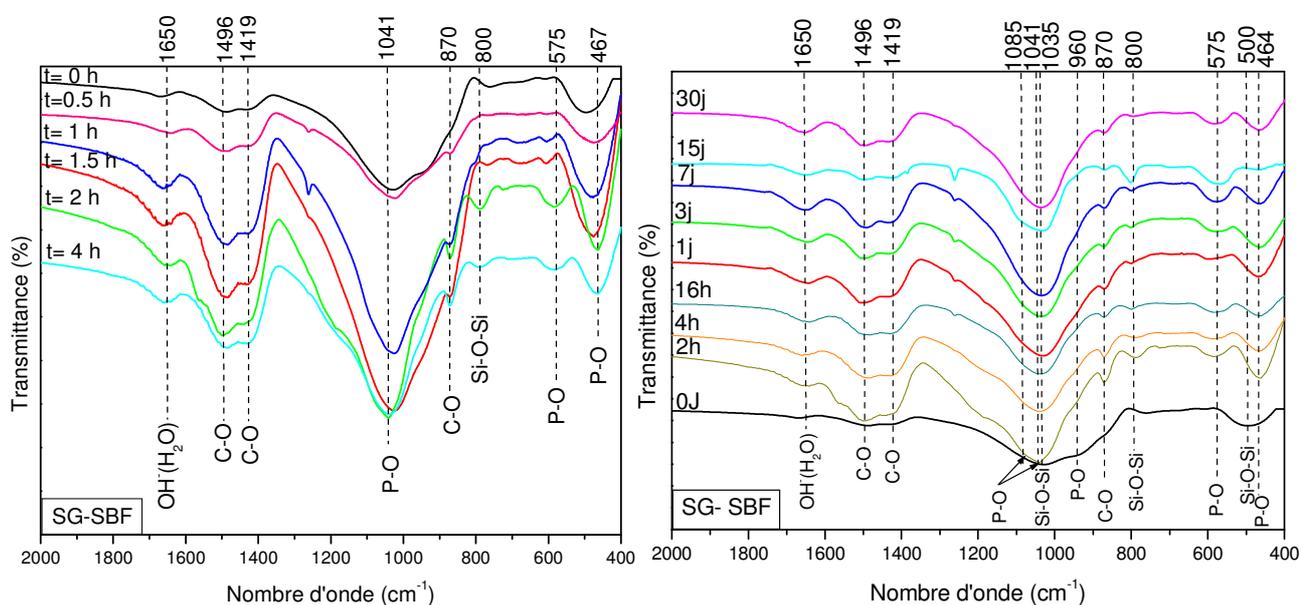


Figure VI-11: Spectres IR de la surface de verre 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le SBF.

de P-O dans le phosphate tétracalcique. Alors qu'après 2 h d'immersion, le spectre IR montre bien l'apparition des nouvelles bandes ainsi que le renforcement de la liaison C-O à 870, 1419 et 1496 cm^{-1} . Une bande, caractéristique des vibrations d'élongation symétrique Si-O des atomes

d'oxygène pontants entre les tétraèdres, est apparue à 800 cm^{-1} [210-212]. On observe aussi un épaulement aux alentours de 1100 cm^{-1} , qui peut être caractéristique de la bande P-O dans HA (1085 cm^{-1}) [166,214] où caractéristique des vibrations d'élongation asymétrique O-Si-O (1070 cm^{-1}) correspondant à Q^3 dans les tétraèdres SiO_4 [210, 211, 213]. Des faibles bandes, caractéristiques du P-O dans HA amorphe, sont apparues à $467, 575$ et 1155 cm^{-1} [210-212].

Les bandes à 800 et 1070 cm^{-1} confirment la formation d'un gel de silice suivi par le début de formation d'une hydroxyapatite amorphe.

Entre 4 h et 30 jours, les bandes de l'hydroxyapatite amorphe sont bien distinctes; on observe les bandes caractéristiques du P-O dans HA à: $467, 575, 1085, 1155$ et 1259 cm^{-1} [166, 210-212, 214]. Ainsi, on observe la disparition de la bande caractéristique du phosphate tétracalcique à 960 cm^{-1} . Le renforcement des bandes à 873 et $1419-1496\text{ cm}^{-1}$, qui appartient au groupe de carbonates (C-O), confirme que l'apatite formée est une hydroxyapatite carbonatée [166, 210, 211, 214].

Les bandes à $503, 762$ et 1035 cm^{-1} , caractéristiques de Si-O-Si dans le verre, ont disparu après l'immersion dans le SBF. Ainsi, on observe bien l'élargissement de la bande entre 1045 et 1085 cm^{-1} qu'on peut l'expliquer par le fait que les bandes caractéristiques des groupes P-O et Si-O sont très proches dans cet intervalle [215].

Les résultats de l'infrarouge sont en bon accord avec les résultats de diffraction RX.

2.c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés

Les images par MEB (fig.VI-12) et les analyses EDS (fig.VI-13) montrent les différents changements morphologiques de la surface du verre sol gel avec le temps d'immersion:

- entre 30 min et 1.5 h, on observe la formation des particules sphériques dispersées sur la surface du verre; on peut les attribuer à la calcite puisque elles sont riches seulement en Ca et C et pauvre en P. Cette phase n'a pas pu être détectée par le diffractomètre qu'après 2 h d'immersion dans le SBF où elle est devenue plus dense et toute la surface du verre est recouverte par des petits germes sphériques de cette phase. Au dessus de cette couche, un gel de silice s'est formé suivi par la formation des germes riches en P indiquant le début de formation de l'hydroxyapatite amorphe,

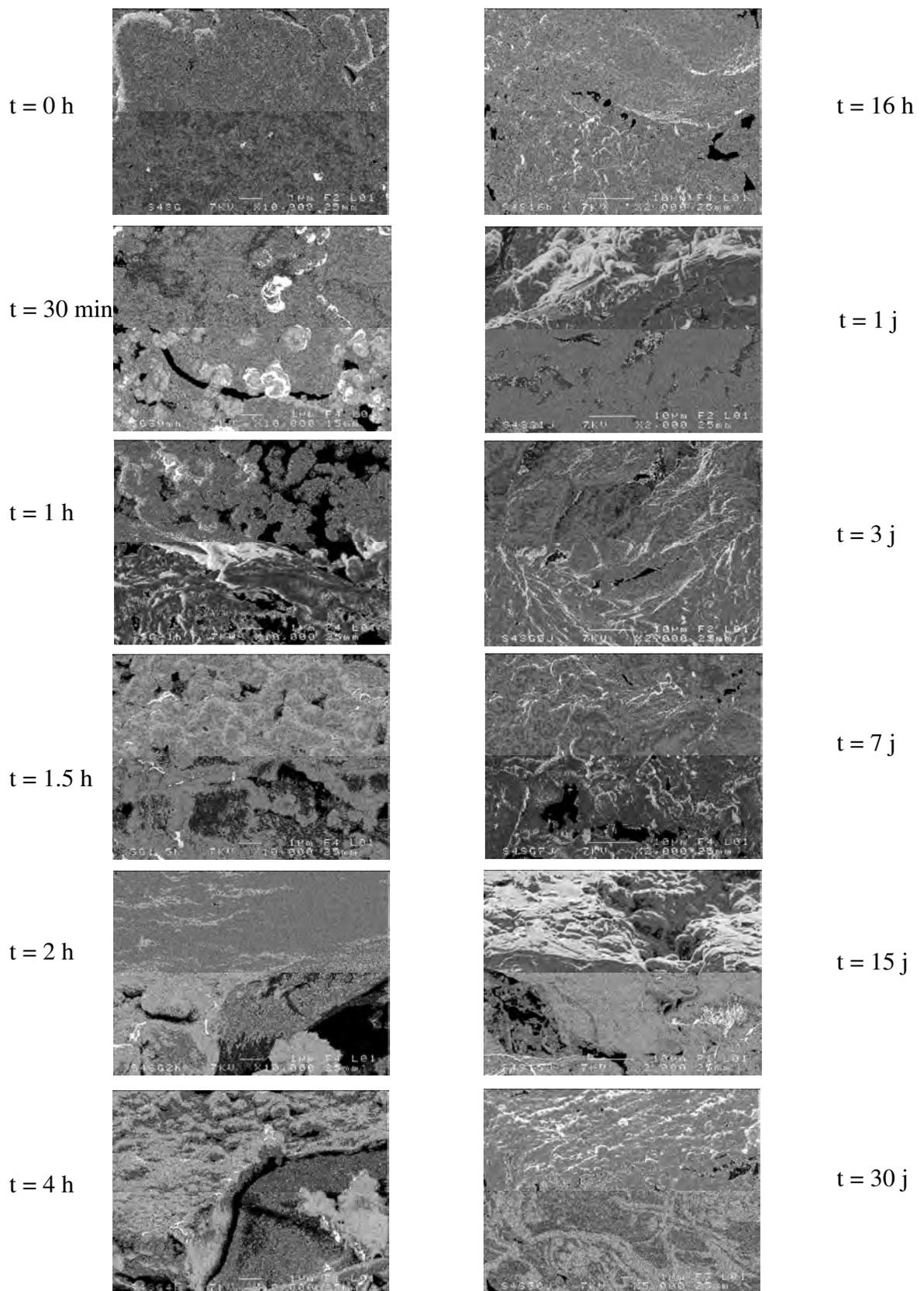
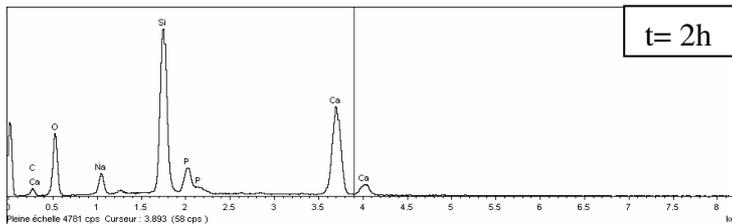
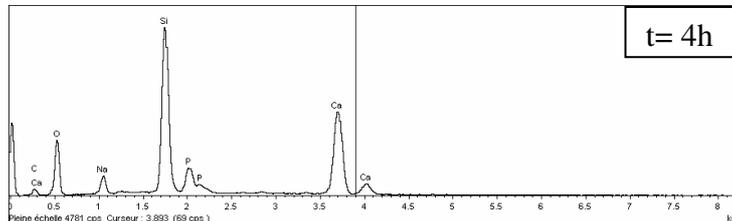


Figure IV-12 : Micrographie par MEB de la surface des verres 52S4SG, immergés dans le SBF.

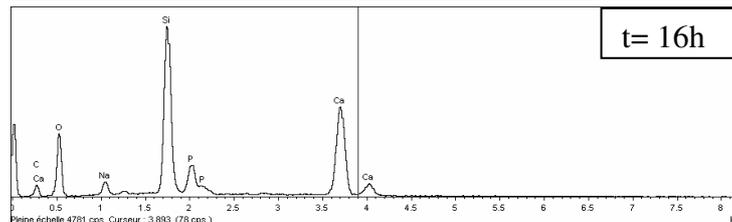
Elément	%Masse	%Atomique
C K	8.03	13.53
O K	44.07	55.74
Na K	4.10	3.60
Si K	20.49	14.76
P K	4.01	2.62
Ca K	19.31	9.75
Totaux	100.00	



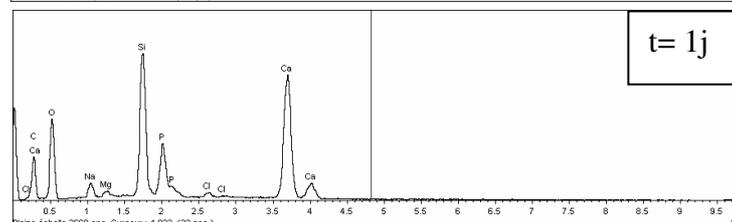
Elément	%Masse	%Atomique
C K	7.84	13.36
O K	42.56	54.48
Na K	3.78	3.36
Si K	21.70	15.82
P K	4.28	2.83
Ca K	19.86	10.15
Totaux	100.00	



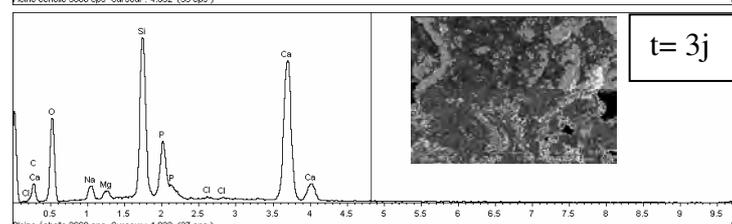
Elément	%Masse	%Atomique
C K	12.03	19.63
O K	43.14	52.84
Na K	2.64	2.25
Si K	19.31	13.47
P K	4.28	2.71
Ca K	18.60	9.09
Totaux	100.00	



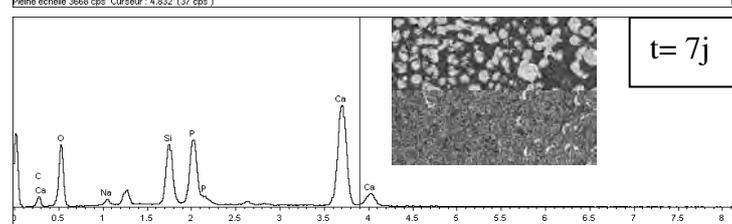
Elément	%Masse	%Atomique
C K	23.83	35.42
O K	40.62	45.32
Na K	1.89	1.47
Si K	11.30	7.18
P K	5.05	2.91
Ca K	17.30	7.70
Totaux	100.00	



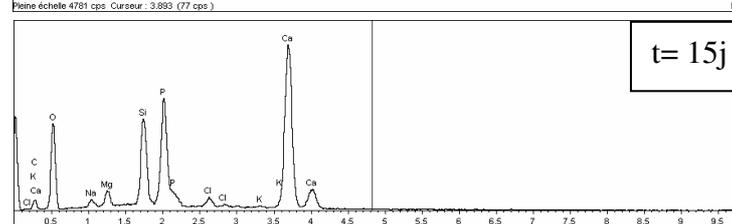
Elément	%Masse	%Atomique
C K	12.93	21.00
O K	44.00	53.62
Na K	2.14	1.82
Si K	13.47	9.35
P K	6.00	3.78
Ca K	21.46	10.44
Totaux	100.00	



Elément	%Masse	%Atomique
C K	10.26	16.83
O K	47.95	59.06
Na K	1.47	1.26
Si K	7.49	5.26
P K	10.01	6.37
Ca K	22.82	11.22
Totaux	100.00	



Elément	%Masse	%Atomique
C K	7.26	12.37
O K	47.36	60.61
Na K	1.16	1.03
Si K	7.54	5.50
P K	11.61	7.68
Ca K	25.07	12.81
Totaux	100.00	



Elément	%Masse	%Atomique
C K	15.01	24.01
O K	43.80	52.59
Na K	0.80	0.67
Si K	11.58	7.92
P K	6.67	4.14
Cl K	1.00	0.54
Ca K	21.13	10.13
Totaux	100.00	

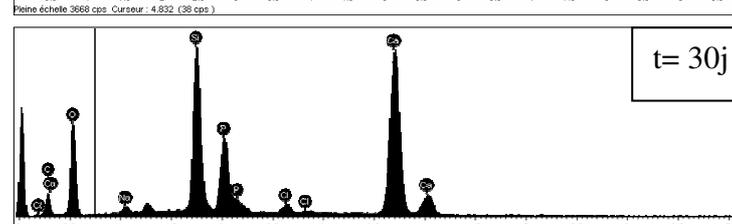


Figure VI-13 : Analyse par EDS de la surface des verres 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le SBF.
- entre 4h et 16 h, la couche phosphocalcique est devenue plus dense; mais elle n'est pas

épaisse. Les résultats de l'EDS montrent qu'il n'y a pas un grand changement des concentrations du Ca, P et Si à la surface du verre. Ce résultat est déjà confirmé par les résultats d'ICP,

- dès 1 jour jusqu'à 30 jours, les grains de l'hydroxyapatite sont devenus plus gros et compactés entre eux. Cette couche s'est densifiée avec le temps d'immersion comme le confirment les résultats de l'ICP et l'EDS: la concentration en Ca et P a diminuée dans le SBF d'un côté et d'un autre côté la concentration de ces deux éléments a augmenté à la surface du verre sol-gel en contact avec le SBF. Cela confirme que la couche formée est une couche phosphocalcique.

D'autres éléments se sont substitués dans le réseau apatitique comme le Mg, Na et Cl.

2. d- Bilan des résultats

En tenant compte des résultats d'analyse ICP, on observe que la concentration du Si à la surface du verre sol-gel diminue avec le temps d'immersion jusqu'à 1 jour suite à la formation de l'hydroxyapatite. Alors qu'après 3 jours d'immersion, on observe une augmentation légère du Si au lieu de sa diminution. On peut expliquer ce phénomène par la polymérisation des silanols Si-OH au fur et à mesure de la dissolution du réseau vitreux. Cela va conduire à la formation d'un gel de silice surtout entre les grains phosphocalcique comme le montrent les figures accompagnant les spectres EDS. Après 7 jours d'immersion, la concentration de Si diminue et elle reste presque constante jusqu'à 15 jours confirmant la continuité du phénomène de polymérisation et par conséquent la formation du gel de silice. Après 30 jours d'immersion, la concentration du Si augmente une autre fois à la surface du verre sol gel suite à la reformation du gel de silice.

D'après Hench et en tenant compte des résultats obtenus; on peut expliquer le processus de formation du « bone like apatite » à la surface du verre 52S4SG comme suit:

- dès les premières minutes, la dissolution de phosphate tétracalcique dans le SBF ainsi que le remplacement des H^+ du SBF par des cations du verre a conduit à l'augmentation du pH du SBF. Les résultats d'ICP ne montrent aucune augmentation du Ca dans le SBF, seulement on observe une augmentation du P après 30 min d'immersion. En se basant sur les résultats d'IR, ICP et RX, on peut conclure que la précipitation du $CaCO_3$ à la surface du verre était rapide au point de ne pas voir l'augmentation du Ca dans le SBF. Le phosphore provenant du SBF vers la surface du verre n'était pas suffisant pour former l'hydroxyapatite. D'après A. Martinez, la croissance de la calcite peut être attribuée à l'existence d'une faible quantité de cette phase dans le verre [219]. Il a montré que dans

le verre contenant 70% SiO₂ et 30 % CaO (mole), la formation de l'apatite est accompagnée par la formation de la calcite. L'augmentation du pH du SBF conduit à la formation des Si-OH à la surface du verre et par conséquent leur dissolution sous forme de Si(OH)₄ dans le SBF,

- après 2 h d'immersion dans le SBF, un gel de silice se forme en dessus des particules CaCO₃: Les bandes caractéristiques de la liaison Si-O sont apparues sur le spectre IR, ainsi que la diminution de la concentration de Si dans le SBF. Des bandes caractéristiques de la liaison P-O dans HA sont apparues sur le spectre IR confirmant la formation de l'apatite,
- entre 2 h et 30 jours, la concentration de Ca et P diminue dans le SBF confirmant le développement de la couche d'hydroxyapatite qui s'est densifiée avec le temps d'immersion. La couche de silice a stimulé la formation d'une hydroxyapatite amorphe par la migration de Ca et P migrés de la solution SBF vers le verre,
- la formation de la couche de silice sur la couche d'hydroxyapatite d'une façon continue est due à l'augmentation de l'acidité du SBF et par conséquent l'augmentation de la dissolution du réseau vitreux et la formation d'autres silanols et par suite la formation d'une autre couche de silice. Peut être la non cristallisation de l'hydroxyapatite formée à la surface du verre est due au gel de silice qui chaque fois qu'il se forme stimule la formation d'une apatite amorphe, il ne donne pas le temps suffisant pour que la couche phosphocalcique se cristallise.

3- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4SG immergés dans le PBS

3.a- Variation de la concentration ionique du Ca, P, Si et Mg dans le PBS

Au cours d'immersion dans le PBS, on observe un relargage continu de l'élément formateur du réseau vitreux (Si) dès les premières minutes d'immersion dans le PBS (fig.VI-14).

La variation de Si dans le PBS est importante dans deux intervalles:

- entre 4 et 16 h, où la concentration de Si augmente de 45 à 162 ppm,
- entre 1 et 3 jours, la concentration de Si varie de 179 à 355 ppm.

La concentration de Si dans le PBS a atteint la valeur 582 ppm après 30 jours d'immersion. On observe que le taux de dissolution du réseau vitreux est très important.

La figure VI-15 montre la variation de la concentration ionique en Ca et P dans le PBS après l'immersion du 52S4SG. La concentration ionique de Ca restait constante à zéro ppm dans le PBS. Aucun relargage de Ca n'a été observé.

A ce que cela veut dire que vraiment aucun relargage ne s'est produit ?! Ou peut être les ions de Ca relargués dans le PBS ont migré vers la surface du verre pour former une autre phase ?!

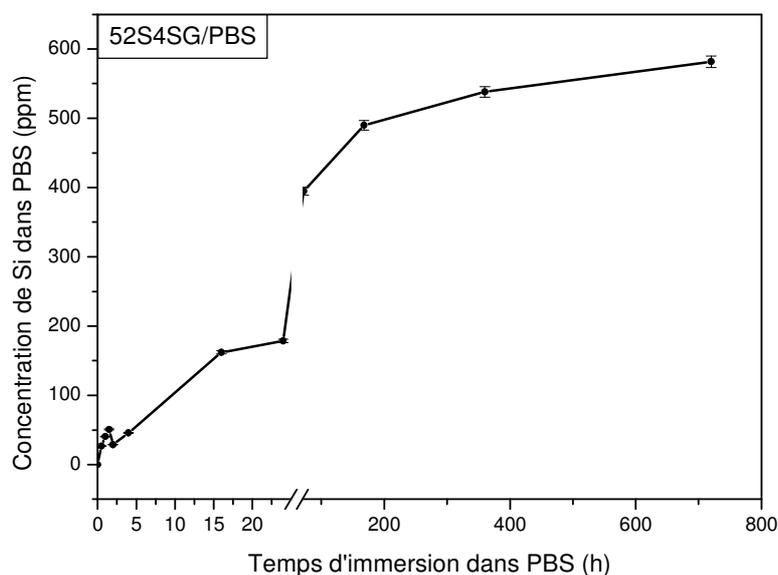


Figure VI-14: Variation de concentration ionique du Si dans le SBF en fonction du temps d'immersion.

Alors que pour le P; on observe que, pendant les premiers 2 h d'immersion, le taux du P augmente dans le PBS à une valeur maximale 405 ppm. Au-delà cette valeur, le processus s'inverse, une migration du P de la solution PBS vers le verre 52S4SG est produite. Cette diminution était importante entre 4 et 16 h d'immersion, le taux P diminue de 20 ppm. Alors que entre 1 et 3 jours, cette diminution est très importante, le P a diminué de 100 ppm. Après 30 jours d'immersion dans le PBS, presque 250 ppm de P ont migré de la solution PBS vers le verre 52S4SG.

La variation du K de la solution PBS vers le verre s'est produite de la même façon que P (fig.V-16).

3.b- Variation du pH du PBS avec le temps d'immersion

La mesure du pH de la solution d'immersion (PBS) montre une augmentation importante du pH de la solution PBS au cours des premières 2 heures d'immersion (fig.VI-17). Il a varié de 7.4 avant immersion à environ 10 après 2 h d'immersion. Il a continué à augmenter où il atteint la valeur 12.5 après 30 jours d'immersion.

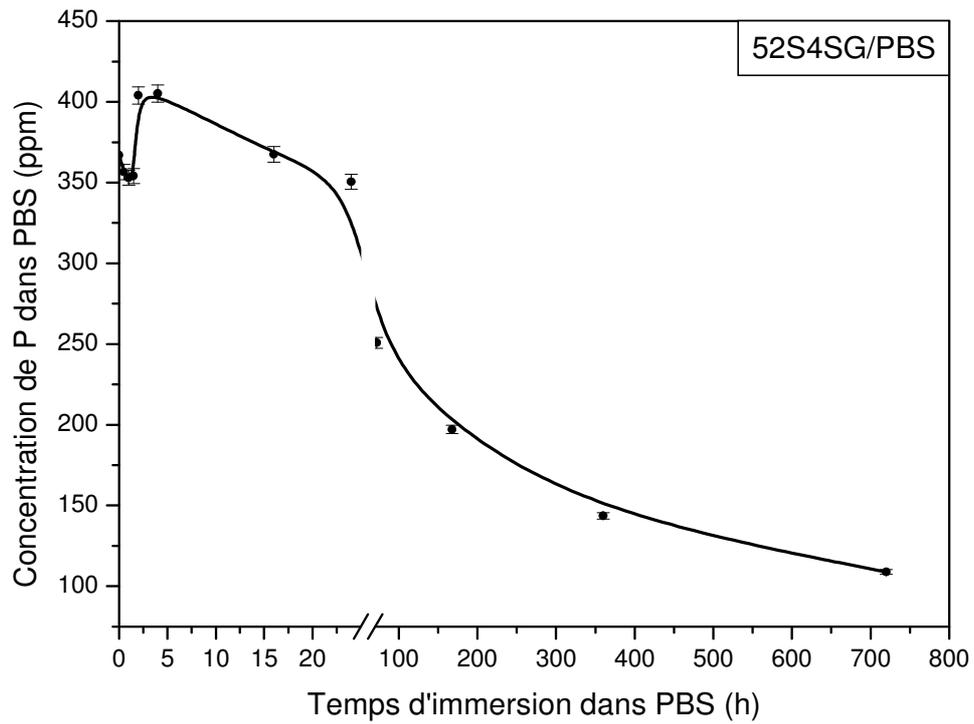
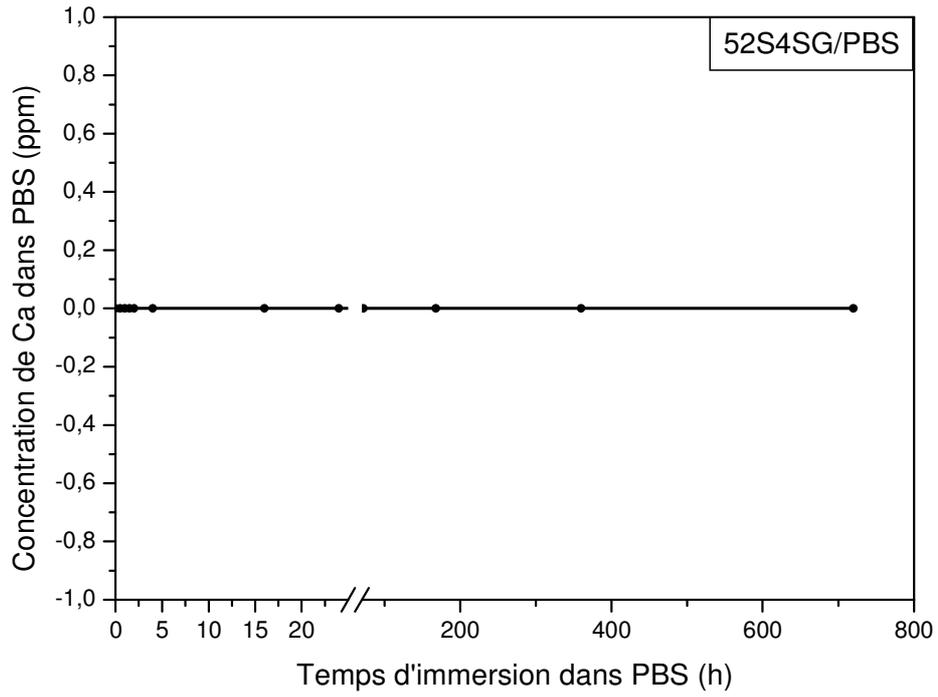


Figure VI-15: Variation de la concentration ionique de Ca et P dans le PBS en fonction du temps d'immersion.

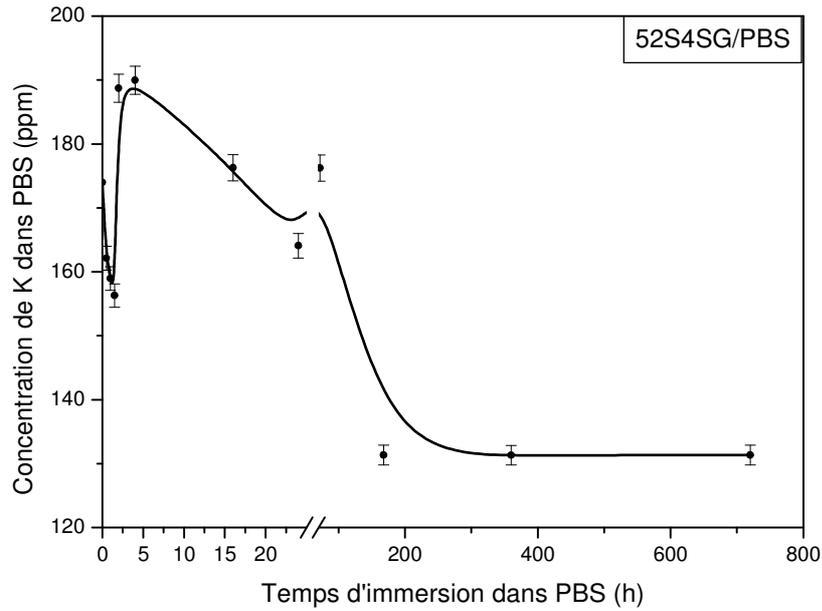


Figure VI-16: Variation de la concentration ionique de K dans le PBS en fonction du temps d'immersion.

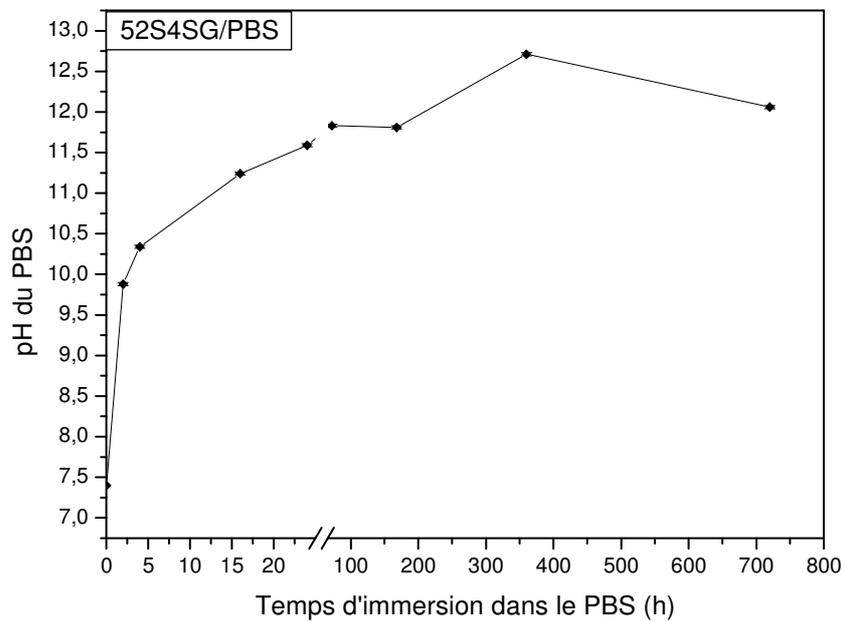


Figure VI-17: Variation de pH de la solution PBS en fonction du temps d'immersion.

3.c- Altérations structurales des verres 52S4SG avec le temps d'immersion dans le PBS

3.c.1- Diagrammes de diffraction RX

Selon les diagrammes de diffraction de rayons X (fig.VI-18), aucune phase cristallisée n'a été formée à la surface des verres 52S4SG jusqu'à 4 h d'immersion dans le PBS. Bien qu'après 16 h d'immersion, des pics correspondant à l'hydroxyapatite sont apparus sur le diagramme RX (on a utilisé N-HA étudiée dans le chapitre IV comme référence).

Plus le temps d'immersion augmente; plus l'intensité des pics de l'HA augmente ce qui confirme la croissance de cette phase formée à la surface des verres 52S4SG. Surtout après 30 jours d'immersion dans le PBS, les pics de la phase HA sont bien distingués.

On observe que le processus de précipitation de l'hydroxyapatite s'effectue selon la direction (211) correspondant au pic le plus intense, en théorie.

3.c.2- Spectres IR

Les résultats de la spectroscopie infrarouge (fig. VI-19) montrent que l'hydroxyapatite s'est formée dès 2h d'immersion dans la solution PBS. Pour les délais de 2 et 4 h; on observe la formation de HA amorphe. Alors que dès 16 h d'immersion dans le PBS, les bandes caractéristiques du P-O dans HA sont apparues à 467, 565, 603, 1090 et 1180 cm^{-1} [166, 210-212, 214]. La bande à 801 cm^{-1} confirme la formation d'un gel de silice à la surface du verre comme il le montre Hench [74]. On observe que les bandes caractéristiques de groupe carbonates (C-O), situées à 873 et 1419-1476 cm^{-1} , sont renforcées ce qui confirme que l'apatite formée est une hydroxyapatite carbonatée.

Les résultats de l'infrarouge sont en très bon accord avec les résultats de diffraction RX.

3.c.3- Micrographie par MEB et l'analyse EDS de la surface des verres immergés

Les images par MEB (fig.VI-20) et l'analyse EDS (fig.VI-21) montrent les différents changements morphologiques de la surface du verre 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le PBS:

- jusqu'à 4 h, on observe la formation et la croissance des petits germes sphériques sur toute la surface du verre. Ainsi, le taux de Ca et P augmente alors que le taux de Si diminue. On peut conclure que les germes sphériques c'est de l'apatite amorphe,
- après 16 h d'immersion dans le PBS, des cristaux sous forme des aiguilles se sont développés et qui sont riche en (Ca et P) et pauvre en Si. Cela affirme la formation de l'HA cristallisée détectée par RX et IR,

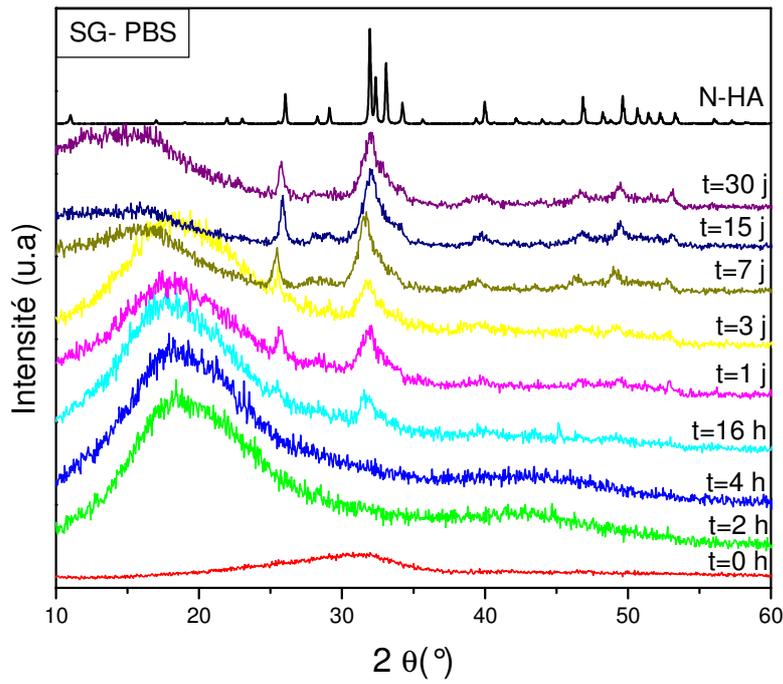


Figure VI-18: Diagrammes de diffraction RX des verres 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le PBS.

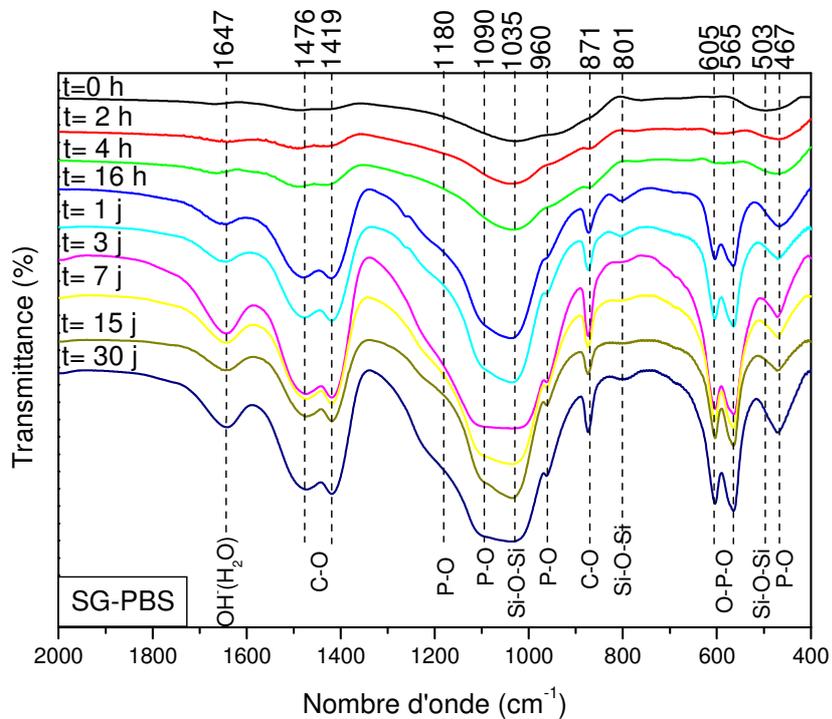


Figure VI-19: Spectres IR de la surface de verre 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le PBS.

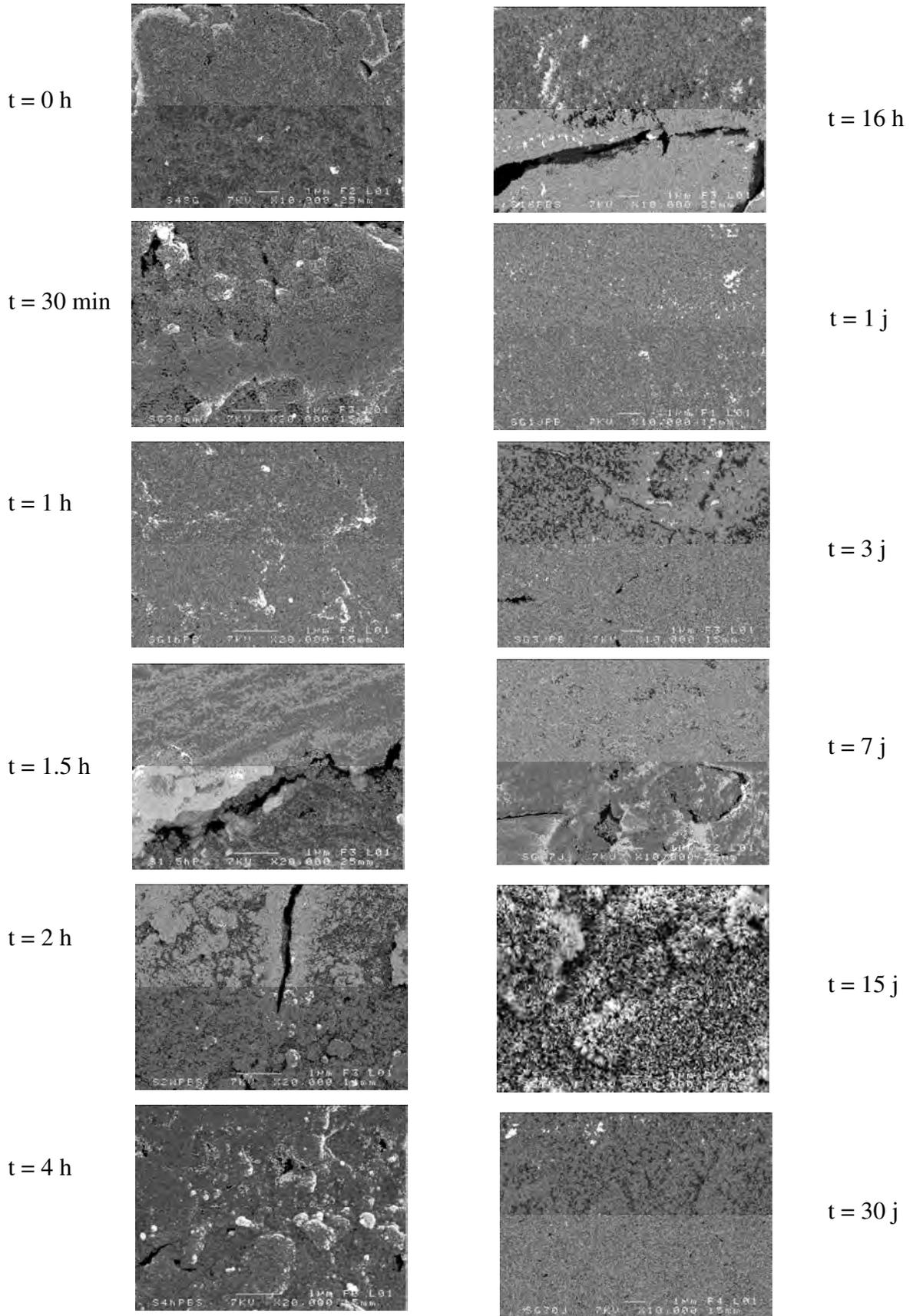
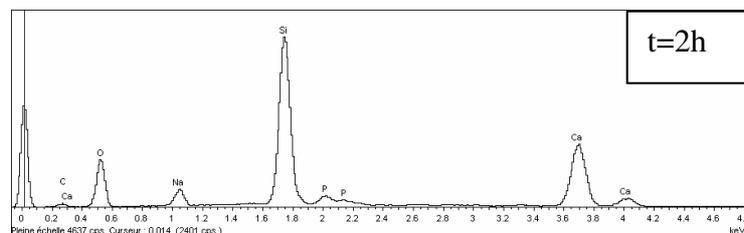
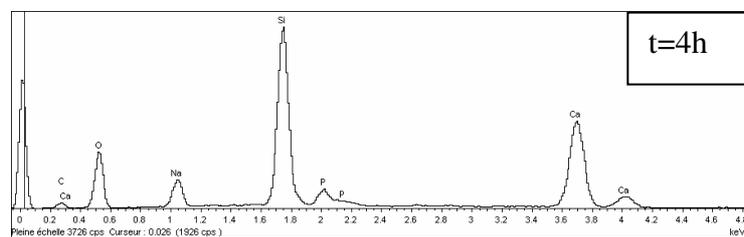


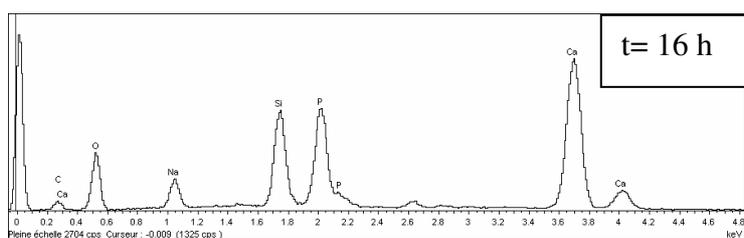
Figure VI-20 : Micrographie par MEB des verres 52S4SG, immergés dans le PBS.



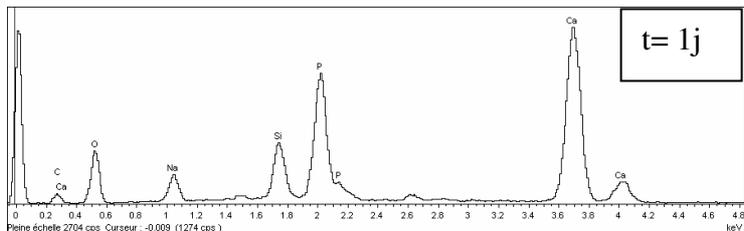
Elément	%Masse	%Atomique
C K	7.46	12.16
O K	49.29	60.30
Na K	4.07	3.46
Si K	22.58	15.73
P K	1.67	1.06
Ca K	14.94	7.29
Totaux	100.00	



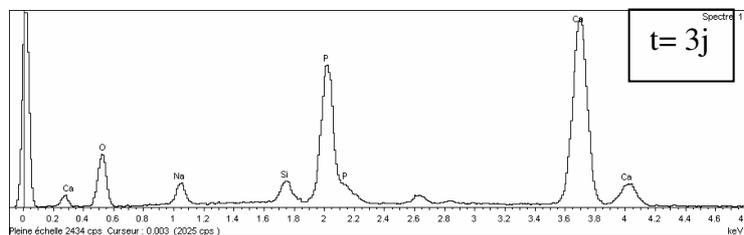
Elément	%Masse	%Atomique
C K	9.85	15.85
O K	47.68	57.59
Na K	5.34	4.49
Si K	18.72	12.88
P K	2.20	1.38
Ca K	16.19	7.81
Totaux	100.00	



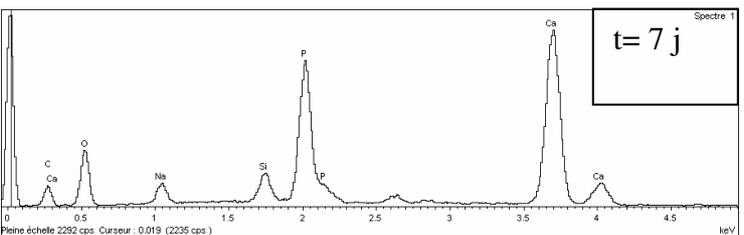
Elément	%Masse	%Atomique
C K	11.18	18.43
O K	44.29	54.79
Na K	4.47	3.84
Si K	7.89	5.56
P K	10.33	6.60
Ca K	21.84	10.78
Totaux	100.00	



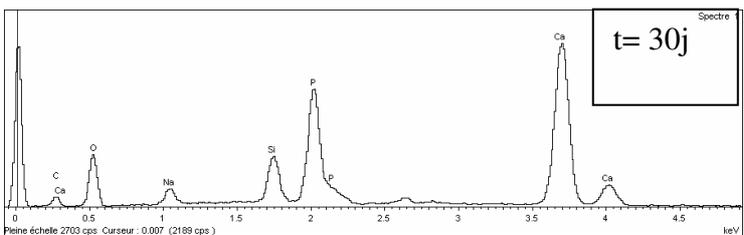
Elément	%Masse	%Atomique
C K	11.96	19.85
O K	43.03	53.60
Na K	3.98	3.45
Si K	4.43	3.15
P K	12.06	7.76
Ca K	24.54	12.20



Elément	%Masse	%Atomique
C K	8.29	14.84
O K	39.15	52.64
Na K	3.52	3.30
Si K	1.95	1.49
P K	15.49	10.76
Ca K	31.61	16.97
Totaux	100.00	



Elément	%Masse	%Atomique
C K	8.29	14.84
O K	39.15	52.64
Na K	3.52	3.30
Si K	1.95	1.49
P K	15.49	10.76
Ca K	31.61	16.97
Totaux	100.00	



Elément	%Masse	%Atomique
C K	12.13	19.91
O K	45.14	55.63
Na K	2.50	2.15
Si K	3.94	2.77
P K	11.71	7.45
Ca K	24.58	12.09
Totaux	100.00	

Figure VI-21: Analyse par EDS de la surface des verres 52S4SG en fonction du temps d'immersion dans le PBS.

- de 1 jour jusqu'à 7 jours, HA cristallisée a continué de se développer. Le taux de Ca et P s'est augmenté, tandis que le taux de Si s'est diminué,
- entre 15 et 30 jours, toute la surface est couverte par les cristaux d'apatite. Seulement, le taux de Ca et P a diminué légèrement. Alors que le taux de Si a augmenté. Peut être un gel de silice commence à se développer surtout que le pH de PBS a diminué un peu après 30 jours d'immersion.

3.d- Bilan des résultats

En reliant les résultats entre eux; on peut répondre sur la question posée au début de cette partie: Le Ca du verre 52S4SG a migré vers la solution SBF; mais il a été consommé rapidement par le verre pour former l'apatite soit amorphe ou cristallisé. C'est à dire que le processus de précipitation de HA est plus accéléré que le processus de dissolution.

En comparant la réaction du verre 52S4SG dans le SBF et le PBS; on peut déduire que la concentration ionique des solutions d'immersion en éléments formateurs de l'HA (Ca et P) a un effet très important sur la cinétique de précipitation de « bone like-apatite »: plus la solution est saturée par Ca ou P (PBS est très riche en P); plus le processus de précipitation est accéléré et la couche formée est très épaisse [125].

Tandis que la solution PBS ne contient pas du Ca et le processus de dissolution est lent; la cristallisation du HA est retardée jusqu'à 16 h par rapport à la cristallisation de HA dans le cas d'immersion du verre 52S4F.

4- Conclusion

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que:

1- Le verre 52S4 est un verre bioactif, soit synthétisé par voie fusion où par le procédé sol-gel.

2- Le verre 52S4SG est plus actif que le 52S4F quand la solution d'immersion est le SBF:

- l'apatite s'est formée après 2 h d'immersion dans le SBF à la surface du verre 52S4SG poreux; alors que la formation de cette phase s'est retardée à 1 jour à la surface du verre 52S4F dense.

3- La saturation de la solution d'immersion par les éléments formateurs de l'apatite active le processus de précipitation de HA soit à la surface du verre 52S4F ou le verre 52S4SG.

4- Plus le processus de dissolution est activé, plus le processus de précipitation de HA cristallisée est activé:

- la cristallisation de HA à la surface du verre 52S4F dans un délai court par rapport à la cristallisation de HA à la surface du verre 52S4SG à cause de la dissolution remarquable de 52S4F par rapport à 52S4SG.

Donc, plusieurs facteurs peuvent influencer la bioactivité du verre dans le même temps:

- le mode de synthèse qui influence la surface spécifique du verre (création des pores) et par conséquent le processus de dissolution-précipitation.
- la saturation du liquide d'immersion par les éléments formateurs de l'apatite.

Conclusion générale

L'utilisation des céramiques ayant des propriétés spécifiques pour des applications médicales nous a poussé à étudier les propriétés physico-chimiques des biomatériaux bioactifs. Notre travail a été consacré à l'étude de l'hydroxyapatite et le verre quaternaire 52S4 : 52% SiO₂- 30% CaO- 14% Na₂O- 4% P₂O₅ (pourcentage massique).

L'étude de l'hydroxyapatite est divisée en trois parties ; où on a étudié l'effet :

- de la température sur la bioactivité d'une hydroxyapatite naturelle, en la comparant à une hydroxyapatite synthétique,
- d'ajout des oxydes inertes à l'hydroxyapatite naturelle sur ces propriétés mécaniques et sa bioactivité,
- de la porosité sur la cinétique de formation de l'hydroxyapatite biologique à la surface des échantillons immergés dans le SBF.

Les résultats obtenus ont montré que:

- dans une hydroxyapatite pure, la densité, les éléments traces et la formation d'une seconde phase ont une grande influence sur le processus de dissolution-précipitation de HA.
- l'ajout des oxydes inertes (ZrO₂, TiO₂ et Al₂O₃) améliore les propriétés mécaniques de l'hydroxyapatite naturelle. Mais certains oxydes (Al₂O₃) peuvent avoir un effet négatif sur la bioactivité de l'hydroxyapatite ; aucune phase d'apatite n'a été observée à la surface des granules immergés dans le SBF.
- la présence des pores conduit à la diminution de la densité des échantillons traités N-HA, mais elle améliore sa bioactivité en incitant la formation du « bone like-apatite » à la surface des échantillons ainsi que dans les macropores.

Alors que pour le verre, on a suivie deux modes de synthèse : par voie fusion et le procédé sol-gel qui nous a permis d'avoir des verres poreux ayant une surface spécifique importante.

La spectroscopie RMN du solide a permis de déterminer la structure du verre (52S4F et 52S4SG), elle a montrée qu'il existe deux environnements tétraédriques ²Q et ³Q du silicium et que le phosphore se trouve dans un environnement orthophosphate.

L'étude de bioactivité de ce verre dans deux milieux physiologiques (SBF et PBS) ; nous a permis de conclure que le verre 52S4 est un verre bioactif, soit synthétisé par voie fusion où par le procédé sol-gel.

L'étude de cinétique de bioactivité en changeant le mode de synthèse ou la solution d'immersion nous a permis de déduire que:

- le verre 52S4SG est plus actif que le 52S4F quand la solution d'immersion est le SBF en formant de l'apatite après 2 h d'immersion dans le SBF à la surface du verre 52S4SG. Cela est due à la présence des pores et la surface spécifique importante,
- la saturation de la solution d'immersion par les éléments formateurs de l'apatite active le processus de précipitation de HA à la surface du verre quelque soit le mode de synthèse,
- plus le processus de dissolution est activé, plus le processus de précipitation de HA cristallisée est activé: la cristallisation de HA à la surface du verre 52S4SG est retardée par rapport à 52S4F à cause de son faible dissolution.

Donc, plusieurs facteurs peuvent influencé la bioactivité du biomatériau. Les résultats de ce travail confirment que le verre est plus actif que l'hydroxyapatite en stimulant la formation de l'apatite carbonatée à sa surface dans un délai très court.

Le domaine de recherche concernant les biomatériaux est un domaine multidisciplinaire où on peut trouver le physicien, le chimiste et le biologiste. Ces chercheurs essayent toujours de trouver le biomatériau conforme pour réparer ou combler un site osseux. Le choix d'utiliser l'hydroxyapatite ou le verre bioactif est basé sur les propriétés mécaniques, capacité de former un lien biochimique stable entre l'implant et l'os hôte, le site à combler ou à réparer et l'age du patient. L'implant doit, en plus de former à sa surface l'hydroxyapatite biologique, avoir des propriétés proches à celles du l'os pour éviter la création des fissures et sa propagation.

Perspectives

Les travaux de recherche réalisés dans le cadre de cette thèse ouvrent la voie à nombreuses possibilités d'investigation sur les biomatériaux.

En ce qui concerne l'hydroxyapatite ; on peut citer :

- la mise au point des paramètres de synthèse par voie sol-gel en introduisant les mêmes pourcentages des éléments traces de la matrice osseuse,
- l'étude de l'effet de taux d'une seconde phase dans la matrice HA pour déterminer la limite où cette seconde phase inhibe le processus de précipitation du « bone like-apatite »,
- l'étude de l'effet d'autres oxydes inertes sur les propriétés mécaniques et la bioactivité de HA,
- l'étude des propriétés mécaniques de HA en fonction du temps d'immersion.

Pour les verres, la synthèse par voie sol-gel permet d'élaborer des verres bioactifs contenant 90% Si (moles). Alors que la synthèse par fusion est limitée à 60% (moles). Pour cela, la synthèse par voie sol-gel nous pousse à étudier plusieurs choses tels que :

- l'étude des systèmes quaternaires SiO_2 - CaO - Na_2O - P_2O_5 , en gardant le taux de SiO_2 et P_2O_5 constant et variant seulement le taux de CaO et Na_2O pour mieux comprendre le processus de précipitation de « bone like-apatite » de ces systèmes.
- l'étude de la bioactivité de ces systèmes par spectrométrie RMN-MAS,
- l'étude de la cristallisation partielle sur la bioactivité.

Références

- [1] H. Petite, *Medecine/ sciences*, Vol. 18 (2002), pp. 995- 1002.
- [2] N. Passuti, G. Daculsi, *Presse Méd.*, Vol. 18 (1989), pp. 28-31.
- [3] J. D. Santos, « ceramics in medecine », *Busines briefing: Medical device manufacturing and technology* (2002), pp.1-2.
- [4] L. L. Hench, *Amer. Ceram. Soc*, Vol. 81(7) (1998), pp. 1705-1727.
- [5] S. F. Hulbert, J. C. Bokros, L. L. Hench, « Ceramics in clinical applications: past, present and future », *High Tech Ceramics*, Edition: P. Vincenzini, Elsevier, Amsterdam (1987).
- [6] V. A. Dubok, *Powd. Metall. and Metal Cer.*, Vol. 39 (2000), pp. 7-8.
- [7] D. F. Williams, « Definitions in Biomaterials », *Second Consensus Meeting, Eur. Soc. Biomat.*, Edition: Elsevier, Chester, UK (September 1991).
- [8] L. L. Hench, « introduction to Bioceramics », Edition J. Wilson, Singapore: World Scientific (1993).
- [9] K. A. Hing, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A*, Vol. 362 (2004), pp. 2821–2850.
- [10] S. Morgulis, *J. of biolog. Chem.*, Vol. 3 juin (1931), pp 455-466.
- [11] <http://ist.inserm.fr/BASIS/elgis/fqmr/rapp/DDD/199.pdf>
- [12] J. merry, « preparation and characterisation of carbonate hydroxyapatite», Edition: Queen Mary and Westfield college, London (2000).
- [13] R.B. Martin and D.B. Burr, « Structure, function and adaptation of compact bone», Edition: Raven Press (1989).
- [14] G. Chomette, M. Auriol, *Ency. Med. Chir., Stomatologie et odontologie*, Editions: Techniques, Paris (1992).
- [15] D. W. Fawcett, « A textbook of istology » , 11th edition, Edition: W.B.Saunders Company (1986).
- [16] J. P. Dadoune et P. Hadjiiski « Histologie », Edition : flammarion, Paris (1990).
- [17] A. Stevens et J.S. Lowe, « Histologie », Edition : Pradel, Paris (1992).
- [18] www.worldscibooks.com/medsci/etextbook/5695/5695_chap01.pdf
- [19] C.V. Gay and W.J. Mueller, *Science*, Vol. 183(1974), pp. 432-434.
- [20] M.C. De Vernejoul et P. Marie, *Méd. Sci.*, Vol. 9 (1993), pp. 1192-1203.
- [21] D. Kuntz, P. Marie et L. Miravet, *Ency. Med. Chir., Appareil locomoteur*, Paris (1981).
- [22] W. F. De Jong, *Rec. Trav. Chim.*, Vol. 45 (1926), pp. 445-448.
- [23] D.Mc Connell, « Apatite- Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization, and Geologic and Biologic Occurrences» , Edition: Springer Verlag, Vienna-Heidelberg-New York (1973).
- [24] A. S. Posner, *Physiol. Rev.* 49(4) (1969), pp. 760-792.

- [25] F. C. M. Driessens, Bull. Soc. Chim. Belg., Vol. 89 (1980), pp. 663-689.
- [26] H. Aoki, « Science and medical applications of hydroxyapatite », Edition: Takayama Press System Centre , Tokyo (1991).
- [27] R. Z. Le Geros & J. P. Le Geros, « Dense hydroxyapatite » . In An introduction to bioceramics, Edition: L. L. Hench & J. Wilson, World Scientific (1993).
- [28] J. Elliot, « Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates », Edition: Elsevier (1994).
- [29] N. K. Aras, G. Yiimaz, S. Alkan, F. Korkusuz, J. Radioanal. Nucl. Chem., Vol. 239 (1) (1999), pp. 79-86.
- [30] I. Couret, Méd. Nuc., Vol. 28(2) (2004) , pp. 57-65.
- [31] L. Teot, J. Vidal, Eds., Le tissu osseux. Biologie de l'appareil locomoteur, Edition : Vigot, Montpellier (1989).
- [32] M. C. De Vernejoul, P. Marie, Médecine Sciences, Vol. 9 (1993), pp. 1192- 1203.
- [33] P. Marie, L. Miravet, Ency. Med. Chir., appareil locomoteur, Paris (1986).
- [34] F. H. Albee, H.F. Morrison, Ann. Surg., Vol. 71 (1920), pp. 32-39.
- [35] J. A. Jansen, J.R. de Wijn, J.M.L. Wolters-Lutgerhorst, P. . van Mullern, J. Dent. Res., Vol. 64 (1985), pp. 891-896.
- [36] H. Aoki, M. Akao, Y. Shin, T. Tsuji, T. Togawa. Med. Progr. Techno., Vol. 12(2) (1987), pp. 2-13.
- [37] S. Negami, . J Japan. Orthop. Assoc., Vol. 62 (1988), pp. 85-94.
- [38] T. J. White, D. Zhi Li, Acta Crystallographica B, Vol. 59 (2003), pp.1-16.
- [39] J. P. Lafon, Thèse : « synthèse, stabilité thermique et frittage d'hydroxyapatites carbonatées », Limoges (2004).
- [40] G. Montel, G. Bonel, J-Christian Trombe, J-Claude Heughebaert, C. Rey, Pure & Appl. Chem., Vol. 52 (1980), pp. 973-987.
- [41] M. I. Kay, R. A. Young, and A. S. Posner, Nature, Vol. 204 (1964), pp. 1050-1052.
- [42] J. C. Elliot, P. E. Mackie, and R. A. Young, Science, Vol. 180 (1973), pp. 1055-1057.
- [43] R. G. V. Hancock., M. D. Grynpas and B. Alpert, J. Radioanal. Nucl. Chem., Vol. 110 (1987), pp. 283-291.
- [44] L. Calderin, M.J. Stott, A. Rubio, Phys. Rev. B, Vol. 67 (2003), pp.13406-13412.
- [45] Substituts, ANDEM/Service Évaluation Technologique, Avril (1997).
- [46] S. Laurent , J. Christian, Biomatériaux, Cahier des charges de l'INSERM.
- [47] K. A. Hing, S.M Best, K.E. Tanner, W. Bonfield and P.A. Revell, J. Mater. Sci.: Mater. In Med., Vol. 10 (1999), pp. 663-670.

- [48] S. Joschek, B. Nies, R. Krotz, A and Goepferich, *Biomaterials*, Vol. 21 (2000), pp. 1645-1658.
- [49] F. Mezahi, A. Harabi, and S. Achour, *Key Eng. Mater.*, Vols. 264-268 (2004), pp. 2031-2034.
- [50] F. Mezahi, A. Harabi, S. Zouai, S. Achour and D. Bernache- Assollant, *Mater. Sci. Forum* Vols. 492-493 (2005) pp. 241-248.
- [51] D. Roy and S.K. Linnehan, *Nature*, Vol. 247 (1974), pp. 220-222.
- [52] E. Mejdoubi, Thèse : « Elaboration et étude physico -chimique d'un ciment à base de phosphate de calcium », Toulouse (1993).
- [53] J. Carpena , F. Audubert, D. Bernache-Assolant, L. boyer, B. Donazzon, J. L. Lacout, N. Senamaud, *Rapport scientifique DCC* (1998).
- [54] H. Tagai, H. Aoki, Edition: DF Williams, John Wiley and Sons, New York (1980).
- [55] A. Osaka, Y. Miura, K. Takeuchi, M. Asada, K. Takahashi, *J. Mater. Sci: Mater in Med*, Vol. 2 (1991), pp. 51-55.
- [56] L.M. Rodriguez-Lorenzo, M. Vallet-Regi, *Chem. Mater.*, Vol.12 (2000), pp. 2460-2465.
- [57] Layrolle, A. Ito, T.S Teteishi, *J. Am. Ceram. Soc.*, Vol. 81 (1998), pp. 3029-3031.
- [58] A. Jillavenkatesa, R.A. Condrate Sr., *J. Mater. Sci.*, Vol. 33 (1998), pp. 4111-4119.
- [59] H. K. Varma, S. N. Kalkura, R. Sivakumar, *Ceram. Int.*, Vol. 24 (1998), pp. 467-470.
- [60] T.Anee Kuriakose, S. Narayana, M.Palanichamy, D.Arivuoli, Karsen Dierks, G. Bocelli, C. Betzel, *J. Crystal growth*, Vol. 263 (2004), pp. 517-523.
- [61] R.Z. Legeros, *Nature*, Vol. 206 (1965), pp. 403-407.
- [62] D. Tadic, F. Peters, M. Epple, *Biomaterials*, Vol. 23 (2002), pp. 2553-2559.
- [63] R.A. Young, D.W. Holcomb, *Calcified Tissue Int.*, Vol. 34 (1982), pp. 17-32.
- [64] T. V. Thamaraiselvi, S. Rajeswari, *Trends Biomater. Artif. Organs*, Vol. 18 (1) (2004), pp. 9-17.
- [65] S. Pramanik, A. K. Agarwal, K.N. Rai, A. Garg, *Ceramics International*, Vol. 33 (2007), pp. 419-426.
- [66] J. Cihlar and M. Trunec, *Biomaterials*, Vol. 17 (1996), pp. 1905-1911.
- [67] J. Cihlar and M. Trunec, « Proceedings of the 10th International Symposium on Bioceramics in Medicine, Paris, 1997,» Edition: L. Sedel and C. Rey, Elsevier, Oxford (1997), p. 183-186.
- [68] R. Z. Legeros, J . P. Legeros, Y. Kim, R.Kijkowska, R. Zheng, C. Bautista and J. L. Wong, in « Bioceramics: Materials and Applications » Edition: G. Fischman,A. Clare and L. L. Hench (American Ceramic Society), Ohio (1995).
- [69] R. Z. Legeros, *Clin. Mat.*, Vol. 14 (1993), pp. 65-88.

- [70] A. Ravaglioli and A. Krajewski, « Bioceramics», Edition: Chapman and Hall, London (1992).
- [71] B. Locardi, V. E. Pazzaglia, C. Gabbi and B. Profilo, *Biomaterials*, Vol. 44 (1993), pp. 437-441.
- [72] R. Z. Legeros and J . P . Legeros, in « An Introduction to Bioceramics», Edition: L. L. Hench and J.Wilson (World Scientific), Singapore (1993).
- [73] H.M. Kim, T. Himeno, T. Kokubo, T. Nakamura, *Biomaterials*, Vol. 26 (2005), pp. 4366-4373.
- [74] L.L. Hench, *J. Am. Ceram .Soc.*, Vol. 74 (1991), pp.1487–1510.
- [75] M. Neo, T. Nakamura, C. Ohtsuki, T. Kokubo, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 27 (1993), pp. 999-1006.
- [76] J. Niwa, *Bone Fracture*, Vol. 5 (1983), pp. 124-128.
- [77] M. M. Monteiro, N. C. C. da Rocha, A. M. Rossi, G. de A. Soares, *J. Biomed. Mater. Res.* Vol. 65A (2003), pp. 299-305.
- [78] J. Weng, Q. Liu, J.G.C. Wolke, X. Zhang, K. Groot, *Biomaterials*, Vol. 18 (1997), pp.1027-1035.
- [79] R.Z. Legeros, J.P. Legeros, G. Daculsi, R. Kijkowska, « Calcium phosphate biomaterials: preparation, properties and biodegradation», Edition: DL Wise, *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering*,. New York: Marcel Dekker; Vol. 2, Part A (1995).
- [80] R. Xin, Y. Leng, J. Chen, Q. Zhang, *Biomaterials*, Vol. 26 (2005), pp. 6477-6486.
- [81] J.-M. Bouler, G. Daculsi, *Key Eng. Mater.*, Vol. 119 (2001), pp. 192-195.
- [82] H. Aoki, « Medical applications of hydroxyapatite», Edition: St. Louis: Ishyaku Euro America (1994).
- [83] R. Lanza, R. Langer, and W. Chick, « Principles of Tissue Engineering», Edition: Academic Press Inc, San Diego CA (1997).
- [84] J. D. Pasteris, B. Wopenka, J. J. freeman, K. Rogers, E. V.-Jones, J. A. M. V. D. Houwen and M. J. Silva, *Biomaterials*, Vol. 25 (2004), pp. 229-238.
- [85] W. Suchanek, M. Yashima, M. Kakihana and M. Yoshimura, *Biomaterials*, Vol. 18 (1997), pp. 923-927.
- [86] P. Ducheyne, Q. Qiu, *Biomaterials*, Vol. 20 (1999), pp. 2287-2303.
- [87] W. Cao, L .L. Hench, *Ceramics International*, Vol. 22 (1996), pp. 493- 507.
- [88] L. L. Hench, J. K. West, *Life chemistry Repports*, Vol. 13 (1996), pp. 187- 241.
- [89] L.L. Hench, *Biomaterials*, Vol. 19 (1998), pp. 1419-1500.
- [90] K. E. Wallace, R. G. Hill, J. T. Pembroke, C. J. Brown, P. V. Hatton, *J.Mater.Sci: Mater in Med*, Vol. 10 (1999), pp. 697- 701.

- [91] J. Zarzycki, « les verres et l'état vitreux », Edition : Masson, Paris (1982).
- [92] Goldschmidt, « Geochemische Verteilungsgesetze der Elemente VIII», Edition: Vid. Akad. Skr. Oslo, No. 8, (1926).
- [93] W. H. Zachariasen, The Atomic Arrangement in Glass, Vol. 54, October (1932).
- [94] J. Livage, Revue Verre, Vol.6 (5) (2000), pp. 12-17.
- [95] M. Vallet-Regi, C. V. Ragel and Antonio J. Salinas, Microreview, Eur. J. Inorg. Chem. (2003), pp. 1029-1042.
- [96] C. G. Pantano, A. E. Clark, L. L. Hench, J. Am. Ceram. Soc., Vol. 57 (1974), pp. 412-413.
- [97] S. Radin, P. Ducheyne, B. Rothman, A. Conti, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 37 (1997), pp. 363-375.
- [98] J. P. Zhong, D. C. Greenspan, « in Bioceramics 11», Edition: R. Z. LeGeros, J. P. LeGeros, World Scientific, Singapore (1998).
- [99] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 24 (1990), pp. 721-734.
- [100] T. Kokubo, H. Kushitani, C. Ohsuki, S. Sakka, T. Yamamura, J. Mater. Sci.: Mater. Med. Vol. 3 (1992), pp. 79-83.
- [101] L. L. Hench, R. J. Splinter, W.C. Allen and T.K. Greenlee, J. Biomed. Mater. Res. Symp., vol. 2 (1) (1971), pp. 117-41.
- [102] C. Beckham, T. Greenlee and A. Crebo, J. Calcified Tissue Res., Vol. 8 (1971), pp. 165-171.
- [103] T. Greenlee, C. Beckham, A. Crebo and J. Malmberg, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 6 (1972), pp. 235-244.
- [104] L. L. Hench, « Bioceramics 7», Edition: O.H. Andersson and A. Yli-Urpo, , Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, England (1994).
- [105] J. Wilson, G H. Pigott, F.J. Schoen and L. L. Hench, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 15 (1981), pp. 805-817.
- [106] P. N. De Aza, A. H. De Aza, P. Pena and S. De Aza, Bol. Soc. Esp. Ceram., Vol. 46 (2) (2007), pp. 45-55.
- [107] U. Gross and V. Strunz, J. Biomed. Mater. Res., Vol.14 (1980), p. 607.
- [108] U. Gross and V. Strunz. « Clinical Application of Biomaterials», Edition: A.J.C. Lee, T. Albrektsson, P. Branemark, John Wiley & Son, New York (1982).
- [109] J. Zarzycki, J.Sol-Gel Sci and Tech. Vol. 8 (1997), pp. 17-22.
- [110] J.Phallipou, L'industrie céramique, Vol. 813 (2) (1987), pp. 131-138.
- [111] A. C.Pierre, « Introduction aux procédés sol-gel », Edition : SEPTIMA, Paris (1992).

- [112] T. Woignier and J. Phalippou, *Encyclopedia of Materials science: Science and technology*, (2001), pp.3581-3586
- [113] R. K. Iler, « *The Chemistry of Silica* », Edition: Wiley Interscience, New York (1979).
- [114] Woignier, J. Phalippou and J. Zarzycky, *J. Non-Cryst. Solids*, Vol. 63 (1984), pp. 117.
- [115] N. J. Clayden, S. Esposito, P. Pernice and A. Aronne, *J. Mater. Chem.*, Vol. 11 (2001), pp. 936-943.
- [116] D. Carta, D. M. Pickup, J. C. Knowles, M. E. Smithc and R. J. Newport, *J. Mater. Chem.*, Vol. 15 (2005), pp. 2134-2140.
- [117] A. Ramila, F. Balas, M. Vallet-Regi, *Chem. Mater.*, Vol. 14 (2002), pp. 542–548.
- [118] Z. Pinter, Thèse : Caractérisation de couches épaisses de semi-conducteurs WO_3 et WO_3 / TiO_2 pour la réalisation de capteurs ANO_2 , Lyon (2002).
- [119] J. F. Brinker, G. W. Scherer, « *Sol-Gel Science* », Edition: Academic Press, New York (1990).
- [120] S. S. Kistler, *J. Phys. Chem.*, Vol. 36 (1932), pp.52-64.
- [121] O.P. Filho, G.P. La Torre & L.L. Hench, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 30 (1996), pp. 509-514.
- [122] P.N. De Aza, F. Guitian,, A. Merlos, E. Lora-Tamayo and S. De Aza, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, Vol. 7(7) (1996), pp. 399-402.
- [123] K. H. Karlsson, K. Fröberg and T. Ringbom, *J. Non. Cryst. Solids*, Vol. 112 (1989), pp. 69-72.
- [124] Ö. H. Andersson, K. H. Karlsson, *J. Non-Cryst. Solids*, Vol. 129 (1991), pp. 145-151.
- [125] L. L. Hench, J. R. Jones and P. Sepulveda, « *Bioactive materials for tissue engineering scaffolds*» . In: J.M. Pollak, L.L. Hench and P. Kemp, Edition:World Scientific Pub. Co Inc., Singapore (2002).
- [126] D. Massiot, F. Fayon, M. Capron, I. King, S. Le Calvé, B. Alonso, J-O. Durand, B. Bujoli, Z. Gan, G. Hoatson , *Magnetic Resonance in Chemistry*, Vol. 40 (2002), pp. 70-76.
- [127] B. D. Cullity, « *Elements of X-ray Diffraction* », Edition: Addison- Wesley (1978).
- [128] H. John. Allan, *British Division of the International Association for Dental Research*, British Division (1969).
- [129] H.-W. Kim, Y.-J. Noh, Y. -H. Koh, H.-Ee Kim and H.-M. Kim, *Biomaterials*, Vol. 23 (20) (2002), pp. 4113-4121.
- [130] A. L. Underwood, Y. Toribara and W.F. Neuman, *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 77 (1955), pp. 317-319.
- [131] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache- Assollant and P, Thomas, *Biomaterials*, 23 (2002), pp. 1065-1072.

- [132] S. Koutsopoulos, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 62 (2002), pp. 600-612.
- [133] I. Rehman and W. Bonfield, J. Mater. Sci.: Mater. in Med., Vol. 8 (1997), pp. 1-4.
- [134] Y. Sargin, M. Kizilyalli, C. Telli and H. Güler, J. Europ. Ceram. Soc., Vol. 17 (1997), pp. 963-970.
- [135] S. J. Joris and C. H. Amberg, J. Phys. Chem., Vol. 75 (1971), pp. 3172-3178.
- [136] H. R. Ramay and M. Zhang, Biomaterials, Vol. 24 (2003), pp. 3293-3302.
- [137] M. Vignoles, G. Bonel, D. W. Holcomb and R. A. young, Calcif. Tissue Int., Vol. 45 (1989), pp. 157-164.
- [138] A. Almirall, M.P. Ginebra, G. Larrecq, J.A. Delgado, S. Martinez and J. A. Planell, Biomaterials, Vol. 25 (2004), pp. 3671-3680.
- [139] Marcio Baltazar Conz, José Mauro Granjeiro, Gloria de Almeida Soares, J. Appl. Oral. Sci., Vol. 13(2) (2005), pp. 136-40.
- [140] S. Habelitz, L. Pascal and A. Duran, J. Mater. Sci., Vol. 36 (2001), pp. 4131-4135.
- [141] A. Jillavenkatesa and R. A. Condrate, Spec. Lett., Vol. 31 (1998), pp. 1619-1634.
- [142] U. Posset, E. Löcklin, R. Thull and W. Kiefer, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 40 (1998), pp. 640-645.
- [143] J. C. Rendon- Angeles, K. Yanagisawa, N. Ishizawa and S. Oishi, Chem. Mater., Vol. 12 (2000), pp. 2143-2150.
- [144] W. E Brown and E. P. Epstein, J. Res. Nat. Bur. Stand., Vol. 69A (6) (1965), pp. 547-551.
- [145] B. Dickens, , brown, W.E., kruger, G.J. and etewart, J. M., Acta Crys., B29 (1973) 2046-2056.
- [146] A. Boyde, A. Corsi, R. Quarto, R. Cancedda, P. Bianco, Bone, Vol. 6 (1999), pp. 579-89.
- [147] C. P. A. T. Klein, Biomaterials, Vol.11 (1990), pp. 509-511.
- [148] Y. W. Gua, K.A. Khora, P. Cheang, Biomaterials, Vol. 25 (2004), pp. 4127-4134.
- [149] G. J. Mount, Graeme S Mount, W.R. Hume, Henri Tenenbaum, Préservation et restauration de la structure dentaire, Traduit par Henri Tenenbaum, Youssef Haikel Publié par De Boeck Université (2002).
- [150] H. Oudadesse, A.C. Derrien, M. Lefloch, J. Davidovits, J. Mat. Sci., Vol. 42 (2007), pp. 3092-3098
- [151] J. Huaxia, P.M. Marquis, J. Mater. Sci., Vol. 28 (1993), pp. 1941-1945.
- [152] Y.M. Kong, S. Kim, H.E. Kim, J. Am. Ceram. Soc. Vol. 82 (1999), pp. 2963-2968.
- [153] R. Ramachandra Rao, T.S. Kannan: Mater. Sci. Eng., Vol. 20 (2002), p. 187-193.
- [154] V. V. Silva, F. S. Lameiras and R. Z. Domingues, Comput. Sci. Techno. Vol. 61 (2001), pp. 301-310.

- [155] E. Champion, S. Gautier, and D. Bernache-Assollant, *J. Mater.Sci.: Mater. Med.*, Vol.7 (1996), p. 125.
- [156] J. Li, B. Fartash, and L. Hermansson, Vol. 16 (1995), pp. 417-422.
- [157] Wafa I. Abdel Fattah and Hanan H. Beherei, *The Sixth Conference and Exhibition of the European Ceramic Society*, Vol. 2 (1999), pp. 545.
- [158] O. Kyung- Sik, F. Caroff, R. Famery, Marie- Francoise Sigot- Luizard and Philippe Boch, *J. Eur. Ceram. Soc.*, Vol. 18 (1998), p. 1931.
- [159] M. Jarcho, *Clin. Ortho. Rel. Res.* Vol. June (1981), pp. 259-278.
- [160] E. Fidancevska, G. Ruseska, S. Zafirovski, B. Pavlovski, *Science of Sintering*, Vol. 34 (2002), pp. 241-246.
- [161] F .N. Oktar, S. Agathopoulos, G. Goller, H. Gökçe, E.S. Kayali, S. Salman, *Key Eng. Mater.*, Vols. 330-332 (2007), pp 411-414.
- [162] R. B. Heimann and T. A. Vu, *J. Mater. Sci. Lett.*, Vol. 16 (1997), pp. 437-439.
- [163] J. M. Wu and T. S. Yeh, *J. Mater. Sci.* Vol. 23 (1988), pp. 3771-3777.
- [164] H. W. Kim, Y. H. Koh, S. B. Seo and H. Ee Kim, *Mater. Sci . Eng.* Vol. 23 (2003), pp. 515-521.
- [165] P. A. T. Klein, A. A. Driessen, K. DeGroot, and A. Van den Hoff, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 17 (1983), pp. 769-776.
- [166] F. Z. Mezahi, H. Oudadesse, A. Harabi, A. Lucas-Girot, Y. Le Gal, H. Chair and G. Cathelineau, *J. of Thermal Anal. and Calor.*, Vol. 95 (1)(2009), pp.21–29.
- [167] A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio, A. Delcogliano, S. Franzese, *Biomaterials*, Vol. 22 (2001), pp. 1365-1370.
- [168] W. Bonfield, *Phil. Trans. R. Soc. Vol. A* 364 (2006), pp. 227–232.
- [169] M. Bohler, K. Knahr, H. Jr Plenk, A. Walter, M. Salzer, V. Schreiber, *J. Bone. Joint. Surg. Br.*, Vol. 76 (1994), pp. 53-59.
- [170] P. Griss, G. Heimke, H. Andrian-Werburg, B. Krempien, S. Reipa, H. J. Lauterbach, H. J. Hartung, *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 6 (1975), pp. 177-188.
- [171] S. Lerouge, O. Huk, L.H. Yahia, J. Witvoet, L. Sedel, *J. Bone Joint Surg. Br.*, Vol. 79 (1997), pp. 135-139.
- [172] K. de Groot, *Biomaterials*, Vol.1 (1980), pp.47-50.
- [173] J. W. Frame and C. L. Brady, *Brit. J. Oral Maxilloface. Surg.*, Vol. 25 (1987), pp. 452-464.
- [174] H. Ohgushi, Y. Dohi, S. Tamai and S.Tabata, *J. Biomed. Mater. Res*, Vol. 39 (1998), pp. 1-8.
- [175] H. U. Cameron, I. Mac Nab and R. M. Pilliar, *J. Biomed. Mater. Res*, Vol. 11 (2) (1977), pp. 179-186.

- [176] H. Ohgushi, M. Okumura, T. Yoshikawa, K. Inoue, N. Senpuku, S. Tamai and E.C.Shors, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 26 (1992), pp. 885-895.
- [177] R. E. Holmes, *Plast. Reconstr. Surg.*, Vol. 63 (1979), pp. 626-636.
- [178] E. C. Shors, E. W. White and G. Kopchok, *Mater. Res. soc. Symp. Proc.*, Vol. 110 (1989), pp. 211-217.
- [179] D. M. Liu, *Key Eng. Mater.*, Vol. 115 (1996) pp. 209-232.
- [180] S. F. Hulbert, S. J. Morrison and J. J. Klawitter, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, Vol. 2(1) (1970), pp. 269.
- [181] A. C. Tas, *Key Eng. Mater.*, Vols. 264-268 (2004), pp. 2079-2082.
- [182] S. Degallaix, B. Ilschner, « *Traité des Matériaux: Tome 2, Caractérisation expérimentale des matériaux : propriétés physiques, thermiques et mécaniques* », Edition : PPUR presses polytechniques (2007).
- [183] J.C. Le Huec, T. Schaeverbeke, D. Clement, J. Faber and A. Le Rebeller, *Biomaterials*, Vol. 16 (1995), pp. 113-118.
- [184] D. J. A. Netz , P. Sepulveda , V. C. Pandolfelli , A. C. C. Spadaro , J. B. Alencastre , M. V. L. B. Bentley , J. M. Marchetti , *Intern. J. Pharm.*, Vol. 213 (2001), pp. 117-125.
- [185] J. Boby, R. Pilliar, H. Cameron, G. Weatherly, *Clin. Orthop. Rel. Res*, Vol. 150 (1980), pp. 263-270.
- [186] P. S. Egli, W. Muller, R. K. Schenk, *Clin. Orthop. Rel. Res*, Vol. 232 (1988), pp. 127-138.
- [187] L. Galois, D. Mainard, K. Bordji, H. Membre, L. Marchal, D. Clément, J. P. Delagoutte, « *Actualités en biomatériaux* », Editions : Romillat, Paris (1996).
- [188] A. Uchida, S. Nade, E. Mc Cartney, W. Ching, *J. Orthop. Res.*, Vol. 3 (1985), pp. 65-77.
- [189] K. Shimazaki, V. Mooney, *J. Orthop. Res.*, Vol. 3 (1985), pp. 301-310.
- [190] R. E. Holmes, R. W. Bucholz, V. Mooney, *J. Orthop. Res.*, Vol. 5 (1987), pp. 114-121.
- [191] G. Daculsi, N. Passuti, *Biomaterials*, Vol. 11(1990), pp. 86-87.
- [192] J. H. Kuhne, *Acta. Orthop. Scand.*, Vol. 65 (1994), pp. 246-252.
- [193] O. Gauthier, J. M. Bouler, E. Aguado, P. Pilet, G. Daculsi, *Biomaterials*, Vol. 19 (1998), pp. 133-139.
- [194] V. Blitterswijk, J. Grote, W. Kuijpers, W.T. Daems, K. Groot, *Biomaterials*, Vol. 7 (1986), pp.137-143.
- [195] E. Dietrich, Thèse: Synthèse et études physico-chimiques de verres bioactifs denses et poreux. Applications en tant que biomatériaux en sites osseux, Rennes 1 (2008).
- [196] J. Roman, S. Padilla and M. Vallet-Regi, *Chem. Mater.*, Vol. 15 (2003), pp. 798-806.

- [197] P .Sepulveda, J. R. Jones and L. L. Hench, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 61 (2002), pp. 301-311.
- [198] M. Mami, *Caractérisations physico-chimiques et étude de la bioactivité de verres synthétisés par fusion et par voie sol-gel*, Monastir (2008).
- [199] K. J. D. Machenzie, M. E. Smith, « *Multinuclear solid-state NMR of inorganic materials*», Edition: Pergamon Materials Series, Cambridge (2002).
- [200] M.W.G. Lockyer, D. Holland, R. Dupree, *J. of Non-Crystal. Solids*, Vol. 188 (1995), pp. 207-219.
- [201] I. Elgayar, A.E. Aliev, A.R. Boccaccini , R.G. Hill, *J.Non-Crys. Solids*, Vol. 351 (2005), pp. 173-183.
- [202] I. W._Awska and M. Szumera, *J. Ther. Analys. and Calor.*, Vol. 84 (1) (2006), pp. 185-190.
- [203] L. Olivier, X. yuan, A. N. cornack and C. Jäger, *J. Non Crys. Solids*, Vols. 293-295 (2001), pp 53-66.
- [204] A. Angelopoulou, V. Montouillout, D. Massiot, G. Kordas, *J. of Non-Crys. Solids*, Vol. 354 (2008), pp. 333-340.
- [205] M. D. O'Donnell, S. J. Watts, R. V. Law, R. G. Hill, *J. Non-Cryst. Solids*, 354 (2008), pp. 3554-3560.
- [206] H. Grussaute, L. Montagne, G. Palavit, J.L. Bernard, *J. of Non-Crys. Solids*, Vol. 263-264 (2000), pp. 312-317.
- [207] R. Hill, *J. Mater. Sci. Lett.* Vol.15 (1996), pp. 1122-1125.
- [208] H. Doweidar, *Phys. Chem. Glasses*, vol. 40 (1999), pp. 85.
- [209] R. Kirkpatrick, K. Brow, *Solid State Nucl. Magnet. Reson.*, Vol. 5 (1995), pp. 9-21.
- [210] R. Z. LeGeros, « *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine* », *Monographs in Oral Science*, Edition: H.M. Myers (Karger, Zurich) (1991).
- [211] J. C. Elliott, « *Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates, Studies in Inorganic Chemistry* », Vol. 18, Edition: Elsevier, Amsterdam (1994).
- [212] H. A. ElBatal , M. A. Azooz, E. M. A. Khalil , A. Soltan Monem, Y.M. Hamdy, *Mater. Chem. and Phy.*, Vol. 80 (2003), pp. 599-609.
- [213] F. Domine, B. Piriou, *J. Non Cryst Solids*, Vol. 55 (1983), pp. 125-130.
- [214] M. Vallet-Regi, A. M. Romero, C. V Ragel, R. Z. LeGeros, *J. Biomed. Mater. Res.* Vol. 44(4) (1999), pp. 416–21.
- [215] A. Stoch, W. Jastrzebrski, A. Brozek, B. Trybalska, M. Cichocinska, E. Szarawara, *J. Mol. Struc.*, Vol. 511 (1999), pp. 287-294.

- [216] S. G. Kazarian, M. F. Vincent, F. V. Bright, C. L. Liotta, C. A. Eckert. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 118 (1996), pp. 1729-1769.
- [217] P. Hartmann, St. Barth, J. Vogel and Ch. Jäger, *Applied Mineralogy*, Vol. 1 (2000), pp. 147-150.
- [218] C. Jäger, T. Welzel, W. Meyer-Zaika and M. Epple, *Magn. Reson. Chem.*, Vol. 44 (2006), pp. 573-580.
- [219] A; Martinez, I. Izquierdo-barba and M. Vallet- Regi, *Chem. Mater.*, Vol. 12 (2000), pp. 3080-3088.

RESUMES

ملخص

يهتم هذا العمل بدراسة المواد الحيوية النشطة:

– الهيدروكسيد أباتيت.

– الزجاج ذو الصيغة الكيميائية (52S4 : 52% SiO₂- 30% CaO- 14% Na₂O- 4% P₂O₅) (نسبة

كتلية).

استعملت عدة تقنيات لدراسة الخصائص الكيميائية و الفيزيائية لهذه المركبات: تقنية إنبعاث البلازما الطيفي (ICP-

OES)، جهاز المسح الإلكتروني (MEB-EDS)، مطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR)، الرنين المغناطيسي النووي

(RMN).

أظهرت النتائج أن هناك عدة عوامل تؤثر على النشاط الحيوي للهيدروكسيد أباتيت ، مثل الكثافة، الشوائب و تشكل الأطوار

الثانوية. تحسين الخواص الميكانيكية بإضافة الأكاسيد الخاملة (Al₂O₃ و TiO₂ و ZrO₂) لا يرافق دائما تحسين من النشاط

الحيوي. إضافة بعض الأكاسيد إلى الهيدروكسيد أباتيت يحول دون تشكيل الهيدروكسيد أباتيت الحيوي « bone like »

» apatite على سطح هذه المادة المغمورة في السائل الفسيولوجي (SBF).

استخدمت طريقتين لتحضير الزجاج: طريقة الإنصهار و طريقة سائل – هلام (sol-gel) ، حيث سمحت الطريقة الثانية

بالحصول على زجاج يحتوي على مسامات عديدة. إن غمس هذا الزجاج في محاليل فسيولوجية (PBS و SBF) ، أتاح

لنا أن نستنتج ما يلي :

– الزجاج المحضر بالطريقتين هو زجاج حيوي.

– حركية النشاط الحيوي حساسة جدا لعدة عوامل، مثل وجود المسامات ، حركية إنحلال الزجاج والتركيز الأيوني

للمحلول الفيزيائي (PBS و SBF).

نتائج هذا العمل تؤكد أن الزجاج ذو نشاط حيوي أكثر من الهيدروكسيد أباتيت بتحفيزه تشكيل كربونات الأباتيت على سطحه

خلال وقت قصير جدا.

الكلمات المفتاحية

- الهيدروكسيد أباتيت

- الزجاج

- طريقة الإنصهار

- سائل – هلام

- النشاط الحيوي

- السائل الفسيولوجي

Abstract

This work has been devoted to study the bioactive materials:

- The natural and synthetic hydroxyapatite.
- Quaternary glass 52S4: 52% SiO₂- 30% CaO -14% Na₂O- 4% P₂O₅ (wt%).

Among the main techniques used for both physical and chemical characterizations of these biomaterials are: the Induced Coupled Plasma (ICP-OES), X- Ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS), Infra-Red spectroscopy (IR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR).

The obtained results show that the hydroxyapatite bioactivity is controlled by several factors such as the density, trace elements and the second phase formation. In addition, mechanical properties optimization by adding inert oxides (ZrO₂, TiO₂ and Al₂O₃) is not always accompanied by HA bioactivity improvement. It has been found that the presence of certain foreign oxides in the HA matrix inhibits “bone-like apatite” formation at the immersed HA surface in a Simulated Body Fluid (SBF).

As far as glasses are concerned, two synthesis routes have been used: the melting and sol-gel processes, which allow to obtain a porous glass with a large specific area. The immersion of these glasses in SBF and Phosphor Buffered Solution (PBS) has allowed to conclude that:

- the glasses synthesised by melting and sol-gel processes are bioactive,
- the bioactivity kinetic is very sensitive to several factors, such as porosity, the dissolution kinetics of glasses and the ion concentrations of the immersion solution.

These work results confirm that glasses are more reactive than hydroxyapatite by carbonated apatite formation on its surface, in a very short time.

Key words:

- Hydroxyapatite
- Glass
- Melting process
- Sol-gel process
- Bioactivity

Résumé

Ce travail a été consacré à l'étude des biomatériaux bioactifs :

- l'hydroxyapatite naturelle et synthétique,
- le verre quaternaire 52S4 : 52% SiO₂- 30% CaO- 14% Na₂O- 4% P₂O₅ (pourcentage massique).

On cite parmi les techniques utilisées pour la caractérisation physico-chimique de ces biomatériaux: la spectroscopie d'émission au plasma (ICP-OES), la diffraction RX, la microscopie électronique à balayage (MEB-EDS), la spectroscopie infrarouge (IR) et la résonance magnétique nucléaire (RMN).

Les résultats obtenus montrent que plusieurs facteurs influencent la bioactivité de l'hydroxyapatite, tels que : la densité, les éléments traces et la formation d'une seconde phase. L'optimisation des propriétés mécaniques par l'ajout des oxydes inertes (ZrO₂, TiO₂ et Al₂O₃) ne s'accompagne pas toujours par l'amélioration de la bioactivité du HA. La présence de certains oxydes dans la matrice HA inhibe la formation de « bone like-apatite » à la surface de HA immergée dans une solution physiologique (SBF).

Pour l'obtention d'un verre, deux modes de synthèse ont été utilisés: la voie fusion et le procédé sol-gel qui nous a permis d'avoir des verres poreux ayant une surface spécifique importante. L'immersion de ces verres dans deux solutions physiologiques (SBF et PBS) nous a permis de déduire que :

- les verres sont bioactifs quelque soit le mode de synthèse.
- la cinétique de la bioactivité est très sensible à plusieurs facteurs, tels que : la porosité, la cinétique de dissolution du verre et la concentration ionique de la solution d'immersion.

Les résultats de ce travail confirment que le verre est plus actif que l'hydroxyapatite en stimulant la formation de l'apatite carbonatée à sa surface dans un délai très court.

Mots -Clés :

- Hydroxyapatite
- Verre
- Voie fusion
- Procédé so-gel
- Bioactivité
- Solution physiologique