

# UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE Science – Technologie – Santé

FACULTE des Sciences et Techniques

Année : 2007

Thèse N° 2007-72

## THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : **Chimie – Chimie Physique**

Présentée par

**Mickaël PALARD**

<p><b>SYNTHESE ET FRITTAGE D'HYDROXYAPATITES</b></p> <p><b>PHOSPHOCALCIQUES SILICATEES</b></p>
--

Thèse dirigée par Eric CHAMPION

Co-direction : Sylvie FOUCAUD

*Soutenue le 11 décembre 2007 devant la commission d'examen*

<i>Rapporteurs :</i>	M. J. M. BOULER_____	Université de Nantes
	M. J. M. HEINTZ_____	Université de Bordeaux I
<i>Examineurs :</i>	M. D. BERNACHE-ASSOLLANT_____	ENS des Mines de Saint-Etienne
	M. E. CHAMPION_____	Université de Limoges
	Mme. S. FOUCAUD_____	Université de Limoges
	Mme. M. VIANA-TRECANT_____	Université de Limoges



# UNIVERSITE DE LIMOGES

ECOLE DOCTORALE Science – Technologie – Santé

FACULTE des Sciences et Techniques

Année : 2007

Thèse N° 2007-72

## THESE

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES**

Discipline : **Chimie – Chimie Physique**

Présentée par

**Mickaël PALARD**

<p><b>SYNTHESE ET FRITTAGE D'HYDROXYAPATITES</b></p> <p><b>PHOSPHOCALCIQUES SILICATEES</b></p>
--

Thèse dirigée par Eric CHAMPION

Co-direction : Sylvie FOUCAUD

*Soutenue le 11 décembre 2007 devant la commission d'examen*

*Rapporteurs :*

M. J. M. BOULER\_\_\_\_\_Université de Nantes

M. J. M. HEINTZ\_\_\_\_\_Université de Bordeaux I

*Examineurs :*

M. D. BERNACHE-ASSOLLANT\_\_\_\_\_ENS des Mines de Saint-Etienne

M. E. CHAMPION\_\_\_\_\_Université de Limoges

Mme. S. FOUCAUD\_\_\_\_\_Université de Limoges

Mme. M. VIANA-TRECANT\_\_\_\_\_Université de Limoges



## REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été réalisé de septembre 2004 à décembre 2007 au sein de l'équipe « Procédés céramiques – Axe 1 » du laboratoire Science des Procédés Céramiques et Traitements de Surface à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Limoges.

Je souhaite exprimer ma sincère gratitude à Madame Sylvie Foucaud, Maître de Conférences ainsi qu'à Monsieur Eric Champion, Professeur, pour avoir encadré cette thèse. Qu'ils soient sincèrement remerciés pour leur disponibilité, leur compréhension et leur grande clairvoyance scientifique qui m'ont permis d'évoluer durant ces trois années.

Je voudrais remercier très chaleureusement Monsieur Didier Bernache-Assolant, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure des Mines de St-Etienne, qui m'a fait l'honneur d'être président de mon jury de thèse ; ainsi que Messieurs Jean-Michel Bouler, Professeur à l'Université de Nantes et Jean-Marc Heintz, Professeur à l'Université de Bordeaux, pour avoir accepté de juger ce travail. Je remercie également Madame Marylène Viana-Trécant d'avoir fait partie de ce jury.

Je ne saurais oublier Solange Degot, Pierre Carles et Daniel Tétard pour leurs conseils avisés. Un grand merci à celui sans qui les cellules n'auraient probablement pas survécu, Julien Combes, ce fut un plaisir de travailler avec toi et de partager ta chambre lors des congrès.

Je voudrais également remercier ceux sans qui l'histoire « apatite » n'aurait pas été la même, il s'agit bien entendu d'Arnaud et David (Nono et Mr Chance). Merci à vous deux pour votre patience, votre disponibilité et vos conseils qui m'ont permis d'avancer. Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance à Bernadette et Etienne pour leur gentillesse et leurs compétences rares.

Enfin, merci à mes camarades de laboratoire, thésards, enseignants-chercheurs, personnels techniques et administratifs (dans le désordre), j'ai nommé : Laf, Fidj', Isa, Mika, Martine, Sabine, Vinc', David, Sylvie (Vive la Charente Limousine), Alexandre, Ahmed, Stéphane, Mathieu, Guillaume, Rémi, les Loulous de Physique... Je terminerai par celles qui m'ont supporté, moi et ma musique dans la promiscuité de notre bureau : un grand merci à Emilie, Nathalie, Pétra, Sirine et Chantal.

Il m'est impossible de citer en totalité celles et ceux qui, depuis une quinzaine d'années, m'ont permis de me défouler tous les vendredis et samedis soirs, c'est pourquoi je remercierai très chaleureusement l'ensemble de mon club, le Handball Chabanois et tous ceux qui m'ont soutenus.

Je ne peux clore ce chapitre sans remercier ma famille qui m'a soutenu moralement et financièrement tout au long de mes études. Soyez certains, Papa, Maman, que je vous en serai éternellement reconnaissant. Je tiens aussi à remercier Jean-Claude, Dominique, Sophie, Marie-Charlotte, Nini, toujours présents quand j'en avais besoin, Flo, bien sur, qui m'a aidé à trouver ma voie... Et Aurélie, sans qui rien n'aurait été possible.

Merci Aurélie...

A mon Pépé...

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>3</b>
<b>Chapitre I - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>7</b>
I. 1. LE TISSU OSSEUX .....	7
<i>I. 1. 1. Les types d'os .....</i>	<i>7</i>
<i>I. 1. 2. Structure des os .....</i>	<i>8</i>
<i>I. 1. 3. Les constituants de l'os .....</i>	<i>9</i>
I. 1. 3. 1. La matrice extracellulaire .....	9
a. La matrice organique.....	9
b. La matrice minérale.....	10
I. 1. 3. 2. Les cellules .....	10
a. La lignée ostéoblastique .....	10
b. La lignée ostéoclastique .....	11
<i>I. 1. 4. Le remodelage osseux .....</i>	<i>12</i>
I. 1. 4. 1. Activation .....	13
I. 1. 4. 2. Résorption.....	13
I. 1. 4. 3. Réversion ou inversion .....	14
I. 1. 4. 4. Formation .....	14
I. 2. LES BIOMATERIAUX CERAMIQUES .....	16
<i>I. 2. 1. Généralités .....</i>	<i>16</i>
I. 2. 1. 1. Pourquoi les céramiques ? .....	16
I. 2. 1. 2. Les biomatériaux céramiques inertes.....	16
I. 2. 1. 3. Les biomatériaux céramiques actifs en surface .....	16
I. 2. 1. 4. Les biomatériaux céramiques résorbables .....	17
<i>I. 2. 2. Les phosphates de calcium.....</i>	<i>17</i>
I. 2. 2. 1. Propriétés et intérêts des phosphates de calcium .....	17
I. 2. 2. 2. Utilisation en chirurgie réparatrice osseuse .....	19
a. Le recouvrement de prothèse.....	20
b. Le comblement osseux .....	20
c. Les prothèses .....	22
d. Conclusion .....	22
I. 3. L'HYDROXYAPATITE ET SES SUBSTITUTIONS .....	22
<i>I. 3. 1. Structure de l'hydroxyapatite stœchiométrique HA .....</i>	<i>22</i>
<i>I. 3. 2. Substitutions dans la structure apatitique .....</i>	<i>24</i>
<i>I. 3. 3. Les apatites silicatées.....</i>	<i>29</i>
I. 3. 3. 1. Conception des biocéramiques d'apatite silicatée .....	29
a. Synthèse des apatites silicatées.....	29
b. Densification des poudres .....	34
I. 3. 3. 2. Evaluation biologique.....	34
a. Tests de bioactivité non cellulaire in vitro.....	34
b. Culture de cellules in vitro .....	36
c. Implantation in vivo .....	38
I. 4. CONCLUSION .....	39

## Chapitre II - Synthèse et caractérisation des poudres..... 43

II. 1. SYNTHÈSE PAR PRÉCIPITATION EN VOIE AQUEUSE.....	43
<i>II. 1. 1. Synthèse des poudres</i> .....	43
II. 1. 1. 1. Protocole de synthèse.....	43
a. Mise en solution des réactifs.....	43
b. Mode opératoire .....	44
II. 1. 1. 2. Paramètres de synthèse.....	45
<i>II. 1. 2. Caractérisation des poudres brutes de synthèse</i> .....	47
II. 1. 2. 1. Analyses spectroscopiques.....	47
a. Technique de caractérisation .....	47
b. Résultats.....	49
II. 1. 2. 2. Analyse élémentaire du carbone.....	51
a. Technique de caractérisation .....	51
b. Résultats.....	52
II. 1. 2. 3. Analyses structurales.....	53
a. Technique de caractérisation .....	53
b. Résultats.....	54
II. 1. 2. 4. Morphologie et caractéristiques physiques .....	56
a. Techniques de caractérisation.....	56
b. Résultats.....	57
II. 1. 2. 5. Discussion .....	65
a. Les poudres brutes telles que $0 \leq x \leq 1$ mol de silicium.....	65
b. Les poudres de composition telle que $x > 1$ mol .....	70
<i>II. 1. 3. Calcination des poudres</i> .....	70
II. 1. 3. 1. Poudres de compositions $0 \leq x \leq 1$ mol.....	70
a. Analyses thermiques.....	70
b. Analyses structurales.....	78
c. Analyses spectroscopiques .....	84
d. Analyses chimiques élémentaires.....	88
II. 1. 3. 2. Poudres de compositions $1 < x \leq 4$ mol .....	90
a. Analyses thermiques.....	90
b. Analyses structurales.....	93
c. Analyses spectroscopiques .....	94
II. 1. 3. 3. Discussion .....	97
II. 2. ETUDE COMPLÉMENTAIRE - SYNTHÈSE PAR RÉACTION SOLIDE - SOLIDE A HAUTE TEMPÉRATURE.....	101
<i>II. 2. 1. Protocole de synthèse</i> .....	102
<i>II. 2. 2. Caractérisation des réactifs</i> .....	103
II. 2. 2. 1. Précurseur du silicium.....	103
II. 2. 2. 2. Apatite.....	104
<i>II. 2. 3. Résultats</i> .....	105
II. 2. 3. 1. Analyses spectroscopiques.....	105
II. 2. 3. 2. Analyses structurales.....	107
<i>II. 2. 4. Conclusion</i> .....	109
II. 3. DISCUSSION .....	109
II. 4. CONCLUSION.....	113



## **Chapitre III - Frittage..... 117**

III. 1. GENERALITES SUR LE FRITTAGE.....	117
III. 2. ETUDE EXPERIMENTALE .....	119
<i>III. 2. 1. Etude dilatométrique</i> .....	119
III. 2. 1. 1. Calcination des poudres .....	120
III. 2. 1. 2. Pressage .....	121
III. 2. 1. 3. Technique de caractérisation.....	122
III. 2. 1. 4. Résultats.....	122
a. Influence des paramètres de frittage .....	122
b. Influence du taux de silicium .....	124
c. Discussion .....	127
<i>III. 2. 2. Frittage</i> .....	127
III. 2. 2. 1. Influence de la teneur en silicium .....	127
a. Mesure des densités.....	128
b. Microstructure.....	132
III. 2. 2. 2. Influence de la température et du temps de frittage .....	136
III. 2. 2. 3. Conclusion .....	140
<i>III. 2. 3. Optimisation du frittage des compositions <math>Si_xHA_x \geq 0,6</math></i> .....	140
III. 3. CONCLUSION .....	142

## **Chapitre IV - Evaluation biologique ..... 147**

IV. 1. METHODES EXPERIMENTALES .....	147
<i>IV. 1. 1. Elaboration et préparation des échantillons</i> .....	147
<i>IV. 1. 2. Protocole des essais in vitro</i> .....	148
IV. 1. 2. 1. Techniques de culture et ensemencement cellulaires.....	148
IV. 1. 2. 2. Cinétique cellulaire.....	150
IV. 1. 2. 3. Comportement cellulaire .....	151
a. Double marquage de l'actine et des noyaux cellulaires par immunofluorescence.....	151
b. Marquage de la paxilline par immunofluorescence .....	152
IV. 2. RESULTATS.....	153
IV. 3. DISCUSSION.....	161

## **Conclusion..... 167**

## **Lexique ..... 171**

## **Références bibliographiques ..... 175**



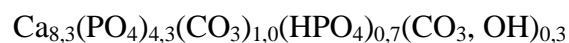
# INTRODUCTION



## Introduction

Le squelette adulte se renouvelle en permanence, de l'ordre de 10% par an. Ce remodelage osseux est nécessaire à la conservation des propriétés mécaniques de l'os et à la cicatrisation des fractures. Dans certaines situations, le remodelage osseux mis en œuvre pour réparer les fractures reste insuffisant, un apport de matière extérieure est donc nécessaire. C'est dans ce cadre que se justifie l'utilisation de biomatériaux tels que les biocéramiques et plus particulièrement les phosphates de calcium. Les céramiques à base d'Hydroxyapatite de formule chimique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  ou de Phosphate tricalcique  $\beta \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  sont parfaitement biocompatibles, elles permettent ainsi de restaurer un capital osseux compromis ou de favoriser la colonisation osseuse dans des situations cliniques très diverses. Par exemple, le comblement des défauts osseux après curetage ou résection tumorale, la fusion osseuse lors d'arthrodèse vertébrale ou encore la restauration osseuse parodontale font partie des ces applications.

L'hydroxyapatite est l'une des principales biocéramiques utilisées en chirurgie orthopédique et en odontologie. Cependant, la très faible résorbabilité de ce matériau en milieu biologique fait qu'il ne peut répondre, à lui seul, à des applications nécessitant une ostéointégration rapide. Une des manières d'améliorer le comportement bioactif de l'hydroxyapatite pourrait être d'élaborer des apatites substituées, dont la composition chimique et la structure cristalline sont proches de celles de la phase minérale de l'os. Une formule chimique de cette phase a été proposée à partir d'analyses structurales et chimiques de l'os périostique animal (comparable à l'os cortical) [LEG86] :



Les substitutions ioniques peuvent affecter la chimie et la structure de surface de l'hydroxyapatite et donc avoir des influences sur le comportement du matériau dans le milieu biologique. De nombreuses substitutions ioniques au sein de la structure apatitique ont été mises en œuvre [ELL94]. C'est le cas notamment des apatites carbonatées déficitaires en calcium et plus récemment des apatites silicatées.

L'élément silicium (Si) représente 0,05% de la masse corporelle. Il joue un rôle important dans la solidité des tissus de l'organisme, en particulier des os, des artères, des tendons, de la peau et des yeux. Le silicium osseux est localisé dans la bordure ostéoïde de l'os en formation (lieu d'ossification par excellence). Dans l'os mature, il est quasiment indétectable. Le silicium semble jouer un rôle important sur la formation osseuse et la calcification [CAR70]. L'aluminium (en excès) qui perturbe un certain nombre de processus

métaboliques vitaux et qui est un inhibiteur de l'ossification a probablement le silicium comme antidote naturel. Ce dernier pourrait aussi être bénéfique en cas d'arthrose, de fracture ou pour prévenir l'ostéoporose.

Depuis une dizaine d'années, la recherche concernant les hydroxyapatites dopées au silicium s'est donc développée. La synthèse et la caractérisation de matériaux à base d'hydroxyapatites silicatées ont fait l'objet de plusieurs études afin de mettre en évidence le rôle du silicium sur la repousse osseuse. Pour y parvenir, plusieurs étapes sont nécessaires dans l'évaluation biologique. Les cellules osseuses ayant un rôle primordial dans le remodelage du tissu osseux, leur isolation et leur culture sont des moyens d'investigation pour comprendre le métabolisme osseux. De nos jours, les modèles *in vitro* basés sur la culture cellulaire sont fondamentaux dans l'étude de la réponse du tissu hôte des matériaux implantés. Cependant, le procédé d'élaboration des matériaux n'étant pas toujours bien maîtrisé, les paramètres pouvant avoir des conséquences sur la réponse biologique ne sont pas isolés. C'est le cas par exemple de la porosité ouverte ou de la présence de phases secondaires dans le matériau. Ainsi, il est primordial de pouvoir préparer des matériaux d'hydroxyapatites silicatées de composition contrôlée en silicium, denses et sans phase secondaire. C'est dans ce contexte que se situe l'étude présentée dans ce mémoire.

Une mise au point bibliographique initiale rappelle le fonctionnement du tissu osseux et les principaux biomatériaux céramiques utilisés en chirurgie réparatrice. Elle s'attache également à présenter l'influence des substitutions ioniques dans l'hydroxyapatite sur la réponse biologique. Une dernière partie est consacrée aux travaux précédemment menés sur les apatites silicatées, et plus particulièrement sur leur procédé d'élaboration et leur évaluation biologique.

La synthèse et la caractérisation des poudres d'apatites silicatées font l'objet d'un second chapitre. Le procédé de synthèse doit être bien maîtrisé afin de contrôler la teneur en silicium des poudres. Les résultats issus de ce chapitre permettent de discuter des mécanismes d'incorporation des groupements silicate au sein de la structure apatitique et de la stabilité thermique des poudres.

Le principal but de ce travail étant l'obtention de matériaux denses et sans phase secondaire, le chapitre III porte sur le frittage des poudres. A l'aide des résultats du chapitre précédent sur la stabilité thermique, les conditions optimales de densification ont été étudiées.

Enfin, le dernier chapitre de ce mémoire est une étude préliminaire portant sur l'évaluation biologique des apatites silicatées grâce à des travaux de culture cellulaire.

# Chapitre I

## RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES





# Chapitre I - Rappels bibliographiques

## I. 1. Le tissu osseux

Le tissu osseux est un tissu squelettique et conjonctif spécialisé. Le squelette a trois fonctions : (1) fonction mécanique : il est l'un des tissus les plus résistants du corps humain, capable de supporter des contraintes mécaniques, donnant à l'os son rôle de soutien du corps et de protection des organes. (2) fonction métabolique : le tissu osseux est un tissu dynamique constamment remodelé sous l'effet des pressions mécaniques, entraînant la libération ou le stockage de sels minéraux et assurant ainsi dans une large mesure (conjointement avec l'intestin et les reins) le contrôle du métabolisme phosphocalcique. (3) **fonction hématopoïétique\*** : les os renferment dans leurs **espaces médullaires**, la moelle hématopoïétique, dont les cellules souches, à l'origine des trois lignées de globules du sang, se retrouvent au voisinage des cellules osseuses. Les **cellules stromales** de la moelle osseuse fournissent un support structural et fonctionnel aux cellules hématopoïétiques. Certaines d'entre elles sont des **cellules souches multipotentes** susceptibles de se différencier dans de multiples lignages.

### I. 1. 1. Les types d'os

On dénombre trois variétés anatomiques d'os, les os longs (tibia, fémur), les os courts (os du carpe) et les os plats (sternum, côtes), l'ensemble formant le squelette humain.

Les os longs (Fig. I-1) sont constitués d'un corps appelé diaphyse et de deux extrémités ou épiphyses. Diaphyse et épiphyse sont reliées par une zone qui est le siège de la croissance : la métaphyse ou cartilage de croissance qui ne s'ossifie complètement qu'à la fin de la croissance. La diaphyse est constituée d'une couche épaisse et dense de tissu osseux aussi appelée corticale ou cortex. Elle est creusée du canal médullaire rempli de moelle osseuse jaune et est entourée d'une membrane (le périoste) qui est riche en vaisseaux nourriciers qui participent à l'ossification en épaisseur. Les épiphyses (aux deux extrémités) sont formées de tissu spongieux. Elles sont très riches en moelle rouge hématopoïétique et sont recouvertes de cartilage articulaire.

\* les termes en gras sont définis dans un lexique page 171

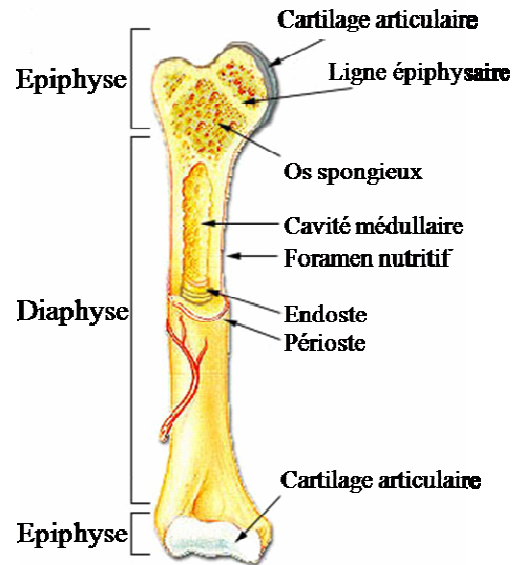


Figure I-1 : Schéma d'un os long\*

Les os courts sont composés d'un noyau d'os spongieux entouré d'une corticale d'os compact. Ces os comportent de nombreuses surfaces articulaires.

Enfin, les os plats sont composés de deux couches d'os compact qui enferment une couche d'os spongieux.

### I. 1. 2. Structure des os

Suivant la partie de l'os considérée, on distingue deux structures osseuses : l'os spongieux et l'os compact.

L'os spongieux (ou trabéculaire) constitue la partie centrale de l'os. Il est riche en cellules conjonctives adipeuses et en éléments sanguins mais sa résistance est faible car il est peu dense. Il représente 20% en poids du tissu osseux. Cet os est constitué de cylindres et de plaques dont l'organisation tridimensionnelle forme l'architecture trabéculaire. Minoritaire dans le squelette adulte, il est pourtant à la base de tout le tissu osseux. On le trouve essentiellement dans les os courts et plats et dans l'épiphyse des os longs. Lors du remaniement permanent de l'os, le premier os formé est spongieux pour être ensuite dégradé puis remplacé par de l'os compact ou trabéculaire selon sa localisation et sa fonction.

La partie périphérique de l'os est composée d'os compact (ou cortical) : c'est une partie osseuse dense, dure et très résistante formant un manchon plus ou moins épais. L'os

\* <http://www.web-books.com>

cortical représente 95% en poids du tissu osseux. Il constitue la diaphyse des os longs et l'enveloppe des os courts et plats. Il est organisé en ostéones ou cylindres de Havers qui permettent l'irrigation du tissu osseux et qui lui confèrent un maximum de résistance.

### I. 1. 3. Les constituants de l'os

#### I. 1. 3. 1. La matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire de l'os comporte une partie organique et une partie minérale.

##### a. La matrice organique

Le constituant principal de cette phase est le collagène de type I (90% de la matrice organique) qui est une glycoprotéine fibreuse rigide en forme de tresse à trois brins d'une longueur de 300 nm et d'un diamètre de 5 nm. Il est organisé en fibres parallèles au sein de couches superposées. L'alternance de l'orientation des fibres de collagène confère au tissu osseux son aspect lamellaire (Fig. I-2).

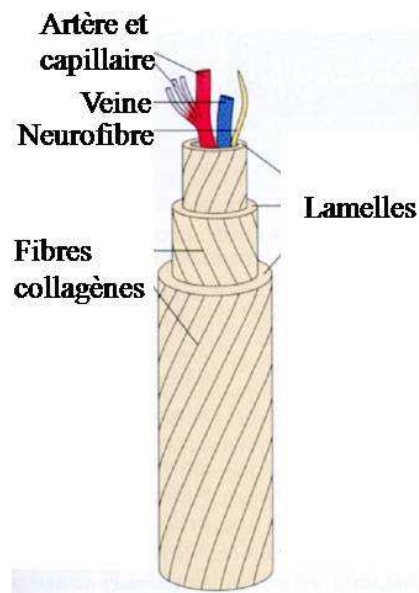
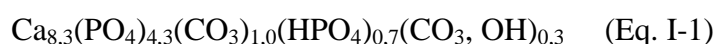


Figure I-2 : Orientation des fibres de collagène\*

Les autres protéines formant la matrice organique sont des protéines non collagéniques telles que l'ostéopontine (qui relie la matrice minérale aux cellules osseuses), l'ostéonectine (à l'origine de la liaison matrice minérale – collagène) et l'ostéocalcine (marqueur des ostéoblastes, intervenant dans la minéralisation). Ces protéines apparaissent comme des inhibiteurs de minéralisation.

#### b. La matrice minérale

La phase minérale du tissu osseux est principalement constituée de cristaux d'hydroxyapatite phosphocalcique. Une formule chimique de cette phase a été proposée à partir d'analyses structurales et chimiques de la phase minérale de l'os périostique animal (comparable à l'os cortical) [LEG86] :



Ces cristaux se présentent sous forme de petites aiguilles de 20 à 40 nm de longueur qui confèrent à l'os sa solidité. Les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  situés en surface de ces cristaux participent à des échanges rapides avec le liquide interstitiel et donc avec le sang. L'os, contenant 98% du calcium de l'organisme, représente un réservoir de calcium et joue un rôle primordial dans le métabolisme phosphocalcique.

### I. 1. 3. 2. Les cellules

On distingue deux catégories de cellules osseuses [CHA89] : la lignée ostéoblastique (préostéoblastes, ostéoblastes matures, **ostéocytes** et cellules bordantes) et la lignée ostéoclastique.

#### a. La lignée ostéoblastique

Les préostéoblastes sont issus de la division de cellules localisées dans la moelle pour l'os trabéculaire. Ces cellules sont allongées et situées au contact des ostéoblastes matures. Elles sont capables de se diviser et expriment une enzyme, la **phosphatase alcaline** qui est indispensable à la minéralisation de l'os. Les ostéoblastes matures (Fig. I-3) sont des **cellules ostéoformatrices** cubiques situées à la surface interne et externe du tissu osseux en croissance. La taille de ces cellules est de 20 à 30  $\mu\text{m}$  de diamètre.

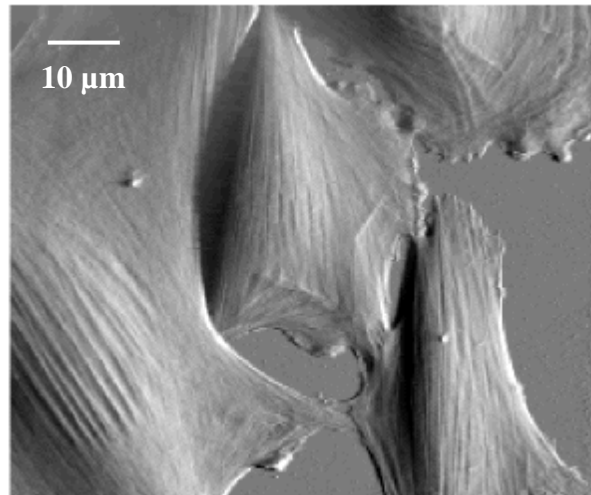


Figure I-3 : Cellules ostéoblastes\*

Les **ostéocytes** sont des ostéoblastes différenciés, incapables de se diviser et entièrement entourés par la matrice extracellulaire osseuse minéralisée. Leur corps cellulaire est de plus petite taille que celui des ostéoblastes. Du fait de leur situation privilégiée dans le tissu osseux, ces cellules jouent un rôle de maintenance de la matrice osseuse. Les ostéoblastes, responsables de la formation de l'os, se caractérisent par une synthèse intense de protéines de la matrice et par la présence d'une **phosphatase alcaline** membranaire. Le devenir des ostéoblastes peut se faire selon trois modes :

(1) la transformation en **ostéocytes** en s'entourant complètement de la matrice extracellulaire.

(2) la mise au repos sous la forme de cellules bordantes tapissant les surfaces osseuses. Les cellules bordantes ont une activité très réduite mais si nécessaire, peuvent redevenir des ostéoblastes actifs. Elles sont situées sur les surfaces osseuses qui, à un moment donné, ne sont soumises ni à la formation ni à la résorption osseuse. Ces cellules sont de forme aplatie et allongée.

(3) la mort par **apoptose**.

#### b. La lignée ostéoclastique

Les ostéoclastes sont des cellules très volumineuses, plurinucléées, de 20 à 100 μm de diamètre, hautement mobiles et capables de se déplacer à la surface des travées osseuses d'un site de résorption à l'autre (Fig. I-4). Leur rôle est de résorber la matrice minérale. Les

ostéoclastes sont formés à partir de la fusion de préostéoclastes issus de cellules hématopoïétiques de la moelle.

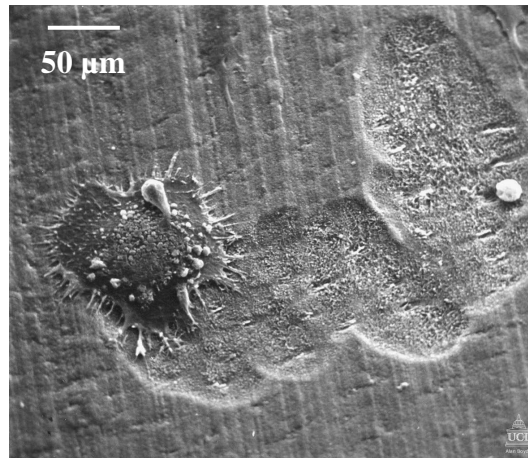


Figure I-4 : Cellules ostéoclastes\*

#### I. 1. 4. Le remodelage osseux

Le tissu osseux doit permettre la formation adaptée du squelette durant la croissance, la conservation de ses propriétés mécaniques et leur adaptation aux contraintes, la réparation des fractures et la mise à disposition du calcium qu'il stocke. Pour assurer toutes ces fonctions, l'os est en perpétuel renouvellement : le remodelage osseux [DUP00].

De l'os ancien est détruit ou résorbé par les ostéoclastes et remplacé grâce aux ostéoblastes par de l'os nouveau. Par an, environ 10% de l'os du squelette adulte est renouvelé. Ce remodelage a lieu dans une structure définie appelée unité multicellulaire de base (BMU) ayant pour dimension 1 à 2 mm de long et 0,2 à 0,4 mm de large. A tout moment, un million de ces unités sont actives chez l'adulte. Les acteurs principaux du remodelage osseux sont les cellules ostéoclastes et ostéoblastes qui agissent de façon concertée dans l'espace et le temps. Ce renouvellement se divise en plusieurs étapes : une phase d'activation suivie d'une phase de résorption puis de réversion et enfin une phase de formation. La durée de la phase de résorption est comprise entre une et deux semaines tandis que la phase de formation s'étale sur environ deux mois et demi. Ce cycle de remodelage osseux est illustré par la figure I-5.

\* [www.brsoc.org.uk](http://www.brsoc.org.uk)

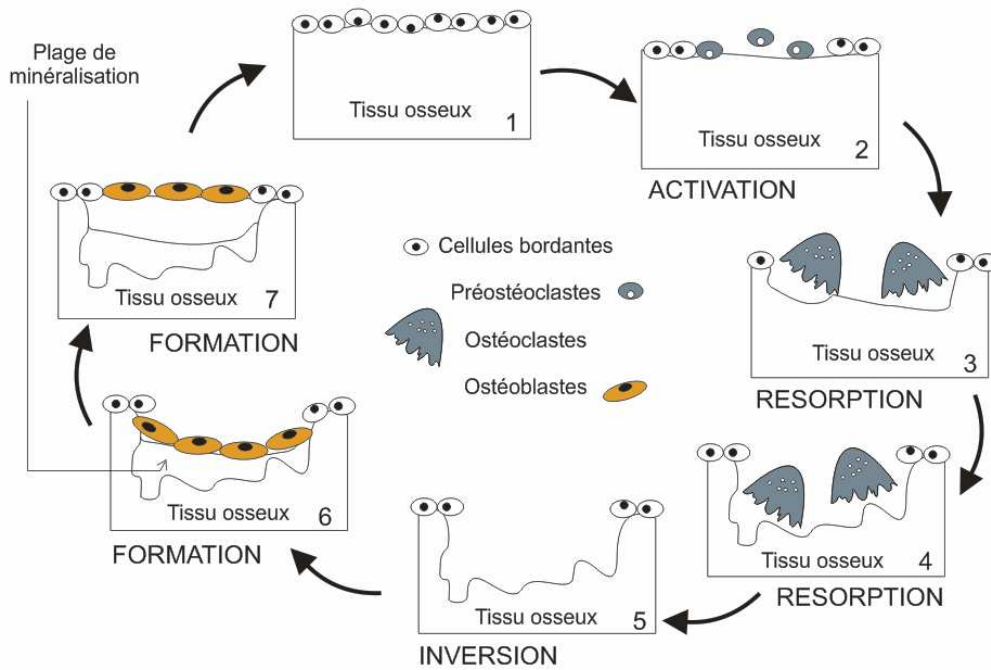


Figure I-5 : Schéma de la dynamique du remodelage osseux [DUP00]

#### I. 1. 4. 1. Activation

Cette phase (2) se situe le long de la surface osseuse inactive recouverte de cellules bordantes (ou ostéoblastes quiescents) qui empêchent l'accès des ostéoclastes à la matrice extracellulaire. Suite à une stimulation, hormonale ou mécanique, le processus de remodelage va être activé. L'activation se caractérise par la formation de cellules ostéoclastes issues de la fusion de préostéoclastes et par leur ancrage à la matrice grâce à une protéine : l'**intégrine**. Des ostéoblastes présents sur le site sécrètent eux aussi des protéines matricielles telles que l'ostéopontine qui favorisent l'adhérence des ostéoclastes.

#### I. 1. 4. 2. Résorption

Chaque ostéoclaste devenu actif se fixe à la matrice sur le lieu de résorption et la phase de résorption de la matrice commence (3 – 4). Elle s'effectue en deux étapes successives : la dissolution de la phase minérale par acidification du compartiment de résorption et la dégradation de la matrice organique sous l'action d'enzymes. Les ostéoclastes détruisent l'os ancien et créent une lacune, espace de résorption où le pH est bas et entretenu grâce à des pompes à protons spécifiques de l'ostéoclaste libérant des ions  $H^+$ . Cette acidité ainsi obtenue

favorise la dissolution du cristal d'hydroxyapatite, libérant des minéraux tels que le calcium et le phosphore, et permet la mise à nu de la matrice organique et l'activation des enzymes. Ces enzymes détruisent la matrice organique.

#### I. 1. 4. 3. Réversion ou inversion

Lorsque les ostéoclastes ont achevé une lacune, ils meurent par **apoptose** (5). Avant de mourir, ils libèrent des facteurs de croissance qui activent le recrutement des préostéoblastes et inhibent leur différenciation. Ils sont ensuite remplacés par des cellules macrophages qui lissent le fond de la lacune.

#### I. 1. 4. 4. Formation

La phase de formation se divise en deux étapes au cours desquelles les cellules ostéoblastes jouent un rôle prépondérant : la production de la matrice extracellulaire et sa minéralisation (6 – 7).

La première étape consiste à produire la matrice extracellulaire qui est liée à la prolifération et à l'activité des ostéoblastes. Lorsque la résorption de l'os est terminée, les cellules présentes en surface de la matrice, au fond de la lacune (ligne cimentante), se divisent et se différencient en ostéoblastes. Ces ostéoblastes synthétisent une nouvelle matrice collagénique non encore minéralisée (substance pré-osseuse ou **tissu ostéoïde**) qui vient combler la lacune. La production de cette matrice est régulée en partie par des hormones.

La minéralisation s'effectue, lors d'une seconde étape, à la jonction entre le tissu ostéoïde et le tissu minéralisé. Cette minéralisation confère notamment la solidité au tissu. Les ostéoblastes stockent des ions calcium et phosphate qui se lient au niveau du cytoplasme de la cellule. Le produit de cette réaction est un complexe phosphocalcique éliminé vers la matrice osseuse sous forme de cristaux d'apatite biologique qui se déposent au niveau des fibres de collagène. La **phosphatase alcaline**, synthétisée par les ostéoblastes, semble jouer un rôle non négligeable notamment en hydrolysant les esters phosphoriques, inhibiteurs de la minéralisation. Au cours de cette formation osseuse, certains ostéoblastes restent piégés dans la matrice osseuse, ils deviendront des **ostéocytes**.



Chez l'homme, le capital osseux est constitué à l'âge de 20 ans. La masse osseuse augmente jusqu'à cet âge, reste stable pendant quelques années, puis diminue lentement lors du vieillissement. Le capital osseux est variable en fonction des personnes et du sexe. Aux alentours de 20 ans, les mécanismes de construction du tissu osseux deviennent plus faibles que les mécanismes de destruction [REN89]. Cette perte du tissu osseux se caractérise par une diminution d'épaisseur des os et un accroissement de leur porosité (ostéoporose), qui conduit à une fragilisation osseuse et augmente le risque de fracture.

La fracture osseuse, comme toute blessure, entraîne une destruction tissulaire et une hémorragie due à la rupture d'une quantité considérable de capillaires sanguins et lymphatiques. La réparation osseuse débute avec l'arrivée des cellules impliquées dans les phases initiales de réparation [BON89]. Des cellules macrophages éliminent localement les débris cellulaires. Les **cellules ostéoformatrices** et les capillaires sanguins prolifèrent et permettent la formation de **tissu conjonctif** puis de tissu cartilagineux qui forment un cal et comblent le foyer de la fracture. Parallèlement, des cellules ostéoblastes apparaissent pour fabriquer du tissu ostéoïde qui remplace progressivement l'ébauche cartilagineuse du cal osseux. Ce dernier se calcifie et est ensuite remodelé par les ostéoclastes pour restaurer la forme initiale de l'os. La réparation dure selon le type de fracture entre 6 et 12 semaines.

Cette réparation tissulaire, qui peut être favorisée par des thérapeutiques agissant sur le remodelage osseux, ne permet toutefois pas d'éviter que le tissu osseux soit insuffisant en quantité dans de nombreux cas. Une perte osseuse locale importante peut survenir notamment à la suite d'un traumatisme, ou après l'**exérèse** d'une tumeur. Le traitement de ces pathologies passe alors par un apport de substances osseuses ou de matériaux qui vont remplacer ou consolider l'os défaillant. Le comblement par des substances osseuses peut être réalisé par auto ou **allogreffes**, mais se pose ici le problème de la quantité de greffon disponible. Dans ce domaine de la reconstruction osseuse, les greffes synthétiques et plus particulièrement les substituts en céramique sont donc fréquemment utilisés. En effet, ceux-ci ne présentent pas de difficulté de disponibilité rencontrée lors des **autogreffes** ni de problèmes d'histocompatibilité et de transmission possible d'agents infectieux liée aux **allogreffes** et aux **xénogreffes**.

## I. 2. Les biomatériaux céramiques

### I. 2. 1. Généralités

#### I. 2. 1. 1. Pourquoi les céramiques ?

Les matériaux biocéramiques ont fait leur apparition dans la chirurgie réparatrice osseuse depuis une centaine d'années mais ce n'est que depuis environ trente ans qu'ils sont étudiés, pour améliorer les produits existants ou développer de nouveaux matériaux de substitution. Suivant leur réactivité vis-à-vis du corps humain, les matériaux biocéramiques peuvent être classés en trois grandes catégories : les biocéramiques inertes, actives en surface ou résorbables [HEN91; BER03].

#### I. 2. 1. 2. Les biomatériaux céramiques inertes

Leur inertie par rapport aux tissus environnants leur confère une biocompatibilité empêchant le rejet (pas de risque d'infection, de réaction immunitaire ou inflammatoire). Ces céramiques ne sont pas solubles dans le milieu physiologique et par conséquent stables dans le temps. La liaison développée entre le substitut et le tissu osseux se fait par accroche mécanique via une fine capsule fibreuse située autour de l'implant. Les deux céramiques les plus utilisées dans ce domaine sont l'alumine  $Al_2O_3$  et la zircone  $ZrO_2$ . Leur champ d'applications principal est le remplacement articulaire, et plus particulièrement la prothèse de hanche.

#### I. 2. 1. 3. Les biomatériaux céramiques actifs en surface

Le caractère bioactif de ces matériaux est dû en partie à leur faible solubilité. En effet, cette propriété leur permet de créer une liaison intime entre leur surface et le tissu environnant. Les principaux composés de cette catégorie sont les bioverres et l'hydroxyapatite. L'un des problèmes majeurs des bioverres est leur mauvaise tenue mécanique qui empêche leur utilisation dans le cas de mise en charge importante. L'hydroxyapatite phosphocalcique ( $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , HA) et ses domaines d'applications seront détaillés dans les paragraphes suivants.

#### I. 2. 1. 4. Les biomatériaux céramiques résorbables

Comme leur nom l'indique, la solubilité des matériaux biorésorbables est très importante. En fait, leur dégradation dans l'organisme est totale. Le phosphate tricalcique bêta ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \beta$ , TCP  $\beta$ ) est le représentant le plus connu. Cependant, à cause de sa résorbabilité totale et rapide, il est souvent associé à un autre matériau, l'hydroxyapatite (HA). Enfin, le sulfate de calcium ( $\text{CaSO}_4$ ) ou plâtre de Paris (forme hydratée du sulfate de calcium,  $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) est intégré dans cette catégorie du fait d'une analogie d'utilisation et de comportement *in vivo* avec le TCP  $\beta$ .

#### I. 2. 2. Les phosphates de calcium

Les biomatériaux céramiques à base de phosphate de calcium sont largement étudiés et utilisés dans différents domaines médicaux tels que l'odontologie, l'orthopédie, la chirurgie faciale etc. Différents phosphates de calcium présentent un intérêt, leur utilisation dépend de leurs propriétés telle que la résorbabilité ou la bioactivité.

##### I. 2. 2. 1. Propriétés et intérêts des phosphates de calcium

Les céramiques phosphocalciques se révèlent être les meilleurs candidats pour la substitution osseuse de par leur composition chimique très voisine de celle de l'os humain, leur pouvoir **ostéoconducteur**, leur bioactivité, leur biocompatibilité et leur biodégradabilité.

Les phosphates de calcium les plus utilisés sont le phosphate tricalcique bêta ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \beta$ ), l'hydroxyapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) ou un mélange biphasé de  $\beta$  TCP et d'HA en proportion variable selon les propriétés que l'on souhaite mettre en œuvre. En général, la solubilité des phosphates de calcium augmente lorsque le rapport molaire  $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$  du composé diminue [ELL94; BER03] à l'exception du phosphate tétracalcique. Ainsi l'hydroxyapatite de rapport molaire  $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$  égal à 1,67 est très peu soluble dans les milieux biologiques et de ce fait, son taux de dégradation est très bas *in vivo*. En revanche, le phosphate tricalcique  $\beta$  dont le rapport molaire  $\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$  est de 1,5 est beaucoup plus soluble et sa dégradation est plus importante. On peut donc, en modifiant la composition du mélange entre les deux phosphates, obtenir un

produit biphasé ayant des propriétés variables quant à sa solubilité et à sa vitesse de biodégradation.

Ces produits bioactifs permettent des interactions avec les cellules et les liquides du milieu biologique gage d'une intégration de qualité. De même, leur biocompatibilité est bien connue. Ils ne donnent lieu à aucune réaction immunologique ou toxique pour les tissus ni à aucune réaction à des corps étrangers. Ils ne sont généralement pas **ostéoinducteurs** car il n'y a pas de véritable formation osseuse lorsqu'ils sont implantés dans un site non osseux musculaire, où ils sont alors le siège d'une simple encapsulation. En revanche, ils sont ostéoconducteurs c'est-à-dire qu'ils induisent une ostéorégénération à leur contact. Aucun tissu fibreux ne s'interpose entre la céramique et l'os qui se lie directement à la surface de l'implant de phosphate de calcium.

Afin de favoriser l'ostéointégration et l'ostéorégénération, la recherche s'est dirigée vers le développement de matériaux macroporeux. Selon la littérature [JAR81; PAS89], les processus biologiques se déroulant au sein de ces matériaux sont influencés par deux types de porosité, la micro et la macroporosité dont les diamètres de pores sont respectivement inférieurs à 10  $\mu\text{m}$  et de l'ordre de 100  $\mu\text{m}$  (ou plus). L'interconnexion entre les pores est un paramètre supplémentaire à prendre en compte car c'est elle, qui régit la colonisation des implants [CHA00; BIG03]. Ainsi, pour une bonne circulation des fluides biologiques, le diamètre des interconnexions doit être compris entre 20 et 80  $\mu\text{m}$  [LU99; HAR00] et la taille des macropores doit se situer entre 150 et 500  $\mu\text{m}$  [WAR03].

En cas de contact efficace, les cellules de la moelle envahissent les pores du matériau et de l'os se forme. Cette formation passe par une phase fibrocartilagineuse qui, après envahissement vasculaire, aboutit à la minéralisation dont le front progresse le long des pores. Une phase de remodelage osseux suit et organise l'os en structure lamellaire. Le biomatériau est le siège d'une biodégradation. Celle-ci fait appel à deux processus : la phagocytose cellulaire et la dissolution extracellulaire. Les liquides biologiques traversent l'implant et s'enrichissent en calcium provenant de la dissolution du matériau. La saturation locale du liquide qui en découle produit une précipitation conduisant à des cristaux d'apatite ressemblant à ceux de la phase minérale de l'os. Il s'agit d'un processus de calcification et non pas d'ossification qui conduit cependant à l'ostéointégration [NGA99].

### I. 2. 2. 2. Utilisation en chirurgie réparatrice osseuse

De nombreux domaines médicaux ont recours aux substituts osseux phosphocalciques d'origine synthétique. Ce paragraphe présente une liste non exhaustive de ces différents domaines, les types de reconstruction, ainsi que des phosphates de calcium employés.

La composition chimique (quantité des phases secondaires) des substituts osseux commerciaux est régie par des normes telles que NF S 94-066, ASTM F 1088-04 et ASTM F 1185-03 [ASTM 1; ASTM 2; AFN98]. Les matériaux biphasés (BCP) sont composés d'HA et de TCP  $\beta$  en proportions variables selon l'application. Ces matériaux sont mis en forme de manière très spécifique selon le site d'implantation (Fig. I-6a). On trouve entre autres des coins (Fig. I-6c), des cylindres (Fig. I-6b) et des blocs de porosité contrôlée facilement découpables (Fig. I-6d).

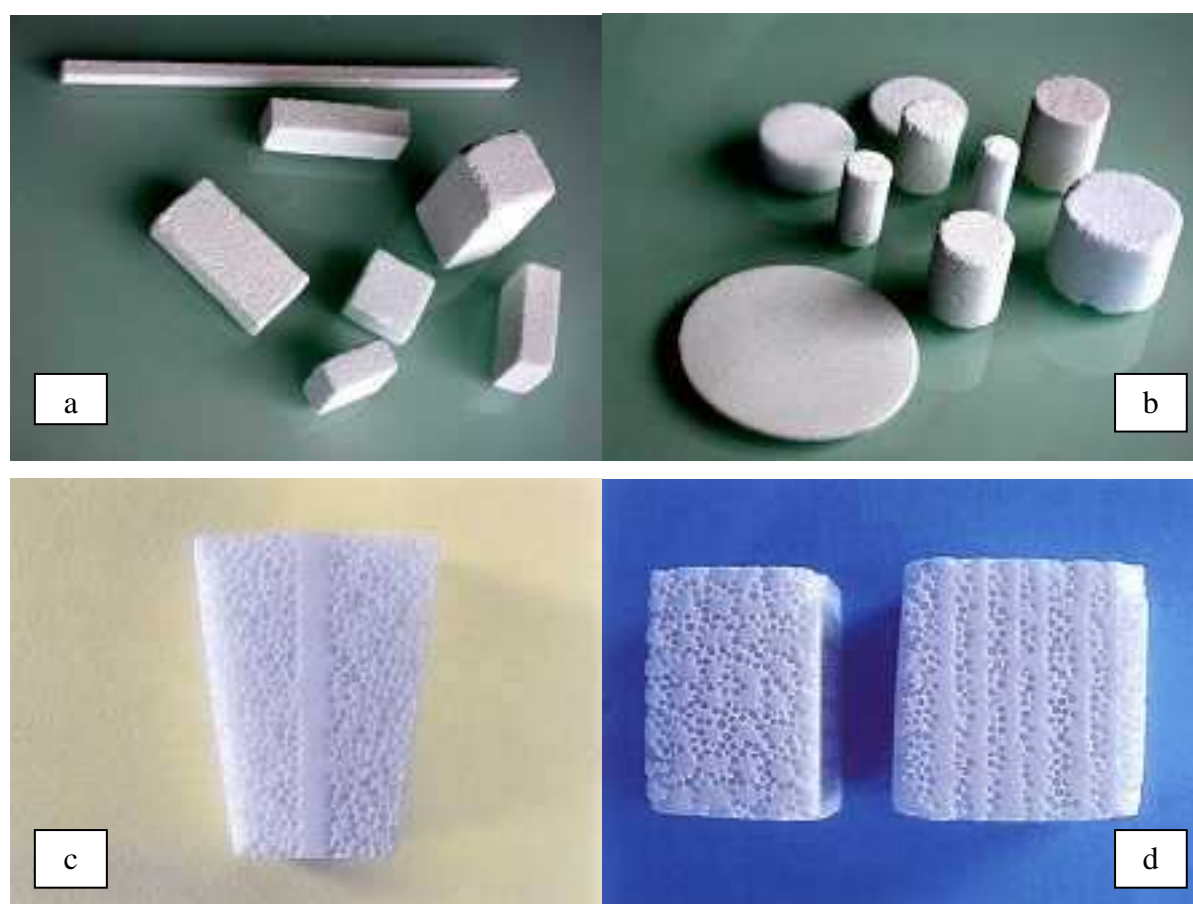


Figure I-6 : Mise en forme des biomatériaux céramiques

L'odontologie et l'orthopédie sont deux domaines dont les besoins en phosphates de calcium sont les plus importants. Cependant, d'autres médecines telles que la traumatologie, l'oncologie, la neurochirurgie ou l'oto-rhino-laryngologie requièrent, pour des interventions spécifiques, les propriétés de tels substituts.

a. Le recouvrement de prothèse

L'une des premières utilisations de l'hydroxyapatite est le recouvrement de prothèses orthopédiques dans le but d'améliorer leur fixation. Le procédé par projection plasma est le plus employé [OON91]. La fixation de la prothèse via cette couche d'hydroxyapatite fait intervenir deux types de fixations : biologique et bioactive [HEN91].

b. Le comblement osseux

La majeure partie des substituts osseux à base de phosphate de calcium sert lors du comblement de cavités plus ou moins volumineuses.

b. 1. En odontologie

Dans ce domaine, l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique sont utilisés pour le comblement des défauts dus aux pertes parodontales ainsi que pour la réparation des fissures du palais. Ils sont aussi utilisés pour le recouvrement de la pulpe dentaire et servent d'implant dentaire ou de supplément de greffe mais aussi de matériau de comblement des défauts. Contrairement au TCP, l'HA est aussi un matériau intéressant pour l'augmentation de l'arrête alvéolaire [DAM91].

b. 2. En orthopédie

Les *reprises de prothèses totales de hanche* engendrent très souvent des pertes de substances osseuses cotyloïdiennes qu'il est nécessaire de combler [OON97]. Après excision des tissus nécrotiques et inflammatoires du fond du cotyle, une des solutions envisageables est le comblement via des granules de phosphate de calcium. L'hydroxyapatite ou des mélanges biphasés HA/ $\beta$ -TCP peuvent être employés. L'utilisation de granules de tailles différentes favorise le remplissage de la cavité. Par exemple, un mélange de 10% de blocs de

100-300  $\mu\text{m}$ , 45% de 0,9 à 1,2 mm et 45% de 3 à 5 mm est inséré dans les défauts osseux [OON97].

Les indications opératoires des *fractures des plateaux tibiaux* sont motivées par les enfoncements et les séparations qui entraînent une incongruence articulaire et par les défauts d'axe jambier essentiellement dans le plan frontal [BUC89; GAZ95]. L'intervention consiste à restaurer l'architecture épiphysaire, tout en respectant l'axe épiphysio-diaphysaire. La réduction du plateau tibial par relèvement laisse un vide osseux qu'il faut combler pour la stabilité ultérieure de l'articulation. Après ouverture de l'écaille corticale et le relèvement du plateau, un ou deux coins de phosphate tricalcique sont introduits dans les défauts métaphysaires (tissu spongieux) du plateau tibial et constituent un étai sous-chondral.

A la suite de l'usure de l'articulation du genou, un **valgus** peut apparaître et engendrer une modification de l'axe membre supérieur – membre inférieur. L'*ostéotomie tibiale de valgisation par ouverture interne* vise à diminuer mécaniquement la pression sur le compartiment du genou usé en modifiant l'axe du membre inférieur. Le terme « **ostéotomie** » signifie section chirurgicale de l'os (habituellement dans la partie métaphysaire du fémur). L'introduction de coins de céramiques en phosphate tricalcique  $\beta$  dans l'ouverture ainsi obtenue permet de redresser le fémur selon l'angle nécessaire. Dans la plupart des cas, l'**ostéosynthèse** est couplée à cette opération pour des raisons de tenue mécanique.

L'**arthrodèse** a pour but de provoquer l'ankylose d'une articulation par fusion artificielle de ses surfaces contiguës. On distingue trois types d'*arthrodèses vertébrales* : l'arthrodèse cervicale antérieure, thoracique postérieure et lombaire. Le principal matériau céramique synthétique utilisé dans les **arthrodèses** cervicales antérieures est l'hydroxyapatite sous forme dense pour être peu résorbable [SEN89; POL97]. Le traitement des deux autres types d'**arthrodèses** requiert plutôt des céramiques biphasées.

#### b. 3. En oncologie [UCH90; TAM91; INO93]

Suite au traitement par curetage de tumeurs bénignes telles que le kyste ou le **chondrome**, la cavité formée doit être comblée. La localisation de ces tumeurs est diverse : membre inférieur, membre supérieur, au contact de l'os trabéculaire ou de l'os cortical. De nombreux substituts sont utilisés, tant par leur composition (BCP : 60% HA – 40% TCP, TCP

pur) que par leur forme (coins associés à des granules ou blocs sur mesure). Le substitut est en contact avec l'os sain après traitement de la lésion, et est recolonisé par **ostéoconduction**.

### c. Les prothèses

La chirurgie reconstructrice crâno-faciale intervient lorsque le patient a subi un traumatisme grave ou l'ablation d'une tumeur au niveau du crâne ou de la face. Ces causes peuvent provoquer de grands délabrements osseux qu'il est possible de réparer. Le composé employé pour la fabrication de l'implant est de l'hydroxyapatite stœchiométrique (HA).

En oto-rhino-laryngologie, le même composé est utilisé pour la réalisation de prothèses de reconstruction ossiculaire. Les trois os de l'oreille (marteau, enclume et étrier) peuvent être remplacés. L'hydroxyapatite poreuse est aussi utilisée pour le traitement de l'**otorrhée** chronique.

### d. Conclusion

Bien que la composition chimique de certains phosphates de calcium tels que l'hydroxyapatite se rapproche de celle des apatites biologiques naturelles, la bioactivité de ces matériaux de substitution reste relativement limitée. Une manière d'augmenter les propriétés biologiques des apatites pourrait être d'ajuster leur composition chimique à celle de l'os via des substitutions dans le réseau apatitique.

## I. 3. L'hydroxyapatite et ses substitutions

### I. 3. 1. Structure de l'hydroxyapatite stœchiométrique HA

L'hydroxyapatite phosphocalcique (HA) de formule chimique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  appartient à la famille cristallographique des apatites de formule générale  $\text{Me}_{10}(\text{XO}_4)_6(\text{Y})_2$ , composés isomorphes possédant la même structure hexagonale. Me représente généralement un cation divalent,  $\text{XO}_4$  un groupement anionique trivalent et Y un anion ou un groupement ionique monovalent. Le groupe spatial de symétrie de l'HA est  $\text{P6}_3/\text{m}$ . Les valeurs des paramètres cristallographiques de maille a, c et  $\beta$  sont respectivement 9,432 Å, 6,881 Å et 120° pour l'HA. Le volume de maille est égal à 530,14 Å<sup>3</sup> [KAY64]. L'hydroxyapatite



stoechiométrique est définie par un rapport molaire  $\frac{\text{Ca}}{\text{P}} = \frac{10}{6}$  et une densité de 3,156. La structure cristallographique de la maille d'HA est présentée dans la figure I-7.

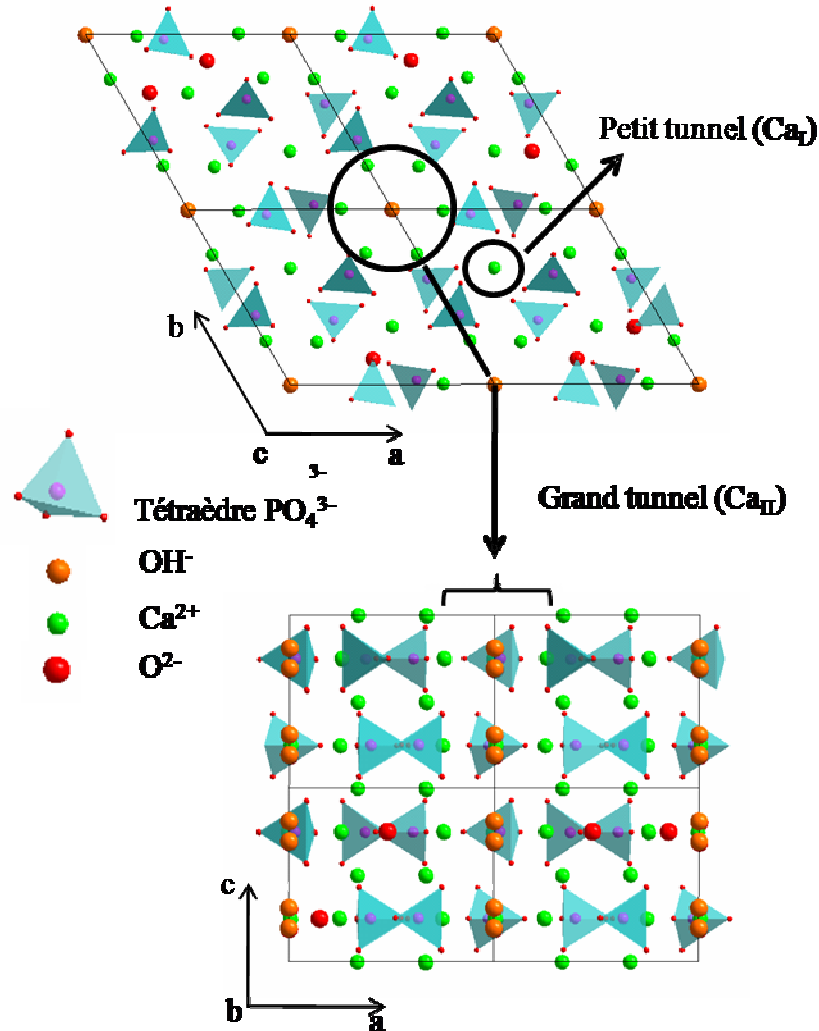


Figure I-7 : Projections de la structure de l'hydroxyapatite sur les plans (001) et (010)

Les tétraèdres (PO<sub>4</sub>) définissent le squelette de la structure apatitique. Contrairement aux deux autres sites (Ca) et (OH), aucune lacune n'a jamais été observée sur ces sites. Cette maille cristalline présente deux types de tunnels notés I et II, perpendiculaires au plan (001) (parallèles à l'axe Oz).

Les tunnels de type I, de petit diamètre (environ 2,5 Å) sont occupés par des cations Ca<sup>2+</sup> notés Ca<sub>I</sub> qui sont au nombre de 4 par maille. Ils présentent une symétrie C<sub>h</sub> et sont en coordination 9 avec les atomes d'oxygène des tétraèdres PO<sub>4</sub>.

Les tunnels de type II quant à eux ont un diamètre plus grand, compris entre 3 et 4,5 Å. Ils contiennent le reste des cations  $\text{Ca}^{2+}$  notés  $\text{Ca}_{\text{II}}$ , soit six cations par maille. Ces derniers sont situés en périphérie des tunnels et présentent une symétrie de type  $C_s$ . Ils forment des triangles équilatéraux à des côtes  $z = \frac{1}{4}$  et  $\frac{3}{4}$  décalés de  $60^\circ$  autour de l'axe sénaire hélicoïdal. De coordinence 7, ils sont entourés de six atomes d'oxygène des tétraèdres  $\text{PO}_4$  et du groupement anionique  $\text{OH}^-$ .

### I. 3. 2. Substitutions dans la structure apatitique

La capacité de la structure apatitique à accueillir un grand nombre d'ions différents dans chaque site de son réseau permet d'envisager des matériaux pour de nombreuses applications dans des domaines variés, de la médecine au nucléaire, en passant par la biologie et la géologie. Si l'on considère l'hydroxyapatite phosphocalcique, chaque groupement ionique peut être remplacé en substitution par un autre groupement ionique de même valence ou de valence différente. Tout au long de cette étude, les sites hydroxyde ( $\text{OH}$ ) et phosphate ( $\text{PO}_4$ ) de l'hydroxyapatite sont notés respectivement sites A et B. Les exemples de substitutions présentés dans le tableau I-2 sont en rapport avec les éléments présents dans la phase minérale de l'os. L'introduction de tels ions est donc susceptible d'influencer la réponse biologique du matériau. Le cas des hydroxyapatites silicatées sera détaillé dans un paragraphe spécifique.

Substitutions	Formules chimiques théoriques	Notations
<b>Site Ca<sup>2+</sup></b>		
Mg <sup>2+</sup>	Ca <sub>10-x</sub> Mg <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Mg-HA
Zn <sup>2+</sup>	Ca <sub>10-x</sub> Zn <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Zn-HA
Sr <sup>2+</sup>	Ca <sub>10-x</sub> Sr <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Sr-HA
Ag <sup>+</sup>	Ca <sub>10-x</sub> Ag <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	Ag-HA
<b>Site B (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)</b>		
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Ca <sub>10-x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	C-HA type B
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	Si-HA
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Ca <sub>10-x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>	
<b>Site A (OH)</b>		
F <sup>-</sup>	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-2x</sub> F <sub>2x</sub>	F-HA
Cl <sup>-</sup>	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-2x</sub> Cl <sub>2x</sub>	Cl-HA
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-2x</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub>	C-HA type A
<b>Mixte AB</b>	Ca <sub>10-x+u</sub> □ <sub>x-u</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x+2u-2y</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>y</sub> □ <sub>x-2u+y</sub>	C-HA type A/B

Tableau I-1 : Exemples de substitutions dans la structure apatitique

D'une manière générale, l'introduction de nouveaux groupements ioniques dans la structure apatitique engendre une baisse de la cristallinité, une diminution de la stabilité thermique et une augmentation de la solubilité. Les apatites présentées ci-après ne dérogent pas à cette règle, sauf dans le cas où les ions fluor (F<sup>-</sup>) viennent substituer les ions hydroxyde (OH<sup>-</sup>). En effet, cette substitution tend à réduire la solubilité du matériau.

L'incorporation de magnésium (Mg<sup>2+</sup>) dans l'hydroxyapatite synthétique semble être limitée à 0,4% en masse (x = 0,16 mol) alors que la teneur massique de cet élément dans les apatites biologiques est de 0,44% dans l'émail, 1,23% dans la dentine et 0,72% dans l'os [SUC04]. Cette limite peut être déplacée grâce à l'introduction simultanée d'ions secondaires tels que les groupements carbonates CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> ou l'ion F<sup>-</sup> [LEG91]. Les apatites substituées au magnésium semblent avoir d'excellentes propriétés biologiques. Elles sont utilisées pour des applications dentaires et orthopédiques. Le magnésium semble jouer un rôle dans la minéralisation des tissus calcifiés [BAL82] et influence indirectement le métabolisme minéral. Son rôle, encore mal connu serait de stimuler la prolifération des cellules ostéoblastes avec un effet comparable à celui de l'insuline qui est un facteur de croissance connu pour ces cellules [LIU88]. Cependant, ces résultats sont à moduler car des études *in vitro* ont montré que l'introduction de magnésium à hauteur de 5% en masse (x = 2 mol) dans

l'hydroxyapatite de composites HA-collagène pouvait avoir un caractère néfaste, se traduisant par une baisse de la prolifération et de l'activité des ostéoblastes [SER98]. Les mêmes auteurs rapportent que la substitution totale du calcium ( $x = 0,16$  mol) par le magnésium dans l'HA a un effet toxique sur les cellules osseuses et empêche la formation de la matrice extracellulaire. La baisse de magnésium influence de manière défavorable tous les stages du métabolisme du squelette, provoquant l'arrêt de la croissance osseuse, la diminution de l'activité ostéoblastique et ostéoclastique et la fragilisation de l'os [KIM03-a]. De telles controverses de résultats sont aussi observées dans des études sur l'ajout de magnésium dans l'os naturel [MAR99].

Le zinc ( $Zn^{2+}$ ), lui aussi connu comme bioélément, est présent dans l'os à hauteur de 0,0126 à 0,0217% en masse [TAM06]. Des apatites contenant 5% massique de zinc ( $x = 0,78$  mol) peuvent être synthétisées sans phase secondaire [GRA06]. La présence de zinc dans l'hydroxyapatite permet la diminution de la réaction d'inflammation induite par la phagocytose des poudres d'HA [GRA06]. Le zinc stimule la croissance et la minéralisation osseuse [YAM87]. Il a un effet direct sur les cellules ostéoblastiques *in vitro* [HAS93], inhibe la résorption osseuse [KIS94] et modifie la production de **cytokines** [BAO03]. En présence de 5% en masse de zinc ( $x = 0,78$  mol), la bioactivité de l'hydroxyapatite est améliorée [JAL05] par l'augmentation du taux de dissolution de l'apatite. Ce phénomène permet la saturation du milieu en calcium et phosphate et favorise l'apparition d'une couche de phosphate de calcium contenant du magnésium (initialement présent dans le milieu) en périphérie des implants. Cette couche, appauvrie en zinc, d'une épaisseur de 200 nm après 20 jours de culture, permet de lier chimiquement l'os à l'implant.

Le strontium ( $Sr^{2+}$ ) quant à lui, peut être introduit dans la structure apatitique jusqu'à remplacer totalement le calcium. Les composés intermédiaires sont des solutions solides [ZHU06; LI07]. Cependant, au dessus de 15% en masse de  $Sr^{2+}$  ( $x = 1,7$  mol), l'incorporation simultanée de  $HPO_4^{2-}$  et de  $CO_3^{2-}$  est facilitée. Le strontium est plus particulièrement présent dans la région où le renouvellement métabolique est important. Cet élément a un effet bénéfique sur le traitement de l'ostéoporose [BIG06]. La présence de strontium augmente le nombre d'ostéoblastes et diminue le nombre et l'activité des ostéoclastes (réduction de la résorption osseuse et stimulation de la formation osseuse) [CAN96].

Les apatites dopées à l'argent peuvent être synthétisées par microondes [RAM07]. Les ions  $\text{Ag}^+$  substituent les cations  $\text{Ca}^{2+}$  pour des taux d'argent compris entre 0 et 3% en masse ( $0 < x < 0,6$  mol) préférentiellement sur les sites  $\text{Ca}_I$  de l'HA. Pour  $x \geq 0,15$  mol d'argent, des traces de  $\beta$ -TCP sont détectées après traitement thermique des poudres à  $900^\circ\text{C} - 2$  h. Certaines substances organiques telles que les protéines et les acides aminés sont facilement adsorbées à la surface de l'hydroxyapatite. Ce phénomène favorise l'adsorption et la reproduction des bactéries sur l'hydroxyapatite. Les apatites substituées à l'argent possèdent un effet antibactérien dans les milieux à la fois riches et pauvres en nutriments [ZHA99]. En outre, ces matériaux supportent la croissance des cellules ostéoblastiques. Cependant, le comportement des cellules (accroche et étalement) vis-à-vis du matériau est meilleur pour les faibles teneurs en argent (0,5% massique –  $x = 0,05$  mol) [RAM07]. L'hydroxyapatite faiblement dopée à l'argent minimise donc les risques de contamination bactérienne sans pour autant compromettre la bioactivité du matériau.

La substitution des groupements hydroxyde dans les sites A par les ions halogènes  $\text{F}^-$  et  $\text{Cl}^-$  peut être partielle ou totale [SEN97; KAN07]. Les composés qui résultent de la substitution totale sont la fluoroapatite et la chloroapatite de formule chimique respective  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$  et  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ . Les teneurs massiques de fluor et chlore de ces deux apatites sont respectivement de 3,77 et 6,8% ( $x = 2$  mol) alors qu'en moyenne, l'os contient moins de 1,00% massique de fluor et 0,13% massique de chlore [CHE05; KAN06]. Les apatites fluorées (F-HA) ont été étudiées pour leurs propriétés stimulantes sur les tissus durs (matériaux de restauration) et leur effet favorable sur la repousse osseuse [WEI03]. En faible quantité dans l'hydroxyapatite, le fluor peut agir sur l'environnement cellulaire et ainsi augmenter la formation osseuse tout en évitant l'accumulation indésirable dans le corps.

L'importance des ions  $\text{Cl}^-$  réside en leur capacité à développer un environnement acide à la surface de l'os qui active les cellules ostéoclastes dans la résorption osseuse. Ainsi, l'incorporation de chlore dans l'hydroxyapatite semble vitale pour le développement de zones de bas pH dans le but de solubiliser les sels alcalins du minéral osseux. Dans un second temps, leur présence active l'action d'enzymes acides sécrétées par les ostéoclastes qui digèrent la matrice organique [KAN06; KAN07].

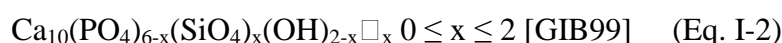
Cependant, la fluoroapatite et la chloroapatite (composés où les ions hydroxyde sont tous remplacés par des ions fluor ou des ions chlore) ne sont pas de bons biomatériaux. En effet, la trop grande stabilité de la fluoroapatite assimilable à de la bioinertie ainsi que son taux de fluor trop important ne jouent pas en sa faveur. L'étude de Lugscheider et al. ne

démontre cependant aucune influence cytotoxique sur la culture de cellules de ce matériau [LUG94]. De la même manière, la teneur en chlore de la chloroapatite bien supérieure à celle de l'os pose des problèmes de toxicité. Les apatites partiellement substituées leur sont donc préférées.

Les ions carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) autorisent deux types de substitutions distinctes au sein de la structure apatitique. Elles sont dites de type B lorsque les ions phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) sont substitués et de type A lorsque ce sont les ions hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ). La substitution sur les deux sites engendre des apatites carbonatées mixtes de type AB [ELL94]. La limite d'incorporation des groupements carbonate dans les C-HA de type A est de 5,7% en masse de  $\text{CO}_3$  ( $x = 1 \text{ mol}$ ) et 14,6% en masse ( $x = 2 \text{ mol}$ ) dans les C-HA de type B. Si l'apatite carbonatée garde la structure de l'HA quelle que soit la teneur en carbonate, l'apatite carbonatée de type A change de structure cristalline lorsque  $x$  est supérieur à 0,9 [BON72-a]. La structure et la composition chimique des apatites carbonatées tendent vers celles de l'apatite biologique. Les effets de cette substitution ne sont pas complètement connus bien que plusieurs études *in vitro* aient démontré que les carbonates augmentaient la solubilité et la bioactivité de l'hydroxyapatite [GIB99-b; HAN02]. L'augmentation de la solubilité et de la bioactivité *in vivo* des apatites carbonatées est reliée aux effets de la substitution sur les caractéristiques physiques de l'HA. Selon Merry [MER00], la taille des grains influence la bioactivité *in vitro* des C-HA. Cet auteur montre que le temps requis pour former une couche d'os faiblement cristallisée à la surface des apatites carbonatées (taille des grains 2-3  $\mu\text{m}$ ) est de deux jours alors que 21 jours sont nécessaires pour le même résultat avec l'hydroxyapatite stoechiométrique (taille des grains 5-6  $\mu\text{m}$ ). La présence de carbonates accélère la formation de la couche apatitique. Les premiers résultats de l'étude *in vivo* menée par Landi et al. [LAN03] montrent une bonne biocompatibilité et une bonne ostéointégration des implants d'hydroxyapatite carbonatée de type B avec de meilleures propriétés ostéoconductrices et une biorésorption plus rapide comparée à l'hydroxyapatite stoechiométrique. Par ailleurs, les taux de croissance osseuse au contact de l'hydroxyapatite et des apatites carbonatées de type B contenant 1,2 et 2,05% massique de carbonate ( $x = 0,2$  et  $0,35 \text{ mol}$ ) ont été déterminés après implantation de 6 à 12 semaines dans le condyle fémoral d'une brebis [POR05]. Plus le matériau est carbonaté, plus le taux de repousse osseuse est important.

### I. 3. 3. Les apatites silicatées

L'étude de la substitution des ions phosphate ( $\text{PO}_4$ ) par des ions silicate ( $\text{SiO}_4$ ) dans l'hydroxyapatite (Si-HA) est récente. Peu de modèles décrivant cette substitution ont donc été établis jusqu'à présent. Le modèle retenu par la plupart des auteurs est :



Il prévoit que l'électroneutralité est conservée par la création d'une lacune d'ion hydroxyde, notée  $\square_x$ . D'après ce modèle, le nombre théorique de silicate pouvant être introduit dans la maille est de deux, correspondant à un taux massique de silicium de 5,82% ( $\%_{\text{massique}} \text{ silicate} = 19,1\%$ ). Le composé résultant d'une telle substitution est appelé silicocarnotite et sa formule chimique est  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2$ .

Le taux de silicium pouvant être introduit dans la maille apatitique semble être limité, cependant une large gamme de teneur en silicium a été étudiée, de 0,1 à 5% en masse.

#### I. 3. 3. 1. Conception des biocéramiques d'apatite silicatée

Le procédé d'élaboration d'une céramique passe par trois étapes principales : la synthèse de poudre, la mise en forme et enfin le frittage. Cette dernière étape consiste à densifier le matériau via un traitement thermique adapté à la composition initiale de la poudre. Les termes « hydroxyapatite silicatée » ou « apatite silicatée » signifient que le silicium n'est pas simplement présent dans la poudre sous forme d'une phase secondaire silicatée mais bien incorporé dans la structure de l'hydroxyapatite.

Cette partie dresse un bref rappel des différents modes de synthèse des apatites silicatées ainsi que les principaux résultats tirés des études menées sur le frittage de ces composés.

##### a. Synthèse des apatites silicatées

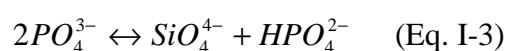
###### a. 1. Synthèse par le procédé sol gel

Cette méthode envisagée consiste en l'ajout d'une solution de tétraéthylorthosilicate (TEOS) à une suspension alcoolique d'hydroxyapatite stœchiométrique [RUY93]. Les taux de silicium introduits sont calculés à partir des rapports  $\frac{\text{Si}}{\text{HA}} = \frac{\text{moles}_{\text{SiO}_2}}{\text{moles}_{\text{HA}}}$  et compris entre 0 et

50. Tous les échantillons subissent un traitement thermique à 1100°C sous air pendant 1 h. En plus de la phase apatitique HA, d'autres phases secondaires sont systématiquement observées suivant le taux de silicium introduit. Les phosphates tricalciques bêta et alpha ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) sont formés préférentiellement pour les faibles et forts taux de silicium respectivement. La silicocarnotite de formule chimique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2$  est détectée en taux croissant avec le taux de silicium. Cette méthode ne permet donc pas d'obtenir des composés monophasés.

#### a. 2. Synthèse par réaction solide / solide à haute température

La synthèse d'apatites silicatées par réaction solide – solide à haute température a été réalisée à partir d'oxydes de haute pureté, le carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$ , le pyrophosphate de calcium  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  et la silice  $\text{SiO}_2$  [ARC04-b]. Les réactifs de départ sont mélangés et précalcinés à 900°C pendant 2 h. La poudre ainsi obtenue subit trois cycles de calcination successive à 1100°C pendant 72 h sous air. Dans cette étude, les poudres synthétisées ne sont pas des hydroxyapatites mais des oxy-hydroxyapatites silicatées monophasées contenant 0,9% massique de silicium ( $x = 0,33$  mol). Aucune phase secondaire telle que TCP- $\beta$ , TCP- $\alpha$ ,  $\text{SiO}_2$  ou  $\text{CaO}$  n'est détectée. Par cette méthode de synthèse, le mécanisme de compensation de charges semble être différent de celui proposé par Gibson et al. (Eq. I-2) [GIB99]. Les auteurs soulignent que la présence de silicium facilite la fixation des atomes d'hydrogène et donc la création de groupements hydrogénophosphate  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Le mécanisme de compensation de charges proposé pour ces matériaux est :



#### a. 3. Synthèse hydrothermale

Les premiers essais de synthèse d'apatites silicatées par la méthode hydrothermale ont été effectués par Tanizawa et al. [TAN94; TAN95]. C'est une précipitation en milieu basique d'un phosphate de calcium en présence de tétraéthylorthosilicate (TEOS). La suspension est maintenue à 200°C pendant plusieurs heures afin d'obtenir des composés très bien cristallisés. Après filtrage et séchage, les poudres subissent un traitement thermique entre 800 et 1000°C. Tang et al [TAN05] ont synthétisé des poudres d'apatites silicatées dont les taux de silicium sont compris entre 0,8 et 4% en masse de silicium ( $0,28 \leq x \leq 1,4$  mol). En dessous de 1000°C, les poudres ne présentent qu'une phase cristallisée de structure apatitique. Au dessus



de cette température, une phase secondaire (phosphate tricalcique bêta) en faible quantité apparaît dans la poudre la plus chargée en silicium (4% en masse).

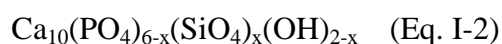
#### a. 4. Synthèse par précipitation aqueuse

Ce procédé de synthèse est le plus utilisé dans la fabrication de poudre d'hydroxyapatite silicatée, de nombreux travaux ont été publiés sur cette méthode [GIB99; BAL03; KIM03-a; LEV03; ARC04-a]. Elle consiste en l'introduction d'une solution de phosphate / silicate dans une solution de calcium à température et pH contrôlés. La réaction se produit en milieu basique ( $\text{pH} > 9$ ) et à température supérieure à  $70^\circ\text{C}$ . Les temps de réaction ou temps de maturation varient de quelques minutes à plusieurs heures. Les principaux réactifs utilisés dans cette voie de synthèse sont le nitrate de calcium tétrahydraté ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ) ou l'hydroxyde de calcium ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), l'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ou l'hydrogénophosphate diammonium ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ). Le tétraacétate de silicium ( $\text{Si}(\text{OCOCH}_3)_4$ ) ou le tétraéthylorthosilicate ( $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ ) sont les principaux précurseurs de silicium.

La synthèse repose sur l'hypothèse que les groupements silicate viennent substituer les groupements phosphate. Le mécanisme de substitution est celui adopté par la plupart des auteurs [GIB99] :

$$\text{PO}_4^{3-} + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{SiO}_4^{4-} \quad (\text{Eq. I-4})$$

Le déséquilibre de charges dû à la différence de valence des groupements ioniques  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{SiO}_4^{4-}$  est compensé par la création de lacunes d'ions hydroxyde  $\text{OH}^-$ . La formule chimique théorique qui découle de ce mécanisme est la suivante :



Les précipités, après séchage, ne présentent qu'une phase cristalline de structure apatitique, le plus souvent mal cristallisée. Le silicium est difficilement détectable avant traitement thermique. En effet, les techniques classiques de caractérisation (DRX, FTIR) ne permettent pas de prouver la présence des silicates dans la structure apatitique. Seules les analyses élémentaires montrent que le silicium est dans les poudres mais sa localisation n'est pas connue.

Une grande majorité des auteurs rapporte la présence de groupements carbonate en faible quantité dans les poudres. Plusieurs hypothèses ont été avancées quant à leur provenance. Dans certaines conditions, le dioxyde de carbone  $\text{CO}_2$  de l'air peut se dissoudre dans l'eau du milieu réactionnel et favoriser une telle substitution. Cependant, le taux de carbonate dans les poudres semble augmenter avec le taux de silicate introduit lors de la

réaction. Il est possible que les précurseurs de silicium soient également des précurseurs de carbonate. La substitution des phosphates par les carbonates engendre un changement quant à l'emplacement des silicates. Si les carbonates sont préférentiellement incorporés dans l'apatite, les silicates se retrouvent dans une phase secondaire. Certains auteurs ont démontré la présence d'une phase amorphe dans les précipités [ARC04-a]. Ils ont tenté de mettre en équation l'incorporation des groupements silicate dans la structure apatitique en tenant compte des groupements carbonate incorporés lors de la synthèse et de la présence de la phase amorphe. En dessous de 1,4% massique de silicium ( $x = 0,5$  mol), les apatites sont carbonatées témoignant de l'incorporation préférentielle des carbonates au détriment des silicates qui se trouvent dans la phase amorphe. Les composés contenant initialement une teneur massique de silicium supérieure à 1,4% ont un comportement radicalement différent. En effet, le déficit de groupements  $\text{PO}_4^{3-}$  étant trop important, les ions carbonate seuls ne peuvent pas tout combler. C'est donc une partie du silicium sous forme de groupements silicate qui, à raison de 0,59 mole par maille sont incorporés dans la structure.

Après synthèse, un traitement thermique entre 900 et 1200°C pendant plusieurs heures est nécessaire pour adapter les caractéristiques physiques, chimiques et structurales des poudres. C'est au cours de cette calcination que les groupements carbonate sont éliminés et que les groupements silicate sont incorporés dans la structure apatitique. En dessous de 1,4% massique de silicium ( $x = 0,5$  mol), la calcination permet l'incorporation de tous les silicates initialement introduits dans le milieu. Au dessus de 1,4% massique, le traitement thermique ne permet pas d'incorporer d'avantage de silicate que le taux initial des précipités, soit 0,59 mol de silicium [ARC04-a]. La compensation de charges dans ce cas est établie par expulsion de cations  $\text{Ca}^{2+}$  sans que la forme sous laquelle ils sont éliminés ne soit mentionnée. Une phase secondaire (phosphate tricalcique) est cependant détectée par diffraction des rayons X pour cette composition. Selon les auteurs, la valeur de 0,59 mol de silicate par maille apparaît comme une limite d'incorporation des silicates dans la structure apatitique. D'autres résultats issus d'une étude menée par Balas et al. [BAL03] montrent que les espèces silicatées se polymérisent en surface de l'apatite lorsque le taux de silicates dépasse 1,6% en masse de silicium ( $x = 0,57$  mol).

L'une des principales conséquences de l'introduction de silicium dans la maille apatitique est la variation de ses paramètres de maille. Cependant, tous les résultats sur ce point ne concordent pas. La figure I-8 regroupe les principaux résultats des affinements de paramètres de maille recensés dans la littérature.

Le paramètre de maille  $c$  augmente toujours avec le taux de silicium alors que le paramètre de maille  $a$  peut croître [BAL03; KIM03-a; ARC04-a] ou décroître [GIB99; TAN05]. Si  $a$  décroît, le volume de maille ne varie quasiment pas alors que lorsque  $a$  augmente, la maille se dilate. Malgré le même mode de synthèse, les résultats diffèrent de manière significative.

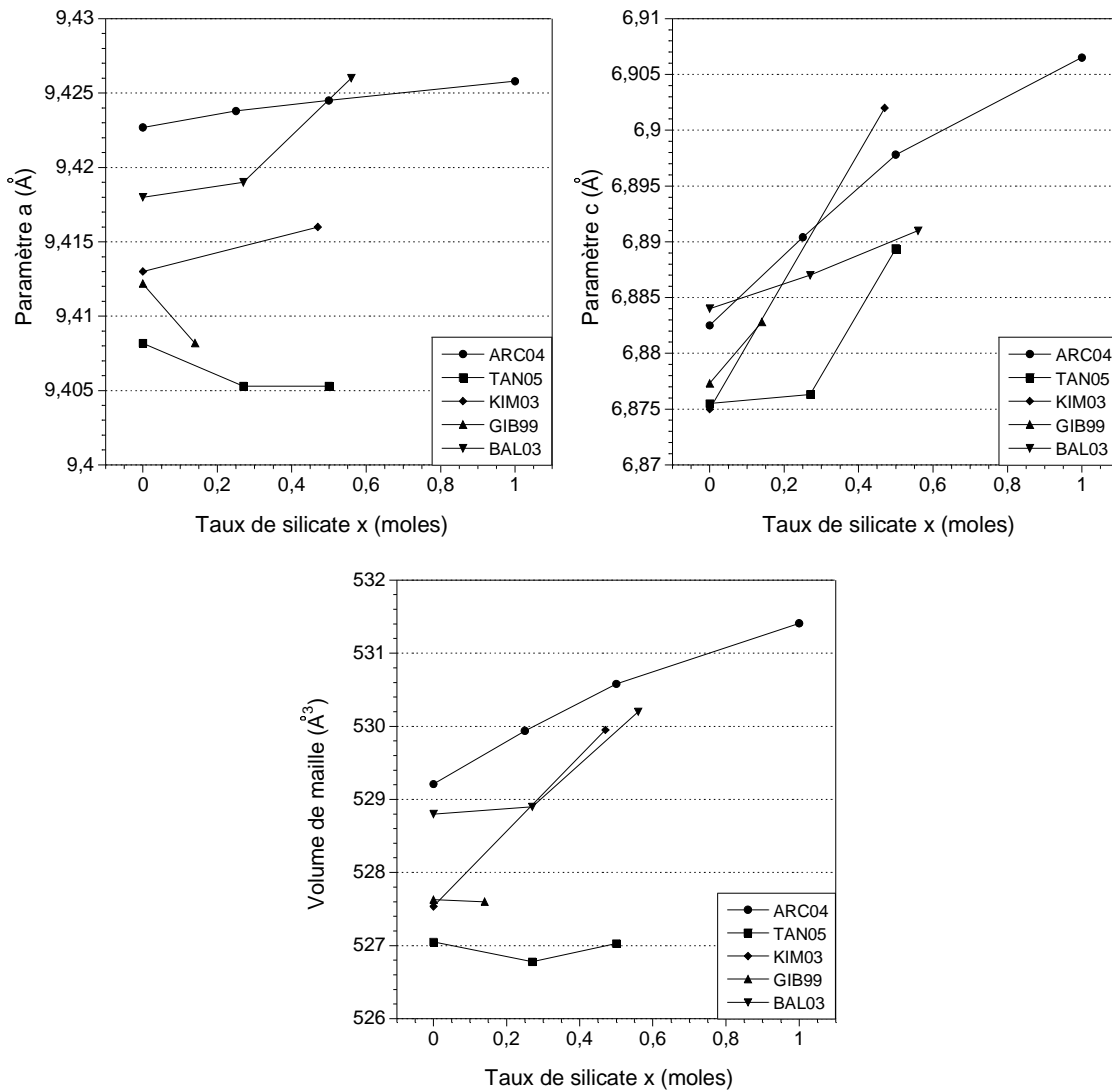


Figure I-8 : Paramètres ( $a$ ,  $c$ ) et volume de maille des apatites silicatées en fonction de la teneur en silicium ( $x$ ), données bibliographiques

### b. Densification des poudres

Dans un premier temps, la mise en forme et la densification des poudres d'hydroxyapatite silicatée n'avaient que pour principal objectif la préparation de supports pour l'évaluation biologique du composé. Peu d'études ont donc été publiées sur le frittage de ces composés.

Les effets du taux de silicium de 0 à 1,6% en masse de silicium ( $x = 0,57$  mol) et de la température de frittage (de 1000 à 1300°C) sur la densification et la microdureté des apatites silicatées ont été étudiés par Gibson et al. [GIB02]. Les auteurs se sont assurés que la taille initiale des particules soit identique dans le but d'estimer l'effet réel de la composition chimique sur la densification. Des céramiques denses sans phase secondaire ont été préparées par frittage naturel et ce, quel que soit le pourcentage de silicium dans la poudre. Les taux de densification atteignent 96% de la densité théorique de l'HA. Selon certains auteurs [KIM03-a], la densification de poudres dont la teneur en silicium est de l'ordre de 3,76% massique de silicium ( $x = 1,3$  mol) est impossible au delà d'un taux de 80% de la densité maximale. En effet, l'apatite commence à se décomposer en phosphate tricalcique alpha (TCP- $\alpha$ ) et en silicocarnotite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2$ ) dès 1100°C, avant sa densification totale. Dernièrement, le frittage SPS (Spark Plasma Sintering) a été utilisé pour densifier des poudres d'apatite silicatée [XU07]. Les taux de densification obtenus avec un cycle thermique de 1000°C pendant 3 minutes sont de l'ordre de 94 - 96% de la densité théorique de l'HA pour des pourcentages massiques initiaux de silice compris entre 1 et 5%.

### I. 3. 3. 2. Evaluation biologique

Les paragraphes suivants sont une synthèse de plusieurs études qui traitent de l'évaluation biologique des hydroxyapatites silicatées. Cette évaluation passe par trois phases : les tests *in vitro* de bioactivité non cellulaire, la culture de cellules *in vitro* et enfin l'implantation *in vivo*.

#### a. Tests de bioactivité non cellulaire *in vitro*

Cette méthode consiste à tremper les échantillons dans un milieu physiologique simulé, appelé Simulated Body Fluid (SBF), ayant une composition ionique très proche de celle du plasma humain. Certains matériaux développent à leur surface une nouvelle phase

similaire à de l'apatite quand ils sont plongés dans un tel milieu. On considère que ces matériaux reproduiront ce phénomène dans les conditions *in vivo*. La liaison dite bioactive qui va se développer entre l'os et l'implant se formera à travers cette nouvelle phase. Par conséquent, la formation d'une nouvelle phase apatitique en surface de l'implant dans des conditions *in vivo* souligne un hypothétique comportement bioactif après implantation. Le taux de formation de cette phase est un indicateur de la bioactivité du matériau.

Les comportements de l'hydroxyapatite et de l'hydroxyapatite silicatée contenant 1,2% en masse de silicium ( $x = 0,42$  mol) dans le SBF sont comparables mais les événements observés se produisent plus tôt en présence de silicium [BOT02]. L'apatite silicatée passe d'un comportement de dissolution (augmentation des concentrations en ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  dans la solution SBF) à un comportement de précipitation de surface (diminution des concentrations dans la solution SBF) en moins de temps que l'hydroxyapatite stœchiométrique. Ceci est probablement dû à la plus grande solubilité de Si-HA [POR04-b], conduisant à une sursaturation plus rapide du SBF et donc à une précipitation de la nouvelle phase apatitique elle aussi, plus rapide. D'après d'autres études, après 5 semaines passées dans le SBF, les surfaces de l'HA et de Si-HA (avec 1 à 2 mol de silicium) sont très différentes [BAL03; VAL05]. En effet, malgré la bioactivité de l'HA, sa surface n'est pas modifiée par le milieu. En comparaison, l'hydroxyapatite silicatée développe une nouvelle phase apatitique avec une morphologie différente. La surface de Si-HA est recouverte d'un nouveau matériau formé de grains plats et aciculaires, identiques à la phase apatitique qui se forme en surface des verres bioactifs.

Parallèlement à la formation de cette couche apatitique, Balas et al. ont observé pour des matériaux contenant 0,8% massique de silicium ( $x = 0,28$  mol), une chute du pH en dessous de 7,15 qui favorise la solubilité de l'apatite [BAL03].

L'évaluation physico-chimique des surfaces du matériau après immersion dans le SBF montre que la couche apatitique formée entre 4 et 7 jours sur des dépôts d'hydroxyapatite silicatée peut être carbonatée. Celle-ci est essentielle à la liaison à l'interface os / implant [THI06-a]. Le traitement thermique confère aux dépôts une meilleure bioactivité et une meilleure stabilité chimique.

## b. Culture de cellules *in vitro*

Comme vu précédemment, les cellules osseuses ont un rôle primordial dans le remodelage du tissu osseux. Leur isolation et leur culture sont des moyens d'investigation pour comprendre le métabolisme osseux. De nos jours, les modèles *in vitro* basés sur la culture cellulaire sont fondamentaux dans l'étude de la réponse du tissu hôte des matériaux implantés. Bien que le modèle animal soit essentiel pour obtenir des informations sur la réponse biologique des implants, il est difficile d'interpréter ces résultats au niveau cellulaire à cause du nombre et de la complexité des processus qui sont mis en jeu lors de l'implantation d'un matériau étranger. Des études portant sur la culture cellulaire sont donc nécessaires pour évaluer la réponse d'un (bio)matériau face aux cellules osseuses (ostéoblastes et ostéoclastes).

Les premières études [GIB99-b] ont montré que les apatites silicatées n'étaient pas toxiques vis à vis des cellules ostéosarcomes humaines (HOC) et que l'activité de ces cellules est très similaire à l'activité de cellules cultivées sur l'HA pure. L'incorporation de silicium dans l'apatite ne semble donc pas affecter sa biocompatibilité. De plus, l'activité métabolique de ces cellules cultivées directement au contact des deux matériaux (HA et SiHA) est plus importante avec l'apatite silicatée qu'avec l'hydroxyapatite.

Selon Vallet-Regi et al. [VAL05], peu d'études sont publiées sur la culture cellulaire avec l'apatite silicatée, elles se résument en fait en la comparaison entre HA et SiHA. En mesurant l'activité mitochondriale avec la méthode MTT (dosage reposant sur la capacité des mitochondries des cellules viables à réduire le sel de tétrazolium (MTT) en formazan, sel coloré et insoluble dans l'eau), ils ont caractérisé la prolifération des cellules sur l'HA et SiHA. Plus le taux de silicium incorporé dans l'apatite est important, plus la prolifération cellulaire est grande depuis un jour jusqu'à une semaine de culture. Ces résultats montrent donc l'effet stimulant du silicium sur la prolifération des cellules ostéosarcomes humaines.

Récemment, une série d'articles a été publiée [HUA05; THI05; THI07] concernant la culture de cellules ostéoblastes humaines sur des films minces d'hydroxyapatites silicatées. L'équipe a étudié divers facteurs pouvant influencer la réponse des cellules ostéoblastes, tels que la présence de silicium dans les apatites recouvrant les dépôts, le taux de silicium, le traitement thermique ou l'épaisseur des films (un substrat de titane non recouvert servant de témoin).

L'activité cellulaire est évaluée par comparaison entre des dépôts traités thermiquement d'hydroxyapatite stœchiométrique (HA) et d'apatites silicatées contenant 0,8, 2,2 et 4,9% en masse de silicium ( $x = 0,28, 0,78$  et  $1,71$  mol) [THI07]. Les résultats montrent

que l'augmentation du temps de culture de 2 à 4 jours engendre une augmentation significative de la croissance des cellules ostéoblastes humaines sur tous les échantillons. Cependant, l'activité cellulaire pour un temps de culture donné est plus importante sur les dépôts de SiHA que sur les dépôts de HA et elle augmente avec le taux de silicium. Par contre, au-delà de 2,2% en masse de silicium ( $x = 0,78$  mol), le nombre de cellules n'augmente plus et décroît même après plusieurs jours. Huang et al. [HUA05] arrivent aux mêmes conclusions concernant l'activité cellulaire de dépôts contenant légèrement moins de silicium (% massique < 2%) mais non traités thermiquement. Cependant, la comparaison entre deux films de titane recouvert de SiHA contenant 0,8% en masse de silicium ( $x = 0,28$  mol) montre que le traitement thermique améliore les résultats, notamment avec l'augmentation du nombre de cellules pour un temps de culture donné [THI05].

L'accroche cellulaire et la morphologie des cellules subissent aussi des changements en présence de silicium. A partir d'un jour de culture [HUA05; THI07], le cytosquelette des cellules sur SiHA présente des microfilaments longs et distincts (fibres de stress d'actine) alignés selon l'axe long des cellules. En comparaison, l'organisation sur HA est diffuse avec moins de microfilaments et de taille plus petite. Après quelques jours de culture, de larges zones se forment où les cellules se recouvrent et où de la matrice extracellulaire (MEC) est produite en surface. En comparaison, la quantité de MEC produite par les ostéoblastes sur SiHA est beaucoup plus importante que sur les dépôts d'HA. Les cellules sont mieux organisées et une multitude de nodules sphériques est observée. Ces nodules sont attachés ou enveloppés dans la MEC et sont composés de calcium et de phosphore, ce qui traduit l'état d'avancement de la minéralisation de l'os. Tous ces résultats reflètent l'aptitude des dépôts SiHA pour la croissance et l'attache cellulaire. La présence de silicium dans l'hydroxyapatite modifie les propriétés de surface du matériau, conduisant à un effet stimulant sur le processus de biominéralisation.

En conclusion, cette équipe pense que l'amélioration de la bioactivité des substrats de titane par le recouvrement avec SiHA est la combinaison de plusieurs effets : (1) la présence d'HA qui, grâce à ces propriétés ostéoconductrices, favorise l'attachement, la prolifération et la différenciation cellulaire et (2) la présence de silicium dans l'HA qui semble être un facteur important pour la stimulation du métabolisme osseux. En effet, le silicium induit l'augmentation du taux de dissolution conduisant au relargage des ions calcium, phosphore et silicium dans le milieu de culture. Une nouvelle couche d'apatite carbonatée se forme rapidement et devient un site idéal pour l'accroche et la croissance cellulaire ainsi que pour la formation osseuse. De plus, le silicium relargué peut se lier avec l'oxygène pour former un

réseau en surface capable de retenir des protéines qui d'une manière organisée, contribuent à une architecture tissulaire connectée. L'hypothèse étant que les protéines sont greffées à ce réseau silicaté, l'attachement cellulaire est amélioré par l'interaction de ces protéines avec les intégrines des cellules ostéoblastes. Le processus de minéralisation en est donc amélioré lui aussi.

Dernièrement, il a été montré que l'hydroxyapatite et l'apatite silicatée (1,5% massique de silicium,  $x = 0,53$  mol) permettent aussi la différenciation de précurseurs ostéoclastes en ostéoclastes matures. Le taux plus important de relargage de calcium et phosphore dans le milieu de culture indique une plus forte activité de résorption ostéoclastique [BOT06-a].

### c. Implantation *in vivo*

Les études *in vivo* menées avec de l'apatite silicatée ont été réalisées sur divers sujets tels que le rat, le lapin ou encore le mouton.

Dans une étude comparative, Patel et al. [PAT02] rapportent la formation d'une phase osseuse observée directement en surface et dans les espaces entre les granules d'HA et de Si-HA. Les deux implants sont bien acceptés par le tissu hôte sans inflammation cellulaire. Le pourcentage de croissance osseuse de Si-HA est significativement plus élevé que celui de l'HA. De plus, le pourcentage de recouvrement os / implant est là encore plus important pour Si-HA (60% contre 40% pour HA). Aucune mobilité entre l'implant granulaire et l'os n'est observée, caractéristique de la bonne fixation. Le rôle du silicium dans l'augmentation du taux de dissolution *in vivo* de granules composées de Si-HA a été démontré [POR03; POR04-a]. La dissolution de l'apatite silicatée est d'autant plus importante que le matériau contient de silicium. Les groupements silicate augmentent donc la solubilité de l'hydroxyapatite, ce qui se traduit par un remodelage osseux plus rapide. Des fibres de collagène organisées sont observées après 6 semaines à l'interface os / implant de Si-HA. En comparaison, 12 semaines sont nécessaires pour aboutir au même résultat avec des implants d'HA pure. La solubilité des implants influence le temps de déposition de l'apatite. Le silicium incorporé dans l'HA favorise donc le procédé de remodelage osseux à l'interface os / implant. Des différences dans l'organisation des fibres de collagène proche des implants d'HA et d'Si-HA sont observées. Par contre, l'augmentation du taux de silicium dans les implants de 0,8 à 1,5% massique en silicium ( $x = 0,28$  et  $0,53$  mol) n'engendre aucun changement significatif en ce qui concerne la bioactivité de l'implant *in vivo* [PAT05].



## I. 4. Conclusion

D'après la bibliographie, il apparaît que l'incorporation de silicium dans l'hydroxyapatite augmente la bioactivité des matériaux. Les céramiques à base de Si-HA sont capables de développer une nouvelle couche de phase apatitique biologique à la surface en contact avec les fluides physiologiques plus rapidement que l'hydroxyapatite pure. Les cultures cellulaires montrent que la prolifération des cellules osseuses et leur différenciation sont plus importantes sur l'apatite silicatée que sur l'HA. Enfin, les essais *in vivo* mettent en évidence un excellent comportement des matériaux contenant du silicium après implantation.

Toutefois, la caractérisation biologique de ces apatites est souvent réalisée sur des matériaux mal densifiés ou polyphasés. La nature physico-chimique réelle des matériaux reste parfois très ambiguë voire mal définie (quantité de silicium, nature des phases dans lesquelles il se trouve...). Par ailleurs, la porosité et la présence de phases secondaires sont des paramètres qui influent sur la bioactivité des substrats [NOU05; PEL06]. Dans ces conditions, il est donc difficile de statuer sur le rôle effectif du silicium.

Les procédés d'élaboration influencent de manière significative la nature des matériaux synthétisés. De ce point de vue, les résultats tirés de la bibliographie montrent que l'élaboration d'hydroxyapatite silicatée reste encore mal maîtrisée.

Sur ces bases, l'objectif principal de ce travail est donc de préparer des matériaux denses et monophasés d'hydroxyapatites silicatées de microstructure et de teneur en silicium contrôlées. Ceux-ci pourront ensuite être évalués biologiquement pour préciser le rôle du silicium indépendamment des autres paramètres susceptibles d'influencer également la réponse.



## Chapitre II

# SYNTHESE & CARACTERISATION DES POUDRES



## Chapitre II - Synthèse et caractérisation des poudres

Ce chapitre porte sur la synthèse, la caractérisation et la calcination des poudres. La précipitation en voie aqueuse est la voie de synthèse envisagée, une étude complémentaire est réalisée par réaction solide-solide à haute température.

### II. 1. Synthèse par précipitation en voie aqueuse

#### II. 1. 1. Synthèse des poudres

La méthode de synthèse par précipitation en voie aqueuse utilisée est de type « inverse ». Elle consiste à ajouter à débit contrôlé une solution phosphatée et contenant le précurseur de silicium à une solution de calcium à pH et température régulés.

##### II. 1. 1. 1. Protocole de synthèse

###### a. Mise en solution des réactifs

Les précurseurs utilisés dans cette étude sont le nitrate de calcium tétrahydraté  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (Sigma Aldrich, pureté : 99%), l'hydrogénophosphate diammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (Sigma Aldrich, pureté : 99%) et le tétraacétate de silicium  $\text{Si}(\text{CH}_3\text{COO})_4$  (Sigma Aldrich, pureté : 98%). Si la mise en solution des deux premiers sels ne pose aucun problème en milieu aqueux, celle de  $\text{Si}(\text{CH}_3\text{COO})_4$  est plus difficile voire impossible. En fait, pour le tétraacétate de silicium, on ne parle pas de dissolution mais de dissociation (présence de solide dans la solution). Une étape préliminaire est nécessaire pour la mise en solution de ce réactif. Le mélange « eau - poudre » est versé dans une jarre en alumine de 250 mL avec des billes de broyage elles aussi en alumine. La jarre est ensuite placée dans un broyeur-mélangeur de type planétaire (Pulvérisette 6 – FRITSCH) pendant 1 min à  $150 \text{ tr. min}^{-1}$  afin de casser les éventuels agglomérats et d'homogénéiser la suspension. La mise en solution des composés s'effectue à  $60^\circ\text{C}$  pour la solution de phosphate et silicium et à la température de consigne de la synthèse pour la solution de calcium.

## b. Mode opératoire

Le schéma du montage est présenté à la figure II-1. La solution de nitrate de calcium est introduite dans un réacteur de 2 L puis chauffée et maintenue à une température de consigne via un chauffe ballon relié à une sonde de température (Horst, Allemagne). La carbonatation des poudres d'apatite par le gaz carbonique atmosphérique dissous dans l'eau est limitée par un flux d'argon (AALBORG Instruments) qui balaie le réacteur pendant 30 min avant la précipitation. Ce dernier est également mis à reflux afin de limiter les pertes de liquide par évaporation. Le pH du milieu réactionnel est ajusté puis maintenu à sa valeur de consigne par une pompe doseuse régulatrice (BL 7916 Hanna Instruments) connectée à une électrode de pH. L'ajustement de pH se fait par ajout d'une solution d'hydroxyde d'ammonium  $\text{NH}_4\text{OH}$  (Prolab, concentration : 28%).

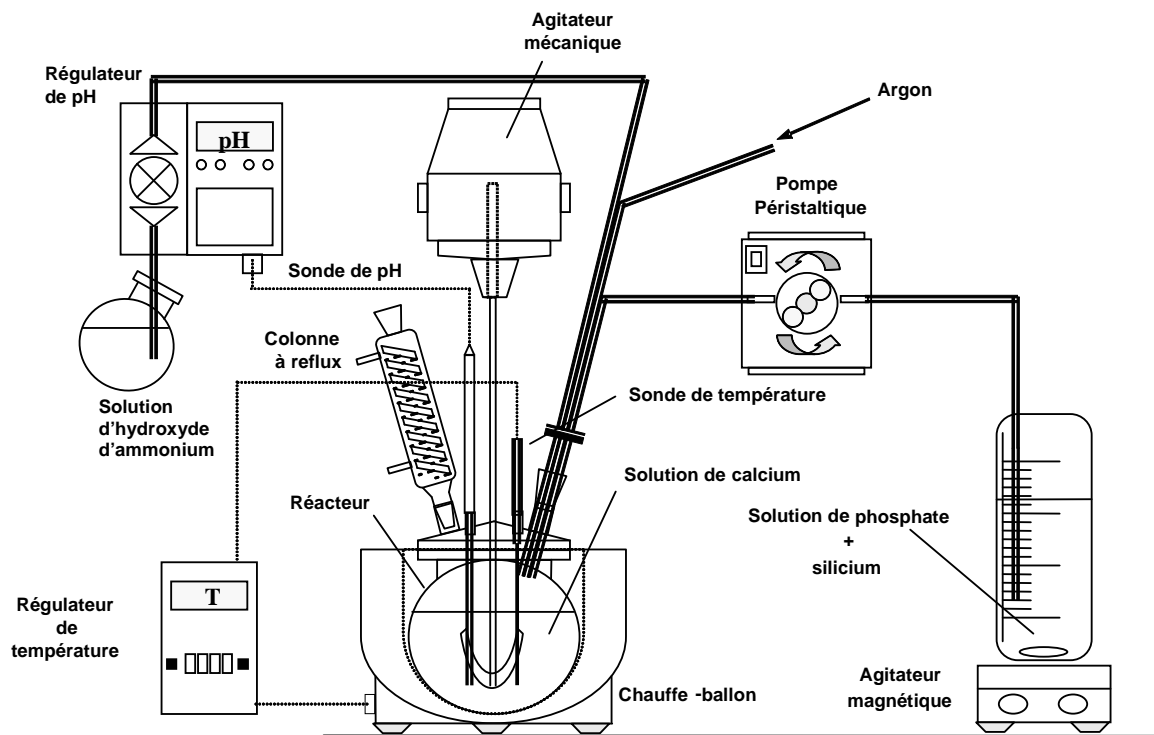


Figure II-1 : Schéma du montage de synthèse par précipitation en voie aqueuse

La solution de phosphate – silicium est ajoutée à débit contrôlé à l'aide d'une pompe péristaltique (Pump Drive PD 5001, Heidolph). Les solutions sont maintenues sous agitation mécanique (Heidolph RZR 2041) constante durant toute la durée de la synthèse. L'ajout terminé, le précipité formé est laissé en maturation pendant un temps fixé. L'agitation, le balayage d'argon et les régulations de température et du pH sont maintenus durant cette

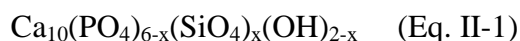
période. A l'issue de la maturation, le précipité est récupéré par centrifugation (Modèle SW 12, Firlabo) puis séché dans une étuve ventilée à 90°C pendant une nuit. Pour certaines caractérisations, le précipité peut être lavé à l'eau distillée lors de l'étape de récupération.

### II. 1. 1. 2. Paramètres de synthèse

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

- La température de réaction
- Le pH de la réaction
- Le temps de maturation
- Les concentrations en réactifs
- Le rapport molaire  $\frac{\text{Ca}}{\text{P} + \text{Si}}$
- La vitesse d'introduction de la solution (phosphate + silicium)
- L'atmosphère de la réaction

La concentration de la solution de nitrate de calcium reste fixe et égale à 0,6413 mol.L<sup>-1</sup>. Le volume d'eau distillée est de 500 mL. Cette condition est issue d'un précédent travail effectué au sein du laboratoire SPCTS [RAY02-b]. Le nombre de moles de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et Si(CH<sub>3</sub>COO)<sub>4</sub> ainsi que leur concentration sont définis en fonction de la composition souhaitée en gardant le rapport molaire  $\frac{\text{Ca}}{\text{P} + \text{Si}}$  constant et égal à  $\frac{10}{6}$  comme dans l'hydroxyapatite purement phosphocalcique sur la base d'une formule chimique hypothétique [GIB99] :



Le volume d'eau distillée de la solution de phosphate et de silicium est fixé à 300 mL quelle que soit la quantité des réactifs introduits. Le tableau II-1 regroupe ces valeurs. La notation Si<sub>x</sub>HA (x étant le nombre de moles de silicium) sera utilisée par la suite.

Notation	$n_{Si}$ (mol)	$n_P$ (mol)	(Ca/P) <sub>réactifs</sub>	(Si/P) <sub>réactifs</sub>	$x_{Si}$ (mol)	% <sub>massique</sub> Si
HA	0	0,192	1,67	0	0	0
Si <sub>0,2</sub> HA	0,0064	0,186	1,72	0,034	0,2	0,56
Si <sub>0,4</sub> HA	0,0128	0,180	1,79	0,071	0,4	1,13
Si <sub>0,6</sub> HA	0,0192	0,173	1,85	0,112	0,6	1,70
Si <sub>0,8</sub> HA	0,0256	0,167	1,92	0,153	0,8	2,27
Si <sub>1,0</sub> HA	0,0321	0,160	2,00	0,200	1,0	2,85
Si <sub>1,5</sub> HA	0,0480	0,144	2,22	0,333	1,5	4,32
Si <sub>2,0</sub> HA	0,0640	0,128	2,50	0,500	2,0	5,82
Si <sub>4,0</sub> HA	0,1280	0,064	5,00	2,000	4,0	11,64

Tableau II-1 : Notation, quantités de réactifs (n), rapports molaires (Ca/P) et (Si/P), composition hypothétique de l'apatite silicatée en mol (x) et pourcentage massique de silicium

Le débit d'argon et la vitesse d'addition de la solution « phosphate + silicium » resteront constants tout au long de l'étude. Ils sont respectivement fixés à 0,5 L.h<sup>-1</sup> et 15 mL.min<sup>-1</sup>. La température et le pH de synthèse ainsi que le temps de maturation ont fait l'objet d'une étude préliminaire sur la composition Si<sub>1,0</sub>HA. Plusieurs triplets (T, pH, t) ont été testés et répertoriés dans le tableau II-2. Le but étant d'obtenir des matériaux monophasés, la présence de phosphate tricalcique alpha dans les poudres après calcination à 1000°C pendant 15 h est synonyme d'échec. En effet, à cette température, l'apatite doit être monophasée.

N <sub>Si</sub> réactif (mol)	Ca/P réactifs	T (°C)	pH	Temps de maturation (min)	Résultats (DRX)
0,032	2	90	9	15	HA
0,032	2	90	9	90	HA
0,032	2	90	8	30	HA + TCPα
0,032	2	80	9	30	HA + traces TCPα
0,032	2	70	10	30	HA
0,032	2	60	10	30	HA + traces TCPα
0,032	2	60	9	30	HA + TCPα
0,032	2	60	9	180	HA + TCPα

Tableau II-2 : Synthèse de la composition Si<sub>1,0</sub>HA pour différentes conditions (T, pH, t) et résultats de caractérisation par DRX après calcination à 1000°C – 15 h



D'après ces résultats, une baisse de la température de synthèse oblige une augmentation du pH pour limiter la production de phosphate tricalcique alpha. Par exemple, une baisse de la température de 20°C (de 90°C à 70°C) peut être compensée par l'augmentation du pH d'une unité (de 9 à 10) pour obtenir une poudre monophasée. Techniquement, travailler à un pH supérieur à 9 engendre une consommation de NH<sub>4</sub>OH trop importante, il est donc préférable de rester à une température plus élevée et à un pH de 9. Parallèlement, il a été montré que le temps de maturation n'influence pas la composition des poudres. A la suite de cette étude, les conditions de température, de pH et temps de maturation de synthèse retenues sont : T = 90°C, pH = 9 et un temps de maturation de 15 min.

## II. 1. 2. Caractérisation des poudres brutes de synthèse

Après séchage, les blocs de poudre compacts issus de la centrifugation sont cassés et broyés dans un mortier en agate. Les différentes techniques de caractérisation utilisées renseignent sur les caractéristiques structurales, chimiques, morphologiques et physico-chimiques de chacune des compositions préparées.

### II. 1. 2. 1. Analyses spectroscopiques

#### a. Technique de caractérisation

La caractérisation des poudres par spectroscopie infrarouge a été menée sur un appareillage Perkin Elmer Spectrum One (USA). Les spectres sont enregistrés entre 400 et 4000 cm<sup>-1</sup> avec une résolution de 2 cm<sup>-1</sup>. Les mesures sont réalisées en absorbance au travers de pastilles de KBr. 1,5 mg de poudre et 400 mg de KBr sont mélangés dans un mortier en agate puis pressés dans un moule de 13 mm de diamètre, le bromure de potassium servant de support pour la mesure. Une pastille de KBr pur est réalisée pour chaque série de mesures et son spectre est soustrait à celui des courbes des échantillons. La comparaison de tous les spectres infrarouges ne peut se faire sans une normalisation. Après une correction automatique de la ligne de base, chaque spectre est multiplié par un coefficient ramenant l'absorbance de la bande  $\nu_4\text{PO}_4$  (à 602 cm<sup>-1</sup>) à 1 [REY89].

Les poudres analysées par spectroscopie infrarouge présentent généralement des bandes d'absorption relatives aux groupements  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{OH}^-$  de l'apatite. L'introduction de groupements silicate au sein de la structure engendrant souvent l'incorporation de carbonates, le tableau II-3 présente les fréquences des bandes d'absorption caractéristiques de l'ensemble de ces groupements au sein d'apatites synthétiques. La liste de données de ce tableau se base sur les publications de ces dix dernières années concernant la caractérisation d'apatites silicatées.

Groupements ioniques		[GIB99]	[ARC04-a]	[TAN05]	[LEV03]	[ARC04-b]
$\text{PO}_4^{3-}$	$\nu_1$	960	962	962	-	962
	$\nu_2$	-	-	-	-	-
	$\nu_3$	1092 1030	1093 1036	1100 1034	- 1036	1093 1036
	$\nu_4$	609 565	603 567	603 567	605 567	603 567
$\text{OH}^-$	$\nu_S$	3569	3570	3571	-	-
	$\nu_L$	631	631	631	-	631
$\text{SiO}_4^{4-}$		945 890 840	670 - 870	-	890 756	890 841
$\text{CO}_3^{2-}$ type B	$\nu_2$	875	-	-	-	-
	$\nu_3$	1454 1413	1458 1411	1471 1413	1457 1421	- -

Tableau II-3 : Bandes d'absorption caractéristiques des groupements ioniques dans les apatites silicatées synthétiques (nombre d'onde  $\nu$  en  $\text{cm}^{-1}$ )

Le tableau II-4 présente les bandes d'absorption caractéristiques de plusieurs autres groupements atomiques ou ioniques susceptibles d'être détectés dans les poudres d'apatites synthétiques.

Bandes d'absorption IR	Désignation
3700 - 3000	H-O-H, $\text{H}_2\text{O}$ adsorbée
3640 - 3650	O-H de $\text{Ca}(\text{OH})_2$
2340	$\text{CO}_2$ moléculaire
1630	$\text{H}_2\text{O}$ et $\text{CO}_2$ adsorbés
1380 - 1400	N-O des groupements $\text{NO}_3$

Tableau II-4 : Autres bandes d'absorption susceptibles d'être détectées dans les poudres [VIG84]

## b. Résultats

La figure II-2 présente les spectres IR des poudres brutes lavées à l'eau distillée après synthèse à l'exception de la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$ .

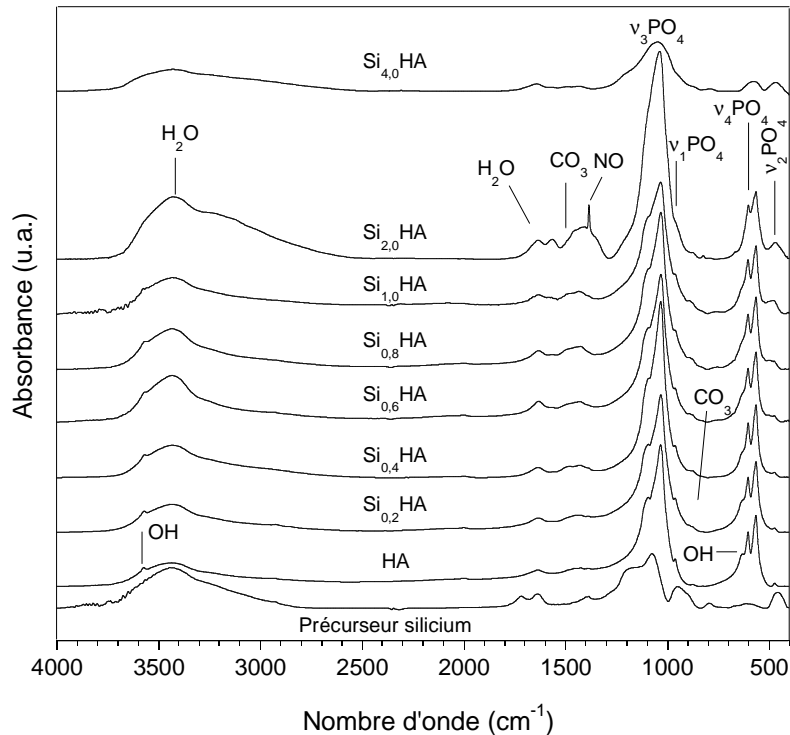


Figure II-2 : Spectres infrarouges des poudres brutes de différentes compositions

Les bandes intenses vers  $1090$  et  $1030\text{ cm}^{-1}$  correspondent au mode  $\nu_3\text{PO}_4$ , celle à  $961\text{ cm}^{-1}$  au mode  $\nu_1\text{PO}_4$  alors que les bandes vers  $603$  et  $564\text{ cm}^{-1}$  sont attribuées au mode  $\nu_4\text{PO}_4$ . Les faibles raies vers  $472\text{ cm}^{-1}$  sont celles du mode  $\nu_2\text{PO}_4$ . Les bandes à  $3570$  et  $630\text{ cm}^{-1}$  correspondent aux modes stretching ( $\nu_S$ ) et vibrationnel ( $\nu_L$ ) du groupement hydroxyde (OH). Les bandes relatives aux nitrates (résidus de synthèse) sortent vers  $826$  et  $1384\text{ cm}^{-1}$ . Seule la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  présente ces bandes, cette poudre n'ayant pas subi de lavage à l'eau distillée après synthèse. La large bande entre  $3300$  et  $3700\text{ cm}^{-1}$  ainsi que celle centrée à  $1632\text{ cm}^{-1}$  correspondent à l'eau adsorbée en surface des poudres. Le doublet à  $1420$  et  $1450\text{ cm}^{-1}$  est attribué au mode  $\nu_3$  des groupements carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) en site B de l'apatite (Fig. II-3). La composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  présente des groupements carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) situés en sites mixtes A / B dont les bandes d'absorption sont situées à  $1420 - 1450 -$

1552  $\text{cm}^{-1}$ . Le mode  $\nu_2$  des carbonates en site B est représenté par la faible bande à 875  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. II-4).

La teneur en carbonates semble augmenter avec la quantité de silicium introduite lors de la synthèse (Fig. II-3). Malgré les précautions prises lors de la précipitation en voie aqueuse (atmosphère contrôlée : balayage d'argon), les apatites synthétisées sont donc carbonatées. Ces ions carbonate pourraient provenir d'une décomposition du précurseur de silicium lors de la synthèse [YUS07].

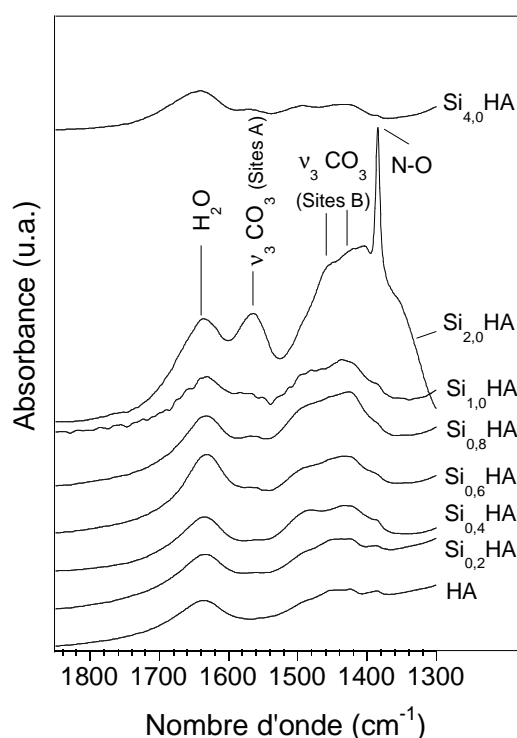


Figure II-3 : Spectres infrarouges des poudres brutes de différentes compositions dans l'intervalle 1800 – 1300  $\text{cm}^{-1}$  (Carbonates)

Les groupements silicate très peu visibles ne sont caractérisés que par une faible bande située à 890  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. II-4) dont l'intensité relative augmente légèrement avec le taux de silicium. De plus, les spectres des compositions contenant un taux élevé de silicium (Si<sub>2,0</sub>HA et Si<sub>4,0</sub>HA) présentent des bandes supplémentaires à 670 et 790  $\text{cm}^{-1}$ . Elles sont attribuées aux liaisons Si-O et Si-O-Si.

La comparaison des spectres IR des poudres avec celui du précurseur de silicium (Si(CH<sub>3</sub>COO)<sub>4</sub>) montre que les bandes intenses d'absorption de ce composé à 600 et 1080  $\text{cm}^{-1}$  ainsi que celles moins intenses à 1740, 1380, 945 et 450  $\text{cm}^{-1}$  ne sont pas

observées sur les spectres des poudres brutes. Seule la bande à  $1638\text{ cm}^{-1}$  attribuée à l'eau adsorbée en surface est commune à tous les spectres (Fig. II-2).

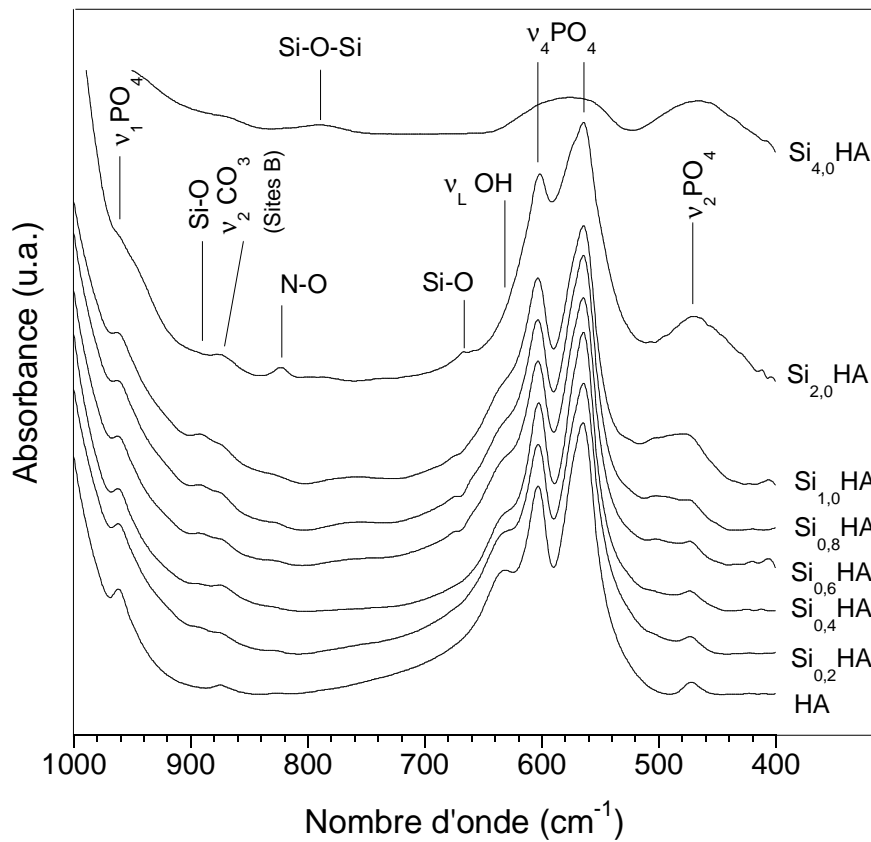


Figure II-4 : Spectres infrarouges des poudres brutes de différentes compositions dans le domaine  $1000 - 400\text{ cm}^{-1}$

### II. 1. 2. 2. Analyse élémentaire du carbone

#### a. Technique de caractérisation

L'analyse par FTIR ayant révélé la présence de carbonates, le taux de carbone contenu dans les poudres (exprimé en pourcentage massique de carbone) a été déterminé par analyse élémentaire à l'aide d'un appareillage EMIA-V 320 V, HORIBA. Les poudres sont préalablement calcinées à  $400^{\circ}\text{C}$  pour éliminer les résidus de synthèse. De 0,5 à 2 g de poudre sont chauffés à haute température par induction dans des creusets en alumine dans un flux constant d'oxygène. Le carbone contenu dans les échantillons est principalement transformé en dioxyde de carbone et en monoxyde de carbone. Ces deux gaz sont ensuite dosés par

absorption infrarouge. Des analyses sans poudre (ou blancs) et des mesures avec des étalons (3,76% de carbone) sont réalisées pour tracer une droite d'étalonnage qui permet de déterminer le pourcentage massique de carbone dans le domaine étudié. En supposant que dans les poudres, le carbone est sous forme de carbonates, le taux de carbonates est déterminé par la relation :

$$\%_{\text{massique}} \text{CO}_3^{2-} = (\%_{\text{massique}} \text{C})_{\text{mesuré}} \times \frac{M_{\text{CO}_3^{2-}}}{M_{\text{C}}} \quad (\text{Eq. II-2})$$

### b. Résultats

Les pourcentages massiques de carbone et carbonates dans les poudres calcinées à 400°C augmentent avec le taux de silicium. Le nombre de mole de  $\text{CO}_3^{2-}$  en site B dans les apatites précipitées ( $y$ ) peut être déterminé à partir du pourcentage massique d'ions carbonate (Tab. II-5, Fig. II-5) [LAF04].

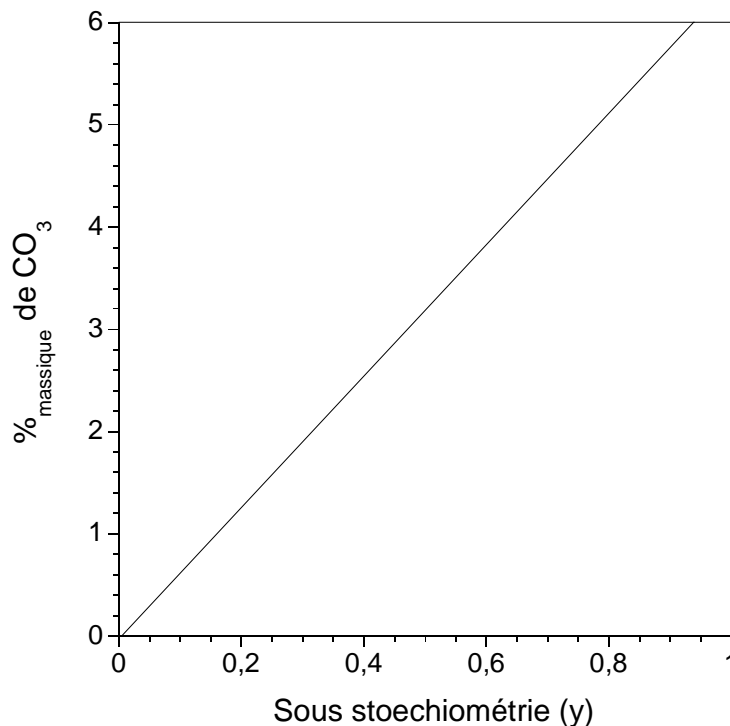
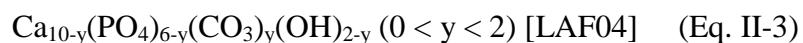


Figure II-5 : Evolution du  $\%_{\text{massique}}$  en ions carbonate en sites B des apatites en fonction de la sous stœchiométrie  $y$ . La courbe est établie à partir du modèle :



Le tableau II-5 présente les pourcentages massiques de carbonates contenus dans les poudres brutes de synthèse.

Compositions	%massique C	%massique CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	y CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Formule chimique hypothétique
HA	0,02	0,09	0,02	Ca <sub>9,98</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,98</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,02</sub> (OH) <sub>1,98</sub>
Si <sub>0,2</sub> HA	0,14	0,69	0,11	Ca <sub>9,89</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,89</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,11</sub> (OH) <sub>1,89</sub>
Si <sub>0,4</sub> HA	0,25	1,24	0,20	Ca <sub>9,80</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,80</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,20</sub> (OH) <sub>1,80</sub>
Si <sub>0,8</sub> HA	0,38	1,89	0,30	Ca <sub>9,70</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,70</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,30</sub> (OH) <sub>1,70</sub>
Si <sub>1,0</sub> HA	0,39	1,93	0,30	Ca <sub>9,70</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,70</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,30</sub> (OH) <sub>1,70</sub>
Si <sub>2,0</sub> HA	0,61	3,07	0,50	Ca <sub>9,50</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,50</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,50</sub> (OH) <sub>1,50</sub>

Tableau II-5 : Pourcentages massiques de carbone, de carbonate et nombre de mole (y) de CO<sub>3</sub> contenu dans les poudres et formule chimique hypothétique associée

Les formules hypothétiques de l'apatite carbonatée sont également données au tableau II-5.

### II. 1. 2. 3. Analyses structurales

#### a. Technique de caractérisation

L'analyse des phases cristallines présentes au sein des poudres est effectuée par diffraction des rayons X (DRX). Les diffractogrammes sont acquis avec la radiation K<sub>α</sub> du cuivre sur un diffractomètre θ/2θ Siemens D 5000. Les clichés DRX sont enregistrés dans l'intervalle 5 - 80° (en 2θ) avec un pas compris entre 0,01 et 0,04° et des temps de comptage compris entre 2 et 10 s en fonction des informations requises. Les phases sont identifiées par comparaison avec les références du fichier ICDD-PDF (International Center for Diffraction Data – Powder Diffraction Files). Le tableau II-6 regroupe les numéros des fiches PDF d'intérêt ainsi que les composés correspondants.

Nature du composé	N° Fiches PDF	Nature du composé	N° Fiches PDF
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub> HA	9 – 432	CaO	37 – 1497
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> TCP - α	9 – 348	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	40 – 393
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> TCP - β	9 – 169	Ca <sub>2</sub> (SiO <sub>4</sub> )	86 – 401
Ca <sub>4</sub> O(PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	25 – 1137	CaSiO <sub>3</sub>	43 – 1460

Tableau II-6 : Fiches PDF de référence pour l'indexation des différents composés

De plus, les poudres étant susceptibles de contenir de la chaux sous forme Ca(OH)<sub>2</sub>, une analyse qualitative de celle-ci est effectuée. La détection de cette dernière est impossible par diffraction des rayons X lorsqu'elle se trouve en faible quantité et en présence d'hydroxyapatite. En effet, la raie caractéristique principale de Ca(OH)<sub>2</sub> correspondant au plan (200) à  $2\theta = 34,08^\circ$  est confondue avec une des raies de l'apatite à  $2\theta = 34,05^\circ$  (plan 202). La présence de chaux est alors vérifiée, après calcination à 1000°C pendant 15 h, en testant le pH d'une solution aqueuse contenant de la poudre d'apatite par de la phénolphtaléine. L'absence de coloration rose en solution de phénolphtaléine assure avec une grande sensibilité l'absence de chaux dans le produit calciné. Ce test est effectué en suivant les recommandations de la norme NF S 94-066 [AFN98].

La détermination des paramètres de maille se fait par affinement Rietveld [YOU95] à l'aide du programme FullProf\* [ROD98] en mode « Whole Pattern Fitting » à partir de diffractogrammes enregistrés sur un domaine angulaire ( $2\theta$ ) compris entre 10 et 80° avec un pas de 0,04° et un temps de comptage de 4 s. Ce mode de fonctionnement permet d'effectuer un ajustement global du diagramme avec contrainte de la position des raies mais sans contraindre les intensités. Cela permet de s'affranchir en partie du problème de superposition des raies de diffraction.

## b. Résultats

Les résultats des tests de détection de la phase Ca(OH)<sub>2</sub> montrent qu'aucune coloration des solutions aqueuses des poudres d'apatites avec la phénolphtaléine n'est observée, traduisant ainsi l'absence de chaux dans toutes les poudres.

Les diffractogrammes de chacune des compositions étudiées sont présentés dans la figure II-6. Ils sont enregistrés sur le domaine 10 – 50° avec un pas de 0,04° et un temps de pause de 4 s.

\* <http://www-llb.cea.fr/winplotR/winplotR.html>



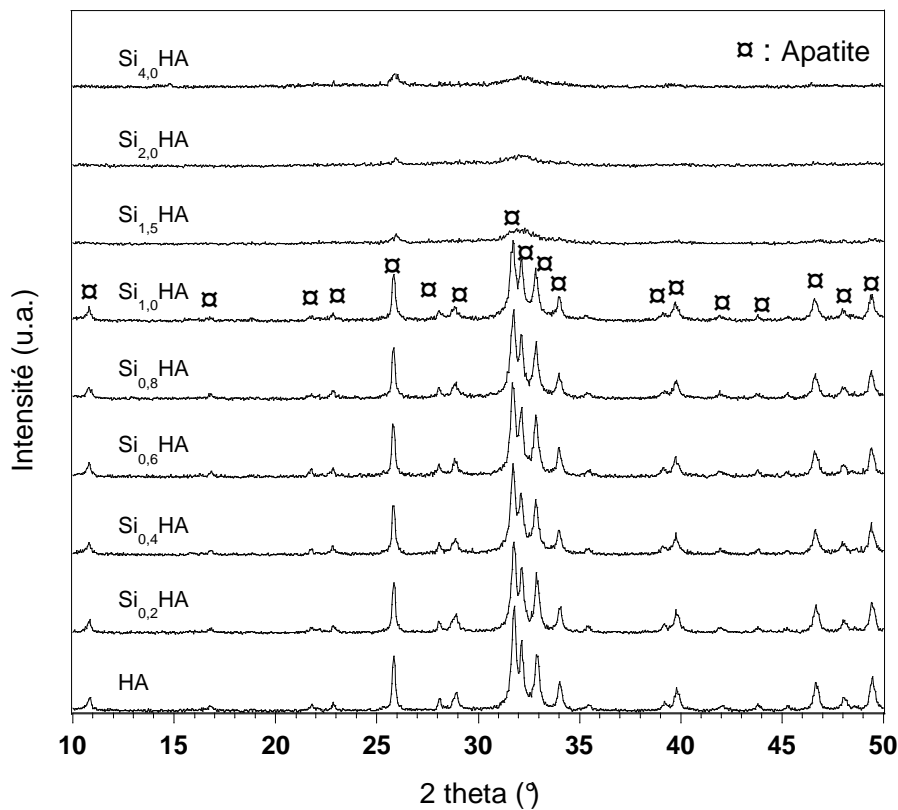


Figure II-6 : Diffractogrammes des poudres brutes de synthèse

Les compositions synthétisées peuvent être classées en deux groupes. En dessous d'une mole de silicium ( $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ ), les poudres présentent une seule phase cristalline de structure apatitique. Au dessus d'une mole de silicium, les diffractogrammes ne présentent que deux larges pics centrés sur 28 et 32° ( $2\theta$ ). Ils semblent correspondre eux aussi aux pics les plus intenses de la phase apatitique mais qui dans ce cas ne serait que faiblement cristallisée. Aucune phase secondaire cristalline n'est observée dans ces poudres brutes de synthèse.

Le tableau II-7 regroupe les valeurs affinées des paramètres de maille de la phase apatitique des poudres brutes dans le domaine de composition HA à  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  et celles calculées de l'HA à partir de la fiche PDF 9-432.

Compositions	HA (9-432)	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,4</sub> HA	Si <sub>0,6</sub> HA	Si <sub>0,8</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
a (Å)	9,41800	9,4215(7)	9,4259(1)	9,4306(8)	9,4332(4)	9,4356(9)	9,4388(6)
c (Å)	6,88400	6,8889(4)	6,8910(0)	6,8922(6)	6,8917(4)	6,8942(6)	6,8916(8)
Volume de maille (Å <sup>3</sup> )	528,800	529,57(7)	530,22(4)	530,85(8)	531,10(5)	531,57(7)	531,73(5)

Tableau II-7 : Paramètres de maille a, c et volume de la maille de l'apatite

Les valeurs calculées des paramètres a et c et du volume de maille de l'HA déterminés par affinement Rietveld sont légèrement supérieures à celles de la fiche PDF 9-432. Cet écart peut être attribué à la faible cristallinité de la poudre brute. L'augmentation du taux de silicium lors de la synthèse des poudres (de 0,2 à 1,0 mol) engendre une hausse du paramètre de maille a de 9,4259 à 9,4388 Å ainsi qu'une augmentation de volume global de la maille d'apatite de 529,58 à 531,73 Å<sup>3</sup>. Dans le même temps, le paramètre de maille c reste quasi constant.

## II. 1. 2. 4. Morphologie et caractéristiques physiques

### a. Techniques de caractérisation

La surface spécifique des poudres ( $S_{BET}$ ) est mesurée par la méthode BET 8 points. L'appareillage utilisé est un analyseur Micromeritics ASAP 2010, USA. Avant d'effectuer la mesure, les poudres subissent un dégazage entre 200 et 250°C pendant 20 h environ afin d'éliminer l'eau adsorbée en surface ainsi que d'éventuels résidus. La valeur de surface spécifique est obtenue à partir de la mesure de l'isotherme d'absorption d'un gaz à la température du diazote liquide (77K). Le gaz utilisé pour les expérimentations est le diazote. La masse de poudre nécessaire est environ 0,5 g et l'erreur sur la mesure est évaluée à 0,2 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>.

La masse volumique ( $\rho$ ) de chaque composition est mesurée par pycnométrie à hélium à l'aide d'un appareillage Micromeritics AccuPyc 1330, USA. Chaque valeur est établie à partir de 10 mesures successives. L'erreur sur la mesure est de 0,05 g.cm<sup>-3</sup>.

Les mesures de surface spécifique couplées à celles de masse volumique permettent de d'obtenir une estimation du diamètre équivalent des particules supposées sphériques. La taille moyenne des particules est calculée à partir de la relation :

$$\phi_{\text{moyen}} = \frac{6}{S_{\text{BET}} \times \rho} \quad (\text{Eq. II-4})$$

où  $\phi_{\text{moyen}}$  représente le diamètre moyen des particules exprimé en  $\mu\text{m}$ ,  $S_{\text{BET}}$  la surface spécifique en  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  et  $\rho$  la masse volumique exprimée en  $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ .

La texture et la nature chimique des éléments qui composent les poudres sont mises en évidence par microscopie électronique en transmission (MET) grâce à un microscope JEOL 2010. Les poudres sont au préalable mises en suspension dans l'éthanol et passées 3 min aux ultrasons afin de casser d'éventuels agglomérats. La suspension est ensuite déposée sur une grille de cuivre recouverte d'une membrane de carbone. Une analyse chimique des poudres est effectuée par spectrométrie à dispersion d'énergie. Le volume de poudre analysé pour chaque mesure, qui dépend de la tension appliquée et du matériau, est d'environ  $1 \mu\text{m}^3$ . La structure cristalline des poudres est déterminée par diffraction des électrons à sélection d'aire. Les distances interréticulaires (distance séparant deux plans d'une même famille) sont calculées grâce à l'équation II-5 :

$$d_{\text{hkl}} = \frac{2 \times \lambda \times L}{D} \quad (\text{Eq. II-5})$$

$\lambda$  et  $L$  sont respectivement la longueur d'onde ( $2,74 \cdot 10^{-12} \text{ m}$ ) et la longueur de la chambre (1 m) et  $D$  est la distance en mètre séparant deux taches de diffraction sur le cliché de diffraction. Une comparaison entre les distances interréticulaires calculées (Fiche ICDD-PDF) et celles mesurées est effectuée pour déterminer la structure cristalline des poudres.

## b. Résultats

Le tableau II-8 regroupe les mesures de surface spécifique, de masse volumique et l'estimation du diamètre moyen des particules des poudres issues de la synthèse.

Les surfaces spécifiques des poudres sont comprises entre 47 et  $76 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Une augmentation régulière de ces valeurs est observée lorsque le taux de silicium augmente dans les poudres jusqu'à la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ . Puis, elle rediminue pour la teneur la plus élevée en silicium ( $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$ ) avec une valeur voisine de  $50 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Les valeurs de masse volumique décroissent de HA à  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$ . A partir de ces deux grandeurs ( $S_{\text{BET}}$  et  $\rho$ ), le diamètre moyen des particules est estimé (Eq. II-4, Tab. II-8). Il décroît avec l'augmentation du taux de silicium lors de la synthèse des poudres jusqu'à  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ .

Composition	$S_{\text{BET}}$ ( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )	Masse volumique ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ )	$\Phi_{\text{moyen}}$ grain (nm)
HA	$47,2 \pm 0,2$	$2,80 \pm 0,05$	$46 \pm 1$
$\text{Si}_{0,2}\text{HA}$	$49,5 \pm 0,2$	$2,71 \pm 0,05$	$45 \pm 1$
$\text{Si}_{0,4}\text{HA}$	$63,1 \pm 0,2$	$2,73 \pm 0,05$	$35 \pm 1$
$\text{Si}_{0,6}\text{HA}$	$64,3 \pm 0,2$	$2,72 \pm 0,05$	$34 \pm 1$
$\text{Si}_{0,8}\text{HA}$	$67,5 \pm 0,2$	$2,67 \pm 0,05$	$33 \pm 1$
$\text{Si}_{1,0}\text{HA}$	$76,0 \pm 0,2$	$2,66 \pm 0,05$	$30 \pm 1$
$\text{Si}_{2,0}\text{HA}$	$76,1 \pm 0,2$	$2,51 \pm 0,05$	$31 \pm 1$
$\text{Si}_{4,0}\text{HA}$	$50,6 \pm 0,2$	$2,39 \pm 0,05$	$52 \pm 1$

Tableau II-8 : Surfaces spécifiques, masses volumiques et estimation du diamètre moyen des particules des poudres brutes

Les figures II-7 et II-8 sont des images réalisées par microscopie électronique en transmission des poudres de composition HA,  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ ,  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  à faible grossissement ( $\times 50\,000$ ) et  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ ,  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$  à fort grossissement ( $\times 400\,000$ ). Les poudres ne contenant pas ou peu de silicium sont composées de petits cristaux sous forme d'aiguilles d'environ 100 nm de long et de 10 nm de large (Fig. II-7a et 7b). La taille des cristallites qui forment ces aiguilles est de l'ordre de 5 nm (Fig. II-8). Lorsque le taux de silicium augmente lors de la synthèse, la forme des particules devient plus sphérique et leur taille diminue jusqu'à 50 nm de long environ (Fig. II-7c).

**Remarque :** la diminution observée de la taille des particules confirme l'évolution des valeurs de diamètre moyen équivalent (Tab. II-8). Ce dernier paramètre ne peut toutefois être considéré qu'à titre qualitatif compte tenu de la morphologie aciculaire des particules.

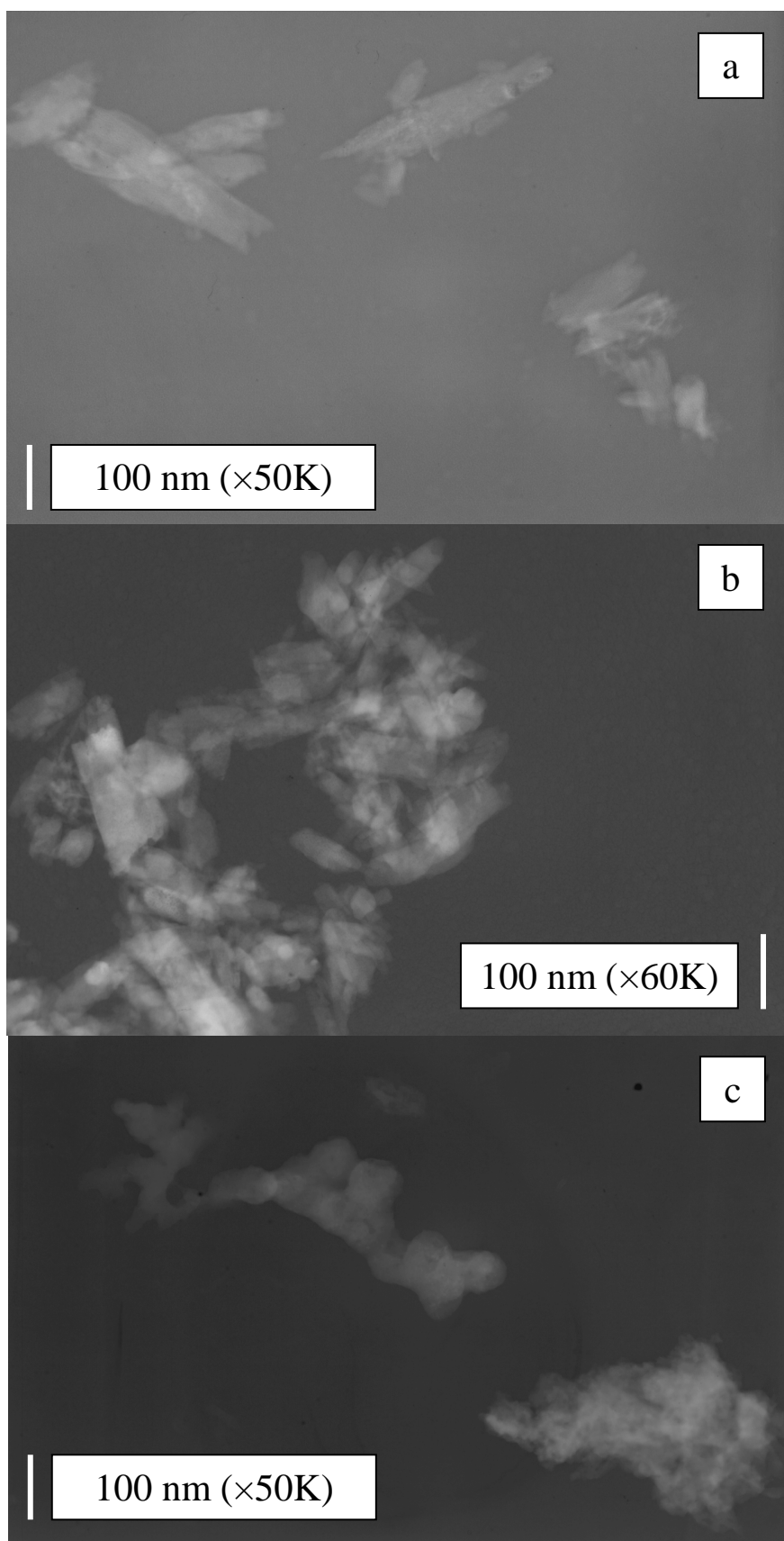


Figure II-7 : Micrographies en transmission des poudres brutes de composition HA (a),  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ (b) et  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  (c) à faible grossissement

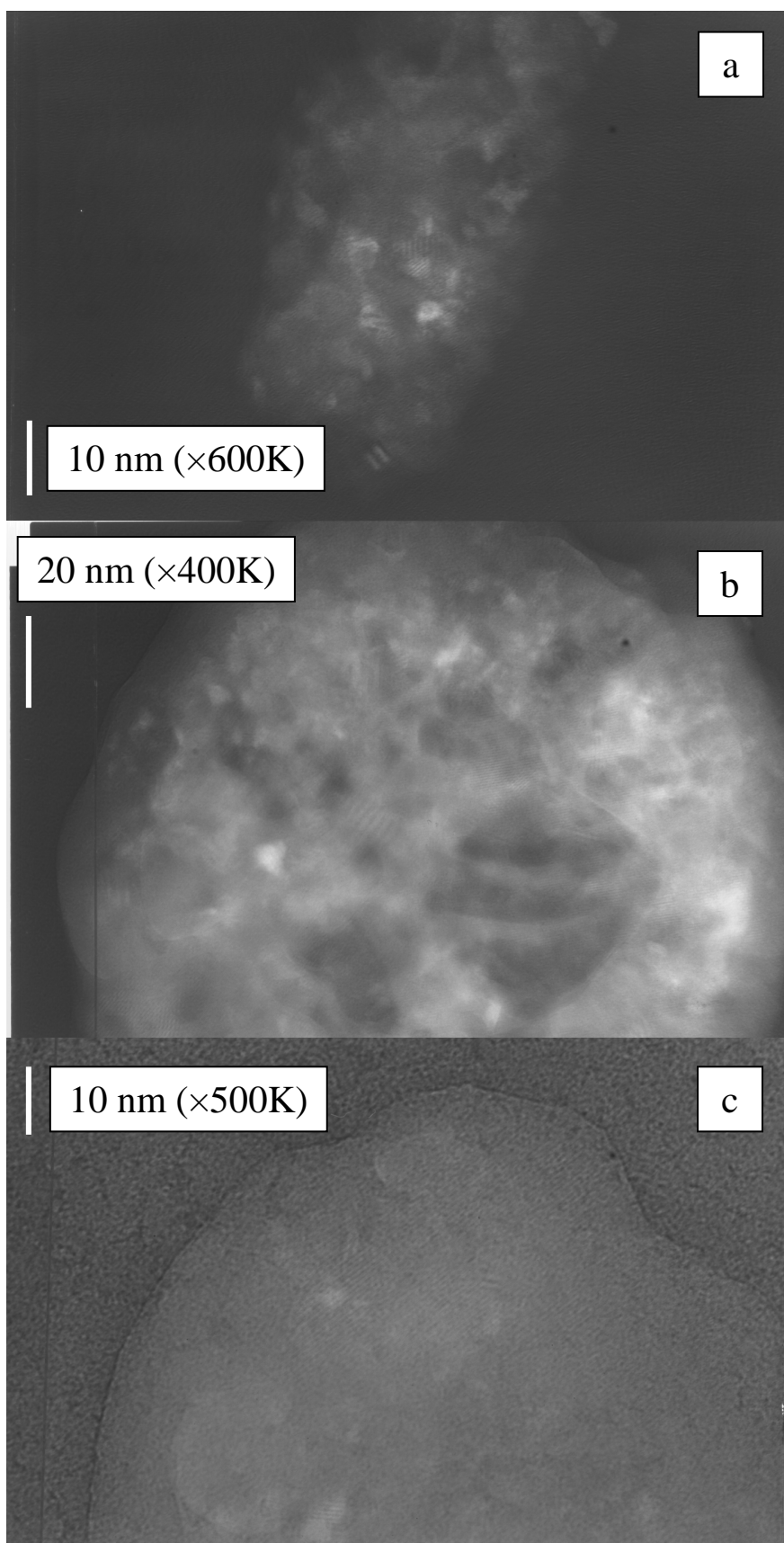


Figure II-8 : Micrographies en transmission des poudres brutes de composition  $Si_{0,4}HA$  (a),  $Si_{2,0}HA$ (b) et  $Si_{4,0}HA$  (c) à fort grossissement

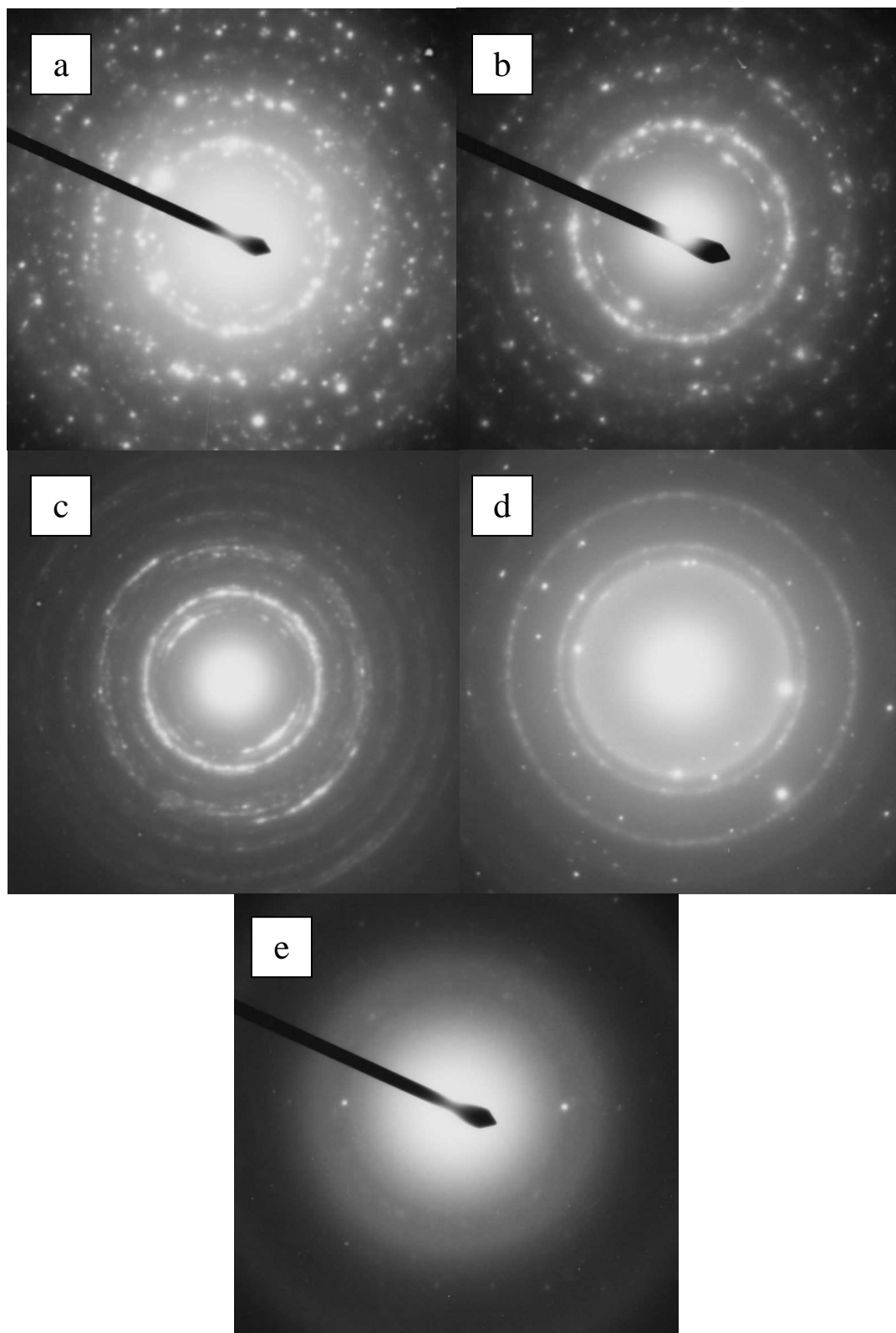


Figure II-9 : Clichés de diffraction en sélection d'aire des poudres brutes de synthèse (HA (a),  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  (b),  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  (c) et  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$  (phases cristallisée (d) et amorphe (e))

Les clichés de diffraction en sélection d'aire renseignent sur la structure cristalline des poudres (Fig. II-9). D'après l'aspect de ces clichés, les poudres sont cristallisées et composées de polycristaux (présence de taches et d'anneaux). Les deux compositions HA et  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  présentent des clichés de diffraction similaires. Les distances interréticulaires déterminées à partir des tâches de diffraction ( $d_{hkl}$  mesurées) sont répertoriées dans le tableau II-9. Les valeurs mesurées pour l'HA sont identiques aux valeurs calculées à partir de la fiche PDF 9-432 de l'HA. Pour la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ , les valeurs des distances ont été recalculées à partir de la fiche PDF 9-432 et des paramètres de maille déterminés précédemment (Tab. II-7). Dans ce cas également, les valeurs calculées et mesurées sont très proches. Comme il a été montré par DRX sur poudre (Fig. II-6), les deux compositions sont de structure apatitique.

Indexation	HA		$\text{Si}_{0,4}\text{HA}$	
	$d_{hkl}$ (Å)	$d_{hkl}$ (Å)	$d_{hkl}$ (Å)	$d_{hkl}$ (Å)
<b>h k l</b>				
<b>Apatite</b>	calculée	mesurée	calculée	mesurée
<b>PDF 9-432</b>				
2 0 1	3,36	3,36	3,36	3,51
2 1 1	2,87	2,86	2,86	2,82
1 0 2	3,32	3,14	3,32	3,18
3 0 0	2,68	2,68	2,68	2,72

Tableau II-9 : Comparaison entre les distances interréticulaires calculées à partir de la fiche PDF 9-432 de l'apatite et mesurées expérimentalement des compositions HA et  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$

Du point de vue structural, les compositions  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$  diffèrent de la phase apatitique. Les clichés de diffraction ne présentent pas les mêmes tâches que sur les deux clichés de HA et  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ . Les distances D (distance séparant deux tâches de diffraction) des clichés de diffraction en sélection d'aire sont consignées dans le tableau II-10. La structure cristalline des poudres de composition  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $x > 1$ ) n'étant pas déterminée, les distances interréticulaires n'ont pas pu être calculées. Cependant, la comparaison des distances D montre que les 2 structures cristallines sont identiques puisqu'elles présentent les mêmes tâches ou anneaux. La composition  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$  est distinctement composée de deux phases, l'une cristallisée et l'autre majoritairement amorphe.



<b>Si<sub>2,0</sub>HA</b>	<b>Si<sub>4,0</sub>HA</b> <b>Phase cristallisée</b>	<b>Si<sub>4,0</sub>HA</b> <b>Phase amorphe</b>
D (mm) mesurée	D (mm) mesurée	D (mm) mesurée
-	14	-
18,5	17,5	-
21,5	20,5	-
28,5	28,5	27,4
30,5	30,5	-

Tableau II-10 : Comparaison entre les distances D mesurées sur le cliché de diffraction des compositions Si<sub>2,0</sub>HA et Si<sub>4,0</sub>HA

La figure II-10 présente les spectres à dispersion d'énergie des compositions HA, Si<sub>0,4</sub>HA, Si<sub>2,0</sub>HA et Si<sub>4,0</sub>HA.

Les spectres à dispersion d'énergie montrent que, quelle que soit la composition étudiée, les éléments calcium (Ca) et phosphore (P) sont détectés. L'intensité du pic de calcium est toujours plus élevée que celle du pic de phosphore sauf dans le cas de la phase amorphe Si<sub>4,0</sub>HA. Le cuivre et le carbone mis en évidence proviennent du dispositif. En effet, les poudres sont déposées sur une plaque en cuivre recouverte d'une membrane en carbone. Les phases cristallisées des différentes compositions présentent des spectres similaires hormis le pic de silicium. L'intensité de ce pic augmente avec la teneur en silicium dans les poudres en accord avec celle introduite dans le réacteur lors de la synthèse. Cependant, des disparités en teneur de silicium sont observées dans les compositions riches en silicium Si<sub>2,0</sub>HA et Si<sub>4,0</sub>HA. Au sein de la même composition (Si<sub>2,0</sub>HA), certains grains peuvent être plus riches que d'autres en silicium (Fig. II-10<sub>i</sub> et 10<sub>ii</sub>). Les clichés de diffraction en sélection d'aire ont montré que la composition Si<sub>4,0</sub>HA était constituée de deux phases, l'une cristallisée et l'autre amorphe. La phase cristallisée contient les éléments Ca, P et Si. L'intensité de ces pics décroît de Ca à Si. Par contre, la phase amorphe contient principalement du silicium, le phosphore et le calcium étant en beaucoup plus faible quantité.

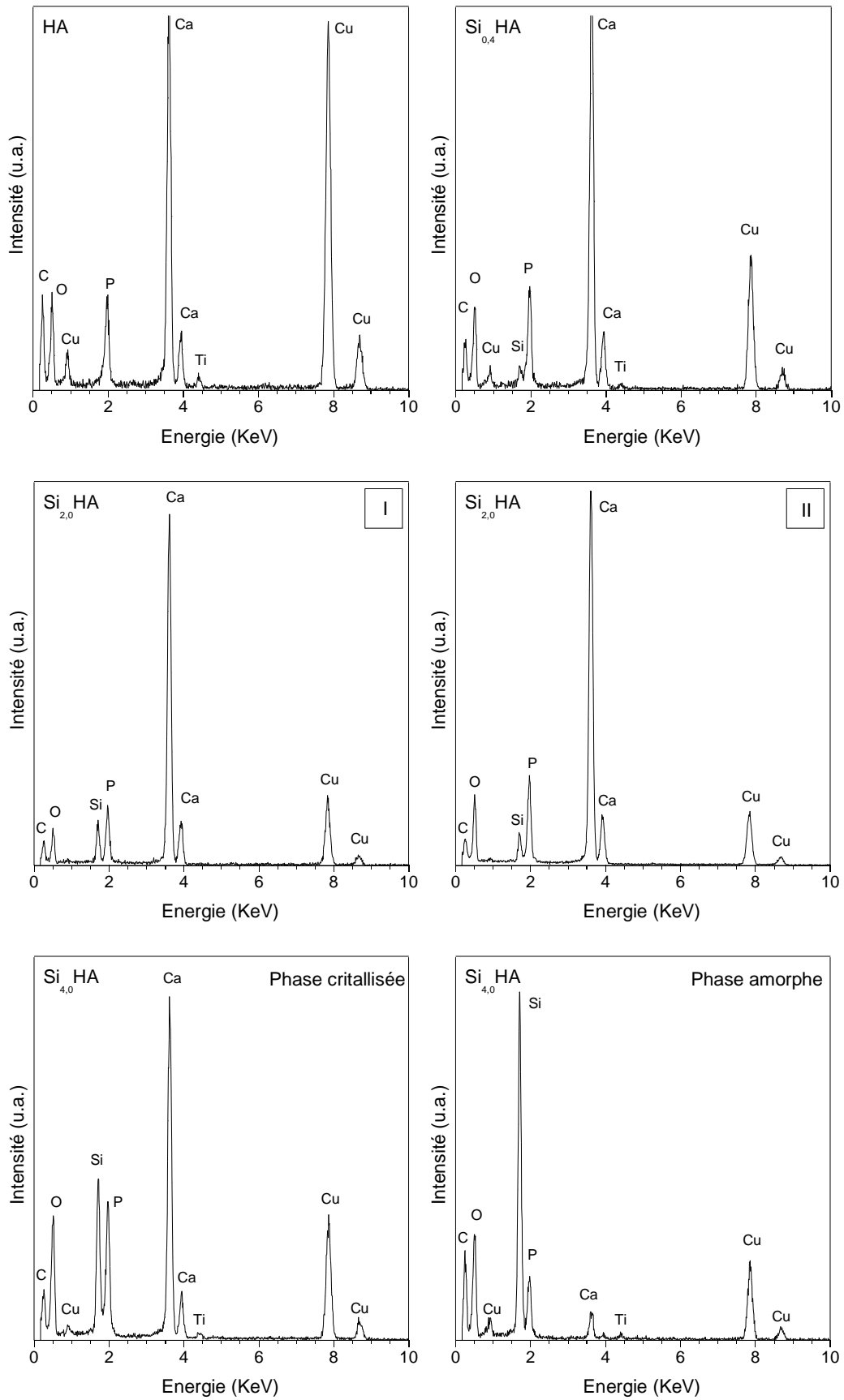


Figure II-10 : Spectres à dispersion d'énergie des poudres brutes HA, Si<sub>0,4</sub>HA, Si<sub>2,0</sub>HA (2 localisations) et Si<sub>4,0</sub>HA (phases cristallisée et amorphe)

### II. 1. 2. 5. Discussion

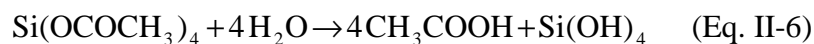
Les résultats décrits dans la partie expérimentale ont soulevé plusieurs problématiques. On distingue deux catégories de compositions : les poudres cristallisées de structure apatitique synthétisées pour une composition hypothétique  $x \leq 1$  mol de silicium et les poudres peu cristallisées de composition hypothétique  $x > 1$ .

#### a. Les poudres brutes telles que $0 \leq x \leq 1$ mol de silicium

Les poudres brutes cristallisent sous forme d'aiguilles. L'augmentation de la teneur initiale en silicium crée une augmentation de la surface spécifique des poudres, traduisant une diminution de la taille des cristallites qui les composent.

Selon les analyses chimiques, les poudres brutes de synthèse contiennent toutes du calcium, du phosphore et du silicium. La phase cristallisée est de structure apatitique. Cette apatite est d'autant plus carbonatée (en site B) que la teneur en silicium dans le milieu réactionnel augmente. Le nombre de mole (y) de carbonates incorporés dans la structure apatitique (cf § II.1.2.2) est reporté dans le tableau II-11.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises quant à la provenance des groupements carbonate : la carbonatation peut être due au dioxyde de carbone  $\text{CO}_2$  de l'air dissous dans l'eau. Cette hypothèse est cependant à écarter car la réaction est effectuée sous atmosphère neutre et le pourcentage de carbonate augmente avec la quantité de réactif silicié. Le tétraacétate précurseur de silicium doit donc engendrer la carbonatation des poudres lors de la synthèse. En effet, l'hydrolyse de ce composé peut se produire selon la réaction suivante [PAS65] :



L'acide acétique ou l'acétate (en fonction du pH,  $\text{pK}_a = 4,8$ ) formé peut être à l'origine de la carbonatation des apatites. La synthèse d'apatites carbonatées a récemment été réalisée par décomposition de produits organiques tels que l'EDTA (acide éthylène-diamine-tétraacétique) [YUS07].

La substitution mixte des sites phosphate par le couple  $(\text{CO}_3^{2-}/\text{SiO}_4^{4-})$  pourrait expliquer les variations des paramètres de maille des apatites brutes. Dans les apatites carbonatées pures, l'augmentation du taux de carbonates provoque une baisse du paramètre a alors que le paramètre c reste constant [BON72-b; LAB73; VIG84]. A contrario,

l'incorporation de silicates engendre une hausse simultanée des deux paramètres  $a$  et  $c$ . Or, d'après les résultats expérimentaux issus du présent travail, le paramètre de maille  $a$  croît alors que le paramètre  $c$  ne varie pas. Une compétition d'incorporation entre les deux groupements ioniques pourrait être à l'origine de cette évolution. Le volume global de la maille augmente avec le taux de silicium de  $529,57 \text{ \AA}^3$  pour l'HA à  $531,73 \text{ \AA}^3$  pour  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  (Tab. II-7). Arcos et al. [ARC04-a] ont déjà rapporté cette évolution du volume de maille pour des précipités calcinés à  $700^\circ\text{C}$  de même composition (de  $529,13 \text{ \AA}^3$  pour HA à  $531,27 \text{ \AA}^3$  pour  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ ), simplement décalé de  $0,4 \text{ \AA}^3$ .

Du fait de la carbonatation, la totalité du silicium introduit dans le milieu réactionnel ne peut pas être sous forme de groupements silicate dans l'apatite. En considérant comme hypothèse que le nombre de sites B de l'apatite occupés est toujours égal à 6 et que le nombre de moles de phosphates dans ce site est égal à celui en réactif introduit, le nombre de moles  $w$  de silicate dans l'apatite peut être calculé selon la relation Eq. II-7 :

$$w = 6 - y - n_{\text{PO}_4} \quad (\text{Eq. II-7})$$

Les valeurs de  $w$  sont regroupées dans le tableau II-11 pour les différentes compositions.

Notation	$n_{\text{PO}_4}$	$x_{\text{Si}}$	$y_{\text{CO}_3}$	$w_{\text{Si}}$ (mol)	
	(mol)	(mol)	(mol)	Mécanisme 1	Mécanisme 2
HA	6	0	0,02	0,00	0,00
$\text{Si}_{0,2}\text{HA}$	5,8	0,2	0,10	0,10	0,10
$\text{Si}_{0,4}\text{HA}$	5,6	0,4	0,20	0,20	0,20
$\text{Si}_{0,8}\text{HA}$	5,2	0,8	0,30	0,50	0,30+0,20
$\text{Si}_{1,0}\text{HA}$	5,0	1,0	0,30	0,70	0,30+0,40

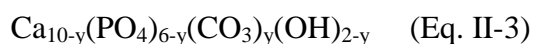
Tableau II-11 : Nombre de moles initial de silicium et phosphate ( $x_{\text{Si}}$  et  $n_{\text{PO}_4}$ ) et nombre de moles de carbonates et silicates ( $y$  et  $w$ ) dans l'apatite brute selon les mécanismes liés à la compensation de charge

Selon le mécanisme de compensation de charges dans la structure apatitique, deux possibilités de compositions chimiques sont envisageables (mécanismes 1 et 2).

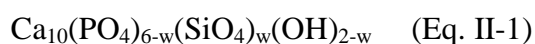
Mécanisme 1 :

La compensation des charges pourrait se faire par la création simultanée de lacunes de calcium et d'hydroxydes. La phase apatitique des composés précipités est dans ce cas décrite sous la forme d'une solution solide globale CHA – SiHA avec :

Pour l'apatite carbonatée, la formule chimique :



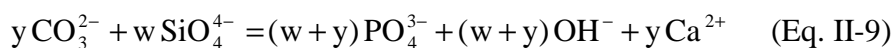
Et pour l'apatite silicatée :



Soit la formule chimique finale :



Le mécanisme d'échange est alors le suivant :



Où  $w$  et  $y$  représentent respectivement les nombres de moles de silicate et carbonate dans l'apatite (Tab. II-11).

Les compositions chimiques et les masses molaires de la phase apatitique selon sa composition sont regroupées dans le tableau II-12.

Dans cette hypothèse, le calcium et le silicium ne sont pas totalement incorporés dans la phase apatitique puisque  $(10-y < 10)$  et  $(w < x_{\text{Si}})$ . Une autre phase non détectée par DRX doit donc être présente pour contenir le calcium et le silicium restant. Cette phase pourrait être amorphe comme suggéré dans des travaux antérieurs [ARC04-a]. Selon les formules précédentes, le nombre de moles de Ca et Si qu'elle contiendrait est identique et est égal à  $y$ .  $y$  est aussi le nombre de carbonates substitués et de lacunes de cation calcium engendrées par cette substitution. En considérant que la phase secondaire est un silicate de calcium de formule chimique  $\text{CaSiO}_3$ , un calcul approximatif de son pourcentage massique peut être déterminé. L'hypothèse de cette formulation découle d'une étude complémentaire présentée ultérieurement dans le paragraphe II. 2. Soit une mole de poudre composée de la phase apatitique  $\text{Ca}_{10-y}(\text{PO}_4)_{6-w-y}(\text{SiO}_4)_w(\text{CO}_3)_y(\text{OH})_{2-w-y}$  et de  $y \text{CaSiO}_3$ . Le pourcentage massique de la phase secondaire est donné par la relation :

$$\%_{\text{massique}}(\text{phase CaSiO}_3) = \frac{y M_{\text{CaSiO}_3}}{M_{\text{apatite}} + y M_{\text{CaSiO}_3}} \quad (\text{Eq. II-10})$$

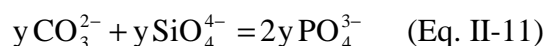
Pour les poudres Si<sub>0,4</sub>HA et Si<sub>1,0</sub>HA, les pourcentages massiques respectifs seraient 2,3 et 3,5%. Cette phase serait donc en très faible quantité par rapport à la phase apatitique, ce qui peut expliquer sa non détection.

Notation	Formules chimiques	M	Formules chimiques	M
	Mécanisme 1	g.mol <sup>-1</sup>	Mécanisme 2	g.mol <sup>-1</sup>
HA	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	1004,64	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	1004,64
Si <sub>0,2</sub> HA	Ca <sub>9,90</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,8</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,10</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,10</sub> (OH) <sub>1,8</sub>	993,45	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,8</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,10</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,10</sub> (OH) <sub>2</sub>	1000,86
Si <sub>0,4</sub> HA	Ca <sub>9,80</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,6</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,20</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,20</sub> (OH) <sub>1,6</sub>	982,25	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,6</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,20</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,20</sub> (OH) <sub>2</sub>	997,07
Si <sub>0,8</sub> HA	Ca <sub>9,70</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,2</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,30</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,50</sub> (OH) <sub>1,2</sub>	967,08	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,2</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,30</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,50</sub> (OH) <sub>1,8</sub>	974,29
Si <sub>1,0</sub> HA	Ca <sub>9,70</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,0</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,30</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,70</sub> (OH) <sub>1,0</sub>	963,10	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5,0</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>0,30</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>0,70</sub> (OH) <sub>1,6</sub>	955,30

Tableau II-12 : Formules chimiques des poudres brutes, mécanismes 1 et 2

### Mécanisme 2 :

La compensation de charge peut être envisagée selon l'échange :



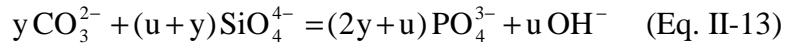
Ce mécanisme prévoit donc que le nombre de mole de silicates introduit dans l'apatite lors de la synthèse est identique à celui des carbonates, par conséquent,  $w = y$ .

Dans ce cas précis, aucune lacune n'est créée dans la structure. La formule chimique de la phase apatitique des composés précipités pourrait être écrite sous la forme suivante :



En dessous de 0,4 mol de silicium, le taux de carbonate mesuré permet d'écrire le mécanisme décrit ci-dessus. Au-delà de  $x_{\text{Si}} = 0,4$  mol, le nombre de moles de carbonate mesuré ajouté à la même quantité de silicates ne permet pas de combler la totalité des 6 sites B de l'apatite. En effet, au-delà de  $x_{\text{Si}} = 0,4$  mol et jusqu'à  $x_{\text{Si}} = 1$  mol, le nombre de mole de carbonates mesuré est  $y = 0,3$  mole. Si 0,3 mole de silicates est incorporée en plus

des 0,3 mole de carbonates, il reste des sites B non occupés. Des groupements silicates supplémentaires sont donc incorporés dans la structure et la compensation des charges peut se faire par la création de lacunes d'hydroxydes. Le mécanisme de compensation de charge devient alors :



La formule chimique devient :



$$\text{avec } w = y + u$$

Les formules chimiques des apatites selon ce mécanisme sont reportées dans le tableau II-12.

Dans les deux cas de compensation de charges et quelle que soit la composition, tout le silicium n'est pas introduit dans la structure apatitique. L'excès doit ici encore être dans une phase secondaire. Selon les formules chimiques, la quantité de cette phase siliciée est dans les deux cas égale à y. En considérant que le silicium en excès pourrait être sous la forme  $\text{Si}(\text{OH})_4$  (Eq II-6), un calcul approximatif de son pourcentage massique peut être déterminé. Soit une mole de poudre composée de la phase apatitique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-2y}(\text{SiO}_4)_y(\text{CO}_3)_y(\text{OH})_2$  ( $x \leq 0,4$  mol) ou  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-2y-u}(\text{SiO}_4)_{y+u}(\text{CO}_3)_y(\text{OH})_{2-u}$  ( $x > 0,4$  mol) et de y  $\text{Si}(\text{OH})_4$ . Le pourcentage massique de la phase secondaire est donné par la relation :

$$\%_{\text{massique}} (\text{phase } \text{Si}(\text{OH})_4) = \frac{y M_{\text{Si}(\text{OH})_4}}{M_{\text{apatite}} + y M_{\text{Si}(\text{OH})_4}} \quad (\text{Eq. II-15})$$

Pour la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ , le pourcentage massique de la phase silicatée serait de 1,9% et de 2,9% pour la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ . La quantité de cette phase reste donc très faible par rapport à celle de l'apatite, quelle que soit la teneur initiale totale en silicium dans la poudre, expliquant à nouveau sa non détection.

b. Les poudres de composition telle que  $x > 1$  mol

La nature de ces poudres est sensiblement différente. Selon les résultats obtenus par diffraction à sélection d'aire, la phase cristalline détectée dans les compositions  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$  est identique. Bien que les diffractogrammes (DRX) de ces compositions présentent les pics principaux de la phase apatitique, elle est différente de cette dernière. La composition chimique de la poudre peut varier selon la zone analysée. De plus, une phase amorphe, majoritairement constituée de silicium, est détectée dans la poudre la plus chargée en silicium ( $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$ ). Cette phase amorphe pourrait être un gel de silice de formule chimique  $\text{SiO}_n(\text{OH})_{4-2n}$  avec  $0 \leq n \leq 2$  [PAS65] correspondant à la décomposition du tétraacétate de silicium (Eq. II-6).

### II. 1. 3. Calcination des poudres

Afin de préciser les évolutions et éventuelles transformations des poudres au cours de calcinations, le comportement thermique a été suivi par thermogravimétrie (TG), analyse thermique différentielle (ATD) et spectroscopie de masse (SM). Différentes calcinations ont également été réalisées sous air tous les  $100^\circ\text{C}$  de  $400$  à  $1300^\circ\text{C}$  avec des durées de palier de  $30$  à  $120$  min dans un four Super Kanthal (montée en température  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Une caractérisation des poudres par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge est effectuée après retour à température ambiante. Compte tenu des résultats obtenus lors de la synthèse par précipitation, cette étude se divisera en deux parties : les poudres  $\text{Si}_x\text{HA}$  de compositions comprises entre  $0 \leq x \leq 1$  et celles entre  $1 < x \leq 4$ .

#### II. 1. 3. 1. Poudres de compositions $0 \leq x \leq 1$ mol

a. Analyses thermiques

Le comportement en température des poudres brutes de composition  $0,2 \leq x \leq 1$  a été étudié et comparé à celui d'une hydroxyapatite stoechiométrique (HA).



## a. 1. Techniques de caractérisation

La thermogravimétrie (TG), l'analyse thermique différentielle (ATD) et la spectroscopie de masse (SM) sont les trois techniques utilisées. Les courbes TG et ATD sont enregistrées simultanément à l'aide d'un appareil TA instruments (modèle SDT 2960). Les expériences sont réalisées dans des creusets en alumine avec environ 20 mg de poudre. Les gaz émis par les poudres lors du traitement thermique sont analysés à l'aide d'un spectromètre de masse à quadrupole (Pfeiffer Vacuum Thermostar) couplé à l'appareil TA Instruments. La vitesse de chauffe est fixée à  $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  jusqu'à  $1400^{\circ}\text{C}$ . L'hélium en balayage à  $100\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  est utilisé comme atmosphère du four et gaz vecteur afin d'acheminer les gaz émis vers le spectromètre de masse.

Par principe, la spectrométrie de masse permet de faire la distinction entre deux produits même si ces derniers répondent à des masses moléculaires identiques. Leur différenciation se fait alors soit par un suivi des masses isotopiques (ex :  $^{16}\text{O}$  à  $M = 16$  et  $^{18}\text{O}$  à  $M = 18$ ), soit par un suivi des masses des sous-espèces (ou fragments) créées lors du bombardement électronique (ex :  $\text{CO}$  à  $M = 28$  fragment de  $\text{CO}_2$  à  $M = 44$ ). Le tableau II-13 regroupe les masses suivies lors des analyses et la nature des espèces susceptibles d'y être associées.

Masses	Espèces chimiques	Masses	Espèces chimiques
12	C, CO, CO <sub>2</sub>	30	NO, NO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> O
14	N, N <sub>2</sub> , NO, NO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> O, CO, NH <sub>3</sub>	32	N, $^{18}\text{O}$ , O <sub>2</sub>
16	O, O <sub>2</sub> , CO, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, N <sub>2</sub> O, N <sub>3</sub> ...	44	CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> O
17	NH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O	45	$^{13}\text{CO}_2$ , $^{17}\text{NNO}$
18	H <sub>2</sub> O, $^{18}\text{O}$ , NH <sub>3</sub>	46	NO <sub>2</sub> , CO, $^{18}\text{O}$
28	CO, N <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> O		

Tableau II-13 : Masses moléculaires et espèces chimiques associées suivies par SM

## a. 2. Résultats

Quelle que soit leur composition initiale, les poudres d'apatites silicatées se caractérisent par une perte de masse continue tout au long de la montée en température (Fig. II-11). Les pertes de masse totales relatives sont reportées dans le tableau II-14. Les courbes dérivées d'analyses thermogravimétriques des différentes compositions sont

présentées sur la figure II-12. Ces courbes se présentent, d'une manière générale, comme une succession de pics pouvant être associés à un départ gazeux. Dans les descriptions suivantes, un pic sera défini par la température qui correspond à son intensité maximale.

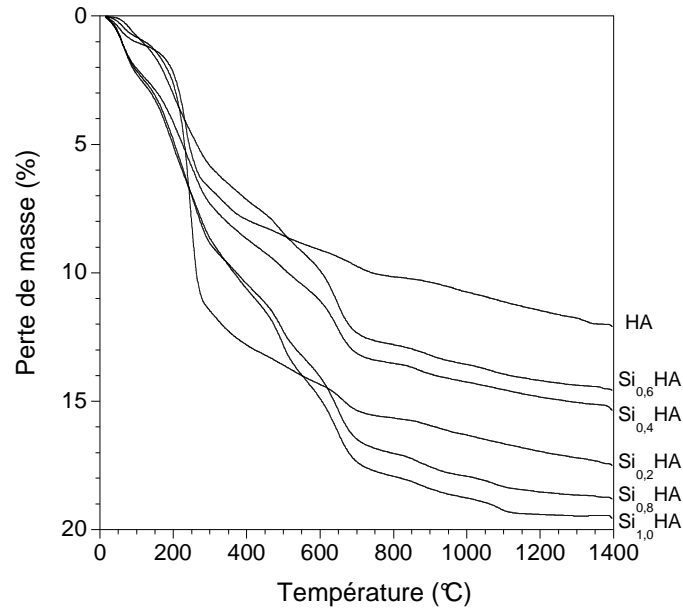


Figure II-11 : Courbes d'analyses thermogravimétriques (TG) des compositions  $0 \leq x \leq 1$  (vitesse de montée en température =  $15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ )

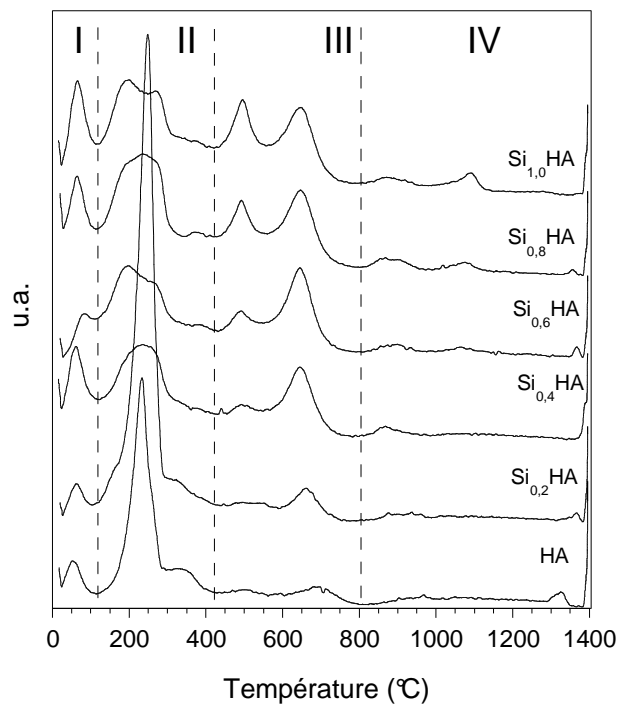


Figure II-12 : Dérivées des courbes d'analyses thermogravimétriques (DTG) des compositions  $0 \leq x \leq 1$  ( $v = 15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ )

Ces courbes permettent de distinguer plusieurs domaines de températures notés I, II, III et IV se différenciant les uns des autres par des cinétiques de pertes de masse distinctes. Les pertes de masse associées à chacun des quatre domaines de température sont reportées dans le tableau II-14.

Température (°C)	30	100	425	800	1400	Perte
Domaine	I	II	III	IV		totale
HA	1,0	7,0	2,05	1,95		12,0
Si <sub>0,2</sub> HA	0,9	12,0	2,8	1,95		17,5
Si <sub>0,4</sub> HA	2,1	6,7	4,7	1,7		15,2
Si <sub>0,6</sub> HA	1,0	6,5	5,5	1,8		14,8
Si <sub>0,8</sub> HA	2,2	9,0	6,0	1,9		18,9
Si <sub>1,0</sub> HA	2,9	8,2	6,8	1,5		19,4

Tableau II-14 : Pertes de masse (%) des poudres de compositions  $0 \leq x \leq 1$  traitées sous atmosphère inerte ( $v = 15^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ )

Le domaine de température (I) s'étend de l'ambiante à  $100^\circ\text{C}$ . La perte de masse varie de 0,9 à 3% selon les compositions (Tab. II-14). Aucun lien ne semble exister entre ces valeurs et le taux de silicium initial dans les poudres. Un seul départ gazeux est mis en évidence à  $50^\circ\text{C}$  pour l'HA et  $60^\circ\text{C}$  pour les compositions silicatées.

Le domaine (II) est compris entre 100 et  $425^\circ\text{C}$ . Il se caractérise par une perte de masse brutale de 6 à 12% qui semble indépendante du taux de silicium initial. Les courbes DTG des compositions HA et Si<sub>0,2</sub>HA présentent un profil différent de ceux des compositions plus riches en silicium. En effet, un seul pic est visible pour HA et Si<sub>0,2</sub>HA respectivement à 235 et  $250^\circ\text{C}$ . Deux pics successifs peuvent être observés sur les courbes des compositions  $x > 0,2$  à 200 et  $265^\circ\text{C}$ . Ils sont d'autant plus discernables que la teneur en silicium augmente.

Le troisième domaine (III) qui s'étend de 425 à  $800^\circ\text{C}$  est caractérisé par deux pics successifs sur les courbes DTG communs à toutes les compositions. Cependant, les compositions de faible teneur en silicium (HA et Si<sub>0,2</sub>HA) se distinguent des autres par un décalage de ces pics vers les basses températures. Le premier pic se situe à 500 et  $490^\circ\text{C}$  respectivement pour les poudres  $x \leq 0,2$  et  $x > 0,2$  et le second sort à 680, 660 et  $650^\circ\text{C}$  respectivement pour HA, Si<sub>0,2</sub>HA et Si<sub>x</sub>HA ( $x > 0,2$ ). Chacun d'eux voit son intensité

augmenter avec le taux de silicium. Les pertes de masse associées à ce domaine de température augmentent avec le taux de silicium de 2 à 6,8%.

Un quatrième domaine (IV) peut être défini au-delà de 800°C. Une perte de masse globale de moins de 2% caractérise cet intervalle. La courbe DTG de l'HA met en évidence deux pics centrés sur 970 et 1320°C. Celles des poudres contenant le silicium en présentent trois. Le premier pic, centré sur 860°C, ne varie pas avec la teneur initiale en silicium. Par contre, le second situé à 940°C pour  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$  se décale vers les hautes températures avec l'augmentation de la teneur en silicium dans les poudres, passant ainsi de 1060°C ( $\text{Si}_{0,6}\text{HA}$ ) à 1080°C ( $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ ). Son intensité croît avec le taux de silicium. Le troisième pic est observé aux alentours de 1350°C.

La figure II-13 présente les courbes d'analyses thermiques différentielles des compositions  $0 \leq x \leq 1$  traitées thermiquement sous atmosphère inerte ( $v = 15^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$ ). L'allure générale de ces courbes diffère peu d'une composition à l'autre. Deux pics ou épaulements (selon l'intensité) sont observés entre l'ambiante et 400°C. Le maximum du premier pic est situé à 60°C quelle que soit la composition. Le second pic, centré sur 240°C (HA et  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$ ) se décale légèrement vers les basses températures (220°C) pour les compositions plus riches en silicium.

Entre 400 et 800°C, deux autres pics endothermiques, centrés à 500 et 670°C, de très faible intensité sont enregistrés sur les courbes des poudres  $\text{Si}_x\text{HA}$ . Ils correspondent aux deux pertes de masse décrites dans le domaine de température (III). En revanche, aucun pic n'est observé sur la courbe de l'HA bien qu'une faible perte de masse soit enregistrée en thermogravimétrie.

Au-delà de 1000°C, un large pic endothermique intense centré autour de 1100°C, se dessine. Le maximum de ces pics est décalé vers les basses températures lorsque le taux de silicium initial augmente. Les valeurs sont regroupées dans le tableau II-15.

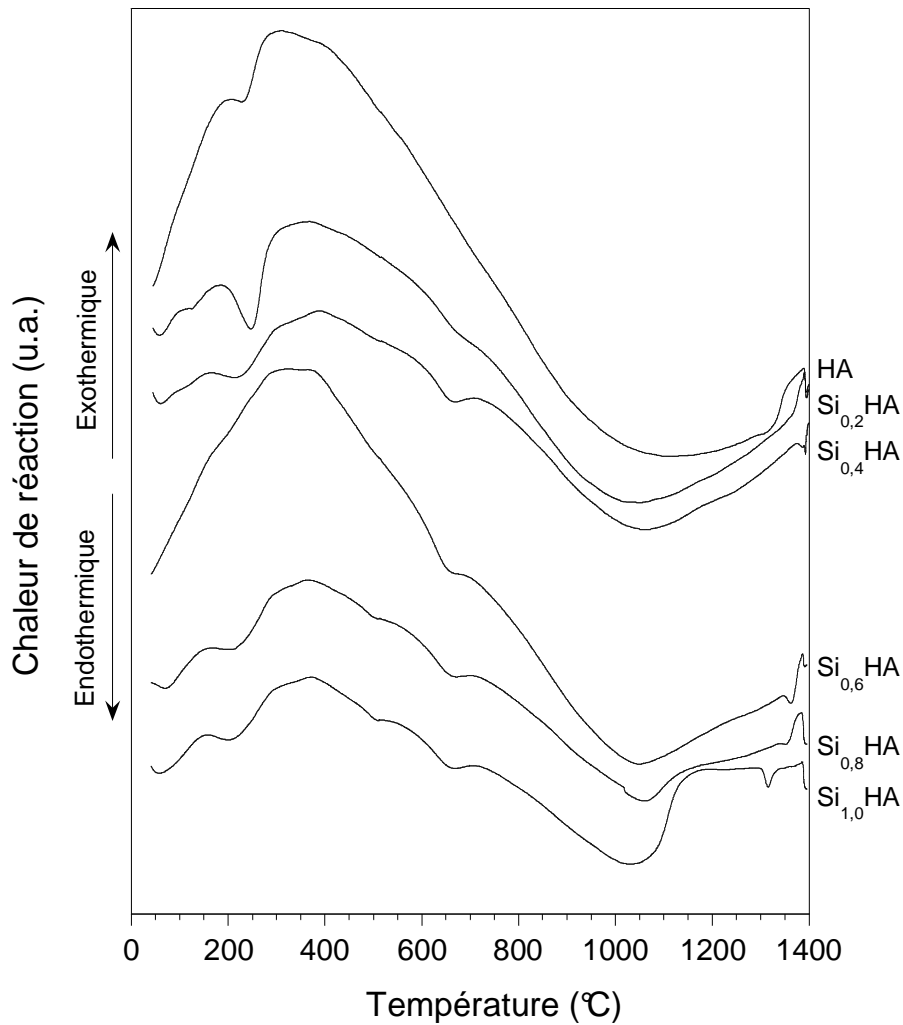


Figure II-13 : Courbes d'analyses thermiques différentielles (ATD) des compositions  $0 \leq x \leq 1$  traitées sous atmosphère inerte ( $v = 15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ )

Au dessus de  $1300^\circ\text{C}$ , toutes les compositions présentent un pic endothermique plus ou moins intense, situé à  $1390^\circ\text{C}$  et  $1316^\circ\text{C}$  respectivement pour HA et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ . Les valeurs des maxima de ces pics pour les autres compositions sont répertoriées dans le tableau II-15. Elles sont décalées vers les basses températures lorsque la teneur initiale en silicium augmente.

Maxima des pics endothermiques	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,4</sub> HA	Si <sub>0,6</sub> HA	Si <sub>0,8</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
1000 < T(°C) < 1200	1105	1050	1050	1050	1050	1030
T(°C) > 1200	1390	1390	1389	1362	1350	1316

Tableau II-15 : Températures des pics endothermiques au dessus de 1000°C

La figure II-14 présente l'évolution des quantités d'espèces répondant aux masses 12, 17, 30, 44, 45 et 46 en fonction de la température pour les compositions HA, Si<sub>0,4</sub>HA et Si<sub>1,0</sub>HA. A partir de ces résultats, les pertes de masse, dues à des départs gazeux, observées entre l'ambiante et 1400°C vont pouvoir être identifiées.

Les masses 17 et 18 correspondent sans ambiguïté à l'eau (Tab. II-13). Cette dernière se dégage des poudres entre 20 et 600°C. Les deux pics principaux sur la courbe d'émission de la masse 17 montrent que l'eau constitue l'essentiel de la première perte de masse centrée vers 60°C.

Les pertes de masse entre 100 et 425°C (domaine II) sont associées à l'émission des masses 12, 30, 44 et 45. Dans ce domaine de températures, les masses 30, 44 et 45 correspondent à un possible départ de composés azotés tels que NO ou N<sub>2</sub>O. Le pic de la masse 12 témoigne du départ d'un gaz carboné, CO ou CO<sub>2</sub>.

Deux pics d'émission des masses 46 et 30 sont enregistrés respectivement pour des températures de 500 et 650°C dans la poudre de composition Si<sub>0,4</sub>HA (domaine III). Ils sont attribués aux départs gazeux de résidus azotés NO<sub>2</sub> et NO.

Dans le quatrième domaine (800 – 1000°C) des pics d'émission des masses 12, 44, 45 et 46 sont détectés. Ceux-ci correspondent sans ambiguïté aux départs de composés carbonés tels que le dioxyde de carbone.

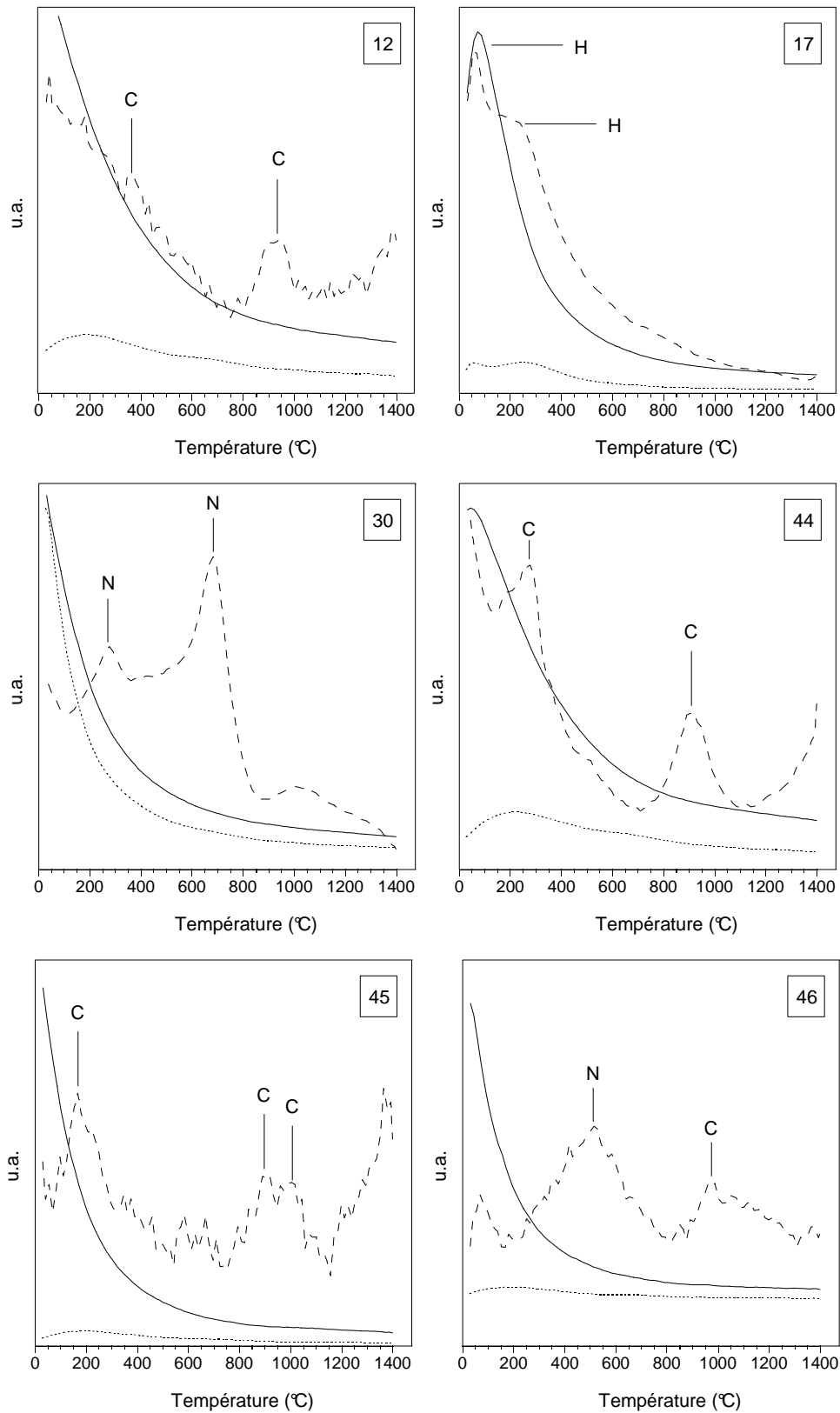


Figure II-14 : Emission des masses 12, 17, 30, 44, 45 et 46 au cours du traitement thermique de HA (—), Si<sub>0,4</sub>HA (---) et Si<sub>1,0</sub>HA (...) sous atmosphère inerte (He), (C) représente un départ de composés carbonés, (N) de composés azotés et (H) d'eau

## b. Analyses structurales

La figure II-15 présente le diffractogramme d'une poudre d'HA calcinée sous air à 1300°C pendant 120 min. Seuls les pics de la phase apatitique (PDF 9-432) sont détectés et ce quel que soit le traitement thermique appliqué ( $T_{\text{amb}} < T \leq 1300^{\circ}\text{C}$ ,  $0 < t \leq 120$  min). Ce diffractogramme sert de référence.

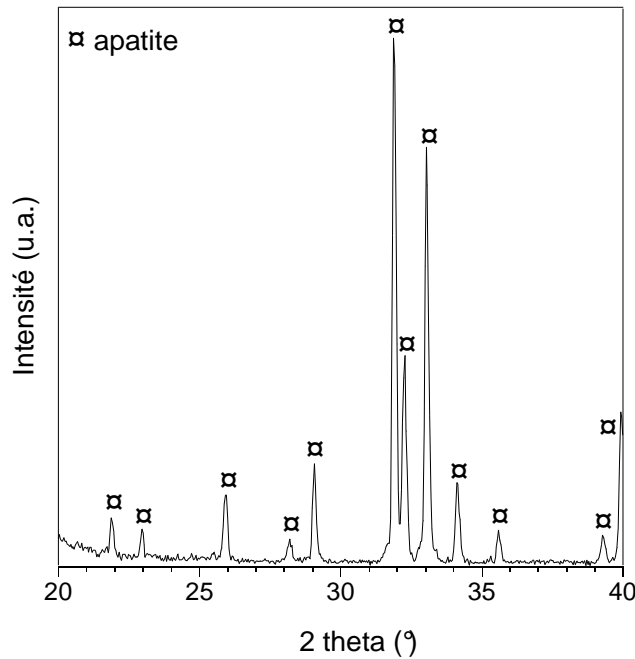


Figure II-15 : Diffractogramme de la composition HA calcinée à 1300°C pendant 120 min

L'ensemble des poudres  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $0,2 \leq x \leq 1,0$ ) dans le domaine de températures  $T_{\text{amb}} - 1000^{\circ}\text{C}$  ayant un comportement similaire, l'étude est plus particulièrement détaillée pour les poudres  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ . Les diffractogrammes de ces compositions calcinées à différentes températures jusqu'à 1000°C sont présentés figure II-16.

De la température ambiante (poudre brute de synthèse) à 1000°C, la poudre de composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  garde la structure apatitique sans qu'aucune phase secondaire ne soit détectée (Fig. II-16a). Le même comportement est observé pour  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  jusqu'à 900°C alors que la phase TCP- $\alpha$  (PDF 9-348) est détectée à 1000°C (Fig. II-16b). Des affinements de paramètres de maille de l'apatite ont été réalisés par la méthode Rietveld sur la poudre  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  calcinée entre 700 et 1000°C. Le tableau II-16 regroupe les résultats.



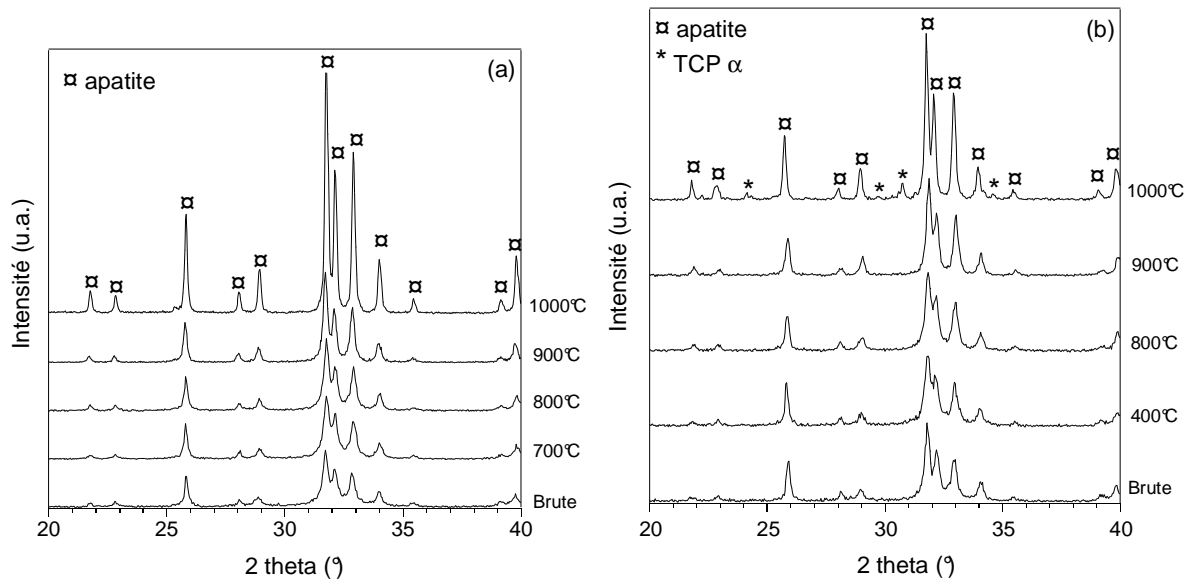


Figure II-16 : Diffractogrammes des poudres de composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  (a) et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  (b) à différentes températures de calcination ( $20 \leq T \leq 1000^\circ\text{C}$ )

Temperature ( $^\circ\text{C}$ )	700	800	900	1000
a ( $\text{Å}$ )	9,4109(9)	9,4172(0)	9,4220(5)	9,4217(0)
c ( $\text{Å}$ )	6,8907(8)	6,8933(1)	6,8936(6)	6,8970(6)
Volume de maille ( $\text{Å}^3$ )	528,53(1)	529,42(2)	529,99(4)	530,21(7)

Tableau II-16 : Paramètres et volume de maille de la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  au cours de la calcination

Les paramètres de maille a et c augmentent avec la température (de 700 à 1000 $^\circ\text{C}$ ) excepté le paramètre a qui se stabilise entre 900 à 1000 $^\circ\text{C}$  (respectivement de 9,4220 à 9,4217  $\text{Å}$ ). Le volume de maille total augmente lui aussi avec la température de 528,53 à 530,21  $\text{Å}^3$ .

La figure II-17 présente les diffractogrammes des poudres (de 0 à 1 mol de silicium) après calcination à 1000 $^\circ\text{C}$  pendant 15 h.

Les poudres contenant jusqu'à 0,8 mol de silicium ( $\text{Si}_{0,8}\text{HA}$ ) sont monophasées et de structure apatitique. A partir de 1,0 mol de silicium, la poudre est biphasée, composée d'hydroxyapatite (HA) et de phosphate tricalcique alpha (TCP- $\alpha$ ).

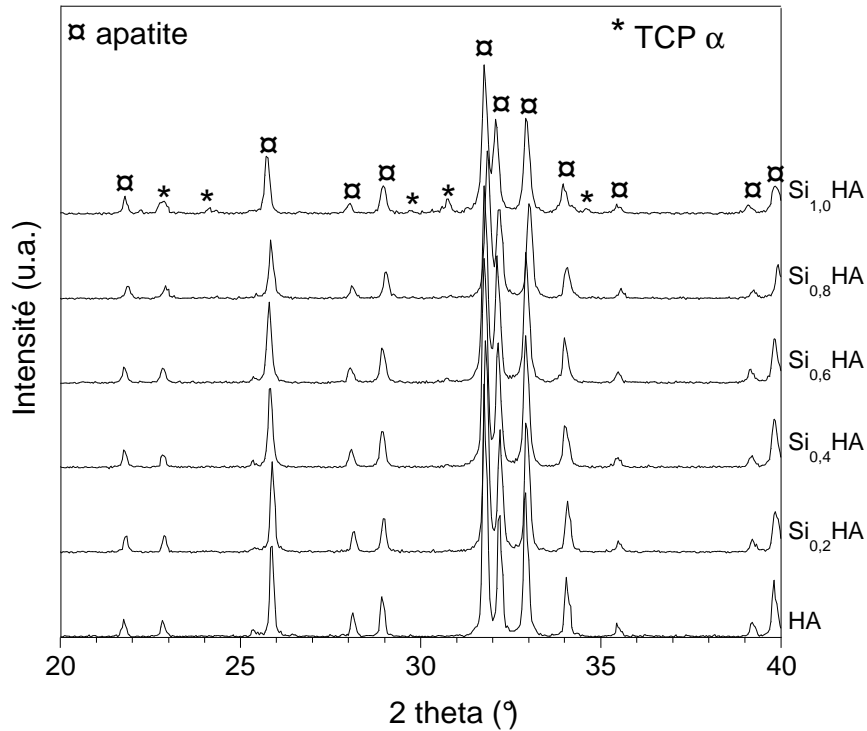


Figure II-17 : Diffractogrammes des poudres traitées thermiquement à 1000°C pendant 15 h

Les résultats des affinements des paramètres de maille de ces apatites sont répertoriés dans le tableau II-17. Le volume de maille de l'HA déterminé par affinement Rietveld est très proche de celui calculé (PDF 9-432). Les paramètres  $a$  et  $c$  augmentent avec le taux de silicium de HA à Si<sub>0,6</sub>HA. Au-delà de cette teneur en silicium, le paramètre  $c$  continue d'augmenter alors que le paramètre  $a$  reprend la valeur mesurée dans l'HA. Dans tous les cas, le volume de maille augmente avec le taux de silicium.

Références	(PDF -9-432)	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,4</sub> HA	Si <sub>0,6</sub> HA	Si <sub>0,8</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
$a$ (Å)	9,4180	9,4201(6)	9,4216(1)	9,4217(0)	9,4222(1)	9,4202(0)	9,4203(0)
$c$ (Å)	6,8840	6,8826(9)	6,8886(8)	6,8970(6)	6,9057(7)	6,9134(4)	6,9239(6)
Volume de maille (Å <sup>3</sup> )	528,800	528,93(9)	529,56(2)	530,21(7)	530,94(3)	531,30(7)	532,12(6)

Tableau II-17 : Paramètres et volumes de maille ( $a$ ,  $c$  et  $V_m$ )

Les liaisons Si-O (0,161 nm) étant plus longues que les liaisons P-O (0,155 nm), le volume des tétraèdres SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup> est lui aussi plus important que celui des tétraèdres de phosphates PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. L'incorporation de silicates au sein de l'apatite engendre donc une

dilatation de la maille comme en témoigne l'augmentation de volume mesurée par affinement Rietveld (Tab. II-17).

Pour les températures supérieures à 1000°C, le suivi des phases est détaillé pour les compositions  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  (Fig. II-18 et II-20).

La composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  conserve la structure apatitique jusqu'à 1200°C pour 30 min de calcination. Au-delà de cette température, ou de ce temps de palier à 1200°C, un pic de très faible intensité est détecté. Il correspond au pic principal de la phase TCP- $\alpha$ . L'intensité de ce pic augmente avec la température et le temps de calcination. Plusieurs pics de cette phase sont détectés sur le diffractogramme de l'échantillon calciné à 1300°C – 120 min (Fig. II-18). De plus, le pic situé à 33° (2 $\theta$ ) jusqu'à présent attribué à l'HA peut aussi témoigner, pour des températures de calcination de l'ordre de 1200°C, de la présence d'un silicate de calcium de formule chimique  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  (PDF 86-401). En effet, selon la fiche de l'HA (PDF 9-432), l'intensité relative du pic à 2 $\theta$  = 33° est identique à celle du pic situé à 2 $\theta$  = 32,2° (60%) (Fig. II-19a). Or, en présence de silicium et à 1300°C, l'intensité relative du pic à 33° est beaucoup plus forte (Fig. II-19b). Cette augmentation résulte de la contribution du pic de l'HA et du pic principal de la phase  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  (Fig. II-18). De plus, le pic situé à 33,8° (2 $\theta$ ) pourrait être attribué au phosphate tétracalcique  $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$  (PDF 25-1137).

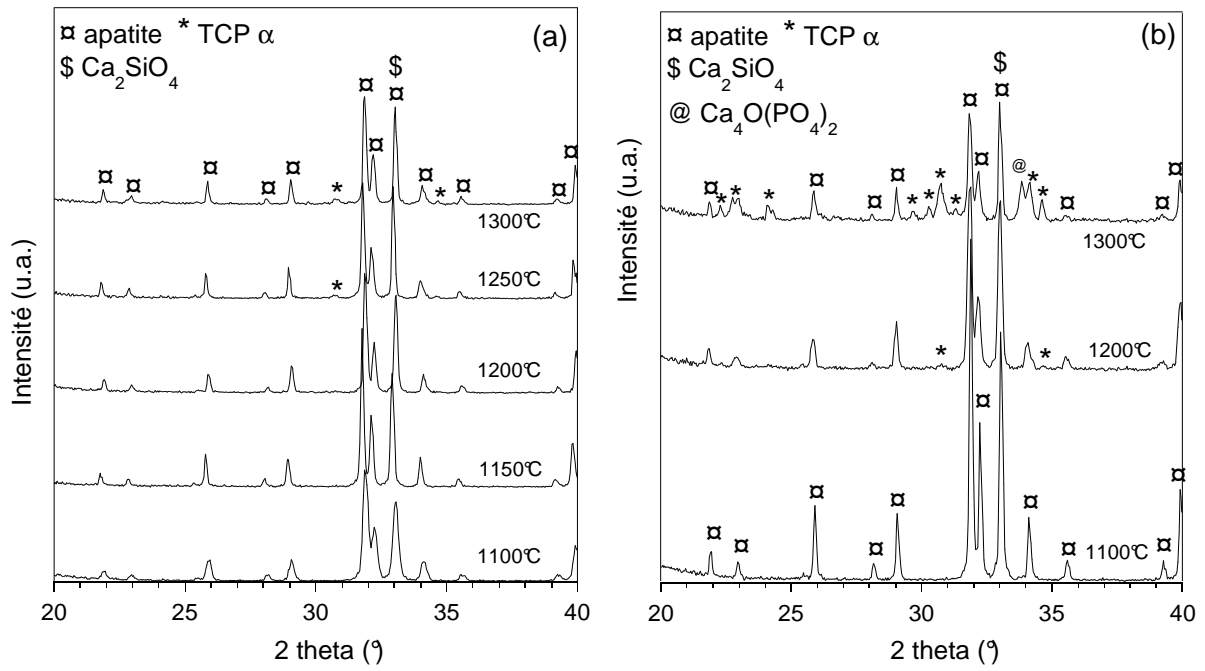


Figure II-18 : Diffractogrammes de la composition Si<sub>0,5</sub>HA calcinée sous air de 1100 à 1300°C pendant 30 min (a) et 120 min (b)

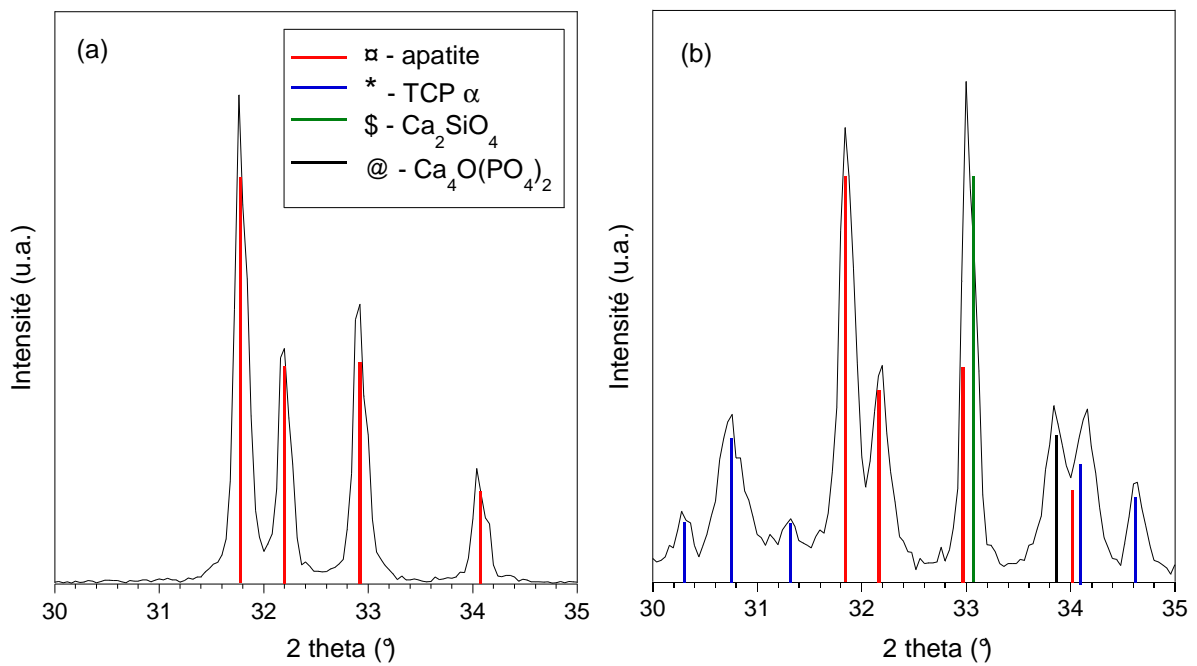


Figure II-19 : Diffractogrammes de l'HA calcinée sous air à 1000°C pendant 15 h (a) et de Si<sub>0,5</sub>HA calcinée à 1300°C – 120 min (b) dans le domaine angulaire (2θ) 30 – 35°

Pour l'échantillon de composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  calciné à  $1000^\circ\text{C}$  pendant 15 h, la phase TCP- $\alpha$  est déjà détectée (Fig. II-17). En dessous de cette température, la composition est monophasée de structure apatitique (Fig. II-16b). A  $1100^\circ\text{C}$  – 30 min, la phase TCP- $\alpha$  n'est pas détectée, elle n'apparaît qu'à partir de  $1150^\circ\text{C}$  (Fig. II-20a). Pour ce même temps de calcination, l'intensité du pic principal de TCP- $\alpha$  augmente légèrement avec la température de  $1150$  à  $1200^\circ\text{C}$ . Au-dessus de  $1200^\circ\text{C}$ , la proportion de la phase TCP- $\alpha$  semble diminuer (baisse de l'intensité des pics) pour être nulle à  $1300^\circ\text{C}$ , température à laquelle apparaît une troisième phase identifiée comme étant la silicocarnotite de formule chimique type  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2$  (PDF 40-393). Comme pour la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$ , le pic situé à  $33^\circ$  (2 $\theta$ ) peut correspondre à  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ . Cette phase est détectée dès  $1150$ - $1200^\circ\text{C}$  (30 min). Enfin, des traces de phosphate tétracalcique ( $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ ) sont observées sur les diffractogrammes des poudres calcinées à  $T \geq 1200^\circ\text{C}$ .

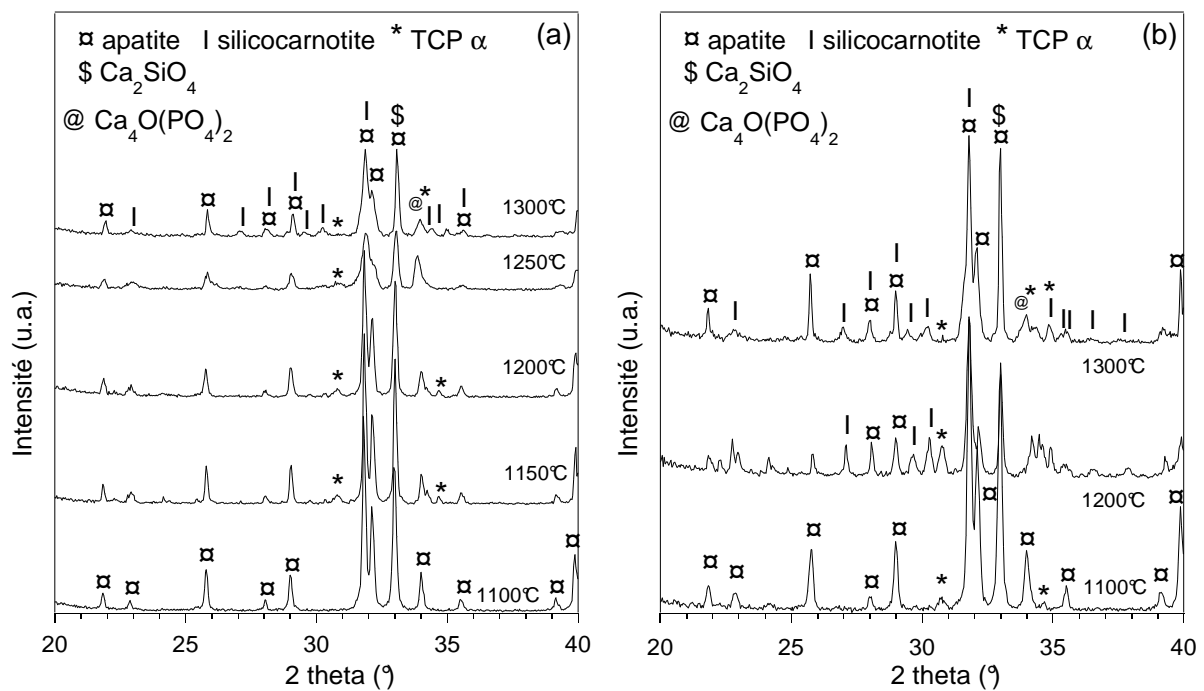


Figure II-20 : Diffractogrammes de la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  calcinée sous air de  $1100$  à  $1300^\circ\text{C}$  pendant 30 min (a) et 120 min (b)

A  $1100^\circ\text{C}$ , une augmentation du temps de calcination de 30 à 120 min engendre l'apparition de la phase TCP- $\alpha$  en faible proportion (Fig. II-20). A plus haute température,  $1200^\circ\text{C}$ , c'est la phase silicocarnotite qui apparaît en proportion non négligeable pour la durée

de palier de 120 min. De manière similaire, à 1300°C, la quantité de silicocarnotite est plus grande après 120 min de calcination.

### c. Analyses spectroscopiques

Les spectres infrarouges de la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  en fonction de la température de calcination sont présentés dans la figure II-21.

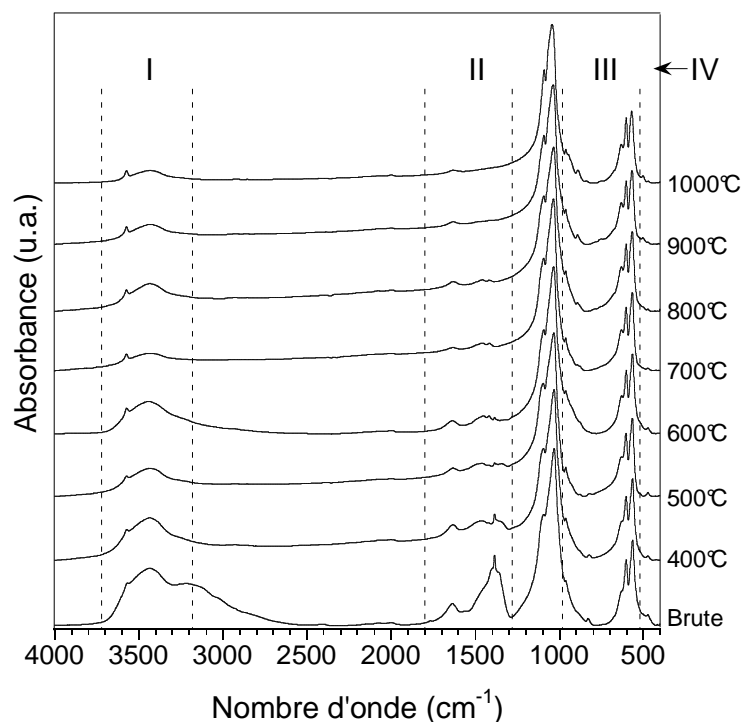


Figure II-21 : Spectres infrarouges de la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  en fonction de la température de calcination (120 min)

Pour faciliter la lecture de la figure II-21, elle a été divisée en quatre domaines I (4000-3000  $\text{cm}^{-1}$ ), II (1800-1300  $\text{cm}^{-1}$ ), III (1000-500  $\text{cm}^{-1}$ ) et IV (500-400  $\text{cm}^{-1}$ ) dont les figures correspondantes sont données Fig. II-22. La poudre brute est une apatite carbonatée. Les résidus de synthèse, non éliminés ici, la poudre n'ayant pas été lavée, sont caractérisés par une bande N-O très intense à 1384  $\text{cm}^{-1}$  et une autre moins intense à 825  $\text{cm}^{-1}$ . Une température de 600°C est nécessaire pour l'élimination totale de ces résidus (Fig. II-22<sub>II</sub> et II-22<sub>III</sub>). Les groupements carbonate en sites B de l'apatite sont présents jusqu'à 800°C comme en témoignent les bandes à 1450, 1420 et 875  $\text{cm}^{-1}$ . Au dessus de cette température, les

bandes relatives à ces groupements ne sont plus détectées (Fig. II-22<sub>II</sub> et II-22<sub>III</sub>). Les bandes attribuées à l'eau, situées à 1630 et 3450  $\text{cm}^{-1}$  voient leur intensité légèrement diminuer au cours du traitement thermique (Fig. II-22<sub>I</sub> et II-22<sub>II</sub>).

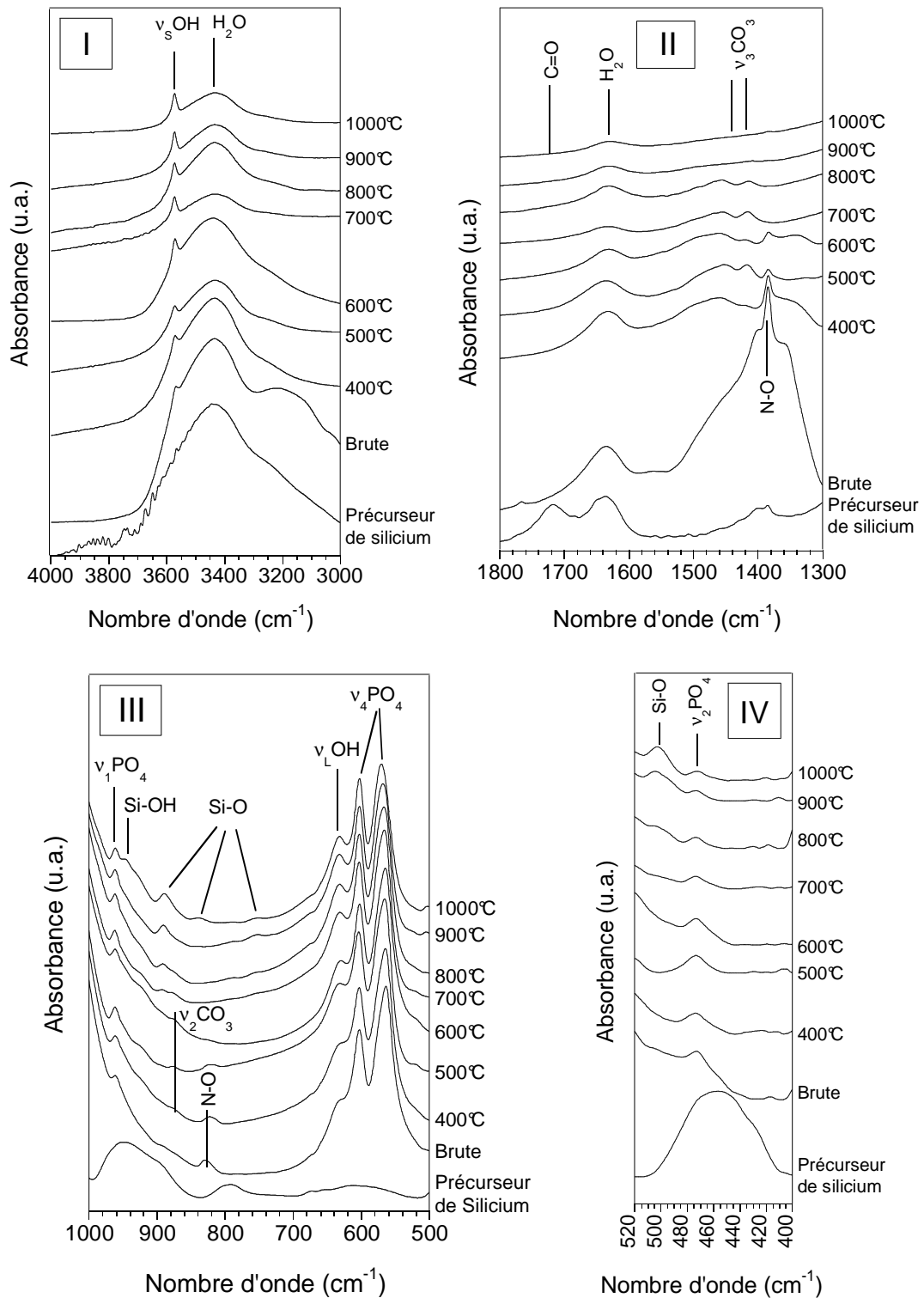


Figure II-22 : Spectres infrarouges de la composition  $\text{Si}_{0.4}\text{HA}$  en fonction de la température de calcination (120 min)

Aucun changement n'est détecté jusqu'à 1000°C concernant les bandes phosphates  $\nu_1$  à 961  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_3$  à 1090 et 1030  $\text{cm}^{-1}$  et  $\nu_4$  à 602 et 565  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. II-22<sub>III</sub>) ainsi que pour les bandes OH,  $\nu_L$  et  $\nu_S$ , à 630 et 3571  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. II-22<sub>I</sub> et 22<sub>III</sub>). Exceptée la faible bande à 892  $\text{cm}^{-1}$ , aucune bande caractéristique des liaisons Si-O n'est détectée entre la température ambiante et 600°C. A partir de 700°C, l'intensité relative de la bande  $\nu_2\text{PO}_4$  diminue au cours du traitement thermique. Dans le même temps, une nouvelle bande apparaît à 505  $\text{cm}^{-1}$  dont l'intensité relative augmente fortement avec la température (Fig. II-22<sub>IV</sub>). Elle est attribuée à la liaison Si-O dans le tétraèdre  $\text{SiO}_4^{4-}$ . De nouvelles bandes font également leur apparition dans ce domaine de température à 945, 840 et 753  $\text{cm}^{-1}$  (Fig. II-22<sub>III</sub>). La première (à 945  $\text{cm}^{-1}$ ) caractérise les liaisons Si-OH alors que les deux dernières (840 et 753  $\text{cm}^{-1}$ ) sont attribuées aux liaisons Si-O dans les tétraèdres  $\text{SiO}_4^{4-}$  (Tab. II-3).

La figure II-23 présente les spectres infrarouges des poudres des différentes compositions calcinées à 1000°C pendant 15 h.

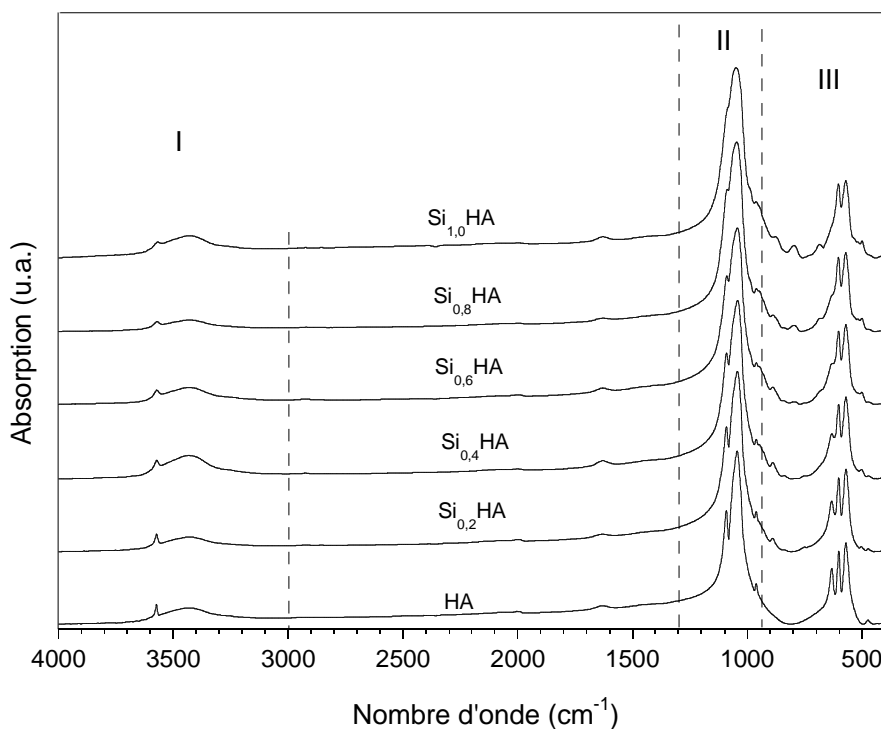


Figure II-23 : Spectres infrarouges de la composition des différentes compositions

L'intensité des bandes des modes  $\nu_1\text{PO}_4$  et  $\nu_2\text{PO}_4$  diminue avec l'augmentation de la teneur en silicium (Fig. II-24<sub>II</sub> et II-24<sub>III</sub>). L'intensité relative des bandes OH  $\nu_L$  (Fig. II-24<sub>I</sub>) et



$\nu_s$  (Fig. II-24<sub>III</sub>) diminue fortement de HA à  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ . Jusqu'à  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ , les bandes caractérisant la présence de liaisons Si-O dans  $\text{SiO}_4^{4-}$ , visibles à 890, 840 et 750  $\text{cm}^{-1}$  voient leur intensité augmenter en fonction de la teneur en silicium. Pour les compositions plus riches en silicium, ces bandes se décalent vers les faibles nombres d'onde respectivement à 870, 790 et 690  $\text{cm}^{-1}$ .

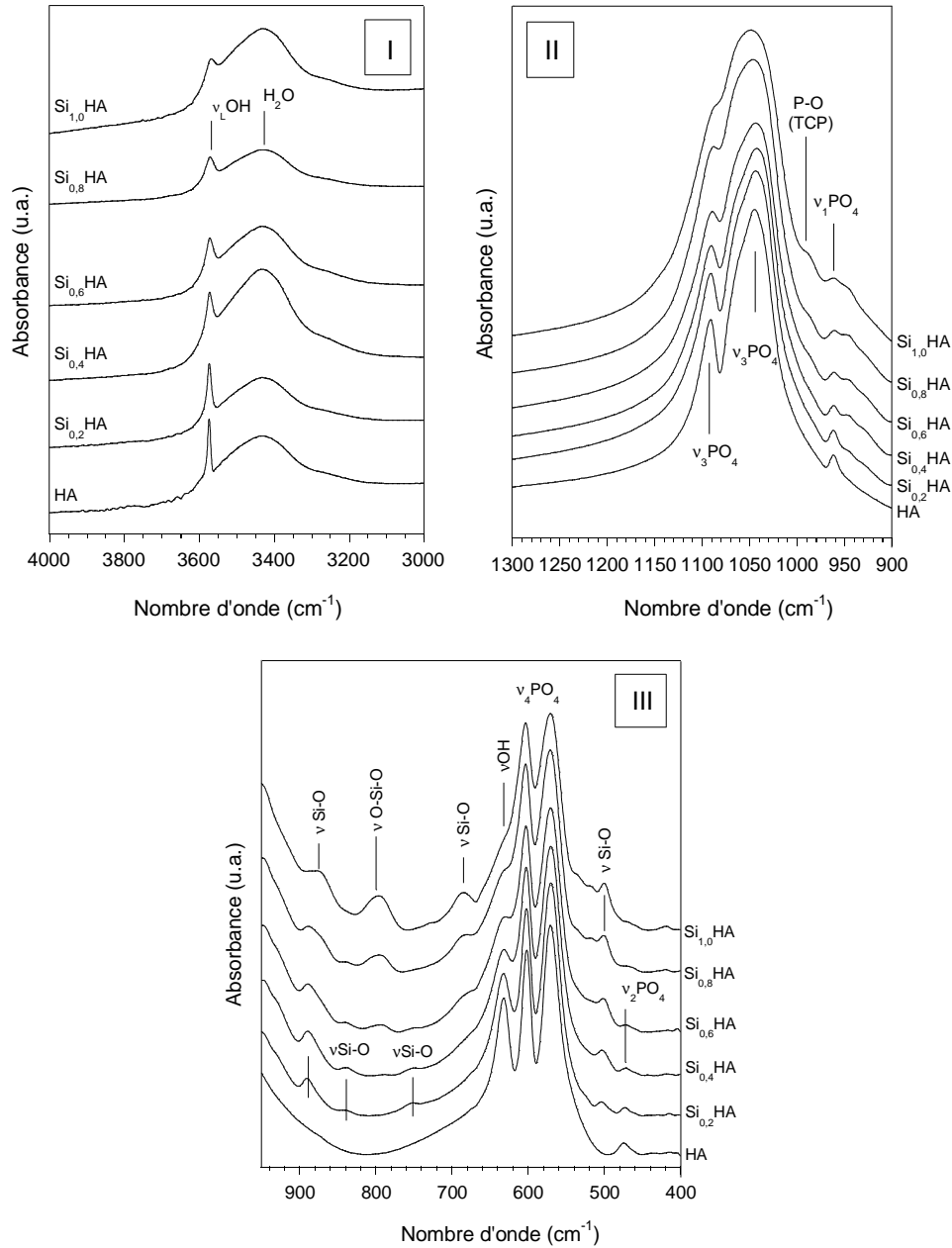


Figure II-24 : Spectres infrarouges de la composition des différentes compositions

## d. Analyses chimiques élémentaires

## d. 1. Technique de caractérisation

Le taux de carbonate contenu dans les poudres (exprimé ici en mole) est déterminé par analyse élémentaire à l'aide du même appareillage que celui vu précédemment. La quantité de silicium quant à elle, est mesurée par spectrométrie d'émission atomique couplé à un plasma induit ICP/AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy), grâce à un appareillage Thermo-Opteck de modèle Iris (Franklin, MA, USA). Les solutions utilisées pour ce dosage ont été élaborées par dissolution d'une masse précise de poudre dans des fioles jaugées de volume compris entre 50 et 1000 mL. Les échantillons ont été dissous à l'aide d'une solution d'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  à  $2 \text{ mol.L}^{-1}$ . La masse de poudre et le volume des fioles ont été ajustés pour que la concentration en silicium dans les solutions à doser soit comprise entre 20 et  $40 \text{ mg.mL}^{-1}$  (ppm).

## d. 2. Résultats

L'évolution des teneurs en carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et en silicium (Si) en fonction de la température de calcination est présentée dans la figure II-25 pour la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$ .

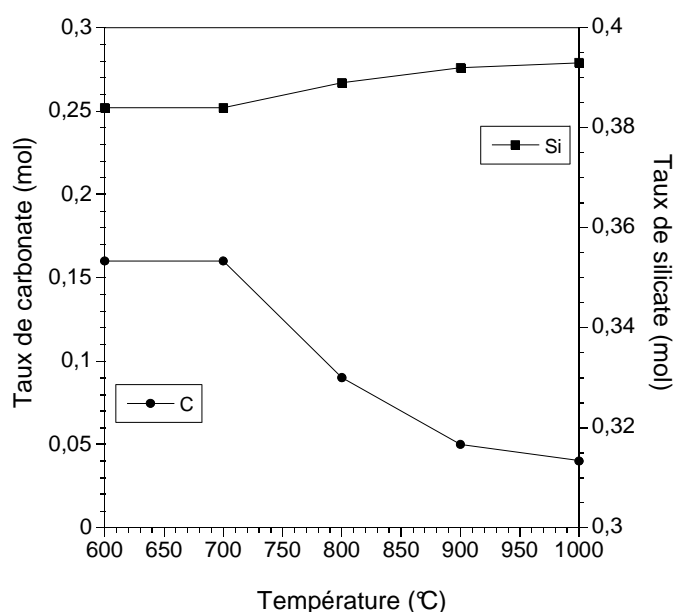


Figure II-25 : Evolution des teneurs en carbonate et silicate (C et Si) de la composition  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  en fonction de la température de calcination

Le taux de carbonate décroît de manière significative de 600 à 1000°C pour atteindre une valeur résiduelle de 0,04 mol. Ces résultats confirment les précédents obtenus en spectroscopie infrarouge. Le taux de silicium mesuré correspond au nombre de mole total de silicium dans la poudre. De ce fait, il ne devrait pas varier au cours du traitement thermique. Or de 600 à 1000°C, il augmente très légèrement de 0,384 à 0,393 mol. La valeur mesurée (teneur en silicium) étant dépendante de la masse de poudre introduite, l'écart enregistré entre 600 et 1000°C est une variation artéfactuelle due au changement de masse totale au cours de la calcination. En effet, la perte des carbonates engendre une faible diminution de cette masse. La teneur en silicium mesurée est identique (aux incertitudes expérimentales près) à celle introduite dans le réacteur.

Le taux de silicium des poudres calcinées à 1000°C pour les compositions jusqu'à  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  est donnée dans le tableau II-18.

Références	(PDF -9-432)	HA	$\text{Si}_{0,2}\text{HA}$	$\text{Si}_{0,4}\text{HA}$	$\text{Si}_{0,6}\text{HA}$	$\text{Si}_{0,8}\text{HA}$	$\text{Si}_{1,0}\text{HA}$
$x_{\text{Si}}$ attendu (mol)	0	0	0,200	0,400	0,600	0,800	1,000
$x_{\text{Si}}$ mesuré (mol)	0	0	0,188	0,384	0,589	0,764	0,958
Masse molaire ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )	1004,64	1004,64	1000,90	997,00	992,92	989,44	985,58
$D_x$ calculée ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	3,156	3,154	3,133	3,119	3,102	3,083	3,071
$\rho$ mesurée ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	-	3,135	3,108	3,110	3,112	3,089	3,057

Tableau II-18 : Masses volumiques (calculées et mesurées), masse molaire et teneur en silicium (attendue et mesurée) des poudres calcinées à 1000°C pendant 15 h

Les mesures déterminées par dosage ICP-AES sont quasi-identiques (mais toujours plus faibles) à celles définies pour la synthèse des poudres. Ces compositions ne sont composées que d'une seule phase (DRX) et le silicium est sous forme de tétraèdres silicatés  $\text{SiO}_4^{4-}$  (FTIR). Après calcination, tout le silicium introduit lors de la synthèse peut donc être considéré comme incorporé dans la structure.

**Remarque :** pour la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ , le faible pic de TCP- $\alpha$ , détecté par diffraction des rayons X (Fig. II-17), a été négligé pour le calcul de la masse molaire et de la densité.

A partir des quantités de silicium mesurées dans les poudres monophasées, la masse molaire des poudres peut être calculée sur la base d'une composition théorique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  (Tab. II-18). Cette grandeur permet de calculer la densité ( $D_x$ ) des poudres calcinées à partir de la relation :

$$D_x = \frac{M}{N_A \times V_M} \quad \text{où } V_M = a^2 \times c \times \sin 120 \quad (\text{Eq. II-16})$$

où  $M$  représente la masse molaire calculée,  $V_M$  le volume de maille calculé à partir des paramètres de maille et  $N_A$  le nombre d'Avogadro.

Les valeurs calculées ( $D_x$ ) des masses volumiques des poudres de différentes compositions sont très proches des masses volumiques ( $\rho$ ) mesurées par pycnométrie He (Tab. II-18), ce qui confirme que la poudre est bien une apatite monophasée.

### II. 1. 3. 2. Poudres de compositions $1 < x \leq 4$ mol

#### a. Analyses thermiques

La figure II-26 présente les courbes d'analyse thermique différentielle (ATD) et thermogravimétrie (TG) de la poudre  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  caractéristique de ce domaine de composition. L'interprétation de ces courbes est couplée à celle des courbes dérivées.

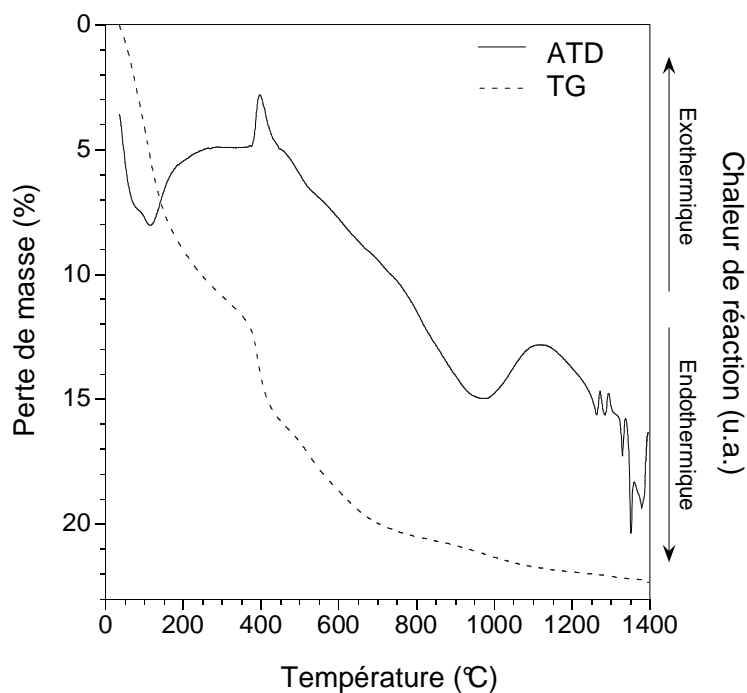


Figure II-26 : Courbes d'analyse thermique différentielle (ATD) et thermogravimétrique (TG) de la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  ( $v = 15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ )

La dérivée de la courbe thermogravimétrique (DTG) (Fig. II-27) permet de distinguer quatre domaines de températures notés I, II, III, et IV se différenciant par des cinétiques de pertes de masse distinctes. Les pertes de masse associées à chacun des quatre domaines de températures sont reportées dans le tableau II-19.

Température (°C)	30	300	425	800	1400	Perte
Domaine	I	II	III	IV		totale
$\text{Si}_{2,0}\text{HA}$	11,0	5,3	4,5	1,3		22,4

Tableau III-19 : Pertes de masse (%) de la poudre de composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  traitée sous atmosphère inerte ( $v = 15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ )

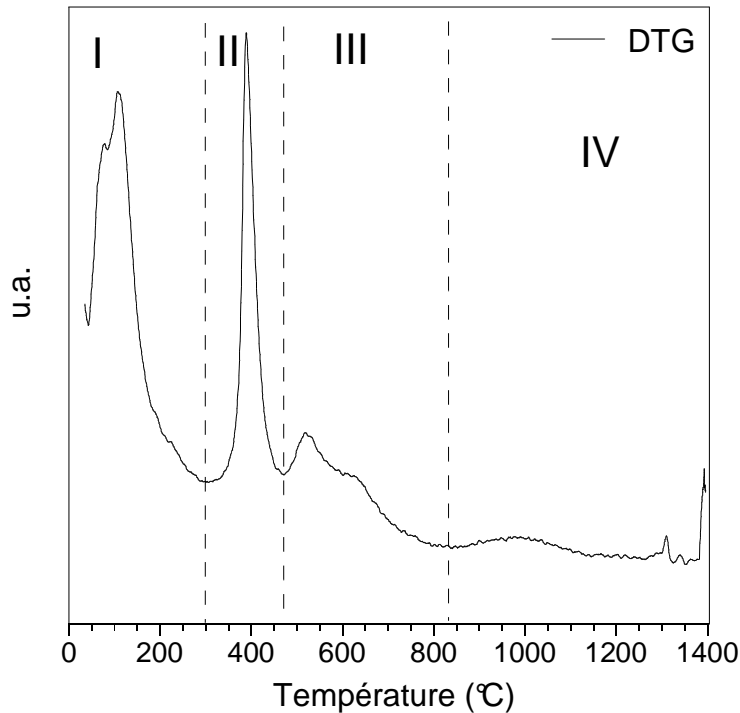


Figure II-27 : Dérivée de la courbe thermogravimétrique de la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$

Le domaine de température (I) s'étend de l'ambiante à  $300^\circ\text{C}$ . La perte de masse enregistrée dans ce domaine est d'environ 11% (Tab. II-19). Elle est accompagnée d'un pic endothermique dont le maximum se situe aux alentours de  $100^\circ\text{C}$  (Fig. II-26), traduisant le départ d'eau de l'échantillon.

Le domaine (II) est compris entre  $300$  et  $425^\circ\text{C}$ . Il se caractérise par une perte de masse brutale d'environ 5%.

Le troisième domaine (III) qui s'étend de  $425$  à  $800^\circ\text{C}$  est caractérisé par une perte de masse de 4,5%. Celle-ci est couplée à un très faible pic endothermique (épaulement) enregistré en ATD. De façon similaire aux résultats du paragraphe II.1.3.1 précédent, ces deux derniers domaines (II et III) correspondent au départ des résidus azotés.

Un quatrième domaine (IV) correspond aux températures supérieures à  $800^\circ\text{C}$ . Une faible perte de masse, de 1,6%, caractérise cet intervalle. Cette perte de masse est couplée à un large pic endothermique centré sur  $960^\circ\text{C}$  (ATD). Au-delà de  $1000^\circ\text{C}$ , plusieurs pics endothermiques à  $1262$ ,  $1284$ ,  $1330$ ,  $1351$  et  $1379^\circ\text{C}$  sont enregistrés sur la courbe d'analyse thermique différentielle.

**Remarque :** au cours de la calcination, la poudre riche en phase amorphe siliciée réagit avec l'alumine du creuset (constat visuel, collage aux parois). Différents silicates peuvent se former et plus particulièrement la mullite ( $3 \text{ Al}_2\text{O}_3, 2 \text{ SiO}_2$ ). Vers  $1100^\circ\text{C}$  et en présence de CaO, la formation d'anorthite ( $\text{Al}_2\text{Ca}(\text{SiO}_4)_2$ ) peut aussi avoir lieu [PAS65]. Ces réactions pourraient expliquer les pics enregistrés au dessus de  $1000^\circ\text{C}$  en analyse thermique différentielle.

### b. Analyses structurales

La figure II-28 présente les diffractogrammes de la poudre de composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  pour différentes températures de calcination pendant 120 min.

De la température ambiante à  $600^\circ\text{C}$ , le diffractogramme de la poudre  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  présente deux larges pics centrés sur les angles  $32^\circ$  et  $28^\circ$  ( $2\theta$ ) qui pourraient être attribués à une phase apatitique. A partir de  $700^\circ\text{C}$ , deux phases apparaissent et sont identifiées comme étant des phases isomorphes du phosphate tricalcique alpha  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-}\alpha$  (PDF 9-348) et de l'apatite HA (PDF 9-432). L'intensité relative des pics du TCP- $\alpha$  augmente avec la température.

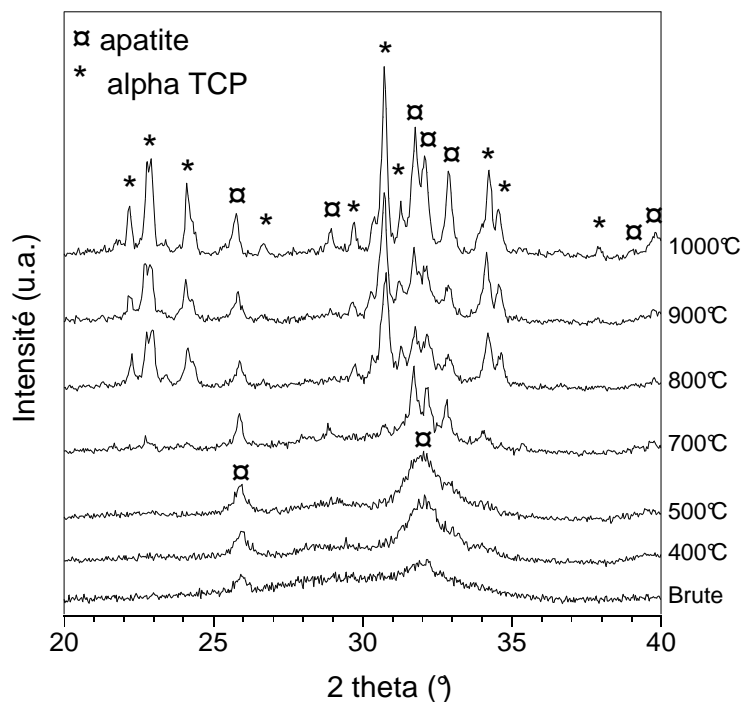


Figure II-28 : Diffractogrammes de la poudre  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  à différentes températures de calcination (120 min)

La figure II-29 présente les diffractogrammes des poudres de composition  $\text{Si}_x\text{HA}$ , telle que  $x > 1$  mol, calcinées à  $1000^\circ\text{C}$  15 h.

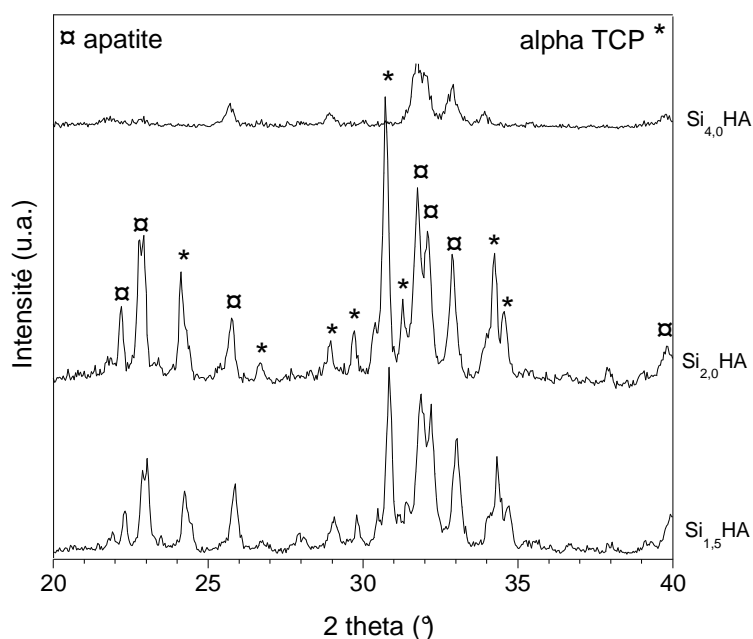


Figure II-29 : Diffractogrammes des poudres traitées thermiquement à  $1000^\circ\text{C}$  pendant 15 h

L'augmentation de la teneur en silicium engendre une hausse de l'intensité des pics de la phase secondaire TCP- $\alpha$ . Enfin, le diffractogramme de la poudre  $\text{Si}_{4,0}\text{HA}$  est toujours formé de larges pics centrés sur les pics principaux de la phase apatitique, soit  $32$ ,  $28$  et  $26^\circ$  ( $2\theta$ ).

### c. Analyses spectroscopiques

Les spectres infrarouges de la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  en fonction de la température de calcination jusqu'à  $1000^\circ\text{C}$  sont présentés dans la figure II-30.



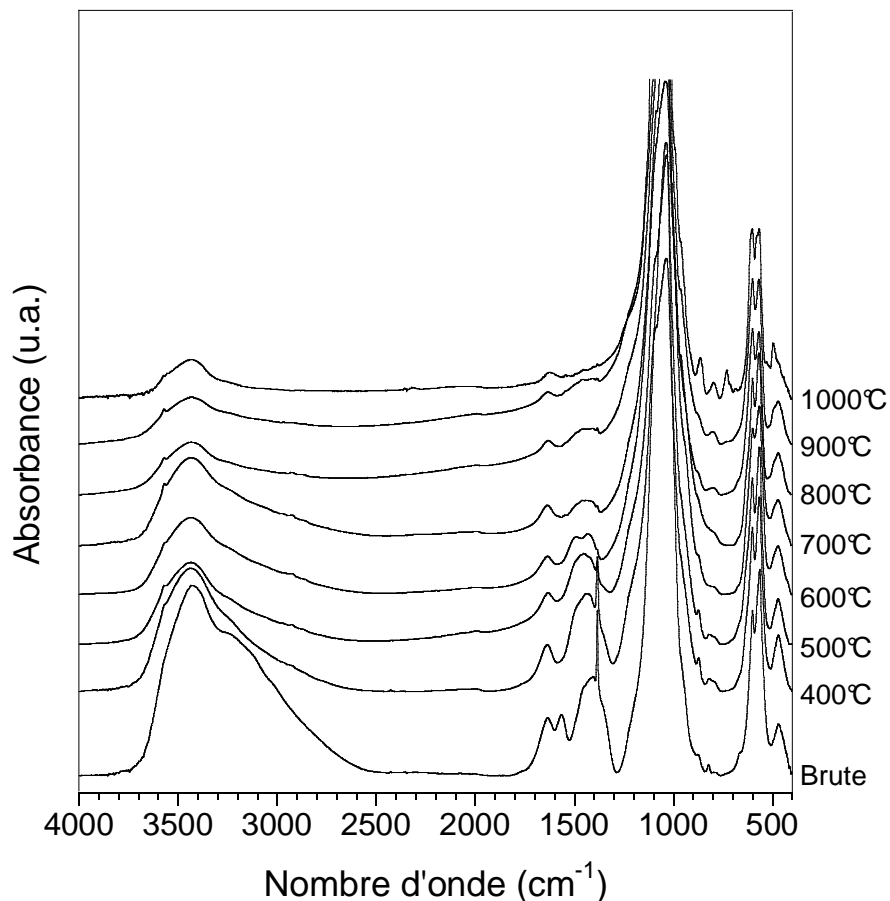


Figure II-30 : Spectres infrarouges de la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  en fonction de la température de calcination (120 min)

Les spectres infrarouges de cette composition correspondent à celui d'une apatite. La figure II-31 présente des agrandissements de la figure II-30 afin de mieux observer l'apparition de nouvelles bandes.

Les bandes à  $1384$  et  $825\text{ cm}^{-1}$  témoignent de la présence de résidus azotés de synthèse. L'intensité relative de ces bandes diminue au cours du traitement thermique pour devenir nulle au dessus de  $700^\circ\text{C}$  (Fig. II-31<sub>1</sub>). Les bandes des groupements carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) en sites mixtes A / B sont situées à  $1420 - 1450 - 1552$  et  $876\text{ cm}^{-1}$ . L'intensité des ces bandes diminue avec la température de calcination à partir de  $700^\circ\text{C}$  jusqu'à disparition de celles-ci au dessus de  $900^\circ\text{C}$  (Fig. II-31<sub>1</sub>).

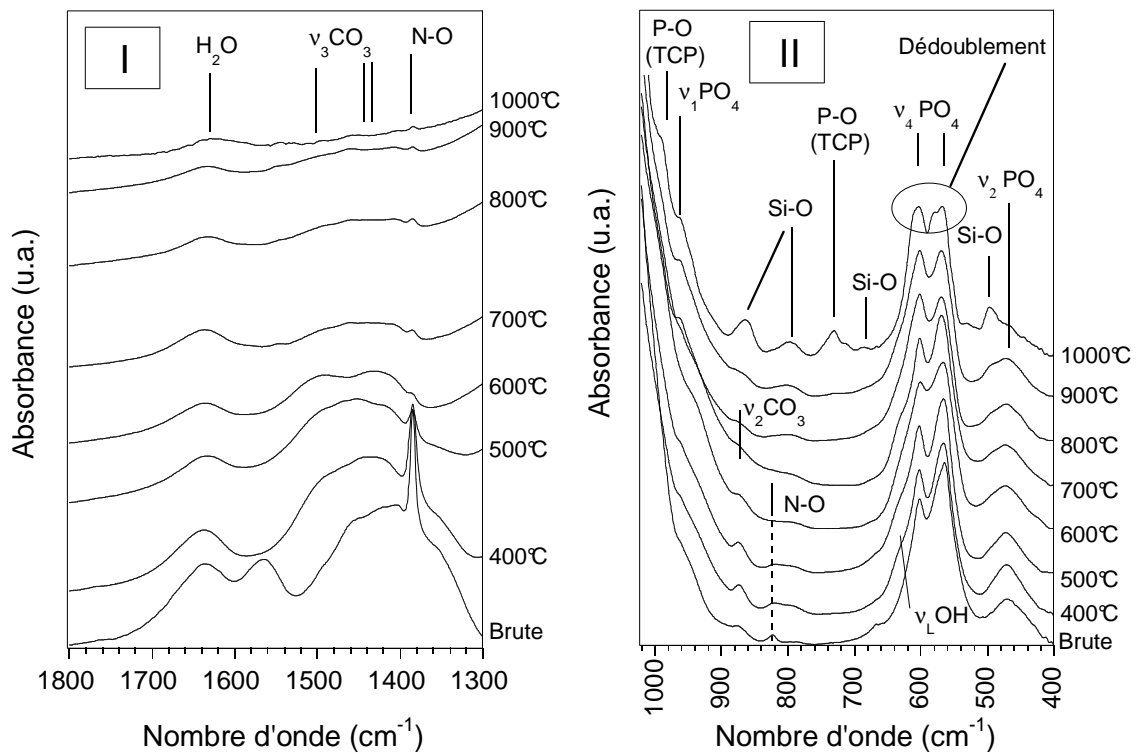


Figure II-31 : Spectres infrarouges de la composition  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$  en fonction de la température

Parallèlement, à partir de  $700^\circ\text{C}$ , de nouvelles bandes à  $863$ ,  $798$  et  $496\text{ cm}^{-1}$  font leur apparition. Elles sont attribuées aux liaisons Si-O dans les tétraèdres silicatés ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ). La bande à  $732\text{ cm}^{-1}$  observée après calcination à  $1000^\circ\text{C}$  témoigne de la présence de phosphate tricalcique, confirmé par le dédoublement des bandes  $\nu_4\text{PO}_4$ . En effet, les bandes à  $600$  et  $570\text{ cm}^{-1}$  sont dédoublées à  $600 - 615\text{ cm}^{-1}$  et  $570 - 587\text{ cm}^{-1}$  (Fig. II-31II).

Les spectres infrarouges des compositions  $\text{Si}_x\text{HA}$  telles que  $x > 1$  mol sont donnés dans la figure II-32.

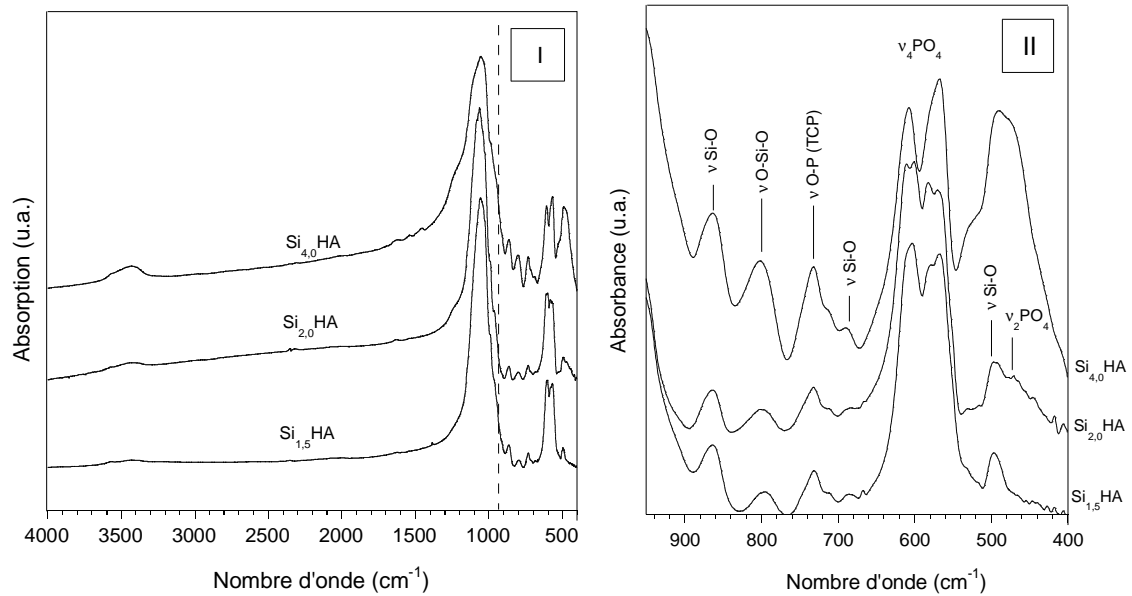
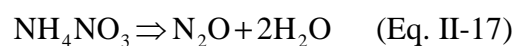


Figure II-32 : Spectres infrarouges des différentes compositions

L'augmentation du taux de silicium dans les poudres est marquée par un dédoublement des raies les plus intenses relatives aux groupements phosphate  $\text{PO}_4^{3-}$  (Fig. II-32<sub>II</sub>) et à 570 et 600  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_4\text{PO}_4$ ) pour les compositions  $\text{Si}_{1,5}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{2,0}\text{HA}$ . Ces poudres riches en silicium présentent deux bandes supplémentaires à 995 et 732  $\text{cm}^{-1}$  qui témoignent de la présence de liaisons phosphate P-O dans une structure de phosphate tricalcique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) [ARC04-a]. De plus, les deux bandes situées à 793 et 680  $\text{cm}^{-1}$  correspondent respectivement à la vibration des liaisons Si-O-Si ou O-Si-O et à celle des liaisons Si-O dans l'oxyde de silicium ( $\text{SiO}_2$ ).

### II. 1. 3. 3. Discussion

De la température ambiante à 100 – 200°C, le départ d'eau, associé à un effet endothermique constitue l'essentiel de la perte de masse. Le domaine de températures 200 à 800°C correspond au départ des résidus de synthèse, principalement formés de composés azotés. Ceux-ci peuvent provenir de la décomposition des sels de nitrate d'ammonium résiduel selon la réaction [LAF04] :



Au cours du traitement thermique, les carbonates  $\text{CO}_3^{2-}$  incorporés dans l'apatite lors de la synthèse sont éliminés entre 700 et 900°C sous forme de dioxyde de carbone  $\text{CO}_2$ .

Simultanément, les silicates  $\text{SiO}_4^{4-}$  sont incorporés à partir de  $700^\circ\text{C}$ . Pour des teneurs en silicium telles que  $x \leq 0,8$ , une calcination à  $1000^\circ\text{C}$  permet l'incorporation de la totalité des groupements silicate sans phase secondaire dans la poudre. Entre 0,8 et 1 mol, cette température doit être plus faible ( $900^\circ\text{C}$ ) afin d'éviter l'apparition de phases secondaires qui résultent d'un début de décomposition thermique de l'apatite. Les poudres de composition plus riches en silicium sont toujours biphasées dès  $700^\circ\text{C}$  (HA et TCP- $\alpha$ ).

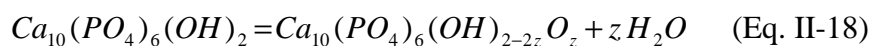
D'après les résultats expérimentaux, il est possible de déterminer les formules chimiques des apatites silicatées. Elles sont répertoriées dans le tableau II-20 en fonction de la teneur en silicium.

Notation	Formules chimiques
HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
$\text{Si}_{0,2}\text{HA}$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,722}(\text{SiO}_4)_{0,188}(\text{OH})_{1,722}$
$\text{Si}_{0,4}\text{HA}$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,616}(\text{SiO}_4)_{0,384}(\text{OH})_{1,616}$
$\text{Si}_{0,6}\text{HA}$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,411}(\text{SiO}_4)_{0,589}(\text{OH})_{1,411}$
$\text{Si}_{0,8}\text{HA}$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,236}(\text{SiO}_4)_{0,764}(\text{OH})_{1,236}$
$\text{Si}_{1,0}\text{HA}$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,042}(\text{SiO}_4)_{0,958}(\text{OH})_{1,042}$
$\text{Si}_{1,5}\text{HA}$	HA + TCP- $\alpha$
$\text{Si}_{2,0}\text{HA}$	HA + TCP- $\alpha$
$\text{Si}_{4,0}\text{HA}$	-----

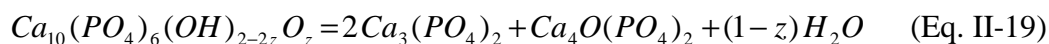
Tableau II-20 : Formules chimiques des apatites silicatées calcinées à  $1000^\circ\text{C}$  15 h,  $900^\circ\text{C}$  pour  $0,8 < x \leq 1,0$

Afin de mettre en évidence les mécanismes d'incorporation des groupements silicate dans la structure apatitique au cours du traitement thermique, des expériences complémentaires faisant intervenir une apatite carbonatée et un précurseur de silicium différent du tétraacétate de silicium ont été réalisées, elles seront détaillées au paragraphe II. 2.

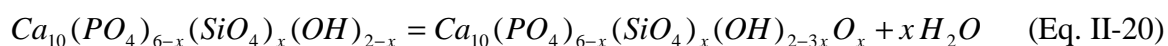
La calcination des apatites silicatées de composition  $0 \leq x \leq 1$  au dessus de  $1000^\circ\text{C}$  donne lieu à des changements dans les poudres. Le large pic endothermique centré sur  $1100^\circ\text{C}$  correspond à la déshydroxylation de l'apatite. Pour l'HA, dont la stabilité thermique a été étudiée il y a plusieurs années, les résultats expérimentaux montrent que la déshydroxylation de l'HA se produit à partir de  $1000^\circ\text{C}$  selon la réaction [RIB73] :



Le maximum du pic ATD associé est centré sur 1105°C pour l'HA. Le pic endothermique situé au delà de 1300°C est attribué à la décomposition de l'apatite. Pour l'HA, l'oxyhydroxyapatite peut se décomposer selon la réaction Eq. II-19 [RIB73] :



La présence de silicium au sein de la structure apatitique modifie le comportement thermique des apatites. À 1000°C, les apatites de composition  $Si_xHA$  ( $x < 1$ ) sont monophasées (Fig. II-17). Similairement à l'hydroxyapatite, l'apatite silicatée peut se déshydroxyler selon la réaction :



Le maximum du pic ATD correspondant est décalé vers les basses températures avec l'augmentation du taux de silicium.

Les expériences menées pour la caractérisation des poudres (ATD – DRX) lors de la calcination à  $T > 1000^\circ\text{C}$  ont montré qu'il est possible de coupler l'apparition des phases secondaires à la décomposition thermique des apatites silicatées. La température de début de décomposition de ces poudres varie en fonction de la teneur initiale en silicium. Selon les analyses thermiques différentielles (Fig. II-13 et II-26), cette température diminue légèrement de 1390°C pour l'HA à 1316°C pour  $Si_{1,0}HA$ . La température de décomposition thermique est donc dépendante de la teneur initiale en silicium mais aussi des conditions expérimentales. A partir des résultats obtenus par DRX, le tableau II-21 regroupe ces températures en fonction de la composition et des durées de palier.

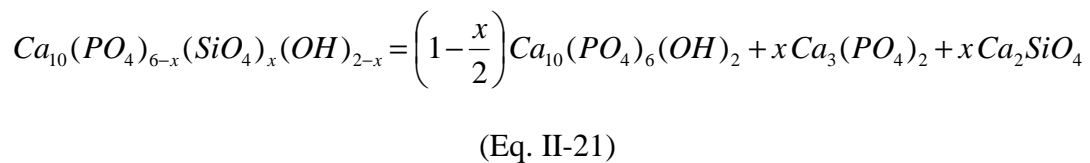
Notation	HA [ELL94]	Si <sub>0,5</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
t = 30 min	> 1350°C	1250°C	1150°C
t = 120 min	> 1350°C	1200°C	1100°C

Tableau II-21 : Températures de décomposition thermiques des apatites silicatées

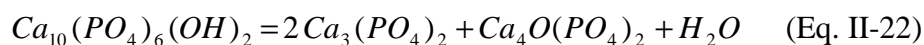
**Remarque :** les écarts de température mesurés entre les analyses thermiques et la diffraction des rayons X sont dus aux conditions expérimentales de détection de ces phases. Les transformations ayant lieu lors des analyses thermiques se produisent lors d'une montée en température. Celles observées par diffraction des rayons X sont issues de régimes isothermes avec des durées de palier plus importantes.

L'hydroxyapatite  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , le phosphate tricalcique alpha  $Ca_3(PO_4)_2-\alpha$ , le silicate de calcium  $Ca_2SiO_4$  et la silicocarnotite  $Ca_{10}(PO_4)_4(SiO_4)_2$  sont les produits de décomposition détectés par diffraction des rayons X. La présence du TCP- $\alpha$  et de la silicocarnotite a déjà été rapportée dans des études sur le frittage d'apatites silicatées [KIM03-a] mais pas celle du silicate de calcium.

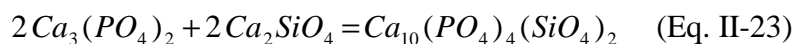
D'après les résultats expérimentaux, les pics DRX des composés, HA, TCP- $\alpha$  et  $Ca_2SiO_4$  étant enregistrés (Fig. II-18 et II-20), la décomposition des hydroxyapatites silicatées peut s'écrire selon :



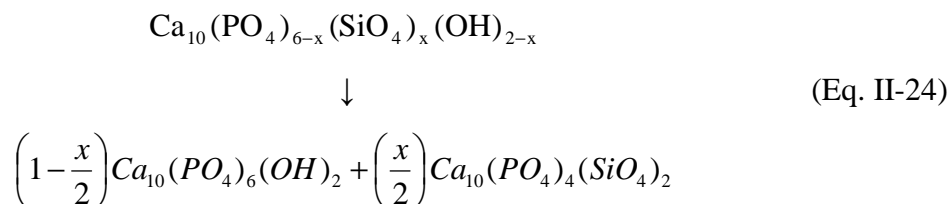
Les traces de la phase  $Ca_4O(PO_4)_2$  détectées par diffraction des rayons X, peuvent être dues à la décomposition de l'HA qui peut s'écrire sous le bilan global des équations Eq. II-18 et II-19 :



A plus haute température, le phosphate tricalcique réagit avec le silicate de calcium selon l'équation Eq. II-23 [BAR92] :



Soit au final l'équation de décomposition thermique de l'HA silicatée :



Pour des températures supérieures à  $T = 1250^\circ\text{C}$ , les phases TCP- $\alpha$ ,  $Ca_2SiO_4$  et silicocarnotite sont détectée. Selon les équations Eq. II-22 et II-24, la proportion de ces phases augmente avec la teneur en silicium (x). Ce résultat est confirmé expérimentalement par diffraction des rayons X.

## II. 2. Etude complémentaire - Synthèse par réaction solide - solide à haute température

L'étude menée sur la synthèse d'apatite silicatée par précipitation en voie aqueuse a mis en évidence la carbonatation des poudres. Ces groupements sont localisés dans les sites B de l'apatite, sites où a lieu la substitution phosphate – silicate. L'incorporation des silicates dans l'apatite n'est pas totale après précipitation et nécessite une calcination des poudres. Il semble évident que les carbonates influent sur l'incorporation des silicates lors de ce traitement thermique. Afin de préciser les réactions qui se produisent à l'état solide durant la calcination, des mélanges de différentes apatites (carbonatée ou non) avec des précurseurs de silicium ont été réalisés et calcinés à la température de formation de la phase Si-HA, soit  $1000^\circ\text{C}$ .

## II. 2. 1. Protocole de synthèse

Deux poudres d'apatites, l'une purement phosphocalcique et l'autre carbonatée, synthétisées par précipitation en voie aqueuse ont été utilisées. Les formules chimiques respectives de ces compositions sont :  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (HA) et  $\text{Ca}_{9,6}(\text{PO}_4)_{5,6}(\text{CO}_3)_{0,4}(\text{OH})_{1,6}$  (CHA) [LAF04]. Les précurseurs de silicium employés ici sont le tétraacétate de silicium de formule chimique  $\text{Si}(\text{OCOCH}_3)_4$  (TASi) utilisé pour la synthèse par précipitation en voie aqueuse et un silicate de calcium (Wollastonite) de formule chimique  $\text{CaSiO}_3$  noté SiCa. Ce dernier fut préparé à partir de nitrate de calcium tétrahydraté et de tétraacétate de silicium dans des conditions de synthèse en voie aqueuse similaires à celles du paragraphe précédent pour la précipitation des apatites (en absence du précurseur de phosphate), soit une température de 90°C, un pH maintenu à 9 et un temps de maturation de 15 min.

Les proportions de chacun des réactifs ont été définies pour élaborer la composition hypothétique  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  :  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5,6}(\text{SiO}_4)_{0,4}(\text{OH})_{1,6}$ . Le rapport molaire  $\frac{\text{Si}}{\text{P}}$  a donc été fixé à 0,071 (Tab. II-1). Les quantités de tétraacétate de silicium ou de silicate de calcium ont été calculées pour une masse d'apatite fixée à 500 mg. Le tableau II-22 regroupe toutes ces masses.

Apatite	HA		$\text{C}_{0,4}\text{HA}$ (CHA)	
<b>m (mg)</b>	500	500	500	500
<b>Précurseurs de silicium</b>	Tétraacétate de silicium (TASi)	Silicate de calcium (SiCa)	Tétraacétate de silicium (TASi)	Silicate de calcium (SiCa)
<b>m (mg)</b>	57,5	24,7	55,7	24,0

Tableau II-22 : Proportions des réactifs solides (apatites et précurseurs de silicium)

Deux formes de mélanges d'apatite et du précurseur de silicium ont été étudiées :

- Mélange en voie sèche des deux réactifs dans un mortier en agate (noté VS).
- Mélange des deux réactifs dans une solution alcoolique (20 mL d'éthanol) sous agitation magnétique pendant 5 min. La solution est ensuite séchée à l'étuve ventilée à 90°C pendant 6 h (noté VL).



Après récupération des poudres, celles-ci subissent un traitement thermique dans un four Super Kanthal. Les calcinations sont effectuées dans des creusets en alumine à 1000°C pendant 10 h. Les rampes de montée et de descente en température sont de 20°C.min<sup>-1</sup>. Les notations des mélanges sont répertoriées dans le tableau II-23.

Apatite	Précurseur de silicium	Voie solide (VS)	Voie liquide (VL)
Hydroxyapatite (HA)	Tétraacétate de silicium (TASi)	HA+TASi-VS	HA+TASi-VL
	Silicate de calcium (SiCa)	HA+SiCa-VS	HA+SiCa-VL
Apatite carbonatée (CHA)	Tétraacétate de silicium (TASi)	CHA+TASi-VS	CHA+TASi-VL
	Silicate de calcium (SiCa)	CHA+SiCa-VS	CHA+SiCa-VL

Tableau II-23 : Notations des mélanges

## II. 2. 2. Caractérisation des réactifs

### II. 2. 2. 1. Précurseur du silicium

Les deux précurseurs de silicium sont le tétraacétate de silicium commercial précédemment utilisé et un silicate de calcium synthétisé au laboratoire en voie liquide. Ce paragraphe ne sera consacré qu'à la caractérisation du silicate de calcium. La figure II-33 présente les diffractogrammes de rayons X (a) et les spectres infrarouges (b) de ce composé.

Le précipité obtenu n'étant pas suffisamment cristallisé, le silicate de calcium a été calciné à 1000°C pendant 15 h. La totalité du diffractogramme du silicate de calcium calciné à 1000°C – 15 h a pu être indexée. Tous les pics correspondent au même composé, la Wollastonite CaSiO<sub>3</sub> (PDF 43 – 1460). Le spectre infrarouge de la poudre calcinée présente lui aussi les bandes d'absorption relative à la Wollastonite [SIR01].

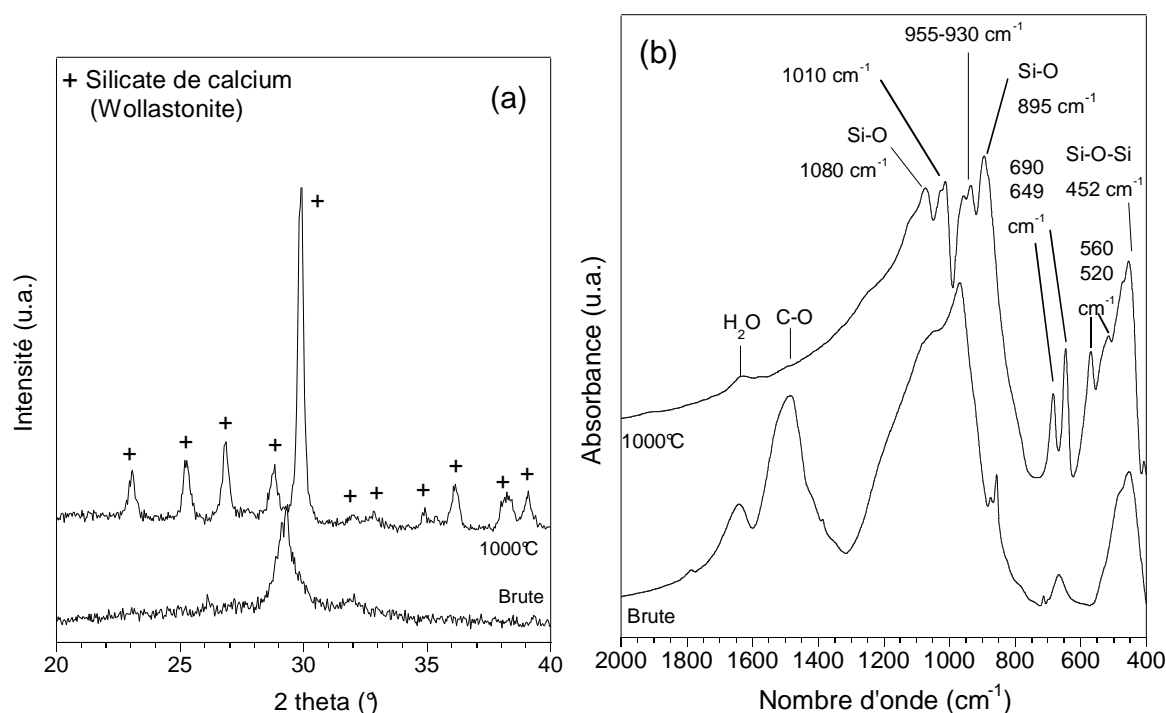


Figure II-33 : Diffractogrammes (a) et spectres infrarouges (b) du silicate de calcium

### II. 2. 2. 2. Apatite

Les deux apatites utilisées ont été synthétisées au laboratoire dans les conditions décrites au § I.1.1 pour l'HA et dans des travaux précédents [LAF04] pour CHA. Un traitement thermique à 400°C – 1 h a été effectué afin d'éliminer les résidus de synthèse. La figure II-34 présente les diffractogrammes (a) et les spectres infrarouges (b) des apatites.

Les deux poudres sont de structure apatitique (PDF 9-432). Aucune phase secondaire n'est détectée. Selon les analyses spectroscopiques, les deux poudres présentent les bandes IR caractéristiques des groupements ( $\text{PO}_4$ , OH) de l'apatite. Seule la proportion de carbonate diffère d'une poudre à l'autre. Les bandes relatives aux groupements carbonates (875 – 1410 – 1460  $\text{cm}^{-1}$ ) sont détectées dans les deux échantillons mais en très faible intensité pour l'HA (0,09% en masse de carbonate, Tab. II-5). Par contre, les bandes observées sur le spectre de l'apatite carbonatée confirment la carbonatation de la poudre en site B. Ce taux de carbonatation a été déterminé à 0,4 mol dans l'apatite, ce qui correspond à un pourcentage massique de carbonate égal à 2,43%.

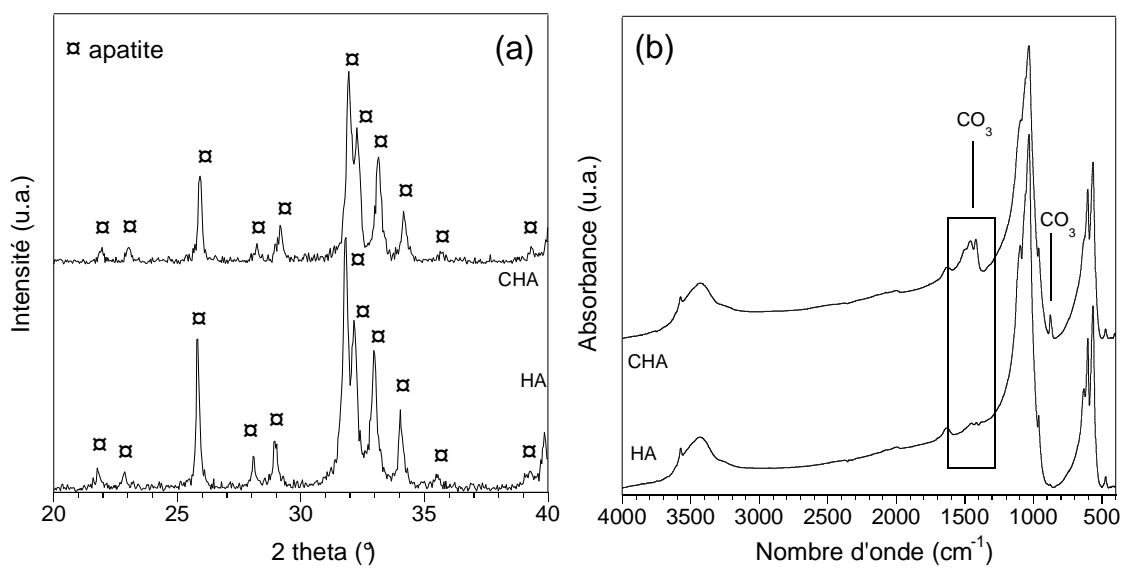


Figure II-34 : Diffractogrammes (a) et spectres infrarouges (b) des apatites

## II. 2. 3. Résultats

### II. 2. 3. 1. Analyses spectroscopiques

Les analyses spectroscopiques des poudres sont effectuées après le traitement thermique et sont présentées dans la figure II-35.

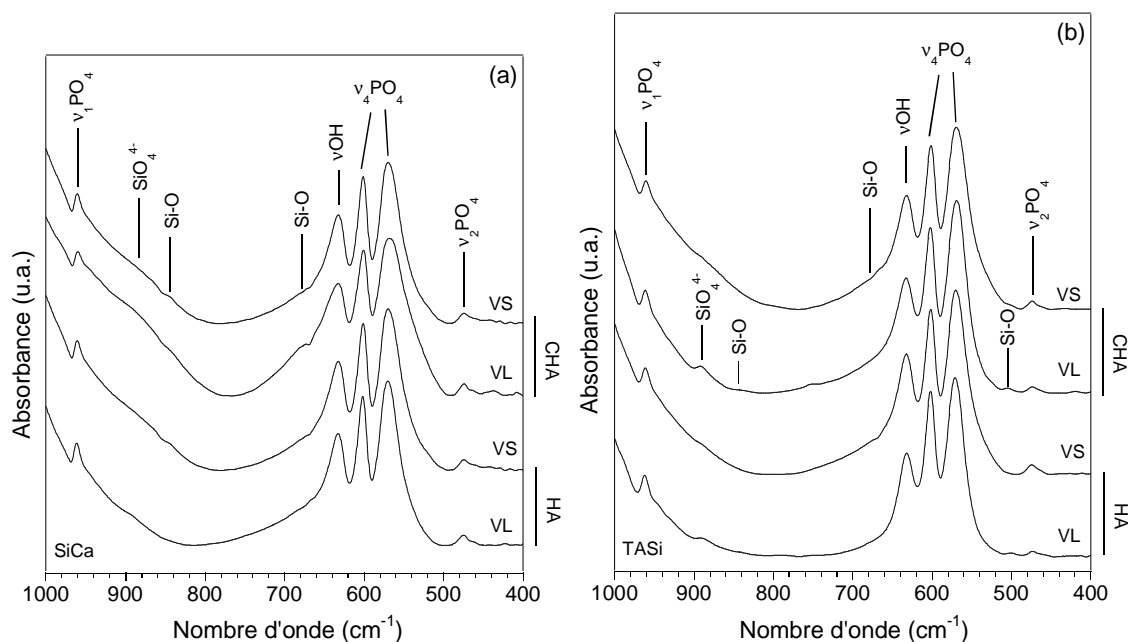


Figure II-35 : Spectres infrarouges des mélanges calcinés avec le silicate de calcium (a) et avec le tétraacétate de silicium (b)

Toutes les poudres présentent les bandes caractéristiques de l'apatite (PO<sub>4</sub> et OH) et les bandes relatives aux groupements carbonate ont disparu. De nouvelles bandes ou épaulements apparaissent à 890, 840 et 690 cm<sup>-1</sup>. Ils sont attribués aux liaisons Si-O mais leur intensité relative reste très faible. Cependant, la présence de deux de ces bandes à 890 et 690 cm<sup>-1</sup>, à la fois dans le spectre du silicate de calcium initial (Fig. II-35a) et dans les spectres IR des mélanges calcinés avec ce précurseur ne permet pas de statuer sur l'incorporation de groupements silicate dans la structure apatitique avec le silicate de calcium.

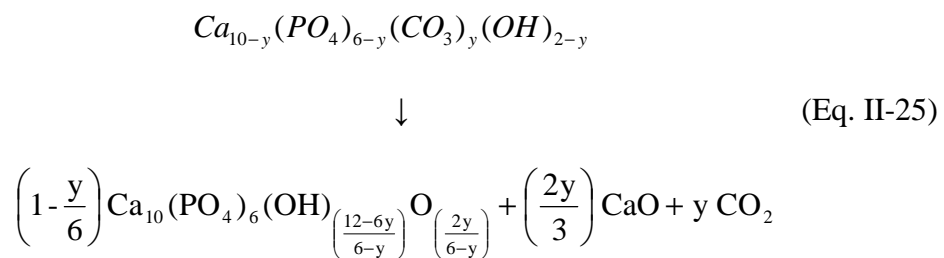
**Remarque :** la bande à 690 cm<sup>-1</sup> peut aussi être attribuée à la présence de silice SiO<sub>2</sub>.

Concernant les mélanges avec le tétraacétate de silicium (Fig. II-35b), le traitement thermique fait aussi apparaître de nouvelles bandes, en plus des bandes caractéristiques de l'apatite (PO<sub>4</sub> et OH), à 890 et 505 cm<sup>-1</sup>. Ces bandes sont plus intenses pour les mélanges effectués en voie liquide. Ce sont des épaulements de très faible intensité pour les mélanges en voie solide. Ces bandes sont caractéristiques de la présence de groupements silicates dans la structure apatitique [GIB99]. Le faible épaulement vers 670 cm<sup>-1</sup> dans les mélanges en voie solide pourrait être attribué à la présence de SiO<sub>2</sub> (liaison Si-O) comme dans le cas des mélanges « apatite + SiCa ».

### II. 2. 3. 2. Analyses structurales

La figure II-36 présente les diffractogrammes des différents mélanges obtenus après un traitement de calcination à 1000°C pendant 10 h.

Toutes les poudres calcinées sont des mélanges polyphasés constitués d'une phase principale isomorphe de la structure apatitique et d'une ou deux phases secondaires caractéristiques du mélange. Ces phases secondaires sont isomorphes du phosphate tricalcique alpha ( $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), de l'oxyde de calcium (CaO) et du silicate de calcium (CaSiO<sub>3</sub>). Lorsque le silicate de calcium est utilisé (Fig. II-36a), aucune réaction ne semble se produire entre l'apatite (HA ou CHA) et le précurseur de silicium. En effet, les diffractogrammes des mélanges HA+SiCa présentent les pics principaux de l'apatite et du silicate de calcium. En plus de ces pics, le pic principal de l'oxyde de calcium CaO est aussi détecté dans les mélanges CHA+SiCa. Ceci traduit le début de la décomposition thermique de l'apatite carbonatée selon la réaction [LAF04] :



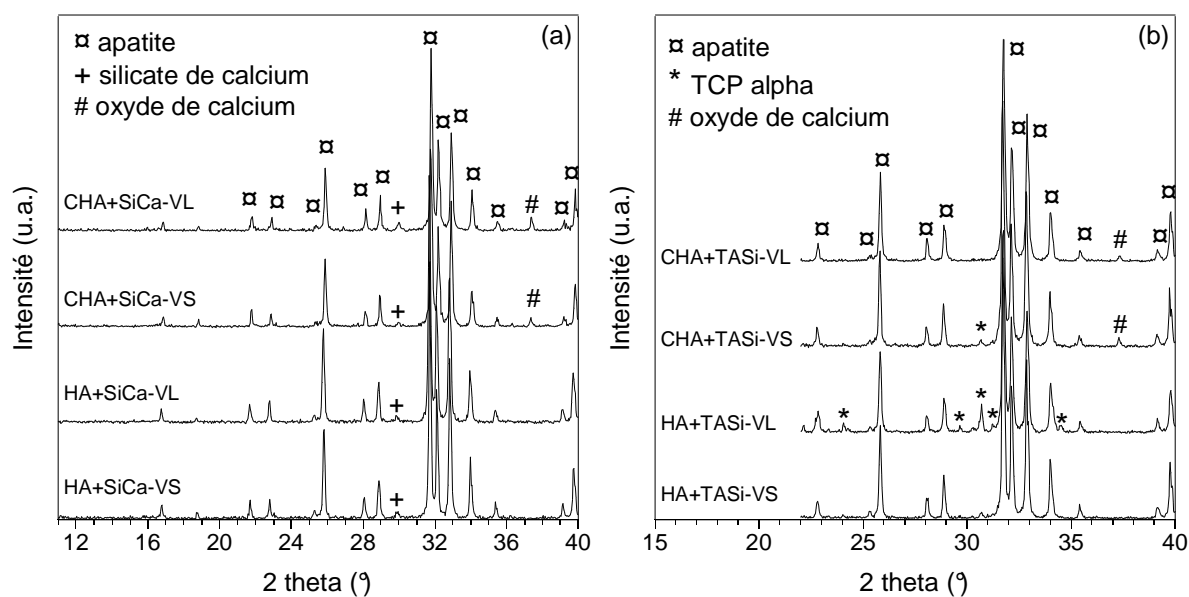


Figure II-36 : Diffractogrammes des mélanges calcinés avec le silicate de calcium (a) et avec le tétraacétate de silicium (b)

Après traitement thermique, les mélanges réalisés avec le tétraacétate de silicium (Fig. II-36b) présentent tous les pics du phosphate tricalcique alpha sauf le mélange CHA+TASi préparé en voie alcoolique (VL). De plus, le pic principal de l'oxyde de calcium CaO est toujours détecté dans les poudres issues des mélanges avec l'apatite carbonatée.

En raison de leur faible teneur en TCP- $\alpha$ , le volume de maille de l'apatite des mélanges HA+TASi-VS et CHA+TASi-VL a été déterminé par affinement Rietveld. Les valeurs respectives sont 529,03 et 529,18 Å<sup>3</sup>. Pour les poudres d'HA, Si<sub>0,2</sub>HA et Si<sub>0,4</sub>HA issues de la précipitation en voie aqueuse et calcinées à 1000°C – 15 h, ils sont respectivement de 528,94, 529,56 et 530,21 Å<sup>3</sup>. Les volumes de maille des deux mélanges avec le tétraacétate de silicium sont donc très proches celui de l'HA, notamment dans le cas HA+TASi-VS où aucune incorporation notable ne semble avoir eu lieu. Par contre, une faible quantité de silicate pourrait être incorporée dans la structure apatitique du mélange calciné CHA+TASi-VL. Cependant, malgré la stœchiométrie hypothétique des poudres qui devrait correspondre à la composition Si<sub>0,4</sub>HA (x = 0,4), il semble que beaucoup moins de silicate soit dans la structure apatitique comparé à la composition Si<sub>0,2</sub>HA obtenue par précipitation aqueuse et calcination. En effet, les volumes de maille des mélanges HA+TASi-VS et CHA+TASi-VL calculés à 529,03 et 529,18 Å<sup>3</sup> sont inférieurs au volume de maille de Si<sub>0,2</sub>HA qui est de 529,56 Å<sup>3</sup>.

## II. 2. 4. Conclusion

Aucune réaction ne semble avoir eu lieu lors de la calcination des mélanges avec le silicate de calcium (SiCa). Le traitement thermique appliqué n'engendre que la cristallisation de l'hydroxyapatite et du silicate de calcium. Dans le cas des mélanges avec l'apatite carbonatée, la décomposition thermique de cette dernière est observée comme en témoigne la présence d'oxyde de calcium (CaO) détectée par diffraction des rayons X.

Bien que les résultats avec le tétraacétate de silicium soient plus encourageants, ils ne sont pas comparables à ceux obtenus par précipitation aqueuse.

En fait, seul le mélange CHA+TASi préparé en voie liquide semble avoir permis une légère incorporation de silicates.

Cette dernière expérience laisse à penser que la présence de groupements carbonate au sein de la structure apatitique joue un rôle important dans l'incorporation de silicate au cours du traitement thermique. En comparaison, aucune réaction avec l'HA n'a pu se produire. Seule la décarbonatation de l'apatite carbonatée (élimination des groupements  $\text{CO}_3^{2-}$ ) laisse des sites B (sites phosphates) libres pour l'incorporation des groupements silicate.

## II. 3. Discussion

Cette discussion s'attache à confronter les résultats issus des diverses techniques d'analyses présentées dans les paragraphes précédents afin d'interpréter les phénomènes observés et de déduire les mécanismes d'incorporation des groupements silicate dans la structure apatitique au cours du traitement thermique pour les compositions telles que  $x \leq 1$  mol de silicium.

Les poudres brutes de composition telle que  $x \leq 1$  mol issues de la précipitation aqueuse sont composées de deux phases (§ II.1.2.5). La phase principale est une phase apatitique partiellement substituée par des groupements carbonate et silicate en sites B. La phase secondaire doit contenir les éléments en excès par rapport à la composition de l'apatite. La présence de cette phase qui ne dépasse pas 4% en masse, quel que soit le mécanisme d'incorporation, n'a pas pu être vérifiée expérimentalement. Cependant, pour le mécanisme 1, l'étude complémentaire détaillée dans le paragraphe II.2.2.1 montre que la précipitation d'un

silicate de calcium de formule chimique  $\text{CaSiO}_3$  est possible à partir des seuls réactifs de calcium et silicium. Le nombre de moles de chacun des deux éléments en excès (Ca et Si) étant identique et égal à  $y$ , la composition chimique  $\text{CaSiO}_3$  pourrait convenir. De plus, le diffractogramme de ce composé mal cristallisé après synthèse présente un seul large pic centré à  $2\theta = 29,2^\circ$  (Fig. II-33a). Cet état de cristallisation et la faible quantité de ce composé pourraient expliquer sa non détection. Dans le mécanisme 2, la phase secondaire est de la forme  $\text{Si(OH)}_4$  (Eq. II-6).

Selon les différents résultats, les carbonates en sites B de l'apatite jouent un rôle primordial lors de l'incorporation des silicates dans la structure apatitique. Les mécanismes d'incorporation présentés ci-après prennent en compte cette observation. Ces mécanismes font intervenir des quantités de silicates et de carbonates qui sont notés tout au long de l'étude :

$w$  : nombre de mole de silicate incorporé dans la structure apatitique lors de la synthèse.

$x$  : nombre de mole de silicate total.

$y$  : nombre de mole de carbonate incorporé dans la structure apatitique lors de la synthèse.

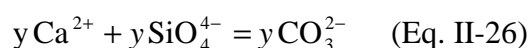
### Mécanisme 1 :

La phase précipitée est une apatite déficitaire en calcium, partiellement substituée par des carbonates et des silicates en site B. Sa formule chimique est :



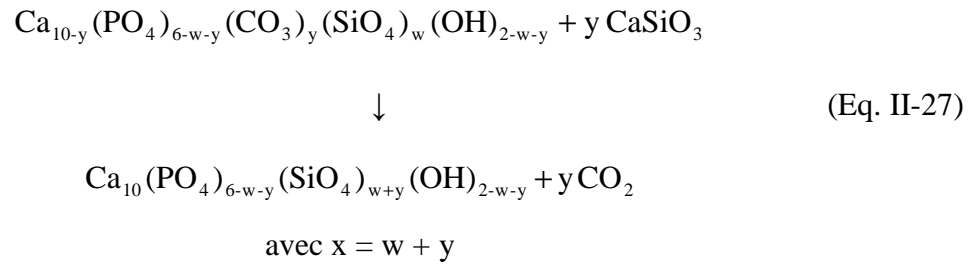
$$\text{avec } x = w + y$$

La phase secondaire pourrait donc être un silicate de calcium de la forme  $\text{CaSiO}_3$ . Ces deux phases vont réagir lors du traitement thermique à partir de  $700^\circ\text{C}$  selon le mécanisme d'échange ionique :

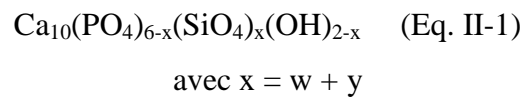




Soit la réaction :

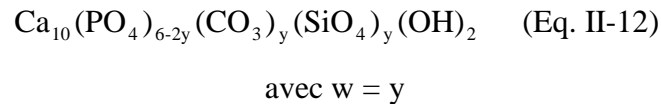


Lorsque tous les silicates de la phase secondaire sont incorporés dans la structure apatitique, la formule chimique de l'apatite silicatée devient :

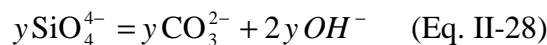


### Mécanisme 2 :

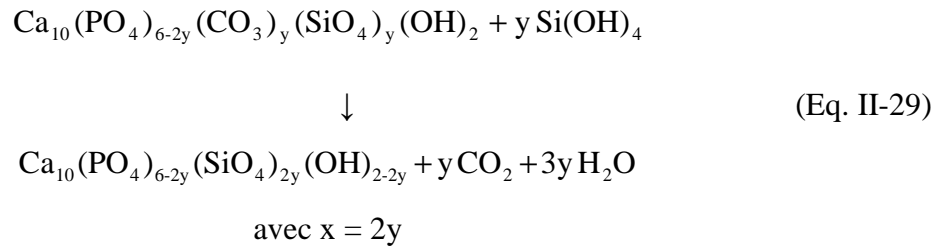
La phase précipitée est une apatite partiellement substituée par des carbonates et des silicates en site B. Deux groupements phosphate  $\text{PO}_4^{3-}$  sont remplacés par un couple carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) / silicate ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ). Pour  $x \leq 0,4$  mol de silicium, la formule chimique est :



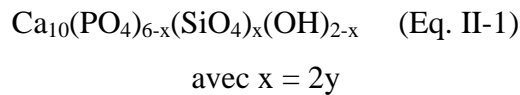
La phase secondaire contient le silicium en excès. Elle est de la forme  $\text{Si}(\text{OH})_4$  (Eq. II-6). L'apatite et la phase silicatée vont réagir lors du traitement thermique à partir de 700°C selon le mécanisme d'échange ionique :



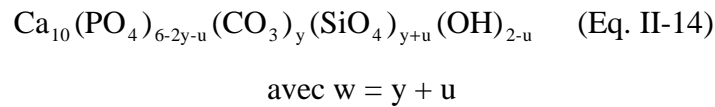
Le silicium en excès est incorporé au cours du traitement thermique selon la réaction Eq. II-29 :



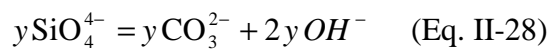
Lorsque tous les silicates de la phase secondaire sont incorporés dans la structure apatitique, la formule chimique de l'apatite silicatée devient :



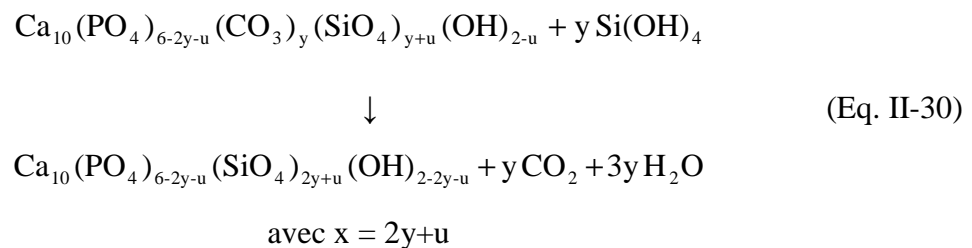
Pour des teneurs en silicium supérieures à 0,4 mol, des lacunes d'hydroxydes sont créées pour garder l'électroneutralité de la formule. La formule chimique est notée ci-après :



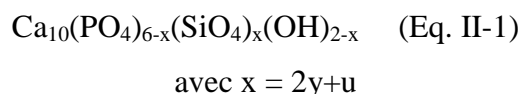
La phase secondaire ne change pas. Les deux phases réagissent toujours lors du traitement thermique à partir de 700°C selon le même mécanisme d'échange ionique :



Le silicium en excès est incorporé au cours du traitement thermique selon la réaction Eq. II-30 :



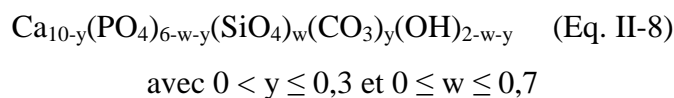
Lorsque tous les silicates de la phase secondaire sont incorporés dans la structure apatitique, la formule chimique de l'apatite silicatée devient :



Quel que soit le mécanisme retenu, la formule chimique finale est celle présentée par Gibson et al. [GIB99] :  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  avec  $0 \leq x \leq 1,0$ . Cependant, au cours du traitement thermique, le mécanisme 2 fait apparaître des lacunes d'ions hydroxyde et comporte un dégagement de vapeur d'eau (Eq. II-28, II-29 et II-30). Or, lors de la calcination entre 700 et 1000°C, aucune baisse de l'intensité relative des bandes OH n'est observée par spectroscopie infrarouge (Fig. II-22<sub>I</sub> et II-22<sub>III</sub>) et aucun pic d'émission des masses 17 ou 18 (m/e) témoignant d'un départ d'eau n'est détecté en spectroscopie de masse (Fig. II-14). Ainsi, il semblerait que l'incorporation des silicates dans la structure apatitique soit régi par le mécanisme 1.

## II. 4. Conclusion

La synthèse de poudre par précipitation conduit à une apatite carbonatée de type B. Seule une partie des silicates est incorporée dans la structure, l'excès étant dans une phase secondaire. La formule chimique de la phase apatitique est :



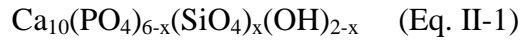
Le silicium de la phase secondaire s'incorpore dans la structure en se substituant aux carbonates localisés en sites B de l'apatite selon le mécanisme de compensation de charge :



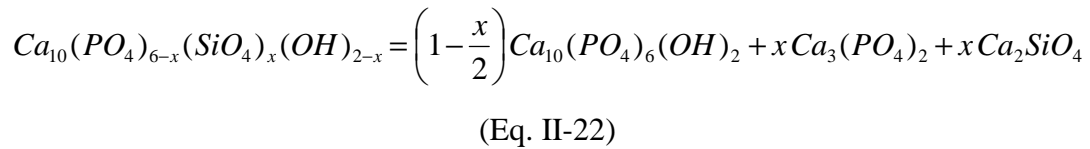
Un traitement thermique adapté permet ensuite l'obtention de poudres d'hydroxyapatite silicatée. Les produits synthétisés sont monophasés, de structure apatitique, tant que la quantité de silicium introduite ne dépasse pas 1 mol. Au-delà de cette teneur en

silicium, les poudres cristallisent dans un système biphasé (apatite - phosphate tricalcique) dès 700°C.

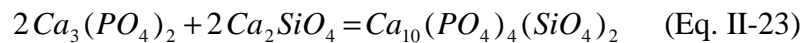
La formule chimique des hydroxyapatites silicatées obtenues après calcination est celle du modèle donné par Gibson et al. [GIB99] avec la restriction  $0 \leq x \leq 1$  :



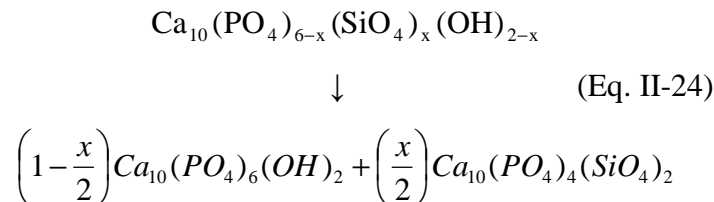
D'un point de vue stabilité thermique, l'incorporation du silicium dans la structure apatitique n'est pas sans conséquence. En effet, plus le taux de silicium est important, plus les températures de déshydroxylation et de décomposition thermiques sont décalées vers les basses températures. L'hydroxyapatite silicatée de composition telle que  $x \leq 1$  mol se décompose en deux temps selon la température (Eq. II- 22 et II-24) :



A plus haute température, le phosphate tricalcique alpha réagit avec le silicate de calcium selon l'Eq. II-23 :



Au final, l'équation de décomposition de l'hydroxyapatite silicatée peut s'écrire :



Les produits de décomposition des apatites silicatées sont l'hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , le phosphate tricalcique alpha  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - $\alpha$ , le silicate de calcium  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  et la silicocarnotite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2$ .

# Chapitre III

## FRITTAGE



## Chapitre III - Frittage

Le frittage peut être décrit comme une consolidation d'un matériau obtenue en minimisant l'énergie du système grâce à un apport d'énergie sans fusion des constituants.

Cette partie étudie le frittage de plusieurs compositions d'apatites silicatées se distinguant par leur teneur en silicium. Les poudres étudiées dans ce chapitre sont issues de la synthèse par précipitation en voie aqueuse. Différents traitements thermiques sont testés dans le but premier de définir les conditions d'obtention de céramiques denses d'apatites silicatées monophasées et de composition contrôlée  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ . L'étude se limitera donc aux poudres de compositions  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $0 \leq x \leq 1$ ).

### III. 1. Généralités sur le frittage

Le frittage consiste à chauffer un matériau pulvérulent au dessous de sa température de fusion ou de décomposition, afin de faire croître des liaisons entre les grains, ce qui se traduit par une consolidation et souvent une diminution du volume de l'échantillon.

Durant l'étape de frittage, le taux de densification  $\tau$  (densité relative) augmente avec le temps. Cette augmentation de densité correspond à plusieurs stades, primaire, intermédiaire et ultime regroupés dans la figure III-1.

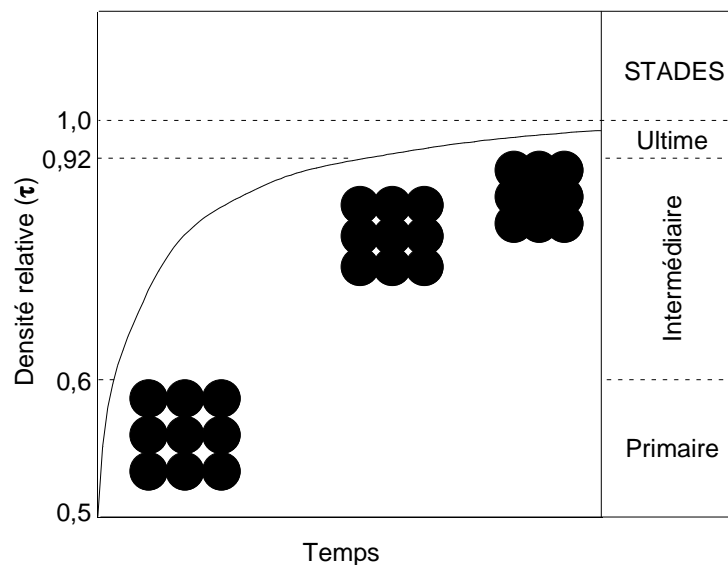


Figure III-1 : Les différents stades du frittage [BER93]

Le stade primaire ( $0,5 < \tau < 0,65$ ) : une légère organisation, par glissement des grains, se produit en raison des défauts d'empilement des grains du compact initial (étape peu importante en absence de phase liquide en surface des grains). Des liaisons ou joints de grains se forment entre les grains en position définitive. En raison de frottements importants créant des effets de voûtes, cette position ne correspond pas souvent à l'empilement maximum. A environ 65% de densification, le compact présente en général une certaine tenue mécanique. L'ensemble des grains qui étaient initialement séparés forme alors un squelette solide traversé de pores ouverts sur l'extérieur.

Le stade intermédiaire ( $0,65 < \tau < 0,92$ ) : les pores du squelette solide, ouverts vers l'extérieur constituent la porosité ouverte. Cette porosité diminue peu à peu de volume. Puis, pour des raisons d'instabilité locale, les pores se scindent en de nombreux pores fermés. L'élimination de cette porosité ouverte se termine pour une densité relative voisine de 0,92.

Le stade ultime ( $\tau > 0,92$ ) : en fin de frittage, l'augmentation de la densité est fortement ralentie et correspond à l'élimination (ou la réduction) de la porosité fermée.

La succession d'étapes telle que décrite ci-dessus ne correspond pas rigoureusement à la réalité. Il est évident que les différentes étapes peuvent être partiellement concomitantes.

Le frittage met en jeu des phénomènes de déplacement de matière engendrés par l'existence de gradients de contraintes dus à la présence de rayons de courbure qui mettent la matière en compression à la surface des grains et en tension au niveau des joints de grains. Sous l'action de ces gradients, la matière aura tendance à converger vers la surface du pont, soit depuis le joint de grain, soit depuis la surface des grains. Mais pour une même source de matière, différents chemins de diffusion pourront être empruntés (Fig. III-2). A partir de la surface des grains, la matière peut diffuser par la voie gazeuse (1). Ce processus est appelé évaporation-condensation ou diffusion gazeuse suivant l'étape limitante. La matière peut également passer par la couche superficielle du matériau, on parle alors de diffusion superficielle (2). Enfin, la matière peut passer par l'intérieur des grains, c'est la diffusion en volume (3). Lorsque la matière provient du centre du joint de grain et qu'elle passe par le joint de grain, cela correspond à une diffusion aux joints de grain (5) ou diffusion de type Coble. La matière peut aussi passer par l'intérieur du grain, ce qui correspond à une diffusion en volume (4) ou diffusion de type Nabarro-Herring [BER93].



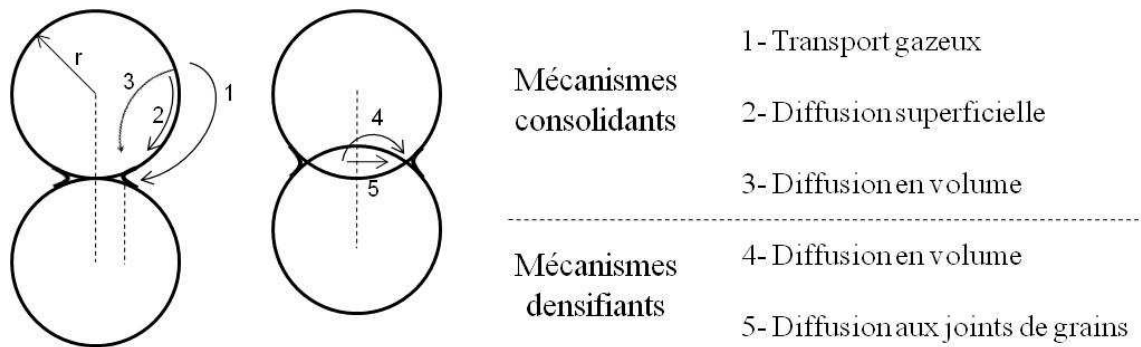


Figure III-2 : Modèles des deux sphères sécantes schématisant les différents mécanismes de diffusion intervenant lors du frittage en phase solide [BER93]

Ainsi, suivant la provenance de la matière, deux types de consolidation existent, avec ou sans retrait. La consolidation sans retrait (coalescence) intervient lorsque la matière vient de la surface des grains (modèle 1, 2 et 3). Par contre, si elle vient du centre des joints de grains (modèle 4 et 5), la cohésion de la pièce impose que peu à peu les centres des grains se rapprochent : il y a donc consolidation et retrait simultanément.

## III. 2. Etude expérimentale

### III. 2. 1. Etude dilatométrique

L'analyse dilatométrique permet d'enregistrer, en continu, la variation relative de dimension d'un échantillon de poudre compactée que l'on monte progressivement en température, et maintenu éventuellement en palier isotherme. Outre la dilatation intrinsèque du matériau, l'apparition de phases secondaires et les transitions allotropiques (avec changement des valeurs des paramètres de maille) peuvent engendrer des variations dimensionnelles importantes de l'échantillon. La densification d'un matériau par frittage naturel se caractérise par [BER93] :

- une augmentation de volume de l'échantillon sous l'effet de la dilatation des grains soumis à une température croissante dans un premier domaine de température.
- un retrait important de l'échantillon, correspondant à son frittage, dans un deuxième domaine de température.
- la dilatation du produit densifié termine éventuellement la courbe.

La courbe de retour à la température ambiante permet d'estimer le coefficient de dilatation du matériau dense.

### III. 2. 1. 1. Calcination des poudres

La cinétique de frittage dépend de la surface développée par les grains. Ainsi, pour évaluer l'effet de la composition en silicium des poudres, l'effet de surface doit être éliminé. Pour cette étude, la valeur initiale de surface spécifique ( $S_A$ ) a donc été fixée à  $30 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  pour chacune des compositions. Les poudres ( $0 \leq x \leq 1,0$  mol de silicium) sont calcinées pendant 120 min entre 400 et  $1000^\circ\text{C}$ . La surface spécifique est mesurée et normalisée par rapport à la valeur  $S_0$  de la surface obtenue après calcination à  $400^\circ\text{C}$  (Tab. III-1). L'évolution des  $S_A$  en fonction de la température de calcination est présentée figure III-3.

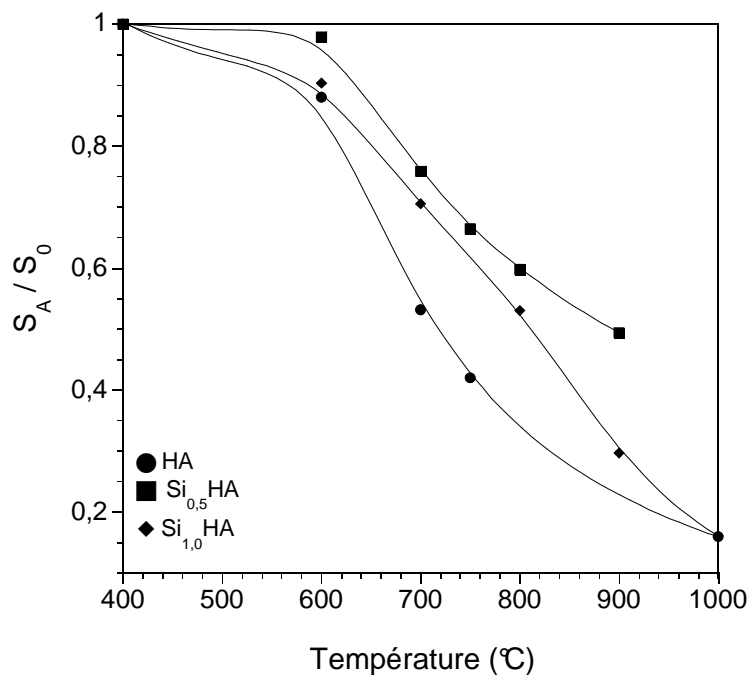


Figure III-3 : Evolution des surfaces spécifiques normalisées en fonction de la température de calcination ( $t=120$  min)

Durant la calcination, la surface spécifique des poudres décroît avec l'augmentation de la température. Cependant, le début de la baisse est décalé vers les hautes températures lorsque la teneur en silicium augmente. Les conditions de calcination doivent donc être

adaptées pour chaque composition dans le but d'obtenir une valeur de surface spécifique de  $30 \pm 3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  (Tab. III-1).

Compositions	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,5</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
Température (°C)	400	-	400	400
S <sub>A</sub> (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	50	-	43	59
Température (°C)	650	600	700	800
Temps (min)	30	120	120	120
S <sub>A</sub> (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	30	33	33	31

Tableau III-1 : Surfaces spécifiques et conditions de calcination des poudres

L'analyse par diffraction des rayons X montre que, quelle que soit la teneur en silicium, les poudres calcinées dans ces conditions sont toutes de structure apatitique (Fig. II-16).

### III. 2. 1. 2. Pressage

Les pastilles d'environ 360 mg de poudre calcinée sont obtenues par pressage uniaxial sous une pression de 125 MPa. Un vide primaire est effectué à l'aide d'une trompe à vide pour faciliter l'arrangement des grains dans la matrice lors de la montée en pression. Le moule utilisé délivre des pastilles de 10 mm de diamètre. L'épaisseur de ces pastilles avant frittage est d'environ 2,5 mm. Les taux de compaction sont compris entre 50 et 54% de la densité calculée pour chaque composition (Tab. III-3).

**Remarque 1 :** la surface spécifique des poudres étant relativement élevée ( $30 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ), un délaminage des pastilles est fréquemment observé au cours du démoulage. Afin d'augmenter la cohésion des pastilles, deux à trois gouttes d'eau distillée sont ajoutées au mélange avant pressage. Les pastilles sont ensuite séchées à 100°C dans une étuve pour éliminer l'eau servant de « liant ».

**Remarque 2 :** afin d'améliorer le taux de densification il a été envisagé d'augmenter le taux de compaction avant frittage. A l'issue du pressage uniaxial, des échantillons ont été pressés isostatiquement à froid (Basset – Bretagne – Loire). Les pastilles sont introduites dans une gaine en latex fermée hermétiquement et placée dans un compartiment de pressurisation

(fluide : huile). Une pression de 2000 bar est appliquée à froid pendant 1 min. Le taux de compaction est ainsi légèrement amélioré, de 52 à 56% en moyenne.

Après frittage dans les mêmes conditions, le taux de densification du matériau compacté par pressage isostatique à froid est identique à celui de l'échantillon issu du pressage uniaxial. Aucune amélioration n'étant notée, cette technique de mise en forme n'a pas été utilisée par la suite.

### III. 2. 1. 3. Technique de caractérisation

Le frittage des apatites silicatées et de l'HA est suivi sur un dilatomètre vertical informatisé (SETARAM TMA 92), par mesure de la variation d'épaisseur  $\Delta e$  des échantillons en fonction du cycle thermique. La mesure est effectuée par un palpeur en alumine. Le four est maintenu sous balayage d'argon (débit de gaz  $10 \text{ L.h}^{-1}$ ) durant la totalité du cycle thermique. Toutes les analyses présentées dans cette partie sont réalisées avec une charge de 10 g du palpeur sur l'échantillon. Un blanc est effectué et défalqué des courbes brutes pour obtenir les variations dimensionnelles de l'échantillon seul.

### III. 2. 1. 4. Résultats

#### a. Influence des paramètres de frittage

La figure III-4 présente les courbes de retrait et la dérivée des courbes de retrait sous argon de la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  en fonction de la température pour différentes durées de palier et vitesses de montée en température.

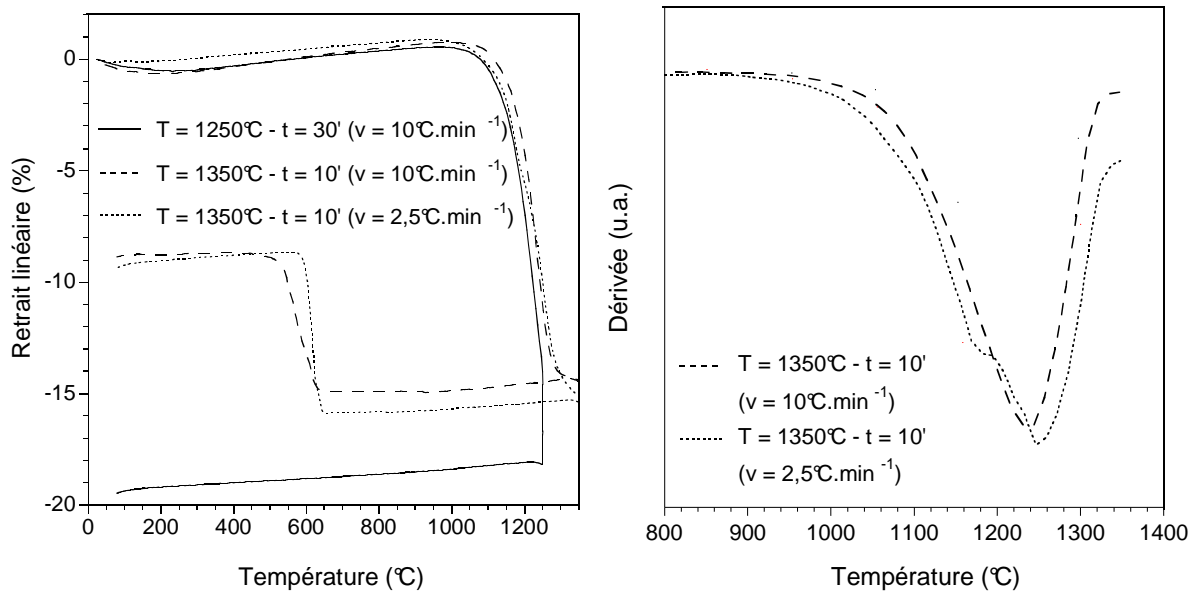


Figure III-4 : Courbes de retrait linéaire et dérivées des courbes de retrait de la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  en fonction de la température pour différents temps et vitesses de montée en température

L'allure générale des courbes est la même quelle que soit la vitesse ( $v$ ) de montée en température ( $2,5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (...) et  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (---)). Cependant, à  $2,5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , le début du retrait est observable à plus basse température ( $930^\circ\text{C}$ ) qu'à  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $960^\circ\text{C}$ ). La dérivée des courbes de retrait fait apparaître deux cinétiques associées à deux pics centrés sur  $1180^\circ\text{C}$  et  $1250^\circ\text{C}$  pour la plus faible vitesse ( $2,5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ) et un seul à  $1240^\circ\text{C}$  pour la plus forte ( $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Le retrait atteint à  $1350^\circ\text{C}$  est plus important pour la faible vitesse (15,3% pour  $v = 2,5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  contre 14,3% pour  $v = 10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Le taux de densification de la pastille frittée avec la montée en température la plus rapide atteint 90% de la densité maximale calculée de cette composition (Tab. III-3). L'autre pastille ayant éclaté au cours du frittage, aucune valeur n'a pu être mesurée.

Au cours du refroidissement, une brusque dilatation s'élevant à 7% est enregistrée pour les deux échantillons à  $600^\circ\text{C}$ . Cette dernière est probablement à l'origine de l'éclatement ou de la fissuration de l'une des pastilles.

Pour la même composition frittée à  $1250^\circ\text{C}$  ( $t = 30 \text{ min}$ ,  $v = 2,5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (—)), le début du retrait et la vitesse maximale de frittage ne varient pas mais aucune dilatation brusque n'est enregistrée au cours du refroidissement.

La courbe d'analyse thermique différentielle de cette composition a révélé un pic endothermique à 1316°C (Fig. II-13). Il correspond à la décomposition thermique de l'apatite silicatée. Les produits de décomposition de cet échantillon sont l'hydroxyapatite, le phosphate tricalcique alpha, le silicate de calcium  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  et la silicocarnotite détectés par diffraction des rayons X (Chapitre II, § II.1.3.3). Ces composés doivent être à l'origine des fissurations au cours du refroidissement des échantillons chauffés à 1350°C.

#### b. Influence du taux de silicium

Les figures III-5 et III-6 présentent respectivement les courbes de retrait sous argon et les dérivées des courbes de retrait des poudres de composition HA,  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$ ,  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  en fonction de la température. Les pastilles sont chauffées à  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  jusqu'à 1350°C (1200°C pour la composition  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$ ).

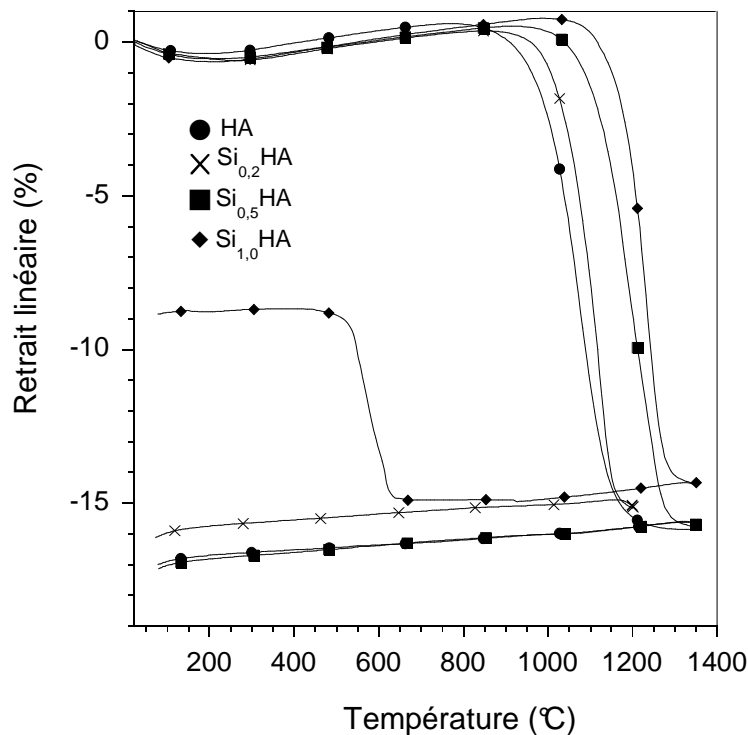


Figure III-5 : Courbes de retrait linéaire des pastilles de composition HA,  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$ ,  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  en fonction de la température

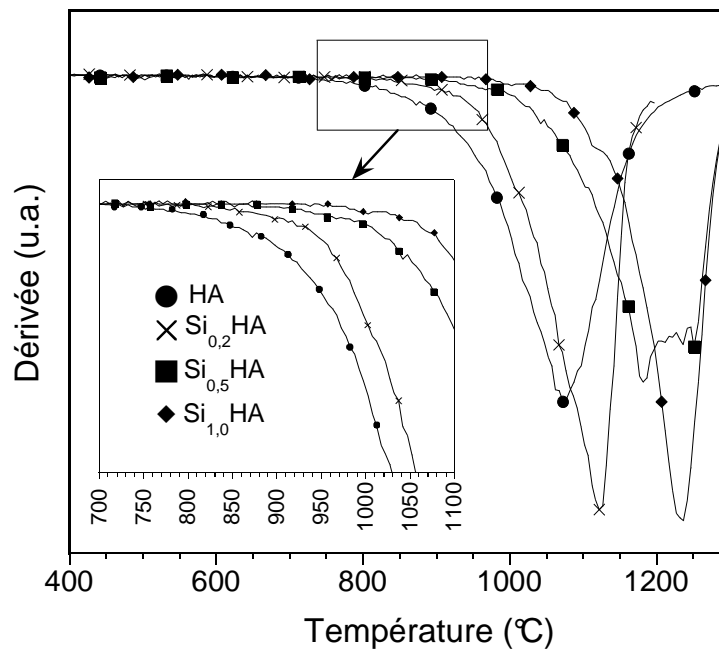


Figure III-6 : Dérivée des courbes de retrait en fonction de la température

Ici encore, les courbes de retrait sont similaires. Le tableau III-2 regroupe les températures de début de frittage ( $T_{DF}$ ), les températures auxquelles les vitesses de frittage sont maximales ( $T_{MAX}$ ) et les taux de densification.

Composition	$T_{DF}$	$T_{MAX}$	Taux de densification
HA	780°C	1080°C	98,0 %
Si <sub>0,2</sub> HA	840°C	1120°C	97,0 %
Si <sub>0,5</sub> HA	930°C	1180°C	93,2 %
Si <sub>1,0</sub> HA	990°C	1240°C	88,0 %

Tableau III-2 : Températures de début de frittage, températures auxquelles les vitesses de frittage sont maximales et taux de densification en fonction de la composition

Le retrait de l'HA débute vers 780°C sous argon. Lorsque le taux de silicium croît, la  $T_{DF}$  augmente jusqu'à 990°C pour la composition Si<sub>1,0</sub>HA (Tab III-2). L'examen des courbes dérivées de la figure III-6 met en évidence une dépendance de  $T_{MAX}$  au taux de silicium des pastilles. Elle augmente de 1080°C pour l'HA à 1240°C pour Si<sub>1,0</sub>HA (Tab. III-2).

A la suite de ce traitement thermique à 1350°C sous argon, les diffractogrammes des apatites silicatées de composition Si<sub>0,5</sub>HA et Si<sub>1,0</sub>HA présentent des pics supplémentaires par

rapport à ceux de la phase apatitique (Fig. III-7). Les pics principaux des phases TCP- $\alpha$  et  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  sont détectés pour la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$ . Par contre, les pics du diffractogramme de  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  n'ont pu être correctement indexés à cause du chevauchement des raies des différentes phases constituant le matériau. Cette composition pourrait cependant être constituée d'un mélange de plusieurs phases. Ces résultats sont en accord avec ceux issus de la stabilité thermique des poudres (Chapitre II). Même si la température de décomposition thermique de  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  ( $1370^\circ\text{C}$ ) est légèrement supérieure à celle du présent traitement ( $1350^\circ\text{C}$ ), la décomposition peut avoir lieu. Lors de l'analyse dilatométrique, les échantillons sont maintenus à  $1350^\circ\text{C}$  durant 10 min ; durant ce palier, le mécanisme de décomposition peut débuter. Les transformations en ATD sont quant à elles, enregistrées lors d'une montée en température. Le pic endothermique de décomposition de l'HA étant à plus haute température,  $1390^\circ\text{C}$ , la décomposition de l'HA n'est pas observée. Le diffractogramme présente donc simplement les pics de la phase apatitique (Fig. III-7).

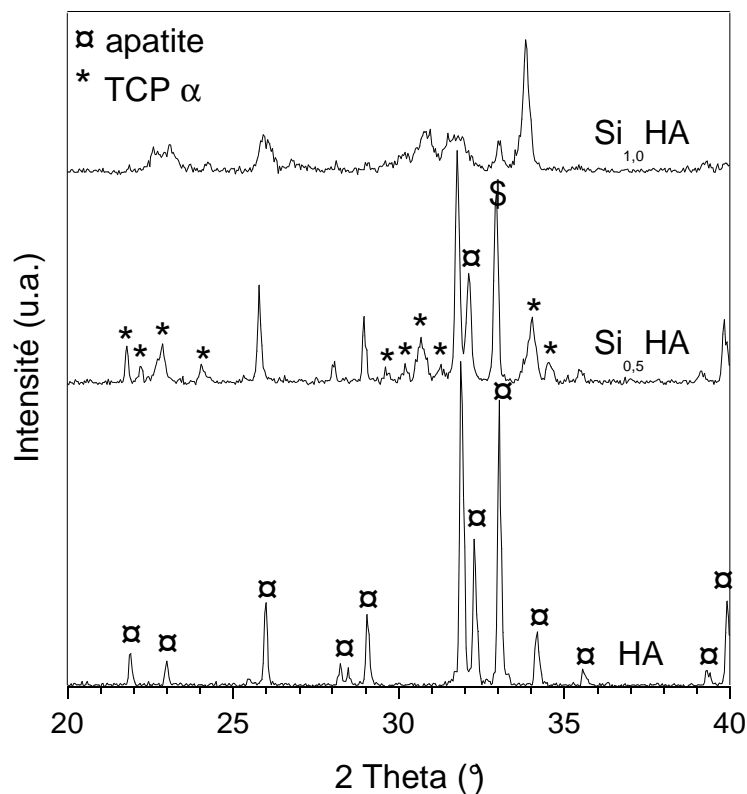


Figure III-7 : Diffractogrammes des échantillons traités à  $1350^\circ\text{C}$  pendant 10 min sous argon



### c. Discussion

Les résultats de l'étude dilatométrique couplés aux mesures de surface spécifique des poudres mettent en évidence deux domaines de température distincts. Pour une température inférieure à 800°C, le matériau subit une légère augmentation de longueur correspondant à la dilatation du matériau sous l'effet de la chaleur. Dans ce domaine, une réduction de la surface spécifique est observée avec l'augmentation de la température (Fig. III-3). Elle résulte d'une simple consolidation par coalescence granulaire sans densification [RAY02-a]. Au dessus de 800°C, le retrait observé témoigne de la densification des matériaux.

Selon les résultats expérimentaux, la vitesse de montée en température n'influe que très légèrement sur le début du retrait et la température de vitesse maximale de frittage des échantillons. Avec une faible vitesse de montée en température ( $2,5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ), le pic intense centré à 1240°C sur les courbes dérivées du retrait linéaire de la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  peut être dissocié en deux pics centrés sur 1180 et 1250°C. Ce phénomène peut être corrélé à l'apparition de phases secondaires telles que le phosphate tricalcique. La transformation allotropique  $\text{TCP-}\beta \leftrightarrow \text{TCP-}\alpha$  s'effectue à 1180°C [MAT77; FAM94]. Elle est associée à une variation de volume (effet dilatométrique) qui peut expliquer le dédoublement de pic observé lorsque la vitesse de montée en température est plus lente.

La principale conséquence de l'incorporation de silicium dans l'apatite sur la densification est un décalage du début de frittage de 780°C à 990°C et de la vitesse maximale de densification de 1080°C à 1240°C entre l'HA et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ .

## III. 2. 2. Frittage

### III. 2. 2. 1. Influence de la teneur en silicium

Des échantillons pressés et séchés, déposés sur une plaque en alumine ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) ont été frittés sous air dans un four Super Kanthal à 1200°C pendant 30 min, avec des vitesses de montée et descente en température de  $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

## a. Mesure des densités

## a. 1. Technique de caractérisation

Pour les échantillons peu denses, les masses volumiques des échantillons frittés sont déterminées par mesure géométrique du diamètre ( $d$ ), de l'épaisseur ( $e$ ) et pesée ( $m$ ) des pastilles selon la formule :

$$d_{\text{géo}} = \frac{m}{e \cdot \pi \cdot \frac{d^2}{4}} \quad (\text{Eq. III-1})$$

Au-delà d'un taux de densification (environ 90%), la densité est déterminée par la méthode d'Archimède dans de l'eau ( $d_{\text{Archi}}$ ). Cette méthode consiste à réaliser deux pesées de l'échantillon, l'une à l'air ( $m_{\text{sèche}}$ ) et l'autre plongé dans l'eau ( $m_{\text{hydro}}$ ). Les densités sont calculées à partir de la relation Eq. III-2 :

$$d_{\text{Archi}} = \frac{m_{\text{sèche}}}{m_{\text{sèche}} - m_{\text{hydro}}} \quad (\text{Eq. III-2})$$

La valeur limite du taux de densification (environ 90%) est fixée par le type de porosité. En dessous de ce seuil, la porosité est ouverte. Une mesure de densité de tels échantillons par cette méthode engendre des erreurs de mesure importantes dues à l'évolution de la proportion d'eau susceptible d'être emprisonnée dans les pores. Il faut donc atteindre un taux de densification suffisant pour fermer la porosité et mesurer les densités de façon fiable par la méthode d'Archimède.

Le rapport de la masse volumique géométrique  $d_{\text{géo}}$  ou  $d_{\text{Archi}}$  à celle calculée pour les apatites monophasées (Tab. III-3) donne le taux densification (Eq. III-3) :

$$\tau(\%) = \frac{d_{\text{géo}} \text{ ou } d_{\text{Archi}}}{D_x} \times 100 \quad (\text{Eq. III-3})$$

Composition	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,4</sub> HA	Si <sub>0,6</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
D <sub>x</sub> calculée	3,154	3,133	3,119	3,102	3,071

Tableau III-3 : Densités calculées à partir des affinements de paramètres de maille des poudres monophasées traitées thermiquement à 1000°C – 15 h

### a. 2. Résultats

L'évolution du taux de densification en fonction de la teneur en silicium pour des frittages réalisés à 1200°C pendant 30 min est présentée figure III-8.

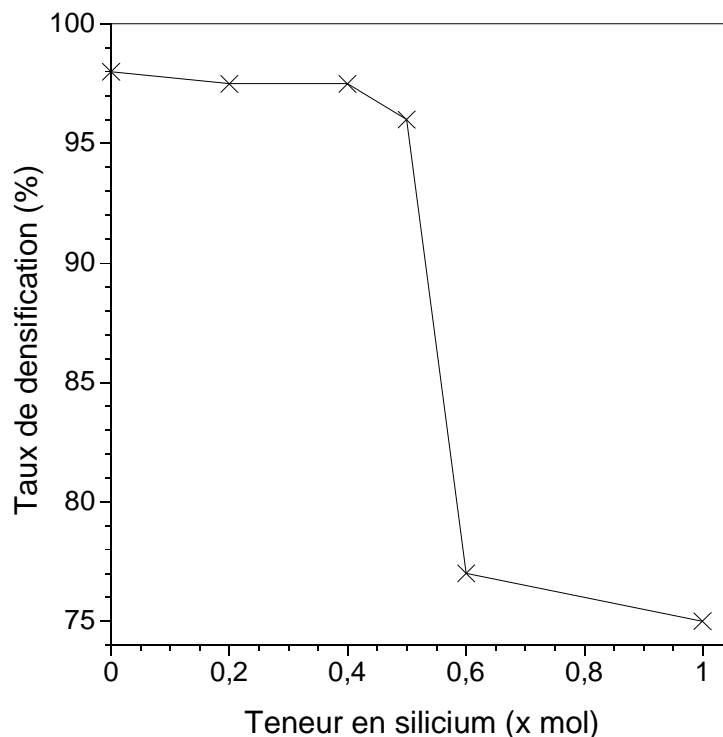


Figure III-8 : Taux de densification en fonction de la teneur en silicium pour des échantillons frittés à 1200°C pendant 30 min

Globalement, la densité relative des pastilles décroît avec l'augmentation du taux de silicium de 0 (HA) à 1 mol (Si<sub>1,0</sub>HA). Cependant, de HA à Si<sub>0,5</sub>HA, les taux de densification restent toujours supérieurs à 95% de la densité calculée des poudres, malgré une très légère baisse de 98 à 96%. Pour la composition Si<sub>0,5</sub>HA, la vitesse maximale de frittage (T<sub>MAX</sub>) se situe à 1180°C (Tab. III-2). La température de frittage de 1200°C, supérieure à T<sub>MAX</sub>, permet donc une densification à plus de 95% de la densité calculée. Le frittage des apatites Si<sub>x</sub>HA

( $x \leq 0,5$ ) n'est que très faiblement affecté par la présence de silicium dans sa structure. En revanche, une brusque chute de la densité est enregistrée pour les échantillons à plus fort taux de silicium ( $x \geq 0,6$ ). En effet, ces matériaux n'atteignent pas 80% de la densité calculée. Ces résultats sont en accord avec les vitesses maximales de frittage déterminées lors de l'étude dilatométrique (Tab. III-2). Pour les compositions  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $x \geq 0,6$ ), les  $T_{\text{MAX}}$  sont supérieures à  $1200^\circ\text{C}$  ( $T_{\text{MAX}}$  de  $\text{Si}_{1,0}\text{HA} = 1240^\circ\text{C}$ ), les conditions de frittage (température et temps) doivent donc être modifiées pour atteindre des taux de densification plus importants.

L'analyse par DRX des échantillons frittés a montré que les matériaux sont monophasés ou que dans le cas contraire, la quantité de phase secondaire (TCP- $\alpha$ ) est faible (Fig. III-9). Cependant, il est important de noter que les matériaux contenant la phase TCP- $\alpha$ , c'est-à-dire les compositions ( $\text{Si}_x\text{HA}$ ,  $x \geq 0,6$ ) correspondent aux céramiques les moins denses.

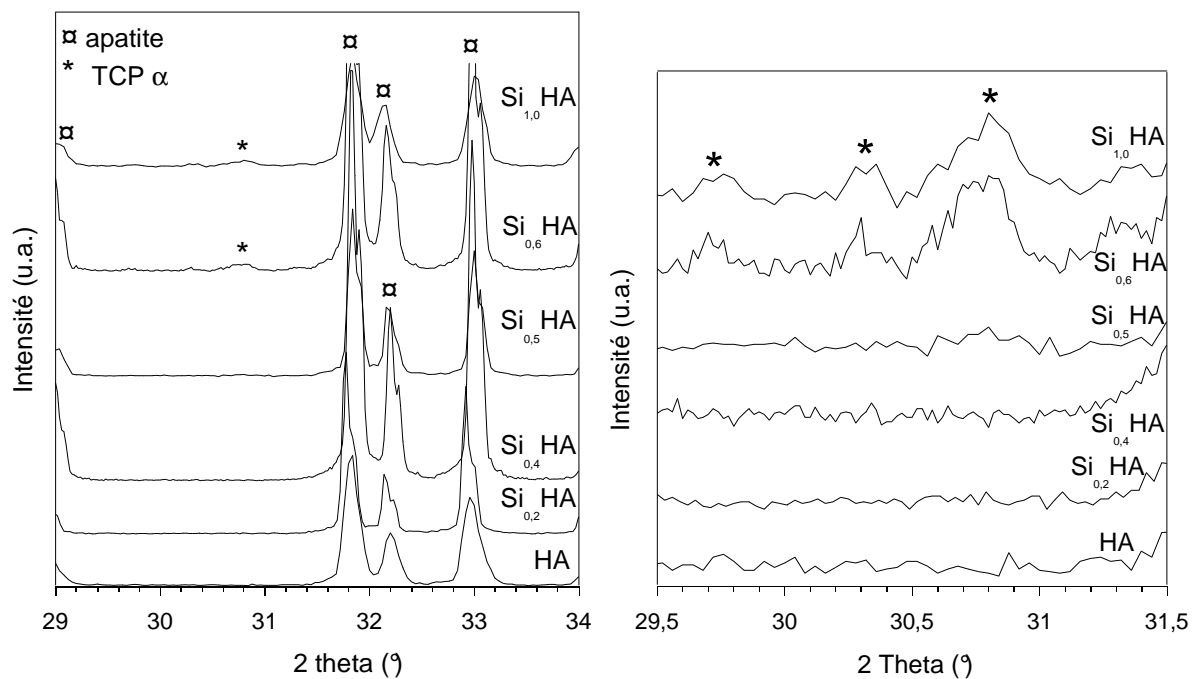


Figure III-9 : Diffractogrammes des compositions  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $0 \leq x \leq 1$ ) frittée à  $1200^\circ\text{C}$  pendant 30 min

Pour évaluer l'effet de la température sur la densification, des échantillons ont été frittés sous air à des températures comprises entre  $1100$  et  $1300^\circ\text{C}$  pendant 30 min.

La figure III-10 présente l'évolution du taux de densification de trois compositions HA,  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  en fonction de la température de frittage. Quelle que soit cette

température, l'hydroxyapatite HA est toujours dense à plus de 96% de la densité théorique. Par contre, les taux de densification des matériaux contenant du silicium sont fonction de la température de frittage. En dessous de 1200°C, le taux de densification de  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  ne dépasse pas 75% de la densité calculée. Au delà de 1200°C,  $T_{\text{MAX}}$  est dépassée (1180°C) (Tab. III-2) et la densification est très nettement améliorée. Les taux de densification atteignent des valeurs de 94 à 98% de la densité calculée pour des températures respectives de 1200 et 1300°C. Par rapport à  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$ , un décalage de 50°C vers les hautes températures de frittage est observé dans l'évolution de la densification de  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ . Ceci s'explique par le fait que  $T_{\text{MAX}}$  de cette composition est elle aussi décalée de 50°C (Tab. III-2). Une température de 1250°C est donc nécessaire pour que la densification de la composition  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  soit supérieure à 95% de la densité calculée.

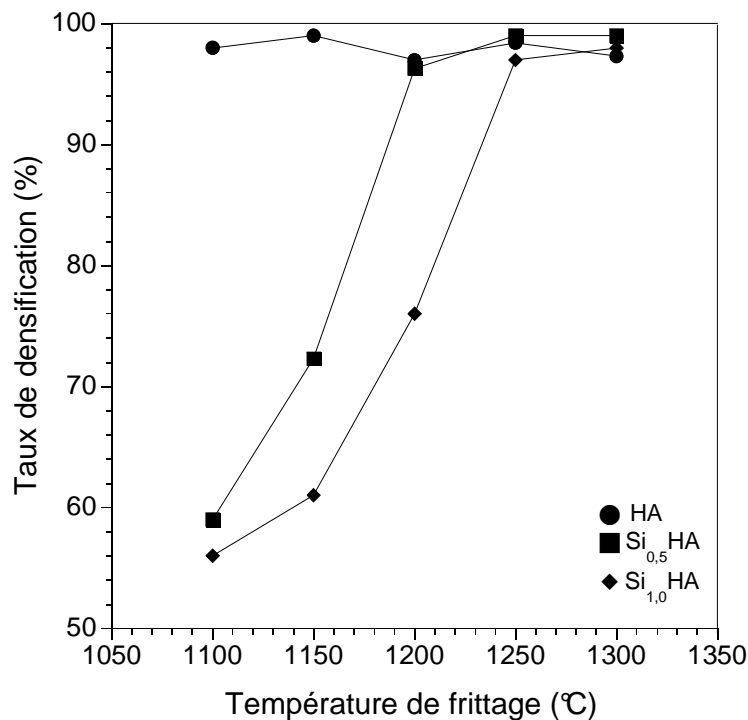


Figure III-10 : Taux de densification des compositions HA,  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  en fonction de la température de frittage pour un temps de palier de 30 min

## b. Microstructure

### b. 1. Technique de caractérisation

Les microstructures des échantillons sont observées par microscopie électronique à balayage (MEB) à l'aide d'un appareillage JEOL JSM-7400 F. Un polissage à la pâte diamantée ( $\Phi = 1 \mu\text{m}$ ) est réalisé sur les pastilles, suivi d'un gravage thermique pour révéler les joints de grains. Ce dernier consiste à calciner les échantillons polis pendant 6 à 12 min à une température inférieure de  $20^\circ\text{C}$  à celle du cycle de frittage. Le gravage thermique est effectué sous air dans le four où sont réalisés les frittages. Les vitesses de montée et descente en température sont identiques à celles des frittages ( $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

La distribution granulaire est déterminée par analyse des images MEB des microstructures des échantillons frittés. Le nombre total de grains à analyser est d'environ 1000 pour que la représentativité de la microstructure soit assurée. Plusieurs micrographies sont analysées pour une même pastille afin de prendre en compte les éventuelles hétérogénéités de la microstructure au sein d'un même échantillon.

Le logiciel de traitement informatique (Clemex vision) mesure la taille des grains à partir d'une image binaire où les joints de grains sont représentés par un trait noir d'une épaisseur d'un pixel. Le caractère bruité des micrographies, d'autant plus important que le grossissement est élevé, impose de faire la squelettisation à partir de calques réalisés manuellement. Ces calques subissent eux aussi un traitement d'image de manière à accentuer le contraste entre les grains et les joints de grains. Une fois l'image analysée, le logiciel fournit le résultat selon la forme souhaitée. Dans cette étude, toutes les valeurs de taille de grains sont données en Diamètre Cercle Equivalent (DCE) qui représente le diamètre d'un cercle qui aurait la même surface que le grain analysé. Ce résultat n'est en toute rigueur interprétable que si les grains sont de forme équiaxe. Les valeurs de taille des grains sont également présentées sous forme de classes qui donnent l'accès à la répartition granulométrique des échantillons.

### b. 2. Résultats

Les distributions granulaires des céramiques de composition  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $0 \leq x \leq 1$ ) frittées à  $1200^\circ\text{C}$  pendant 30 min sont données dans la figure III-11. Elles ne présentent pas de pic

secondaire (Fig. III-11a). La distribution des grains est quasiment monomodale. Les tailles moyennes des grains (DCE) de chaque composition sont reportées dans le tableau III-4.

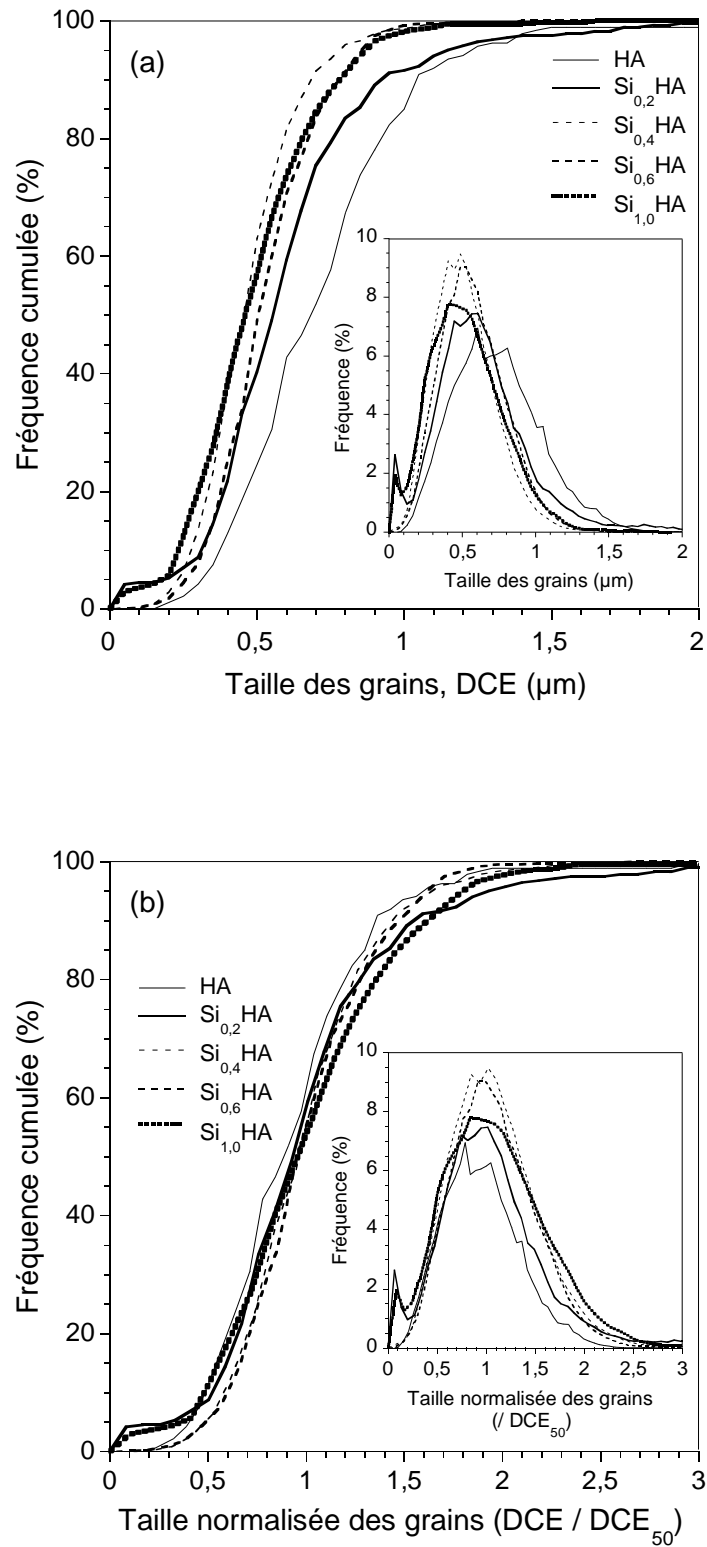


Figure III-11 : Fréquence et fréquence cumulée en fonction de la taille des grains (a) et de la taille normalisée (b)

Composition	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,4</sub> HA	Si <sub>0,5</sub> HA	Si <sub>0,6</sub> HA	Si <sub>1,0</sub> HA
DCE <sub>50</sub> (µm)	0,77	0,59	0,47	0,33	0,53	0,48

Tableau III-4 : Taille moyenne (DCE<sub>50</sub>) des grains après frittage à 1200°C – 30 min

La présence de silicium au sein de la structure apatitique ralentit la densification (Fig. III-8) mais également la croissance granulaire. L'évolution de la densité des matériaux frittés en fonction de la teneur en silicium a mis en évidence la différence entre les compositions Si<sub>x</sub>HA  $x \leq 0,5$  et Si<sub>x</sub>HA  $x \geq 0,6$ . Cette distinction se retrouve dans l'évolution de la taille moyenne des grains. Avec l'augmentation du taux de silicium, elle diminue de 0,77 à 0,33 µm respectivement de HA à Si<sub>0,5</sub>HA, puis augmente pour les compositions plus riches en silicium. La présence de phases secondaires, même en faible quantité pour les poudres Si<sub>x</sub>HA  $x \geq 0,6$  pourrait expliquer cette différence. La croissance granulaire dans ces composés peut être favorisée.

Les distributions en fréquences et fréquences cumulées en fonction de la taille des grains normalisée par rapport à la taille moyenne des grains (DCE/DCE<sub>50</sub>) sont identiques. Les distributions granulaires sont donc similaires. La caractérisation de la croissance granulaire peut donc être évaluée par rapport à la taille moyenne des grains [TET97]. L'ensemble de ces résultats montre par ailleurs qu'aucun grossissement anormal des grains ne se produit au cours du frittage des différentes compositions.

Les micrographies de la figure III-12 révèlent la microstructure de ces échantillons (Si<sub>x</sub>HA,  $0 \leq x \leq 1$ ).

Les composés contenant jusqu'à 0,5 mol de silicium sont très peu poreux. Les taux de densification de ce matériau étant supérieurs à 98% de la densité maximale, la porosité est fermée. Les grains sont de forme équiaxe. Au-delà de 0,5 mol de silicium, la porosité résiduelle est importante. Ces observations sont en accord avec les résultats des mesures de densité effectuées sur les matériaux après frittage.



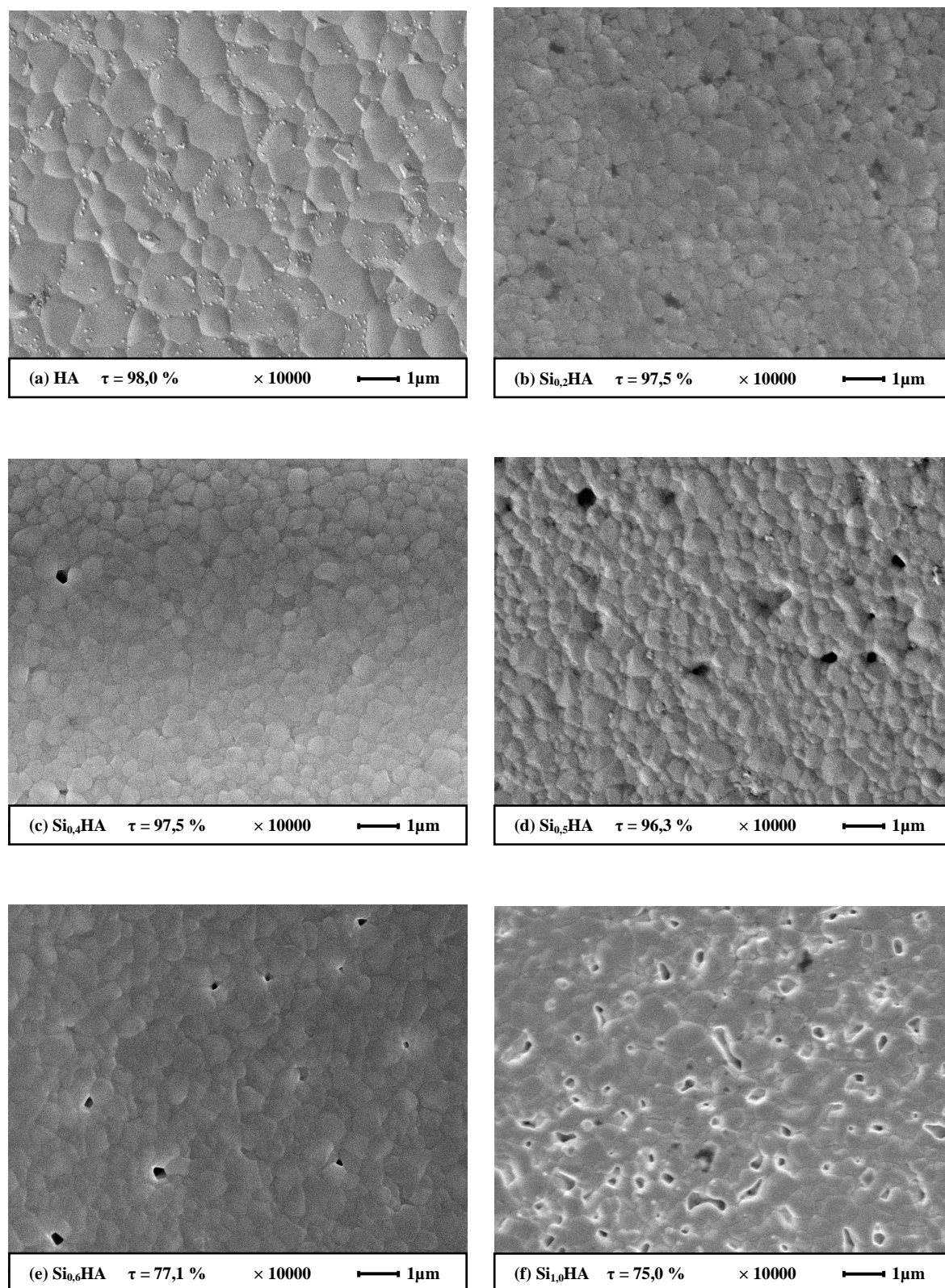


Figure III-12 : Micrographies MEB des pastilles d'HA (a),  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$  (b),  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  (c),  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  (d),  $\text{Si}_{0,6}\text{HA}$  (e) et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$  (f) frittées à  $1200^\circ\text{C}$  pendant 30 min sous air

### III. 2. 2. 2. Influence de la température et du temps de frittage

Cette partie de l'étude s'est limitée à la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$ .

Comme vu précédemment, pour un temps de palier de 30 min, l'augmentation de la température de frittage engendre une amélioration de la densification des céramiques. Lorsque la température de frittage est supérieure à  $T_{\text{MAX}}$ , 1180°C pour  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$ , les taux de densification dépassent 94% de la densité maximale calculée (Tab. III-5). L'allongement du temps de palier (de 30 à 120 min) améliore aussi les taux de densification. Ces changements sont regroupés dans le tableau III-5. Quelle que soit la température, l'augmentation du temps de palier améliore la densification des matériaux.

Température (°C)							
Temps (min)	1100	1150	1180	1190	1200	1250	1300
30	59,0	72,3	-	-	96,3	98,9	99,0
120	60,8	76,7	-	-	98,4	-	98,9
240	-	80,5	94,5	96,9	-	-	-

Tableau III-5 : Taux de densification de  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  en fonction des conditions de frittage (T et t)

La figure III-13 présente les diffractogrammes de la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  frittée 30 min sous air entre 1100 et 1300°C et 240 min à 1180 et 1190°C.

Les échantillons frittés 30 min sont monophasés en dessous de 1250°C. A partir de cette température, la phase TCP- $\alpha$  est détectée (Fig. III-13a) par ses deux pics principaux de diffraction à 30,7 et 34,2° (2 $\theta$ ). A ces températures ( $T \geq 1250^\circ\text{C}$ ), l'intensité du pic situé à 33° (2 $\theta$ ) témoigne de la présence de  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$  et des traces de  $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$  sont observées. L'augmentation du temps de palier de frittage abaisse la température d'apparition des phases secondaires (Fig. III-13). Ces résultats sont en accord avec ceux issus de l'étude de stabilité thermique des poudres d'apatites silicatées. Ainsi, le diffractogramme du matériau fritté à 1190°C pendant 240 min présente les pics du TCP- $\alpha$ .

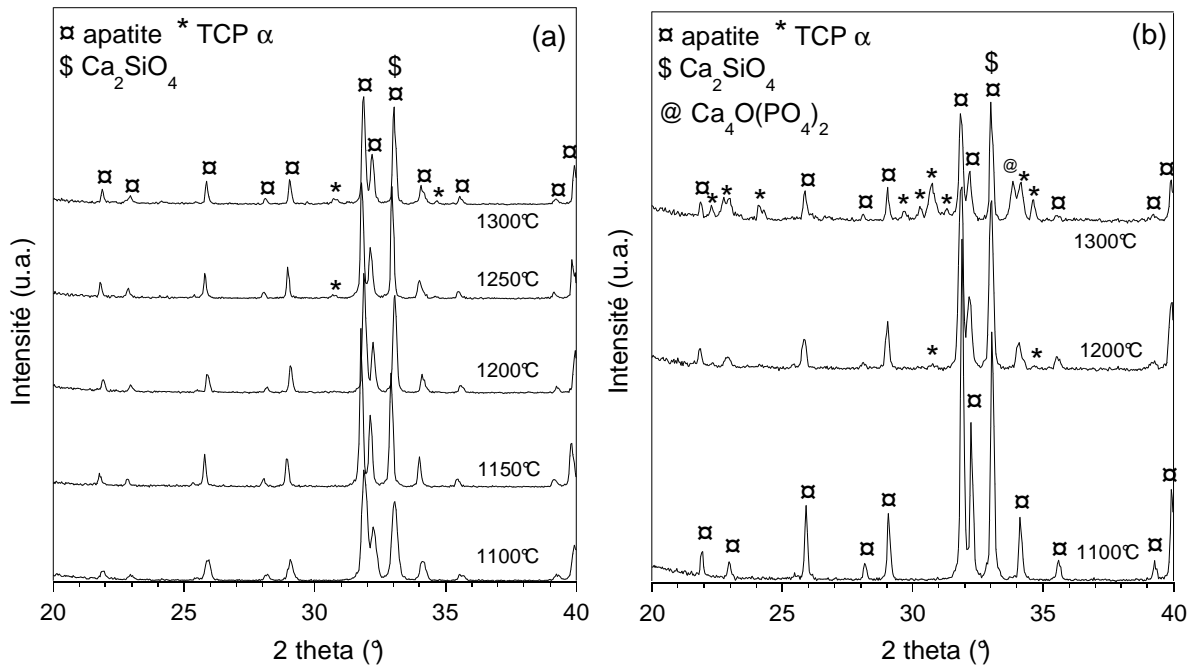


Figure III-13 : Diffractogrammes des échantillons de composition  $\text{Si}_{0.5}\text{HA}$  frittés sous air pendant 30 min (a), 120 min ou 240 min (b) de 1100 à 1300°C

Les distributions granulaires de la composition  $\text{Si}_{0.5}\text{HA}$  frittée 30 min à 1200, 1250 et 1300°C sont données dans la figure III-14. Elles ne présentent pas de pic secondaire (Fig. III-14a). La distribution des grains est sensiblement monomodale. Les tailles moyennes des grains (DCE) de chaque composition sont reportées dans le tableau III-6.

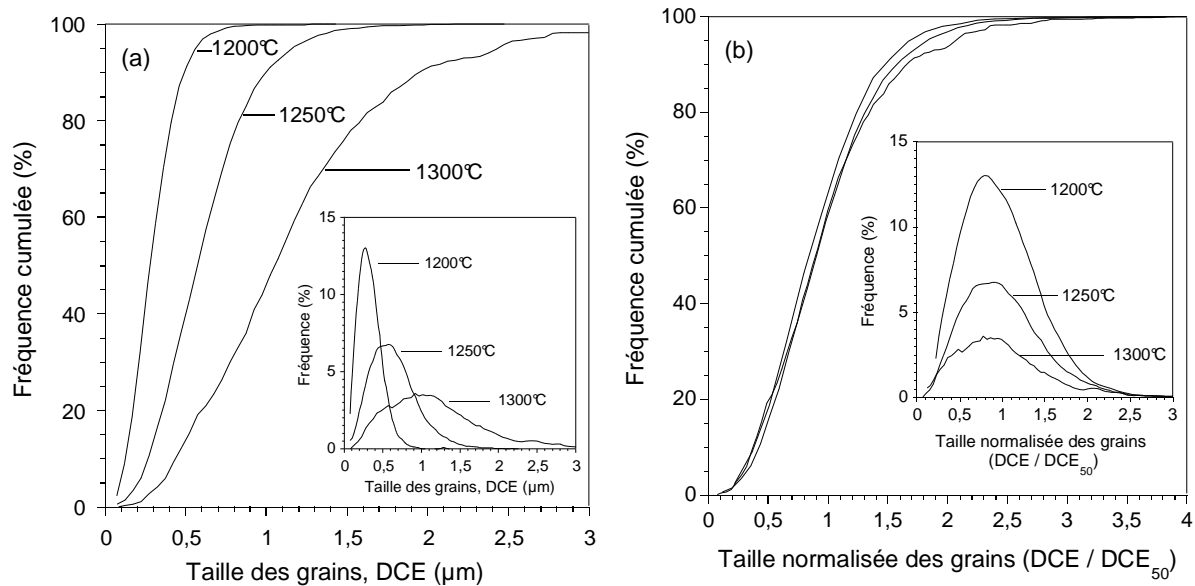


Figure III-14 : Fréquence et fréquence cumulée en fonction de la taille des grains (a) et de la taille normalisée (b) – temps de frittage : 30 min pour la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$

Conditions (T(°C) - t (min))	1200 - 30	1250 - 30	1300 - 30
DCE <sub>50</sub> (μm)	0,33	0,64	1,17

Tableau III-6 : Taille moyenne des grains (DCE<sub>50</sub>) de la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  frittée sous différentes conditions

L'augmentation de la température de frittage de 1200 à 1300°C mène logiquement à une croissance granulaire pour un temps de frittage identique (30 min). A 1200°C, la taille moyenne est de 0,3 μm puis de 0,6 et 1,3 μm respectivement à 1250 et 1300°C. Ainsi, une augmentation de 50°C de la température de frittage conduit à doubler la taille moyenne des grains. Les fréquences et fréquences cumulées en fonction de la taille des grains normalisée par rapport à la taille moyenne des grains (DCE/DCE<sub>50</sub>) sont à nouveau identiques. Comme précédemment, les distributions granulaires sont donc similaires et la caractérisation de la croissance granulaire peut donc être évaluée par rapport à la taille moyenne des grains. L'ensemble de ces résultats montre qu'aucun grossissement anormal des grains ne se produit dans ces conditions de frittage.

La taille moyenne des grains (DCE) des échantillons frittés est à 1180 et 1190°C pendant 240 min est respectivement de 0,42 et 0,48 μm. Par rapport au frittage de référence (1200°C – 30 min, DCE<sub>50</sub> = 0,33 μm), malgré la légère baisse de la température, l'augmentation du temps de palier a engendré un léger grossissement des grains (Fig. III-15).

Les micrographies de la figure III-15 révèlent la microstructure de ces échantillons.

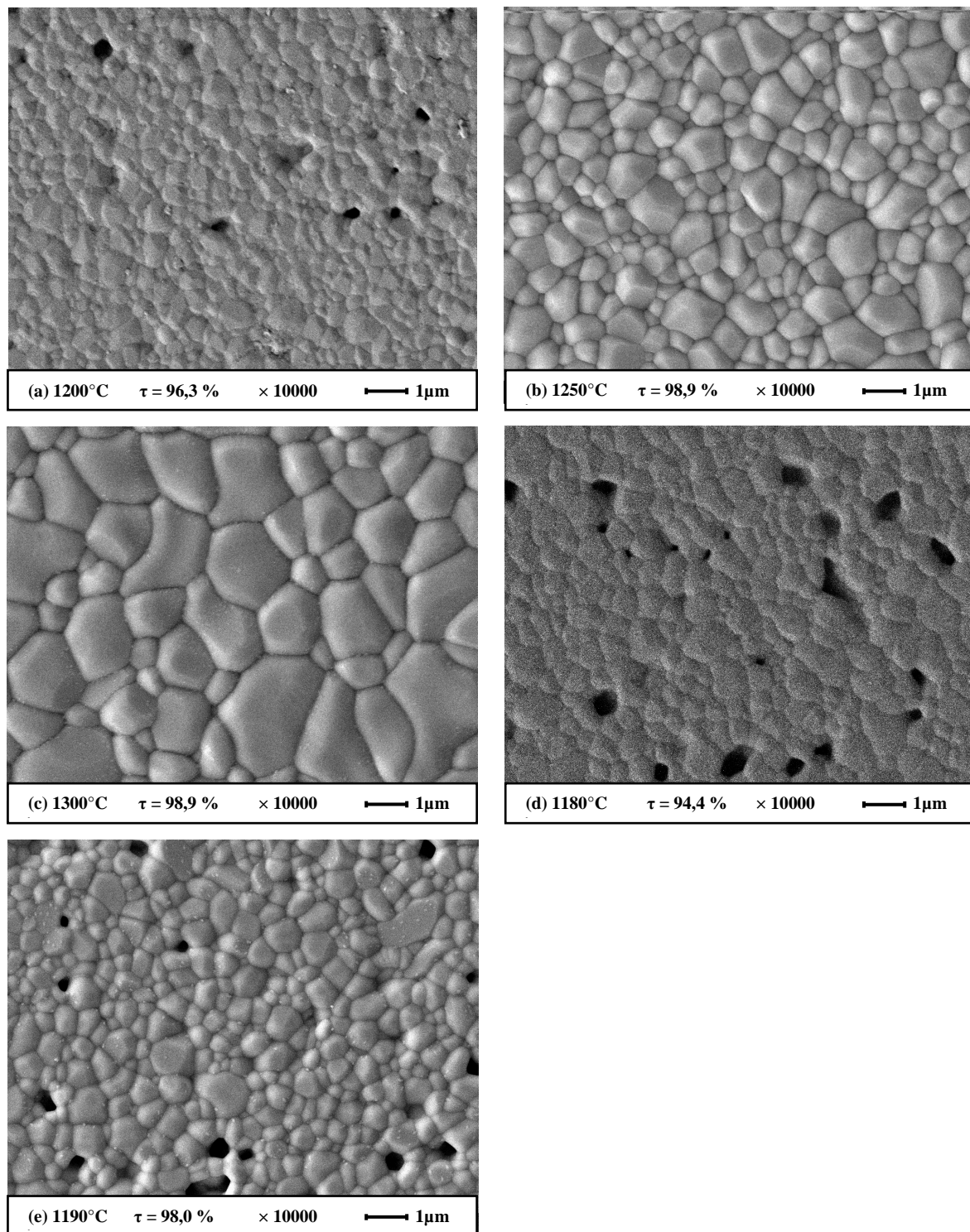


Figure III-15 : Micrographies MEB de la composition  $\text{Si}_{0,5}\text{HA}$  frittée sous air pendant 30 min à 1200°C (a), 1250°C (b), 1300°C (c) et pendant 240 min à 1180°C (d) et 1190°C (e)

### III. 2. 2. 3. Conclusion

A partir des résultats de l'étude expérimentale, il apparaît que l'aptitude au frittage des apatites silicatées dont la teneur en silicium ne dépasse pas 0,5 mol est comparable à l'HA. En effet, un traitement thermique à 1200°C pendant 30 min appliqué à ces poudres permet une densification à plus de 97% de la densité maximale calculée. Aucune phase secondaire n'est détectée dans ces matériaux après frittage. La présence de silicium dans l'apatite a pour principale conséquence de ralentir légèrement la cinétique de frittage et la croissance granulaire. L'étude des différents paramètres de frittage a montré que l'augmentation de la température et du temps favorise la densification malgré un grossissement granulaire.

Pour les apatites  $\text{Si}_x\text{HA}$  contenant des taux de silicium plus importants, typiquement  $x > 0,5$  mol de silicium, la densification des matériaux sans formation de phase secondaire est plus problématique. Une étude complémentaire du frittage a donc été réalisée pour optimiser la densification de ces matériaux.

### III. 2. 3. Optimisation du frittage des compositions $\text{Si}_x\text{HA}$ $x \geq 0,6$

Le traitement thermique de référence est 1200°C pendant 30 min. Dans ces conditions, le matériau de composition  $\text{Si}_{0,6}\text{HA}$  est dense à 77% mais présente des traces de TCP- $\alpha$ . Modifier la cinétique de frittage en abaissant la température à 1180°C tout en augmentant le temps de palier à 240 min permet d'améliorer le taux de densification à 88%, toutefois des traces de TCP- $\alpha$  sont toujours détectées. Les diffractogrammes des différents frittages sont présentés dans la figure III-16 et le tableau III-7 regroupe les taux de densification correspondants.

Les expériences effectuées à une température supérieure à  $T_{\text{MAX}}$ , soit 1200°C, permettent d'améliorer la densification de ce matériau ( $\tau \geq 94\%$  de la densité maximale calculée). Par contre, fritter cette composition à 1250°C sans palier ne donne pas de résultat satisfaisant. A cette température, le taux de densification augmente avec le temps de palier de 78 à 99% de la densité maximale calculée respectivement de 0 à 30 min (Tab. III-7). Les matériaux testés biologiquement par culture cellulaire doivent être exempts de porosité ouverte ( $\tau > 92\%$ ) afin d'éliminer l'influence de cette dernière sur la réponse des cellules. Bien qu'à cette température (1250°C) les céramiques possèdent des taux de densification satisfaisants, toutes présentent des traces de TCP- $\alpha$ .

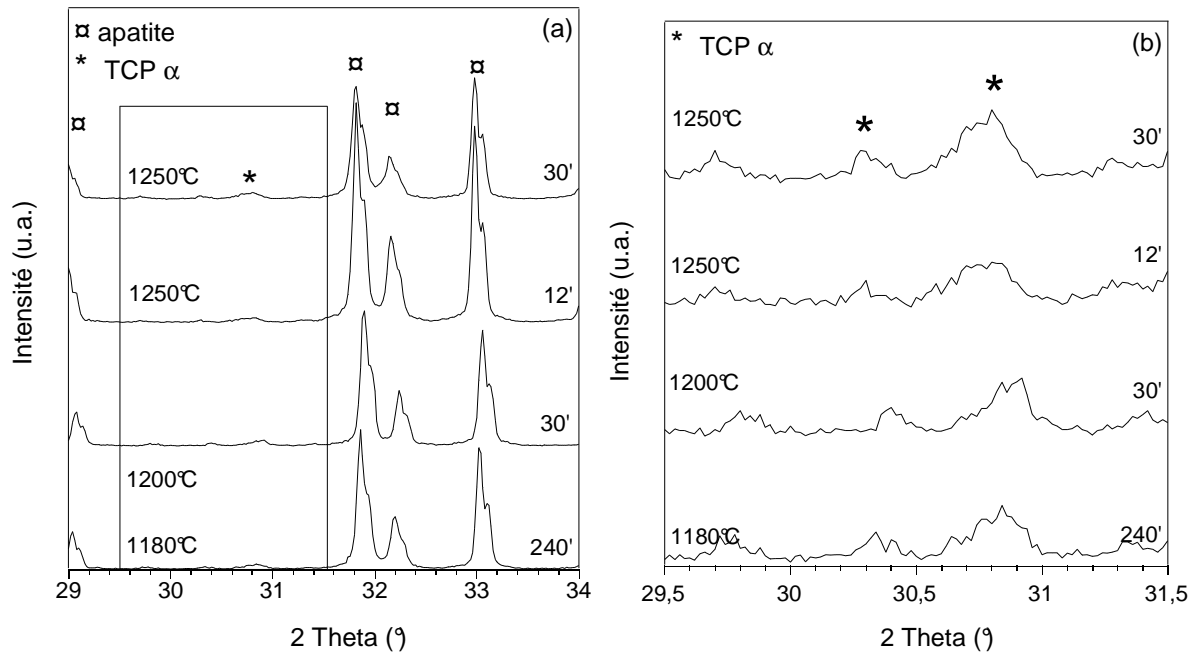


Figure III-16 : Diffractogrammes de la composition Si<sub>0,6</sub>HA frittée sous différentes conditions de frittage (a) et zoom dans la zone du pic 100 du TCP-α (b)

Temps (min)					
Température (°C)	0	6	12	30	240
1180	-	-	-	-	88,0
1200	-	-	-	77,0	-
1230	-	96,2	-	-	-
1250	78,0	94,0	97,2	99	-

Tableau III-7 : Taux de densification de Si<sub>0,6</sub>HA en fonction des conditions de frittage (T et t)

Il apparaît néanmoins que la quantité de cette phase reste négligeable (moins de 1% en masse) par rapport à la phase principale. Un compromis doit donc être trouvé entre la densification et la composition chimique des matériaux. Dans le cas Si<sub>0,6</sub>HA, le cycle de frittage optimal semble être 1250°C – 12 min. Le taux de densification est alors de 97% de la densité maximale calculée et l'intensité relative des pics principaux du TCP-α est la plus faible. Ce taux de densification garantit que toute la porosité est fermée.

Pour la composition Si<sub>1,0</sub>HA, l'écart entre la température d'apparition de la phase secondaire TCP-α (1150°C) et la température de vitesse maximale de frittage T<sub>MAX</sub> (1240°C) est trop important. La phase secondaire apparaît bien avant la densification totale des

céramiques. Compte tenu de ces résultats, aucune expérience supplémentaire n'a été effectuée sur cette composition.

### III. 3. Conclusion

Lorsque du silicium est incorporé dans la structure de l'apatite, le début de frittage et la vitesse maximale de frittage des céramiques sont décalés vers les hautes températures. Ainsi, les taux de densification diminuent avec l'augmentation de la teneur en silicium. Gibson et al. [GIB02] rapportent le même type d'évolution de la densité des matériaux frittés en fonction de la température et de la teneur en silicium. Il est donc nécessaire d'atteindre la température de vitesse maximale de frittage  $T_{MAX}$  pour obtenir des taux densification très élevés. Pour des teneurs en silicium de l'ordre de 0,6 mol,  $T_{MAX}$  est très proche de la température de décomposition thermique de l'apatite silicatée. Un compromis doit donc être trouvé entre ces deux températures. Pour les poudres contenant plus de 0,6 mol de silicium, la densification totale est impossible sans décomposition thermique de la phase apatitique.

L'étude du frittage d'apatites silicatées a permis de trouver les conditions optimales de frittage pour les compositions  $Si_xHA$  ( $0,2 \leq x \leq 0,5$ ) afin d'obtenir des céramiques denses à plus de 95% de la densité maximale calculée. Ces matériaux sont monophasés. Pour 0,6 mol de silicium, la proportion de phase secondaire détectée à l'état de traces peut être négligée. Les conditions optimales de frittage de chacune des compositions  $Si_xHA$  ( $0,2 \leq x \leq 0,6$ ) sont reportées dans le tableau III-8.

Composition	HA	$Si_{0,2}HA$	$Si_{0,4}HA$	$Si_{0,5}HA$	$Si_{0,6}HA$
Température (°C)	1200	1200	1200	1200	1250
Temps (min)	30	30	30	30	12
Taux de densification (%)	98,0	97,5	97,0	96,3	97,2

Tableau III-8 : Conditions de frittage optimales et taux de densification ( $\tau$ ) des compositions  $Si_xHA$  ( $0 \leq x \leq 0,6$ )

Si la température et le temps de frittage n'excèdent pas  $T = 1200^\circ C$  et  $t = 30$  min, les céramiques contenant jusqu'à  $x_{Si} = 0,5$  mol de silicium peuvent être densifiées sans apparition de phase secondaire. Si la valeur de l'un de ces trois paramètres augmente, l'apatite silicatée se décompose. Contrairement à ces résultats, une seule étude indique qu'il est possible de



densifier à plus de 95% des apatites contenant  $x = 0,57$  mol de silicium (1,6% en masse) sans phase secondaire avec un traitement thermique à 1300°C pendant 120 min. Dans ces conditions, les valeurs des trois paramètres ( $T$ ,  $t$  et  $x_{Si}$ ) cités ci-avant sont toutes supérieures. Néanmoins, le diffractogramme de la poudre traitée à cette température n'est pas présenté dans la publication [GIB02].

La taille moyenne des grains des céramiques frittées est modifiée selon la teneur initiale en silicium. Dans les mêmes conditions de frittage, elle diminue avec l'augmentation du taux de silicium. Le grossissement des grains est plus faible car les énergies d'activation de la croissance granulaire des Si-HA sont plus grandes que celle calculée pour l'HA [GIB02].



## Chapitre IV

### EVALUATION BIOLOGIQUE



## Chapitre IV - Evaluation biologique

La maîtrise de la synthèse d'hydroxyapatites silicatées de formule chimique  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  a permis d'élaborer des céramiques denses et monophasées à teneur contrôlée en silicium. L'objectif de cette partie de l'étude est d'évaluer l'effet du silicium et de sa teneur sur la bioactivité des apatites en culture cellulaire *in vitro*. La porosité et la présence de phase secondaire dans les matériaux sont deux paramètres qui influencent le comportement *in vitro*. C'est pourquoi, les céramiques élaborées dans ce travail présentent des taux de densification comparables et supérieurs à 95% de la densité maximale calculée et sont exemptes de phase secondaire.

Cette étude a été conduite sur des pastilles de titane standard (Ti6Al4V) servant de référence et des échantillons frittés d'hydroxyapatites stoechiométrique et silicatées de composition variable ( $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$ ,  $\text{Si}_{0,4}\text{HA}$  et  $\text{Si}_{0,6}\text{HA}$ ). L'évaluation biologique de ces matériaux a été effectuée au Centre Ingénierie et Santé (CIS) de l'Ecole des Mines de St-Etienne en collaboration avec le Laboratoire de Biologie du Tissu Osseux (LBTO).

### IV. 1. Méthodes expérimentales

#### IV. 1. 1. Elaboration et préparation des échantillons

L'étude du frittage des apatites silicatées a permis de trouver les conditions adaptées à l'obtention de céramiques denses et monophasées. Le tableau IV-1 rappelle les conditions de frittage propres à chaque composition ainsi que les taux de densification, la composition chimique et la rugosité. Cette dernière est déterminée par microscopie à force atomique (AFM, type d'appareillage). Dix mesures de rugosité sont effectuées sur 10 carrés de 40  $\mu\text{m}$  de côté et la valeur moyenne est obtenue à partir de la relation Eq. IV-1 :

$$R_a = \frac{1}{N_x N_y} \times \sum_{i=1}^N |z(ij) - z_{\text{moyen}}| \quad (\text{Eq. IV-1})$$

Où N représente le nombre de mesures et z la hauteur des pics ou la profondeur des creux.

Composition	HA	Si <sub>0,2</sub> HA	Si <sub>0,4</sub> HA	Si <sub>0,6</sub> HA
<b>Traitement thermique</b>	1200°C 120 min	1200°C 60 min	1200°C 30 min	1250°C 12 min
<b>Taux de densification (%)</b>	98 ± 0,2	98,5 ± 0,2	97,5 ± 0,2	97 ± 0,6
<b>Analyses structurales</b>	Apatite	Apatite	Apatite	Apatite + trace de TCP-α
<b>Rugosité R<sub>a</sub> (nm)</b>	11,8	7,5	8,6	10,1

Tableau IV-1 : Conditions de frittage, taux de densification, analyses structurales et rugosité (R<sub>a</sub>) des céramiques HA et Si-HA (0,2 ≤ x ≤ 0,6)

Pour chaque composition, une vingtaine de pastilles est produite dans les conditions décrites dans le tableau IV-1. Au préalable, des préformes sont réalisées par pressage uniaxial dans une matrice 10 mm de diamètre pour Si<sub>0,2</sub>HA et 12,5 mm pour HA, Si<sub>0,4</sub>HA et Si<sub>0,6</sub>HA. Selon la matrice utilisée, ces compositions sont frittées par lot de 10 pastilles (Si<sub>0,2</sub>HA) ou par lot de 7 (HA, Si<sub>0,4</sub>HA et Si<sub>0,6</sub>HA). Les taux de densification moyens sont compris entre 97 et 98,5% de la densité maximale calculée. La porosité résiduelle est dans tous les cas fermée, ce qui permet de comparer les résultats de l'évaluation biologique en éliminant les effets de la porosité ouverte sur la bioactivité. Une analyse par diffraction des rayons X est réalisée sur les échantillons après frittage afin d'identifier les phases en présence. Les céramiques HA, Si<sub>0,2</sub>HA et Si<sub>0,4</sub>HA sont monophasées et de structure apatitique. La composition Si<sub>0,6</sub>HA quant à elle, présente un très faible pic à 30,8° (2θ) attribué au phosphate tricalcique alpha (TCP-α) (Fig. III-16). Cependant, la très faible intensité de ce pic permet de négliger cette phase. Après frittage, un polissage à la pâte diamantée (Φ = 1 μm) est réalisé sur les pastilles afin d'homogénéiser la surface. Les valeurs de rugosité sont comparables (Tab. IV-1), en moyenne de 9,5 nm. L'état de surface est donc identique quel que soit le matériau.

#### IV. 1. 2. Protocole des essais *in vitro*

##### IV. 1. 2. 1. Techniques de culture et ensemencement cellulaires

Les cellules utilisées proviennent de la lignée MG-63 (cellules ostéoblastes humaines) fournies par la société ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA). Ce sont des ostéoblastes isolés à partir de tumeurs malignes osseuses humaines ou

ostéosarcomes. Ces cellules présentent l'avantage d'avoir un taux de prolifération élevé et ont un **phénotype** stable. C'est une lignée de référence pour les biomatériaux.

Les manipulations ont eu lieu dans une salle de culture cellulaire sous un Poste de Sécurité Microbiologique (PSM). Le matériel plastique utilisé est stérile et à usage unique.

Les cellules sont disposées dans une étuve à atmosphère contrôlée : 37°C, 95% d'humidité, 5% de CO<sub>2</sub>. Le milieu de culture de base utilisé est un milieu minimum essentiel (SIGMA M4526). Il contient des sels minéraux, des acides aminés, des vitamines, du glucose, un indicateur de pH (rouge de phénol) et de l'acide pyruvique. Les sels minéraux ont plusieurs fonctions : ils permettent le maintien de la **pression osmotique**, jouent un rôle dans les transports membranaires et sont des cofacteurs de réactions enzymatiques. Enfin, le calcium présent permet l'attachement des cellules au support de culture. Les acides aminés permettent la synthèse protéique. Le glucose et le pyruvate sont des sources d'énergie pour les cellules.

Ce milieu de base est complété avec 10% de sérum de veau fœtal pur (Biological Industries 04-001-1), 1% d'antibiotiques à 50X (SIGMA P4458) et 1% de L-glutamine à 0,2 mol.L<sup>-1</sup> (SIGMA G7513) afin de devenir un milieu complet. Le sérum de veau fœtal, composé entre autres d'hormones, de sels minéraux et de facteurs d'attachement, est nécessaire à la croissance des cellules. La glutamine est rajoutée extemporanément car il s'agit d'un acide aminé non stable. Le mélange d'antibiotiques permet de couvrir un large spectre bactérien.

L'entretien des cultures sur support plastique (T75 Falcon) débute lorsque les cellules MG-63 atteignent la confluence (point où toutes les cellules entrent en contact les unes avec les autres). Un repiquage par trypsination est alors mis en œuvre afin d'assurer leur multiplication. Cette dernière opération permet le décollement des cellules du support. En effet, l'EDTA chélate les ions calcium qui servaient à la fixation des cellules au support. Après un temps d'incubation de 2 min environ à l'étuve à 37°C, l'action de la **trypsine** est bloquée par l'ajout de milieu complet (8 ml). En effet, celui-ci dilue la **trypsine** car le sérum de veau fœtal contient des inhibiteurs de cette enzyme. Le mélange est centrifugé pendant 5 min à 800 tours.min<sup>-1</sup>. Le culot est repris par le milieu complet (10 ml). Après numération sur hématimètre de Thoma, les cellules sont remises en culture dans de nouveaux T75 à raison de 10<sup>6</sup> cellules par boîte. Le milieu de culture est renouvelé tous les 2 jours.

L'ensemencement des cellules est défini comme étant leur introduction dans un milieu de culture pour les faire proliférer. Les pastilles support sont disposées dans des boîtes de

pétri 24 puits de diamètre 16 mm (Fig. IV-2) et sont ensemencées à raison de  $400 \text{ cellules} \cdot \text{mm}^{-2}$  et de 3 pastilles par temps de culture.

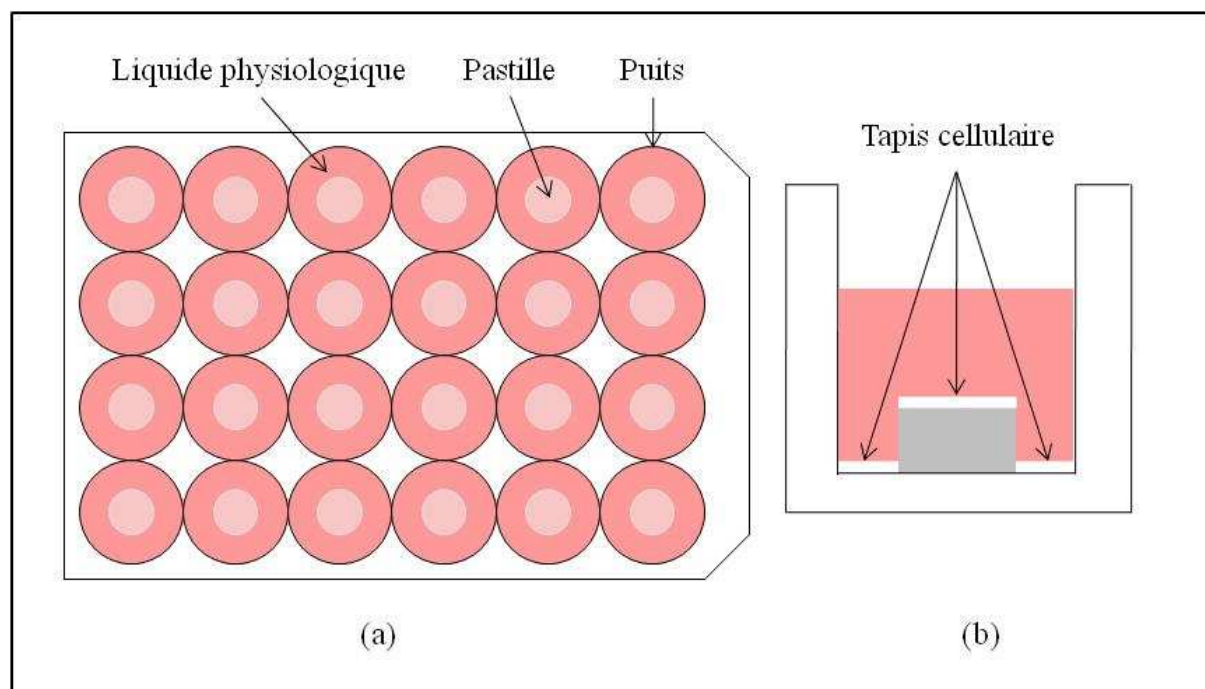


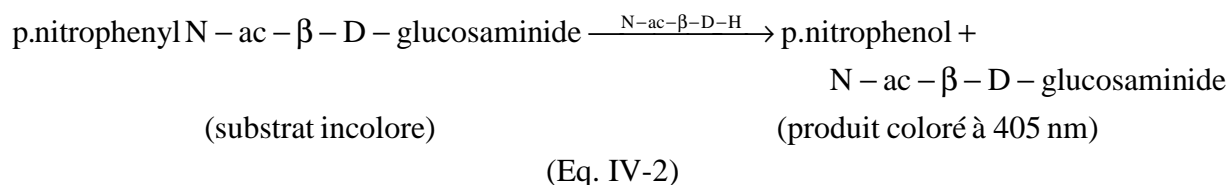
Figure IV-1 : Représentation d'une boîte 24 puits (a) et d'un puits (b) contenant une pastille et 1 mL de suspension cellulaire. Le tapis cellulaire déposé sur la pastille et sur le fond du puits est défini par la couche blanche

#### IV. 1. 2. 2. Cinétique cellulaire

Le nombre de cellules sur les matériaux est évalué grâce à l'activité enzymatique de la N-acétyl- $\beta$ -D-Hexosaminidase lysosomiale (N-ac- $\beta$ -D-H). Cette enzyme, présente dans de nombreux tissus est notamment impliquée dans la dégradation des constituants cellulaires glycosylés.

Cette technique est adaptée d'une précédente étude [PAL05]. La dégradation du Para-nitrophénylique-N-acétyl- $\beta$ -D-Glucosaminide (BGN) (Eq. IV-2), un substrat chromogène métabolisé par l'hexosaminidase cellulaire, est mesurée.





Le protocole est adapté de sorte que l'activité enzymatique soit proportionnelle au nombre de cellules.

Les cultures sont rincées avec du tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) et mises en incubation à 37°C en présence de 0,8 mL de la solution de substrat. Cette dernière est composée du BGN de concentration 3,74 mmol.L<sup>-1</sup>, diluée dans une solution tampon de citrate à 50 mmol.L<sup>-1</sup> (pH = 5) et d'une solution triton à 0,25% X100 (perméabilisation des cellules). La réaction est arrêtée après 60 min par addition de 1 mL de tampon bloquant composé de glycine à 50 mmol.L<sup>-1</sup> et d'EDTA à 5 mmol.L<sup>-1</sup> dont le pH est de 10,4. Les mesures de densité optique sont alors effectuées à 405 nm par un spectrophotomètre (Thermo Electron Corporation Multiskan Spectrum / logiciel : scanIt RE for MSS 2.1).

#### IV. 1. 2. 3. Comportement cellulaire

##### a. Double marquage de l'actine et des noyaux cellulaires par immunofluorescence

L'observation du cytosquelette et particulièrement des filaments d'actine est effectuée par un marquage immunofluorescent à la phalloïdine-rhodamine. Cette dernière est une toxine provenant des amanites phalloïdes, ayant une grande affinité pour les filaments d'actine. Elle est couplée à un fluorochrome rouge qui est un dérivé de la rhodamine, le TRITC (Tetramethyl Rhodamine Iso Thio Cyanate). Les noyaux des cellules sont visualisés grâce à l'utilisation d'un composé fluorochrome marquant les acides nucléiques, le DAPI (4,6-diamido-2-phénylindole hydrochloride).

La solution réactive est préparée en diluant au dixième du DAPI à 10 µg.mL<sup>-1</sup> (SIGMA D9542-5MG) dans du PBS (SIGMA P3813, pH 7,4 ; 0,01 mol.L<sup>-1</sup>) puis en rajoutant au centième du sérum de veau fœtal et au cinquantième de la phalloïdine-rhodamine (Invitrogen - Molecular Probes - R415).

Les cellules sont lavées dans du PBS puis fixées avec 4% de paraformaldéhyde pendant 20 min à 4°C. Après un second lavage au PBS, la perméabilisation des cellules est effectuée par addition de 0,1% de Triton X100 (détergent de formule  $C_8H_{15}C_6H_4(OC_2H_4)_9OH$ ) dans du PBS pendant 4 min. A la suite de trois lavages successifs dans le PBS, 30  $\mu$ L de la solution sont déposés par pastille. Chaque pastille est recouverte de parafilm pour homogénéiser la surface. En maintenant une atmosphère humide, les pastilles sont mises en incubation à 37°C pendant 30 min. A la suite d'un nouveau rinçage au PBS, une goutte de fluoprep (milieu de montage pour immunofluorescence – BioMérieux 75521) est déposée sur les pastilles pour conserver la fluorescence. Avant l'observation au microscope à fluorescence (Leica Leitz DMRB), la préparation est recouverte d'une lamelle de microscope et laissée une nuit à température ambiante pour la fixer à la pastille.

#### b. Marquage de la paxilline par immunofluorescence

Lors du processus d'adhésion des cellules ostéoblastiques, des points de contact appelés aussi plaques d'adhésion ou contacts focaux sont formés. Ils permettent d'établir un pont entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette de la cellule via les récepteurs intégriniques. Ces ponts moléculaires se composent d'un regroupement d'intégrines (**protéines transmembranaires**) associées à un complexe protéique intracytoplasmique appelé contact focal, lui-même relié aux filaments d'actine du cytosquelette. Parmi les protéines de ce complexe, on trouve la paxilline qui est indispensable à l'assemblage du contact focal. Ces contacts focaux représentent une très forte adhésion de la cellule à la surface.

Pour le marquage de la paxilline, deux anticorps sont utilisés, un primaire et un secondaire. L'anticorps primaire est un anticorps anti-paxilline. Il s'agit du IgG (Immunoglobulines G) **monoclonaux** de souris. Après incubation, une deuxième solution d'anticorps est utilisée et dirigée contre les anticorps primaires, ce sont les anticorps secondaires. Ces derniers sont des anticorps anti-IgG de souris. Ces deux solutions sont couplées à un fluorochrome afin de pouvoir visualiser leur présence en microscopie à fluorescence. Deux solutions sont donc réalisées, la première contenant l'anticorps primaire et la seconde l'anticorps secondaire. Dans la première solution, l'anticorps primaire est dilué au centième à  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$  (Upstate – Anti-paxillin – 05-417) dans du PBS. Dans la seconde

solution, l'anticorps secondaire est dilué au cinquantième à  $2 \text{ mg.mL}^{-1}$  (Molecular Probes - Alexa Fluor 488 goat anti-mouse IgG – A11029) dans du PBS.

Après rinçage des cultures au PBS, ces dernières sont fixées par une solution de paraformaldéhyde à 4 % pendant 15 min à  $4^{\circ}\text{C}$ . Elles sont ensuite rincées au PBS avant de perméabiliser les parois cellulaires grâce à une solution de Triton à 0,1% pendant 3 min. Un nouveau rinçage au PBS est effectué. Puis,  $30 \mu\text{L}$  de la première solution sont déposés sur chaque pastille et recouvert de parafilm (empêchant l'évaporation de la gouttelette de solution). Tout en maintenant une atmosphère humide, les pastilles sont incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 1 h 30. Après rinçage au PBS,  $30 \mu\text{L}$  de la deuxième solution sont déposés sur chaque pastille et recouvert de parafilm. L'opération d'incubation est ensuite renouvelée (à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 1 h 30). Après rinçage au PBS, une goutte de fluoprep ainsi qu'une lame de verre sont déposées sur les pastilles. Avant observation au microscope, les préparations sont laissées au repos pendant une nuit.

## IV. 2. Résultats

La figure IV-2 présente l'évolution du nombre de cellules vivantes MG-63 sur différents substrats (Ti, HA et  $\text{Si}_x\text{HA}$ ,  $0,2 \leq x \leq 0,6$ ) en fonction du temps de culture.

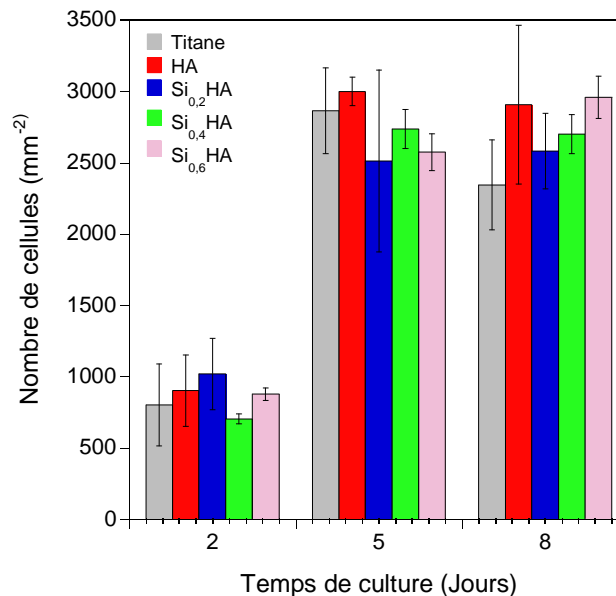


Figure IV-2 : Evolution de la cinétique cellulaire de différents substrats en fonction du temps de culture

Le nombre de cellules vivantes sur les substrats augmente avec le temps de culture de 2 à 5 jours. Il est multiplié par 3 environ. Après 8 jours de culture, le nombre de cellules ne varie plus (environ 2500 cellules.mm<sup>-2</sup>) par rapport au 5<sup>ème</sup> jour sauf pour le substrat en Ti qui voit son nombre de cellules légèrement diminuer. La confluence, moment où les cellules entrent en contact, est donc atteinte après 5 jours de culture. En effet, à confluence, les cellules arrêtent de se multiplier, c'est l'inhibition de contact. Lors de l'ensemencement, le nombre de cellules déposé sur chaque pastille est de 400.mm<sup>-2</sup>, les cellules ont donc proliféré.

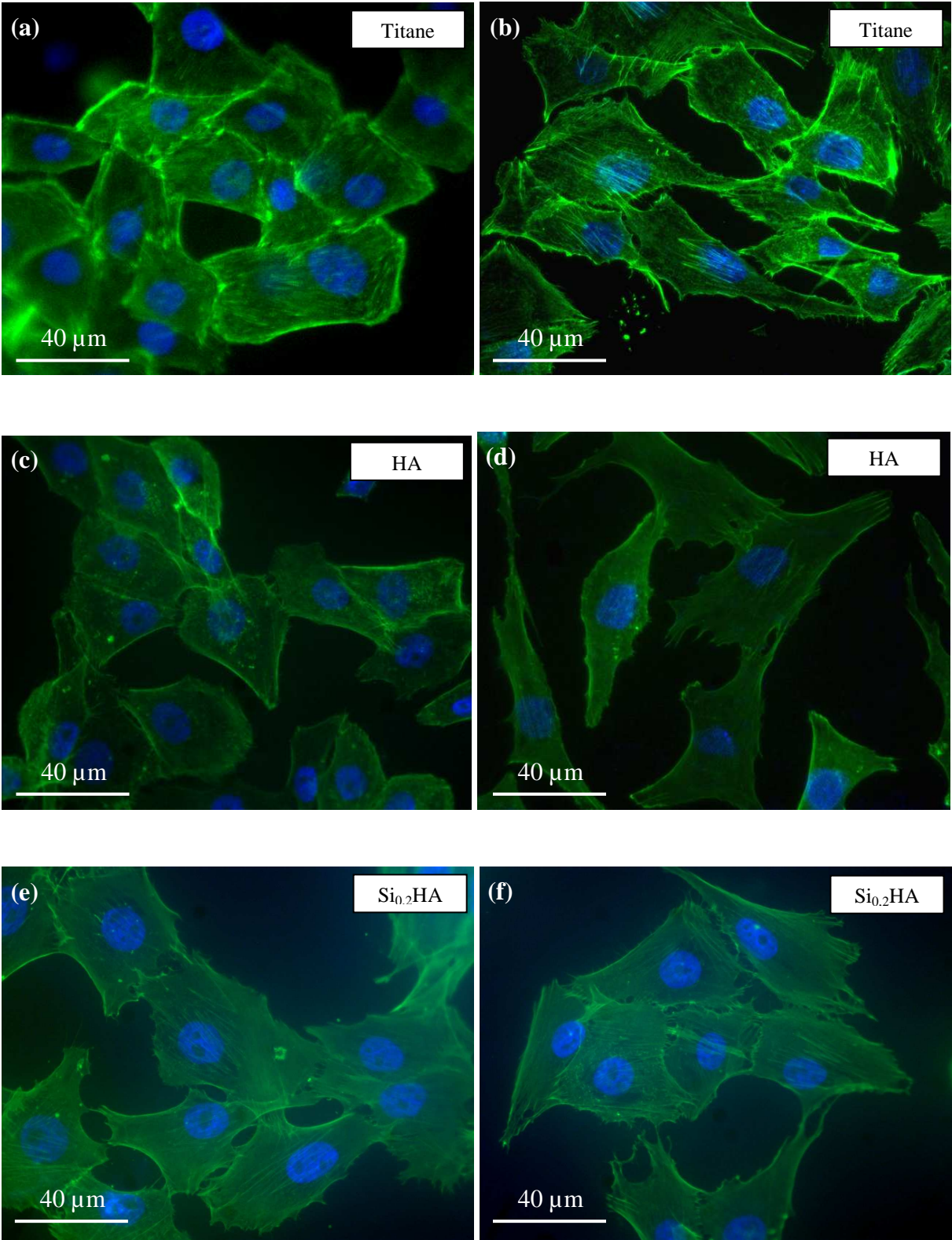
A 2 jours de culture, le nombre de cellules moyen, tous substrats confondus, est d'environ 700 cellules.mm<sup>-2</sup>. Le maximum de cellules est enregistré pour le substrat Si<sub>0,2</sub>HA (aux alentours de 1000). Les résultats obtenus avec les substrats Si<sub>x</sub>HA (x = 0,4 et 0,6) montrent que le nombre de cellules est légèrement inférieur à cette valeur.

A 5 jours de culture, le nombre de cellules moyen est de 2700.mm<sup>-2</sup>. Aucun lien ne semble exister entre ce nombre et le taux de silicium dans les matériaux. Le maximum de cellules est atteint pour le substrat HA (environ 3000).

Enfin à 8 jours de culture, malgré une légère augmentation du nombre de cellules avec le taux de silicium, il est difficile de statuer sur un effet réel de l'incorporation du silicium.

L'interaction entre la cellule et le substrat est observée à 24 h par immunofluorescence des noyaux d'ADN et des filaments d'actine (Fig. IV-3). Le marquage de l'actine (en vert) permet de visualiser le cytosquelette des cellules alors que le marquage au DAPI (en bleu) met en évidence les noyaux cellulaires. La superposition des deux images permet d'avoir les deux informations simultanément. Peu de différences sont observées entre les différents matériaux. La taille et la forme des noyaux sont sensiblement les mêmes sur le titane, l'HA et les apatites silicatées. La taille des cellules et le cytosquelette d'actine sont quasi identiques quel que soit le matériau. Lorsqu'elles sont regroupées en amas, les cellules sont bien étalées. Isolées, leur forme est beaucoup plus allongée. Ceci caractérise la migration cellulaire. Après 24 h de culture, des fibres de stress bien définies (segments verts d'intensité plus forte) sont observées au centre des cellules. Des filaments d'actine partant des extrémités cellulaires (pseudopodes) sont aussi observés.

L'actine est une information indirecte de l'adhésion. L'incapacité à différencier les réseaux actiniques dans les cellules suivant les matériaux ne permet donc pas de conclure à une influence du taux de silicium sur l'adhésion cellulaire. Pour confirmer ces résultats, l'observation des contacts focaux a été réalisée.



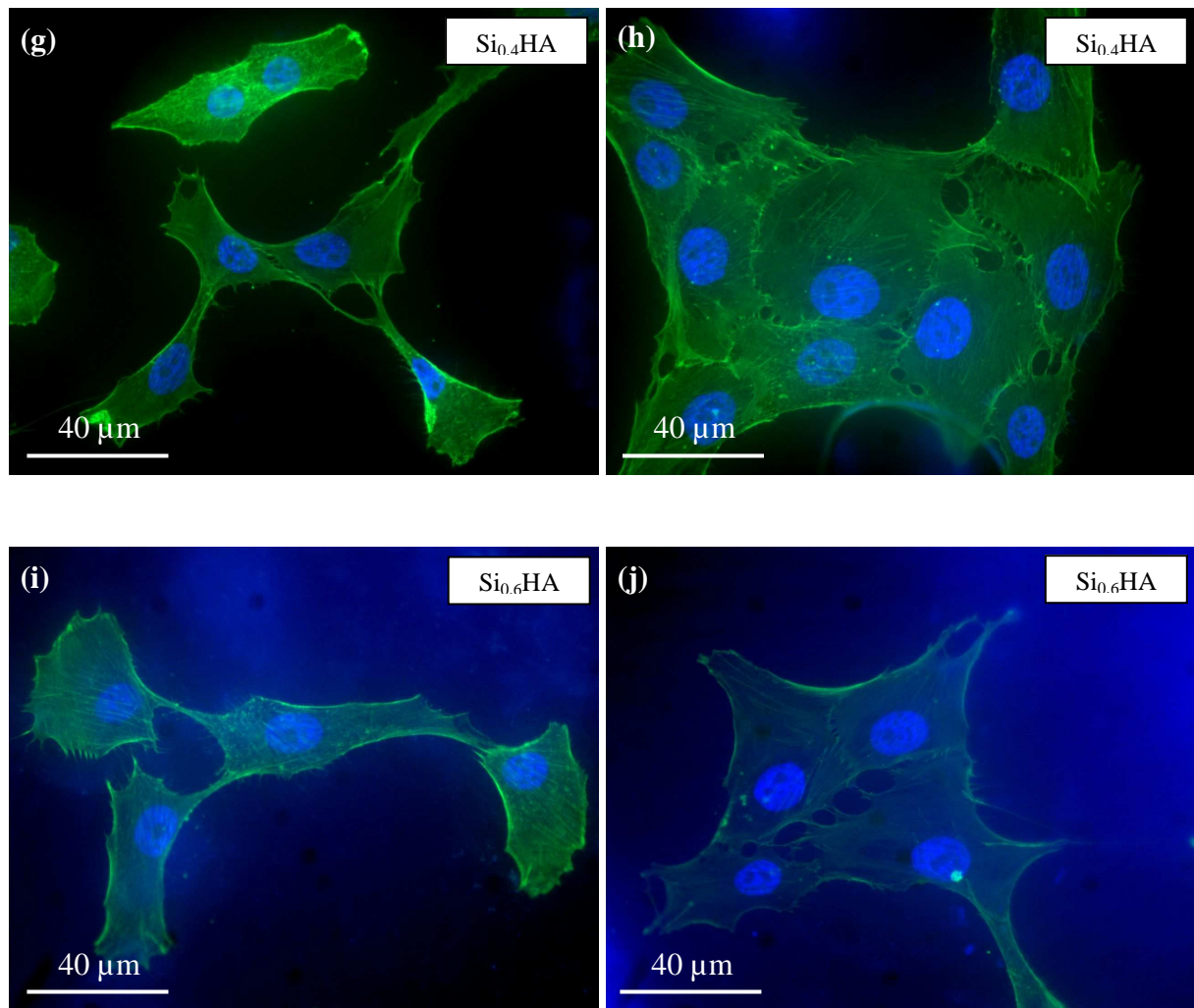
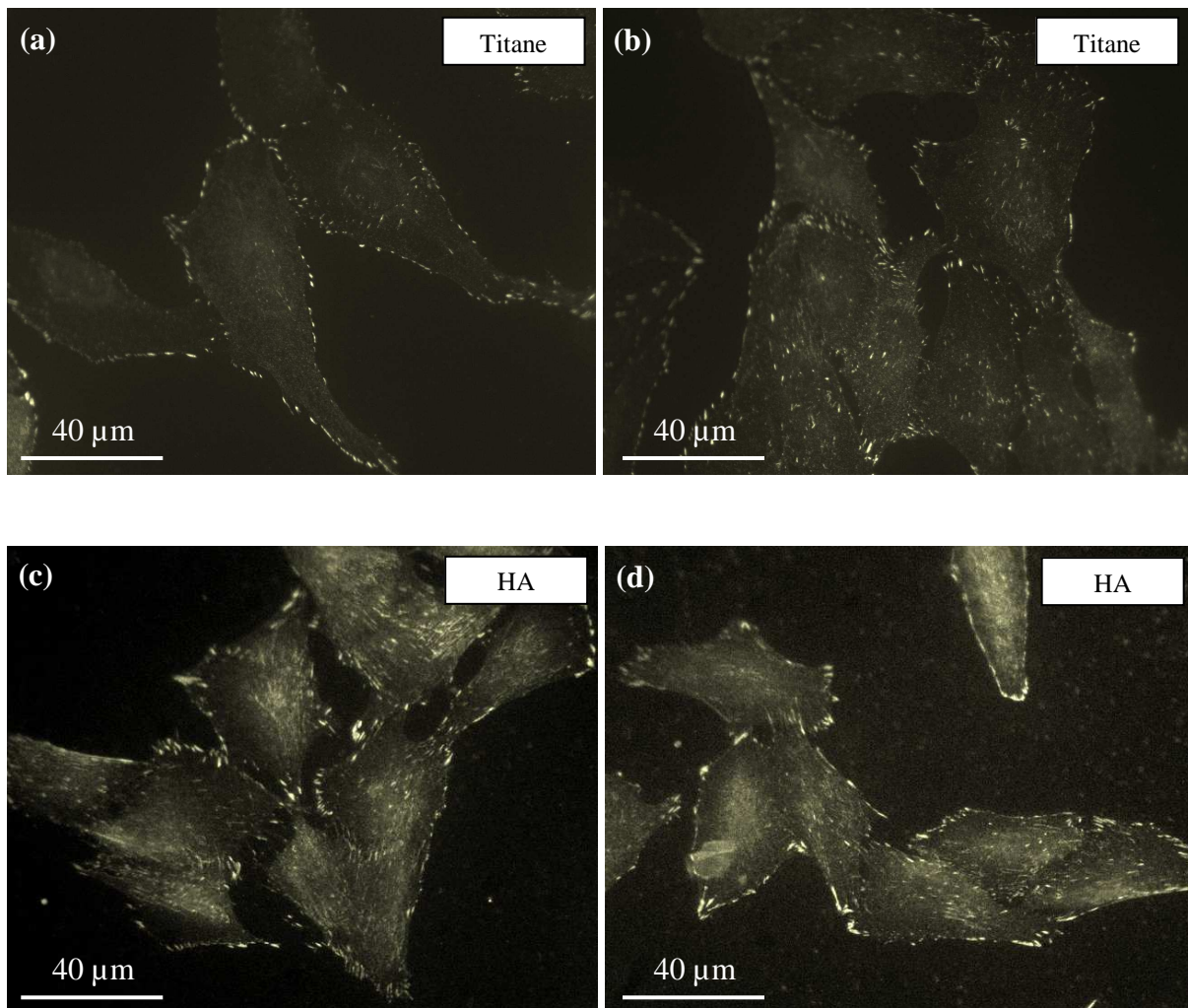
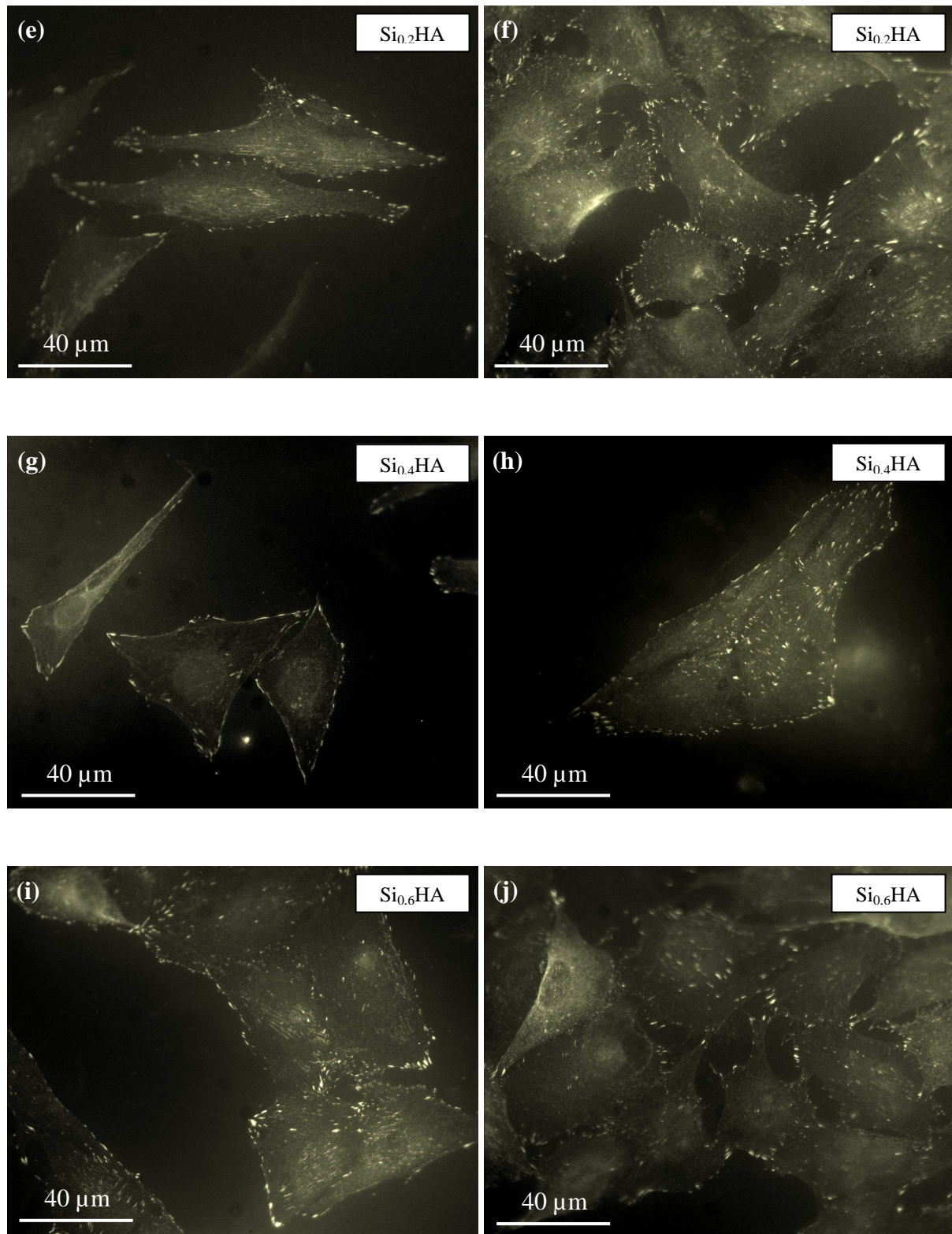


Figure IV-3 : Images de cellules MG-63 à 24 h déposées sur différents substrats (a-b) Titane, (c-d) HA, (e-f) Si<sub>0,2</sub>HA, (g-h) Si<sub>0,4</sub>HA et (i-j) Si<sub>0,6</sub>HA (marquage DAPI des noyaux en bleu et actine en vert)

La figure IV-4 illustre les contacts focaux entre les cellules et la matrice extracellulaire. Ils sont représentés par les zones blanches discontinues en corticale et au cœur des cellules, ces derniers étant moins intenses. L'observation de cellules en migration (cellules allongées), montre des zones de contacts focaux plus intenses. En effet, la migration cellulaire procède par une stabilisation de l'interaction cellule/substrat grâce à des regroupements coopératifs des récepteurs, en coordination avec la réorganisation du cytosquelette. Cependant, au cours de la migration, cette réorganisation se produit de manière asymétrique. Elle entraîne ainsi une extension cytoplasmique vers un côté de la cellule, le front de migration. La cellule envoie une projection cytoplasmique vers l'avant, stabilise la prise par un regroupement des récepteurs, puis exerce une traction sur cette prise afin de se hisser vers elle, avant de libérer les prises arrière et de procéder à un nouveau cycle extension/glissement/rétraction.





FigureIV-4 : Images de cellules MG-63 à 24 h déposées sur différents substrats (a-b) Titane, (c-d) HA, (e-f)  $\text{Si}_{0.2}\text{HA}$ , (g-h)  $\text{Si}_{0.4}\text{HA}$  et (i-j)  $\text{Si}_{0.6}\text{HA}$  (marquage de la paxiline en blanc)



Avant le dépôt des cellules et du milieu de culture, la surface des matériaux est observée par microscopie électronique à balayage (Fig. IV-5). Malgré quelques rayures et des arrachements de grains dus au polissage, aucune porosité n'est détectée.

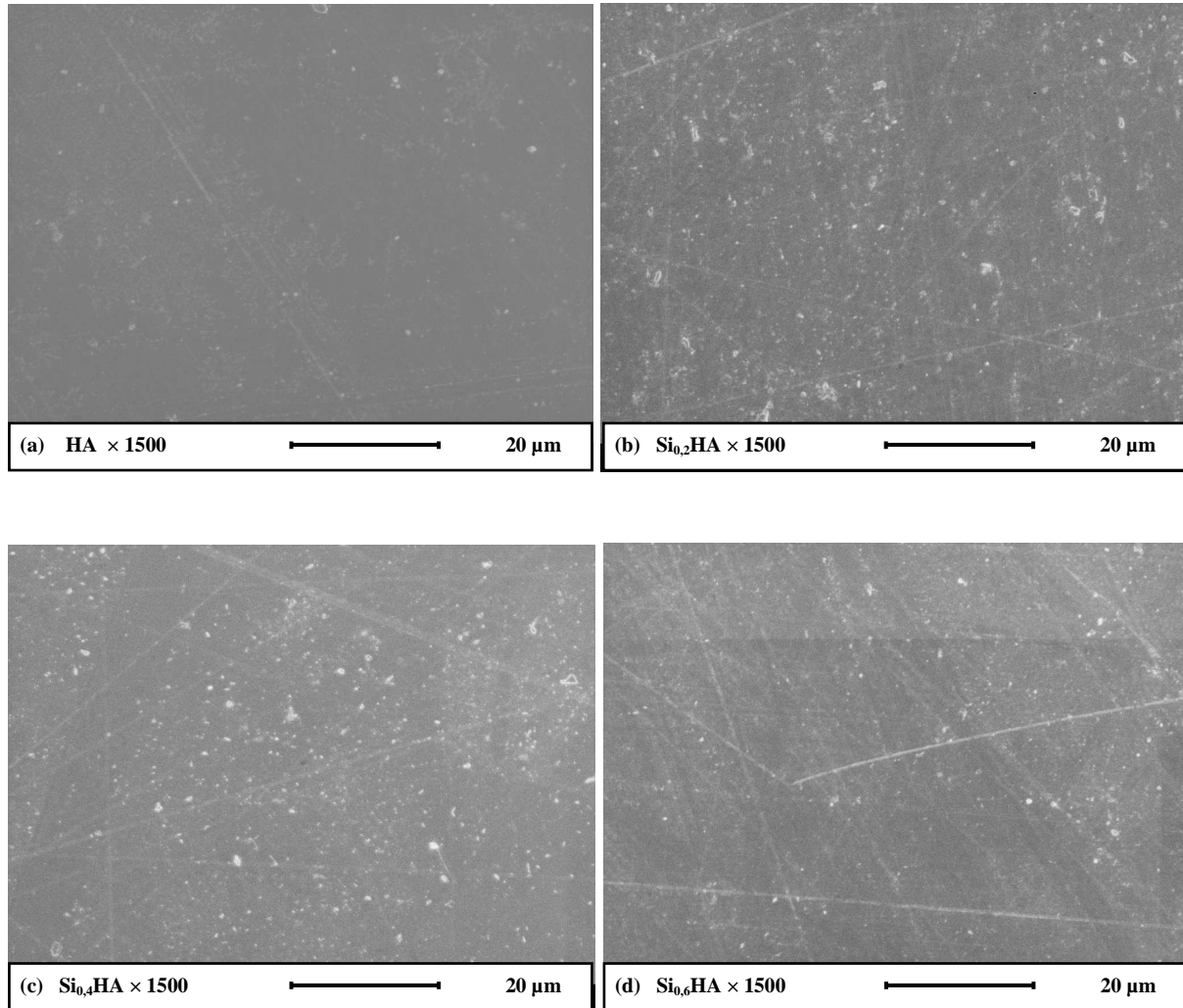
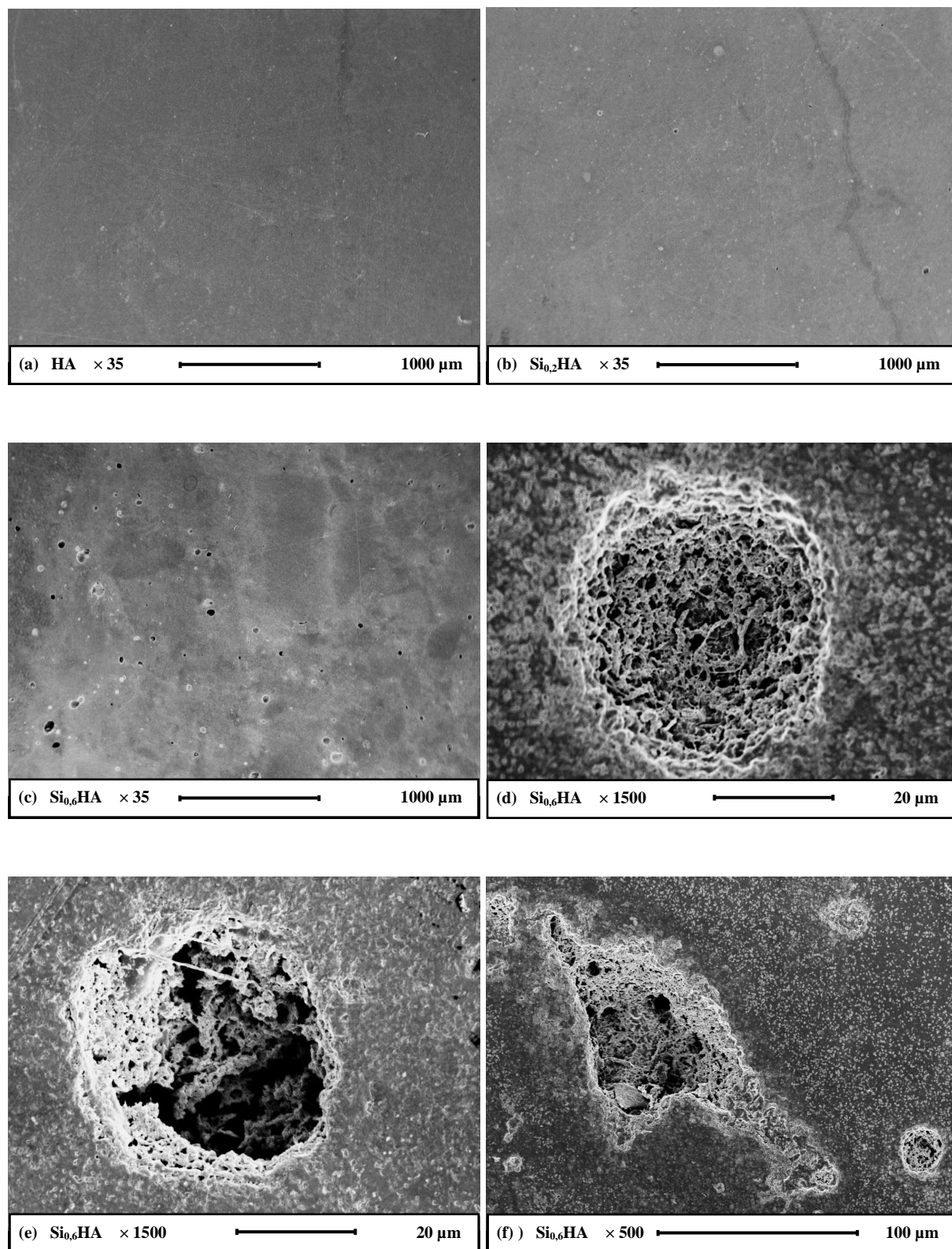
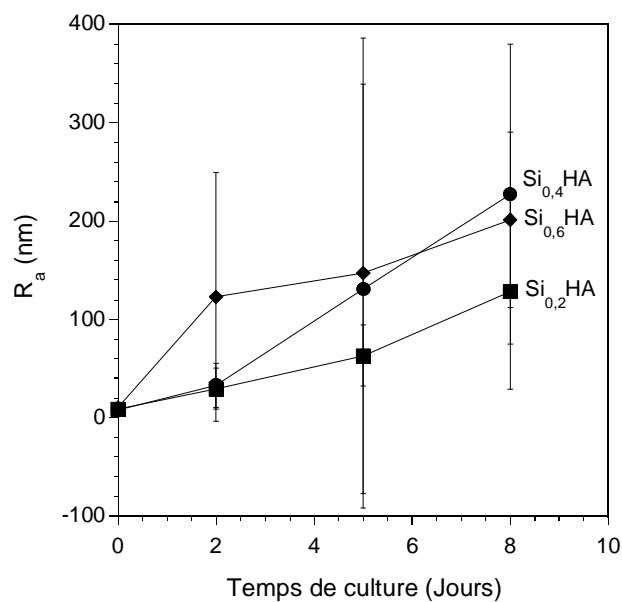


Figure IV-5 : Micrographies MEB des pastilles d'HA (a), Si<sub>0.2</sub>HA (b), Si<sub>0.4</sub>HA (c) et Si<sub>0.6</sub>HA (d) polies avant culture cellulaire

Après 8 jours de culture, la surface des pastilles est sensiblement modifiée. Des pores plus ou moins circulaires sont observés. Leur nombre semble augmenter avec la teneur en silicium (Fig. IV-6a-c). La taille de ces pores est comprise entre 10 et 100 µm (Fig. IV-d-f). Ces pores pourraient résulter de l'interaction entre le système cellules / milieu de culture et le substrat.



FigureIV-6 : Micrographies MEB des pastilles d'HA (a),  $\text{Si}_{0,2}\text{HA}$  (b) et  $\text{Si}_{0,6}\text{HA}$  (c-f) après 8 jours de culture



FigureIV-7 : Evolution du  $R_a$  en fonction du temps de culture des trois compositions  $Si_xHA$  ( $0,2 \leq x \leq 0,6$ )

La figure IV-7 présente l'évolution de la rugosité arithmétique ( $R_a$ ) en fonction du temps de culture des échantillons  $Si_xHA$  ( $0,2 \leq x \leq 0,6$ ). Avant le dépôt des cellules, la rugosité arithmétique des matériaux est comparable. La valeur de  $R_a$  est de l'ordre de  $9 \pm 1$  nm. Quel que soit le substrat, la rugosité augmente avec le temps de culture. L'hétérogénéité des mesures (valeur élevée de l'erreur absolue) est due au fait que l'activité des cellules se fait localement. Ces résultats montrent une forte activité cellulaire sur les céramiques d'apatites silicatées. Ils sont en accord avec les observations réalisées par microscopie électronique à balayage.

### IV. 3. Discussion

Depuis une dizaine d'années, les hydroxyapatites silicatées ont fait l'objet de plusieurs études concernant la culture cellulaire *in vitro*. L'utilisation de différents procédés a permis l'élaboration de céramiques massives et de dépôts [KIM03-a; HUA05; VAL05; THI06-c; THI06-d; XU07]. Cependant, la composition (nature des phases, localisation du silicium...), la microstructure et la teneur en silicium de ces matériaux ne sont pas toujours bien contrôlées. Quoiqu'il en soit, ces études montrent que le nombre de cellules sur les matériaux augmente avec le temps de culture.

Plus particulièrement, les expériences menées sur du titane recouvert d'apatite silicatée [HUA05; THI06-c; THI06-d] mettent en évidence une augmentation du nombre de cellules avec le taux de silicium. Le procédé d'élaboration de tels substrats fait intervenir un traitement thermique de 600°C pendant 3 h sous atmosphère vapeur d'eau-argon. Aucune donnée n'est avancée quant à la localisation du silicium. De plus, la température du traitement thermique étant faible, la cristallisation des dépôts n'est pas comparable à celle de matériaux massifs. En effet, les valeurs des affinements Rietveld réalisés sur ces dépôts sont très proches de celles calculées pour les poudres brutes issues du présent travail (Tab. II-7).

Les travaux de cultures cellulaires sur des matériaux frittés par SPS [XU07] montrent également que le nombre de cellules augmente avec le taux de silicium pour 4 jours de culture. Cependant, si ces massifs sont denses à plus de 95%, la caractérisation par diffraction des rayons X montre la présence de phosphate tricalcique  $\beta$ . La proportion de cette phase augmente avec la teneur initiale en silicium. La forte résorbabilité de ce composé a des conséquences sur le taux de porosité du matériau après plusieurs jours de culture et influence la réponse des cellules. En effet, Raynaud et Al. [RAY02-c] ont montré que la surface de matériaux biphasés HA / TCP  $\beta$  placés dans une solution Ringer est préférentiellement attaquée au niveau de la phase TCP  $\beta$ . Cette réaction se traduit par la création de porosité et par une augmentation de la rugosité de surface.

Lorsque du silicium est incorporé dans l'apatite, le matériau est modifié car le procédé de fabrication est souvent mal maîtrisé. Ces modifications peuvent être à la base de l'augmentation de la réactivité du matériau. Ce qui est analysé n'est donc pas ce qui est prétendu l'être. Ainsi, l'augmentation du nombre de cellules avec la teneur en silicium ne peut être attribuée au silicium dans l'apatite seul mais à un effet indirect de celui-ci.

En fait, seul Kim et al. [KIM03-a] ont réalisé des études de culture cellulaire sur des matériaux denses à plus de 95% sans phase secondaire contenant 0,47 mol de silicium. La prolifération cellulaire sur l'HA et les apatites silicatées semble identique de 3 à 24 h. Toutefois, une seule teneur en silicium a été étudiée, ce qui ne permet pas de conclure sur l'influence de la teneur en silicium dans l'apatite vis-à-vis de la réponse cellulaire.

Dans ce travail, les matériaux testés biologiquement sont tous monophasés et denses à plus de 97% de la densité maximale calculée. Afin de mettre en évidence l'influence du silicium, plusieurs teneurs ont été évaluées. Les résultats montrent que l'augmentation du temps de culture entraîne une hausse du nombre de cellules ostéoblaste vivantes. Ce résultat

est bien en accord avec ceux issus de la littérature. L'incorporation de silicium au sein de l'apatite ne perturbe donc pas la viabilité des cellules, les hydroxyapatites silicatées sont donc biocompatibles. En revanche, dans le domaine de composition étudié ( $0 \leq x \leq 0,6$ ) et pour un temps de culture donné, aucune différence significative, à la fois en nombre et en qualité de cellules n'est enregistrée pour les différents matériaux. Aucune influence significative du silicium n'a donc pu être mise en évidence. Les différentes observations effectuées par microscopie à fluorescence témoignent d'un bon étalement et d'une bonne accroche cellulaire quel que soit le substrat.



# CONCLUSION





## Conclusion

L'étude des hydroxyapatites phosphocalciques silicatées a été abordée dans une approche globale de la synthèse des poudres à la caractérisation des céramiques frittées. Une évaluation biologique a été réalisée afin de mettre en évidence le rôle éventuel du silicium sur le métabolisme des cellules ostéoformatrices de type MG-63.

Des hydroxyapatites phosphocalciques silicatées  $\text{Si}_x\text{HA}$  ont été élaborées par précipitation en voie aqueuse à pH et température contrôlés (9 et 90°C respectivement) suivie d'un traitement thermique adapté. Après précipitation, les poudres de composition telle que  $x \leq 1$  mol contiennent une phase apatite carbonatée en site B et une phase secondaire minoritaire (< à 4% en masse). Cette dernière, non détectée dans les poudres brutes, contient l'excès de silicium. A ce stade de la synthèse, la totalité des groupements silicate n'est pas introduite dans la structure apatitique. Le silicium en excès s'incorpore au cours d'un traitement thermique à partir de 700°C. Durant la calcination, les ions silicate se substituent aux ions carbonate en sites B. Pour les poudres de composition  $\text{Si}_x\text{HA}$   $x \leq 0,8$ , une calcination à 1000°C permet l'incorporation de la totalité des groupements silicate sans phase secondaire dans la poudre. Entre 0,8 et 1 mol, une calcination à 900°C doit être réalisée afin d'éviter un début de décomposition thermique de l'apatite. La formule chimique finale établie à partir des mécanismes d'incorporation des silicates est :



Au delà de 1 mole de silicium, les précipités sont mal cristallisés et contiennent une phase secondaire amorphe. Au cours de la calcination, la poudre cristallise directement dans un système biphasé (Apatite – Phosphate tricalcique alpha) dès 700°C. Il est donc impossible d'obtenir des poudres monophasées de ces compositions.

D'un point de vue stabilité thermique, l'augmentation de la teneur en silicium engendre une baisse des températures de déshydroxylation et de décomposition thermique. Les produits de décomposition des apatites silicatées sont le phosphate tricalcique alpha  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-}\alpha$ , le silicate de calcium  $\text{Ca}_2(\text{SiO}_4)$ , l'oxyde de calcium CaO et la silicocarnotite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2$ .

L'étude du frittage de ces matériaux a montré que l'introduction de silicium dans la structure provoque un décalage des températures de début de frittage (de 780 à 990°C entre l'HA et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ ) et de vitesse maximale de frittage  $T_{\text{MAX}}$  (de 1080 à 1240°C entre l'HA et  $\text{Si}_{1,0}\text{HA}$ )

des céramiques vers les hautes températures. Ainsi, dans les mêmes conditions de temps et température, les taux de densification diminuent avec l'augmentation du taux de silicium. Pour des teneurs en silicium comprises entre 0 et 0,5 mol, les apatites silicatées peuvent être densifiées à plus de 96% de leur densité maximale calculée sans être décomposées par traitement thermique à 1200°C pendant 30 min. Pour la composition  $\text{Si}_{0,6}\text{HA}$ ,  $T_{\text{MAX}}$  étant très proche de la température de décomposition, l'obtention de céramique dense à 97% a été optimisée pour des conditions de frittage de 1250°C durant 12 min. En revanche, pour les compositions  $\text{Si}_x\text{HA}$  ( $x > 0,6$ ), la température de décomposition thermique étant très inférieure à  $T_{\text{MAX}}$ , la densification totale des céramiques ne peut être réalisée sans la présence de phase secondaire en proportion non négligeable.

Des céramiques denses d'apatites silicatées contenant jusqu'à 0,6 mole de silicates et sans phase secondaire ont pu être élaborées en adaptant les conditions de frittage des différentes compositions. Un des objectifs du présent travail étant de déterminer le rôle éventuel du silicium sur la réponse des cellules vis-à-vis de substrats de Si-HA, des cultures de cellules ostéoblastes humaines (MG-63) ont été réalisées. L'augmentation du nombre de cellules en fonction du temps de culture indique que les matériaux ne sont pas toxiques vis-à-vis de ces cellules, ils sont donc biocompatibles. Les cellules sont bien étalées et présentent une bonne accroche sur les substrats. Toutefois, aucune évolution significative du nombre de cellules n'a été observée en fonction de la teneur en silicium dans les matériaux. Ce dernier résultat n'étant validé que par une observation microscopique à fluorescence, des études complémentaires devront être entreprises afin de quantifier cette accroche. La microscopie à force atomique semble être une technique bien adaptée pour répondre à cette question.

Enfin, grâce aux liaisons Si-O développées par la substitution phosphates – silicates, la fonctionnalisation de surface des hydroxyapatites silicatées peut être envisagée. Ainsi, le greffage de principes actifs ou de molécules organiques capables de fixer par la suite une séquence d'acides aminés reconnue par les cellules responsables de la formation osseuse pourrait être envisagé sur ces matériaux.

# LEXIQUE



## Lexique

Allogreffe : greffe dans laquelle le greffon est prélevé sur un sujet de même espèce.

Anticorps monoclonaux : anticorps issus d'une seule lignée de plasmocytes, provenant d'une seule cellule.

Apoptose : mort cellulaire programmée ou suicide cellulaire : processus par lequel des cellules déclenchent leur auto destruction en réponse à un signal. C'est une mort cellulaire physiologique, génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes pluricellulaires.

Arthrodèse : geste chirurgical dont la finalité est de provoquer l'ankylose (immobilisation) d'une articulation [DEL01].

Autogreffe : greffe dans laquelle le greffon est prélevé sur le sujet lui-même.

Cellule multipotente : cellule primitive, embryonnaire, de la moelle osseuse (tissu interne des os), capable de se différencier en n'importe quelle cellule du sang (les globules rouges qui transportent l'oxygène, les globules blancs essentiels à la défense du corps et les plaquettes).

Cellules ostéoformatrices : cellules bordantes, ostéoblastes et ostéocytes.

Cellules stromales : cellules du stroma (tissu conjonctif formant la charpente d'un organe ou d'une tumeur).

Chondrome : Tumeur bénigne reproduisant la structure du tissu cartilagineux adulte et habituellement développée au niveau du squelette.

Cytokine : glycoprotéine sécrétée par les lymphocytes et les macrophages, les cellules de défense de l'organisme chargées d'absorber des particules étrangères. Les cytokines sont impliquées dans le développement et la régulation du système immunitaire. Ce sont également des substances employées pour stimuler la formation des cellules sanguines dans la moelle osseuse [DEL01].

Espaces médullaires : relatif à la moelle épinière ou à la moelle osseuse [DEL01].

Exérèse : ablation chirurgicale d'une partie inutile ou nuisible à l'organisme ou d'un corps étranger.

Filopodia : projections cytoplasmiques minces, qui s'étendent du principal bord des cellules de migration. Elles contiennent des filaments d'actine réticulés dans des paquets par les protéines actine-liantes.

Fonction hématopoïétique : fonction relative à la formation des cellules du sang dans la moelle rouge des os et dans le tissu lymphoïde [DEL01].

Foramen : orifice dans un os ou un organe.

Intégrine : Récepteur situé sur les membranes cellulaires.

Ostéoconduction : 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 [PAS89].

Ostéocyte : devenir de l'ostéoblaste, il se situe dans le tissu osseux à la différence de l'ostéoblaste, qui est situé dans la matrice minéralisée.

Ostéocalcine : protéine sécrétée par les ostéoblastes.

Ostéoinduction : capacité d'induire la formation de la matière osseuse en site extra-osseux par des cellules ostéoformatrices [PAS89].

Ostéosynthèse : réunion de deux segments osseux à l'aide de vis, fils, plaques métalliques ou autres moyens mécaniques.

Ostéotomie de valgisation : intervention ayant pour but de diminuer mécaniquement la pression sur le compartiment du genou qui est usé, en modifiant l'axe du membre inférieur.

Otorrhée : Écoulement de liquide séreux provenant du conduit auditif externe [DEL01].

Phagocytose : absorption de particules solides par une cellule.

Phénotype : manifestation apparente du patrimoine héréditaire de l'individu plus ou moins modifié par le milieu ambiant.

Phosphatase alcaline : enzyme (substance capable de favoriser une réaction chimique dans notre organisme) présente dans le sang, indispensable à la minéralisation de l'os [DEL01].

Pression osmotique : pression empêchant un solvant de passer au travers d'une membrane semi-perméable.

Protéines transmembranaires : protéines intégrales de membrane, qui résident et agissent typiquement au sein de la membrane plasmique de la cellule, mais aussi dans les membranes de quelques compartiments sous-cellulaires.

Tissu conjonctif : tissu dont les cellules sont séparées par de la matrice extracellulaire.

Tissu ostéide : substance pré-osseuse, matrice extra-cellulaire non minéralisée.

Trypsine : enzyme protéolytique contenue dans le suc pancréatique.

Valgus : terme issu du latin signifiant tourné en dehors. Cet adjectif est réservé à un membre ou à un segment de membre qui présente une forme déviée en dehors. Autrement dit, un membre en position de valgus s'écarte vers l'extérieur par rapport à l'axe du corps [DEL01].

Xénogreffe : greffe effectuée sur un organisme appartenant à une espèce animale différente de celle du donneur.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES





## Références bibliographiques

- [ASTM 2] F 1088 - 04 Standard Specification for Beta-tricalcium phosphate for surgical implantation, ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, FO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States.
- [ASTM 1] F 1185 - 03 Standard Specification for Composition of Hydroxylapatite for surgical implantation, ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, FO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States.
- [AFN98] AFNOR, Détermination quantitative du rapport Ca/P de phosphates de calcium, (1998), NF S 94-066.
- [ARC04-b] D. Arcos, J. Rodriguez-Carvajal and M. Vallet-Regi, The effect of the silicon incorporation on the hydroxylapatite structure. A neutron diffraction study, *Solid State Sciences*, (2004), 6, 987-994.
- [ARC04-a] D. Arcos, J. Rodriguez-Carvajal and M. Vallet-Regi, Silicon Incorporation in hydroxyapatite obtained by controlled crystallization, *Chemistry of Materials*, (2004), 16, 2300-2308.
- [BAL03] F. Balas, J. Perez-Pariente and M. Vallet-Regi, In vivo bioactivity of silicon-substituted hydroxyapatites, *Journal of Biomedical Materials Research*, (2003), 66A, 364-375.
- [BAL82] N. Balmain, R. Legros and G. Bonel, X-ray diffraction of calcined bone tissue: A reliable method for the determination of bone Ca/P molar ratio, *Calcified Tissue International*, (1982), 34, S93-S98.
- [BAO03] B. Bao, A. S. Prasad, F. W. Beck and M. Godmere, Zinc modulates mRNA levels of cytokines, *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, (2003), 285, E 1095-1102.
- [BAR92] M. W. Barnes, M. Klimkiewicz and P. W. Brown, Hydration in the system  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  at 90°C, *Journal of the American Ceramic Society*, (1992), 75, 1423-1429.
- [BER03] D. Bernache-Assollant, *Les biomatériaux*, (2003), Laboratoire des matériaux céramiques et traitement de surface.
- [BER93] D. Bernache-Assollant, *Chimie-physique du frittage* (1993), Ed. Hermes Sciences Publications, Collection Forceram, groupe A, 348.
- [BIG06] A. Bigi, E. Boanini, C. Capuccini and M. Gazzano, Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals, *Inorganica Chimica Acta*, (2006), 360, 1009-1016.

- [BIG03] A. Bignon, J. Chouteau, J. Chevalier, G. Fantozzi, J. P. Carret, P. Chavassieu, G. Boivin, M. Melin and D. Hartmann, Effect of micro- and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2003), 14, 1089-1097.
- [BON89] F. Bonel and B. Tachot, *Le tissu osseux : biologie de la cicatrisation osseuse des fractures* (1989), Ed. L. Teot, J. Vidal and J. Dossa, Vigot, Sauramps Médical, 47-56.
- [BON72-a] G. Bonel, Contribution à l'étude de la décarbonatation des apatites - 1 - Synthèse et étude des propriétés physico-chimiques des apatites carbonatées du type A, *Anales de chimie*, (1972), 18, 65-88.
- [BON72-b] G. Bonel, Contribution à l'étude de la décarbonatation des apatites - 2 - Synthèse et étude des propriétés physico-chimiques des apatites carbonatées du type B, *Anales de chimie*, (1972), 7, 127-139.
- [BOT06-a] C. M. Botelho, R. A. Brooks, G. Spence, I. McFarlane, M. A. Lopes, S. M. Best, J. D. Santos, N. Rushton and W. Bonfield, Differentiation of mononuclear precursors into osteoclasts on the surface of Si-substituted hydroxyapatite, *Journal of Biomedical Materials Research*, (2006), 78A, 709-720.
- [BOT02] C. M. Botelho, M. A. Lopes, I. R. Gibson, S. M. Best and J. D. Santos, Structural analysis of Si-substituted hydroxyapatite: zeta potential and X-ray photoelectron spectroscopy, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2002), 13, 1123-1127.
- [BUC89] R. W. Bucholz, A. Carlton and R. Holmes, Intereporous hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures, *Clinical Orthopaedics*, (1989), 240, 53-62.
- [CAN96] E. Canalis, M. Hott, P. Deloffre, Y. Tsouderos and P. J. Marie, The divalent Strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation *in vitro*, *Bone*, (1996), 18, 517-523.
- [CAR70] E. M. Carlisle, Silicon: a possible factor in bone calcification, *Science*, (1970), 70, 279-280.
- [CHA00] B. S. Chang, C. K. Lee, K. S. Hong, H. J. Youn, H. S. Ryu, S. S. Chung and K. W. Park, Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations, *Biomaterials*, (2000), 21, 1291-1298.
- [CHA89] D. Chappard, *Le tissu osseux : les cellules osseuses* (1989), Ed. L. Teot, J. Vidal and J. Dossa, Vigot, Sauramps Médical, 47-56.
- [CHE05] Y. Chen and X. Miao, Thermal and chemical stability of fluorohydroxyapatite ceramics with different fluorine contents, *Biomaterials*, (2005), 26, 1205-1210.

- [DAM91] C. J. Damien and J. R. Parsons, Bone graft and bone graft substitutes: A review of current technology and application, *Journal of Applied Biomaterials*, (1991), 2, 187-208.
- [DEL01] J. Delamare, *Dictionnaire abrégé des termes de médecine* (2001), Ed. Maloine, 3<sup>ème</sup> édition.
- [DUP00] C. Dupuy, G. Bréart, C. Cormier, C. L. Galès and M. C. D. Vernejoul. (2000). L'ostéoporose - Disponible en ligne à l'adresse suivante: <http://www.frm.org>.
- [ELL94] J. C. Elliott, Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates (1994), Ed. Elsevier Amsterdam, Elsevier, V.18, 389.
- [FAM94] R. Famery, N. Richard and P. Boch, Preparation of  $\alpha$  and  $\beta$  Tricalcium Phosphate Ceramics, with and without Magnesium Addition, *Ceramics International*, (1994), 20, 327-336.
- [GAZ95] A. R. Gazdag, J. M. Lane, D. Glaser and M. D. Forster, Alternatives to autogenous bone graft : efficacy and indications, *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, (1995), 3, 1-8.
- [GIB99] I. R. Gibson, S. M. Best and W. Bonfield, Chemical characterisation of silicon-substituted hydroxyapatite, *Journal of Biomedical Materials Research*, (1999), 44, 422-428.
- [GIB02] I. R. Gibson, S. M. Best and W. Bonfield, Effect of silicon substitution on the sintering and microstructure of hydroxyapatite, *Journal of the American Ceramic Society*, (2002), 85, 2771-2777.
- [GIB99-b] I. R. Gibson, J. Huang, S. M. Best and W. Bonfield, Enhanced in vitro cell activity and surface apatite layer formation on novel silicon-substituted hydroxyapatites, *Bioceramics V.12*, Nara, Japan, (1999), 12, 191-194.
- [GRA06] A. Grandjean-Laquerriere, P. Laquerriere, E. Jallot, J. Nedelec, M. Guenounou, D. Laurent-Maquin and T. M. Phillips, Influence of the zinc concentration of sol-gel derived zinc-substituted hydroxyapatite on cytokine production by human monocytes in vitro, *Biomaterials*, (2006), 27, 3195-3200.
- [HAN02] C. R. Hankermeyer, K. L. Ohashi, D. C. Delaney, J. Ross and B. R. Constantz, Dissolution rates of carbonated hydroxyapatite in hydrochloric acid, *Biomaterials*, (2002), 23, 743-750.
- [HAR00] P. Hardouin, K. Anselme, B. Flautre, F. Bianchi, G. Bscoulergue and B. Bouxin, Ingénierie tissulaire et maladie du squelette, *Revue du Rhumatisme [Ed. Fr.]*, (2000), 67, 498-504.

- [HAS93] M. Hashizume and M. Yamagushi, Simulatory effects of beta-alanyl-L-histidinato zinc on cell proliferation is dependent on protein synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells, *Molecular and Cellular Biochemistry*, (1993), 122, 59-64.
- [HEN91] L. L. Hench, Bioceramics: From concept to clinic, *Journal of the American Ceramic Society*, (1991), 74, 1487-1510.
- [HUA05] J. Huang, S. N. Jayasinghe, S. M. Best, M. J. Edirisinghe, R. A. Brooks, N. Rushton and W. Bonfield, Novel deposition of nano-sized silicon substituted hydroxyapatite by electrostatic spraying, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2005), 16, 1137-1142.
- [INO93] O. Inoue, K. Ibaraki, H. Shimabukuro and Y. Shingaki, Packing with high-porosity hydroxyapatite cubes alone for the treatment of simple bone cyst, *Clinical Orthopaedics*, (1993), 293, 287-292.
- [JAL05] E. Jallot, J. M. Nedeled, A. S. Grimault, E. Chassot, A. Grandjean-Laquerriere, P. Laquerriere and D. Laurent-Maquin, STEM and EDXS characterization of physico-chemical reactions at the periphery of sol-gel derived Zn-substituted hydroxyapatites during interactions with biological fluids, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, (2005), 42, 205-210.
- [JAR81] M. Jarcho, Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics, *Clinical Orthopaedics*, (1981), 157, 259-278.
- [KAN06] S. Kannan, A. Rebelo and J. M. F. Ferreira, Novel synthesis and structural characterization of fluorine and chlorine co-substituted hydroxyapatites, *Journal of Inorganic Biochemistry*, (2006), 100, 1692-1697.
- [KAN07] S. Kannan, A. Rebelo, A. F. Lemos, A. Barba and J. M. F. Ferreira, Synthesis and mechanical behaviour of chloroapatite and chloroapatite/beta-TCP composites, *Journal of the European Ceramic Society*, (2007), 27, 2287-2294.
- [KAY64] M. Y. Kay and R. A. Young, Crystal structure of hydroxyapatite, *Nature*, (1964), 204, 1050-1052.
- [KIM03-a] S. R. Kim, J. H. Lee, Y. T. Kim, D. H. RIU, S. J. JUNG, Y. J. Lee, S. C. Chung and Y. H. Kim, Synthesis of Si, Mg substituted hydroxyapatites and their sintering behaviors, *Biomaterials*, (2003), 24, 1389-1398.
- [KIS94] S. Kishi and M. Yamagushi, Inhibitory effect of zinc coumpnds on osteoclast-like cell formation in mouse marrow cultures, *Biochemical Pharmacology*, (1994), 48, 1225-1230.

- [LAB73] J. C. Labarthe and G. Bonel, Sur la structure et les propriétés des apatites carbonatées de type B phospho-calciques, *Annales de Chimies Françaises*, (1973), 8, 289-301.
- [LAF04] J. P. Lafon, *Synthèse, stabilité thermique et frittage d'hydroxyapatites carbonatées*, Thèse de doctorat, Université de Limoges, 2004.
- [LAN03] E. Landi, G. Celotti, G. Logroscino and A. Tampieri, Carbonated hydroxyapatite as bone substitute, *Journal of the European Ceramic Society*, (2003), 23, 2931-2937.
- [LEG91] R. Legros, Calcium phosphate in oral biology and medicine (1991), Ed. H. M. Myers. New York, Karger, Basel.
- [LEG86] R. Legros and N. Balmain, Structure and composition of the mineral phase of periosteal of bone, *Journal of Chemical Research*, (1986), S, 8-9.
- [LEV03] T. Leventouri, C. E. Bunaciu and V. Perdikatsis, Neutron powder diffraction studies of silicon-substituted hydroxyapatite, *Biomaterials*, (2003), 24, 4205-4211.
- [LI07] Z. Y. Li, W. M. Lam, C. Yang, B. Xu, G. X. Ni, S. A. Abbah, K. M. C. Cheung, K. D. K. Luk and W. W. Lu, Chemical composition, crystal size and lattice structural changes after incorporation of strontium into biomimetic apatite, *Biomaterials*, (2007), 28, 1452-1460.
- [LIU88] C. C. Liu, J. K. Yeh and J. F. Aloia, Magnesium directly stimulates osteoblast cell proliferation, *Journal of Bone and Mineral Research*, (1988), 3, S 104.
- [LU99] G. Lu, G. Q. Lu and Z. M. Xiao, Mechanical properties of porous materials, *Journal of Porous Materials*, (1999), 6, 359-368.
- [LUG94] E. Lugscheider, M. Knepper, B. Heimberg, A. Dekker and C. J. Kirkpatrick, Cytotoxicity investigations of plasma sprayed calcium phosphate coatings, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (1994), 5, 371-375.
- [MAR99] L. A. Martini, Magnesium supplementation and bone turn over, *Nutrition Reviews*, (1999), 57, 227-229.
- [MAT77] M. Matthew, L. W. Schroeder, B. Dickens and W. E. Brown, The crystal structure of alpha-Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, *Acta Crystallographica*, (1977), B33, 1325-1333.
- [MER00] J. Merry, *Preparation and characterization of carbonate hydroxyapatite*, Thèse de doctorat, Queen Mary and Westfield College, London, 2000.
- [NGA99] P. A. Ngankam, P. Schaaf, J. C. Voegel and F. J. G. Cuisinier, Heterogeneous nucleation of calcium phosphate salts at a solid/liquid interface examined by scanning angle reflectometry, *Journal of Crystal Growth*, (1999), 197, 927-938.

- [NOU05] D. L. Nouhannen, G. Daculsi, A. Saffarzadeh, O. Gauthier, S. Delplace, P. Pilet and P. Layrolle, Ectopic bone formation by microporous calcium phosphate ceramics particles in sheep muscles, *Bone*, (2005), 36, 1086-1093.
- [OON97] H. Oonish, Y. Iwaki, N. Kin and S. Kushitani, Hydroxyapatite in revision of total hip replacement with massive acetabular defects, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, (1997), 79B, 87-92.
- [OON91] H. Oonishi, Orthopaedic applications of hydroxyapatite, *Biomaterials*, (1991), 12, 171-178.
- [PAL05] F. D. Palma, Modulation of the responses of human osteoblast-like cells to physiologic mechanical strains by biomaterial surfaces, *Biomaterials*, (2005), 26, 4249-4257.
- [PAS65] P. Pascal, R. Calas and J. Wyart, *Silicium* (1965), Ed. Masson et C<sup>ie</sup>, Nouveau traité de chimie générale, Tome VIII.
- [PAS89] N. Passuti and G. Daculsi, Céramiques en phosphate de calcium en chirurgie orthopédique, *La presse médicale*, (1989), 18, 28-31.
- [PAT02] N. Patel, S. M. Best, W. Bonfield, I. R. Gibson, K. A. Hing, E. Damien and P. A. Revell, A comparative study on the in vivo behaviour of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2002), 13, 1199-1206.
- [PAT05] N. Patel, R. A. Brooks, M. T. Clarke, P. M. T. Lee, N. Rushton, I. R. Gibson, S. M. Best and W. Bonfield, In vivo assessment of hydroxyapatite and silicate-substituted hydroxyapatite granules using an ovine defect model, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2005), 16, 429-440.
- [PEL06] D. Pellenc, S. Giraudier, E. Champion, K. Anselme, V. Larreta-Garde and O. Gallet, Removal of surface by-products from sintering hydroxyapatite: effect of a chelation treatment on fibronectin adsorption and cell adhesion, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, (2006), 76B, 136-142.
- [POL97] C. Polio, B. d. Coexe, A. Collard and C. Gilliard, Dissectomie cervicale antérieure et fusion intersomatique par greffons d'hydroxyapatite et vis-plaque, *Rachis*, (1997), 9, 39-46.
- [POR04-b] A. E. Porter, C. M. Botelho, M. A. Lopes, J. D. Santos, S. M. Best and W. Bonfield, Ultrastructural comparison of dissolution and apatite precipitation on hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite in vitro and in vivo, *Journal of Biomedical Materials Research*, (2004), 69A, 670-679.

- [POR05] A. E. Porter, N. Patel, R. A. Brooks, S. Best, N. Rushton and W. Bonfield, Effect of carbonate substitution on the ultrastructural characteristics of hydroxyapatite implants, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2005), 16, 899-907.
- [POR03] A. E. Porter, N. Patel, J. N. Skepper, S. M. Best and W. Bonfield, Comparison of in vivo dissolution processes in hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite bioceramics, *Biomaterials*, (2003), 24, 4609-4620.
- [POR04-a] A. E. Porter, N. Patel, J. N. Skepper, S. M. Best and W. Bonfield, Effect of sintered silicate-substituted hydroxyapatite on remodelling processes at the bone-implant interface, *Biomaterials*, (2004), 25, 3303-3314.
- [RAM07] N. Rameshbabu, T. S. S. Kumar, T. G. Prabhakar, V. S. Sastry, K. V. G. K. Murty and K. P. Rao, Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: synthesis and characterization, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, (2007), 80, 581-591.
- [RAY02-b] S. Raynaud, E. Champion and D. Bernache-Assollant, Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterization and thermal stability of powders, *Biomaterials*, (2002), 23, 1065-1072.
- [RAY02-a] S. Raynaud, E. Champion and D. Bernache-Assollant, Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio II. Calcination and sintering, *Biomaterials*, (2002), 23, 1073-1080.
- [RAY02-c] S. Raynaud, E. Champion, J. P. Lafon and D. Bernache-Assollant, Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio III. Mechanical properties and degradation in solution of hot pressed ceramics, *Biomaterials*, (2002), 23, 1081-1089.
- [REN89] J. C. Renier and M. Audran, Le tissu osseux : l'os et le tissu osseux au cours de la vie (1989), Ed. L. Teot, J. Vidal and J. Dossa, Vigot, Sauramps Médical, 47-56.
- [REY89] C. Rey and B. Collins, The carbonate environment in bone mineral: a resolution enhanced Fourier transform infrared spectroscopy study, *Calcified Tissue International*, (1989), 45, 157-164.
- [RIB73] P. V. Riboud, Composition et stabilité des phases à structure d'apatite dans le système CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-Oxyde de fer-H<sub>2</sub>O à haute température, *Ann. Chim. Fr.*, (1973), 8, 381-390.
- [ROD98] J. Rodriguez-Carvajal, FULLPROF98, Version 0.2, Laboratoire L. Brillouin, Grenoble, France, (1998).
- [RUY93] A. J. Ruys, Silicon-doped hydroxyapatite, *Journal of the Australasian Ceramic Society*, (1993), 29, 71-80.

- [SEN97] N. Senamaud, D. Bernache-Assollant, E. Champion, M. Heughebaert and C. Rey, Calcination and sintering of hydroxyfluorapatite powders, *Solid State Ionics*, (1997), 101-103, 1357-1362.
- [SEN89] H. J. Senter, R. Kortyna and W. R. Kemp, Anterior cervical discectomy with hydroxyapatite fusion, *Journal of Neurosurgery*, (1989), 25, 39-43.
- [SER98] C. M. Serre, M. Papillard, P. Chavassieux, J. C. Voegel and G. Boivin, Influence of magnesium substitution on a collagen apatite biomaterial on the production of a calcifying matrix by human osteoblasts, *Journal of Biomedical Materials Research*, (1998), 42, 626-633.
- [SIR01] P. Siriphannon, Y. Kameshima, A. Yasumori, K. Okada and S. Hayashi, Formation of hydroxyapatite on  $\text{CaSiO}_3$  powders in simulated body fluid, *Journal of the European Ceramic Society*, (2001), 22, 511-520.
- [SUC04] W. L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R. E. Riman, V. F. Janas and K. S. TenHuisen, Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical-hydrothermal method, *Biomaterials*, (2004), 25, 4647-4657.
- [TAM91] A. Taminiau, J. Pooley, M. Manfrini, D. Tigani and R. Capanna, Implant of biphasic ceramic (Tricalcium phosphate/hydroxyapatite) in cystic cavities after bone tumour curettage: Preliminary results, *Clinical Orthopaedics*, (1991), 193-195.
- [TAM06] T. Tamm and M. Peld, Computational study of cation substitutions in apatites, *Journal of Solid State Chemistry*, (2006), 179, 1581-1587.
- [TAN05] X. L. Tang, X. F. Xiao and R. F. Liu, Structural characterization of silicon-substituted hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method, *Materials Letters*, (2005), 59, 3841-3846.
- [TAN94] Y. Tanizawa and T. Suzuki, X-ray photoelectron spectroscopy study on silicate containing apatite, *Phosphorus Research Bulletin*, (1994), 4, 83-88.
- [TAN95] Y. Tanizawa and T. Suzuki, Effect of silicate ions on the formation and transformation of calcium phosphates in neutral aqueous solutions, *Journal of Chemistry Society*, (1995), 91, 3499.
- [TET97] F. Tétard, *Frittage du carbonate de calcium - Mécanismes de densification et de grossissement des grains - Elaboration d'une biocéramique*, Thèse de doctorat, Université de Limoges, 1997.
- [THI05] E. S. Thian, J. Huang, S. M. Best, Z. H. Barber and W. Bonfield, Magnetron co-sputtered silicon-containing hydroxyapatite thin films - an in vitro study, *Biomaterials*, (2005), 26, 2947-2956.



- [THI06-a] E. S. Thian, J. Huang, S. M. Best, Z. H. Barber and W. Bonfield, Novel silicon-doped hydroxyapatite (Si-HA) for biomedical coating: an in vitro study using acellular simulated body fluid, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, (2006), 76B, 326-333.
- [THI07] E. S. Thian, J. Huang, S. M. Best, Z. H. Barber and W. Bonfield, Silicon-substituted hydroxyapatite: the next generation of bioactive coatings, *Materials Sciences & Engineering C*, (2006), 27, 251-256.
- [THI06-c] E. S. Thian, J. Huang, S. M. Best, Z. H. Barber, R. A. Brooks, N. Rushton and W. Bonfield, The response of osteoblasts to nanocrystalline silicon-substituted hydroxyapatite thin films, *Biomaterials*, (2006), 27, 2692-2698.
- [THI06-d] E. S. Thian, J. Huang, M. E. Vickers, S. M. Best, Z. H. Barber and W. Bonfield, Silicon-substituted hydroxyapatite (SiHA): a novel calcium phosphate coating for biomedical applications, *Journal of Materials Science*, (2006), 41, 709-717.
- [UCH90] A. Uchida, N. Araki, Y. Shinto, H. Yoshikawa, E. Kurisaki and K. Ono, The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumour surgery, *The Journal of Bone and Joint Surgery*, (1990), 72-B, 298-302.
- [VAL05] M. Vallet-Regi and D. Arcos, Silicon substituted hydroxyapatite. A method to upgrade calcium phosphate based implants, *Journal of Materials Chemistry*, (2005), 15, 1509-1516.
- [VIG84] M. Vignoles, *Contribution à l'étude de l'influence des ions alcalins sur la carbonatation dans les sites de type B*, Thèse de doctorat, Instituts National Polytechnique de Toulouse, 1984.
- [WAR03] S. M. Warren, K. D. Fong, R. P. Nacamuli, H. M. Song, T. D. Fang and M. T. Longaker, Biomaterials for skin and bone replacement and repair in plastic surgery, *Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery*, (2003), 9, 10-15.
- [WEI03] M. Wei, D. Vellinga, D. Leavesley, J. Evans and Z. Upton, Cells attachment and proliferation on hydroxyapatite and ion-substituted hydroxyapatites, *Key Engineering Materials*, (2003), 240-242, 671-674.
- [XU07] J. L. Xu and K. A. Khor, Chemical analysis of silica doped hydroxyapatite biomaterials consolidated by spark plasma sintering method, *Journal of Inorganic Biochemistry*, (2007), 101, 187-195.
- [YAM87] M. Yamagushi, H. Oishi and Y. Suketa, Stimulatory effects of zinc on bone formation in tissue culture, *Biochemical Pharmacology*, (1987), 36, 4007-4012.

- [YOU95] R. A. Young, The Rietveld method (1995), Ed. R.A. Young, International union of crystallography, Oxford Science Publications, 314.
- [YUS07] Y. Yusufoglu and M. Akinc, The effect of pH on the carbonate incorporation into the hydroxyapatite prepared by an oxidative decomposition of calcium-EDTA chelate, ECERS, Berlin, (2007).
- [ZHA99] K. Zhao, Q. Feng and C. Chen, Antimicrobial effects of silver loaded hydroxyapatite, Tsinghua Science & Technology, (1999), 4, 1570-1573.
- [ZHU06] K. Zhu, K. Yanagisawa, R. Shimanouchi, A. Onda and K. Kajiyoshi, Preferential occupancy of metal ions in the hydroxyapatite solid solutions synthesized by hydrothermal method, Journal of the European Ceramic Society, (2006), 26, 509-513.



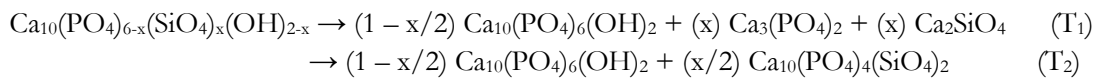
**Mots clés :** Substituts osseux, Hydroxyapatites silicatées, Synthèse, Comportement thermique, Frittage, Culture cellulaire.

**Résumé :** Des poudres d'hydroxyapatites silicatées  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  ( $0 \leq x \leq 2$ ) ont été synthétisées par précipitation en milieu aqueux à pH et température contrôlés suivie d'une calcination. Les précipités sont composés d'une phase apatite carbonatée et silicatée (phase principale) et d'une phase secondaire contenant le silicium en excès. Celui-ci n'est incorporé en totalité dans l'apatite que lors de la calcination en substituant les groupements carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) issus de la synthèse. Pour  $x_{\text{Si}} \leq 1$  mol, les poudres sont monocristallines. Le mécanisme de formation de l'HA silicatée est :



Au-delà de 1 mol de silicium, les poudres cristallisent dans un système biphasé, hydroxyapatite et phosphate tricalcique alpha.

La stabilité thermique des poudres dépend de la teneur en silicium. L'hydroxyapatite silicatée se décompose en deux temps selon les réactions :



L'incorporation de silicium dans l'hydroxyapatite engendre un décalage des températures de début de frittage et de vitesse maximale de densification vers les hautes températures. Les conditions doivent être adaptées à chaque composition afin d'obtenir des matériaux denses ( $\tau > 95\%$ ) sans phase secondaire.

Ceux-ci ont été testés biologiquement par culture *in vitro* de cellules ostéoblastes MG-63 en évaluant la prolifération et l'adhésion cellulaire. Le nombre de cellules augmente jusqu'à 5 jours de culture. La présence de silicium dans l'apatite ne modifie pas la biocompatibilité des matériaux mais l'activité cellulaire (prolifération, adhésion) n'est cependant pas améliorée.

---

#### SYNTHESIS AND SINTERING OF SILICATED HYDROXYAPATITES

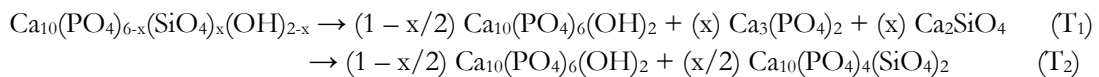
**Keywords:** Bone substitutes, Silicated hydroxyapatites, Synthesis, Thermal behavior, Sintering, Cell culture.

**Summary:** Silicated hydroxyapatite powders  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  ( $0 \leq x \leq 2$ ) were synthesized by a wet precipitation method with control of the pH and temperature, followed by a heat treatment. The raw materials were composed of a partially silicated and carbonated apatite and a secondary minor phase containing the excess silicon. This excess is fully incorporated in the apatite lattice during the calcination by substituting carbonate groups ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) from the synthesis. For  $x_{\text{Si}} \leq 1$  mol, powders are pure. The mechanism of formation of the silicated HA is:



For  $x_{\text{Si}} > 1$  mol, the powders crystallize in a biphasic system, alpha tricalcium phosphate and hydroxyapatite.

The thermal stability of powders depends on the silicon content. The thermal decomposition of the silicated hydroxyapatite could be written into two steps according to the reactions:



When silicates were incorporated in the hydroxyapatite lattice, the beginning of the sintering and the maximum densification rate were shifted to the high temperatures. The conditions must be adapted to each composition in order to obtain dense materials ( $\tau > 95\%$ ) without secondary phase.

Dense ceramics made of pure HA and  $\text{Si}_x\text{HA}$  containing various amounts of silicate (up to  $x = 0.6$ ) were biologically tested *in vitro* with human osteoblast like cells. The proliferation of cells on the surface of the ceramics increased up to 5 days of culture indicating that the materials were biocompatible. But, the silicon content did not influence the cell proliferation.