

# SOMMAIRE

|  |    |
|--|----|
| Introduction générale .....  | 1  |
| Chapitre I : Revue bibliographique .....   | 4  |
| I.1    La régénération osseuse : contexte général .....  | 5  |
| I.1.1    L'architecture de l'os : l'os cortical et l'os spongieux .....  | 5  |
| I.1.2    La composition de la matrice osseuse : phases organique et minérale .....                                 | 5  |
| I.1.3    Les cellules responsables du remodelage osseux .....  | 6  |
| I.2    Les biomatériaux pour la régénération osseuse .....   | 8  |
| I.2.1    Propriétés recherchées pour un biomatériau de substitution osseuse .....                                  | 8  |
| I.2.1.1.    La biocompatibilité .....  | 8  |
| I.2.1.2.    La biorésorbabilité .....  | 8  |
| I.2.1.3.    La bioactivité .....   | 8  |
| I.2.1.4.    L'ostéoconduction .....  | 9  |
| I.2.1.5.    L'ostéoinduction .....   | 9  |
| I.2.2    Les différents types de biomatériaux de substitution osseuse .....  | 9  |
| I.2.2.1.    Substituts osseux d'origine biologique .....   | 9  |
| I.2.2.2.    Substituts osseux synthétiques .....   | 9  |
| I.2.2.2.i.    Les ciments osseux .....   | 10 |
| I.2.2.2.ii.    Les céramiques .....  | 10 |
| I.3    Les biomatériaux à base de phosphates de calcium .....  | 11 |
| I.3.1    Les différentes entités phosphates .....  | 11 |
| I.3.1.1.    Les orthophosphates .....  | 11 |
| I.3.1.2.    Un cas particulier des polyphosphates $(PO_3)_n^{n-}$ : les pyrophosphates $(P_2O_7)^{4-}$ .....       | 12 |
| I.3.2    Verres phosphates bioactifs .....   | 13 |
| I.3.3    Invert Glasses à base de polyphosphates élaborés par fusion .....   | 13 |
| I.4    Les phosphates de calcium élaborés par chimie douce .....   | 14 |
| I.4.1    Les matériaux amorphes à base d'orthophosphates .....   | 14 |
| I.4.2    Coacervats à base de polyphosphates élaborés par chimie douce .....                                       | 16 |
| I.4.3    Le pyrophosphate de calcium dans les biomatériaux de substitution osseuse et les biominéralisations ..... | 17 |
| I.4.3.1.    Ciment à base de pyrophosphate pour la régénération osseuse .....                                      | 17 |
| I.4.3.2.    Pyrophosphate de calcium amorphe : l'aCPP .....  | 19 |
| I.4.4    Spéciation des ions phosphates en solution aqueuse .....  | 20 |
| I.5    De nouveaux matériaux amorphes pyro-/orthophosphates de calcium élaborés par chimie douce .....             | 21 |
| I.5.1    Méthode de synthèse et caractérisation structurale .....  | 22 |
| I.5.1.1.    Diffraction des rayons X (DRX) .....   | 22 |
| I.5.1.2.    Spectroscopies vibrationnelles : FTIR et RAMAN .....   | 23 |

## Sommaire

|          |  |    |
|----------|--|----|
| I.5.1.3. | Analyses thermiques .....  | 24 |
| I.5.1.4. | Microscopie Electronique à Balayage (MEB) .....  | 25 |
| I.5.1.5. | Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) .....                                  | 25 |
| I.5.2    | Caractère amorphe et origine des ions orthophosphate présents dans les matériaux PYG-OX..... | 27 |
| I.6      | Objectifs de la thèse.....   | 27 |

Chapitre II : Etude de l'influence du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initialement présent en solution sur la composition et la structure des matériaux mixtes ortho- et pyrophosphates de calcium ..... 29

|              |   |    |
|--------------|---|----|
| II.1         | Elaboration de nouveaux matériaux amorphes à base de phosphates de calcium .....                      | 30 |
| II.1.1       | Etat de l'art.....  | 30 |
| II.1.2       | Protocole de synthèse des matériaux à base d'ions ortho- et/ou pyrophosphates de calcium .....        | 32 |
| II.1.2.1.    | Les précurseurs phosphatés.....   | 32 |
| II.1.2.2.    | Synthèse des matériaux NaPYG-OX0.....   | 35 |
| II.1.3       | Les différentes techniques de caractérisation des matériaux synthétisés .....                         | 37 |
| II.2         | Etude de l'effet du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initiale en solution sur le matériau final..... | 37 |
| II.2.1       | Diffraction des rayons X .....  | 37 |
| II.2.2       | Caractérisation pas spectroscopie Raman et RMN du solide .....  | 39 |
| II.2.2.1.    | Spectroscopie vibrationnelle : Raman .....  | 39 |
| II.2.2.2.    | Caractérisation par RMN multinucléaire à l'état solide.....   | 43 |
| II.2.2.3.    | Comparaison des caractérisations semi-quantitatives par ces deux techniques .....                     | 44 |
| II.2.3       | Analyse thermique : ATG/ATD .....   | 46 |
| II.2.4       | Analyse chimique .....  | 48 |
| II.2.5       | Observations par microscopie électronique à balayage.....   | 48 |
| II.3         | Résumé et discussion .....  | 51 |
| II.3.1       | Corrélation des résultats.....  | 51 |
| II.3.1.1.    | Composition des matériaux NaPYG-OX0 .....   | 51 |
| II.3.1.2.    | Formule chimique des matériaux .....  | 54 |
| II.3.2       | Hypothèses.....   | 55 |
| II.3.2.1.    | Les ions orthophosphates dans les matériaux NaPYG-OX0.....  | 55 |
| II.3.2.1.i.  | Hydrolyse des ions pyrophosphate.....   | 55 |
| II.3.2.1.ii. | Précipitation préférentielle.....   | 55 |
| II.3.2.2.    | Hypothèses sur la structure des amorphes .....  | 56 |
| II.3.2.3.    | Effet du lavage et de l'inhibition de la cristallisation .....  | 58 |
| II.4         | Conclusion .....  | 60 |

## Sommaire

|  |     |
|--|-----|
| Chapitre III : Etude de l'influence de la température de séchage sur la composition et la structure des matériaux mixtes ortho- et pyrophosphates de calcium ..... | 62  |
| III.1    Introduction .....  | 63  |
| III.1.1    Etat de l'art.....  | 63  |
| III.1.2    Protocole de synthèse des trois compositions de matériaux séchés à différentes températures.....  | 65  |
| III.2    Caractérisation moléculaire, structurale et morphologique des matériaux NaPYG-OX0 séchés à différentes températures .....                                 | 66  |
| III.2.1    Caractérisation par diffraction des rayons X.....   | 66  |
| III.2.2    Caractérisation par spectroscopie Raman .....   | 67  |
| III.2.3    Caractérisation par RMN en phase solide.....  | 70  |
| III.2.4    Analyse quantitative par RMN en phase solide .....  | 74  |
| III.2.5    Observation par microscopie électronique à balayage .....   | 75  |
| III.2.6    Observation par microscopie électronique en transmission .....  | 78  |
| III.2.7    Analyse thermique : ATG-ATD .....   | 84  |
| III.3    Discussion et corrélation des résultats .....   | 87  |
| III.4    Conclusion .....  | 88  |
| Chapitre IV : .....  | 90  |
| Etude de la phase cristallisée de pyrophosphate de calcium et de sodium tétrahydraté : la canaphite .....  | 90  |
| IV.1    Les variétés polymorphes de pyrophosphate de calcium et sodium tétrahydraté : la canaphite .....   | 91  |
| IV.1.1    Etat de l'art.....   | 91  |
| IV.1.2    Protocole de synthèse de la canaphite $\alpha$ .....   | 92  |
| IV.2    Caractérisation moléculaire, structurale et morphologique de la canaphite $\alpha$ .....   | 93  |
| IV.2.1    Caractérisation par diffraction des rayons X.....  | 93  |
| IV.2.2    Observations par microscopie électronique à balayage.....  | 94  |
| IV.2.3    Caractérisation par spectroscopie Raman .....  | 95  |
| IV.2.4    Caractérisation par RMN en phase solide.....   | 96  |
| IV.2.5    Analyses thermiques : ATG-ATD .....  | 97  |
| IV.2.6    Analyses chimiques .....   | 97  |
| IV.3    Elaboration de la canaphite deutérée pour des analyses structurales plus approfondies .....  | 98  |
| IV.3.7    Synthèse et caractérisation de routine.....  | 99  |
| IV.3.8    Diffraction des RX et des neutrons .....   | 99  |
| IV.4    Etude de l'effet de la température de séchage sur la phase cristallisée de pyrophosphate de calcium et sodium tétrahydraté .....                           | 101 |
| IV.4.1    Diffraction des rayons X .....   | 102 |
| IV.4.2    Observations par microscopie électronique à balayage.....  | 103 |
| IV.4.3    Spectroscopie Raman.....   | 105 |
| IV.4.4    Spectroscopie RMN en phase solide.....   | 108 |

## Sommaire

|   |     |
|---|-----|
| IV.4.5      Analyses thermiques : ATG-ATD ..... | 110 |
| IV.5      Conclusion .....                      | 111 |
| Conclusion générale et Perspectives .....       | 113 |
| Références bibliographiques .....               | 116 |
| Annexes.....                                    | 125 |

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Qu'ils soient liés à des fractures accidentelles de l'os ou associés à des pathologies liées à un déficit de densité osseuse ou encore résultant d'interventions chirurgicales curatives induisant des pertes osseuses, les défauts critiques osseux nécessitent l'utilisation de substituts favorisant la régénération du tissu osseux.

Dans ce cadre, l'utilisation des matériaux de substitution osseuse synthétiques s'est largement développée du fait des limitations associées aux biomatériaux d'origine biologique. Parmi ces matériaux, une catégorie se démarque : les biocéramiques à base de phosphate de calcium, notamment car elles ont la particularité d'avoir une composition chimique et une structure proche de celle du minéral osseux. De plus, leur biocompatibilité et leur propriétés d'ostéoconduction et, pour certaines d'ostéoinduction, permettent une meilleure intégration au sein du tissu hôte et efficacité de la réparation. Les phosphates de calcium cristallisés ont été largement décrits contrairement à leurs homologues amorphes. Deux familles de matériaux appartenant à cette dernière catégorie sont étudiées et sont mentionnées dans la littérature, respectivement sous les dénominations de verres à base de phosphate et les phosphates de calcium amorphes. Les premiers sont des verres  $P_2O_5-CaO$  contenant aussi des oxydes additionnels et élaborés par fusion. La nature des unités de phosphate est étroitement liée au rapport Ca/P. Différents « types » de verre peuvent donc être obtenus en fonction de ce rapport : des ultraphosphates (réseau de phosphate 3D) aux verres métaphosphate (chaînes de phosphate linéaires) et éventuellement aux *invert glasses* (pyrophosphate et orthophosphate isolés). Les seconds, les phosphates de calcium amorphes, sont élaborés principalement par précipitation mais peuvent aussi être obtenus par d'autres procédés tels que la coacervation, mettant en jeu différents précurseurs de phosphate tels que les pyrophosphate ( $P_2O_7^{4-}$ ) ou orthophosphate ( $PO_4^{3-}$ ).

Que ce soit dans le cas des verres phosphate ou des phosphates amorphes obtenus par chimie douce, la majorité des études a démontré le rôle primordial de la taille des chaînes phosphate dans leur capacité de dégradation et dans leur activité biologique. L'hydrolyse des ions pyrophosphate en orthophosphate est en particulier prise en charge par le corps humain que ce soit *via* l'action des enzymes spécifiques et/ou en milieu acide (conditions de pH associées à une réaction d'inflammation par exemple).

La littérature décrit la synthèse par chimie douce et les propriétés de pyrophosphate et orthophosphate de calcium amorphes. Récemment, de nouvelles compositions de matériaux amorphes à base d'ortho- et de pyrophosphates de calcium élaborées en mettant en œuvre de l'eau comme seul solvant et des températures n'excédant pas 70°C, ont été mises au point au CIRIMAT et constituent la première description de matériaux bioactifs hydratés à base de deux entités phosphates (ortho- et pyro-) élaborés par chimie douce, de formule chimique (Soulié, 2016b) :



Ces matériaux apparaissent comme prometteurs pour la substitution osseuse notamment en considérant la possibilité de contrôler leurs propriétés de dégradation *via* leur proportion d'ions pyrophosphate associée à l'action des enzymes naturellement présentes au sein de la membrane des cellules osseuses (phosphatase alcaline, pyrophosphatase...). Toutefois le cation monovalent potassium impliqué n'est pas biologiquement « neutre » et la quantité d'ions orthophosphate générée *in situ* est assez faible. Dans le cadre de cette thèse, nous avons envisagé une stratégie mettant

## Introduction générale

en œuvre un autre cation monovalent, le sodium, et visé une gamme beaucoup plus étendue de proportion d'orthophosphate (rapport ortho/(ortho+pyro) de 0 à 100%).

L'objectif de cette thèse est d'élaborer à basse température de nouveaux matériaux amorphes à base d'ortho- et pyrophosphates de calcium et sodium, résorbables et permettant la régénération osseuse en contrôlant la proportion d'ions pyrophosphate (et par conséquent en contrôlant également la proportion d'ions orthophosphate). Au-delà de la nouveauté de cette synthèse, ces matériaux mixtes ortho-/pyrophosphate sont des candidats potentiellement intéressants pour des applications de substitution osseuse ; un rapport pyro-/orthophosphate contrôlé permettant d'envisager un contrôle des propriétés biologiques et de dégradation du matériau. Ces matériaux n'ayant jamais été décrits, la compréhension des mécanismes sous-entendant leur formation est un des buts de cette thèse.

Cette thèse a bénéficié d'une bourse MESR et s'inscrit également dans le cadre du projet ANR « PyVerres » intitulé *Développement de nouveaux matériaux élaborés par chimie douce pour des applications en régénération osseuse* (ANR-16-CE19-0013, 2017-2021) réunissant un consortium de six partenaires (cinq laboratoires académiques et une PME). Une partie de la caractérisation des matériaux étudiés dans cette thèse a été réalisée avec deux des partenaires de ce projet : l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier et le Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris.

Ce manuscrit de thèse comprend quatre chapitres. Après une revue bibliographique sur la régénération osseuse et les divers types de biomatériaux synthétiques de substitution osseuse notamment à base de phosphates, nous aborderons dans les chapitres II et III l'étude de deux paramètres de synthèse de ces nouveaux matériaux amorphes hydratés à base d'ortho- et pyrophosphates de calcium et sodium élaborés par chimie douce : l'effet du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial en solution et l'effet de la température de séchage sur le matériau final. Enfin, le dernier chapitre, sera consacré à l'étude du composé cristallisé formé pour une composition extrême initiale en solution (100% pyrophosphate) testée dans les chapitres II et III, la canaphite.

# **Chapitre I :**

## Revue bibliographique

## **Chapitre I - Revue bibliographique**

Ce chapitre I s'attachera à faire une revue bibliographique sur le tissu osseux ainsi que sur les biomatériaux et plus particulièrement ceux à base d'ions phosphates utilisés pour la substitution osseuse en détaillant plus spécifiquement leur synthèse et composition afin de mettre en évidence l'influence de ces caractéristiques sur leur bioactivité. Pour ce faire, nous exposerons les méthodes d'élaboration et les caractérisations physico-chimiques et structurales de deux familles de phosphates de calcium d'intérêt : les ortho- et les pyrophosphates de calcium.

### **I.1 La régénération osseuse : contexte général**

#### **I.1.1 L'architecture de l'os : l'os cortical et l'os spongieux**

L'os est un tissu conjonctif qui a plusieurs rôles fondamentaux : tout d'abord, un rôle de soutien mécanique, l'os étant un matériau rigide, il sert de support aux tissus mous ainsi que de point d'attache aux tendons de la grande majorité des muscles. Il a également un rôle de protection vis-à-vis de nos organes. Il sert également de « banque » d'ions minéraux : de nombreux ions tels que les phosphates et le calcium peuvent y être stockés et par la suite servir au maintien de l'homéostasie<sup>1</sup> phosphocalcique. De fait, les os participent à de nombreux processus métaboliques (Giudicelli, 1998). Il existe deux grandes catégories d'os : l'os cortical et l'os spongieux. L'os cortical occupe la périphérie de la diaphyse (partie médiane d'un os long) ou la partie des os longs délimitant un canal central de forme allongée dans le sens du grand axe, la cavité médullaire. L'os cortical est également un type de tissu osseux situé à la périphérie des os plats (Pascaud, 2012). La structure des os compacts est particulièrement adaptée pour résister aux contraintes mécaniques. L'os spongieux est présent au niveau des extrémités des os longs (les métaphyses) et dans la partie centrale des os courts. L'os spongieux, offre une grande surface de contact avec les liquides physiologiques et prend une part beaucoup plus importante que l'os compact aux échanges métaboliques (Bauer, 1928). Tous deux sont le siège d'une destruction et d'un renouvellement constant qui constituent le « remaniement » de l'os. Au cours de la reconstruction osseuse, il y a d'abord la formation de la charpente conjonctive (principalement du collagène); puis très rapidement après cette première phase, se dépose une couche de minéral (apatite).

#### **I.1.2 La composition de la matrice osseuse : phases organique et minérale**

L'os est un matériau composite constitué d'une phase organique, d'une phase minérale et d'eau qui représentent respectivement environ 25%, 65% et 10% de la masse osseuse. Dans ce tissu conjonctif, la phase minérale est sous la forme de nanocristaux de phosphate de calcium de type apatitique (apatite) et la phase organique sous forme de fibres de collagène (90%) (Giudicelli, 1998). Cette structure collagénique assure la viscoélasticité de l'os tandis que les cristaux minéraux se déposant à la surface ainsi qu'entre les fibres assurent la rigidité du tissu. L'orientation et la composition de ces fibres conditionnent ainsi la résistance du tissu osseux (Viguet-Carrin, 2006). Les protéines présente dans la matrice sont nombreuses ; plusieurs d'entre elles jouent un rôle sur l'organisation et la minéralisation de la matrice (protéoglycane, sialoprotéine osseuse, ostéocalcine, ostéopontine, ostéonectine, phosphatase alcaline...), tandis que d'autres (protéines morphogénétiques osseuses (BMPS), ostéoprotégérine...) peuvent avoir des actions sur les

<sup>1</sup> L'homéostasie est le processus utilisé par tous les êtres vivants pour maintenir en équilibre les conditions nécessaires à la survie (sang, température, rythme cardiaque, respiration...etc)

## Chapitre I - Revue bibliographique

cellules en charge de la formation et de la résorption osseuse. Des protéines caractéristiques du remodelage osseux (*TRAP : Tartrate-resistant acid phosphatase*) et de la vascularisation (*VEGF : vascular endothelial growth factor*) sont aussi présentes. Lors d'un cycle de synthèse et de dégradation du tissu osseux, les fibres de collagène participent au processus de remodelage du tissu osseux.

Comme évoqué plus haut, la fraction minérale est composée de cristaux sous forme de fines plaquettes d'apatite de taille nanométrique se déposant parallèlement aux fibres de collagène (Kuhn, 2008).

Le minéral osseux correspond à une apatite carbonatée déficiente en ions calcium et hydroxyde, contenant des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$ . La composition générale du minéral osseux peut être décrite par la formule chimique suivante (Rey, 1989) :



Les nanocristaux de cette apatite déficiente en calcium présentent à leur surface une couche hydratée contenant des ions labiles. Cette couche hydratée est majoritairement constituée d'ions bivalents et recouvre le cœur apatitique du cristal constitué d'ion  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  dans des environnements apatitiques bien identifiés (Cazalbou, 2004a; Rey, 1989). La structure apatitique du minéral osseux offre de nombreuses possibilités de substitution en sites cationiques et anioniques conduisant ainsi à différentes solutions solides. La substitution d'ions  $\text{PO}_4^{3-}$  par les ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  entraîne la formation d'une lacune d'ion  $\text{Ca}^{2+}$  et d'une lacune d'ion  $\text{OH}^-$ . Les ions carbonates peuvent eux se substituer soit aux ions  $\text{PO}_4^{3-}$  soit aux ions  $\text{OH}^-$  soit aux deux à la fois conduisant ainsi respectivement à des apatites carbonatées en site de type B, de type A ou de type AB. Les substitutions de type B entraînent l'apparition de lacunes en  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{OH}^-$ ; alors que seules les lacunes en  $\text{OH}^-$  sont présentes pour les substitutions de type A (Rey, 2009). On trouve majoritairement dans l'émail, l'os et la dentine, les apatites carbonatées substituées en site de type B (Rey, 1991).

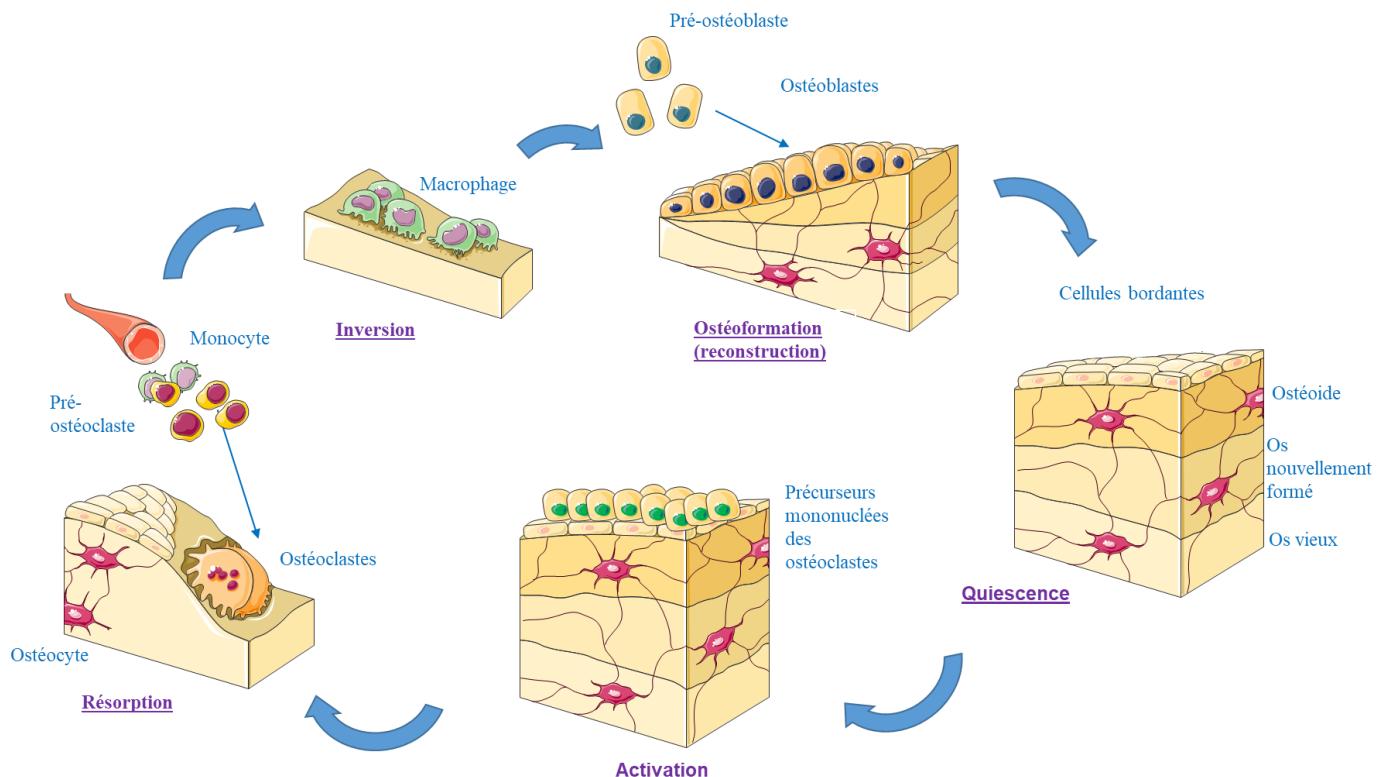
La forte réactivité de surface des apatites biologiques serait donc due à cette couche hydratée qui évolue au cours du temps et qui confère à ces nanocristaux d'apatite une forte capacité d'échanges ioniques et d'adsorption des protéines, permettant ainsi leur interaction et échanges avec les fluides biologiques. La couche hydratée permettrait ainsi une grande mobilité des ions ainsi qu'un échange relativement facile des différentes espèces ioniques et protéiques impliquées dans le remodelage du tissu osseux. Afin d'expliquer les différentes phases de ce remodelage osseux il est important de définir les principaux acteurs de ce processus et en particulier les cellules osseuses (Cazalbou, 2004a; Rey, 1989; Viguet-Carrin, 2006).

### I.1.3 Les cellules responsables du remodelage osseux

En cas de traumatismes ou de fractures, l'os est soumis à un processus de renouvellement et de réparation : notre capital osseux s'adapte ainsi aux sollicitations biomécaniques de la vie quotidienne, en remplaçant le tissu ancien par du tissu nouveau et sain. Ce phénomène appelé remodelage osseux s'effectue au cours d'un cycle de formation/résorption de l'os grâce à l'action concertée des cellules osseuses (Figure I - 1). Ce remodelage est assuré par deux types de cellules : les ostéoclastes qui résorbent la matrice osseuse et les ostéoblastes qui synthétisent une nouvelle matrice. Le début de ce cycle commence par une phase de quiescence au cours de laquelle les ostéoblastes forment les cellules bordantes qui se situent à la surface de l'os et participent à l'organisation de la matrice osseuse, aidant ainsi à créer un os nouveau. Puis, pendant la phase d'activation, les précurseurs mononucléés des ostéoclastes se mettent en place afin d'amorcer la

## Chapitre I - Revue bibliographique

phase de résorption, permettant aux cellules pré-ostéoclastiques de se différencier. Parallèlement, les ostéoblastes forment un nouveau tissu osseux appelé tissu ostéoides. Ce tissu sera dans un second temps minéralisé afin d'amorcer l'ostéoformation, qui est la phase de reconstruction du tissu osseux. Lors de cette phase, entrent en jeu les pré-ostéoblastes, qui sont des cellules non différenciées qui tendent à devenir des cellules ostéoblastiques. Grâce aux actions concertées du couple ostéoclastes/ostéoblastes, les cellules osseuses jouent un rôle essentiel dans le renouvellement osseux (Glaser, 1997).



**Figure I - 1: Schéma représentant les étapes du remodelage osseux et le rôle des différents types de cellules osseuses**  
(adapté de Servier Medical Art).

Ce processus confère à l'os des propriétés d'autoréparation, le rendant capable de se régénérer en cas de lésion. Ainsi, après une fracture, le réalignement et le maintien de l'os suffisent généralement à la cicatrisation : en générant du nouveau tissu, le processus d'ostéogenèse comble le déficit dû à la fracture, restaurant l'efficacité fonctionnelle de l'os (Giudicelli, 1998; Vallet-Regí, 2004).

Cependant, dans certains cas, ce processus naturel d'autoréparation est insuffisant : environ une fois sur dix, des problèmes mécaniques ou biologiques empêchent l'autoréparation d'une fracture. Par ailleurs, certaines pathologies (comme la pseudo-arthrose) ou certaines interventions chirurgicales (ablation de tumeurs, chirurgie orthopédique ou maxillo-faciale, etc.) peuvent aboutir à d'importantes pertes de substance osseuse (défaut osseux de taille critique) que l'autoréparation du tissu osseux ne suffira pas à combler. Ces défauts critiques font que la reconstruction de l'os doit alors être assistée. C'est tout l'enjeu de l'utilisation des biomatériaux de substitution et régénération osseuse.

## I.2 Les biomatériaux pour la régénération osseuse

En référence à la définition qui a été proposée par la Société Européenne des Biomatériaux en 1986 et complétée en 1991 à la conférence de Chester (Pariente, 2005), est considéré comme biomatériaux « tout matériau qui interagit avec les systèmes biologiques pour évaluer, traiter, renforcer ou remplacer un tissu, organe ou fonction de l'organisme ».

### I.2.1 Propriétés recherchées pour un biomatériaux de substitution osseuse

Avant d'être implanté, un biomatériaux doit répondre à des critères bien définis par des normes afin de pouvoir être utilisé chez l'homme. De plus, une meilleure définition de ses propriétés permet de mieux anticiper son action après implantation. Nous nous placerons volontairement ici dans le cas d'un matériau bioactif résorbable pour la substitution osseuse et ce en cohérence avec les matériaux qui ont été étudiés dans le cadre du présent travail de thèse.

#### I.2.1.1. La biocompatibilité

Cette propriété est primordiale lors de l'utilisation de substituts osseux. Le matériau et le produit de dégradation ne doivent pas présenter de cytotoxicité, ni s'accompagner de réaction inflammatoire significative. Par exemple, les matériaux phosphocalciques et leurs produits de dégradation (ions phosphates et calcium) sont parfaitement assimilables et gérés par l'organisme et participent même à la reconstruction de l'os.

#### I.2.1.2. La biorésorbabilité

La biorésorbabilité caractérise la capacité du matériau à se dégrader *in vivo* par l'action de dégradation physico-chimique et des cellules ostéoclastes et plus largement de celles en charge de la défense de notre organisme. La dégradation purement physico-chimique peut notamment être liée aux conditions locales sur le site d'implantation où par exemple une diminution du pH associée à une inflammation peut avoir lieu dès les premières heures et parfois pendant plusieurs jours après l'implantation. Il faut aussi prendre en compte la vitesse de formation de l'os qui n'est pas là même pour tous les os du corps humain. Ainsi, le matériau doit pouvoir se dégrader afin de permettre le remplacement progressif du matériau par l'os néoformé car une dégradation trop rapide peut être responsable d'une mauvaise interface matériau-os et d'un mauvais soutien mécanique. Cette propriété est dépendante des caractéristiques et des propriétés physico-chimiques du matériau (solubilité, réactivité en milieu aqueux). Toutefois, d'autres caractéristiques telles que la composition chimique, la cristallinité ou encore la densité du matériau peuvent contrôler la solubilité et donc la dégradation du matériau *in vitro* et *in vivo*.

#### I.2.1.3. La bioactivité

Les matériaux de substitution osseuse sont dits bioactifs lorsqu'ils sont capables d'interagir positivement avec le tissu osseux et les fluides biologiques environnant. Cette propriété est souvent liée à la capacité du matériau à induire la précipitation d'une apatite nanocrystalline à l'interface entre le matériau et le tissu osseux ainsi que les fluides biologiques (Takadama, 2008) pour *in fine* induire une néoformation de l'os qui établit une liaison chimique stable et durable avec le tissu osseux. L'utilisation du substitut osseux résorbable comme matériau de comblement et de régénération nécessite une résorption progressive de ce dernier conjointement à une néoformation osseuse progressive.

## Chapitre I - Revue bibliographique

### I.2.1.4. L'ostéoconduction

L'ostéoconduction est définie comme la capacité d'un matériau à recevoir la repousse osseuse par colonisation cellulaire lorsqu'il est en contact ou à proximité d'un tissu osseux (Jarcho, 1981). Le matériau doit tout d'abord pouvoir intégrer à sa surface les précurseurs ostéoblastiques qui migrent de la moelle osseuse, puis assurer la prolifération ainsi que la différenciation en ostéoblastes. La composition chimique, la porosité et la topographie de surface du matériau ont une forte influence sur l'ostéoconduction.

### I.2.1.5. L'ostéoinduction

L'osteoinduction est la capacité d'un matériau à induire une différenciation cellulaire en ostéoblastes afin de promouvoir la minéralisation de la matrice osseuse. Cette propriété est néanmoins insuffisante pour la régénération de grandes pertes de substance osseuses (Kenley, 1993).

## I.2.2 Les différents types de biomatériaux de substitution osseuse

On distingue deux grandes familles de matériaux de substitution osseuse en fonction de leur origine : les matériaux d'origine biologique et ceux d'origine synthétique.

### I.2.2.1. Substituts osseux d'origine biologique

Ces types de matériaux ont été les premiers à être utilisés pour le comblement osseux. Parmi eux, l'autogreffe appelée aussi greffe autologue : consiste à prélever du tissu osseux sur le patient (fréquemment sur la crête iliaque) afin de le réimplanter sur le site à traiter. Le prélèvement d'os sur un autre individu de la même espèce est réalisé dans le cas d'une allogreffe. Enfin, dans le cas de la xénogreffe, l'os prélevé provient d'une autre espèce. L'autogreffe minimise les risques de rejet du greffon et de transmission d'infections et de maladies. De ce fait elle est considérée comme le « gold standard » de la substitution osseuse<sup>2</sup> puisqu'elle permet d'éviter la transmission d'infections ou de maladies et le rejet dû à la réaction du système immunitaire. Les inconvénients majeurs de l'autogreffe sont liés au fait que le support osseux est limité en quantité, qu'elle nécessite deux interventions chirurgicales (prélèvement et implantation du greffon) et qu'une grande proportion de patients souffre par la suite de douleurs sur les deux sites. L'allogreffe et l'hétérogreffe présentent quant à elles des risques potentiellement infectieux et immunologiques. Ainsi, l'utilisation de biomatériaux synthétiques est de plus en plus privilégiée car ils constituent une solution de choix pour éviter les problèmes liés aux greffes de tissus osseux.

### I.2.2.2. Substituts osseux synthétiques

Le domaine des matériaux synthétiques a connu un développement considérable au cours des quatre dernières décennies car il permet de disposer de substituts de manière reproductible, en quantité contrôlée et avec un coût moindre. Ils permettent aussi d'avoir un choix de la forme (blocs, granulés, poudres, gels, ciments, revêtements...), de la microstructure (denses, plus ou moins poreux...) et sur la nature (métaux, alliages, polymères, céramiques, composites...), la composition et la structure (cristallines ou amorphes) des matériaux utilisés. Parmi les biomatériaux

<sup>2</sup>

Ceux qui est le plus recommandé

## Chapitre I - Revue bibliographique

inorganiques non métalliques pour la substitution osseuse, on s'intéressera plus particulièrement à la famille des ciments et des biocéramiques.

### I.2.2.2.i. Les ciments osseux

Dans la famille des ciments pour la substitution osseuse, nous pouvons distinguer deux types de ciments : les ciments acryliques (à base de polyméthacrylate de méthyle (PMMA)) et les ciments minéraux (dont les ciments phosphocalciques).

Intéressons-nous particulièrement au ciment phosphocalciques : les ciments à base de phosphate de calcium (CPC) ont été découverts dans les années 1980 par Brown et Chow (Brown, 1983) ainsi que par LeGeros *et al.* (LeGeros, 1982). Ces ciments dits hydrauliques sont obtenus par une réaction acido-basique entre deux phosphates de calcium (l'un acide et l'autre plus basique) dans de l'eau ou une solution aqueuse. Depuis 1982, la formulation des ciments a beaucoup évolué : les ciments biphasiques ont notamment été beaucoup développés afin d'améliorer la résorption des ciments apatitiques (Combes, 2006; Bohner, 2007; Bohner, 2000). Actuellement, les ciments phosphocalciques sont composés d'un ou plusieurs phosphates de calcium dans leur phase solide. Leur avantage est entre autres lié au fait de pouvoir s'adapter à la forme du défaut osseux à combler et à leur facilité de mise en œuvre lors de l'implantation notamment lorsqu'ils sont injectables.

### I.2.2.2.ii. Les céramiques

Parmi les céramiques développées dans le domaine de la reconstruction osseuse, on distingue les céramiques bioinertes (principalement l'alumine et la zircone) et les céramiques bioactives notamment celles à base de phosphates de calcium pour leurs applications dans le domaine du comblement osseux. Les céramiques phosphocalciques, en particulier celles d'hydroxyapatite (HA) ou de phosphate tricalcique  $\beta$  ( $\beta$ -TCP) ou une combinaison de ces deux phases pour ne citer que les céramiques bioactives les plus développées industriellement sont des matériaux de synthèse fabriqués par frittage à haute température (environ 1300 °C) (Champion, 2013), d'où l'appellation céramiques. Leurs compositions étant proches de celle du minéral osseux précédemment décrit (partie I.1.2) elles ont l'avantage d'être biocompatibles, ostéoconductrice et partiellement résorbables (Bohner, 2000).

Ces biocéramiques à base de phosphates de calcium sont utilisées sous forme de revêtements, de granulés et de céramiques massives ou macroporeuses ou de ciments. Parmi les céramiques phosphocalciques, nous ferons un focus un peu plus loin dans ce chapitre (partie I.4.1) sur le phosphate de calcium amorphe (ACP: *amorphous calcium phosphate*) qui est impliqué dans diverses formes de biocéramiques phosphocalciques notamment des ciments et des revêtements.

Parmi les matériaux inorganiques pour la substitution osseuse, les solides amorphes ont beaucoup attiré l'attention. En effet, leur métastabilité favorise la bioactivité, l'ostéoconduction et l'ostéoinduction. L'exemple le plus étudié est celui des verres bioactifs qui sont aussi apparentés à la famille des biocéramiques. Les premiers verres bioactifs à avoir été étudiés sont les verres silicatés développés par Hench à partir des années 1960 (Hench, 2006). Travailleur tout d'abord sur des céramiques résistantes aux radiations, l'armée lui lance le défi de trouver des matériaux résistants au corps humain lui-même. Il en déduit qu'il faudrait un matériau dégradable, qui contient des éléments naturellement présents

## Chapitre I - Revue bibliographique

dans le tissu osseux tels que le calcium et le phosphore en proportion suffisantes pour contribuer à la formation d'un minéral osseux, qui n'est autre qu'une apatite phosphocalcique. Ainsi, 1969 fût l'année de naissance du 1<sup>er</sup> bioverre (verre silicaté contenant également des ions calcium et phosphate) ; cette matrice vitreuse est connue de nos jours sous la dénomination 45S5 et sous le nom commercial de Bioglass® (Hench, 2006).

Parmi les biomatériaux à base de phosphates de calcium, deux grandes familles de matériaux se rapprochent du matériau cible qui est étudié dans cette thèse : les verres à base de phosphate de calcium et les composés amorphes de phosphates de calcium.

### I.3 Les biomatériaux à base de phosphates de calcium

Les phosphates existent sous différentes formes plus ou moins condensées (ortho- et polyphosphates) qui ont un rôle biologique et sont impliqués dans divers matériaux pour des applications en tant que substituts osseux (céramiques d'orthophosphates de calcium, verres phosphates, *invert glasses*, etc...) ; ils seront décrits dans cette partie. Commençons par présenter les différents types d'ions phosphate.

#### I.3.1 Les différentes entités phosphates

##### I.3.1.1. Les orthophosphates

Les anions phosphates peuvent exister sous plusieurs formes  $\text{PO}_4^{3-}$  (ortho-),  $\text{PO}_3^-$  (méta-),  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  (pyro-) ou  $(\text{PO}_3)_n^{n-}$  (poly-) (Figure I - 2).

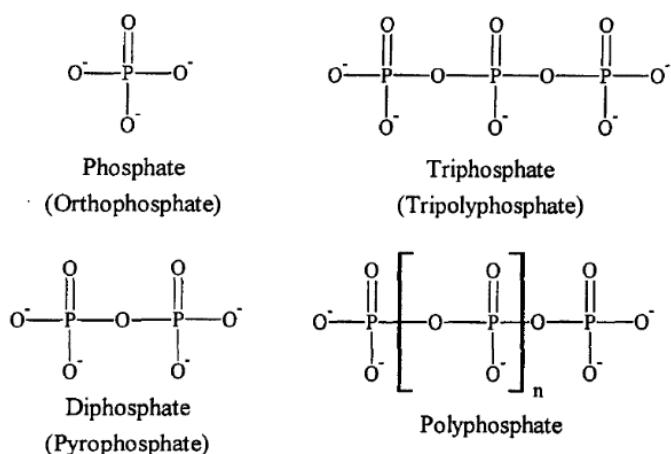
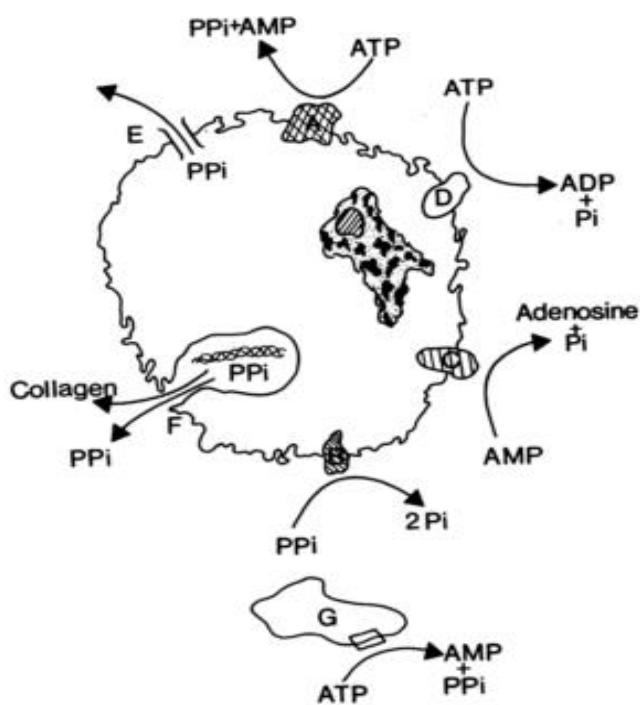


Figure I - 2 : Schéma représentant les différents types d'ions phosphate (Rashchi, 2000)

Dans la nature, le phosphore se trouve majoritairement sous la forme d'orthophosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) formant un tétraèdre résultant d'une hybridation  $\text{sp}^3$  du phosphore (Mitchell, 1969). Dans le cas des matériaux phosphocalciques contenant des chaînes, ce groupement peut être considéré comme un monomère. Formellement, les orthophosphates sont nommés monophosphates et les pyrophosphates diphasphate en accord avec IUPAC. Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons les dénominations orthophosphate et pyrophosphate pour les différentes espèces.

### I.3.1.2. Un cas particulier des polyphosphates ( $\text{PO}_3^{n-}$ ) : les pyrophosphates ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ )

Les pyrophosphates sont des entités phosphates issues de la condensation entre deux groupements orthophosphates, ces derniers étant liés entre eux par un atome d'oxygène. Les pyrophosphates font partie de la famille des polyphosphates (Figure I - 2) naturellement synthétisés dans le corps humain comme nous le montre la Figure I - 3. Le pyrophosphate extracellulaire (PPi dans la Figure I - 3) est produit par réaction de composés polyphosphates, tels que l'adénosine triphosphate (ATP), par l'action d'enzymes et notamment de la nucléoside triphosphate pyrophosphohydrolase (NTP-PPase) et des enzymes de la famille des ectonucléotide pyrophosphatase-phosphodiesterase 1 (ENPP1) (Mackenzie, 2012). Ces enzymes présentes dans le corps humain au niveau du cartilage articulaire, dégradent l'ATP et les autres nucléosides triphosphates régulant ainsi la concentration de pyrophosphate extracellulaire (Figure I - 3). Le rapport entre la concentration d'orthophosphate (Pi dans la Figure I - 3) et de pyrophosphate (PPi) extracellulaires est de plus maintenu par l'action de l'enzyme phosphatase alcaline (TNAP) catalysant l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate (Figure I - 3).



**Figure I - 3 : Activités enzymatiques impliquées dans l'équilibre des orthophosphates (Pi) et pyrophosphates (PPi) extracellulaires (Ryan, 1995)**

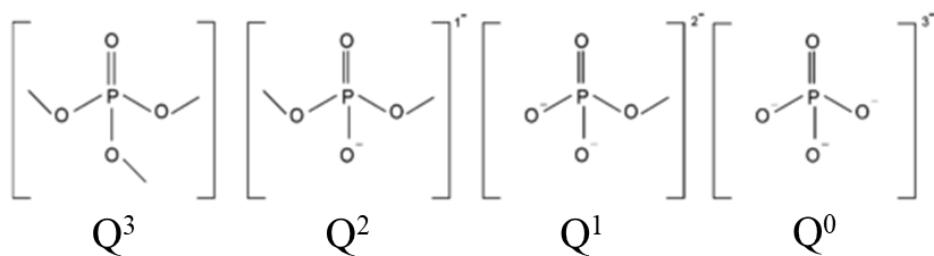
Les processus mis en jeu sont régulés à la fois par la concentration de pyrophosphate, d'orthophosphate et d'adénosine (Ryan, 1995). Finalement, la précipitation de composés orthophosphates ou pyrophosphates de calcium, possédant une solubilité très basse, dans un milieu extracellulaire en présence de la matrice collagène permet de contrôler les quantités d'orthophosphate et de pyrophosphate (Paschalakis, 2002). Ainsi, le corps humain est capable par divers processus de dégrader et réguler la concentration des ions ortho- et pyrophosphates dans le corps humain. De ce fait, l'utilisation de biomatériaux composés entièrement ou partiellement d'ions (pyro)phosphates présente un grand avantage car ces

## Chapitre I - Revue bibliographique

matériaux devraient pouvoir (en fonction de leur proportion d'ions phosphates) être dégradés de manière contrôlée et ainsi induire une régénération osseuse grâce à l'activité enzymatique.

### I.3.2 Verres phosphates bioactifs

Les verres à base de phosphate sont généralement fabriqués par fusion. Considérant les verres binaires  $P_2O_5-CaO$  binaires purs (Brow, 2000), la nature des unités de phosphate (telle qu'exprimée par la terminologie  $Q^n$ , où  $n$  est le nombre d'atomes d'oxygène pontés par tétraèdre  $PO_4$ ) peut être contrôlée via le rapport atomique Ca/P (Figure I - 4). Ce rapport peut varier des ultraphosphates (réseau de phosphate 3D principalement à base d'espèces  $Q^3$ ) aux verres de métaphosphate (chaînes de phosphate linéaires, principalement  $Q^2$ ) et éventuellement aux « *invert glasses* » (pyrophosphates et orthophosphates isolés,  $Q^1$  et  $Q^0$  respectivement).



Dans la famille des polyphosphates, il existe plusieurs catégories : les ultraphosphates ( $2,5 \leq [O]/[P] \leq 3,0$ ), les métaphosphates ( $[O]/[P] = 3,0$ ) et les polyphosphates ( $[O]/[P] \geq 3,0$ ) constitués d'un mélange d'espèces  $Q^3$  et  $Q^2$ . Nous nous intéresserons plus particulièrement à la famille des polyphosphates qui a un réseau de chaînes linéaires à base d'espèces  $Q^2$  et terminées par des tétraèdres d'espèces  $Q^1$  (tétraèdres liés par un oxygène pontant et 3 atomes d'oxygène non pontants). Cette famille de polyphosphates présente plusieurs rapports  $[O]/[P]$ , la longueur de la chaîne diminuant lorsque ce rapport augmente. Ainsi pour un rapport  $[O]/[P] = 3,5$ , nous avons une stoechiométrie correspondant au pyrophosphate où la structure du réseau est dominée par des dimères de phosphate (deux tétraèdres  $Q^1$  liés par un atome d'oxygène pontant). Tandis que pour un rapport  $[O]/[P] > 3,5$  et contenant seulement des espèces  $Q^0$  isolées (parfois un mélange d'espèces  $Q^0$  et  $Q^1$ ) nous avons une stoechiométrie correspondant à celle de l'orthophosphate dans le cas de  $Q^0$ .

Dans ce mode d'élaboration par fusion, une famille de matériaux présente un intérêt particulier car elle possède à la fois des ions ortho- et pyrophosphates au sein de sa matrice : les *invert glasses*.

### I.3.3 Invert Glasses à base de polyphosphates élaborés par fusion

En 1998, Kasuga *et al.* (Kasuga, 2001) ont élaboré un nouveau verre bioactif à usage médical à base de phosphate de calcium utilisant des pyrophosphates :  $xCaO-(90-x)P_2O_5-10TiO_2$  en % molaire. L'ajout de  $TiO_2$  dans un verre phosphates permet d'améliorer les capacités de ce dernier à former un matériau vitreux (diminution de leur aptitude à cristalliser) avec une durabilité chimique (Kishioka, 1974). Les *invert glasses* sont des verres élaborés par fusion

## Chapitre I - Revue bibliographique

composés de petites unités phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ) formant ainsi un réseau anioniques  $\text{Q}^0$  et  $\text{Q}^1$  connectés (Kasuga, 2001; Murthy, 1961).

Ces derniers sont préparés en utilisant un mélange de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{MgO}$  et  $\text{H}_3\text{PO}_4$  en différentes proportions afin d'avoir les compositions suivantes :  $60\text{CaO}.30\text{P}_2\text{O}_5.7\text{Na}_2\text{O}.3\text{TiO}_2$  ou  $60\text{CaO}.30\text{P}_2\text{O}_5.7\text{Na}_2\text{O}.3\text{MgO}$  en pourcentage molaire (Kasuga, 1999). Ces mélanges sont séchés à  $200^\circ\text{C}$ , puis fondus dans un creuset en platine à  $1350^\circ\text{C}$  durant  $\frac{1}{2}$  heure. Le liquide fondu obtenu est ensuite coulé (trempe) sur une plaque en acier inoxydable puis rapidement pressé sous des plaques de fer. Les matériaux subissent ensuite différents traitements thermiques et de frittage. Lors de tests de ces verres au contact d'une solution de type SBF (*simulated body fluid*) (Kasuga, 1999), il y a apparition d'une phase de phosphate de calcium de type apatite cristallisée nouvellement formée à la surface du matériau  $60\text{CaO}.30\text{P}_2\text{O}_5.7\text{Na}_2\text{O}.3\text{TiO}_2$  caractérisant ainsi la bioactivité de ces matériaux. Dans le cas des *invert glasses* on peut étendre la notion d'éléments pontants ou non de l'oxygène au calcium.

Parallèlement aux verres la synthèse de phosphates de calcium amorphes (orthophosphates ou pyrophosphates de calcium amorphes) synthétisés par précipitation en solution à température ambiante a été décrite la plupart du temps dans l'eau et sans autre traitement à haute température (Combes, 2010; Gras, 2014; Gras, 2016; Slater, 2011). D'autres procédés de synthèse à partir de précurseurs de sels de calcium et de phosphates solubles conduisent à des « coacervats » liquides denses (Pickup, 2014). Nous allons aborder dans la partie suivante la présentation de ces différents matériaux amorphes qui pourraient s'apparenter aux verres phosphocalciques (grande variété de longueurs de chaîne des ions phosphates) bien que les premiers ne contiennent pas d'eau ni de phosphates protonés, du fait de leur voie de synthèse mise en œuvre en solution aqueuse.

### I.4 Les phosphates de calcium élaborés par chimie douce

Plusieurs types de précurseurs de phosphates peuvent être utilisés pour élaborer des phosphates de calcium amorphes à basse température : polyphosphates à longue chaîne (polyP) (Gomez, 2000; Pilliar, 2001), polyphosphates cycliques (Momeni, 2014), diphosphates (également appelés pyrophosphates :  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ) (Gras, 2013; Slater, 2011; Soulié, 2016b) ou orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) (Combes, 2010). Sans traitement à haute température, les associations polyP sont préservées dans les matériaux finaux, qui restent amorphes. En revanche, la cristallisation peut se produire surtout lorsque des orthophosphates et des pyrophosphates (anions plus petits) sont présents, en fonction des paramètres de synthèse utilisés (pH, concentration...) (Gras, 2013; Rey, 2007).

#### I.4.1 Les matériaux amorphes à base d'orthophosphates

De nombreux phosphates de calcium (CaP) cristallisés et amorphes sont impliqués dans les biomatériaux de substitution osseuse ; parmi eux, ceux qui peuvent être élaborés en milieu aqueux par chimie douce sont résumés dans le Tableau I - 1.

## Chapitre I - Revue bibliographique

**Tableau I - 1 : Les principaux phosphates de calcium pouvant être élaborés en milieu aqueux par chimie douce utilisés comme biomatériaux de substitution osseuse (Combes, 2013)**

| Nom  | Formule Chimique   | Abréviation | Système cristallin                                  | Ca/P |
|--|--|-------------|---|------|
| <b>Phosphate monocalcique monohydraté</b>              | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$          | MCPM        | Triclinique   | 0,50 |
| <b>Phosphate monocalcique anhydre</b>                  | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$                                   | MCPA        | Triclinique   | 0,50 |
| <b>Phosphate dicalcique dihydraté (brushite)</b>       | $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$                             | DCPD        | Monoclinique  | 1,00 |
| <b>Phosphate dicalcique anhydre (monétite)</b>         | $\text{CaHPO}_4$   | DCPA        | Triclinique   | 1,00 |
| <b>Phosphate octocalcique</b>                          | $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | OCP (OCPt)  | Triclinique   | 1,33 |
| <b>Phosphate tricalcique amorphe</b>                   | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$                 | ATCP (ACP)  | clusters $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ , symétrie S6 | 1,5  |
| <b>Hydroxyapatite phosphocalcique stoechiométrique</b> | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$                           | HA          | Hexagonal   | 1,67 |

Parmi ces composés, l'ATCP (ou ACP) est un matériau amorphe. Le plus commun est le phosphate tricalcique amorphe (ATCP), avec un Ca/P atomique de 1,5 (formule chimique décrite dans le Tableau I - 1). L'ACP est utilisé dans des formulations de ciment osseux et est également formé en tant que phase secondaire dans des revêtements d'HA obtenus par projection plasma à la surface d'implants métalliques par exemple ou encore dans le cas de matériaux composites car cette phase est considérée comme une phase précurseur de l'apatite du minéral osseux. Sa structure a été déterminée pour la première fois par Betts et Posner grâce à la fonction de distribution radiale (Betts, 1974b, 1974a). Un ordre à courte distance, correspondant à un groupement de composition  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$  avec un diamètre moyen de 0,95 nm est souvent appelé « Cluster de Posner ». Ces clusters correspondent à un arrangement local d'ions calcium et phosphate existant également dans la structure des apatites. Une des méthodes de synthèse les plus simples pour obtenir l'ACP est la précipitation par double décomposition entre des solutions aqueuses de sels de calcium et de phosphates solubles à la température ambiante et à un pH d'environ 10 (Heughebaert, 1977; Somrani, 2005).

Les ACP offrent une grande variété de compositions que l'on peut synthétiser soit dans des conditions biomimétiques, soit au moyen de techniques à haute température/haute énergie. L'ACP est facilement transformé en apatite faiblement cristallisée analogue aux cristaux de minéral osseux et présente ainsi une bioactivité remarquable (Combes, 2013).

Le cas des polyphosphates de calcium amorphes élaborés par une méthode particulière de la chimie douce, la coacervation, va être présenté dans la partie suivante.

## Chapitre I - Revue bibliographique

### I.4.2 Coacervats à base de polyphosphates élaborés par chimie douce

La coacervation fut définie en 1929 par Bungenberg De Jong et Kruyt (Bungenberg de Jong, 1929) comme étant la séparation d'une solution de polyélectrolyte en deux phases. L'une riche en colloïdes, constitue le coacervat, l'autre pauvre en colloïdes est le surnageant ou liquide d'équilibre (Montagne, 1991). Le procédé de coacervation (méthode par chimie douce utilisant un sel) implique la séparation liquide-liquide d'une solution homogène de macromolécules chargées, ce qui donne une phase de "coacervat" dense et riche. En ce qui concerne les solides à base de phosphates, ce procédé consiste à ajouter une solution de cations polyvalents à une solution concentrée de polyphosphate de sodium. Très souvent le sel se trouve être un sel de polyphosphate hydrosoluble composé de longues chaînes de métaphosphates. Les interactions électrostatiques entre les longues chaînes de polyphosphates et les cations polyvalents conduisent à la formation d'un coacervat dense. Le coacervat peut ainsi être extrait et séché pour former un matériau vitreux solide. La température basse du processus de coacervation, où des échantillons solides peuvent être produits sans chauffer au-dessus de la température ambiante, facilite de nombreuses applications dans la préparation de verres phosphates. Ceux-ci comprennent la préparation de revêtements, de verres luminescents et d'hybrides organiques-inorganiques pour des applications optiques (Pickup, 2014). Certains résultats montrent que la méthode de coacervation peut être facilement utilisée pour produire des verres phosphates de composition  $(\text{Na}_2\text{O})_{0,15}(\text{CaO})_{0,35}(\text{P}_2\text{O}_5)_{0,50}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  avec des structures à base de chaînes phosphates (majorité d'espèces Q<sup>2</sup>). Structuralement, ces matériaux sont très similaires à des verres à base de métaphosphates préparés par fusion.

La coacervation a un protocole de synthèse particulier ; nous pouvons citer un exemple décrit par Pickup *et al.* (Pickup, 2014) : l'addition du sel de calcium dans la solution de polyphosphate de sodium se fait de façon contrôlée et sous agitation. Durant le temps de repos, il y a formation de deux couches : la couche aqueuse et la couche dite de « coacervat ». Seule la couche de coacervat est récupérée et lavée à l'eau. Le lendemain, le surnageant aqueux est enlevé afin de mettre la couche de coacervat à sécher à température ambiante dans un dessicateur durant plusieurs jours afin d'obtenir une poudre. D'un point de vue structural, cette voie de synthèse conduit à un verre similaire aux verres métaphosphates trempés obtenus par fusion. Toutefois, contrairement à ces derniers, le verre élaboré par la méthode de coacervation inclut logiquement plus d'eau qu'un verre élaboré par fusion. Ces verres élaborés par coacervation pourraient servir de matrices pour la délivrance d'ions antibactériens (argent) et son efficacité vis-à-vis de certaines bactéries (*P. aeruginosa*) a été démontrée (Pickup, 2014).

La caractérisation structurale d'échantillons traités thermiquement (de 40 à 1000°C) a révélé que ces matériaux possèdent des environnements phosphates de type Q<sup>1</sup> et Q<sup>2</sup> avec une concentration significative d'hydroxyle qui agissent comme des groupes de terminaison pour les chaînes polyphosphates (Pickup, 2007). Lors de la comparaison avec son homologue élaboré par fusion, peu de différences ont été notées à l'exception de la présence d'une proportion significative de groupes hydroxyle dans le matériau élaboré par chimie douce. Cela tend à montrer que les matériaux CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> vitreux peuvent être également préparés à basse température et offrir ainsi la possibilité de préparer des matériaux composites inorganique / polymère et des scaffolds 3D pour des applications en ingénierie tissulaire de l'os.

## Chapitre I - Revue bibliographique

Nous allons aborder maintenant le cas particulier d'un polyphosphate, le pyrophosphate de calcium amorphe, qui a été assez peu développé dans le domaine des matériaux de substitution osseuse.

### I.4.3 Le pyrophosphate de calcium dans les biomatériaux de substitution osseuse et les biominéralisations

Les ions pyrophosphate en solution sont connus pour être à la fois des inhibiteurs de la cristallisation d'HA et un composé cible pour certaines enzymes spécifiques telles que la phosphatase alcaline capable de cliver la liaison P-O-P des ions pyrophosphate *via* une réaction d'hydrolyse (Eidelman, 1990; Thouverey, 2009). Les ions pyrophosphate ont la propriété de s'hydrolyser pour former des ions orthophosphate (Equation I – 1), et inversement, les ions pyrophosphate sont généralement obtenus par condensation des ions hydrogénophosphate avec élimination de l'eau (Equation I – 1 de droite à gauche).



L'hydrolyse des ions pyrophosphate (Equation I – 1) entraîne ainsi simultanément la levée de l'inhibition de la cristallisation de l'apatite et une augmentation locale de la concentration en ions orthophosphate pouvant ainsi contribuer à la formation de l'apatite de l'os.

#### I.4.3.1. Cement à base de pyrophosphate pour la régénération osseuse

Malgré les récentes études afin de déterminer le rôle de l'ion pyrophosphate, son effet sur la régénération osseuse est encore mal compris. Grover *et al.* (Grover 2013) ont développé des ciments à base de phosphates de calcium comprenant du pyrophosphate de calcium amorphe en tant qu'additif. Afin de déterminer ses propriétés *in vivo*, la comparaison entre ces ciments mixtes pyro-/orthophosphates a été faite avec des ciments uniquement à base d'orthophosphates.

Une précédente étude a servi à mettre en place l'optimisation de la composition de ces ciments afin de maximiser la teneur en pyrophosphate de calcium amorphe (Grover, 2005). Toutes les pâtes de ciments ont été formées à partir d'un mélange de  $\beta$ -TCP, d'acide pyrophosphorique, d'acide orthophosphorique et d'eau. Grover *et al.* (Grover, 2013) ont démontré qu'un ciment brushitique contenant du pyrophosphate de calcium amorphe peut améliorer significativement la régénération osseuse *in vivo* (Figure I - 5).

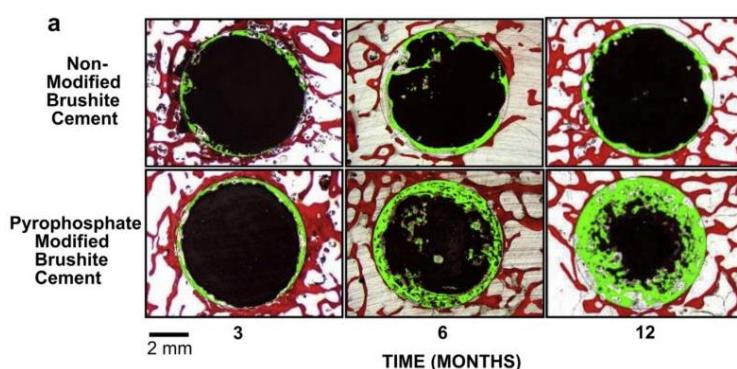
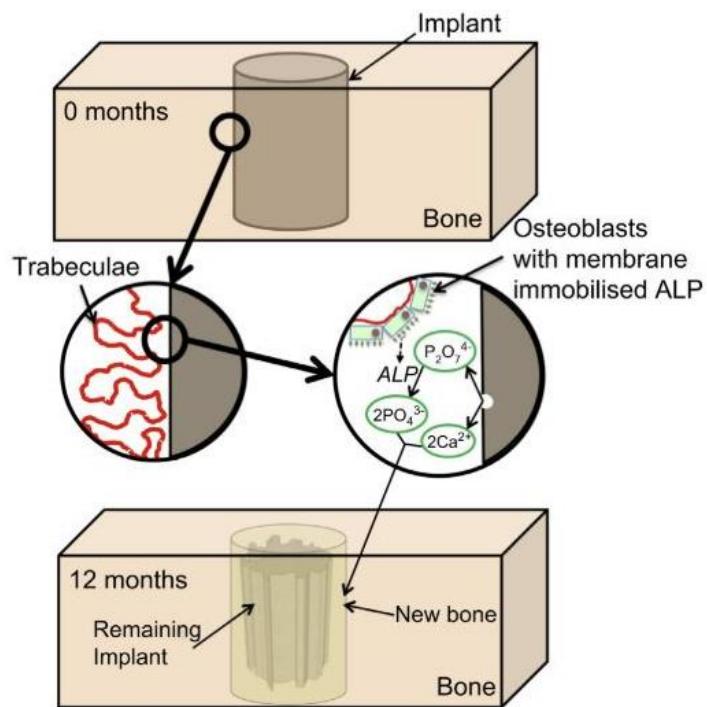


Figure I - 5 : Comparaison de coupes histologiques après 3, 6 et 12 mois d'implantation de ciments brushitiques avec ou sans pyrophosphate de calcium amorphe (Grover, 2013)

## Chapitre I - Revue bibliographique

Les auteurs montrent que la phase de pyrophosphate de calcium amorphe en tant qu'additif agit pour maintenir la stabilité à long terme du ciment car le pyrophosphate inhibe la conversion de la brushite en hydroxyapatite une fois le ciment implanté. Le pyrophosphate de calcium contenu dans le biomatériau a été préférentiellement dissout. Les essais *in vitro* démontrent que cela est causé par le développement du clivage des ions pyrophosphate par les enzymes dû en particulier à l'activité de l'enzyme pyrophosphatase. La disparition localisée des ions pyrophosphate est associée au phénomène de sursaturation par rapport à la phase apatitique et, comme décrit précédemment, va contribuer à la minéralisation du tissu osseux. Grover *et al.* (Grover, 2013) sont les premiers à démontrer qu'il est possible de remplacer l'os par un ciment contenant une phase qui peut servir de substrat à une certaine activité enzymatique associée au processus de minéralisation de l'os lui permettant ainsi d'améliorer son développement. La Figure I - 6, nous montre un schéma explicatif proposé par Grover *et al.* pour décrire la dégradation de ce matériau afin de former un nouveau tissu osseux. Après implantation, le ciment contenant du pyrophosphate de calcium amorphe se lie avec le tissu osseux environnant (partie haute du schéma, Figure I – 6). A partir de là, les ostéoblastes vont entrer en jeu au niveau de la surface de l'os trabéculaire. La membrane de ces cellules enrichies en enzymes ALP va permettre à l'enzyme de cliver les ions pyrophosphate dissous à partir du ciment. Le clivage provoque la diminution de la sursaturation par rapport au pyrophosphate de calcium et favorise la dissolution du ciment restant. Toutefois, ce processus entraîne aussi une sursaturation vis-à-vis de l'HA permettant ainsi la formation d'apatite biologique et donc la minéralisation du tissu osseux à la place du ciment résorbé. Après 12 mois d'implantation (partie basse du schéma), il se produit une dégradation importante du ciment et une nouvelle formation osseuse.



**Figure I - 6 : Schéma de la dégradation enzymatique d'un ciment brushitique incluant du pyrophosphate de calcium amorphe combinée à la néoformation osseuse (Grover, 2013)**

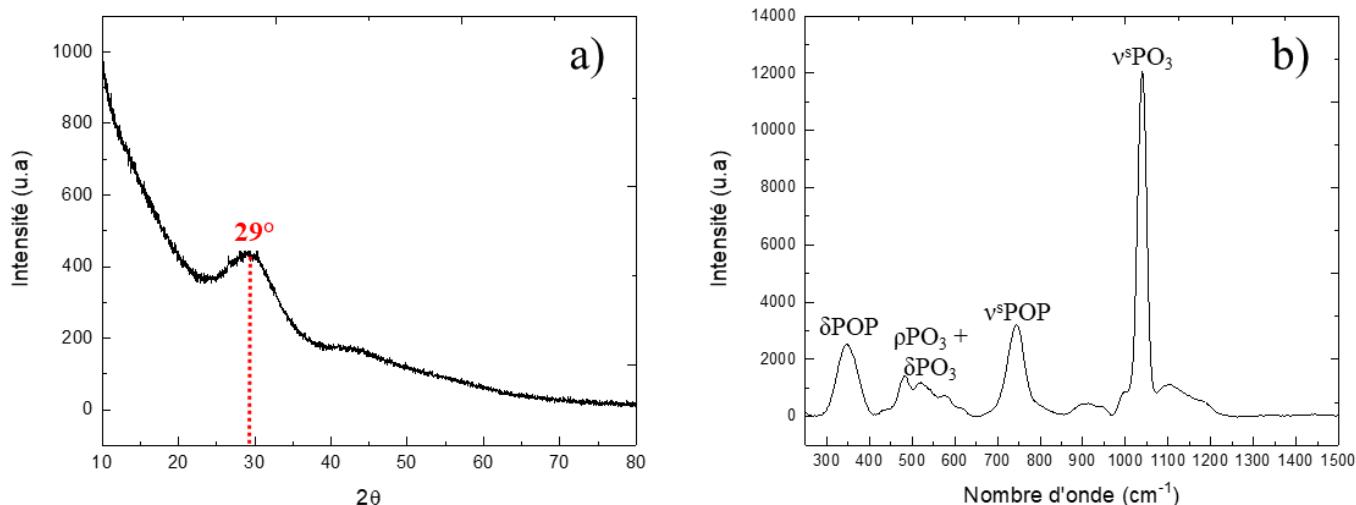
Les travaux de Grover *et al.* montrent que contrairement aux attentes, la présence de la phase pyrophosphate de calcium dans la matrice de ciment n'inhibe pas la minéralisation de l'os cicatrisant autour de l'implant, mais semble en fait la

## Chapitre I - Revue bibliographique

stimuler. Les données *in vitro* suggèrent que l'action enzymatique accélère la dissolution des ions pyrophosphate inorganiques, entraînant une diminution simultanée de leur inhibition de la minéralisation et une augmentation localisée de la sursaturation par rapport à l' HA. Il s'agit là d'un nouveau concept dans le développement de substituts osseux, en concevant un biomatériau de type céramique/ciment pour induire une réaction biologique spécifique, plutôt que d'implanter un matériau qui imite un composant d'une structure biologique.

### I.4.3.2. Pyrophosphate de calcium amorphe : l'aCPP

Par ailleurs, lors d'une étude sur les pyrophosphates de calcium hydratés synthétiques analogues aux composés rencontrés dans les dépôts de cristaux arthrosiques, il a été montré que la phase de pyrophosphate de calcium hydraté amorphe, aCPP (CPP :  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $n\text{H}_2\text{O}$ ), était un précurseur *in vitro* de phases de pyrophosphate de calcium dihydratées cristallisées observées *in vivo*. Pierre Gras a décrit la synthèse de cette phase amorphe (Gras, 2014) : l'ajout des réactifs sous forme de sels dissous en solution aqueuse ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) préparés séparément se fait à débit contrôlé à un pH de 5,8. Dans le cadre de la thèse de Pierre Gras au CIRIMAT, l'aCPP a été caractérisé par diverses techniques telles que la DRX (Figure I - 7a), la spectroscopie Raman (Figure I - 7b), la RMN du solide et l'ATG/ATD.



La description de ce composé nous sera utile pour la suite afin de décrire les matériaux synthétiques que nous étudierons dans les chapitres suivants de cette thèse. En effet, nous remarquons pour la DRX (Figure I - 7a) que nous avons la présence d'un halo large et diffus entre  $23^\circ$  et  $36^\circ$  centré sur  $29^\circ$  caractéristique d'un matériau amorphe. La spectroscopie Raman (Figure I - 7b) montre les bandes de vibration caractéristiques des ions pyrophosphate :  $\nu^s\text{PO}_3$  ( $1040\text{ cm}^{-1}$ ),  $\nu^s\text{POP}$  ( $745\text{ cm}^{-1}$ ) et  $\delta\text{POP}$  ( $348\text{ cm}^{-1}$ ). Pour ce qui est de la spectroscopie RMN  $^{31}\text{P}$ , nous avons un signal large vers les déplacements chimiques négatifs centré vers  $-7,8\text{ ppm}$  (non présenté ici, décrit plus loin dans le Chapitre III partie 2.6).

L'analyse thermique (ATG/ATD) montre une perte de masse continue lorsque la température augmente de  $30$  à  $500^\circ\text{C}$ . La perte de masse totale associée équivaut à  $3,87$  molécules d'eau, indiquant ainsi que cette phase aCPP est quasiment tétrahydratée et se rapproche de la composition de la phase monoclinique de pyrophosphate de calcium tétrahydratée beta (mCPPT β :  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Campillo-Gimenez, 2018; Gras, 2014). Par ailleurs, les études *in vitro* et *in vivo* ont

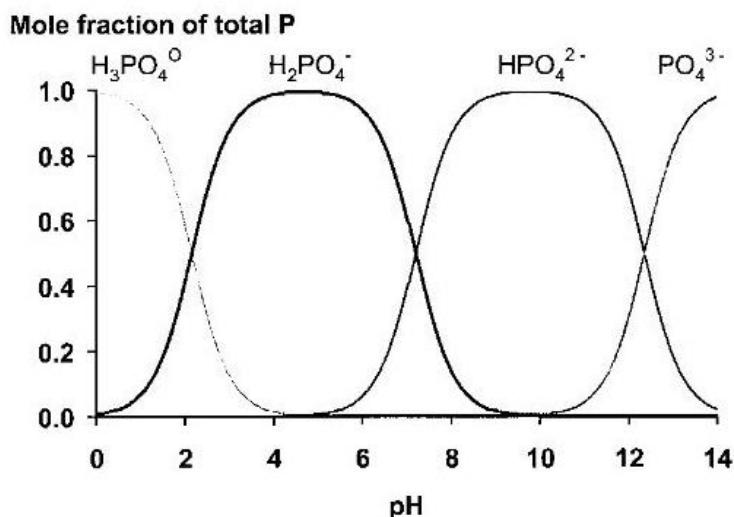
## Chapitre I - Revue bibliographique

montré que ces deux phases tétrahydratées amorphe et cristallisée, aCPP et mCPPT  $\beta$  respectivement, ne sont pas inflammatoires contrairement aux phases de pyrophosphate de calcium dihydraté cristallisées.

Pierre Gras a montré dans sa thèse que l'aCPP présente une stabilité en solution à 37°C et pH 7,4, exceptionnelle pour une phase amorphe, puisque des analyses par spectroscopie Raman et diffraction des rayons X après deux ans d'évolution de cette phase ne montre aucun signe de cristallisation (Gras 2014). La présence d'orthophosphate, issu de l'hydrolyse partielle des ions pyrophosphate, a cependant été observée par microscopie Raman. Outre la très grande stabilité des phases amorphes de pyrophosphate de calcium, la présence d'ions orthophosphate semblerait jouer un rôle dans l'inhibition de la cristallisation des pyrophosphates de calcium et la présence d'ions pyrophosphate la cristallisation d'orthophosphate de calcium (Cheng, 1983). De plus, les tests biologiques *in vitro* et *in vivo* montrent que la phase aCPP n'est pas une phase inflammatoire comme la phase tétrahydratée mCPPT  $\beta$ , contrairement aux phases dihydratées qui elles sont très inflammatoires. Ainsi la coprésence de ces deux types d'ions phosphates (orthophosphate et pyrophosphate) est une piste à explorer pour élaborer des matériaux amorphes mixtes ortho- et pyrophosphates de calcium.

### I.4.4 Spéciation des ions phosphates en solution aqueuse

La précipitation en solution de phosphates de calcium met en jeu la saturation du milieu en fonction de divers paramètres tels que le pH imposé ou encore la force ionique des ions. Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à la mise en solution et à la protonation des ions orthophosphates (acide orthophosphorique, Figure I - 8) et des ions pyrophosphates (Figure I - 9).

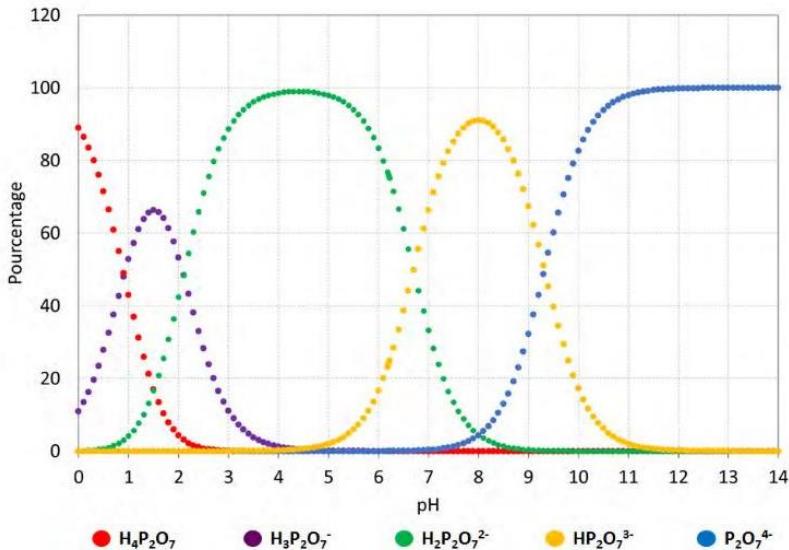


**Figure I - 8 : Diagrammes de spéciation des ions orthophosphates représentant la fraction molaire des ions en solution en fonction du pH (Hinsinger, 2001)**

Les Figure I - 8 et Figure I - 9 donnent respectivement la fraction molaire de phosphates protonés à partir de l'acide orthophosphorique en fonction du pH et le pourcentage des formes protonées de l'ion pyrophosphate déterminé à partir des ions pyrophosphates en solution en fonction du pH. La courbe a été obtenue dans le cadre de la thèse de Kemie Ley-Ngardigal (Ley-Ngardigal, 2016) grâce au logiciel PHREEQC. Ce diagramme (Figure I – 9) nous montre que l'ion

## Chapitre I - Revue bibliographique

$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  existe principalement aux pHs les plus basiques. Dans cette même gamme de pH les plus basiques, les ions orthophosphates sont principalement sous la forme  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$ .



**Figure I - 9 : Diagramme de spéciation des ions pyrophosphates représentant le pourcentage d'ions pyrophosphate en solution en fonction du pH (Ley-Ngardigal, 2016)**

Dans ce contexte, il a récemment été mis au point la synthèse de différentes compositions de matériaux amorphes de pyrophosphate de calcium et de potassium (matériaux notés KPYG) préparées dans des conditions douces (en solution aqueuse avec une étape de séchage à 70°C) et à pH modérément basique (Soulié, 2016b).

### I.5 De nouveaux matériaux amorphes pyro-/orthophosphates de calcium élaborés par chimie douce

La partie I.4 de ce chapitre a permis de mettre en exergue l'intérêt biologique des pyrophosphates de calcium en tant qu'additif dans des ciments phosphocalciques, mais aussi l'intérêt des phosphates de calcium purs élaborés par chimie douce, le rôle d'inhibiteur de cristallisation des ions orthophosphate et pyrophosphate sur les phosphates de calcium amorphes, l'absence de propriétés inflammatoires du pyrophosphate de calcium hydraté amorphe ainsi que la grande stabilité en solution de l'aCPP. Par conséquent, il apparaît intéressant de développer des matériaux amorphes à base d'ortho- et de pyrophosphates de calcium en contrôlant le rapport ortho-/pyrophosphate au sein d'un matériau synthétisé par chimie douce et sans aucun additif notamment en vue de contrôler et d'ajuster la vitesse de dégradation de ces biomatériaux avec celle de la formation du minéral osseux. De nouvelles compositions de matériaux amorphes à base d'ortho- et de pyrophosphates de calcium élaborées par chimie douce ont été récemment mises au point au CIRIMAT (Soulié, 2016b). Cette publication marque la 1<sup>ère</sup> description de matériaux amorphes bioactifs hydratés à base de deux entités phosphates (ortho- et pyro-) élaborés par chimie douce et de formule chimique :



Le choix a été fait d'étudier sept compositions dénommées par une nomenclature sous la forme de PYG-0X avec X variant de 0 à 6 par unité de 1 ; la valeur de X n'est pas directement corrélée à la valeur physique de la concentration en

## Chapitre I - Revue bibliographique

solution mais correspond à une nomenclature. Lorsque X augmente, la concentration initiale d'ion calcium en solution augmente.

### I.5.1 Méthode de synthèse et caractérisation structurale

La synthèse de ces nouveaux matériaux amorphes met en œuvre des précurseurs sous forme de sels de calcium et pyrophosphate qui sont dissous dans des solutions aqueuses séparées (sel de phosphate dissout dans 200 mL et celui de calcium dans 20 mL) puis la solution de calcium est ajoutée à celle de phosphate grâce à une pompe péristaltique avec un débit constant d'environ ( $7,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) (Tableau I - 2). La solution colloïdale obtenue est ensuite soumise à des cycles de centrifugation (pendant 5 min à 7500 rpm) / lavage (3 centrifugations et 2 lavages) et le gel lavé est ensuite coulé dans un moule dans lequel il va subir un traitement thermique de séchage à  $70^\circ\text{C}$  durant quelques jours.

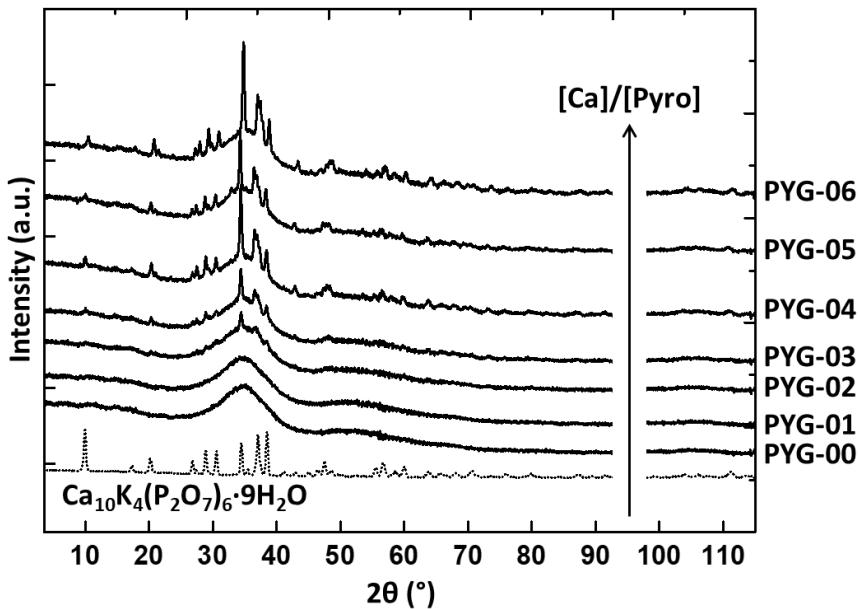
**Tableau I - 2 : Concentration en ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  dans les solutions de précurseurs, rapports molaires et pH du mélange pour élaborer les matériaux PYG-0X (Soulié 2016b)**

|  | <b>PYG-00</b> | <b>PYG-01</b> | <b>PYG-02</b> | <b>PYG-03</b> | <b>PYG-04</b> | <b>PYG-05</b> | <b>PYG-06</b> |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>[CaCl<sub>2</sub>] (mol/L)</b>  | 0,180         | 0,270         | 0,360         | 0,451         | 0,541         | 0,631         | 0,721         |
| <b>[K<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] (mol/L)</b>                         |               |               |               | 0,083         |               |               |               |
| <b>Rapport molaire (Ca<sup>2+</sup>/P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup>)</b> | 0,216         | 0,325         | 0,433         | 0,541         | 0,649         | 0,758         | 0,866         |
| <b>Rapport molaire Ca/P</b>  | 0,108         | 0,162         | 0,216         | 0,271         | 0,325         | 0,379         | 0,433         |
| <b>pH</b>  | 9,55          | 9,30          | 9,06          | 9,00          | 8,74          | 8,45          | 8,34          |

Plus X augmente dans la nomenclature PYG-0X plus la concentration en ions calcium dans la solution augmente afin *in fine* de faire augmenter le rapport Ca/Pyrophosphate étudié afin de comprendre son impact sur la structure du matériau final. Pour ce faire, différentes méthodes de caractérisation complémentaires ont été utilisées afin d'étudier la structure et la composition de ces matériaux amorphes.

#### I.5.1.1. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X a été faite sur un diffractomètre avec une anticathode cobalt ( $\lambda(\text{K}\alpha_1) = 1,789190 \text{ \AA}$  et  $\lambda(\text{K}\alpha_2) = 1,793210 \text{ \AA}$ ) et enregistré pour les compositions avec un rapport molaire Ca/Pyrophosphate allant de 0,2 à 0,9 (Figure I - 10)

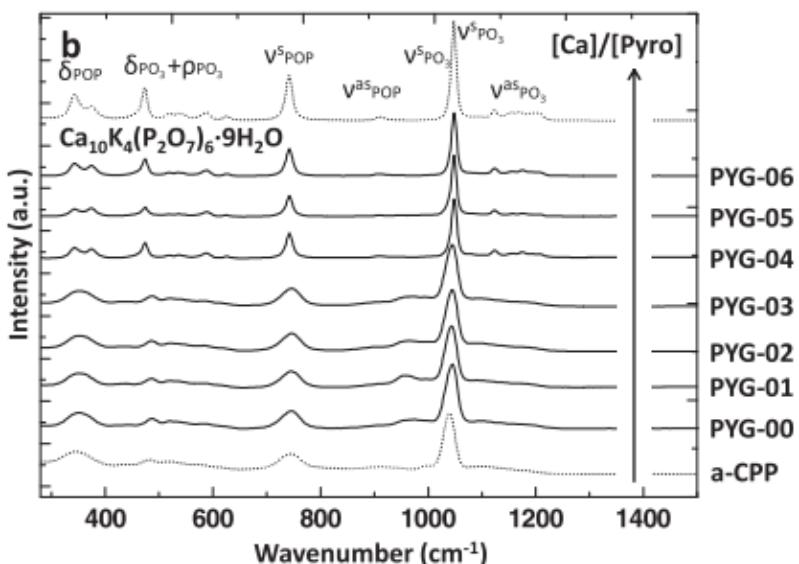


**Figure I - 10 : Diagrammes de DRX des matériaux PYG-0X élaborés à partir d'un rapport Ca/Pyro initial en solution de 0,2 à 0,9 et comparé à celui du composé de référence cristallisé  $\text{Ca}_{10}\text{K}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_6 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (Soulié, 2016b)**

La Figure I - 10, montre que pour les bas rapports Ca/Pyro, les matériaux élaborés sont totalement amorphes et plus ce rapport augmente plus la proportion de phase cristallisée au sein du matériau augmente (visible sur les diagrammes RX des matériaux PYG-03 à PYG-06. La phase cristalline a été identifiée comme correspondant à un composé de pyrophosphate de calcium et potassium hydraté de formule chimique  $\text{Ca}_{10}\text{K}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_6 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ .

### I.5.1.2. Spectroscopies vibrationnelles : FTIR et RAMAN

La spectroscopie Raman a été enregistrée avec un laser à 532 nm pour les composés PYG-00 à PYG-06 (Ca/Pyro de 0,2 à 0,9) (Figure I - 11).



**Figure I - 11 : Spectres RAMAN des matériaux PYG-0X élaborés à partir d'un rapport Ca/Pyro initial en solution différent de 0,2 à 0,9 et comparés à celui de deux composés de référence : aCPP et  $\text{Ca}_{10}\text{K}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_6 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (Soulié, 2016b)**

## Chapitre I - Revue bibliographique

La Figure I - 11, nous montre les bandes de vibration associées aux vibrations des liaisons au sein de l'ion ortho- et pyrophosphate en fonction du rapport Ca/Pyrophosphate ; la co-présence d'ions ortho et pyrophosphates dans les matériaux PYG-0X sera également attestée plus loin par RMN du solide du  $^{31}\text{P}$ . Ces bandes sont référencées dans le Tableau I - 3.

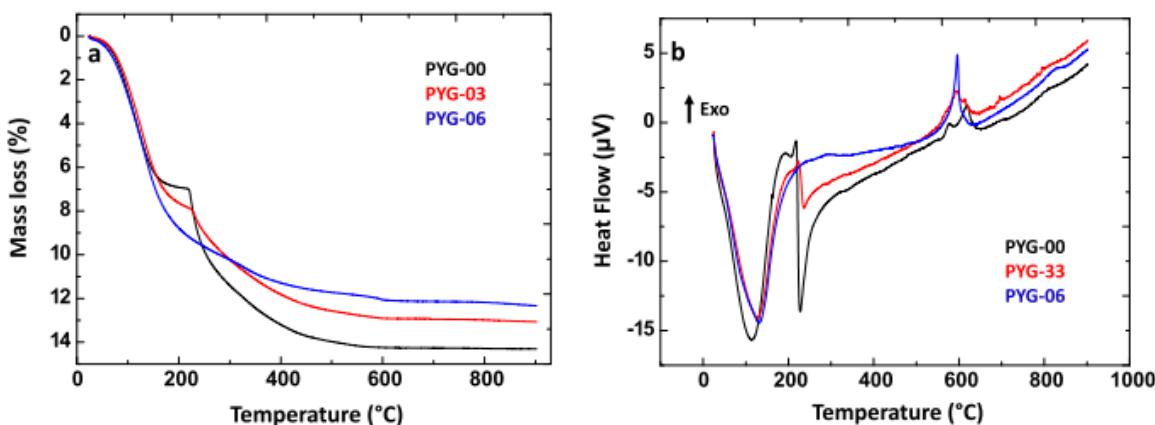
**Tableau I - 3 : Attributions et positions ( $\text{cm}^{-1}$ ) des bandes de vibration Raman des matériaux PYG-0X comparées à celles d'un pyrophosphate de calcium amorphe hydraté (a-CPP, Gras 2014)**

| Attributions                             | Ions   | PYG-0X      | a-CPP |
|--|--------|-------------|-------|
| $\nu^{\text{as}}\text{PO}_3$             | Pyro-  | 1100 - 1300 |       |
| $\nu^{\text{s}}\text{PO}_3$              |        | 1045        | 1040  |
| $\nu^{\text{as}}\text{POP}$              |        | 907         |       |
| $\nu^{\text{s}}\text{POP}$               |        | 740         | 746   |
| $\delta\text{PO}_3$ et $\rho\text{PO}_3$ |        | 440-645     |       |
| $\delta\text{POP}$                       |        | 315-400     | 348   |
| $\nu^{\text{as}}\text{PO}_3$             | Ortho- | 930-990     |       |

La Figure I - 11 montre un affinement et un décalage de la bande principale des ions pyrophosphate vers les plus hauts nombres d'onde. Cette bande correspond pour le PYG-06 au composé cristallisé de référence  $\text{Ca}_{10}\text{K}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_6 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ . De plus, pour les composés PYG-00 à -03 on observe la présence de la bande de vibration caractéristique des ions orthophosphate ( $\nu^{\text{as}}\text{PO}_3$ ), cette bande disparaît ensuite pour les compositions PYG-04 à -06. De plus, les matériaux PYG-00 à -03 présentent des similarités avec le composé amorphe de référence aCPP (décrit plus haut partie I.4.3.2.)

### I.5.1.3. Analyses thermiques

L'analyse thermique des matériaux PYG-0X a été faite de 30 à 900°C avec une montée en température de 5°C par minute (Figure I - 12).



**Figure I - 12 : Analyse ATG (à gauche) et ATD (à droite) des matériaux PYG-00, -03 et -06 (Soulié, 2016b).**

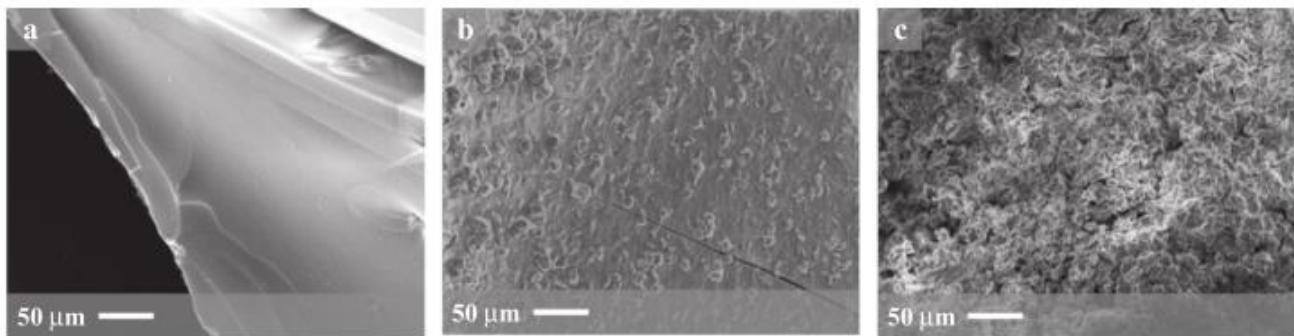
Les courbes ATG de la Figure I - 12 montrent que la perte de masse se fait en deux temps pour les matériaux PYG-00 et -03 tandis que pour le matériau PYG-06 elle a lieu de façon continue. Ces pertes de masse peuvent être attribuées à

## Chapitre I - Revue bibliographique

la perte de molécules d'eau adsorbées ou associées à la matrice (perte de masse avant 150°C). Les pertes de masse totales ont été évaluées : 14,3%, 13,0% et 12,3% pour PYG-00, PYG-03 et PYG-06 respectivement.

### I.5.1.4. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Les clichés de microscopie électronique à balayage des matériaux PYG-00, -03 et -06 sont présentés sur la Figure I - 13.



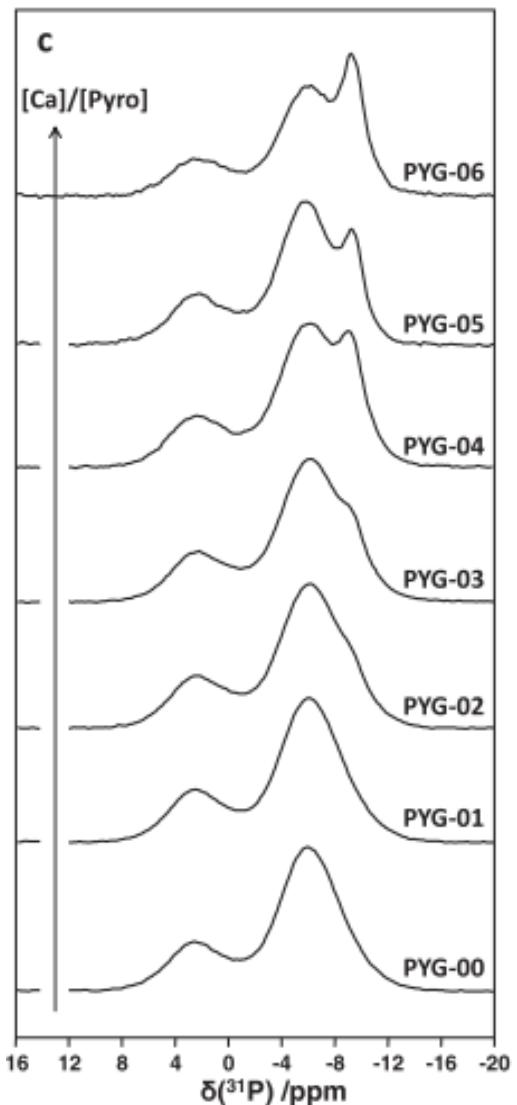
**Figure I - 13 : Images MEB des matériaux a) PYG-00, b) PYG-03, c) PYG-06 (Soulié, 2016b)**

Pour le matériau élaboré à partir du plus faible rapport Ca/Pyro, le PYG-00 (Figure I - 13a), les particules semblent présenter des formes angulaires, des surfaces de fracture lisses et compactes aux morphologies irrégulières caractéristiques d'un matériau vitreux (Sepulveda, 2001). Les Figure I - 13b et c montrent une augmentation de la rugosité de surface lorsque le rapport Ca/Pyro augmente (du matériau PYG-03 à PYG-06). Quelques particules d'environ 10 µm visibles à la surface peuvent également être observées. La quantité de ces particules précipitées semble plus élevée pour le matériau PYG-06 (Figure I - 13c). Cette différence de morphologie de l'échantillon en fonction du rapport atomique Ca/Pyro initial est cohérente avec les résultats d'analyse DRX indiquant la présence d'une seconde phase qui est cristallisée et dont la quantité semble augmenter lorsque le rapport Ca/Pyro augmente.

### I.5.1.5. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres RMN du solide du noyau  $^{31}\text{P}$  des matériaux PYG-00 à -06 sont présentés sur la Figure I - 14.

## Chapitre I - Revue bibliographique



**Figure I - 14 : Spectres RMN du solide du  $^{31}\text{P}$  des matériaux PYG-0X élaborés à partir d'un rapport Ca/Pyro initial en solution de 0,2 à 0,9 (Soulié, 2016b)**

La Figure I - 14 montre que pour les matériaux PYG-00 et PYG-01, deux résonances distinctes sont observées à environ - 5,9 ppm et + 2,3 ppm ; ces signaux peuvent être attribués aux ions pyrophosphate et orthophosphate respectivement, sur la base de précédentes études RMN faites sur des phosphates de calcium (Gras, 2016; Slater, 2011). Il a été remarqué qu'au fur et à mesure que le rapport Ca/Pyro augmente (de PYG-02 à PYG-06), un second signal attribué aux ions pyrophosphate plus étroit et centré à -9,3 ppm apparaît progressivement ; ce signal est attribué à la phase cristalline précédemment identifiée par DRX :  $\text{Ca}_{10}\text{K}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_6 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ . La décomposition des signaux de RMN  $^{31}\text{P}$  confirme que la concentration relative de cette phase cristalline augmente globalement lorsque le rapport Ca/Pyro augmente, au détriment des environnements de pyrophosphate attribués à une phase amorphe. De plus, il est à noter la présence du signal caractéristique des ions orthophosphate vers 2,3 ppm pour tous les matériaux en fonction de leur rapport Ca/Pyro. Ainsi la présence d'ions orthophosphate dans la matrice justifierait le caractère plus ou moins amorphe des compositions de matériaux PYG-0X en fonction de leur rapport Ca/Pyro. Toutefois, comment expliquer le caractère amorphe des matériaux PYG-0X ?

## I.5.2 Caractère amorphe et origine des ions orthophosphate présents dans les matériaux PYG-0X

Il a été démontré qu'une augmentation du rapport  $\text{Ca}^{2+}/\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  dans la solution initiale a entraîné une augmentation de la proportion de la phase pyrophosphate de calcium cristalline dans le matériau final. En faisant varier le rapport Ca/Pyrophosphate initial (de 0,2 à 0,9), il est possible d'obtenir un matériau amorphe constitué d'une phase mixte d'ortho- et de pyrophosphate de calcium (ainsi que de potassium et d'eau) ou une vitrocéramique (cristaux de  $\text{Ca}_{10}\text{K}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_6 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  associés à la phase amorphe d'après les analyses DRX). Certains de ces matériaux étaient amorphes. Il a été suggéré que ce comportement était induit par de petites quantités d'ions orthophosphate formées par hydrolyse partielle des ions pyrophosphate au cours du processus de synthèse, ce qui inhibait la cristallisation du pyrophosphate de calcium. Les matériaux PYG-0X étant hydratés, les ions pyrophosphate peuvent réagir avec les molécules d'eau de structure afin de former des ions orthophosphate comme décrit avec l'Equation I-1. La présence d'ions orthophosphate dans les PYG-0X pourrait également jouer un rôle clé dans l'état amorphe du matériau. Les ions pyrophosphate sont des inhibiteurs bien connus de la cristallisation *in vitro* et *in vivo* des phases d'orthophosphate de calcium (Eidelman, 1990; Thouverey, 2009), car ils empêchent la croissance de domaines organisés en raison d'une interaction de surface (Combes, 2010; Herbert, 1962), mais ils pourraient également affecter l'organisation des phases en raison de la taille ou de l'effet de charge ionique. Par effet miroir, cette explication pourrait être appliquée à une éventuelle inhibition de la cristallisation du pyrophosphate de calcium par des ions orthophosphate (cf. Figure I – 7 : grande stabilité en solution et dans le temps de l'aCPP en présence d'une faible quantité d'ions orthophosphate).

Ce matériau est un biomatériau très intéressant, malgré de nombreuses questions en suspens. En effet, le contrôle de la structure (phases amorphe et cristalline) en fonction des proportions d'ortho- et de pyrophosphate dans la matrice semblent laisser présager à la possibilité de contrôler les propriétés de dégradation du matériau. Nous avons vu précédemment (partie I.4.3.1.) que les ions orthophosphate étaient les constituants de la couche apatitique bioactive à l'interface matériau –tissu osseux nécessaire à la régénération du tissu osseux et que la présence d'ions pyrophosphate pouvait favoriser cette régénération grâce à sa dégradation par des enzymes naturellement présentes au sein des membranes des cellules osseuses.

## I.6 Objectifs de la thèse

Compte tenu de la littérature et des résultats obtenus pour les matériaux PYG-0X, l'objectif de cette thèse est de présenter une stratégie originale pour la synthèse à basse température de nouveaux matériaux à bases de phosphate de calcium et de sodium amorphe (NaPYG) contenant à la fois des entités pyrophosphate et orthophosphate en quantités contrôlées, ainsi que du calcium et du sodium en tant que cations métalliques. À notre connaissance, cette approche n'a jamais été décrite auparavant. De plus, les sels de phosphate de sodium ont été choisis ici (de préférence aux sels de potassium utilisés pour les matériaux PYG-0X), car contrairement au potassium qui peut causer l'hyperkaliémie, le sodium ne présente pas d'effets secondaires *in vivo*.

Au-delà de la nouveauté de cette synthèse, ces matériaux mixtes ortho-/pyrophosphate nous sont apparus comme des candidats potentiellement intéressants pour des applications en tant que substitut osseux. En effet, le contrôle du rapport

## Chapitre I - Revue bibliographique

ortho-/pyrophosphate au sein d'un matériau amorphe (synthétisé à une température de seulement 70°C et sans aucun additif) pourrait permettre de contrôler la vitesse de dégradation de ces biomatériaux et *in fine* la néoformation du minéral osseux.

Ce manuscrit de thèse va décrire la synthèse de ces matériaux à base d'ortho- et de pyrophosphate afin de voir l'influence de la proportion de chaque ion sur le matériau final et de déterminer le mécanisme de formation de ces nouveaux matériaux (Chapitre II), puis nous étudierons l'effet d'un paramètre de synthèse, la température de séchage (Chapitre III). Finalement, nous aborderons, l'étude d'une phase cristalline de pyrophosphate de calcium et sodium hydraté synthétisée : la canaphite (Chapitre IV).

Comprendre le mode de formation de ces matériaux ainsi que l'influence de certains paramètres de synthèse, nous permettra de mieux appréhender par la suite leurs propriétés de dégradation et de bioactivité *in vitro* ainsi que leur potentiel de développement en tant que biomatériaux de régénération osseuse.

## **Chapitre II :**

Etude de l'influence du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initialement présent en solution sur la composition et la structure des matériaux mixtes ortho- et pyrophosphates de calcium

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

L'objectif de cette première partie du travail de thèse est d'étudier l'influence d'un premier paramètre de synthèse qui est l'effet du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initialement présents dans la solution de précurseurs phosphates sur la composition et la structure des matériaux finaux NaPYG-0X0. Ce chapitre II va tout d'abord détailler le protocole de synthèse puis présenter la caractérisation des matériaux élaborés en vue de progresser dans la compréhension du mécanisme de formation de cette nouvelle famille de matériaux amorphes à base d'ions phosphate et calcium. Grâce à différentes techniques de caractérisation complémentaires, nous chercherons à comprendre et si possible à préciser la structure du matériau obtenu en fonction du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro). *In fine*, nous évaluerons l'influence des ions phosphates et donc du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial en solution sur le matériau final. Cette étude constitue une première étape pour mieux comprendre sa formation et par la suite sa dégradation.

### **II.1 Elaboration de nouveaux matériaux amorphes à base de phosphates de calcium**

#### **II.1.1 Etat de l'art**

Comme décrit précédemment dans le Chapitre I, le domaine des substituts osseux regroupe une gamme de matériaux large et variée. Depuis quelques décennies maintenant les matériaux amorphes phosphatés que ce soient des verres ou des céramiques suscitent un intérêt particulier pour ce domaine d'applications. En effet, leur principale caractéristique est leur métastabilité associée à une réactivité physico-chimique et une activité biologique accrues dans le cas d'une utilisation comme biomatériaux (Ahmed, 2004; Brauer, 2010; Kasuga., 2001; Knowles, 2003; Sharmin, 2016). Ces propriétés font de ces matériaux à base de phosphates de calcium amorphes des biomatériaux polyvalents qui ont été utilisés dans de nombreuses formulations (dentifrice reminéralisants, ciment phosphocalcique, matériaux composites...). Leur principal avantage et intérêt reposent sur leur biorésorption et leur rôle de précurseur potentiel dans la formation des apatites biologiques.

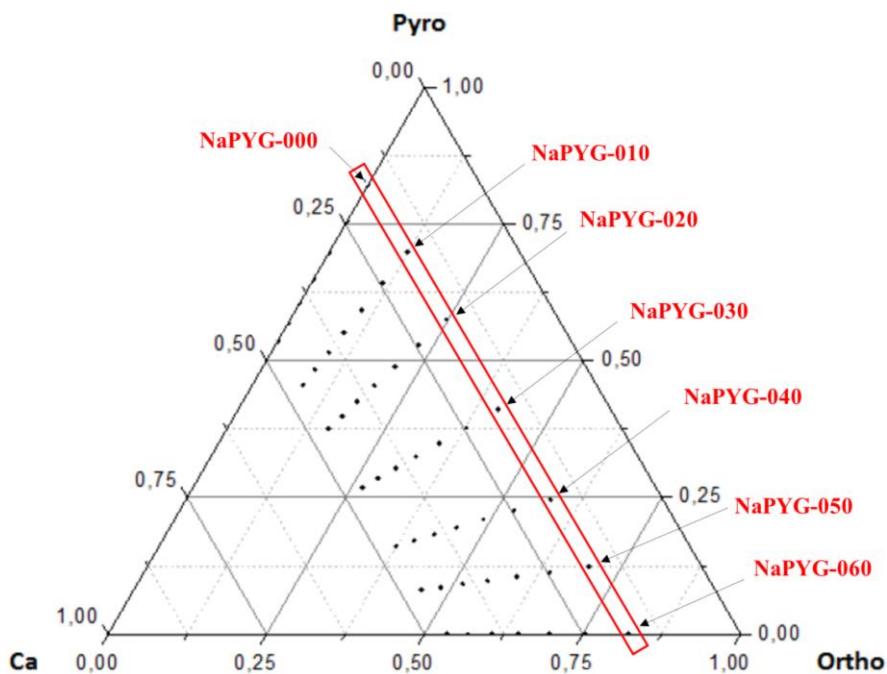
Les matériaux NaPYG-0X0 décrits dans ce chapitre sont, comme les matériaux PYG-0X (Soulié, 2016b) (Soulié, brevet n°WO2016/051063A1, 2016a) décrit dans le Chapitre I Partie I.5, des matériaux mis au point au CIRIMAT et constitués de deux types d'ions phosphates : les orthophosphates et les pyrophosphates. Toutefois, les cations monovalents impliqués dans ces matériaux NaPYG-0X0 seront des ions sodium, biologiquement plus neutres que le potassium des matériaux PYG-0X. Par ailleurs, le but est ici de contrôler le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) sur une gamme étendue en incluant l'ion orthophosphate lors de la synthèse, alors qu'il était généré *in situ* et en petites quantités pour synthétiser les matériaux PYG-0X. Quel que soit le cation monovalent qui leur est associé, l'organisation de ces composés à l'échelle des entités moléculaires n'est pas totalement décrite. Leur élaboration met en œuvre les principes de la « chimie douce » et leur méthode de préparation, à basse température, se rapproche de celle utilisée pour d'autres matériaux phosphatés, la méthode dites de « coacervat » (Pickup, 2014) associée à divers protocoles menant à des matériaux essentiellement à base de polyphosphates qui ont fait l'objet de différentes études (Momeni, 2014). D'un point de vue structural, ce type de matériaux pourrait se placer entre deux catégories : les verres bioactifs phosphatés (*invert glasses*) obtenus par fusion car ils sont composés d'entités pyrophosphate et orthophosphate et les phosphates de calcium amorphes pour l'analogie avec leur synthèse à basse température. Comme précisé plus haut, le dimère pyrophosphate a

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

suscité notre intérêt du fait de ses propriétés biologiques notamment lors de tests, *in vitro*, avec des cellules ostéoprogénitrices (Grover, 2013; Naga, 2014), ainsi que lors d'une étude d'implantation *in vivo* sur des lapins (Koo, 2006) et d'un essai clinique (Lee, 2011).

En milieu aqueux, notamment dans les liquides biologiques, une hydrolyse se produit mais sa cinétique dépend de la température et de la composition du milieu (pH, ions minéraux tels que  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ou encore  $\text{Mg}^{2+}$ ) et elle est catalysée par de nombreuses enzymes. Les pyrophosphates sont présents dans les milieux biologiques et produits notamment par des réactions impliquant divers nucléotides tri-phosphates comme l'adénosine triphosphate (ATP) (Heinonen, 1937).

Dans ce chapitre de thèse, les différentes compositions de la solution aqueuse initiale (mélange réactionnel) en ions orthophosphate, pyrophosphate et calcium, sont matérialisées sur le diagramme ternaire présenté sur la Figure II - 1. Afin d'étudier l'effet du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) présent en solution sur la synthèse des matériaux NaPYG-0X0, nous fixerons la concentration de calcium et ferons varier la proportion d'ions pyrophosphate initiale en solution ce qui impliquera une variation du rapport molaire Ca/Pyrophosphate initial en solution ainsi que de la proportion d'ions pyrophosphate par rapport aux ions phosphates totaux (rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro)).



**Figure II - 1 : Diagramme ternaire des précurseurs ioniques en solution (% molaires des ions orthophosphate, pyrophosphate et calcium) lors de la synthèse des matériaux NaPYG-0X0. Les compositions initiales qui seront étudiées sont représentées par les sept points noirs encadrés en rouge sur ce diagramme.**

Dans ce diagramme, nous nous plaçons sur la ligne encadrée en rouge, incluant sept points équivalents à sept compositions et fixant la concentration du précurseur calcium [ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ] à 0,18 M, permettant ainsi de faire varier les concentrations des précurseurs phosphatés orthophosphate ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) et pyrophosphate ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) de façon inversement proportionnelle l'une par rapport à l'autre. Nous avons choisi d'étudier sept compositions pour synthétiser les matériaux NaPYG-0X0 avec X variant de 0 à 6 par unité de 1 ; la valeur de X n'est pas directement corrélée à la valeur physique de la concentration en solution mais correspond à une nomenclature. Lorsque X augmente, la

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

concentration initiale d'ions pyrophosphate en solution diminue. Par conséquent, le pourcentage molaire d'ions pyrophosphate initial par rapport à tous les ions phosphates (rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro)) diminue de 85%<sub>i</sub> à 15%<sub>i</sub> (%<sub>i</sub> représentant le pourcentage molaire initialement présent en solution) lorsque X augmente. Ainsi, nous avons une configuration avec cinq matériaux intermédiaires (NaPYG-010 à NaPYG-050) préparés à partir des deux types d'ions phosphate initialement présents en solution (avec des pourcentages molaires initiaux allant de 85%<sub>i</sub> à 15%<sub>i</sub> respectivement) et deux compositions extrêmes avec seulement un type d'ions phosphate présent : 100%<sub>i</sub> pyrophosphate pour le NaPYG-000 et 100%<sub>i</sub> orthophosphate pour le NaPYG-060 (Tableau II - 3).

### II.1.2 Protocole de synthèse des matériaux à base d'ions ortho- et/ou pyrophosphates de calcium

Le protocole de synthèse des matériaux NaPYG-0X0 se décompose en quatre principales étapes (Figure II-5) : i) la préparation des solutions de précurseurs à partir de deux sels commerciaux et un synthétisé au laboratoire dont les caractéristiques sont détaillées dans le Tableau II - 1 : Une solution de calcium est préparée à partir d'un sel commercial de chlorure de calcium dihydraté et une solution de phosphates préparée à partir d'un sel commercial d'orthophosphate et d'un sel de pyrophosphate de sodium synthétisé au laboratoire, ii) L'ajout contrôlé de la solution de calcium dans la solution de précurseurs phosphates sous agitation ; leur mélange évolue rapidement vers une suspension colloïdale, iii) Une étape de formation d'un gel puis son lavage à l'eau déionisée et enfin iv), le séchage du matériau et l'obtention du matériau final sous forme de monolith ou de poudre.

**Tableau II - 1 : Informations sur les sels commerciaux et synthétisé au laboratoire utilisés pour la préparation des solutions de précurseurs**

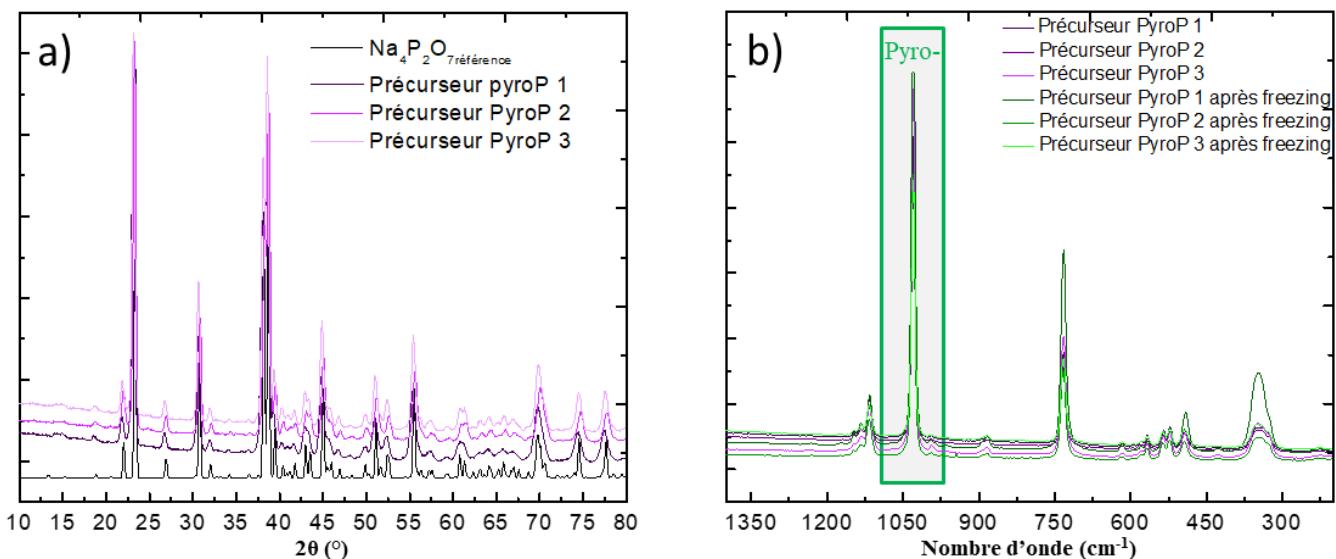
| Précurseurs | Calcium                              | Pyrophosphate                                 | Orthophosphate                                      |
|-------------|--------------------------------------|---|---|
| Formule     | CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O | Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> | Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O |
| Fournisseur | VWR Rectapur                         | Synthétisé au Laboratoire                     | VWR Rectapur  |
| Pureté      | Pur                                  | Pur (vérifié par deux techniques)             | Pur   |

Afin de préserver leur composition les deux sels commerciaux hydratés (sel de chlorure de calcium et sel d'orthophosphate de sodium), ils sont conservés dans un endroit sec et à l'abri de la lumière dans un récipient fermé par un bouchon complété par un parafilm afin d'éviter au maximum les échanges avec l'extérieur.

#### II.1.2.1. Les précurseurs phosphatés

La solution de précurseurs phosphates est préparée à partir de l'orthophosphate de sodium commercial et du pyrophosphate de sodium que nous synthétisons au laboratoire (Tableau II – 1). Ainsi, le sel précurseur de pyrophosphate est obtenu par condensation d'un sel commercial d'hydrogénophosphate de sodium lors d'un traitement thermique à 400°C durant une nuit (Chapitre I Equation I – 1)

La composition du sel précurseur de pyrophosphate synthétisé au laboratoire est vérifiée en routine par diffraction des rayons X et spectroscopie Raman (Figure II - 2).



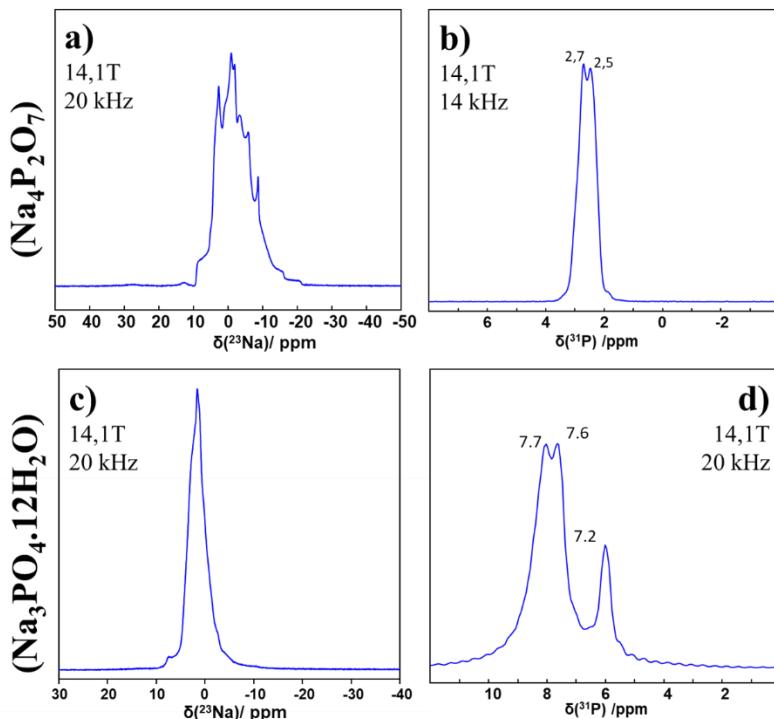
**Figure II - 2 : a) : Diffractogrammes de rayons-X (anticathode Cobalt :  $\lambda(K\alpha) = 1,788970 \text{ \AA}$ ) et b) Spectres Raman (normalisés) de précurseurs pyrophosphate de sodium synthétisés au laboratoire. Vérification entre différents lots (reproductibilité, Fig. a et b) ainsi qu'avant et après conservation au congélateur à -20°C (trois lots différents, Fig. b).**

Nous remarquons, que ce soit par diffraction des RX ou par spectroscopie Raman, que la synthèse du précurseur pyrophosphate de sodium est reproductible. En effet, par diffraction des rayons X, nous remarquons que les diffractogrammes sont totalement superposables et qu'ils correspondent bien au composé  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  (Leung, 1972). Par spectroscopie Raman, nous constatons seulement la présence de la bande caractéristique de la bande de vibration de l'ion pyrophosphate à 1030 cm<sup>-1</sup>. Ceci confirme que la condensation totale des ions hydrogénophosphate en ions pyrophosphate a bien eu lieu lors du traitement à 400°C. Sur la Figure II - 2 b nous pouvons aussi suivre l'évolution du précurseur en fonction de son stockage. En effet, lorsque le précurseur n'est pas totalement utilisé pour une synthèse de matériau NaPYG-0X0, il est stocké au congélateur à -20°C, puis décongelé quelques heures avant la synthèse de NAPYG-0X0 et conservé dans un dessiccateur afin d'atteindre la température ambiante. Par spectroscopie Raman, nous pouvons confirmer que cette étape supplémentaire n'altère pas le précurseur pyrophosphate. D'après la littérature, ces spectres sont similaires à ceux obtenus par Gangadharan *et al.* (Gangadharan, 2002) pour les phases  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  avec une position de la bande de vibration des ions pyrophosphate à 1028 cm<sup>-1</sup> (correspondant à la v<sup>s</sup>PO<sub>3</sub> c'est-à-dire l'elongation symétrique). En effet, nous remarquons que les bandes principales et secondaires de la phase pure sont toutes présentes et nous n'observons pas la présence de bandes supplémentaires.

Par ailleurs, après nous être assurés de la pureté du précurseur  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  synthétisé par les méthodes de routine au laboratoire, nous avons voulu en avoir confirmation par la spectrométrie de RMN du solide <sup>31</sup>P et <sup>23</sup>Na, en collaboration avec Danielle Laurencin de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier et Christian Bonhomme du Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris, afin de s'assurer, d'une part, de la condensation complète des ions hydrogénophosphate, et d'autre part, de la pureté du réactif phosphate tri-sodique commercial que nous utilisons en tant que précurseur orthophosphate.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

La Figure II - 3 présente les spectres RMN des deux précurseurs phosphatés : a) Spectre  $^{23}\text{Na}$  et b) Spectre  $^{31}\text{P}$  du précurseur pyrophosphate synthétisé au laboratoire ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) et c) Spectre  $^{23}\text{Na}$  et d) Spectre  $^{31}\text{P}$  du précurseur orthophosphate ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ).



**Figure II - 3 : Spectres RMN du solide des noyaux  $^{23}\text{Na}$  (a et c) et  $^{31}\text{P}$  (b et d) des précurseurs phosphatés ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  et  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , respectivement) utilisés pour la synthèse de NaPYG-0X0.**

Si l'on compare les données obtenues avec celles de la littérature, nous pouvons confirmer que le sel  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  synthétisé au laboratoire est bien conforme au composé référencé dans la littérature pour le phosphore comme pour le sodium (Tableau II - 2). En effet, d'après la littérature, nous attendons deux sites phosphore et quatre sites sodium pour le précurseur pyrophosphate.

**Tableau II - 2 : Comparaison des données de RMN du solide  $^{31}\text{P}$  (ppm) pour le précurseur de pyrophosphate de sodium**

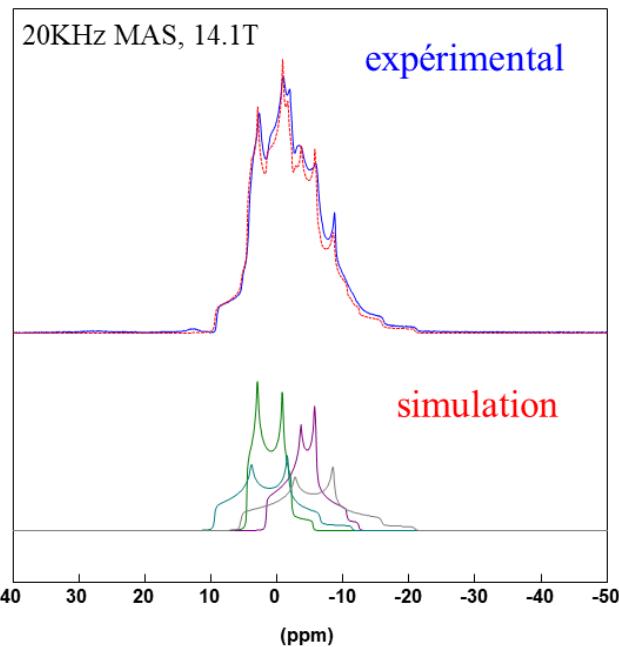
|                                   | $\delta_{\text{iso}}$ (ppm) |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| (Griffiths, 1986)                 | ~ 2,7                       |
| (Hayashi, 1991)                   | ~ 2,6                       |
| <b>Site P1 mesuré<sup>1</sup></b> | 2,7                         |
| <b>Site P2 mesuré</b>             | 2,5                         |

<sup>1</sup>Acquisition à 20 kHz MAS

Comme le montre le Tableau II - 2, les valeurs des déplacements chimiques ( $\delta_{\text{iso}}$ )  $^{31}\text{P}$  mesurées sont proches de celles mentionnées par Griffiths *et al.* et Hayashi *et al* (Griffiths, 1986; Hayashi, 1991) . Néanmoins, dans la littérature les deux sites de phosphore (P1 et P2) ne sont pas explicitement résolus. Du point de vue du  $^{23}\text{Na}$  (Figure II - 4), le spectre

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

est conforme à ceux de la littérature, ce qui confirme encore que le précurseur de pyrophosphate de sodium synthétisé est pur.



**Figure II - 4 : Spectre RMN du solide du  $^{23}\text{Na}$  pour le précurseur  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$**

D'après les données cristallographiques (Kaupp, 1999), 4 sites sodium inéquivalents sont attendus. La simulation du spectre  $^{23}\text{Na}$  MAS présentée sur la Figure II-4 est en accord avec cette observation. On peut donc conclure de ces études de RMN en phase solide multinucléaire que le précurseur pyrophosphate de sodium  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  synthétisé par chauffage à 400°C de l'hydrogénophosphate de sodium a été obtenu à l'état pur sans traces décelables d'ions orthophosphate résiduels. En ce qui concerne le précurseur orthophosphate ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ), ce dernier est caractérisé par trois pics isotropes en RMN  $^{31}\text{P}$  MAS (Figure II-4), en accord avec les données de la littérature (Hayashi, 1989).

### II.1.2.2. Synthèse des matériaux NaPYG-0X0

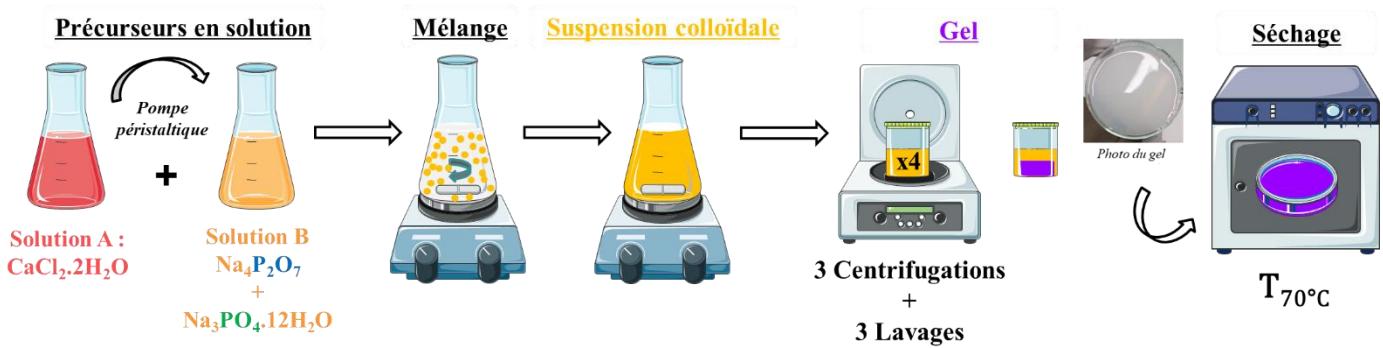
Les deux solutions aqueuses de précurseurs sont préparées séparément (synthèse par double décomposition) : les solution de calcium (solution A) et de phosphates (solution B) sont élaborées respectivement par pesée exacte d'une masse de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  à laquelle on ajoute 40 mL d'eau déminéralisée et une masse de précurseurs phosphatés : pyrophosphate ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ) et orthophosphate ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) à laquelle on ajoute 400 mL d'eau déminéralisée. A noter que pour cette étude, nous avons fait varier la concentration de pyrophosphate et donc d'orthophosphate en solution de façon à faire varier le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) tandis que la concentration de calcium dans la solution reste fixée à 0,18 M pour l'ensemble de l'étude. Les masses exactes pesées sont reportées dans le Tableau II - 3. Ce tableau montre également que le rapport Ca/P augmente lorsque la concentration en ions pyrophosphate en solution diminue. Notons également que ces synthèses sont effectuées en large excès d'ions ortho- et pyrophosphate, ce qui permet de limiter les variations de pH.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

**Tableau II - 3 : Composition des solutions initiales de précurseurs (concentrations, rapport molaire et pH des solutions) pour la synthèse des différents matériaux NaPYG-0X0**

|  | Na-PYG<br>000 | Na-PYG<br>010 | Na-PYG<br>020 | Na-PYG<br>030 | Na-PYG<br>040 | Na-PYG<br>050 | Na-PYG<br>060 |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| [CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O] (mol.L <sup>-1</sup> )  |               |               |               | 0,180         |               |               |               |
| [Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ] (mol.L <sup>-1</sup> )  | 0,083         | 0,071         | 0,058         | 0,042         | 0,025         | 0,012         | 0             |
| [Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O] (mol.L <sup>-1</sup> )   | 0             | 0,012         | 0,025         | 0,042         | 0,058         | 0,071         | 0,083         |
| [Na <sup>+</sup> ] (mol.L <sup>-1</sup> )  | 0,332         | 0,320         | 0,307         | 0,294         | 0,274         | 0,261         | 0,249         |
| Ca/P (molaire)   | 0,109         | 0,119         | 0,128         | 0,145         | 0,166         | 0,190         | 0,220         |
| % molaire : P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> / (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> + PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) | 100           | 85            | 70            | 50            | 30            | 15            | 0             |
| pH du mélange de la solution A + B   | 10,18         | 11,58         | 11,82         | 11,92         | 12,01         | 12,10         | 12,13         |

Comme nous le montre la Figure II - 5, cette synthèse se fait en plusieurs étapes. Dans un premier temps, la solution de calcium est ajoutée à la solution de phosphates agitée (agitateur magnétique avec agitation faible et température ambiante d'environ 20°C) à un débit de 32 mL/min, permettant de former assez rapidement une suspension colloïdale. En effet, durant l'ajout on observe une évolution de l'aspect de la solution : elle passe de transparente à translucide voire à blanchâtre pour les plus faibles concentrations en ions pyrophosphate initialement présents. Après l'addition complète de la solution de calcium, la suspension colloïdale reste sous agitation pendant 5 minutes. Par la suite, la suspension est centrifugée pendant 5 min à 4800 rpm ; on obtient alors une séparation entre un gel dense et la solution aqueuse surnageante. Comme la suspension colloïdale, ce gel passe de translucide à blanc en fonction de la concentration initiale en ions pyrophosphate. Le gel obtenu est ensuite lavé trois fois avec la même quantité d'eau de départ soit 400 mL d'eau désionisée. Le gel est plus ou moins facile à déstructurer en fonction de la proportion d'ions pyrophosphate initialement introduits : moins il y a de pyrophosphate dans la matrice plus il est facile de déstructurer afin de faciliter son lavage. Le gel final obtenu est enfin séché durant une semaine dans une étuve à 70°C. Ce temps est choisi suffisamment long pour s'affranchir de son éventuel effet en fonction de la composition du matériau. Lorsque le matériau est sec, diverses caractérisations sont effectuées afin de déterminer sa microstructure, sa composition et son état cristallin ou amorphe.



**Figure II - 5 : Schéma des étapes du protocole de synthèse des matériaux NaPYG-0X0**

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

Le matériau peut être étudié lors de ces différentes étapes, c'est-à-dire sous ces différentes formes (suspension colloïdale, hydrogel, solide sec), néanmoins dans la suite de ce chapitre nous nous focaliserons uniquement sur l'étude de l'état final (matériau sec), sous forme de poudre.

### II.1.3 Les différentes techniques de caractérisation des matériaux synthétisés

Afin de déterminer la structure des matériaux ainsi élaborés, nous avons utilisé plusieurs techniques de caractérisation : la diffraction des rayons-X (DRX), la microscopie électronique à balayage (MEB), les analyses spectroscopiques vibrationnelles infrarouge (FTIR) et Raman, les analyses thermiques (ATG/ATD), les analyses RMN du solide des noyaux  $^{31}\text{P}$ ,  $^{40}\text{Ca}$ ,  $^{23}\text{Na}$  et  $^1\text{H}$  et les analyses chimiques par le dosage des éléments P, Ca, Na, Cl. Ces différentes techniques de caractérisation sont décrites dans l'Annexe A.

## II.2 Etude de l'effet du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initiale en solution sur le matériau final

Pour cette étude, comme indiquée dans le Tableau II – 3, nous comparons sept compositions de matériaux synthétisés avec un rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initialement en solution allant de 100%<sub>i</sub> à 0%<sub>i</sub>, les autres paramètres du protocole décrit précédemment (Tableau II-2 et Figure II-4) ne variant pas. Pour les compositions NaPYG-010 à 060, le matériau final est sous forme de particules rigides plus ou moins transparentes ; elles deviennent blanchâtres lorsque la quantité initiale d'ions pyrophosphate diminue. Comme nous le montre la Figure II - 6, ces particules font plusieurs millimètres et présentent une cohésion relativement élevée et nous avons observé qu'elles étaient de plus en plus difficiles à broyer au fur et à mesure que la quantité d'ions pyrophosphate dans la solution de synthèse augmentait. Pour la plupart des caractérisations physico-chimiques entreprises, ces particules ont été broyé dans un mortier en agate. Le matériau NaPYG-000 quant à lui, se trouve après séchage sous forme de poudre relativement fine, qu'il était inutile de broyer avant analyse.



**Figure II - 6 : Photo des différentes compositions de matériaux NaPYG-0X0 synthétisées (NaPYG-000 à NaPYG-060 en allant de gauche à droite)**

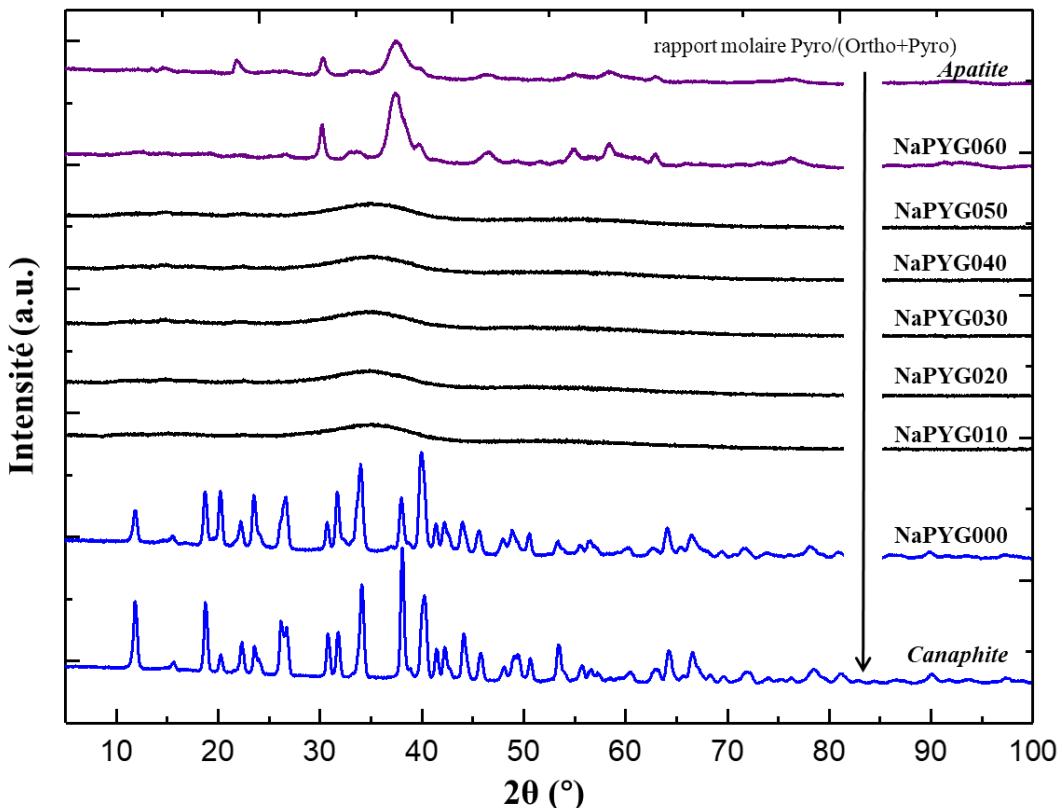
En fonction du volume de matière obtenue, l'aspect des particules peut varier, néanmoins, elles présentent toujours des formes irrégulières de plusieurs millimètres pour les échantillons NaPYG-010 à NaPYG-060.

### II.2.1 Diffraction des rayons X

Les diagrammes de diffraction des rayons X des échantillons obtenus sont présentés sur la Figure II - 7. Pour les compositions « extrêmes », c'est-à-dire les matériaux élaborés à partir d'un seul type d'ions phosphate, nous avons

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

obtenu des échantillons cristallins bien (NaPYG-000) ou mal cristallisés (pics de diffraction très larges pour NaPYG-060). Au contraire, les échantillons mixtes obtenus en présence des deux anions, fournissent un diffractogramme caractéristique de matériaux amorphes présentant des halos diffus, le plus intense centré aux environs de  $2\theta = 32^\circ$  pour NaPYG-010 à NaPYG-050.



**Figure II - 7 : Diffractogrammes de rayons-X (anticathode Cobalt :  $\lambda(K\alpha) = 1,788970 \text{ \AA}$ ) pour les matériaux NaPYG-0X0 élaborés à partir à différents rapports molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initiaux en solution comparés à ceux de composés synthétiques de référence : une apatite nanocrystalline et la canaphite  $\alpha$  toutes deux synthétisées au laboratoire.**

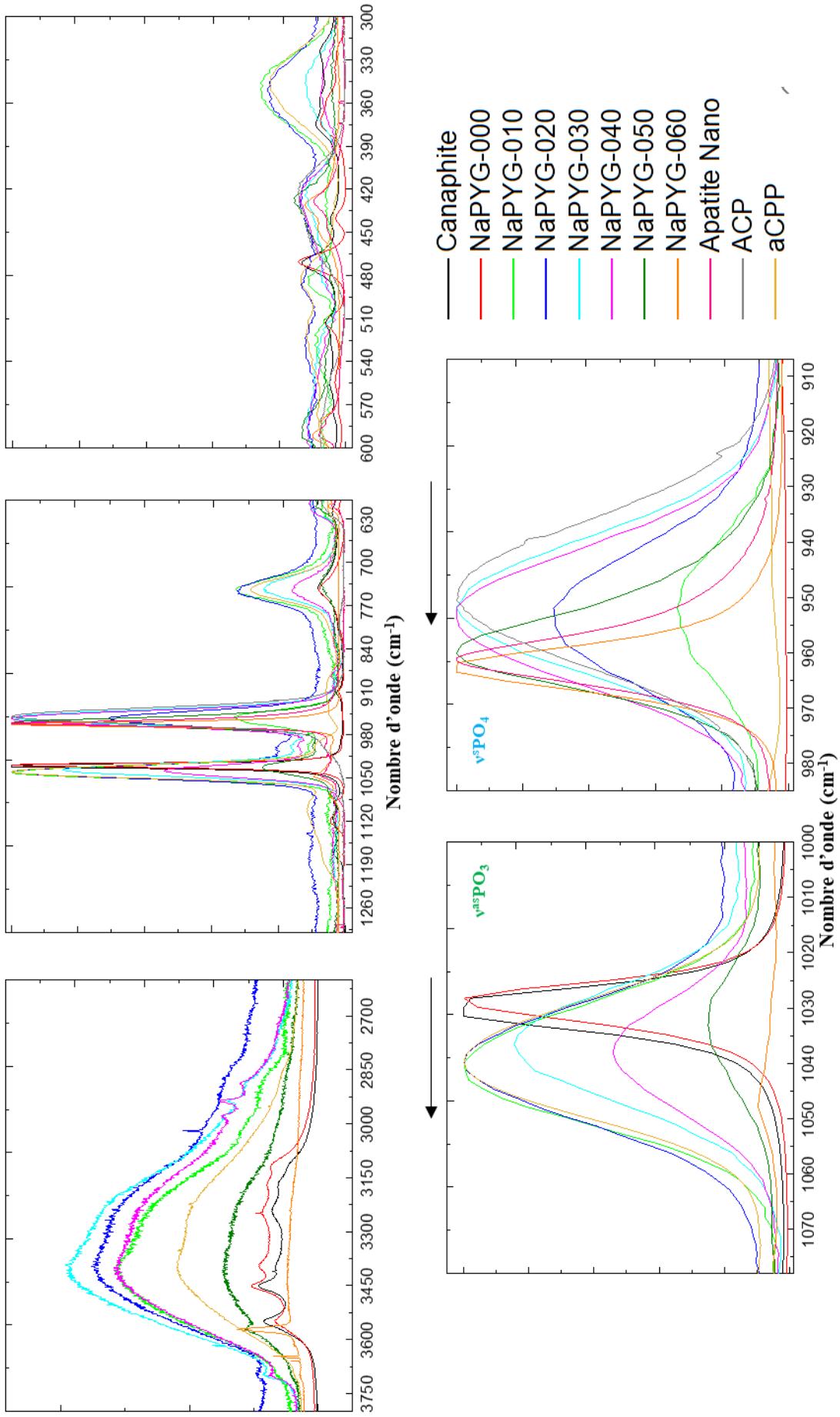
Sur la Figure II - 7, on peut observer que le matériau ne contenant que l'ion pyrophosphate (NaPYG-000) correspond à une phase cristalline connue sous le nom de canaphite et plus particulièrement sa variété  $\alpha$  (Cheng, 1980) (fiche ICSD n°26015). Cette phase cristalline est une phase hydratée de pyrophosphate de calcium et sodium de formule chimique :  $\text{Na}_2\text{CaP}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , le seul minéral naturel connu à base de pyrophosphate (Chapitre IV). Bien que la cristallographie de cette phase ait été étudiée pour sa forme géologique (Rouse, 1988) aucune étude cristallographique complète n'a été réalisée dans les quelques articles décrivant son équivalent synthétique (Cheng, 1980). Pour le matériau constitué seulement d'ions orthophosphate (NaPYG-060), le diffractogramme RX correspond à celui d'une apatite nanocrystalline (élargissement des raies de diffraction par rapport à une hydroxyapatite stoechiométrique de référence) (Drouet, 2009). L'apatite de référence est une apatite nanocrystalline non carbonatée et sans maturation, qui explique son diagramme RX à raie large centré à  $37^\circ$ . L'ensemble de ces résultats montre qu'en faisant varier le pourcentage d'ions pyrophosphate initial en solution, il est possible de synthétiser un matériau amorphe ou cristallin ce qui confirme le fait que l'ion pyrophosphate joue un rôle sur la nature et la structure de la phase formée et pourrait potentiellement affecter la dégradation des matériaux finaux.

## II.2.2 Caractérisation par spectroscopie Raman et RMN du solide

### II.2.2.1. Spectroscopie vibrationnelle : Raman

La spectroscopie Raman permet une identification des molécules et ions moléculaires présents dans les échantillons NaPYG-0X0, dans notre cas les ions phosphates, pyrophosphate et les molécules d'eau. Cette spectroscopie est sensible à l'environnement de ces espèces qui peut perturber leur spectre de vibration et permet une identification des phases et plus finement des altérations de leur environnement résultant, par exemple de la formation de solutions solides ou de la localisation de ces espèces à la surface de nanocristaux (Rey, 2014). Il est possible par cette technique de déterminer des rapports moléculaires de la proportion d'ions orthophosphate et pyrophosphate dans le solide lorsqu'on dispose d'étalons adéquats. En effet, les intensités absolues des bandes de vibration varient en fonction des espèces et la même proportion d'ions pyrophosphate ou orthophosphate dans un environnement déterminé va produire un spectre avec des intensités différentes dépendant des bandes et du groupe de bandes représentatifs de chaque espèce qu'on aura choisies. A ce facteur d'échelle près, la variation des rapports d'intensité de deux bandes bien définies de chacune des espèces sera cependant en accord avec la variation de leur proportion dans le solide.

Comme nous le montre Figure II - 8, nous constatons que la bande de vibration principale des groupements pyrophosphate ( $v^s\text{PO}_3$ ), entre  $1030 - 1040 \text{ cm}^{-1}$ ; diminue en faveur de l'augmentation de celle caractéristique de l'ion orthophosphate ( $v^{1/s}\text{PO}_4$ ) vers  $950 - 960 \text{ cm}^{-1}$  en relation avec les variations de composition de la solution initiale de précipitation. Globalement les spectres des phases amorphes obtenues peuvent être vu comme une superposition de ceux de l'ACP et de l'a-CPP (décrit dans le Chapitre I, partie I.4.1 et partie I.4.3.2. respectivement) , bien qu'une analyse détaillée révèle de faibles altérations de la position des bandes (Tableau II - 4) en relation avec le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial de la solution de synthèse. Il est à noter que sur la Figure II - 8, nous avons un déplacement de la bande orthophosphate ainsi que de celles des ions pyrophosphate vers les plus hauts nombres d'onde lorsque le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial de la solution diminue. Par ailleurs, comme nous l'a montré l'analyse DRX (Figure II - 7), en présence des deux entités nous avons un composé amorphe, ce qui se traduit sur le spectre Raman par des bandes avec une largeur à mi-hauteur plus grande montrant également bien le caractère amorphe des compositions de matériaux de NaPYG-010 à NaPYG-050. Ainsi, le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial de la solution diminue plus la bande des ions orthophosphate tend à devenir étroite. C'est le signe d'une cristallisation conduisant *in fine* à une apatite nanocristalline (NaPYG-060). A contrario, pour la bande des ions pyrophosphate, moins le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial de la solution est élevée, plus le matériau tend à être amorphe (comme l'a-CPP). Ce décalage de bande montre bien l'évolution des environnements des deux ions ainsi que leur évolution vers un matériau amorphe ou cristallin en fonction du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initial de la solution.



**Figure II - 8 : Spectres Raman (normalisés) des matériaux NaPYG-0X0 élaborés à partir de différents rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initiaux en solution vs les matériaux de référence synthétisés au laboratoire (canaphite a, ACP, a-CPP et apatite nanocristalline)**

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

De plus, nous constatons sur la Figure II - 8 que les matériaux de compositions extrêmes, NaPYG-000 et -060, présentent des bandes relativement fines avec une bonne résolution spectrale, permettant d'identifier respectivement une phase apatitique et la canaphite  $\alpha$  (Tableau II – 4). Pour le NaPYG-000 et -060 nous avons des largeurs à mi-hauteur de  $13\text{cm}^{-1}$  tandis que pour les composés de références nous sommes à une largeur à mi-hauteur de  $10\text{ cm}^{-1}$  pour la canaphite  $\alpha$  et de  $12\text{ cm}^{-1}$  pour l'apatite nanocristalline. Toutefois, ce n'est pas le cas des matériaux amorphes, de NaPYG-010 à 050, qui produisent des bandes plus larges et mal résolues que celles des composés de référence : l'a-CPP (amorphe pyrophosphate) et l'ACP (amorphe orthophosphate). De NaPYG-010 à -050, la largeur à mi-hauteur de la bande pyrophosphate varie de  $25$  à  $29\text{ cm}^{-1}$  tandis que celle des orthophosphates varient de  $26$  à  $29\text{ cm}^{-1}$ .

**Tableau II - 4 : Positions ( $\text{cm}^{-1}$ ) et attributions des bandes de vibration de chacun des ions phosphates, orthophosphate et pyrophosphate, dans des environnement amorphes et cristallins.**

| Attribution         | HA            | ACP         | Attribution            | Canaphite $\alpha$ | a-CPP        |
|---------------------|---------------|-------------|------------------------|--------------------|--------------|
| $\nu_3 \text{PO}_4$ | 1077 w        | 1118 w      | $\nu_{as} \text{PO}_3$ | 1110 w             | 1100         |
|                     | 1064 w        | 1050 w      |                        |                    |              |
| $\nu_1 \text{PO}_4$ | 1057 w        |             | $\nu_s \text{PO}_3$    | 1028 vvs           | 1039         |
|                     | 1048 w        |             |                        |                    |              |
| $\nu_4 \text{PO}_4$ | 1041 w        |             | $\nu_s \text{POP}$     | 740 w              | 743          |
|                     | 1034 w        |             |                        |                    |              |
| $\nu_2 \text{PO}_4$ | 1029 w        |             | $\delta \text{PO}_3$   | 518                | 578          |
|                     |               |             |                        | 498                | 526          |
| $\nu_1 \text{PO}_4$ | 964 vs        | 951 s       |                        | 473                | 482          |
|                     |               |             | $\delta \text{POP}$    | 348                | 347          |
| Ref                 | (Penel, 1999) | (Rey, 2014) | Ref                    | (Hubert Joe, 1991) | (Gras, 2014) |

Ces premiers résultats permettent d'effectuer une estimation des variations du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) dans les échantillons NaPYG-0X0 amorphes. Parmi les bandes représentatives des ions  $\text{PO}_4^{3-}/\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  (Tableau II - 4) nous avons choisi les plus intenses : la bande à  $960\text{ cm}^{-1}$  pour l'ion orthophosphate et à  $1028\text{ cm}^{-1}$  pour l'ion pyrophosphate. Toutefois, dans notre cas, l'analyse est un peu plus compliquée par les superpositions de bandes des espèces phosphates (

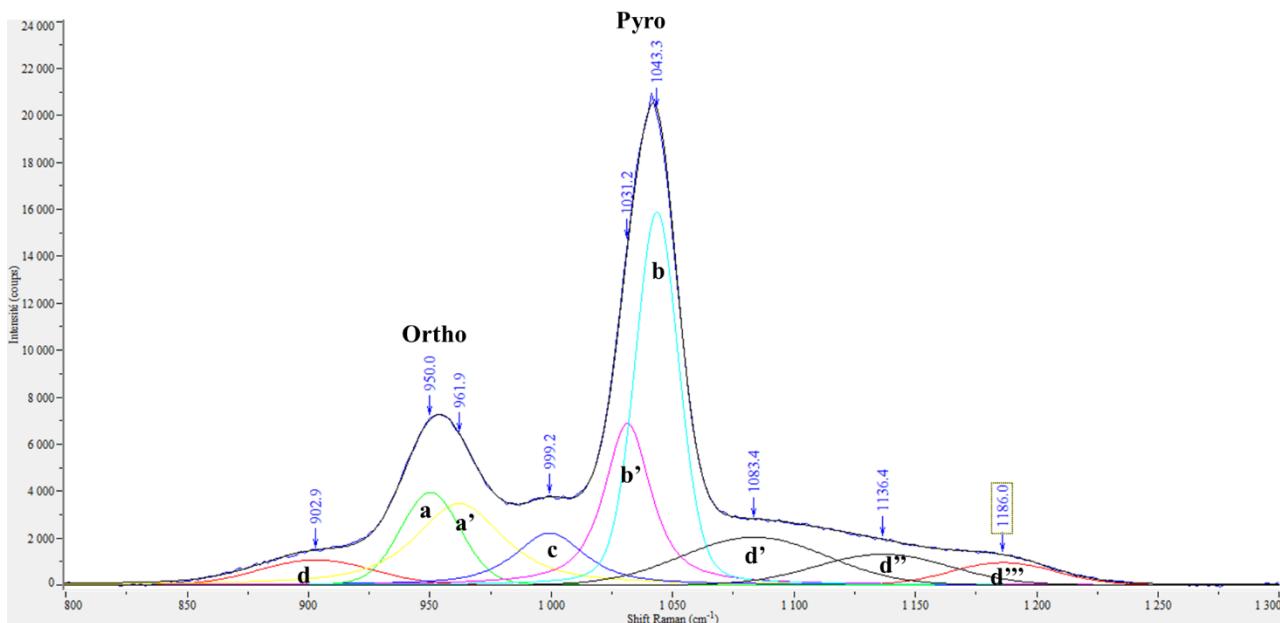
) aggravées par la résolution relativement faible des bandes amorphes (Figure II - 8) et les altérations des spectres de vibration des ions moléculaires liées à leur protonation partielle (Chapitre I partie I.4.4.). Il apparaît donc nécessaire d'effectuer une décomposition des bandes spectrales. Ce travail a été effectué à l'aide du logiciel *Labspec* (Figure II - 9). Au total, 9 bandes (mixte Gaussiennes/Lorentziennes) ont été utilisées. Les bandes à  $950\text{ cm}^{-1}$  et  $961\text{ cm}^{-1}$  sont associées à la vibration  $\nu^1\text{PO}_4^{3-}$  des orthophosphates : la faible bande à  $961\text{ cm}^{-1}$  rend compte de la faible dissymétrie

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

associée à la vibration dans ces amorphes. De même les bandes à  $1036\text{ cm}^{-1}$  et  $1044\text{ cm}^{-1}$  sont considérées comme représentatives de la bande principale, également dissymétrique, des ions pyrophosphate.

Lorsque l'on décompose le spectre de vibrations des composés NaPYG-0X0 comme nous montre l'exemple de la Figure II - 9, certaines bandes ne sont pas directement attribuée aux ions ortho- ou pyrophosphate mais sont prises en compte dans la décomposition. Comme la bande vers  $1000\text{ cm}^{-1}$  (bande c), préalablement attribuée à des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$ , (Penel, 1998) ou les bandes d, d' et d'' dues à des faibles vibrations de la  $\text{v}^3\text{PO}_4$  ou  $\text{P}_2\text{O}_7$ , elles ne sont utilisées ici que pour retrouver une ligne de base linéaire dans le domaine considéré.

Toutefois lors de la décomposition de bandes du spectre de ces matériaux composés d'un mélange d'ions orthophosphate et pyrophosphate, il faut faire attention à prendre en compte la contribution de l'un des ions dans les bandes de vibration de l'autre espèce. En spectroscopie Raman, la théorie nous indique que pour l'ion pyrophosphate, il y a vingt-et-un modes de vibration car l'ion isolé  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  présente une symétrie  $\text{C}_{2v}$  (Bahne C. Cornilsen, 1984). Toutefois, comme ces matériaux NaPYG-0X0 sont issus d'un mélange de deux types d'ions phosphates, plusieurs domaines peuvent être attribués à l'un ou aux deux ions, et certains modes de vibration ne sont pas détectables, le pyrophosphate n'étant pas un ion libre dans notre cas. Dans le cas des NaPYG-0X0, il est possible de distinguer cinq grands domaines en se basant sur les données spectroscopiques des composés d'orthophosphates et pyrophosphates de calcium cristallisés (Penel, 1998) (Tableau II – 4).



**Figure II - 9 : Exemple de décomposition du spectre Raman dans le domaine  $800\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  du matériau NaPYG-010 : les différents pics issus de la décomposition sont notés a, a', b, b', c, d, d', d'' et d''', les paramètres de décompositions sont décrits dans l'annexe A2.1**

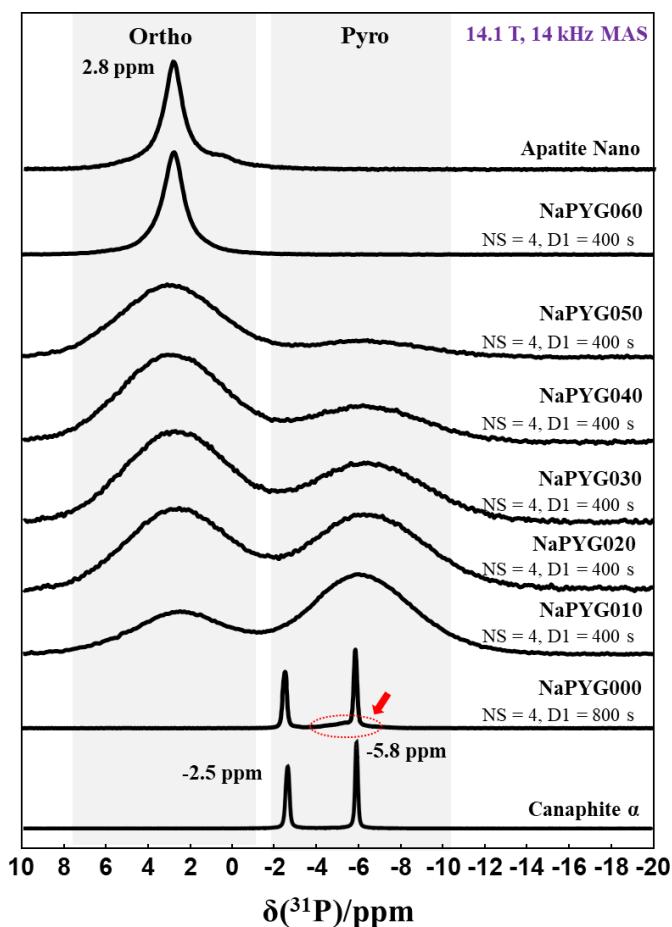
Notons que les rapports obtenus (Tableau II - 5) sont des rapports d'aires et qu'ils sont liés aux rapports moléculaires à une constante multiplicative près qui rend compte de la différence d'intensité absolue des bandes choisies pour une composition moléculaire standard. Par ailleurs ces résultats ne prennent pas en compte les altérations des spectres dues à la protonation des espèces ou aux effets de liaisons hydrogène ainsi, il peut y avoir des orthophosphate sous forme

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

hydrogénophosphate  $\text{HPO}_4^{2-}$  ou des pyrophosphates protonés de type  $\text{H}_{10\text{ou}2}\text{P}_2\text{O}_{7\text{ou}2^-}$  qui ne sont pas comptés dans leurs catégories respectives. Néanmoins si on néglige les taux de protonation, relativement faibles, (voir plus loin, partie II.3.1) et si on fait l'hypothèse que les intensités absolues des bandes choisies pour chaque espèce sont indépendantes de la composition et de la structure locale des amorphes, les résultats du Tableau II - 5 sont représentatifs de la variation des rapports molaire Pyro/(Ortho+Pyro) avec les conditions de synthèse.

### II.2.2.2. Caractérisation par RMN multinucléaire à l'état solide

La RMN du solide a été utilisée afin de sonder le noyau  $^{31}\text{P}$  dans les matériaux NaPYG-0X0 synthétisés. Cette technique permet de distinguer les environnements chimiques et de les quantifier. Les spectres RMN  $^{31}\text{P}$  MAS (SPE, *Single Pulse Experiment*) présentés sur la Figure II - 10 ont été enregistrés pour les différentes compositions de matériaux NaPYG-0X0 en collaboration avec Danielle Laurencin et Nicholai Jensen de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier et Christian Bonhomme du Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris. Les paramètres d'acquisition des expériences RMN en phase solide sont détaillés dans l'annexe A8.



**Figure II - 10 : Spectres RMN du solide  $^{31}\text{P}$  MAS SPE pour les différentes compositions de matériaux NaPYG-0X0 synthétisées**

Sur la Figure II - 10, il existe deux régions distinctes : la première entre  $\approx 8$  et  $\approx -1$  ppm qui correspond aux ions orthophosphate et une seconde entre  $\approx -2$  et  $\approx -10$  ppm qui correspond aux ions pyrophosphate. Comme pour la spectroscopie Raman, la RMN du solide est sensible à l'état de cristallisation du matériau : plus la largeur à mi-hauteur

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

du pic est grande indiquant une distribution des déplacements chimiques du ou des atomes considérés, moins leur environnement est figé (distribution de déplacements chimiques). Sur la Figure II - 10, on peut remarquer, pour le matériau NaPYG-000, présence de deux pics fins à -2,5 et -5,8 ppm correspondant à deux environnements du phosphore présents dans les ions pyrophosphate (matériau essentiellement cristallisé). Cependant, nous pouvons remarquer la présence d'un signal sous-jacent et large (indiqué par une flèche rouge) indiquant que le NaPYG-000 n'est pas un composé 100% cristallin comme la canaphite  $\alpha$  bien cristallisée présentée en référence, et qu'il présente aussi une petite contribution d'un amorphe.

Dans le cas de NaPYG-060, seul est présent un pic vers 2,8 ppm plus large que celui d'une apatite maturée 24 h à 37°C, ce qui en fait une apatite relativement mal cristallisée et immature qui expliquerait ce signal large. Ce résultat confirme que le phosphore correspond à un ion orthophosphate dans un environnement apatitique. Dans ce composé, la dispersion des déplacements chimiques est attribuable à la nature nanocristalline de cette apatite et aux distorsions des environnements atomiques de l'ion  $\text{PO}_4^{3-}$  liées aux effets de surface et aux contraintes intracristallines propres à ce type de cristaux (Cazalbou, 2000). Pour les compositions intermédiaires de matériaux, nous observons des pics beaucoup plus larges correspondant à des matériaux amorphes : nous observons la présence des deux types d'environnements : orthophosphate (2,8 ppm) et pyrophosphate (-2,5 et -5,8 ppm).

Par RMN du solide  $^{31}\text{P}$  MAS (spectres totalement relaxés), il est possible de quantifier la proportion relative d'ions orthophosphate et pyrophosphate pour un matériau donné. De plus, en observant l'intensité relative des pics, nous pouvons noter que de NaPYG010 à NaPYG050, il y a une diminution de la contribution des pyrophosphates conjointement à une augmentation de celle des orthophosphate comme observé précédemment en spectroscopie Raman.

### II.2.2.3. Comparaison des caractérisations semi-quantitatives par ces deux techniques

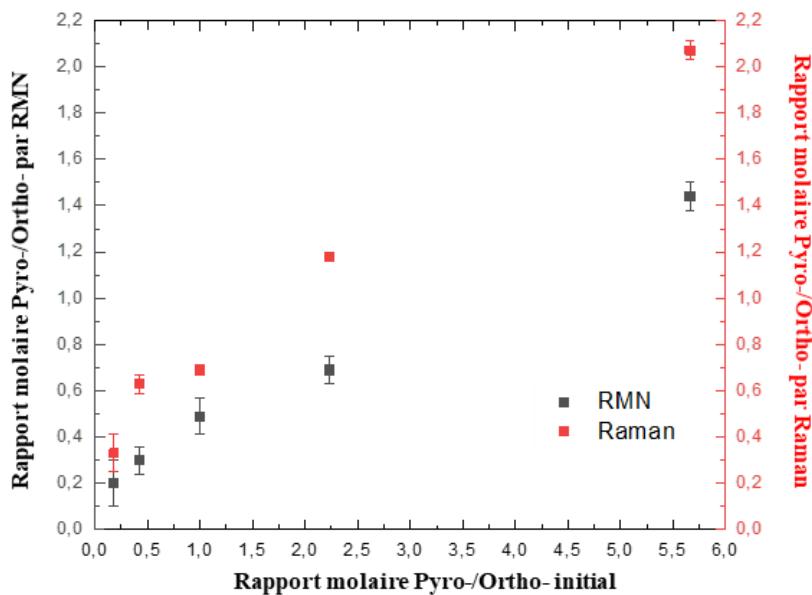
La proportion relative d'atomes de phosphore impliqués dans les ions pyrophosphate ( $\% \text{P}_{\text{pyro}}$ ) et dans les ions orthophosphate ( $\% \text{P}_{\text{ortho}}$ ) dans un matériau donné peut être estimée grâce à la décomposition des spectres RMN  $^{31}\text{P}$  MAS relaxés et des bandes de spectroscopie Raman comme indiqué précédemment. Toutefois, si la RMN, nous donne en principe la valeur absolue de la teneur en ions orthophosphate et pyrophosphate dans les matériaux NaPYG-0X0, la spectroscopie Raman ne nous permet que d'obtenir cette valeur à une constante multiplicative près (Tableau II - 5).

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

**Tableau II - 5 : Proportions relatives d'ions orthophosphate et pyrophosphate dans les matériaux NaPYG-0X0, déterminées par décomposition des spectres Raman et RMN et comparées à la proportion relative initiale en solution (incertitude  $\pm 1\%$ )**

|                  | Solution initiale   |                      |              | RMN du solide $^{31}\text{P}$ |                      | Spectroscopie Raman |                 |
|------------------|---------------------|----------------------|--------------|-------------------------------|----------------------|---------------------|-----------------|
|                  | % P <sub>pyro</sub> | % P <sub>ortho</sub> | Pyro-/Ortho- | % P <sub>pyro</sub>           | % P <sub>ortho</sub> | Pyro-/Ortho-        | Pyro-/Ortho-    |
| <b>NaPYG-000</b> | 100                 | 0                    |              |                               |                      |                     |                 |
| <b>NaPYG-010</b> | 92                  | 8                    | 5,66         | 74 $\pm$ 3                    | 26 $\pm$ 3           | 1,44 $\pm$ 0,06     | 2,07 $\pm$ 0,04 |
| <b>NaPYG-020</b> | 82                  | 18                   | 2,33         | 58 $\pm$ 3                    | 42 $\pm$ 3           | 0,69 $\pm$ 0,06     | 1,18 $\pm$ 0,02 |
| <b>NaPYG-030</b> | 67                  | 33                   | 1            | 50 $\pm$ 4                    | 50 $\pm$ 4           | 0,49 $\pm$ 0,08     | 0,69 $\pm$ 0,02 |
| <b>NaPYG-040</b> | 46                  | 54                   | 0,43         | 37 $\pm$ 3                    | 63 $\pm$ 3           | 0,30 $\pm$ 0,06     | 0,63 $\pm$ 0,04 |
| <b>NaPYG-050</b> | 26                  | 74                   | 0,18         | 26 $\pm$ 6                    | 74 $\pm$ 6           | 0,2 $\pm$ 0,1       | 0,33 $\pm$ 0,08 |
| <b>NaPYG-060</b> | 0                   | 100                  |              |                               |                      |                     |                 |

Pour les matériaux NaPYG-010 à NaPYG-050, il y a une augmentation progressive des pourcentages d'orthophosphate en fonction de la diminution du pourcentage de pyrophosphate. Il faut aussi noter qu'on retrouve une proportion relative d'ions orthophosphate systématiquement beaucoup plus élevée dans le matériau par rapport à la proportion introduite initialement en solution, excepté dans le cas du NaPYG-050 pour lequel la proportion initiale en solution est quasi strictement conservée dans le matériau final aux incertitudes d'analyse près. La proportion relative supérieure d'ions orthophosphate quasi-systématiquement observée dans les échantillons pourrait potentiellement s'expliquer par une hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate pendant le processus d'élaboration du matériau augmentant ainsi la proportion de ce dernier dans le matériau final. Comme nous le montre la Figure II - 11, nous constatons que les rapports molaire Pyro/Ortho des composés finaux suivent la même tendance par RMN et Raman en fonction du rapport initial.



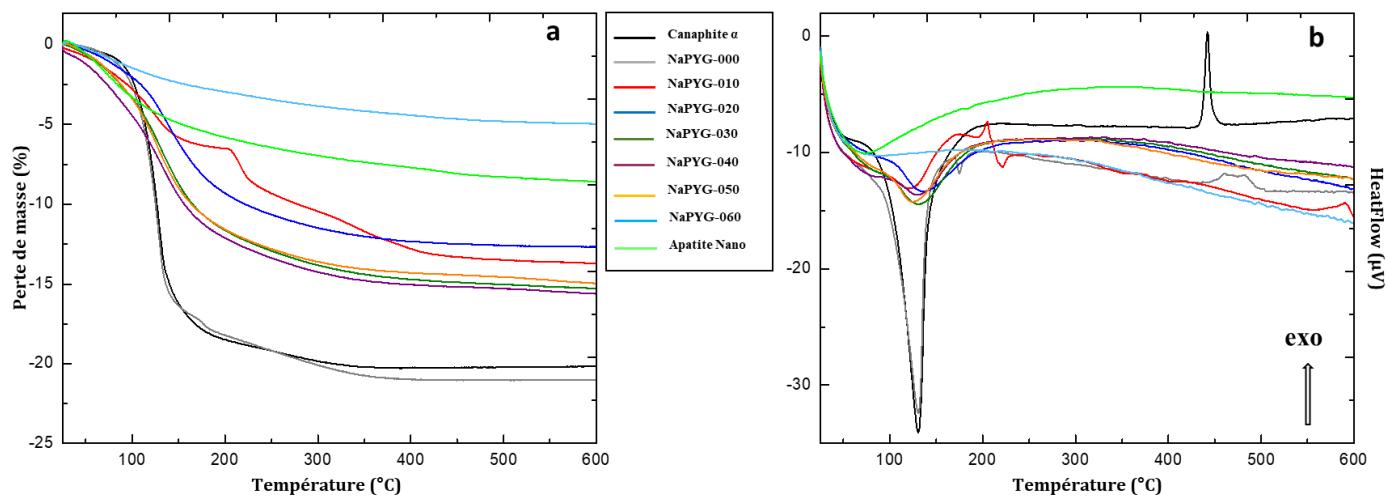
**Figure II - 11 : Evolution du rapport Pyro-/Ortho- par RMN et Raman en fonction du rapport molaire Pyro-/Ortho- initialement présent en solution**

Cela voudrait peut-être dire que pour le composé à forte proportion initiale en pyrophosphate, une réaction d'hydrolyse a lieu durant une étape de la synthèse, augmentant ainsi la proportion d'ions orthophosphate au sein du matériau. Une autre hypothèse serait une précipitation préférentielle des ions orthophosphate comparée à celle des ions pyrophosphate. N'oublions pas en effet que la précipitation a lieu en présence d'un grand excès d'ions phosphates par rapport à la quantité stœchiométrique. Dans cette hypothèse, la précipitation préférentielle d'orthophosphate de calcium pourrait indiquer que le produit de solubilité de l'amorphe orthophosphate de calcium- est peut-être inférieur à celui de l'amorphe pyrophosphate (dans l'hypothèse de deux phases ségrégées). Toutefois, en l'absence de données expérimentales, il est impossible de trancher. Par ailleurs, comme nous allons le voir dans le paragraphe sur l'analyse chimique, la formation de ces amorphes est un phénomène complexe qui outre les ions calcium implique une protonation des anions phosphates et une quantité significative de sodium.

### II.2.3 Analyse thermique : ATG/ATD

L'évolution thermique des matériaux a été suivie par analyse thermogravimétrique (ATG) et analyse thermique différentielle (ATD) afin de déterminer *in fine* la quantité d'eau dans les matériaux NaPYG-0X0. Pour se faire, nous utilisons un programme de montée en température de 25°C à 600°C avec une vitesse de 4 °C/min et un palier à 600°C de 30 min. La Figure II - 12 montre les courbes ATG/ATD pour les matériaux élaborés à partir de différents rapports molaire Pyro/(Ortho+Pyro) initiaux en solution.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)



**Figure II - 12 : Courbes ATG (à gauche) et ATD (à droite) des matériaux NaPYG-0X0 élaborés**

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée afin de comprendre l'évolution des matériaux NaPYG-0X0 en fonction de la température. Les thermogrammes présentés sur la Figure II- 11, montrent différentes pertes de masse en fonction des différentes compositions. Toutes ces pertes sont attribuables à de l'eau. Pour tous les matériaux NaPYG-0X0, il y a une perte de masse commune entre 100°C et 200°C. Le Tableau II - 6 récapitule la perte de masse totale des différents matériaux NaPYG-0X0 élaborés avec différentes proportions d'ions pyrophosphate initialement présents en solution.

**Tableau II - 6 : Pourcentages massiques de la perte d'eau totale dans les différentes compositions de matériaux NaPYG-0X0 élaborées ( $\pm 0,5\%$ )**

|                    | Canaphite $\alpha$ | 000  | 010  | 020  | 030  | 040  | 050  | 060 | Apatite nano |
|--------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|-----|--------------|
| Perte (% massique) | 21,4               | 20,1 | 13,7 | 12,7 | 15,3 | 15,6 | 15,0 | 4,9 | 5,8          |

Pour le NaPYG-000, qui correspond à la phase cristalline de type canaphite  $\alpha$ , la perte de masse initiale arrive plus rapidement entre 80°C et 170°C ; cette perte de masse totale correspond à environ 16% massique de l'échantillon et elle est associée à un important phénomène endothermique. La perte de masse finale obtenue est légèrement en dessous de celle attendue théoriquement, c'est-à-dire 21,4 % contre 21,9 % théoriquement pour la canaphite  $\text{Na}_2\text{CaP}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , ce qui correspond respectivement à une perte de  $3,92 \pm 0,09$  molécules d'eau au lieu de 4. Cette différence pourrait être liée à l'implication de certaines molécules d'eau dans l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate comme le montre la réaction (Equation I-1) et/ou à la présence d'une phase amorphe moins hydratée que la canaphite  $\alpha$  telle que l'a révélé la RMN du solide (partie II.2.2.2.).

Nous pouvons voir sur la Figure II - 12 que la perte de masse est relativement similaire pour les matériaux de NaPYG-010 à NaPYG-050. En effet, nous avons une perte de masse comprise entre 12,5 et 15,6 % massique pour ces matériaux qui présentent un large pic endothermique entre 90°C et 190°C. Néanmoins, il y a une particularité avec le matériau NaPYG-010 puisque ce dernier est le seul à présenter une rupture de pente à la suite de ce phénomène endothermique vers 194°C. Cela pourrait peut-être s'expliquer par une hydrolyse interne des ions pyrophosphate lors de la montée en

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

température. Pour le NaPYG-060 (comme pour l'apatite nanocristalline), l'évolution semble plus être caractéristique d'une déshydratation lente jusqu'à 600°C. Il y a un autre phénomène aussi présent sur le thermogramme de la canaphite  $\alpha$ : un pic exothermique vers 430°C, correspondant à une recristallisation de la matrice en une autre phase CaNa<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> anhydre qui sera décrite plus tard dans le Chapitre III.

### II.2.4 Analyse chimique

D'un point de vue chimique, nous avons analysé les éléments présents dans les matériaux élaborés, c'est-à-dire : le calcium, le phosphore (total), le sodium ainsi que le chlore. Ces éléments ont été dosé par spectrométrie ICP OES pour le Ca, P et Na, et par chromatographie ionique pour les ions chlorure (Cl<sup>-</sup>). Le Tableau II - 7 présente le nombre de millimoles de calcium, phosphore et sodium déterminés pour 100 mg de matériau pesé. Le chlore n'y est pas reporté car sa quantité a été déterminée comme étant inférieure à 10<sup>-6</sup> mol de Cl pour 100 mg de chaque matériau et donc en dessous de la limite de détection de ces ions par chromatographie ionique.

**Tableau II - 7 : Quantités en moles d'éléments calcium, phosphore et sodium pour 100 mg de matériaux NaPYG-0X0 élaborés, ainsi que les rapports atomiques Ca/P et Ca/Na**

|                                      | <b>Ca (mmol/100 mg)</b> | <b>P (mmol/100 mg)</b> | <b>Na (mmol/100 mg)</b> | <b>Ca/P</b>   | <b>Na/Ca</b>  |
|--------------------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|---------------|---------------|
| <b>Canaphite <math>\alpha</math></b> | 0,298 ± 0,001           | 0,587 ± 0,001          | 0,592 ± 0,001           | 0,508 ± 0,002 | 1,987 ± 0,002 |
| <b>NaPYG-000</b>                     | 0,320 ± 0,003           | 0,591 ± 0,004          | 0,583 ± 0,003           | 0,541 ± 0,007 | 1,822 ± 0,006 |
| <b>NaPYG-010</b>                     | 0,620 ± 0,003           | 0,599 ± 0,004          | 0,10 ± 0,01             | 1,035 ± 0,007 | 0,16 ± 0,01   |
| <b>NaPYG-020</b>                     | 0,645 ± 0,004           | 0,581 ± 0,004          | 0,10 ± 0,01             | 1,110 ± 0,008 | 0,16 ± 0,01   |
| <b>NaPYG-030</b>                     | 0,669 ± 0,003           | 0,568 ± 0,005          | 0,060 ± 0,001           | 1,178 ± 0,008 | 0,090 ± 0,004 |
| <b>NaPYG-040</b>                     | 0,686 ± 0,003           | 0,545 ± 0,002          | 0,030 ± 0,001           | 1,259 ± 0,005 | 0,044 ± 0,004 |
| <b>NaPYG-050</b>                     | 0,672 ± 0,006           | 0,520 ± 0,002          | 0,030 ± 0,001           | 1,292 ± 0,008 | 0,045 ± 0,007 |
| <b>NaPYG-060</b>                     | 0,772 ± 0,005           | 0,540 ± 0,005          | 0,020 ± 0,001           | 1,43 ± 0,01   | 0,03 ± 0,01   |

Grâce au Tableau II - 7, nous constatons que la concentration en Ca, P et Na dans les phases cristallines de canaphite (NaPYG-000) et d'apatite nanocristalline (NaPYG-060) sont cohérentes avec les valeurs attendues théoriquement. En effet, pour le NaPYG-000, nous avons de légère différence de rapport Ca/P et Ca/Na par rapport à la référence (canaphite  $\alpha$ ), nous constatons des rapports plus élevés (Ca/P ≈ Ca/Na ≈ 0,54) ; cette différence est probablement due à la contribution d'une phase amorphe révélée par RMN du solide (partie II.2.2.2. et Figure II - 10) qui pourrait être plus riche en calcium et/ou moins riche en phosphates. Concernant le NaPYG-060, son Ca/P est proche de celui d'une apatite nanocristalline de référence avec un Ca/P de 1,43 (Pascaud, 2012).

### II.2.5 Observations par microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage permet d'observer la micromorphologie des matériaux NaPYG-0X0 à différentes échelles. Elle varie en fonction de la proportion d'ions pyrophosphate présents dans la solution de précipitation (Figure II - 13). Pour la composition à 100% d'ions pyrophosphate (NaPYG-000), il y a présence d'agglomérats de diamètre compris entre 20 et 100 µm. Ces agglomérats sont constitués de sphérolites et/ou de fagots

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

d'aiguilles caractéristiques d'un matériau cristallin. Ces aiguilles font entre 20 et 100 µm de longueur, environ 2 µm de largeur et 0,5 µm d'épaisseur.

Pour les autres matériaux élaborés à partir d'un mélange d'orthophosphate et pyrophosphate (NaPYG-010 à -050), les particules se présentent avec des formes angulaires et des surfaces de fracture lisses et relativement compactes. Cette morphologie reste très irrégulière entre les grains d'une même composition et ces faciès sont caractéristiques de matériaux vitreux ou au comportement fragile (Sepulveda, 2001). Toutefois, il y a une variation assez significative de la rugosité de surface de ces grains ; la rugosité (submicronique et micronique) tend à augmenter lorsque la proportion de pyrophosphate initial en solution diminue c'est-à-dire de NaPYG-010 à NaPYG-050.

Concernant le matériau NaPYG-060, qui lui n'est composé que d'ions orthophosphate, sa morphologie ressemble à celle des autres NaPYG-0X0 alors que l'analyse par DRX nous indique que c'est un matériau nanocristallin (une apatite nanocristalline). Cette composition présente des grains de plusieurs dizaines de µm, avec une rugosité de surface submicronique.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

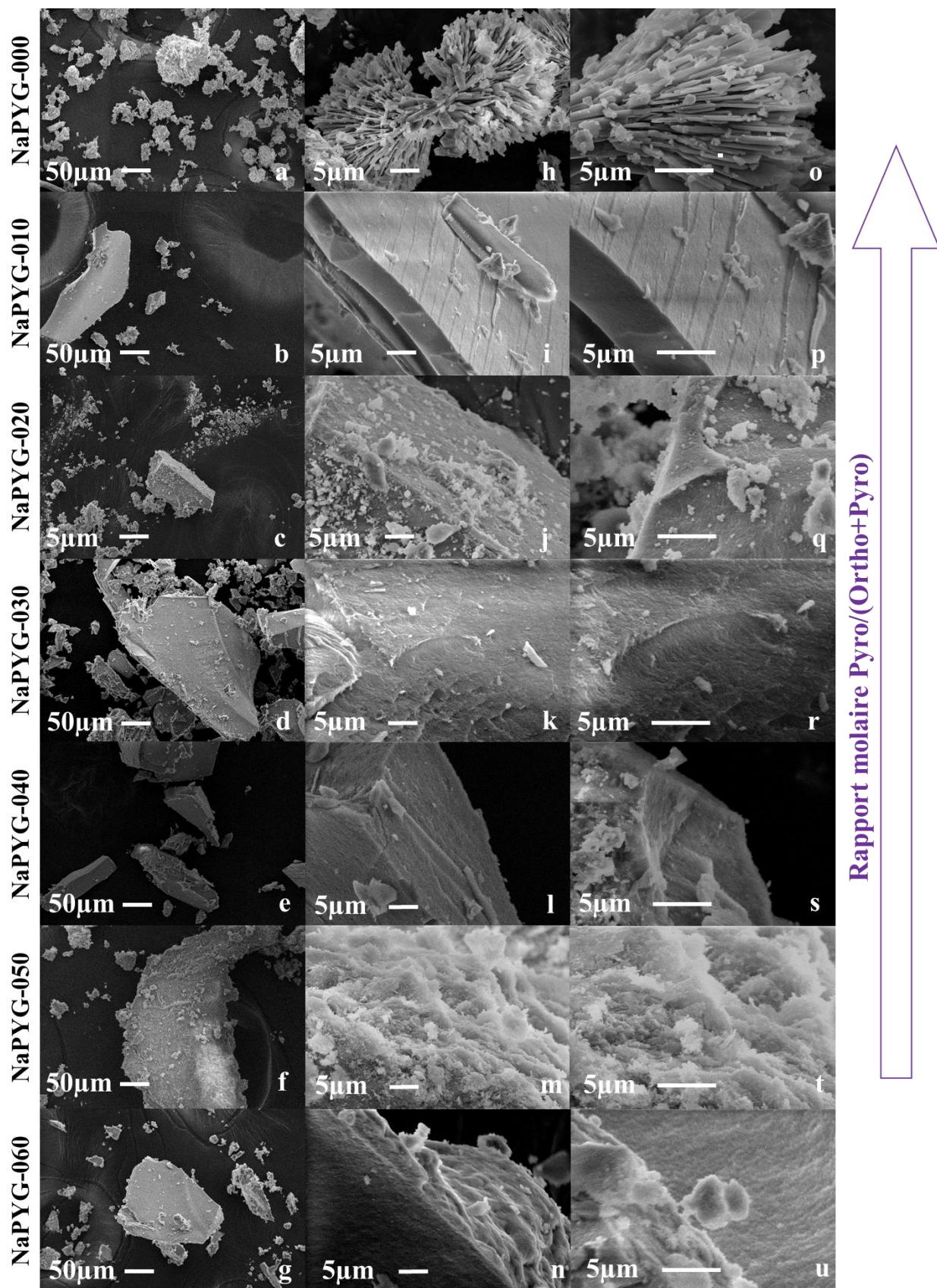


Figure II - 13 : Microographies MEB à différentes échelles des différentes compositions de matériaux NaPYG-0X0 élaborés

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

Les observations MEB à faible grossissement des matériaux amorphes (Figure II - 13 b, c, d, e et f) composés d'orthophosphate et de pyrophosphate, montrent que leurs morphologies ressemblent à celle des silices élaborées par sol-gel ou encore à celle des verres bioactifs de type 45S5 (Soulié, 2012). Le matériau présente une surface compacte et lisse, et des morphologies de fractures irrégulières dues au séchage et à l'évaporation de l'eau de la matrice (contraintes mécaniques internes du gel liées au séchage). A l'inverse, la phase cristalline de la canaphite  $\alpha$  (NaPYG-000) se présente plutôt sous la forme d'une poudre avec des grains composés de fagots de cristaux avec une géométrie bien définie ainsi qu'une croissance apparente de cristaux sous forme d'aiguilles ou plaquettes fines depuis le milieu du fagot ce qui confirme bien le caractère cristallin de ce matériau. Bien qu'il soit constitué d'une apatite nanocristalline, le matériau NaPYG-060 présente la même morphologie que les matériaux NaPYG-0X0 amorphes.

Considérant la nature colloïdale du mélange des solutions initiales, l'étape de centrifugation et celle du séchage, et d'un point de vue purement morphologique, il est possible que ces matériaux amorphes soient constitués de colloïdes agrégés à l'instar des solides résultants de gels siliciques colloïdaux issus de procédés sol-gel classiques (précurseurs de type alcoxyde/ pH basiques). Cet aspect sera discuté plus en détail dans le Chapitre III.

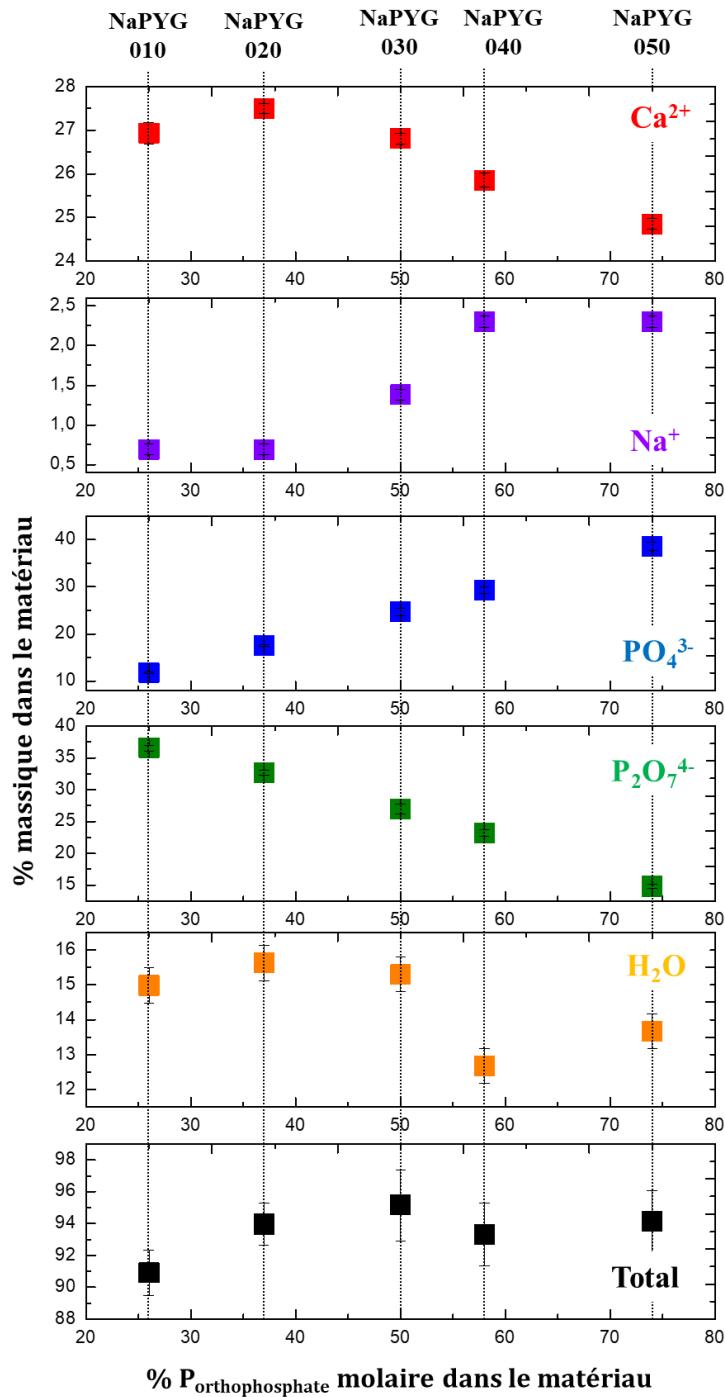
## II.3 Résumé et discussion

### II.3.1 Corrélation des résultats

#### II.3.1.1. Composition des matériaux NaPYG-0X0

Si l'on met en commun les informations données par les analyses par spectrométrie ICP-OES ainsi que par celles des décompositions de bandes Raman et pics de RMN du solide, nous pouvons estimer le pourcentage massique des ions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  et  $\text{H}_2\text{O}$  dans les matériaux NaPYG-0X0 (Figure II - 14). Grâce aux diverses techniques de caractérisation complémentaires, il est possible de voir que la quantité de sodium et celle d'orthophosphate sont étroitement corrélées et augmentent de NaPYG-010 à NaPYG-060 tandis que la quantité de pyrophosphate ainsi que celle de calcium diminuent.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

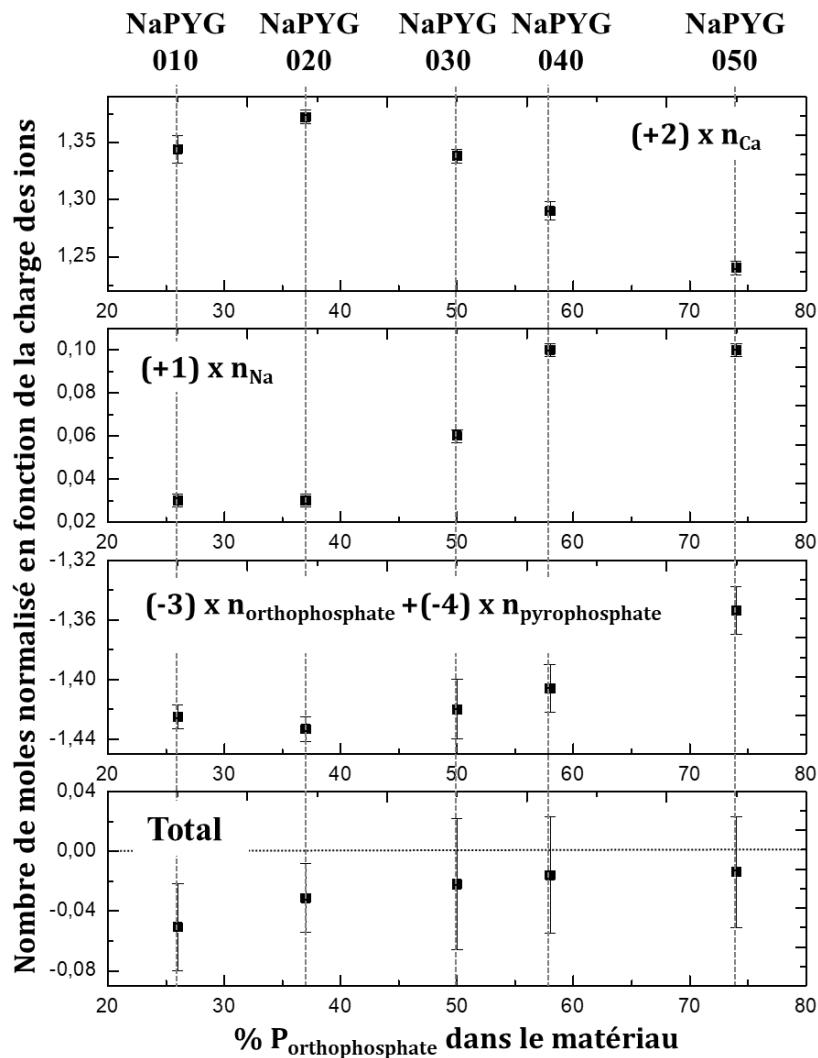


**Figure II - 14 : Evolution du pourcentage massique des ions Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup> (déterminés par RMN du solide) et de l'eau ainsi que de leur contribution totale dans les matériaux NaPYG-0X0 en fonction de leur % de phosphore dans l'orthophosphate par rapport au phosphore total (déterminés par RMN du solide).**

L'addition de ces pourcentages massiques conduit à un nombre inférieur à 100% quel que soit le matériau : ce pourcentage total tend à diminuer pour les matériaux contenant le moins de pyrophosphate. Afin de comprendre ces phénomènes, nous avons tracé l'évolution des charges totales associées aux espèces ioniques. Pour ce faire, il faut les calculer en multipliant le nombre de moles de chaque type d'ions (pour 100 g de matériau) par la charge de ces derniers (Figure II - 15). Les résultats de la Figure II - 15 sont considérés pour des ions phosphates non-protonés. Nous remarquons que la charge négative totale des espèces phosphates diminue lorsque la quantité d'orthophosphate diminue.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

Les charges positives associées au calcium compensent cette évolution pour les faibles valeurs du rapport molaire Pyro-/Ortho-. Toutefois, lorsque ce rapport augmente, il y a une inversion de la courbe.



**Figure II - 15 : Evolution de la contribution des charges associées à chaque type d'ions en fonction de leur % de phosphore dans l'orthophosphate par rapport au phosphore total (déterminés par RMN du solide) dans les matériaux NaPYG-0X0 synthétisés**

Comme décrit dans la partie bibliographique, la théorie classique des verres considère des atomes d'oxygène pontants et non-pontants en fonction des cations avec lesquels ils interagissent. Les premiers contribuent à la formation du réseau tridimensionnel, alors que les seconds permettent une certaine réactivité de la matrice par rapport aux éléments extérieurs. Bien que les matériaux NaPYG-0X0 ne soient pas des verres, nous pourrions considérer par analogie que le calcium est un élément « pontant » les ions phosphates entre eux. En effet, comme nous le montre la Figure II - 14, lorsque la proportion de calcium diminue, celle de phosphate diminue aussi, tandis que celle de sodium augmente. Le calcium est un atome bivalent capable de lier deux types d'ions phosphates. Cependant, sa concentration initiale en solution est relativement faible (pour les amorphes :  $0,117 < Ca/P < 0,188$ ). Le sodium peut servir de substitut au calcium (pas en termes de site) pour assurer la neutralité du composé.

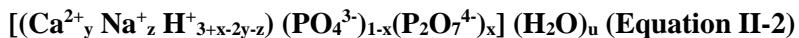
## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

Malgré une incertitude sur les valeurs de l'analyse quantitative notamment lorsque la quantité de pyrophosphate initialement présente est faible, on observe une diminution de la somme totale des charges menant à une somme totale négative qui pourrait s'expliquer une protonation partielle des phosphates. Cette dernière serait liée à l'hydrolyse partielle des ions pyrophosphate en ions orthophosphate. De cette hypothèse, il est possible d'estimer le taux de protonation des groupements P-O, ce taux bien que faible varie de 1,0% pour le NaPYG-010 à 3,6% pour le NaPYG-050, pour les espèces ortho- et/ou pyrophosphates confondues.

Des analyses RMN à l'état solide  $^1\text{H}$  supplémentaires ont ainsi été effectuées sur les matériaux amorphes afin d'étudier plus en détail la protonation des unités de phosphate. Alors que les expériences à impulsion unique montraient essentiellement une résonance principale correspondant aux molécules d'eau (Figure II - 10), les expériences par écho de Hahn révèlent la présence de signaux sous-jacents avec des déplacements chimiques plus importants ( $> 8$  ppm), ce qui est cohérent avec la présence de phosphates protonés (Pourpoint, 2007). Des expériences supplémentaires de  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$  HETCOR ont été réalisées, révélant des corrélations entre ces résonances  $^1\text{H}$  et les bandes ortho- et pyrophosphate de  $^{31}\text{P}$  dans des temps de contact courts, confirmant ainsi leur affectation aux espèces P-OH.

### II.3.1.2. Formule chimique des matériaux

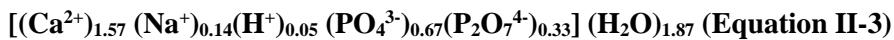
Grâce aux divers résultats des analyses quantitatives, il a été possible de déterminer et proposer une formule chimique générale pour ces matériaux NaPYG-0X0 élaborés, Equation II-2 :



où x, y, z et u sont les coefficients stœchiométriques. Le coefficient stœchiométrique de  $\text{H}^+$  n'a pas été déterminé expérimentalement mais calculé en équilibrant les charges négatives et positives. Nous avons arbitrairement choisi que la somme des ions pyrophosphate et orthophosphate soit égale à 1 pour traduire l'évolution de la proportion de l'un par rapport à l'autre qui a été étudiée pour les différents échantillons de cette série.

Cette formule générale permet de mettre en exergue le fait que les ions orthophosphate et pyrophosphate sont des formateurs du réseau, que  $\text{Ca}^{2+}$  est un cation bivalent « pontant » les espèces phosphates et les  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  sont des ions non-pontants assurant l'électroneutralité de ces matériaux.

Si nous prenons l'exemple du NaPYG-030 (Equation II-3), sa formule chimique a été déterminée comme étant la suivante :



Cette composition avec de petits ions phosphates moléculaires (ortho- et pyrophosphates) liés entre eux par des cations de calcium bivalents « pontants » est très proche de celle des *invert glasses* (Brauer, 2007; Brauer, 2012). Ces verres sont élaborés par fusion avec de grandes quantités d'oxyde de verre ( $\text{CaO}$ ) par rapport à la formation d'oxyde ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). Cependant, contrairement aux *invert glasses*, les matériaux amorphes NaPYG-010 à 050 contiennent une grande quantité d'eau et aucune température de transition vitreuse claire ( $T_g$ ) n'est observée. Les molécules d'eau sont fréquemment associées à des pyrophosphates de calcium précipités ; elles forment des liaisons hydrogène avec les atomes d'oxygène des ions pyrophosphate et peuvent être retenues à des températures élevées (Gras, 2014).

## II.3.2 Hypothèses

Les matériaux NaPYG-0X0 sont des matériaux hydratés composés principalement de phosphates et de calcium avec un rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) contrôlé (et contenant une petite quantité de sodium). Comme décrit au début de ce chapitre, la synthèse de phosphates de calcium amorphes (parfois hydratés et/ou partiellement protonés) a été très décrite (Combes, 2010; Gras, 2014; Pilliar, 2001; Slater, 2011). Néanmoins, la surestimation des ions orthophosphates dans le matériau final laisse penser que les ions orthophosphates ne sont pas seulement ceux introduits dès le départ mais qu'ils sont formés durant la synthèse des matériaux NaPYG-0X0. Plusieurs possibilités peuvent intervenir comme par exemple l'hydrolyse des ions pyrophosphates en ions orthophosphates.

### II.3.2.1. Les ions orthophosphates dans les matériaux NaPYG-0X0

#### II.3.2.1.i. Hydrolyse des ions pyrophosphate

Lors des analyses par spectroscopies RMN du solide et Raman, nous avons remarqué une surestimation des matériaux en ions orthophosphate par rapport aux concentrations relatives en phosphates dans la solution de précurseurs utilisée pour les préparer sauf dans le cas de la solution la plus concentrée en ions orthophosphate. La première hypothèse qui expliquerait la présence d'espèces protonées est une hydrolyse partielle des ions pyrophosphate qui devrait avoir un fort impact sur les matériaux ayant une proportion initiale d'ions pyrophosphate élevée. Toutefois, compte tenu du pH basique de toutes les solutions de précurseurs (Tableau II - 3), il est peu probable que cette réaction d'hydrolyse se produise à l'étape de gélification. Par contre, après lavage et lors du séchage à 70°C et y compris à l'état solide une hydrolyse des ions pyrophosphate peut se produire provoquant une élévation du taux de protonation et un surplus d'orthophosphates (Gras, 2013).

#### II.3.2.1.ii. Précipitation préférentielle

La deuxième hypothèse expliquant ce phénomène d'enrichissement du matériau en ions orthophosphate pourrait être la précipitation préférentielle des orthophosphates de calcium. De tels exemples de précipitation préférentielle sont très fréquents par exemple la précipitation préférentielle de fluorure dans les apatites qui peut être utilisée pour la défluoruration des eaux (Okazaki, 1999) ou encore la précipitation préférentielle d'orthophosphates dans des solutions mixtes contenant des ions carbonate et phosphate (Cazalbou, 2004b). Ces phénomènes sont essentiellement déterminés par des différences de solubilité des sels correspondants. Les données sur la solubilité des composés pyrophosphates sont malheureusement assez partielles. Toutefois, si on compare la solubilité d'un amorphe orthophosphate de calcium à celle d'un pyrophosphate de calcium cristallisé rapportée à un calcium (Tableau II - 8), on remarque que les orthophosphates de calcium cristallisés ont globalement une solubilité égale ou inférieure à celle des pyrophosphates de calcium. Pour ce qui est des composés amorphes, des données, assez disparates, existent seulement dans le cas des orthophosphates de calcium (Combes, 2010). La composition et la structure d'un pyrophosphate de calcium hydraté amorphe a cependant été considérée comme étant assez proche de celle du pyrophosphate de calcium tétrahydraté  $\beta$  ( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) de structure monoclinique et on peut penser que son produit de solubilité pourrait être légèrement inférieur à celui de ce dernier (Gras, 2013). Dans ces conditions, il ne semble pas exister de grandes différences entre la solubilité des amorphes phosphates et il n'est pas possible de conclure quant à une précipitation préférentielle d'un ion par rapport à un autre.

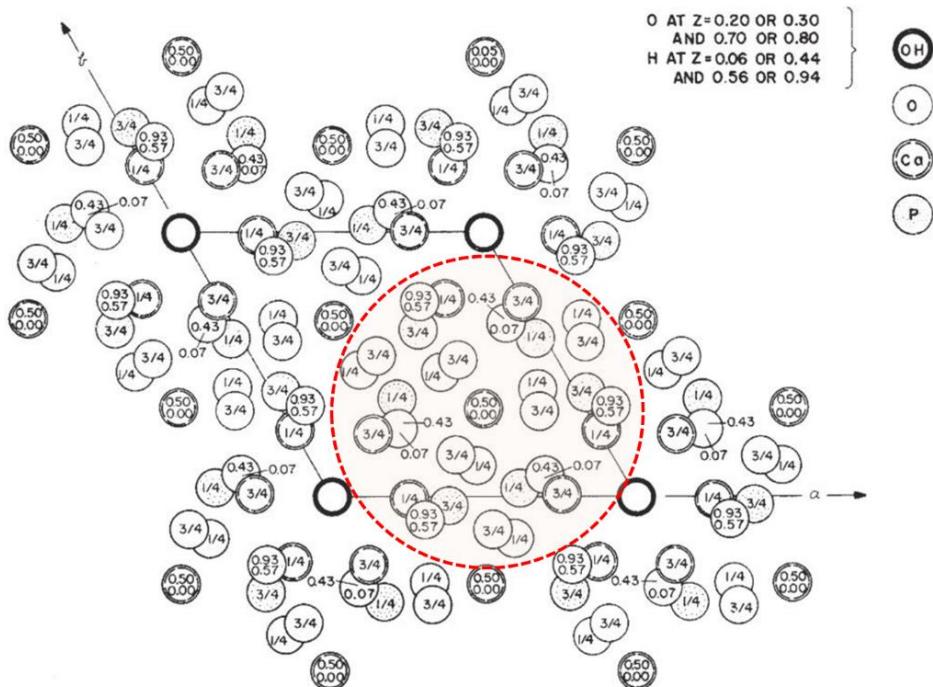
**Tableau II - 8 : Produit de solubilité des différents ortho- et pyrophosphates de calcium hydratés amorphes et cristallisés**

| Appellation et composition chimique   | pKs        | pKs (pour 1 Ca)                     | Références             |
|---|------------|-------------------------------------|------------------------|
| <b>Pyrophosphate de calcium dihydraté triclinique :</b><br><b>Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 2H<sub>2</sub>O</b>     | 18,35      | 9,18                                |                        |
| <b>Pyrophosphate de calcium dihydraté monoclinique :</b><br><b>Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 2H<sub>2</sub>O</b>    | 17,6       | 8,8                                 | (Christoffersen, 2000) |
| <b>Pyrophosphate de calcium tétrahydraté monoclinique :</b><br><b>Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 4H<sub>2</sub>O</b> | 17,7       | 8,8 <sub>5</sub>                    |                        |
| <b>Hydroxyapatite</b><br><b>Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub></b>                                     | 116,8      | 11,6 <sub>8</sub>                   |                        |
| <b>Phosphate tricalcique β</b><br><b>Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub></b>   | 28,9       | 9,6 <sub>3</sub>                    |                        |
| <b>Phosphate tricalcique α</b><br><b>Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub></b>   | 25,5       | 8,5                                 | (Combes, 2010)         |
| <b>Phosphate tricalcique amorphe</b><br><b>Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub></b>                                       | 23,9 -26,5 | 7,9 <sub>6</sub> à 8,8 <sub>3</sub> |                        |

### II.3.2.2. Hypothèses sur la structure des amorphes

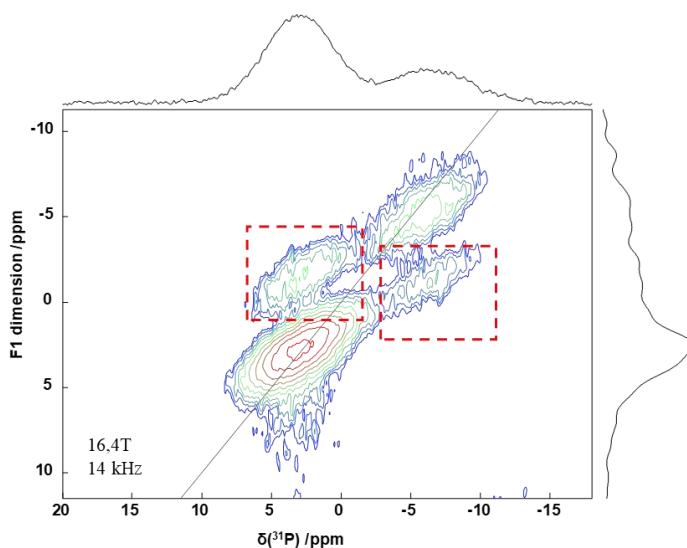
Les matériaux amorphes NaPYG-0X0 pourraient être comparés aux (ortho-) phosphates de calcium amorphes (ACP) (Combes, 2010), qui sont considérés comme des précurseurs de l'apatite. La théorie la plus souvent énoncée considère que l'ACP est un composé constitué d'unités de construction appelées clusters de Posner (Betts, 1974; Lotsari, 2018). Ces clusters font environ 1 nm de diamètre et ont la formule suivante : Ca<sub>9</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub> avec un ion calcium au cœur connectant le réseau d'ions orthophosphate, qui eux agissent comme des ponts entre les atomes de calcium au centre (Figure II - 16). Toutefois, des modèles de clusters analogues à base de pyrophosphates de calcium amorphes n'ont pas été décrits (pas plus que des clusters mixtes d'ortho-/pyrophosphates) bien que des études antérieures par PDF (Fonction de Distribution par Paires) (Gras, 2014; Slater, 2011) sur des phases pyrophosphates de calcium pures hydratées et amorphes (Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.nH<sub>2</sub>O) aient démontré une perte de cohérence structurelle au-delà des séparations interatomiques supérieure à 7,5 - 8 Å. On pourrait supposer que ces groupes hypothétiques de pyrophosphates hydratés seront assez différents des clusters de Posner formés avec les orthophosphates de calcium.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)



**Figure II - 16 : Projection sur le plan xy de l'hydroxyapatite, le cercle rouge représentant le cluster de Posner  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$**   
**(Kay, 1964; Posner, 1975)**

La question est de savoir si de telles entités potentielles existent traduisant une ségrégation des ions ortho et pyrophosphates ou si des clusters mixtes associant les deux types d'ions sont formés. Des expériences complémentaires en RMN du solide à haute résolution ont été réalisées pour tenter de répondre à cette question. Une expérience par RMN  $^{31}\text{P}$  SQ-DQ a été réalisée (Figure II - 17) sur le matériau NaPYG-030 élaboré à partir d'une solution de précurseurs contenant des proportions initiales équivalentes d'ortho et pyrophosphates, ce qui permet de sonder les proximités entre les unités ortho- et pyrophosphates. L'observation des pics croisés sur le spectre 2D est une preuve de la proximité spatiale entre les unités ortho- et pyrophosphates.



## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

**Figure II - 17 : Spectre  $^{31}\text{P}$  SQ-DQ du matériau NaPYG-030 T<sub>70°C</sub> enregistré à 16,4T, à une rotation de 14 kHz. Les carrés pointillés rouges représentent les pics croisés entre les ions ortho- et pyrophosphates (les paramètres d'acquisition des expériences RMN en phase solide sont détaillés dans l'annexe A8.)**

Dans l'hypothèse de l'existence de clusters, ces derniers seraient donc composés des deux types d'anions. Néanmoins, des investigations complémentaires telles que le couplage WAXS / SAXS associé à une simulation seront nécessaires pour valider ou infirmer cette hypothèse de cluster et pour comprendre leur structure le cas échéant.

### II.3.2.3. Effet du lavage et de l'inhibition de la cristallisation

Contrairement à ce que pourrait laisser envisager les résultats de RMN du solide sur les matériaux NaPYG-0X0 amorphes, l'hypothèse de clusters pré-nucléés d'ions ortho- et pyrophosphates initialement ségrégés en solution peut être soutenue par l'évolution des matériaux NaPYG-0X0, lorsqu'ils ne sont pas lavés (Figure II - 18). En effet sans lavage les matériaux NaPYG-010, 030 et 050 présentent des phases cristallines respectivement de canaphite, de canaphite/apatite et d'apatite. Le lavage permettrait donc de prévenir la croissance de tels clusters et l'évolution du système au cours des étapes ultérieures conduirait à une proximité des ions ortho et pyrophosphates. Le mécanisme associé reste toutefois, à l'heure actuelle, globalement incompris.

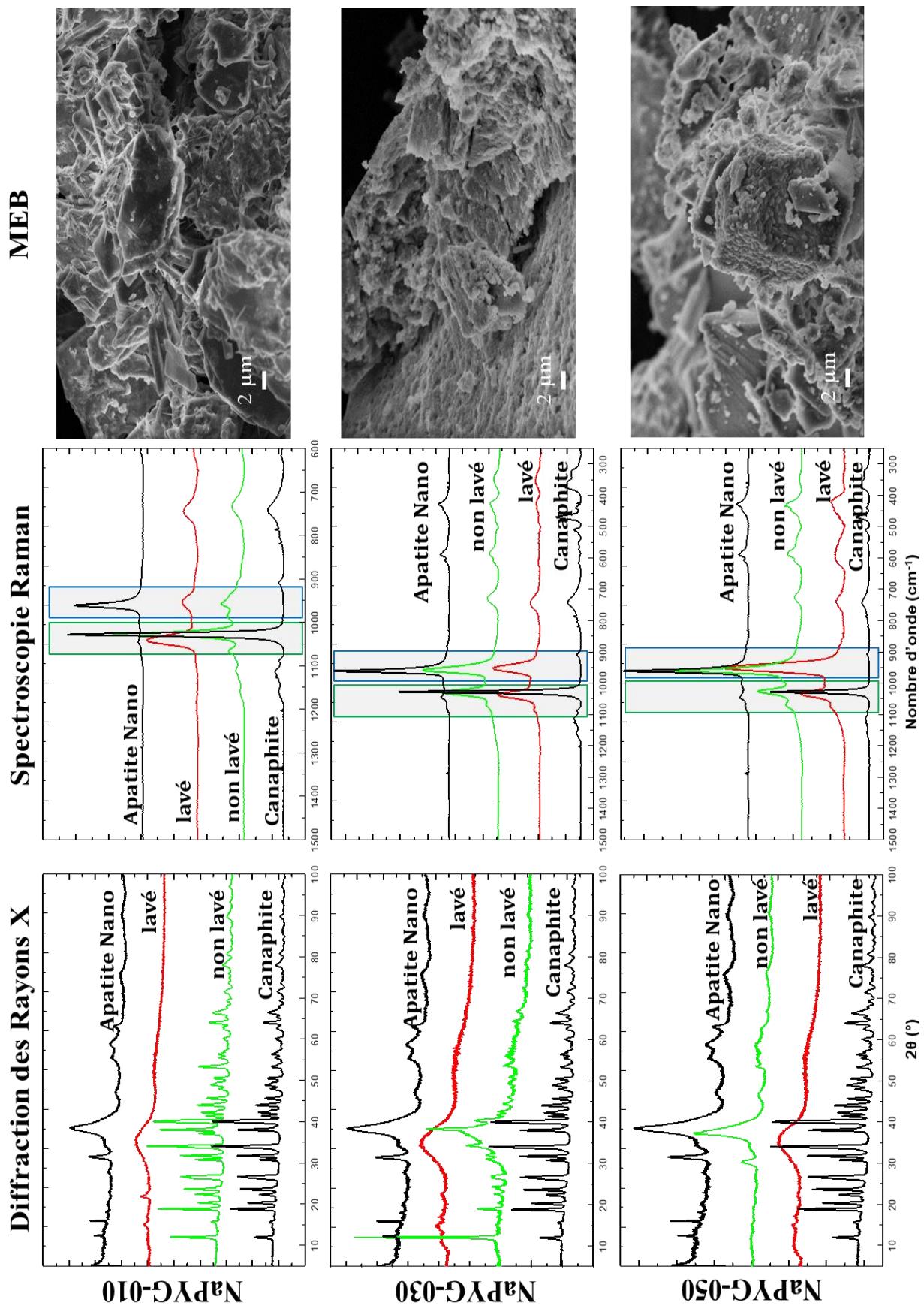


Figure II - 18 : Diffractogrammes de rayons X (anticathode Cobalt :  $\lambda(\text{Ka}) = 1,788970 \text{ \AA}$ ) (à gauche), spectres Raman (au centre) et clichés de microscopie électronique à balayage (à droite) des matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés avec ou sans étape de lavage.

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

Ces résultats prouvent par ailleurs que l'étape de lavage est essentielle pour former des matériaux amorphes en éliminant les ions restants en solution. En outre, même si la force ionique de la solution initiale ou la conformation du pyrophosphate avec un grand angle du groupement P-O-P pourraient jouer un rôle (Slater, 2011; Soulié, 2016b), le deuxième paramètre prédominant est l'effet inhibiteur des ions orthophosphate sur la cristallisation du pyrophosphate de calcium et réciproquement. L'importance de cette inhibition réciproque de la cristallisation est clairement illustrée par les données : lorsque des ions pyrophosphate et orthophosphate sont tous deux présents, un matériau amorphe est obtenu, tandis que, dans les cas extrêmes, lorsque seules des solutions de pyrophosphate ou d'orthophosphate sont impliquées (NaPYG-000 et NaPYG-060) on obtient respectivement les phases cristallines, le canaphite ou l'apatite nanocristalline. Les ions pyrophosphate ont été décrits comme des inhibiteurs de la cristallisation *in vitro* et *in vivo* des phases d'orthophosphate de calcium (Eidelman, 1990; Thouverey, 2009) et empêchent la croissance de domaines organisés en raison de l'interaction superficielle (Combes, 2010; Herbert, 1962). Par effet miroir, cette explication reste valable pour l'inhibition de la cristallisation des pyrophosphates de calcium par les ions orthophosphate. Ceci est démontré par la nature cristalline des compositions extrêmes : la canaphite et l'apatite nanocristalline respectivement pour les matériaux NaPYG-000 et NaPYG-060 composés respectivement et seulement d'ions pyrophosphate et orthophosphate qui sont des phases cristallisées. Cet effet inhibiteur a aussi été montré dans la thèse de Pierre Gras, en effet pour un composé de pyrophosphate de calcium hydraté amorphe ( $\alpha$ -CPP), son évolution au bout de 2 ans a montré la formation d'ions orthophosphate associée à une stabilité exceptionnelle de l' $\alpha$ -CPP qui reste amorphe après 2 ans en milieu aqueux (Gras, 2014).

### II.4 Conclusion

D'un point de vue général, c'est la première fois que l'on décrit une famille de matériaux amorphes à base d'orthophosphate et pyrophosphate de calcium et de sodium élaborée à basse température (70°C). Grâce à ces nouveaux matériaux, il est possible de contrôler le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) dans le matériau car son évolution suit la même tendance que celle des précurseurs de phosphates dans la solution initiale bien que les orthophosphates soient surreprésentés dans les matériaux amorphes. De plus, nous montrons qu'il est possible d'obtenir une large gamme de compositions de matériaux mixtes ortho et pyrophosphates amorphes principalement en raison de l'effet inhibiteur réciproque des deux entités phosphates sur la cristallisation de leurs sels de calcium respectifs. En fonction de la proportion d'ions pyrophosphate initialement présents dans la solution, ces matériaux NaPYG-0X0 sont amorphes ou plus ou moins bien cristallisés avec des compositions variées. Il est aussi possible de synthétiser des phases cristallines pures composées d'un seul ion phosphate (orthophosphate ou pyrophosphate), l'apatite ou la canaphite  $\alpha$  respectivement.

Au-delà de leur synthèse, la caractérisation multi-échelle de ces matériaux NaPYG-0X0 a été réalisée grâce à diverses techniques, dont la RMN avancée à l'état solide multinucléaire (tous les résultats ne sont pas décrits dans cette thèse). L'ensemble de ces caractérisations a conduit à établir une formule générale décrivant ces matériaux et quantifiant leur composition. Bien que la compréhension complète des mécanismes sous-jacents à leur formation ainsi que leur structuration à l'échelle nanométrique nécessitent leur étude ultérieure par des techniques complémentaires, la synthèse

## Chapitre II - Influence du rapport Pyro/(Ortho+Pyro)

de ces nouveaux matériaux ortho-/pyrophosphate de calcium amorphes dans l'eau et à basse température ouvre des perspectives intéressantes dans le domaine des matériaux de substitution et de régénération osseuse.

## **Chapitre III :**

Etude de l'influence de la température de séchage sur la composition et la structure des matériaux mixtes ortho- et pyrophosphates de calcium

Afin de mieux comprendre la formation des nouveaux matériaux NaPYG-0X0, nous aborderons dans ce Chapitre III, l'effet d'un autre paramètre de synthèse : la température de séchage à la fin du procédé d'élaboration. En effet, nous avons démontré dans le Chapitre II, que les matériaux NaPYG-0X0 étaient des matériaux hydratés. Il est ainsi important de tester l'effet de la température de séchage sur la composition finale de ces matériaux et d'estimer les taux et les étapes de déshydratation en fonction de la composition initiale en ions ortho- et pyrophosphate. Pour comprendre son impact sur la structure et la composition du matériau final, nous allons caractériser à l'aide techniques de caractérisation complémentaires trois compositions de matériaux amorphes NaPYG-0X0 contenant tous des ions ortho- et pyrophosphate (NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050) et séchés à différentes températures au-dessus et au-dessous de la température de séchage de référence (70°C).

## III.1 Introduction

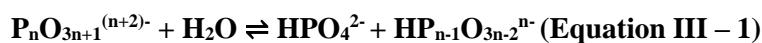
### III.1.1 Etat de l'art

Nous avons montré dans le Chapitre II que les matériaux amorphes de NaPYG-010 à NaPYG-060 contiennent des ions ortho- et pyrophosphates dans la solution initiale ainsi que dans le matériau final (après séchage à 70°C). Nous allons ci-après faire une revue bibliographique notamment sur la stabilité en température des composés amorphes d'orthophosphate et de pyrophosphate de calcium. Des études ont déjà été réalisées sur l'évolution des ions orthophosphate en fonction de la température dans divers systèmes (Wang, 2013). Comme décrit précédemment dans le Chapitre II, les matériaux NaPYG-0X0 présentent quelques similarités structurales avec les phosphates de calcium amorphes. La stabilité thermique de l'ATCP (phosphate tricalcique amorphe, la forme la plus fréquente de l'ACP) a beaucoup été étudiée dans la littérature (Kojima, 1994; Sedlak, 1974). Lors de la montée en température, l'ATCP perd des molécules d'eau et, deux types d'eau ont été identifiés : les molécules d'eau faiblement liées adsorbées à la surface des agglomérats d'ATCP dont la perte est réversible et les molécules d'eau présentes à l'intérieur des clusters, plus fortement liées à la matrice et dont la perte est irréversible. La présence d'eau dans l'ACP présente un intérêt particulier car ce matériau amorphe est considéré comme un précurseur de la formation d'hydroxyapatite (HA, structure et composition proches du minéral osseux) (Posner, 1970). La présence d'une couche hydratée à la surface des nanocristaux d'apatites analogues au minéral osseux est une autre caractéristique de certains biomatériaux, connue pour déterminer leur réactivité et leur activité biologique essentiellement en relation avec la mobilité ionique au sein de cette couche de surface. La couche hydratée des apatites nanocristallines biomimétiques, par exemple, (riche en ions labiles) permet des échanges ioniques de surface ainsi que l'adsorption de molécules. *In fine*, la couche hydratée offre une plus grande surface d'échanges pour la substitution d'ions et/ou l'adsorption de molécules que le réseau apatitique lui-même (Drouet, 2018b). Par ailleurs, étudier l'évolution de l'apatite nanocristalline biomimétique en fonction de la température permet de mettre en évidence les différentes étapes de déshydratation qui mènent à la formation de phases cristallines thermodynamiquement plus stables (Rollin-Martinet, 2013).

Du point de vue des ions pyrophosphate, nous avons vu précédemment (Chapitre II) que les matériaux NaPYG-0X0 pourraient être comparés à un composé amorphe de pyrophosphate de calcium hydraté (a-CPP) décrit dans la littérature (Gras, 2014; Slater, 2011). En effet, Pierre Gras a démontré dans sa thèse que l'amorphe pyrophosphate présentait une perte de masse continue durant la montée en température (entre 30 et 500°C), y compris durant le palier de stabilisation

### Chapitre III - Influence de la température

au début de l'ATG. La perte de masse associée à la déshydratation de l'a-CPP équivaut à la perte de 3,87 molécules d'eau. Ces valeurs sont comprises dans les gammes préalablement reportées par Slater *et al.* (Slater, 2011), c'est-à-dire entre 3,8 et 4,2 molécules d'eau. Lors de la montée en température, un pic exothermique est observé entre 110 et 250°C, ce phénomène exothermique est décrit par Slater *et al.* comme étant une hydrolyse interne partielle autour de 220°C (Slater, 2011), correspondant à l'hydrolyse de l'ion pyrophosphate en ions HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> déjà mentionnée (Chapitre I partie I.4.3.). De plus, il a été mis en évidence que l'a-CPP mais aussi les amorphes à base de polyphosphates de calcium avaient un comportement particulier en fonction de la température (Sinyaev, 2001; Slater, 2011). Dans les gels de polyphosphates de calcium incluant des ortho- et pyrophosphates, la déshydratation se fait en plusieurs étapes. Le gel est séché dans un premier temps à température ambiante puis par chauffage (jusqu'à une température de 420°C). Ainsi, il a été observé, pour des températures proches de 140°C, une hydrolyse des ions polyphosphate suivant l'Equation III-1 :



Cette hydrolyse dite interne c'est-à-dire au sein du matériau lui-même, a été observée dans la phase amorphe a-CPP traitée à 220°C pour former de faibles quantités d'ions orthophosphate ou hydrogénophosphate (Slater, 2011). Par ailleurs, une augmentation de la température notamment au-delà de 400°C va au contraire favoriser la réaction inverse de condensation des ions orthophosphate en ions pyrophosphate comme dans le cas de la synthèse du précurseur pyrophosphate de sodium utilisé pour préparer les matériaux NaPYG-0X0 (Chapitre II partie II.1.2.1).

Dans ce chapitre, nous allons évaluer l'influence de la température de séchage sur trois matériaux de compositions intermédiaires (NaPYG-010, -030 et -050) préparés à partir des deux types d'ions phosphate (avec des pourcentages molaires initiaux P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup> / (P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup> + PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) de 85%<sub>i</sub>, 50%<sub>i</sub> et 15%<sub>i</sub> respectivement) (voir diagramme Chapitre II Partie II.1.1 Figure II - 1). Pour rappel, la concentration en calcium reste fixée à 0,18 M tandis que celle des ions orthophosphate augmente au fur et à mesure que celle des ions pyrophosphate diminue, comme nous le montre le Tableau III - 1.

**Tableau III - 1 : Composition des solutions initiales de précurseurs (concentrations, rapport molaire et pH des solutions) pour les compositions NaPYG-010, -030 et -050**

|  | NaPYG-010 | NaPYG-030 | NaPYG-050 |
|--|-----------|-----------|-----------|
| [CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O] (mol.L <sup>-1</sup> )  | 0,180     | 0,180     | 0,180     |
| [Na <sub>4</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ] (mol.L <sup>-1</sup> )  | 0,071     | 0,042     | 0,012     |
| [Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O] (mol.L <sup>-1</sup> )   | 0,012     | 0,042     | 0,071     |
| [Na] (mol.L <sup>-1</sup> )  | 0,053     | 0,051     | 0,034     |
| Ca/P (molaire)   | 0,119     | 0,145     | 0,190     |
| % molaire : P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> / (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> + PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) | 85        | 50        | 15        |
| pH du mélange de la solution A + B   | 11,58     | 11,92     | 12,10     |

### III.1.2 Protocole de synthèse des trois compositions de matériaux séchés à différentes températures

Le protocole de synthèse est similaire à celui présenté dans le Chapitre II (Figure III - 1), exception faite de la température de séchage, qui, elle varie de la température ambiante à une température maximale de 250°C

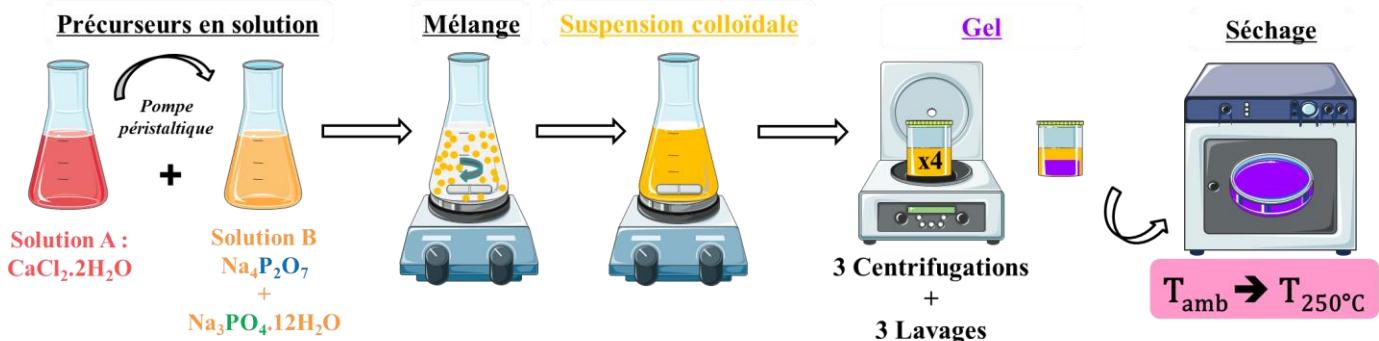


Figure III - 1 : Schéma des étapes du protocole de synthèse des matériaux NaPYG-0X0 indiquant la variation du paramètre de l'ultime étape : la température de séchage

Dans ce chapitre, les échantillons d'une même composition sont issus d'un même lot de synthèse. Lors de l'étape « gel » à l'issue des étapes de centrifugation/lavages, ce dernier est divisé en plusieurs fractions, chacune subissant ensuite une température de séchage différente pendant une durée équivalente de plusieurs jours (Tableau III - 2).

Tableau III - 2 : Nomenclature des différents types d'échantillons NaPYG-010, -030 et -050 en fonction de leur température de séchage

| Compositions     | Nomenclature                 | Conditions                                    |
|------------------|------------------------------|---|
| <b>NaPYG-010</b> | NaPYG-0X0 $T_{amb}$          | Séchage à l'ambiante ~ 20°C                   |
|                  | NaPYG-0X0 $T_{37^{\circ}C}$  | Séchage étuve à 37°C                          |
|                  | NaPYG-0X0 $T_{70^{\circ}C}$  | Standard (Chapitre II) – Séchage étuve à 70°C |
|                  | NaPYG-0X0 $T_{100^{\circ}C}$ | Séchage étuve à 100°C                         |
|                  | NaPYG-0X0 $T_{200^{\circ}C}$ | Séchage four 200°C                            |
|                  | NaPYG-0X0 $T_{250^{\circ}C}$ | Séchage four 250°C                            |

Le matériau final obtenu présente un aspect différent selon la température de séchage : un gel pour le NaPYG-010 à  $T_{amb}$  ou une poudre de grains millimétriques plus ou moins translucides (selon les compositions testées et la température de séchage) pour les autres échantillons. Les échantillons sont tout de suite caractérisés et stockés dans des Eppendorf dans le dessicateur pendant quelques jours puis stockés à -20°C (sauf pour celui séché à température ambiante car il se trouve sous forme de gel ; il est conservé dans le dessicateur).

## III.2 Caractérisation moléculaire, structurale et morphologique des matériaux NaPYG-0X0 séchés à différentes températures

Les matériaux NaPYG-0X0 sont broyés dans un mortier en agate (sauf pour le NaPYG-010  $T_{amb}$  qui est sous forme de gel) puis analysés par diverses techniques complémentaires afin de déterminer l'influence de la température sur la nature et les caractéristiques de ces matériaux.

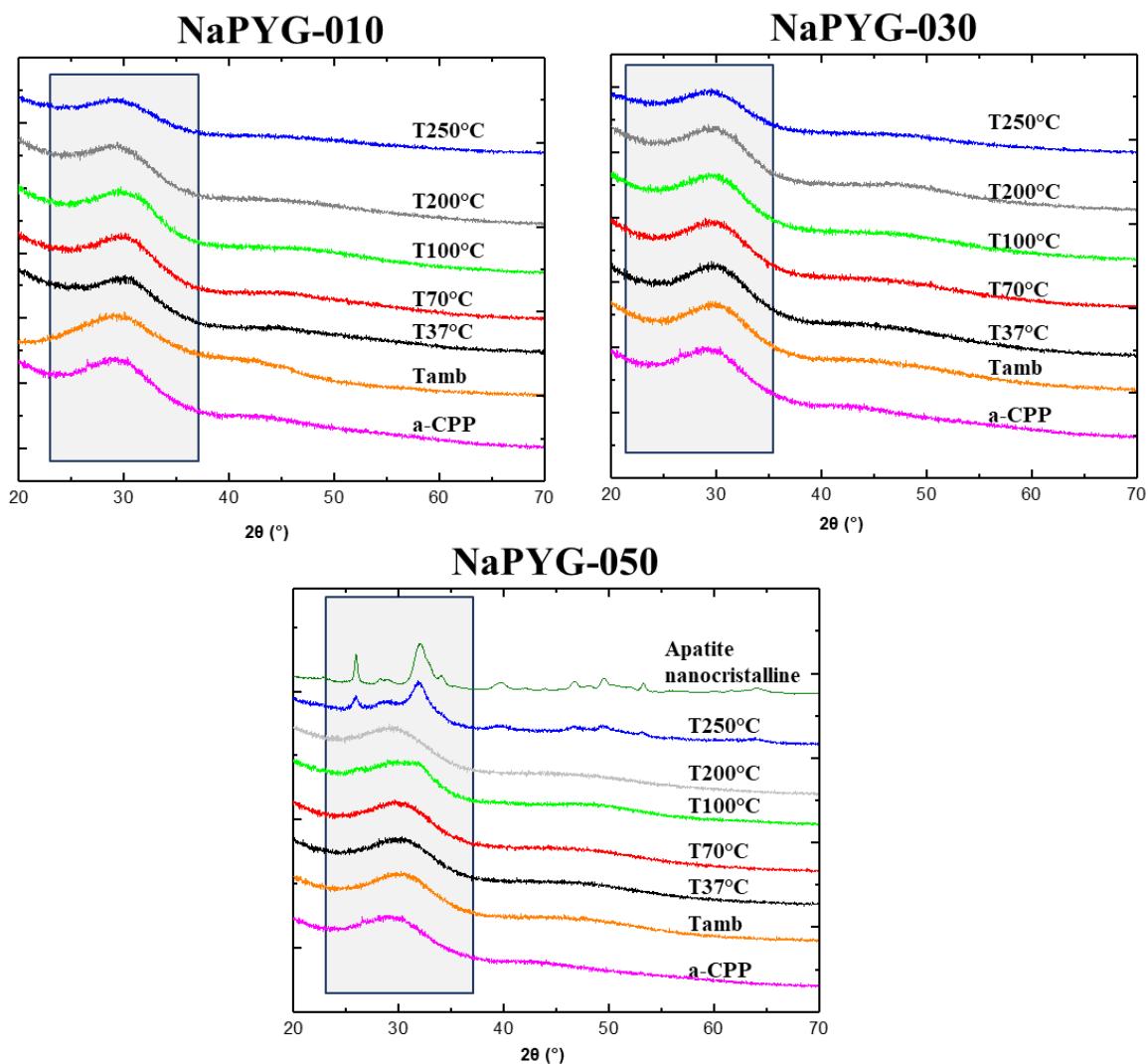
### III.2.1 Caractérisation par diffraction des rayons X

Les échantillons élaborés à diverses températures ont été caractérisés par diffraction des rayons X (Figure III - 2). Toutes les compositions de matériaux séchés à toutes les températures étudiées à l'exception du NaPYG-050 à  $T_{250^{\circ}C}$  sont des matériaux présentant un halo diffus dans le domaine d'angles  $23^{\circ} < 2\theta < 37^{\circ}$  et centré entre  $29^{\circ}$  et  $30^{\circ}$  selon les compositions et les températures de séchage (Figure III - 2). Tandis que pour le NaPYG-050 à  $T_{250^{\circ}C}$  on observe la présence de pics très larges correspondant à une phase mal cristallisée et typique d'une apatite nanocristalline comme dans le cas du NaPYG-060 séché en condition standard ( $70^{\circ}C$ , Chapitre II Partie II.2.1. Figure II-7) qui rappelons-le n'est constituée que d'ions orthophosphate dans sa matrice.

Sur la Figure III - 2, nous observons que pour le matériau NaPYG-010, qui est le matériau avec le plus fort pourcentage molaire d'ions pyrophosphate initialement présents en solution (85%<sub>i</sub>, % par rapport à tous les ions phosphates présents dans la solution), il y a une légère évolution des diffractogrammes RX en fonction de la température. En effet, lorsque la température de séchage augmente un léger décalage du maximum du halo diffus vers les plus faibles angles  $2\theta$  est observé :  $T_{amb}$  à un maximum centré à  $30,5^{\circ}$  tandis que celui de  $T_{250^{\circ}C}$  a un maximum centré à  $29,7^{\circ}$ . On peut remarquer que ces matériaux amorphes obtenus à différentes températures de séchage montrent des similitudes avec le diffractogramme RX d'un pyrophosphate de calcium hydraté amorphe (a-CPP) (Gras, 2013) qui lui aussi présente un halo centré vers  $29^{\circ}$  (Gras, 2014). Comme l'évolution excède  $0,03^{\circ}$  (incertitude de la mesure) nous pouvons conclure à une évolution de l'amorphe en fonction de la température de séchage.

Il en est de même pour le matériau NaPYG-030 qui présente un pourcentage molaire en ions pyrophosphate initial en solution moyen (50%<sub>i</sub>) : les maxima varient entre  $2\theta$  égal  $29,6^{\circ}$  pour  $T_{250^{\circ}C}$  à  $30,1^{\circ}$  pour  $T_{37^{\circ}C}$ . Le matériau NaPYG-030 semble évoluer en fonction de la température mais il reste amorphe quelle que soit la température de séchage.

Pour le matériau NaPYG-050, qui est le matériau avec le plus faible pourcentage molaire en ions pyrophosphate initialement en solution (15%<sub>i</sub>), il présente un halo diffus jusqu'à une température de séchage de  $T_{200^{\circ}C}$ . Le halo reste centré vers  $2\theta$  égal  $29,8^{\circ}$  pour  $T_{200^{\circ}C}$  à  $30,5^{\circ}$  pour  $T_{100^{\circ}C}$ . A  $T_{250^{\circ}C}$ , on observe la présence de pics de diffraction très larges qui comparés à ceux du diffractogramme RX des composés orthophosphate ou pyrophosphate de calcium cristallisés de référence montre que cette phase correspond à la même phase que celle constituant le matériau NaPYG-060 (Chapitre II partie II.2.1. Figure II-7), c'est-à-dire à une apatite nanocristalline.



**Figure III - 2 : Diffractogrammes de rayons-X (anticathode en cuivre ( $\lambda(K_{\alpha 1}) = 1,54056 \text{ \AA}$ ,  $\lambda(K_{\alpha 2}) = 1,54433 \text{ \AA}$ )) des matériaux NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050 élaborés à différentes températures de séchage et comparés à un composé pyrophosphate de calcium amorphe de référence synthétisé au CIRIMAT (a-CPP).**

Etonnamment, en augmentant la température de séchage jusqu'à  $T_{250^\circ C}$ , les matériaux NaPYG-0X0 sont toujours amorphes excepté pour la composition NaPYG-050. La question que nous pouvons nous poser maintenant est la suivante : bien que majoritairement amorphes, ces matériaux voient-ils leur composition, leur structure fine, leur environnement ou encore leur organisation multi-échelle modifiée par la température séchage ?

### III.2.2 Caractérisation par spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman permet une identification à l'échelle moléculaire des échantillons NaPYG-010, -030 et -050 par leurs spectres de vibration des ions orthophosphate, pyrophosphate et l'eau adsorbée et/ou structurelle. Il est possible par cette technique de déterminer des rapports moléculaires de la proportion d'ions orthophosphate et pyrophosphate dans le solide lorsqu'on dispose d'étalons adéquats. En effet, les intensités absolues des bandes de vibration varient en fonction des espèces et la même proportion d'ions pyrophosphate ou orthophosphate dans un environnement déterminé va produire un spectre avec des intensités différentes dépendant des bandes et du groupe de bandes représentatifs de

### Chapitre III - Influence de la température

chaque espèce qu'on aura choisies. A ce facteur d'échelle près, la variation des rapports d'intensité de deux bandes bien définies de chacune des espèces sera cependant en accord avec la variation de leur proportion dans le solide.

Toutefois, comme nous le montre Figure III - 3, il est possible de constater que la bande de vibration principale des groupements pyrophosphate entre  $1030 - 1040 \text{ cm}^{-1}$  diminue en faveur de l'augmentation de celle de l'orthophosphate vers  $950 - 960 \text{ cm}^{-1}$  au fur et à mesure que la température de séchage augmente. Il est à noter que sur la Figure III - 3, nous avons un déplacement de la bande orthophosphate ainsi que de celles des ions pyrophosphate vers les plus hauts ou faibles nombres d'ondes lorsque la température de séchage augmente (flèche noire sur la Figure III - 3).

Comme nous le montre la Figure III - 3, le matériau NaPYG-010 montre une diminution de l'intensité de la bande de vibration principale des pyrophosphates vers  $1030 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu^{as}\text{PO}_3$ ) en faveur de l'augmentation de celle de l'orthophosphate vers  $950 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu^s\text{PO}_4$ ) lorsque la température de séchage augmente ce qui confirmerait que la réaction d'hydrolyse interne est d'autant plus favorisée que la température de séchage est plus élevée.

De plus, lorsque la température de séchage augmente, nous constatons un décalage de la bande  $\nu^s\text{PO}_4$  vers les plus faibles nombres d'onde (déplacement de la bande vers la position de celle pour le composé amorphe orthophosphate, l'ACP) tandis que la  $\nu^{as}\text{PO}_3$  se décale vers les plus hauts nombres d'onde (déplacement de la bande vers celle caractéristique de l'amorphe pyrophosphate de référence, l'aCPP).

Pour le NaPYG-030, nous observons la même évolution des bandes, une diminution la bande de vibration principale caractéristique des ions pyrophosphate vers  $1030 \text{ cm}^{-1}$  en faveur de l'augmentation de celle de l'orthophosphate vers  $950 \text{ cm}^{-1}$  lorsque la température de séchage augmente. Lorsque la température de séchage augmente, nous constatons un décalage de la bande  $\nu^s\text{PO}_4$  vers les plus faibles nombres d'onde (déplacement vers celle du composé amorphe orthophosphate, de référence : l'ACP) tandis que la  $\nu^{as}\text{PO}_3$  se décale vers les plus hauts nombres d'onde (déplacement vers la bande caractéristique de l'amorphe pyrophosphate de calcium de référence, l'ACP).

Pour le NaPYG-050, on remarque néanmoins que la bande caractéristique de l'ion orthophosphate du NaPYG-050 à  $T_{250^\circ\text{C}}$  est plus fine, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus notamment par DRX montrant que ce matériau est nanocristallin. Pour le NaPYG-050 à  $T_{250^\circ\text{C}}$ , il y a un déplacement des bandes de vibration des deux entités phosphates : en effet, la bande  $\nu^s\text{PO}_4$  est déplacée vers les plus hauts nombres d'onde (déplacement vers la bande caractéristique du composé cristallin orthophosphate, l'apatite nanocristalline), et de même pour la bande  $\nu^{as}\text{PO}_3$  qui se décale toujours vers les plus hauts nombres d'onde (déplacement vers la bande caractéristique de l'amorphe pyrophosphate de référence, l'aCPP). L'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate a conduit à la présence majoritaire d'ions orthophosphate (déjà majoritairement présent initialement) dans la matrice et donc à la cristallisation partielle du matériau en apatite nanocristalline comme mis en évidence par DRX (Figure III - 2).

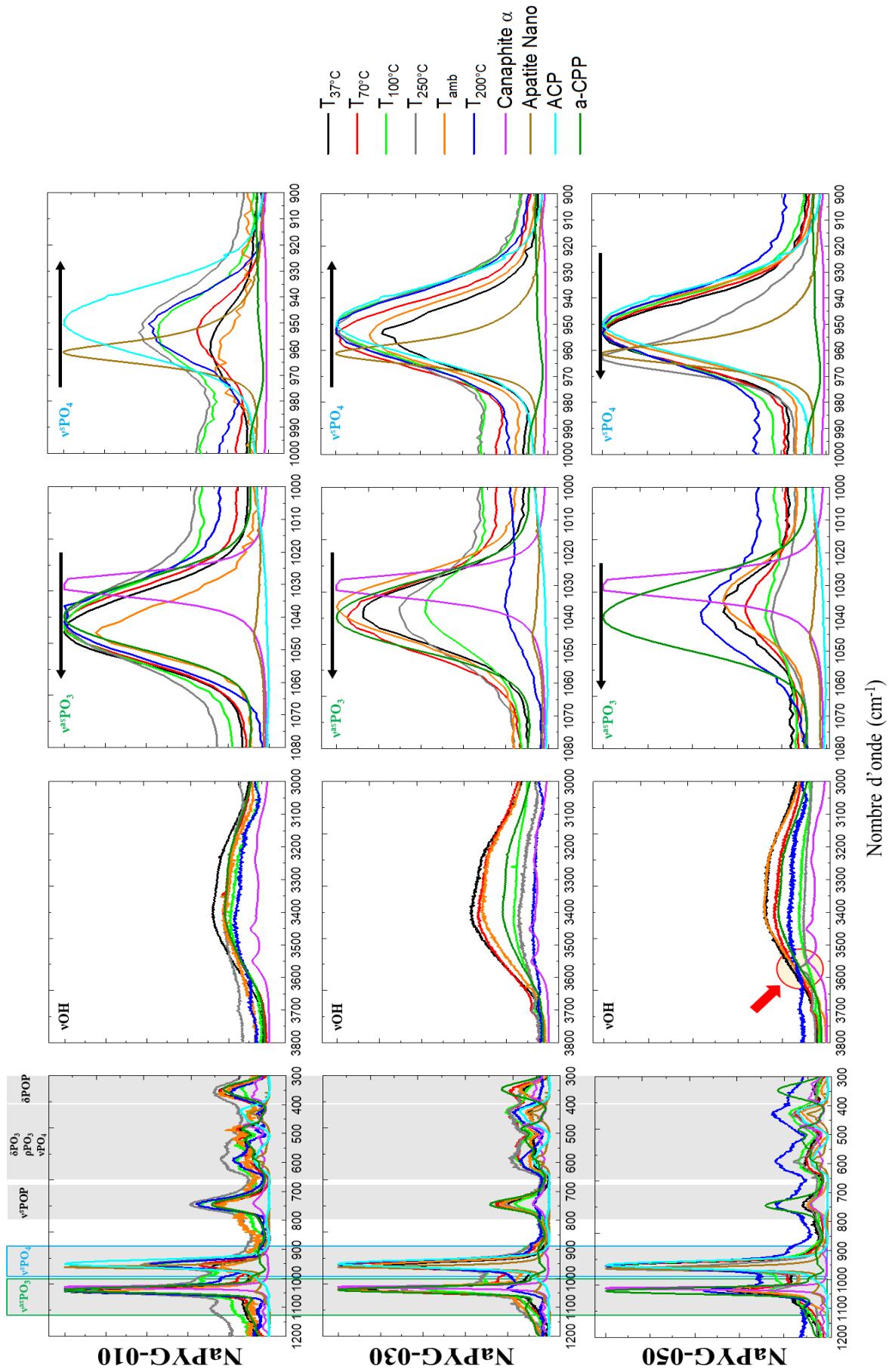


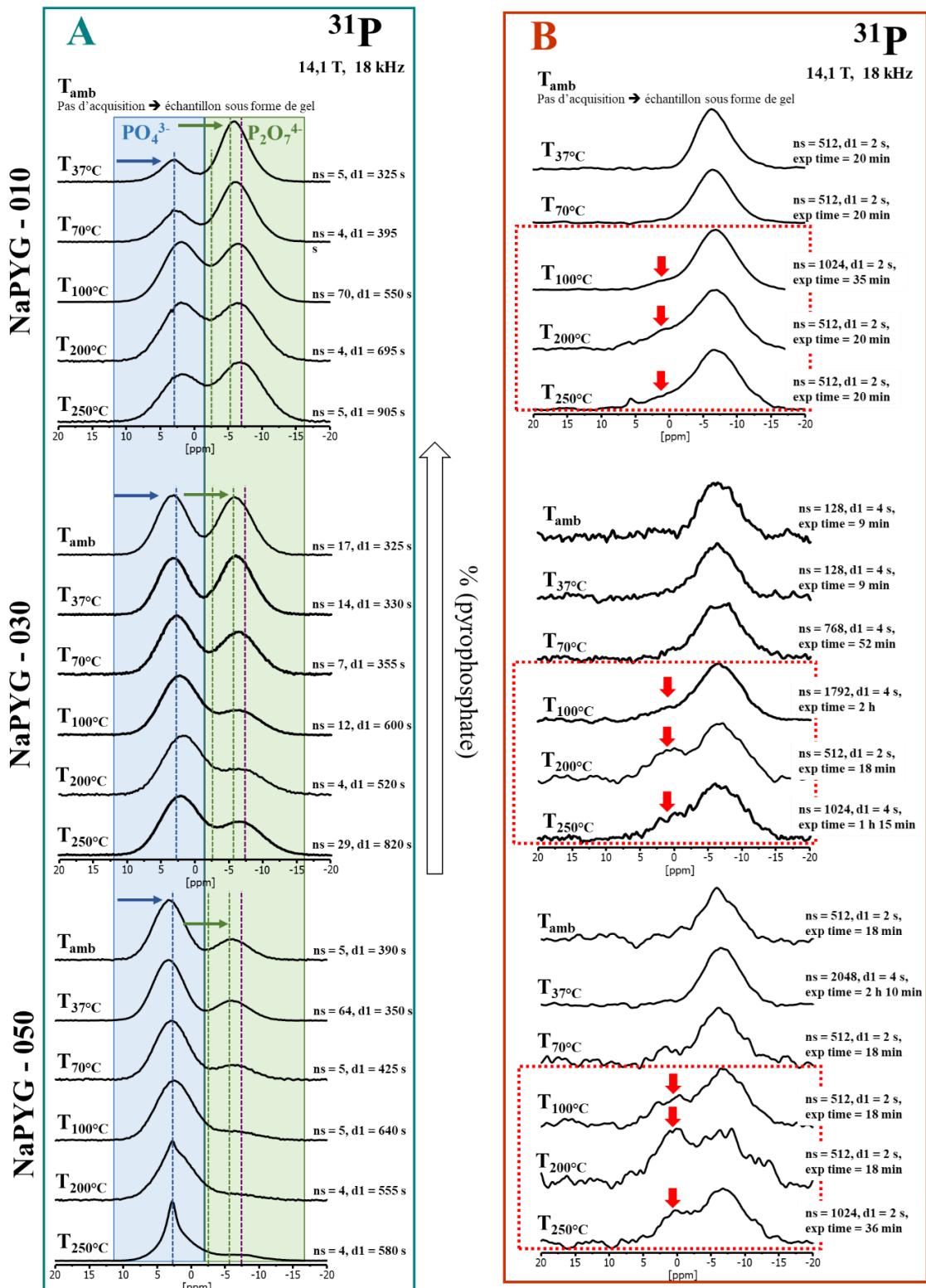
Figure III - 3 : Spectres Raman (normalisés) des matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés avec différentes températures de séchage

De plus, nous pouvons constater une nette diminution de l'intensité de la bande de vibration des liaisons O-H de l'eau vers  $3500\text{ cm}^{-1}$  lorsque la température de séchage augmente pour toutes les compositions de matériaux étudiées.

La spectroscopie Raman permet de voir l'évolution du rapport pyro-/orthophosphate ainsi que celle de l'environnement des ions ortho- et pyrophosphates en fonction du décalage de leur bande de vibration. Cette approche semi-quantitative a également été développée pour la caractérisation de ces matériaux par RMN en phase solide  $^{31}\text{P}$ .

### III.2.3 Caractérisation par RMN en phase solide

La RMN en phase solide a été utilisée afin de sonder les noyaux  $^{31}\text{P}$  et  $^{43}\text{Ca}$  et ainsi déterminer leurs différents environnements chimiques au sein des matériaux séchés à différentes températures. Les expériences ont été réalisées en collaboration avec Danielle Laurencin et Nicholai Jensen de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier et Christian Bonhomme du Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris. Comme nous l'avons indiqué au Chapitre II, la RMN  $^{31}\text{P}$  *single-pulse* permet en particulier de distinguer l'environnement de chaque entité phosphate (ortho- : déplacements chimiques positifs entre 0 et 10 ppm) ou pyro- : déplacements chimiques négatifs entre 0 et -10 ppm) dans chaque matériau synthétisé, et ce, de manière *quantitative* (Figure III - 4A). Les spectres RMN ont été acquis pour les trois compositions étudiées, NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050, élaborées aux différentes températures par des expériences d'excitation *single-pulse* en rotation à l'angle magique MAS ( $^{31}\text{P}$ ), des expériences DFS-simple impulsion ( $^{43}\text{Ca}$ ) et de polarisation croisée avec filtre INADEQUATE ( $^{31}\text{P}$ ). Les spectres des Figure III - 4A et B montrent que l'augmentation de la température de séchage conduit à une variation des proportions d'ions ortho- et pyrophosphates. Les expériences  $^{31}\text{P}$  CP-INADEQUATE permettent quant à elles de déterminer sans ambiguïté les déplacements chimiques des entités pyrophosphate, en supprimant toute contribution des unités orthophosphates (Figure III - 4B). En utilisant les attributions relatives aux entités phosphates (voir Chapitre II), la raie de résonance la plus déblindée correspond surtout aux orthophosphates (Figure III-4A). L'utilisation de la séquence  $^{31}\text{P}$  CP-INADEQUATE s'avère néanmoins nécessaire car elle permet de mettre en évidence une contribution due à des entités pyrophosphates (pour certains échantillons) à des déplacements chimiques classiquement attribués à des orthophosphates (flèches rouges sur la Figure III-4B). Les spectres  $^{43}\text{Ca}$  ont été enregistrés pour ces trois compositions ; ils sont quasi identiques (non présentés). Les paramètres d'acquisition des expériences RMN en phase solide sont détaillés dans l'annexe A8.



**Figure III - 4 : A - Spectres RMN **31P single pulse MAS** (enregistré à 14,1T, à une rotation de 18 kHz) (la ligne pointillée bleu correspond au signal de l'apatite nanocristalline et de l'ACP (raie plus large donc déplacement moyen) toutes deux à 2,8 ppm ; les lignes pointillées vertes correspondent aux deux signaux de la canaphite  $\alpha$  à -5,8 et -2,5 ppm ; la ligne pointillée violet correspond au signal de l'aCPP vers -7,2 ppm (raie plus large donc déplacement moyen), et B - Spectres RMN **31P CP-INADEQUATE MAS** (enregistré à 14,1T, à une rotation de 18 kHz) les flèches rouges représentant l'apparition d'un second signal pyrophosphate, des matériaux NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050 élaborés à différentes températures de séchage.**

### Chapitre III - Influence de la température

Pour les matériaux NaPYG-010,-030 et -050 nous constatons sur la Figure III - 4A que nous avons une diminution des ions pyrophosphates en faveur des ions orthophosphates lorsque la température de séchage augmente (sauf pour le NaPYG-010 à  $T_{250^\circ\text{C}}$ ). Le Tableau III - 3 résume les positions relatives des sommets des résonances relatives aux deux types d'ions, en fonction de la composition et de la température de séchage. Le déplacement chimique moyen des ions pyrophosphate présents dans le NaPYG-010 se décale vers les plus faibles valeurs, passant de -5,5 ppm à  $T_{37^\circ\text{C}}$  à -6,9 ppm à  $T_{250^\circ\text{C}}$ . Il en est de même pour les ions orthophosphates : 3,0 ppm pour  $T_{37^\circ\text{C}}$  et 1,8 ppm pour  $T > 100^\circ\text{C}$ .

Dans le cas du matériau NaPYG-030, le déplacement chimique moyen des ions pyrophosphate se décale vers les plus faibles valeurs passant de -6 ppm à  $T_{\text{amb}}$  à -7,2 ppm à  $T_{250^\circ\text{C}}$  (déplacement vers l'aCPP). Il en est de même pour celle des ions orthophosphate : 3,2 ppm à  $T_{\text{amb}}$  à 2,2 ppm pour les températures  $T_{100^\circ\text{C}}$  et  $T_{250^\circ\text{C}}$ . Il est à noter, un décalage particulier et beaucoup plus important pour la bande caractéristique de l'orthophosphate pour NaPYG-030 à  $T_{200^\circ\text{C}}$ , qui se décale significativement à 1,7 ppm. Néanmoins, comme pour le matériau NaPYG-010, le spectre du matériau NaPYG-030 montre pour  $T > 100^\circ\text{C}$ , l'apparition d'un second environnement pyrophosphate indiqué par les flèches rouges également vers 1,2 ppm (Figure III - 4B).

Pour les matériaux NaPYG-050, on observe une particularité : nous remarquons que la raie attribuée aux ions pyrophosphate diminue et que celle des ions orthophosphate n'augmente pas forcément lorsque la température de séchage augmente mais qu'elle s'affine. Nous remarquons que le déplacement chimique moyen des ions pyrophosphate se décale vers les plus faibles valeurs, passant -6,2 ppm à  $T_{\text{amb}}$  à -8,5 ppm à  $T_{250^\circ\text{C}}$  (déplacement chimique plus négatif que celle de l'aCPP) avec pour  $T > 100^\circ\text{C}$  une quasi absence de la bande et donc une intensité difficile à estimer (léger épaulement). Il en est de même pour celle des ions orthophosphate : 3,3 ppm à  $T_{\text{amb}}$  à 2,7 ppm pour  $T \geq 200^\circ\text{C}$ . Il est à noter, un décalage particulier et beaucoup plus important pour la bande caractéristique de l'orthophosphate dans le matériau NaPYG-030 séché à  $T_{100^\circ\text{C}}$ , qui se décale sensiblement vers 2,5 ppm. Il en résulte que les environnements des deux ions sont modifiés au cours des étapes de séchage : les environnements des ions pyrophosphate tendent à se rapprocher, en moyenne, de ceux présents dans l'aCPP (ligne pointillée jaune sur la Figure III - 4A).

La Figure III - 4B montre l'évolution des résonances attribuées aux seuls ions pyrophosphate, pour les trois compositions de matériaux. Pour  $T > 100^\circ\text{C}$ , nous observons l'apparition d'un second signal (signalé par des flèches rouges) correspondant à la formation d'un second environnement de type pyrophosphate à environ 1,2 ppm. Cette valeur est relativement élevée pour des espèces pyrophosphate et seule l'expérience  $^{31}\text{P}$  CP-INADEQUATE a permis de mettre cette contribution clairement en évidence. Lorsque la température de séchage augmente, le signal devient de plus en plus marqué même pour le NaPYG-050 à  $T \geq 100^\circ\text{C}$  où le signal était quasi invisible sur la Figure III - 4A. Cette contribution positive pourrait venir de la formation d'un nouveau type de  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  dans un proche environnement des ions orthophosphate (déplacements chimiques positifs)

Toutefois, pour les matériaux NaPYG-050, la diminution des entités pyrophosphate en faveur des orthophosphate est moins marquée ; cela pourrait être due à la présence déjà majoritaire d'orthophosphate dans la matrice. Ainsi peut être qu'en parallèle de l'hydrolyse des ions pyrophosphate, la formation d'hydrogénophosphate (orthophosphate protoné) permettrait de stabiliser la matrice et formerait ainsi une partie cristalline type apatite nanocristalline et une autre partie amorphe composée d'ions pyrophosphate et orthophosphate. Tandis que pour les compositions NaPYG-010 et -030, la

### Chapitre III - Influence de la température

quantité d'ions pyrophosphate étant importante, l'hydrolyse ne permet pas de faire basculer la balance en faveur des ions orthophosphate mais renforce plutôt le caractère amorphe de la structure.

Les Figures III - 4A et B démontrent une conversion partielle des ions pyrophosphate en ion orthophosphate pour les trois compositions de matériaux étudiées lorsque la température de séchage augmente. Ces résultats confirment qu'il y a bien eu une hydrolyse interne partielle des ions pyrophosphate lorsque la température de séchage augmente. De plus, pour  $T > 100^{\circ}\text{C}$ , on observe l'apparition d'une seconde composante dans la contribution des pyrophosphates en RMN  $^{31}\text{P}$  CP-INADEQUATE : celle-ci pourrait correspondre à l'apparition d'une phase supplémentaire car cette dernière est différente de celles présentes pour les composés de référence à  $T_{70}^{\circ}\text{C}$ . Cette nouvelle phase présente des signaux déplacés vers les raies du composé pyrophosphate de calcium et sodium cristallisé (la canaphite  $\alpha$ ) mais leur déplacement est positif, ce qui pourrait laisser croire que cette nouvelle phase soit une phase plutôt cristalline dans un proche environnement des ions orthophosphate. Cette observation tend à confirmer l'hypothèse selon laquelle, lorsque la température augmente il y a une évolution progressive de la phase amorphe au cours du séchage. Toutefois, les spectres montrent un élargissement des raies (sauf pour le NaPYG-050) avec l'augmentation de la température de séchage. En effet, lors de l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate, nous constatons que la présence d'orthophosphate dans la matrice rajoute des degrés de liberté dans le réseau et donc du désordre (confirmé par l'observation de l'élargissement des pics pour NaPYG-010 et -030).

**Tableau III - 3 : Positions des raies de résonance  $^{31}\text{P}$  relatives aux ions ortho- et pyrophosphates dans les échantillons NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050 séchés à différentes températures. La position des raies de résonance correspond à une position moyenne, mesurée au sommet du pic considéré.**

| Composition | Température de séchage    | RMN $^{31}\text{P}$ |             |
|-------------|---------------------------|---------------------|-------------|
|             |                           | Pyro (ppm)          | Ortho (ppm) |
| NaPYG-010   | $T_{37}^{\circ}\text{C}$  | -5,5                | 3,0         |
|             | $T_{70}^{\circ}\text{C}$  | -5,9                | 2,7         |
|             | $T_{100}^{\circ}\text{C}$ | -6,4                | 1,8         |
|             | $T_{200}^{\circ}\text{C}$ | -6,4                | 1,8         |
|             | $T_{250}^{\circ}\text{C}$ | -6,9                | 1,8         |
| NaPYG-030   | $T_{\text{amb}}$          | -6,0                | 3,2         |
|             | $T_{37}^{\circ}\text{C}$  | -6,1                | 3,2         |
|             | $T_{70}^{\circ}\text{C}$  | -6,6                | 2,7         |
|             | $T_{100}^{\circ}\text{C}$ | -6,9                | 2,2         |
|             | $T_{200}^{\circ}\text{C}$ | -7,3                | 1,7         |
| NaPYG-050   | $T_{250}^{\circ}\text{C}$ | -7,3                | 2,2         |
|             | $T_{\text{amb}}$          | -6,2                | 3,3         |
|             | $T_{37}^{\circ}\text{C}$  | -6,2                | 3,3         |
|             | $T_{70}^{\circ}\text{C}$  | -6,8                | 2,9         |
|             | $T_{100}^{\circ}\text{C}$ | -7,2                | 2,5         |
|             | $T_{200}^{\circ}\text{C}$ | -8,2                | 2,7         |
|             | $T_{250}^{\circ}\text{C}$ | -8,5                | 2,7         |

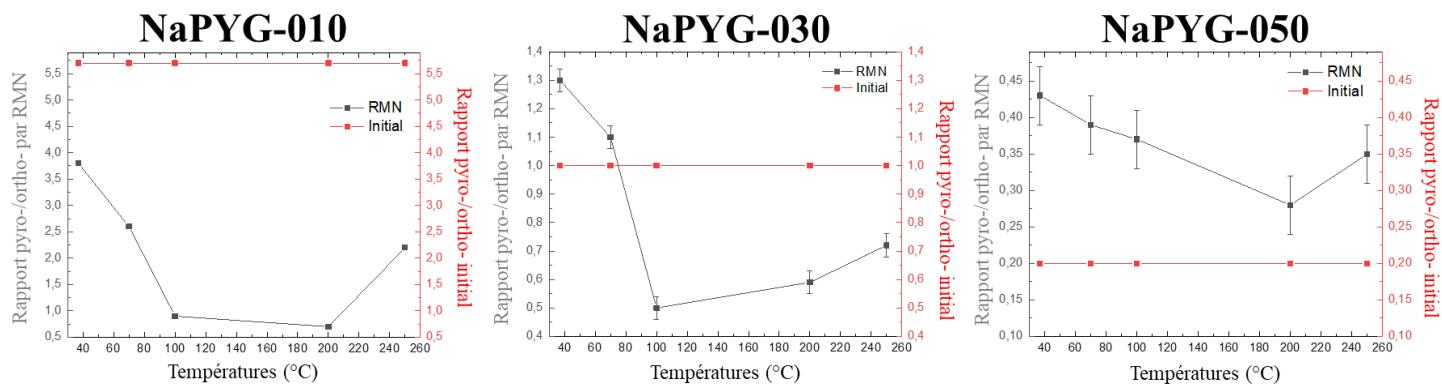
### III.2.4 Analyse quantitative par RMN en phase solide

La proportion d'ions pyrophosphate (%P<sub>pyro</sub>) par rapport aux ions orthophosphate (%P<sub>ortho</sub>) dans un matériau donné peut être estimée grâce à la décomposition des spectres RMN <sup>31</sup>P MAS (spectres simple-impulsion totalement relaxés). Dans ce chapitre, les caractérisations ont été faites sur un même lot divisé en différents sous-lots soumis à différentes températures de séchage ce qui fait que les incertitudes sont minimisées du point de vue de la RMN (Tableau III-4).

**Tableau III-4 : Proportions relatives des entités orthophosphate et pyrophosphate dans les matériaux NaPYG-010,-030 et -050 séchés à différentes températures, déterminées par décomposition des pics RMN et sa comparaison avec la proportion molaire relative initiale en solution (incertitude ± 1 %)**

| <b>Echantillons</b> | <b>Solution initiale</b> |                      |              | <b>Matériau NaPYG-0X0</b>                   |                      |                             |
|---------------------|--------------------------|----------------------|--------------|---|----------------------|-----------------------------|
|                     | % molaire                |                      |              | RMN du solide <sup>31</sup> P ( $\pm 4\%$ ) |                      |                             |
|                     | % P <sub>pyro</sub>      | % P <sub>ortho</sub> | Pyro-/Ortho- | % P <sub>pyro</sub>                         | % P <sub>ortho</sub> | Pyro-/Ortho- ( $\pm 0,04$ ) |
| <b>NaPYG-010</b>    | T <sub>37°C</sub>        |                      |              | 79  | 21                   | 3,8                         |
|                     | T <sub>70°C</sub>        |                      |              | 72  | 28                   | 2,6                         |
|                     | T <sub>100°C</sub>       | 92                   | 8            | 46  | 54                   | 0,9                         |
|                     | T <sub>200°C</sub>       |                      |              | 41  | 59                   | 0,7                         |
|                     | T <sub>250°C</sub>       |                      |              | 69  | 31                   | 2,2                         |
| <b>NaPYG-030</b>    | T <sub>37°C</sub>        |                      |              | 57  | 43                   | 1,3                         |
|                     | T <sub>70°C</sub>        |                      |              | 53  | 47                   | 1,1                         |
|                     | T <sub>100°C</sub>       | 67                   | 33           | 35  | 65                   | 0,5                         |
|                     | T <sub>200°C</sub>       |                      |              | 37  | 63                   | 0,59                        |
|                     | T <sub>250°C</sub>       |                      |              | 42  | 58                   | 0,72                        |
| <b>NaPYG-050</b>    | T <sub>37°C</sub>        |                      |              | 30  | 70                   | 0,43                        |
|                     | T <sub>70°C</sub>        |                      |              | 28  | 72                   | 0,39                        |
|                     | T <sub>100°C</sub>       | 26                   | 74           | 27  | 73                   | 0,37                        |
|                     | T <sub>200°C</sub>       |                      |              | 22  | 78                   | 0,28                        |
|                     | T <sub>250°C</sub>       |                      |              | 26  | 74                   | 0,35                        |

Pour les matériaux NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050, il y a une diminution des rapports pyro-/orthophosphates lorsque la température de séchage augmente (malgré quelques points particuliers abordés plus loin). L'évolution de ces pourcentages, laisse encore une fois penser à une hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate au sein du matériau favorisé par l'augmentation de la température de séchage. Ces pourcentages diffèrent de ceux reportés dans le Tableau II – 5 car ces derniers n'ont pas été déterminés sur le même lot d'échantillons.



**Figure III - 5 : Evolution du rapport pyro-/orthophosphate déterminé à partir des données de RMN en phase solide comparé au rapport initial pour les matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés à différentes températures de séchage**

En observant la Figure III - 5, nous pouvons penser qu'en fonction de la composition du matériau NaPYG-0X0, nous avons des phénomènes de recondensation possibles des ions orthophosphate en ions pyrophosphate vers les 200°C (ou vers 100°C pour le NaPYG-030). Pour le matériau NaPYG-010 à T<sub>250</sub>°C, la RMN suggère une recondensation des orthophosphate. Pour le matériau NaPYG-030, il y a augmentation progressive de la quantité d'ions pyrophosphate pour les T<sub>200</sub>°C et T<sub>250</sub>°C (par rapport à T<sub>100</sub>°C). Pour NaPYG-050 à T<sub>200</sub>°C, la RMN semble mettre en évidence la recondensation éventuelle des ions orthophosphate en ions pyrophosphate à T<sub>200</sub>°C, mais l'hydrolyse reprends pour T<sub>250</sub>°C.

Comme suggéré précédemment, nous avons potentiellement formation de plusieurs phases amorphes et/ou cristallines à l'intérieur des phases amorphes. Il se pourrait que la phase supplémentaire cristalline ou amorphe formée pendant la montée en température ait un rapport pyro-/orthophosphate différents de celui de la matrice d'origine induisant ainsi des fluctuations du rapport pyro-/orthophosphate en fonction de l'augmentation de la température.

### III.2.5 Observation par microscopie électronique à balayage

Les observations par microscopie électronique à balayage permettent de définir la micromorphologie des trois compositions de matériaux (Figure III - 6) et d'observer les éventuelles évolutions en fonction de la température de séchage. Les mesures de la longueur, largeur, de la taille des agrégats etc... ont été faites grâce au logiciel *Micrograph*.

Les trois compositions de matériaux élaborés avec différentes températures de séchage (températures inférieures à 250°C) (Figure III - 6) montrent une structure de grains avec des surfaces présentant des irrégularités plus ou moins importantes et nombreuses en fonction de la composition du matériau et de la température à laquelle il a été séché. Cette morphologie reste très variable entre des matériaux amorphes d'une même composition séchée à des températures différentes (lecture verticale de la Figure III – 5) et entre ceux séchés à une même température mais avec des compositions différentes (lecture horizontale de la Figure III – 5). L'évolution de ces trois compositions aux différentes températures est résumé dans le Tableau III - 5.

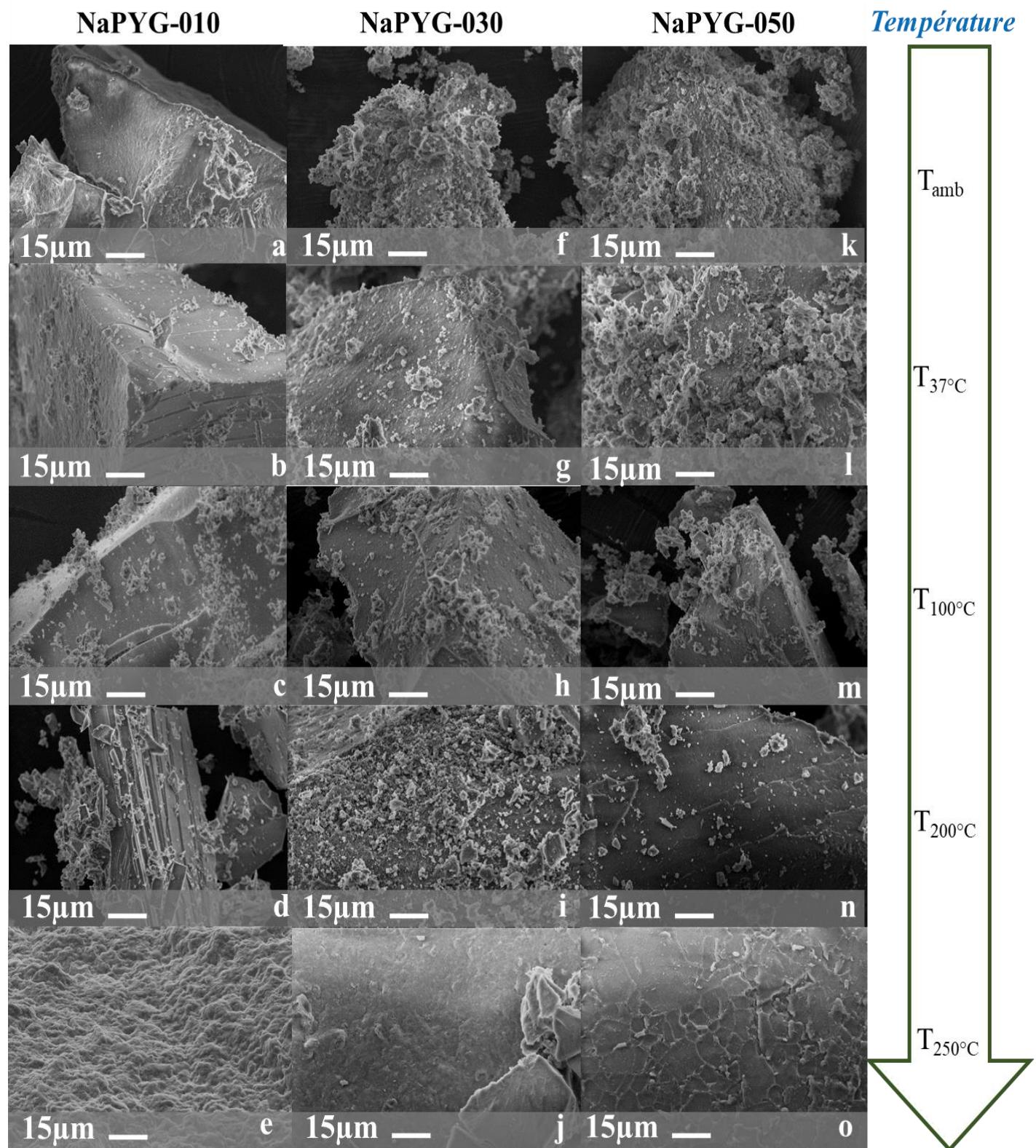


Figure III - 6 : Clichés MEB des trois compositions de matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés avec différentes températures de séchage

**Tableau III - 5 : Comparaison morphologique des échantillons préparés à partir de 100% pyrophosphate et séchés à différentes températures**

| Température | Figure III - 7     | Morphologie   |
|-------------|--------------------|---|
| NaPYG-010   | T <sub>amb</sub>   | a<br>Surface homogène et lisse avec des irrégularités de surface minimes  |
|             | T <sub>37°C</sub>  | b<br>Grain avec une surface de fracture régulière et des irrégularités de surface d'environ 2 µm de diamètre  |
|             | T <sub>100°C</sub> | c<br>Grain avec une surface lisse avec irrégularités de surface moins nombreuses mais un peu plus grosses que celles à T <sub>37°C</sub> (environ 4 µm) |
|             | T <sub>200°C</sub> | d<br>Surface plus lisse et fracture du grain plus nette avec des irrégularités sous forme de plaquettes d'environ 5 µm de longueur                      |
| NaPYG-030   | T <sub>amb</sub>   | f<br>Grain recouvert de petits grains de surface d'environ 2-3 µm.  |
|             | T <sub>37°C</sub>  | j<br>Grain avec une surface de fracture régulière et irrégularités de surface d'environ 2 µm de diamètre  |
|             | T <sub>100°C</sub> | h<br>Surface plutôt rugueuse avec des irrégularités de surface d'environ 2 µm   |
| NaPYG-050   | T <sub>200°C</sub> | i<br>Grains de surface d'environ 3 µm (avec certains en bas à droite allant jusqu'à 9 µm)   |
|             | T <sub>amb</sub>   | k<br>Grain recouvert à sa surface par de petits grains d'environ 4 µm   |
|             | T <sub>37°C</sub>  | l<br>Agglomération de grains d'environ 30 µm et de surface microporeuse   |
|             | T <sub>100°C</sub> | m<br>Surface plutôt rugueuse avec des irrégularités de surface d'environ 2 µm   |
|             | T <sub>200°C</sub> | n<br>Gros grain, surface plus lisse avec moins de grains de surface   |

A T<sub>250°C</sub>, on observe que la morphologie des différentes compositions change : les matériaux NaPYG-010 (Figure IV – 4e) et -030 (Figure IV – 4j), semblent avoir une surface plus rugueuse avec moins voire pas de petits grains de surface. Pour le matériau NaPYG-010 à T<sub>250°C</sub>, nous avons quelques macropores d'environ 3 µm et pour le matériau NaPYG-030 à la même température des pores d'environ 1 µm. Tandis que le matériau NaPYG-050 à T<sub>250°C</sub> (Figure IV – 4o) présente une surface lisse mais présentant des craquelures à sa surface.

Comme la diffraction des rayons X nous confirme la présence d'une apatite nanocristalline, il semblerait que le matériau NaPYG-050 à T<sub>250°C</sub> soit composé d'une agglomération de cristaux d'apatites nanocristallines nanométriques non visibles par microscopie électronique à balayage. En effet, l'augmentation de la température favorise l'évaporation partielle de l'eau de surface associée aux nanocristaux d'apatite qui semblent ainsi avoir « fusionnés » et former des plaques en surface du grain (image o).

Ces hypothèses peuvent être néanmoins soutenues par le fait que dans le Chapitre II, la température de séchage n'était pas suffisamment élevée pour permettre la coalescence des grains. Néanmoins, aux températures les plus élevées testées, 200°C ou 250°C, l'eau résiduelle et de surface s'étant évaporée, l'hypothèse de la coalescence des grains peut être considérée et nous avons cherché à la vérifier en réalisant des analyses par microscopie électronique en transmission (MET).

### **III.2.6 Observation par microscopie électronique en transmission**

Pour étudier plus en détails ces matériaux, nous avons effectué de l'imagerie électronique en transmission en collaboration avec Stéphanie Balor et Vanessa Souldan (plateforme METI, Toulouse). La microscopie électronique en transmission est un outil de caractérisation indispensable pour mieux définir la morphologie, la taille et l'organisation des matériaux NaPYG-010,-030 et -050 à l'échelle nanométrique. Des clichés ont été réalisés pour ces matériaux séchés à trois températures différentes (la température standard :  $T_{70^{\circ}\text{C}}$ ,  $T_{100^{\circ}\text{C}}$  et  $T_{250^{\circ}\text{C}}$ ) afin de suivre les éventuelles évolutions en fonction de la température (Figure III - 7). Cette analyse en imagerie fait ressortir plusieurs populations de nanoparticules que nous avons classées dans le Tableau III - 6 en particules primaires ou secondaires en fonction de leurs tailles.

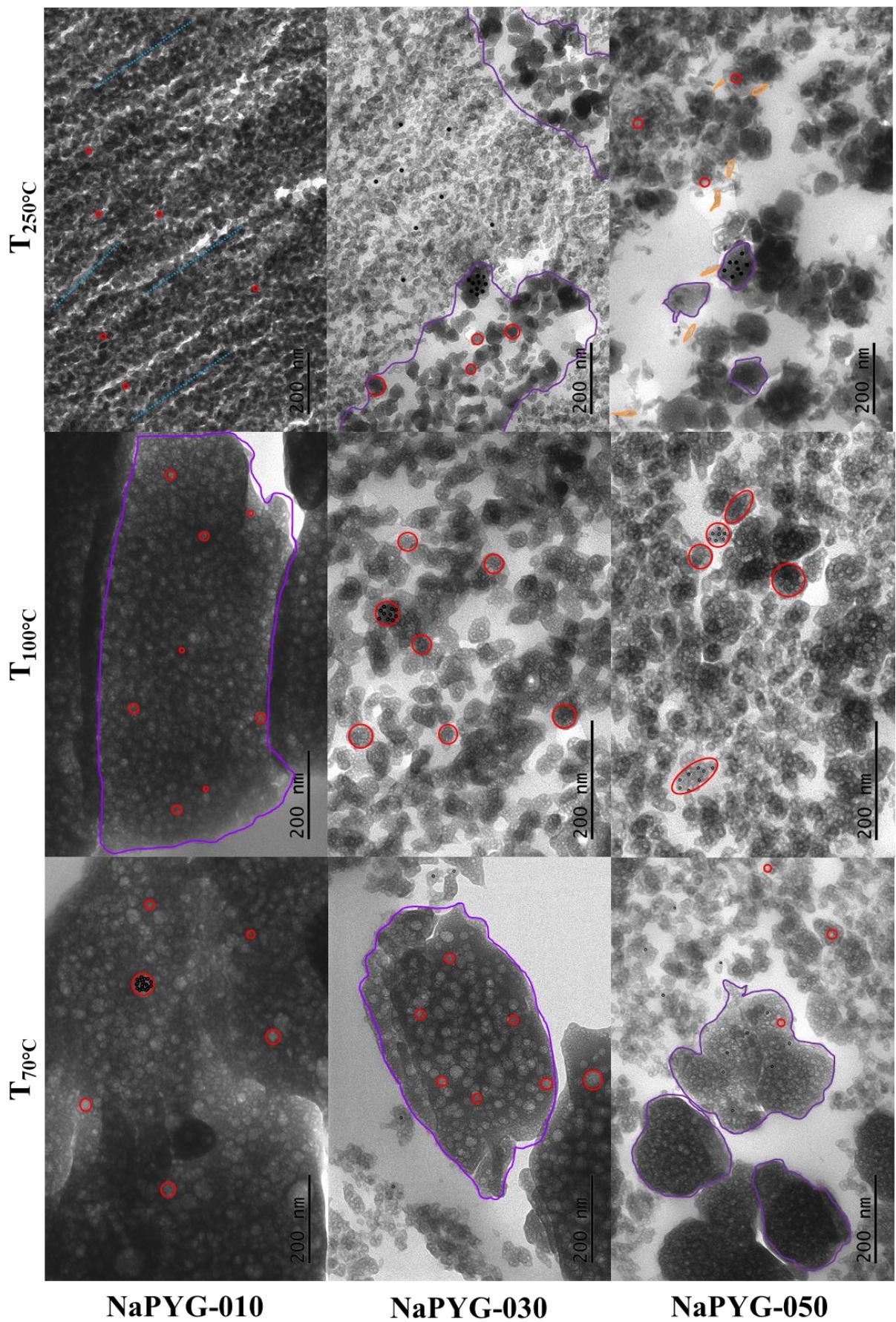


Figure III - 7 : Clichés MET des trois compositions de matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés à la température de référence ( $T_{70^\circ\text{C}}$ ) et à deux autres températures de séchage plus élevées ( $T_{100^\circ\text{C}}$  et  $T_{250^\circ\text{C}}$ )

### Chapitre III - Influence de la température

D'un point de vue méthodologique, pour estimer la taille des nanoparticules constituant les matériaux NaPYG-0X0 étudiés en fonction de la température de séchage, nous pouvons nous baser sur les descriptions des nanoparticules d'ACP faites dans la littérature (Lotsari, 2018) (Chapitre I partie I.4.3.1.). En effet, il a été reporté que les particules d'ACP (particules secondaires) ont une taille qui varie de 20 à 100 nm en fonction du solvant ou de la nature des précurseurs et elles s'organisent le plus souvent en chapelets.

Sur la Figure III - 7, nous avons une morphologie globale de toutes les compositions de matériaux séchés à toutes les températures testées, leur observations est similaires à celle de l'ACP c'est-à-dire qu'il y a présence de particules sphériques plus ou moins coalescées entre elles. Grâce au logiciel *Digital Micrograph*, il a été possible d'estimer la taille des particules visibles et de faire des histogrammes représentatifs du pourcentage de particules en fonction de leur taille pour chaque composition et chaque température étudiées. Pour cela, nous avons pris quatre images MET à différentes échelles et nous avons mesurée environs 80 particules par photos, nous avons compté le nombre de particules d'une taille donnée et nous avons représentés ces tailles en fonction du pourcentage sur la Figure III - 7. De plus, un code couleur est présent sur la Figure III - 7, les cercles noirs représentent les particules primaires difficilement visibles avec cette résolution, les cercles rouges représentent les particules secondaires avec à l'intérieur des particules primaires. Il y a une délimitation violette qui correspond à des particules tertiaires ou dans le cas du NaPYG-030 à T<sub>250°C</sub> à une délimitation entre deux types d'environnements de particules. Pour le NaPYG-010 à T<sub>250°C</sub>, nous justifions la présence d'une organisation linéaire des particules par des lignes pointillées bleues. Et en orange, dans le cas du NaPYG-050 à T<sub>250°C</sub>, nous avons la présence de nanocristaux sous forme de fines plaquettes caractéristiques de nanocristaux d'apatite en accord avec l'analyse DRX. Ainsi grâce à la littérature, nous avons défini un tableau de classification des particules en fonction de leurs dimensions, Tableau III - 6.

**Tableau III - 6 : Tableau de classification des particules observées par MET pour les matériaux NaPYG-010, -030 et -050 séchés à T<sub>70°C</sub>, T<sub>100°C</sub> et T<sub>250°C</sub>**

| NaPYG-0X0     | Température        | Particules primaires | Particules secondaires | Nanocristaux/plaquettes |
|---------------|--------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| NaPYG-010     | T <sub>70°C</sub>  | Φ entre 1 et 5 nm    | Φ entre 5 et 70 nm     |                         |
|               | T <sub>100°C</sub> | Φ entre 1 et 5 nm    | Φ entre 6 et 28 nm     |                         |
|               | T <sub>250°C</sub> | Φ entre 1 et 4 nm    | Φ entre 4 et 58 nm     |                         |
| NaPYG-030     | T <sub>70°C</sub>  | Φ entre 1 et 3 nm    | Φ entre 3 et 50 nm     |                         |
|               | T <sub>100°C</sub> | Φ entre 1 et 3 nm    | Φ entre 3 et 73 nm     |                         |
|               | T <sub>250°C</sub> | Φ entre 1 et 5 nm    | Φ entre 5 et 75 nm     |                         |
| NaPYG-050     | T <sub>70°C</sub>  | Φ entre 1 et 5 nm    | Φ entre 5 et 65 nm     |                         |
|               | T <sub>100°C</sub> | Φ entre 1 et 3 nm    | Φ entre 3 et 75 nm     |                         |
|               | T <sub>250°C</sub> | Φ entre 1 et 5 nm    | Φ entre 5 et 85 nm     | L entre 20 et 30 nm     |
| <b>Formes</b> |                    | Cercles noirs        | Cercles rouges         | Orange                  |

A partir de cette classification, il a été possible de déterminer les différentes populations de particules présentes en fonction de la composition du matériau et de sa température de séchage (Figure III - 8).

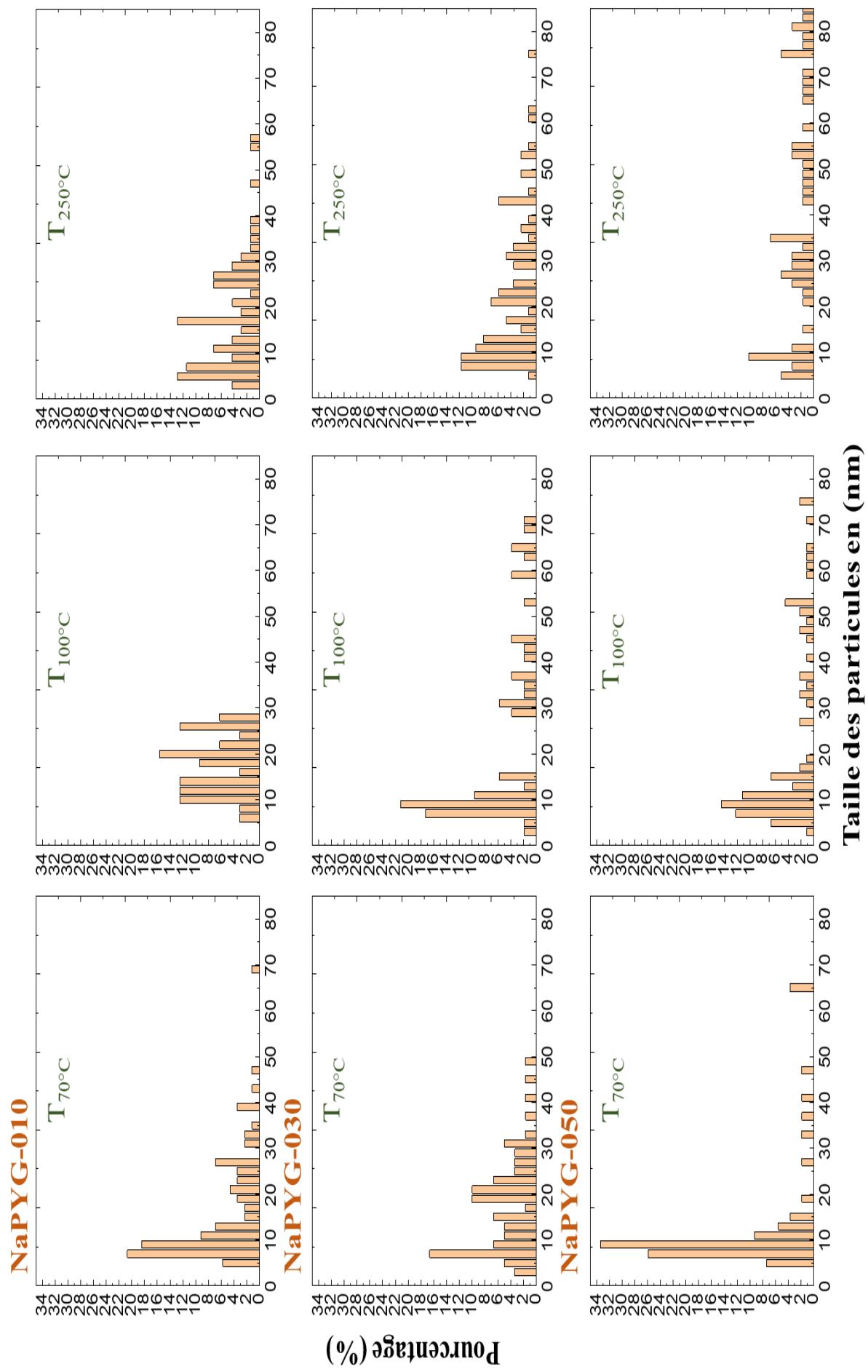


Figure III - 8 : Histogrammes du pourcentage de particules en fonction de leur taille en nm (avec une incertitude de mesure d' environ  $\pm 10$  nm) pour les compositions NaPYG-010, -030 et -050 séchées à  $T_{70^\circ\text{C}}$ ,  $T_{100^\circ\text{C}}$  et  $T_{250^\circ\text{C}}$ .

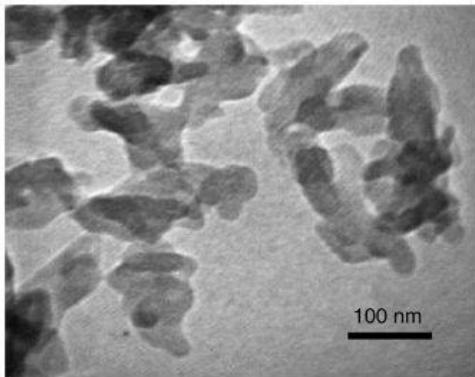
### Chapitre III - Influence de la température

Sur la Figure III - 8, nous remarquons une polydispersité de la taille des particules entre les différentes compositions de matériaux obtenus aux différentes températures de séchage. Pour le matériau NaPYG-010 à T<sub>70°C</sub>, nous avons une majorité de tailles de particules relativement petites d'environ 8 nm. A T<sub>100°C</sub>, nous avons une augmentation de la taille moyenne des particules à environ 20 nm. A T<sub>250°C</sub>, nous avons une dispersité de la taille plus grande avec deux tailles de particules majoritaires l'une d'environ 5-7 nm et une autre à 18 nm. La polydispersité de la taille des particules lorsque la température augmente ainsi que le départ de molécules d'eau associées conforte l'hypothèse d'un rôle structurant de ces dernières au sein des matériaux NaPYG-0X0. Sur les images des matériaux NaPYG-010 à T<sub>70°C</sub> et T<sub>250°C</sub> (Figure III - 8) nous n'arrivons pas à distinguer les particules primaires (cercles noirs) dues à la résolution de l'image et à la très petite tailles de ces nanoparticules primaires. Toutefois, nous voyons des points contrastés blanc/noirs qui confirment la présence de ces dernières. A T<sub>100°C</sub>, les particules secondaires (cercles rouges) sont agrégées afin de former une particule tertiaire de plusieurs centaines de nanomètres délimitée en violet sur la Figure III - 7. Pour T<sub>250°C</sub>, nous avons une organisation différente de celle observée pour des températures inférieures : nous remarquons sur l'image MET que des particules secondaires (cercles rouges) semblent agrégées entre elles afin de former des agglomérats linéaires de nanoparticules représentés par des lignes pointillées bleues. Ces agglomérats semblent orientés dans une même direction ; cela pourrait être due à la préparation de l'échantillon notamment lors de la découpe du bloc de résine. Lorsque la température de séchage augmente, le matériau NaPYG-010 tend vers une structure moins compacte des particules secondaires.

Pour le matériau NaPYG-030 à T<sub>70°C</sub>, nous remarquons une polydispersité des tailles comme pour le matériau NaPYG-010, une grande majorité de particules font environ 7 nm ce qui est relativement petit mais nous remarquons entre 18 et 22 nm une autre famille de particules assez marquée (environ 10 % des particules). A T<sub>100°C</sub>, nous avons une dispersité de la taille beaucoup moins marquée avec une majorité de particules d'environ 7 – 9 nm. A T<sub>250°C</sub>, nous constatons une polydispersité plus étendue mais une taille de particules majoritairement comprise en 7 et 14 nm. A T<sub>70°C</sub>, nous observons une particule tertiaire de quelques centaines de nanomètres avec à l'intérieur un agglomérat de particules secondaires (cercles rouges) et primaires (cercles noirs). Pour la température T<sub>100°C</sub>, nous distinguons les particules primaires à l'intérieur des particules secondaires qui sont-elles moins sphériques que pour la T<sub>70°C</sub>. A T<sub>250°C</sub>, le matériau NaPYG-030 présente deux types de nanomorphologies, délimitées par des lignes violettes ; nous avons d'un côté des particules secondaires (cercles rouges) formées de particules primaires agrégées et d'un autre coté nous avons des particules primaires (cercles noirs) individuelles et espacées les unes des autres d'environ 14 nm ± 10 nm. Lorsque la température augmente, nous avons une individualisation des particules secondaires et primaires. De plus, pour le T<sub>250°C</sub>, nous pouvons faire l'hypothèse que les deux nanomorphologies correspondent à deux types de phase amorphe et que l'eau joue le rôle dans la cohésion des particules secondaires et primaires et lorsque la température augmente et que l'eau s'évapore nous avons une individualisation des particules.

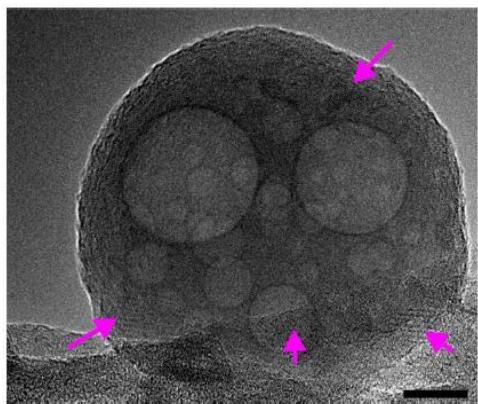
Pour le matériau NaPYG-050 à T<sub>70°C</sub>, nous remarquons une distribution de la taille des particules plus homogène. La majorité des particules secondaires font entre 7 et 10 nm (limite basse des particules secondaires). A T<sub>100°C</sub>, nous avons une dispersité de la taille très étendue avec une majorité de particules d'environ 5 – 15 nm. Sur l'histogramme de la Figure III - 8, nous avons des tailles de particules supérieures à 100 nm qui correspondent à des particules tertiaires. A T<sub>250°C</sub>, nous constatons une dispersion très importante de la taille des particules. Même si une majorité de particules

possèdent des diamètres autour de 7 nm, une proportion plus importante se situe dans les intervalles de tailles plus grandes (entre 25 et 35 nm, entre 50 et 55 nm ou encore entre 75 et 80 nm). Au-delà de 100 nm, nous avons des particules tertiaires correspondant à un agglomérat de particules secondaires. Pour le matériau NaPYG-050 à  $T_{70^\circ\text{C}}$ , l'image MET de la Figure III - 7, met en évidence deux types d'organisation de particules. A gauche de l'image, nous observons des particules tertiaires (violet) d'environ 200 nm à l'intérieur desquelles nous avons la présence de particules primaires (cercles noirs). Tandis qu'à droite de l'image nous avons la présence de particules primaires individualisées confondues entre des particules secondaires (cercles rouges). Elles semblent coalescées entre elles et forment une chaîne désordonnée. Pour la température  $T_{100^\circ\text{C}}$ , nous distinguons les particules primaires à l'intérieur des particules secondaires qui elles sont moins sphériques comparées à celles du NaPYG-030 à  $T_{70^\circ\text{C}}$ . A  $T_{250^\circ\text{C}}$ , nous observons quatre types de particules : des particules primaires agglomérées sous forme de particules secondaires qui elles-mêmes forment des particules tertiaires, puis nous distinguons des plaquettes (en orange) correspondant à des nanocristaux d'apatite d'environ  $25 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ . Ces plaquettes sont similaires à celles mises en évidence par *Drouet et al.* (Drouet, 2009) sur la Figure III - 9 et en cohérence avec les données de la littérature pour des apatites maturée (10 jours) dont la longueur de cristallites d'apatite fait environ 20 nm (Vandecandelaere, 2012). Ce qui confirme, comme nous l'indiquait la DRX (Figure III - 2, présence de halos diffus caractéristique de la présence d'une phase amorphe ainsi que des pics caractéristiques d'une apatite nanocrystalline) nous formons une apatite nanocrystalline contenue dans une matrice amorphe.



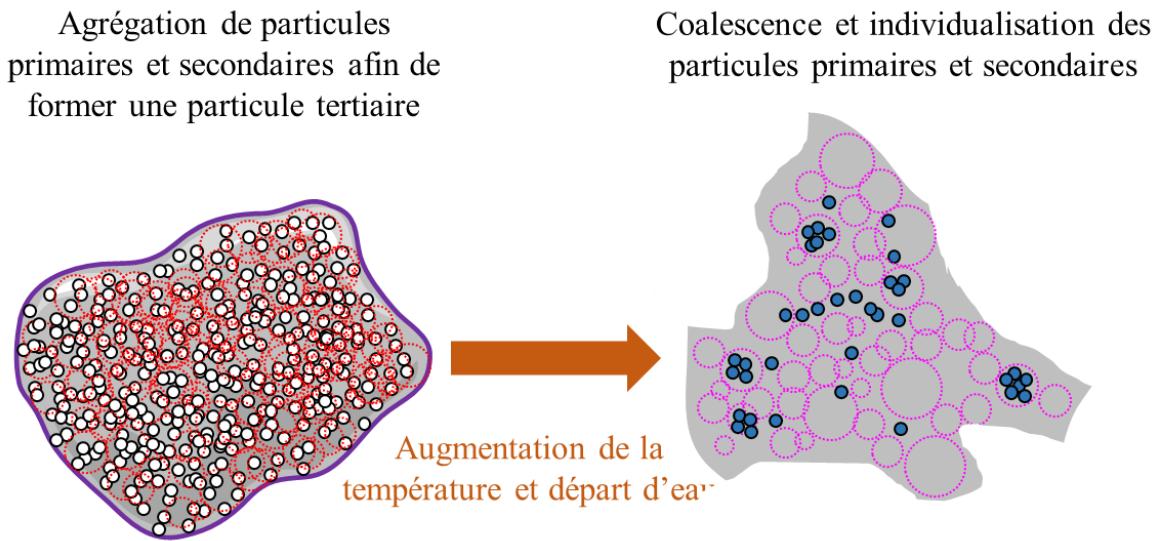
**Figure III - 9 : Image MET de nanocristaux d'apatite nanocrystalline (Drouet, 2009)**

Pour résumer, pour le matériau NaPYG-010, nous constatons une individualisation ainsi qu'une organisation des particules secondaires lorsque la température de séchage augmente. Pour le matériau NaPYG-030, nous observons une individualisation des particules primaires ainsi que la ségrégation de deux types de populations de particules bien distinctes. Enfin, pour le matériau NaPYG-050, nous avons formation de nanocristaux d'apatite enchevêtrés à l'intérieur de la population de particules amorphes secondaires individualisées pour  $T_{250^\circ\text{C}}$ . *Lotsari et al.* (Lotsari, 2018) ont montré la différence entre des phases cristallines (flèches rose) et amorphes dans une particule d'ACP (Figure III - 10). Nous remarquons que cette particule nanométrique secondaire (60 nm de diamètre) comprend plusieurs particules primaires qui peuvent être associées à une agrégation de clusters (d'environ 1 nm de diamètre). Cette partie amorphe est similaire à l'observation faite pour les matériaux NaPYG-010, -030 et -050 en fonction de la température de séchage (sauf pour  $T_{250^\circ\text{C}}$  où nous avons la présence de nanocristaux d'apatite).



**Figure III - 10 : Image TEM d'une particule d'ACP avec la barre d'échelle égale à 10 nm (Lotsari, 2018)**

Nous avons observé une modification de l'organisation des populations de particules selon la température de séchage du matériau. Elles sont moins denses et se trouvent sous forme de particules coalescées et non agrégées dans une autre particule tertiaire (Figure III - 11). Il est difficile de juger de l'évolution des particules primaires car elles ne sont pas toujours bien visibles sur les images en raison de la limite de résolution mais pour les particules secondaires, nous avons une plus grande étendue de tailles de particules en fonction de la température de séchage.



**Figure III - 11 : Schéma de l'évolution des particules primaires et secondaires lorsque la température de séchage augmente**

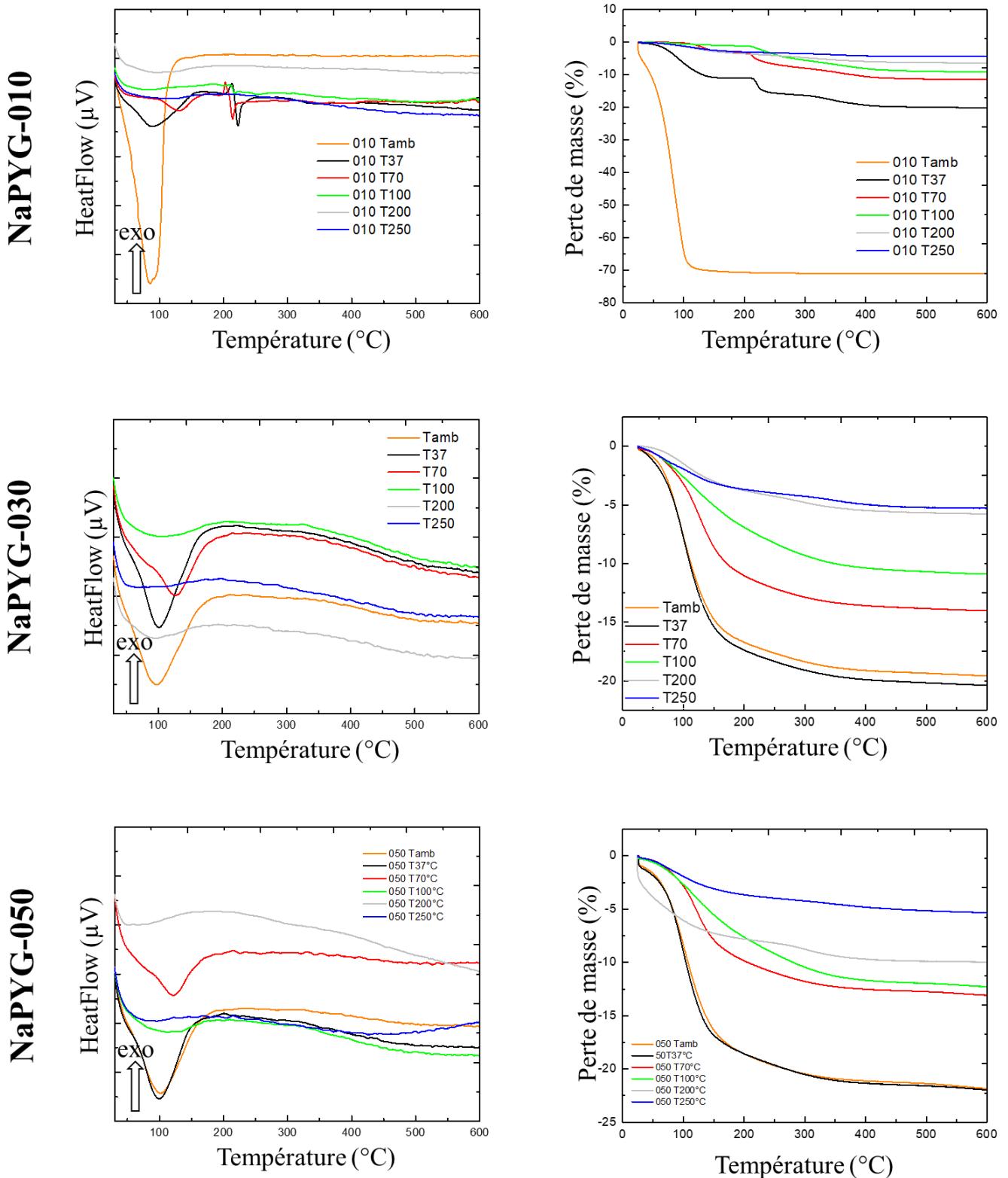
### III.2.7 Analyse thermique : ATG-ATD

L'eau est un constituant important des matériaux élaborés et sa libération a été suivie par analyse thermogravimétrique (ATG) et analyse thermique différentielle (ATD) afin de déterminer *in fine* la quantité d'eau dans les matériaux NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050 séchés à différentes températures. Le programme utilise une montée en température lente ( $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), avec un palier à  $600^{\circ}\text{C}$  pendant 30 min. La Figure III - 12 montre les courbes ATG/ATD pour les trois compositions de matériaux élaborés avec différentes températures de séchage.

Pour tous les échantillons NaPYG-0X0, il y a une perte de masse commune entre  $100^{\circ}\text{C}$  et  $200^{\circ}\text{C}$  associée à un pic endothermique et attribuable à de l'eau. Le Tableau III - 7 récapitule la perte de masse totale des différents matériaux

### Chapitre III - Influence de la température

élaborés en fonction de leur température de séchage. On note par ailleurs pour la composition NaPYG-010 une perte rapide vers 200°C pour les échantillons séchés à 37, 70 et 100°C.



**Figure III - 12 : Courbes ATD (à gauche) et ATG (à droite) des matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés avec différentes températures de séchage**

### Chapitre III - Influence de la température

Nous pouvons voir sur la Figure III - 12 que plusieurs phénomènes thermiques entrent en jeu en fonction de la composition et de la température de séchage. Pour le matériau NaPYG-010, nous avons un premier phénomène endothermique entre 30°C et 180°C. Pour les températures de séchage T<sub>37°C</sub> et T<sub>80°C</sub>, ce pic endothermique est décalé vers les plus hautes températures. En effet, il se trouve entre 30 °C et 156°C pour le matériau séché à T<sub>37°C</sub> tandis que pour celui séché à T<sub>70°C</sub> il se trouve entre 90°C et 175°C. Pour ces deux températures (37°C et 70°C), un autre phénomène thermique est constaté sur la Figure III - 12, en effet nous remarquons un phénomène particulier à la fois exothermique puis endothermique. Pour la température T<sub>37°C</sub>, ce phénomène se trouve dans un intervalle de 204 – 233°C avec le phénomène exothermique à 214°C et celui endothermique à 223°C. Pour la température T<sub>70°C</sub>, qui est le matériau de référence pour cette étude, ce phénomène se produit entre 198 et 222°C, avec le phénomène exothermique à 204°C et celui endothermique à 215°C. Ces phénomènes pourraient être assimilés à l'hydrolyse interne des ions pyrophosphate déjà mise en évidence par les analyses spectroscopiques RAMAN et de RMN en phase solide <sup>31</sup>P. Cette hydrolyse des pyrophosphates en HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, n'a pas lieu à une température identifiée mais plutôt de façon progressive.

Concernant la perte de masse, nous remarquons une très importante perte de masse (65,9%) pour le matériau NaPYG-010 à T<sub>amb</sub>, puis une diminution de cette perte de masse lorsque la température de séchage est plus élevée et jusqu'à 4,2% pour le matériau NaPYG-010 à T<sub>250°C</sub>. Comme nous l'avons déjà indiqué dans la partie III.1.2, le matériau NaPYG-010 à T<sub>amb</sub> se présente sous la forme d'un gel (très hydraté) : il est ainsi normal de voir une perte d'eau aussi élevée et très différente de celle mesurée pour le même matériau séché à une température légèrement supérieure (37°C) et au-delà.

**Tableau III - 7 : Pourcentages massiques correspondant aux pertes de masse pour les matériaux NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050 élaborés à différentes températures de séchage**

| Perte mass. (%)  | T <sub>amb</sub> | T <sub>37°C</sub> | T <sub>70°C</sub> | T <sub>100°C</sub> | T <sub>200°C</sub> | T <sub>250°C</sub> |
|------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>NaPYG-010</b> | 65,9 ± 0,5       | 18,9 ± 0,5        | 11,1 ± 0,5        | 8,6 ± 0,5          | 5,6 ± 0,5          | 4,2 ± 0,5          |
| <b>NaPYG-030</b> | 18,6 ± 0,5       | 19,7 ± 0,5        | 13,4 ± 0,5        | 10,6 ± 0,5         | 5,7 ± 0,5          | 5,1 ± 0,5          |
| <b>NaPYG-050</b> | 20,3 ± 0,5       | 20,3 ± 0,5        | 12,4 ± 0,5        | 11,6 ± 0,5         | 7,2 ± 0,5          | 5,1 ± 0,5          |

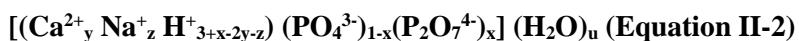
Pour les matériaux NaPYG-030 et -050, nous n'observons pas la succession de phénomènes exo-/endothermiques sur la Figure III - 12. En effet, ils ne présentent qu'un phénomène endothermique entre 30 et 190°C pour les matériaux NaPYG-030 et entre 40 et 180 °C pour les matériaux NaPYG-050. De plus, leur séchage à T<sub>70°C</sub> conduit à un matériau qui présente un décalage de ce pic endothermique vers les températures plus élevées. Le Tableau III - 7 nous montre que ces deux compositions de matériaux ont des pertes de masse similaires lorsqu'ils sont séchés entre T<sub>amb</sub> et T<sub>70°C</sub>, ensuite plus la température de séchage augmente plus cette perte de masse diminue pour atteindre une perte de masse équivalente (5,1%) pour les matériaux NaPYG-030 et 050 à T<sub>250°C</sub>.

Contrairement à ce qui est décrit dans la thèse de Pierre Gras (Gras, 2014) portant sur les pyrophosphates de calcium hydratés cristallisés ou amorphes, la Figure III - 12 nous montre qu'il n'y a pas de phénomène exothermique vers 220°C qui pourrait justifier l'hypothèse de l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate. Toutefois, ces échantillons sont différents sur deux points : premièrement dans les matériaux NaPYG-0X0 testés nous avons également la présence d'ions orthophosphate et deuxièmement l'hydratation des composés n'est pas la même. En fait, il semble

que la réaction d'hydrolyse, mise en évidence grâce aux spectroscopies Raman et RMN, commence à basse température peut-être en raison de la forte proportion d'eau dans les matériaux NaPYG-0X0, le pic exothermique qui devrait lui être associé, serait très étalé et masqué par la forte absorption de chaleur nécessitée par le départ d'eau. S'il est évident que les matériaux NaPYG-0X0 n'ont pas la même configuration que celles des CPP amorphes et cristallisés étudiés par Pierre Gras (Gras, 2014) , ces derniers sont les seules bases de données dont nous disposons et il paraît important de situer nos échantillons parmi leurs plus proches voisins.

### III.3 Discussion et corrélation des résultats

Les résultats RMN ainsi que le dosage chimique (dosage par ICP-OES du Ca, P et Na, non décrit ici) des matériaux NaPYG-0X0 en fonction de leur température de séchage, ont permis de déterminer et de proposer une formule chimique pour chacun des composés NaPYG-010, -030 et -050 élaborés avec différentes températures de séchage (Tableau III - 8) ; comme dans le Chapitre II, elle se base sur la formule générale ci-dessous :



où x, y, z et u sont les coefficients stœchiométriques.

**Tableau III - 8 : Formules chimiques des matériaux NaPYG-010, -030 et -050 élaborés avec différentes températures de séchage**

| Compositions     | Températures       | Formules chimiques  |
|------------------|--------------------|---|
| <b>NaPYG-010</b> | T <sub>37°C</sub>  | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,73</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,23</sub> H <sup>+</sup> <sub>0</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,35</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,65</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>16,53</sub>   |
|                  | T <sub>70°C</sub>  | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,62</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,22</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,11</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,44</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,56</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>8,54</sub> |
|                  | T <sub>250°C</sub> | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,58</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,19</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,18</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,53</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,57</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>3,24</sub> |
| <b>NaPYG-030</b> | T <sub>37°C</sub>  | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,62</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,1</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,06</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,6</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,4</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>14,68</sub>   |
|                  | T <sub>70°C</sub>  | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,59</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,08</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,09</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,64</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,36</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>8,96</sub> |
|                  | T <sub>250°C</sub> | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,35</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,08</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,49</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,73</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,27</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>3,01</sub> |
| <b>NaPYG-050</b> | T <sub>37°C</sub>  | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,5</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,04</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,12</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,82</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,18</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>12,82</sub> |
|                  | T <sub>70°C</sub>  | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,51</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,05</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,11</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,84</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,16</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>7,11</sub> |
|                  | T <sub>250°C</sub> | [(Ca <sup>2+</sup> ) <sub>1,47</sub> Na <sup>+</sup> <sub>0,04</sub> H <sup>+</sup> <sub>0,18</sub> ] (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ) <sub>0,85</sub> (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> ) <sub>0,15</sub> ]. H <sub>2</sub> O <sub>2,67</sub> |

Nous constatons que lorsque la température de séchage du matériau NaPYG-010 augmente, il y a une augmentation significative des ions orthophosphate associée à la diminution des ions pyrophosphate. Le calcium et le sodium restent constants. Ces évènements, confirment l'hydrolyse des ions pyrophosphate en hydrogénophosphate lorsque la température de séchage augmente.

Pour le matériau NaPYG-030, les mêmes remarques peuvent être faites. Néanmoins, nous pouvons supposer que l'augmentation de la quantité de protons ainsi que celle des ions orthophosphate pourraient indiquer la formation d'ions hydrogénophosphate due à l'hydrolyse des ions pyrophosphate lorsque la température de séchage augmente pour le NaPYG-030 (proportion équivalente en ions ortho- et pyrophosphate), encore plus marqué pour le matériau NaPYG-010).

Le matériau NaPYG-050, qui est le matériau qui contient le moins d'ions pyrophosphate, ne présente aucun changement visible dans ses proportions d'ortho-, de pyrophosphate, de calcium et de sodium. Toutefois, en DRX, nous avons vu que le matériau NaPYG-050 à  $T_{250^\circ\text{C}}$  était constitué d'une apatite nanocristalline et d'une phase amorphe. Ce qui voudrait dire qu'à  $250^\circ\text{C}$ , la partie des ions pyrophosphate hydrolysés aurait permis de former une apatite nanocristalline mal cristallisée. Toutefois les analyses par DRX et RMN du solide montre respectivement la présence également d'un halo diffus (DRX) et d'un pic supplémentaire caractéristique d'un autre environnement pyrophosphate (RMN du solide) qui peuvent attester de la présence d'une seconde phase amorphe minoritaire composée en effet d'ions ortho- et de pyrophosphate ou la présence d'ions pyrophosphate dans l'apatite. Nous pouvons penser que pour les compositions avec majoritairement des ions pyrophosphate, nous pourrons chauffer encore un peu afin d'obtenir un matériau anhydre composé à la fois d'ions ortho- et pyrophosphate. En effet, le MET suggère que les grains millimétriques des matériaux NaPYG-0X0 amorphes ne sont pas formés d'un réseau continu mais par l'agrégation de nanoparticules intégrées à une organisation hiérarchique. Compte tenu de la grande quantité d'eau présente dans la matrice des matériaux NaPYG-0X0, on pourrait envisager qu'une partie de celle-ci ne soit pas une eau de surface mais une eau interstitielle présente dans les espaces intercolloïdaux. La Figure III - 7, nous montre que lorsque la température augmente, nous avons pour les matériaux NaPYG-010, -030 et -050 une individualisation des particules (primaires et secondaires). Ainsi, comme dans le cas de l'ACP, il est envisageable que l'eau joue un rôle clé dans la cohésion et donc dans la désorganisation de la matrice (lors de la montée en température) et pourrait servir de couche hydratée réactive impliquée dans la formation des nanocristaux d'apatite.

### III.4 Conclusion

En résumé, cette étude a démontré que les matériaux amorphes NaPYG-0X0 présentent une stabilité thermique exceptionnelle pour des matériaux amorphes. Nous pouvons contrôler le rapport pyro-/orthophosphate dans le matériau final en faisant varier la température de séchage et le matériau reste amorphe au moins jusqu'à  $T_{250^\circ\text{C}}$  pour deux des trois compositions de matériaux étudiées (pour le NaPYG-050, le composé reste amorphe jusqu'à  $200^\circ\text{C}$ ). De plus, les matériaux NaPYG-0X0 sont des matériaux composés entre autres d'ions pyrophosphate, ce qui fait qu'il est sujet à l'hydrolyse favorisée notamment par une élévation de température. Néanmoins, comme décrit précédemment et dans la littérature, cette hydrolyse peut être observée suivant deux processus différents : une hydrolyse interne, se produisant par réaction de l'eau contenue dans les différentes phases au sein du solide, et une hydrolyse externe, ayant lieu en solution (Slater, 2011). Au vu du pH d'élaboration plutôt basique, l'hypothèse de l'hydrolyse interne durant le traitement de séchage est la plus probable. En effet, l'hydrolyse interne a déjà été observée dans des phases amorphes type a-CPP à température modérée, dès  $37^\circ\text{C}$  (Gras, 2014). Les molécules d'eau contenues dans la phase amorphe réagissent avec les molécules de pyrophosphate environnantes pour former de faibles quantités d'ions orthophosphates (Slater, 2011). Ce qui semble être le cas, pour les matériaux NaPYG-010, -030 et -050 pour des températures inférieures à  $200^\circ\text{C}$ . Au-delà de cette température, nous avons potentiellement un phénomène de recondensation des ions orthophosphate en pyrophosphate qui se produit en fonction de la quantité initiale d'ions pyrophosphate présents. Ainsi, suivant les conditions de synthèse utilisées, d'importantes quantités d'ions ortho- et hydrogénophosphate peuvent potentiellement se former grâce à l'hydrolyse des ions pyrophosphate. Cette hydrolyse justifierait aussi la formation d'apatite nanocristalline pour le NaPYG-050 à  $T_{250^\circ\text{C}}$ .

### Chapitre III - Influence de la température

La stabilité de ces matériaux amorphes lors d'une augmentation modérée de la température est probablement liée à la flexibilité des ions pyrophosphate, qui augmente le désordre et empêche la cristallisation. Cette flexibilité (observation générale faite sur les ions pyrophosphate) permet ainsi une réorganisation des ions en fonction du départ d'eau dans la matrice. La rétention d'eau est elle aussi importante, car elle suggère qu'une eau fortement liée est également essentielle pour assurer la stabilité de ces phases amorphes et peut avoir des implications pour d'autres matériaux amorphes hydratés. La stabilité à long terme de ces matériaux amorphes à la température ambiante et leur stabilité relative jusqu'à des températures élevées ( $T_{250^\circ\text{C}}$ ) par rapport à de nombreuses phases amorphes permet d'envisager des voies de mise en forme à température modérée. En effet, les molécules d'eau semblent importantes dans la cohésion mais pas seulement, car elles assurent la diffusion des ions et ainsi la réactivité des matériaux NaPYG-0X0. La quantification de la perte de molécules d'eau en une ou plusieurs étapes est importante afin d'estimer la réactivité de ces matériaux en fonction du procédé de mise en forme qui sera envisagé.

Comprendre l'effet de la température de séchage a permis de comprendre le mécanisme de formation de ces nouveaux matériaux amorphes NaPYG-0X0, basé sur l'évolution de la suspension colloïdale d'un matériau hydraté. Les matériaux NaPYG-0X0 se forme par précipitation lors du mélange des solutions, durant le mélange se forme les colloïdes en solution. Par centrifugation, ces colloïdes s'agglomèrent afin de former des nanoparticules. Ces nanoparticules seront plus ou moins grosses en fonction de la température de séchage et de l'eau interstitielle présente dans la matrice. Cette évolution n'est pas homogène selon la composition des matériaux NaPYG-0X0. En effet comme les proportions d'ortho- et de pyrophosphate ne sont pas constantes, ainsi que des nanoparticules dépendant de la proportion initiale en ortho- et pyrophosphate mais aussi de la proportion finale induite par la température élevée favorisant l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions hydrogénophosphate. D'un point de vue de la formation colloïdale, il ne faut pas négliger la perte d'eau résiduelle, car nous avons vu que cette dernière faisait partie intégrante de la structure des matériaux amorphes NaPYG-0X0. La perte des molécules d'eau favoriserait ainsi les agrégations de nanoparticules afin de permettre la croissance des particules primaires et secondaires Figure III - 11.

Afin de justifier toutes ces hypothèses, des caractérisations par SAXS ont été entreprises en collaboration avec Pierre Roblin sur la plateforme de caractérisation de la Fédération FERMAT afin de déterminer la taille, la forme et l'organisation des nanoparticules lors de la formation des matériaux NaPYG-0X0. Ces caractérisations ont été réalisées sur les différentes étapes de la synthèse, c'est-à-dire à l'état liquide lors de l'ajout de la solution de calcium dans la solution de phosphates (cinétique), à l'étape de suspension colloïdale, lors de l'étape gel et enfin sur le matériau final (sous forme de poudre). Ces différentes acquisitions en fonction des différentes étapes du protocole nous permettront de confirmer la formation colloïdale et ainsi d'affiner le mode de formation des matériaux NaPYG-0X0. De plus, nous pourrons par la suite estimer les conditions d'hydrolyse des entités pyrophosphate en orthophosphate. Ces estimations pourront servir de base afin de décrire et mieux appréhender les différentes observations qui seront faites avec ces matériaux amorphes lors de leur interaction avec des milieux, des cellules et tissus notamment lors de tests *in vitro* et *in vivo*.

## **Chapitre IV :**

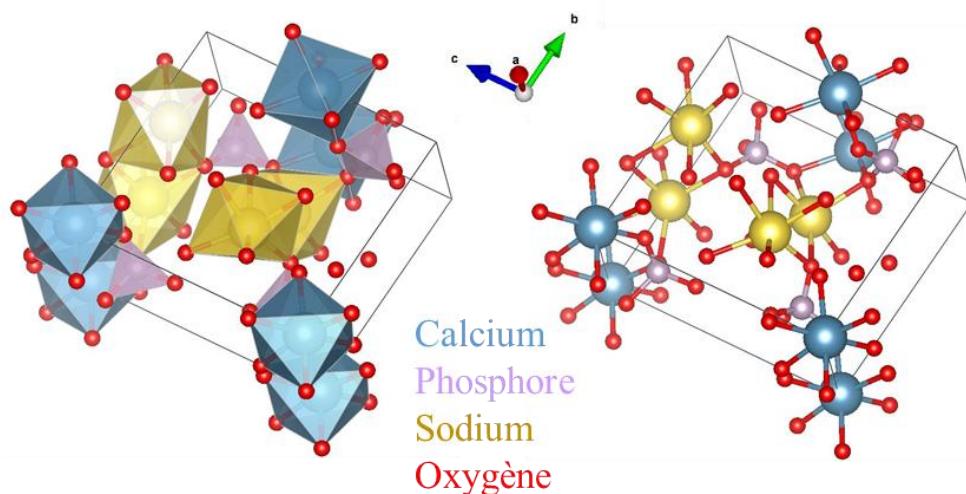
Etude de la phase cristallisée de pyrophosphate de calcium et de sodium tétrahydraté : la canaphite

Lors de l'étude de l'influence de la proportion d'ions pyrophosphate initialement présents en solution sur la composition et la structure des matériaux mixtes ortho- et pyrophosphates de calcium synthétisés (Chapitre II), nous avons constaté la formation de phases cristallisées pour les compositions « extrêmes » NaPYG-000 et -060 : celle uniquement composée d'ions orthophosphate, l'apatite, et celle composée uniquement d'ions pyrophosphate, la canaphite  $\alpha$ . La canaphite  $\alpha$  ( $\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) a été décrite dans la littérature, sous sa forme naturelle par des géochimistes mais sa synthèse a été peu étudiée et la caractérisation de la canaphite  $\alpha$  synthétique peu décrite. Dans ce chapitre, nous allons synthétiser et caractériser la canaphite grâce à diverses techniques complémentaires de caractérisation pour aller jusqu'à la description la plus fine possible de sa structure. Par ailleurs, une étude de l'effet de la température de séchage sur cette phase lors de sa synthèse a été entreprise, afin de déterminer ses propriétés thermiques et de mettre en évidence les éventuels phénomènes d'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate lors d'une augmentation de la température de séchage comme déjà observé pour les matériaux amorphes NaPYG-0X0 (Chapitre III).

## IV.1 Les variétés polymorphes de pyrophosphate de calcium et sodium tétrahydraté : la canaphite

### IV.1.1 Etat de l'art

La canaphite de formule :  $\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , se présente sous trois formes allotropiques, la phase  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . Dans la littérature, nous trouvons soit des informations cristallographiques sur la phase  $\alpha$  naturelle (Rouse, 1988) soit des données cristallographiques et vibrationnelles sur la phase  $\alpha$  synthétique (Cheng, 1980; Hubert Joe, 1991). Les phases allotropiques  $\beta$  et  $\gamma$  sont citées mais pas détaillées que ce soit dans leur protocole de synthèse ou concernant leur caractérisation. Dans cette partie nous allons plus particulièrement nous intéresser à la phase  $\alpha$ . Grâce aux données cristallographique publiées par Cheng *et al.* (Cheng, 1980) il a été possible à l'aide du logiciel *Vesta* d'avoir une représentation de la structure de la phase  $\alpha$  de la canaphite (Figure IV - 1), avec comme seul type d'atomes manquant, les atomes d'hydrogène.



**Figure IV - 1 :** Représentations tridimensionnelles de la maille élémentaire de la canaphite  $\alpha$  (fiche ICSD n°26015) obtenues à l'aide du logiciel VESTA à partir des bases de données de *Acta Crystallographica* (Cheng, 1980).

Cette phase a été synthétisée dans le cadre d'études sur la pseudo-goutte, maladie associée à des dépôts de cristaux de pyrophosphates de calcium dihydratés dans les articulations des patients. Cheng et Pritzker ont synthétisé ces phases dans un milieu de type hydrogel mimant le liquide synovial (Cheng, 1980). La synthèse débute par la fabrication d'un hydrogel contenant du pyrophosphate de sodium sur lequel on appose une couche de solution liquide de chlorure de calcium. La diffusion de cette couche de chlorure de calcium supérieure vers l'intérieur de l'hydrogel forme des cristaux de formule chimique :  $\alpha\text{-CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7\cdot4\text{H}_2\text{O}$  avec des paramètres de maille monoclinique répertoriés dans le Tableau IV - 1.

**Tableau IV - 1 : Paramètres de maille et symétrie de la phase  $\alpha$  de la canaphite formées lors des travaux de Cheng *et al.***  
**(Cheng, 1980)**

| Paramètres         | Symétrie     | Volume                | a          | b          | c           | $\beta$     |
|--------------------|--------------|-----------------------|------------|------------|-------------|-------------|
| Canaphite $\alpha$ | Monoclinique | 495,31 Å <sup>3</sup> | 5,689(6) Å | 8,586(8) Å | 10,565(9) Å | 106,300(1)° |

Les données vibrationnelles publiées par Hubert Joe *et al.* (Hubert Joe, 1991) se basent aussi sur ce mode de synthèse et seront détaillées plus loin dans la partie IV.2.3.

Dans le présent travail de thèse, la canaphite  $\alpha$  a été obtenue comme constituant principal cristallisé du matériau NaPYG-000 élaboré à partir d'une solution de précurseur contenant 100% d'ions pyrophosphate (Chapitre II). Nous avons cherché à la synthétiser en adaptant, en le simplifiant, le protocole de synthèse du matériau NaPYG-000 puis nous avons entrepris une caractérisation physico-chimique fine grâce à des techniques complémentaires afin d'approfondir nos connaissances sur ce composé encore mal connu. Nous avons également étudié l'effet d'un paramètre de la synthèse de la canaphite  $\alpha$  : la température de séchage lors de la dernière étape de sa synthèse.

### IV.1.2 Protocole de synthèse de la canaphite $\alpha$

Si l'on se base sur le diagramme ternaire du Chapitre II partie II.1.1. Figure II.1, la canaphite correspond à la composition où nous avons 100% de pyrophosphate dans la solution initiale de précurseurs phosphates. Toutefois, nous avons vu que le NaPYG-000, n'était pas une phase pure mais qu'elle contenait une partie amorphe. (Chapitre II Partie II.2.2.2.).

La synthèse de la phase canaphite pure a donc nécessité une adaptation de ce protocole. Certains paramètres tels que la concentration, le mode de filtration ou encore le temps de mélange ont été modifiés comme nous le montre la Figure IV - 2. La synthèse est réalisée par ajout de la solution de précurseur de calcium (2,11 g de sel de chlorure de calcium, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O dissout dans 80 mL d'eau désionisée) dans la solution de précurseur pyrophosphate (Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> : 17,71 g pyrophosphate de sodium anhydre (Chapitre II) dissout dans 800 mL d'eau désionisée) agitée à température ambiante (environ 20°C). Cette addition a été réalisée grâce à une pompe péristaltique à un débit de 32 mL/min. Les premiers précipités blancs apparaissent dès l'ajout de la solution A dans la solution B. Après ajout, la solution est laissée à maturer durant 20 h sous agitation lente. La solution est ensuite filtrée sur un filtre millipore (pores de 0.2 µm de diamètre). La poudre humide obtenue est lavée sur le filtre avec 800 mL d'eau désionisée et filtrée. Le précipité filtré est récupéré et ensuite mis à sécher durant 1 nuit à 37°C.

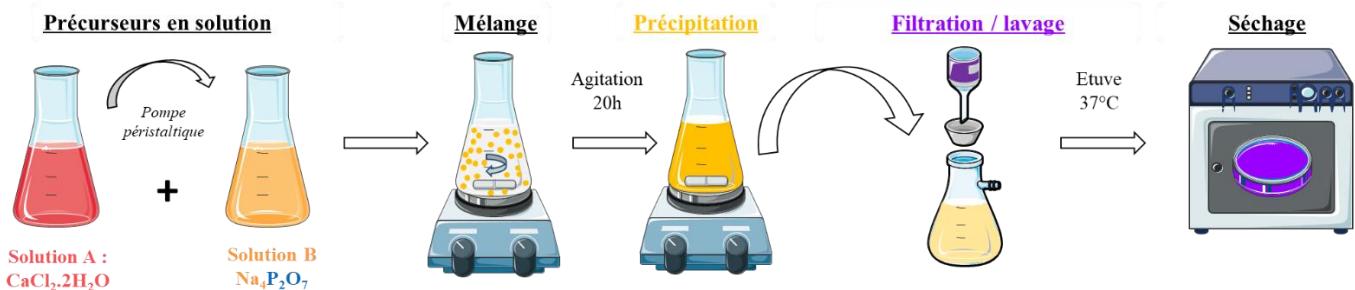


Figure IV - 2 : Schéma des étapes du protocole de synthèse de la canaphite  $\alpha$  adapté de celui du matériau NaPYG-000

Le matériau final obtenu est une poudre fine et blanche ; elle est caractérisée par diverses techniques puis stockée au congélateur afin d'éviter toute éventuelle évolution pendant son stockage.

## IV.2 Caractérisation moléculaire, structurale et morphologique de la canaphite $\alpha$

### IV.2.1 Caractérisation par diffraction des rayons X

La poudre de canaphite  $\alpha$  synthétisée a été caractérisée par diffraction des rayons X. Sur la Figure IV - 3, nous constatons, que la canaphite  $\alpha$  synthétisée correspond bien à la canaphite  $\alpha$  de référence, (fiche ICSD n° 26015) (Cheng, 1980), bien que la résolution des raies soit inférieure à celle du diagramme RX du composé de référence. Le pic vers 15° est un pic parasite lié à l'appareil.

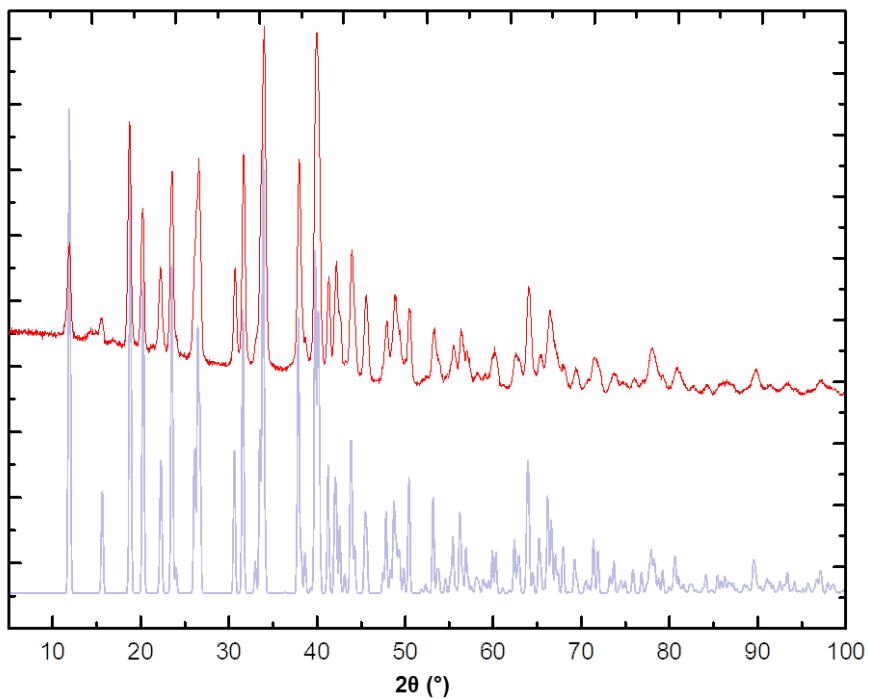
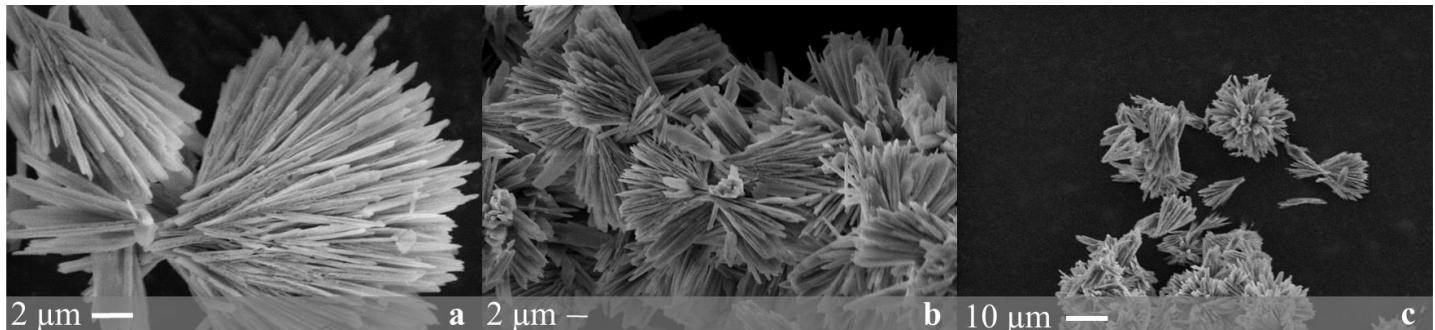


Figure IV - 3 : Diffractogramme RX de la canaphite  $\alpha$  synthétisée (acquisition anticathode Cobalt :  $\lambda(K\alpha) = 1,788970 \text{ \AA}$ ) (en rouge) comparé à celui d'un monocristal de canaphite  $\alpha$  synthétique correspondant à la fiche ICSD n° 26015 (en bleu) (Cheng, 1980)

## IV.2.2 Observations par microscopie électronique à balayage

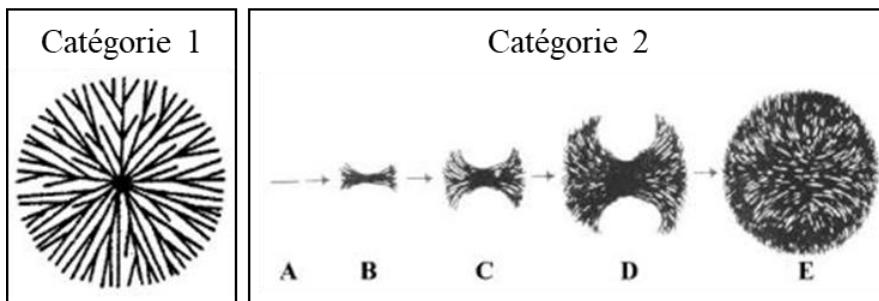
Les micrographies MEB (Figure IV - 4) montrent à différentes échelles les cristaux de la canaphite  $\alpha$  synthétisée.



**Figure IV - 4 : Microographies MEB à différentes échelles de la canaphite  $\alpha$  synthétisée**

La canaphite  $\alpha$  synthétisée se présente sous forme de fagots de cristaux avec une géométrie bien définie et une croissance apparente d'aiguilles ou plaquettes fines depuis le milieu du fagot. Ces aiguilles font environ 11  $\mu\text{m}$  de longueur, 0,1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur et une largeur de 2  $\mu\text{m}$ . Cette morphologie des cristaux nous rappelle celle observée pour NaPYG-000 (Chapitre II Partie II.2.5 Figure II-13) qui contenait en plus une partie amorphe.

Nous pouvons supposer que les agglomérats de cristaux du composé synthétisé correspondent aux sphérolites précédemment décrites pour ce type de cristallisation en aiguilles (Figure IV - 5) (Gránásy, 2005). Plus précisément à la formation de sphérolites de catégorie 2 comme l'a décrit Pierre Gras lors de son étude de l'évolution à pH et température fixes de cristaux de la phase monoclinique de pyrophosphate de calcium dihydraté (m-CPPD :  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Gras, 2014).



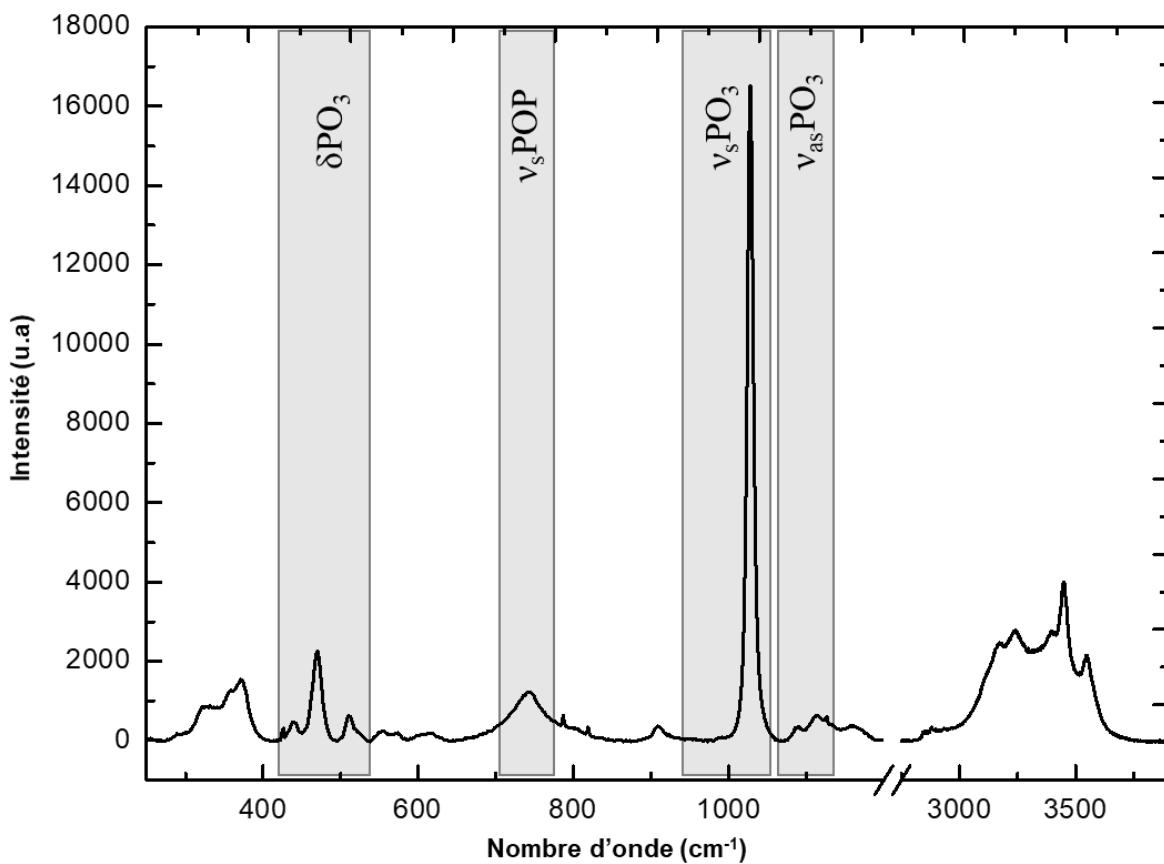
**Figure IV - 5 : Schéma de la formation de sphérolites de catégorie 1 (à gauche) et 2 (à droite) (Gránásy, 2005)**

Les sphérolites sont formées dans les solides élaborés dans des conditions hors équilibre. Le mécanisme de croissance des sphérolites se base sur la formation initiale d'un cristal, aciculaire dans le modèle de la Figure IV - 5 suivie de sa croissance. Les sphérolites se développent radialement à partir d'un site de nucléation sur un cristal déjà formé : pour les catégories de type 1, ce développement se fait à l'aide de ramification tandis que pour les catégories de type 2, le développement se fait par croissance depuis le centre vers l'extrémité des aiguilles. La taille de la sphérolite de type 2 augmente au cours du temps (temps de maturation), autant par le recouvrement de l'espace formé entre les deux demi-sphères la constituant que par l'augmentation de la taille des cristaux composants la sphérolite, jusqu'à ce que cette dernière devienne complète. Au vu des micrographies MEB, il semblerait que la croissance de la canaphite  $\alpha$  se produit

de la même façon : d'abord, il y a présence d'un germe au centre puis croissance des feuillets pour former des fagots comme dans le cas de sphérolites de catégorie 2. Néanmoins, deux hypothèses peuvent être faites : soit la canaphite  $\alpha$  n'a pas fini sa cristallisation soit elle a une cristallisation qui s'arrête entre les étapes C et D de la Figure IV - 5.

### IV.2.3 Caractérisation par spectroscopie Raman

La spectroscopie RAMAN permet une identification claire et rapide des différents ions phosphates. Les ions pyrophosphate présentent une certaine « flexibilité » liée à la possible variation de la valeur de l'angle de la liaison P-O-P en fonction de la structure dans lequel l'ion pyrophosphate est intégré (I. D. Brown & and Calvo, 1970). En effet, la configuration de l'ion varie d'une composition à une autre et est caractéristique de la structure analysée. La Figure IV - 6 montre le spectre Raman de la canaphite  $\alpha$  synthétisée.



**Figure IV - 6 : Spectre Raman de la canaphite  $\alpha$  synthétisée**

L'attribution des bandes (Tableau IV - 2) se base sur les vibrations caractéristiques des liaisons des groupements  $\text{PO}_3$  et celles des liaisons P-O-P. Au-delà des attributions de bandes faites par Hubert *et al.* (Hubert Joe, 1991), des bandes de vibration relativement intenses correspondant aux liaisons O-H des molécules d'eau de structure se situent dans le domaine  $2800 - 3750 \text{ cm}^{-1}$  et sont caractéristiques d'une phase hydratée.

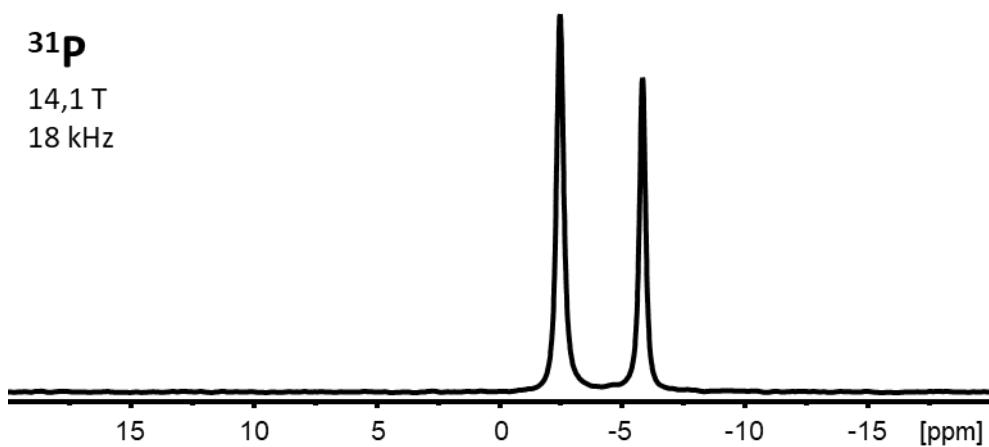
**Tableau IV - 2 : Position et attribution des bandes Raman ( $\text{cm}^{-1}$ ) pour canaphite  $\alpha$  synthétisée**

| Attributions   | Bandes Raman de la Canaphite $\alpha$ synthétisée au CIRIMAT |
|--|--|
| $\nu_1\nu_3(\text{H}_2\text{O}, \text{NH}_4)$          | 3451   |
| combinaison  | 2330   |
| $\nu_2\text{H}_2\text{O}, \nu_2\text{NH}_4 (\text{E})$ | 1662   |
| $\nu_{as}\text{PO}_3$                                  | 1115   |
| $\nu_s\text{PO}_3$                                     | 1030   |
| $\nu_{as}\text{POP}$                                   | 908  |
| $\nu_s\text{POP}$                                      | 741  |
| $\delta\text{PO}_3, \text{H}_2\text{O libration}$      | 514  |
| $\delta\text{PO}_3, \text{H}_2\text{O libration}$      | 472  |

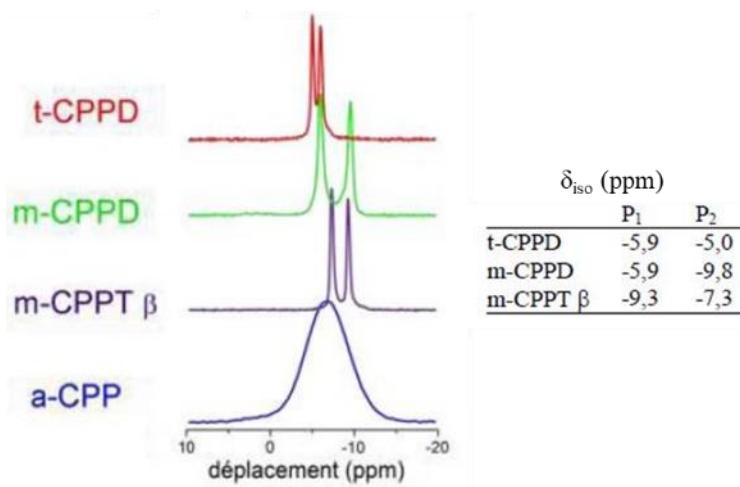
Malgré l'absence de certaines bandes de vibration sûrement due au manque de résolution lors de la caractérisation, nous retrouvons les bandes de vibration caractéristiques de la canaphite  $\alpha$  sans présence d'orthophosphate ou de bandes de vibration parasites annexes.

#### IV.2.4 Caractérisation par RMN en phase solide

La RMN du solide a été utilisée afin de sonder le noyau  $^{31}\text{P}$  (Figure IV-7) dans l'échantillon de canaphite  $\alpha$  synthétisée. Les spectres RMN ont été acquis *via* des expériences simple impulsion réalisées en collaboration avec Danielle Laurencin et Nicholai Jensen de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier, ainsi qu'avec Christian Bonhomme du Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris. Les paramètres d'acquisition des expériences RMN en phase solide sont détaillés dans l'annexe A8.

**Figure IV-7 : Spectre RMN du solide  $^{31}\text{P}$  MAS de la canaphite  $\alpha$  synthétisée.**

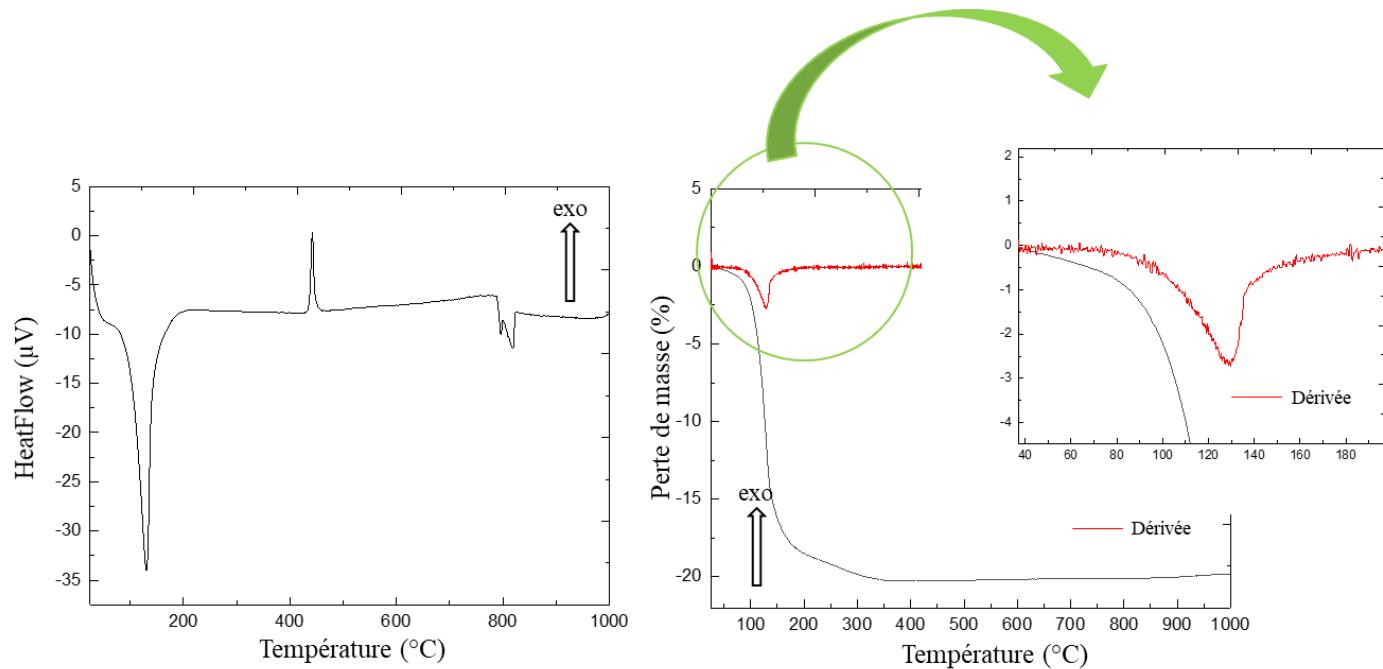
Sur la Figure IV-7, deux pics sont observés (-2,5 ppm et -5,8 ppm) : ils correspondent à l'unique entité pyrophosphate de l'unité asymétrique de la canaphite  $\alpha$ . D'autres phases de pyrophosphates de calcium hydratés telles que les phases t-CPPD, m-CPPD ou encore m-CPPT  $\beta$  décrites par Pierre Gras (Gras, 2014), présentent également deux signaux caractéristiques des ions pyrophosphates entre -5 et -10 ppm (Figure IV - 8).



**Figure IV - 8 : Spectres RMN-MAS  $^{31}\text{P}$  et déplacements chimiques (ppm) des composés cristallisés de pyrophosphates de calcium hydratés : m-CPPD, t-CPPD, m-CPPT  $\beta$  et a-CPP (Gras, 2014).**

#### IV.2.5 Analyses thermiques : ATG-ATD

Des analyses thermogravimétrique (ATG) et thermique différentielle (ATD) ont été réalisées afin de vérifier le nombre de molécules d'eau de structure de la canaphite  $\alpha$  synthétisée et également pour suivre l'évolution cette dernière en fonction de la température jusqu'à 1000°C à 5°C. min<sup>-1</sup> sous flux d'air (Figure IV - 9).



**Figure IV - 9 : Courbes ATD (à gauche) et ATG (à droite) de la canaphite  $\alpha$  synthétisée**

L'examen du thermogramme présenté sur la Figure IV - 9 montre que la perte de masse se produit en 2 étapes entre 70°C et 150°C (confirmée par la dérivée première). La perte de masse totale correspond à  $21,4 \pm 0,05$  % m/m ce qui est équivaut à  $3,92 \pm 0,09$  molécules d'eau, proche de la valeur attendue (4). Par analyse thermique différentielle, nous observons un pic exothermique vers 440°C ; nous pouvons supposer qu'il correspond à un phénomène de cristallisation, l'effet de la température sur la canaphite  $\alpha$  sera décrit dans la partie IV.4 de ce chapitre.

## IV.2.6 Analyses chimiques

Des analyses chimiques complémentaires ont été réalisées afin de déterminer les rapports atomiques Ca/P et Ca/Na de la canaphite  $\alpha$  synthétisée et les comparer aux rapports atomiques théoriques attendus (Ca/P = 0,5 et Ca/Na = 0,5). Le Tableau IV - 3 présente la quantité de Ca, Na et P présents dans 100 mg de canaphite  $\alpha$ .

**Tableau IV - 3 : Quantités en millimoles d'éléments calcium, phosphore et sodium dans 100 mg de canaphite  $\alpha$  synthétisée**

|                    | Ca (mmol/100 mg)  | P (mmol/100 mg)   | Na (mmol/100 mg)  | Ca/P              | Ca/Na             |
|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Canaphite $\alpha$ | 0,298 $\pm$ 0,002 | 0,587 $\pm$ 0,004 | 0,592 $\pm$ 0,001 | 0,508 $\pm$ 0,006 | 0,503 $\pm$ 0,003 |

Grâce aux dosages chimiques, nous voyons, que la canaphite  $\alpha$  synthétisée présente des rapports atomiques Ca/P et Ca/Na proches de ceux de la formule chimique théorique néanmoins, le rapport entre les ions inorganique et l'eau étant différent cela pourrait provenir d'éventuel défaut.

L'ensemble de cette première série de caractérisations a permis de démontrer notamment sur la base des analyses par RMN en phase solide des noyaux de phosphore que les ions pyrophosphate étaient à proximité de molécules d'eau (résultat non décrit). La synthèse de ce matériau de référence et la compréhension de sa structure fine seront très utiles par la suite afin de comprendre la formation des matériaux NaPYG-OXO notamment ceux avec les plus forts taux d'ions pyrophosphate. Ainsi, afin de préciser la structure de la canaphite  $\alpha$ , des analyses structurales plus poussées ont été réalisées. Une analyse par diffraction des rayons X sur la canaphite  $\alpha$  synthétisée a été réalisée sur la ligne Cristal du synchrotron Soleil en collaboration avec Erik Elkaim puis une analyse par diffusion des neutrons sur une canaphite  $\alpha$  deutérée également synthétisée au laboratoire a été réalisée en collaboration avec Florence Porcher du LLB (Laboratoire Léon Brillouin). Le but étant d'essayer de définir la structure en plaçant notamment les atomes d'hydrogène.

## IV.3 Elaboration de la canaphite deutérée pour des analyses structurales plus approfondies

Le protocole suivi pour la synthèse de la canaphite deutérée est le même que celui présenté sur la Figure IV - 2 mais il inclut l'utilisation d'eau lourde (eau deutérée D<sub>2</sub>O ; Sigma Aldrich, *Deuterium Oxide 99 atom % D*) à la place d'eau désionisée utilisée pour les solutions de précurseurs et le lavage ainsi qu'un certain nombre de précautions qui ont été prises afin d'éviter tout échange deutérium-hydrogène, notamment par contact avec la vapeur d'eau présente dans l'air pendant et après la synthèse de la canaphite deutérée. Les erlenmeyers contenant les solutions de précurseurs calcium et pyrophosphate ont été fermés à l'aide d'un bouchon puis d'un parafilm. Lors de l'ajout de la solution, de petits trous dans le parafilm ont été réalisés afin de permettre l'ajout de la solution calcium dans la solution d'ions pyrophosphate. Pour le séchage, la poudre obtenue a été mise directement au lyophilisateur 1 nuit. Après analyse, la poudre est stockée dans un premier temps dans un dessicateur avec une atmosphère saturée en eau deutérée puis au congélateur dans des sacs en plastique mis sous vide. Cette canaphite  $\alpha$  deutérée sera analysée par diffraction des neutrons ; cette technique est particulièrement adaptée au positionnement des atomes de faible numéro atomique mais ayant des longueurs de diffusion aux neutrons importantes, notamment pour les atomes d'hydrogène. La substitution des atomes d'hydrogène par des atomes de deutérium pouvant réduire l'absorption des neutrons permet un meilleur signal afin d'obtenir une

résolution plus fine des pics et donc de la structure. En ce qui concerne la RMN en phase solide de cette canaphite deutérée, l'abondance naturelle de l'hydrogène étant de 99,98%, celle du deutérium est comprise entre 0,0026 et 0,0184%, ce qui laisse envisager un meilleur signal ainsi qu'une meilleure résolution des pics RMN de la canaphite  $\alpha$  deutérée.

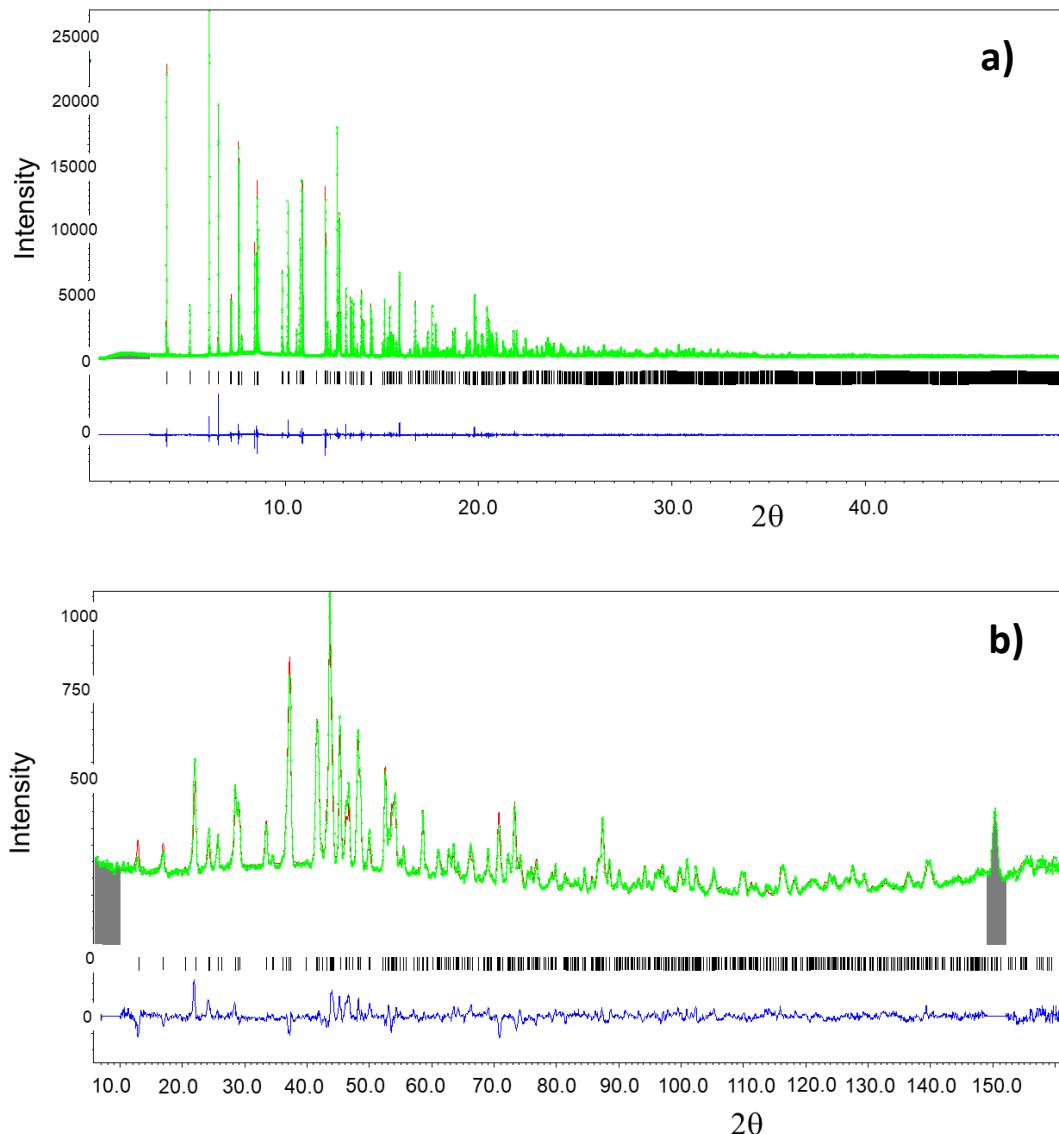
### IV.3.7 Synthèse et caractérisation de routine

La caractérisation n'a pas été aisée car les  $^2\text{D}$  s'échangent très rapidement avec les  $^1\text{H}$  de l'air. Ainsi, la plupart des analyses au laboratoire étant réalisées « à l'air libre », elles ne permettent pas de caractériser de cette canaphite  $\alpha$  deutérée dans de bonnes conditions. En effet, les temps d'acquisition des spectres (Infrarouge, Raman) et diagrammes (DRX) ne permettent pas d'éviter l'échange deutérium-hydrogène. Si pour les diagrammes de diffraction ces échanges sont sans conséquence, ce n'est pas le cas pour les spectres vibrationnels. L'échantillon deutérée a été ensuite analysé par RMN en phase solide à -40°C et diffraction des neutrons également à -40°C.

### IV.3.8 Diffraction des RX et des neutrons

Grâce à la diffraction des RX réalisée sur la ligne synchrotron Soleil et la diffraction des neutrons réalisée au LLB, il a été possible d'avoir une meilleure qualité de diagrammes permettant d'envisager la résolution de la structure de la canaphite  $\alpha$  (Figure IV - 10).

Après un premier affinement Rietveld des données DRX synchrotron sur la canaphite non-deutérée effectué par Pierre Gras, il n'a pas été difficile de placer les atomes d'hydrogène de la structure (Figure IV-10a). Nous avons donc décidé de réaliser une analyse de la canaphite  $\alpha$  deutérée par diffraction des neutrons au LLB en collaboration avec Florence Porcher (Figure IV-10b).



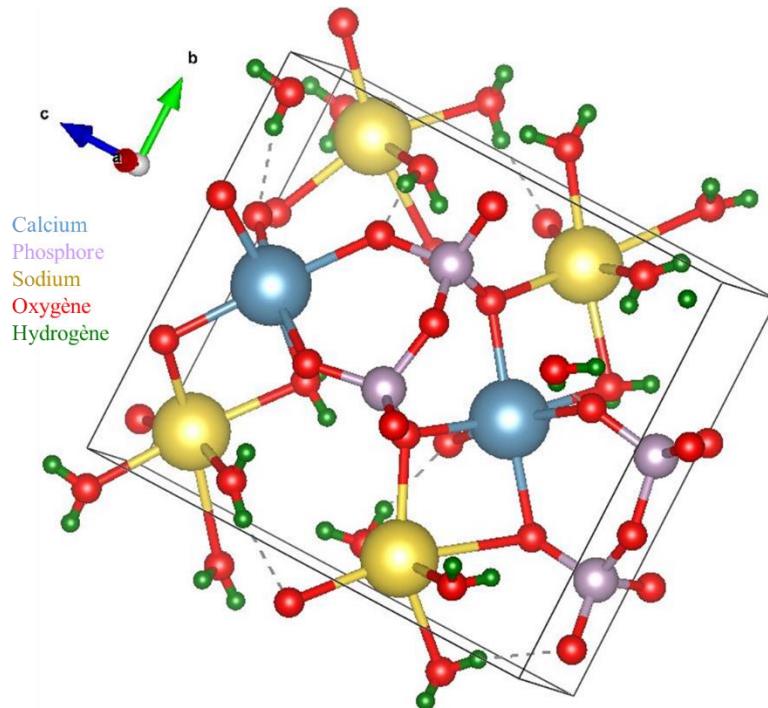
**Figure IV - 10 : Diffractogramme de RX obtenue sur la ligne Cristal du synchrotron Soleil et affinement Rietveld (a) et diffractogramme neutrons obtenu au LLB et affinement Rietveld (b) pour la canaphite  $\alpha$  synthétisée (non deutérée (a) et deutérée (b)).**

Un affinement plus poussé en combinant les données de diffraction RX et neutrons a permis de résoudre complètement la structure incluant le positionnement des atomes d'hydrogène dans la maille (Tableau IV - 4).

**Tableau IV - 4 : Paramètres de maille et symétrie de la canaphite  $\alpha$  synthétisée**

| Paramètres                           | Symétrie     | Volume ( $\text{\AA}^3$ ) | a ( $\text{\AA}$ ) | b ( $\text{\AA}$ ) | c ( $\text{\AA}$ ) | $\beta$ ( $^\circ$ ) |
|--------------------------------------|--------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| <b>Canaphite <math>\alpha</math></b> | Monoclinique | 495,936(1)                | 5,690940<br>(7)    | 8,58811<br>(1)     | 10,50960<br>(1)    | 105,09130<br>(10)    |

Avec le logiciel Vesta, il a été possible d'avoir une représentation de la maille avec les atomes d'hydrogène positionnés.



**Figure IV - 11 : Représentation tridimensionnelle de la maille élémentaire monoclinique de la canaphite  $\alpha$  synthétisée, avec placement des atomes d'hydrogène en considérant les données de diffraction des RX et neutrons**

Des affinements et modélisations sont toujours cours afin d'avoir une résolution plus aboutie de la structure de la phase  $\alpha$  de la canaphite.

#### IV.4 Etude de l'effet de la température de séchage sur la phase cristallisée de pyrophosphate de calcium et sodium tétrahydraté

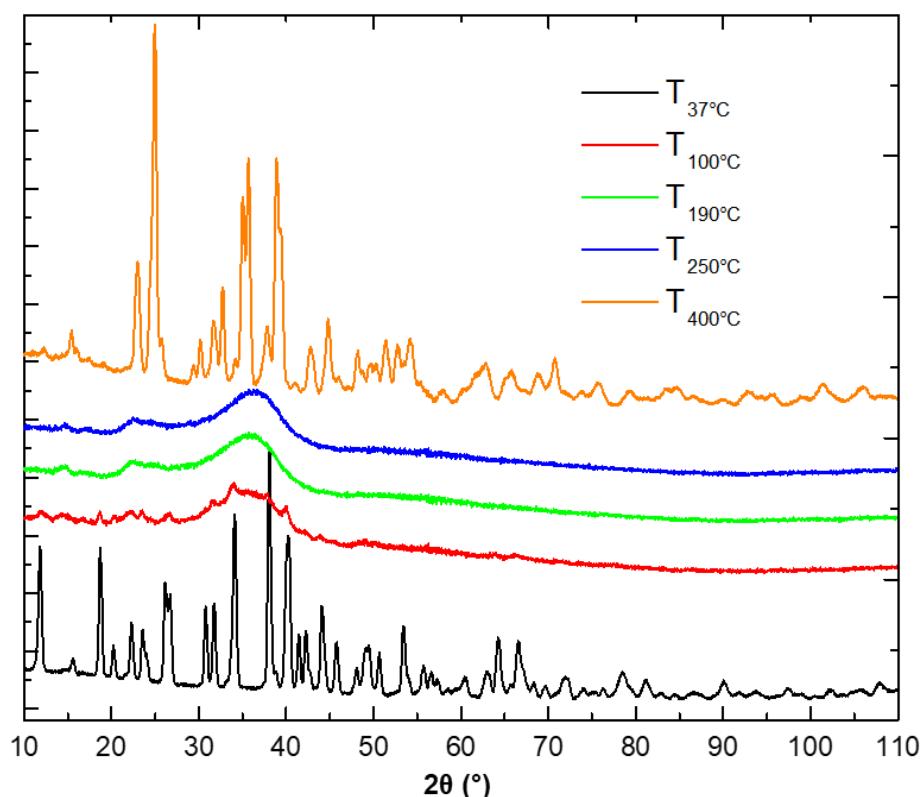
Nous avons étudié l'effet de la température de séchage sur la phase cristallisée de pyrophosphate de calcium tétrahydratée (canaphite  $\alpha$ ) synthétisée afin de mieux appréhender les propriétés thermiques de ce composé qui sont des données indispensables pour envisager pourquoi pas par la suite une mise en forme à température modérée de matériaux à base de pyrophosphates de calcium cristallisés. Le protocole expérimental ne diffère pas de celui de la Figure IV - 2 à l'exception de la température de séchage qui a varié entre 37°C et 400°C comme reporté dans le Tableau IV - 5. L'échantillon est placé pendant une nuit à différentes températures de séchage puis caractérisé et stocké au congélateur afin d'éviter toute évolution additionnelle.

**Tableau IV - 5 : Nomenclature des échantillons obtenus à partir du protocole de synthèse de la canaphite  $\alpha$  mais en incluant un séchage à différentes températures au-delà de 37°C (canaphite  $\alpha$ ).**

| Nomenclature            | Conditions  |
|-------------------------|---|
| $T_{37^\circ\text{C}}$  | Séchage à température de référence (Canaphite $\alpha$ ) : à l'étuve à 37°C |
| $T_{100^\circ\text{C}}$ | Séchage à l'étuve à 100°C   |
| $T_{190^\circ\text{C}}$ | Séchage à l'étuve 190°C   |
| $T_{250^\circ\text{C}}$ | Séchage au four à 250°C   |
| $T_{400^\circ\text{C}}$ | Séchage au four à 400°C   |

#### IV.4.1 Diffraction des rayons X

Les échantillons obtenus à partir du protocole de synthèse de la canaphite  $\alpha$  mais en incluant un séchage à différentes températures au-delà de 37°C ont été caractérisés par diffraction des rayons X (Figure IV - 12).



**Figure IV - 12 : Diffractogrammes de Rayons-X (anticathode Cobalt :  $\lambda(\text{K}\alpha) = 1,788970 \text{ \AA}$ ) des matériaux élaborés dans les conditions de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures.**

Sur la Figure IV - 12, le diffractogramme RX en noir correspond à celui la canaphite  $\alpha$  pure synthétisée en condition de référence (séchage à 37°C) précédemment décrite. Le diffractogramme RX rouge représente l'échantillon obtenu après séchage à 100°C : on observe principalement un halo diffus caractéristique d'une phase amorphe mais aussi quelques pics peu intenses caractéristiques de la canaphite  $\alpha$  qui semble être en très faible quantité et mal cristallisée. La partie amorphe présente un halo entre  $28^\circ < 2\theta < 45^\circ$  centré autour de  $35^\circ$ . Les diffractogrammes RX des échantillons séchés respectivement à 190°C, 250°C et 300°C montrent un halo diffus également entre  $28^\circ < 2\theta < 45^\circ$  centré sur  $35^\circ$  pour

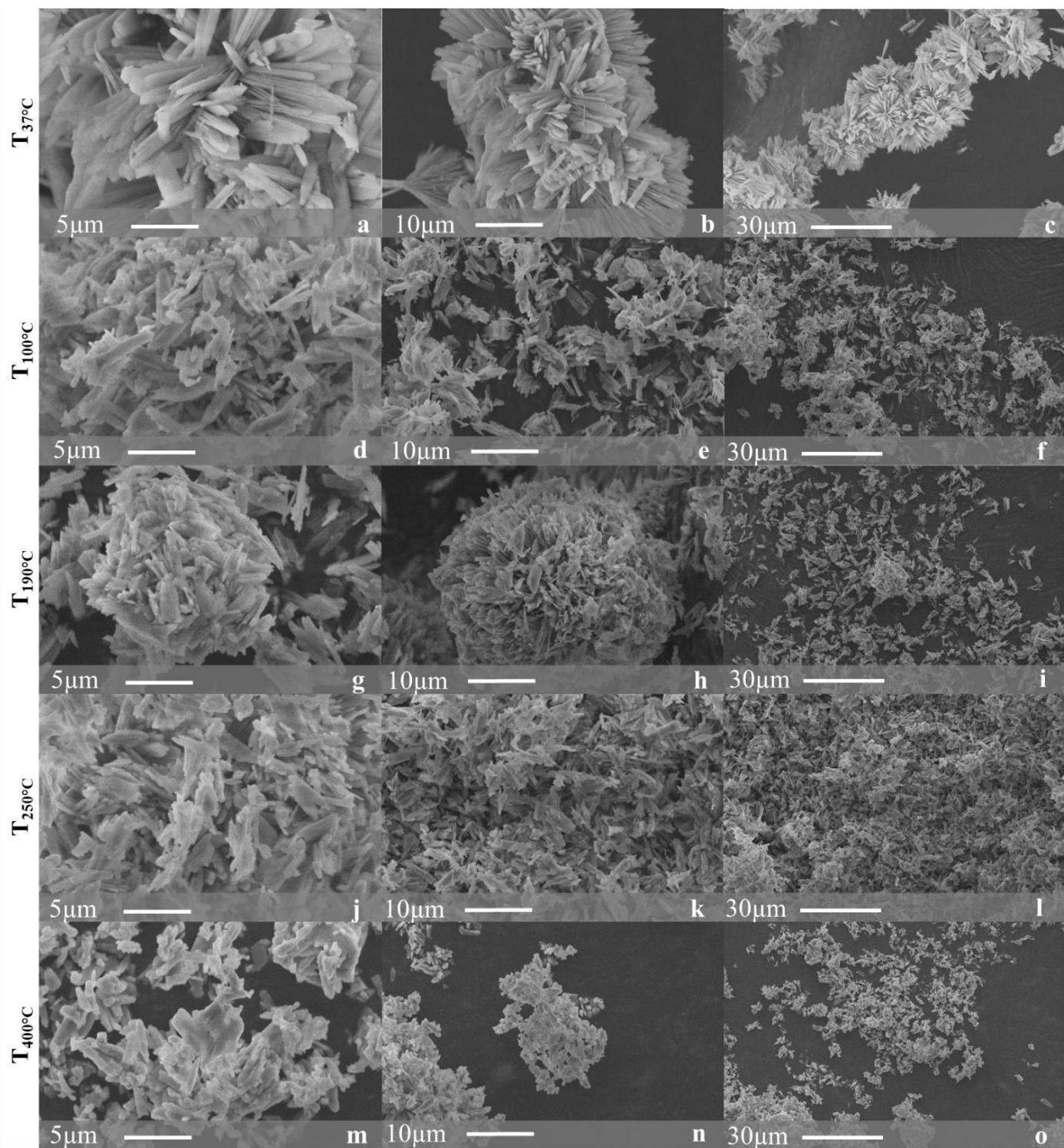
l'échantillon traité à 190°C et centré sur 37° pour ceux séchés à 250°C et 350°C. Ces halos sont caractéristiques de phases amorphes. Le diffractogramme RX orange représente celui de l'échantillon séché à 400°C : nous remarquons des pics fins correspondant à une phase cristalline que nous avons pu identifier comme étant une phase cristalline anhydre  $\alpha\text{-CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7$  décrite par *Bennazha et al.* (Bennazha, 1999). Néanmoins, il y a un décalage des pics de diffraction entre les données DRX reportées dans l'article de *Bennazha et al.* (Bennazha, 1999) et ceux de l'échantillon synthétisé au CIRIMAT. Le fait d'utiliser un diffractomètre RX utilisant le rayonnement MoK $\alpha$  graphite monochrome dans cet article ne suffit pas à expliquer ce delta. Il a tout de même été possible de recalculer ces paramètres de maille (Tableau IV - 6)

**Tableau IV - 6 : Paramètres de maille et symétrie de la phase cristalline  $\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7$   $\alpha$  selon Bennazha et al. (Bennazha, 1999) comparés à ceux de l'affinement Rietveld réalisé sur le composé  $\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7$   $\alpha$  synthétisé au CIRIMAT**

| Paramètres   | Symétrie    | Volume ( $\text{\AA}^3$ ) | a ( $\text{\AA}$ ) | b ( $\text{\AA}$ ) | c ( $\text{\AA}$ ) | $\alpha$ (°)    | $\beta$ (°)     | $\gamma$ (°)    |
|--|-------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b><math>\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7</math> (Bennazha, 1999)</b> | Triclinique | 308,5(3)                  | 5,361(3)           | 7,029(3)           | 8,743(4)           | 69,40(2)        | 89,02(3)        | 88,78(4)        |
| <b><math>\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7</math> (CIRIMAT)</b>        | Triclinique | 316,852(68)               | 5,40070<br>(65)    | 7,09929<br>(88)    | 8,8295<br>(11)     | 69,4248<br>(22) | 89,0318<br>(33) | 88,7703<br>(22) |

#### IV.4.2 Observations par microscopie électronique à balayage

Les différents échantillons de phase cristallisée de pyrophosphate de calcium et sodium séchés à différentes températures au-delà de 37°C ont été observés au microscope électronique à balayage (MEB) (Figure IV - 13).



**Figure IV - 13 : Microographies MEB montrant l'évolution de la morphologie du pyrophosphate de calcium et sodium tétrahydratée synthétisée et séchée à différentes températures.**

Comme décrit précédemment, on observe pour la canaphite  $\alpha$  de référence (séchée à  $37^{\circ}\text{C}$  -  $T_{37^{\circ}\text{C}}$ ), des grains composés de fagots de cristaux sous forme d'aiguilles ou plaquettes fines. Ces aiguilles font environ  $11\ \mu\text{m}$  de longueur,  $0,1\ \mu\text{m}$  d'épaisseur et un diamètre de  $1\ \mu\text{m}$ . Globalement les longueur, largeur et épaisseur des cristaux/particules évoluent en fonction de la température de séchage et sont répertoriées dans le Tableau IV - 7.

**Tableau IV - 7 : Comparaison morphologique des échantillons préparés à partir de 100% pyrophosphate et séchés à différentes températures**

| <b>Température</b>       | <b>Morphologie</b>  | <b>Plaquette (<math>\mu\text{m}</math>)</b> |           | <b>Fagot / amas (<math>\mu\text{m}</math>)</b> |         |
|--------------------------|---|---|-----------|--|---------|
|                          |   | Longueur                                    | Epaisseur | Longueur                                       | Largeur |
| <b>T<sub>37°C</sub></b>  | • Croissance d'aiguilles ou de plaquettes fines depuis le milieu du fagot   | 11  | 0,1       | 40 - 70  | 20 - 30 |
| <b>T<sub>100°C</sub></b> | • Plaquettes fines mal organisées<br>• Absence de fagot   | 4   | 0,2       | 30 - 40  |         |
| <b>T<sub>190°C</sub></b> | • Croissance de plaquettes moins fines que celles de référence<br>• Formation d'agglomérats plus gros que les fagots                  | 2 – 2,5                                     | 0,2       | 5 - 32   |         |
| <b>T<sub>250°C</sub></b> | • Plaquettes fines et non organisées<br>• Pas de fagots ou d'agglomérats<br>• Forte densité de plaquettes les unes proches des autres | 1,5 – 2,5                                   | 0,2       | 18 - 47  |         |
| <b>T<sub>400°C</sub></b> | • Plaquettes désorganisées et moins bien définies<br>• Pas d'agglomération ou de proximité des plaquettes                             | 1,5 – 2                                     | 0,3       | 15 - 28  |         |

D'après le Tableau IV - 7 et la Figure IV - 13, nous remarquons que dans tous les cas la morphologie des particules a un aspect cristallin, même pour les échantillons identifiés comme étant amorphes grâce à la diffraction des rayons X. Cependant, lorsque l'on augmente la température de séchage, la morphologie caractéristique et l'organisation des cristaux en fagots disparaît. En effet, les aiguilles ou plaquettes fines de départ deviennent moins fines et il n'y a plus de fagots ou d'agglomérats de plaquettes. A 400°C, nous perdons l'organisation des cristaux en fagot ainsi que la forme bien définie et homogène des cristaux en plaquettes ; ces dernières deviennent plus épaisses et moins bien définies. D'un point de vue morphologique, la transformation de la phase cristalline en phase amorphe lorsque la température augmente n'apparaît pas de façon évidente puisque la morphologie initiale des cristaux (plaquettes) est partiellement conservée ; c'est l'agglomération des cristaux en fagots qui est principalement affectée par l'augmentation de la température de séchage. De plus, cette fragmentation pourrait s'expliquer par un départ brutal de l'eau à la surface des cristaux provoquant une fragmentation des fagots. Ainsi, plus la température de séchage est élevée plus la fragmentation est importante. Néanmoins, la diffraction des rayons X, montre une amorphisation (de 100°C à environ 250°C) puis une recristallisation (à 400°C).

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'éventuelle évolution de la quantité d'ions pyrophosphate au sein de l'échantillon en fonction de la température de séchage.

#### IV.4.3 Spectroscopie Raman

Comme dit précédemment, la spectroscopie Raman permet la caractérisation des modes de vibration des différentes liaisons au sein des molécules/ions. Dans notre cas, nous nous intéressons aux modes de vibration des ions phosphates

et de l'eau de structure. En effet, il est possible par cette technique de différencier certaines vibrations des ions orthophosphate et pyrophosphate permettant ainsi une analyse semi-quantitative des espèces dans le matériau final.

Comme nous le montre la Figure IV - 14, nous observons la présence des différents modes de vibration caractéristiques de l'ion pyrophosphate pour les matériaux obtenus quelle que soit la température de séchage. Néanmoins pour certains un décalage de la position est identifié. Vers les plus hauts nombres d'onde, nous avons pour le matériau séché à 400°C la présence de deux bandes de vibration fines et intenses correspondants à la  $\nu_{as}\text{PO}_3$  (entre 1105 – 1210 cm<sup>-1</sup>). Ces bandes de vibration sont de très faible intensité pour le composé de référence (canaphite  $\alpha$  T<sub>37°C</sub>) et sont présentes mais moins bien définies pour les échantillons séchés aux températures plus élevées. Le second domaine de vibration correspond aux modes de  $\nu_{as}\text{PO}_3 + \nu_s\text{PO}_3$  entre 995 – 1074 cm<sup>-1</sup>. L'attribution exacte des bandes correspondantes seulement à la phase anhydre  $\alpha\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  est faite par Cornilsen *et al.* (Cornilsen, 1978) et est comparée avec les données mesurées au CIRIMAT et reportées dans le Tableau IV - 8.

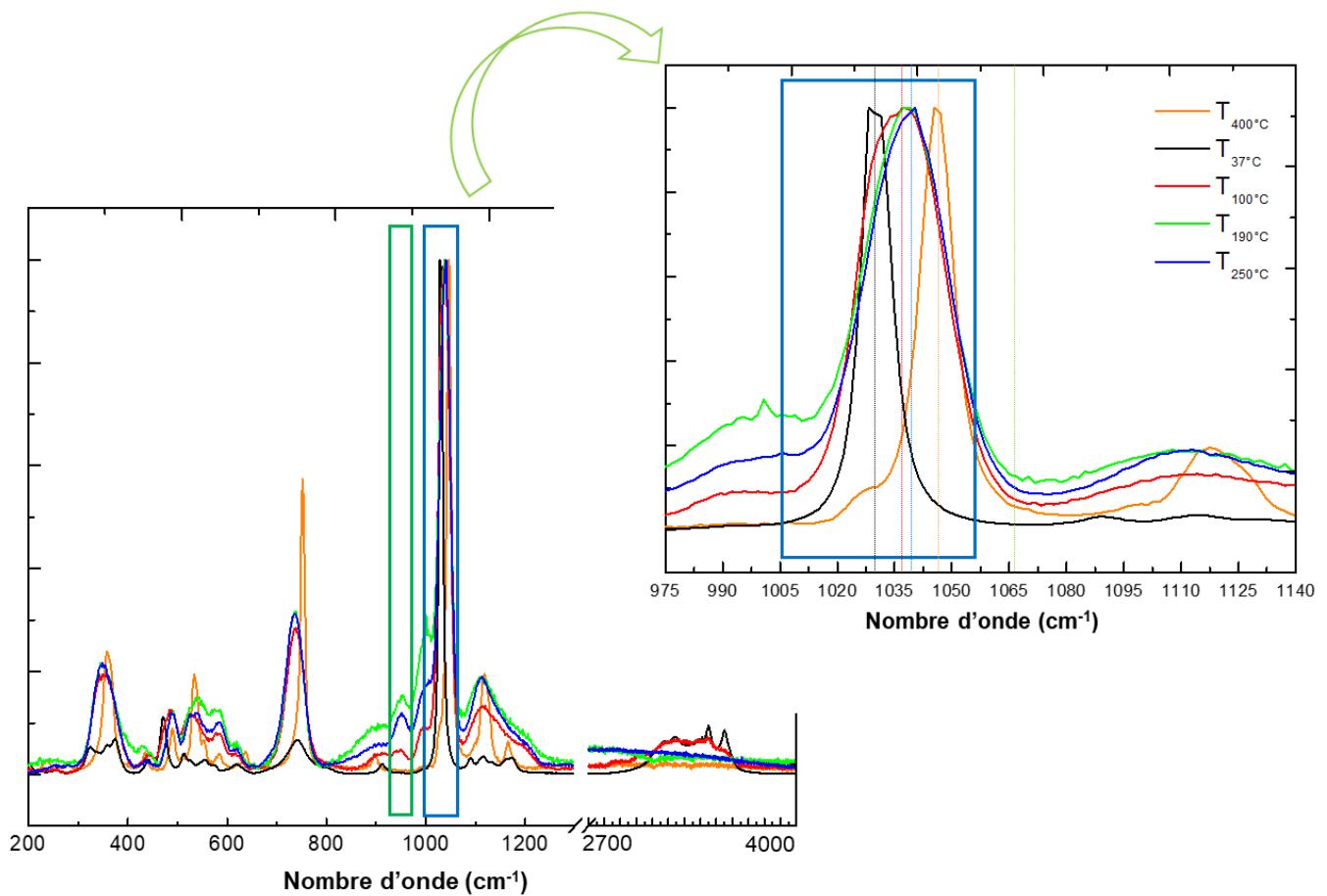
**Tableau IV - 8 : Position des bandes de vibration (cm<sup>-1</sup>) et leur attribution pour l' $\alpha\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  anhydre selon Cornilsen *et al.* (Cornilsen, 1978) (deux premières colonnes) comparées à celles obtenues pour le composé synthétisé avec une température de séchage de 400°C au laboratoire (dernière colonne)**

| Raman       | IR   | Attribution           | T <sub>400°C</sub> |
|-------------|------|-----------------------|--------------------|
| <b>1210</b> | 1205 |                       |                    |
| <b>1163</b> | 1165 |                       | 1165               |
| <b>1152</b> | 1155 | $\nu_{as}\text{PO}_3$ |                    |
| <b>1105</b> | 1120 |                       | 1108               |
| <b>1074</b> | 1060 |                       |                    |
| <b>1055</b> | 1041 | $\nu_s\text{PO}_3$    | 1045               |
| <b>1015</b> | 1025 |                       | 1027               |
| <b>995</b>  |      | $\nu_a\text{PO}_3$    | 992                |
| <b>974</b>  | 980  | $\nu_{as}\text{POP}$  |                    |
| <b>953</b>  |      | $\nu_{as}\text{POP}$  |                    |
| <b>775</b>  | 752  | $\nu_s\text{POP}$     | 752                |
| <b>629</b>  | 619  | $\delta\text{PO}_2$   | 636                |
| <b>616</b>  | 605  |                       |                    |
| <b>591</b>  | 580  |                       |                    |
| <b>579</b>  | 570  |                       | 583                |
| <b>558</b>  | 553  |                       | 551                |
| <b>542</b>  | 533  |                       |                    |
| <b>537</b>  | 500  | $\delta\text{PO}_2$   | 534                |
| <b>504</b>  | 490  |                       | 491                |
| <b>455</b>  | 430  |                       | 436                |
| <b>373</b>  | 325  |                       | 360                |
| <b>352</b>  |      |                       |                    |
| <b>337</b>  |      |                       |                    |

Grâce à l agrandissement du domaine de la Figure IV - 14, nous constatons un décalage des bandes vers les plus grands nombres d'onde. En effet, la canaphite  $\alpha$  à T<sub>37°C</sub> a un maximum d'intensité vers 1030 cm<sup>-1</sup>, à T<sub>100°C</sub> le maximum se trouve

#### Chapitre IV - La canaphite

vers  $1036\text{ cm}^{-1}$ , à  $T_{190^\circ\text{C}}$  et  $T_{250^\circ\text{C}}$  les maxima sont à  $1038\text{ cm}^{-1}$  et à  $T_{400^\circ\text{C}}$  à  $1047\text{ cm}^{-1}$  (évolution vers la phase amorphe a-CPP comme décrit dans le Chapitre II partie I.4.3.2.). De plus, nous constatons des bandes de vibration fines pour les matériaux séchés à  $T_{37^\circ\text{C}}$  et  $T_{400^\circ\text{C}}$  tandis que pour les matériaux séchés aux autres températures nous observons des bandes larges caractéristiques de la présence d'une phase amorphe. Vers  $775\text{ cm}^{-1}$ , nous observons la bande de vibration de la  $\nu_s\text{POP}$ , et remarquons une bande intense et fine pour le composé séché à  $T_{400^\circ\text{C}}$ , tandis que pour celui obtenu à la température de séchage de référence ( $37^\circ\text{C}$ , canaphite  $\alpha$ ) nous n'avons qu'une bande large et pour les autres températures des bandes d'intensité moyenne mais larges. En dessous de  $600\text{ cm}^{-1}$ , le constat est le même pour le mode de vibration  $\delta\text{PO}_3$ : des bandes plus fines et mieux définies pour le matériau à  $T_{400^\circ\text{C}}$ , tandis que les bandes sont plus faibles, plus larges et parfois superposées pour les matériaux obtenus après séchage aux autres températures.



**Figure IV - 14 : Spectres Raman (normalisés) des composés obtenus dans les conditions de synthèse de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures**

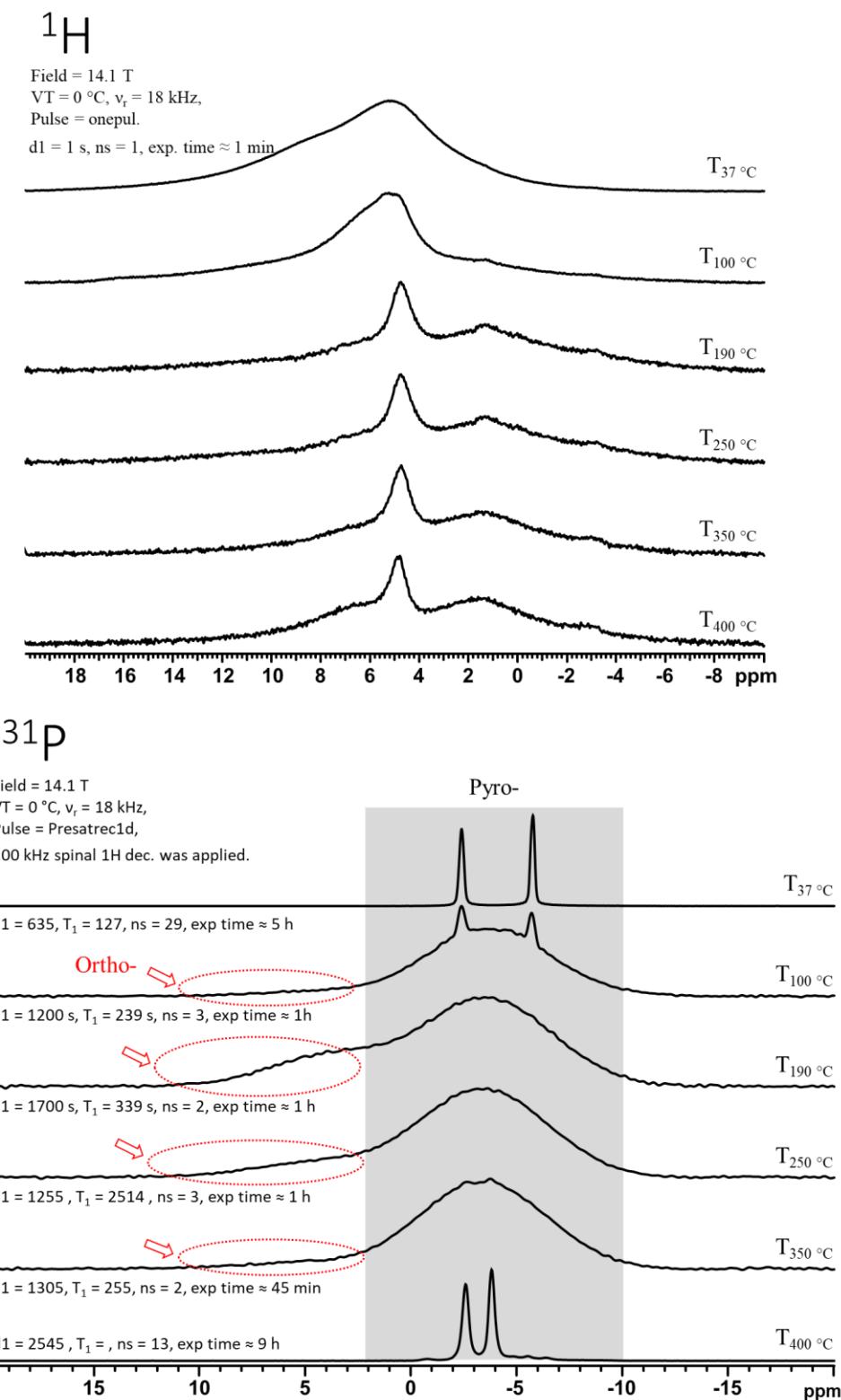
De plus, il est à noter l'apparition de la bande de vibration caractéristique de celle des ions orthophosphate vers  $950\text{ cm}^{-1}$  à partir d'une température de séchage de  $100^\circ\text{C}$ . L'intensité de cette bande orthophosphate augmente lorsque la température de séchage augmente indiquant l'augmentation de l'hydrolyse interne des ions pyrophosphate en ions orthophosphate lorsque la température de séchage augmente. Toutefois, on remarque que cette bande disparaît lorsque le séchage s'effectue à  $400^\circ\text{C}$  indiquant que deux phénomènes ont potentiellement lieu à cette température : la recondensation des ions orthophosphates ou la cinétique trop rapide du départ d'eau à  $400^\circ\text{C}$ . La première hypothèse, la recondensation des ions orthophosphate formés lors de l'hydrolyse interne aux températures inférieures en ions

pyrophosphate est en cohérence avec ce que nous observons lors la préparation du précurseur pyrophosphate de sodium à partir d'hydrogénophosphate de sodium traité une nuit à 400°C (Chapitre II partie II.1.2.1.). La seconde hypothèse, la cinétique trop rapide du départ des molécules d'eau à 400°C, laisse envisager que la cinétique est trop rapide et ne laisse pas le temps aux ions orthophosphates de se former et cela mène donc à une cristallisation.

La présence des ions orthophosphate et la présence d'une phase amorphe au sein des matériaux traités entre  $37^{\circ}\text{C} < T < 400^{\circ}\text{C}$  semble confirmer l'inhibition de la cristallisation de pyrophosphate de calcium par la présence des ions orthophosphate et inversement ; ainsi, ce n'est qu'à 400°C lorsque la condensation des ions orthophosphate est complète que le pyrophosphate de calcium anhydre peut cristalliser en présence d'une seule espèce d'ions phosphate (ions pyrophosphate). De plus, comme attendu, les bandes de vibration de l'eau de structure vers  $2700 - 400 \text{ cm}^{-1}$  tendent à diminuer d'intensité lorsque la température de séchage augmente. Ce qui montre bien que les molécules d'eau perdues lors de l'augmentation de la température étaient bien des molécules d'eau de structure et non de surface. L'ATG va nous permettre de quantifier le nombre de molécules d'eau associées aux échantillons séchés à différentes températures ; les résultats de ces analyses seront présentés un peu plus loin dans ce chapitre.

#### IV.4.4 Spectroscopie RMN en phase solide

La RMN du solide a été utilisée afin de sonder les noyaux  $^{31}\text{P}$  et  $^1\text{H}$  dans les différents échantillons élaborés dans les conditions de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures. Les spectres RMN  $^{31}\text{P}$  MAS « simple impulsion » et  $^1\text{H}$  MAS présentés sur la Figure IV - 15, ont été enregistrés en collaboration avec Danielle Laurencin et Nicholai Jensen de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier et Christian Bonhomme du Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris.



**Figure IV - 15 : Spectres RMN en phase solide  $^1\text{H}$  (en haut) et  $^{31}\text{P}$  (en bas) des matériaux élaborés dans les condition de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures**

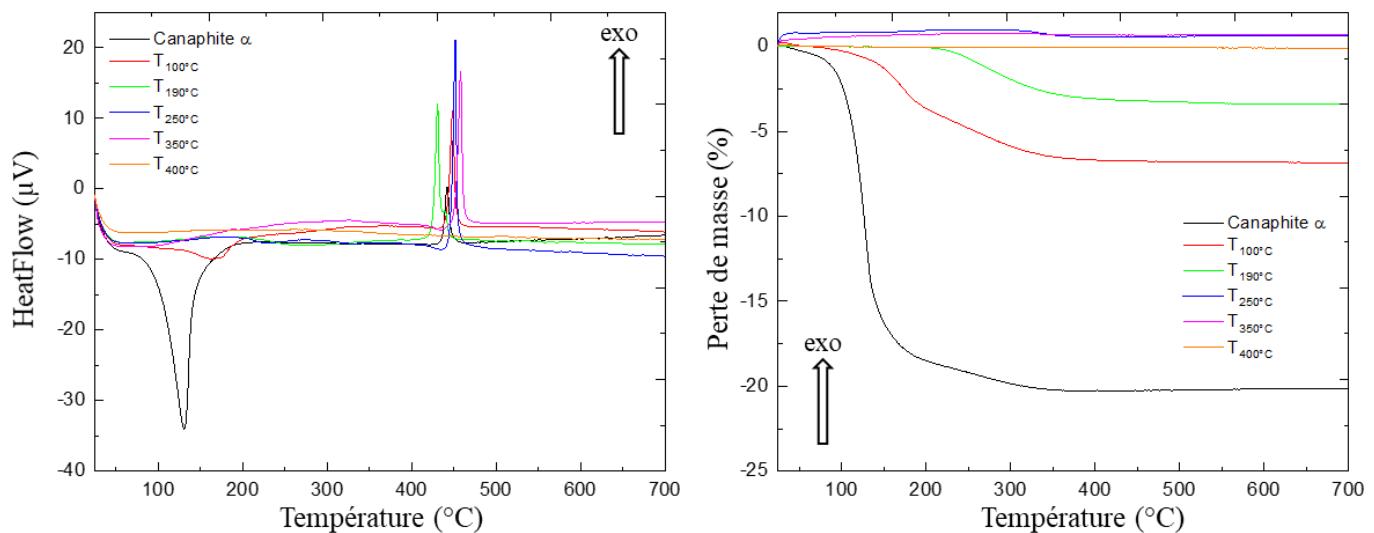
Sur les spectres  $^1\text{H}$  MAS de la Figure IV - 15, nous remarquons une bande large vers 5 ppm pour l'échantillon  $T_{37^\circ\text{C}}$ , et plus la température augmente plus cette raie s'affine. Ainsi, nous constatons une diminution des  $^1\text{H}$  pour les échantillons séchés de  $T_{37^\circ\text{C}}$  à  $T_{100^\circ\text{C}}$  et une quantité minimale à partir de  $T_{190^\circ\text{C}}$ . En effet, la perte de molécules d'eau s'accompagne

d'une diminution du rapport signal sur bruit, et également d'une augmentation de la résolution spatiale. En effet, moins il y a de molécules d'eau impliquées moins il y a de liaisons hydrogène entre les molécules. *In fine*, il y a donc moins d'interaction dipolaire homonucléaire  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  conduisant ainsi à un affinement des raies pour une même fréquence de rotation MAS donnée. Cette diminution des signaux dus aux hydrogènes pourrait être due à plusieurs phénomènes : le départ de l'eau de structure ou encore la réaction partielle des molécules d'eau lors de l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate.

Sur les spectres RMN  $^{31}\text{P}$  MAS de la Figure IV - 15 (en haut), nous observons la présence de deux raies caractéristiques des ions pyrophosphate présents dans la canaphite  $\alpha$  (-2,8 ppm et -5,8 ppm, voir Figure IV-8). Pour l'échantillon à  $T_{100^\circ\text{C}}$ , nous observons la présence d'au moins deux phases, d'une part les raies fines correspondant à la canaphite  $\alpha$  et, d'autre part, une raie large caractéristique d'un composé amorphe. De plus, il y a un signal faible (épaulement), entre 5 et 10 ppm, pourrait indiquer la présence d'ions orthophosphate. Pour les températures de séchage  $T_{190^\circ\text{C}}$ ,  $T_{250^\circ\text{C}}$  et  $T_{350^\circ\text{C}}$ , nous observons une fois encore une composante large entre environ 2 et -10 ppm (environnement amorphe des ions pyrophosphate), ainsi qu'une composante plus ou moins marquée entre environ 12 et 2 ppm (ions orthophosphate). Le signal des ions orthophosphate augmente entre  $T_{100^\circ\text{C}}$  et  $T_{190^\circ\text{C}}$ , puis diminue jusqu'à disparaître pour  $T_{400^\circ\text{C}}$ . Cela semble mettre en évidence le fait que l'hydrolyse des ions pyrophosphate en ions orthophosphate est favorisée lorsque la température de séchage augmente pour  $T < 190^\circ\text{C}$  comme nous l'indiquait également la spectroscopie Raman. Pour  $T > 190^\circ\text{C}$ , la condensation des ions orthophosphate en ions pyrophosphate pourrait alors être prépondérante (l'hydrolyse interne seraient moins favorisée du fait de l'élimination plus rapide de l'eau lorsque la température augmente), puis complète à  $T_{400^\circ\text{C}}$ . En effet, à  $T_{400^\circ\text{C}}$ , seuls deux signaux correspondant aux ions pyrophosphate (-2,6 et -3,8 ppm) avec des environnements différents de ceux de la canaphite  $\alpha$  sont observés. Il s'agit de  $\alpha\text{-CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7$ . Les études par RMN  $^{31}\text{P}$  MAS confirment les résultats obtenus par DRX : présence de canaphite  $\alpha$  et d'un composé amorphe à  $T_{100^\circ\text{C}}$ , puis amorphisation en présence d'ions orthophosphate de  $T_{190^\circ\text{C}}$  à  $T_{350^\circ\text{C}}$ , et enfin cristallisation du composé anhydre,  $\alpha\text{-CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7$  pour un séchage à  $400^\circ\text{C}$ .

#### IV.4.5 Analyses thermiques : ATG-ATD

Des analyses thermogravimétrique (ATG) et thermique différentielle (ATD), ont été réalisées afin de quantifier la perte d'eau des matériaux élaborés dans les conditions de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures jusqu'à  $800^\circ\text{C}$ , à  $5^\circ\text{C. min}^{-1}$  sous flux d'air (Figure IV - 16).



**Figure IV - 16 : Courbes ATD (à gauche) et ATG (à droite) des matériaux élaborés dans les conditions de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures**

L'examen des thermogrammes présentés sur la Figure IV - 16, montre que la perte de masse se produit en 2 étapes entre 70°C et 150°C. Le second départ d'eau entre 200 et 250°C, correspond à la température de condensation des HPO<sub>4</sub>. Ce pic très faible pour la canaphite montrant que même au cours de l'ATG on a une hydrolyse interne suivie d'une condensation. Les pertes de masse correspondantes à chaque température de séchage sont reportées dans le Tableau IV - 9. Par analyse thermique différentielle, nous observons un pic exothermique vers 440°C probablement dû à une recristallisation du composé. Ce pic n'est effectivement plus présent sur la courbe de l'échantillon traité à 400°C car il est déjà cristallisé sous forme de  $\alpha$ -CaNa<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> anhydre.

**Tableau IV - 9 : Pourcentages massiques des pertes de masse pour les matériaux élaborés dans les conditions de la canaphite  $\alpha$  mais séchés à différentes températures**

| Températures        | Perte (% massique) |
|---------------------|--------------------|
| T <sub>37</sub> °C  | 21,4               |
| T <sub>100</sub> °C | 6,7                |
| T <sub>190</sub> °C | 3,3                |
| T <sub>250</sub> °C | $\approx 0$        |
| T <sub>400</sub> °C | $\approx 0$        |

La perte de masse diminue lorsque la température de séchage augmente jusqu'à atteindre 0% pour l'échantillon traité dès 250°C ; nous avons déjà montré par diffraction des rayons X que c'est un composé anhydre qui était formé lors du séchage à 400°C. Pour toutes les températures testées, nous partons d'une même composition initiale, celle de la canaphite ayant un Ca/P égal 0,503 et un Ca/Na de 0,508 Tableau IV - 3.

## IV.5 Conclusion

Ce chapitre s'est attaché à décrire le matériau cristallisé composé uniquement d'ions pyrophosphate, la canaphite  $\alpha$  de formule : CaNa<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7,4H<sub>2</sub>O</sub>. Nous nous sommes particulièrement intéressés à sa forme  $\alpha$ . Grâce à un protocole original

#### Chapitre IV - La canaphite

et optimisé, nous avons pu obtenir par chimie douce une phase pure et bien cristallisée de canaphite  $\alpha$ . Un affinement préliminaire a été obtenu et une structure plus aboutie devrait pouvoir être obtenue prochainement.

Lors de l'étude en température, le composé à base d'ions pyrophosphate tétrahydraté confirme le phénomène d'hydrolyse déjà observé dans les matériaux NaPYG-0X0. En effet, la présence d'ions pyrophosphate à l'intérieur d'une matrice hydratée à laquelle on applique une température de séchage élevée (maximum à 400°C) sont des conditions réunies pour que les ions pyrophosphate réagissent avec les molécules d'eau afin de former des ions orthophosphate *via* une réaction d'hydrolyse interne (distance H<sub>2</sub>O-POP). Toutefois, la réaction inverse de condensation des ions ortho- en ions pyrophosphate est aussi constatée pour des températures de séchage d'au moins égale à 400°C. Comme démontré dans le Chapitre II et confirmé ici, nous avons un effet inhibiteur de l'ion orthophosphate sur la cristallisation des pyrophosphates de calcium (constatés pour les températures intermédiaires T<sub>190°C</sub> – T<sub>350°C</sub>).

A noter qu'à ce jour, nous n'avons pas réussi à synthétiser les autres formes allotropiques de la canaphite. Toutefois la phase  $\beta$  a été synthétisée mais elle n'était pas pure. Comme la canaphite est le composé de référence 100% des matériaux NaPYG-0X0, une résolution approfondie de sa structure par divers moyens (DRX de laboratoire et sur grand instrument, diffraction des neutrons, RMN en phase solide et modélisation *ab initio*) permettrait de mieux appréhender celle des matériaux NaPYG-0X0. Ces travaux sont en cours dans le cadre du projet ANR PyVerres (2017-2021).

## **Conclusion générale et Perspectives**

## Conclusion générale et Perspectives

Ces travaux de recherche ont porté sur l'étude physico-chimique et structurale de nouveaux matériaux à base d'ortho- et de pyrophosphate de calcium et sodium. L'étude des différents paramètres de synthèse avait pour objectif d'apporter une meilleure compréhension des mécanismes de formation des matériaux amorphes. Les principaux résultats de cette thèse sont résumés ci-après.

Pour la première fois, des phosphates de calcium et sodium mixtes ortho- /pyrophosphates hydratés ont été élaborés par chimie douce. Même si le rapport final diffère du rapport initial, la tendance reste la même, ainsi nous avons montré qu'il était possible de contrôler le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) dans le matériau final en fonction du rapport initial dans la solution de précurseurs phosphates. Ce contrôle s'étend sur une large gamme de compositions de matériaux mixtes ortho- et pyrophosphates amorphes. Le caractère amorphe de ces phases est principalement dû à l'inhibition réciproque que les deux types d'ions phosphates exercent sur la croissance de phases cristallines de phosphate de calcium. De plus, nous avons montré que la morphologie générale restait la même sous forme de grains plus ou moins rugueux avec plus ou moins d'irrégularités de surface correspondant à des morphologies de matériau amorphes. Grâce aux diverses caractérisations, nous avons pu proposer une formule chimique générale pour ces matériaux NaPYG-OX0 élaborés :



Il est par ailleurs possible de synthétiser des phases cristallines pures lorsqu'un seul des deux ions phosphates oothophosphate ou pyrophosphate est présent initialement en solution ; ces deux phases étant respectivement l'apatite ou la canaphite.

Les matériaux NaPYG-OX0 étant des matériaux hydratés, l'étude de l'effet de la température de séchage semblait primordiale. Cette étude a montré que les matériaux amorphes NaPYG-OX0 présentent une très bonne stabilité thermique leur permettant de rester amorphes jusqu'à 250 °C pour deux des trois compositions de matériaux étudiées (pour le NaPYG-050, le composé reste amorphe jusqu'à 200°C). Intrinsèquement, le rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro) final et la température de séchage sont liés. En effet, deux phénomènes liés entrent en jeu lorsque la température de séchage augmente: l'hydrolyse des ion pyrophosphate et la protonation des ions phosphates au sens large. Deux types d'hydrolyses peuvent intervenir : une hydrolyse interne, se produisant par réaction de l'eau contenue dans les différentes phases au sein du solide, et une hydrolyse en solution. Dans notre cas, seule l'hydrolyse interne a été observée. Ainsi, les molécules d'eau réagissent avec les ions pyrophosphate afin de former des ions orthophosphates induisant ainsi une protonation de l'ion orthophosphate (formation d'ions hydrogénophosphate). Cette hydrolyse justifierait aussi la formation d'apatite nanocristalline pour le NaPYG-050 à 250°C. Au-delà de 200°C, nous avons potentiellement un phénomène de recondensation des ions orthophosphate en pyrophosphate qui se produit en fonction de la quantité initiale d'ions pyrophosphate présents. De plus, les molécules d'eau n'entrent pas seulement en jeu lors de l'hydrolyse/protonation, elles ont aussi un rôle de cohésion de la matrice des matériaux assurant ainsi la diffusion des ions et leur réactivité au sein du matériau. La stabilité à long terme de ces matériaux amorphes à la température ambiante et leur stabilité relative jusqu'à des températures élevées ( $T_{250^\circ\text{C}}$ ) par rapport à de nombreuses phases amorphes permettent d'envisager des voies de mise en forme à température modérée.

## Conclusion générale et Perspectives

Cette étude des matériaux en fonction de la température de séchage a aussi permis de faire un premier pas dans la compréhension du mécanisme de formation des matériaux amorphes NaPYG-0X0, ce mécanisme semble similaire à celui des suspensions colloïdales lors de la formation de matériaux hydratés. La formation débute lors de la mise en solution qui conduit à une suspension colloïdale ; puis lors de la centrifugation, les nanoparticules forment un gel. L'étude des matériaux séchés à différentes températures a permis de souligner le rôle cohésif de l'eau et sa dualité (interstitielle et structurale) en couplant l'analyse thermique et l'observation en microscopie électronique en transmission.

Comme la compréhension de la formation des matériaux NaPYG-0X0 se base aussi sur la formation de phases cristallisées de référence, il nous a semblé primordial d'étudier la moins décrites d'entre elles, celle composée d'ions pyrophosphate, la canaphite  $\alpha$  de formule :  $\text{CaNa}_2\text{P}_2\text{O}_7,4\text{H}_2\text{O}$ . L'étude de la variation de sa température de séchage nous a confirmé le phénomène d'hydrolyse interne partiellement observé lors de l'étude du rapport molaire Pyro/(Ortho+Pyro). Toutefois, la réaction inverse de condensation des ions ortho- en ions pyrophosphate est aussi constatée pour des températures de séchage d'au moins égale à 400°C. La résolution de la structure de la canaphite  $\alpha$  à l'aide des données obtenues sur des grands instruments (diffraction des rayons sur la ligne Cristal du synchrotron Soleil et diffraction des neutrons au Laboratoire Léon Brillouin) est encore en cours afin de déterminer plus finement la position notamment des atomes d'hydrogène afin de l'utiliser pour la modélisation des matériaux NaPYG-0X0.

Afin de justifier certaines hypothèses, des caractérisations par SAXS ont été entreprises sur la plateforme de caractérisation de la Fédération FERMAT en collaboration avec Pierre Roblin afin de déterminer la taille, la forme et l'organisation des nanoparticules lors de la formation des matériaux NaPYG-0X0. Ces caractérisations ont été réalisées sur les différentes étapes de la synthèse, c'est-à-dire à l'état liquide lors de l'ajout de la solution de calcium dans la solution de phosphates (cinétique), à l'étape de suspension colloïdale, lors de l'étape gel et enfin sur le matériau final (sous forme de poudre sèche). Ces différentes acquisitions en fonction des différentes étapes du protocole nous permettront de confirmer la formation colloïdale et ainsi d'affiner le mode de formation des matériaux NaPYG-0X0. De plus, nous pourrons par la suite estimer les conditions d'hydrolyse des entités pyrophosphate en orthophosphate. Ces estimations pourront servir de base afin de décrire et mieux appréhender les différentes observations qui seront faites avec ces matériaux amorphes lors de leur interaction avec des milieux, des cellules et tissus notamment lors de tests *in vitro* et *in vivo*.

Bien que la détermination et la compréhension complète des mécanismes sous-jacents à la formation de ces nouveaux matériaux ainsi que leur structuration à l'échelle nanométrique n'aient pas encore été clairement élucidés, l'étude de l'effet d'autres paramètres de synthèse tels que le pH de la solution phosphates pourrait aider à mieux appréhender l'effet de la protonation des ions phosphates au sein de ces matériaux. De plus, la richesse des collaborations multidisciplinaires développées autour de ce projet a permis de nombreuses avancées sur la compréhension de la physico-chimie de ces matériaux NaPYG-0X

## Références bibliographiques

- Ahmed, I., Collins, C. A., Lewis, M. P., Olsen, I., & Knowles, J. C. (2004). Processing , characterisation and biocompatibility of iron-phosphate glass fibres for tissue engineering. *Biomatériaux*, 25, 3223–3232. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.013>
- Bauer, W., Aub, J. C., & Albright, F. (1928). Studies of Calcium and Phosphorus Metabolism. *The Journal of Experimental Medicine*, 49(1), 145–162. <https://doi.org/10.1084/jem.49.1.145>
- Bennazha, J., Boukhari, A., & Holt, E. M. (1999). Synthesis and crystal structure of Na<sub>2</sub>CaP<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. *Solid State Science*, 373–380.
- Betts, F., & Posner, A. S. (1974a). A structural model for amorphous calcium phosphate. *Trans Am Cryst Assoc*, 10, 74–83.
- Betts, F., & Posner, A. S. (1974b). An X-Ray radial distribution study of amorphous calcium phosphate. *Materials Research Bulletin*, 9(7), 353–360.
- Bohner, M. (2000). Calcium orthophosphates in medicine: From ceramics to calcium phosphate cements. *Injury, International Journal of the Care of the Injured*, 31(SUPPL. 4), 37–47. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(00\)80022-4](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(00)80022-4)
- Bohner, M. (2007). Reactivity of calcium phosphate cements. *Journal of Material Chemistry*, 17, 3980–3986. <https://doi.org/10.1039/b706411j>
- Brauer, D. S., Karpukhina, N., Law, R. V., & Hill, R. G. (2010). Effect of TiO<sub>2</sub> addition on structure , solubility and crystallisation of phosphate invert glasses for biomedical applications. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 356(44–49), 2626–2633. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2010.03.022>
- Brauer, D. S., Rüssel, C., & Kraft, J. (2007). Solubility of glasses in the system P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – CaO – MgO – Na<sub>2</sub>O – TiO<sub>2</sub> : Experimental and modeling using artificial neural networks. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 353, 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2006.12.005>
- Brauer, D. S., Wilson, R. M., & Kasuga, T. (2012). Multicomponent phosphate invert glasses with improved processing. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 358(14), 1720–1723. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2012.04.027>
- Brow, R. K. (2000). Review: the structure of simple phosphate glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 263–264, 1–28. [https://doi.org/10.1016/S0022-3093\(99\)00620-1](https://doi.org/10.1016/S0022-3093(99)00620-1)
- Brown, I. D., & and Calvo, C. (1970). The Crystal Chemistry of Large Cation Dichromates , Pyrophosphates , and Related Compounds with Stoichiometry X<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. *Journal of Solid State Chemistry*, 01, 173–179.

## Références bibliographiques

- Brown, W. E., & Chow, L. c. (1983). A new calcium phosphate setting cement. *Journal of Dental Research*, 62, 672.
- Bungenberg de Jong, V. H. G., & Kruyt, H. R. (1929). Koazervation. *Kolloid Zeitschrift*, 1(1), 39–48.
- Campillo-Gimenez, L., Renaudin, F., Jalabert, M., Gras, P., Gosset, M., Rey, C., ... Ea, H.-K. (2018). Inflammatory Potential of Four Different Phases of Calcium Pyrophosphate Relies on NF-  $\kappa$ B Activation and MAPK Pathways. *Frontiers in Immunology*, 9(2248), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02248>
- Cazalbou, S. (2000). *Echanges cationiques impliquant des apatites nanocritallines analogues au mineral osseux*. Institut Nationale Polytechnique de Toulouse.
- Cazalbou, S., Combes, C., Eichert, D., Rey, C., & Glimcher, M. J. (2004). Poorly crystalline apatites : evolution and maturation in vitro and in vivo. *Journal of Bonne and Mineral Metabolism*, 22, 310–317. <https://doi.org/10.1007/s00774-004-0488-0>
- Cazalbou, S., Eichert, D., Drouet, C., Combes, C., & Rey, C. (2004). Minéralisations biologiques à base de phosphate de calcium. *Comptes Rendus - Palevol*, 3(6–7 SPEC.ISS.), 563–572. <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.07.003>
- Champion, E. (2013). Sintering of calcium phosphate bioceramics. *Acta Biomaterialia*, 9(4), 5855–5875. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.11.029>
- Cheng, P.-T., & Pritzker, K. P. H. (1980). alpha-Calcium Disodium Pyrophosphate Tetrahydrate. *Acta Crystallographica*, B36, 921–924. <https://doi.org/10.1107/S0567740880004864>
- Cheng, P. T., & Pritzker, K. P. H. (1983). Solution Ca/P ratio affects calcium phosphate crystal phases. *Calcified Tissue International*, 35(1), 596–601. <https://doi.org/10.1007/BF02405100>
- Christoffersen, M. R., Balic-Zunic, T., Pehrson, S., & Christoffersen, J. (2000). Growth and precipitation of a monoclinic calcium pyrophosphate tetrahydrate indicating auto-inhibition at pH 7. *Journal of Crystal Growth*, 212(3), 500–506. [https://doi.org/10.1016/S0022-0248\(00\)00231-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0248(00)00231-1)
- Combes, C., & Rey, C. (2010). Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomaterials. *Acta Biomaterialia*, 6(9), 3362–3378. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.02.017>
- Combes, C., & Rey, C. (2013). Biomatériaux à base de phosphates de calcium. *Technique de l'ingénieur*, n4950(0), 1–25.
- Combes, Miao, B., Bareille, R., & Rey, C. (2006). Preparation , physical – chemical characterisation and cytocompatibility of calcium carbonate cements. *Biomaterials*, 27, 1945–1954. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.09.026>
- Cornilsen, B. C. (1984). Solid state vibrational spectra of calcium pyrophosphate dihydrate. *Journal of Molecular Structure*, 117(1–2), 1–9. [https://doi.org/10.1016/0022-2860\(84\)87237-3](https://doi.org/10.1016/0022-2860(84)87237-3)
- Cornilsen, B. C., & Condrate, R. A. (1978). The Vibrational Spectra of alpha -alkaline Earth Pyrophosphates. *Journal of Solid State Chemistry*, 23, 375–382.

## Références bibliographiques

- David L. Glaser, MD and Frederick S. Kaplan, M. (1997). Osteoporosis definition and clinical presentation, 22, 12S–16S.
- Drouet, C., Aufray, M., Rollin-Martinet, S., Vandecandelaère, N., Grossin, D., Rossignol, F., ... Rey, C. (2018). Nanocrystalline apatites : The fundamental role of water. *American Mineralogist*, 103, 550–564.
- Drouet, C., Bosc, F., Banu, M., Largeot, C., Combes, C., Dechambre, G., ... Rey, C. (2009). Nanocrystalline apatites: From powders to biomaterials. *Powder Technology*, 190(1–2), 118–122.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2008.04.041>
- Drouet, C., Grossin, D., Combes, C., Sarda, S., Cazalbou, S., & Rey, C. (2018). Apatites biomimétiques - Des biominéraux aux analogues de synthèse pour le biomédical. *Technique de l'ingénieur*, 33(0).
- Eidelman, N., & Brown, W. E. (1990). The effect of pyrophosphate concentrations on calcium phosphate growth on well-crystallized octacalcium phosphate and hydroxyapatite seed crystals. *Journal of Crystal Growth*, 108(2), 385–393.
- Fontaine, M., Combes, C., Mounic, S., & Rey, C. (2001). Composition de ciment hydraulique à base de carbonates de calcium.
- Gangadharan, R., Kalaiselvi, J., Shanmukaraj, D., Palanivel, B., Mohan, S., & Murugan, R. (2002). Ionic conductivity and Raman investigations on the phase transformations of Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. *Journal of Alloys and Compounds*, 340, 95–100.
- Giudicelli, J., & Souberbielle, J. C. (1998). Le remodelage osseux et l'exploration de l'ostéoporose. *Revue de l'ACOMEN*, 4(3), 251–272.
- Gomez, F., Vast, P., & Willot, G. (2000). Influence of pH on the formation of polyphosphate coacervates. *Phosphorus Research Bulletin*, 11, 53–60.
- Gránásy, L., Pusztai, T., Tegze, G., Warren, J. A., & Douglas, J. F. (2005). Growth and form of spherulites. *The American Physical Society*, 1–15. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.72.011605>
- Gras, P. (2014). *Etude Physico-Chimique Et Structurale De Pyrophosphates De Calcium Hydratés: Application Aux Micro-Calcifications Associées à L'Arthrose* (thèse). Université de Toulouse.
- Gras, P., Baker, A., Combes, C., Rey, C., Sarda, S., Wright, A. J., ... Bonhomme, C. (2016). From crystalline to amorphous calcium pyrophosphates: A solid state Nuclear Magnetic Resonance perspective. *Acta Biomaterialia*, 31, 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.016>
- Gras, P., Rey, C., Marsan, O., Sarda, S., & Combes, C. (2013). Synthesis and characterisation of hydrated calcium pyrophosphate phases of biological interest. *European Journal of Inorganic Chemistry*, (34), 5886–5895. <https://doi.org/10.1002/ejic.201300955>
- Griffiths, L., Root, A., Harris, R. K., Packer, K. J., & Tromans, F. R. (1986). Magic-angle Spinning Phosphorus-31

## Références bibliographiques

- Nuclear Magnetic Resonance of Polycrystalline Sodium Phosphates. *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, 2247–2251.
- Grover, L. M., Gbureck, U., Wright, A. J., & Barralet, J. E. (2005). Cement Formulations in the Calcium Phosphate H<sub>2</sub>O–H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>–H<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> System. *Journal of American Ceramic Society*, 88(11), 3096–3103.  
<https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2005.00558.x>
- Grover, L. M., Wright, A. J., Gbureck, U., Bolarinwa, A., Song, J., Liu, Y., ... Barralet, J. E. (2013). The effect of amorphous pyrophosphate on calcium phosphate cement resorption and bone generation. *Biomaterials*, 34(28), 6631–6637. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.001>
- H. Takadama and T. Kokubo. (2008). In vitro evaluation of bone bioactivity. *Bioceramics and Their Clinical Applications*, 165–182.
- Habraken, W. J. E. M., Tao, J., Brylka, L. J., Friedrich, H., Bertinetti, L., Schenk, A. S., ... Sommerdijk, N. A. J. M. (2013). Ion-association complexe unite classical and non\_classical theorie for the biomimetic nucleation of calcium phosphate. *Nature Communications*, 4, 1507–1512. <https://doi.org/10.1038/ncomms2490>
- Hayashi, S., & Hayamizu, K. (1991). Spinning-rate dependence of <sup>31</sup>P magic-angle-spinning nuclear magnetic resonance spectra in condensed phosphates. *Chemical Physics*, 157(3), 381–389. [https://doi.org/10.1016/0301-0104\(91\)89030-E](https://doi.org/10.1016/0301-0104(91)89030-E)
- Hayashi, S., & Hayamizu Kikuko. (1989). High-Resolution Solid-Sate <sup>31</sup>P NMR of Alkali Phosphates. *The Chemical Society of Japan*, 62(10), 3061–3068.
- Heinonen, J. K. (1937). *Biological Role of Inorganic Pyrophosphate*.
- Hench, L. L. (2006). The story of Bioglass. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(11), 967–978.  
<https://doi.org/10.1007/s10856-006-0432-z>
- Herbert, F., & Sylvia, B. (1962). Mechanism of calcification: inhibitory role of pyrophosphate. *Nature*, 4844, 911.
- Heughebaert, J. (1977). *Contribution à l'étude de l'évolution des orthophosphates de calcium précipités amorphes en orthophosphates apatitiques*. Institut National Polytechnique Toulouse.
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes : a review. *Plant and Soil*, 237, 173–195.
- Hubert Joe, I., & Aruldbas, G. (1991). Vibrational Spectra of a-CaNa<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7.4</sub>H<sub>2</sub>O , CdNH<sub>4</sub>NaP<sub>2</sub>O<sub>7.3</sub>H<sub>2</sub>O and CdNH<sub>4</sub>NaP<sub>2</sub>O<sub>7.3</sub>H<sub>2</sub>O. *Journal of RAMAN Spectroscopy*, 22, 537–539.
- Jarcho, M. (1981). Calcium Phosphate Ceramics as Hard Tissue Prosthetics. *Clinical Orthopaedica and Related Research*, 157, 259–278.
- Kasuga, T. (2005). Bioactive calcium pyrophosphate glasses and glass-ceramics. *Acta Biomaterialia*, 1(1), 55–64.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2004.08.001>
- Kasuga, T., Hosoi, Y., & Nogamie, M. (2001). Apatite Formation on Calcium Phosphate Invert Glasses in Simulated

## Références bibliographiques

- Body Fluid. *Journal of American Ceramic Society*, 84(2), 450–452.
- Kasuga, T., Sawada, M., Nogami, M., & Abe, Y. (1999). Bioactive ceramics prepared by sintering and crystallization of calcium phosphate invert glasses. *Biomaterials*, 20(15), 1415–1420. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(99\)00047-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(99)00047-2)
- Kaupp, M., Aubauer, C., Engelhardt, G., Klapotke, T. M., & Malkina, O. L. (1999). The PI4+ cation has an extremely large negative P-31 nuclear magnetic resonance chemical shift, due to spin-orbit coupling: A quantum-chemical prediction and its confirmation by solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*, 110(8), 3897–3902. <https://doi.org/10.1063/1.478243>
- Kay, M. I., Young, R. A., & Posner, A. S. (1964). Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature*, 204, 1050–1052.
- Kenley, R. A., Yim, K., Abrams, J., Ron, E., Turek, T., Marden, L. J., & Hollinger, J. O. (1993). Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharmaceutical Research*, 10(10), 1393–1401.
- Kishioka, A., Haba, M., & Amagasa, M. (1974). Glass formation in multicomponent phosphate systems containing Ti<sub>2</sub>O. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 47(10), 2493–2496.
- Knowles, J. C. (2003). Phosphate based glasses for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry*, 13(10), 2395–2401. <https://doi.org/10.1039/b307119g>
- Kojima, Y., Sakama, K., Toyama, T., & Arai, Y. (1994). Dehydration of water molecule in amorphous calcium phosphate. *Phosphorus Research Bulletin*, 4, 47–52.
- Koo, S., König, B., Allegrini, S., Yoshimoto, M., Carbonari, M. J., & Mitri-Luiz, F. F. (2006). Titanium implant osseointegration with calcium pyrophosphate in rabbits. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 76(2), 373–380. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30383>
- Kuhn, L. T., Grynpas, M. D., Rey, C. C., Wu, Y., Ackerman, J. L., & Glincher, M. J. (2008). A Comparison of the Physical and Chemical Differences Between Cancellous and Cortical Bovine Bone Mineral at Two Ages. *Calcified Tissue International*, 83, 146–154. <https://doi.org/10.1007/s00223-008-9164-z>
- Lee, J. H., Chang, B. S., Jeung, U. O., Park, K. W., Kim, M. S., & Lee, C. K. (2011). The first clinical trial of beta-calcium pyrophosphate as a novel bone graft extender in instrumented posterolateral Lumbar fusion. *Clinics in Orthopedic Surgery*, 3(3), 238–244. <https://doi.org/10.4055/cios.2011.3.3.238>
- LeGeros, R. Z., Chohayed, A., & Shulman, A. (1982). Apatitic calcium phosphates: possible dental restorative materials. *Journal of Dental Research*, 61, 343.
- Leung, K. Y., & Calvo, C. (1972). The structure of Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> at 22°C. *Canadian Journal of Chem*, 50(16), 2519–2526.
- Ley-Ngardigal, K. (2016). *Effets d'additifs ioniques sur la précipitation de cristaux de pyrophosphate de calcium associés à l'arthrose* (Thèse), Université de Toulouse.

## Références bibliographiques

- Lotsari, A., Rajasekharan, A. K., Halvarsson, M., & Andersson, M. (2018). Transformation of amorphous calcium phosphate to bone-like apatite. *Nature Communications*, 9(4170). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06570-x>
- Mackenzie, N. C. W., Huesa, C., Rutsch, F., & Macrae, V. E. (2012). New insights into NPP1 function : Lessons from clinical and animal studies. *Bone*, 51(5), 961–968. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.07.014>
- Mitchell, K. A. R. (1969). The use of outer d orbitals in bonding. *Chemical Reviews*, 69(2), 157–178. <https://doi.org/10.1021/cr60258a001>
- Momeni, A., & Filiaggi, M. J. (2014). Comprehensive Study of the Chelation and Coacervation of Alkaline Earth Metals in the Presence of Sodium Polyphosphate Solution. *American Chemical Society*, 30, 5256–5266.
- Montagne, L. (1991). *Role liant des phosphates condenses dans les composites céramique-métal ; application au système alumine-nickel*. Université des sciences et techniques de Lille Flandres-Artois.
- Murthy, K. M., Smith, J. M., & Westmant, A. E. R. (1961). Constitution of Mixed-Alkali Phosphate Glasses: I, Constitution of Constant Lithium Variable Sodium- Potassium Phosphate Glasses. *Journal of American Ceramic Society*, 44(3).
- Naga, S. M., Awaad, M., El-Maghraby, H. F., & El-Kady, A. M. (2014). Biological performance of calcium pyrophosphate-coated porous alumina scaffolds. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/ijac.12076>
- Okazaki, M., Miake, Y., Tohda, H., Yanagisawa, T., & Takahashi, J. (1999). Fluoridated apatite synthesized using a multi-step fluoride supply system. *Biomatérials*, 20, 1303–1307.
- Pariente, J., Bordenave, L., & Conort, P. (2005). Biomatériaux , Biomatériels et Biocompatibilité. *Progrès En Urologie*, 15, 887–890.
- Pascaud, P. (2012). *Apatites nanocristallines biomimétiques comme modèles de la réactivité osseuse : Etude des propriétés d'adsorption et de l'activité cellulaire d'un bisphosphonate, le tiludronate* (Thèse). Université de Toulouse.
- Paschalakis, P., Vynios, D. H., Tsiganos, C. P., & Koutsoukos, P. G. (2002). Inhibition of hydroxyapatite growth in vitro by glycosaminoglycans. In Z. Amjad (Ed.), *Water Soluble Polymers, Solution Properties and Applications* (pp. 63–75).
- Pasteris, J. D., Wopenka, B., & Valsami-jones, E. (2008). Bone and Tooth Mineralization : Why Apatite ? *Elements*, 4, 97–104.
- Penel, G., Leroy, G., Rey, C., & Bres, E. (1998). MicroRaman spectral study of the PO<sub>4</sub> and CO<sub>3</sub> vibrational modes in synthetic and biological apatites. *Calcified Tissue International*, 63(6), 475–481. <https://doi.org/10.1007/s002239900561>
- Penel, G., Leroy, N., Landuyt, P. V. A. N., Flautre, B., Hardouin, P., Lemaître, J., & Leroy, G. (1999). Raman

## Références bibliographiques

- Microspectrometry Studies of Brushite Cement : In Vivo Evolution in a Sheep Model. *Bone*, 25(2), 81–84.
- Pickup, D. M., Guerry, P., Moss, R. M., Knowles, J. C., Smith, M. E., & Newport, R. J. (2007). New sol–gel synthesis of a (CaO)0.3(Na2O)0.2(P2O5)0.5 bioresorbable glass and its structural characterisation. *Journal of Materials Chemistry*, 17(45), 4777. <https://doi.org/10.1039/b709955j>
- Pickup, D. M., Newport, R. J., Barney, E. R., Kim, J., Valappil, S. P., & and Knowles, J. C. (2014). Characterisation of phosphate coacervates for potential biomedical applications. *Journal of Biomaterials Applications*, 28(8), 1226–1234. <https://doi.org/10.1177/0885328213502586>
- Pilliar, R. M., Filiaggi, M. J., Wells, J. D., Grynpas, M. D., & Kandel, R. A. (2001). Porous calcium polyphosphate scaffolds for bone substitute applications - in vitro characterization. *Biomaterials*, 22, 963–972.
- Posner, A. S., & Betts, F. (1975). Synthetic Amorphous Calcium Phosphate and Its Relation to Bone Mineral Structure. *Account of Chemical Research*, 8(11), 273–281. <https://doi.org/10.1021/ar50092a003>
- Posner, A. S., Termine, J. D., & Peckauskas, R. A. (1970). Calcium Phosphate Formation in Vitro, (8), 318–325.
- Pourpoint, F., Gervais, C., Bonhomme-Coury, L., Azaïs, T., Coelho, C., Mauri, F., ... Bonhomme, C. (2007). Calcium Phosphates and Hydroxyapatite: Solid-State NMR Experiments and First-Principles Calculations. *Applied Magnetic Resonance*, 32(4), 435–457. <https://doi.org/10.1007/s00723-007-0040-1>
- Rashchi, F., & Finch, J. A. (2000). Polyphosphates: A review. Their chemistry and application with particular reference to mineral processing. *Minerals Engineering*, 13(10), 1019–1035. [https://doi.org/10.1016/S0892-6875\(00\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S0892-6875(00)00087-X)
- Rey, C., Collins, B., Goehl, T., Dickson, I. R., & Glimcher, M. J. (1989). The Carbonate Environment in Bone Mineral : A Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study Preparation of Bone Samples. *Calcified Tissue International*, 45, 157–164.
- Rey, C., Combes, C., Drouet, C., & Glimcher, M. J. (2009). Bone mineral : update on chemical composition and structure. *Osteoporosis International*, 20, 1013–1021. <https://doi.org/10.1007/s00198-009-0860-y>
- Rey, C., Combes, C., Drouet, C., Sfihi, H., & Barroug, A. (2007). Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: Implications for biominerals and biomaterials. *Materials Science and Engineering C*, 27(2), 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.05.015>
- Rey, C., Marsan, O., Combes, C., Drouet, C., Grossin, D., & Sarda, S. (2014). Characterization of Calcium Phosphates Using Vibrational Spectroscopies. In *Advances in Calcium Phosphate Biometals*.
- Rey, C., Renugopalakrishnan, V., Collins, B., & Glimcher, M. J. (1991). Fourier Transform Infrared Spectroscopic Study of the Carbonate Ions in Bone Mineral During Aging. *Calcified Tissue International*, 49, 251–258.
- Rollin-Martinet, S., Nvrotksy, A., Champion, E., Grossin, D., & Drouet, C. (2013). Thermodynamic basis for evolution of apatite in calcified tissues. *American Mineralogist*, 98, 2037–2045.

## Références bibliographiques

- Rouse, R. C., Peacor, D. R., & Freed, R. L. (1988). Pyrophosphate groups in the strcuture of, CaNa<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>4(H<sub>2</sub>O): The first occurrence of a condensed phosphate as a mineral. *American Mineralogist*, 168–171.
- Ryan, L. M., & McCarty, D. J. (1995). Understanding inorganic pyrophosphate metabolism: toward prevention of calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 54(12), 939–941. <https://doi.org/10.1136/ard.54.12.939>
- Sedlak, J. M., & Beebe, R. A. (1974). Temperature Programmed Dehydration of Amorphous Calcium Phosphate. *Journal of Colloid and Interface*, 47(2), 483–489.
- Sepulveda, P., Jones, J. r., & Hench, L. L. (2001). Characterization of Melt-Derived 45S5 and sol-gel-derived 58S Bioactive Glasses. *Journal of Biomedical Materials Research*, 564–569. <https://doi.org/10.1002/jbm.0000>
- Sharmin, N., Rudd, C. D., Parsons, A. J., & Ahmed, I. (2016). Structure , viscosity and fibre drawing properties of phosphate-based glasses : effect of boron and iron oxide addition. *Journal of Materials Science*, 51(16), 7523–7535. <https://doi.org/10.1007/s10853-016-0032-3>
- Sinyaev, V. A., Shustikova, E. S., Levchenko, L. V., & Sedunov, A. A. (2001). Synthesis and Dehydration of Amorphous Calcium Phosphate. *Inorganic Materials*, 37(6), 735–738. <https://doi.org/10.1023/A:1017572502092>
- Slater, C., Laurencin, D., Burnell, V., Smith, M. E., Grover, L. M., Hriljac, J. A., & Wright, A. J. (2011). Enhanced stability and local structure in biologically relevant amorphous materials containing pyrophosphate. *Journal of Materials Chemistry*, 21(46), 18783–18791. <https://doi.org/10.1039/c1jm13930d>
- Somrani, S., Banu, M., Jemal, M., & Rey, C. (2005). Physico-chemical and thermochemical studies of the hydrolytic conversion of amorphous tricalcium phosphate into apatite. *Journal of Solid State Chemistry*, 178, 1337–1348. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2004.11.029>
- Soulié, J., Combes, C., Rey, C., & Gras, P. (2016). Pyrophosphate type material, process for preparing such a material and use for bone repair *WO2016/051063A1*.
- Soulié, J., Gras, P., Marsan, O., Laurencin, D., Rey, C., & Combes, C. (2016). Development of a new family of monolithic calcium (pyro)phosphate glasses by soft chemistry. *Acta Biomaterialia*, 41, 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.05.030>
- Soulié, J., Lao, J., Jallot, E., & Nedelec, J. M. (2012). Influence of mesostructuration on the reactivity of bioactive glasses in biological medium: a PIXE-RBS study. *Journal of Materials Chemistry*, 22(38), 20680–20688. <https://doi.org/10.1039/c2jm30880k>
- Thouverey, C., Bechkoff, G., Pikula, S., & Buchet, R. (2009). Inorganic pyrophosphate as a regulator of hydroxyapatite or calcium pyrophosphate dihydrate mineral deposition by matrix vesicles. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17(1), 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2008.05.020>
- Vallet-Regí, M., & González-Calbet, J. M. (2004). Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in*

## Références bibliographiques

- Solid State Chemistry.* <https://doi.org/10.1016/j.progsolidstchem.2004.07.001>
- Vandecandelaere, N. (2012). *Elaboration et caractérisation de biomatériaux osseux innovants à base d'apatites phospho-calciques dopées*. Université de Toulouse.
- Viguet-Carrin, S., Garnero, P., & Delmas, P. D. (2006). The role of collagen in bone strength. *Osteoporosis International*, 17, 319–336. <https://doi.org/10.1007/s00198-005-2035-9>
- Wang, Y., Euw, S. Von, Fernandes, F. M., Cassaignon, S., Selmane, M., Laurent, G., ... Nassif, N. (2013). Water-mediated structuring of bone apatite. *Nature Materials*, 12(12), 1144–1153. <https://doi.org/10.1038/nmat3787>

## **Annexes**

## Techniques de caractérisation

### A1. Diffraction des rayons X

Deux types de diffractomètres de rayons X ont été utilisés au cours de ces travaux de thèse, l'un en configuration  $\theta$ - $2\theta$  et l'autre équipé d'un compteur spatial (compteur courbe). Le diffractomètre Bruker a été utilisé en supplément car permet une meilleure résolution aux petits angles.

#### *Diffractomètre RX Bruker D8 Advance*

L'analyse par diffraction des rayons X sur poudre a été effectuée à la température ambiante à l'aide d'un diffractomètre (Bruker D8 Advanced) avec une anticathode en cuivre ( $\lambda(K_{\alpha 1}) = 1,54056 \text{ \AA}$ ,  $\lambda(K_{\alpha 2}) = 1,54433 \text{ \AA}$ ), pas de  $0,03^\circ$  entre  $10^\circ$  et  $70^\circ$  avec une durée d'acquisition de 1h30.

#### *Diffractomètre RX Inel Equinox 1000*

L'analyse par diffraction des rayons X sur poudre a été effectuée à la température ambiante à l'aide d'un diffractomètre (INEL Equinox 1000) équipé d'une anticathode de cobalt ( $\lambda(K\alpha) = 1,788970 \text{ \AA}$ ), sous 30 mA et une tension de 30 kV, et d'un détecteur courbe. Les diagrammes ont été accumulés sur une gamme d'angles allant de 0 à  $117^\circ$  (compteur courbe) pendant 5400 secondes.

### A2. Spectroscopie vibrationnelle Raman

Les analyses de diffusion Raman ont été effectuées à l'aide d'un microscope confocal Raman Labram HR 800 Horiba Yvon Jobin. L'échantillon a été exposé à un rayonnement laser continu fourni par un laser à diode à l'argon de longueur d'onde 532 nm et d'une puissance de 14 mW. Les analyses ont été réalisées avec un microscope Olympus BX 41 équipé d'une lentille x100 d'une ouverture numérique de 0,9, ce qui confère au système une résolution latérale de  $1,0 \mu\text{m}$  et une résolution axiale de  $4,5 \mu\text{m}$ . Le spectre de chaque microdomaine analysé a été acquis *via* un réseau de 600 traits par min avec une résolution spectrale de  $1,5 \text{ cm}^{-1}$  et recueilli avec un détecteur de puits quantique refroidi à  $-60^\circ\text{C}$  par double effet Peltier (CCD Synapse). Un étalon de silicium certifié a été utilisé pour étalonner la fréquence de l'équipement à l'aide de la ligne de silicium de premier ordre à  $520,7 \text{ cm}^{-1}$ . Chaque spectre a été acquis avec un temps d'intégration de 30 secondes et 5 accumulations.

## A2.1. Sélection des paramètres utilisés pour la décomposition des bandes spectrales de spectroscopie Raman

La décomposition des bandes spectrales Raman énoncée à la Figure II – 9 (page 42) a été effectuée en fixant les paramètres de décomposition indiqués dans le tableau ci-dessous.

| Nom  | Espèces                                     | Bandes                          | Position<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Paramètre des bandes             |   |                                |           |
|------|---|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---|--------------------------------|-----------|
|      |   |                                 |                                 | Shift max<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Fonction de distribution<br>$0 < g < 1$ | Largeur<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Intensité |
| a    | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>               | v <sub>1</sub> PO <sub>4</sub>  | 950                             | +/-10                            | Non fixé                                | Non fixé                       | Non fixé  |
| a'   | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>               | v <sub>1</sub> PO <sub>4</sub>  | 961                             | +/-10                            |   |                                |           |
| b    | P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> | v <sub>as</sub> PO <sub>3</sub> | 1036                            | +/-10                            |   |                                |           |
| b'   | P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> | v <sub>as</sub> PO <sub>3</sub> | 1044                            | +/-10                            |   |                                |           |
| c    | HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>              | v <sub>s</sub> PO <sub>3</sub>  | 1000                            | +/-10                            |   |                                |           |
| d    | -   | -                               | 895                             | +/-10                            |   |                                |           |
| d'   | -   | -                               | 1080                            | +/-10                            |   |                                |           |
| d''  | -   | -                               | 1125                            | +/-10                            |   |                                |           |
| d''' | -   | -                               | 1176                            | +/-10                            |   |                                |           |

0<g<1 avec g = 1 : 100% distribution Gaussienne et g = 0 : 100% Lorentzienne

## A3. Spectroscopie RMN

Des expériences de RMN en phase solide par rotation à l'angle magique (MAS) ont été réalisées pour analyser les environnements locaux <sup>31</sup>P, <sup>23</sup>Na, <sup>1</sup>H et <sup>43</sup>Ca dans les matériaux synthétisés. Des spectres <sup>1</sup>H *singe pulse*, <sup>23</sup>Na *single pulse*, <sup>31</sup>P *single pulse* et <sup>31</sup>P CP INADEQUATE (*Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment*) ont été enregistrés sur un instrument VNMRS à 600 MHz (14,1 T) équipé d'une sonde à triple résonance Varian T3 de 3,2 mm avec des vitesses de rotation de 14 à 20 kHz. Des expériences CP SQ-DQ (Simple Quantum-Double Quantum) <sup>31</sup>P avec recouplage SPC5 ont été effectuées sur un spectromètre Bruker AVANCE III à 700 MHz (16,4 T), équipé d'une sonde MAS à double résonance (rotor de 4 mm de diamètre) tournant à 14 kHz. Les détails expérimentaux pour l'ensemble des analyses RMN en phase solide réalisées sont présenté dans la partie Annexe A8.

## A4. Microscopie électronique à balayage

Des analyses au microscope électronique à balayage (MEB) ont été effectuées sur un microscope LEO 435 VP avec une tension d'accélération dans la plage de 8 à 12 kV. Les échantillons ont été broyés dans un mortier jusqu'à l'obtention de grains submillimétriques déposés sur des disques de carbone adhésifs et enfin recouverts d'une fine couche d'argent par pulvérisation cathodique (durée de métallisation de 120 secondes) avant observation.

## A5. Microscopie électronique à transmission

Des analyses au microscope électronique à transmission (MET) ont été effectuées sur un microscope JEOL JEM-1400 avec une tension d'accélération dans la plage de 120 kV et avec un filament Tungstène. Les échantillons ont été mis en résine séchés 24h, découpés à l'aide d'un ultramicrotome à lames diamantées puis mis sur une grille d'observation.

## A6. Analyse thermique

## Annexes

Les analyses thermogravimétriques (ATG) et les analyses thermiques différentielles (ATD) ont été effectuées à l'aide d'un instrument Setaram (Setsys Evolution System) de 25 à 600°C avec un palier de 20 min à 600°C et une vitesse de chauffage de 4°C par minute sous flux d'air.

## A7. Analyses chimiques

### Spectrométrie ICP-OES : dosage du calcium, phosphore et sodium

L'analyse par spectrométrie d'émission optique-plasma à couplage inductif (ICP-OES) a été réalisée sur une machine ICP Ultima Expert (débit d'argon : 15 L/min) pour déterminer la composition des solides grâce à la détermination des concentrations en Ca, P, Na dans les solutions dans lesquelles les matériaux NaPYG-0X0 ont été dissous. Avant la nébulisation (Miramist - charges jusqu'à 300 g/L), les solutions analysées ont été préparées comme suit : 100 mg de chaque échantillon ont été dissous dans 5 mL de HNO<sub>3</sub> (2 M) et dilués dans 100 mL d'H<sub>2</sub>O. Les concentrations finales ont été déterminées à partir de la droite étalon établie à l'aide de solutions d'étalonnage (avec [Ca] = 0 - 20 ppm, [P] = 0 - 15 ppm et [Na] = 0 - 30 ppm).

### Chromatographie liquide haute performance UHPLC : dosage chlore

La chromatographie en phase liquide à ultra haute pression (UHPLC) couplée à un détecteur à diffusion de lumière par évaporation (ELSD) a été utilisée pour la détection des ions chlorure (à l'aide d'un appareil Waters Acuity) dans les solutions obtenues après dissolution des matériaux NaPYG-0X0. Les solutions analysées étaient les mêmes que pour l'analyse par spectrométrique ICP-OES. Des solutions d'étalonnage ont été utilisées (avec [Cl] = 0 - 1,5 ppm).

## A8. Détails expérimentaux de toutes les expériences de RMN en phase solide réalisées

Les diverses caractérisations RMN en phase solide effectuées sur les noyaux <sup>1</sup>H, <sup>23</sup>Na, <sup>31</sup>P et <sup>43</sup>Ca ont été acquises par diverses méthodes avec divers paramètres décrits ci-après :

### • <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P, <sup>1</sup>H→<sup>31</sup>P CP, <sup>31</sup>P CP-INADEQUATE (14,1 T)

Les spectres <sup>1</sup>H *single pulse*, <sup>31</sup>P *single pulse* et <sup>31</sup>P CP-INADEQUATE ont été enregistrés sur un spectromètre VNMR-S-600 MHz équipé d'une sonde MAS à triple résonance de 3,2 mm fonctionnant en mode double résonance, et réglé sur <sup>1</sup>H ( $\nu_0$  = 599,82 MHz) et <sup>31</sup>P ( $\nu_0$  = 242,81 MHz). Les expériences *single pulse* <sup>31</sup>P ont été enregistrées à  $v_r$  = 14 kHz, en utilisant une impulsion de 2,5 µs à 90° et un découplage *spinal-64* <sup>1</sup>H (RF = 100 kHz) au cours de l'acquisition. Un délai de recyclage de 400 secondes a été utilisé pour tous les échantillons (sauf NaPYG-000, avec D1 = 800 secondes) et 4 balayages ont été acquis. Les spectres <sup>31</sup>P CP-INADEQUATE ont été enregistrés avec une vitesse de rotation de 16 à 20 kHz. Une puissance RF <sup>31</sup>P de 83 kHz ou 100 kHz a été utilisée pour les impulsions à 90° et 180°, en fonction de l'échantillon, et le délai d'évolution a été réglé à 4 ms. Un découplage *spinal-64* <sup>1</sup>H (RF = 100 kHz) a été appliqué lors de l'acquisition. Les expériences ont été réalisées en utilisant 10 impulsions de pré-saturation sur le délai de recyclage <sup>31</sup>P, 80 à 400 s, et en recueillant 16 à 64 balayages, en fonction de l'échantillon. Les spectres CP MAS <sup>1</sup>H-<sup>31</sup>P ont été enregistrés à  $v_r$  = 14 kHz, en utilisant une impulsion de 2,5 µs à 90° et un temps de contact de 300 ps, 2 ms et 8 ms. Un délai de recyclage de 8 s (16 s pour NaPYG-000) et 20 balayages ont été recueillis, un découplage *spinal-64* (RF = 100 kHz) a été appliqué pendant l'acquisition. Les acquisitions <sup>31</sup>P CP-INADEQUATE de NaPYG-010, NaPYG-030 et NaPYG-050 ont été réalisées avec l'unité de contrôle de la température réglée à 0°C, tandis que toutes les autres

## Annexes

expériences ont été réalisées sans contrôle de la température. Les déplacements chimiques ont été référencés par rapport à l'hydroxyapatite à  $\delta_{\text{iso}}(^1\text{H}) = 0 \text{ ppm}$  (sur le groupe hydroxyle) pour  $^1\text{H}$  et à  $\delta_{\text{iso}}(^{31}\text{P}) = 2,8 \text{ ppm}$  pour  $^{31}\text{P}$ .

- **$^1\text{H}$  single pulse et  $^1\text{H}$  Hahn echo (14,1 T)**

Les spectres d'écho  $^1\text{H}$  *single pulse* et Hahn  $^1\text{H}$  ont été enregistrés sur un spectromètre VNMRS-600 MHz équipé d'une sonde MAS Varian à triple résonance de 1,2 mm réglée sur  $^1\text{H}$  ( $v_0 = 599,82 \text{ MHz}$ ) et en utilisant une vitesse de rotation de 40 kHz. Les expériences  $^1\text{H}$  *single pulse* ont été réalisées en utilisant une impulsion de 2,5  $\mu\text{s}$  à 90° (RF = 100 kHz). Les expériences d'écho  $^1\text{H}$  Hahn ont été enregistrées avec des impulsions de 2,5  $\mu\text{s}$  et 5,0  $\mu\text{s}$  à 90° et 180° et des délais d'écho synchronisés par rotor  $\tau = 25 \mu\text{s}$ , 250  $\mu\text{s}$  et 500  $\mu\text{s}$ . Un total de 32 balayages, avec un délai de recyclage de 8 s (16 s pour NaPYG-000) a été réalisé. Les déplacements chimiques ont été référencés par rapport à l'adamantane ( $\delta_{\text{iso}}(^1\text{H}) = 1,8 \text{ ppm}$  pour  $^1\text{H}$ ).

- **$^{23}\text{Na}$  single pulse (9,4 et 14,1 T)**

Les expériences *single pulse* de  $^{23}\text{Na}$  ont été effectuées sur un spectromètre VNMRS-600 MHz (14,1 T) en utilisant une sonde MAS à triple résonance Varian de 3,2 mm ajustée sur  $^1\text{H}$  ( $v_0 = 599,82 \text{ MHz}$ ) et  $^{23}\text{Na}$  ( $v_0 = 158,66 \text{ MHz}$ ), et une rotation à  $vr = 20 \text{ kHz}$ . Les expériences *single pulse* de  $^{23}\text{Na}$  ont été réalisées en utilisant des impulsions de 0,5  $\mu\text{s}$  à 30° ou de 1,5  $\mu\text{s}$  à 90° et en appliquant un découplage *spinal-64*  $^1\text{H}$  (RF = 100 kHz) au cours de l'acquisition. La comparaison des formes de signaux de  $^{23}\text{Na}$  obtenues avec des impulsions de 0,5 ou 1,5  $\mu\text{s}$  n'a révélé aucune variation significative. Des délais de recyclage de 0,2 à 2 s ont été utilisés et 200 à 12 000 balayages ont été collectés, en fonction de l'échantillon. Des expériences complémentaires *single pulse* de  $^{23}\text{Na}$  ont été effectuées sur un spectromètre VNMRS-400 MHz (9,4 T) en utilisant une sonde MAS à triple résonance Varian de 3,2 mm, réglée sur  $^1\text{H}$  ( $v_0 = 399,93 \text{ MHz}$ ) et  $^{23}\text{Na}$  ( $v_0 = 105,79 \text{ MHz}$ ), et une rotation à  $vr = 20 \text{ kHz}$ . Les expériences *single pulse* de  $^{23}\text{Na}$  ont été réalisées en utilisant une impulsion (RF ≈ 83 kHz) de 0,5  $\mu\text{s}$  à 30 °C, et en appliquant un découplage *spinal-64*  $^1\text{H}$  (RF = 100 kHz) au cours de l'acquisition. Des délais de recyclage de 0,2 à 0,5 s ont été utilisés et 12 000 à 20 000 balayages ont été collectés, en fonction de l'échantillon. Les déplacements chimiques ont été référencés par rapport à une solution de NaCl 1 M (à 0 ppm). Les expériences  $^{23}\text{Na}$  *single pulse* utilisant une impulsion de 0,5  $\mu\text{s}$  ont été collectées avec le contrôle de température réglé à 0°C, tandis que les données de l'expérience *single pulse* de  $^{23}\text{Na}$  collectées à l'aide d'une impulsion de 2,5  $\mu\text{s}$  ont été recueillies sans contrôle de température. Aucune influence significative n'a été observée sur les spectres en présence d'une régulation de la température.

- **$^1\text{H}$  Hahn echo et  $^1\text{H}\{^{31}\text{P}\}$ HETCOR (14,1 T)**

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  écho Hahn et  $^1\text{H}\{^{31}\text{P}\}$  HETCOR ont été acquis à l'aide d'un spectromètre VNMRS-600 MHz équipé d'une sonde MAS Varian à triple résonance de 1,6 mm fonctionnant en mode double résonance, et réglé sur  $^1\text{H}$  ( $v_0 = 599,82 \text{ MHz}$ ) et  $^{31}\text{P}$  ( $v_0 = 242,81 \text{ MHz}$ ). Les spectres d'écho Hahn  $^1\text{H}$  ont été enregistrés en rotation à 30 kHz, en utilisant des impulsions de 2,5  $\mu\text{s}$  (90 °) et 5,0  $\mu\text{s}$  (180 °) (RF = 100 kHz), ainsi que des délais d'écho correspondant à 1, 3, 4, 12, 13, 16 périodes de rotor. Un total de 32 numérisations a été acquis avec un délai de recyclage de 4 s. Les CP-HETCOR  $^1\text{H}\{^{31}\text{P}\}$  ont été acquis à  $vr = 22 \text{ kHz}$ , en utilisant une impulsion 3  $\mu\text{s}$  à 90 °  $^{31}\text{P}$  et des temps de contact de 0,1, 0,3 et 5,0 ms. Un découplage *spinal-64*  $^1\text{H}$  (RF = 100 kHz) a été appliqué lors de l'acquisition. Les déplacements

## Annexes

chimiques ont été référencés par rapport à l'hydroxyapatite à  $\delta_{\text{iso}}(^1\text{H}) = 0$  ppm (sur le groupe hydroxyle) pour  $^1\text{H}$  et à  $\delta_{\text{iso}}(^3\text{P}) = 2,8$  ppm pour  $^{31}\text{P}$ . Les expériences ont été effectuées avec l'unité de contrôle de la température réglée à -40°C.

- **$^{31}\text{P}$  CP-NOESY (16.4 T)**

Les expériences  $^{31}\text{P}$  CP-NOESY ont été effectuées sur un spectromètre Bruker Advanced III 700 MHz (16,4 T), en utilisant une sonde MAS à triple résonance de 3,2 mm, utilisée en mode double résonance, et synchronisée sur  $^1\text{H}$  ( $\nu_0 = 700,14$  MHz) et  $^{31}\text{P}$  ( $\nu_0 = 283,42$  MHz), en rotation à  $v_r = 20$  kHz. Un découplage  $^1\text{H}$  a été appliqué lors de l'acquisition (RF 35 kHz). Un temps de contact de 2 ms a été utilisé et le temps de mélange a été réglé à 1 s. Le délai de recyclage était de 2 s et 160 numérisations ont été acquises pour chacun des 128 incrément de la 2D. Les expériences ont été effectuées sans régulation de température. Les déplacements chimiques ont été référencés par rapport à l'acide phénylphosphinique ( $\delta_{\text{iso}}(^3\text{P}) = 19,7$  ppm).<sup>3</sup>

- **$^{23}\text{Na}\{^{31}\text{P}\}$  D-HMQC (18.8 T)**

Les spectres  $^{23}\text{Na}\{^{31}\text{P}\}$  D-HMQC améliorés par DFS ont été enregistrés sur un instrument Bruker Advance NEO 4 (18,8 T) à 800 MHz équipé d'une sonde HXY de 3,2 mm et tournant à  $v_r = 20$  kHz. Les spectres DFS- $^{23}\text{Na}\{^{31}\text{P}\}$  D-HMQC ont été acquis avec détection directe du noyau quadripolaire, en utilisant une impulsion de recouplage SFAM2 de 1600  $\mu\text{s}$ , en utilisant la condition  $q = 1$ . Les paramètres expérimentaux suivants ont été utilisés : impulsion de 10  $\mu\text{s}$  à 90°  $^{23}\text{Na}$ , impulsion 4  $\mu\text{s}$   $^{31}\text{P}$  à 90°, découplage  $^1\text{H}$  (RF 63 kHz) pendant les périodes de recouplage et d'acquisition. Un délai de recyclage de 0,4 s a été utilisé et 1536 balayages ont été acquis pour chacun des 30 incrément. Les déplacements chimiques ont été référencés à  $\delta_{\text{iso}}(^{23}\text{Na}) = 0$  ppm sur une solution de NaCl 1 M et à  $\delta_{\text{iso}}(^3\text{P}) = 0$  ppm sur l'acide orthophosphorique. Les expériences ont été effectuées sans contrôle de la température.

- **Abondance naturelle RMN du solide  $^{43}\text{Ca}$  (18.8, 20.0 and 35.2 T)**

Les spectres de RMN  $^{43}\text{Ca}$  ont été enregistrés sur trois champs différents, en fonction de l'échantillon.

Des expériences de RMN  $^{43}\text{Ca}$  ont été effectuées à 18,8 T sur un spectromètre Bruker Advance NEO 4 à 800 MHz, équipé d'une sonde MAS HX Tallahassee 4 mm réglée sur  $^{43}\text{Ca}$  ( $\nu_0 = 53,85$  MHz) et en utilisant une vitesse de rotation de 6 kHz. Les spectres ont été acquis en utilisant une impulsion multi-DFS avec 16 répétitions, en utilisant un balayage DFS de 400 à 50 kHz, suivi d'une impulsion de 1,5  $\mu\text{s}$  (RF  $\approx 27$  kHz). Le délai de recyclage étant réglé à 0,4 s, 9000 à 63 000 numérisations ont été enregistrées, en fonction de l'échantillon.

Des expériences de RMN  $^{43}\text{Ca}$  ont été effectuées à 20,0 T sur un spectromètre Bruker NEO, en utilisant une sonde MAS à faible  $\gamma$  de 7 mm réglée sur  $^{43}\text{Ca}$  ( $\nu_0 = 57,22$  MHz), en utilisant une vitesse de rotation de 5 kHz. Les spectres ont été acquis en utilisant une amélioration multi-DFS (balayage DFS de 400 à 50 kHz), suivie d'une impulsion de 1,5  $\mu\text{s}$  (RF  $\approx 27$  kHz). Le délai de recyclage était fixé à 0,3 s et un total de 47 000 à 7 000 numérisations ont été collectées, en fonction de l'échantillon.

Des expériences de RMN  $^{43}\text{Ca}$  ont été effectuées à 35,2 T sur un aimant SCH à Tallahassee, équipées d'une sonde MAS à canal unique de 3,2 mm, réglées sur  $^{43}\text{Ca}$  ( $\nu_0 (^{43}\text{Ca}) = 100,96$  MHz) et tournant à 10 kHz. Les expériences de RMN

<sup>3</sup> C. Gervais, C. Coelho, T. Azaïs, J. Maquet, G. Laurent, F. Pourpoint, C. Bonhomme, P. Florian, B. Alonso, G. Guerrero, P. H. Mutin, F. Mauri, J. Magn. Reson. **2007**, 187, 131.

## Annexes

ont été effectuées à l'aide d'une console Bruker Advance NEO. Une séquence d'impulsions multi-DFS a été utilisée, le délai de recyclage a été réglé à 0,2 s et environ 11 000 balayages ont été acquis.

Tous les spectres de RMN  $^{43}\text{Ca}$  ont été référencés sur  $\text{CaCl}_2$  1 M ( $\delta_{\text{iso}}(^{43}\text{Ca}) = 0 \text{ ppm}$ ) et les puissances ont été étalonnées sur une solution de  $\text{CaCl}_2$  saturée. Aucun contrôle de température n'a été appliqué pendant les mesures au  $^{43}\text{Ca}$ .

Le descriptif complet des caractérisations RMN en phase solide a été reporté dans un article en cours de révision récemment soumis dans la revue internationale *Acta Biomaterialia* dans lequel sont présentés de façon plus détaillée les caractérisations et interprétation faites sur les différents matériaux NaPYG-OXO<sup>4</sup>.

---

<sup>4</sup>Soulié, J., Mayen, L., D. Jensen, N., Laurencin, D., Marsan, O., Bonhomme, C., Gervais, C., E. Smith, M., Coelho, C., Laurent, G., Trebosc, J., Gan, Z., Chen, K., Rey, C. & Combes, C. (2020). A soft-chemistry approach to the synthesis of amorphous calcium ortho/pyrophosphate biomaterials of tunable composition. *Acta Biomaterialia* (en révision)

## RÉSUMÉ

---

Ce mémoire porte sur l'étude de nouveaux matériaux amorphes mixtes orthophosphate et pyrophosphate de calcium et de sodium qui présentent un intérêt pour des applications en tant que biomatériaux de régénération osseuse du fait de la présence des ions ortho- (briques élémentaires pour la formation d'apatite biologique) et d'ions pyrophosphate (hydrolysables en orthophosphates à pH acide ou par action d'enzymes présentes dans le tissu osseux). Ces matériaux sont élaborés par chimie douce incluant le passage d'une solution à un gel puis à un solide. L'objectif de cette thèse est d'étudier l'effet de différents paramètres de synthèse en vue de déterminer les mécanismes de formation de ces matériaux originaux et de décrire leur structure. En particulier, nous avons étudié l'effet de la composition relative de la solution initiale en précurseurs phosphates (différents ratios molaires en ions ortho- et pyrophosphates) et de la température de séchage lors de la dernière étape du protocole d'élaboration sur la composition et la structure du matériau final en mettant en œuvre différentes techniques de caractérisation complémentaires et à différentes échelles (DRX, MEB, MET, spectroscopie Raman, ATG/ATD, RMN du solide, analyses chimiques). Dans un premier temps, nous montrons qu'il est possible de contrôler la composition du matériau final à partir de celle de la composition de la solution initiale de précurseurs phosphates. Les compositions extrêmes étudiées (100% pyro- et 100% ortho-) conduisent à une phase plus ou moins bien cristallisée : la canaphite  $\alpha$  et l'apatite nanocrystalline, respectivement. En revanche, tous les matériaux élaborés à partir d'une solution de composition intermédiaire (mixte ortho- et pyro-) sont amorphes et leur composition a été déterminée ce qui a permis de proposer une formule chimique générale pour ces matériaux amorphes mixtes ortho et pyrophosphates de calcium et sodium hydratés. Il a été possible de préciser certaines hypothèses, comme l'effet inhibiteur de l'ion pyrophosphate sur la cristallisation de l'orthophosphate de calcium (et vice-versa), qui contrôle la structure du matériau final (amorphe ou cristallin) et ce pour une grande gamme de compositions de matériaux. La caractérisation fine par RMN du solide et par MET ont permis de mettre en évidence une formation de type colloïdale de ces types de matériaux et pouvant s'appuyer sur le modèle de cluster de type Posner. Dans un second temps, nous montrons que la température de séchage, est un paramètre contrôlant l'état d'hydratation de ces matériaux mais aussi la réaction d'hydrolyse interne des ions pyrophosphate en ions orthophosphate au sein du matériau ainsi que la réaction inverse de condensation des ions ortho- en ions pyrophosphate vers 400°C. L'ensemble de ces travaux permet ainsi de préciser les mécanismes physico-chimiques de la formation d'une gamme de compositions de nouveaux matériaux mixtes ortho et pyrophosphate de calcium hydratés amorphes qui permettraient à terme de contrôler leurs propriétés de dégradation *in vitro* et *in vivo* et par voie de conséquence conduire à des matériaux de comblement osseux personnalisés.

*Mots clés : Phosphates de calcium amorphes, Synthèse par chimie douce, Matériaux inorganiques, caractérisations.*

## ABSTRACT

---

The present work concerns the study of an amorphous hydrated calcium and sodium mixed ortho- and pyrophosphate materials which present an interest for biomaterial application in the case of bone regeneration due to the presence of orthophosphate ions (elementary brick of biological apatite formation) and pyrophosphate ions (hydrolysis phenomenon at low pH or by enzymatic activities in bone tissue). These materials are synthesis using soft chemistry protocol including a solution-gel transition and then to a solid state. The objective of this thesis is to study the effect of different synthesis parameters in order to determine the formation mechanism of the original materials and to describe their structure. In fact, we studied the effect of relative composition of initial solution on phosphate precursor (various ranges of molar ratios of ortho- and pyrophosphates) and the drying temperature effect during the last step of the synthesis protocol on the composition of the composition and the structure of the final material by using several complementary characterizations and at various scales (XRD, SEM, TEM, Raman spectroscopy, GTA/DTA, solid-state NMR and chemical analysis). Firstly, we showed that it is possible to control the composition of the final material using the composition of the initial phosphate precursor solution. The extreme compositions (100% pyro- and 100% ortho-) lead to a more or less crystallized phase such as  $\alpha$ -canaphite and nanocrystalline apatite, respectively. On the other hand, all materials synthesised with an intermediate composition of phosphate precursor solution (mixed ortho- and pyro-) are amorphous and their compositions were used to propose a general chemical formula for theses amorphous hydrated calcium and sodium mixed ortho- and pyrophosphate materials. It has been possible to clarify certain hypotheses, such as the inhibitory effect of the pyrophosphate ions on the calcium orthophosphate crystallization (and vice-versa), which control the final structure of the material (amorphous or crystalline) and this control can be extended to a large range of composition. The solid-state NMR and the TEM highlight the colloidal formation of the materials and it can be relevant to compare them with Posner cluster model. In a second part, we showed that the drying temperature is a key parameter to control the hydration state of these materials but we can also use this parameter to understanding the internal hydrolysis reaction of the pyrophosphate ions into orthophosphate ions in the final material. Furthermore, we showed using a third part, by studying the  $\alpha$ -canaphite, the inverse reaction of condensation of orthophosphate ions into pyrophosphate ions at 400°C. All this work allows specifying the formation physicochemical mechanisms on a large range of new amorphous hydrated calcium and sodium mixed ortho- and pyrophosphate materials. This suggests that it could be possible to control also there *in vivo* and *in vitro* degradation properties and ultimately lead to a personalized bone filling materials.

*Keywords: Amorphous calcium phosphate, Soft chemistry synthesis, inorganic material, characterization.*