



N° d'ordre : .....

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et**  
**de la Recherche Scientifique**

**Université de M'sila**  
**Faculté des Sciences**  
**Département de Physique**

## **MEMOIRE**

Présenté pour l'obtention du diplôme de :

### **MASTER**

Domaine : **Sciences de la matière**

Filière : **Physique**

Option : **Sciences des Matériaux**

Par

**Attallah Malika**

### **THEME**

---

**Etude de la bioactivité du verre 52S4, synthétisé par voie fusion, par RMN  
du Solide**

---

Soutenue le : 19/06/2014

Devant le jury composé de :

H. Belhouchet	MCA Univ. de M'sila	Président
F.- Z. Mezahi	MCB Univ. de M'sila	Rapporteur
G. Tellouche	MCB Univ. de M'sila	Examinatrice

Promotion Juin 2014

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes chers parents,*

*À mes frères*

*À mes sœurs*

*À toute ma famille*

*À toutes mes amies et collègues.*

## *Remerciements*

*Ce travail a été réalisé au département de physique de l'université de M'sila.*

*Un très grand merci au bon DIEU qui est toujours présent avec moi dans le bonheur et dans le pire.*

*Je tiens en premier à exprimer ma profonde et sincère gratitude envers Dr. Fatima Zohra Mezahi, maitre de conférences à l'université de M'sila d'avoir proposée, dirigée et suivie ce travail.*

*Je remercie également Monsieur Belhouchet Hocine, maitre de conférences à l'université de M'sila, pour avoir accepté de présider le jury.*

*J'exprime ma profonde gratitude à Madame Tellouche Gamra, maitre de conférences à l'université de M'sila, d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce mémoire.*

*Mes remerciements les plus vifs à toute ma famille, particulièrement un grand merci à ma mère et mon père pour leur aide et ses idées pertinentes.*

*A mes sœurs Hafida, Zahia, Fatima et leurs époux et mes frères Adel, Salem, Antar, Anwar et mes remerciements à mes collègues et amis : I. Fayrouze. M. Asma. G. Mourdjana pour leur soutien, leur présence, et leurs encouragements.*

*Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

## ***SOMMAIRE***

<b>Introduction général</b> .....	1
 <b>PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I : généralités</b> .....	<b>3</b>
1-Introduction.....	3
2-Définition.....	4
2.1- Les Biomatériaux.....	4
2.2- Bioactivité.....	4
2.3- Ostéoconduction.....	4
2.4- Ostéoformation .....	4
2.5- Ostéoinduction .....	4
3-Les greffes osseuses.....	5
3.1- Les autogreffes.....	5
3.2- Les allogreffes.....	5
3.3- Les xéno-greffes.....	5
4- Propriétés et classifications des biomatériaux.....	5
4.1- Biocompatibilité d'un comblement osseux.....	5
4.2- Classification des biomatériaux en fonction de l'interface formée avec les tissus	6
4.2.1- Biomatériaux inertes .....	6
4.2.2- Biomatériaux toxiques .....	6
4.2.3- Biomatériaux bioactifs.....	7
4.2.4- Biomatériaux résorbables.....	7
5- Domaines d'application des biomatériaux .....	8
6- composition et structure du tissu osseux .....	8
6.1- structure de l'os.....	8
6.2- Différents types d'os du point de vue macroscopique.....	9
6.3- Composition de l'os naturel.....	9
<b>Chapitre II : Les verres bioactifs</b> .....	<b>12</b>
1- Introduction.....	12
2- Généralités sur le verre.....	12
2.1- Définition.....	12
2.2- Propriétés du verre.....	13

3- Méthodes de synthèse du verre.....	16
3.1- Synthèse par fusion.....	16
3.2- Synthèse par voie sol-gel.....	17
4- Bioactivité du verre.....	18

## **PARTIE 1 :ETUDE EXPERIMENTALES**

<b>Chapitre III : Matériaux et Méthodes Expérimentales d’analyses utilisées...</b>	<b>19</b>
1- Introduction.....	19
2- Matériau étudié et protocole de synthèse par voie fusion.....	19
3- Présentation du SBF .....	20
4- Techniques de caractérisation.....	20
4.1 - Diffraction aux Rayons X.....	20
4.2- Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie d’énergie dispersive (EDS).....	21
4.3- Spectroscopie d’absorption infrarouge.....	23
4.4- La Spectrométrie d’émission au plasma (ICP-OES).....	24
4.5- Résonance magnétique nucléaire.....	26
<b>Chapitre IV : Résultats et Discussion.....</b>	<b>29</b>
1- Introduction.....	29
2- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F avant immersion dans le SBF.....	29
2.a- Températures caractéristiques du verre.....	29
2.b- Caractérisation par diffraction RX.....	29
2.c- Analyse par spectrométrie IR.....	29
2.d- Analyse par MEB-EDS.....	31
2.f- Analyse par RMN-MAS.....	31
2.f.1- Spectre RMN-MAS <sup>29</sup> Si.....	32
2.f.2- Spectres RMN-MAS <sup>31</sup> P.....	34
3- Caractérisations physico-chimiques de la surface du verre 52S4 après immersion dans le SBF.....	35
3.1- Variation de la concentration ionique du Ca, P et Si dans le SBF.....	35
3.2-Analyse des surfaces par DRX.....	37
3.3- Spectres IR.....	37
3.4- Analyse par MEB-EDS.....	41
3.5- Analyse par RMN-MAS.....	41
a- Spectres RMN-MAS <sup>29</sup> S.....	41

b- Spectres RMN-MAS $^{31}\text{P}$ .....	44
Conclusion .....	47

## Introduction général

A cause des traumatismes ou de certaines pathologies, le squelette osseux peut subir des fractures ou des pertes de substance qui peuvent ainsi altérer une ou plusieurs fonctions du tissu osseux. Quand le défaut osseux est grand, l'autoréparation devienne très difficile et dès fois impossible. Cela a poussé les chirurgiens à remédier à ces problèmes par une reconstruction ou un remplacement du site osseux endommagé par des matériaux synthétiques qui doivent être biocompatibles et doté de propriétés mécaniques similaires à celles de l'os afin d'éviter tout risque d'intolérance ou de rejet par l'organisme. Parmi les matériaux susceptibles d'être utilisés comme implants ou pour le comblement osseux en milieu biologique, on trouve les verres bioactifs.

Pour cela, le travail de ce mémoire est consacré à l'étude de la réactivité du verre quaternaire

$\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  synthétisé par la voie de fusion en utilisant la RMN du solide.

On a réalisé des tests *in vitro* sans cellules dans une solution physiologique simulé (SBF) car ils constituent une approche préliminaire du comportement d'un biomatériau en donnant une première évaluation de la bioactivité des matériaux. La capacité des matériaux étudiés de former une couche d'hydroxyapatite lors du contact avec des fluides biologiques synthétiques encourage les tests *in vivo*.

Le mémoire englobe deux parties distinctes : la partie théorique et la partie expérimentale.

La partie théorique est constituée de deux chapitre :

- ü Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les biomatériaux. On a cité les différents domaines d'application de ces matériaux selon leur réaction quand ils sont implantés dans le corps humain. En plus ,on a décrit les différents biomatériaux utilisés pour le comblement osseux . Une description de la structure de l'os a été détaillée.
- ü Le deuxième chapitre est consacré à décrire les verres bioactifs. Suite à des généralités sur les verres (définition et leurs structures), on a décrit les deux méthodes principales de synthèse : fusion et sol-gel. A la fin, on a exposé les altérations structurales produites lors d'immersion dans une solution physiologique.

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

Ü Le troisième chapitre donne une description de la méthode de synthèse de verre bioactif par la voie fusion. Ainsi, on a décrit les différentes techniques utilisées pour la caractérisation de matériau étudié.

Ü Le quatrième chapitre est consacré à l'étude de la réactivité de verre 52S4 après immersion dans le SBF par RMN du solide suite à une étude de la cinétique de la formation de HAC à la surface des verres immergés par d'autres méthodes.

Enfin, une conclusion générale résume les plus importants résultats de ce travail.

## Chapitre I: Généralités

### 1- Introduction

Le squelette osseux, qui constitue la charpente du corps humain, peut subir des fractures ou des pertes de substance. Ces pertes, induites par des traumatismes ou par certaines pathologies peuvent ainsi altérer une ou plusieurs fonctions du tissu osseux. Les chirurgiens tentent de remédier à ces problèmes par une reconstruction ou un remplacement du site osseux endommagé, le comblement de perte de substance ou la reconstruction osseuse a longtemps nécessité le recours aux autogreffes (prélèvements de tissu sur l'individu) ou aux allogreffes (prélèvements de tissu sur un individu de la même espèce vivant ou mort). Mais l'utilisation des autogreffes pose des problèmes de morbidité, de qualité et de quantité d'os disponible. Ainsi, l'accessibilité des banques osseuses, la disponibilité des greffons et les risques potentiels de transmission d'agents pathogènes ont limité l'utilisation des allogreffes [1]. Ces limites ont constitué le moteur de la recherche et du développement des biomatériaux tels que:

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

Ces derniers doivent être biocompatibles et dotés de propriétés mécaniques et physico-chimiques leur permettant d'éviter tout risque d'intolérance ou de rejet par l'organisme. Le domaine de recherche des biomatériaux est un domaine multidisciplinaire où on peut trouver le physicien (propriétés mécaniques et l'analyse: RMN), le chimiste (synthèse) et le biologiste (tests) et le mathématicien (modélisation).

Ces chercheurs essayent toujours de trouver le biomatériau conforme pour réparer ou combler un site osseux. Le choix d'utiliser un des biomatériaux est basé sur les propriétés mécaniques, la capacité de former un lien biochimique stable entre l'implant et l'os hôte, le site à combler ou à réparer, le sexe et l'âge du patient. L'implant doit en plus de former à sa surface l'hydroxyapatite biologique avoir des propriétés mécaniques proches à celles du l'os pour éviter la création des fissures et sa propagation.

## **2- Définitions**

### **2.1- Les Biomatériaux**

Selon la définition du consensus de Chester (1991), un biomatériau est un matériau destiné à être en contact avec les tissus vivants et /ou les fluides biologiques pour évaluer, traiter, modifier les formes ou remplacer tout tissu, organe ou fonction du corps. Ces matériaux doivent, d'un part satisfaire à des caractéristiques physico-chimiques appropriées au site d'implantation et à la fonction à remplir, et d'autre part être biocompatibles. La notion de biocompatibilité d'un biomatériau est définie par l'acceptation tissulaire de l'implant par l'organisme [2].

### **2.2- Bioactivité**

La bioactivité est liée à la modification de la surface du matériau avec la formation de l'hydroxyapatite carbonatée suite à la dissolution, précipitation et les réactions d'échanges avec l'environnement physiologique [3,4]. Le lien formé entre le matériau et le tissu vivant permet la fixation et la stabilisation de l'implant ou la prothèse [4].

### **2.3- Ostéoconduction**

C'est la propriété passive d'un matériau à recevoir la repousse osseuse, par invasion vasculaire et cellulaire à partir du tissu osseux receveur au contact de ce matériau [1,5].

### **2.4- Ostéoformation**

Correspond à la construction de la matrice osseuse par des cellules ostéoformatrices que sont les ostéoblastes (cellule qui fabrique du collagène et forme autour d'elle une matrice qui se calcifie ensuite) [5].

### **2.5- Ostéoinduction**

Correspond à la capacité d'induire la formation osseuse en site extra osseux [1,6]

### **3- Les greffes osseuses**

L'os est le meilleur substitut de comblement osseux. Il est le seul à présenter l'ensemble des propriétés requises pour une parfaite intégration du substitut osseux. Il existe différents types de greffes osseuses, qui peuvent être classées selon l'origine du greffon [7].

#### **3.1- Les autogreffes**

L'autogreffe est une greffe où donneur et receveur sont la même personne. Le taux de réussite de ce type de greffe est maximal, étant donné que le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) du donneur et du receveur est le même. Aucune réaction immunitaire n'est déclenchée. Cependant, l'autogreffe implique la réalisation d'un second site opératoire et certains patients disposent d'un capital osseux insuffisant pour ce type de greffe.

#### **3.2- Les allogreffes**

Les allogreffes sont les greffes les plus courantes. Elles concernent les cas où donneur et receveur font partie de la même espèce biologique mais, étant deux individus distincts, donneur et receveur possèdent des CMH différents. Dans ces cas, la greffe s'accompagne d'un traitement immunosuppresseur visant à prévenir le rejet de la greffe. Plus les CMH sont ressemblants, plus la greffe a des chances de réussite. Ces greffes sont régies par les lois bioéthiques de 1994 et impliquent le respect du corps humain (consentement et anonymat du donneur).

#### **3.3- Les xéno-greffes**

La xéno-greffe désigne la transplantation d'un greffon où le donneur est d'une espèce biologique différente de celle du receveur. Le greffon subit préalablement une série de traitements afin d'éliminer toute trace d'agent infectieux.

### **4- Propriétés et classifications des biomatériaux**

#### **4.1- Biocompatibilité d'un comblement osseux**

La biocompatibilité est la propriété essentielle que doit posséder tout matériau utilisé comme biomatériau de comblement osseux. La notion de biocompatibilité a longtemps été réduite à l'absence de processus de dégradation et de rejet du biomatériau implanté. Aujourd'hui, elle doit permettre d'apprécier la sûreté et l'efficacité à long terme d'un biomatériau. Une première proposition en 1987 définit la biocompatibilité comme "la capacité d'un matériau à être utilisé avec une réponse appropriée de l'hôte dans une application spécifique" [8]. Une définition plus complète est ensuite proposée en

1998 et définit la biocompatibilité comme "l'ensemble des interrelations entre le matériau et le milieu environnant, et leurs conséquences biologiques locales ou générales, immédiates ou différées, réversibles ou définitives" [9].

Ainsi, l'étude de la biocompatibilité d'un matériau consiste en la compréhension globale des mécanismes interactifs entre le matériau et le milieu biologique environnant. Biocompatible signifie d'une part que le matériau n'est pas à l'origine de phénomènes locaux ou systémiques néfastes pour la santé du receveur et d'autre part que les tissus receveurs et les liquides interstitiels ne sont pas susceptibles d'altérer le matériau (sauf lorsque cela est souhaité) au détriment de ses propriétés mécaniques, de ses qualités intrinsèques générales ou au risque de générer des produits de dégradation ou de corrosion toxiques.

#### **4.2- Classification des biomatériaux en fonction de l'interface formée avec les tissus**

L'intégration d'un matériau de comblement osseux peut être corrélée aux différents phénomènes qui se produisent à l'interface tissu osseux/implant. En effet, aucun matériau implanté dans un organisme vivant n'est totalement inerte: une réponse des tissus vivants est toujours observée [10]. Ainsi, en fonction des différentes réponses observées, Larry Hench a proposé une classification des substituts osseux en quatre catégories [7].

##### **4.2.1- Biomatériaux inertes**

La réponse tissulaire à un implant inerte ou biologiquement inactif, est la formation d'une capsule fibreuse non-adhérente. Aucune réaction inflammatoire n'est observée, mais aucune liaison ne se développe entre les tissus osseux et l'implant. L'épaisseur de cette couche fibreuse protectrice dépend du type de biomatériau inerte, du lieu d'implantation ou encore des contraintes mécaniques. La fixation observée est morphologique car la matrice osseuse s'accroche aux irrégularités de surface du matériau. Cependant, à long terme, l'interface tissu osseux/implant finit par se détériorer dans la plupart des cas et une intervention chirurgicale est nécessaire pour retirer l'implant (problème rencontré pour les prothèses de hanches par exemple).

##### **4.2.2- Biomatériaux toxiques**

Ils empoisonnent l'environnement biologique direct lorsqu'ils sont introduits dans le corps humain. Cela pouvant conduire à la nécrose des tissus. Les alliages contenant le cadmium, vanadium et autres éléments toxiques, les aciers et les carbures sont classés comme des matériaux toxiques.

### 4.2.3- Biomatériaux bioactifs

Formation d'un lien biochimique direct avec la surface du matériau accompagné d'une croissance libre. Par exemple: hydroxyapatite dense, phosphate tricalcique et certains verres bioactifs.

### 4.2.4- Biomatériaux résorbables

Les biomatériaux résorbables sont une solution alternative aux problèmes rencontrés lors des implantations à long terme en permettant la régénération des tissus osseux. En effet, ce type de biomatériau, une fois implanté, se dégrade suite aux activités enzymatiques, cellulaires ou encore bactériennes. Sa disparition s'effectue au profit d'un remplacement à terme par les tissus osseux. Les produits de dégradation du matériau, évacués par voie rénale ou métabolisés, ne doivent présenter aucune toxicité. Néanmoins, il est nécessaire que la cinétique de résorption de ces matériaux soit proche de la cinétique d'ossification. Cette dernière condition est particulièrement difficile à remplir et nécessite une étude approfondie, préalable à leur implantation.

## 5- Domaines d'application des biomatériaux

Les biomatériaux ont été développés pour préserver l'intégrité et le confort de vie des personnes souffrant de déficiences fonctionnelles graves ou victimes d'accidents. L'objectif de leur développement est de permettre la fabrication de dispositifs d'assistance corporelle capables de suppléer les fonctions des organes lésés.

Actuellement, les biomatériaux représentent, au niveau international, un enjeu social considérable (plus de 5% de la population est porteuse d'un biomatériau implanté) et un enjeu économique très important (marché mondial de plus de 30 milliards d'euros en 2002). De plus, avec l'augmentation de la durée de vie moyenne de l'homme, cela va continuer d'augmenter et d'obliger à l'élaboration de biomatériau avec une durée de vie plus importante (plus de 75% des prothèses ont une durée de vie de 15 ans seulement) [11]. La chirurgie réparatrice et celle de la suppléance fonctionnelle constituent les domaines d'applications les plus importants des biomatériaux cependant, il existe d'autres spécialités médicales que ont recours à l'emploi de matériaux appelés à être au contact de milieux biologiques tels que les outils d'investigation ou d'intervention endoscopique [12].

Ces matériaux sont utilisés dans divers domaines parmi eux on trouve [6] :

- ü Ophtalmologie: lentilles et les implants.
- ü Odontologie- Stomatologie: les matériaux de comblement dentaire et osseux et la reconstruction maxillo-faciale.
- ü Chirurgie orthopédique: les prothèses articulaires (hanche, coude...) et la réparation de fractures (vis, plaques, ...).

- ü Cardiovasculaire: les valves cardiaques et le cœur artificiel.
- ü Urologie/ Néphrologie: les dialyseurs et le rein artificiel portable.
- ü Endocrinologie-Chronothérapie: le pancréas artificiel et les systèmes de libération contrôlée de médicaments.
- ü Chirurgie esthétique: matériaux et implants pour chirurgie esthétique.

## **6- Composition et structure du tissu osseux**

### **6.1- structure de l'os**

L'os est un matériau composite naturel, composé d'une phase organique (principalement du collagène de type I plus diverses protéines en faibles quantités) et d'une phase minérale constituée d'apatite carbonatée [13]. C'est un matériau vivant, en constant remodelage, grâce à l'action principale de deux types cellules : les ostéoclastes qui participent à la résorption osseuse (dissolution du minérale et dégradation de la matrice organique) et les ostéoblastes qui reforment le tissu osseux.

Ce couplage résorption \ reconstruction, équilibré chez un adulte sain, permet de garantir le développement et la régénération d'un tissu osseux de qualité, de réguler constamment la masse osseuse et d'adapter la morphologie de l'os aux stimuli de son environnement (par exemple aux contraintes mécaniques) [14,15]. Il lui confère également ses propriétés uniques d'autoréparation qui lui permettent, si le défaut est de taille minime, de se régénérer sans cicatrice. En d'autres termes, le remodelage osseux permet au squelette humain, composé de 206 os, d'assurer la totalité de ses diverses fonctions en étant tout à la fois :

- Une structure rigide et mobile capable de défier la gravité et de supporter des charges mécaniques.
- Un bouclier qui protège les organes internes.
- Un support rigide pour les attaches musculaires.
- Un réservoir pour les nutriments dont le corps a besoin, notamment le calcium : la régulation de la concentration en ions calcium dans le plasma sanguin est accomplie principalement grâce à l'équilibre entre la formation osseuse (qui transfère des minéraux du sang vers l'os) et la résorption osseuses (qui transfère des minéraux de l'os vers le sang). Notons que le calcium n'est pas libéré de l'os tel quel mais qu'il s'agit plutôt de la résorption entière d'unités structurelles osseuses [16].

### **6.2- Différents types d'os du point de vue macroscopique**

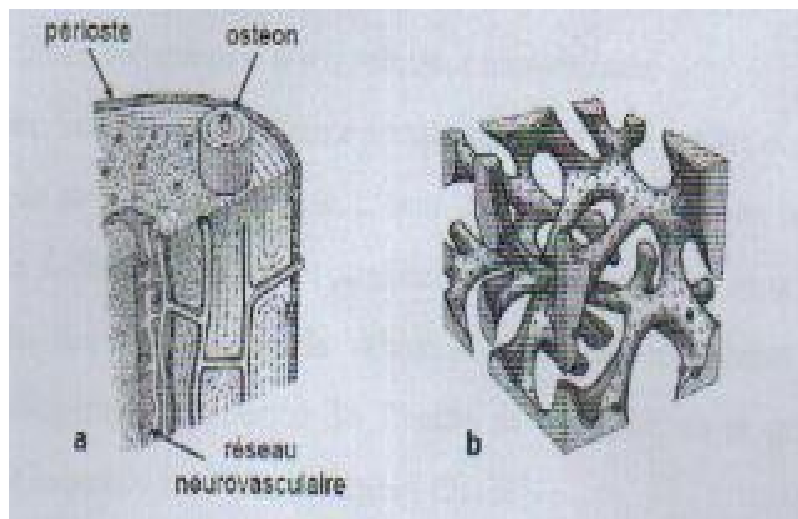
On peut distinguer deux types d'architectures osseuses: l'os cortical (ou os lamellaire) et l'os spongieux (ou os trabéculaire).

### 6.2.1- L'os cortical

L'os cortical possède une structure très hiérarchisée à diverses échelles ((fig. I-1 (a-b)). Il est composé de fibres de collagène sur lesquelles se développent les cristaux du minéral osseux. Ces fibres sont collées parallèlement les unes aux autres et forment ainsi des lamelles, l'enroulement concentrique de ces dernières constitue des ostéons, traversé en leur centre par un réseau de nerfs et de vaisseaux sanguins tridimensionnel. L'empilement compact des ostéons permet à l'os cortical d'assumer la majeure partie du soutien mécanique et de la fonction protectrice du squelette.

### 6.2.2- L'os spongieux ou trabéculaire

Si l'os cortical a une structure dense et microporeuse (avec des pores de 1 à 10  $\mu\text{m}$ ), l'os trabéculaire, schématisé sur la fig. (I- 1 (b)) , possède en revanche une structure macroporeuse (pores de 200 à 400  $\mu\text{m}$ ), qui lui confère des propriétés structurelles et fonctionnelles différentes, et lui offre en particulier une importante surface d'échange avec les fluides [17]. L'os trabéculaire prend donc plus particulièrement part aux fonctions métaboliques telles que l'homéostasie du calcium.



**Figure I-1: Types d'os.**

**(a) : la structure de l'os cortical ;(b) la structure d'un os spongieux [17].**

## 6.3- Composition de l'os naturel

L'os naturel est approximativement composé de 67 % de phase minérale, 21 % de phase organique et 12 % d'eau [18].

### 6.3.1- Phase organique: cellules et matrice organique

#### a- Cellules osseuses

- ü **Ostéoblaste** : cellule mononucléée de 15 à 80  $\mu\text{m}$  [18,19] de diamètre. Cette cellule n'est jamais isolée mais des alignements épithélioïdes d'ostéoblastes sont rencontrés à la surface osseuse.

L'ostéoblaste est la cellule chargée d'une part de la synthèse de la nouvelle matrice osseuse (appelée ostéoïde) et d'autre part de la calcification (germination de cristaux d'apatite).

- ü **Ostéocyte** : Les cellules occupant les lacunes dans la matrice osseuse. Ce sont des cellules longues et minces (30 µm sur 10 µm). Ils sont en fait des ostéoblastes transformés en cellules de base du tissu osseux après l'élaboration de la matrice minéralisée [20]. Ils participent au maintien de la matrice osseuse et à l'homéostasie de la calcémie, alors que leurs capacités de synthèse et de résorption sont limitées [21].
- ü **Ostéoclaste**: cellule géante de 100 µm de diamètre, multinucléé, d'origine hématopoïétique (véhiculée par le sang) et généralement disposée au contact d'une zone de matrice osseuse minéralisée. Elle est responsable de la résorption du tissu osseux calcifié: dissolution du minéral et dégradation de la matrice organique [20,22,23].

#### b- La matrice organique:

- ü **Les fibres collagènes**: Le collagène représente presque la totalité de la matière organique de l'os (90%) dépourvu de sa substance lipidique. L'unité de base du collagène est la molécule de tropocollagène. Les molécules s'ordonnent parallèlement entre elles selon une organisation précise. La nucléation des cristaux d'apatite débiterait au niveau des espaces entre les molécules de tropocollagène. La formation des fibrilles de collagène, en se groupant en faisceaux épais, donne naissance aux fibres collagènes [19,23].
- ü **La substance fondamentale**: elle est composée de lipides et de protéines non collagéniques, qui interviennent dans le processus de minéralisation. Ils interviennent dans le processus de minéralisation osseuse en se liant au calcium et en le fixant sur les cristaux d'hydroxyapatite [18,23].

#### 6.3.2- Composition minérale

La phase inorganique dans l'os s'apparente à l'hydroxyapatite de formule chimique  $(\text{Ca})_5(\text{P})_3$  [24]. L'apatite de l'os est un phosphate de calcium déficient dont le rapport molaire (Ca/P) varie de 1.37 à 1.87 [25,26]. En plus, elle est caractérisée par un désordre intérieur du cristal et la substitution de différents d'ions en petites quantités comme le sodium, magnésium et d'autres éléments traces [24,27,28], comme il est présenté dans le tableau I-1. L'os n'est pas vraiment analogue à l'hydroxyapatite mais plutôt à une apatite carbonatée de type A-B [29,30] qui contient des éléments majeurs (Ca et P) et d'autres éléments traces qui jouent un rôle important sur sa bioactivité [31]. La composition de l'os dépend du site, de l'âge, du régime alimentaire et de la présence des maladies.

Dans certains états physiologiques (la vieillesse et la grossesse), quand le métabolisme du calcium est impliqué, les éléments traces se libèrent très rapidement en se transportant par le sang vers d'autres sites [31].

**Tableau I- 1 : Composition minérale de l'os (pourcentage massique).**

Référence	[Ca]	[P]	[Na]	[Mg]	[K]	Sr,Zn,Cu		F	Cl	(Ca\P) (en mole)
[27]	26.7	12.5	0.73	0.44	0.06	Sr=0.04	3.48	0.07	0.08	1.66
[29]	36.7	16.0	0.77	0.46	–	–	8.00	0.04	–	1.77
[30]	34.0	15.0	0.80	0.50	0.20	–	1.60	0.08	0.2	1.75
[31]	24.5	11.5	0.70	0.55	0.03	traces	5.80	0.02	0.10	1.65

Les données présentées dans le tableau I-1 montrent les nombreux minéraux présents dans le tissu osseux. Les quatre éléments qui sont prépondérants sont le calcium, le phosphore ( , ), le carbone ( ) et l'oxygène ( , , , ). Les teneurs en sodium , magnésium et chlore varient de manière importante suivant le tissu considéré. Les autres éléments, tels que le fluore, le strontium et le potassium, font office de traces [29].

## Chapitre II : Les verres bioactifs

### 1- Introduction

Les verres bioactifs ont été découverts par Larry Hench en 1969 [32]. Son but était de mettre au point de nouveaux matériaux qui seraient parfaitement intégrés dans le corps humain. Les principaux proviennent du système  $\text{SiO}_2$  -  $\text{CaO}$  -  $\text{P}_2\text{O}_5$  car ils se combinent facilement à l'os. Le bioverre<sup>®</sup> 45S5, de composition massique: 45 %  $\text{SiO}_2$ , 24,5 %  $\text{CaO}$ , 24,5 %  $\text{P}_2\text{O}_5$  et 6 %  $\text{Na}_2\text{O}$  a été le premier verre bioactif développé. Cette composition est très proche de l'eutectique du diagramme ternaire  $\text{SiO}_2$  -  $\text{CaO}$  -  $\text{P}_2\text{O}_5$  et les premiers essais *in vivo* ont été réalisés dans des fémurs de rats [33]. Après 6 semaines d'implantation, le bioverre<sup>®</sup> était parfaitement intégré aux tissus osseux et il était impossible de retirer les implants. Les liaisons verre-os ne sont possibles que si les verres comprennent moins de 40 à 50 % de silice ( $\text{SiO}_2$ ). Lorsque la quantité de silicate est supérieure, il se forme une capsule fibreuse autour de l'implant empêchant la formation d'un lien avec l'os [34]. La formation du lien chimique à l'interface verre-os se base sur la présence des groupements Si-OH à la surface de l'implant. En effet ces groupements induisent la formation de l'apatite qui permet un accrochage chimique de l'implant (verre bioactive) à l'os. Les verres bioactives constituent une large variété de matériau. Cette variété est due à la composition et la structure des verres. L'insertion des implants ne peut s'exécuter dans des zones soumises à des importantes contraintes mécaniques du fait de leur fragilité. Pour palier à cette propriété, on effectue un traitement thermique pour obtenir une vitrocéramique.

### 2- Généralités sur le verre

#### 2.1- Définition

Le verre est un produit inorganique issue de la fusion d'un mélange qui s'est refroidie à un état rigide sans se cristalliser. Il n'y a aucune discontinuité des propriétés physiques quand le refroidissement s'effectue rapidement à partir de point de fusion et la diffraction de rayon X ne montre aucune régularité du réseau cristallin. La température de la vitrification ne peut pas être définie avec la même précision que le point de fusion. Bien qu'il existe plusieurs définitions pouvant être données pour un verre. Des nombreuses définitions du verre sont rapportées selon différents points de vue [35]:

- ü Définition courante: solide obtenu par le figeage d'un liquide.
- ü Définition structurale: un verre est un solide non cristallin. On peut aussi dire que le verre est formé par un assemblage tridimensionnel désordonné de groupements structuraux fondamentaux, semblables à ceux de l'état cristallin.

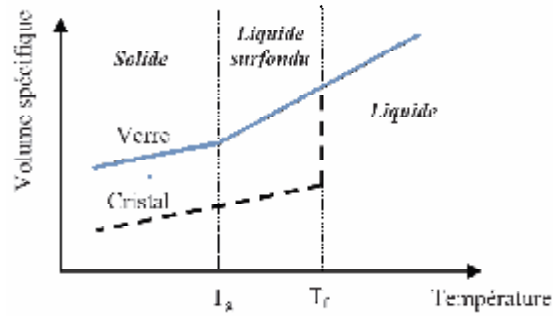
- Ü Définition thermodynamique: il s'agit d'un matériau hors d'équilibre, dont l'énergie est supérieure à celle des produits cristallisés correspondants et dont le retour à une situation plus stable (cristallisation) ne peut pas se faire qu'après des durées considérables.

## 2.2- Propriétés du verre

Le verre est un solide amorphe présentant le phénomène de transition vitreuse [35]. L'état physique correspondant est appelé état vitreux. De ce fait, le verre présente un désordre structural important. Sa structure microscopique est telle qu'il n'existe aucun ordre à grande distance dans un verre. Il peut même être vu comme un "réseau" tridimensionnel, semblable à celui d'un cristal, mais dans lequel seul l'ordre à courte distance est conservé.

### 2.2.a- Définition de l'état vitreux

Le phénomène de la transition vitreuse est bien illustré par l'évolution du volume en fonction de la température. Lors du refroidissement, un liquide peut se trouver à une température inférieure à la température de fusion  $T_f$  dans un état métastable de surfusion. Le comportement thermique du verre peut être décrit par l'évolution de variables thermodynamiques telles que le volume spécifique ou l'enthalpie en fonction de la température (fig. II-1). En abaissant la température d'un liquide jusqu'à son point de fusion  $T_f$ , certaines grandeurs thermodynamiques comme le volume  $V$  ou l'enthalpie  $H$  décroissent de façon régulière (fig. II-1). Lors du refroidissement d'un liquide en dessous de sa température de fusion  $T_f$  la viscosité  $\eta$  augmente. Si le refroidissement est très rapide, la cristallisation n'a pas le temps de se produire et un liquide surfondu est obtenu. Aucune discontinuité dans l'enthalpie  $H$  n'est alors observée à  $T_f$  et sa pente reste constante [35]. En poursuivant le refroidissement, la viscosité du liquide augmente de façon exponentielle et le liquide surfondu devient quasiment solide. Lorsqu'elle atteint  $10^{13}$  poises, la rigidité empêche les mouvements microscopiques locaux et on observe un changement de pente de l'enthalpie (la pente devient presque la même que pour celle du composé cristallisé). La température à la quelle se produit ce changement s'appelle température de transition vitreuse,  $T_g$ . Pour une température inférieure à  $T_g$ , le matériau est un solide avec un désordre structural proche de celui d'un liquide : c'est un verre. Le désordre, et donc l'entropie, est plus élevé dans un verre que dans un cristal. D'un point de vue thermodynamique; le verre est dans un état métastable puisque l'état d'énergie minimale étant l'état cristallisé. La température de transition vitreuse  $T_g$  est une propriété intrinsèque du verre, elle dépend d'une part de la nature du matériau et d'autre part de son historique de formation (conditions de température et pression).



**Figure II-1: Phénomène de transition vitreuse.**

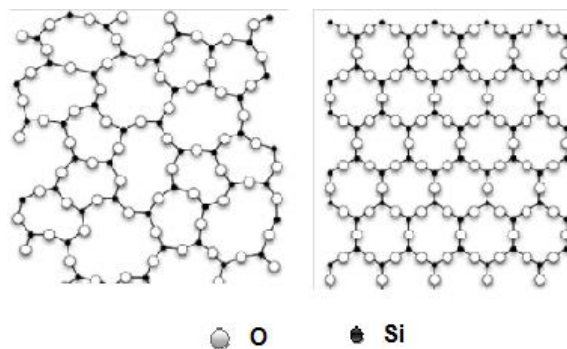
En particulier, elle dépend de la vitesse de refroidissement utilisée lors de la trempe: plus le liquide est refroidi rapidement, plus la température  $T_g$  est élevée.

### 2.2.b- Les règles de Zachariasen pour la formation des verres

Le verre est un réseau tridimensionnel manquant de la périodicité avec une teneur en énergie comparable à celle du réseau en cristal correspondant. De cette condition, Zachariasen a dérivé quatre règles de formation des verres [36]:

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

La figure II-2 représente la structure de la silice ( $\text{SiO}_2$ ) cristalline (sous sa forme cristobalite) et celle de la silice vitreuse. Dans ces deux cas, chaque atome de silicium est lié avec quatre atomes d'oxygène et forme ainsi des tétraèdres  $\text{SiO}_4$ . Dans la silice cristalline, le réseau du verre est constitué d'un arrangement régulier des tétraèdres  $\text{SiO}_4$  joints par les sommets. Le réseau de la silice vitreuse est formé par les mêmes tétraèdres  $\text{SiO}_4$  joints par les sommets, mais cette fois organisés de manière anarchique [35].



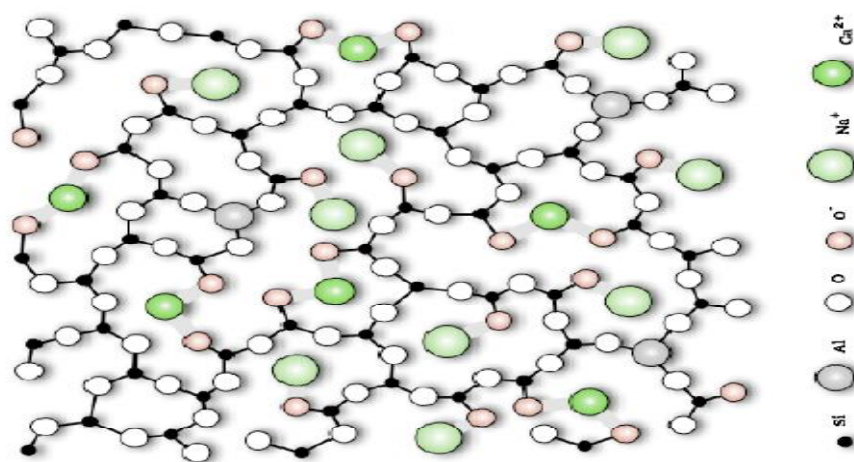
**Figure II-2: Représentation 2D des réseaux de silice cristalline et vitreuse [37].**

Le tableau II-1 montre les oxydes formateurs et modificateurs de réseau vitreux [38].

**Tableau II-1: les oxydes formateurs et modificateurs de réseau vitreux.**

Les oxydes formateurs de réseau	Les oxydes modificateurs de réseau
<ul style="list-style-type: none"> <li>- sont les oxydes simples: <math>\text{SiO}_2</math>, <math>\text{Al}_2\text{O}_3</math>, <math>\text{Fe}_2\text{O}_3</math>, <math>\text{PbO}</math>, <math>\text{TiO}_2</math> et <math>\text{ZnO}</math>.</li> <li>- La liaison entre les tétraèdres voisins se fait par l'intermédiaire d'un oxygène, sommet commun à deux tétraèdres.</li> <li>- appelé cet oxygène, oxygène « <b>pontant</b> ».</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- sont essentiellement les oxydes alcalins <math>\text{Na}_2\text{O}</math> et <math>\text{CaO}</math>.</li> <li>- L'oxygène, porteur d'une charge électronique excédentaire, n'établit plus la liaison entre tétraèdres voisins.</li> <li>- a appelé cet oxygène, oxygène « <b>non pontant</b> » (Fig. II-3).</li> </ul>

Notant qu'un ion sodium associé à un oxygène non pontant est plus mobile qu'un ion calcium associé à deux oxygènes non pontant assurant la neutralité électrique.



**Figure II-3: Réseau d'un aluminosilicate en présence des oxydes modificateurs CaO et Na<sub>2</sub>O [37].**

Certains oxydes, suivant la composition du verre, se comportent, soit comme des formateurs de réseau, soit comme des modificateurs. Ces oxydes, appelés intermédiaires, sont  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{PbO}$ ,  $\text{TiO}_2$  et  $\text{ZnO}$ .

### 3- Méthodes de synthèse du verre

#### 3.1- Synthèse par fusion

La méthode classique de synthèse des verres est la fusion à haute température. Dans le cas des verres bioactifs, un mélange d'oxydes, avec  $\text{SiO}_2$  /  $\text{CaO}$  comme formateurs de réseau et  $\text{Na}_2\text{O}$  /  $\text{CaO}$  comme modificateurs de réseau, est fondu à des températures comprises entre 1000 et 1400°C. Si la vitesse de refroidissement est suffisamment élevée, la cristallisation pourra être totalement évitée. La viscosité du liquide croît progressivement au fur et à mesure que la température baisse. On appelle dans ce cas le liquide qui s'est figé sans cristalliser « un verre » ou on dit qu'il est passé à l'état vitreux.

Larry Hench a commencé par étudier le diagramme ternaire  $\text{SiO}_2$  -  $\text{CaO}$  -  $\text{Na}_2\text{O}$  dans lequel il a ajouté systématiquement 6% en masse de  $\text{P}_2\text{O}_5$  [34]. Cependant, la bioactivité n'a été observée que pour certaines compositions, ce qui limite les variations de proportions en  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$  et  $\text{Na}_2\text{O}$ . Il a ainsi été possible de distinguer 4 zones sur le diagramme ternaire  $\text{SiO}_2$  -  $\text{CaO}$  -  $\text{Na}_2\text{O}$ , qui présentent des propriétés différentes (fig. II-4) [39].

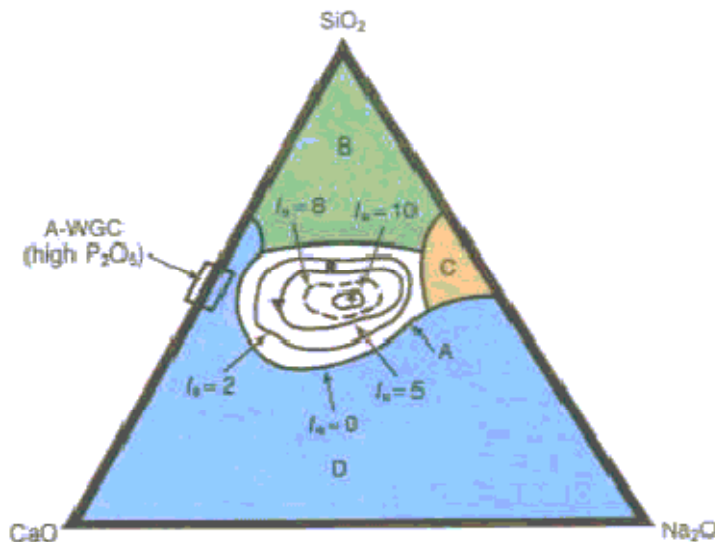


Figure II-4: Diagramme ternaire du système  $\text{SiO}_2$  -  $\text{CaO}$  -  $\text{Na}_2\text{O}$  avec 6 % en masse de  $\text{P}_2\text{O}_5$  [39].

La zone A est la zone de bioactivité; des liaisons chimiques à l'interface verre/os sont créées en moins de 30 jours. Les verres dont les compositions appartiennent à la zone B sont inertes; leur réactivité est trop faible et aucune liaison ne se forme entre l'os et le verre. La zone C est la zone de résorbabilité; les verres se dissolvent au contact des fluides biologiques. Enfin, il n'est pas possible de préparer des verres avec compositions appartenant à la zone D.

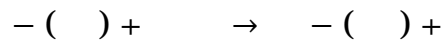
Ce diagramme ternaire, appelé communément triangle de Hench, met donc en évidence trois caractéristiques que doivent posséder les verres du système  $\text{SiO}_2$  -  $\text{CaO}$  -  $\text{Na}_2\text{O}$  pour être bioactifs :

- la proportion en  $\text{CaO}$  doit être comprise entre 40 et 60 % en masse ;

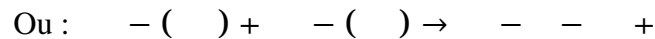
- les proportions en CaO et doivent être importantes ;
- le rapport CaO/ doit être supérieur à 4 (en % massique).

### 3.2- Synthèse par voie sol-gel

Le procédé sol-gel est une voie de synthèse, développée depuis une trentaine d'années, pour la production de céramiques, de verres et de vitro-céramiques à des températures beaucoup plus basses que les synthèses traditionnelles. Cette technique permet ainsi, par simple polymérisation de précurseurs moléculaires en solution, d'obtenir des matériaux vitreux sans passer par l'étape de fusion. La méthode sol-gel a donc permis de créer une nouvelle génération de verres bioactifs [40]. Les précurseurs moléculaires utilisés dans les procédés sol-gel sont généralement des alcoxydes de silicium ( ) dans lesquels l'atome de silicium tétraédrique est entouré de quatre groupements OR, où R est un groupement alkyle simple (par exemple, méthyle ou éthyle ). La synthèse par voie sol-gel se déroule en deux étapes : L'hydrolyse, étape d'initiation, qui permet de former les entités réactives Si-OH.



La condensation, étape de propagation, où les groupements Si-OH se transforment en oxygènes pontants. Deux réactions sont possibles pour l'étape de condensation.



Ces réactions de polymérisation conduisent à la formation d'espèces de plus en plus condensées, qui forment un sol (dispersion stable de particules dans un liquide), puis un gel, d'où le nom de procédé sol-gel. Le séchage et la densification de ces gels, par traitements thermiques, permettent d'obtenir un verre aux caractéristiques semblables à celles d'un verre classique. Ce n'est qu'au début des années 90, que le procédé sol-gel a été appliqué à la synthèse de verres bioactifs comme voie alternative et complémentaire à la méthode classique de fusion [41]. Le premier verre bioactif par voie sol-gel a été obtenu dans le système -CaO- et par la suite, des compositions bioactives très variées ont été synthétisées [39,40]. Dans tous les cas, la synthèse des verres est effectuée par hydrolyse et condensation des précurseurs chimiques, dont les plus courants sont: le TEOS (tétraéthoxysilane, Si( ) le TEP (triéthylphosphate, O=P( ) ) ou encore les nitrates ou carbonates de calcium [40].

#### 4- Bioactivité du verre

Selon Hench, quand un verre bioactif est immergé dans une solution aqueuse, comme le fluide biologique simulé (SBF : simulated body fluid), il est possible de distinguer trois processus principaux [7]:

1. Echange ionique entre les modificateurs du réseau vitreux, les alcalins ou alcalino-terreux tels que  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , avec les protons  $\text{H}^+$  du liquide d'immersion. Ces ions conduisent à l'augmentation de la valeur du pH de la solution.
2. Dissolution du réseau de verre: les liaisons  $\text{-Si-O-Si-}$  se cassent sous l'action des ions hydroxyles. Suite au rompage des liaisons  $\text{Si-O-Si}$  et la formation d'autres silanols  $\text{Si-OH}^+$  à la surface du verre, la silice soluble passe en solution sous forme de  $\text{Si (OH)}_4$ . Si on a plus de 60% de silice dans les verres préparés par la méthode de fusion, la vitesse de dissolution diminue. Suite à cette dissolution; une couche de  $\text{SiO}_2$  se polymérise à la surface du verre par la condensation des silanols  $\text{Si - OH}^+$ , ce qui conduit à la formation de  $\text{SiO}_2$  amorphe.
- 3- Précipitation: les ions de calcium et de phosphate libérés du verre ainsi que ceux de la solution migrent vers la surface du verre pour former une couche riche en phosphate de calcium (CaP) à la surface du verre. Ce phosphate de calcium est initialement amorphe, puis cristallise à une hydroxyapatite carbonatée (HAC) en intégrant des anions carbonate de la solution dans la phase CaP amorphe. Le mécanisme de la nucléation et la croissance de HAC semble être le même in vivo et in vitro.

Ces étapes qui se produisent sur le matériau ne dépendent pas de la présence du tissu et on les observe dans de l'eau distillée, ainsi que dans la solution SBF. Une autre série de réactions est nécessaire pour obtenir une liaison avec le tissu:

- ü Absorption de fragments biologiques dans la couche de  $\text{-HAC}$ .
- ü Action des macrophages.
- ü La fixation des cellules souches.
- ü La différenciation des cellules souches.
- ü Génération de la matrice.
- ü La minéralisation de la matrice.

## Chapitre III: Matériaux et Méthodes Expérimentales d'analyses utilisées

### 1- Introduction

Les verres bioactifs sont capables de former à leurs surfaces une couche d'hydroxyapatite carbonatée quand ils sont en contact avec des solutions physiologiques. La bioactivité d'un verre quaternaire de composition massique 52 %  $\text{SiO}_2$ , 30 %  $\text{CaO}$ , 14 %  $\text{P}_2\text{O}_5$  et 4 %  $\text{Na}_2\text{O}$ , synthétisé par la voie fusion (noté 52S4F), va être étudié dans ce travail. Pour mieux comprendre le processus de formation de l'hydroxyapatite carbonatée à la surface des verres immergés dans le SBF, une étude par RMN du solide a été réalisée sur des verres en poudre. Les propriétés physico-chimiques de ce verre synthétisé par la méthode fusion avant immersion sont bien détaillées dans la thèse de doctorat de F. Mezahi [42]. Ce travail est consacré à l'étude de la réactivité de ces verres après immersion dans le SBF par RMN du solide suite à une étude de la cinétique de la formation de HAC à la surface des verres immergés par la diffraction des rayons X (DRX), spectrométrie IR (FTIR), le microscope électronique à balayage (MEB-EDS) et la spectrométrie ICP.

### 2- Matériau étudié et protocole de synthèse par voie fusion

Le verre étudié est un verre quaternaire de composition massique 52 %  $\text{SiO}_2$ , 30 %  $\text{CaO}$ , 14 %  $\text{P}_2\text{O}_5$  et 4%  $\text{Na}_2\text{O}$ . Il a été synthétisé par la voie fusion (noté 52S4F).

La méthode est basée sur la mise en fusion d'un mélange contenant des éléments formateurs de réseau vitreux comme  $\text{SiO}_2$  et  $\text{P}_2\text{O}_5$  associés à des modificateurs de réseau tels que  $\text{CaO}$  et  $\text{Na}_2\text{O}$  qui ont la particularité d'abaisser la température de fusion du mélange [35]. Le mélange en fusion est ensuite "trempé" c'est-à-dire que la température du mélange est abaissée brutalement lors de la coulée du verre qui permet sa mise en forme. Un recuit, réalisé à une température voisine de la température de transition du verre, permet alors de relâcher toutes les contraintes mécaniques emmagasinées lors de la coulée. La synthèse du verre a été effectuée en ajoutant des quantités bien déterminées des produits suivants :  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$  et  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Ces produits de départ ont été mélangés et homogénéisés pendant 1 h en utilisant un mélangeur planétaire. Un traitement thermique du mélange a été effectué à 900°C pendant 1 h, dans un creuset de platine, pour éliminer les éventuels de carbonates ou d'autres produits volatiles présents dans les produits. Ce traitement permet d'éviter la formation de bulles dans le liquide au cours de la fusion du mélange. Cette dernière a été effectuée en calcinant le mélange à 1300°C pendant 2 h avec une rampe de 20°C/min. Ce mélange fondu a été coulé dans un moule en laiton préchauffé à 500°C. Un recuit au voisinage de la température de transition vitreuse  $T_g$  est

nécessaire pour relâcher toutes les contraintes mécaniques emmagasinées lors de la coulée du verre. Enfin, le liquide figé est refroidi jusqu'à la température ambiante avec une vitesse de rampe de 1.5°C/min.

Les verres obtenus ont été broyés à sec et tamisés pour obtenir une granulométrie de 40- 63 µm dont le but d'étudier la bioactivité du verre dans un liquide physiologique simulé (SBF).

### 3- Présentation du SBF

Les tests *in vitro* ont été effectués par immersion les poudres dans une solution physiologique simulée ou SBF (Simulated Body Fluid). Il s'agit d'une solution mise au point en 1990 par Kokubo [43] et de composition ionique voisine de celle du plasma sanguin humain (tableau III-1).

**Tableau III-1:** Concentrations ioniques du SBF et du plasma sanguin humain (mM)

Ions								
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5
Plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5

Le SBF a été préparé en diluant les produits CaCl<sub>2</sub>, NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O et NaHCO<sub>3</sub> dans l'eau distillée. Le pH de la solution a été réglé à 7.4 avec le trishydroxyméthylamine (C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>) et l'acide hydrochlorique (HCl) selon le protocole de Kokubo [43].

La bioactivité de verre est évaluée, *in vitro*, par immersion des verres dans la solution physiologique (SBF) en immergeant 300 mg (verre) dans 60 ml (SBF). L'ensemble (poudre+ SBF) ont été placés dans un incubateur réglé à 37°C. Les produits immergés ont été filtrés, nettoyés avec l'éthanol et séchés à l'air après chaque délai d'immersion qui varie de 1 jusqu'à 15 jours.

### 4- Techniques de caractérisation

Plusieurs techniques ont été employées dans ce travail selon le but recherché.

#### 4.1 - Diffraction aux Rayons X

La diffraction des rayons X (DRX) est une méthode de caractérisation physicochimique qui permet de rendre compte de l'organisation de la matière. Elle est très largement utilisée pour la caractérisation des solides cristallisés, bien que des études par DRX soient menées sur des produits amorphes. Cette technique permet de remonter à des informations sur la structure des composés cristallisés comme le groupe d'espace, les paramètres de maille la taille et forme des cristallites mais aussi les positions des

atomes dans la maille. Un rayonnement X de longueur d'onde  $\lambda$  lorsqu'il entre en collision avec un matériau cristallin, il se diffracte dans la direction du même angle d'incidence selon la loi de Bragg définie par l'équation (fig. III-1):

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

$\lambda$  : longueur d'onde du faisceau de rayons X.

$d$  : représente la distance entre deux plans réticulaires (hkl).

$\theta$  : angle d'incidence des rayons X sur la famille de plan.

Les diagrammes de RX ont été obtenus via le diffractomètre de rayons X Philips PW3710 (40 KV, 30 mA) à l'ambiante fonctionnant avec la longueur d'onde  $K_{\alpha}Cu$  ( $\lambda=1.54056$ ). Il est équipé d'une base de données cristallographique actualisée (ICDD-PDF) qui permet de faire le dépouillement des spectres. La DRX nous a permis de vérifier le caractère amorphe des échantillons synthétisés ainsi que la formation de HAC à la surface des verres immergés.

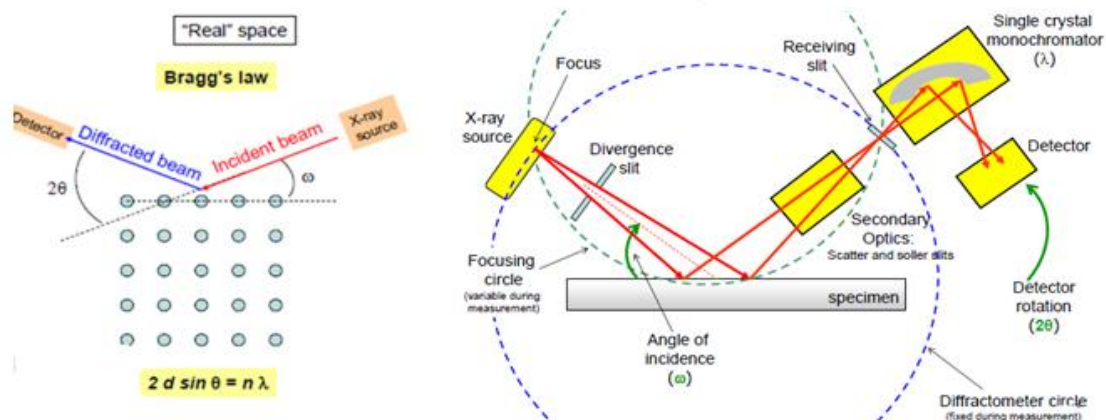


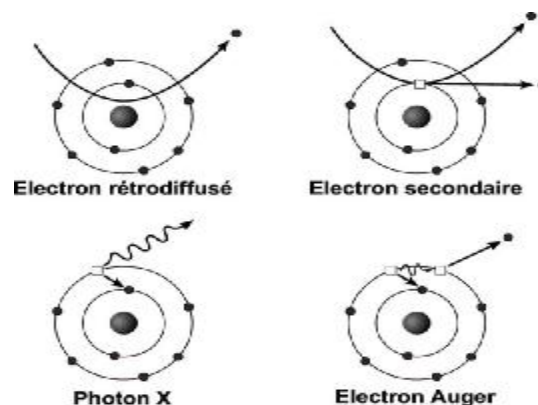
Figure III-1: Schéma d'un diffractomètre de RX.

#### 4.2- Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectroscopie d'énergie dispersive (EDS)

Cette technique est basée sur le principe des interactions électrons - matière; elle est capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon. Si une surface est bombardée par un faisceau d'électrons primaires, plusieurs rayonnements peuvent être émis (fig. III-2):

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

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



**Figure III-2: Rayonnements émis par les atomes sous un faisceau d'électrons.**

Avant l'observation les échantillons électriquement isolants sont recouverts d'une fine couche conductrice de l'alliage or-palladium (Au-Pd) transparente aux électrons pour assurer l'écoulement des charges superficielles.

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

- Û électrons secondaires pour avoir des informations sur la topologie de la surface étudiée en utilisant le MEB: JEOL JSM 6301F.

ù photons X, émis avec des énergies différentes, permettant une analyse élémentaire de l'échantillon. L'analyse est effectuée par EDS (Energy Dispersive X- ray Spectroscopy): JEOL JSM 6400.

### 4.3- Spectroscopie d'absorption infrarouge

La spectroscopie de l'infrarouge sert à mettre en évidence l'effet des vibrations des niveaux d'énergies. Cette technique permet l'analyse et l'identification des molécules complexes par leur signature d'absorption dans l'infrarouge. Dans cette technique, l'énergie incidente dans l'infrarouge fait vibrer les liaisons covalentes entre les atomes et les molécules. Puisque les liaisons entre les atomes de différentes masses ont des différentes forces de liaison.

La spectroscopie infrarouge s'appuie sur la modification du moment dipolaire électrique par les modes de vibration caractéristiques des groupements moléculaires présentes dans un matériau. Cette modification du moment dipolaire électrique entraîne alors l'absorption des ondes électromagnétiques. La vibration d'une liaison dans un matériau présente un maximum d'absorption à une longueur d'onde d'après l'expression :

$$\lambda = 2 \sqrt{\frac{m}{f}}$$

Avec :

c : vitesse de la lumière dans le vide.

u: Masse réduite des vibrateurs.

f : constante de force de la liaison.

Les bandes de vibration du verre sont ainsi généralement attribuées en fonction des unités structurales existant dans le cristal présentant les mêmes entités. En s'appuyant sur la similarité entre l'origine des modes vibrationnels dans les verres et les cristaux, le spectre IR d'un verre peut être reproduit de façon satisfaisante en utilisant les fréquences et les intensités des bandes des cristaux. Les spectres des verres et des cristaux voisins correspondants sont généralement similaires avec un élargissement systématique des bandes pour le système vitreux. Habituellement, l'analyse en spectroscopie infrarouge se fait en mode de transmission. Les spectres de transmission ont été effectués à l'aide d'un spectromètre de type Bruker Equinox 55 dans un domaine de mesure qui s'étend de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup>. Les produits à analyser ont été préparés sous forme de pastilles minces en les mélangeant avec 98% masse de KBr sec. La figure III-3 présente différents types de vibrations des molécules.

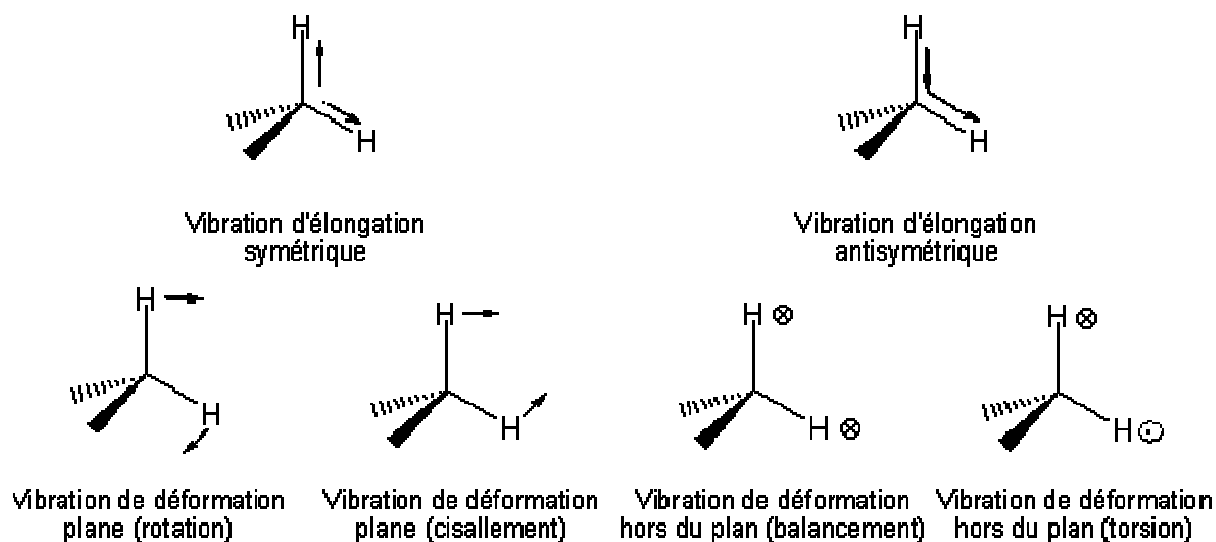
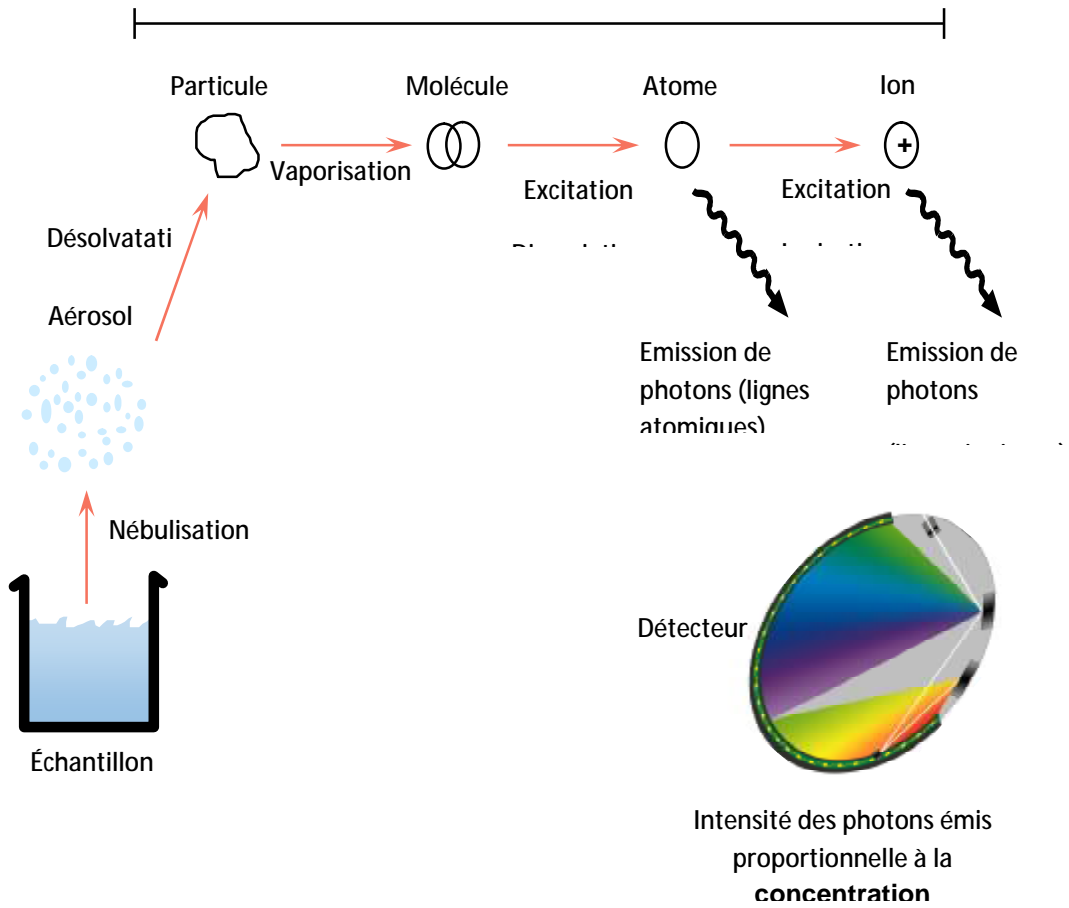


Figure III-3: Différents types de vibrations des molécules

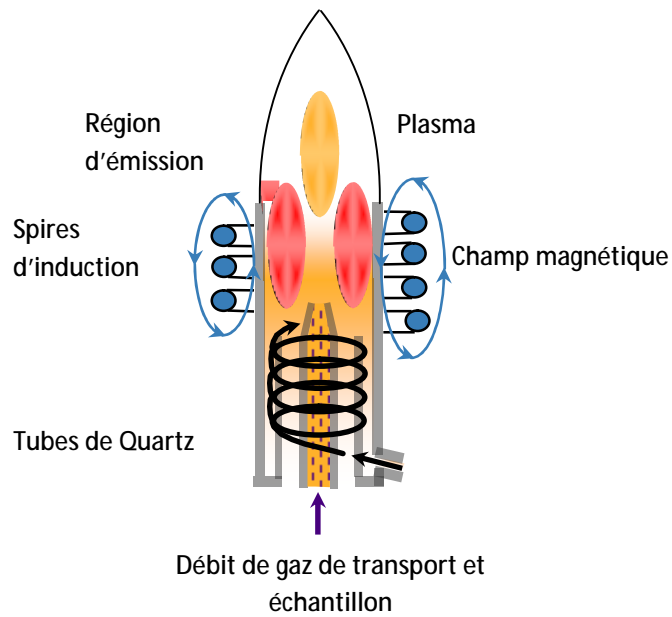
#### 4.4- La Spectrométrie d'émission au plasma (ICP-OES)

Elle est une méthode d'analyse globale qui permet de doser pratiquement tous les éléments de la classification périodique. C'est une méthode destructive, ne nécessitant que peu de matière (quelques mg), elle permet d'analyser un très grand nombre d'éléments aussi bien comme éléments majeurs qu'à l'état de traces (de la dizaine de % à quelques ppm). Cette technique se base sur la mesure de l'énergie perdue par un atome excité lors du passage de l'un de ses électrons d'un niveau énergétique à un autre. L'énergie est libérée sous forme de rayonnement lumineux de longueur d'onde  $\lambda$  (photon de fréquence  $\nu$  et d'énergie  $h\nu$ ) comprise entre l'ultra violet lointain et le proche infrarouge. Chaque onde lumineuse est caractéristique de l'atome émetteur. Un détecteur optique est utilisé pour mesurer l'intensité de chaque raie de longueur d'onde après la séparation de différentes longueurs d'ondes émises par un réseau optique (fig. III-4). L'intensité de la raie est proportionnelle à la concentration de l'élément qui l'a émis. Pour exciter l'échantillon et dissocier les particules en atomes, on utilise un gaz neutre partiellement ionisé. Le plasma utilisé est un plasma d'argon entretenu au cœur d'une bobine d'induction parcourue par des courants de haute fréquence, ce qui conduit à l'augmentation de la température (10000 K) du plasma. Les échantillons sont injectés sous forme d'aérosol dans le plasma, ils sont dissociés et partiellement ionisés sous l'effet des hautes températures (fig. III-5). On obtient l'analyse quantitative de l'échantillon par comparaison avec des étalons de concentrations connues.

On a utilisé dans ce travail un Spectromètre d'émission au plasma ICP-OES (Spectro, France) pour mesurer la variation de la concentration ionique de la solution d'immersion SBF avec le temps d'immersion des échantillons dans ces solutions.



**Figure III-4: Principe de l'analyse ICP-OES.**



**Figure III-5: Torche à plasma**

#### 4.5- Résonance magnétique nucléaire

La résonance magnétique nucléaire (RMN) désigne une propriété de certains noyaux atomiques possédant un *spin nucléaire non nuls* (propriété quantique attribuée à certains noyaux comme  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ , ...), placés dans un champ magnétique. Lorsqu'ils sont soumis à un rayonnement électromagnétique (ondes radio), les noyaux atomiques peuvent absorber l'énergie du rayonnement, puis la relâcher ensuite. L'énergie mise en jeu lors de ce phénomène de résonance correspond à une fréquence très précise (fréquence de résonance), dépendant du champ magnétique. Le phénomène RMN est exploité par la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (spectroscopie RMN), est une technique locale d'analyse structurale.

Les noyaux sont caractérisés par un spin nucléaire et un moment magnétique nucléaire ( $\mu$ ) qui est défini par la relation de Larmor :

$$\mu = \gamma \hbar S$$

$\gamma$  : Le rapport gyromagnétique caractéristique de chaque noyau étudié.

S: Le spin nucléaire.

Lorsque les noyaux de spin non nuls sont en rotation sur eux-mêmes, ils génèrent un moment magnétique de spin. En physique quantique, un moment magnétique de spin  $\frac{1}{2}$ , placé dans un champ magnétique extérieur  $B_0$ , a deux états d'énergies possibles, appelés niveaux Zeeman. La RMN consiste alors à créer une transition d'un niveau à l'autre grâce à la mise en œuvre d'un champ radiofréquence. La condition de résonance est la suivante :

$$h\nu_0 = \mu_B B_0$$

où  $\nu_0$  est la fréquence du champ radiofréquence,  $B_0$  le champ magnétique principal. Lorsque le noyau est entouré d'un cortège électronique, la fréquence de résonance devient :

$$h\nu = h\nu_0 (1 - \sigma)$$

Où  $\sigma$ , coefficient d'écrantage, est la signature de l'environnement chimique local. Sur un spectre RMN, l'expérimentateur observe donc autant de raies de résonance qu'il y a de site différent pour l'élément dont le noyau est sondé. De plus, le coefficient d'écrantage est sans unité et sa valeur est de l'ordre de  $10^{-6}$ . Or, il est impossible de connaître avec une telle précision le champ statique  $B_0$ . Aussi, la valeur de la fréquence  $\nu$  est mesurée relativement à la fréquence  $\nu_{\text{ref}}$  d'une substance de référence. Afin de pouvoir s'affranchir de la valeur du champ  $B_0$  et de ses fluctuations, une nouvelle grandeur  $\delta$  a été définie :

$$\delta = \frac{\nu_{\text{ref}} - \nu}{\nu_{\text{ref}}} \times 10^6$$

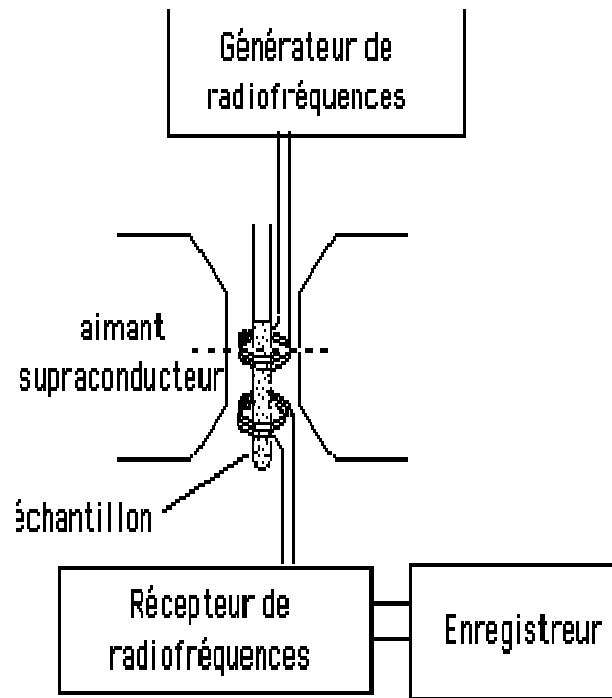
Cette nouvelle échelle de mesure  $\delta$  est appelée déplacement chimique et s'exprime en ppm. Compte tenu des fortes interactions inhérentes aux matériaux à l'état solide, la RMN a longtemps été difficile à mettre en œuvre dans la matière condensée. Depuis une vingtaine d'années, avec la montée en champ des spectromètres et la mise au point des techniques dites de haute résolution, la RMN a connu un essor sans précédent pour l'étude d'échantillons à l'état solide. Elle est maintenant devenue une technique d'analyse structurale incontournable, en particulier pour les matériaux amorphes comme les verres. Parmi ces techniques dites de haute résolution, la rotation à l'angle magique (MAS pour Magic Angle Spinning) est mise en œuvre en routine. Elle permet de supprimer l'interaction dipolaire, à l'origine de l'élargissement des raies, et de moyenniser l'interaction de déplacement chimique. Les spectres ainsi enregistrés sont alors plus proches de ceux observés en solution et présentent une résolution suffisante pour distinguer les différents environnements chimiques des éléments dont les noyaux sont étudiés. Expérimentalement, le MAS consiste à mettre l'échantillon en rotation autour d'un axe à  $54^\circ$  par rapport à  $B_0$  (angle magique) et à des vitesses pouvant atteindre 30 kHz,

Dans notre étude, les spectres RMN ont été enregistrés en utilisant le spectromètre haute résolution de RMN du solide Bruker Avance 300 (7T). Les échantillons utilisés sont sous forme des poudres très fines qui ont été placées dans des rotors en zircone de 3 mm de diamètre et 15 mm de hauteur. Après mettre les rotors dans le spectromètre; on met la rotation en marche (fig. III-6).

Les spectres enregistrés ont été traités avec le programme dm20071105 [44]. Le tableau III-7 montre les conditions de travail. Cette analyse a été effectuée dont le but de connaître la structure du verre synthétisé par fusion et les changements structuraux à la surface du verre en fonction du temps d'immersion.

Tableau III-1: Les conditions expérimentales et les noyaux utilisés.

Noyaux	$\nu$ résonance (MHz)	Vitesse de rotation (Hz)	Temps de pulse ( $\mu$ s)	Temps mort (s)	Référence
$^{29}\text{Si}$	59,6	12000	2	10	TMS
$^{31}\text{P}$	121,5	12000	2	5	$\text{H}_3\text{PO}_4$



**Figure III-6: Schéma descriptif du spectromètre RMN-MAS.**

## Chapitre IV: Résultats et Discussion

### 1- Introduction

Les verres bioactifs étudiés ont été synthétisés par la méthode de fusion à haute température, présentée dans le Chapitre 3. Ce chapitre est consacré à l'étude de la bioactivité de ces verres par RMN du solide suite à l'étude de cette bioactivité par d'autres méthodes.

### 2- Propriétés physico-chimiques des verres 52S4F avant immersion dans le SBF

#### 2.a- Températures caractéristiques du verre

Les températures caractéristiques du verre synthétisé par voie fusion ont été déterminées par l'analyse thermique DSC. L'analyse thermique a été effectuée jusqu'à 1400°C, sous azote, avec une vitesse de chauffe de 5°C/min, l'échantillon étant placé dans un creuset en platine. Les températures caractéristiques du verre sont:

ü la température de transition vitreuse:  $T_G = 620^\circ\text{C}$ .

ü la température de cristallisation:  $T_C = 780^\circ\text{C}$ .

ü la température de fusion:  $T_f = 1277^\circ\text{C}$ .

#### 2.b- Caractérisation par diffraction RX

Le diagramme de diffraction de rayons X (fig. IV-1) présente un halo ( $20^\circ < 2\theta < 35^\circ$ ) correspondant au phénomène de diffusion dans les produits amorphes. Ceci confirme la structure amorphe du verre synthétisé par voie fusion. Le diagramme ne met pas en évidence la présence de phases cristallines, excepté le maximum à environ  $32^\circ$  pouvant être attribué au plan (211) de l'apatite [45].

#### 2.c- Analyse par spectrométrie IR

Le spectre IR montre les bandes caractéristiques des liaisons présentes dans le verre synthétisé (fig. IV-2). La bande à  $503\text{ cm}^{-1}$  est caractéristique de la vibration de déformation de la liaison Si-O-Si entre les tétraèdres. Tandis que les bandes à 752, 930 et  $1039\text{ cm}^{-1}$  sont caractéristiques de la vibration d'élongation de la liaison Si-O dans les tétraèdres. Alors que la bande à  $603\text{ cm}^{-1}$  est caractéristique de la vibration de déformation de la liaison O-P-O. La présence de cette bande est liée à la présence du précurseur de l'hydroxyapatite sous forme d'une couche amorphe de phosphate de calcium [46]. La bande à  $1650\text{ cm}^{-1}$  correspond à l'eau absorbée par la poudre du verre au cours de l'analyse [47].

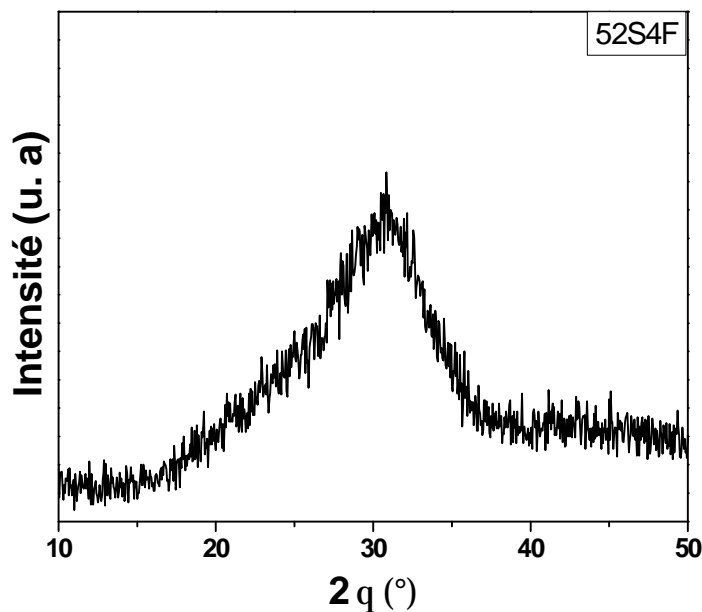


Figure IV-1 : Diagramme de diffraction RX du verre 52S4F.

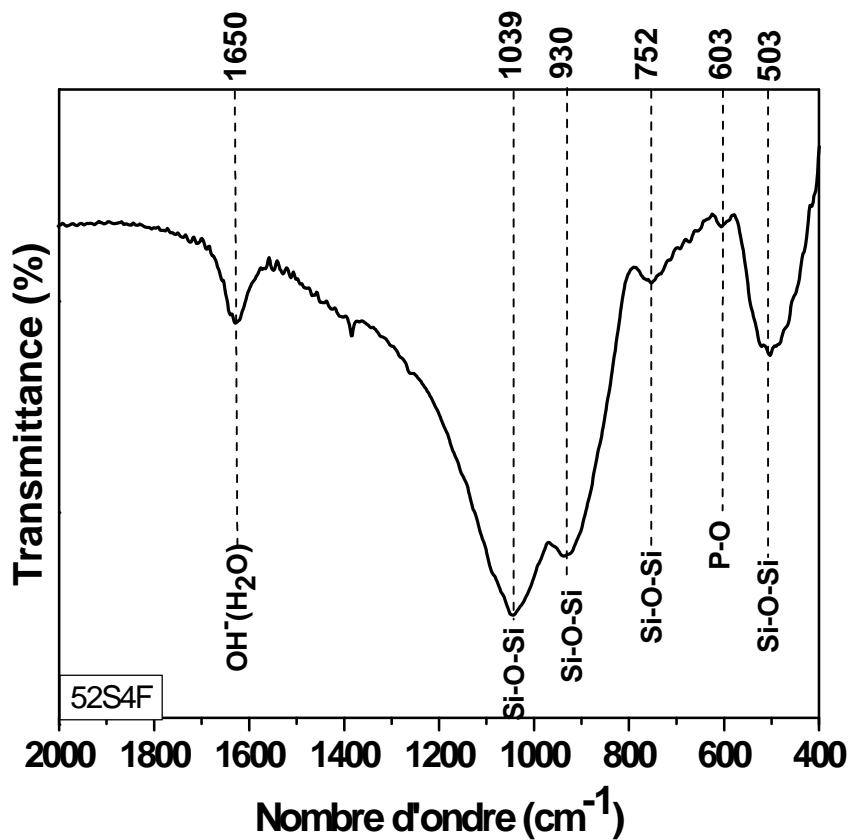
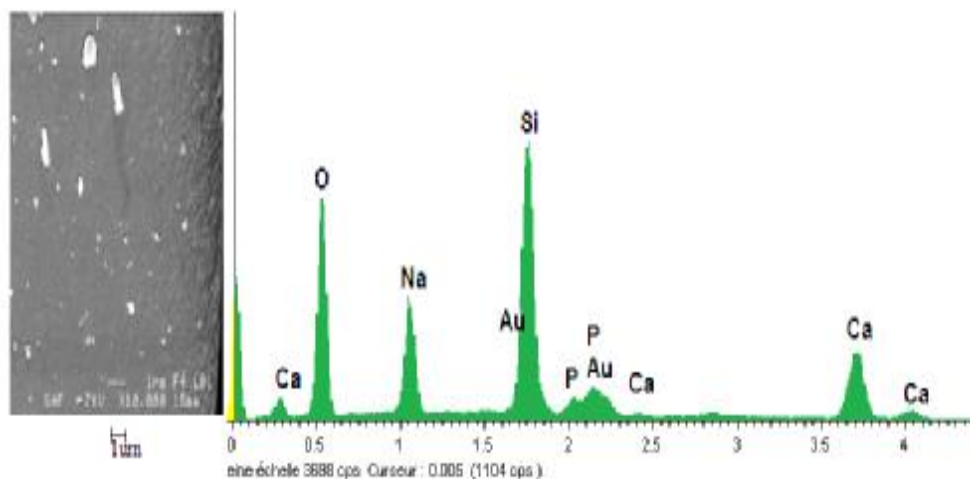


Figure IV-2 : Spectre IR du verre synthétisé 52S4F.

### 2.d- Analyse par MEB-EDS

L'analyse par MEB de la surface des granules de verres montre bien que les verres synthétisés par fusion sont très denses; on observe l'absence totale des pores. L'analyse EDS confirme que les seuls éléments présents dans le verre sont les mêmes éléments qui le forment: Si, Ca, Na et P (fig. IV-3).

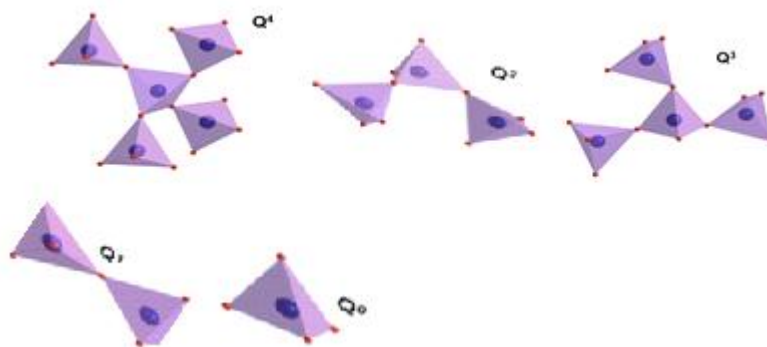


**Figure IV-3: Micrographie par MEB, analyse EDS et cartographie de la surface du verre 52S4 synthétisé par fusion.**

### 2.f- Analyse par RMN-MAS

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 2, la structure d'un verre est complexe ; il n'existe aucun ordre à longue distance, mais un ordre à courte distance est néanmoins présent. La structure de base d'un verre de silice est constituée d'un réseau de tétraèdres  $SiO_4$ , connectés par leurs sommets pour former un réseau tridimensionnel continu. Les oxydes alcalins et alcalino-terreux introduits modifient la structure du réseau et réduisent son degré de connectivité en remplaçant les oxygènes pontants (BO pour Bridging Oxygen) par des oxygènes non-pontants (NBO pour Non Bridging Oxygen). Ainsi, les oxydes modificateurs de réseau sont des éléments importants puisqu'ils ouvrent la structure du verre et abaissent la température de transition vitreuse. Ainsi, ils ont un effet important sur la cinétique de la bioactivité. La RMN du solide est une méthode puissante pour l'étude structurale des verres bioactifs. En effet, le déplacement chimique  $\delta$  est un indicateur sensible de l'environnement local d'un isotope donné; il est dépendant de la densité électronique locale, qui reflète elle-même la distribution des atomes autour du noyau étudié. Le déplacement chimique renseigne ainsi sur l'environnement local présent autour d'un isotope et sur les éventuelles interactions entre deux noyaux. La notation  $n$  exprime la concentration d'oxygènes pontant par tétraèdre, où la valeur de  $n$  est égale au nombre

d'oxygènes pontant, comme le montre la figure IV-4 [48]. Ainsi, un tétraèdre complètement lié au réseau par 4 oxygènes pontant est noté comme une espèce  $Q^4$ , alors qu'un tétraèdre isolé, ne présentant aucun oxygène pontant, est noté  $Q^0$ . De plus, ces différentes espèces  $Q^n$  présentent des résonances dans des régions séparées du spectre RMN-MAS  $^{29}\text{Si}$ . A titre d'exemple, le spectre RMN  $^{29}\text{Si}$  de la silice pure ne présente qu'une seule composante  $Q^4$ , située à un déplacement chimique d'environ -112 ppm [49].



**Figure IV-4 : Les différentes espèces  $Q^n$  possibles.**

En utilisant des méthodes de déconvolution appropriées, l'analyse par RMN du noyau  $^{29}\text{Si}$  permet d'obtenir des informations quantitatives sur les proportions relatives d'espèces  $Q^n$  dans un système donné. Dans le cas de noyau de spin  $1/2$  dans des matrices amorphes, la déconvolution des spectres RMN s'effectue à l'aide d'une ou plusieurs gaussiennes. L'aire sous la courbe de chaque gaussienne est alors prise comme une mesure de la concentration en espèces  $Q^n$  [49].

La figure IV-5 présente les spectres RMN  $^{29}\text{Si}$  et  $^{31}\text{P}$  du verre étudié.

### 2.f.1- Spectre RMN-MAS $^{29}\text{Si}$

La capacité de la résolution RMN de  $^{29}\text{Si}$  est en général fondée sur le fait que les différentes espèces  $Q^n$  ont différents déplacements chimiques  $^{29}\text{Si}$  en raison de la différence de leurs environnements électroniques, ainsi que les légères déviations dans leur géométrie [50].

On observe que la largeur à mi-hauteur du spectre RMN  $^{29}\text{Si}$  est large (17 ppm) et le spectre n'est pas symétrique; cela conduit à conclure qu'il y'a plus d'une espèce [50]. La déconvolution de spectre montre qu'il existe deux espèces situées à -79.50 et -86.5 ppm. En comparant ces valeurs aux valeurs citées dans la littérature [49-51], on peut les attribuer comme suit:

- la 1<sup>ère</sup> espèce, située à -79.50 ppm, correspond à  $Q^2$  où le tétraèdre  $Q^2$  contient deux atomes d'oxygène pontants. Elle représente 55.3% de l'ensemble des tétraèdres formant le verre 52S4F,

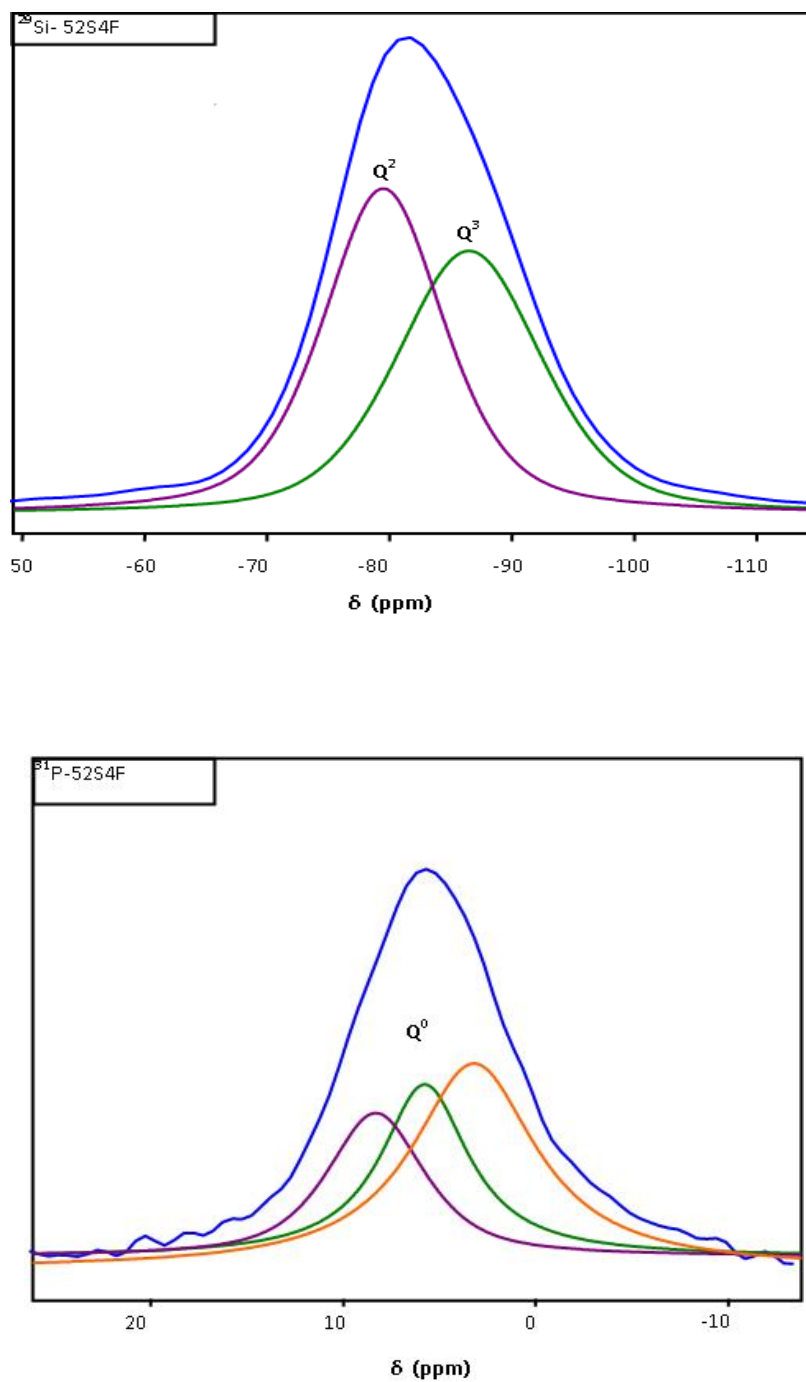


Figure IV-5: Spectres RMN-MAS des noyaux  $^{29}\text{Si}$  et  $^{31}\text{P}$  du verre 52S4F.

Ü la 2<sup>ème</sup> espèce, située à -86.5 ppm, correspond à où le tétraèdre contient trois atomes d'oxygène pontants. Elle représente 44.7% de l'ensemble des tétraèdres formant le verre 52S4F. Le chevauchement de et est provoquée par la grande largeur à mi-hauteur des pics et (11.7 et 14 ppm). Cela est dû à la distribution continue des déplacements chimiques <sup>29</sup>Si isotropes. Cette dernière est due elle-même à une distribution continue des facteurs structurels dans les verres, tels que les angles entre les liaisons O-Si-O et les distances métal-oxygène [50]. D'après la littérature, le déplacement chimique <sup>29</sup>Si de la silice pure se situe à environ - 112 ppm et il est caractéristique de l'espèce ; aucune autre espèce existe en plus [52]. Alors que la présence d'oxydes alcalins tels que le et/ou CaO modifie ce déplacement et conduit à la création d'autres espèces [51]. Dans les verres binaires – , on trouve deux espèces et situées à -76 et -86 ppm. Tandis que les verres binaires -CaO, on trouve aussi les deux espèces, et , situées à -81.5 et -92 ppm [52]. En comparant nos résultats ( et situées à -79.50 et -86.5 ppm) à ces résultats, on peut conclure que les atomes d'oxygène non-pontants dans Q<sup>2</sup> sont neutralisés beaucoup plus par les cations Ca<sup>+2</sup> alors que les atomes d'oxygène non-pontants dans Q<sup>3</sup> ont neutralisés par les cations Na<sup>+</sup> d'une façon dominante. Notant que le cation Ca<sup>+2</sup> est partagé entre deux atomes d'oxygène non-pontants appartient à deux tétraèdres (Si( ) ( ... 1/2 ) 2), alors que forme une seule liaison ionique avec un seul atome d'oxygène non-pontant ( ( ) ( ... ) ) [52].

### 2.f.2- Spectres RMN-MAS <sup>31</sup>P

Le spectre RMN-MAS <sup>31</sup>P est déconvolué en trois gaussiennes. On peut observer trois épaulements aux environs du sommet de trois pics qui confirme la présence de plusieurs environnements. Les trois pics se situent à 3.20; 5.76 et 8.30 ppm. En comparant ces déplacements chimiques à ceux de la littérature [49-50], on en conclut qu'ils correspondent à des , le phosphore est donc dans un environnement tétraédrique isolé, type orthophosphate ( ), il n'est donc pas un formateur du réseau du verre.

On observe qu'on a que des isolés dans le verre, chaque P est lié à travers les atomes d'oxygène non-pontants aux cations ou non utilisés par les tétraèdres . Les valeurs des déplacements chimiques du <sup>31</sup>P obtenus dans le verre 52S4F (3.20, 5.76 et 8.30 ppm) sont entre le déplacement chimique du <sup>31</sup>P en situé à 15.6 ppm et celui du ( ) situé entre 0 et 3 ppm [53]. On peut déduire que:

- Pour les deux déplacements chimiques 5.76 et 8.30 ppm, qu'il n'y a pas une association préférentielle des groupes orthophosphates avec les cations  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Sr}^{2+}$ .
- Pour le déplacement chimique 3.20 ppm, on a une association préférentielle des groupes orthophosphates avec les cations  $\text{Ca}^{2+}$ . Lockyer a montré que la substitution de  $\text{Sr}^{2+}$  par  $\text{CaO}$  conduit progressivement à rendre le déplacement chimique moins positif. Cela est dû à la différence de l'électronégativité entre  $\text{Ca}$  et  $\text{Sr}$  (1.0 et 0.9 respectivement) [53]. Le calcul de l'intensité des trois pics de déconvolution indique que:
  - 60.5 % des groupes orthophosphates ont un environnement tout à fait désordonné et qu'il n'y a pas d'association préférentielle avec les cations  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Sr}^{2+}$ .
  - 39.5 % des groupes orthophosphates ont un environnement ordonné et qu'il y a association préférentielle avec les cations  $\text{Ca}^{2+}$ . Hill explique que la présence des espèces orthophosphates est due à la vitesse lente de refroidissement des verres, ce qui favorise la séparation des phases [54]. Toutefois, dans le cas des verres testés par Elgayar et O'Donnell [50-55] ceux-ci ont été rapidement trempés dans l'eau froide ce qui diminue la possibilité de séparation des phases; mais ils ont tout de même observé la présence du phosphore dans un environnement orthophosphate.

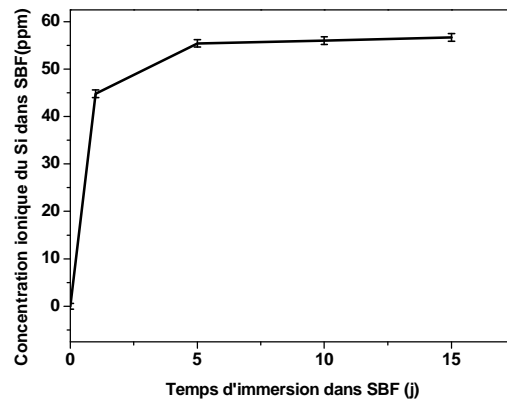
### 3- Caractérisations physico-chimiques de la surface du verre 52S4 après immersion dans le SBF

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

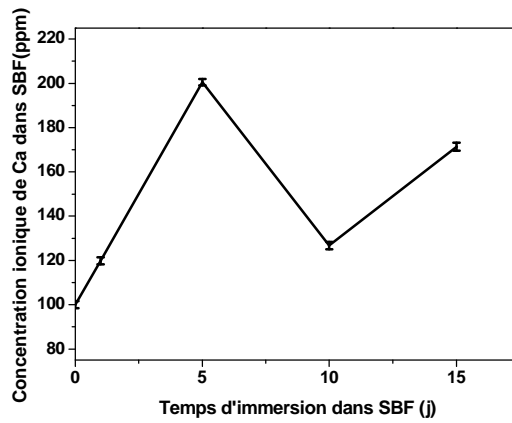
Les figures IV-(6- 8) présentent les variations respectives des concentrations en silicium, calcium et phosphore, mesurées par ICP-OES dans le SBF, en fonction des temps d'immersion (de 1 jusqu'à 15 jours) lors des tests *in vitro*. D'après la figure IV-6, on constate que la concentration de silicium dans le SBF augmente rapidement dès le premier jour d'immersion. Presque 45 ppm de Si ont été détectés dans le SBF. Au-delà de 1 jour, la concentration augmente légèrement avec le temps d'immersion et elle devienne presque constante entre 5 et 15 jours.

En ce qui concerne la variation de la concentration du Ca dans le SBF analysé, elle augmente pendant les premières jours d'immersion ou elle atteint une valeur maximale après 5 jours, soit 200 ppm de Ca ont été détectés dans le SBF (fig. IV-7). Après ce délai, une diminution de la concentration en calcium dans le SBF est bien remarquée. Mais, entre 10 et 15 jours, une réaugmentation du Ca dans le SBF a été engendrée.

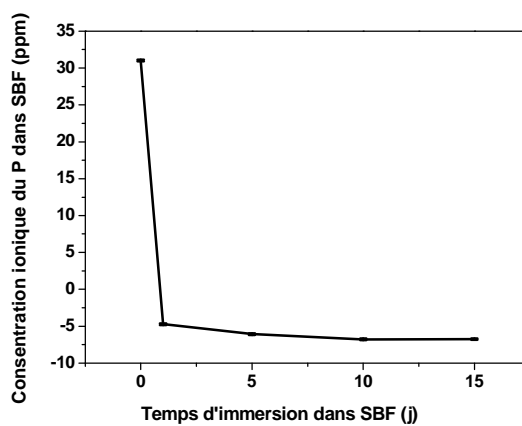
Alors que la concentration en phosphore diminue rapidement avec une valeur très importante dès le premier jour. Cette diminution devienne faible entre 1 et 10 jours. Ensuite; la concentration du P dans le SBF devienne constante jusqu'à 15 jours (fig. IV-8).



**Figure IV-6: Variation de la concentration ionique du Si dans le SBF en fonction du temps d'immersion.**



**Figure IV-7: Variation de la concentration ionique du Ca dans le SBF en fonction du temps d'immersion.**



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

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

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

### 3.1. Analyse des surfaces par DRX

La surface des échantillons de verre a été caractérisée par diffraction des rayons X en fonction du temps d'immersion dans le SBF (fig. IV-9). On observe que le profil de diagramme de diffraction RX se change dès le 1 jour d'immersion par rapport au profil de DRX avant immersion. L'intensité du halo de diffusion diminue avec le temps d'immersion; peut être des phases cristallines sont en cours de formation. En comparant ces diagrammes au diagramme de diffraction de l'hydroxyapatite [42]; on peut dire qu'une hydroxyapatite mal cristallisée ou de l'ordre du nano à été formée à la surface du verre dès 1 jour d'immersion. Ça reste aux autres méthodes de confirmer cette suggestion ou de l'annuler puisque les pics de diffraction de HA n'ont pas été observés sur les DRX après immersion.

### 3.2- Spectres IR

Les spectres IR de la couche recueillie en surface du verre 52S4 après les différents temps d'immersion sont présentés sur la figure IV-10. Les spectres IR après immersion montrent la présence de nouvelles bandes caractéristiques des groupes P-O à 466, 566, 953, 1049 et 1237 **et le renforcement de la bande située à 603** . D'après la littérature ces bandes sont caractéristiques des phosphates en phase cristalline à cause de la présence de doublet à 566 et 603 [38]. De plus, il s'agit d'une couche carbonatée en raison de la présence de bandes C-O à 875, 1417 et 1494  $\text{cm}^{-1}$  [56]. Ces spectres possèdent une faible bande située à 740 qui est caractéristique de la liaison Si-O-Si, ce qui confirme la présence d'une sous-couche riche en . Enfin La bande d'absorption observée à 1640  $\text{cm}^{-1}$  correspond à l'une des bandes infrarouge du dioxyde de carbone atmosphérique.

En reliant les résultats de l'analyse IR aux résultats de diffraction RX ; on peut conclure que la taille des grains de l'hydroxyapatite est de l'ordre de nano.

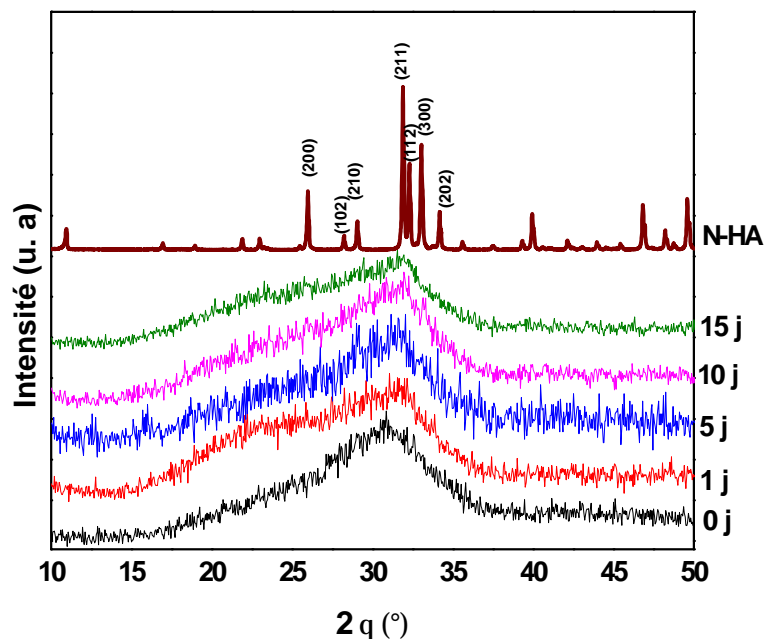


Figure IV-9: Diagrammes de diffraction RX des verres 52S4F en fonction du temps d’immersion dans le SBF.

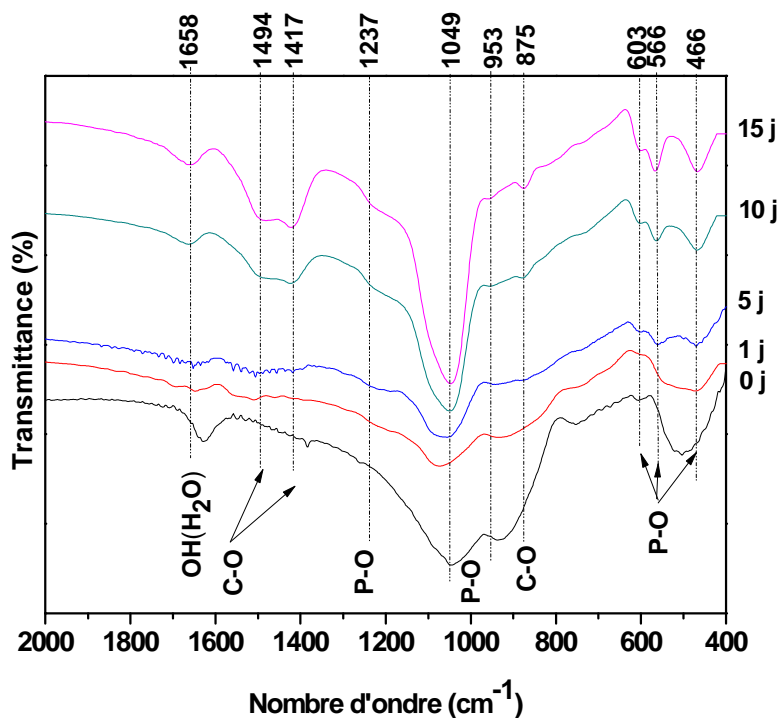


Figure IV-10: Spectres IR de la surface de verre 52S4F en fonction du temps d’immersion dans le SBF.

### 3.4- Analyse par MEB-EDS

Les images par MEB (fig. IV-11) et l'analyse EDS montrent les différents changements morphologiques produits à la surface du verre 52S4F en fonction du temps d'immersion:

- Après 1 j d'immersion, on observe la formation d'une couche mince formée de petits grains de l'ordre du nano.
- Après 5 j, cette couche devienne dense et homogène mais on a une structure ouverte; la distance entre les grains chevauchés est bien remarquable.
- Alors qu'après 10 j, les grains se rétrécissent plus entre eux en donnant une couche très dense.
- Après 15 j, la nouvelle couche continue à se densifier mais légèrement par rapport à 10 j.

Selon les analyses EDS ; on peut attribuer cette couche à l'hydroxyapatite puisque elle est riche en Ca et en P. La concentration de ces deux éléments à la surface des poudres immergées augmente avec le temps d'immersion et elle très importante surtout après 5 j. Dans l'intervalle 10- 15 j, le changement est moins remarquable par rapport à 5 j. La variation de la concentration de Ca et P à la surface des verres est en bon accord avec les images du MEB et l'analyse IR. On note que cette hydroxyapatite est une hydroxyapatite carbonatée suite à la présence du C à la surface des verres. Les analyses EDS montrent aussi l'incorporation d'autres éléments tels que le Mg et Cl.

Pour le Si, l'analyse EDS montre que la concentration de cet élément à la surface des verres, après 1 j, est presque la même qu'avant immersion malgré que les analyses ICP montrent que la dissolution du réseau vitreux est importante pour ce délai. Peut être ; le gel de silice a été formé à la surface du verre comme il a été montré par Hench [7]. Ensuite, le taux du Si diminue à la surface des verres en fonction du temps d'immersion.

#### Bilan des résultats

Selon les résultats obtenus par les analyses IR et MEB-EDS ; on peut déduire que la nouvelle couche qui a été formée à la surface des verres est une hydroxyapatite carbonatée nanocristallisée comme il a été confirmé par l'apparition de doublet à 566 et 603  $\text{cm}^{-1}$  sur le spectre IR. Ce doublet est bien remarquable après 5 j. Cette nouvelle couche a été formée selon le processus de bioactivité de Hench :

- L'échange ionique entre les cations  $\text{Ca}^{+2}$  et  $\text{Na}^{+}$  et les protons  $\text{H}^{+}$  de la solution ce qui cause l'augmentation de pH de la solution.
- La dissolution du réseau vitreux se produit suite à la formation des silanols Si-OH à la surface du verre. La silice passe en solution sous forme de  $\text{Si}(\text{OH})_4$ . Ensuite, on a la polymérisation d'une couche de  $\text{SiO}_2$  à la surface du verre.

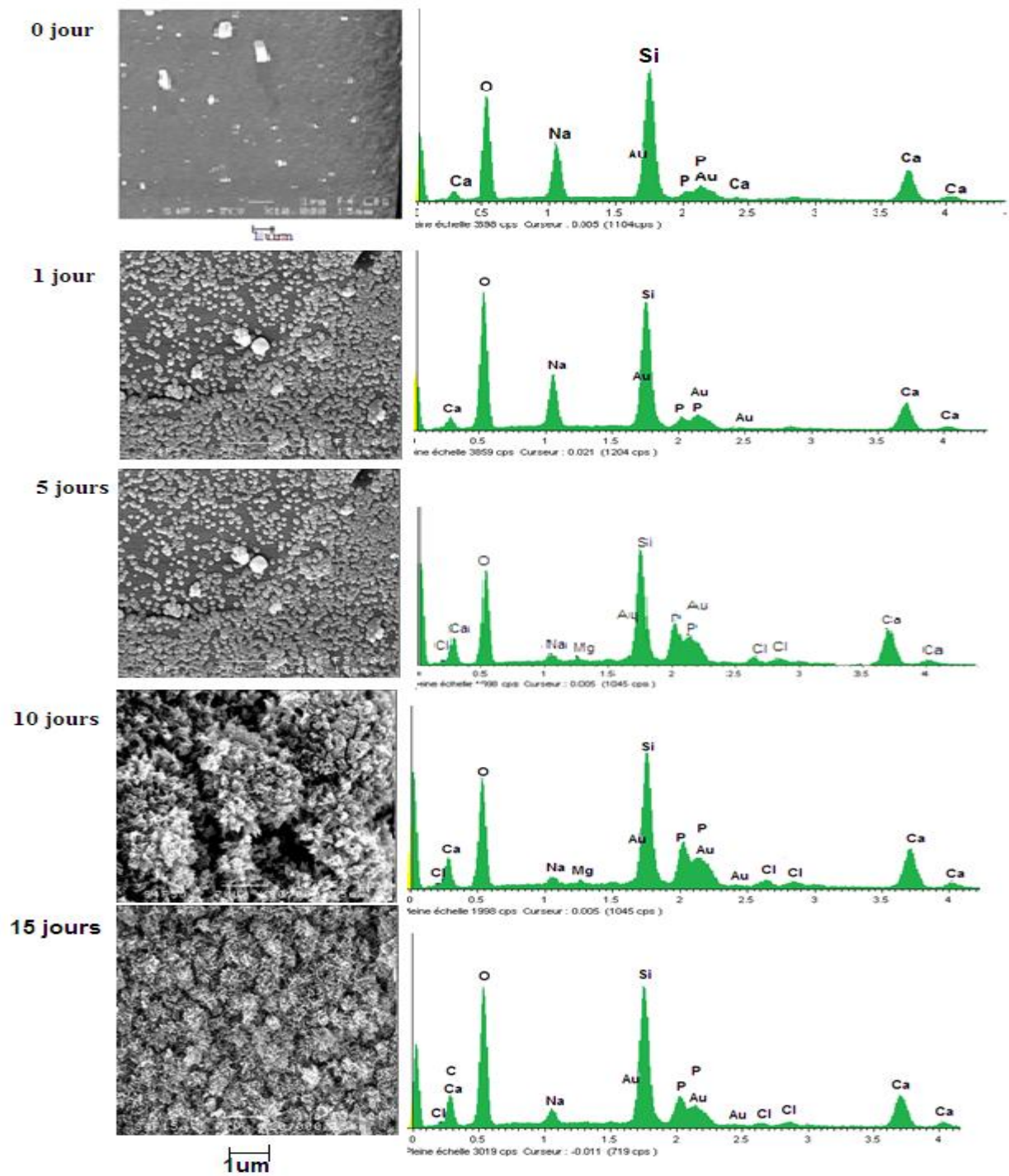


Figure IV-11: Analyse par EDS de la surface des verres 52S4F en fonction du temps d’immersion dans le SBF.

- La migration des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  de la solution vers la surface des verres pour former une couche apatite riche en  $\text{Ca-P}_2\text{O}_5$ .
- La cristallisation de la couche amorphe  $\text{Ca-P}_2\text{O}_5$  par l'incorporation de  $\text{OH}^-$  et  $\text{CO}_3^{2-}$  pour former une apatite carbonatée.

D'après nos résultats, deux processus ont été observés :

- entre 0 et 5 j, le processus de dissolution du verre était très important par rapport au processus de précipitation de l'hydroxyapatite justifié par l'augmentation du taux du calcium dans le SBF.
- Après 5 j, c'est le processus de précipitation qui domine ce qui a permis la condensation de la nouvelle phase à la surface des verres après ce délai.

Mais, on a observé la réaugmentation du taux du Ca dans le SBF dans l'intervalle 10- 15 j. Cela veut dire que le phénomène de la dissolution était plus dominant que le phénomène de précipitation de HA à cause de la consommation de tous les ions P présents dans le SBF après 10 j. Cela justifie la faible condensation de cette nouvelle couche entre 10 et 15 j.

Cette nouvelle couche est une couche protectrice du verre ; plus elle est dense plus elle ralentit la dissolution du réseau vitreux ce qui peut justifier la stabilité du Si dans le SBF surtout après 10 j.

On note que plus la taille des particules de la poudre diminue, la surface spécifique augmente et par conséquent le processus de dissolution est très important [57].

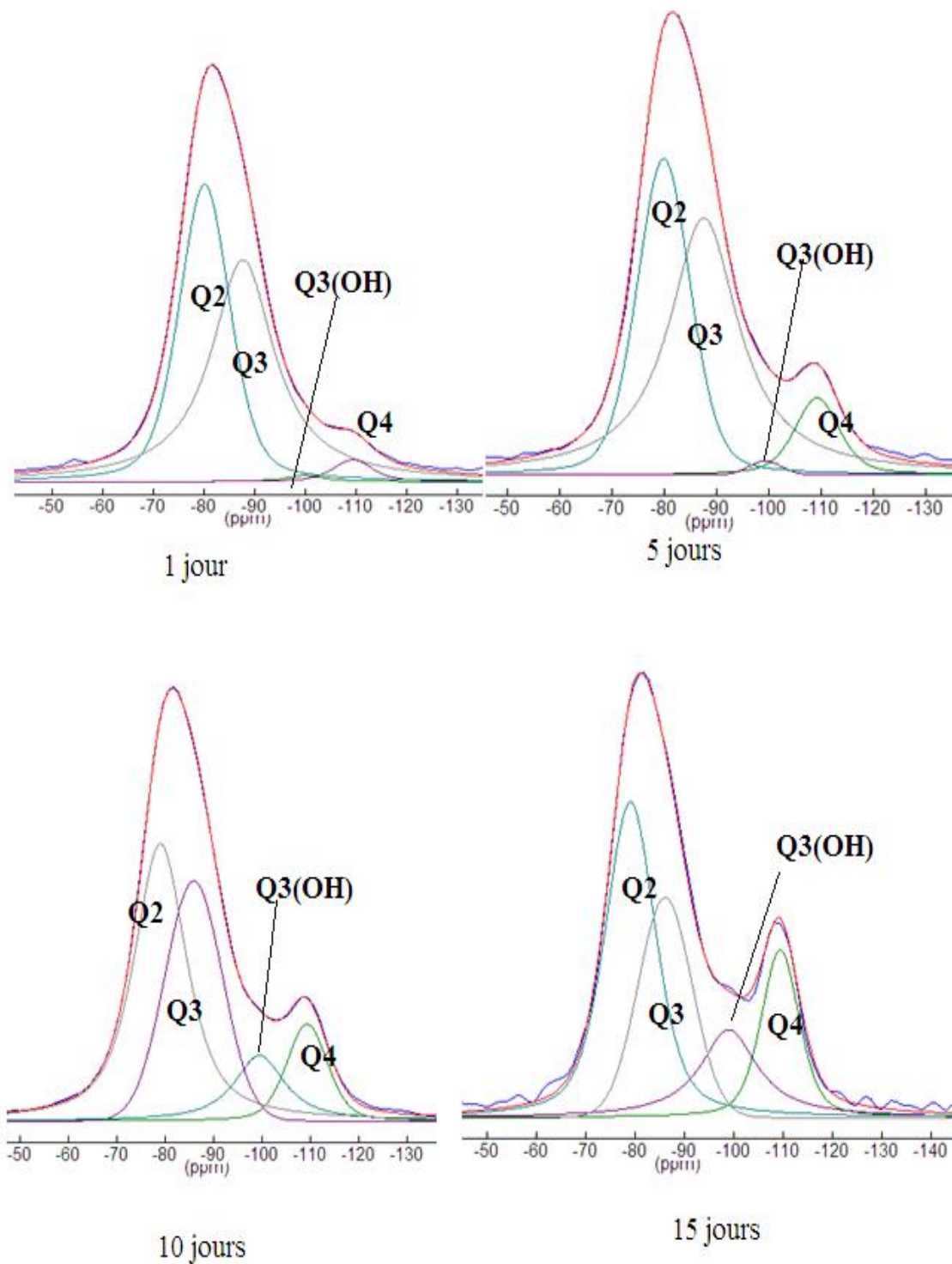
Les analyses effectuées n'ont pas été suffisantes pour bien comprendre les changements structuraux produits à la surface en fonction du temps d'immersion surtout la formation du gel de silice qu'on n'a pas arrivé à la prouvée. Cela nous a poussé à utiliser la RMN du solide pour bien comprendre ces différents changements.

### 3.5- Analyse par RMN-MAS

#### a- Spectres RMN-MAS $^{29}\text{Si}$ :

La figure IV-12 présente les spectres RMN-MAS  $^{29}\text{Si}$  obtenus pour le verre 52S4 après 1, 5, 10 et 15 jours d'immersion dans le SBF, et leurs déconvolutions. D'importants changements sont constatés sur ces figures; le profil des spectres  $^{29}\text{Si}$  évolue avec le temps d'immersion dans le SBF, ce qui indique d'importantes modifications de la structure des verres lors des tests *in vitro*.

Le tableau IV-1 regroupe les résultats obtenus (proportions de chaque espèce et déplacement chimique associé) lors des déconvolutions des spectres  $^{29}\text{Si}$ . Quelle que soit la durée du délai d'immersion, quatre composantes sont nécessaires pour déconvoluer les spectres obtenus, au lieu de deux pour le verre 52S4F avant immersion.



**Figure IV-12 : Déconvolution des spectres RMN  $^{29}\text{S}$  du verre 52S4 en fonction des temps d'immersion dans le SPF**

**Tableau IV-1:** Résultats de la déconvolution des spectres RMN-MAS  $^{29}\text{Si}$  du verre 52S4

Espace	Q <sup>2</sup>	Q <sup>3</sup>	Q <sup>2</sup> +Q <sup>3</sup>	Q <sup>3</sup> (OH)	Q <sup>4</sup>	Q <sup>3</sup> (OH)+Q <sup>4</sup>
Avant	(-79.50ppm)	10%(-86.5ppm)	100%	-	-	-
Immersion						
1jours	54.29 (-80.10)	40.50(-87.65)	94.79	1.18(-99.80)	4.03(-109.40)	5.21
5jours	47.65 (-79.90)	38.70(-87.65)	86.35	2.02(-99.30)	11.61(-109.30)	13.63
10jours	40.80 (-79)	35.28(-85.90)	76.08	9.66(-99.45)	14.26(-109.32)	23.92
15jours	21.51 (-79.1)	28.41(-86.09)	49.92	11.07 (-98.99)	21.22(-109.30)	32.29

Après immersion, les deux composantes et , initialement présentes dans le réseau vitreux, sont encore observées, respectivement à environ -79.50 et -86.5 ppm. On constate néanmoins des variations dans leurs proportions relatives, au profit de l'apparition des deux nouvelles espèces. Ces dernières sont également caractéristiques du silicium en environnement tétraédrique et sont attribuées:

- ü Aux espèces ( ); cette espèce caractérise les siliciums en environnement tétraédrique avec trois oxygènes pontants et le quatrième oxygène est lié à un groupement silanol (Si-OH) [58]. Cette contribution Aux espèces Q<sup>3</sup> se situe à environ -99 ppm et représente, selon les délais d'immersion, 1.18 à 11.07 % de la population des tétraèdres SiO<sub>4</sub>.
- ü Aux à , caractéristiques des siliciums en environnement tétraédrique avec quatre oxygènes pontants (Si-O-Si). Sur les spectres RMN, cette contribution Q<sup>4</sup> se situe à environ -109 ppm et représente, selon les délais d'immersion, 4.3 à 21.22 % de la population des tétraèdres SiO<sub>4</sub>.

On rappelle que le déplacement chimique  $^{29}\text{Si}$  de la silice pure (SiO<sub>2</sub>) se situe à -112 ppm [49]. D'après le mécanisme de Hench, après l'échange ionique entre les cations Ca<sup>2+</sup> et Na<sup>+</sup>, le réseau vitreux se dissout: les liaisons Si-O-Si se rompent à la surface du verre sous l'action des hydroxyles. Des groupements silanols (Si-OH) sont alors formés en surface, puis une partie de ces groupements se condensent pour former une couche riche en silice.

L'étude RMN  $^{29}\text{Si}$  permet de suivre plus particulièrement l'étape de dissolution du réseau vitreux. En effet, la somme ( + ) renseigne sur le pourcentage de réseau de silice affecté par la dissolution du verre. Avec l'augmentation du temps d'immersion, la valeur ( + ) diminue fortement. En parallèle, dès 1 jour d'immersion, nous assistons à la formation des espèces et qui témoigne la dissolution du réseau vitreux. On observe que la proportion d'espèces est supérieure à celle des (OH) quel que soit le temps d'immersion dans le SBF. Donc, une majorité des groupements silanols

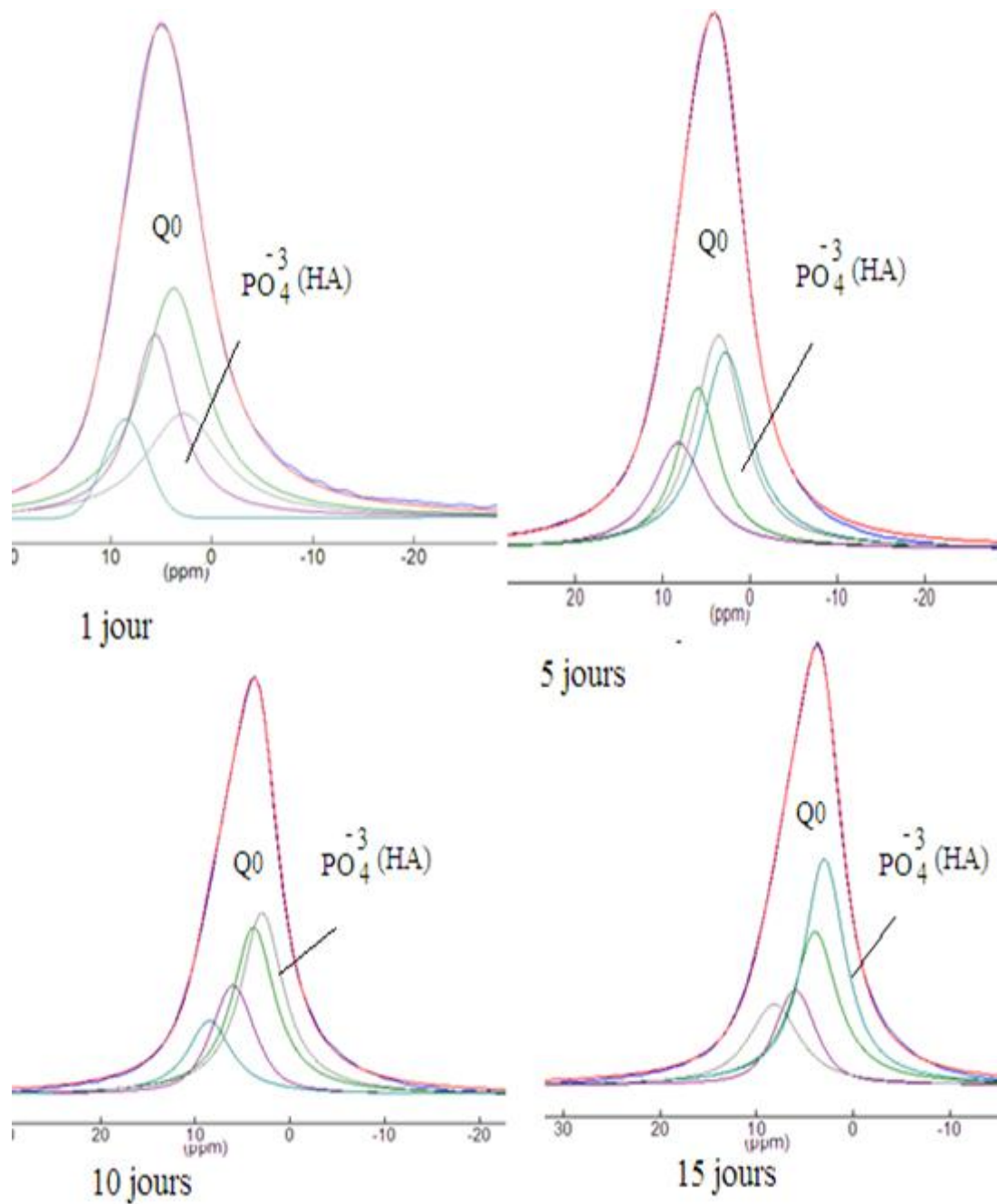
se repolymérisent immédiatement à la surface du verre pour former la couche riche en silice. On remarque également que le déplacement chimique des  $^{29}\text{Si}$  est très proche de celui de la silice pure (109.3 contre 112 ppm); la couche riche en  $\text{SiO}_2$  formée à la surface du 52S4 présente donc peu d'impuretés. D'après les calculs effectués, entre 1 et 15 jours, la proportion d'espèces ( $\text{Q}^1$  +  $\text{Q}^2$ ) augmente avec le temps d'immersion. Or pour les délais d'immersion 5 et 10 j, cette proportion augmente légèrement. Elle est importante entre 1 et 5 j ainsi entre 10 et 15 j. En liant les résultats d'ICP concernant le taux du Si dans le SBF aux spectres RMN de  $^{29}\text{Si}$ , on peut déduire que le réseau vitreux continue à dissoudre avec le temps d'immersion et en parallèle la couche de  $\text{SiO}_2$  se forme spontanément ce qui n'a pas permis de voir l'altération de taux du Si dans le SBF à partir de 5 j ou on assiste également à la formation d'hydroxyapatite à la surface des verres. Ceci signifie que la précipitation de l'hydroxyapatite n'inhibe pas totalement la dissolution du réseau vitreux. HA a décéléralé la formation de la couche  $\text{SiO}_2$ . Or, après 15 j, l'augmentation du  $\text{Ca}^{2+}$  dans le SBF a conduit à la continuation de la formation des silanols Si-OH et par conséquent la dissolution du réseau vitreux. En même temps, la couche de  $\text{SiO}_2$  se continue à se former avec la même vitesse que la dissolution s'est produite surtout que le processus de précipitation s'est arrêté après la consommation de tous les ions du P dans le SBF.

On remarque bien la bonne corrélation entre les résultats d'ICP et celle de la RMN. En plus, cette dernière prouve bien la formation du gel de silice ce qui était impossible avec les autres méthodes.

#### **b- Spectres RMN-MAS $^{31}\text{P}$ :**

La figure IV-13 présente les spectres RMN-MAS  $^{31}\text{P}$  obtenus pour le verre 52S4F après 1, 5, 10 et 15 jours d'immersion dans le SBF, et leurs déconvolutions. D'importants changements sont constatés sur ces spectres; le profil des spectres  $^{31}\text{P}$  évolue avec le temps d'immersion dans le SBF, ce qui indique d'importantes modifications de la structure des verres lors des tests *in vitro*.

Le tableau (IV-2) regroupe les résultats obtenus (proportions de chaque espèce et déplacement chimique associé) lors des déconvolutions des spectres  $^{31}\text{P}$ .



**Figure IV-13: Déconvolution des spectres RMN  $^{31}\text{P}$  du verre 52S4 en fonction des temps d'immersion dans SBF.**

**Tableau IV-2:** Résultats de la déconvolution des spectres RMN-MAS  $^{31}\text{P}$  du verre 52S4.

Espèces	$\text{Q}^0$			$\text{PO}_4^{-3}(\text{HA})$
	( 3.20ppm)	(5.76ppm)	(8.30ppm)	
<b>Avant immersion</b>	39.5%	60.5 %	-	-
1jours	37.25% ( 3.75)	29.78%(5.58)	16.04%(8.50)	6.93%(2.80)
5jours	31.50%(3.60)	23.81%(5.99)	15.65%(8.20)	29.04%(2.80)
10jours	31.45%(3.84)	20.47%(6.00)	13.88%(8.50)	34.19%(2.95)
15jours	27.62%(3.95)	17.09%(6.00)	14.57%(8.18)	40.72%(3.00)

L'évolution spectrale principale réside dans l'apparition d'une quatrième gaussienne à environ 2.80 ppm. Cette composante correspond à des  $\text{PO}_4^{-3}$ , le phosphore est toujours dans un environnement tétraédrique isolé, type orthophosphate ( $\text{PO}_4^{-3}$ ). Cette nouvelle composante correspond à des  $\text{PO}_4^{-3}$  dans HA [59]. Donc, l'apparition de cette nouvelle composante témoigne la formation progressive d'une couche d'hydroxyapatite à la surface des verres, lors des tests *in vitro*. La proportion de cette nouvelle composante (tableau IV-2) augmente avec le temps d'immersion surtout après 5 j qui correspond au début de domination de la précipitation de HAC. Entre 10 et 15 jours, l'augmentation de la proportion de cette composante n'est pas trop important par rapport à celui de 5 jours et cela est à cause de la consommation des ions du P présents dans le SBF après 10 jours.

On observe que les résultats de l'analyse par RMN sont en bon corrélation avec les autres résultats obtenus par les autres analyses. En plus, elle nous a permis de connaître les différents changements structuraux produits à la surface des verres en fonction de temps d'immersion ce qui on' a pas pu le connaître ou le prouvé avec les autres méthodes d'analyse .

Donc d'après les résultats obtenus après immersion:

- la RMN du  $^{29}\text{Si}$  indique que le silicium présente quatre types d'environnement tétraédrique. Les espèces  $\text{Q}^2$  et  $\text{Q}^3$  sont présentes initialement dans le verre, puis avec l'augmentation du temps d'immersion, la proportion globale ( $\text{Q}^2 + \text{Q}^3$ ) diminue au profit de l'apparition des deux nouvelles espèces  $\text{Q}^3(\text{OH})$  et  $\text{Q}^4$ . La présence de ces nouvelles espèces témoigne donc de la dissolution du réseau vitreux. Une majorité des groupements silanols formés se repolymérisent ensuite immédiatement à la surface du verre pour former une couche riche en silice  $\text{SiO}_2$ .

- L'analyse par RMN  $^{31}\text{P}$  permet d'observer l'apparition d'une nouvelle composante, notée  $\text{PO}_4^{-3}(\text{HA})$  qui se situe à 2.80 ppm. Cette composante est attribuée à la couche d'hydroxyapatite qui se développe lors des tests *in vitro*.

## Conclusion

Le défi actuel consiste à développer de nouveaux biomatériaux, capables de se lier aux tissus osseux et aptes à stimuler les interactions cellules – implant, pour favoriser la régénération osseuse.

L'enjeu est une amélioration significative de la bioconsolidation et de la repousse osseuse, afin d'aider à la guérison des patients. De tels biomatériaux trouvent de nombreuses applications en chirurgie orthopédique et maxillo-faciale.

Alors dans ce travail, on a étudié un verre quaternaire du système  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O- P}_2\text{O}_5$  synthétisé par fusion à haute température. La composition de ce verre est : 52%  $\text{SiO}_2$ - 30%  $\text{CaO}$ - 14%  $\text{Na}_2\text{O}$ - 4%  $\text{P}_2\text{O}_5$  (pourcentage massique), nommé 52S4F. On a déterminé les propriétés physico-chimiques des verres 52S4F avant et après immersion dans le SBF. L'étude la bioactivité de ce verre a été étudié par différentes méthodes d'analyses tels que DRX, IR, MEB-EDS et RMN du solide. Cette dernière a permis de connaître les altérations structurales produites à la surface du verre en fonction du temps d'immersion.

Les résultats obtenus ont montré que:

### ▼ Avant immersion :

D'après la DRX, le produit synthétisé est un verre amorphe. Les différents groupements existants ont été déterminé par l'analyse IR. En plus de ces analyses, la spectroscopie RMN du solide a permis de déterminer la structure du verre 52S4F. Elle a montré qu'il existe deux environnements tétraédriques  $^2\text{Q}$  et  $^3\text{Q}$  pour  $^{29}\text{Si}$  et que le phosphore se trouve dans un environnement orthophosphat.

### ▼ Après immersion :

Les résultats obtenus ont montré que la bioactivité de ce verre était avérée par la formation d'une couche de phosphate de calcium à leur surface et la formation de la couche riche en  $\text{SiO}_2$ .

D'après les résultats de l'analyse ICP, ont deux processus ont été produits au cours de l'immersion des verres dans le SBF. Le premier processus c'est l'échange ionique entre les cations modificateurs du verre et les protons du SBF ; ainsi la dissolution du verre. Le deuxième processus c'est la formation d'une nouvelle couche d'hydroxyapatite carbonatée cristallisée comme il a été confirmé par les analyses IR et MEB-EDS. La taille des cristallites de cette couche de l'ordre du nano ; ce qui n'a pas permis de détecter cette couche par DRX.

Ces analyses n'ont pas été suffisantes pour connaître les différents changements structuraux à la surface du verre en fonction du temps d'immersion. Cela nous a incité à faire la spectroscopie RMN du solide. Cette dernière a confirmé la formation de l'hydroxyapatite et le gel de silice  $\text{SiO}_2$  à la surface du verre. Deux nouvelles espèces de tétraèdres  $\text{SiO}_4$  ( $\text{Q}^3(\text{OH})$  et  $\text{Q}^4$ ) sont apparues sur le

spectre RMN après immersion, ce qui témoigne la dissolution du réseau vitreux et de la formation d'une couche riche en SiO<sub>2</sub>. De plus, nous avons constaté l'apparition d'une nouvelle composante, notée ( ) sur les spectres en RMN <sup>31</sup>P, caractéristique de la formation progressive d'une couche d'hydroxyapatite à la surface des verres, lors des tests *in vitro*.

## Références

- [1] H. Petite, *Medecine et sciences*, Vol. 18 (2002), pp. 995-1002.
- [2] L. L. Hench, *Current Orthopaedics*, Vol. 14 [1] (2000), pp. 7-15.
- [3] N. Passuti, G. Daculsi, *Presse Méd.*, Vol. 18 (1989), pp. 28-31.
- [4] J. D. Santos, « ceramics in medecine », *Busines briefing: Medical device manufacturing and technology* (2002).
- [5] D. F. Williams, « Definitions in Biomaterials », *Second Consensus Meeting, Eur. Soc. Biomat.* Edition: Elsevier, Chester, UK (September 1991).
- [6] L. L. Hench, « introduction to Bioceramics », Edition: J. Wilson, Singapore: World Scientific (1993).
- [7] L. L. Hench, *J. Am. Ceram. Soc.*, Vol. 74 (1991), pp. 1487-1510.
- [8] D. F. Williams, *J. Mater. Sci*, Vol. 22 (1987), pp. 3421-3445.
- [9] P. Exbrayat, *J. Biomat. Dentis.*, Vol. 13 (1998), pp. 177-202.
- [10] L. G. Donaruma, *Biomaterials - an interfacial approach* L. L. Hench and E. C. Ethridge, Academic, London, 1982, 385 pp., *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition*, Vol. 21 (1983), p. 677.
- [11] J. R Jones, L. L. Hench, *Mater. .Sci. Techn.*, Vol. 17 (2001), pp. 891-900.
- [12] S. F. Hulbert, L. L. Hench, D. Forbers, L. S. Bowman, *Ceram. Intern.*, Vol. 11[ 4] (1985), p. 150.
- [13] T. J. Webster, E. S . Ahn , *Adv. Biochem. Engin . Biotechnol.*, Vol .103 (2006), pp. 275- 308.
- [14] S. D. Bain, T.S. Gross, *Structural Aspects of Bone Resorption*, chapitre 4, Edition: Springer, London (2005).
- [15] R .P. Heaney, *Bone the Calcium Nutrient Reserve, Calcium in Human Health*, chapitre 2, Edition : Humana Press, (2006).
- [16] R. Z. Le Geros, G. Daculsi, J. P. Le Geros, *Bioactive Biocoeramics, Musculokeletal Tissue Regeneration* chapitre 8, Edition: Humana Press, (2008).
- [17] U. Meyer, H.P. Wiesman, *Bone and Cartilage Engineering*, chapitre 2: Bone and Cartilage”, Edition: Springer, Berlin Heidelberg (2006).

- [18] G. Chomette, M. Auriol, Ency. Med. Chir, Stomatologie et odontologie, Edition : Techniques, Paris(1992).
- [19] J. P. Dadoune, P. Hadjiiski « Histologie », Edition : flammarion, Paris (1990).
- [20] A. Stevens et J.S. Lowe, « Histologie », Edition : Pradel, Paris (1992).
- [21] [www.worldscibooks.com/medsci/etextbook/5695/5695\\_chap01.pdf](http://www.worldscibooks.com/medsci/etextbook/5695/5695_chap01.pdf)
- [22] C.V. Gay, W.J. Mueller, Science, Vol. 183(1974), pp. 432-434.
- [23] D. Kuntz, P. Marie, L. Miravet, Ency. Med. Chir., Appareil locomoteur, Paris (1981).
- [24] W. F. De Jong, Rec. Trav. Chim.,Vol. 45 (1926), pp. 445-448.
- [25] D. Mc Connell, « Apatite- Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization, and Geologic and Biologic Occurrences» , Edition: Springer Verlag, Vienna-Heidelberg-New York (1973).
- [26] A. S. Posner, Physiol. Rev. 49(4) (1969), pp. 760-792.
- [27] F. C. M. Driessens, Bull. Soc. Chim. Belg., Vol. 89 (1980), pp. 663-689.
- [28] R. Z. Le Geros & J. P. Le Geros, « Dense hydroxyapatite». In An introduction to bioceramics, Edition: L. L. Hench & J. Wilson, World Scientific (1993).
- [29] J. Elliot, « Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates», Edition: Elsevier (1994).
- [30] K. A. Hing, Phil. Trans. R. Soc. Lond. A, Vol. 362 (2004), pp. 2821–2850.
- [31] N. K. Aras, G. Yiimaz, S. Alkan, F. Korkusuz, J. Radioanal. Nucl. Chem., Vol. 239 (1) (1999), pp. 79-86.
- [32] L. L. Hench, J. Mat. Sci., Vol.17 (2006), pp. 967-978.
- [33] L. L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen and T. K. Greenlee , J, Biom. Mat. R. Vol, 5 (1971), pp. 117-141.
- [34] L. L. Hench, « Bioceramics 7», Edition: O.H. Andersson and A. Yli-Urpo, , Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, England (1994).
- [35] J. Zarzycki, « les verres et l'état vitreux », Edition : Masson, Paris (1982).
- [36] W. H. Zachariasen, The Atomic Arrangement in Glass, Vol. 54, October (1932).
- [37] M. Vallet-Regí, Ceramics for medical applications, J. Chem. Soc. Dalton Trans., 2001 (2) 97-108.
- [38] W. H. Zachariasen, J. Amer. Chem. Soc. 54, 3841 (1932).
- [39] L. L. Hench, J. Am. Cer. Soc., Vol. 74 ( 1991), pp. 1487-1510.
- [40] M. Vallet-Regí, C. V. Ragel, Antonio J. Salinas, Microreview, Eur. J. Inorg. Chem., Vol. 6 (2003), pp. 1029-1042.
- [41] R. Li, A. E. Clark, L. L. Hench, J. App. Biomed., Vol. 2 (1991), pp. 231-239.

- [42] F.- Z. Mezahi, Caractérisations physico chimiques et cinétique de bioactivité des biomatériaux: Hydroxyapatite & Verre bioactif 52S4 élaboré par fusion et par voie sol-gel, Thèse de doctorat sciences, Constantine 2009.
- [43] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro .J. Biomed. Mater. Res. Vol, 24 (1990), pp, 721-734.
- [44] D. Massiot, F. Fayon, M. Capron, I. King, S. Le Calvé, B. Alonso, J-O. Durand, B. Bujoli, Z. Gan, G. Hoatson , Magnetic Resonance in Chemistry, Vol. 40 (2002), pp. 70-76.
- [45] J. Roman, S. Padilla and M. V.Regí, Chem. Mater., Vol. 15 (2003), pp. 798-806.
- [46] P .Sepulveda, J. R. Jones and L. L. Hench, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 61 (2002), pp. 301-311.
- [47] S. Koutsopoulos, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 62 (2002), pp. 600-612.
- [48] G. Engelhardt, D. Michel High-resolution solid state NMR of silicates and zeolites Wiley, New-York (1987).
- [49] K. J. D. Machenzie, M. E. Smith, « Multinuclear solid-state NMR of inorganic materials», Edition: Pergamon Materials Series, Cambridge (2002).
- [50] I. Elgayar, A.E. Aliev, A.R. Boccaccini , R.G. Hill, J.Non-Crys. Solids, Vol. 351 (2005), pp. 173-183.
- [51] H. Grussaute, L. Montagne, G. Palavit, J.L. Bernard, J. of Non-Crys. Solids, Vol. 263-264 (2000), pp. 312-317.
- [52] Ö. H. Andersson, K. H. Karlsson, J. Non-Cryst. Solids, Vol. 129 (1991), pp. 145-151.
- [53] M. W. G. Lockyer, D. Holland, R. Dupree, J. of Non-Crystal. Solids, Vol. 188 (1995), pp. 207-219.
- [54] R. Hill, J. Mater. Sci. Lett. Vol.15 (1996), pp. 1122-1125.
- [55] D. O'Donnell, S. J. Watts, R. V. Law, R. G. Hill, J. Non-Cryst. Solids, 354 (2008), pp. 3554-3560.
- [56] M. Vallet-Regi, A. M. Romero, C. V Ragel, R. Z. LeGeros, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 44(4) (1999), pp. 416–21.
- [57] L. L. Hench, J. R. Jones and P. Sepulveda, « Bioactive materials for tissue engineering scaffolds» . In: J.M. Pollak, L.L. Hench and P. Kemp, Edition: World Scientific Pub. Co Inc., Singapore (2002).
- [58] A. Diaz, T. Lopez, J. Manjarrez, E. Basaldella, J. M. Martinez-Blanes, J. A. Odriozola, Acta. Biomater. ,Vol. 2 (2006), pp. 173-179.
- [59] C. Jäger, T. Welzel, W. M. Zaika, M. Epple, Magn. Reson. Chem., Vol. 44 (2006), pp. 573-580.

## **Studding of the bioactivity of 52S4F, synthesised by fusion route, by solid state NMR**

### **Abstract**

This work is devoted to the study of the bioactivity of a quaternary glass: 52% SiO<sub>2</sub>, 30% CaO, 14% Na<sub>2</sub>O and 4% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (wt %) (named 52S4F) , synthesized by the fusion route. The physicochemical properties of 52S4F glasses were determined before and after immersion in simulated body fluid (SBF). The results obtained by various analysis methods, such as ICP, IR, SEM-EDS and solid state NMR, have shown that different structural modifications at the glass surface as a function of soaking time are the formation of a layer calcium phosphate (HA) and silica gel SiO<sub>2</sub>. The crystallite size of the HA layer is in the order of nano (as shown by SEM). NMR analysis showed that, after 1 day soaking time, the silica gel is formed and it has grown until 15 days. All methods have shown that after 5 days the precipitation process becomes more dominant than the dissolution process of the glass. Finally, according to the results, the quaternary glass 52S4F is a bioactive glass.

**Key words** – Glass – Fusion – Bioactivity - Simulated body fluid (SBF) - Solid state NMR

## Etude de la bioactivité du verre 52S4, synthétisé par voie fusion, par RMN du Solide

### Résumé

Ce travail a été consacré à l'étude de la bioactivité d'un verre quaternaire de composition massique 52 % , 30 % , 14 % et 4% , synthétisé par la voie fusion (noté 52S4F). On a déterminé les propriétés physico-chimiques des verres 52S4F avant et après immersion dans la solution physiologique simulé (SBF). Les résultats obtenus par différentes méthodes d'analyses, tels que ICP, IR, MEB-EDS et RMN du solide, ont montré que les différents changements structuraux à la surface du verre en fonction du temps d'immersion sont la formation d'une couche de phosphate de calcium (HA) et d'un gel de silice SiO<sub>2</sub>. La taille des cristallites de cette couche HA est de l'ordre du nano (montré par MEB). La RMN du solide a montré que le gel de silice s'est formé dès 1 j et il s'est développé jusqu'à 15 j. Toutes les méthodes ont bien montré qu'à partir de 5 j le processus de précipitation devient plus dominant que le processus de dissolution du verre. Enfin, d'après les résultats obtenus, le verre quaternaire 52S4F est un verre bioactif.

**Mots clés** –Verre – Fusion – Bioactivité - Solution physiologique simulé (SBF)- Résonance magnétique nucléaire (RMN)

### دراسة النشاط الحيوي للزجاج 52S4، المحضر بطريقة الإنصهار، بواسطة الرنين المغناطيسي

#### ملخص

خصص هذا العمل لدراسة النشاط الحيوي للزجاج في النظام الرباعي: 52% ، 30% ، 14% ، و 4% (نسبة كتلية) (المسمى 52S4F)، و المحضر بطريقة الإنصهار. تم دراسة الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للزجاج 52S4F قبل وبعد الغمس داخل السائل الفيزيولوجي الحيوي (SBF). بينت النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق وسائل التحليل المختلفة، مثل تقنية إنبعث البلازما الطيفي (ICP)، الأشعة تحت الحمراء (IR)، جهاز المسح الإلكتروني (MEB- EDS) والرنين المغناطيسي النووي للجسم الصلب (RMN)، أنّ التغيرات البنوية المختلفة على سطح الزجاج بدلالة زمن الغمس تتمثل في تشكل طبقة فوسفات الكالسيوم (HA) و هلام السيليكا . حجم حبيبات طبقة HA هو من رتبة النانو (كما هو موضح من قبل MEB). أظهرت نتائج التحليل بواسطة الرنين المغناطيسي أن هلام السيليكا تكون منذ اليوم الأول و إستمر نمو هذه الطبقة حتى اليوم 15. فـد أظهرت كل الطرق التجريبية أنّ عملية تشكل HA أصبحت هي الأكثر هيمنة بعد 5 أيام من الغمس من عملية انحلال الزجاج. أخيراً، وفقاً للنتائج المحصل عليها، الزجاج 52S4F هو زجاج نشط حيويًا.

**الكلمات المفتاحية** – الزجاج – الإنصهار – النشاط الحيوي- السائل الفيزيولوجي الحيوي (SBF)

- الرنين المغناطيسي (RMN)

