



Université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

UFR Sciences Exactes et Naturelles

École Doctorale n°358 Sciences Technologie Santé

THÈSE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Reims Champagne-Ardenne

Discipline : Physique

par

Richard DREVET

le 10 juin 2011

**Élaboration de nouveaux revêtements prothétiques
phosphocalciques par électrodéposition.
Caractérisation physico-chimique et structurale.**

Jury

Jean-Michel BOULER	Professeur, Université de Nantes (Rapporteur)
Etienne BRES	Professeur, Université de Lille (Rapporteur)
Christèle COMBES	Professeur, Institut National Polytechnique de Toulouse (Examineur)
María VALLET-REGI	Professeur, Université de Madrid (Examineur)
Jean MICHEL	Professeur, Université de Reims (co-directeur de thèse)
Hicham BENHAYOUNE	Professeur, Université de Reims (Directeur de thèse)

Remerciements

Je tiens à remercier en tout premier lieu Monsieur Hicham BENHAYOUNE qui a initié, dirigé et encadré ce travail de thèse. Ces années de travail à ses côtés m'ont fait bénéficier de son dynamisme et de ses compétences scientifiques qui m'ont permis de mener ce travail à terme.

J'exprime mes remerciements à Monsieur Jean MICHEL, co-directeur de cette thèse et Madame Laurence WORTHAM, pour l'ensemble des travaux réalisés par microscopie électronique en transmission.

Je remercie également Madame Dominique LAURENT-MAQUIN de m'avoir accueilli, au sein de l'unité INSERM UMR-S 926 qu'elle dirige, pour réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Jean-Michel BOULER, Professeur à l'Université de Nantes, et Monsieur Etienne BRES, Professeur à l'Université de Lille, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de rapporter ce travail.

J'exprime ma profonde et sincère reconnaissance à Madame María VALLET-REGI, Professeur à l'Université de Madrid, et Madame Christèle COMBES, Professeur à l'Institut National Polytechnique de Toulouse, d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Je remercie également tous les membres du laboratoire, notamment Monsieur Joël FAURE pour son implication et les discussions scientifiques fructueuses et enrichissantes que nous avons régulièrement, et Monsieur Sylvain POTIRON pour ses compétences techniques et sa disponibilité permanente.

Enfin, j'exprime également toute ma gratitude envers l'ensemble des membres du laboratoire "Dynamique des Transferts aux Interfaces" de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, notamment envers Monsieur Omar AABOUBI pour sa contribution aux études de corrosion et envers Monsieur Jacques DOUGLADE qui a suivi de près l'ensemble de mon parcours universitaire.

Résumé

Ce manuscrit présente un procédé innovant d'élaboration de revêtements prothétiques phosphocalciques : l'électrodéposition. Un protocole original est développé, qui associe l'électrodéposition en mode courant pulsé et l'incorporation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) dans la solution électrolytique. Ce protocole permet d'obtenir des revêtements phosphocalciques homogènes et compacts dont la composition chimique est contrôlée. Ils peuvent être constitués d'une hydroxyapatite déficitaire en calcium avec un déficit variable ou d'une hydroxyapatite stœchiométrique. La morphologie des revêtements élaborés est observée par MEB et MEET, et leur composition chimique est étudiée par microanalyse X et par une méthode normalisée basée sur la DRX, en déterminant le rapport atomique Ca/P caractéristique de ces revêtements. L'étude du comportement en température des échantillons élaborés est présentée afin de déterminer la température optimale de traitement nécessaire pour obtenir une valeur suffisante de l'adhérence du revêtement phosphocalcique sur le substrat métallique. Malgré une limitation de cette température à 550°C lorsque le traitement est réalisé à l'air, la mesure de l'adhérence conduit à une valeur de 16,5 MPa qui répond aux critères normalisés pour les implants chirurgicaux. Par ailleurs, la bioactivité des revêtements élaborés est évaluée en milieu physiologique en étudiant d'une part leur comportement vis-à-vis de la corrosion par la représentation de Tafel des courbes de polarisation et par spectroscopie d'impédance électrochimique, et en étudiant d'autre part les réactions de dissolution-précipitation qui interviennent lors d'une immersion prolongée. La formation d'une couche d'apatite osseuse à la surface du revêtement électrodéposé est alors observée. Le protocole d'élaboration développé permet de moduler l'intensité de ces comportements en milieu physiologique. Enfin, la flexibilité de l'électrodéposition est utilisée pour incorporer uniformément dans les revêtements phosphocalciques élaborés du strontium qui est un agent actif dont la cinétique de relargage en milieu physiologique peut être modulée. Une étude structurale de ces nouveaux revêtements permet d'observer que l'incorporation de cet élément modifie la proportion des phases constituant le revêtement après un traitement en température adéquat. La proportion des phases et la répartition uniforme du strontium sont également observées à une échelle submicrométrique par EELS.

Mots-clefs: biomatériaux, électrodéposition, revêtement phosphocalcique, hydroxyapatite, microscopie électronique, bioactivité, corrosion, analyse structurale

Abstract

This manuscript presents an innovative process to produce prosthetic calcium phosphate coatings: electrodeposition. An original protocol is developed, combining pulsed electrodeposition current mode and the incorporation of hydrogen peroxide (H_2O_2) into the electrolytic solution. This protocol leads to homogeneous and compact calcium phosphate coatings whose chemical composition is controlled. They may consist of a calcium-deficient hydroxyapatite with a variable deficit or of a stoichiometric hydroxyapatite. The morphology of the coatings is observed by SEM and STEM, and their chemical composition is studied by X-ray microanalysis and by a standardized method based on XRD, determining the characteristic Ca/P atomic ratio of these coatings. The study of the thermal behaviour of the elaborated samples is performed in order to determine the optimal treatment temperature to obtain a sufficient value of the calcium phosphate coating adhesion onto the metallic substrate. Despite the limitation of this temperature to 550°C when the treatment is carried out in air, the measurement of the coating adhesion to the substrate leads to a value of 16.5 MPa that corresponds to the standardized criteria for the surgical implants. Furthermore, the bioactivity of the elaborated coatings is evaluated in a physiological environment by studying firstly their corrosion behaviour using the Tafel representation of the polarization curves and the electrochemical impedance spectroscopy, and secondly by studying the dissolution-precipitation reactions that occur during a prolonged immersion. The formation of a “bone-like” apatite layer on the surface of the electrodeposited coating is then observed. The elaboration protocol developed allows the modulation of these behaviours in physiological medium. Finally, the flexibility of the electrodeposition process is used to uniformly incorporate strontium in the calcium phosphate coating that is an active agent whose release in physiological medium can be modulated. A structural study is performed to observe that the incorporation of this element in the coating modifies the proportion of the phases that compose the coating after a suitable thermal treatment. The phase proportion and the uniform distribution of the strontium are also observed at the submicron scale by EELS.

Keywords: biomaterials, electrodeposition, calcium phosphate coating, hydroxyapatite, electron microscopy, bioactivity, corrosion, structural analysis

Table des matières

<i>Introduction générale</i>	17
1 Les biomatériaux	18
2 Physico-chimie des phosphates de calcium	19
3 Techniques d'élaboration de revêtements phosphocalciques	21
3.1 Torche à plasma	21
3.2 Dépôt par pulvérisation.....	22
3.3 Dépôt par spray électrostatique.....	23
3.4 Techniques dérivées du procédé sol-gel	23
3.5 Électrophorèse.....	24
3.6 Électrodépôt.....	24
4 Matériels et méthodes expérimentales de caractérisation des revêtements phosphocalciques électrodépôtés	25
4.1 Microscopie électronique à balayage – microanalyse X (MEB-EDXS)	25
4.2 Reconstruction 3D en MEB.....	27
4.3 Microscopie électronique à balayage-transmission (MEBT)	27
4.4 Diffraction des Rayons X.....	28
4.5 Étude de la corrosion	29
4.5.1 Courbes de polarisation : représentation de TAFEL	29
4.5.2 Spectroscopie d'impédance électrochimique	30
4.6 Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES)	31
4.7 Mesure de l'adhérence en traction des revêtements électrodépôtés.....	32
 <i>Première partie : Électrodépôt de revêtements prothétiques phosphocalciques sur substrat en alliage de titane</i>	33
1 Introduction	34
2 Mécanismes réactionnels de formation d'un revêtement phosphocalcique	35
2.1 Réactions électrochimiques	36
2.2 Réactions acido-basiques.....	38
2.3 Précipitation du composé phosphocalcique.....	39
3 Influence des paramètres expérimentaux sur les propriétés des revêtements phosphocalciques	40
3.1 Influence des concentrations ioniques.....	40
3.2 Influence de la température de l'électrolyte	41
3.3 Influence de la densité de courant	41

4	<i>Électrodéposition en courant continu</i>	43
4.1	Protocole expérimental.....	43
4.2	Caractérisation du revêtement	44
4.2.1	Caractérisation morphologique	44
4.2.2	Caractérisation de la composition	45
4.3	Problématique liée au procédé.....	46
5	<i>Électrodéposition en courant pulsé</i>	48
5.1	Description du régime pulsé.....	48
5.2	Optimisation du temps de dépôt et du temps de pause.....	49
5.3	Caractérisation du revêtement phosphocalcique électrodéposé en régime pulsé	51
5.3.1	Caractérisation morphologique	51
5.3.2	Caractérisation de la composition	52
6	<i>Électrodéposition en mode courant pulsé avec H₂O₂</i>	54
6.1	Action du peroxyde d'hydrogène.....	54
6.2	Optimisation de la quantité de peroxyde d'hydrogène.....	55
6.3	Revêtement obtenu avec 6% en volume d'H ₂ O ₂ dans l'électrolyte	57
6.3.1	Caractérisation morphologique	58
6.3.2	Caractérisation de la composition	58
6.4	Revêtement obtenu avec 9% en volume d'H ₂ O ₂ dans l'électrolyte	60
6.4.1	Caractérisation morphologique	60
6.4.2	Caractérisation de la composition	61
6.5	Interprétation de l'effet du peroxyde d'hydrogène.....	62
7	<i>Conclusion</i>	63

Deuxième partie : Étude en température des revêtements phosphocalciques électrodéposés sur alliage de titane 65

1	<i>Introduction</i>	66
2	<i>Comportement en température des revêtements phosphocalciques électrodéposés</i>	67
2.1	Analyse structurale	68
2.1.1	Diffraction des rayons X	68
2.1.2	Diffraction électronique	70
2.2	Analyses morphologiques.....	72
3	<i>Comportement en température de l'alliage Ti6Al4V</i>	74
4	<i>Caractérisation de l'interface substrat / revêtement à la température optimisée</i>	79
5	<i>Conclusion</i>	81

<i>Troisième partie: Étude du comportement en milieu physiologique artificiel des revêtements phosphocalciques électrodéposés.....</i>	<i>82</i>
1 Introduction.....	83
2 Étude du comportement vis-à-vis de la corrosion de l'alliage Ti6Al4V revêtu par électrodéposition en mode courant pulsé	84
2.1 Courbe de polarisation : représentation de Tafel	84
2.2 Spectroscopie d'impédance électrochimique.....	87
3 Cinétique de dissolution-précipitation en DMEM des revêtements phosphocalciques électrodéposés	92
3.1 Évolution de la composition du DMEM en fonction des délais d'immersion.....	92
3.2 Caractérisation de la couche de surface après immersion en DMEM	94
4 Conclusion	100
 <i>Quatrième partie : Électrodéposition de revêtements phosphocalciques dopés au strontium</i>	 <i>102</i>
1 Introduction	103
2 Électrodéposition de revêtements phosphocalciques dopés au strontium.....	104
3 Caractérisation physico-chimique et structurale	107
4 Caractérisation physico-chimique et structurale par EELS.....	110
4.1 Méthode de différenciation des phases d'hydroxyapatite (HAP) et de phosphate tricalcique β (β -TCP)	110
4.2 Analyse de la répartition des phases dans les revêtements phosphocalciques dopés au strontium.....	112
4.3 Relation entre dopage au strontium et phases identifiées	114
5 Cinétique de relargage du strontium en milieu physiologique DMEM	120
6 Conclusion	123
 Conclusion générale.....	 124
Perspectives.....	127
Bibliographie	129
Annexes.....	139

Liste des figures

Figure 1 : exemples d'implants orthopédiques : prothèse de hanche, prothèse du genou, prothèse d'épaule, prothèse de coude.....	18
Figure 2 : prothèse totale de hanche revêtue	19
Figure 3: solubilités des phosphates de calcium en fonction du pH	20
Figure 4 : schéma de principe de la torche à plasma.....	22
Figure 5 : schéma de principe de la déposition par pulvérisation	22
Figure 6 : schéma de principe de la déposition par spray électrostatique	23
Figure 7 : schéma de principe de l'élaboration de revêtements prothétiques par enduction centrifuge et par trempage-retrait	24
Figure 8 : schéma de principe de l'électrophorèse	24
Figure 9 : schéma de principe de l'électrodéposition de revêtements prothétiques.....	25
Figure 10 : microscope JEOL JSM 5400LV et son système d'acquisition.....	26
Figure 11: schéma de principe de la reconstruction 3D	27
Figure 12: représentation schématique d'une courbe intensité-potentiel et des droites de Tafel	29
Figure 13 : schéma de principe de la spectroscopie d'impédance électrochimique.....	30
Figure 14 : schéma de principe de la mesure de l'adhérence en traction des revêtements phosphocalciques	32
Figure 15 : schéma de la cellule d'électrodéposition de revêtements phosphocalciques.....	34
Figure 16 : schéma de l'interface cathode / électrolyte et réaction produite lors de l'électrodéposition.....	37
Figure 17 : distribution des espèces phosphatées à 37 °C en fonction du pH.....	38
Figure 18 : variation locale du pH en fonction de la densité de courant appliquée	42
Figure 19 : courbe de chronopotentiométrie obtenue pour $j = 10 \text{ mA.cm}^{-2}$	44
Figure 20 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu :	44
Figure 21 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu.....	45
Figure 22 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu puis traité à 1000 °C pendant 15 heures	46

Figure 23 : photographie et image MEB d'un revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu à 15 mA.cm^{-2}	47
Figure 24 : schéma de principe du régime pulsé	48
Figure 25 : revêtements phosphocalciques électrodéposés en mode courant pulsé (temps de dépôt / temps de pause)	49
Figure 26 : courbe de chronopotentiométrie obtenue en courant pulsé	50
Figure 27 : photographie et image MEB d'un revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé	51
Figure 28 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé	52
Figure 29 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé	52
Figure 30 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé puis traité à 1000°C pendant 15 heures	53
Figure 31 : courbes de polarisation cathodique obtenues pour différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène	55
Figure 32 : photographie des revêtements électrodéposés en courant pulsé en présence de peroxyde d'hydrogène dans l'électrolyte à différentes concentrations, (a) 0%, (b) 3%, (c) 6%, (d) 9%, (e) 12%, (f) 15%	56
Figure 33 : courbe de chronopotentiométrie obtenue en courant pulsé en utilisant un électrolyte contenant 6% en volume de peroxyde d'hydrogène	57
Figure 34 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène : image MEB et image MEBT	58
Figure 35 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène	59
Figure 36 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène puis traité à 1000°C pendant 15 heures	59
Figure 37 : courbe de chronopotentiométrie obtenue en courant pulsé en utilisant un électrolyte contenant 9% en volume de peroxyde d'hydrogène	60
Figure 38 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 9% en volume de peroxyde d'hydrogène : image MEB et image MEBT	61
Figure 39 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 9% en volume de peroxyde d'hydrogène	61
Figure 40 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 9% en volume de peroxyde d'hydrogène puis traité à 1000°C pendant 15 heures	62

Figure 41 : protocole de traitement thermique en paliers.....	67
Figure 42 : évolution en fonction de la température de traitement du diffractogramme de rayons X et du taux de cristallinité du revêtement phosphocalcique électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène.....	68
Figure 43 : évolution en fonction de la température de traitement du diffractogramme de rayons X et du taux de cristallinité du revêtement phosphocalcique électrodéposé avec 6% en volume de peroxyde d'hydrogène	69
Figure 44 : évolution en fonction de la température de traitement du diffractogramme de rayons X et du taux de cristallinité du revêtement phosphocalcique électrodéposé avec 9% en volume de peroxyde d'hydrogène	69
Figure 45: observation en MET et diffraction électronique du revêtement phosphocalcique électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène avant et après traitement à 1000 °C.....	71
Figure 46 : observation en MET et diffraction électronique du revêtement phosphocalcique électrodéposé avec 9% de peroxyde d'hydrogène avant et après traitement à 1000 °C	71
Figure 47: observation en MEBT de l'évolution de la morphologie des revêtements phosphocalciques électrodéposés en fonction de la température de traitement	73
Figure 48: observations en MEB de la surface de l'alliage Ti6Al4V en fonction de la température de traitement.....	75
Figure 49 : spectre d'émission X de l'alliage Ti6Al4V en fonction de la température de traitement.....	76
Figure 50 : image MEB et cartographies X de la coupe transversale de l'alliage Ti6Al4V oxydé à 800 °C	77
Figure 51 : observation en microscopie optique de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique sans traitement thermique, avec un traitement à l'air d'une heure à 550 °C	79
Figure 52 : observation en MEB de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique sans traitement thermique et avec un traitement à l'air d'une heure à 550 °C.....	80
Figure 53: image MEB et cartographie X de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique	80
Figure 54 : image MEB et cartographie X de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique après traitement à 550 °C	80
Figure 55 : courbes de polarisation réalisées en SBF.....	85
Figure 56 : courbes de polarisation réalisées en DMEM	85
Figure 57 : courbes de polarisation réalisées en solution de Ringer	86
Figure 58 : diagrammes de Nyquist réalisés en SBF	87
Figure 59 : diagrammes de Nyquist réalisés en DMEM	88

Figure 60 : diagrammes de Nyquist réalisés en solution de Ringer	88
Figure 61 : diagrammes de Bode réalisés en SBF.....	89
Figure 62 : diagrammes de Bode réalisés en DMEM	89
Figure 63 : diagrammes de Bode réalisés en solution de Ringer	90
Figure 64 : circuit équivalent modélisant l'interface électrode/électrolyte.....	90
Figure 65 : évolution de la concentration en calcium en fonction du temps d'immersion	93
Figure 66 : évolution de la concentration en phosphore en fonction du temps d'immersion ..	93
Figure 67 : évolution de la morphologie de surface en fonction du temps d'immersion.....	95
Figure 68 : évolution de l'épaisseur de la couche de surface en fonction du temps d'immersion	95
Figure 69 : évolution du spectre X de la couche de surface en fonction du temps d'immersion	96
Figure 70 : reconstruction 3D de la surface des échantillons immergés en DMEM en fonction du temps d'immersion.....	97
Figure 71 : profil de rugosité de la surface des échantillons immergés en DMEM en fonction du temps d'immersion.....	98
Figure 72 : courbe de polarisation du système Ca-def HAP / Ti6Al4V avant et après 7 jours d'immersion en DMEM	99
Figure 73 : diagrammes de Nyquist du système Ca-def HAP / Ti6Al4V avant et après 7 jours d'immersion en DMEM	100
Figure 74 : spectres X des revêtements phosphocalciques dopés au strontium électrodéposés sans peroxyde d'hydrogène	105
Figure 75 : spectres X des revêtements phosphocalciques dopés au strontium électrodéposés à partir d'un électrolyte contenant 9% en volume de peroxyde d'hydrogène	105
Figure 76 : image MEB des revêtements phosphocalciques dopés au strontium à partir d'un électrolyte contenant 0% ou 9% de peroxyde d'hydrogène	107
Figure 77 : cartographies d'émission X des revêtements phosphocalciques dopés au strontium à partir d'un électrolyte contenant 0% ou 9% de peroxyde d'hydrogène	107
Figure 78 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique dopé au strontium électrodéposé à partir d'un électrolyte sans H ₂ O ₂ avant et après traitement thermique à 1000 °C pendant 15 heures	108
Figure 79 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique dopé au strontium électrodéposé à partir d'un électrolyte contenant 9% H ₂ O ₂ avant et après traitement thermique à 1000 °C pendant 15 heures.....	108

Figure 80 : spectre EELS du seuil K de l'oxygène dans l'hydroxyapatite	111
Figure 81 : spectre EELS du seuil K de l'oxygène dans le phosphate tricalcique β	111
Figure 82 : évolution du signal de β -TCP avec le temps d'irradiation	112
Figure 83 : image MEBT caractéristique des grains analysés des revêtements 5% Sr-CaP électrodéposés	113
Figure 84 : grain analysé avec zone d'acquisition spectre-image et image brute à $\Delta E=540$ eV issue du bloc de données spectre-image (12×12 pixels)	114
Figure 85 : spectre EELS typique pour la quantification Sr/P	115
Figure 86 : image MEBT du grain analysé et zone d'acquisition spectre-image	116
Figure 87 : images paramétriques des signaux de phosphore, de strontium	117
Figure 88 : histogramme de l'image paramétrique du signal de phosphore (Figure 87 a)	117
Figure 89 : zone d'intégration des signaux par seuillage de l'histogramme à 40000 coups..	118
Figure 90 : évolution des concentrations du calcium, phosphore et strontium en fonction du temps d'immersion des revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés à partir d'un électrolyte contenant 0% de peroxyde d'hydrogène	121
Figure 91 : évolution des concentrations du calcium, phosphore et strontium en fonction du temps d'immersion des revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés à partir d'un électrolyte contenant 9% de peroxyde d'hydrogène	122

Liste des tableaux

Tableau 1 : les différents phosphates de calcium.....	20
Tableau 2 : proportions massiques obtenues par microanalyse X des éléments constitutifs de l'alliage Ti6Al4V en fonction de la température de traitement.....	77
Tableau 3 : paramètres de corrosion extraits des courbes de polarisation	86
Tableau 4 : valeurs des composants du circuit électrique équivalent modélisant le comportement en corrosion	91
Tableau 5 : valeurs des rugosités de la surface du système Ca-def HAP / Ti6Al4V en fonction du temps d'immersion en DMEM.....	98
Tableau 6 : composition des électrolytes utilisés pour électrodéposer des revêtements phosphocalciques dopés au strontium	104
Tableau 7 : comparaison des rapports caractéristiques de la solution et du revêtement.....	106
Tableau 8 : comparaison des proportions de phases déterminées en DRX après traitement en température	109
Tableau 9 : répartition des grains HAP et β -TCP dans les échantillons	113
Tableau 10 : corrélation phases / teneurs en strontium	115

Liste des abréviations

MEB	Microscope Électronique à Balayage
MEBT	Microscope Électronique à Balayage-Transmission
MET	Microscope Électronique en Transmission
DRX	Diffraction des Rayons X
EDXS	Spectroscopie des rayons X à sélection d'énergie
EELS	Spectroscopie de perte d'énergie des électrons
ICP-AES	Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif
SAED	Diffraction électronique à sélection d'aire
ECS	Électrode au Calomel Saturée
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium (milieu de culture)
SBF	Simulated Body Fluid (Fluide corporel simulé)
HAP	Hydroxyapatite
TCP	Phosphate tricalcique
Ca-def HAP	Hydroxyapatite déficitaire en calcium

Présentation et objectifs du sujet

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Microscopie Électronique Analytique (L.M.E.A.) de l'unité INSERM UMR-S 926. Cette unité est constituée de biologistes et de physiciens dont les travaux de recherches concernent les interfaces Biomatériaux/Tissus Hôtes et sont répartis en trois axes :

- Axe 1 : Conception, élaboration et caractérisation de nouveaux biomatériaux
- Axe 2 : Nouvelles stratégies diagnostiques et thérapeutiques dans les pathologies osseuses
- Axe 3 : Développements méthodologiques et technologiques

Au sein de l'axe 1, l'électrodéposition est une technique innovante d'élaboration de revêtements prothétiques phosphocalciques qui a été mise en place et développée au laboratoire depuis une dizaine d'année. Elle se présente comme une alternative à la seule méthode industrielle actuellement utilisée dans le domaine des implants orthopédiques, la torche à plasma. Les travaux effectués dans cet axe ont donc pour objectif principal d'aboutir à un transfert de technologie de cette technique vers l'industrie.

Ainsi, ce travail de thèse concerne principalement le développement de l'électrodéposition afin d'élaborer de nouveaux revêtements prothétiques dont les propriétés sont contrôlées. Il s'articule en plusieurs parties :

Après une introduction présentant des notions générales sur les biomatériaux, sur les techniques d'élaboration et de caractérisations de revêtements phosphocalciques, la première partie s'intéresse à la description de l'électrodéposition en tant que technique d'élaboration de revêtements prothétiques phosphocalciques. Les mécanismes réactionnels régissant la synthèse de revêtements phosphocalciques seront présentés, ainsi que les développements réalisés pour contrôler la composition chimique de ces revêtements.

La deuxième partie présente une étude détaillée du comportement en température des revêtements prothétiques élaborés par électrodéposition afin de déterminer la température optimale à laquelle les implants élaborés doivent être traités.

La troisième partie du manuscrit concerne l'évaluation du comportement des revêtements électrodéposés lorsqu'ils sont immergés en milieu physiologique. Cette partie

présente d'abord le comportement vis-à-vis de la corrosion des substrats revêtus par la méthodologie mise en place dans la première partie, puis la cinétique de dissolution-précipitation de ces revêtements phosphocalciques en milieu physiologique.

Enfin, la quatrième partie présente la transposition des développements mis en place à l'électrodéposition de nouveaux revêtements prothétiques en associant les phosphates de calcium à un élément actif (exemple du strontium). De plus, une caractérisation à l'échelle submicrométrique de ces revêtements est réalisée pour la première fois par spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS).

Introduction générale

1 Les biomatériaux

Les biomatériaux sont définis par D.F. Williams comme des matériaux destinés à réparer, remplacer ou soigner des tissus, organes ou fonctions du milieu corporel en établissant un contact intime avec le système biologique [1]. En fonction de l'application envisagée, les biomatériaux peuvent appartenir à l'une des grandes catégories suivantes : les polymères, les métaux ou les céramiques.

Les polymères, tels que le polyéthylène (PE) ou le polyméthylmethacrylate (PMMA), sont utilisés pour leur élasticité en remplacement de tissus mous tels que les cartilages ou les implants de la cornée. Les métaux, tels que l'acier inoxydable, les alliages de chrome-cobalt, ou encore le titane et ses alliages, sont utilisés dans l'industrie des implants dentaires et des implants articulaires car leurs propriétés mécaniques élevées leur permettent de remplacer des tissus corporels durs dont la fonction est de supporter des charges importantes. Généralement, le titane et ses alliages sont préférés aux autres métaux car ils possèdent une plus grande résistance à la corrosion en milieu corporel due à la présence naturelle en surface d'une fine couche passivante d'oxyde de titane. Parmi les alliages de titane, le Ti6Al4V (90% de titane, 6% d'aluminium et 4% de vanadium) est l'alliage le plus répandu en chirurgie orthopédique [2,3]. La figure 1 présente des exemples d'implants constitués de métal et de polymère qui sont tolérés par l'organisme sans induire de réponse biologique spécifique : ils sont biocompatibles.

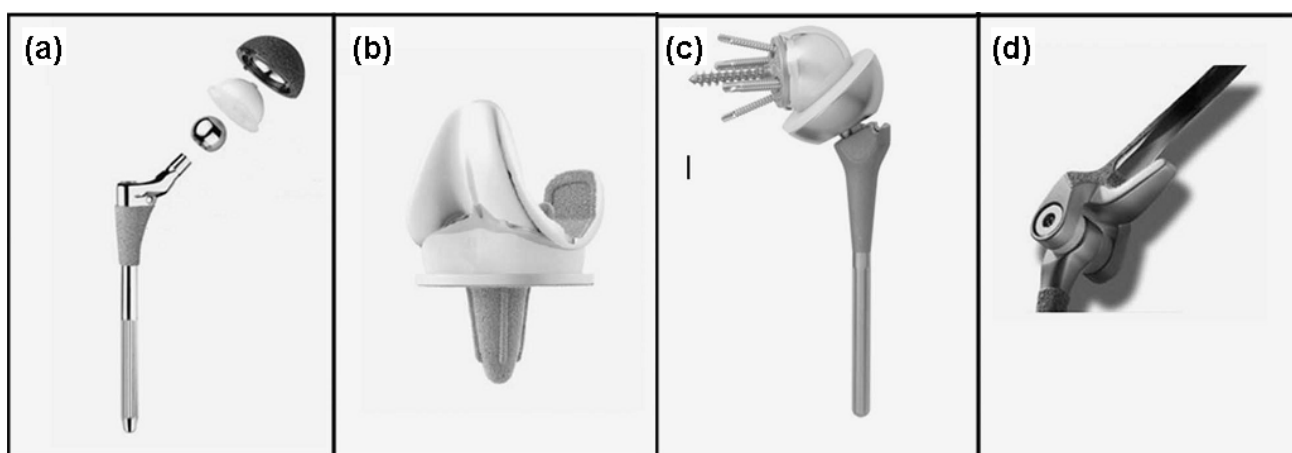


Figure 1 : exemples d'implants orthopédiques : (a) prothèse de hanche, (b) prothèse du genou, (c) prothèse d'épaule, (d) prothèse de coude [2]

Les céramiques telles que les phosphates de calcium sont utilisées comme matériaux de comblement osseux ou comme revêtement prothétique car elles induisent une réponse spécifique en milieu physiologique : elles sont bioactives. Un matériau est bioactif lorsqu'il a la capacité d'interagir de façon positive avec l'organisme en accélérant les processus de réparation tissulaire. Le mécanisme de la bioactivité consiste, dans le cas d'un phosphate de calcium, en une dissolution partielle de celui-ci, qui entraîne une sursaturation ionique locale, qui provoque la précipitation d'une apatite biologique à la surface de la céramique. Cette couche apatitique formée *in vivo* peut alors être colonisée par des cellules osseuses qui ont pour fonction de produire la matrice extra-cellulaire, guide des tissus osseux sur sa surface par ostéoconduction [4-6].

Afin de combiner les propriétés mécaniques des métaux et la bioactivité des phosphates de calcium, les implants orthopédiques sont habituellement revêtus d'une couche phosphocalcique qui favorise leur intégration *in vivo* en créant un lien intime avec les tissus environnants. Cependant, il existe plusieurs phosphates de calcium dont les propriétés physico-chimiques variées conduisent à des comportements différents en milieu physiologique.

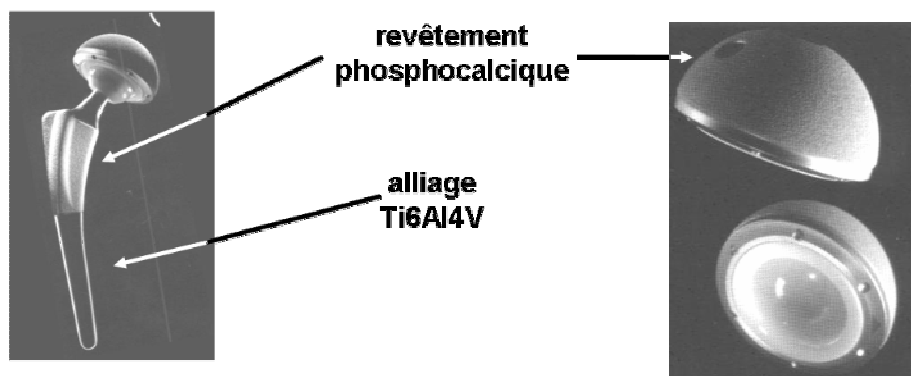


Figure 2 : prothèse totale de hanche revêtue

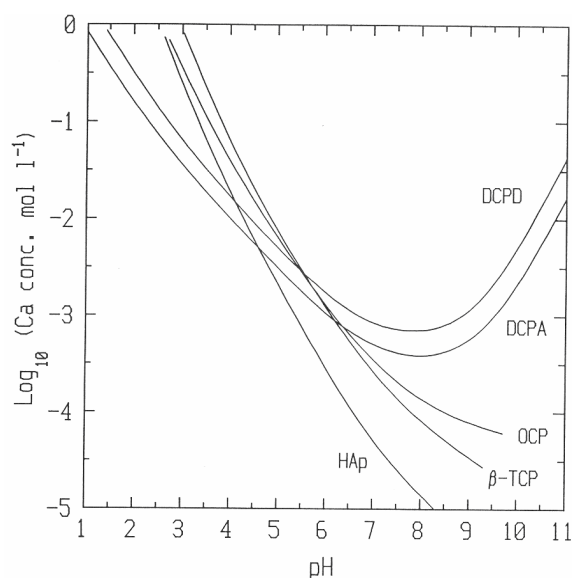
2 Physico-chimie des phosphates de calcium

Les phosphates de calcium sont des composés bioactifs qui peuvent être différenciés par leur composition chimique, leur structure cristallographique, et leur solubilité dans l'eau [7-9]. Ils sont généralement identifiés par la valeur de leur rapport atomique calcium sur phosphore, noté Ca/P, qui est caractéristique de leur stœchiométrie (Tableau 1).

Tableau 1 : les différents phosphates de calcium

Phosphate de calcium	Abréviation	Formule chimique	(Ca / P) _{at.}
Phosphate monocalcique anhydre	MCPA	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,50
Phosphate monocalcique monohydraté	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,50
Phosphate dicalcique anhydre ou monétite	DCPA	CaHPO_4	1,00
Phosphate dicalcique dihydraté ou Brushite	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Phosphate octocalcique	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Phosphate tricalcique α ou β	α - ou β - TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50
Apatite déficitaire en calcium	Ca-def HAP	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x} \cdot \text{OH}_{2-x}$ avec $0 < x < 2$	variable 1,33–1,66
Hydroxyapatite	HAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Phosphate tétracalcique	TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,00

Les solubilités des phosphates de calcium sont variables et sont représentées en fonction du pH sur les isothermes de la figure 3, proposées par Elliott [10].

**Figure 3**: solubilités des phosphates de calcium en fonction du pH

Parmi ces phosphates de calcium, l'hydroxyapatite présente la particularité d'être le composant minéral majoritaire des tissus osseux de notre organisme. De plus, dans des conditions physiologiques (pH neutre), l'hydroxyapatite est la phase phosphocalcique la moins soluble, c'est-à-dire la plus stable. Ainsi, son utilisation en tant que biomatériau a été naturellement envisagée puisque les essais réalisés avec des composés fortement solubles tels que la brushite ont conduit à une dissolution totale et rapide du biomatériau sans induire de réelle bioactivité [11]. Cependant, la stabilité de l'hydroxyapatite est tellement importante que pour augmenter sa bioactivité, certains travaux proposent de la combiner à du β -TCP dont la solubilité est légèrement plus élevée afin d'obtenir un composé phosphocalcique biphasé [12]. L'idée développée dans ces travaux consiste même à contrôler la solubilité de ce composé biphasé en modulant les proportions de ces deux phases phosphocalciques. Pour obtenir un revêtement prothétique phosphocalcique, plusieurs techniques d'élaboration existent à l'heure actuelle.

3 Techniques d'élaboration de revêtements phosphocalciques

À l'échelle industrielle, les revêtements prothétiques phosphocalciques sont majoritairement élaborés par torche à plasma. Les revêtements obtenus par cette technique sont épais (environ 100 μm), alors que les revêtements minces attirent de plus en plus l'attention car ils possèdent la propriété d'améliorer la réponse osseuse [13]. Ainsi, de nombreux travaux de recherche s'orientent vers le développement de nouvelles techniques d'élaboration de revêtements minces qui se présentent comme une alternative à la torche à plasma.

3.1 Torche à plasma

Cette technique consiste à créer un arc électrique entre deux électrodes dans un conduit où circule un gaz d'hélium, d'hydrogène ou d'argon. Ce gaz est alors dans un état ionisé (plasma) et crée à la sortie du conduit une flamme dont la température est comprise entre 10 000 et 20 000 K. Une poudre d'hydroxyapatite est injectée dans cette flamme et se retrouve projetée à la surface de la prothèse. Les conditions de températures extrêmes entraînent des transitions de phases de la poudre d'hydroxyapatite qui sont suivies d'un

brusque refroidissement au contact de la surface de la prothèse. Finalement, le revêtement prothétique est constitué de plusieurs phosphates de calcium, tels que le phosphate tricalcique, le phosphate tétracalcique ou encore des phases phosphocalciques amorphes. De plus, cette technique est peu adaptée aux substrats de formes complexes et provoque une hétérogénéité de l'épaisseur du revêtement déposé.

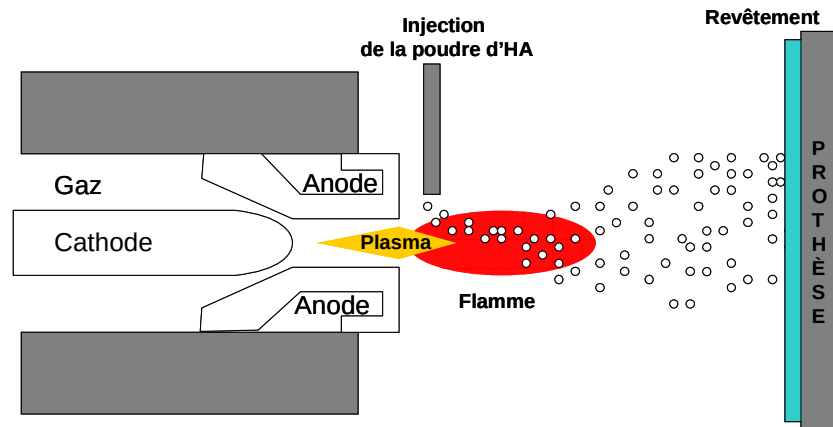


Figure 4 : schéma de principe de la torche à plasma

3.2 Dépôt par pulvérisation

Il existe plusieurs techniques de dépôt par pulvérisation qui consistent à irradier par un faisceau laser focalisé ou par un faisceau d'ions, une cible d'hydroxyapatite en rotation dans une enceinte sous vide. Des agglomérats phosphocalciques sont alors arrachés de la surface de la cible et il se forme un plasma qui est condensé sur un substrat chauffé à une température élevée pour assurer la cristallisation du revêtement [14].

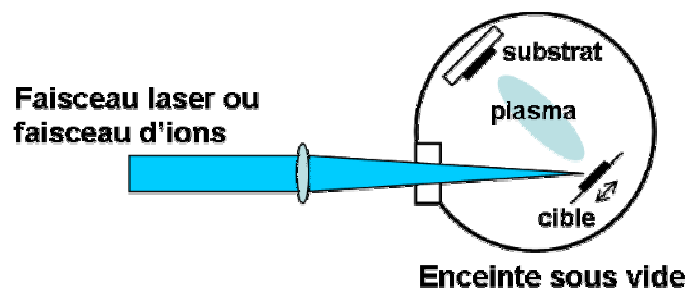


Figure 5 : schéma de principe de la déposition par pulvérisation

3.3 Dépôt par spray électrostatique

Cette technique consiste à générer un aérosol à partir de solvants organiques contenant des précurseurs inorganiques sous l'influence d'une haute tension. Un aérosol est défini comme une dispersion de particules solides ou liquides dans un gaz. Cet aérosol est obtenu en pompant ce liquide à travers une buse. Généralement, une gouttelette sphérique se forme à l'extrémité de la buse, mais si une haute tension est appliquée entre la buse et un substrat, cette goutte prend une forme conique et il se forme un brouillard de gouttelettes électriquement chargées. Les gouttelettes générées sont attirées par le substrat qui est relié à la terre et se déchargent à son contact. Le substrat étant chauffé, le solvant s'évapore et une fine couche solide apparaît à la surface du substrat.

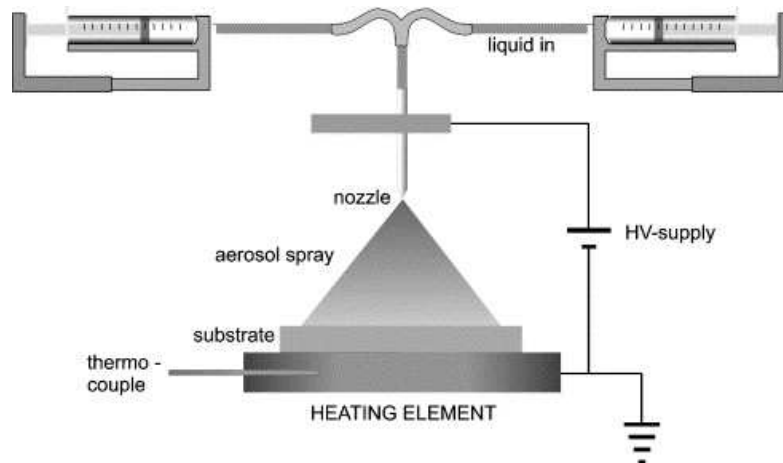


Figure 6 : schéma de principe de la déposition par spray électrostatique [15]

3.4 Techniques dérivées du procédé sol-gel

Le procédé sol-gel permet d'obtenir à partir d'une suspension colloïdale dans un solvant (sol), un réseau stable de particules (gel). Il est possible d'obtenir un revêtement en enduisant un substrat de sol visqueux qui conduit à un gel qui est séché pour évaporer les solvants. Il existe deux techniques pour obtenir un revêtement : le dépôt par enduction centrifuge (spin-coating) et le dépôt par trempage-retrait (dip-coating) [16].

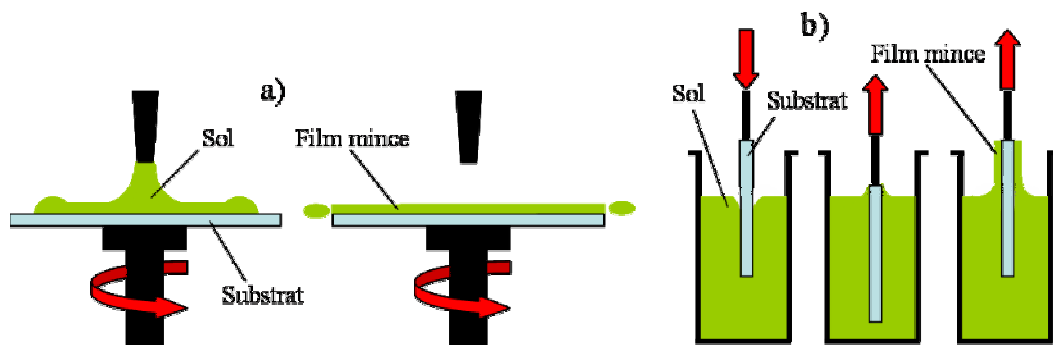


Figure 7 : schéma de principe de l'élaboration de revêtements prothétiques par enduction centrifuge (a) et par trempage-retrait (b)

3.5 Électrophorèse

Deux électrodes métalliques sont immergées dans une suspension stable de particules phosphocalciques qui ont acquis une charge électrique surfacique au contact du liquide. Un générateur de tension permet d'appliquer une différence de potentiel entre les deux électrodes. Le champ électrique qui en résulte entraîne la migration des particules phosphocalciques qui s'agglomèrent pour former un revêtement à la cathode [17-18].

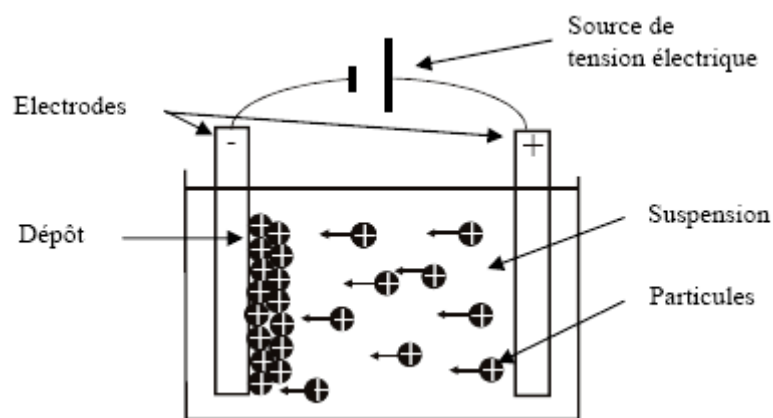


Figure 8 : schéma de principe de l'électrophorèse

3.6 Électrodéposition

Cette technique consiste à immerger des électrodes dans un électrolyte contenant des ions calcium et des ions phosphate. L'électrolyse de l'eau, solvant de la solution, est alors réalisée par l'application d'un courant continu qui provoque sa réduction en dihydrogène qui se dégage à la cathode. Une augmentation locale du pH est alors obtenue entraînant la

précipitation d'un phosphate de calcium à la surface de la cathode. Cette méthode présente de nombreux avantages : l'épaisseur et la composition chimique des revêtements peuvent être contrôlées, et des pièces à géométries complexes peuvent être revêtues uniformément. De plus, cette méthode est peu coûteuse comparativement aux méthodes citées précédemment car elle ne nécessite pas l'apport du matériau à déposer.

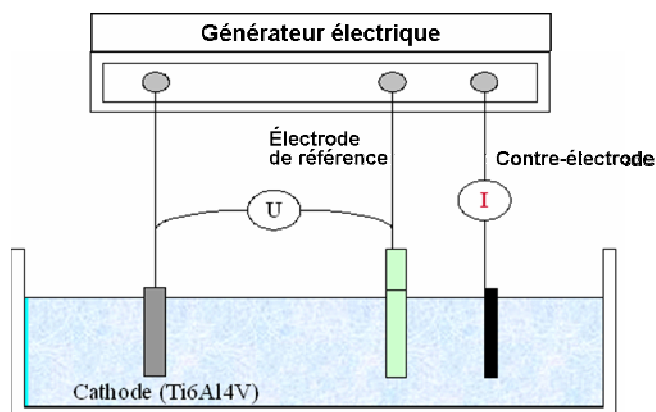


Figure 9 : schéma de principe de l'électrodéposition de revêtements prothétiques

C'est la technique que nous développons au laboratoire pour élaborer de nouveaux revêtements phosphocalciques sur l'alliage de titane Ti6Al4V. Ensuite, la caractérisation physico-chimique et structurale de ces revêtements est réalisée par différentes techniques dont le principe est présenté dans le paragraphe suivant.

4 Matériels et méthodes expérimentales de caractérisation des revêtements phosphocalciques électrodéposés

4.1 Microscopie électronique à balayage – microanalyse X (MEB-EDXS)

La morphologie des revêtements élaborés est observée avec un microscope électronique à balayage de la marque JEOL (JSM 5400LV) fonctionnant de 0 à 30 kV (Figure 10). Le canon à électrons de ce MEB est composé d'une pointe en hexaborure de lanthane (LaB_6) qui libère des électrons par effet thermoélectronique lorsqu'elle est chauffée sous vide. Ce microscope est équipé d'un système de microanalyse X composé d'un spectromètre à sélection d'énergie (EDS) de marque EDAX constitué d'un détecteur à semi-conducteur silicium-lithium $\text{Si}(\text{Li})$ refroidi à l'azote liquide qui permet la détection des éléments légers tels que l'oxygène qui est un élément important des phosphates de calcium. Ce spectromètre

est associé à un système d'acquisition et de quantification GENESIS (Eloïse SARL, France) basé sur la méthode ZAF [19,20] pour déterminer les concentrations des éléments tels que le calcium et le phosphore dans le cas des revêtements électrodéposés. Cependant, cette méthodologie ne concerne que les échantillons plans et massifs, mais lorsqu'il s'agit d'échantillons stratifiés (film sur substrat) et/ou présentant des rugosités de surface, on utilise une méthode originale basée sur le formalisme Auger qui a été développée au laboratoire [21-23].

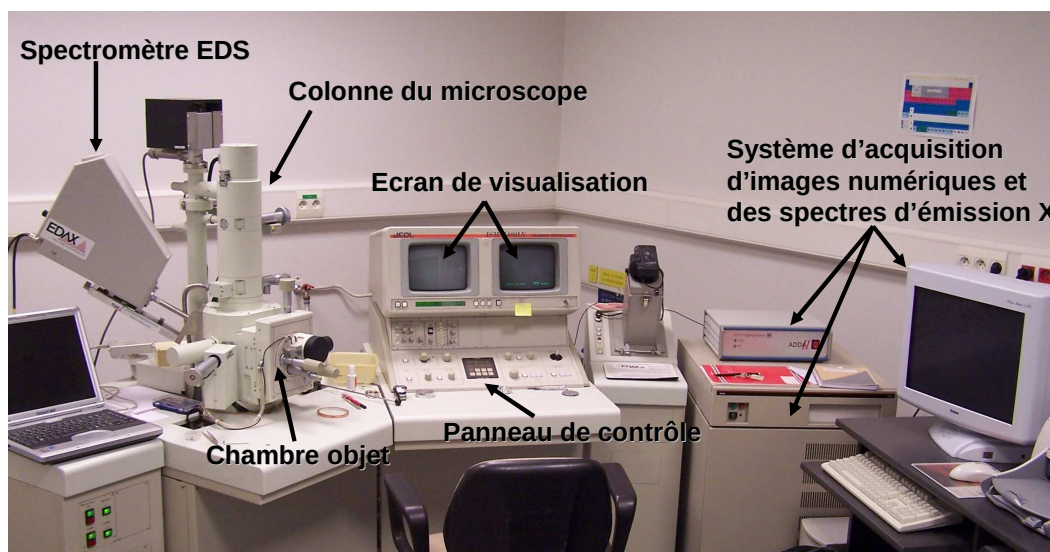


Figure 10 : microscope JEOL JSM 5400LV et son système d'acquisition

Par ailleurs, les revêtements électrodéposés sont de mauvais conducteurs électriques, ils sont donc revêtus d'une fine couche conductrice d'or-palladium pour les observations morphologiques (images en électrons secondaires) ou d'une couche de carbone pour la microanalyse X.

Tous les résultats de caractérisation par microanalyse X présentés dans ce travail ont été obtenus dans les mêmes conditions expérimentales, à savoir une acquisition de spectre X avec une énergie de 15 keV pendant 100 secondes. Ces acquisitions sont répétées plusieurs fois afin d'obtenir une valeur moyenne significative des concentrations élémentaires.

D'autre part, le balayage de la sonde incidente permet de réaliser des cartographies des éléments constituant les échantillons analysés. Dans ce travail, des cartographies de 256×200 pixels ont été réalisées en balayant $68 \mu\text{m} \times 54 \mu\text{m}$ avec un temps de 0,05 seconde par pixel (qui correspond à un temps total d'acquisition de 45 minutes).

4.2 Reconstruction 3D en MEB

Afin d'évaluer la rugosité des revêtements phosphocalciques, une méthode originale basée sur la reconstruction 3D des images obtenues en MEB a été mise en place. À partir d'une zone observée en MEB, deux images sont capturées avec des angles d'inclinaison différents (Figure 11). Ces deux images sont alors importées dans le logiciel MeX (Alicona Imaging GmbH) qui construit une représentation tridimensionnelle de la surface observée (image stéréoscopique). Le traitement numérique de cette image conduit à une deuxième image appelée DEM (Digital Elevation Model) à partir de laquelle des profils de rugosité peuvent être obtenus. Ces profils permettent de déterminer différents paramètres tels que la rugosité arithmétique (R_a), la rugosité de surface (RMS : root mean square) et la hauteur maximale du profil (R_z). Le logiciel détermine l'altitude Z de chaque point à partir de la mesure du décalage δx tel que :

$$Z = \frac{\delta x}{2 \sin \theta}$$

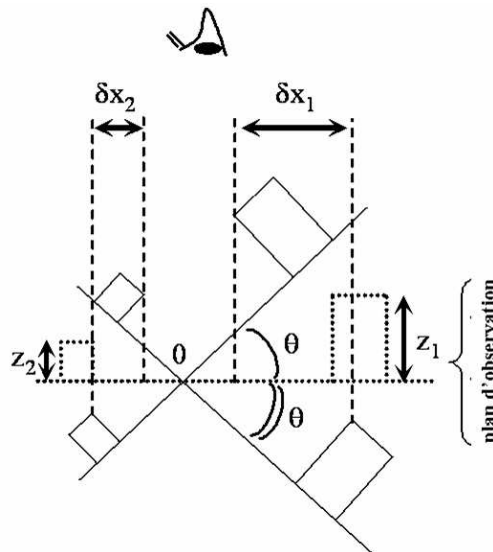


Figure 11: schéma de principe de la reconstruction 3D

4.3 Microscopie électronique à balayage-transmission (MEBT)

Pour les observations morphologiques à une échelle nanométrique, un microscope électronique à balayage-transmission Philips CM30 LaB6 opérant de 100 à 300 kV a été utilisé. Des coupes minces des revêtements ont été obtenues grâce à la mise en place d'une préparation spécifique (voir annexe1).

Ce microscope peut fonctionner en mode transmission (MET) afin d'observer la poudre issue du revêtement gratté du substrat et réaliser des clichés de diffraction électronique (SAED, Selected Area Electron Diffraction) pour une caractérisation structurale à une échelle nanométrique. De plus, ce microscope est équipé d'un spectromètre Gatan Enfina pour analyser les poudres par spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS, Electron Energy Loss Spectroscopy).

4.4 Diffraction des Rayons X

La caractérisation structurale des revêtements électrodéposés est réalisée par diffraction des rayons X avec un diffractomètre Bruker D8 Advance, en collaboration avec le laboratoire LACM-DTI de l'Université de Reims Champagne-Ardenne. Les diffractogrammes sont enregistrés dans une gamme d'angles 2θ comprise entre 10 et 45° en utilisant une radiation monochromatique du cuivre ($\text{CuK}\alpha$) de longueur d'onde $\lambda = 1,5406$ angströms. Les diffractogrammes sont enregistrés par pas de 0,04° avec 12 secondes d'acquisition pour chaque point. Les phases des revêtements analysés sont identifiées avec les fiches JCPDS de la base de données de l'ICDD (International Centre for Diffraction Data) [24]. À partir des diffractogrammes, les rapports Ca/P et le taux de cristallinité sont déterminés selon les procédures normalisées décrites ci-dessous :

a- Le rapport Ca/P des revêtements phosphocalciques électrodéposés est déterminé en utilisant la méthode décrite dans la norme française NF S 94-066 [25]. Cette méthode normalisée consiste à retirer le revêtement du substrat par grattage, puis la poudre obtenue est traitée à l'air dans un four à 1000 °C pendant 15 heures. Cette poudre est ensuite analysée par diffraction des rayons X et les phases observées sont quantifiées en utilisant des abaques préalablement construits à partir de mélanges de phases phosphocalciques de composition connue (annexe 2a).

b- Le taux de cristallinité des revêtements phosphocalciques est déterminé selon la méthode décrite dans la norme NF ISO 13779-3 [26] qui consiste à comparer les diffractogrammes obtenus à celui d'une hydroxyapatite de référence stœchiométrique et bien cristallisée (annexe 2b).

4.5 Étude de la corrosion

Afin d'étudier le comportement vis-à-vis de la corrosion des échantillons élaborés, deux techniques de caractérisations ont été utilisées dans ce travail, la représentation de Tafel des courbes de polarisation et la spectroscopie d'impédance électrochimique.

4.5.1 Courbes de polarisation : représentation de TAFEL

Cette technique consiste à polariser un échantillon immergé dans un électrolyte depuis les potentiels cathodiques vers les potentiels anodiques. Une variation régulière du potentiel est appliquée, puis le courant correspondant est mesuré. La loi de Tafel établit une relation linéaire entre le potentiel et le logarithme du courant mesuré :

$$E = a + b \log I$$

a et b sont des paramètres caractéristiques de la réaction et de la nature des électrodes.

Cette relation s'applique dans les domaines anodique et cathodique et l'intersection des deux droites correspondantes permet de déterminer le potentiel de corrosion E_{corr} et le courant de corrosion i_{corr} . (Figure 12). Le potentiel E_{corr} décrit la tendance d'un matériau à se corroder : plus sa valeur est négative, plus le métal aura tendance à se corroder. Le courant de corrosion i_{corr} , quant à lui, est lié à la vitesse de corrosion du métal immergé.

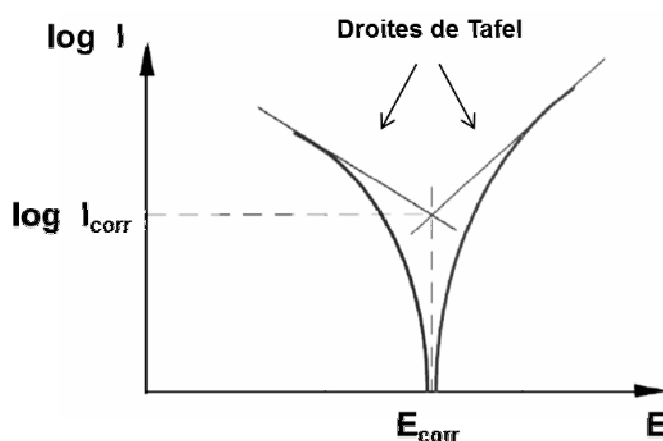


Figure 12: représentation schématisée d'une courbe intensité-potentiel et des droites de Tafel

Expérimentalement, les courbes de polarisation (paragraphe 2.1 de la partie 3) ont été obtenues avec un potentiostat/galvanostat Voltalab PGP 201 Radiometer Analytical, piloté par le logiciel Voltamaster 4 en balayant le potentiel à 1 mV.s^{-1} . Trois mesures de chaque échantillon sont réalisées afin d'obtenir une valeur moyenne.

4.5.2 Spectroscopie d'impédance électrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique est une méthode non stationnaire utilisée pour obtenir des informations sur les étapes élémentaires qui constituent le processus électrochimique de corrosion [27,28]. Son principe consiste à appliquer au potentiel de l'échantillon immergé dans un électrolyte une modulation sinusoïdale de faible amplitude et à suivre la réponse en courant pour différentes fréquences (f) du signal perturbateur (Figure 13).

À l'instant t , la perturbation du potentiel imposée à un potentiel E_0 de l'électrode est exprimée par:

$$\Delta E = |\Delta E| \cos \omega t$$

avec ω , la pulsation du signal telle que $\omega = 2\pi f$.

Cette perturbation induit une réponse en courant du système étudié avec une composante continue notée I_0 (Figure 13) et un déphasage φ tel que :

$$\Delta I = |\Delta I| \cos(\omega t - \varphi)$$

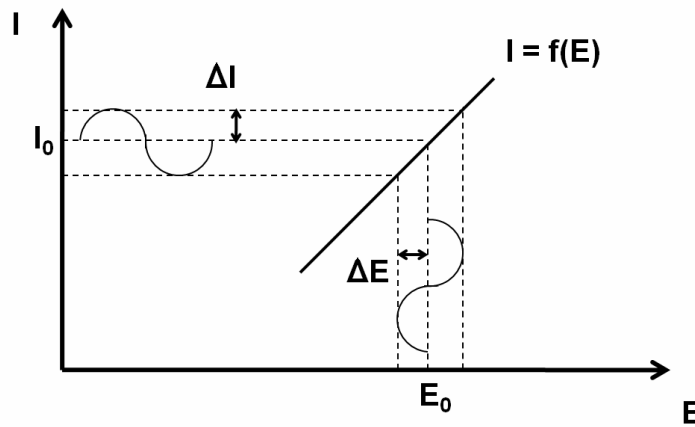


Figure 13 : schéma de principe de la spectroscopie d'impédance électrochimique

L'impédance électrochimique (Z) est définie par le rapport entre la perturbation du potentiel appliqué et la perturbation en courant qui en résulte:

$$Z = \frac{\Delta E}{\Delta I} = \frac{|\Delta E|}{|\Delta I|} e^{j\varphi} = |Z| e^{j\varphi} = |Z| (\cos \varphi + j \sin \varphi)$$

soit $Z = \text{Re}(Z) + j\text{Im}(Z)$

avec $|Z| = \sqrt{\text{Re}^2(Z) + \text{Im}^2(Z)}$

et $\tan \varphi = \frac{\text{Im}(Z)}{\text{Re}(Z)}$

La représentation de $\text{Im}(Z)$ en fonction de $\text{Re}(Z)$ pour différentes fréquences est appelée diagramme de Nyquist et les représentations $|Z|$ et φ en fonction de la fréquence sont appelées diagramme de Bode. À partir de ces représentations, l'interface échantillon/électrolyte peut être modélisée par un circuit équivalent combinant plusieurs éléments électriques tels que des résistances (décrivant des transferts de charges à travers l'interface), des capacitances et éventuellement des inductances (décrivant des phénomènes d'adsorption-désorption se produisant lors de la formation d'une couche passive).

Expérimentalement, nos études ont été réalisées en collaboration avec le LACM-DTI de l'Université de Reims Champagne-Ardenne (paragraphe 2.2 de la partie 3). Les spectres sont acquis au potentiel libre avec un potentiostat et un analyseur de fonctions de transferts (Solartron 1250) piloté par un logiciel commercial (Z-Plot). La gamme de fréquences utilisées s'étend de 10 kHz à 10 mHz avec une modulation sinusoïdale du potentiel d'amplitude $\Delta E = 10$ mV. À partir des mesures d'impédance, un circuit électrique équivalent est modélisé par le logiciel ZView.

4.6 Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-AES)

Afin de déterminer la composition chimique des milieux physiologiques utilisés pour les études de biocompatibilité, des mesures ont été réalisées avec un spectromètre VARIAN Liberty Série II à l'institut de Chimie Moléculaire de Reims (paragraphe 3 de la partie 3). Les milieux physiologiques sont dilués avec de l'eau ultra-pure, puis la solution obtenue est pulvérisée dans un plasma d'argon dont la température atteint plusieurs milliers de degrés. À ces températures, le liquide est dissocié en atomes et en ions qui se retrouvent dans un état excité. Leur retour à un état stable s'accompagne d'une émission de photons dans l'ultraviolet et le visible. La détection et le comptage de ces photons permettent de quantifier les éléments

du liquide en comparant le signal mesuré à celui obtenu pour des solutions de composition connue. Les mesures sont réalisées neuf fois (trois mesures de trois solutions identiques) pour obtenir une valeur significative des résultats.

4.7 Mesure de l'adhérence en traction des revêtements électrodéposés

Les mesures de l'adhérence en traction des revêtements électrodéposés sur un substrat métallique (partie 2) sont réalisées en collaboration avec le Centre Régional d'Innovation et de Transfert de Technologie (CRITT) de Charleville-Mézières en appliquant une méthode normalisée (NF-S 072). Il s'agit de revêtir un plot cylindrique en alliage de titane Ti6Al4V et de coller sur la surface revêtue un contre plot enduit d'une colle (a). Après polymérisation de la colle, le système est soumis à une charge croissante appliquée par une machine de traction normalisée (b) jusqu'à l'arrachement du revêtement (c). L'essai est répété cinq fois pour obtenir une valeur moyenne de la force d'arrachement mesurée [29].

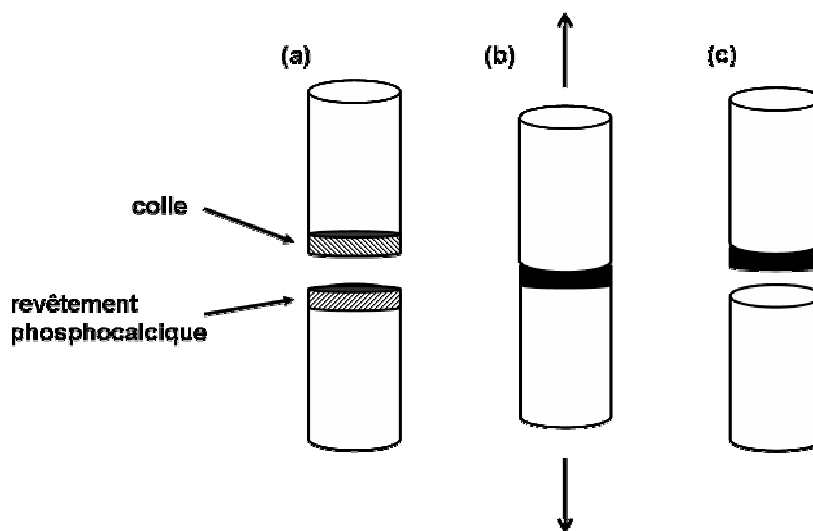


Figure 14 : schéma de principe de la mesure de l'adhérence en traction des revêtements phosphocalciques

**Première partie : Électrodéposition de
revêtements prothétiques phosphocalciques
sur substrat en alliage de titane**

1 Introduction

L'électrodéposition de revêtements phosphocalciques a été proposée pour la première fois en 1991 par Shirkhanzadeh [30]. Il s'agit d'un procédé de chimie douce permettant d'obtenir à basse température des dépôts fins dont l'épaisseur est contrôlée. La technique consiste à utiliser trois électrodes immergées dans une solution électrolytique et reliées à un générateur électrique : la cathode, également appelée électrode de travail, qui est l'alliage de titane Ti6Al4V (c'est-à-dire la prothèse), une contre-électrode (en platine ou en graphite) et une électrode de référence. La solution électrolytique est constituée d'ions calcium et d'ions dihydrogénophosphate obtenus par dissolution de sels en milieu aqueux.

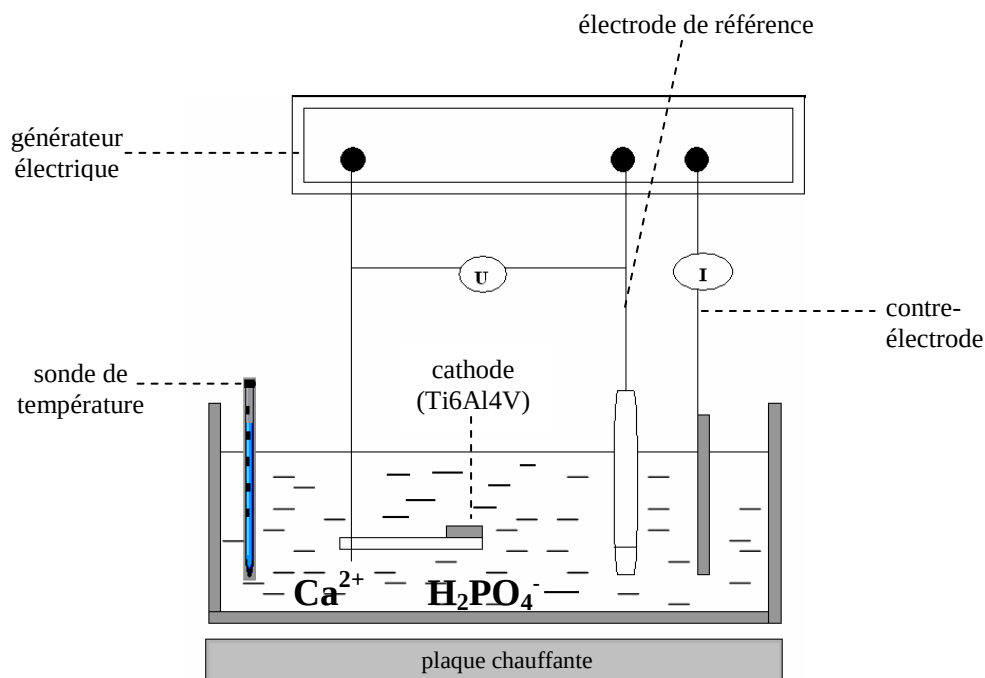


Figure 15 : schéma de la cellule d'électrodéposition de revêtements phosphocalciques

Le générateur électrique apporte l'énergie nécessaire pour produire des réactions électrochimiques forcées à la surface des électrodes, un courant d'ions dans l'électrolyte et un courant d'électrons dans le circuit extérieur. Ce procédé permet le contrôle des paramètres chimiques liés à la solution électrolytique (concentrations des sels, température et pH) et le

contrôle des paramètres électriques (tension entre les électrodes ou intensité du courant traversant le circuit).

Il existe deux modes d'utilisation du générateur électrique. Le premier est le mode potentiostatique [31-33] pour lequel le potentiel de l'électrode de travail est maintenu constant par rapport à l'électrode de référence. Le second est le mode galvanostatique (ou intensiostatique) pour lequel la valeur du courant est maintenue constante au cours de la déposition. Celui-ci présente l'avantage de contrôler l'apport énergétique à la surface des électrodes et donc les réactions électrochimiques qui en résultent [34].

2 Mécanismes réactionnels de formation d'un revêtement phosphocalcique

L'électrolyte est préparé par dissolution d'un sel de calcium et d'un sel de phosphate en milieu aqueux. Généralement, le nitrate de calcium tétrahydraté ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) et le dihydrogénophosphate d'ammonium ($\text{NH}_4(\text{H}_2\text{PO}_4)$) sont utilisés. Les réactions suivantes présentent leur dissolution en milieu aqueux :



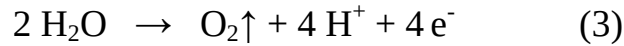
Lorsqu'un courant électrique est appliqué au sein du circuit, des réactions chimiques se produisent aux interfaces électrodes-électrolyte : une oxydation à l'anode et une réduction à la cathode.

Ces réactions entraînent des variations locales du pH de la solution qui, par l'intermédiaire de réactions acido-basiques, provoquent la précipitation d'un revêtement phosphocalcique sur la surface de la cathode.

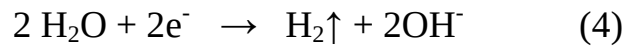
Trois étapes sont donc nécessaires à l'obtention d'un revêtement phosphocalcique par électrodéposition : réactions électrochimiques, réactions acido-basiques puis précipitation.

2.1 Réactions électrochimiques

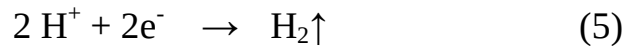
Ce sont les réactions d'oxydoréduction produites aux interfaces électrodes-électrolyte et provoquées par le générateur. Les principales réactions concernent l'eau, solvant de la solution, dont l'oxydation anodique est :



et la réduction cathodique est :



Si le pH de la solution est acide, la réduction du proton peut également avoir lieu :



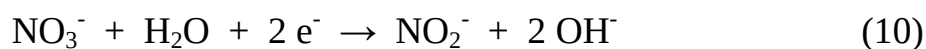
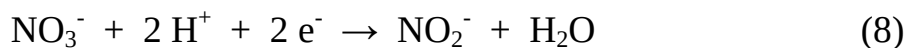
Ces réductions ont pour effet d'augmenter localement le pH de la solution à l'interface cathode-électrolyte et de produire alors des réactions acido-basiques.

Néanmoins, certains auteurs décrivent également d'autres réactions électrochimiques conduisant à une variation locale du pH [35-37]:

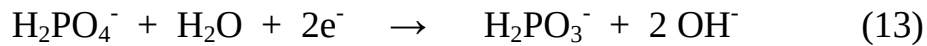
-la réduction du dioxygène dissous présent dans l'électrolyte :



-la réduction d'ions nitrate lorsque la solution électrolytique en contient,



- la reduction d'ions dihydrogénophosphate:



Cependant, les quantités de dioxygène, d'ions nitrate et d'ions dihydrogénophosphate sont extrêmement faibles comparées à la quantité d'eau, solvant de la solution. La réduction de l'eau (ou du proton) peut donc être considérée comme la réaction cathodique majoritaire au cours de ce processus électrolytique. La variation de pH qui en résulte à proximité de la cathode est représentée sur le schéma de la figure 16 proposé par Lin *et al.* [38] :

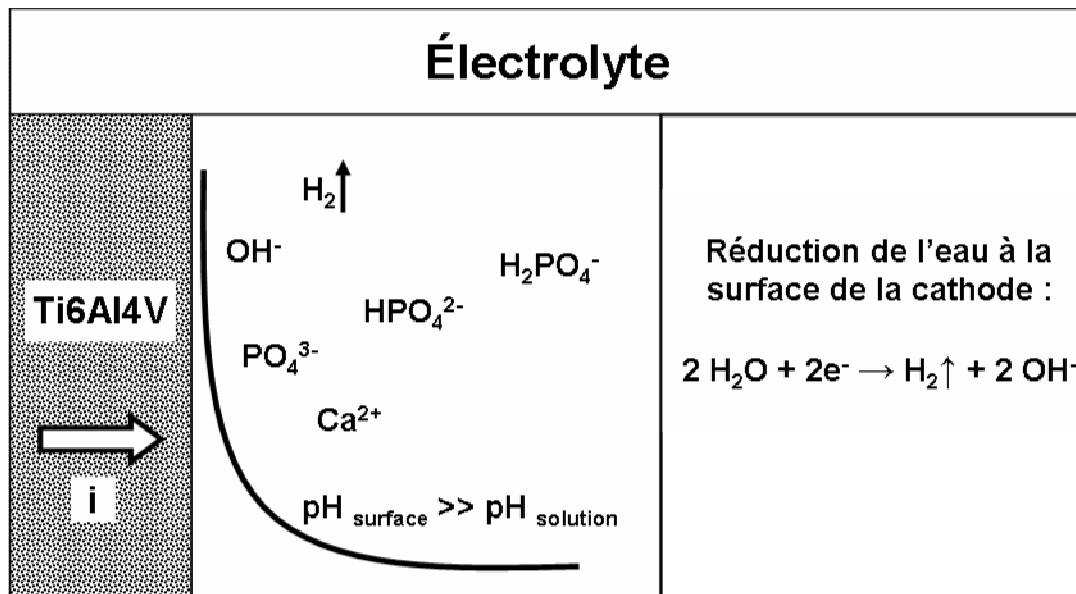


Figure 16 : schéma de l'interface cathode / électrolyte et réaction produite lors de l'électrodéposition

Les valeurs de pH atteintes au voisinage de la cathode entraînent alors la dissociation des ions dihydrogénophosphate par un processus acido-basique.

2.2 Réactions acido-basiques

L'électrolyte utilisé pour réaliser l'électrodéposition doit notamment être composé d'ions calcium et d'ions dihydrogénophosphate, supports du futur composé phosphocalcique.

Les variations de pH provoquées par la réduction de l'eau ont pour effet de dissocier les ions dihydrogénophosphate présents dans la solution. La probabilité de présence des différentes acidités des ions phosphates en fonction du pH de la solution est représentée sur le schéma de la figure 17 proposé par Lynn et Bonfield [39] :

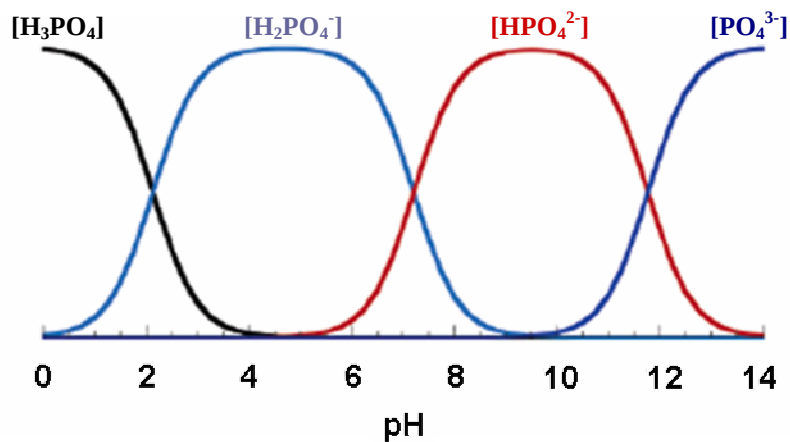
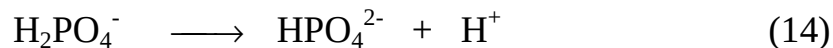
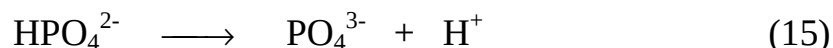


Figure 17 : distribution des espèces phosphatées à 37 °C en fonction du pH

Lorsque l'électrolyte est préparé, son pH a typiquement une valeur comprise entre 4 et 5 pour laquelle les ions dihydrogénophosphate (H_2PO_4^-) sont majoritaires. Si la valeur de pH local à la cathode est comprise entre 7,2 et 11,8, les ions hydrogénophosphate (HPO_4^{2-}) provenant de la réaction (14) sont alors majoritaires :



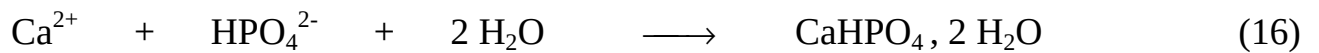
Pour un pH supérieur à 11,8 les ions phosphate (PO_4^{3-}) provenant de la réaction (15) deviennent majoritaires :



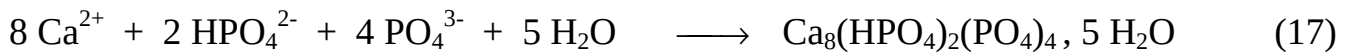
2.3 Précipitation du composé phosphocalcique

Les réactions (14) et (15) entraînent une sursaturation ionique locale de l'électrolyte qui provoque la précipitation de phases phosphocalciques dont le produit de solubilité est généralement peu élevé et la stabilité thermodynamique importante. Selon les valeurs de pH atteintes à proximité de la cathode, différents composés peuvent précipiter [40-41] :

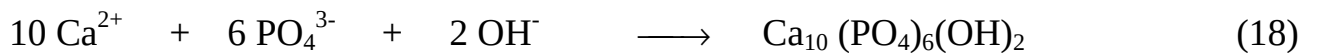
- Brushite :



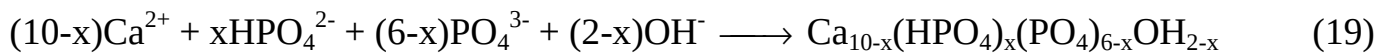
- Phosphate octocalcique:



- Hydroxyapatite :

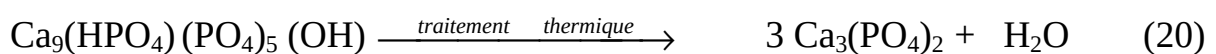


- Apatite déficitaire en calcium :



avec $0 < x < 2$

Lorsque la phase apatitique déficitaire issue de la réaction (19) est traitée à une température supérieure à 800 °C, elle cristallise en un mélange de phases dont les proportions dépendent de sa stœchiométrie (donc de son rapport atomique calcium / phosphore). Ce mélange de phases peut être constitué d'hydroxyapatite ou de phosphate tricalcique (TCP). Le phosphate tricalcique est une apatite déficitaire en calcium pour laquelle $x = 1$ et dont le rapport atomique calcium / phosphore vaut exactement 1,5. Un traitement en température la cristallise en phase β à partir de 800 °C et en phase α à partir de 1100 °C [42].



T.C.P.

β -T.C.P. puis α -T.C.P.

Le tableau ci-dessous résume les principales phases pouvant être précipitées en indiquant leur rapport atomique calcium / phosphore et leur produit de solubilité.

Phase phosphocalcique	Composition chimique	(Ca / P) _{at.}	Solubilité à 25 °C (-log K _s)
Brushite (DCPD)	CaHPO ₄ , 2 H ₂ O	1,00	6,59
Phosphate octocalcique (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ , 5 H ₂ O	1,33	96,6
Apatite déficitaire en calcium (Ca-def HAP)	Ca _{10-x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6-x} OH _{2-x} avec 0 < x < 2	variable 1,33–1,66	≈ 85,1
Hydroxyapatite (HAP)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	1,67	116,8

Remarque : la composition du revêtement phosphocalcique dépend de la valeur du pH au voisinage de la cathode qui est reliée à la densité de courant imposée par le générateur électrique. Cependant, d'autres paramètres expérimentaux tels que la température de l'électrolyte ou ses concentrations ioniques, peuvent également modifier la nature du revêtement électrodéposé.

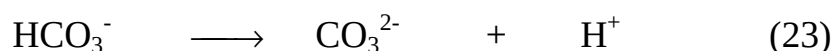
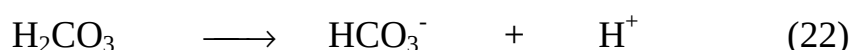
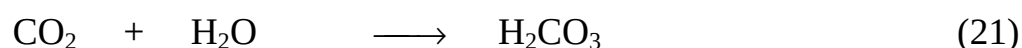
3 Influence des paramètres expérimentaux sur les propriétés des revêtements phosphocalciques

3.1 Influence des concentrations ioniques

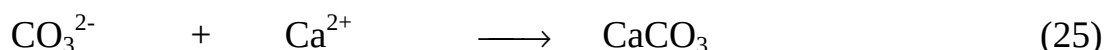
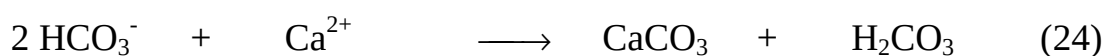
Les solutions électrolytiques utilisées pour l'électrodéposition de revêtements phosphocalciques sont généralement préparées avec un rapport molaire de 1,67 entre les ions calcium et les ions dihydrogénophosphate. Huelin *et al.* ont étudié l'influence des concentrations ioniques sur la composition des revêtements précipités et ont constaté que des concentrations supérieures à 0,050 mol.L⁻¹ en ions calcium et supérieures à 0,030 mol.L⁻¹ en ions dihydrogénophosphate sont favorables à la formation de brushite. La justification proposée indique qu'une trop forte concentration en ions dihydrogénophosphate défavorise la formation des ions hydroxyde OH⁻ et donc l'augmentation du pH au voisinage de la cathode [43].

3.2 Influence de la température de l'électrolyte

Une augmentation de la température de l'électrolyte permet essentiellement de dégazer le dioxyde de carbone (CO_2) dissous qui au contact de l'eau forme l'acide carbonique (H_2CO_3) dont la déprotonation en milieu basique conduit à la formation de l'ion hydrogénocarbonate (HCO_3^-), puis à l'ion carbonate (CO_3^{2-}).



Les ions hydrogénocarbonate et carbonate peuvent réagir avec les ions calcium présents dans l'électrolyte pour former un carbonate de calcium susceptible de précipiter à la cathode en diminuant la concentration en ions calcium au sein de l'électrolyte.



Ban et Maruno ont étudié l'influence de la température de l'électrolyte sur l'électrodéposition de revêtements phosphocalciques [44]. Ils ont constaté notamment que son augmentation entraîne un accroissement du taux de déposition de cristaux phosphocalciques de tailles plus importantes. Ils ont également démontré qu'une température supérieure à 70 °C est favorable à la précipitation de phosphate octocalcique plutôt que d'une phase apatitique [45].

3.3 Influence de la densité de courant

Plus la densité de courant appliquée est élevée, plus la réduction de l'eau (production d'ions hydroxyde OH^- et dégagement de dihydrogène H_2) s'intensifie, augmentant ainsi la valeur du pH local à la cathode. Zhang *et al.* [46] ont étudié la variation locale du pH en fonction du courant appliqué en utilisant un électrolyte préparé par dissolution de 0,042

mol.L⁻¹ de Ca(NO₃),4H₂O et 0,025 mol.L⁻¹ de NH₄(H₂PO₄). Les résultats obtenus (Figure 18) ont montré que pour les valeurs étudiées, le pH local augmente avec la valeur de la densité de courant imposée. Pour une densité de courant égale à 5 mA.cm⁻², le pH atteint une valeur légèrement supérieure à 8. Pour cette valeur de pH, les ions hydrogénophosphate sont majoritaires.

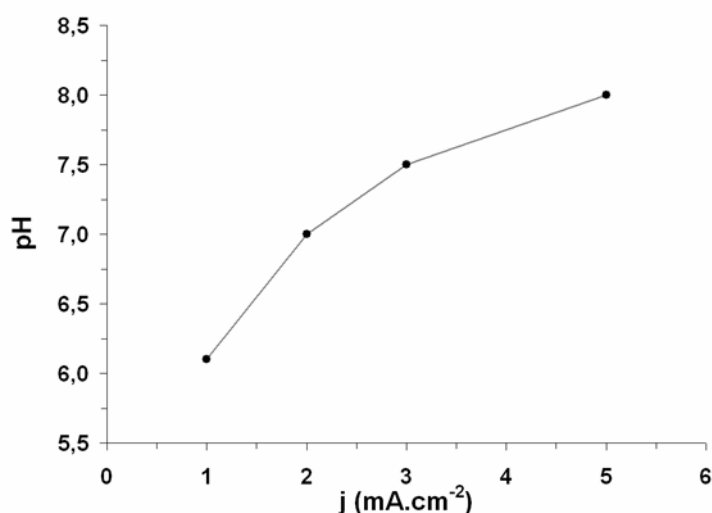


Figure 18 : variation locale du pH en fonction de la densité de courant appliquée [46]

Ainsi plusieurs auteurs ont caractérisé les phases obtenues au sein du revêtement prothétique électrodéposé en fonction de la densité de courant appliquée. Zhang *et al.* indiquent obtenir un mélange de brushite et de phosphate octocalcique pour une densité de courant de 1 mA.cm⁻² alors que du phosphate tricalcique est obtenu pour une densité de courant de 3 mA.cm⁻². En utilisant le même électrolyte, Ban *et al.*, quant à eux, obtiennent un revêtement de phosphate octocalcique avec une densité de courant de 1,3 mA.cm⁻² [45]. Abdel-Aal *et al.* obtiennent de la brushite pour des densités de courant comprises entre 0,375 mA.cm⁻² et 6 mA.cm⁻² [47]. Enfin, au sein de notre laboratoire, Dumelié *et al.* indiquent obtenir un phosphate octocalcique en appliquant une densité de courant de 2 mA.cm⁻² et une phase apatitique déficitaire en calcium dont la stœchiométrie est celle d'un phosphate tricalcique, avec une densité de courant supérieure à 5 mA.cm⁻² [48].

Toutes les études concernant l'électrodéposition de revêtements phosphocalciques sont réalisées en mode continu avec une densité de courant assez faible afin d'éviter une trop forte

production de bulles de dihydrogène. La valeur de pH qui en résulte au voisinage de la cathode est ainsi limitée. Toutefois, cette limite n'a jamais été mise en évidence. C'est pourquoi, il est nécessaire de déterminer la densité de courant maximale accessible et d'établir la composition chimique du revêtement qui en résulte.

4 Électrodéposition en courant continu

4.1 Protocole expérimental

L'électrolyte est préparé par dissolution de $0,042 \text{ mol.L}^{-1}$ de nitrate de calcium tétrahydraté ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) et de $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ de dihydrogène phosphate d'ammonium ($\text{NH}_4(\text{H}_2\text{PO}_4)$). Ces concentrations correspondent à un rapport molaire calcium / phosphore égal à 1,67 qui est le rapport caractéristique de l'hydroxyapatite stœchiométrique. La température de l'électrolyte est fixée à 60°C . Dans ces conditions, le pH de la solution est de 4,4. Le substrat en alliage de titane est un disque de 12mm de diamètre et de 4mm d'épaisseur sablé avec des particules d'alumine afin d'obtenir une surface rugueuse ($R_a \approx 2,5 \text{ }\mu\text{m}$), favorable à l'adhésion des revêtements céramiques électrodéposés sur substrat métallique [38]. Après sablage, le substrat est décapé dans un mélange d'acide nitrique (HNO_3 , 6% en volume) et d'acide fluorhydrique (HF , 3% en volume) pendant une minute afin d'éliminer les résidus d'alumine. Enfin, le substrat est nettoyé aux ultrasons dans de l'acétone puis dans de l'eau pendant cinq minutes. Après la mise en place de la cellule d'électrolyse, une densité de courant de 10 mA.cm^{-2} est appliquée dans le circuit électrique à l'aide du générateur.

La figure 19 présente la variation du potentiel par rapport à l'électrode au calomel saturée en fonction du temps (chronopotentiométrie) lorsqu'une densité de courant de 10 mA.cm^{-2} est appliquée. Le potentiel diminue rapidement jusqu'à $-2,2 \text{ V / ECS}$ pendant 20 secondes, puis augmente progressivement pendant 300 secondes jusqu'à $-1,5 \text{ V / ECS}$ et reste stable ensuite. Une évolution similaire a été constatée par Eliaz *et al.* [49] qui attribuent cette évolution au mode de croissance du revêtement phosphocalcique. Une décroissance ou une stabilité du potentiel initial est attribuée à la nucléation progressive des cristaux phosphocalciques à la surface de la cathode. L'augmentation du potentiel qui suit est attribuée à une croissance cristalline unidimensionnelle. Enfin la stabilité finale du potentiel indique que la surface de la cathode n'est plus modifiée.

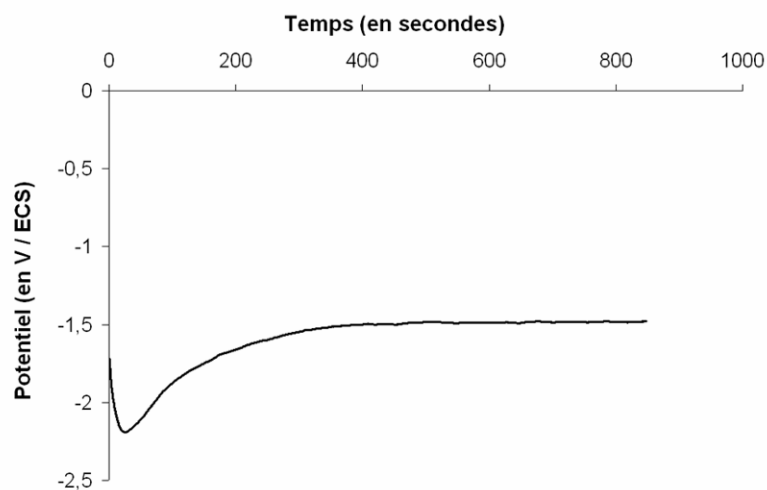


Figure 19 : courbe de chronopotentiométrie obtenue pour $j = 10 \text{ mA.cm}^{-2}$

4.2 Caractérisation du revêtement

4.2.1 Caractérisation morphologique

La morphologie du revêtement électrodéposé en courant continu est observée en microscopie électronique à balayage (MEB) et en microscopie électronique à balayage-transmission (MEBT) et présentée sur la figure 20.

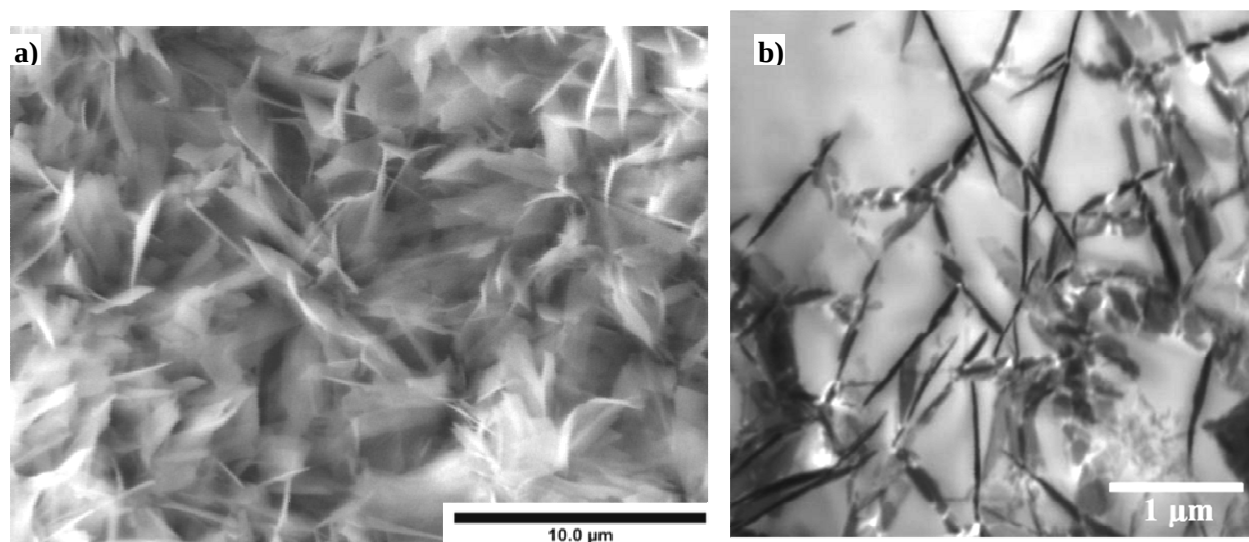


Figure 20 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu :
(a) image MEB ($\times 5000$) et (b) image MEBT ($\times 20000$)

Le revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu est constitué de fines aiguilles de quelques micromètres de longueur. Cette observation est cohérente avec le mode de croissance unidimensionnel proposé par Eliaz *et al.* [49].

4.2.2 Caractérisation de la composition

Le rapport atomique calcium / phosphore de ce revêtement phosphocalcique est déterminé par la microanalyse X réalisée à partir du spectre de la figure 21 et indique que le revêtement électrodéposé possède un rapport atomique calcium / phosphore égal à $1,51 \pm 0,02$ caractéristique d'une phase de phosphate tricalcique apatitique (T.C.P.).

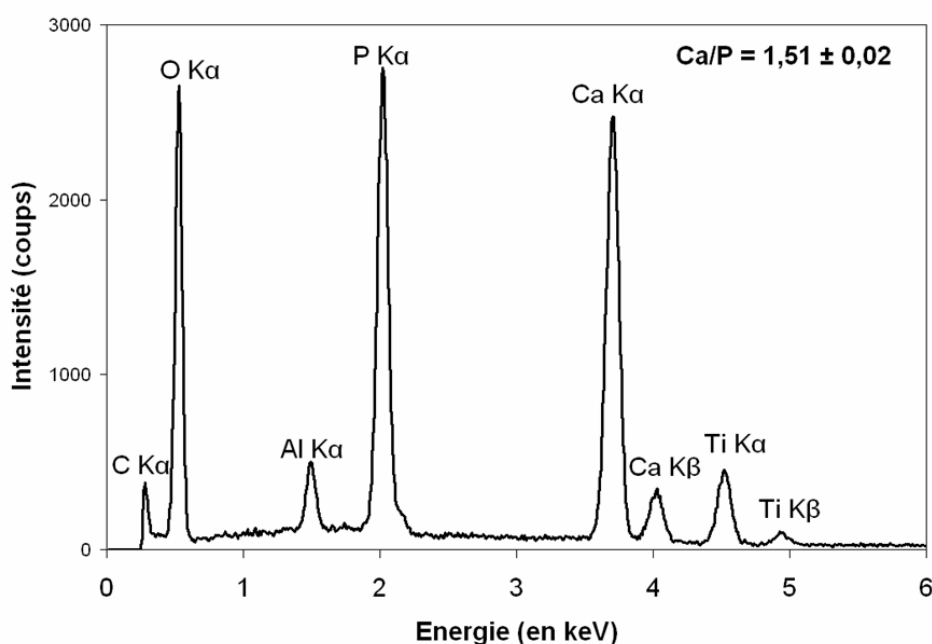


Figure 21 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu

Le revêtement électrodéposé est ensuite retiré du substrat par grattage, puis la poudre obtenue est traitée à l'air dans un four à 1000 °C pendant 15 heures afin de déterminer la stœchiométrie du composé phosphocalcique par diffraction des rayons X en appliquant la méthode décrite dans la norme française NF S 94-066 (cf. annexe 2a).

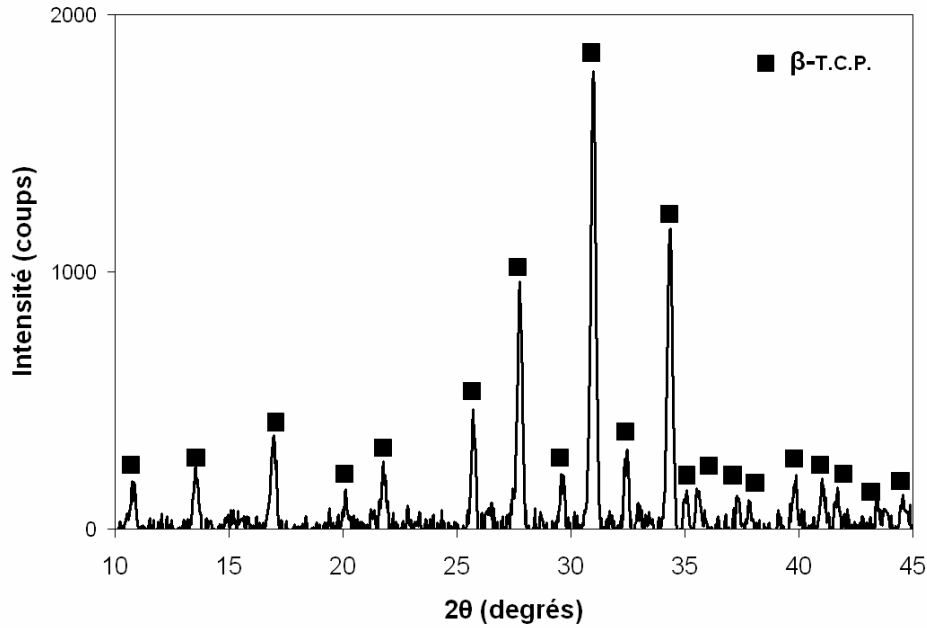
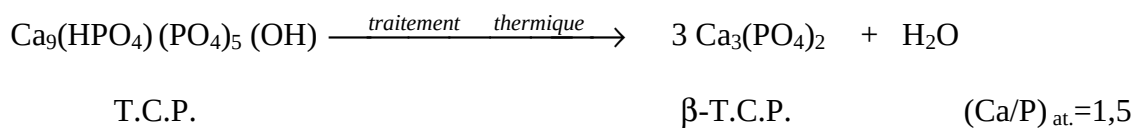


Figure 22 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu puis traité à 1000 °C pendant 15 heures

Le diffractogramme de la figure 22 nous indique que le phosphate tricalcique β est la seule phase observable après traitement thermique. En effet, cette phase ne peut pas être obtenue à basse température et nécessite un traitement à une température supérieure à 800 °C pour cristalliser la phase de phosphate tricalcique apatitique dont elle est issue [50] :



4.3 Problématique liée au procédé

Pour envisager l'obtention d'un revêtement phosphocalcique dont le rapport atomique calcium / phosphore est supérieur à 1,5 il est nécessaire d'augmenter la valeur locale de pH atteinte au voisinage de la cathode qui est liée à l'énergie électrique apportée par le générateur et donc à la valeur de la densité de courant imposée. Cependant, lorsque celle-ci est supérieure à 10 mA.cm⁻², la quantité de bulles de dihydrogène générée est tellement importante que la

précipitation du revêtement est perturbée à la surface de la cathode, provoquant l'apparition de nombreux cratères de grandes dimensions dans le revêtement qui ont pour effet de fragiliser fortement la cohésion du dépôt [51].

Par exemple, la figure 23 présente la photographie d'un revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu avec une densité de courant de 15 mA.cm^{-2} pendant 300 secondes. Une observation en microscopie électronique à balayage révèle la présence de trous et de cratères au sein du revêtement.

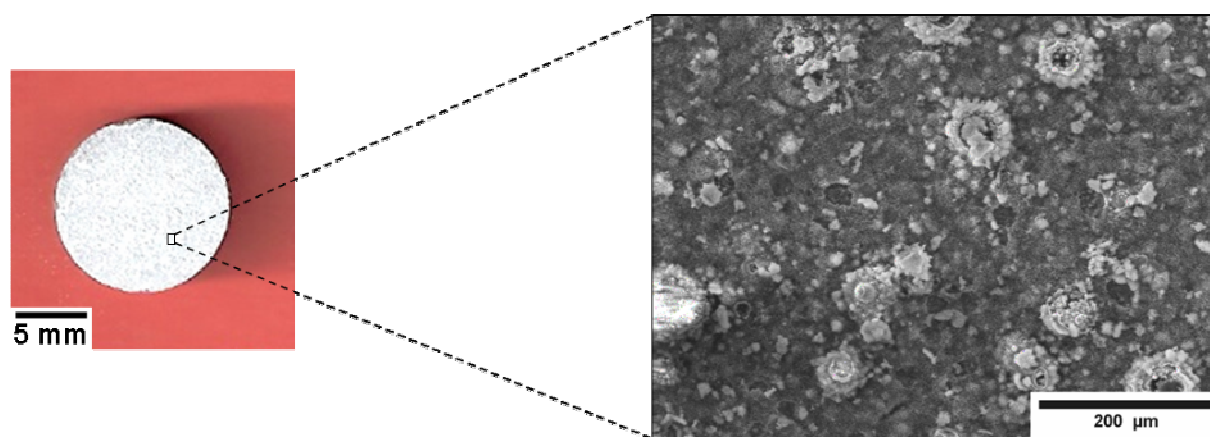


Figure 23 : photographie et image MEB (X 200) d'un revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant continu à 15 mA.cm^{-2}

Le deuxième problème rencontré concerne la composition du revêtement phosphocalcique. Alors que tous les utilisateurs du procédé préparent une solution électrolytique contenant des ions calcium et dihydrogénophosphate dans un rapport égal à 1,67 qui est le rapport caractéristique de l'hydroxyapatite stœchiométrique, aucun n'a jamais décrit l'obtention d'un revêtement monophasé d'hydroxyapatite stœchiométrique. En fonction des paramètres d'élaboration, différentes phases sont obtenues : des phases apatitiques, des phosphates octocalciques, des hydroxyapatites déficitaires en calcium.... Afin d'obtenir un revêtement monophasé d'hydroxyapatite stœchiométrique, il est nécessaire d'augmenter la valeur de pH atteinte à la cathode en utilisant par exemple des densités de courants plus importantes mais alors, la quantité de bulles de dihydrogène produites augmente également. C'est pourquoi il est nécessaire de trouver un moyen de diminuer la production de bulles de

dihydrogène tout en augmentant le pH local atteint à la surface de la cathode. Pour cela nous avons mis en place au laboratoire l'électrodéposition en mode courant pulsé afin d'obtenir des temps de pause au cours desquels les bulles de dihydrogène produites peuvent quitter la surface de la cathode. Nous avons expérimenté également l'ajout de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à la solution électrolytique.

5 Électrodéposition en courant pulsé

5.1 Description du régime pulsé

L'utilisation des courants pulsés pour l'électrodéposition de revêtements phosphocalciques a été envisagée afin de réduire les problèmes liés à l'accumulation de bulles de dihydrogène à la surface de la cathode en appliquant des temps de pause pendant lesquels ces bulles peuvent quitter la surface du substrat. Cela permettra d'utiliser des densités de courant plus importantes. Afin d'optimiser la qualité du revêtement, plusieurs essais ont été réalisés en faisant varier le temps de dépôt (t_d) et le temps de pause (t_p). Une première piste de travail nous a été donnée par Nguyen [52] qui indique que pour obtenir des revêtements constitués d'oxydes en courant pulsé, il est nécessaire d'utiliser des temps de dépôt et des temps de pause « longs » contrairement aux dépôts métalliques qui nécessitent des temps de dépôt et des temps de pause « courts », de l'ordre de la milliseconde. Ainsi, la procédure expérimentale que nous avons utilisée pour cette étude consiste à appliquer une densité de courant (j_d) pendant un temps de déposition (t_d) suivie d'une densité de courant nulle pendant un temps de pause (t_p) (Figure 24).

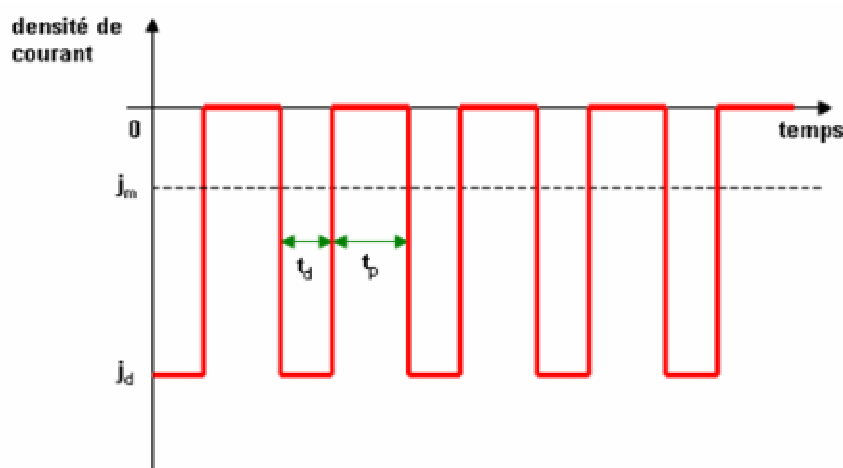


Figure 24 : schéma de principe du régime pulsé

Dans ces conditions, la densité de courant moyenne (j_m) pendant toute la durée du processus d'élaboration est définie par Nguyen [52] telle que :

$$j_m = \frac{j_d \cdot t_d}{t_d + t_p}$$

5.2 Optimisation du temps de dépôt et du temps de pause

Plusieurs essais ont été réalisés en faisant varier la durée du temps de dépôt et la durée du temps de pause afin de déterminer les paramètres les plus adaptés à l'élaboration de revêtements phosphocalciques en courant pulsé. Les essais ont été réalisés en utilisant une densité de courant de 15 mA.cm^{-2} , c'est-à-dire la densité de courant pour laquelle la réduction de l'eau génère des trous et des cratères dans le revêtement lorsqu'elle est appliquée en continu (Figure 23).

La figure 25 présente les photographies des revêtements obtenus pour différents temps de dépôt et temps de pause. D'un point de vue expérimental, le nombre de cycles dépôt / pause est fixé pour obtenir un temps de dépôt total de cinq minutes.

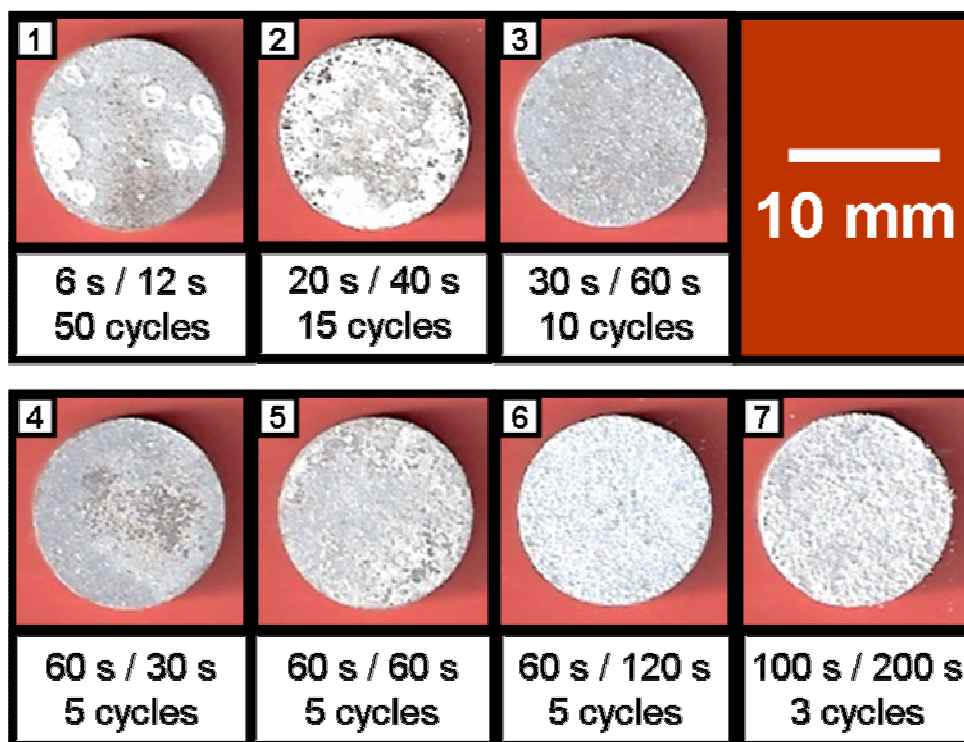


Figure 25 : revêtements phosphocalciques électrodéposés en mode courant pulsé (temps de dépôt / temps de pause)

Pour des temps de dépôt de 6 secondes et 20 secondes (photographies 1 et 2), associés respectivement à des temps de pause de 12 secondes et 40 secondes, les revêtements obtenus sont considérablement hétérogènes. Certaines zones semblent très épaisses alors que par endroits le substrat ne semble pas être revêtu. Pour un temps de dépôt de 30 secondes et un temps de pause de 60 secondes (photographie 3), le revêtement est homogène mais paraît être très mince. Un temps de dépôt de 60 secondes est donc nécessaire, mais si le temps de pause est de 30 secondes ou de 60 secondes (photographies 4 et 5), des zones nues non revêtues sont présentes. Avec un temps de pause égal à 120 secondes (photographie 6) le substrat est intégralement recouvert d'un revêtement ayant un aspect homogène en épaisseur. Lorsque les temps de dépôt et de pause sont plus longs (photographie 7), l'homogénéité du revêtement semble être légèrement altérée.

À travers ces observations, les caractéristiques temporelles que nous avons retenues pour élaborer un revêtement phosphocalcique homogène sont un temps de dépôt $t_d = 1$ minute suivi d'un temps de pause $t_p = 2$ minutes pendant 5 cycles qui correspondent à un temps total d'élaboration de 15 minutes.

La courbe chronopotentiométrique qui en résulte est présentée sur la figure 26. Les temps au cours desquels la densité de courant est appliquée et les temps de pause sont distinctement identifiables.

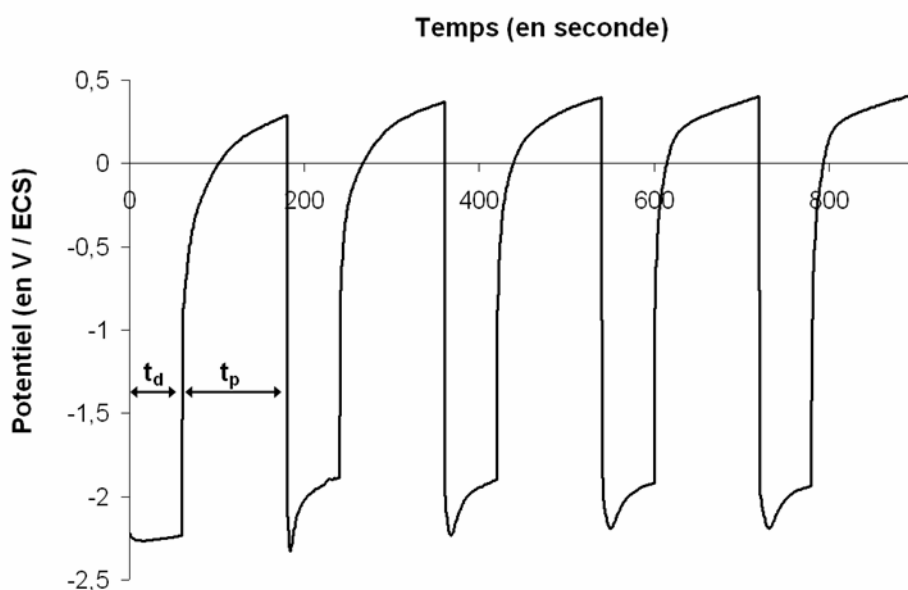


Figure 26 : courbe de chronopotentiométrie obtenue en courant pulsé

Le premier temps de dépôt (t_d) présente une relative stabilité de la valeur du potentiel à -2,2 V / ECS et les temps de dépôt suivants présentent une variation similaire à celle observée en courant continu (Figure 19) mais qui s'atténue au cours des cycles. Les deux étapes de l'électrodéposition sont mises en évidence : la nucléation progressive des cristaux phosphocalciques au cours du premier cycle suivie de leur croissance au cours des cycles suivants. Les temps de pause indiquent un retour relativement lent à un état d'équilibre à la surface de la cathode justifiant également les temps « longs » utilisés pour le régime pulsé. Les changements observés sur la courbe de chronopotentiométrie (faible augmentation du potentiel au cours du dernier temps de dépôt) résultent d'une modification du mode de croissance du revêtement phosphocalcique dont la morphologie est certainement modifiée.

5.3 Caractérisation du revêtement phosphocalcique électrodéposé en régime pulsé

5.3.1 Caractérisation morphologique

La figure 27 présente l'observation en microscopie électronique à balayage d'un revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé avec les paramètres optimisés précédemment. L'homogénéité du revêtement et l'absence de trous et de cratères indiquent qu'une densité de courant de 15 mA.cm^{-2} a pu être appliquée en régime pulsé pour déposer un revêtement phosphocalcique de qualité.

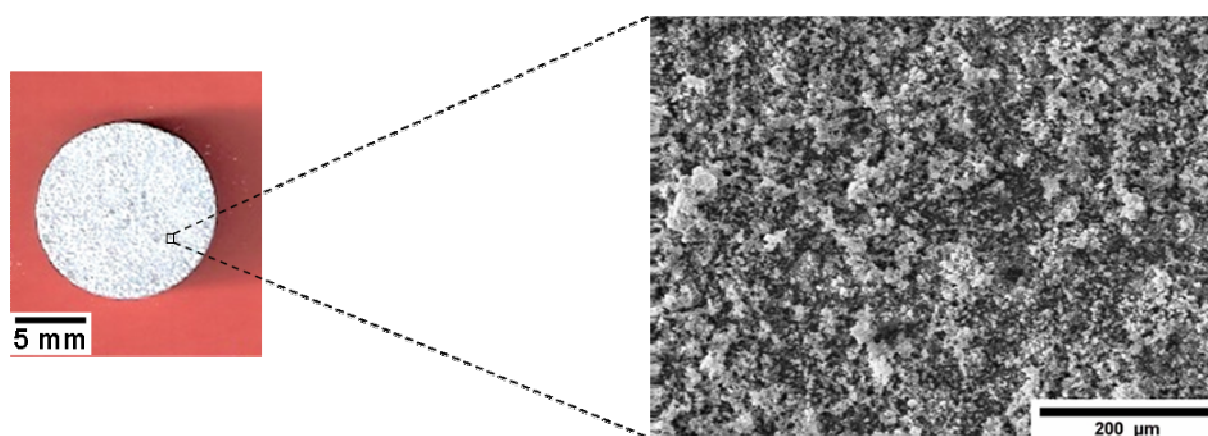


Figure 27 : photographie et image MEB (X 200) d'un revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé

Les images à plus fort grandissement en MEB et en MEBT présentées sur la figure 28 permettent d'observer la morphologie du revêtement obtenu en régime pulsé. Les aiguilles qui le composent sont beaucoup plus fines que celles obtenues en courant continu et elles forment des agglomérats.

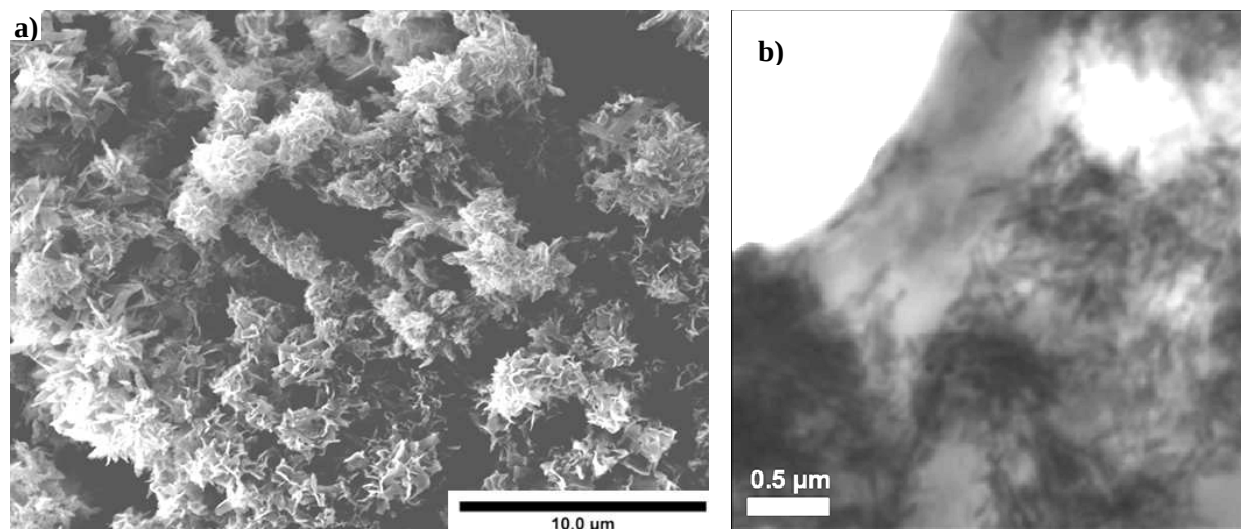


Figure 28 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé :
(a) image MEB (X 5000) et (b) image MEBS (X 20000)

5.3.2 Caractérisation de la composition

Le rapport atomique calcium / phosphore des revêtements phosphocalciques est déterminé par la microanalyse X issue du spectre de la figure 29. Elle indique que le revêtement électrodéposé possède un rapport atomique calcium / phosphore égal à $1,59 \pm 0,02$.

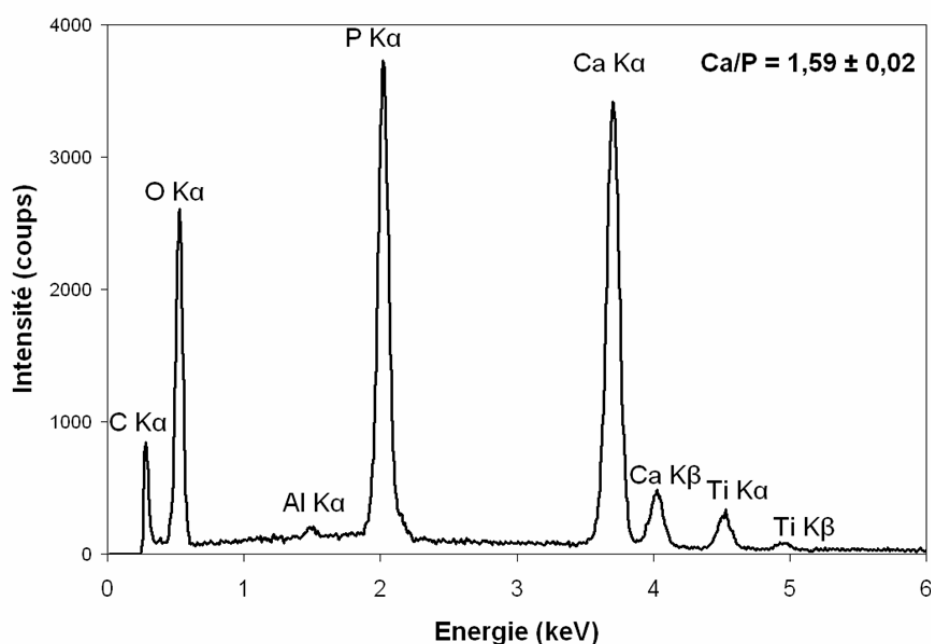


Figure 29 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé

La stœchiométrie du revêtement phosphocalcique électrodéposé en régime pulsé est également étudiée à partir de la diffraction des rayons X selon la norme NF S 94-066. La figure 30 indique que le revêtement synthétisé possède deux phases cristallisées après un traitement à l'air de quinze heures à 1000 °C : l'hydroxyapatite (HAP) et le phosphate tricalcique β (β -TCP). La méthode décrite dans la norme NF S 94-066 permet de quantifier ces deux phases et d'en déduire le rapport atomique calcium / phosphore. Il s'agit d'un composé biphasé contenant 52% d'hydroxyapatite et 48% de phosphate tricalcique β , correspondant à un rapport atomique Ca/P = 1,58. Ce résultat confirme le rapport atomique déterminé par microanalyse X.

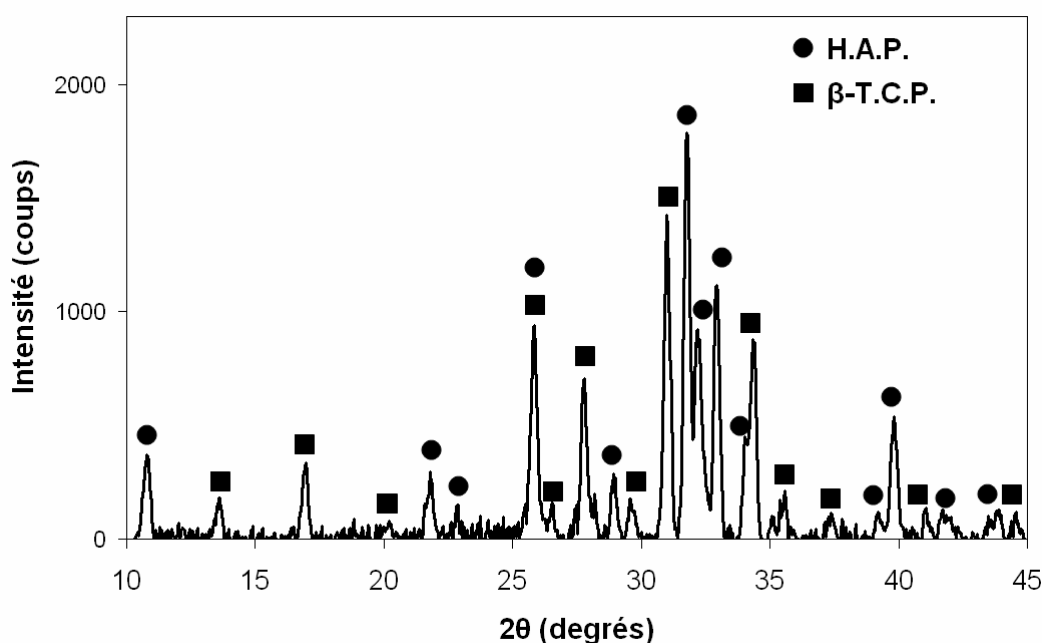


Figure 30 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé puis traité à 1000 °C pendant 15 heures

Ce mélange d'hydroxyapatite et de phosphate tricalcique β est obtenu par traitement thermique d'une apatite déficitaire en calcium dont la stœchiométrie conditionne les proportions des deux phases cristallisées par le traitement [53,54]. La précipitation d'une apatite déficitaire en calcium n'est possible qu'en présence d'ions hydrogénophosphate (réaction 19) et indique donc que la valeur de pH atteinte au voisinage de la cathode n'est pas

suffisante pour pouvoir réduire le déficit en calcium et ainsi obtenir un revêtement monophasé d'hydroxyapatite stœchiométrique. Cependant, une densité de courant de 15 mA.cm^{-2} apparaît pourtant comme une valeur maximale de densité de courant accessible en mode courant pulsé. Il est donc nécessaire de trouver une façon d'obtenir un pH local plus important à la cathode sans augmenter la densité de courant. Pour cela nous avons testé l'ajout de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à la solution électrolytique.

6 Électrodéposition en mode courant pulsé avec H_2O_2

L'incorporation de peroxyde d'hydrogène dans les électrolytes utilisés pour la précipitation de revêtements céramiques a souvent été employée [55,56]. Dans le cas particulier des revêtements phosphocalciques, peu d'études ont été réalisées et la quantité introduite n'a jamais été justifiée [57,58]. De plus, dans tous ces travaux, le peroxyde d'hydrogène est employé afin d'atténuer la quantité de bulles de dihydrogène produites dans le but d'améliorer la microstructure du dépôt obtenu, mais son influence sur la valeur du pH local et donc sur la composition du revêtement électrodéposé, n'a jamais été décrite.

6.1 Action du peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est ajouté à la solution électrolytique pour ses propriétés oxydantes. Étant un oxydant plus fort que l'eau, il est préférentiellement réduit à la cathode en produisant uniquement des ions hydroxyde selon la réaction suivante :



La quantité d'ions hydroxyde produits à la cathode est ainsi plus importante et le pH plus élevé. Cependant, la quantité de peroxyde d'hydrogène introduite en solution peut également influencer la morphologie du revêtement phosphocalcique. C'est pourquoi il est important d'optimiser la quantité incorporée à la solution électrolytique.

6.2 Optimisation de la quantité de peroxyde d'hydrogène

Afin d'optimiser la quantité de peroxyde d'hydrogène, nous avons réalisé des courbes de polarisation cathodique pour différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène : 0%, 3%, 6%, 9%, 12% et 15% en volume. Il s'agit de suivre l'évolution de la densité de courant en faisant varier progressivement le potentiel. Les résultats sont représentés sur la figure 31.

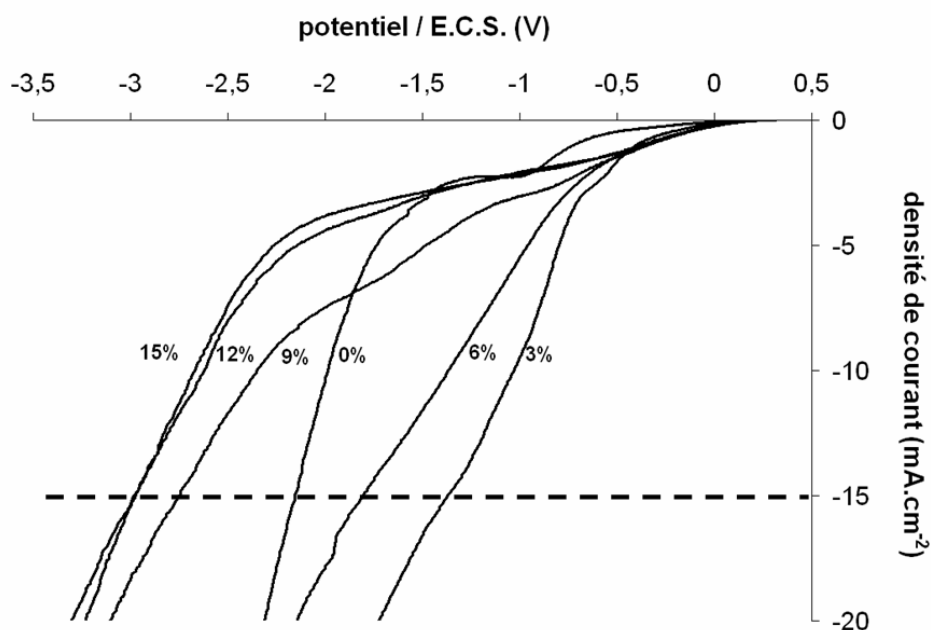


Figure 31 : courbes de polarisation cathodique obtenues pour différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène

On peut remarquer que pour la valeur de densité de courant qui a été utilisée en mode courant pulsé (15 mA.cm^{-2}), l'ajout de 3% ou 6% en volume de peroxyde d'hydrogène diminue le potentiel cathodique alors que l'ajout de 9%, 12% ou 15% en volume de peroxyde d'hydrogène l'augmente.

Des essais d'électrodéposition de revêtements phosphocalciques en courant pulsé à 15 mA.cm^{-2} ont été réalisés à partir d'électrolytes contenant du peroxyde d'hydrogène dans les proportions étudiées. Les photographies de la figure 32 présentent les échantillons obtenus dans ces conditions.

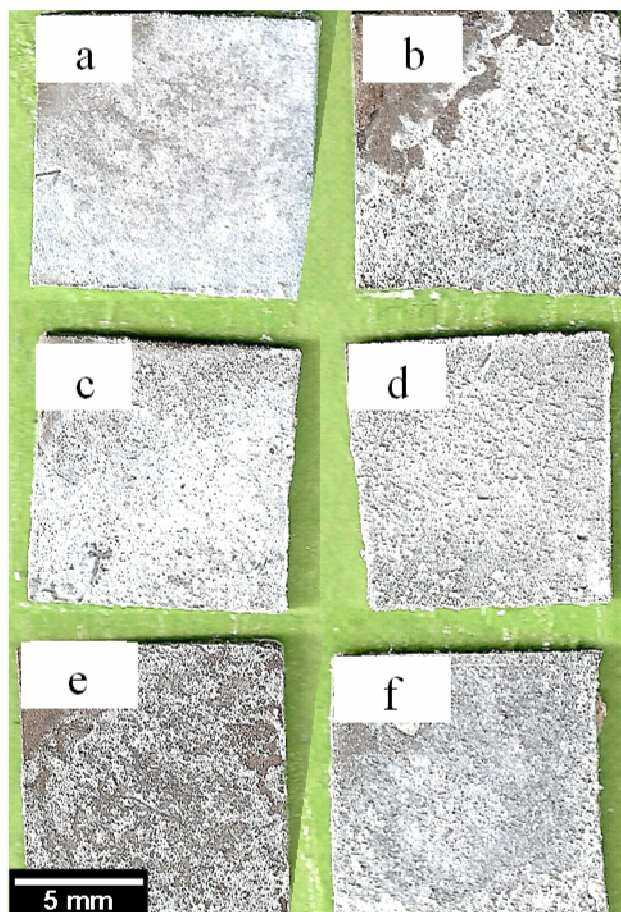


Figure 32 : photographie des revêtements électrodéposés en courant pulsé en présence de peroxyde d'hydrogène dans l'électrolyte à différentes concentrations, (a) 0%, (b) 3%, (c) 6%, (d) 9%, (e) 12%, (f) 15%

Lorsque l'électrolyte est préparé avec 3%, 12% et 15% de peroxyde d'hydrogène, le revêtement phosphocalcique est très hétérogène et le substrat en alliage de titane possède de nombreuses zones non recouvertes (Figures 32b, 32e et 32f). En effet, l'ajout de 3% en volume de peroxyde d'hydrogène entraîne des valeurs de potentiel tellement faibles que les réactions de réduction n'ont pratiquement pas lieu [59]. Lorsque 12% ou 15% de peroxyde d'hydrogène sont introduits dans la solution électrolytique, la quantité d'ions hydroxyde OH^- produite est trop importante et les revêtements phosphocalciques électrodéposés sont très hétérogènes. Zhitomirsky explique en effet que « lorsque la quantité d' OH^- produits est plus élevée que la quantité d' OH^- consommés par la réaction de précipitation, une partie des OH^- générés à la cathode est transportée vers la solution par diffusion et il en résulte une mauvaise adhésion du revêtement » [60]. Ainsi, nous avons choisi d'étudier les revêtements élaborés

avec des concentrations de 6% et 9% en volume de peroxyde d'hydrogène pour lesquelles les revêtements phosphocalciques électrodéposés sont homogènes. Leur caractérisation permettra d'observer l'effet du peroxyde d'hydrogène sur leur morphologie et leur composition.

6.3 Revêtement obtenu avec 6% en volume d'H₂O₂ dans l'électrolyte

La courbe chronopotentiométrique obtenue lors de l'électrodéposition en courant pulsé avec 6% en volume de peroxyde d'hydrogène dans l'électrolyte est présentée sur la figure 33. Le premier temps de dépôt présente une décroissance du potentiel jusqu'à -1,7 V / ECS qui est attribuée à la nucléation progressive des cristaux phosphocalciques à la surface de la cathode. Les temps de dépôt suivants au cours desquels la croissance des cristaux phosphocalciques a lieu présentent une variation de potentiel différente de celle observée précédemment en absence de peroxyde d'hydrogène. Cette variation de potentiel suggère un mode de croissance des cristaux phosphocalciques différent.

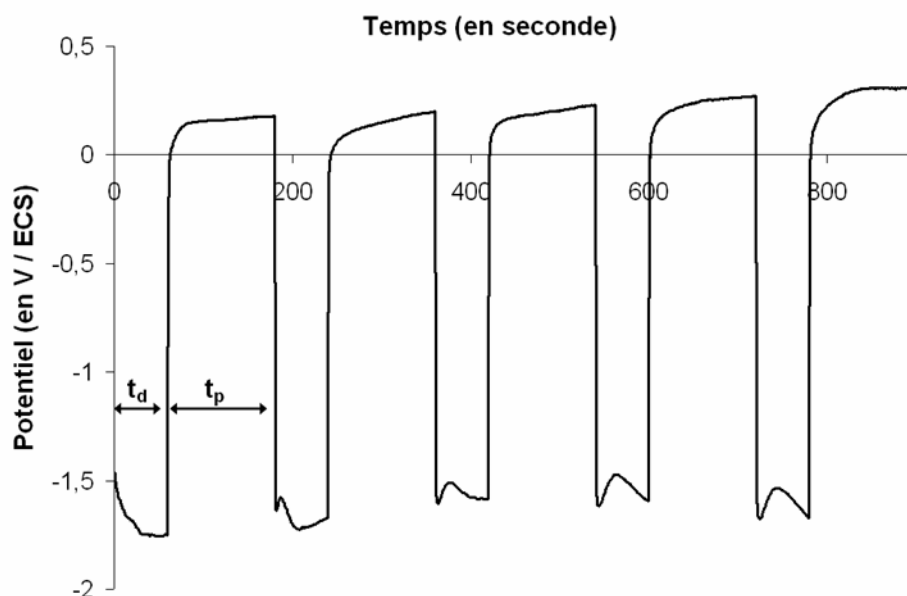


Figure 33 : courbe de chronopotentiométrie obtenue en courant pulsé en utilisant un électrolyte contenant 6% en volume de peroxyde d'hydrogène

6.3.1 Caractérisation morphologique

Les images MEB et MEBT présentées sur la figure 34 concernent un revêtement phosphocalcique électrodéposé à partir d'un électrolyte contenant 6% en volume de peroxyde d'hydrogène. La morphologie du revêtement est différente de celle observée précédemment. Le revêtement est constitué de sphéroïdes d'environ 1 μm de diamètre formés par l'agglomération de très fines et très petites aiguilles. Le revêtement semble être plus compact mais des porosités sont apparentes.

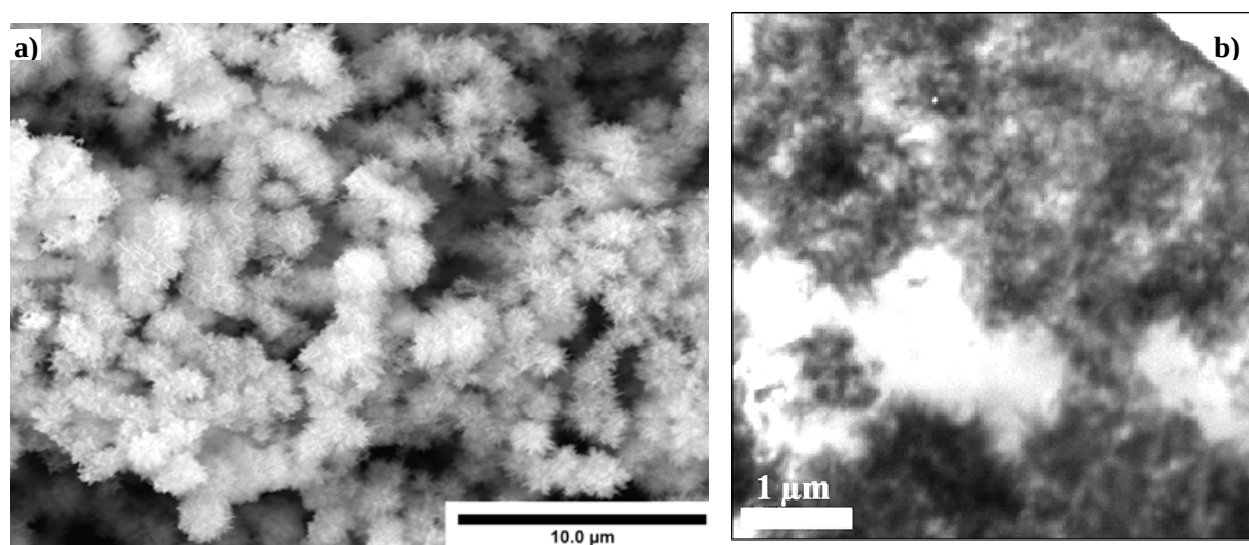


Figure 34 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène : (a) image MEB (X 5000) et (b) image MEBT (X 20000)

6.3.2 Caractérisation de la composition

La microanalyse X issue du spectre de la figure 35 indique que le revêtement électrodéposé possède un rapport atomique calcium / phosphore égal à $1,64 \pm 0,02$. L'analyse par diffraction des rayons X après traitement sous air à 1000 °C pendant 15 heures est présentée sur la figure 36. Le diffractogramme obtenu laisse apparaître les deux phases observées lors de l'analyse du revêtement électrodéposé en courant pulsé sans peroxyde d'hydrogène mais dans des proportions différentes. En appliquant la méthode de calcul détaillée dans la norme française NF S 94-066, les proportions des phases composant le phosphate de calcium sont évaluées à 80% d'hydroxyapatite et à 20% de phosphate tricalcique β , correspondant à un rapport atomique Ca/P de 1,63.

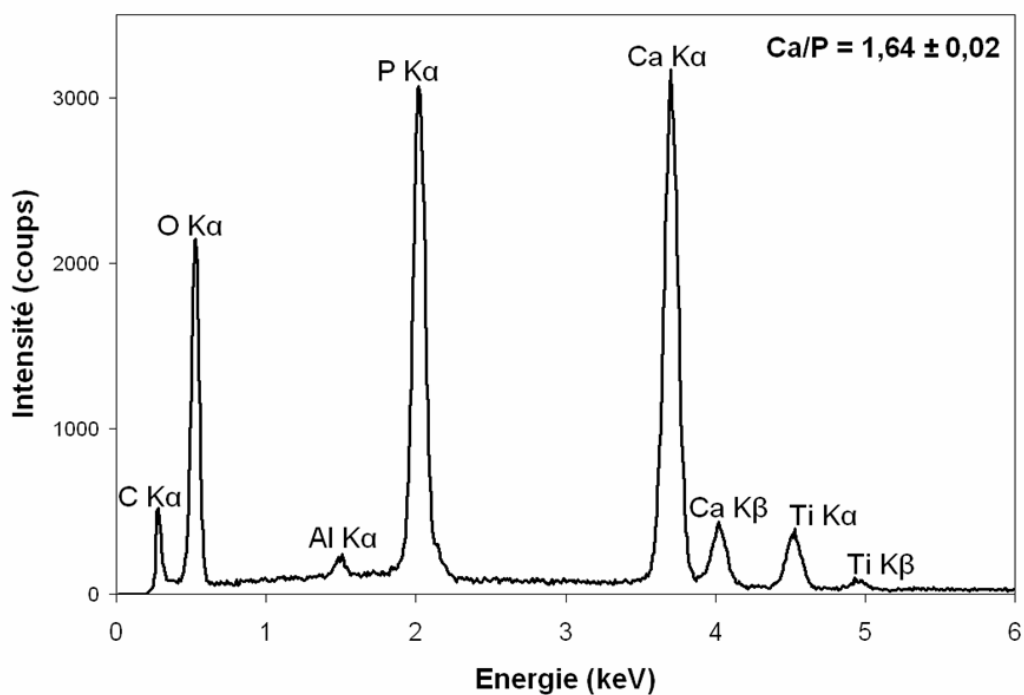


Figure 35 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène

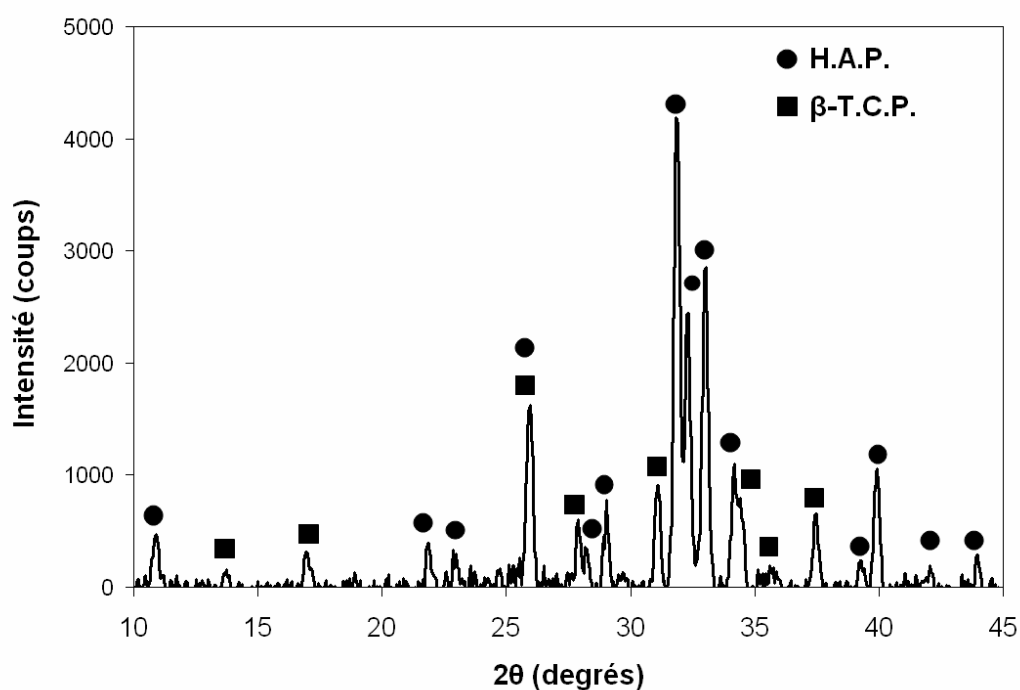


Figure 36 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène puis traité à 1000 °C pendant 15 heures

Les deux résultats concordent et indiquent que le revêtement électrodéposé est une apatite déficitaire en calcium précipitée selon la réaction 19. Cependant, la production d'ions hydroxyde par la réduction du peroxyde d'hydrogène a eu pour effet d'augmenter la quantité d'ions phosphate et de diminuer la quantité d'ions hydrogénophosphate. Ainsi, le déficit en calcium de l'apatite est moins important et le rapport atomique calcium / phosphore devient plus grand.

6.4 Revêtement obtenu avec 9% en volume d'H₂O₂ dans l'électrolyte

La courbe potentiométrique obtenue est présentée sur la figure 37 et possède des variations de potentiels similaires à celles observées pour un revêtement électrodéposé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène suggérant ainsi des modes de croissance voisins.

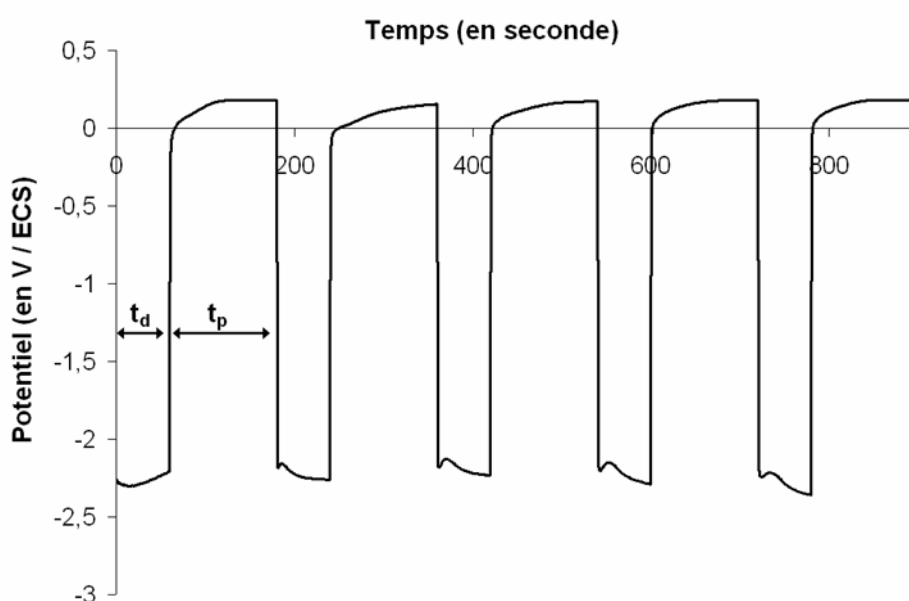


Figure 37 : courbe de chronopotentiométrie obtenue en courant pulsé en utilisant un électrolyte contenant 9% en volume de peroxyde d'hydrogène

6.4.1 Caractérisation morphologique

La morphologie du revêtement présentée sur la figure 38 est similaire à celle du revêtement électrodéposé en présence de 6% en volume de peroxyde d'hydrogène mais avec des porosités moins apparentes et une compacité accrue.

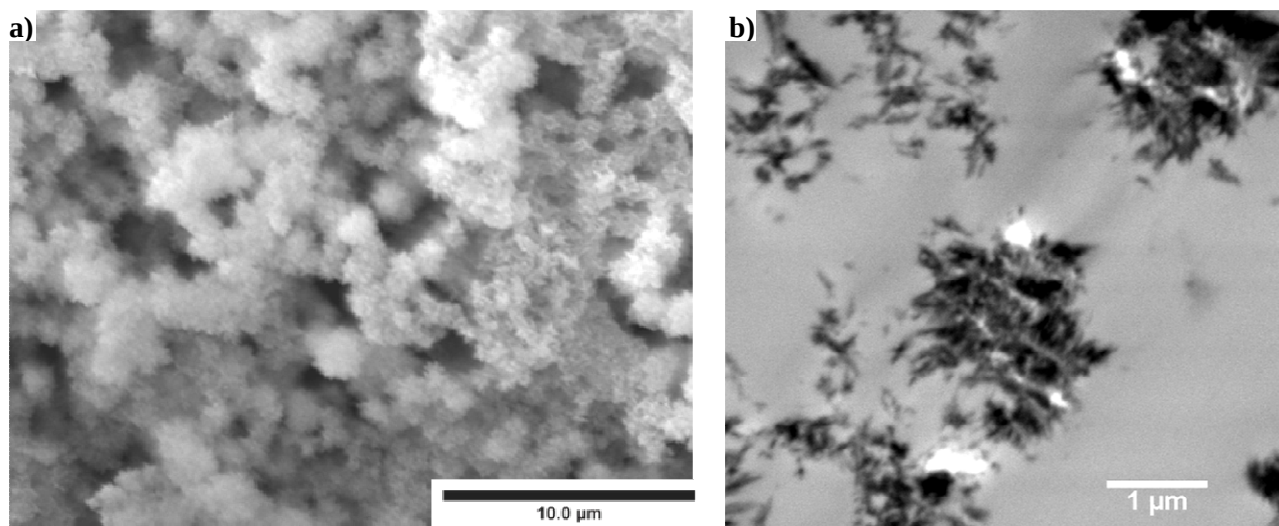


Figure 38 : revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 9% en volume de peroxyde d'hydrogène : (a) image MEB (X 5000) et (b) image MEBS (X 20000)

6.4.2 Caractérisation de la composition

La microanalyse X issue du spectre de la figure 39 indique que le revêtement électrodéposé possède un rapport atomique calcium / phosphore égal à $1,67 \pm 0,02$.

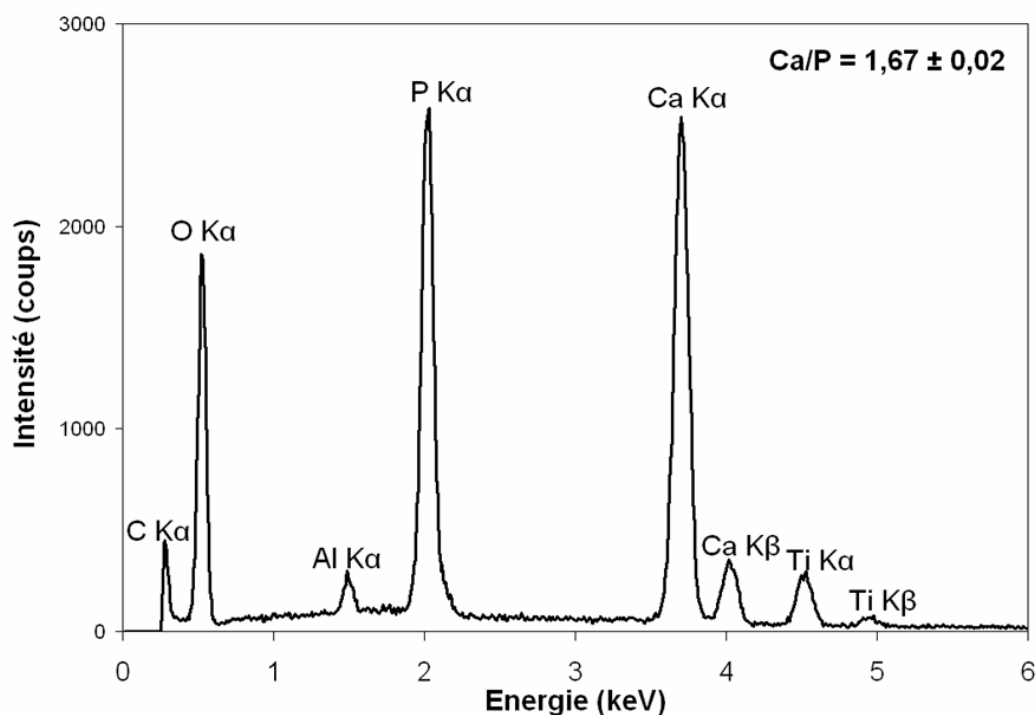


Figure 39 : spectre X du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 9% en volume de peroxyde d'hydrogène

Le diffractogramme de la figure 40 indique qu'après traitement thermique le revêtement phosphocalcique n'est pratiquement composé que d'une seule phase, l'hydroxyapatite, la phase de phosphate tricalcique β n'étant presque plus apparente. Le rapport atomique calcium / phosphore correspondant est donc égal à 1,67. Ce résultat confirme celui obtenu en microanalyse X.

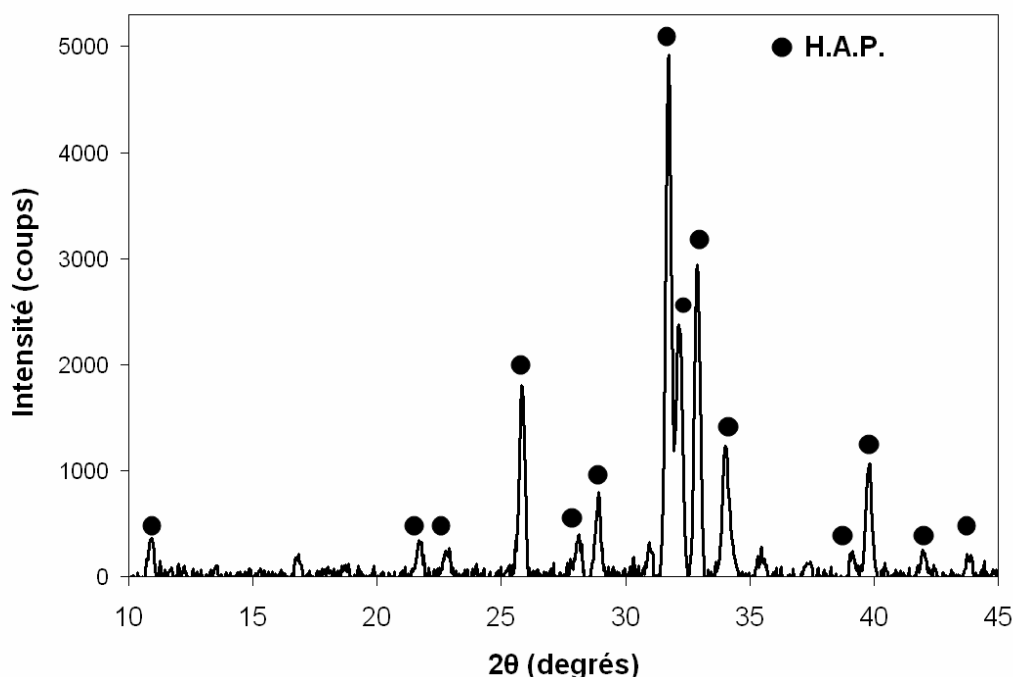


Figure 40 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique électrodéposé en courant pulsé en présence de 9% en volume de peroxyde d'hydrogène puis traité à 1000 °C pendant 15 heures

6.5 Interprétation de l'effet du peroxyde d'hydrogène

Oxydant fort par nature, le peroxyde d'hydrogène est préférentiellement réduit au cours de l'électrodéposition. Sa réduction produit des ions hydroxyde OH^- induisant une augmentation locale du pH plus importante que pour la seule réduction de l'eau. En effet, la caractérisation normalisée des revêtements électrodéposés en mode courant pulsé et en absence de peroxyde d'hydrogène laisse apparaître la présence d'un composé biphasé de phosphate tricalcique β et d'hydroxyapatite dans des proportions équivalentes. Avec 6% en volume de peroxyde d'hydrogène dans la solution électrolytique, le revêtement obtenu est composé à 80% d'hydroxyapatite et à 20% de phosphate tricalcique β après un traitement au

four à 1000 °C pendant 15 heures. Enfin, lorsque 9% en volume de peroxyde d'hydrogène sont incorporés à l'électrolyte, un revêtement monophasé d'hydroxyapatite est obtenu après le traitement thermique. Il a ainsi été montré au cours de cette étude que l'incorporation de peroxyde d'hydrogène dans l'électrolyte permet de contrôler la stœchiométrie du revêtement phosphocalcique électrodéposé à la surface de la cathode. La stœchiométrie de la phase apatitique précipitée est modifiée par la concentration des espèces phosphatées présentes au voisinage de la cathode lorsqu'un courant électrique est appliqué. Les concentrations en ions hydrogénophosphate et phosphate dépendent de la valeur du pH. La précipitation d'hydroxyapatite stœchiométrique à partir d'un électrolyte contenant 9% en volume de peroxyde d'hydrogène indique qu'un pH proche de 14 a été atteint à proximité de la cathode pour lequel la concentration en ions hydrogénophosphate est pratiquement nulle.

7 Conclusion

Au cours de cette partie, le procédé d'électrodéposition de revêtements prothétiques phosphocalciques a été présenté à travers les trois étapes qui le composent : une étape électrochimique, une étape acido-basique et une étape de précipitation. Les mécanismes réactionnels de ces trois étapes ont été décrits. L'influence des paramètres chimiques et électriques sur la composition et la morphologie des revêtements phosphocalciques électrodéposés a été présentée afin d'appréhender les limites du procédé. Lorsqu'une densité de courant de 15 mA.cm^{-2} est utilisée en courant continu, le revêtement électrodéposé présente de nombreuses hétérogénéités qui le fragilisent. Pour solutionner la problématique annoncée, deux voies combinables ont été proposées et étudiées : l'utilisation de courants pulsés et l'incorporation de peroxyde d'hydrogène au sein de la solution électrolytique.

Les courants pulsés ont permis d'appliquer une densité de courant de 15 mA.cm^{-2} et d'obtenir ainsi un composé biphasé constitué à 52% d'hydroxyapatite et à 48% de phosphate tricalcique β après un traitement thermique approprié. L'action du peroxyde d'hydrogène a été précisée et la quantité incorporée en solution a été optimisée. Ainsi, l'ajout de 6% ou 9% en volume de peroxyde d'hydrogène dans la solution électrolytique nous a permis d'observer en microscopie électronique des revêtements prothétiques homogènes, compacts et moins poreux. De plus, un effet important sur la composition chimique du revêtement a été révélé en

diffraction des rayons X, laissant apparaître la possibilité d’obtenir après un traitement thermique approprié, soit un revêtement monophasé d’hydroxyapatite, soit un revêtement biphasé d’hydroxyapatite et de phosphate tricalcique β dont les proportions sont contrôlées.

Ces deux phases phosphocalciques possèdent des stabilités thermodynamiques différentes en milieu physiologique (*in vitro* et *in vivo*). La modulation des proportions de chaque phase nous permet d’obtenir un revêtement dont la cinétique de dissolution pourra être contrôlée.

Cependant, l’élaboration de revêtements phosphocalciques par électrodéposition doit être suivie d’un traitement en température afin d’évaporer les solvants résiduels piégés et densifier ainsi le matériau synthétisé. Le traitement thermique a aussi pour objectif d’améliorer l’adhésion du revêtement au substrat métallique dont la valeur doit être supérieure à une limite normalisée imposée pour la commercialisation d’implants prothétiques. Les effets du traitement thermique sur les revêtements phosphocalciques électrodéposés sont généralement assez peu explorés. La partie suivante propose ainsi une étude détaillée du comportement en température des revêtements phosphocalciques afin d’optimiser le traitement thermique nécessaire pour finaliser l’élaboration de ces revêtements.

Deuxième partie : Étude en température des revêtements phosphocalciques électrodéposés sur alliage de titane

1 Introduction

Le procédé d'élaboration de revêtements phosphocalciques présenté dans la première partie, l'électrodéposition, est réalisé en milieu aqueux et impose donc un traitement thermique afin d'évaporer les solvants présents dans le revêtement à la sortie de la cellule électrochimique. Le traitement en température a également pour objet d'améliorer les propriétés mécaniques du revêtement phosphocalcique électrodéposé : sa compacité et son adhésion au substrat. En effet, la commercialisation de prothèses revêtues est soumise à la norme pour implants chirurgicaux ISO 13779-2 [61] qui impose une valeur d'adhésion du revêtement phosphocalcique au substrat métallique supérieure à 15 MPa.

Le choix de la température de traitement des revêtements phosphocalciques électrodéposés n'a jamais été précisément étudié. Les traitements décrits dans les publications scientifiques sont rarement justifiés et varient énormément selon les auteurs. Par exemple Shirkhanzadeh *et al.* utilisent une température de 425 °C pendant six heures [62], alors que Wang *et al.* appliquent une température de 650 °C pendant deux heures [63], et Kuo *et al.* une température de 700 °C pendant une heure [64].

Vallet-Regí *et al.* ont proposé un protocole original de traitement pour lequel les températures sont appliquées en deux étapes [65]. La figure 41 schématise ce protocole. Une première montée à 5 °C.min⁻¹ est suivie d'un palier d'une heure à 120 °C dont le rôle est d'évaporer les solvants piégés dans le revêtement, puis une deuxième montée à 5 °C.min⁻¹ est suivie d'un palier d'une heure à la température de traitement choisie. L'utilisation de paliers de température semble être un choix rigoureux afin de décomposer les deux effets recherchés par le traitement thermique.

Ainsi, pour optimiser la température de traitement des revêtements électrodéposés sur l'alliage Ti6Al4V, nous nous sommes inspirés de ce protocole. Cependant, selon la température choisie, le traitement thermique peut affecter non seulement les propriétés du revêtement, mais aussi celles du substrat. C'est pourquoi, pour trouver un compromis, nous avons d'abord étudié séparément le comportement en fonction de la température des revêtements et de l'alliage Ti6Al4V, pour ensuite déterminer la température nécessaire pour traiter le système revêtement / substrat et étudier ses effets sur les caractéristiques physico-chimiques et mécaniques (adhésion) de celui-ci.

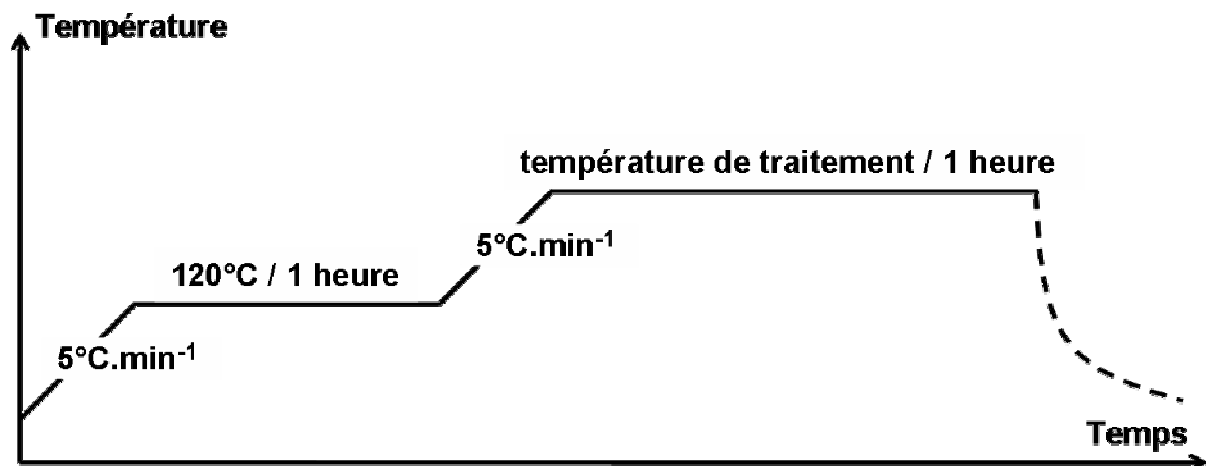


Figure 41 : protocole de traitement thermique en paliers

2 Comportement en température des revêtements phosphocalciques électrodéposés

Le traitement en température des céramiques phosphocalciques élaborées en milieu aqueux modifie leurs propriétés structurales et morphologiques qui influencent leur comportement en milieu physiologique [66]. Par exemple, Legeros *et al.* ont observé un changement de la morphologie de particules de céramiques phosphocalciques provoqué par un traitement à 800 °C [67]. Harada *et al.* ont démontré que ces modifications morphologiques induisent une atténuation de la réponse inflammatoire [68]. De plus, Cavalli *et al.* ont observé des modifications structurales des particules phosphocalciques pour des températures supérieures à 750 °C [69]. Kim *et al.* ont étudié la cinétique de dissolution en milieu physiologique de particules d'hydroxyapatite en fonction de leur cristallinité et ont démontré que ces deux grandeurs sont inversement proportionnelles [70]. Cependant, les travaux consacrés au comportement des revêtements électrodéposés en fonction de la température sont rares. Nous avons donc réalisé des traitements thermiques suivis d'une caractérisation structurale et morphologique des revêtements présentés dans la première partie.

2.1 Analyse structurale

Comme nous l'avons vu dans la première partie, les revêtements phosphocalciques électrodéposés présentent une stœchiométrie variable. Lors d'un traitement thermique post-électrodéposition, des modifications structurales apparaissent traduisant une augmentation de la cristallinité qu'il est nécessaire de quantifier.

2.1.1 Diffraction des rayons X

Pour réaliser cette étude, les revêtements ont été séparés du substrat métallique par grattage, puis la poudre obtenue a été traitée à différentes températures jusqu'à 1000 °C. Les figures 42, 43 et 44 présentent l'évolution des diffractogrammes de rayons X obtenus. Le taux de cristallinité correspondant est calculé à partir de chaque diffractogramme en utilisant la méthode décrite dans la norme NF ISO 13779-3 (cf. annexe 2b). Les figures 42 et 43 concernent les revêtements d'hydroxyapatite déficitaire en calcium Ca-def HAP obtenus à partir d'un électrolyte contenant 0% et 6% d'H₂O₂ et la figure 44 concerne le revêtement d'hydroxyapatite stœchiométrique HAP obtenu à partir d'un électrolyte contenant 9% d'H₂O₂.

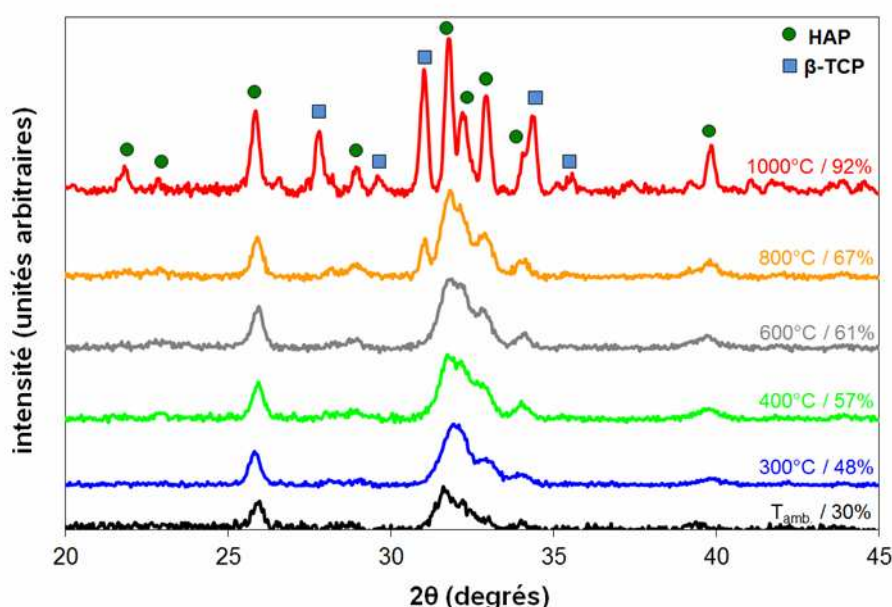


Figure 42 : évolution en fonction de la température de traitement du diffractogramme de rayons X et du taux de cristallinité du revêtement phosphocalcique électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène

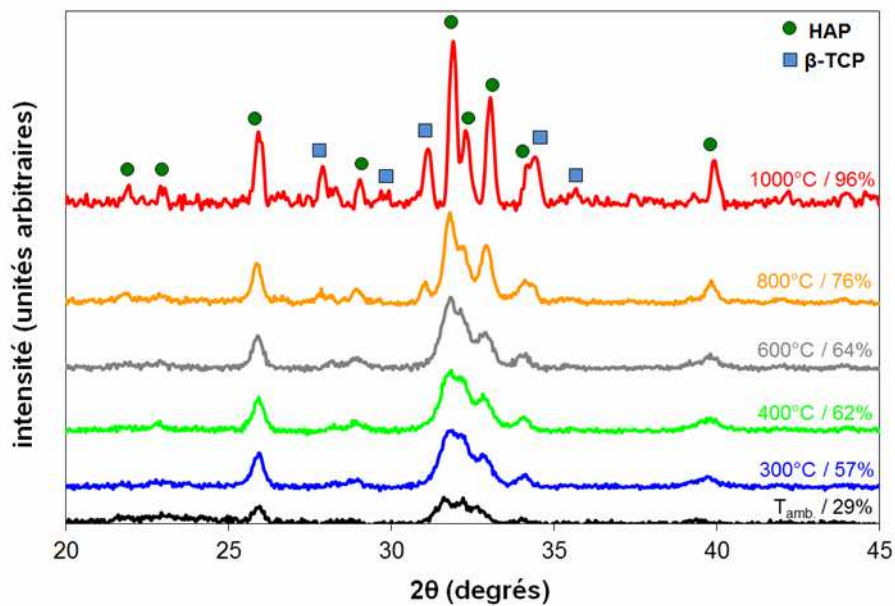


Figure 43 : évolution en fonction de la température de traitement du diffractogramme de rayons X et du taux de cristallinité du revêtement phosphocalcique électrodéposé avec 6% en volume de peroxyde d'hydrogène

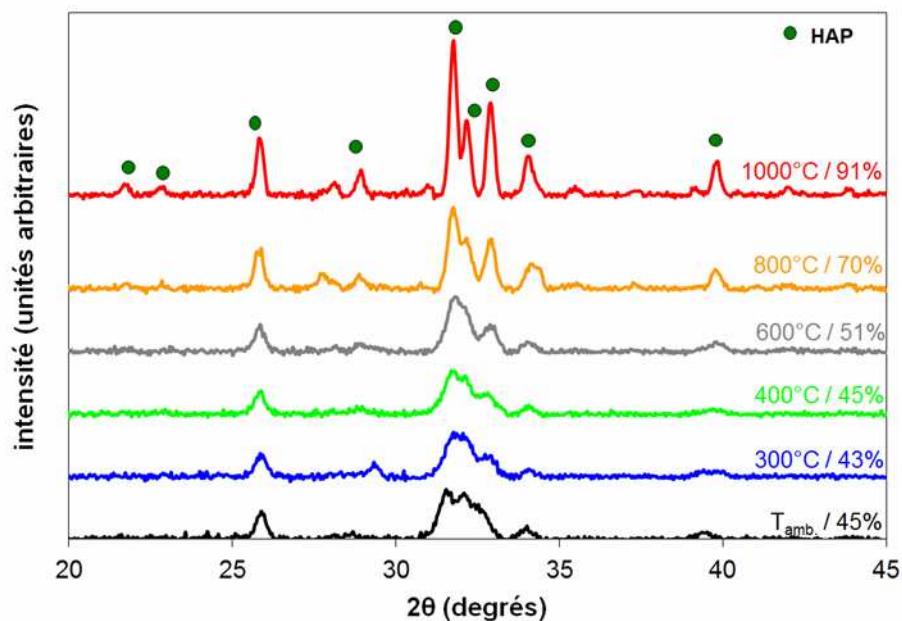


Figure 44 : évolution en fonction de la température de traitement du diffractogramme de rayons X et du taux de cristallinité du revêtement phosphocalcique électrodéposé avec 9% en volume de peroxyde d'hydrogène

Ces diffractogrammes indiquent clairement qu'avant traitement thermique, les revêtements sont constitués d'une phase apatitique faiblement cristallisée quel que soit l'électrolyte utilisé. Le traitement thermique améliore leur taux de cristallinité et révèle à partir de 800 °C les phases présentes dans le revêtement. Dans le cas des revêtements Ca-def HAP, les phases présentes sont l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique β , dont les proportions dépendent de la stœchiométrie de la phase apatitique électrodéposée. Ces résultats sont en accord avec ceux de Pattanayak *et al.* qui indiquent qu'une apatite déficiente en calcium traitée à une température supérieure à 800 °C cristallise en un mélange biphasé d'hydroxyapatite et de phosphate tricalcique [71]. À 1000 °C, les diffractogrammes présentent des pics fins caractéristiques d'une structure cristallisée (le taux de cristallinité du revêtement est alors proche de 100%) et des phases parfaitement identifiées.

2.1.2 Diffraction électronique

Afin de compléter l'analyse structurale, nous avons réalisé des diagrammes de diffraction électronique associés aux micrographies en champ clair obtenues en microscopie électronique en transmission (MET).

Ces analyses ont été effectuées sur les revêtements non traités en température et sur ceux traités à 1000 °C dont les cristallinités sont bien distinctes. Les micrographies et les diagrammes de diffraction sont présentés sur les figures 45 et 46.

Sans traitement thermique (Figures 45-a et 46-a), les diagrammes de diffraction sont composés d'anneaux diffus qui confirment la faible cristallinité des revêtements phosphocalciques observée en diffraction des rayons X. Après traitement thermique (Figures 45-b et 46-b), les diagrammes de diffraction sont constitués d'anneaux pointés traduisant une structure polycristalline et confirmant l'augmentation du taux de cristallinité observée en diffraction des rayons X. Des différences entre ces deux diagrammes sont cependant notables: pour le revêtement Ca-def HAP on observe une densité de taches nettement plus élevée que pour le revêtement HAP en accord avec les structures biphasées ou monophasées observées en diffraction des rayons X.

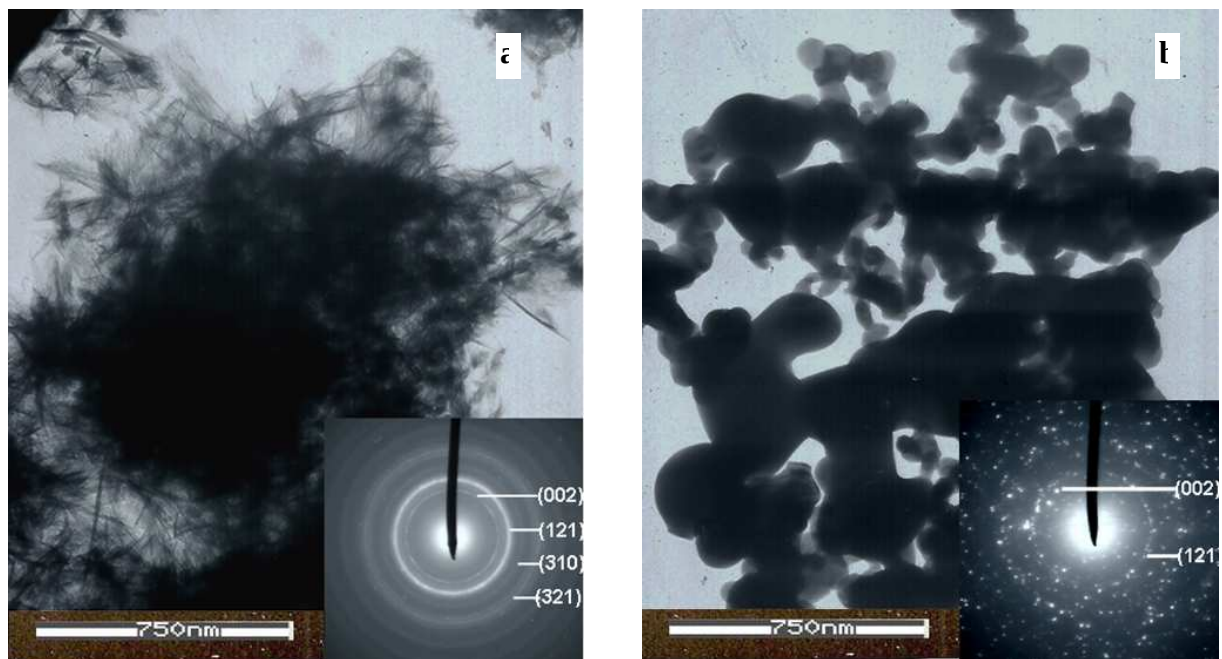


Figure 45: observation en MET et diffraction électronique du revêtement phosphocalcique électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène avant (a) et après traitement à 1000 °C (b)

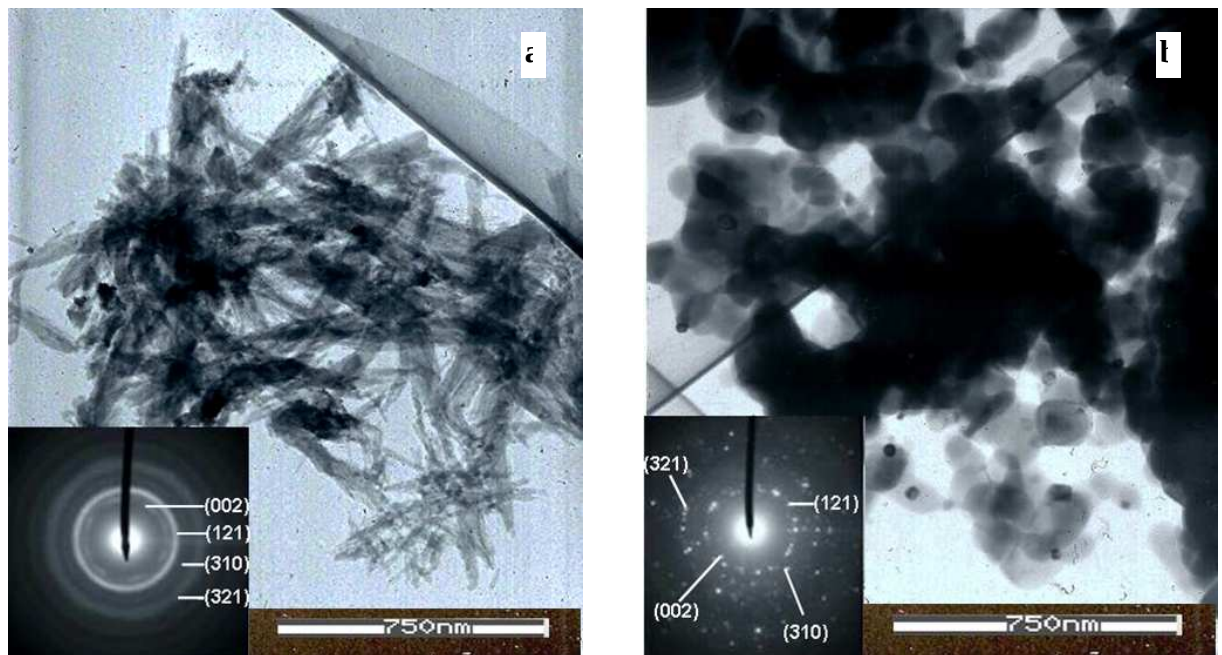


Figure 46 : observation en MET et diffraction électronique du revêtement phosphocalcique électrodéposé avec 9% de peroxyde d'hydrogène avant (a) et après traitement à 1000 °C (b)

2.2 Analyses morphologiques

Afin de rendre compte des modifications morphologiques des revêtements électrodéposés en fonction de la température de traitement, nous avons réalisé des observations par microscopie électronique à balayage-transmission (MEBT) présentées sur la figure 47.

Avant traitement thermique, on observe que les revêtements sont constitués de fines aiguilles agglomérées d'environ 200 nanomètres de longueur. Cette morphologie reste inchangée jusqu'à 600 °C, mais à partir de 700 °C, les aiguilles s'agglomèrent pour former des sphères d'environ 200 nanomètres de diamètre. À 1000 °C, le revêtement est complètement constitué de sphères, synonyme d'une cristallisation totale telle qu'elle a été observée par les analyses structurales.

Ces résultats concernent le revêtement électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène, mais nous avons constaté que les modifications morphologiques observées sous l'effet de la température sont similaires pour les deux autres types de revêtements.

Les études du comportement en température des revêtements phosphocalciques électrodéposés permettent de constater que pour obtenir un revêtement cohésif dont le taux de cristallinité est élevé, il est nécessaire de le traiter à une température élevée pouvant atteindre 1000 °C. Cependant, dans le cas d'un matériel prothétique (revêtement sur alliage de titane), il faut prendre en considération le comportement en température du substrat qui est différent de celui du revêtement, en particulier pour les zones de la prothèse qui ne sont pas revêtues d'un phosphate de calcium. C'est l'objet de la partie suivante.

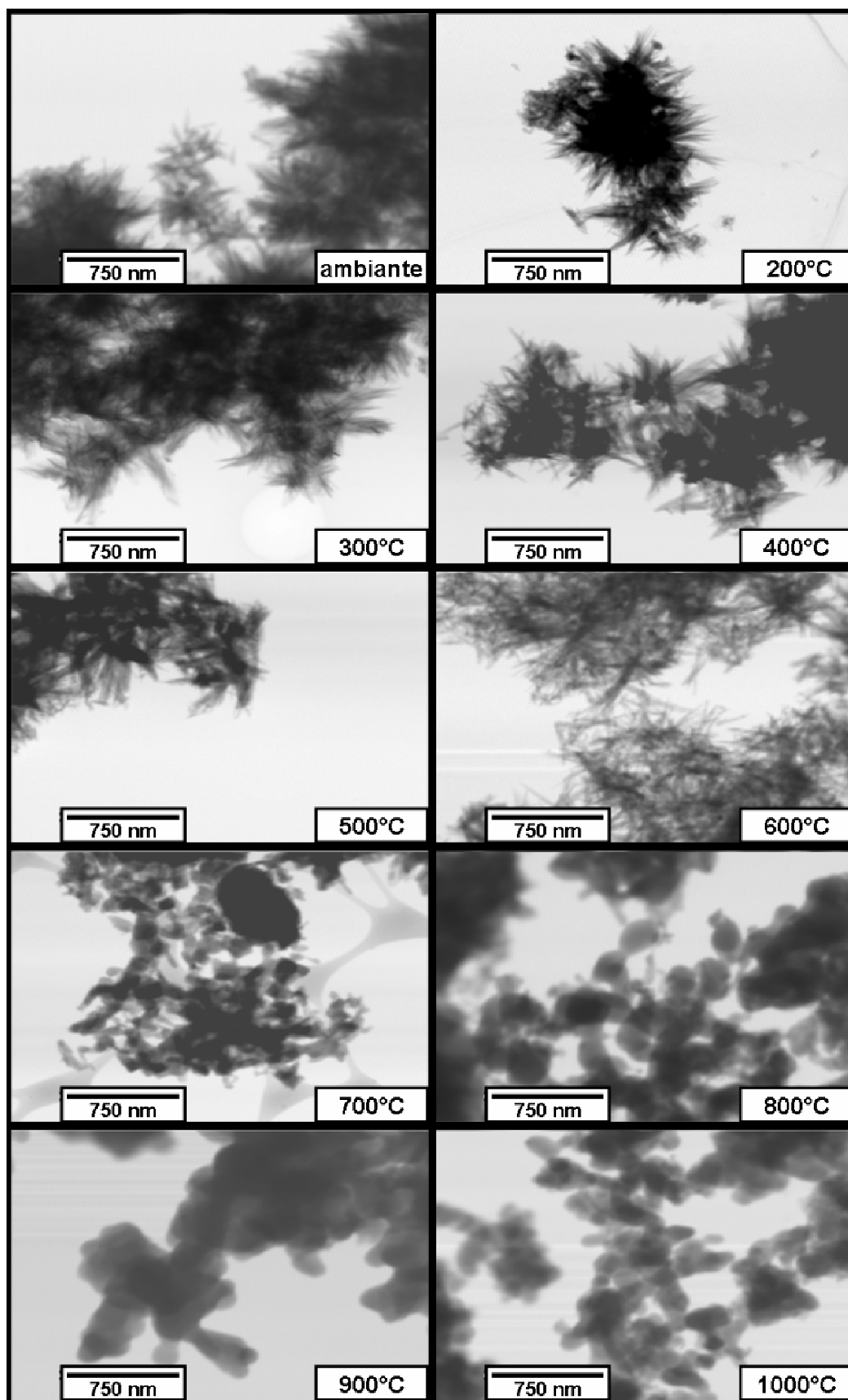


Figure 47: observation en MEBT de l'évolution de la morphologie des revêtements phosphocalciques électrodéposés en fonction de la température de traitement

3 Comportement en température de l'alliage Ti6Al4V

Les alliages de titane présentent naturellement en surface une couche d'oxyde très adhérente et très dure de quelques nanomètres d'épaisseur [72]. De nombreuses études ont montré que le traitement thermique sous air des alliages de titane à une température suffisamment élevée conduit à l'épaississement de cette couche d'oxyde qui devient très friable [73-76]. Geetha *et al.* expliquent que la friabilité de cette couche d'oxyde produit au sein de l'organisme des débris difficiles à résorber qui induisent une réponse inflammatoire élevée [77]. Il est donc nécessaire d'optimiser le traitement en température de l'alliage Ti6Al4V afin de ne conserver que la fine couche d'oxyde présente à l'état naturel.

L'alliage Ti6Al4V utilisé comme substrat pour l'électrodéposition de revêtements prothétiques a été traité à différentes températures jusqu'à 1000 °C. L'évolution morphologique de la surface a été observée en microscopie électronique à balayage (Figure 48). Ces micrographies permettent de constater que jusqu'à 600 °C la surface de l'alliage reste inchangée, alors qu'à partir de 700 °C une couche de surface apparaît dont l'épaisseur semble augmenter avec la température de traitement. Pour caractériser cette couche et déterminer son évolution en fonction de la température, des spectres d'émission X ont été réalisés puis superposés sur la figure 49.

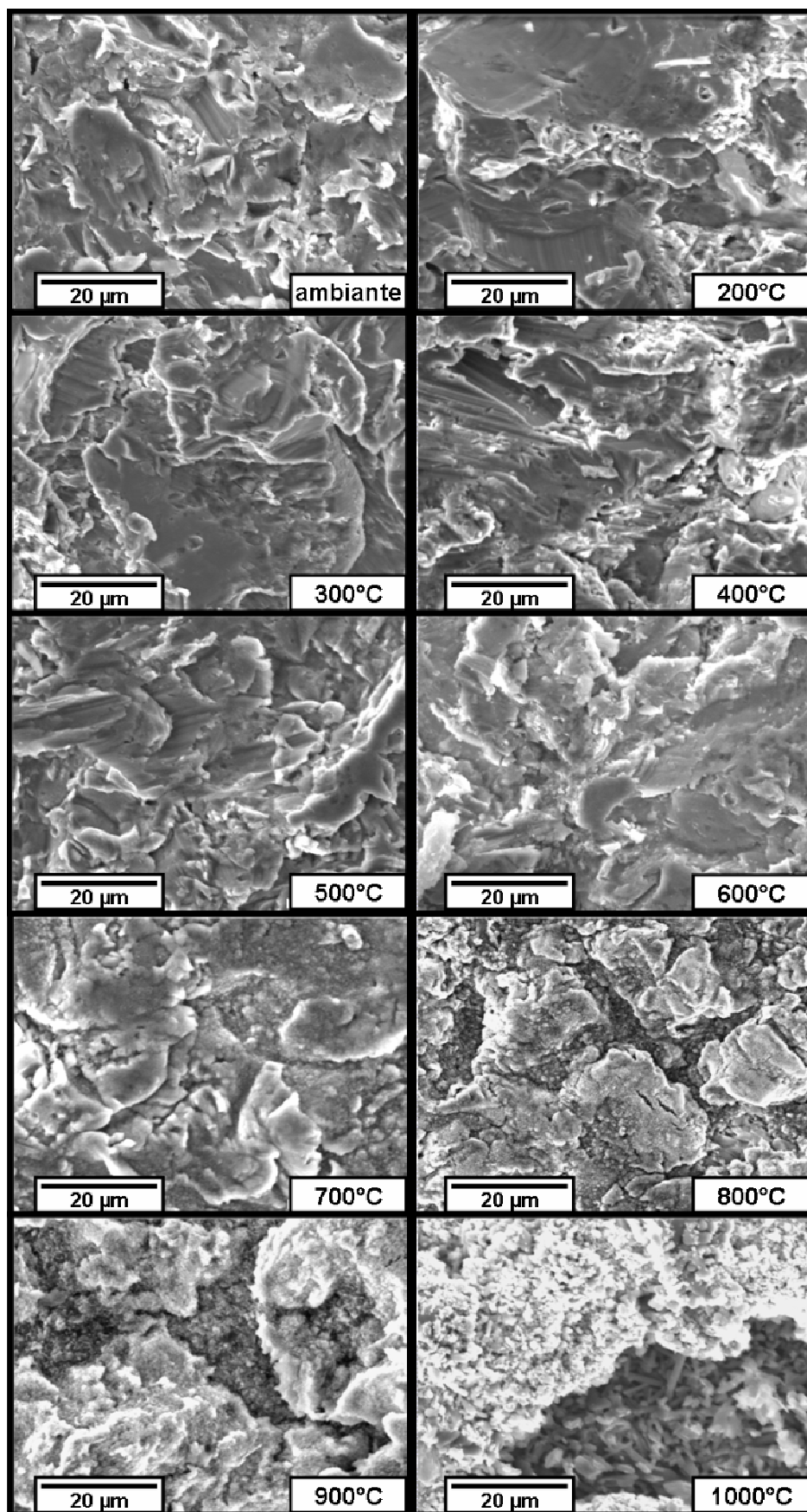


Figure 48: observations en MEB de la surface de l'alliage Ti6Al4V en fonction de la température de traitement

On observe que les spectres d'émission X des échantillons traités à 200 °C, 300 °C, 400 °C et 500 °C sont similaires au spectre d'émission X d'un échantillon brut. À partir de 600 °C, les pics K_{α} de l'oxygène et de l'aluminium augmentent avec la température de traitement alors que les pics K_{α} du titane et du vanadium diminuent. L'augmentation du pic K_{α} de l'oxygène est caractéristique de la présence d'une couche d'oxyde de plus en plus épaisse à la surface de l'alliage. Par ailleurs, l'augmentation du pic K_{α} de l'aluminium suggère que cette couche est constituée d'oxyde d'aluminium. En effet, les résultats de la microanalyse X quantitative résumés dans le tableau 2 indiquent qu'à partir de 600 °C la proportion massique en aluminium augmente de manière significative jusqu'à atteindre à 1000 °C plus de quatre fois la proportion initiale.

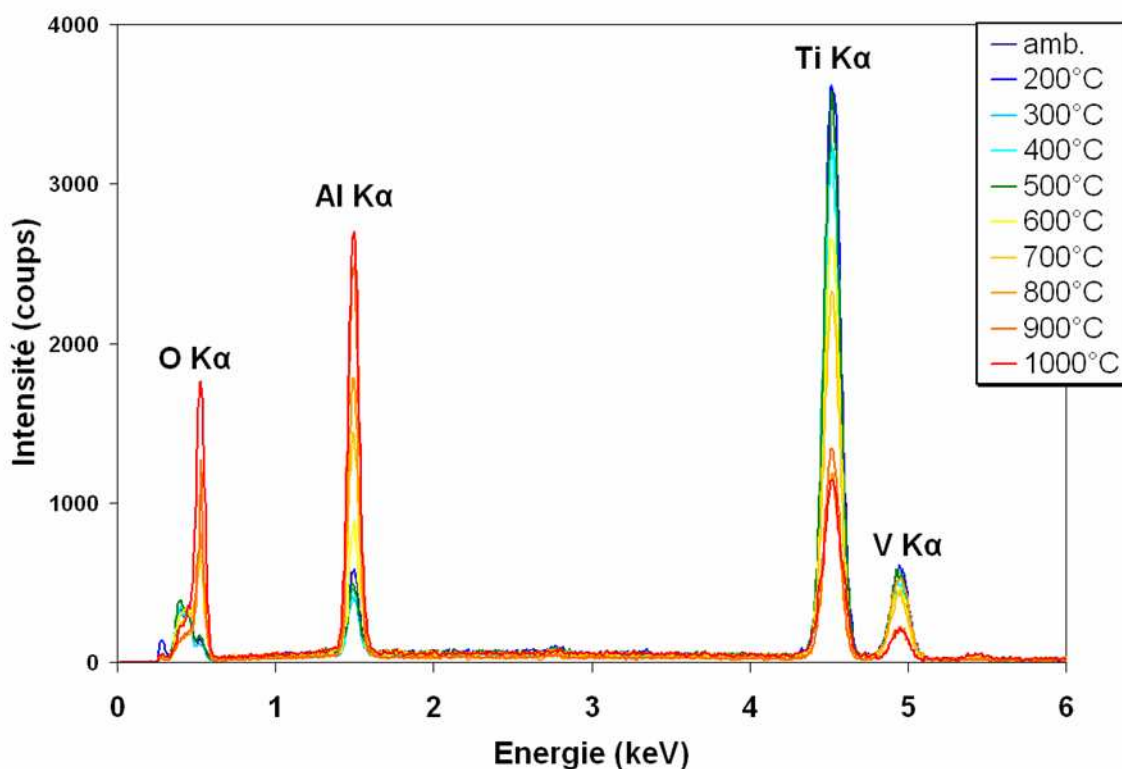


Figure 49 : spectre d'émission X de l'alliage Ti6Al4V en fonction de la température de traitement

Tableau 2 : proportions massiques obtenues par microanalyse X des éléments constitutifs de l'alliage Ti6Al4V en fonction de la température de traitement

	Ti (%)	Al (%)	V (%)
Ti6Al4V non traité en température	89,1	8,0	2,9
Ti6Al4V traité à 200 °C	88,9	8,2	2,9
Ti6Al4V traité à 300 °C	88,9	8,3	2,8
Ti6Al4V traité à 400 °C	89,3	7,9	2,8
Ti6Al4V traité à 500 °C	89,0	8,1	2,9
Ti6Al4V traité à 600 °C	86,6	10,4	3,0
Ti6Al4V traité à 700 °C	81,1	16,2	2,7
Ti6Al4V traité à 800 °C	68,7	28,7	2,6
Ti6Al4V traité à 900 °C	63,8	34,1	2,1
Ti6Al4V traité à 1000 °C	63,3	34,7	2,0

Afin de comprendre l'origine et la forte augmentation de la couche d'alumine en surface, nous avons réalisé une coupe transversale de l'alliage oxydé à 800 °C. Outre l'observation en microscopie électronique à balayage, des cartographies d'intensité X élémentaires ont été acquises dans les conditions expérimentales définies en introduction (Figure 50).

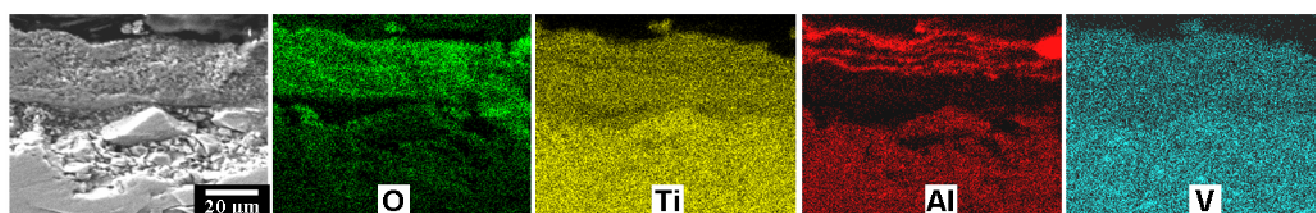


Figure 50 : image MEB et cartographies X de la coupe transversale de l'alliage Ti6Al4V oxydé à 800 °C

Les résultats obtenus révèlent la présence d'une couche superficielle d'oxyde d'environ 20 μm d'épaisseur qui semble être constituée d'un mélange d'oxyde de titane, d'oxyde d'aluminium et d'oxyde de vanadium. La répartition des oxydes de titane et de vanadium est homogène au sein de la couche, mais l'oxyde d'aluminium présente la particularité d'être formé de plusieurs strates espacées les unes des autres et séparées de la surface de l'alliage. L'image en électrons secondaires permet d'observer également que la surface de l'alliage en contact avec la couche d'oxyde est fragmentée sur une profondeur importante (environ 20 μm).

Selon Du *et al.* [78] l'absence d'aluminium dans la première partie de la couche d'oxyde est expliquée par une différence d'activité du titane et de l'aluminium responsable de la différence des vitesses de formation de leurs oxydes respectifs durant le traitement en température.

Garbacz *et al.* [79] ont étudié les modifications microstructurales de différents alliages de titane lors de traitements à l'air à 900 °C. Ils ont constaté l'émiettement de l'alliage en surface et l'ont associé à la mauvaise adhérence de la couche d'oxyde sur le substrat dont elle est issue. D'autre part, la différence importante des coefficients de dilatation thermique entre l'alliage métallique et la couche d'oxyde explique, selon ces auteurs, la séparation entre le substrat et la couche d'oxyde lors du refroidissement.

À partir de l'ensemble de ces résultats, nous pouvons indiquer que pour ne pas détériorer l'implant prothétique et l'adhésion du revêtement lors du traitement thermique à l'air, il faudra limiter le traitement à une température inférieure à 600 °C.

Nous avons donc retenu une température de 550 °C que nous avons appliquée au système revêtement/substrat pour la suite de ces travaux.

4 Caractérisation de l'interface substrat / revêtement à la température optimisée

Les micrographies de la figure 51 (microscopie optique) et de la figure 52 (microscopie électronique à balayage) présentent l'interface substrat / revêtement avant et après un traitement à la température optimisée à 550 °C.

Avant le traitement thermique, un décollement du revêtement est observable aussi bien en microscopie électronique à balayage (Figure 52a) qu'en microscopie optique (Figure 51a). Après le traitement thermique, un lien continu entre le substrat et le revêtement est clairement visible (Figure 51b et Figure 52b). Le décollement constaté pour les échantillons non traités résulte de la préparation des coupes transverses : l'inclusion en résine polymérisable, la coupe et le polissage sont des étapes de la préparation qui génèrent de fortes contraintes mécaniques dans l'échantillon. Cependant, avec un protocole de préparation identique, ce décollement n'a pas lieu pour l'échantillon traité en température, ce qui souligne la nette augmentation de la force d'adhésion du revêtement au substrat. En effet, les mesures des forces d'adhésion réalisées selon le protocole décrit dans l'introduction donnent une valeur de $9,3 \pm 0,5$ MPa pour un échantillon non traité et une valeur de $16,5 \pm 0,9$ MPa pour un échantillon traité à 550°C. Cette valeur est suffisante pour respecter la norme pour implants chirurgicaux ISO 13779-2.

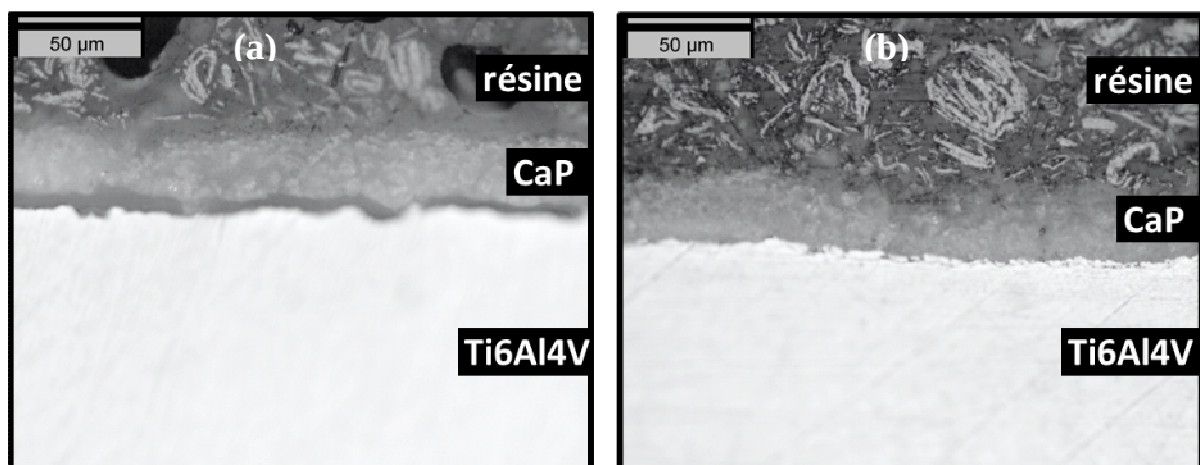


Figure 51 : observation en microscopie optique de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique sans traitement thermique (a), avec un traitement à l'air d'une heure à 550 °C (b)

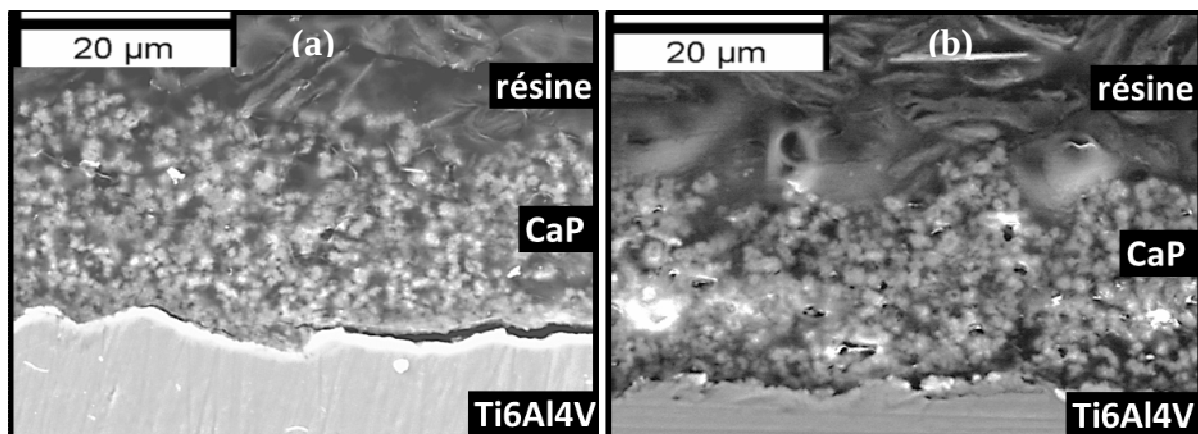


Figure 52 : observation en MEB de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique sans traitement thermique (a) et avec un traitement à l'air d'une heure à 550 °C (b)

Pour aller plus loin dans les investigations de l'interface, les figures 53 et 54 présentent les cartographies élémentaires d'intensité X de la coupe transverse avant et après le traitement thermique à 550 °C. Ces cartographies permettent d'observer que l'homogénéité de répartition des éléments calcium et phosphore dans le revêtement est préservée après le traitement à 550 °C. De plus, une légère diminution de l'épaisseur du revêtement (de 25 µm à 20 µm) traduit une amélioration de sa compacité.

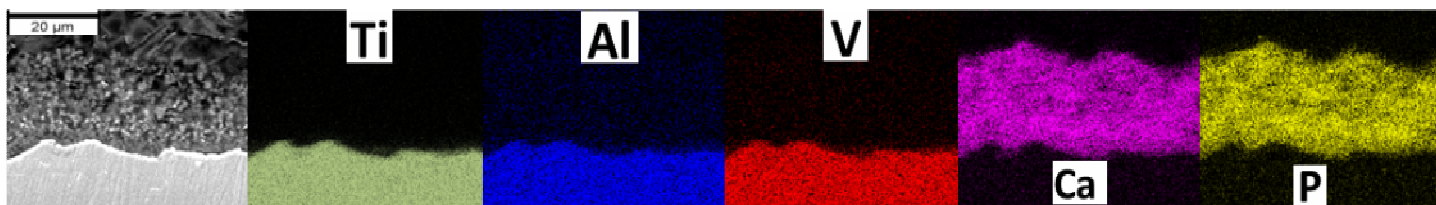


Figure 53: image MEB et cartographie X de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique

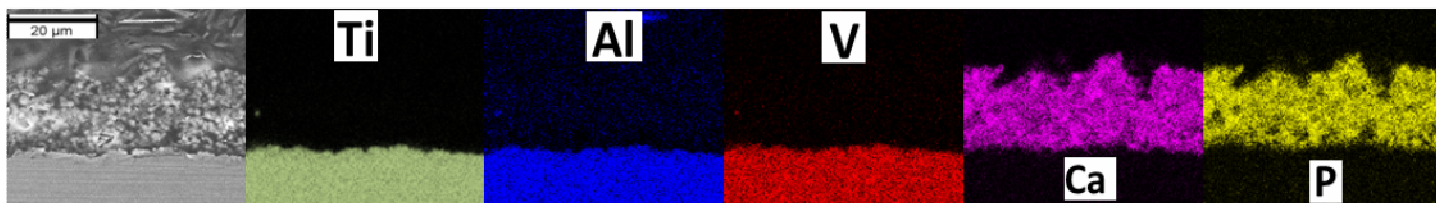


Figure 54 : image MEB et cartographie X de l'interface alliage de titane / revêtement phosphocalcique après traitement à 550 °C

5 Conclusion

L'étude présentée dans cette partie a mis en évidence les modifications structurales et morphologiques des revêtements phosphocalciques lors de leur traitement thermique à l'air. Une morphologie en sphères liée à l'augmentation de la cristallinité et de la compacité des revêtements a été observée au-delà de 700 °C. Cependant, l'étude en température de l'alliage Ti6Al4V a révélé la limite de traitement accessible sous air, car à partir de 600 °C, une couche d'oxyde épaisse et friable apparaît en surface. Ainsi, une température de 550 °C a été retenue pour le traitement thermique post-électrodéposition.

À cette température, un meilleur lien entre le substrat et le revêtement phosphocalcique électrodéposé a été observé tout en conservant l'homogénéité de ce dernier. De plus, ce traitement thermique a permis d'augmenter l'adhésion du revêtement au substrat de 9,3 MPa à 16,5 MPa, valeur suffisante pour répondre aux critères normalisés pour les implants chirurgicaux.

Les études présentées dans cette partie ont permis de finaliser l'élaboration de revêtements prothétiques par électrodéposition. Cependant, pour aboutir à un produit implantable en chirurgie orthopédique, il est nécessaire de tester sa biocompatibilité, c'est-à-dire d'étudier son comportement vis-à-vis de la corrosion en milieu physiologique ou encore les réactions de dissolution/précipitation qui ont lieu. Ces travaux font l'objet de la partie suivante.

Troisième partie: Étude du comportement en milieu physiologique artificiel des revêtements phosphocalciques électrodéposés

1 Introduction

Lorsqu'un matériel prothétique est implanté, sa surface est le lieu d'interactions physico-chimiques avec le milieu environnant. Les fluides corporels sont notamment constitués d'anions, de cations et de dioxygène dissous qui confèrent au milieu physiologique des propriétés très corrosives [80]. Mu *et al.* ont étudié la corrosion d'un implant en alliage de titane immergé en milieu physiologique et ont observé qu'elle produit un relargage ionique continu jusqu'à 28 jours d'immersion [81]. Guibert *et al.* ont relevé lors d'une étude réalisée *in vivo*, la présence de titane, d'aluminium et de vanadium sur plusieurs millimètres de profondeur dans les tissus entourant un implant métallique en Ti6Al4V [82]. Eisenbarth *et al.* ont évalué la cytotoxicité de ces relargages ioniques et ont montré qu'ils entraînent une diminution de la prolifération cellulaire conjointe à une augmentation de la réponse inflammatoire [83,84].

Cependant, lorsqu'un alliage de titane est revêtu d'un phosphate de calcium, une atténuation de la corrosion est généralement constatée [85,86]. Il est donc nécessaire de quantifier l'influence des revêtements électrodéposés sur le comportement vis-à-vis de la corrosion de l'alliage Ti6Al4V.

Par ailleurs, lorsqu'ils sont immergés en milieu physiologique, les phosphates de calcium subissent une dissolution partielle. La sursaturation ionique locale qui en résulte entraîne la précipitation d'une nouvelle phase apatitique dont le rôle est d'assurer un lien continu avec les tissus osseux environnants [87-89]. Ce comportement correspond à la bioactivité d'un implant selon la définition proposée par Hench [90].

Ainsi, dans cette partie, nous présentons une étude du comportement vis-à-vis de la corrosion des matériaux élaborés et caractérisés dans les parties précédentes (HAP/Ti6Al4V et Ca-def HAP/Ti6Al4V), suivie d'une étude de la cinétique des réactions de dissolution et de précipitation en milieu physiologique.

2 Étude du comportement vis-à-vis de la corrosion de l'alliage Ti6Al4V revêtu par électrodéposition en mode courant pulsé

Le comportement vis-à-vis de la corrosion des systèmes HAP/Ti6Al4V et Ca-def HAP/Ti6Al4V a été étudié dans trois milieux physiologiques artificiels, le S.B.F. (Simulated Body Fluid) [91], le D.M.E.M. (Dulbecco's Modified Eagle Medium) [92] et la solution de Ringer [93], dont les compositions sont présentées dans le tableau de l'annexe 3. Ces milieux physiologiques sont des solutions aqueuses composées des ions présents dans le plasma sanguin. Le D.M.E.M. présente la particularité d'être également constitué d'autres éléments physiologiques du milieu corporel : du glucose, des acides aminés et des vitamines. Ces éléments confèrent au D.M.E.M. la composition la plus proche de celle du plasma sanguin. Le S.B.F. et la solution de Ringer sont des milieux physiologiques qui peuvent être préparés facilement au sein d'un laboratoire de recherche, mais ils sont cependant sujets à de nombreuses critiques de la part de la communauté biologiste du fait de l'absence d'éléments physiologiques [94]. La comparaison des résultats obtenus dans les trois milieux nous permettra de conclure sur la pertinence des études menées en S.B.F. et en solution de Ringer.

Expérimentalement, les échantillons sont immergés dans les milieux physiologiques dont la température est maintenue à 37 °C et leur comportement vis-à-vis de la corrosion est étudié par une méthode stationnaire (en appliquant un courant continu) conduisant à la représentation de Tafel des courbes de polarisation, et par une méthode dynamique (en appliquant un courant variable en fréquence), la spectroscopie d'impédance électrochimique (S.I.E.).

2.1 Courbe de polarisation : représentation de Tafel

La représentation de Tafel des courbes de polarisation permet de mettre en évidence le potentiel de corrosion ($E_{\text{corr.}}$) et le courant de corrosion ($i_{\text{corr.}}$) d'une interface solide / liquide. Le potentiel de corrosion correspond à la valeur prise par l'interface à courant nul et le courant de corrosion correspond à la valeur du courant associée à l'intersection des droites de Tafel (cf. introduction).

Les figures 55 à 57 regroupent les représentations de Tafel des courbes de polarisation des systèmes HAP/Ti6Al4V et Ca-def HAP/Ti6Al4V comparées à celle de l'alliage Ti6Al4V non revêtu. Quel que soit le milieu d'immersion, le revêtement électrodéposé décale le

potentiel de corrosion E_{corr} de l'alliage vers des valeurs plus nobles. Ce décalage est davantage prononcé dans le cas du système HAP/Ti6Al4V et il est accompagné d'une diminution du courant de corrosion i_{corr} (voir Tableau 3).

Ces résultats indiquent que les revêtements phosphocalciques électrodéposés protègent l'alliage de titane contre la corrosion en milieu physiologique, particulièrement lorsqu'il s'agit du revêtement d'hydroxyapatite stœchiométrique qui est plus compact et moins poreux que le revêtement d'hydroxyapatite déficitaire en calcium.

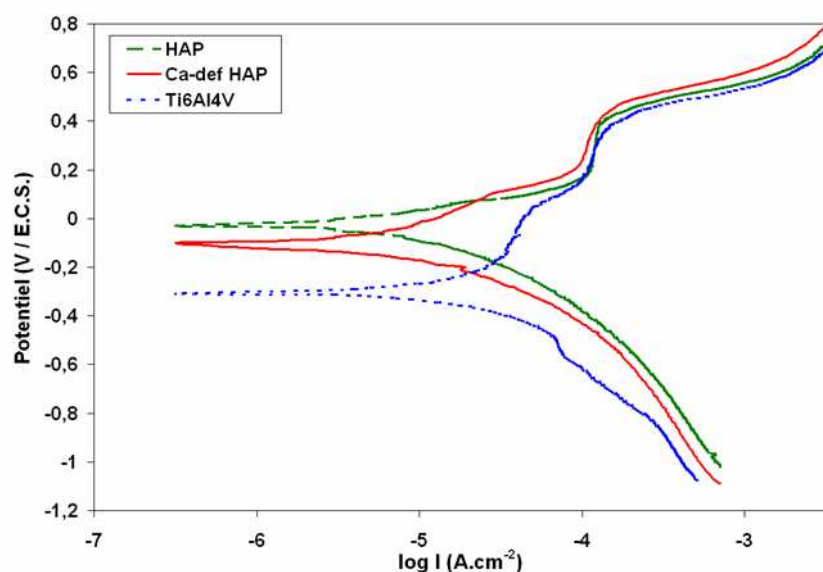


Figure 55 : courbes de polarisation réalisées en SBF

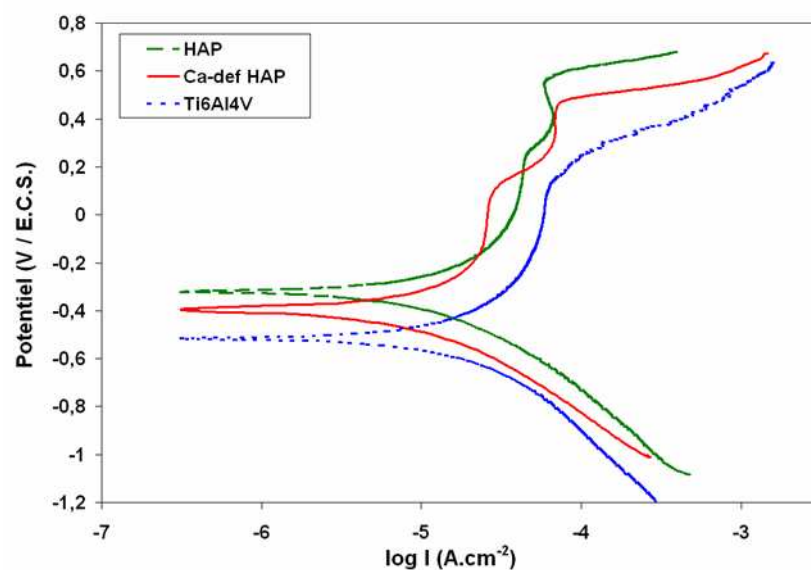


Figure 56 : courbes de polarisation réalisées en DMEM

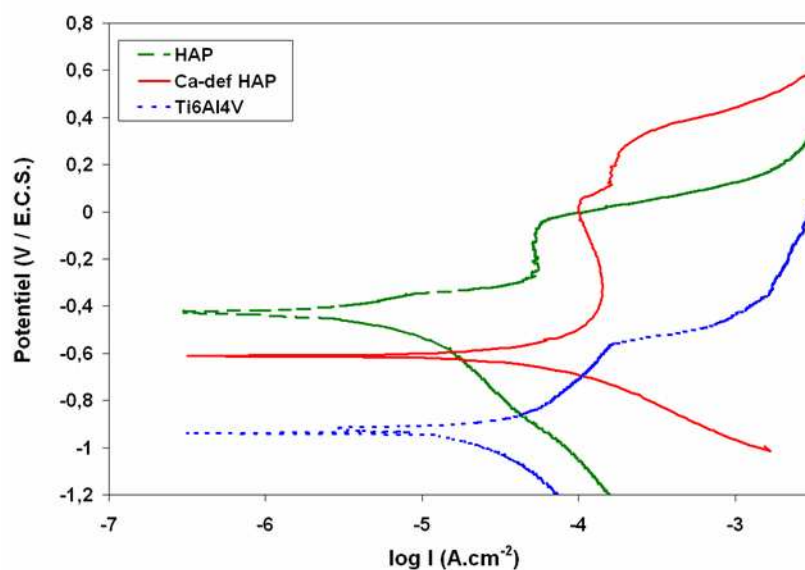


Figure 57 : courbes de polarisation réalisées en solution de Ringer

Tableau 3 : paramètres de corrosion extraits des courbes de polarisation

milieu physiologique	échantillon	E_{corr} (mV / ECS)	i_{corr} ($\mu\text{A.cm}^{-2}$)
SBF	HAP	- 33	7
	Ca-def HAP	- 99	25
	Ti6Al4V	- 308	32
DMEM	HAP	- 321	10
	Ca-def HAP	- 394	21
	Ti6Al4V	- 514	47
solution de Ringer	HAP	- 423	38
	Ca-def HAP	- 612	74
	Ti6Al4V	- 940	89

2.2 Spectroscopie d'impédance électrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique permet de décomposer les processus électrochimiques élémentaires intervenant dans le phénomène de corrosion. Les mesures d'impédance de l'alliage de titane non revêtu (Ti6Al4V) et des systèmes HAP/Ti6Al4V et Ca-def HAP/Ti6Al4V ont été réalisées en SBF, en DMEM et en solution de Ringer. Ces mesures d'impédance permettent de tracer les diagrammes de Nyquist (partie imaginaire de l'impédance de l'interface en fonction de sa partie réelle) et les diagrammes de Bode (variation du module de l'impédance et de sa phase en fonction de la fréquence du signal).

Les figures 58 à 60 présentent les diagrammes de Nyquist obtenus pour les trois échantillons dans les trois milieux physiologiques. Tous ces diagrammes présentent un demi-cercle dans la région des hautes fréquences dont le diamètre est plus important dans le cas d'échantillons revêtus, particulièrement lorsqu'il s'agit d'un revêtement d'HAP.

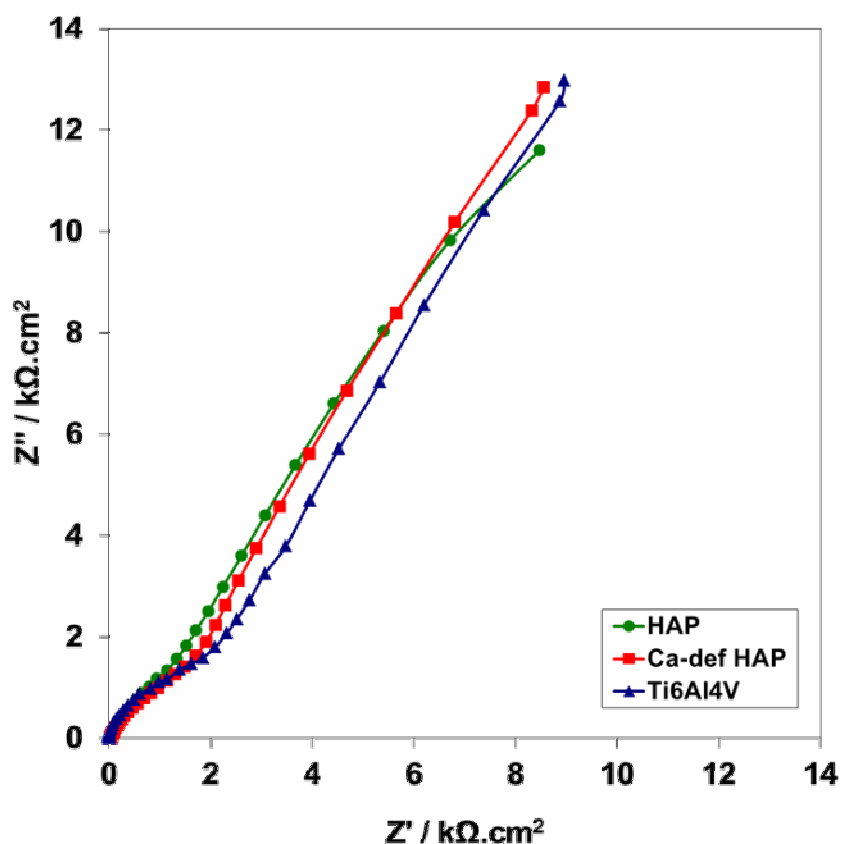


Figure 58 : diagrammes de Nyquist réalisés en SBF

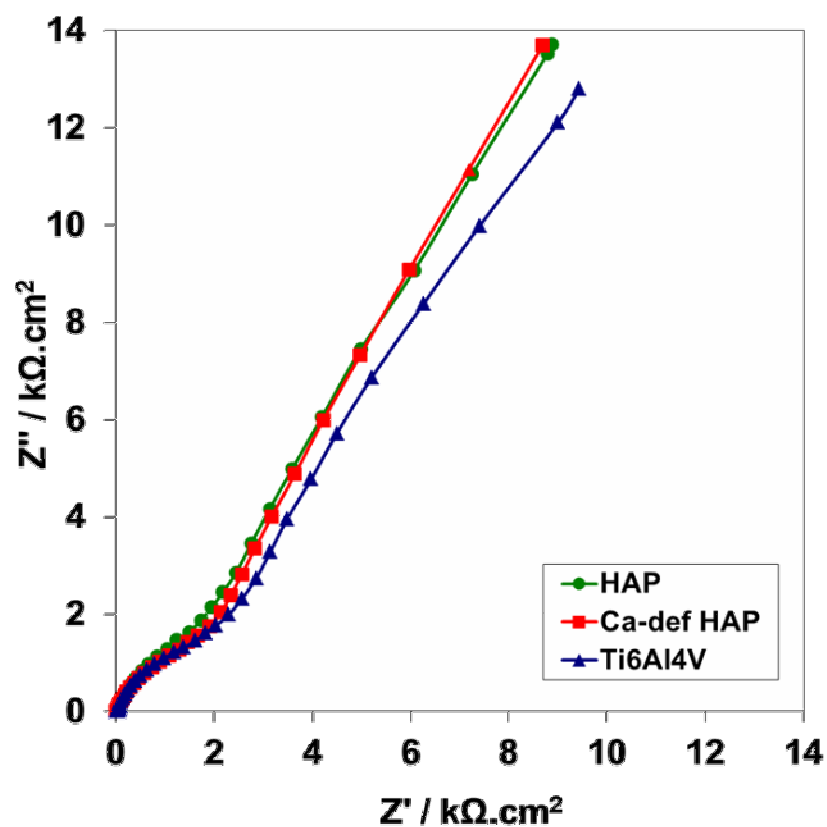


Figure 59 : diagrammes de Nyquist réalisés en DMEM

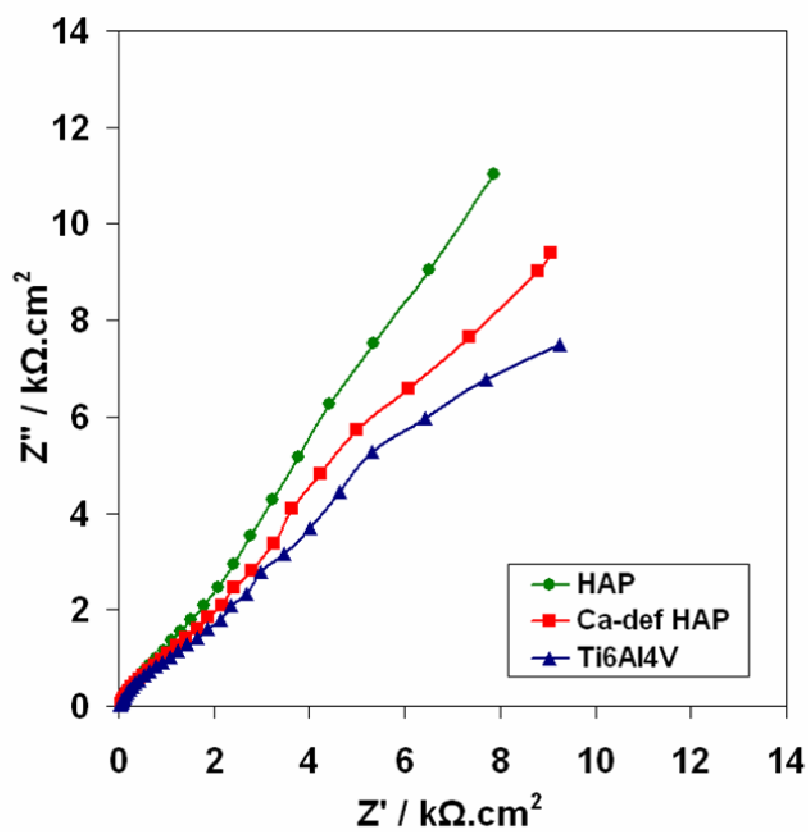


Figure 60 : diagrammes de Nyquist réalisés en solution de Ringer

Les diagrammes de Bode (impédance et phase) sont présentés sur les figures 61 à 63. Quel que soit l'échantillon ou le milieu physiologique étudié, on peut observer que le module de l'impédance diminue lorsque la fréquence augmente jusqu'à environ 100 Hz, puis reste stable au-delà. De plus, le déphasage est maximal aux basses et moyennes fréquences, puis tend vers 0 aux fréquences élevées. Selon les travaux réalisés par De Assis *et al.*, ce comportement est caractéristique d'une électrode métallique recouverte d'un film isolant, mince et poreux [95].

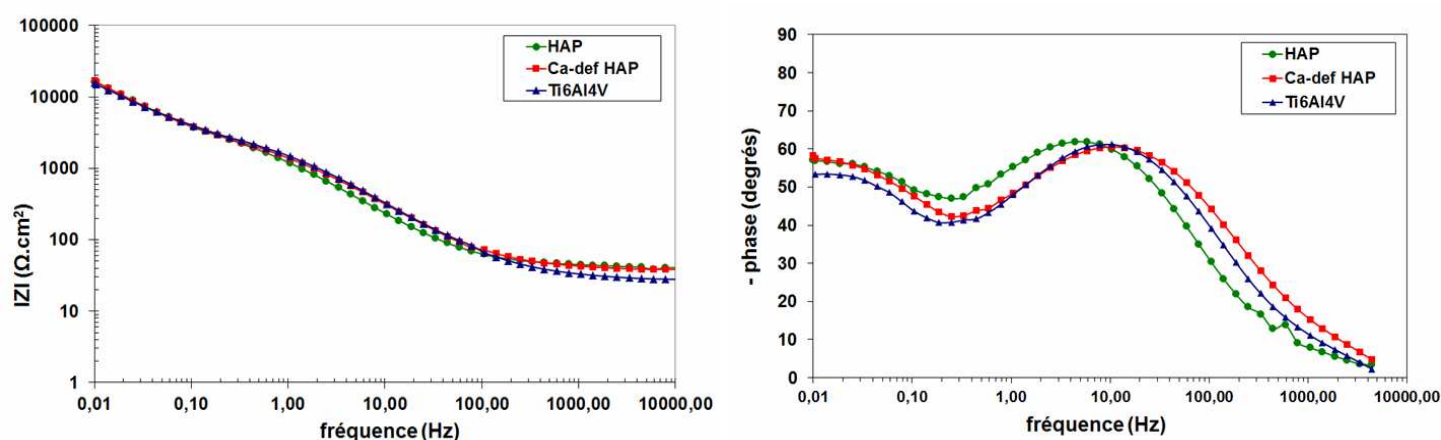


Figure 61 : diagrammes de Bode réalisés en SBF

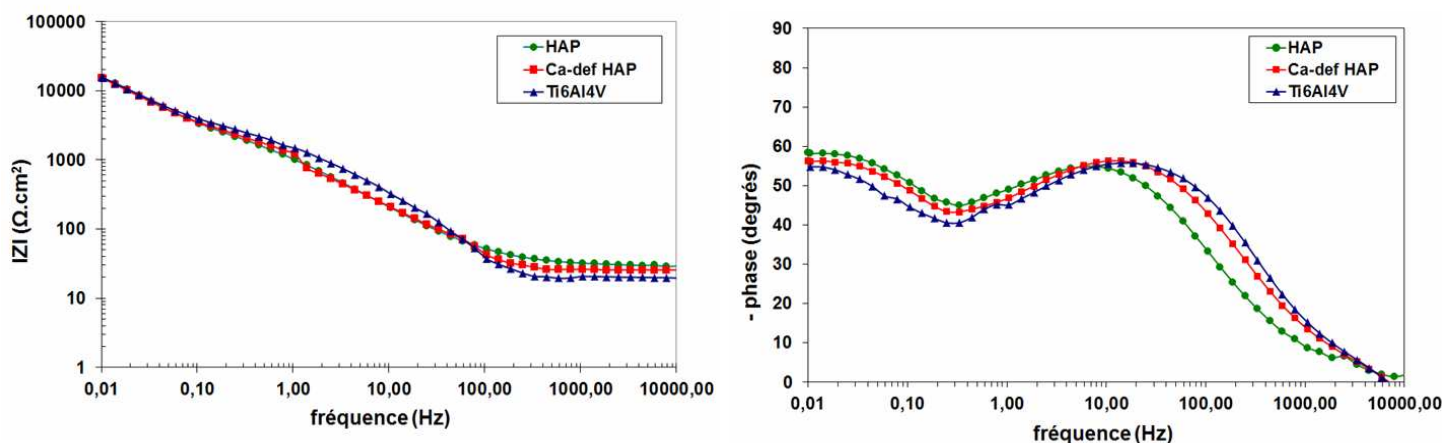


Figure 62 : diagrammes de Bode réalisés en DMEM

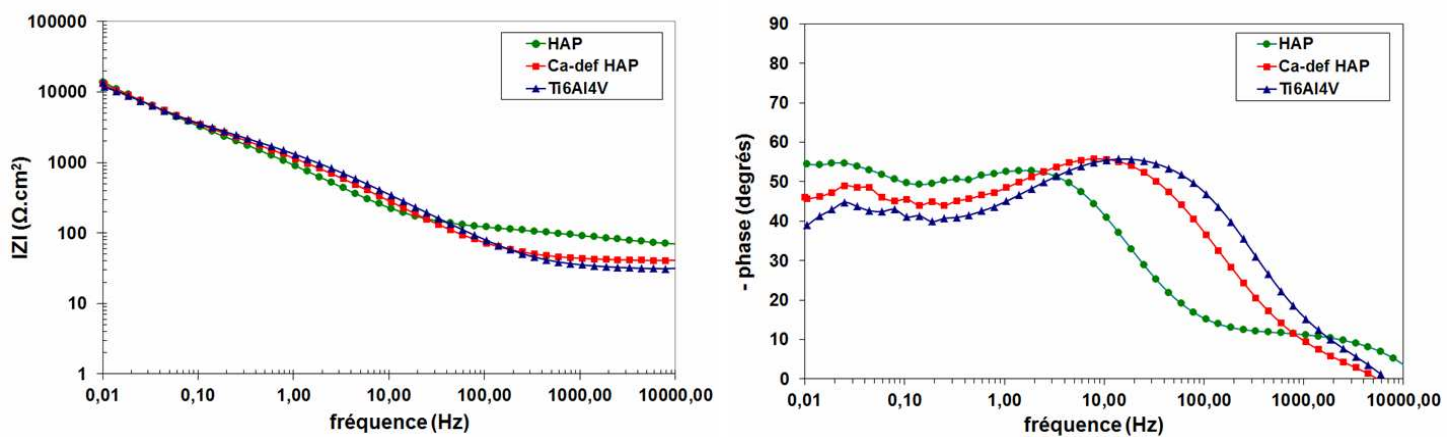


Figure 63 : diagrammes de Bode réalisés en solution de Ringer

À partir de ces résultats, nous avons modélisé à l'aide du logiciel Zview™ le comportement électrochimique de l'interface électrode/électrolyte par le circuit électrique équivalent proposé sur la figure 64.

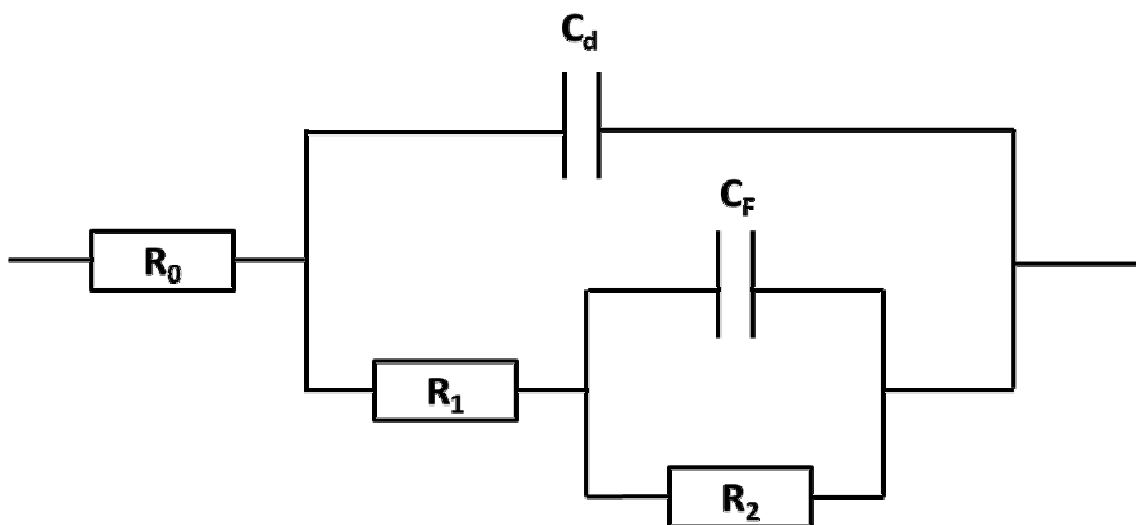


Figure 64 : circuit équivalent modélisant l'interface électrode/électrolyte

Cette modélisation permet de quantifier les processus élémentaires qui interviennent dans la corrosion de l'alliage Ti6Al4V. Ce circuit équivalent comprend les éléments suivants : R_0 la résistance de la solution, R_1 la résistance de transfert de charge, R_2 la résistance de polarisation, C_d la capacité de double couche et C_F la capacité interfaciale.

Les valeurs de ces paramètres sont résumées dans le tableau 4 pour les trois échantillons:

Tableau 4 : valeurs des composants du circuit électrique équivalent modélisant le comportement en corrosion

liquide physiologique	échantillon	R_0 (Ω)	R_1 (k Ω)	R_2 (k Ω)	C_d (μ F)	C_F (μ F)
SBF	Ti6Al4V	30,4	1,92	69,8	11,1	1706
	Ca-def HAP	31,7	2,54	140,4	24,0	1503
	HAP	29,2	3,50	154,8	48,9	665
DMEM	Ti6Al4V	39,0	3,24	84,5	29,0	1205
	Ca-def HAP	28,3	3,39	99,0	40,1	958
	HAP	42,1	4,14	115,2	46,5	746
solution de Ringer	Ti6Al4V	30,4	2,21	35,5	20,0	1288
	Ca-def HAP	40,3	2,17	83,4	31,6	960
	HAP	36,0	2,89	93,6	35,3	662

La résistance de transfert de charge R_1 et la capacité de double couche C_d sont directement liées à la vitesse de corrosion de l'alliage Ti6Al4V. D'après les travaux de Fekry *et al.*, l'augmentation de leurs valeurs indique une diminution de la vitesse de corrosion [96]. À partir des résultats présentés dans le tableau 4, on constate que lorsque l'alliage est revêtu, ces deux paramètres augmentent, notamment dans le cas d'un revêtement d'HAP par rapport à un revêtement de Ca-def HAP. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus à partir des courbes de polarisation et indiquent également que les revêtements phosphocalciques améliorent la protection contre la corrosion de l'alliage de titane.

Il faut noter que les paramètres électrochimiques ont des valeurs qui diffèrent selon le milieu physiologique utilisé, notamment $E_{corr.}$, $i_{corr.}$, R_1 et C_d . En revanche, l'évolution du comportement entre les trois systèmes est similaire. En conséquence, la solution de Ringer et le SBF se révèlent pertinents pour réaliser une étude comparative du comportement vis-à-vis de la corrosion d'implants métalliques, mais ils n'apporteront pas de résultat quantitatif reflétant le comportement *in vivo*, contrairement au DMEM.

3 Cinétique de dissolution-précipitation en DMEM des revêtements phosphocalciques électrodéposés

Lors de leur immersion en milieu physiologique les céramiques phosphocalciques subissent des réactions de dissolution-précipitation dont la cinétique dépend de leur composition chimique.

Au sein de notre laboratoire, Dumelié *et al.* ont étudié le comportement en DMEM de revêtements d'hydroxyapatite déficitaire en calcium ($\text{Ca/P} = 1,5$) électrodéposés en courant continu. Ces études ont notamment montré que les réactions de dissolution / précipitation produites en surface sont très rapides car ces revêtements possèdent une grande solubilité [97].

Ces réactions de dissolution et de précipitation entraînent des variations des concentrations en ions calcium et en ions phosphate au sein du milieu physiologique qu'il est nécessaire de quantifier car elles sont caractéristiques de l'activité biologique de l'implant. Nous avons ainsi étudié le comportement en DMEM des revêtements phosphocalciques électrodéposés en mode courant pulsé.

3.1 Évolution de la composition du DMEM en fonction des délais d'immersion

Afin de mettre en évidence le comportement des revêtements phosphocalciques électrodéposés en mode courant pulsé, les trois systèmes (Ti6Al4V non revêtu, Ca-def HAP/Ti6Al4V et HAP/Ti6Al4V) ont été immergés en DMEM maintenu à 37°C pendant différents délais: 1, 6 et 12 heures, et 1, 2, 4, 7, 14, 21 et 28 jours. Pour chaque délai et chaque échantillon les milieux physiologiques ont été analysés par ICP-AES (Induced Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy) afin de suivre l'évolution des concentrations en calcium et en phosphore dans le milieu.

Les figures 65 et 66 présentent l'évolution des concentrations en calcium et en phosphore dans le milieu physiologique (notées $(\text{Ca})_{\text{délai}}$ et $(\text{P})_{\text{délai}}$) rapportées aux concentrations initiales (notées $(\text{Ca})_{\text{DMEM}}$ et $(\text{P})_{\text{DMEM}}$) pour les trois systèmes. Les résultats obtenus indiquent que l'alliage Ti6Al4V non revêtu ne modifie pas la composition du liquide physiologique pendant les 28 jours de l'étude.

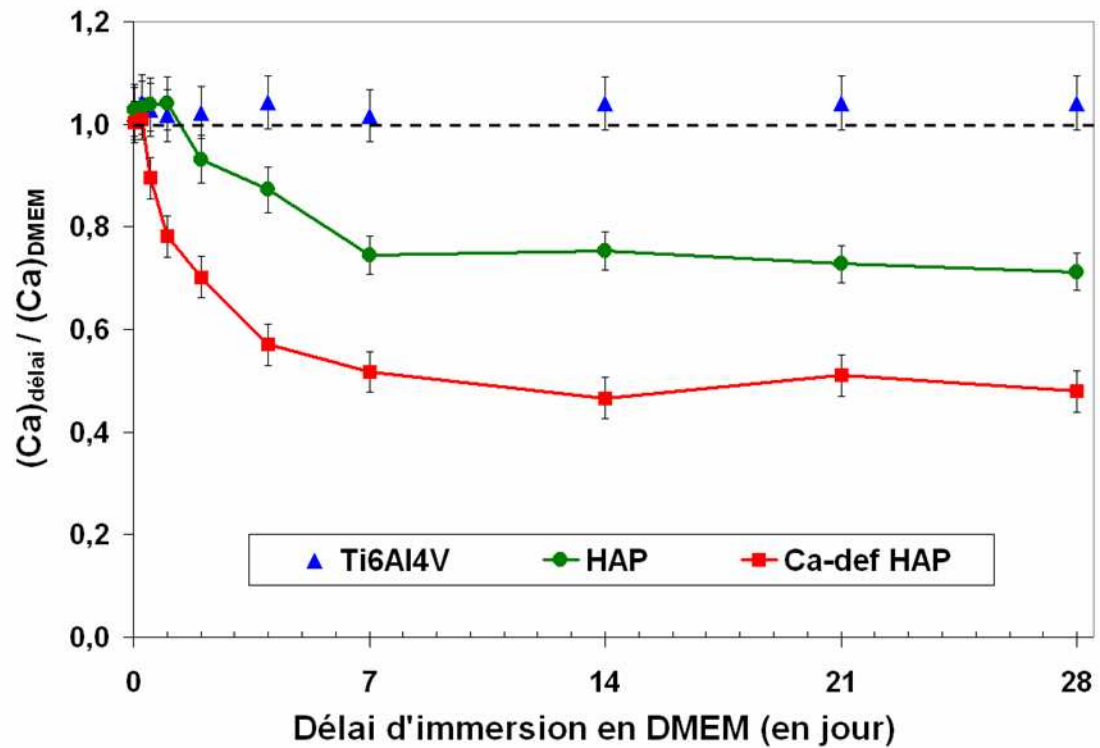


Figure 65 : évolution de la concentration en calcium en fonction du temps d'immersion

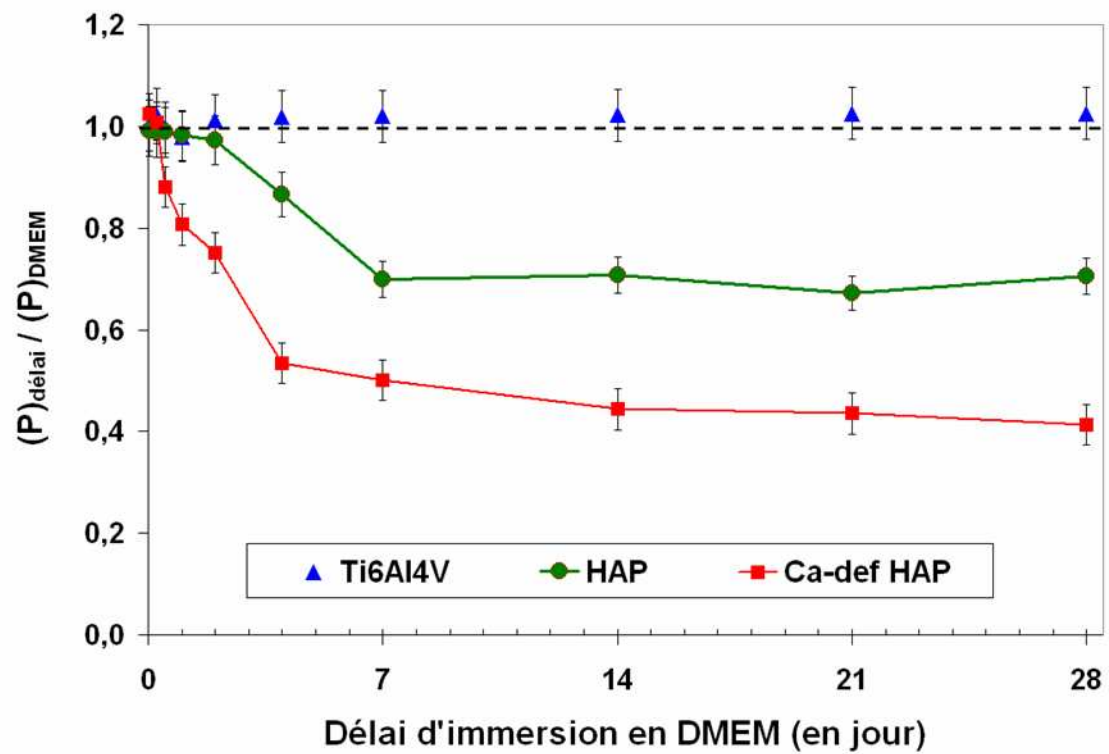


Figure 66 : évolution de la concentration en phosphore en fonction du temps d'immersion

En revanche, l'immersion des systèmes HAP / Ti6Al4V et Ca-def HAP / Ti6Al4V entraîne une variation significative des concentrations en calcium et en phosphore au sein du DMEM. Une importante diminution a lieu entre 0 et 7 jours, suggérant que la précipitation d'un composé phosphocalcique s'est effectivement produite à la surface des revêtements électrodéposés. Cette diminution est plus importante et plus rapide pour un revêtement Ca-def HAP que pour un revêtement HAP. En effet, dans le cas du revêtement Ca-def HAP cette diminution est observée à partir de 12 heures d'immersion et atteint 50% de la valeur initiale. Dans le cas du revêtement HAP, cette diminution n'est observée qu'à partir de 4 jours et atteint 25% de la valeur initiale. Dans les deux cas, les concentrations en calcium et phosphore ne varient plus de manière significative et se stabilisent à partir de 7 jours d'immersion. Ces évolutions de la composition du milieu physiologique indiquent que les réactions de dissolution / précipitation sont plus prononcées pour le revêtement Ca-def HAP que pour le revêtement HAP dont la solubilité est plus faible (cf. introduction et partie 1). La précipitation d'une nouvelle couche apatitique modifie progressivement la surface de l'implant revêtu, notamment dans le cas du Ca-def HAP. Afin d'observer la progression de ces modifications, nous avons caractérisé ce revêtement par MEB-EDXS après immersion en milieu physiologique DMEM pendant les « délais-clefs »: 0, 1, 7 et 14 jours.

3.2 Caractérisation de la couche de surface après immersion en DMEM

La figure 67 présente les micrographies de la surface du système Ca-def HAP / Ti6Al4V aux différents délais d'immersion en DMEM. Après une journée d'immersion, le revêtement laisse apparaître des aiguilles agglomérées en sphères liées entre elles par une nouvelle couche, mais la porosité du revêtement est toujours apparente. Après 7 et 14 jours d'immersion, les aiguilles agglomérées en sphères deviennent plus fines et les porosités du revêtement moins importantes, suggérant que la précipitation de la nouvelle phase apatitique a partiellement comblé ces porosités.

Pour illustrer ces observations, la figure 68 regroupe les micrographies des coupes transversales de ces échantillons. L'épaisseur du revêtement est nettement plus importante après immersion, atteignant environ 35 μm au lieu de 20 μm avant immersion. De plus, ces micrographies permettent d'observer que le lien entre le revêtement et le substrat est préservé après l'immersion des systèmes en DMEM.

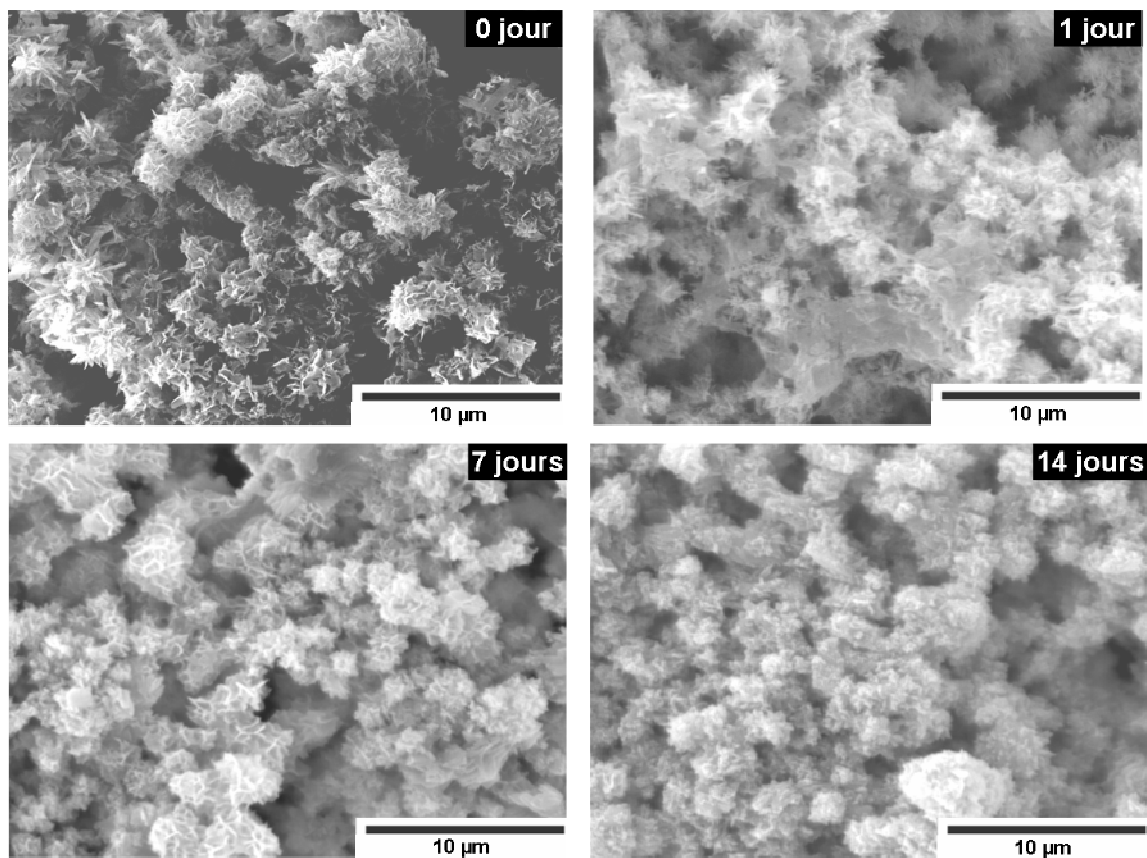


Figure 67 : évolution de la morphologie de surface en fonction du temps d'immersion

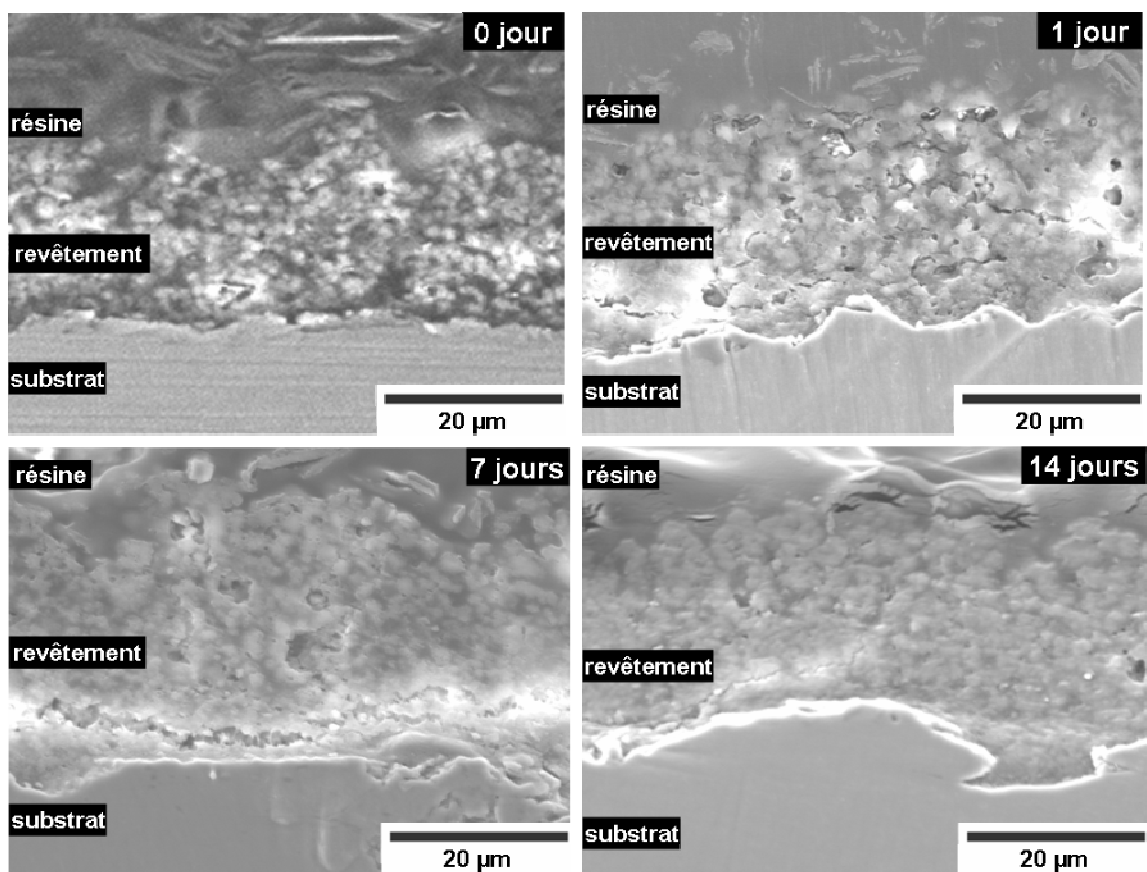


Figure 68 : évolution de l'épaisseur de la couche de surface en fonction du temps d'immersion

Les spectres d'émission X présentés sur la figure 69 ont été réalisés sur la surface du système Ca-def HAP / Ti6Al4V après immersion en milieu physiologique puis rinçage à l'eau distillée.

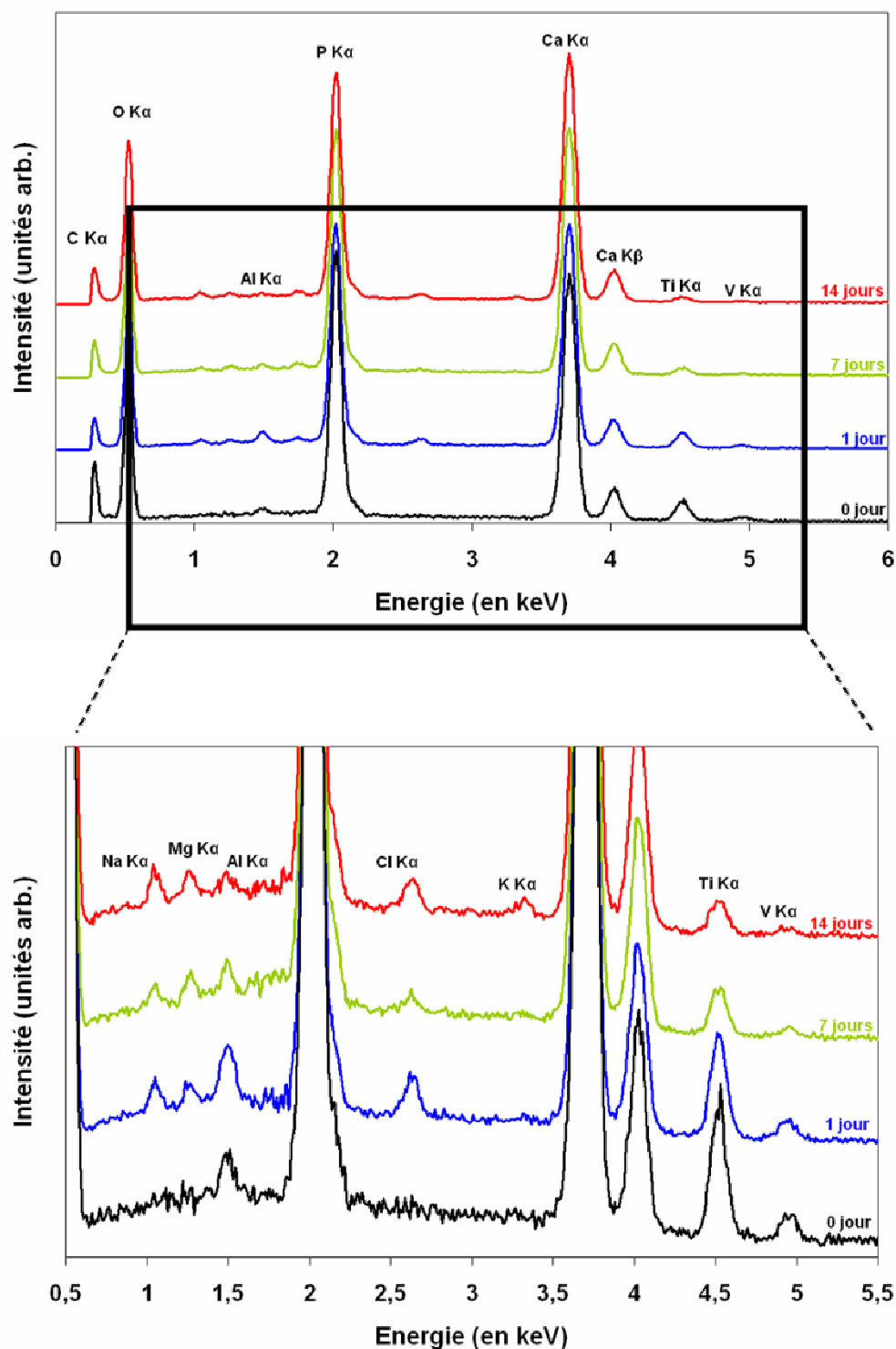


Figure 69 : évolution du spectre X de la couche de surface en fonction du temps d'immersion

Les pics K_{α} caractéristiques du titane, de l'aluminium et du vanadium diminuent significativement lorsque le temps d'immersion augmente. Ce résultat est cohérent avec l'augmentation d'épaisseur et la diminution de porosités observées en MEB. L'apparition de pics caractéristiques du sodium, du magnésium, du chlore et du potassium suggère que la précipitation de la nouvelle phase apatitique a entraîné avec elle les ions présents dans le milieu physiologique pour former une « apatite osseuse » [98].

Par ailleurs, pour rendre compte de l'évolution topographique de la surface du revêtement Ca-def HAP, nous avons réalisé la reconstruction tridimensionnelle d'images obtenues en MEB (Figure 70) afin d'obtenir des profils de rugosité de la surface (Figure 71). À partir de ces profils, nous déduisons les valeurs de rugosité (voir Tableau 5).

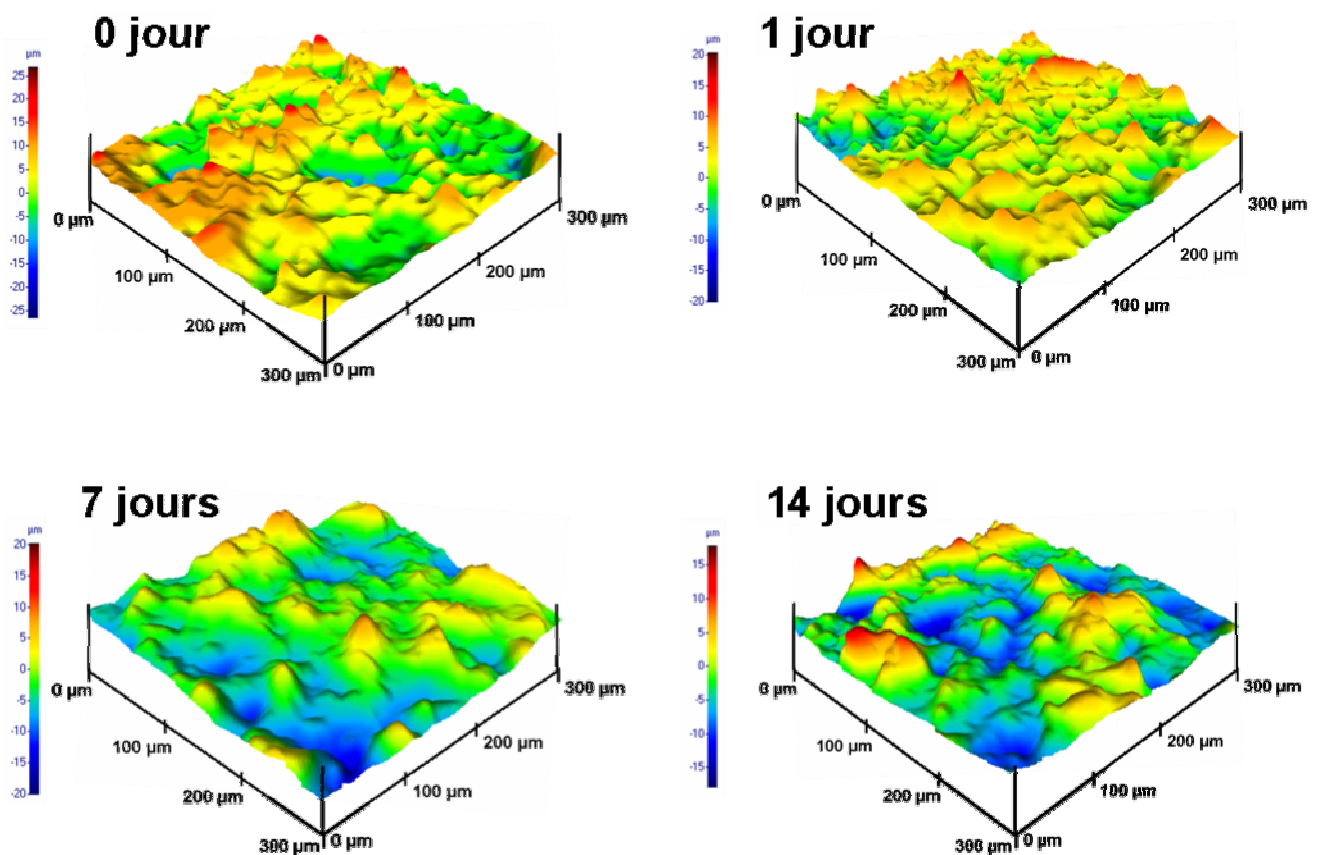


Figure 70 : reconstruction 3D de la surface des échantillons immergés en DMEM en fonction du temps d'immersion

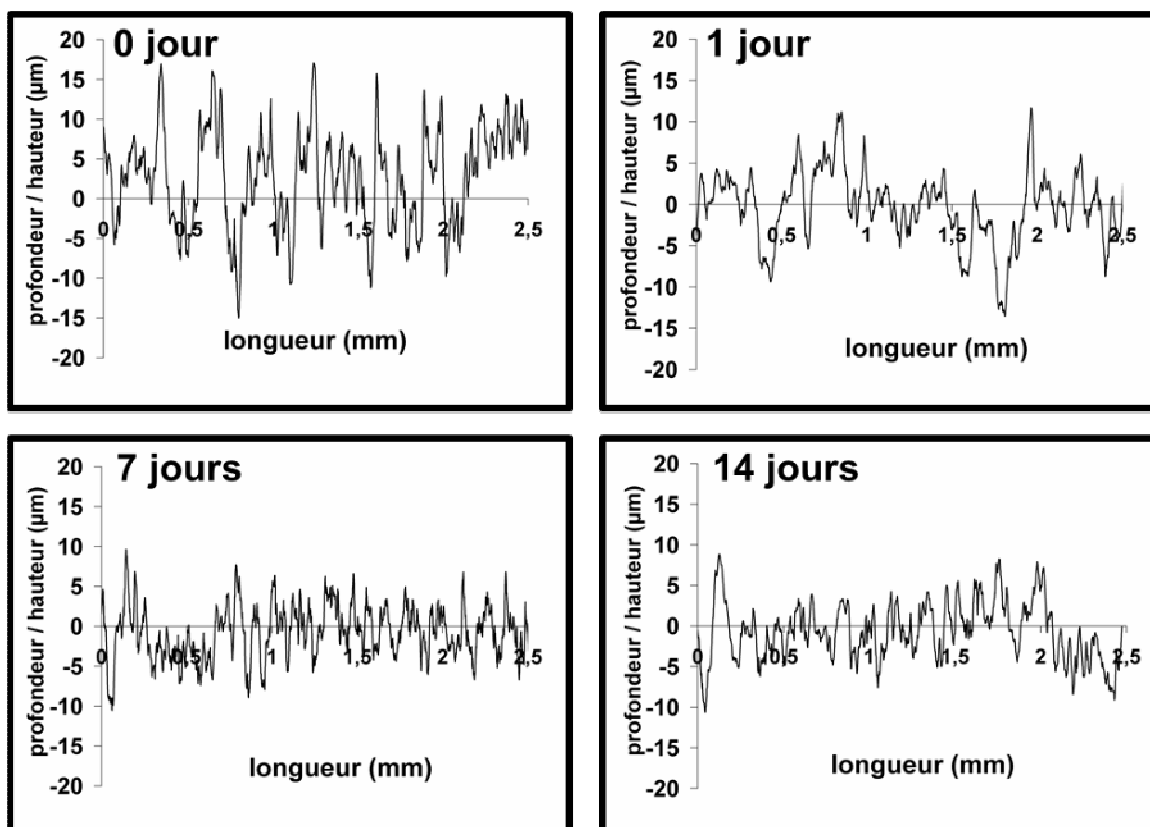


Figure 71 : profil de rugosité de la surface des échantillons immergés en DMEM en fonction du temps d’immersion

Tableau 5 : valeurs des rugosités de la surface du système Ca-def HAP / Ti6Al4V en fonction du temps d’immersion en DMEM

	0 jour	1 jour	7 jours	14 jours
Ra (µm)	4,9	3,5	2,8	2,9
RMS (µm)	6,0	4,7	3,4	3,5
Rz (µm)	31,9	24,9	19,9	18,8

Ces résultats permettent de constater que la rugosité du revêtement diminue fortement (environ 40%) après immersion en milieu physiologique, puis se stabilise à partir de 7 jours. Ceci est en accord avec les résultats précédents qui confirment la forte atténuation des interactions de la surface du revêtement avec le milieu.

Remarque :

Les mesures de corrosion présentées au début de cette partie ont été réalisées immédiatement après immersion des échantillons en milieu physiologique. Néanmoins, le comportement vis-à-vis de la corrosion de l'alliage Ti6Al4V revêtu peut évoluer au cours d'une immersion prolongée puisque le revêtement électrodéposé subit des modifications morphologiques et topographiques importantes. Nous avons donc étudié le comportement vis-à-vis de la corrosion de l'alliage revêtu après immersion en milieu physiologique DMEM, en particulier après 7 jours qui correspond à la stabilisation du revêtement apatitique néo-formé.

La figure 72 présente la courbe de polarisation du système Ca-def HAP / Ti6Al4V après 7 jours d'immersion en DMEM. Les résultats indiquent que le décalage du potentiel de corrosion vers des valeurs nobles est encore plus important que celui qui a été observé précédemment et atteint 0,104 V / ECS. Cette évolution est confirmée par l'observation des diagrammes de Nyquist présentés sur la figure 73. Après sept jours d'immersion en milieu physiologique le demi-cercle aux hautes fréquences possède un diamètre plus grand qui traduit une valeur de résistance de transfert de charge plus importante : 6,31 k Ω au lieu de 3,39 k Ω mesurée immédiatement après immersion (Tableau 4). Ceci indique que les modifications de surface (augmentation de l'épaisseur du revêtement et diminution de sa rugosité) générées par la précipitation améliorent davantage la protection contre la corrosion de l'alliage de titane.

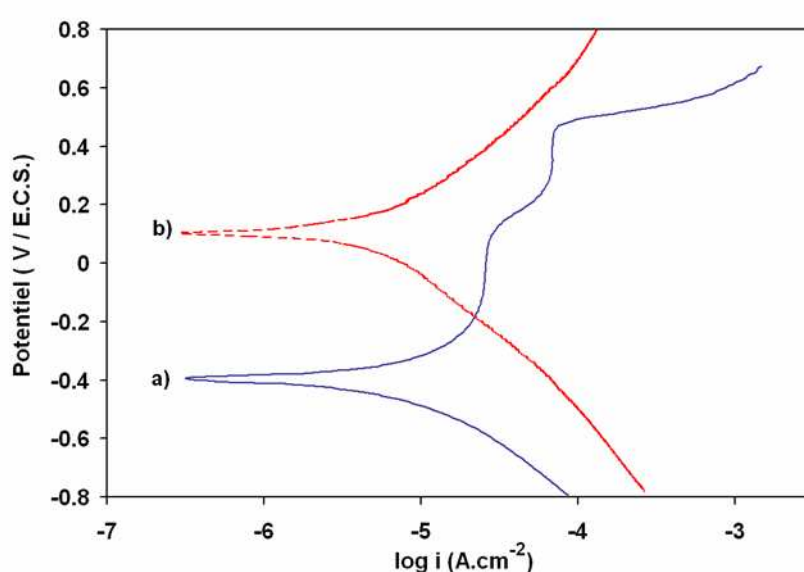


Figure 72 : courbe de polarisation du système Ca-def HAP / Ti6Al4V avant (a) et après (b) 7 jours d'immersion en DMEM

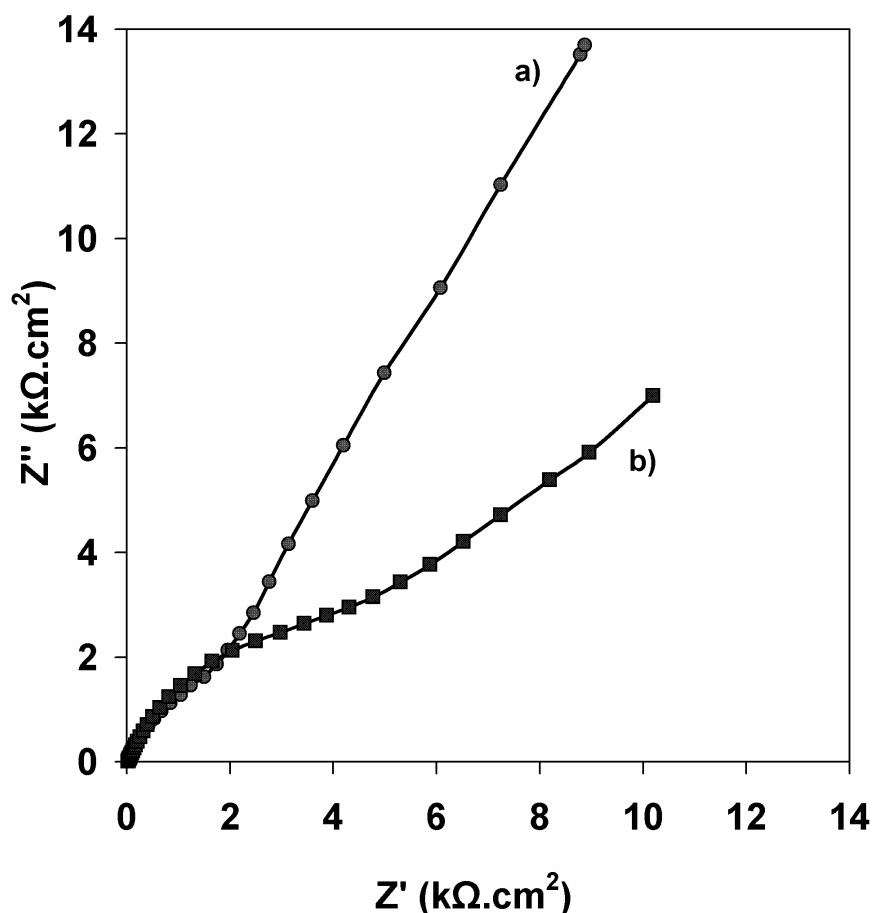


Figure 73 : diagrammes de Nyquist du système Ca-def HAP / Ti6Al4V avant (a) et après (b) 7 jours d'immersion en DMEM

4 Conclusion

Au cours de cette partie, le comportement en milieu physiologique de l'alliage Ti6Al4V revêtu par électrodéposition a été étudié. Les courbes de polarisation et les diagrammes de Nyquist ont montré que le revêtement phosphocalcique électrodéposé protège l'alliage métallique de la corrosion en milieu physiologique. La protection contre la corrosion est améliorée lorsque le revêtement électrodéposé est de l'hydroxyapatite stœchiométrique car il est plus compact et moins poreux que le revêtement d'hydroxyapatite déficitaire en calcium.

Cependant, l'immersion prolongée des substrats revêtus en milieu physiologique conduit à la dissolution partielle du revêtement phosphocalcique suivie de la précipitation d'une nouvelle phase d'apatite osseuse. L'observation en microscopie électronique à balayage

de cette couche d'apatite osseuse précipitée a montré une diminution de la porosité de la surface de l'implant simultanée à une augmentation de l'épaisseur de la couche de surface. La reconstruction 3D d'images MEB nous a permis d'observer que la précipitation de la couche d'apatite osseuse provoque une diminution de la rugosité de la surface de l'implant. Les courbes de polarisation et les diagrammes de Nyquist réalisés après l'immersion en milieu physiologique de l'alliage de titane revêtu indiquent que ces modifications morphologiques et topographiques améliorent la protection contre la corrosion de l'alliage de titane.

À travers les études présentées dans cette partie, la bioactivité des revêtements phosphocalciques électrodéposés a été mise en évidence. Des interactions chimiques avec le milieu physiologique environnant ont été observées pendant 7 jours. Ces échanges peuvent être mis à profit pour relarguer à proximité de l'implant un agent actif incorporé dans le revêtement pour améliorer ses propriétés biologiques. La flexibilité de l'électrodéposition permet d'élaborer des revêtements phosphocalciques auxquels sont associés des agents actifs tels que des ions métalliques comme Mg^{2+} , Zn^{2+} ou Sr^{2+} . Parmi ces éléments, le strontium est notamment connu pour favoriser la reconstruction osseuse. Ainsi, dans la partie suivante, l'électrodéposition des revêtements phosphocalciques dopés au strontium est mise en place. Les revêtements obtenus seront caractérisés d'un point de vue physico-chimique et structural, puis immergés en DMEM afin d'étudier le relargage du strontium dans le milieu physiologique.

Quatrième partie : Électrodéposition de revêtements phosphocalciques dopés au strontium

1 Introduction

Nous avons montré dans les parties précédentes que l'électrodéposition permet d'élaborer des revêtements prothétiques phosphocalciques dont les propriétés physico-chimiques sont contrôlées. La flexibilité de ce procédé permet d'envisager l'incorporation d'agents actifs au sein du revêtement afin d'améliorer les propriétés biologiques de l'implant. De nombreux travaux ont porté sur la substitution des ions calcium au sein de la maille apatitique par des cations divalents tels que Mg^{2+} ou Mn^{2+} qui favorisent les interactions entre l'implant et les tissus osseux, ou bien Zn^{2+} qui diminue la réponse inflammatoire, ou encore Sr^{2+} qui stimule la formation osseuse [99-104].

Parmi ces cations divalents, le strontium présente un intérêt particulier car son utilisation sous forme de ranelate de strontium est très répandue pour le traitement de déficiences osseuses telles que l'ostéoporose postménopausique. Ce médicament permet d'observer chez les patients une augmentation de la densité osseuse qui est attribuée à deux effets distincts, la stimulation de l'ostéoformation et l'inhibition de la résorption osseuse [105].

Ainsi, la substitution du calcium par le strontium dans les substituts osseux phosphocalciques a fait l'objet de nombreux travaux, notamment dans le but d'optimiser la proportion incorporée [106-109]. Généralement une substitution du calcium égale à 5% entraîne les résultats les plus probants sur l'activité et la différenciation des cellules ostéoblastes et sur la prolifération des cellules ostéoclastes [110-114].

Dans ce contexte, nous avons cherché à déterminer les conditions expérimentales qui permettent d'obtenir pour la première fois des revêtements phosphocalciques électrodéposés dont la substitution du calcium par du strontium est égale à 5%. Nous avons ensuite réalisé la caractérisation physico-chimique et structurale de ces revêtements afin de mettre en évidence leurs propriétés et l'effet du strontium sur celles-ci. Enfin, nous avons étudié le comportement de ces nouveaux revêtements en milieu physiologique DMEM.

2 Électrodéposition de revêtements phosphocalciques dopés au strontium

Les revêtements ont été électrodéposés en utilisant la méthodologie développée dans les parties précédentes, c'est-à-dire le mode courant pulsé avec ou sans ajout de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) dans la solution électrolytique. Les ions Sr^{2+} sont obtenus en solution en dissolvant du nitrate de strontium $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$. La quantité dissoute correspond à un rapport molaire $\text{Sr}/(\text{Ca}+\text{Sr})$ compris entre 2,5% et 10%, en conservant un rapport molaire $(\text{Ca}+\text{Sr})/\text{P} = 1,67$ (Tableau 6).

Tableau 6 : composition des électrolytes utilisés pour électrodéposer des revêtements phosphocalciques dopés au strontium

	solution	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en mmol.L^{-1}	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ en mmol.L^{-1}	$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ en mmol.L^{-1}	$(\text{Ca}+\text{Sr})/\text{P}$	$\text{Sr}/(\text{Ca}+\text{Sr})$
0% H_2O_2	a	40,95	25,00	1,05	1,67	2,5 %
	b	39,90	25,00	2,10	1,67	5,0 %
	c	38,85	25,00	3,15	1,67	7,5 %
	d	37,80	25,00	4,20	1,67	10,0 %
9% H_2O_2	e	40,95	25,00	1,05	1,67	2,5 %
	f	39,90	25,00	2,10	1,67	5,0 %
	g	38,85	25,00	3,15	1,67	7,5 %
	h	37,80	25,00	4,20	1,67	10,0 %

À partir de chacune des solutions préparées, un revêtement phosphocalcique est électrodéposé sur l'alliage de titane Ti6Al4V et sa composition chimique est déterminée par microanalyse X. Les spectres d'émission X de ces revêtements sont présentés sur les figures 74 et 75 et révèlent la présence d'un pic caractéristique du strontium dont l'intensité augmente avec la concentration de strontium introduite en solution. La microanalyse X issue de ces spectres permet de quantifier dans chaque revêtement la proportion atomique du strontium en

établissant le rapport $\text{Sr}/(\text{Ca}+\text{Sr})$. Les valeurs obtenues sont comparées à celles introduites initialement dans la solution électrolytique (Tableau 7).

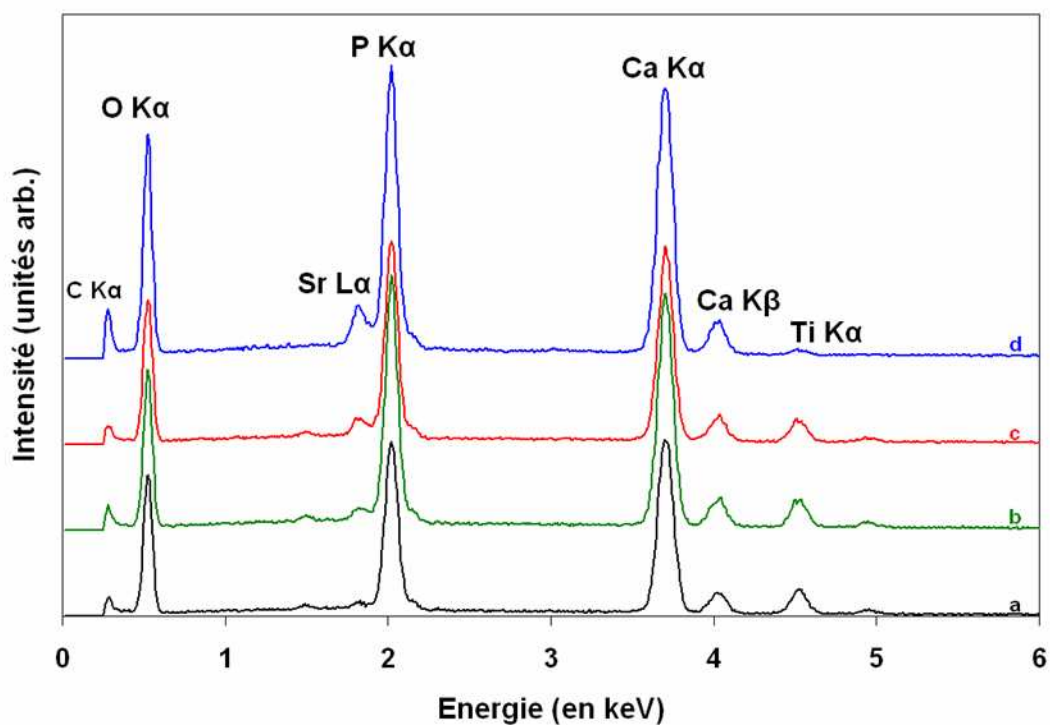


Figure 74 : spectres X des revêtements phosphocalciques dopés au strontium électrodéposés sans peroxyde d'hydrogène

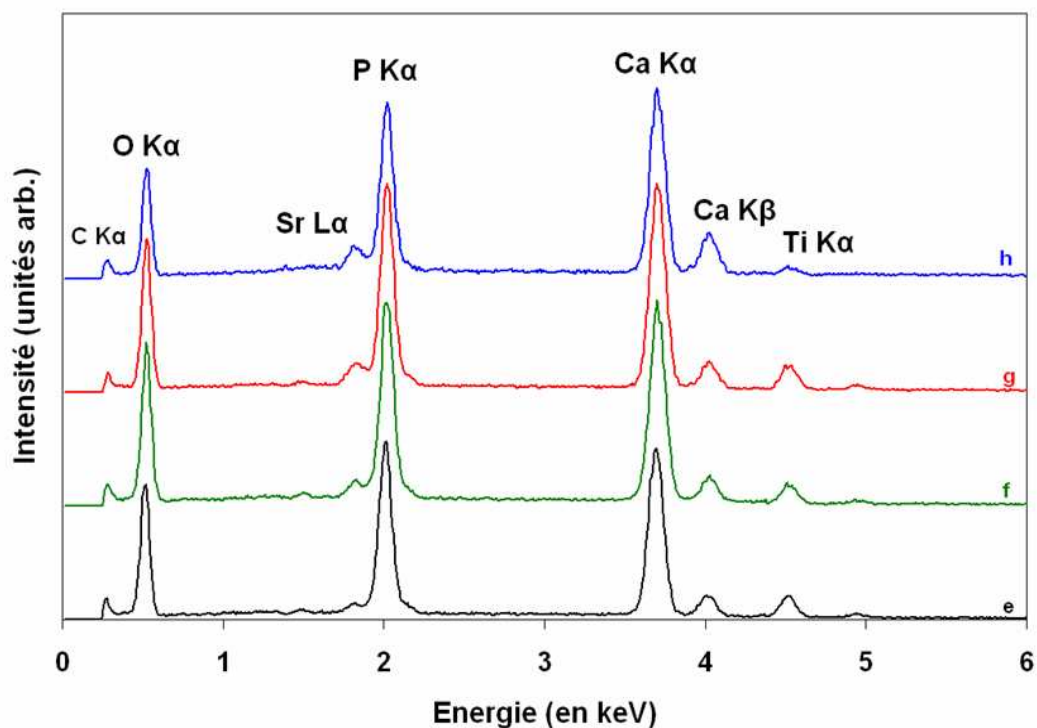


Figure 75 : spectres X des revêtements phosphocalciques dopés au strontium électrodéposés à partir d'un électrolyte contenant 9% en volume de peroxyde d'hydrogène

Tableau 7 : comparaison des rapports caractéristiques de la solution et du revêtement

	solution		revêtement	
	(Ca+Sr)/P	Sr/(Ca+Sr)	(Ca+Sr)/P	Sr/(Ca+Sr)
a	1,67	2,5 %	$1,53 \pm 0,02$	(1,5 $\pm$ 0,1) %
b	1,67	5,0 %	$1,53 \pm 0,02$	(2,6 $\pm$ 0,1) %
c	1,67	7,5 %	$1,53 \pm 0,02$	(3,7 $\pm$ 0,2) %
d	1,67	10,0 %	$1,54 \pm 0,02$	(5,0 $\pm$ 0,2) %
e	1,67	2,5 %	$1,59 \pm 0,03$	(1,8 $\pm$ 0,1) %
f	1,67	5,0 %	$1,61 \pm 0,03$	(2,9 $\pm$ 0,1) %
g	1,67	7,5 %	$1,59 \pm 0,03$	(3,8 $\pm$ 0,2) %
h	1,67	10,0 %	$1,60 \pm 0,03$	(5,2 $\pm$ 0,2) %

Les résultats obtenus permettent de constater que la proportion de strontium dans le revêtement ne correspond pas à la proportion introduite dans l'électrolyte. Quelle que soit la solution électrolytique, le rapport Sr/(Ca+Sr) du revêtement est approximativement égal à la moitié du rapport Sr/(Ca+Sr) de l'électrolyte. Ces résultats indiquent que pour obtenir 5% de strontium dans le revêtement, il est nécessaire d'utiliser une solution électrolytique dont le rapport Sr/(Ca+Sr) est égal à 10%.

Cependant, il faut noter que dans ces conditions, le rapport (Ca+Sr)/P ne reste pas constant à 1,67 mais diminue quelle que soit la composition de la solution électrolytique. Cette diminution est atténuée lorsque la solution contient du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (solutions e à h).

L'objectif est d'obtenir un revêtement dont la substitution du calcium par le strontium est de 5%. Nous avons donc par la suite effectué une caractérisation physico-chimique et structurale des revêtements électrodéposés à partir des solutions d et h.

3 Caractérisation physico-chimique et structurale

Afin de mettre en évidence les propriétés des revêtements phosphocalciques dopés avec 5% de strontium (noté 5%Sr-CaP), une caractérisation physico-chimique et structurale a été réalisée.

La figure 76 présente la morphologie des revêtements observée en microscopie électronique à balayage. Ils sont constitués de sphéroïdes de petites tailles et présentent une porosité apparente. Contrairement à ce qui a été observé dans le cas des revêtements non dopés, l'ajout du peroxyde d'hydrogène dans la solution électrolytique ne modifie pas la morphologie du revêtement (comparaison des figures 76a et 76b).

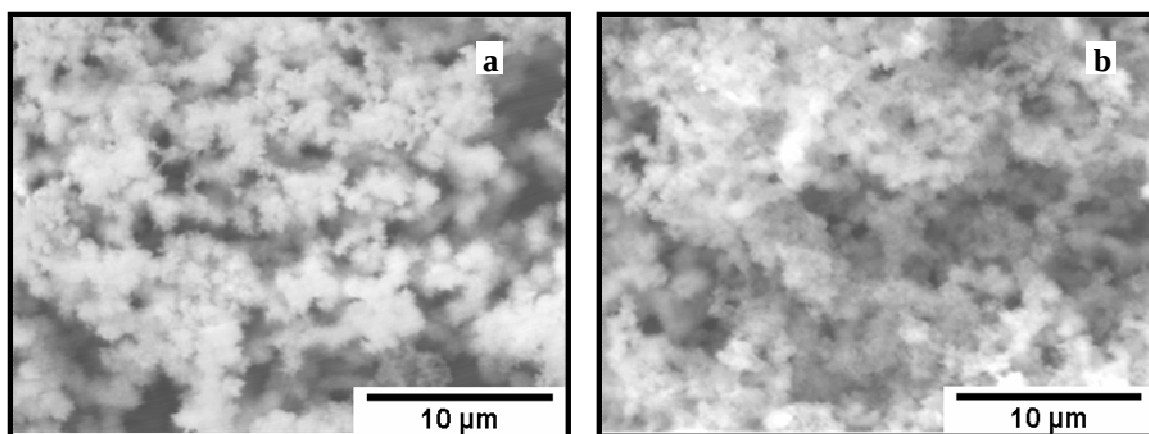


Figure 76 : image MEB des revêtements phosphocalciques dopés au strontium à partir d'un électrolyte contenant 0% (a) ou 9% (b) de peroxyde d'hydrogène

La figure 77 présente les cartographies d'émission X des éléments calcium, phosphore, strontium et oxygène, réalisées sur ces revêtements. Elles mettent en évidence la répartition uniforme du strontium dans le revêtement quel que soit l'électrolyte utilisé.

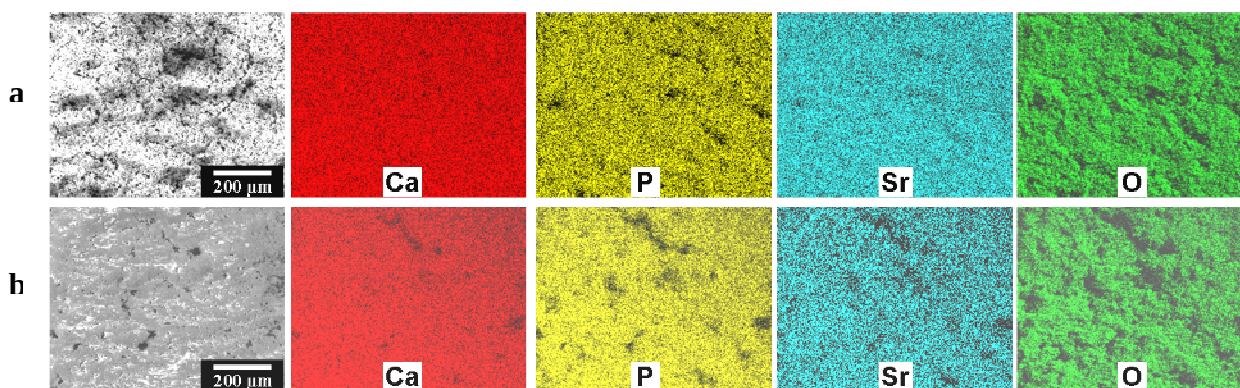


Figure 77 : cartographies d'émission X des revêtements phosphocalciques dopés au strontium à partir d'un électrolyte contenant 0% (a) ou 9% (b) de peroxyde d'hydrogène

Par ailleurs, la structure de ces revêtements a été caractérisée par diffraction des rayons X avant et après traitement en température (Figures 78 et 79) selon la méthode normalisée décrite en introduction et en annexe.

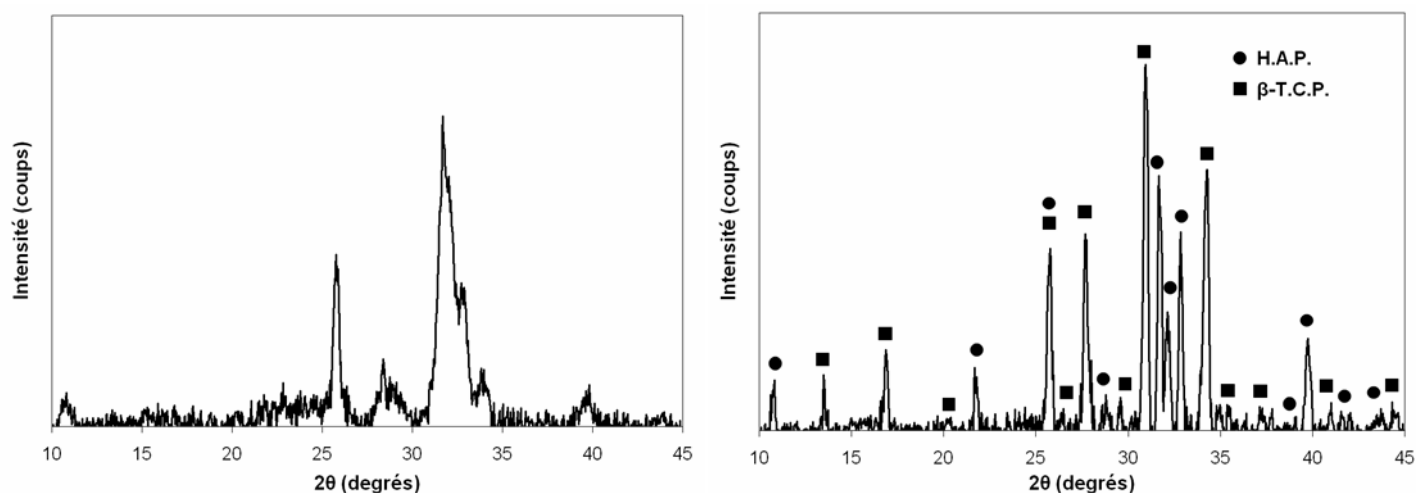


Figure 78 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique dopé au strontium électrodéposé à partir d'un électrolyte sans H_2O_2 avant et après traitement thermique à 1000°C pendant 15 heures

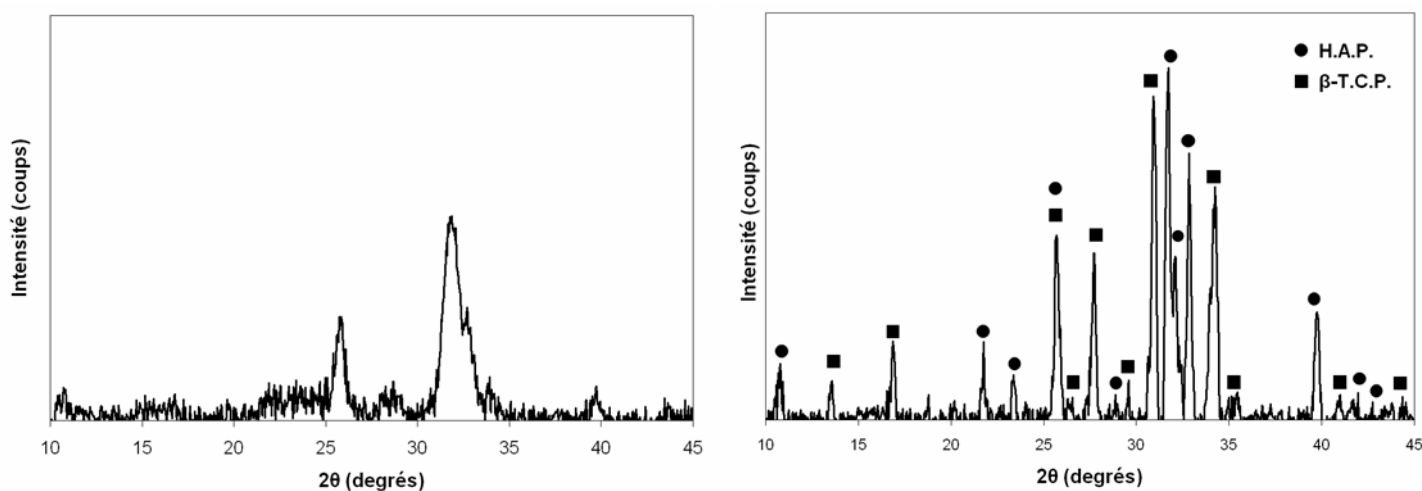


Figure 79 : diffractogramme du revêtement phosphocalcique dopé au strontium électrodéposé à partir d'un électrolyte contenant 9% H_2O_2 avant et après traitement thermique à 1000°C pendant 15 heures

Avant traitement thermique, les diffractogrammes des revêtements sont semblables à ceux obtenus sans dopage, c'est-à-dire celui d'une phase apatitique faiblement cristallisée.

Après traitement thermique, les diffractogrammes présentent deux phases, l'hydroxyapatite (HAP) et le phosphate tricalcique β (β -TCP) dont les proportions diffèrent si l'électrolyte contient ou pas du peroxyde d'hydrogène. Sans H_2O_2 , le revêtement est composé de 68% de β -TCP et de 32% d'HAP. Avec 9% d' H_2O_2 , le revêtement est composé de 51% de β -TCP et de 49% d'HAP. Malgré des conditions expérimentales identiques, ces résultats sont différents de ceux obtenus pour les revêtements non dopés dans la première partie. En comparant les proportions de chaque phase en fonction de la quantité d' H_2O_2 et de la présence de strontium (Tableau 8), on remarque que l'incorporation de strontium favorise la formation de la phase β -TCP après traitement thermique. Ces observations sont cohérentes avec la diminution du rapport (Ca+Sr)/P observée dans le tableau 7 du paragraphe précédent.

Tableau 8 : comparaison des proportions de phases déterminées en DRX après traitement en température

	H_2O_2	HAP	β -TCP
Revêtement non dopé (cf. Partie 1)	0 % en vol.	52 %	48 %
	9 % en vol.	100 %	0 %
Revêtement dopé au strontium	0 % en vol.	32 %	68 %
	9 % en vol.	49 %	51 %

Remarque : la diffraction des rayons X est une analyse globale à l'échelle macroscopique qui permet de distinguer les phases HAP et β -TCP et de calculer leurs proportions. Cependant, cette technique ne permet pas de déterminer la répartition du strontium dans les deux phases obtenues après traitement thermique. Nous avons ainsi, pour la première fois, réalisé une analyse structurale des revêtements phosphocalciques dopés au strontium à une échelle nanométrique par spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS).

4 Caractérisation physico-chimique et structurale par EELS

4.1 Méthode de différenciation des phases d'hydroxyapatite (HAP) et de phosphate tricalcique β (β -TCP)

Le paragraphe précédent a montré par diffraction des rayons X l'existence de deux phases (HAP et β -TCP) dans les revêtements électrodéposés après traitement thermique. Nous avons cherché à mettre en évidence ces deux phases à l'échelle microscopique et à corréler ces phases avec le dopage au strontium. Les mesures du rapport atomique Ca/P par microanalyse X ne sont pas suffisamment précises à cette échelle pour différencier sans ambiguïté les deux phases dont les rapports sont proches (1,5 pour le β -TCP et 1,67 pour l'HAP). Par ailleurs, il est nécessaire de limiter les effets d'irradiation en TEM car ils peuvent entraîner des modifications structurales significatives des composés phosphocalciques, notamment en les transformant en CaO [115, 116]. La spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS) couplée à la microscopie électronique à balayage-transmission (MEBT) est une méthode rapide et précise pour distinguer à l'échelle submicrométrique des grains d'HAP et de β -TCP. Gregori *et al.* [117] ont mis en évidence que l'étude des structures fines (ELNES) du seuil K de l'oxygène pouvait être un outil performant pour différencier ces deux phases. De plus, il sera possible sur les grains ainsi identifiés de mesurer le rapport Sr/P et donc de faire une analyse plus fine du dopage de nos échantillons (paragraphe 4.3).

Les échantillons étudiés ont été préparés par broyage des poudres issues du revêtement, puis par inclusion en résine et coupe à des épaisseurs nominales de l'ordre de la centaine de nanomètres. Les échantillons ont ensuite été analysés à une tension d'accélération de 250 kV à l'aide d'un microscope CM 30 Philips LaB6 couplé à un spectromètre de perte d'énergie des électrons de type Gatan Enfina.

Notre premier travail a été de reproduire les expériences de Gregori *et al.* dans notre configuration expérimentale pour des échantillons commerciaux d'HAP et de β -TCP (Sigma-Aldrich, États-Unis). Les figures 80 et 81 présentent les spectres EELS caractéristiques des seuils K de l'oxygène obtenus pour ces deux échantillons commerciaux. Les spectres ont été enregistrés avec une dispersion de 0,05 eV/ch, une taille de sonde de 24 nm, une ouverture de

spectromètre de 2 mm. Ainsi la résolution spectrale obtenue, définie comme la largeur à mi-hauteur du pic sans perte, est de 0,90 eV.

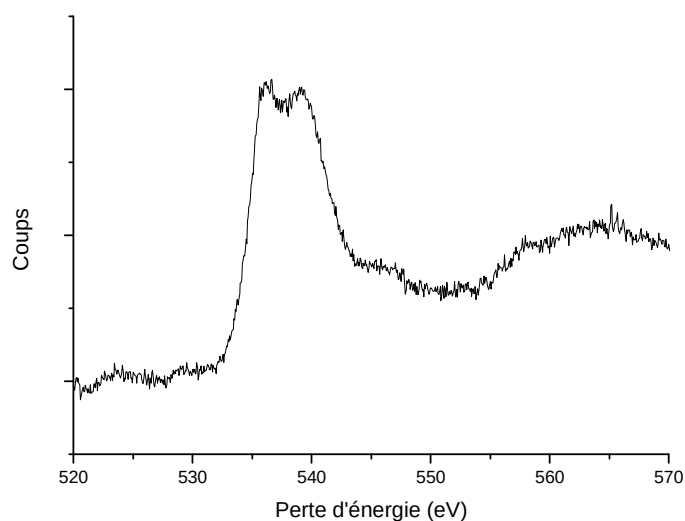


Figure 80 : spectre EELS du seuil K de l'oxygène dans l'hydroxyapatite

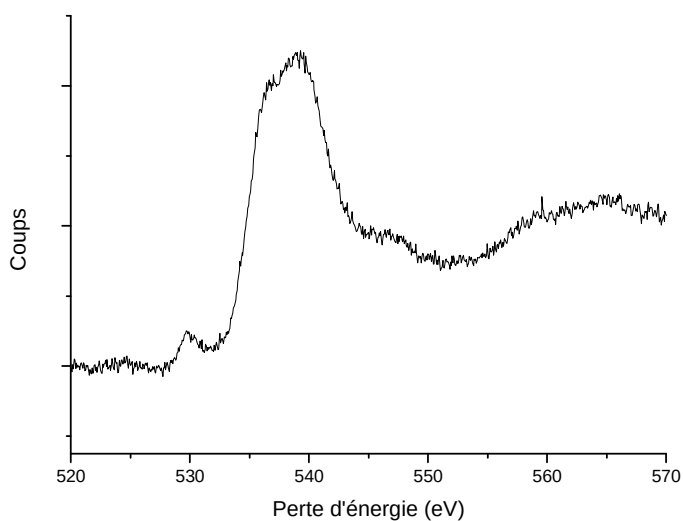


Figure 81 : spectre EELS du seuil K de l'oxygène dans le phosphate tricalcique β

L'information essentielle, conforme aux résultats de Gregori *et al.*, est la présence sur le spectre HAP d'un signal caractéristique à 536 eV qui est absent du spectre du β -TCP où seul un maximum à 539 eV est présent. Cet effet de dédoublement va donc pouvoir servir

d' « empreinte » pour la différenciation des phases HAP et β -TCP dans les revêtements électrodéposés traités en température. En revanche, nous observons une différence avec les résultats de Gregori *et al.*, le pré-pic situé à 531 eV est généralement beaucoup plus important dans nos spectres, notamment pour le β -TCP. Il pourrait s'agir d'un effet d'irradiation comme le montre la figure 82 où l'on observe une diminution de ce pré-pic avec le temps d'irradiation. Il faut toutefois noter que cet effet d'irradiation n'est pas toujours aussi net et que l'intensité de ce pré-pic reste assez « aléatoire » dans nos observations. Par ailleurs nous n'observons pas d'autres effets d'irradiation notamment au niveau des signaux à 536 et 539 eV qui vont servir à la différenciation. En outre, l'observation des seuils L_{23} du calcium pour des irradiations équivalentes indiquent qu'il n'y a pas de transformation en CaO comme précédemment observée [115, 116].

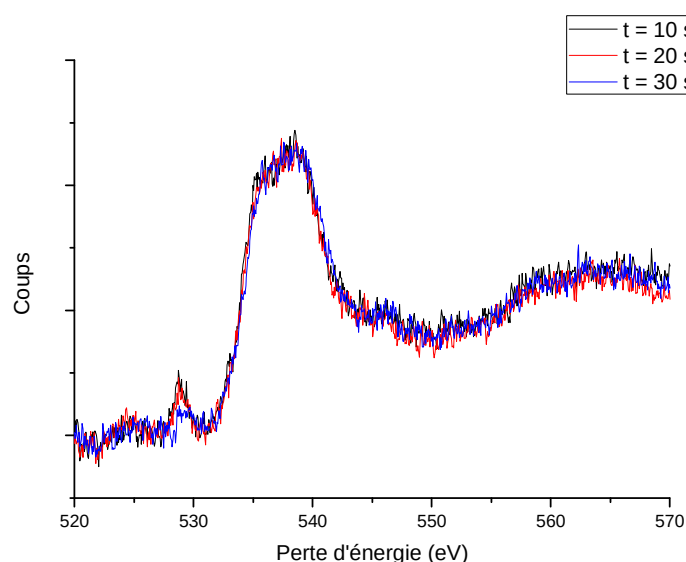


Figure 82 : évolution du signal de β -TCP avec le temps d'irradiation

4.2 Analyse de la répartition des phases dans les revêtements phosphocalciques dopés au strontium

Nous avons effectué nos analyses sur les différents grains de poudres obtenus à partir des revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés sans ou avec 9% d' H_2O_2 , puis traités en température. La figure 83 montre une image MEBT caractéristique de ces grains.

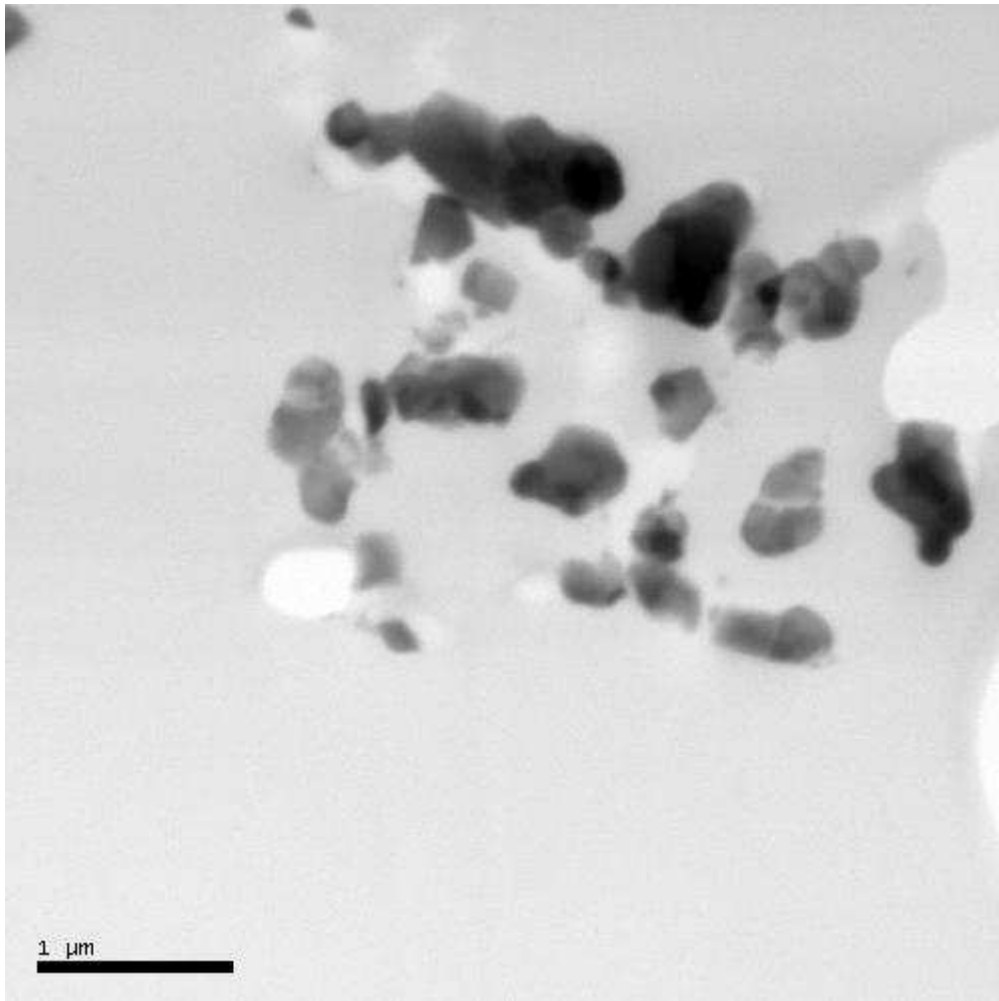


Figure 83 : image MEBT caractéristique des grains analysés des revêtements 5% Sr-CaP électrodéposés

Le tableau 9 suivant regroupe nos résultats :

Tableau 9 : répartition des grains HAP et β -TCP dans les échantillons

	Nombre de grains analysés	Nombre de grains HAP	Nombre de grains β -TCP
0 % H_2O_2	26	9	17
		35 %	65 %
9 % H_2O_2	46	20	26
		43%	57 %

Le tableau précédent montre essentiellement que nous retrouvons bien les deux phases clairement séparées à l'échelle microscopique dans nos échantillons. Les valeurs en pourcentage correspondent au nombre de grains, ces grains variant en taille et en volume, ces valeurs ne représentent pas directement, bien sûr, les teneurs en chacune de ces phases à l'échelle macroscopique. Toutefois on peut quand même noter que les valeurs trouvées sont cohérentes avec les évaluations réalisées en DRX (Tableau 8).

On a aussi pu mettre en évidence l'homogénéité d'une phase à l'échelle d'un grain par acquisition en mode spectre-image. La figure 84 présente la zone analysée correspondant à un grain pour lequel nous avons enregistré le signal d'oxygène pour chaque pixel avec une résolution de 50 nm. Tous les spectres enregistrés sur ce grain correspondent à un signal caractéristique d'HAP. Nous avons également le même type d'information sur des grains « identifiés » β -TCP.

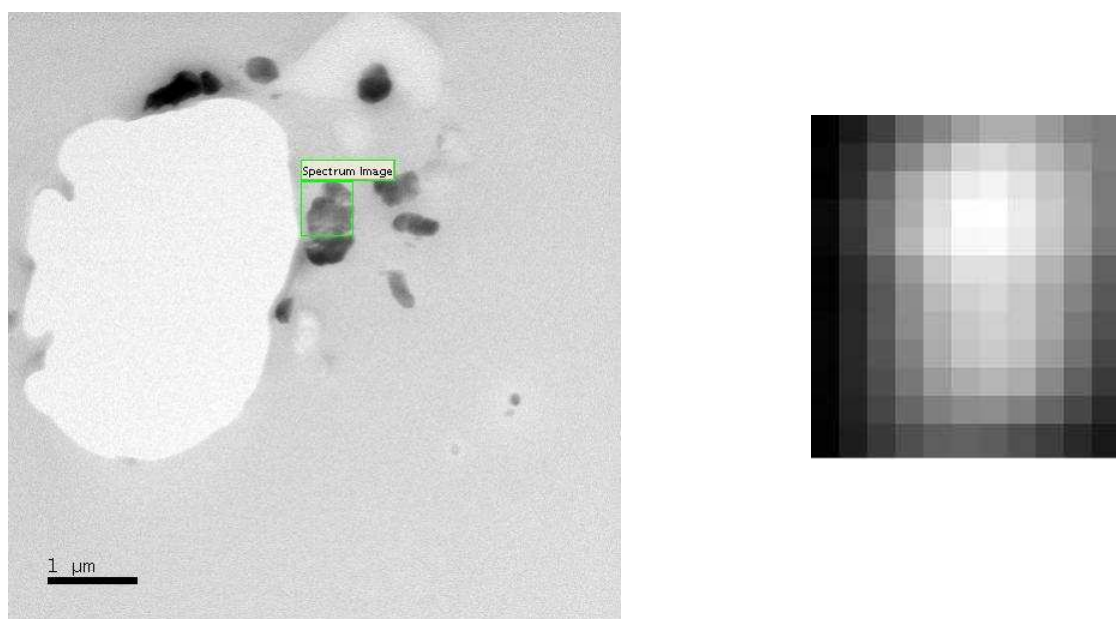


Figure 84 : grain analysé avec zone d'acquisition spectre-image et image brute à $\Delta E=540$ eV issue du bloc de données spectre-image (12×12 pixels)

4.3 Relation entre dopage au strontium et phases identifiées

La spectroscopie EELS permet également l'estimation du taux de dopage en strontium par la mesure du rapport atomique Sr/P. Le strontium est détecté par ses seuils L_3 et L_2 situés respectivement à 1940 eV et 2007 eV alors que le phosphore peut être détecté sur le même

spectre par son seuil K situé à 2146 eV. La figure 85 montre un spectre typique qui correspond après quantification à un rapport Sr/P = $0,09 \pm 0,01$. La quantification est faite par extraction des signaux après modélisation du fond continu par la loi classique AE^{-r} . Les signaux sont intégrés sur une fenêtre énergétique de 60 eV. Un modèle de section efficace hydrogénoïde est choisi pour le seuil K du phosphore et un modèle Hartree-Slater est choisi pour le seuil L du strontium.

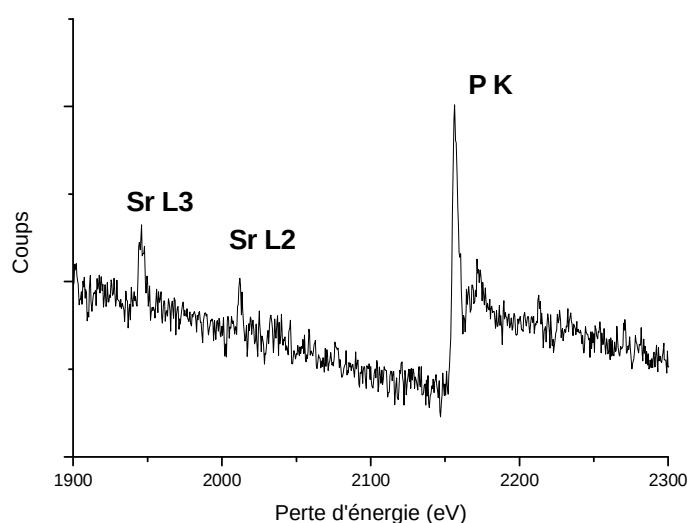


Figure 85 : spectre EELS typique pour la quantification Sr/P

Nous avons ainsi pu établir sur différents grains à la fois une détermination de phase HAP ou β -TCP et une quantification du rapport Sr/P. Le tableau 10 synthétise nos résultats.

Tableau 10 : corrélation phases / teneurs en strontium

	Nombre de grains analysés	Rapports atomiques Sr /P mesurés	Taux de substitution Sr/(Ca+Sr) correspondant
HAP	19	$0,09 \pm 0,04$	$(5,4 \pm 2,4) \%$
β -TCP	26	$0,08 \pm 0,01$	$(5,3 \pm 0,7) \%$

Tout d'abord, nous précisons que le taux de substitution atomique $\text{Sr}/(\text{Ca}+\text{Sr})$ indiqué correspond à un calcul pour lequel $(\text{Ca}+\text{Sr})/\text{P}$ vaut respectivement 1,5 et 1,67 pour les phases β -TCP et HAP. Le premier enseignement de nos résultats est que les taux de substitution obtenus sont proches du taux de 5 % mesuré par microanalyse X. Le second enseignement important est que la substitution est présente à la fois dans les deux phases avec des valeurs moyennes très proches même si l'on peut aussi constater une dispersion plus grande des valeurs dans les zones HAP.

Nous avons également utilisé le mode d'acquisition spectre-image pour étudier la répartition du strontium dans les grains avec une résolution de 70 nm. La figure 86 représente l'image MEBT et la zone d'analyse spectre-image.

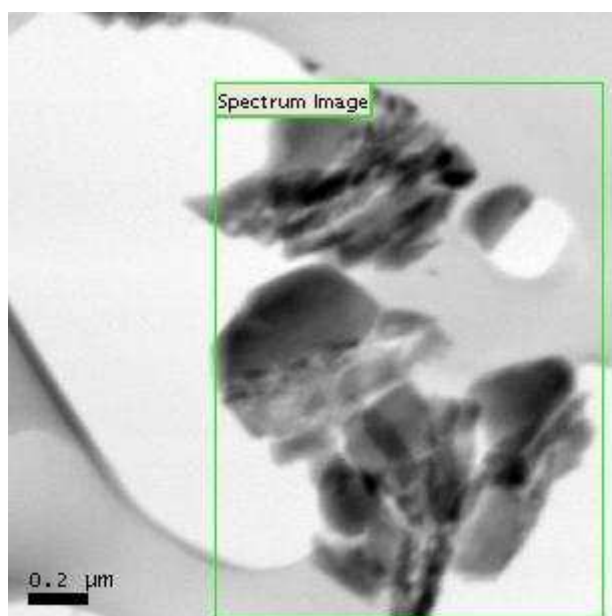


Figure 86 : image MEBT du grain analysé et zone d'acquisition spectre-image

La figure 87 présente les images paramétriques des signaux de strontium et de phosphore extraits pour chaque pixel après modélisation AE^{-1} du fond continu.

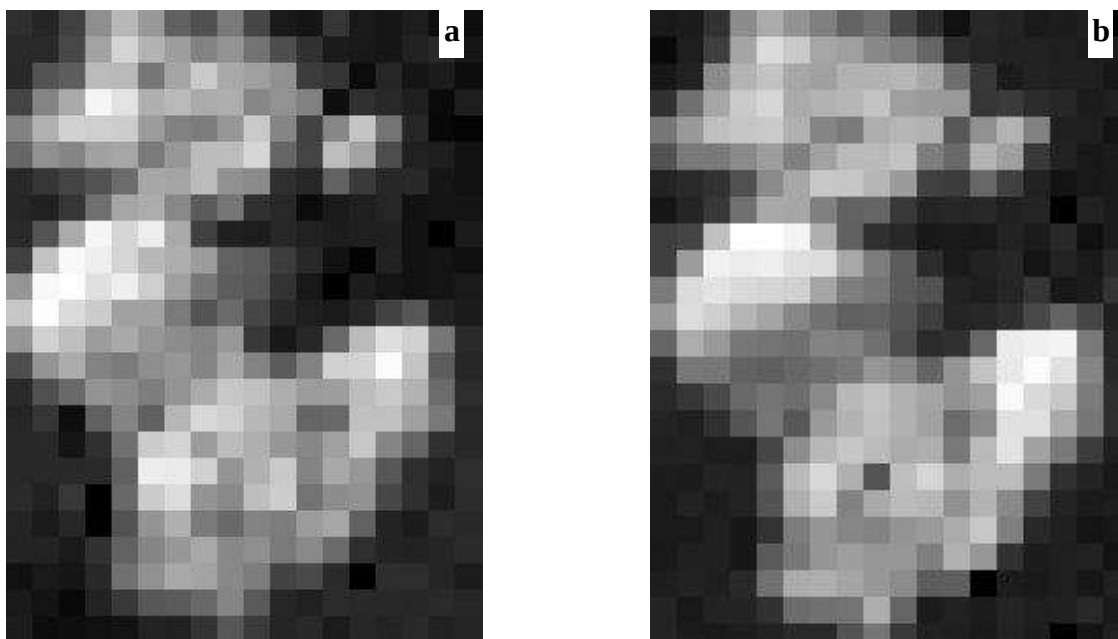


Figure 87 : images paramétriques des signaux a) de phosphore b) de strontium

Ces images montrent déjà la présence de strontium dans l'ensemble de la zone analysée. Cependant l'établissement de la cartographie du rapport atomique Sr/P se heurte à un problème pratique avec des valeurs aberrantes dans les zones hors échantillon où les valeurs du signal de phosphore sont données par le bruit. Nous nous sommes donc limités à faire la moyenne de ce rapport dans une zone que nous avons délimitée par seuillage de l'histogramme de l'image paramétrique du signal de phosphore (Figures 88 et 89).

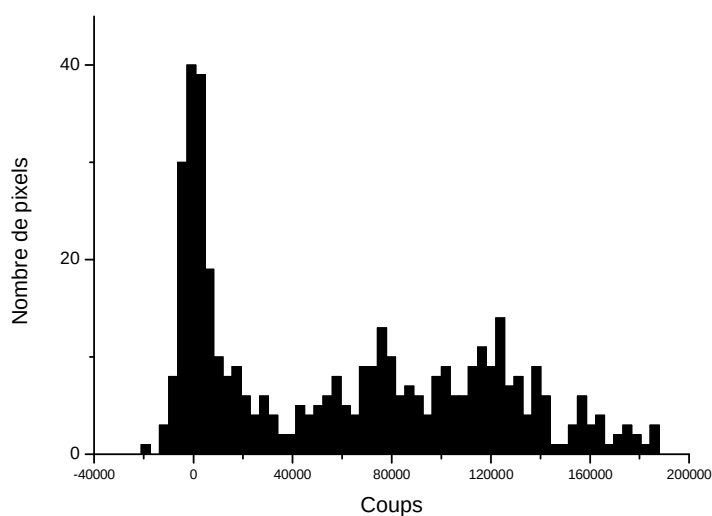


Figure 88 : histogramme de l'image paramétrique du signal de phosphore (Figure 87 a)

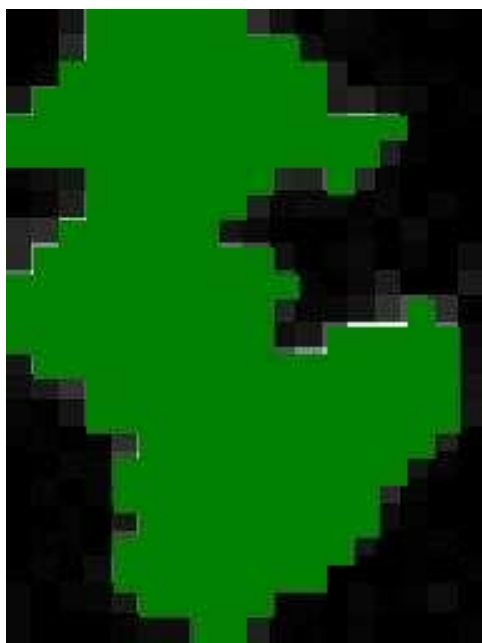


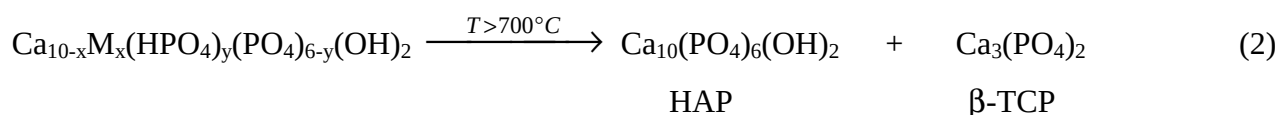
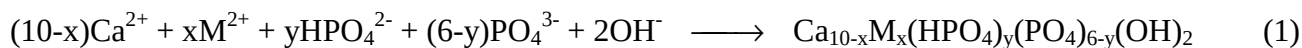
Figure 89 : zone d'intégration des signaux par seuillage de l'histogramme à 40000 coups

La quantification pour chaque pixel dans cette zone d'intégration conduit à un rapport moyen $\text{Sr/P} = 0,074 \pm 0,012$; l'écart-type correspond à la dispersion des valeurs obtenues dans les 213 pixels utilisés donc à la dispersion dans l'échantillon. On obtient ainsi un taux de substitution dans le grain $\text{Sr}/(\text{Ca}+\text{Sr}) = 4,9 \%$ avec un écart-type de 0,8 % sur sa distribution dans les différents pixels. Nous pouvons ainsi conclure à une répartition assez homogène du dopage en strontium dans nos échantillons.

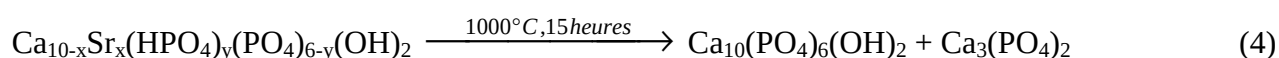
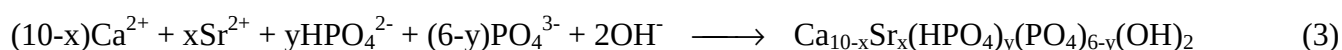
Ces caractérisations par EELS ont donc confirmé les résultats de la microanalyse X, c'est-à-dire un taux de substitution du calcium par le strontium proche de 5% et ont montré que les proportions de chaque phase sont cohérentes avec celles déterminées par DRX.

Globalement, les résultats nous indiquent que l'ajout optimisé de strontium dans l'électrolyte favorise la formation de β -TCP après un traitement en température adéquat. En effet, un comportement similaire avait déjà été observé par Legeros *et al.* [118] dans le cas de substituts phosphocalciques dopés obtenus par précipitation. Ils avaient noté que la présence d'ions de substitution lors de la précipitation d'une Ca-def HAP modifie le rapport HAP/ β -TCP après traitement au four. Ils indiquent par exemple que l'incorporation d'un cation est favorable à une augmentation du rapport β -TCP/HAP. De plus, ils ont proposé les réactions

suivantes pour décrire de façon générale la précipitation d'un composé phosphocalcique dopé par un cation M^{2+} , puis l'effet d'un traitement en température :



Nous nous sommes inspirés de ces réactions pour proposer celles qui correspondent aux revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés telles que :



Ces réactions montrent que l'incorporation de strontium dans l'électrolyte conduit à la formation d'une hydroxyapatite déficitaire en calcium qui, après traitement thermique, produit un mélange biphasé d'HAP et de β -TCP dopé à 5% de strontium dont les proportions dépendent de la concentration en peroxyde d'hydrogène dans l'électrolyte (Tableaux 8 et 9).

Ces nouveaux revêtements élaborés sont susceptibles de relarguer le strontium dans le milieu physiologique après implantation. Nous avons donc étudié la cinétique de relargage du strontium en milieu DMEM de la même façon que celle réalisée précédemment.

5 Cinétique de relargage du strontium en milieu physiologique DMEM

Le strontium est incorporé dans le revêtement phosphocalcique dans le but d'être relargué dans le milieu physiologique pour favoriser l'ostéoformation. Afin d'observer la cinétique de relargage du strontium par les revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés avec ou sans peroxyde d'hydrogène, ceux-ci ont été immergés en milieu physiologique D.M.E.M. à différents délais: 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 1 j, 2 j, 3 j, 4 j, 7 j et 14 j. Pour chaque délai et chaque échantillon, les milieux physiologiques ont été analysés par ICP-AES afin de suivre l'évolution des concentrations du calcium, du phosphore et du strontium. Les figures 90 et 91 présentent l'évolution de ces concentrations en fonction du temps d'immersion.

Dans le cas du revêtement électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène, la quantité maximale de strontium relarguée dans le milieu physiologique est égale à 1 ppm et est atteinte pratiquement immédiatement (Figure 90). En revanche, le revêtement électrodéposé avec 9% de peroxyde d'hydrogène entraîne quant à lui un relargage moins important et plus lent du strontium. La quantité maximale relarguée dans le milieu est de 0,5 ppm, et est atteinte entre 1 et 2 jours d'immersion (Figure 91).

Pour les deux échantillons, les concentrations en calcium et en phosphore diminuent progressivement pendant les premiers jours d'immersion, puis se stabilisent ensuite. Ces diminutions sont plus importantes pour les revêtements électrodéposés sans peroxyde d'hydrogène. On retrouve ici des résultats analogues à ceux obtenus pour les échantillons non dopés, c'est-à-dire une stabilité plus importante en milieu physiologique du revêtement électrodéposé avec 9% de peroxyde d'hydrogène.

Ces résultats mettent en évidence que l'ajout de peroxyde d'hydrogène dans la solution électrolytique permet de moduler la quantité de strontium relarguée et sa vitesse de relargage en milieu physiologique.

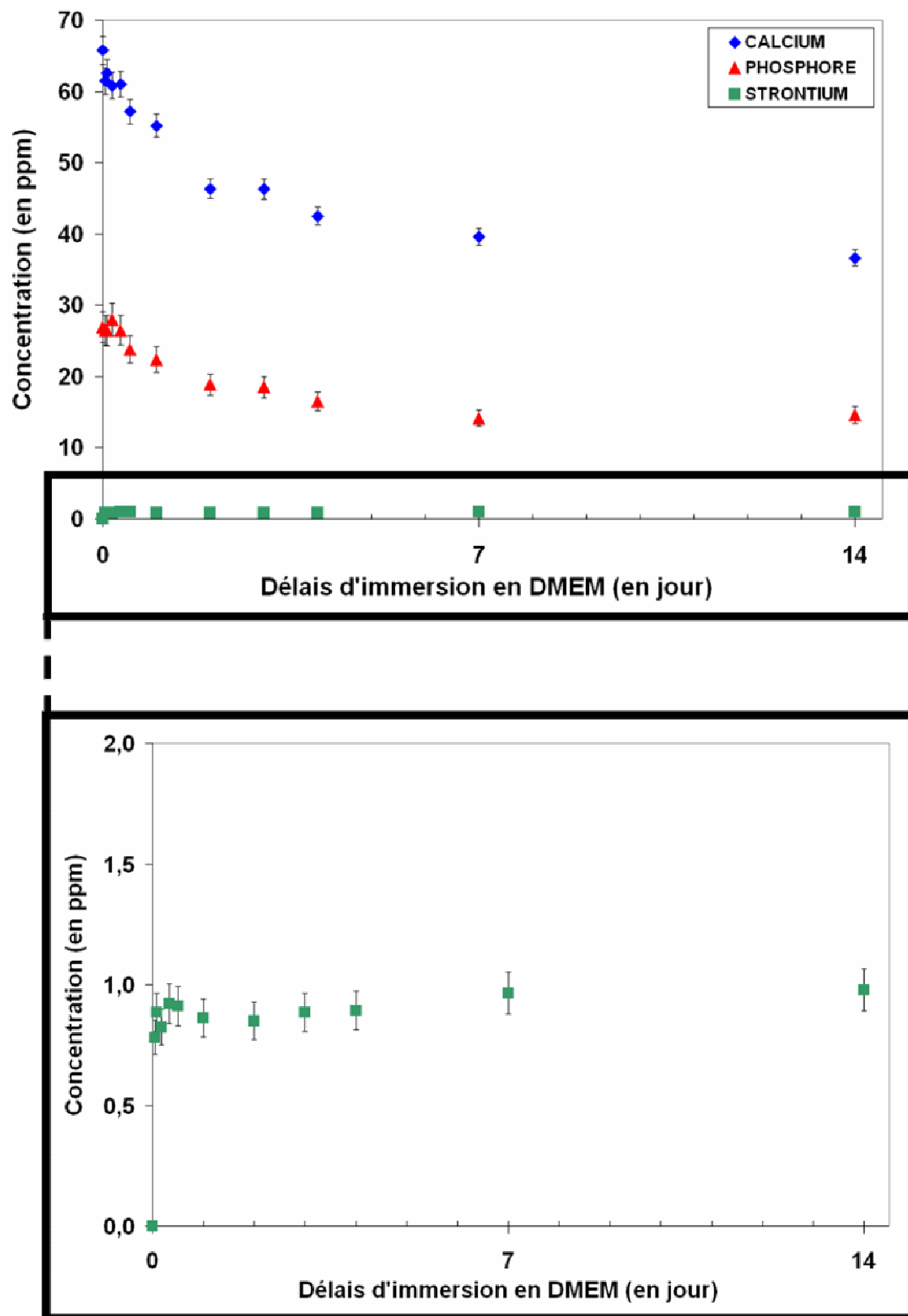


Figure 90 : évolution des concentrations du calcium, phosphore et strontium en fonction du temps d'immersion des revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés à partir d'un électrolyte contenant 0% de peroxyde d'hydrogène

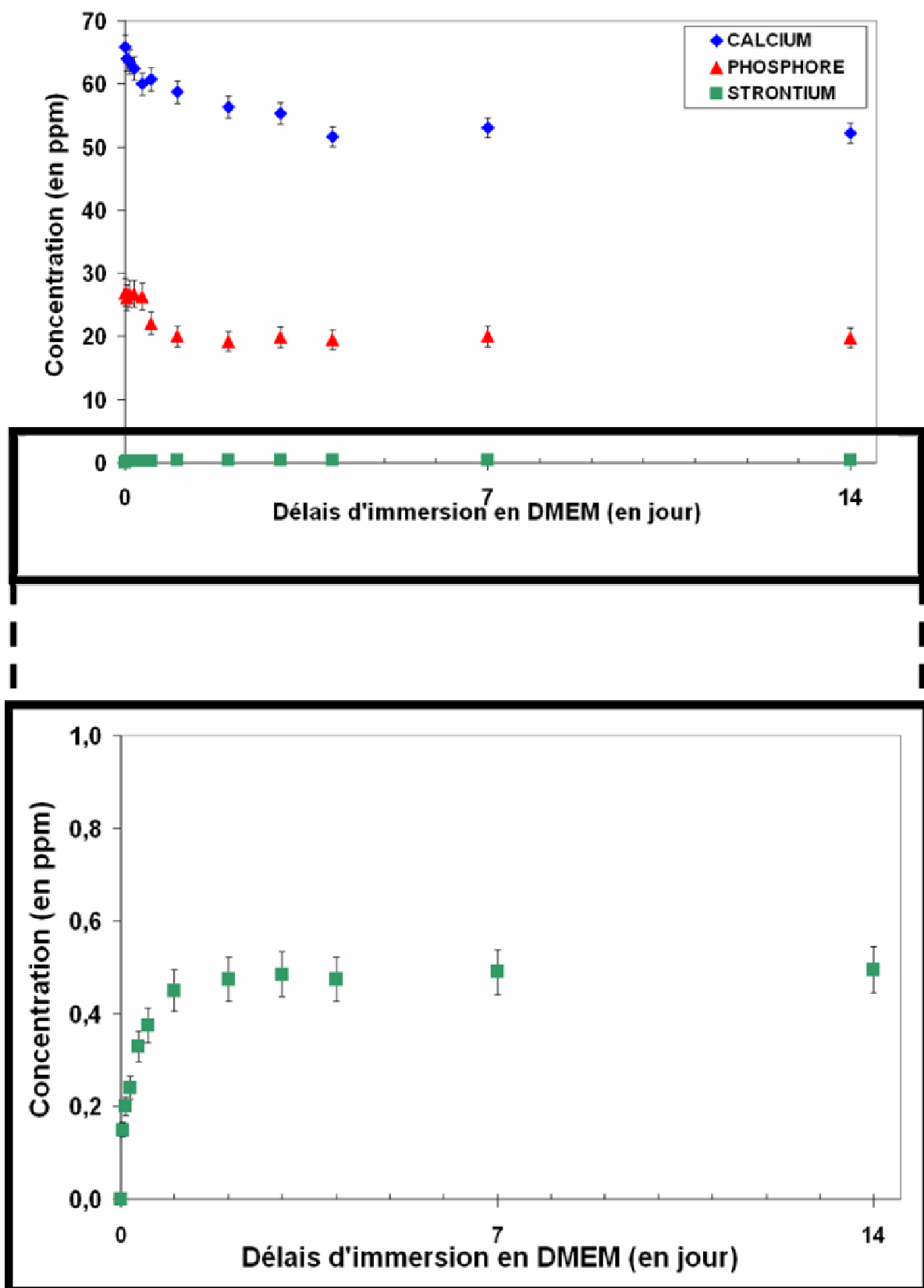


Figure 91 : évolution des concentrations du calcium, phosphore et strontium en fonction du temps d'immersion des revêtements 5%Sr-CaP électrodéposés à partir d'un électrolyte contenant 9% de peroxyde d'hydrogène

6 Conclusion

Dans cette partie, le dopage au strontium de revêtements phosphocalciques électrodéposés a été étudié. L'équivalence entre la quantité introduite en solution et la quantité présente dans le revêtement a été déterminée. Il apparaît ainsi que la proportion de strontium dans le revêtement est systématiquement égale à la moitié de celle introduite en solution. Les caractérisations physico-chimiques réalisées sur les revêtements dopés ont mis en évidence une distribution homogène du strontium au sein d'une phase apatitique faiblement cristallisée. Après un traitement en température adéquat, le revêtement synthétisé cristallise en deux phases, l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique β , dont les proportions ont été déterminées par diffraction des rayons X. Il apparaît que la proportion de ces deux phases est différente de celle observée pour des revêtements sans dopage électrodéposés dans les mêmes conditions expérimentales.

Une caractérisation structurale a été réalisée à une échelle nanométrique par spectroscopie de perte d'énergie des électrons. Les résultats obtenus ont confirmé les proportions de phases déterminées en diffraction des rayons X dans lesquelles le strontium est uniformément réparti.

Enfin, l'étude en milieu physiologique des revêtements dopés a permis d'observer un relargage du strontium dont la cinétique peut être contrôlée par l'ajout de peroxyde d'hydrogène dans la solution électrolytique.

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont abouti à l'élaboration de nouveaux revêtements prothétiques phosphocalciques par électrodéposition. Dans un premier temps, les mécanismes réactionnels de ce procédé ont été présentés afin de comprendre les processus élémentaires qui le composent dans le but d'établir le lien qui existe entre la densité de courant appliquée et la composition chimique du revêtement électrodéposé. Cependant, lorsque la densité de courant appliquée devient trop élevée, nous avons montré que la réduction de l'eau produit de grandes quantités de bulles de dihydrogène qui fragilisent le revêtement. Afin de dépasser les limites imposées par l'élaboration en courant continu, nous avons mis en place et optimisé l'électrodéposition en mode courant pulsé. Une densité de courant plus importante peut alors être utilisée, réduisant ainsi le déficit en calcium du revêtement précipité. Les revêtements ainsi obtenus sont homogènes et sont constitués d'aiguilles nettement plus fines que celles observées pour les revêtements électrodéposés en courant continu. Cependant, le déficit en calcium du revêtement précipité est toujours présent et afin de le réduire davantage, nous avons ajouté du peroxyde d'hydrogène dans la solution électrolytique. La réduction du peroxyde d'hydrogène a permis d'augmenter la valeur de pH local à la cathode et d'obtenir ainsi un revêtement plus compact et moins poreux dont la composition chimique peut être contrôlée, allant d'une hydroxyapatite déficitaire en calcium à une hydroxyapatite stœchiométrique.

L'électrodéposition étant réalisée en milieu aqueux, elle impose un traitement en température pour finaliser l'élaboration afin d'évaporer les solvants piégés dans le revêtement et d'améliorer ses propriétés mécaniques. Les modifications morphologiques et structurales du revêtement lors d'un traitement en température à l'air ont été présentées jusqu'à 1000 °C. Cependant ce traitement de l'alliage de titane entraîne la formation d'une épaisse couche d'oxyde friable en surface lorsque la température est supérieure à 600 °C. Nous avons donc limité la température à 550 °C pour un traitement à l'air des implants élaborés. À cette température, les observations de la coupe transverse de l'alliage revêtu ont montré une amélioration du lien entre le revêtement et le substrat. De plus, l'adhésion du revêtement phosphocalcique au substrat métallique a été mesurée par une méthode normalisée et nous avons observé que ce traitement permet d'obtenir une valeur d'adhésion égale à 16,5 MPa, supérieure aux 15 MPa nécessaires pour la commercialisation d'implants orthopédiques.

Le comportement des implants prothétiques ainsi élaborés a été caractérisé en milieu physiologique artificiel. Des études du comportement vis-à-vis de la corrosion ont été menées

par deux méthodes, la représentation de Tafel des courbes de polarisation et la spectroscopie d'impédance électrochimique. Ces deux méthodes ont indiqué que les revêtements phosphocalciques agissent comme une barrière de protection contre la corrosion de l'alliage de titane, particulièrement pour le revêtement élaboré avec 9% de peroxyde d'hydrogène qui est plus compact et moins poreux que le revêtement électrodéposé sans peroxyde d'hydrogène. Nous avons ensuite étudié la dissolution et la précipitation des revêtements immergés dans un milieu physiologique et nous avons observé la précipitation d'une couche d'apatite osseuse à la surface du revêtement phosphocalcique, caractéristique de la bioactivité du revêtement. La couche ainsi formée présente une rugosité nettement plus faible que le revêtement électrodéposé et elle améliore davantage la protection contre la corrosion de l'alliage de titane.

Enfin, la méthodologie développée a été transposée à l'élaboration de revêtements dopés avec un cation divalent qui favorise l'action des cellules osseuses : le strontium. La quantité incorporée en solution a été optimisée afin d'obtenir une substitution atomique égale à 5% dans le revêtement. La caractérisation physico-chimique des revêtements élaborés a montré que la répartition du strontium dans le revêtement est homogène. Cependant, les caractérisations structurales du revêtement dopé indiquent que le dopage au strontium modifie la composition du revêtement après un traitement en température. Nous avons en effet constaté que l'incorporation de strontium favorise la formation de phosphate tricalcique β et défavorise la formation d'hydroxyapatite. Une caractérisation à une échelle submicrométrique a également été réalisée et a permis d'observer notamment que l'élément dopant incorporé est uniformément réparti dans ces deux phases. Les revêtements dopés au strontium ont ensuite été immergés en milieu physiologique et le relargage du strontium dans le milieu a été étudié. Nous avons ainsi observé que l'incorporation de peroxyde d'hydrogène dans l'électrolyte permet de contrôler la stœchiométrie du revêtement électrodéposé, c'est-à-dire sa solubilité en milieu aqueux, et donc le relargage du strontium dans le milieu physiologique.

Les développements réalisés dans ce travail permettent donc d'élaborer de nouveaux revêtements prothétiques phosphocalciques par électrodéposition dont la composition chimique est contrôlée. Nous sommes ainsi en mesure de produire des implants orthopédiques dont la bioactivité en milieu physiologique est contrôlée. La modulation de ces propriétés nous permet dans le cas de revêtements dopés par un agent actif de contrôler la cinétique de relargage de cet élément dans le milieu physiologique environnant.

Perspectives

Les résultats présentés dans ce manuscrit permettent d'envisager plusieurs pistes de travail. Dans un premier temps, de nouveaux agents actifs pourraient être incorporés au sein des revêtements phosphocalciques électrodéposés. Nous envisageons de doper les revêtements phosphocalciques avec des cations divalents tels que le magnésium ou le manganèse qui favorisent les interactions avec les tissus osseux, ou encore le zinc qui est connu pour diminuer la réponse inflammatoire. La complémentarité de ces éléments nous fait envisager l'incorporation simultanée de plusieurs cations afin de combiner leurs effets respectifs. Ces travaux nécessiteront de définir l'équivalence entre leur concentration en solution et leur concentration dans le revêtement, puis de déterminer l'effet de l'incorporation de ces éléments sur la structure de ces revêtements. La flexibilité de l'électrodéposition permet également d'envisager l'élaboration de revêtements composites comportant des macromolécules telles que le chitosan (polymère) ou le collagène (protéine) dans le revêtement. Ces éléments sont connus pour être favorables à la synthèse de la matrice extracellulaire, support de la repousse osseuse.

Nous envisageons également d'expérimenter le traitement thermique sous atmosphère contrôlée ou sous vide des échantillons élaborés afin d'éviter l'oxydation du titane qui intervient à des températures élevées. Nous pensons ainsi obtenir un plus large contrôle sur la cristallinité et la morphologie des revêtements électrodéposés en améliorant davantage leurs propriétés mécaniques.

Les nouveaux revêtements phosphocalciques élaborés dans ce travail devront être testés en présence de cellules osseuses afin de compléter les études de biocompatibilité qui ont été présentées. Il s'agira d'étudier la prolifération, la viabilité et la différenciation des cellules placées au contact de ces revêtements prothétiques.

Enfin, au laboratoire une autre technique d'élaboration de revêtements prothétiques est actuellement en cours de développement : l'électrophorèse. De nombreuses comparaisons pourront être menées afin d'établir la complémentarité des deux techniques pour élaborer des revêtements phosphocalciques.

Bibliographie

- [1] WILLIAMS DF. - *The Williams dictionary of biomaterials* - Liverpool (United Kingdom), Liverpool University Press, 1999.
- [2] PAITAL SR, DAHOTRE NB. - Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies - *Materials Science and Engineering R*, 2009, 66, 1-70.
- [3] RACK HJ, QAZI JI. - Titanium alloys for biomedical applications - *Materials Science and Engineering C*, 2006, 26, 1269-1277.
- [4] WILLIAMS DF. - On the mechanisms of biocompatibility – *Biomaterials*, 2008, 29, 2941-2953.
- [5] CAO W, HENCH LL. - Bioactive Materials - *Ceramics International*, 1996, 22, 493-507.
- [6] HENCH LL. - Bioceramics: From Concept to Clinic - *Journal of the American Ceramic Society*, 1991, 74, 1487-1510.
- [7] NARAYANAN R, SESHADRI SK, KWON TY, KIM KH. - Calcium Phosphate-Based Coatings on Titanium and Its Alloys - *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2008, 85, 279-299.
- [8] DOROZHUKIN SV. - Bioceramics of calcium orthophosphates – *Biomaterials*, 2010, 31, 1465-1485.
- [9] WANG L, NANCOLLAS GH. - Calcium Orthophosphates: Crystallization and Dissolution - *Chemical Reviews*, 2008, 108, 4628-4669.
- [10] ELLIOTT JC. - *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates* - Amsterdam (Netherlands), Elsevier Science, 1994.
- [11] BOHNER M. - Resorbable biomaterials as bone graft substitutes - *Materials Today*, 2010, 13, 24-30.
- [12] BOULER JM, LEGEROS RZ, DACULSI G. - Biphasic calcium phosphates: Influence of three synthesis parameters on the HA/ β -TCP ratio - *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000, 51(4), 680-684.
- [13] LEON B, JANSEN JA. - *Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants* - New York (USA), Springer Science, 2009.
- [14] ARIAS JL, GARCIA-SANZ FJ, MAYOR MB, CHIUSSI S, POU J, LEON B, PEREZ-AMOR M. - Physicochemical properties of calcium phosphate coatings produced by pulsed laser deposition at different water vapour pressures – *Biomaterials*, 1998, 19, 883-888.
- [15] LEEUWENBURGH SCG, WOLKE JGC, SCHOONMAN J, JANSEN JA. - Influence of deposition parameters on morphological properties of biomedical calcium phosphate coatings prepared using electrostatic spray deposition - *Thin Solid Films*, 2005, 472, 105-113.
- [16] TKALCEC E, SAUER M, NONNINGER R, SCHMIDT H. - Sol-gel-derived hydroxyapatite powders and coatings - *Journal of Materials Science*, 2001, 36, 5253-5263.

- [17] CORNI I, RYAN MP, BOCCACCINI AR. - Electrophoretic deposition: From traditional ceramics to nanotechnology - *Journal of the European Ceramic Society*, 2008, 28, 1353-1367.
- [18] BOCCACCINI AR, KEIM S, MA R, LI Y, ZHITOMIRSKY I. - Electrophoretic deposition of biomaterials - *Journal of the Royal Society Interface*, 2010, 7, S581-S613.
- [19] POUCHOU JL. - X-Ray microanalysis of thin surface films and coatings - *Mikochimica Acta*, 2002, 138, 133-152.
- [20] CASTAING R. - Electron probe micranalysis - *Advances in Electronics and Electron Physics*, 1960, 13, 317-386.
- [21] BENHAYOUNE H. - X-ray microanalysis of multi-elements coatings using Auger formalism: application to biomaterials - *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2002, 35, 1526-1531.
- [22] BENHAYOUNE H, DUMELIE N, BALOSSIER G. - Substrate effects correction in Auger spectroscopy and electron probe microanalysis of thin films - *Thin Solid Films*, 2005, 493, 113-123.
- [23] DUMELIE N, BENHAYOUNE H, BALOSSIER G. - TF_Quantif: a procedure for quantitative mapping of thin films on heterogeneous substrates in electron probe microanalysis (EPMA) - *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2007, 40, 2124-2131.
- [24] www.icdd.com
- [25] AFNOR - *Détermination quantitative du rapport Ca/P de phosphates de calcium* - Norme française NF S 94-066, 1998.
- [26] AFNOR - *Implants chirurgicaux, Hydroxyapatite partie 3 : analyse chimique et caractérisation de la cristallinité et de la pureté de phase* - Norme NF ISO 13779-3, 2008.
- [27] DIARD JP, LE GORREC B, MONTELLE C. - *Cinétique électrochimique* - Paris : Hermann éditeurs des sciences et des arts, 1996.
- [28] VALERO VIDAL C, IGUAL MUÑOZ A. - *Electrochemical Aspects in Biomedical Alloy Characterization: Electrochemical Impedance Spectroscopy; Biomedical Engineering, Trends in Materials Science* - Anthony N. Laskovski, Intech, www.intechopen.com, 2011.
- [29] AFNOR - *Matériaux pour implants chirurgicaux. Détermination de l'adhérence en traction des revêtements phosphocalciques pour applications biomédicales* – Norme française NF S 94-072, 1998.
- [30] SHIRKHZANZADEH M. - Bioactive calcium-phosphate coatings prepared by electro-deposition - *Journal of Materials Science Letters*, 1991, 10 (23), 1415-1417.
- [31] SHIRKHZANZADEH M. - Direct formation of nanophase hydroxyapatite on cathodically polarized electrodes - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1998, 9, 67-72.
- [32] MANSO M, JIMÉNEZ C, MORANT C, HERRERO P, MARTINEZ-DUART JM. - Electrodeposition of hydroxyapatite coatings in basic conditions - *Biomaterials*, 2000, 21, 1755-1761.

- [33] MONTERO-OCAMPO C, VILLEGAS D, VELEVA L. - Controlled potential electrodeposition of calcium phosphate on Ti6Al4V - *Journal of the Electrochemical Society*, 2005, 152 (10), C692-C696.
- [34] REDEPENNING J, MacISAAC JP. - Electrocrystallization of brushite coatings on prosthetic alloys - *Chemistry of Materials*, 1990, 2 (6), 625-627.
- [35] NARAYANAN R, KWON TY, KIM KH. - Direct nanocrystalline hydroxyapatite formation on titanium from ultrasonated electrochemical bath at physiological pH - *Materials Science and Engineering C*, 2008, 28, 1265-1270.
- [36] THERESE GHA, KAMATH PV. - Electrochemical synthesis of metal oxides and hydroxides - *Chemistry of Materials*, 2000, 12, 1195-1204.
- [37] ELIAZ N, SRIDHAR TM. - Electrocrystallization of hydroxyapatite and its dependence on solution conditions - *Crystal Growth and Design*, 2008, 8, 3965-3977.
- [38] LIN S, LEGEROS RZ, LEGEROS JP. - Adherent octacalciumphosphate coating on titanium alloy using modulated electrochemical deposition method - *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2003, 66, 819-828.
- [39] LYNN AK, BONFIELD W. - A Novel Method for the Simultaneous, Titrant-Free Control of pH and Calcium Phosphate Mass Yield - *Accounts of Chemical Research*, 2005, 38, 202-207.
- [40] HAN Y, XU K, LU J. - Morphology and composition of hydroxyapatite coatings prepared by hydrothermal treatment on electrodeposited brushite coatings - *Journal of Material Sciences : Materials in Medicine*, 1999, 10, 243-248.
- [41] RAKNGARM A, MUTOH Y. - Electrochemical depositions of calcium phosphate film on commercial pure titanium and Ti6Al4V in two types of electrolyte at room temperature - *Materials Science and Engineering C*, 2009, 29, 275-283.
- [42] RAYNAUD S, CHAMPION E, BERNACHE-ASSOLLANT D, THOMAS P. - Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders - *Biomaterials*, 2002, 23, 1065-1072.
- [43] HUELIN SD, BAKER HR, MERSCHROD EF, PODUSKA KM. - Phase-Selective Electroprecipitation of Calcium Phosphate Thin Films at Physiological Temperatures - *Crystal Growth and Design*, 2006, 6, 2634-2636.
- [44] BAN S, MARUNO S. - Effect of temperature on electrochemical deposition of calcium phosphate coatings in a simulated body fluid - *Biomaterials*, 1995, 16, 977-981.
- [45] BAN S, MARUNO S. - Morphology and microstructure of electrochemically deposited calcium phosphates in a modified simulated body fluid - *Biomaterials*, 1998, 19, 1245-1253.
- [46] ZHANG JM, LIN CJ, FENG ZD, TIAN ZW. - Mechanistics studies of electrodeposition for bioceramics coatings of calcium phosphates by in situ pH-microsensor technique - *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1998, 452, 235-240.

- [47] ABDEL-AAL EA, DIETRICH D, STEINHAEUSER S, WIELAGE B. - Electrocrystallization of nanocrystallite calcium phosphates coatings on titanium substrate at different current densities - *Surface and coatings technology*, 2008, 202, 5895-5900.
- [48] DUMELIÉ N, BENHAYOUNE H, ROUSSE-BERTRAND C, BOUTHORS S, PERCHET A, WORTHAM L, DOUGLADE J, LAURENT-MAQUIN D, BALOSSIER G. - Characterization of electrodeposited calcium phosphate coatings by complementary scanning electron microscopy and scanning-transmission electron microscopy associated to X-ray microanalysis - *Thin Solid Films*, 2005, 492, 131-139.
- [49] ELIAZ N, ELIYAHU M. - Electrochemical processes of nucleation and growth of hydroxyapatite on titanium supported by real-time electrochemical atomic force microscopy - *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2007, 80, 621-634.
- [50] RAYNAUD S, CHAMPION E, BERNACHE-ASSOLANT D. - Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio II. Calcination and sintering - *Biomaterials*, 2002, 23, 1073-1080.
- [51] RÖSSLER S, SEWING A, STÖLZEL M, BORN R, SCHARNWEBER D, DARD M, WORCH H. - Electrochemically assisted deposition of thin calcium phosphate coatings at near-physiological pH and temperature - *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2003, 64, 655-663.
- [52] NGUYEN B. - Électrodéposition par courants pulsés - *Techniques de l'Ingénieur*, 1998, M 1627, 1-18.
- [53] RAYNAUD S, CHAMPION E, BERNACHE-ASSOLANT D, LAVAL JP. - Determination of calcium/phosphorus atomic ratio of calcium phosphate apatites using X-ray diffractometry - *Journal of the American Ceramic Society*, 2001, 84, 359-366.
- [54] LIOU SC, CHEN SY. - Transformation mechanism of different chemically precipitated apatitic precursors into β -tricalcium phosphate upon calcinations - *Biomaterials*, 2002, 23, 4541-4547.
- [55] ZHITOMIRSKY I. - Electrophoretic and electrolytic deposition of ceramic coatings on carbon fibers - *Journal of the European Ceramic Society*, 1998, 18, 849-856.
- [56] ZHITOMIRSKY I. - Electrolytic deposition of oxide films in the presence of hydrogen peroxide - *Journal of the European Ceramic Society*, 1999, 19, 2581-2587.
- [57] CHEN X, ZHAO Z, CHEN A, LI H. - Pulsed electrodeposition of hydroxyapatite on titanium substrate in solution containing hydrogen peroxide - *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2007, 17, 617-621.
- [58] WANG J, CHAO Y, WAN Q, ZHU Z, YU H. - Fluoridated hydroxyapatite coatings on titanium obtained by electrochemical deposition - *Acta Biomaterialia*, 2009, 5, 1798-1807.
- [59] ELIAZ N, KOPELOVITCH W, BURSTEIN L, KOBAYASHI E, HANAWA T. - Electrochemical processes of nucleation and growth of calcium phosphate on titanium supported by real-time quartz crystal microbalance measurements and X-ray photoelectron spectroscopy analysis - *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2009, 89, 270-280.

- [60] ZHITOMIRSKY I. - Cathodic electrodeposition of ceramic and organoceramic materials. Fundamental aspects - *Advances in Colloid and Interface Science*, 2002, 97, 279-317.
- [61] AFNOR - *Implants chirurgicaux, Hydroxyapatite Partie 2: Revêtements à base d'hydroxyapatite*. – Norme NF ISO 13779-2, 2008.
- [62] SHIRKHAZADEH M. - Calcium phosphate coatings prepared by electrocrystallization from aqueous electrolytes - *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 1995, 6, 90-93.
- [63] WANG J, CHAO Y, WAN Q, ZHU Z, YU H. - Fluoridated hydroxyapatite coatings on titanium obtained by electrochemical deposition - *Acta Biomaterialia*, 2009, 5, 1798-1807.
- [64] KUO MC, YEN SK. - The process of electrochemical deposited hydroxyapatite coatings on biomedical titanium at room temperature - *Materials Science and Engineering C*, 2002, 20, 153-160.
- [65] VALLET-REGI M, GONZALEZ-CALBET JM. - Calcium phosphates as substitution of bone tissues - *Progress in Solid State Chemistry*, 2004, 32, 1-31.
- [66] DOROZHKIN SV. - Bioceramics of calcium orthophosphates – *Biomaterials*, 2010, 31, 1465-1485.
- [67] LEGEROS RZ, LIN S, ROHANIZADEH R, MIJARES D, LEGEROS JP. - Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2003, 14, 201-209.
- [68] HARADA Y, WANG JT, DOPPALAPUDI VA, WILLIS AA, JASTY M, HARRIS WH, NAGASE M, GOLDRING SR. - Differential effects of different forms of hydroxyapatite and hydroxyapatite/tricalcium phosphate particulates on human monocyte/macrophages in vitro - *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 1996, 31, 19-26.
- [69] CAVALLI M, GNAPPI G, MONTENERO A, BERSANI D, LOTTICI PP, KACIULIS S, MATTOGNO G, FINI M. - Hydroxy- and fluorapatite films on Ti alloy substrates: Sol-gel preparation and characterization - *Journal of Materials Science*, 2001, 36, 3253-3260.
- [70] KIM HM, HIMENO T, KOKUBO T, NAKAMURA T. - Process and kinetics of bonelike apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid - *Biomaterials*, 2005, 26, 4366-4373.
- [71] PATTANAYAK DK, DASH R, PRASAD RC, RAO BT, RAMA MOHAN TR. - Synthesis and sintered properties evaluation of calcium phosphate ceramics - *Materials Science and Engineering C*, 2007, 27, 684–690.
- [72] COMBRES Y. - Propriétés du titane et de ses alliages - *Techniques de l'ingénieur*, 1999, M557, 1-16.
- [73] SCHUMAN C, LENARDUZZI E, WEBER S, PHILIPPE MJ, PETELOT D, BOUNIE P. - Modelling the oxygen diffusion profile in TA3V and T40 during, heat-treatment under air between 620 and 850 °C - *Surface and Coatings Technology*, 2006, 200, 4572-4578.

- [74] MUNGOLE MN, SINGH N, MATHUR GN. - Oxidation behaviour of Ti6Al4V titanium alloy in oxygen - *Materials Science and Technology*, 2002, 18, 111-114.
- [75] GULERYUZ H, CIMENOGLU H. - Oxidation of Ti-6Al-4V alloy - *Journal of Alloys and Compounds*, 2009, 472, 241-246.
- [76] GULERYUZ H, CIMENOGLU H. - Surface modification of a Ti-6Al-4V alloy by thermal oxidation - *Surface and Coatings Technology*, 2005, 192, 164-170.
- [77] GEETHA M, SINGH AK, ASOKAMANI R, GOGIA AK. - Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review - *Progress in Materials Science*, 2009, 54, 397-425.
- [78] DU HL, DATTA PK, LEWIS DB, BURNELL-GRAY JS. - Air oxidation behaviour of Ti6Al4V alloy between 650 and 850° C - *Corrosion Science*, 1994, 36, 631-642.
- [79] GARBACZ H, LEWANDOWSKA M. - Microstructural changes during oxidation of titanium alloys - *Materials Chemistry and Physics*, 2003, 81, 542-547.
- [80] SINGH R, DAHOTRE N. - Corrosion degradation and prevention by surface modification of biometallic materials - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2007, 18, 725-751.
- [81] MU Y, KOBAYASHI T, SUMITA M, YAMAMOTO A, HANAWA T. - Metal ion release from titanium with active oxygen species generated by rat macrophages in vitro - *Journal of Biomedical Materials Research Part B : Applied Biomaterials*, 2000, 49, 238-243.
- [82] GUIBERT G, IRIGARAY JL, MORETTO P, SAUVAGE T, KEMENY JL, CAZENAVE A, JALLOT E. - Characterisation by PIXE-RBS of metallic contamination of tissues surrounding a metallic prosthesis on a knee - *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2006, 251, 246-256.
- [83] EISENBARTH E, VELTEN D, MÜLLER M, THULL R, BREME J. - Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys - *Biomaterials*, 2004, 25, 5705-5713.
- [84] EISENBARTH E, VELTEN D, SCHENK-MEUSER K, LINEZ P, BIEHL V, DUSCHNER H, BREME J, HILDEBRAND H. - Interactions between cells and titanium surfaces - *Biomolecular Engineering*, 2002, 19, 243-249.
- [85] SOUTO RM, LAZ MM, REIS RL. - Degradation characteristics of hydroxyapatite coatings on orthopaedic TiAlV in simulated physiological media investigated by electrochemical impedance spectroscopy - *Biomaterials*, 2003, 24, 4213-4221.
- [86] COELHO PG, DE ASSIS SL, COSTA I, THOMPSON VP. - Corrosion resistance evaluation of a Ca- and P-based bioceramic thin coating in Ti-6Al-4V - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2009, 20, 215-222.
- [87] BARRERE F, MAHMOOD TA, DE GROOT K, VAN BLITTERSWIJK CA. - Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions - *Materials Science and Engineering R*, 2008, 59, 38-71.

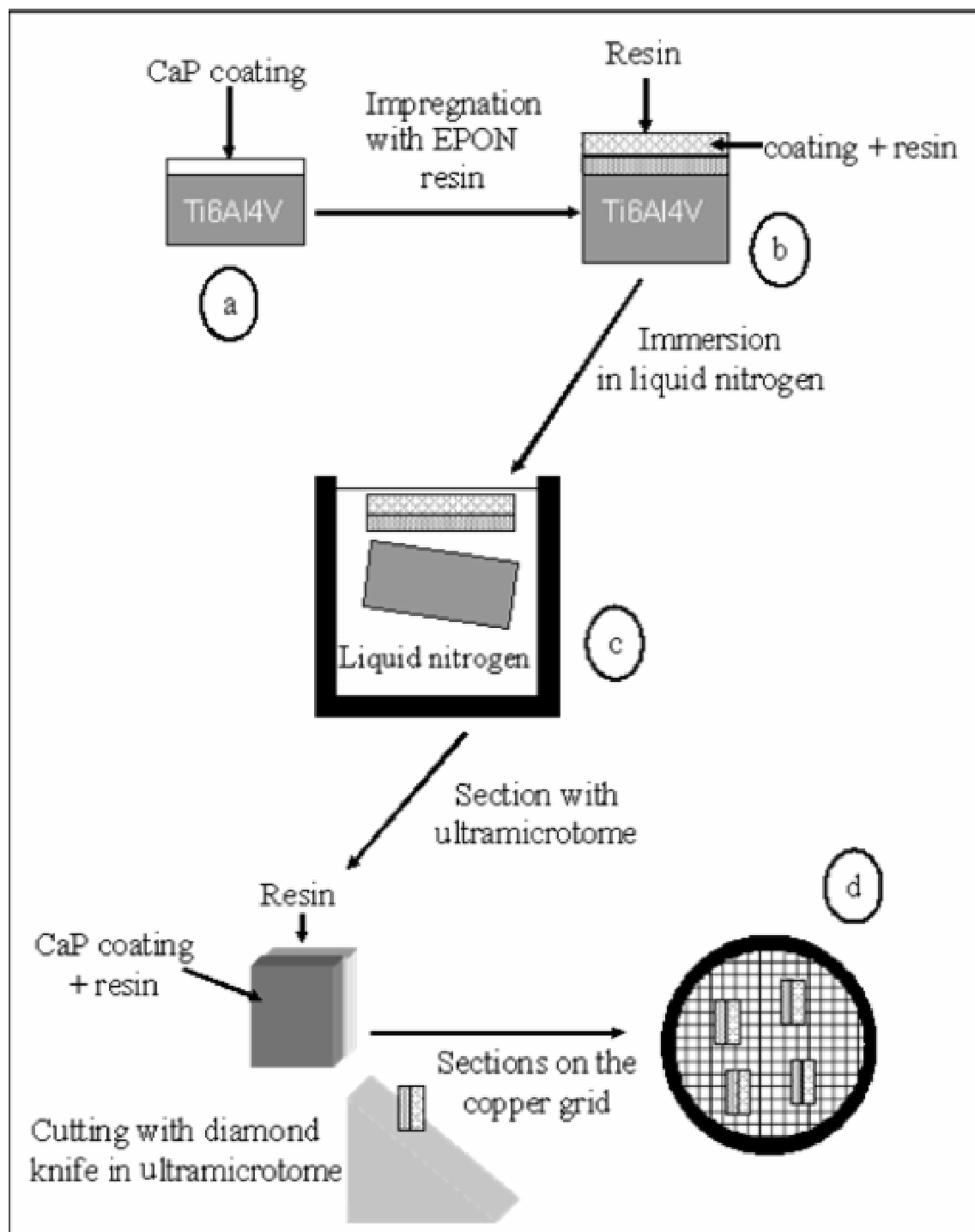
- [88] DUCHEYNE P, QIU Q. - Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function - *Biomaterials* 1999, 20, 2287-2303.
- [89] ZHANG Q, CHEN J, FENG J, CAO Y, DENG C, ZHANG X. - Dissolution and mineralization behaviours of HA coatings – *Biomaterials*, 2003, 24, 4741-4748.
- [90] HENCH LL. - Bioceramics - *Journal of the American Ceramic Society*, 1998, 81(7), 1705-1728.
- [91] KOKUBO T, TAKADAMA H. - How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? - *Biomaterials*, 2006, 27, 2907-2915.
- [92] DULBECCO R, FREEMAN G. - Plaque Production by the Polyoma Virus – *Virology*, 1959, 8, 396-397.
- [93] BASKETT TF. - Sydney Ringer and lactated Ringer's solution - *Resuscitation*, 2003, 58, 5-7.
- [94] BOHNER M, LEMAITRE J. - Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? - *Biomaterials*, 2009, 30, 2175-2179.
- [95] DE ASSIS SL, WOLYNIEC S, COSTA I. - Corrosion characterization of titanium alloys by electrochemical techniques - *Electrochimica Acta*, 2006, 51, 1815-1819.
- [96] FEKRY AM, EL-SHERIF RM. - Electrochemical corrosion behavior of magnesium and titanium alloys in simulated body fluid - *Electrochimica Acta*, 2009, 54, 7280-7285.
- [97] DUMELIE N, BENHAYOUNE H, RICHARD D, LAURENT-MAQUIN D, BALOSSIER G. - In vitro precipitation of electrodeposited calcium-deficient hydroxyapatite coatings on Ti6Al4V substrate - *Materials Characterization*, 2008, 59, 129-133.
- [98] WANG H, ELIAZ N, XIANG Z, HSU HP, SPECTOR M, HOBBS LW - Early bone apposition in vivo on plasma-sprayed and electrochemically deposited hydroxyapatite coatings on titanium alloy – *Biomaterials*, 2006, 27, 4192-4203.
- [99] BRACCI B, TORRICELLI P, PANZAVOLTA S, BOANINI E, GIARDINO R, BIGI A. - Effect of Mg^{2+} , Sr^{2+} , and Mn^{2+} on the chemico-physical and in vitro biological properties of calcium phosphate biomimetic coatings - *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2009, 103, 1666-1674.
- [100] BOANINI E, GAZZANO M, BIGI A. - Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature - *Acta Biomaterialia*, 2010, 6, 1882-1894.
- [101] TANG Y, CHAPPELL HF, DOVE MT, REEDER RJ, LEE YJ. - Zinc incorporation into hydroxylapatite - *Biomaterials*, 2009, 30, 2864-2872.
- [102] CACCIOTTI I, BIANCO A, LOMBARDI M, MONTANARO L. - Mg-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sintering behaviour - *Journal of the European Ceramic Society*, 2009, 29, 2969-2978.

- [103] DROUET C, CARAYON MT, COMBES C, REY C. - Surface enrichment of biomimetic apatites with biologically-active ions Mg^{2+} and Sr^{2+} : A preamble to the activation of bone repair materials - *Materials Science and Engineering C*, 2008, 28, 1544-1550.
- [104] CHRISTOFFERSEN J, CHRISTOFFERSEN MR, KOLTHOFF N, BARENHOLDT O. - Effects of Strontium Ions on Growth and Dissolution of Hydroxyapatite and on Bone Mineral Detection - *Bone*, 1997, 20(1), 47-54.
- [105] MEUNIER PJ, ROUX C, SEEMAN E, ORTOLANI S, BADURSKI JE, SPECTOR TD, CANNATA J, BALOGH A, LEMMEL EM, PORS-NIELSEN S, RIZZOLI R, GENANT HK, REGINSTER JY. - The Effects of Strontium Ranelate on the Risk of Vertebral Fracture in Women with Postmenopausal Osteoporosis – *The New England Journal of Medicine*, 2004, 350, 459-468.
- [106] DAGANG G, KEWEI X, YONG H. - The influence of Sr doses on the in vitro biocompatibility and in vivo degradability of single-phase Sr-incorporated HAP cement - *Journal of Biomedical Material Research Part A*, 2008, 86, 947-958.
- [107] GRYNPAS MD, HAMILTON E, CHEUNG R, TSOUDEROS Y, DELOFFRE P, HOTT M, MARIE PJ. - Strontium increases vertebral bone volume in rats at a low dose that does not induce detectable mineralization defect - *Bone*, 1996, 18(3), 253-259.
- [108] PAN HB, LI ZY, LAM WM, WONG JC, DARVELL BW, LUK KDK, LU WW. - Solubility of strontium-substituted apatite by solid titration - *Acta Biomaterialia*, 2009, 5, 1678-1685.
- [109] HANIFI A, FATHI MH, MIR MOHAMMAD SADEGHI H. - Effect of strontium ions substitution on gene delivery related properties of calcium phosphate nanoparticles - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2010, 21(9), 2601-2609.
- [110] MATSUNAGA K, MURATA H. - Strontium Substitution in Bioactive Calcium Phosphates: A First-Principles Study - *Journal of Physical Chemistry B*, 2009, 113, 3584-3589.
- [111] OLIVEIRA AL, REIS RL, LI P. - Strontium-Substituted Apatite Coating Grown on Ti6Al4V Substrate Through Biomimetic Synthesis - *Journal of Biomedical Material Research Part B: Applied Biomaterials*, 2007, 83, 258-265.
- [112] KIM HW, KOH YH, KONG YM, KANG JG, KIM HE. - Strontium substituted calcium phosphate biphasic ceramics obtained by a powder precipitation method - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2004, 15(10), 1129-1134.
- [113] CAPUCCINI C, TORRICELLI P, BOANINI E, GAZZANO M, GIARDINO R, BIGI A. - Interaction of Sr-doped hydroxyapatite nanocrystals with osteoclast and osteoblast-like cells - *Journal of Biomedical Material Research Part A*, 2009, 89, 594-600.
- [114] DAGANG G, KEWEI X, YONG H. - The influence of Sr doses on the in vitro biocompatibility and in vivo degradability of single-phase Sr-incorporated HAP cement - *Journal of Biomedical Material Research Part A*, 2008, 86, 947-958.

- [115] BRES E, HUTCHISON JL, SENGER B, VOEGEL JC, FRANCK RM - HREM study of irradiation damage in human dental enamel crystals - *Ultramicroscopy*, 1991, 35, 305-322.
- [116] MELDRUM A, WANG LM, EWING RC - Electron-irradiation-induced phase segregation in crystalline and amorphous apatite: a TEM study - *American Mineralogist*, 1997, 82, 858-869.
- [117] GREGORI G, KLEEBE HJ, MAYRA H, ZIEGLER G. - EELS characterisation of β -tricalcium phosphate and hydroxyapatite - *Journal of the European Ceramic Society*, 2006, 26, 1473-1479.
- [118] LEGEROS RZ, LIN S, ROHANIZADEH R, MIJARES D, LEGEROS JP. - Biphasic calcium phosphate bioceramics: Preparation, properties and applications - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2003, 14(3), 201-209.

Annexes

Annexe 1 : Méthode de préparation des revêtements prothétiques pour les observations en microscopie électronique à balayage-transmission (MEBT).



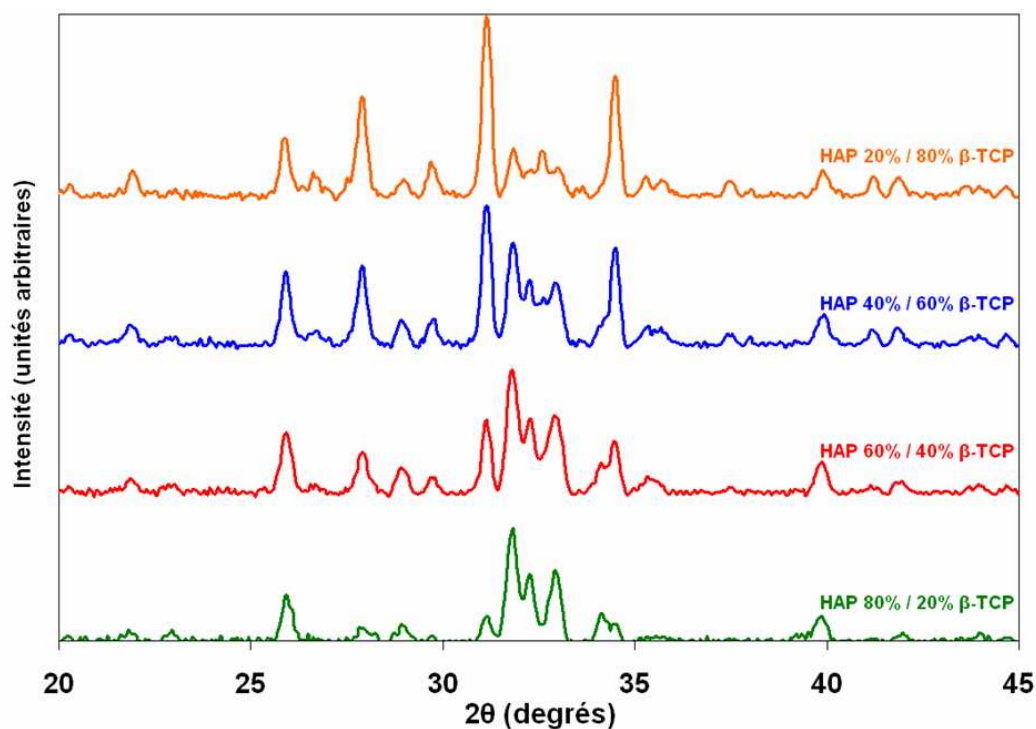
Annexe 2a : Mesure du rapport Ca/P par diffraction des rayons X

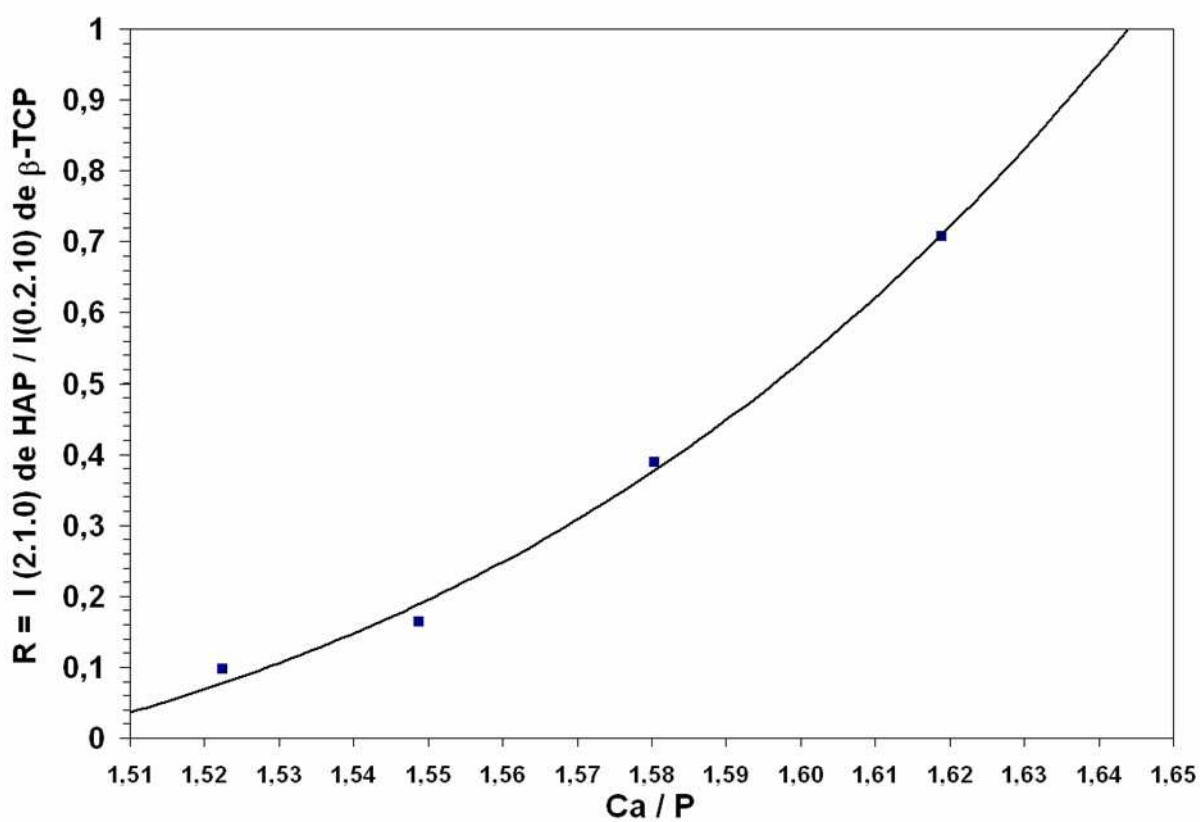
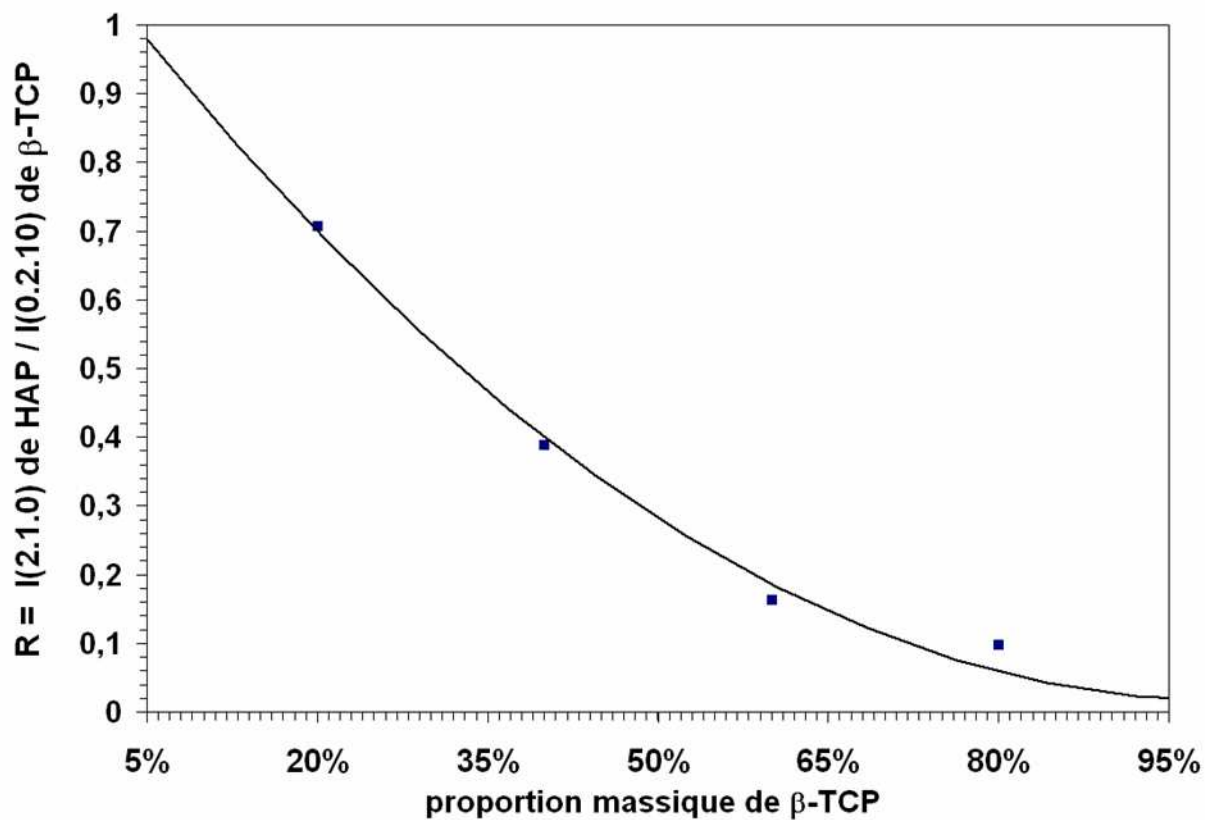
La méthode décrite dans la norme NF S 94-066 consiste à construire un abaque à partir d'échantillons utilisés comme références, et composés de mélange d'HAP et de β -TCP dans des proportions connues. Il s'agit ensuite pour chaque échantillon préparé de comparer l'intensité de la raie (2.1.0.) de l'HAP et de la raie (0.2.10.) du β -TCP pour déterminer un rapport R caractéristique de chaque mélange.

$$R = \frac{\text{Intensité raie (2.1.0.) de l'H.A.P.}}{\text{Intensité raie (0.2.10.) du } \beta\text{-T.C.P.}}$$

- La raie **(2.1.0) de l'H.A.P.** se situe à une distance interréticulaire **$d = 3,08$ angströms** soit un angle de déviation **$2\theta = 28,94^\circ$** .
- La raie **(0.2.10) du β -T.C.P.** se situe à une distance interréticulaire **$d = 2,88$ angströms** soit un angle de déviation **$2\theta = 31,03^\circ$** .

Cette méthode permet ainsi d'élaborer un abaque représentant le rapport R en fonction du pourcentage de β -TCP contenu dans le mélange pour des proportions massiques comprises entre 5% et 95%. Au-delà de ces bornes les raies étudiées sont difficilement discernables du fond continu du diffractogramme. La norme indique que l'incertitude sur le rapport Ca/P est de l'ordre de 0,01.

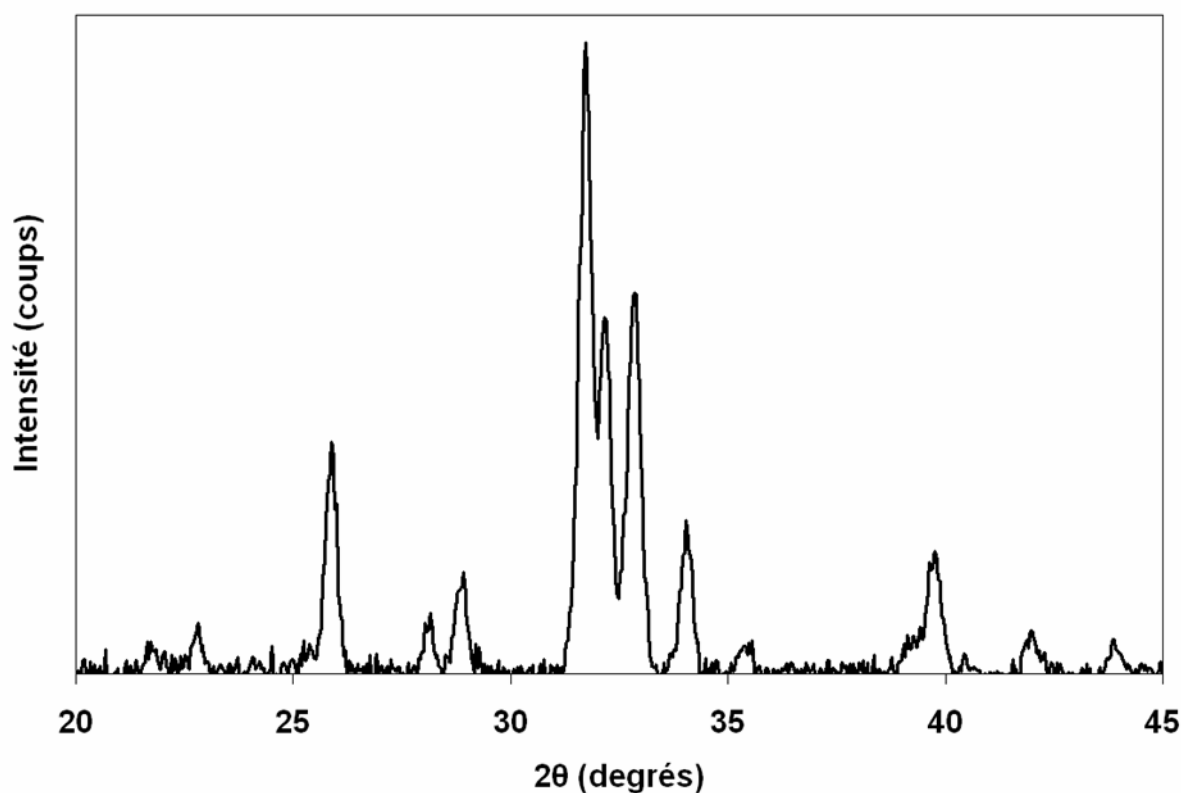




Abaques utilisés pour déterminer la proportion massique de $\beta\text{-TCP}$ et le rapport Ca/P d'un mélange biphasé d'HAP et de $\beta\text{-TCP}$ à partir de la diffraction des rayons X

Annexe 2b : Mesure du taux de cristallinité des revêtements phosphocalciques par diffraction des rayons X

Pour calculer le taux de cristallinité d'une apatite, il faut déterminer l'aire sous les raies (002) - (102) - (210) - (211) - (112) - (300) - (202) - (310) de son diffractogramme, positionnées respectivement à des angles $2\theta = 25,88^\circ - 28,13^\circ - 28,97^\circ - 31,77^\circ - 32,20^\circ - 32,90^\circ - 34,05^\circ - 39,82^\circ$. Il faut ensuite déterminer l'aire sous les mêmes raies d'une hydroxyapatite totalement cristallisée utilisée comme référence. Le taux de cristallinité est obtenu en divisant la valeur déterminée pour l'apatite par celle déterminée pour la référence.



Diffractogramme d'une hydroxyapatite totalement cristallisée utilisée comme référence

Annexe 3 : Compositions chimiques des milieux physiologiques utilisés pour les études de biocompatibilité.

	SBF (g.L ⁻¹)	Solution de Ringer (g.L ⁻¹)	DMEM (g.L ⁻¹)
Sels inorganiques			
NaCl	7,996	9,000	6,400
NaHCO ₃	0,350	0,200	3,700
KCl	0,224	0,420	0,400
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,228	-	-
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305	-	-
CaCl ₂	0,278	0,480	0,264
Na ₂ SO ₄	0,071	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	-	0,200
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	-	-	0,125
Autres composants			
Glucose	-	-	4,500
Pyruvate de sodium	-	-	0,110
Rouge de phénol	-	-	0,0159
Acides aminés			
L-Arginine	-	-	0,084
L-Cystéine	-	-	0,048
L-Alanine	-	-	0,868
L-Glutamine	-	-	0,868
Glycine	-	-	0,03
L-Histidine	-	-	0,042
L-Isoleucine	-	-	0,105
L-Leucine	-	-	0,105
L-Lysine	-	-	0,146
L-Méthionine	-	-	0,030
L-Phénylalanine	-	-	0,066
L-Sérine	-	-	0,042
L-Thréonine	-	-	0,095
L-Tryptophan	-	-	0,016
L-Tyrosine	-	-	0,072
L-Valine	-	-	0,094
Vitamines			
Pantothénate de calcium	-	-	0,004
Chlorure de choline	-	-	0,004
Acide folique	-	-	0,004
myo-Inositol	-	-	0,0072
Nicotinamide	-	-	0,004
Pyridoxine	-	-	0,004
Riboflavine	-	-	0,0004
Thiamine	-	-	0,004

ions	plasma sanguin humain (mM)	SBF (mM)	Solution de Ringer (mM)	DMEM (mM)
Na^{+}	142,0	142,0	156,4	154,4
K^{+}	5,0	5,0	5,6	5,4
Mg^{2+}	1,5	1,5	-	0,8
Ca^{2+}	2,5	2,5	4,3	1,8
Cl^{-}	103,0	147,8	168,2	118,5
HCO_3^{-}	27,0	4,2	2,4	44,0
HPO_4^{2-}	1,0	1,0	-	0,9
SO_4^{2-}	0,5	0,5	-	0,8

Production scientifique issue de ce travail

Brevet international

H. BENHAYOUNE, N. DUMELIE, R. DREVET. “*Procédé d’électrodéposition de revêtements phosphocalciques sur substrats métalliques, revêtements obtenus et matériels implantables comportant de tels revêtements*”. Brevet n° WO2010055231. 20-05-2010.
(Brevet français n° FR2938271 du 14-05-2010)

Publications dans des revues internationales avec comité de lecture

-“*Elaboration of Monophasic and Biphasic Calcium Phosphate Coatings on Ti6Al4V Substrate by Pulsed Electrodeposition Current*”, H. BENHAYOUNE, R. DREVET, J. FAURE, S. POTIRON, T. GLORANT, H. OUDADESSE, D. LAURENT-MAQUIN. **Advanced Engineering Materials** 12 (6), 2010, B192-B199.

-“*Effects of pulsed current and H₂O₂ amount on the composition of electrodeposited calcium phosphate coatings*”, R. DREVET, H. BENHAYOUNE, L. WORTHAM, S. POTIRON, J. DOUGLADE, D. LAURENT-MAQUIN. **Materials Characterization** 61 (8), 2010, 786-795.

-“*In vitro dissolution and corrosion study of calcium phosphate coatings elaborated by pulsed electrodeposition current on Ti6Al4V substrate*”, R. DREVET, F. VELARD, S. POTIRON, D. LAURENT-MAQUIN, H. BENHAYOUNE. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 22 (4), 2011, 753-761.