



HAL
open science

Synthèse et caractérisations de nanotubes de TiO₂ pour applications biomédicales : propriétés électrochimiques et bioactivité

Fanny Hilario

► **To cite this version:**

Fanny Hilario. Synthèse et caractérisations de nanotubes de TiO₂ pour applications biomédicales : propriétés électrochimiques et bioactivité. Génie chimique. Université Grenoble Alpes, 2017. Français. NNT : 2017GREAI121 . tel-01812557

HAL Id: tel-01812557

<https://theses.hal.science/tel-01812557>

Submitted on 11 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Matériaux, Mécanique, Génie Civil, Electrochimie**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Fanny HILARIO

Thèse dirigée par **Ricardo NOGUEIRA, Professeur, The Petroleum Institute, Emirats arabe unis**
et codirigée par **Virginie ROCHE, Maître de conférences, Université Grenoble Alpes**

préparée au sein du **Laboratoire d'Electrochimie et de Physico-chimie des Matériaux et des Interfaces (LEPMI)**
dans **l'École Doctorale Ingénierie – Matériaux, Mécanique, Energétique, Environnement, Procédé, Production (I-MEP²)**

Synthèse et caractérisations de nanotubes de TiO₂ pour applications biomédicales : propriétés électrochimiques et bioactivité

Thèse soutenue publiquement le **2 Octobre 2017**
devant le jury composé de :

M. Yves WOUTERS

Professeur, Université Grenoble Alpes, Président du jury

Mme Nadine PEBERE

Directrice de recherche, Université de Toulouse, Rapporteur

M. Marco MUSIANI

Directeur de recherche, CNR Padova, Italie, Rapporteur

M. Alberto MOREIRA JORGE JUNIOR

Professeur, Université Fédérale de São Carlos, Brésil, Examineur

M. Ricardo NOGUEIRA

Professeur, The Petroleum Institute, Emirats arabe unis, Directeur de thèse

Mme Virginie ROCHE

Maître de conférences, Université Grenoble Alpes, Co-encadrante de thèse



THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Matériaux, Mécanique, Génie Civil, Electrochimie**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Fanny HILARIO

Thèse dirigée par **Ricardo NOGUEIRA**, Professeur, The Petroleum Institute, Emirats arabe unis
et codirigée par **Virginie ROCHE**, Maître de conférences,
Université Grenoble Alpes

préparée au sein du **Laboratoire d'Electrochimie et de Physico-chimie des Matériaux et des Interfaces (LEPMI)**
dans l'**École Doctorale Ingénierie – Matériaux, Mécanique, Energétique, Environnement, Procédé, Production (I-MEP²)**

Synthèse et caractérisations de nanotubes de TiO_2 pour applications biomédicales : propriétés électrochimiques et bioactivité

Thèse soutenue publiquement le **2 Octobre 2017**
devant le jury composé de :

M. Yves WOUTERS

Professeur, Université Grenoble Alpes, Président du jury

Mme Nadine PEBERE

Directrice de recherche, Université de Toulouse, Rapporteur

M. Marco MUSIANI

Directeur de recherche, CNR Padova, Italie, Rapporteur

M. Alberto MOREIRA JORGE JUNIOR

Professeur, Université Fédérale de São Carlos, Brésil, Examineur

M. Ricardo NOGUEIRA

Professeur, The Petroleum Institute, Emirats arabe unis, Directeur de thèse

Mme Virginie ROCHE

Maître de conférences, Université Grenoble Alpes, Co-encadrante de thèse

« Nos vies sont [...] constituées [d'une] accumulation de petits interrupteurs qui s'enchainent, l'un ouvert, le suivant fermé [...] ; ainsi nous propageons le courant de nos existences à coups de trajectoires sinusoïdales aux amplitudes plus ou moins larges, sans [savoir] réellement pourquoi tel ou tel interrupteur est allumé, ce sont simplement les aléas du quotidien, des rencontres, [...], des oublis, des réussites et des échecs... Certains appellent cela le destin, d'autres [...] ne se posent pas la question, ils se contentent de vivre ».

M. Chattam

Remerciements

Il me tient à cœur de remercier un certain nombre de personnes qui, par leur contribution scientifique et/ou leur présence dans mon entourage ces trois dernières années, ont contribué à la réussite de ce travail de thèse.

Tout d'abord, je souhaite remercier vivement Madame Nadine Pébère et Monsieur Marco Musiani, rapporteurs de ce manuscrit, pour leurs évaluations pertinentes et bienveillantes. Je remercie également Monsieur Yves Wouters pour ses remarques avisées et pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

J'adresse également mes sincères remerciements aux acteurs de la plateforme CMTC pour leur disponibilité et leur aide précieuse quant à la caractérisation physico-chimique des échantillons. Ainsi, je remercie sincèrement Thierry Encinas et Stéphane Coindeau pour les mesures DRX. Pour les observations MEB, je remercie Joëlle Calabro, Rachel Martin, Frédéric Charlot et Francine Roussel.

Je remercie également Anderson Lobo et Fernanda Marciano du laboratoire NanoBio de l'université de São José Dos Campos au Brésil pour leur collaboration et pour m'avoir accueillie dans leurs locaux. Merci également à Gabriela Santana-Melo pour les résultats de bioactivité cellulaire. Enfin, merci à Vinie De Abreu Christino et à Juliana Milani pour les bons moments passés à la fois au Brésil et en France, pour avoir partagé avec moi les plaisirs de la culture brésilienne et pour leur gentillesse. Muito obrigada.

J'aimerais aussi remercier les personnes qui m'ont si bien accueillie au département Mesures Physiques de l'IUT1 de Grenoble, où j'ai effectué mon service d'enseignement. Laurent Dessemond, Zette Metifiot, Graziella Kavaklian et Elodie Bidal, c'était un réel plaisir de travailler avec vous !

Je souhaite également vivement remercier l'équipe administrative du laboratoire. Claire Girardi, Claire Benoit et Yasmine Bouhadjar, merci pour votre patience et votre gentillesse.

Je tiens à également à adresser mes remerciements aux permanents du laboratoire pour votre accueil chaleureux, et notamment Eric Chainet, Jean-Pierre Magnin, Jean-Claude Leprêtre et Jonathan Deseure pour l'aide que vous avez pu m'apporter durant ces trois ans.

Je voudrais ensuite remercier la « team Brésil » : Isadora, Telma, Guilherme Z. et Guilherme K. pour avoir partagé votre bonne humeur au laboratoire. Muito obrigada também.

Martin, je souhaite aussi te remercier, notamment pour toutes les discussions où nous nous sommes perdus ensemble dans les méandres obscurs de l'impédance...

Toujours au sujet de la technique d'impédance, merci Clément Boissy pour m'avoir éclairée à de nombreuses reprises !

Daria, je t'adresse également tous mes remerciements, notamment pour ce superbe voyage au Brésil !

Carole, merci énormément de m'avoir prise sous ton aile à mon arrivée, de m'avoir aidée à démarrer correctement cette thèse et de m'avoir formée ; tu es d'une importance capitale dans la réussite de ce travail. Merci pour ton amitié et pour cette initiation au "business face" au Portugal !

Je tiens maintenant à adresser un immense et sincère merci à mes encadrants. Il m'est difficile d'exprimer en quelques mots seulement tout le respect, la gratitude et l'affection que j'ai pour vous trois...

Alberto tout d'abord, merci d'avoir pris part, même de façon non officielle, à l'encadrement de ma thèse. J'ai beaucoup appris de tes idées et conseils. Merci de m'avoir régulièrement motivée à avancer, notamment pour l'écriture du premier article ! Et puis bien évidemment, merci pour ta gentillesse et ta bienveillance, pour les cours de portugais et espagnol dont on taira le contenu et pour me fournir régulièrement en cachaça ! Muito obrigada professor !

Merci à toi également Ricardo, pour m'avoir accordé ta confiance pour mener ce sujet de thèse. Merci de m'avoir transmis une partie de tes connaissances expertes, en matière d'impédance notamment. C'était un honneur d'être supervisée par une personne brillante comme toi. Merci aussi pour tes qualités humaines, pour avoir trouvé les mots pour me donner confiance en moi, pour ne pas avoir hésité à me féliciter quand l'occasion se présentait mais aussi de m'avoir gentiment fait remarquer quand je racontais n'importe quoi ! Et puis merci car c'est grâce à toi que j'ai pu rencontrer tous ces brésiliens formidables ! Obrigada professor !

Virginie enfin, un immense merci à toi, pour ton encadrement au quotidien et pour t'être toujours soucieuse de mon bien être durant ces trois années. Merci de m'avoir proposé cette thèse, de m'avoir fait confiance pour la mener en autonomie, d'avoir toujours soutenu mes choix et de m'avoir boostée quand il le fallait. Merci aussi de m'avoir donné la chance de voyager dans le cadre de ce travail. Je me dois également de te remercier pour toutes les corrections de mes travaux et notamment l'intégralité de ce manuscrit. La liste des choses pour lesquelles j'aimerais te remercier est encore longue et je ne saurais toutes les exprimer, mais je vais terminer en te remerciant pour ta disponibilité et pour toutes ces discussions, scientifiques, mais pas seulement. Merci d'avoir partagé un peu de ta vie avec moi, et d'avoir partagé la mienne.

Et puis, il y a vous les copains, sans qui le quotidien au laboratoire n'aurait jamais été si agréable. Merci pour tous ces moments de rigolade ; heureusement que vous étiez là dans les moments plus difficiles. Et puis on peut toujours compter sur vous pour l'afterwork !

Par ordre d'apparition, merci à Gwenn et Anicet pour vos conseils avisés et pour nous avoir bien guidés, les nouveaux doctorants de l'automne 2014, à notre arrivée. Anicet, merci pour ces discussions pertinentes qui m'ont permis de me remettre en question et pour avoir lancé sournoisement ces si nombreux débats pour animer nos repas ! Gwenn, merci pour ces bons moments quand on partageait le même bureau (ceux incluant une bouillotte chouette notamment...) et pour tous tes bons tuyaux !

Ensuite, merci à ceux qui ont vécu toute cette aventure en même temps que moi, Céline, Raphaël, Vincent, Rémi et Tristan. Merci pour votre bonne humeur et votre soutien. Vous avez tous été de brillants doctorants, c'était une chance de travailler à vos côtés et très motivant ! Pour l'anecdote, merci Tristan pour ces moments magiques de moulinets et de genoux fous, merci Vincent de n'avoir jamais raté une occasion de faire une blague sur ton sujet favori, merci Rémi pour ton rire légendaire et merci Raph pour ton inaltérable sérénité. Célinette, merci pour ton amitié, j'ai beaucoup apprécié partager les moments clés de la dernière année avec toi. Merci aussi pour toutes ces discussions, aussi bien scientifique que politique, culinaire, de voyage, de mode, de make up, de déco d'intérieur, de chats...etc. ! Evidemment, je n'oublie pas non plus les confessions des pauses thé avec Gwenniflette ! Mais « ce qui se passe à la contre reste à la contre » !

Merci également à toi Charles, pour les très bonnes semaines passées en ta compagnie. Merci pour tes leçons sur l'histoire du Brésil et pour ton humour, parfois malgré toi... En effet, j'ai fini par être amusée de tes réponses à retardement ! Tu es vraiment une personne surprenante ; ta maîtrise parfaite du répertoire musicale français des années 80 en est la preuve ! Plus sérieusement, merci pour toutes les gentilles attentions que tu as eu envers moi, merci d'avoir su me donner confiance en moi et merci pour tous tes conseils pour préparer l'après thèse !

Mathieu ensuite, merci d'avoir tant contribué à instaurer une bonne ambiance au laboratoire. Tu possèdes tellement de qualités que tu as très rapidement fait l'unanimité dans l'équipe ! D'ailleurs, merci beaucoup pour l'organisation de ces barbecues légendaires ! Et puis, promis, la prochaine fois je t'inviterai à venir au zoo avec moi !

Je profite de mentionner la team « recyclage » pour te remercier Viheta, pour ton sourire quotidien et pour ton implication dans la concoction de ma confiture de mots !

Je remercie enfin "the last but not the least" à nous avoir rejoints. Merci Fabien pour tes blagues disséminées au compte-goutte mais toujours très bien placées ! Merci Mathieu pour avoir partagé ton sens de la fête ! Merci Neyrouz pour ces SI bons moments ! Merci Guillaume d'avoir la délicatesse de feindre que mes passages intempestifs dans ton bureau pour faire la causette ne t'exaspèrent pas ! Et enfin, merci copine Clémence, alias DJ Jean-Clem, pour ton amitié et ta folie, indispensables à mon bien être ! Tu le sais, tu as fait chavirer mon cœur dès tes premiers jours de thèse ! Grâce à toi, j'ai pu exprimer avec plus de liberté ma propre folie ! Mais je te remercie également d'avoir été ma confidente dans nos moments d'accalmie.

En dehors du laboratoire, j'aimerais vous remercier tous les deux, Marion et Guillaume, pour votre amitié inestimable bien sûr, mais dans le cadre de ces remerciements, pour votre relecture de ce document lors d'un voyage en train ! 🎵 "Call it magic, call it true, I call it magic when I'm with you" 🎵

Enfin, je souhaite remercier ma famille pour m'avoir donné la chance d'obtenir ce doctorat aujourd'hui. Papa, Maman et Laurie, merci de m'avoir toujours soutenue, malgré quelques plaisanteries, et merci d'être fiers de moi, de me le dire ou me le montrer. Pierre, merci pour le réconfort que tu m'apportes et pour me faire rire au quotidien.

■ SOMMAIRE ■

Notations et abréviations	13
Introduction générale.....	15
1. Vers la nanostructuration de la surface du titane pour applications biomédicales : état de l'art	19
1.1. Contexte.....	21
1.2. Les implants orthopédiques métalliques.....	22
1.2.1. Sélection des matériaux métalliques pour applications biomédicales	23
1.2.1.1. <i>Biocompatibilité des implants métalliques</i>	<i>23</i>
1.2.1.2. <i>Corrosion des implants dans le corps humain.....</i>	<i>24</i>
1.2.1.3. <i>Sollicitations mécaniques dans le corps humain</i>	<i>24</i>
1.2.1.4. <i>L'ostéo-intégration</i>	<i>26</i>
1.2.2. Propriétés des matériaux métalliques pour applications biomédicales.....	27
1.2.2.1. <i>Les aciers inoxydables.....</i>	<i>27</i>
1.2.2.2. <i>Les alliages à base de cobalt.....</i>	<i>27</i>
1.2.2.3. <i>Les alliages de titane.....</i>	<i>28</i>
1.3. Le titane et ses alliages	30
1.3.1. Propriétés physiques du titane et de ses alliages.....	30
1.3.2. Applications du titane et de ses alliages.....	32
1.3.3. Utilisation du titane dans les prothèses de hanche	34
1.3.4. Passivité du titane.....	35
1.3.5. Modification de la surface du titane	37
1.4. Croissance de NTs de TiO ₂ par anodisation du Ti.....	40
1.4.1. Les voies de synthèse des NTs de TiO ₂	40
1.4.2. Anodisation du titane	42
1.4.2.1. <i>Principe.....</i>	<i>42</i>
1.4.2.2. <i>Mécanisme de croissance des NTs de TiO₂.....</i>	<i>43</i>
1.4.2.3. <i>Structure morphologique et composition chimique des NTs de TiO₂</i>	<i>48</i>
1.4.2.4. <i>Les différentes générations de NTs de TiO₂</i>	<i>48</i>
1.4.2.5. <i>Contrôle de la morphologie des NTs.....</i>	<i>52</i>
1.4.2.6. <i>Anodisation des alliages de Ti</i>	<i>58</i>
1.4.3. Propriétés du TiO ₂ et des NTs de TiO ₂	59
1.4.3.1. <i>Le TiO₂</i>	<i>59</i>
1.4.3.2. <i>Structure cristalline des NTs de TiO₂ et traitements thermiques</i>	<i>61</i>
1.4.3.3. <i>Influence des traitements thermiques sur les propriétés des NTs de TiO₂</i>	<i>65</i>
1.4.3.4. <i>Applications des NTs de TiO₂</i>	<i>66</i>

2.	Synthèse et caractérisation morpho-structurale de NTs de TiO₂ anodisés ..	69
2.1.	Méthodes expérimentales de synthèse et caractérisation des NTs de TiO ₂ .	71
2.1.1.	Synthèse des NTs de TiO ₂ par anodisation du Ti.....	71
2.1.1.1.	Préparation de la surface du titane.....	71
2.1.1.2.	Montage expérimental.....	72
2.1.1.3.	Paramètres d'anodisation.....	73
2.1.2.	Caractérisations physico-chimiques.....	74
2.1.2.1.	Microscopie électronique à balayage à haute résolution (MEB-FEG) et analyses chimiques (EDS).....	74
2.1.2.2.	Diffraction des rayons X.....	76
2.2.	Vers une synthèse de NTs de TiO ₂ optimisée : influence des paramètres d'anodisation.....	77
2.2.1.	Influence du temps et de la tension d'anodisation.....	77
2.2.2.	Influence de la nature du solvant organique	79
2.2.3.	Influence de la teneur en eau.....	80
2.3.	Synthèse et caractérisation morpho-structurale des surfaces étudiées	82
2.3.1.	Sélection de trois conditions d'anodisation.....	83
2.3.2.	Présentation des trois morphologies de NTs étudiées.....	85
2.3.3.	Estimation de la surface spécifique.....	88
2.3.4.	Présentation des trois structures cristallines étudiées.....	90
3.	Influence de la morphologie et de la structure cristalline des NTs de TiO₂ sur la résistance à la corrosion et la bioactivité de la surface	97
3.1.	Méthodes expérimentales.....	99
3.1.1.	Préparation d'une solution physiologique : « SBF »	99
3.1.2.	Caractérisations électrochimiques	102
3.1.2.1.	Principe de la mesure du potentiel en circuit ouvert.....	102
3.1.2.2.	Principe de la voltampérométrie linéaire et extrapolation de Tafel.....	103
3.1.2.3.	Principe de la Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE).....	107
3.1.2.4.	Montage expérimental, protocole et séquence de mesure	109
3.1.3.	Essais de bioactivité	112
3.2.	Présentation des résultats expérimentaux	113
3.2.1.	Caractérisations électrochimiques des surfaces nanotubulaires de TiO ₂	113
3.2.1.1.	Mesures de l'OCP.....	113
3.2.1.2.	Courbes de polarisation	116
3.2.1.3.	Mesures d'impédance électrochimique (SIE).....	122
3.2.2.	Essais de bioactivité	133
3.2.3.	Discussion	145
3.2.4.	Comportement des cellules au contact des NTs de TiO ₂	148

4. Focus sur la SIE : modélisation des spectres d'impédance des NTs de TiO₂ en milieu physiologique	157
4.1. Modélisation des résultats d'impédance par des circuits équivalents : généralités.....	159
4.1.1. Impédance de circuits élémentaires	160
4.1.2. Impédance d'une électrode uniformément accessible	161
4.1.3. Impédance d'une électrode recouverte d'un film.....	162
4.1.4. Impédance des phénomènes capacitifs non-idéaux : introduction du CPE	163
4.2. Confrontation des modèles proposés dans la littérature avec les résultats expérimentaux.....	165
4.2.1. Revue des CEEs proposés dans la littérature	165
4.2.2. Discussion	167
4.3. Modèle d'électrode poreuse et ligne de transmission	169
4.3.1. Le modèle d'électrode poreuse de De Levie	169
4.3.2. Modélisation des électrodes poreuses par une ligne de transmission	171
4.3.2.1. <i>Simplification du modèle</i>	173
4.3.2.2. <i>Simulations dans le cas où la phase solide est court-circuitée</i>	173
4.3.2.3. <i>Simulations dans le cas où la phase liquide est court-circuitée</i>	176
4.3.2.4. <i>Mode de transport « anormal »</i>	178
4.4. Application du modèle d'électrode poreuse (ligne de transmission) au cas des NTs de TiO ₂ en milieu physiologique	180
4.4.1. Construction de la ligne de transmission	181
4.4.2. Application de la ligne de transmission choisie aux mesures expérimentales	184
Conclusion Générale.....	191
Références bibliographiques	197
Annexes.....	211
Résumés	223

■ NOTATIONS ET ABBREVIATIONS ■

Notations

α, β, n, d	Paramètres des CPE (sans unité)
ε	Permittivité relative de l'oxyde (en F m ⁻¹)
ε_0	Permittivité du vide : $8,85 \times 10^{-12}$ (en F m ⁻¹)
ϕ ou φ	Phase de l'impédance (en °)
ω	Pulsation telle que $\omega = 2\pi f$ (en s ⁻¹)
ω_c	Pulsation de coupure et par abus de langage fréquence de coupure (en Hz)
ζ	Impédance interfaciale de la ligne de transmission
$\chi_{1,2}$	Impédances des canaux 1 et 2 de la ligne de transmission
C	Capacité (en F ou F cm ⁻²)
C_{dc}	Capacité de double couche (en F ou F cm ⁻²)
C_f	Capacité de film (en F ou F cm ⁻²)
C_{eff}	Capacité effective (en F ou F cm ⁻²)
d	Diamètre des nanotubes (nm)
d_{eff}	Épaisseur de couche d'oxyde calculée à partir de C_{eff} (en cm)
E	Module d'Young (GPa)
E_{corr}	Potentiel de corrosion (en V)
i_{corr}	Densité de courant de corrosion (en A cm ⁻²)
i_{pass}	Densité de courant au plateau passif (en A cm ⁻²)
j	Nombre complexe tel que $j^2 = -1$
L	Longueur des nanotubes (nm ou μm)
Q_i	Paramètre du CPE, et par extension notation du CPE, correspondant à la phase indexée i (en F s ^{$\alpha-1$} cm ⁻²)
R_e	Résistance de l'électrolyte (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
R_{ep}	Résistance de l'électrolyte dans les pores (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
R_i	Résistance correspondant à la phase indexée i (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
R_t	Résistance de transfert de charge (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
W	Élément de Warburg (élément de diffusion)
Z	Impédance complexe
Z'	Partie réelle de l'impédance complexe (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
Z''	Partie imaginaire de l'impédance complexe (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
$ Z $	Module de l'impédance (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$)
Z_i	Impédance de l'élément indexé i

Z_0	Impédance interfaciale
Z_f	Impédance faradique
$Z_{A,B}$	Impédances des conditions aux limites de la ligne de transmission
phase X phase Y	Interface électrochimique entre la phase X et la phase Y

Abréviations

%at.	Pourcentage atomique
%m.	Pourcentage massique
%v.ou vol.	Pourcentage volumique
BC	Bande de conduction
BF	Basses Fréquences
BV	Bande de valence
CEE	Circuit électrique Equivalent
CPE	Constant-Phase-Element
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DRX	Diffraction des Rayons X
ECS	Electrode au Calomel Saturé
EELS	Electron Energy Loss Spectroscopy (ou Spectroscopie des pertes d'énergie)
EG	Ethylène Glycol
EIS	Electrochemical Impedance Spectroscopy
ENH	Electrode Normale à Hydrogène
G	Glycérol
HAp	Hydroxyapatite
HF	Hautes Fréquences
MEB	Microscope Electronique à Balayage
MEB-FEG	Microscope Electronique à Balayage – « Field Emission Gun »
MEBT	Microscope Electronique à Balayage en Transmission (ou STEM en anglais)
MET	Microscope Electronique en Transmission
NTs	Nanotubes
OCP	Open Circuit Potential
PTFE	Polytétrafluoroéthylène, appelé commercialement Téflon®
Qqs.	Quelques
SBF	Simulated Body Fluid
SIE	Spectroscopie d'Impédance Electrochimique
STEM	Scanning Transmission Electron Microscope
Tris.	Tris(hydroxyméthyl)aminométhane
T.T.	Traitement Thermique

■ INTRODUCTION GENERALE ■

L'augmentation du nombre d'interventions de chirurgie orthopédique à travers le monde implique un besoin grandissant en termes de biomatériaux implantables. Plus particulièrement, les chirurgies de remplacement de la hanche et du genou nécessitent de développer des matériaux et des surfaces biocompatibles, c'est-à-dire qui ne nuisent pas à la santé du patient, avec de bonnes propriétés mécaniques et une très grande résistance à la corrosion afin de limiter la libération de débris métalliques dans le corps hôte.

Le titane est un matériau de choix pour ce type d'applications, notamment grâce à son excellente résistance à la corrosion. Cependant, un bon candidat à l'implantation doit également posséder une bonne capacité d'ostéo-intégration (ou bioactivité), c'est-à-dire qu'il doit spontanément former des liens avec la matière osseuse lorsqu'il est placé dans le corps humain. Or, la bioactivité d'une surface plane de titane (matériau massif) n'est pas assez grande pour garantir le succès de l'intervention. Le matériau doit subir un traitement de surface pour maximiser ses propriétés.

L'anodisation est l'une des techniques de modification de la surface du titane. Sous certaines conditions expérimentales, l'anodisation permet de synthétiser un réseau organisé de nanotubes de TiO_2 qui, d'après la littérature, confère une meilleure bioactivité au matériau grâce à une augmentation notable de la surface. L'avantage de cette technique, associée à des traitements thermiques appropriés, est de permettre un contrôle fin de la morphologie et de la structure cristalline de la couche nanotubulaire.

Ainsi, dans ce travail de thèse, on cherchera notamment à répondre aux problématiques suivantes :

- o Quelle est l'influence de la présence de nanotubes de TiO_2 sur la bioactivité d'une surface de titane ? Et sur la résistance à la corrosion ?

- o Comment évoluent les deux propriétés citées précédemment avec une modification de la morphologie et de la structure cristalline des nanotubes ?
- o Quelle est la structure morphologique et cristalline optimale pour fabriquer un implant orthopédique ?
- o D'un point de vue plus fondamental, quel est le comportement électrochimique des nanotubes de TiO_2 dans un environnement physiologique ? Comment le modéliser ?

Pour répondre à ces problématiques, des essais de bioactivité et des caractérisations électrochimiques ont été effectués sur des surfaces de nanotubes de TiO_2 de morphologies et structures cristallines différentes. Les résultats de cette étude sont présentés dans ce manuscrit, qui s'articule autour de quatre chapitres.

Le premier chapitre présentera dans un premier temps le contexte et les enjeux du sujet développé dans ce travail de thèse. Ensuite, seront présentés les éléments de la littérature nécessaires à la compréhension de la technique d'anodisation du titane pour la synthèse de nanotubes de TiO_2 ainsi que des propriétés du matériau obtenu.

Le second chapitre sera dédié aux synthèses de nanotubes de TiO_2 réalisées dans le cadre de cette étude. D'abord, une étude de l'influence des paramètres d'anodisation sur la morphologie des nanotubes est proposée. Ensuite, des surfaces de morphologies et structures cristallines différentes sont sélectionnées afin de constituer une banque d'échantillons de référence pour les investigations à venir.

Le troisième chapitre sera consacré à l'étude de l'influence de la morphologie et de la structure cristalline des nanotubes sur leur bioactivité et leurs propriétés électrochimiques en solution physiologique. Une discussion plus générale sera ensuite amenée dans le but de proposer une vision plus globale de la problématique.

Les résultats de ce troisième chapitre seront complétés par une étude préliminaire menée en collaboration avec le laboratoire NaNoBio de l'Université de São José dos Campos (UniVap, Universidade do Vale do Paraíba) au Brésil et visant à évaluer la réponse cellulaire engendrée par les surfaces de nanotubes de TiO_2 . C'est d'ailleurs lors d'une visite du laboratoire cité précédemment que j'ai pu appréhender quelques notions élémentaires de bio-ingénierie et de biocompatibilité cellulaires.

Enfin, le quatrième chapitre proposera pour la première fois dans la littérature une étude plus théorique sur la modélisation des résultats de mesures par Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE) de l'interface *nanotubes de TiO_2 |solution physiologique* permettant de comprendre les mécanismes électrochimiques mis en jeu.

Les recherches menées au cours de ce travail de thèse ont donné lieu à deux publications scientifiques. La première, intitulée *Influence of morphology and crystalline structure of TiO_2 nanotubes on their electrochemical properties and apatite-forming ability* a été publiée en Mai 2017 dans le journal *Electrochimica Acta*. Elle reprend les résultats majeurs décrits dans les chapitres 2 et 3. La seconde publication, intitulée *Application of the transmission line model for porous electrodes to analyze the impedance response of TiO_2 nanotubes in physiological environment* a été publiée dans le même journal en Septembre 2017. Elle présente les résultats de l'étude menée dans le chapitre 4.

Chapitre 1



*Vers la nanostructuration de la
surface du titane pour applications
biomédicales :
état de l'art*

1.1. Contexte

Le développement de biomatériaux¹ innovants est un enjeu majeur pour répondre aux problèmes de santé du monde contemporain et de sa population vieillissante. En effet, à travers le monde, le nombre de personnes de plus de 60 ans croît de 2 à 3% par an [1]. Concomitamment, l'espérance de vie des populations suit la même tendance. Par exemple, dans les pays membres de l'Union Européenne (UE), elle est passée de 74,2 ans en 1990 à 80,9 en 2014. En moyenne à travers l'Europe, la part représentée par les personnes âgées de plus de 65 ans était de moins de 10% en 1960, d'environ 20% en 2015 et est estimée à près de 30% pour 2060 [2].

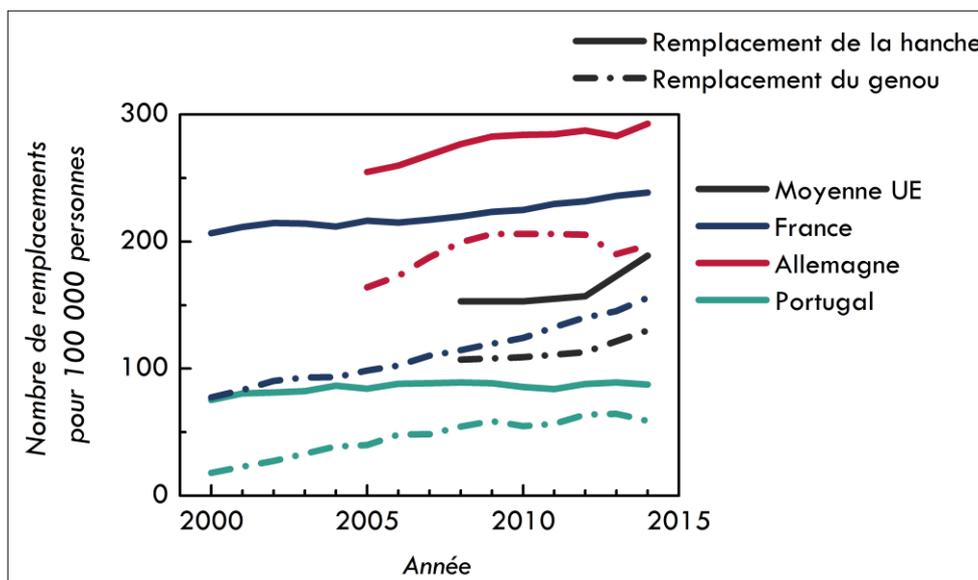


Figure 1.1. Evolution du nombre de chirurgies de remplacement de la hanche et du genou entre 2000 et 2014 en Europe, et plus particulièrement en France, en Allemagne et au Portugal. Adapté de la référence [2].

¹ Le terme « *biomatériaux* » désigne tout matériau biocompatible, naturel ou synthétique, en contact intime avec un organe ou un tissu, et ayant pour fonction de le remplacer ou l'assister. Il est utile de préciser que le préfixe « bio » renvoie à la notion de biocompatibilité plutôt qu'à « biologique » ou « biomédical ».

A noter que la notion de dispositifs biomédicaux renverrait plutôt aux appareils de santé « à usage externe », c'est-à-dire pas en contact intime avec des tissus ou des organes (comme les prothèses de jambe artificielles par exemple). D'autre part, le terme matériau biologique renverrait plutôt aux matériaux d'origine naturelle. A noter que ces deux dernières notions ne s'appliquent pas aux travaux présentés ici.

Or, ces populations sont particulièrement sujettes aux troubles atteignant les articulations, et notamment l'arthrose (ou ostéoarthrite). C'est l'une des dix maladies les plus invalidantes dans les pays développés, l'âge étant le facteur le plus aggravant. A travers le monde, 10% des hommes et 18% des femmes de plus de 60 ans présentent des formes plus ou moins sévères d'arthrose.

La solution la plus efficace pour réduire la douleur et l'infirmité en cas d'arthrose sévère est la chirurgie de remplacement de l'articulation, en particulier le remplacement de la hanche et du genou (6000€ en moyenne). En Europe, la tendance est à l'augmentation pour ces deux procédures depuis les années 2000, comme présenté sur la **Figure 1.1**. Les tendances sont présentées pour trois pays, la France, l'Allemagne (plutôt en haut de classement) et le Portugal (plutôt en bas de classement). Pour comparaison, la moyenne européenne est indiquée pour la période 2008-2014.

1.2. Les implants orthopédiques métalliques

Historiquement, les matériaux les plus utilisés en chirurgie orthopédique sont les métaux. Ils représentent environ 70% des matériaux utilisés pour la structure des implants, notamment grâce à leur bonne résistance mécanique et leur durabilité, contrairement aux céramiques et polymères [1]. Ils sont à la fois employés en tant qu'implants temporaires (plaques, broches et vis), et qu'implants permanents (remplacement total d'articulation). Ils sont également employés pour les implants dentaires et plus récemment pour les endoprothèses vasculaires ou encore dans le domaine de l'ingénierie des tissus osseux [3].

Parmi les nombreux matériaux métalliques commercialisés, on dénombre quatre grandes familles de matériaux implantables à long terme : les aciers inoxydables, les alliages à base de cobalt, les alliages à base de titane et divers autres alliages (NiTi par exemple). Les trois premières familles sont d'ores et déjà largement utilisées dans les procédures chirurgicales tandis que la dernière est plutôt au stade de recherche (pas encore autorisée par les autorités compétentes) [1,3]. En effet, pour être validé en tant qu'implant permanent, un matériau doit répondre à un certain nombre de critères.

1.2.1. Sélection des matériaux métalliques pour applications biomédicales

Un implant permanent métallique doit satisfaire les critères essentiels énoncés ci-après et discutés dans les sections suivantes [3] :

- (1) avoir une excellente biocompatibilité ;
- (2) avoir une haute résistance à la corrosion ;
- (3) présenter des propriétés mécaniques adaptées ;
- (4) posséder une capacité d'ostéo-intégration (pour les prothèses osseuses).

1.2.1.1. Biocompatibilité des implants métalliques

Pour être implanté avec succès, un matériau doit être **biocompatible**. C'est-à-dire qu'il doit pouvoir remplir sa fonction sans altérer le fonctionnement de l'organisme hôte. La biocompatibilité ne peut pas être évaluée avec un test unique mais en tenant compte de plusieurs paramètres [4,5].

Parmi ces paramètres, on retrouve la notion de toxicité du matériau vis-à-vis de sa chimie. L'implant ne doit pas être fabriqué à partir de matières toxiques mais aussi, et surtout, ne doit pas libérer d'ions toxiques (ou d'ions déjà présents dans le corps mais qui peuvent le devenir à haute dose) [3].

En effet, le corps humain est composé à 96% (en masse) des éléments chimiques suivants : O, C, H et N. Le reste (~4%) est partagé entre les os (Ca, Mg et P sous forme de minéraux) et les fluides (Na, K et Cl en tant qu'électrolytes). Enfin, d'autres éléments sont présents à l'état de traces : Fe, Cu, Mn, I, Zn, Se, Co, Mo ou Cr. Cependant, ces derniers se révèlent toxiques à haute dose [3].

Ainsi, les propriétés de résistance à la corrosion (prévention de la libération d'ions) et de résistance mécanique (prévention de la formation de débris) sont deux facteurs déterminants dans l'évaluation de la biocompatibilité d'un matériau.

Enfin, le matériau ne doit pas non plus conduire à la mort de cellules (cytotoxicité), ni entraîner de réactions allergiques ou inflammatoires.

1.2.1.2. Corrosion des implants dans le corps humain

La corrosion des implants métalliques est particulièrement accélérée par rapport à une utilisation du même matériau dans des conditions ambiantes. En effet, les fluides physiologiques présentent une forte concentration saline (ions Na^+ et Cl^-), de près de $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, soit environ 9 g L^{-1} . A titre illustratif, cela représente environ $1/5$ de la salinité de la mer Méditerranée. Ces milieux contiennent également d'autres ions (K^+ , Ca^{2+} , $\text{HCO}_3^- \dots$) mais aussi divers acides aminés et protéines.

Le pH de ces solutions est tamponné autour de 7,2-7,4, ce qui n'est pas considéré comme très agressif, mais des réactions inflammatoires post-chirurgicales peuvent l'abaisser à un pH de 3-4.

De plus, le taux d'oxygène dans le corps humain est environ égal à $1/4$ de celui de l'atmosphère. Bien que la réactivité vis-à-vis de l'oxygène soit réduite dans ces conditions, il se trouve que la corrosion est en fait accélérée par le ralentissement de la formation de la couche passive protectrice qui peut éventuellement se former à la surface d'un métal.

C'est pour cette raison notamment que certains aciers inoxydables, très résistants en temps normal, peuvent causer des allergies chroniques et des réactions toxiques dans le corps hôte, qui ne peuvent être diagnostiquées qu'après un certain temps d'implantation.

Généralement, un matériau est considéré comme résistant à la corrosion en milieu physiologique si sa vitesse de corrosion est inférieure à $0,25 \mu\text{m an}^{-1}$ [6].

1.2.1.3. Sollicitations mécaniques dans le corps humain

Un matériau d'implant doit pouvoir concurrencer la matière osseuse en termes de propriétés mécaniques. Il doit ainsi pouvoir supporter d'importantes charges et présenter une déformation plastique avant rupture.

Tout d'abord, il semble important de préciser que chacun des matériaux implantables actuellement (aciers inoxydables, alliage de cobalt et titane) présente un module d'Young supérieur d'au moins 100 GPa par rapport à celui de l'os ($10\text{-}30 \text{ GPa}$).

Pour rappel, le module d'Young (E) renseigne sur la rigidité du matériau, c'est-à-dire sa capacité à se déformer de façon réversible. Plus le module d'Young est élevé, plus le matériau est rigide (par exemple les céramiques, très rigides, ont un module d'Young de l'ordre de 300 GPa ou plus). A l'inverse, un faible module d'Young caractérise un matériau souple (les polymères par exemple possèdent un module d'Young de quelques GPa).

Cette différence de rigidité entre l'os et l'implant conduit au phénomène de *stress shielding*, c'est-à-dire une répartition non homogène des contraintes sur la hanche. L'implant aura alors tendance à supporter plus de charges, conduisant à l'atrophie des os à proximité.

Dans le corps humain, l'implant métallique est également sujet au phénomène de fatigue dû à des charges répétées. Dans le cas de la prothèse de hanche, il est estimé qu'elle subira environ 10^7 cycles de charges à une fréquence de 1 Hz et avec une force d'environ 50 MPa en compression et 200MPa en flexion (en considérant un patient de 65 ans, pour qui l'objectif de durée de vie de la prothèse est de 20 ans, effectuant 2000 pas par jour à une fréquence de 1 Hz). Les implants dentaires, tout comme les électrodes de pacemaker, souffrent également de ce type de sollicitations (respectivement pendant la mastication ou en réponse à l'activité du myocarde). Les ruptures dues à la fatigue sont la première cause de défaillance des implants biomédicaux.

La fatigue du matériau peut être aggravée par des frottements entre différents éléments de la prothèse de hanche, qui conduisent à la production de débris et mettent à nu des surfaces métalliques (qui ne sont alors plus protégées par un film passif protecteur). C'est ce que l'on appelle le phénomène d'usure. La fatigue mécanique peut aussi être aggravée par la corrosion, elle-même accrue dans des conditions physiologiques.

1.2.1.4. L'ostéo-intégration

L'**ostéo-intégration**, notion fondamentale en chirurgie orthopédique, désigne le processus de cicatrisation ou de formation de tissus osseux. En effet, un implant doit pouvoir se lier directement (chimiquement, physiquement et/ou mécaniquement) à l'os. Dans le cas contraire, il se forme un tissu fibreux autour de l'implant qui peut conduire au rejet de la prothèse.

La notion d'ostéo-intégration est à relier à celle de **bioactivité**. En effet, un matériau présentant une bonne ostéo-intégration est un matériau bioactif. Lorsqu'un tel matériau est immergé dans un fluide physiologique, il possède la particularité de former spontanément à sa surface une couche d'apatite, ou plus particulièrement d'hydroxyapatite [7].

L'hydroxyapatite (HAp) est un composé minéral de la famille des phosphates, de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. C'est un constituant majoritaire de la matière osseuse.

En résumé, le corps humain est un environnement hostile pour les matériaux métalliques, tant chimiquement que mécaniquement. Ainsi, le biomatériau métallique idéal posséderait un module d'Young quasi similaire à celui de l'os, une excellente résistance à la fatigue, à l'usure et à la corrosion, ainsi qu'une bonne capacité d'ostéo-intégration.

A noter que les expérimentations menées dans le cadre de ce travail de thèse, et présentées plus loin dans ce manuscrit, seront plus particulièrement dédiées à l'étude des propriétés électrochimiques et de la bioactivité.

Dans la partie suivante, les avantages et inconvénients vis-à-vis des critères énoncés précédemment des trois grandes familles de matériaux implantables actuellement sont passés en revue.

1.2.2. Propriétés des matériaux métalliques pour applications biomédicales

1.2.2.1. Les aciers inoxydables

Les aciers inoxydables austénitiques (de type 316L typiquement) sont largement employés pour la fabrication d'implants grâce à leur disponibilité, leur bas coût, leur facilité de mise en œuvre, leur bonne résistance mécanique, leur ductilité, leur dureté et leur relative bonne biocompatibilité.

Par contre, leur module d'Young demeure relativement haut comparé à celui de l'os (200 GPa versus 10-30 GPa) et leur résistance à l'usure et à la fatigue est plutôt faible pour ce type d'application. Cependant, leur problème majeur est leur faible résistance à la corrosion dans le corps humain. Ils sont particulièrement sujets à la corrosion par piqûre, par crevasse et galvanique, entraînant la libération d'ions toxiques comme le nickel et le chrome.

Ainsi, bien que l'acier 316L soit utilisable en tant qu'implant permanent, son utilisation sera préférée pour des dispositifs temporaires, notamment pour son faible coût. A noter toutefois qu'une variante riche en azote, et moins toxique, de la nuance traditionnelle 316L a pu être développée (Orthinox) et représente maintenant une part majoritaire du marché des aciers inoxydables implantables [3].

1.2.2.2. Les alliages à base de cobalt

Les alliages Co-Cr présentent une résistance à la corrosion supérieure aux aciers inoxydables en milieu chloruré en raison de leur forte teneur en Cr qui conduit à la formation spontanée d'un film d'oxyde passif (Cr_2O_3). Il en est de même pour leur résistance à la fatigue et à l'usure.

Cependant, le module d'Young de ces alliages est bien supérieur à celui de la matière osseuse (220-230 GPa versus 10-30 GPa), ce qui provoque l'apparition du phénomène de *stress-shielding*. De plus, les débris résultant de la dégradation mécanique et de la corrosion du matériau sont toxiques (ions Co, Cr et Ni).

Bien que coûteux, cet alliage reste néanmoins le plus utilisé pour les parties articulaires des implants permanents (mais aussi pour les dispositifs de fixation de fracture) et offre une durée de vie de plus de 20 ans [3].

1.2.2.3. Les alliages de titane

Les alliages de titane sont privilégiés par la plupart des praticiens car ils possèdent le module d'Young le plus bas (105-125 GPa) et la résistance à la corrosion la plus élevée des trois principales classes de matériaux implantables. De surcroît, le titane est le seul matériau présentant une capacité d'ostéo-intégration, c'est-à-dire qu'il est capable de s'interconnecter avec la matière osseuse sans formation d'une interface fibreuse (**Figure 1.2**).

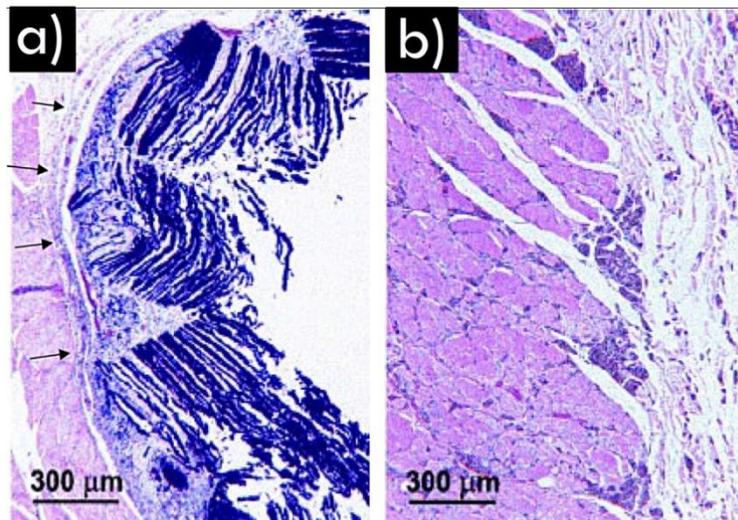


Figure 1.2. Micrographies révélant (a) le tissu fibreux se formant à l'interface entre un alliage de Co et l'os (indiqué par les flèches) et (b) l'intime interconnexion entre l'implant en Ti et l'os montrant la capacité d'ostéo-intégration du matériau. Reproduit de la référence [3].

Cependant, ils souffrent d'une assez faible résistance à l'usure et au cisaillement. Il n'est pas rare de constater des ruptures prématurées de prothèse de hanche entièrement constituée de titane (notamment au niveau de la tige fémorale). D'autre part, la première génération d'alliage de titane (Ti-6Al-4V/Nb) pouvant causer des réactions allergiques dues à l'aluminium et/ou au vanadium/nobium, une seconde génération d'alliage a été développée contenant des éléments tels que Mo, Ta et Zr, supposés moins nocifs.

Le titane pur est plus généralement utilisé pour des implants dentaires alors que les alliages de Ti permettent de fabriquer des parties de prothèse de hanche (tige fémorale) ou de genou.

Une synthèse des avantages et inconvénients des aciers inoxydables, des alliages à base de cobalt et des alliages à base de titane en tant que biomatériaux est proposée dans le **Tableau 1.1**.

Tableau 1.1. Avantages et inconvénients des aciers inoxydables, des alliages à base de Co et des alliages à base de Ti en tant que biomatériaux. Reproduit de la référence [3].

Matériau	Avantages	Inconvénients	Applications
Aciers inoxydables (316L)	Bonne résistance à la corrosion et à la fatigue pour les implants à court terme	Corrosion à long terme	Instruments
	Faible coût	Plus grand module d'Young (E) que l'os (<i>stress shielding</i>)	Implants temporaires
	Facilité de mise en œuvre	Toxicité (Ni, Cr)	
Alliages à base de Co	Résistance à la corrosion pour les implants à long-terme	Difficulté de mise en œuvre	Implants permanents
	Très bonne résistance à la fatigue et à l'usure	Coût élevé	
	Biocompatibilité	Plus grand module d'Young (E) que l'os (<i>stress shielding</i>) Toxicité (Ni, Cr)	
Alliages à base de Ti	Léger	Faible résistance au cisaillement	Tige de prothèse de hanche
	Excellente résistance à la corrosion	Faible résistance à l'usure	Vis dentaires (implants permanents)
	Excellente biocompatibilité	Coût élevé	
	Module d'Young (E) relativement faible	Plus grand module d'Young (E) que l'os (<i>stress shielding</i>)	

En résumé, le biomatériau idéal, c'est-à-dire qui aurait un module d'élasticité similaire à celui de l'os, la résistance mécanique des alliages Co-Cr, la résistance à la corrosion et la biocompatibilité du titane ainsi que le coût de fabrication de l'acier inoxydable, n'est pas encore une réalité. Chacune des trois grandes familles de matériaux métalliques présente ses avantages et ses inconvénients. Toutefois, malgré des propriétés de résistance à l'usure et à la fatigue qui ne sont pas toujours optimales, le titane semble se distinguer par sa très bonne biocompatibilité, son faible module d'Young (le plus proche de celui de la matière osseuse), son extrême résistance à la corrosion (la meilleure parmi les trois classes de matériaux citées) et surtout par sa capacité unique d'ostéo-intégration (capacité que ne possèdent pas les deux autres matériaux). La suite de ce manuscrit sera donc plus particulièrement dédiée à l'étude du titane en tant que biomatériau.

1.3. Le titane et ses alliages

1.3.1. Propriétés physiques du titane et de ses alliages

Le titane (Ti) est un métal plutôt abondant sur Terre mais coûteux en raison de son procédé d'extraction et de purification complexe. C'est un matériau de choix pour de nombreuses applications principalement grâce à une très grande résistance mécanique et une très bonne résistance la corrosion. Le titane se distingue également par sa légèreté avec une densité de $4,51 \text{ g cm}^{-3}$ ($\text{Li} < \text{Mg} < \text{Al} < \text{Ti} < \text{Fe} < \text{Ni} < \text{Cu}$) [8]. Dans le **Tableau 1.2** sont regroupées quelques grandeurs physiques associées au titane non allié.

Tableau 1.2. Propriétés physiques du titane (Ti). Reproduit de la référence [7].

Propriété	Valeur
Numéro atomique	22
Masse molaire (g mol ⁻¹)	47,9
Densité (g cm ⁻³)	4.54
Conductivité thermique (W m ⁻¹ K ⁻¹)	19,2
Température de fusion (°C)	1668
Température de transformation allotropique (°C)	882,5
Résistivité électrique (pureté commerciale) ($\mu\Omega$ cm)	55
Module d'élasticité <i>E</i> (ou module d'Young) (GPa)	105
Limite d'élasticité (MPa)	692
Résistance à la rupture (MPa)	785

Le titane peut cristalliser sous plusieurs formes cristallines, et donc moduler ses propriétés sur une large gamme. A basse température, le titane adopte la structure α hexagonale tandis qu'à haute température ($\sim 880^\circ\text{C}$) c'est la structure cubique à faces centrées qui est la plus stable, appelée phase β [8].

Les propriétés du titane peuvent également être modulées par l'application de déformations plastiques plus ou moins sévères ou bien par l'ajout d'éléments d'alliage, favorisant la formation d'une phase cristalline plutôt que l'autre (α ou β). Ainsi, les éléments Al, O, N et C auront tendance à stabiliser la phase α (et donc augmenter la température de transformation allotropique $\alpha \rightarrow \beta$) tandis que les éléments V, Mo, Nb, Ta, Cr, Fe, W, Si, Co, Mn et H stabilisent la phase β et font abaisser la température de transformation [3,7].

En conséquence, les alliages de titane sont classés selon trois catégories, dépendamment de la phase majoritaire : α , $\alpha+\beta$ et β . Les alliages de type α auront la meilleure résistance à la corrosion mais une résistance mécanique moindre. En revanche, les alliages de type $\alpha+\beta$ présenteront globalement de meilleures propriétés mécaniques. Enfin, les alliages de type β offrent une bonne résistance à la corrosion mais surtout un module d'élasticité (*E*) particulièrement bas (~ 80 GPa). Une comparaison des propriétés de ces trois catégories d'alliages est proposée dans le **Tableau 1.3**.

Tableau 1.3. Propriétés des alliages Ti de type α , $\alpha+\beta$ et β . Adapté de la référence [8].

Propriété	α	$\alpha+\beta$	β
Densité	+	+	-
Résistance	-	+	++
Ductilité	-/+	+	+/-
Elasticité (E)	-	+	++
Ténacité à la rupture	+	-/+	+/-
Résistance au fluage	+	+/-	-
Résistance à la corrosion	++	+	+/-
Déformabilité à froid	--	-	-/+

Parmi les alliages biomédicaux commerciaux, il est pertinent de citer l'alliage Ti-6Al-4V ($\alpha+\beta$), historiquement très largement utilisé. Cependant, cette première génération d'alliage ne répond pas de façon satisfaisante aux attentes en matière de non-toxicité et de propriétés mécaniques. Ainsi, pour les implants permanents, il a été par exemple remplacé par des alliages de type Ti-6Al-7Nb ($\alpha+\beta$), Ti-13Nb-13Zr (β) ou Ti-12Mo-6Zr2Fe (β), appelé aussi TMZF [4,9].

De nouveaux alliages biomédicaux sont constamment testés, les éléments d'alliages étant inclus en fonction des propriétés recherchées ; par exemple Ta pour stabiliser la phase β et diminuer le module d'élasticité ou Zr pour accroître la biocompatibilité et les propriétés antibactériennes.

1.3.2. Applications du titane et de ses alliages

Le titane et ses alliages ont été spécialement développés dans les années 40 aux Etats-Unis pour des applications aérospatiales (aéronautique et astronautique), notamment grâce à leur légèreté, leur tenue en température et leur excellente résistance à la corrosion. Ce marché représente environ 50% de la consommation totale de titane à travers le monde. A savoir que dans l'industrie aéronautique, le montant toléré pour alléger l'engin d'1 kg peut être 10 à 100 fois supérieur à celui de l'industrie automobile (et près de 1000 fois supérieur pour l'aéronautique) [8].

Dans les avions, le titane, et plus particulièrement l'alliage très classique Ti-6Al-4V, se retrouve dans des parties comme le fuselage, le moteur, le train d'atterrissage, la tuyauterie de dégivrage ou encore les encadrements de fenêtre de la cabine de pilotage. Cependant, le titane et ses alliages sont encore plus utilisés dans les avions militaires que commerciaux (plus de 50% de l'engin). Cet élément est également employé pour la fabrication d'hélicoptère [8].

Malgré le coût du titane en tant que produit fini, son utilisation s'est développée dans d'autres secteurs d'activités. Ainsi, il est employé par exemple dans l'industrie chimique, électrochimique, pétrochimique ou nucléaire (confinement, réservoirs...) pour sa grande résistance à la corrosion, mais aussi dans l'industrie pétrolière et gazière offshore, tandis qu'il reste un marché de niche dans l'industrie automobile [8].

Sa biocompatibilité fait également du titane un candidat de choix pour l'industrie alimentaire, brassicole, vinicole et pharmaceutique [8].

Le titane est également utilisé pour des composants d'appareils photo et d'ordinateurs portables, dans les gilets pare-balles, mais aussi dans d'autres applications moins attendues comme l'architecture (façade, toiture, art, sculpture... ex. : revêtement extérieur du musée Guggenheim à Bilbao en Espagne), les sports de balle (tête de club de golf, structure de raquettes de tennis...), le cyclisme, les sports d'hiver (bobsleigh) les équipements de plongée sous-marine et d'escalade, la bijouterie, l'horlogerie et les instruments de musique (flûtes, batteries) [8].

Enfin, comme mentionné dans les sections précédentes, le titane est particulièrement adapté pour des applications biomédicales (prothèses de hanche, de genou, valves cardiaques, plaques et vis pour réparation de fractures, implants dentaires...) [8]. C'est l'objet de la partie suivante, et plus généralement de ce travail de thèse.

1.3.3. Utilisation du titane dans les prothèses de hanche

Les prothèses de hanche, conçues pour une durée de vie d'environ 20 ans, sont constituées, comme schématisé dans la **Figure 1.3**, d'une cupule qui se fixe dans la cavité cotyloïdienne de l'os iliaque et d'une tige, qui s'insère dans le fémur, surmontée d'une partie sphérique appelée tête fémorale. Entre ces deux pièces, un insert permet d'assurer l'articulation de la hanche.

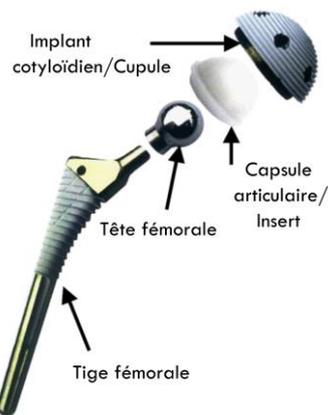


Figure 1.3. Représentation schématique d'une articulation de la hanche artificielle. Adapté de la référence [7].

Classiquement, les prothèses présentent un couple de frottement de type « dur-mou », c'est-à-dire que l'insert est en polymère (polyéthylène conventionnel ou hautement réticulé pour une meilleure résistance à l'usure) et la tête fémorale est en métal (alliage Co-Cr) (~60% du marché) ou en céramique (à base d'aluminium ou de zirconium) (~20% du marché). La cupule et la tige sont généralement métalliques, en acier inoxydable ou en titane.

Plus récemment, et afin de proposer un couple de frottement plus résistant à l'usure, des systèmes d'articulation de type « dur-dur » ont été développés. Le contact peut être de type « métal-métal » (alliage à base de Co) ou « céramique-céramique » (à base d'aluminium ou de zirconium).

Quant à la fixation de la tige et de la cupule, elle peut être assurée par un « ciment » en poly(méthylméthacrylate) (PMMA) ou bien par fixation osseuse directe, sans interface, pourvu que la surface du matériau soit bioactive.

Cependant, les faibles propriétés mécaniques du ciment orthopédique pouvant être à l'origine d'un descellement de l'implant, son utilisation a tendance à être délaissée au profit d'une fixation directe de la prothèse. Dans ce cas, le matériau d'implant doit présenter une surface optimale, capable de former des liens directs, et à long terme, avec la matière osseuse environnante. Dès lors, la partie haute de la tige ainsi que la cupule (zones striées sur la **Figure 1.3**), souvent fabriquées à base de titane, doivent subir un traitement de surface pour maximiser leurs performances (par dépôt d'un matériau bioactif par exemple, comme l'hydroxyapatite). Ce point, qui constitue l'une des motivations principales de ce travail de thèse, sera détaillé plus loin, après discussion des propriétés de surface du Ti avant modifications.

1.3.4. Passivité du titane

Le titane est un métal hautement réactif, qui, lorsqu'il est exposé à l'atmosphère, forme en quelques microsecondes une couche d'oxyde à sa surface. C'est en raison d'une très forte affinité chimique entre le métal et l'oxygène qu'il se forme très facilement une couche compacte de TiO_2 , amorphe ou nanocristalline, de quelques nanomètres d'épaisseur (3-7 nm), assurant la protection du métal vis-à-vis de la corrosion. La couche d'oxyde ainsi formée est très adhérente au substrat Ti. La force de la liaison du TiO_2 au substrat Ti est d'environ 300 kcal/mol alors qu'elle est de 180 kcal/mol par exemple pour le couple $\text{Cr}_2\text{O}_3/\text{Cr}$ et de 320 kcal/mol pour $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$. La forte adhésion de la couche de TiO_2 à son substrat Ti est un facteur expliquant l'excellente résistance à la corrosion du matériau [10].

D'autre part, la couche d'oxyde formée sous exposition à l'air est si compacte qu'il est quasiment impossible pour l'oxygène d'y pénétrer, bloquant ainsi rapidement l'oxydation du métal et l'épaississement de la couche d'oxyde. De plus, TiO_2 étant un semi-conducteur, il ne transporte pas aussi bien les charges qu'un métal, ce qui, dans le cas présent, limite l'élévation du nombre d'oxydation du Ti [10]. Enfin, le TiO_2 étant inerte chimiquement, il confère à la surface une plus grande stabilité [7].

La formation spontanée d'une telle couche protectrice est appelée phénomène de passivation. Il induit le déplacement du potentiel de l'électrode vers des potentiels plus positifs, c'est-à-dire plus nobles. En effet, le potentiel du titane se situe entre -1,2 et -1,5 V versus l'électrode normale à hydrogène, ENH, tandis que celui du film passif TiO_2 est de l'ordre de 1,5 - 2,0 V_{ENH} .

De plus, le titane est capable de se repassiver très rapidement (quelques nanosecondes) après une altération de sa surface (rayures), ce qui constitue une explication supplémentaire à la bonne résistance à la corrosion du titane et à sa biocompatibilité [10].

A noter enfin que le titane n'est pas le seul matériau à pouvoir se passiver. C'est le cas de beaucoup de métaux de transition comme Fe, Cr ou Al.

En résumé, la plupart des propriétés intéressantes du titane proviennent en réalité de la présence d'une couche native d'oxyde de TiO_2 à sa surface qui croît spontanément lorsque le métal est exposé à l'air. C'est notamment cette couche, de quelques nanomètres d'épaisseur, qui confère au titane son excellente résistance à la corrosion et par conséquent sa biocompatibilité. Cependant, cette couche d'oxyde est inerte chimiquement. Bien que cela soit un avantage en termes de stabilité chimique, c'est un inconvénient pour des applications biomédicales car une telle surface n'est pas assez bioactive, ce qui conduit à une mauvaise ostéo-intégration.

Pour pallier cette difficulté, des traitements de surface peuvent être appliqués pour optimiser les performances des implants. C'est l'objet de la section suivante.

1.3.5. Modification de la surface du titane

Les propriétés de surface des implants (chimie et structure) jouent un rôle déterminant dans les interactions entre le matériau et les tissus environnants. Ainsi, afin de maximiser les performances des biomatériaux dans un environnement physiologique (en termes de bioactivité, biocompatibilité, résistance à l'usure ou à la corrosion par exemple), leurs surfaces doivent être « améliorées ». Ces améliorations consistent par exemple à modifier la topologie de surface (rugosité, passage de l'échelle micrométrique à nanométrique...), à appliquer des dépôts (d'hydroxyapatite, de phosphate de calcium biomimétique, d'un mélange de composés minéraux et organiques...), ou bien à combiner un dépôt avec un changement de la topographie [4]. Ces modifications peuvent s'opérer via des procédés mécaniques, chimiques (ou biochimiques) et physiques. Le **Tableau 1.4** propose un aperçu des différentes modifications de surface apportées aux implants à base de titane.

Parmi ces modifications, celles conduisant à des surfaces nanostructurées suscitent un intérêt particulier. En effet, les topographies nanométriques présentent à la fois une bioactivité accrue (favorisant l'ostéo-intégration, l'os présentant lui-même une structure nanométrique) mais permettent également une meilleure adhésion, prolifération et différenciation des cellules que sur du titane non architecturé [7,11–13].

La **Figure 1.4** montre qu'une surface nano-texturée favorise en effet la différenciation des cellules mésenchymateuses en ostéoblastes ; les cellules mésenchymateuses étant des cellules souches pouvant se différencier en plusieurs types de cellules, dont les ostéoblastes, elles-mêmes nécessaires à la croissance des os. Plus précisément, les ostéoblastes participent dans un premier temps à la synthèse de la partie non-minérale des os (collagène, protéines) puis entrent en jeu dans la minéralisation de la matrice, c'est-à-dire dans la formation d'hydroxyapatite [11].

Tableau 1.4. Résumé des modifications de surface apportées aux implants en titane et alliages de Ti. Adapté de la référence [7], datant de 2004.

Méthode de modification de surface	Description de la couche modifiée	Objectifs
Procédés mécaniques		
Usinage		
Ponçage	Surfaces lisses ou rugueuses formées par enlèvement de matière	Topographies spécifiques ; surfaces propres ; améliore l'adhésion
Polissage		
Décapage		
Procédés chimiques		
Attaque acide	Couche d'oxyde <10nm	Décontamination de la surface
Traitement alcalin	~ 1 µm de gel de titanate de sodium	Améliore la biocompatibilité, la bioactivité et l'ostéo-intégration
Traitement H ₂ O ₂	~ 5 nm de couche d'oxyde interne dense et de couche externe poreuse	Améliore la biocompatibilité, la bioactivité et l'ostéo-intégration
Sol-gel	~ 10 µm de phosphate de calcium, TiO ₂ ou silice	Améliore la biocompatibilité, la bioactivité et l'ostéo-intégration
Anodisation	~ 10 nm à 40 µm de TiO ₂	Topographies spécifiques ; améliore la résistance à la corrosion ; améliore la biocompatibilité, la bioactivité et l'ostéo-intégration
CVD (dépôt chimique en phase vapeur)	~ 1 µm de TiN, TiC, TiCN, DLC (Diamond-Like Carbon)	Améliore la résistance à l'usure, la résistance à la corrosion et la compatibilité sanguine
Méthodes biochimiques	Surfaces silanisées (fixer des polymères), traitées photo-chimiquement, monocouches auto-assemblées, fixation de protéines	Induire une réponse spécifique des cellules et protéines
Procédés Physiques		
Projections thermiques	~ 30 à 200 µm de dépôt de Ti, HA, silicate de calcium, Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ , TiO ₂	Améliore la résistance à l'usure, la résistance à la corrosion et les propriétés biologiques
PVD (dépôt physique en phase vapeur)	~ 1 µm de TiN, TiC, TiCN, DLC (Diamond-Like Carbon)	Améliore la résistance à l'usure, la résistance à la corrosion et la compatibilité sanguine
Implantation ionique	Modification de la surface de qqs. nm à qqs. µm	Modifie la chimie de la surface ; améliore la résistance à l'usure, la résistance à la corrosion et la biocompatibilité

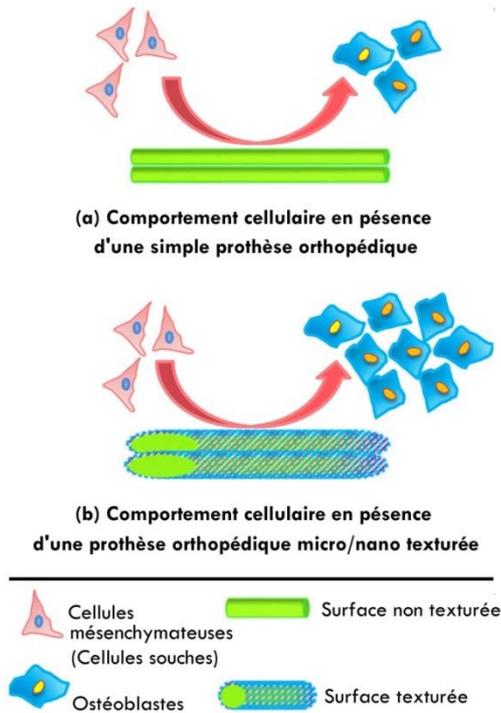


Figure 1.4. Représentation schématique de la réponse des cellules souches (mésenchymateuses) face à (a) une surface d'implant non texturée et (b) une surface micro/nano texturée. Adapté de la référence [11].

En ce sens, une attention toute particulière est portée depuis une quinzaine d'années à la formation de **nanotubes (NTs) de TiO_2** , par anodisation du titane notamment. Cette méthode est une alternative prometteuse au dépôt d'hydroxyapatite notamment (dont la tenue mécanique à long terme n'est pas viable) car elle permet de faire croître, simplement, rapidement, et à faibles coûts, une couche de TiO_2 bioactive, directement connectée au substrat Ti, et donc très adhérente [14,15]. La synthèse de nanotubes de TiO_2 , au cœur de ce sujet de thèse, fait l'objet de la partie suivante.

1.4. Croissance de NTs de TiO₂ par anodisation du Ti

1.4.1. Les voies de synthèse des NTs de TiO₂

Il existe plusieurs voies de synthèse menant à la formation de nanotubes de TiO₂ parmi lesquelles on peut citer : la voie hydrothermale, l'approche par *template*, l'anodisation ou encore l'*electrospinning*. A titre informatif, la **Figure 1.5** présente succinctement ces méthodes. Cependant, seul le procédé d'anodisation sera détaillé dans la suite de ce manuscrit car c'est cette technique qui a été choisie pour l'ensemble des synthèses de nanotubes de TiO₂ menées pendant ce travail de thèse.

En effet, l'anodisation est la technique la plus largement explorée dans la littérature (plus de 3000 publications pour la dernière décennie [16]). Elle présente de nombreux avantages comme un faible coût ainsi qu'une rapidité et une facilité de mise en œuvre. De plus, la couche anodisée présente une forte adhésion au substrat et la morphologie des nanotubes est aisément contrôlable (par la variation des paramètres d'anodisation).

Le lecteur pourra trouver une brève description des autres voies de synthèse dans la référence [17].

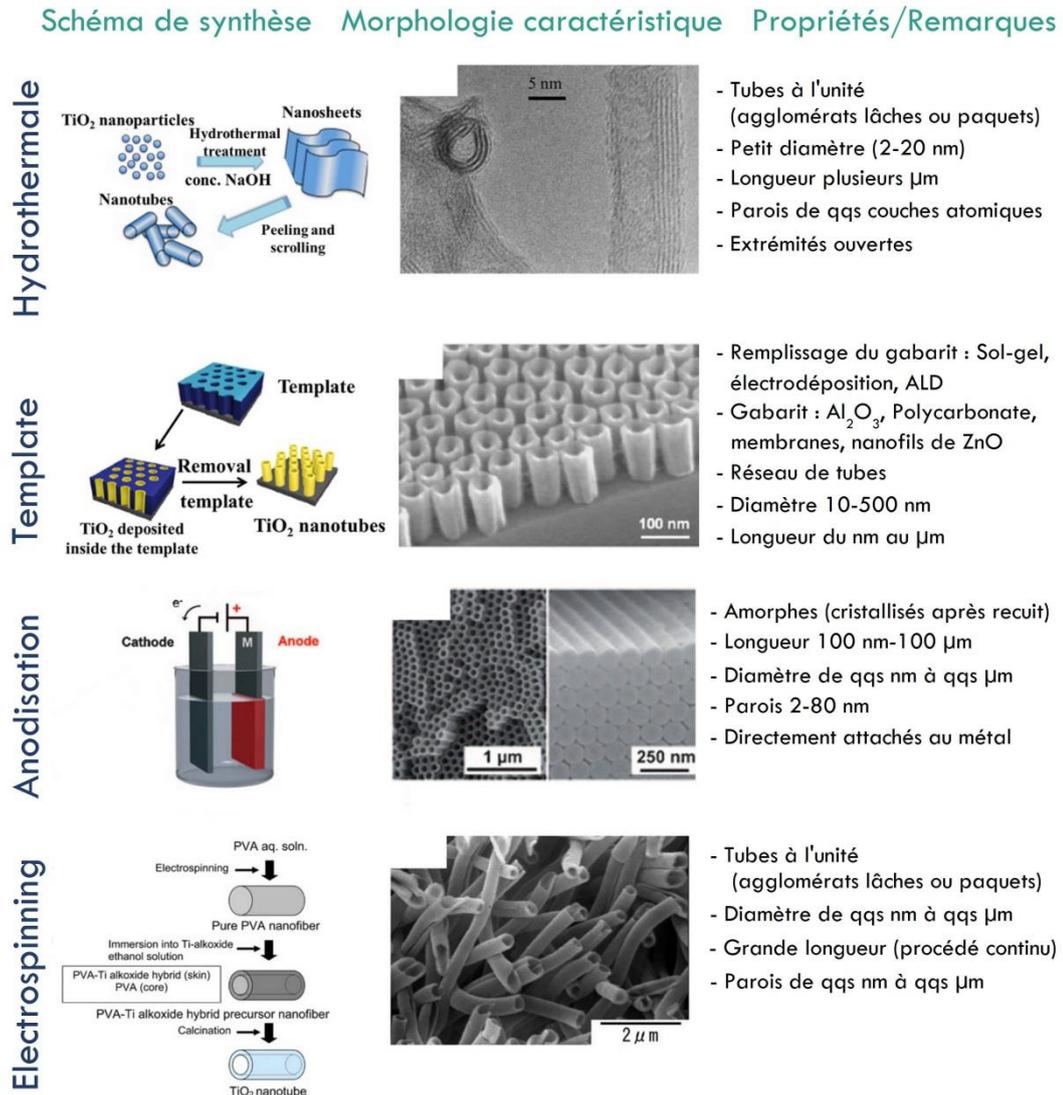


Figure 1.5. Présentation des différentes voies de synthèse des NTs de TiO_2 : par voie hydrothermale, assistée d'un *template*, par anodisation et par *electrospinning*, avec, pour chaque méthode, un schéma descriptif, une observation microscopique montrant la morphologie caractéristique des nanotubes ainsi qu'une description des propriétés. Adapté des références [17,18].

1.4.2. Anodisation du titane

1.4.2.1. Principe

L'anodisation est une technique électrochimique vieille d'un siècle utilisée à l'origine dans l'industrie pour faire croître des couches compactes et épaisses d'oxyde à la surface de métaux. Dans le cas du titane, l'anodisation est historiquement employée en bijouterie pour la coloration de la surface ; phénomène résultant d'un effet d'interférence optique dépendant de l'épaisseur de la couche d'oxyde (quelques centaines de nm) [9]. L'électrolyte est classiquement une solution aqueuse d'acide sulfurique, phosphorique ou acétique [9].

Cependant, dans certaines conditions d'anodisation (composition de l'électrolyte, tension appliquée, temps d'anodisation...), la couche anodisée peut être poreuse voire nanotubulaire. Initialement, ce phénomène a été reporté dans le cas de l'anodisation de l'aluminium et a ensuite été étendu au cas du titane et de ses alliages, mais aussi à d'autres métaux de transition comme Zr, Nb, Hf, W ou Ta [17,19,20]. Les travaux considérés comme pionniers en matière de couches de TiO₂ poreuses/nanotubulaires anodisées sont ceux de Assefpour-Dezfuly *et al.* [21] en 1984, puis Zwilling *et al.* [22] en 1999 et enfin Gong *et al.* [23] en 2001.

Classiquement, le dispositif expérimental consiste en un montage à deux électrodes immergées dans un électrolyte et reliées hors de la solution par une alimentation électrique, comme illustré sur la **Figure 1.6**. L'électrode de travail, reliée à la borne positive de l'alimentation, est la pièce à anodiser (ici le titane). La contre-électrode, reliée à la borne négative de l'alimentation, est un métal inerte (présentant une grande surface), typiquement du platine (ou du carbone). L'électrolyte est une solution aqueuse, pouvant contenir des ions fluorures F⁻ dans le cas des synthèses de couches poreuses.

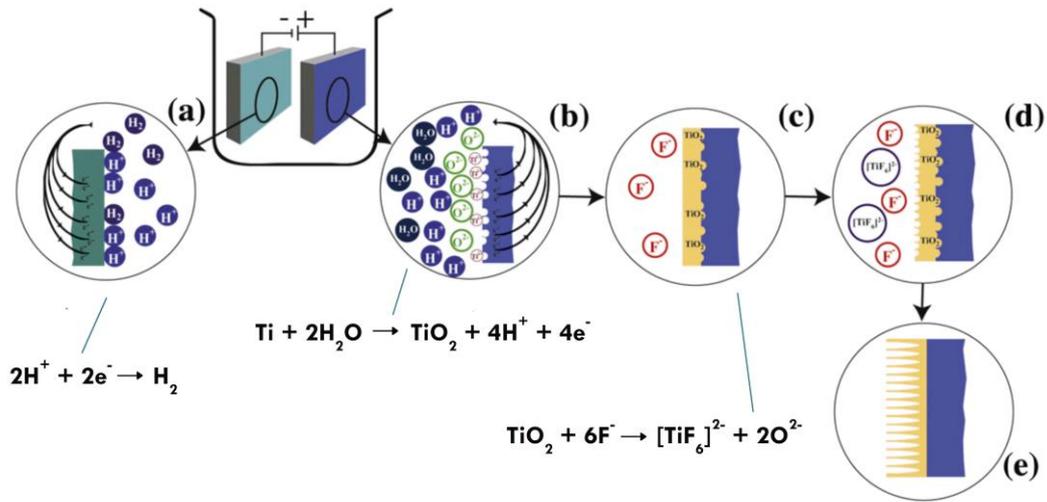


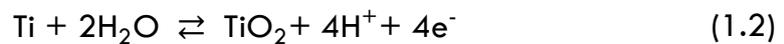
Figure 1.6. Dispositif expérimental pour la synthèse de nanotubes de TiO₂ par anodisation du titane. Adapté de la référence [19].

1.4.2.2. Mécanisme de croissance des NTs de TiO₂

Lorsqu'une assez haute tension est appliquée (quelques dizaines de volts), la contre-électrode (cathode) est le lieu de la réaction de réduction des protons en dihydrogène (**Figure 1.6a**) alors qu'à l'électrode de travail (anode), le métal est oxydé, selon l'équation (1.1) [17] :



Le métal oxydé peut alors être solvaté et dissous dans l'électrolyte (1.1) ou bien former un oxyde, selon l'équation (1.2) [17] :



Dans le cas de l'anodisation du titane, le phénomène prépondérant est la formation d'un oxyde en surface, comme illustré sur la **Figure 1.6b**.

La croissance de ce film est régit par la loi suivante [17] :

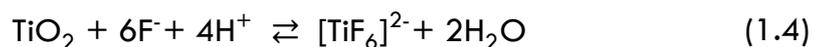
$$I = A \exp\left(B \cdot \frac{\Delta U}{d}\right) \quad (1.3)$$

Où I est le courant, ΔU est la différence de potentiel à travers l'oxyde, d est l'épaisseur de la couche et A et B sont des constantes expérimentales.

C'est-à-dire que lorsqu'une tension constante est appliquée, le courant décroît exponentiellement à mesure que le film s'épaissit. La croissance de ce film repose sur la migration, sous l'action du champ électrique, des espèces Ti^{4+} et O^{2-} (issu de la déprotonation de H_2O), comme illustré sur la **Figure 1.7c**. Ainsi, après la formation d'une couche d'oxyde initiale sur le substrat Ti, les ions O^{2-} migrent à travers l'oxyde jusqu'à l'interface *métal|oxyde* pour réagir avec Ti et Ti^{4+} et former une couche dense et stable de TiO_2 . L'ion Ti^{4+} quant à lui migre vers l'interface *oxyde|électrolyte*, soit pour être solvaté, soit pour former un oxyde de titane hydraté et poreux à la surface [24].

Le processus décrit ci-dessus est autolimité. En effet, comme l'oxyde de titane n'est pas très conducteur, lorsque le film atteint une certaine épaisseur, le champ électrique devient trop faible pour assurer la migration des espèces. La couche d'oxyde atteint alors son épaisseur maximale. L'épaisseur finale dépend de la tension appliquée. Pour de nombreux métaux de transition, elle peut être estimée par la relation $d = f.U$, où f est appelé facteur de croissance (typiquement de 2-4 nm V^{-1}) [25].

Cependant, si l'oxyde formé est soluble dans l'électrolyte, ce qui est le cas du TiO_2 en présence d'ions fluorures (**Figure 1.6c**), il s'établit un équilibre entre la réaction de formation du film (**Eq. (1.2)**) et sa dissolution (**Figure 1.6d**), selon l'équation suivante [24] :



Le complexe ainsi formé est soluble dans l'eau. D'autre part, les ions Ti^{4+} qui migrent vers la surface peuvent également être complexés par les ions fluorures :



La migration des espèces dans le cas où l'électrolyte contient des F^- est schématisée dans la **Figure 1.7d**.

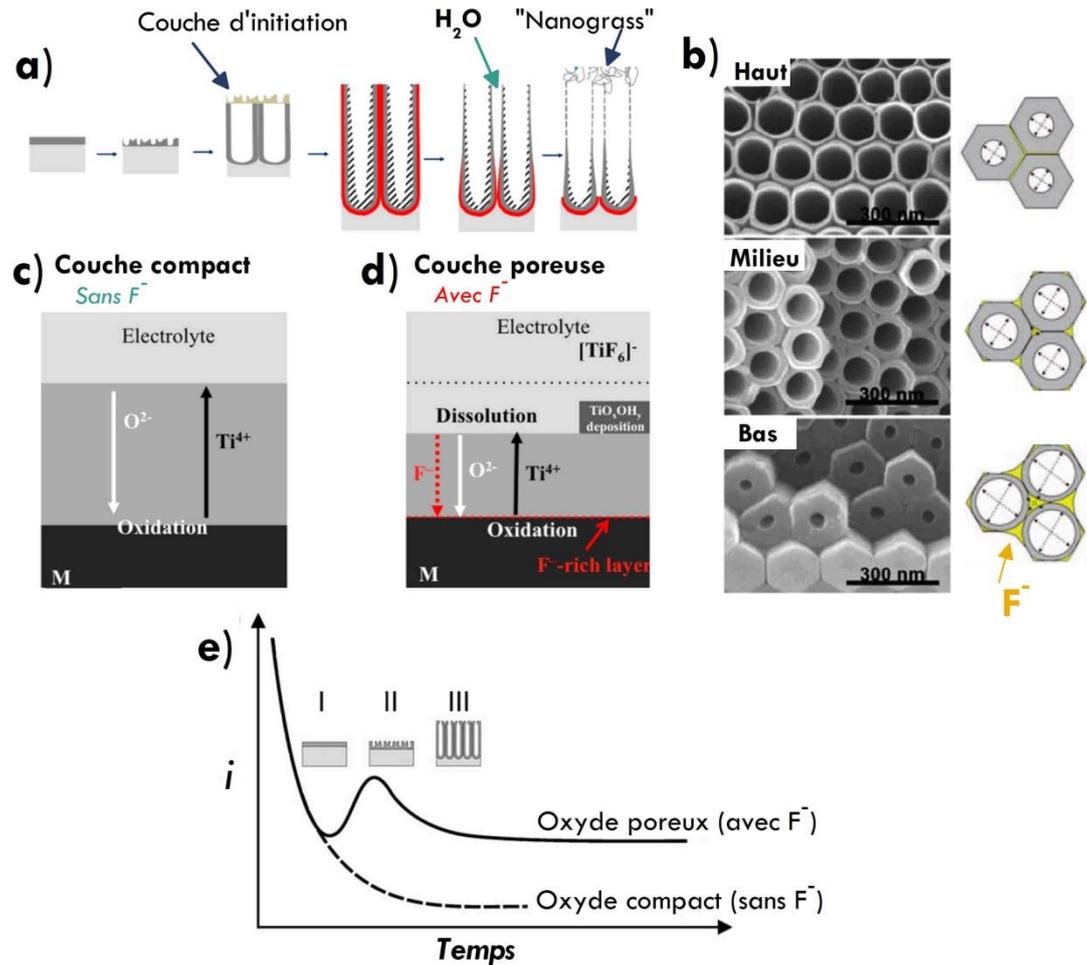


Figure 1.7. Mécanisme de formation des nanotubes de TiO₂. (a) Schéma des étapes de croissance des NTs et structure finale, (b) Observations MEB en coupe et schémas au niveau du haut, du milieu et du bas des nanotubes, (c)(d) Migration des espèces chargées lors de l'anodisation, respectivement sans et avec fluorures, (e) Courbe courant-temps caractéristique de l'anodisation avec et sans fluorures. Adapté des références [17,25].

La compétition entre la formation de l'oxyde et sa dissolution conduit à la formation de nanotubes de TiO₂ ordonnés et verticalement alignés par rapport à la surface du substrat Ti (**Figure 1.6e**).

Les allures des courbes *i-t* (suivi du courant, ou densité de courant, en fonction du temps d'anodisation) correspondant à des anodisations en présence ou en l'absence d'ions F⁻, sont schématisées sur la **Figure 1.7e**.

En l'absence de F^- dans l'électrolyte, le courant décroît exponentiellement à mesure que la couche d'oxyde s'épaissit. En revanche, lorsque l'électrolyte contient des espèces capables de dissoudre la couche d'oxyde anodisée (F^-), la courbe $i-t$ présente trois régions caractéristiques, dénommées I, II et III sur la **Figure 1.7e**.

Dans la première étape, une couche barrière est formée (de quelques dizaines de nm), menant à une diminution exponentielle du courant. Ensuite, la surface commence à être localement dissoute et les pores croissent aléatoirement. L'initiation de ces pores entraîne une augmentation de l'aire active et donc une élévation du courant (région II) [20]. A noter que le temps nécessaire pour atteindre le régime II est d'autant plus court que la concentration en ions F^- augmente [20]. Dès lors, les pores se partagent équitablement le courant disponible, ce qui conduit à la formation d'un réseau de nanotubes verticalement ordonnés [17]. Le régime III est alors atteint et le courant devient constant. A noter que dans la zone stationnaire, le courant mesuré est d'autant plus grand que la concentration en F^- est grande [20]. Cette dernière phase d'anodisation est contrôlée par un phénomène de diffusion ; l'espèce limitante étant probablement $[TiF_6]^{2-}$ [26]. Plus précisément, le régime stationnaire est établi quand la vitesse de croissance de l'oxyde (à l'interface *métal* | *oxyde*) est égale à sa vitesse de dissolution (à l'interface *oxyde* | *électrolyte*) [20].

Les différentes phases de croissance des pores peuvent être appréciées plus en détail sur la **Figure 1.8** grâce à des observations microscopiques (MEB) de la couche d'oxyde à différents temps d'anodisation.

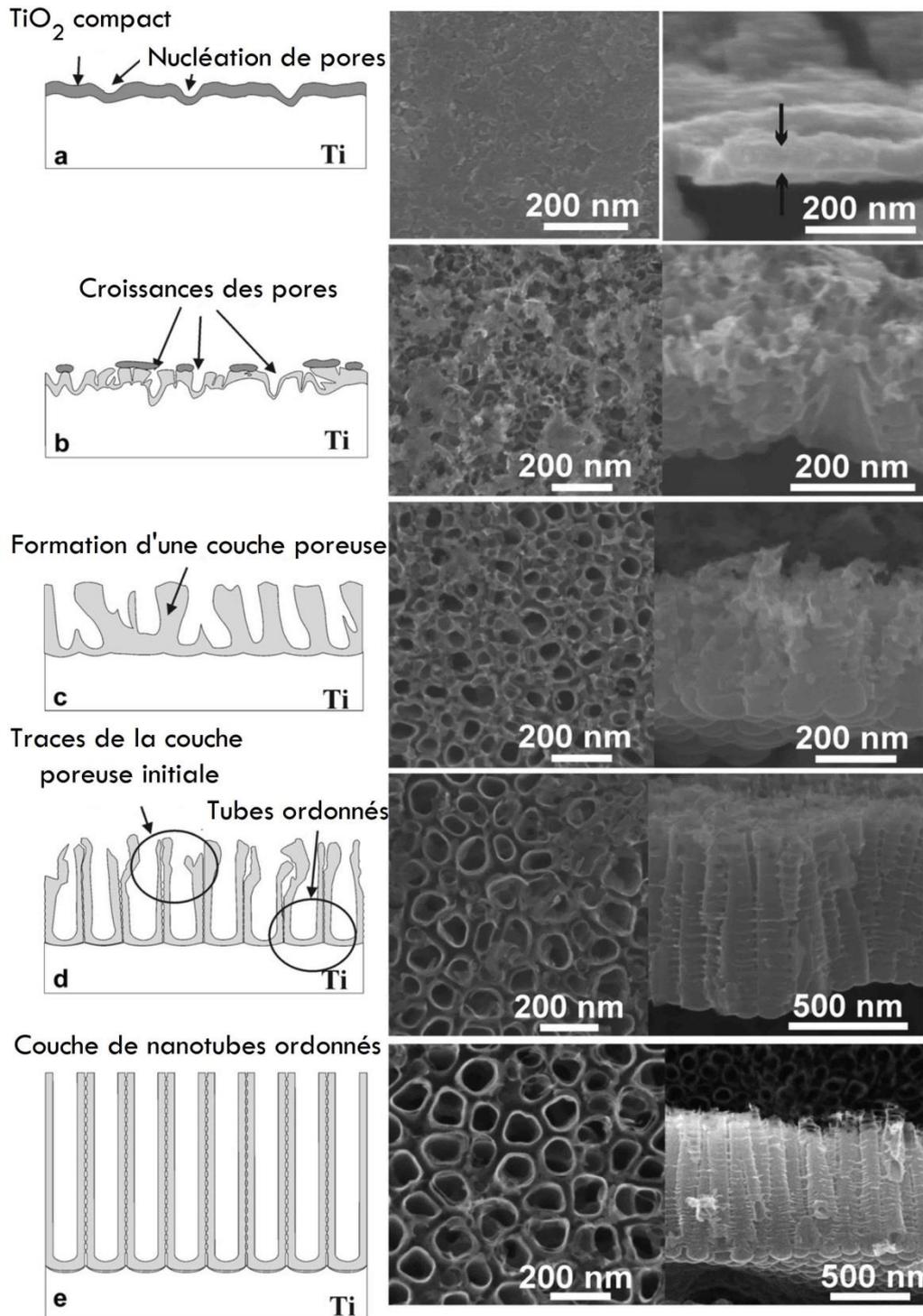


Figure 1.8. Représentations schématiques (colonne de gauche) et observations MEB (images de droite) des différentes étapes de formation des nanotubes de TiO₂ au cours du temps d'anodisation. Anodisation à 20V dans un électrolyte eau/glycérol/0,27 M NH₄F stoppée après (a) 0 min, (b) 3 min, (c) 10 min, (d) 30 min, (e) 1h. Adapté de la référence [26].

1.4.2.3. Structure morphologique et composition chimique des NTs de TiO₂

La dissolution du TiO₂ ayant lieu sur toute leur longueur, les nanotubes issus d'une longue anodisation auront une morphologie en « V », c'est-à-dire que la paroi en haut des tubes est extrêmement plus fine qu'en bas, comme illustré **Figure 1.7a** et **b**. L'arrangement à la base des tubes est de type hexagonal compact et évolue graduellement vers une morphologie tubulaire (**Figure 1.7b**).

Sur la **Figure 1.7a**, il est également visible que, dans certains cas, des traces de la couche poreuse initiale peuvent subsister en haut des tubes. Ces traces prennent généralement la forme de « nano-filaments » et recouvrent la surface des nanotubes. Dans la littérature, cette couche est désignée par le terme *nanograss*. Des méthodes ont été développées pour s'en affranchir [27,28].

Il est également visible sur les **Figure 1.7a** et **d** qu'une couche riche en fluorures se forme à l'interface *métal|oxyde* (~ 15 nm), ceci en raison d'une vitesse de migration des ions F⁻ à travers l'oxyde plus rapide que pour O₂⁻ (au moins 2 fois plus rapide) [29]. La zone inter-tubulaire riche en F⁻ sera ensuite préférentiellement dissoute par l'eau, ce qui explique la formation de nanotubes espacés et bien définis [9,17]. En moyenne, la teneur en F⁻ dans les nanotubes anodisés en milieu aqueux est de l'ordre de 4 %at. et de 8 %at. pour les milieux organiques (la composition des électrolytes est discutée en section 1.4.2.4). Cette teneur peut être réduite (jusqu'à 1,0 à 0,3 %at.) par un traitement thermique [9] (les traitements thermiques sont discutés en section 1.4.3.2). Les NTs présentent également des traces de carbone [9], provenant des électrolytes organiques, et des hydroxydes (OH⁻) en surface [20].

1.4.2.4. Les différentes générations de NTs de TiO₂

La morphologie (dimensions et aspect) des nanotubes synthétisés dépend des paramètres d'anodisation. Parmi les facteurs influençant la topographie de la couche nanostructurée, la nature de l'électrolyte joue un rôle déterminant. Les différentes morphologies caractéristiques de NTs observées dans la littérature sont d'ailleurs classées d'après l'évolution des compositions des électrolytes. Ainsi, on dénombre quatre générations de nanotubes de TiO₂ de morphologies distinctes (**Figure 1.9**) [9] :

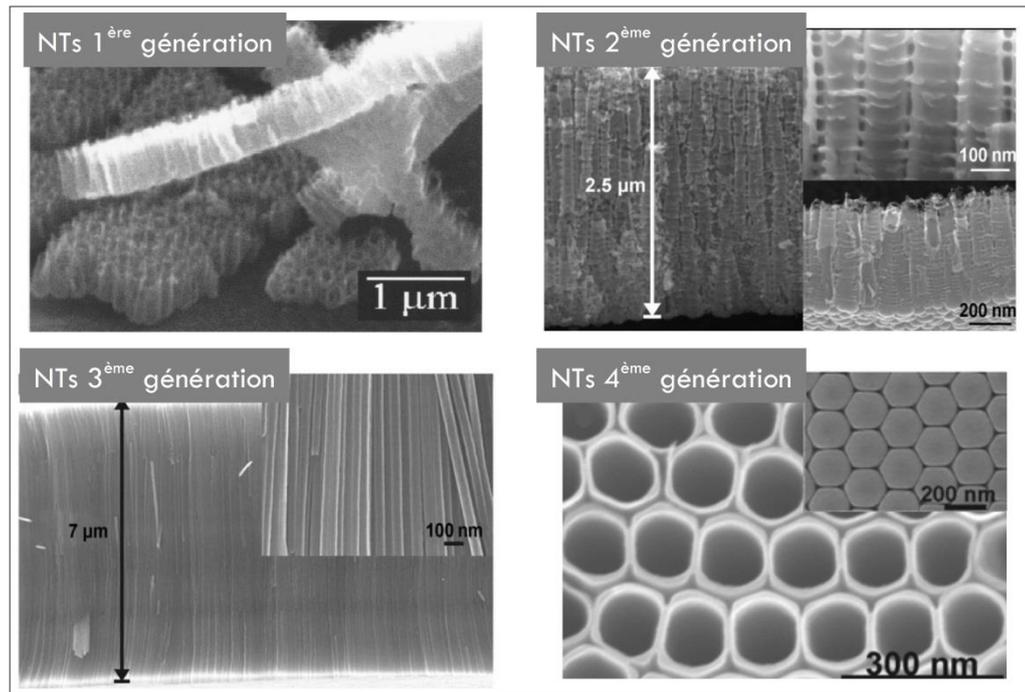


Figure 1.9. Evolution des morphologies des NTs de TiO_2 . 1^{ère} génération : dans un électrolyte aqueux acide les NTs sont courts et peu ordonnés. 2^{ème} génération : dans un électrolyte aqueux tamponné les NTs sont plus long. 3^{ème} génération : dans un électrolyte organique visqueux les NTs sont très longs et très ordonnés. 4^{ème} génération : l'optimisation des paramètres d'anodisation dans un électrolyte organique favorise l'arrangement hexagonal compact des NTs. Adapté des références [30–33].

o 1^{ère} génération : Les premiers travaux sur le sujet [22,23,30] mettaient en lumière le fait que l'anodisation du titane dans une solution aqueuse acide (H_2SO_4 par exemple) contenant une faible quantité d'HF menait à la synthèse de nanotubes de TiO_2 . Cependant, les nanotubes n'étaient pas très ordonnés et leur longueur n'excédait pas 500 nm.

o 2^{ème} génération : Des améliorations expérimentales significatives ont ensuite été apportées par le contrôle du pH. En effet, un pH acide favorise une dissolution rapide de l'oxyde et limite ainsi la longueur finale des nanotubes. Dans des électrolytes aqueux contenant des sels fluorés, le pH est moins acide (pH~5) et les nanotubes peuvent présenter un haut facteur de forme (rapport longueur/diamètre) ainsi qu'atteindre des longueurs de quelques μm .

Ainsi, des électrolytes de type $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ contenant 0,5 %m. de NH_4F [31,34] conduisent respectivement à des longueurs de nanotubes de 2,5 et 4 μm . Des NTs de deuxième génération de quelques μm de longueur ont

également pu être synthétisés dans des électrolytes de type H_2SO_4 /Acide citrique/KF [35] ou Na_2SO_4 /NaF [36].

Tout comme pour les nanotubes de première génération, les parois extérieures des tubes de deuxième génération sont ondulées. Ces irrégularités résultent d'une compétition, plutôt rapide, entre les réactions d'oxydation et de dissolution de l'oxyde. Dans la littérature, cette morphologie est dite de type « bambou ».

- o 3^{ème} génération : Plus tard, la synthèse de très longs nanotubes (plusieurs centaines de μm) à parois lisses et très ordonnés a été rendue possible par l'utilisation d'électrolytes non aqueux [32,37–40] (principalement du glycérol (G) et de l'éthylène glycol (EG) mais aussi du DMSO, des acides concentrés ou bien encore des liquides ioniques), ceci toujours en présence d'ions F^- et d'une faible quantité d'eau.

Les travaux de Macak *et al.* [32] marquent une avancée notable grâce à la synthèse de nanotubes de 7 μm de long, particulièrement lisses, réguliers et bien ordonnés, dans un électrolyte visqueux à base de glycérol (0,5 %m. NH_4F). Puis, Albu *et al.* [41] ont rapporté qu'avec une optimisation fine des paramètres d'anodisation (utilisation d'éthylène glycol/très faible teneur en eau/0,2 M HF/120V), il est possible de synthétiser des nanotubes lisses de 260 μm de long, adoptant une organisation hexagonale très similaire au cas de l'aluminium [42].

La haute viscosité des électrolytes organiques entraîne une limitation des fluctuations locales de pH (notamment à l'entrée des nanotubes) et de concentration des espèces chargées et permet de réguler les vitesses de croissance et dissolution de l'oxyde, ceci favorisant la formation de parois lisses lorsque la teneur en eau est très faible [32].

- o 4^{ème} génération : Sont dénommés nanotubes de 4^{ème} génération ceux synthétisés via des protocoles alternatifs optimisés, menant à des structures hautement ordonnées.

Ainsi, Macak *et al.* [33] ont synthétisé à partir d'un substrat Ti de très haute pureté des nanotubes arrangés selon un motif hexagonal compact par une approche d'anodisation multi-étapes. Les nanotubes sont synthétisés une première fois, puis retirés de la surface par polarisation cathodique et ultrasons. Une seconde anodisation est conduite sur la surface prétraitée qui présente alors des sites d'initiation favorisant la croissance de nanotubes ordonnés. De la même façon, Shin and Lee [43] ont synthétisé une couche très organisée, plutôt nanoporeuse que nanotubulaire, via une préparation de surface par électropolissage suivie d'une anodisation en deux étapes. Suivant la même idée, Sulka *et al.* [44] ont mis au point une procédure d'anodisation en trois étapes conduisant à la formation d'un réseau nanoporeux très ordonné. Kondo *et al.* [45] reportent également la possibilité de synthétiser une couche de nanotubes de TiO₂ idéalement ordonnés en pré-texturant la surface du Ti par un moule métallique, présentant un arrangement d'empreintes convexes, afin de former des sites d'initiation réguliers.

D'autre part, So *et al.* [46,47] ont montré qu'en présence d'acide lactique (dans un électrolyte classique type EG/5 %m. H₂O/0,1 M NH₄F) et à haute tension (120-150 V), la croissance de la couche de NTs se fait extrêmement rapidement et de façon particulièrement adhérente au substrat. Typiquement, une couche de 15 µm d'épaisseur, particulièrement adaptée pour des applications solaires (voir section 1.4.3.4), est formée en 45 secondes tandis qu'une longueur de 7 µm, adaptée à l'électrolyse de l'eau (voir section 1.4.3.4), est atteinte en 25 secondes. Après 1h d'anodisation, les NTs atteignent des longueurs d'une centaine de µm (alors qu'une dizaine d'heures sont normalement nécessaires pour atteindre ces longueurs dans des conditions « standards »).

Finalement, il est pertinent de mentionner la technique nommée « RBA » (Rapid Breakdown Anodization) dont l'approche est significativement différente. Pour cette procédure, l'électrolyte ne contient pas d'ions fluorures mais des ions perchlorates, chlorures ou bromures. Le processus d'anodisation, très rapide (quelques dizaines de secondes), ne conduit pas à la formation d'un réseau de nanotubes organisé mais à la formation de « paquets » de nanotubes de

plusieurs μm de longueur et de petits diamètres (~ 20 nm). Les amas de NTs n'étant pas très adhérents au substrat, cette méthode peut se révéler pertinente pour fabriquer, par exemple, des poudres de NTs de TiO_2 à faible coût [9,20].

1.4.2.5. Contrôle de la morphologie des NTs

De très nombreux paramètres peuvent influencer sur la morphologie finale des nanotubes :

- o *Nature de l'électrolyte* : Ce point a été largement discuté dans la section précédente (et illustré par la **Figure 1.9**). En bref, dans les électrolytes aqueux acides, les NTs croissent de façon plutôt anarchique et leur longueur ne dépasse pas 500 nm. Dans les électrolytes aqueux tamponnés, la vitesse de dissolution de l'oxyde est réduite et les NTs peuvent faire quelques μm de long. Dans les électrolytes organiques (typiquement du glycérol ou de l'éthylène glycol), la forte viscosité permet de réduire encore la vitesse de dissolution de l'oxyde, les NTs peuvent mesurer plusieurs dizaines ou centaines de μm de longueur et sont très ordonnés. De plus, dans les électrolytes organiques à faible teneur en eau, il est possible de synthétiser des nanotubes à parois très lisses.

- o *Teneur en eau* : Dans les électrolytes organiques, la teneur en eau résiduelle, ou délibérément ajoutée, constitue la source d'oxygène. Un taux minimal d'eau d'environ 0,18 %m. est requis pour conduire à la formation de nanotubes. En dessous de cette teneur, la structure synthétisée n'est pas nanotubulaire mais nanoporeuse (réseau en nid d'abeilles). Comme illustré sur la **Figure 1.10a**, dans un électrolyte glycérol/eau, une augmentation de la teneur en eau conduit à une augmentation du diamètre des NTs (en lien avec la diminution de la chute ohmique dans l'électrolyte) et une diminution de leur longueur. Lorsque la teneur en eau est très faible (0 ou 0,67%), des traces de la couche d'initiation sont visibles en surface des nanotubes. Pour de plus hautes concentrations en eau (6,7 et 16,7%), cette couche n'est pas du tout présente car elle a été complètement dissoute. Enfin, la teneur en eau a un impact significatif sur la morphologie des parois des NTs. En effet, une forte concentration aqueuse (typiquement quelques dizaines de %vol.) favorisera la

formation de NTs de type « bambou » tandis que de faibles teneurs (quelques %vol.) conduiront à la formation de NTs à parois lisses (**Figure 1.10b**).

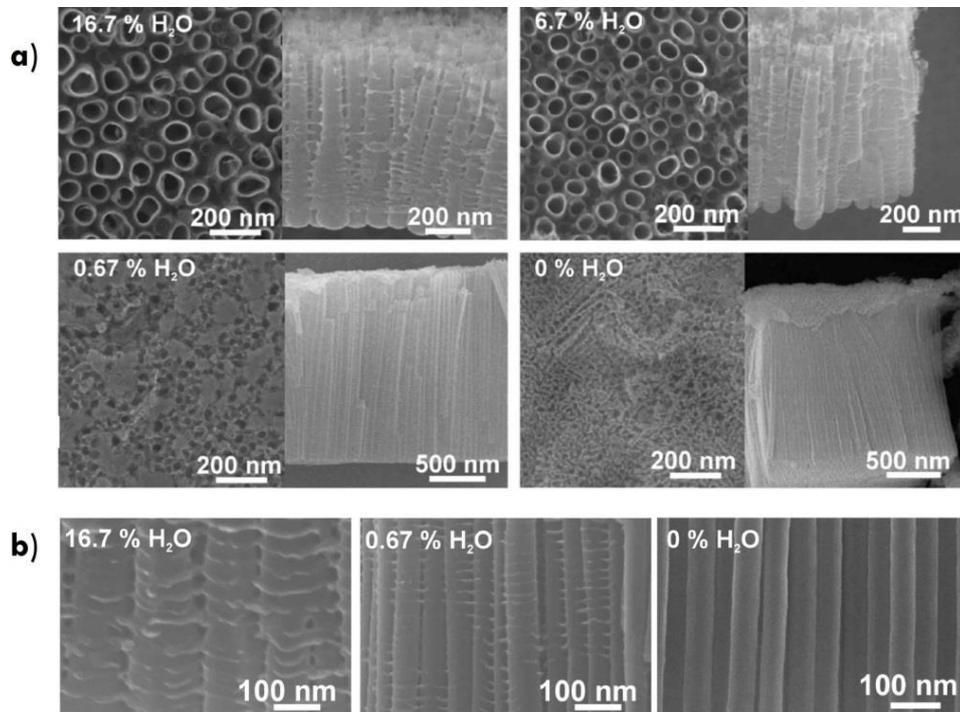


Figure 1.10. Observations MEB de NTs anodisés à 20 V pendant 3h dans du glycérol avec différentes teneur en eau. (a) vue de dessus et vue transversale et (b) zoom sur les parois des NTs. Adapté de la référence [26].

- o *Temps d'anodisation* : Une augmentation du temps d'anodisation conduit principalement à une augmentation de la longueur des NTs. Cependant, cette croissance atteint un palier au bout d'une certaine durée (qui dépend de la nature de l'électrolyte). Dans les électrolytes aqueux, la vitesse de dissolution étant élevée, la longueur maximale des NTs est atteinte en quelques minutes. Cependant, poursuivre l'anodisation jusqu'à des temps compris entre 30min et 2h permet à la structure de s'ordonner. Dans les électrolytes organiques, la vitesse de formation des NTs est beaucoup plus lente et la longueur maximale n'est atteinte qu'après plusieurs heures d'anodisation [9]. Cet effet est visible sur la **Figure 1.11a**. D'autre part, l'électrolyte devenant plus conducteur au cours de l'anodisation, le diamètre des NTs augmente sensiblement [25].

- o *Teneur en F⁻* : La présence d'ions F⁻ (apportés par les espèces HF, NH₄F, NaF ou KF) est nécessaire à la formation de la structure tubulaire (dans le cas contraire, seule une couche compacte peut se former). L'augmentation de [F⁻] entraîne une augmentation de la longueur des NTs, comme représenté sur la **Figure 1.11c**. Cependant, il est reporté [26] qu'une teneur trop élevée en F⁻ (~ 0,5 M) peut conduire à la formation d'une structure peu homogène. Typiquement, les concentrations en fluorures rencontrées dans la littérature sont de l'ordre de 0,2 M.

- o *Température* : La température peut avoir un effet significatif sur la morphologie des NTs, spécialement dans les électrolytes organiques car leur viscosité en dépend. Par exemple, une augmentation de l'épaisseur des parois des NTs est observée lors d'un abaissement de la température (de 50°C à 5°C) [4]. D'autre part, Macak *et al.* [40] mettent en évidence qu'une élévation de température entraîne une augmentation du diamètre et de la longueur des NTs. Cependant, un décollement de la couche peut être observé à trop haute température. La température d'anodisation optimale semble donc se situer aux alentours de 20°C. Sulka *et al.* [44] observent d'ailleurs que les nanotubes atteignent un diamètre maximal pour une température de 20°C.

- o *Vieillissement de l'électrolyte* : Afin de favoriser une croissance ordonnée des NTs dans les électrolytes organiques, il est possible d'anodiser les échantillons dans des solutions vieilles, c'est-à-dire ayant déjà servi pour des anodisations de spécimens en titane factices (pendant plusieurs heures) [29,33,38]. Le vieillissement permet d'augmenter la conductivité électrique de l'électrolyte via (i) l'augmentation de [TiF₆²⁻] (qui d'autre part freine la dissolution de l'oxyde) et (ii) l'augmentation de la teneur en eau par absorption de l'humidité ambiante (les électrolytes organiques de type glycérol ou éthylène glycol sont hygroscopiques). Dans ces conditions, la croissance de l'oxyde est maximisée. Ainsi, en plus d'être mieux ordonnés, les nanotubes sont plus longs. Lee *et al.* [48] ont montré que 60 cycles de vieillissement permettent de synthétiser des nanotubes d'environ 65 µm de long dans des conditions menant initialement (électrolyte « frais ») à des NTs d'environ 2 µm.

- o *Agitation de l'électrolyte* : Classiquement, l'anodisation des nanotubes de TiO_2 se fait sans agitation de l'électrolyte. Cependant, la synthèse est également possible dans des conditions hydrodynamiques [49–51]. Dans ce cas, la couche anodisée est plus épaisse (à paramètres d'anodisation identiques). En effet, l'agitation permet de s'affranchir du régime limite de diffusion qui s'opère normalement en 3^{ème} étape d'anodisation (cf. section 1.4.2.2). Les courants enregistrés sont ainsi supérieurs aux conditions statiques. Par contre, dans des conditions d'anodisation hydrodynamiques, la formation d'une couche nanoporeuse (de type « éponge ») est favorisée au détriment de la structure nanotubulaire. Cette structure est cependant très pertinente dans le domaine de la photo-électrolyse de l'eau. La **Figure 1.12** représente les domaines d'existence des nanotubes de TiO_2 et de la couche spongieuse en fonction des paramètres d'anodisation.

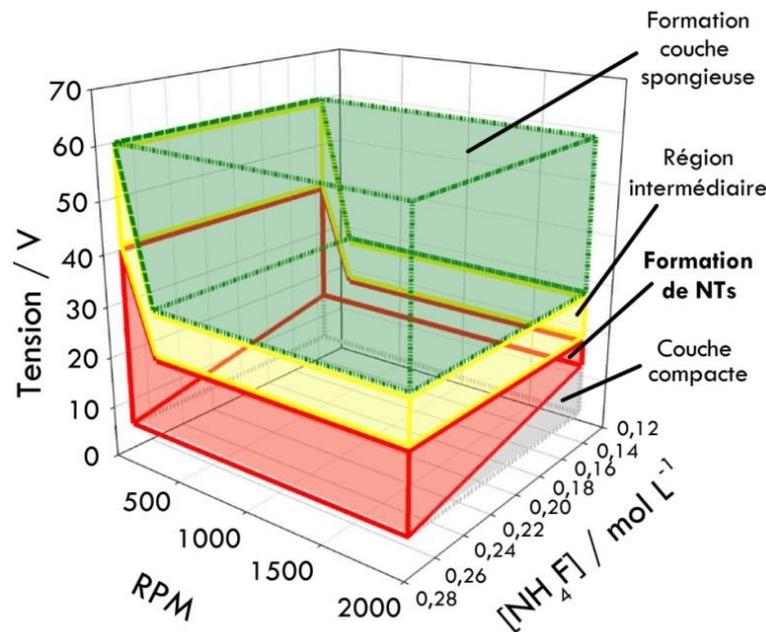


Figure 1.12. Domaine d'existence des NTs de TiO_2 et de la couche spongieuse en fonction de la tension et de la concentration en ions fluorures lors d'une anodisation hydrodynamique dans un électrolyte de type glycérol/eau/ NH_4F . Adapté de la référence [50].

- o *Préparation de la surface* : Afin d'améliorer l'uniformité de la couche synthétisée, il est nécessaire de préparer la surface à anodiser par un polissage mécanique, chimique ou électrochimique [22,52].

- o **Orientation cristallographique** : Il a été montré que les nanotubes se forment préférentiellement sur les sites d'orientation cristalline (111) et de façon limitée sur les sites d'orientation (001) [9,53]. De plus, l'anodisation du Ti polycristallin a tendance à conduire à une distribution bimodale de taille de pores. Plus particulièrement, les plans (0001) mènent à de plus faibles épaisseurs de couche barrière et de plus petits diamètres de pores que les autres plans. D'autre part, les plans (0001) favorisent une meilleure cristallinité [9,54].

❖ ***Morphologies originales*** :

Typiquement, les nanotubes sont synthétisés par application d'une tension constante. Cependant, en procédant à une anodisation multi-étapes, il est possible de synthétiser des morphologies de couches avancées. Ainsi, en enchaînant plusieurs anodisations avec des paramètres différents, il est possible d'obtenir un empilement de couches nanotubulaires de topographies différentes (**Figure 1.13a** et **b**) [17,20]. En diminuant la tension en cours d'anodisation, il est également possible de synthétiser des nanotubes ramifiés (**Figure 1.13c**) [17].

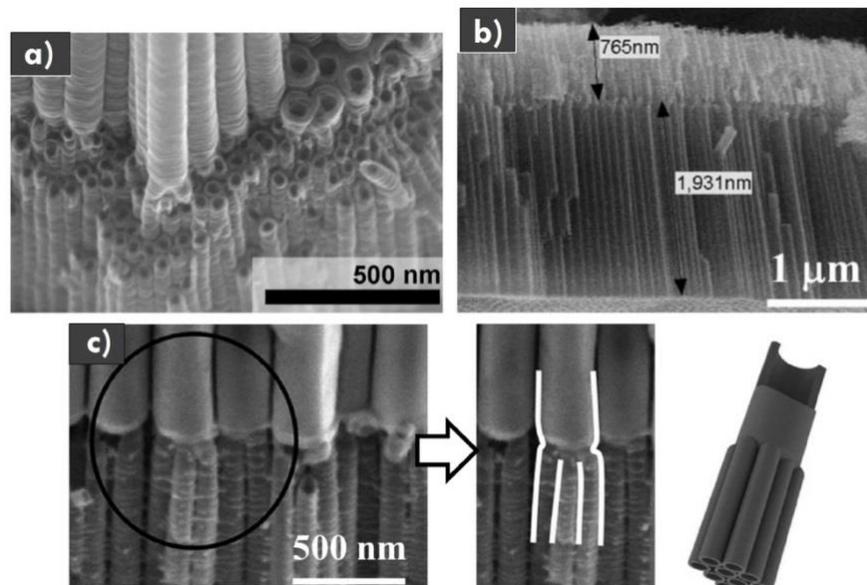


Figure 1.13. Morphologies originales de NTs obtenus par (a,b) anodisation multi-étapes (empilement) ou (c) par diminution de la tension (ramification). Adapté de la référence [17].

1.4.2.6. Anodisation des alliages de Ti

De la même façon que pour le titane pur, les alliages peuvent être anodisés dans des électrolytes contenant des ions fluorures pour former des nanotubes. Ainsi, il est possible de faire croître des nanotubes sur des alliages binaires et ternaires [4], par exemple : Ti-6Al-7Nb [55–57], Ti-6Al-4V [22,57,58], Ti-6Al-4Zr, Ti-Nb-Zr [59], Ti-Ta-Nb, Ti-Nb-Hf [60], Ti-Zr [61], Ti-Nb, Ti-Ta ou Ti-Ta-Zr. Des exemples de croissance de NTs sur des alliages Ti6Al7Nb et Ti-Nb sont présentés en **Figure 1.14**.

Cependant, la dissolution des éléments pouvant être sélective dans le cas des alliages, la composition chimique des nanotubes obtenus n'est pas forcément la même que celle du matériau massif [20,22,62]. Par exemple, dans le cas de l'alliage Ti-6Al-7Nb, il a été estimé que la couche anodisée était composée à plus de 69 %m. de TiO_2 et à moins de 11 %m. de Ti_2O_3 , d'oxyde d'Al et d'oxyde de Nb réunis [62]. De plus, dans le cas des alliages, les proportions de phases α et β ne sont pas les mêmes dans le substrat que dans la couche de nanotubes. Ainsi, dans le cas de l'alliage Ti-6Al-7Nb, la structure tubulaire consiste à 78 % en une phase α enrichie en Al_2O_3 et à 22% en une phase β enrichie en Nb [62].

D'autre part, il a été remarqué que pour les alliages biomédicaux complexes de type Ti29Nb13Ta4.6Zr, une distribution bimodale de taille de tube s'opère [20,63]. Cette particularité, illustrée sur la **Figure 1.14c**, se retrouve également pour des alliages de type Ti-Nb-Zr [59], Ti-Nb [20] et Ti-Nb-Hf [60].

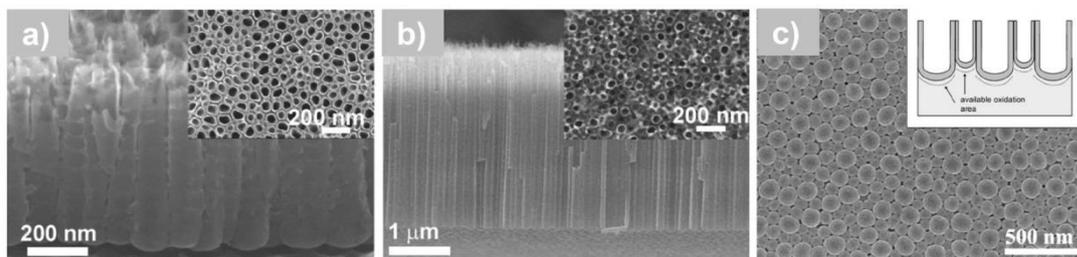


Figure 1.14. Observations MEB de nanotubes anodisés à partir d'alliages. (a) Ti6Al7Nb, (b) Ti-Nb et (c) Distribution bimodale des tailles de nanotubes sur un alliage Ti-Nb (observations de l'arrière des NTs). Adapté de la référence [20].

1.4.3. Propriétés du TiO_2 et des NTs de TiO_2

1.4.3.1. Le TiO_2

Le TiO_2 existe sous trois structures cristallines, l'anatase, le rutile et la brookite. La phase rutile possède l'énergie libre la plus faible et est donc la plus stable thermodynamiquement. C'est la forme la plus commune naturellement, la plus étudiée et la mieux connue des trois polymorphes [9]. L'anatase n'est pas stable thermodynamiquement mais la température de transition anatase→rutile sous air se situant vers 300-500°C, elle peut exister à température ambiante. Les propriétés électroniques de la phase anatase sont d'un grand intérêt pour des applications photovoltaïques. Enfin, la brookite est la forme la plus rare du minéral. Sa synthèse étant difficile, elle n'est que rarement étudiée [9].

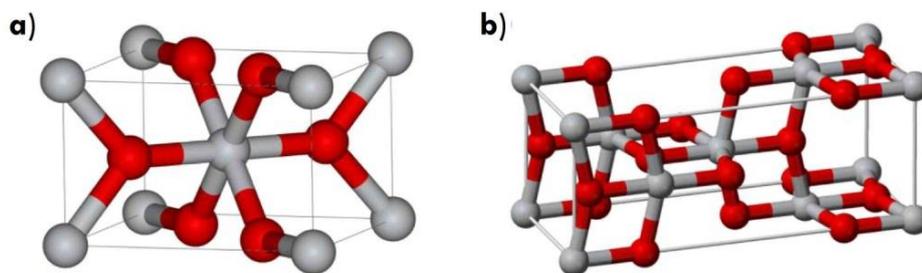


Figure 1.15. Schéma des structures cristallines (a) du rutile et (b) de l'anatase. Les atomes de Ti sont en rouge et les atomes d'O sont en gris. Reproduit de la référence [64].

La **Figure 1.15** montre la structure d'une maille pour les deux phases principales du TiO_2 : le rutile et l'anatase. Les deux polymorphes cristallisent dans un système quadratique, décrit par un enchainement d'octaèdres où chaque Ti^{4+} est entouré de six ions O^{2-} . Les deux structures diffèrent alors par la distorsion de chaque octaèdre et par l'agencement des chaînes octaédriques. Pour la structure rutile, les octaèdres montrent une légère distorsion orthorhombique et chaque octaèdre est entouré de 10 octaèdres voisins tandis que dans la structure anatase, les octaèdres sont largement distordus et chacun d'entre eux est entouré de 8 octaèdres voisins [65]. Le **Tableau 1.5** regroupe quelques propriétés physico-chimiques du rutile et de l'anatase.

Tableau 1.5. Propriétés du rutile et de l'anatase. Adapté des références [9,64].

	Rutile	Anatase
Système cristallin	Quadratique	Quadratique
Paramètres de maille	$a = 4,5933 \text{ \AA}$	$a = 3,7852 \text{ \AA}$
	$c = 2,9592 \text{ \AA}$	$c = 9,5139 \text{ \AA}$
Densité (g cm^{-3})	4,13 – 4,26	3,79 – 3,84
Motifs par maille élémentaire	2	4
Bande interdite (eV)	3,0	3,2
Indice de réfraction	2,72	2,52

Du point de vue de la conduction électronique, le TiO_2 se comporte comme un semi-conducteur de type n, c'est-à-dire que les porteurs de charge majoritaires sont les électrons. Ceci s'explique par la présence de lacunes d'oxygène dans la structure. Ces dernières sont compensées en charge par la présence d'ions Ti^{3+} parmi les cations Ti^{4+} du réseau du TiO_2 . Ces défauts, dont la nature et la concentration dépendent de nombreux paramètres comme la méthode de mise en forme du matériau ou la nature du traitement thermique, ont un rôle déterminant dans les propriétés électroniques du matériau.

La largeur de bande interdite (indirecte) pour la phase anatase est de 3,0 eV et de 3,2 eV pour la phase rutile.

Lorsque le TiO_2 absorbe de la lumière ayant une énergie plus grande que la largeur de la bande interdite, des électrons et des trous sont respectivement générés dans la bande de conduction (BC) et dans la bande de valence (BV). Ces porteurs de charge migrent alors vers la surface du TiO_2 et réagissent éventuellement avec l'environnement. Lorsque le semi-conducteur est en contact avec une solution aqueuse, la réaction la plus remarquable est l'électrolyse spontanée de l'eau ; ceci grâce aux positions stratégiques des énergies des BC et BV du TiO_2 vis-à-vis des potentiels redox respectifs des couples H^+/H_2 et $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$. En effet, la BC a un potentiel plus négatif que le couple H^+/H_2 (0 V_{ENH}) et la BV a un potentiel plus positif que celui du couple $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ ($1,23 \text{ V}_{\text{ENH}}$). Dans cette situation, les molécules d'eau sont réduites par les électrons pour former H_2 et sont oxydées par les trous pour former O_2 . Cette réaction est possible thermodynamiquement sur le substrat mais sa cinétique

dépend de nombreux facteurs comme les propriétés du matériau massif, sa cristallinité ou ses caractéristiques de surface, qui à leur tour détermineront par exemple la mobilité des électrons ou leur temps de vie avant recombinaison [65,66].

Ces considérations concernant la conduction électronique dans le TiO_2 ne sont, à première vue, pas directement essentielles pour les problématiques d'ordre biomédicales abordées dans ce travail de thèse. Cependant, l'étude d'un biomatériau requiert des caractérisations électrochimiques, pour lesquelles il est nécessaire d'avoir ces notions à l'esprit, notamment s'agissant de la caractérisation par spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), qui fera l'objet du chapitre 4.

Finalement, du point de vue des applications, le TiO_2 est historiquement utilisé en tant que pigment blanc dans les peintures. Il peut également être utilisé dans l'industrie agroalimentaire, dans les plastiques pour augmenter leur durabilité, dans les dentifrices pour la blancheur, et dans les cosmétiques notamment pour les protections solaires. Plus récemment, et depuis la découverte des propriétés photocatalytiques du TiO_2 , il est employé en photocatalyse, dans la photo-électrolyse de l'eau et dans les cellules solaires à pigments photosensibles (DSSCs en anglais pour *Dye-Sensitized Solar Cells*). Le TiO_2 est aussi particulièrement approprié pour les capteurs de gaz et pour des applications biomédicales [9,10].

Après cette parenthèse sur les propriétés du TiO_2 massif, la section suivante sera de nouveau portée sur la structure nanotubulaire, et plus particulièrement sur les propriétés cristallines des NTs de TiO_2 après traitement thermique.

1.4.3.2. Structure cristalline des NTs de TiO_2 et traitements thermiques

Après anodisation, les nanotubes de TiO_2 sont généralement amorphes. Du moins, des investigations par DRX (Diffraction des Rayons X) de nanotubes anodisés révèlent une nature globalement amorphe du matériau. Cependant, des observations MET (Microscope Electronique en Transmission) à haute résolution ont permis de révéler la présence de cristallites d'anatase de 1-3 nm

dans les parois des nanotubes [29], notamment lorsque la surface a été anodisée à haute tension ou durant de longues durées [67].

Après un traitement thermique (généralement sous air ou sous oxygène), les NTs peuvent cristalliser sous forme anatase ou rutile ; la conversion vers une structure cristallisée pouvant avoir un impact significatif sur les propriétés mécaniques, optiques, électroniques, chimiques et biomédicales [24]. A noter qu'un recuit sous atmosphère dépourvue d'oxygène (ex. : argon), conduit à la réduction du Ti(IV) en Ti(III), réduisant la stabilité mécanique du système [20].

Pour des nanotubes de 1^{ère} génération (anodisés à 20 V dans un électrolyte aqueux HF) de 400 nm de long et 80 nm de diamètre, ayant subi un recuit sous oxygène, la conversion des NTs de la phase amorphe vers la phase anatase s'opère à partir de 280°C. En DRX, l'intensité des pics correspondant à cette phase augmente jusqu'à ~430°C. La cristallisation de la phase rutile est détectée à partir de 430°C tandis que la conversion complète est effective à partir de 680°C [24,68]. Cependant, les NTs ne maintiennent leur intégrité morphologique que jusqu'à ~580°C. Au-delà, la paroi des nanotubes s'épaissit puis la structure nanotubulaire est détruite [24,68].

Pour des nanotubes de 3^{ème} génération (anodisés à 20 V dans un électrolyte organique : glycérol + NH₄F) de 4 µm de longueur et 80 nm de diamètre, ayant subi un recuit sous air, les premières cristallites d'anatase sont détectées aux alentours de 300°C et l'intensité des pics correspondant augmente jusqu'à 550°C. La conversion de la phase anatase vers un mélange anatase/rutile s'effectue vers 550°C tandis que la conversion totale vers la phase rutile est effective à 800°C. Dans ce cas, la structure nanotubulaire est maintenue jusqu'à une température de recuit de 700°C [69]. Cependant, une diminution de la longueur des nanotubes est observée à partir de 500°C, associée à une augmentation de l'épaisseur de la couche compacte à l'interface *métal*|NTs. La **Figure 1.16** montre l'évolution des diffractogrammes pour des nanotubes de 4 µm recuits sous air à différentes températures ainsi que des observations MEB après ces différents traitements thermiques.

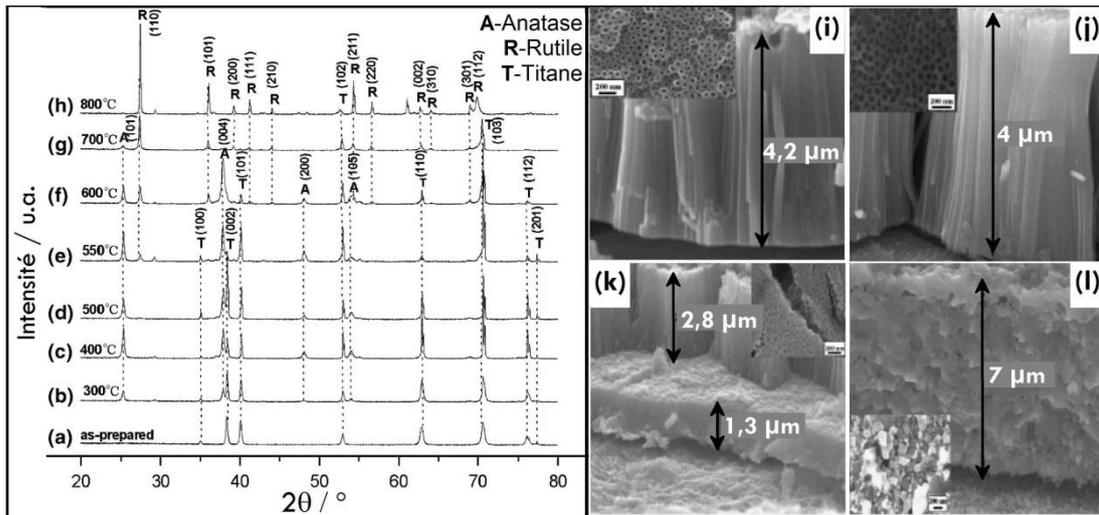


Figure 1.16. Effet d'un traitement thermique de 3h sous air sur des NTs de TiO_2 de $4 \mu\text{m}$ de long. (a-h) Diffractogrammes pour des recuits de 300°C à 800°C . (i-l) Observations MEB des NTs de $4 \mu\text{m}$ après différents recuits : (i) sans recuit, (j) 400°C , (k) 600°C et (l) 800°C . Adapté de la référence [69].

D'une façon générale, pour des températures de recuits comprises entre 280°C - 300°C et 430°C - 550°C (dépendamment de l'épaisseur de la couche de NTs), la cristallisation vers la structure anatase est initiée à la base des nanotubes (au niveau de la couche barrière), via une nucléation interfaciale, en raison d'un espace disponible pour la cristallisation plus grand que dans les parois des tubes [20]. Les nanotubes sont ensuite eux aussi convertis en anatase. Dans certains cas, il a été mis en évidence une orientation préférentielle de la structure anatase le long des tubes [20,69].

Au-delà de 430°C - 550°C , la couche anodisée adopte une structure mixte où les nanotubes conservent la structure anatase tandis que la couche barrière à l'interface *métal*|NTs est convertie en rutile (**Figure 1.16k**), confirmé par spectroscopie des pertes d'énergie (ou EELS en anglais) [70]. L'apparition de la phase rutile provient principalement de l'oxydation thermique du substrat Ti qui conduit, à cette température, à la formation de TiO_2 sous forme rutile [17]. Lorsque la température de recuit augmente, la couche barrière rutile s'épaissit en "consommant" le bas des nanotubes (comme schématisé **Figure 1.17b**). Des investigations par microscopie électronique à balayage en transmission (MEBT ou STEM en anglais) révèlent une augmentation de l'épaisseur de la région interfaciale de quelques nm pour un recuit à 450°C à plusieurs centaines de nm

à 650°C en accord avec la **Figure 1.16j** et **k**). Par conséquent, la longueur des nanotubes diminue à mesure que la couche barrière croît. La **Figure 1.17a** montre que jusqu'à 500°C, des nanotubes de 13,6 µm sont sensiblement raccourcis ; au-delà, leur longueur décroît drastiquement [24]. Par conséquent, les nanotubes ne peuvent adopter que la phase anatase car les contraintes spatiales imposées par les parois des tubes (et la stabilité des nanocristallites de 10-15 nm) ne permet pas la transition vers la phase rutile avant 500-600°C. Or, à ces températures, la structure nanotubulaire est détruite [68,69]. Lorsque la phase anatase est entièrement convertie en structure rutile (vers 700-800°C), la structure tubulaire a complètement disparu, laissant place à une couche compacte (**Figure 1.16l**).

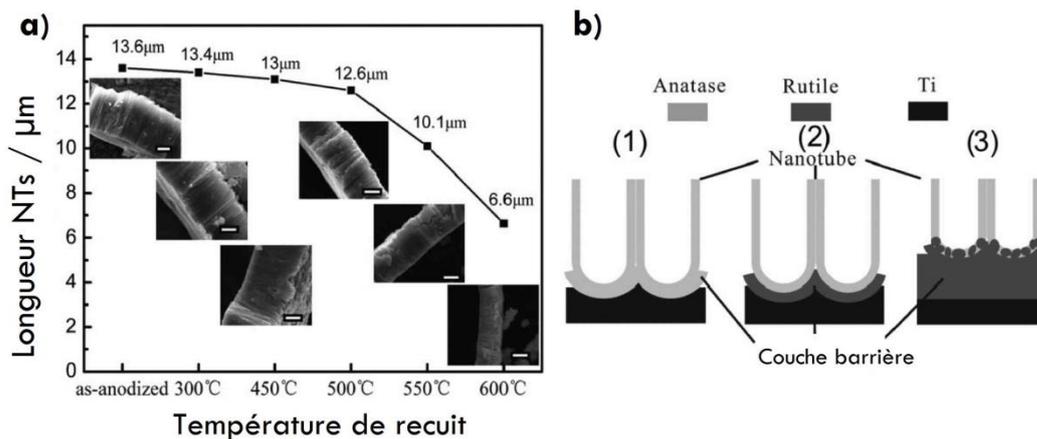


Figure 1.17. (a) Evolution de la longueur des NTs de TiO₂ (de 13.6 µm après anodisation) à différentes températures de recuit. Les inserts sont des observations MEB en coupe des NTs correspondants ; la barre d'échelle est de 5µm. (b) Représentation schématique des NTs recuits à (1) ~400°C, (2) ~500°C et (3) ~600°C. Adapté de la référence [24].

A noter que lorsque des nanotubes non supportés sur un substrat Ti sont recuits, la phase rutile n'apparaît qu'au-delà de 500°C. La présence de l'interface *métal|oxyde* favorise la formation de la phase rutile puisque cette dernière est détectée pour des températures de recuits inférieures à 500°C lorsque les NTs sont supportés sur le substrat Ti. De fait, cette observation supporte la théorie selon laquelle la phase rutile cristallise sous les nanotubes, à l'interface *Ti|TiO₂* [9].

Concernant les alliages de titane, pour des NTs de 250 nm de longueur anodisés à partir d'un substrat Ti-6Al-7Nb par exemple, la présence d'éléments d'alliages comme le Nb décale la température de conversion de l'anatase en rutil vers de plus hautes températures. Ainsi, la phase rutil n'est détectée qu'à partir d'une température de recuit de 700°C et la conversion complète s'opère aux alentours de 850°C (atmosphère sous vide). La structure tubulaire quant à elle est maintenue jusqu'à 700°C [55].

Finalement, il semble important de préciser que lors du traitement thermique, une perte des espèces H₂O, F et CO₂ est observée [20].

1.4.3.3. Influence des traitements thermiques sur les propriétés des NTs de TiO₂

Les différentes structures cristallines obtenues au cours des traitements thermiques impactent les propriétés des nanotubes de TiO₂. Pour les applications biomédicales de type implants orthopédiques, l'attention est portée plus particulièrement vers les propriétés mécaniques, chimiques, électrochimiques et de bioactivité. Ces dernières seront donc largement discutées dans le chapitre 3. Cependant, d'autres aspects notables sont mentionnés ci-dessous.

- o Conductivité électrique : Des mesures de conductivité en deux points sur des NTs recuits pendant 2,5h à différentes températures révèlent que la conductivité diminue avec la température de recuit jusqu'à 200°C suite à l'évaporation de l'eau. Puis, une augmentation de la conductivité est observée vers 300°C avec la formation de la phase anatase. La conductivité maximale est atteinte quand toute la structure est convertie en anatase, entre 350°C et 450°C. Pour des plus hautes températures, la conductivité diminue de nouveau en raison de l'apparition de la phase rutil sous les NTs [71,72].
- o Propriétés semi-conductrices et optiques : Electrochimiquement, les NTs anodisés amorphes se comportent comme un semi-conducteur (SC) de type n avec une forte concentration de défauts (mauvais conducteurs électriques) alors que les

NTs cristallisés peuvent être considérés comme un SC de type n moyennement dopé (10^{18} - 10^{19} cm⁻³) (meilleur conducteur électrique) [25]. En outre, alors que l'état amorphe contient un grand nombre de sites de recombinaisons, l'état cristallisé permet de générer, sous certaines conditions, un photocourant [25] (se référer à la section 1.4.3.1 pour plus de détails sur les propriétés semi-conductrices du TiO₂). Pour des applications en électrocatalyse ou en photocatalyse, l'objectif sera généralement de maximiser la conductivité et/ou le photocourant généré par les NTs. En revanche, pour des applications biomédicales, il semblerait, intuitivement, que des NTs faiblement actifs électrochimiquement soient plus adaptés.

1.4.3.4. Applications des NTs de TiO₂

Les nanotubes de TiO₂ sont utilisés dans les mêmes types d'application que le TiO₂, la structure nanométrique permettant d'améliorer les propriétés du matériau. Ainsi, en plus des applications biomédicales, discutées dans le chapitre 3, ce matériau peut être utilisé dans de nombreuses applications, dont certaines sont explicitées ci-dessous à titre d'exemple :

- o Photocatalyse : Le TiO₂ est particulièrement utilisé en photocatalyse car, sous illumination UV, il y a création de porteurs de charges (électrons ou trous) capables de réagir avec les espèces redox environnantes pour former ions et/ou radicaux entraînant, par exemple, la décomposition de polluants organiques. En plus de la dépollution, les propriétés photocatalytiques du TiO₂ permettent l'électrolyse directe de l'eau (décomposition de H₂O en H₂ et O₂). Cependant, la largeur de bande interdite du matériau étant d'environ 3 eV, il ne peut être excité que par de la lumière UV. Pour appliquer ces processus à l'absorption de lumière visible, la bande interdite peut être rétrécie par dopage du TiO₂. Pour ce type d'application, la géométrie nanotubulaire est particulièrement pertinente car elle permet un transport plus rapide des porteurs de charge (comparé à des nanoparticules par exemple) ainsi qu'une limitation des pertes par recombinaison [25].

- o Cellules solaires à pigments photosensible (DSSCs) : L'une des applications les plus courantes des NTs de TiO_2 est la cellule solaire à pigments photosensibles, appelée aussi cellule de Grätzel, en référence à son inventeur. Dans ces systèmes, le rôle du TiO_2 est d'assurer le transport des électrons générés par les pigments sous illumination ; l'enjeu étant d'optimiser le mode de transport des électrons dans la couche d'oxyde. Ainsi, remplacer les nanoparticules de TiO_2 classiquement utilisées par des nanotubes permet, d'une part, de diminuer les risques de recombinaison des paires électrons-trous et, d'autre part, de favoriser un chemin direct et unidirectionnel pour le transport des électrons. Pour ce type d'applications, des NTs de plusieurs dizaines de μm de long cristallisés sous la forme anatase représentent la structure optimale découverte à ce jour [25,47].

Parmi les nombreuses applications des nanotubes de TiO_2 , on peut également citer les dispositifs électrochromes (grâce à la capacité du TiO_2 à permettre l'intercalation d'ions hydrogène ou lithium sous polarisation cathodique), les capteurs de gaz (CO , H_2 et NO_x), les biocapteurs, les membranes photocatalytiques, les supercondensateurs ou encore les PEMFC (en tant que matériau alternatif pour supporter les particules de catalyseurs à la cathode) [17,25,64].

En conclusion de ce premier chapitre, il convient de rappeler que le vieillissement de la population entraîne une augmentation du nombre de chirurgies de remplacement de la hanche ou du genou. Il est alors nécessaire de développer des matériaux implantables qui soient biocompatibles, résistants à la corrosion, résistants aux sollicitations mécaniques et favorisant l'ostéo-intégration. Les matériaux métalliques sont largement utilisés pour ce type d'application, parmi lesquels on peut citer les aciers inoxydables (316L), les alliages à base de cobalt et le titane (ou alliages de Ti). Bien que les propriétés mécaniques du titane ne répondent pas toujours parfaitement aux critères requis pour une prothèse orthopédique, il se distingue par son excellente résistance à la corrosion et sa capacité unique d'ostéo-intégration. La couche passive qui assure la très bonne résistance à la corrosion du Ti n'est cependant pas assez bioactive pour assurer la viabilité de l'implantation. Ainsi, il est possible de modifier la surface du Ti, notamment en la nanostructurant, pour favoriser les interactions entre le matériau et le milieu physiologique. L'anodisation du titane est une technique rapide, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre pour synthétiser un réseau organisé de nanotubes de TiO_2 à la surface du titane. Cette méthode permet également un contrôle fin de la topographie de la surface. Les NTs synthétisés présentent la particularité d'être amorphes après anodisation mais peuvent être cristallisés par traitement thermique. La surface nanostructurée ainsi obtenue présente alors des propriétés intéressantes pour des applications biomédicales mais également pour des applications photocatalytiques ou photovoltaïques notamment.

La suite de ce manuscrit sera dans un premier temps consacrée à l'optimisation des paramètres d'anodisation pour la synthèse de NTs de TiO_2 ordonnés et réguliers ainsi qu'à leur caractérisation morphologique et structurale (chapitre 2). L'objectif de ce travail de thèse est de s'intéresser ensuite plus particulièrement aux propriétés électrochimiques et à la bioactivité des surfaces de NTs de TiO_2 (chapitres 3 et 4) dans le but d'enrichir la discussion existante dans la littérature au sujet de l'optimisation de telles surfaces pour des applications biomédicales.

Chapitre 2



*Synthèse et caractérisation morpho-
structurelle de NTs de TiO₂ anodisés*

L'objectif de ce second chapitre est, dans un premier temps, de présenter la technique d'anodisation et d'étudier l'influence de ses différents paramètres sur la morphologie finale de la surface. Dans un second temps, des surfaces nanotubes de morphologies et structures cristallines précises sont définies puis caractérisées afin de constituer les échantillons d'étude de ce travail de thèse.

2.1. Méthodes expérimentales de synthèse et caractérisation des NTs de TiO₂

2.1.1. Synthèse des NTs de TiO₂ par anodisation du Ti

Les nanotubes de TiO₂ sont obtenus par anodisation de disques de titane commercial pur (cp-Ti). Les échantillons sont obtenus par découpe, en tranches d'~2 mm d'épaisseur, d'un barreau de Ti de 14,3 mm de diamètre.

2.1.1.1. Préparation de la surface du titane

Avant anodisation, la surface est polie et nettoyée de façon à assurer une croissance ordonnée des nanotubes.

Ainsi, les échantillons sont polis successivement avec des papiers abrasifs SiC de grades P320 (taille de grains de 46 µm), P600 (26 µm), P1200 (15 µm) et P2400 (10 µm). L'étape de finition consiste en un polissage avec une suspension de silice colloïdale de 0,03 µm, dispersée sur un tissu de polissage tendre. Le protocole de polissage est détaillé en **Annexe 1**.

Ensuite, les substrats sont nettoyés par ultrasons, d'abord dans l'eau distillée, puis dans l'éthanol et enfin dans l'acétone, 10 min dans chaque cas.

Finalement, les échantillons sont rincés à l'eau distillée, puis à l'acétone, et sont séchés à l'aide d'une bombe d'air sec.

2.1.1.2. Montage expérimental

L'anodisation est effectuée dans une cellule électrochimique selon un montage classique à deux électrodes. L'électrode de travail est le titane et la contre électrode est en platine.

Les disques de titane sont installés dans un porte-échantillon, comme illustré sur la **Figure 2.1**, et l'étanchéité est assurée grâce à un joint en PTFE de 15 mm de diamètre extérieur et de 10 mm de diamètre intérieur. Ils sont reliés à la borne (+) de l'alimentation électrique (TCR – Electronic measurements inc.). La contre-électrode est une grille cylindrique en platine, placée à ~ 3 cm de la surface de travail. Elle est reliée à un ampèremètre, lui-même connecté à la borne (-) de l'alimentation (voir **Figure 2.1**).

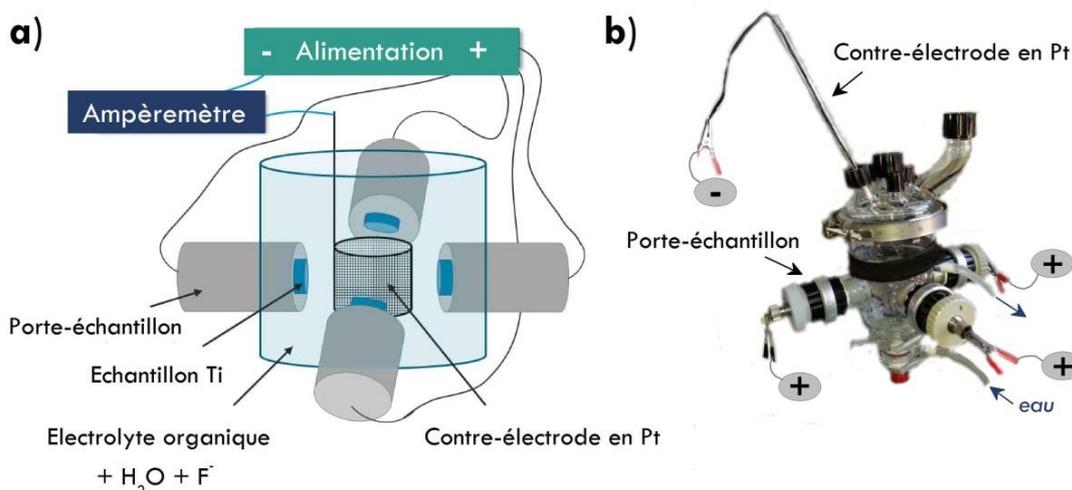


Figure 2.1. Montage expérimental pour l'anodisation du Ti. (a) Représentation schématique du montage à 4 électrodes de travail et 1 contre-électrode cylindrique en Pt, reliées à une alimentation électrique. (b) Photographie de la cellule d'anodisation.

La cellule utilisée, d'une contenance de 500 mL, possède une double enveloppe, qui permet de relier le dispositif à un bain thermostaté et ainsi contrôler la température de l'électrolyte. De plus, elle a été fabriquée sur mesure pour cette étude afin de pouvoir anodiser jusqu'à 4 échantillons simultanément (**Figure 2.1**).

2.1.1.3. Paramètres d'anodisation

Des nanotubes de 3^{ème} génération sont synthétisés dans ce travail de thèse, c'est-à-dire que l'électrolyte est organique, contient des ions fluorures et une faible teneur en eau.

Concernant l'électrolyte, deux types de solvants organiques sont utilisés : le glycérol (G) et l'éthylène glycol (EG). Les ions fluorures sont apportés par le composé NH₄F et sont introduits à hauteur de 0,25 mol L⁻¹ (ordre de grandeur classiquement choisi dans la littérature [17]). Les produits chimiques utilisés pour l'anodisation sont référencés dans le **Tableau 2.1**.

Tableau 2.1. Référencement des produits chimiques utilisés pour l'anodisation.

Nom du composé	Formule chimique	Fournisseur, Pureté (Référence)
Glycérol (G)	HOH ₂ C-CHOH-CH ₂ OH	Sigma-Aldrich, >99,5% (réf. G7893)
Ethylène Glycol (EG)	HO-CH ₂ -CH ₂ -OH	Sigma-Aldrich, >98% (réf. 293237)
Fluorure d'ammonium	NH ₄ F	Sigma-Aldrich, >98% (réf. 216011)

Pour l'ensemble des anodisations présentées dans ce document, l'électrolyte est maintenu à 25°C et n'est pas agité. Un volume minimal de 400 mL étant nécessaire pour immerger convenablement les échantillons et les électrodes (ce qui constitue un volume conséquent comparé aux volumes de quelques dizaines de mL classiquement utilisés dans la littérature), il sera admis que l'électrolyte peut être utilisé pour 1 à 4 anodisations consécutives (dans la même journée), sans avoir de conséquences notables sur la morphologie des NTs synthétisés (vérifié par l'expérimentation).

D'autre part, la teneur en eau (eau distillée) varie de quelques pourcents volumiques à 50%v. Enfin, la tension appliquée est comprise entre 10 et 80 V et les temps d'anodisation sont compris entre 15 min et 2h30.

Les caractéristiques des surfaces ainsi synthétisées sont ensuite déterminées par différentes techniques physico-chimiques.

2.1.2. Caractérisations physico-chimiques

2.1.2.1. Microscopie électronique à balayage à haute résolution (MEB-FEG) et analyses chimiques (EDS)

Dans un Microscopie Electronique à Balayage (MEB, ou SEM en anglais, pour Scanning Electron Microscope), un faisceau d'électrons balaye la surface de l'échantillon. L'interaction des électrons avec la matière conduit à la réémission d'électrons rétrodiffusés, d'électrons secondaires et de photons X.

La collecte des électrons rétrodiffusés permet d'obtenir des informations sur la chimie de la surface (par contraste de phases) alors que les électrons secondaires permettent d'obtenir des informations sur la topographie. Les photons X quant à eux permettent d'identifier la nature des éléments chimiques présents, voire de les quantifier (technique appelée EDS, pour Energy Dispersive Spectroscopy).

Dans cette étude, le MEB a principalement été employé pour observer la topographie de la surface. Or, dans le cas d'une surface nanostructurée, un MEB conventionnel avec un canon à filament tungstène ne permet pas une observation fine de la topographie. Il est alors nécessaire d'avoir recours à un MEB haute résolution (~ 1 nm), appelé MEB-FEG (Field Emission Gun) dont le canon est à effet de champ (pointe tungstène).

Dans le cadre de ces travaux de thèse, la morphologie des nanotubes de TiO₂ anodisés a été déterminée grâce à un MEB-FEG Zeiss Ultra 55, équipé d'une colonne Gemini (CMTC-Grenoble INP). La tension appliquée se situe autour de 3,0 kV et la distance de travail est de l'ordre de 5 mm.

Pour les observations, les échantillons sont simplement fixés sur la platine support via du ruban adhésif carboné, et sont rayés localement par une lame fine pour « décoller » par endroit la couche de NTs et permettre une vue transversale (des fragments de couche décollés).

La détermination du diamètre et de la longueur des NTs se fait grâce à un outil de mesure proposé par le logiciel pilotant le microscope, comme illustré sur la

Figure 2.2.

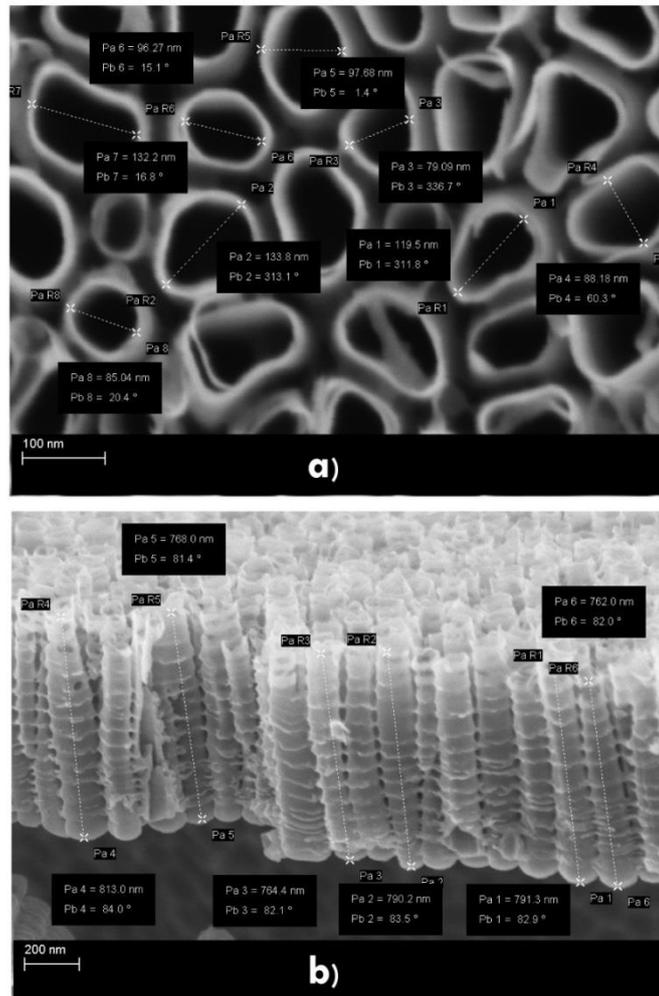


Figure 2.2. Méthode de mesure du diamètre et de la longueur des NTs par observations MEB-FEG. (a) Vue de dessus et (b) Vue transversale.

A noter toutefois que cette méthode ne constitue pas un outil de mesure de précision, d'autant que le positionnement des curseurs de mesure est à l'appréciation de l'expérimentateur. Dans le cas des diamètres, leur mesure s'avère non triviale, d'une part car les NTs ne sont pas parfaitement circulaires. Par conséquent, les mesures sont prises aléatoirement selon le « plus grand » ou le « plus petit » diamètre. D'autre part, la paroi des NTs étant fine (~20 nm), il ne sera pas tenté dans cette étude de déterminer un diamètre intérieur et un diamètre extérieur, seulement un diamètre moyen (l'erreur de mesure serait très grande devant l'écart entre les valeurs des diamètres intérieurs et extérieurs). Quant à la détermination de la longueur des NTs, elle

présente également quelques difficultés, notamment pour déterminer la position précise du sommet des NTs. En effet, le haut des tubes est souvent très dissout et n'adopte plus une structure tubulaire mais plutôt filamenteuse.

Malgré les difficultés citées, la méthode reste pertinente pour une caractérisation représentative de la morphologie des NTs. La répétition des mesures, sur plusieurs nanotubes et pour différentes zones de la surface de l'échantillon, permet de procéder à une analyse statistique (sur un minimum de dix valeurs) et d'aboutir à des longueurs et diamètres moyens ainsi qu'à l'écart-type sur les mesures.

En plus des observations microscopiques, des caractérisations ont été effectuées pour déterminer la structure cristalline des NTs de TiO₂ anodisés.

2.1.2.2. Diffractométrie des rayons X

La Diffraction des Rayons X (DRX, ou XRD en anglais, pour X-Ray Diffraction) permet de déterminer la structure cristalline des matériaux. Cette méthode est basée sur l'interaction d'un faisceau de rayons X avec le cristal. Sous certaines conditions, le faisceau incident va être diffracté dans plusieurs directions (pics de diffraction). Ce phénomène est régi par la loi de Bragg :

$$2d\sin\theta = n\lambda \quad (2.1)$$

Où d est la distance interréticulaire (entre deux plans cristallographiques), θ est le demi-angle de déviation (entre le faisceau incident et le détecteur), n est un nombre entier qui indique l'ordre de la diffraction et λ est la longueur d'onde des rayons X (de l'ordre de grandeur des distances interatomiques).

Dans cette étude, les mesures DRX ont été réalisées sur un diffractomètre/goniomètre PANalytical X'Pert Pro MPD de géométrie Bragg-Brentano, équipé d'un monochromateur à faisceau diffracté utilisant un rayonnement de CuK α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) et fonctionnant à 45kV et 40 mA (CMTC-Grenoble INP). Les diffractogrammes sont enregistrés pour des angles 2θ compris entre 10 et 80°, avec un pas de 0.033° à 0.067°.

La suite du chapitre montre l'influence des paramètres de synthèse sur la morphologie et la structure cristalline des NTs.

2.2. Vers une synthèse de NTs de TiO₂ optimisée : influence des paramètres d'anodisation

Dans un premier temps, une large gamme de paramètres d'anodisation a été investiguée dans le but de former un réseau de nanotubes de TiO₂ relativement régulier et dont la surface est considérée comme « propre », c'est-à-dire assez homogène, sans défauts majeurs, sans contaminations et sans couche d'oxyde filamenteuse ou poreuse rémanente. Les principaux résultats de cette investigation sont présentés dans les sections suivantes.

2.2.1. Influence du temps et de la tension d'anodisation

La **Figure 2.3** représente l'évolution du diamètre et de la longueur des NTs pour différents temps et différentes tension d'anodisation dans un électrolyte organique visqueux (glycérol) contenant également de l'eau (25%vol.) et 0,25 M de NH₄F. Les observations, détaillées ci-dessous, sont en accord avec celles de la littérature, comme décrit en section 1.4.2.5 et illustré sur la **Figure 1.11**.

Bien que le diamètre des NTs augmente sensiblement au cours de l'anodisation (**Figure 2.3a**), la durée du processus affecte principalement leur longueur (**Figure 2.3c**). En effet, cette dernière double quand la durée d'anodisation passe de 15 min à 2h30. Dans la première heure, la vitesse de croissance des nanotubes est rapide (~5,5 nm h⁻¹), puis elle ralentit (~2,5 nm h⁻¹), pour finalement se stabiliser, en accord avec la littérature qui prédit que, dans ce type d'électrolyte, la longueur des NTs atteint une valeur maximale après quelques heures d'anodisation [25].

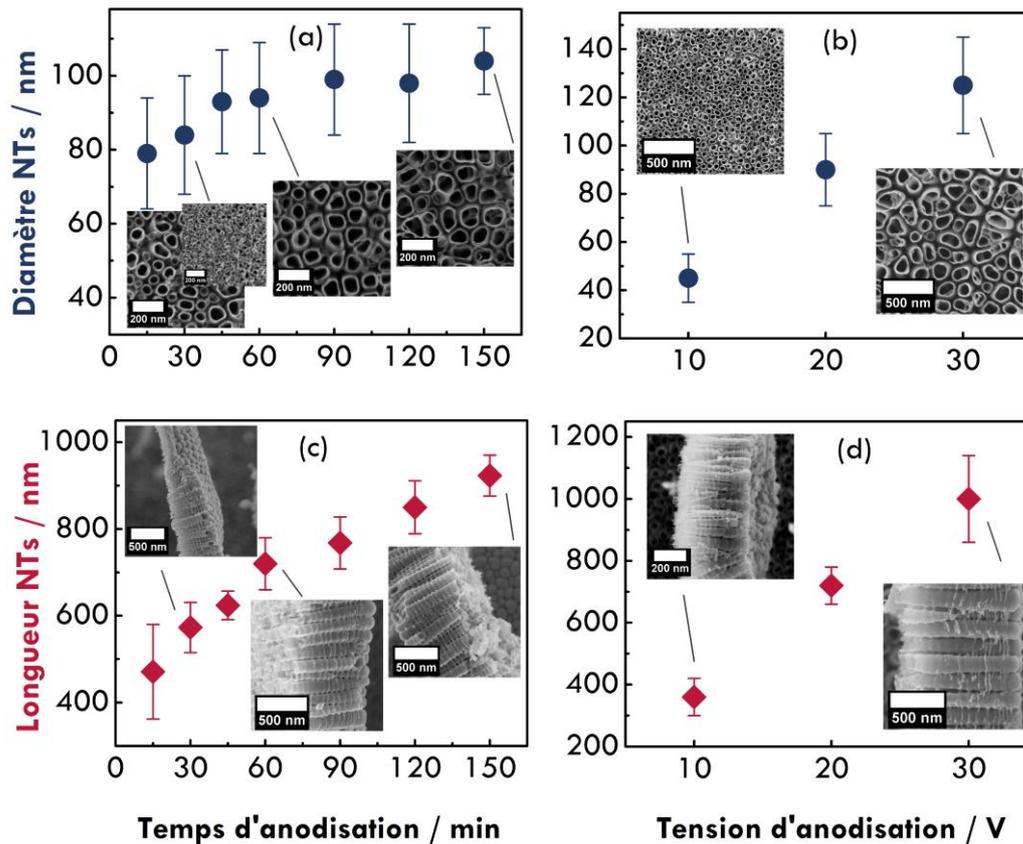


Figure 2.3. Influence du temps et de la tension d'anodisation sur la morphologie des NTs pour un électrolyte G/eau 75:25 + 0,25 M NH₄F, à 25°C. (a, c) Evolutions respectives du diamètre et de la longueur en fonction du temps (à 20 V) et (b, d) Evolutions respectives du diamètre et de la longueur en fonction de la tension (pour 1 h). Les inserts sont des images MEB-FEG montrant les morphologies associées à différents points de mesure.

Une augmentation de la durée d'anodisation permet également aux NTs de s'ordonner. En effet, il est visible sur les observations MEB-FEG de la **Figure 2.3a** qu'après seulement 30 minutes d'anodisation, la distribution de la taille des diamètres est très large. En certains endroits (insert associé), les nanotubes ne sont même pas formés ; on observe à la place une couche poreuse. Avec le temps d'anodisation, la structure se réarrange et la distribution de taille des diamètres s'affine. Cependant, des temps trop longs d'anodisation provoquent une dissolution sévère du haut des nanotubes. On observe alors un début de détachement du sommet des NTs sous la forme d' « anneaux ».

D'autre part, le diamètre et la longueur des NTs augmentent linéairement entre des tensions de 10 V à 30 V (**Figure 2.3b** et **d**).

2.2.2. Influence de la nature du solvant organique

Dans ce travail de thèse, les anodisations ne sont pas effectuées dans un électrolyte aqueux (NTs de 1^{ère} et 2^{ème} génération) mais dans un électrolyte organique (NTs de 3^{ème} génération). Deux solvants sont couramment utilisés dans la littérature : le glycérol (G) et l'éthylène glycol (EG).

La **Figure 2.4** révèle que la morphologie des NTs est différente selon que l'électrolyte contient du glycérol ou de l'éthylène glycol. Des paramètres adaptés pour la synthèse de NTs ordonnés dans le glycérol ne le sont pas forcément pour un électrolyte à base d'éthylène glycol.

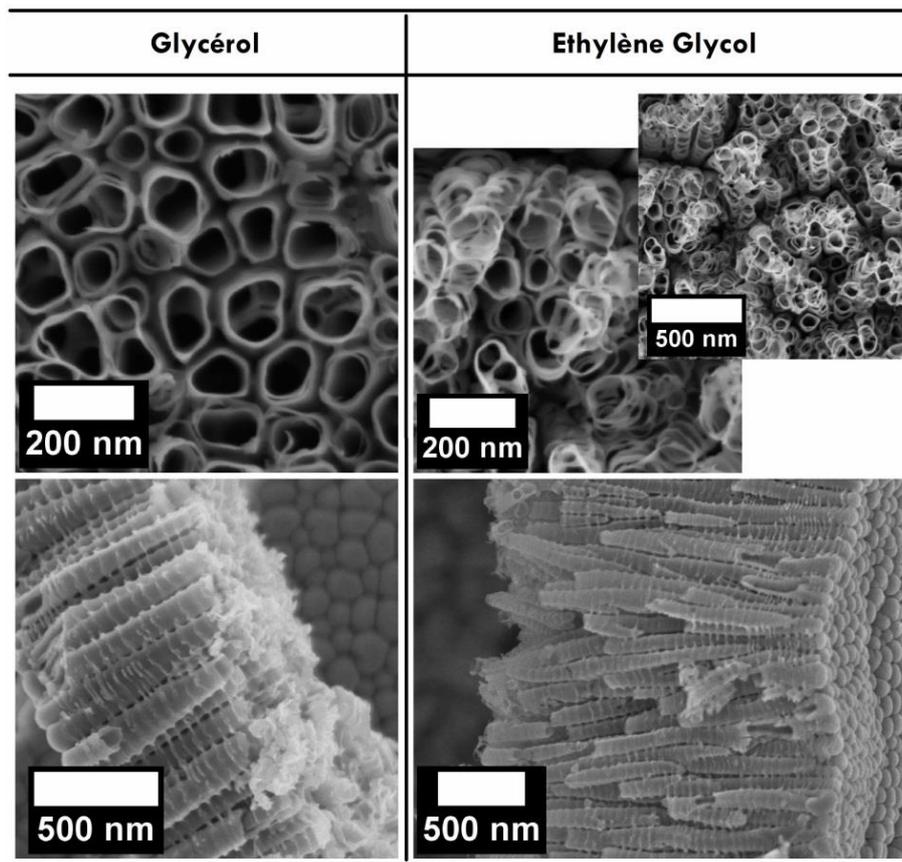


Figure 2.4. Observations MEB-FEG montrant l'influence de la nature du solvant organique sur la morphologie des NTs pour une anodisation de 2h30 à 20 V dans un électrolyte contenant 25 %vol. d'eau et 0,25 M NH₄F à 25°C. Colonne de gauche : glycérol (G) et colonne de droite : éthylène glycol (EG). Ligne du haut : vue de dessus et ligne du bas : vue transversale.

Comme illustré sur la **Figure 2.4**, alors que la surface synthétisée dans le glycérol est satisfaisante, les NTs synthétisés dans l'éthylène glycol, à conditions d'anodisation identiques par ailleurs, sont sévèrement dissous et leur arrangement est anarchique. A noter d'autre part que l'éthylène glycol conduit à la formation de NTs de diamètres plus petits que le glycérol (81 ± 10 nm et 104 ± 9 nm respectivement) et à des NTs plus longs (1962 ± 37 nm et 923 ± 47 nm respectivement).

Dans des électrolytes à base d'éthylène glycol, la synthèse d'un réseau ordonné de nanotubes de TiO₂ est classiquement observée pour de plus hautes tensions d'anodisation que dans le glycérol (généralement de 5 V à 30 V dans le glycérol et autour de 60 V pour l'éthylène glycol) et pour des teneurs en eau faibles (qqs. dizaines de %vol. dans le glycérol et qqs. %vol. dans l'EG).

D'une façon générale, les nanotubes synthétisés dans l'éthylène glycol ont un diamètre plus petit que dans le glycérol, sont plus longs, et leur paroi est plus lisse.

2.2.3. Influence de la teneur en eau

Dans l'éthylène glycol comme dans le glycérol, la quantité d'eau ajoutée, nécessaire à la formation de la structure tubulaire, joue un rôle prépondérant dans la morphologie finale des nanotubes.

Comme illustré dans la **Figure 2.5** et référencé dans le **Tableau 2.2**, une diminution de la teneur en eau d'une dizaine de %vol. à quelques %vol. entraîne à la fois une diminution du diamètre des NTs mais aussi une augmentation de leur longueur. Dans le glycérol, une diminution de la teneur en eau de 25%v. à 5%v. entraîne une augmentation de la longueur des NTs de 770 nm à 1,85 μ m et une diminution de leur diamètre de 100 nm à 30 nm. Dans l'éthylène glycol, une diminution de la teneur en eau de 10%v. à 2%v. entraîne une augmentation de la longueur des NTs de 2,40 μ m à 8,85 μ m et une diminution de leur diamètre de 125 nm à 85 nm. De plus, un abaissement de la teneur en eau conduit à la formation de NTs moins espacés et dont les parois sont plus lisses (disparition de la morphologie « bambou »).

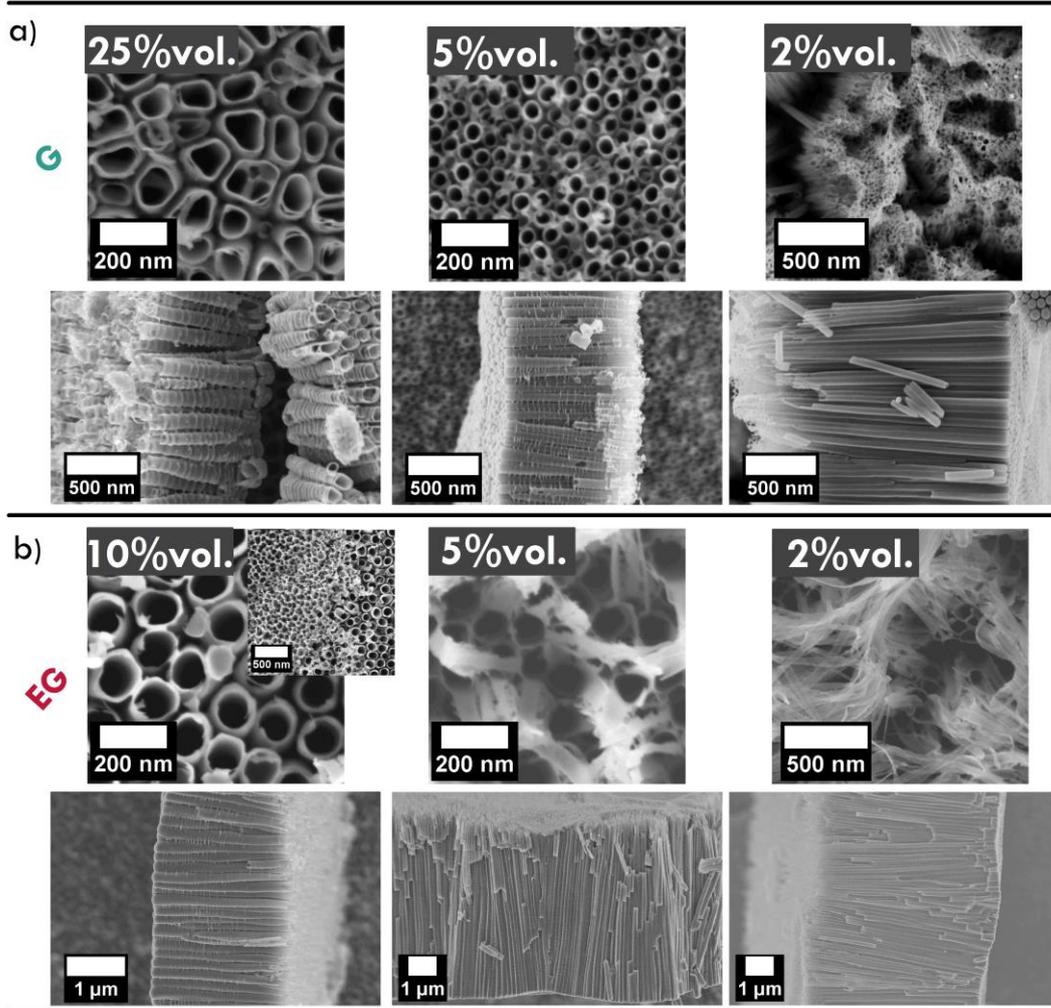


Figure 2.5. Observations MEB-FEG montrant l'influence de la teneur en eau dans (a) du glycérol (20V | 1h30 | 0,25 M NH₄F | 25°C) et (b) dans l'éthylène glycol (60V | 15min | 0,25 M NH₄F | 25°C).

Tableau 2.2. Dimensions (longueur et diamètre notés respectivement L et d) des NTs synthétisés en fonction de la teneur en eau dans le glycérol et dans l'éthylène glycol.

	25%vol. eau	5%vol. eau	2%vol. eau
Glycérol (G) (20V 1h30 0,25 M NH ₄ F 25°C)	$L = 768 \pm 60$ nm $d = 99 \pm 15$ nm	$L = 908 \pm 64$ nm $d = 40 \pm 3$ nm	$L = 1,85 \pm 0,11$ µm $d = 32 \pm 4$ nm
	10%vol. eau	5%vol. eau	2%vol. eau
Ethylène glycol (EG) (60V 15min 0,25 M NH ₄ F 25°C)	$L = 2,42 \pm 0,10$ µm $d = 125 \pm 20$ nm	$L = 6,61 \pm 0,48$ µm $d = 96 \pm 14$ nm	$L = 8,85 \pm 1,51$ µm $d = 84 \pm 14$ nm

Pour de très faibles teneurs en eau (typiquement 2%vol.), la surface est « contaminée » par une couche filamenteuse. Dans l'éthylène glycol, cette contamination demeure, même pour une teneur en eau de 5%vol. A partir de 10%vol., ce défaut n'est plus observé mais on observe à la place une couche poreuse rémanente en surface (pour rappel, cette couche provient de l'initiation de la croissance des NTs, cf. section 1.4.2.3).

A noter que dans les électrolytes type EG/NH₄F, il est difficile d'éliminer la couche d'initiation rémanente. A l'inverse, ceci est possible dans les électrolytes de type EG/HF car HF rend l'électrolyte plus acide, accroissant la vitesse de dissolution de la couche d'initiation [67].

Finalement, il est important de noter que pour une anodisation dans l'éthylène glycol contenant seulement 2%vol. d'eau ($L=8,85 \mu\text{m}$), la couche de nanotubes n'est pas adhérente au substrat. Après anodisation, elle se décolle par endroit simplement par manipulation de l'échantillon.

2.3. Synthèse et caractérisation morpho-structurale des surfaces étudiées

A partir des enseignements tirés des expérimentations de la section précédente, trois jeux de paramètre ont été sélectionnés pour synthétiser trois morphologies distinctes de nanotubes de TiO₂ et ainsi définir les surfaces d'étude investiguées dans ce travail de thèse. Les paramètres sont choisis de façon à obtenir des nanotubes adhérents, ordonnés, et dont la surface n'est pas, ou peu, contaminée par des couches poreuses ou filamenteuses rémanentes.

D'autre part, ces trois morphologies seront étudiées sous trois structures cristallines différentes. La banque d'échantillons de cette étude est donc constituée de neuf surfaces différentes (3 topographies x 3 structures cristallines). Les expérimentations pourront également être menées sur le substrat Ti à titre de comparaison.

2.3.1. Sélection de trois conditions d'anodisation

Le choix des trois conditions d'anodisation a été opéré de façon à synthétiser trois surfaces bien différentes et ainsi investiguer une vaste gamme de morphologies de nanotubes. Ainsi, deux des trois morphologies sont obtenues à partir d'un électrolyte à base de glycérol. Les NTs ainsi formés sont de type « bambou » et sont plutôt courts à moyennement longs. La dernière morphologie est synthétisée dans un électrolyte à base d'éthylène glycol permettant la synthèse de NTs plutôt lisses et très longs (les morphologies des NTs synthétisés sont décrites plus en détail dans la section suivante).

La première morphologie, notée **A**, est obtenue par anodisation du Ti dans un électrolyte à 25°C contenant du glycérol et de l'eau dans les proportions 75:25 et une concentration en NH₄F de 0,25 M. Une tension de 10V est appliquée pendant 1h.

Pour la seconde morphologie, notée **B**, l'électrolyte est le même que précédemment, mais une tension de 20 V est appliquée pendant 1h.

Enfin, pour la dernière morphologie, notée **C**, l'électrolyte est constitué d'éthylène glycol et de 7,5%vol. d'eau. La température est maintenue à 25°C et la concentration en NH₄F à 0,25 M. La tension appliquée est de 60 V pendant 45 minutes.

La **Figure 2.6** représente l'évolution du courant au cours de ces trois anodisations (courbes I-t). Malgré les fortes tensions appliquées (10, 20 ou 60 V), les courants mesurés sont faibles (qq. mA) car l'électrolyte est très résistif. D'autre part, plus la tension d'anodisation est importante, plus les courants relevés sont hauts.

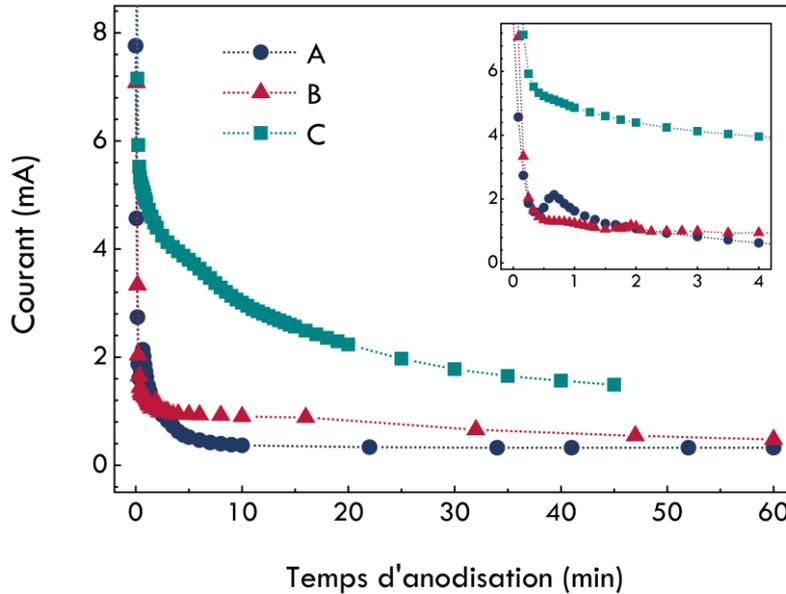


Figure 2.6. Evolution du courant au cours de l'anodisation (courbes I-t) pour les échantillons A (10 V), B (20 V) et C (60 V). Insert : zoom sur les premières minutes d'anodisation.

Comme présenté sur la **Figure 1.7e**, les courbes I-t sont typiquement divisées en trois régions distinctes. Dans les premières secondes, la diminution exponentielle du courant correspond à la formation d'une couche d'oxyde compacte (Etape I). Ensuite, l'initiation des pores entraîne une augmentation de l'aire et donc une augmentation du courant (Etape II). Sur la **Figure 2.6**, cet évènement a lieu dans les dix premières minutes. Il est facilement observable pour l'échantillon A par exemple, après 1 minute d'anodisation (insert). En revanche, l'augmentation du courant n'est pas aisément perceptible pour les échantillons B et C, ce qui a déjà été constaté dans la littérature pour des anodisations dans l'éthylène glycol [73]. Une perturbation du courant est cependant observée à 1 min d'anodisation pour l'échantillon B (insert) et entre 2 et 8 min pour l'échantillon C. Enfin, après plusieurs dizaines de minutes d'anodisation, le courant se stabilise (ou tend à se stabiliser). Un équilibre est alors atteint entre la cinétique de réaction de formation de l'oxyde et sa dissolution (Etape III). Dans cette dernière étape, le réseau tubulaire s'ordonne et les nanotubes sont de plus en plus longs et larges.

2.3.2. Présentation des trois morphologies de NTs étudiées

Les caractéristiques morphologiques des trois surfaces produites peuvent être définies par observations MEB-FEG. La **Figure 2.7** montre ainsi l'aspect des nanotubes obtenus pour les trois conditions d'anodisation décrites précédemment.

A partir de ces observations, il est possible de déterminer le diamètre et la longueur des NTs pour chacune des morphologies. Le **Tableau 2.3** résume d'ailleurs les dimensions observées ainsi que les conditions d'anodisation pour les échantillons A, B et C. A noter que lorsque le substrat Ti non anodisé sera inclus dans les expérimentations à titre de comparaison, il sera dénommé S.

Tableau 2.3. Résumé des dénominations, conditions de fabrication et dimensions des trois morphologies de NTs étudiées.

Morphologie	Nature électrolyte	Teneur en eau	Tension	Temps	Température	Diamètre d	Longueur L
A	Glycérol	25%vol.	10 V	1h	25°C	45 ± 10 nm	360 ± 60 nm
B	Glycérol	25%vol.	20 V	1h	25°C	90 ± 15 nm	720 ± 60 nm
C	Ethylène Glycol	7,5%vol.	60 V	45 min	25°C	130 ± 15 nm	5,0 ± 0,5 μm

Les nanotubes A possèdent un faible diamètre et une faible longueur. Ils sont plutôt bien ordonnés et sans défauts de surface. Ils sont espacés et ont une morphologie de type « bambou » (**Figure 2.7a**).

Les nanotubes B présentent un diamètre et une longueur intermédiaire. Ils sont également ordonnés, espacés les uns des autres, sans défauts majeurs en surface et adoptent des parois de type « bambou » (**Figure 2.7c**).

Sur les **Figure 2.7b** et **d**, il est possible de voir que les NTs synthétisés sont verticalement alignés par rapport au substrat Ti. Sur ces figures, il est aussi possible d'apercevoir que le fond des nanotubes est convexe et laisse des empreintes concaves sur le substrat.

Enfin, les nanotubes C se distinguent par un plus grand diamètre mais surtout par une très grande longueur (*i.e.* ~ 5 μm). Ils sont également très ordonnés mais, à l'inverse des morphologies A et B, ils sont moins espacés et leurs parois

sont lisses. D'autre part, il est à noter dans ce cas la présence d'une couche poreuse rémanente, qui recouvre une partie non négligeable de la surface de l'échantillon (**Figure 2.7f**). Comme évoqué en section 2.2.3, il est difficile de s'affranchir de cette couche pour des électrolytes type éthylène glycol/NH₄F car la dissolution du TiO₂ n'y est pas assez sévère pour éliminer totalement la couche d'initiation des nanotubes.

Les **Figure 2.7g** et **h** montrent l'arrière de nanotubes de morphologie comparable au type C. Ces images mettent en évidence que les fonds des nanotubes sont en contact les uns avec les autres et qu'un arrangement de type hexagonal compact semble se dessiner. Un zoom sur une zone où le fond des nanotubes a été arraché permet de se rendre compte que le diamètre interne des nanotubes n'est pas constant sur toute leur longueur. Par exemple, pour la morphologie C, le diamètre mesuré au sommet des NTs est d'environ 130 nm alors qu'à leur base il est d'environ 60 nm.

Les aires spécifiques associées à chacune des trois morphologies sont calculées dans la section suivante.

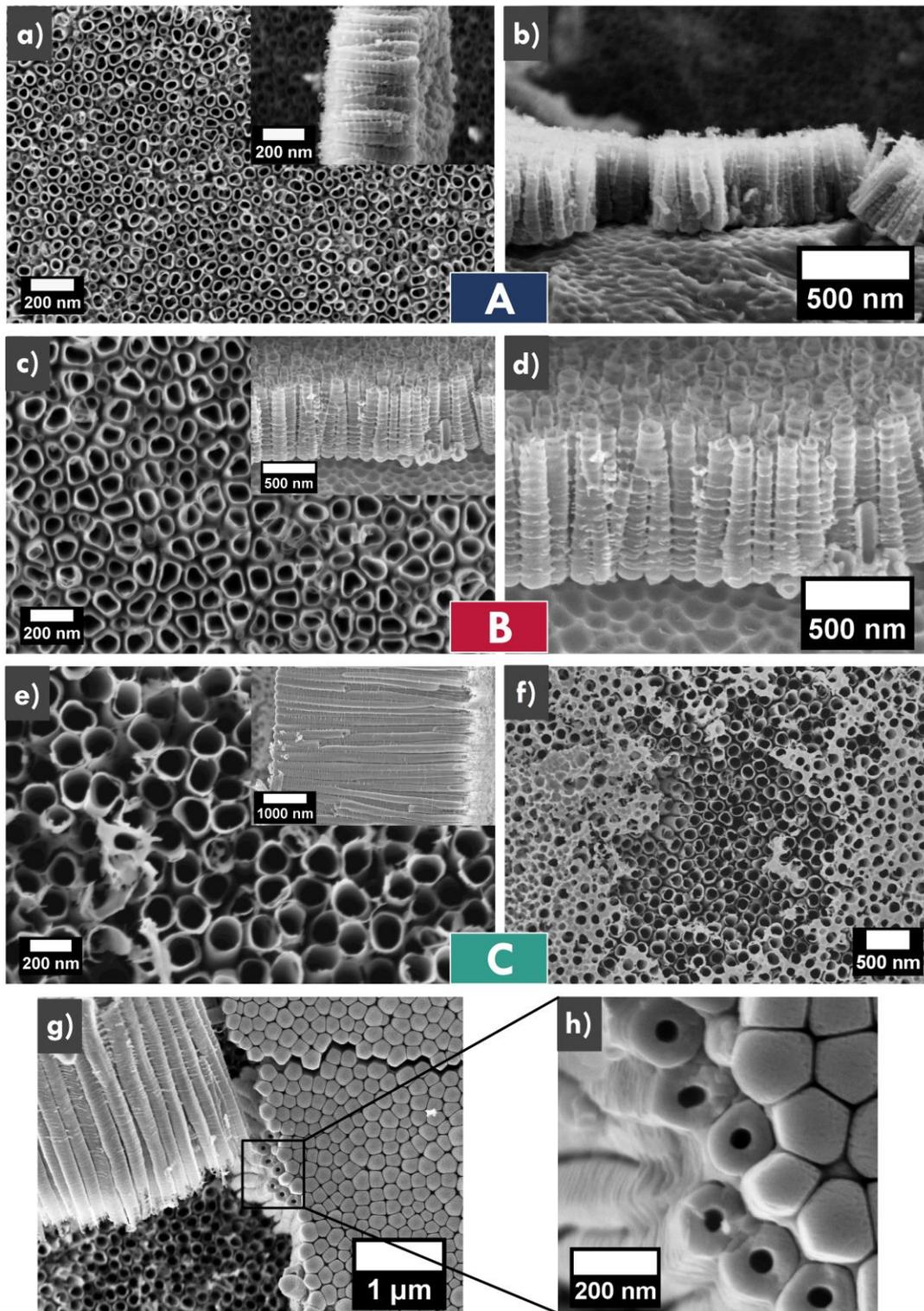


Figure 2.7. Observations MEB-FEG des surfaces sélectionnées pour l'étude. (a,b) Morphologie A, (a) vue de dessus et vue transversale dans l'insert et (b) vue transversale des NTs déposés sur le substrat Ti. (c,d) Morphologie B, (c) vue de dessus et vue transversale dans l'insert et (d) agrandissement de la vue transversale des NTs déposés sur le substrat Ti. (e,f) Morphologie C, (e) vue de dessus et vue transversale dans l'insert et (f) vue de dessus dans une zone différente montrant l'existence d'une couche poreuse rémanente en surface. (g,h) NTs de morphologie similaire à la C (EG/eau 90:10, 60 V, 30 min), (g) vue de l'arrière des NTs et (h) zoom sur des NTs ouverts à l'arrière.

2.3.3. Estimation de l'aire spécifique

Un avantage majeur qu'offre la structure nanotubulaire est l'accroissement notable de l'aire développée. Ainsi, certaines des propriétés que possède le matériau massif peuvent être décuplées par la nanostructuration de la surface via l'accroissement de l'aire exposée. Dans le cas des nanotubes de TiO₂ employés pour des applications biomédicales, une plus grande aire permet notamment d'augmenter le nombre de site de nucléation d'apatite, et donc d'accroître la bioactivité du matériau.

Il est possible d'estimer géométriquement l'aire développée par les nanotubes de TiO₂ à partir du modèle développé par Kontos *et al.* [73–75]. Dans ce dernier, il est considéré que les nanotubes sont identiques, régulièrement espacés et idéalement ordonnés selon un réseau hexagonal, comme illustré sur la **Figure 2.8**.

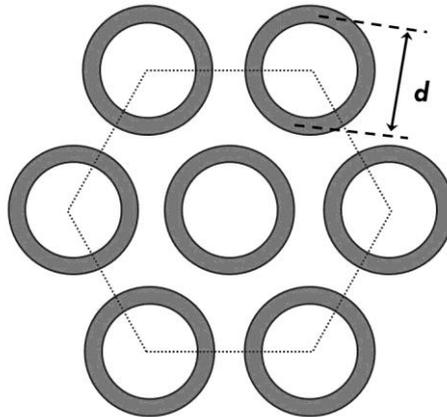


Figure 2.8. Représentation schématique du modèle géométrique décrivant un arrangement hexagonal régulier de nanotubes. Adapté de la référence [74].

Dans cette configuration, la densité de pores (n), définissant le nombre total de nanotubes pour une aire d' 1 cm², peut être calculée comme suit [73] :

$$n = \frac{10^{14}}{\sqrt{3} \cdot d^2} \quad (2.2)$$

Où d (en nm) est le diamètre des nanotubes, mesuré par observations MEB-FEG. Les parois des NTs étant plutôt fines (~10-15 nm), seul un diamètre moyen

sera considéré, comme illustré sur la **Figure 2.8** (pas de distinctions entre diamètres interne et externe).

L'aire totale développée par un seul nanotube A_i (en cm²) est estimée dans cette étude par :

$$A_i = 2 \cdot \pi \cdot d \cdot L \cdot 10^{-14} \quad (2.3)$$

Où L (en nm) est la longueur des nanotubes, définie par observations MEB-FEG.

Dans l'expression (2.3), A_i est considérée comme étant la somme des aires interne et externe d'un nanotube. Contrairement aux travaux originels de Kontos *et al.* [73–75], l'aire au sommet des NTs, parallèle au substrat, est ici négligée. L'aire totale d'un nanotube est donc obtenue en multipliant par 2 l'aire du rectangle ayant pour longueur L et pour largeur le diamètre du nanotube, c'est-à-dire $2\pi d$. Le résultat est multiplié par 10^{-14} pour obtenir l'aire directement en cm².

Finalement, l'aire spécifique totale développée par les nanotubes pour une aire géométrique d'1 cm² est donnée par :

$$A = A_i \cdot n \quad (2.4)$$

Les calculs des aires spécifiques estimées pour les échantillons A, B et C sont regroupés dans le **Tableau 2.4**. Les échantillons A et B ont une aire spécifique similaire, de 30 cm² par cm² géométrique, alors que l'échantillon C présente une aire spécifique ~5 fois supérieure, c'est-à-dire 140 cm²/cm². Ces estimations seront notamment utilisées lors de l'exploitation des mesures électrochimiques (conversion du courant mesuré en densité de courant).

Après avoir défini les trois morphologies sélectionnées, intéressons-nous aux structures cristallines que peuvent adopter les NTs.

N.B. : Par abus de langage, l'aire (géométrique ou spécifique en l'occurrence) pourra également être désignée par le terme « surface ».

Tableau 2.4. Calcul de l'aire spécifique pour les nanotubes de type A, B et C.

Morphologie	d (nm)	L (nm)	$n \cdot 10^9$ (nb. pores / cm ²)	$A_i \cdot 10^{-9}$ (cm ² / tube)	A (cm ² / cm ²)
A	45	360	28,51	1,02	29,0
B	90	720	7,13	4,07	29,0
C	130	5000	3,42	40,82	139,5

2.3.4. Présentation des trois structures cristallines étudiées

Comme présenté dans la section 1.4.3.2, les nanotubes de TiO₂ sont amorphes après anodisation et peuvent cristalliser sous différentes phases en fonction du traitement thermique (T.T.) appliqué. Dans cette étude, les échantillons A, B et C seront étudiés sous trois formes cristallines différentes :

- o Amorphe (Am) : les échantillons ne subissent pas de traitement thermique et sont analysés directement après anodisation.

Ils sont dénommés X-Am, X désignant les morphologies A, B et C ou bien le substrat S, et « Am » pour « **Amorphe** ».

- o Anatase (An) : les échantillons subissent un traitement thermique sous air à 450°C pendant 2h (la vitesse de chauffe est de 10°C min⁻¹ et le refroidissement est fonction de l'inertie du four).

Les échantillons sont dénommés X-An pour « **Anatase** ».

- o Mixte (M) : les échantillons subissent un traitement thermique sous air à 550°C pendant 2h ; la structure cristalline résultante est un mélange de phases anatase et rutile, d'où l'appellation « **Mixte** » et la notation X-M.

Le **Tableau 2.5** reprend les différentes dénominations et conditions de fabrication et/ou de recuit des échantillons investigués dans cette étude.

Tableau 2.5. Résumé des échantillons étudiés et conditions de fabrication.

	A	B	C	S
X-Am	G + 25%v. eau 10 V 1h <u>I.I.</u> : ∅	G + 25%v. eau 20 V 1h <u>I.I.</u> : ∅	EG + 7,5%v. eau 60 V 45 min <u>I.I.</u> : ∅	Sans anodisation <u>I.I.</u> : ∅
X-An	G + 25%v. eau 10 V 1h <u>I.I.</u> : 450°C – 2h	G + 25%v. eau 20 V 1h <u>I.I.</u> : 450°C – 2h	EG + 7,5%v. eau 60 V 45 min <u>I.I.</u> : 450°C – 2h	Sans anodisation <u>I.I.</u> : 450°C – 2h
X-M	G + 25%v. eau 10 V 1h <u>I.I.</u> : 550°C – 2h	G + 25%v. eau 20 V 1h <u>I.I.</u> : 550°C – 2h	EG + 7,5%v. eau 60 V 45 min T.I. : 450°C – 2h	Sans anodisation <u>I.I.</u> : 550°C – 2h

La **Figure 2.9** montre les diffractogrammes des échantillons A, B et C, sans et avec traitement thermique (450°C et 550°C). La mesure par DRX du substrat Ti « sans anodisation » est ajoutée pour comparaison. A noter que l'exploitation des mesures des échantillons A, B et C conduisent aux mêmes observations.

Les diffractogrammes du substrat Ti (en gris) indiquent qu'il est constitué exclusivement de Ti- α hexagonal. La comparaison des intensités relatives des pics théoriques et expérimentaux révèle une orientation préférentielle des grains, probablement due à la méthode de mise en forme du métal (qui se présente initialement sous forme de barre dans le cas de cette étude).

Les diffractogrammes des NTs amorphes (bleus) présentent, tout comme ceux du substrat, seulement des pics de diffraction associés au titane. Ceci signifie que la couche d'oxyde anodisée est amorphe.

Après traitement thermique (diffractogrammes rouges et vertes), de nouveaux pics de diffraction apparaissent. A partir de 450°C (rouge), la présence du pic caractéristique à $2\theta \approx 25^\circ$ révèle la présence de la phase anatase. A partir de 550°C, l'apparition d'un pic supplémentaire de faible intensité à $2\theta \approx 27^\circ$ entre autres (voir les inserts de la **Figure 2.9**), indique la cristallisation de la phase rutile. A 450°C, la couche anodisée est donc majoritairement constituée d'anatase et à 550°C elle est constituée d'un mélange d'anatase et de rutile.

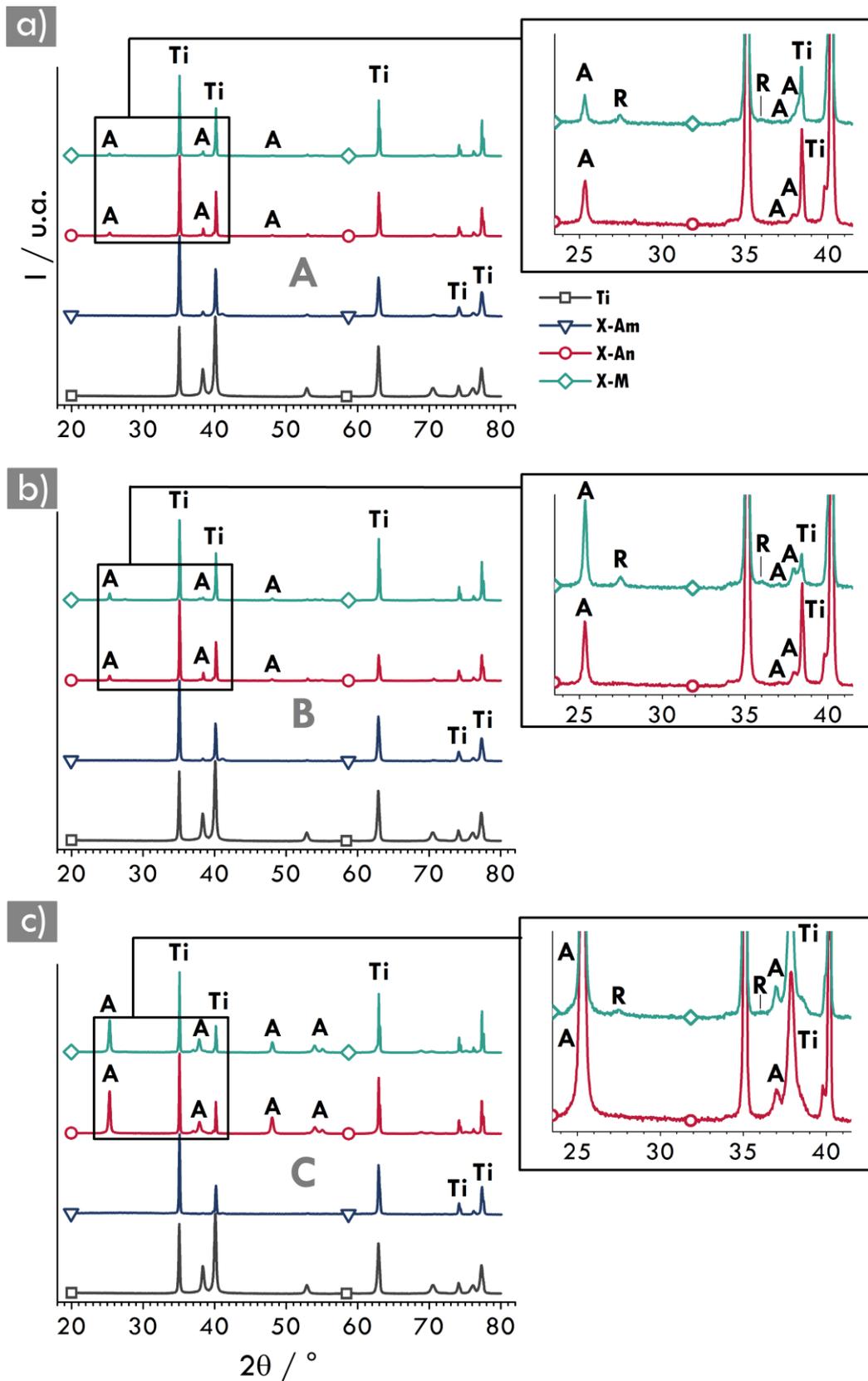


Figure 2.9. Diffractogrammes (mesures DRX) des échantillons de morphologie (a) A, (b) B et (c) C, avec agrandissements dans les inserts. Le substrat Ti sans T.T. est représenté en gris, les NTs amorphes sans T.T. sont en bleu, les NTs anatase recuits à 450°C sont en rouge et les NTs mixtes recuits à 550°C sont en vert.

Pour rappel, dans le cas de la structure mixte, les résultats de la littérature montrent que les nanotubes sont sous la forme anatase tandis que la couche dense à l'interface *nanotubes|substrat* adopte la phase rutile. Avec une élévation de température, cette couche dense s'épaissit en « consommant » les NTs par leur base (se reporter à la section 1.4.3.2).

La **Figure 2.10** présente des observations MEB-FEG de la couche dense pour des NTs recuits à 550°C pendant 2h (Mixte). L'épaisseur de la couche interfaciale est de l'ordre de 70, 90 et 110 nm pour les échantillons A, B et C respectivement.

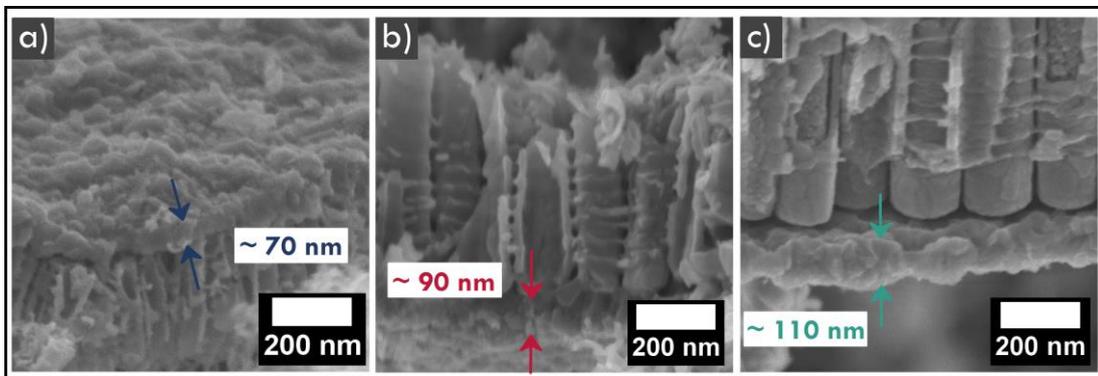


Figure 2.10. Observations MEB-FEG de la couche dense interfaciale pour des échantillons recuits à 550°C pendant 2h (Mixte). (a) NTs de type A, (b) type B et (c) type C.

Les observations MEB-FEG permettent également de statuer que l'intégrité morphologique des nanotubes est conservée après traitement thermique. Même pour un recuit à 550°C, la longueur des nanotubes n'est que sensiblement réduite (quelques dizaines de nm).

De même, les diamètres des NTs ne sont pas, ou peu (qqs. nm), modifiés après l'un ou l'autre des deux traitements thermiques appliqués dans cette étude. Dans la **Figure 2.11** sont présentées des observations MEB-FEG en vue de dessus des échantillons A, B et C avant et après recuit. Aucune modification significative du diamètre des NTs n'est à relever ; seul un épaissement des parois de quelques nm est visible pour l'échantillon A dans le cas d'un recuit à 550°C.

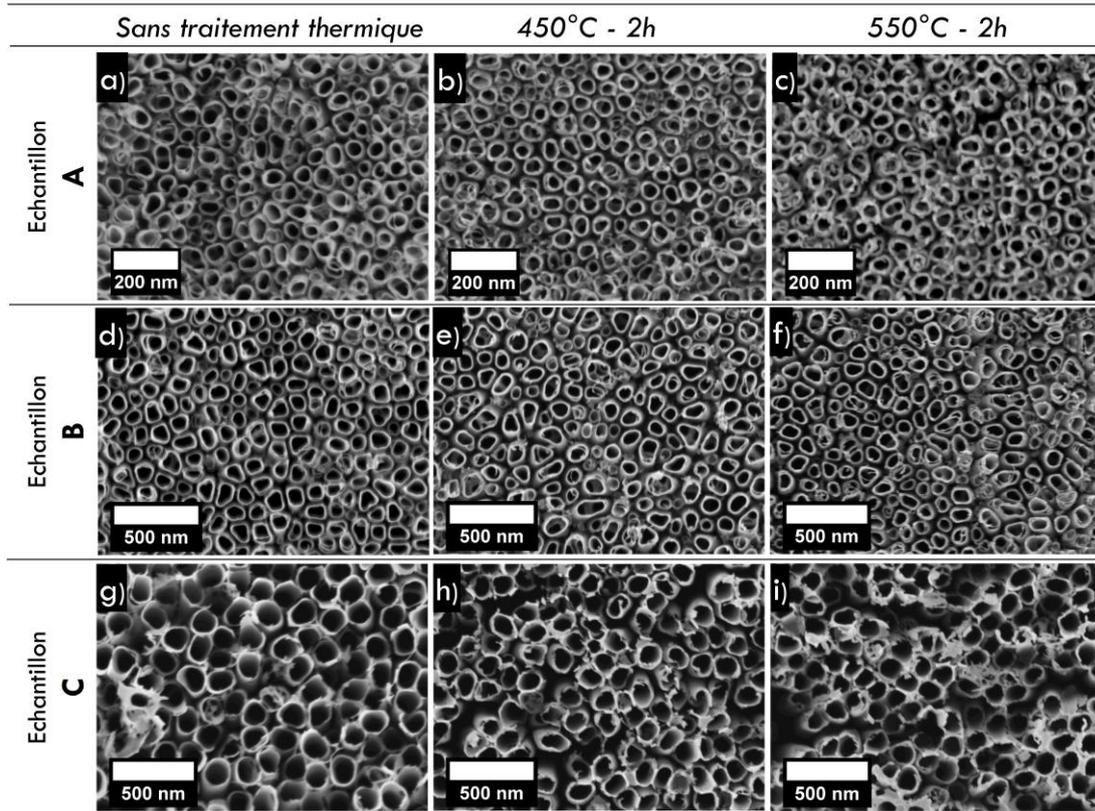


Figure 2.11. Observations MEB-FEG en vue de dessus des NTs avant et après traitement thermique. (a-c) Echantillon A, (d-f) Echantillon B et (g-i) Echantillon C. (a, d, g) sans traitement thermique, (b, e, h) traitement thermique à 450°C pendant 2h (structure anatase) et (c, f, i) traitement thermique à 550°C pendant 2h (structure mixte).

En bref, les deux traitements thermiques choisis dans cette étude permettent la cristallisation de la couche de TiO₂ sans altérer l'intégrité morphologique des nanotubes. En d'autres termes, pour chacune des morphologies A, B ou C, la structure nanotubulaire est stable jusqu'à 550°C pour un traitement thermique de 2h sous air. En effet, le diamètre des NTs n'évolue pas notablement après recuit (de l'ordre de qqs. nm) et leur longueur n'est que sensiblement réduite (qq. dizaines de nm). Seul un léger épaissement des parois (de qqs. nm) est observé pour des NTs de faibles longueurs et diamètres dans le cas d'un recuit à 550°C. Ces conclusions sont en accord avec les observations de la littérature présentées dans la section 1.4.3.2. En outre, il est possible de statuer que plus les nanotubes sont longs, plus ils sont stables thermiquement. Cette même hypothèse a d'ailleurs déjà été suggérée par Yang *et al.* [69].

En résumé de ce second chapitre, l'exploration des effets des différents paramètres d'anodisation a permis de sélectionner trois morphologies distinctes de nanotubes de TiO₂, nommées A, B et C. Les morphologies A et B, obtenues à partir d'un électrolyte à base de glycérol, sont de type « bambous ». Les NTs de type A ont un diamètre d'environ 45 nm et une longueur d'environ 360 nm alors que les échantillons B mesurent ~90 nm de diamètre et ~720 nm de long. Les NTs de morphologie C, obtenus à partir d'un électrolyte à base d'éthylène glycol, sont lisses et ont un diamètre et une longueur d'environ 130 nm et 5 µm respectivement.

Les NTs synthétisés par anodisation peuvent adopter différentes structures cristallines selon qu'ils subissent un traitement thermique ou non. Sans traitement thermique, les NTs sont amorphes. Après recuit à 450°C, les NTs cristallisent sous la forme anatase et à 550°C, un mélange de phases anatase et rutil est observé.

Dans le prochain chapitre, les neuf surfaces définies précédemment (3 morphologies et 3 structures cristallines) font l'objet de caractérisations électrochimiques et d'essais de bioactivité dans l'optique d'évaluer les propriétés de surface optimales pour une application biomédicale.

Chapitre 3



Influence de la morphologie et de la structure cristalline des NTs de TiO_2 sur la résistance à la corrosion et la bioactivité de la surface

Dans cette partie, les neuf surfaces « modèles » définies à l'issue du chapitre 2 (ainsi que le substrat Ti, en tant que référence) sont caractérisées par mesures électrochimiques dans un environnement physiologique et par essais de bioactivité. L'objectif est ici d'évaluer les influences respectives et/ou combinées de la morphologie et de la structure cristalline des NTs sur ces deux paramètres. En effet, les études incluant à la fois différentes topographies de NTs et différents traitements thermiques sont plutôt rares dans la littérature [75,76]. Ce travail de thèse vise donc à fournir une compréhension plus globale de l'influence des propriétés d'une telle surface nanostructurée sur deux paramètres essentiels s'agissant d'applications biomédicales : la résistance à la corrosion et la bioactivité. Finalement, une discussion sera proposée quant à la surface optimale à choisir pour les implants orthopédiques. Elle sera non seulement basée sur les résultats expérimentaux de cette étude mais aussi sur des observations de la littérature.

A noter que ce chapitre repose en grande partie sur l'étude *Influence of morphology and crystalline structure of TiO₂ nanotubes on their electrochemical properties and apatite-forming ability* publiée en Mai 2017 dans le journal *Electrochimica Acta* [77].

3.1. Méthodes expérimentales

3.1.1. Préparation d'une solution physiologique : « SBF »

Afin de reproduire le plus fidèlement possible les conditions du corps humain, les mesures électrochimiques sont effectuées en milieu physiologique. La solution choisie pour cette étude est appelée SBF, pour *Simulated Body Fluid*. Elle reproduit la partie inorganique du plasma sanguin humain (elle ne contient ni composés organiques ni cellules). Elle contient les ions Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, HPO₄²⁻ et SO₄²⁻ dans des concentrations similaires au fluide sanguin humain. De plus, à 36,5°C, son pH est de 7,4.

Le **Tableau 3.1** permet de comparer les concentrations en ions dans la solution SBF avec celles du plasma sanguin humain tandis que le référencement des produits chimiques utilisés pour sa fabrication est donné dans le **Tableau 3.2**.

L'ordre des ajouts des produits chimiques ainsi que les masses à introduire dans de l'eau distillée pour fabriquer 1L de solution SBF sont présentés dans le **Tableau 3.3**. Les masses sont calculées en tenant compte de la pureté et du taux d'hydratation des différents composés.

Dans cette étude, la solution SBF a été préparée selon le protocole détaillé proposé par Kokubo et al. [78] et dans la norme ISO 23317:2014 [79] (**Annexe 2**).

Brièvement, ce protocole consiste à introduire et dissoudre tour à tour les composés listés dans le **Tableau 3.3** dans environ 700mL d'eau distillée contenue dans un récipient en plastique. La solution doit être couverte par un verre de montre (ou un film plastique), agitée et maintenue à environ 36,5°C. Une fois tous les composés dissous, la solution doit être maintenue à précisément 36,5°C et une solution d'HCl à 1M doit être ajoutée goutte à goutte jusqu'à stabiliser le pH à 7,40 (la fonction du composé tris(hydroxyméthyl)aminométhane est de tamponner la solution). Ensuite, la quantité d'eau distillée doit être ajustée jusqu'à obtenir 1L de solution.

La préparation de la solution de SBF doit être effectuée très précautionneusement car cette dernière est extrêmement instable. Elle précipite très facilement et peut former un dépôt au fond du récipient. C'est d'ailleurs pour cette raison que l'on préférera des récipients en plastique plutôt qu'en verre. En effet, le verre étant un matériau bioactif, il favoriserait la précipitation de la solution avant même qu'elle soit mise en contact avec un échantillon à caractériser [78]. En outre, la solution doit être stockée entre 5 et 10°C et conservée au maximum 30 jours [78,79].

La solution SBF ainsi préparée servira dans la suite de l'étude à la réalisation des essais de bioactivité et sera utilisée comme électrolyte pour les caractérisations électrochimiques, dont les principes sont donnés ci-après.

Tableau 3.1. Concentrations en ions dans le plasma sanguin humain et dans la solution SBF.

Ion	Concentration (mM)	
	Plasma Sanguin	SBF
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5,0	5,0
Mg ²⁺	1,5	1,5
Ca ²⁺	2,5	2,5
Cl ⁻	103,0	147,8
HCO ₃ ⁻	27,0	4,2
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5
pH	7,2-7,4	7,4

Tableau 3.2. Produits chimiques utilisés pour la préparation de la solution SBF.

Nom du composé	Formule chimique	Fournisseur, Pureté (Référence)
Chlorure de sodium	NaCl	Roth, >99,5%
Hydrogénocarbonate de sodium	NaHCO ₃	Sigma-Aldrich, >99,7%
Chlorure de potassium	KCl	Riedel-de Haën, >99,5%
Hydrogénophosphate de potassium	K ₂ HPO ₄	Prolabo, >98%
Chlorure de magnésium hexahydraté	MgCl ₂ .6H ₂ O	Chimie Plus, >99,5%
Acide chlorhydrique	HCl	Sigma-Aldrich, 37%
Chlorure de calcium dihydraté	CaCl ₂ .2H ₂ O	Prolabo, >98%
Sulfate de sodium	Na ₂ SO ₄	Prolabo, >99,5%
Tris(hydroxyméthyl)aminométhane	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	Sigma-Aldrich, >99,8%

Tableau 3.3. Ordre et quantité des composés chimiques inorganiques à introduire pour fabriquer 1L de solution SBF.

Ordre	Réactif	Quantité
1	NaCl	8,035 g
2	NaHCO ₃	0,354 g
3	KCl	0,225 g
4	K ₂ HPO ₄	0,178 g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,311 g
6	1M-HCl	39 mL
7	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,375 g
8	Na ₂ SO ₄	0,072 g
9	Tris.	6.069 g
10	1M-HCl	0-5 mL

3.1.2. Caractérisations électrochimiques

La corrosion est une problématique majeure pour l'implantation de matériaux métalliques. Celle-ci peut causer la perte de l'intégrité structurelle de l'implant et de ses propriétés de surface. Elle peut également altérer les propriétés mécaniques de l'implant et accélérer la fatigue et l'usure du matériau, ce qui aggravera d'autant plus la corrosion elle-même. Les processus de corrosion d'un matériau métallique peuvent également modifier l'environnement physiologique (changement du pH) ou encore libérer des débris pouvant causer des réactions allergiques. Dans ce contexte, la limitation, la compréhension et l'évaluation précise de la corrosion d'un matériau métallique est un enjeu majeur pour des applications biomédicales (pour ces dernières, une bonne résistance à la corrosion signifie que le processus est suffisamment lent devant la durée de vie de l'implant, c'est-à-dire 15 à 30 ans). Différentes méthodes de caractérisation électrochimiques sont employées dans cette étude : la mesure du potentiel en circuit ouvert, le tracé de courbes de polarisation (et extrapolation de Tafel) et la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE).

3.1.2.1. Principe de la mesure du potentiel en circuit ouvert

Le potentiel pris « spontanément » par le métal dans un électrolyte donné est défini comme le potentiel de corrosion de ce métal dans la solution d'électrolyte, aussi appelé par la suite potentiel en circuit ouvert ou OCP pour *open circuit potential*. Le potentiel en circuit ouvert, ou potentiel libre, est donc le potentiel que prend l'interface (potentiel mixte) lorsque les courants anodiques et cathodiques sont égaux en valeur absolue. Il renseigne sur la noblesse du matériau dans un milieu donnée. Le suivi de ce potentiel en fonction du temps permet d'apprécier les modifications de la surface de l'échantillon (interface *métal|électrolyte*) en fonction du temps d'immersion dans le milieu. Les variations de potentiel de corrosion renseignent sur la dégradation de l'interface, la passivation ou le renforcement de la résistance à la corrosion d'une surface métallique. A noter qu'une augmentation de l'OCP sera généralement synonyme de meilleure résistance à la corrosion [80–82].

Dans la pratique, la mesure de l'OCP est une méthode stationnaire qui consiste à mesurer un potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence sans qu'aucun courant ne soit appliqué. Son évolution renseigne sur la stationnarité du système en fonction du temps, qui est une condition nécessaire pour effectuer des mesures par spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) notamment [82].

3.1.2.2. Principe de la voltampérométrie linéaire et extrapolation de Tafel

La variation du potentiel d'un matériau (locale ou non) peut traduire une modification de la réactivité de l'interface *métal|solution*. Ainsi, par exemple, certaines zones de l'interface métallique peuvent être le lieu de la réduction de H⁺ (protons présents en concentration importante en milieu acide) en H₂ ou de la réduction d'O₂ tandis que d'autres zones seront le siège de réactions dites anodiques et subiront au contraire une dissolution métallique active, ou corrosion. Ainsi, il est toujours très intéressant de connaître la réactivité du système proche de son potentiel de corrosion mais également pour d'autres valeurs de potentiel que l'interface est susceptible de prendre lors d'une modification du milieu, locale ou non (et liée par exemple aux conditions d'utilisation du matériau ou à la formation de zones de corrosion) [80,83].

Pour cela, on peut suivre l'évolution de l'intensité en fonction du potentiel par voltampérométrie linéaire, qui est une méthode stationnaire destructive consistant à balayer une gamme de potentiel et mesurer le courant qui en résulte. Une vitesse de balayage en potentiel suffisamment lente permet d'assurer la réversibilité des échanges électrochimiques et donc la stationnarité du système [80]. Le tracé de la courbe courant-tension d'un système est appelé **courbe de polarisation**. La représentation usuellement employée dans le cadre de l'étude de la corrosion consiste à tracer la valeur absolue de la densité de courant i en échelle logarithmique (obtenue en divisant le courant mesuré par la surface exposée) en fonction de la tension appliquée.

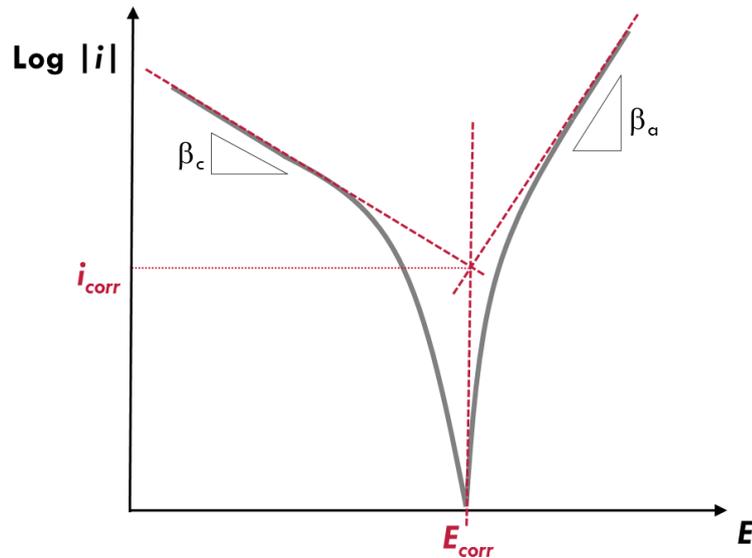


Figure 3.1. Représentation schématique de la méthode d'extrapolation de Tafel dans le cas d'une électrode mixte pour la détermination de E_{corr} , i_{corr} , β_a et β_c .

La **Figure 3.1** donne l'allure caractéristique de la courbe i - E d'un système « actif », subissant de la corrosion généralisée, dont la cinétique est limitée par le transfert de charge et où deux réactions électrochimiques différentes se déroulent simultanément sur l'électrode à l'OCP (électrode mixte) : une réaction anodique et une réaction cathodique.

Un tel système est régi par la relation suivante, déduite de la loi de Butler-Volmer [84] :

$$i = i_a + i_c = i_{corr} \left[\exp\left(\frac{\eta}{\beta_a}\right) - \exp\left(\frac{\eta}{\beta_c}\right) \right] \quad (3.1)$$

Où i est la densité de courant totale mesurée, i_a est le courant anodique, i_c est le courant cathodique, η est la surtension ($\eta = E - E_{corr}$) et β_a et β_c sont les coefficients de Tafel anodique et cathodique.

Lorsque l'électrode est à l'abandon, la réduction et l'oxydation ont lieu à la même vitesse et le courant global est nul. Sur la **Figure 3.1**, le potentiel libre (ou potentiel à l'abandon, ou OCP) est repéré par une forte chute du courant à la fois sur les branches anodique (partie de droite) et cathodique (partie de gauche), formant ainsi un « pic » dirigé vers le bas. Ce potentiel est le potentiel de corrosion E_{corr} défini précédemment.

De part et d'autre de E_{corr} , la densité de courant augmente avec la surtension, laissant apparaître deux droites, appelées droites de Tafel. En effet, lorsque l'on s'écarte suffisamment de E_{corr} (typiquement ± 50 mV) [1], l'un des termes de l'équation (3.1) devient négligeable devant l'autre et l'oxydation, ou la réduction, devient alors prépondérante [84] :

$$\text{pour } \eta \gg 0 \quad i = i_a = i_{\text{corr}} \left[\exp\left(\frac{\eta}{\beta_a}\right) \right] \quad (3.2)$$

$$\text{pour } \eta \ll 0 \quad i = i_c = i_{\text{corr}} \left[\exp\left(\frac{\eta}{\beta_c}\right) \right] \quad (3.3)$$

Les pentes des droites de Tafel sont égales aux coefficients β_a et β_c , qui sont respectivement reliés aux cinétiques des réactions d'oxydation et de réduction.

D'autre part, les deux droites de Tafel, ainsi que la droite de potentiel constant égal au potentiel d'équilibre, se coupent toutes les trois au point de coordonnées (E_{corr} , i_{corr}). On peut ainsi déterminer la densité de courant de corrosion i_{corr} en cherchant le point d'intersection d'au moins deux de ces droites [84]. A noter toutefois que la méthode de Tafel n'est rigoureusement applicable que si la partie linéaire couvre au moins une décade de courant.

La grandeur i_{corr} est incontournable s'agissant de l'étude de la corrosion puisqu'elle est directement reliée à la vitesse de corrosion uniforme du système. Plus i_{corr} sera faible, meilleure sera la résistance à la corrosion du matériau dans le milieu étudié.

→ Cas des métaux passivables

Certains métaux, comme les aciers inoxydables, les alliages d'aluminium ou encore le titane, peuvent se passiver, c'est-à-dire former spontanément une couche d'oxyde protectrice en surface (cf. Section 1.3.4). Les courants anodiques mesurés pour ces systèmes sont alors souvent très faibles et la forme de la courbe courant-tension s'en trouve modifiée par rapport au cas des métaux actifs.

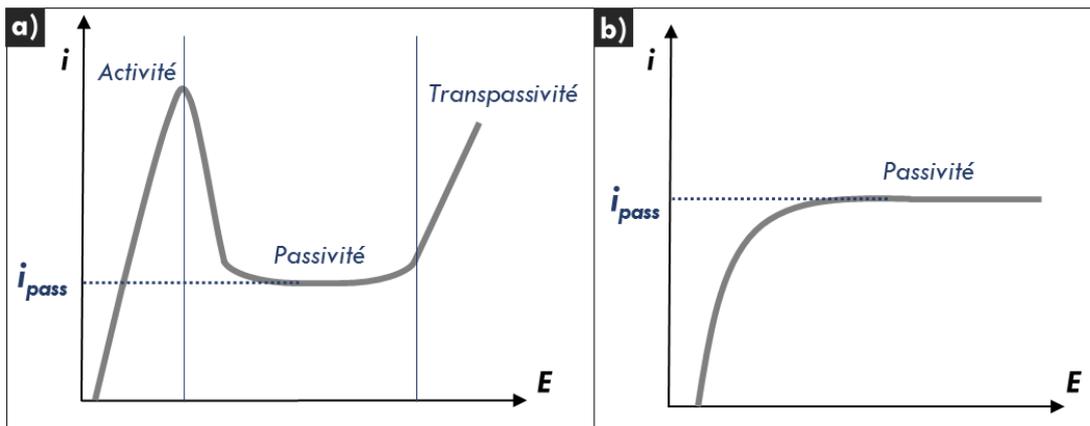


Figure 3.2. Représentation schématique de la partie anodique de la courbe de polarisation (a) d'un acier inoxydable en milieu acide (b) d'un métal passif en milieu non agressif. Adapté de la référence [85].

La **Figure 3.2a** illustre par exemple l'allure caractéristique de la courbe de polarisation anodique d'un acier inoxydable dans un électrolyte acide. Dans un tel milieu agressif, au potentiel d'équilibre (i.e. au potentiel de corrosion), les aciers inoxydables perdent leur couche passive et subissent de la corrosion généralisée, d'où le domaine « actif » observé sur la partie gauche du graphique. Avec une augmentation de potentiel, la couche passive peut se reformer, entraînant une diminution de la densité de courant. Pour des potentiels encore un peu supérieurs, la densité de courant se stabilise (à une valeur de courant très faible) et on voit apparaître un plateau passif (i_{pass}). Dans ce domaine, le métal est protégé par la formation spontanée de la couche passive. Enfin, pour des potentiels très élevés, la couche passive peut être détruite ; c'est le domaine de transpassivité [85].

La **Figure 3.2b** illustre quant à elle l'allure de la courbe de polarisation anodique d'un métal passivable en milieu non agressif. C'est le cas du titane en milieu neutre par exemple, pour lequel la couche passive est très stable sur une large gamme de potentiel ; et ceci même en présence de chlorures [86]. Sur la branche anodique, on n'observe ni domaine d'activité, ni domaine de transpassivité, seulement un domaine de passivité (i_{pass}).

3.1.2.3. Principe de la Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE)

Bien que riche d'informations en première approche, la voltampérométrie est néanmoins destructive et ne renseigne que sur les processus électrochimiques globaux ayant lieu à l'interface, le poids des processus les plus lents étant prépondérants. De plus, le résultat obtenu peut être corrompu par des effets annexes tels que les courants de charge de la double couche (échelle de temps de la milliseconde) ou par une chute ohmique provenant du montage expérimental (comportement analogue à un système lent) [83].

Un moyen pour différencier les phénomènes de diffusion ou de réactions d'électrodes des effets annexes est d'exciter le système avec une fonction couvrant une large gamme d'échelle de temps. La technique non stationnaire la plus courante qui permet de balayer une large gamme d'échelle de temps est la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE, ou EIS en anglais pour *Electrochemical Impedance Spectroscopy*), pour laquelle la fonction d'excitation en potentiel est sinusoïdale avec variation de fréquence [83]. Comme les divers processus élémentaires évoluent à des vitesses différentes, la réponse du système permet de disséquer le processus électrochimique global [87]. Ainsi, les hautes fréquences (HF) correspondent le plus souvent aux phénomènes capacitifs (non-faradiques), les moyennes fréquences aux transferts de charge (faradiques) et les basses fréquences (BF) aux phénomènes diffusionnels [82]. Cette classification n'est cependant pas absolue, elle ne correspond qu'à une appréciation générale de la méthode.

Le principe de la méthode de SIE est résumé dans la **Figure 3.3** (si l'on considère une caractéristique *i*-*E* Tafélienne). Si l'amplitude du signal perturbateur est assez faible, le système peut être considéré comme linéaire. Or, pour un système linéaire, si le signal d'entrée est une sinusoïde d'amplitude et de fréquence données, alors le signal de sortie est une sinusoïde de même fréquence mais d'amplitude différente et déphasée [82].

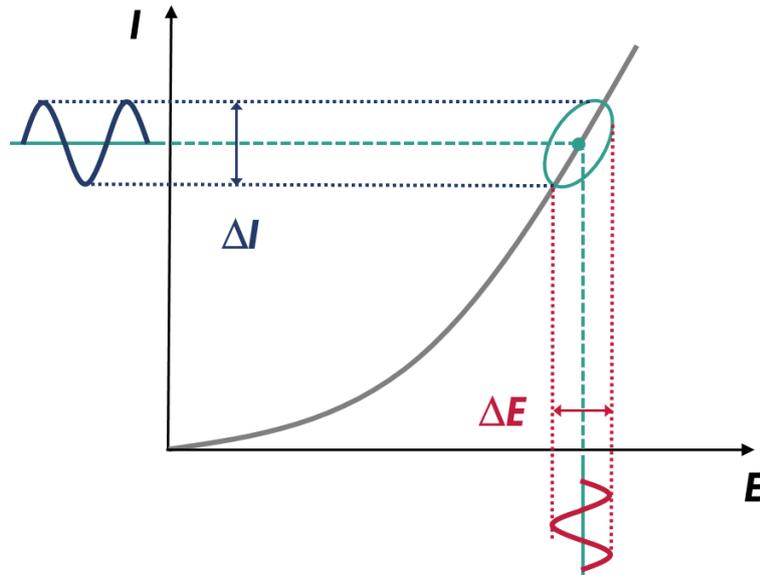


Figure 3.3. Représentation schématique du principe des mesures par SIE.

Pour que les mesures d'impédance soient valides, le système doit être stationnaire (ou quasi-stationnaire), linéaire et invariant dans le temps. La linéarité est vérifiée par l'utilisation d'un signal d'entrée de faible amplitude (typiquement 10 mV_{rms}), la stationnarité et l'invariance sont assurées par la mesure du potentiel en circuit ouvert (OCP) précédant la mesure d'impédance [82]. Dans ces conditions, les expressions du signal d'entrée et de sortie sont :

$$E(t) = E_0 \sin \omega t \quad (3.4)$$

$$I(t) = I_0 \sin (\omega t + \varphi) \quad (3.5)$$

Où E_0 est l'amplitude du signal d'excitation, I_0 est l'amplitude du signal de sortie, ω est la fréquence angulaire ($\omega=2\pi f$ où f est la fréquence en Hz) et φ est le déphasage (en °) entre le signal d'entrée et le signal de sortie. L'impédance du système est alors définie par le rapport entre le signal d'entrée et le signal de sortie. C'est un nombre complexe qui peut s'écrire :

$$Z(\omega) = Z'(\omega) + j Z''(\omega) = |Z| e^{i\varphi} = |Z|(\cos \varphi + j \sin \varphi) \quad (3.6)$$

Où Z' est la partie réelle de l'impédance (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$), Z'' la partie imaginaire (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$) et $|Z|$ le module (en Ω ou $\Omega \text{ cm}^2$).

Deux types de représentations graphiques complémentaires sont utilisés pour analyser les mesures d'impédance :

Représentation de Nyquist. Elle consiste à tracer sur un repère orthonormé linéaire l'opposé de la partie imaginaire de l'impédance $-Z''$ en fonction de la partie réelle Z' . Cette représentation permet de se rendre compte du caractère impédant du système (amplitude du spectre) et de distinguer un comportement plutôt capacitif (droite) d'un comportement capacito-résistif (arc). L'extrapolation du spectre à HF permet de lire sur l'axe des réels la résistance de l'électrolyte (R_e) tandis que l'extrapolation à BF renseigne sur la résistance de polarisation (R_p). Ce tracé permet aussi d'accéder aux valeurs de résistance de transfert de charges (R_{tc}). Cependant, le diagramme de Nyquist a tendance à « écraser » les informations provenant des hautes fréquences.

Représentation de Bode. Afin de mieux visualiser les différents phénomènes propres à chaque gamme de fréquence, il est possible de tracer l'évolution de la phase φ et du module $|Z|$ en fonction de la fréquence. Usuellement, le module et la phase sont représentés en échelle logarithmique. Cette représentation permet généralement de dénombrier plus facilement les phénomènes interfaciaux intervenant dans la réponse en impédance. Elle permet également une visualisation rapide de la valeur du module à BF, qui renseigne sur la résistance à la corrosion du système.

3.1.2.4. Montage expérimental, protocole et séquence de mesure

Un montage à quatre électrodes est utilisé pour effectuer les caractérisations électrochimiques. L'électrode de travail est un échantillon de titane anodisé (ou non) fixé dans un porte-échantillon, lui-même vissé sur un réacteur similaire à celui photographié en **Figure 2.1b** (contrairement à l'étape d'anodisation, où 4 portes-échantillons sont insérés dans le réacteur, la caractérisation électrochimique se fait en présence d'une seule électrode de travail en Ti). L'étanchéité du système est assurée grâce à un joint en matière Viton® de 14 mm de diamètre extérieur et 8 mm de diamètre intérieur. L'aire géométrique (ou apparente) exposée à la solution pour les mesures électrochimiques est donc de 0,50 cm².

La contre-électrode est une grille de platine positionnée à environ 3 cm de la surface de travail. L'électrode de référence est une électrode au calomel saturé (ECS) dont le potentiel à 25°C par rapport à l'électrode normale à hydrogène (ENH) est de 0,245 V. Afin d'éviter tout échange de solutés entre l'électrode de référence et l'électrolyte, l'ECS est plongée dans une allonge contenant une solution de KNO₃ à 1M, positionnée près de la surface de travail. De plus, l'électrode de référence est reliée, en parallèle, à un fil de platine surmonté d'une capacité d'1 µF. Ce dispositif permet notamment d'éviter les artefacts de mesures lors de l'enregistrement du spectre d'impédance à hautes fréquences [88]. L'électrolyte est une solution aérée de SBF (cf. section 3.1.1) maintenue à 37 ± 1 °C (pour laquelle la concentration en O₂ dissous n'est donc pas contrôlée). Une représentation schématique du montage expérimental décrit ci-dessus est proposée en **Figure 3.4**.

En outre, les mesures électrochimiques, et notamment la SIE, étant sensibles aux perturbations extérieures, le montage est placé dans une cage de Faraday. De plus, afin de reproduire au mieux les conditions physiologiques, et parce que les propriétés électrochimiques du TiO₂ sont dépendantes de l'illumination (cf. section 1.4.3.1), les mesures se font à l'obscurité. Enfin, pour une meilleure reproductibilité des résultats, il a été choisi de réaliser la séquence de caractérisations électrochimiques systématiquement 24 ± 4 h après la fin de l'anodisation ou du recuit. En effet, les essais préliminaires ont montré que les propriétés électrochimiques des surfaces étudiées sont sensiblement dépendantes du temps passé à l'air avant caractérisation. Par exemple, E_{corr} , ainsi que l'amplitude du spectre d'impédance à HF, ont montré dans les premiers jours une dépendance linéaire avec le temps de vieillissement à l'air de l'échantillon avant caractérisation.

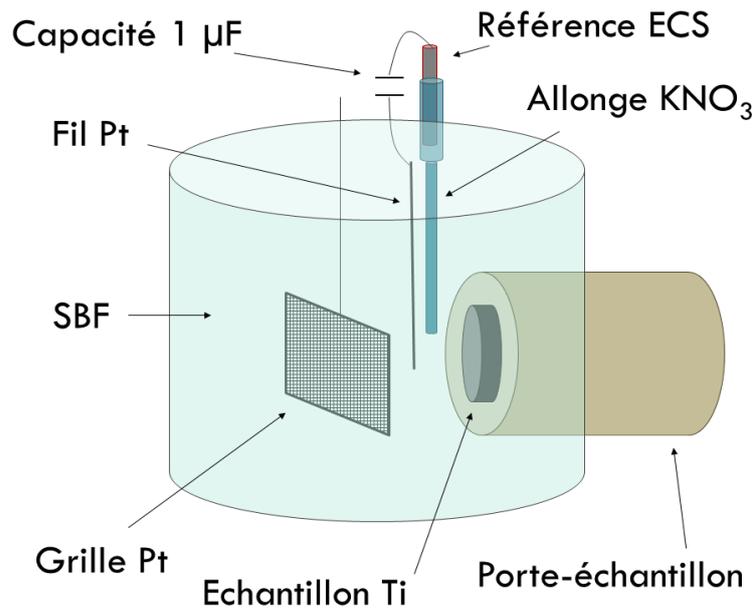


Figure 3.4. Représentation schématique du montage à quatre électrodes pour la caractérisation électrochimique des échantillons de titane.

L'appareil utilisé pour l'acquisition des mesures électrochimiques est un potentiostat de type Gamry REF600. La séquence de caractérisation consiste dans un premier temps à enregistrer l'évolution de l'OCP pendant 1h. Ensuite, des mesures de spectroscopie d'impédance sont enregistrées à l'OCP pour une gamme de fréquence allant de 20 kHz à 20 mHz. L'amplitude du signal sinusoïdale perturbateur est de 10 mV_{rms} (amplitude suffisamment grande pour que le signal de sortie soit aisément mesuré mais qui permet d'autre part de satisfaire le critère de linéarité). Enfin, une courbe de polarisation est enregistrée sur une gamme de potentiel allant de -30 mV jusqu'à +1,50 V par rapport à l'OCP, avec une vitesse de balayage de 0,50 mV s⁻¹. Dans un souci de reproductibilité, les mesures sont répétées trois fois (sur un échantillon différent à chaque fois, mais de même morphologie et même structure cristalline).

En plus des caractérisations électrochimiques, les propriétés de bioactivité sont évaluées en vue de l'application biomédicale visée et le détail du protocole des essais de bioactivité est présenté dans la partie qui suit.

3.1.3. Essais de bioactivité

Il a été montré qu'une méthode pertinente pour caractériser la bioactivité d'un matériau (cf. section 1.2.1.4) est d'évaluer la quantité d'hydroxyapatite déposée spontanément en surface lorsque celui-ci est immergé dans un fluide physiologique [78]. En d'autres termes, la formation d'apatite *in vitro* est un indicateur de la bioactivité *in vivo* du matériau.

Typiquement, le milieu physiologique dans lequel sont immergés les échantillons est une solution de SBF (cf. section 3.1.1). Le protocole suivi dans cette étude pour réaliser les essais de bioactivité est celui proposé par Kokubo et al. [78] et dans la norme ISO 23317:2014 [79] (**Annexe 2**).

Dans ce protocole, les échantillons sont placés dans des récipients en plastique hermétiquement fermés et contenant 40 mL de solution SBF maintenue à 36,5°C dans des conditions hydrostatiques (au moins 10 mL de solution sont nécessaires par cm² exposés). Il est important de placer la surface active à tester perpendiculairement au fond du récipient, comme représenté sur la **Figure 3.5**. En effet, la solution SBF étant instable, des composés Ca/P pourraient précipiter et se déposer à la surface de l'échantillon, ce qui fausserait l'évaluation de la bioactivité [78,79].

Après 1,5 jour, 7 jours et 14 jours d'immersion, les échantillons sont retirés de la solution, délicatement rincés et séchés dans un dessiccateur. La formation d'apatite est alors évaluée par observations MEB-FEG, par analyses chimiques EDS, par DRX et par pesée des échantillons avant et après immersion.

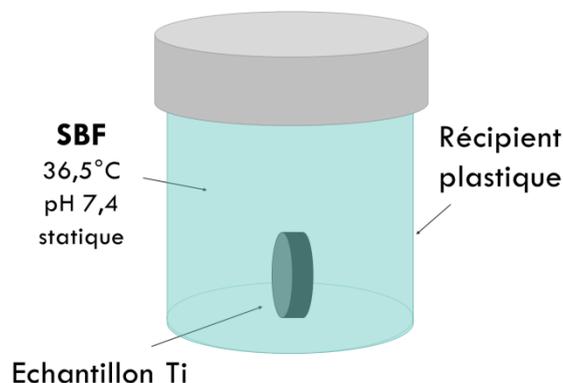


Figure 3.5. Représentation schématique du principe des essais de bioactivité.

3.2. Présentation des résultats expérimentaux

3.2.1. Caractérisations électrochimiques des surfaces nanotubulaires de TiO₂

Le titane est un métal très résistant à la corrosion, notamment grâce à la couche passive de TiO₂ qui se forme spontanément à sa surface. La modification de cette surface, par anodisation par exemple, permet d'accroître sa résistance à la corrosion, déjà remarquable dans un milieu physiologique comparé à d'autres matériaux métalliques (aciers inoxydables par exemple) [7]. Les mesures électrochimiques présentées ci-après ont donc pour objectif d'évaluer l'impact de la présence de NTs de TiO₂ sur la résistance à la corrosion mais aussi d'étudier l'influence de leur morphologie et de leur structure cristalline sur les propriétés électrochimiques de l'interface.

3.2.1.1. Mesures de l'OCP

La **Figure 3.6** résume les valeurs de potentiel en circuit ouvert (ou potentiel de corrosion, E_{corr}) relevées après 1h d'immersion dans SBF pour les neuf surfaces définies au chapitre 2 (3 morphologies x 3 structures cristallines) ainsi que pour le substrat Ti, en tant que référence (non recuit et recuit à 450°C et 550°C). Les valeurs présentées résultent d'une analyse statistique de 3 mesures (moyenne et écart-type). Bien que les amplitudes importantes des barres d'erreur ne permettent pas ici de définir clairement l'influence de la morphologie ou la structure cristalline des NTs sur le potentiel de corrosion, il est possible de dégager certaines tendances.

Ainsi, quelle que soit la structure cristalline des NTs de TiO₂, il semblerait que la présence d'une couche anodisée nanotubulaire entraîne une augmentation sensible du potentiel de corrosion comparé au substrat Ti sans modification ; cette affirmation est d'autant plus vraie que les nanotubes sont longs comme le montre par exemple la comparaison des hauteurs des barres de l'échantillon C(□) par rapport à celles du substrat S(◇) pour chacun des traitements thermiques.

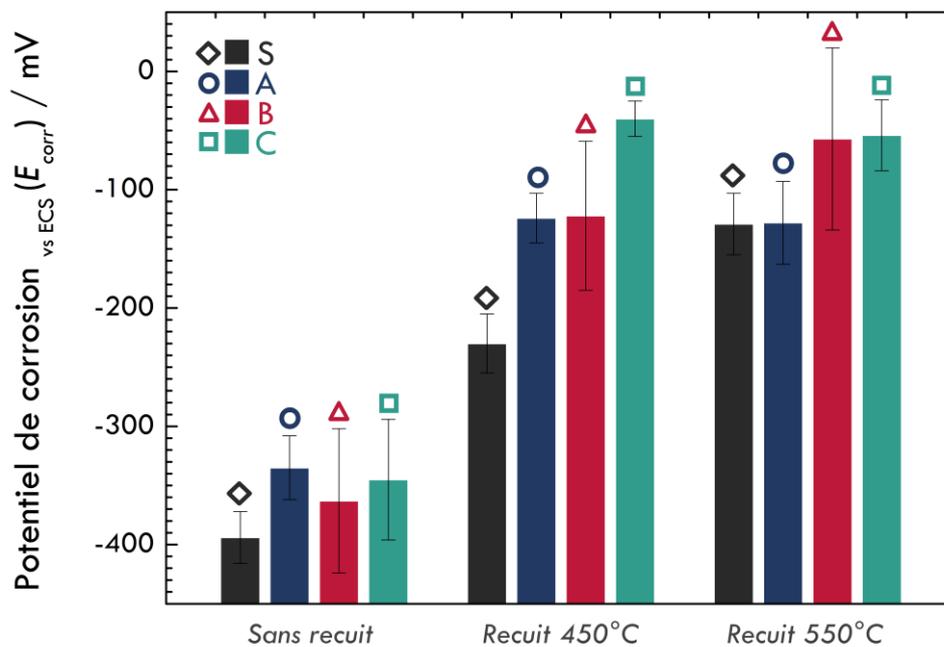


Figure 3.6. Mesures du potentiel en circuit ouvert (OCP), ou potentiel de corrosion (E_{corr}), après 1 h d’immersion dans SBF à 37°C et à l’obscurité du substrat titane (S◇) et des surfaces de nanotubes de TiO₂ (A○, B△ et C□), sans recuit (à gauche), recuits à 450°C pendant 2h sous air (au centre) et recuits à 550°C pendant 2h sous air (à droite).

D’autre part, que ce soit pour le titane anodisé ou non (A○, B△, C□ ou S◇), il apparait qu’un traitement thermique augmente drastiquement le potentiel de corrosion et anoblit la surface (+200 à +300 mV). Pour le substrat Ti (S◇), on note que, plus haute est la température de recuit, meilleure est la résistance à la corrosion (en raison de la formation d’une couche d’oxyde compacte lors du traitement thermique, dont l’épaisseur augmente avec la température [89]). En revanche, cette observation n’est pas si évidente pour le titane recouvert de nanotubes de TiO₂ (échantillons A○, B△ ou C□). Dans ce cas, on observe une influence « mutuelle » de la morphologie et de la structure cristalline des nanotubes sur l’évolution de l’OCP (les effets respectifs de ces deux facteurs ne sont pas indépendants l’un de l’autre).

Pour les morphologies A(○) et C(□) cristallisées par exemple, le potentiel libre mesuré ne semble pas dépendre de la température de recuit mais plutôt de la morphologie des NTs. En effet, pour ces deux types d’échantillons, augmenter la température de recuit de 450°C à 550°C (groupement de barres au centre

et à droite du graphique respectivement) ne change pas notablement la position du potentiel de corrosion. En revanche, augmenter la longueur (et le diamètre) des nanotubes de 360 nm à 5 µm (et de 45 à 130 nm) anoblit légèrement la surface (+80-90 mV).

Concernant l'échantillon **B**(△) à présent, il est possible de constater que, contrairement à l'exemple précédent, la température de recuit semble avoir une influence sur le potentiel de corrosion. Une augmentation de la température de traitement thermique de 450°C à 550°C entraîne une augmentation du potentiel libre de l'ordre de 80 mV.

En revanche, pour un recuit à 450°C (groupement de barres au centre du graphique), augmenter la longueur des NTs de 360 nm à 720 nm (**A**○ et **B**△) ne modifie pas significativement la noblesse de la surface. Une augmentation notable de l'OCP n'est visible qu'en présence de très longs NTs, i.e. 5 µm (**C**□). Pour un recuit à 550°C (à droite du graphique), le potentiel de corrosion est sensible à une légère augmentation de l'épaisseur de la couche de NTs de 360 nm à 720 nm (**A**○, **B**△) mais la présence d'une couche d'oxyde nanotubulaire très épaisse, i.e. 5µm (**C**□), n'augmente pas davantage la résistance à la corrosion du matériau.

Les observations paradoxales discutées précédemment mettent en lumière l'existence d'une influence mutuelle de la morphologie des NTs et de leur structure cristalline sur les propriétés électrochimiques de la surface dans un milieu physiologique.

A l'issue de cette expérimentation, trois échantillons se distinguent : **B**-M, **C**-An et **C**-M. Ils possèdent tous les trois un haut potentiel de corrosion dans SBF, i.e. environ -50 mV_{ECS}. Ainsi, la tendance suivante se dégage : La surface est d'autant plus noble que les nanotubes sont longs et/ou recuits à une température élevée.

3.2.1.2. Courbes de polarisation

Les **Figure 3.7a-c** présentent les courbes de polarisation anodiques dans SBF à 37°C (et à l'obscurité) des échantillons **A**○, **B**△, **C**□ et **S**◇, non recuit (**a**), recuits à 450°C (**b**) et à 550°C (**c**).

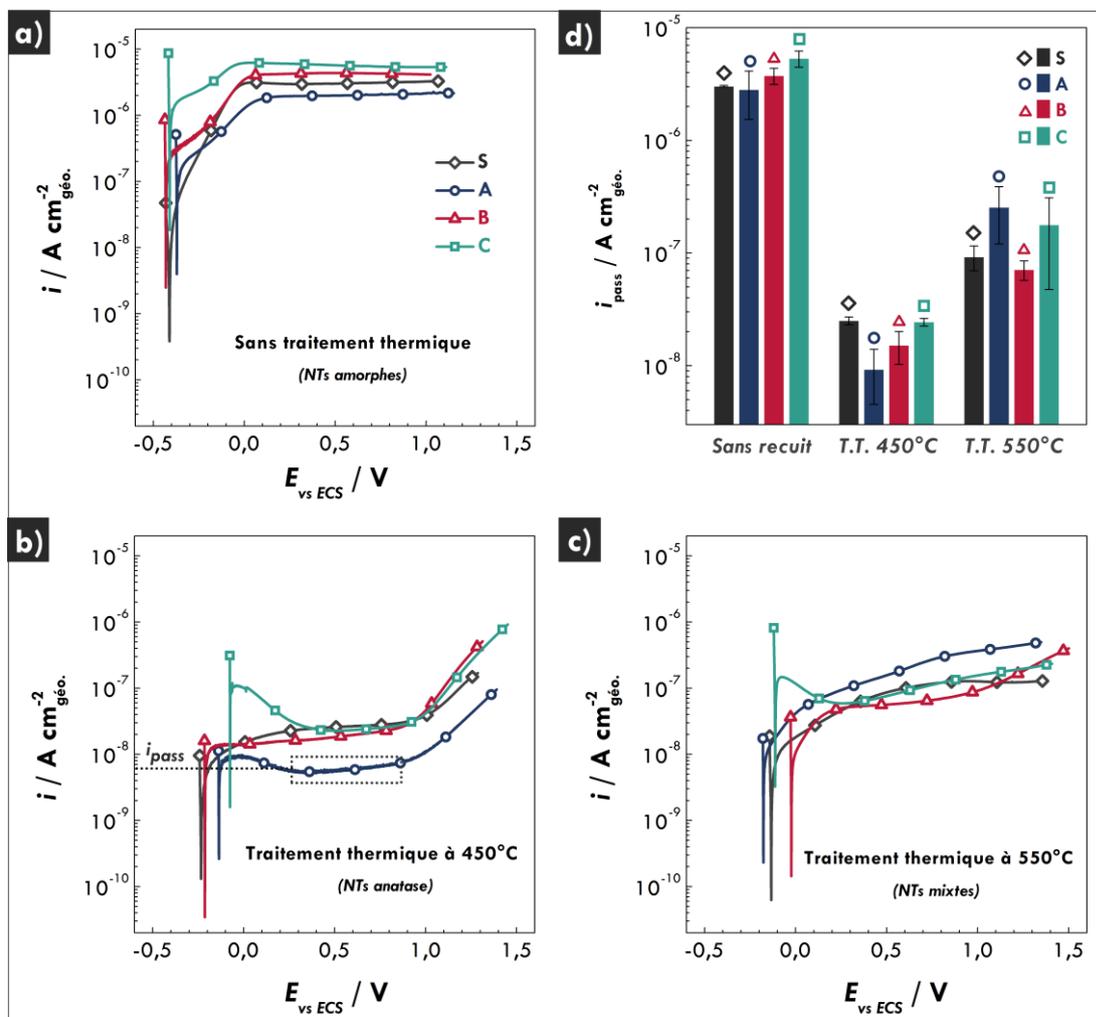


Figure 3.7. Polarisation anodique du substrat titane (S) et des surfaces de nanotubes de TiO₂ (A, B et C) en milieu physiologique : solution SBF de pH 7,4 à 37°C et à l'obscurité. La vitesse de balayage est de 0,50 mV s⁻¹. (a) Courbes de polarisation des échantillons non recuits ; les NTs sont amorphes, (b) Courbes de polarisation des échantillons recuits à 450°C pendant 2h sous air ; les NTs sont sous forme anatase, (c) Courbes de polarisation des échantillons recuits à 550°C ; les NTs ont une structure mixte (anatase+rutile) et (d) Relevés des densités de courant au plateau passif (i_{pass}) pour chaque type d'échantillons (valeurs moyennes et écarts-types observés sur 2 séries de mesures sur la gamme de potentiel comprise entre +400 mV_{vs OCP} et +1 V_{vs OCP}).

– Commentaires sur la méthode d'analyse des résultats

Les densités de courant, représentées sur l'axe des ordonnées des **Figure 3.7a-c**, ont été calculées en divisant le courant mesuré par l'aire géométrique (0,50 cm²). En effet, on considère que le courant mesuré dans la région anodique résulte principalement de la réaction d'oxydation du Ti en TiO₂, qui contribue à l'épaississement de la couche passive. Cette réaction, ayant lieu à l'interface *métal | oxyde* [85], l'aire sur laquelle elle se produit est alors égale à l'aire géométrique.

D'autre part, l'étude du potentiel de corrosion E_{corr} (correspondant à la position du « pic » dirigé vers le bas sur les courbes de polarisation, où le courant est nul) ayant déjà été rendu possible par l'étude de l'OCP dans la section précédente, ces nouvelles mesures seront exploitées principalement dans le but de discuter des valeurs de densité de courant.

De plus, et contrairement à la **Figure 3.6** où les valeurs de potentiel reportées correspondaient à la moyenne de 3 mesures, les **Figure 3.7a-c** présentent les courbes de polarisation d'un échantillon représentatif parmi les 3 essais. A noter cependant que, contrairement aux valeurs d' E_{corr} , qui sont assez dispersées, les mesures des densités de courant (i_{corr}/i_{pass}) sont plutôt reproductibles.

Enfin, l'observation générale de la forme de la partie anodique des courbes de polarisation présentées sur les **Figure 3.7a-c** révèle que le comportement des échantillons en milieu physiologique est caractéristique d'un état passif [90,91]. En effet, pour tous les échantillons, un plateau de courant s'établit sur une large gamme de potentiels, correspondant à une limitation du courant par transport de masse à travers la couche d'oxyde [85,92]. Le milieu n'étant que modérément agressif, les échantillons de titane, recouverts ou non de nanotubes de TiO₂, sont même passifs au potentiel de corrosion. C'est-à-dire qu'il n'y a pas de domaine d'activité, pour lequel la densité de courant est supérieure à la densité de courant du plateau passif, comme cela peut être le cas pour des aciers inoxydables en milieu acide par exemple (cf. section 3.1.2.2). Un tel comportement est particulièrement bien illustré par le cas de l'échantillon **B△** sur la **Figure 3.7b**. Ainsi, dans le cadre de cette étude, la densité de courant

de corrosion i_{corr} sera considérée comme équivalente à la densité de courant du plateau passif i_{pass} [92,93].

Dans la pratique, les formes des branches anodiques ne sont pas identiques pour tous les échantillons et la détermination de i_{pass} peut s'avérer non triviale pour différentes raisons : (i) une région transitoire très étendue (zone après E_{corr} où le courant augmente jusqu'à stabilisation) comme pour les échantillons non recuits de la **Figure 3.7a**, (ii) un domaine passif restreint par une ré-augmentation du courant à partir de 1 V_{ECS} environ, correspondant à l'évolution de l'oxygène, comme pour les échantillons recuits à 450°C de la **Figure 3.7b** et (iii) une région passive présentant une évolution sensible de la densité de courant avec le potentiel comme pour les échantillons recuits à 550°C de la **Figure 3.7c**.

Par conséquent, une seule et même méthode de détermination de i_{pass} a été établie pour permettre une comparaison pertinente des différents échantillons. Cette méthode consiste à calculer, pour chaque échantillon, la moyenne (et l'écart-type) des densités de courant mesurées dans l'intervalle de potentiels compris entre +400 mV et +1 V par rapport au potentiel en circuit ouvert (méthode illustrée sur la **Figure 3.7b** pour le cas de l'échantillon A○).

Afin d'estimer la reproductibilité des résultats, les mesures ont été répétées une seconde fois sur les échantillons anodisés (nouveaux échantillons). Une seconde valeur de densité de courant passif (et l'écart-type associé) a donc pu être extraite, selon la méthode explicitée au paragraphe précédent, pour chaque type d'échantillon (courbes de polarisation non présentées ici). Ainsi, la **Figure 3.7d** présente les valeurs moyennes des densités de courant passif i_{pass} observées pour chaque type d'échantillon sur deux séries de mesure. Les barres d'erreur tiennent à la fois compte de l'écart-type engendré par une éventuelle variation de courant sur le plateau passif lors d'une mesure unique ainsi que de l'écart-type statistique entre les deux répétitions de mesure.

→ Allure des courbes des échantillons non recuits

La **Figure 3.7a** regroupe les courbes de polarisation des échantillons A○, B△, C□ et S◇ sans traitement thermique (A-Am, B-Am, C-Am et S-Am). Pour rappel, les NTs après anodisation sont amorphes. L'allure des courbes de

polarisation de ces échantillons est typique d'un comportement passif, avec un plateau de courant étendu.

Cependant, une zone transitoire assez large, de l'ordre de 500 mV, est visible pour tous les échantillons. L'existence de cette région, où le courant augmente linéairement avant stabilisation, peut s'expliquer par une vitesse de balayage trop rapide (0,50 mV s⁻¹ ici). En effet, contrairement à ce que l'on pourrait croire, cette évolution « Tafelienne » du courant n'est probablement pas due à une réaction électrochimique mais plutôt à une non-stationnarité du système, comme mis en évidence par Chakri *et al.* pour des aciers doux [93]. De plus, l'acquisition d'une courbe de polarisation anodique en conditions non-stationnaires peut également faire apparaître une valeur de densité de courant passif « apparente » plus élevée que la densité de courant passif « réelle » du système (jusqu'à deux décades) [93].

A noter toutefois que cet « artefact de mesure » n'est observable que pour les échantillons non recuits, probablement car ils sont moins stables dans le milieu que les échantillons cristallisés.

→ Allure des courbes des échantillons recuits à 450°C

La **Figure 3.7b** montre l'allure des courbes *i-E* pour les échantillons **A○**, **B△**, **C□** et **S◇** recuits à 450°C (A-An, B-An, C-An et S-An). Pour rappel, un traitement thermique à cette température conduit à la cristallisation des NTs sous la structure anatase. L'allure des courbes de polarisation de ces échantillons est typique d'un comportement passif et montre d'ailleurs bien que les surfaces sont passivées à E_{corr} . La zone transitoire est très restreinte et le plateau passif très étendu (d'environ 0,1 à 1 V_{ECS}).

A noter cependant l'apparition d'un épaulement, juste après E_{corr} et avant que i_{pass} ne s'établisse, pour les échantillons **A○** et **C□**. On observe que cet épaulement est plus marqué pour l'échantillon **C□** que **A○**. Enfin, l'augmentation de la densité de courant visible à partir de 1,0 V_{ECS} (soit 1,25 V_{ENH}) est très probablement due à l'oxydation de l'eau. En effet, le potentiel thermodynamique redox standard du couple O₂/H₂O est égal à 0,78 V_{ENH} à 37°C et pH 7,40 d'après la relation de Nernst.

→ Allure des courbes des échantillons recuits à 550°C

La **Figure 3.7c** montre les courbes de polarisation des échantillons **A**○, **B**△, **C**□ et **S**◇ recuits à 550°C (A-M, B-M, C-M et S-M). Pour rappel, un traitement thermique à cette température conduit à la cristallisation des NTs sous une structure mixte, les nanotubes adoptant la structure anatase et la couche barrière la structure rutile. L'allure des courbes de polarisation de ces échantillons est toujours typique d'un comportement passif mais présente quelques différences avec le cas précédent.

En effet, pour les échantillons **S**◇ et **A**○, la densité de courant passif n'est pas absolument constante, mais augmente lentement entre E_{corr} et +1,50 V vs E_{corr} . Cette évolution du courant traduit une moins bonne stabilité de la couche passive lorsqu'elle est soumise à des potentiels anodiques. La branche anodique de l'échantillon **C**□ montre quant à elle un épaulement marqué après E_{corr} puis une lente augmentation de la densité de courant passif avec le potentiel. Enfin, l'échantillon **B**△ présente une courbe anodique avec un plateau passif très stable et très étendu (0,2-1,0 V_{ECS}). Comme pour les échantillons recuits à 450°C, l'augmentation du courant vers 1,0 V_{ECS} est probablement due à l'oxydation de l'électrolyte (O₂/H₂O).

→ ANALYSE COMPARATIVE DES DENSITES DE COURANT AU PLATEAU PASSIF

La **Figure 3.7d** présente un graphique comparatif des valeurs moyennes de densité de courant au plateau passif i_{pass} relevées pour les différents échantillons : **A**○, **B**△, **C**□ et **S**◇, non recuits (à gauche du graphique), recuits à 450°C (au centre) et à 550°C (à droite). Pour rappel, les résultats présentés sont issus de la moyenne de deux séries de mesure.

Sur la **Figure 3.7d**, il apparaît que, pour l'ensemble des échantillons à base de titane, la densité de courant au plateau passif i_{pass} , i.e. la densité de courant de corrosion, est faible, de l'ordre de 0,01 à 5 μA cm⁻². De tels ordres de grandeur de densités de courant garantissent la bonne résistance à la corrosion des surfaces dans un milieu physiologique.

Plus précisément, pour les échantillons non recuits, pour lesquels les NTs sont amorphes, les densités de courant relevées sont comprises entre 2 et 5 μA cm⁻²

(avec ou sans NTs), ce qui est de l'ordre de grandeur des courants de corrosion observés pour l'acier inoxydable 316L, également largement utilisé dans des applications biomédicales ($\sim 1-10 \mu\text{A cm}^{-2}$ en milieu physiologique) [3,94].

Pour l'état amorphe, la présence de NTs sur la surface du titane n'améliore pas significativement la résistance à la corrosion du matériau. Il semblerait même que plus les nanotubes sont longs, plus i_{pass} augmente.

En revanche, un traitement thermique entraîne une diminution notable des valeurs de i_{pass} . Pour les échantillons recuits à 450°C, les densités de courant de corrosion se retrouvent abaissées d'environ deux décades et sont de l'ordre de 0,01 à 0,03 $\mu\text{A cm}^{-2}$, ce qui est remarquablement faible (100 à 1000 fois plus bas que pour un acier inoxydable).

Suite à ce traitement thermique à 450°C, c'est l'échantillon **A○** qui présente la plus faible densité de courant au plateau passif, soit 9,3 nA cm⁻², contre 25,1 nA cm⁻² pour le substrat **S◇** (soit une diminution d'un facteur 2,5 environ). Une augmentation de l'épaisseur de la couche anodisée entraîne, pour les NTs de structure anatase, une légère augmentation de i_{pass} (15,2 nA cm⁻² pour **B△** et 24,4 nA cm⁻² pour **C□**, soit une valeur comparable au substrat **S◇** dans le dernier cas).

En d'autres termes, pour un recuit à 450°C, et contrairement aux échantillons sans traitement thermique, la présence de NTs en surface peut permettre d'améliorer la résistance à la corrosion par rapport au substrat titane non modifié [91], notamment en présence de NTs courts et de faible diamètre.

Enfin, pour un traitement thermique à 550°C, les densités de courant au plateau passif observées sont de l'ordre de 0,07 à 0,25 $\mu\text{A cm}^{-2}$, c'est-à-dire supérieures d'une petite décade aux i_{pass} à 450°C et inférieures d'une bonne décade aux courants sans traitement thermique. Concernant l'influence de la morphologie de la couche nanotubulaire, pour un recuit à 550°C, il se trouve que les échantillons **A○** et **C□** présentent en moyenne des densités de courant i_{pass} supérieures au substrat **S◇**, c'est-à-dire 254 nA cm⁻² et 178 nA cm⁻² respectivement, contre 92,5 nA cm⁻² pour le substrat. En d'autres termes, lorsque la couche anodisée présente une structure cristalline mixte d'anatase et

de rutile, la présence de NTs peut altérer la résistance à la corrosion du matériau par rapport au substrat titane, notamment pour des NTs très longs ou très courts. Pour un traitement thermique à 550°C, le seul échantillon qui présente une densité de courant passif au moins aussi bonne que le substrat, voire inférieure, est le **B△** (71,3 nA cm⁻²).

En résumé, l'étude des courbes de polarisation révèle que les échantillons **A-An**, **B-An**, **C-An** et **B-M** présentent des propriétés de résistance à la corrosion adaptées pour des applications biomédicales. C'est-à-dire que la présence de ces types de NTs cristallisés en surface améliore la résistance à la corrosion par rapport à une surface plane en titane (recuite ou non) ou par rapport à des NTs amorphes.

- o *Commentaire* : La meilleure résistance à la corrosion des surfaces recouvertes de NTs par rapport aux surfaces planes de titane est expliquée par la présence d'une couche barrière à l'interface *nanotubes|métal* qui se forme lors de l'anodisation. Des observations MET de cette interface sont visibles dans les références [59,95]. Cependant, pour des NTs amorphes, cette couche interfaciale est assez fine, et clairement séparée du fond des nanotubes [95]. Dans cette situation, les nanotubes pourraient en fait faciliter l'accès de l'électrolyte à l'interface *métal|oxyde*, comme une piqûre [70,95]. Lors d'un traitement thermique, la couche barrière fusionne avec le fond des nanotubes pour former une couche compacte, dont la teneur en rutile et l'épaisseur croît avec la température (quelques dizaines de nm à 450°C et de l'ordre de la centaine de nm à 650°C), protégeant ainsi le métal de la corrosion [70,95].

3.2.1.3. Mesures d'impédance électrochimique (SIE)

Afin de compléter la caractérisation électrochimique des surfaces sélectionnées pour l'étude, les échantillons sont soumis à des mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique. Comme pour les caractérisations électrochimiques précédentes, la SIE est conduite à l'obscurité, dans SBF à 37°C.

A noter que la modélisation des résultats d'impédance (par un circuit électrique équivalent notamment) pouvant faire l'objet d'une étude à part entière, le chapitre 4 lui sera intégralement dédié. Dans le présent chapitre, l'analyse de l'impédance reposera principalement sur une observation de l'allure des spectres.

La **Figure 3.8** présente les mesures d'impédance en représentation de Nyquist (à gauche) et de Bode (à droite) des échantillons **A**, **B**, **C** et **S**, sans traitement thermique (**a**), après traitement thermique à 450°C (**b**) et à 550°C (**c**). A noter que les diagrammes présentent pour chaque type d'échantillon une mesure unique, choisie arbitrairement parmi une série de trois expérimentations conduites dans les mêmes conditions.

A ce stade, il est important de porter une attention particulière à une subtilité inhérente aux matériaux présentant de grandes aires spécifiques. Usuellement, les mesures d'impédances sont présentées avec des valeurs rapportées à l'aire immergée dans l'électrolyte (la partie réelle et la partie imaginaire de l'impédance, Z' et Z'' , sont multipliées par l'aire exposée). Or, dans le cas des électrodes poreuses, la réponse en basses fréquences peut être assimilée à celle d'une surface plane d'aire égale à toute la surface spécifique, tandis que la réponse en hautes fréquences est celle d'une électrode poreuse pour laquelle il convient de considérer l'aire géométrique [96]. En d'autres termes, lorsque le signal perturbateur est suffisamment lent, c'est toute l'aire spécifique qui contribue à la réponse en impédance. A l'inverse, lorsque la perturbation est trop rapide, le signal ne peut pas « sonder » les parois des NTs, du moins pas sur toute leur longueur, et la réponse provient d'une aire qui tend à être égale à l'aire géométrique.

Par conséquent, afin de déterminer la valeur de la résistance de l'électrolyte par exemple (en $\Omega \text{ cm}^2$), lue sur l'axe des réels pour des fréquences tendant vers l'infini, il convient de considérer l'aire géométrique, soit 0,50 cm^2 ici.

A l'inverse, pour estimer le module de l'impédance à basse fréquence, qui est un indicateur de la résistance à la corrosion du matériau, il est préférable de considérer l'aire spécifique, soit 30 cm^2/cm^2 pour les morphologies A et B et 140 cm^2/cm^2 pour la morphologie C.

Afin de mettre en évidence cette subtilité relative à l'aire à considérer, la **Figure 3.8** présente à la fois les diagrammes de Nyquist exprimés selon l'aire géométrique (à gauche, avec des symboles pleins) et selon l'aire spécifique (au centre, avec des symboles creux).

On constate alors que si l'on ne multiplie pas les mesures d'impédance par la surface spécifique mais par la surface géométrique, l'échelle des diagrammes de Nyquist des échantillons à haute aire spécifique est anormalement réduite.

A noter d'autre part que les diagrammes de Bode présentés sur la **Figure 3.8** sont tracés en fonction de l'aire géométrique (symboles pleins) pour l'évolution de la phase (car elle dépend peu de l'aire de l'échantillon) et en fonction de l'aire spécifique (symboles vides) pour l'évolution du module (car sa valeur à basse fréquence est particulièrement intéressante).

Enfin, et avant de commenter plus en détail les résultats d'impédance, il convient de rappeler ici que les surfaces investiguées sont passives au potentiel de corrosion (*cf.* section 3.2.1.2). De plus, les mesures étant réalisées après 1h d'immersion seulement, ceci implique que l'investigation des surfaces par impédance va dans ce cas plutôt renseigner sur les propriétés de la couche d'oxyde que sur des phénomènes de corrosion à proprement parler (car il n'y a pas, ou très peu, de réactions électrochimiques au potentiel de corrosion pour ces interfaces, du moins pas de réactions d'oxydation entraînant la dissolution du métal dans l'électrolyte).

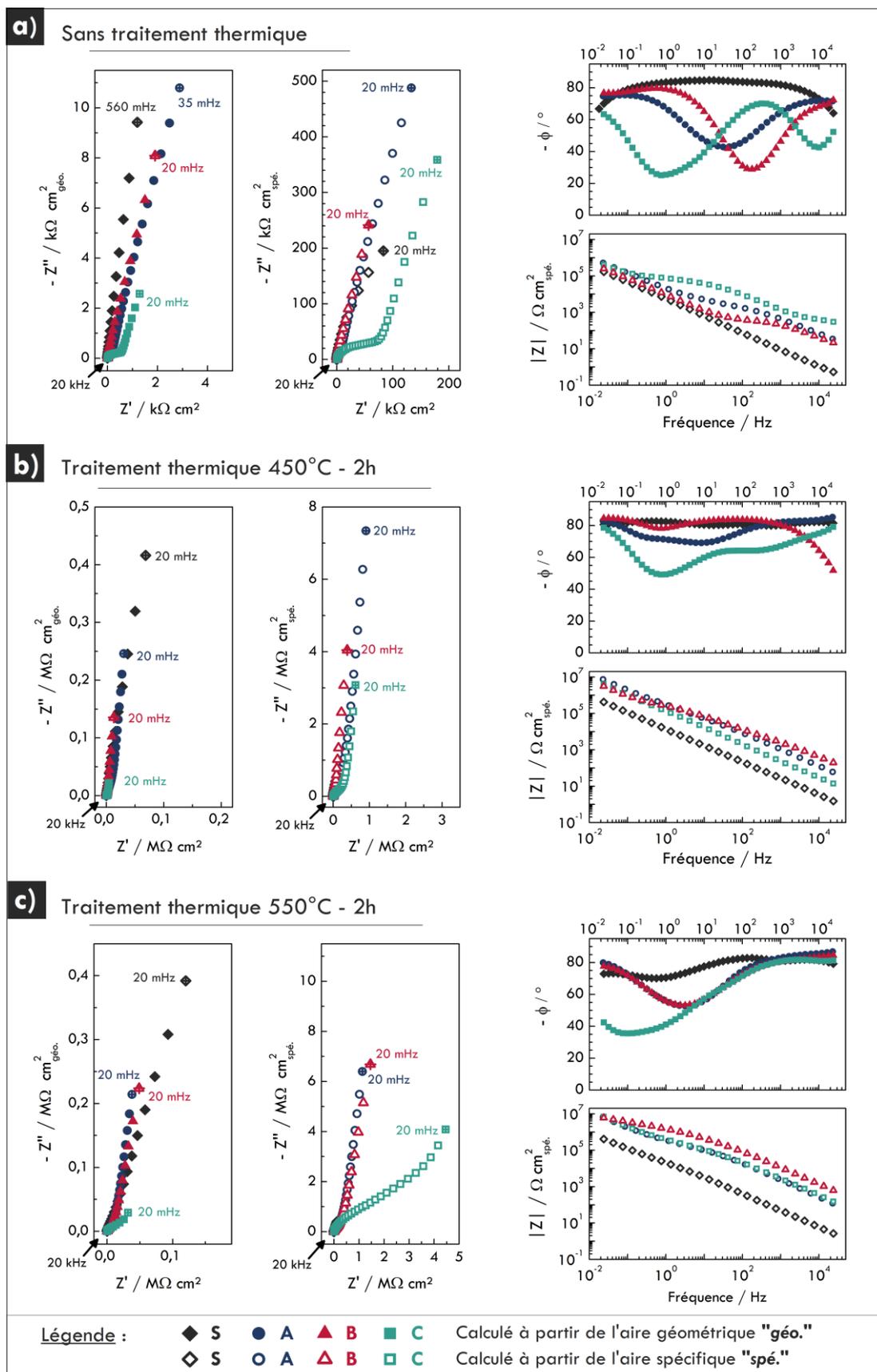


Figure 3.8. Diagrammes de Nyquist (à gauche) et diagrammes de Bode (à droite) des mesures d'impédance de 20 kHz à 20 mHz des échantillons S, A, B et C dans SBF à 37°C à l'obscurité (a) sans traitement thermique, (b) recuits à 450°C et (c) recuits à 550°C.

L'observation des diagrammes de Nyquist de la **Figure 3.8** révèle que, quel que soit le traitement thermique appliqué, l'allure du spectre d'impédance du substrat (arc) est typique d'un système capacito-résistif (associations de phénomènes capacitifs, *i.e.* accumulations de charges, et résistifs, *i.e.* transferts de charges ou résistance d'une couche) alors que les échantillons avec NTs sont en apparence plutôt purement capacitifs (droite), ou du moins pseudo-capacitifs (droite inclinée), c'est-à-dire que les échanges d'électrons, et donc les réactions, sont très limitées ou que la couche d'oxyde est très résistive.

Plus précisément, le comportement des surfaces anodisées (**A**○, **B**△ et **C**□) est caractéristique d'une électrode poreuse, comme il sera démontré dans le chapitre 4. Brièvement, la signature typique d'une électrode poreuse non réactive est un diagramme de Nyquist présentant une droite inclinée ou un arc à hautes fréquences et une branche capacitive ou pseudo-capacitive à basses fréquences ; le diamètre de l'arc à HF est d'autant plus important que les NTs sont longs et la couche barrière épaisse. C'est pourquoi on remarque sur la **Figure 3.8** que l'échantillon **C**□ présente un comportement particulier, avec un arc marqué à hautes fréquences. Cet arc est si marqué sur la **Figure 3.8c** qu'il est prépondérant dans la gamme de fréquences investiguée, ne laissant apparaître qu'une faible portion de droite pseudo-capacitive à très faibles fréquences.

Sur la **Figure 3.8**, l'observation des diagrammes de Nyquist calculés selon l'aire spécifique met en évidence que l'amplitude totale des spectres des échantillons recuits à 450°C ou 550°C (**Figure 3.8b** et **c**) est supérieure à celle des surfaces non recuites (**Figure 3.8a**), ce qui traduit une meilleure résistivité de la couche d'oxyde pour les surfaces traitées thermiquement, et donc une meilleure protection de la surface (échelle des spectres plus grande). Pour le substrat **S**◇, l'amplitude est augmentée d'un facteur de 2 environ tandis que pour les échantillons avec NTs (**A**○, **B**△ et **C**□), cet effet est exacerbé puisqu'un traitement thermique entraîne une augmentation de l'amplitude de l'impédance d'un facteur 15 environ.

D'autre part, on peut également constater sur la **Figure 3.8** que l'amplitude des spectres des échantillons avec NTs (**A**○, **B**△ et **C**□) est supérieure à celle du substrat **S**◇ pour les trois structures cristallines, ce qui traduit une meilleure résistivité de la couche d'oxyde pour les surfaces anodisées (d'un facteur 2 environ sans traitement thermique et d'un facteur 10 à 20 pour les surfaces recuites).

Afin de discuter de la validité des deux hypothèses citées précédemment, il est pertinent d'étudier plus en détail les valeurs moyennes (issues d'une analyse statistique) des modules des impédances $|Z|$ à basse fréquence pour chaque type d'échantillon. Ainsi, la **Figure 3.9** présente les valeurs de $|Z|$ relevées à 20 mHz, associées à l'aire spécifique de chaque échantillon, et calculées selon la relation :

$$|Z| = \sqrt{(Z' \times S_{spé} - R_e)^2 + (Z'' \times S_{spé})^2} \quad (3.7)$$

Où Z' et Z'' (en Ω) sont respectivement les parties réelle et imaginaire de l'impédance à 20 mHz, $S_{spé}$ est l'aire spécifique exposée à la solution en cm² (pour rappel, l'aire spécifique pour les échantillons **A**○ et **B**△ est de 30 cm²/cm² et pour **C**□ elle est de 140 cm²/cm². Or, l'aire géométrique exposée est de 0,50 cm². Donc, dans le cas présent, $S_{spé}$ est égale à 15 cm² pour **A**○ et **B**△ et à 70 cm² pour **C**□), et R_e est la résistance de l'électrolyte (en Ω cm²) calculée à partir de l'aire géométrique (0,50 cm²).

La **Figure 3.9** représente les résultats issus d'une mesure unique dans le cas du substrat (**S**◇) ainsi que les valeurs moyennes et écarts-types (barre d'erreur) issus d'une série de 3 mesures pour les échantillons **A**○, **B**△ et **C**□. A savoir qu'une plus grande valeur de $|Z|$ est synonyme de meilleures propriétés de la couche d'oxyde protectrice.

Il apparaît alors clairement que la présence de NTs de TiO₂ (A○, B△ et C□) entraîne une augmentation de $|Z|$ par rapport au substrat (S◇), et ce quel que soit le traitement thermique appliqué. D'autre part, un traitement thermique améliore également le module d'impédance de chaque type d'échantillon, qu'il présente des nanotubes ou non. Cependant, l'effet positif d'un traitement thermique est exacerbé en présence de NTs par rapport à une surface plane. En effet, pour les échantillons sans traitement thermique, le module du substrat S◇ est de l'ordre de 0,2 MΩ cm² et est multiplié d'un facteur 2 à 4,5 pour les surfaces anodisées (0,6 MΩ cm², 0,4 MΩ cm² et 0,9 MΩ cm² pour les échantillons A○, B△ et C□ respectivement). En revanche, après recuit (à 450°C ou 550°C), les valeurs de $|Z|$ sont multipliées d'un facteur 10 à 20 en présence de NTs cristallisés par rapport à une surface plane de titane recouverte d'un oxyde thermique (quelques MΩ cm² dans le premier cas contre environ 0,5 MΩ cm² dans le second). Ces observations sont en accord avec les commentaires proposés lors de l'analyse graphique des diagrammes de Nyquist.

De plus, la **Figure 3.9** met une fois de plus en exergue l'existence d'une influence interconnectée de la morphologie et la structure cristalline des NTs sur les propriétés électrochimiques. En effet, la structure anatase (450°) semble conférer une valeur de $|Z|$ supérieure à la structure mixte (550°) dans le cas de nanotubes courts (A○) mais la tendance s'inverse avec l'augmentation de la longueur des NTs puisque pour les échantillons B△ et C□ la structure mixte garantit une meilleure résistance à la corrosion. La présence d'une couche dense rutile à l'interface NTs|métal semble donc renforcer le caractère protecteur de la couche d'oxyde lorsque les NTs synthétisés sont assez longs.

Finalement, il semble important de rappeler que les conclusions tirées sur les positions relatives des morphologies A○, B△ et C□ les unes par rapport aux autres doivent être considérées avec précautions car les valeurs présentées sont directement dépendantes des aires spécifiques estimées dans la section 2.3.3, qui peuvent être plus ou moins proches de l'aire spécifique réelle.

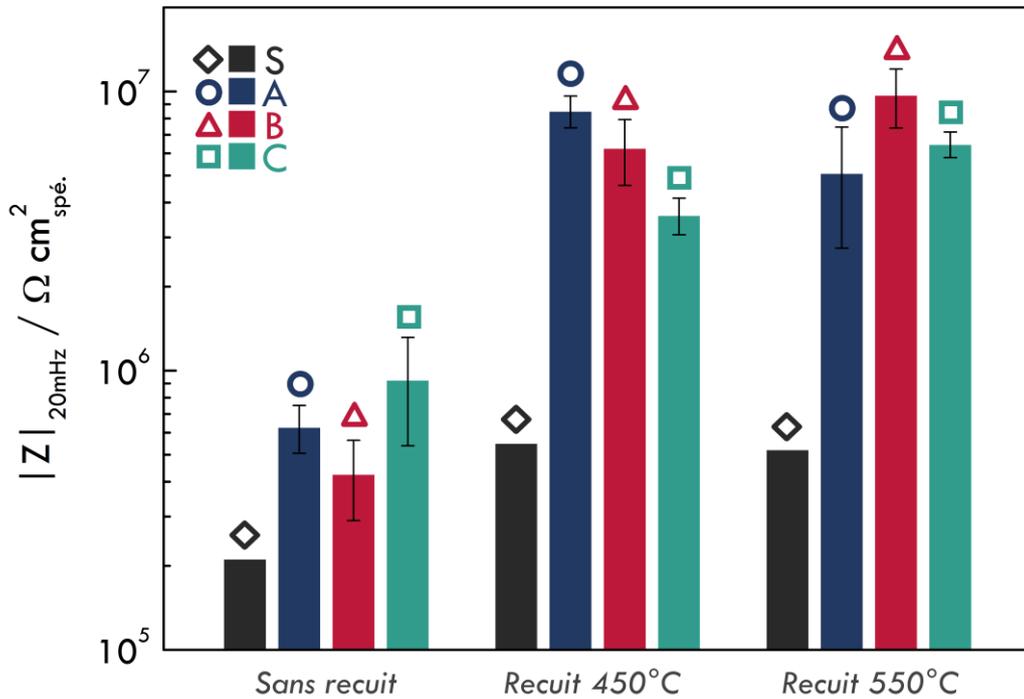


Figure 3.9. Module de l'impédance $|Z|$ à basse fréquence (20 mHz) pour les échantillons A, B, C et S (pour comparaison), non recuits (à gauche), recuits à 450°C (au centre) et 550°C (à droite). Les valeurs présentées pour le substrat S sont issues d'une mesure unique alors que les valeurs pour les échantillons A, B et C sont le résultat d'une analyse statistique d'une série de 3 mesures.

A noter enfin que les conclusions tirées de l'analyse des résultats d'impédance ne sont pas parfaitement identiques aux conclusions obtenues par l'exploitation des courbes de polarisation dans la section précédente. Des courbes de polarisations, on apprend qu'un recuit à 450°C améliore particulièrement la surface mais que la présence de nanotubes cristallisés ne diminuait pas forcément le courant passif par rapport à une surface plane ayant subi le même traitement thermique. De l'analyse du module de l'impédance à basse fréquence, on confirme qu'un traitement thermique améliore les propriétés de la surface mais on ne constate pas de différences majeures entre un recuit à 450°C et 550°C. En revanche, on met en évidence l'effet clairement bénéfique de la présence de nanotubes en surface, quel que soit le traitement thermique. Les différentes techniques de caractérisation électrochimiques sont donc complémentaires et la spectroscopie d'impédance électrochimique permet dans certains cas de fournir des informations plus nuancées que les méthodes stationnaires.

– Sensibilité des mesures d'impédance à la température

La **Figure 3.10** montre l'évolution de l'allure du spectre d'impédance d'une surface de nanotubes cristallisés en fonction de la température de l'électrolyte (de $37^\circ C$ à $5^\circ C$). L'échantillon C-M est choisi arbitrairement pour exemple.

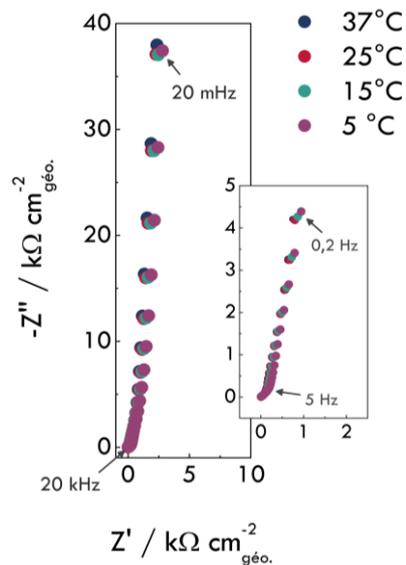


Figure 3.10. Représentation de Nyquist des mesures d'impédance à l'obscurité de l'échantillon C-M dans SBF à différentes températures : $37^\circ C$, $25^\circ C$, $15^\circ C$ et $5^\circ C$.

Il s'avère que l'allure du spectre d'impédance reste inchangée lorsque la température de la solution SBF est successivement de $37^\circ C$, $25^\circ C$, $15^\circ C$ et $5^\circ C$. Le comportement électrochimique de l'interface ne semble donc pas sensible à la température. Ceci donne une indication sur la réactivité de la surface. En effet, si des réactions électrochimiques avaient lieu, on pourrait s'attendre à ce que leurs cinétiques soient affectées (ralenties) par une diminution de température, ce qui se traduirait par une évolution de l'allure du spectre d'impédance. Les différentes contributions électrochimiques seraient notamment mieux séparées en fréquence. Dans le cas présent, la stabilité de la réponse en impédance avec la température conforte l'hypothèse selon laquelle les réactions électrochimiques sont quasi-inexistantes à l'interface $NTs\ de\ TiO_2 | SBF$ (à l'obscurité) et donc que la résistance à la corrosion de ce matériau est remarquable en milieu physiologique. La réponse en impédance observée ici trouve son origine exclusivement dans des phénomènes capacitifs, eux même sensibles aux caractéristiques morphologiques et structurelles de la surface.

– **Sensibilité des mesures d'impédance au vieillissement des NTs dans SBF**

La **Figure 3.11** présente l'évolution des résultats d'impédance de l'échantillon A-An (choisi arbitrairement, mais le même comportement est observé pour l'échantillon B-M par exemple) pour différents temps de vieillissement dans SBF à 37°C : 1h, 12h, 1 jour, 2 jours, 4 jours, 7 jours et 14 jours.

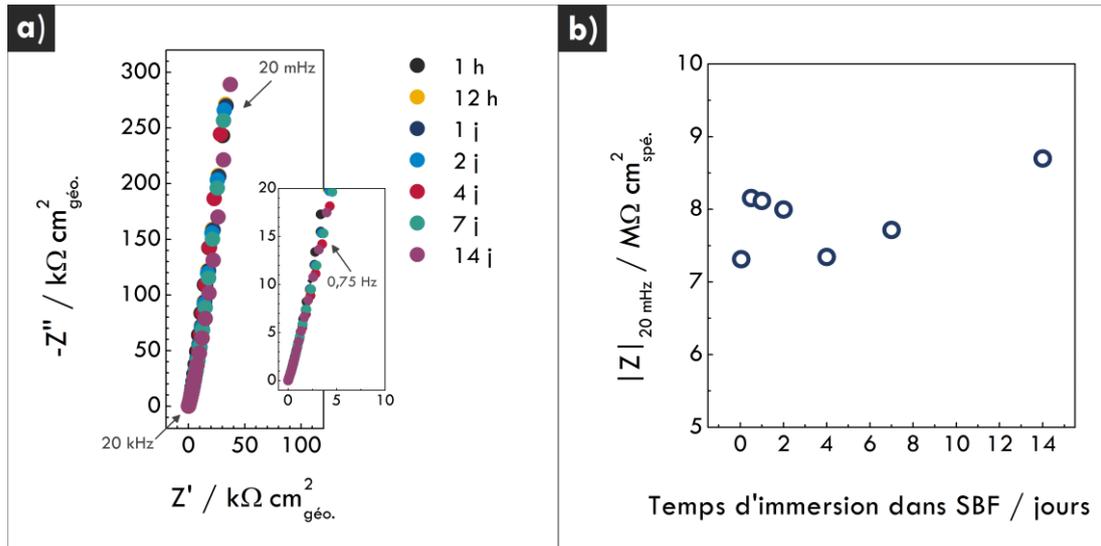


Figure 3.11. (a) Représentation de Nyquist des mesures d'impédance à l'obscurité de l'échantillon A-An à différents temps de vieillissement dans SBF à 37°C (de 1h à 14 jours). (b) Evolution du module de l'impédance $|Z|$ à basse fréquence (20 mHz) pour l'échantillon A-An au cours du vieillissement dans le milieu physiologique.

Il est visible sur la **Figure 3.11a** que les diagrammes de Nyquist à différents temps d'immersion se superposent parfaitement. Ceci traduit une très grande stabilité de la surface dans le milieu. Elle reste très peu réactive du point de vue de la corrosion, même après 14 jours en contact avec un fluide physiologique.

La **Figure 3.11b** quant à elle permet d'apprécier l'évolution de la valeur du module de l'impédance à basse fréquence (20 mHz). Ce tracé permet de confirmer la stabilité de l'interface puisque la valeur de $|Z|$ évolue peu durant la période d'essai. Elle a même tendance à augmenter, ce qui laisserait penser que la résistance à la corrosion du matériau s'améliore au cours du temps d'immersion dans SBF.

A noter toutefois que cette expérimentation peut sembler paradoxale puisque les NTs de TiO₂ sont censés être hautement bioactif, et donc entraîner la formation spontanée d'une couche d'apatite en surface (démonstré dans la section suivante). Dans ces circonstances, l'allure du spectre d'impédance devrait évoluer à mesure que la couche minérale se forme et s'épaissit. Cependant, pour les caractérisations électrochimiques, l'échantillon est placé dans un réacteur en verre. Or, le verre étant également un matériau extrêmement bioactif, l'apatite se forme préférentiellement sur les parois du réacteur plutôt que sur l'échantillon (un dépôt est d'ailleurs observé à la fin de l'expérimentation). Les mesures présentées ici ne permettent donc pas de prédire l'évolution réelle du comportement de la surface lorsqu'elle est mise en contact avec un fluide physiologique mais elles renseignent sur la stabilité du matériau dans le milieu.

Enfin, en conclusion de cette étude comparative des mesures d'impédance, il est possible d'affirmer que la présence de NTs de TiO₂ améliore les propriétés électrochimiques du titane. Un traitement thermique, qui permet la cristallisation des NTs, accroît d'autant plus ces propriétés de résistance à la corrosion. De plus, il a été montré que les surfaces de NTs cristallisés sont très stables et peu réactives en solution physiologique. Enfin, l'existence d'une influence commune de la morphologie et la structure cristalline des NTs sur les propriétés électrochimiques a été mise en exergue. Enfin, il semblerait que la résistance à la corrosion du système soit optimisée pour des NTs courts sous forme anatase (A-An) ou bien pour des NTs « moyennement » longs avec une structure mixte d'anatase et de rutil (B-M).

Après avoir investigué les propriétés de résistance à la corrosion des différentes surfaces de l'étude, on s'intéresse dans la partie qui suit à leur bioactivité.

3.2.2. Essais de bioactivité

Il a été montré plusieurs fois dans la littérature que la présence de NTs de TiO₂ améliore la bioactivité par rapport à une surface plane. De plus, des NTs ayant subi un traitement thermique, et donc cristallisés, sont plus bioactifs que des NTs amorphes [76,97–99].

Cependant, il existe une controverse au sujet de la structure cristalline la plus bioactive. A l'origine, Uchida *et al.* [100] ont montré que pour des surfaces planes de TiO₂ déposées par la méthode sol-gel, la phase anatase est plus bioactive que la phase rutile (et que le TiO₂ amorphe n'induit pas de dépôt d'apatite). Cette observation est alors expliquée par le fait que les caractéristiques de la structure cristalline de l'anatase (paramètres de maille notamment) sont plus proches de celles de l'apatite que le rutile. Par conséquent, de nombreuses publications étudiant la bioactivité des NTs de TiO₂ [97,99,101–103] ont considéré que la conclusion émise par Uchida *et al.* [100] pour des surfaces planes de TiO₂ était également valable dans le cas des NTs. Leurs études se sont alors restreintes au cas des NTs sous forme anatase. Cependant, Bai *et al.* [12] et Tsuchiya *et al.* [76], qui ont investigué à la fois la bioactivité des NTs de structure anatase et mixte, ont montré que le second cas favorise la formation d'apatite par rapport au premier.

D'autre part, concernant l'influence de la topographie de la surface, il semblerait que la surface soit d'autant plus bioactive que les NTs sont longs et larges [76,99].

Afin de confirmer, d'infirmer ou de nuancer les observations de la littérature citées précédemment, les neuf surfaces d'étude définies au chapitre 2 ont été soumises à des essais de bioactivité, dont le principe est d'évaluer la capacité du matériau à former spontanément de l'apatite en surface lorsque il est immergé dans SBF. Cette aptitude constitue un critère essentiel pour statuer sur la biocompatibilité d'un matériau. Pour servir de référence, des surfaces de Ti polies (0,03 µm) et rugueuses (15 µm), ayant subi ou non un traitement thermique (450°C et 550°), ont été incluses dans l'expérimentation. Les dépôts d'apatite ont été examinés après 1,5 jour, 7 et 14 jours d'immersion dans SBF.

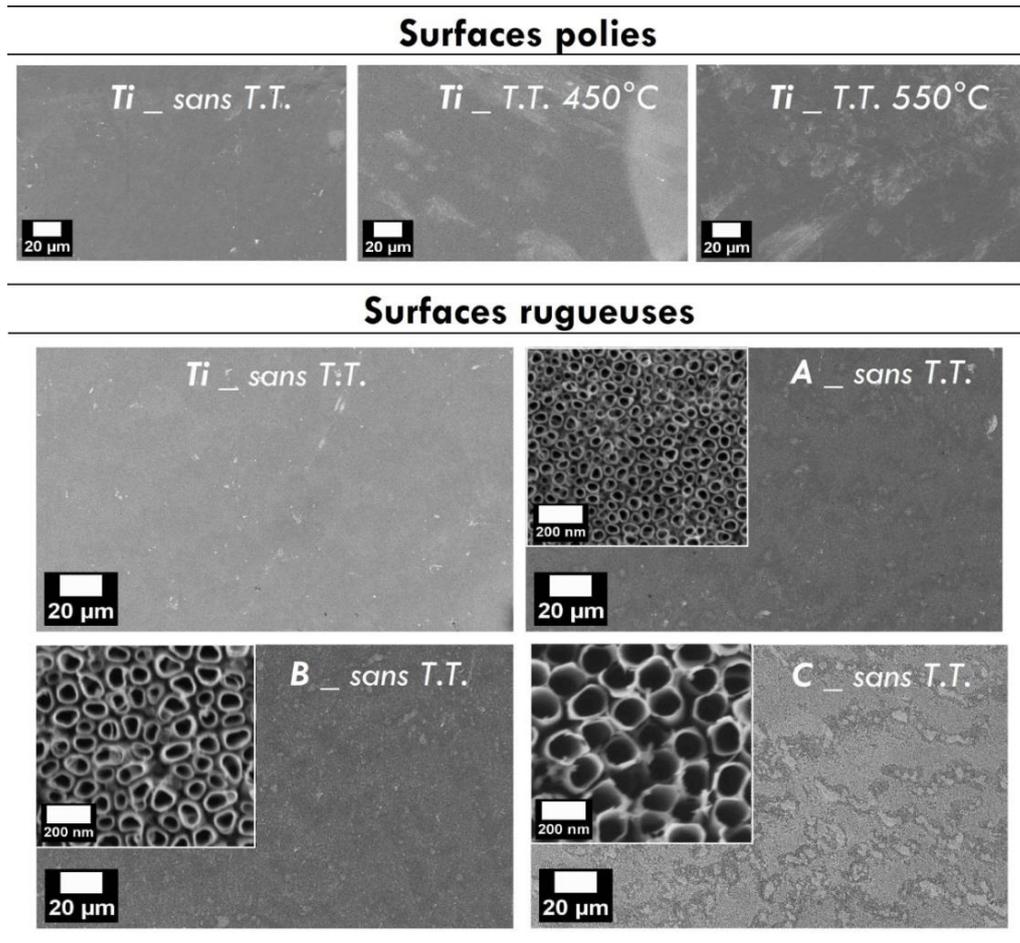


Figure 3.12. Observations MEB-FEG de différents échantillons soumis aux essais de bioactivité sur lesquels aucune trace d'apatite n'est détectée après 14 jours d'immersion dans SBF : Ti poli à 0,03 µm (sans recuit et recuit à 450°C et 550°C, Ti rugueux poli à 15 µm sans traitement thermique (T.T.) et échantillons avec NTs de type A, B et C sans T.T.

Les observations MEB-FEG (**Figure 3.12**) révèlent que même après 14 jours d'immersion dans la solution physiologique, aucune trace d'apatite n'est détectée sur les surfaces de Ti polies (quel que soit le traitement thermique), ni sur les substrats rugueux non recuits, ni même sur les NTs amorphes (sans T.T.). Dans la littérature, il a déjà été observé que les couches de TiO₂ compactes non recuites n'induisent pas de dépôt d'apatite, même après plusieurs jours d'immersion dans un fluide physiologique [76,97]. A l'inverse, et contrairement aux résultats de la présente étude, des traces d'apatite sont généralement détectées sur les NTs amorphes après plusieurs jours d'essai [76,97].

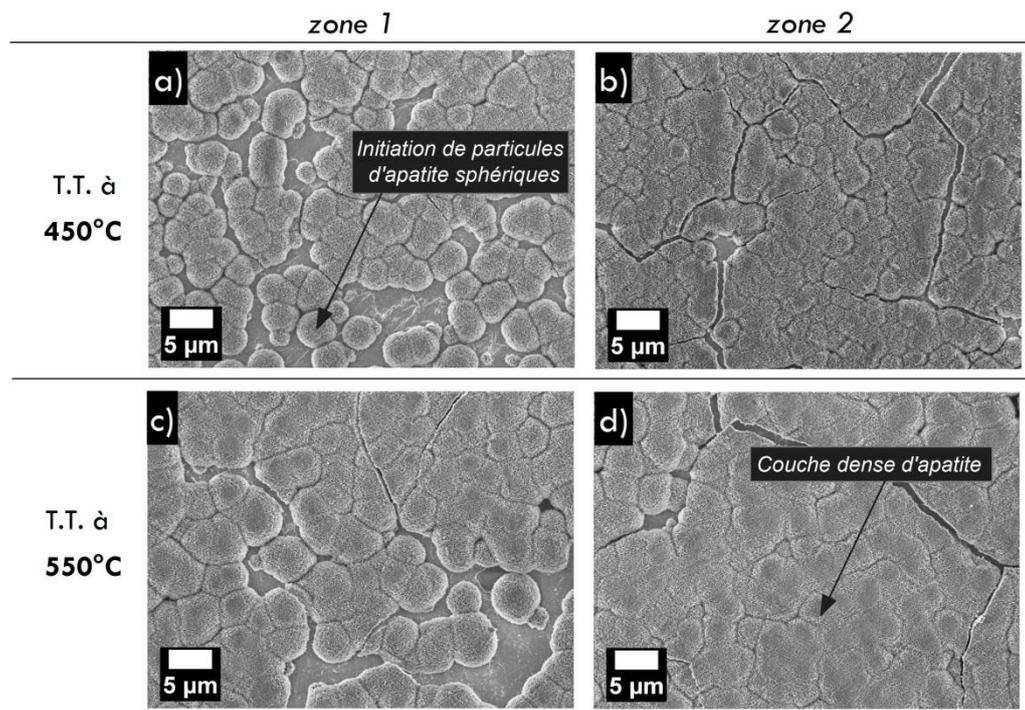


Figure 3.13. Observations MEB-FEG (sur deux zones) du dépôt d'apatite sur le substrat Ti rugueux (polissage grossier ; grains de 15 µm) recuit après 14 jours d'immersion dans SBF. (a, b) Traitement thermique (T.T.) à 450°C et (c, d) T.T. à 550°C.

La présence d'apatite est en revanche visible sur les substrats Ti rugueux recuits (**Figure 3.13**), comme déjà observé dans la référence [97] par exemple. Le titane rugueux recouvert d'une couche d'oxyde formée thermiquement est donc bioactif. Cependant, la cinétique de formation de la couche d'apatite n'y est pas très rapide. En effet, les dépôts d'apatite observés sur la **Figure 3.13** sont de faible épaisseur et peu homogènes. Certaines zones sur la surface de l'échantillon (**Figure 3.13a** et **c**) ne sont pas totalement recouvertes. Il est même possible de distinguer les particules d'apatite sphériques qui se forment initialement. L'observation de la **Figure 3.13** permet toutefois de comprendre que le dépôt d'apatite se forme par croissance puis coalescence des sphères d'initiation et enfin par densification et épaissement de la couche. A noter enfin qu'aucune différence majeure n'est observée entre un recuit à 450°C ou à 550°C.

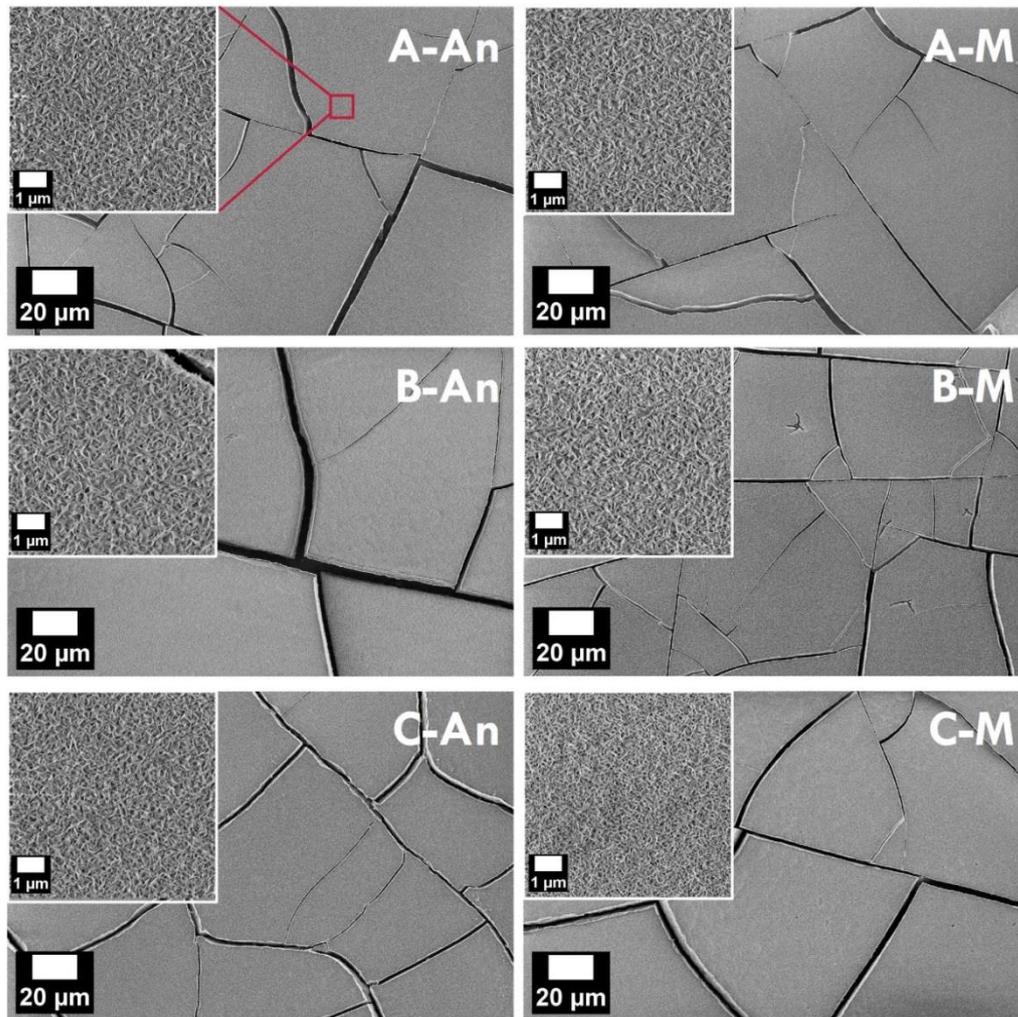


Figure 3.14. Observations MEB-FEG de la couche dense d'apatite déposée sur les échantillons A-An, A-M, B-An, B-M, C-An et C-M après 14 jours d'immersion dans SBF.

Finalement, une couche d'apatite épaisse et homogène est visible sur les échantillons avec NTs cristallisés, et ceci dès 1,5 jours d'immersion. La **Figure 3.14** montre des observations MEB-FEG des échantillons A, B et C, avec NTs anatase ou mixte, après 14 jours d'immersion dans SBF. Pour chacune des surfaces, le dépôt est homogène et dense. La morphologie fibreuse des couches d'apatite observées sur la **Figure 3.14** est typique des couches habituellement formées lors des essais de bioactivité [70,76,97–99,101]. Les petites fissures visibles dans le dépôt sont probablement dues à la contraction de la couche hydratée lorsque les échantillons sont séchés [99]. Quant aux plus grosses fissures, elles sont liées à la méthode de caractérisation et apparaissent lorsque les échantillons sont insérés dans la chambre du microscope et soumis à un vide poussé.

La **Figure 3.15** permet de visualiser le dépôt d'apatite en vue transversale et d'apprécier l'évolution de son épaisseur après différents temps d'immersion dans SBF. Afin d'obtenir de telles images, il est nécessaire que la couche d'apatite soit suffisamment « craquée » pour se détacher du substrat et se positionner verticalement par rapport à la surface. Cependant, il n'est pas garanti de satisfaire ces conditions pour tous les échantillons. Ainsi, des images sont présentées pour quatre d'entre eux : A-An, B-An, B-M et C-An, pour lesquels il a été possible d'acquérir des vues en coupe pertinentes. Toutefois, les estimations des épaisseurs des différentes couches ne sont proposées que lorsque les fragments sont inclinés à approximativement 90°.

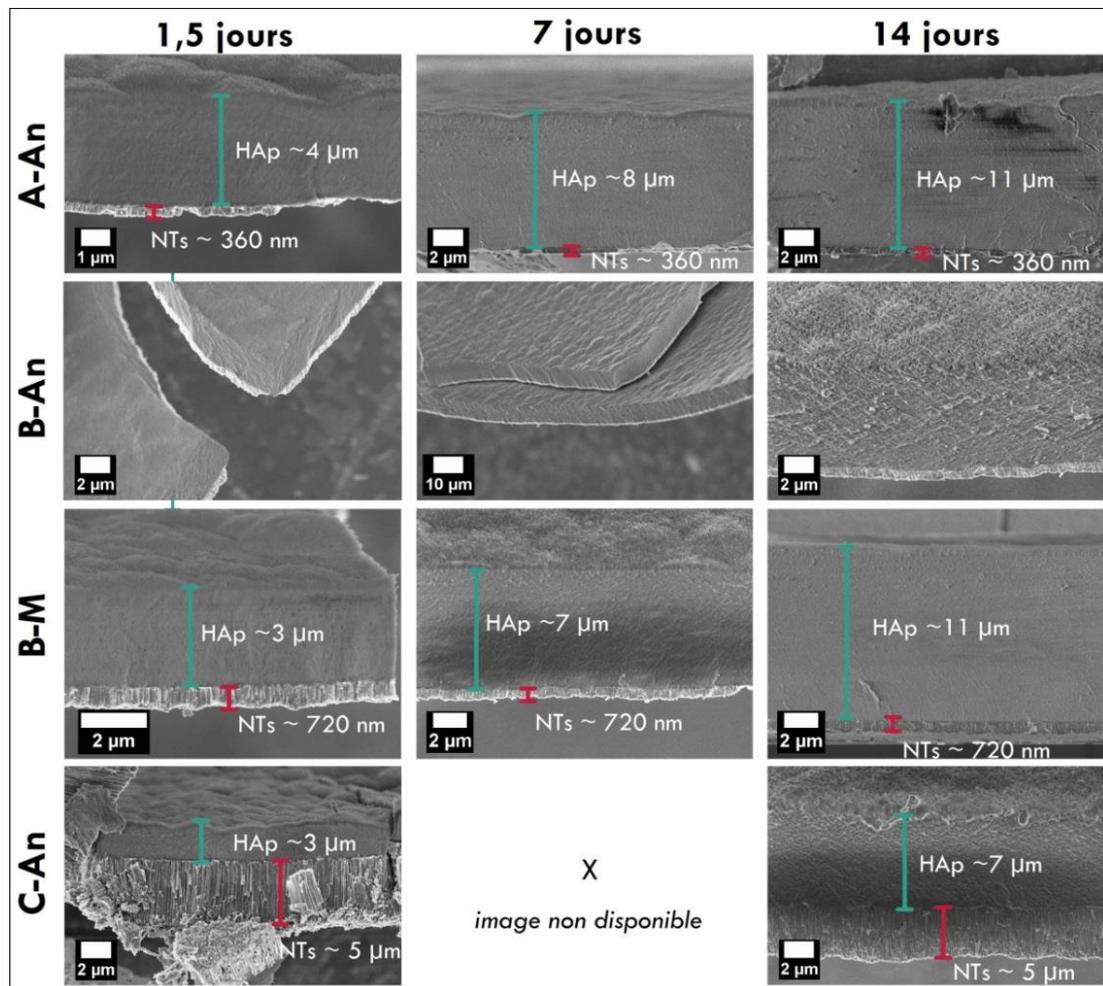


Figure 3.15. Observations MEB-FEG en vue transversale de la couche d'apatite déposée sur les échantillons A-An, B-An, B-M et C-An après 1,5, 7 et 14 jours d'immersion dans SBF.

Sur l'ensemble des échantillons présentés dans la **Figure 3.15** s'est déposée une couche dense d'apatite dont l'épaisseur croît avec le temps d'immersion. Après 1,5 jour, l'épaisseur du dépôt est de 3 à 4 μm , à 7 jours elle est de 7-8 μm et après 14 jours des épaisseurs d'une dizaine de μm sont relevées.

Ces épaisseurs sont remarquablement supérieures à celles rapportées dans la littérature. Hsu et al. [99] ont par exemple observé un dépôt d'environ 190 nm d'épaisseur sur des NTs de structure anatase de 35-53 nm de diamètre et 730 nm de long (assimilable à l'échantillon B-An de cette étude) après 14 jours d'immersion dans SBF. L'explication d'une telle différence peut résider dans la méthode de préparation, de manipulation et/ou de stockage de la solution SBF. En effet, comme énoncé dans les sections 3.1.1 et 3.1.3, elle est très instable et peut précipiter avant même d'être mise en contact avec un matériau bioactif. L'occurrence de ce phénomène définit notamment la quantité d'ions Ca et P restant en solution disponible pour interagir avec la surface, et expliquerait donc la disparité des épaisseurs de couche d'apatite mesurées lors des essais de bioactivité.

En outre, la **Figure 3.15** permet de se rendre compte que lorsque la couche d'apatite se détache de la surface, les nanotubes restent fixés au-dessous, ce qui atteste de l'importante force d'adhésion entre le dépôt minéral et la surface nanotubulaire. En effet, comme déjà bien établi dans la littérature, la présence de NTs augmente la force d'adhésion de l'apatite sur la surface [104,105]. De plus, Pittrof *et al.* [98] ont rapporté que le dépôt d'apatite sur des NTs de 100 nm de diamètre ne recouvre pas seulement la surface mais se forme également dans les NTs, créant ainsi une forte interconnexion mécanique entre les deux couches (ceci suggère également que les épaisseurs mesurées sur la **Figure 3.15** ne sont que des épaisseurs apparentes puisque une partie du dépôt peut être contenue à l'intérieur des nanotubes).

Ahmadi *et al.* [105] ont mesuré une force d'adhésion de $12,8 \pm 2,0$ MPa entre de l'hydroxyapatite électrodéposée et une surface plane de Ti6Al4V alors que les valeurs correspondantes pour une surface plane de TiO₂ et des NTs de TiO₂ sont respectivement de $19,2 \pm 4,0$ MPa et $23,1 \pm 4,0$ MPa. D'autre part, Kar *et al.* [106] ont montré que la force d'adhésion interfaciale entre de

l'hydroxyapatite électrodéposée et des NTs de TiO₂ est de l'ordre de 16-21 MPa. Les auteurs ont également observé qu'un traitement thermique à 450°C ou 600°C permet d'augmenter la force de liaison jusqu'à 32-37 MPa et 38-44 MPa respectivement.

La **Figure 3.16** présente des mesures permettant de compléter la caractérisation physico-chimique de la couche déposée sur les NTs cristallisés lors des essais de bioactivité.

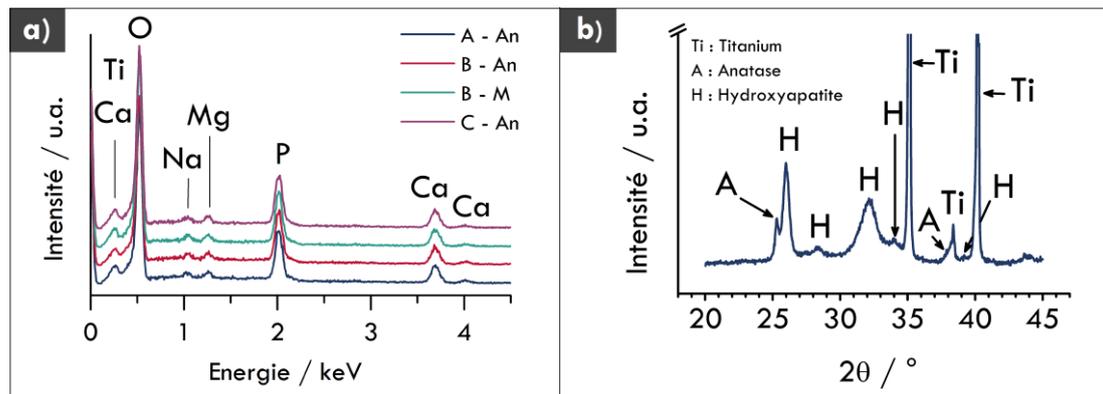


Figure 3.16. (a) Analyse chimique par EDS du dépôt observé après 14 jours d'immersion dans SBF sur les échantillons A-An, B-An, B-M et C-An. (b) Analyse par DRX de l'échantillon B-M après 7 jours dans SBF.

Ainsi, la **Figure 3.16a** montre les spectres EDS de quatre échantillons choisis arbitrairement après 14 jours d'essais : A-An, B-An, B-M et C-An. Les surfaces de ces quatre échantillons présentent la même composition chimique. Elles contiennent les éléments caractéristiques d'une couche d'hydroxyapatite, à savoir Ca, P et O. De plus, l'analyse chimique révèle la présence des éléments Mg et Na, ce qui est typique de l'apatite présente dans le corps humain. En effet, les ions Mg²⁺ et Na⁺ peuvent se substituer aux cations Ca dans les apatites naturelles. Il n'est pas rare que ces dernières présentent non seulement des traces de cations Mg²⁺ et Na⁺ mais aussi d'anions tels que CO₃²⁻, HPO₄²⁻, F⁻ et Cl⁻ [76,99,101,107]. La **Figure 3.16b** quant à elle présente le résultat d'une mesure par DRX pour l'échantillon B-M après 7 jours d'immersion dans SBF (choisi arbitrairement). Le pic diffus vers 32° est caractéristique de l'apatite qui peut se déposer lors des essais de bioactivité, c'est-à-dire avec une structure de faible cristallinité et contenant des défauts structurels

[12,76,99,101,107]. Ce pic est en fait assigné à la superposition de trois pics de diffraction résultant de l'interaction avec les plans (211) à 31,87°, (112) à 32,18° et (300) à 32,87° [108]. Le pic le plus intense vers 26°, caractéristique de l'hydroxyapatite, est quant à lui associé à la réflexion du plan (002) [108]. Grâce aux mesures EDS et DRX, il est finalement possible de confirmer que la couche déposée après immersion dans SBF est bien constituée d'hydroxyapatite, attestant de la bioactivité des surfaces investiguées.

Les résultats des **Figure 3.12** à **Figure 3.16** mènent à la conclusion que la présence de nanotubes de TiO₂, combinée à un traitement thermique qui entraîne leur cristallisation, permet le dépôt d'hydroxyapatite comparé à une surface en titane plane ou à des NTs amorphes, et permet ainsi d'améliorer drastiquement la bioactivité de la surface. Ces observations sont en parfait accord avec la littérature [76,97–99].

Cependant, à partir des **Figure 3.14** et **Figure 3.15**, il n'est pas vraiment possible d'évaluer l'influence exacte de la morphologie et de la structure cristalline des NTs sur la bioactivité. Les différents échantillons ne se distinguent pas les uns des autres. Afin d'évaluer quantitativement le dépôt d'apatite lors des essais de bioactivité, les échantillons ont été pesés avant et après immersion dans SBF (3 pesées à chaque fois). Les résultats sont présentés sur la **Figure 3.17**, où les valeurs des points de mesure correspondent à la différence des masses moyennes mesurées avant et après immersion, et où les barres d'erreur tiennent compte à la fois de l'écart-type issu de l'analyse statistique des mesures et de l'imprécision de l'appareil de mesure (balance de précision à 0,0001 g près).

Pour une meilleure exploitation des mesures, deux types de représentation sont choisies. La première (**Figure 3.17a-c**) consiste à représenter l'évolution du gain de masse d'apatite en fonction de la morphologie et la structure cristalline des NTs pour les 3 durées d'immersion : 1,5 jour (**a**), 7 jours (**b**) et 14 jours (**c**). La seconde représentation (**Figure 3.17d,e**) permet de visualiser la vitesse à laquelle s'est déposée l'apatite au cours de la 1^{re} et la 2^{de} semaine d'immersion, pour chaque type d'échantillon.

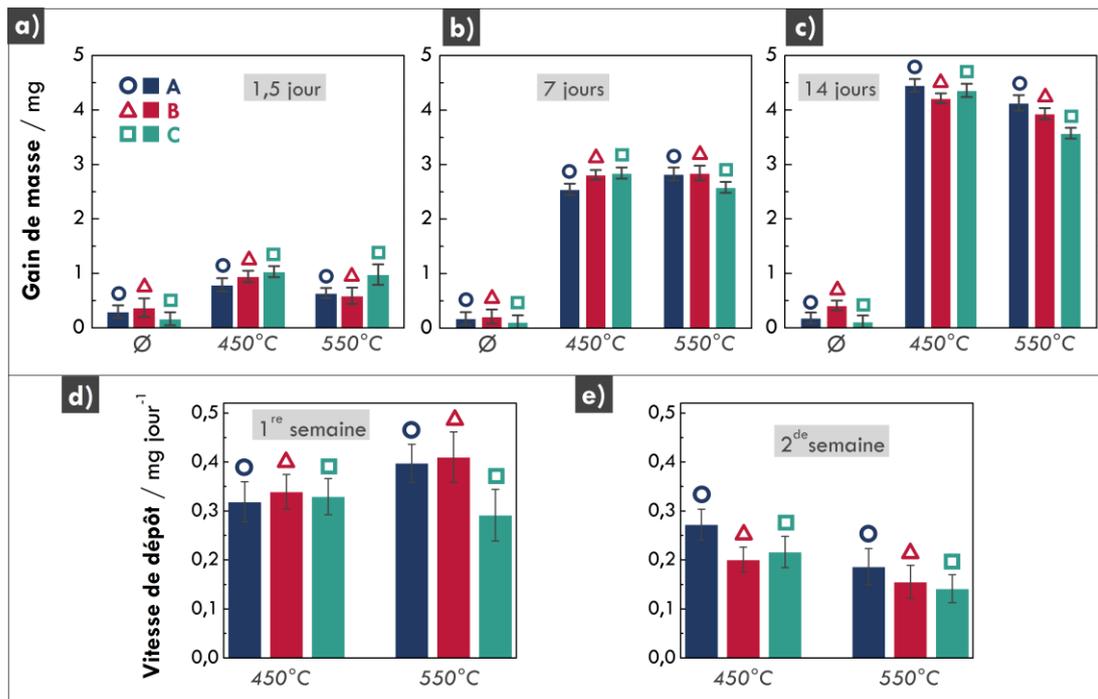


Figure 3.17. Evaluation quantitative de la bioactivité par pesée des échantillons de nanotubes de TiO₂ de morphologies A (○), B (△) et C (□), non recuits (∅), recuits à 450°C et 550°C. (a-c) Représentation de l'évolution du gain de masse de l'échantillon en fonction de chaque morphologie et structure cristalline pour 3 temps d'immersion dans SBF à 37°C : (a) 1,5 jour, (b) 7 jours et (c) 14 jours. (d,e) Evolution de la vitesse de dépôt d'apatite en fonction de la morphologie et la structure cristalline des NTs lors de la (d) 1^{re} semaine et la (e) 2^{de} semaine d'immersion en milieu physiologique.

Sur la **Figure 3.17c**, il est possible de voir qu'il n'y a pratiquement pas de dépôt d'apatite sur les NTs amorphes après 14 jours d'immersion, quelle que soit leur morphologie, ce qui est en accord avec les observations MEB-FEG de la **Figure 3.12**. Sur les NTs cristallisés en revanche, la quantité d'apatite croît avec le temps d'immersion. Le gain de masse est de l'ordre du mg après 1,5 jour et de l'ordre de 4-5 mg après 14 jours (**Figure 3.17a-c**). Cependant, la vitesse de dépôt a tendance à être ralentie la deuxième semaine d'immersion (**Figure 3.17d,e**).

Après 1,5 jour d'immersion (**Figure 3.17a**), les NTs sous forme anatase (450°C) ont tendance à induire un dépôt plus important que les NTs mixtes (550°C). De plus, plus les NTs sont longs, plus la masse déposée est importante. Après 7 jours dans SBF (**Figure 3.17b**), l'influence interdépendante de la morphologie et la structure cristalline se manifeste puisqu'il n'est pas possible de dégager des tendances claires pour l'un ou l'autre des facteurs.

Les échantillons **A-M**, **B-An**, **B-M** et **C-An** induisent un dépôt d'apatite de masses comparables et légèrement supérieures aux échantillons **A-An** et **C-M**.

Dans la première semaine d'essai (entre les mesures à 1,5 et 7 jours), les surfaces **A-M** et **B-M** affichent une vitesse de dépôt maximale environ égale à 0,40 mg jour⁻¹ (**Figure 3.17d**). Dans la seconde semaine, les vitesses de dépôt sont ralenties pour tous les échantillons mais les NTs anatase (450°C) maintiennent un taux de formation d'apatite légèrement supérieur aux NTs mixtes (550°C). De fait, après 14 jours d'immersion (**Figure 3.17c**), ce sont les NTs anatase qui induisent un dépôt d'apatite sensiblement plus important, avec un gain de masse d'environ 4,2 à 4,5 mg pour les 3 morphologies **A**○, **B**△ et **C**□ (contre 4,1 mg, 3,9 mg et 3,6 mg respectivement pour la structure mixte).

Les résultats présentés dans cette section montrent que de l'hydroxyapatite se forme spontanément à la surface des NTs lorsqu'ils sont immergés dans la solution SBF. On peut alors se demander quels processus rendent ce phénomène possible ; c'est l'objet du paragraphe suivant.

– Mécanisme de formation de l'hydroxyapatite sur les NTs de TiO₂ –

Dans un fluide physiologique, des groupements OH⁻ s'adsorbent à la surface du TiO₂ pour former des liaisons Ti-OH. Ces groupes hydroxyyles étant chargés légèrement négativement, il en résulte une attraction électrostatique des cations calcium, formant ainsi du titanate de calcium amorphe [97]. Avec le temps d'immersion, ce titanate de calcium interagit avec les ions phosphates PO₄³⁻ de la solution SBF pour former un composé amorphe de phosphate de calcium [109]. Ensuite, comme l'hydroxyapatite est le composé le plus stable des phosphates de calcium en milieu aqueux à pH 7,4, le dépôt en surface cristallise sous cette forme. Une fois formée, la couche cristalline d'apatite croît en consommant les ions calcium et phosphate de la solution SBF [109].

Kunze *et al.* [97] ont également expliqué que la très grande surface développée par les NTs permet la formation d'un plus grand nombre de liaisons –OH, responsables de l'initiation de la couche d'apatite [76], et augmentent donc le nombre de zones de nucléation. Pour les NTs non recuits, qui présentent plus de groupements OH que les NTs recuits, le taux de nucléation est élevé mais la croissance de la couche d'apatite n'est pas

homogène en raison de la structure amorphe de l'oxyde. Les NTs recuits permettent quant à eux la croissance d'une couche d'apatite dense et homogène [97].

Enfin, il est à noter ici que des traitements de surface supplémentaires existent pour accroître davantage la bioactivité des NTs de TiO₂. Par exemple, Oh *et al.* [102,110] ont montré qu'un traitement chimique alcalin (immersion dans une solution de NaOH) rend la surface plus bioactive. Zhang *et al.* [111] ont observé qu'une méthode d'imprégnation à partir d'une solution à base d'ions calcium, et préalablement assistée par un traitement par ultrasons, permet d'augmenter la quantité d'apatite déposée lors des essais de bioactivité. Kodama *et al.* [112] ont par ailleurs rapporté que le dépôt préalable d'hydroxyapatite synthétique promeut de façon significative la formation d'apatite. Très récemment, plusieurs études [70,104,113,114] ont révélé que le fait de doper cette hydroxyapatite synthétique avec de l'argent, du strontium ou des silicates, fournit un effet antibactérien supplémentaire. Zhang *et al.* [115] ont synthétisé par une technique d'auto-assemblage couche par couche (LBL, Layer By Layer) une structure originale faite d'un empilement de couches de polymère biocompatible (PLL, Poly-L-lysine) et/ou d'ADN, déposées sur les NTs de TiO₂. Cette architecture favorise à la fois la formation d'HAp et l'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules. Finalement, Dey *et al.* [101] ont démontré qu'une couche épaisse méso-poreuse de TiO₂ améliore significativement la formation d'apatite comparée à la structure tubulaire.

En résumé des essais de bioactivité, et en accord avec les observations présentes dans la littérature, il est possible de dire que la présence de NTs de TiO₂ cristallisés améliore notablement la bioactivité par rapport à une surface plane ou à des NTs amorphes. Une épaisse couche d'hydroxyapatite de structure similaire à une apatite naturelle, c'est-à-dire de faible cristallinité et contenant des contaminants tels que Mg ou Na, est présente sur l'ensemble des échantillons, quelle que soit la morphologie des NTs ou le traitement thermique appliqué. Ce dépôt mesure quelques μm d'épaisseur après 1,5 jour d'immersion dans SBF et atteint quelques dizaines de μm après 14 jours. Quant à la structure cristalline ou la morphologie la plus bioactive, l'étude montre qu'il n'est pas possible de tirer des conclusions générales. Le propos doit être nuancé en tenant compte des différentes étapes de croissance de la couche d'apatite notamment. Ainsi, après 1,5 jour en contact avec une solution physiologique, ce sont les NTs sous forme anatase qui entraînent le dépôt le plus important. A ce stade, ce sont les NTs anatase les plus longs qui sont les plus bioactifs (C-An). Ensuite, dans la première semaine, ce sont les NTs mixtes courts ou de longueur intermédiaire qui induisent la vitesse de formation d'apatite la plus élevée (A-M et B-M). A l'issue des 14 jours d'essai, ce sont de nouveau les NTs anatase qui présentent le plus fort gain de masse (notamment A-An et C-An).

3.2.3. Discussion

Afin de choisir la surface la plus adaptée pour des applications biomédicales, i.e. la surface présentant la meilleure biocompatibilité, il est nécessaire de baser la discussion sur des critères variés (résistance à la corrosion, bioactivité, propriétés mécaniques, réactivité chimique, stabilité thermique, ...).

Ainsi, le **Tableau 3.4** résume non seulement les différents résultats obtenus dans cette étude (repérés par *) mais répertorie également des observations complémentaires rapportées dans la littérature et décrites ci-après. Pour chaque critère, une note comprise entre -1 et 1 est attribuée aux différents échantillons (où la valeur 1 est synonyme de bonnes propriétés vis-à-vis du critère investigué, la valeur -1 indique une incompatibilité avec l'application et la valeur 0 est attribuée pour une situation intermédiaire). A noter que pour l'attribution du score final, le même poids est donné à chaque critère.

Le substrat Ti ainsi que les NTs amorphes ne sont pas inclus dans ce tableau car les mesures électrochimiques et les essais de bioactivité ont clairement montré leurs propriétés moindres par rapport aux NTs cristallisés.

Concernant tout d'abord les propriétés mécaniques des NTs de TiO₂ cristallisés (non investiguées dans les expérimentations menées au cours de ce travail de thèse mais renseignées par une revue de la littérature), il est intéressant de noter qu'il n'y a pas d'évolution majeure de la dureté et du module d'Young E lorsque les NTs passent de la forme amorphe à la structure anatase. Dans ce cas, l'ordre de grandeur de la valeur de la dureté est de 7,5-8 GPa et le module d'Young est compris dans la gamme 150-170 GPa. En revanche, l'apparition de la phase rutile entraîne une forte augmentation de la dureté et du module d'Young, soit respectivement ~ 17 GPa et ~ 260 GPa [12]. Ainsi, sachant que, d'une part, une plus haute dureté assure une meilleure résistance à l'usure, et, d'autre part, un plus faible module d'Young limite le phénomène de *stress-shielding* (le module d'Young de l'os est de l'ordre de 10-30 GPa), il semblerait que le mélange de ces deux phases soit un bon compromis du point de vue des propriétés mécaniques. D'autre part, le module d'Young apparent (du système substrat + NTs) diminue quand la longueur des NTs augmente [14].

De plus, Dey et al. [101] suggèrent que de trop longs NTs peuvent être mécaniquement instables et ainsi compromettre la viabilité de l'implantation *in vivo*. Le décollement de la couche anodisée (par simple séchage à l'air comprimé) a d'ailleurs été observé dans cette étude lors de la phase expérimentale d'optimisation des paramètres d'anodisation, pour des NTs de 8 µm et 15 µm de longueur (cf. section 2.2.3). A noter que pour la morphologie C, les NTs ne se décollent pas mais leur longueur de 5 µm peut être considérée comme valeur limite car proche des 8 µm cités précédemment.

Enfin, concernant les propriétés électriques et chimiques, la phase rutile est moins conductrice [72] et plus compacte [70] que la phase anatase, conférant ainsi une bonne résistance chimique et limitant la libération d'ions Ti dans le corps humain [70,75,116].

L'exploitation du **Tableau 3.4** révèle que c'est l'échantillon **B-M** qui obtient le meilleur score. En d'autres termes, la surface qui semble répondre le mieux aux critères de biocompatibilité est faite de nanotubes de type « bambou », d'environ 720 nm de long et 90 nm de diamètre, présentant une structure mixte d'anatase et de rutile.

Cependant, un critère majeur manque dans cette analyse, à savoir la réponse cellulaire engendrée par les différentes surfaces. En effet, pour qu'un matériau soit biocompatible, il ne doit pas provoquer la mort des cellules environnantes mais doit favoriser une meilleure adhésion, prolifération et différenciation de celles-ci. En ce sens, les résultats d'une étude préliminaire sont présentés dans la section suivante.

Tableau 3.4. Récapitulatif des points positifs et négatifs présentés par les différents échantillons de l'étude (les * permettent de repérer les résultats obtenus dans cette étude de ceux de la littérature).

		A-An	A-M	B-An	B-M	C-An	C-M
Propriétés thermiques *	Stabilité des NTs avec la T°	1	-1	1	1	1	1
Propriétés électrochimiques *	Noblesse (E_{corr})	0	0	0	1	1	1
	Passivité (i_{pass})	1	0	1	0	0	0
	Impédance ($ Z $ à BF)	1	0	0	1	0	0
Bioactivité *	Etape initiale (1,5 jour)	1	0	1	0	1	1
	Etape intermédiaire (7 jours)	0	1	1	1	1	0
	Etape finale (14 jours)	1	0	1	0	1	0
Propriétés mécaniques	Module d'Young E et Dureté	-1	0	-1	0	0	1
	Adhérence des NTs au substrat *	1	1	1	1	0	0
Propriétés chimiques	Résistance à la dissolution	-1	1	-1	1	-1	1
Score Total		4	2	4	6	4	5

3.2.4. Comportement des cellules au contact des NTs de TiO₂

Afin d'évaluer le comportement des cellules au contact des NTs de TiO₂, des essais préliminaires ont été conduits sur les échantillons B-Am, B-M, C-Am, C-M et sur le substrat Ti en tant que groupe de contrôle.

Ces expérimentations ont été menées dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire NaNoBio de l'Université de São José dos Campos (UniVap, Universidade do Vale do Paraíba) au Brésil. J'ai réalisé la synthèse des échantillons au LEPMI, en France, tandis que les essais cellulaires ont été menés par l'équipe du Brésil ; où j'ai pu me rendre pour observer la mise en place des essais. Le contenu de cette section est d'ailleurs le fruit du travail de Gabriela F. Santana-Melo, sous la supervision d'Anderson de Oliveira Lobo et Fernanda R. Marciano.

Une présentation vulgarisée des résultats de l'étude est proposée ci-après. Se référer à l'**Annexe 3** pour une exploitation plus technique et plus détaillée des résultats, ainsi que pour plus d'informations sur les conditions de réalisation des expérimentations.

o Culture cellulaire

La réponse cellulaire des biomatériaux peut être investiguée via différents types de cellules, incluant les ostéoblastes, les fibroblastes, les cellules endothéliales ou encore les cellules souches mésenchymateuses. Ici, des cellules de type ostéoblastes MG63 ont été mises en culture dans un milieu minimum essentiel de Eagle modifié, DMEM en anglais, pour *Dulbecco-Vogt modified Eagle's minimal essential medium* [70]. Il s'agit d'un milieu de culture cellulaire classique permettant de fournir suffisamment d'éléments nutritifs aux cellules. Ce dernier est maintenu à 37°C dans une atmosphère humide avec 5% de CO₂ et 95% d'air. Le milieu de culture est ensuite mis en contact avec les échantillons stérilisés, et le système est soumis à différentes mesures après différents temps d'incubation, en accord avec la norme ISO-10993-5 et selon les protocoles décrits dans la référence [117].

o Test MTT

Dans un premier temps, les échantillons sont soumis au test MTT [118]. Cette méthode, qui permet d'évaluer la croissance des cellules et la cytotoxicité de la surface, consiste à faire réagir les cellules vivantes avec un sel de tétrazolium (1h à 37°C) pour former un précipité de couleur violette. La quantité de précipité formé, mesurée par spectrophotométrie, est reliée à la quantité de cellules ayant survécu au contact de la surface d'étude. Ainsi, la **Figure 3.18** représente les mesures de densité optique à 570 nm à l'issu des tests MTT pour des périodes de culture cellulaire de 1, 3 et 7 jours. Les valeurs affichées correspondent aux moyennes (et à l'écart-type) de 5 mesures.

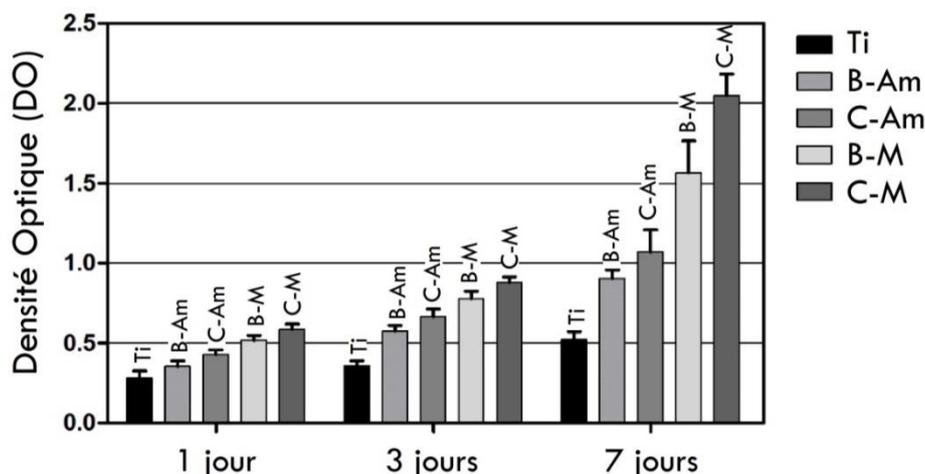


Figure 3.18. Test MTT sur les échantillons B-Am, B-M, C-Am, C-M et substrat Ti avec des cellules en culture depuis 1, 3 et 7 jours.

D'une part, tous les groupes montrent une amélioration de la viabilité des cellules avec le temps de culture (prolifération cellulaire). D'autre part, tous les échantillons avec NTs dénombrent plus de cellules viables que le substrat Ti. De plus, les couches cristallisées (B-M et C-M) sont plus favorables à la survie et la croissance des cellules que les couches amorphes (B-Am et C-Am). De même, pour une structure cristalline donnée, les échantillons de morphologie C permettent une prolifération des cellules supérieure à la morphologie B. D'une façon générale, ces observations sont plus évidentes pour des essais avec des cultures cellulaires de 7 jours (sauf pour les échantillons B-Am et C-Am qui ne présentent pas une différence significative d'un point de vue statistique).

o **Activité des phosphatases alcalines (PAL)**

La seconde expérimentation menée consiste à mesurer l'activité des phosphatases alcalines (PAL, ou ALP en anglais pour alkaline phosphatase activity). En effet, ces enzymes sont reconnues comme étant des marqueurs de l'activité des ostéoblastes et jouent un rôle dans la minéralisation squelettique [119]. En d'autres termes, ces essais sont un indicateur de la différenciation et la maturation des ostéoblastes. Ainsi, la **Figure 3.19** présente les mesures d'absorbance à 590 nm correspondant à l'activité des phosphatases alcalines à 5 jours de culture cellulaire (valeurs moyennes et écart-type pour 5 mesures).

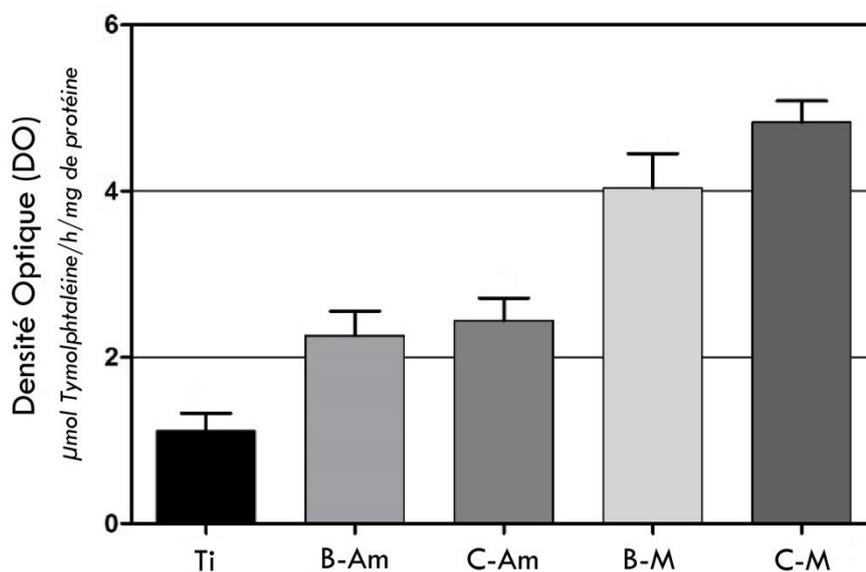


Figure 3.19. Test d'activité des phosphatases alcalines sur les échantillons B-Am, B-M, C-Am, C-M et substrat Ti à 5 jours de culture cellulaire.

Les échantillons B-Am et C-Am montrent une activité significativement augmentée par rapport au substrat Ti (cependant, la différence observée entre ces deux échantillons n'est pas considérée comme significative). La cristallisation des NTs entraîne une amélioration notable de l'activité des PAL, à la fois par rapport au substrat Ti et par rapport aux NTs amorphes. Finalement, c'est l'échantillon C-M qui présente la plus forte activité des phosphatases alcalines.

o **Coloration par l'alizarine rouge (ARS)**

La dernière expérimentation préliminaire menée pour caractériser le comportement des ostéoblastes en contact avec des NTs de TiO₂ implique l'utilisation d'un colorant rouge, l'alizarine. En anglais, la méthode est dénommé Alizarin Red Staining, ARS. La coloration rouge est en fait un indicateur de la présence de calcium, produit par les ostéoblastes matures, nécessaires à la minéralisation de la matrice extracellulaire [120]. Ainsi, la **Figure 3.20a-e** regroupe des observations microscopiques permettant de détecter la formation d'îlots de couleur rouge et la **Figure 3.20f** présente les résultats de spectrophotométrie à 405 nm à 14 jours de culture cellulaire (valeurs moyennes et écart-type pour 5 mesures).

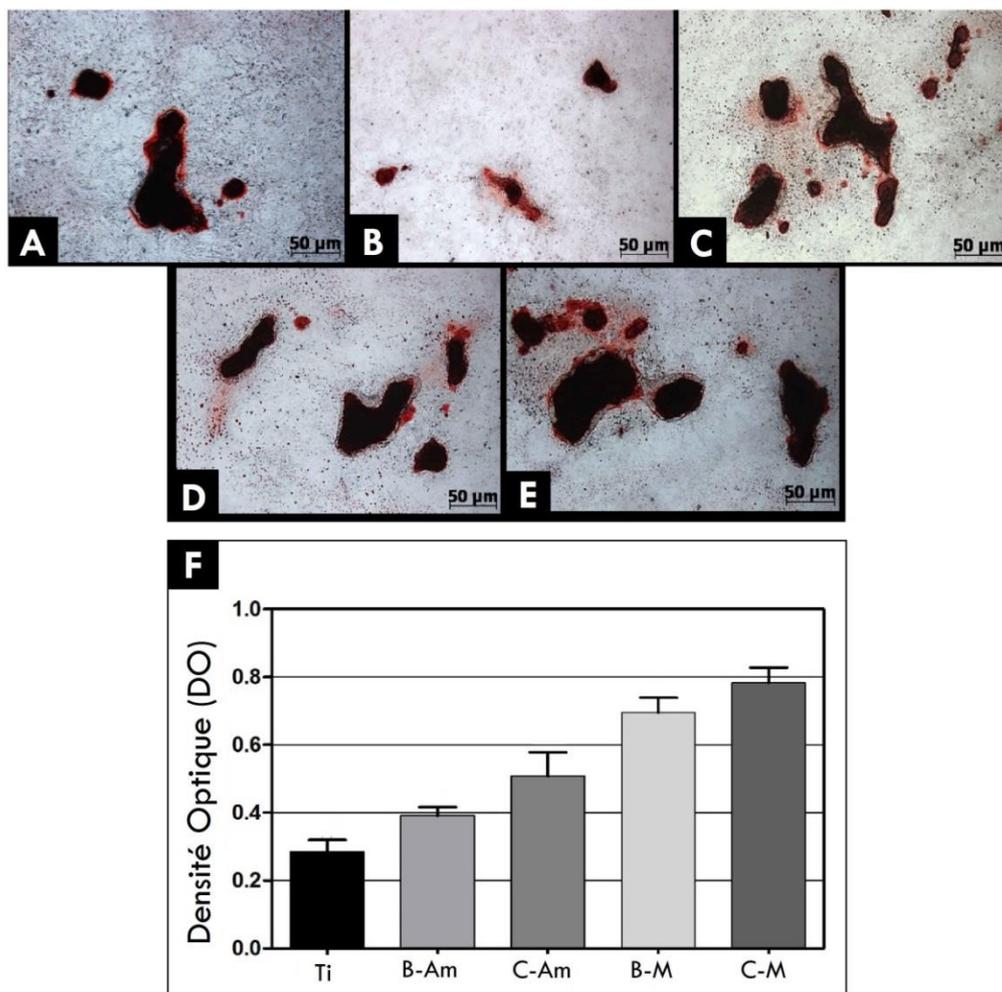


Figure 3.20. Test ARS sur les échantillons B-Am, B-M, C-Am, C-M et substrat Ti à 14 jours de culture cellulaire. (a-e) Observations microscopiques pour la détection d'îlots de couleur rouge et (f) Mesures de la densité optique.

Les observations microscopiques révèlent la présence de nodules de matrice minéralisée pour tous les groupes investigués. Cependant, les mesures d'absorbance mettent en évidence une quantité de calcium plus importante sur les échantillons avec NTs que sur le substrat. Plus précisément, les NTs cristallisés (B-M et C-M) sont plus favorables au processus de minéralisation que les NTs amorphes (B-Am et C-Am). Bien que la morphologie C présente une absorbance supérieure à la morphologie B dans le cas des NTs amorphes, cette conclusion ne peut pas être étendue au cas des NTs cristallisés car, statistiquement, les valeurs observées pour les échantillons B-M et C-M ne sont pas significativement différentes.

o Discussion

L'interaction des cellules avec le biomatériau joue un rôle primordial dans la réussite à long terme de l'implantation. L'un des paramètres définissant le comportement des cellules au contact du matériau est la topographie de sa surface [121]. L'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules seront largement favorisées par des surfaces nanométriques [11]. Ainsi, les nanotubes de TiO₂ constituent une surface de choix pour des applications biomédicales.

L'ensemble des expérimentations présentées précédemment mettent d'ailleurs en évidence que leur présence permet d'améliorer les interactions cellulaires comparé à un substrat en titane. Cette influence positive s'explique notamment par l'augmentation de la surface induite par la nano-texturation de la surface [122]. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux de la littérature [17,24,123–125].

Toujours en accord avec la littérature [24], les résultats indiquent que des nanotubes cristallisés permettent une meilleure prolifération, différenciation et minéralisation des ostéoblastes que des NTs amorphes.

He *et al.* [126] ont investigué le comportement des cellules sur des films de TiO₂ amorphe, anatase et rutile. Ils en ont conclu que c'est la phase anatase qui favorise le plus l'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules. Cependant, An *et al.* [127] ont mené des études similaires sur des NTs

amorphes, anatase et mixte. Ils observent une plus forte activité des cellules sur les structures mixtes (anatase + rutile). Dans notre cas, l'activité cellulaire est clairement meilleure pour une structure mixte que pour une structure amorphe, mais il n'est pas possible ici de trancher entre la structure mixte et la structure anatase car cette dernière n'a pas été incluse dans l'étude préliminaire.

Enfin, la morphologie des NTs a une influence sur la réponse cellulaire. A partir des résultats de cette étude, il semblerait qu'une augmentation de la longueur et du diamètre des NTs (ou de la surface spécifique) ait une influence positive sur l'activité des cellules (morphologie C > B). Comme évoqué plus haut, la topographie de la surface est un paramètre très largement discuté dans la littérature. Dans le cas des NTs de TiO₂, c'est le diamètre qui semble jouer un rôle déterminant dans les interactions cellulaires. Une étude de 2007 met d'ailleurs en évidence que la réponse des cellules mésenchymateuses y est très sensible. Un diamètre de 15 nm semble être la taille optimale pour favoriser l'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules tandis qu'un diamètre de 100 nm s'est avéré néfaste pour la survie des cellules [17]. Cependant, des études ont montré des résultats contradictoires, révélant par exemple que des diamètres de 70 à 100 nm semblent favoriser la différenciation des cellules par rapport à un diamètre de 30 nm [17]. Dans notre cas, comme exposé précédemment, il semblerait que des diamètres de 130 nm soient préférables à des diamètres de 90 nm.

En conclusion, les résultats des essais préliminaires menés dans le cadre de ce travail de thèse montrent que les NTs de TiO₂ n'induisent pas d'effets cytotoxiques sur des ostéoblastes de type MG63 avec le temps d'incubation. Leur présence est bénéfique comparé à une surface plane de titane. Plus particulièrement, les NTs cristallisés (structure mixte) permettent une meilleure croissance, différenciation et minéralisation des ostéoblastes par rapport aux NTs amorphes. De même, une augmentation du diamètre et de la longueur des NTs augmente l'activité cellulaire.

Pour une étude plus complète, il serait pertinent d'inclure l'ensemble des échantillons présentés dans ce manuscrit de thèse. Ainsi, il serait possible de définir laquelle des structures cristallines des NTs est la plus adaptée (anatase seulement ou un mélange d'anatase et de rutile). La comparaison des morphologies A, B et C permettrait également de savoir si l'augmentation de l'activité des cellules est proportionnelle au diamètre des NTs ou à la surface spécifique.

En conclusion de ce troisième chapitre, il a été montré que les NTs de TiO₂ présentent de nombreuses caractéristiques avantageuses pour des applications orthopédiques. Ils sont extrêmement résistants à la corrosion dans un milieu physiologique, sont très bioactifs et favorise même l'activité cellulaire. D'une façon générale, les NTs cristallisés démontrent de meilleures propriétés que les NTs amorphes.

Plus précisément, il a été montré dans cette étude que des surfaces de NTs cristallisés peuvent entraîner la formation d'une couche d'apatite de plusieurs dizaines de μm après 14 d'immersion dans une solution SBF. Il a également été mis en évidence que la structure anatase semble induire des dépôts plus épais que la structure mixte après 14 jours d'essais. En revanche, l'effet de la taille des NTs sur la formation d'apatite n'est pas si évident.

En effet, les essais de bioactivité, tout comme les caractérisations électrochimiques, ont permis de révéler l'existence d'une influence « mutuelle » de la morphologie et de la structure cristalline des NTs sur les propriétés de la surface. C'est-à-dire que les deux paramètres « morphologie » et « structure cristalline » ne sont pas indépendants ; il existe une interaction entre l'effet de la morphologie et l'effet de la structure cristalline sur la réponse investiguée. En d'autres termes, l'effet de la morphologie change en fonction de la structure cristalline, et vice versa.

Finalement, en tenant compte des aspects électrochimiques, de bioactivité, thermiques, mécaniques et chimiques, ce travail permet de conclure que des nanotubes présentant une structure mixte d'anatase et de rutilite d'environ 720 nm de long et 90 nm de diamètre constituent une surface optimale pour les applications visées (échantillon **B-M**).

Cependant, une problématique reste encore à traiter à ce stade de l'étude, celle de la modélisation des spectres d'impédance caractéristiques des NTs de TiO₂. Celle-ci permettrait de comprendre les phénomènes électrochimiques ayant lieu à l'interface et leurs liens avec la structure cristalline et la morphologie des NTs. Par conséquent, le quatrième et dernier chapitre de ce manuscrit sera dédié à la modélisation du comportement en impédance de la couche nanotubulaire immergée dans un milieu physiologique.

Chapitre 4



Focus sur la SIE : modélisation des spectres d'impédance des NTs de TiO_2 en milieu physiologique

Dans ce dernier chapitre, on propose de se focaliser plus particulièrement sur la technique de Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE). En effet, les surfaces de NTs de TiO₂ sont complexes et l'interprétation de leur réponse en impédance n'est pas triviale. Plus précisément, l'objectif est ici de modéliser, via un circuit électrique équivalent (CEE), les spectres d'impédance présentés dans le chapitre précédent afin d'aller plus loin dans la compréhension du comportement électrochimique des NTs de TiO₂ en milieu physiologique.

Ainsi, quelques généralités sur le principe de modélisation des mesures d'impédance seront présentées dans un premier temps. Puis, les différents circuits équivalents proposés dans la littérature seront passés en revue. Enfin, un nouveau modèle sera élaboré et son applicabilité au cas présent sera évaluée.

L'outil utilisé dans cette étude pour réaliser les différentes simulations et ajustements des paramètres d'impédance est le logiciel « Simad ». Il a été mis au point au laboratoire LISE de l'université Pierre et Marie Curie (UPMC) à Paris par P. Rousseau.

A noter que l'étude présentée dans ce chapitre a été publiée en Septembre 2017 dans le journal *Electrochimica Acta* sous le titre *Application of the transmission line model for porous electrodes to analyze the impedance response of TiO₂ nanotubes in physiological environment* [128].

4.1. Modélisation des résultats d'impédance par des circuits équivalents : généralités

Les réponses en impédance des systèmes électrochimiques peuvent être modélisées par des expressions analytiques mais aussi par des circuits électriques équivalents (CEE). La construction de ces CEE consiste à combiner en série et/ou en parallèle des éléments électriques tels que des résistances R, des capacités C ou des inductances L. A noter que l'élément L est indiqué ici mais ne sera plus évoqué par la suite car il n'est pas rencontré dans la présente étude. Pour rappel, le principe SIE est donné dans la section 3.1.2.3.

4.1.1. Impédance de circuits élémentaires

L'expression de l'impédance d'une résistance Z_R (Ω) est :

$$Z_R = R \quad (4.1)$$

Sa représentation dans le plan de Nyquist est un point positionné sur l'axe des réels, de valeur R (en Ω). L'impédance d'une résistance est indépendante de la fréquence.

L'expression de l'impédance d'une capacité Z_C est :

$$Z_C = \frac{1}{jC\omega} \quad (4.2)$$

Où ω est la pulsation telle que $\omega = 2\pi f$ et f est la fréquence (en Hz). La grandeur C désigne la valeur de la capacité (en F). Sa représentation dans le plan de Nyquist est une droite verticale positionnée le long de l'axe des imaginaires. L'impédance d'une capacité diminue avec la fréquence.

L'impédance d'un arrangement en série de deux impédances Z_1 et Z_2 (noté Z_1+Z_2) est :

$$Z = Z_1 + Z_2 \quad (4.3)$$

L'impédance d'un arrangement en parallèle de deux impédances Z_1 et Z_2 (noté Z_1/Z_2) est :

$$Z = \left[\frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_2} \right]^{-1} \quad (4.4)$$

Ces éléments élémentaires, ou groupement élémentaires, peuvent ensuite être combinés pour modéliser des interfaces réelles. Ainsi, des exemples de circuits équivalents décrivant différents types d'électrodes sont présentés dans la section suivante.

4.1.2. Impédance d'une électrode uniformément accessible

Dans le cas par exemple d'une électrode uniformément accessible, le potentiel total associé au système est égal à la somme du potentiel de l'interface et de la chute ohmique. Par conséquent, l'impédance totale résulte de l'association en série de l'impédance interfaciale Z_0 et de la résistance de l'électrolyte R_e , comme illustré sur la **Figure 4.1a**. L'impédance interfaciale Z_0 regroupe quant à elle les contributions en parallèle de l'impédance faradique Z_f et de l'impédance d'accumulation de charges, modélisée par une capacité de double couche C_{dc} (**Figure 4.1b**). Dans le cas où une unique réaction électrochimique a lieu sur l'électrode uniformément accessible, l'impédance faradique Z_f peut être représentée par une résistance de transfert de charges R_t (**Figure 4.1c**) [129]. L'expression de l'impédance d'un tel circuit électrique équivalent est :

$$Z = R_e + \frac{1}{\frac{1}{R_t} + j\omega C_{dc}} = R_e + \frac{R_t}{1 + j\omega R_t C_{dc}} \quad (4.5)$$

Sa représentation dans le plan de Nyquist est illustrée sur la **Figure 4.1c**. Le produit $R_t C_{dc}$ représente la constante de temps caractéristique du système.

A noter que lorsque la mesure d'impédance a lieu au potentiel de corrosion, l'impédance faradique totale Z_f correspond à l'association en parallèle des impédances anodiques et cathodiques.

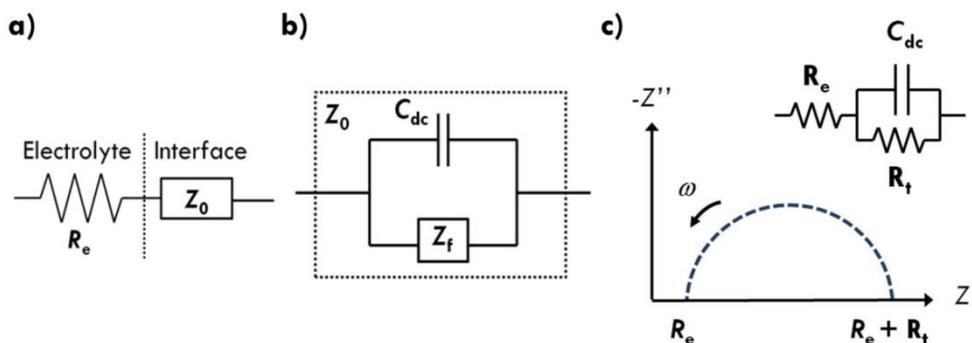


Figure 4.1. Modélisation de l'impédance dans le cas d'une électrode uniformément accessible. (a) Connexion en série de la résistance de l'électrolyte R_e et de l'impédance interfaciale Z_0 , (b) Impédance interfaciale Z_0 représentée par la connexion en parallèle de la capacité de double couche C_{dc} et de l'impédance faradique Z_f et (c) Représentation schématique du diagramme de Nyquist équivalent au CEE : $R_e + (C_{dc}/R_t)$ dans le cas d'une réaction simple à l'interface. Adapté de la référence [129].

4.1.3. Impédance d'une électrode recouverte d'un film

Si l'on considère maintenant le cas plus complexe où l'électrode est presque totalement recouverte d'un film inerte épais (couche passive, dépôt, ...), le circuit électrique équivalent doit être modifié en conséquence, comme illustré sur la **Figure 4.2**. On considère ici que seule la surface en fond de pore est réactive. La portion du circuit équivalent associé à cette dernière interface est similaire au cas présenté sur la **Figure 4.1b**, et consiste à associer en parallèle une capacité de double couche C_{dc} et une impédance faradique Z_f . Dans le pore, la résistance de l'électrolyte peut être différente de la résistance loin de la surface, elle est donc modélisée par une résistance de l'électrolyte dans le pore R_{ep} . Si le film déposé est un isolant électrique, il peut être modélisé par une capacité de film C_f , connectée en parallèle de l'impédance dans le pore [129]. Typiquement, les valeurs de C_{dc} observées sur un métal nu sont de 10-50 $\mu\text{F cm}^{-2}$ et les valeurs de C_f sont de l'ordre de quelques $\mu\text{F cm}^{-2}$ pour des oxydes métalliques. Enfin, la résistance de l'électrolyte R_e est connectée en parallèle de la chaîne décrite précédemment.

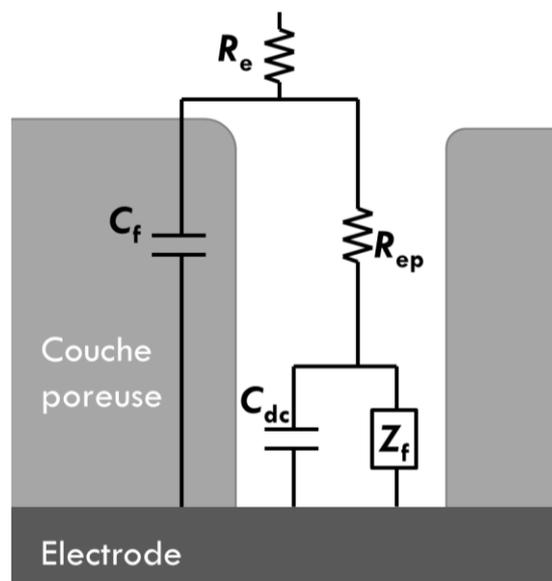


Figure 4.2. Représentation schématique du circuit électrique équivalent modélisant une électrode recouverte d'un film poreux. Adapté de la référence [129].

A noter d'autre part que si la cinétique de la réaction électrochimique en fond de pore est limitée par le transport de matière, le circuit équivalent présenté en **Figure 4.2** est toujours valide mais l'impédance faradique Z_f doit alors inclure une impédance de diffusion Z_d .

Les circuits équivalents présentés dans les sections 4.1.2 et 4.1.3 ne sont cependant applicables qu'aux électrodes idéales, i.e. pour lesquelles les phénomènes capacitifs sont modélisés par une capacité idéale. Pour les surfaces réelles, non-idéales, il est possible de modéliser ces mêmes phénomènes par une pseudo-capacité (appelée CPE).

4.1.4. Impédance des phénomènes capacitifs non-idéaux : introduction du CPE

Les interfaces réelles ne répondent que rarement de façon parfaitement capacitive. Expérimentalement, on constate une distribution de constantes de temps due par exemple à des hétérogénéités de structure, de réactivité, de constante diélectrique ou encore de résistivité [130]. Ainsi, dans le cas d'électrodes non-idéales, les phénomènes capacitifs peuvent être décrits par un « élément à phase constante », communément appelé CPE, pour *Constant-Phase-Element* en anglais. L'expression de son impédance est [131,132] :

$$Z_{\text{CPE}} = \frac{1}{Q (j\omega)^\alpha} \quad (4.6)$$

Où Q est un paramètre du CPE en $\text{F s}^{\alpha-1} \text{ cm}^{-2}$ et α est le second paramètre définissant le CPE. C'est un exposant sans unité qui peut mathématiquement être compris entre 0 et 1. Quand $\alpha=0$, l'élément est équivalent à une résistance et quand $\alpha=1$, l'élément est une capacité pure. Dans la pratique, on considère que la valeur de l'exposant est acceptable lorsque $0,6 < \alpha < 1$. L'équation (4.6) est représentative d'un système bloquant, avec une impédance infinie à basses fréquences. Sa représentation de Nyquist est une droite passant par l'origine formant un angle de $\alpha \times 90^\circ$ avec l'axe des réels.

Les variations de propriétés physiques peuvent être distribuées soit le long de la surface, soit de façon perpendiculaire (normale) à cette dernière [133]. Pour chacune des théories, il existe une relation reliant les paramètres Q et α à une capacité effective C_{eff} (en F cm⁻²).

A la première théorie (distribution surfacique de constante de temps) est associée la relation de Brug [133,134] :

$$C_{\text{eff}} (\text{Brug}) = Q^{1/\alpha} (R_e^{-1} + R_f^{-1})^{\alpha-1/\alpha} \quad (4.7)$$

La seconde théorie (distribution normale de constantes de temps) est décrite par la relation de Hsu-Mansfeld [133,135] :

$$C_{\text{eff}} (\text{H-M}) = Q^{1/\alpha} R_f^{(1-\alpha)/\alpha} \quad (4.8)$$

Pour un même couple α et Q, les formules de Brug et de Hsu-Mansfeld ne conduisent pas au même résultat. Le choix de la relation à appliquer dépend du système étudié [133]. En outre, il existe un troisième modèle permettant une interprétation des paramètres des CPE : le « Power-Law Model » [130]. Il ne sera cependant pas plus détaillé ici. Enfin, il est important de noter que considérer simplement la valeur de Q comme une valeur de C_{eff} ne constitue pas une interprétation pertinente des résultats [130].

Finalement, à partir de ces informations générales, il est possible de bâtir des CEE divers et variés pour modéliser les interfaces d'étude. Cependant, si les différents phénomènes qui composent la réponse en impédance ne se manifestent pas à des fréquences bien distinctes, la modélisation des résultats peut être non-triviale et conduire à des interprétations divergentes. Dans le cas des surfaces de NTs de TiO₂ par exemple, il existe une controverse dans la littérature quant à la modélisation de leur réponse en impédance. Ainsi, différents circuits électriques équivalents sont proposés dans la littérature. Cette diversité dans l'interprétation des résultats est discutée dans la section suivante.

4.2. Confrontation des modèles proposés dans la littérature avec les résultats expérimentaux

Divers circuits électriques équivalents sont proposés dans la littérature pour modéliser la réponse en impédance des nanotubes de TiO₂. La première explication à cela peut résider dans la diversité des conditions expérimentales, par exemple la nature de l'électrolyte, la température, la position des électrodes, etc. Dans le cas des NTs de TiO₂, la mesure peut également être très sensible à la topographie et la structure cristalline de la surface mais aussi à la luminosité ambiante. En effet, le TiO₂ étant un semi-conducteur photosensible, sa réponse électrique dépend grandement de la lumière [136]. Pour rappel, dans ce travail de thèse, les mesures d'impédance sont conduites à l'obscurité, à la fois pour reproduire les conditions du corps humain mais aussi pour s'affranchir de la contribution en impédance liée à la luminosité.

4.2.1. Revue des CEEs proposés dans la littérature

La **Figure 4.3** présente les CEE les plus fréquemment rencontrés dans la littérature pour modéliser la réponse en impédance des surfaces de NTs de TiO₂. La **Figure 4.3a** montre un circuit à deux constantes de temps dit « en série » largement utilisé, pour lequel R_o et Q_o sont respectivement attribués à la résistance et la pseudo-capacité de la couche poreuse externe (*i.e.* la couche de NTs) tandis que les éléments indexés « b » modélisent la couche barrière interne. Ce CEE est non seulement employé pour modéliser les NTs dans un milieu physiologique [56,137–139] mais aussi dans une solution de KOH pour des applications en électrolyse de l'eau [51]. Ce même modèle peut aussi être rencontré en remplaçant les CPE par des capacités idéales C [63,140]. Un autre circuit équivalent à deux constantes de temps dit « en cascade » largement employé est présenté en **Figure 4.3b**, pour lequel les paramètres se voient attribuer la même signification que pour le CEE de la **Figure 4.3a** [73,105,141].

Plus rarement, un modèle à trois constantes de temps mêlant enchainements en cascade et en parallèle est introduit [55,142], pour lequel, selon les auteurs de la dernière référence, Q_o représente la contribution capacitive des parois des tubes, R_{ep} est la résistance de l'électrolyte dans le pore, R_i et Q_i sont associés à l'interface en fond de pore et finalement Q_b et R_b modélisent la couche barrière (**Figure 4.3c**).

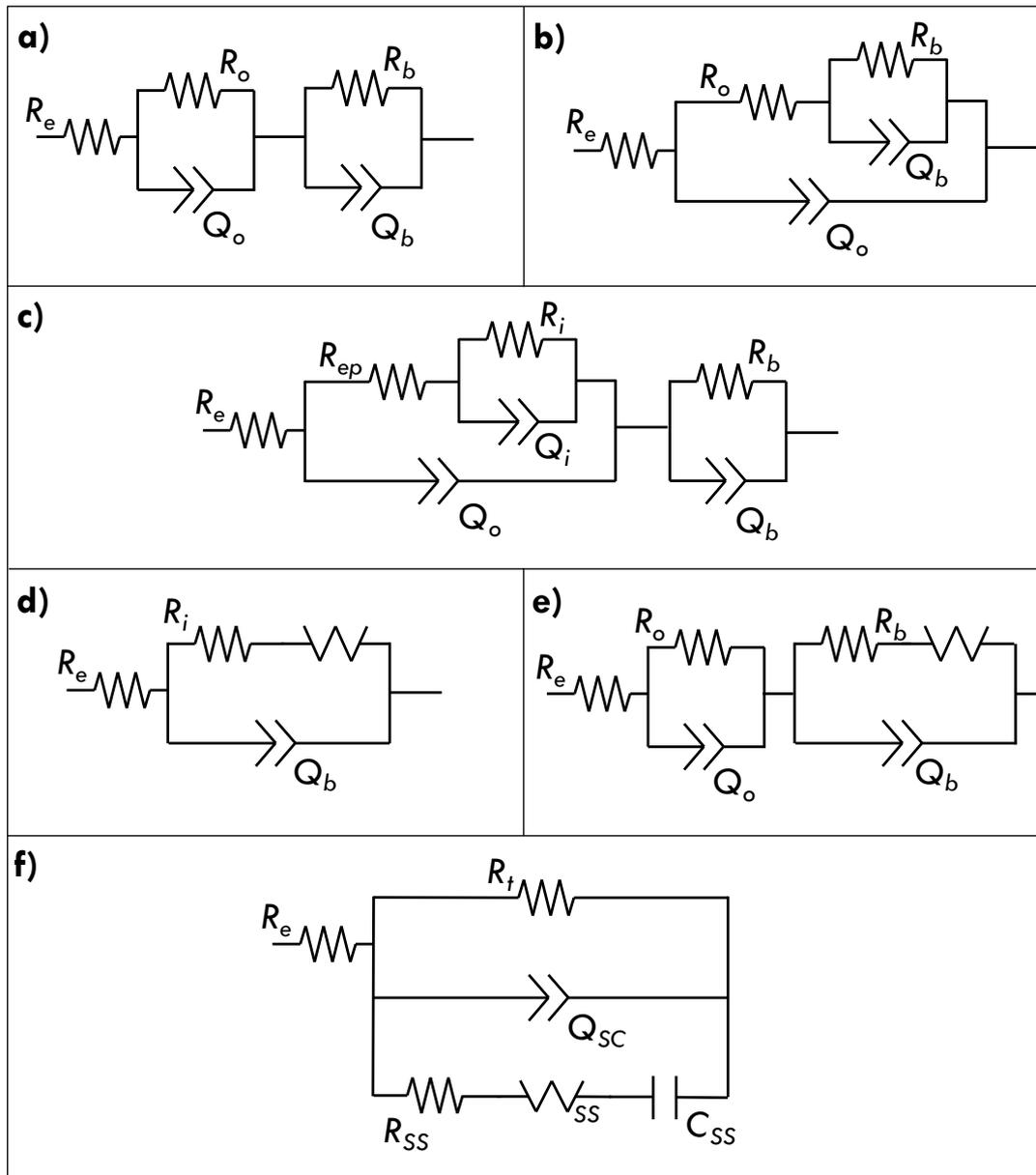


Figure 4.3. Représentation schématique des circuits électriques équivalents les plus fréquemment proposés dans la littérature pour modéliser l'impédance des NTs de TiO_2 .

Certains auteurs ont également proposé d'introduire dans leurs CEE un élément de Warburg (W), associé à une impédance de diffusion. Ainsi, Hernandez-Lopez *et al.* [58,143] ont suggéré le modèle représenté sur la **Figure 4.3d** tandis que Munirathinam *et al.* [75,91,144] ont utilisé le CEE de la **Figure 4.3e**. Finalement, Atyaoui *et al.* [145], qui ont étudié les NTs de TiO₂ pour des applications photocatalytiques, et qui se sont donc concentrés sur les propriétés semi-conductrices du matériau, ont proposé le circuit de la **Figure 4.3f**, pour lequel R_t est la résistance de transfert de charge, Q_{SC} représente la zone de charge d'espace du semi-conducteur (SC) et l'enchaînement en série $R_{SS}+W_{SS}+C_{SS}$ modélise les états de surface (défauts ponctuels du semi-conducteur). D'autres études sur les propriétés semi-conductrices des NTs de TiO₂ ont proposé des circuits équivalents incluant un arrangement en parallèle d'un élément C_{SC} et de plusieurs groupements $R_{SS}+C_{SS}$, où C_{SC} est la capacité de charge d'espace du SC et $R_{SS}+C_{SS}$ modélisent les niveaux donneurs discrets [146,147].

4.2.2. Discussion

Dans la plupart des publications citées précédemment, où les mesures d'impédance sont effectuées sous illumination, les représentations de Nyquist présentent un spectre en forme de demi-cercle (ou de demi-cercle aplati, ou de portion de demi-cercle), ce qui est la signature typique des CEE à base d'arrangements R/C (ou R/Q). Cette observation justifie donc l'emploi de CEE comme ceux présentés sur la **Figure 4.3** pour modéliser les NTs de TiO₂.

Cependant, dans ce travail de thèse, les mesures sont conduites à l'obscurité et les représentations de Nyquist ne sont pas caractérisées par des demi-cercles mais plutôt par une droite inclinée à basses fréquences qui tend vers l'infini et une portion distordue à hautes fréquences inclinée de près de 45° (comme présenté et commenté dans la section 3.2.1.3). La référence [146] montre d'ailleurs l'influence de l'illumination sur la réponse en impédance des NTs immergés dans une solution de Na₂SO₄ : dans le noir la partie BF est une droite inclinée alors que sous illumination elle tend à boucler sur l'axe des réels.

Dans notre cas, comme l'électrolyte est moyennement agressif et que les mesures sont effectuées dans le noir, la réponse en impédance est plutôt du type d'une électrode bloquante (l'impédance tend vers l'infini quand $\omega \rightarrow 0$) [129]. Cette réponse quasi purement pseudo-capacitive (i.e. associée à un simple CPE et non à une boucle R/Q) reflète donc plutôt la contribution de la morphologie que de la réactivité de la surface.

En ce sens, modéliser les résultats d'impédance de cette étude avec des CEE « classiques » comme évoqués précédemment ne semble pas pertinent. D'ailleurs, les essais d'ajustement préliminaires réalisés au cours de ces travaux avec l'un ou l'autre des circuits présentés dans la **Figure 4.3** n'ont pas donné satisfaction ; les erreurs d'ajustement sont grandes et les valeurs des paramètres obtenues sont aberrantes (le paramètre α est très inférieur à 0,6 par exemple).

Un modèle reposant sur une théorie différente doit donc être proposé pour modéliser les NTs de TiO₂ en milieu physiologique. L'allure des représentations de Nyquist issues de cette étude pouvant être assimilée, en première approche, au comportement des électrodes poreuses comme décrites initialement par De Levie [148], c'est cette voie qui a été explorée. Plus précisément, cette étude repose sur le modèle d'électrode poreuse généralisé proposé par Bisquert [149] et impliquant une ligne de transmission. Cet auteur a d'ailleurs déjà montré son applicabilité pour la modélisation de dépôts poreux de TiO₂ réalisés en vue d'applications solaires ou en photoélectrocatalyse [150–152]. Le modèle a également été utilisé par d'autres groupes pour analyser les mesures d'impédance de film poreux de TiO₂ pour cellules solaires à pigments photosensibles (DSSCs) [153,154].

A notre connaissance, le modèle de ligne de transmission a été proposé une fois pour modéliser des NTs de TiO₂ anodisés en vue d'applications pour la photoélectrolyse de l'eau [155], mais jamais pour des applications biomédicales, c'est-à-dire dans un milieu physiologique. La suite de ce chapitre sera donc dédiée à l'étude du modèle d'électrode poreuse, et plus précisément du modèle de ligne de transmission, appliqué pour la première fois au cas des NTs de TiO₂ dans un environnement physiologique.

4.3. Modèle d'électrode poreuse et ligne de transmission

4.3.1. Le modèle d'électrode poreuse de De Levie

Dans les années 60 à 90, De Levie [148,156–159] a proposé une théorie pour modéliser le comportement en impédance des électrodes poreuses. Dans son modèle, il considère un arrangement en parallèle de pores cylindriques identiques de longueur L (comme schématisé sur la **Figure 4.4**), idéalement remplis par l'électrolyte et le long desquels la résistivité de la solution est indépendante de la position x . La conductivité de la phase solide est supposée infinie (comportement métallique) et il est admis que seules les parois des cylindres sont électrisées, les surfaces externes ainsi que les fonds des pores sont non-conducteurs [160] (voir **Figure 4.4**). De plus, aucun gradient axial n'est considéré et la chute ohmique est négligée. L'expression analytique de l'impédance d'un pore $Z_{\text{De Levie}}$ est alors exprimée par [161] :

$$Z_{\text{De Levie}} = (R_0 Z_0)^{1/2} \coth \left(L \sqrt{\frac{R_0}{Z_0}} \right) \quad (4.9)$$

Où R_0 (en $\Omega \text{ cm}^{-1}$) et Z_0 (en $\Omega \text{ cm}$) sont respectivement la résistance de l'électrolyte dans le pore et l'impédance interfaciale, pour une unité de longueur de pore.

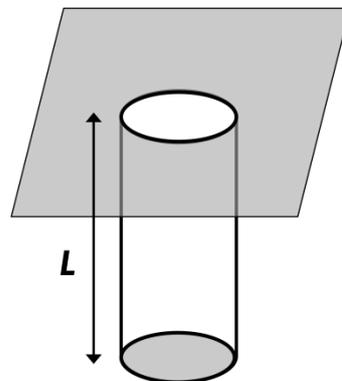


Figure 4.4. Représentation schématique d'un pore cylindrique en accord avec le modèle de De Levie. Les zones grisées sont non conductrices. Adapté de la référence [160].

A noter que R_0 et Z_0 peuvent être exprimés en fonction du rayon des pores r [161] :

$$R_0 = \frac{\rho}{\pi r^2} \quad (4.10)$$

$$Z_0 = \frac{Z_{eq}}{2\pi r} \quad (4.11)$$

Où ρ est la résistivité de l'électrolyte (en Ω cm), Z_{eq} est l'impédance interfaciale par unité de surface (en Ω cm²).

L'impédance expérimentale totale d'une électrode poreuse Z_{exp} (en Ω) est alors donnée par :

$$Z_{exp} = \frac{Z_{De\ Levie}}{N} \quad (4.12)$$

Où N est le nombre de pores.

Par conséquent, l'impédance expérimentale d'une électrode poreuse dépend fortement de la morphologie des pores, *i.e.* de leur ratio longueur/largeur et de leur densité (leur nombre).

Dans son modèle, De Levie [148,157] a également affirmé que l'équation (4.9) est également valide dans le cas où la résistance de l'électrolyte (par unité de longueur de pore) est négligeable comparée à celle de l'électrode. Dans ce cas, R_0 renvoie à la résistance de l'électrode et c'est donc la morphologie des parois des pores (*i.e.* leur longueur et leur épaisseur) qui joue un rôle majeur. Cette affirmation a été démontrée expérimentalement par Cattarin *et al.* [162].

L'applicabilité du modèle de De Levie a par ailleurs été démontrée expérimentalement par Candy *et al.* [96] pour des matériaux poreux à base d'or. Barcia *et al.* [161,163] ont plus récemment démontré la pertinence de ce modèle pour l'étude de la corrosion de la fonte dans l'eau potable ou encore de l'électrodissolution du cuivre dans une solution d'acide chlorhydrique 1M. En

effet, dans le premier cas, la corrosion de la fonte mène à la formation en surface d'une couche poreuse de rouille (porosité de l'ordre du μm) alors que dans le second cas l'électrodissolution du métal entraîne la formation de pores dans le cuivre de l'ordre de quelques dizaines de μm de long et quelques μm de diamètre.

Enfin, à propos de l'équation (4.9), quand Z_0 est purement capacitive (modélisée par une simple capacité idéale C), due à la capacité de double couche, le modèle prédit que la représentation de l'impédance dans le plan complexe de Nyquist consiste en une droite inclinée à 45° à hautes fréquences et en une droite verticale aux basses fréquences (comme sur la **Figure 4.6a**) [160]. Cependant, les spectres d'impédance expérimentaux sont souvent distordus comparés au cas idéal présenté précédemment, ce qui est d'ailleurs le cas dans la présente étude (se reporter à la **Figure 3.8**). La branche verticale à BF peut en fait être inclinée et la droite à HF peut être courbée et/ou pas exactement inclinée à 45° . Pour modéliser de tels résultats expérimentaux, il faut donc considérer un modèle plus complet.

4.3.2. Modélisation des électrodes poreuses par une ligne de transmission

Pour expliquer le comportement en impédance des électrodes poreuses non idéales, Bisquert [149] a développé un modèle amélioré et généralisé faisant intervenir le concept de ligne de transmission. Le point de départ est le même que pour le modèle de De Levie, c'est-à-dire que les pores sont considérés comme cylindriques, de longueur finie L , déposés sur un substrat conducteur, et immergés dans un électrolyte [149].

Comme la structure poreuse implique une distribution du courant dans différentes directions de l'espace [150], elle ne peut pas être modélisée par un arrangement classique en série ou en parallèle d'éléments R-L-C. Le type de circuit équivalent qui peut s'appliquer dans ce cas est une ligne de transmission, comme illustrée sur la **Figure 4.5**.

Les éléments χ_1 et χ_2 décrivent respectivement le mode de transport dans la phase liquide et dans la phase solide (à noter que la partie du CEE décrivant la phase liquide pourra également être appelée « canal 1 », et respectivement pour la phase solide « canal 2 »). L'élément ζ représente l'impédance interfaciale (*solution | solide poreux*, i.e. l'interface *SBF | anatase*). Z_A et Z_B sont associés aux conditions aux limites (terminaison mathématique de la ligne de transmission), et peuvent profondément affecter la réponse totale en impédance. Plus précisément, Z_A est l'impédance provenant de l'interface externe *solution | solide poreux* alors que Z_B décrit l'interface *solution | substrat* au fond des pores. L'expression analytique complète d'une telle ligne de transmission est [149] :

$$Z = \frac{1}{\chi_1 + \chi_2} \left[\lambda(\chi_1 + \chi_2)S_\lambda + (Z_A + Z_B)C_\lambda + \frac{1}{\lambda(\chi_1 + \chi_2)} Z_A Z_B S_\lambda \right]^{-1} \quad (4.13)$$

$$\times \left\{ \begin{aligned} & L\lambda\chi_1\chi_2(\chi_1 + \chi_2)S_\lambda + \chi_1[\lambda\chi_1 S_\lambda + L\chi_2 C_\lambda]Z_A + \chi_2[\lambda\chi_2 S_\lambda + L\chi_1 C_\lambda]Z_B \\ & + \frac{1}{\chi_1 + \chi_2} \times \left[2\chi_1\chi_2 + (\chi_1^2 + \chi_2^2)C_\lambda + \frac{L}{\lambda}\chi_1\chi_2 S_\lambda \right] Z_A Z_B \end{aligned} \right\}$$

Où $C_\lambda = \cosh(L/\lambda)$, $S_\lambda = \sinh(L/\lambda)$ et $\lambda = [\zeta/(\chi_1 + \chi_2)]^{1/2}$.

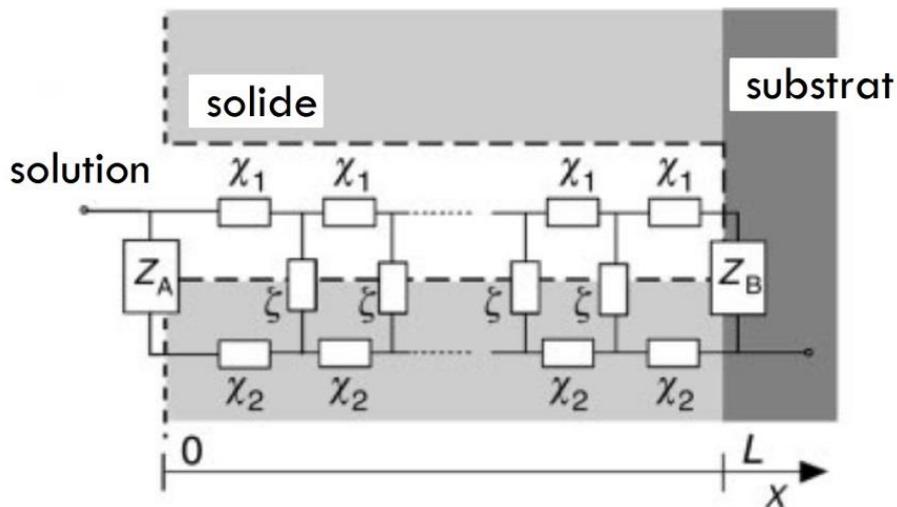


Figure 4.5. CEE modélisant un pore cylindrique de longueur L . χ_1 et χ_2 représentent respectivement le mode de transport distribué dans la phase liquide et dans la phase solide, ζ décrit l'impédance interfaciale distribuée sur toute la surface poreuse, Z_A est associé à l'impédance de l'interface externe *solution | solide* et Z_B est employé pour décrire l'interface interne *solution | substrat*. Reproduit de la référence [149].

4.3.2.1. Simplification du modèle

L'équation (4.13) étant non triviale et comportant trop de paramètres pour que le calcul aboutisse à des valeurs d'ajustement cohérentes, il est possible d'émettre certaines hypothèses afin de la simplifier. Premièrement, il est possible de court-circuiter un canal. C'est le cas par exemple lorsque le matériau poreux est métallique. La résistance interne du matériau est alors négligeable devant la résistance de l'électrolyte et le canal 2 peut être considéré comme équipotentiel. On peut ainsi admettre que $\chi_2 = 0$.

Deuxièmement, lorsque les conditions aux limites n'ont pas d'influence sur la réponse en impédance, i.e. lorsque ce sont des limites dites bloquantes (absence de courant aux interfaces), le formalisme suivant peut être adopté [149] :

$$Z_{\text{limite}} \rightarrow \infty \quad (\text{à toutes les fréquences}) \quad (4.14)$$

Ainsi, lorsque l'un des canaux est court-circuité ($\chi_2 = 0$ par exemple) et que les deux conditions aux limites Z_A et Z_B sont bloquantes, l'équation (4.13) est simplifiée et devient [149] :

$$Z = \lambda \chi_1 \coth \left(\frac{L}{\lambda} \right) \quad (4.15)$$

Avec $\lambda = [\zeta / \chi_1]^{1/2}$. La même expression s'applique, en inversant les indices, lorsque $\chi_1 = 0$ au lieu de χ_2 .

4.3.2.2. Simulations dans le cas où la phase solide est court-circuitée

Cas a. Dans des conditions où l'équation (4.15) s'applique, si le canal 1 est modélisé par une distribution de résistances ($\chi_1 = r_1$, avec la résistance totale du canal modélisant l'électrolyte égale à $R_1 = L r_1$) et l'impédance interfaciale est purement capacitive ($\zeta = 1 / j c_3 \omega$, avec la capacité interfaciale totale égale à $C_3 = L c_3$), alors le modèle est équivalent à celui de De Levie (cf. section 4.3.1). La représentation de Nyquist consiste alors en une portion de droite inclinée à 45° à HF et une droite verticale à BF (cas a de la **Figure 4.6**).

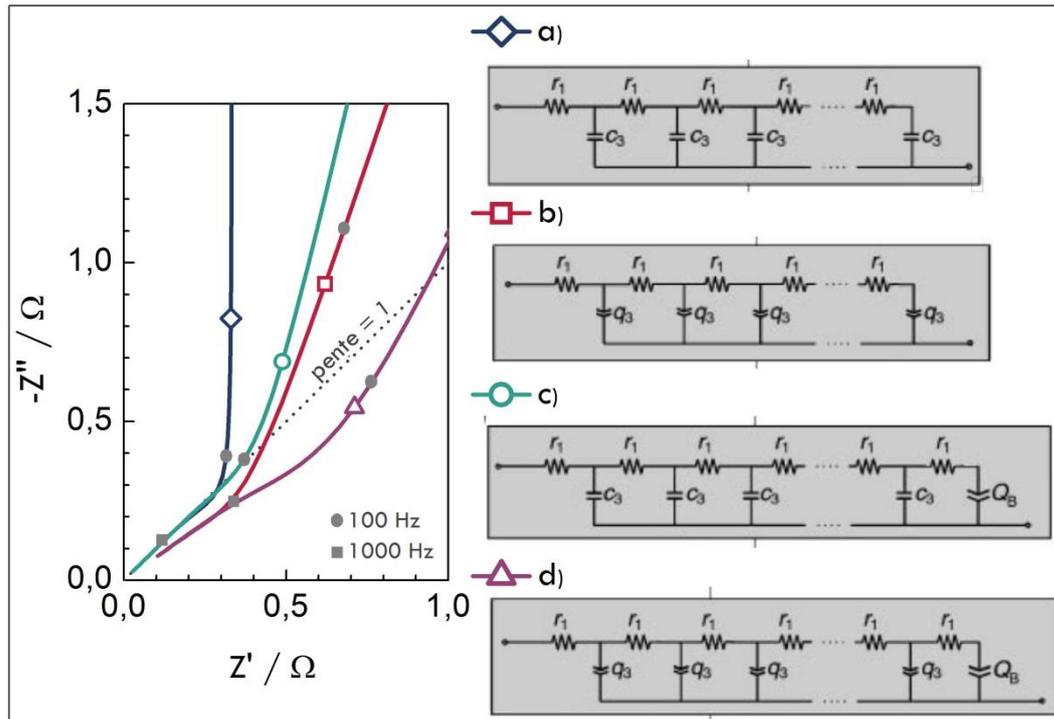


Figure 4.6. Représentations de Nyquist issues de différentes simulations d'électrodes poreuses et schémas des lignes de transmission associées, en accord avec le modèle de la **Figure 4.5**. La résistance de la phase solide est négligée ($\chi_2=0$) et $R_1=1 \Omega$, en considérant une longueur de pore $L = 1 \mu\text{m}$ et donc $r_1 = 10^4 \Omega \text{ cm}^{-1}$. (a) Cas a, $C_3 = 5 \text{ mF}$; (b) Cas b, $Q_3 = 5 \text{ mF s}^{\beta-1}$, $\beta = 0,8$; (c) Cas c, $C_3 = 5 \text{ mF}$, $Q_B = 10 \text{ mF s}^{n-1}$, $n = 0,7$; (d) Cas d, $Q_3 = 5 \text{ mF s}^{\beta-1}$, $\beta = 0,8$, $Q_B = 10 \text{ mF s}^{n-1}$, $n = 0,7$. Adapté de la référence [149].

Cas b. Si l'impédance interfaciale ζ est maintenant modélisée par un CPE, **Eq. (4.16)**, pour caractériser des parois de pore non-idéales et/ou non homogènes par exemple, l'allure du diagramme de Nyquist est modifiée et correspond au cas b de la **Figure 4.6**. La portion de droite à HF est inclinée à un peu moins que 45° et la branche à BF est inclinée également. La particularité de ce modèle est que la pente de la droite à BF est égale au double de celle à HF [150].

$$\zeta = \frac{1}{q_3} (j\omega)^{-\beta} \quad (4.16)$$

Où q_3 est une constante et $0,6 < \beta < 1$. La pseudo-capacité totale est donnée par $Q_3 = L q_3$ (en $\text{F s}^{\beta-1}$), où L est la longueur des pores, en cm.

Cas c et d. Le caractère bloquant des limites, c'est-à-dire l'absence de courant à travers l'interface, est maintenue tant que Z_A et Z_B tendent vers l'infini pour $\omega \rightarrow 0$. Cependant, avec l'augmentation de la fréquence, l'impédance des limites peut manifester une dépendance en fréquence. Ainsi, un courant peut traverser l'interface *électrolyte|substrat* (par exemple un courant capacitif) en régime alternatif même s'il est inexistant en régime stationnaire continu [149]. Si c'est le cas, la terminaison mathématique de la ligne de transmission est différente des cas a et b. C'est pourquoi Bisquet [149] propose d'ajouter en fin de ligne de transmission les impédances limites Z_A et Z_B .

Cependant, comme dans l'étude de Bisquet [149] l'accent est mis plus particulièrement sur l'influence de Z_B , l'impédance Z_A sera dorénavant toujours décrite par l'équation (4.14), i.e. considérée bloquante.

Cas c. Si l'impédance interfaciale ζ est équivalente à une capacité idéale ($\zeta = 1/jc_3\omega$) et que l'interface *électrolyte|substrat* Z_B est non bloquante et représentée par un CPE (Q_B), d'équation (4.17), alors l'allure du spectre est telle que décrite par le cas c de la **Figure 4.6**. La partie à hautes fréquences se superpose au cas a et présente une droite de pente égale à 1. La présence de Z_B n'altère que les basses fréquences, où le spectre est une droite inclinée et légèrement incurvée.

$$Z_B = \frac{1}{Q_B} j\omega^{-n} \quad (4.17)$$

Où Q_B et n sont les deux paramètres du CPE avec n tel que $0,6 < n < 1$.

Cas d. Finalement, si l'on considère que les deux impédances ζ et Z_B sont représentées par un CPE, l'allure du diagramme de Nyquist est telle que présentée par le cas d de la **Figure 4.6**. La branche BF est inclinée et la partie HF est une droite formant un angle inférieur à 45° avec l'axe des réels. Dans ce cas, la pente à BF n'est plus le double de celle à HF. De plus, il est possible d'observer une distorsion du spectre aux moyennes fréquences.

De ces observations, Bisquert [149] a émis le critère suivant pour déterminer quel modèle est le plus approprié pour décrire l'électrode poreuse investiguée :

- o Si la pente à hautes fréquences est égale à 1, la dispersion en fréquence provient de l'impédance en fond de pore Z_B (ζ est une capacité idéale et Z_B un CPE). Si la pente à HF est inférieure à 1, et que la pente à BF à une valeur double, alors la dispersion provient seulement des parois des pores (ζ est un CPE et $Z_B \rightarrow 0$). Finalement, si la pente à BF n'est pas égale au double de celle à HF, alors la dispersion provient à la fois de l'impédance interfaciale et de l'impédance en fond de pore (ζ et Z_B sont modélisées par des CPEs).

Toutefois, les conclusions précédentes sont établies en considérant que $\chi_2 = 0$, c'est-à-dire que la phase solide est beaucoup plus conductrice que la phase liquide. Cependant, si la résistance de transport provient principalement de la phase solide (comme pour un semi-conducteur ou un film polymère par exemple) c'est la phase liquide qui doit être court-circuitée ($\chi_1 = 0$).

4.3.2.3. Simulations dans le cas où la phase liquide est court-circuitée

Si la phase liquide est court-circuitée et que le transport limitant a lieu dans la phase solide, i.e. si $\chi_1 = 0$ et $\chi_2 = r_2$ (avec la résistance totale le long des parois du pore $R_2 = Lr_2$), alors Z_B se retrouve à la fin du canal court-circuité. Mathématiquement, cela revient à dire que l'impédance Z_B est en parallèle de l'impédance de la ligne de transmission correspondant à l'équation (4.15).

Par conséquent, compte-tenu de la relation (4.4) (qui indique comment calculer l'impédance totale de l'arrangement Z_1/Z_2), si la pseudo-capacité limite du fond de pore Q_B est très faible devant la capacité (ou pseudo-capacité) interfaciale C_3 (ou Q_3), alors son impédance est plus grande et n'a que peu d'effet sur l'impédance totale. Dans la situation opposée, c'est l'impédance de fond de pore Z_B qui surpasse l'effet du matériau poreux et le diagramme de Nyquist consiste en une droite inclinée sur toute la gamme de fréquence. Dans une situation intermédiaire, quand Q_B et C_3 (ou Q_3) ont une valeur similaire, l'impédance Z_B affecte à la fois les basses et les hautes fréquences [149].

La **Figure 4.7** montre les conséquences d'une inversion de canal résistif sur l'allure du diagramme de Nyquist pour les cas c et d. Les lignes pointillées sont reproduites de la **Figure 4.6** et les lignes continues sont associées aux cas c' et d', où la phase résistive est la phase solide et non plus la phase liquide.

Pour les deux nouveaux modèles, la forme globale du spectre reste la même mais ce dernier est décalé vers la gauche par rapport aux cas initiaux (il tend cependant à adopter la forme d'une seule et même droite inclinée à mesure que Q_B augmente, *i.e.* l'épaulement séparant les hautes et les basses fréquences est de moins en moins marqué). De plus, la portion de droite à HF est raccourcie (elle forme un angle avec l'axe des réels qui peut être supérieur à 45°) et la partie à BF s'incurve.

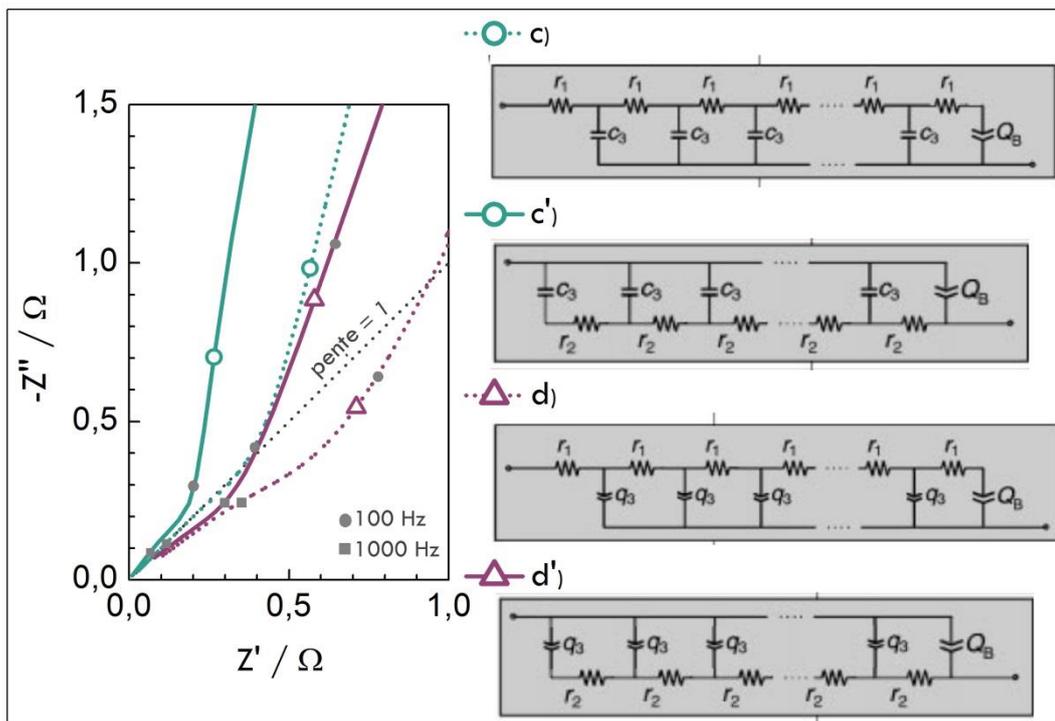


Figure 4.7. Représentations de Nyquist et schémas des lignes de transmission associées montrant l'influence de l'inversion de canal résistif. Les cas c et d (lignes pointillées) sont reproduits de la **Figure 4.6** à titre de comparaison. Les lignes continues correspondent aux cas c et d mais en considérant cette fois que $\chi_1=0$ et $\chi_2=r_2$. La résistance totale dans la phase solide est $R_2=1 \Omega$ et $L = 1 \mu\text{m}$. (c') $C_3 = 5 \text{ mF}$, $Q_B = 10 \text{ mF s}^{-1}$, $n = 0,7$ et (d') $Q_3 = 5 \text{ mF s}^{\beta-1}$, $\beta = 0,8$, $Q_B = 0.5 \text{ mF s}^{-1}$, $n = 0,7$. Adapté de la référence [149].

4.3.2.4. Mode de transport « anormal »

Une distorsion du spectre dans la partie haute fréquence peut aussi s'expliquer par le phénomène dit de « transport anormal » [164,165]. En effet, dans les matériaux désordonnés, où les porteurs de charges (électrons, trous, ...) se déplacent par transitions discrètes entre états localisés (comme dans des semi-conducteurs nanoporeux par exemple) [166], le mécanisme de transport de charges est dépendant de la fréquence. A basses fréquences, la conductivité alternative $\sigma'(\omega)$ de ce solide est équivalente à une conductivité continue $\sigma'(\omega) = \sigma(0)$. Au-delà d'une certaine fréquence de transition ω_c , la conductivité suit une loi de puissance $\sigma'(\omega) \propto \omega^d$ [164]. L'expression de l'impédance qui décrit ce comportement est [164] :

$$\chi_2 = \frac{r_2}{1 + r_2 q_2 (i\omega)^d} = \frac{r_2}{1 + (i \frac{\omega}{\omega_c})^d} \quad (4.18)$$

On peut remarquer que, mathématiquement, cette équation est équivalente à l'association en parallèle d'une résistance r_2 et d'un CPE q_2 , où ω_c est la fréquence de coupure et $0 < d < 1$. La résistance continue totale du canal solide est $R_2 = L r_2$ et $Q_2 = q_2 / L$ fournit des informations sur les propriétés globales du transport anormal [165]. Garcia-Belmonte *et al.* [165] font remarquer que l'équation (4.18) représente seulement un mécanisme de transport ayant lieu dans le matériau poreux et non l'association d'un phénomène de transfert de charges en parallèle d'un phénomène capacitif, comme c'est normalement le cas lors de l'analyse de résultats d'impédance.

Habituellement, la dépendance en loi de puissance de la conductivité avec la fréquence n'est pas prise en considération lors de l'analyse des mesures d'impédance car ω_c est généralement supérieure à la borne supérieure de la gamme de fréquences investiguées (plus d'1 MHz pour un polymère conducteur alors que la fréquence maximale de la gamme de mesure est 10-100 kHz). Ainsi, dans la plage de fréquences accessibles par mesures d'impédance, le matériau se comporte usuellement comme un élément purement résistif. Cependant, pour un matériau faiblement conducteur, comme un polymère

faiblement dopé par exemple [165], il a été mis en évidence que la conductivité continue $\sigma(0)$ ainsi que la fréquence de coupure ω_c décroissent de façon monotone avec le taux de dopage. Par conséquent, on peut s'attendre à ce que les surfaces de nanotubes de TiO₂ étudiées dans le cadre de ce travail de thèse, faites d'un matériau semi-conducteur moyennement dopé, présentent un phénomène de transport « anormal ».

Finalement, avant de présenter les résultats de modélisation, il faut signaler que, dans cette étude, seulement des modèles présentant des impédances interfaciales exclusivement capacitives ont été considérés, c'est-à-dire modélisées seulement par les éléments C ou Q et non par une boucle R/Q (l'impédance tend vers l'infini lorsque $\omega \rightarrow 0$). Si la surface du matériau poreux est réactive, un élément résistif r peut toutefois être associé en parallèle de l'élément capacitif dans l'expression de l'impédance interfaciale ζ . Les représentations de Nyquist des mesures d'impédance présentent alors un arc de cercle à basses fréquences (et quand $\omega \rightarrow 0$, l'impédance tend vers une valeur purement réelle). Des exemples de modèles pour ces électrodes poreuses réactives sont présentés dans les références [149,150].

4.4. Application du modèle d'électrode poreuse (ligne de transmission) au cas des NTs de TiO₂ en milieu physiologique

Le modèle proposé dans la suite de l'étude pour décrire le comportement en impédance de NTs de TiO₂ dans un environnement physiologique a été appliqué à deux topographies de surface différentes : **B** et **C**. La morphologie **A** est écartée de l'étude car les NTs étant de faible longueur (360 nm), on pourrait craindre que le comportement caractéristique d'une électrode poreuse soit moins exacerbé que pour les morphologies B ou C.

La structure cristalline choisie pour l'étude par SIE est la structure mixte car, dans cette configuration, on peut considérer que la zone poreuse externe est constituée d'un matériau différent de la couche dense interne, qui peut ainsi être désignée comme le « substrat » (la couche de NTs est composée d'anatase alors que la couche compacte est faite de rutile). Le « vrai » substrat, *i.e.* le titane, n'est quant à lui, par hypothèse, pas en contact avec l'électrolyte. C'est donc cette structure mixte qui correspond le mieux aux conditions énoncées par Bisquet [149,150] pour son modèle, comme illustré sur la **Figure 4.5**.

Ainsi, la **Figure 4.8a-d** présente les diagrammes de Nyquist (**a** et **b**) et les diagrammes de Bode (**c** et **d**) des mesures d'impédance (symboles) associées aux échantillons **B-M** et **C-M** respectivement. Arbitrairement, il est choisi de présenter les grandeurs Z' et $-Z''$ multipliées par la surface géométrique (0,50 cm²). Par conséquent, les valeurs des paramètres d'ajustement décrivant la surface totale développée, comme c'est le cas pour l'impédance interfaciale ζ par exemple, sont recalculées en tenant compte de la surface spécifique, *i.e.* 30 cm²/cm² pour **B** et 140 cm²/cm² pour **C**. Finalement, on précise que les représentations de la **Figure 4.8a-d** sont corrigées de la résistance de l'électrolyte R_e (à l'extérieur des pores), c'est-à-dire que les valeurs de R_e sont soustraites de la partie réelle de l'impédance Z' [167]. Elles sont respectivement estimées à 25 et 28 Ω cm²_{géo} pour **B** et **C**.

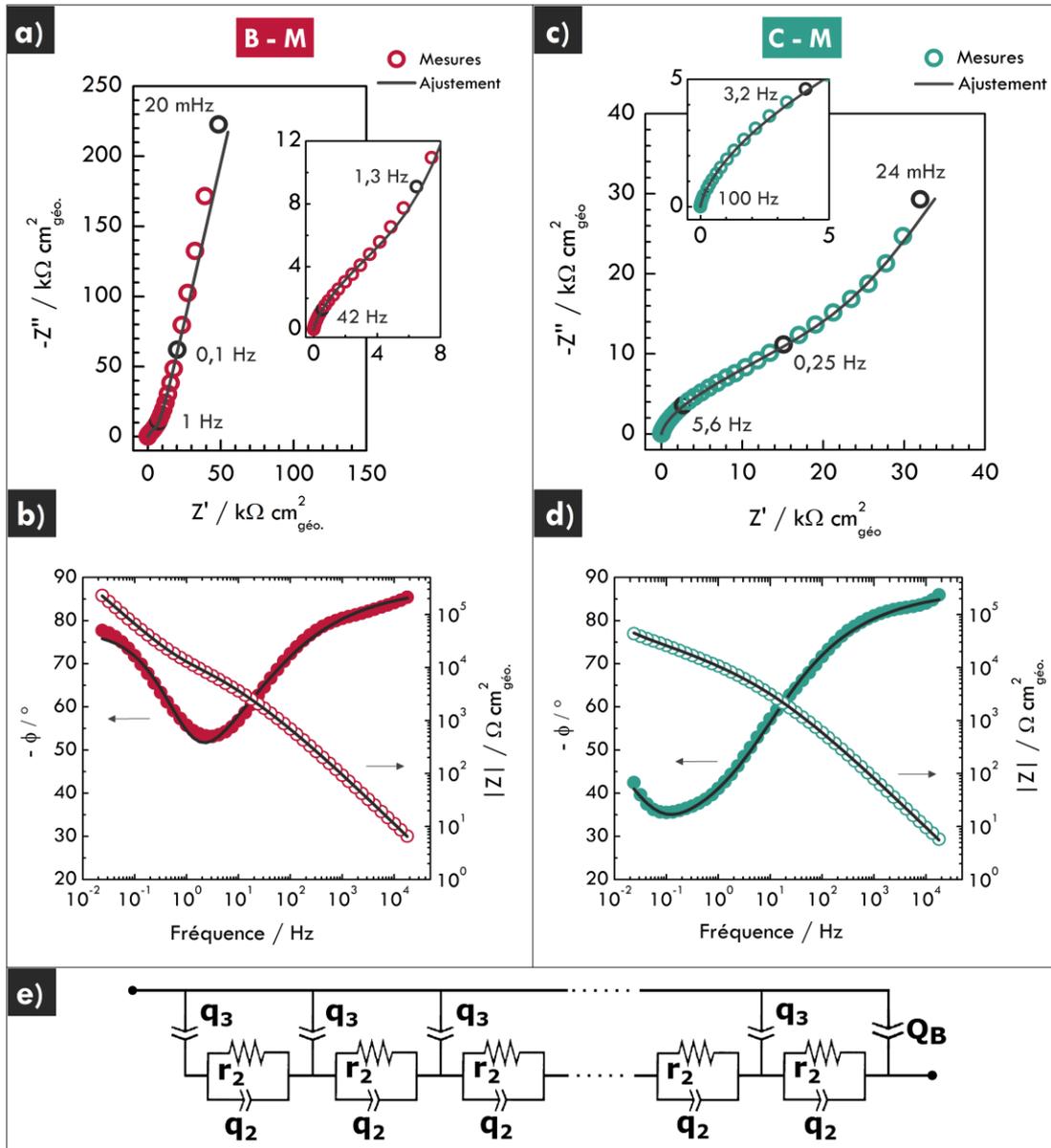


Figure 4.8. Modélisation de l'impédance des surfaces de NTs de TiO₂ en milieu physiologique (solution SBF à 37°C et à l'obscurité). (a,b) Modélisation de l'échantillon B-M ; (a) Diagramme de Nyquist avec zooms des HF en insert et (b) Diagramme de Bode. (c,d) Modélisation de C-M ; (c) Diagramme de Nyquist et (d) Diagramme de Bode. Les mesures sont représentées par les symboles (○ ou ●) et les ajustements par des lignes continues (—). (e) Schéma de la ligne de transmission proposée pour modéliser les mesures d'impédance.

4.4.1. Construction de la ligne de transmission

L'analyse qualitative des diagrammes de Nyquist des **Figure 4.8a** et **b** révèle que les deux morphologies, **B** et **C**, présentent une droite inclinée à basses fréquences et une branche distordue à hautes fréquences. Selon les descriptions théoriques présentées dans la section 4.3.2, la distorsion à hautes fréquences

peut provenir de la présence d'une impédance de fond de pore Z_B influente en bout de canal court-circuité ou bien d'un phénomène de transport « anormal » dans le canal résistif, i.e. dans les parois des NTs sous forme anatase.

Dans le but de construire un modèle en accord avec ces observations, la première hypothèse proposée dans cette étude consiste à admettre que l'électrolyte contenu dans les pores est bien plus conducteur que le TiO₂ de la phase solide [150,155,168,169]. De cette façon, le canal 1 peut être court-circuité ($\chi_1 = 0$).

A cause de la distorsion de la branche à HF, il est difficile de déterminer la pente de cette portion du spectre. Cependant, il peut être raisonnablement admis qu'elle n'est pas égale à 1. En combinant cette observation avec le fait que la droite à BF est inclinée, il apparaît que l'impédance interfaciale ζ est très probablement pseudo-capacitive (CPE) plutôt que capacitive (selon le critère énoncé dans la section 4.3.2.2).

Ensuite, comme la pente à hautes fréquences n'est pas égale à 1 et n'est pas non plus égale à la moitié de celle à basses fréquences, il peut être admis que la dispersion en fréquence trouve son origine à la fois dans l'impédance de fond de pore Z_B (interface *solution|rutile*) et dans la réponse de l'interface poreuse ζ (interface *solution|anatase*). En d'autres termes, l'impédance de la condition aux limites Z_B doit être prise en compte, et modélisée par un CPE (Q_B). De même, la contribution capacitive de l'impédance interfaciale ζ est modélisée par un CPE (q_3).

A propos de la réactivité de la surface, il a été montré dans le chapitre 3 que les NTs de TiO₂ sont pratiquement non-réactifs dans un milieu physiologique. Le fait que l'impédance tende vers l'infini aux très basses fréquences supporte cette conclusion. Cependant, pour confirmer strictement cette hypothèse, des simulations préliminaires ont été effectuées en considérant des surfaces réactives. Ainsi, la ligne de transmission correspondant au **cas d'** de la **Figure 4.7** a été modifiée de façon à ce que les impédances ζ et Z_B soient modélisées par une boucle R/Q au lieu d'un simple CPE. Plus précisément, q_3 est mis en parallèle d'une résistance r_3 (pour modéliser l'interface *électrolyte|NTs anatase*)

et Q_B est associé à une résistance R_B (pour modéliser l'interface électrolyte|couche dense rutile). Le canal 1 (solution) est court-circuité et le canal 2 (NTs anatase) est, par souci de simplification, pour l'instant considéré comme purement résistif ($\chi_1 = 0$ et $\chi_2 = r_2$).

Ces ajustements préliminaires ont conduit à des valeurs pour R_3 (réactivité des parois des NTs) de l'ordre de 10^{15} et $10^{14} \Omega \text{ cm}^2_{\text{spé}}$ pour les échantillons B et C respectivement, et de $10^{10} \Omega \text{ cm}^2_{\text{géo}}$ pour la grandeur R_B (réactivité de la couche dense rutile). Ces résultats sont trop élevés pour être considérés comme des valeurs absolues décrivant fidèlement le système. Ce ne sont que les limites mathématiques de l'impédance théorique du cas d' modifié de la **Figure 4.7** lorsque $\omega \rightarrow 0$. En d'autres termes, ce sont des valeurs vers lesquelles le logiciel de calcul converge, mais elles signifient plutôt que les résistances de transfert de charge tendent vers l'infini ou sont extrêmement élevées. Des simulations préliminaires montrent également que la réponse en impédance pour ce type de modèle n'est sensible qu'à des valeurs de R_3 et R_B inférieures à $10^6 \Omega \text{ cm}^2$. De plus, ajouter les paramètres R_3 et R_B ne permet pas de diminuer l'erreur sur l'ajustement. Par conséquent, les résistances R_3 et R_B sont trop grandes pour être considérées dans le modèle adapté à cette étude. Les valeurs limites déterminées précédemment seront toutefois utiles plus loin pour des estimations semi-quantitatives de paramètres interfaciaux.

La nature exclusivement pseudo-capacitive des impédances ζ et Z_B est donc confirmée par les très grandes valeurs des résistances R_3 et R_B . Les impédances ζ et Z_B sont donc par la suite respectivement décrites par les expressions (4.16) et (4.17).

Finalement, pour modéliser le canal 2 (*i.e.* le transport dans les NTs anatase), il est choisi d'adopter le formalisme du transport « anormal », comme décrit dans la section 4.3.2.4 (χ_2 est représenté par un arrangement en parallèle de r_2 et q_2). En effet, le TiO₂ sous forme anatase (qui constitue les NTs) peut être assimilé à un semi-conducteur moyennement dopé (*cf.* section 1.4.3.3). Il est alors attendu que sa fréquence de coupure se situe dans la gamme de fréquences investiguées par impédance.

4.4.2. Application de la ligne de transmission choisie aux mesures expérimentales

La **Figure 4.8e** illustre la ligne de transmission retenue pour décrire la réponse en impédance des NTs de TiO₂ immergés dans SBF à 37°C et à l'obscurité. Le canal 1 est court-circuité et le transport dans canal 2 est considéré comme « anormal », c'est-à-dire que, comme mentionné précédemment, l'impédance χ_2 est équivalente à un arrangement en parallèle d'un CPE (q_2) et d'une résistance (r_2). L'impédance interfaciale ζ est pseudo-capacitive (q_3), de même que l'impédance limite Z_B (Q_B). Dans cette configuration, Z_B se retrouve à la fin du canal court-circuité, ce qui signifie mathématiquement que l'impédance totale du système est donnée par l'association en parallèle de l'impédance Z_B et de l'impédance du reste de la ligne de transmission Z_{LT} [149] :

$$Z^{-1} = Z_{TL}^{-1} + Z_B^{-1} \quad (4.19)$$

Avec :

$$Z_{LT} = \lambda \chi_2 \coth (L/\lambda) \quad (4.20)$$

Avec, pour rappel, $\lambda = [\zeta/\chi_2]^{1/2}$ où ζ est décrit par (4.16). Z_B correspond à l'équation (4.17) et χ_2 à l'expression (4.18).

Les **Figure 4.8a-d** montrent les résultats d'ajustement (ligne continue) des mesures expérimentales des échantillons **B-M** et **C-M** avec le modèle proposé ci-dessus et illustré **Figure 4.8e**. Il apparaît que ce modèle à 7 paramètres décrit de manière satisfaisante le comportement de l'interface, et les valeurs des paramètres d'ajustement ne sont pas aberrantes. L'erreur entre les points expérimentaux et la simulation est de l'ordre de 1,6% et 1,2% pour **B-M** et **C-M** respectivement, ce qui est tout à fait raisonnable. Les valeurs des paramètres d'ajustement sont recensées dans le **Tableau 4.1**. Les grandeurs R_2 , Q_2 et Q_B sont données en tenant compte de la surface géométrique (0,50 cm²) tandis que Q_3 est associé à toute la surface interfaciale, c'est-à-dire 30 x 0,50 = 15 cm² pour **B-M** et 140 x 0,50 = 70 cm² pour **C-M**.

Tableau 4.1. Valeurs des paramètres d'ajustement des mesures d'impédance des échantillons B-M et C-M avec le modèle de la **Figure 4.8c**.

		B-M	C-M
Erreur d'ajustement		1,6 %	1,2 %
χ^2	R_2 ($k\Omega \text{ cm}_{\text{géo}}^2$)	27	68
	Q_2 ($F \text{ s}^{d-1} \text{ cm}_{\text{géo}}^{-2}$)	$3,1 \cdot 10^{-6}$	$1,4 \cdot 10^{-6}$
	d	0,43	0,51
ζ	Q_3 ($F \text{ s}^{\beta-1} \text{ cm}_{\text{spé}}^{-2}$)	$7,3 \cdot 10^{-7}$	$8,6 \cdot 10^{-7}$
	β	0,86	0,69
Z_B	Q_B ($F \text{ s}^{n-1} \text{ cm}_{\text{géo}}^{-2}$)	$1,6 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-6}$
	n	0,98	0,97

Des résultats présentés dans le **Tableau 4.1**, il est possible de remarquer que la résistance totale interne R_2 du canal solide est plus grande pour l'échantillon **C-M** que **B-M**. Si l'on considère que R_2 donne une indication de la résistivité du matériau dans la gamme de fréquence où la conduction ne suit pas une loi de puissance, ceci est un résultat attendu car la couche nanotubulaire est plus épaisse dans le premier cas (**C-M**), *i.e.* $\sim 5\mu\text{m}$, que dans le second (**B-M**), *i.e.* $\sim 720 \text{ nm}$ (la résistance et la résistivité diffèrent d'une dimension de longueur). Cependant, l'augmentation de la valeur de R_2 n'est pas proportionnelle à la longueur des NTs. La résistance du matériau poreux est inférieure aux prévisions dans le cas de l'échantillon **C-M** probablement en raison d'une structure plus défectueuse lorsque les NTs sont plus longs (lacunes d'oxygène, états de surface, ...). Cette hypothèse est supportée par l'évolution de la valeur du paramètre β avec la longueur des NTs. Il est de 0,69 pour **C-M** contre 0,86 pour **B-M**, ce qui traduit un caractère plus hétérogène de la surface dans le premier cas [130,133]. En effet, les propriétés de conduction d'un matériau nanostructuré peuvent être très sensibles à la méthode de préparation et à la topographie de la surface. De plus, l'échelle nanométrique implique que des porteurs de charges sont toujours localisés près de la surface,

ce qui influe significativement sur le transport et/ou le transfert de charges [146].

Les valeurs associées au phénomène de transport anormal (R_2 , Q_2 et d) peuvent être combinées selon l'équation (4.18) pour déterminer la fréquence de coupure ω_c , à partir de laquelle l'expression de la conduction dans la phase solide devient dépendante de la fréquence. Pour les deux échantillons, **B-M** et **C-M**, l'ordre de grandeur pour ω_c est de **10² Hz**, ce qui justifie l'emploi du formalisme de transport « anormal » pour modéliser le comportement en impédance des NTs de TiO₂ dans la gamme 20 mHz – 20 kHz.

Finalement, il est possible de calculer des valeurs de capacités effectives à partir des paramètres CPE modélisant les impédances ζ et Z_B . C'est la relation de Hsu-Mansfeld ((Eq. (4.8)) qui est utilisée dans cette étude car la relation de Brug requiert la valeur de la résistance de l'électrolyte dans le pore, qui n'est pas accessible via le modèle proposé. Cependant, rappelons que l'objectif ici n'est pas de déterminer précisément les valeurs des capacités effectives mais bien d'estimer leurs ordres de grandeurs dans le but d'évaluer la validité du modèle proposé.

Ainsi, le calcul de la capacité effective interfaciale associée à l'élément ζ pour l'échantillon **B-M**, en considérant une résistance interfaciale $R_3 \approx 10^{15} \Omega \text{ cm}_{\text{spé}}^2$ (estimée précédemment), donne **$C_{3,\text{eff}} \approx 20 \mu\text{F cm}_{\text{spé}}^{-2}$** , qui est une valeur typique d'une capacité de double couche. En revanche, le résultat de ce calcul n'est pas proposé pour l'échantillon **C-M** car le paramètre β est trop éloigné de 1 et la valeur de capacité ainsi obtenue n'a pas de sens physique.

Le même type de calcul peut être appliqué pour déterminer la capacité effective $C_{B,\text{eff}}$ associée au CPE de fond de pore (Q_B), en considérant que $R_B \approx 10^{10} \Omega \text{ cm}_{\text{géo}}^2$. Le résultat obtenu est **$C_{B,\text{eff}} \approx 2 \mu\text{F cm}_{\text{géo}}^{-2}$** et **$C_{B,\text{eff}} \approx 3 \mu\text{F cm}_{\text{géo}}^{-2}$** pour **B-M** et **C-M** respectivement, ce qui est typiquement de l'ordre de grandeur d'une capacité de film passif.

Si l'on associe le film passif à un condensateur plan, alors son épaisseur $d_{B, \text{eff}}$ (en cm) peut être estimée par la relation suivante [129,131] :

$$d_{B, \text{eff}} = \frac{\varepsilon \varepsilon_0}{C_{B, \text{eff}}} \quad (4.21)$$

Où ε_0 est la permittivité du vide ($8,85 \cdot 10^{-14}$ F cm⁻¹) et ε la constante diélectrique du matériau.

Pour le TiO₂, il existe une controverse dans la littérature quant à la valeur d' ε adéquate. Les valeurs recensées s'échelonnent de 18,2 à 173 [73]. En combinant, selon l'équation (4.21), ces valeurs limites avec les valeurs de $C_{B, \text{eff}}$ estimées précédemment, les épaisseurs $d_{B, \text{eff}}$ obtenues sont comprises entre 5 et 80 nm. Si l'on considère maintenant une valeur « moyenne » telle que $\varepsilon = 100$, comme déjà choisie par différents auteurs [73,89,170], l'équation (4.21) conduit des épaisseurs $d_{B, \text{eff}}$ de 45 et 30 nm pour les morphologies **B** et **C** respectivement, ce qui est en accord avec les épaisseurs observables sur la **Figure 4.9**. En effet, cette image MEB en vue transversale de l'échantillon **B-M** permet de distinguer que les fonds des pores (couche rutile) présentent une épaisseur d'environ 40 nm et que la couche dense au-dessous (également en rutile) mesure 80 à 120 nm d'épaisseur. La confrontation des résultats d'ajustement avec les observations microscopiques permet donc d'appuyer la validité du modèle proposé.

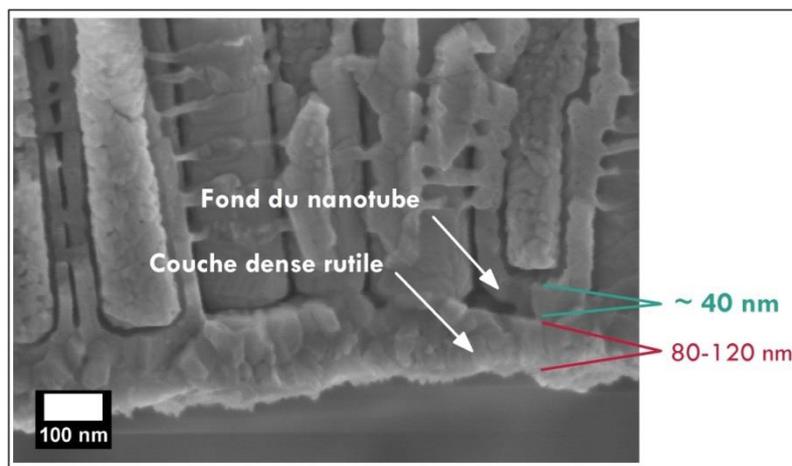


Figure 4.9. Observations MEB-FEG en vue transversale de NTs de TiO₂ (B-M) révélant une épaisseur de fond de pore d'environ 40 nm et une couche dense de 80 à 120 nm.

En conclusion de ce quatrième chapitre, on peut dire que la particularité de la réponse en impédance des NTs de TiO₂ en milieu physiologique ne permet pas de modéliser l'interface par un circuit électrique équivalent classique type R-L-C. En effet, les représentations de Nyquist consistent en une droite inclinée à BF et une portion distordue à HF inclinée de près de 45°, rappelant le comportement des électrodes poreuses, telles que décrites par la théorie de De Levie. Ainsi, un modèle généralisé impliquant une ligne de transmission à deux canaux est proposé dans cette étude pour interpréter le comportement de l'interface. Plus précisément, le circuit équivalent élaboré dans ce travail de thèse repose sur les considérations suivantes :

- o La résistance de l'électrolyte est négligeable devant la résistance du matériau poreux semi-conducteur, ce qui se traduit sur la ligne de transmission par un court-circuitage du canal modélisant l'électrolyte et l'impédance représentant le mode de transport des charges est distribuée le long du canal solide, *i.e.* le long des NTs de structure anatase.
- o Le mode de transport dans la phase solide est qualifié « d'anormal » en raison de la nature semi-conductrice du matériau poreux (le TiO₂). Le formalisme adopté pour décrire ce phénomène est une distribution de boucles Q/R le long du canal solide, *i.e.* le long des NTs de structure anatase.
- o L'impédance modélisant l'interface *solution* | *parois des NTs* est exclusivement pseudo-capacitive, c'est-à-dire modélisée par un CPE, et pour lequel la valeur de capacité effective correspond à une capacité de double couche.
- o L'impédance de l'interface en fond de pore *solution* | *couche rutile* a un effet notable sur l'impédance totale et est également modélisée par un CPE, pour lequel la capacité effective correspond à une capacité de film.

Les résultats d'ajustement des mesures expérimentales avec le modèle cité précédemment sont très satisfaisants, ce qui justifie l'emploi d'une ligne de transmission pour modéliser l'impédance des NTs de TiO₂ en milieu physiologique.

Finalement, l'exploration des résultats d'impédance nous renseigne sur la nature très peu réactive de la surface (très grandes valeurs de résistances de transfert de charge). D'un point de vue biomédical, ceci indique que la présence de NTs de TiO₂ permet d'améliorer la bioactivité ou la réponse cellulaire, comme vu dans le chapitre 3 par exemple, sans entraîner une diminution concomitante de la résistance à la corrosion.

■ CONCLUSION GENERALE ■

La synthèse de NTs de TiO₂ par anodisation du titane se révèle être une méthode pertinente pour améliorer les propriétés de surface du matériau lorsqu'il est destiné à des applications biomédicales.

Dans cette étude, trois morphologies différentes de NTs ont été synthétisées. Deux des trois morphologies ont été obtenues par synthèse dans un solvant à base de glycérol, d'eau et d'ions F⁻. Les NTs ainsi formés sont plutôt courts et de faibles diamètres (360 nm/45 nm et 720nm /90 nm). La troisième morphologie est obtenue par anodisation dans un électrolyte à base d'éthylène glycol, d'eau et d'ions F⁻. Les NTs obtenus sont alors très longs et de grands diamètres (5µm/130nm). Les surfaces spécifiques estimées sont de l'ordre de 30 cm² par cm² géométrique dans les deux premiers cas et d'environ 140 cm²/cm² dans le dernier cas.

Les couches nanotubulaires ainsi synthétisées sont ensuite étudiées sous trois formes cristallines différentes. En effet, les NTs sont amorphes après anodisation mais peuvent cristalliser suite à un traitement thermique. Les propriétés des NTs de TiO₂ amorphes ont donc été comparées à celles de NTs cristallisés sous la structure anatase (recuit à 450°C) ou sous une structure mixte d'anatase et de rutile (recuit à 550°C).

Les essais de bioactivité mis en œuvre dans cette étude montrent que la présence de NTs de TiO₂ cristallisés améliore la capacité d'ostéo-intégration du matériau comparé à des NTs amorphes ou à une surface plane en titane. En effet, toutes les surfaces cristallisées induisent un dépôt dense d'hydroxyapatite dès 1,5 jour d'immersion dans un fluide physiologique (SBF). Après 14 jours d'essai, cette couche formée spontanément atteint quelques dizaines de µm d'épaisseur. Plus précisément, les NTs de structure cristalline anatase semblent être légèrement plus bioactifs que les NTs de structure mixte, surtout après 1,5 et 14 jours d'essai. D'une façon générale, les NTs de TiO₂ cristallisés sont fortement bioactifs, ce qui est essentiel au succès de la procédure d'implantation.

De plus, les études préliminaires *in vitro* de la réponse cellulaire engendrée par les NTs de TiO₂ ont également démontré que leur présence est favorable à la prolifération, la différenciation et la minéralisation des cellules ostéoblastes. Plus précisément, les NTs cristallisés et de grande longueur (5 µm) conduisent à une meilleure activité cellulaire que des NTs amorphes et/ou de faible longueur (720 nm).

Concomitamment, ces mêmes surfaces ont été caractérisées électrochimiquement pour évaluer leur résistance à la corrosion dans un environnement physiologique (solution SBF, 37°C, à l'obscurité). Les résultats issus des relevés du potentiel à l'abandon, des tracés des courbes de polarisation et des mesures par Spectroscopie d'impédance Electrochimique (SIE) indiquent que la présence de NTs de TiO₂, et plus précisément la présence de NTs cristallisés, augmente la résistance à la corrosion par rapport à une surface en titane non modifiée (le courant de corrosion est par exemple diminué d'une à deux décades). Les caractérisations révèlent également qu'il existe une influence interdépendante de la morphologie et la structure cristalline des NTs sur leurs propriétés électrochimiques. Par exemple, les mesures d'impédance indiquent que des NTs courts sous forme anatase et des NTs mixtes longs peuvent présenter des performances similaires. Les mesures électrochimiques mettent aussi en évidence que, d'une façon générale, les NTs de TiO₂ cristallisés sont très stables en milieu physiologique. La corrosion du système est extrêmement limitée, ce qui constitue un avantage majeur pour un implant orthopédique puisque la libération d'ions métalliques dans le corps humain s'en trouve limitée.

Cependant, la bioactivité et la résistance à la corrosion ne sont pas les seuls paramètres à prendre en compte pour juger de la biocompatibilité d'une surface. Les propriétés mécaniques constituent également un facteur déterminant dans le succès de l'implantation. D'après les observations de la littérature, il semblerait par exemple que la présence de NTs de TiO₂ sous une structure mixte d'anatase et de rutil confèrerait à la surface à la fois une bonne dureté (rutil) et une bonne élasticité (anatase), limitant ainsi respectivement les phénomènes d'abrasion et de *stress-shielding*. D'autre part, les couches nanotubulaires de forte épaisseur (plusieurs µm) présentent une

faible adhérence au substrat, ce qui constituerait un risque important de libération de débris métalliques dans le corps humain.

Par conséquent, l'optimisation des propriétés morpho-structurelles des surfaces à base de NTs de TiO_2 doit résulter d'un compromis entre plusieurs critères. Ainsi, en tenant compte de la bioactivité, des propriétés électrochimiques, de la stabilité thermique, de la résistance chimique et des propriétés mécaniques, il émerge que le meilleur compromis est atteint avec une surface de NTs de TiO_2 de structure mixte (mélange d'anatase et de rutile) présentant une longueur et un diamètre moyens, *i.e.* 720 nm et 90 nm (à noter que les trois premiers critères sont évalués d'après les expérimentations menées dans cette étude alors que les deux derniers sont issus d'une revue de la littérature).

Finalement, si l'on se focalise plus particulièrement sur les mesures par Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE), on remarque que la représentation de la réponse des NTs de TiO_2 dans le plan de Nyquist présente une allure particulière, à savoir une droite inclinée à basses fréquences qui tend vers l'infini et une portion distordue à hautes fréquences inclinée de près de 45° . Ce comportement, à quelques différences près, est caractéristique de celui d'une électrode poreuse comme décrit par la théorie de De Levie. Cependant, il existe un modèle généralisé, reposant sur le formalisme des lignes de transmission, qui permet d'interpréter la réponse en impédance des électrodes poreuses manifestant des comportements non-idéaux. Ainsi, pour la première fois dans la littérature, un circuit électrique équivalent reposant sur cette dernière théorie a été élaboré dans ce travail de thèse pour modéliser l'impédance des NTs de TiO_2 en milieu physiologique. Les résultats d'ajustement montrent qu'il permet de décrire de façon très satisfaisante l'interface d'étude, notamment dans le cas des NTs mixtes longs à moyennement longs.

La modélisation des résultats d'impédance a permis de mettre en évidence que le mode de transport de charges dans la phase poreuse est dit « anormal », c'est-à-dire que la conductivité dans les NTs est dépendante de la fréquence. Cette caractéristique est attribuée à la nature semi-conductrice du matériau TiO_2 qui, dans le cas présent, peut être considéré comme moyennement dopé.

De plus, l'ajustement des résultats avec la ligne de transmission proposée dans cette étude révèle que les interfaces *électrolyte|paroi des NTs* et *électrolyte|fond des pores* sont peu réactives (réponses purement pseudo-capacitives). Cette dernière observation, reflétant l'excellente résistance à la corrosion de l'interface, permet de confirmer que la formation de NTs de TiO₂ à la surface du Ti permet d'augmenter la surface spécifique et donc la bioactivité, sans altérer d'autre part les propriétés électrochimiques, justifiant ainsi l'emploi de NTs de TiO₂ en bio-ingénierie.

L'étude présentée dans ce manuscrit a apporté de nombreuses connaissances en matière d'optimisation des surfaces pour des applications biomédicales et s'est appliquée à fournir une vision assez globale de la problématique. Toutefois, elle soulève quelques questions et ouvre des perspectives :

- (i) Les essais de bioactivité cellulaire pourraient s'étendre à toute la gamme d'échantillons synthétisés dans cette étude afin de fournir une vision plus globale du comportement vis-à-vis des cellules. L'étude pourrait également s'étendre à d'autres cellules que les ostéoblastes (cellules souches mésenchymateuses, cellules endothéliales, cellules hématopoïétiques...). Enfin, des essais *in vivo* pourraient être mis en place.
- (ii) La surface optimale définie à l'issue de cette étude permet de répondre de façon satisfaisante à de nombreux critères de biocompatibilité. Cependant, le module d'Young du système reste supérieur à celui de l'os (100-150 GPa contre 10-30 GPa). Le risque d'apparition du phénomène de *stress-shielding* est donc toujours existant. Pour pallier cet inconvénient, il est possible d'utiliser des alliages de titane contenant un mélange de phases α et β . En effet, ces derniers permettent d'abaisser le module d'Young à environ 80 GPa. Cependant, il faudrait réitérer l'intégralité de l'étude pour s'assurer que cette amélioration des propriétés mécaniques n'altère ni la bioactivité ni la résistance à la corrosion du matériau.

- (iii) Enfin, l'analyse du comportement en impédance des NTs de TiO_2 pourrait être poursuivie notamment pour déterminer l'applicabilité du modèle proposé au NTs plus courts et/ou de structure amorphe ou anatase. Si le modèle élaboré dans cette étude ne décrit pas de façon satisfaisante l'interface, quelles seraient alors les modifications à apporter ? D'autre part, pour aider l'interprétation des résultats d'impédance, des surfaces de NTs pourraient être synthétisées à partir de titane de très haute pureté, ce qui favorise la formation de réseaux très ordonnés et sans défauts. L'obtention de telles surfaces « modèles » pourrait alors permettre une modélisation plus aisée et plus rigoureuse du comportement électrochimique des NTs de TiO_2 en milieu physiologique.

■ RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES ■

- [1] T. Narushima, *Metals for Biomedical Devices*, 1st Editio, Woodhead Publishing, 2010. doi:10.1533/9781845699246.4.355.
- [2] OECD/EU, *Health at a Glance: Europe 2016 State of Health in the EU Cycle*, OECD Publishing, Paris, 2016. doi:10.1787/23056088.
- [3] Q. Chen, G.A. Thouas, *Metallic implant biomaterials*, *Mater. Sci. Eng. R Reports*. 87 (2015) 1–57. doi:10.1016/j.mser.2014.10.001.
- [4] M. Kulkarni, A. Mazare, E. Gongadze, Š. Perutkova, V. Kralj-Iglič, I. Milošev, P. Schmuki, A. Iglič, M. Mozetič, *Titanium nanostructures for biomedical applications.*, *Nanotechnology*. 26 (2015) 62002. doi:10.1088/0957-4484/26/6/062002.
- [5] D.F. Williams, *On the mechanisms of biocompatibility*, *Biomaterials*. 29 (2008) 2941–2953. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.04.023.
- [6] J. Davis, *Handbook of Materials for Medical Devices*, 2003. doi:10.1361/hmmd2003p001.
- [7] X. Liu, P.K. Chu, C. Ding, *Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications*, *Mater. Sci. Eng. R Reports*. 47 (2004) 49–121. doi:10.1016/j.mser.2004.11.001.
- [8] C. Leyens, M. Peters, *Titanium an Titanium Alloys*, 2003. doi:10.1002/3527602119.
- [9] D. Regonini, C.R. Bowen, A. Jaroenworarluck, R. Stevens, *A review of growth mechanism, structure and crystallinity of anodized TiO₂ nanotubes*, *Mater. Sci. Eng. R Reports*. 74 (2013) 377–406. doi:10.1016/j.mser.2013.10.001.
- [10] Y. Oshida, *Bioscience and Bioengineering of Titanium Materials*, Elsevier Science, 2010.
- [11] A. Arsiwala, P. Desai, V. Patravale, *Recent advances in micro/nanoscale biomedical implants.*, *J. Control. Release*. 189C (2014) 25–45. doi:10.1016/j.jconrel.2014.06.021.
- [12] Y. Bai, I.S. Park, H.H. Park, M.H. Lee, T.S. Bae, W. Duncan, M. Swain, *The effect of annealing temperatures on surface properties, hydroxyapatite growth and cell behaviors of TiO₂ nanotubes*, *Surf. Interface Anal.* 43 (2011) 998–1005. doi:10.1002/sia.3683.
- [13] K. Das, S. Bose, A. Bandyopadhyay, *TiO₂ nanotubes on Ti: Influence of nanoscale morphology on bone cell-materials interaction*, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 90 (2009) 225–237. doi:10.1002/jbm.a.32088.

- [14] G.A. Crawford, N. Chawla, K. Das, S. Bose, A. Bandyopadhyay, Microstructure and deformation behavior of biocompatible TiO₂ nanotubes on titanium substrate, *Acta Biomater.* 3 (2007) 359–367. doi:10.1016/j.actbio.2006.08.004.
- [15] T. Kokubo, H.M. Kim, M. Kawashita, Novel bioactive materials with different mechanical properties, *Biomaterials.* 24 (2003) 2161–2175. doi:10.1016/S0142-9612(03)00044-9.
- [16] X. Zhou, N.T. Nguyen, S. Özkan, P. Schmuki, Anodic TiO₂ nanotube layers: Why does self-organized growth occur—A mini review, *Electrochem. Commun.* 46 (2014) 157–162. doi:10.1016/j.elecom.2014.06.021.
- [17] K. Lee, A. Mazare, P. Schmuki, One-Dimensional Titanium Dioxide Nanomaterials: Nanotubes, *Chem. Rev.* 114 (2014) 9385–9454. doi:10.1021/cr500061m.
- [18] S.J. Ku, G.C. Jo, C.H. Bak, S.M. Kim, Y.R. Shin, K.H. Kim, S.H. Kwon, J.-B. Kim, Highly ordered freestanding titanium oxide nanotube arrays using Si-containing block copolymer lithography and atomic layer deposition., *Nanotechnology.* 24 (2013) 85301. doi:10.1088/0957-4484/24/8/085301.
- [19] S. Minagar, C.C. Berndt, J. Wang, E. Ivanova, C. Wen, A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces., *Acta Biomater.* 8 (2012) 2875–88. doi:10.1016/j.actbio.2012.04.005.
- [20] J.M. Macak, H. Tsuchiya, A. Ghicov, K. Yasuda, R. Hahn, S. Bauer, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 11 (2007) 3–18. doi:10.1016/j.cossms.2007.08.004.
- [21] M. Assefpour-Dezfuly, C. Vlachos, E.H. Andrews, Oxide morphology and adhesive bonding on titanium surfaces, *J. Mater. Sci.* 19 (1984) 3626–3639. doi:10.1007/BF02396935.
- [22] V. Zwillling, E. Darque-Ceretti, A. Boutry-Forveille, D. David, M.Y. Perrin, M. Aucouturier, Structure and physicochemistry of anodic oxide films on titanium and TA6V alloy, *Surf. Interface Anal.* 27 (1999) 629–637. doi:10.1016/0022-5088(77)90043-1.
- [23] D. Gong, C. a. Grimes, O.K. Varghese, W. Hu, R.S. Singh, Z. Chen, E.C. Dickey, Titanium oxide nanotube arrays prepared by anodic oxidation, *J. Mater. Res.* 16 (2001) 3331–3334. doi:10.1557/JMR.2001.0457.
- [24] K. Huo, B. Gao, J. Fu, L. Zhao, P.K. Chu, Fabrication, modification, and biomedical applications of anodized TiO₂ nanotube arrays, *RSC Adv.* 4 (2014) 17300. doi:10.1039/c4ra01458h.
- [25] P. Roy, S. Berger, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes: synthesis and applications., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 50 (2011) 2904–39. doi:10.1002/anie.201001374.

- [26] J.M. Macak, H. Hildebrand, U. Marten-Jahns, P. Schmuki, Mechanistic aspects and growth of large diameter self-organized TiO₂ nanotubes, *J. Electroanal. Chem.* 621 (2008) 254–266. doi:10.1016/j.jelechem.2008.01.005.
- [27] P. Roy, S.P. Albu, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes in dye-sensitized solar cells: Higher efficiencies by well-defined tube tops, *Electrochem. Commun.* 12 (2010) 949–951. doi:10.1016/j.elecom.2010.04.029.
- [28] Q. Gui, D. Yu, D. Li, Y. Song, X. Zhu, L. Cao, S. Zhang, W. Ma, S. You, Efficient suppression of nanograss during porous anodic TiO₂ nanotubes growth, *Appl. Surf. Sci.* 314 (2014) 505–509. doi:10.1016/j.apsusc.2014.07.046.
- [29] S.P. Albu, A. Ghicov, S. Aldabergenova, P. Drechsel, D. LeClere, G.E. Thompson, J.M. Macak, P. Schmuki, Formation of double-walled TiO₂ nanotubes and robust anatase membranes, *Adv. Mater.* 20 (2008) 4135–4139. doi:10.1002/adma.200801189.
- [30] R. Beranek, H. Hildebrand, P. Schmuki, Self-Organized Porous Titanium Oxide Prepared in H₂SO₄/HF Electrolytes, *Electrochem. Solid-State Lett.* 6 (2003) B12. doi:10.1149/1.1545192.
- [31] J.M. Macák, H. Tsuchiya, P. Schmuki, High-aspect-ratio TiO₂ nanotubes by anodization of titanium., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 44 (2005) 2100–2. doi:10.1002/anie.200462459.
- [32] J.M. Macak, H. Tsuchiya, L. Taveira, S. Aldabergerova, P. Schmuki, Smooth anodic TiO₂ nanotubes., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 44 (2005) 7463–5. doi:10.1002/anie.200502781.
- [33] J.M. Macak, S.P. Albu, P. Schmuki, Towards ideal hexagonal self-ordering of TiO₂ nanotubes, *Phys. Status Solidi - Rapid Res. Lett.* 183 (2007) 181–183. doi:10.1002/pssr.200701148.
- [34] A. Ghicov, H. Tsuchiya, J.M. Macak, P. Schmuki, Titanium oxide nanotubes prepared in phosphate electrolytes, *Electrochem. Commun.* 7 (2005) 505–509. doi:10.1016/j.elecom.2005.03.007.
- [35] Q. Cai, M. Paulose, O.K. Varghese, C. a. Grimes, The Effect of Electrolyte Composition on the Fabrication of Self-Organized Titanium Oxide Nanotube Arrays by Anodic Oxidation, *J. Mater. Res.* 20 (2011) 230–236. doi:10.1557/JMR.2005.0020.
- [36] J.M. Macak, K. Sirotna, P. Schmuki, Self-organized porous titanium oxide prepared in Na₂SO₄/NaF electrolytes, *Electrochim. Acta.* 50 (2005) 3679–3684. doi:10.1016/j.electacta.2005.01.014.
- [37] M. Paulose, K. Shankar, S. Yoriya, H.E. Prakasam, O.K. Varghese, G.K. Mor, T.A. Latempa, A. Fitzgerald, C.A. Grimes, Anodic Growth of Highly Ordered TiO₂ Nanotube Arrays to 134 μm in Length, *J. Phys. Chem. B.* 110 (2006) 16179–16184. doi:10.1021/jp064020k.

- [38] S.P. Albu, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes grown in different organic electrolytes: Two-size self-organization, single vs. double-walled tubes, and giant diameters, *Phys. Status Solidi - Rapid Res. Lett.* 4 (2010) 215–217. doi:10.1002/pssr.201004244.
- [39] I. Paramasivam, J.M. Macak, T. Selvam, P. Schmuki, Electrochemical synthesis of self-organized TiO₂ nanotubular structures using an ionic liquid (BMIM-BF₄), *Electrochim. Acta.* 54 (2008) 643–648. doi:10.1016/j.electacta.2008.07.031.
- [40] J.M. Macak, P. Schmuki, Anodic growth of self-organized anodic TiO₂ nanotubes in viscous electrolytes, *Electrochim. Acta.* 52 (2006) 1258–1264. doi:10.1016/j.electacta.2006.07.021.
- [41] S.P. Albu, A. Ghicov, J.M. Macak, P. Schmuki, 250 μm long anodic TiO₂ nanotubes with hexagonal self-ordering, *Phys. Status Solidi - Rapid Res. Lett.* 1 (2007) 65–67. doi:10.1002/pssr.200600069.
- [42] H. Masuda, K. Fukuda, Ordered metal nanohole arrays made by a two-step replication of honeycomb structures of anodic alumina, *Science* (80-.). 268 (1995) 1466–8. doi:10.1126/science.268.5216.1466.
- [43] Y. Shin, S. Lee, Self-Organized Regular Arrays of Anodic TiO₂ Nanotubes, *Nano Lett.* 8 (2008) 3171–3173. doi:10.1021/nl801422w.
- [44] G.D. Sulka, J. Kapusta-Kołodziej, A. Brzózka, M. Jaskuła, Anodic growth of TiO₂ nanopore arrays at various temperatures, *Electrochim. Acta.* 104 (2013) 526–535. doi:10.1016/j.electacta.2012.12.121.
- [45] T. Kondo, S. Nagao, T. Yanagishita, N.T. Nguyen, K. Lee, P. Schmuki, H. Masuda, Ideally ordered porous TiO₂ prepared by anodization of pretextured Ti by nanoimprinting process, *Electrochem. Commun.* 50 (2015) 73–76. doi:10.1016/j.elecom.2014.11.013.
- [46] S. So, K. Lee, P. Schmuki, Ultrafast Growth of Highly Ordered Anodic TiO₂ Nanotubes in Lactic Acid Electrolytes, *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 11316–11318. doi:10.1021/ja301892g.
- [47] S. So, K. Lee, P. Schmuki, High-aspect-ratio dye-sensitized solar cells based on robust, fast-growing TiO₂ nanotubes., *Chemistry.* 19 (2013) 2966–70. doi:10.1002/chem.201204135.
- [48] K. Lee, J. Kim, H. Kim, Y. Lee, Y. Tak, D. Kim, P. Schmuki, Effect of Electrolyte Conductivity on the Formation of a Nanotubular TiO₂ Photoanode for a Dye-Sensitized Solar Cell, *J. Korean Phys. Soc.* 54 (2009) 1027–1031.
- [49] R. Narayanan, T.-Y. Kwon, K.-H. Kim, TiO₂ nanotubes from stirred glycerol/NH₄F electrolyte: Roughness, wetting behavior and adhesion for implant applications, *Mater. Chem. Phys.* 117 (2009) 460–464. doi:10.1016/j.matchemphys.2009.06.023.
- [50] R. Sánchez-Tovar, K. Lee, J. García-Antón, P. Schmuki, Formation of anodic TiO₂ nanotube or nanosponge morphology determined by the electrolyte hydrodynamic conditions, *Electrochem. Commun.* 26 (2013) 1–4. doi:10.1016/j.elecom.2012.09.041.

- [51] R. Sánchez-Tovar, R.M. Fernández-Domene, D.M. García-García, J. García-Antón, Enhancement of photoelectrochemical activity for water splitting by controlling hydrodynamic conditions on titanium anodization, *J. Power Sources*. 286 (2015) 224–231. doi:10.1016/j.jpowsour.2015.03.174.
- [52] K.F. Albertin, A. Tavares, I. Pereyra, Optimized Ti polishing techniques for enhanced order in TiO₂ NT arrays, *Appl. Surf. Sci.* 284 (2013) 772–779. doi:10.1016/j.apsusc.2013.08.005.
- [53] S. Leonardi, A.L. Bassi, V. Russo, F. Di Fonzo, O. Paschos, T.M. Murray, H. Efstathiadis, J. Kunze, TiO₂ Nanotubes: Interdependence of Substrate Grain Orientation and Growth Characteristics, *J. Phys. Chem. C*. 116 (2012) 384–392. doi:10.1021/jp209418n.
- [54] Z. Su, L. Zhang, F. Jiang, W. Zhou, Z. Deng, Y. Cao, M. Hong, Formation of anodic TiO₂ nanotube arrays with bimodal pore size distribution, *Electrochem. Commun.* 31 (2013) 67–70. doi:10.1016/j.elecom.2013.03.007.
- [55] L. Mohan, C. Anandan, N. Rajendran, Electrochemical behavior and effect of heat treatment on morphology, crystalline structure of self-organized TiO₂ nanotube arrays on Ti-6Al-7Nb for biomedical applications., *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* 50 (2015) 394–401. doi:10.1016/j.msec.2015.02.013.
- [56] M. Stępień, P. Handzlik, K. Fitzner, Electrochemical synthesis of oxide nanotubes on Ti6Al7Nb alloy and their interaction with the simulated body fluid, *J. Solid State Electrochem.* (2016) 1–11. doi:10.1007/s10008-016-3258-8.
- [57] S. Tamilselvi, V. Raman, N. Rajendran, Corrosion behaviour of Ti-6Al-7Nb and Ti-6Al-4V ELI alloys in the simulated body fluid solution by electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochim. Acta.* 52 (2006) 839–846. doi:10.1016/j.electacta.2006.06.018.
- [58] J.M. Hernández-López, A. Conde, J.J. de Damborenea, M.A. Arenas, Electrochemical response of TiO₂ anodic layers fabricated on Ti6Al4V alloy with nanoporous, dual and nanotubular morphology, *Corros. Sci.* 112 (2016) 194–203. doi:10.1016/j.corsci.2016.07.021.
- [59] V.S. Saji, H.C. Choe, W.A. Brantley, Nanotubular oxide layer formation on Ti-13Nb-13Zr alloy as a function of applied potential, *J. Mater. Sci.* 44 (2009) 3975–3982. doi:10.1007/s10853-009-3542-4.
- [60] H.-C. Choe, J.-U. Kim, Y.-H. Jeong, Nanotube growth analysis in the interface between oxide film and titanium alloy substrate using STEM and FE-SEM, *Surf. Interface Anal.* 44 (2012) 1473–1478. doi:10.1002/sia.4980.
- [61] S. Minagar, Y. Li, C.C. Berndt, C. Wen, Cell response and bioactivity of titania-zirconia-zirconium titanate nanotubes with different nanoscale topographies fabricated in a non-aqueous electrolyte, *Biomater. Sci.* 3 (2015) 636–644. doi:10.1039/C5BM00007F.
- [62] D. Khudhair, A. Bhatti, Y. Li, H.A. Hamedani, H. Garmestani, P. Hodgson, S. Nahavandi, Anodization parameters influencing the morphology and electrical properties of TiO₂ nanotubes for living cell interfacing and investigations, *Mater. Sci. Eng. C*. 59 (2016) 1125–1142. doi:10.1016/j.msec.2015.10.042.

- [63] V.S. Saji, H.C. Choe, W.A. Brantley, An electrochemical study on self-ordered nanoporous and nanotubular oxide on Ti-35Nb-5Ta-7Zr alloy for biomedical applications, *Acta Biomater.* 5 (2009) 2303–2310. doi:10.1016/j.actbio.2009.02.017.
- [64] G. Cognard, Electro catalyseurs à base d'oxydes métalliques poreux pour pile à combustible à membrane échangeuse de protons, Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Grenoble Alpes, 2017.
- [65] Y.C. Nah, I. Paramasivam, P. Schmuki, Doped TiO₂ and TiO₂ nanotubes: synthesis and applications, *Chemphyschem.* 11 (2010) 2698–2713. doi:10.1002/cphc.201000276.
- [66] P. Pu, Etude électrochimique et photoélectrochimique des modes de conduction dans les films de TiO₂ nanostructurés, Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Université Pierre et Marie Curie de Paris et de l'Université de Trento, 2012.
- [67] M. Kulkarni, A. Mazare, P. Schmuki, A. Iglic, Influence of anodization parameters on morphology of TiO₂ nanostructured surfaces, *Adv. Mater. Lett.* 7 (2016) 23–28. doi:10.5185/amlett.2016.6156.
- [68] O.K. Varghese, D. Gong, M. Paulose, C. a. Grimes, E.C. Dickey, Crystallization and high-temperature structural stability of titanium oxide nanotube arrays, *J. Mater. Res.* 18 (2003) 156–165. doi:10.1557/JMR.2003.0022.
- [69] Y. Yang, X. Wang, L. Li, Crystallization and phase transition of titanium oxide nanotube arrays, *J. Am. Ceram. Soc.* 91 (2008) 632–635. doi:10.1111/j.1551-2916.2007.02133.x.
- [70] A. Roguska, M. Pisarek, A. Belcarz, L. Marcon, M. Holdynski, M. Andrzejczuk, M. Janik-Czachor, Improvement of the bio-functional properties of TiO₂ nanotubes, *Appl. Surf. Sci.* 388 (2016) 775–785. doi:10.1016/j.apsusc.2016.03.128.
- [71] A. Tighineanu, S.P. Albu, P. Schmuki, Conductivity of anodic TiO₂ nanotubes: Influence of annealing conditions, *Phys. Status Solidi - Rapid Res. Lett.* 8 (2014) 158–162. doi:10.1002/pssr.201308221.
- [72] A. Tighineanu, T. Ruff, S. Albu, R. Hahn, P. Schmuki, Conductivity of TiO₂ nanotubes: Influence of annealing time and temperature, *Chem. Phys. Lett.* 494 (2010) 260–263. doi:10.1016/j.cplett.2010.06.022.
- [73] S.A. Ali Yahia, L. Hamadou, a. Kadri, N. Benbrahim, E.M.M. Sutter, Effect of Anodizing Potential on the Formation and EIS Characteristics of TiO₂ Nanotube Arrays, *J. Electrochem. Soc.* 159 (2012) K83. doi:10.1149/2.077204jes.
- [74] A.G. Kontos, A.I. Kontos, D.S. Tsoukleris, V. Likodimos, J. Kunze, P. Schmuki, P. Falaras, Photo-induced effects on self-organized TiO₂ nanotube arrays: the influence of surface morphology, 45603 (n.d.). doi:10.1088/0957-4484/20/4/045603.

- [75] B. Munirathinam, L. Neelakantan, Titania nanotubes from weak organic acid electrolyte: Fabrication, characterization and oxide film properties, *Mater. Sci. Eng. C*. 49 (2015) 567–578. doi:10.1016/j.msec.2015.01.045.
- [76] H. Tsuchiya, J.M. Macak, L. Müller, J. Kunze, F. Müller, P. Greil, S. Virtanen, P. Schmuki, Hydroxyapatite growth on anodic TiO₂ nanotubes, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 77A (2006) 534–541. doi:10.1002/jbm.a.
- [77] F. Hilario, V. Roche, R.P. Nogueira, A.M. Jorge Junior, Influence of morphology and crystalline structure of TiO₂ nanotubes on their electrochemical properties and apatite-forming ability, *Electrochim. Acta*. 245 (2017) 337–349. doi:10.1016/j.electacta.2017.05.160.
- [78] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*. 27 (2006) 2907–15. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.
- [79] AFNOR - Norme ISO 23317:2014(E), Implants for surgery - In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials, 2014.
- [80] C. Gabrielli, H. Takenouti, Méthodes électrochimiques appliquées à la corrosion - Techniques stationnaires, *Tech. l'Ingénieur*. 33 (2010).
- [81] V. Bertagna, M. Chemla, L'indispensable en Electrochimie, Bréal, 2001.
- [82] C. Boissy, Transport de matière au sein du film passif - Développement d'une méthodologie sélective corrélant les Point Defect Model et les modèles descriptifs, Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 2014.
- [83] H.H. Girault, Electrochimie physique et analytique, Deuxième édition, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 2007.
- [84] F. Miomandre, S. Sadki, P. Audebert, R. Méallet-Renault, Electrochimie - Des concepts aux applications, Dunod, 2005.
- [85] J.-P. Cunat, Aciers inoxydables-Propriétés. Résistance à la corrosion, *Tech. l'Ingénieur*, *Trait. Matériaux Métalliques*. (2000). <http://ftpforge.chez-alice.fr/ResistanceCorrosion.pdf>.
- [86] J.-L. Crolet, Métaux et alliages passivables. Règles de choix et emplois types, *Tech. l'ingénieur*. (2008).
- [87] C. Gabrielli, Méthodes électrochimiques - Mesures d'impédances, *Tech. l'Ingénieur*. p2210 (1994) 21.
- [88] A. Sadkowski, J.P. Diard, On the Fletcher's two-terminal equivalent network of a three-terminal electrochemical cell, *Electrochim. Acta*. 55 (2010) 1907–1911. doi:10.1016/j.electacta.2009.11.008.
- [89] L. Hamadou, L. Aïnouche, A. Kadri, S.A.A. Yahia, N. Benbrahim, Electrochemical impedance spectroscopy study of thermally grown oxides exhibiting constant phase element behaviour, *Electrochim. Acta*. 113 (2013) 99–108. doi:10.1016/j.electacta.2013.09.054.

- [90] A. Mazare, G. Totea, C. Burnei, P. Schmuki, I. Demetrescu, D. Ionita, Corrosion, antibacterial activity and haemocompatibility of TiO₂ nanotubes as a function of their annealing temperature, *Corros. Sci.* 103 (2016) 215–222. doi:10.1016/j.corsci.2015.11.021.
- [91] B. Munirathinam, L. Neelakantan, Role of crystallinity on the nanomechanical and electrochemical properties of TiO₂ nanotubes, *J. Electroanal. Chem.* 770 (2016) 73–83. doi:10.1016/j.jelechem.2016.03.032.
- [92] A. Carnot, I. Frateur, P. Marcus, B. Tribollet, Corrosion mechanisms of steel concrete moulds in the presence of a demoulding agent, *J. Appl. Electrochem.* 32 (2002) 865–869. doi:10.1023/A:1020510506504.
- [93] S. Chakri, P. David, I. Frateur, A. Galtayries, P. Marcus, E. Sutter, B. Tribollet, V. Vivier, S. Zanna, Effet de la composition chimique de la solution interstitielle de bétons jeunes sur la passivation d'un acier doux, *Matériaux Tech.* 103 (2015) 209. doi:10.1051/mattech/2015016.
- [94] M. Talha, C.K. Behera, O.P. Sinha, Potentiodynamic polarization study of Type 316L and 316LVM stainless steels for surgical implants in simulated body fluids, *J. Chem. Pharm. Res.* 4 (2012) 203–208.
- [95] V.S. Saji, H.C. Choe, Electrochemical corrosion behaviour of nanotubular Ti-13Nb-13Zr alloy in Ringer's solution, *Corros. Sci.* 51 (2009) 1658–1663. doi:10.1016/j.corsci.2009.04.013.
- [96] J.-P. Candy, P. Fouilloux, M. Keddad, H. Takenouti, The characterization of porous electrodes by impedance measurements, *Electrochim. Acta.* 26 (1981) 1029–1034.
- [97] J. Kunze, L. Müller, J.M. Macak, P. Greil, P. Schmuki, F.A. Müller, Time-dependent growth of biomimetic apatite on anodic TiO₂ nanotubes, *Electrochim. Acta.* 53 (2008) 6995–7003. doi:10.1016/j.electacta.2008.01.027.
- [98] A. Pittrof, S. Bauer, P. Schmuki, Micropatterned TiO₂ nanotube surfaces for site-selective nucleation of hydroxyapatite from simulated body fluid., *Acta Biomater.* 7 (2011) 424–31. doi:10.1016/j.actbio.2010.09.028.
- [99] H.C. Hsu, S.C. Wu, S.K. Hsu, Y.C. Chang, W.F. Ho, Fabrication of nanotube arrays on commercially pure titanium and their apatite-forming ability in a simulated body fluid, *Mater. Charact.* 100 (2015) 170–177. doi:10.1016/j.matchar.2014.12.023.
- [100] M. Uchida, H.-M. Kim, T. Kokubo, S. Fujibayashi, T. Nakamura, Structural dependence of apatite formation on titania gels in a simulated body fluid., *J. Biomed. Mater. Res. A.* 64 (2003) 164–170. doi:10.1002/jbm.a.10414.
- [101] T. Dey, P. Roy, B. Fabry, P. Schmuki, Anodic mesoporous TiO₂ layer on Ti for enhanced formation of biomimetic hydroxyapatite, *Acta Biomater.* 7 (2011) 1873–1879. doi:10.1016/j.actbio.2010.11.011.

- [102] S. Oh, S. Jin, Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth, *Mater. Sci. Eng. C.* 26 (2006) 1301–1306. doi:10.1016/j.msec.2005.08.014.
- [103] S.-H. Oh, R.R. Finões, C. Daraió, L.-H. Chen, S. Jin, Growth of nano-scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes., *Biomaterials.* 26 (2005) 4938–43. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.01.048.
- [104] Y. Huang, Z. Xu, X. Zhang, X. Chang, X. Zhang, Y. Li, T. Ye, R. Han, S. Han, Y. Gao, X. Du, H. Yang, Nanotube-formed Ti substrates coated with silicate/silver co-doped hydroxyapatite as prospective materials for bone implants, *J. Alloys Compd.* 697 (2017) 182–199. doi:10.1016/j.jallcom.2016.12.139.
- [105] S. Ahmadi, I. Mohammadi, S.K. Sadrnezhad, Hydroxyapatite based and anodic Titania nanotube biocomposite coatings: Fabrication, characterization and electrochemical behavior, *Surf. Coat. Technol.* 287 (2016) 67–75. doi:10.1016/j.surfcoat.2015.12.062.
- [106] A. Kar, K.S. Raja, M. Misra, Electrodeposition of hydroxyapatite onto nanotubular TiO₂ for implant applications, *Surf. Coat. Technol.* 201 (2006) 3723–3731. doi:10.1016/j.surfcoat.2006.09.008.
- [107] H.A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford University Press, 1989.
- [108] Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS): Card no. 73-0293, (n.d.).
- [109] H. Takadama, H.M. Kim, T. Kokubo, T. Nakamura, TEM-EDX Study of Mechanism of Bonelike Apatite Formation on Bioactive Titanium Metal in Simulated Body Fluid, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A.* 57 (2001) 441–448. doi:10.1002/1097-4636(20011205)57:3<441::AID-JBM1187>3.0.CO;2-B.
- [110] S.H. Oh, R.R. Finões, C. Daraió, L.H. Chen, S. Jin, Growth of nano-scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes, *Biomaterials.* 26 (2005) 4938–4943. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.01.048.
- [111] Z. Zhang, H. Liu, Q. Shi, X. Liu, L. Wan, Calcium ion modification of TiO₂ nanotube arrays to enhance apatite formation, *Mater. Technol.* 31 (2016) 791–798. doi:10.1080/10667857.2016.1258516.
- [112] A. Kodama, S. Bauer, A. Komatsu, H. Asoh, S. Ono, P. Schmuki, Bioactivation of titanium surfaces using coatings of TiO₂ nanotubes rapidly pre-loaded with synthetic hydroxyapatite, *Acta Biomater.* 5 (2009) 2322–2330. doi:10.1016/j.actbio.2009.02.032.
- [113] M. Mirzaee, M. Vaezi, Y. Palizdar, Synthesis and characterization of silver doped hydroxyapatite nanocomposite coatings and evaluation of their antibacterial and corrosion resistance properties in simulated body fluid, *Mater. Sci. Eng. C.* 69 (2016) 675–684. doi:10.1016/j.msec.2016.07.057.

- [114] Y. Huang, X. Zhang, H. Zhang, H. Qiao, X. Zhang, T. Jia, S. Han, Y. Gao, H. Xiao, H. Yang, Fabrication of silver- and strontium-doped hydroxyapatite/TiO₂ nanotube bilayer coatings for enhancing bactericidal effect and osteoinductivity, *Ceram. Int.* 43 (2017) 992–1007. doi:10.1016/j.ceramint.2016.10.031.
- [115] Y. Zhang, W.-L. Gao, Z.-Y. Liu, Y. Jiang, K. Duan, B. Feng, Mineralization and osteoblast behavior of multilayered films on TiO₂ nanotube surfaces assembled by the layer-by-layer technique, *Chinese Chem. Lett.* 27 (2016) 1091–1096. doi:10.1016/j.cclet.2016.03.035.
- [116] X. Zhu, K.H. Kim, Y. Jeong, Anodic oxide films containing Ca and P of titanium biomaterial., *Biomaterials.* 22 (2001) 2199–2206. doi:10.1016/S0142-9612(00)00394-X.
- [117] G.F. Santana-Melo, B.V.M. Rodrigues, E. da Silva, R. Ricci, F.R. Marciano, T.J. Webster, L.M.R. Vasconcellos, A.O. Lobo, Electrospun ultrathin PBAT/nHAp fibers influenced the in vitro and in vivo osteogenesis and improved the mechanical properties of neofomed bone, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 155 (2017) 544–552. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.04.053.
- [118] T. Mosmann, Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay, *J. Immunol. Methods.* 65 (1983) 55–63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- [119] A. Sabokbar, P.J. Millett, B. Myer, N. Rushton, A rapid, quantitative assay for measuring alkaline phosphatase activity in osteoblastic cells in vitro., *Bone Miner.* 27 (1994) 57–67. doi:10.1016/S0169-6009(08)80187-0.
- [120] C.A. Gregory, W.G. Gunn, A. Peister, D.J. Prockop, An Alizarin red-based assay of mineralization by adherent cells in culture: comparison with cetylpyridinium chloride extraction, *Anal. Biochem.* 329 (2004) 77–84. doi:10.1016/j.ab.2004.02.002.
- [121] A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri, N. Maffulli, Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions, *J. Orthop. Surg. Res.* 9 (2014) 1–27. doi:10.1186/1749-799X-9-18.
- [122] I. Roman, R. Doina, M. Soare, C. Fratila, E. Krasicka-cydzik, M. Stan, A. Dinischiotu, Titanium dioxide nanotube films Preparation, characterization and electrochemical biosensitivity towards alkaline phosphatase, *Mater. Sci. Eng. C.* 37 (2014) 374–382. doi:10.1016/j.msec.2014.01.036.
- [123] S. Minagar, J. Wang, C.C. Berndt, E.P. Ivanova, C. Wen, Cell response of anodized nanotubes on titanium and titanium alloys, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A.* 101 A (2013) 2726–2739. doi:10.1002/jbm.a.34575.
- [124] J. Zuo, X. Huang, X. Zhong, B. Zhu, Q. Sun, C. Jin, H. Quan, Z. Tang, W. Chen, A comparative study of the influence of three pure titanium plates with different micro- and nanotopographic surfaces on preosteoblast behaviors, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A.* 101 (2013) 3278–3284. doi:10.1002/jbm.a.34612.

- [125] Y. Wang, C. Wen, P. Hodgson, Y. Li, Biocompatibility of TiO₂ nanotubes with different topographies, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 102 (2014) 743–751. doi:10.1002/jbm.a.34738.
- [126] J. He, W. Zhou, X. Zhou, X. Zhong, X. Zhang, P. Wan, B. Zhu, W. Chen, The anatase phase of nanotopography titania plays an important role on osteoblast cell morphology and proliferation, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 19 (2008) 3465–3472. doi:10.1007/s10856-008-3505-3.
- [127] S.-H. An, R. Narayanan, T. Matsumoto, H.-J. Lee, T.-Y. Kwon, K.-H. Kim, Crystallinity of anodic TiO₂ nanotubes and bioactivity., *J. Nanosci. Nanotechnol.* 11 (2011) 4910–4918. doi:10.1166/jnn.2011.4114.
- [128] F. Hilario, V. Roche, A.M. Jorge, R.P. Nogueira, Application of the transmission line model for porous electrodes to analyse the impedance response of TiO₂ nanotubes in physiological environment, *Electrochim. Acta.* 253 (2017) 599–608. doi:10.1016/j.electacta.2017.09.045.
- [129] M.E. Orazem, B. Tribollet, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*, Wiley, 2008.
- [130] M.E. Orazem, I. Frateur, B. Tribollet, V. Vivier, S. Marcelin, N. Pébère, A.L. Bunge, E.A. White, D.P. Riemer, M. Musiani, Dielectric Properties of Materials Showing Constant-Phase-Element (CPE) Impedance Response, *J. Electrochem. Soc.* 160 (2013) 215–225. doi:10.1149/2.033306jes.
- [131] B. Hirschorn, M.E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur, M. Musiani, Constant-Phase-Element Behavior Caused by Resistivity Distributions in Films I. Theory, *J. Elec.* 157 (2010) C452–C457. doi:10.1149/1.3499564.
- [132] B. Hirschorn, M.E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur, M. Musiani, Constant-Phase-Element Behavior Caused by Resistivity Distribution in Films II. Applications, *J. Electrochem. Soc.* 157 (2010) 458–463. doi:10.1149/1.3499565.
- [133] B. Hirschorn, M.E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur, M. Musiani, Determination of effective capacitance and film thickness from constant-phase-element parameters, *Electrochim. Acta.* 55 (2010) 6218–6227. doi:10.1016/j.electacta.2009.10.065.
- [134] G.J. Brug, A.L.G. Van Den Eeden, M. Sluyters-Rehbach, J.H. Sluyters, The analysis of electrode impedances complicated by the presence of a constant phase element, *J. Electroanal. Chem.* 176 (1984) 275–295.
- [135] C.H. Hsu, F. Mansfeld, Technical Note: Concerning the Conversion of the Constant Phase Element Parameter Y₀ into a Capacitance, *Corrosion.* 57 (2001) 747–748. doi:10.5006/1.3280607.
- [136] A. Fujishima, K. Honda, Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode, *Nature.* 238 (1972).

- [137] A. Mazare, M. Dilea, D. Ionita, I. Demetrescu, Electrochemical behavior in simulated body fluid of TiO₂ nanotubes on TiAlNb alloy elaborated in various anodizing electrolyte, *Surf. Interface Anal.* 46 (2014) 186–192. doi:10.1002/sia.5364.
- [138] C. Liu, Y. Wang, M. Wang, W. Huang, P.K. Chu, Electrochemical stability of TiO₂ nanotubes with different diameters in artificial saliva, *Surf. Coatings Technol.* 206 (2011) 63–67. doi:10.1016/j.surfcoat.2011.06.038.
- [139] W. Yu, J. Qiu, F. Zhang, In vitro corrosion study of different TiO₂ nanotube layers on titanium in solution with serum proteins., *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* 84 (2011) 400–5. doi:10.1016/j.colsurfb.2011.01.033.
- [140] a. G. Muñoz, Q. Chen, P. Schmuki, Interfacial properties of self-organized TiO₂ nanotubes studied by impedance spectroscopy, *J. Solid State Electrochem.* 11 (2006) 1077–1084. doi:10.1007/s10008-006-0241-9.
- [141] L. Aïnouche, L. Hamadou, a. Kadri, N. Benbrahim, D. Bradai, Interfacial Barrier Layer Properties of Three Generations of TiO₂ Nanotube Arrays, *Electrochim. Acta.* 133 (2014) 597–609. doi:10.1016/j.electacta.2014.04.086.
- [142] P. Córdoba-torres, N.T.C. Oliveira, C. Bolfarini, V. Roche, R.P. Nogueira, Electrochemical impedance analysis of TiO₂ nanotube porous layers based on an alternative representation of impedance data, *J. Electroanal. Chem.* 737 (2015) 54–64. doi:10.1016/j.jelechem.2014.06.034.
- [143] J.M. Hernández-López, A. Conde, J. de Damborenea, M. a. Arenas, Correlation of the nanostructure of the anodic layers fabricated on Ti₁₃Nb₁₃Zr with the electrochemical impedance response, *Corros. Sci.* 94 (2015) 61–69. doi:10.1016/j.corsci.2015.01.041.
- [144] B. Munirathinam, H. Pydimukkala, N. Ramaswamy, Influence of crystallite size and surface morphology on electrochemical properties of annealed TiO₂ nanotubes, *Appl. Surf. Sci.* 355 (2015) 1245–1253. doi:10.1016/j.apsusc.2015.08.017.
- [145] A. Atyaoui, H. Cachet, E.M.M. Sutter, L. Bousselmi, Effect of the anodization voltage on the dimensions and photoactivity of titania nanotubes arrays, *Surf. Interface Anal.* 45 (2013) 1751–1759. doi:10.1002/sia.5317.
- [146] A. Chatzitakis, Papaderakis, N. Karanasios, J. Georgieva, E. Pavlidou, G. Litsardakis, I. Poullos, S. Sotiropoulos, Comparison of the photoelectrochemical performance of particulate and nanotube TiO₂ photoanodes, *Catal. Today.* 280 (2017) 14–20. doi:10.1016/j.cattod.2016.07.017.
- [147] L. Giorgi, E. Salernitano, T. Dikonimos Makris, R. Giorgi, E. Leoni, M.L. Grilli, N. Lisi, Titania nanotubes self-assembled by electrochemical anodization: Semiconducting and electrochemical properties, *Thin Solid Films.* 601 (2016) 28–34. doi:10.1016/j.tsf.2015.11.078.
- [148] R. De Levie, On porous electrodes in electrolyte solutions*, *Electrochim. Acta.* 8 (1963) 751–780.

- [149] J. Bisquert, Influence of the boundaries in the impedance of porous film electrodes, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2 (2000) 4185–4192. doi:10.1039/b001708f.
- [150] J. Bisquert, G. Garcia-Belmonte, F. Fabregat-Santiago, N.S. Ferriols, P. Bogdanoff, E.C. Pereira, Doubling Exponent Models for the Analysis of Porous Film Electrodes by Impedance. Relaxation of TiO₂ Nanoporous in Aqueous Solution, *J. Phys. Chem. B.* 104 (2000) 2287–2298. doi:10.1021/jp993148h.
- [151] S. Gimenez, H.K. Dunn, P. Rodenas, F. Fabregat-Santiago, S.G. Miralles, E.M. Barea, R. Trevisan, A. Guerrero, J. Bisquert, Carrier density and interfacial kinetics of mesoporous TiO₂ in aqueous electrolyte determined by impedance spectroscopy, *J. Electroanal. Chem.* 668 (2012) 119–125. doi:10.1016/j.jelechem.2011.12.019.
- [152] F. Fabregat-santiago, J. Bisquert, A. Zaban, P. Salvador, Decoupling of Transport, Charge Storage, and Interfacial Charge Transfer in the Nanocrystalline TiO₂ /Electrolyte System by Impedance Methods, *J. Phys. Chem. B.* 106 (2002) 334–339. doi:10.1021/jp0119429.
- [153] H.-L. Yao, G.-J. Yang, C.-X. Li, C.-J. Li, Influence of TiO₂ film/substrate contact on photovoltaic performance and improved efficiency in dye-sensitized solar cells, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 16 (2016) 7395–7403. doi:10.1166/jnn.2016.11298.
- [154] M. Mahbuburrahman, N. Chandradebnath, J.J. Lee, Electrochemical Impedance Spectroscopic Analysis of Sensitization-Based Solar Cells, *Isr. J. Chem.* 55 (2015) 990–1001. doi:10.1002/ijch.201500007.
- [155] L. Tsui, G. Zangari, Water content in the anodization electrolyte affects the electrochemical and electronic transport properties of TiO₂ nanotubes: a study by electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochim. Acta.* 121 (2014) 203–209. doi:10.1016/j.electacta.2013.12.163.
- [156] R. De Levie, On porous electrodes in electrolyte solutions-IV*, *Electrochim. Acta.* 9 (1964) 1231–1245.
- [157] R. De Levie, Electrochemical response of porous and rough electrodes, *Adv. Electrochem. Electrochem. Eng.* 6 (1967) 329–397.
- [158] R. De Levie, On the impedance of electrodes with rough interfaces, *J. Electroanal. Chem.* 261 (1989) 1–9.
- [159] R. De Levie, Fractals and rough electrodes, *J. Electroanal. Chem.* 281 (1990) 1–21.
- [160] A. Lasia, Modeling of Impedance of Porous Electrodes, in: *Mod. Asp. Electrochem. Number 43*, Springer New York, 2009: pp. 67–137. doi:10.1007/978-0-387-49582-8.
- [161] O.E. Barcia, E.D. Elia, I. Frateur, O.R. Mattos, N. Pébère, B. Tribollet, Application of the impedance model of de Levie for the characterization of porous electrodes, *Electrochim. Acta.* 47 (2002) 2109–2116.

- [162] S. Cattarin, M. Musiani, B. Tribollet, V. Vivier, Impedance Response of Resistive ITO Electrodes, *J. Electrochem. Soc.* 158 (2011) F135. doi:10.1149/1.3586037.
- [163] O.E. Barcia, S. Cattarin, E.D. Elia, I. Frateur, O.R. Mattos, M. Musiani, B. Tribollet, Further to the paper "Application of the impedance model of de Levie for the characterization of porous electrodes" by Barcia et al. [*Electrochim. Acta* 47 (2002) 2109], 51 (2006) 2096–2097. doi:10.1016/j.electacta.2005.06.035.
- [164] J. Bisquert, G. Garcia-Belmonte, F. Fabregat-Santiago, A. Compte, Anomalous transport effects in the impedance of porous film electrodes, *Electrochem. Commun.* 1 (1999) 429–435.
- [165] G. Garcia-Belmonte, J. Bisquert, E.C. Pereira, F. Fabregat-Santiago, Switching behaviour in lightly doped polymeric porous film electrodes. Improving distributed impedance models for mixed conduction conditions, *J. Electroanal. Chem.* 508 (2001) 48–58. doi:10.1016/S0022-0728(01)00504-6.
- [166] J. Bisquert, Theory of the Impedance of Electron Diffusion and Recombination in a Thin layer, *J. Phys. Chem. B.* 106 (2002) 325–333. doi:10.1021/jp011941g.
- [167] M.E. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, Enhanced Graphical Representation of Electrochemical Impedance Data, *J. Electrochem. Soc.* 153 (2006) 129. doi:10.1149/1.2168377.
- [168] F. Fabregat-Santiago, J. Bisquert, G. Garcia-Belmonte, G. Boschloo, A. Hagfeldt, Influence of electrolyte in transport and recombination in dye-sensitized solar cells studied by impedance spectroscopy, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.* 87 (2005) 117–131. doi:10.1016/j.solmat.2004.07.017.
- [169] J. Bisquert, A. Compte, Theory of the electrochemical impedance of anomalous diffusion, *J. Electroanal. Chem.* 499 (2001) 112–120. doi:10.1016/S0022-0728(00)00497-6.
- [170] P. Pu, H. Cachet, E.M.M. Sutter, Electrochemical impedance spectroscopy to study photo - induced effects on self-organized TiO₂ nanotube arrays, *Electrochim. Acta.* 55 (2010) 5938–5946. doi:10.1016/j.electacta.2010.05.048.

■ ANNEXES ■

ANNEXE 1 : Protocole de polissage des substrats Ti

Les échantillons de titane sont polis avant anodisation à l'aide d'une polisseuse automatique jusqu'à obtenir une surface « miroir ». Les disques métalliques sont fixés sur la tête de polissage par un ruban adhésif double face épais et souple. Le plateau et la tête de polissage tournent dans des sens contraires. Les surfaces sont rincées à l'eau entre chaque étape de polissage. Il est possible de polir 4 à 12 échantillons simultanément. Le détail des paramètres des différentes étapes de polissage est donné ci-dessous :

Tableau A-1 : Paramètres de polissage des échantillons Ti

Support de polissage	Lubrifiant	Vitesse de rotation du plateau (rpm)	Vitesse de rotation de la tête (rpm)	Temps (s)	Force / échantillon (daN)
SiC P320	eau	250	150	180	0,2
SiC P600	eau	250	150	120	0,2
SiC P1200	eau	150	150	120	0,2
SiC P2400	eau	150	100	60	0,2
Tissu de polissage de finition	Silice colloïdale 0,03 µm diluée à 50%vol.	150	150	300 + 30 s de rinçage à l'eau	0,2

ANNEXE 2 : Préparation de la solution SBF et protocole des essais de bioactivité

Extrait de la référence [78] : T. Kokubo, H. Takadama, *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?*, **Biomaterials**. 27 (2006) 2907–15.

Appendix A. Recipe for preparing simulated body fluid (SBF) and procedure of apatite-forming ability test

A.1. Preparation of simulated body fluid (SBF)

A.1.1. Reagents for SBF

The following powder reagent grade chemicals have to be stocked in a desiccator. Ion-exchanged and distilled water is used for the preparation of SBF :

- (1) sodium chloride (NaCl),
- (2) sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃),
- (3) potassium chloride (KCl),
- (4) di-potassium hydrogen phosphate trihydrate (K₂HPO₄·3H₂O),
- (5) magnesium chloride hexahydrate (MgCl₂·6H₂O),
- (6) calcium chloride (CaCl₂),
- (7) sodium sulfate (Na₂SO₄),
- (8) Tris-hydroxymethyl aminomethane: ((HOCH₂)₃CNH₂) (Tris),
- (9) 1M (mol/l) Hydrochloric Acid, 1M-HCl,
- (10) pH standard solution, (pH 4, 7 and 9).

A.1.2. Ion concentrations of SBF

The ion concentrations of SBF are shown in Table A1.

A.1.3. Preparation procedure of SBF

Since SBF is supersaturated with respect to apatite, an inappropriate preparation method can lead to the precipitation of apatite in the solution. Always make sure that the preparing solution is kept colorless and transparent and that there is no deposit on the surface of the bottle. If any precipitation occurs, stop preparing SBF, abandon the

solution, restart from washing the apparatus and prepare SBF again.

In order to prepare 1000ml of SBF, first of all, put 700ml of ion-exchanged and distilled water with a stirring bar into 1000ml plastic beaker. Set it in the water bath on the magnetic stirrer and cover it with a watch glass or plastic wrap. Heat the water in the beaker to 36.57 1.51C under stirring.

Dissolve only the reagents of 1st to 8th order into the solution at 36.57 1.51C one by one in the order given in Table A2, taking care of the indications in the following list. The reagents of 9th (Tris) and 10th order (small amount of HCl) are dissolved in the following process of pH adjustment:

- In preparation of SBF, glass containers should be avoided, but a plastic container with smooth surface and without any scratches is recommended, because apatite nucleation can be induced at the surface of a glass container or the edge of scratches. If the container has scratches, replace it by a new one.
- Never dissolve several reagents simultaneously. Dissolve a reagent only after the preceding one (if any) is completely dissolved.
- Since the reagent CaCl_2 , which has great effect on precipitation of apatite, takes usually granular form

and takes much time to dissolve on granule at a time, completely dissolve one before initiation of dissolution of the next.

- Measure the volume of 1M-HCl by cylinder after washing with 1M-HCl.
- Measure the hygroscopic reagents such as KCl, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , Na_2SO_4 in as short a period as possible.

Set the temperature of the solution at 36.57 1.51C. If the amount of the solution is smaller than 900ml, add ion-exchanged and distilled water up to 900ml in total.

Insert the electrode of the pH meter into the solution. Just before dissolving the Tris, the pH of the solution should be 2.07 1.0.

With the solution temperature between 35 and 381C, preferably to 36.57 0.51C, dissolve the reagent Tris into the solution little by little taking careful note of the pH change. After adding a small amount of Tris, stop adding it and wait until the reagent already introduced is dissolved completely and the pH has become constant; then add more Tris to raise the pH gradually. When the pH becomes 7.307 0.05, make sure that the temperature of the solution is maintained at 36.57 0.51C. With the solution at 36.57 0.51C, add more Tris to raise the pH to under 7.45.

Table A1
Nominal ion concentrations of SBF in comparison with those in human blood plasma

Ion	Ion concentrations (mM)	
	Blood plasma	SBF
Na^+	142.0	142.0
K^+	5.0	5.0
Mg^{2+}	1.5	1.5
Ca^{2+}	2.5	2.5
Cl^-	103.0	147.8
HCO_3^-	27.0	4.2
HPO_4^{2-}	1.0	1.0
SO_4^{2-}	0.5	0.5
pH	7.2-7.4	7.40

Note 1: Do not add a large amount of Tris into the solution at a time, because the radical increase in local pH of the solution can lead to the precipitation of calcium phosphate. If the solution temperature is not within 36.57 0.51C, add Tris to raise the pH to 7.307 0.05, stop adding it and wait for the solution temperature to reach 36.57 0.51C.

Note 2: The pH shall not increase over 7.45 at 36.57 0.51C, taking account of the pH decrease with increasing solution temperature (the pH falls about 0.05/1C at 36.57 1.51C).

When the pH has risen to 7.457 0.01, stop dissolving Tris, then drop 1M-HCl by syringe to lower the pH to

Table A2
Order, amounts, weighing containers, purities and formula weights of reagents for preparing 1000ml of SBF

Order	Reagent	Amount	Container	Purity (%)	Formula weight
1	NaCl	8.035g	Weighing paper	99.5	58.4430
2	NaHCO_3	0.355g	Weighing paper	99.5	84.0068
3	KCl	0.225g	Weighing bottle	99.5	74.5515
4	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.231g	Weighing bottle	99.0	228.2220
5	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.311g	Weighing bottle	98.0	203.3034
6	1.0M-HCl	39ml	Graduated cylinder	—	—
7	CaCl_2	0.292g	Weighing bottle	95.0	110.9848
8	Na_2SO_4	0.072g	Weighing bottle	99.0	142.0428
9	Tris	6.118g	Weighing paper	99.0	121.1356
10	1.0M-HCl	0-5ml	Syringe	—	—

7.427 0.01, taking care that the pH does not decrease below 7.40. After the pH has fallen to 7.427 0.01, dissolve the remaining Tris little by little until the pH has risen to p 7.45. If any Tris remains, add the 1M-HCl and Tris alternately into the solution. Repeat this process until the whole amount of Tris is dissolved keeping the pH within the range of 7.42–7.45. After dissolving the whole amount of Tris, adjust the temperature of the solution to 36.57 0.2 1C. Adjust the pH of the solution by dropping 1M-HCl little by little at a pH of 7.427 0.01 at 36.57 0.2 1C and then finally adjust it to 7.40 exactly at 36.5 1C on condition that the rate of solution temperature increase or decrease is less than 0.1 1C/min.

Remove the electrode of the pH meter from the solution, rinse it with ion-exchanged and distilled water and add the washings into the solution.

Pour the pH-adjusted solution from the beaker into 1000ml volumetric flask. Rinse the surface of the beaker with ion-exchanged and distilled water and add the washings into the flask several times, fixing the stirring bar with a magnet as if to prevent it from falling into the volumetric flask.

Add the ion-exchanged and distilled water up to the marked line (it is not necessary to adjust exactly, because the volume becomes smaller after cooling), put a lid on the flask and close it with plastic film.

After mixing the solution in the flask, keep it in the water to cool it down to 20 1C.

After the solution temperature has fallen to 20 1C, add the distilled water up to the marked line.

A.1.4. Confirmation of ion concentrations of SBF

Prepared SBF should have the ion concentrations shown in Table A.1. In order to confirm the ion concentrations of the SBF, chemical analysis of the SBF is recommended, because SBF is a metastable solution supersaturated with respect to apatite.

Note: It is also recommended that the apatite-forming ability of standard glasses should be examined in the prepared SBF. Chemical compositions of the standard glasses are shown in Table A.3. When standard glasses A–C are soaked in SBF, an apatite layer should be detected by thin-film X-ray diffraction and/or scanning electron microscopy after soaking for 12, 24 and 120h, respectively.

Table A.3
The compositions of the standard glasses in the SiO₂-Na₂O-CaO system

Standard glass	Composition (mol%)		
	SiO ₂	Na ₂ O	CaO
A	50	25	25
B	55	22.5	22.5
C	60	20	20

A.1.5. Preservation of SBF

Prepared SBF should be preserved in a plastic bottle with a lid put on tightly and kept at 5±10 1C in a refrigerator. The SBF shall be used within 30d after preparation.

A.2. Procedure of apatite-forming ability test

A.2.1. Soaking in SBF

For dense materials, measure the specimen dimensions and calculate the surface area with an accuracy of 2mm² for a thin plate.

Calculate the volume of SBF that is used for testing using the following Eq. (1):

$$V_s \approx \frac{1}{4} S_a \approx 10, \quad (1)$$

where V_s is the volume of SBF (ml) and S_a is the apparent surface area of specimen (mm²).

For porous materials, the volume of SBF should be greater than the calculated V_s .

Put the calculated volume of SBF into a plastic bottle or beaker. After heating the SBF to 36.5 1C a specimen should be placed in the SBF as shown in Fig. A.1. The entire specimen should be submerged in the SBF.

Note: In rare cases, apatite may homogeneously precipitate in the SBF and can be deposited on the surface of a specimen. Therefore, it is recommended that the specimens be placed in the SBF as shown in Fig. A.1(a) or Fig. A.1(b). In case of placement as shown in Fig. A.1 (b), apatite formation should be examined for the lower surface of the specimen.

After soaking at 36.5 1C for different periods within 4 weeks in the SBF, take out the specimen from the SBF and gently wash it with pure water. The specimen should be dried in a desiccator without heating.

Note 1: Bone bonding materials usually form apatite on their surfaces within 4 weeks.

Note 2: A specimen, once taken out of SBF and dried, should not be soaked again.

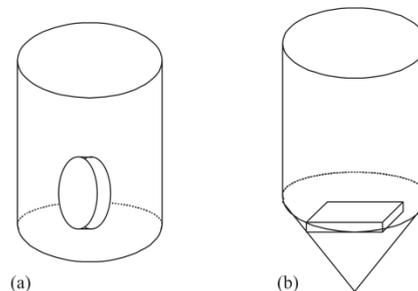


Fig. A.1. A specimen in the SBF (Examples).

ANNEXE 3 : Evaluation in vitro du comportement cellulaire après incubation au contact des NTs de TiO₂

Extrait du rapport de Gabriela F. Santana-Melo, NaNoBio, UniVap, Brésil

I. MATERIAL AND METHODS

Cell culture

The MG63 osteoblast-like cell line were cultured in a-Modified Eagle's Medium (DMEM; Gibco-Life Technologies, NY, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum (Gibco-Life Technologies, NY, USA), 100 U/ml penicillin (Gibco-Life Technologies, NY, USA) and 100 µg/ml streptomycin (Gibco-Life Technologies, NY, USA) in 75 cm² flasks (TPP, Biosystems, Curitiba, Brasil) and maintained in a humidified atmosphere with 5% CO₂ and 95% air at 37°C. The medium was changed every two days, and the development of the cells was evaluated by inverted-phase microscopy (Carl Zeiss Microimaging GmbH - Axiovert 40C, Germany). When confluent, cells were enzymatically removed, and plated on the sterile samples in 24-well polystyrene plates (TTP, Biosystems, Curitiba, Brasil), at a density of 2x10⁴ cells/well for period of up to 14 days. Previously the samples were sterilized in absolute ethanol and under ultraviolet lamp for 3 hours. All tests were development in accordance with ISO-10993-5 and described previously in [117]. Two independent experiments were realized (n=5).

Cell cytotoxicity (MTT)

After being cultured for 1, 3 and 7 days the cell cytotoxicity was determined by the MTT assay [118] (3-[4-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide; thiazolyl blue) (Sigma Aldrich, St Louis, USA). Cells were incubated with MTT (0,5 mg/mL) at 37°C for 1 hour to form purple formazan crystals. Next, the supernatant was removed followed by the addition of 1 mL dimethyl sulfoxide (DMSO - Sigma Aldrich, St Louis, USA) to each well. The plates were then stirred on a plate shaker for 20 min to dissolve the formazan crystals, 200 µL of this solution were transferred to a

96-well plate for colorimetric analysis. The resulting optical density reading was measured in a spectrophotometer (Biotek-EL808IU, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) at 570 nm, and the data normalized by the control group (Ticp).

Alkaline phosphatase activity (ALP)

ALP activity was evaluated after cell incubation for 5 days by the hydrolysis of thymolphthalein monophosphate substrate in accordance with the manufacturer's recommendations (Alkaline phosphatase activity 40, Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, BR). The absorbance was measured by spectrophotometer (Shimadzu Europa GmbH UV 1203) at 590 nm. The ALP activity was standardized using total protein level, and the values were presented in μmol of thymolphthalein/h/mg of protein.

Alizarin red staining (ARS)

For quantitative analysis of mineralized matrix nodules the cells were cultured for 14 days, washed with Hank's solution (Sigma Aldrich, St Louis, USA) at 37 °C, and fixed with 70% ethanol for 1 h at 4 °C. Following fixation, the cells were stained with 2% Alizarin red S (Sigma Aldrich, St Louis MO, USA), for 15 min at 37 °C. Then the dye was extracted according to the colorimetric method previously described by [120], and the absorbance was measured by spectrophotometer (EL808IU Biotek Instruments, Winooski, USA) at a wavelength of 405 nm. The values were expressed as optical density.

Statistical analysis

Data were submitted to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a Tukey's test, which was used for multiple comparisons. GraphPad Prism program (version 5.01) (San Diego, CA, USA) was used and a value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

II. RESULTS

Cell Cytotoxicity (MTT)

The MTT test was evaluated at 1, 3 and 7 days of cell culture. According to the results (**Fig. X**) all groups showed an increase in cell viability over time. The Bamor (B-Am), Damor (D-Am), Bcryst (B-M) and Dcryst (D-M) groups, showed increase in the cellular viability statistically significant ($p < 0.0001$) in relation to the group Ticp (S-Am), as well as the Bcryst and Dcryst groups presented greater viability ($p < 0.0001$) in relation to the Bamor and Damor groups, the difference being more evident at 7 days.

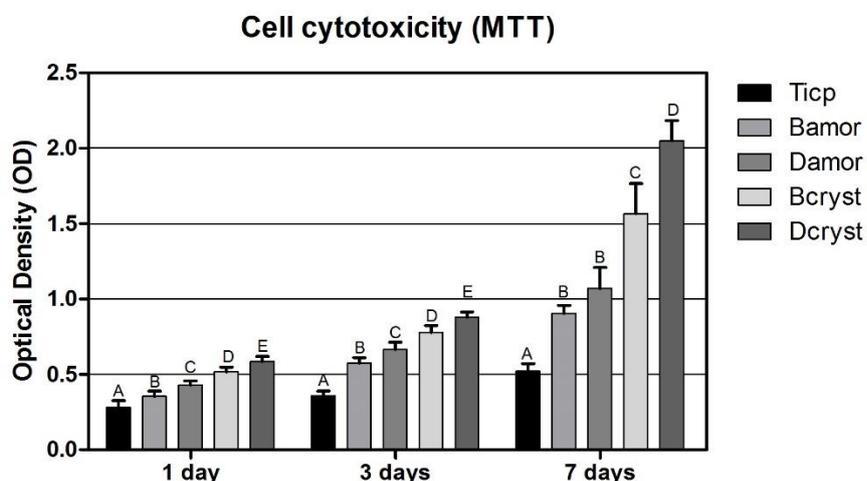


Fig. X – Cell cytotoxicity (MTT assay) at 1, 3 and 7 days of cellular culture, data were expressed as optical density (OD) at 570 nm. All values were reported as mean \pm SD ($n=5$). Different letters show significant differences for $p < 0.05$.

Alkaline Phosphatase Activity (ALP)

Alkaline phosphatase activity was measured at 5 days of cell culture and the results (**Fig. Y**) showed a statistically significant increase ($p < 0.0001$) of the Bamor and Damor groups and of the Bcryst and Dcryst groups in relation to the Ticp group. Although there was no statistically significant difference ($p > 0.05$), the Damor group presented greater ALP activity in relation to the Bamor group. However, the increase in ALP activity in the Bcryst and Dcryst groups in relation to the other groups ($p < 0.0001$) is notorious, showing the Dcryst group the largest increase.

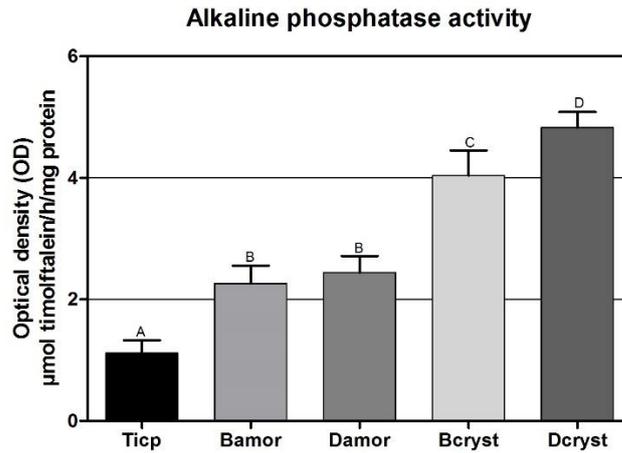


Fig. Y – Alkaline phosphatase activity at 5 days of cellular culture, all values were reported as mean \pm SD (n=5). Different letters show significant differences for $p < 0.05$.

Alizarin Red Staining (ARS)

At 14 days of cell culture all groups exhibited formation of mineralized matrix nodules (**Fig. W**). However, after the ARS extraction, the Bamor and Damor groups and the Bcryst and Dcryst groups presented higher concentrations of ARS ($p < 0.0001$) than the Ticp group. Even though there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) between the Bcryst and Dcryst groups, these presented higher values of ARS ($p < 0.0001$) in relation to the Bamor and Damor groups, exhibiting higher mineralized matrix formation (**Fig. Z**).

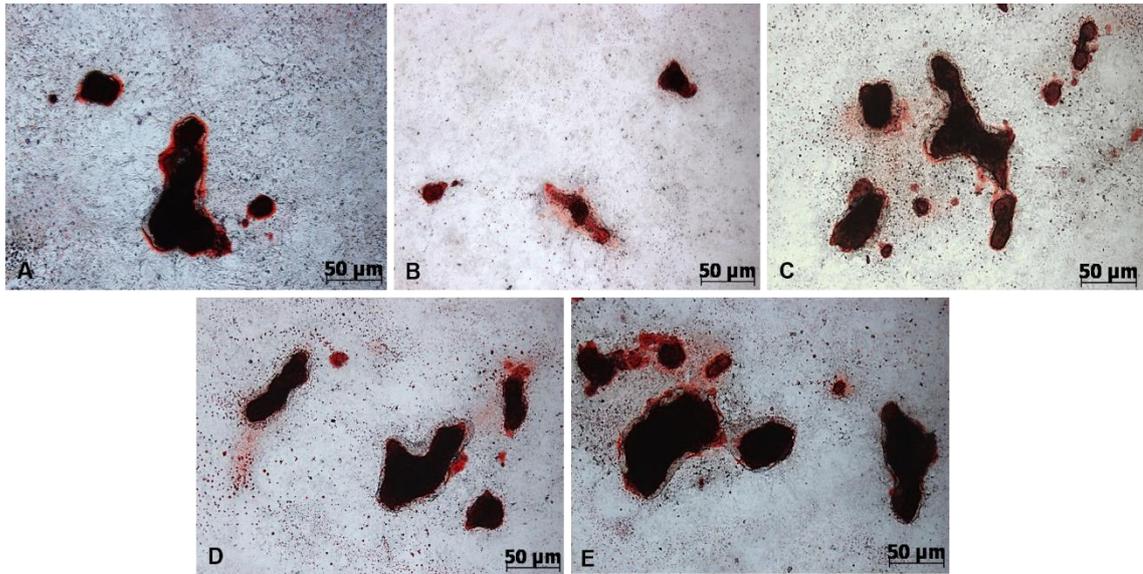


Fig. W - Alizarin red staining of mineralized nodule formation *in vitro* at 14 days. a) Ticp; (b) Bamor; (c) Damor; (d) Bcryst; (e) Dcryst.

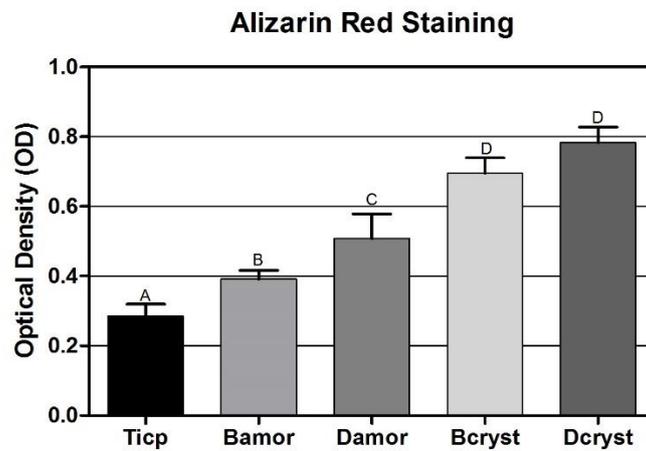


Fig. Z – Alizarin red staining at 14 days of cellular culture, all values were reported as mean \pm SD (n=5). Different letters show significant differences for $p < 0.05$.

■ RESUME ■

Le Titane (Ti) est un matériau biocompatible largement utilisé dans le domaine biomédical, notamment pour les implants orthopédiques (prothèse de hanche ou du genou par exemple). Il se distingue plus particulièrement par son excellente résistance à la corrosion et sa capacité d'ostéo-intégration. Cependant, une surface plane de Ti n'est pas assez bioactive pour être implantée ; il est nécessaire d'avoir recours à un traitement de surface pour améliorer ses propriétés. La modification de la surface du titane par anodisation permet la synthèse de nanotubes (NTs) de TiO_2 ordonnés et verticalement alignés. Cette technique, peu coûteuse, rapide et facile à mettre en œuvre permet également de contrôler finement la morphologie des NTs (diamètre, longueur, aspect des parois...). De plus, les NTs étant amorphes après anodisation, la structure cristalline peut être ajustée par un traitement thermique, conduisant à une structure anatase (450°C) ou à une structure mixte d'anatase et de rutile (550°C).

Ainsi, des surfaces de différentes morphologies et différentes structures cristallines ont été synthétisées dans ce travail de thèse, afin d'évaluer l'influence des caractéristiques morpho-structurelles sur la résistance à la corrosion en milieu physiologique et sur la bioactivité (formation d'hydroxyapatite et réponse cellulaire).

Nous avons démontré dans cette étude que les NTs cristallisés présentent une plus grande résistance à la corrosion et une meilleure bioactivité que les NTs amorphes (ou que les surfaces planes de Ti). Plus précisément, en tenant compte des aspects électrochimiques, thermiques, mécaniques, chimiques et de bioactivité, il semblerait que des NTs mixtes d'environ 720 nm de long et 90 nm de diamètre constituent une surface optimale pour les applications visées.

D'autre part, dans le cadre de l'étude des propriétés électrochimiques de l'interface, une attention toute particulière a été accordée dans ce travail de thèse à la modélisation des résultats de mesures par Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE). Il s'avère que la réponse en impédance des NTs de TiO_2 en milieu physiologique correspond au modèle d'électrode poreuse de De Levie. Toutefois, pour des électrodes poreuses non-idéales, cette théorie peut être généralisée et modélisée par des lignes de transmission. Ainsi, le modèle de ligne de transmission proposé dans cette étude s'ajuste de façon très satisfaisante aux mesures expérimentales. Il permet notamment de mettre en évidence la nature très peu réactive des NTs de TiO_2 , justifiant ainsi leurs applications dans le domaine biomédical.

Mots-Clés : Nanotubes de TiO_2 | Anodisation | Bioactivité | Hydroxyapatite |

Résistance à la corrosion | Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE)

■ ABSTRACT ■

Titanium (Ti) is a biocompatible material widely used in the biomedical field, especially for orthopedic implants (for instance hip or knee replacement). It is particularly corrosion resistant and shows remarkable osseointegration properties. However, plane Ti surfaces are not bioactive enough to be implanted; they need to be improved by surface treatments. Surface modification of Ti by anodization enables to synthesize self-organized and vertically aligned TiO₂ nanotubes (NTs). This cheap, fast and easily implementable technique also permits a fine tuning of NTs morphology (diameter, length, wall thickness, etc.). Moreover, since as-anodized NTs are amorphous, crystalline structure may be adjusted by heat treatment, producing anatase structure (450°C) or a mixed structure of anatase and rutile (550°C).

Therefore, surfaces of different morphologies and crystalline structures have been synthesized in order to evaluate the influence of these characteristics on corrosion resistance in physiological medium and on bioactivity (hydroxyapatite formation and cell response).

We demonstrated that crystallized NTs are more corrosion resistant and more bioactive than amorphous ones or even than flat Ti surfaces. More precisely, considering electrochemical, thermal, mechanical, chemical and bioactive aspects, it seems that mixed NTs of about 720 nm in length and 90 nm in diameter constitute an optimal surface for the present applications.

Additionally, in the frame of electrochemical investigations, we focused on modeling experimental results from Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) measurements. The impedance response of TiO₂ NTs in physiological conditions can correspond to porous electrode model as developed by De Levie. However, for non-ideal electrodes, this theory can be generalized and modeled by transmission lines. Thus, the transmission line model developed in this study fits very well with experimental measurements. It suggests that TiO₂ NTs are almost non-reactive, justifying their applications in biomedical fields.

Keywords: TiO₂ Nanotubes | Anodization | Bioactivity | Hydroxyapatite |

Corrosion Resistance | Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS)

Résumé :

Le Titane (Ti) est un matériau biocompatible largement utilisé dans le domaine biomédical, notamment pour les implants orthopédiques (prothèse de hanche ou du genou par exemple). Il se distingue plus particulièrement par son excellente résistance à la corrosion et sa capacité d'ostéo-intégration. Cependant, une surface plane de Ti n'est pas assez bioactive pour être implantée ; il est nécessaire d'avoir recours à un traitement de surface pour améliorer ses propriétés. La modification de la surface du titane par anodisation permet la synthèse de nanotubes (NTs) de TiO_2 ordonnés et verticalement alignés. Cette technique, peu coûteuse, rapide et facile à mettre en œuvre permet également de contrôler finement la morphologie des NTs (diamètre, longueur, aspect des parois...). De plus, les NTs étant amorphes après anodisation, la structure cristalline peut être ajustée par un traitement thermique, conduisant à une structure anatase (450°C) ou à une structure mixte d'anatase et de rutile (550°C).

Ainsi, des surfaces de différentes morphologies et différentes structures cristallines ont été synthétisées dans ce travail de thèse, afin d'évaluer l'influence des caractéristiques morpho-structurelles sur la résistance à la corrosion en milieu physiologique et sur la bioactivité (formation d'hydroxyapatite et réponse cellulaire).

Nous avons démontré dans cette étude que les NTs cristallisés présentent une plus grande résistance à la corrosion et une meilleure bioactivité que les NTs amorphes (ou que les surfaces planes de Ti). Plus précisément, en tenant compte des aspects électrochimiques, thermiques, mécaniques, chimiques et de bioactivité, il semblerait que des NTs mixtes d'environ 720 nm de long et 90 nm de diamètre constituent une surface optimale pour les applications visées.

D'autre part, dans le cadre de l'étude des propriétés électrochimiques de l'interface, une attention toute particulière a été accordée dans ce travail de thèse à la modélisation des résultats de mesures par Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE). Il s'avère que la réponse en impédance des NTs de TiO_2 en milieu physiologique correspond au modèle d'électrode poreuse de De Levie. Toutefois, pour des électrodes poreuses non-idéales, cette théorie peut être généralisée et modélisée par des lignes de transmission. Ainsi, le modèle de ligne de transmission proposé dans cette étude s'ajuste de façon très satisfaisante aux mesures expérimentales. Il permet notamment de mettre en évidence la nature très peu réactive des NTs de TiO_2 , justifiant ainsi leurs applications dans le domaine biomédical.

Mots-Clés : Nanotubes de TiO_2 | Anodisation | Bioactivité | Hydroxyapatite | Résistance à la corrosion | Spectroscopie d'Impédance Electrochimique (SIE)

Abstract:

Titanium (Ti) is a biocompatible material widely used in the biomedical field, especially for orthopedic implants (for instance hip or knee replacement). It is particularly corrosion resistant and shows remarkable osseointegration properties. However, plane Ti surfaces are not bioactive enough to be implanted; they need to be improved by surface treatments. Surface modification of Ti by anodization enables to synthesize self-organized and vertically aligned TiO_2 nanotubes (NTs). This cheap, fast and easily implementable technique also permits a fine tuning of NTs morphology (diameter, length, wall look, etc.). Moreover, since as-anodized NTs are amorphous, crystalline structure may be adjusted by heat treatment, producing anatase structure (450°C) or a mixed structure of anatase and rutile (550°C).

Therefore, surfaces of different morphologies and crystalline structures have been synthesized in order to evaluate the influence of these characteristics on corrosion resistance in physiological medium and on bioactivity (hydroxyapatite formation and cell response).

We demonstrated that crystallized NTs are more corrosion resistant and more bioactive than amorphous ones or even than flat Ti surfaces. More precisely, considering electrochemical, thermal, mechanical, chemical and bioactive aspects, it seems that mixed NTs of about 720 nm in length and 90 nm in diameter constitute an optimal surface for the present applications.

Additionally, in the frame of electrochemical investigations, we focused on modeling experimental results from Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) measurements. The impedance response of TiO_2 NTs in physiological conditions can correspond to porous electrode model as developed by De Levie. However, for non-ideal electrodes, this theory can be generalized and modeled by transmission lines. Thus, the transmission line model developed in this study fits very well with experimental measurements. It suggests that TiO_2 NTs are almost non-reactive, justifying their applications in biomedical fields.

Keywords: TiO_2 Nanotubes | Anodization | Bioactivity | Hydroxyapatite | Corrosion Resistance | Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS)

