



**HAL**  
open science

# Elaboration de biomatériaux phosphocalciques macroporeux à partir d'émulsions de Pickering concentrées

Karline Pascaud

► **To cite this version:**

Karline Pascaud. Elaboration de biomatériaux phosphocalciques macroporeux à partir d'émulsions de Pickering concentrées. Génie des procédés. Ecole des Mines d'Albi-Carmaux, 2022. Français. NNT : 2022EMAC0006 . tel-04430618

**HAL Id: tel-04430618**

**<https://theses.hal.science/tel-04430618>**

Submitted on 1 Feb 2024

**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

En vue de l'obtention du

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

délivré par

IMT – École Nationale Supérieure des Mines d'Albi-Carmaux

présentée et soutenue par

**Karline PASCAUD**

le 11 mars 2022

Titre :

**Élaboration de biomatériaux phosphocalciques macroporeux à partir d'émulsions de Pickering concentrées**

**École doctorale et discipline ou spécialité :**

MEGEP : Génie des procédés et de l'Environnement

**Unités de recherche :**

Centre RAPSODEE, UMR CNRS 5302, IMT Mines Albi

Institut Carnot CIRIMAT, INP-UPS-UMR CNRS 5085

**Directrices de thèse :**

Maria-Inês RÉ, Professeure, IMT Mines Albi

Stéphanie SARDA, Maîtresse de Conférences, HDR, Université Paul Sabatier Toulouse

**Autres membres du jury :**

Yves CHEVALIER, Directeur de Recherche CNRS, Université Lyon 1, Rapporteur

Chantal DAMIA, Maîtresse de Conférences, HDR, Université de Limoges, Rapporteur

Frédéric TOPIN, Maître de Conférences, HDR, Aix-Marseille Université, Examineur

Denis PONCELET, Professeur émérite, Université de Nantes, Président

Véronique SCHMITT, Directrice de Recherche CNRS, Université de Bordeaux, Examinatrice

Romain SESCOUSSE, Maître-assistant, IMT Mines Albi, Encadrant, Invité

Fabien BROUILLET, Maître de Conférences, Université Paul Sabatier Toulouse, Encadrant, Invité



# Remerciements

Cette thèse a été réalisée en collaboration entre le centre RAPSODEE de l'IMT Mines d'Albi et le CIRIMAT, je les remercie pour m'avoir permis de réaliser cette thèse.

Je voudrais tout d'abord remercier mes directrices de thèse, Madame Maria Inês Ré et Madame Stéphanie Sarda, pour leur accompagnement et la transmission de leur savoir. Je remercie également Monsieur Romain Sescousse et Monsieur Fabien Brouillet pour avoir encadré mes travaux de thèse.

Je souhaiterais remercier également Monsieur Yves Chevalier et Madame Chantal Damia pour avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse. Ensuite, je remercie Denis Poncelet d'avoir présidé ce jury. Enfin, je remercie Monsieur Frédéric Topin et Madame Véronique Schmitt, membres du jury. Merci pour cette discussion très intéressante et constructive. J'adresse tout particulièrement mes remerciements à Madame Véronique Schmitt qui m'a accueillie chaleureusement au sein de son laboratoire (CRPP) au cours de ma 1<sup>ère</sup> année de thèse et durant une période qui m'a été très bénéfique.

Je tiens également à remercier l'école doctorale MEGEP pour m'avoir accordé un financement sans lequel je n'aurais pu partir en mobilité. De ce fait, je remercie chaudement Antonio Claudio Tedesco pour son accueil au sein du CNET de la FFCLRP, ainsi que Cristiano Jayme et Dani Fernandes pour leur implication dans mon travail.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à l'ensemble du personnel du centre RAPSODEE pour leur accueil, le soutien scientifique et moral qu'ils ont pu m'apporter. Je souhaite remercier plus particulièrement les techniciens pour la réalisation des analyses, leur aide et soutien à tout moment de cette thèse notamment Laurent, Philippe, Séverine, Sylvie, Christine ou encore Céline et Jean-Marie dans les derniers moments. Un grand merci également à Benjamin Duployer, Christophe Tenailleau et Pascal Lenormand du CIRIMAT pour leur aide précieuse dans la réalisation des analyses Tomo.

Je ne peux évidemment pas oublier de remercier les doctorants pour la bonne ambiance dans les bureaux et à l'extérieur. De l'accueil de Bhanca, à mes collègues arrivés en même temps que moi, Thomas, Pauline, Martin et Léa puis aux derniers arrivés Gweni, Marine et Thibault. Merci Marine d'avoir été là dans ces derniers moments.

Un doctorat est une expérience pleine de rebondissement, vers le haut et le bas, qui en fait un challenge. C'est pourquoi je souhaite adresser un très grand merci à mes parents et ma famille qui m'ont toujours soutenue, ainsi qu'à mes amis qui n'ont cessé d'être présent.



# Sommaire

Remerciements .....	i
Sommaire.....	1
Liste des figures.....	7
Liste des tableaux.....	13
Introduction générale.....	17
CHAPITRE 1 Étude bibliographique .....	23
Partie A. Le tissu osseux et les biomatériaux de substitution .....	24
I. Le tissu osseux .....	24
1. Structure et fonction de l'os .....	24
2. Composition chimique de l'os .....	26
3. Le renouvellement osseux.....	27
II. Les biomatériaux de substitution osseuse .....	28
1. Généralités.....	29
2. Les biocéramiques .....	32
III. Les apatites.....	37
1. L'hydroxyapatite .....	39
a) Voies de synthèse .....	39
b) Structure de l'HAp.....	40
2. Les apatites nanocristallines biomimétiques.....	42
IV. Contrôle de la porosité .....	43
1. Les différents types de porosité .....	44
2. Influence de la porosité sur les propriétés biologiques.....	46
3. Méthodes d'obtention des matériaux poreux.....	47
a) Matériaux poreux obtenus par séparation de phase.....	48
b) Matériaux poreux obtenus par expansion de gaz.....	48
c) Matériaux poreux obtenus par utilisation d'une empreinte dure .....	49
d) Matériaux poreux obtenus par fabrication additive .....	50
e) Matériaux poreux obtenus par utilisation d'une émulsion .....	51
Partie B. Les émulsions.....	54
I. Notions générales.....	54

II. <i>Émulsions de Pickering</i> .....	55
1. Historique .....	55
2. Exemple d'émulsions de Pickering.....	56
3. Applications .....	57
a) L'industrie pétrolière .....	57
b) L'industrie cosmétique et pharmaceutique.....	58
c) Les matériaux.....	58
III. <i>Mécanisme de stabilisation</i> .....	59
1. Mouillage des particules et interface .....	59
2. Energie d'ancrage .....	61
3. Interaction entre les particules.....	63
4. Coalescence limitée et taux de couverture .....	68
5. Structure de l'interface.....	70
IV. <i>Facteurs influençant les émulsions de Pickering</i> .....	73
1. Influence sur le type d'émulsion, [H/E] ou [E/H] .....	73
a) Localisation initiale des particules .....	73
b) Mouillabilité .....	75
2. Influence sur la stabilité.....	77
a) Les particules .....	77
b) Concentration en particules.....	79
c) Type d'huile.....	80
d) Composition de la phase aqueuse .....	81
e) Fraction massique huile/eau.....	82
V. <i>Déstabilisation des émulsions</i> .....	82
1. Crémage et sédimentation .....	83
2. Floculation .....	84
3. Coalescence .....	84
<i>Synthèse de l'état de l'art et objectifs de la thèse</i> .....	86
CHAPITRE 2 Matériels et méthodes.....	89
<i>Introduction</i> .....	90
I. <i>Méthodes de caractérisation de l'hydroxyapatite</i> .....	90
1. Diffraction des rayons X (DRX).....	91
2. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) .....	94
3. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-OES).....	96
4. Microscopie Électronique à Balayage (MEB) .....	97
5. Microscopie Électronique à Transmission (MET).....	100

6.	Granulométrie laser .....	102
7.	Pycnométrie à gaz .....	103
8.	Mesure du Potentiel zêta .....	103
9.	Diffusion dynamique de la lumière DDL ( <i>dynamic light scattering</i> ou DLS en anglais) .....	106
II.	<i>Méthodes d'émulsification et de caractérisation des émulsions de Pickering</i> .....	107
1.	Mesure de la tension de surface .....	107
2.	Mesure de l'angle de contact 3 phases .....	109
3.	Techniques d'émulsification par action mécanique .....	110
4.	Caractérisation de l'émulsion .....	112
a)	Microscopie Optique.....	112
b)	Analyseur optique (Turbiscan Lab Expert) .....	114
III.	<i>Méthodes de caractérisation des biomatériaux poreux</i> .....	120
1.	Caractérisation physico-chimique des biomatériaux poreux .....	120
2.	Analyses thermiques.....	121
3.	Analyse de la porosité par Microtomographie par rayons X .....	122
4.	Tests mécaniques .....	125
<b>CHAPITRE 3</b> <b>Élaboration et caractérisation d'émulsions de Pickering stabilisées par des particules d'hydroxyapatite</b> .....		
	<i>Introduction</i> .....	128
Partie A.	<b>Synthèse et caractérisation des particules d'HAp</b> .....	129
I.	<i>Synthèse par coprécipitation des particules d'HAp</i> .....	129
II.	<i>Caractérisation de la poudre d'HAp synthétisée</i> .....	132
1.	Diffraction des rayons X.....	132
2.	Spectroscopie infrarouge.....	134
3.	Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	136
4.	Microscopie électronique en transmission (MET) .....	137
5.	Granulométrie laser .....	138
6.	Rapports Ca/P .....	140
III.	<i>Comportement des particules d'HAp en milieu salin</i> .....	141
1.	Étude de la distribution de taille en milieu salin des particules d'HAp par diffusion dynamique de la lumière (DDL) .....	142
2.	Étude du potentiel zêta des particules d'HAp en milieu salin .....	147
3.	Influence de la concentration en particules d'HAp en suspension dans un milieu salin sur la distribution de taille des agglomérats mesurée par diffusion dynamique de la lumière (DDL) .....	149
4.	Angle de contact à 3 phases .....	151



5. Synthèse des résultats .....	153
Partie B. Émulsions stabilisées par des particules d’HAp : méthode d’élaboration et étude des paramètres de formulation.....	155
I. Formulation et méthode d’émulsification .....	155
1. Formulation de l’émulsion.....	155
2. Méthode d’émulsification .....	156
II. Paramètres influençant les propriétés de l’émulsion.....	157
1. Influence de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse sur la taille des gouttes et la stabilité de l’émulsion .....	157
a) Étude de la taille des gouttes par microscopie optique.....	157
b) Étude de la stabilité de l’émulsion .....	160
i. Introduction à l’étude de stabilité .....	161
ii. Évolution de la stabilité des émulsions en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse .....	165
iii. Évolution du TSI (Turbiscan Stability Index) en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse : .....	168
c) Conclusion.....	169
2. Influence de la fraction massique huile/eau sur la taille de gouttes et la stabilité de l’émulsion	170
a) Évolution du TSI .....	177
b) Conclusion.....	179
3. Influence de quantité de particules d’HAp sur la taille de goutte et la stabilité de l’émulsion	181
a) Influence de la quantité de poudre d’HAp sur la taille des gouttes.....	183
b) Stabilité au cours du temps.....	187
i. Évolution individuelle des émulsions au Turbiscan .....	187
ii. Évolution du TSI .....	189
4. Discussion : compréhension de l’organisation des particules à l’interface des gouttes ...	190
a) Hypothèse d’agglomérats sphériques .....	194
b) Hypothèse de particules en forme de bâtonnets .....	196
c) Comparaison des résultats.....	199
III. Étude de la stabilité de l’émulsion sélectionnée .....	203
1. Étude de stabilité sur 2 jours à température ambiante.....	203
2. Étude de l’influence de la température sur la stabilité .....	204
CHAPITRE 4 Élaboration de biocéramiques poreuses d’apatites nanocristallines à partir d’émulsions de Pickering .....	209

<i>Introduction</i> .....	210
<b>Partie A. Méthode de préparation des biocéramiques poreuses d'apatites biomimétiques à partir d'émulsions de Pickering</b> .....	<b>211</b>
<i>I. Synthèse du gel de phosphate de calcium</i> .....	212
<i>II. Préparation du mélange émulsion/gel</i> .....	214
<i>III. Conditions de séchage</i> .....	215
<i>IV. Élaboration des biocéramiques : paramètres étudiés</i> .....	219
1. Influence de la fraction massique émulsion/gel [E/G].....	220
2. Influence de la quantité d'HAp dans l'émulsion : variation de la taille des gouttes de l'émulsion initiale .....	221
<b>Partie B. Caractérisation des biocéramiques de phosphate de calcium</b> .....	<b>222</b>
<i>I. Diffraction des rayons X</i> .....	222
<i>II. Spectroscopie infrarouge</i> .....	226
<i>III. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)</i> .....	232
<i>IV. Analyses thermiques</i> .....	233
1. Analyses thermiques du gel de phosphate de calcium séché de référence (sans émulsion) 233	
2. Analyses thermiques des biocéramiques poreuses obtenues .....	235
<i>V. Microscopie électronique à balayage</i> .....	239
<i>VI. Tomographie aux rayons X (micro-CT)</i> .....	242
1. Méthode du traitement numérique .....	247
2. Paramètres mesurés .....	250
3. Résultats obtenus .....	252
<i>VII. Tests mécaniques</i> .....	256
<i>VIII. Discussion sur les biocéramiques formées</i> .....	262
1. Porosité et interconnexion .....	262
a) Relation entre pores et gouttes .....	264
b) Relation entre le rapport E/G et la porosité .....	265
c) Influence de E/G sur la distance entre deux pores .....	267
d) Comparaison avec la littérature.....	270
2. Résistance mécanique .....	272
3. Réactivité .....	275
<b>Conclusion générale et perspectives</b> .....	<b>278</b>

1. Conclusion .....	278
2. Perspectives.....	281
<b>Annexes.....</b>	<b>284</b>
1. Graphiques des pourcentages de $\Delta R$ et $\Delta T$ sur la hauteur de l'échantillon pour des émulsions à $[NaCl]=0,5M$ et $10\text{ mg}_{HAp}/g_{Miglyol}$ et 5 fractions massiques différentes.....	284
2. Analyses thermiques du Miglyol 812.....	286
3. Certificat d'analyse du Miglyol 812 .....	287
4. Analyses thermiques de l'échantillon 5-250.....	288
5. Analyses thermiques de l'échantillon 8-250.....	288
6. Analyses thermiques de l'échantillon 12-250.....	289
7. Analyses thermiques de l'échantillon 8-400.....	289
<b>Références.....</b>	<b>290</b>

# Liste des figures

Figure 1 - Schéma d'un os long (a) et de sa microstructure (b) - Adapté de [18].....	25
Figure 2 - Cycle du remodelage osseux - Adapté de [20] .....	27
Figure 3 - Projection dans le plan de base (001) de la maille de l'hydroxyapatite [73]. Le petit cercle rouge représente un tunnel de type I, le grand cercle un tunnel de type II. ....	40
Figure 4 - Représentation schématique de la couche hydratée en surface du domaine apatitique : a) vue du nanocristal (3D) et b) coupe du cristal montrant les différents domaines structure apatitique, couche hydratée et les échanges avec les ions ou protéines (Pr) du milieu environnant [73].....	42
Figure 5 - Représentation schématique d'une section transversale d'un matériau poreux [84].....	45
Figure 6 - Taille des porosités en fonction des différentes méthodes d'élaboration des matériaux poreux. Adapté de [90]. Séparation de phase [91], expansion de gaz [92], polymérisation en émulsion [93], incorporation de porogène [94]–[96] .....	47
Figure 7 - Classification des technologies additives céramiques selon les 7 classes définies par l'ASTM (American Society for Testing and Materials). Adapté de [112].....	51
Figure 8 - Schéma des émulsions : huile-dans-eau et eau-dans-huile .....	54
Figure 9 - Mesure de l'angle de contact $\theta$ sur une surface plane : $\gamma_{he}$ est la tension interfaciale huile/eau, $\gamma_{ph}$ est la tension interfaciale entre les particules et l'huile et $\gamma_{pe}$ est la tension interfaciale entre les particules et l'eau.....	59
Figure 10 - Position d'une particule sphérique à l'interface huile-eau pour des angles de contact $\theta$ : inférieur, égal ou supérieur à $90^\circ$ . Adapté d'Aveyard et al [138]. ....	60
Figure 11 - Courbure de l'interface recouverte de particules et le type des émulsions. Adapté d'Aveyard et al [138]......	61
Figure 12 - Énergie libre des particules en fonction de leur angle de contact pour 3 morphologies de particules : sphériques (tirets) ; bâtonnets (pointillés) ; disques ronds aplatis (trait plein) [212].....	62
Figure 13 - Représentation des interactions entre particules à l'interface huile-eau, la phase non polaire est soumise aux interactions de Van der Waals et la phase polaire à la théorie D.L.V.O. Adapté de Moncho-Jordá et al. [219] .....	64
Figure 14 - Interaction DLVO en fonction de la concentration en électrolyte. Adapté de [224].....	66
Figure 15 - Distance d'application des forces présentes entre les particules. Adapté de [225] .....	67
Figure 16 - Particules de silice, observées par microscopie optique, à l'interface octane-eau : A - $\theta = 65^\circ$ et sans ajout d'électrolytes, B - $\theta = 152^\circ$ et sans ajout d'électrolytes, C - $\theta = 65^\circ$ et 10 mM NaCl dans la phase aqueuse. Barre d'échelle de 25 $\mu\text{m}$ . Adapté de Horozov et Binks [227] .....	68
Figure 17 - Principe de la coalescence limitée d'une émulsion de Pickering .....	68
Figure 18 - Configuration de particules à l'interface. Adapté de Lopetinsky et al [237]. ....	72
Figure 19 - Mécanisme permettant la stabilité des particules à l'interface des gouttes. ....	72
Figure 20 - Hystérésis de l'angle de contact avec $\partial r$ , l'angle de recul et $\partial a$ , l'angle d'avancée. Adapté de [240] .....	74
Figure 21 - Mécanismes de déstabilisation : crémage et sédimentation d'une émulsion .....	83

Figure 22 - Mécanismes de déstabilisation : floculation d'une émulsion.....	84
Figure 23 - Mécanismes de déstabilisation : coalescence d'une émulsion.....	85
Figure 24 - Principe de la loi de Bragg [262] .....	92
Figure 25 - Principe du diffractomètre dans la géométrie de Bragg-Brentano [263].....	93
Figure 26 - Schéma du principe de fonctionnement d'un appareil IRTF [264].....	95
Figure 27 - Principe de la microscopie électronique à balayage (MEB) [265] .....	98
Figure 28 - Comparaison des différents principes de microscopie optique, à transmission et à balayage .....	101
Figure 29 - Représentation de l'état de charge électrique d'une particule et définition du potentiel zêta [266]	104
Figure 30 - DLS (diffusion dynamique de la lumière) : principe de la technique [270] .....	106
Figure 31 - Calcul du diamètre hydrodynamique par la technique de DLS.....	107
Figure 32 - Appareil de mesure tensiomètre ILMS, GBX.....	108
Figure 33 - Goniomètre DSA30, KRÜSS : A. l'appareil ; B. le compartiment à mesure.....	110
Figure 34 - Schéma simplifié de la formation de l'émulsion de Pickering stabilisée par les particules d'HAp ....	110
Figure 35 - Principe du procédé d'homogénéisation par Ultra-Turrax® .....	112
Figure 36 - Principe du Multiple Light Scattering (MLS) adapté au Turbsican [273].....	115
Figure 37 - Évolution du signal en transmission T (%) (haut) et rétrodiffusion R (%) (bas) en fonction du temps et de la hauteur de l'échantillon pour un échantillon subissant un phénomène de floculation ou coalescence [273] .....	116
Figure 38 - Représentation des différents phénomènes de déstabilisation d'une émulsion observée sur le $\Delta R$ (%) en fonction du temps et de la hauteur de l'échantillon. Adapté de [273].....	118
Figure 39 - Principe de fonctionnement du microtomographe du scan de l'échantillon à la reconstruction 3D, la rotation est complète, à 360° [274] .....	123
Figure 40 - Microtomographe Phoenix Nanotom [275] .....	124
Figure 41 - Schématisation de l'éprouvette de section S soumise à une force F .....	126
Figure 42 – Dispositif de synthèse de l'hydroxyapatite par double décomposition en voie aqueuse.....	131
Figure 43 - Diffractogramme des rayons-X obtenu pour l'HAp synthétisée .....	133
Figure 44 - Spectre IRTF de l'HAp synthétisée .....	135
Figure 45 - Micrographie MEB des particules d'HAp à grossissement x200 .....	136
Figure 46 - Micrographie MEB des particules d'HAp à grossissement x1600 .....	137
Figure 47 - Micrographies MET de particules d'HAp.....	138
Figure 48 - Distribution granulométrique des deux fractions d'HAp.....	138
Figure 49 - Diffractogramme des rayons-X de l'HAp calcinée (1h à 1000°C) .....	141
Figure 50 - Distribution de la taille ( $D_h$ ) en intensité des particules d'HAP dispersées dans l'eau distillée (analyse DDL) – 3 répétitions d'une mesure .....	143
Figure 51 - Variation de la taille ( $D_h$ ) des agglomérats de particules d'HAp en milieu aqueux en fonction de la concentration en NaCl (M) .....	144
Figure 52 - Représentation schématique de l'influence de l'ajout de NaCl sur la double couche électrique et le potentiel zêta associé. Adapté de Gossmann et al. [286] .....	145

Figure 53 - Évolution du potentiel zêta en fonction de la concentration en NaCl (M) en milieu aqueux à 7,3<pH<7,5 à 0,7% de particules d'HAp .....	147
Figure 54 - Variation de la taille des particules en fonction de la quantité d'HAp introduite dans la solution saline (0,5M) en mg <sub>HAp</sub> /g <sub>eau</sub> .....	150
Figure 55 - Détermination de l'angle de contact à l'aide du logiciel associé au goniomètre DSA30 d'une goutte de solution saline (0,5M NaCl) déposée à la surface d'une pastille d'HAp immergée dans le Miglyol 812 (mesure à T0, lors de la dépose de la goutte sur la surface de la pastille) : image de la goutte (à gauche) et sa schématisation (à droite) .....	152
Figure 56 - Évolution de l'angle de contact à 3 phases au cours du temps correspondant au système : Miglyol/HAp/eau (0,5M NaCl) et réalisée à l'aide du logiciel de traitement d'images DSA sur une pastille d'HAp. ....	152
Figure 57 - Molécules d'acide caprylique (gauche) et d'acide caprique (droite).....	156
Figure 58 - Observations au microscope optique des émulsions en fonction de la concentration en NaCl (de 0M à 1M) dans la phase aqueuse ([H/E]=[70/30] - 20 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) .....	159
Figure 59 - Évolution du diamètre des gouttes (D <sub>3/2</sub> ) en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse (émulsions avec une fraction massique huile/eau de [70/30] ; 20 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ). D <sub>3/2</sub> calculé à partir des observations par microscopie optique .....	160
Figure 60 - Émulsions (rapport massique huile/eau [75/25] ; 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) réalisées à différentes concentrations en NaCl dans la phase aqueuse (0M à 1M) à J0.....	161
Figure 61 - Variation du signal en transmission et en rétrodiffusion en fonction du temps et de la hauteur totale du tube en mm (émulsion avec ratio massique huile/eau [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et 0,5M NaCl) à 25°C, à 0 et 70 jours d'intervalles (J0 et J70) en fonction de différents signaux : A - Évolution de R (%) : % en Rétrodiffusion ; B - Évolution de T (%) : % en Transmission ; C - Évolution de ΔR (%) : mode Δ en Rétrodiffusion ; D - Évolution de ΔT (%) : mode Δ en Transmission .....	164
Figure 62 - Évolution de ΔR (%) en fonction du temps et de la hauteur totale du tube (mm) pour une concentration de NaCl de 0 M (émulsion avec un ratio massique [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> à 25°C).....	166
Figure 63 - Évolution de ΔR (%) en fonction du temps et de la hauteur totale du tube (mm) pour une concentration de NaCl variant de 0,25M à 1M (émulsion avec un ratio massique huile/eau [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> à 25°C) .....	167
Figure 64 - Évolution du TSI sur 10 minutes pour une émulsion avec une fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> réalisée à J0 (30 minutes après émulsification), en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse (■ 0M ; ● 0,25M ; ▲ 0,5M ; ◆ 0,75M ; + 1M).....	168
Figure 65 - Photo à J0 d'émulsions réalisées à différentes fraction massiques huile/eau variant de [30/70] à [80/20] - [NaCl]=0,5M - HAP à 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> .....	171
Figure 66 - Photo à J70 d'émulsions réalisées à différentes fraction massiques huile/eau variant de [30/70] à [80/20] - [NaCl]=0,5M - HAP à 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> .....	171
Figure 67 - Pourcentage de rétrodiffusion et transmission (A et B) sur la hauteur de l'échantillon avec photo de l'échantillon concerné – émulsion avec fraction massique huile/eau [30/70], [NaCl]=0,5M et 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> .....	173

Figure 68 – Pourcentage de $\Delta$ rétrodiffusion et $\Delta$ transmission (C et D) sur la hauteur de l'échantillon avec photo de l'échantillon concerné – émulsion avec fraction massique huile/eau [30/70], [NaCl]=0,5M et 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> .....	174
Figure 69 - Pourcentage de rétrodiffusion (A) et transmission (B) sur la hauteur de l'échantillon avec photo de l'échantillon concerné – émulsion avec fraction massique huile/eau [70/30], [NaCl]=0,5M et 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub>	175
Figure 70 - Évolution du diamètre de goutte estimé par Turbiscan dans la partie émulsifiée en fonction du ratio massique [H/E] de [30/70] à [80/20] pour une quantité d'HAp à 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et une [NaCl] de 0,5M (■ J0 ; ● J70). Les mesures devraient être tripliquées afin d'obtenir des résultats significatifs. ....	176
Figure 71 - Évolution du TSI d'une émulsion à 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et 0,5M NaCl sur 10 minutes en variant la fraction massique [H/E] à J0 : <b>A.</b> Sur zone entière <b>B.</b> Sur zone émulsifiée (■ [80/20] ; ● [75/25] ; ▲ [70/30] ; ◆ [60/40] ; + [50/50] ; ▼ [40/60] ; x [30/70]).....	178
Figure 72 - Schéma des différentes phases (aqueuse, émulsifiée, huile) observées sur la hauteur du tube (mm) des émulsions en fonction de la fraction massique [H/E].....	180
Figure 73 - Photos à J0 (A) et à J70 (B) des émulsions (fraction massique huile/eau [75/25], [NaCl]=0,5 M et quantité d'HAp de 1 à 30 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ).....	182
Figure 74 - Photographies par microscopie optique montrant l'évolution de taille des gouttes en fonction de la quantité d'HAp introduite (de 1 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> à 30 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) pour une émulsion [H/E] avec une fraction massique [75/25] à 0,5 M en NaCl.....	184
Figure 75 - Évolution de la moyenne du diamètre de Sauter $D_{3/2}$ en fonction de la quantité d'HAp (mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) pour une fraction massique [H/E] de [75/25] et une concentration en NaCl de 0,5 M.....	185
Figure 76 - Évolution du diamètre estimé par l'analyseur optique Turbiscan en fonction de la quantité d'HAp (mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) pour une fraction massique huile/eau de [75/25] et une concentration en NaCl de 0,5 M (■ J0 ; ● J70).....	186
Figure 77 - Représentation de l'évolution de $\Delta R$ (%) sur la hauteur totale du tube pour une quantité de HAp variant de 1 à 30 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> , pour une émulsion avec fraction massique huile/eau [75/25] et une concentration en NaCl à 0,5 M (← : Flocculation - ←- : Sédimentation) .....	188
Figure 78 - Évolution du TSI à J0 en fonction de la quantité d'HAp dans une émulsion avec fraction massique huile/eau [75/25] à 0,5M en NaCl, avec 1 à 30 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> : ■ 1 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; ● 2 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; ▲ 3 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; ◆ 5 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; + 7 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; ▼ 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; x 20 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ; ◆ 30 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> .....	189
Figure 79 - Évolution de l'inverse du diamètre de Sauter $D_{3/2}$ en fonction du rapport massique HAp/miglyol (mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) pour une fraction massique [H/E] de [75/25] et une concentration en NaCl de 0,5 M : <b>Mise en évidence du point limite de coalescence</b> .....	194
Figure 80 - Évolution du diamètre des agglomérats en fonction du taux de couverture. Mise en évidence des gammes possibles de $d_p$ et de C dans l'hypothèse d'agglomérats sphériques. ....	196
Figure 81 - Schématisation du taux de couverture en particules (agglomérats) en fonction de la quantité de particules introduite dans l'émulsion (inspiré de [237]).....	201

Figure 82 - Évolution du signal rétrodiffusé pendant 2 jours 17 heures et 33 minutes débuté juste après émulsification d'une émulsion [H/E] avec fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et 0,5M NaCl204	
Figure 83 - ΔR sur la hauteur de l'échantillon avec fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et 0,5M NaCl.....	205
Figure 84 - Évolution du TSI calculé sur différentes zones de l'émulsion et de la température de la chambre de mesure (°C) en fonction du temps (h) (● Zone du bas ; ■ Zone du milieu ; ◆ Zone du haut ; ▲ Zone émulsifiée ; + Température) .....	207
Figure 85 - Schéma du principe de synthèse du gel de phosphate de calcium par double-décomposition en voie aqueuse.....	213
Figure 86 - Schéma de préparation du mélange émulsion de Pickering/gel de phosphate de calcium .....	215
Figure 87 - Évolution du séchage au cours du temps du gel seul (sans émulsion) de phosphate de calcium (triplicata) à l'étuve à 40°C pendant 7 jours. ....	217
Figure 88 - Images des étapes de fabrication des biocéramiques de phosphate de calcium pour tests cellulaires, après ajout du gel d'apatite dans l'émulsion de Pickering (E/G=8, [H/E]=[75/25], [NaCl]=0,5M et HAp = 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> ) avant séchage et au 5 <sup>ème</sup> jour à l'étuve à 40°C sur plaque de PTFE. ....	218
Figure 89 - Diagrammes de diffraction des rayons X des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 et 12-250 et de la poudre d'HAp synthétisée, pics principaux du NaCl en pointillés.....	224
Figure 90 - Spectres IRTF des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 et 12-250 et de la poudre d'HAp synthétisée .....	228
Figure 91 - Décomposition des bandes $\nu_2$ et $\nu_4$ des groupements phosphate pour les biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400 (- $PO_4^{3-}$ apatitique ; - $\nu_2 PO_4^{3-}$ ; - $HPO_4^{2-}$ non-apatitique ; - $HPO_4^{2-}$ apatitique ; - $PO_4^{3-}$ non-apatitique ; - OH) .....	230
Figure 92 - Intensités relatives des bandes infrarouges des groupements $PO_4^{3-}$ et $HPO_4^{2-}$ apatitiques et labiles, et des hydroxydes comparés pour les biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400..	231
Figure 93 - Analyses thermogravimétriques et calorimétrie différentielle à balayage réalisées sur le gel (sans émulsion) séché à l'étuve 12h à 40°C.....	234
Figure 94 - Analyses thermogravimétriques et calorimétrie différentielle à balayage réalisées sur le matériau 5-250 .....	235
Figure 95 - Analyses calorimétrie différentielle à balayage réalisées sur les biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 ; 12-250.....	237
Figure 96 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 5-250 <b>A</b> - Vue d'ensemble (x50) <b>B</b> - Zoom sur un pore (x400) .....	240
Figure 97 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-250 <b>A</b> - Vue d'ensemble (x80) <b>B</b> - Zoom sur un pore (x300) .....	241
Figure 98 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 12-250 <b>A</b> - Vue d'ensemble de la porosité (x60) <b>B</b> - Zoom sur un pore (x500).....	241
Figure 99 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-400 <b>A</b> - Vue d'ensemble de la porosité (x60) <b>B</b> - Zoom sur un pore (x300).....	241



Figure 100 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-250 A - Zoom sur un pore interconnecté (x300) B - Analyse EDX réalisée dans ce pore (croix bleue) .....	242
Figure 101 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 5-250 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange).....	243
Figure 102 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-250 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange).....	244
Figure 103 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 12-250 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange).....	245
Figure 104 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-400 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange).....	246
Figure 105 - Exemple de photo non sélectionnée (à gauche) et sélectionnée (à droite) pour le matériau 5-250	248
Figure 106 - Exemple de sélection d'un ROI (vert) et du niveau de gris pour la biocéramique de phosphate de calcium 5-250.....	249
Figure 107 - Distribution de taille de pores $D_v$ ( $\mu\text{m}$ ) en volume dans les biocéramiques.....	255
Figure 108 - Exemples de courbes de contrainte-déformation de matériaux présentant des comportements mécaniques différents. ....	257
Figure 109 - Essais mécaniques présentant la résistance à la compression $\sigma$ (kPa). ....	260
Figure 110 - Évolution de la porosité $\varepsilon$ (%) en fonction du rapport E/G .....	265
Figure 111 - Schémas illustrant deux biomatériaux réalisés avec un rapport E/G identique et des tailles de pores différents. La variation de la taille des gouttes de l'émulsion précurseur (contrôlée par le rapport $m_{\text{Hap}}/m_{\text{miglyol}}$ ainsi que par la concentration initiale de NaCl dans la phase aqueuse) conditionne la taille des pores mais n'influe pas sur la valeur de la porosité. Celle-ci est contrôlée par la fraction d'huile dans l'échantillon avant séchage, et donc par le rapport E/G.....	266
Figure 112 - Schéma détaillant l'influence sur l'épaisseur des parois pour un diamètre de pore constant .....	267
Figure 113 - Schéma représentant la distance entre 2 pores .....	267
Figure 114 - Évolution de l'épaisseur des parois ( $\mu\text{m}$ ) expérimental ( $D_s$ ) et valeur de $b$ issu de la relation (4.12) en fonction du rapport E/G pour un diamètre de goutte identique ( $250 \mu\text{m}$ ).....	269
Figure 115 - Résistance maximale à la compression des biocéramiques réalisées en fonction de leur porosité, comparée à différents biomatériaux à base de phosphates de calcium (en couleurs) et à l'os cortical ou spongieux (en noir) (■- 5-250 ; ● - 8-250 ; ▲ - 8-400 ; ★ - 12-250 ; Massifs HAp ou denses [331]–[335] ; Matrice HAp [334], [336], [337], [341]–[344] ; Matrice BCP [30], [87], [332], [345]–[347] ; Polymères ou composites/HAp [337]–[340], [348] ; Nano HAp+PLGA [349] ; Nano HAp+PLA/Chitosan [350] . Adapté de Wagoner Johnson et al. [351]. ....	271
Figure 116 - Évolution de la contrainte maximale à la compression et du module d'élasticité de chaque biocéramique en fonction de leur pourcentage porosité respective (■ - 5-250 ; ★ - 8-400 ; ● - 8-250 ; ▲ - 12-250) .....	273
Figure 117 - Module élastique en fonction de la résistance à la compression des céramiques denses bioactives, des composites poreux biodégradables, de l'os cortical et de l'os spongieux. Les matériaux poreux ont une	

porosité >75 % et sont majoritairement interconnectés. (■ - 5-250 ; ● - 8-250 ; ★ - 12-250 ; ▲ 8-400). Adapté de Rezwan et al. [363]..... 274

Figure 118 - Pourcentages  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10\text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$  et une fraction massique  $[H/E]$  de  $[40/60]$ ..... 284

Figure 119 - Pourcentages  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10\text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$  et une fraction massique  $[H/E]$  de  $[50/50]$ ..... 285

Figure 120 - Pourcentages  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10\text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$  et une fraction massique  $[H/E]$  de  $[60/40]$ ..... 285

Figure 121 - Pourcentages  $\Delta R$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10\text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$  et des fractions massiques  $[H/E]$  de  $[75/25]$  et  $[80/20]$ ..... 286

Figure 122 - Analyses thermiques du miglyol 812..... 286

Figure 123 - Certificat d'analyse du Miglyol 812..... 287

Figure 124 - Analyses thermiques de l'échantillon 5-250..... 288

Figure 125 - Analyses thermiques de l'échantillon 8-250..... 288

Figure 126- Analyses thermiques de l'échantillon 12-250..... 289

Figure 127- Analyses thermiques de l'échantillon 8-400..... 289

## Liste des tableaux

Tableau 1 - Classification des matériaux de substitution osseuse [25], [27], [28]..... 30

Tableau 2 - Les matériaux de comblement osseux commercialisés en fonction de leur type et composition chimique [29], [37] ..... 33

Tableau 3 – Les différents orthophosphates de calcium [60]..... 38

Tableau 4 - Substitutions possibles au sein de la structure apatitique  $M_{10}(XO_4)_6Z_2$  avec  $\square$  : lacunes [12] ..... 39

Tableau 5 - Classification des pores en fonction de leur diamètre selon IUPAC..... 45

Tableau 6 - Liste des différentes particules ou type de particules stabilisant des émulsions de Pickering répertoriées dans la littérature ..... 57

Tableau 7 - Influence de l'angle de contact de différentes particules sur le type d'émulsion [138]..... 75

Tableau 8 - Taille des gouttes d'une émulsion  $[H/E]$  en fonction de la forme des particules d'HAP..... 78

Tableau 9 - Influence du type d'huile et leur propriété sur la stabilité des émulsions stabilisées par de particules de silice modifiée [214] ..... 80

Tableau 10 - Paramètres associés à l'Ultra-Turrax S18-19G..... 112

Tableau 11 - Évolution du signal  $\Delta R$  en fonction des différents phénomènes de déstabilisation..... 117

Tableau 12 - Distances inter-atomiques (en Å) des principales raies de diffraction de l'HAP (fiche JCPDS 9-432 [280])..... 133

Tableau 13 - Positions et intensité des bandes de vibration des groupements contenus dans l'Hap ..... 135

Tableau 14 – Diamètres caractéristiques (D) de la poudre d’HAp obtenus par granulométrie laser (cf. Granulométrie laser) .....	138
Tableau 15 - TSI à JO et J70 pour une émulsion avec une fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et différentes concentrations en NaCl dans la phase aqueuse.....	169
Tableau 16 - TSI à JO et J70 pour une émulsion avec une concentrations en NaCl à 0,5M, 10 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> et différentes fractions massiques huile/eau de [30/70] à [80/20] sur deux zones du tube (zone entière et zone émulsifiée).....	179
Tableau 17 - TSI à JO et J70 pour des émulsions avec une fraction massique huile/eau [75/25], à 0,5 M en NaCl, avec 1 à 30 mg <sub>HAp</sub> /g <sub>Miglyol</sub> .....	190
Tableau 18 - Expression des pentes et des taux de couverture obtenus pour les 4 hypothèses de particules élémentaires en bâtonnets ave l’épaisseur des particules et L, la longueur des particules .....	197
Tableau 19 - Composition des solutions A (250 mL) et B (750 mL) pour la synthèse du gel de phosphate de calcium .....	212
Tableau 22 - Appellations et paramètres ciblés des biocéramiques de phosphate de calcium étudiées dans ce chapitre. ....	216
Tableau 20 - Dimensions des différents moules utilisés pour sécher le mélange émulsion/gel.....	219
Tableau 21 – Variation du rapport massique émulsion/gel (E/G) et effet sur le pourcentage d’huile dans le mélange final .....	220
Tableau 23 - Dimensions apparentes de cristallites de la poudre d’HAp synthétisée et des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400.....	226
Tableau 24 - Modèle de décomposition utilisé pour le domaine d’absorption infrarouge de 400 à 700 cm <sup>-1</sup> ....	229
Tableau 25 - Rapports Ca/P des différentes biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400 .....	233
Tableau 26 - Pourcentages massiques associés aux phénomènes identifiés par ATG ou DSC .....	238
Tableau 27 - Propriétés de chaque biocéramique de phosphate de calcium et leur(s) ROI associé(s).....	249
Tableau 28 - Porosité, surface spécifique et diamètre de pores moyens obtenus par tomographie X pour chaque biocéramique de phosphate de calcium (5-250 ; 8-250 ; 12-250 ; 8-400).....	252
Tableau 29 - Retrait volumique (%) des hauteur et diamètre de chaque biocéramique .....	254
Tableau 30 - Valeurs moyennes de contrainte de rupture et module d’Young pour chaque biocéramique de phosphate de calcium considérée (5-250, 8-250, 12-250 et 8-400) .....	260
Tableau 31 - Propriétés et caractéristiques mécaniques de plusieurs biomatériaux à base d’HAp .....	271
Tableau 32 - Propriétés mécaniques de l’os cortical (os compact), de l’os spongieux et de l’hydroxyapatite dense (HAp) [26], [354]–[362] .....	274





# Introduction générale

Le tissu osseux est un organe biologique constitué d'une matrice organo-minérale et de cellules. Il est en perpétuel renouvellement, grâce à l'action alternée des cellules osseuses (ostéoblastes et ostéoclastes). Bien que le tissu osseux possède la capacité de se régénérer, le processus de réparation osseuse est tributaire de nombreuses situations cliniques et pathologiques. Ainsi, lors de pertes osseuses étendues liées à la traumatologie, à l'excision de tumeurs ou à des déformations, le processus naturel de restauration est insuffisant. Une chirurgie reconstructive et l'utilisation de matériaux de comblement osseux, d'origine naturelle ou synthétique, sont alors nécessaires, aussi bien en orthopédie qu'en odontologie [1], [2]. Chaque année, dans le monde, plus de 2,2 millions de greffes osseuses sont pratiquées, tant en chirurgie cranio-maxillo-faciale qu'orthopédique [3]. L'utilisation de matériaux d'origine biologique provenant soit du patient lui-même (autogreffe), soit d'un donneur (allogreffe) ou encore d'une espèce animale (hétérogreffe ou xéno greffe) reste limitée en raison de leurs faibles disponibilités, du risque de contamination, des complications septiques ou encore de l'altération des qualités biologiques et/ou mécaniques dues aux traitements préalables de stérilisation par exemple [1], [2].

De ce fait, l'utilisation de biomatériaux synthétiques de substitution osseuse comme alternative aux greffes d'origine naturelle est en progression constante. Les alternatives synthétiques biocompatibles (polymères, alliages métalliques, céramiques, verre ...) présentent de nombreux avantages en termes de réduction du risque de transmission d'agents infectieux et de disponibilité. La première substitution osseuse reconnue a été réalisée en sulfate de calcium (plâtre de Paris) [4]. Cependant, l'utilisation de biomatériaux n'est devenue courante qu'à la suite des progrès fondamentaux du XIX<sup>ème</sup> siècle parmi lesquels l'asepsie, l'anesthésie et le contrôle des saignements, mais également les connaissances anatomiques et physiologiques ainsi que les progrès en sciences des

matériaux. Parmi les substituts osseux d'origine synthétique, l'ensemble des biocéramiques représente 25 % du marché mondial actuel des biomatériaux soit en 2015 environ 13 milliards d'euros qui devraient atteindre 20 milliards d'euros d'ici 2022 [5].

Les matériaux sont usuellement divisés en trois grandes classes : les métaux et alliages métalliques, les matériaux organiques (produits naturels comme le bois, ou de synthèse comme les matières plastiques) et les céramiques. Le terme biocéramique est employé pour désigner les céramiques utilisées pour des applications médicales. On répertorie : les oxydes métalliques purs (l'alumine  $\text{Al}_2\text{O}_3$  et la zircone  $\text{ZrO}_2$ ), les oxydes mixtes (par exemples  $\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CaO-ZrO}_2$ ,  $\text{CaO-TiO}_2$ ), les phosphates de calcium (tels l'hydroxyapatite ou le phosphate tricalcique  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), les bioverres (par exemple  $\text{Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ ) et les vitrocéramiques (par exemple  $\text{MgO-CaO-SiO}_2$ ).

Parmi les biocéramiques, celles à base de phosphates de calcium tels que l'hydroxyapatite (HAp) et le phosphate tricalcique, sont des candidats particulièrement adaptés pour des applications en reconstruction osseuse depuis plus de 30 ans en raison de leur biocompatibilité et de leur bioactivité [6], [7]. De plus, les biocéramiques poreuses présentent un grand intérêt pour la réalisation de comblements de perte osseuse d'origine traumatique, tumorale ou dégénérative dans des zones osseuses mécaniquement peu sollicitées. En effet, la présence de pores interconnectés (diamètre  $> 200 \mu\text{m}$ ) permet la colonisation du matériau par les cellules osseuses et sa biorésorption, et favorise ainsi l'ostéointégration, l'ostéoconduction et la revascularisation de l'os néoformé [2], [8], [9].

Actuellement, les céramiques phosphocalciques implantables commercialisées peuvent se présenter sous diverses formes (granules, petits blocs...) et sont obtenues par frittage à haute température (supérieure à  $1000^\circ\text{C}$ ) conduisant à des matériaux ne présentant qu'une faible réactivité de surface et un caractère peu ou pas résorbable. Cela limite notamment leur capacité à adsorber des ions biologiquement actifs ou des molécules organiques comme des principes actifs ou des protéines. Afin d'obtenir des biocéramiques phosphocalciques plus réactives et d'améliorer les propriétés biologiques,

il est alors nécessaire de recourir à des méthodes de consolidation moins conventionnelles. Les apatites nanocristallines biomimétiques, dont la réactivité de surface et les caractéristiques physicochimiques sont analogues à celles des nanocristaux constituant le minéral osseux, sont prometteuses comme biocéramiques bioactives et biorésorbables. Cependant, les méthodes classiques d'élaboration et de mise en forme ne permettent pas de conserver leurs propriétés initiales. Ainsi, de nouveaux procédés d'élaboration dits « à basse température » des biocéramiques phosphocalciques denses à base d'apatites biomimétiques ont été proposés à l'étude [10]–[12]. Concernant la porosité, la plupart des biocéramiques commercialisées présentent un diamètre moyen des pores supérieur à 200  $\mu\text{m}$ , avec une porosité interconnectée afin de favoriser l'ostéoconduction ; les propriétés mécaniques visées sont alors réduites (par rapport aux matériaux frittés) mais suffisantes pour des applications en comblement osseux sur des sites soumis à de faibles contraintes.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce projet de thèse. Il vise à élaborer des biocéramiques phosphocalciques bioactives à porosité contrôlée (forme, taille de pores moyenne, distribution de taille, interconnexion) pour des applications de comblements osseux. Des premiers travaux avaient été initiés entre l'équipe « Phosphates, Pharmacotechnie et Biomatériaux » (PPB) du CIRIMAT (Université de Toulouse) et le Centre de Recherche Paul Pascal (Université de Bordeaux) pour le développement de biocéramiques de silice à porosité contrôlée en combinant chimie douce et émulsions de Pickering. Dans le cas des émulsions de Pickering, la stabilité est assurée par la présence de particules solides fortement ancrées à l'interface. La minéralisation de la phase continue suivie d'un séchage à basse température ( $<100^\circ\text{C}$ ) permet de réaliser des biocéramiques de silice à architecture poreuse contrôlée. C'est sur la base de ces premiers travaux, qui ont donné lieu à un brevet en 2015 (CNRS-UPS n° 1555769 [13]) qu'a débuté cette thèse. Elle s'appuie sur la collaboration et la complémentarité de deux partenaires : l'équipe PPB du CIRIMAT et le Centre RAPSODEE d'IMT Mines Albi, et vise à



s'inspirer de cette méthode récemment brevetée pour élaborer des biocéramiques en apatites nanocristallines biomimétiques, à architecture poreuse contrôlée, par chimie douce et à basse température : à partir d'émulsions de Pickering. Les émulsions de Pickering ont été choisies en raison de leur grande stabilité et de leur biocompatibilité, et ces travaux ont pour objectifs d'étudier l'influence des caractéristiques des émulsions utilisées sur les propriétés finales des monolithes poreux phosphocalciques, notamment les taille et morphologie des pores ainsi que la densité d'interconnexions.

### Objectifs de la thèse

Les biocéramiques formées devront respecter un point clé des biomatériaux : la **biocompatibilité**, les composants de l'émulsion de Pickering et le gel de phosphate de calcium seront composés d'éléments biocompatible reconnus. Le procédé basse température suivi dans ce travail a pour objectif de conserver la réactivité des apatites, et d'entretenir la **bioactivité**. Le gel de phosphate de calcium conduira ainsi a des biocéramiques constituées d'apatites nanocristallines appelées apatites biomimétiques. De plus, un matériau macroporeux (diamètre des pores  $>200 \mu\text{m}$  et pores interconnectés) permettrait une prolifération optimale des cellules osseuses et favoriserait l'**ostéoconduction**. Les propriétés mécaniques visées doivent être en accord avec une application de comblement osseux, dans des zones faiblement sollicitées, une résistance à la compression comprise entre 0,01 à 1 MPa est généralement observée pour ce type d'utilisation. La taille visée pour ces monolithes poreux est donc de quelques  $\text{cm}^3$  (environ 0,5 à 4  $\text{cm}^3$ ) en volume.

Ce manuscrit s'articule en 4 chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique divisée en deux parties : une première partie concernant le tissu osseux et les biomatériaux, en particulier les biocéramiques de phosphates de calcium ; une seconde partie axée sur la présentation

des propriétés physico-chimiques des émulsions de Pickering en particulier pour la formation de matériaux macroporeux.

Le deuxième chapitre traite des matériels et méthodes utilisés. Les méthodes de préparation et de caractérisation des émulsions étudiées y sont présentées, puis les méthodes d'élaboration et de caractérisation des monolithes poreux y sont décrites.

Le troisième chapitre a pour objet l'élaboration et l'étude des émulsions de Pickering stabilisées par les particules d'HAp. Dans une première partie sont présentées la synthèse et la caractérisation des particules d'HAp pour vérifier leur pureté, leurs caractéristiques granulométriques et physico-chimiques. Dans un deuxième temps, le comportement en milieu aqueux des particules d'HAp est étudié par la mesure du potentiel zêta, ainsi que l'angle de contact à trois phases des composants, afin de mieux comprendre les mécanismes lors de l'élaboration de l'émulsion. Enfin, le processus d'élaboration des émulsions de Pickering et leur caractérisation sont détaillés, ainsi que l'influence de différents paramètres sur les propriétés finales de l'émulsion.

Le quatrième chapitre présente l'élaboration des biocéramiques poreuses de phosphates de calcium à partir des émulsions de Pickering optimisées dans le chapitre 3. Il débute par la présentation de la méthode de préparation des biocéramiques basée sur la synthèse du gel de phosphate de calcium, qui est mélangé à l'émulsion de Pickering. L'influence de divers paramètres intrinsèques à l'émulsion sur les propriétés finales des monolithes poreux obtenus est étudiée (quantité de gel ajoutée à l'émulsion de Pickering, taille des gouttes de l'émulsion). Enfin, sont détaillées les analyses physico-chimiques, structurales et mécaniques des biocéramiques générées (composition, taille des cristallites, porosité, tenue mécanique).

Ce manuscrit se termine par une conclusion générale proposant un bilan des principaux résultats et des perspectives.



# CHAPITRE 1

## Étude bibliographique

# Partie A. Le tissu osseux et les biomatériaux de substitution

---

## I. Le tissu osseux

### 1. Structure et fonction de l'os

Le tissu osseux est un tissu conjonctif constitué d'une matrice organique (collagène) et minéralisée (apatite), et de cellules. Il s'agit donc d'un matériau composite, sa fraction minérale lui confère ses propriétés de rigidité alors que sa fraction organique lui permet de garder un certain degré d'élasticité [14]. À l'âge adulte, le squelette du corps humain possède 206 os, que l'on peut classer en fonction de leurs formes et de leurs fonctions [15]–[17] :

- ~ Protection des organes vitaux pour les os de la cage thoracique, du bassin, du crâne et de la colonne vertébrale. Également, ils permettent de soutenir les organes mous.
- ~ Métaboliques : les os sont un réservoir métabolique et chimique. Ils permettent la régulation des minéraux (homéostasie) notamment en calcium et phosphore (98% du calcium et 90% du phosphore de l'organisme sont contenus dans les os). Ces éléments interviennent dans la vie cellulaire, la transmission nerveuse et la coagulation sanguine.
- ~ Hématopoïétique : les lamelles osseuses de l'os spongieux contiennent des cellules présentes dans la moelle osseuse rouge. Ces cellules produisent les globules rouges. Par ailleurs, la moelle osseuse jaune renferme un tissu adipeux de réserve.

La Figure 1 présente la structure d'un os long et sa microstructure constituée :

- ~ De la diaphyse, il s'agit du corps de l'os long entre les épiphyses. Occupant presque toute la longueur de l'os, elle est constituée d'os compact délimitant une cavité médullaire remplie de moelle osseuse jaune.
- ~ Des épiphyses qui sont les extrémités de l'os long, formées d'une fine couche d'os compact entourant l'os spongieux contenant de la moelle osseuse rouge où se forment les cellules sanguines.
- ~ Du périoste, c'est la membrane externe recouvrant tous les os. Il est constitué de tissu conjonctif, composé de deux couches. La couche externe fibreuse et dense, sert d'attache aux tendons et ligaments. La couche interne est riche en cellules qui assurent la croissance de l'os.
- ~ De l'endoste : la membrane qui tapisse les parois de toutes les cavités vascularisées (la cavité médullaire de la diaphyse, les canaux de Havers et les espaces médullaires de l'os spongieux). Elle contient également les cellules osseuses (ostéoblastes et ostéoclastes). Les canaux de Havers traversent le tissu osseux et sont parcourus par les nerfs et les vaisseaux sanguins qui approvisionnent les cellules osseuses en nutriments.

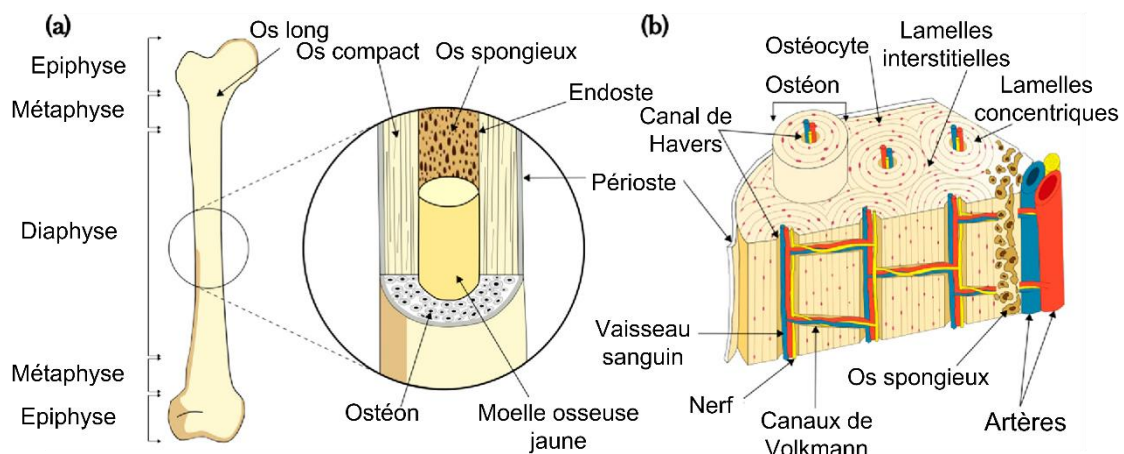


Figure 1 - Schéma d'un os long (a) et de sa microstructure (b) - Adapté de [18]

## 2. Composition chimique de l'os

Le tissu osseux est constitué de deux éléments de base :

~ La matrice osseuse

Les éléments cellulaires de l'os sont inclus dans une matrice extracellulaire (MEC) occupant environ 90% du volume tissulaire. Elle est composée de deux fractions : une phase minérale constituée de cristaux de phosphate de calcium apatitique ou apatite, liés à une phase organique constituée principalement de collagène de type I.

La phase minérale représente 50 à 70 % de la matrice osseuse. Elle est constituée d'un cristal de phosphate de calcium qui se dépose à l'intérieur des fibres de collagène de façon ordonnée. Le dépôt de la phase minérale des tissus calcifiés est un phénomène dirigé par les cellules osseuses et par les interactions entre la phase minérale et la phase organique de la MEC. Sa composition chimique est complexe et dépend de la nature de l'os (compact, spongieux), de l'âge, de l'alimentation ainsi que du sexe de l'individu : l'os d'un individu jeune est pauvre en carbonate et riche en ions  $\text{HPO}_4^{2-}$ , puis la proportion en ions  $\text{CO}_3^{2-}$  croît avec l'âge. Il est ainsi admis que le tissu calcifié peut se définir comme une apatite carbonatée mal cristallisée, déficiente en calcium et partiellement substituée par des ions comme  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$  ou encore  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$  et contenant des traces de nombreux éléments ( $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ...).

La matrice organique se compose principalement de protéines collagéniques et de protéines non collagéniques. La matrice organique de l'os est constituée principalement de collagène de type I ( $\approx 85\text{-}90\%$  du poids de la matrice organique). Elle contient également de nombreuses protéines non collagéniques qui, bien que peu abondantes joueraient un rôle important dans le processus de minéralisation de l'os (glycoprotéines, phosphoprotéines, facteurs de croissance...).

~ Les cellules

Les cellules jouant un rôle dans la construction de l'os (ostéoblastes ou cellules ostéoformatrices) ou dans la destruction de l'os (ostéoclastes ou cellules ostéorésorbantes) sont présentes dans le tissu conjonctif. Une fois les ostéoblastes différenciés, deux autres types de cellules sont présentes : les ostéocytes et les cellules bordantes de l'os. Les ostéoclastes sont des cellules multinucléées (20 à 100  $\mu\text{m}$  de diamètre) responsables de la résorption du tissu osseux calcifié. Les ostéoblastes sont des cellules mononucléées (20 à 30  $\mu\text{m}$  de diamètre) et interviennent dans les processus de synthèse de la matrice osseuse et de calcification. Ces cellules osseuses agissent de manière coordonnée lors du remodelage osseux.

### 3. Le renouvellement osseux

L'os est en perpétuel renouvellement [19]. Dans l'os, les premiers cristaux minéraux, très instables, évoluent vers la formation d'une apatite de plus en plus carbonatée. Ce remodelage osseux, processus physiologique qui permet le renouvellement de la matrice osseuse, s'explique par l'action alternée des cellules ostéoblastiques et ostéoclastiques. Chez l'adulte le remodelage dure 3 à 6 mois, la phase de croissance étant plus longue que la phase de résorption, et en tout temps 3 à 5 % de la masse osseuse totale du corps est en cours de remaniement. Ce processus se déroule en cinq étapes (voir Figure 2).

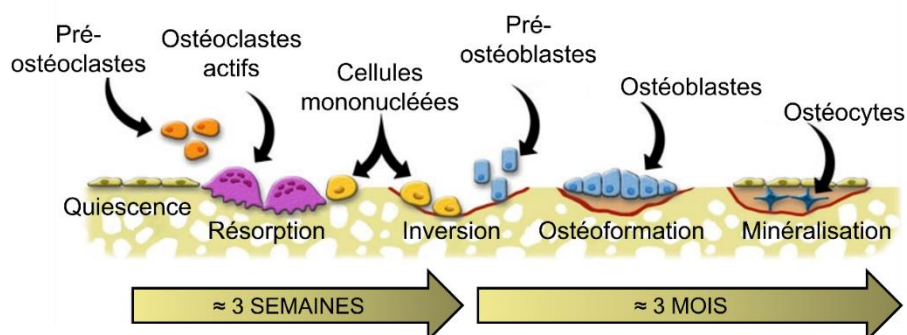


Figure 2 - Cycle du remodelage osseux - Adapté de [20]



L'auto-réparation du tissu osseux par remodelage est possible si le défaut est de taille inférieure à une taille critique définie par Schmitz et Hollinger comme « la plus petite taille de plaie intra-osseuse, dans un os donné et dans le cas d'une certaine espèce animale, qui ne peut cicatriser spontanément au cours de la vie de cet animal » [21], [22]. De ce fait, la taille de défauts osseux critiques est dépendante de l'espèce animale, mais également du site anatomique considéré. Ainsi, l'utilisation de biomatériaux de comblement est nécessaire pour des défauts osseux de taille supérieure à la taille critique.

Actuellement, il n'existe pas de consensus précis sur la taille de ces défauts pour la validation de biomatériaux et de méthodes de régénération osseuse en chirurgie orale et maxillo-faciale chez l'homme. [23]

## II. Les biomatériaux de substitution osseuse

Une définition du terme « Biomatériaux » a été proposée en 1986 sous l'égide de la Société Européenne des Biomatériaux [24], puis complétée en 1991 lors de la Conférence de Consensus à Chester: « *Les biomatériaux sont des matériaux non vivants, utilisés dans un appareil médical, et conçus pour interagir avec des systèmes biologiques, qu'ils participent à la constitution d'un dispositif à visée diagnostique ou à celle d'un substitut de tissu ou d'organe ou encore à celle d'un dispositif de suppléance (ou d'assistance) fonctionnelle* ».

Les biomatériaux de substitution osseuse actuellement utilisés ont des compositions et des structures diverses, le choix de l'implant s'établit en fonction de ses propriétés chimiques, mécaniques et biologiques. Lors de leur introduction dans l'organisme, ils sont alors considérés comme un « corps étranger » devant résister aux fluides corporels et aux défenses immunitaires. Ils se doivent d'être biocompatibles, en

n'entraînant aucune réaction toxique avec l'organisme que ce soit par le matériau en lui-même ou par les effets qu'il peut avoir (échange avec les fluides biologiques, dégradation ...). L'évaluation de ces matériaux se déroule en plusieurs étapes : dans un premier temps, par leur caractérisation physico-chimique et mécanique, ensuite il est nécessaire de vérifier leur biocompatibilité et biofonctionnalité.

## 1. Généralités

Hench [25], [26] a décrit 4 types de réponses induites par le matériau implanté dans l'organisme :

1. Si le matériau est toxique, les tissus aux alentours mourront.
2. Si le matériau n'est pas toxique mais biologiquement inactif (presque inerte), un tissu fibreux d'épaisseur variable se formera.
3. Si le matériau n'est pas toxique et biologiquement actif (bioactif), une liaison se formera à l'interface entre l'os et le matériau.
4. Si le matériau n'est pas toxique et peut se dissoudre (biorésorbable), le tissu environnant le remplacera.

On distingue alors les biomatériaux bioinertes, bioactifs ou biorésorbables :

~ Les biomatériaux bioinertes

Classés par la suite comme les matériaux de 1<sup>ère</sup> génération par Bongio [27], les implants bioinertes sont liés aux tissus osseux à l'aide d'une accroche mécanique, puis recouverts d'une couche fibreuse. La couche fibreuse est de faible épaisseur, mais cette épaisseur varie en fonction du type d'implant, du lieu d'implantation et des contraintes mécaniques auxquelles il est soumis. Parmi ces biomatériaux, on retrouve les métaux, l'alumine, la zircone, ou encore le polyéthylène (PE).

~ Les biomatériaux bioactifs

Les matériaux bioactifs sont en contact direct avec les tissus calcifiés. Ils induisent une réponse biophysique et biochimique du tissu osseux et permettent la croissance de l'os à l'interface. Des liaisons chimiques sont à la base de cette interaction entre le tissu et l'implant, ce qui leur permet de fusionner. Les matériaux les plus représentatifs de cette catégorie sont les phosphates de calcium et les bioverres.

Afin de répondre à ces différents usages, plusieurs types de biomatériaux d'origine synthétique existent : les métaux et les alliages, les polymères, les composites et les céramiques. Ils sont répertoriés dans le Tableau 1.

Matériaux	Attachement implant/tissu
<b>1<sup>ère</sup> génération - Matériaux inertes</b>	
alliage de titane (TA6V), alliage de Cr-Co-Mo, alumine (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ), zircon (ZrO <sub>2</sub> ), polyméthacrylate de méthyle (PMMA), polyéthylène (PE)	<b>fixation morphologique :</b> formation d'une capsule fibreuse non adhérente
<b>2<sup>ème</sup> génération - Matériaux bioactifs / Matériaux biorésorbables</b>	
hydroxyapatite (HAp), bioverres, vitrocéramiques, composites : bioverre renforcé avec des fibres d'acier inox, mélanges polyéthylène (PE)-HAp	<b>fixation bioactive :</b> formation de liaisons chimiques à l'interface implant/tissu
<u>Céramiques phosphocalciques :</u> $\beta$ ( $\beta$ -TCP), phosphate de calcium carbonaté, céramiques phosphocalciques biphasiques, <u>Matériaux à base de polymère :</u> <i>Origine synthétique :</i> acide polylactique (PLA), acide polyglycolique (PGA) <i>Origine biologique :</i> Allogreffe de matrice osseuse déminéralisée (DBM) seule ou intégrée sur différents supports (lécithine, gélatine, hydrogel, glycérol, amidon, collagène, hyaluronate de sodium) <u>Matériaux hybrides</u> composés à la fois de phosphate de calcium et de collagène ou de DBM	<b>absence de fixation :</b> remplacement progressif par du tissu régénéré
<b>3<sup>ème</sup> génération - Matériaux ostéoinducteurs</b>	
Biomatériaux du génie tissulaire, biomatériaux intelligents, biomatériaux biomimétiques : matériaux céramiques et matériaux polymériques	<b>fixation cellulaire</b>

Tableau 1 - Classification des matériaux de substitution osseuse [25], [27], [28]

La biorésorbabilité est un facteur important défini par la vitesse de dégradation d'un matériau *in vivo* liée aux phénomènes de dissolution spontanés ainsi que l'action des ostéoclastes. Pour certaines applications, il est nécessaire que le biomatériau soit en mesure de se dégrader afin de remplacer progressivement la céramique par l'os néoformé sans pour autant se dégrader trop rapidement, ce qui pourrait nuire à l'intégrité de la structure ainsi que la croissance osseuse. La vitesse de dissolution des céramiques peut être contrôlée par différents facteurs comme la taille des cristaux et la porosité du matériau [29]. La présence de micropores permet d'augmenter la surface spécifique du matériau et donc leur vitesse de dissolution [30], [31].

L'ostéoconduction est définie comme la capacité d'un matériau à soutenir la croissance osseuse lorsqu'il est au contact ou à proximité d'un os [6]. Le matériau doit être en mesure d'accueillir les précurseurs ostéoblastiques qui migrent de la moelle osseuse et d'assurer leur prolifération puis leur différenciation en ostéoblastes. Le contact os-implant et la résistance aux tests mécaniques d'implants en titane apparaissent, en effet, significativement accrues en présence d'un revêtement d'HAp bioactif, à leur surface ou d'une rugosité importante, susceptible de stimuler la différenciation et la minéralisation des ostéoblastes [32], [33]. Cependant, bien qu'elle n'apparaisse pas indispensable dans l'initiation du phénomène, la présence d'une macroporosité favorise l'ostéointégration des matériaux [34].

Les matériaux ostéoconducteurs ont de bonnes capacités de reconstruction lorsque qu'un contact direct entre l'os et le matériau est possible et que la zone à reconstruire est petite. Ils sont en revanche peu efficaces pour la régénération de larges pertes de substance osseuse [35]. L'ostéoinduction est la propriété active permettant à un matériau d'induire la différenciation cellulaire localement par des protéines. Les cellules souches de l'hôte au niveau du site receveur, conduisent à leur prolifération et à leur différenciation en pré-ostéoblastes et en ostéoblastes matures. De plus si celui-ci est placé dans une zone de tissu mou sans contact avec l'os, une néoformation osseuse aura tout de même lieu.

C'est d'ailleurs cette propriété qui définissait originellement l'ostéoinduction [36] : placés dans un tissu non minéralisé comme un muscle squelettique, les matériaux ostéoinducteurs devaient induire une néoformation osseuse.

## 2. Les biocéramiques

Parmi les biomatériaux, les biocéramiques représentent un nombre de matériaux très large. Les propriétés physico-chimiques, mécaniques et biologiques des céramiques sont influencées par divers facteurs : leur composition, la taille des particules, la cristallinité, la porosité, la surface spécifique ou encore la présence de défauts. Ainsi, bien que fragiles, elles offrent une grande variété d'utilisations grâce à leurs variétés de structures, compositions chimiques, formes, états de surface et porosité.

Parmi les biocéramiques, les céramiques bioinertes telles que l'alumine et la zircone présentent un faible coefficient de frottement et sont largement utilisées, comme têtes fémorales et cotyles de prothèses de hanche par exemple. Les céramiques bioactives quant à elles comme les céramiques phosphocalciques permettent une interaction entre le tissu osseux et l'implant qui limite la perte d'adhésion entre l'os et le biomatériau.

Le Tableau 2 présente les matériaux utilisés en comblement osseux commercialisés en fonction de leur nature et de leur composition chimique. Parmi ces matériaux, les biocéramiques occupent une place importante. Elles peuvent se présenter sous différentes formes : blocs denses ou poreux, granulés, poudres ou ciments.

Type	Composition chimique	Nom commercial
Polymères naturels	Collagène	Healost® (Orquest)
		Apcoll® (Devro Medical Corp)
Polymères synthétiques	Poly( $\alpha$ -hydroxy acids)	Trugraft (Osteobiologics)
	Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA)	Peek-Classix® (Invibio)
Biocéramiques diverses	Bioverres	Bioglass® (US Biomaterials Corp.)
	Biocéramique d'alumine	BioloX® (CeramTec)
	Zircone	Prozyr® (St Gobain Advanced ceramics Desmarquest)
Céramiques phosphocalciques	Hydroxyapatite (HAp) naturelle ou synthétique	Interpore® (InterPore Int)
		Endobon® (Merk)
		Calcitite® (Calcitek)
		Osteograft® (Ceramed)
	Phosphate tricalcique- $\beta$ ( $\beta$ -TCP)	Triha+® (Teknimed)
		Vitoss® (Orthovita, Inc)
	Phosphate de calcium biphasique (BCP) (HAp/ $\beta$ -TCP)	CERAFORM® (Teknimed)
Triosite® (Zimmer, Ind.)		
MBCP® (Biomatlande)		
Ciments	Phosphocalciques	CEMENTEK® (Teknimed)
		BoneSource® (Stryker, Inc.)
		Biobon® (ETEX, Inc.)
		Norian SRS® (Synthes)
	Polymères (PMMA)	Cortoss® (Orthovita, Inc.)
		CEMFIx® (Teknimed)
Matériaux composites	Collagène d'origine naturelle + HAp ou BCP	Collapat II® (BioMet, Inc)
		Collagraft® (Zimmer, Inc)
	Fibrine Glue + BCP	Tricos® (Baxter BioSciences BioSurgery)
Polymère synthétique + BCP	MBCP Gel® (Biomatlande France)	

Tableau 2 - Les matériaux de comblement osseux commercialisés en fonction de leur type et composition chimique [29], [37]

Parmi les biocéramiques bioactives, on distingue diverses familles de matériaux :

~ Le plâtre de Paris

Le plâtre de Paris a été l'un des premiers candidats utilisés pour les substitutions osseuses. Il se forme par dissolution puis précipitation de sulfate de calcium ( $\text{CaSO}_4$ ) avec de l'eau. Bien qu'il ne soit plus trop d'actualité au vu des dernières technologies développées, certaines recherches s'intéressent encore à son utilisation, notamment pour

des composites plâtre/phosphate de calcium [38], [39] ou encore des mélanges injectables constitués de plâtre et de poly( $\epsilon$ -caprolactone) [40].

~ Les verres bioactifs

Le premier verre bioactif, nommé « 45S5 Bioglass® » a été synthétisé par Hench et al. en 1971 [41]. Sa composition chimique est la suivante :  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ . Ce type de matériau, étudié dès 1969 comme une alternative aux biomatériaux inertes, possède une forte teneur en silicium et est biorésorbable et bioactif [42]. Depuis, de nombreuses compositions ont été étudiées.

C'est l'ajout d'oxyde de calcium ( $\text{CaO}$ ), de potassium ( $\text{K}_2\text{O}$ ), de sodium ( $\text{Na}_2\text{O}$ ) ou de magnésium ( $\text{MgO}$ ) qui confère au matériau une bioactivité. L'ajout d'oxyde de zinc, de cuivre, d'argent ou de titane ( $\text{ZnO}$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{AgO}$ ,  $\text{TiO}_2$ ) permet au matériau de présenter une propriété antibactérienne tandis que l'oxyde d'aluminium ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) permet d'augmenter leur résistance mécanique [42].

Leur bioactivité serait favorisée par la teneur en calcium, phosphore et silicium. Leur contact avec des liquides corporels simulés (SBF en anglais - *simulated body fluid*) permettrait de développer une couche d'apatite hydroxycarbonatée à leur surface, favorisant l'intégration de l'implant [43]. Par ailleurs, certains auteurs ont démontré que l'ajout de zinc ou de magnésium favoriserait la prolifération et la différenciation des cellules osseuses [43]–[45]. Leur intégration dans des matériaux composites permet d'ajouter certaines propriétés, notamment s'ils sont associés à l'hydroxyapatite pour améliorer leur propriété mécanique [46].

Ils sont utilisés pour des applications dentaires depuis 1985 et peuvent être employés aussi bien dans la réparation de tissus durs tels que les os ou les dents que dans les tissus mous comme les nerfs. La délivrance de principe actifs a été tenté par Hench en 1998 [47] pour un traitement contre le cancer en intégrant des isotopes radioactifs au sein de billes de verres.

~ Les ciments phosphocalciques

Les ciments phosphocalciques sont utilisés pour des applications de comblement osseux car ils sont injectables ce qui leur permet de combler parfaitement la cavité. Une pâte obtenue en mélangeant un liquide à une poudre, ou à un mélange de poudres, va durcir au cours du temps au sein de la cavité. Ce type d'application peut aussi être réalisée à l'aide de PMMA, cependant sa mise en place engendre une forte réaction exothermique. Les ciments phosphocalciques présentent l'avantage de se solidifier à une température similaire à celle du corps humain sans dégager de chaleur.

Monma et Kanazawa [48] ont proposé, en 1976, le premier ciment phosphocalcique obtenu par précipitation d'apatite déficiente en calcium et de l'eau entre 60°C et 100°C. Un autre type de ciment a été reporté en 1987 par Brown [49] à partir d'un mélange de poudre de phosphate dicalcique di-hydraté (DCPD) et de phosphate tétracalcique (TTCP) mélangé à de l'eau, plus ou moins acide. Le mélange avait précipité sous forme d'hydroxyapatite. Depuis, les recherches se sont concentrées sur le temps de prise du ciment pour permettre de réduire les temps d'opérations chirurgicales. La cinétique peut être accélérée en ajustant le rapport liquide/poudre, le type de liquide, le type de poudre, la taille des particules ou la présence d'additifs.

Ces dernières années, les études se sont portées sur l'amélioration des propriétés mécaniques et la présence de porosité au sein du ciment. Plusieurs techniques ont permis d'obtenir des pores, par exemple :

- L'ajout de particules solides solubles [50]: par exemple des particules de mannitol ont été ajoutées à la composition du ciment. Elles sont rapidement dissoutes au contact des fluides biologiques, et permettent d'obtenir des pores.
- L'ajout de particules [51] ou fibres [52] biodégradables : par exemple des particules ou fibres de polymères résorbables (PLGA) ont été utilisées, cependant la dégradation, et donc la création des pores, est plus lente.



- L'ajout d'albumine [53] : par exemple, une mousse stabilisée par de l'albumine, issue de blanc d'œuf, est formée puis mélangée à une poudre d' $\alpha$ -TCP pour donner une pâte de ciment macroporeuse. En revanche, l'origine animale de l'albumine n'en fait pas un composant recommandé.

~ Les céramiques phospho-calciques

Les céramiques phosphocalciques sont généralement utilisées pour des chirurgies crânio-faciale, maxillo-faciale, dentaire ou orthopédique en comblement osseux. Leur composition proche de celle de l'os leur confère des propriétés telles que la bioactivité, l'ostéoconduction et la biorésorbabilité. D'un point de vue clinique, il est reconnu que le succès d'une biocéramique requiert à la fois une interface stable avec les tissus en contact et le comportement mécanique de l'implant [8]. Parmi les phosphates de calcium synthétiques, il existe l'hydroxyapatite (HAp), le phosphate tricalcique ( $\beta$ -TCP) ou les phosphates de calcium biphasiques (BCP) qui sont un mélange d'hydroxyapatite et de phosphate tricalcique  $\beta$ . L'HAp est considérée comme le phosphate de calcium le plus stable et biocompatible mais elle est peu biorésorbable car principalement utilisée sous forme frittée. D'autre part le phosphate tricalcique  $\beta$  est lui plus soluble, c'est ainsi que les céramiques biphasées (BCP) ont été développées. En adaptant les proportions d'HAP et de  $\beta$ -TCP il est possible de contrôler la cinétique de résorption et d'adapter les propriétés mécaniques [54].

Ainsi, actuellement, les céramiques phosphocalciques implantables sont majoritairement obtenues par frittage à haute température (supérieure à 1000°C) pour permettre l'obtention de système présentant une tenue mécanique importante. Toutefois cela conduit à des matériaux extrêmement stables qui ne présentent plus les propriétés initiales des précurseurs utilisés, ils ne présentent alors qu'une faible réactivité de surface et un caractère peu ou pas résorbable [55]. Ces dernières caractéristiques limitent notamment la capacité des matériaux ainsi obtenus à adsorber des molécules organiques comme les principes actifs ou les protéines, ou encore des cellules souches. Il est alors

nécessaire de recourir à des méthodes de consolidation ou d'activation moins conventionnelles, à plus basse température, afin d'obtenir des biocéramiques biocompatibles et bioactives. Ainsi de nouveaux procédés d'élaboration des biocéramiques phosphocalciques denses dites « à basse température » ont été proposées (par exemple à partir d'un gel [10], par chauffage sous pression à basse température ( $< 200^{\circ}\text{C}$ ) [11] ou encore par frittage flash [12]). De plus, une résistance mécanique suffisamment élevée est indispensable pour la mise en place, par le chirurgien, de la céramique dans le site osseux receveur, et pour assurer un soutien mécanique durant le temps nécessaire à la recolonisation du matériau par les cellules et fluides biologiques environnants. Enfin, une porosité interconnectée au sein des biocéramiques (avec des diamètres de pores supérieurs à  $200\ \mu\text{m}$ ) favorise l'ostéoconduction, et permet une réhabilitation cellulaire et une meilleure bio-intégration.

Après une présentation des phosphates de calcium apatitiques (ou apatites), les différentes méthodes d'obtention des biocéramiques phosphocalciques poreuses seront présentées.

### III. Les apatites

Les sels de calcium de l'acide orthophosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) constituent une grande famille de composés solides : les orthophosphates de calcium. Les orthophosphates de calcium présentent de nombreuses compositions chimiques mais également des structures cristallines variées (voir Tableau 3). Parmi ces composés, les orthophosphates de calcium de structure apatitique (ou apatites), dont la composition et la structure sont proches de celles des tissus calcifiés tels que les os ou les dents, occupent une place particulière ; leur composition peut varier dans un large domaine, le rapport Ca/P étant compris entre 1,33 et 1,67 (1,67 étant celui de l'hydroxyapatite stœchiométrique).

Le nom « apatite », d'origine grecque, a été donné à un groupe de minéraux. Ce nom signifie « décevant » car ils ont été confondus avec des améthystes lors de leur découverte. Cette famille de composés cristallise dans le système hexagonal et présente la formule suivante [56], [57]:



où  $M^{2+}$  est un cation métallique bivalent,  $XO_4^{3-}$  un groupement d'anions trivalent et  $Z^-$  est un anion ou un groupement anionique monovalent. La structure apatitique admet de nombreux écarts à la stœchiométrie, telle qu'une déficience en calcium, et permet un grand nombre de substitutions anioniques et cationiques (Tableau 4) [58], [59].

Parmi les orthophosphates de calcium de structure apatitique, trois composés en particulier, utilisés ou cités dans ces travaux de thèse, seront détaillés : le phosphate tricalcique, l'hydroxyapatite stœchiométrique et les apatites nanocristallines ou apatites biomimétiques.

Dénomination	Abréviation	Formule chimique	Ca/P
Phosphate monocalcique anhydre	MCPA	$Ca(H_2PO_4)_2$	0,5
Phosphate monocalcique monohydraté	MCPM	$Ca(H_2PO_4)_2, H_2O$	0,5
Phosphate Dibasique Dihydrate (brushite)	DCPD	$Ca(HPO_4), 2H_2O$	1,00
Phosphate Dibasique Anhydre (monéтите)	DCPA	$CaHPO_4$	1,00
Phosphate Octocalcique triclinique	OCPt	$Ca_8(PO_4)_4 (HPO_4)_2(OH)_{0,5}, 5H_2O$	1,33
Phosphate Octocalcique apatitique	OCPa	$Ca_8(HPO_4)_{2,5} (PO_4)_{3,5}(OH)_{0,5}$	1,33
Phosphate Octocalcique amorphe	OCPam	$Ca_8(PO_4)_4(HPO_4)_2, nH_2O$	1,33
Phosphate Tricalcique $\alpha'$ , $\alpha$ et $\beta$	$\alpha'$ - TCP, $\alpha$ -TCP, $\beta$ -TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1,50
Phosphate Tricalcique apatitique	TCPa	$Ca_9(PO_4)_5(HPO_4)(OH)$	1,50
Phosphate Tricalcique amorphe	TCPam	$Ca_9(PO_4)_6, nH_2O$	1,50
Hydroxyapatite	HAp	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67
Phosphate Tétracalcique Monoxyde	TCPM	$Ca_4 (PO_4)_2O$	2,00

Tableau 3 – Les différents orthophosphates de calcium [60]

M <sup>2+</sup>			XO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>			Z		
Ca <sup>2+</sup>	Sr <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	OH <sup>-</sup>	F <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>
Mg <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	MnO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	VO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Br <sup>-</sup>	I <sup>-</sup>	
Cu <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	CrO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	S <sup>2-</sup>	O <sup>2-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
Ni <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>				□		
K <sup>+</sup>	Y <sup>3+</sup>	Eu <sup>3+</sup>						
□								

Tableau 4 - Substitutions possibles au sein de la structure apatitique M<sub>10</sub>(XO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Z<sub>2</sub> avec □ : lacunes [12]

## 1. L'hydroxyapatite

De structure et composition proches de celles du minéral osseux, l'HAp est le composé le plus utilisé dans la fabrication de biomatériaux phosphocalciques, sous diverses formes (céramiques, ciments, poudres, revêtements...). L'hydroxyapatite présente le produit de solubilité le plus faible du système Ca(OH)<sub>2</sub>-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. De ce fait la plupart des phosphates de calcium de rapport Ca/P inférieur à 1,67 évoluent en solution dans des conditions de température et de pH bien définis vers l'HAp [57]. De plus, l'HAp présente une structure très stable, sa décomposition thermique n'intervient qu'à des températures élevées (1300°C) et en l'absence de vapeur d'eau. Néanmoins, en raison de sa stœchiométrie, l'hydroxyapatite n'est pas rencontrée dans les systèmes biologiques, et malgré son excellente biocompatibilité elle montre une faible bioactivité.

### a) Voies de synthèse

Diverses méthodes de synthèse ont été référencées dans la littérature, soit par voie humide soit par réaction à l'état solide :

~ Par voie humide

Une des voies les plus rapportées dans la littérature est la précipitation en voie aqueuse par double décomposition de sels de calcium et de phosphate [61]–[63] ; la neutralisation de la chaux par de l'acide phosphorique a aussi été reportée par Trombe [62]. La voie hydrothermale a également été présentée par Raynaud [64].

~ Par réaction à l'état solide

Les réactions à l'état solide, comme la mécanosynthèse, sont des voies qui donnent généralement des composés stœchiométriques et bien cristallisés. Cependant, la réaction est très coûteuse en terme d'énergie [65]–[67].

~ Autres voies de synthèse

D'autres voies de synthèse moins communes, permettant d'obtenir une hydroxyapatite pure ont été reportées, par voie sol-gel [68] ou encore irradiation micro-ondes [69].

### b) Structure de l'HAp

L'hydroxyapatite stœchiométrique de formule  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  cristallise dans le système hexagonal en suivant le groupe d'espace  $\text{P6}_3/\text{m}$ . Lorsqu'elle est parfaitement cristallisée, elle possède les paramètres de maille suivant [70]–[72] :

$$a = b = 9,432 \text{ \AA} \qquad c = 6,881 \text{ \AA}$$

Cette maille est visible depuis le plan (001) sur la Figure 3.

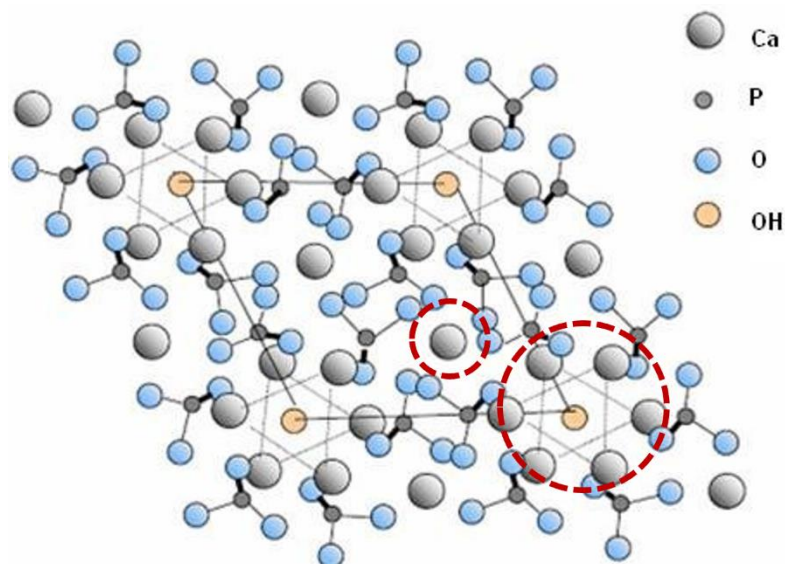


Figure 3 - Projection dans le plan de base (001) de la maille de l'hydroxyapatite [73].  
Le petit cercle rouge représente un tunnel de type I, le grand cercle un tunnel de type II.

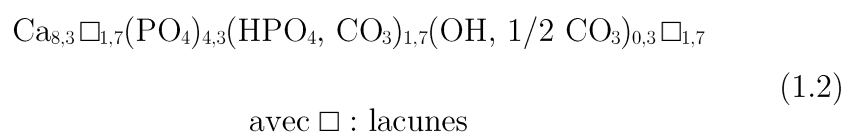
La maille cristalline contient un motif  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Sa structure consiste en un empilement de tétraèdres d'ions phosphate  $\text{PO}_4^{3-}$  constitués de deux tunnels parallèles à l'axe  $c$  :

- ~ Le premier correspond à l'axe ternaire du cristal. Il est occupé par des ions calcium notés Ca(I) et son diamètre mesure environ 2 Å.
- ~ Le second correspond à l'axe sénaire hélicoïdal. Les parois de ce tunnel sont constituées d'atomes d'oxygène ou de calcium notés Ca(II), et l'intérieur est occupé par les ions OH. La taille de ce tunnel est environ de 3 Å. Les ions qui se trouvent dans les tunnels sont peu liés au reste du réseau qui constitue l'édifice stable, ce qui confère aux apatites des propriétés d'échangeur d'ions et d'accepteur de petites molécules telles que  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  ou la glycine [74]–[76].

Un exemple de ces échanges au sein de la maille de l'HAp est la carbonatation. En effet, Bonel et al. [77] ont montré la substitution des ions OH<sup>-</sup> et  $\text{PO}_4^{3-}$  par les ions carbonates  $\text{CO}_3^{2-}$  :

- ~ Lorsque les ions  $\text{CO}_3^{2-}$  remplacent les ions OH<sup>-</sup>, la substitution est dite de « type A ».
- ~ Lorsque les ions  $\text{CO}_3^{2-}$  remplacent les ions  $\text{PO}_4^{3-}$ , la substitution est dite de « type B ».

La carbonatation de « type B » est la plus commune et l'apatite biologique semble suivre cette compensation de charge. En effet, la phase minérale de l'os apparaît déficiente en calcium, carbonatée et ayant des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  et des lacunes sur les sites anioniques monovalents par rapport à l'hydroxyapatite stœchiométrique. Sa formule chimique est définie par LeGeros [78] puis complétée par Rey et al. [79] :



## 2. Les apatites nanocristallines biomimétiques

La phase minérale du tissu osseux possède une faible cristallinité liée à ses cristaux de taille nanométrique et la présence de lacunes. Par ailleurs, elle possède une couche hydratée qui contient des ions labiles à la surface des nanocristaux qui n'existe pas dans le cas des apatites bien cristallisées [55]. Cette couche hydratée, aussi appelée « couche labile » est majoritairement composée d'ions bivalents qui entourent le domaine apatitique du cristal [51] (Figure 4).

Cette couche hydratée, qui évolue au cours du temps, serait responsable de la très grande réactivité de surface des apatites biologiques. Ces apatites présentent de très fortes capacités d'échanges ioniques et d'adsorption de protéines, ce qui leur permet d'interagir facilement avec les fluides biologiques. Ces propriétés seraient liées à la présence de la couche hydratée, qui contient des espèces ioniques relativement mobiles et facilement échangeables (Figure 4) [80].

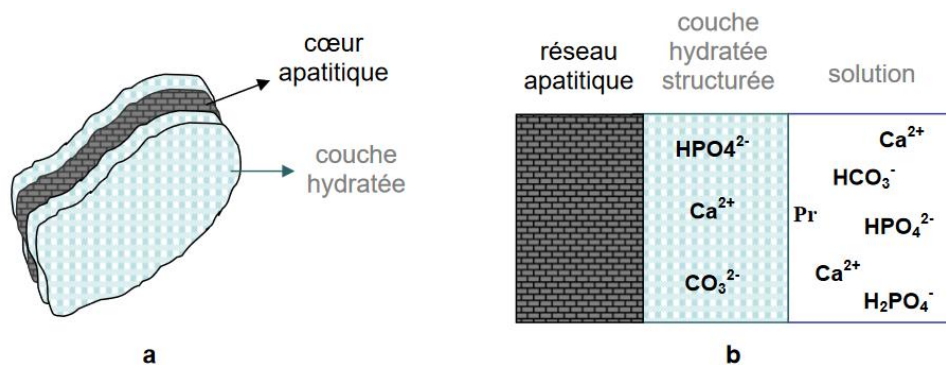


Figure 4 - Représentation schématique de la couche hydratée en surface du domaine apatitique : a) vue du nanocristal (3D) et b) coupe du cristal montrant les différents domaines (structure apatitique, couche hydratée) et les échanges avec les ions ou protéines (Pr) du milieu environnant [73]

Cette couche hydratée se retrouve dans les tissus osseux au début de la minéralisation ainsi que dans les apatites de synthèse fraîchement préparées, elles sont alors appelées apatite nanocristallines ou NCA (« Nano Cristalline Apatite ») ou apatites biomimétiques. Lorsqu'elles sont en solution, le domaine apatitique se développe

progressivement aux dépens de la couche hydratée [81], ainsi moins l'apatite est « mature », plus elle est réactive. Cette évolution est ralentie lorsque les apatites nanocristallines sont carbonatées [82]. Eichert [83] a étudié la caractérisation des apatites nanocristallines hydratées sous forme de gels ou lyophilisées et montre ainsi l'évolution par spectrométrie infrarouge des environnements non-apatitiques lors du séchage par lyophilisation.

Ainsi, l'utilisation des apatites nanocristallines biomimétiques dans l'élaboration de biocéramiques phosphocalciques est envisagée afin d'en améliorer la bioactivité et biorésorbabilité. Cependant, pour garder la réactivité de surface de ces apatites biomimétiques, le développement de nouveaux procédés d'élaboration dits « basse température » doivent être proposés, comme expliqué précédemment (voir partie « Biocéramiques »). De plus, la plupart des biocéramiques commercialisées sont poreuses, avec une porosité interconnectée et une taille de pore suffisante ( $>200 \mu\text{m}$ ), favorisant ainsi l'ostéoconduction et le renouvellement osseux.

La suite de ce chapitre est consacrée à l'état de l'art des différentes méthodes d'élaboration permettant le contrôle de la porosité dans les biomatériaux.

## **IV. Contrôle de la porosité**

Les matériaux poreux sont constitués de deux phases : une matrice solide continue et un fluide. Généralement, cette seconde phase est de l'air. Elle peut être continue ou non. On parlera alors de porosité interconnectée dans le premier cas et de porosité fermée dans le second. Les cavités ainsi que les interconnexions remplies d'air sont appelées « pores ».



Tout matériau solide contenant des cavités, des canaux ou des interstices peut être considéré comme poreux. Les structures poreuses sont largement présentes dans la nature : les nids d'abeille, les éponges naturelles ou encore les cannes de bambou.

## 1. Les différents types de porosité

La porosité d'un matériau ( $\varphi$ ) est définie comme le rapport du volume des pores sur le volume total du matériau :

$$\varphi = \frac{V_p}{V_s + V_p} \quad (1.3)$$

Avec :  $V_p$ , le volume occupé par les pores ( $m^3$ )  
 $V_s$ , le volume de la matrice solide ( $m^3$ )

Différents types de pores peuvent se trouver au sein d'un matériau, définissant sa porosité (Figure 5). Les pores isolés (a) sont considérés comme de la porosité fermée. Ce type de porosité exerce une influence sur la densité apparente du matériau, sa tenue mécanique et sa conductivité thermique, mais elle n'intervient pas dans l'adsorption de gaz ou l'écoulement de fluides. Les pores (b), (c), (d), (e) et (f) sont en contact avec la surface externe de la matrice, ils représentent la porosité ouverte. La porosité ouverte peut être divisée en deux sous catégories : 1. Les pores ouverts seulement à une extrémité (b) et (f) sont définis comme des pores borgnes, ils ne sont connectés qu'avec l'extérieur ; 2. Les pores ouverts à deux extrémités ou plus (e). La rugosité de la surface d'un matériau (g) ne doit pas être confondue avec de la porosité. Afin de faire la distinction on considère qu'une surface est poreuse si la profondeur de la rugosité est plus importante que sa largeur.

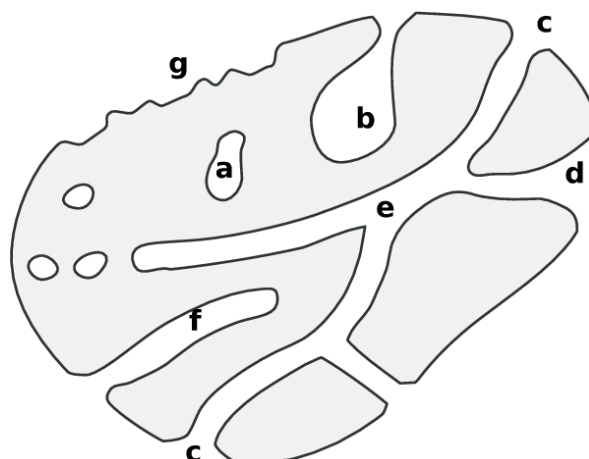


Figure 5 - Représentation schématique d'une section transversale d'un matériau poreux [84]

Les propriétés physico-chimiques des matériaux poreux telles que la densité apparente, la conductivité thermique et la résistance mécanique, dépendent de la structure poreuse. Le contrôle de la morphologie poreuse est donc d'une grande importance lors de la synthèse d'un matériau poreux, car sa présence va être essentielle lors de l'élaboration de catalyseurs, d'adsorbants industriels, de membranes et de céramiques comme dans le cas des biocéramiques phosphocalciques. Cependant, les morphologies poreuses sont complexes et les matériaux possédant une géométrie de pore parfaite sont difficiles à préparer. La taille des pores représente un facteur important qui permet de déterminer le type d'application des matériaux poreux. Une classification de la taille des pores a été établie par l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA, en anglais IUPAC pour International Union of Pure and Applied Chemistry) (Tableau 5).

Classes de pores	Taille
Micropores	< 2 nm
Mésopores	2-50 nm
Macropores	> 50 nm

Tableau 5 - Classification des pores en fonction de leur diamètre selon IUPAC

## 2. Influence de la porosité sur les propriétés biologiques

L'architecture poreuse des substituts osseux est un paramètre influant sur la reconstruction osseuse, notamment la colonisation du biomatériau par les cellules osseuses. Cette dernière est favorisée par la présence de pores interconnectés qui permettent le déplacement des fluides physiologiques, et ainsi soutient la formation de nouveaux tissus osseux.

Pour les substituts osseux, les gammes de porosité varient par rapport aux valeurs définies par l'IUPAC, au vu de la taille importante des macropores. Cependant, la présence de deux gammes de taille de pores ouverts au sein du matériau soutient le renouvellement osseux :

Dans le domaine des biomatériaux, le terme de macroporosité est employé pour des pores de diamètre supérieur à 100  $\mu\text{m}$ . La présence de ces macropores assure l'envahissement des cavités par les cellules, avec mise en place de la vascularisation [85] permettant un apport des fluides biologiques nécessaires à la survie et à la différenciation cellulaire. Une porosité minimale de 40-70  $\mu\text{m}$  est indispensable pour la formation de l'os. Klenke et al. [86] ont étudié l'influence de la taille des macropores vis-à-vis de la quantité d'os et du nombre de vaisseaux formés après implantation de céramiques de phosphates de calcium biphasiques sur des crânes de rats. Les résultats montrent une réponse bien plus importante pour une porosité supérieure à 140  $\mu\text{m}$ , et croissante avec l'augmentation de taille des pores.

La présence de micropores de diamètres inférieurs à 10  $\mu\text{m}$ , confondus avec les mésopores, dans le domaine des biomatériaux, joue un rôle clé dans l'efficacité de la reconstruction osseuse, notamment sur leurs propriétés ostéoconductrices et/ou ostéoinductrices. Ces pores sont susceptibles d'intervenir à plusieurs niveaux : augmentation de la surface spécifique des matériaux, augmentation de la rugosité, augmentation de la résorbabilité. Associées à la réactivité du matériau, ces propriétés

pourraient donc avoir une influence sur la bioactivité du matériau et ses capacités d'adsorption [87], [88]. Une porosité interconnectée facilite la croissance osseuse en même temps que la biodégradabilité du matériau, assurant ainsi le remplacement par du tissu osseux nouvellement formé [89].

### 3. Méthodes d'obtention des matériaux poreux

De multiples méthodes ont été citées dans la littérature pour permettre de créer de la porosité au sein d'un matériau : séparation de phase, expansion de gaz, polymérisation en émulsion ou incorporation d'un agent porogène (Figure 6). La méthode utilisée permet d'influer sur la taille des pores et leur morphologie.

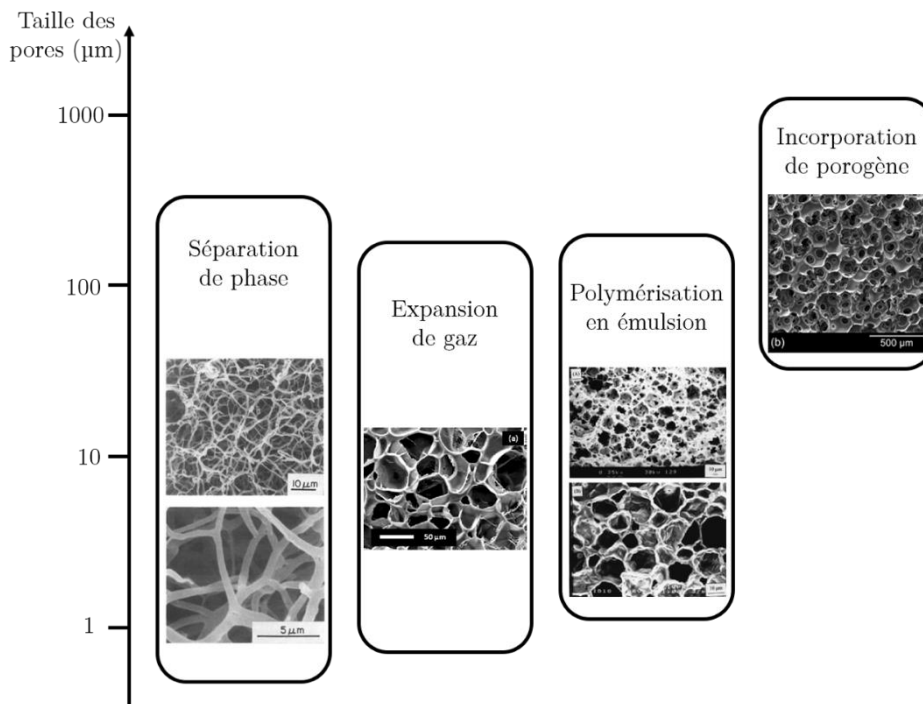


Figure 6 - Taille des porosités en fonction des différentes méthodes d'élaboration des matériaux poreux. Adapté de [90]. Séparation de phase [91], expansion de gaz [92], polymérisation en émulsion [93], incorporation de porogène [94]–[96]

a) Matériaux poreux obtenus par séparation de phase

La séparation de phases (également appelée inversion de phase ou démixtion) est liée au changement d'état thermodynamique d'une solution de polymère homogène. Ce changement d'état peut être induit par variation de la température, évaporation du solvant d'une solution ternaire polymère/solvant/non-solvant ou l'intrusion d'un non-solvant dans une solution binaire polymère/solvant. Après démixtion liquide-liquide, la phase riche en polymère se solidifie et constitue alors la matrice membranaire.

La séparation de phase est une méthode simple pour synthétiser des monolithes poreux par hydrolyse-condensation de précurseurs organiques. Ce procédé a été développé dans un premier temps pour produire des monolithes de silice au travers du procédé sol-gel, par modification de la température. Il a ensuite été étendu aux hybrides organique-inorganique de siloxane et aux métaux comme le titane, la zircone, et l'alumine en utilisant une grande variété de polymères hydrosolubles, de tensioactifs ou encore d'additifs. Wei et Ma [97] ont développé un composite PLLA/nano-hydroxyapatite en jouant sur les rapports entre le polymère et l'HAp ainsi que le dioxane et l'eau, obtenant des porosités supérieures à 90%.

b) Matériaux poreux obtenus par expansion de gaz

Elle représente la technique la plus utilisée pour produire des mousses de polymères dans le domaine industriel. Les mousses de polyuréthane, par exemple, sont obtenues par la génération de bulles de gaz à l'intérieur d'un polymère visqueux. Les polymères peuvent être thermoplastiques ou thermodurcissables. La polymérisation d'un thermodurcissable, contrairement au thermoplastique, est dite irréversible. Une fois réalisée, le matériau est durci et sa forme ne peut plus être modifiée, alors qu'un thermoplastique pourra être recyclé. En fonction du type de polymère utilisé, le procédé doit être appliqué à une température supérieure à la température de transition vitreuse

T<sub>g</sub>, dans le cas des thermoplastiques, et avant une réticulation totale pour les thermodurcissables.

Le gaz peut être apporté à l'aide d'un agent chimique, il est alors produit lors de la dégradation de cet agent. Le dégagement de gaz permet de former des bulles en expansion dans le polymère visqueux. Il peut aussi être lié à une modification physique, un liquide ou un fluide supercritique [98] présent passe à l'état gazeux par modification de la température ou de la pression du système.

Les mousses polyuréthane peuvent être produites sous forme rigide ou flexible, à partir d'isocyanates et d'alcools [99], [100]. Des monolithes de silice [100] et d'alumine [101] à porosité hiérarchisée ont été obtenus par cette voie, dévoilant une mésostructure hexagonale.

c) Matériaux poreux obtenus par utilisation d'une empreinte dure

Une empreinte dure est une substance solide insérée au sein d'une matrice polymère puis retirée pour laisser place à la porosité. Par exemple, des particules de latex ou de silice sont disposées de manière ordonnée, les particules de latex sont ensuite éliminées en chauffant à 450°C et celles de silice à 600°C.

L'utilisation d'une empreinte dure pour la formation de matériaux macroporeux a été proposée dès 1997, par Davis et al. [102] et Velev et al. [103]. Dans ces premiers essais, des empreintes naturelles sont utilisées [102], [104] : une bactérie composée de filaments multicellulaires, *Bacillus Subtilis*, a permis l'obtention de fibres macroporeuses à base de silice. Par la suite, cette méthode a été étendue à des squelettes organiques de chitine issus de la seiche [105], puis à des frustules de diatomées [106]. En revanche, l'utilisation de ressources naturelles est contraignante et n'est pas toujours en adéquation avec les demandes technologiques.

Dans la seconde approche, une silice macro-cellulaire a été obtenue par l'infiltration d'un réseau cristallin de particules organiques de polystyrène, aussi appelé cristal colloïdal ou opale synthétique par un sol de silice. Le gel imprégné a été vieilli puis éliminé par traitement thermique (450°C). L'élaboration d'un cristal colloïdal peut être réalisée par sédimentation à température ambiante, centrifugation, ou encore par filtration sous vide par Büchner. Ainsi, en modulant le diamètre des nanosphères assemblées, généralement entre 200 nm et 1 µm, des squelettes inorganiques à porosité contrôlée ont été obtenus. Plus tard, ce procédé a été étendu par B. T. Holland et al. [107] à la polymérisation de divers sols d'alkoxydes métalliques pour la synthèse d'alumine, de zircone et de dioxyde de titane macroporeux.

Concernant les biocéramiques phosphocalciques (HAp, TCP ou mixte), la porosité est le plus souvent induite par cette méthode, un processus de frittage permettant de remplacer l'empreinte par des pores et de solidifier et densifier la céramique. Cependant, comme dit précédemment, ces méthodes classiques à haute température (>1000°C) ne permettent pas de garder la réactivité de surface des apatites biomimétiques.

#### d) Matériaux poreux obtenus par fabrication additive

La fabrication additive permet de concevoir un matériau couche par couche, ce qui permet de construire une pièce aux formes géométriques compliquées qui ne pourrait pas être obtenue à l'aide des méthodes conventionnelles. Cette technique a été développée dans les années 90 pour des résines organiques, mais aujourd'hui elle est davantage employée pour des matériaux métalliques, ce qui leur garantit des propriétés mécaniques proches du métal initial [108]–[110]. Les pièces peuvent être créées en extrudant, éjectant, photopolymérisant, laminant ou fusionnant des matériaux (Figure 7) [111], [112]. Les matières premières disponibles pour les procédés de fabrication additive sont sous forme

de filaments, de pâtes, de liquides, de poudres, de granulés et de feuilles et concernent aussi bien la fabrication additive polymère que métallique ou céramique.

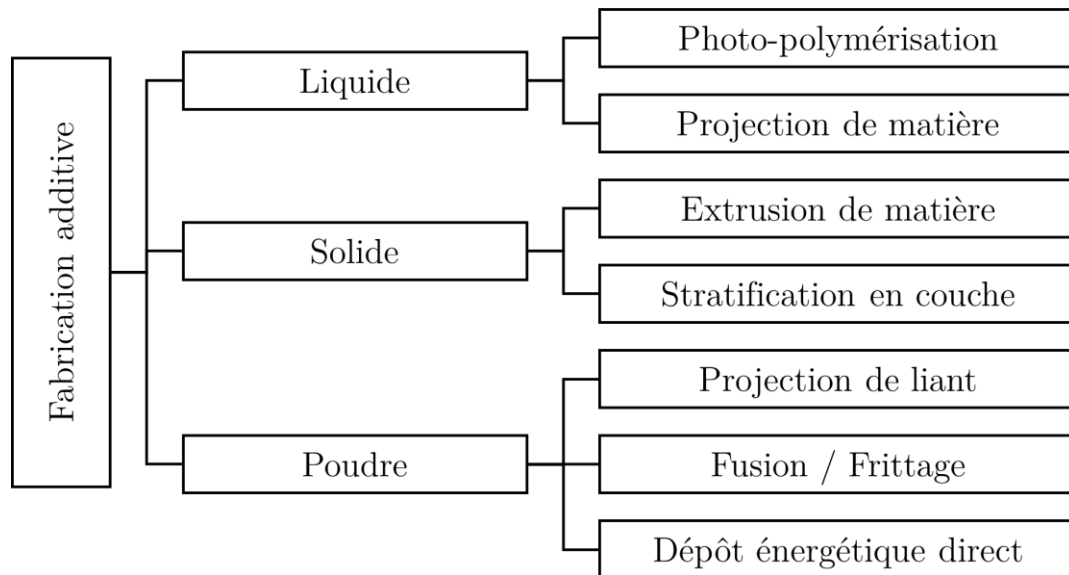


Figure 7 - Classification des technologies additives céramiques selon les 7 classes définies par l'ASTM (American Society for Testing and Materials). Adapté de [112]

Par exemple, des granules d'hydroxyapatite ont été utilisées par Leukers et al. [113] pour former un monolithe poreux, ces granules ont été collées à l'aide d'un polymère soluble dans l'eau. Pour assurer la tenue du matériau et retirer toute trace de polymère, les monolithes ont été frittés 2 h à 1300°C. Des canaux interconnectés de 500 µm ont été obtenus. Les tests cellulaires ont montré une bonne prolifération des ostéoblastes et une amélioration de la surface accessible du matériau.

#### e) Matériaux poreux obtenus par utilisation d'une émulsion

A l'inverse de l'empreinte dure, l'utilisation d'une émulsion pour contrôler la porosité est considérée comme une empreinte « douce ». Des émulsions ont été réalisés à l'aide d'un ou plusieurs tensioactifs afin de contrôler la géométrie des pores et leur macroporosité. Généralement, la phase aqueuse est polymérisée, ce qui permet de solidifier l'environnement des gouttelettes pour former un réseau hiérarchisé. Cette méthode a été utilisée pour former des matériaux poreux de silice et métaux [114].



De nombreux monolithes ont été formés à partir d'émulsions dites « HIPE » (*High Internal Phase Emulsion*) dont la phase interne est très concentrée ( $> 74\%v$ ) [115]–[119]. Lorsque la phase externe est polymérisée, ils sont appelés polyHIPE. Une émulsion est généralement réalisée à partir d'une phase aqueuse et d'une phase huile, cependant, certains auteurs rapportent l'utilisation de  $CO_2$  supercritique en remplacement de la phase huile pour la formation de matériaux poreux [120], [121] ou l'utilisation d'émulsions inverses.

Zhang et al. [122] ont synthétisé des billes macroporeuses hybrides polyacrylamide/silice de 2 mm de diamètre, en combinant polymérisation organique, hydrolyse-condensation du TEOS par voie « sol-gel », et émulsion directe à phase interne hautement concentrée. Des billes de silice macroporeuses ( $\approx 5 \mu m$ ) et mésoporeuses ( $\approx 10 nm$ ) sont obtenues après élimination par traitement thermique de la phase organique.

L'utilisation d'émulsions stabilisées par des particules solides, dites émulsions de Pickering est particulièrement courante. Des particules de latex ont notamment été utilisées pour générer des monolithes cellulaires [123], [124]. Par ailleurs, de nombreuses mousses de céramiques (alumine, silice, oxyde de fer) et des mousses macro-cellulaires ont été formées à partir d'émulsions de Pickering [125], [126].

Li et Ngai [127] ont synthétisé des matériaux macroporeux à partir d'une émulsion hexane-dans-eau à  $80\%v$  d'huile et  $5\%m$  de PS-co-PNIPAM. Les solides macroporeux obtenus ont une taille de cavité moyenne similaire aux gouttes d'huile des émulsions, et l'observation des pores internes a permis de voir leur recouvrement par des nanoparticules de PS-co-PNIPAM.

Dans le cadre de cette thèse, afin d'élaborer des biocéramiques poreuses à base d'apatites biomimétiques, cette dernière méthode d'élaboration de pores à partir d'une

émulsion a été choisie sur la base de précédents travaux [13]. Dans la suite de ce chapitre, les émulsions et leurs propriétés seront définies, en particulier les émulsions de Pickering étudiées dans cette thèse.

## Partie B. Les émulsions

### I. Notions générales

Les émulsions ont été définies par la Pharmacopée Européenne en 1987 comme une « dispersion liquide sous forme de globules dans un autre liquide non miscible » [128]. Il s'agit de systèmes dispersés dont la stabilité est limitée ou thermodynamiquement instables. Les deux liquides non miscibles peuvent être dispersés l'un dans l'autre, la présence de tensioactifs est alors nécessaire pour conserver la stabilité cinétique du système. Le liquide présent sous forme de globule correspond à la phase dispersée, tandis que le second liquide correspond à la phase continue.

On distingue deux types d'émulsions (Figure 8) :

- ~ Les émulsions de type huile-dans-eau (H/E) : les gouttes d'huile sont dispersées dans une phase aqueuse.
- ~ Les émulsions de type eau-dans-huile (E/H) : les gouttes d'eau sont dispersées dans une phase organique.

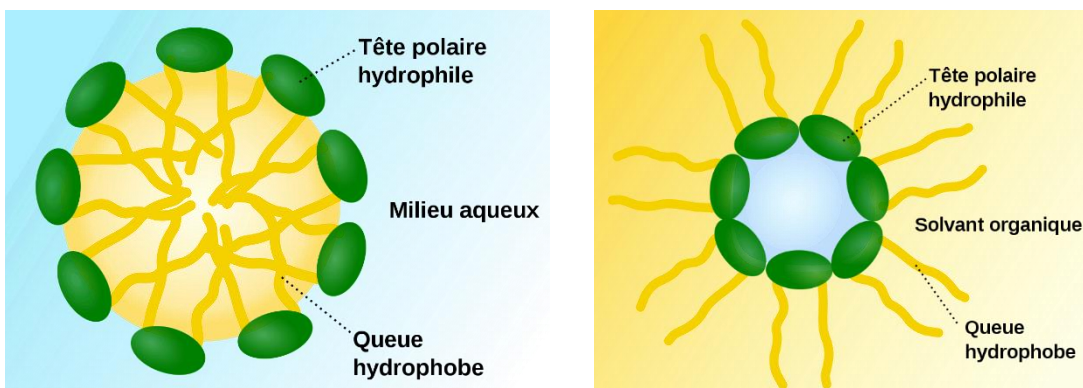


Figure 8 - Schéma des émulsions : huile-dans-eau et eau-dans-huile

Plusieurs types d'émulsions ont été répertoriés au cours du temps, tels que des systèmes multiples huile-dans-eau-dans-huile (H/E/H) ou eau-dans-huile-dans-eau (E/H/E) [129]. Des essais ont été réalisés afin de stabiliser des émulsions huile--dans-huile (H/H) [130]–[132], ainsi que des systèmes eau-dans-eau (E/E) [133]–[135].

Généralement, les émulsions sont stabilisées par des tensioactifs. Ces molécules sont amphiphiles, c'est-à-dire qu'elles présentent une partie hydrophile et une autre hydrophobe. Cette particularité leur permet de se placer à l'interface des gouttes en fonction de leur affinité avec chaque phase. L'énergie libre interfaciale est diminuée et l'émulsion est stable. D'autres molécules permettent de stabiliser des émulsions, notamment les polymères, les protéines ou les particules solides.

## II. Émulsions de Pickering

### 1. Historique

Les émulsions de Pickering sont un cas particulier d'émulsions puisqu'elles sont stabilisées par des particules solides. Popularisées par les travaux de S.U. Pickering en 1907 [136] concernant la description complète de ce phénomène de stabilisation à l'interface huile/eau, ces émulsions ont été nommées d'après sa découverte.

Cependant, ce type de stabilisation avait auparavant été signalé en 1903 par Ramsden [137] avec des protéines. Il a ainsi rapporté l'adsorption de particules solides autour de gouttes d'eau, formant alors une couche rigide à l'interface air/eau. Bien qu'il rapporte que ce phénomène pourrait être observé à l'interface huile/eau, il ne présente pas de preuves expérimentales pour soutenir son hypothèse.

Ces éléments ont été apportés par Pickering qui décrit la stabilisation d'une émulsion d'huile de paraffine par des particules solides à l'interface huile/eau, dont

plusieurs fractions volumiques huile/eau ont été testées, avec 75 à 99% d'huile. Il ajoute à ses recherches avoir testé différents types d'huiles ainsi que différentes particules (chaux, carbonate de calcium, silice et alumine). Par ailleurs, il note certains faits propres aux émulsions de Pickering, qui seront largement investigués par la suite, tels que la stabilité plus élevée de ce type d'émulsion ou encore la variation du diamètre de goutte dépendante de la quantité de particules introduites.

D'autres études réalisées depuis ont largement démontré ces propriétés et leur similarité aux émulsions dites classiques, stabilisées par des tensioactifs. Des émulsions inverses, de type [E/H], ont été décrites par Aveyard et al. [138] ainsi que des émulsions multiples [139].

## 2. Exemple d'émulsions de Pickering

Comme décrit précédemment par Pickering [136], une grande variété de particules peut être utilisée pour stabiliser l'interface des émulsions. De nombreuses études ont été menées ces dernières années rapportant l'emploi de nombreux types de particules (Tableau 6). Leur grande stabilité et leur caractère « sans tensioactif » les rend attrayantes pour des applications où les tensioactifs montrent des effets indésirables (irritation, pollution, etc). Par ailleurs, certaines particules peuvent avoir des propriétés intéressantes et permettre de contrôler les émulsions de Pickering par stimuli externe [140] en faisant varier un paramètre comme la température [141], [142], le pH, la force ionique, les champs magnétique [143] ou électrique ou encore la lumière [144].

Type de particule		Particules	Références
Inorganique	Silice	Silice	[145]–[147]
	Oxydes métalliques	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[148]–[150]
		TiO <sub>2</sub>	[151]
		CuO	[152]
		Hydroxyde double lamellaire	[159]
	Argiles	Montmorillonite (MMT)	[153], [154]
		Laponite	[155]–[158]
		Hydroxyde double lamellaire	[159]
	Carbone	Nanotube de carbone	[160]–[162]
		Oxyde de graphène	[143], [163]
Noir de carbone		[164], [165]	
Carbonate de calcium		[166]	
Organique	Protéines	Soja	[169]–[172]
		Zéine de maïs	[173]–[175]
		Lactose	[176]–[178]
	Polysaccharides	Nanocristaux de cellulose	[179], [180]
		Chitosan	[181]–[184]
		Amidon	[185]–[188]
	Polymères	Polystyrene (PS) ou poly(méthyl méthacrylate) (PMMA)	[189], [190]
	Composite	Ag <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> /MWNT nanohybride	[191]
		Poly(4-vinylpyridine) (P4VP)-Silica Nanocomposite Microgels	[192]
	Spore	Lycopodium clavatum spore	[193]
Bactérie	E.coli, Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus	[194]–[196]	

Tableau 6 - Liste des différentes particules ou type de particules stabilisant des émulsions de Pickering répertoriées dans la littérature

### 3. Applications

#### a) L'industrie pétrolière

Lors de la récupération du pétrole, des émulsions eau-dans-pétrole sont formées, stabilisées par des fines particules de roches. Lee et al [197] ont montré la formation de ce type d'émulsion entre de l'eau de mer et du pétrole brut, l'argile présent dans la roche permet la stabilisation des gouttes.

La récupération du pétrole ne peut se produire qu'en déstabilisant le système [198], cette déstabilisation est particulièrement difficile et demande un ajout de tensioactif important [199].

b) L'industrie cosmétique et pharmaceutique

Depuis quelques années, certains tensioactifs ont été reconnus comme nocifs et leur utilisation s'est révélée à risque dans de nombreux produits en raison de leurs propriétés irritantes ou toxiques. Particulièrement employés dans les produits corporels ou ménagers (shampoings, lessives, détergents ménagers...), de nombreuses recherches se tournent vers les émulsions de Pickering pour les remplacer. La très bonne stabilité des émulsions de Pickering est particulièrement intéressante pour des applications cosmétiques et pharmaceutiques. De plus, l'assemblage des particules aux interfaces fluides peut former une coque solide autour des gouttes ce qui peut permettre l'encapsulation de molécules comme des principes actifs [200].

L'ajout de particules, au sein des formulations cosmétiques permet d'améliorer leur texture et leur toucher, de nombreux brevets ont été déposés et révèlent l'intérêt industriel pour ces propriétés [201]–[203]. Ces émulsions ont été réalisées à partir de particules de silice hydrogénée [202], [203] ou encore de dioxyde de titane et de zinc [204]. L'étude de Stiller et al a notamment permis de mettre en évidence le renforcement de la protection contre les UV lors de l'emploi de ces particules [205].

c) Les matériaux

Après l'élimination des deux phases liquides de l'émulsion, le résidu est composé de particules solides agrégées. En contrôlant les conditions d'élimination de la phase huile et de séchage des émulsions, elles peuvent former une matrice dont la porosité dépend principalement des constituants et de la distribution de taille des gouttes.

Des matériaux poreux à partir de silice ont été reportés dans la littérature [145], [206]–[208] ou encore de céramique [209]. L'utilisation d'émulsions stabilisées par des particules permet de contrôler l'arrangement et la porosité des matériaux et présente une voie innovante particulièrement intéressante [138], [210].

### III. Mécanisme de stabilisation

#### 1. Mouillage des particules et interface

Afin d'être adsorbées à l'interface, les particules doivent être mouillées partiellement par les deux phases de l'émulsion. Le mouillage est caractérisé par l'angle de contact  $\theta$  entre la phase aqueuse, la phase huileuse et le solide (mesuré du côté de la phase aqueuse). Il est possible de déterminer expérimentalement cet angle de contact en déposant une goutte d'eau sur une pastille de particules, préalablement insérée dans de l'huile comme illustré en Figure 9.

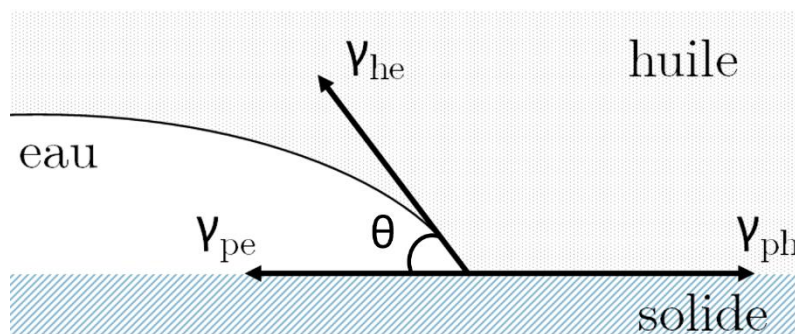


Figure 9 - Mesure de l'angle de contact  $\theta$  sur une surface plane :  $\gamma_{he}$  est la tension interfaciale huile/eau,  $\gamma_{ph}$  est la tension interfaciale entre les particules et l'huile et  $\gamma_{pe}$  est la tension interfaciale entre les particules et l'eau



La valeur de l'angle de contact est liée aux tensions interfaciales des particules et des liquides :

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{ph} - \gamma_{pe}}{\gamma_{he}} \quad (1.4)$$

Avec  $\theta$  : l'angle de contact de la particule défini dans la phase aqueuse (°)  
 $\gamma_{ph}$  : énergie de surface entre les particules et l'huile (N/m)  
 $\gamma_{pe}$  : énergie de surface entre les particules et l'eau (N/m)  
 $\gamma_{he}$  : tension interfaciale huile/eau (N/m)

La valeur de l'angle de contact détermine le positionnement de la particule à l'interface comme présenté sur la Figure 10. Lorsque l'angle de contact est inférieur à  $90^\circ$ , les particules sont dites hydrophiles. Réciproquement, les particules sont hydrophobes lorsque l'angle de contact est supérieur à  $90^\circ$ .

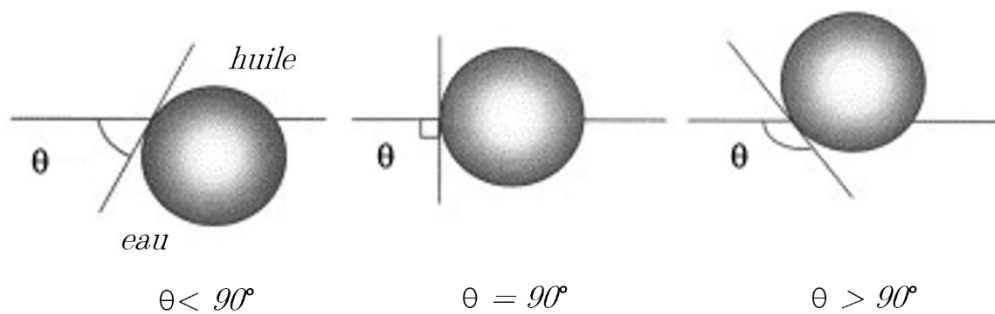


Figure 10 - Position d'une particule sphérique à l'interface huile-eau pour des angles de contact  $\theta$  : inférieur, égal ou supérieur à  $90^\circ$ . Adapté d'Aveyard et al [138].

Suite au placement des particules à l'interface, leur angle de contact détermine le type d'émulsion. Qu'elles soient stabilisées par des tensioactifs ou des particules solides, les émulsions suivent la règle de Bancroft : les particules ont généralement plus d'affinités avec la phase continue. Ainsi, Finkle [211] décrit que la courbure de l'émulsion dépend de l'angle de contact des particules (Figure 11) :

- ~  $\theta < 90^\circ$  : une émulsion [H/E] sera formée
- ~  $\theta > 90^\circ$  : une émulsion [E/H] sera obtenue



Figure 11 - Courbure de l'interface recouverte de particules et le type des émulsions. Adapté d'Aveyard et al [138].

Cependant, deux éléments, détaillés dans la partie suivante, peuvent nuire à la stabilité de l'émulsion :

- ~ Si les particules sont trop mouillées par l'une des phases [211], [212], il en est de même pour une absence de mouillage ou un mouillage total.
- ~ La phase dans laquelle les particules sont insérées [213]. En revanche si les particules sont dispersables dans les deux phases, Binks et Lumsdon [214] ont démontré que la phase continue sera la phase dans laquelle les particules ont été initialement placées.

## 2. Energie d'ancrage

La mouillabilité des particules, définie par l'angle de contact, influence la quantité d'énergie nécessaire pour enlever une particule de l'interface. Binks et al [212] ont défini cette énergie pour une particule solide sphérique en admettant que la particule soit de petite taille (submicronique) et que l'effet de la masse est donc négligeable. L'énergie nécessaire  $\Delta G$  (kT) pour déplacer une particule de rayon  $r$  de l'interface huile/eau vers une des phases est donnée par l'équation de Pieranski [215]–[217] :

$$\Delta G = \pi r^2 \gamma_{he} (1 \pm \cos \theta_{he})^2 \quad (1.5)$$

avec :

- $r$  : le rayon de la particule (m)
- $\gamma_{he}$  : la tension interfaciale huile/eau (N/m)
- $\theta_{he}$  : l'angle de contact des particules à l'interface huile/eau ( $^\circ$ )

Le signe entre parenthèses est négatif dans le cas d'un retrait des particules dans la phase aqueuse, et positif lors d'un détachement dans la phase huileuse.

Cette équation a été adaptée à deux autres morphologies de particules : les bâtonnets et les disques aplatis [212]. L'énergie libre de détachement des particules à l'interface a été calculée en fonction de leur angle de contact en considérant des particules ayant un volume identique de  $4,19 \cdot 10^3 \text{ nm}^3$  et un même système avec  $r = 10 \text{ nm}$ ,  $\gamma_{\text{he}} = 50 \text{ mN.m}^{-1}$  et un ratio  $a/b = 2,5$  pour les particules non sphériques (Figure 12).

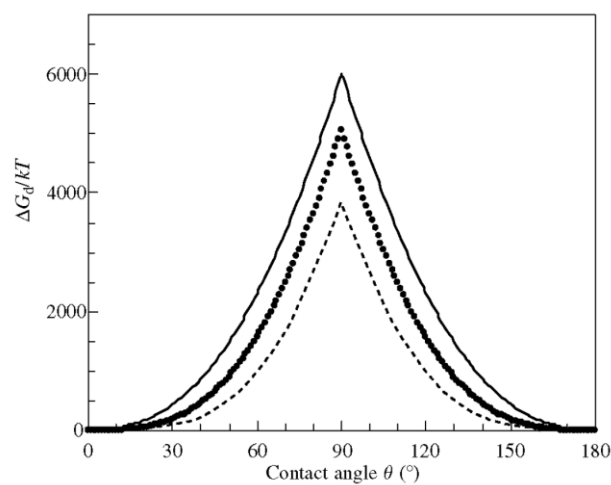


Figure 12 - Énergie libre des particules en fonction de leur angle de contact pour 3 morphologies de particules : sphériques (tirets) ; bâtonnets (pointillés) ; disques ronds aplatis (trait plein) [212].

Binks et al. ont démontré que la stabilisation est optimale lorsque cette valeur est proche de  $90^\circ$  [212]. En effet, plus l'angle de contact est proche de  $90^\circ$ , plus les particules sont difficiles à détacher de l'interface. En revanche, lorsque sa valeur est comprise entre  $0$  et  $20^\circ$  ou  $160$  et  $180^\circ$ , les émulsions sont très peu stables car les particules se décrochent très facilement de l'interface.

Par ailleurs, la forme de particules influe sur l'énergie libre nécessaire pour désorber une particule, elle décroît selon l'ordre suivant :

$$\text{disques aplatis } (\approx 6000 \text{ kT}) > \text{bâtonnets } (\approx 5100 \text{ kT}) > \text{sphères } (\approx 3800 \text{ kT})$$

En comparaison avec un système utilisant des tensioactifs, Danov et al [218] ont établi qu'une énergie comprise entre 0 et 20 kT était suffisante pour détacher les tensioactifs de l'interface. Un tensioactif non-ionique, le Triton X-100 a été pris en exemple, à  $T=25^{\circ}\text{C}$ , l'énergie de détachement est de  $46,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , soit 18,64 kT.

Ainsi, l'adsorption des particules solides à l'interface des émulsions stabilisées est considérée comme irréversible pour leur énergie d'ancrage très élevée. En revanche, l'adsorption des systèmes stabilisés par des tensioactifs est réversible et les molécules s'adsorbent et se désorbent plus facilement.

Cependant, Binks et al [215] démontrent aussi que dans le cas de particules ayant un rayon inférieur à 0,5 nm, similaire à la taille des tensioactifs, l'énergie d'ancrage est inférieure à 10 kT. Ainsi des particules de cette taille ne permettraient pas de stabiliser un système de façon irréversible. Cependant, ce genre de système reste particulièrement difficile à étudier notamment à cause de la limite de détection des appareils car de nombreux paramètres peuvent influencer sur le système et permettre aux particules de flocculer (électrolytes, pH...).

### 3. Interaction entre les particules

Les interactions entre les colloïdes sont le résultat d'interactions entre les molécules présentes dans les particules ainsi que dans les phases aqueuse et huileuse. On distingue les interactions attractives qui permettent l'agrégation des particules aux interactions répulsives qui empêchent leur collision.

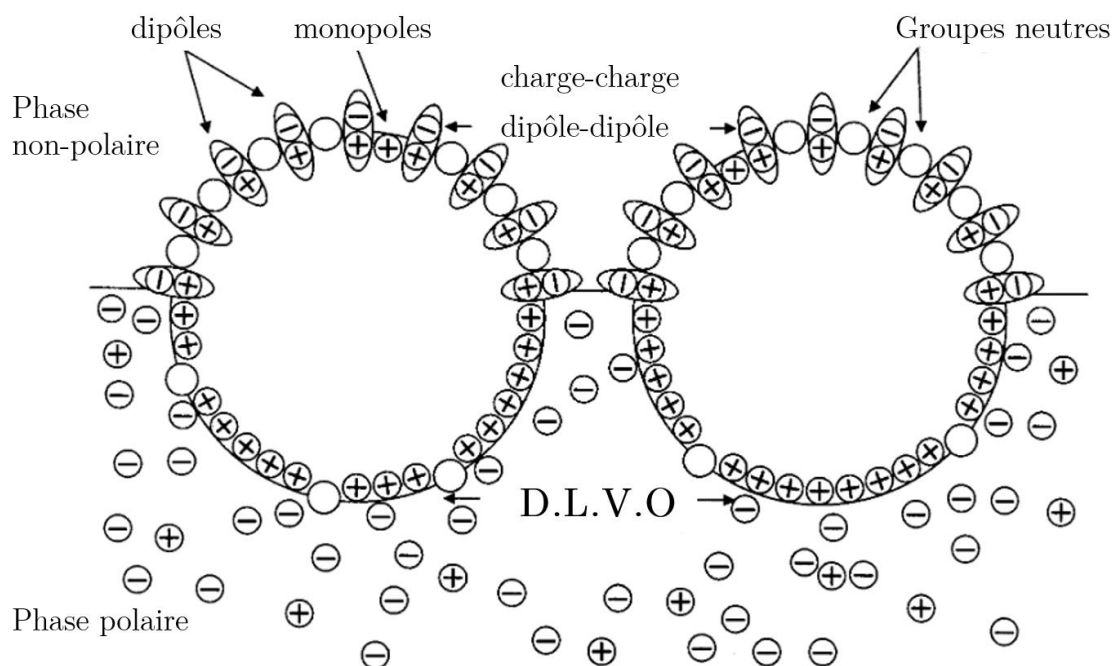


Figure 13 - Représentation des interactions entre particules à l'interface huile-eau, la phase non polaire est soumise aux interactions de Van der Waals et la phase polaire à la théorie D.L.V.O. Adapté de Moncho-Jordá et al. [219]

Selon un schéma simplifié de Moncho-Jordá et al. [219] (Figure 13), dans la phase polaire, les particules sont soumises à la théorie DLVO. Nommée d'après Derjaguin et Landau [220], puis par Verwey et Overbeek [221], cette théorie prend en compte la présence de plusieurs types d'interactions entre les particules : les forces de Van der Waals et les interactions électrostatiques. D'autres interactions entrent pourtant en jeu dans la phase aqueuse, il s'agit des interactions stériques. Dans la phase non-polaire, elles sont soumises aux interactions dipôle-dipôle.

~ Force de Van der Waals

Les forces de Van der Waals diffèrent en fonction de la polarité des molécules, elles entrent en jeu quand la distance entre les particules n'est que de quelques dizaines de nanomètres. Lorsque les particules colloïdales sont de nature chimique différente,

l'interaction est répulsive. Dans le cas où leur nature chimique est similaire, leur interaction sera attractive et engendre une floculation.

~ Interaction électrostatique (ou interaction Coulomb)

Lorsque les particules sont chargées, les paires d'ions se dissocient en milieu aqueux, alors que les contre-ions interagissent avec des surfaces chargées et créent une double couche électronique. Une répulsion entropique est alors produite.

Dans un système d'émulsion monoparticulaire, cette interaction est répulsive et diminue avec l'éloignement des particules. Elle crée alors une barrière empêchant les particules de se rapprocher en présence des interactions de Van der Waals.

~ Interaction stérique

Dans un système suffisamment concentré, les particules sont compressées entre elles et leur entropie génère des interactions stériques. Lorsque les particules sont proches, les forces sont répulsives et empêchent l'agrégation, cependant à distance intermédiaire, elles peuvent être attractives.

La portée de l'interaction stérique est dépendante de l'épaisseur de la couche de particules adsorbée à l'interface. Ainsi, plus la couche est épaisse ou la taille des particules élevée, plus l'interaction est forte.

~ Interaction dipôle-dipôle

Pieransky et al. [222] sont les premiers à présenter les interactions liées à une distribution asymétrique des charges de particules. Ainsi, en phase aqueuse, les particules sont ionisées [222], [223] lorsqu'elles présentent des groupes ionisables en surface, telles que le latex ou la silice. Cette ionisation engendre la création d'une distribution de

charges asymétriques sur les particules qui impliquent l'apparition d'un dipôle perpendiculaire à l'interface.

En revanche, la partie immergée dans l'eau est neutre, de ce fait, les particules hydrophobes sont davantage soumises aux interactions dipôle-dipôle.

~ Influence de l'ajout d'électrolytes sur la théorie D.L.V.O

La théorie DLVO associe les interactions électrostatiques et de Van der Waals. L'addition d'électrolytes réduit les forces de répulsions électrostatiques permettant aux particules de s'agréger grâce aux forces de Van der Waals qui restent omniprésentes. En effet, augmenter la concentration en sel permet de diminuer la barrière d'énergie entre les deux forces, comme présenté en Figure 14. Par ailleurs, la Figure 15 permet de mettre en évidence le champ d'application de ces forces entre deux particules. Ainsi, les forces de Van der Waals n'agissent que quand les particules sont très proches ( $< 10$  nm) alors que les interactions stériques interviennent à plus longue distance (jusqu'à  $1 \mu\text{m}$ ).

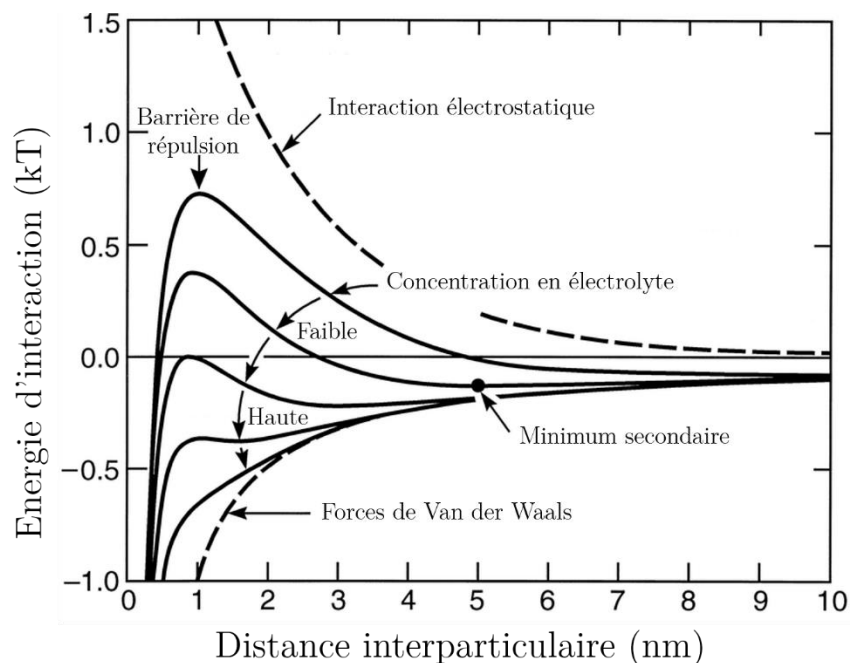


Figure 14 - Interaction DLVO en fonction de la concentration en électrolyte. Adapté de [224]

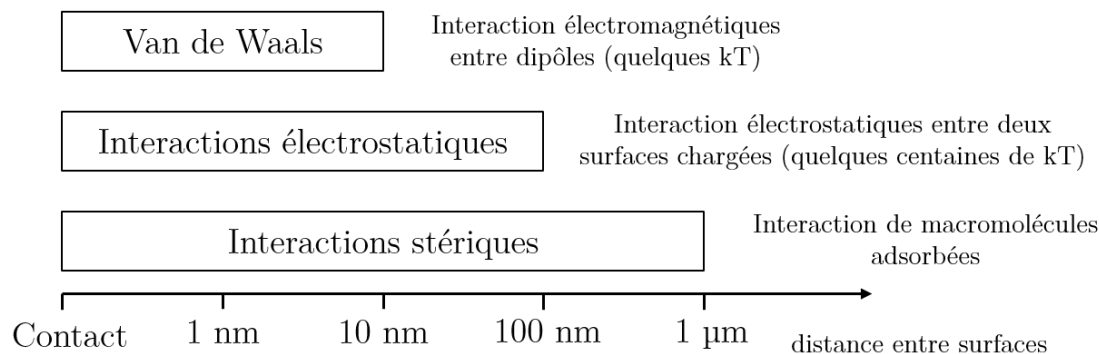


Figure 15 - Distance d'application des forces présentes entre les particules. Adapté de [225]

Lors de la présence d'électrolytes dans la formulation, une autre force entre en jeu dans l'interaction entre les particules. À haute concentration en sel, l'interaction dipolaire contrôle l'agrégation alors qu'à faible concentration, elle serait contrôlée par la force de l'interaction électrique (loi de Coulomb) [219], [226].

En effet, Horozov et Binks [227] ont étudié l'influence de l'ajout de NaCl sur des particules de silice hydrophile ( $\theta = 65^\circ$ ) et hydrophobe ( $\theta = 152^\circ$ ). Des photos microscopiques de ces particules sont présentées en Figure 16. Pour les particules hydrophiles, ils observent que sans NaCl, les particules sont agrégées et désordonnées (Figure 16-A). Cependant, l'ajout de NaCl permet de contrôler l'agrégation et d'obtenir des agrégats denses (Figure 16-C). Ils en déduisent que sans NaCl, si les particules sont à des distances supérieures au champ d'interaction des forces de Van der Waals alors elles restent séparées. L'ajout d'électrolyte ajoute une interaction à long rayon d'action qui permet d'équilibrer les répulsions, et de rassembler les particules.

En revanche, les distances interparticulaires des particules hydrophobes sont élevées et les particules ordonnées, en raison de l'interaction de Coulomb intervenant à longue portée. Dans une étude suivante, les mêmes auteurs ont essayé de rapprocher les particules de silice hydrophobes en ajoutant une concentration en NaCl de 100 mM.



Cependant, l'ajout d'électrolyte n'est pas suffisant pour balancer l'interaction de Coulomb.

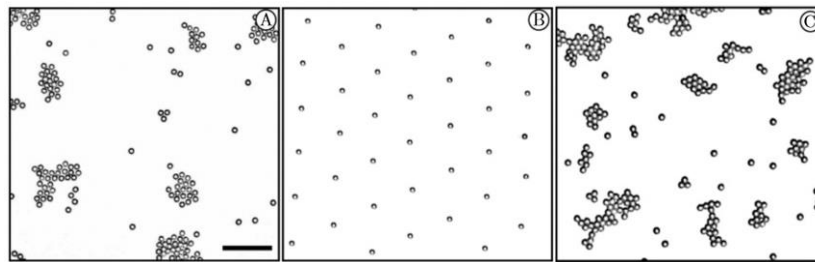


Figure 16 - Particules de silice, observées par microscopie optique, à l'interface octane-eau : A -  $\theta = 65^\circ$  et sans ajout d'électrolytes, B -  $\theta = 152^\circ$  et sans ajout d'électrolytes, C -  $\theta = 65^\circ$  et 10 mM NaCl dans la phase aqueuse. Barre d'échelle de 25  $\mu\text{m}$ . Adapté de Horozov et Binks [227]

#### 4. Coalescence limitée et taux de couverture

L'adsorption des particules à l'interface est forte et irréversible, comme démontré précédemment. Un film dense est créé autour des gouttes leur permettant une très bonne résistance à la coalescence. Cependant, lors de l'émulsification, l'interface des gouttes peut ne pas être totalement recouverte. Dans ce cas, certaines zones de l'interface sont nues et peuvent coalescer avec d'autres zones similaires afin de former une goutte plus importante, suffisamment recouverte de particules pour être stable. Ce processus de coalescence limitée se produit jusqu'à ce que toutes les gouttes soient suffisamment recouvertes pour être stables, selon le procédé illustré en Figure 17.

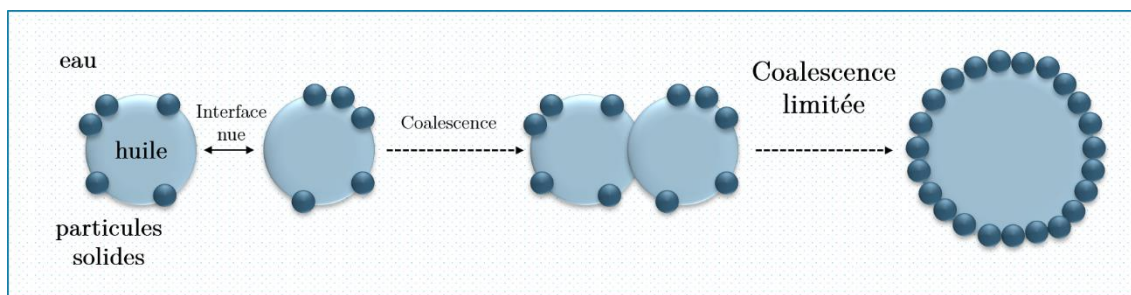


Figure 17 - Principe de la coalescence limitée d'une émulsion de Pickering

Ce phénomène a été dans un premier temps largement décrit par Arditty et al [228], puis observé aussi par Destribats [229] et Chevalier et Bolzinger [230].

En supposant une adsorption totale et irréversible des particules à l'interface en monocouche dense, le diamètre moyen des gouttes ( $D$ ) de la phase dispersée de l'émulsion de Pickering est inversement proportionnelle à la masse des particules solides ( $m_p$ ) adsorbée à l'interface entre les phases comme proposé par l'équation suivante [231] :

$$\frac{1}{D} = \frac{m_p}{6 \times C \times \rho_p \times V_d} \times \frac{a_p}{v_p} \quad (1.6)$$

Avec :  $D$  : le diamètre moyen des gouttes de la phase interne (m)  
 $m_p$  : la masse des particules (g)  
 $\rho_p$  : la masse volumique des particules (g/mL)  
 $V_d$  : le volume de la phase interne (mL)  
 $a_p$  : aire projetée d'une particule recouvrant l'interface (m<sup>2</sup>)  
 $v_p$  : volume d'une particule (m<sup>3</sup>)  
 $C$  : taux de couverture décrit par Arditty [228], [232] puis Destribats [229], [233]

En considérant que pour les particules sphériques le ratio  $a_p / v_p$  est égal à  $3/(2d_p)$ , le taux de recouvrement  $C$  représente le taux de surface de goutte recouverte de particules. Il peut être déduit par la relation suivante :

$$C = \frac{m_p \times D}{4 \times \rho_p \times d_p \times V_d} \quad (1.7)$$

Avec :  $d_p$  : le diamètre des particules (m)

Une fois adsorbée à l'interface huile-eau, l'organisation des particules peut prendre différentes formes. Le recouvrement des gouttes peut être partiel ou total, en monocouche ou multicouches. Dans le cas d'une monocouche de particules sphériques indéformables et non chargées arrangées de manière hexagonale compacte, le taux de couverture maximal pouvant être obtenu est de 90% ( $C=0,9$ ). Si la valeur de  $C$  est inférieure alors l'empilement est aéré ; s'il est supérieur, alors les particules sont en multicouches. Cette grandeur est utile pour comprendre l'organisation des particules à l'interface eau-huile et leur possible structure.

## 5. Structure de l'interface

Suivant l'adsorption des particules et leurs interactions entre elles, leur placement à l'interface peut varier. La Figure 18 illustre les différents recouvrements possibles. Dans le cas d'un recouvrement total, les particules peuvent se placer en monocouche, multicouches et les gouttes peuvent être distinctes, chacune ayant ses propres particules adsorbées ou bien les particules peuvent être adsorbées par deux gouttes simultanément et former « un pont ». Dans le cas d'un recouvrement partiel, les particules sont sous formes d'agrégats. Les agrégats peuvent être denses, empilés de façon organisés, ou libres.

### ~ Interface totalement recouverte

Simovic et al [99]–[101] ont observé l'interface d'émulsions [H/E] de PDMS à partir de silice pyrogénée dont l'hydrophobicité a été variée. En faisant varier la quantité de sel ajoutée à l'émulsion, ils ont observé différents arrangements : des interfaces partiellement recouvertes, puis des monocouches denses et la possibilité d'obtenir un réseau tridimensionnel à forte concentration. Dans le cas d'un faible taux de couverture, des systèmes pontés peuvent apparaître.

### ~ Interface partiellement recouverte

Dans une étude sur la silice, Vignati et al. [234] ont obtenu un taux de recouvrement de l'interface de 5% grâce à un réseau de particules agrégées. Tarimala et al [235] ont observé l'arrangement de particules de latex en empilement hexagonal à différentes zones de l'interface, le reste de l'interface étant nue. Hunter et al. [223] ont observé un recouvrement partiel de l'interface de particules floculées sous forme de chaînes lorsque les forces d'attraction capillaire sont faibles.

Les forces de répulsions entrant en jeu dans la stabilisation de l'émulsion permettent de stabiliser l'interface (Figure 19) :

- ~ Lorsque les particules recouvrent totalement l'interface, alors leur adsorption crée une barrière mécanique [Figure 19-(i)] qui empêche tout phénomène de coalescence de se produire. Cependant, cette barrière a des propriétés viscoélastiques qui augmentent avec la concentration en particules [236].
  
- ~ Lorsque deux couches de particules fusionnent pour n'en former qu'une entre deux gouttes, un pontage est observé (Figure 18). Ce phénomène a été observé par Ashby et al et Gautier et al. [155], [189].

Quel que soit l'empilement des particules à l'interface, leur proximité implique la présence de forces stériques qui empêchent leur déplacement [Figure 19-(ii)].

Les forces générées par les particules à l'interface (forces capillaires [Figure 19-(iii)] et propriétés rhéologiques des phases [Figure 19-(iv)]) permettent de stabiliser l'émulsion.

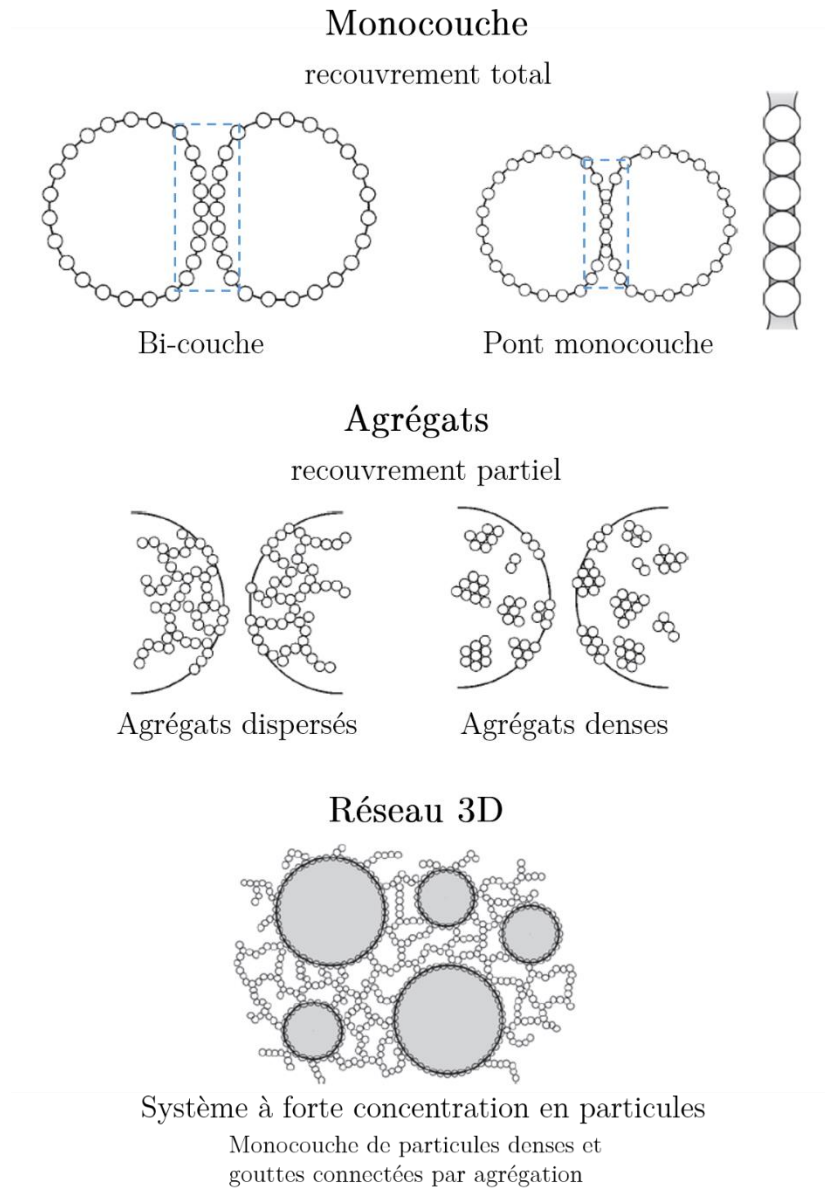


Figure 18 - Configuration de particules à l'interface. Adapté de Lopetinsky et al [237].

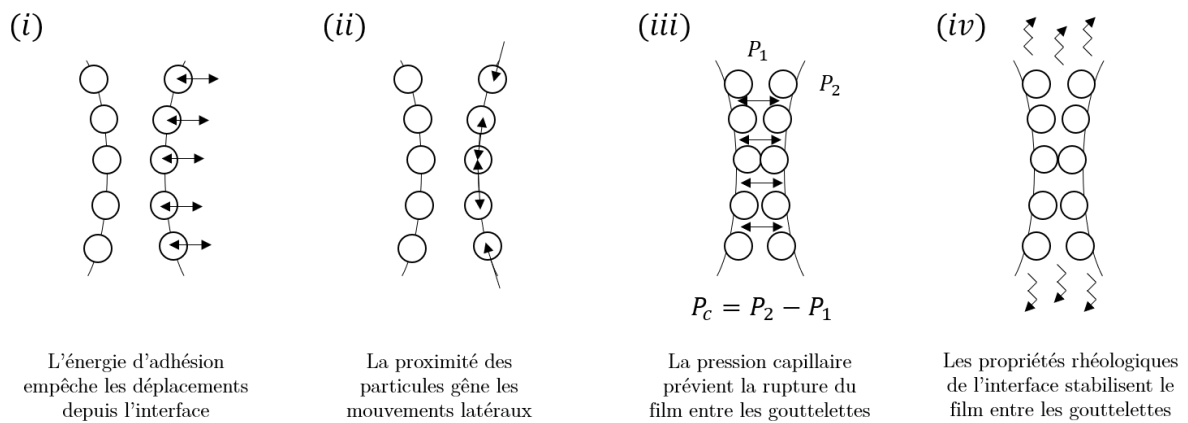


Figure 19 - Mécanisme permettant la stabilité des particules à l'interface des gouttes.

## IV. Facteurs influençant les émulsions de Pickering

### 1. Influence sur le type d'émulsion, [H/E] ou [E/H]

#### a) Localisation initiale des particules

Pour des émulsions stabilisées par des tensioactifs, l'introduction des tensioactifs dans l'une des phases n'a pas d'incidence sur l'émulsion finale. En revanche, pour les émulsions de Pickering, la localisation des particules a une importance particulière lors de l'émulsification, et peut influencer le sens de l'émulsion ainsi que sa stabilité.

Généralement, les particules sont introduites dans la phase externe de l'émulsion. Si des particules hydrophobes sont introduites dans l'eau avant émulsification, alors la barrière d'énergie à appliquer pour qu'ils atteignent la phase huileuse est très élevée et l'apport d'énergie associé doit être conséquent [238].

Par exemple, Yan et al. [239] ont démontré ces faits en variant la phase d'introduction de deux types de particules : de la silice hydrophobe et de la silice hydrophile. Ils ont constaté que la silice hydrophobe stabilisait uniquement des émulsions [H/E] quelle que soit la phase dans laquelle les particules aient été introduites. En revanche, la silice hydrophile stabilise aussi des émulsions [H/E] seulement lorsqu'elles ont été placées dans la phase aqueuse, mais les émulsions n'étaient pas stables. Ils déduisent que l'incapacité à former des émulsions [E/H] est due au fait que les particules ne peuvent pas passer de la phase aqueuse à la phase huile, même si elles sont hydrophobes.

Cette spécificité a ensuite été généralisée par Binks et Lumsdon [214] en démontrant que les particules devraient être dispersées dans la phase continue pour former des émulsions stables.

Une étude de Binks et Rodrigues [110] a permis d'établir l'origine physique du placement des particules et son impact sur le type d'émulsion formée. En effet, l'introduction des particules dans l'une des phases, aqueuse ou oléagineuse, influence l'angle de contact des particules à l'interface huile-eau.

L'angle de contact diffère de sa valeur d'équilibre pour une interface qui avance ou qui recule, on parle d'hystérésis d'angle de contact. Ainsi, on différencie les particules dans la phase aqueuse, soumises à l'angle de recul  $\theta_r$ , aux particules dans l'huile qui sont soumises à l'angle d'avancée  $\theta_a$  (mesures avant émulsification) [240]. Ces deux mesures d'angle de contact sont représentées en Figure 20. Dans une émulsion de Pickering, il s'agit d'un système à 3 phases liquide-solide-liquide dans lequel l'angle de recul est inférieur à l'angle d'avancée ( $\theta_r < \theta_a$ ). Ainsi, lorsque des particules hydrophiles sont introduites dans la phase aqueuse, des émulsions [H/E] sont favorisées. Dans le cas de particules hydrophobes situées dans la phase huile, des émulsions [E/H] seront préférentiellement formées. Dans ce même article, des phénomènes d'inversion de phase ont été observés lorsque les particules de silice hydrophobe ont été placées dans la phase aqueuse. Des émulsions initialement [E/H] sont devenues [H/E] avec une faible concentration en eau.

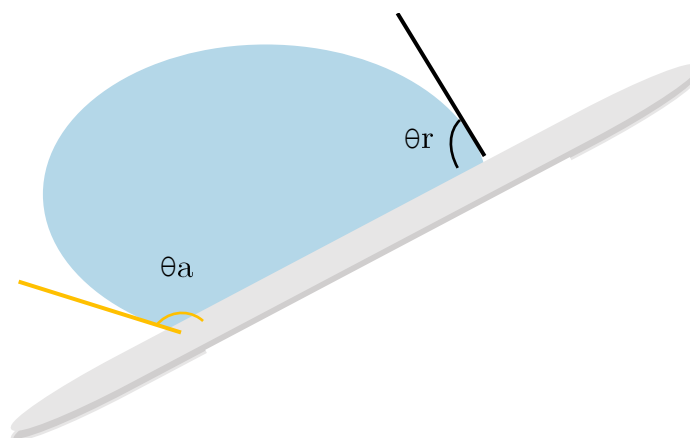


Figure 20 - Hystérésis de l'angle de contact avec  $\theta_r$ , l'angle de recul et  $\theta_a$ , l'angle d'avancée. Adapté de [240]

b) Mouillabilité

Les propriétés chimiques des particules et des gouttes définissent la mouillabilité des particules à l'interface des gouttes. Une première étude sur ce paramètre a été réalisée par Schulman et Leja [241] en faisant varier l'angle de contact de particules de sulfate de baryum sur la stabilité des émulsions, ils ont ainsi observé la formation de différents types d'émulsion.

Aveyard et al. ont répertorié l'utilisation de plusieurs particules dont la valeur d'angle de contact varie de  $0^\circ$  à  $175^\circ$  (Tableau 7). Les résultats obtenus confirment la règle énoncée précédemment (Figure 11) : pour un angle de contact inférieur à  $90^\circ$ , les émulsions formées sont de type [H/E] tandis que pour un angle de contact supérieur à  $90^\circ$ , les émulsions sont de type [E/H].

Particule	Huile	$\theta$ ( $^\circ$ )	Type d'émulsion
Sulfate de baryum	Dodécane	0	[H/E]
	Myristate d'isopropyle	0	[H/E]
Carbonate de calcium	Dodécane	43	[H/E]
	Myristate d'isopropyle	39	[H/E]
Silice hydrophile	Dodécane	38	[H/E]
	Cyclohexane	37	[H/E]
	Myristate d'isopropyle	32	[H/E]
	Undécanol	38	[H/E]
Silice partiellement hydrophobe	Dodécane	83	[H/E]
	Cyclohexane	87	[H/E]
	Myristate d'isopropyle	101	[E/H]
	Undécanol	110	[E/H]
Silice hydrophobe	Dodécane	135	[E/H]
	Cyclohexane	135	[E/H]
	Myristate d'isopropyle	175	[E/H]
	Undécanol	151	[E/H]
Polytétrafluoroéthylène	Dodécane	147	[E/H]
	Myristate d'isopropyle	175	[E/H]
	Undécanol	130	[E/H]

Tableau 7 - Influence de l'angle de contact de différentes particules sur le type d'émulsion [138].



Il est possible de modifier l'angle de contact des particules :

- ~ Un traitement chimique permet de changer la mouillabilité de certaines particules. C'est notamment le cas de la silice dont le greffage de chaînes hydrocarbonées permet de la rendre hydrophobe. Ainsi, il est possible d'obtenir toute une série de silice hydrophile à hydrophobe en variant le pourcentage de chaînes greffées [242]. Binks et Lumsdon ont ainsi observé que les particules très hydrophiles ou très hydrophobes permettaient d'obtenir des émulsions mais elles n'étaient pas stables. Cependant les particules à hydrophobicité moyenne ont permis d'obtenir des émulsions soit de type [H/E], soit de type [E/H], stables pendant 3 ans.
  
- ~ La modification de surface peut se réaliser au sein de l'émulsion, en changeant par exemple le pH, selon une étude de Wang et al. [243]. Dans une autre étude utilisant des particules de silice, Binks et Lumsdon [214] ont obtenu des émulsions [E/H] lorsque le pH était de 9. Lorsque le pH était supérieur à 12,5, les émulsions étaient de type [H/E]. Les auteurs justifient ce changement par une modification chimique des groupements silanol SiOH en SiO<sup>-</sup> à pH élevé.
  
- ~ En améliorant l'affinité entre les particules et l'huile, les forces de répulsion existantes entre les deux composés diminuent, ce qui améliore le contact entre les particules et la goutte. Par ailleurs, le taux de couverture de l'interface liquide-liquide par les particules augmente lorsque l'angle de contact augmente [244].

## 2. Influence sur la stabilité

### a) Les particules

#### ~ Taille

Tambe et al. ont observé [236] que le diamètre moyen des gouttes était influencé par la taille des particules. Plus la taille des particules est petite, plus la taille des gouttes est petite et les émulsions stables.

Tsabet et Fradette [244] décrivent la stabilisation des émulsions de Pickering en 3 étapes successives :

1. Les particules s'approchent de l'interface huile-eau : les particules entrent en contact, ainsi la surface de contact entre les particules et l'interface augmente.
2. Elles sont adsorbées à l'interface : plus la taille des particules est élevée, plus le temps d'adsorption augmente. Le temps d'adsorption est liée à la viscosité de l'huile, et ce phénomène peut être contré en diminuant la taille des particules ce qui leur permet d'atteindre la surface plus rapidement.
3. Un réseau de particules se forme à l'interface

#### ~ Forme

La forme des particules influence leur mouillabilité à l'interface des phases. Plusieurs types de particules ont été rapportés dans la littérature : sphériques (individuelles [245] ou agrégats [146]), ellipses [246], cubes ou cacahouètes [174], disques [155], etc...

Par ailleurs, Fujii et al. [168] ont stabilisé des émulsions [H/E] avec des particules d'hydroxyapatite basse température dont la phase organique était du méthyle myristate. Trois formes de particules d'HAp ont été étudiées pour un même système : sphériques, bâtonnets et fibres. La variation de forme n'a pas eu d'influence sur la stabilité mais sur la taille des gouttes (Tableau 8).

Forme	Type d'émulsion	Taille de goutte $D_{4/3}$ ( $\mu\text{m}$ )
Sphérique	[H/E]	$51 \pm 45$
Bâtonnet	[H/E]	$62 \pm 58$
Fibre	[H/E]	$92 \pm 63$

Tableau 8 - Taille des gouttes d'une émulsion [H/E] en fonction de la forme des particules d'HAp

Peu d'études portent sur la polydispersité des particules et son influence sur la stabilité des émulsions. Katepalli et al. ont étudié l'influence de cet effet sur l'interaction entre les particules [164]. Des particules individuelles de silice sphérique d'environ 210 nm de diamètre ont été comparées à des agrégats de silice pyrogénée d'environ 200 nm. Les deux types de silice ont été traitées pour être partiellement hydrophobes. Il a été remarqué qu'à faible concentration en sel, les émulsions stabilisées avec les particules sphériques sédimentaient, tandis que celles stabilisées par les agrégats crémaient. D'autre part, à forte concentration en sel, la structure des émulsions était différente. Pour les particules sphériques, une floculation des gouttes d'émulsion a été observée, tandis que pour les agrégats, la structure présentait un aspect gélifié. La forme des particules a donc bien un impact sur la stabilité des émulsions, mais peu de comparatifs ont été établis à ce jour.

~ État de dispersion

L'état d'agrégation a une influence sur la stabilité du système car ce paramètre influe sur la mobilité des particules à l'interface. Plus les particules sont agrégées, moins

elles peuvent bouger à l'interface, et plus leur adsorption à l'interface est forte, ce qui leur garantit une stabilité plus importante. Tambe et al. [247] ont ainsi démontré qu'un état de floculation naissant serait nécessaire à la stabilisation de l'émulsion.

Deux méthodes sont reconnues pour permettre la floculation des particules : l'addition d'électrolytes [248] dans le système ou l'ajustement du pH [159] dans la phase aqueuse. Ces deux méthodes impliquent une modification de la phase aqueuse et seront détaillées dans la partie dédiée.

#### b) Concentration en particules

Lorsque la quantité de particules varie au sein de l'émulsion, à fraction volumique et paramètres d'émulsification constants, une diminution de la taille de goutte a été observée quand la concentration en particules augmentait selon le phénomène de coalescence limitée, comme démontré par Arditty et al. [228]. Par ailleurs, une concentration trop faible en particules ne permet pas de stabiliser des émulsions [232], [249]. Un ajout de particules après émulsification ne permet pas de contrer ce phénomène, au contraire Binks et Lumsdon [242], [250] ont remarqué une gélification de la phase externe. Ce phénomène se produit jusqu'à une taille limite minimale des gouttes, puis un excès de particules apparaît dans la phase externe [236], [244], [251]. Cependant, Levine et al. [216] puis Yan et al. [252] ont remarqué qu'un excès de particules n'impliquait pas un recouvrement total de l'interface des gouttelettes.

Abend et Lagaly [253] ont notamment observé la formation d'un réseau tridimensionnel de particules agrégées autour des gouttes, dans la phase externe, pour une concentration de particules suffisante. La stabilité est améliorée par les particules floculées qui limitent le contact entre les gouttes. Cet effet a aussi été observé par Thieme et al. [254] lors de la mise en solution de particules d'argile floculées autour des gouttes d'huile.

c) Type d'huile

Les propriétés liées à l'huile ont une influence sur la tension interfaciale, l'angle de contact avec les particules et les interactions chimiques entre particules et phases liquides [214], [255].

Binks et Lumsdon [214] ont rapporté l'utilisation de plusieurs huiles afin de stabiliser des émulsions à partir de silice modifiée. La polarité des huiles et leur influence sur l'angle de contact des particules à l'interface a été étudiée (Tableau 9). Lors de l'utilisation d'huiles polaires ( $\gamma_{he}$  faible), des émulsions [E/H] sont formées, tandis que des émulsions [H/E] sont produites avec des huiles non-polaires ( $\gamma_{he}$  élevée).

Huile	$\gamma_{he}$ (mN.m <sup>-1</sup> )	$\theta$ (°)	Stabilité [E/H]	Stabilité [H/E]	Réf
Perfluoroheptane	56,7	92	Instable	Stable	[256]
Dodécane	52,5	122	Instable	Stable	[257]
Cyclohexane	50,9	110	Instable	Stable	[214]
PDMS (0,65 cSt)	38,7	105	Instable	Stable	[258]
PDMS (50 cSt)	38	123	Stable	Stable	[258]
Toluène	36	125	Stable	Stable	[214]
Myristate d'isopropyle	28,6	155	Stable	Stable	[214]
Myristate de méthyle	25,3	164	-	↓ avec l'ajout d'eau	[257]
Undécanol	9,5	160	-	Instable	[257]
Eugénol	9	144	-	↓ avec l'ajout d'eau	[259]

Tableau 9 - Influence du type d'huile et leur propriété sur la stabilité des émulsions stabilisées par de particules de silice modifiée [214]

Frelichowska et al ont étudié l'effet de la polarité des huiles lors de l'utilisation de silice pyrogénée hydrophile (Aerosil®) [146]. La stabilité de ces émulsions [H/E] nécessite une huile dont la tension superficielle huile-eau était inférieure à 15 mN.m<sup>-1</sup>.

Concernant les particules d'HAp dans les émulsions, Fujii et al. [260] ont répertorié différentes huiles : n-hexane, n-dodécane, méthyle myristate, méthyle

triméthyle acétate, chloroforme, toluène, 1-undecanol, et le dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Dans des conditions de fractions volumiques [H/E] à proportions égales, des émulsions [H/E] ont été formées uniquement avec le méthyle myristate et le méthyle triméthyle acétate. Lors de l'emploi d'autres huiles, les émulsions n'étaient pas stables et démixaient. Un suivi par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (spectroscopie IRTF) leur a permis de déduire que l'interaction entre le groupe ester de ces huiles et les ions calcium présents à la surface de l'hydroxyapatite étaient essentielles à la stabilité de l'émulsion.

d) Composition de la phase aqueuse

~ Influence de la concentration en électrolyte

Comme discuté précédemment, la floculation des particules est occasionnée par l'ajout d'électrolytes en solution. Le diamètre des gouttes et leur distribution en sont aussi influencés, en effet, les agrégats étant plus larges que des particules seules, ils impliquent une augmentation du diamètre des gouttes [244].

Yang et al. [248] rapportent l'effet du sel sur une émulsion [H/E] de paraffine stabilisée par des particules plates d'hydroxydes doubles lamellaires. En suspension dans de l'eau distillée, le potentiel zêta de ces particules est positif, mais lors de l'ajout de sel, leur potentiel zêta diminue entraînant ainsi, une floculation des particules et une variation d'angle de contact à l'interface.

Cherhal [261] a étudié l'effet de la concentration en NaCl sur le potentiel zêta de particules de nanocristaux de cellulose (NCC). Dans son cas, à concentration nulle, les NCC ont un potentiel zêta négatif, et l'ajout de NaCl en solution implique une légère augmentation liée à l'adsorption des contre-ions  $\text{Na}^+$  sur les surfaces de NCC chargées négativement (diminution de la longueur de Debye).

~ Influence du pH

En parallèle à l'influence de la concentration en électrolyte, Yang et al. ont investigué l'effet du pH sur la stabilité des émulsions paraffine-eau stabilisées par des particules d'hydroxydes doubles lamellaires  $[M_{1-x}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2]^{x+}$ . À l'état initial, ces particules sont positivement chargées et l'augmentation de pH implique une diminution du potentiel zêta, comme remarqué lors de l'ajout de sel. Ainsi leur effet serait similaire, en diminuant le potentiel zêta des particules, elles flocculent et s'adsorbent davantage à l'interface.

e) Fraction massique huile/eau

Binks et Lumsdon [250] ont observé une « inversion catastrophique » de phases en faisant varier la fraction massique de l'émulsion, elle était induite par l'augmentation de la fraction volumique de la phase dispersée. Ainsi, lors de l'utilisation de particules hydrophobes, les émulsions [E/H] évoluaient vers une émulsion [H/E] quand la fraction volumique en eau atteignait 70%. La même observation a été réalisée avec des particules hydrophiles, lorsque la fraction volumique en huile était de 70%, l'émulsion de type [H/E] devenait [E/H].

Zhao et al. [112] ont obtenu des résultats similaires lors de l'utilisation de particules de dioxyde de titane. Les émulsions de type [E/H] évoluaient vers des émulsions [H/E] en augmentant la fraction massique d'eau.

## V. Déstabilisation des émulsions

Bien que les émulsions de Pickering soient reconnues comme des émulsions dont la stabilité est irréversible, en raison de leur énergie d'ancrage très élevée à l'interface, elles peuvent présenter des déstabilisations liées aux évènements présentés précédemment.

Elles peuvent alors subir différents phénomènes réversibles (crémage, sédimentation et floculation) ou irréversible (coalescence). Il est important de souligner que les émulsions de Pickering étant stabilisées par des particules solides, ces phénomènes peuvent concerner les gouttes, ainsi que les particules les stabilisant.

## 1. Crémage et sédimentation

Le crémage et la sédimentation sont des phénomènes similaires et se traduisent par une concentration plus importante de gouttes à un certain niveau de l'émulsion (Figure 21). Généralement, le phénomène de crémage se produit pour une émulsion [H/E], en effet, les gouttes d'huile étant plus légères que la phase continue d'eau, elles ont tendance à remonter vers la surface. Pour une émulsion [E/H], le phénomène inverse se produit, les gouttes d'eau étant plus lourdes que l'huile, elles tombent vers le fond du récipient.

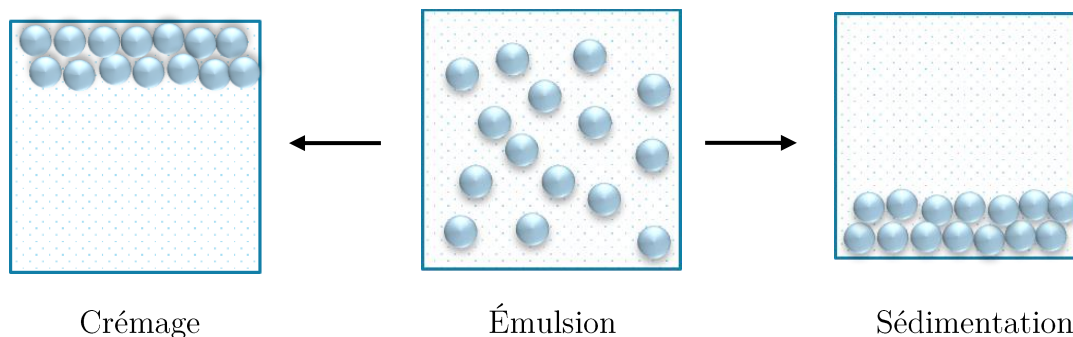


Figure 21 - Mécanismes de déstabilisation : crémage et sédimentation d'une émulsion

Il s'agit de deux phénomènes réversibles qui peuvent s'inverser par simple agitation de l'émulsion et redistribution des particules pour homogénéiser les gouttes. Il est possible de ralentir ces phénomènes en réduisant la taille des gouttes, ou en augmentant la viscosité de la phase continue.



## 2. Flocculation

La flocculation correspond à un regroupement de plusieurs gouttes maintenues entre elles par de faibles liaisons (Figure 22). Ce phénomène est aussi réversible puisqu'une simple agitation permet de casser ces liaisons et de retrouver un système dispersé.

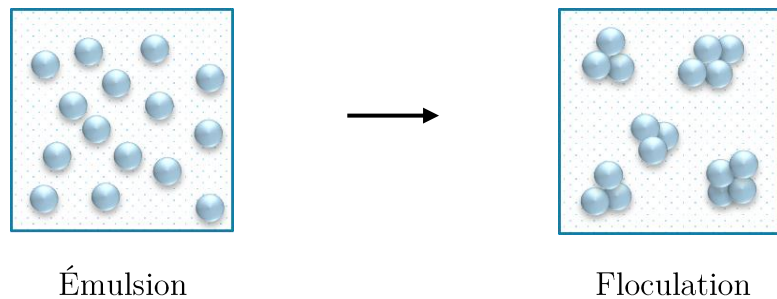


Figure 22 - Mécanismes de déstabilisation : flocculation d'une émulsion

Un phénomène de flocculation peut être suivi par une sédimentation ou un crémage des gouttes car la taille des objets liés est plus importante que les gouttes seules. Cependant, les particules solides peuvent intervenir dans ce phénomène en raison de leur propre flocculation. En effet, il est possible que les gouttes forment un réseau tridimensionnel, comme présenté en Figure 18, soutenu par la flocculation des particules.

## 3. Coalescence

La coalescence est un phénomène au cours duquel deux gouttes coalescent, afin de n'en former qu'une, de taille supérieure (Figure 23). Ce mécanisme suit le principe de coalescence limitée précédemment expliqué, cependant il s'agit dans ce cas d'un phénomène irréversible. En effet, la coalescence limitée est une coalescence contrôlée qui s'arrête lorsque toutes les gouttes sont suffisamment recouvertes pour être stables. En revanche, si la quantité de particules est trop faible, les gouttes coalescent jusqu'à séparation complète de l'émulsion, alors le phénomène est irréversible.

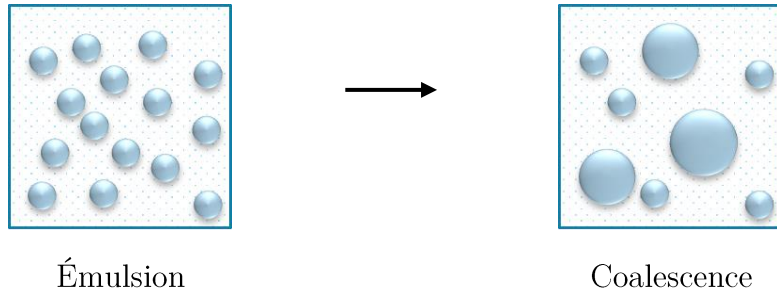


Figure 23 - Mécanismes de déstabilisation : coalescence d'une émulsion

## Synthèse de l'état de l'art et objectifs de la thèse

Ce chapitre a été consacré, dans un premier temps, à une revue bibliographique sur les biomatériaux de substitution osseuse et plus particulièrement sur les biocéramiques de phosphate de calcium. Les biocéramiques représentent un nombre de matériaux assez large, dont les propriétés physicochimiques, mécaniques et biologiques sont influencées par leur composition, la taille des particules, leur cristallinité, la porosité, la surface spécifique ou encore leur intégrité physique (présence de défauts).

Actuellement, les céramiques phosphocalciques implantables sont majoritairement obtenues par frittage à haute température (supérieure à 1000°C) pour assurer une tenue mécanique importante. Toutefois cela conduit à des matériaux avec une faible réactivité de surface et un caractère peu ou pas résorbable.

Une porosité interconnectée au sein des biocéramiques, avec des diamètres de pores supérieurs à 200 µm, semble favoriser l'ostéoconduction, et permettre une recolonisation cellulaire et une meilleure bio-intégration.

Différentes méthodes d'obtention des matériaux poreux ont été passées en revue. Elles influent sur la taille des pores et leur morphologie. Parmi ces méthodes, celle retenue dans cette thèse, qui est l'utilisation d'une émulsion pour contrôler la porosité, est considérée comme une « empreinte douce ». Il s'agit d'une émulsion stabilisée par des particules solides (émulsion de Pickering) d'hydroxyapatite, qui permettra l'obtention de solides macroporeux dont la taille de cavité moyenne sera similaire aux gouttes d'huiles dans l'émulsion.

La bibliographie réalisée sur les émulsions de Pickering a permis de mettre en évidence plusieurs paramètres qui peuvent influencer les propriétés de l'émulsion, et qui seront donc étudiés dans le chapitre 3 de ce manuscrit pour optimiser la formulation de l'émulsion :

1. Les propriétés des particules d'HAp

Leur taille, leur forme ou leur charge (potentiel zêta) pourront exercer une influence sur leur agrégation. Leur taille et leur forme seront définies par le procédé de synthèse qui sera employé (double décomposition en milieu aqueux).

Leur état d'agglomération (et donc la taille des agglomérats) et leur quantité définiront le taux de couverture des gouttes de l'émulsion. Ces paramètres seront étudiés pour déterminer la formulation la plus adaptée et permettre d'obtenir une émulsion stable.

2. La composition des phases aqueuse et huileuse et leur ratio massique

La composition des phases aqueuse et huileuse : le type d'huile et le ratio massique huile/eau impactent la formulation, et le pH et la teneur en électrolytes de la phase aqueuse jouent sur les forces à l'interface. Ces paramètres seront également évalués dans ce travail.

Dans le dernier chapitre de ce manuscrit (chapitre 4), la formulation de l'émulsion de Pickering choisie sera alors mélangée à un gel de phosphate de calcium dispersé dans la phase aqueuse suivi d'un séchage doux afin d'obtenir des biocéramiques poreuses de phosphates de calcium apatitiques. Les paramètres étudiés influençant les propriétés des monolithes poreux seront alors le pourcentage d'huile du mélange émulsion de Pickering/gel, et le protocole de séchage/lavage à basse température afin de préserver la réactivité des surfaces de pores. La caractérisation des monolithes poreux obtenus permettra alors de vérifier :

- ~ leur composition et leur structure chimique
- ~ la taille/forme de leur porosité et l'interconnexion des pores
- ~ leur résistance mécanique.



# CHAPITRE 2

## Matériels et méthodes

## Introduction

Dans ce chapitre, divisé en deux parties, seront présentées les différentes techniques d'analyses mises en œuvre dans le cadre de cette thèse.

La première partie présente les méthodes de caractérisation utilisées pour l'analyse de la composition, structure et propriétés (taille, morphologie, densité, potentiel zêta) des particules d'HAp synthétisées pour stabiliser les émulsions de Pickering. La méthode de synthèse de l'HAp sera détaillée dans le chapitre 3 de ce manuscrit.

La deuxième partie détaille les techniques d'émulsification et de caractérisation employées pour l'analyse des émulsions de Pickering, de la caractérisation du comportement des particules d'HAp en milieu aqueux jusqu'à l'étude de la taille et stabilité des émulsions de Pickering générées. La méthode de préparation des émulsions de Pickering sera détaillée dans le chapitre 3 de ce manuscrit.

La troisième partie de ce chapitre décrit les appareils d'analyse utilisés pour caractériser les biomatériaux synthétisés : la taille de pores liée aux propriétés intrinsèques de l'émulsion (ratio[H/E] - quantités de particules), leur forme et interconnexions, ainsi que la résistance à la compression des monolithes. La méthode d'élaboration des biomatériaux poreux sera détaillée dans le chapitre 4 de ce manuscrit.

### I. Méthodes de caractérisation de l'hydroxyapatite

La poudre lyophilisée d'HAp synthétisée par double décomposition en milieu aqueux (voir méthode de synthèse chapitre 3) a été caractérisée à l'aide des différentes techniques : diffraction des rayons X, techniques spectroscopiques (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), spectrométrie optique de photons générés par un plasma à couplage inductif (ICP-OES), techniques de microscopie (microscopie électronique à balayage - MEB et microscopie électronique à transmission - MET),

granulométrie (granulométrie laser et diffusion dynamique de la lumière – DLS), potentiel zêta et masse volumique vraie (pycnométrie à gaz).

Les principes de ces techniques et les appareils utilisés pour réaliser les caractérisations des poudres lyophilisées sont décrits par la suite.

## 1. Diffraction des rayons X (DRX)

### ~ Objectif

L'analyse des matériaux cristallins par diffraction des rayons X permet d'obtenir des informations comme la cristallinité, la structure, les phases et les tailles des cristallites de la poudre d'HAp. Les pics obtenus lors d'une analyse DRX sont produits par interférence d'un faisceau monochromatique de rayon X.

### ~ Principe

La diffraction des rayons X permet de mettre en évidence des informations sur la structure cristalline des matériaux. Le phénomène de diffraction provient de l'interaction d'une onde électromagnétique, ici les rayons X, avec la matière cristallisée sous forme de poudre. Le faisceau incident est envoyé sur un ensemble de cristallites, orientés aléatoirement, suffisamment nombreux pour que toutes les orientations soient réalisées. Ce faisceau, de longueur d'onde  $\lambda$  ( $0,1 \text{ \AA} < \lambda < 50 \text{ \AA}$ ), est rayonné sur un matériau cristallin avec un angle d'incidence  $\theta$ .



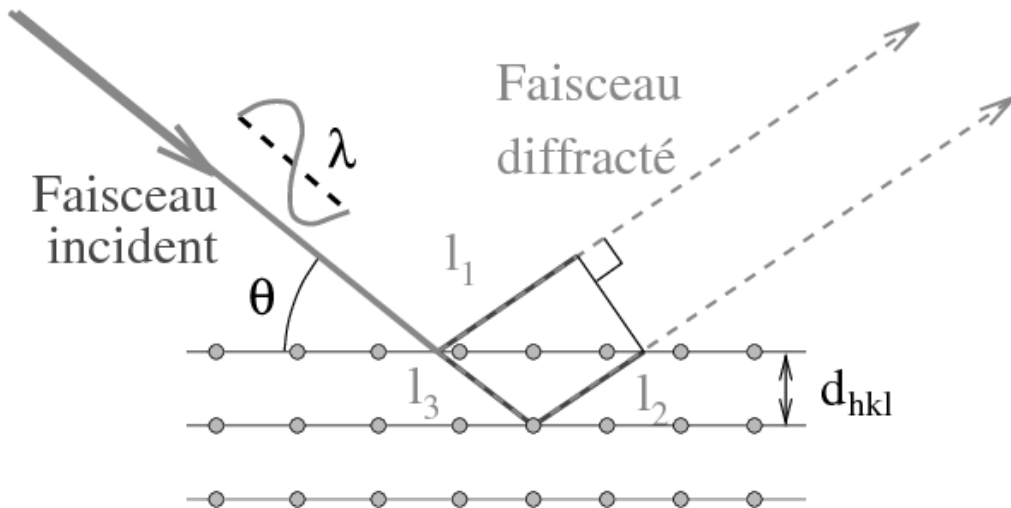


Figure 24 - Principe de la loi de Bragg [262]

Le phénomène de diffraction est induit par la réflexion de l'onde électromagnétique équidistant de  $d_{hkl}$  (distances inter-réticulaire). Ce phénomène est représenté sur la Figure 24, et défini par la loi de Bragg :

$$2 d_{hkl} \cdot \sin \theta_{hkl} = n \lambda \quad (2.1)$$

Avec :

- $\lambda$  : la longueur d'onde du faisceau de rayons
- $d_{hkl}$  : la distance inter-réticulaire
- $\theta_{hkl}$  : l'angle d'incidence des rayons
- $n$  : l'ordre de diffraction

La Figure 25 présente le montage en réflexion dit de Bragg-Brentano, qui est le dispositif le plus courant. Le rayonnement incident est monochromatique. La source S est linéaire et perpendiculaire au plan d'incidence. Elle est placée sur le cercle (C) du diffractomètre. L'échantillon (E) est tel que son plan de référence passe par l'axe du diffractomètre C et tourne autour de cet axe avec une vitesse  $\omega$  réglable. La fenêtre F du compteur se déplace aussi sur le cercle (C), à une vitesse angulaire  $2\omega$ . On réalise ainsi un balayage  $(\theta, 2\theta)$ .

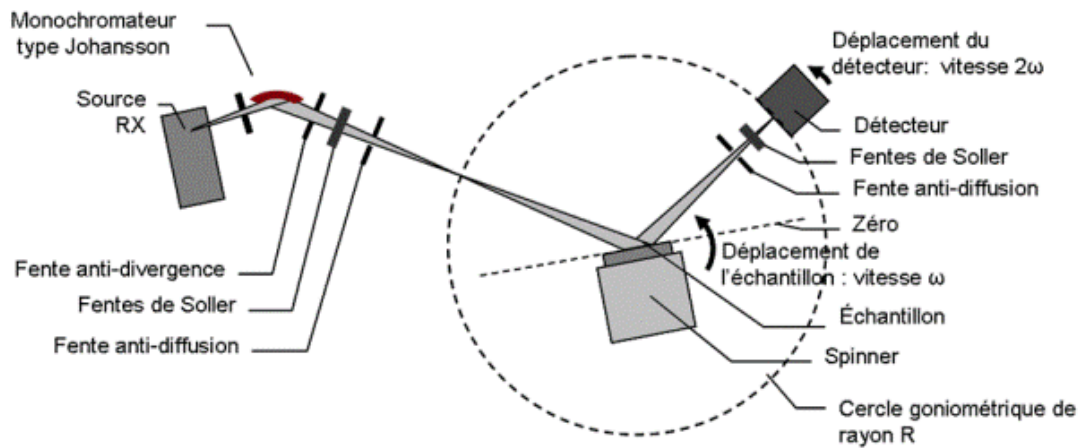


Figure 25 - Principe du diffractomètre dans la géométrie de Bragg-Brentano [263]

Le diffractogramme de rayons X, aussi appelé diagramme de diffraction, est obtenu à partir des données collectées par un détecteur. Pour chaque échantillon cristallin, les interférences constructives sont observées sous forme de « pics de diffraction ». Une phase cristalline donnée génère des pics de diffraction toujours dans les mêmes directions, constituant une véritable signature qui permet son identification. Les pics de diffraction peuvent ensuite être identifiés en comparant avec les fiches des composés référencés dans la base de données ICDD (anciennement JCPDS), sous forme de fiches techniques. Ces fiches listent, pour chaque phase, la distance inter-réticulaire (calculée à partir de la position  $2\theta$  par la loi de Bragg) et l'intensité relative de chaque pic par rapport au pic le plus intense.

#### ~ Appareillage

Les analyses ont été réalisées sur un diffractomètre INEL Symphonix 1000. Le diffractomètre utilise un montage  $\theta$ - $\theta$  en géométrie Bragg-Brentano. Toutes les mesures sont faites avec une anticathode de Cobalt ( $\lambda=1,789 \text{ \AA}$  ; tension de 30 kV, intensité du courant à 30 mA). Un pas de  $0,01^\circ$  est réglé. À noter que les échantillons sont broyés

manuellement avant l'analyse afin de randomiser l'orientation des structures. L'acquisition des données du diffractogramme se fait entre  $10^\circ < 2\theta < 80^\circ$  pendant 5400 secondes. Pour simplifier la lecture du diffractogramme, l'abscisse exprimée en  $2\theta$  est convertie en Å via la relation suivante :

$$d = \frac{\lambda}{2 \times \sin(2\theta * D2R)} \quad \text{où D2R est la constante de conversion des} \quad (2.2)$$

degrés en radian =  $\frac{\pi}{180}$

## 2. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

### ~ Objectif

Cette technique d'analyse permet d'obtenir le spectre d'absorption d'un échantillon en mesurant la quantité de lumière absorbée en fonction de la longueur d'onde émise par un faisceau infrarouge. Ce faisceau fait vibrer certaines bandes caractéristiques au contact de l'échantillon, il est alors possible de déterminer la présence de groupes chimiques caractéristiques de l'hydroxyapatite.

### ~ Principe

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier permet d'obtenir des informations sur la nature des liaisons chimiques. Cette analyse est sensible aux vibrations des liaisons ayant un moment dipolaire, la masse des atomes et la force de ces liaisons sont caractéristiques. Lors de la retranscription des bandes vibrationnelles en bande d'absorption, elles obtiennent une position qui leur est propre et connue ce qui permet d'identifier les liaisons chimiques présentes dans l'échantillon.

Le spectre infrarouge d'un échantillon est établi en exposant cet échantillon à un faisceau de lumière infrarouge. Lorsque la longueur d'onde du faisceau émis est proche

de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière absorbe le rayonnement et on enregistre une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. De ce fait, l'énergie du rayonnement IR se retrouve diminuée après l'interaction, conduisant à l'apparition d'une bande d'absorption à cette fréquence. Cette absorption n'est pas systématique ; elle dépend de la géométrie de la molécule ainsi que de sa symétrie. Les modes de vibration actifs en infrarouge peuvent être déterminés pour une géométrie donnée en utilisant les relations décrites par la théorie des groupes. La position de ces bandes d'absorption dépend de la différence d'électronégativité des atomes (force de la liaison) et de leur masse. Par conséquent, un matériau donné présentera un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant de l'identifier.

La Figure 26 présente un schéma de fonctionnement de l'appareil IRTF. Une source infrarouge émet un rayonnement polychromatique couvrant une gamme de  $7800\text{ cm}^{-1}$  à  $350\text{ cm}^{-1}$ , ce signal est divisé lors de son passage dans le séparateur. La moitié du signal est alors envoyée vers un miroir fixe et l'autre moitié vers un miroir mobile. Leur réflexion passe de nouveau à travers le séparateur ce qui permet de recombinaison le signal en un faisceau dirigé vers le détecteur. Toutes les fréquences IR voyagent simultanément dans l'interféromètre et la variation de distance due au déplacement du miroir mobile permet la formation simultanée de la totalité du spectre IR.

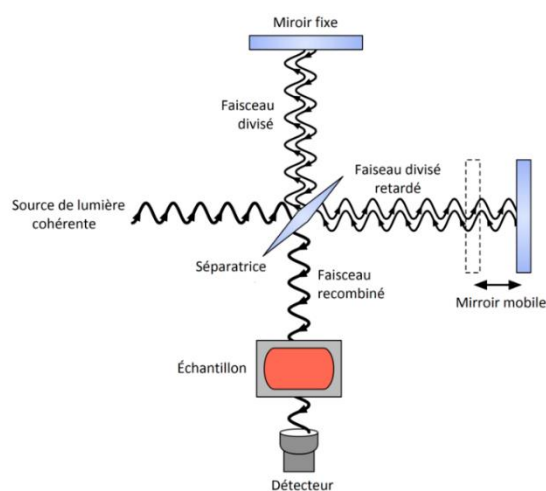


Figure 26 - Schéma du principe de fonctionnement d'un appareil IRTF [264]

~ Appareillage

L'appareil utilisé est un spectromètre IS50 utilisable en MIR ou FIR de Thermo Fisher Scientific ayant une résolution de  $0,9\text{ cm}^{-1}$  et 25 scans sont réalisés par mesures. L'environnement *Mid-Infrared* (MIR) permet d'obtenir des informations générales sur les composés chimiques entre  $400$  et  $4000\text{ cm}^{-1}$ . L'observation en *Far-Infrared* (FIR) permet de voir les rotations pures de molécules sous forme gazeuse. L'échantillon en poudre est mélangé à du KBr conservé en étuve (pour éviter sa réhydratation) puis les pastilles sont compressées à l'aide d'une presse de  $10\text{ N}$ .

### 3. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)

~ Objectif

La spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif, aussi appelée ICP-OES pour ICP optical emission spectrometry, permet de doser les éléments chimiques simultanément dans une même solution. Cette méthode de quantification est souvent utilisée pour doser le calcium et le phosphate dans l'hydroxyapatite afin d'obtenir son ratio Ca/P.

~ Principe

La technique ICP-OES repose sur l'analyse par spectrométrie optique de photons générés par un plasma à couplage inductif. La limite de détection est de l'ordre du  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  pour une solution. Le principe consiste à injecter l'échantillon dans un plasma d'argon de façon à l'ioniser puis détecter les éléments chimiques. L'échantillon doit être liquide, s'il s'agit de poudres elles peuvent être dissoutes par minéralisation.

La solution à analyser est transformée en aérosol liquide par un nébuliseur, puis les gouttelettes sont filtrées pour n'injecter dans le plasma que celles ayant une taille inférieure à 10  $\mu\text{m}$ . Le plasma est généré dans une torche située à l'intérieur de l'inducteur par l'ionisation des atomes d'argon. Le rôle de la torche est de permettre la formation d'un plasma stable, qui va exciter les gaz issus de la nébulisation puis les ioniser. La désexcitation des espèces présentes dans le plasma émet des photons caractéristiques par leurs longueurs d'ondes et triés après détection par le spectromètre. L'intensité des photons détectés permet de quantifier la concentration de chaque élément.

~ Appareillage

Les échantillons à analyser ont été minéralisés à l'eau régale (1/3 d'acide nitrique  $\text{HNO}_3$ , 2/3 d'acide chlorhydrique  $\text{HCl}$  37% en volume) pendant 1 heure à  $90^\circ\text{C}$ . Environ 100 mg de poudre ont été dispersés dans 50 mL de la solution précédente, dans des récipients inertes en Téflon. Les masses exactes ont été relevées pour calculer la concentration réelle des échantillons minéralisés et des étalons ont été associés aux échantillons afin de réaliser une droite d'étalonnage lors des mesures.

Après minéralisation, les échantillons sont analysés sur une ICP-OES Ultima 2 de Horiba Jobin Yvon. Son seuil de sensibilité est de 1 à 400 ppm pour la majorité des éléments chimiques non organiques.

## 4. Microscopie Électronique à Balayage (MEB)

~ Objectif

La Microscopie Électronique à Balayage (MEB) est une méthode d'observation de la topographie de surfaces. En fonction de l'échantillon observé (poudre ou matériau),

cette technique apporte des informations sur la taille et la forme des agglomérats d'HAP ainsi que sur la structure selon le grossissement choisi.

~ Principe

La Figure 27 illustre le schéma du principe d'un MEB équipé d'un détecteur EDS : un faisceau d'électrons est projeté sur l'échantillon à analyser. L'interaction entre ces électrons et l'échantillon génère des électrons qui sont accélérés vers un détecteur qui amplifie le signal, retranscrit en signal électrique. Il est ainsi possible en balayant le faisceau sur l'échantillon d'obtenir une image de la zone concernée.

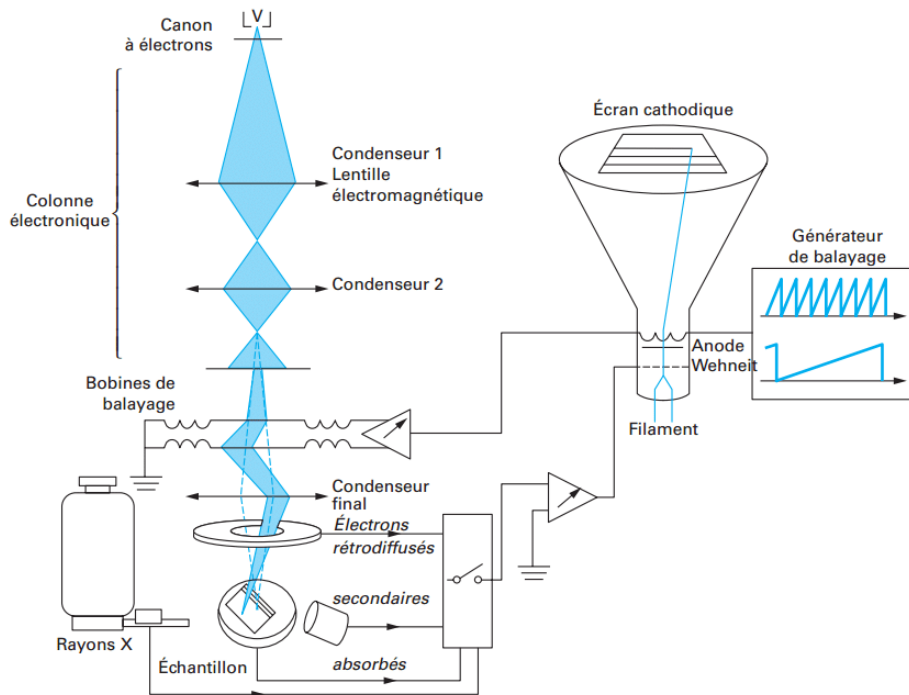


Figure 27 - Principe de la microscopie électronique à balayage (MEB) [265]

Le faisceau d'électrons primaires émis vers l'échantillon et son interaction avec la surface réémet plusieurs types d'électrons :

- Les électrons secondaires éjectés lors de l'absorption d'une partie de l'énergie d'un électron incident. Ils permettent d'obtenir des informations topographiques sur la

surface avec une profondeur de 10 nm pour observer le relief, les porosités et les fissures de l'échantillon.

- Les électrons rétrodiffusés produits par l'interaction entre les électrons primaires et les noyaux des atomes. Leur énergie élevée détectable jusqu'à 1  $\mu\text{m}$  de profondeur permet d'obtenir des images en « contraste chimique », les éléments les plus lourds apparaissent plus clairs et les plus légers en plus sombres. Cela peut être utile lors de l'observation de matériaux composites ou lorsqu'on cherche à identifier deux phases ayant des éléments chimiques distincts, en revanche le relief n'est plus détectable.
- Les photons X émis par désexcitation du cortège électronique des atomes dont un électron de cœur a été arraché sous l'impact électronique. Ce type de rayonnement X donne des informations chimiques qualitatives sur l'atome cible. Dans ce cas, une analyse EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) révèle quels éléments sont présents.

L'analyse EDS permet de déterminer la composition en éléments chimiques en un point précis (sur un volume de 1  $\mu\text{m}^3$  environ) ou en moyenne sur une surface, ou de réaliser la cartographie élémentaire d'une surface.

#### ~ Appareillage

Deux microscopes électroniques ont été utilisés : un MEB environnemental ESEM FEG Philips équipé d'un spectromètre à énergie dispersive des rayons X ou un MEB de table Hitachi TM30 Plus équipé microanalyse X (EDS). Les échantillons analysés ont été déposés sur du scotch carbone. Lorsque l'objectif était de mettre en évidence le contraste topographique sans information sur la composition chimique (EDS), alors la surface de l'échantillon était métallisée par pulvérisation cathodique d'or afin d'assurer une circulation des électrons au cours de l'analyse.



## 5. Microscopie Électronique à Transmission (MET)

### ~ Objectif

La microscopie électronique en transmission (MET) visualise les électrons qui traversent l'échantillon, il doit donc être particulièrement fin (quelques dizaines de nanomètres au maximum). Il permet de réaliser des observations à l'échelle nanométrique. Il permettra notamment d'étudier les particules d'HAp afin de réaliser une distribution de taille.

### ~ Principe

Les différentes techniques de microscopie sont comparées sur la Figure 28. Le microscope à transmission (MET) et le microscope électronique à balayage (MEB) utilisent la même source : un faisceau d'électrons. En revanche, le principe de fonctionnement du MET est différent et repose sur l'observation des électrons transmis ou diffusés et non sur les électrons secondaires émis ou rétrodiffusés. Ainsi, le fonctionnement est plutôt analogue à l'observation au microscope optique mais avec une résolution bien plus importante liée à l'utilisation d'un faisceau d'électrons.

Contrôlé par des lentilles électromagnétiques, le faisceau d'électrons est dirigé vers l'échantillon dont une image est retranscrite sur un écran fluorescent. Elle est ensuite convertie pour être enregistrée numériquement.

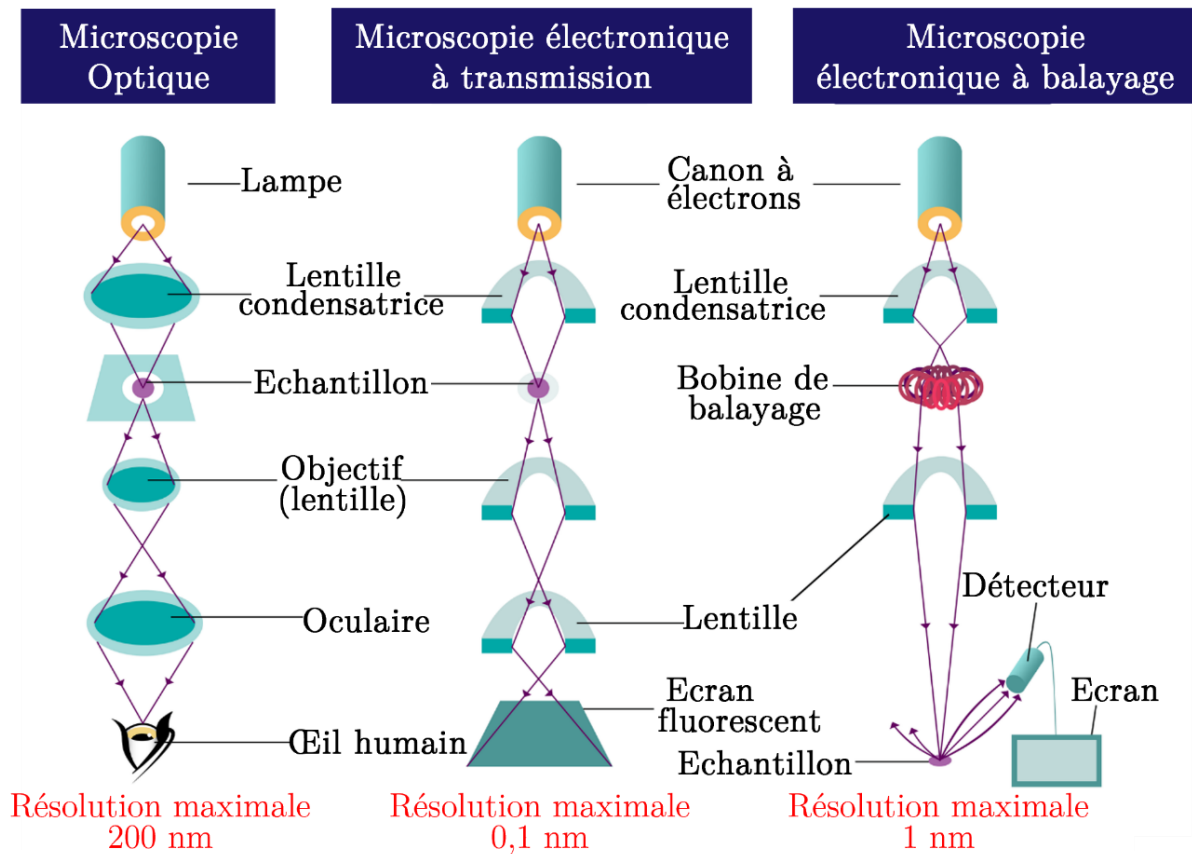


Figure 28 - Comparaison des différents principes de microscopie optique, à transmission et à balayage

~ Appareillage

L'échantillon à observer est broyé puis dispersé dans de l'éthanol. Un prélèvement de la suspension est déposé sur une grille en Formvar<sup>TM</sup>-carbone. L'évaporation de l'éthanol à température ambiante permet de piéger la poudre entre les grilles. L'observation est réalisée sur un microscope électronique à transmission Hitachi H600 à une tension d'accélération de 75 kV.

## 6. Granulométrie laser

### ~ Objectif

La granulométrie permet de mesurer les diamètres caractéristiques d'objets (particules solides), il est possible d'obtenir leur distribution granulométrique en pourcentage massique, volumique, surfacique ou en nombre.

### ~ Principe

Son principe est basé sur la diffusion et la diffraction d'un faisceau laser selon la théorie de Mie-Lorentz. L'angle et l'intensité du rayonnement diffracté lors de la rencontre entre le faisceau et une particule sont liés au diamètre des particules. Dans le cas de particules de formes irrégulières, le diamètre obtenu est un diamètre équivalent.

Le faisceau laser incident traverse une lentille montée en Fourier inverse pour focaliser le faisceau sur la cellule de mesure (en verre à faces parallèles). Le faisceau pénètre dans la cellule de mesure jusqu'à rencontrer une particule ayant un indice de réfraction différent de la phase continue (liquide ou air selon le mode d'injection). Le faisceau est absorbé et diffracté par la particule en raison du changement d'indice de réfraction et d'absorption. L'angle et l'intensité de diffraction sont mesurés par des capteurs photosensibles placés à différentes positions, afin de balayer une grande gamme de tailles, allant de 0,02 à 2000  $\mu\text{m}$ .

### ~ Appareillage

L'appareil utilisé est un granulomètre Mastersizer 3000 (Malvern Instrument, Royaume-Uni) fonctionnant en voie sèche. La poudre à analyser est dispersée à l'aide du module Aero S, comprenant une trémie d'alimentation vibrante et un système de venturi qui permet de disperser la poudre sous un flux d'air à 3,5 bars.

## 7. Pycnométrie à gaz

### ~ Objectif

Un pycnomètre sert à mesurer la masse volumique de solides ou de liquides. La technique sera utilisée pour déterminer la densité réelle de la poudre d'hydroxyapatite.

### ~ Principe

Le pycnomètre à gaz permet de déterminer de façon précise le volume d'un échantillon solide de masse connue, inséré au préalable dans une enceinte de référence. L'hélium est envoyé à température ambiante et sous pression de 1,5 bar dans cette enceinte, le gaz pénètre alors dans les pores ouverts de l'échantillon. La détente du gaz dans l'enceinte implique une nouvelle pression. Il est alors possible de déterminer le volume réellement occupé par la poudre, et ainsi sa densité réelle en  $\text{kg.m}^{-3}$ .

### ~ Appareillage

La densité vraie a été déterminée à l'aide d'un pycnomètre à hélium de type Micromeritics AccuPyc 1330.

## 8. Mesure du Potentiel zêta

Le potentiel zêta définit la charge électrique de surface des particules en suspension dans une solution. La Figure 29 schématise ce phénomène selon lequel la distribution des charges électriques présentes dans la double couche électronique de Stern est fonction de la distance à la particule. Le potentiel zêta correspond au point pour lequel il n'y a plus de charges électriques au voisinage de la particule. La particule dans un solvant s'entoure de charges électriques de signe opposé à celles à sa surface. Plusieurs particules de même

nature vont ainsi se repousser de manière électrostatique. Cependant, lorsque le milieu possède trop de charges électriques de signes opposés à celles de la couche de Stern, l'attraction électrostatique l'emporte sur la répulsion et les particules tendent à s'agréger. La mesure du potentiel zêta permet d'obtenir des informations sur les phénomènes de dispersion, d'agrégation ou de floculation.

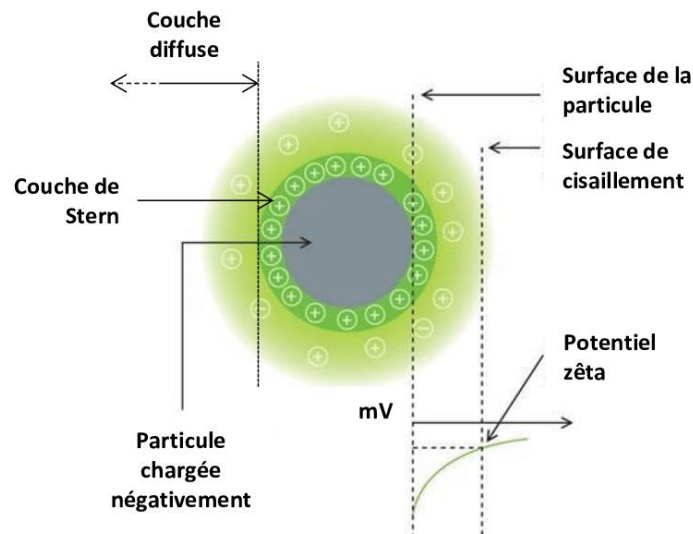


Figure 29 - Représentation de l'état de charge électrique d'une particule et définition du potentiel zêta [266]

Les particules dispersées sont placées dans une cellule de mesure en quartz. Les parois de la cellule, en contact avec de l'eau, se chargent négativement. Ce phénomène appelé électro-osmose implique qu'en tout point de la cellule, la vitesse observée des particules est la somme des vitesses des particules chargées soumises à l'action du champ (électrophorèse) et de la vitesse du solvant (électro-osmose).

La vitesse constante  $V_d$  (m/s) à laquelle se déplacent les particules dépend de la force du champ électrique  $E$  ( $V.m^{-1}$ ), de la constante diélectrique  $\epsilon$  ( $F.m^{-1}$ ), de la viscosité

$\eta$  ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ) de la phase continue du milieu et du potentiel zêta  $\zeta$  (mV). En effet, la mobilité électrophorétique  $\mu_e$  ( $\text{m}^2\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ) s'exprime de la manière suivante :

$$\mu_e = \frac{V_d}{E} \quad (2.3)$$

Le potentiel zêta  $\zeta$ , exprimé en mV, est déterminé à partir de la mesure de la mobilité électrophorétique  $\mu_e$  suivant la loi de Henry [267]:

$$\zeta = \frac{3 \cdot \eta \cdot \mu_e}{2 \cdot \varepsilon \cdot f(\kappa a)} \quad (2.4)$$

où,  $\kappa$  est l'inverse de la longueur de Debye  $\kappa^{-1}$  et  $a$  le rayon de la particule.

La fonction de Henry  $f(\kappa a)$  tend vers 1 pour de faibles valeurs de  $(\kappa a)$ , à savoir pour de petites particules. Pour des particules plus grosses donc des valeurs  $(\kappa a)$  plus élevées, ce qui est le cas dans cette étude, la fonction tend vers 1,5 : il s'agit de l'approximation de Smoluchowski [268].

Une suspension colloïdale est considérée comme stable dès lors que le potentiel zêta est supérieur à  $|30| \text{ mV} \pm 5$  [269]. Des potentiels zêtas proches de 0 mV indiquent une très mauvaise stabilité de la suspension, et les particules tendent donc à s'agglomérer. Parmi les paramètres influençant considérablement le potentiel zêta, il a été noté l'effet du pH, de la concentration en particules et de la nature du solvant (présence d'électrolytes). Pour les mesures de potentiel zêta, un ZetaSizer Nano ZS (Malvern) a été utilisé, basé sur la diffusion électrophorétique de la lumière (laser Doppler).

Les valeurs présentées par la suite obtenues avec cette méthode correspondent à une valeur moyenne calculée avec 5 mesures. Un écart entre deux échantillons est significatif pour un écart supérieur à  $\delta > 5$  mV.

## 9. Diffusion dynamique de la lumière DDL (*dynamic light scattering* ou DLS en anglais)

Un rappel sur le principe de la technique est donné sur la Figure 30. Les particules dans le liquide sont soumises à un mouvement brownien en raison des interactions avec les molécules du solvant ou d'un effet thermique (agitation). La lumière de la source laser éclaire les particules de l'échantillon dans la cellule de mesure de l'appareil. Le signal lumineux diffusé par les particules est collecté sur un détecteur soit à l'angle de  $90^\circ$  soit en rétrodiffusion ( $173^\circ$ ). Le signal obtenu présente des variations aléatoires du fait de la variation aléatoire de la position relative des particules. Les données entrantes sont traitées en temps réel par un dispositif de traitement du signal numérique appelé corrélateur. Une fonction d'autocorrélation est générée, ce qui permet d'accéder à la taille des particules en suspension dans un liquide dans une gamme de taille de quelques micromètres au nanomètre et calculer le diamètre hydrodynamique représentatif de l'échantillon (Figure 31).

La taille de la particule obtenue ( $D_h$ ) est le diamètre de la sphère qui diffuse à la même vitesse que celle de la particule que l'on mesure. La distribution fondamentale de taille obtenue par DDL est une distribution en intensité qui peut être ensuite convertie en une distribution en volume grâce à la théorie de Mie, puis en une distribution en nombre, ceci à condition de travailler avec des particules sphériques.

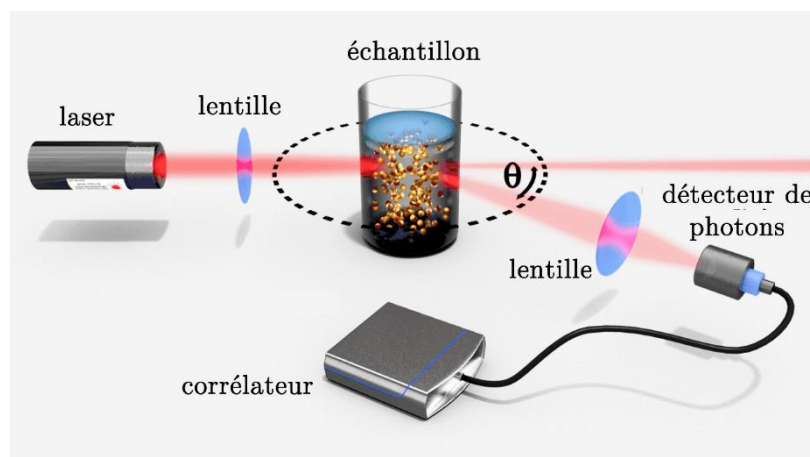
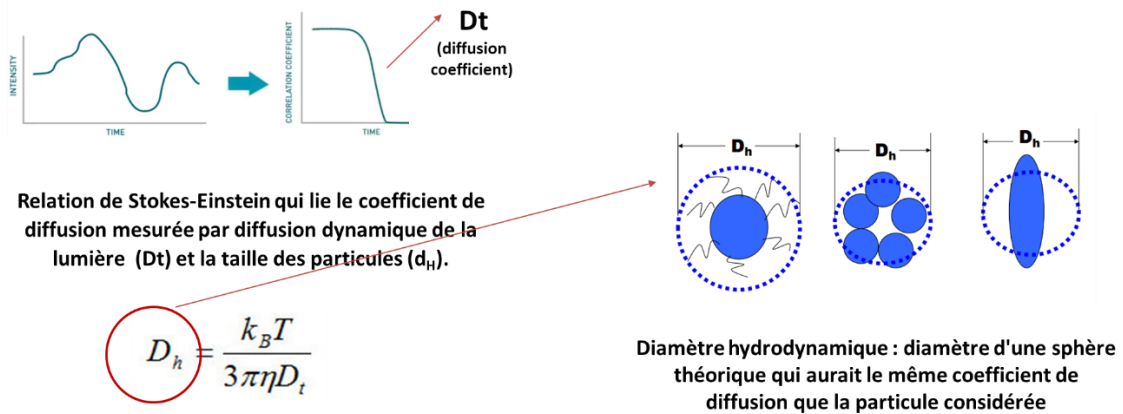


Figure 30 - DLS (diffusion dynamique de la lumière) : principe de la technique [270]



- $k_B$  est la constante de Boltzmann (qui est connue)
- $T$  est la température thermodynamique (qui est contrôlée)
- $\eta$  est la viscosité dynamique (qui est connue)

Figure 31 - Calcul du diamètre hydrodynamique par la technique de DLS

~ Appareillage

Les mesures de diamètre ont été réalisées à l'aide d'un ZetaSizer Nano ZS (Malvern), utilisé précédemment pour les mesures de potentiel zêta.

## II. Méthodes d'émulsification et de caractérisation des émulsions de Pickering

### 1. Mesure de la tension de surface

~ Objectif

La tension superficielle exprime la force par unité de surface avec laquelle les molécules sont attirées vers l'intérieur du liquide. Les tensions superficielles des phases dispersées et continue peuvent être utilisées pour déterminer la force nécessaire à



appliquer pour former l'émulsion et permettre aux particules d'être adsorbées à l'interface.

~ Principe

Une fine lame de platine est suspendue à une balance puis est introduite dans le liquide contenu dans un réservoir. La tension superficielle est déterminée en mesurant la force appliquée au moment où la lame se détache de la surface.

~ Appareillage

La méthode utilisée pour mesurer la tension superficielle de l'huile (Miglyol 812) est la lame de Wilhemy avec l'appareil ILMS de la société GBX.



Figure 32 - Appareil de mesure tensiomètre ILMS, GBX.

La mesure a été réalisée 4 fois pour obtenir une moyenne représentative. L'eau a été mesurée en référence.

## 2. Mesure de l'angle de contact 3 phases

### ~ Objectif

Généralement utilisé pour mesurer l'hydrophilicité ou l'hydrophobicité d'une particule envers un liquide, la mesure de l'angle de contact à 3 phases est utilisée dans les émulsions de Pickering pour observer l'affinité des particules envers les deux phases du système. Il est ainsi possible de prévoir le sens de l'émulsion [H/E] ou [E/H] et le placement des particules à l'interface.

### ~ Principe

Différentes techniques existent pour mesurer l'angle de contact à 3 phases, notamment le Gel Trapping Technique de Paunov [271], qui consiste à placer les particules à l'interface huile/eau du système considéré puis gélifier la phase aqueuse pour piéger les particules et déterminer leur angle de contact par microscopie. Notre étude s'est portée sur un système plus simple décrit par Yan et Malsiyah [252], [272], dans lequel une pastille de particules est réalisée puis introduite dans un compartiment d'huile. Ensuite, une goutte d'eau est déposée à la surface du disque immergé afin de mesurer l'angle de contact à 3 phases.

Ainsi, une pastille de particule d'HAP a été réalisée en disque de 13 mm de diamètre et compressée manuellement à 10 N, puis placée dans le compartiment à mesure (Figure 33.B.). Le Miglyol 812 a été introduit afin de recouvrir largement la pastille. Enfin, une goutte d'eau a été déposée sur la pastille, puis la mesure a été réalisée.

### ~ Appareillage

L'angle de contact a été mesuré dans ce travail en utilisant la méthode de la goutte posée, à l'aide d'un goniomètre DSA30 de chez Krüss (Figure 33.A.). Cet appareil est

doté d'une caméra vidéo reliée à l'ordinateur, d'un système automatique pour le dosage du volume de la goutte et la dépose de la goutte, et d'un logiciel de traitement d'images Drop Shape Analysis (DSA).

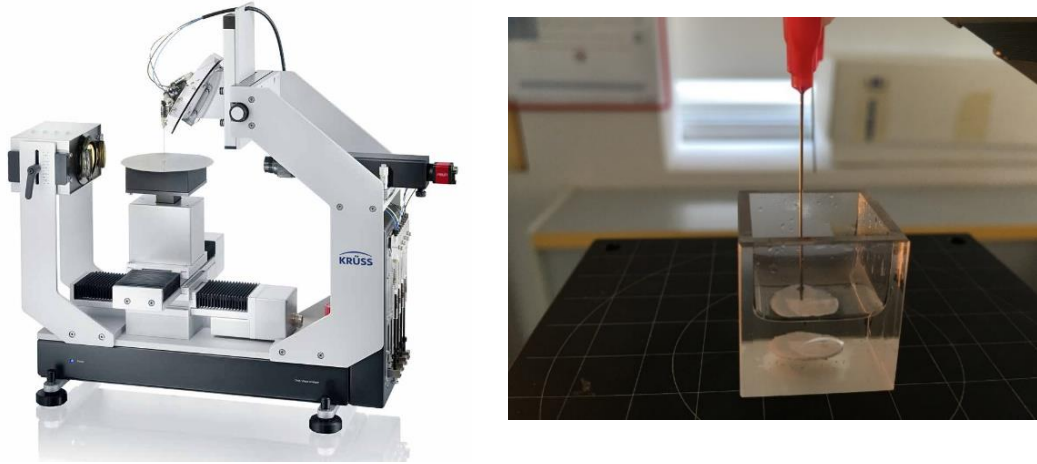


Figure 33 - Goniomètre DSA30, KRÜSS : A. l'appareil ; B. le compartiment à mesure

### 3. Techniques d'émulsification par action mécanique

Les particules d'HAp sont préalablement dispersées dans la phase aqueuse puis le Miglyol 812 est ajouté dans le récipient avant de procéder à l'émulsification (Figure 34).

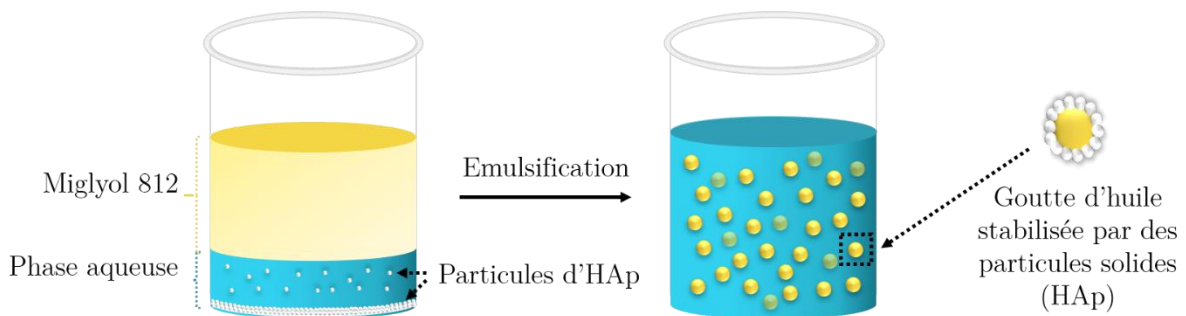


Figure 34 - Schéma simplifié de la formation de l'émulsion de Pickering stabilisée par les particules d'HAp

Plusieurs procédés d'émulsification ont été comparés dans une phase préliminaire de ce travail : un agitateur rotor-stator et une sonde à ultrasons. Les procédés d'Ultra-Turrax® et d'ultrasons reposent sur des mécanismes de rupture de gouttes différents. L'énergie d'émulsification peut être définie comme la puissance cédée aux fluides ( $\text{W.m}^{-3}$ ) lors du mélange. Cette énergie dépend des paramètres de formulation de l'émulsion telles que les concentrations en huile et en eau et les viscosités respectives des phases. Il est possible de comparer ces techniques, notamment en considérant les valeurs de puissance théoriques respectives des appareils. La puissance de l'Ultra-Turrax® peut varier entre  $10^4$  et  $10^8 \text{ W.m}^{-3}$ , alors que les ultrasons engendrent une puissance entre  $10^6$  et  $10^8 \text{ W.m}^{-3}$ . Généralement, les tailles de gouttes obtenues sont moindres lorsqu'elles sont produites par ultrasons. Ces deux procédés reposent sur des techniques physiques différentes. Le procédé d'émulsification par l'action d'un agitateur de type rotor-stator (Ultra-Turrax®) a été retenu pour la préparation des émulsions de Pickering pour la suite du travail qui cible de 'grosses' gouttes de l'ordre de 200-250  $\mu\text{m}$  en taille moyenne.

L'émulsification par un agitateur de type rotor-stator consiste à cisailer le mélange entre deux cylindres concentriques. Le cylindre extérieur, aussi appelé stator, est espacé de fentes carrées et reste fixe lors de la mise en route. Le mouvement de cisaillement a lieu lorsque le cylindre intérieur, le rotor, entre en rotation à grande vitesse. Le mélange est alors aspiré dans le sens axial vers la tête dispersante puis pressé au travers des fentes du rotor et du stator, dans le sens radial (Figure 35). Un temps de quelques minutes suffit en général pour obtenir la taille finale de goutte souhaitée. Il est nécessaire d'atteindre le temps d'agitation minimum pour atteindre l'équilibre de stabilité des gouttes, où la fragmentation est suffisante pour éviter la coalescence des gouttes. Un temps de cisaillement trop long ne permet pas de diminuer la taille de goutte, mais contribue à élever la température de la matière par l'énergie apportée.

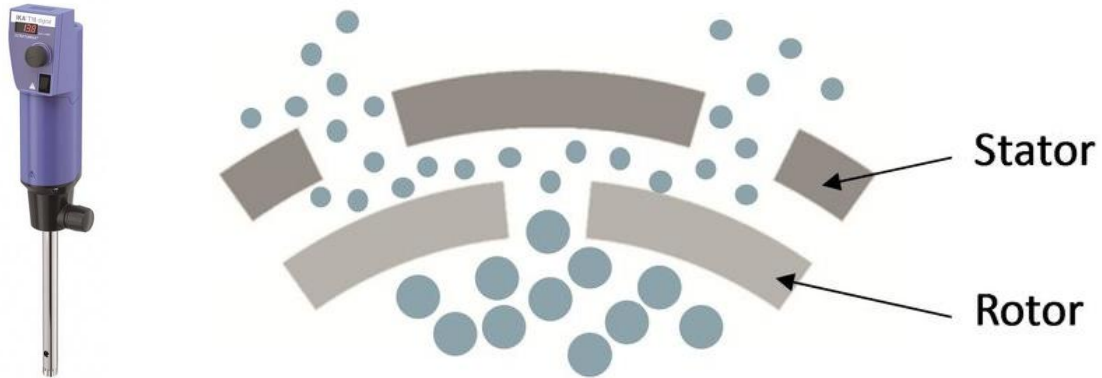


Figure 35 - Principe du procédé d'homogénéisation par Ultra-Turrax®

La distribution granulométrique des gouttes obtenues est dépendante des forces de cisaillement de l'appareil qui peuvent varier en fonction de l'espace entre le rotor et le stator, ainsi que de la vitesse déployée et du temps d'émulsification. Les caractéristiques de l'Ultra-Turrax® utilisé sont reprises dans le Tableau 10.

Gamme de vitesse	rpm	6500 - 24000
Volume utile	mL	10-1500
Diamètre stator	mm	19
Diamètre rotor	mm	12,7
Entrefer	mm	0,4

Tableau 10 - Paramètres associés à l'Ultra-Turrax S18-19G

#### 4. Caractérisation de l'émulsion

##### a) Microscopie Optique

~ Objectif

La microscopie optique est une méthode facile et rapide pour observer un échantillon grâce à un léger grossissement. Cette méthode d'observation des émulsions sera utilisée comme méthode principale pour la caractérisation des gouttes.

~ Principe

Le principe de la microscopie optique est largement connu puisqu'il est l'un des plus anciens moyens d'observation. Son principe est décrit en Figure 28, deux lentilles convergentes sont alignées et l'image de l'échantillon est retranscrite sur l'oculaire. Dans le cas d'un microscope optique numérique, l'image est transmise sur écran.

~ Appareillage

Les observations par microscopie optique ont été réalisées à l'aide d'un microscope numérique Keyence VHX-1000 équipé d'un moniteur LCD haute résolution WUXGA (1920 x 1200 pixels). Deux objectifs, x200 ou x1000, peuvent être adaptés sur l'appareil, le premier permet une observation à x50, x100 ou x200, tandis que le second propose un grossissement entre x200 et x1000 par intervalle de 100. L'intégration d'une caméra CCD permet une profondeur de champ plus importante comparée à un microscope classique. L'option « *depth up* » du microscope permet de prendre plusieurs photos à intervalles réguliers d'1 $\mu$ m, et un algorithme calculant le focus des pixels de chaque image permet de compiler une superposition d'images pour réaliser une reconstitution 3D.

L'objectif x1000 a été utilisé pour observer la structure des gouttes et la présence de particules à l'interface. Tandis que les autres grossissements ont été utilisés pour observer la distribution de taille des gouttes.

Lors de l'observation, un prélèvement est réalisé à l'aide d'une pipette pasteur au milieu du tube. Une goutte de l'échantillon est déposée sur une plaque de microscopie, si les gouttes ont un diamètre inférieur à 500  $\mu$ m ; il est nécessaire de les étaler délicatement pour pouvoir les observer. Les émulsions formulées présentent une gamme de taille de gouttes relativement importante (de 100 à 1000  $\mu$ m) ne permettant pas de réaliser une distribution de taille par granulométrie laser. Ainsi, les distributions de tailles ont été

calculées à partir des images obtenues par microscopie. Au minimum 50 diamètres de gouttes ont été mesurés pour déterminer le diamètre moyen, en surface  $D_{3/2}$  pour chaque émulsion préparée. La monodispersité de l'émulsion est établie lorsque l'uniformité de surface  $U$  est inférieure à 30% [232].  $D_{3/2}$  et  $U$  sont calculés à partir des équations suivantes :

$$D_{3/2} = \frac{\sum_i N_i d_i^3}{\sum_i N_i d_i^2} \quad (2.5)$$

$$U = \frac{1}{\bar{d}} \times \frac{\sum_i d_i^2 |\bar{d} - d_i|}{\sum_i d_i^2} \quad (2.6)$$

$N_i$  représente le nombre de goutte de diamètre  $d_i$  et  $\bar{d}$  est le diamètre médian de la distribution (50% des diamètres les plus petits). Les largeurs de distribution des diamètres sont calculées en suivant la relation suivante :  $U \times D_{3/2}$ .

#### b) Analyseur optique (Turbiscan Lab Expert)

##### ~ Objectif

La gamme d'appareils Turbiscan®, créés par la société Formulaction (Toulouse, France), correspond à des analyseurs optiques permettant d'étudier les phénomènes naissants d'instabilités dans les émulsions et les suspensions, y compris pour des systèmes concentrés.

##### ~ Principe

La technologie du Turbiscan® LAB™ est basée sur la diffusion multiple de la lumière (MLS pour Multiple Light Scattering). Un faisceau de photons ayant une longueur d'onde de 880 nm est envoyé vers l'échantillon puis à sa rencontre avec les objets présents dans le tube (gouttes, particules solides, bulles de gaz, ...) il est renvoyé à l'extérieur du tube. Ils peuvent être détectés soit par le détecteur en transmission à 0°,

soit par le détecteur en rétrodiffusion placé à  $125^\circ$ . Dans le premier cas, le signal n'est pas réfléchi et est reçu par le récepteur en transmission, l'échantillon est principalement transparent. Dans le second cas, le signal est reçu par le récepteur en rétrodiffusion, le faisceau a rencontré des objets. L'évolution de ces objets pourra alors être suivie. Plus l'objet est concentré, plus le signal reçu en rétrodiffusion sera élevé.

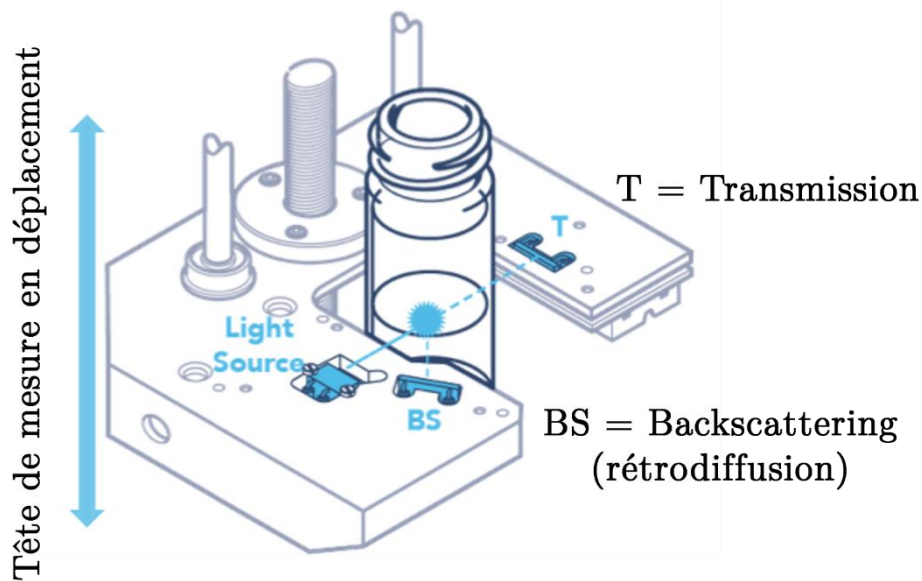


Figure 36 - Principe du Multiple Light Scattering (MLS) adapté au Turbsican [273]

~ Traitement des graphes et phénomènes de déstabilisation

Le mode d'observation de l'échantillon, transmission (%T) ou rétrodiffusion (%R), est choisi en fonction du pourcentage de signal. Le signal considéré sera celui supérieur à 20%, généralement pour identifier les phénomènes, le mode de rétrodiffusion est choisi.

Ce signal peut être observé brut, les données ne sont pas traitées et les graphes sont représentés sans traitement (Figure 37). Autrement, il est possible d'observer les données en mode delta, dans ce cas, le premier scan effectué est alors fixé comme scan



de référence, sa courbe est alors soustraite aux autres scans pour observer l'évolution de l'émulsion (Figure 38).

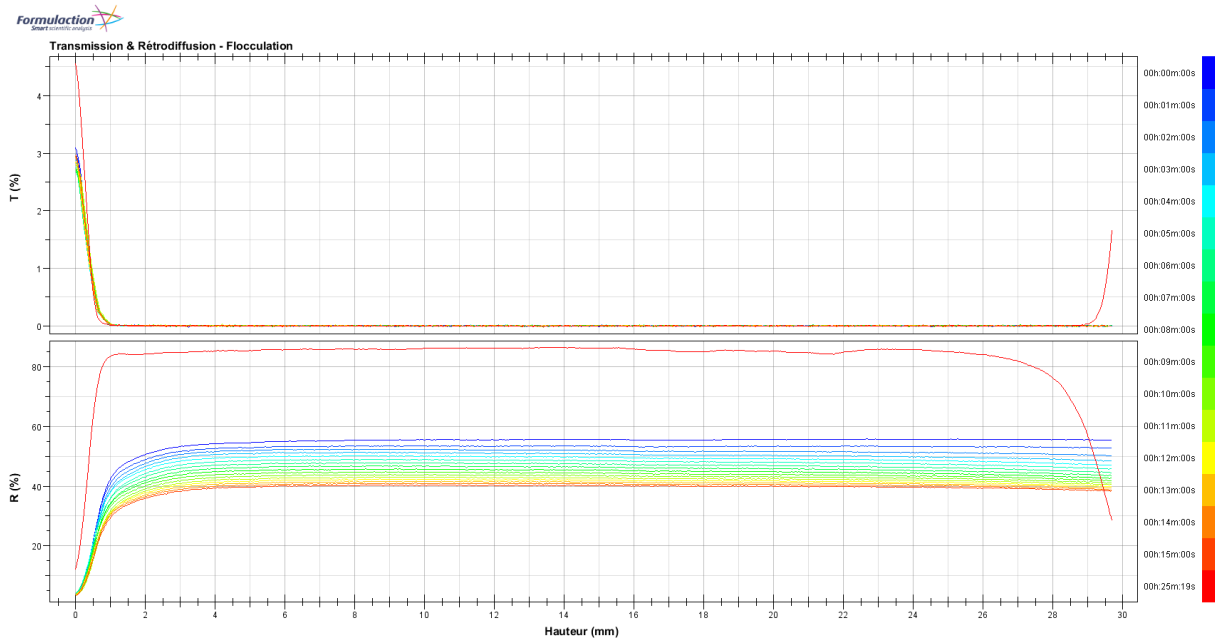


Figure 37 - Évolution du signal en transmission  $T$  (%) (haut) et rétrodiffusion  $R$  (%) (bas) en fonction du temps et de la hauteur de l'échantillon pour un échantillon subissant un phénomène de floculation ou coalescence [273]

Une fois ce mode Delta sélectionné, il est possible d'identifier les trois types de déstabilisation de l'émulsion (Tableau 11) :

~ La sédimentation :

Lorsque le phénomène de sédimentation se produit, c'est-à-dire que les particules ou gouttes étudiées ont tendance à évoluer vers le bas du tube, alors on remarque une augmentation du signal  $\Delta R$  au niveau du bas du tube accompagnée d'une diminution du signal dans le haut du tube. Ainsi, il est possible de suivre leur vitesse de migration.

~ Le crémage :

Il s'agit ici du phénomène inverse à la sédimentation, c'est-à-dire que les objets détectés remontent à la surface du tube. Suivant le même comportement que précédemment, les objets évoluant du bas du tube vers le haut libèrent du signal  $\Delta R$  et en crée à leur passage, ainsi le signal diminue au bas du tube alors qu'il augmente dans le haut.

~ La floculation et la coalescence :

La floculation et la coalescence sont deux phénomènes similaires en termes de signal. En effet, la floculation est un regroupement d'objets alors que la coalescence est une fusion de deux petites gouttes en une plus grosse. De ce fait, l'objet détecté est plus gros et le signal  $\Delta R$  évolue. Il peut augmenter ou diminuer en fonction de la taille initiale de la particule comparée à la longueur d'onde de l'appareil (880 nm).

Phénomène	Delta R		
	Bas	Milieu	Haut
Sédimentation	↑	-	↓
Crémage	↓	-	↑
Floculation / Coalescence	-	↑ ou ↓	-

Tableau 11 - Évolution du signal  $\Delta R$  en fonction des différents phénomènes de déstabilisation

Au sein du logiciel, l'évolution de la rétrodiffusion ( $\Delta R$ ) est représentée en fonction de la hauteur de l'échantillon :

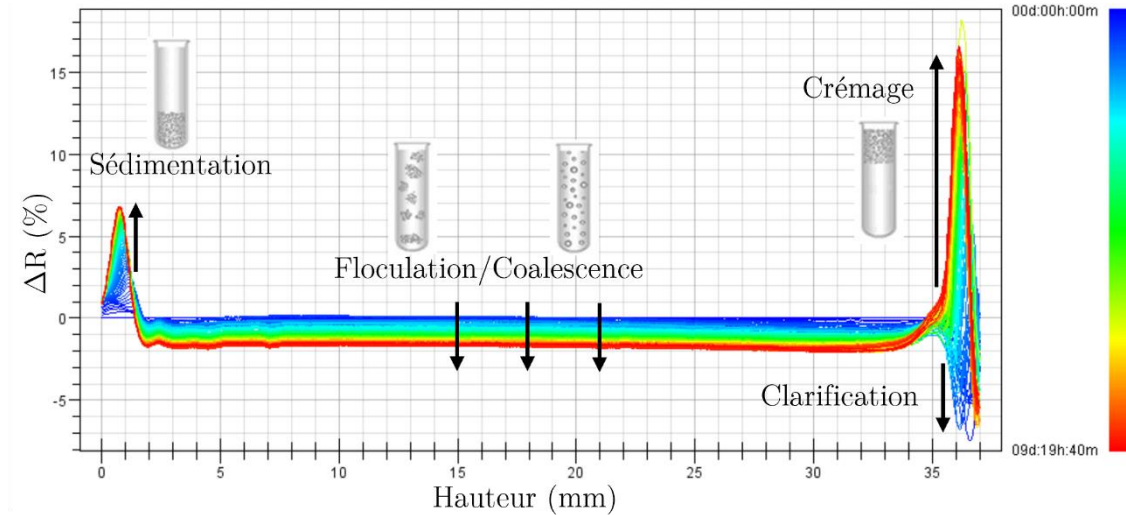


Figure 38 - Représentation des différents phénomènes de déstabilisation d'une émulsion observée sur le  $\Delta R$  (%) en fonction du temps et de la hauteur de l'échantillon. Adapté de [273]

~ Le Turbiscan Stability Index (TSI)

Un outil du logiciel permet d'obtenir rapidement un calcul de stabilité, il s'agit du Turbiscan Stability Index (TSI) [273]. En effet, cette formule additionne toutes les variations détectées sur chaque scan pour déterminer un index de stabilité. Plus la valeur du TSI est élevée, moins l'émulsion est stable. L'équation (2.7) peut être appliquée sur les graphes en rétrodiffusion ou en transmission, en général elle est appliquée automatiquement sur le graphe où le signal le plus fort est détecté. Lorsque la valeur minimale de signal est détectée ( $\Delta T$  et  $\Delta R > 0,2\%$ ) dans les deux modes, le logiciel demande à l'utilisateur quel signal utiliser.

$$TSI = \frac{1}{Nh} \sum_{t_i=t_{min}}^{t_{max}} \sum_{z_i=z_{min}}^{z_{max}} |BST(t_i, z_i) - BST(t_{i-1}, z_i)| \quad (2.7)$$

Avec :  $Nh = \frac{z_{max} - z_{min}}{\Delta h}$  où  $z_{max}$  et  $z_{min}$  représentent les hauteurs maximales et minimales du tube.  $t_{max}$  désigne le temps maximal choisi pour le TSI (tous les scans sont calculés dans le cas de la cinétique du TSI). BST désigne le signal étudié : BS pour backscattering (rétrodiffusion) ou T pour transmission.

Par ailleurs, il est possible de choisir la zone où appliquer la formule grâce aux valeurs automatiques (haut, milieu et bas de l'échantillon). Il est également possible de changer chaque phase manuellement. Sélectionner une zone permet d'étudier un phénomène de déstabilisation particulier sur chaque émulsion, étudier toute la hauteur considère alors tous les phénomènes de déstabilisation possible.

Il n'y a pas de valeur TSI considérée comme maximale, cette valeur est propre à chaque système. Les courbes de TSI seront comparées une à une, plus la valeur du TSI est élevée, moins le système est stable. Après étude du système une valeur de TSI « à ne pas dépasser » pourra être établie.

~ Diamètres calculés par DLS

Lorsque le rayonnement est envoyé au sein de l'échantillon, les photons sont visuellement séparables en deux catégories, ceux ayant une trajectoire longue et ceux ayant une trajectoire courte. À partir de ces données, l'appareil peut mesurer le libre parcours moyen du transport des photons ( $l^*$ ) dans la dispersion analysée :

$$l^*(d, \varphi) = \frac{2d}{3 \varphi (1 - g) Q_s} \quad (2.8)$$

Avec :  
 $d$  ( $\mu\text{m}$ ) : le diamètre des particules  
 $\varphi$  (%) : la fraction volumique en particules  
 $g$  et  $Q_s$  sont des paramètres optiques donnés par la théorie de Mie (sans unités) :  $Q_s$  est facteur de diffusion et  $g$  est le facteur d'asymétrie qui quantifie l'anisotropie de la lumière diffusée par les particules.

En entrant dans le logiciel la fraction volumique  $\varphi$  en particules, ainsi que les indices de réfraction des phases dispersées et continues, il est possible d'obtenir un diamètre de sphère équivalent moyen. Le diamètre obtenu est en volume puisqu'il s'agit d'une analyse basée sur la diffusion multiple de la lumière, de ce fait, il ne s'agit pas de la même mesure qu'en microscopie optique.

Les émulsions de Pickering étant un cas particulièrement complexe, notamment car les particules ont un indice de réfraction bien plus élevé que celui des phases dispersées et continue de l'émulsion ( $n_{\text{eau}} = 1,333$  ;  $n_{\text{Miglyol}} = 1,45$  ;  $n_{\text{HAp}} = 1,65$ ). De plus, elles se situent tout autour de la phase dispersée, ces diamètres calculés sont à considérer avec précaution. Cependant, l'appareil mesurant le signal rétrodiffusé au cours du temps (choisi en fonction de l'analyse), cette mesure permet de suivre l'évolution du diamètre.

### III. Méthodes de caractérisation des biomatériaux poreux

#### 1. Caractérisation physico-chimique des biomatériaux poreux

Afin de caractériser les matériaux, trois appareils précédemment décrits seront utilisés :

- ~ La diffraction aux rayons (paragraphe Diffraction des rayons X) permet de déterminer principalement la structure et la taille des cristallites des matériaux.
- ~ La spectroscopie infrarouge (paragraphe Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)) est utilisée d'une part pour vérifier le séchage du matériau, et également la nature chimique de l'apatite obtenue.

~ La Microscopie Electronique à Balayage (paragraphe Microscopie Électronique à Balayage (MEB) permet d'obtenir une première évaluation visuelle quant à la taille de pores ainsi que l'interconnexion.

## 2. Analyses thermiques

~ Objectif

L'analyse par calorimètre à balayage de température a été couplée à l'analyse thermogravimétrique (DSC-ATG) et réalisée pour obtenir des informations sur l'état physico-chimique des matériaux après séchage tels que le taux d'hydratation ainsi que les quantités résiduelles des différents constituants post-séchage.

~ Principe

Le calorimètre à balayage de température (DSC) est une méthode qui permet de déterminer les températures et les quantités de chaleur dégagées correspondant aux modifications du matériau en fonction de la température. Son principe consiste à mesurer la différence de température entre l'échantillon  $T^{\circ}_{\text{échantillon}}$  et une référence  $T^{\circ}_{\text{réf}}$  thermiquement inerte dans la gamme de température étudiée. Tandis que, la thermogravimétrie (TG) est une méthode qui suit l'évolution de la masse d'un échantillon en fonction de la température de traitement thermique. Cette variation de masse peut être une perte ou un gain. Il est possible de coupler ces deux mesures, comme réalisé au cours de cette thèse.

~ Appareillage

L'appareil utilisé est le modèle TG-DTA 92 de SETARAM. Il est constitué d'une balance à haute précision avec une nacelle en alumine et son four peut atteindre 1600°C.

L'ensemble, piloté par un ordinateur, permet le tracé simultané de la courbe de variation de masse de l'échantillon et de la courbe d'analyse thermique différentielle. L'appareil permet de travailler sous atmosphère contrôlée. Les mesures sont effectuées sous air avec un débit de 3 L/h, la sensibilité est de 1 µg.

Le creuset utilisé est en platine et les masses de chaque échantillon ont été relevées. En utilisant cette méthode, les mesures ont été effectuées selon le protocole suivant :

- L'échantillon est taré puis il est stabilisé à 30°C pendant 10 min.
- L'échantillon est taré puis il est soumis à une rampe de température de 30°C à 1000°C suivant une augmentation de 10°C/min.
- L'échantillon est refroidi jusqu'à 30°C

### 3. Analyse de la porosité par Microtomographie par rayons X

#### ~ Objectifs

La microtomographie par absorption de rayons X (micro-CT) présente l'avantage d'être une technique non destructive permettant la reconstitution d'une image tridimensionnelle d'un objet. Elle se révèle utile pour obtenir des informations sur la microstructure interne du matériau comme l'agencement volumique des phases, la détection et caractérisation de fissures ou de porosités ou encore l'orientation de fibres dans des composites. Ainsi dans le cadre des biomatériaux obtenus, elle permettra d'obtenir sa représentation 3D et de déterminer la distribution granulométrique des pores. L'acquisition des images a été réalisée par Christophe Tenailleau et Benjamin Duployer (CIRIMAT, équipe OVM).

~ Principe

Le principe d'acquisition des radiographies est représenté sur la Figure 39.

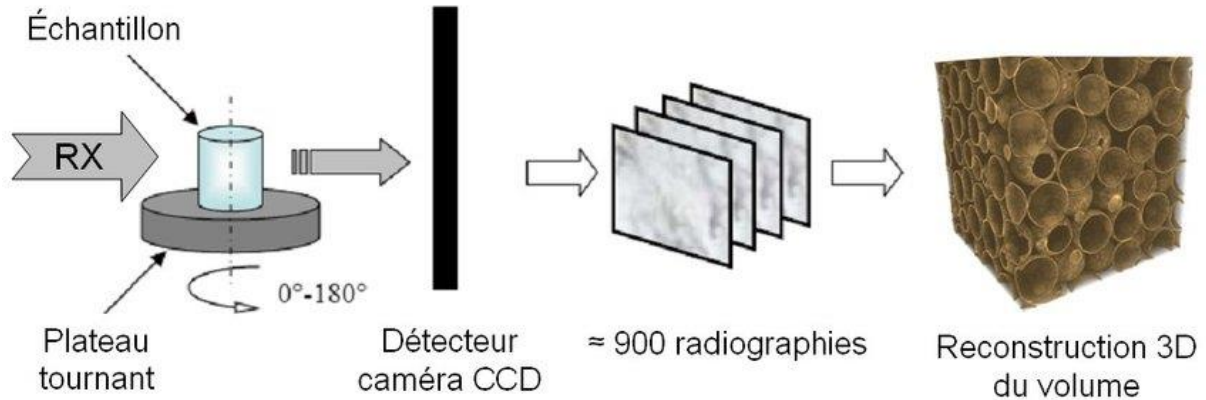


Figure 39 - Principe de fonctionnement du microtomographe du scan de l'échantillon à la reconstruction 3D, la rotation est complète, à 360° [274]

Une source émet un faisceau de rayons X, caractérisé par son intensité (flux de photons) et son énergie (spectre d'émission), perpendiculairement à une surface réceptrice. Entre l'émetteur et le récepteur se situe l'objet. Une partie du faisceau incident est alors absorbée ou réfléchi par l'objet traversé et l'intensité du rayonnement décroît avec la distance parcourue  $y$  au sein de l'objet selon la loi de Beer-Lambert :

$$I_y = I_0 e^{-\mu y} \quad (2.9)$$

Avec :  $I_y$ , l'intensité transmise ;  $I_0$ , l'intensité incidente et  $\mu$ , le coefficient linéaire d'absorption (ou d'atténuation linéique).

L'échantillon est ensuite soumis à une rotation complète de 360°, ce qui correspond à l'obtention de 500 à 2000 radiographies en différents niveaux de gris (généralement 1440 images dans notre cas, tous les 0,25°). L'épaisseur des tranches est propre à chaque échantillon et est détaillée dans les résultats. Le traitement des projections 2D par calcul permet de reconstruire le volume de l'objet. Le faisceau de rayons X est transmis au niveau d'un capteur de type scintillateur plan. En utilisant les valeurs des intensités



(absorbées ou transmises), des images en niveaux de gris sont formées pour imager les différentes phases de l'échantillon.

Cette technique est particulièrement adaptée aux matériaux étudiés dans cette thèse puisqu'elle permet de mettre en évidence la porosité par la distinction des deux phases : matrices et pores.

~ Appareillage

L'appareil utilisé est le Phoenix Nanotom (General Electric, Allemagne), présenté sur la Figure 40, qui utilise un tube RX de 180 kV et 15W et un détecteur de 2300 x 2300 pixels.



Figure 40 - Microtomographe Phoenix Nanotom [275]

~ Traitement des données

Les données issues de la reproduction 3D par tomographie aux rayons X permettent d'obtenir un fichier d'images 2D compilées. Ces images sont d'abord traitées avec le logiciel de visualisation Vg StudioMax 2.1 puis ensuite ajoutées au logiciel iMorph [276] développé par Jérôme Vincente et Emmanuel Brun.

iMorph est un logiciel d'analyse d'images 3D spécialement conçu pour la caractérisation des objets poreux. En se basant sur les images en niveaux de gris, il est

possible d'ajuster manuellement le seuil de détection des phases du matériau. Ainsi, il est possible de différencier la phase solide (le matériau) de la phase gaz (l'air à l'intérieur des pores). Pour chaque pore vide détecté, iMorph les identifie comme des sphères traitées individuellement pour déterminer leurs forme et orientation. Ainsi, il est possible de caractériser la porosité ou encore la granulométrie du matériau.

## 4. Tests mécaniques

### ~ Objectif

Les tests mécaniques des matériaux sont réalisés dans l'objectif de vérifier la tenue mécanique des différents matériaux synthétisés.

### ~ Principe

La résistance à la compression est la capacité d'un matériau à résister à la pression appliquée verticalement (écrasement), sans que la déformation horizontale soit excessive. En comparaison, la résistance à la traction teste l'allongement du matériau et la résistance au cisaillement vérifie sa torsion.

L'essai de compression consiste à placer sous une presse dont le capteur a un déplacement défini (mm/s), une éprouvette de forme cylindrique avec un rapport hauteur sur diamètre d'au moins 1,5. Le capteur relié à la presse permet de détecter les phénomènes subis par le matériau (fissure, éclatement ...).

La contrainte  $\sigma$  (MPa) est définie comme la force de rupture détectée lors d'une fissure (charge maximale) par l'aire initiale de la section de l'éprouvette :

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (2.10)$$

Avec : F, la force de rupture en N  
S, la section du matériau (m<sup>2</sup>)

La Figure 41 illustre le phénomène physique subi par le matériau de section S sur lequel une force F est appliquée.

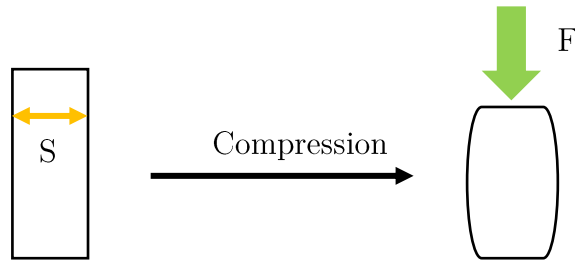


Figure 41 - Schématisation de l'éprouvette de section S soumise à une force F

La résistance à la compression est fortement liée à la porosité du matériau, la morphologie et la distribution des pores a une influence importante. Les valeurs relevées pour des matériaux de céramique poreuse d'hydroxyapatite varient beaucoup et peuvent être comprises entre 0,8MPa et 350 MPa [277]. Il est à noter que le frittage a un effet important sur la résistance à la compression.

~ Appareillage

Les essais ont été réalisés sur une presse Instron-5567 équipée d'un poinçon de 1 cm<sup>2</sup>. Deux capteurs ont été utilisés en fonction des matériaux (10 N ou 500 N), des premiers essais ont été effectués pour déterminer quel capteur est le plus adapté. Si la force appliquée est supérieure à 9 N (puissance maximale pour le capteur de 10 N) alors le capteur de 500 N doit être utilisé.

Une vitesse de compression de 0,2 mm/min a été choisie pour les deux programmes, seule change la force maximale appliquée, respectivement de 9,5 N pour le capteur 10 N et 50 N pour le capteur de 500 N.

## CHAPITRE 3

# Élaboration et caractérisation d'émulsions de Pickering stabilisées par des particules d'hydroxyapatite

## **Introduction**

Dans cette partie de thèse, des émulsions de Pickering constituées d'une phase huileuse (Miglyol 812) stabilisées avec des particules d'HAp dispersées en milieu aqueux ont été générées et caractérisées. Comme expliqué en introduction générale, cette émulsion sera utilisée par la suite comme précurseur d'un matériau macroporeux bioactif dont les pores devront être interconnectés et de taille minimale de 200  $\mu\text{m}$  afin de favoriser l'ostéo-intégration du biomatériau : l'émulsion visée devra alors favoriser l'interconnexion avec des gouttes suffisamment proches et posséder une taille de goutte supérieure à 200  $\mu\text{m}$ .

Dans une première partie seront présentées les étapes de synthèse ainsi que les caractérisations des particules d'HAp obtenues par diverses techniques (DRX, spectroscopie IRTF, MEB, MET, granulométrie laser et analyses chimiques), afin d'accéder à leur composition et à leurs caractéristiques physiques et physico-chimiques.

Dans un second temps, le comportement en milieu aqueux de la poudre d'HAp sera étudié par la mesure de la taille des particules et de leur potentiel zêta, ainsi que l'angle de contact à trois phases des composants, afin de mieux comprendre les mécanismes d'agrégation et de stabilisation lors de l'élaboration de l'émulsion.

Enfin les émulsions de Pickering de type huile/eau stabilisées par les particules d'HAp seront élaborées et caractérisées : les tailles de gouttes par analyse d'images obtenues par microscopie optique et la stabilité physique par analyseur optique. Différents paramètres seront étudiés : la concentration saline de la phase aqueuse (concentration en NaCl), le ratio massique huile/eau et la concentration en HAp. Leur influence sur les propriétés finales de l'émulsion sera mise en évidence

par la mesure du diamètre des gouttes d'huile formées et par la stabilité générale de l'émulsion.

## Partie A. Synthèse et caractérisation des particules d'HAp

---

Cette partie du chapitre a pour but de caractériser les cristaux d'HAp qui ont été utilisés pour stabiliser les émulsions de Pickering. Dans un premier temps, les caractérisations se feront sur la poudre synthétisée, puis on étudiera le comportement des cristaux d'HAp en milieu aqueux. D'abord dans l'eau et puis dans un milieu salin jusqu'à 0,5 M en NaCl, car la stabilisation des émulsions de Pickering ne se fera qu'en milieu salin.

### I. Synthèse par coprécipitation des particules d'HAp

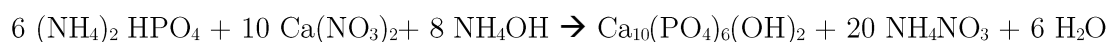
La première étape dans l'élaboration de la biocéramique phosphocalcique poreuse d'intérêt de cette thèse est la synthèse des particules d'hydroxyapatite (HAp) phosphocalcique stoechiométrique constituant la phase solide qui stabilise les émulsions de Pickering. Elle doit être reproductible et si possible simple à mettre en œuvre.

La synthèse décrite dans les paragraphes suivants a été réalisée par double décomposition en milieu aqueux à une température de 90°C. Cette méthode a été choisie car la synthèse se réalise en absence de solvants organiques, à des basses températures et offre de bons rendements de l'opération [278]. De plus, la taille et

la morphologie des particules d'HAp peuvent être contrôlées par les conditions de synthèse comme le pH, la température et la concentration de réactifs ou additifs [62], [168], [279].

Le principe général de la synthèse de l'HAp phosphocalcique stœchiométrique par double décomposition en milieu aqueux est le suivant : dans une solution « A » sont dissous les sels qui contiennent les cations d'intérêt (ions calcium) ; dans une solution « B » sont dissous les sels contenant les anions nécessaires (ions phosphate), en conservant le rapport molaire entre le calcium et le phosphore Ca/P=1,67. La solution B est ensuite versée dans la solution A, ce qui mène à la précipitation de l'hydroxyapatite (HAp). Le produit est filtré, lavé à l'eau décarbonatée puis séché par lyophilisation et enfin stocké à -18°C afin d'éviter toute évolution.

Les précurseurs ont été le nitrate de calcium tétrahydraté  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  en solution aqueuse « A » (787 g de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ; 3,3 L) et l'hydrogénophosphate de diammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  en solution aqueuse « B » (264 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  ; 1,3 L). La synthèse de l'hydroxyapatite phosphocalcique stœchiométrique se produit en milieu basique à un pH contrôlé de 8,5 à 90°C selon la réaction suivante :



Les solutions « A » et « B » sont préparées au préalable. Le pH sera maintenu à 8,5 tout au long de la réaction par ajout constant d'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), (20% en masse).

La solution « A » est introduite dans un ballon bicol (Figure 42) et portée à ébullition, puis une partie de l'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) est introduite directement dans le ballon afin de se placer en conditions basiques.

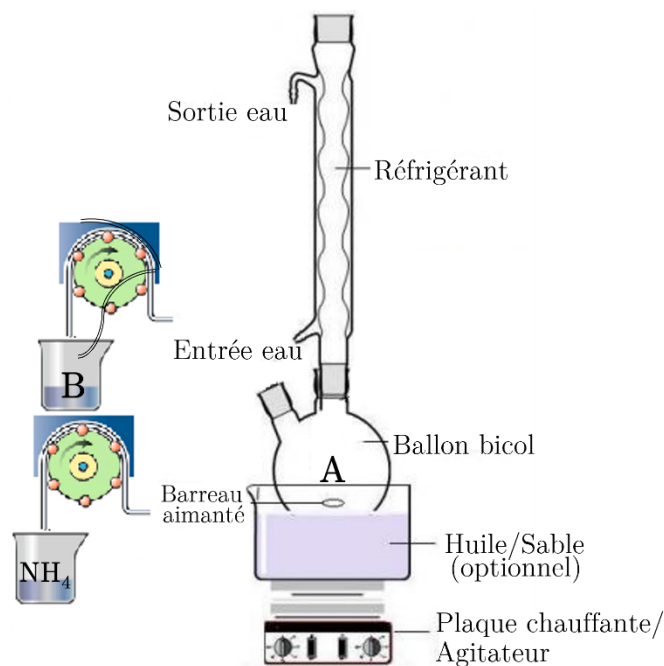


Figure 42 – Dispositif de synthèse de l'hydroxyapatite par double décomposition en voie aqueuse

L'ajout de la solution « B » et de l'ammoniaque restant se fait ensuite goutte-à-goutte, et sous agitation, à l'aide de pompes péristaltiques dont le débit a été calculé préalablement pour que la réaction se produise sur 3 heures.

L'ajout goutte-à-goutte a été choisi pour contrôler la forme des particules formées, moins massives en comparaison à une coulée rapide de la solution « B » dans la solution « A ». La précipitation se fait en général en deux étapes : à partir de la formation de germes de phase solide au sein du liquide (nucléation) puis croissance de ces germes. Quand la solution contient plus de soluté que la concentration de l'équilibre dans les conditions de la réaction, elle devient sursaturée. Dans une solution sursaturée, la nucléation devient plus rapide que la croissance, ce qui résulte en la génération de particules fines. L'observation de la coulée a permis de voir que le solide se forme à chaque goutte introduite dans la cuve.



À la fin de l'ajout goutte-à-goutte, la solution est laissée sous agitation pour maturation et refroidissement pendant 1 heure. À la suite de la maturation, le contenu du ballon est filtré sur Büchner ; au vu de la quantité importante, la solution a été divisée en 2 pour être lavée. Le lavage se fait à l'eau décarbonatée pour éviter l'apparition de sous-produits tout en procédant à l'élimination des espèces ioniques présentes.

Après filtration, les rétentats se présentent sous la forme de gels qui sont récupérés et ensuite lyophilisés pendant 24 heures. La poudre issue de la lyophilisation est conservée au congélateur (-18°C). Lorsqu'un prélèvement est effectué, celui-ci est tamisé à 125 µm pour limiter la taille des agglomérats. Avant toute utilisation, la poudre a été analysée afin de vérifier sa pureté.

Une quantité suffisante de la poudre lyophilisée d'HAp a été synthétisée pour pouvoir effectuer l'ensemble des travaux de cette thèse (une synthèse a permis d'obtenir environ 300 g).

Les appareils utilisés et les protocoles suivis pour réaliser les caractérisations des poudres lyophilisées sont décrits dans le chapitre 2 (Méthodes de caractérisation de l'hydroxyapatite).

## **II. Caractérisation de la poudre d'HAp synthétisée**

### **1. Diffraction des rayons X**

Le diffractogramme des rayons X réalisé sur la poudre synthétisée est présenté sur la Figure 43. Il a été comparé à la fiche JCPDS 9-432 [280] de l'hydroxyapatite stœchiométrique, dont les distances inter-atomiques sont

répertoriées dans le Tableau 12. L'hydroxyapatite n'étant pas calcinée mais séchée par lyophilisation, elle est faiblement cristallisée ce qui est visible par des pics de diffraction larges et mal définis. Les raies majoritaires de l'HAp sont présentes : (002), (211), (112), (300) et (310) et aucune autre raie d'un sous-produit n'apparaît.

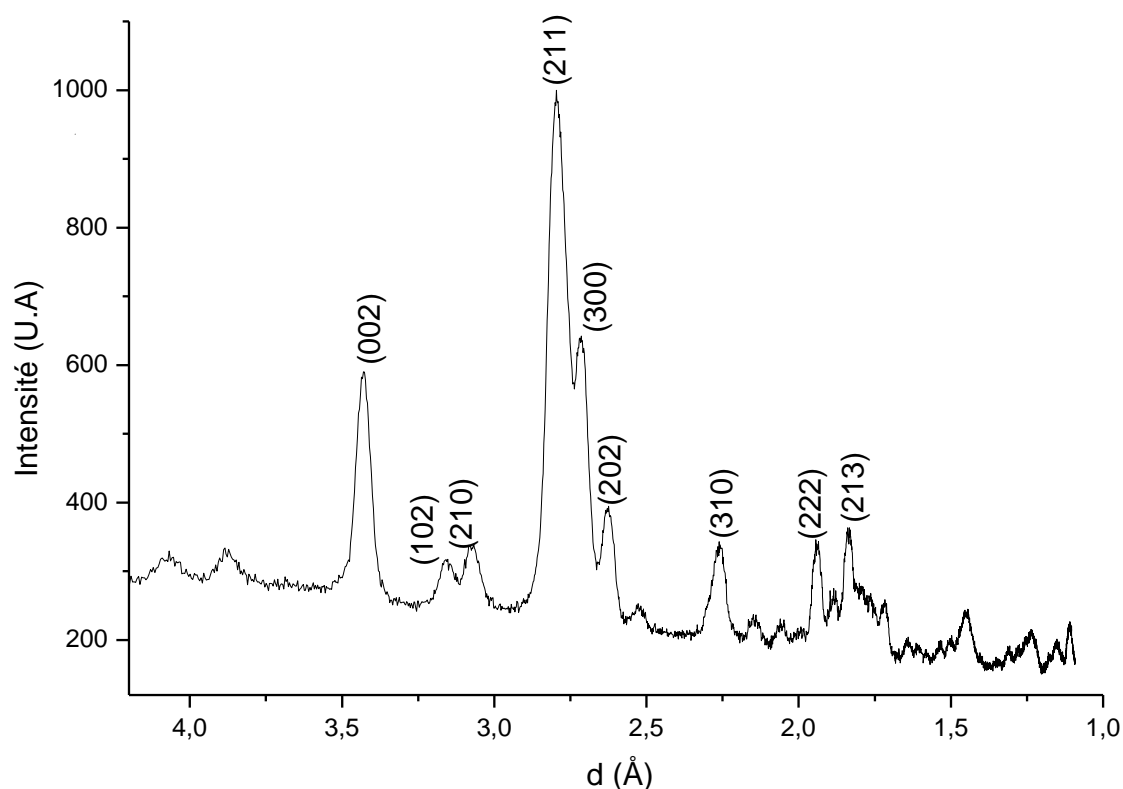


Figure 43 - Diffractogramme des rayons-X obtenu pour l'HAp synthétisée

$d_{hkl}$	$d$ (Å)	$d_{hkl}$	$d$ (Å)
2 0 0	4,07	3 0 0	2,72
1 1 1	3,88	2 0 2	2,63
0 0 2	3,44	3 1 0	2,26
1 0 2	3,17	3 1 1	2,15
2 1 0	3,08	2 2 2	1,94
2 1 1	2,81	2 1 3	1,84
1 1 2	2,78	3 2 1	1,81

Tableau 12 - Distances inter-atomiques (en Å) des principales raies de diffraction de l'HAp (fiche JCPDS 9-432 [280])

La dimension apparente des cristallites peut être estimée à l'aide de la relation de Scherrer [281], à partir de la largeur à mi-hauteur des raies:

$$L(hkl) = \frac{0,94 \times \lambda}{\cos\theta \times \sqrt{\Delta_r^2 - \Delta_o^2}} \quad (3.1)$$

Avec : 0,94 : la constante de Scherrer  
 $L$  (Å) : la taille apparente dans la direction perpendiculaire au plan de diffraction hkl  
 $\lambda$  (Å) : la longueur d'onde du rayonnement X ( $\lambda=1,78892$  Å pour le cobalt)  
 $\theta$  : l'angle de diffraction associé à la raie hkl considérée  
 $\Delta_r$  (radians) : la largeur à mi-hauteur de la raie de diffraction considérée de l'échantillon  
 $\Delta_o$  (radians) : la largeur à mi-hauteur de la raie considérée pour une HAp de référence.  
 Les valeurs de références pour une HAp 100% cristallines sont de 0,00128 radians et 0,00140 radians respectivement pour les raies (002) et (310)

L'application de la formule de Scherrer à la raie (002) donne une estimation des dimensions des cristallites selon l'axe c (longueur des cristaux), et son application à la raie (310) permet d'évaluer selon l'axe a (perpendiculaire à l'axe c) la largeur/épaisseur des cristaux.

À partir de cette loi, les tailles des cristallites ont été calculées à partir des raies (002) et (310) ;  $L(002)$  et  $L(310)$  sont respectivement de  $268 \pm 3$  Å et  $103 \pm 3$  Å. Ces dimensions confirment la forme allongée des cristaux selon l'axe c.

## 2. Spectroscopie infrarouge

Le spectre IR de la poudre synthétisée (Figure 44) est celui d'une HAp stœchiométrique, caractérisé par la présence des bandes attribuables aux groupements hydroxyles OH<sup>-</sup> (à 3562 cm<sup>-1</sup> et 631 cm<sup>-1</sup>), et aux groupements phosphates PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (vers 1000-1100 cm<sup>-1</sup> et 560 et 601 cm<sup>-1</sup>) caractéristiques d'environnements apatitiques. Les bandes vibrationnelles IR d'une HAp de référence sont présentées dans le Tableau 13.

On peut également noter la présence d'une bande de faible intensité à  $875\text{ cm}^{-1}$  que l'on peut associer aux ions hydrogénophosphate  $\text{HPO}_4^{2-}$  substituées aux groupements  $\text{PO}_4^{3-}$  en faible quantité. Cependant cette bande peut également être attribuable à une bande carbonate ( $\nu_2\text{CO}_3$ ) ; en effet une bande large et de faible intensité attribuable à la présence de la vibration  $\nu_1\text{CO}_3$  de groupements carbonate est visible vers  $1430\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ . Cette bande est le signe d'une faible carbonatation de la poudre pendant la synthèse malgré les précautions prises (eau décarbonatée).

Bandes de l'HAp [282], [283]		
Groupement	Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensité
OH	3562 ( $\nu_s$ )	moyenne
$\text{PO}_4^{3-}$	1081 ( $\nu_3$ )	forte
	1040 ( $\nu_3$ )	très forte
	954 ( $\nu_1$ )	moyenne
OH	631	moyenne
$\text{PO}_4^{3-}$	601 ( $\nu_4$ )	forte
	570 ( $\nu_4$ )	forte
	474 ( $\nu_2$ )	moyenne

Tableau 13 - Positions et intensité des bandes de vibration des groupements contenus dans l'HAp

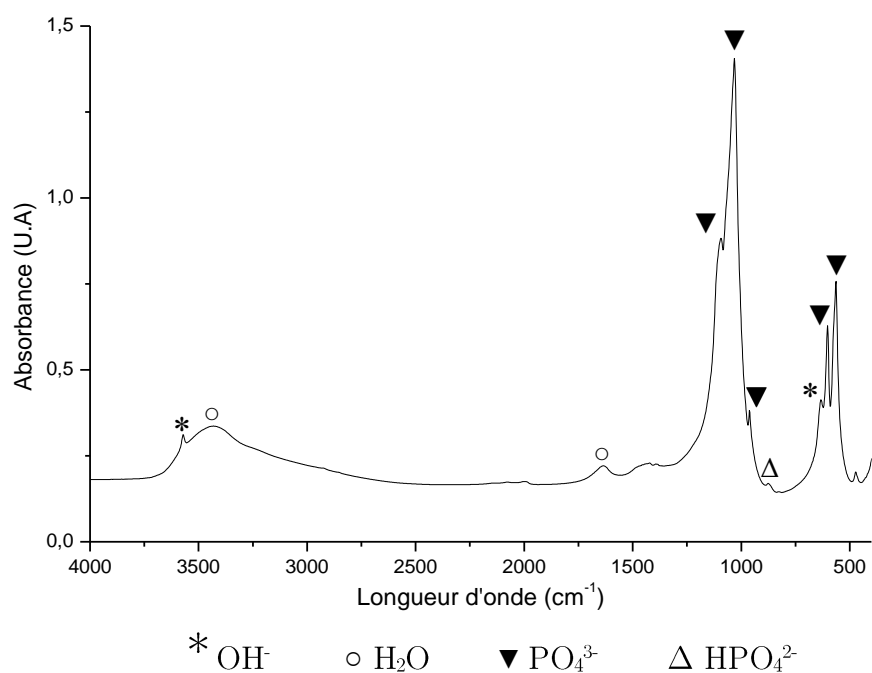


Figure 44 - Spectre IRTF de l'HAp synthétisée

Par ailleurs, on observe une bande large centrée autour de  $3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  et une plus faible autour de  $1640\text{ cm}^{-1}$  représentatives de traces d'eau résiduelle présente dans l'échantillon après séchage par lyophilisation. Enfin, on peut noter que l'absence des bandes de vibration caractéristiques des contre ions  $\text{NH}_4^+$  [284] (vers  $3140\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_3$ )) et  $\text{NO}_3^-$  ( $1385\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_3$ ) et  $825\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_2$ )) valide le lavage de la poudre.

### 3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La poudre d'HAp précédemment tamisée à  $125\text{ }\mu\text{m}$  a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB) après métallisation.

Les images obtenues permettent d'observer une forte présence d'agglomérats (Figure 46 et Figure 46) comme généralement observé pour les apatites. Différentes populations granulométriques sont visibles, notamment la présence en faible proportion de gros agglomérats ayant une taille comprise entre  $15$  et  $55\text{ }\mu\text{m}$ , et une majorité d'agglomérats plus petits de taille inférieure à  $10\text{ }\mu\text{m}$ .

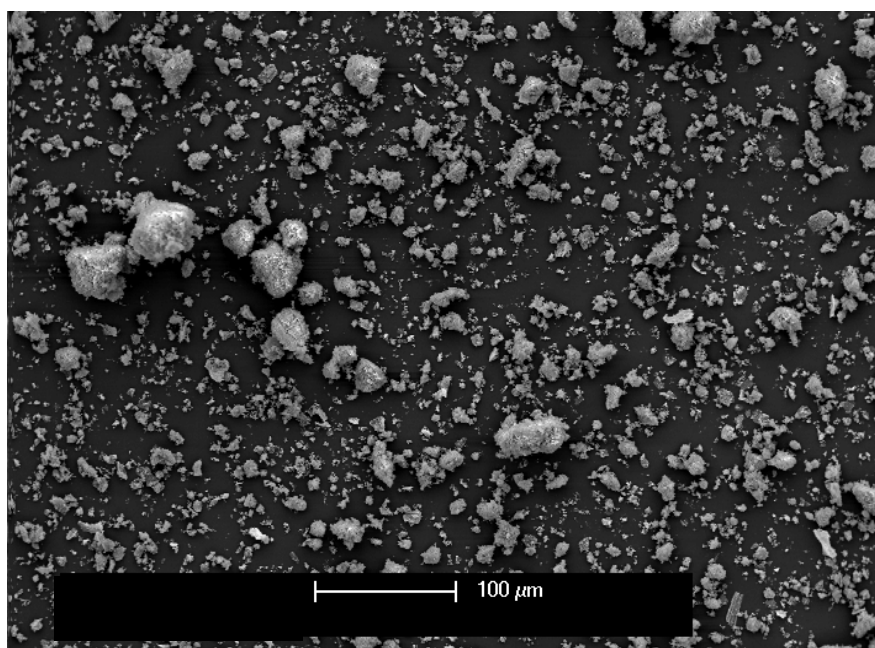


Figure 45 - Micrographie MEB des particules d'HAp à grossissement  $\times 200$

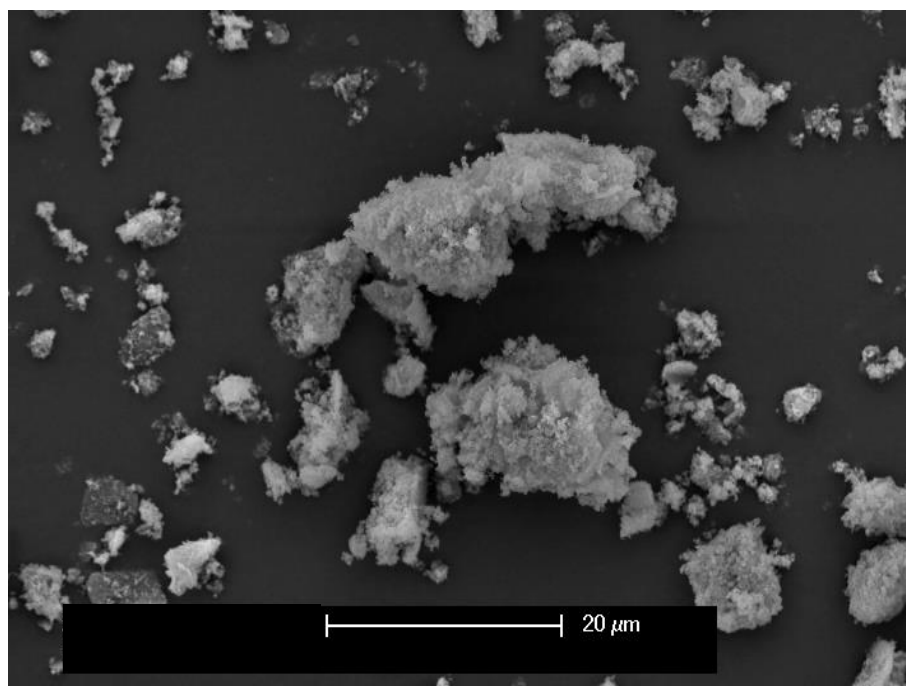


Figure 46 - Micrographie MEB des particules d'HAp à grossissement x1600

#### 4. Microscopie électronique en transmission (MET)

Les micrographies MET obtenues pour la poudre analysée sont présentées en Figure 5. Elles montrent que l'HAp est constituée de particules en forme de bâtonnets allongés selon l'axe c (Figure 47), en accord avec les tailles des cristallites calculées précédemment à l'aide des diagrammes de diffraction des RX. Cette observation MET des particules d'HAp a permis d'estimer une longueur moyenne des cristaux à l'aide d'Image J, un logiciel libre d'analyse et de traitement d'image. Les mesures ont été effectuées sur une moyenne de 10 cristaux. Leur longueur moyenne est estimée à  $135 \pm 40$  nm et la largeur moyenne à  $44 \pm 20$  nm. Cependant, on observe très peu de particules isolées et plutôt systématiquement agglomérées, avec des formes assez irrégulières (Figure 47-b) en accord avec les observations au MEB.

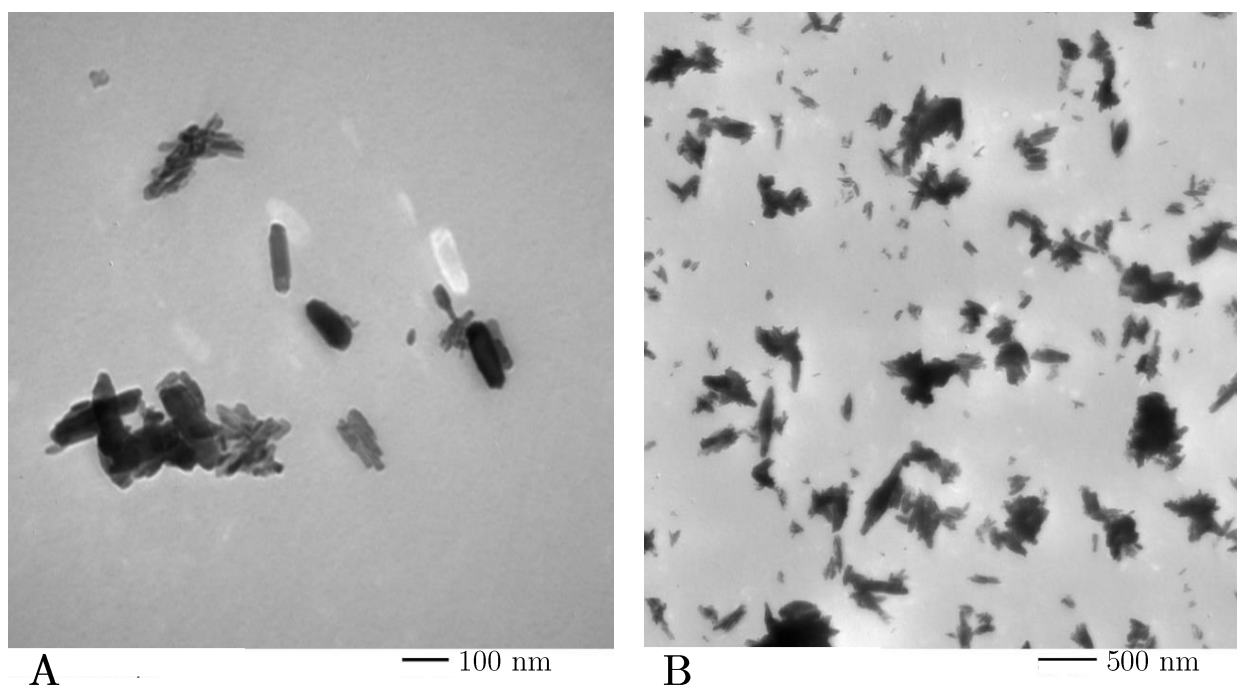


Figure 47 - Micrographies MET de particules d'HAp

## 5. Granulométrie laser

Lors de la synthèse de l'HAp, la poudre a été divisée en deux lots pour le lavage, nommés F1 et F2. L'analyse granulométrique a été réalisée en voie sèche avec un Mastersizer 3000 sur ces deux fractions d'HAp (Tableau 14 et Figure 48).

D	F1 ( $\mu\text{m}$ )	F2( $\mu\text{m}$ )
D (10)	$0,98 \pm 0,00$	$1,19 \pm 0,02$
D (50)	$4,17 \pm 0,01$	$5,06 \pm 0,03$
D (90)	$14,5 \pm 0,21$	$19,9 \pm 0,49$
$D_{4/3}$	$7,1 \pm 0,03$	$9,57 \pm 0,08$
$D_{3/2}$	$2,35 \pm 0,01$	$2,84 \pm 0,02$

Tableau 14 – Diamètres caractéristiques (D) de la poudre d'HAp obtenus par granulométrie laser (cf. Granulométrie laser)

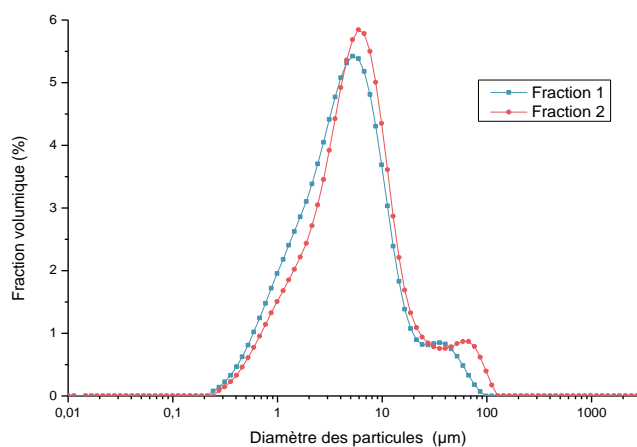


Figure 48 - Distribution granulométrique des deux fractions d'HAp

Les données sont exprimées par les diamètres caractéristiques suivants :

- ~  $d_{10}$  : diamètre pour lequel 10 % en volume de la population est inférieur ou égal à ce diamètre ;
- ~  $d_{50}$  : diamètre médian pour lequel 50 % en volume de la population est inférieur ou égal à ce diamètre ;
- ~  $d_{90}$  : diamètre pour lequel 90 % en volume de la population est inférieur ou égal à ce diamètre ;
- ~  $d_{[4,3]}$  : diamètre moyen en volume (ou en masse) ;
- ~  $d_{[3,2]}$  : diamètre moyen pondéré en surface (ou diamètre moyen dit “en surface volume” ou diamètre de Sauter).

Les diamètres  $D_{3/2}$  et  $D_{4/3}$  sont définis respectivement par les relations suivantes :

$$D_{3/2} = \frac{\sum_i f_i d_i^3}{\sum_i f_i d_i^2} \quad \text{et} \quad D_{4/3} = \frac{\sum_i f_i d_i^4}{\sum_i f_i d_i^3} \quad (3.2)$$

Avec :  $f_i$  la fréquence relative des diamètres  
 $d_i$  la taille de goutte

Les diamètres caractéristiques de la distribution en volume et en surface obtenus pour les deux fractions d’HAp sont similaires. Les résultats indiquent que 10% en volume de la population a un diamètre inférieur à 1,1  $\mu\text{m}$  ; 50% est inférieur à 4,6  $\mu\text{m}$  et 90% est inférieur à 17  $\mu\text{m}$ . Ces résultats sont cohérents avec l’observation réalisée par MEB et les ordres de grandeur de tailles d’agglomérats déduits.

Les diamètres obtenus sont largement supérieurs à la taille des particules primaires observés par MET, de l’ordre de la centaine de nanomètres ( $\ll D_{10}=1,1 \mu\text{m}$ ). Les tailles représentées correspondent donc à celles des



agglomérats de la poudre d'HAp sèche. Il faut noter que le diamètre obtenu par cette technique est un diamètre équivalent. On appelle « diamètre équivalent » le diamètre de la sphère qui se comporterait de manière identique que les particules ou agglomérats non-sphériques analysés, lors de l'opération d'analyse granulométrique choisie.

## 6. Rapports Ca/P

Les résultats d'analyse chimique de la poudre synthétisée, réalisés par spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP) (cf. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)), permettent d'obtenir la teneur en calcium et phosphore d'une apatite afin de pouvoir calculer leur rapport Ca/P, pour vérifier la pureté et la stœchiométrie. La mesure a été faite en triplicata.

Le rapport Ca/P obtenu sur la poudre synthétisée est de  $1,73 \pm 0,04$ . Le test à la phénolphtaléine effectué sur la poudre calcinée à  $1000^{\circ}\text{C}$  (1h) s'est révélé négatif : (pas de présence de chaux). De plus, le diagramme de diffraction des RX de la poudre calcinée (cf. Figure 49) est celui d'une hydroxyapatite stœchiométrique pure sans présence de phase étrangère

La poudre synthétisée est donc bien une hydroxyapatite stœchiométrique avec un rapport Ca/P proche de 1,67.

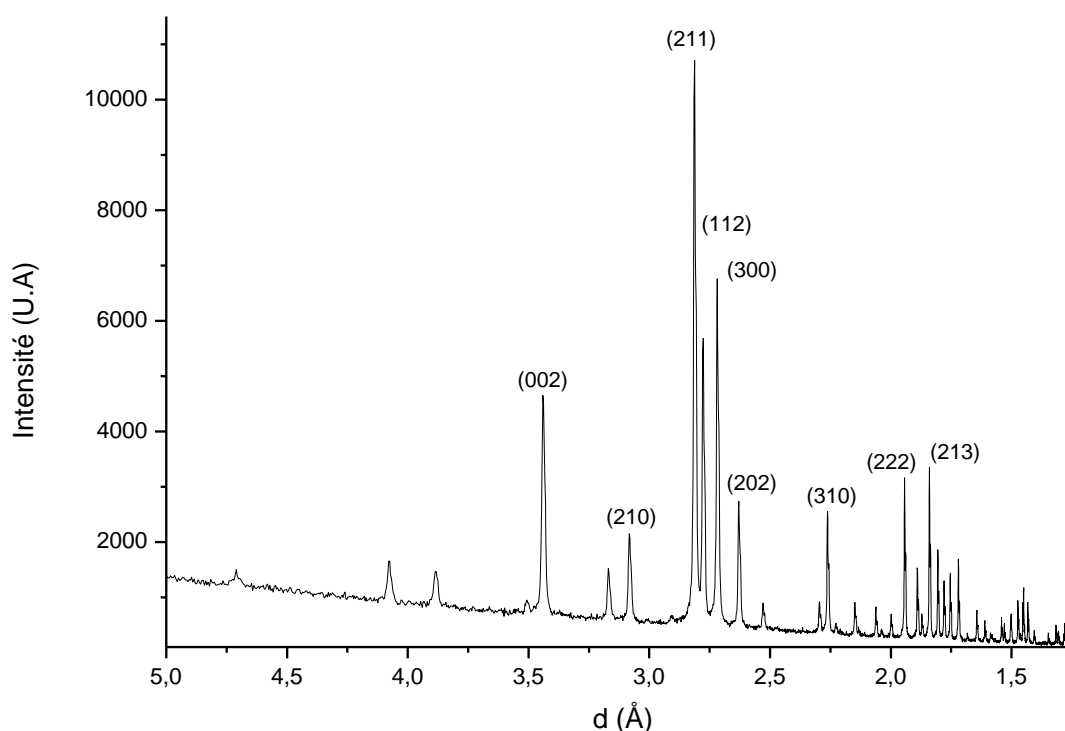


Figure 49 - Diffractogramme des rayons-X de l'HAp calcinée (1h à 1000°C)

### III. Comportement des particules d'HAp en milieu salin

L'hydroxyapatite synthétisée a été sélectionnée pour stabiliser les émulsions de Pickering qui seront développées dans la suite des travaux. Les interactions entre particules présentent un intérêt particulier dans ce type de formulation, notamment en présence d'électrolytes dans la phase aqueuse de l'émulsion, comme il a été discuté dans la partie B du chapitre 1 (cf. Interaction entre les particules). En effet, l'état d'agrégation des particules joue un rôle sur la stabilité et/ou la taille des gouttes de l'émulsion. De plus, la présence d'électrolyte (NaCl dans cette étude) influence l'état d'agrégation des particules, et donc la stabilité des émulsions, selon

la théorie DLVO (cf. Figure 14). C'est aussi le cas pour les émulsions de Pickering notamment lorsque les particules sont chargées.

Dans cette partie du chapitre, le comportement des particules d'HAp et leur état d'agrégation ont été étudiés en fonction de la salinité du milieu aqueux en réalisant des mesures de taille des particules par DDL (diffusion dynamique de la lumière) et de potentiel zêta. L'influence de la concentration en particules d'HAp en suspension sur la taille des agrégats obtenus a été également étudiée par DDL.

De plus, la mouillabilité de la poudre d'HAp utilisée vis-à-vis des deux phases introduites dans l'émulsion (eau et huile) a également été évaluée par mesure de l'angle de contact à trois phases. Comme discuté dans le chapitre 1, la mouillabilité de la poudre d'HAp vis-à-vis des deux phases est un paramètre important qui conditionne la nature (E/H ou H/E) et la stabilité de l'émulsion puisqu'elle permet d'appréhender la position des particules à l'interface des gouttes. L'angle de contact à trois phases est donc un paramètre important à connaître.

## 1. Étude de la distribution de taille en milieu salin des particules d'HAp par diffusion dynamique de la lumière (DDL)

Les mesures ont été réalisées par la technique de DDL à l'aide d'un Zetasizer Nano ZS (cf. Diffusion dynamique de la lumière DDL (*dynamic light scattering* ou DLS en anglais)). Cet appareil permet de mesurer la taille (diamètre hydrodynamique  $D_h$ ) des particules dispersées dans une suspension diluée, entre 0,3 nm et 10  $\mu\text{m}$ . Dans un premier temps, une suspension à 0,7 % en masse d'HAp dans de l'eau distillée (conditions d'analyse au Zetasizer), a été préparée par agitation manuelle. La dispersion des cristaux d'HAp (préalablement tamisés à 125  $\mu\text{m}$ ) a été suivie par DDL par la mesure du  $D_h$ . La mesure a été répétée 3 fois

successivement. Les premières mesures sont retenues en raison de la sédimentation des particules. La distribution fondamentale de taille obtenue est une distribution en intensité (Figure 50).

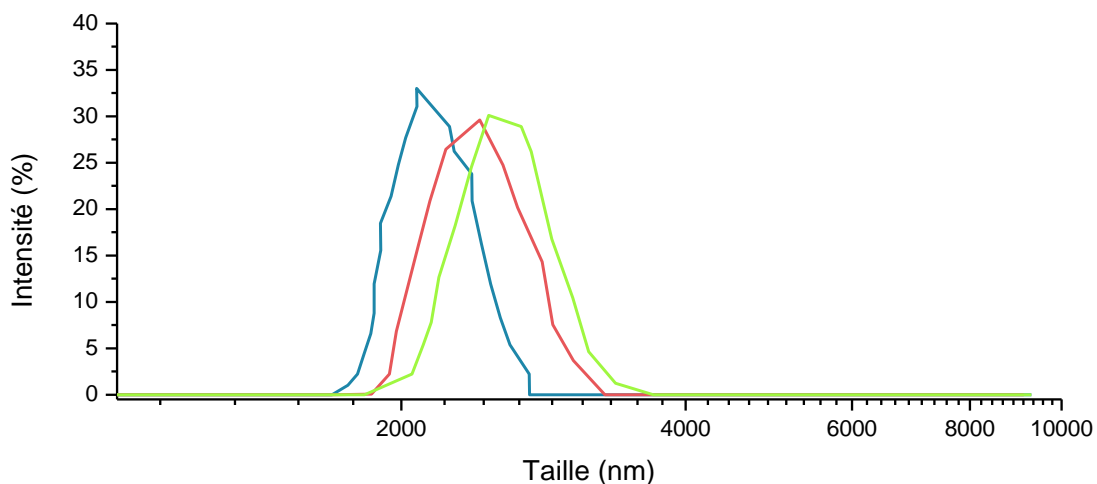


Figure 50 - Distribution de la taille ( $D_h$ ) en intensité des particules d'HAP dispersées dans l'eau distillée (analyse DDL) – 3 répétitions d'une mesure

Les résultats montrent un pic centré sur 2286 nm (diamètre hydrodynamique moyen) avec un indice de polydispersité (PDI) ou largeur de distribution de 37%. La position du pic majoritaire est en accord avec la gamme de taille des agrégats mesurés dans la poudre sèche par granulométrie laser (diamètre  $D_{3/2}$  de 2350-2840 nm pour les fractions 1 et 2, Tableau 14). Bien que les méthodes de mesure diffèrent entre les deux appareils, pour les particules d'HAp dispersées manuellement dans l'eau, les tailles d'agglomérats existants sont similaires à ceux de la poudre sèche.

Dans un second temps, la même étude par DDL a été menée dans un milieu salin. La poudre d'HAp tamisée a été dispersée, par agitation manuelle, dans le milieu salin contenant différentes concentrations de NaCl (0 à 0,5 M).

La Figure 51 montre l'évolution de la taille des agrégats d'HAp ( $D_h$  moyen) avec l'augmentation de la concentration en NaCl. La variation de  $D_h$  se produit en deux temps, liée à la concentration en NaCl :  $D_h$  augmente linéairement de 0 à  $10^{-3}$  M en NaCl, puis atteint un palier vers 4500 nm ( $d_h$ ). Pour les données présentées, l'indice de polydispersité (PDI), un paramètre calculé à partir d'une analyse des cumulants de la fonction d'autocorrélation de l'intensité mesurée par DLS, est inférieur à 0,5 (PDI entre 0,29 et 0,46).

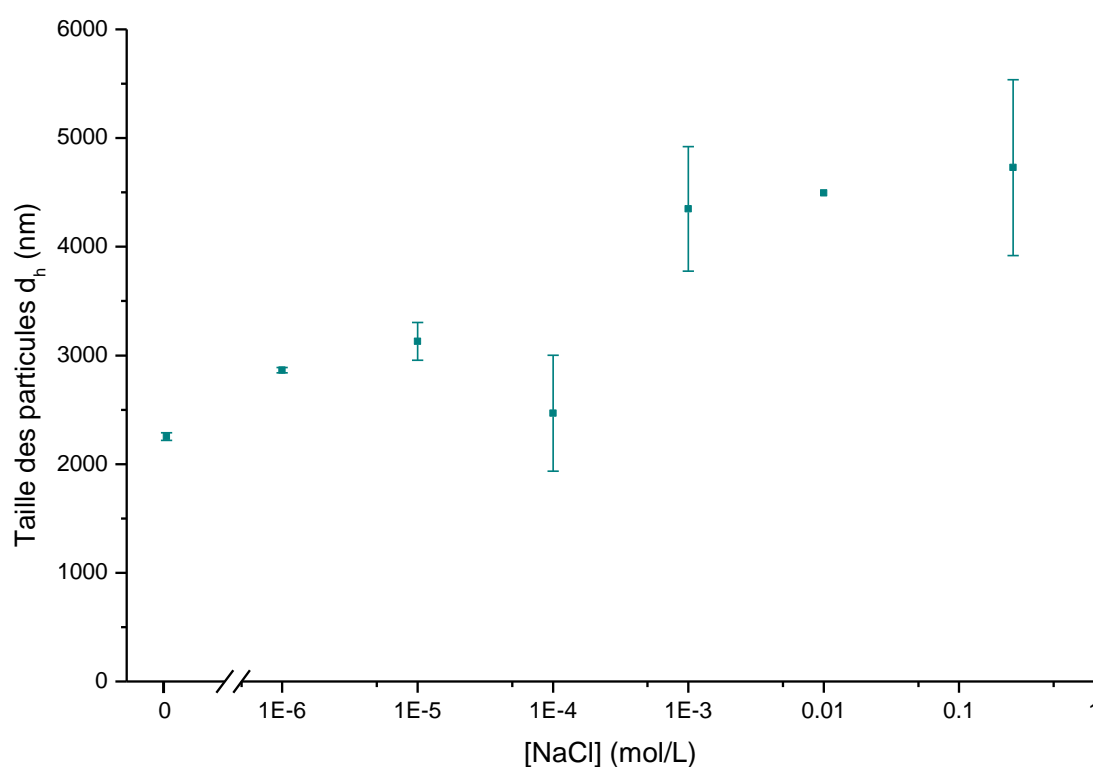


Figure 51 - Variation de la taille ( $D_h$ ) des agglomérats de particules d'HAp en milieu aqueux en fonction de la concentration en NaCl (M)

L'interprétation de ce comportement doit prendre en compte l'effet des forces inter-particulaires sur les processus d'agrégation et de désagrégation des particules en suspension et l'influence de la présence d'électrolytes en solution sur ces forces.

Les particules en suspension dans l'eau ont généralement une charge de surface. La charge de surface des particules est compensée par une région de

contre-ions de charge équivalente mais de signe opposé, il s'agit de la double couche électronique composée de la couche de Stern et de la couche diffuse (ou de Gouy) illustrées sur la Figure 52 [285]. La théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek) a été largement utilisée pour expliquer les interactions entre ces particules colloïdales. Elle considère les deux forces principales de la double couche : la répulsion électrostatique et l'attraction de Van der Waals (cf. Interaction entre les particules). Toutefois, des recherches récentes ont révélé que d'autres forces peuvent également intervenir entre les particules.

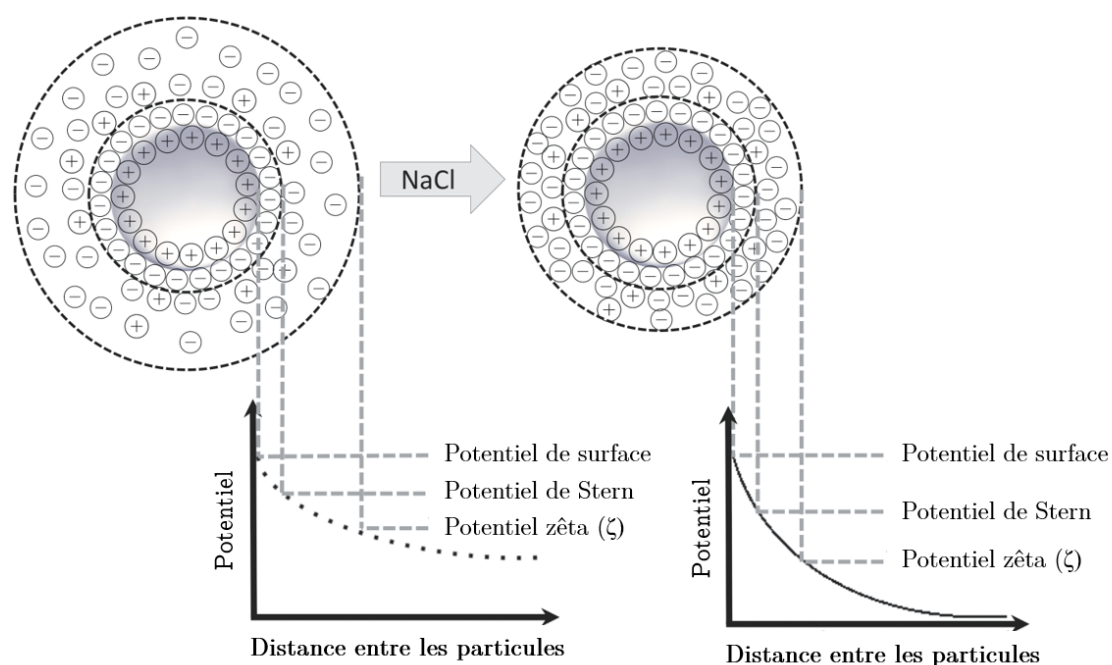


Figure 52 - Représentation schématique de l'influence de l'ajout de NaCl sur la double couche électrique et le potentiel zêta associé. Adapté de Gossmann et al. [286]

Il a été montré par de nombreux travaux que l'épaisseur de la double couche est très sensible à la concentration en électrolyte ; cette concentration exerce une influence majeure sur la couche de Stern ainsi que sur les forces en solution. Comme discuté précédemment (Chap 1), l'augmentation de taille avec la concentration en sel est cohérente avec les observations de Horozov et Binks [287] qui ont observé

que l'ajout de NaCl permettait d'obtenir des agrégats denses et stables de particules hydrophiles de silice. Des observations similaires ont été observées pour des apatites par divers auteurs : il a été montré que la présence de  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Na}^+$  dans la composition de l'électrolyte favorise l'agglomération des particules d'apatites (Wang et al. [288] et Chen et Elimelech [289], [290]).

De plus, Tham et al. [291] ont étudié l'influence d'ajout d'électrolytes ( $\text{KNO}_3$ ) sur la taille des particules d'HAp en fonction du pH : pour un  $\text{pH} \approx 7$ , ils ont observé une concentration critique d'aggrégation des particules d'HAp (Critical Concentration Flocculation, CFC) au-delà de laquelle la taille des agrégats est stabilisée, autour de 0,1 M  $\text{KNO}_3$  :

- ~ pour un  $\text{pH} < 9,5$  : l'aggrégation est liée à la compression de la couche de Stern.
- ~ pour un  $\text{pH} > 9,5$  : la taille des particules reste stable quelle que soit la concentration en électrolyte : les forces ioniques présentes en solution, liées au pH, prédominent au sein du milieu.

Dans cette thèse, l'étude étant menée à un pH proche de 7, les résultats (Figure 51) peuvent être interprétés comme ceux observés par Tham et al. [291] : l'ajout d'électrolytes entraîne une augmentation de la taille des agglomérats d'HAp liée à la compression de la couche de Stern. En effet, une diminution de la longueur de Debye a été observée de 9,5 nm ( $10^{-3}$  M) à 0,4 nm (0,5 M), puis une stabilisation est observée à partir de  $10^{-3}$  M en NaCl en solution correspondant à la CFC.

En complément, afin de valider la stabilité de ce système, des mesures de potentiel zêta ont été menées, pour caractériser la charge électrique au voisinage de la surface de la particule en fonction de son environnement.

## 2. Étude du potentiel zêta des particules d'HAp en milieu salin

Afin de connaître la charge des particules d'HAp en milieu aqueux et mieux comprendre les phénomènes d'agglomération due aux forces inter-particulaires, le potentiel zêta a été mesuré en fonction de la concentration en NaCl dans des suspensions à 0,7% en masse d'HAp (conditions demandées par l'appareil ZetaSizer, cf. Mesure du Potentiel zêta). Le pH a été mesuré avant puis après chaque mesure et reste stable entre 7,3 et 7,5.

L'effet de la concentration en électrolytes (NaCl) dans la solution aqueuse (0 à 0,25 M) sur le potentiel zêta des particules d'HAp peut être visualisé sur la Figure 53. Les mesures retenues sont les premières en raison de la sédimentation des particules en solution.

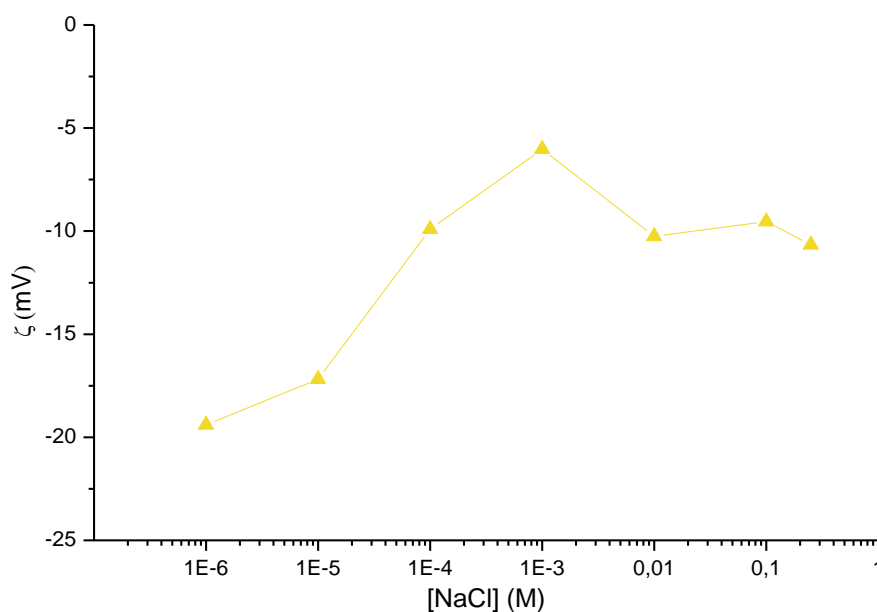


Figure 53 - Évolution du potentiel zêta en fonction de la concentration en NaCl (M) en milieu aqueux à  $7,3 < \text{pH} < 7,5$  à 0,7% de particules d'HAp

Les valeurs obtenues sont négatives, les particules sont donc chargées négativement. Cependant, la valeur du potentiel zêta évolue dès lors que du NaCl



est ajouté en solution (de -19,4 mV à  $10^{-6}$  M -9,9 mV à  $10^{-4}$  M). Par la suite, le potentiel zêta est pratiquement invariable dans la gamme de concentration en NaCl étudiée ( $\approx$  - 10 mV). Il est à noter que le potentiel zêta est très difficile à mesurer en milieu salin, lorsque la concentration de NaCl est trop importante ( $> 0,25$  M), il y a trop d'interférences pour que l'appareil puisse indiquer une valeur cohérente.

En général, l'augmentation de la valeur absolue du potentiel zêta améliore la répulsion électrostatique, qui correspond à une plus grande stabilité de la suspension des particules [292]. Les résultats de cette thèse sont en accord avec la littérature. Par exemple, Cherhal et al. [261] ont observé une augmentation du potentiel zêta lors de l'ajout de NaCl pour des nanocristaux de cellulose (NCC) dont le potentiel zêta est négatif sans électrolyte, et ces résultats sont attribués à l'adsorption des ions  $\text{Na}^+$  à la surface des particules chargées négativement. Divers auteurs ont étudié l'influence de la force ionique et de la composition en solution sur l'agrégation et le potentiel zêta de composés apatitiques en solution. Wang et al. [288] ont constaté que le potentiel zêta augmentait (diminution de la valeur absolue) quand la concentration en électrolyte augmentait. Ceci est été attribué par Elimelech et al. [285] et Tham et al. [291] à la compression de la double couche électrostatique (diminution de l'épaisseur de la double couche) avec l'augmentation de la force ionique [285]. La réduction de la double couche implique une diminution des forces de répulsion entre les particules. Selon la théorie DLVO, l'agrégation des particules se produit lorsque le potentiel de surface est suffisamment abaissé pour que les forces de Van der Waals dominent sur les autres forces. Ces résultats ont été mis en évidence en particulier sur des particules d'HAp par Tham et Chow précédemment cités [291] : une agglomération des particules d'HAp est observée avec une augmentation de la concentration en  $\text{KNO}_3$  associée à celle du potentiel

zêta, attribuée par les auteurs à la compression de la couche de Stern évoquée précédemment.

Dans cette thèse, dès les faibles concentrations en NaCl en solution, le potentiel zêta de l'HAp augmente (la valeur absolue diminue de 19 à 10 mV), ce qui peut être attribué à la diffusion des ions Na<sup>+</sup> en surface et une compression de la couche de Stern, qui induit une agglomération des particules. Puis le potentiel zêta reste constant à partir de 10<sup>-3</sup> M NaCl en solution, la taille des agglomérats se stabilise en accord avec les résultats précédents de diamètre moyen des particules qui atteint un palier vers 4500 nm ( $d_h$ ) à partir de 10<sup>-3</sup> M en NaCl.

Ces résultats peuvent être encore comparés avec d'autres données de la littérature, dont celles de Doostmohammadia et al. [293] qui ont mesuré le potentiel zêta d'une apatite issue d'un os bovin à différents pH. Le potentiel zêta obtenu à pH=7,4 et pour une concentration en NaCl de 0,154 M est de -9,25 mV, ce qui est similaire aux résultats mesurés dans cette étude. Par ailleurs, ces auteurs précisent qu'une apatite ayant un potentiel zêta négatif, dans les conditions citées précédemment, améliore l'activité cellulaire, ce qui est intéressant pour des applications biomédicales.

### 3. Influence de la concentration en particules d'HAp en suspension dans un milieu salin sur la distribution de taille des agglomérats mesurée par diffusion dynamique de la lumière (DDL)

Des essais complémentaires ont été réalisés à l'aide du Zetasizer en faisant varier la concentration de particules d'HAp ajoutées au milieu aqueux (de 45 à 150 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>eau</sub>) avec une concentration de NaCl fixée à 0,5M.

Deux mesures de taille ont été effectuées par DDL afin d'investiguer la stabilité et/ou réversibilité de l'agglomération :

- ~ Une première mesure a été réalisée à T0 dès que la poudre est insérée dans la solution saline afin de mesurer la taille des premiers agglomérats.
- ~ Les suspensions ont ensuite été maintenues au repos pendant 12h, ce qui a conduit à la sédimentation complète des agglomérats. Après nouvelle agitation manuelle et remise en suspension des agglomérats, une seconde mesure de taille a été réalisée dans les mêmes conditions (T12).

La Figure 54 rassemble les résultats obtenus : les mesures de taille à T0 et T12, ainsi que la différence entre ces deux mesures.

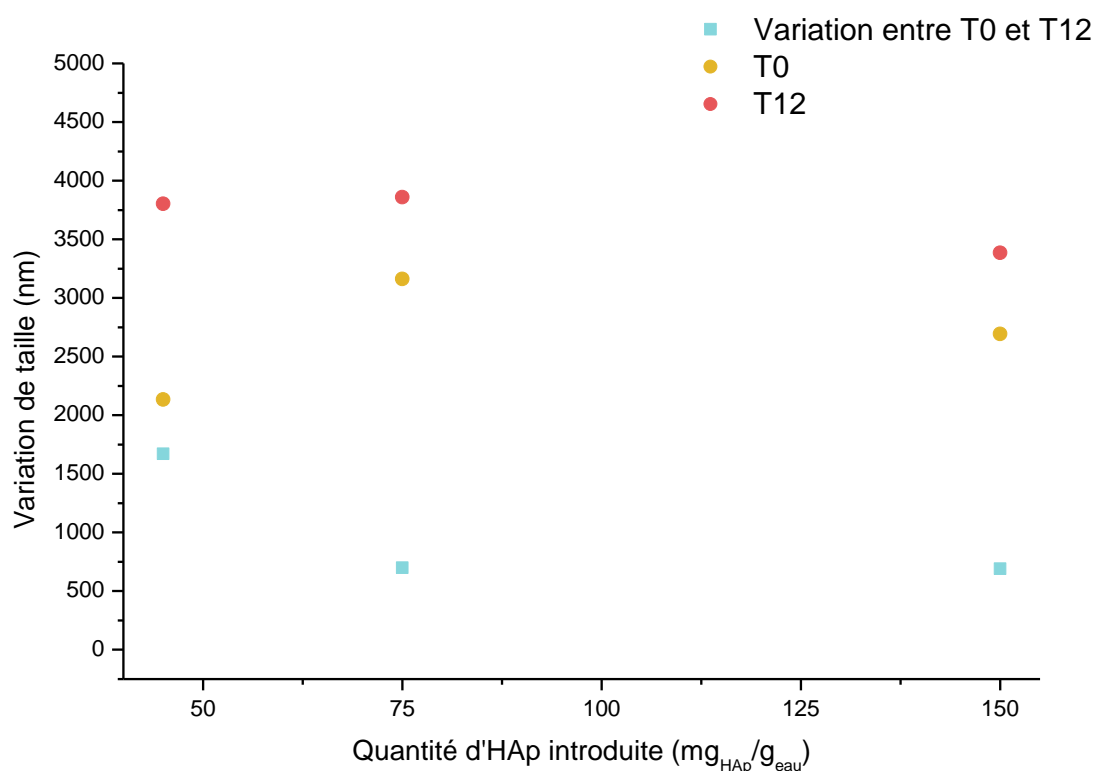


Figure 54 - Variation de la taille des particules en fonction de la quantité d'HAp introduite dans la solution saline (0,5M) en mg<sub>HAp</sub>/g<sub>eau</sub>

La taille des agglomérats à T0 augmente avec la concentration d'HAp en solution (environ de 2000 à 3000 nm dès 45 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>eau</sub>). De plus, après 12 heures de repos, cette taille reste stable entre 3300 et 4000 nm quelle que soit la concentration initiale en HAp. L'agglomération est donc favorisée par la concentration d'HAp : la taille des agglomérats atteint un palier autour de 3000-4000 nm dès 75 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>eau</sub>, et cette taille reste stable au cours du temps.

#### 4. Angle de contact à 3 phases

L'angle de contact est une mesure importante des émulsions de Pickering puisqu'elle permet de prévoir la position des particules à l'interface des gouttes. La mesure a été réalisée selon la méthode développée par Yan et Masliyah [272] à l'aide d'un Goniomètre DSA30 (cf. Mesure de l'angle de contact 3 phases). Ces mesures nécessitent la préparation de pastilles de particules solides avec des surfaces planes et lisses ou de faible rugosité. Une pastille d'HAp de 13 mm de diamètre a été préparée avec une presse manuelle (charge appliquée de 5 tonnes pendant 30 secondes), puis placée dans le compartiment de mesure. Du Miglyol 812 (phase huileuse choisie pour formuler les émulsions de Pickering) a été introduit dans ce compartiment afin de recouvrir largement la pastille. Enfin, une goutte de solution saline (0,5M de NaCl) a été déposée sur la pastille, puis la mesure d'angle de la goutte a été réalisée (cinétique d'étalement pendant les 15 premières secondes).

La Figure 55 présente un exemple de mesure de l'angle de contact à l'aide du logiciel de traitement d'analyse d'images d'une goutte de solution aqueuse à 0,5 M NaCl déposée à la surface d'une pastille d'HAp immergée dans le Miglyol 812.

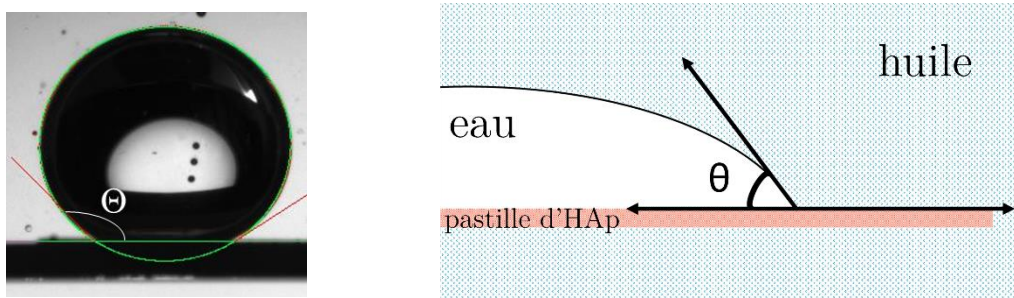


Figure 55 - Détermination de l'angle de contact à l'aide du logiciel associé au goniomètre DSA30 d'une goutte de solution saline (0,5M NaCl) déposée à la surface d'une pastille d'HAp immergée dans le Miglyol 812 (mesure à T0, lors de la dépose de la goutte sur la surface de la pastille) : image de la goutte (à gauche) et sa schématisation (à droite)

Comme il a été décrit dans la partie expérimentale (cf. Mesure de l'angle de contact 3 phases), les mesures de l'angle de contact à 3 composants correspondant au système Miglyol/HAp/eau (0,5M NaCl) ont été réalisées par des observations optiques des gouttes déposées sur la surface solide (pastille d'HAp). Cette mesure d'angle permet de prédire la nature de l'émulsion de Pickering générée par les particules d'HAp utilisées : huile dans eau (H/E) ou eau dans huile (E/H) (cf. Influence sur le type d'émulsion, [H/E] ou [E/H]).

La cinétique obtenue est représentée sur la Figure 56.

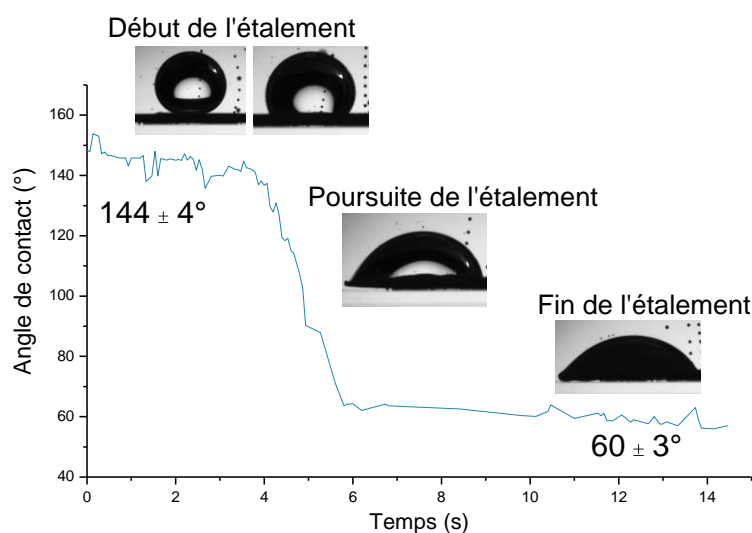


Figure 56 - Évolution de l'angle de contact à 3 phases au cours du temps correspondant au système : Miglyol/HAp/eau (0,5M NaCl) et réalisée à l'aide du logiciel de traitement d'images DSA sur une pastille d'HAp.

D'après la cinétique réalisée, l'angle de contact est supérieur à  $90^\circ$  ( $144 \pm 4^\circ$ ) à T0 puis en quelques secondes, la goutte est partiellement étalée sur la pastille, l'angle est alors inférieur à  $90^\circ$  ( $60 \pm 3^\circ$ ).

Cette cinétique d'évolution observée est due à une retenue de la goutte d'eau par la phase oléagineuse de quelques secondes avant d'arriver au contact de la pastille. Ainsi, la valeur de l'angle de contact retenue est de  $60 \pm 3^\circ$ , confirmant le caractère hydrophile de l'hydroxyapatite imprégnée de Miglyol 812 ( $\theta < 90^\circ$ ). On en conclut donc que les émulsions élaborées dans le cadre de ces travaux sont de type [H/E] [294].

## 5. Synthèse des résultats

Cette première partie du chapitre a abordé la synthèse et la caractérisation de l'apatite utilisée pour stabiliser les émulsions de Pickering qui seront étudiées dans la suite de ce manuscrit. Les résultats par spectroscopie infrarouge et par diffraction des RX montrent que la poudre est une hydroxyapatite stœchiométrique sans présence de phase étrangère, faiblement carbonatée et cristallisée. L'étude granulométrique en voie sèche ainsi que les observations par microscopie électronique témoignent que cette poudre se présente sous la forme d'agglomérats dont la taille est d'environ 2000- 3000 nm ( $d_{3/2}$ ). Comme abordé dans le chapitre 1, l'état d'agglomération des particules en solution saline joue un rôle important sur les propriétés et la stabilité des émulsions élaborées. Également, la mouillabilité de la poudre, définie par l'angle de contact mesuré à l'interface des deux phases composant l'émulsion (eau 0,5M NaCl et Miglyol 812), est un paramètre clé sur les propriétés de l'émulsion. Ces paramètres ont donc été étudiés.

On peut conclure de cette première partie que les émulsions de Pickering élaborées dans le cadre de cette thèse sont des émulsions de type H/E : elles sont constituées d'une phase continue composée d'une solution aqueuse contenant du NaCl, une phase dispersée huileuse de Miglyol, et d'agglomérats de particules solides d'HAp stœchiométrique faiblement cristallisée hydrophile à l'interface. L'ajout de NaCl dans la phase continue permet de diminuer les charges entre particules, favorisant et stabilisant l'agglomération des particules d'HAp. Du fait de la plus grande affinité de l'HAp pour l'eau, les particules seront donc préalablement immergées initialement dans la phase aqueuse et l'huile ajoutée dans un deuxième temps.

L'étude de l'influence de la salinité de la phase aqueuse sur l'agglomération des particules d'HAp sera aussi réalisée sur l'émulsion car les particules à l'interface ne sont pas soumises aux mêmes phénomènes. En effet, comme détaillé dans le chapitre 1, les interactions dipôle-dipôle interviennent pour les particules au contact de deux phases.

# Partie B. Émulsions stabilisées par des particules d'HAp : méthode d'élaboration et étude des paramètres de formulation

---

Cette partie aborde l'étude de l'élaboration des émulsions de Pickering stabilisées par les particules d'HAp synthétisées et analysées dans la première partie.

## **I. Formulation et méthode d'émulsification**

### **1. Formulation de l'émulsion**

Les composants de l'émulsion élaborée ont été choisis pour leur caractère biocompatible. L'émulsion est constituée d'une phase aqueuse (eau distillée) contenant du chlorure de sodium (NaCl), des particules d'HAp dont la synthèse a été décrite précédemment, et d'une phase huileuse : le Miglyol 812.

Le Miglyol 812 (Caelo ; Allemagne) est une huile composée d'un mélange de triglycérides de longueurs de chaînes carbonées  $C_8$  et  $C_{10}$ , communément appelée triglycérides à chaînes moyennes (TCM), contenant des chaînes d'acide caprylique ( $C_8$ ) à hauteur de 57,4% et d'acide caprique ( $C_{10}$ ) à hauteur de 42,4% :



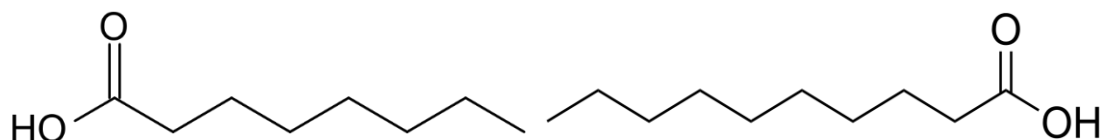


Figure 57 - Molécules d'acide caprylique (gauche) et d'acide caprique (droite)

Elle contient également des traces d'acides à chaînes plus ou moins longues, ainsi qu'une faible quantité d'acides gras.

Cette huile a été choisie pour sa composition chimique puisque des groupes carboxyles sont présents dans les acides capryliques et capriques, permettant une interaction avec les particules d'HAp pour stabiliser l'émulsion. En effet, comme présenté dans le Chapitre 1, Fujii et al. [260] ont montré que seules les émulsions stabilisées par des particules d'HAp contenant une huile avec un groupe ester ou carboxyle permettaient d'obtenir une émulsion [H/E] stable ; ils l'ont attribué à des interactions entre l'huile et le calcium présent à la surface de l'HAp. Par ailleurs, cette huile est décrite dans la Pharmacopée Européenne comme pouvant être utilisée pour administration parentérale [295]. En effet, c'est un excipient utilisé dans la formulation de nombreuses formes pharmaceutiques et qui n'a pas montré aucun effet indésirable nocif lors d'études de toxicité chronique chez l'animal après administration par voie parentérale [296]. Elle entre dans la composition de nombreux produits topiques [297], [298], ou de médicaments par voie orale [299], [300]. De ce fait, l'utilisation de cette huile apparaît comme adaptée dans le cadre de la fabrication d'un matériau pour des applications biomédicales.

## 2. Méthode d'émulsification

Les particules d'HAp (de 1 à 30 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub>) sont préalablement dispersées manuellement dans la phase aqueuse (eau distillée contenant du NaCl entre 0 et

1 M) ; puis le Miglyol 812 est ajouté dans le récipient (pots en polyéthylène de 30 mL ; de diamètre intérieur = 3,3 cm) en fixant le rapport massique huile/eau de [30/70] à [70/30] avant de procéder à l'émulsification. La formulation est tout d'abord brièvement agitée manuellement pour s'assurer que les particules d'HAp ne restent pas sédimentées dans le fond du récipient, puis le mélange est agité à l'aide d'un appareil de dispersion Ultra-Turrax® (T18, S18N-19G, IKA) à 13000 rpm pendant 5 min (conditions optimales pour l'obtention d'émulsions stables).

## II. Paramètres influençant les propriétés de l'émulsion

Les paramètres d'étude ont été :

- ~ La concentration saline en phase aqueuse
- ~ La fraction massique huile/eau
- ~ Le rapport « masse de particules d'HAp/ masse d'huile »

### 1. Influence de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse sur la taille des gouttes et la stabilité de l'émulsion

#### a) Étude de la taille des gouttes par microscopie optique

Comme déjà évoqué précédemment, le sel (NaCl) joue un rôle important sur la stabilité des émulsions classiques selon la théorie de DLVO. C'est aussi le cas pour les émulsions de Pickering, notamment lorsque les particules sont chargées

comme déjà démontré dans la littérature (cf. Interaction entre les particules). Ce paramètre a donc été étudié dans ce travail. Pour ce faire, plusieurs émulsions ont été réalisées avec les particules d'HAp en faisant varier la concentration en NaCl de la phase aqueuse de 0 à 1M.

Les paramètres de formulation fixés sont :

- ~ un rapport massique huile/eau de [70/30],
- ~ une quantité d'hydroxyapatite à 20 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub>.

Les émulsions formées ont été observées par microscopie optique selon la méthodologie décrite dans le chapitre 2 (Microscopie Optique).

La Figure 58 montre des images prises par microscopie optique des émulsions réalisées aux différentes concentrations en NaCl. Une augmentation du diamètre des gouttes est observée avec l'augmentation de la concentration en sel dans la phase aqueuse.

La Figure 59 montre l'évolution des diamètres moyens en surface ( $D_{3/2}$ ) des gouttes d'huile en fonction de la concentration en NaCl, calculés à partir des valeurs des diamètres moyens obtenus à l'aide des observations par microscopie optique sur un minimum de 100 gouttes d'émulsion (cf. Microscopie Optique).

La moyenne des tailles de gouttes a mis en évidence un  $D_{3/2}$  de  $25 \pm 7 \mu\text{m}$  pour une émulsion sans NaCl alors que ce diamètre augmente avec l'ajout de NaCl. Le diamètre obtenu à 0,25 M NaCl est de  $180 \pm 30 \mu\text{m}$ , puis atteint un palier à partir de 0,5 M autour de  $210 \pm 30 \mu\text{m}$ . Ces gouttes d'huile deviennent observables à l'œil nu à partir de 0,25 M.

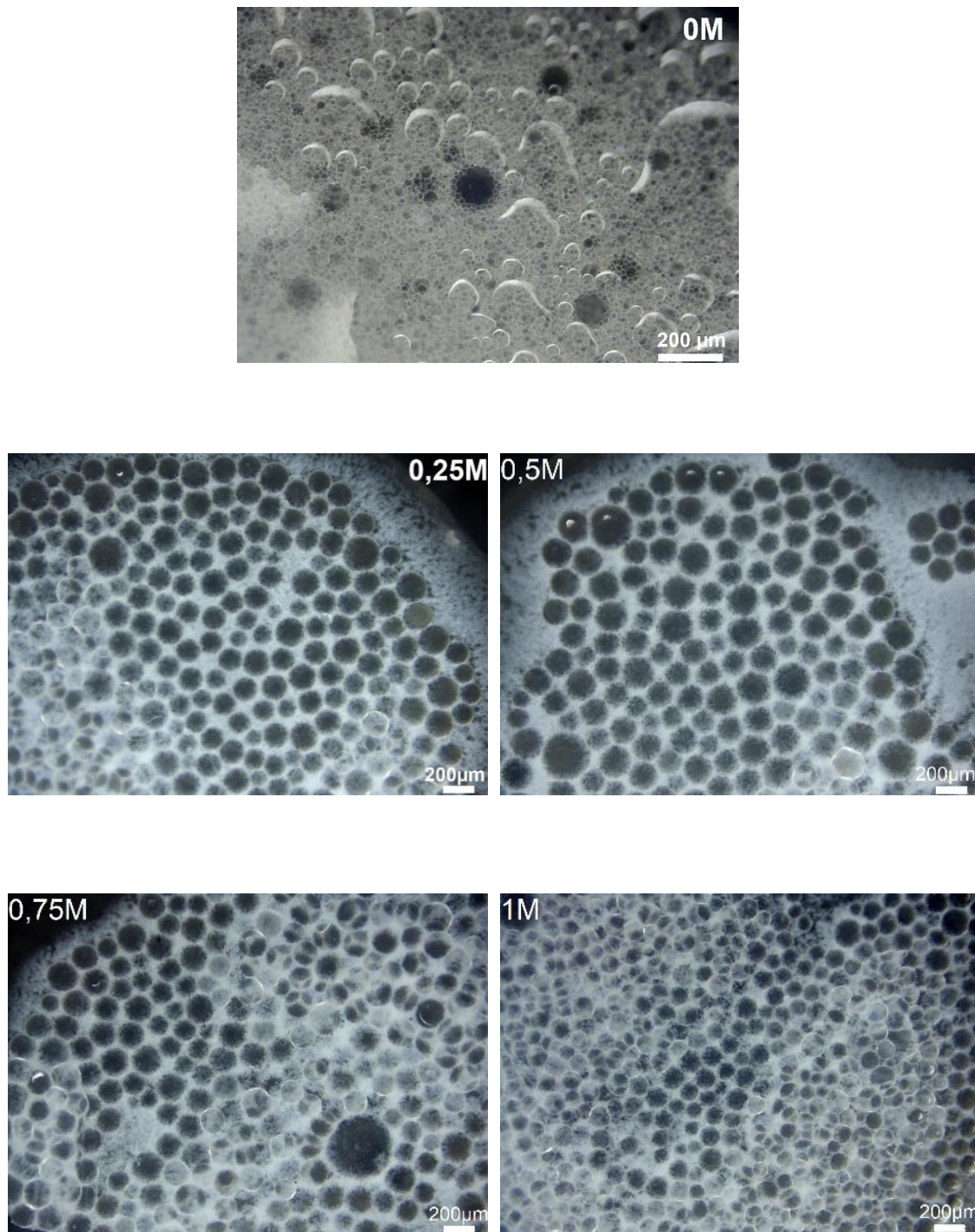


Figure 58 - Observations au microscope optique des émulsions en fonction de la concentration en NaCl (de 0M 1M) dans la phase aqueuse ( $[H/E]=[70/30]$  -  $20 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ )

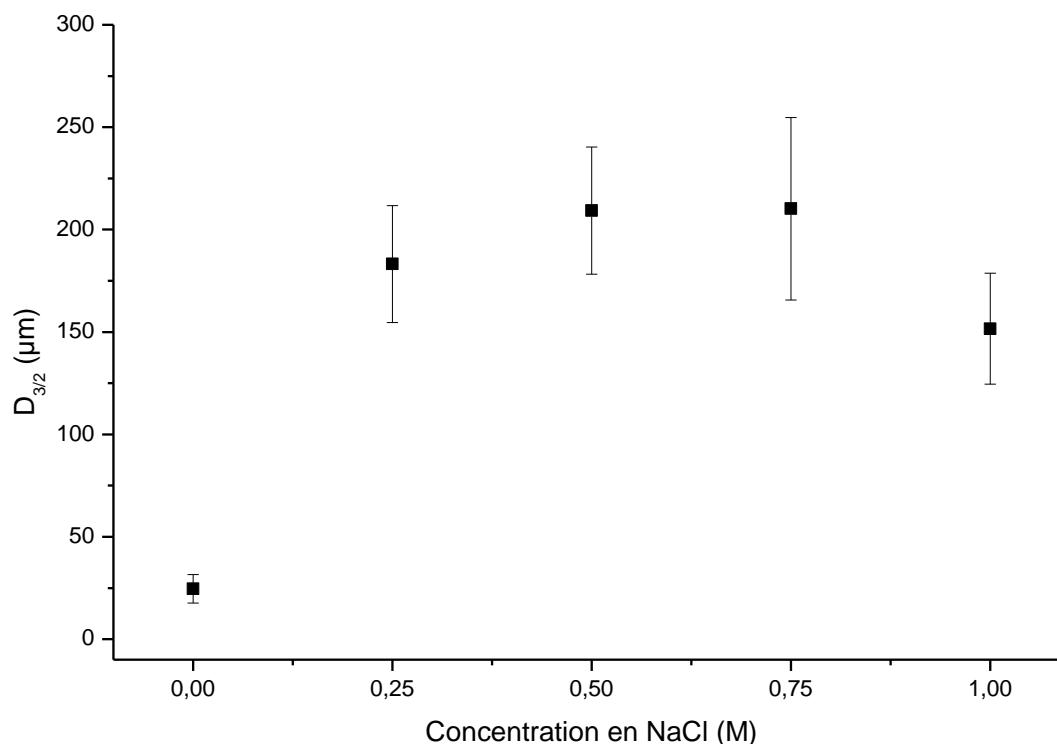


Figure 59 - Évolution du diamètre des gouttes ( $D_{3/2}$ ) en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse (émulsions avec une fraction massique huile/eau de [70/30] ;  $20 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ).  $D_{3/2}$  calculé à partir des observations par microscopie optique

### b) Étude de la stabilité de l'émulsion

Cette étude a été réalisée sur plusieurs émulsions en faisant varier la concentration en NaCl dans la phase aqueuse (0 M à 1 M). Les paramètres de formulation fixés sont :

- ~ un rapport massique huile/eau [H/E] de [75/25],
- ~ une quantité d'hydroxyapatite à  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ .

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un analyseur optique (Turbiscan Lab Expert) (cf. Analyseur optique (Turbiscan Lab Expert)) sur chaque émulsion après 30 min de repos (J0) et à 70 jours après leur préparation (J70). Chaque analyse dure 10 min, avec une mesure réalisée toutes les 25 secondes. Entre J0 et J70, les

émulsions ont été conservées à l'abri de la lumière et à température ambiante. La photographie des émulsions (dans des récipients en verre adaptés à l'appareil) est présentée sur la Figure 60, prises 30 minutes après préparation des émulsions (J0).



Figure 60 - Émulsions (rapport massique huile/eau [75/25] ;  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ) réalisées à différentes concentrations en NaCl dans la phase aqueuse (0M à 1M) à J0

i. Introduction à l'étude de stabilité

Dans un premier temps, un exemple d'étude de stabilité menée à l'aide du Turbiscan sera détaillé. Les résultats sont exprimés par le signal rétrodiffusé (%R), le signal transmis (%T) et leur graphique associé en « Mode Delta » ( $\Delta R$  et  $\Delta T$ , cf. Analyseur optique (Turbiscan Lab Expert)). Le signal transmis met en évidence les zones transparentes (les zones qui ne contiennent que la phase aqueuse ou huile, donc non émulsifiées), le signal rétrodiffusé permet d'observer les zones qui ne laissent pas passer la lumière (zones émulsifiées).

Les résultats obtenus avec le Turbiscan pour l'émulsion avec un rapport massique huile/eau de [75/25],  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  avec 0,5 M NaCl dans la phase aqueuse sont présentés sur la Figure 61 : la hauteur de l'échantillon (en millimètres)

en fonction du signal rétrodiffusé (%) (Figure 61.A) ou du signal transmis (%) (Figure 61.B).

Chaque courbe en couleur correspond à un temps d'analyse :

- ~ une échelle de couleur bleue et jaune représente l'évolution sur les 10 premières minutes à J0 (30 minutes après émulsification) : la couleur bleue montre l'évolution des 5 premières minutes, puis la couleur jaune, les 5 minutes suivantes.
- ~ une échelle de couleur verte à rouge représente l'évolution sur 10 minutes à J70 (70 jours après émulsification) : la couleur verte montre l'évolution des 5 premières minutes, puis la couleur rouge, les 5 minutes suivantes.

Une évolution de l'échantillon est observée selon 3 zones sur la hauteur de l'échantillon :

- ~ **Zone 1** : Au bas des graphiques, entre 0 et 2 mm : un pic de signal rétrodiffusé est observé (Figure 61-A) alors que le signal transmis dans cette zone est à 0% quel que soit le temps considéré (J0 et J70). Ce résultat correspond à la présence d'une couche diffusant la lumière, attribuée à la poudre sédimentée au fond du récipient observable à l'œil nu. Il est à noter que l'évolution du signal sur les 10 minutes de mesures est stable (qu'elles soient prises à J0 ou à J70). De plus, ce pic rétrodiffusé augmente entre J0 (environ 12%) et J70 (environ 30%) mais sans affecter la zone de mesure (de 0 à 2 mm) ; cela signifie que les particules d'HAp sédimentent avec le temps et la couche se densifie entre J0 et J70.

- ~ **Zone 2** : Entre 2 et 4 mm au-dessus de la zone 1 : on observe pour J0 une diminution du signal rétrodiffusé par rapport à la zone 1 (vers 5%) et une augmentation du signal transmis (de 20 à 78% pendant les 10 min de l'analyse). Cela correspond à une zone clarifiée de 2 à 2,5 mm, qui témoigne d'un léger déphasage de la phase aqueuse. Cependant, le signal transmis n'étant pas à 100%, des particules d'HAp sont présentes dans cette zone à J0. Pour J70, cette zone augmente jusqu'à 4 mm donc le déphasage s'étend avec le temps. Le signal transmis augmente jusqu'à 95% à J70, les particules présentes à J0 ont sédimenté dans la zone 1, la zone 2 s'éclaircit.
- ~ **Zone 3** : Entre 4 et 41 mm : le signal transmis est à 0% sur toute cette hauteur à J0, la zone 3 étant la phase supérieure émulsifiée. Le signal rétrodiffusé d'environ 20% à J0 est stable. À J70, le signal reste le même avec une légère baisse entre 5 et 10 mm attribuable à une réorganisation des gouttes sur la hauteur, avec le temps, liée à leur taille. Dans cette zone, l'émulsion de Pickering est « stable », mais pas parfaitement homogène (non-homogénéité des tailles de gouttes) car le signal n'est pas complètement plat sur toute la hauteur de la zone.



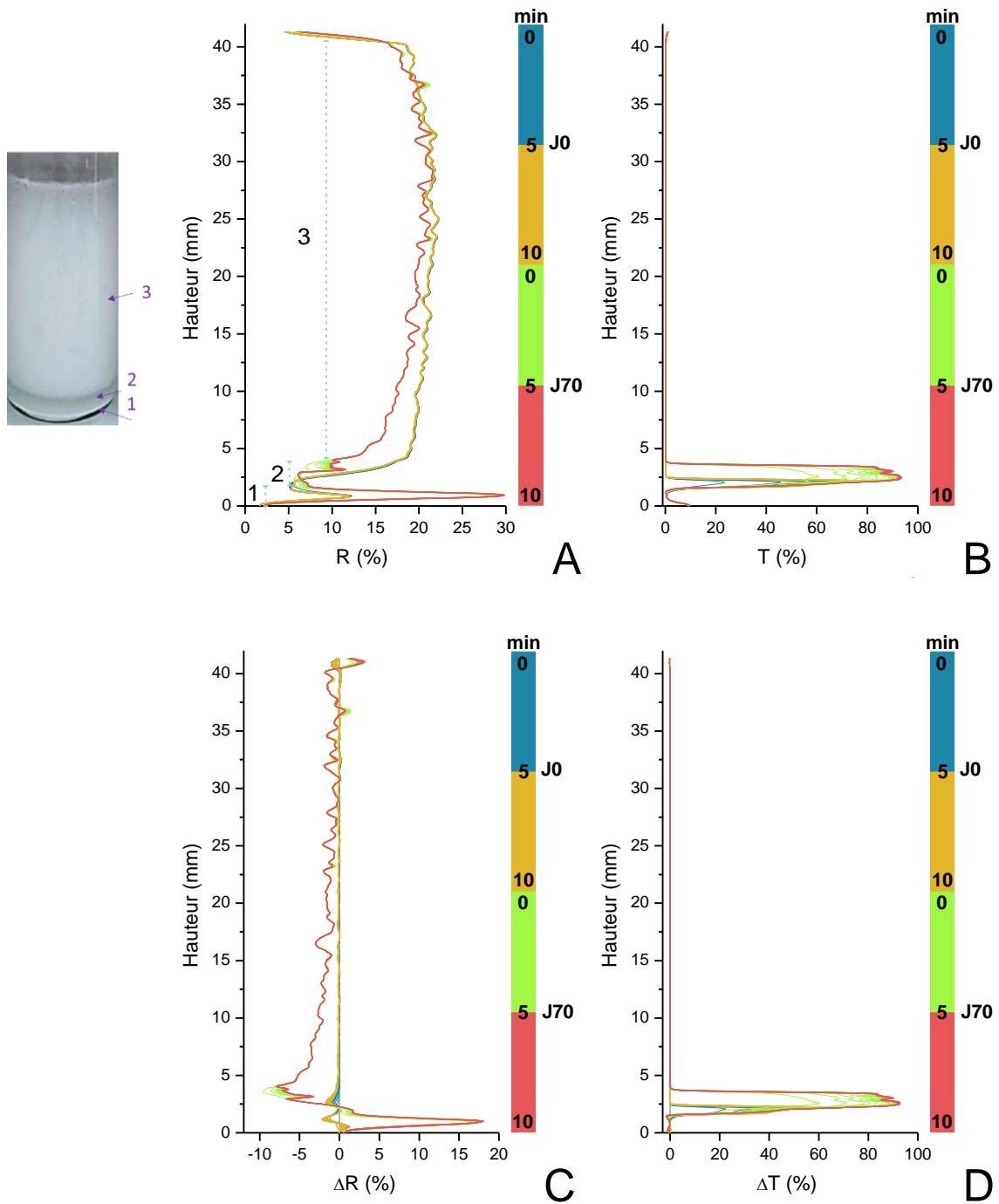


Figure 61 - Variation du signal en transmission et en rétrodiffusion en fonction du temps et de la hauteur totale du tube en mm (émulsion avec ratio massique huile/eau [75/25], 10 mg<sub>HAP</sub>/g<sub>Miglyvol</sub> et 0,5M NaCl) à 25°C, à 0 et 70 jours d'intervalles (J0 et J70) en fonction de différents signaux : A - Évolution de R (%) : % en Rétrodiffusion ; B - Évolution de T (%) : % en Transmission ; C - Évolution de ΔR (%) : mode Δ en Rétrodiffusion ; D - Évolution de ΔT (%) : mode Δ en Transmission

Les Figure 61.C et Figure 61.D présentent les variations de signaux transmis et rétrodiffusés, aussi appelé « Mode Delta », c'est-à-dire que la première mesure faite à J0 devient la mesure de référence et elle est soustraite à toutes les autres (pour les mesures faites à J0 et celles faites à J70). Le mode Delta permet de mettre en avant les variations du signal, et non les valeurs brutes, et ainsi d'observer les phénomènes de déstabilisation avec le temps.

Dans le cas des émulsions étudiées, la partie émulsifiée étant de couleur blanche à l'œil nu, le graphique permettant d'obtenir le plus d'informations sur sa stabilité est alors le graphe rétrodiffusé en mode delta. Ce graphe sera donc présenté préférentiellement dans la suite de ce chapitre pour l'analyse des résultats obtenus avec le Turbiscan.

ii. Évolution de la stabilité des émulsions en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse

Les Figure 62 et Figure 63 présentent les profils en mode Delta du signal rétrodiffusé  $\Delta R$  (%) (profil à J0 soustrait aux autres) pour les émulsions de Pickering formulées avec les différentes concentrations de NaCl dans la phase aqueuse (0 à 1 M).

L'émulsion ne contenant pas de sel (Figure 62) présente une instabilité dès la première mesure (J0) avec une diminution du signal rétrodiffusé plus intense (2% de diminution pour  $\Delta R$  entre le bleu et le jaune) comparée aux autres émulsions contenant du sel dans la phase aqueuse (<0,5%) qui sont donc plus stables à J0. À J70, les émulsions ont évolué :

~ Sans présence de sel dans la phase aqueuse, le signal rétrodiffusé a chuté ( $\Delta R$  à -35%), donc l'émulsion est instable sur la période étudiée.

~ Lorsque l'émulsion contient du sel, on note un profil très similaire pour toutes les concentrations (0,25 M à 1 M NaCl - Figure 63) : une légère diminution du signal rétrodiffusé (légèrement plus importante pour la concentration à 0,25 M NaCl) mise en évidence sur les graphes par une flèche pleine, d'autant plus importante que la concentration en NaCl est faible ( $\Delta R\%$  entre -10 et -2,5%), donc la présence de sel stabilise l'émulsion à J70. Par ailleurs, une légère augmentation du signal, en bas du tube, associée à une baisse du signal en haut du tube (flèches pointillées) sont le signe d'une légère sédimentation des particules.

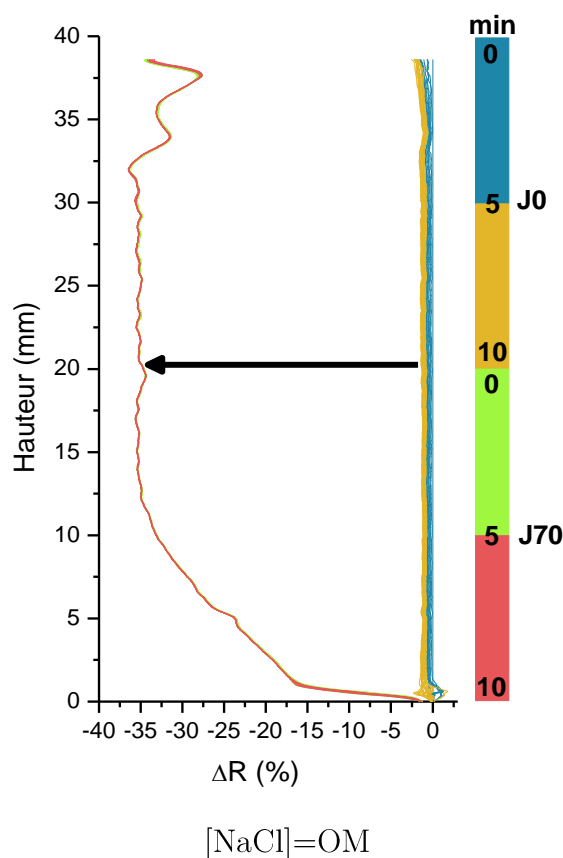


Figure 62 - Évolution de  $\Delta R$  (%) en fonction du temps et de la hauteur totale du tube (mm) pour une concentration de NaCl de 0 M (émulsion avec un ratio massique [75/25], 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> à 25°C)

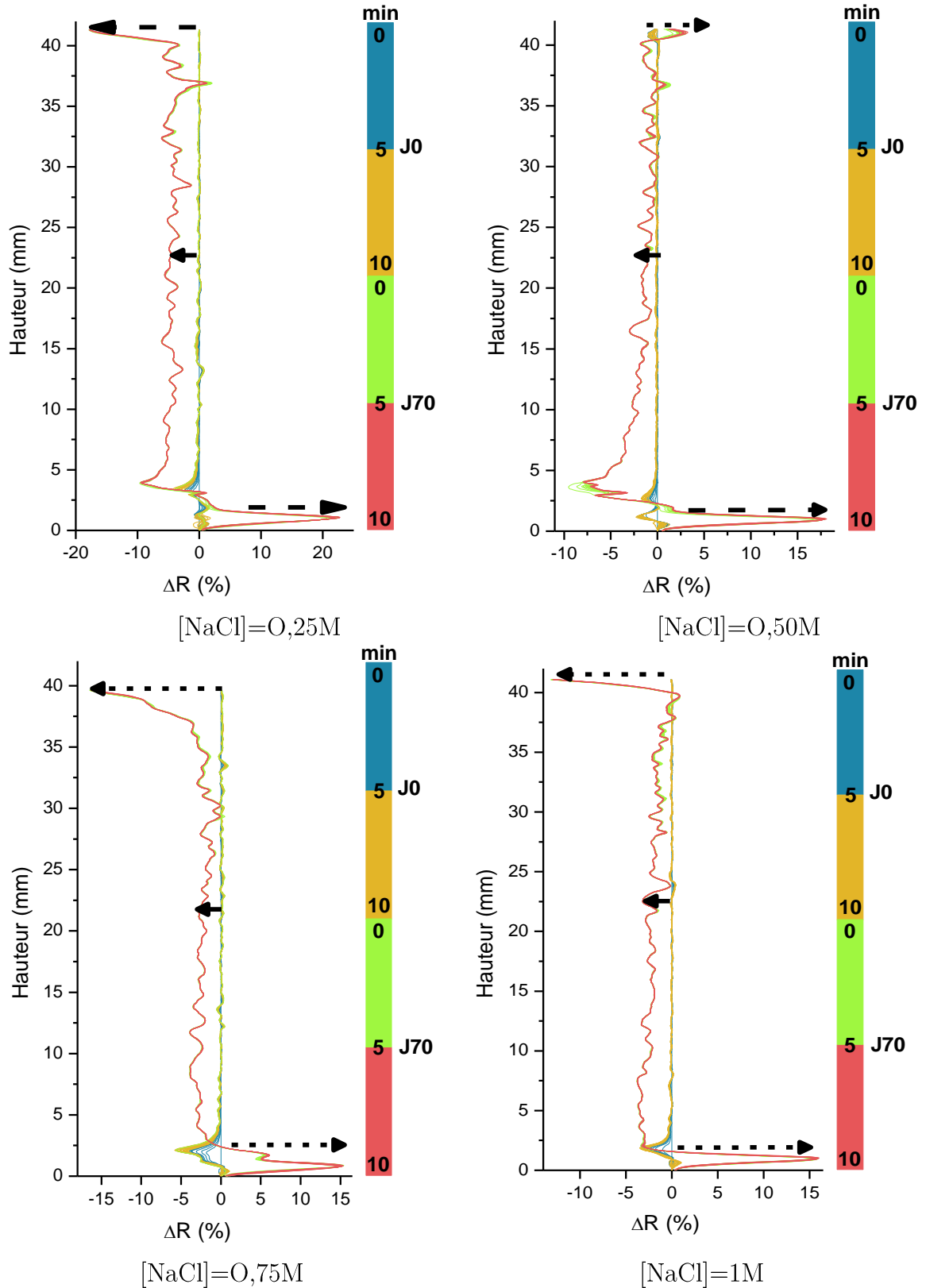


Figure 63 - Évolution de  $\Delta R$  (%) en fonction du temps et de la hauteur totale du tube (mm) pour une concentration de NaCl variant de 0,25M à 1M (émulsion avec un ratio massique huile/eau [75/25], 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> à 25°C)

iii. Évolution du TSI (Turbiscan Stability Index) en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse :

Une mesure proposée par le logiciel du Turbiscan est liée à la stabilité de l'émulsion, il s'agit du Turbiscan Stability Index (TSI). La formule est détaillée dans le chapitre 2 (119).

La Figure 64 montre l'évolution du TSI en fonction du temps calculé à J0, c'est-à-dire, sur 10 minutes après 30 minutes de l'émulsification. Le TSI a été calculé uniquement sur la partie centrale de l'échantillon (entre 32% et 62% de la hauteur totale du tube) pour ne considérer que l'évolution des gouttes dans la partie émulsifiée. Il met en évidence les phénomènes de déstabilisation auxquels peuvent être soumises les émulsions avec le temps : plus le TSI est grand, moins l'émulsion est stable (sédimentation, crémage, floculation ou coalescence). On note que l'émulsion sans NaCl présente une augmentation croissante du TSI (0 à 1,4), donc cette émulsion est instable dès les premières minutes. Sur le même intervalle de mesure, l'évolution du TSI est très faible pour les émulsions contenant du NaCl avec un TSI < 0,3 (d'autant plus faible que la concentration en NaCl est élevée). Dès que la phase aqueuse contient du NaCl, l'émulsion se montre donc plus stable.

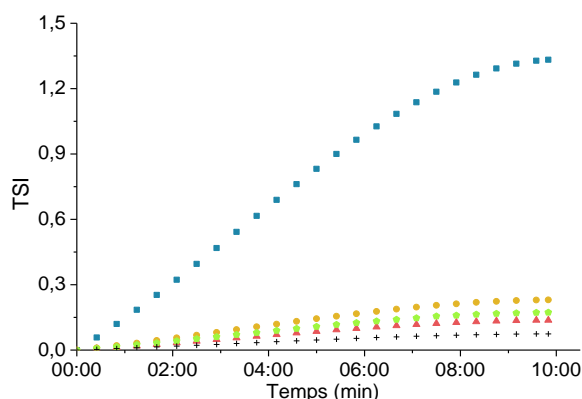


Figure 64 - Évolution du TSI sur 10 minutes pour une émulsion avec une fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg<sub>HAP</sub>/g<sub>Miglyol</sub> réalisée à J0 (30 minutes après émulsification), en fonction de la concentration en NaCl dans la phase aqueuse (■ 0M ; ● 0,25M ; ▲ 0,5M ; ◆ 0,75M ; + 1M)

Le même calcul a été réalisé pour toutes les émulsions à J70 sur 10 minutes (mesure toutes les 25 secondes comme expliqué précédemment). Les valeurs sont restées invariables sur cette période d'analyse. Le Tableau 15 permet une comparaison entre les valeurs de TSI à J0 (à la fin des 10 minutes d'analyse, soit 40 minutes de l'émulsification) et les valeurs à J70.

Le TSI élevé (35) observé pour l'émulsion sans NaCl permet de confirmer la forte instabilité de cet échantillon. La présence de NaCl dans la phase aqueuse induit une chute du TSI (de 4,6 à 1,4 pour des concentrations en NaCl de 0,25 à 0,5M), donc les émulsions sont plus stables. On remarque que la concentration optimale par rapport à la stabilité des gouttes est l'émulsion à 0,5M NaCl puisque son TSI est le plus faible.

Concentration NaCl en phase aqueuse (M)	TSI à JO	TSI à J70
Sans sel	1,33	35,0
0,25	0,23	4,6
<b>0,50</b>	<b>0,14</b>	<b>1,4</b>
0,75	0,17	2,6
1,0	0,07	2,2

Tableau 15 - TSI à JO et J70 pour une émulsion avec une fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> et différentes concentrations en NaCl dans la phase aqueuse

### c) Conclusion

Ces premiers essais ont permis dans un premier temps de confirmer que la présence de NaCl est essentielle dans la préparation/formulation pour obtenir des gouttes de Miglyol stabilisées dans une émulsion de Pickering par des particules d'HAp dont la taille correspond à l'application visée. En effet, d'une part, la concentration en NaCl exerce une influence importante sur le diamètre de goutte obtenu. Sans NaCl, la taille moyenne de goutte est largement inférieure ( $d_{3/2} \approx 25 \mu\text{m}$ )

aux émulsions contenant du NaCl qui, quelle que soit la concentration, présentent une taille moyenne de goutte similaire : dès 0,25 M, un palier à environ 200  $\mu\text{m}$  est obtenu pour le diamètre des gouttes.

D'autre part, les résultats montrent que la concentration en NaCl a une influence sur la stabilité de l'émulsion. L'émulsion ne contenant pas de NaCl n'est pas stable au cours du temps. Toutes les émulsions contenant du NaCl sont stables dans les gammes de concentration et de temps étudiées.

Dans la suite de ces travaux, une concentration en NaCl de 0,5M sera fixée dans la phase aqueuse car la taille moyenne de goutte et la stabilité de l'émulsion à 0,5 M sont les plus adaptées par rapport à l'application visée.

## 2. Influence de la fraction massique huile/eau sur la taille de gouttes et la stabilité de l'émulsion

Cette étude de stabilité à J0 et à J70 a été réalisée à l'aide de l'appareil Turbiscan sur plusieurs émulsions en faisant varier la fraction massique huile/eau : [30/70], [40/60], [50/50], [40/60], [70/30], [75/25] et [80/20]. Les paramètres de formulation fixés sont:

- ~ une quantité d'hydroxyapatite à 10  $\text{mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ .
- ~ une concentration de NaCl dans la phase aqueuse à 0,5 M.

Les Figure 65 et Figure 66 montrent les différentes émulsions étudiées, à J0 et à J70, respectivement. On note que, quelle que soit la fraction massique huile/eau, une partie émulsifiée est visible à J0 et à J70. Le déphasage de la phase aqueuse est visible à l'œil nu pour les émulsions les plus concentrées en eau ([30/70] à [60/40]), démontrant qu'il est nécessaire d'avoir une concentration maximale de

30% en eau ([70/30]), pour obtenir une émulsion entièrement émulsifiée (sur toute la hauteur). Ces résultats sont similaires à J0 (Figure 65) et à J70 (Figure 66).

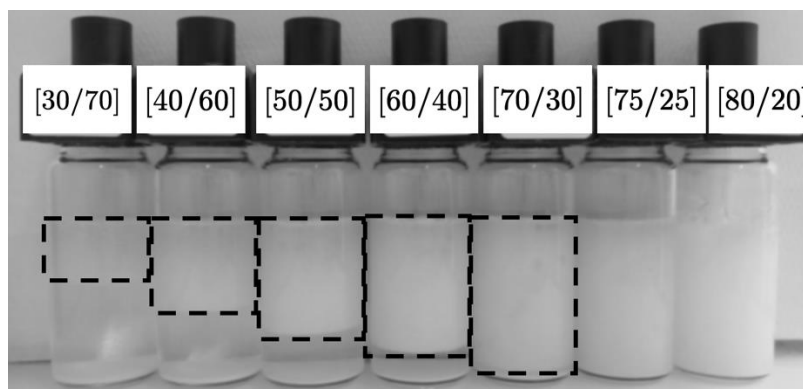


Figure 65 - Photo à J0 d'émulsions réalisées à différentes fraction massiques huile/eau variant de [30/70] à [80/20] -  $[NaCl]=0,5M$  - HAp à  $10\text{ mg}_{HAp}/\text{g}_{Miglyol}$



Figure 66 - Photo à J70 d'émulsions réalisées à différentes fraction massiques huile/eau variant de [30/70] à [80/20] -  $[NaCl]=0,5M$  - HAp à  $10\text{ mg}_{HAp}/\text{g}_{Miglyol}$

La Figure 68 regroupe les différentes représentations graphiques des données générées par le Turbiscan pour l'émulsion contenant une fraction massique huile/eau [30/70]. Cette émulsion contient la plus grande quantité de phase aqueuse étudiée. Il s'agit d'une émulsion dont un déphasage a été observé à l'œil nu (voir Figure 65 et Figure 66). Les graphes en transmission (Figure 68.B et Figure 68.D) permettent de délimiter le front visible entre la zone émulsifiée et la zone déphasée de la partie aqueuse de l'émulsion (partie transparente). Dès lors que la valeur en



transmission est nulle, on considère que l'on est dans la partie émulsifiée de la formulation.

On observe sur les graphes en rétrodiffusion et transmission (Figure 67.A et Figure 67.B, respectivement) que :

- ~ le signal en transmission à J0 est à 0% sur la partie supérieure (au-dessus de 24 mm) et le signal en rétrodiffusion est à 10-15% ce qui correspond à la phase émulsifiée.
- ~ entre 1,5 et 24 mm, le signal en transmission est de 75-80%, ce qui correspond à une phase transparente donc une phase aqueuse (non-émulsifiée). De plus, le signal en rétrodiffusion est de 10-15% ce qui indique la présence de particules d'HAp.
- ~ entre 0 et 1,5 mm, le signal en transmission chute à 0% et augmente en rétrodiffusion à 45%, significatif d'une couche de sédiments d'HAp.

On observe entre J0 et J70 des phénomènes particulièrement visibles sur les graphes en  $\Delta R$  et  $\Delta T$  (Figure 68.C et Figure 68.D, respectivement). Ces phénomènes sont numérotés sur chaque graphe et sont associés à :

- ~ Une sédimentation des particules au cours du temps :

Comme dit précédemment, la couche de sédiment est visible (notée 1) sur le graphe en  $\Delta T$ . Entre J0 et J70, on observe un pic du signal  $\Delta R$  (noté 2 sur le graphe  $\Delta R$ ) : le sédiment augmente en densité au cours du temps, mais pas en hauteur. Une perte de signal est visible en haut du tube (numéro 5) qui peut être due au mouvement des particules qui sédimentent.

~ Une augmentation de la phase émulsifiée avec le temps :

On remarque sur le graphe en  $\Delta T$  (Figure 68) un large pic de 1,5 mm, noté 3 sur le graphique, attribuable à une augmentation de la phase émulsifiée (de 23,5 mm à 22 mm entre J0 et J70). Ce phénomène est aussi repérable sur le graphe en  $\Delta R$  par le pic numéro 4.

~ Une diminution de la phase aqueuse :

De la même façon, la phase aqueuse diminue. On observe une augmentation de  $\Delta T$  dans la phase aqueuse liée à la sédimentation des particules. Par ailleurs, la diminution du signal rétrodiffusé en haut du tube (numéro 5) peut être attribuée à un crémage.

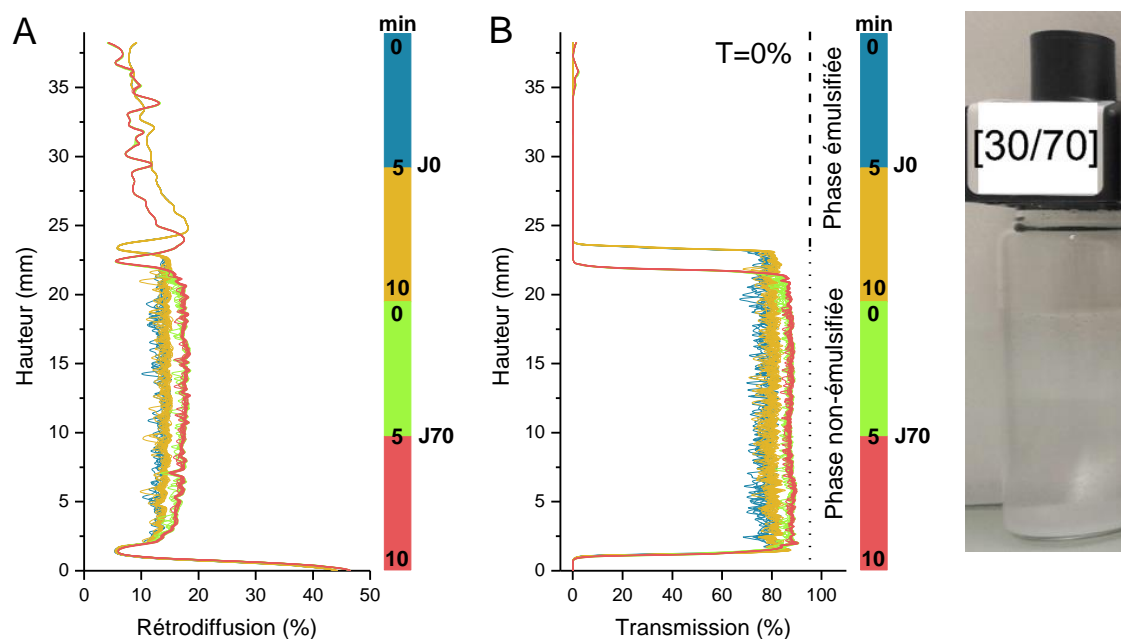


Figure 67 - Pourcentage de rétrodiffusion et transmission (A et B) sur la hauteur de l'échantillon avec photo de l'échantillon concerné – émulsion avec fraction massique huile/eau [30/70],  $[NaCl]=0,5M$  et  $10 \text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$

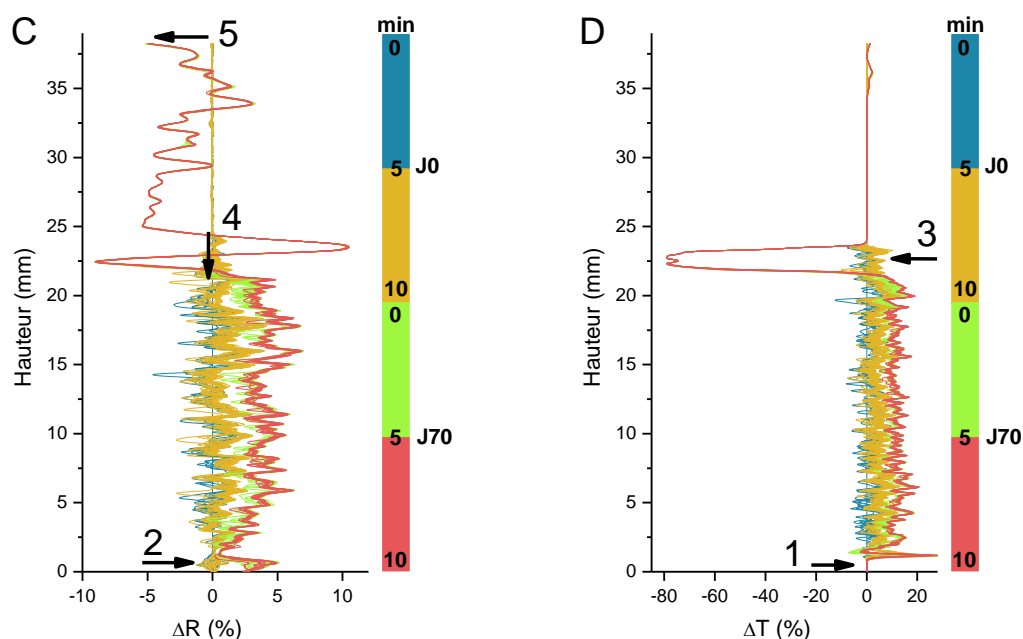


Figure 68 – Pourcentage de  $\Delta$  rétrodiffusion et  $\Delta$  transmission (C et D) sur la hauteur de l'échantillon avec photo de l'échantillon concerné – émulsion avec fraction massique huile/eau [30/70],  $[\text{NaCl}]=0,5\text{M}$  et  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$

Dans un premier temps, les émulsions ayant une quantité de phase dispersée croissante soit une fraction massique huile/eau de [30/70] à [60/40], ont été observées. Les graphes des émulsions avec une fraction massique huile/eau de [40/60], [50/50] et [60/40] ont des profils très similaires à ceux de l'émulsion avec fraction massique huile/eau de [30/70] et ne seront pas détaillés ici. Ils se trouvent en annexe 1, représentés en mode de variation des signaux ( $\Delta$ ) (cf. Graphiques des pourcentages de  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour des émulsions à  $[\text{NaCl}]=0,5\text{M}$  et  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et 5 fractions massiques différentes).

Les graphiques pour l'émulsion avec une fraction massique huile/eau de [70/30] sont présentés sur la Figure 69. Là encore, les profils sont similaires à ceux des émulsions moins concentrées en phase aqueuse puisque les phénomènes décrits précédemment se produisent sur chacune des émulsions, en revanche ils n'ont pas lieu à la même hauteur de l'échantillon au vu de la variation de la phase émulsifiée.

On remarque que plus la formulation de l'émulsion contient d'huile, plus la phase émulsifiée est importante et plus elle est stable.

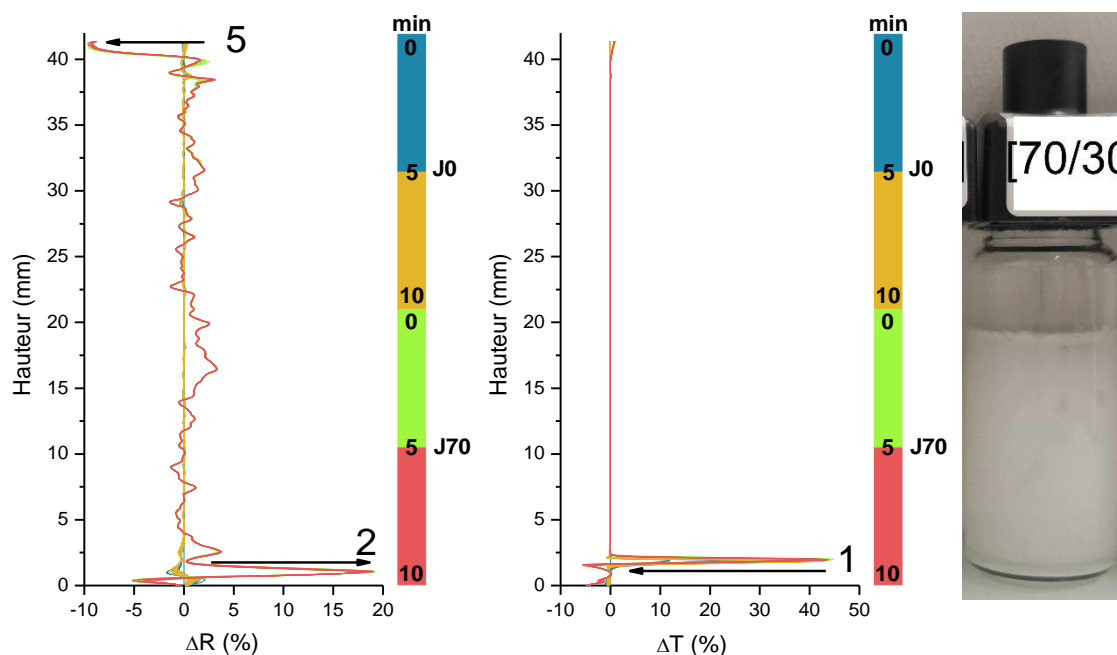


Figure 69 - Pourcentage de rétrodiffusion (A) et transmission (B) sur la hauteur de l'échantillon avec photo de l'échantillon concerné – émulsion avec fraction massique huile/eau [70/30],  $[NaCl]=0,5M$  et  $10 \text{ mg}_{HAp}/\text{g}_{Miglyol}$

Les graphiques  $\Delta R$  obtenus pour les émulsions avec fractions massiques huile/eau de [75/25] et [80/20] (Annexe 1) ont confirmé qu'une fraction massique huile/eau égale ou supérieure à [70/30] conduit à des émulsions stables : il n'y a pas de différence de signal entre J0 et J70 ; cependant, on observe toujours un léger crémage (numéro 5) et une couche de sédiment (numéro 1).

La Figure 70 montre l'évolution, entre J0 et J70, du diamètre de goutte estimé par le Turbiscan en fonction de la fraction massique huile/eau des émulsions. Ce diamètre correspond au diamètre de sphère équivalent moyen (cf. Analyseur optique (Turbiscan Lab Expert) calculé uniquement sur les zones émulsifiées.

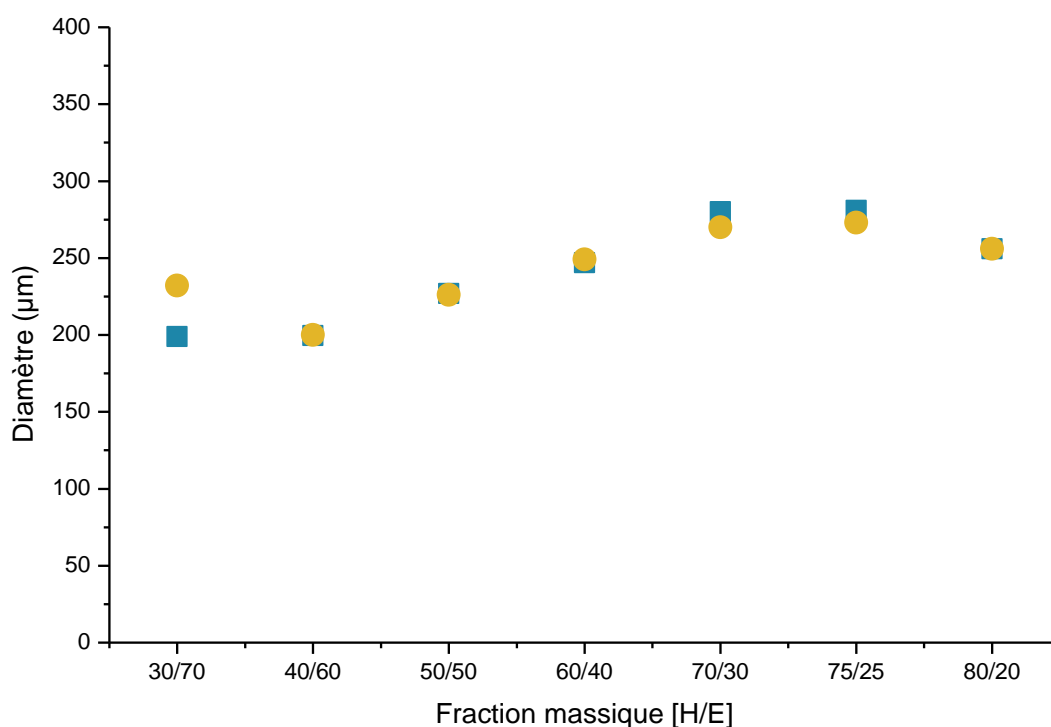


Figure 70 - Évolution du diamètre de goutte estimé par Turbiscan dans la partie émulsifiée en fonction du ratio massique [H/E] de [30/70] à [80/20] pour une quantité d'HAp à  $10 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et une  $[\text{NaCl}]$  de  $0,5\text{M}$  (■ J0 ; ● J70). Les mesures devraient être tripliquées afin d'obtenir des résultats significatifs.

La Figure 70 montre qu'à J0, l'émulsion ayant une fraction massique huile/eau [30/70] présente une taille de goutte d'environ  $200 \mu\text{m}$  qui augmente en fonction de la teneur en huile pour atteindre un palier autour de  $250 \mu\text{m}$  à partir de 70% d'huile (fraction massique huile/eau de 70/30). L'évolution de la taille de goutte sur une durée de 70 jours est en accord avec l'étude de stabilité des émulsions précédemment décrites. Entre J0 et J70, seule l'émulsion ayant une fraction massique huile/eau [30/70] évolue : une augmentation de taille d'environ  $40 \mu\text{m}$  est observée, elle peut être due à une floculation ou une coalescence des gouttes ce qui est en accord avec le phénomène observé précédemment. Les autres ratios massiques

ne montrent pas d'évolution de taille de gouttes, ce sont donc des émulsions plus stables.

a) Évolution du TSI

L'évolution du TSI de ces émulsions en fonction du temps est présentée sur la Figure 71. Dans un premier temps, le TSI a été mesuré sur les émulsions à J0 (30 minutes après émulsification), sur toute la hauteur de l'échantillon afin de prendre en compte tous les phénomènes de déstabilisation (Figure 71.A) :

- ~ On note sur les 10 premières minutes, pour les émulsions avec une fraction massique huile/eau de [30/70] et [40/60], que le TSI augmente linéairement sans atteindre un palier (TSI au-delà de 5) : après 30 minutes, ces émulsions ne sont donc pas stables.
- ~ Les TSI des émulsions ayant une fraction massique huile/eau de [50/50] et [60/40] augmentent également puis atteignent un palier vers 4 min (TSI d'environ 2).
- ~ Les TSI des émulsions avec les fractions massiques huile/eau de [80/20], [75/25] et [70/30] sont quasi nulles (proches de zéro), les émulsions évoluent très peu au cours de cette période : elles semblent très stables.

Ensuite, le TSI a été mesuré uniquement sur chaque région émulsifiée des émulsions à J0 afin de ne prendre en compte que l'évolution des gouttes (Figure 71.B) :

- ~ Les émulsions [70/30] et [60/40] ont un TSI qui augmente sans se stabiliser.
- ~ Pour les autres fractions massiques de [50/50] à [80/20], le TSI de la phase émulsifiée augmente faiblement à J0 ( $\approx 0,1$ ).

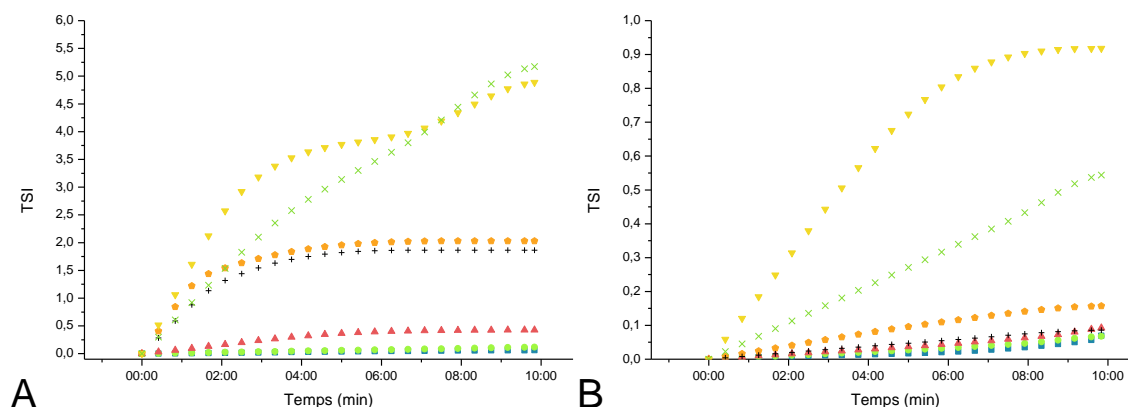


Figure 71 - Évolution du TSI d'une émulsion à  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et  $0,5\text{M NaCl}$  sur 10 minutes en variant la fraction massique [H/E] à J0 : **A.** Sur zone entière  
**B.** Sur zone émulsifiée (■ [80/20] ; ● [75/25] ; ▲ [70/30] ; ◆ [60/40] ;  
 + [50/50] ; ▼ [40/60] ; × [30/70])

Dans un second temps, l'analyse a été faite à J70, également sur toute la hauteur de l'échantillon et la phase émulsifiée, et les résultats sont comparés dans le Tableau 16. On remarque que, les émulsions ont évolué, le TSI a augmenté, bien que l'analyse aussi réalisée sur 10 minutes, indique qu'elles sont stables :

- ~ Les cinétiques obtenues à J70 pour les émulsions avec une fraction massique [H/E] de [30/70] et [40/60] sont stables avec un TSI constant mais élevé (autour de 14). Ce résultat témoigne de la non-stabilité des émulsions ayant une phase aqueuse trop importante, elles ont fortement évolué entre J0 et J70.
- ~ Pour des fractions massiques [H/E] de [50/50] et [60/40], le TSI est constant et plus faible que dans le cas précédent (environ 4), elles sont donc plus stables que les émulsions contenant moins d'huile.
- ~ Les émulsions ayant une fraction massique de [70/30], [75/25] et [80/20] ont également atteint un palier plus faible (environ 1,5). Ce sont les émulsions les plus stables.

Les phases émulsifiées ont évolué entre J0 et J70 :

- ~ Les émulsions [70/30] et [60/40] ont un TSI qui a atteint un palier, respectivement autour de 12 et 5.
- ~ Pour les autres fractions massiques de [50/50] à [80/20], le TSI a faiblement augmenté : les cinétiques sont plates ( $\approx 1$ ). Ces phases émulsifiées sont donc très stables au cours du temps.

On remarque que les valeurs de TSI observées pour les phases émulsifiées (maximum 1 à J0 et 12 à J70) sont plus faibles que celles mesurées sur la hauteur totale de l'émulsion, qui prend en compte tous les phénomènes de déstabilisation (pas seulement celles spécifiques à la phase émulsifiée).

Fraction massique [H/E]	TSI à JO		TSI à J70	
	Sur zone entière	Sur zone émulsifiée	Sur zone entière	Sur zone émulsifiée
[30/70]	5,2	0,54	15	12
[40/60]	4,9	0,92	13	5,2
[50/50]	1,9	0,09	4,7	1,2
[60/40]	2,0	0,16	4,7	1,0
[70/30]	0,43	0,09	2,1	1,3
[75/25]	0,12	0,07	1,8	1,0
[80/20]	0,06	0,08	2,2	1,5

Tableau 16 - TSI à JO et J70 pour une émulsion avec une concentrations en NaCl à 0,5M, 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> et différentes fractions massiques huile/eau de [30/70] à [80/20] sur deux zones du tube (zone entière et zone émulsifiée)

### b) Conclusion

Dans cette partie de l'étude, l'influence de la fraction massique huile/eau sur les propriétés de l'émulsion a été étudiée, en fixant une concentration de NaCl 0,5 M et une quantité d'HAp de 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub>. Les fractions massiques ont été variées de [30/70] à [80/20]. Les résultats que l'on vient de présenter ont montré que si ce



paramètre a peu d'influence sur la taille des gouttes dans la partie émulsifiée, il agit sur la stabilité de l'émulsion. Dans la gamme de fraction massique huile/eau étudiée, la stabilité de l'émulsion augmente avec la quantité d'huile. L'émulsion est considérée comme stable dès qu'elle contient un minimum de 70% d'huile sur la période étudiée (de J0 à J70).

Le schéma proposé sur la Figure 72 met en évidence les hauteurs des différentes phases observées sur les émulsions par l'analyseur Turbiscan. Les émulsions avec des fractions massiques huile/eau [30/70] à [60/40] présentent une partie non-émulsifiée (phase aqueuse) dont l'évolution entre J0 et J70 est représentée en jaune, ces émulsions riches en phase aqueuse sont peu stables. Dès lors que l'émulsion contient 70% d'huile, un léger déphasage d'eau et/ou d'huile peut être présent mais n'a pas d'influence sur la stabilité de l'émulsion, elles sont présentes dès l'émulsification à J0.

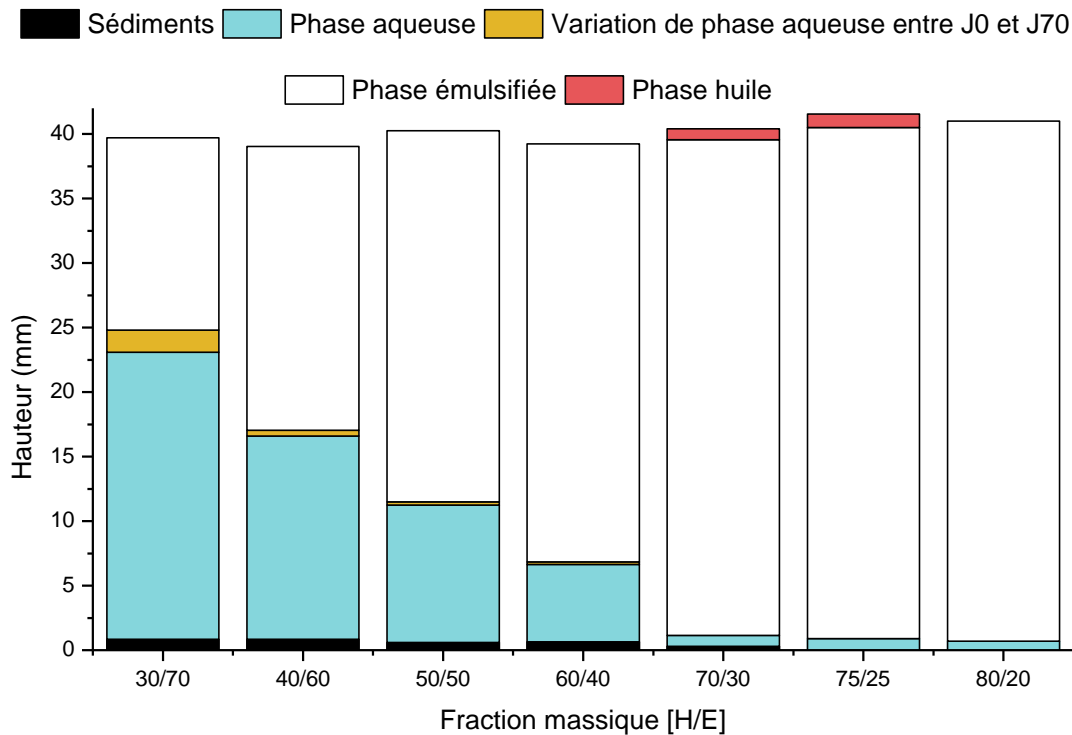


Figure 72 - Schéma des différentes phases (aqueuse, émulsifiée, huile) observées sur la hauteur du tube (mm) des émulsions en fonction de la fraction massique [H/E]

Comme déjà discuté dans le chapitre 1, une émulsion HIPE est définie comme « High Internal Phase Emulsions » lorsque la fraction volumique de la phase interne est à minima de 74% [119]. Cette valeur correspondant à la compacité maximale d'un empilement de sphère, les gouttes s'organisent alors selon un empilement cubique face centré ou hexagonal compact, sans déformation [119]. Il s'agit des structures d'empilement de sphères les plus compactes : ces empilements favorisent ainsi la proximité des gouttes pendant le séchage lors du retrait de la phase aqueuse pour l'élaboration des matériaux poreux (cf. Chap 4), ce qui contribuera alors à la création d'interconnexion entre les pores [116], [119], [301]. Ainsi, plus la concentration en phase oléagineuse est grande, plus le matériau est susceptible de présenter des pores interconnectés. De ce fait, parmi les formulations étudiées, une fraction massique en huile de 75% minimum sera priorisée, soit une fraction volumique de 76%. Il est à noter que ce ratio diminuera légèrement par la suite avec l'ajout du gel de phosphate de calcium dans la phase aqueuse.

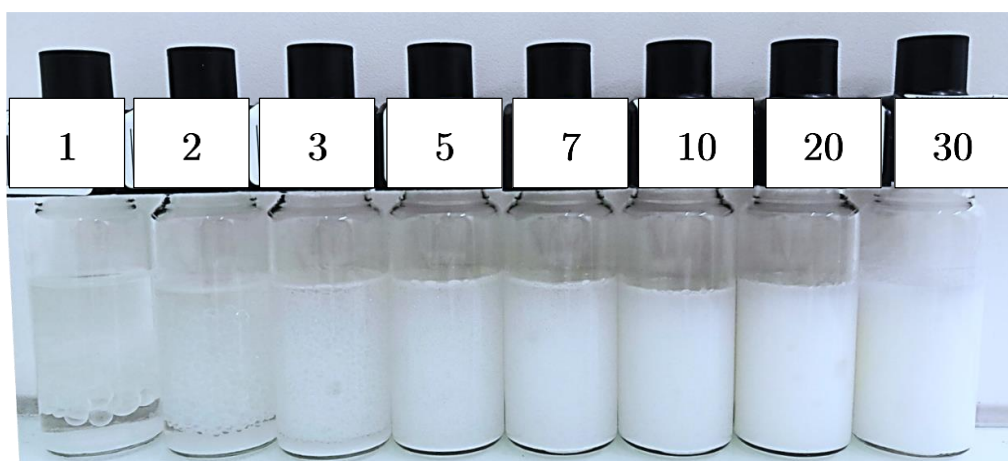
En comparant les deux profils de stabilité des émulsions avec une fraction massique huile/eau de [75/25] et [80/20], l'émulsion avec [75/25] présente un TSI légèrement plus stable. Une **fraction massique huile/eau de [75/25]** sera retenue pour la suite de cette étude, dont la phase aqueuse possède une concentration en NaCl à 0,5 M, comme établie précédemment.

### 3. Influence de quantité de particules d'HAp sur la taille de goutte et la stabilité de l'émulsion

Dans cette partie, il a été étudié l'influence de la quantité de particules d'hydroxyapatite sur la taille des gouttes et la stabilité de l'émulsion étudiée à 30 minutes (J0) et à 70 jours après émulsification (J70) (Figure 73). Entre ces périodes, les émulsions ont été conservées à température ambiante et à l'abri de la lumière.

La masse de particules est établie en mg par gramme de Miglyol 812, et a été variée de  $1 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  à  $30 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  dans une émulsion de fraction massique huile/eau [75/25] et une concentration en électrolytes de 0,5 M NaCl dans la phase aqueuse.

A. J0 (30 minutes après émulsification)



B. J70 (70 jours après émulsification)



Figure 73 - Photos à J0 (A) et à J70 (B) des émulsions (fraction massique huile/eau [75/25],  $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ M}$  et quantité d'HAp de 1 à  $30 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ )

a) Influence de la quantité de poudre d'HAp sur la taille des gouttes

Ces émulsions ont ensuite été analysées par microscopie optique afin de déterminer le diamètre moyen des gouttes (Figure 74). Pour chacune de ces données, le diamètre de Sauter  $D_{3/2}$  a été calculé, ainsi que l'écart-type associé selon la méthode détaillée dans le chapitre 2. Une moyenne pondérée des  $D_{3/2}$  par le nombre de gouttes analysées pour chaque émulsion préparée (nombre de répétition variant de 3 à 8) a permis de tracer l'évolution du diamètre en fonction de la masse de particules introduites dans l'émulsion. La Figure 74 met en évidence l'évolution visuelle de la taille des gouttes en fonction de la quantité de particules.

L'évolution de la moyenne des  $D_{3/2}$  en fonction de la masse de particules est présentée en Figure 75. On observe que le diamètre des gouttes diminue rapidement jusqu'à atteindre un plateau à environ  $10 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ . Cette masse de particules correspond à un diamètre de goutte moyen de  $200 \text{ }\mu\text{m}$ . Par ailleurs, il est notable qu'au-delà de cette quantité, les écarts-types associés aux diamètres sont très faibles ( $\approx 30 \text{ }\mu\text{m}$ ). En revanche, pour une faible masse de particules, les écarts-types sont très élevés ( $700 \pm 270 \text{ }\mu\text{m}$  pour une masse de HAp de  $1 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ). Ceci témoigne d'une plus grande polydispersité pour les émulsions synthétisées à faible teneur en HAp. Plus la quantité d'HAp augmente, plus l'émulsion est monodisperse comme en témoigne les photos de microscopie optique (Figure 74).

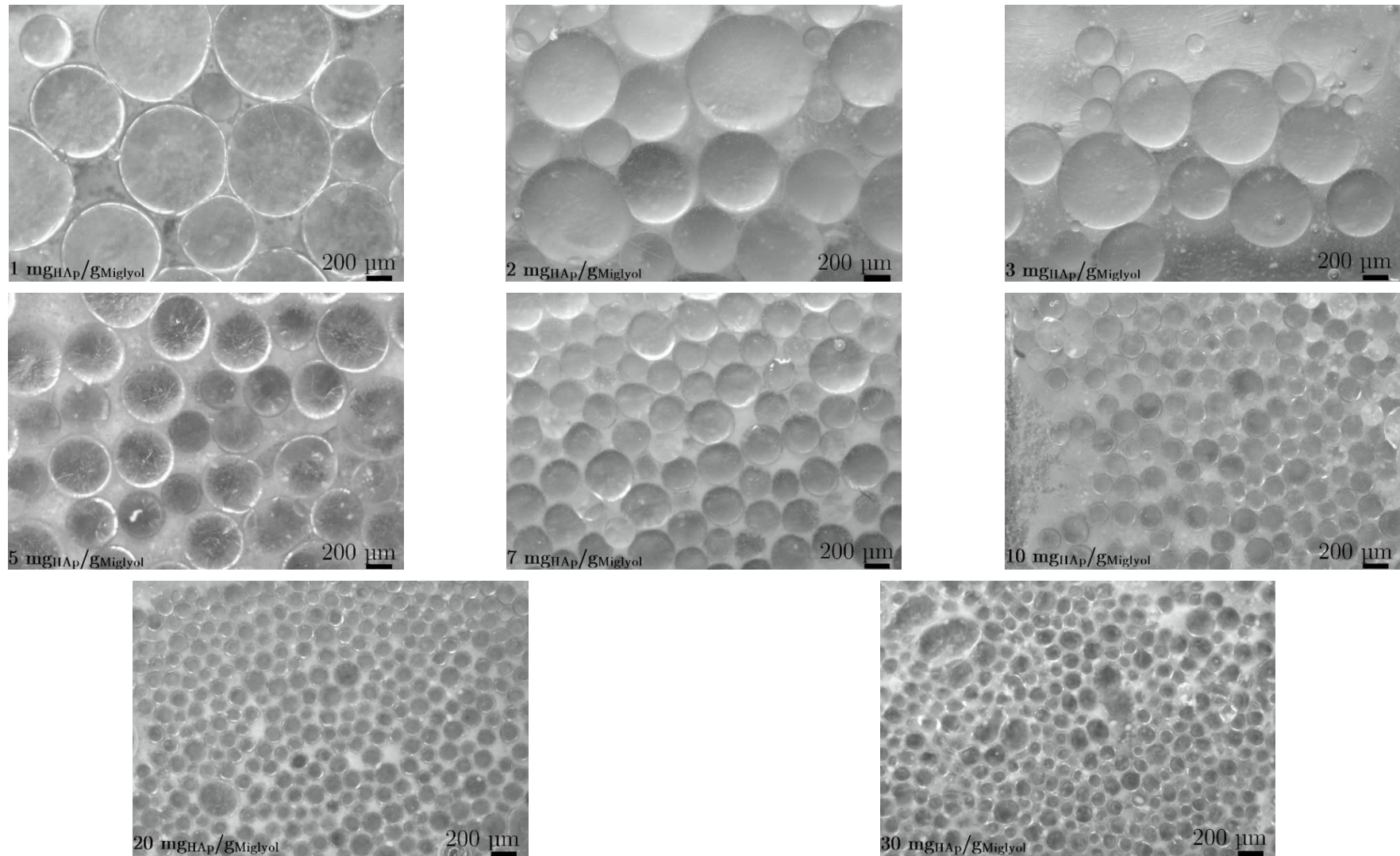


Figure 74 - Photographies par microscopie optique montrant l'évolution de taille des gouttes en fonction de la quantité d'HAp introduite (de 1 mg<sub>HAp</sub>/gMiglyol à 30 mg<sub>HAp</sub>/gMiglyol) pour une émulsion [H/E] avec une fraction massique [75/25] à 0,5 M en NaCl

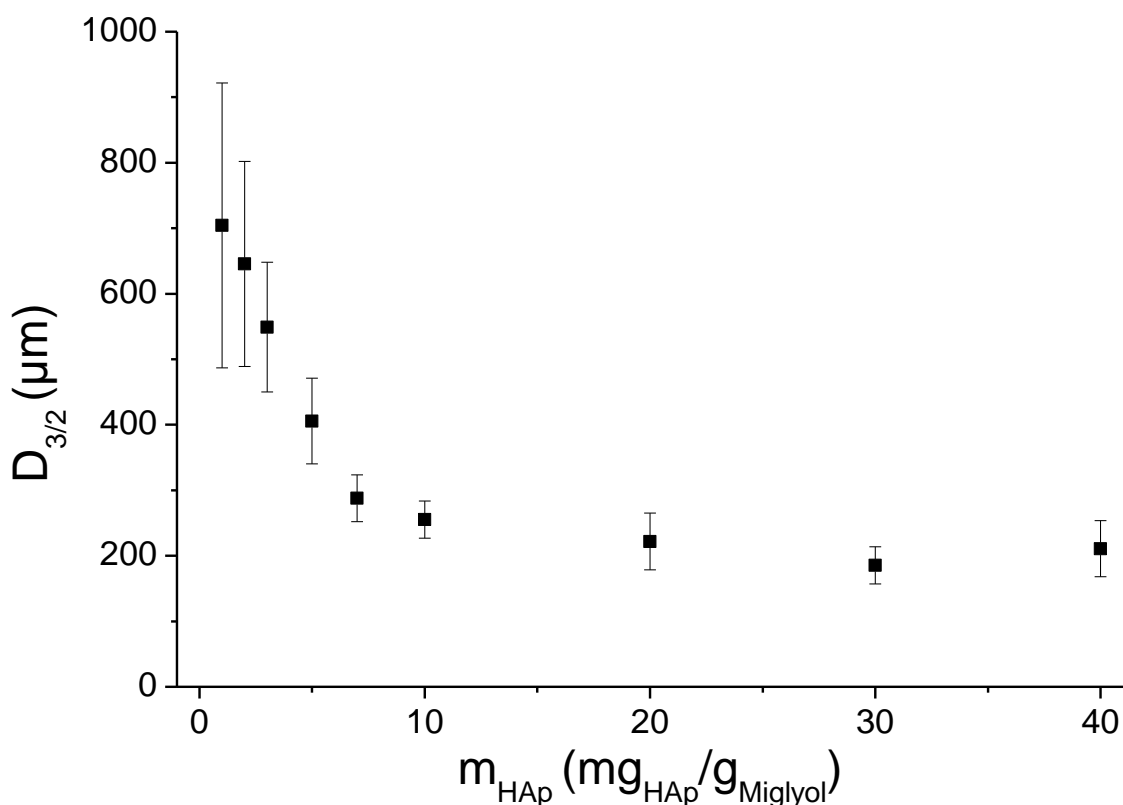


Figure 75 - Évolution de la moyenne du diamètre de Sauter  $D_{3/2}$  en fonction de la quantité d'HAp ( $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ) pour une fraction massique [H/E] de [75/25] et une concentration en NaCl de 0,5 M

Afin d'étudier l'évolution de ce diamètre au cours du temps de J0 à J70, les émulsions précédemment synthétisées ont été analysées à l'aide du Turbiscan, et un diamètre de goutte a été estimé pour chaque émulsion (diamètre de sphère équivalent moyen). Cette estimation de diamètre est présentée en Figure 76, et les valeurs obtenues sont proches des diamètres de Sauter relevés par microscopie optique et suivent la même évolution en fonction de la quantité d'HAp. On remarque sur la Figure 76 que la taille des gouttes a tendance à augmenter entre J0 et J70, d'autant plus quand la quantité d'HAp utilisée pour stabiliser l'émulsion est faible. Au-delà de 10  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , quand la coalescence limitée est dépassée, le diamètre n'évolue pas entre J0 et J70, l'émulsion est parfaitement stable. Ce résultat montre une évolution des émulsions et une déstabilisation au cours du temps qui sera étudiée dans le prochain paragraphe.

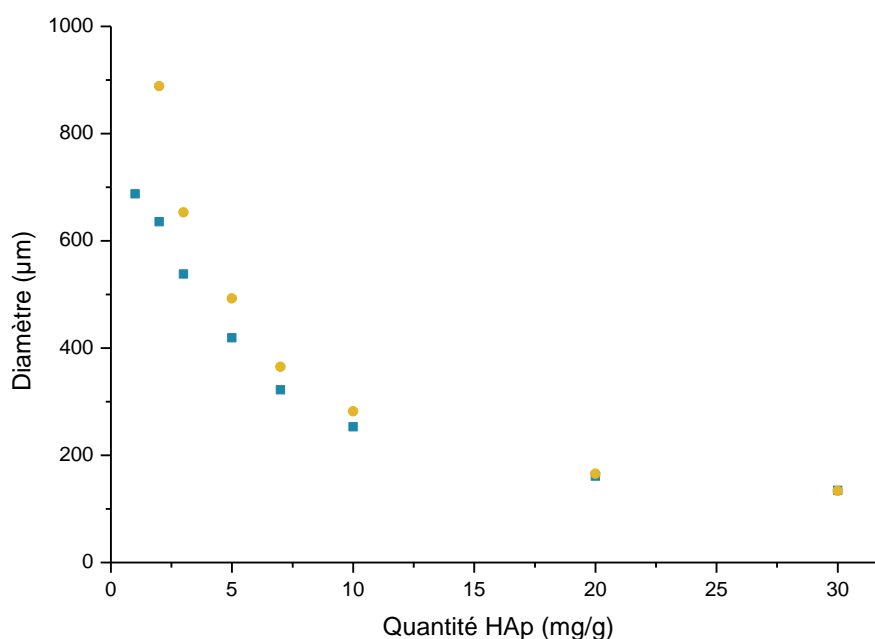


Figure 76 - Évolution du diamètre estimé par l'analyseur optique Turbiscan en fonction de la quantité d'HAp ( $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyvol}}$ ) pour une fraction massique huile/eau de [75/25] et une concentration en NaCl de 0,5 M (■ J0 ; ● J70)

Cependant, les deux méthodes donnant des diamètres différents et reposant sur des techniques d'analyse en nombre pour la microscopie optique et en volume pour le Turbiscan, il en convient que les résultats ne donnent pas exactement les mêmes informations comme cela a déjà été noté dans la littérature [302] ; on notera que les diamètres obtenus pour les émulsions à 20 et 30  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyvol}}$  sont plus faibles avec cette méthode. Cela peut s'expliquer car l'analyseur optique Turbiscan repose sur le principe de la diffusion multiple de la lumière, il va donc capter tous les objets présents du milieu et renvoyer un signal en fonction des éléments. Cette technique reste approximative et qualitative dans l'estimation d'un diamètre de goutte d'une émulsion de Pickering, au vu de la complexité du milieu. En effet, dans le cas de cette émulsion, les particules d'hydroxyapatite, de couleur blanche, recouvrent plus ou moins des gouttes d'huile. Cependant dès que la quantité de particules devient très importante, le nombre de particules en suspension entre les gouttes réfléchit davantage de signal, ayant pour effet de sous-estimer le diamètre moyen obtenu.

b) Stabilité au cours du temps

i. Évolution individuelle des émulsions au Turbiscan

La Figure 77 présente le  $\Delta R$  (%) sur la hauteur de l'échantillon (mm) en fonction du temps (entre J0 et J70) et de la quantité d'HAp (de 1 à 30  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ) introduite dans l'émulsion :

- ~ Quelle que soit la concentration en HAp, le  $\Delta R$  ne varie pas à J0, les mélanges sont stables lors des 10 premières minutes.
- ~ Pour des quantités de 5 à 30  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , le  $\Delta R$  (%) de la phase émulsifiée n'évolue pas entre J0 et J70 donc l'émulsion est stable au cours du temps. Cependant, on observe en bas du tube, une augmentation du  $\Delta R$  à J70 qui diminue avec la quantité d'HAp : de 18% pour 5  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  à 2% avec 30  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ . Moins le système contient de particules, plus les particules sédimentent. On note également une diminution du  $\Delta R$  entre J0 et J70, en haut du tube, qui semble liée à une diminution de la hauteur de l'émulsion au cours du temps car aucun crémage n'est visible (il n'y a pas d'augmentation significative de signal sur les graphes en transmission).
- ~ Le  $\Delta R$  (%) varie beaucoup en fonction du temps (entre J0 et J70) pour les émulsions de 1  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  à 3  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  : ces profils sont peu stables, notamment pour l'émulsion à 1  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ . Moins l'émulsion contient de particules, plus le  $\Delta R$  (%) varie (avec présence de pics plus ou moins importante) et donc moins l'émulsion est stable entre J0 et J70.



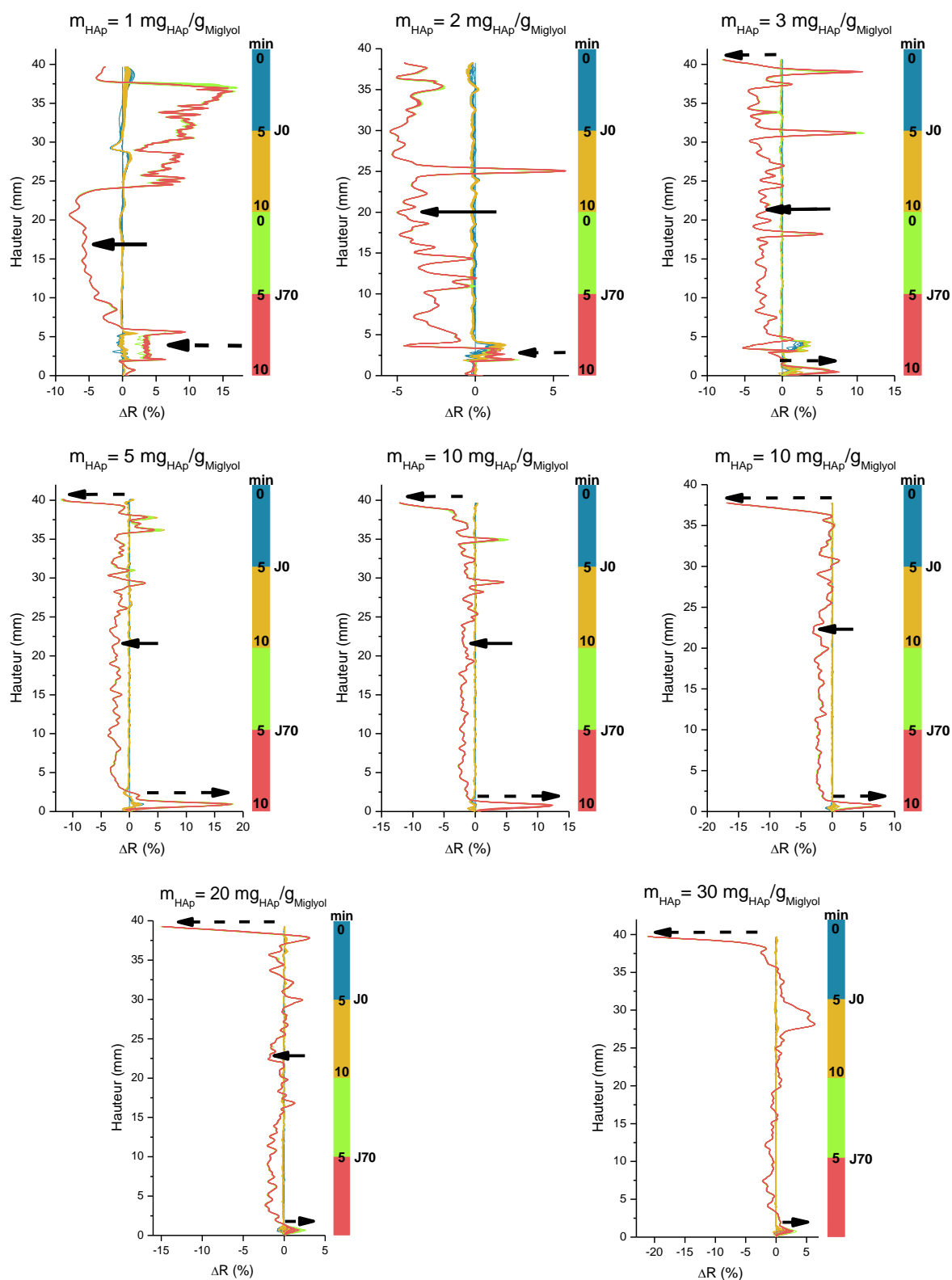


Figure 77 - Représentation de l'évolution de  $\Delta R$  (%) sur la hauteur totale du tube pour une quantité de HAp variant de 1 à 30  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , pour une émulsion avec fraction massique huile/eau [75/25] et une concentration en NaCl à 0,5 M (← : Flocculation - ↔ : Sédimentation)

On peut conclure que les émulsions  $< 5 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  possèdent toutes une partie émulsifiée et une partie non émulsifiée (visibles à l'œil nu sur la Figure 73) due à une quantité de particules trop faible pour former des gouttes sur la totalité de l'émulsion.

Ces résultats montrent que plus on augmente la concentration en particules, plus on favorise l'émulsification, et que les émulsions obtenues sont stables à partir de  $5 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ .

ii. Évolution du TSI

La Figure 78 présente l'évolution du TSI à J0, considérant toute la hauteur du tube, en fonction de la quantité d'HAp introduite dans l'émulsion. Le graphe traduit la stabilité des émulsions pendant 10 minutes, 30 minutes après émulsification (J0) et montre des valeurs de TSI faibles (inférieur à 0,3) qui augmentent lorsque la quantité en HAp diminue. Les cinétiques observées sont croissantes et semblent atteindre un plateau, à l'exception des émulsions à fortes concentrations en particules (20 et 30  $\text{mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ) (la mise en place du réseau fortement concentré est plus longue à se mettre en place).

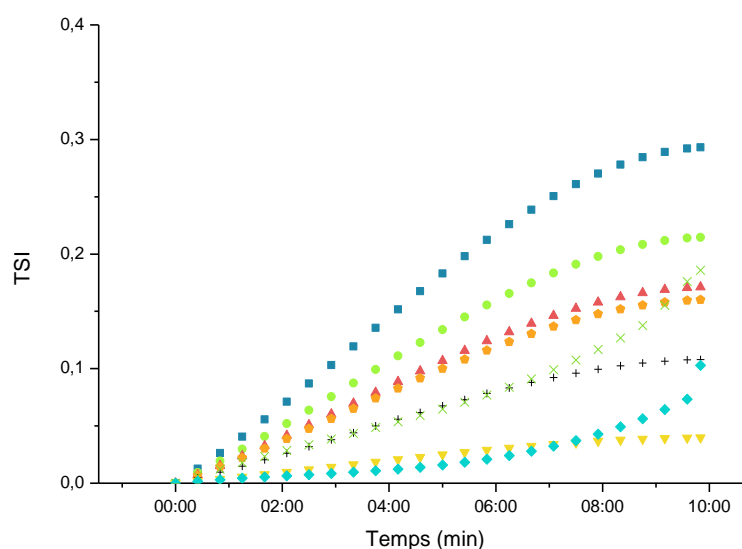


Figure 78 - Évolution du TSI à J0 en fonction de la quantité d'HAp dans une émulsion avec fraction massique huile/eau [75/25] à 0,5M en NaCl, avec 1 à  $30 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  : ■  $1 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; ●  $2 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; ▲  $3 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; ◆  $5 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; +  $7 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; ▼  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; ×  $20 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ; ◆  $30 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$

Cette même analyse réalisée à J70 donne des valeurs stables de TSI pendant les 10 minutes d'analyse. Ces valeurs sont regroupées dans le Tableau 17.

Masse HAp/ Miglyol ( $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ )	TSI à JO	TSI à J70
	Sur zone entière	Sur zone entière
1	0,29	41
2	0,21	9,6
3	0,17	3,8
5	0,16	2,8
7	0,11	2,4
<b>10</b>	<b>0,04</b>	<b>2,4</b>
20	0,19	1,8
30	0,10	2,0

Tableau 17 - TSI à JO et J70 pour des émulsions avec une fraction massique huile/eau [75/25], à 0,5 M en NaCl, avec 1 à 30  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$

Le TSI à J70 est d'autant plus grand que la quantité en HAp diminue. Les valeurs des TSI sont inversement proportionnelles à la quantité d'HAp : Les émulsions à 1  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et à 2  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  présentent des valeurs de TSI (41 et 9,6 ; respectivement) plus élevées que pour de plus fortes concentrations en HAp, ce qui témoigne de leur instabilité, en accord avec les résultats précédents.

On observe que l'émulsion à 3  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  présente un TSI assez élevé (3,8). Enfin, pour de plus fortes concentrations en HAp ( $> 3 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ) les émulsions peuvent être considérées comme stables au vu de leur TSI peu élevé (compris entre 1,8 et 2,8) après 70 jours. Une tendance est cependant notable : plus l'ajout d'HAp est important, plus l'émulsion est stable.

#### 4. Discussion : compréhension de l'organisation des particules à l'interface des gouttes

L'objectif de cette partie des travaux précédemment décrite (partie B) est d'optimiser la formulation d'une émulsion stabilisée par des particules solides d'HAp

comme précurseur pour la génération de pores pour l'élaboration des biomatériaux poreux. Plusieurs paramètres ont donc été étudiés pour optimiser ces émulsions de Pickering stabilisées afin d'obtenir des biocéramiques répondant aux critères définis dans le chapitre 1 : des pores interconnectés ayant une taille minimale de 200  $\mu\text{m}$  en vue de favoriser l'ostéoconduction. Dans le processus de fabrication proposé par la suite (cf. Chap 4), la taille des pores étant contrôlée par la taille des gouttes de l'émulsion, une émulsion avec un diamètre de gouttes moyen supérieur à 200  $\mu\text{m}$  est donc souhaitée, avec des gouttes proches pour favoriser l'interconnexion. Ainsi, dans ce chapitre, l'influence de plusieurs paramètres sur la taille et la stabilité des émulsions générées a été étudiée. Dans la discussion qui suit, nous essayons de comprendre l'organisation des particules à l'interface des gouttes.

Le taux de couverture (rapport entre la surface projetée cumulée des particules et la surface disponible, la surface cumulée des gouttes) à l'interface huile/eau est une grandeur particulièrement importante car il régit le phénomène de coalescence limitée. En effet, lorsque l'agitation génère des gouttes dont la taille est inférieure à la valeur d'équilibre du système, celles-ci vont coalescer jusqu'à ce que le taux de couverture des particules à l'interface soit suffisant pour stabiliser l'émulsion. En augmentant la quantité de particules disponibles, la taille des gouttes se stabilise.

La forme des particules d'hydroxyapatite observée par TEM est en bâtonnet mais les particules ont tendance à s'agglomérer. L'arrangement des particules autour des gouttes n'est donc pas connu : agglomérats ou particules élémentaires. Afin d'obtenir ces informations, deux hypothèses seront formulées pour chaque géométrie considérée :

- ~ Agglomérats sphériques
- ~ Particules élémentaires sous forme de bâtonnets.

Cela permettra d'estimer le taux de couverture des gouttes et/ou la taille des particules-agglomérats recouvrant ces gouttes. Ce travail est réalisé à partir de l'exploitation de la Figure 79 donnant l'inverse du diamètre des gouttes en fonction du rapport massique HAp/huile et des équations qui découlent de la définition du taux de couverture C :

$$C = \frac{S_{particules}}{S_{gouttes}} \quad (3.3)$$

Où  $S_{particules}$  est la surface cumulée des particules projetée sur les gouttes :

$$S_{particules} = N_{particules} \cdot s$$

$$S_{particules} = \frac{m_{HAp}}{\rho_{HAp} \cdot V_{1\ part}} \cdot s \quad (3.4)$$

Avec :  $N_{particules}$  : le nombre de particules dans l'émulsion  
 $s$  : la surface projetée d'une particule sur une goutte  
 $m_{HAp}$  : la masse totale de particules  
 $\rho_{HAp}$  : la masse volumique vraie des particules  
 $V_{1\ part}$  : le volume d'une particule

$S_{gouttes}$  est la surface accessible des gouttes :

$$S_{gouttes} = N_{gouttes} \cdot \pi \cdot D^2$$

$$S_{gouttes} = \frac{V_d}{V_{1\ goutte}} \cdot \pi \cdot D^2$$

$$S_{gouttes} = \frac{6 \cdot V_{huile}}{D}$$

$$S_{gouttes} = \frac{6 \cdot m_{huile}}{D \cdot \rho_{huile}} \quad (3.5)$$

Avec :  $m_{huile}$ , la masse d'huile dans l'émulsion,  
 $\rho_{huile}$  la masse volumique de l'huile,  
 $V_{huile}$  et  $V_{1\ goutte}$  respectivement le volume de la phase dispersée (ici l'huile) et le volume d'une seule goutte,  
 $D$  le diamètre moyen des gouttes,  
 $N_{gouttes}$  le nombre de gouttes dans l'émulsion.

En combinant les équations (3.3) et (3.4), et la définition du taux de couverture citée au-dessus, C est donné par :

$$C = \frac{D \cdot \rho_{huile} \cdot S}{6 \cdot \rho_{HAp} \cdot V_{1\ part}} \cdot W_{HAp/huile} \quad (3.6)$$

Où  $W_{HAp/huile}$  est le ratio massique particules/huile ( $m_{HAp}/m_{huile}$ ) et  $\rho_{HAp}$  est la masse volumique des particules d'HAp. En exprimant l'inverse du diamètre des gouttes, celui-ci est proportionnel au ratio massique HAp/huile, comme précédemment démontré dans la littérature [228]–[231] :

$$\frac{1}{D} = \frac{\rho_{huile} \cdot S}{6 \cdot \rho_{HAp} \cdot C \cdot V_{1\ part}} \cdot W_{HAp/huile} \quad (3.7)$$

Ainsi, sur la Figure 79, le coefficient de proportionnalité a été obtenu par régression linéaire (effectuée sur les points bleus et passant par l'origine). La pente obtenue est de  $0,44 \mu\text{m}^{-1}$ . L'intersection de cette droite avec la seconde droite à  $y=4,53 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}^{-1}$ , donne une indication sur la valeur du point limite de coalescence :  $W_{HAp/miglyol}=10,5 \text{ mg}_{HAp}/\text{g}_{miglyol}$  et  $1/D = 4,75 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}^{-1}$ , soit une valeur du diamètre de gouttes de  $210 \mu\text{m}$ .

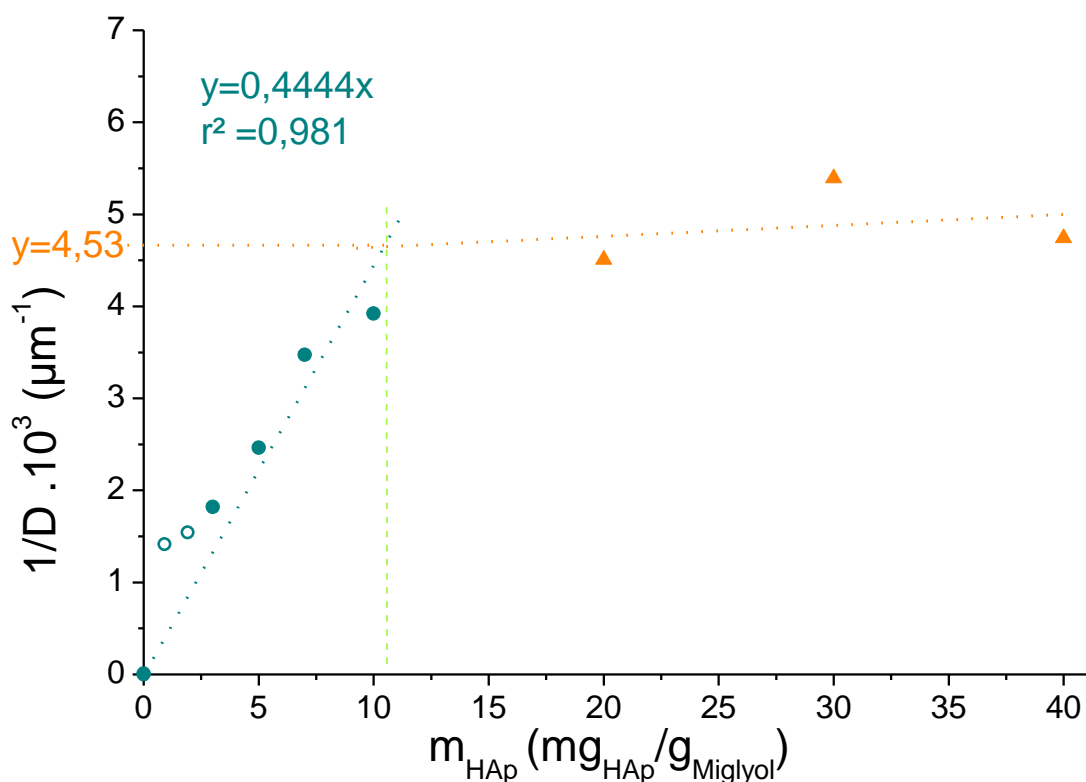


Figure 79 - Évolution de l'inverse du diamètre de Sauter  $D_{3/2}$  en fonction du rapport massique HAp/miglyol ( $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ ) pour une fraction massique [H/E] de [75/25] et une concentration en NaCl de 0,5 M : Mise en évidence du point limite de coalescence

Les deux premiers points n'ont pas été pris en compte pour la régression linéaire (car pas stabilisés, les plus grandes gouttes cassent lors de l'observation donc la taille est sous-estimée), en effet, nous pensons que leur écart à la linéarité provient du fait que le système n'était pas encore à l'équilibre lors de la mesure.

$s$  et  $V_{1\text{ part}}$  interviennent chacun dans l'équation de la pente et dépendent tous les deux de la forme des objets à l'interface (particules élémentaires en bâtonnets ou agglomérats supposés sphériques). Les deux hypothèses seront distinguées dans ce qui suit.

a) Hypothèse d'agglomérats sphériques

Pour des objets sphériques à l'interface,  $s$  et  $V_{1\text{ part}}$  s'écrivent respectivement :

$$s = \frac{\pi d_p^2}{4} \text{ et } V_{1 \text{ part}} = \frac{\pi d_p^3}{6}$$

Avec  $d_p$  le diamètre moyen des agglomérats de particules. L'expression de la pente issue de la relation (3.5) est alors :

$$\text{pente} = \frac{\rho_{\text{huile}}}{4 \cdot \rho_{\text{HAp}}} \cdot \frac{1}{C \cdot d_p} \quad (3.8)$$

Dans la zone de coalescence limitée délimitée par la valeur seuil  $w_{\text{HAp}/\text{huile}} = 10,5 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , la courbe (Figure 79) vérifie la linéarité de l'évolution de  $1/D$  en fonction de  $w_{\text{HAp}/\text{huile}}$ . Ainsi, la pente de cette droite passant par l'origine est liée à deux inconnues : le taux de couverture  $C$  et le diamètre des agglomérats  $d_p$ .

En prenant les valeurs de la pente ( $0,4444 \mu\text{m}^{-1}$ ), de la masse volumique vraie des particules d'HAp mesurée par pycnomètre hélium ( $2,922 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ), et de la masse volumique de l'huile ( $0,95 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ), il vient :

$$C \cdot d_p = 0,183 \mu\text{m}$$

Dans la zone de coalescence limitée, les valeurs de  $C$  et  $d_p$  sont supposées constantes et la relation ci-dessus montre qu'elles sont inversement proportionnelles. Il manque une valeur pour définir parfaitement le système. À défaut de pouvoir répondre précisément sur la valeur de  $C$  ou  $d_p$ , deux hypothèses sont émises qui permettront d'encadrer ces deux valeurs.

Une des inconnues de l'équation précédemment citée est le diamètre des agglomérats  $d_p$ . Lors de l'étude de l'évolution de taille des particules en présence de NaCl dans la solution aqueuse réalisée dans la Partie A de ce chapitre (Figure 51), une taille d'agglomérats de  $4,5 \mu\text{m}$  avait été observée lors d'une concentration en NaCl de  $0,5 \text{ M}$ . En considérant, cette taille d'agglomérats et à partir de l'équation 3.8, un taux de couverture de  $4,0 \%$  est obtenu. Cependant, cette valeur semble très faible pour permettre une couverture optimale et donc, une stabilité importante des émulsions de Pickering.



Dans la zone de coalescence limitée, un taux de couverture inférieur ou égal à 90% est généralement observé, car il s'agit de la valeur maximale d'empilement de particules sphériques [233]. En considérant un taux de couverture maximal de 90% et l'obtention d'une monocouche, alors la taille moyenne des agglomérats supposés sphériques serait de 203 nm.

Pour conclure sur l'hypothèse d'agglomérats sphériques, nous avons pu encadrer la valeur du taux de couverture (4%-90%) et celle du diamètre des agglomérats (203 nm - 4,5  $\mu\text{m}$ ). Cette gamme est assez large comme représenté sur la Figure 80, et une mesure d'une de ces deux grandeurs ( $C$  ou  $d_p$ ) dans cette gamme permettrait de connaître la valeur de l'autre.

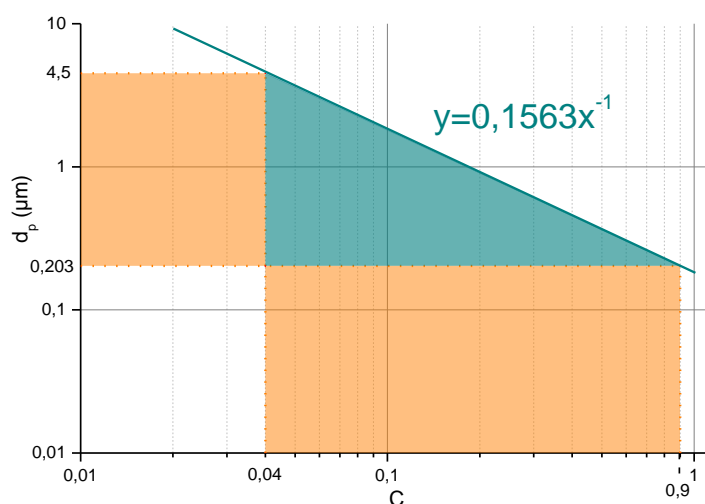


Figure 80 - Évolution du diamètre des agglomérats en fonction du taux de couverture. Mise en évidence des gammes possibles de  $d_p$  et de  $C$  dans l'hypothèse d'agglomérats sphériques.

#### b) Hypothèse de particules en forme de bâtonnets

Contrairement à l'hypothèse d'agglomérats sphériques, nous avons une idée un peu plus précise des dimensions des particules élémentaires : épaisseur  $44 \pm 20$  nm, longueur  $135 \pm 40$  nm (cf. Microscopie électronique en transmission (MET)). Nous émettrons alors des hypothèses sur l'arrangement et non sur la taille des objets à l'interface.

En se basant sur les images MET des particules et des tailles moyennes mesurées, il est difficile de conclure sur la forme de la base des bâtonnets : base carrée ( $l=44$  nm, parallélépipède carré) ou circulaire (diamètre des bâtonnets  $l = 44$  nm, cylindres). En plus de cela, pour chaque base considérée, deux arrangements sont possibles : une orientation radiale des bâtonnets ou une orientation transverse à la surface de la goutte. Les expressions de  $s$ , de  $V_{1part}$  et de la pente sont donnés dans le Tableau 18 pour chacun des cas.

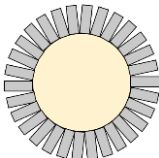
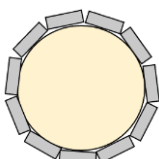
Orientation des bâtonnets	Base circulaire (diamètre $l$ , longueur $L$ )	Base carrée (côté $l$ , longueur $L$ )
<p>Radiale</p> 	$s = \pi \frac{l^2}{4}; V_{1part} = \pi \frac{l^2}{4} \cdot L$ $\text{pente} = \frac{\rho_{huile}}{6 \cdot \rho_{HAP}} \cdot \frac{1}{C \cdot L}$ $C \cdot L = 0,122 \mu\text{m}$ $C = 90 \pm 2,1 \%$	$s = l^2; V_{1part} = l^2 \cdot L$ $\text{pente} = \frac{\rho_{huile}}{6 \cdot \rho_{HAP}} \cdot \frac{1}{C \cdot L}$ $C \cdot L = 0,122 \mu\text{m}$ $C = 90 \pm 2,1 \%$
<p>Transverse</p> 	$s = l \cdot L; V_{1part} = \pi \frac{l^2}{4} \cdot L$ $\text{pente} = \frac{2 \cdot \rho_{huile}}{3 \cdot \pi \cdot \rho_{HAP}} \cdot \frac{1}{C \cdot l}$ $C \cdot l = 0,155 \mu\text{m}$ $C = 353 \pm 110 \%$	$s = l \cdot L; V_{1part} = l^2 \cdot L$ $\text{pente} = \frac{\rho_{huile}}{6 \cdot \rho_{HAP}} \cdot \frac{1}{C \cdot l}$ $C \cdot l = 0,122 \mu\text{m}$ $C = 305 \pm 87 \%$

Tableau 18 - Expression des pentes et des taux de couverture obtenus pour les 4 hypothèses de particules élémentaires en bâtonnets avec  $l$  l'épaisseur des particules et  $L$ , la longueur des particules

~ Orientation radiale :

La relation de la pente est la même si l'on considère une base carrée ou circulaire. Seule la valeur maximale de  $C$  change (90% pour une base circulaire et proche de 100% pour une base carrée).

Dans ce cas, le calcul donne  $C=90 \pm 21 \%$ , pour  $L= 135 \pm 40$  nm. Cette valeur est très proche du taux de couverture maximal pour une base cylindrique, ce qui laisse penser que cette hypothèse est plausible.

~ Orientation transverse :

Dans un second temps, nous supposons un arrangement transverse, c'est à dire dont la dimension la plus longue des bâtonnets est parallèle à l'interface de la goutte, telle que schématisée sur le Tableau 18. Dans ce cas, l'intervenant dans la relation (3.5) sera la dimension de la base du bâtonnet. Nous devons distinguer le cas où la base des particules est carrée de celui où la base est circulaire. Nous trouvons dans le premier cas,  $C=305 \pm 110 \%$ , et dans le second  $C=350 \pm 87 \%$ . Dans les deux cas, ce résultat équivaut à plusieurs monocouches empilées à la surface (entre 3 et 3,5) dans la zone de coalescence limitée.

En conclusion, sur les différentes hypothèses concernant l'orientation et la forme des objets adsorbés à la surface des gouttes : parmi les hypothèses formulées sur la géométrie et l'orientation des particules à la surface des gouttes, plusieurs hypothèses possibles sont retenues :

- ~ Particules sous forme d'agglomérats sphériques : la taille des agglomérats n'est pas connue, mais a été délimitée (203 nm ; 4,5  $\mu\text{m}$ ), ainsi que le taux de couverture (4% ; 90%). Les deux grandeurs sont liées par la relation :  $C \cdot d_p = 0,183 \mu\text{m}$ . Il est cependant notable que ce calcul soit approximatif du fait de l'utilisation dans la relation de la masse volumique vraie des particules d'HAp, et non de la masse volumique apparente de l'agglomérat, dont la mesure est impossible.
- ~ Particules sous forme de bâtonnets avec orientation radiale : cette hypothèse est probable compte tenu des dimensions des particules élémentaires. En effet, un taux de couverture de 90% est obtenu, ce qui est très proche de l'empilement maximal d'une monocouche.

~ Particules sous forme de bâtonnets avec orientation transverse : cette hypothèse correspond à un taux de couverture supérieur au taux de couverture maximal pour une monocouche.

c) Comparaison des résultats

Plusieurs auteurs ont rapporté les taux de couverture des émulsions étudiées et dont les particules ont une géométrie/nature différentes :

~ Des filaments de cellulose (NCC) : Cherhal [261]) a étudié les émulsions de NCC, comme rapporté précédemment, dont la couche cellulosique mesurée par DNPA (Diffusion de Neutrons aux Petits Angles) possède une épaisseur de 7 nm. Le taux de couverture a été calculé pour chaque émulsion dont la masse de particules a été variée (entre 1 et 50 mg<sub>NCC</sub>/mL<sub>hexadécane</sub>). Un plateau de recouvrement est obtenu à  $\approx 85\%$  pour une masse de particules entre 1 et 7 mg<sub>NCC</sub>/mL<sub>hexadécane</sub>, domaine de coalescence limitée. Au-delà de 7 mg<sub>NCC</sub>/mL<sub>hexadécane</sub>, le pourcentage de couverture augmente jusqu'à plus de 300%. Cherhal [261] observe que le diamètre des gouttes n'augmente pas mais qu'il n'y pas de particules de NCC dans la phase aqueuse. Il déduit qu'une densification des NCC se produit à l'interface des gouttes sans pour autant créer des multicouches de particules. De ce fait, il conclut que la formule utilisée (équation 69 ne s'applique qu'au domaine de coalescence limitée.

~ Des particules sphériques de silice : Destribats [233] a travaillé sur une émulsion de particules de silice hydrophobe ( $d_p=145$  nm) stabilisant une émulsion d'hexadécane et d'eau pour laquelle il a fait varier un paramètre très influant : le pH. A pH=1, il obtient un taux de couverture de 0,98 ; alors qu'à pH=7, un taux de couverture de 5% est calculé. Dans le second cas, la coalescence limitée n'est pas observée et le mécanisme de stabilisation est différent.

~ Des cubes de neighborite ( $\text{NaMgF}_3$ ) : Destribats [233] a aussi réalisé des émulsions d'hexadécane dans l'eau stabilisées par des particules de neighborite monodisperses de  $1,6 \mu\text{m}$  de côté. Ces particules sont chargées positivement quel que soit le pH de l'émulsion. A  $\text{pH}=3$ , un taux de couverture  $C = 117 \pm 7 \%$  est obtenu, ce taux est supérieur à 1 qui correspond à un empilement cubique compact.

Il est important de noter que d'autres auteurs n'ont pas observé de lien entre le taux de couverture et la coalescence limitée. En effet, Fouilloux [303] a étudié un système d'huile fluorée dans éthanol, contenant une suspension de nanoparticules à 70% en silanols et une concentration en NaCl de 20 g/L, elle a observé différents taux de couverture de gouttes :  $24 \pm 3\%$  pour une concentration de 1g/L en particules, puis  $53 \pm 6,6\%$  pour 1,7g/L et  $77 \pm 7,9\%$  pour 3,5g/L.

Dans leurs études respectives, Destribats [233] et Cherhal [261] observent deux domaines de recouvrement :

- ~ un taux de recouvrement stable (98% pour le premier et 85% pour le second) lorsque l'émulsion est gouvernée par la coalescence limitée, indépendamment de la quantité de particule.
- ~ un taux de recouvrement qui augmente largement au-delà de la concentration critique (de 150 à 350% par exemple pour les travaux de Cherhal).

Dans cette thèse, à la suite des observations microscopiques et études de stabilité, deux domaines ont également pu être observés :

- ~ Entre 1 et  $10,5 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , la coalescence limitée gouverne le système jusqu'à la concentration critique (estimée à  $10,5 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  précédemment), l'émulsion est stable. Bien qu'en dessous de  $2 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , la cinétique de coalescence est faible.

~ Au-delà de  $10,5 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , un excès de particules est présent en phase aqueuse : recouvrement total des particules ainsi qu'une forte présence de particules dans la phase aqueuse. Généralement, ce type de recouvrement est associé à une élévation de la viscosité comme observé précédemment par Frelichowska [230], [304] ; cette observation a aussi été notée dans notre étude, bien que non quantifiée par rhéologie.

À la suite des résultats de stabilité et aux observations précédemment citées, la Figure 81 propose une schématisation de la position des agglomérats de particules (assimilés à des sphères) et du recouvrement des gouttes en fonction de la masse de particules introduite pour le système étudié dans cette thèse.

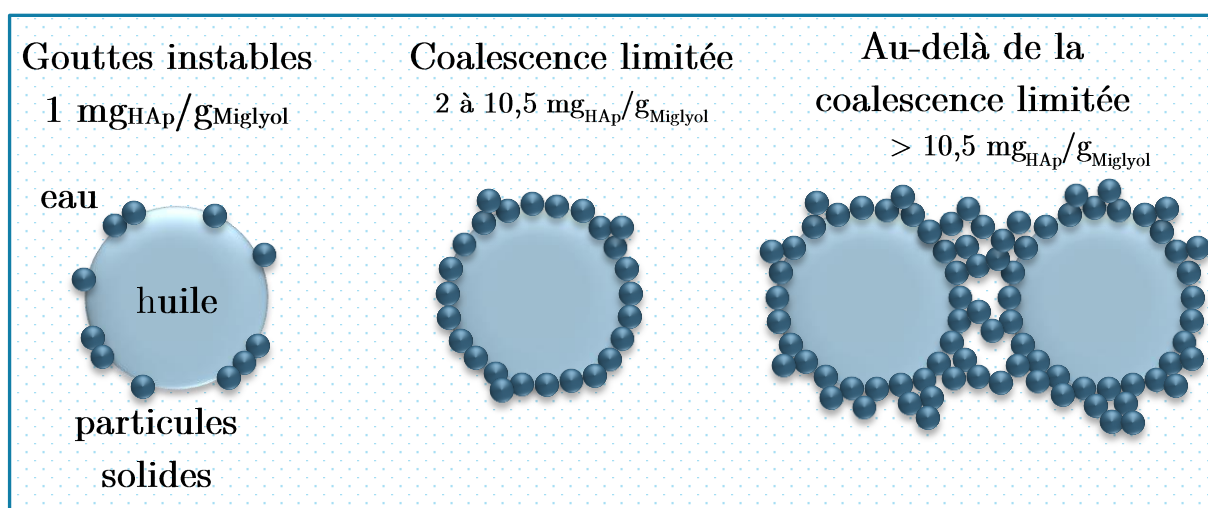


Figure 81 - Schématisation du taux de couverture en particules (agglomérats) en fonction de la quantité de particules introduite dans l'émulsion (inspiré de [237])

Par ailleurs, la concentration en NaCl dans la phase aqueuse a été variée de 0 M à 1 M, les résultats ont permis de démontrer que la présence d'électrolyte est essentielle pour former une émulsion stable et de taille de gouttes souhaitée. En effet, sans NaCl, une taille de goutte d'environ  $25 \pm 7 \mu\text{m}$  est obtenue alors que l'ajout de sel permet d'obtenir des gouttes d'environ  $200 \mu\text{m}$  dès 0,25 M dans la phase aqueuse. Ces résultats

sont similaires à ceux observés par Destribats au cours de sa thèse [233]. En effet, dans un système eau/hexadécane à [80/20] et pH 6, et stabilisé par des particules de silice fonctionnalisées de 145 nm, la concentration en NaCl a été variée entre 0 et 0,12 M. Il observe alors que lorsque la concentration est inférieure à 0,04 M, les gouttes ont une taille de 70  $\mu\text{m}$  alors que pour des concentrations supérieures à 0,07 M, le diamètre est d'environ 800  $\mu\text{m}$ . Les concentrations intermédiaires présentent la coexistence des deux tailles de gouttes. Il associe ces résultats au taux de couverture des gouttes, la première population est associée à une couverture très faible des gouttes de l'ordre de 8%. Pour une concentration de 0,07 M, il obtient un taux de couverture plus élevé, proche de 90% ; avec des particules denses. Ces résultats sont en accord avec les observations de Binks sur la densification des agrégats en présence de sel [212], ainsi que nos résultats concernant l'influence du NaCl sur l'agglomération des particules d'HAp en solution (III. Comportement des particules d'HAp en milieu salin). Il en conclut alors que pour un système de particules denses, les émulsions sont particulièrement stables, il y a peu d'interactions entre les gouttes et le système est légèrement floculé. En revanche, sans électrolyte, le système est soumis aux interactions électrostatiques qui impliquent un recouvrement des gouttes très faible [219], [226]. Par ailleurs, Cherhal [261] observe aussi la formation d'un réseau 3D liée à la morphologie fibreuse des particules de NCC utilisées pour stabiliser une émulsion hexadécane/eau concentrée à 0,05 M en NaCl.

Enfin, d'après les résultats précédents ainsi que ceux de la première partie de ce chapitre, l'HAp s'agglomère en solution saline pour atteindre, dès les faibles concentrations en électrolyte, une taille d'agglomérats de quelques micromètres. Dans le cas des émulsions de Pickering stabilisées par des particules d'HAp, il est possible que les gouttes soient stabilisées par des agglomérats ou bâtonnets et non une monocouche de particules élémentaires, comme déjà observés par d'autres auteurs [249], [261], [304].

### III. Étude de la stabilité de l'émulsion sélectionnée

Les études précédentes sur la formulation et stabilité des émulsions de Pickering ont permis d'identifier la meilleure composition assurant une bonne stabilité et la taille des gouttes ciblée (250  $\mu\text{m}$ ) pour la suite de ces travaux :

- ~ Fraction massique huile/eau de [75/25] ;
- ~ Concentration d'HAp en phase aqueuse de 10  $\text{mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ;
- ~ Concentration de NaCl en phase aqueuse de 0,5 M.

Pour conclure ce chapitre, une étude plus complète de la stabilité de cette émulsion a été menée et sera présentée dans cette partie du manuscrit :

- ~ Une première étude consistant à analyser avec le Turbiscan cette émulsion immédiatement après émulsification et sur une période d'environ 2 jours afin d'observer les phénomènes et temps de stabilisation engendrés.
- ~ Une deuxième étude consistant à étudier l'effet de la température (16 heures à 60°C), ce qui correspond à un vieillissement accéléré de cette émulsion.

#### 1. Étude de stabilité sur 2 jours à température ambiante

La Figure 82 montre l'évolution du signal  $\Delta R$  (%) sur 2 jours 17 heures et 33 minutes, avec un scan du tube contenant l'émulsion toutes les 25 secondes. On remarque que l'amplitude de l'échelle du signal rétrodiffusé n'est pas très élevée et s'étend de -5 à 2 % ce qui montre une légère déstabilisation. D'autre part, l'évolution se produit principalement sur les 5 premières heures après émulsification (bleu foncé), cependant son amplitude n'est que de 3% de signal ce qui reste faible. On peut donc conclure d'après ces résultats et les précédents (à J70) que l'émulsion sélectionnée est stable et peut être utilisée entre 5 heures et 70 jours après émulsification, dans les conditions de stockage étudiées (à température ambiante et à l'abri de la lumière).



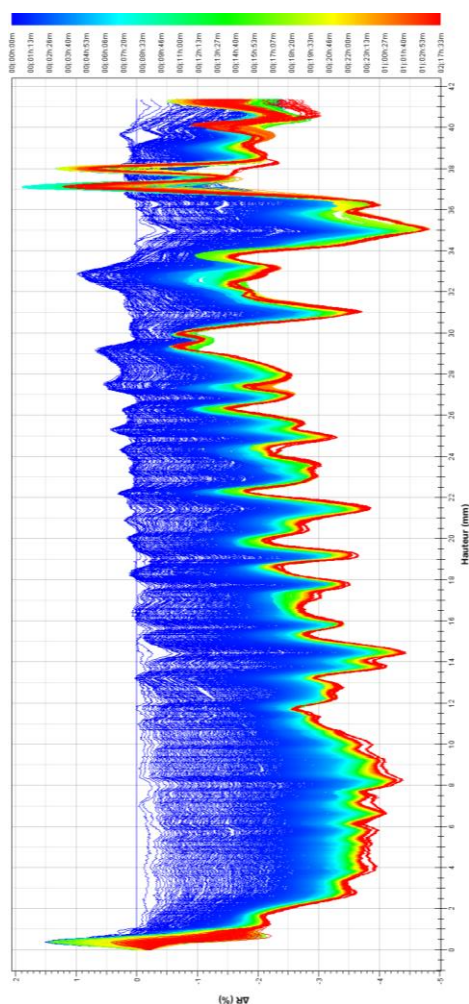


Figure 82 - Évolution du signal rétrodiffusé pendant 2 jours 17 heures et 33 minutes débuté juste après émulsification d'une émulsion [H/E] avec fraction massique huile/eau [75/25], 10 mg<sub>HAP</sub>/g<sub>Miglyol</sub> et 0,5M NaCl

## 2. Étude de l'influence de la température sur la stabilité

Un essai de stabilité a été réalisé en soumettant l'émulsion à une température constante de 60°C (température la plus haute proposée par l'appareil) directement au sein du Turbiscan pour réaliser un vieillissement accéléré de l'émulsion (inspiré de la réglementation de l'ASTM : F1980-16). Une mesure de stabilité a été effectuée toutes les 25 secondes. L'essai s'est déroulé en deux étapes, la première étant la montée en température de l'émulsion : l'appareil est préalablement stabilisé à 25°C puis la température augmente jusqu'à 60°C. Cette température est atteinte après 2h30, soit une

vitesse de température de  $0,23^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . La seconde étape étudie la stabilité de l'émulsion à  $60^{\circ}\text{C}$  durant 13h30.

La Figure 83 montre l'évolution du signal  $\Delta R$  (%) de l'émulsion en fonction de la hauteur du tube :

- ~ La première étape de mise en température de l'émulsion de  $25^{\circ}\text{C}$  à  $60^{\circ}\text{C}$  sur une durée de 2h30 est représentée par les courbes en bleu foncé. On remarque une déstabilisation dès cette première étape : augmentation du  $\Delta R$  (%) dans le haut du tube, associée à une baisse de signal dans le bas du tube, ceci est en accord avec les résultats précédents, l'émulsion nécessite environ 5 heures pour se stabiliser à température ambiante.
- ~ Concernant l'évolution de l'émulsion lors de la deuxième étape à  $60^{\circ}\text{C}$  (du bleu turquoise au rouge), la variation du signal  $\Delta R$  (%) est très faible ce qui montre la stabilité de l'émulsion. Ainsi la température, dans les conditions étudiées, n'a pas d'effet sur la stabilité de l'émulsion.

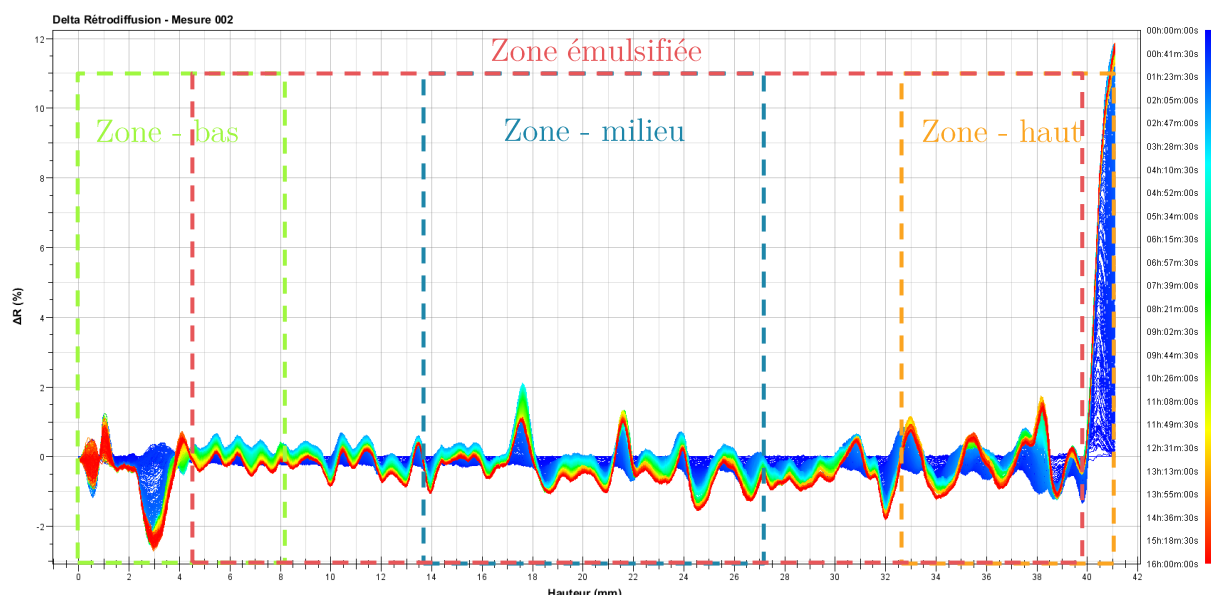


Figure 83 -  $\Delta R$  sur la hauteur de l'échantillon avec fraction massique huile/eau [75/25],  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et  $0,5\text{M NaCl}$

La Figure 84 montre l'évolution du TSI calculé sur différentes zones de l'émulsion (visibles sur la Figure 83) calculées automatiquement par le logiciel : la zone du bas s'étend de 0 à 8,21 mm, la zone du milieu de 13,68 à 27,37 mm et la zone du haut de 32,84 mm à 41,05 mm. Sur ce même graphique est représentée l'évolution de la température au sein de la chambre de mesure, ainsi que la zone totale émulsifiée définie manuellement de 4,23 mm à 39,89 mm. En accord avec les résultats précédents, le TSI augmente pendant la première étape de montée en température (2h30) avec des différences selon les zones déterminées :

- ~ Les zones du haut et du bas ont un TSI beaucoup plus élevé qui montre que ces phases ne sont pas stables (émulsification dans la zone du haut, léger déphasage aqueux en bas). Cependant, après 2 heures, le TSI de la zone du haut (partie supérieure de la phase émulsifiée) se stabilise alors que le TSI de la zone du bas continue d'augmenter après 2h30 (déphasage et/ou sédimentation).
- ~ Néanmoins, il est important de noter que la phase du milieu, représentant une partie de la zone émulsifiée possède un TSI très faible et subit peu de variation. Afin de vérifier si toute la zone émulsifiée est stable, le TSI de la zone émulsifiée totale a été ajouté. Sa courbe suit celle de la zone du milieu. La partie émulsifiée est donc particulièrement stable, quelle que soit la température.

On peut ainsi conclure qu'un stockage à 60°C n'a pas affecté la stabilité de l'émulsion et, au contraire, a permis une stabilisation (mise en place de la coalescence limitée) plus rapide qu'à température ambiante.

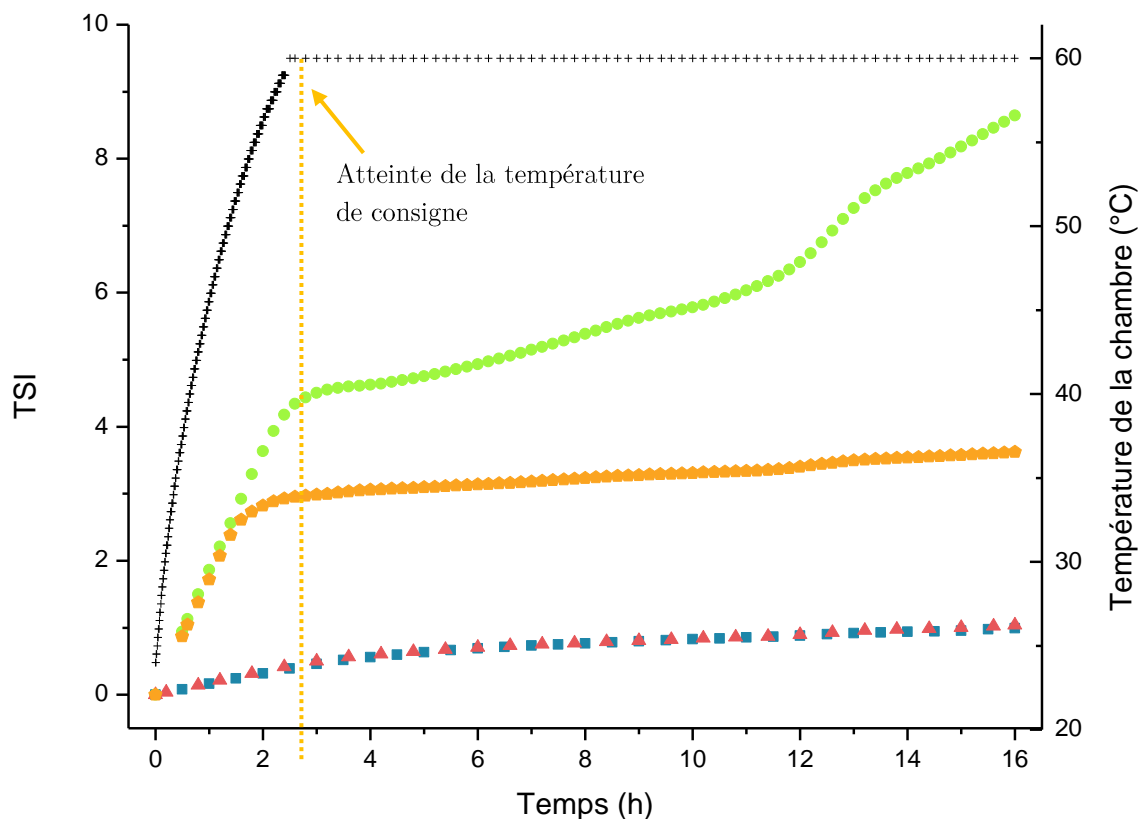


Figure 84 - Évolution du TSI calculé sur différentes zones de l'émulsion et de la température de la chambre de mesure (°C) en fonction du temps (h) (● Zone du bas ; ■ Zone du milieu ; ◆ Zone du haut ; ▲ Zone émulsifiée ; + Température)

De plus, ces essais de stabilité correspondent également à des tests de vieillissement accéléré. La méthode la plus commune pour simuler le vieillissement accéléré repose sur la loi d'Arrhenius qui établit qu'une augmentation de 10°C en température double la vitesse de réaction chimique [305]. De ce fait, le vieillissement accéléré est utilisé pour simuler le vieillissement de demi-vie réel et permet un résultat préliminaire rapide sur le vieillissement qui pourrait être engendré par la chaleur, l'humidité ou encore la lumière.

Les tests sont en général réalisés entre 50°C et 60°C, habituellement à 55°C, régulés par l’American Society for Testing and Materials (ASTM) selon la réglementation F1980-16 qui définit la relation suivante :

$$\text{Temps de vieillissement accéléré} = \frac{\text{Temps de vieillissement naturel}}{Q_{10}^{\left[\frac{T_{VA}^{\circ} - T_A^{\circ}}{10}\right]}} \quad (3.9)$$

$Q_{10}$  est une grandeur fixée à 2 pour les émulsions et dispositifs médicaux, cela signifie qu’à chaque augmentation de température de 10°C, la vitesse de dégradation est doublée.  $T_{VA}^{\circ}$  est la température de vieillissement accélérée fixée lors de l’incubation (dans ce cas 60°C), et  $T_A^{\circ}$  est la température ambiante à laquelle se produit le vieillissement naturel (température ambiante soit 25°C). Les conditions appliquées à l’émulsion (13h30 à 60°C) correspondent à un vieillissement accéléré d’environ 6 jours et 9 heures à température ambiante ( $\approx 8h45$ ). Les résultats sont en accord avec ceux observés à J70 et l’émulsion est stable au cours du temps.

## CHAPITRE 4

# Élaboration de biocéramiques poreuses d'apatites nanocristallines à partir d'émulsions de Pickering

## **Introduction**

Le chapitre IV présente l'ensemble des méthodes et résultats concernant la préparation et la caractérisation des biocéramiques poreuses d'apatites biomimétiques (NCA, cf. Les apatites nanocristallines biomimétiques) élaborées à partir des émulsions de Pickering précédemment étudiées dans le chapitre 3. Il est divisé en deux parties :

- ~ A. La méthode de préparation des biocéramiques détaillant la synthèse d'un gel de phosphate de calcium, puis le mélange du gel à l'émulsion de Pickering (précurseur de la macroporosité), son moulage suivi du séchage. Les paramètres majeurs étudiés (la quantité de gel ajoutée à l'émulsion de Pickering et la taille des gouttes de l'émulsion) sont présentés par la suite.
  
- ~ B. La caractérisation physico-chimique et mécanique des biocéramiques poreuses générées (composition, taille des cristallites, porosité, tests de compression, ...) qui permettra de différencier les biomatériaux produits. Différentes formes et tailles de monolithes sont développées et différents tests réalisés (analyse structurale par tomographie X, tests mécaniques) et tests cellulaires (non présentés dans le manuscrit) ;

# Partie A. Méthode de préparation des biocéramiques poreuses d'apatites biomimétiques à partir d'émulsions de Pickering

---

Dans cette partie, des matériaux composés entièrement de phosphate de calcium seront réalisés. Leur porosité est contrôlée par chimie douce à l'aide de l'émulsion de Pickering préalablement réalisée, stabilisée par des particules d'HAp, à laquelle est ajoutée, dans la phase aqueuse un gel d'apatite biomimétique.

Les apatites nanocristallines de synthèse ou apatites biomimétiques, présentent une composition, structure et taille des cristaux proches du minéral osseux par rapport à une hydroxyapatite stœchiométrique [306] (cf. Les apatites). Elles présentent une sous-stœchiométrie (lacunes en ions  $\text{OH}^-$  et  $\text{Ca}^{2+}$ ) liée à la présence d'ions bivalents dans sa composition tels que les ions hydrogénophosphate  $\text{HPO}_4^{2-}$  ou carbonate  $\text{CO}_3^{2-}$ . Elles montrent une meilleure solubilité et résorbabilité *in-vitro* que l'HAp [307]. Par ailleurs, elles possèdent une morphologie aciculaire (en forme d'aiguille), similaire à l'os, dont la couche de surface non apatitique hydratée présente une grande réactivité.

D'autre part, le procédé de synthèse du gel d'apatite, rapide et à température ambiante, est plus aisé à réaliser au quotidien que celui de l'HAp stœchiométrique, qui demande un contrôle du pH, de la température et de la vitesse de mélange.



## I. Synthèse du gel de phosphate de calcium

La synthèse du gel de phosphate de calcium est réalisée par double-décomposition en phase aqueuse en mélangeant deux solutions [308] : une solution « A » de sels de calcium et magnésium, et une solution « B » de sels de phosphate et carbonate. Les ions carbonate et magnésium ont un rôle d'inhibiteurs de croissance des cristaux d'apatites, afin d'en préserver la réactivité de surface [309]. La solution « B » contient un excès de sels tampons, phosphates et carbonates (pH d'environ 8,4), qui maintient par la suite le pH du mélange à environ 7,4, proche du pH physiologique [310].

La solution « A » est réalisée à partir de chlorure de calcium dihydraté ( $\text{CaCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$ ) et de nitrate de magnésium hexahydraté ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2, 6 \text{H}_2\text{O}$ ). Les produits composant la solution « B » sont l'hydrogénophosphate de sodium ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) et le bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ), la présence de ce dernier permettra d'obtenir une apatite carbonatée proche de la composition du minéral osseux. Ces solutions sont à réaliser la veille de la synthèse pour assurer une dissolution complète des composés. Elles peuvent également être réalisées en plus grande quantité et conservées au laboratoire à température ambiante. Les compositions des solutions « A » et « B » sont respectivement présentées dans le Tableau 19.

Solution A (250mL)	M (g/mol)	C (mol/L)	m (g)	Solution B (750mL)	M (g/mol)	C (mol/L)	m (g)
$\text{CaCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$	147,00	0,5930	43,6	$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{H}_2\text{O}$	141,96	1,020	109
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2, 6 \text{H}_2\text{O}$	256,41	0,0119	0,76	$\text{NaHCO}_3$	84,00	0,635	40

Tableau 19 - Composition des solutions A (250 mL) et B (750 mL) pour la synthèse du gel de phosphate de calcium

Une fois les deux solutions préparées, elles sont mélangées en ajoutant la solution « A » à la solution « B » comme illustré sur la Figure 85. Un précipité

blanc se forme lors de l'homogénéisation des solutions. Le mélange est laissé mûré pendant 3 jours, à température ambiante, l'agitation est maintenue pendant ½ journée. Cette maturation permet aux cristaux formés d'évoluer vers une forme plus stable enrichie en ions carbonates [80]. Par la suite, le précipité est filtré sur Büchner puis lavé avec 1,5 L d'eau déionisée (3 lavages successifs de 500 mL) afin d'éliminer les ions phosphates en excès ainsi que les contre-ions issus de la solution de départ ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ). En effet, ces ions présents dans la solution « A » et « B » de départ n'incorporent pas le réseau apatitique [78]. Un gel blanc est alors obtenu (Figure 85).

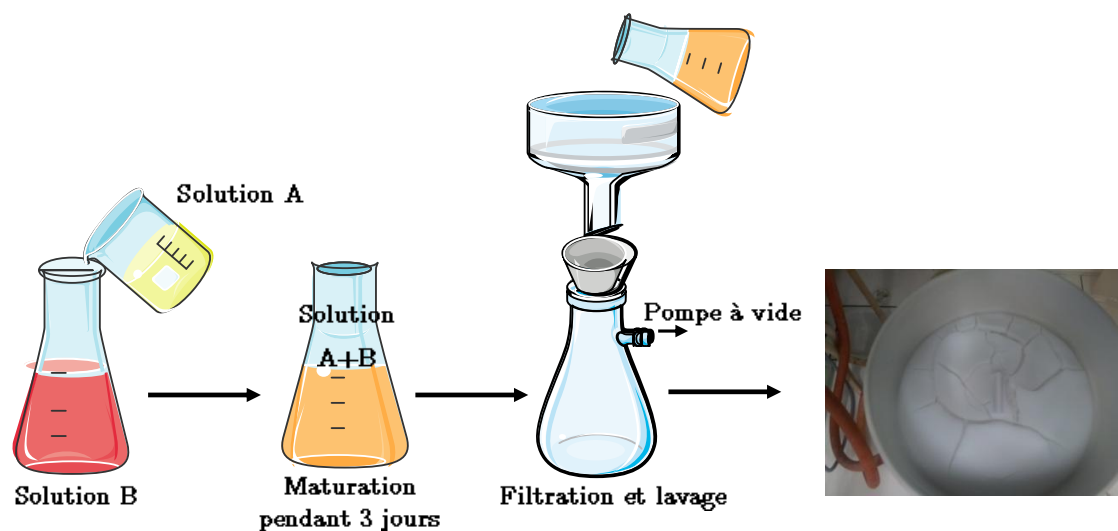


Figure 85 - Schéma du principe de synthèse du gel de phosphate de calcium par double-décomposition en voie aqueuse

Pour améliorer la tenue mécanique du matériau et prévenir l'apparition de fissures lors du séchage, le précipité filtré est pesé puis remis en solution puis dissout dans de l'eau avec 0,5% en masse de sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ) pendant environ 3 heures, comme proposé précédemment par Sarda et al. [310]. Le magnésium, connu pour ralentir la vitesse de séchage, permet de minimiser les

fissures lors du séchage en retenant l'eau ce qui permet de contrôler la déshydratation. La solution est ensuite filtrée à nouveau sur Büchner puis lavée rapidement à l'eau déionisée (250 mL) afin de retirer l'excès d'ions magnésium.

La filtration est poursuivie de façon à retirer l'eau libre. Le gel blanc fraîchement obtenu peut ensuite être intégré à l'émulsion de Pickering.

## II. Préparation du mélange émulsion/gel

Des émulsions de Pickering préalablement sélectionnées dans le Chapitre 3 pour leurs caractéristiques physiques (taille, homogénéité, stabilité) ont été utilisées. Leurs formulations sont les suivantes :

- ~ Une fraction massique [H/E] à [75/25]
- ~ Une concentration en NaCl dans la phase aqueuse de 0,5M
- ~ Une quantité d'HAp de 5 à 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> pour obtenir un diamètre homogène de gouttes moyen de 250 µm et 400 µm, et des gouttes suffisamment proches pour permettre l'interconnexion de la porosité dans la céramique.

Une fois l'émulsion réalisée, selon le protocole précédemment décrit dans le chapitre 3, elle est laissée au repos durant 30 minutes pour atteindre la stabilité (cf. chapitre 3). Ensuite, le gel de phosphate de calcium précédemment synthétisé est ajouté dans l'émulsion avant mélange à l'Ultra-Turrax à 13000 rpm pendant 1 minute. Comme le gel est aqueux, il est dilué dans la phase externe de l'émulsion. Un schéma de la préparation est visible sur la Figure 86.

Les mêmes pots en polypropylène ont été utilisés pour l'émulsification et l'ajout du gel avec les dimensions suivantes : un diamètre de 28 mm et une hauteur de 66 mm puis le mélange est transféré dans des pots en PTFE

(polytétrafluoroéthylène, téflon, voir dimensions Tableau 21) pour séchage. La quantité d'émulsion est fixée à 20 g, la masse de gel ajoutée varie entre 1,25 g (70,6% d'huile dans le mélange émulsion/gel) à 4 g (62% d'huile dans le mélange émulsion/gel) pour étudier l'influence du rapport massique émulsion/gel (E/G). La hauteur de remplissage est d'environ de 2/3 de la hauteur du pot. Le mélange est ensuite séché afin d'obtenir les biocéramiques.

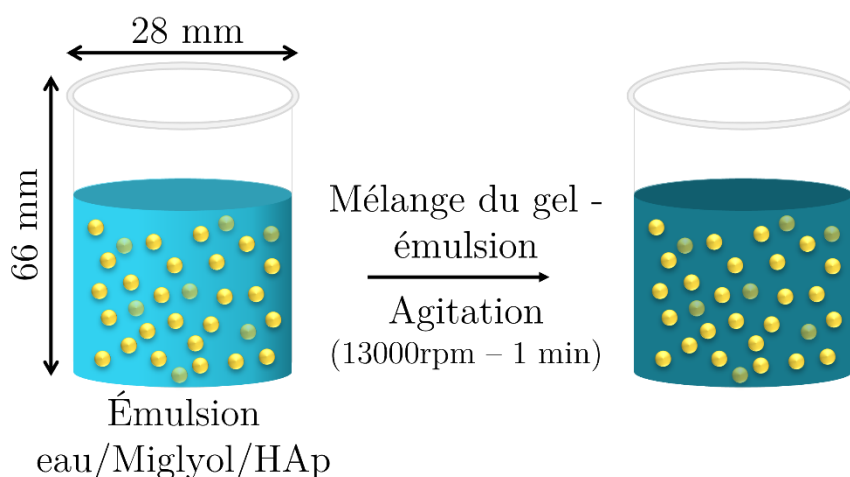


Figure 86 - Schéma de préparation du mélange émulsion de Pickering/gel de phosphate de calcium

### III. Conditions de séchage

Un séchage à basse température à l'étuve à 40°C a été choisi pour préserver la réactivité de surface des apatites. Afin d'estimer la durée minimale du séchage des biocéramiques, une étude préliminaire a été réalisée sur le gel de phosphate de calcium seul (sans l'émulsion). Cette étude a été faite sur 3 pots en PTFE (Tableau 21) remplis de gel d'apatite au 2/3 puis placés à l'étuve à 40°C, dont la perte massique a été suivie régulièrement (Figure 87) jusqu'à 7 jours. On remarque que 80% de perte massique est observée après 3 jours. Entre 3 et 7 jours, la perte massique est faible et se stabilise vers 85% après 7 jours.

Les matériaux et leurs paramètres ciblés étudiés par la suite sont présentés dans le Tableau 20. Les matériaux sont nommés selon le format suivant : Rapport [E/G]-[Diamètre moyen de pores estimé].

Nom des matériaux	Rapport E/G	Diamètre moyen de gouttes de l'émulsion ciblée ( $\mu\text{m}$ )
5-250	5	250
8-250	8	250
12-250	12	250
8-400	8	400

Tableau 20 - Appellations et paramètres ciblés des biocéramiques de phosphate de calcium étudiées dans ce chapitre.

Pour les différents mélanges émulsion/gel, la perte en volume liée au séchage est de  $89 \pm 0,6 \%$  pour le matériau 5-250,  $89 \pm 0,4 \%$  pour le matériau 8-250,  $90 \pm 0,6 \%$  pour le matériau 8-400 et  $87 \pm 1,1 \%$  pour le matériau 12-250. Un temps de séchage de 7 jours à  $40^\circ\text{C}$  a donc été fixé pour le séchage du mélange émulsion/gel pour la suite de ces travaux.

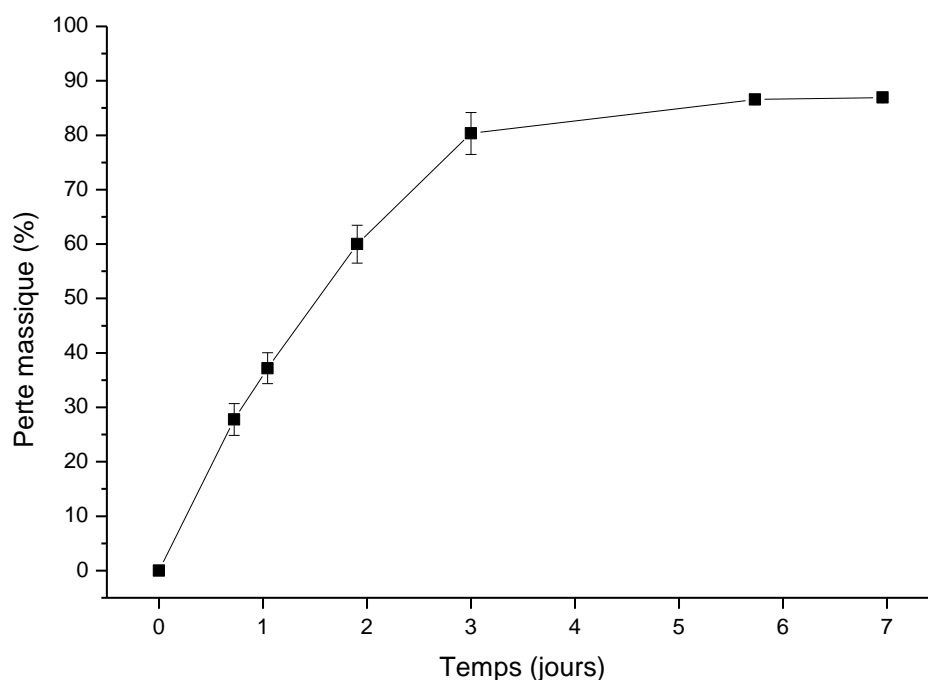


Figure 87 - Évolution du séchage au cours du temps du gel seul (sans émulsion) de phosphate de calcium (*triplicata*) à l'étuve à 40°C pendant 7 jours.

Après 24 heures, un rejet d'huile se produit (en surface) lié à la contraction du matériau. Le rejet d'huile est retiré deux fois par jours pendant les trois premiers jours afin d'assurer un séchage optimal du matériau et éviter qu'il ne flotte dans la phase huileuse. Après ces trois jours, la phase solide s'est fortement contractée. À la suite des 7 jours de séchage, afin de retirer toute l'huile, les matériaux alors suffisamment solides sont plongés dans l'éthanol pendant 72 heures, avec des changements successifs d'éthanol 2 fois/jour.

Comme exemple, les différentes étapes de ce séchage sont illustrées sur la Figure 88 concernant les biocéramiques élaborées sur plaque en téflon, avec géométrie et dimension spécifiques requises pour des tests cellulaires. Au cours de la thèse, quatre types de moule en téflon (PTFE) ont été utilisés pour le séchage,

leurs caractéristiques sont présentées dans le Tableau 21. Le téflon a été choisi pour ses propriétés de mouillabilité et ainsi limiter les fissures lors du séchage et du retrait. Les pots et béciers ont été utilisés quotidiennement pour fabriquer les monolithes et les caractériser ; en particulier, ils nous ont permis d'étudier la contraction en volume liée au séchage et l'élaboration de moules plus adaptés aux tests mécaniques et cellulaires.

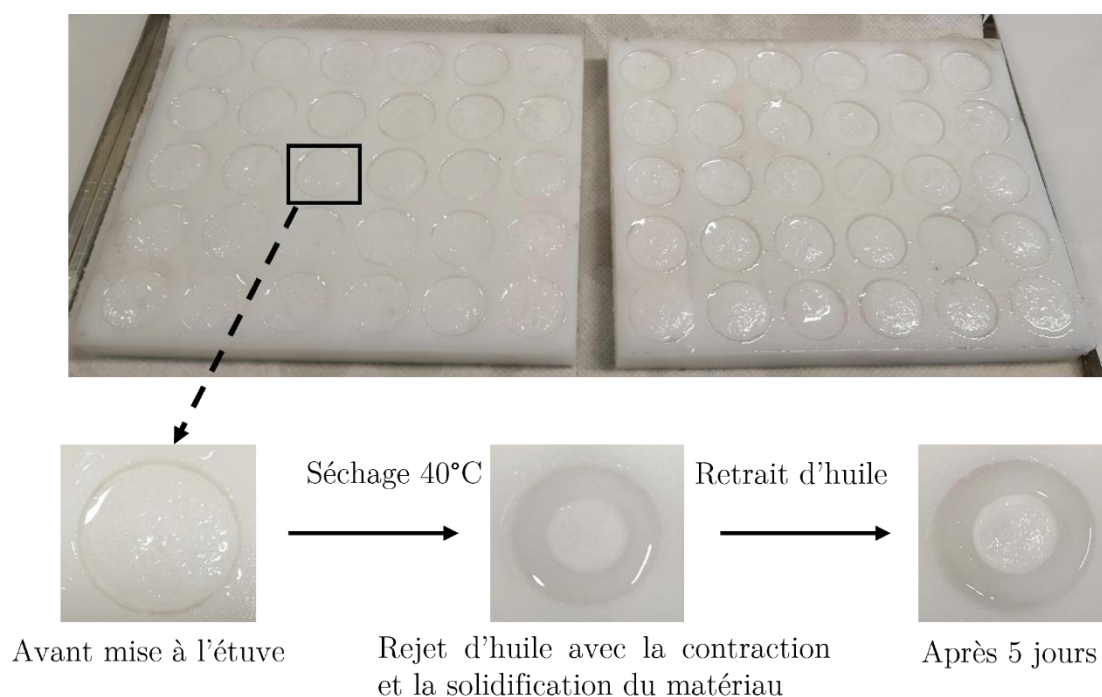


Figure 88 - Images des étapes de fabrication des biocéramiques de phosphate de calcium pour tests cellulaires, après ajout du gel d'apatite dans l'émulsion de Pickering ( $E/G=8$ ,  $[H/E]=[75/25]$ ,  $[NaCl]=0,5M$  et  $HAp = 10 \text{ mg}_{HAp}/\text{g}_{Miglyol}$ ) avant séchage et au 5<sup>ème</sup> jour à l'étuve à 40°C sur plaque de PTFE.

En effet, les tests mécaniques et les tests cellulaires (ces derniers ne seront pas présentés dans ce manuscrit) réalisés sur les matériaux imposent des contraintes de taille et de forme spécifiques. Les tests mécaniques nécessitent d'avoir un matériau dont le rapport hauteur sur diamètre soit de 1,5 (norme NF ISO 13779-1). Les tests cellulaires imposent d'avoir un matériau sous forme de pastille (moule visible en Figure 88) et dont les dimensions doivent convenir pour entrer dans une plaque de culture cellulaire de 24 puits. Une étude préliminaire sur le retrait en

volume lors du séchage a été réalisée, afin d'estimer la dimension du moule nécessaire avant contraction du matériau pour ces deux applications. Par exemple, pour dimensionner les puits pour tests mécaniques (Tableau 21), 15 échantillons test ont été réalisés avec l'émulsion de formule :  $E/G=8$ ,  $[H/E]=[75/25]$ ,  $[NaCl]=0,5$  M et  $HAp = 10 \text{ mg}_{HAp}/\text{g}_{Miglyol}$ . Un retrait de  $45 \pm 2 \%$  en hauteur et  $49 \pm 1 \%$  en diamètre ont été notés, ce qui a permis de dimensionner les moules (Tableau 2).

Plusieurs plaques de PTFE ont été dimensionnées sur-mesure pour réaliser des moules adaptés aux critères des tests mécaniques et cellulaires, des puits ont été créés à la surface des plaques permettant d'obtenir des matériaux à la taille souhaitée.

	Pot (PTFE)	Bécher (PTFE)	Puits pour test mécanique	Puits pour test cellulaire
Diamètre (mm)	26	38	14	24,3
Hauteur (mm)	57	51	25	7,3

Tableau 21 - Dimensions des différents moules utilisés pour sécher le mélange émulsion/gel

## IV. Élaboration des biocéramiques : paramètres étudiés

Deux paramètres d'élaboration des biocéramiques peuvent influencer leurs propriétés finales (physico-chimiques, mécaniques, morphologiques : taille des pores et interconnexion) :

- ~ La quantité de gel (G) de phosphate de calcium ajoutée à l'émulsion (E) de Pickering (rapport massique  $[E/G]$ ).
- ~ La taille des gouttes (phase dispersée) de l'émulsion de Pickering initiale (quantité d'HAp stabilisant l'émulsion).



## 1. Influence de la fraction massique émulsion/gel [E/G]

La quantité de gel ajoutée à l'émulsion (à quantité d'émulsion constante) a une influence sur le pourcentage massique d'huile dans le mélange émulsion/gel. Ainsi, quatre rapports massiques émulsion/gel (E/G) croissants ont été testés : 5, 8, 12 et 20. Les quantités respectives d'émulsion et de gel des mélanges sont présentées dans le Tableau 22, ainsi que le pourcentage d'huile résultant dans le mélange émulsion/gel.

Rapport massique E/G	5	8	12	20
Masse émulsion (g)	20	20	20	20
Masse gel (g)	4	2,5	1,66	1
Huile dans le mélange E/G (%)	62,5	66,6	69,3	71,4

Tableau 22 – Variation du rapport massique émulsion/gel (E/G) et effet sur le pourcentage d'huile dans le mélange final

Les rapports E/G choisis permettent de cibler un pourcentage d'huile compris entre 62,5% et 71,4%, plage qui, selon la littérature [6], permet d'observer l'influence de la teneur en huile dans le mélange « émulsion de Pickering/gel » sur la porosité et l'interconnexion des pores des biocéramiques qui en résultent. En effet, bien qu'il ait été démontré qu'une concentration massique en huile de 74% permette d'obtenir le mode d'empilement de gouttes le plus compact (hexagonal compact ou cubique face centrée) dans la cas d'émulsions fortement concentrées en phase dispersées (*High internal phase emulsions* ou HIPes)[116], Scott et Kilgour [311] ont déterminé qu'un empilement aléatoire dense était atteint dès 63,66% d'occupation en volume de sphères monodisperses, soit dans notre étude le volume occupé par les gouttes d'huile. Cet empilement serait suffisant pour obtenir un réseau interconnecté car les gouttes seraient suffisamment proches. Par ailleurs, Torquato *et al.* [312] ont réuni plusieurs données issues de simulations d'algorithmes

démontrant qu'un empilement aléatoire dense était atteint pour une compacité de 60 à 68%.

Dans notre étude, seuls les rapports E/G de 5, 8 et 12 sont présentés pour la suite de l'étude, car la friabilité du matériau E/G = 20 était trop élevée (Tableau 22). Un pourcentage d'huile de 71,4% apparaît trop important pour obtenir des biocéramiques utilisables, le matériau étant difficilement manipulable (très fragile et friable). Les quantités respectives de gel ont alors été ajoutées dans les émulsions dont les caractéristiques, préalablement choisies (cf. Chapitre 3) sont les suivantes : [H/E] à [75/25], NaCl=0,5M et HAp = 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub>, correspondant à une taille de gouttes homogène autour de 250 µm.

## 2. Influence de la quantité d'HAp dans l'émulsion : variation de la taille des gouttes de l'émulsion initiale

Un autre paramètre étudié est la taille des gouttes d'huile dans l'émulsion initiale. Un rapport émulsion/gel, E/G=8 a été fixé pour étudier l'influence de ce paramètre : 250 µm et 400 µm, en faisant varier la quantité d'HAp nécessaire pour stabiliser l'émulsion. En effet, nous avons montré précédemment qu'il était possible de moduler la taille de goutte en modifiant la quantité de particules d'hydroxyapatite. Ainsi, deux émulsions de Pickering ayant les caractéristiques suivantes ont été utilisées pour faire varier le diamètre de gouttes (cf. chapitre 3) :

- ~ avec [H/E] à [75/25], NaCl=0,5 M et HAp = 5 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> correspondant à un diamètre de goutte moyen et homogène d'environ 400 µm (406 ± 65 µm).
- ~ avec [H/E] à [75/25], NaCl=0,5 M et HAp = 10 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub> correspondant à un diamètre de goutte moyen et homogène d'environ 250 µm (255 ± 28 µm).

# Partie B. Caractérisation des biocéramiques de phosphate de calcium

---

Différentes techniques d'analyses ont été utilisées pour vérifier les caractéristiques physico-chimiques et mécaniques finales des biocéramiques de phosphate de calcium obtenues. Les résultats obtenus sont présentés dans cette partie.

## I. Diffraction des rayons X

Les diffractogrammes des RX des différentes biocéramiques, ainsi que de l'hydroxyapatite synthétisée précédemment pour stabiliser les émulsions de départ, sont présentés en Figure 89. Les raies principales de l'apatite, identifiées précédemment dans le chapitre 3, sont bien présentes, notamment les raies les plus intenses : (002), (211), (112), (300), (202) et (310) sont visibles sur tous les diffractogrammes (JCPDS 9-432). Les raies de diffraction apparaissent larges et mal définies ce qui est caractéristique d'une apatite phosphocalcique de faible cristallinité, analogue au minéral osseux, appelées apatites nanocristallines (NCA) ou apatites biomimétiques [308], présentées dans le chapitre 1.

Cependant, on note certaines raies supplémentaires : quatre raies, marquées en pointillés sur la Figure 89, apparaissent aux distances inter-réticulaires ( $\text{\AA}$ ) 3,25 ; 2,82 ; 1,99 et 1,63. Ces raies sont associées au diagramme de rayons X du NaCl (JCPDS 5-0628), présent dans la phase aqueuse de l'émulsion, dont les raies les

plus intenses sont les suivantes [(Å) et raie (hkl) associée] : 3,25 (111) ; 2,82 (200) ; 1,99 (220) ; 1,71 (311) et 1,63 (222). La raie (311) du NaCl, située à 1,71 Å, est superposée à la raie (004) de l'hydroxyapatite. Ainsi, le NaCl présent dans la phase aqueuse de l'émulsion initiale recristallise lors du séchage et n'est pas éliminé lors du lavage à l'éthanol réalisé pour extraire le Miglyol (le sel n'étant que très peu soluble dans l'éthanol 0,51 g/L contre 360 g/L dans l'eau). Le NaCl se retrouve ainsi présent au sein du matériau final.

L'analyse par DRX des matériaux montre donc une apatite faiblement cristallisée, avec des traces de chlorure de sodium (NaCl).

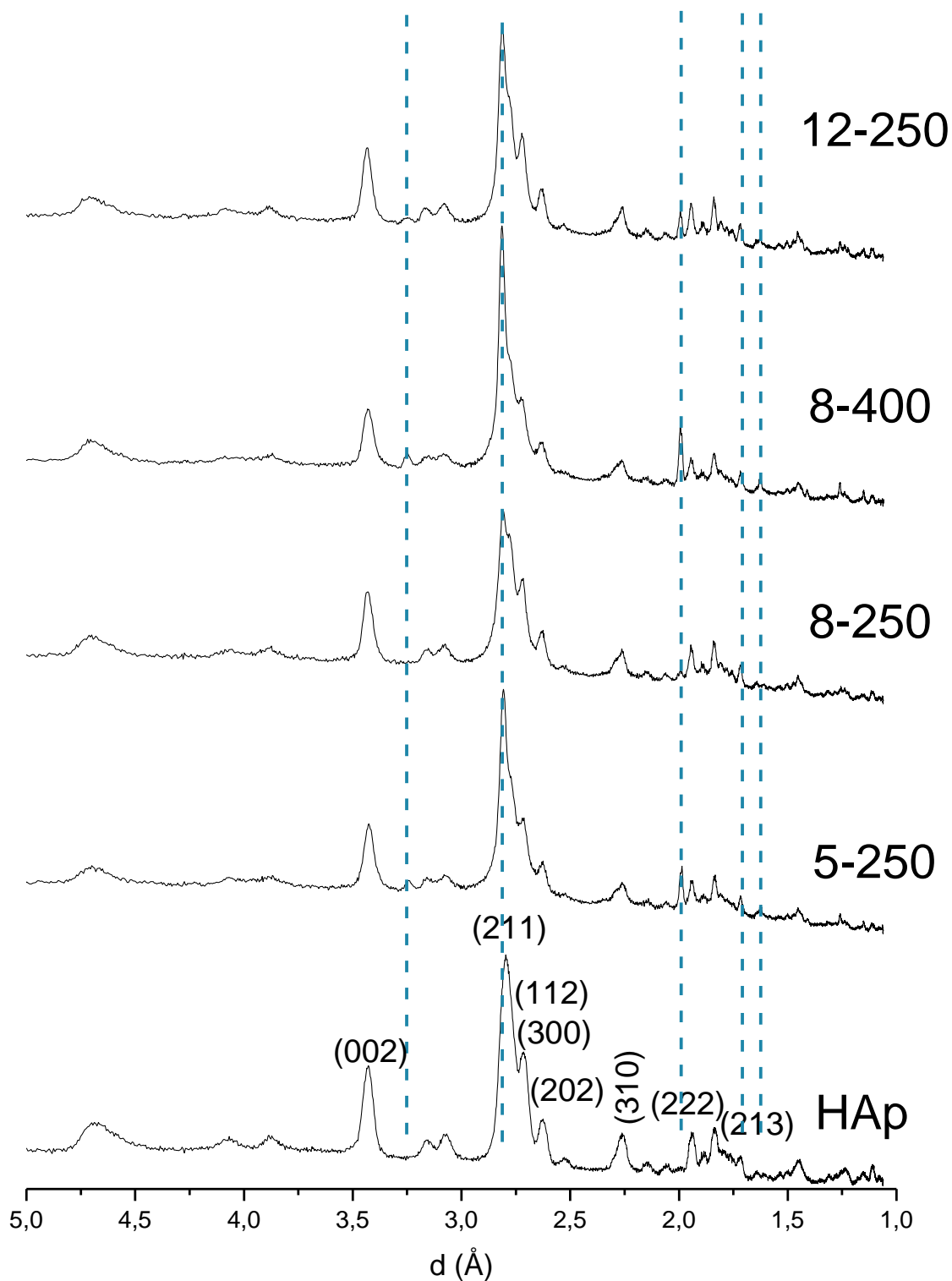


Figure 89 - Diagrammes de diffraction des rayons X des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 et 12-250 et de la poudre d'HAp synthétisée, pics principaux du NaCl en pointillés

La mauvaise résolution des raies de diffraction rend impossible la détermination des paramètres de mailles. Cependant la dimension apparente des domaines apatitiques peut être estimée grâce à la largeur à mi-hauteur des raies (002) et (310) en appliquant la formule de Scherrer [281] (cf. chap 3 - équation 134134).

La taille moyenne des cristallites des différents matériaux ainsi que de l'hydroxyapatite a été estimée à l'aide du logiciel EVA (Bruker, USA), leurs valeurs sont visibles dans le Tableau 23 : entre de  $97$  et  $103 \pm 8$  Å pour L(310) et de  $273 \pm 3$  et  $361 \pm 3$  Å pour L(002) selon les biocéramiques, proches des valeurs obtenues pour l'HAp ( $103 \pm 8$  Å et  $268 \pm 3$  Å pour L(310) et L(002), respectivement) ce qui confirme l'allongement des cristaux dans le sens de l'axe c de l'apatite.

L'HAp synthétisée et utilisée pour stabiliser les émulsions est une hydroxyapatite stœchiométrique lyophilisée. Les biocéramiques obtenues à partir du gel sont des apatites biomimétiques séchées plus lentement à  $40^{\circ}\text{C}$  que l'HAp stœchiométrique lyophilisée ce qui explique une taille de cristallite globalement plus élevée pour les biocéramiques en particulier pour L(002).

On remarque que le rapport E/G a une influence sur la taille des cristallites : pour une même taille de goutte initiale dans l'émulsion (soit  $250$  µm pour les biocéramiques 5-250, 8-250 et 12-250) plus E/G augmente (de 5 à 12), plus la taille des cristallites augmente (en particulier pour l'échantillon 12-250, autant dans le sens de la longueur des cristaux ( $L(002)=361 \pm 3$  Å) que la largeur soit ( $L(310)=149 \pm 8$  Å). Quand E/G augmente, la quantité de gel de phosphate de calcium diminue en faveur de la quantité d'émulsion, le mélange est donc plus riche en eau et moins concentré en phosphate de calcium : ainsi le séchage est plus lent,

ce qui favorise la croissance des cristaux, comme cela a été démontré au travers de diverses études de l'effet du temps de maturation (avant séchage) sur les propriétés des apatites biomimétiques [313].

Pour un même rapport E/G (soit 8 pour les biocéramiques 8-250 et 8-400), on remarque également que les tailles des cristallites augmentent inversement avec la taille des gouttes des émulsions initiales (250  $\mu\text{m}$  pour 8-250 et 400  $\mu\text{m}$  pour 8-400) soit lorsque le pourcentage en huile augmente, donc lié comme précédemment à la quantité de phase aqueuse présente dans l'émulsion : les tailles de cristallites les plus faibles sont observées pour le monolithe 8-400 dont l'émulsion de départ est la moins riche en eau.

Échantillon	L(002) $\pm$ 3 Å	L(310) $\pm$ 8 Å
HAp synthétisée	268	103
5-250	297	97
8-250	298	113
12-250	361	149
8-400	273	103

Tableau 23 - Dimensions apparentes de cristallites de la poudre d'HAp synthétisée et des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400

## II. Spectroscopie infrarouge

Les spectres IRTF des différents matériaux 5-250, 8-250, 8-400 et 12-250 sont présentés sur la Figure 90. Un traitement de ligne de base a été appliqué par le logiciel de traitement de spectre OMNIC. Les spectres mettent en évidence les bandes de vibration caractéristiques des groupements phosphates apatitiques (voir Tableau 13 [314]) :

- ~ les bandes multiples entre 1006 et 1104  $\text{cm}^{-1}$  correspondent au mode d'élongation antisymétrique ( $\nu_3$ ) des  $\text{PO}_4^{3-}$

- ~ la bande à  $962\text{ cm}^{-1}$  correspond au mode d'élongation symétrique ( $\nu_1$ ) des  $\text{PO}_4^{3-}$
- ~ également des bandes correspondant aux déformations angulaires des  $\text{PO}_4^{3-}$  sont observables entre  $560$  et  $617\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_4$ ) et à  $469\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_2$ ).

De plus la bande de vibration des ions  $\text{OH}^-$  vers  $630\text{ cm}^{-1}$  est faiblement observable (épaulement) sur les spectres (ainsi que celle à  $3570\text{ cm}^{-1}$ ), et les bandes caractéristiques des groupements  $\text{HPO}_4^{2-}$  sont visibles à  $551$ ,  $870$  et  $1144\text{ cm}^{-1}$ , témoignant de l'écart à la stœchiométrie.

Enfin des bandes de très faible intensité attribuables aux vibrations des ions carbonates  $\text{CO}_3^{2-}$  sont observables vers  $866$ - $880$  ( $\nu_2$ ) et  $1420$ - $1540$  ( $\nu_3$ ) ; les apatites sont donc faiblement carbonatées (approximativement inférieur à 1% selon les études spectroscopiques précédentes sur apatites nanocristallines dans la littérature) [313].

L'analyse IRTF confirme donc que les biocéramiques synthétisées sont des apatites sous stœchiométriques faiblement carbonatées, de composition et cristallinité proche de celle du minéral osseux (cf. chapitre 1), dites nanocristallines ou biomimétiques.



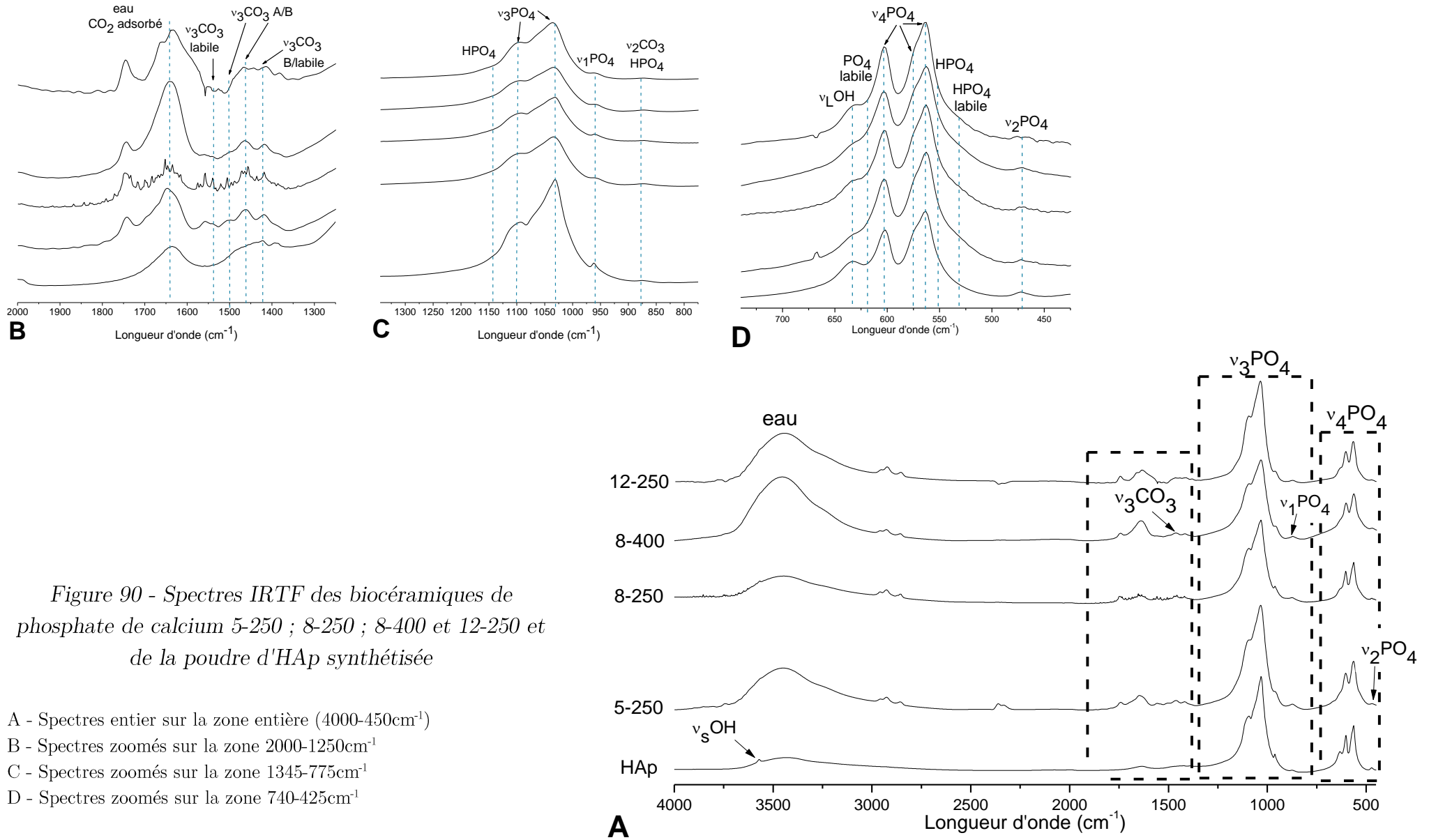


Figure 90 - Spectres IRTF des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 et 12-250 et de la poudre d'HAp synthétisée

- A - Spectres entier sur la zone entière (4000-450cm<sup>-1</sup>)
- B - Spectres zoomés sur la zone 2000-1250cm<sup>-1</sup>
- C - Spectres zoomés sur la zone 1345-775cm<sup>-1</sup>
- D - Spectres zoomés sur la zone 740-425cm<sup>-1</sup>

Comme présenté dans le chapitre 1, les apatites biomimétiques présentent une couche hydratée en surface riche en espèces labiles autour du cœur apatitique. Le domaine compris entre 700 et 400  $\text{cm}^{-1}$  comporte les bandes d'absorption  $\nu_2$  et  $\nu_4$  des groupements phosphates. En appliquant un traitement mathématique, il est possible d'estimer quantitativement les espèces labiles phosphates ou hydrogénophosphates (cf. chapitre 2 : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)).

La décomposition des bandes IR a été réalisée à l'aide du logiciel OriginPro 8.5, (OringinLab Corporation, USA) selon la méthode décrite par Rey et al [315] qui permet de décomposer ce domaine en huit bandes d'absorption distinctes de forme Gauss-Lorentzienne. Le Tableau 24 présente les paramètres suivis pour réaliser la décomposition (paramètres des raies et largeur).

Bande	Position ( $\text{cm}^{-1}$ )	Paramètres des bandes		
		Position	Largeur	Hauteur
Libration $\text{OH}^-$	631	non fixée	non fixée	non fixée
$\text{PO}_4^{3-}$ non-apatitique	617	fixée à 617 $\text{cm}^{-1}$	non fixée	non fixée
$\text{PO}_4^{3-}$ apatitique	601	non fixée	non fixée	non fixée
$\text{PO}_4^{3-}$ apatitique	575	non fixée	non fixée	non fixée
$\text{PO}_4^{3-}$ apatitique	560	non fixée	non fixée	non fixée
$\text{HPO}_4^{2-}$ apatitique	550	fixée à 550 $\text{cm}^{-1}$	fixée à 25 $\text{cm}^{-1}$	non fixée
$\text{HPO}_4^{2-}$ non-apatitique	535	fixée à 535 $\text{cm}^{-1}$	non fixée	non fixée
$\nu_2 \text{PO}_4^{3-}$	470	non fixée	fixée à 15 $\text{cm}^{-1}$	non fixée

Tableau 24 - Modèle de décomposition utilisé pour le domaine d'absorption infrarouge de 400 à 700  $\text{cm}^{-1}$

Les attributions des bandes de vibration infrarouge après décomposition du domaine  $\nu_2$  et  $\nu_4$  des  $\text{PO}_4^{3-}$  de 700- 400  $\text{cm}^{-1}$  sont présentées sur la Figure 91.

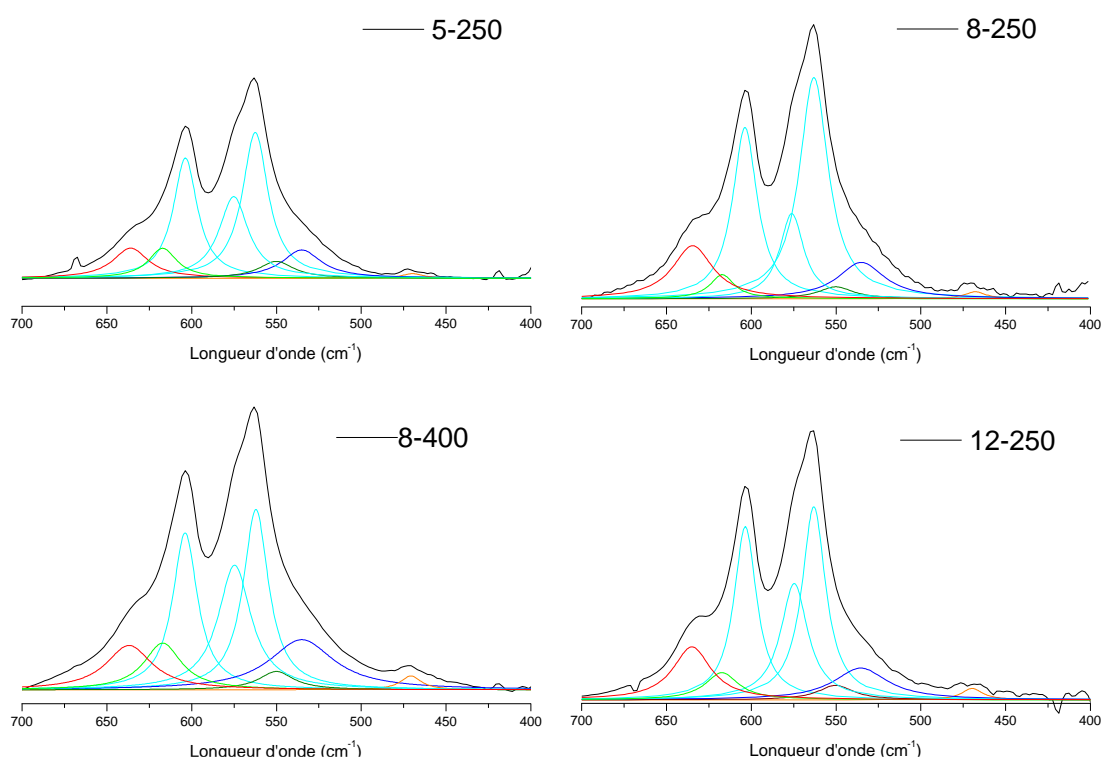


Figure 91 - Décomposition des bandes  $\nu_2$  et  $\nu_4$  des groupements phosphate pour les biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400 (—  $PO_4^{3-}$  apatitique ; —  $\nu_2 PO_4^{3-}$  ; —  $HPO_4^{2-}$  non-apatitique ; —  $HPO_4^{2-}$  apatitique ; —  $PO_4^{3-}$  non-apatitique ; —  $OH$ )

L'intensité relative des bandes est définie comme le rapport de l'aire de la bande considérée sur l'aire totale de toutes les bandes des groupements du domaine. Ainsi, il est possible de différencier les ions  $OH$ , des ions  $PO_4^{3-}$  labiles (non-apatitiques) et apatitiques, et des ions  $HPO_4^{2-}$  apatitiques et non-apatitiques pour obtenir leurs aires respectives. Les rapports des intensités relatives pour les 4 biocéramiques élaborées sont présentés sur la Figure 92.

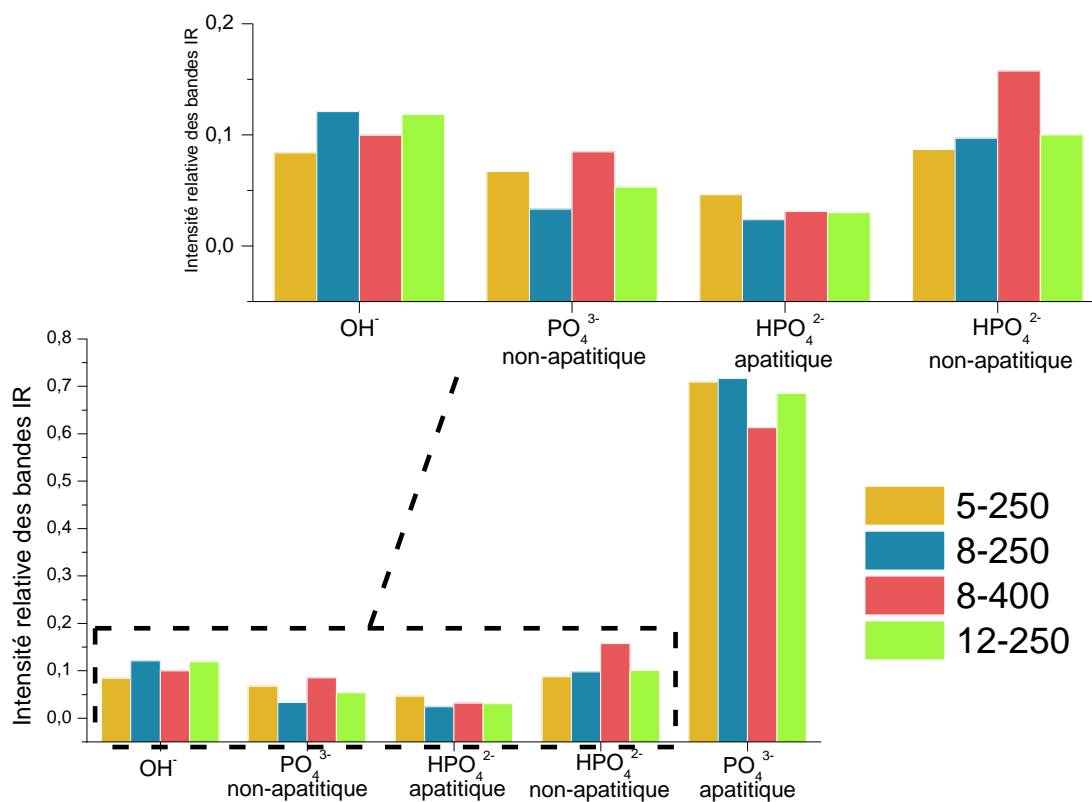


Figure 92 - Intensités relatives des bandes infrarouges des groupements  $PO_4^{3-}$  et  $HPO_4^{2-}$  apatitiques et labiles, et des hydroxydes comparés pour les biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400

Toutes les biocéramiques présentent des espèces labiles en surface,  $HPO_4^{2-}$  et  $PO_4^{2-}$ , ce qui montre que la méthode d'élaboration à basse température a permis de préserver la réactivité de surface des apatites biomimétiques, ce que ne permettent pas des procédés de frittage haute température. Les 3 biocéramiques de phosphate de calcium élaborées avec la même émulsion (250  $\mu\text{m}$  pour le diamètre de goutte moyen) mais avec des rapports E/G différents (2-250, 8-250 et 12-250) ont des proportions en espèces labiles non-apatitiques équivalentes ce qui indiquerait une réactivité de surface similaire. En effet, un même temps de maturation du gel de 3 jours a été fixé pour élaborer les 4 biocéramiques, suivi de 7 jours de séchage à l'étuve à 40°C. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature pour des apatites biomimétiques maturées faiblement carbonatées [313].

Cependant, le matériau 8-400 présente le taux en espèces apatitiques ( $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{OH}^-$ ) le plus bas, et donc un taux en espèces labiles plus élevé ( $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$ ). Il s'agit de la biocéramique dont les pores sont supposés les plus grands (taille des gouttes de l'émulsion de 400  $\mu\text{m}$ ), le retrait de l'huile lors du séchage puis du lavage est donc facilité. Le séchage a ainsi pu être plus rapide laissant moins de temps aux espèces labiles d'incorporer le cœur apatitique et préservant la couche hydratée. Ceci est en accord avec les résultats des tailles de cristallites observés (le monolithe 8-400 présentant une croissance des grains la plus faible). Cette hypothèse sera à valider dans la suite de ce manuscrit par les résultats d'analyses chimiques en ce qui concerne la composition en huile, et morphologique pour la taille des pores.

### III. Spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)

L'ICP-OES, abréviation de "Inductively Coupled Plasma", est une technique analytique à plasma à couplage inductif permettant de mesurer la teneur d'un élément inorganique présent dans un échantillon. Cette analyse a été réalisée sur les différentes biocéramiques, et leur rapport atomique Ca/P a été déterminé. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 25.

Quelle que soit la biocéramique étudiée, les rapports Ca/P obtenus sont proches de 1,5 ( $< 1,67$ ). Ces rapports traduisent un écart à la stœchiométrie, donc les biocéramiques sont toutes composées d'apatites déficientes en calcium. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans de précédents travaux : d'après la littérature, le rapport atomique d'une apatite nanocristalline non carbonatée (maturée 3 jours puis lyophilisée) se situe entre 1,4 et 1,5 [12], [313] la maturation impliquant une augmentation du rapport Ca/P [78]. De plus, dans cette étude,

l'évolution de l'apatite continue de se produire dans la phase aqueuse du mélange émulsion/gel pendant le séchage lent (7 jours à 40°C).

Biocéramique	5-250	8-250	12-250	8-400
Rapport Ca/P	1,56 ± 0,03	1,54 ± 0,05	1,49 ± 0,05	1,53 ± 0,00

Tableau 25 - Rapports Ca/P des différentes biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 12-250 et 8-400

## IV. Analyses thermiques

Une analyse thermogravimétrique (ATG) couplée à la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et dont le protocole expérimental d'analyse est décrit dans le chapitre 2 (Analyses thermiques), a permis de compléter l'analyse chimique des échantillons.

### 1. Analyses thermiques du gel de phosphate de calcium séché de référence (sans émulsion)

Dans un premier temps, la Figure 93 illustre les courbes ATG et DSC d'un gel de phosphate de calcium comme référence synthétisé sans émulsion et séché à l'étuve pendant 12h à 40°C. Il avait été préalablement conservé dans de l'éthanol. On observe plusieurs phénomènes sur les thermogrammes, caractéristiques d'une apatite nanocristalline fraîchement précipitée [316] :

~ De 25 à 250°C :

Une première perte de masse est observée en ATG de 25°C à 300°C attribuée par divers auteurs [12], [316] à la perte d'eau liée (physisorbée) sur les nanocristaux et l'eau associée aux environnement non-apatitiques de la couche hydratée. De plus, un pic endothermique sur le graphe DSC est visible à 58,9°C, caractéristique de

l'évaporation de l'éthanol dans lequel le gel a été conservé (pour éviter l'évolution en apatite).

~ De 250 à 650°C

Une seconde perte de masse est observée dans cette gamme de température correspondant à la condensation des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  en ions  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  ainsi qu'à des résidus d'eau liés aux cristaux (intracrystalline) [12], [316], [317]. De plus, plusieurs pics exothermiques sont visibles sur le graphe DSC entre 150°C et 500°C, observés précédemment par Meenakshi et al. [318] et attribués à une déshydratation-condensation entraînant plusieurs types d'arrangement des groupements OH au sein du cristal.

~ Au-delà de 650°C

Cette perte de masse correspond à la réaction des ions  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  avec les ions OH<sup>-</sup> de la structure apatitique [319]. Cette réaction est observable sur la courbe de DSC par un petit pic large endothermique vers 700°C.

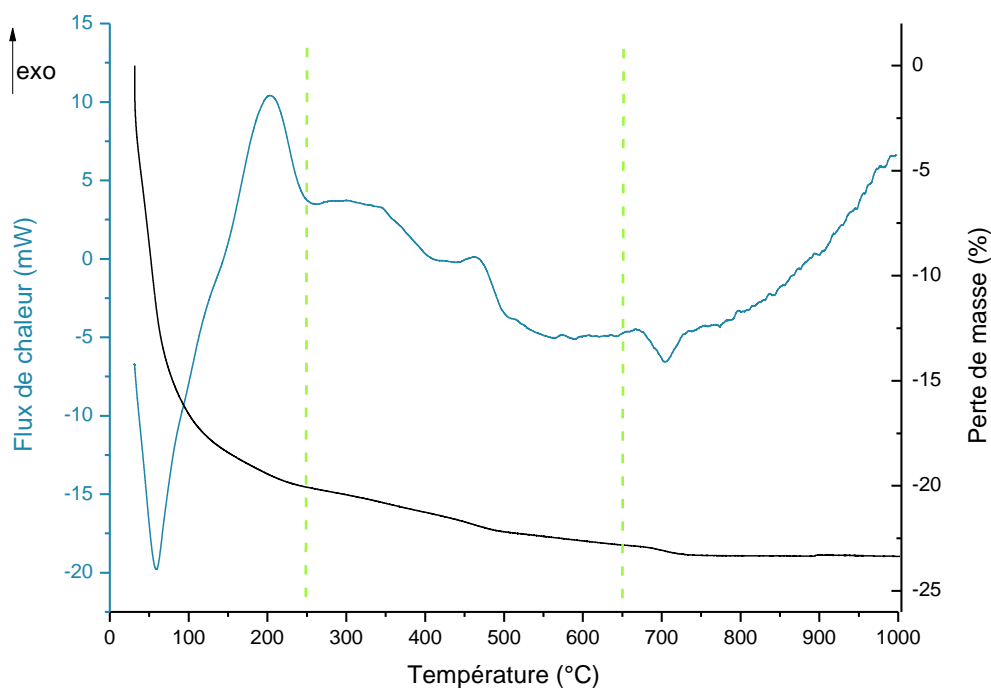


Figure 93 - Analyses thermogravimétriques et calorimétrie différentielle à balayage réalisées sur le gel (sans émulsion) séché à l'étuve 12h à 40°C

## 2. Analyses thermiques des biocéramiques poreuses obtenues

La Figure 94 présente les superpositions des courbes DSC et ATG pour la biocéramique 5-250, les autres biocéramiques sont présentées en annexes (Analyses thermiques de l'échantillon 8-250, Analyses thermiques de l'échantillon 12-250, Analyses thermiques de l'échantillon 8-400). Après analyse des courbes DSC, l'analyse thermogravimétrique permet d'estimer la perte en masse du composé associé. Ces données seront répertoriées par la suite pour analyser les composants présents dans les matériaux.

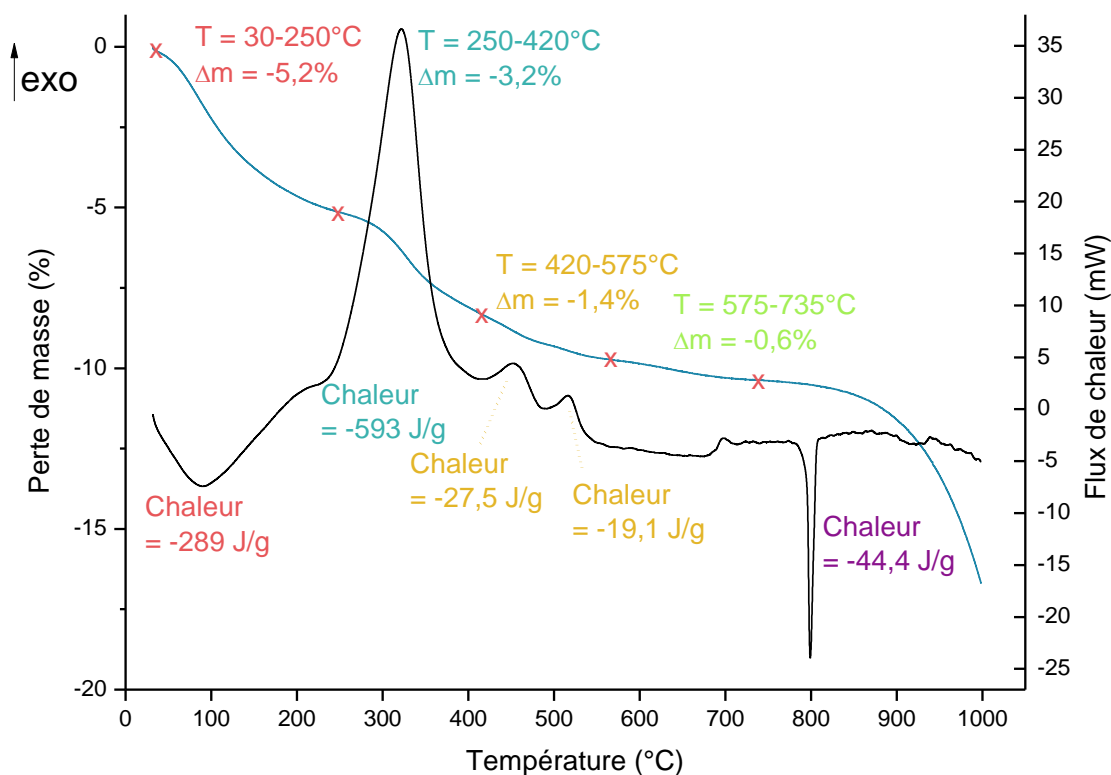


Figure 94 - Analyses thermogravimétriques et calorimétrie différentielle à balayage réalisées sur le matériau 5-250

La Figure 95 montre la superposition des courbes DSC des biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 et 12-250 ainsi que celle du gel de phosphate de calcium comme référence séché et analysé en Figure 93. On observe



sur les DSC et ATG les mêmes phénomènes que détaillés précédemment sur le gel de référence séché :

~ Entre 25°C et 250°C

Un premier pic endothermique est obtenu entre 25°C et 250°C associé à une déshydratation des biocéramiques, contrairement au pic observable à 59°C sur le gel de référence due à sa conservation dans l'éthanol en DSC (associé à une perte de masse en ATG).

~ De 250 à 650°C

Une perte en masse plus importante est visible sur la courbe d'ATG des biocéramiques, elle ne peut donc pas uniquement s'expliquer par la condensation des ions  $\text{HPO}_4^{2-}$  et la perte d'eau résiduelle. La courbe DSC met en évidence un fort pic exothermique entre 240°C et 400°C, l'analyse DSC du Miglyol 812 pur a permis d'attribuer ce pic à la présence d'huile résiduelle (graphe présenté en annexe : Analyses thermiques du Miglyol 812). Il est important de rappeler la composition de cette huile, issue du certificat d'analyse (en annexe : Certificat d'analyse du Miglyol 812) : 57,4% d'acide caproïque, 42,4% d'acide caprique et 0,1% d'acide laurique. Ainsi, lorsque le produit est analysé pur, le graphe présente 3 événements entre 200°C et 450°C lié à la dégradation des trois types d'huile :

~ De 200°C à 300°C : acide caproïque

~ De 300°C à 360°C : acide caprique

~ De 350°C à 500°C : acide laurique

De ce fait, le pic très important observé sur le graphe DSC des biocéramiques vers 320°C peut être associé à la dégradation de l'huile, le Miglyol 812, présent au

sein du matériau malgré le lavage. Seuls l'acide caproïque et caprique sont visibles en un pic.

~ Au-delà de 650°C

Sur les courbes ATG, une faible perte de masse est associée à la réaction des ions  $P_2O_7^{4-}$  avec les ions  $OH^-$  de la structure apatitique [319]. Cependant, un pic endothermique intense et fin est présent à 800°C sur les courbes des différents biocéramiques de phosphate de calcium attribué à un phénomène de fusion. Ce pic est caractéristique de la fusion du sel de chlorure de sodium NaCl, malgré le lavage, préalablement identifié en DRX.

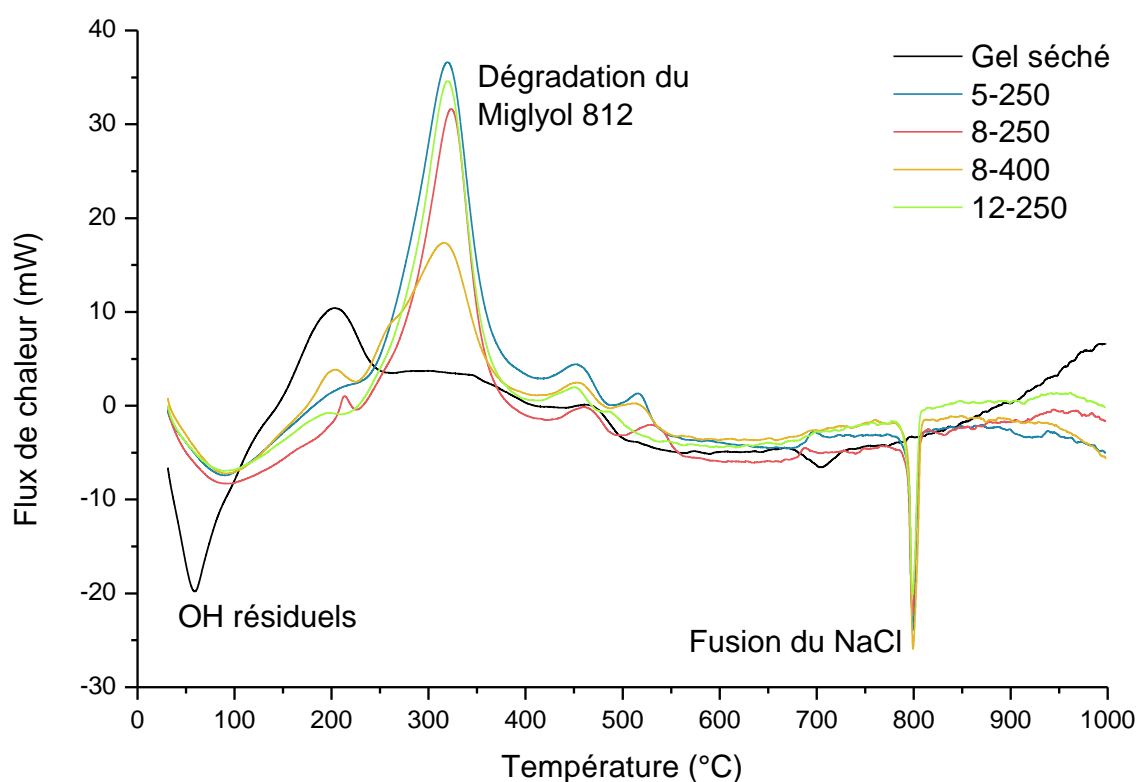


Figure 95 - Analyses calorimétriques différentielles à balayage réalisées sur les biocéramiques de phosphate de calcium 5-250 ; 8-250 ; 8-400 ; 12-250

À partir de ces analyses thermiques, il est possible de quantifier les pourcentages en eau, Miglyol et NaCl présents dans les biocéramiques. Les différents pourcentages massiques associés aux phénomènes de déshydratation, de

dégradation du Miglyol 812 et de la fusion en NaCl sont présentés dans le Tableau 26. Les deux premiers phénomènes ont été mesurés par analyse thermogravimétrique (visibles en annexe : 4, 5, 6 et 7). Le 3<sup>ème</sup> phénomène étant une fusion, il n'est pas associé à une perte de masse, mais à une enthalpie de fusion et elle peut être mesurée en DSC. En considérant les enthalpies de fusion du NaCl (pic à  $\approx 800^{\circ}\text{C}$ ) propres à chaque matériau ( $\Delta H_{\text{NaCl}} \text{ échantillon}$ ), il est possible de déterminer la quantité de NaCl au sein de l'échantillon. En effet, l'enthalpie théorique du NaCl pur étant connue ( $\Delta H_{\text{NaCl}} \text{ référence} = 530,14 \text{ J/g}$ ), l'équation suivante permet d'identifier la quantité résiduelle  $\%m_{\text{NaCl}}$  de NaCl (% massique) :

$$\%m_{\text{NaCl}} = \frac{\Delta H_{\text{NaCl}} \text{ échantillon}}{\Delta H_{\text{NaCl}} \text{ référence}} \times 100 \quad (4.1)$$

Avec :  $\%m_{\text{NaCl}}$  : la quantité résiduelle de NaCl présente dans l'échantillon  
 $\Delta H_{\text{NaCl}} \text{ échantillon}$  : l'enthalpie de fusion du NaCl pour chaque échantillon  
 $\Delta H_{\text{NaCl}} \text{ référence}$  : l'enthalpie théorique du NaCl pur

Pourcentage massique (%)	H <sub>2</sub> O	Miglyol 812	NaCl
5-250	5,2	3,2	8,4
8-250	7,3	3,5	9,4
12-250	4,2	3,5	9,1
8-400	5,2	2,7	11,8

Tableau 26 - Pourcentages massiques associés aux phénomènes identifiés par ATG ou DSC

Les résultats montrent que du Miglyol résiduel est toujours présent dans les biocéramiques (entre 2 et 4%) malgré les lavages. On obtient donc des matériaux « composite NCA-Miglyol ». Cette faible présence de Miglyol pourrait limiter leur fragilité, cette hypothèse sera vérifiée ultérieurement par les résultats de test mécaniques.

Une différence entre les biocéramiques est toutefois observée ; en effet, pour un même rapport E/G=8, les matériaux dont la taille des gouttes est d'environ 250  $\mu\text{m}$  contiennent davantage d'huile résiduelle (3,5%) que le matériau ayant des gouttes plus larges (2,7%). Cela peut être dû à un rejet d'huile plus important lors du lavage/séchage, facilité par des pores plus larges.

De plus, il faut noter que les quantités d'eau obtenues ( $\approx 5\%$ ) sont en accord avec les spectres IRTF et la nature de ces apatites biomimétiques qui présentent une couche hydratée réactive en surface du cœur apatitique. Enfin, on remarque la très forte présence du NaCl entre 8 et 12%, recristallisé dans le matériau, malgré le lavage, en accord avec les résultats de diffraction des RX. Lors des tests cellulaires (résultats non présentés dans ce manuscrit), il faudra donc pré-immérer les monolithes avant la mise en contact avec les cellules pour éliminer le NaCl.

## **V. Microscopie électronique à balayage**

L'observation au microscope électronique à balayage (MEB) est utilisée afin d'observer la taille et morphologie des pores. De ce fait, une coupe du matériau est nécessaire pour atteindre l'intérieur des monolithes. Toutefois, il est à noter que l'observation de ce type d'échantillon au MEB est délicate en raison de la fragilité du matériau. La préparation de l'échantillon nécessaire à l'observation des pores, notamment pour fissurer l'échantillon, se révèle difficile et peut engendrer une forte présence de débris. Par ailleurs, le matériau étant cassant et fragile, les parois peuvent être fissurées et l'observation ne se fait pas sur un même plan de pores mais sur différents « étages ». De ce fait, l'observation peut être tronquée. Elle sera complétée par l'analyse par tomographie X.

Cependant, cette première observation permet de visualiser la géométrie des pores. Chaque matériau a ainsi été observé dans son ensemble puis un grossissement

au niveau des pores a été effectué. Ces images sont visibles de la Figure 96 à la Figure 99 pour les 4 biocéramiques étudiées.

On constate que quelle que soit la formulation choisie, la géométrie des pores se révèle elliptique et irrégulière, c'est-à-dire une perte du caractère sphérique des pores propres à l'émulsion. Ceci peut être dû à l'effet de la gravité pendant le séchage du gel liquide (déformation des gouttes d'huile) et/ou peut être expliqué par le fort retrait (environ 70% diminution du volume) lors du séchage qui apparaît anisotrope (pourcentage de retrait différent dans les deux directions : en hauteur et en diamètre des monolithes). Il est cependant difficile par observation MEB de calculer un diamètre de pores, mais il semble que la taille de gouttes de l'émulsion de départ (250 ou 400  $\mu\text{m}$  selon les biocéramiques) soit proche des tailles de pores obtenus dans les biocéramiques. On peut noter que cette morphologie poreuse apparaît relativement homogène quel que soit l'échantillon et semble interconnectée.

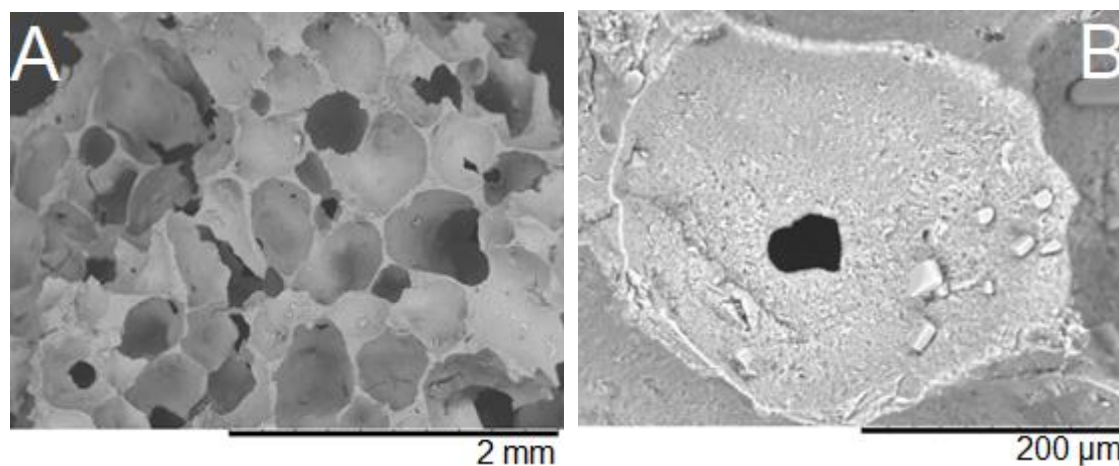


Figure 96 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 5-250 A - Vue d'ensemble (x50) B - Zoom sur un pore (x400)

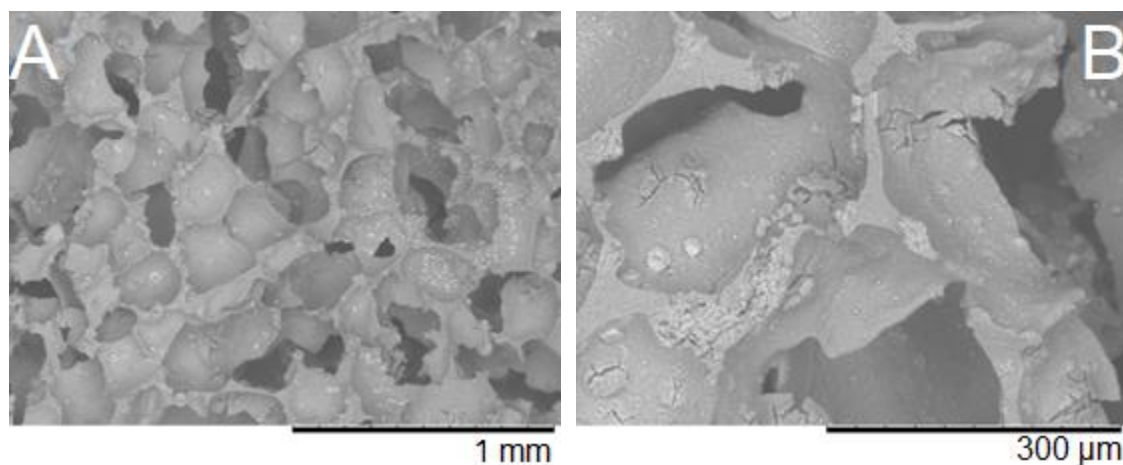


Figure 97 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-250 A - Vue d'ensemble (x80) B - Zoom sur un pore (x300)

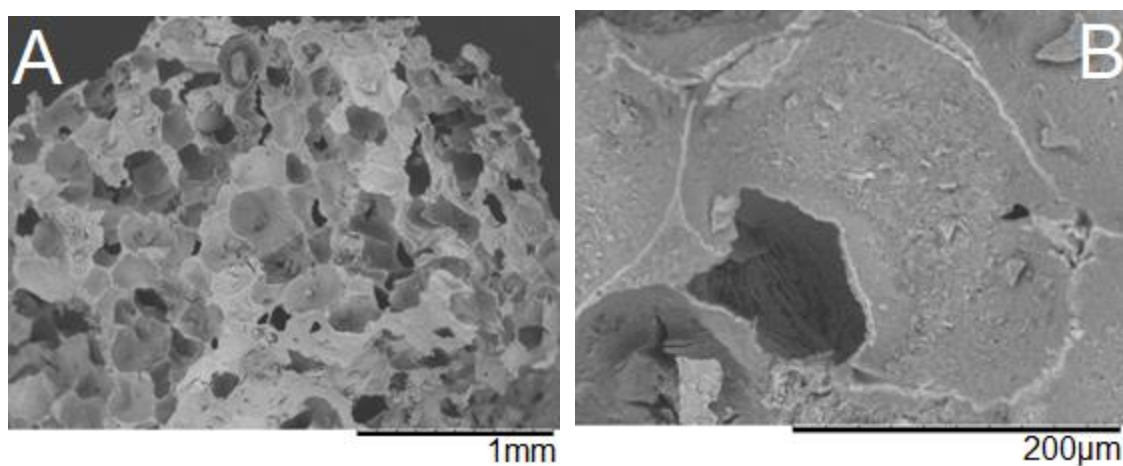


Figure 98 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 12-250 A - Vue d'ensemble de la porosité (x60) B - Zoom sur un pore (x500)

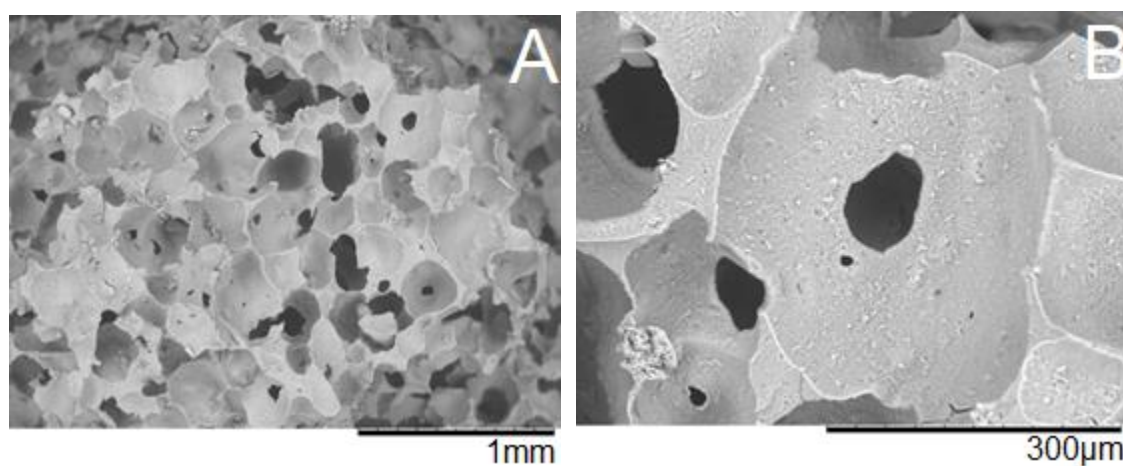


Figure 99 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-400 A - Vue d'ensemble de la porosité (x60) B - Zoom sur un pore (x300)

La Figure 100 présente l'analyse EDX réalisée sur le matériau 8-250, les éléments détectés sont le calcium et le phosphore de la structure de l'apatite. Des traces de NaCl sont détectées, en accord avec les résultats précédents par DRX et analyses thermiques.

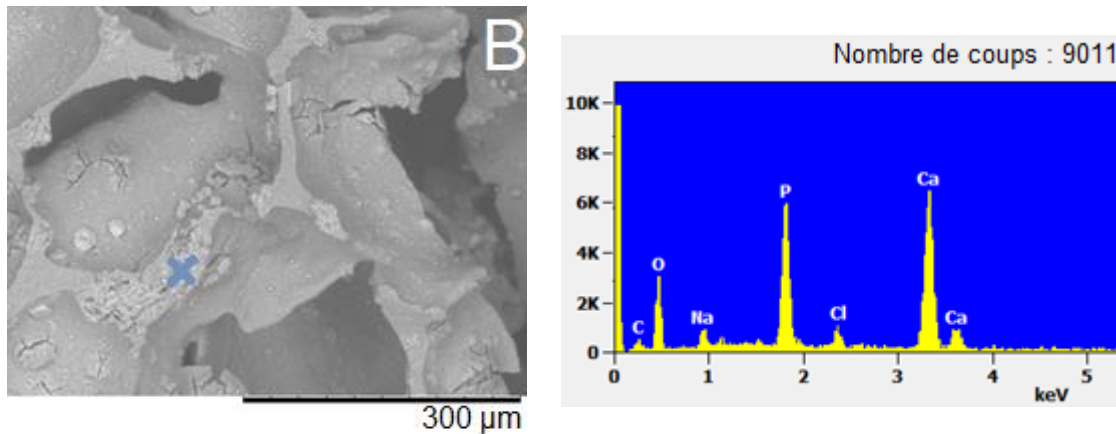


Figure 100 - Observation au MEB d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-250 A - Zoom sur un pore interconnecté (x300) B - Analyse EDX réalisée dans ce pore (croix bleue)

## VI. Tomographie aux rayons X (micro-CT)

La microtomographie permet de reconstituer l'échantillon analysé en 3D. Il s'agit d'une méthode non destructive très utile pour estimer la porosité de l'échantillon sans le casser. Il est ainsi possible de visualiser chaque échantillon numériquement (les 4 biocéramiques) et de séparer les deux phases détectées (poreuse et solide) (Figure 101 à Figure 104). Pour chaque figure, l'image supérieure représente la phase solide en blanc et celle inférieure permet de visualiser la phase poreuse en orange. Il est à noter que la tomographie de l'échantillon 8-250 n'a pu être réalisée que sur la moitié du cylindre.

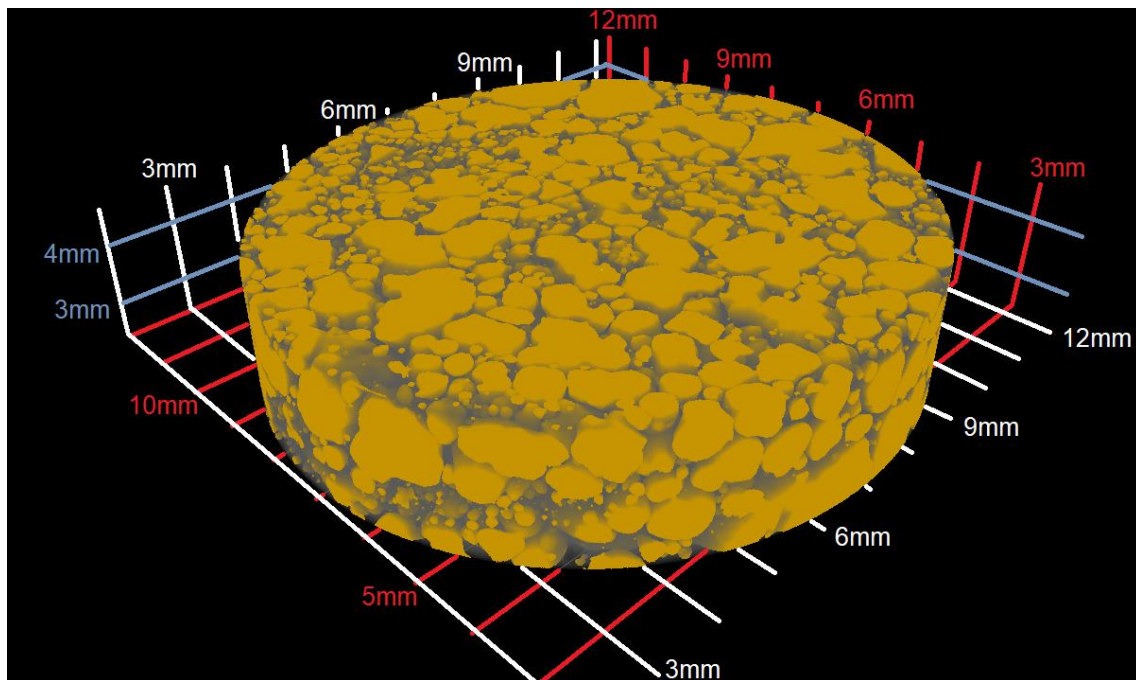
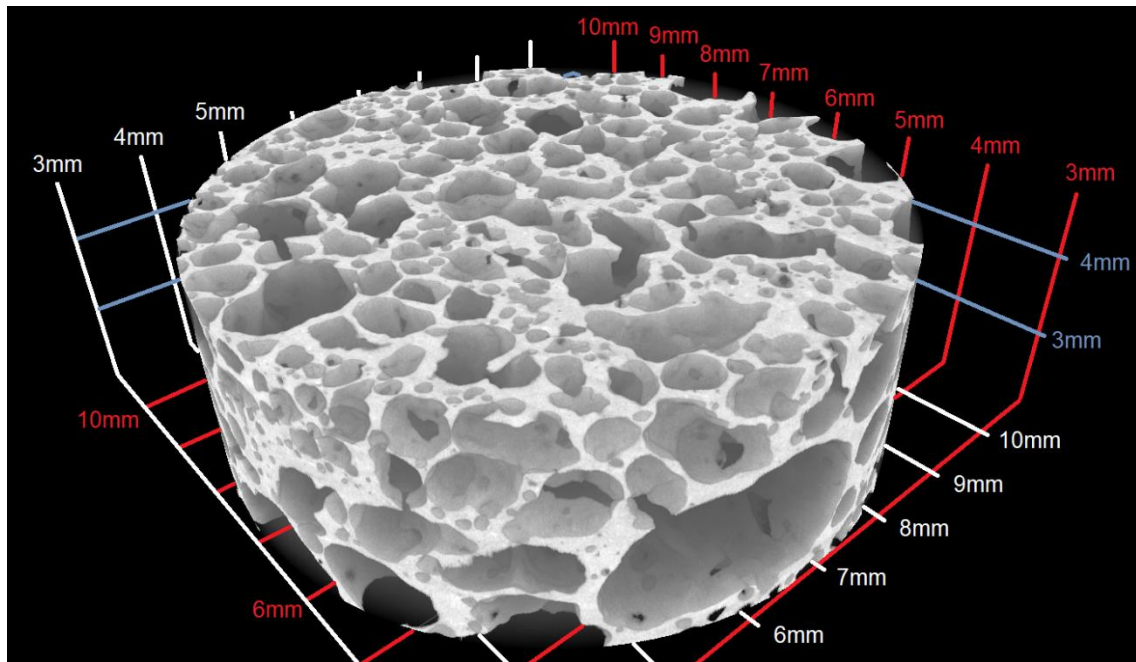


Figure 101 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 5-250 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange)



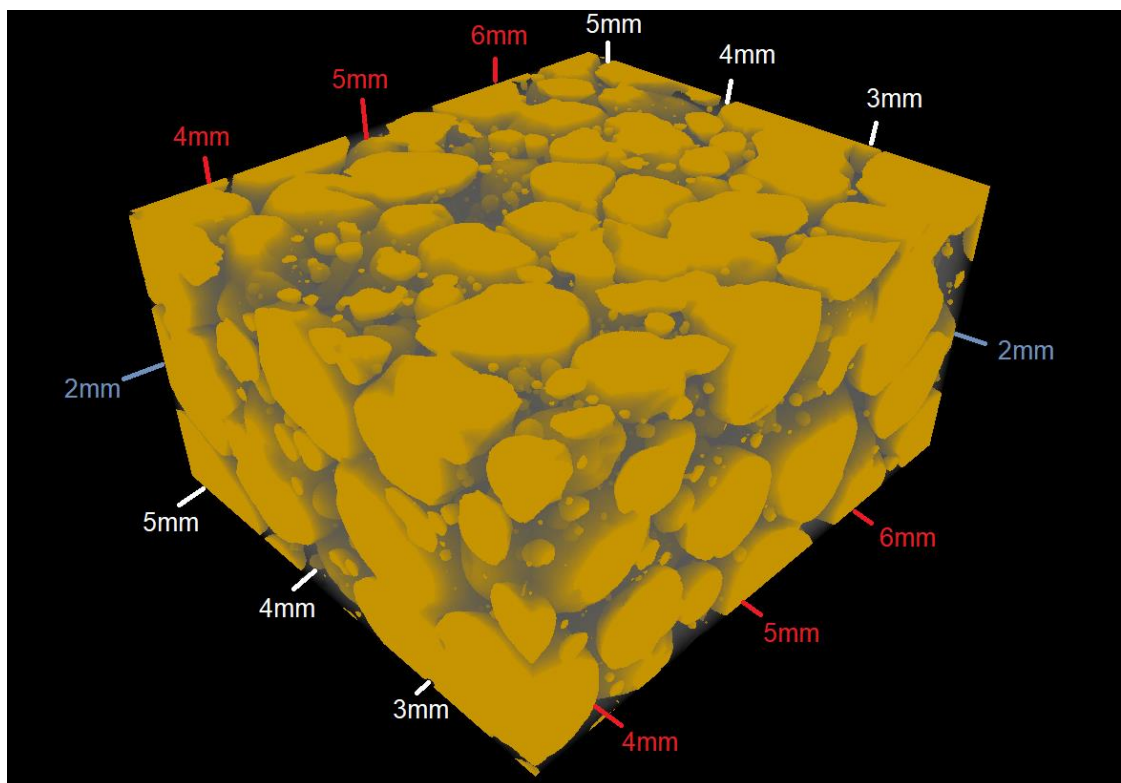
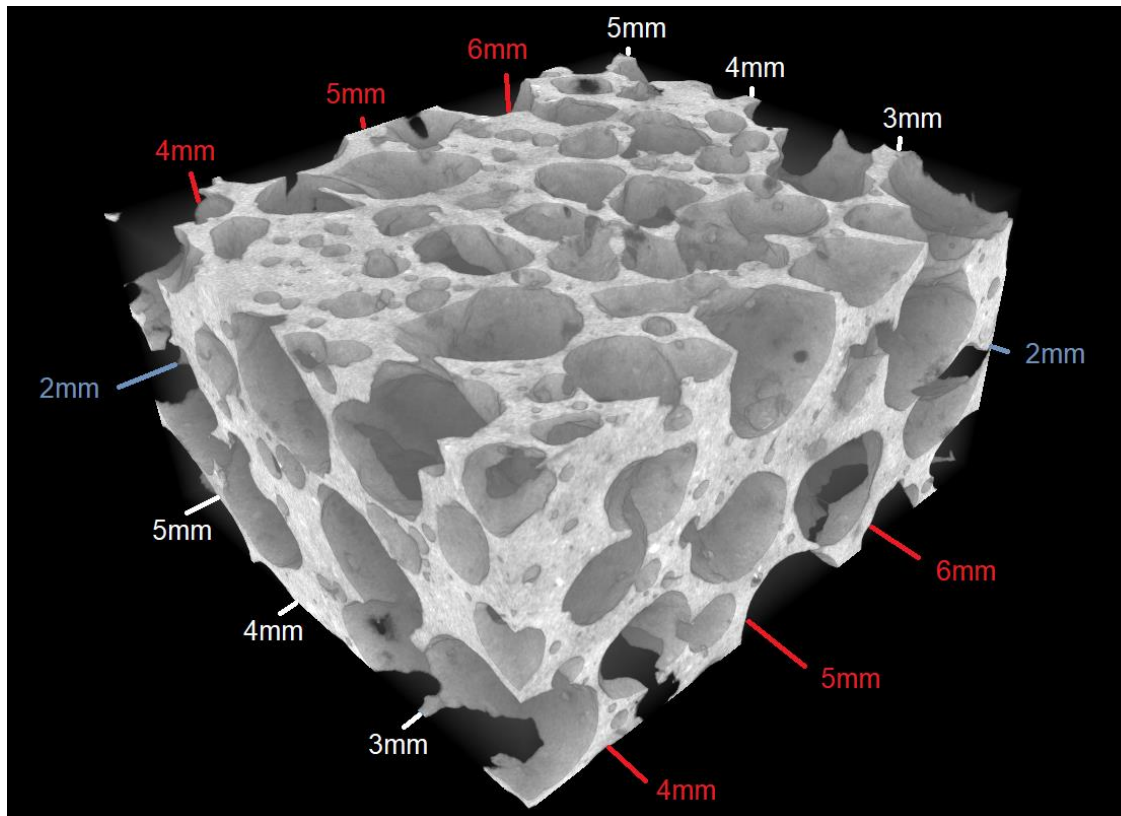


Figure 102 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-250 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange)

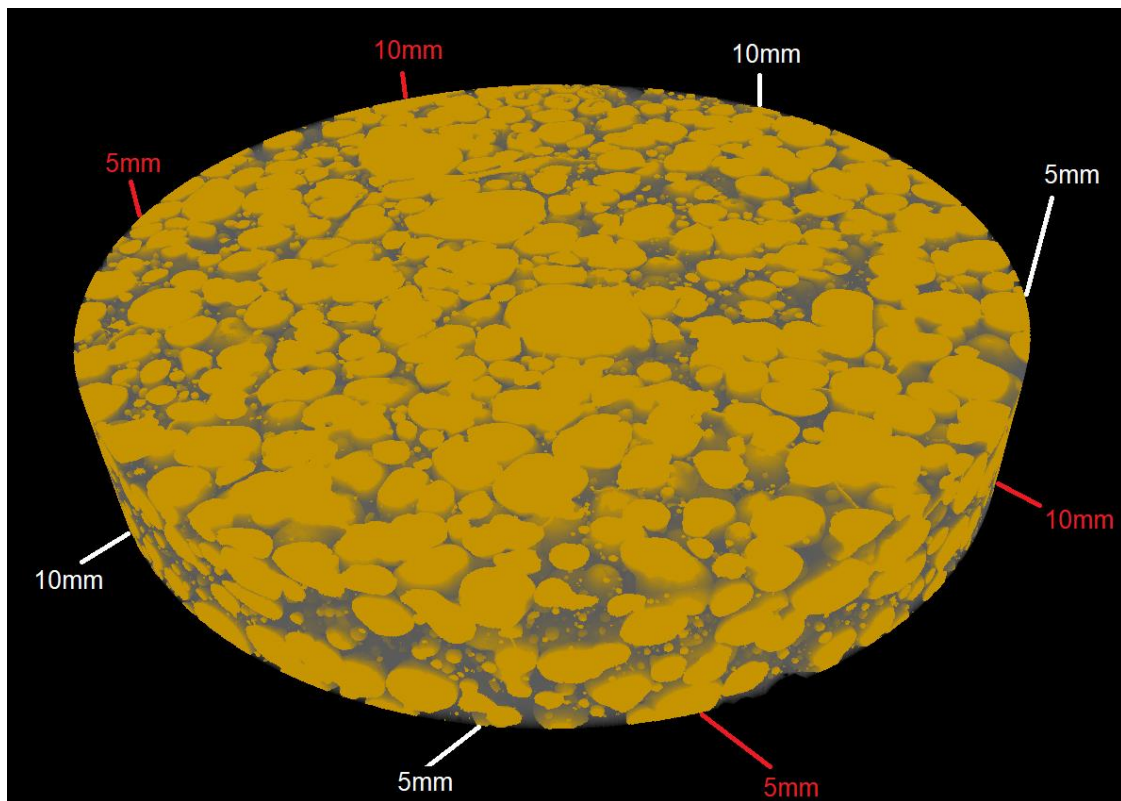
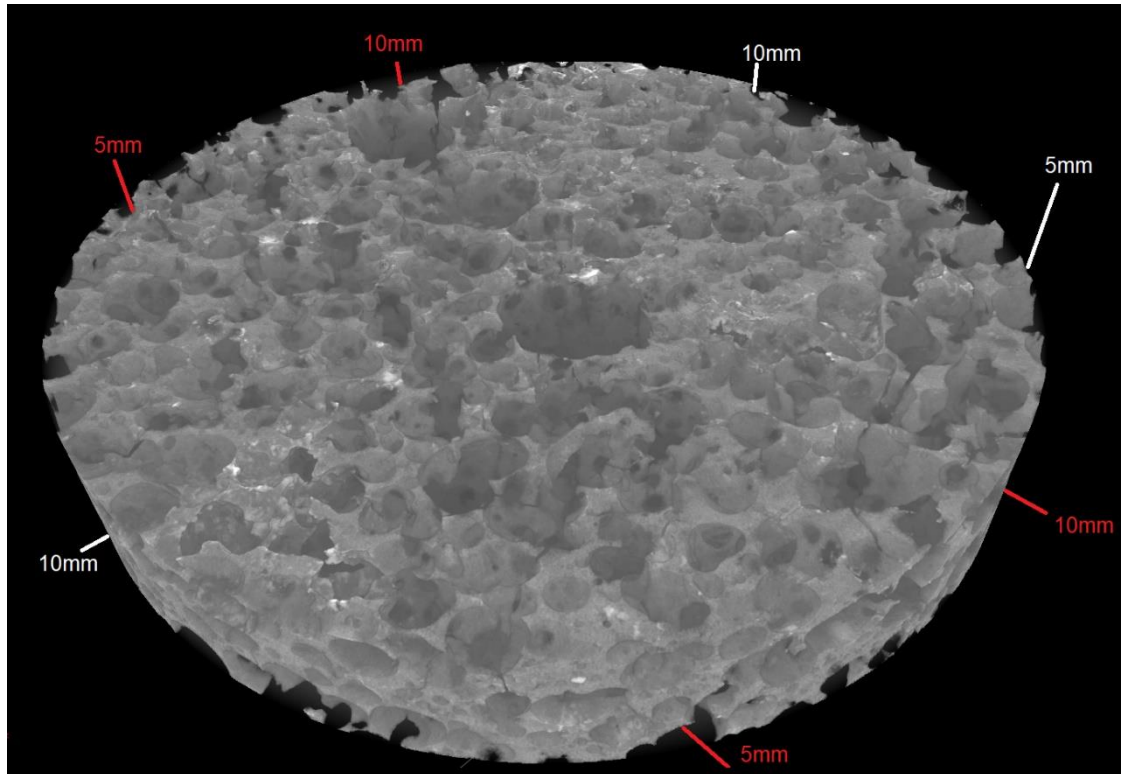


Figure 103 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 12-250 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange)

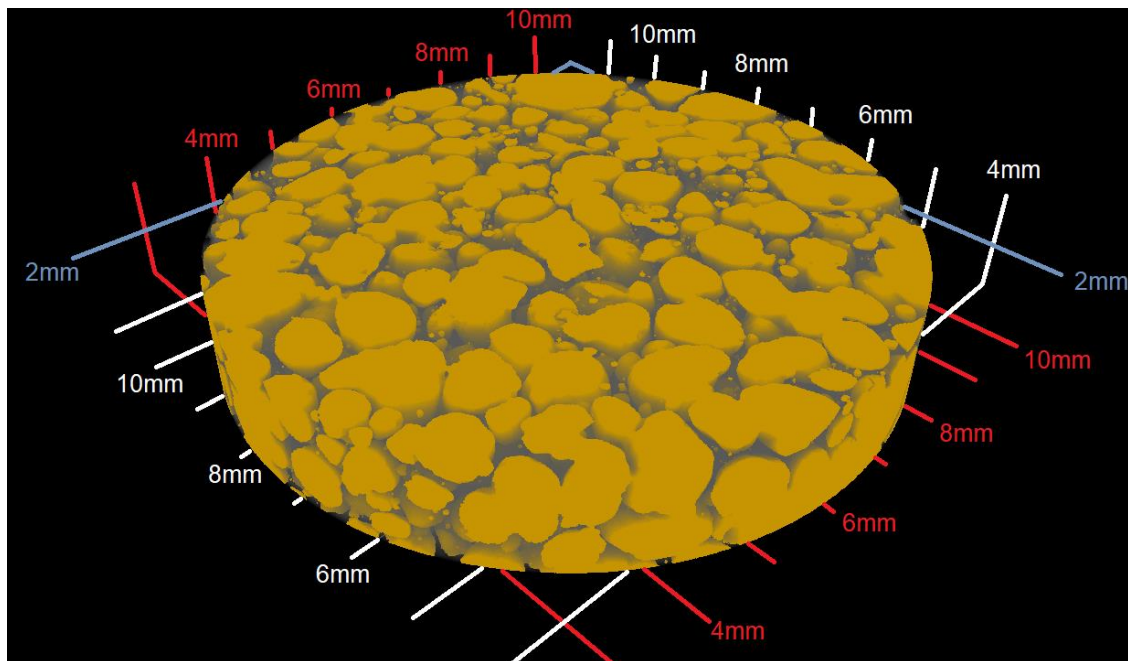
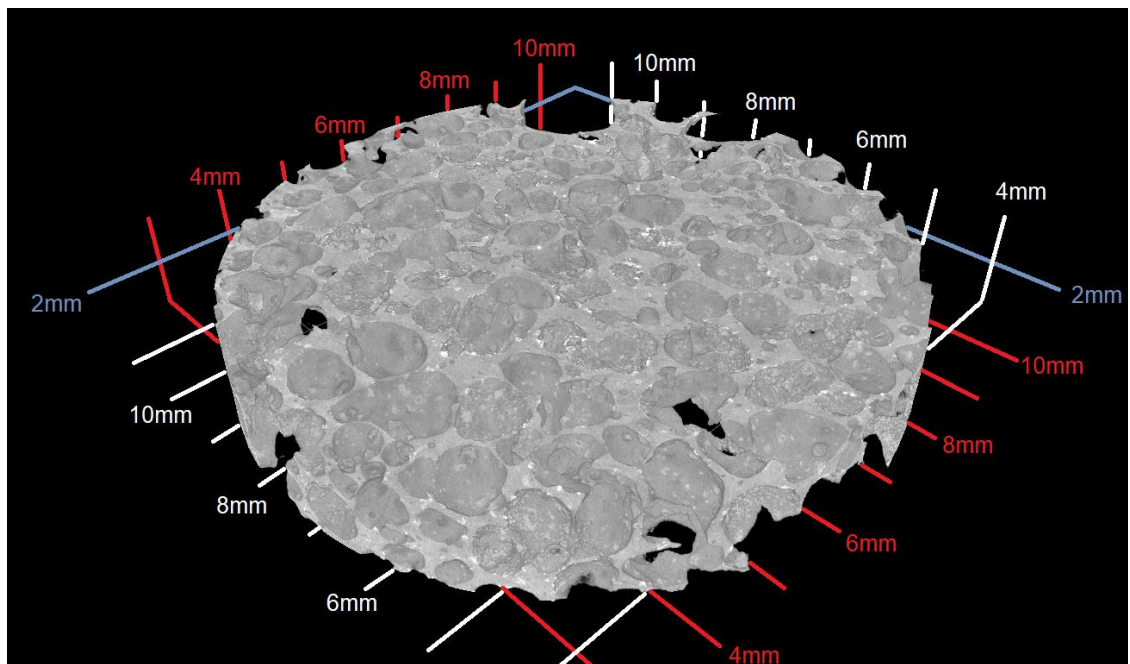


Figure 104 - Représentations micro-CT d'une biocéramique de phosphate de calcium 8-400 (phase solide en blanc/ phase poreuse en orange)

La visualisation des images en noir et blanc permet d'avoir un contraste au sein du matériau et ainsi estimer la taille des pores. L'ouverture des pores est notable, ce qui prouve une interconnexion entre eux quel que soit le monolithe observé. Par ailleurs, la phase poreuse colorée en orange permet d'estimer visuellement une taille de pores et l'interconnexion. En revanche, la technique ne permet pas de distinguer la phase apatitique nanocristalline de la poudre d'hydroxyapatite utilisée pour stabiliser les émulsions car celles-ci ont la même densité. On ne peut pas conclure quant à la nature des poudres qui se trouvent autour des pores par cette technique. On peut toutefois dire que les matériaux 5-250, 8-250 et 12-250 présentent des pores plus petits que le matériau 8-400. Une analyse granulométrique par traitement numérique permettra de vérifier cette hypothèse. Avant de présenter les résultats, la méthode ainsi que les paramètres étudiés sont détaillés.

## 1. Méthode du traitement numérique

Chaque matériau précédemment analysé a été scanné puis les images extraites du fichier issu de la tomographie ont été ajoutées au logiciel Imorph. Les dimensions associées à la reconstruction d'image en 3D est le voxel, extrapolation du pixel en 3 dimensions. Il convient d'avoir l'échelle propre à chaque analyse, afin de retranscrire les résultats obtenus en voxel en micromètres.

Chaque matériau est défini comme une « acquisition » au sein du logiciel. Pour chaque acquisition, il est possible de définir plusieurs régions d'intérêts (*Region of Interest*, aussi nommées ROI). En effet, les fichiers étant très lourds à traiter, il n'est pas possible de réaliser les calculs sur l'ensemble du matériau mais uniquement sur des ROI de tailles prédéfinies. Seules les images contenant le diamètre maximal de l'échantillon sont sélectionnées puis empilées pour former l'axe

Z, ainsi lors de la sélection du ROI, il n'y a pas d'effet de bords liés au matériau. Un exemple de photos 2D sélectionnées ou non sélectionnées sont montrées en Figure 105.

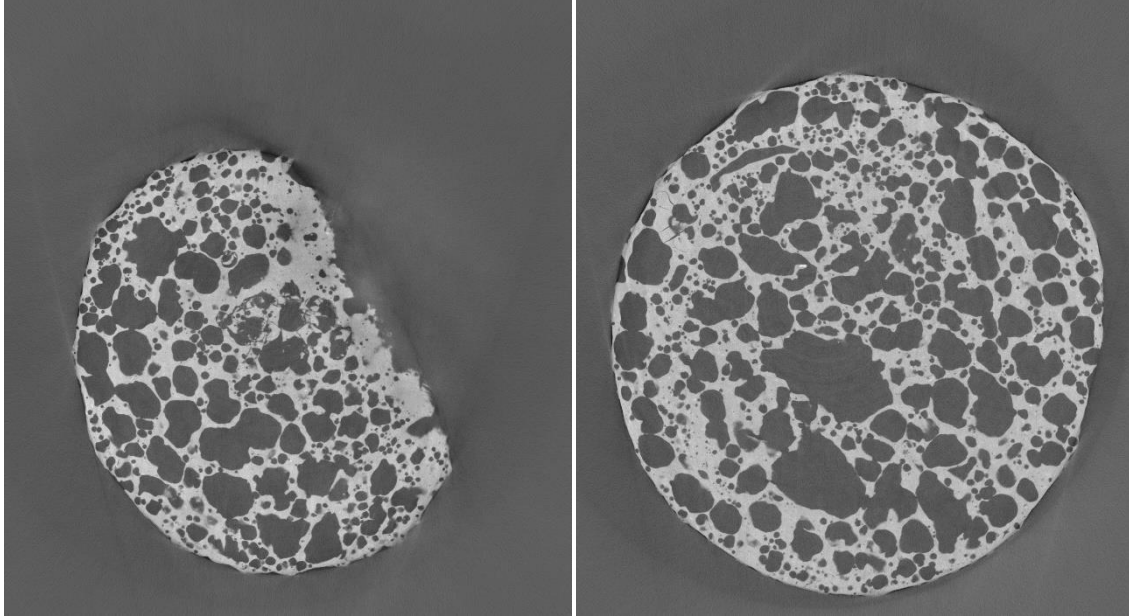


Figure 105 - Exemple de photo non sélectionnée (à gauche) et sélectionnée (à droite) pour le matériau 5-250

Lors de la sélection du ROI, un seuil de niveau de gris permet de séparer chaque phase (poreuse ou solide). Un exemple est présenté en Figure 106 où le rond vert, visible au cœur du matériau, représente le ROI sélectionné. L'image qui apparaît ici est une image 2D du matériau à une valeur choisie de  $Z=251$  (image n° 251 sur l'échelle de la hauteur Z). Lors de la sélection du ROI, un histogramme en différents niveaux de gris est obtenu. Le seuil entre les deux phases détectées est bien défini et se situe au centre des deux gaussiennes (entre les deux flèches rouges sur la Figure 106). Des mesures de porosité ont été réalisées de part et d'autre de chaque matériau, ce qui a permis de définir un écart-type sur la valeur du taux de porosité d'environ 2% en fonction du seuil choisi. Par la suite, le seuil sera placé au milieu de chaque gaussienne pour réaliser les calculs.

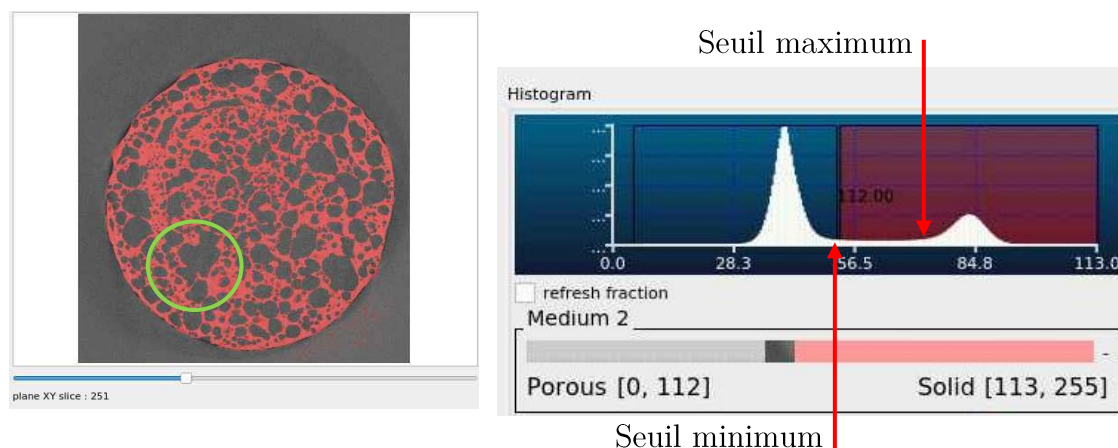


Figure 106 - Exemple de sélection d'un ROI (vert) et du niveau de gris pour la biocéramique de phosphate de calcium 5-250

Le Tableau 27 présente les différentes informations relatives aux ROI sélectionnés pour chaque matériau. Les tailles de voxel permettent de retranscrire les valeurs en unités métriques. Le nombre d'objets inclus définit le nombre de pores entiers détectés et considérés pour les calculs. Les ROI définis pour chaque biocéramique possèdent une taille légèrement inférieure à leur diamètre réel pour considérer un maximum de pores. Cependant, la tomographie du matériau 8-250 n'a pu être réalisée que sur la moitié d'un cylindre. Ainsi pour assurer des résultats cohérents, les mesures ont été réalisées sur deux ROI pour considérer un nombre d'objets similaires aux autres biocéramiques.

	Dimension du matériau (X×Y×Z - en voxels)	Taille de voxel (µm)	Diamètre du ROI (voxels)	Nb images (Z - en voxels)
5-250	2216×2036×680	6,75	1649	290
8-250 (1)	1732×2220×539	4,75	973	430
8-250 (2)			645	430
12-250	2224×2160×300	7,25	1679	300
8-400	2184×2148×560	6,12	1665	300

Tableau 27 - Propriétés de chaque biocéramique de phosphate de calcium et leur(s) ROI associé(s)

## 2. Paramètres mesurés

~ La porosité

La porosité est définie comme le rapport entre le volume poreux et le volume total de l'échantillon. À l'aide du logiciel iMorph, chaque voxel est associé à la phase poreuse ou solide, en fonction de son niveau de gris. Ensuite, le nombre total des voxels de la phase poreuse ( $N_{vx,p}$ ) est divisé par le nombre total de voxels ( $N_{vx,tot}$ ) de la zone d'intérêt pour déterminer la porosité de la zone étudiée :

$$\varepsilon = \frac{V_{vide}}{V_{total}} = \frac{N_{vx,p}}{N_{vx,tot}} \quad (4.2)$$

La porosité mesurée par micro-CT est plus précise que les autres méthodes expérimentales, telles que la porosimétrie par voie mercure ou la pycnométrie hélium, car les pores fermés sont pris en compte dans le calcul.

~ La surface spécifique

La surface spécifique est définie par le rapport entre la surface totale de l'interface (entre les phases poreuse et solide) et le volume de l'échantillon. Elle est exprimée en  $m^2.m^{-3}$ . Elle est retranscrite en  $m^2.g^{-1}$  en utilisant la relation suivante :

$$Sp (m^2.g^{-1}) = Sp (m^2.m^{-3}) \times \frac{V_{total}}{m_{solide}} \quad (4.3)$$

La masse du solide est déterminée à partir de la relation suivante :

$$m_{solide} = (1 - \varepsilon) \times V_{total} \times \rho \quad (4.4)$$

Avec :

- Sp : la surface spécifique en  $m^2.m^{-3}$  ou en  $m^2.g^{-1}$
- $m_{solide}$  : la masse du ROI (g)
- $V_{total}$  : le volume total du ROI sélectionné ( $cm^3$  pour 4.4 ou  $m^3$  pour 4.5)
- $\varepsilon$  : la porosité (sans unité)
- $\rho$  : la masse volumique réelle de l'HAp ( $g.cm^{-3}$ )

La masse volumique réelle de l'HAp est fixée à la densité réelle de l'HAp à  $2,8 \text{ g.cm}^{-3}$  en considérant que les apatites biomimétiques possèdent des propriétés physico-chimiques similaire à l'hydroxyapatite.

~ Le diamètre de sphère équivalent,  $D_p$

Il s'agit d'une des deux méthodes possibles pour estimer un diamètre de pores. Après avoir « segmenté » le ROI considéré, chaque pore est défini comme un objet. Ainsi, chaque élément créé possède un certain nombre de voxels, qui définit son volume. Le diamètre de sphère équivalent est ensuite déterminé à l'aide de cette donnée. Ce diamètre permet de s'affranchir des données géométriques des pores.

~ Le diamètre d'ouverture solide

Lorsqu'un pore est détecté, il est défini comme un objet. Cet objet est découpé en multiples coupes 2D superposées, et le logiciel détermine pour chacune de ces coupes le diamètre maximal en tout point du périmètre. Ainsi, le diamètre d'ouverture solide est une estimation du diamètre maximal détecté des parois, chaque paroi est définie comme un brin cylindrique dont iMorph peut estimer l'épaisseur (diamètre).

~ Géométrie des pores

Après segmentation des pores, il est possible d'estimer la géométrie des pores selon les trois axes principaux d'une ellipse, respectivement  $a$ ,  $b$  et  $c$  ( $a=b=c$  dans le cas d'une sphère).



### 3. Résultats obtenus

Les différents calculs réalisés permettent d'obtenir des précisions sur les caractéristiques de la porosité des biocéramiques et la géométrie de leurs pores. Les résultats sont présentés dans le Tableau 28, et nous renseignent sur plusieurs paramètres :

Biocéramique	Porosité $\epsilon$ $\pm 2$ (%)	Sp $\pm 5$ ( $m^2 \cdot m^{-3}$ )	Sp ( $m^2/g$ )	Dp ( $\mu m$ )	Diamètre d'ouverture solide Da( $\mu m$ )	Ellipse équivalente (Vecteurs propres a, b et c)		
5-250	64	5941	$5,9 \cdot 10^{-3}$	$249 \pm 141$	$70 \pm 27$	0,87	0,75	0,63
8-250	68	6313	$7 \cdot 10^{-3}$	$225 \pm 84$	$65 \pm 24$	0,59	0,76	0,46
12-250	73	5805	$7,7 \cdot 10^{-3}$	$225 \pm 99$	$61 \pm 27$	0,67	0,62	0,41
8-400	67	5843	$6,3 \cdot 10^{-3}$	$478 \pm 199$	$70 \pm 26$	0,79	0,64	0,49

Tableau 28 - Porosité, surface spécifique et diamètre de pores moyens obtenus par tomographie X pour chaque biocéramique de phosphate de calcium (5-250 ; 8-250 ; 12-250 ; 8-400)

~ Porosité totale  $\epsilon$  (%)

En comparant les différents matériaux obtenus à partir d'émulsions de taille de goutte de 250  $\mu m$ , on observe une augmentation de la porosité totale en fonction du rapport E/G du biomatériau. Pour E/G=5 (62,5% huile dans le mélange émulsion/gel), la porosité est de  $63 \pm 2$  %, pour E/G=8 (66,7% huile dans le mélange émulsion/gel), elle est de  $67 \pm 2$  % et de  $73 \pm 2$  % pour E/G=12 (69,2% huile dans le mélange émulsion/gel). La biocéramique contenant le plus de gel, 5-250, a une porosité moins élevée comparée aux autres. Donc le pourcentage de porosité augmente avec la quantité d'huile initiale.

Les deux échantillons ayant un rapport E/G de 8 mais dont les tailles de gouttes diffèrent (250 et 400  $\mu m$ ) possèdent le même pourcentage d'huile dans le

mélange émulsion/gel. Leurs porosités totales sont très similaires ( $68$  et  $67 \pm 2 \%$ , respectivement), la taille des gouttes ne semble pas avoir d'influence sur la porosité totale.

~ Surface spécifique

Les valeurs de surface spécifique sont directement données par iMorph et sont comprises entre  $5805$  et  $6313 \text{ m}^2.\text{m}^{-3}$ . Ces valeurs peuvent être comparées aux valeurs théoriques : une porosité de  $70\%$  avec un diamètre de  $250 \mu\text{m}$ , présente une surface spécifique théorique calculée en volume de l'ordre de  $17000 \text{ m}^2.\text{m}^{-3}$ . Il s'agit du même ordre de grandeur avec les valeurs obtenues mais bien inférieures. De ce fait, les surfaces spécifiques calculées en  $\text{m}^2.\text{g}^{-1}$ , ont des valeurs très faibles. Il se peut que l'algorithme suivi par le logiciel ne soit pas adapté à ces matériaux.

~ Taille ( $D_p$ ) et morphologie des pores

Les pores ont une forme elliptique, ce qui a été observé précédemment par MEB et qui est démontré dans le Tableau 28 par les valeurs d'ellipse équivalente car  $a$  et  $b$  ne sont pas égaux. Comme expliqué précédemment, cette déformation des gouttes est due à la gravité lors du séchage du gel et/ou au fort retrait anisotrope observé. Le matériau 12-250 est celui qui semble avoir le mieux conservé un diamètre sphérique avec une valeur de  $a$  proche de  $b$  : un rapport E/G plus élevé comparé aux autres échantillons, il possède moins de gel et donc la viscosité de la phase aqueuse est moins élevée, les gouttes se déforment moins.

Dans le Tableau 29 sont présentées les valeurs des retraits volumiques, mesurés avant et après séchage (plaque avec puits pour tests mécaniques, voir dimensions Tableau 21), sur la hauteur et le diamètre de chaque biomatériau. Les retraits volumiques sont équivalents pour les matériaux 5-250 et 8-250, alors que le

matériau 12-250 a été davantage contracté en diamètre. En revanche, les matériaux 8-250 et 8-400 possèdent des formulations similaires mais la taille de gouttes semble exercer une légère influence sur le retrait car le matériau 8-400 a eu moins de retrait.

	5-250	8-250	8-400	12-250
<b>Hauteur (%)</b>	45,4 ± 2,2	45,1 ± 0,9	43,2 ± 0,8	45,0 ± 1,7
<b>Diamètre (%)</b>	49,4 ± 1,2	49,5 ± 1,1	47,5 ± 1,4	53,3 ± 2,3

Tableau 29 - Retrait volumique (%) des hauteur et diamètre de chaque biocéramique

De plus, à taille de goutte identique dans l'émulsion, la taille des pores est similaire et ne dépend pas du rapport E/G :  $249 \pm 141 \mu\text{m}$ ,  $225 \pm 84 \mu\text{m}$  et  $225 \pm 99 \mu\text{m}$  pour E/G=5, 8 et 12). De plus, la taille des pores apparaît proche de la taille des gouttes de l'émulsion (par exemple,  $249 \pm 141 \mu\text{m}$  pour le monolithe 5-250 et  $478 \pm 199 \mu\text{m}$  pour le monolithe 8-400). Toutefois, il s'agit d'un diamètre de sphère équivalent et, par ailleurs, il faut noter que l'écart-type reste très élevé.

~ Diamètre des parois ou diamètre d'ouverture solide (Da)

Les diamètres d'ouverture du solide permettent d'estimer l'épaisseur des parois des pores (chaque paroi est définie comme un brin cylindrique). Ces diamètres sont proches quelle que soit la biocéramique étudiée (entre 61 et 70  $\mu\text{m}$ ), avec un écart-type supérieur à 30% soit très important. Cet écart-type est dû à l'estimation morphologique du logiciel qui considère les parois comme des brins, mais également à la non-homogénéité des tailles de parois liée à l'empilement des gouttes.

Cependant, on remarque que plus le matériau contient du gel de phosphate de calcium (E/G diminue), plus la porosité diminue, et plus l'épaisseur des parois

augmente : pour une même taille de gouttes de 250  $\mu\text{m}$  dans l'émulsion, quand E/G est de 5,  $D_a$  est de  $70 \pm 27 \mu\text{m}$  ; pour E/G=8,  $D_a = 65 \pm 24 \mu\text{m}$  ; pour E/G=12,  $D_a = 61 \pm 27 \mu\text{m}$ .

~ Distribution des pores

La Figure 107 montre les différents histogrammes de distribution de taille de pores des différentes biocéramiques.

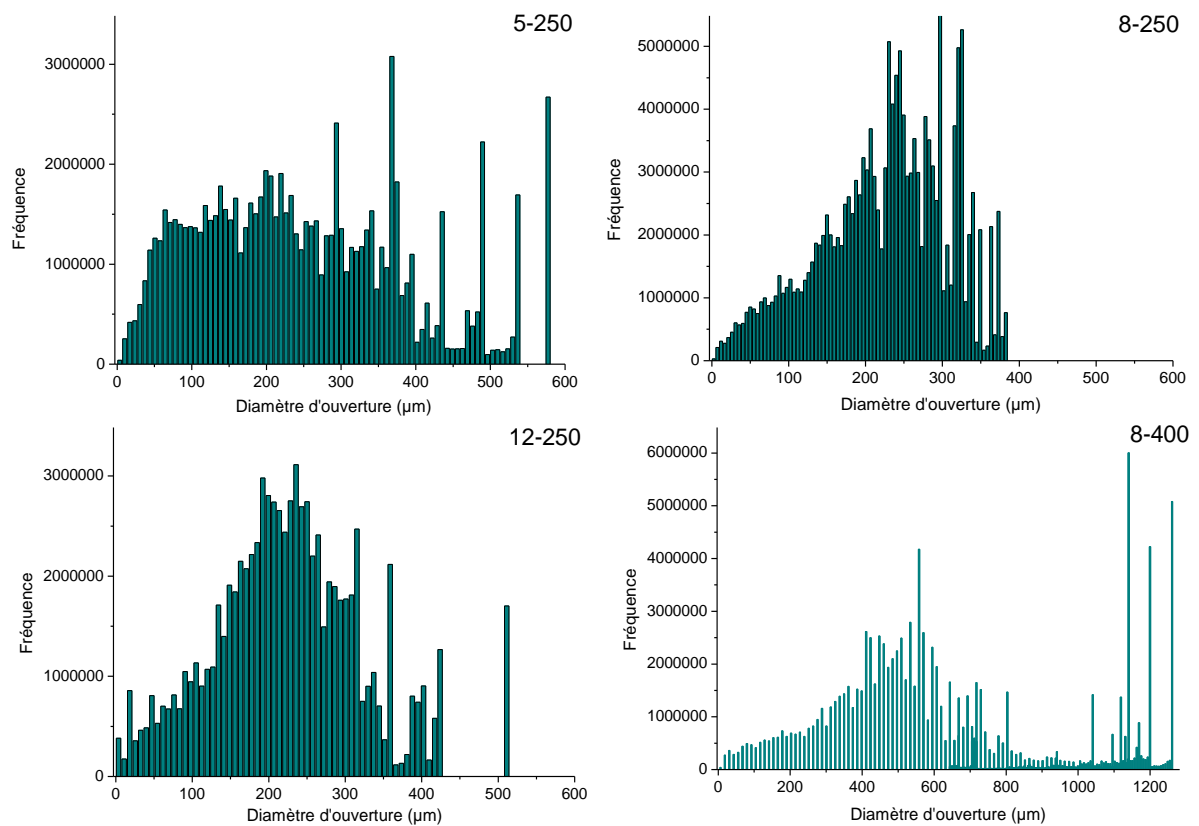


Figure 107 - Distribution de taille de pores  $D_a$  ( $\mu\text{m}$ ) en volume dans les biocéramiques

La distribution volumique des pores montre une gaussienne pour les matériaux ayant un rapport E/G de 8 (monolithes 8-250 et 8-400) et 12 (monolithe 12-250). Le matériau 5-250 présente une distribution volumique des pores plus large que les autres matériaux possédant la même gamme de taille de pores (écart-type :

$249 \pm 141 \mu\text{m}$  pour 5-250,  $225 \pm 84 \mu\text{m}$  et  $225 \pm 99 \mu\text{m}$  respectivement pour les matériaux 8-250 et 12-250). Il est à noter pour tous les matériaux, la présence de larges pores qui peuvent être liés à la coalescence de deux gouttes lors du début du séchage ou à une large interconnexion qui impliquerait la détection d'un unique pore par le logiciel. Par ailleurs, le matériau 8-400 présente davantage de pores ayant un diamètre important, mis en évidence par la distribution volumique. Son écart-type en est impacté et il est plus élevé, les pores étant plus larges :  $478 \pm 199 \mu\text{m}$ .

La distribution en nombre montre un nombre élevé de pores compris entre 0 et  $10 \mu\text{m}$ , la présence de ces pores est équivalente en nombre pour les matériaux 5-250, 8-250 et 8-400 (entre 7800 et 8600) mais double pour le matériau 12-250 (nombre de pores compris entre 0 et  $10 \mu\text{m}$  de 16021). Ce phénomène est probablement dû à l'incorporation d'air lors du mélange entre l'émulsion et le gel, bien que le matériau 12-250 soit moins visqueux. La présence de ces micropores est favorable à cette étude puisqu'il a été démontré dans la littérature que la présence de micropores favorise la circulation des fluides biologiques au sein du biomatériau [320]–[322] (voir chapitre 1).

## VII. Tests mécaniques

Un des inconvénients des céramiques phosphocalciques macroporeuses séchées à basse température est leur fragilité qui limite leur utilisation comme biomatériaux pour des applications à contraintes mécaniques importantes. Elles sont donc envisagées pour des applications à contraintes mécaniques faibles comme comblements pour la reconstruction osseuse par exemple. Ainsi, un compromis doit être trouvé entre porosité et propriétés mécaniques.

Les céramiques sont des matériaux de type « fragiles », elles ne présentent pas de domaine plastique, comme illustré en Figure 108. Lorsque soumis à une déformation, la contrainte subit par le matériau augmente, puis lorsqu'il s'endommage, la déformation augmente alors que la contrainte diminue (par propagation des fissures). Une rupture est un phénomène irréversible quel que soit le matériau considéré.

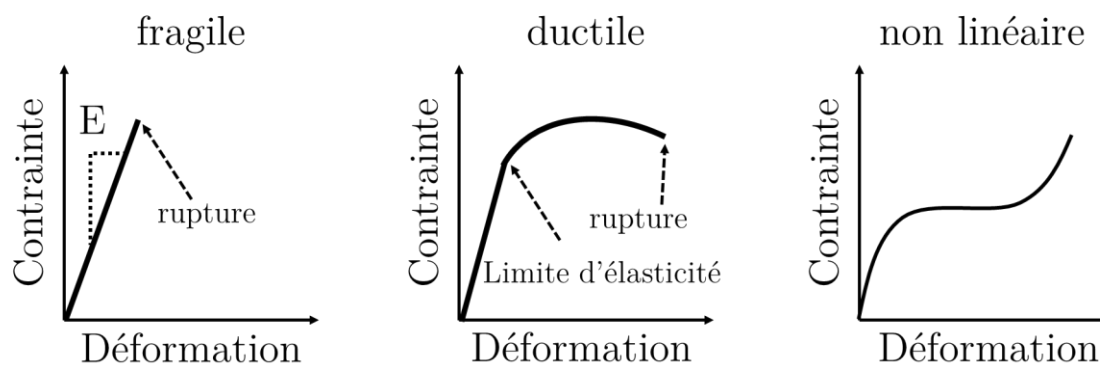


Figure 108 - Exemples de courbes de contrainte-déformation de matériaux présentant des comportements mécaniques différents.

Des essais de compression non confinée (rupture axiale) ont été réalisés sur six éprouvettes par série de matériaux (5-250, 8-250, 12-250 et 8-400). Selon la norme NF ISO 13779-1 « Implants chirurgicaux — Hydroxyapatite — Partie 1: Céramique à base d'hydroxyapatite », la résistance à la compression doit être déterminée en appliquant une charge axiale à une éprouvette cylindrique de hauteur  $h$  et de diamètre  $d$  ayant un rapport  $h/d$  compris entre 1.5 et 2. Dans notre étude, la dimension des éprouvettes est d'environ 12 mm de hauteur et 6,5 mm de diamètre ( $h/d \sim 1.85$ ). La vitesse de déplacement a été fixée à 2 mm/min, et la charge de compression a été suivie en fonction du déplacement (cf. Tests mécaniques). Ainsi

la contrainte  $\sigma$  (MPa) a été tracée en fonction de la déformation  $\varepsilon$  (%). La contrainte maximale à la rupture a été mesurée au maximum de la courbe.

La contrainte  $\sigma$  est définie par :

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (4.4)$$

Avec : F : la charge de compression (N)

S : la surface du matériau au contact (= section du cylindre) (mm<sup>2</sup>)

La déformation  $\varepsilon$  est définie par :

$$\varepsilon = \left| \frac{l - l_0}{l_0} \right| \quad (4.5)$$

Avec :  $l_0$  : hauteur du matériau à l'état initial (sans charge) (mm)

l : hauteur du matériau supportant une charge F (mm)

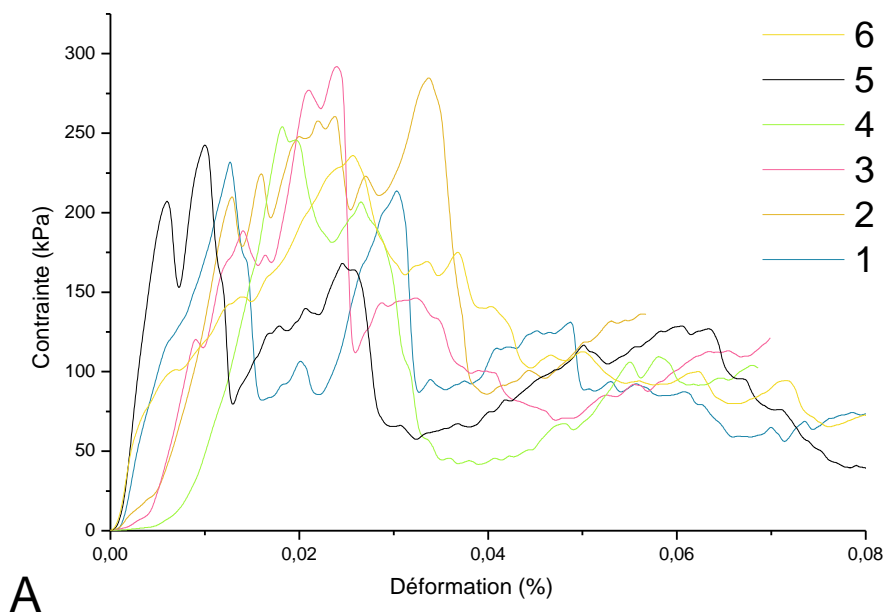
Le profil de contrainte en fonction de la déformation pour les quatre échantillons étudiés est présenté sur la Figure 109 (A - 5-250, B - 8-250, C - 8-400, D - 12-250).

À partir de ces courbes, il est possible d'en déduire différentes propriétés telles que :

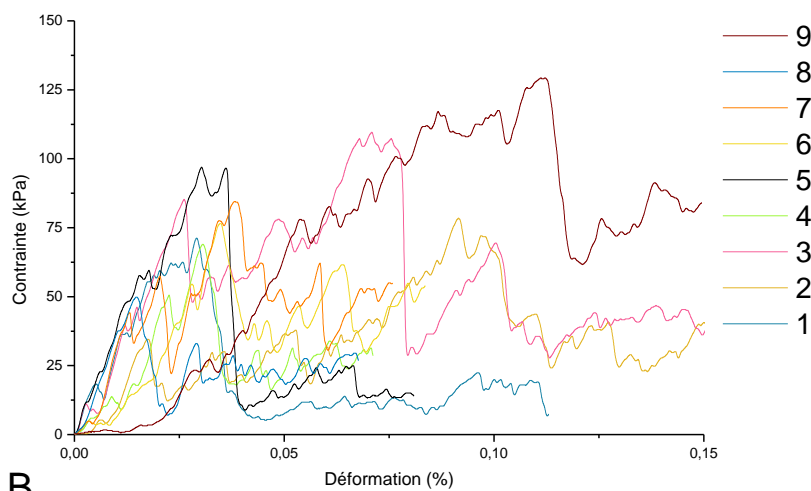
- ~ la résistance maximale à la compression, définie comme la contrainte maximale à la rupture complète du matériau,  $\sigma_r$  (kPa).
- ~ la déformation à la rupture,  $\varepsilon$  (%), valeur de la déformation juste avant la rupture du matériau.
- ~ le module de Young, E (MPa), défini dans le domaine élastique par :  $\sigma = \varepsilon \times E$ . Le module d'élasticité est obtenu en mesurant la pente à l'origine dans le domaine linéaire de la courbe.

Les graphes obtenus (Figure 109) montrent une succession de pics, avant la rupture complète du matériau. Ces pics apparaissent à des taux de déformations très faibles. Aussi, aucune déformation « plastique » (domaine non linéaire) n'est

visible. Ces deux aspects témoignent d'un comportement fragile du matériau. La présence de pics de faible intensité dans le domaine linéaire montre une dégradation par une succession de fissures internes. La propagation de ces fissures conduit à l'effondrement du matériau repérable à la chute de signal après le pic d'intensité maximale. Dans le cas du matériau 12-250 (Figure 109 - D), la courbe montre un pic plus discret, en effet, la valeur de la charge de compression étant faible, le pic se situe dans le « bruit ». Il s'agit du matériau le plus fragile, à la limite de sensibilité de l'appareil.



A



B



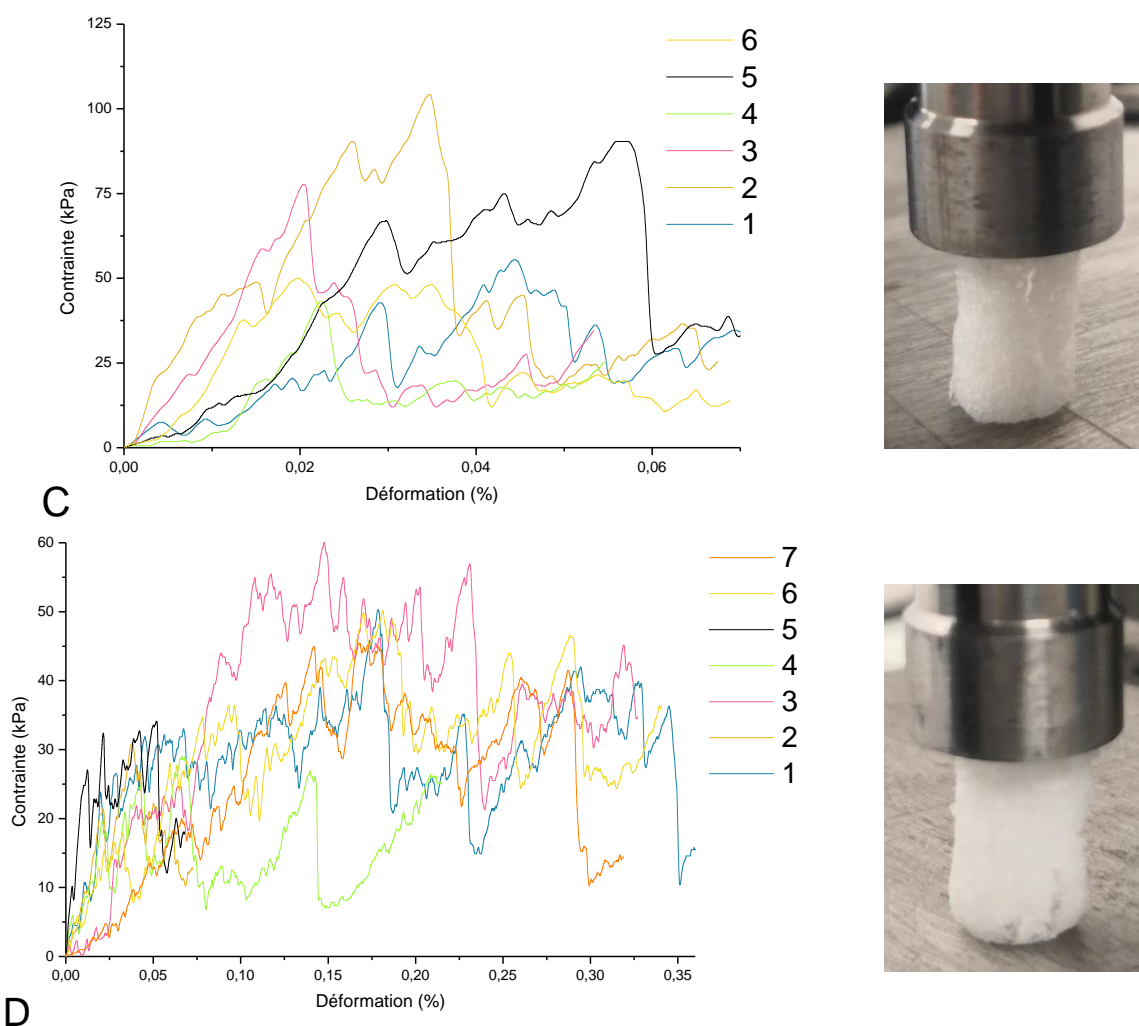


Figure 109 - Essais mécaniques présentant la résistance à la compression  $\sigma$  (kPa) en fonction de la déformation  $\varepsilon$  (%) et leur fissure associée (A - 5-250, B - 8-250, C - 8-400, D - 12-250).

Les caractéristiques mécaniques de chaque matériau sont répertoriées dans le Tableau 30. Étant donné le caractère fragile de ces matériaux, une grande incertitude est associée aux valeurs obtenues.

	5-250	8-250	12-250	8-400
Rapport Émulsion/Gel	5	8	12	8
Porosité (%)	64 %	67 %	73 %	67 %
Taille de pores moyenne ( $\mu\text{m}$ )	$249 \pm 141$	$225 \pm 84$	$225 \pm 99$	$478 \pm 199$
Résistance maximale à la compression (kPa)	$256,8 \pm 25,6$	$85,0 \pm 23,7$	$42,9 \pm 11,8$	$75,1 \pm 23,9$
Module d'Young (MPa)	$34,4 \pm 10,9$	$5,2 \pm 1,2$	$1,7 \pm 0,7$	$6,1 \pm 1,5$

Tableau 30 - Valeurs moyennes de contrainte de rupture et module d'Young pour chaque biocéramique de phosphate de calcium considérée (5-250, 8-250, 12-250 et 8-400)

Le Tableau 30 montre que les résistances à la compression des biocéramiques dépendent fortement du rapport E/G. Le matériau 5-250 (E/G=5) présente la résistance à la rupture la plus grande ( $256,8 \pm 25,6$  kPa). Comparée aux autres matériaux, son module d'Young est le plus élevé ce qui indique une plus grande rigidité du matériau ( $34,4 \pm 10,9$  MPa). Ces résultats sont à relier à ceux obtenus en tomographie : le matériau 5-250 est également celui qui a le pourcentage de porosité le plus faible et une épaisseur de parois plus grande. Ainsi, moins un matériau contient de gel de phosphate de calcium, et donc de porosité totale, plus il est fragile (résistance maximale à la compression faible) et plus le module d'Young baisse.

Par ailleurs, pour les matériaux 8-250 et 8-400, la quantité de gel de phosphates de calcium introduite est identique (E/G=8) et bien que la taille des pores augmente avec la taille des gouttes initiales ( $225 \pm 84$  et  $478 \pm 199$   $\mu\text{m}$  pour 8-250 et 8-400, respectivement), les résistances à la rupture ne diminuent que faiblement :  $85,0 \pm 23,7$  et  $75,1 \pm 23,9$  kPa, respectivement. Les porosités des deux biomatériaux sont équivalentes (67% pour les deux monolithes), cependant l'épaisseur des parois augmente légèrement ( $65 \pm 24$  et  $70 \pm 26$   $\mu\text{m}$  pour 8-250 et 8-400, respectivement) ce qui peut expliquer les résultats des tests mécaniques obtenus. Bien que l'influence de la porosité et la taille des pores sur la résistance mécanique de ce type de matériau a largement été étudiée dans la littérature, peu d'études font varier ces paramètres en maintenant les autres constant. Citons les travaux de Feng et al [323] portant sur des céramiques poreuses de phosphate de calcium élaborées à l'aide d'agent porogène (PMMA) par procédé à haute température ( $\beta$ -TCP calcinés à  $1100^\circ\text{C}$ ) dont la taille des macropores varie de 200 à 600  $\mu\text{m}$  tout en maintenant leur porosité à 73%. Les résistances à la compression obtenues sont proches de 4,5 MPa pour le matériau à taille de pores  $\approx 230$   $\mu\text{m}$  ; 4,1 MPa pour  $\approx 400$   $\mu\text{m}$  et 3,6 MPa pour  $\approx 540$   $\mu\text{m}$ , indépendamment de la porosité. Ces

valeurs sont inférieures à celles obtenues dans ces travaux, cependant la porosité des matériaux est plus élevée et le procédé de fabrication différent.

## VIII. Discussion sur les biocéramiques formées

L'objectif des travaux présentés est l'élaboration de biocéramiques apatitiques poreuses par procédé à basse température afin d'en préserver la réactivité de surface et d'améliorer l'ostéoconduction et la biorésorbabilité. Pour cela, une méthode d'élaboration à l'aide d'émulsions de Pickering a été testée et l'influence de plusieurs paramètres du procédé (rapport E/G, formulation de l'émulsion) ont été étudiés sur les propriétés finales des biocéramiques (propriétés physicochimiques et mécaniques, porosité). L'élaboration d'un matériau de comblement osseux implique un équilibre complexe entre différentes propriétés physiques (mécaniques), chimiques (réactivité et solubilité) et biologiques (ostéoconductivité et biorésorbabilité). Aussi, elles doivent être optimisées :

### 1. Porosité et interconnexion

Une porosité ouverte est essentielle au sein d'un matériau macroporeux afin de soutenir l'ostéoconduction, la prolifération des cellules et la circulation des fluides biologiques [324], [325]. La taille de pores est un sujet très discuté, bien qu'une taille optimale à l'ostéoconduction ne soit pas réellement définie. Il est cependant reconnu qu'une taille minimale de 80-100  $\mu\text{m}$  est nécessaire à la prolifération, mais la plupart des auteurs admettent qu'une taille supérieure à 100-150  $\mu\text{m}$  permet d'augmenter la croissance osseuse [326], [327]. Une taille de pores comprises entre 0,1 et 5  $\mu\text{m}$  présente au sein du biomatériau est aussi importante car elle influence la surface spécifique et les propriétés d'adsorption de protéines, ainsi que la solubilité [328].

La surface spécifique est favorisée par les céramiques préparées à basse température car le frittage réduit cette propriété. Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté des propriétés d'ostéoinduction [329], [330] après la formation de tissu osseux quelques semaines après implantation. Cette propriété pourrait être due à une meilleure différenciation des cellules en ostéoblastes [328].

La structure poreuse des matériaux synthétisés dans notre étude a été caractérisée par microtomographie X puis analysée à l'aide d'un logiciel spécialisé (iMorph). L'interconnexion a été démontrée pour tous les matériaux élaborés, car le logiciel associait la phase poreuse à un unique « pore ». Également, les tailles des pores obtenues sont toutes supérieures à 250  $\mu\text{m}$ , nécessaire pour favoriser l'ostéoconduction [90].

Cependant, les résultats montrent que les conditions initiales de l'émulsion conditionnent la structure poreuse finale (taille des pores et porosité) des céramiques. Les rapports E/G choisis permettent de cibler un pourcentage d'huile dans le mélange « émulsion/gel » compris entre 62,5% (E/G=5) et 71,4% (E/G=12). Cet intervalle qui, comme expliqué précédemment et selon la littérature [6] [116] [311], pourrait avoir une influence sur la porosité et l'interconnexion des pores des biocéramiques qui en résultent. En effet, bien qu'il ait été démontré qu'une concentration massique en huile de 74% permette d'obtenir le mode d'empilement de gouttes le plus compact (hexagonal compact ou cubique face centrée) dans la cas d'émulsions fortement concentrées en phase dispersées (*High internal phase emulsions* ou HIPEs)[116], Scott et Kilgour [311] ont déterminé qu'un empilement aléatoire dense était atteint dès 63,66% d'occupation en volume de sphères, soit dans notre étude le volume occupé par les gouttes d'huile. Cet empilement serait suffisant pour obtenir un réseau interconnecté car les gouttes seraient suffisamment proches. Par ailleurs, Torquato *et al.* [312] ont réuni plusieurs données issues de

simulation d'algorithmes démontrant qu'un empilement aléatoire dense était atteint pour une compacité de 60 à 68%.

a) Relation entre pores et gouttes

D'une part les résultats montrent que le contrôle de la taille des gouttes des émulsions de départ permet de contrôler la taille des pores : la création de la porosité dans des biomatériaux, en utilisant comme précurseur une émulsion de Pickering a été confirmée. Destribats et al. [206] ont observé pour des mousses de silice obtenues à l'aide d'émulsion de Pickering un fort retrait pendant le séchage des monolithes induisant une diminution de la taille des gouttes ; dans notre cas, un fort retrait est observé, mais la taille de gouttes de l'émulsion a permis la formation de pores de taille similaire. En effet, les émulsions formulées à partir de  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  ayant un diamètre  $D_p$  de gouttes d'environ  $250 \mu\text{m}$  ont permis d'obtenir des biocéramiques ayant une taille de pores d'environ  $230 \mu\text{m}$  ( $249 \pm 141 \mu\text{m}$  ;  $225 \pm 84 \mu\text{m}$  ;  $225 \pm 99 \mu\text{m}$ ). De la même manière, des émulsions à  $5 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  (taille de goutte d'environ  $400 \mu\text{m}$ ) ont façonné des biomatériaux ayant une taille de pores d'environ  $478 \pm 199 \mu\text{m}$ . On peut donc conclure que :

**Diamètre de goutte  $\approx$  Diamètre de pores**

Toutefois, il s'agit d'un diamètre de sphère équivalent alors que les pores observés ont perdu leur caractère sphérique lors du séchage (comme précédemment observé par MEB) ; cette perte de sphéricité des pores s'explique par un fort retrait anisotrope lors du séchage, comme précédemment expliqué, et/ou par la déformation des gouttes d'huile par gravité dans le gel. De plus, il faut noter que l'écart-type reste très élevé, cela est dû au modèle choisi de sphère équivalent et à la non-homogénéité des pores.

Enfin, il est à noter que l'analyse des données morphologiques des pores par iMorph a aussi permis de mettre en évidence la présence de nombreux pores ayant une taille inférieure à 10  $\mu\text{m}$ .

b) Relation entre le rapport E/G et la porosité

De plus, l'analyse par tomographie a mis en évidence l'influence du rapport émulsion/gel (E/G) sur la porosité de monolithes : le pourcentage total de porosité  $\varepsilon$  (%) ainsi que le diamètre d'ouverture  $D_a$ . En effet,  $\varepsilon$  (%) augmente linéairement avec le rapport E/G (Figure 110). La porosité totale des biocéramiques obtenues varie ainsi de 64 à 73 %. Il est important de noter que la taille de pores n'a pas eu d'influence sur ce pourcentage total de porosité qui dépend uniquement du rapport E/G. En effet, les biomatériaux 8-250 et 8-400 ont des porosités équivalentes (67%) puisqu'ils ont un pourcentage d'huile équivalent (66,7%).

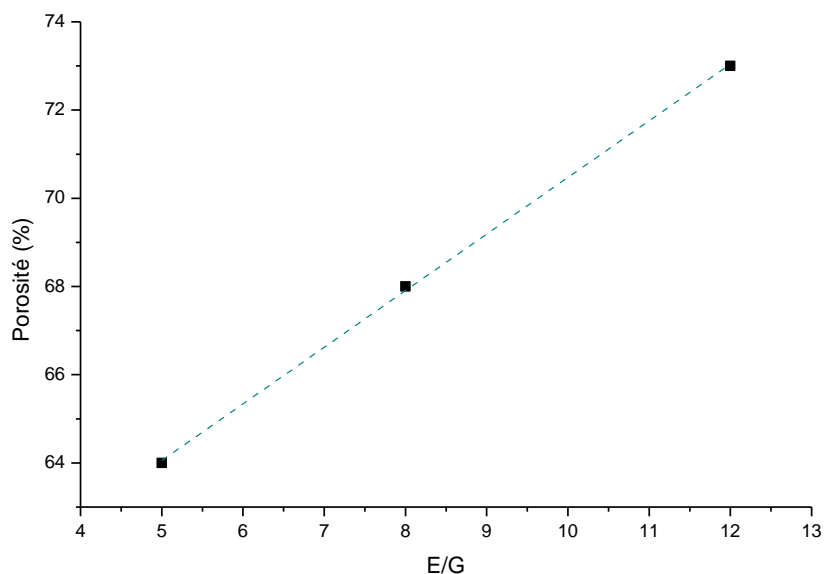


Figure 110 - Évolution de la porosité  $\varepsilon$  (%) en fonction du rapport E/G

On peut donc conclure que le paramètre déterminant la porosité est donc la quantité de gel introduite dans l'émulsion. Ce résultat est conforme à nos attentes : le volume total de pores est régi par le ratio entre les volumes initiaux d'huile et de

phase aqueuse (qui contient la future phase solide de NCA), et non à la taille initiale des gouttes de l'émulsion (Figure 111).

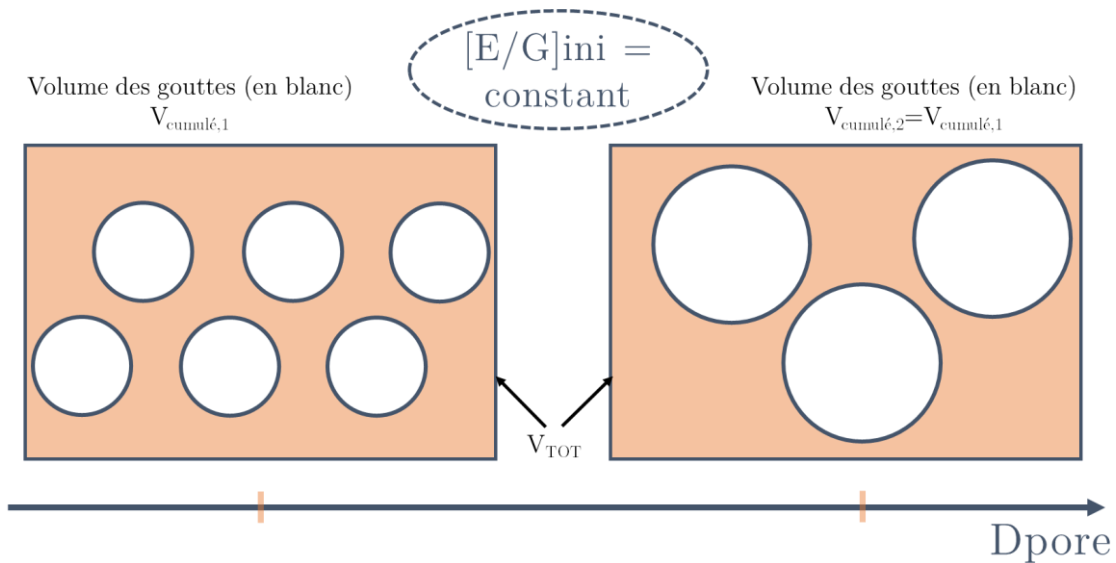


Figure 111 - Schémas illustrant deux biomatériaux réalisés avec un rapport E/G identique et des tailles de pores différents. La variation de la taille des gouttes de l'émulsion précurseur (contrôlée par le rapport  $m_{\text{Hap}}/m_{\text{miglyol}}$  ainsi que par la concentration initiale de NaCl dans la phase aqueuse) conditionne la taille des pores mais n'influe pas sur la valeur de la porosité. Celle-ci est contrôlée par la fraction d'huile dans l'échantillon avant séchage, et donc par le rapport E/G.

La porosité semble uniquement liée au ratio E/G du mélange précurseur, selon l'ordre suivant :

$$\epsilon_{E/G=5} < \epsilon_{E/G=8} < \epsilon_{E/G=12}$$

Ainsi, plus la quantité de gel ajoutée à l'émulsion est importante (E/G diminue), moins la porosité  $\epsilon$  (%) est élevée et plus l'épaisseur des parois des pores est grande. Ainsi, le rapport E/G conditionne la porosité totale et l'espacement entre les pores directement liés au procédé de séchage (Figure 112). Pour une même taille de gouttes ( $D_{\text{goutte,ini}}$ ) et donc une même taille de pores, lorsque E/G augmente, il y a plus d'émulsion dans le mélange (plus de gouttes) et moins de gel de phosphate de calcium : alors, sans affecter la taille des pores, le pourcentage de

porosité total augmente et la distance entre les pores (ou l'épaisseur des parois) diminue.

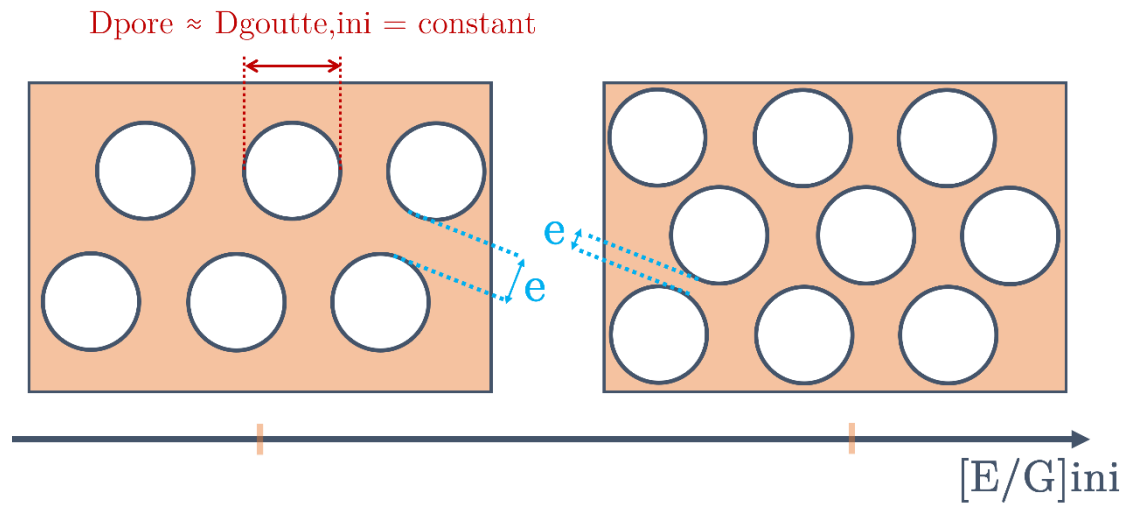
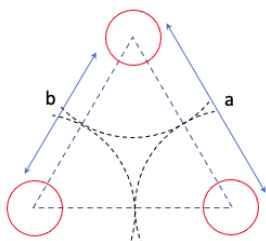


Figure 112 - Schéma détaillant l'influence sur l'épaisseur des parois pour un diamètre de pore constant

c) Influence de E/G sur la distance entre deux pores

En supposant une répartition homogène des pores sphériques dans le matériau, il est alors possible d'estimer par des considérations géométriques, la distance minimale entre deux pores en fonction de la porosité et du diamètre des pores. Les valeurs théoriques du diamètre des parois solide (distance entre deux pores) peuvent être obtenues d'après le raisonnement suivant :

Considérons trois pores équidistants tels que représentés sur la Figure 113, nous allons estimer la grandeur « b », représentative de la distance entre deux pores en fonction du diamètre des pores et de la porosité :



avec :  
 a : la distance entre deux pores de centre à centre  
 b : la distance entre deux pores

Figure 113 - Schéma représentant la distance entre 2 pores



Le diamètre d'un pore  $D_p$  est la différence entre a et b, et donc b vaut :

$$b = a - D_p \quad (4.6)$$

Nous cherchons maintenant à exprimer a en fonction de la porosité  $\varepsilon$ . Celle-ci est définie par :

$$\varepsilon = \frac{V_{vide}}{V_{total}} \quad (4.7)$$

Avec :  $V_{vide}$ , le volume des pores sur l'ensemble du matériau  
 $V_{total}$ , le volume total du matériau.

Si l'on considère un empilement de pores sphériques compact (hexagonal ou cubique face centrée), non déformable et de taille uniforme, la porosité maximale vaut : (les pores sont représentés en pointillés sur la Figure 113)

$$\varepsilon^* = \frac{V_{vide,max}}{V_{total}} = \sqrt{2} \cdot \frac{\pi}{6} \approx 0.74 \quad (4.8)$$

Où  $V_{vide,max}$  représente le volume maximal de pores dans le matériau. Leur taille est représentée en pointillée sur la figure 29. Dans ce cas, le diamètre des pores équivaut à la distance entre deux pores de centre à centre, soit  $D_p=a$  et  $b=0$ .

En faisant le rapport des deux équations :

$$\frac{\varepsilon}{\varepsilon^*} = \frac{V_{vide}}{V_{vide,max}} \quad (4.9)$$

Ce rapport au niveau macroscopique est aussi valable à l'échelle du pore, (par exemple en divisant numérateur et dénominateur par le nombre de pores), soit :

$$\frac{\varepsilon}{\varepsilon^*} = \frac{V_{1\ pore}}{V_{1\ pore,max}} = \frac{D_p^3}{a^3} \quad (4.10)$$

Avec  $V_{1\text{ pore}}$  le volume d'un pore (rouge, figure 29) de diamètre  $D_p$ , et  $V_{1\text{ pore,max}}$  le volume d'un pore de taille maximale (pointillés, figure 29) de diamètre a.

On en déduit :

$$a = \left(\frac{\varepsilon^*}{\varepsilon}\right)^{1/3} \cdot D_p \quad (4.11)$$

Et donc, d'après l'équation (4.6) :

$$b = D_p \cdot \left[ \left(\frac{\varepsilon^*}{\varepsilon}\right)^{1/3} - 1 \right] \quad \text{Avec } \varepsilon^* = \sqrt{2} \cdot \frac{\pi}{6} \approx 0.74 \quad (4.12)$$

À l'aide des données de porosité et de diamètre des pores préalablement déterminées dans le Tableau 28, il est possible de comparer l'évolution de  $D_s$  (épaisseur des parois expérimentales) et de  $b$  (calculé par l'équation 4.10), en fonction du rapport E/G de chaque matériau (Figure 114).

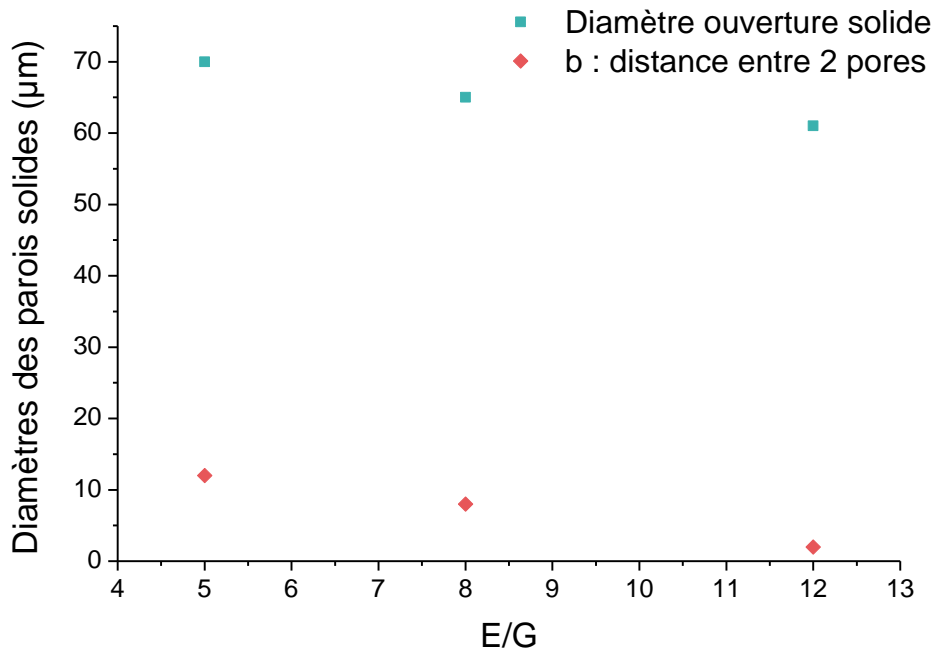


Figure 114 - Évolution de l'épaisseur des parois ( $\mu\text{m}$ ) expérimental ( $D_s$ ) et valeur de  $b$  issu de la relation (4.12) en fonction du rapport E/G pour un diamètre de goutte identique ( $250\ \mu\text{m}$ )

La différence de valeurs obtenues entre  $D_s$  et  $b$  provient du fait que l'épaisseur des parois calculée mesure la distance entre les pores en tout point et considère toutes les distances entre pores alors que le calcul théorique indique une distance entre deux pores. De plus, le calcul présenté tient compte d'hypothèses très fortes (non-déformabilité, ce qui n'est pas le cas ici, unicité de taille de pores). Il est cependant remarquable que ces valeurs suivent la même tendance, les hypothèses sont donc justifiées pour expliquer cette tendance.

Ainsi, le rapport E/G conditionne la porosité du matériau, et l'épaisseur des parois mais la taille des pores est définie par la taille des gouttes de l'émulsion. Donc, plus le rapport E/G est élevé, plus le matériau est poreux et  $D_s$  diminue.

#### d) Comparaison avec la littérature

La taille des pores et les taux de porosité des matériaux obtenus dans cette étude peuvent être comparés à ceux observés pour des biocéramiques phosphocalciques ou composites dans la littérature, ainsi que ceux de l'os, présentés dans le Tableau 31 et sur la Figure 114. Pour les biomatériaux poreux à matrice HAp et/ou BCP obtenus par frittage à haute température, les valeurs de porosité sont en général similaires à ceux obtenus pour les monolithes synthétisés dans ces travaux de thèse [331]–[336]. Les matériaux composites poreux, dans lesquels des polymères ont été ajoutés à l'HAp [337]–[340], obtenus par des procédés à basse température permettent d'accéder à des pourcentages de porosité plus élevés. Cependant, les biocéramiques réalisées au cours de ces travaux sont proches des valeurs de porosité de l'os spongieux. Elles se situent aussi dans la tranche élevée de porosité des matériaux à matrice HAp qui s'étend de 22 à 86%. De plus, grâce au procédé à basse température proposé, les analyses DRX et IRTF ont montré que ces biocéramiques sont composés d'apatites biomimétiques présentant une faible cristallinité et une réactivité proche de la partie minérale de l'os.

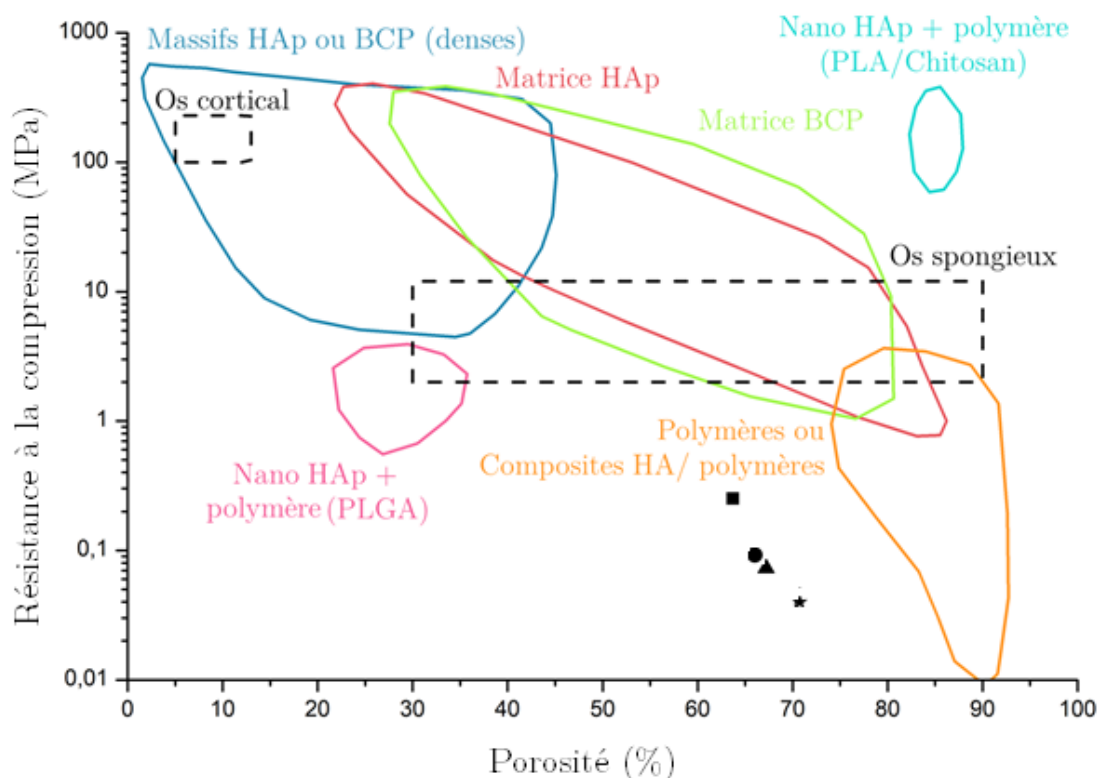


Figure 115 - Résistance maximale à la compression des biocéramiques réalisées en fonction de leur porosité, comparée à différents biomatériaux à base de phosphates de calcium (en couleurs) et à l'os cortical ou spongieux (en noir) (■ - 5-250 ; ● - 8-250 ; ▲ - 8-400 ; ★ - 12-250 ; Massifs HAp ou denses [331]–[335] ; Matrice HAp [334], [336], [337], [341]–[344] ; Matrice BCP [30], [87], [332], [345]–[347] ; Polymères ou composites/HA/polymères [337]–[340], [348] ; Nano HAp+PLGA [349] ; Nano HAp+PLA/Chitosan [350] . Adapté de Wagoner Johnson et al. [351].

Type matériau	Taille de pores ( $\mu\text{m}$ )	Porosité (%)	Résistance maximale à la compression (MPa)	Réf
HAp massif (dense)	$\approx 0$	3 - 19	400 - 500	[333]
Matrice HAp	2-20 ; 100-400	23-65	10 - 210	[336]
	290 - 310	40	10 - 100	[341]
	93 - 420	42 - 61	9 - 25	[344]
	50 - 600	70	30	[342]
	1-5 ; 300-600	85	0,9 - 2	[337]
Matrice polymère/HA	2-10 ; 100-200	85	87 - 266	[350]
	200 - 500	80 - 86	1	[338]
	300 - 600	85	1 - 2	[337]
	1-50 ; 100-300	90	0,8 - 3	[348]

Tableau 31 - Propriétés et caractéristiques mécaniques de plusieurs biomatériaux à base d'HAp

Il est à noter que les matériaux issus du Tableau 31 ont des processus de fabrication et des compositions différentes comparés aux monolithes réalisés dans cette thèse. Le Huec [336] et Liu [344] ont obtenu des matériaux à matrice d'HAP dont la taille de pores et la porosité sont similaires aux biocéramiques formées dans nos travaux, mais obtenus à hautes températures (1000°C). De même, les biomatériaux à matrice polymère/HAP issus des études de Oliveira [342] et Zhao [337] présentent des tailles de pores élevées (jusqu'à 600  $\mu\text{m}$ ) ainsi qu'une forte porosité (respectivement 70 et 85%). Cependant, ils ont été réalisés à partir de mousses de polyuréthane imbibées d'HAP ; ce type de mousse doit être placé à 900°C pendant 24h pour retirer le polyuréthane. Il s'agit donc également de matériaux haute température.

De manière générale, les résultats présentés en Figure 115, montrent que lorsque la porosité (%) augmente, la résistance mécanique diminue [352], [353].

## 2. Résistance mécanique

Ainsi, comme les paramètres initiaux d'élaboration des céramiques influent sur la porosité, ils influencent également les propriétés mécaniques des monolithes. L'évolution de la résistance à la compression et du module d'élasticité des monolithes obtenus en fonction de la porosité est présentée en fonction de la porosité sur la Figure 116.

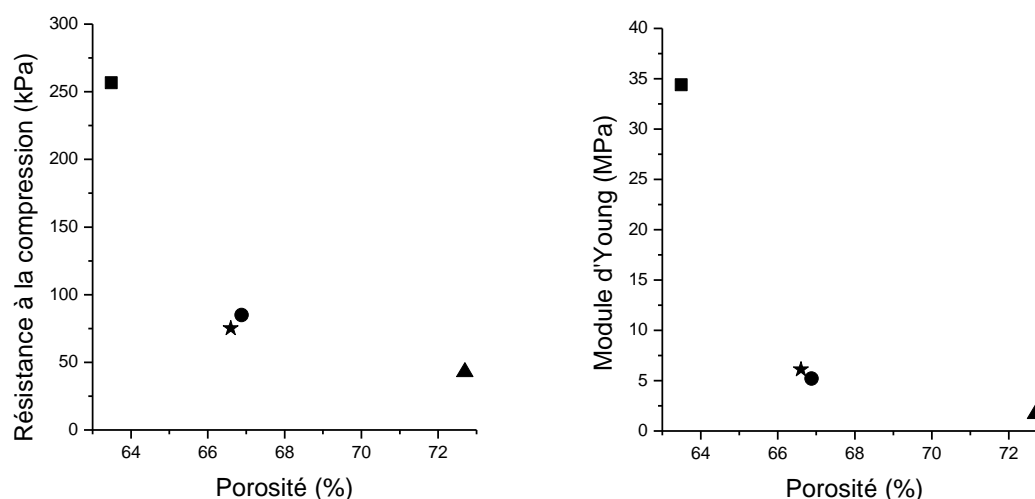


Figure 116 - Évolution de la contrainte maximale à la compression et du module d'élasticité de chaque biocéramique en fonction de leur pourcentage porosité respective (■ - 5-250 ; ★ - 8-400 ; ● - 8-250 ; ▲ - 12-250)

Les valeurs de la résistance à compression des différentes biocéramiques diminuent quand la porosité augmente autour de 50-250 kPa selon le monolithe étudié. Comparées aux valeurs obtenues dans la littérature pour des biocéramiques phosphocalciques et composites, ainsi que pour l'os, à porosité équivalente, les monolithes étudiés dans cette thèse présentent des résistances à la compression plus faibles (Figure 115 et Tableau 31). Cependant, ces biomatériaux sont généralement frittés ou possèdent une partie organique (pour les composites) ce qui permet d'accroître leur résistance mécanique. Il est à noter que les normes concernant les biocéramiques poreuses imposent une résistance à la compression comprise entre 5 et 550 MPa [277] selon l'application, et celles obtenues pour les monolithes poreux synthétisés dans ces travaux de thèse restent adaptées pour des applications sur des sites faiblement sollicités mécaniquement (en comblement osseux).

Le Tableau 32 regroupe les valeurs rapportées dans la littérature [26], [354]–[362] des résistances mécaniques (résistance à la compression, module d'élasticité et

déformation à la rupture) pour l'os cortical, l'os spongieux et l'hydroxyapatite (dense).

Propriétés	Os cortical	Os spongieux	Hydroxyapatite
Résistance maximale à la compression (MPa)	100 -230	2 -12	120 - 680
Déformation à rupture (%)	1 - 3	5 - 7	-
Module d'Young (GPa)	7 - 30	0, 05 - 0,5	40 - 120
Porosité (%)	5 - 13	30 - 90	-

Tableau 32 - Propriétés mécaniques de l'os cortical (os compact), de l'os spongieux et de l'hydroxyapatite dense (HAp) [26], [354]–[362]

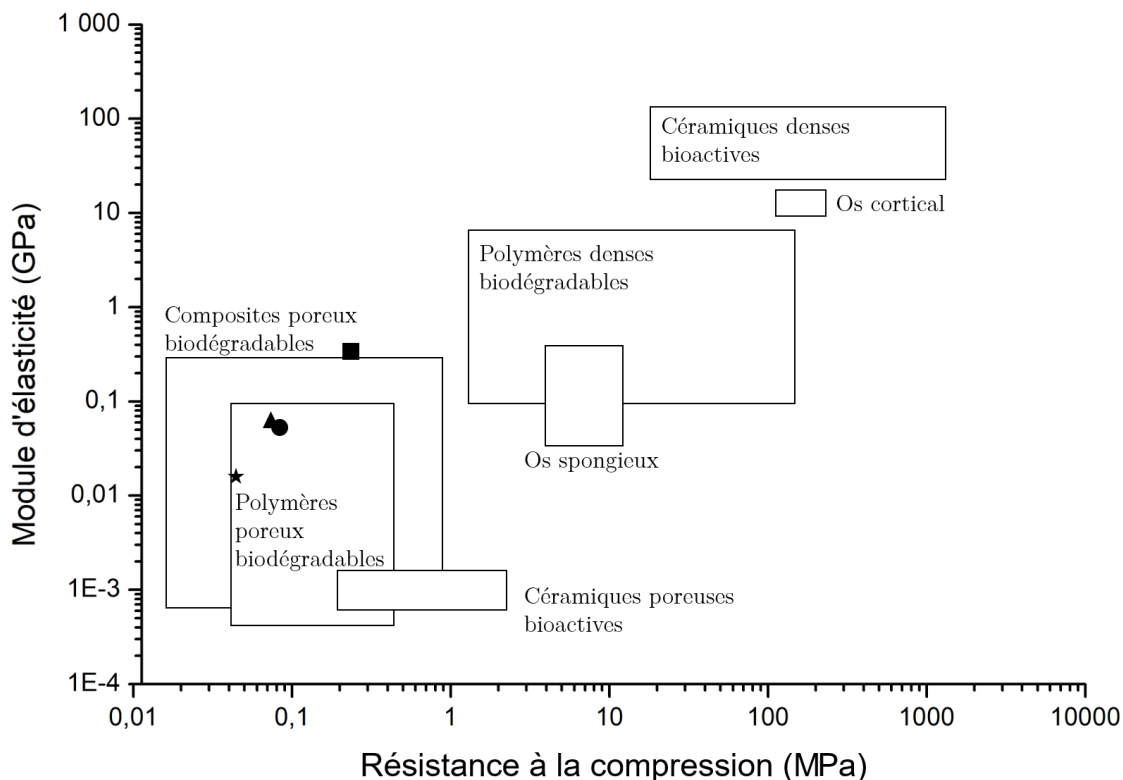


Figure 117 - Module élastique en fonction de la résistance à la compression des céramiques denses bioactives, des composites poreux biodégradables, de l'os cortical et de l'os spongieux. Les matériaux poreux ont une porosité >75 % et sont majoritairement interconnectés. (■ - 5-250 ; ● - 8-250 ; ★ - 12-250 ; ▲ 8-400).

Adapté de Rezwan et al. [363]

### 3. Réactivité

Le procédé de fabrication de ces biocéramiques est une méthode par « chimie douce », notamment car elle se produit à basse température. L'usage d'une émulsion pour contrôler la porosité et l'interconnexion permet d'éviter la consolidation par frittage. L'hydroxyapatite utilisée pour stabiliser l'émulsion n'est pas calcinée (lyophilisée) ce qui lui permet de conserver sa surface spécifique et une faible cristallinité visible sur l'analyse DRX. De même, les diffractogrammes et les analyses chimiques et spectroscopiques des biocéramiques ont montré qu'elles se composent d'une apatite sous-stœchiométrique faiblement carbonatée, ou apatite biomimétique analogue au minéral osseux. Ces apatites ont la propriété de posséder en surface du cœur apatitique une couche hydratée riche en espèces labiles. Ainsi les nanocristaux présentent une grande réactivité de surface qui favorise ainsi la biorésorbabilité et la bioactivité *in-vivo* [306]. La présence d'une couche hydratée de surface, des matériaux riches en ions labiles facilement échangeables ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ...), a été mise en évidence par déconvolution IRTF des bandes phosphate. De plus ces propriétés de surface sont intéressantes pour permettre l'adsorption et la délivrance contrôlée d'ion d'intérêt ou de principe actifs, contrairement aux céramiques obtenues à hautes température.

Le procédé d'élaboration proposé dans cette thèse a permis d'optimiser cette réactivité de surface. Les ions carbonate et magnésium utilisés lors de la synthèse ont un rôle d'inhibiteurs de croissance des phosphates sous forme de cristaux nanométriques et préservent la faible cristallinité. De plus, un séchage contrôlé à basse température est proposé dans ces travaux (à l'étuve, 40°) afin de conserver la réactivité de surface des apatites. Peu d'études rapportent des biocéramiques formés d'apatites biomimétiques permettant de garder la réactivité de surface propres à ces nanocristaux apatitiques. Dans des précédents travaux, Banu [316] avait



effectué des tests de céramisation à basse température d'apatites nanocristallines denses (50°C et 100°C). En effet, il avait initialement testé une température supérieure à 100°C, à pression atmosphérique, mais qui s'était révélée trop élevée d'après les résultats d'analyses thermogravimétriques : les molécules d'eau et la mobilité ionique de surface des cristallites n'étaient pas préservées. De plus, des études antérieures [310] ont montré qu'il était possible d'élaborer des céramiques denses d'apatites biomimétiques par moulage d'un gel de phosphate de calcium suivi d'un séchage lent à température ambiante, les céramiques étaient alors trop fragiles et l'association d'une partie organique (protéines) était nécessaire pour assurer les propriétés mécaniques [310]. Ainsi, le procédé proposé dans cette thèse de synthèse en émulsion suivi d'un séchage à 40°C a permis d'obtenir des monolithes à porosité contrôlée, composées d'apatites biomimétiques réactives, avec des propriétés mécaniques adaptés pour des applications en comblements osseux.

Les ions magnésium utilisés lors de la synthèse du gel d'apatite, et la présence de miglyol (3%) dans le monolithe final, ont permis de contrôler le séchage et de limiter la fissuration lors du séchage à l'étuve. Le miglyol pourrait ainsi jouer le rôle de « liant ».

De plus la présence d'apatites biomimétiques favorise la biorésorbabilité du biomatériau *in vivo*. En effet, bien que la biodégradabilité n'ait pu être vérifiée au cours de cette thèse, de nombreux travaux détaillent les vitesses de dégradation des biocéramiques de phosphates de calcium. Oonishi et al ont comparé la biodégradation *in-vitro* de plusieurs phosphates de calcium [364] et leurs résultats ont démontré une meilleure biodégradation de l'HAp peu cristalline (HAp >  $\alpha$ -TCP >  $\beta$ -TCP > HAp cristalline). De plus, les apatites biomimétiques ont une solubilité plus grande que celle d'une hydroxyapatite stœchiométrique [306].

Cependant, l'étape de séchage peut être améliorée pour optimiser les propriétés mécaniques des monolithes obtenus. De plus l'analyse par DRX des matériaux a

mis en évidence des traces de chlorure de sodium (NaCl) encore présent dans les biocéramiques. Ainsi, le NaCl présent dans la phase aqueuse de l'émulsion initiale recristallise lors du séchage et reste présent dans les biocéramiques. L'étape de lavage des biocéramiques dans l'éthanol permet de retirer le Miglyol mais ne permet pas de solubiliser le NaCl en raison de sa faible solubilité dans ce solvant. Une seconde étape de lavage dans de l'eau pourrait permettre de solubiliser une partie du chlorure de sodium présent. La présence de NaCl dans le monolithe et son action sur les cellules devra être investiguée lors des tests cellulaires.

# Conclusion générale et perspectives

## 1. Conclusion

L'objectif de ces travaux était l'élaboration de biomatériaux phosphocalciques à porosité contrôlée à partir d'émulsions de Pickering concentrées pour des applications en comblements osseux sur des sites soumis à de faibles contraintes mécaniques. La composition des biocéramiques (apatites biomimétique) et les taille et morphologie des pores (supérieurs à 200 microns et interconnectés) visaient à favoriser la bioactivité, l'ostéoconduction et la biorésorption du biomatériau.

Les principaux verrous levés lors de cette étude ont été :

- ~ la formulation de l'émulsion de Pickering afin d'obtenir une taille de gouttes supérieure à 200  $\mu\text{m}$  et une émulsion stable.
- ~ d'établir un protocole de préparation pour les biocéramiques permettant le contrôle de la taille de pores et un séchage basse température.

Premièrement, une poudre d'hydroxyapatite sans présence de phase étrangère, faiblement carbonatée et cristallisée a été synthétisée. La taille des particules est d'environ 2-3 microns, bien que les particules aient tendance à s'agglomérer en solution saline. L'ajout de NaCl permet de diminuer les charges entre particules, favorisant et stabilisant l'agglomération des particules d'HAp.

Des émulsions de type H/E ont alors été formulées, elles sont constituées d'une phase continue composée d'une solution aqueuse contenant du NaCl, une phase dispersée huileuse de Miglyol, et des particules solides d'HAp à l'interphase. Il est important de noter que le Miglyol a été choisi pour sa composition chimique puisque des groupes carboxyles sont présents dans les acides capryliques et capriques. En effet, la présence d'interactions entre les groupes ester ou carboxyle et le calcium présent à la surface de l'HAp permet de stabiliser l'émulsion. L'influence de plusieurs paramètres a été étudiée afin d'optimiser la formulation de l'émulsion (taille, stabilité), notamment :

- La concentration en NaCl dans la phase aqueuse

Comme dit précédemment, l'utilisation de NaCl est nécessaire pour réduire les charges à l'interface huile/eau, une concentration en NaCl à 0,5M a été choisie pour assurer la stabilité de l'émulsion lors de l'utilisation visée et pour la suite des travaux.

- La fraction massique [H/E] de l'émulsion

Des fractions massiques allant de [30/70] à [80/20] ont été testées, ce paramètre influe alors sur la composition en huile du biomatériau préparé par la suite et donc sur la porosité des biocéramiques. Une fraction massique de [75/25] a été validée en raison de sa stabilité et pour la qualité optimale de l'émulsion obtenue : la partie émulsifiée de l'émulsion est présente sur toute la hauteur, il n'y a pas de phase aqueuse ou huile présente. Par ailleurs, un pourcentage de 74% en huile est recommandé pour obtenir un empilement compact, ainsi un ratio [75/25] permettait de remplir ces conditions.

- La quantité de particules introduites

Phénomène bien connu des émulsions de Pickering, une plage de coalescence limitée a pu être observée au cours de cette thèse entre 1 et 10,5 mg<sub>HAp</sub>/g<sub>Miglyol</sub>.

Lorsque la quantité d'HAp augmente, le diamètre de gouttes de l'émulsion diminue linéairement. Au-delà de  $10,5 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$ , la coalescence limitée ne gouverne plus le système et le diamètre de gouttes est constant. Une émulsion à  $10 \text{ mg}_{\text{HAp}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  a donc été sélectionnée pour la suite des travaux en raison du diamètre de goutte ( $\approx 250 \text{ }\mu\text{m}$ ) correspondant au diamètre de pores désiré, et de sa stabilité.

Dans la dernière partie de ces travaux, des biocéramiques poreuses de porosité interconnectée ont été générées en mélangeant les émulsions de Pickering précédemment optimisées et un gel de phosphate de calcium fraîchement préparé, permettant d'être séché à basse température. Leurs analyses physico-chimiques ont montré l'obtention de biocéramiques composées d'apatites biomimétiques de structure et composition analogues au minéral osseux. Les résultats ont montré que la porosité et les propriétés mécaniques de ces biomatériaux poreux dépendent des caractéristiques de l'émulsion de départ et du rapport massique émulsion/gel (E/G). En faisant varier le ratio E/G de 5 à 12, la quantité d'huile finale du mélange émulsion-gel est modifiée. Ce ratio a eu plusieurs effets, notamment sur la texture (taille de pores, porosité, interconnexion) et la distance entre les pores (épaisseur des parois). Les résistances à la compression obtenues sont relativement faibles mais adaptées pour les applications visées en comblement osseux.

Les diamètres de pores moyen obtenus par tomographie X sont proches des diamètres des gouttes de l'émulsion de départ malgré un fort retrait observé lors du séchage. La biocéramique ayant un rapport E/G=8 et un diamètre de pores de 250 microns présente un bon compromis en termes de porosité ( $\approx 68 \pm 2\%$ ) et de résistance mécanique ( $85,0 \pm 23,7 \text{ kPa}$  pour le matériau 8-250 et  $75,1 \pm 23,9 \text{ kPa}$  pour le matériau 8-400).

## 2. Perspectives

Certaines voies qui n'ont pas pu être explorées ou détaillées au cours de la thèse peuvent être intéressantes pour la suite de ces travaux :

### *Validation de la biocompatibilité des biocéramiques*

Afin de valider la biocompatibilité des biocéramiques développées dans le cadre de la thèse, des tests de cytotoxicité sont nécessaires. Bien que non présentés dans nos résultats, les tests cellulaires (hFOB 1.19) ont été réalisés sur les monolithes 5-250, 8-250, 12-250 et 8-400 en collaboration avec le Centro de Nanotecnologia e Engenharia Tecidual (FFCLRP, USP Ribeirão Preto, Brazil) et sont en cours d'analyse.

Les premiers résultats obtenus sont prometteurs quant à la biocompatibilité des biocéramiques. Des tests sur petit animal seraient également à envisager pour valider la bioactivité et l'ostéoconductivité de tels monolithes.

### *Amélioration de l'étape de séchage des biocéramiques*

Les biocéramiques obtenues à basse température (sans frittage), bien qu'adaptées pour les applications visées, restent fragiles. Lors d'un séchage en étuve, le matériau est soumis à des forces, pouvant causer du cracking. Différentes voies d'amélioration pourraient être considérées pour améliorer l'étape de séchage, comme le séchage au CO<sub>2</sub> supercritique. Ce séchage alternatif permettrait d'exercer moins de contraintes sur le matériau et assurer *in fine* une meilleure résistance, tout en limitant la contraction du matériau, ceci ayant pour effet de préserver une structure mais aussi une composition proche du minéral osseux (apatites biomimétiques) pour assurer les propriétés biologiques. Le séchage au CO<sub>2</sub> supercritique présente également d'autres avantages :

- ~ un gain de temps (1h ou 1 journée en fonction du protocole, contre 1 semaine)
- ~ un gain d'énergie qui serait quantifier dans un travail futur
- ~ l'espoir de diminuer le retrait dû aux forces capillaires.
- ~ peut-être développer de la microporosité (en remplaçant l'eau des parois).

Avant de sécher au CO<sub>2</sub> supercritique, il est nécessaire d'effectuer un pré-séchage pour consolider le réseau émulsion/gel, puis d'échanger le solvant eau avec de l'éthanol car ce solvant est alors miscible avec le CO<sub>2</sub> contrairement à l'eau.

Ensuite, le procédé de séchage se compose de deux phases. La première est la phase de lavage au CO<sub>2</sub> supercritique, qui a pour objectif de remplacer le liquide contenu dans les pores par du CO<sub>2</sub> supercritique. La seconde est la phase de dépressurisation permettant d'extraire le CO<sub>2</sub> contenu désormais dans les pores, en se plaçant dans les conditions de température et de pression légèrement supérieures au point critique du CO<sub>2</sub> (31°C, 74 bar). Dans ces conditions, la différence de densité entre les deux phases disparaît annulant ainsi la tension superficielle [1]. Afin de réduire le temps de séchage du biomatériau, actuellement de 7 jours, le séchage au CO<sub>2</sub> supercritique a été testé au cours de cette thèse. Les premiers résultats obtenus se sont révélés encourageants.

#### *Amélioration de la résistance mécanique des biocéramiques*

L'autre voie qui pourrait être envisagée est l'ajout d'un renfort organique dans la composition de ces biocéramiques afin d'obtenir un matériau composite et améliorer la résistance mécanique. Différents composites à base d'apatites ont déjà été proposés dans la littérature, par exemple Caballero a porté son étude sur l'utilisation d'hydrogel de chitosan minéralisé par de l'apatite comme matériau

composite, les propriétés mécaniques divergeant en fonction de la méthode d'intégration du chitosan [2].

*Vers des biocéramiques multifonctionnelles « à façon »*

Le procédé basse température présenté au cours de cette thèse permet de multiples possibilités pour des applications futures. En effet, l'utilisation d'émulsion de Pickering permet d'envisager l'emploi d'autres types de particules. Par exemple, des particules de NCA (apatite nanocristalline) pourraient être utilisées pour stabiliser l'émulsion de Pickering à la place de l'HAp. Ceci permettrait d'obtenir des biocéramiques multifonctionnelles « à façon » car la grande réactivité de surface des NCA permet des échanges ioniques et l'adsorption de petites molécules adaptable à chaque situation envisagée. Ainsi l'utilisation d'apatites dopées ou fonctionnalisées préservées lors du procédé réalisé à basse température proposé dans cette thèse, pourrait générer des biocéramiques à propriétés thérapeutiques contrôlées, par exemple anti-ostéoporotiques via apatites dopées au strontium [4], [5], ou anticancéreuses via l'adsorption de doxorubicine [6], [7]. Bien que les particules de NCA aient une composition chimique proche des particules d'HAp, les différents paramètres de formulation de l'émulsion étudiés au cours du chapitre 3 devraient être à nouveau étudiés car la stabilité pourrait être influencée. Ces molécules thérapeutiques et/ou ions d'intérêt pourraient également être intégrés directement dans le gel de phosphates de calcium mélangé à l'émulsion.



# Annexes

1. Graphiques des pourcentages de  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour des émulsions à  $[\text{NaCl}]=0,5\text{M}$  et  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et 5 fractions massiques différentes

- ~ Fraction massique huile/eau [40/60]
- ~ Fraction massique huile/eau [50/50]
- ~ Fraction massique huile/eau [60/40]
- ~ Fraction massique huile/eau [75/25] ( $\Delta R$  uniquement)
- ~ Fraction massique huile/eau [80/20] ( $\Delta R$  uniquement)

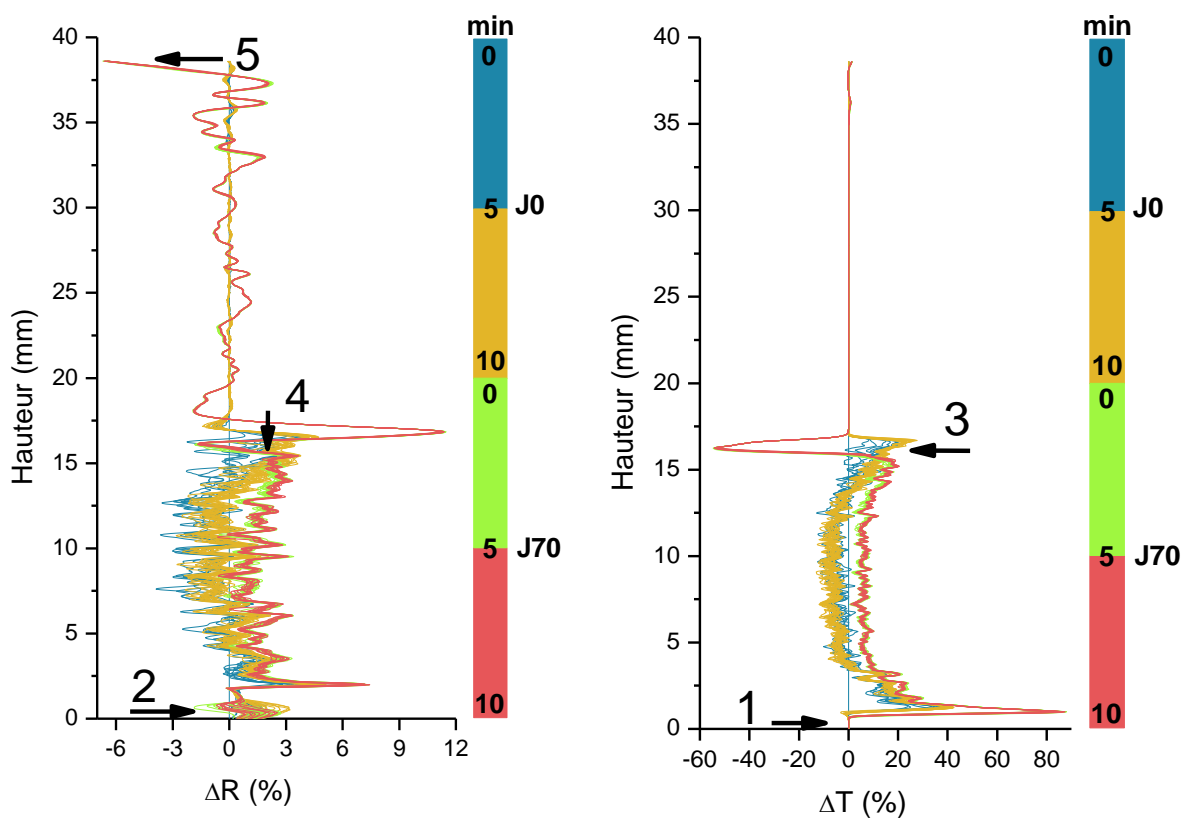


Figure 118 - Pourcentages  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[\text{NaCl}]=0,5\text{M}$  et  $10 \text{ mg}_{\text{HAP}}/\text{g}_{\text{Miglyol}}$  et une fraction massique  $[\text{H}/\text{E}]$  de [40/60]

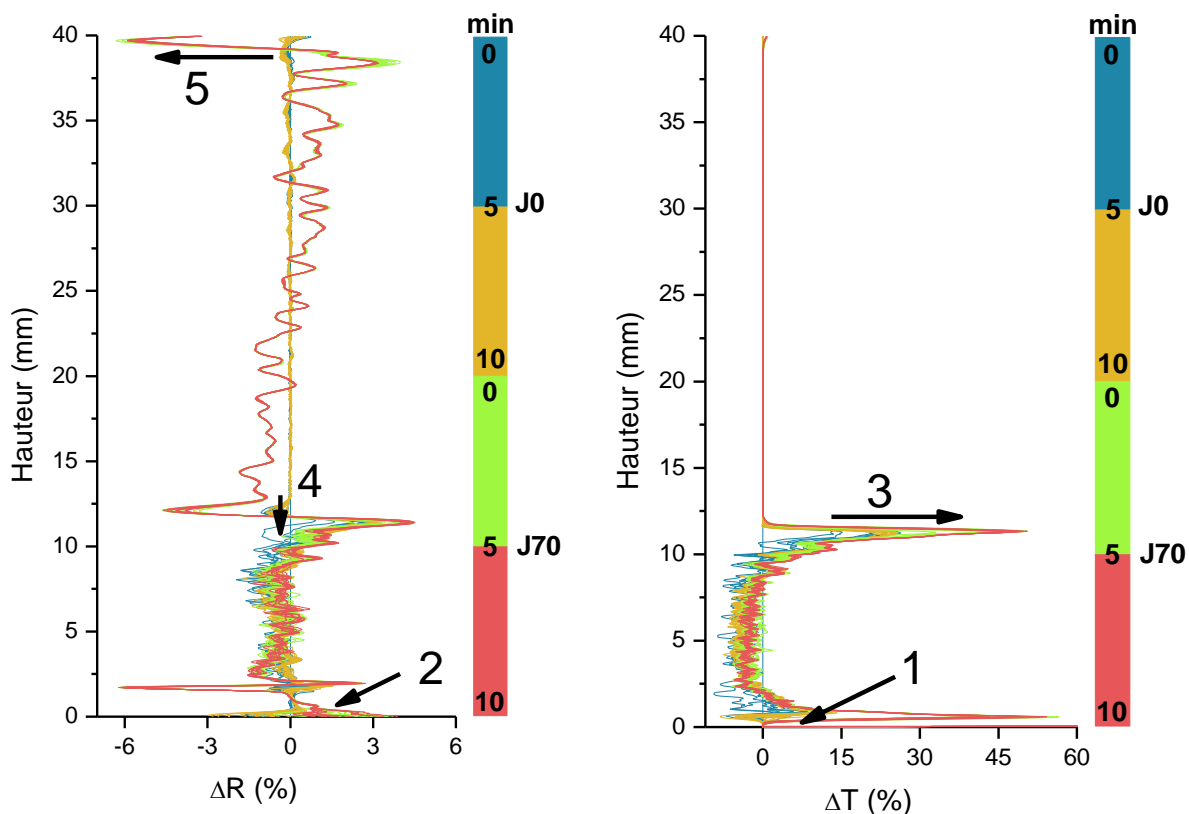


Figure 119 - Pourcentages  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10 \text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$  et une fraction massique  $[H/E]$  de  $[50/50]$

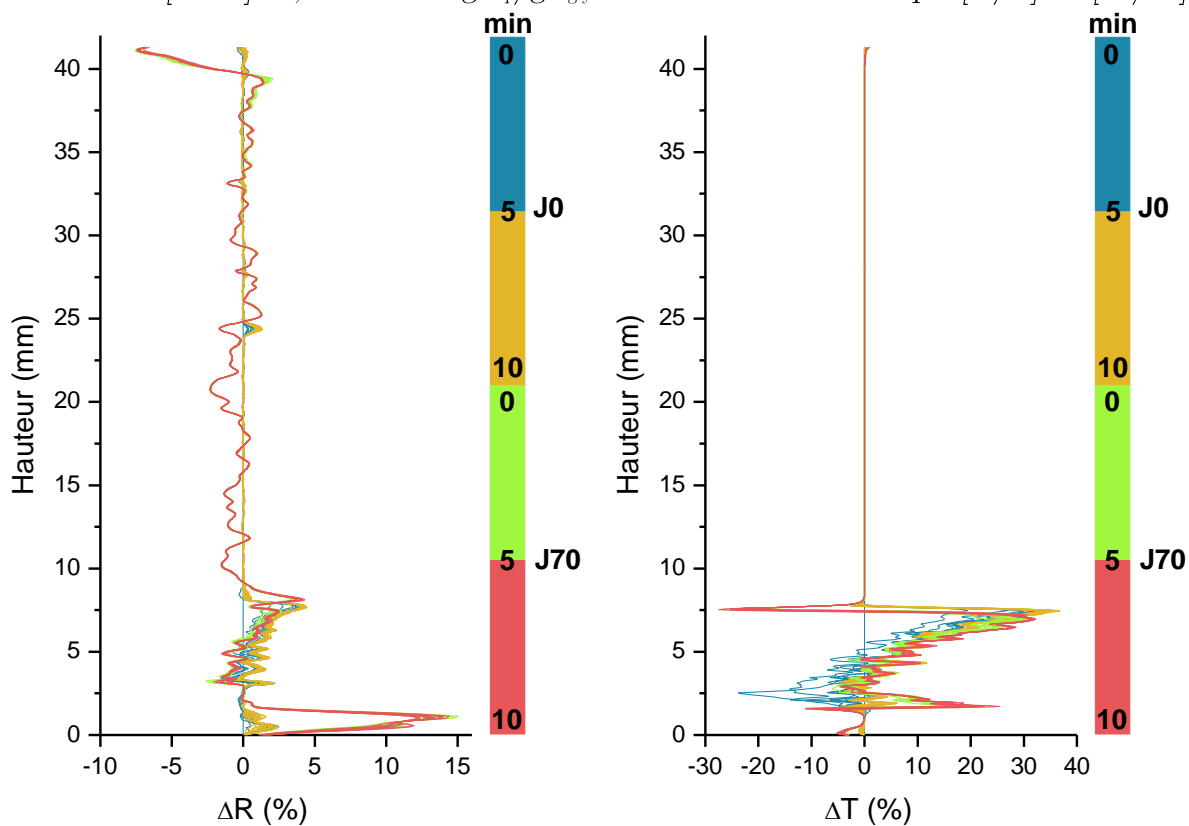


Figure 120 - Pourcentages  $\Delta R$  et  $\Delta T$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10 \text{ mg}_{HAP}/g_{Miglyol}$  et une fraction massique  $[H/E]$  de  $[60/40]$

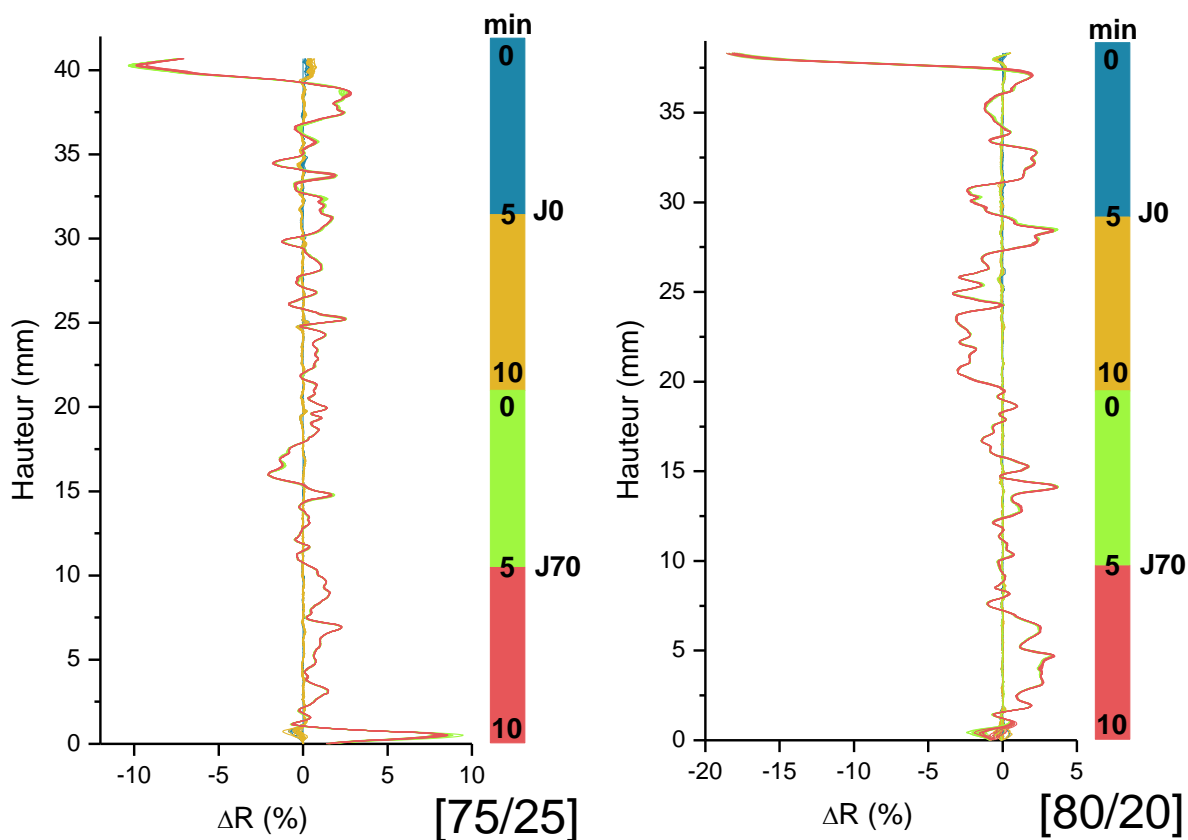


Figure 121 - Pourcentages  $\Delta R$  sur la hauteur de l'échantillon pour une émulsion à  $[NaCl]=0,5M$  et  $10 mg_{HAP}/g_{Miglyol}$  et des fractions massiques  $[H/E]$  de  $[75/25]$  et  $[80/20]$

## 2. Analyses thermiques du Miglyol 812

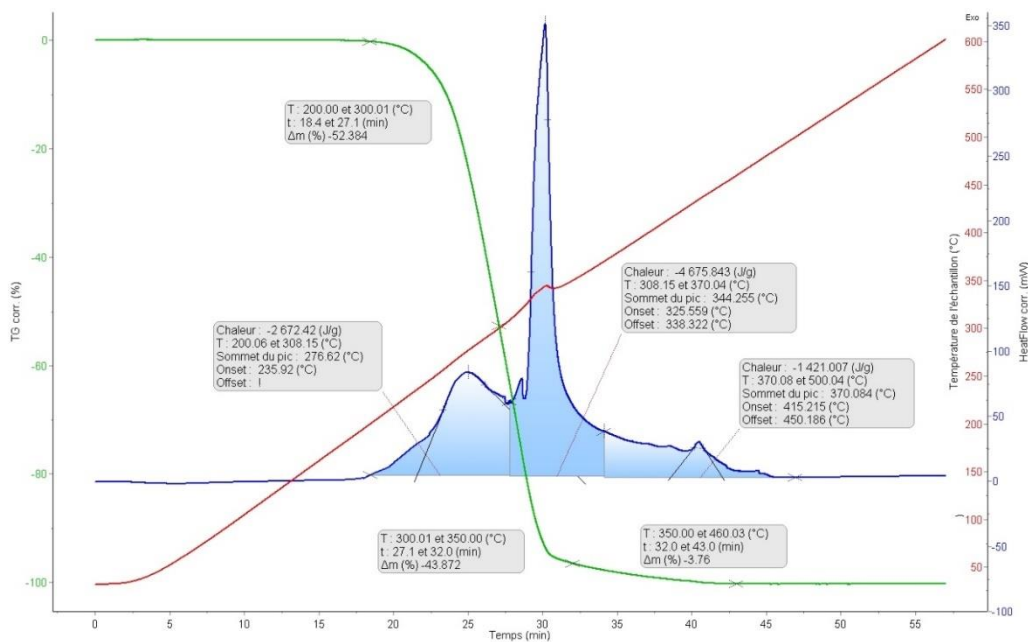


Figure 122 - Analyses thermiques du miglyol 812

## 3. Certificat d'analyse du Miglyol 812

Produit **Miglyol® 812 - Triglycérides à chaîne moyenne**

Triglycerida saturata media

N° Lot	16124308	Date de fabrication	02/2016
CAS-Nr.	73398-61-5	Date de péremption	28/02/2019
Paramètres	Spécifications Ph. Eur. 8.0	Résultats	
<b>Caractères</b>			
Aspect	Liquide huileux, incolore ou légèrement jaunâtre.	Conforme	
Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau, miscible à l'éthanol à 96%, au chlorure de méthylène, à l'éther de pétrole et aux huiles grasses.	Conforme	
<b>Identité</b>			
B- Indice de saponification	Selon Ph. Eur.	Conforme	
C- Composition en acides gras*	Selon Ph. Eur.	Conforme	
<b>Pureté</b>			
Aspect de la substance*	Limpide et pas plus fortement colorée que la solution témoin J <sub>3</sub>	Conforme	
Impuretés à réaction alcaline	Selon Ph. Eur.	Conforme	
Densité	0.93 à 0.96	0.946	
Indice de réfraction	1.440 à 1.452	1.4493	
Viscosité*	25 mPa.s à 33 mPa.s	30 mPa.s	
Indice d'acide	≤ 0.2	0.06	
Indice d'hydroxyle*	≤ 10	2	
Indice d'iode*	≤ 1.0	0.1	
Indice de peroxyde	≤ 1.0	0.08	
Indice de saponification	310 à 360	336	
Insaponifiable*	≤ 0.5%	≤ 0.1%	
Composition en acides gras*	Selon Ph. Eur.	Conforme	
- Acide caproïque*	≤ 2.0%	≤ 0.1%	
- Acide caprylique*	50.0 à 80.0%	57.4%	
- Acide caprique*	20.0 à 50.0%	42.4%	
- Acide laurique*	≤ 3.0%	0.1%	
- Acide myristique*	≤ 1.0%	≤ 0.1%	
Métaux lourds*	≤ 10ppm	≤ 10ppm	
Eau*	≤ 0.2%	0.0%	
Cendres totales*	≤ 0.1%	≤ 0.05%	
<b>Dosage*</b>	≥ 95.0% d'acides gras saturés à 8 et 10 atomes de carbone	99.8%	
<b>Fabricant</b>	IOI OLEO GmbH Arthur-Imhausen-Str. 92 D-58453 Witten Tél. : +49(0)2302 925-390	N° Lot Fabricant : 160209	
<b>Stockage dans un récipient bien rempli, à l'abri de la lumière.</b>			
Le produit a été contrôlé selon les procédures pharmaceutiques en vigueur, il est conforme aux spécifications de la Ph. Eur. 8.0			

Figure 123 - Certificat d'analyse du Miglyol 812

### 4. Analyses thermiques de l'échantillon 5-250

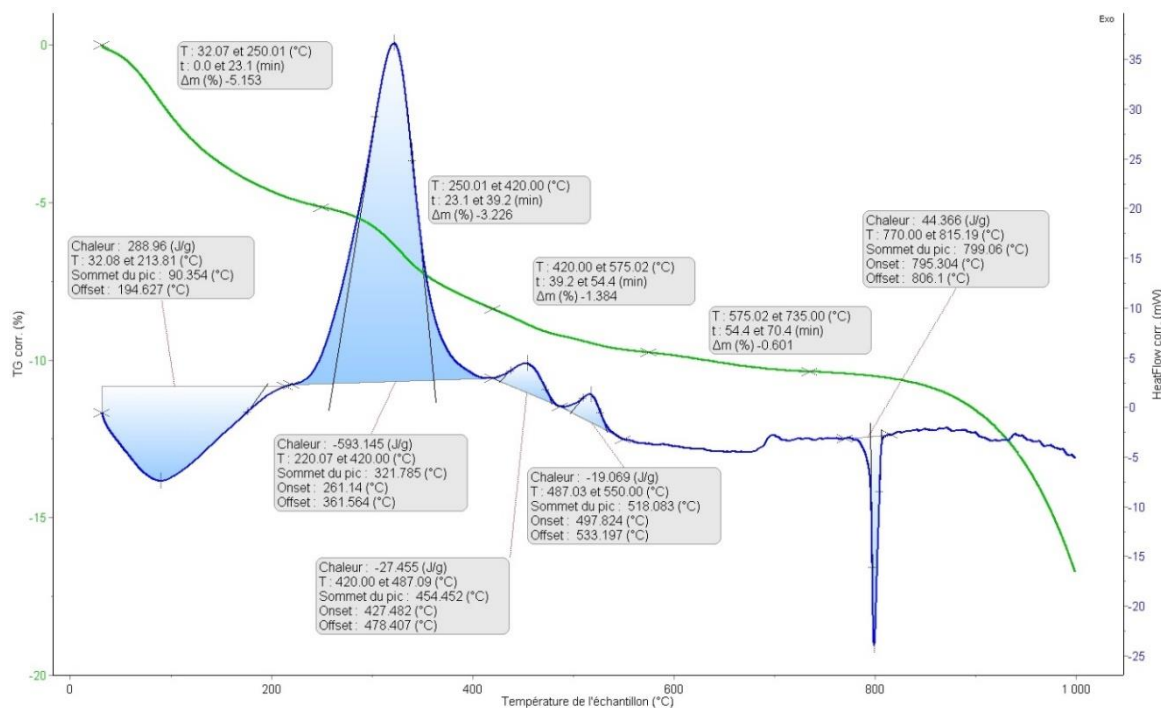


Figure 124 - Analyses thermiques de l'échantillon 5-250

### 5. Analyses thermiques de l'échantillon 8-250

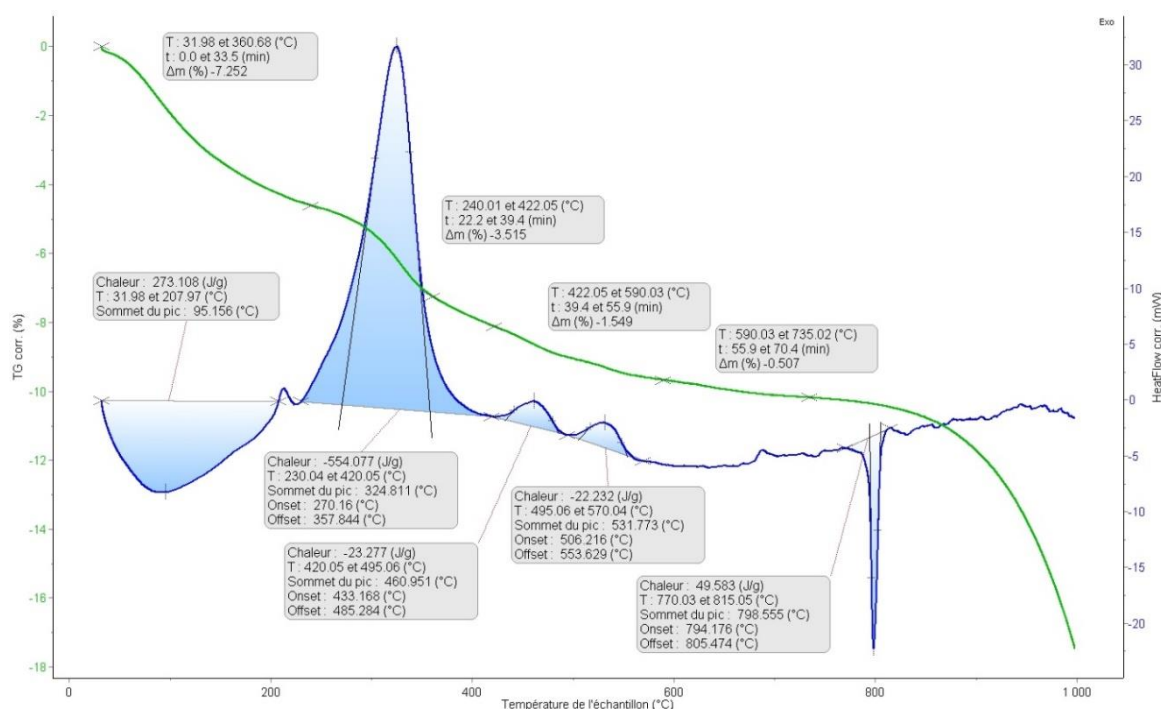


Figure 125 - Analyses thermiques de l'échantillon 8-250

## 6. Analyses thermiques de l'échantillon 12-250

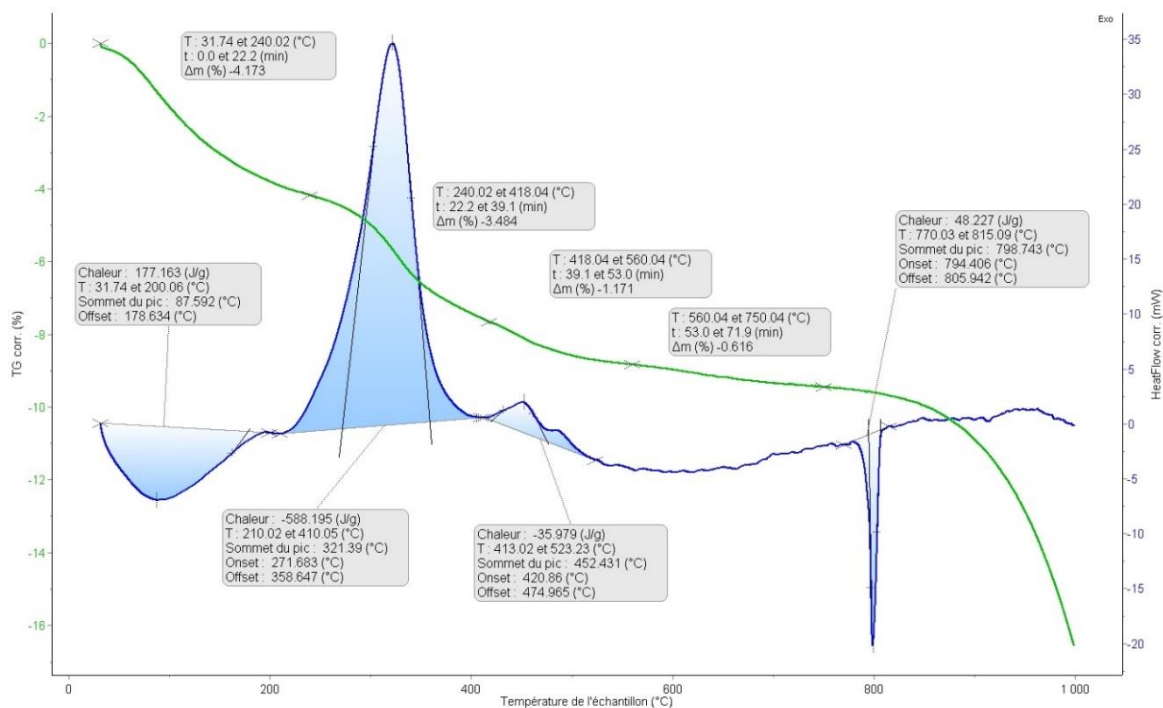


Figure 126- Analyses thermiques de l'échantillon 12-250

## 7. Analyses thermiques de l'échantillon 8-400

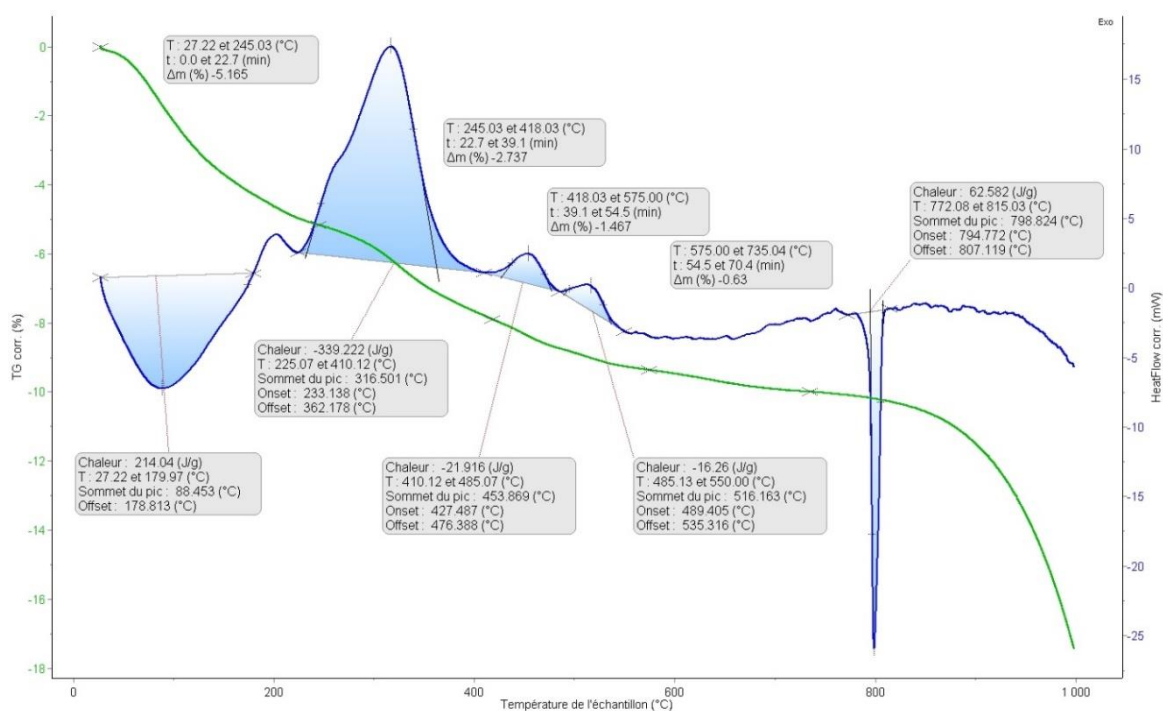


Figure 127- Analyses thermiques de l'échantillon 8-400

# Références

- [1] L. Gutermann, S. Roy, et T. Bégue, « Synthetic bone substitutes: what specificities? », *J. Pharm. Clin.*, vol. 32, n° 2, p. 79-87, 2013.
- [2] G. Daculsi, O. Malard, et E. Goyenvalle, « Efficacité et performance des substituts osseux pour remplacer les allogreffes et autogreffes », *ITBM-RBM*, vol. 26, n° 3, p. 218-222, juin 2005, doi: 10.1016/j.rbmret.2005.04.005.
- [3] F. Chai, G. Raoul, A. Wiss, J. Ferri, et H. F. Hildebrand, « Bone substitutes: classification and concerns », *Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.*, vol. 112, n° 4, p. 212-221, 2011.
- [4] H. Dressman, « Uber knochenplombierung », *Beitr Klin Chir*, vol. 9, p. 804-810, 1892.
- [5] « Ceramics Biomaterials Market Research Report Till 2026: Global Industry Analysis ». <https://www.decisiondatabases.com/ip/119-ceramics-biomaterials-market-research-report>
- [6] M. Jarcho, « Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics », *Clin. Orthop. Relat. Res.*, vol. 157, p. 259-278, 1981.
- [7] M. Bohner, « Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements », *Injury*, vol. 31, p. D37-D47, 2000.
- [8] L. L. Hench et J. M. Polak, « Third-generation biomedical materials », *Science*, vol. 295, n° 5557, p. 1014-1017, 2002.
- [9] E. Champion, « Sintering of calcium phosphate bioceramics », *Acta Biomater.*, vol. 9, n° 4, p. 5855-5875, 2013.
- [10] S. Sarda, A. Tofighi, M. C. Hobatho, D. Lee, et C. Rey, « Associations of low temperature apatite ceramics and proteins », *Phosphorus Res. Bull.*, vol. 10, p. 208-213, 1999.
- [11] M. Banu, « Mise en forme d'apatites nanocristallines: céramiques et ciments », 2005.
- [12] S. Rollin-Martinet, « Développement de nouvelles biocéramiques par consolidation à basse température d'apatites nanocristallines biomimétiques », Université de Limoges, 2011.
- [13] R. Backov, J. Soulie, M. Merce, S. Sarda, et V. Schmitt, « Procédé de préparation de matériaux macroporeux monolithiques biocompatibles utilisables à titre de substitut osseux », FR3037806A1, 30 décembre 2016 Consulté le: 7 septembre 2018. [En ligne]. Disponible sur: <https://patents.google.com/patent/FR3037806A1/fr>
- [14] E. Marieb et K. Hoehn, *Anatomie et physiologie humaines: Livre+ eText+ plateforme numérique MonLab-Licence étudiant 60 mois*. Pearson Education France, 2014.
- [15] A. S. Posner, « The mineral of bone. », *Clin. Orthop.*, n° 200, p. 87-99, 1985.

- [16] E. N. Marieb et K. Hoehn, *Human anatomy & physiology*. Pearson education, 2007.
- [17] T. Thomas, A. Martin, et M. H. Lafage-Proust, *Physiologie du tissu osseux*. EMC. Elsevier Masson SAS, Paris) Appareil Locomoteur, 2008.
- [18] J. A. Robles-Linares, E. Ramírez-Cedillo, H. Siller, C. Rodríguez, et J. Martínez-López, « Parametric Modeling of Biomimetic Cortical Bone Microstructure for Additive Manufacturing », *Materials*, 2019, doi: 10.3390/ma12060913.
- [19] K. Matsuo et N. Irie, « Osteoclast–osteoblast communication », *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 473, n° 2, p. 201-209, 2008.
- [20] Université du Michigan, « Cycle du remodelage osseux ». <http://ns.umich.edu/Releases/2005/Feb05/img/bone.jpg>
- [21] J. P. Schmitz et J. O. Hollinger, « The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. », *Clin. Orthop.*, n° 205, p. 299-308, 1986.
- [22] J. O. Hollinger et J. C. Kleinschmidt, « The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. », *J. Craniofac. Surg.*, vol. 1, n° 1, p. 60-68, 1990.
- [23] K. Rouxel, « Les modèles pré-cliniques de défauts osseux critiques intra oraux: revue systématique de la littérature », p. 47.
- [24] D. Williams, « Definitions in biomaterials », in *Second Consensus Meeting*, Chester, UK, sept. 1991, vol. 26, p. 414-414. doi: 10.1002/pol.1988.140260910.
- [25] L. L. Hench, « Bioceramics: from concept to clinic », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 74, n° 7, p. 1487-1510, 1991.
- [26] L. L. Hench, *An introduction to bioceramics*, vol. 1. World scientific, 1993.
- [27] M. Bongio, J. J. Van Den Beucken, S. C. Leeuwenburgh, et J. A. Jansen, « Development of bone substitute materials: from ‘biocompatible’ to ‘instructive’ », *J. Mater. Chem.*, vol. 20, n° 40, p. 8747-8759, 2010.
- [28] W. Cao et L. L. Hench, « Bioactive materials », *Ceram. Int.*, vol. 22, n° 6, p. 493-507, 1996.
- [29] R. Z. LeGeros, « Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates », *Publ. Assoc. Bone Jt. Surg. CORR®*, vol. 395, p. 81-98, 2002.
- [30] J. G. Dellinger, A. M. Wojtowicz, et R. D. Jamison, « Effects of degradation and porosity on the load bearing properties of model hydroxyapatite bone scaffolds », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 77, n° 3, p. 563-571, juin 2006, doi: 10.1002/jbm.a.30658.
- [31] C. E. Wilson *et al.*, « A new in vivo screening model for posterior spinal bone formation: comparison of ten calcium phosphate ceramic material treatments », *Biomaterials*, vol. 27, n° 3, p. 302-314, 2006.
- [32] V. M. Goldberg, S. Stevenson, J. Feighan, et D. Davy, « Biology of grit-blasted titanium alloy implants. », *Clin. Orthop.*, n° 319, p. 122-129, 1995.
- [33] A. Moroni, M. Cadossi, M. Romagnoli, C. Faldini, et S. Giannini, « A biomechanical and histological analysis of standard versus hydroxyapatite-coated



- pins for external fixation », *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater. Off. J. Soc. Biomater. Jpn. Soc. Biomater. Aust. Soc. Biomater. Korean Soc. Biomater.*, vol. 86, n° 2, p. 417-421, 2008.
- [34] M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, J. Suzuki, T. Kokubo, et T. Nakamura, « Mechanical properties and osteoconductivity of porous bioactive titanium », *Biomaterials*, vol. 26, n° 30, p. 6014-6023, 2005.
- [35] K. D. Johnson *et al.*, « Porous ceramics as bone graft substitutes in long bone defects: a biomechanical, histological, and radiographic analysis », *J. Orthop. Res.*, vol. 14, n° 3, p. 351-369, 1996.
- [36] M. R. Urist, « Bone: formation by autoinduction », *Science*, vol. 150, n° 3698, p. 893-899, 1965.
- [37] T. Kokubo, *Bioceramics and their clinical applications*. Elsevier, 2008.
- [38] M. Bohner, « New hydraulic cements based on  $\alpha$ -tricalcium phosphate–calcium sulfate dihydrate mixtures », *Biomaterials*, vol. 25, n° 4, p. 741-749, 2004.
- [39] E. Fernández *et al.*, « Modulation of porosity in apatitic cements by the use of  $\alpha$ -tricalcium phosphate—calcium sulphate dihydrate mixtures », *Biomaterials*, vol. 26, n° 17, p. 3395-3404, 2005.
- [40] A. La Gatta, A. De Rosa, P. Laurienzo, M. Malinconico, M. De Rosa, et C. Schiraldi, « A novel injectable poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/calcium sulfate system for bone regeneration: Synthesis and characterization », *Macromol. Biosci.*, vol. 5, n° 11, p. 1108-1117, 2005.
- [41] L. L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen, et T. K. Greenlee, « Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 5, n° 6, p. 117-141, 1971.
- [42] F. Baino et C. Vitale-Brovarone, « Three-dimensional glass-derived scaffolds for bone tissue engineering: current trends and forecasts for the future », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 97, n° 4, p. 514-535, 2011.
- [43] A. Oki, B. Parveen, S. Hossain, S. Adeniji, et H. Donahue, « Preparation and in vitro bioactivity of zinc containing sol-gel-derived bioglass materials », *J. Biomed. Mater. Res. Part Off. J. Soc. Biomater. Jpn. Soc. Biomater. Aust. Soc. Biomater. Korean Soc. Biomater.*, vol. 69, n° 2, p. 216-221, 2004.
- [44] A. Balamurugan, G. Balossier, S. Kannan, J. Michel, A. H. Rebelo, et J. M. Ferreira, « Development and in vitro characterization of sol-gel derived CaO–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–SiO<sub>2</sub>–ZnO bioglass », *Acta Biomater.*, vol. 3, n° 2, p. 255-262, 2007.
- [45] A. Saboori *et al.*, « Sol-gel preparation, characterisation and in vitro bioactivity of Mg containing bioactive glass », *Adv. Appl. Ceram. Struct. Funct. Bioceram.*, vol. 108, n° 3, p. 155, 2009.
- [46] M. M. Stevens, « Biomaterials for bone tissue engineering », *Mater. Today*, vol. 11, n° 5, p. 18-25, 2008.
- [47] L. L. Hench, « Biomaterials: a forecast for the future », *Biomaterials*, vol. 19, n° 16, p. 1419-1423, 1998.

- [48] H. Monma et T. Kanazawa, « Effect of hydroxylation on the thermal reactivities of fluorapatite and chlorapatite », *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 49, n° 5, p. 1421-1422, 1976.
- [49] W. E. Brown, « A new calcium phosphate, water-setting cement », *Cem. Res. Prog.*, p. 351-379, 1987.
- [50] H. H. Xu et C. G. Simon Jr, « Fast setting calcium phosphate–chitosan scaffold: mechanical properties and biocompatibility », *Biomaterials*, vol. 26, n° 12, p. 1337-1348, 2005.
- [51] P. Q. Ruhé, E. L. Hedberg, N. T. Padron, P. H. Spauwen, J. A. Jansen, et A. G. Mikos, « Biocompatibility and degradation of poly (dl-lactic-co-glycolic acid)/calcium phosphate cement composites », *J. Biomed. Mater. Res. Part Off. J. Soc. Biomater. Jpn. Soc. Biomater. Aust. Soc. Biomater. Korean Soc. Biomater.*, vol. 74, n° 4, p. 533-544, 2005.
- [52] N. J. S. Gorst *et al.*, « Effects of fibre reinforcement on the mechanical properties of brushite cement », *Acta Biomater.*, vol. 2, n° 1, p. 95-102, 2006.
- [53] M.-P. Ginebra, J.-A. Delgado, I. Harr, A. Almirall, S. Del Valle, et J. A. Planell, « Factors affecting the structure and properties of an injectable self-setting calcium phosphate foam », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 80, n° 2, p. 351-361, 2007.
- [54] G. Daculsi, O. Malard, et E. Goyenvalle, « Efficacy and performance of bone substitute for bone reconstruction in place of allograft and autograft », *ITBM-RBM*, vol. 26, p. 218-22, 2005.
- [55] C. Rey, C. Combes, C. Drouet, A. Lebugle, H. Sfihi, et A. Barroug, « Nanocrystalline apatites in biological systems: characterisation, structure and properties », *Mater. Werkst.*, vol. 38, n° 12, p. 996-1002, déc. 2007, doi: 10.1002/mawe.200700229.
- [56] W. Van Raemdonck, P. Ducheyne, et P. De Meester, « Metal and Ceramic Biomaterials », *CRC Boca Raton Fla.*, p. 143, 1984.
- [57] J. C. Elliot, « Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. Stud », *Inorg Chem*, vol. 18, p. 389, 1994.
- [58] R. Z. LeGeros, M. H. Taheri, G. B. Quirolgico, et J. P. LeGeros, « Formation and stability of apatites: effects of some cationic substituents », in *2nd International Congress on Phosphorus Compounds*, 1980, p. 89-103.
- [59] R. A. Young, « Some aspects of crystal structural modeling of biological apatites », *Coll Int CNRS*, vol. 230, p. 21-40, 1975.
- [60] J. C. Elliott, *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*. Elsevier, 2013.
- [61] E. Hayek, « Pentacalcium monohydroxy orthophosphate (hydroxyapatite) », *Inorg Synth*, vol. 7, p. 63-65, 1963.
- [62] J. C. Trombe, « Contribution a l'étude de la decomposition et de la reactivite de certaines apatites hydroxyless ou fluorees alcalino-terreuse », *PhD Thesis*, 1972.

- [63] J. Arends *et al.*, « A calcium hydroxyapatite precipitated from an aqueous solution: an international multimethod analysis », *J. Cryst. Growth*, vol. 84, n° 3, p. 515-532, 1987.
- [64] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache-Assollant, et P. Thomas, « Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders », *Biomaterials*, vol. 23, n° 4, p. 1065-1072, 2002.
- [65] H. Kurosawa, H. Aoki, et M. Akao, « Tissue reactions to calcined bone graft », *Biomaterials*, vol. 7, n° 2, p. 132-136, 1986.
- [66] S.-H. Rhee, « Synthesis of hydroxyapatite via mechanochemical treatment », *Biomaterials*, vol. 23, n° 4, p. 1147-1152, 2002.
- [67] W. Suchanek et M. Yoshimura, « Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants », *J. Mater. Res.*, vol. 13, n° 1, p. 94-117, 1998.
- [68] A. Deptuła, W. Łada, T. Olczak, A. Borello, C. Alvani, et A. Di Bartolomeo, « Preparation of spherical powders of hydroxyapatite by sol-gel process », *J. Non-Cryst. Solids*, vol. 147, p. 537-541, 1992.
- [69] E. Lerner, S. Sarig, et R. Azoury, « Enhanced maturation of hydroxyapatite from aqueous solutions using microwave irradiation », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 2, n° 3, p. 138-141, 1991.
- [70] Y. Liu, D. Luo, et T. Wang, « Hierarchical Structures of Bone and Bioinspired Bone Tissue Engineering », *Small*, vol. 12, n° 34, p. 4611-4632, 2016, doi: 10.1002/smll.201600626.
- [71] M. I. Kay, R. A. Young, et A. S. Posner, « Crystal structure of hydroxyapatite », *Nature*, vol. 204, n° 4963, p. 1050-1052, 1964.
- [72] G. Montel, G. Bonel, J.-C. Trombe, J.-C. Heughebaert, et C. Rey, « Progres dans le domaine de la chimie des composés phosphorés solides à structure d'apatite. Application à la biologie et au traitement des minerais », *Pure Appl. Chem.*, vol. 52, n° 4, p. 973-987, janv. 1980, doi: 10.1351/pac198052040973.
- [73] S. Tadier, « Etude des propriétés physico-chimiques et biologiques de ciments biomédicaux à base de carbonate de calcium: apport du procédé de co-broyage », 2009.
- [74] C. Rey, J. C. Trombe, et G. J. Montel, « Sur la fixation de la glycine dans le réseau des phosphates à structure d'apatite », *J Chem Res*, vol. 188, p. 2401-2416, 1978.
- [75] M. Montrejaud, « Contribution à l'étude des phospho-apatites oxygénées », 1973.
- [76] C. Rey, « Etude des relations entre apatites et composés moléculaires », 1984.
- [77] G. Bonel, « Contribution à l'étude de la carbonatation des apatites », présentée à l'Université Paul Sabatier de Toulouse pour obtenir le grade de ..., 1970.
- [78] R. Z. LeGeros, « Incorporation of magnesium in synthetic and in biological apatites », *Tooth Enamel*, p. 23-36, 1984.
- [79] C. Rey, J. Lian, M. Grynepas, F. Shapiro, L. Zylberberg, et M. J. Glimcher, « Non-apatitic environments in bone mineral: FT-IR detection, biological properties and

- changes in several disease states », *Connect. Tissue Res.*, vol. 21, n° 1-4, p. 267-273, 1989.
- [80] S. Cazalbou, D. Eichert, C. Drouet, C. Combes, et C. Rey, « Minéralisations biologiques à base de phosphate de calcium », *Comptes Rendus Palevol*, vol. 3, n° 6-7, p. 563-572, 2004.
- [81] S. Cazalbou, « Échanges cationiques impliquant des apatites nanocristallines analogues au minéral osseux », Toulouse, INPT, 2000.
- [82] S. Cazalbou *et al.*, « Ion exchanges in apatites for biomedical application », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, n° 5, p. 405-409, 2005.
- [83] D. Eichert, « Étude de la réactivité de surface d'apatites de synthèse nanocristallines », Toulouse, INPT, 2001.
- [84] S. Tutashkonko, « Élaboration du Ge mésoporeux et étude de ses propriétés physico-chimiques en vue d'applications photovoltaïques », Thèse de doctorat, Lyon, INSA, 2013. Consulté le: 29 septembre 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2013ISAL0097>
- [85] S. F. Hulbert, J. C. Bokros, L. L. Hench, J. Wilson, et G. Heimke, « Ceramics in clinical applications, past, present and future », *High Tech Ceram. A*, p. 189-213, 1986.
- [86] F. M. Klenke, Y. Liu, H. Yuan, E. B. Hunziker, K. A. Siebenrock, et W. Hofstetter, « Impact of pore size on the vascularization and osseointegration of ceramic bone substitutes in vivo », *J. Biomed. Mater. Res. Part Off. J. Soc. Biomater. Jpn. Soc. Biomater. Aust. Soc. Biomater. Korean Soc. Biomater.*, vol. 85, n° 3, p. 777-786, 2008.
- [87] P. Habibovic *et al.*, « Comparative in vivo study of six hydroxyapatite-based bone graft substitutes », *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.*, vol. 26, n° 10, p. 1363-1370, oct. 2008, doi: 10.1002/jor.20648.
- [88] X. D. Zhu *et al.*, « Effect of surface structure on protein adsorption to biphasic calcium-phosphate ceramics in vitro and in vivo », *Acta Biomater.*, vol. 5, n° 4, p. 1311-1318, 2009.
- [89] G. C. Babis et P. N. Soucacos, « Bone scaffolds: the role of mechanical stability and instrumentation », *Injury*, vol. 36, n° 4, p. S38-S44, 2005.
- [90] B. Mattiasson, A. Kumar, et I. Y. Galeaev, *Macroporous Polymers: Production Properties and Biotechnological/Biomedical Applications*. CRC Press, 2009.
- [91] C. L. Jackson, « Microcellular materials from rodlike macromolecules in solution », *Dr. Diss.*, p. 1-223, janv. 1989.
- [92] X. Zhong et F. Dehghani, « Fabrication of biomimetic poly(propylene carbonate) scaffolds by using carbon dioxide as a solvent, monomer and foaming agent », *Green Chem.*, vol. 14, n° 9, p. 2523-2533, août 2012, doi: 10.1039/C2GC35608B.
- [93] I. J. Brown et S. Sotiropoulos, « Electrodeposition of Ni from a high internal phase emulsion (HIPE) template », *Electrochimica Acta*, vol. 46, n° 17, p. 2711-2720, mai 2001, doi: 10.1016/S0013-4686(01)00481-9.

- [94] « Preparation and Reinforcement of Dual-Porous Biocompatible Cellulose Scaffolds for Tissue Engineering - Pircher - 2015 - Macromolecular Materials and Engineering - Wiley Online Library ». <https://onlinelibrary-wiley-com.gorgone.univ-toulouse.fr/doi/10.1002/mame.201500048> (consulté le 24 novembre 2020).
- [95] T. S. Karande, J. L. Ong, et C. M. Agrawal, « Diffusion in Musculoskeletal Tissue Engineering Scaffolds: Design Issues Related to Porosity, Permeability, Architecture, and Nutrient Mixing », *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 32, n° 12, p. 1728-1743, déc. 2004, doi: 10.1007/s10439-004-7825-2.
- [96] V. Karageorgiou et D. Kaplan, « Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis », *Biomaterials*, vol. 26, n° 27, p. 5474-5491, sept. 2005, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.02.002.
- [97] G. Wei et P. X. Ma, « Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering », *Biomaterials*, vol. 25, n° 19, p. 4749-4757, août 2004, doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.12.005.
- [98] J. A. Villamil Jiménez, N. Le Moigne, J.-C. Bénézet, M. Sauceau, R. Sescousse, et J. Fages, « Foaming of PLA Composites by Supercritical Fluid-Assisted Processes: A Review », *Molecules*, vol. 25, n° 15, Art. n° 15, janv. 2020, doi: 10.3390/molecules25153408.
- [99] Y.-J. Lee, J. S. Lee, Y. S. Park, et K. B. Yoon, « Synthesis of large monolithic zeolite foams with variable macropore architectures », *Adv. Mater.*, vol. 13, n° 16, p. 1259-1263, 2001.
- [100] C. Xue, J. Wang, B. Tu, et D. Zhao, « Hierarchically porous silica with ordered mesostructure from confinement self-assembly in skeleton scaffolds », *Chem. Mater.*, vol. 22, n° 2, p. 494-503, 2010.
- [101] L.-L. Li, W.-T. Duan, Q. Yuan, Z.-X. Li, H.-H. Duan, et C.-H. Yan, « Hierarchical  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> monoliths with highly ordered 2D hexagonal mesopores in macroporous walls », *Chem. Commun.*, n° 41, p. 6174-6176, 2009.
- [102] S. A. Davis, S. L. Burkett, N. H. Mendelson, et S. Mann, « Bacterial templating of ordered macrostructures in silica and silica-surfactant mesophases », *Nature*, vol. 385, n° 6615, p. 420-423, 1997.
- [103] O. D. Velev, T. A. Jede, R. F. Lobo, et A. M. Lenhoff, « Porous silica via colloidal crystallization », *Nature*, vol. 389, n° 6650, p. 447-448, 1997.
- [104] S. Mann *et al.*, « Sol-gel synthesis of organized matter », *Chem. Mater.*, vol. 9, n° 11, p. 2300-2310, 1997.
- [105] W. Ogasawara, W. Shenton, S. A. Davis, et S. Mann, « Template mineralization of ordered macroporous chitin-silica composites using a cuttlebone-derived organic matrix », *Chem. Mater.*, vol. 12, n° 10, p. 2835-2837, 2000.
- [106] M. W. Anderson, S. M. Holmes, N. Hanif, et C. S. Cundy, « Hierarchical pore structures through diatom zeolitization », *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 39, n° 15, p. 2707-2710, 2000.

- [107] B. T. Holland, C. F. Blanford, et A. Stein, « Synthesis of macroporous minerals with highly ordered three-dimensional arrays of spheroidal voids », *Science*, vol. 281, n° 5376, p. 538-540, 1998.
- [108] P. Bertrand, F. Bayle, C. Combe, P. Gœuriot, et I. Smurov, « Ceramic components manufacturing by selective laser sintering », *Appl. Surf. Sci.*, vol. 254, n° 4, p. 989-992, 2007.
- [109] F. E. Wiria, K. F. Leong, C. K. Chua, et Y. Liu, « Poly- $\epsilon$ -caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering », *Acta Biomater.*, vol. 3, n° 1, p. 1-12, 2007.
- [110] L. Elomaa, S. Teixeira, R. Hakala, H. Korhonen, D. W. Grijpma, et J. V. Seppälä, « Preparation of poly ( $\epsilon$ -caprolactone)-based tissue engineering scaffolds by stereolithography », *Acta Biomater.*, vol. 7, n° 11, p. 3850-3856, 2011.
- [111] I. Gibson, D. Rosen, B. Stucker, et M. Khorasani, « Development of additive manufacturing technology », in *Additive manufacturing technologies*, Springer, 2021, p. 23-51.
- [112] « Fabrication Additive des céramiques | CTTC ». <https://www.cttc.fr/ressources/fabrication-additive-des-ceramiques/>
- [113] B. Leukers *et al.*, « Hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering made by 3D printing », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 16, n° 12, p. 1121-1124, déc. 2005, doi: 10.1007/s10856-005-4716-5.
- [114] G. S. Attard, J. M. Corker, C. G. Göltner, S. Henke, et R. H. Templer, « Liquid-crystal templates for nanostructured metals », *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 36, n° 12, p. 1315-1317, 1997.
- [115] H. Zhang et A. I. Cooper, « Synthesis and applications of emulsion-templated porous materials », *Soft Matter*, vol. 1, n° 2, p. 107-113, 2005.
- [116] N. R. Cameron et D. C. Sherrington, « High internal phase emulsions (HIPEs)—Structure, properties and use in polymer preparation », in *Biopolymers liquid crystalline polymers phase emulsion*, Springer, 1996, p. 163-214.
- [117] E. Ruckenstein, « Concentrated emulsion polymerization », in *Polymer Synthesis/Polymer Catalysis*, Springer, 1997, p. 1-58.
- [118] M. S. Silverstein, H. Tai, A. Sergienko, Y. Lumelsky, et S. Pavlovsky, « PolyHIPE: IPNs, hybrids, nanoscale porosity, silica monoliths and ICP-based sensors », *Polymer*, vol. 46, n° 17, p. 6682-6694, 2005.
- [119] N. R. Cameron, « High internal phase emulsion templating as a route to well-defined porous polymers », *Polymer*, vol. 46, n° 5, p. 1439-1449, févr. 2005, doi: 10.1016/j.polymer.2004.11.097.
- [120] C. T. Lee, P. A. Psathas, K. P. Johnston, J. deGrazia, et T. W. Randolph, « Water-in-carbon dioxide emulsions: formation and stability », *Langmuir*, vol. 15, n° 20, p. 6781-6791, 1999.

- [121] R. Butler, C. M. Davies, et A. I. Cooper, « Emulsion templating using high internal phase supercritical fluid emulsions », *Adv. Mater.*, vol. 13, n° 19, p. 1459-1463, 2001.
- [122] H. Zhang, G. C. Hardy, M. J. Rosseinsky, et A. I. Cooper, « Uniform emulsion-templated silica beads with high pore volume and hierarchical porosity », *Adv. Mater.*, vol. 15, n° 1, p. 78-81, 2003.
- [123] A. Menner, R. Verdejo, M. Shaffer, et A. Bismarck, « Particle-stabilized surfactant-free medium internal phase emulsions as templates for porous nanocomposite materials: poly-pickering-foams », *Langmuir*, vol. 23, n° 5, p. 2398-2403, 2007.
- [124] P. J. Colver et S. A. Bon, « Cellular polymer monoliths made via pickering high internal phase emulsions », *Chem. Mater.*, vol. 19, n° 7, p. 1537-1539, 2007.
- [125] A. Shimojima, Z. Liu, T. Ohsuna, O. Terasaki, et K. Kuroda, « Self-assembly of designed oligomeric siloxanes with alkyl chains into silica-based hybrid mesostructures », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 127, n° 40, p. 14108-14116, 2005.
- [126] M. Sakurai, A. Shimojima, M. Heishi, et K. Kuroda, « Preparation of Mesostructured Siloxane–Organic Hybrid Films with Ordered Macropores by Templated Self-Assembly », *Langmuir*, vol. 23, n° 21, p. 10788-10792, 2007.
- [127] Z. Li et T. Ngai, « Correction to Macroporous Polymer from Core–Shell Particle-Stabilized Pickering Emulsions », *Langmuir*, vol. 26, n° 20, p. 16186-16186, 2010.
- [128] European pharmacopoeia, « 10th edition », *Strasbg. Counc. Eur.*, 2017.
- [129] G. Muschiolik, « Multiple emulsions for food use », *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 12, n° 4-5, p. 213-220, 2007.
- [130] G. E. Molau, « Heterogeneous polymer systems. I. Polymeric oil-in-oil emulsions », *J. Polym. Sci. A*, vol. 3, n° 4, p. 1267-1278, 1965.
- [131] M. Klapper, S. Nenov, R. Haschick, K. Mueller, et K. Muellen, « Oil-in-oil emulsions: a unique tool for the formation of polymer nanoparticles », *Acc. Chem. Res.*, vol. 41, n° 9, p. 1190-1201, 2008.
- [132] B. P. Binks et A. T. Tyowua, « Oil-in-oil emulsions stabilised solely by solid particles », *Soft Matter*, vol. 12, n° 3, p. 876-887, 2016.
- [133] G. Balakrishnan, T. Nicolai, L. Benyahia, et D. Durand, « Particles trapped at the droplet interface in water-in-water emulsions », *Langmuir*, vol. 28, n° 14, p. 5921-5926, 2012.
- [134] B. T. Nguyen, T. Nicolai, et L. Benyahia, « Stabilization of water-in-water emulsions by addition of protein particles », *Langmuir*, vol. 29, n° 34, p. 10658-10664, 2013.
- [135] J. Esquena, « Water-in-water (W/W) emulsions », *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 25, p. 109-119, 2016.
- [136] S. U. Pickering, « Emulsions », *J. Chem. Soc.*, vol. 91, 1907, doi: 10.1039/CT9079102001.

- [137] W. Ramsden, « Separation of solids in the surface-layers of solutions and 'suspensions' (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation).—preliminary account », *Proc. R. Soc. Lond.*, vol. 72, p. 156-164, 1903.
- [138] R. Aveyard, B. P. Binks, et J. H. Clint, « Emulsions stabilised solely by colloidal particles », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 100-102, p. 503-546, févr. 2003, doi: 10.1016/S0001-8686(02)00069-6.
- [139] H. Barthel, B. P. Binks, A. Dyab, et P. Fletcher, « Multiple emulsions », US7722891B2, 14 mars 2002 Consulté le: 26 octobre 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://patents.google.com/patent/US7722891/pt-PT>
- [140] J. Tang, P. J. Quinlan, et K. C. Tam, « Stimuli-responsive Pickering emulsions: recent advances and potential applications », *Soft Matter*, vol. 11, n° 18, p. 3512-3529, avr. 2015, doi: 10.1039/C5SM00247H.
- [141] Q. Gao, C. Wang, H. Liu, C. Wang, X. Liu, et Z. Tong, « Suspension polymerization based on inverse Pickering emulsion droplets for thermo-sensitive hybrid microcapsules with tunable supracolloidal structures », *Polymer*, vol. 50, n° 12, p. 2587-2594, 2009.
- [142] K. Zhang, W. Wu, K. Guo, J. Chen, et P. Zhang, « Synthesis of temperature-responsive poly (N-isopropyl acrylamide)/poly (methyl methacrylate)/silica hybrid capsules from inverse pickering emulsion polymerization and their application in controlled drug release », *Langmuir*, vol. 26, n° 11, p. 7971-7980, 2010.
- [143] K.-Y. A. Lin, H. Yang, et C. Petit, « Magnetically controllable Pickering emulsion prepared by a reduced graphene oxide-iron oxide composite », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 438, p. 296-305, 2015.
- [144] Z. Chen *et al.*, « Light controlled reversible inversion of nanophosphor-stabilized pickering emulsions for biphasic enantioselective biocatalysis », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 136, n° 20, p. 7498-7504, 2014.
- [145] S. Arditty, V. Schmitt, J. Giermanska-Kahn, et F. Leal-Calderon, « Materials based on solid-stabilized emulsions », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 275, n° 2, p. 659-664, 2004.
- [146] J. Frelichowska, M.-A. Bolzinger, et Y. Chevalier, « Pickering emulsions with bare silica », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 343, n° 1-3, p. 70-74, 2009.
- [147] D. Zhou, Z. Zhang, J. Tang, J. Zhao, et L. Liao, « Effect of emulsification processes on the stability of Pickering emulsions stabilized by organomontmorillonites », *J. Dispers. Sci. Technol.*, vol. 38, n° 7, p. 1030-1034, juill. 2017, doi: 10.1080/01932691.2016.1218343.
- [148] J. Zhou *et al.*, « Magnetic Pickering emulsions stabilized by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles », *Langmuir*, vol. 27, n° 7, p. 3308-3316, 2011.
- [149] J. Zhou, L. Wang, X. Qiao, B. P. Binks, et K. Sun, « Pickering emulsions stabilized by surface-modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 367, n° 1, p. 213-224, 2012.



- [150] Z. Lin, Z. Zhang, Y. Li, et Y. Deng, « Magnetic nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> stabilized Pickering emulsion liquid membrane for selective extraction and separation », *Chem. Eng. J.*, vol. 288, p. 305-311, 2016.
- [151] T. Chen, P. J. Colver, et S. A. Bon, « Organic-Inorganic Hybrid Hollow Spheres Prepared from TiO<sub>2</sub>-Stabilized Pickering Emulsion Polymerization », *Adv. Mater.*, vol. 19, n° 17, p. 2286-2289, 2007.
- [152] D. Li, Y. He, et S. Wang, « On the rotation of the janus CuO/CuS colloids formed at a Pickering emulsion interface », *J. Phys. Chem. C*, vol. 113, n° 30, p. 12927-12929, 2009.
- [153] D. J. Voorn, W. Ming, et A. M. Van Herk, « Polymer-clay nanocomposite latex particles by inverse pickering emulsion polymerization stabilized with hydrophobic montmorillonite platelets », *Macromolecules*, vol. 39, n° 6, p. 2137-2143, 2006.
- [154] J. Dong *et al.*, « Modified montmorillonite clay microparticles for stable oil-in-seawater emulsions », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, n° 14, p. 11502-11513, 2014.
- [155] N. P. Ashby et B. P. Binks, « Pickering emulsions stabilised by Laponite clay particles », *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 2, n° 24, p. 5640-5646, 2000.
- [156] B. Brunier, N. Sheibat-Othman, Y. Chevalier, et E. Bourgeat-Lami, « Partitioning of laponite clay platelets in pickering emulsion polymerization », *Langmuir*, vol. 32, n° 1, p. 112-124, 2016.
- [157] X. Guillot, M. Al-Mukhtar, F. Bergaya, et J.-M. Fleureau, « Estimation de la porosité dans un matériau argileux », *Comptes Rendus Geosci.*, vol. 334, n° 2, p. 105-109, janv. 2002, doi: 10.1016/S1631-0713(02)01705-4.
- [158] M. Reger, T. Sekine, et H. Hoffmann, « Pickering emulsions stabilized by amphiphile covered clays », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 413, p. 25-32, 2012.
- [159] F. Yang, Q. Niu, Q. Lan, et D. Sun, « Effect of dispersion pH on the formation and stability of Pickering emulsions stabilized by layered double hydroxides particles », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 306, n° 2, p. 285-295, 2007.
- [160] W. Chen, X. Liu, Y. Liu, et H.-I. Kim, « Novel synthesis of self-assembled CNT microcapsules by O/W Pickering emulsions », *Mater. Lett.*, vol. 64, n° 23, p. 2589-2592, 2010.
- [161] W. Chen, X. Liu, Y. Liu, Y. Bang, et H.-I. Kim, « Preparation of O/W Pickering emulsion with oxygen plasma treated carbon nanotubes as surfactants », *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 17, n° 3, p. 455-460, mai 2011, doi: 10.1016/j.jiec.2010.10.027.
- [162] Y. Shan, C. Yu, J. Yang, Q. Dong, X. Fan, et J. Qiu, « Thermodynamically stable pickering emulsion configured with carbon-nanotube-bridged nanosheet-shaped layered double hydroxide for selective oxidation of benzyl alcohol », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, n° 22, p. 12203-12209, 2015.
- [163] J. Kim, L. J. Cote, F. Kim, W. Yuan, K. R. Shull, et J. Huang, « Graphene oxide sheets at interfaces », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 132, n° 23, p. 8180-8186, 2010.

- [164] H. Katepalli, V. T. John, A. Tripathi, et A. Bose, « Microstructure and rheology of particle stabilized emulsions: Effects of particle shape and inter-particle interactions », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 485, p. 11-17, 2017.
- [165] A. Saha, A. Nikova, P. Venkataraman, V. T. John, et A. Bose, « Oil emulsification using surface-tunable carbon black particles », *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, n° 8, p. 3094-3100, 2013.
- [166] S. Levine et E. Sanford, « Stabilisation of emulsion droplets by fine powders », *Can. J. Chem. Eng.*, vol. 63, n° 2, p. 258-268, 1985.
- [167] M. Okada, H. Maeda, S. Fujii, Y. Nakamura, et T. Furuzono, « Formation of Pickering Emulsions Stabilized via Interaction between Nanoparticles Dispersed in Aqueous Phase and Polymer End Groups Dissolved in Oil Phase », *Langmuir*, vol. 28, n° 25, p. 9405-9412, juin 2012, doi: 10.1021/la3015964.
- [168] S. Fujii, M. Okada, et T. Furuzono, « Hydroxyapatite nanoparticles as stimulus-responsive particulate emulsifiers and building block for porous materials », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 315, n° 1, p. 287-296, nov. 2007, doi: 10.1016/j.jcis.2007.06.071.
- [169] M. Miriani, S. Iametti, F. Bonomi, et M. Corredig, « Structural changes of soy proteins at the oil–water interface studied by fluorescence spectroscopy », *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 93, p. 41-48, 2012.
- [170] F. Liu et C.-H. Tang, « Soy protein nanoparticle aggregates as Pickering stabilizers for oil-in-water emulsions », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, n° 37, p. 8888-8898, 2013.
- [171] F. Liu et C.-H. Tang, « Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. I. Structural characteristics, emulsifying properties and adsorption/arrangement at interface », *Food Hydrocoll.*, vol. 60, p. 606-619, 2016.
- [172] L.-J. Luo, F. Liu, et C.-H. Tang, « The role of glycinin in the formation of gel-like soy protein-stabilized emulsions », *Food Hydrocoll.*, vol. 32, n° 1, p. 97-105, 2013.
- [173] A. F. Pomes, « Zein in encyclopedia of polymer science and technology », *Plast. Resins Rubbers Fibers*, vol. 15, p. 125-132, 1971.
- [174] J. W. de Folter, E. M. Hutter, S. I. Castillo, K. E. Klop, A. P. Philipse, et W. K. Kegel, « Particle shape anisotropy in Pickering emulsions: cubes and peanuts », *Langmuir*, vol. 30, n° 4, p. 955-964, 2014.
- [175] A. H. Bornaeae, M. Manteghian, A. Rashidi, M. Alaei, et M. Ershadi, « Oil-in-water Pickering emulsions stabilized with functionalized multi-walled carbon nanotube/silica nanohybrids in the presence of high concentrations of cations in water », *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 20, n° 4, p. 1720-1726, 2014.
- [176] E. Dickinson et E. L. Parkinson, « Heat-induced aggregation of milk protein-stabilized emulsions: sensitivity to processing and composition », *Int. Dairy J.*, vol. 14, n° 7, p. 635-645, 2004.

- [177] W. Zhang et Q. Zhong, « Microemulsions as nanoreactors to produce whey protein nanoparticles with enhanced heat stability by thermal pretreatment », *Food Chem.*, vol. 119, n° 4, p. 1318-1325, 2010.
- [178] J. Wu *et al.*, « Pickering emulsions stabilized by whey protein nanoparticles prepared by thermal cross-linking », *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 127, p. 96-104, 2015.
- [179] I. Kalashnikova, H. Bizot, B. Cathala, et I. Capron, « New Pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals », *Langmuir*, vol. 27, n° 12, p. 7471-7479, 2011.
- [180] I. Kalashnikova, H. Bizot, B. Cathala, et I. Capron, « Modulation of cellulose nanocrystals amphiphilic properties to stabilize oil/water interface », *Biomacromolecules*, vol. 13, n° 1, p. 267-275, 2012.
- [181] W. W. Mwangi, K.-W. Ho, C.-W. Ooi, B.-T. Tey, et E.-S. Chan, « Facile method for forming ionically cross-linked chitosan microcapsules from Pickering emulsion templates », *Food Hydrocoll.*, vol. 55, p. 26-33, 2016.
- [182] B. R. Shah *et al.*, « Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation », *Food Hydrocoll.*, vol. 52, p. 369-377, 2016.
- [183] S. Zhang, Y. Zhou, et C. Yang, « Pickering emulsions stabilized by the complex of polystyrene particles and chitosan », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 482, p. 338-344, 2015.
- [184] Z. Wei, C. Wang, S. Zou, H. Liu, et Z. Tong, « Chitosan nanoparticles as particular emulsifier for preparation of novel pH-responsive Pickering emulsions and PLGA microcapsules », *Polymer*, vol. 53, n° 6, p. 1229-1235, 2012.
- [185] A. Tingren, M. Rayner, M. Sjö, et P. Dejmek, « Starch particles for food based Pickering emulsions », *Procedia Food Sci.*, vol. 1, p. 95-103, 2011.
- [186] Y. Tan, K. Xu, C. Liu, Y. Li, C. Lu, et P. Wang, « Fabrication of starch-based nanospheres to stabilize pickering emulsion », *Carbohydr. Polym.*, vol. 88, n° 4, p. 1358-1363, 2012.
- [187] C. Li, Y. Li, P. Sun, et C. Yang, « Pickering emulsions stabilized by native starch granules », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 431, p. 142-149, 2013.
- [188] M. Rayner, A. Tingren, M. Sjö, et P. Dejmek, « Quinoa starch granules: a candidate for stabilising food-grade Pickering emulsions », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 92, n° 9, p. 1841-1847, 2012.
- [189] F. Gautier *et al.*, « Pickering emulsions with stimuable particles: from highly-to weakly-covered interfaces », *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 9, n° 48, p. 6455-6462, 2007.
- [190] B. P. Binks et S. O. Lumsdon, « Pickering Emulsions Stabilized by Monodisperse Latex Particles: Effects of Particle Size », *Langmuir*, vol. 17, n° 15, p. 4540-4547, juill. 2001, doi: 10.1021/la0103822.

- [191] W. Zhai, G. Li, P. Yu, L. Yang, et L. Mao, « Silver phosphate/carbon nanotube-stabilized pickering emulsion for highly efficient photocatalysis », *J. Phys. Chem. C*, vol. 117, n° 29, p. 15183-15191, 2013.
- [192] S. Fujii, S. P. Armes, B. P. Binks, et R. Murakami, « Stimulus-Responsive Particulate Emulsifiers Based on Lightly Cross-Linked Poly (4-vinylpyridine)–Silica Nanocomposite Microgels », *Langmuir*, vol. 22, n° 16, p. 6818-6825, 2006.
- [193] B. P. Binks, J. H. Clint, G. Mackenzie, C. Simcock, et C. P. Whitby, « Naturally occurring spore particles at planar fluid interfaces and in emulsions », *Langmuir*, vol. 21, n° 18, p. 8161-8167, 2005.
- [194] P. Wongkongkatep *et al.*, « Bacteria interface pickering emulsions stabilized by self-assembled bacteria–chitosan network », *Langmuir*, vol. 28, n° 13, p. 5729-5736, 2012.
- [195] H. Firoozmand et D. Rousseau, « Microbial cells as colloidal particles: Pickering oil-in-water emulsions stabilized by bacteria and yeast », *Food Res. Int.*, vol. 81, p. 66-73, 2016.
- [196] S. P. Srivastava, H. D. Singh, J. N. Baruah, P. V. Krishna, et M. S. Iyengar, « Physicochemical studies on the water-yeast cells-gas-oil system », *J. Appl. Chem.*, vol. 20, n° 4, p. 105-108, 1970.
- [197] R. F. Lee, « Agents which promote and stabilize water-in-oil emulsions », *Spill Sci. Technol. Bull.*, vol. 5, n° 2, p. 117-126, 1999.
- [198] V. B. Menon et D. T. Wasan, « A Review of the Factors Affecting the Stability of Solids-Stabilized Emulsions », *Sep. Sci. Technol.*, vol. 23, n° 12-13, p. 2131-2142, oct. 1988, doi: 10.1080/01496398808075687.
- [199] D. D. Eley, M. J. Hey, et J. D. Symonds, « Emulsions of water in asphaltene-containing oils 1. Droplet size distribution and emulsification rates », *Colloids Surf.*, vol. 32, p. 87-101, 1988.
- [200] S. Simovic et C. A. Prestidge, « Nanoparticles of Varying Hydrophobicity at the Emulsion Droplet- Water Interface: Adsorption and Coalescence Stability », *Langmuir*, vol. 20, n° 19, p. 8357-8365, 2004.
- [201] W. Johncock, S. Peters, M. Issleib, et J. Claus, *Coated titanium dioxide to reduce whitening effect on skin*. Google Patents, 2017.
- [202] N. Collin et D. Candau, *Surfactant-free water-in-oil emulsion*. Google Patents, 1997.
- [203] H. Gers-Barlag et A. Müller, *Emulsifier-free finely disperse systems of the oil-in-water and water-in-oil type*. Google Patents, 2006.
- [204] A. Müller et H. Gers-Barlag, *Cosmetic or dermatological preparations of the oil-in-water type*. Google Patents, 2003.
- [205] S. Stiller *et al.*, « Investigation of the stability in emulsions stabilized with different surface modified titanium dioxides », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 232, n° 2-3, p. 261-267, 2004.

- [206] M. Destribats, B. Faure, M. Birot, O. Babot, V. Schmitt, et R. Backov, « Tailored Silica Macrocellular Foams: Combining Limited Coalescence-Based Pickering Emulsion and Sol-Gel Process », *Adv. Funct. Mater.*, vol. 22, n° 12, p. 2642-2654, juin 2012, doi: 10.1002/adfm.201102564.
- [207] V. O. Ikem, A. Menner, et A. Bismarck, « High internal phase emulsions stabilized solely by functionalized silica particles », *Angew. Chem.*, vol. 120, n° 43, p. 8401-8403, 2008.
- [208] B. P. Binks, « Macroporous silica from solid-stabilized emulsion templates », *Adv. Mater.*, vol. 14, n° 24, p. 1824-1827, 2002.
- [209] U. T. Gonzenbach, A. R. Studart, E. Tervoort, et L. J. Gauckler, « Macroporous ceramics from particle-stabilized wet foams », *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 90, n° 1, p. 16-22, 2007.
- [210] K. P. Velikov et O. D. Velev, « Novel Materials Derived from Particles Assembled on Liquid Surfaces », in *Colloidal Particles at Liquid Interfaces*, B. P. Binks et T. S. Horozov, Éd. Cambridge: Cambridge University Press, 2006, p. 225-297. doi: 10.1017/CBO9780511536670.008.
- [211] P. Finkle, H. D. Draper, et J. H. Hildebrand, « The Theory Of Emulsification », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 45, n° 12, p. 2780-2788, déc. 1923, doi: 10.1021/ja01665a002.
- [212] B. P. Binks et T. S. Horozov, *Colloidal particles at liquid interfaces*. Cambridge University Press, 2006.
- [213] P. B. Binks, A. K. F. Dyab, et P. D. I. Fletcher, « Multiple emulsions stabilised solely by nanoparticles », 2002.
- [214] B. P. Binks et S. O. Lumsdon, « Effects of oil type and aqueous phase composition on oil–water mixtures containing particles of intermediate hydrophobicity », *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 2, n° 13, p. 2959-2967, 2000, doi: 10.1039/b002582h.
- [215] B. P. Binks, « Particles as surfactants—similarities and differences », *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 7, n° 1, p. 21-41, 2002, doi: [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(02\)00008-0](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(02)00008-0).
- [216] S. Levine, B. D. Bowen, et S. J. Partridge, « Stabilization of emulsions by fine particles I. Partitioning of particles between continuous phase and oil/water interface », *Colloids Surf.*, vol. 38, n° 2, p. 325-343, 1989.
- [217] J. H. Clint et S. E. Taylor, « Particle size and interparticle forces of overbased detergents: a Langmuir trough study », *Colloids Surf.*, vol. 65, n° 1, p. 61-67, 1992.
- [218] K. D. Danov et P. A. Kralchevsky, « The standard free energy of surfactant adsorption at air/water and oil/water interfaces: Theoretical vs. empirical approaches », *Colloid J.*, vol. 74, n° 2, p. 172-185, 2012.
- [219] A. Moncho-Jordá, F. Martínez-López, A. E. González, et R. Hidalgo-Álvarez, « Role of Long-Range Repulsive Interactions in Two-Dimensional Colloidal Aggregation: Experiments and Simulations », *Langmuir*, vol. 18, n° 24, p. 9183-9191, nov. 2002, doi: 10.1021/la0258805.

- [220] B. Derjaguin et L. Landau, « Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes », *Prog. Surf. Sci.*, vol. 43, n° 1-4, p. 30-59, 1993.
- [221] E. J. W. Verwey, « Theory of the stability of lyophobic colloids. », *J. Phys. Chem.*, vol. 51, n° 3, p. 631-636, 1947.
- [222] P. Pieranski, « Two-dimensional interfacial colloidal crystals », *Phys. Rev. Lett.*, vol. 45, n° 7, p. 569, 1980.
- [223] T. N. Hunter, R. J. Pugh, G. V. Franks, et G. J. Jameson, « The role of particles in stabilising foams and emulsions », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 137, n° 2, p. 57-81, 2008.
- [224] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and surface forces*. Academic press, 2011.
- [225] P. Bacchin, « Formation et résistance au transfert d'un dépôt de colloïdes sur une membrane d'ultrafiltration », p. 194.
- [226] A. Moncho-Jordá, F. Martínez-López, et R. Hidalgo-Álvarez, « The Effect of the Salt Concentration and Counterion Valence on the Aggregation of Latex Particles at the Air/Water Interface », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 249, n° 2, p. 405-411, mai 2002, doi: 10.1006/jcis.2002.8224.
- [227] T. S. Horozov, R. Aveyard, B. P. Binks, et J. H. Clint, « Structure and Stability of Silica Particle Monolayers at Horizontal and Vertical Octane–Water Interfaces », *Langmuir*, vol. 21, n° 16, p. 7405-7412, août 2005, doi: 10.1021/la050923d.
- [228] S. Arditty, C. P. Whitby, B. P. Binks, V. Schmitt, et F. Leal-Calderon, « Some general features of limited coalescence in solid-stabilized emulsions », *Eur. Phys. J. E*, vol. 11, n° 3, p. 273-281, 2003.
- [229] M. Destribats *et al.*, « Pickering emulsions: what are the main parameters determining the emulsion type and interfacial properties? », *Langmuir*, vol. 30, n° 31, p. 9313-9326, 2014.
- [230] Y. Chevalier et M.-A. Bolzinger, « Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 439, p. 23-34, déc. 2013, doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.02.054.
- [231] V. Schmitt, M. Destribats, et R. Backov, « Colloidal particles as liquid dispersion stabilizer: Pickering emulsions and materials thereof », *Comptes Rendus Phys.*, vol. 15, n° 8-9, p. 761-774, 2014.
- [232] S. Arditty, « Fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales », 2004.
- [233] M. Destribats, « Emulsions stabilisées par des particules colloïdales stimulables: propriétés fondamentales et matériaux », Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, 2010.
- [234] E. Vignati, R. Piazza, et T. P. Lockhart, « Pickering Emulsions: Interfacial Tension, Colloidal Layer Morphology, and Trapped-Particle Motion », *Langmuir*, vol. 19, n° 17, p. 6650-6656, août 2003, doi: 10.1021/la034264l.

- [235] S. Tarimala et L. L. Dai, « Structure of Microparticles in Solid-Stabilized Emulsions », *Langmuir*, vol. 20, n° 9, p. 3492-3494, avr. 2004, doi: 10.1021/la036129e.
- [236] D. E. Tambe et M. M. Sharma, « The effect of colloidal particles on fluid-fluid interfacial properties and emulsion stability », *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 52, p. 1-63, 1994.
- [237] R. J. G. Lopetinsky, J. H. Masliyah, et Z. Xu, « Solids-Stabilized Emulsions: A Review », in *Colloidal Particles at Liquid Interfaces*, B. P. Binks et T. S. Horozov, Éd. Cambridge: Cambridge University Press, 2006, p. 186-224. doi: 10.1017/CBO9780511536670.007.
- [238] S. O. Asekomhe, R. Chiang, J. H. Masliyah, et J. A. Elliott, « Some observations on the contraction behavior of a water-in-oil drop with attached solids », *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 44, n° 5, p. 1241-1249, 2005.
- [239] N. Yan, M. R. Gray, et J. H. Masliyah, « On water-in-oil emulsions stabilized by fine solids », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 193, n° 1, p. 97-107, 2001.
- [240] L. Ridet, « Émulsions de Pickering: approche théorique et applications: analyse physico-chimique des phénomènes interfaciaux: obtention d'émulsions de Pickering nanométriques de manière spontanée et d'émulsions foisonnées de Pickering », Université Claude Bernard-Lyon I, 2015.
- [241] J. H. Schulman et J. Leja, « Control of contact angles at the oil-water-solid interfaces. Emulsions stabilized by solid particles (BaSO<sub>4</sub>) », *Trans. Faraday Soc.*, vol. 50, p. 598-605, 1954.
- [242] B. P. Binks et S. O. Lumsdon, « Influence of Particle Wettability on the Type and Stability of Surfactant-Free Emulsions<sup>†</sup> », *Langmuir*, vol. 16, n° 23, p. 8622-8631, nov. 2000, doi: 10.1021/la000189s.
- [243] D. Wang, H. Duan, et H. Möhwald, « The water/oil interface: the emerging horizon for self-assembly of nanoparticles », *Soft Matter*, vol. 1, n° 6, p. 412-416, 2005.
- [244] È. Tsabet et L. Fradette, « Effect of the properties of oil, particles, and water on the production of Pickering emulsions », *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 97, p. 9-17, 2015.
- [245] K. H. Persson, I. A. Blute, I. C. Mira, et J. Gustafsson, « Creation of well-defined particle stabilized oil-in-water nanoemulsions », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 459, p. 48-57, 2014.
- [246] B. Madivala, S. Vandebriel, J. Fransaer, et J. Vermant, « Exploiting particle shape in solid stabilized emulsions », *Soft Matter*, vol. 5, n° 8, p. 1717-1727, 2009.
- [247] D. E. Tambe et M. M. SHAFtMA, « THE EFFECT OF COLLOIDAL PARTICLES ON FLUID-FLUID INTERFACIAL PROPERTIES AND EMULSION STABILITY », p. 63.
- [248] F. Yang, S. Liu, J. Xu, Q. Lan, F. Wei, et D. Sun, « Pickering emulsions stabilized solely by layered double hydroxides particles: The effect of salt on emulsion

- formation and stability », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 302, n° 1, p. 159-169, oct. 2006, doi: 10.1016/j.jcis.2006.06.015.
- [249] J. Frelichowska, « Émulsions stabilisées par des particules solides: études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée. », Université Claude Bernard-Lyon I, 2009.
- [250] B. P. Binks et S. O. Lumsdon, « Catastrophic Phase Inversion of Water-in-Oil Emulsions Stabilized by Hydrophobic Silica », *Langmuir*, vol. 16, n° 6, p. 2539-2547, mars 2000, doi: 10.1021/la991081j.
- [251] B. P. Binks et C. P. Whitby, « Silica particle-stabilized emulsions of silicone oil and water: aspects of emulsification », *Langmuir*, vol. 20, n° 4, p. 1130-1137, 2004.
- [252] Y. Yan et J. H. Masliyah, « Solids-stabilized oil-in-water emulsions: scavenging of emulsion droplets by fresh oil addition », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 75, p. 123-132, 1993.
- [253] S. Abend et G. Lagaly, « Bentonite and double hydroxides as emulsifying agents », *Clay Miner.*, vol. 36, n° 4, p. 557-570, 2001.
- [254] J. Thieme, S. Abend, et G. Lagaly, « Aggregation in Pickering emulsions », *Colloid Polym. Sci.*, vol. 277, n° 2-3, p. 257-260, 1999.
- [255] R. Aveyard, J. H. Clint, et T. S. Horozov, « Aspects of the stabilisation of emulsions by solid particles: Effects of line tension and monolayer curvature energy », *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 5, n° 11, p. 2398-2409, 2003.
- [256] T. Handa et P. Mukerjee, « Surface tensions of nonideal mixtures of fluorocarbons and hydrocarbons and their interfacial tensions against water », *J. Phys. Chem.*, vol. 85, n° 25, p. 3916-3920, 1981.
- [257] R. Aveyard, B. J. Briscoe, et J. Chapman, « Adhesion at the alkane/water and ester/water interfaces », *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases*, vol. 68, p. 10-16, 1972.
- [258] B. P. Binks et J. Dong, « Mixing of silicone oils with monolayers of nonionic surfactant at the air/water surface », *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, vol. 94, n° 3, p. 401-410, 1998.
- [259] J. R. MacNab, « Interaction of oils with surfactants », University of Hull, 1996.
- [260] S. Fujii, M. Okada, et T. Furuzono, « Hydroxyapatite-Biodegradable Polymer Nanocomposite Microspheres Toward Injectable Cell Scaffold », in *Biomimetics Advancing Nanobiomaterials and Tissue Engineering*, M. Ramaligan, X. Wang, G. Chen, P. Ma, et F.-Z. Cui, Éd. 2013, p. 221-241.
- [261] F. Cherhal, « Emulsions stabilisées par des nanocristaux de cellulose: élaboration et propriétés fonctionnelles », Nantes, 2015.
- [262] J.-P. Mathieu, « Analyse et modélisation micromécanique du comportement et de la rupture fragile de l'acier 16MND5: prise en compte des hétérogénéités microstructurales », p. 272.
- [263] Mounir SAHLI, « Synthèse, élaboration et caractérisation des nanocomposites à base de magnésium pour le stockage solide d'hydrogène ».



- [264] « Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier », *Wikipédia*. 13 mars 2021. Consulté le: 24 novembre 2021. [En ligne]. Disponible sur: [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Spectroscopie\\_infrarouge\\_%C3%A0\\_transform%C3%A9\\_de\\_Fourier&oldid=180835690](https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Spectroscopie_infrarouge_%C3%A0_transform%C3%A9_de_Fourier&oldid=180835690)
- [265] J. Ruste, « Microscopie électronique à balayage - Principe et équipement », p. 24, 2013.
- [266] G. Plusquellec, « Analyse in situ de suspensions de silicate de calcium hydraté : application aux interactions ioniques à la surface des particules », 2014, doi: 10.13140/2.1.1293.0886.
- [267] I. 13099-2 I, *Colloidal Systems—Methods for Zeta-potential Determination—PART 2: Optical Methods*. International Organization for Standardization Geneva, 2012.
- [268] M. von Smoluchowski, « Handbuch der Elektrizität und des Magnetismus », *Band II Barth-Verl. Leipz.*, p. 366-427, 1921.
- [269] S. Bhattacharjee, « DLS and zeta potential—what they are and what they are not? », *J. Controlled Release*, vol. 235, p. 337-351, 2016.
- [270] LS Instruments, « Introduction to Dynamic Light Scattering ». <https://lsinstruments.ch/en/theory/dynamic-light-scattering-dls/introduction>
- [271] V. N. Paunov et O. J. Cayre, « The Gel Trapping Technique: A Novel Method for Characterizing the Wettability of Microparticles and the Replication of Particle Monolayers », in *Nanostructured and Advanced Materials for Applications in Sensor, Optoelectronic and Photovoltaic Technology*, vol. 204, A. Vaseashta, D. Dimova-Malinovska, et J. M. Marshall, Éd. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005, p. 363-366. doi: 10.1007/1-4020-3562-4\_35.
- [272] N. Yan et J. H. Masliyah, « Effect of pH on Adsorption and Desorption of Clay Particles at Oil–Water Interface », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 181, n° 1, p. 20-27, juill. 1996, doi: 10.1006/jcis.1996.0352.
- [273] « Turbiscan Lab User Guide ».
- [274] A. Fallet, « Structure et propriétés mécaniques d'empilements aléatoires de sphères creuses: caractérisation et modélisation ».
- [275] « Phoenix nanotom nanoCT », *Baker Hughes Digital Solutions*. <https://www.bakerhughesds.com/industrial-x-ray-ct-scanners/phoenix-nanotom-m-3d-metrology-nano-ct>
- [276] E. Brun, J. Vicente, F. Topin, et R. Occelli, « IMorph: A 3D morphological tool to fully analyse all kind of cellular materials », *Cell. Met. Struct. Funct. Appl.*, 2008.
- [277] C. Combes et C. Rey, « Biomatériaux à base de phosphates de calcium », p. 25, 2013.
- [278] E. Bouyer, F. Gitzhofer, et M. I. Boulos, « Morphological study of hydroxyapatite nanocrystal suspension », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 11, n° 8, p. 523-531, 2000.

- [279] B. L. Cushing, V. L. Kolesnichenko, et C. J. O'Connor, « Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles », *Chem. Rev.*, vol. 104, n° 9, p. 3893-3946, 2004.
- [280] Joint Committee on Powder Diffraction Standards, « JCPDS 9-432, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>, Hydroxyapatite », *International Centre for Diffraction Data Powder Diffraction File 09-432*.
- [281] P. Scherrer, « Estimation of the size and internal structure of colloidal particles by means of röntgen », *Nachr Ges Wiss Gött.*, vol. 2, p. 96-100, 1918.
- [282] B. O. Fowler, « Infrared studies of apatites. I. Vibrational assignments for calcium, strontium, and barium hydroxyapatites utilizing isotopic substitution », *Inorg. Chem.*, vol. 13, n° 1, p. 194-207, 1974.
- [283] C. Rey, O. Marsan, C. Combes, C. Drouet, D. Grossin, et S. Sarda, « Characterization of calcium phosphates using vibrational spectroscopies », in *Advances in calcium phosphate biomaterials*, Springer, 2014, p. 229-266.
- [284] K. Nakamoto, « Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Organometallic Compounds », *John Wiley Sons N. Y.*, 1986.
- [285] M. Elimelech, J. Gregory, X. Jia, et R. A. Williams, « Particle deposition and aggregation: measurement », *Model. Simul.*, p. 441, 1995.
- [286] R. Gossmann, K. Langer, et D. Mulac, « New perspective in the formulation and characterization of didodecyldimethylammonium bromide (DMAB) stabilized poly (lactic-co-glycolic acid)(PLGA) nanoparticles », *Plos One*, vol. 10, n° 7, p. e0127532, 2015.
- [287] T. S. Horozov, R. Aveyard, B. P. Binks, et J. H. Clint, « Structure and Stability of Silica Particle Monolayers at Horizontal and Vertical Octane–Water Interfaces », *Langmuir*, vol. 21, n° 16, p. 7405-7412, août 2005, doi: 10.1021/la050923d.
- [288] D. Wang, M. Paradelo, S. A. Bradford, W. J. G. M. Peijnenburg, L. Chu, et D. Zhou, « Facilitated transport of Cu with hydroxyapatite nanoparticles in saturated sand: Effects of solution ionic strength and composition », *Water Res.*, vol. 45, n° 18, p. 5905-5915, nov. 2011, doi: 10.1016/j.watres.2011.08.041.
- [289] K. L. Chen et M. Elimelech, « Aggregation and deposition kinetics of fullerene (C<sub>60</sub>) nanoparticles », *Langmuir*, vol. 22, n° 26, p. 10994-11001, 2006.
- [290] K. L. Chen et M. Elimelech, « Influence of humic acid on the aggregation kinetics of fullerene (C<sub>60</sub>) nanoparticles in monovalent and divalent electrolyte solutions », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 309, n° 1, p. 126-134, mai 2007, doi: 10.1016/j.jcis.2007.01.074.
- [291] C. Y. Tham et W. S. Chow, « Poly(lactic acid) microparticles with controllable morphology by hydroxyapatite stabilized pickering emulsions: Effect of pH, salt, and amphiphilic agents », *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 533, p. 275-285, nov. 2017, doi: 10.1016/j.colsurfa.2017.09.011.

- [292] Y. Han, X. Wang, et S. Li, « A simple route to prepare stable hydroxyapatite nanoparticles suspension », *J. Nanoparticle Res.*, vol. 11, n° 5, p. 1235-1240, juill. 2009, doi: 10.1007/s11051-008-9507-8.
- [293] A. Doostmohammadi *et al.*, « Preparation, chemistry and physical properties of bone-derived hydroxyapatite particles having a negative zeta potential », *Mater. Chem. Phys.*, vol. 132, n° 2-3, p. 446-452, févr. 2012, doi: 10.1016/j.matchemphys.2011.11.051.
- [294] B. P. Binks et S. O. Lumsdon, « Influence of Particle Wettability on the Type and Stability of Surfactant-Free Emulsions <sup>†</sup> », *Langmuir*, vol. 16, n° 23, p. 8622-8631, nov. 2000, doi: 10.1021/la000189s.
- [295] « Monographie PE : Triglycérides à chaîne moyenne (0868) ».
- [296] R. C. Rowe, P. Sheskey, et M. Quinn, *Handbook of pharmaceutical excipients*, vol. p.454-456. Libros Digitales-Pharmaceutical Press, 2009.
- [297] L. Zanutto, S. Orsoni, et N. Barthez, *Oleaginous ointments comprising two solubilized bioactive agents for the treatment of psoriasis*. Google Patents, 2005.
- [298] S. Hirsch *et al.*, *Cosmeceutical composition*. Google Patents, 2009.
- [299] C. Decaudin et V. Rogue, *Oral formulation and suspension of an oncology drug*. Google Patents, 2018.
- [300] L. C. Miller, T. S. Ingallinera, et K. K. Saw, *Oral delivery system for veterinary drugs*. Google Patents, 1992.
- [301] S. D. Kimmins et N. R. Cameron, « Functional porous polymers by emulsion templating: recent advances », *Adv. Funct. Mater.*, vol. 21, n° 2, p. 211-225, 2011.
- [302] K. Saleh et P. Guigon, « Caractérisation et analyse des poudres - Propriétés physiques des solides divisés », p. 19, 2009.
- [303] S. Fouilloux, « Nanoparticules et microfluidique pour un système modèle d'émulsions de Pickering. Etude des mécanismes de stabilisation et déstabilisation. », Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2011.
- [304] J. Frelichowska, M.-A. Bolzinger, et Y. Chevalier, « Effects of solid particle content on properties of o/w Pickering emulsions », *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 351, n° 2, p. 348-356, 2010.
- [305] S. Arrhenius, « On the reaction velocity of the inversion of cane sugar by acids », in *Selected readings in chemical kinetics*, Elsevier, 1967, p. 31-35.
- [306] C. Drouet, D. Grossin, C. Combes, S. Sarda, S. Cazalbou, et C. Rey, « Apatites biomimétiques - Des biominéraux aux analogues de synthèse pour le biomédical », p. 30, 2018.
- [307] V. M. Wu et V. Uskoković, « Is there a relationship between solubility and resorbability of different calcium phosphate phases in vitro? », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, vol. 1860, n° 10, p. 2157-2168, oct. 2016, doi: 10.1016/j.bbagen.2016.05.022.
- [308] C. Rey, « Maturation of poorly crystalline apatites: chemical and structural aspects in vivo and in vitro », *Cells Mater*, vol. 5, p. 345-356, 1995.

- [309] R. Boistelle, I. Lopez-Valero, et F. Abbona, « Cristallisation des phosphates de calcium en présence de magnésium », *Néphrologie Genève*, vol. 14, n° 6, p. 265-269, 1993.
- [310] S. Sarda, A. Tofighi, M. C. Hobatho, D. Lee, et C. Rey, « Associations of low temperature apatite ceramics and proteins », *Phosphorus Res. Bull.*, vol. 10, p. 208-213, 1999.
- [311] G. D. Scott et D. M. Kilgour, « The density of random close packing of spheres », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 2, n° 6, p. 863-866, juin 1969, doi: 10.1088/0022-3727/2/6/311.
- [312] S. Torquato, T. M. Truskett, et P. G. Debenedetti, « Is Random Close Packing of Spheres Well Defined? », *Phys. Rev. Lett.*, vol. 84, n° 10, p. 2064-2067, mars 2000, doi: 10.1103/PhysRevLett.84.2064.
- [313] P. Pascaud, « Apatites nanocristallines biomimétiques comme modèles de la réactivité osseuse : étude des propriétés d'adsorption et de l'activité cellulaire d'un bisphosphonate, le tiludronate », phd, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2012. Consulté le: 10 octobre 2020. [En ligne]. Disponible sur: <http://thesesups.ups-tlse.fr/1921/>
- [314] D. Eichert, C. Drouet, H. Sfihi, C. Rey, et C. Combes, « Nanocrystalline apatite-based biomaterials: synthesis, processing and characterization », *Biomater. Res. Adv.*, p. 93-143, 2007.
- [315] C. Rey, M. Shimizu, B. Collins, et M. J. Glimcher, « Resolution-enhanced fourier transform infrared spectroscopy study of the environment of phosphate ions in the early deposits of a solid phase of calcium-phosphate in bone and enamel, and their evolution with age. I: Investigations in the  $4 PO_4$  domain », *Calcif. Tissue Int.*, vol. 46, n° 6, p. 384-394, juin 1990, doi: 10.1007/BF02554969.
- [316] M. Banu, « Mise en forme d'apatites nanocristallines: céramiques et ciments », 2005.
- [317] J.-C. Heughebaert, « Contribution à l'étude de l'évolution des orthophosphates de calcium précipités amorphes en orthophosphates apatitiques », 1977.
- [318] N. Meenakshi Sundaram *et al.*, « Crystallisation of hydroxyapatite nanocrystals under magnetic field », *Mater. Lett.*, vol. 60, n° 6, p. 761-765, mars 2006, doi: 10.1016/j.matlet.2005.10.034.
- [319] L. Winand, « Etude Physico-Chimique Du Phosphate Tricalcique Hydrate Et De Lhydroxylapatite », in *Annales De Chimie France*, 1961, vol. 6, n° 9-1, p. 941-.
- [320] R. Z. LeGeros *et al.*, « Significance of the porosity and physical chemistry of calcium phosphate ceramics. Biodegradation-bioresorption », *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 523, p. 268-271, 1988, doi: 10.1111/j.1749-6632.1988.tb38519.x.
- [321] G. Daculsi *et al.*, « Effect of Sintering Process of HA/TCP Bioceramics on Microstructure, Dissolution, Cell Proliferation and Bone Ingrowth », *Key Eng. Mater.*, vol. 361-363, p. 1139-1142, 2008, doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.361-363.1139.

- [322] R. Duan *et al.*, « Variation of the bone forming ability with the physicochemical properties of calcium phosphate bone substitutes », *Biomater. Sci.*, vol. 6, n° 1, p. 136-145, déc. 2017, doi: 10.1039/c7bm00717e.
- [323] B. Feng *et al.*, « The effect of pore size on tissue ingrowth and neovascularization in porous bioceramics of controlled architecture *in vivo* », *Biomed. Mater.*, vol. 6, n° 1, p. 015007, févr. 2011, doi: 10.1088/1748-6041/6/1/015007.
- [324] N. Passuti et G. Daculsi, « Céramiques en phosphate de calcium en chirurgie orthopédique », *Presse Médicale 1983*, vol. 18, n° 1, p. 28-31, 1989.
- [325] C. A. Van Blitterswijk, J. J. Grote, W. Kuijpers, W. T. Daems, et K. De Groot, « Macropore tissue ingrowth: a quantitative and qualitative study on hydroxyapatite ceramic », *Biomaterials*, vol. 7, n° 2, p. 137-143, 1986.
- [326] A. Uchida, S. Nade, E. McCartney, et W. Ching, « Bone ingrowth into three different porous ceramics implanted into the tibia of rats and rabbits », *J. Orthop. Res.*, vol. 3, n° 1, p. 65-77, 1985.
- [327] G. Daculsi et N. Passuti, « Effect of the macroporosity for osseous substitution of calcium phosphate ceramics. », *Biomaterials*, vol. 11, p. 86-87, 1990.
- [328] B. H. Fellah et P. Layrolle, « Sol-gel synthesis and characterization of macroporous calcium phosphate bioceramics containing microporosity », *Acta Biomater.*, vol. 5, n° 2, p. 735-742, 2009.
- [329] P. Habibovic, H. Yuan, C. M. Van Der Valk, G. Meijer, C. A. van Blitterswijk, et K. De Groot, « 3D microenvironment as essential element for osteoinduction by biomaterials », *Biomaterials*, vol. 26, n° 17, p. 3565-3575, 2005.
- [330] D. Le Nihouannen *et al.*, « Ectopic bone formation by microporous calcium phosphate ceramic particles in sheep muscles », *Bone*, vol. 36, n° 6, p. 1086-1093, 2005.
- [331] O. Prokopiev et I. Sevostianov, « Dependence of the mechanical properties of sintered hydroxyapatite on the sintering temperature », *Mater. Sci. Eng. A*, vol. 431, n° 1, p. 218-227, sept. 2006, doi: 10.1016/j.msea.2006.05.158.
- [332] J. M. Cordell, M. L. Vogl, et A. J. Wagoner Johnson, « The influence of micropore size on the mechanical properties of bulk hydroxyapatite and hydroxyapatite scaffolds », *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 2, n° 5, p. 560-570, oct. 2009, doi: 10.1016/j.jmbbm.2009.01.009.
- [333] M. Akao, H. Aoki, et K. Kato, « Mechanical properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic applications », *J. Mater. Sci.*, vol. 16, n° 3, p. 809-812, mars 1981, doi: 10.1007/BF00552220.
- [334] E. Charrière *et al.*, « Mechanical characterization of brushite and hydroxyapatite cements », *Biomaterials*, vol. 22, n° 21, p. 2937-2945, nov. 2001, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00041-2.
- [335] S. Pramanik, A. K. Agarwal, K. N. Rai, et A. Garg, « Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process », *Ceram. Int.*, vol. 33, n° 3, p. 419-426, avr. 2007, doi: 10.1016/j.ceramint.2005.10.025.

- [336] J. C. Le Huec, T. Schaeferbeke, D. Clement, J. Faber, et A. Le Rebeller, « Influence of porosity on the mechanical resistance of hydroxyapatite ceramics under compressive stress », *Biomaterials*, vol. 16, n° 2, p. 113-118, janv. 1995, doi: 10.1016/0142-9612(95)98272-G.
- [337] J. Zhao, X. Lu, K. Duan, L. Y. Guo, S. B. Zhou, et J. Weng, « Improving mechanical and biological properties of macroporous HA scaffolds through composite coatings », *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 74, n° 1, p. 159-166, nov. 2009, doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.07.012.
- [338] H. Wang *et al.*, « Nano-hydroxyapatite/polyamide66 composite tissue-engineering scaffolds with anisotropy in morphology and mechanical behaviors », *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.*, vol. 47, n° 3, p. 658-669, 2009, doi: 10.1002/pola.23171.
- [339] G. L. Converse, T. L. Conrad, et R. K. Roeder, « Mechanical properties of hydroxyapatite whisker reinforced polyetherketoneketone composite scaffolds », *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 2, n° 6, p. 627-635, déc. 2009, doi: 10.1016/j.jmbbm.2009.07.002.
- [340] R. Dorati, C. Colonna, I. Genta, T. Modena, et B. Conti, « Effect of porogen on the physico-chemical properties and degradation performance of PLGA scaffolds », *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 95, n° 4, p. 694-701, avr. 2010, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2009.11.039.
- [341] P. Miranda, A. Pajares, E. Saiz, A. P. Tomsia, et F. Guiberteau, « Mechanical properties of calcium phosphate scaffolds fabricated by robocasting », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 85A, n° 1, p. 218-227, 2008, doi: 10.1002/jbm.a.31587.
- [342] J. M. Oliveira *et al.*, « Macroporous hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering applications: physicochemical characterization and assessment of rat bone marrow stromal cell viability », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 91, n° 1, p. 175-186, oct. 2009, doi: 10.1002/jbm.a.32213.
- [343] T.-M. G. Chu, D. G. Orton, S. J. Hollister, S. E. Feinberg, et J. W. Halloran, « Mechanical and in vivo performance of hydroxyapatite implants with controlled architectures », *Biomaterials*, vol. 23, n° 5, p. 1283-1293, mars 2002, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00243-5.
- [344] D.-M. Liu, « Influence of porosity and pore size on the compressive strength of porous hydroxyapatite ceramic », *Ceram. Int.*, vol. 23, n° 2, p. 135-139, janv. 1997, doi: 10.1016/S0272-8842(96)00009-0.
- [345] J. R. Woodard *et al.*, « The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity », *Biomaterials*, vol. 28, n° 1, p. 45-54, janv. 2007, doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.08.021.
- [346] A. Bignon *et al.*, « Effect of micro- and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 14, n° 12, p. 1089-1097, déc. 2003, doi: 10.1023/b:jmsm.0000004006.90399.b4.

- [347] D. Guo, K. Xu, et Y. Han, « The in situ synthesis of biphasic calcium phosphate scaffolds with controllable compositions, structures, and adjustable properties », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 88, n° 1, p. 43-52, janv. 2009, doi: 10.1002/jbm.a.31844.
- [348] Y. Cui, Y. Liu, Y. Cui, X. Jing, P. Zhang, et X. Chen, « The nanocomposite scaffold of poly(lactide-co-glycolide) and hydroxyapatite surface-grafted with L-lactic acid oligomer for bone repair », *Acta Biomater.*, vol. 5, n° 7, p. 2680-2692, sept. 2009, doi: 10.1016/j.actbio.2009.03.024.
- [349] Q. Lv, L. Nair, et C. T. Laurencin, « Fabrication, characterization, and in vitro evaluation of poly(lactic acid glycolic acid)/nano-hydroxyapatite composite microsphere-based scaffolds for bone tissue engineering in rotating bioreactors », *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 91, n° 3, p. 679-691, déc. 2009, doi: 10.1002/jbm.a.32302.
- [350] X. Cai, H. Tong, X. Shen, W. Chen, J. Yan, et J. Hu, « Preparation and characterization of homogeneous chitosan-poly(lactic acid)/hydroxyapatite nanocomposite for bone tissue engineering and evaluation of its mechanical properties », *Acta Biomater.*, vol. 5, n° 7, p. 2693-2703, sept. 2009, doi: 10.1016/j.actbio.2009.03.005.
- [351] A. J. Wagoner Johnson et B. A. Herschler, « A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair », *Acta Biomater.*, vol. 7, n° 1, p. 16-30, janv. 2011, doi: 10.1016/j.actbio.2010.07.012.
- [352] J.-M. Bouler, P. Pilet, O. Gauthier, et E. Verron, « Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response », *Acta Biomater.*, vol. 53, p. 1-12, 2017.
- [353] K. D. Groot, « Effect of porosity and physicochemical properties on the stability, resorption, and strength of calcium phosphate ceramics », *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 523, n° 1, p. 227-233, 1988.
- [354] D. Bernache-Assollant, « Les biocéramiques: élaborations et propriétés », *L'Industrie Céramique Verrière*, vol. 883, p. 421-436, 1993.
- [355] F. L. Burny, « PROPRIETES MECANIKES DU TISSU OSSEUX », *Acta Orthop. Belg. Ed Biling.*, vol. 41, n° sup. 1, p. 9-23, 1975.
- [356] K. de Groot, *Ceramics of calcium phosphate: preparation and properties*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1983.
- [357] C. Laverna et J. M. Schoenung, « Calcium phosphate ceramics as bone substitutes », *Am. Ceram. Soc. Bull.*, vol. 70, n° 1, p. 95-100, 1991.
- [358] D. S. Metsger, M. R. Rieger, et D. W. Foreman, « Mechanical properties of sintered hydroxyapatite and tricalcium phosphate ceramic (vol 10, pg 9, 1999) », *J. Mater. Sci.-Mater. Med.*, vol. 10, n° 4, p. 253-253, 1999.
- [359] D. Muster, J. L. Vouillot, et J. H. Dubruille, « Biomatériaux, biomatériels et bio-ingénierie en chirurgie orale et maxillo-faciale », *II Encycl Méd Chir Stomatol. Elsevier Paris*, p. 22-014, 1999.

- [360] D. T. Reilly et A. H. Burstein, « The mechanical properties of cortical bone », *JBJS*, vol. 56, n° 5, p. 1001-1022, 1974.
- [361] A. Slosarczyk et J. Białoskórski, « Hardness and fracture toughness of dense calcium-phosphate-based materials », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 9, n° 2, p. 103-108, 1998.
- [362] A. Tampieri, G. Celotti, F. Szontagh, et E. Landi, « Sintering and characterization of HA and TCP bioceramics with control of their strength and phase purity », *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 8, n° 1, p. 29-37, 1997.
- [363] K. Rezwan, Q. Z. Chen, J. J. Blaker, et A. R. Boccaccini, « Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering », *Biomaterials*, vol. 27, n° 18, p. 3413-3431, juin 2006, doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.039.
- [364] H. Oonishi *et al.*, « Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes », *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 44, n° 1, p. 31-43, janv. 1999, doi: 10.1002/(sici)1097-4636(199901)44:1<31::aid-jbm4>3.0.co;2-9.



## Résumé

### Élaboration de biomatériaux phosphocalciques macroporeux à partir d'émulsions de Pickering concentrées

Les biocéramiques phosphocalciques (CaP) sont largement utilisées depuis de nombreuses années en raison de leur biocompatibilité et de leur bioactivité. Actuellement, les céramiques CaP implantables disponibles sur le marché sont obtenues par frittage à haute température ( $> 1000^{\circ}\text{C}$ ) conduisant à des matériaux ne présentant qu'une faible réactivité de surface et un caractère peu ou pas résorbable, limitant notamment leur capacité à adsorber des biomolécules comme des principes actifs. Par ailleurs, la taille des pores des biocéramiques en CaP ( $>200$  microns) et leur morphologie (interconnexion) sont directement liées à la repousse osseuse.

L'objectif de ce travail est d'optimiser l'efficacité biologique et/ou thérapeutique en s'appuyant sur une méthode récemment brevetée pour l'obtention de biocéramiques CaP à basse température à porosité contrôlée en combinant chimie douce et émulsions de Pickering pour des applications de comblements osseux. Les émulsions de Pickering ont été stabilisées par des particules d'hydroxyapatite (HAp) synthétisées et finement caractérisées, une attention particulière a été portée sur leur comportement en solution. Différentes formulations de l'émulsion solide ont été étudiées et caractérisées, afin de sélectionner les propriétés optimales pour l'obtention des biocéramiques poreuses ; sa phase aqueuse a ensuite été minéralisée par l'ajout d'un gel de phosphate de calcium et les monolithes poreux phosphocalciques obtenus ont été analysés : leur composition physico-chimique, la taille des pores ou leur interconnexion.

L'utilisation des émulsions solides pour l'obtention de biocéramiques poreuses de phosphates de calcium permet le contrôle de la composition et de la porosité, en vue d'une application médicale.

**Mots-clés :** Biocéramique, Emulsion solide, Emulsion de Pickering, Hydroxyapatite, Matériaux poreux, Biomatériaux

## Abstract

### Development of porous bioceramics with controlled porosity using Pickering emulsions

Apatitic calcium phosphate (or apatites) based ceramics are widely used as bone substitutes due to their biocompatibility and bioactivity. Nowadays, phosphate calcium bioceramics available on the market are usually obtained at high temperature sintering ( $> 1000^{\circ}\text{C}$ ). However, their bioresorbability, surface reactivity and association with biomolecules are limited, due to their low specific surface area and poor chemical reactivity. Moreover, as pores size ( $>200\mu\text{m}$ ) and morphology of biomaterials are directly related to bone formation, interconnected macroporosity is also essential to improve bone growth in these bioceramics.

The aim of this work is to optimize biologic and/or therapeutic efficacy using a recently patented method to develop low temperature biomimetic ceramics with controlled porosity using Pickering emulsions for filling bone defects. Pickering emulsions were stabilized by hydroxyapatite (HAp), particles have been synthesized and thoroughly characterized. Careful consideration has been given to their behavior in solution. Different formulations were varied in the solid emulsion, then they were studied and characterized to choose the best properties for porous bioceramics. Afterwards, its aqueous phase was mineralized by adding some calcium phosphate gel to obtain ceramic biomaterials. Various key parameters of the biomaterials were the evaluated such as their physicochemical composition, their pores size, or their interconnection.

Solid emulsions used as template for porous calcium phosphate bioceramics enables to control their composition and porosity, for medical application.

**Keywords:** Bioceramic, Solid emulsion, Pickering emulsion, Hydroxyapatite, Porous materials, Biomaterials