

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – BEJAIA

Faculté de Technologie



Département de Génie des Procédés



Mémoire de fin de cycle

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En Génie des Procédés

Option : Génie pharmaceutique

Présenté par

RAMTANI Lynda

SAAOUI Nabila

Thème

Caractérisation physico-chimique et biologique d'une apatite naturelle pour application biomédicale

Soutenu le 11 octobre 2021

Présenté devant :

Mme S.MESKI

Mr H.KHIREDDINE

Mme S.YALA

Présidente

Examinateur

Encadreur

2020/2021

Remerciement

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, la patience et la volonté pour effectuer ce travail

Nous tenons à remercier toutes celles et tous ceux qui ont participé à sa réalisation ;

Nos vifs remerciements à Mme S. YALA pour nous avoir guidés avec patience, pour ses précieux conseils, pour son soutien.

Nous remercions Mr. H. KHIREDINE de nous avoir accueillis dans son laboratoire d'avoir accepté de diriger ce travail. Nous lui témoignons aussi notre reconnaissance, pour tous les conseils assez utiles et fructueux, qu'il nous a prodigués, et pour avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.

Nous tenons également à remercier Mme S. MESKI pour avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions Mme W .BIBA de nous avoir fournie la matière première (phosphate).

Sans oublier, tous les membres du Laboratoire de Génie de l'Environnement particulièrement Mr N. SLIMANI et L.OUZAGHOUA qui n'ont pas hésité à nous prêter aide.

Enfin, ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans l'aide de nombreuses personnes ingénieurs et techniciens du laboratoire de Génie des Procédés. Nous tenons à leur témoigner notre gratitude.



Dédicaces



Je dédie ce travail :

- À mes chers parents, pour leurs sacrifices, leurs encouragements, leur attention et leur soutien moral. Ils ont été un réconfort constant, tout au long de mes études.
- À ma grand -mère.
- À mon bien -aimé **YANIS** pour son soutien et son encouragement.
- À mes chers frères ainsi leurs épouses :
 - **SAID & SARA**
 - **MUSTAPHA & FARIDA.**
- À mes chères cousines **AMEL, RYMA, SAMIRA, FARAH, NADJET, RAGHAD & Spécialement HANANE.**
- À mes adorables anges : **BASMA, YASSER, YAHIA, IDRIS, BILAL.**
- À mes chères copines : **SISSA, IMANE, HINANE, NESS, LAMIA.**
- À tout ma famille : mes oncles ; mes tantes.
- À mon binôme : **NABILA** et tout sa famille.



LYNDA



Dédicace



Je dédie ce travail :

À la lumière de mes jours ma chère mère et mon père.

À mon adorable sœur Sabrina.

À mes chers frères Farouk, Louhab et sa femme Lamia, Bilal et sa femme Leticia et mon cher Djeloul .

À mes grands-mères Rekia et Aini .

À mes chères tantes Saida et Taklit.

Sans oublier mes adorables nièces (Yasmine et Lynda) et mon petit neveu (Adam).

À mes amies qui me sont chères (Zahra, Lamia, Damia).

À mes chères cousines (Zouza, Sissa).

À mon binôme Lynda ainsi que sa famille.

À tous ceux qui me sont chers.

Nabila

Sommaire

Introduction	1
Références bibliographiques	3

Chapitre I : synthèse bibliographique

I.1. L'os.....	4
I.1.1. Définition	4
I.1.2. Constitution du tissu osseux	5
I.1.3. Remodelage osseux	6
I.1.4. Structure et propriétés de l'os.....	7
I.2. Les biomatériaux.....	8
I.2.1. Définition d'un biomatériau	8
I.2.2. Propriétés.....	8
I.2.3. Interaction biomatériau - tissu vivant.....	9
I.2.4. Classification des biomatériaux	10
I.2.5. Domaines d'application des biomatériaux	15
I.3. Les apatites.....	17
I.3.1. Généralités sur les apatites	17
I.3.2. L'hydroxyapatite (HAP)	17
I.3.2.1. Structure cristallographique de l'hydroxyapatite stœchiométrique.....	17
I.3.2.2. Intérêt de l'hydroxyapatite.....	19
I.3.3. Sources des apatites.....	20
I.3.3.1. Source naturelle	20
I.3.3.2. Source biologique	21
I.3.4. Méthodes de synthèse de l'hydroxyapatite	22
I.3.4.1. Synthèse par voie humide	22
I.3.4.2. Synthèse par voie sèche	25
I.4 Généralités sur le phosphate noir	26
I.4.1 Présentation des phosphates de Djebel Onk d'Algérie	26
I.4.2 Caractéristiques générales des phosphates de Djebel Onk.....	27
I.4.3 Composition chimique du Phosphate noir de Djebel Onk	27
I.4.4 Différents gisements de phosphate de Djebel Onk	27
Références bibliographiques.....	29

Chapitre II : procédure et méthodes de caractérisation

II.1. Obtention des poudres d'hydroxyapatites	34
II.1.1. Synthèse de la poudre d'hydroxyapatite naturelle	34
II.1.2. Synthèse de l'hydroxyapatite synthétique	36
II.1.3. Spectroscopie IR	38
II.2. Etude de la toxicité de la poudre d'hydroxyapatite naturelle	39
II.2.1. Préparation de la solution SBF	39
II.2.2. Préparation des pastilles.....	40
II.2.3. Protocole expérimental d'immersion	40
II.2.4. La spectrométrie d'absorption atomique SAA	40
II.3. Activité biologique	43
Références bibliographiques.....	44

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Rendement de la production des poudres d'hydroxyapatite	45
III.2. Caractérisation par Spectroscopie Infrarouge (IR).....	45
III.3. Caractérisation par diffraction des rayons X.....	49
III.4. Résultats de l'étude de la toxicité de la poudre naturelle	51
III.5. Activité antibactérienne des pastilles HAP _N , HAP _S / ' <i>staphylococcus aureus</i> '.....	53
Références bibliographiques	54
Conclusion	55

CHAPITRE I :

Figure I.1: Schéma de l'os cortical et spongieux.....5

Figure I.2 : Coupe longitudinale schématique d'un os long.....6

Figure I.3: Principe d'action des cellules osseuses.....7

Figure I.4 : Classification des biomatériaux.....10

Figure I.5 : Dispositifs médicaux en titane (a) Implant d'orthodontie (b) Prothèse de hanche.....12

Figure I.6: Image représentant des couronnes dentaires à base d'une céramique.....13

Figure I.7: Sonde urinaire en plastique souple ou en silicone.....14

Figure I.8 : Structure cristalline de l'hydroxyapatite.....18

Figure I.9 : Projection sur le plan de base (001) de la maille de l'HAP selon Young..... 19

Figure I.10 : Les différentes sources naturelles et biologiques d'hydroxyapatite.....21

Figure I.11: Schéma du processus de précipitation pour la synthèse de HAP.....22

Figure I.12 : Synthèse de l'hydroxyapatite selon le processus de vieillissement.....25

Figure I.13 : Situation géographique de Djebel Onk Wilaya de Tébessa.....26

CHAPITRE II :

Figure II.1 : Organigramme schématique des étapes du procédé d'extraction de l'HAP à partir du phosphate brut.....35

Figure II.2 : Organigramme schématique des étapes de synthèse de l'HAP synthétique.....37

Figure II.3 : Schéma de principe de l'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge.....38

Figure II.4 : Les instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique.....41

CHAPITRE III :

Figure III.1: Spectre IR du phosphate naturel.....46

Figure III.2 : Les spectres IR de la poudre d'hydroxyapatite synthétisée et naturelle.....47

Figure III.3 : Diffractogramme de diffraction des rayons X du phosphate brut.....49

Figure III.4: Diffractogramme DRX de l'HAP naturelle.....50

Figure III.5 : Courbes d'étalonnages des éléments cadmium (A), Plomb (B) et chrome (C).....51

Figure III.6: Image des antibiogrammes réalisés vis-à-vis de la S. Aureus.....53

CHAPITRE I :

Tableau I.1: Les céramiques utilisées dans le biomédical.....13

Tableau I.2: Quelques biomatériaux polymères et leur usage.....15

Tableau I.3 : Les domaines d’application des biomatériaux.....16

CHAPITRE II :

Tableau II.1 : Réactifs utilisés pour la préparation d’un litre de solution SBF à 37°C.....39

CHAPITRE III :

Tableau III.1: Position et attribution des bandes de l’HAP.....48

Tableau III.2: Evolution de la concentration de Pb, Cd et de Cr en fonction du temps d’immersion.....52

Abs : Absorption ;

BET : Méthode Brunauer, Emmett et Teller ;

C : Concentration

D : Diamètre

DRX : Diffraction des rayons X ;

HAP : Hydroxyapatite ;

HAP_N : Hydroxyapatite naturelle ;

HAPs : Hydroxyapatite synthétique ;

HAP_N/S. aureus : composite hydroxyapatite naturelle /*staphylococcus aureus*' ;

HAPs/S. aureus : composite hydroxyapatite synthétique /*staphylococcus aureus*' ;

ICP : Plasma à Couplage Inductif ;

IR : Spectroscopie d'absorption infrarouge

M : molaire

pH : potentiel d'hydrogène ;

ppm : partie par million

SAA : spectrométrie d'absorption atomique

SBF: Simulated Body Fluid

t : Temps ;

T : Température ;

µm: micro mètre.

INTRODUCTION

Introduction

Depuis les temps anciens jusqu'à nos jours, les gens sont confrontés aux risques d'accidents, de maladies et infections. Tous les individus qui, à cause de certains accidents ou certaines maladies ne pouvaient pas contribuer au bon état de la communauté, représentaient une charge pour les autres. Certaines des plus graves lésions étaient celles osseuses. Ces types de lésions représentaient un motif majeur de souci suite à la possibilité de l'apparition de certaines séquelles permanentes. Ainsi, la fragilité de l'organisme humain a déterminé le fait de trouver et développer certaines méthodes de guérison pour les différentes maladies [1].

Pour ces raisons, les applications des biomatériaux ne cessent d'augmenter et font l'objet de plusieurs recherches afin de générer des matériaux capables d'interagir avec les tissus vivants sans causer de sévères inflammations au niveau de l'interface matériau implanté/tissu vivant. L'objectif recherché étant d'assurer une intégration rapide et durable des implants dans l'organisme et une guérison totale des tissus vivants receveurs [2].

Les phosphates de calcium se sont imposés depuis une vingtaine d'années dans le domaine des biomatériaux à usage orthopédique et ont montré des propriétés intéressantes de bioactivité et d'osteoconduction. Les apatites sont des minéraux secondaires qui existent à l'état naturel, mais leur concentration n'est pas suffisante pour une exploitation industrielle. Afin de répondre au besoin industriel, différents précurseurs ont été utilisés [3]. Parmi les phosphates de calcium, l'hydroxyapatite (HAP) de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, est une céramique de phosphate de calcium qui possède une composition et une structure très similaire à la matrice minérale des os, est principalement utilisée comme revêtement ou ciment [4].

Dans ce travail nous nous sommes intéressées à la comparaison entre deux poudres d'HAP l'une est naturelle qui est extraite à partir du phosphate de Djbel Onk tandis que l'autre est synthétique, synthétisée par précipitation en utilisant des précurseurs à base de calcium et phosphate. Après obtention de la poudre naturelle on s'est intéressés à l'étude de sa toxicité et par la suite on est passé à l'étude du comportement des deux poudres vis-à-vis des bactéries qui peuvent attaquer le corps humain.

Afin d'atteindre nos objectifs, nous avons articulé notre mémoire en trois chapitres :

Le premier est consacré à une synthèse bibliographique du thème abordé à savoir la substitution osseuse, des généralités sur l'HAP et une brève section sur le phosphate de Djbel Onk.

Le deuxième chapitre présente les procédures expérimentales ainsi que les techniques de caractérisation utilisées.

Enfin, le troisième chapitre de ce mémoire est consacré à la discussion des résultats des expériences effectuées.

Ainsi, le travail s'achève par une conclusion qui va permettre de donner quelques constats sur notre étude.

Références :

[1] A. J. Oppenheimer, L. Tong, S. R. Buchman (2008) Craniofacial Bone Grafting: Wolff's Law Revisited, *Craniofacial Trauma & Reconstruction* 1, 49-61.

[2] N. Khaled, Revue Bibliographique autour de l'Hydroxyapatite, mémoire Master, Université Abderrahmane Mira-Bejaia, 2019.

[3] S. Yala, Modification De La Surface D'hydroxyapatite Par Greffage De Polymère (Polypyrrole), Mémoire De Magistère, Univ A-Mira, 2010.

[4] S. Barkou, Fonctionnalisation de la surface de l'hydroxyapatite par greffage de chitosane, Mémoire Master, Université de Bejaia, 2013.

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

I.1. L'os

L'os est une structure dynamique qui possède la propriété de se renouveler et de se reconstruire. Les capacités de régénération sont cependant limitées et il arrive dans certaines circonstances qu'un comblement osseux soit nécessaire pour obtenir une reconstruction complète de la zone lésée. C'est le cas notamment lorsque la taille de la zone à reconstruire est importante (pseudarthrose, résection de tumeurs ou de kystes osseux, forte perte de substance lors d'un traumatisme, ...) ou lorsque la reconstruction est lente (union retardée, maladie, patient âgé ...) [1].

I.1.1. Définition

L'os est un tissu conjonctif dynamique soumis à un renouvellement régulier, appelé remodelage, et qui possède la capacité de se régénérer lorsqu'il est endommagé. Il est composé d'une matrice extracellulaire minéralisée et de cellules qui participent à son remodelage et à sa réparation [1].

La composition massique moyenne de l'os naturel est la suivante : 60% de phase minérale, 15% de phase organique et 25% d'eau. La résistance et la légèreté de l'os s'expliquent par son architecture associant deux types de macrostructures osseuses [2].

- Os compact (os cortical ou Haversien) : Dur et dense, il constitue la coque externe des os et comprend des ostéons. Ces derniers sont des canaux neurovasculaires dont la paroi est formée de plusieurs couches concentriques de fibres de collagènes sur lesquelles se développent les cristaux d'apatites. L'os cortical représente 80 % de la masse osseuse chez l'adulte (surface d'échange de 3,5 m²), mais de part sa structure dense et compacte, il n'intervient que très peu dans les échanges métaboliques. [3].
- Os spongieux (os trabéculaire) : Résistant aux contraintes de flexion, de traction, de compression et de cisaillement, il s'appuie sur l'os compact auquel il transmet les forces. Il occupe la part la plus volumineuse du tissu mais ne représente que 20% de sa masse, soit une surface d'échange métabolique de 7 m². À l'échelle cellulaire, l'os trabéculaire renferme différents types de cellules responsables du remodelage osseux : ostéoblastes, ostéoclastes et ostéocytes [3].

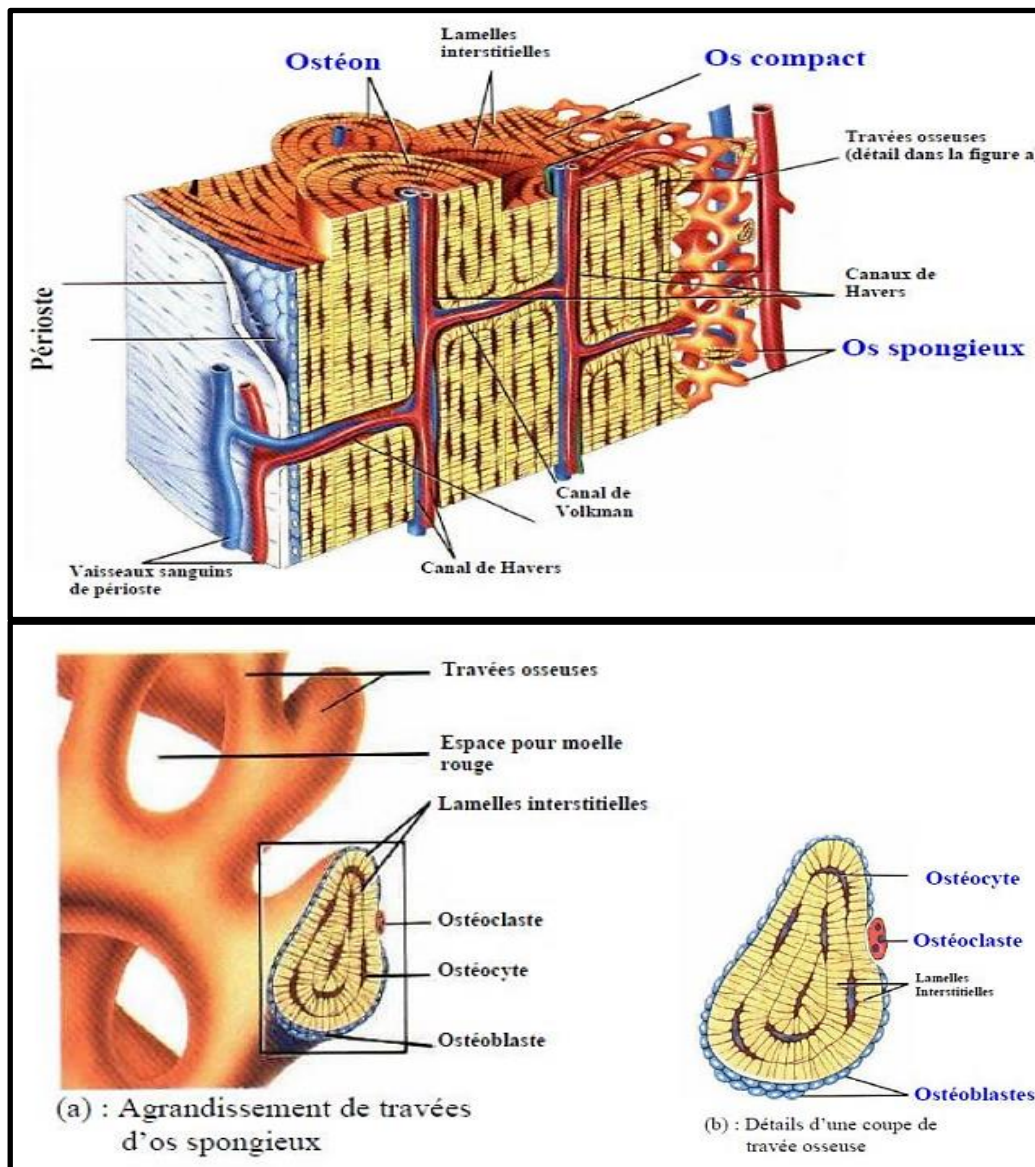


Figure I.1: Schéma de l'os cortical et spongieux [3].

I.1.2. Constitution du tissu osseux

Le tissu osseux naturel est assimilable à un matériau « composite » constitué de fibres organiques (le collagène) inscrites dans une matrice minérale qui a été identifiée comme étant un phosphate de calcium apatitique poly-substitué. La répartition massique des deux phases dans le tissu est variable suivant la partie du corps considérée et a ainsi amené à distinguer deux types de tissus osseux : l'os et la dent. Une autre particularité des tissus osseux réside dans leur aptitude à constamment évoluer au cours de leur existence afin de s'adapter le mieux possible aux contraintes auxquelles ils sont soumis (mécaniques ou autres). Ce phénomène, engendré par l'activité cellulaire, appelé « remodelage osseux » [2].

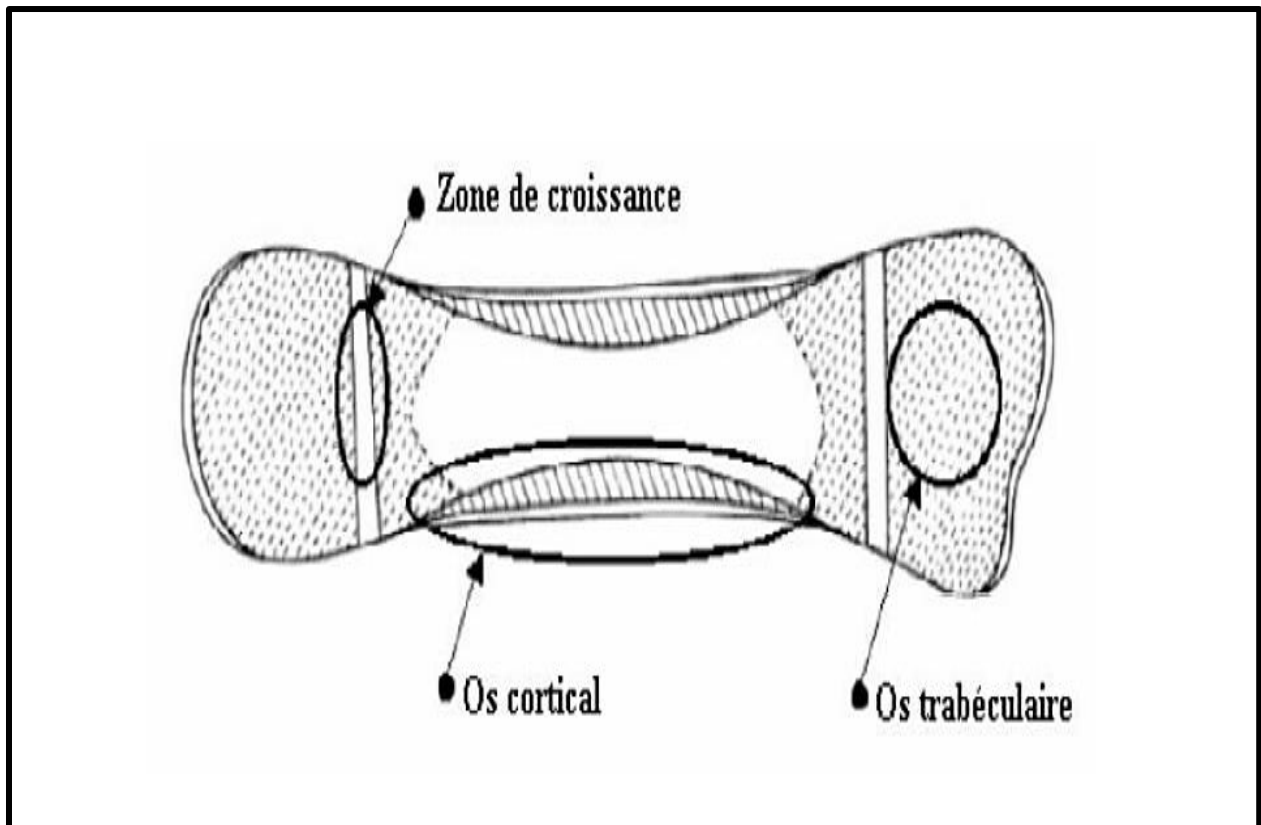


Figure I.2 : Coupe longitudinale schématique d'un os long [2].

I.1.3. Remodelage osseux

Le tissu osseux doit permettre la formation adaptée du squelette durant la croissance, la conservation de ses propriétés mécaniques et leur adaptation aux contraintes, la réparation des fractures et la mise à disposition du calcium qu'il stocke. Pour assurer ces propriétés, l'os est en perpétuel renouvellement : c'est le remodelage osseux. Au cours du remodelage osseux ; l'os ancien est détruit ou résorbé par des ostéoclastes et remplacé par de l'os nouveau généré par des ostéoblastes [4].

Au repos, la surface de l'os est recouverte de cellules dites bordantes de forme allongées et très fines (A). Au cours de la phase d'activation (B), des cellules mononuclées, percent le lit de cellules bordantes et se groupent sur une surface minéralisée du tissu. La phase de résorption (C) est caractérisée par l'excavation d'un petit volume de tissu osseux par les ostéoclastes nés de la fusion des cellules mononuclées. Les ostéoclastes sont des cellules polynuclées qui, en libérant des protons, résorbent le tissu minéralisé par dissolution.

Après résorption, des cellules mononucléées préparent la surface de la lacune (D) à l'arrivée des ostéoblastes (cellules mononucléées d'environ 30 μm de diamètre). Ces dernières engendrent la formation d'un jeune tissu minéralisé (E). Le processus se poursuit alors jusqu'à ce que l'os jeune ait entièrement comblé la lacune (F) [2].

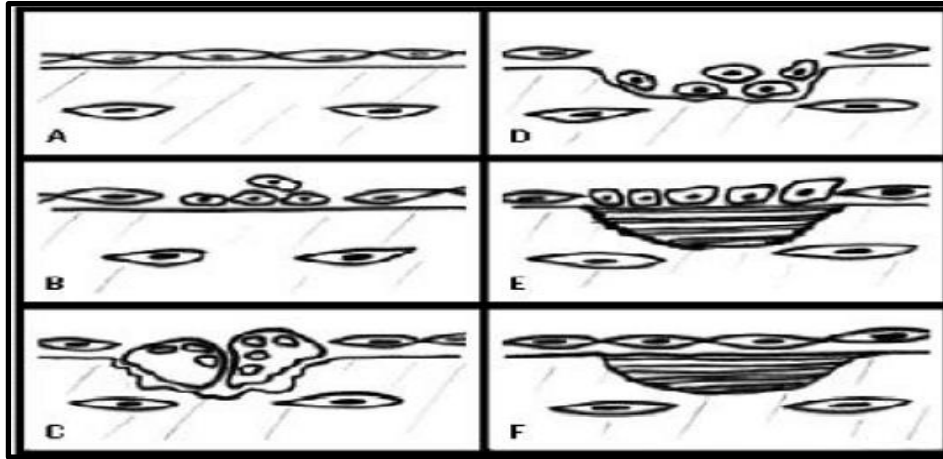


Figure I.3: Principe d'action des cellules osseuses [2].

I.1.4. Structure et propriétés de l'os

Le système osseux forme une charpente où s'assemblent les organes du corps. Il assure notamment [5]:

- Le soutien aux organes mous du corps.
- Le mouvement en servant de points d'attache aux muscles.
- Le stockage d'ions calcium et phosphore dans la structure même de l'os (le squelette renferme 99% du calcium de l'organisme).
- La protection des organes internes : Le crâne et la colonne vertébrale protègent le cerveau et la moelle épinière, la cage thoracique protège le cœur et les poumons et le bassin protège les organes de la reproduction.
- La formation des globules rouges dans les cavités de certains os.

I.2. Les biomatériaux

I.2.1. Définition d'un biomatériau

En se référant à la conférence de consensus de Chester (1991) un biomatériau est : « un matériau non vivant, utilisé dans un dispositif médical et conçu pour interagir avec des systèmes biologiques », il participe à la constitution d'un appareillage à visée diagnostique ou à celle d'un substitut de tissu ou d'organe, ou encore à celle d'un dispositif de suppléance (ou assistance) fonctionnelle [6].

Le facteur majeur qui distingue un biomatériau des autres matériaux est sa capacité de pouvoir être maintenu en contact avec des tissus vivants sans causer n'importe quelle nature d'endommagements [7].

I.2.2. Propriétés

Il est important que le biomatériau implanté soit accepté par le corps du patient, tout en assurant sa fonctionnalité. En vue de leur utilisation en clinique, les substituts osseux doivent répondre à certains critères. Ces caractéristiques définissent l'efficacité du matériau de comblement [8].

- **Biocompatibilité** : Un biomatériau mis en contact avec l'os, la moelle osseuse, le sang, le tissu musculaire, voir la partie profonde du derme, doit être parfaitement biocompatible et ne pas provoquer d'effets secondaires nocifs de divers types (allergiques, cytotoxiques, mutagènes, cancérigènes, encapsulation). Les phosphates de calcium ainsi que d'autres biocéramiques sont des matériaux qui présentent une très bonne biocompatibilité, que ce soit in vitro ou in vivo [9].
- **Porosité** : Compte tenu des propriétés biologiques, la morphologie des substituts osseux est un paramètre majeur qui conditionne leur efficacité. La présence des micropores ($\leq 10 \mu\text{m}$), des macropores ($\geq 100 \mu\text{m}$) et de pores interconnectés en particulier, augmente la surface spécifique du biomatériau, sa rugosité et résorbabilité, ce qui crée un microenvironnement qui assure en effet sa colonisation par les cellules ostéogéniques et les fluides physiologiques, et favorise ainsi la formation de nouveaux tissus osseux [10].

De ce fait, et selon certains auteurs, pour avoir une bonne circulation des fluides biologiques, le diamètre des interconnexions doit être compris entre 20 et 50 μm et la taille des macropores doit se situer entre 300 et 600 μm [10].

- **Bioactivité:** Un matériau est dit bioactif lorsqu'il a la capacité d'interagir de façon positive avec l'organisme en accélérant les processus de réparation tissulaire, en apportant aux cellules environnantes, les éléments (Ca, P, Sr, Mg, Zn,...) nécessaires pour leur développement. Cela dépend directement des propriétés physico-chimiques, mécaniques, morphologiques et biologiques du matériau et elle s'oppose à la bioinertie (matériau biocompatible mais inerte) [9].

De plus, les biomatériaux implantables doivent présenter les propriétés suivantes [11,12] :

- **Biorésorbabilité :** L'implant doit se dégrader au fur et à mesure que l'os croît.
- **Ostéoinduction :** Capacité à induire une différenciation cellulaire et synthétiser une matrice osseuse minéralisable.
- **Ostéoconduction :** Capacité de permettre une invasion vasculaire et cellulaire à partir du tissu osseux receveur en contact avec l'implant.
- **Ostéogénèse (ou ostéoformation) :** Capacité à promouvoir la construction de la matrice osseuse par des cellules ostéoformatrices (les ostéoblastes matures).
- **Ostéointégration :** Est liée à la qualité des liaisons créées entre le tissu osseux et le matériau.

I.2.3. Interaction biomatériau - tissu vivant

Les interactions entre les biomatériaux implantés et les tissus vivants diffèrent selon le type d'implant et le lieu d'implantation [8].

Idéalement, un biomatériau devrait interagir avec les cellules des tissus environnants de manière à reconstruire les tissus endommagés et à l'incarner activement dans le tissu hôte. Les interactions entre l'environnement biologique tel que les tissus durs ou mous environnant l'implant et le sang peuvent ainsi provoquer à l'interface des biomatériaux de nombreuses réactions non désirées (inflammatoires, mutagènes, carcinogènes...). Ces réactions permettent de distinguer quatre sortes de matériaux : (toxiques, inertes, bioactifs et résorbable) [7].

I.2.4. Classification des biomatériaux

Le biomatériau est destiné à être implanté dans le corps humain où il sera, à moyen ou à long terme, en contact avec les tissus (tissus mous et durs) et les fluides biologiques. Cette notion de biomatériaux est donc très vaste et regroupe de nombreux produits qui peuvent être classés en deux grandes catégories : Les biomatériaux d'origine biologique (végétale ou animale) et les biomatériaux d'origine non vivante (synthétique) [13].

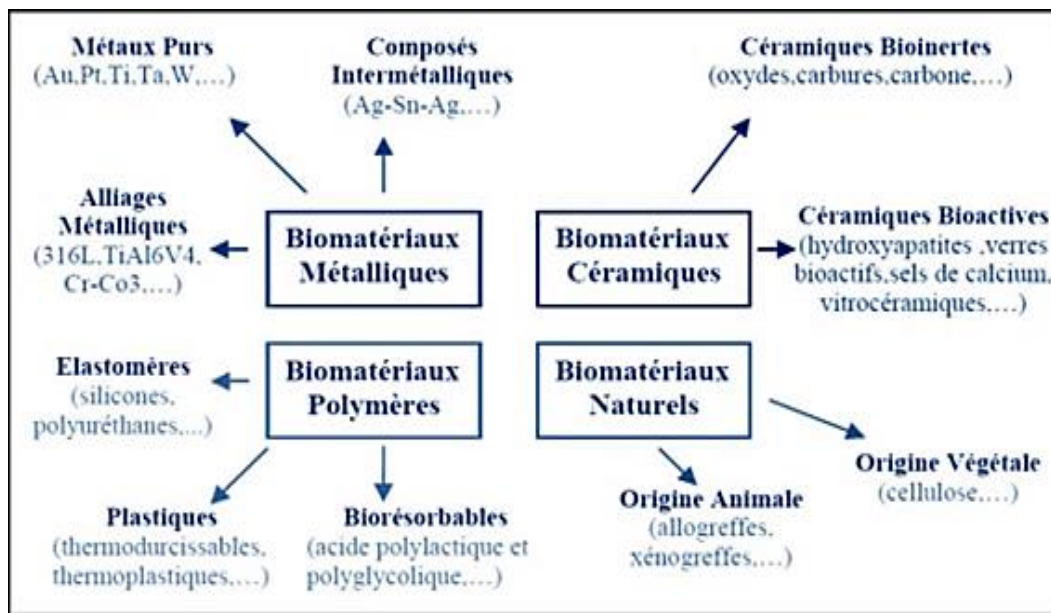


Figure I.4 : Classification des biomatériaux [13]

A) Biomatériaux d'origine biologique (végétale ou animale)

Nous distinguons les greffes osseuses et l'utilisation du corail ou encore de polymères naturels (collagène, chitosane).

➤ Greffes osseuses

On les distingue selon l'origine et l'espèce réceptrice [7, 14] :

Xéno greffes : Le donneur de la greffe est d'une espèce biologique différente de celle du receveur (par exemple : os bovin sur homme).

Autogreffes : Elles appartiennent à une même espèce et sont prélevées sur des donneurs ou des cadavres. Elles présentent des risques de transmission de maladie.

Allogreffes : C'est le meilleur matériau de comblement de perte osseuse car elles possèdent l'ensemble des caractéristique nécessaires à la croissance osseuse : ostéoconduction, ostéogénèse, ostéoinduction et compatibilité immunitaire. Néanmoins, la quantité d'os disponible reste limité et elles nécessitent une chirurgie additionnelle, en plus, elles peuvent induire des risques d'inflammation et d'infections locaux et généraux.

➤ **Corail**

Le corail est une céramique naturelle poreuse. Il a un squelette similaire à l'os cortical et spongieux avec une porosité interconnectée [15]. Il est constitué de carbonate de calcium (97 %), oligoéléments (0,5 à 1 %), acides aminés (0,07 %) et eau (< 0,5 %). La porosité favorise la pénétration cellulaire et l'établissement d'une néovascularisation. Le diamètre moyen des pores est de 150 µm, de ce fait le corail possède un comportement mécanique fragile [7].

➤ **Collagène**

Le collagène est une protéine présente dans toutes les structures de l'organisme (30 à 35 %). Son rôle est d'assurer la cohésion l'élasticité et la régénération de tous les tissus. Dans le corps, le collagène est de trois types principaux [7] :

Collagène de type I : C'est le plus abondant, il se trouve dans la peau, les tendons et le tissu osseux.

Collagène de type II : Il se trouve dans les cartilages.

Collagène de type III : Il se trouve dans les muscles et les parois des vaisseaux.

Sans parler des auto-, des allo- ou des xélogreffes tendineuses qui sont en fait un apport collagénique spécialisé, en chirurgie orthopédique, le collagène pur natif n'est utilisé qu'au stade de recherche. Il a été utilisé dans le comblement de lacunes osseuses, dans la réparation de surfaces articulaires, comme renfort ligamentaire et comme agent hémostatique [16].

B) Biomatériaux d'origine non vivante ou synthétique

Face aux risques de transmission de virus par les biomatériaux d'origine naturelle, les biomatériaux synthétiques de type métalliques, céramiques ou polymères sont de plus en plus utilisés. Ces matériaux synthétiques sont très utilisés car leur préparation et leurs propriétés physico-chimiques et biologiques peuvent être contrôlées pour adapter le matériau à des applications médicales variées [16].

➤ **Biomatériaux métalliques**

Ce sont les premiers biomatériaux synthétiques qui ont été utilisés pour faire des implants. Les tiges et les têtes ainsi que la plupart des coques externes sont élaborées en matériaux métalliques destinés à l'orthopédie (clou, vis, plaques articulations), à la stomatologie (plombages, prothèses, pièces dentaires), etc. Les plus connus sont le titane et ses alliages ainsi que l'acier inoxydable [7].

Titane (Ti) : A une résistance à la corrosion très élevée et une bonne biocompatibilité, l'os s'adhère spontanément au titane. Il est utilisé principalement en chirurgie orthopédique et pour réaliser des implants dentaires. Le titane a une densité de $4,5 \text{ g/cm}^3$ et il possède une élasticité plus grande que l'acier inoxydable [7].

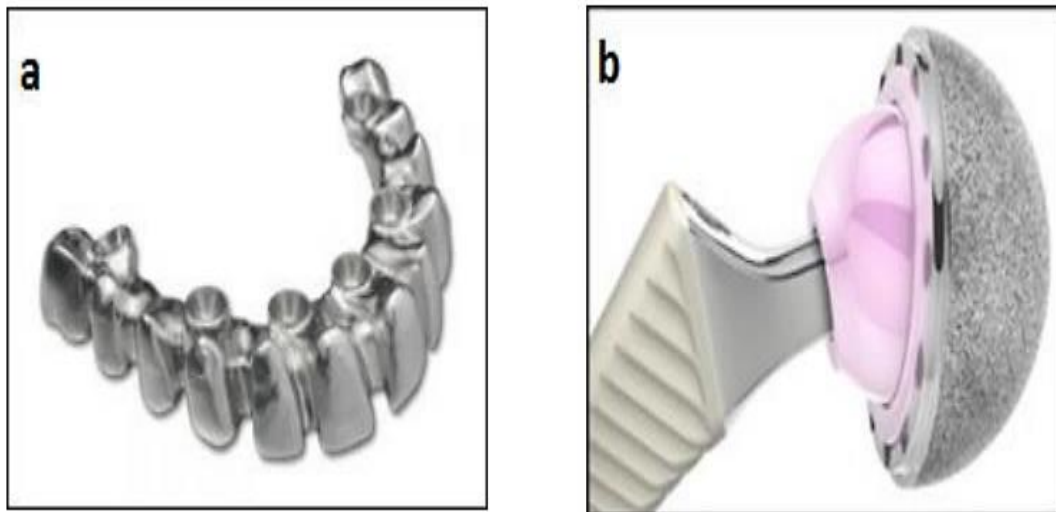


Figure I.5 : Dispositifs médicaux en titane (a) Implant d'orthodontie (b) Prothèse de hanche [17].

Alliages de titane : Présentent aussi une très bonne résistance à la corrosion et de bonnes propriétés mécaniques (module de Young, résistance à la rupture et résistance à la fatigue) [17].

Acier inoxydable : Est le métal le plus utilisé. C'est un alliage métallique contenant du fer et du chrome ainsi que d'autres métaux (Ni, Mo, Mn, Si, etc.) mais en teneurs moins élevées. La teneur en chrome doit être supérieure à 10,5 %. En effet, la présence du chrome au contact de l'oxygène conduit à la formation d'une couche fine passive et protectrice [17]. L'intérêt des aciers dans le domaine médical réside dans leurs propriétés mécaniques d'ailleurs, ils sont largement utilisés en chirurgie orthopédique [18].

➤ Céramiques

Les céramiques présentent des liaisons chimiques fortes de nature ionique ou covalente et sont obtenues à haute température à partir d'une poudre dont la consolidation se fait par frittage [16]. On distingue deux types de céramiques :

Céramiques bioinertes (oxydes, carbures, carbone) : Ce type de céramiques, utilisées comme matériau de frottement, ne développent pas de lien avec le tissu osseux. On distingue la zircone qui a de très bonnes propriétés mécaniques, elle est employée au niveau des prothèses de hanche totale [19].

Céramique bioactives (phosphates calciques, verres bioactifs) : Permettent de créer un lien entre l'os et le matériau par formation d'une couche d'apatite carbonatée. Elles sont utilisées comme matériau de comblement ou couche de recouvrement de surface [7]. On distingue les phosphates de calcium tels que l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique. Ce type de céramiques possède une composition chimique proche de celle de l'os naturel [20]. Un exemple de biomatériaux à base de céramique est présenté sur la figure I.6.



Figure I.6 : Image représentant des couronnes dentaires à base d'une céramique [16].

Tableau I.1: Céramiques utilisées dans le biomédical [21].

Céramique	Formule chimique	Type
Alumine Zircone	A_2O_3 ZrO_2	Bioinerte
Bioverres	$Na_2OCaOP_2O_3-SiO$	Bioactif
Hydroxyapatite	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Bioactive
Phosphate tricalcique	$Ca_3(PO_4)_2$	Bioactif + biorésorbable

➤ Polymères

Les utilisations des polymères dans le domaine des biomatériaux sont extrêmement nombreuses. Les deux grandes tendances de l'usage des polymères concernent :

Polymères fonctionnels : Sont susceptibles d'avoir une fonction chimique particulière à l'interface matériau-tissu vivant, à savoir par exemple la capacité d'interaction avec les ostéoblastes (et/ou les fibroblastes) qui favorise la repousse osseuse. Ceci est envisagé par la fixation sur le polymère de groupements ionisés tels que : orthophosphate, carbonate, carboxylate, etc. La "fonctionnalité" peut notamment être obtenue par modification de l'état de surface du polymère par implantation ionique ou par greffage de substances fonctionnelles. [22]

Polymères Plastiques : Ils doivent être synthétisés au laboratoire. Pour ce faire, on utilise des substances provenant du raffinage des combustibles fossiles (du pétrole et du gaz naturel). On classe les matières plastiques en trois catégories : les thermoplastiques, les thermodurcissables et les élastomères [16].

Polymères résorbables : Tels que les copolymères d'acide lactique et d'acide glycolique qui sont utilisables en chirurgie orthopédique traumatologique, ou les polyanhydrides et/ou polyaminoacides qui sont utilisés dans les formes retard de médicaments. [22]

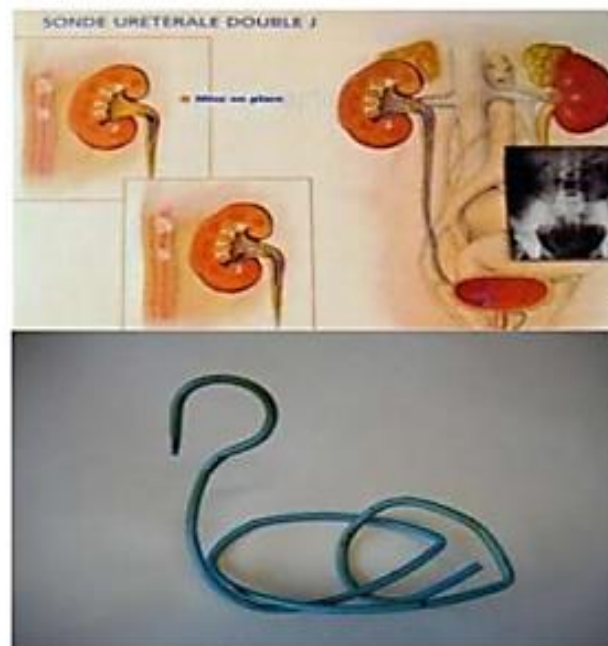


Figure I.7: Sonde urinaire en plastique souple ou en silicone [22].

Tableau I.2: Quelques biomatériaux polymères et leur usage [7]

Biomatériaux Polymères	Utilisation
Polyuréthane (PU)	Urologie, implants mammaires, valves cardiaques, pacemaker (isolant).
Polypropylène (PP)	Sutures, ligaments.
Silicone	Implants mammaires, urologie, implants testiculaires, pacemaker (isolant), chirurgie faciale, chirurgie de la main
Polyéthylène téréphtalate (PET)	Implants vasculaires, ligaments, chirurgie du tube Digestif
Polyester	Sutures, implants vasculaires

I.2.5. Domaines d'application des biomatériaux

Les biomatériaux ont été développés pour préserver l'intégrité et le confort de vie des personnes souffrant de déficiences fonctionnelles graves ou victimes d'accidents. L'objectif de leur développement est de permettre la fabrication de dispositifs d'assistance corporelle capables de suppléer les fonctions des organes lésés. Ce tableau rassemble un échantillonnage significatif des domaines médicaux ou l'usage des biomatériaux. Pour chaque domaine, les types de produits nécessaires sont désignés [23].

Tableau I.3 : Domaines d'application des biomatériaux [18].

Domaine	Application
Ophtalmologie	Lentilles (souvent exclues du domaine pour cause de brièveté du contact), Implants, Coussinets de récupération, Produits visqueux de chambre postérieure.
Odontologie – stomatologie	Matériaux de restauration et comblement dentaire et osseux, Traitements prophylactiques ; Orthodontie, Traitement du parodonte et de la pulpe, Implants, Reconstruction maxillo-faciale.
Chirurgie orthopédique	Prothèses articulaires (hanche, coude, genou, poignet,...), Ligaments et tendons artificiels, Cartilage, Remplacement osseux pour tumeur ou traumatisme, Réparation de fractures (vis, plaques, clous, broches), Matériaux de comblement osseux injectable.
Endocrinologie-chronothérapie	Pancréas artificiel, Pompes portables et implantables, Systèmes de libération contrôlée de médicaments, Biocapteurs.
Chirurgie esthétique	Matériaux et implants pour chirurgie esthétique, Drains de chirurgie, Colles tissulaires, Peau artificielle.
Cardiovasculaire	Valves cardiaques, Cœur artificiel, Assistance ventriculaire, Prothèses vasculaires, Matériels pour angioplastie luminale coronarienne et stents, Cathéters endoveineux.
Urologie/ néphrologie	Poches, cathéters et tubulures pour dialyse péritonéale, Rein artificiel, Matériaux pour traitement de l'incontinence.

I.3. Les apatites

I.3.1. Généralités sur les apatites

Les apatites sont les espèces les plus abondantes parmi les phosphates naturels, qui comprennent plus de 200 espèces minéralogiques. Le terme apatite provient d'un terme grec signifiant « décevant ». Ce terme a été donné à une famille de minéraux répondant à la formule générique $Me_{10}(XO_4)_6Y_2$, où Me^{2+} représente un cation divalent généralement (Ca^{2+} ou encore Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , ...), XO_4^{3-} , un groupement anionique trivalent comme (PO_4^{3-} , ASO_4^{3-} , VO_4^{3-} , MnO_4^{3-} , ...) et Y^- , un anion monovalent, le plus souvent (OH^- , Cl^- , F^- , ...)[24].

L'hydroxyapatite ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), membre de la famille des apatites minérales et un matériau idéal pour des endiguements à long terme à cause de sa grande capacité d'adsorption pour les métaux lourds, faible solubilité dans l'eau, grande stabilité sous les conditions réductrice et oxydante, disponibilité et à un prix modique [25].

I.3.2. L'hydroxyapatite (HAP)

Etant le composé minéral majoritaire des os et structurellement similaire à l'os, l'HAP est la perspective des biomatériaux pour la régénération osseuse. Les céramiques d'HAP sont hautement biocompatibles avec les tissus osseux et possèdent un haut potentiel ostéogénique [26].

L'hydroxyapatite phosphocalcique appartient à la famille des apatites ainsi qu'à celle des phosphates de calcium, son rapport atomique théorique Ca/P est 10/6 soit environ 1,67 et sa densité théorique est de 3,156. Etant le principal constituant inorganique des os et des dents, l'HAP a largement été étudiée durant les cinq dernières décennies [27].

I.3.2.1. Structure cristallographique de l'hydroxyapatite stœchiométrique

L'hydroxyapatite phosphocalcique a pour formule chimique $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, de rapport atomique théorique (Ca/P = 1,67) et de densité théorique de 3,156 g/cm³. Elle se cristallise dans le système hexagonal selon le groupe d'espace P63/m (figure I.8).

Les valeurs des paramètres de maille du réseau cristallin a, b et c sont : $a = b = 9,432 \text{ \AA}$, $c = 6,881 \text{ \AA}$ [27].

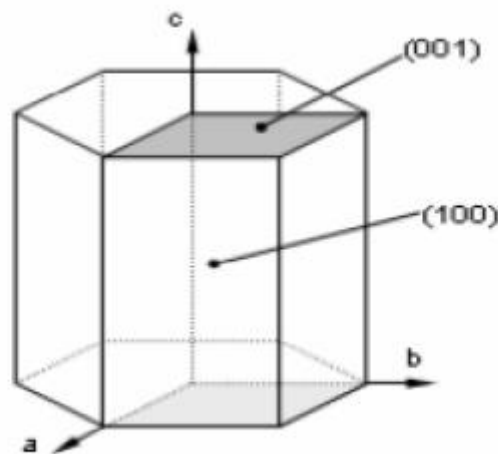


Figure I.8 : Structure cristalline de l'hydroxyapatite [27].

La structure cristallographique d'HAP est élaborée, comme combinaison remarquable il faut retenir l'existence des tunnels dans lesquels se trouvent les groupements OH⁻ par l'intermédiaire desquels se font les réactions chimiques pétrifiées [27].

- ✓ La formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ représente la maille élémentaire de l'HAP synthétique, cette maille contient 10 ions Ca^{2+} , 6PO_4^{3-} et 2OH^- , sa structure peut être décrite comme suit : Les dix atomes de Ca^{2+} occupant des sites définis par Ca(I) ou Ca(II) dépendant de leur environnement. Quatre ions de calcium occupent la position de Ca(I) en deux couches situées aux niveaux 0 et 1/2 de la maille. Les six ions restants occupent la position de Ca(II) en deux couches : trois situés aux niveaux 1/4 et trois autres aux niveaux 3/4.
- ✓ Les six ions tétraédriques PO_4^{3-} se trouvent en deux couches où ils sont situés aux niveaux 1/4 et 3/4 de la maille.
- ✓ Les deux ions OH^- se situent approximativement à la même hauteur que les plans contenant les atomes Ca(II) (1/4 et 3/4).

Si nous considérons la structure parallèlement à l'axe c, les ions PO_4^{3-} constituent des colonnes, liées les unes aux autres. En fait un atome de phosphore est lié à trois atomes d'oxygène d'une colonne et à un atome d'oxygène d'une colonne voisine. Les assemblages d'ions PO_4^{3-} sont sous la forme de nid d'abeille qui constitue l'armature du réseau et fournit une grande stabilité à la structure de l'apatite. Cet assemblage est parallèle à l'axe c et contient des tunnels ouverts [28].

Ces tunnels jouent un rôle très important dans les propriétés physico-chimiques des HAP. Donc ces derniers peuvent se comporter soit comme des échangeurs d'ions, soit comme des composés dans lesquels différents ions peuvent se substituer [28].

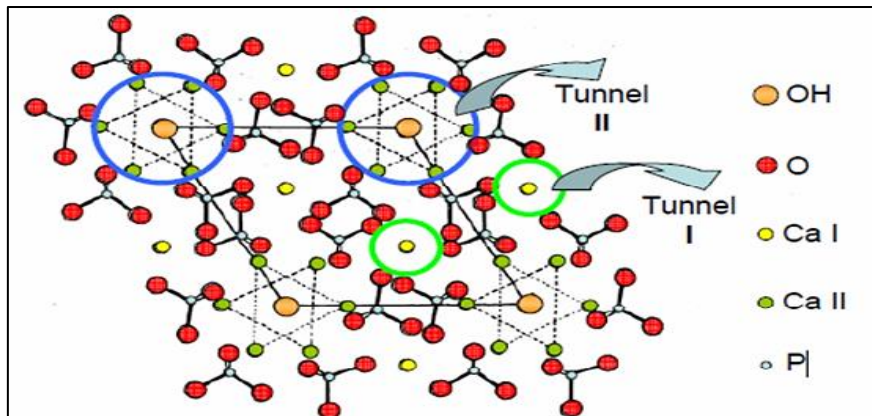


Figure I.9 : Projection sur le plan de base (001) de la maille de l'HAP selon Young [28].

I.3.2.2. Intérêt de l'hydroxyapatite

L'hydroxyapatite trouve des applications dans divers domaines :

A. Domaine biomédical

De nombreux travaux fondamentaux et cliniques ont montré l'intérêt de l'HAP dans le domaine de la reconstruction osseuse. Vu que sa composition chimique est proche de celle des tissus durs des os et des dents, l'HAP synthétique est utilisée comme :

- ✓ Revêtement des prothèses en titane ;
- ✓ Complément osseux ;
- ✓ Revêtement d'implants dentaires ;
- ✓ Implants oculaires ;
- ✓ Complément nutritionnel pour le traitement de l'ostéoporose.

Elle est également utilisée couramment comme phase stationnaire dans les colonnes chromatographiques pour la séparation de diverses molécules telles que la vitamine D₃ et ses composés dérivés et les protéines dont l'adsorption sur l'HAP met en jeu des interactions entre les résidus carboxyliques et les résidus basiques à la surface des protéines avec les ions Ca²⁺ et les ions PO₄³⁻ de l'hydroxyapatite respectivement [29].

B. Domaine industriel

L'hydroxyapatite est employée comme catalyseur pour des réactions de déshydrogénation des alcools, elle constitue la source principale des engrais phosphates et sert à préparer l'acide phosphorique et différents dérivés phosphates. A moindre échelle, elle est également utilisée en pharmacie (excipient) et en chromatographie (colonne). Elle est également utilisée comme catalyseur dans l'industrie des polymères pour la déshydrogénation et la déshydratation des alcools primaires, ainsi que dans l'industrie des sucres [30].

C. Domaine environnemental

La surface de l'hydroxyapatite présente une grande capacité d'adsorption. Cette propriété est exploitée dans le domaine de la purification des eaux et des sols, ainsi l'HAP est utilisée comme adsorbant minéral des métaux lourds (Pb, Cd, Sr, Zn, Cr, Ni). Les apatites sont aussi utilisées comme additifs potentiels pour le traitement des sols pollués et comme matériaux de remblayage entrant dans la composition des barrières construites pour le confinement des déchets radioactifs [31].

I.3.3. Sources des apatites

La famille de phosphates de calcium est importante par le grand nombre de composés qu'elle comporte et par leur influence dans la nature et le milieu vivant. Toutes les sources de phosphate inorganique sont des apatites, qui proviennent de différentes origines (minérale, synthétique) [32].

I.3.3.1. Source naturelle

L'apatite naturelle se rencontre surtout dans les dépôts secondaires et dans les roches métamorphiques (roches sédimentaires et magmatique) [24].

Les apatites sont des minéraux secondaires qui existent à l'état naturel, mais leur concentration n'est pas suffisante pour une exploitation industrielle. Afin de répondre au besoin industriel, différents précurseurs ont été utilisés à savoir les nitrates de calcium, les carbonates de calcium, la chaux et les produits à base de phosphore. La cherté de ces produits a poussé les chercheurs à trouver des alternatifs naturels tels que les coquilles des œufs, les coquillages, le corail etc. ... comme source de calcium [33].

I.3.3.2. Source biologique

Les tissus osseux naturels sont assimilables à un matériau « composite » constitué de fibre organique, inscrite dans une matrice minérale qui a été identifiée comme étant un phosphate de calcium apatitique poly-substitué [24].

La répartition massique des deux phases dans le tissu est variable, suivant la partie du corps considérée et a ainsi amené à distinguer deux types de tissus osseux : l'os et la dent [34] :

- **L'os naturel** : la composition massique moyenne de l'os naturel est la suivante : 60% de phase minérale, 15% de phase organique et 25% d'eau.
- **La dent** : elle se compose en masse de 75% de phase minérale, 20% de phase organique et 5% d'eau, c'est le deuxième tissu le plus dur de l'organisme.

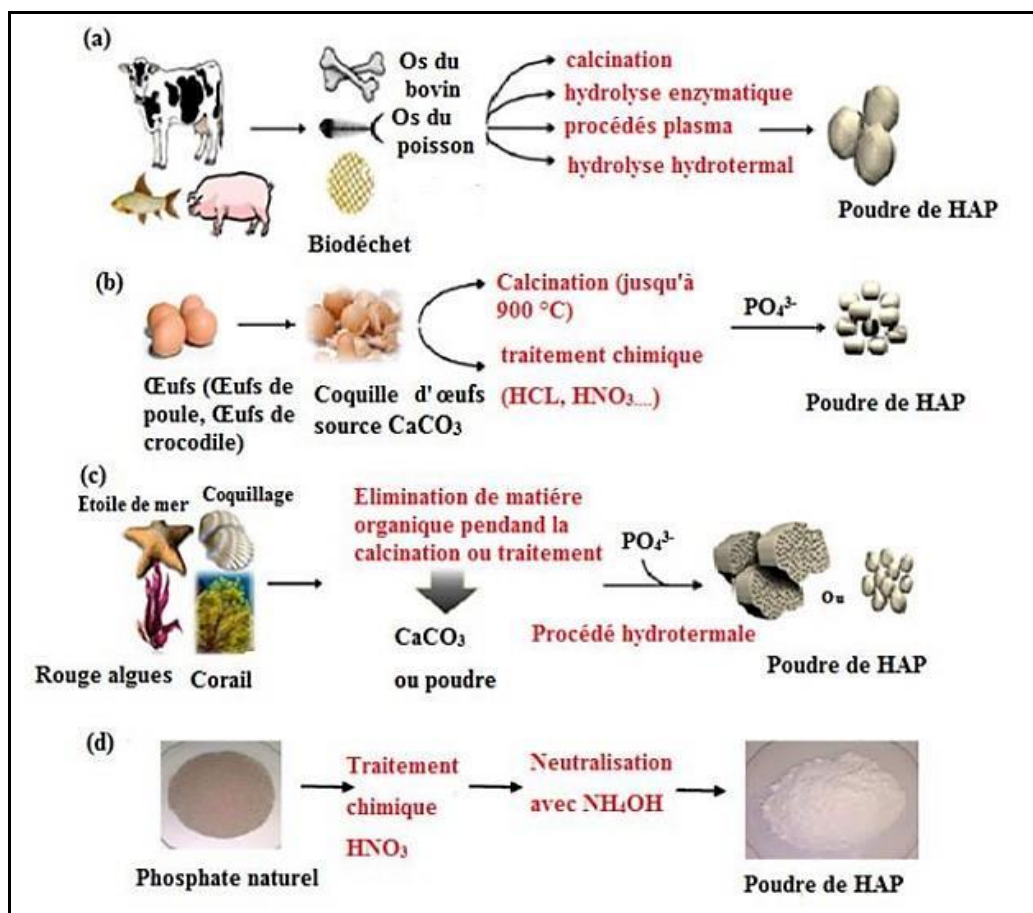


Figure I.10 : Différentes sources naturelles et biologiques de l'hydroxyapatite [35].

I.3.4. Méthodes de synthèse de l'hydroxyapatite

En raison des nombreuses applications de l'hydroxyapatite, que ce soit dans le domaine médical comme substitut osseux ou dans le domaine environnemental comme adsorbant de métaux toxiques, plusieurs méthodes de synthèse ont été mises en œuvre.

Les synthèses de l'HAP s'opèrent soit par voie sèche ou les précurseurs sont mélangés à l'état solide, soit en milieu humide en utilisant des réactifs en solution [36].

I.3.4.1. Synthèse par voie humide

La synthèse par voie humide permet un contrôle précis des propriétés physiques et chimiques des poudres avec un avantage de production de matériaux homogènes avec une forme des particules uniforme.

Plusieurs méthodes ont été suivies pour la préparation de HAP par voie humide, telles que [17]:

A) Méthode de précipitation

Cette voie de synthèse est souvent utilisée en mélangeant des sels de calcium et des composés à base de phosphore dans l'eau. Parmi les sels utilisés, les nitrates de calcium, l'hydroxyde de calcium et l'acétate de calcium tandis que les solutions de phosphore utilisées sont l'hydrogénophosphate de d'ammonium et l'acide phosphorique [37].

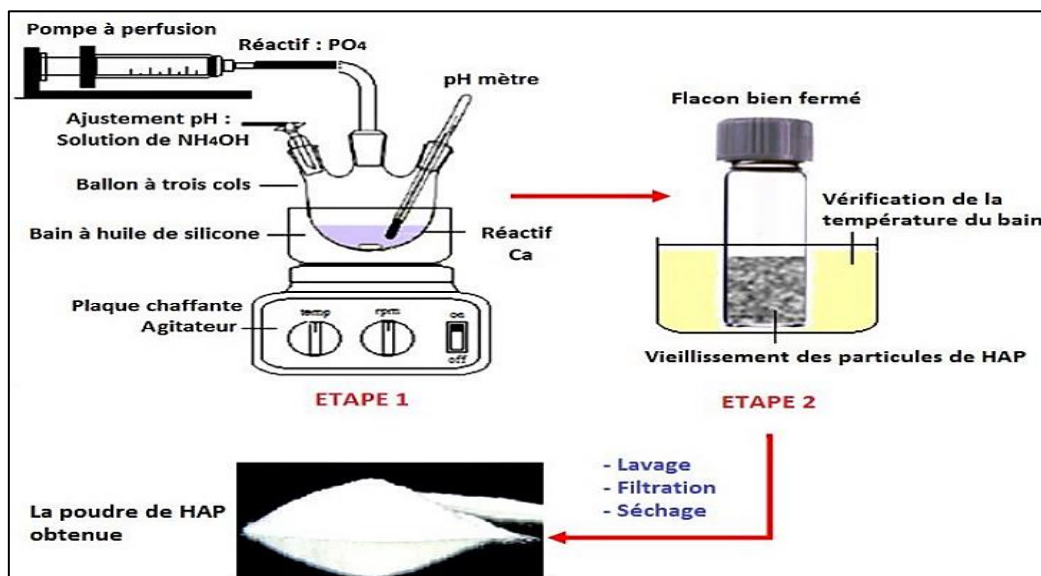


Figure I.11: Schéma du processus de précipitation pour la synthèse de HAP [38].

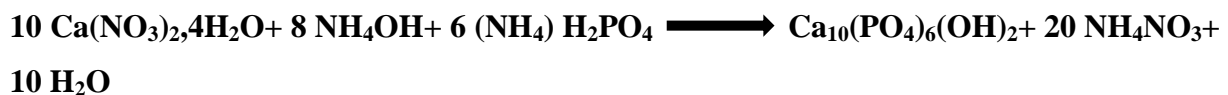
Elle regroupe deux méthodes de synthèses qui sont :

➤ **Méthode par double décomposition**

Consiste à ajouter de façon contrôlée une solution du sel de cation Me^{2+} dans une solution du sel de l'anion XO_4^{3-} . Le précipité est ensuite lavé et séché. Cette technique permet également d'obtenir des apatites mixtes (contenant deux cations différents) avec une maîtrise du rapport Me_1/Me_2 . Les sels des deux cations sont introduits simultanément dans le réacteur avec le rapport atomique Me_1/Me_2 désiré [39].

C. Liu et al. ont synthétisé l'HAP par précipitation à 35°C à partir de $Ca(NO_3)_2$ et $(NH_4)_2HPO_4$ à Ph comprise entre 10-11. Ils ont montré qu'au début de la réaction le rapport Ca/P est inférieur à 1,5, valeur atteinte en 10 min, et qu'un temps considérablement long était nécessaire pour obtenir le rapport stœchiométrique de 1,67 [40].

La préparation la plus courante est celle décrite par la réaction suivante :



➤ **Méthode par neutralisation**

Cette méthode consiste à neutraliser une solution de lait de chaux $Ca(OH)_2$ en y ajoutant une solution d'acide phosphorique. Cette réaction permet d'obtenir rapidement de grandes quantités d'hydroxyapatite phosphocalcique [41]. La réaction mise en jeu est la suivante :

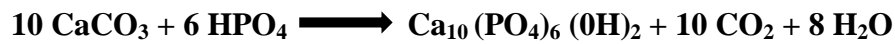


B) Voie hydrothermale

Le principe de la synthèse hydrothermale consiste à chauffer au-dessus 100°C un mélange de réactifs en solution sous une pression suffisamment haute (>1atm) de telle sorte à permettre une élévation de la température tout en empêchant l'eau de s'évaporer. Cette méthode conduit à l'obtention de poudres d'HA fines, homogènes et bien cristallisées. Au début la méthode hydrothermale a été utilisée pour préparer de l'HAP directement à partir du corail qui est un matériau contenant de l'aragonite ($CaCO_3$ cristallisé dans le système orthorhombique) suivant la réaction [42]:



Dans une étude récente, Masahiro Yoshimura et al. ont réalisé la transformation hydrothermale de la calcite en hydroxyapatite en présence de solution saturée d'acide orthophosphorique dans un autoclave à 20 et 180°C (le pH étant maintenu à 7 avec de l'ammoniaque) et proposé ainsi le mécanisme de dissolution/précipitation suivant [43]:



C) Méthode sol-gel

La méthode sol-gel est très adaptée pour la synthèse de l'hydroxyapatite car elle favorise le mélange des deux réactifs calciums et phosphore, et entraîne ainsi la formation de mélanges homogènes. Ainsi, cette méthode est très efficace pour la préparation de poudres de HAP pure de structure et cristallinité qui varient (nanocristalline, nano- ou micro-particules, etc.) selon l'approche expérimentale choisie. Ceci est privilégié pour son application dans le biomédical (interaction avec les tissus vivants) [17].

Le processus de vieillissement de la solution des précurseurs est très recommandé afin d'achever la réaction de polymérisation entre les deux précurseurs.

D.Liu et al. [44] ont étudié l'effet du temps et de la température du vieillissement des sols de HAP sur la formation de la phase apatitique.

Le sol de HAP, préparé par mélange des deux solutions aqueuses de triéthylphosphite et de nitrate de calcium sous agitation et à température ambiante, est partagé en quantités égales puis vieillis à des temps compris entre 15 minutes et 24 heures à température ambiante et sont également portés à différentes températures, allant de 35 à 80 °C.

Les solutions vieilles ont été ensuite chauffées à 80 °C pendant 16 heures jusqu'à obtention du gel séché qui a été calciné à 400 °C et 500 °C pendant 10 min.

Les résultats de quelques études récentes ont montré que certaines propriétés physiques telles que la constante diélectrique et la polarité du solvant utilisé dans le procédé sol-gel peuvent influencer sur la structure chimique et les propriétés morphologiques des phosphates de calcium produits [45].

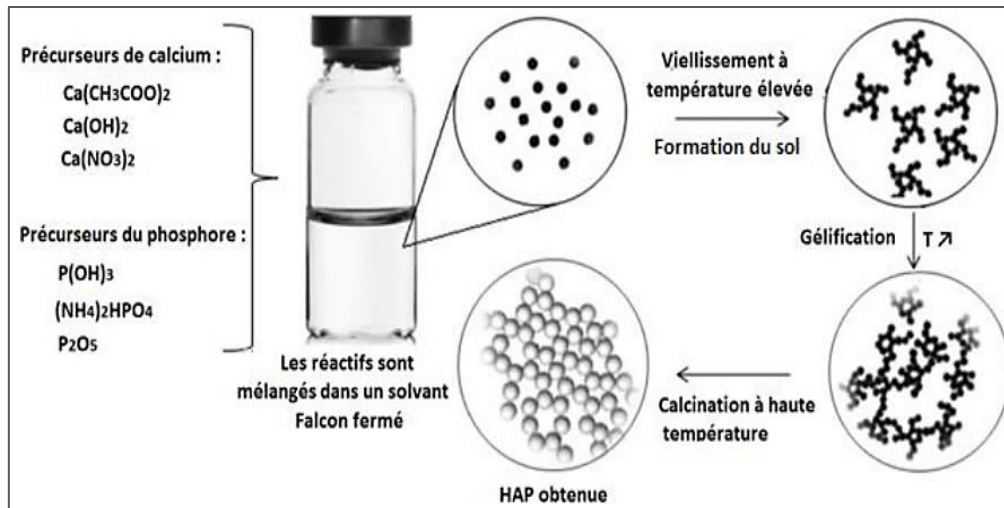


Figure I.12 : Synthèse de l'hydroxyapatite selon le processus de vieillissement [38].

I.3.4.2. Synthèse par voie sèche

Dans cette méthode, la réaction de synthèse de l'hydroxyapatite est réalisée à l'état solide. Peu utilisée, cette méthode permet d'élaborer des apatites phosphatées à des températures très élevées, comprises entre 700 et 1000 °C [46]. Donc son principe repose sur la calcination des réactifs solides en quantités stœchiométriques [47].

Le mode opératoire consiste à chauffer un mélange réactionnel constitué de sels ioniques (cation et anion) dont le rapport est de 1,67. Ce mélange doit être parfaitement homogène pour permettre une réaction totale [2].

Cette voie de synthèse possède l'avantage de former des produits de composition stœchiométrique, elle permet ainsi d'obtenir des matériaux d'une grande pureté. Elle nécessite peu de matériel en la comparant aux méthodes réalisées par voie humide cependant, son coût énergétique reste élevé (synthèse à des températures élevées) [41].

I.4 Généralités sur le phosphate noir

L'écorce terrestre renferme un nombre important de gisements phosphatés d'origine ignée et sédimentaire. Ces derniers, qui tiennent leur source de l'accumulation des ossements d'espèces marines il y a des millions d'années, sont les plus importants en nombre et en volume. Ils se répartissent dans plusieurs parties du monde avec des propriétés chimiques et physiques très variées [48].

Les phosphates naturels constituent une source de matière première absolument indispensable pour l'humanité. Compte tenu de leurs applications potentielles dans de nombreux secteurs industriels : engrais, métallurgie, textile, détergents, pharmacie, chimie et autres, un intérêt particulier est porté à leur exploitation et à leur valorisation [49].

Dans notre étude ; le précurseur naturel utilisé pour l'élaboration de l'hydroxyapatite naturelle est le phosphate noir de Djebel Onk (Tébessa) en Algérie, nous allons le présenter de manière brève dans ce qui suit.

I.4.1 Présentation des phosphates de Djebel Onk d'Algérie

La région de Djebel Onk est située à l'Est de l'Algérie, à 100 km au Sud-Est de la wilaya de Tébessa. Le gisement de Djemi Djema est situé à 5 km au Sud-Ouest de la ville de Bir El Ater (Tébessa), la géométrie du gisement est plus favorable pour l'exploitation puisque la couche de phosphate est de 25 à 28 m d'épaisseur n'est recouverte de 30 à 40 m de stérile [50].

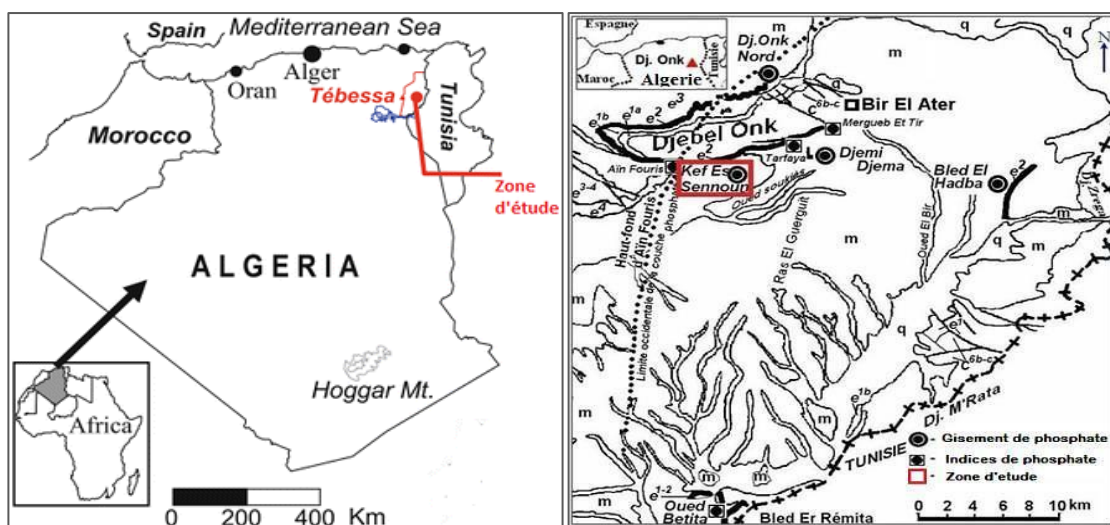


Figure I.13 : Situation géographique de Djebel Onk Wilaya de Tébessa

I.4.2 Caractéristiques générales des phosphates de Djebel Onk

Les minerais de Djebel Onk sont des phosphates en grains, sableux, à support organique, dont la granulométrie appartient le plus souvent à la classe des arénites (grains inférieurs à 2mm), le plus rarement à celles des redites (proportion de grains supérieurs à 2mm).

Les faciès sont homogènes, à grains fins (200 à 300 μ m). Le ciment peut être argileux, calcique ou dolomitique.

Les faciès phosphatés ont une couleur généralement beige à brune, mais peuvent être gris foncé à noir à la base de la couche [51].

I.4.3 Composition chimique du Phosphate noir de Djebel Onk

L'analyse chimique du phosphate noir de Djebel Onk (Djemi-Djama) effectuée par N. Benabdeslam [50], montre la présence des composants suivants : Na₂O, K₂O, P₂O₅, MgO, CaO, SiO₂, Al₂O₃ et Fe₂O₃.

Le phosphate noir est surtout composé de carbonate, d'hydroxyapatite, fluoroapatite, carbonate fluoroapatite et dolomite. On distingue aussi des minéraux secondaires tels que le quartz, la calcite, les argiles, la fluorine, le feldspath (microcrine) et l'hématite [49].

I.4.4 Différents gisements de phosphate de Djebel Onk

La région de Djebel-Onk présente une série de sept gisements qui sont soumis à l'expertise ; trois sont attendants à l'exploitation (Djemi Djema Est et Ouest et Kef Es Sennoun) et trois en sont éloignés de 6 à 35Km (Djebel Onk nord, Bled el Helba, Oued Betita).

- Gisement de Djemi Djema: Exploité depuis 1965 par l'ENFerphos est situé à 7Km à l'ouest de la ville de Bir El Ater, ville située à 20Km de la frontière Algéro-tunisienne.
- Gisements de Djemi Djema Est et Ouest : S'étendent jusqu'à environ 1Km au nord-ouest de celle-ci.
- Gisement potentiel de Kef Es Sennoun : Situé à 2Km de l'ouest de Djemai Djema et à 1Km de l'extrémité occidentale de la carrière du gisement de Djemi Djema Ouest.
- Gisements potentiels de Djebel –Onk Nord : Situé à 6Km au Nord du centre minier de Djemi Djema. Il présente les meilleures ressources en phosphates dans tout le bassin phosphaté de Djebel –Onk.

- Gisement potentiel de Oued Betita : Est le plus éloigné de tous les gisements étudiés il est situé à 35Km au sud de centre minier du gisement Djemi Djema et distant de 1Km de la série phosphatée de la Mide en Tunisie.
- Gite de Bled El Hadba : Situé à 14Km au Sud-Est du gisement du flanc Djebel Onk (Djemi Djema et Kef Es Sennoun) et à 6Km de la frontière Algéro-tunisienne [52].

Référence :

- [1] H. Autefage, Rôle ostéoinducteur d'un revêtement d'apatite carbonatée nanocristalline sur des céramiques de phosphate de Calcium biphasique, Thèse de Doctorat, l'université Toulouse III - Paul Sabatier, 2009.
- [2] O. Britel, Modélisation et optimisation par la méthodologie des plans d'expériences de la synthèse : de l'hydroxyapatite phosphocalcique - du phosphate tricalcique apatitique - du phosphate de calcium apatitique carbonate, Thèse de Doctorat, université Mohammed v – agdal faculté des sciences rabat, 2007.
- [3] F. Errassifi, Mécanismes d'adsorption du risédronate par des phosphates de calcium biologiques : Applications aux biomatériaux matériaux, Thèse de Doctorat, Marrakech, 2011.
- [4] A. M. Parfitt, Osteonal and hemiosteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *Cell Biochem Suppl* 55(1994) 273- 286
- [5] K. Mehdi, Elaboration et Caractérisation d'un Biomatériau Composite Poreux : Hydroxyapatite-Gélatine, Mémoire de Master, Université A. Mira- Bejaïa, 2018.
- [6] E.Fattal, Matériaux pour la médecine de demain, Institut Galien Paris-Sud, Université Paris-Sud 75000 Paris, France Med Sci (Paris) 2017.
- [7] D. Kherifi, Synthèse de l'hydroxyapatite par voie sol-gel, Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique, université Mohamed Boudiaf - M'SILA, (2017).
- [8] W. Elam, les alliages de titane pour médicale, metalblog le blog des experts de la métallurgie, publier 2018.
- [9] A. Boyer, Synthèse, Caractérisation Et Evaluation Biologique D'apatites Phosphocalciques Carbo-Silicatées, Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Des Mines De Saint-Etienne, 2014.
- [10] S. Ziani, Synthèse, Etude Physico-chimique et Comportement Microbiologique D'une Hydroxyapatite Modifiée et Greffée Par La B-Cyclodextrine, Thèse de Doctorat, Université A. Mira Bejaia, 2015.

- [11] N. Vandecandelaere, *Élaboration et caractérisation de biomatériaux osseux innovants à base d'apatites phospho-calciques dopées*. Thèse de Doctorat, de l'Université de Toulouse, France, 2012.
- [12] K. Anselme, Osteoblast adhesion on biomaterials, *Biomaterials*, 21 (2000) 667– 681.
- [13] E. Justice-Espenan, *Etude comparative en tomographie volumique des résidus de ciments d'obturation canalaire après desobturation endodontique*, Thèse de Doctorat, Université Toulouse III-PAUL SABATIER, 2018.
- [14] JR. Lieberman, Gene transfer approaches to the healing of bone and cartilage, *Mol Ther* 6 2(002) 141-147.
- [15] RT.Chiroff, Tissue ingrowth of replamine form implants, *J Biomed Mater Res* 9 (1975) 29-45.
- [16] M. E. Belgherras, *Comportement mécanique du ciment orthopédique sous chargement dynamique, pour l'obtention de doctorat, université Djillali Liabes Sidi Bel-abbes faculté des sciences de l'ingénieur 2017/2018*
- [17] N. Khales, *Revue Bibliographique autour de l'Hydroxyapatite » Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master, Université A. Mira Bejaia, 2019.*
- [18] H.J. Breme, *Metals and Implants. Metals as Biomaterials*, éd. Wiley and Sons, pp. 36-71
- [19] P.G. Laing, Tissue reactions in rabbit muscle exposed to metallic implants. *J. Biomed. Mater. Res.* 1, pp. 135-149, (1967)
- [20] C. Piconi, Zirconia as a ceramic biomaterial, *J. Biomater*, 20, pp. 1-25, (1999).
- [21] J. Funky, *Biomater Properties and Applications of Dense Hydroxyapatite: A Review Journal of Functional Biomaterials» ISSN 2079-4983Published 2015*
- [22] B.B. Doyle, Infrared spectroscopy of collagen and collagen like polypeptides. *Biopolymers* 14 (1975) 937-957.
- [23] K. A. Hing, *Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering Lond. A, Vol. 362, pp. 2821–2850. (2004)*

- [24] S. Meski, Etude de la rétention de métaux lourds sur les apatites : Modélisation du procédé de sorption et l'élaboration des apatites par les plans d'expériences, Thèse de Doctorat, Université A. Mira de Bejaia, 2012.
- [25] S. Saoiabi, Nanoporous surface of organ functionalized hydroxyapatite fabricated from natural phosphate rock, *Materials Letters*, 64 pp 2679–268, 2010.
- [26] F. Cabanes, Déphosphoration des effluents : précipitation et valorisation du phosphore, Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2006.
- [27] F. W. Schwartz, Lead immobilization by hydroxyapatite in aqueous solution, *Journal of contaminant hydrology*, 15 pp 187-206, 1994.
- [28] A.Y. Desai, Fabrication and characterization of titanium-doped Hydroxyapatite thin films, Mémoire de Magister, Université de Cambridge, 2007.
- [29] N. Oubagha, Décontamination des Eaux Contenant les Colorants Textiles et les Adjuvants par des Matériaux Naturels et Synthétique, Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, 2011.
- [30] Y. Avnimelech, Solubility and surface properties of finely divided hydroxyapatite, *Journal of Research of the National Bureau of Standards-A. Physics and Chemistry*, 77A, pp 149-153, 1972.
- [31] R. R. Sheha, Sorption behavior of Zn (II) ions on synthesized hydroxyapatite, *Journal of Colloid and Interface Science*, 310 pp18-26, 2007.
- [32] Keleş E, Removal of Pb²⁺ from aqueous solutions by rock phosphate (low-grade), *Desalination*, Vol. 253, 124–128, 2010.
- [33] S. V. Dorozhkin, Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine *Materials*, 2 pp 1975-2045, 2009.
- [34] Z. Balla, Elaboration de l'hydroxyapatite à partir du phosphate noir (Tébessa), Mémoire d'ingénieur, université de Bejaia, 2012.
- [35] M. Sadat-Shojai, Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures, *Acta Biomaterialia* 7591–7621, 2013.

- [36] A. Cuneyt Tas, Combustion synthesis of calcium phosphate bioceramic powders, J. of the European Ceramic Society, 20, pp. 2389-2394, 2000.
- [37] F-Z MEZAH, Caractérisations physico-chimiques et Cinétique de bioactivité des biomatériaux : Hydroxyapatite et Verre bioactif 52S4 élaboré par fusion et par voie sol-gel, doctorat en physique des matériaux, métallurgie, p15, 2009.
- [38] D. S. GOMES, A brief review on hydroxyapatite production and use in biomedicine, Federal University of Campina Grande, Graduating Program in Materials Science and Engineering, Campina Grande, PB, Brazil ,p282,283.
- [39] J.A. RiveraI G, Hydroxyapatite synthesis using microwave irradiation during the Crystallization, 15, 506-515, 2011.
- [40] C. Liu, Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11, Biomaterials, 22, pp. 301-306, 2001.
- [41] S .El Asri, Nouveaux matériaux de structure apatite préparés à partir du phosphate naturel marocain à applications environnementales, Thèse de Doctorat, Université Mohammed V- AGDAL, Maroc, 2009.
- [42] Tiffany T.Y. Huang, Acta Biomaterialia, Mechanical behaviour of porous hydroxyapatite, 4, pp. 577–586, 2008.
- [43] M. Yoshimura, Hydrothermal conversion of calcite crystals to hydroxyapatite, Materials Science and Engineering, C 24, pp. 521-525, 2004.
- [44] D.-M. Liu, Aging effect on the phase evolution of waterbased sol-gel Hydroxyapatite, Biomaterials, 23, pp. 1227-1236, 2002.
- [45] M.A. Nazeer, Effect of reaction solvent on hydroxyapatite synthesis in sol–gel process, R. Soc. Open Sci. 4, 171098, 2017.
- [46] H. Saouli, Etude de l'influence des paramètres opératoires sur le rendement de rétention des métaux lourds sur des phosphates de calcium, Mémoire magistrale, Université de Mouloud Ammrameri Tizi Ouzou.
- [47] Rey, C. Combes, Comprehensive Biomaterials, Elsevier, Oxford, p. 187

- [48] S. El Asri, A novel process for the fabrication of nanoporous apatites from Moroccan phosphate rock, *Journal of Colloid and Interface Science*, 350 pp 73–78, 2009.
- [49] D. Merabet, Influence de la composition chimique et minéralogique du phosphate noir du gisement de Djebel Onk (Tébessa) sur le procédé de traitement, pp. 69-85, (2004).
- [50] N. Benabdeslam, influence de la matière organique de phosphate noir de Djebel Onk (Tébessa-Algérie) sur le procédé de traitement, Thèse de Doctorat, Université de Bejaia, 2007.
- [51] S Diallo-Garcia, Hydroxyapatites, un système basique atypique modulable par la synthèse : vers l'identification des sites actifs, Thèse de Doctorat, Université Pierre Et Marie Curie, 2012.
- [52] H. Elmsellema, Synthèse du phosphatetricalcique apatitique et sa céramisation en β -TCP, Mémoire de Master, Université Ferhat Abbas Sétif, 2012.
- [53] A. Zebboudji, Influence des paramètres de broyage sur les caractéristiques minéralogiques de minerai de phosphate noir de Djebel Onk, Mémoire de Master, université de Bejaia, 2014

Chapitre II :
procédure et méthodes
de caractérisation

Au cours de ce chapitre nous décrivons les protocoles d'extraction de la poudre d'hydroxyapatite naturelle à partir du phosphate noir et celui de synthèse de la poudre d'hydroxyapatite synthétique et ce en première partie.

L'étude de la toxicité de la poudre naturelle fera l'objet de la deuxième partie tandis que la troisième partie est consacrée à l'étude de l'activité antibactérienne des deux poudres obtenues.

II.1. Obtention des poudres d'hydroxyapatites

Nous avons procédé à la préparation des poudres d'hydroxyapatite comme suit :

- Une poudre naturelle extraite à partir du phosphate noir de djebel Onk.
- Une poudre synthétisée à partir d'une solution de phosphate diammonium $((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4)$, et une solution de nitrate de calcium $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_{2,4}\text{H}_2\text{O})$.

II.1.1. Synthèse de la poudre d'hydroxyapatite naturelle

Une masse de 30g de phosphate noir est broyée et tamisée afin de séparer la fraction granulométrique $D < 100 \mu\text{m}$.

Dans un bécher, on fait dissoudre les 30g de phosphate noir dans 500 ml de solution d'acide nitrique HNO_3 à 1,5M.

Le mélange est maintenu sous agitation pendant 2h à température ambiante ; Après dissolution du phosphate noir, on filtre ; Le filtra récupéré est neutralisé par un volume d'ammoniaque concentré (30%- 33%) jusqu'à atteindre un pH compris entre 10 et 11 ; Le précipité formé est laissé sous agitation pendant 24h, après agitation le précipité est filtré, lavé à l'eau distillée puis séché à l'étuve à 100°C pendant 24h.

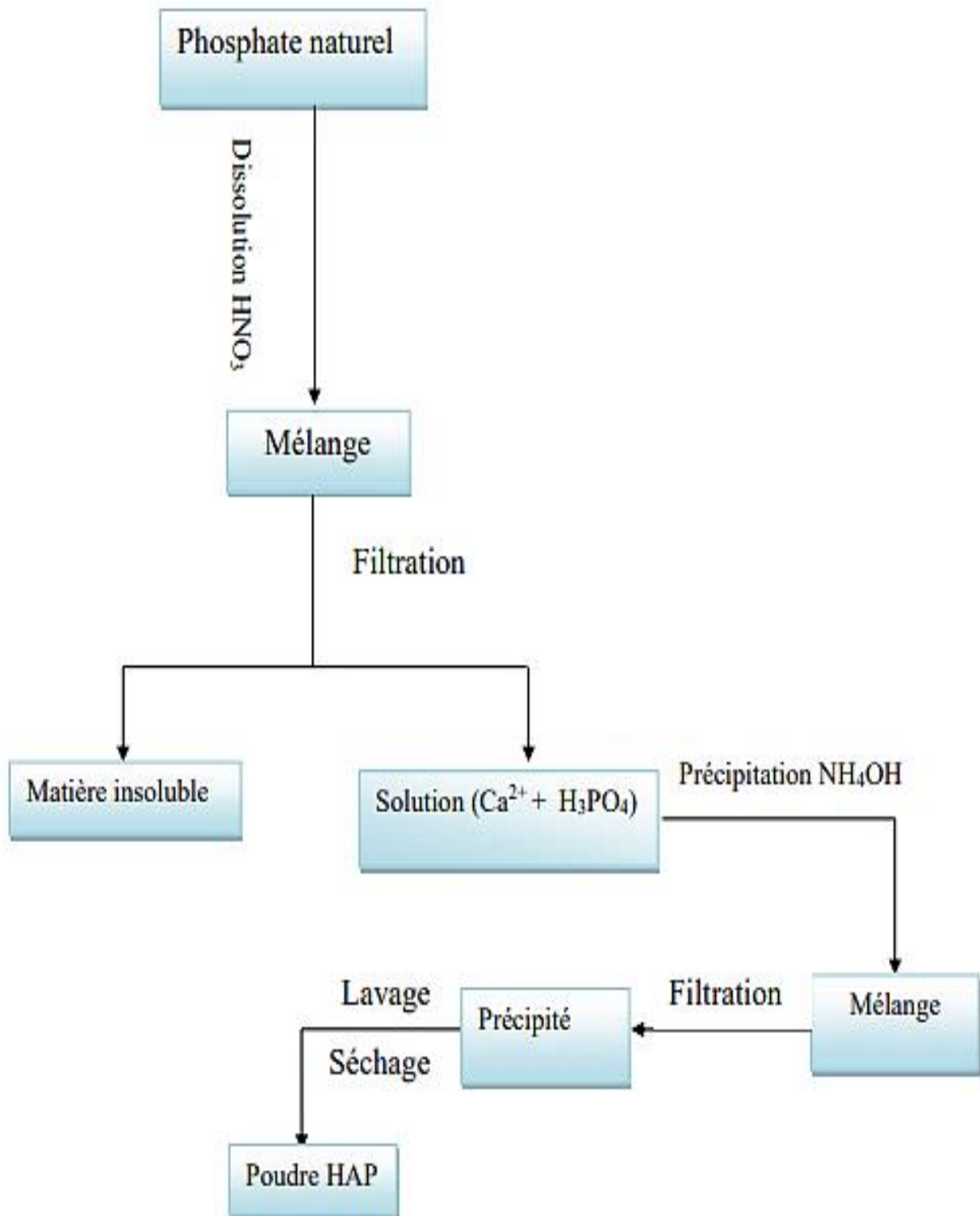
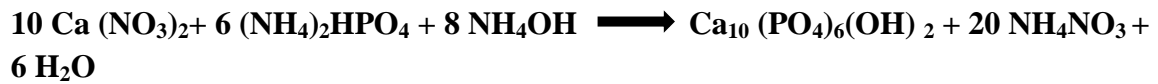


Figure II.1 : Organigramme schématisé des étapes du procédé d'extraction de l'HAP à partir du phosphate brut.

II.1.2. Synthèse de l'hydroxyapatite synthétique

La poudre d'HAP stœchiométrique (Ca/P= 1,67) est synthétisée par précipitation en voie aqueuse en utilisant une solution de phosphate diammonium ((NH₄)₂HPO₄), et une solution de nitrate de calcium (Ca(NO₃)₂·4H₂O) selon la réaction :



Les solutions sources de phosphate et de calcium sont préparées de la manière suivante :

- La solution de phosphate (PO₄³⁻) est obtenue par dissolution d'une masse du (14.4g) de phosphate diammonium dans 250 ml d'eau distillée.
- La solution de calcium (Ca²⁺) est préparée par dissolution d'une masse du (49.4g) nitrate de calcium (99%-100%) dans 250 ml d'eau distillée.

Sous agitation continue, la solution de phosphate est ajoutée goutte à goutte à la solution de calcium; au cours de la réaction, le pH diminue ; Nous ajoutons une quantité d'ammoniaque à chaque fois qu'il est nécessaire ; pour ajuster le pH jusqu'à maintenir la valeur du pH supérieure à 10.

Le mélange est laissé sous agitation continue pendant 72h ; le précipité formé est ensuite filtré, lavé à l'eau distillée puis séché à 100°C dans une étuve pendant 24h.

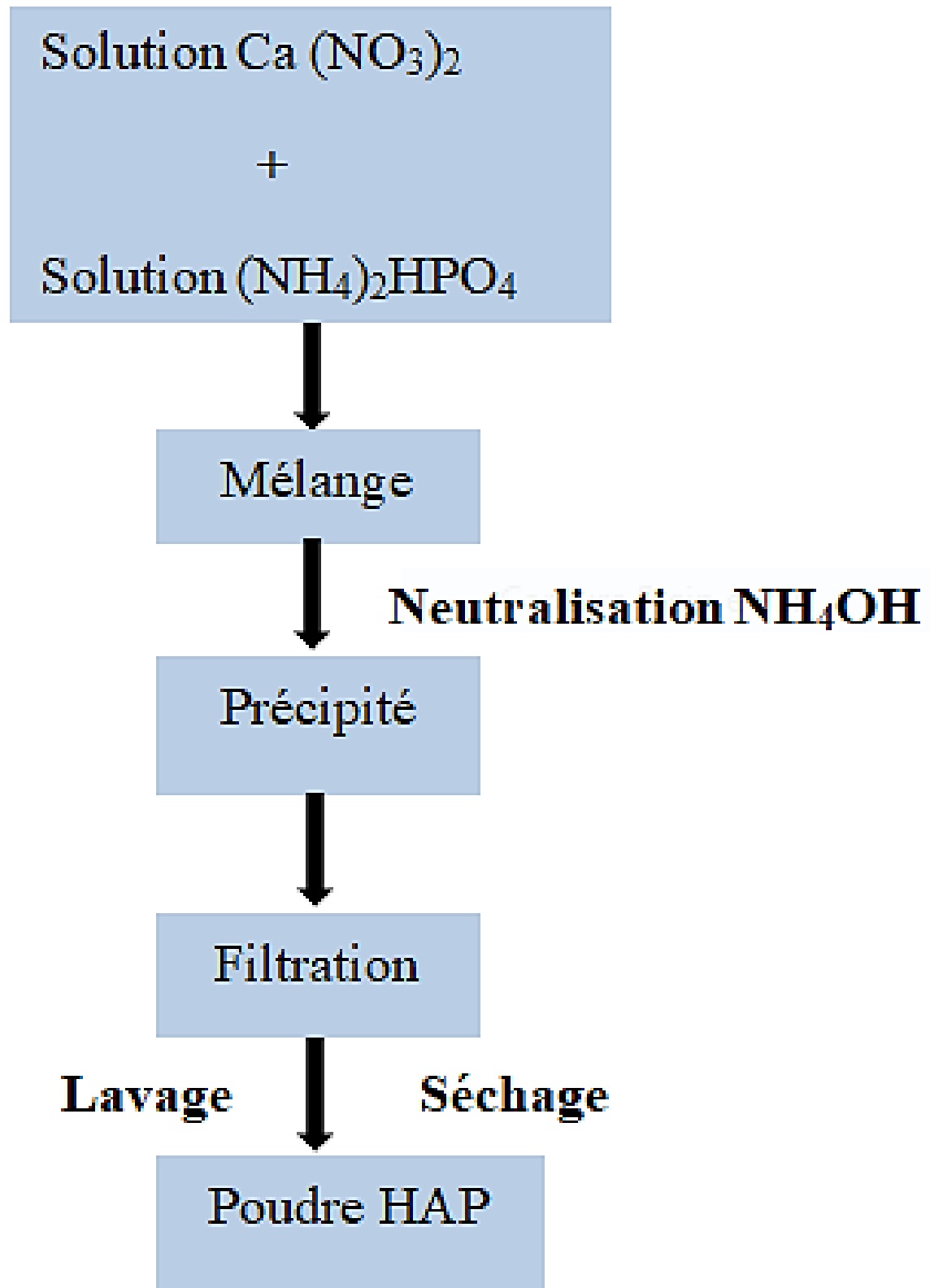


Figure II.2 : Organigramme schématique des étapes de synthèse de l'HAP synthétique.

II.1.3. Spectroscopie IR

La spectroscopie d'absorption infrarouge est considérée comme une méthode analytique très puissante car elle permet d'identifier un grand nombre d'espèces chimiques [1].

La Spectroscopie Infrarouge est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par l'échantillon analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des groupements fonctionnels présents dans l'échantillon [2].

L'échantillon à analyser est éclairé par un faisceau infrarouge qui le traverse en excitant la structure des molécules le constituant. Le Détecteur qui reçoit le faisceau transmis capte un ensemble de raies, qui forment ce qui est appelé un spectre [1].

L'analyse est effectuée dans l'infrarouge moyen ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) à l'aide du spectrophotomètre à transformé de Fourier (FTIR) (Thermo Scientific- iD1- NICOLET iS5) piloté par un microordinateur.

Afin d'analyser les poudres d'HAP par IR ces dernières sont mises sous forme de pastilles mélangées au KBr (2 mg de poudre et 80 mg de KBr). Le mélange est broyé et intimement mélangé et pressé à l'aide d'une pastilleuse (Pressure Garde-Shimadzu K N).

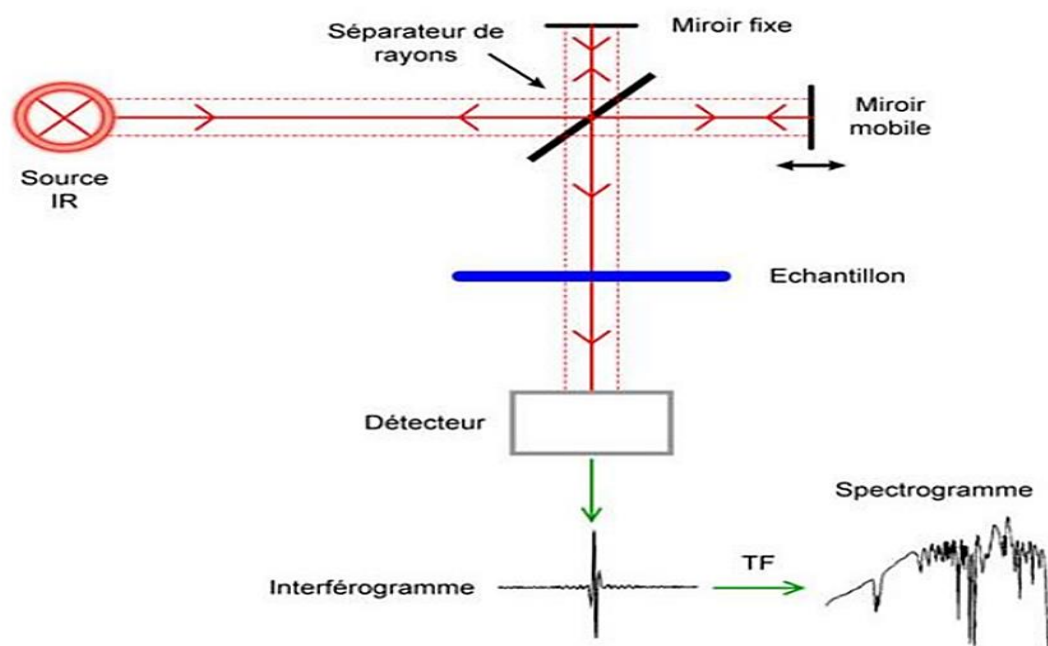


Figure II.3 : Schéma de principe de l'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge [3].

II.2. Etude de la toxicité de la poudre d'hydroxyapatite naturelle

Afin de vérifier le caractère toxicité de la poudre d'hydroxyapatite extraite à partir du phosphate noir cette dernière a été immergée dans un fluide biologique simulé et ce pour des temps d'immersion de 1, 3, 5, 7, 10, 15, 21 jours.

À l'issu de l'immersion les solutions récoltées ont été analysées par SAA afin vérifier la présence de certain éléments toxiques comme le cadmium, plomb et chrome présents initialement dans le phosphate noir.

II.2.1. Préparation de la solution SBF

La solution Simulated Body Fluid (SBF) utilisée pour cette étude est définie par Kokubo. Un volume d'eau distillée, placé dans une fiole de 1 L, est chauffé à 37°C sous agitation magnétique via une plaque chauffante régulatrice équipée d'une sonde de température. Une quantité précise des réactifs présentés dans le Tableau ... est ensuite ajoutée dans l'ordre suivant : chlorure de sodium (NaCl), hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO₃), chlorure de potassium (KCl), phosphate de dipotassium trihydrate (K₂HPO₄.3H₂O), chlorure de magnésium hexahydrate (MgCl₂.6H₂O), acide chlorhydrique à 1 mol·L⁻¹ (HCl), chlorure de calcium (CaCl₂), sulfate de sodium (Na₂SO₄), et Tris(hydroxyméthyl)-aminométhane (NH₂C(CH₂OH)₃ ou TRIS). La dissolution totale d'un sel est attendue avant d'ajouter le sel suivant. Une fois tous les sels dissous, le pH de la solution est ajusté, si nécessaire, à la valeur de 7,40 à l'aide de HCl. De l'eau distillée est ensuite ajoutée pour compléter la fiole à un volume de 1 L [4].

Tableau II.1 : Réactifs utilisés pour la préparation d'un litre de solution SBF à 37°C [4].

Ordre	Réactifs par ordre de dissolution	Quantité (g)
1	Chlorure de sodium NaCl	7,996
2	Hydrogénocarbonate de sodium NaHCO ₃	0,350
3	Chlorure de potassium KCl	0,224
4	Hydrogénophosphate de potassium trihydraté K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,228
5	Chlorure de calcium hydraté MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305
6	Chlorure de calcium CaCl ₂	0,278
7	Sulfate de sodium Na ₂ SO ₄	0,071
8	Tris (Trishydroxyméthylaminométhane) (CH ₂ OH) 3CNH	6,057
9	Acide chlorhydrique HCl pour ajuster le pH	pH=7.42

II.2.2. Préparation des pastilles

Avant de transformer les poudres en pastilles, ces dernières sont séchées à 80°C pendant 24h.

Les poudres sont alors déposées dans un moule à pastilles (une masse de 200 mg pour chaque échantillon) puis soumises à une pression de 80 pendant quelques minutes dans une presse hydraulique sous vide. Elles sont ensuite extraites du moule sous la forme de pastilles de 13 mm de diamètre et 1 mm d'épaisseur.

II.2.3. Protocole expérimental d'immersion

Le volume de solution SBF à ajouter dépend de la surface apparente (S_a) des échantillons selon l'expression ci-dessous :

$$V_{\text{SBF}} = S_a / 10$$

La surface apparente des pastilles denses de l'étude étant de l'ordre de 306.3 mm² (13mm de diamètre, 1 mm d'épaisseur), le volume de solution SBF nécessaire pour réaliser les essais de bioactivité est de 30.63 ml. L'immersion des échantillons se fait dans des flacons en polyéthylène de 50 ml avec bouchon. Les pastilles sont maintenues à la verticale, au fond des flacons.

Les flacons sont ensuite placés dans un incubateur réglé à 37°C (thermo scientific MAXQ 4000) pendant les temps d'immersion suivants : 1 jour, 3 jours, 5 jours, 7 jours, 10 jours, 15 jours et 21 jours. A l'issue de ces différentes immersions, les pastilles sont trempées quelques secondes dans de l'eau distillée pour stopper l'action du SBF puis mises à sécher à l'air libre. Les solutions SBF après immersion des échantillons sont récoltées et conservées à 5°C.

II.2.4. La spectrométrie d'absorption atomique SAA

La Spectrométrie d'Absorption Atomique est une technique fréquemment utilisée par les laboratoires d'analyse environnementale pour le dosage des métaux lourds dans différents types de matrices tels que les sédiments, les roches, l'eau et le sable. Elle étudie les émissions ou absorptions de lumière par l'atome libre, suite à la variation de son énergie par passage d'un de ses électrons externes entre deux niveaux voisins. La spectrométrie par absorption permet de doser plusieurs éléments chimiques de faible concentration (même à l'état de traces). Cette technique d'analyse se base sur l'absorption de photons par des atomes qui sont à l'état fondamental [5].

A) Principe

Le principe consiste à aspirer l'échantillon sous forme liquide en présence d'une flamme, de sorte qu'il se forme une vapeur atomique (atomes neutres, libres et à l'état fondamental). On irradie cette vapeur avec une lampe spectrale à cathode creuse. Ces lampes émettent des raies de transition des atomes recherchés. Seuls les atomes recherchés absorbent la radiation excitatrice. Ce qui nous permet de lier l'absorption lumineuse à la concentration des atomes étudiés. La formation des atomes neutres est réalisée par la vaporisation et l'atomisation dans une flamme air-acétylène [6]. Le rayonnement non absorbé passe par un monochromateur jusqu'à un détecteur. L'absorption est ensuite mesurée et dépend directement du nombre de particules à l'état fondamental qui est une fonction linéaire de la concentration de l'analyte ($A = k C$, où k est un coefficient propre à chaque élément) [7].

B) Appareillage

Les instruments de base de la spectrométrie d'absorption atomique comportent ces principales parties :

Le faisceau lumineux issu de la source (1) traverse la chambre d'absorption (flamme ou four) (2) dans laquelle l'élément se trouve porté à l'état atomique, avant d'être focalisé sur la fente d'entrée d'un monochromateur (3) qui sélectionne un intervalle très étroit de longueurs d'onde. Le trajet optique se termine sur la fenêtre d'entrée du détecteur [8].

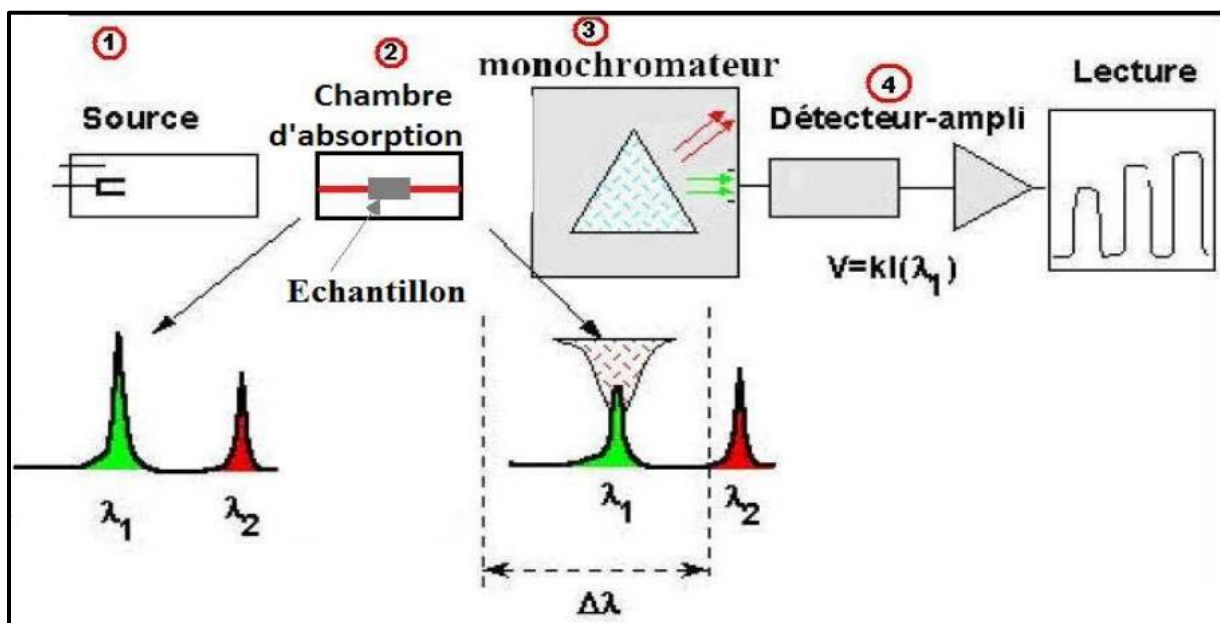


Figure II.4 : Instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique.

➤ **Source lumineuse**

Elle consiste à émettre une radiation de résonance par l'élément qu'on veut doser. Les sources d'émission doivent être stables dans le temps, présenter une luminance élevée pour le spectre de l'élément avec un fond continu faible et enfin avoir une durée de vie assez longue. Elles sont généralement constituées de lampe à cathode creuse ou lampe à décharge électronique [9].

➤ **L'atomiseur**

La SAA nécessite d'avoir les atomes à l'état fondamental, afin d'observer les raies caractéristiques de l'élément. L'atomiseur doit donc fournir des atomes libres sans les exciter. Il faut de la chaleur pour faire passer l'échantillon généralement en solution à l'état gaz atomique. Cette chaleur peut être générée par une flamme ou par un four de graphite. La SAA de flamme analyse seulement les solutions, tandis que la SAA de four de graphite analyse les solutions, les boues liquides et les solides [7].

➤ **Le sélecteur de longueur d'onde (monochromateur)**

Le faisceau incident (source émise) est un spectre de raies qui contient : les raies de l'élément à doser et les raies du gaz de remplissage, les raies d'éventuelles impuretés ainsi que les raies de l'atomiseur (flamme) par conséquent, c'est une lumière polychromatique. Le rôle du monochromateur consiste à éliminer toute la lumière, quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille pour avoir un faisceau monochromatique [10].

➤ **Le détecteur**

Le détecteur est situé à la sortie du monochromateur. Son rôle est de mesurer les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. Donc, il faut convertir ce signal en absorbance et en plus, corriger les absorptions non spécifiques. Dans ce cas, le détecteur doit enregistrer un grand nombre de signaux dans un temps très court [5].

L'analyse spectroscopie d'absorption atomique a été effectués à l'aide d'un spectrophotomètre de type (Thermo Scientific- GFS- iCE 3000 SERIES).

II.3. Activité biologique

La méthode de libération sur agar est utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de HAP_N et HAP_S. Le test est réalisé comme suit:

- Des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, remplies de gélose Muller–Hinton sont ensemencées par écouvillonnage à partir de suspension bactérienne standardisée (10^8 ufc/ml) de la souche '*staphylococcus aureus*'.
- Par la suite, les pastilles sont déposées à la surface de la gélose ensemencée. (Chaque boîte comporte deux pastilles de surface similaire afin de garantir les mêmes conditions expérimentales).
- Afin de valider les résultats, la boîte de contrôle est préparée :
- **Témoin positif** : Par dépôt des disques d'antibiotiques (Gentamicine 10mg) dans des boîtes déjà ensemencées avec la suspension bactérienne standardisée de la souche *S. Aureus*.
- Chaque test a été réalisé en duplicata afin de s'assurer de la fiabilité des résultats.
- Les boîtes sont laissées environ 2h à température basse.
- Après incubation à 37°C pendant 24h, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

Référence :

- [1] S. Boussaria, Préparation et caractérisation des hydroxyapatite, Université Mohamed Khider de Biskra, 2019.
- [2] Y. Zhu, Characterization, dissolution and solubility of cadmium–calcium hydroxyapatite solid solutions at 25 °C, *J. Chem. Geo.*, 423, 34–48, 2016.
- [3] D. Kherifi, Synthèse de l'hydroxyapatite par voie sol-gel, Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique, université Mohamed Boudiaf - M'SILA, 2017.
- [4] T. Kokubo, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 27 2907-2915, 2006.
- [5] D. Hannachi , Dosage de l'Aluminium par SAA-F et de l'Uranium et du Thorium par Spectrométrie Alpha dans le Sable Noir, Université de Tunis El Manar, 2008.
- [6] Kh. Bendada, Optimisation des conditions de dosage par spectroscopie d'absorption atomique (SAAF et SAAET) : Application à la détermination de la pollution et de la bioaccumulation des métaux lourds, U.S.T.H.B, 2011.
- [7] Dr. I. Adouani, Chapitre VI : LA SPECTROSCOPIE ATOMIQUE (SA), Cours, Université Ferhat Abbas Sétif-1, 2020.
- [8] Patnaik .Dean's Analytical Chemistry Handbook (McGraw-Hill Handbooks). Second edition. 1114 p. 2004.
- [9] M. Pinta, Spectrométrie d'absorption atomique Tome 1, Problèmes généraux. Masson, Paris, 696 p, 1979.
- [10] Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation, spectrométrie d'absorption atomique. Axe " Génie des Procédés", Centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne. 43p.

Chapitre III :
Résultats et discussions

Ce chapitre est subdivisé en trois parties, la première concerne la caractérisation et la comparaison de deux hydroxyapatites. L'une a été synthétisée par le procédé de précipitation qu'on va appeler hydroxyapatite synthétique, symbolisée par HAP_S. L'autre a été extraite à partir du phosphate noir, appelée hydroxyapatite naturelle et qu'on va symboliser par HAP_N.

La deuxième partie de ce chapitre est consacrée aux résultats de l'étude de la toxicité de HAP_N par les éléments (cadmium, plomb et chrome) présents initialement dans le phosphate noir. Par la suite on passe aux résultats de l'étude de l'activité biologiques des poudres d'HAP.

III.1. Rendement de la production des poudres d'hydroxyapatite

Le rendement de l'extraction de l'hydroxyapatite à partir du phosphate naturel de Djebel Onk calculé à partir de la relation ci-dessous :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Masse du précipité étuvé}}{\text{Masse du phosphate naturel}} * 100$$

La valeur du rendement obtenu est intéressante dans la mesure où on est arrivé à transformer 71.67 % du phosphate brut en hydroxyapatite.

Par contre le rendement de l'hydroxyapatite produite à partir des produits chimique est de 51,87 %.

III.2. Caractérisation par Spectroscopie Infrarouge (IR)

✓ Phosphate noir

Le spectre IR du phosphate naturel est représenté sur la figure III.1. Nous retrouvons différentes bandes d'absorption dans le domaine des nombres d'ondes [4000 - 400 cm⁻¹], ce qui indique la présence de différents groupements fonctionnels caractéristiques des différentes phases existantes dans le phosphate naturel.

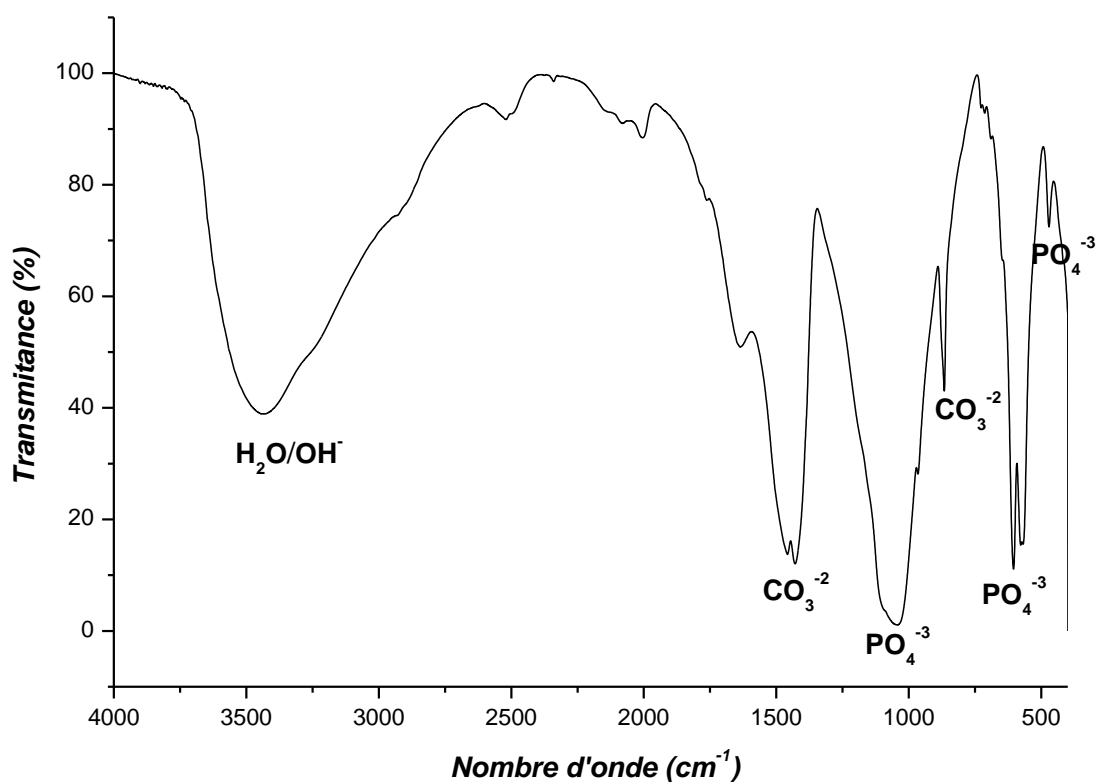


Figure III.1: Spectre IR du phosphate naturel.

Le spectre met en évidence une bande intense située vers 1045 cm^{-1} , attribuée au groupement PO_4^{3-} correspondant à la vibration antisymétrique de la liaison P-O [1,2]. Le doublet observé vers 570 et 602 cm^{-1} , ainsi que le pic situé à 468 cm^{-1} sont attribués au mode de vibration de déformation de la liaison P-O [3,4]. Les bandes d'absorption enregistrées vers 865 , 1429 et 1457 cm^{-1} sont en accord avec les valeurs rapportées dans la littérature indiquant la présence des ions CO_3^{2-} . Une large bande d'absorption située dans le domaine $[3700-3000\text{ cm}^{-1}]$ indique la présence des molécules d'eau à la surface du phosphate brut [7].

✓ Hydroxyapatite naturelle et synthétique

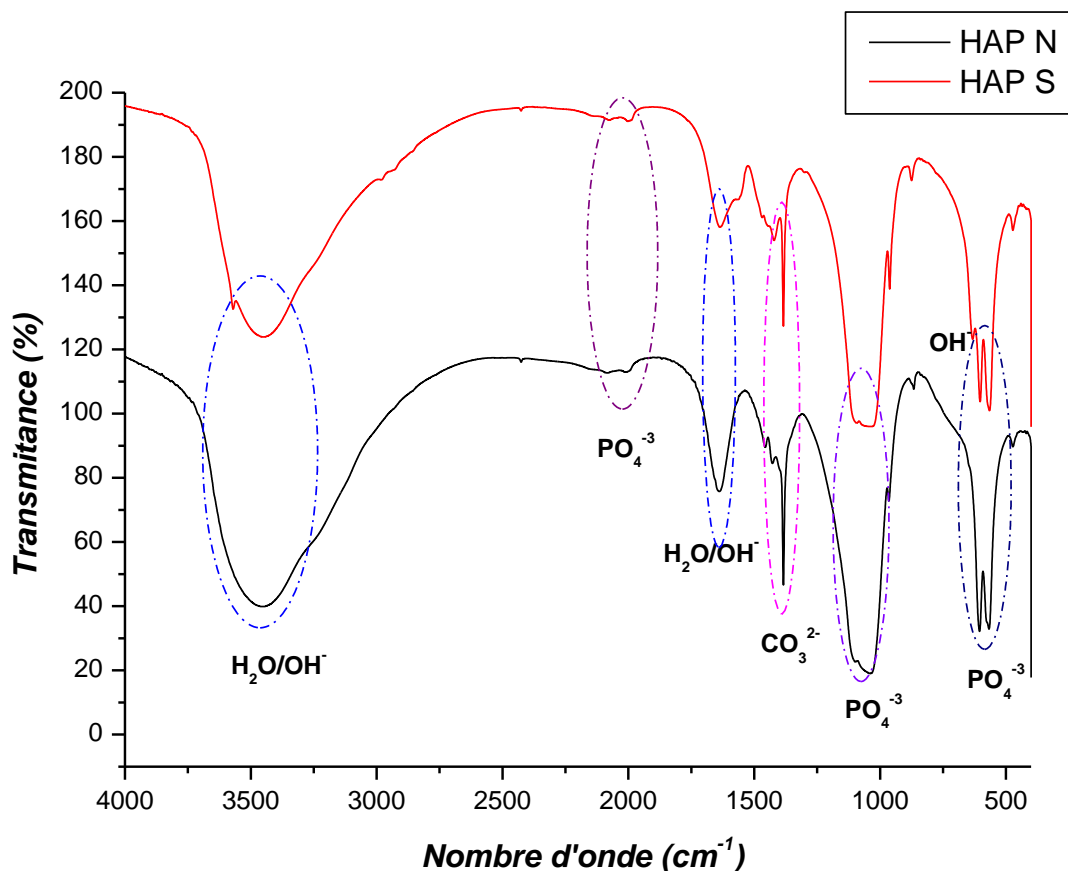


Figure III.2 : Spectres IR de la poudre d'hydroxyapatite synthétisée et naturelle.

Les deux spectres sont similaires et mettent en évidence des bandes liées à l'élongation et à la déformation symétrique du groupement PO_4^{3-} enregistrées à 603 et 565 cm^{-1} respectivement. La bande située dans le domaine [1010-1115 cm^{-1}] est attribuée à l'élongation antisymétrique des groupements PO_4^{3-} , la bande liée à la vibration harmonique des ions phosphates est enregistrée à 1994 cm^{-1} . Une bande relative aux hydroxyles de HAP est visible clairement dans le spectre IR de HAP_S par contre dans celui de HAP_N cette bande n'est visible il se peut qu'elle est confondue avec celle des phosphates.

La figure III.2 montre que les deux poudres obtenues sont carbonatées à travers la présence de la bande liée aux carbonates située à 1383 cm^{-1} . Les spectres IR des deux poudres révèlent deux bandes liées à la présence de l'eau à leur surface, une est large enregistrée dans le domaine [$3678\text{-}2976\text{ cm}^{-1}$] et une autre située à 1638 cm^{-1} [8,9].

Tableau III.1: Position et attribution des bandes de l'HAP [8,9].

Position des bandes (cm^{-1})	Attribution
557	PO_4^{3-} (déformation symétrique)
596	PO_4^{3-} (élongation symétrique)
668	OH^- (bande de libration)
1011	PO_4^{3-} (élongation antisymétrique)
1338	CO_3^{2-} (déformation dans le plan des groupements carbonates)
1630	H_2O (déformation des molécules d'eau liées par des ponts H)
2075-1990	PO_4^{3-} (vibration harmonique)
3600-3000	H_2O (élongation symétrique des molécules d'eau liées par des ponts H)
3600	OH^- (élongation symétrique)

III.3. Caractérisation par diffraction des rayons X

✓ Phosphate noir

Le phosphate naturel du gisement de Djebel Onk (Tébessa) est caractérisé par diffraction des Rayon X (DRX) afin d'identifier les différentes phases qui constituent ce minerai.

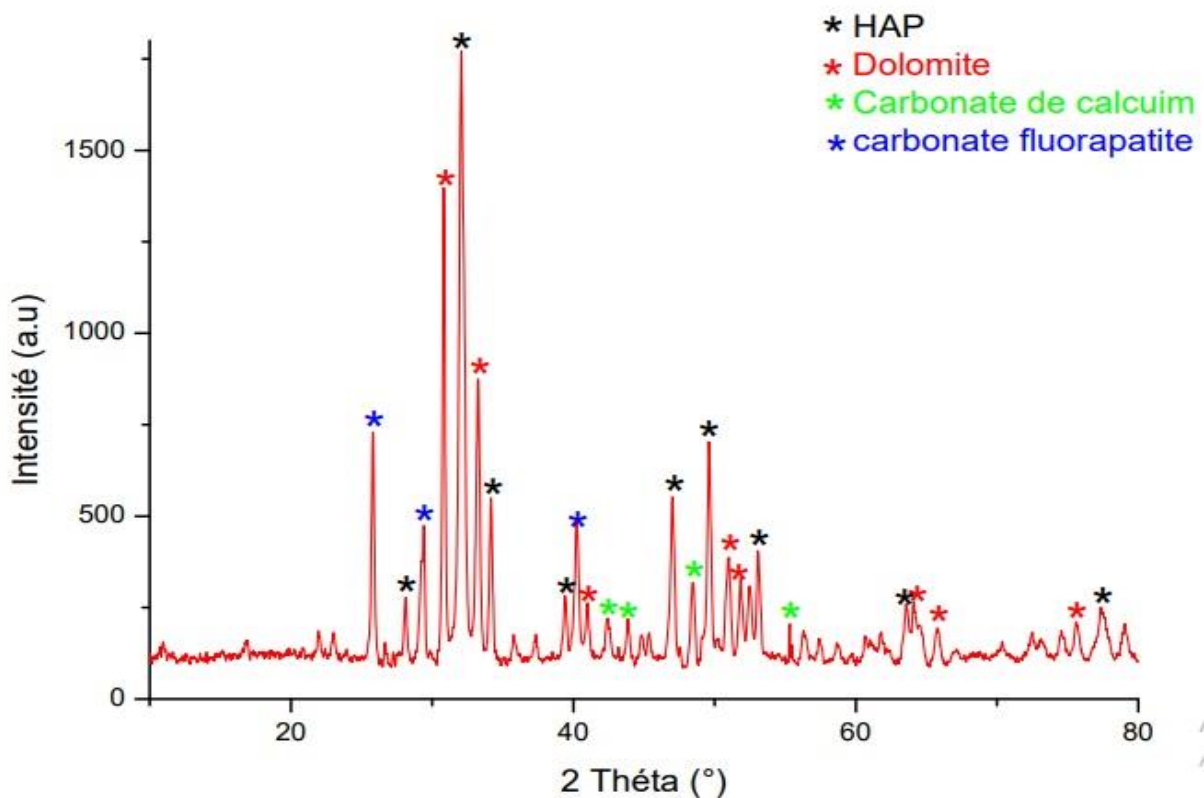


Figure III.3 : Diffractogramme des rayons X du phosphate brut [11].

Les résultats de l'analyse DRX des fractions granulométriques $D < 100 \mu\text{m}$ du phosphate brut, montre la présence des pics de diffraction attribués à la phase hydroxyapatite, d'autres phases sont aussi présentes, à savoir la dolomite $\text{Ca Mg}(\text{CO}_3)_2$, les carbonates de calcium (CaCO_3) et la phase carbonates fluorapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5\text{CO}_3\text{F}_{1.5}(\text{OH})_{0.5}$. Au vu de ces résultats, la phase minérale apatitiques recherchée qui est l'hydroxyapatite est présente dans la fraction granulométriques du phosphate naturel (voir annexe) [11].

✓ Hydroxyapatite naturelle

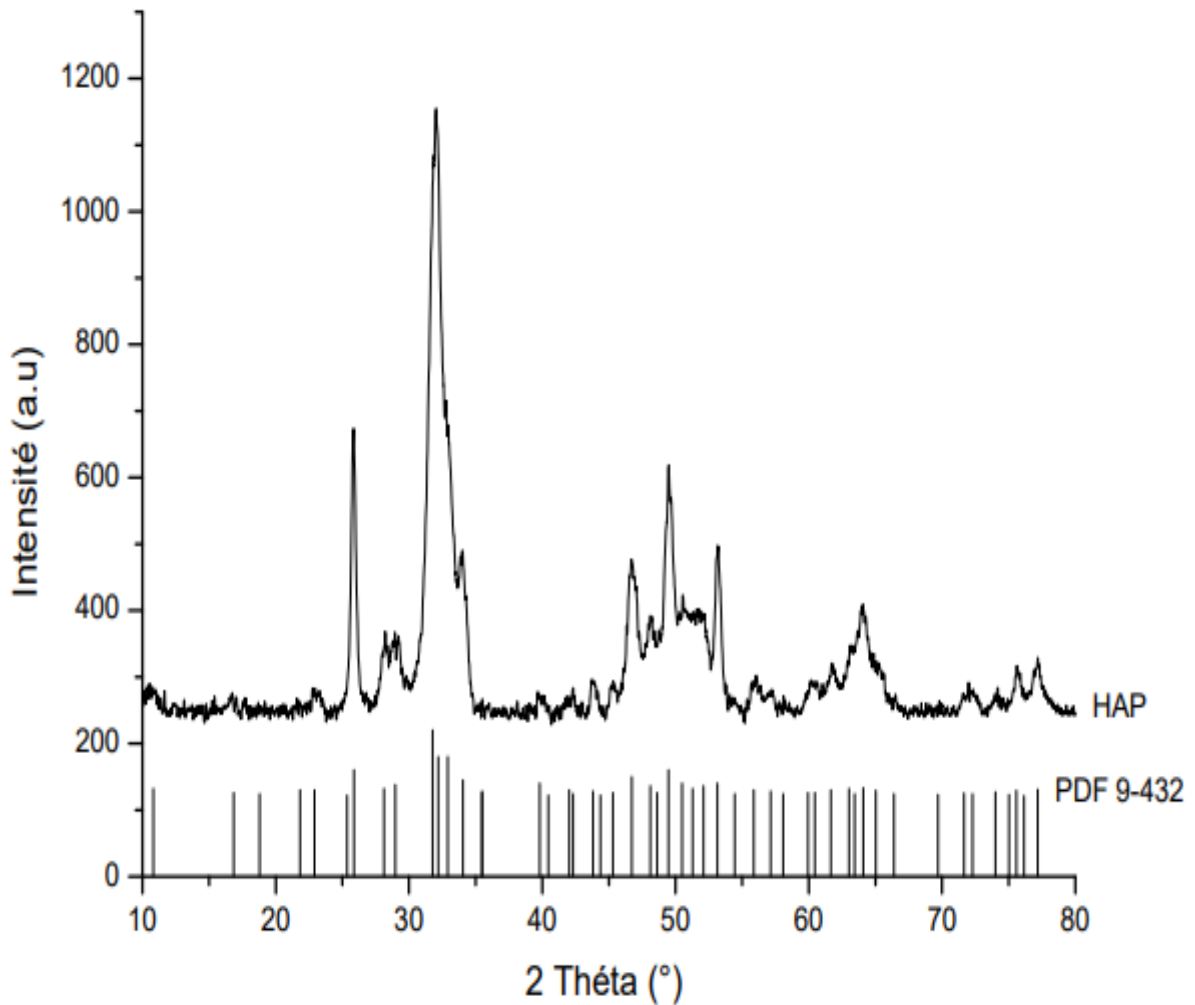


Figure III.4: Spectre DRX de l'HAP naturelle [11].

En comparant ce diagrammes avec la fiche ASTM n° 00-009-0432 de l'HAP (voir annexe), nous remarquons que tous les pics inscrits dans le diffractogramme de la fiche ASTM sont présents dans celui de la poudre d'HAP naturelle ce qui montre que la poudre extraite à partir du phosphate brut est bien une hydroxyapatite [11].

III.4. Résultats de l'étude de la toxicité de la poudre naturelle

En se référant à la fiche technique du phosphate brut (voir annexes) et à fin de vérifier la présence de certain éléments toxiques comme le cadmium, le chrome et le plomb dans la poudre d'HAP naturelle après extraction à partir du phosphate noir, des pastilles de HAP_N sont émergées pendant des temps différents dans le fluide biologique simulés (SBF).) Après incubation les solutions d'immersion sont caractérisées par SAA et les résultats de l'analyse sont portés sur le Tableau III.2 :

✓ Préparation des solutions étalons

À partir de la solution mère de cadmium (Cd), plomb (Pb) et de chrome (Cr) une série de solutions de concentrations connues obtenues par dilutions successives des solutions mères des éléments précédents ont été préparées. La mesure des absorbances des différentes solutions préparés permet d'obtenir la courbe d'étalonnage $\text{abs} = f(C)$ pour les trois éléments étudiés. Les courbes obtenues sont représentées sur la figure III.5 :

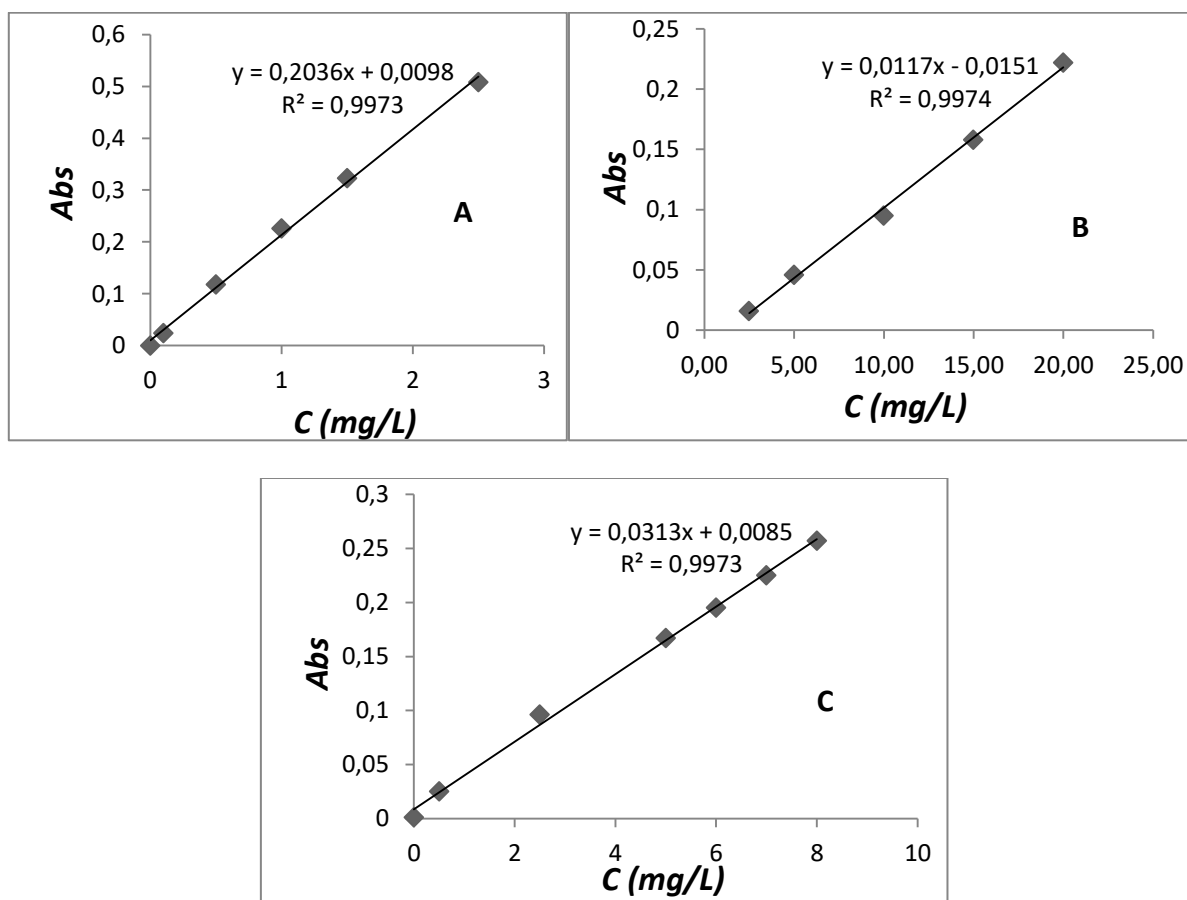


Figure III.5 : Courbes d'étalonnages des éléments cadmium (A), Plomb (B) et chrome (C).

Par la suite les différentes solutions d'immersion correspondant aux différents temps d'incubation ont été analysées par SAA pour vérifier la présence du Cd, Pb et Cr dans la poudre de l'HAP_N et les résultats sont regroupés dans le tableau III.2.

Tableau III.2: Evolution de la concentration de Pb, Cd et de Cr en fonction du temps d'immersion.

Temps (jours)	Concentration (mg/l)		
	Pb	Cd	Cr
1	0.856	0.012	0.087
3	0.856	0	0.087
5	0.856	0	0.087
7	0.856	0.018	0.087
10	0.856	0.012	0
15	0.856	0	0
21	0.856	0.02	0

D'après les résultats obtenus représentés sur le tableau ci-dessus, nous observons que les concentrations de chaque élément sont très faibles (presque nulles) par comparaison à celles du phosphate noir (voir fiche technique en annexes) où la concentration de Pb ($0.856 < 3.8$ ppm), celles de Cd ($0.012 < 0.018 < 0.020 < 25$ ppm) et celle de Cr ($0.087 < 160$ ppm).

Les concentrations nulles détectées par la SAA signifient que la concentration de l'élément en question est inférieure au seuil de détection de l'élément recherché dans l'échantillon.

Tous ces résultats obtenus nous laissent dire qu'il faut utiliser d'autres méthodes de caractérisation pour déterminer avec exactitude la concentration de ces éléments dans nos échantillons comme la Spectrométrie à Plasma à Couplage Inductif (ICP). Et pour affirmer

l'utilisation de la poudre naturelle obtenue comme substitut osseux il faut se référer aux cahiers des charges et voir est ce que cette dernière remplit les conditions nécessaires pour son utilisation dans le domaine des matériaux de substitution

III.5. Activité antibactérienne des pastilles HAP_N, HAP_S vis-à-vis de 'staphylococcus aureus'

Les résultats des tests d'activité antibactérienne réalisés sur les pastilles HAP N, HAP S vis-à-vis de la S.aureus pendant 24 heures sont illustrés dans les figures III.6.

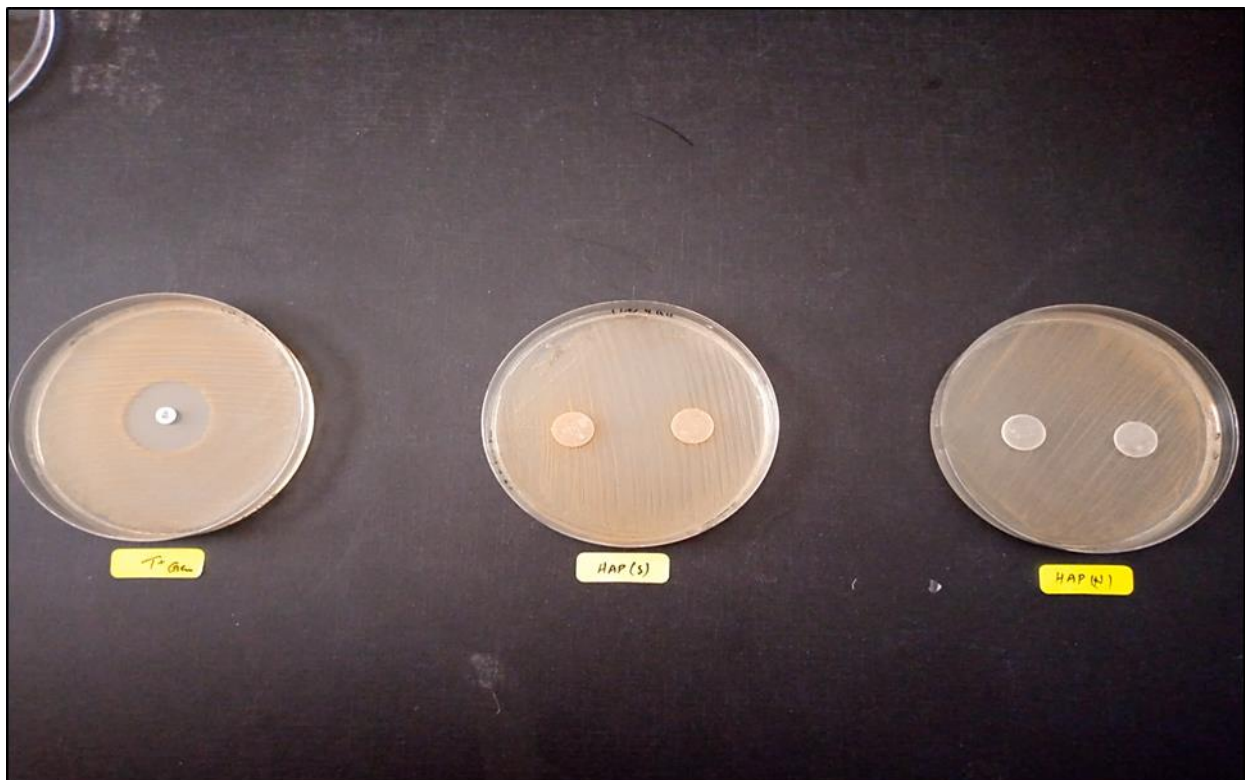


Figure III.6: Image des antibiogrammes réalisés vis-à-vis de la S. Aureus.

L'étude cinétique réalisée sur l'HAP N/S. aureus et HAP S/S. aureus pour suivre l'activité biologique ne révèle aucun effet antibactérien, cela montre que les deux poudres d'HAP ne possèdent pas d'effet antibactérien vis-à-vis des souches S. Aureus et pour leur conférer le caractère antibactérien l'association d'un agent antibactérien comme le Zn ou Mg est nécessaire pour pouvoir les utilisées comme matériaux de substitution osseuse. Contrairement à l'essai sur l'antibiotique Gentamicine/S. aureus, on observe une zone d'activité important, cette constatation interprète la sensibilité des souches bactériennes utilisées vis-à-vis l'antibiotique.

Référence :

- [1] B. Emilie, Gestion des chlorures de métaux lourds : stabilisation d'un phosphate d'étain dans un vitrifiat silicaté, Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, 2004.
- [2] H. Boulkrah, Etude comparative de l'adsorption des ions plomb sur différents adsorbants, Mémoire de Magister, Université du 20 août 1955 Skikda, 2008.
- [3] M. Di Benedetto, Les métaux lourds, Axe " Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne, 1997.
- [4] H. Ménana, Dégradation de dérivés de l'acide benzoïque par les procédés d'oxydation avancée en phase homogène et hétérogène : procédés Fenton, photo-Fenton et photocatalyse, Thèse de Doctorat, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2010.
- [5] M. Thi, Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante/ver de terre/microflore tellurique. Thèse de Doctorat, Université Pris Est, 2009.
- [6] S. EL Asri, Nouveaux matériaux de structure apatite préparés à partir du phosphate naturel marocain à applications environnementales, Thèse de Doctorat, Université Mohammed V – Agdal, 2009.
- [7] R. Garret, Natural sources of metals to the environment. Human and ecological risk assessment, Vol. 6, 945-963, 2000.
- [8] Z.H. Cheng, FTIR study on incorporation of CO₂ into calcium hydroxyapatite, J. Chem. Soc, Faraday Trans, Vol 94(10), p 1501, 1998.
- [9] N. Kadim, Elaboration et caractérisation d'un nouveau biomatériau à structure apatitique extrait de la mine de Djebel Onk : Application environnementale, mémoire de Magister université de Béjaia, 2015.
- [10] D. Badar eddin, (effet de traitement thermique sur la stabilité de la structure de l'hydroxyapatite), mémoire de master, université med Khider Biskra, 2014/2015
- [11] F. Kendi, Elaboration et caractérisation d'une apatite naturelle: Effet de l'ajout d'un porogène, mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira – Bejaia, 2018.

CONCLUSION

Durant ce travail, nous avons obtenu deux poudres d'hydroxyapatite, l'une est naturelle extraite à partir du phosphate de la mine de Djebel Onk à Tébessa. L'autre est synthétique synthétisée par précipitation à partir des précurseurs $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ comme sources de calcium et de phosphore. Les poudres obtenues ont été caractérisées par IR. Par la suite on s'est intéressés à l'étude de la toxicité de l'HAP_N et au comportement des deux poudres vis-à-vis de la S.aureus.

L'analyse IR a montré la similitude entre les spectres IR des deux poudres avec apparition des bandes d'absorptions relatives aux groupements PO_4^{3-} et OH^- de l'HAP.

Nous remarquons d'après l'analyse par la spectrométrie d'absorption atomique que les concentrations des éléments (Cd, Pb, Cr) sont très faibles et que l'HAP naturelle n'est pas toxique.

Les deux poudres d'HAP naturelle et synthétisée n'ont aucune activité antibactérienne vis-à-vis la souche S. aureus par comparaison avec un témoin positif (antibiotique). D'où la nécessité de doper ces poudres avec un agent antibactérien comme le Mg ou Zn pour leur conférer un caractère antibactérien.

En perspectives, il serait intéressant de compléter ce travail par des analyses de caractérisation comme la diffraction des Rayons X, la microscopie électronique à balayage la mesure de la surface spécifique et la porosité par la méthode BET afin de mieux caractériser les deux poudres d'HAP obtenues et faire une ICP pour connaître avec exactitude les quantités des éléments Pb, Cr et Cd relargués dans la solution SBF. Etudier la cinétique de dopage des deux poudres d'HAP par des agents antibactériens et voir leur effet vis-à-vis de la S-aureus.

Annexes

Annexe A

Fiche technique du phosphate

Fiche technique du produit marchand (qualité 63/65 % TPL) (1TPL=2.815 %P2O5)Sur matière sèche

Eléments majeurs	%
H ₂ O	0.8
PAF (CO ₂ déduit)	2.30
P ₂ O ₅	29.00
CO ₂	7.7
CaO	48.50
MgO	1.20
Fe ₂ O ₃	0.45
Al ₂ O ₃	0.35
Na ₂ O	1.10
K ₂ O	0.09
SiO ₂	2.30
SO ₃	3.05
F	3.70
Cl	250ppm

Micros- éléments	ppm
Cérium (Ce)	280
Uranium (U)	45
Strontium (Sr)	1500
Baryum (Ba)	17
Cuivre (Cu)	22
Zinc (Zn)	160
Plomb (Pb)	3.8
Cadmium (Cd)	25
Manganèse (Mn)	12
Arsenic (As)	7.5
Sélénium (Se)	37
Mercure (Hg)	<0.5
Chrome (Cr)	160
Nickel (Ni)	15
Vanadium (V)	43
Thorium (Th)	27
Terbium (Te)	8.1

Annexe B

Fiche ASTM de l'hydroxyapatite

Name and formula

Reference code:	00-009-0432
Mineral name:	Hydroxylapatite, syn
PDF index name:	Calcium Phosphate Hydroxide
Empirical formula:	$\text{Ca}_5\text{HO}_{13}\text{P}_3$
Chemical formula:	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$

Crystallographic parameters

Crystal system:	Hexagonal
Space group:	P63/m
Space group number:	176

a (Å):	9.4180
b (Å):	9.4180
c (Å):	6.8840
Alpha (°):	90.0000
Beta (°):	90.0000
Gamma (°):	120.0000

Calculated density (g/cm ³):	3.16
Measured density (g/cm ³):	3.08
Volume of cell (10 ⁶ pm ³):	528.80
Z:	2.00

RIR: -

Subfiles and Quality

Subfiles:	Inorganic Mineral Common Phase Pharmaceutical
Quality:	Indexed (I)

Comments

Color:	Green, bluish green, yellow-green, grayish green, violet, violet-blue, violet, colorless, light greenish white, gray, brown, pinkish red, pinkish-red, blue
General comments:	I/I ₁ are peak values from a pattern which shows slight broadening of prism reflections. Validated by calculated data 24-33.
Sample source:	Sample obtained following the procedure indicated by Hodge et al., <i>Ind.</i>

Optical data: *Eng. Chem. Anal. Ed.*, **10** 156 (1938).
 Additional pattern: B=1.651, Q=1.644, Sign=-
 To replace 34-10.
 See ICSD 22059, 22060, 24240, 26204, 26205 and 34457 (PDF 73-293, 73-294, 73-1731, 74-565, 74-566 and 76-694).

References

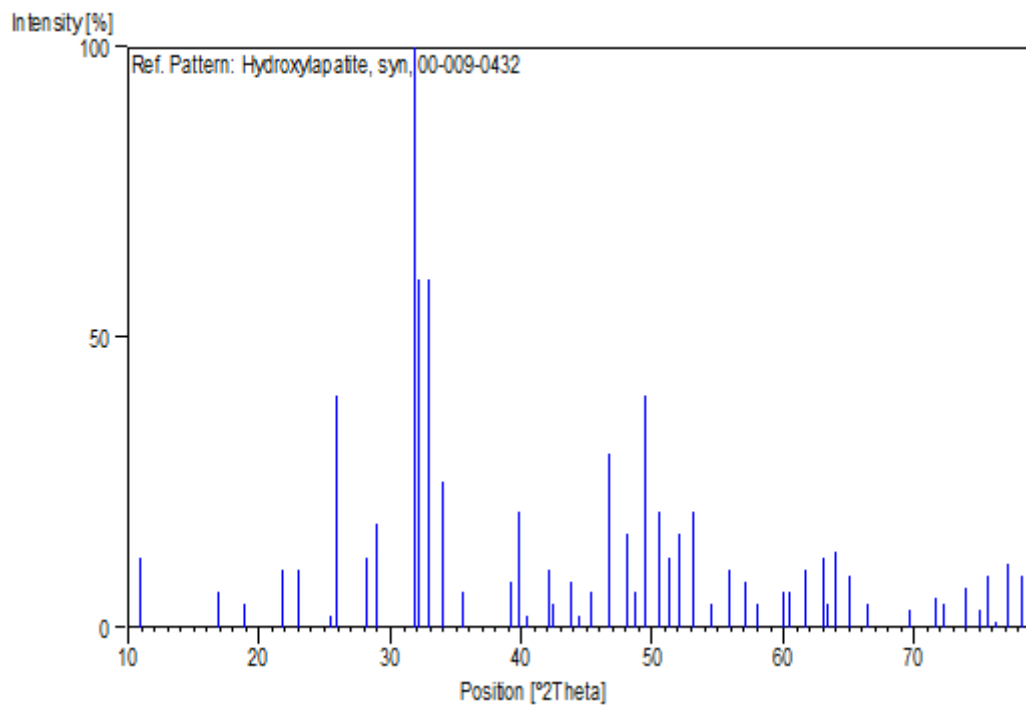
Primary reference: de Wolff, P., Technisch Physische Dienst, Delft, The Netherlands.,
ICDD Grant-in-Aid
 Optical data: *Dana's System of Mineralogy, 7th Ed.*, **II**, 879

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	1	0	0	8.17000	10.820	12.0
2	1	0	1	5.26000	16.842	6.0
3	1	1	0	4.72000	18.785	4.0
4	2	0	0	4.07000	21.820	10.0
5	1	1	1	3.88000	22.902	10.0
6	2	0	1	3.51000	25.354	2.0
7	0	0	2	3.44000	25.879	40.0
8	1	0	2	3.17000	28.127	12.0
9	2	1	0	3.08000	28.967	18.0
10	2	1	1	2.81400	31.774	100.0
11	1	1	2	2.77800	32.197	60.0
12	3	0	0	2.72000	32.902	60.0
13	2	0	2	2.63100	34.049	25.0
14	3	0	1	2.52800	35.481	6.0
15	2	1	2	2.29600	39.205	8.0
16	3	1	0	2.26200	39.819	20.0
17	2	2	1	2.22800	40.453	2.0
18	3	1	1	2.14800	42.030	10.0
19	3	0	2	2.13400	42.319	4.0
20	1	1	3	2.06500	43.805	8.0
21	4	0	0	2.04000	44.370	2.0
22	2	0	3	2.00000	45.306	6.0
23	2	2	2	1.94300	46.713	30.0
24	3	1	2	1.89000	48.104	16.0
25	3	2	0	1.87100	48.624	6.0
26	2	1	3	1.84100	49.469	40.0
27	3	2	1	1.80600	50.494	20.0
28	4	1	0	1.78000	51.285	12.0
29	4	0	2	1.75400	52.102	16.0
30	0	0	4	1.72200	53.145	20.0
31	1	0	4	1.68400	54.442	4.0
32	3	2	2	1.64400	55.881	10.0
33	3	1	3	1.61100	57.129	8.0
34	5	0	1	1.58700	58.075	4.0
35	4	2	0	1.54200	59.940	6.0
36	3	3	1	1.53000	60.459	6.0
37	2	1	4	1.50300	61.662	10.0
38	5	0	2	1.47400	63.013	12.0
39	5	1	0	1.46500	63.445	4.0
40	3	0	4	1.45200	64.080	13.0
41	5	1	1	1.43300	65.033	9.0

42	4	2	2	1.40700	66.388	4.0
43	5	1	2	1.34800	69.701	3.0
44	4	3	1	1.31600	71.653	5.0
45	5	2	0	1.30600	72.288	4.0
46	4	2	3	1.28000	73.997	7.0
47	3	2	4	1.26500	75.025	3.0
48	2	1	5	1.25700	75.586	9.0
49	4	3	2	1.24900	76.156	1.0
50	5	1	3	1.23500	77.177	11.0
51	5	2	2	1.22100	78.230	9.0

Stick Pattern



Fiche ASTM de carbonates de fluorapatite

Name and formula

Reference code:	00-031-0267
Mineral name:	Carbonatefluorapatite
PDF index name:	Calcium Fluoride Carbonate Phosphate Hydroxide
Empirical formula:	$\text{CCa}_{10}\text{F}_{1.5}\text{H}_{0.5}\text{O}_{23.5}\text{P}_5$
Chemical formula:	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5\text{CO}_3\text{F}_{1.5}(\text{OH})_{0.5}$

Crystallographic parameters

Crystal system:	Hexagonal
Space group:	P63/m
Space group number:	176

a (Å):	9,3460
b (Å):	9,3460
c (Å):	6,8870
Alpha (°):	90,0000
Beta (°):	90,0000
Gamma (°):	120,0000

Measured density (g/cm ³):	3,12
Volume of cell (10 ⁶ pm ³):	520,97
Z:	1,00

RIR: -

Subfiles and Quality

Subfiles:	Inorganic Mineral Common Phase
Quality:	Blank (B)

Comments

Color:	Colorless
General comments:	Optical data on specimen from Richtevsveld, South Africa.
Sample source:	Specimen from Staffel, Germany.
Analysis:	Analysis (wt.%): CaO 51.42, MgO 1.35, Na ₂ O 1.17, K ₂ O 0.38, P ₂ O ₅ 40.33, CO ₂ 2.70, F 3.89, H ₂ O 0.63.
Optical data:	A=1.6155, B=1.627, Q=1.6785, Sign=-, 2V=0-36°
Additional pattern:	To replace 21-141.

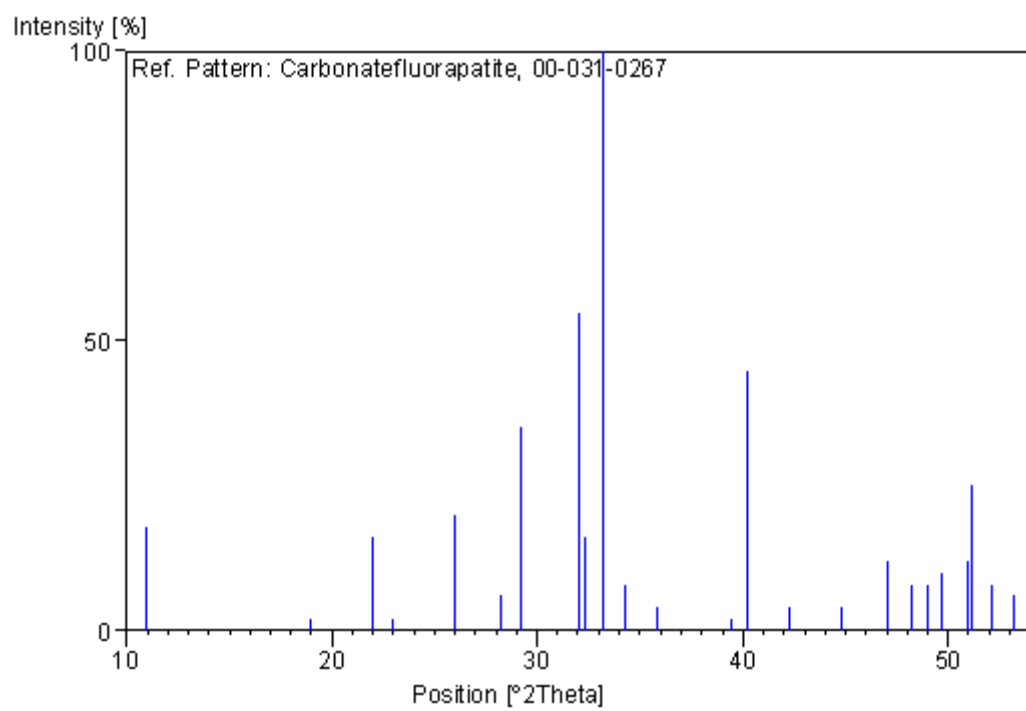
References

Primary reference: Brophy, Nash., *Am. Mineral.*, **53**, 445, (1968)
Optical data: de Villiers, J., *Am. J. Sci.*, **240**, 443, (1942)

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	1	0	0	8,04000	10,996	18,0
2	1	1	0	4,67000	18,988	2,0
3	2	0	0	4,04000	21,984	16,0
4	1	1	1	3,86000	23,022	2,0
5	0	0	2	3,43000	25,956	20,0
6	1	0	2	3,16000	28,218	6,0
7	2	1	0	3,05000	29,258	35,0
8	2	1	1	2,79000	32,054	55,0
9	1	1	2	2,76900	32,304	16,0
10	3	0	0	2,69200	33,255	100,0
11	2	0	2	2,61900	34,210	8,0
12	3	0	1	2,50600	35,803	4,0
13	2	1	2	2,28400	39,420	2,0
14	3	1	0	2,24000	40,227	45,0
15	3	1	1	2,13400	42,319	4,0
16	4	0	0	2,02100	44,810	4,0
17	2	2	2	1,93100	47,020	12,0
18	3	1	2	1,88700	48,185	8,0
19	3	2	0	1,85500	49,071	8,0
20	2	1	3	1,83400	49,671	10,0
21	3	2	1	1,79000	50,978	12,0
22				1,78300	51,192	25,0
23	3	0	3	1,75400	52,102	8,0
24	0	0	4	1,72000	53,212	6,0

Stick Pattern



Fiche ASTM de carbonate de calcium

Name and formula

Reference code:	00-033-0268
Mineral name:	Vaterite
PDF index name:	Calcium Carbonate
Empirical formula:	CCaO ₃
Chemical formula:	CaCO ₃

Crystallographic parameters

Crystal system:	Hexagonal
Space group:	P63/mmc
Space group number:	194

a (Å):	7.1473
b (Å):	7.1473
c (Å):	16.9170
Alpha (°):	90.0000
Beta (°):	90.0000
Gamma (°):	120.0000

Calculated density (g/cm ³):	2.66
Volume of cell (10 ⁶ pm ³):	748.41
Z:	12.00

RIR: -

Subfiles and Quality

Subfiles:	Inorganic Mineral Cement and Hydration Product Common Phase Educational pattern Forensic Pharmaceutical Superconducting Material Excipient
Quality:	Indexed (I)

Comments

Color:	Colorless.
General comments:	Optical data on artificial crystals. Indexed with aid of published vaterite structure factors.
Sample source:	Specimen of otoconial crystals from the inner ear of the garfish (Lepisosteus osseus).

Additional pattern: To replace 00-013-0192, 00-025-0127 and validated by calculated pattern 00-024-0030. See ICSD 18127 (PDF 01-072-1616).

References

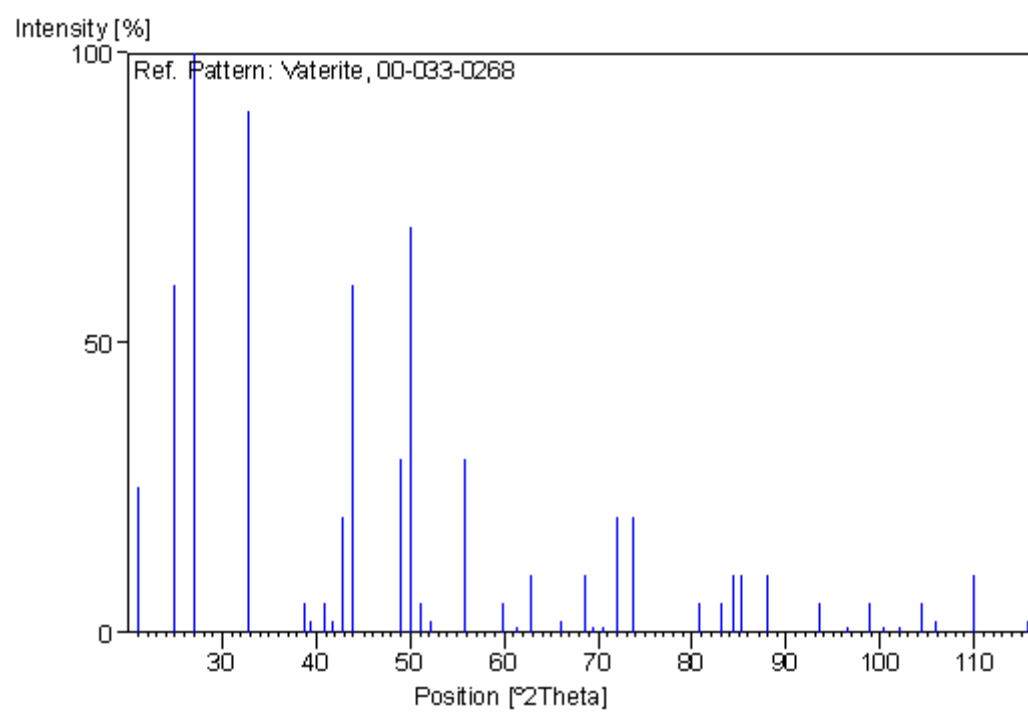
Primary reference: Rouse, R., Dept. of Geological Sciences, Univ. of Michigan, Ann Arbor, MI, USA., *Private Communication*, (1980)

Optical data: Meyer., *Z. Kristallogr., Kristallgeom., Kristallphys., Kristallchem.*, **128**, 183, (1969)

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	0	0	4	4.22600	21.005	25.0
2	1	1	0	3.57300	24.900	60.0
3	1	1	2	3.29400	27.048	100.0
4	1	1	4	2.73000	32.778	90.0
5	2	1	1	2.31800	38.818	5.0
6	2	0	5	2.28200	39.456	2.0
7	1	1	6	2.21200	40.759	5.0
8	2	1	3	2.16100	41.765	2.0
9	0	0	8	2.11300	42.760	20.0
10	3	0	0	2.06300	43.849	60.0
11	3	0	4	1.85400	49.099	30.0
12	1	1	8	1.82000	50.079	70.0
13	2	2	0	1.78800	51.039	5.0
14	2	2	2	1.75000	52.230	2.0
15	2	2	4	1.64600	55.807	30.0
16	4	0	1	1.54400	59.854	5.0
17	2	2	6	1.51000	61.345	1.0
18	3	0	8	1.47700	62.870	10.0
19	0	0	12	1.41300	66.070	2.0
20	2	2	8	1.36600	68.653	10.0
21	4	1	0	1.35100	69.524	1.0
22	4	1	2	1.33500	70.480	1.0
23	1	1	12	1.31100	71.969	20.0
24	4	1	4	1.28600	73.595	20.0
25	3	3	0	1.19000	80.678	5.0
26	3	0	12	1.16300	82.957	5.0
27	3	3	4	1.14600	84.469	10.0
28	4	1	8	1.13800	85.202	10.0
29	2	2	12	1.10900	87.989	10.0
30	0	0	16	1.05700	93.565	5.0
31	6	0	0	1.03200	96.562	1.0
32	1	1	16	1.01400	98.869	5.0
33	6	0	4	1.00200	100.486	1.0
34	5	2	0	0.99090	102.042	1.0
35	4	1	12	0.97490	104.396	5.0
36	5	2	4	0.96490	105.940	2.0
37	3	0	16	0.94100	109.889	10.0
38	3	3	12	0.91010	115.642	2.0

Stick Pattern



Fiche ASTM de la dolomite

Name and formula

Reference code:	00-002-0767
Mineral name:	Dolomite
PDF index name:	Calcium Magnesium Carbonate
Empirical formula:	C_2CaMgO_6
Chemical formula:	$CaMg(CO_3)_2$

Crystallographic parameters

Crystal system:	Rhombohedral
Space group:	R-3
Space group number:	148
a (Å):	4,7983
b (Å):	4,7983
c (Å):	15,9760
Alpha (°):	90,0000
Beta (°):	90,0000
Gamma (°):	120,0000
Measured density (g/cm ³):	2,87
Volume of cell (10 ⁶ pm ³):	318,55
Z:	2,00
RIR:	-

Status, subfiles and quality

Status:	Marked as deleted by ICDD
Subfiles:	Inorganic Mineral
Quality:	Doubtful (O)

Comments

Deleted by:	similar to 1-942.
Color:	Colorless
Optical data:	A=1.5013, B=1.680, Sign=-
Melting point:	725d
Unit cell:	Rhombohedral cell: a=6.004, a=47.12.

References

Primaryreference:	Boldyrev, A. et al., <i>Annales de l'Institut des Mines a Leningrad</i> , 11 , (1938)
-------------------	--

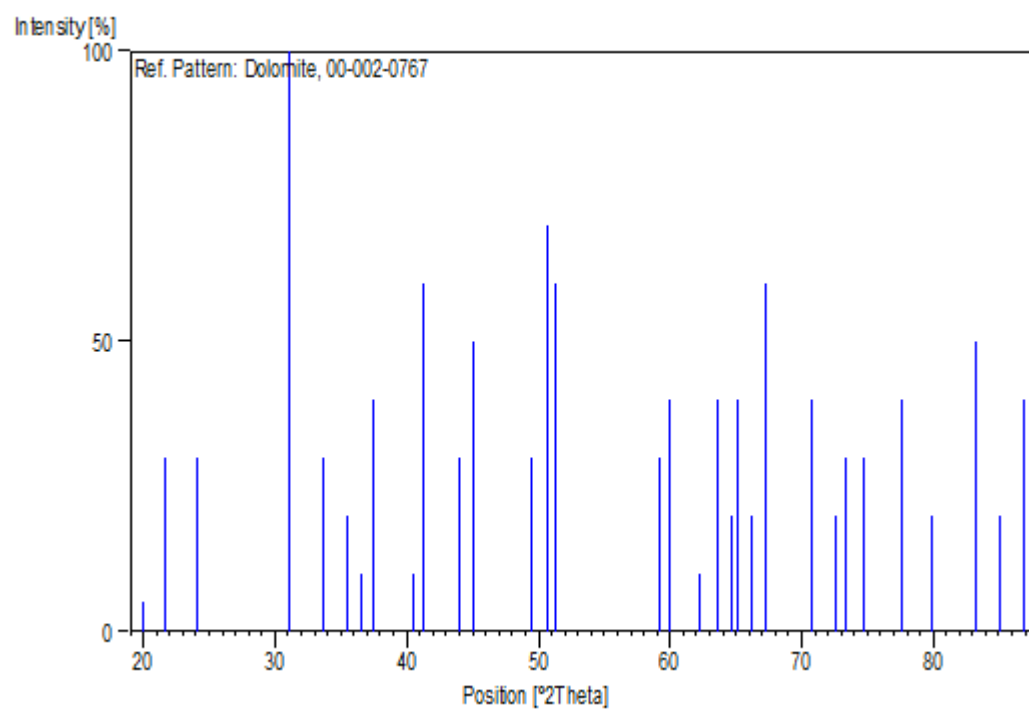
Unit cell:

Bragg., "Atomic Structure of Minerals"

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1				4,46000	19,891	5,0
2	1	0	1	4,11000	21,605	30,0
3	0	1	2	3,69000	24,099	30,0
4	1	0	4	2,88000	31,027	100,0
5	0	0	6	2,66000	33,666	30,0
6	0	1	5	2,53000	35,452	20,0
7	1	1	0	2,46000	36,496	10,0
8				2,40000	37,442	40,0
9	1	1	3	2,23000	40,416	10,0
10				2,19000	41,187	60,0
11	0	2	1	2,06000	43,917	30,0
12	2	0	2	2,01000	45,068	50,0
13	0	2	4	1,84000	49,498	30,0
14	0	1	8	1,80000	50,674	70,0
15	1	1	6	1,78000	51,285	60,0
16	2	1	1	1,56000	59,179	30,0
17	1	2	2	1,54000	60,026	40,0
18	1	0	10	1,49000	62,260	10,0
19	2	1	4	1,46000	63,687	40,0
20	2	0	8	1,44000	64,678	20,0
21	1	1	9	1,43000	65,186	40,0
22	1	2	5	1,41000	66,229	20,0
23	3	0	0	1,39000	67,307	60,0
24	0	0	12	1,33000	70,785	40,0
25	2	1	7	1,30000	72,675	20,0
26				1,29000	73,330	30,0
27	0	2	10	1,27000	74,679	30,0
28	3	0	6	1,23000	77,549	40,0
29	2	2	0	1,20000	79,870	20,0
30	1	1	12	1,16000	83,219	50,0
31	3	1	2	1,14000	85,017	20,0
32	2	1	10	1,12000	86,907	40,0

Stick Pattern



Résumé

Ces dernières années ont été témoin d'un développement majeur dans le domaine des biomatériaux parmi eux les biocéramiques qui ont connu une utilisation très large pour la reconstitution de défauts osseux.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail. Il s'agit de l'obtention des poudres d'hydroxyapatites par la méthode de précipitation pour différents précurseurs naturels (phosphate noir de Djebel Onk (Tébessa)) ou chimiques ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $4\text{H}_2\text{O}$). Les poudres préparées ont été caractérisées par différentes méthodes d'analyses : (FTIR), (DRX), (SAA) suivi d'un test antimicrobien en utilisant des pastilles d'HAP en contact avec une souche bactérienne '*staphylococcus aureus*'. Les spectres d'HAP_S et d'HAP_N ont presque les mêmes pics. Cela signifie qu'ils ont la même structure d'hydroxyapatite. Le diagramme de DRX montre la présence des pics de diffraction attribués à la phase hydroxyapatite. Les concentrations de: Cr, Pb et Cd obtenues par l'analyse SAA sont faibles. Les poudres d'HAP ne possèdent pas d'activité antibactérienne.

Mots clés : Biomatériau, hydroxyapatite, précipitation, phosphate noir, staphylococcus aureus.

Abstract

The last few years have witnessed a major development in the field of biomaterials among them bioceramics which have experienced very wide use for the reconstruction of bone defects.

This is the context in which this work takes place. This involves obtaining hydroxyapatite powders by the precipitation method for various natural (Djebel Onk (Tébessa)) or chemical ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $4\text{H}_2\text{O}$) precursors. The powders prepared were characterized by different analysis methods: (FTIR), (DRX), (SAA) followed by an antimicrobial test using HAP tablets in contact with a bacterial strain "*staphylococcus aureus*". The HAP_S and HAP_N spectra have almost the same peaks. This means they have the same hydroxyapatite structure. The XRD diagram shows the presence of the diffraction peaks attributed to the hydroxyapatite phase. The concentrations of: Cr, Pb and Cd obtained by the SAA analysis are low. PAH powders do not have antibacterial activity.

Key words: Biomaterial, hydroxyapatite, black phosphate, staphylococcus aureus.