

Drehung im Sichtbaren durch Extrapolation mit der DRUDE-Funktion (1) im Rahmen der Messgenauigkeit exakt vorausgesagt werden.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für die Unterstützung dieser Arbeit (Gesuche Nr. 1938 und 2357).

Laboratorium für physikalische Chemie
der Eid. Technischen Hochschule, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. B. BIOT, *Mém. Inst. France* 7, 1 (1812).
 [2] L. ROSENFELD, *Z. Physik* 52, 161 (1928).
 [3] H. R. WYSS & Hs. H. GÜNTARD, Publikation in Vorbereitung.
 [4] H. J. HEDIGER & Hs. H. GÜNTARD, *Helv.* 37, 1125 (1954).
 [5] H. R. WYSS & Hs. H. GÜNTARD, Publikation eingereicht bei *J. opt. Soc. America*.
 [6] H. R. WYSS & Hs. H. GÜNTARD, Publikation eingereicht bei *Appl. Optics*.
 [7] R. KUHN & P. GOLDFINGER, *Liebigs Ann. Chem.* 470, 190 (1929).
 [8] K. MISLOW und Mitarbeiter & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 4740 (1960).
 [9] K. MISLOW & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* 82, 5247 (1960).

76. Étude de la structure, par la diffraction des rayons X et la microscopie électronique, de l'hydroxylapatite calcique et des orthophosphates dits tri- et octocalciques

par Cl. Vuilleumier et P. Lerch

(30 X 65)

1. Partie expérimentale. – Les microcristaux d'hydroxylapatite calcique (HAC) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, et d'orthophosphate tricalcique hydraté (PTCH), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$, ont été préparés selon HAYEK [1] à 25° et à 95°, ceux d'orthophosphate dit octocalcique (POC), $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$, selon WATSON [2], enfin les cristaux de plus grandes dimensions, par la précipitation en phase homogène [3] ou selon RATHJE [4]. Les modes opératoires détaillés ont été décrits dans de précédentes publications des auteurs [5] [6].

Les diagrammes aux rayons X ont été obtenus à l'aide d'une caméra de GUINIER, modifiée par DE WOLFF, et d'un générateur de rayons X K_α du cuivre, de 1,5405 Å; en outre, nous avons utilisé un appareil à diffraction des rayons X équipé d'un goniomètre NORELCO, avec la même radiation. Les micrographies et les figures de diffraction aux électrons ont été réalisées avec un microscope électronique HITACHI HU-11; pour certains un four électrique était incorporé au microscope. Les surfaces spécifiques ont été mesurées par la méthode des isothermes d'adsorption de B.E.T.

2. Comparaison des résultats de l'analyse aux rayons X, de l'examen au microscope électronique et de la mesure des surfaces spécifiques. – *Produits préparés selon HAYEK à 25°:* Les diagrammes aux rayons X des préparations microcristallines d'hydroxylapatite calcique et de phosphate tricalcique hydraté montrent des raies très élargies qui laissent prévoir de très petits cristaux (fig. 1 a). En effet, le diffractogramme du goniomètre NORELCO permet de calculer une dimension moyenne de 300 Å selon l'axe *c* (raie 002); cette détermination de la longueur des aiguilles est cependant rendue malaisée par la faible intensité des pics et le bruit de fond élevé. La micrographie électronique (fig. 2) montre des agrégats de fines aiguilles d'une longueur de 200 à 400 Å, et d'une largeur de 30 à 40 Å; les agrégats aux-mêmes ont une longueur

moyenne de 1200 Å et une largeur moyenne de 120 Å, les microcristaux qui les constituent y sont orientés selon l'axe *c*. Les surfaces spécifiques (voir tableau) confirment ces résultats: la valeur mesurée 101 m²/g correspond à celle calculée à partir des dimensions moyennes des agrégats; elle est environ 4 fois plus faible que celle des microcristaux eux-mêmes. Ce rapport s'accorde bien avec l'hypothèse d'un nombre moyen de 4³ = 64 microcristaux par agrégat, obtenu à partir des rapports des dimensions linéaires.

Produits préparés selon HAYEK à 95°: Les diagrammes aux rayons X (fig. 1b) comportent des raies plus nettes qui indiquent des microcristaux moins petits. Le diffractogramme le confirme, qui donne une dimension moyenne de 600 Å selon l'axe *c*, double de la précédente et plus précise. La micrographie électronique (fig. 3) ressemble à la précédente, mais les aiguilles individuelles apparaissent plus distinctement dans les agrégats; les dimensions des agrégats ont moins crû que celles des microcristaux, et ils en comportent donc un plus petit nombre; enfin, l'orientation des microcristaux est moins uniforme que précédemment. Les surfaces spécifiques trouvées (v. tableau) confirment les résultats de l'analyse aux rayons X et des micrographies électroniques; la valeur mesurée (86 m²/g) correspond à la surface calculée des agrégats; elle n'est plus que les 2/5^{es} environ de celle des microcristaux, rapport en bon accord avec l'hypothèse d'un nombre moyen de 2,5³ = 16 microcristaux par agrégat.

Produits préparés selon RATHJE: Les diagrammes aux rayons X (fig. 1c) montrent des raies bien nettes, qui correspondent à des cristaux de dimensions bien plus grandes. Elles le sont même trop (> 0,01 mm) pour que les diffractogrammes soient utilisables. Les micrographies électroniques (fig. 4) montrent des aiguilles distinctes, plus ou moins enchevêtrées, et quelquefois des agglomérations en rosettes; la longueur des aiguilles varie considérablement, entre 2000 Å et 40000 Å (6000 Å en moyenne), de même que la largeur, entre 200 Å et 3000 Å. Une micrographie très agrandie (fig. 5) montre que les aiguilles ont des formes bien définies qui se terminent par des faces aux angles nets. Les surfaces spécifiques mesurées et calculées concordent sensiblement (v. tableau); ici, l'agrégation est occasionnelle et n'influence pratiquement plus la surface spécifique.

Produits préparés par précipitation en phase homogène: Les diagrammes aux rayons X (fig. 1d) donnent aussi des raies bien nettes qui laissent prévoir de grands microcristaux. Les micrographies électroniques (fig. 6) le confirment; elles ont toutefois un aspect très différent de celles des préparations selon RATHJE. A côté des aiguilles apparaissent de nombreuses plaques; les dimensions des microcristaux sont très variables; la longueur moyenne des aiguilles est située entre 10000 et 30000 Å, leur largeur moyenne est de l'ordre de 1000 Å. Les plaques, tant par leurs dimensions que par leur aspect, apparaissent comme la juxtaposition plus ou moins parfaite d'aiguilles côte à côte, certaines forment vraiment des monocristaux (franges de BRAGG). A nouveau, les surfaces spécifiques mesurées et calculées concordent bien (v. tableau) et l'agrégation n'entraîne pratiquement aucune variation de surface spécifique.

Produits préparés selon WATSON: Les diagrammes aux rayons X (fig. 1e) de ces préparations de phosphate octocalcique montrent, outre l'ensemble des raies caractéristiques,

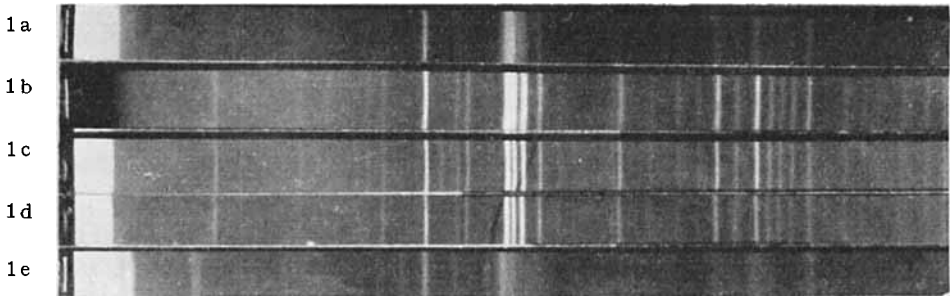


Fig. 1. Diagrammes à rayons X d'orthophosphates calciques basiques microcristallins, obtenus par différentes méthodes



Fig. 2. Produit préparé selon HAYEK à 25°



Fig. 3. Produit préparé selon HAYEK à 95°

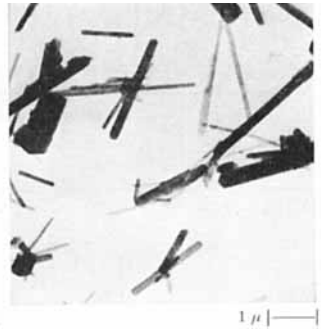


Fig. 4. Produit préparé selon RATHJE



Fig. 5. Produit préparé selon RATHJE, cristal unique

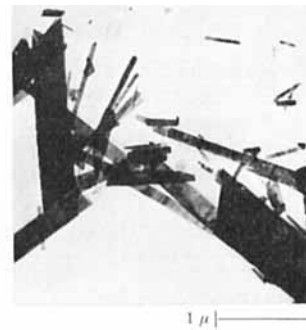


Fig. 6. Produit préparé par précipitation en phase homogène

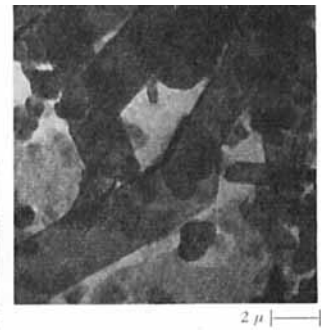


Fig. 7. Produit préparé selon WATSON

téristiques des hydroxylapatites calciques, plusieurs raies supplémentaires; les plus faciles à identifier sont le doublet 8,94 et 9,34 d (Å) et la raie 18,36 d (Å). Les raies sont assez élargies, ce qui pourrait laisser supposer que les microcristaux sont petits. En fait, la micrographie électronique (fig. 7) montre que les microcristaux sont entourés d'une quantité importante de matériel amorphe, ce qui explique le peu de netteté des raies du diagramme à rayons X et le fait que les microcristaux sont bien

plus gros que ne le laissait prévoir ce diagramme. Ils ont l'aspect de plaques de 5000 à 8000 Å sur 1000 à 2000 Å; contrairement aux aiguilles observées jusqu'ici et caractérisées par un rapport $c/a \approx 10$, les plaques de phosphate octocalcique ont un rapport $c/a \approx 4$. La surface spécifique mesurée de 68 m²/g paraît trop élevée en comparaison des surfaces calculées pour des plaques de différentes dimensions (4 à 40 m²/g); ce manque de concordance doit résulter de l'artéfact causé par l'important matériel amorphe présent.

3. Détermination de la forme et de l'orientation des axes du microcristal. —

A l'aide de la diffraction électronique, nous avons cherché à résoudre la question de la forme et de l'orientation des axes du microcristal d'hydroxylapatite calcique, de phosphate tricalcique hydraté et de phosphate octocalcique, et notamment à déterminer s'il s'agit d'aiguilles à base hexagonale, ou de plaques que l'axe de symétrie hexagonale traverse perpendiculairement. Comme les microcristaux de petite taille ne donnent pas de figures de diffraction utilisables, nous n'avons pu appliquer la diffrac-

Dimensions des microcristaux de trois orthophosphates de calcium

Méthode de préparation	Nature chimique	Forme cristalline	Dimensions (Å)	Surface calculée (m ² /g)	Surface mesurée (m ² /g)
HAYEK, 25°	HAC et/ou PTCH	aiguille unique	300×30	430	—
		aiguilles agrégées	1200×120	107	101 ± 1,5
HAYEK, 95°	HAC et/ou PTCH	aiguille unique	600×60	212	—
		aiguilles agrégées	1400×140	90,9	86 ± 1,2
RATHJE	HAC et/ou PTCH	aiguille unique	2000×200	64	} 20 ± 0,3
		aiguille unique	5000×500	25,5	
		aiguille unique	7500×750	17	
		aiguille unique	40000×4000	3,2	
Précipitation en phase homogène	HAC et/ou PTCH	aiguille unique	5000×500	25,5	} 10 ± 0,15
		aiguille unique	15000×1000	12,5	
		aiguille unique	20000×2000	6,4	
		aiguille unique	40000×4000	3,2	
		plaque unique	40000×4000×2000	5,0	
WATSON	POC	plaque unique	2000×500×200	44,5	} 68 ± 1,0
		plaque unique	6000×1500×600	4,2	

tion électronique qu'aux préparations obtenues selon RATHJE ou WATSON, ou par précipitation en phase homogène. Ces 3 types de préparations donnent des diffractogrammes électroniques identiques et montrent toujours une structure orthorhombique, et jamais hexagonale (fig. 8a).

Dès lors, la question de l'orientation des axes peut être considérée comme résolue. En effet, si les microcristaux étaient faits de plaques à base hexagonale avec axe sénaire c perpendiculaire à la base, la figure de diffraction électronique donnerait une symétrie hexagonale. En fait, la structure orthorhombique observée résulte de ce que, dans le cas de l'hydroxylapatite calcique et du phosphate tricalcique hydraté, les microcristaux examinés sont des aiguilles, prismes très allongés à base hexagonale dont

l'axe sénaire c est orienté selon la grande dimension; une telle forme ne donnerait une figure de diffraction à symétrie hexagonale que si l'on pouvait observer un monocristal isolé et debout, donc sensiblement parallèle au faisceau électronique, ce qui est pratiquement impossible. Dans le cas du phosphate octocalcique, l'axe c est situé dans le plan de la plaque.

Ces conclusions sont encore étayées par l'examen des diagrammes à rayons X dont les raies $00l$ sont particulièrement nettes, alors qu'au contraire, les raies $hk0$ sont généralement élargies.



Fig. 8a. Diagramme de diffraction électronique d'un orthophosphate calcique basique à 25°

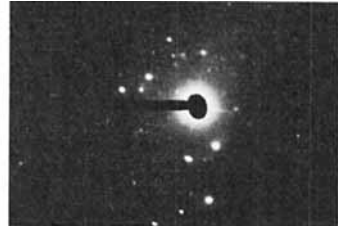


Fig. 8b. Diagramme de diffraction électronique d'un orthophosphate calcique basique à 800°

4. Étude de la structure après traitement thermique. – Les auteurs ont montré le grand intérêt des méthodes thermogravimétriques et d'analyse thermique différentielle pour la détermination de la constitution chimique des orthophosphates de calcium étudiés [6]. Ces méthodes doivent être complétées, et leurs résultats, confirmés par les diagrammes à rayons X effectués sur des préparations, après chauffage à diverses températures.

Des microcristaux d'hydroxylapatite calcique (rapport pondéral Ca/P égal à 2,12) préparés selon HAYEK à 25° donnent un diagramme à rayons X (fig. 9a) invariable entre 20° et 1000°; tout au plus les raies deviennent-elles de plus en plus nettes entre 500° et 1000°, où le chauffage entraîne certainement une recristallisation.

Au contraire, des microcristaux de phosphate tricalcique hydraté (rapport pondéral Ca/P égal à 1,93) préparés selon HAYEK à 25° ne donnent le diagramme à rayons X (fig. 9b) caractéristique des hydroxylapatites calciques que jusqu'à 600°. Au-dessus, une transformation brusque apparaît et à 700°, le diagramme à rayons X indique la présence du phosphate tricalcique β (PTC β). Cette transformation correspond bien à l'allure des courbes de thermogravimétrie et d'analyse thermique différentielle.

Les diagrammes à rayons X (fig. 9c) de microcristaux de phosphate octocalcique (rapport pondéral Ca/P égal à 1,73) préparés selon WATSON montrent dès 230° la disparition progressive des raies du phosphate octocalcique alors que subsistent celles communes à tous les orthophosphates calciques étudiés. Dès 500° apparaissent déjà les raies du phosphate tricalcique β , de même que des raies très faibles qui indiquent la formation de pyrophosphate de calcium β . Le diagramme à rayons X reste alors qualitativement inchangé jusqu'à 1000°, tout au plus l'élévation de température entraîne-t-elle une recristallisation importante, car les raies du PTC β augmentent beaucoup de netteté.

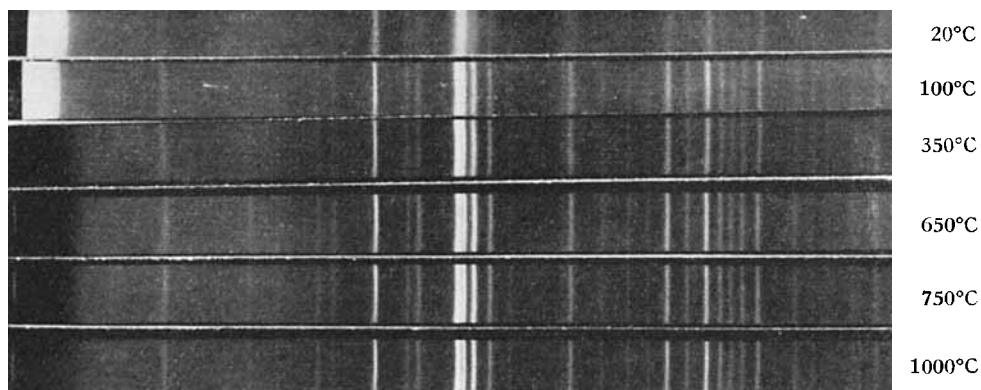


Fig. 9a. *Comportement thermique de l'hydroxylapatite calcique*

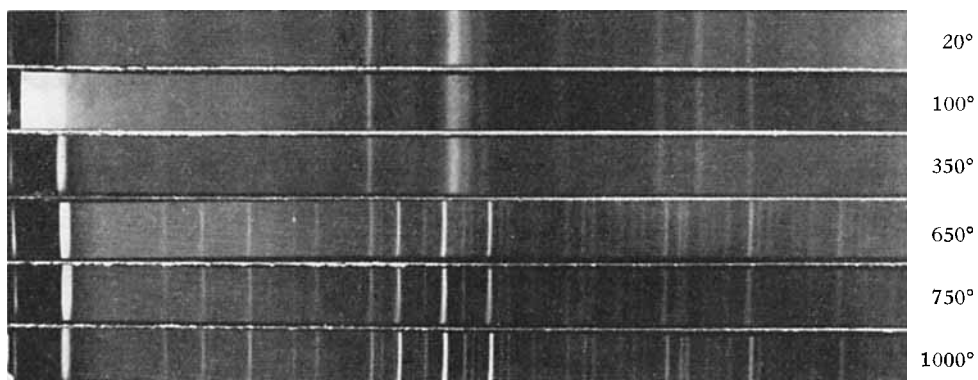


Fig. 9b. *Comportement thermique du phosphate tricalcique hydraté*

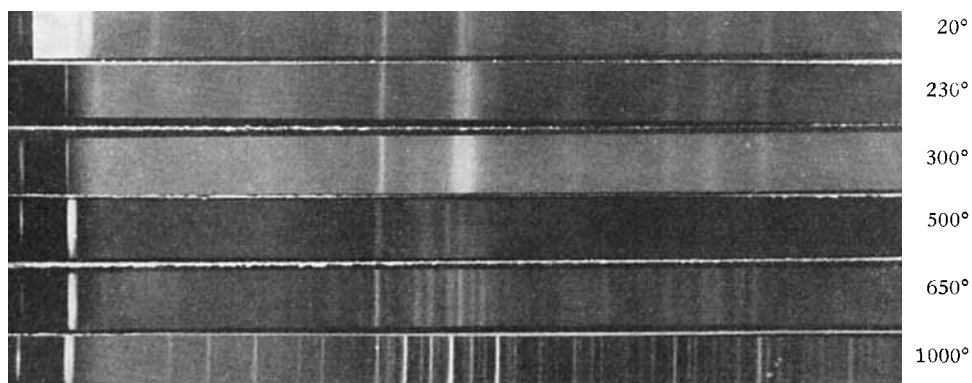


Fig. 9c. *Comportement thermique du phosphate octocalcique*

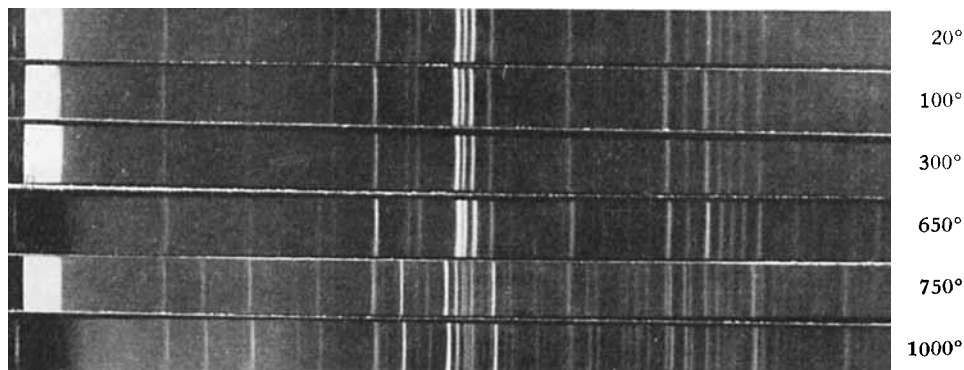


Fig. 9d. *Comportement thermique d'une préparation obtenue par précipitation en phase homogène*

Une préparation mixte d'hydroxylapatite calcique et de phosphate tricalcique hydraté (rapport pondéral Ca/P égal à 1,99) obtenue par précipitation en phase homogène donne un diagramme aux rayons X (fig. 9d) inchangé jusqu'à 650°, lequel est commun aux orthophosphates calciques étudiés. Dès 750° cependant le phosphate tricalcique hydraté s'est transformé en phosphate tricalcique β comme l'indiquent bien les diagrammes aux rayons X, qui montrent une superposition des raies de l'hydroxylapatite calcique et du phosphate tricalcique β jusqu'à 1000°. La diminution de l'intensité des raies caractéristiques communes aux orthophosphates calciques étudiés est manifeste et indique bien qu'au-dessus de 750°, seule l'hydroxylapatite calcique (environ 25% du mélange) subsiste.

Pour des raisons techniques, l'agrandissement des images données par le microscope électronique équipé du four électrique ne peut dépasser 10000 fois, et seule l'observation des préparations obtenues selon RATHJE, ou par précipitation en phase homogène, a pu être tentée avec succès (fig. 10a et 10b). Inchangé jusqu'à 650°, l'aspect des aiguilles se modifie vers 800°, par une courbure et un léger épaissement; les taches noires qui apparaissent sont dues à une condensation du matériel du support. A cette température, l'augmentation de la tension d'accélération des électrons provoque une fusion partielle des aiguilles.



Fig. 10a. *Produit préparé par précipitation en phase homogène, examiné à 25°*

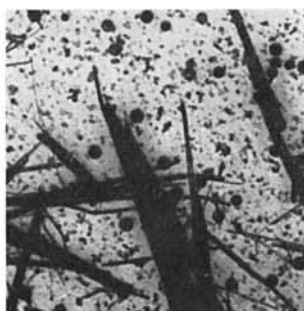


Fig. 10b. *Produit préparé par précipitation en phase homogène, examiné à 800°*

Les diffractogrammes électroniques, qui donnent à 25° une image orthorhombique, montrent à 800° une figure où l'orientation géométrique a disparu (fig. 8b). Cela peut s'expliquer par une désagrégation topochimique du monocristal en plusieurs monocristaux, sous l'effet combiné de la chaleur et des radiations, la forme extérieure restant inchangée.

Ces recherches ont bénéficié de l'appui du FONDS NATIONAL SUISSE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, que nous tenons à remercier de son aide.

RÉSUMÉ

La structure des orthophosphates de calcium étudiés, obtenus par diverses méthodes à l'état microcristallin, a été examinée à l'aide de la diffraction des rayons X et des électrons, du microscope électronique, de la mesure de la surface spécifique, de la thermogravimétrie et de l'analyse thermique différentielle. Les dimensions et les surfaces spécifiques des microcristaux et de leurs agrégats ont été déterminées; quant à la forme et à l'orientation des axes des microcristaux, il s'agit de longues aiguilles prismatiques à base hexagonale pour l'hydroxylapatite calcique et pour le phosphate tricalcique hydraté; le phosphate dit octocalcique est au contraire formé par des plaques, à côté d'un important matériel amorphe. Les résultats obtenus à l'aide de méthodes de diffraction et de la micrographie électronique appliquées à des produits chauffés à diverses températures jusqu'à 1000° confirment ceux de la thermogravimétrie et de l'analyse thermique différentielle.

Radiochemisches Labor
Universität Bern

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. HAYEK, *Mh. Chem.* **82**, 959 (1951).
 - [2] M. L. WATSON & R. A. ROBINSON, *Amer. J. Anat.* **93**, 25 (1953).
 - [3] L. GORDON, M. L. SALUTKY & H. H. WILLARD, «*Precipitation from Homogenous Solutions*», Wiley, New York 1959.
 - [4] W. RATHJE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **47**, 342 (1914).
 - [5] P. LERCH & CL. VUILLEUMIER, *Chimia* **18**, 20 (1964).
 - [6] P. LERCH & CL. VUILLEUMIER, *Chimia* **18**, 391 (1964); voir aussi «*3rd European Symposium on Calcified Tissues*», p. 132, Springer, Berlin 1963.
-