



О.А. Голованова

НАНОБИОКОМПОЗИТЫ ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ПРАКТИКЕ

Монография



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Ф.М. ДОСТОЕВСКОГО

О.А. Голованова

**НАНОБИОКОМПОЗИТЫ
ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ПРАКТИКЕ**

Монография



2017

УДК 620.3
ББК 30.36
Г610

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом ОмГУ

Рецензенты:

канд. хим. наук *С.А. Герк*,
канд. хим. наук *П.А. Пятанова*

Голованова, О. А.

Г610

Нанобиокомпозиты: от исследований к практике [Электронный ресурс] : монография / О. А. Голованова. – Электрон. текст. дан. – Омск : Изд-во Ом. гос. ун-та, 2017. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см.

ISBN 978-5-7779-2133-8

Представлены новейшие данные о перспективных материалах биомедицинского назначения, способах их исследования и переработки в специализированные изделия. Изложены методики и методические подходы, необходимые при выполнении исследований в сфере современного биомедицинского материаловедения.

Подготовлена по итогам работы молодежной научно-практической школы «Бионотехнологии», проходившей 23–24 апреля 2016 г. на базе Омского государственного университета им. Ф.М. Достоевского и студенческого конструкторского бюро «Биокомпозит» в рамках реализации программы развития деятельности студенческих объединений.

Для студентов, аспирантов, научных работников и специалистов материаловедения, биотехнологов, химиков-технологов, экологов.

**УДК 620.3
ББК 30.36**

*Текстовое электронное издание
Самостоятельное электронное издание*

© Голованова О.А., 2017
© ФГБОУ ВО «ОмГУ им. Ф.М. Достоевского», 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ	8
1.1. Обзор фосфатов кальция	9
1.2. Особенности состава биогенного апатита	16
1.3. Области применения материалов на основе фосфатов кальция	21
Глава 2. ПРОЦЕСС КРИСТАЛЛИЗАЦИИ	24
2.1. Понятие кристаллизации	24
2.2. Стадии кристаллизации	25
2.3. Факторы, влияющие на процесс кристаллизации	28
2.4. Методы изучения процесса кристаллизации	29
Глава 3. МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ	36
3.1. Пример расчета модельных систем и схема эксперимента	36
3.2. Методика определения индукционных периодов	45
3.3. Методика турбидиметрического определения кинетических характеристик кристаллизации	46
3.4. Методика потенциометрического определения ионов кальция и pH	47
3.5. Методика дисперсионного анализа	47
3.6. Методика определения типа микрокристаллизации БЖ	48
3.7. Постановка модельного эксперимента in vitro для определения возможности образования малорастворимых соединений в гипотетическом растворе, моделирующем состав раствора мочи здорового взрослого среднестатистического человека	49
3.8. Синтез гидроксилапатита при физиологических значениях температуры и pH раствора	50
3.9. Методика получения твердой фазы из модельного раствора синовиальной жидкости при физиологических значениях pH	53
3.10. Синтез фторапатита из модельного раствора ротовой жидкости	54
3.11. Методика синтеза фосфатов кальция из модельных растворов, приближенных по электролитному составу внеклеточной жидкости	55
3.12. Методика синтеза кристаллов брушита	56
3.13. Синтез одноводного оксалата кальция	56
3.14. Методика проведения адсорбционного эксперимента	57
Глава 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	66
4.1. Методика рентгенофазового анализа	66
4.2. Методика анализа образцов методом ИК-Фурье-спектроскопии	67
4.3. Методика определения Cu^{2+} и Zn^{2+} методом инверсионной вольтамперометрии	71
4.4. Методика рентгено-флуоресцентного анализа с применением синхротронного излучения (РФА СИ)	72
4.5. Методика количественного рентгеноспектрального микрозондового анализа (РСМА) петрографических шлифов слюнных камней	72
4.6. Методика атомно-эмиссионного спектрального анализа с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП)	72
4.7. Методика определения фторид-ионов с помощью ионселективного электрода	73
4.8. Методика определения хлорид-ионов с помощью ионселективного электрода	74
4.9. Методика определения ионов кальция с помощью ионселективного электрода	74
4.10. Методика измерения краевого угла смачивания фосфата кальция титанового образца	74
4.11. Методика электронной растровой (сканирующей) микроскопии	75
4.12. Методика определения аминокислотного состава органической составляющей зубных, слюнных камней и ротовой жидкости	75
4.13. Методика определения аминокислот	76
4.14. Методика термического анализа ТГ-ДТГ-ДТА	77
4.15. Методика удельной поверхности образцов	77
4.16. Методика изучения морфологии частиц твердой фазы методом оптической микроскопии	77

4.17. Методика измерения поверхностного натяжения суспензии фосфата кальция сталагмометрически [ГОСТ 50097-92]	78
4.18. Методика измерения вязкости модельного раствора синовиальной жидкости	78
4.19. Методика измерения толщины и площади покрытия	79
4.20. Методика проведения электронного парамагнитного резонанса	79
4.21. Методика термогравиметрического анализа	80
4.22. Определение ξ -потенциала и знака заряда частиц золь методом электрофореза	81
4.23. Методика изучения биоактивности ортофосфатов кальция	82
Глава 5. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	83
5.1. Методика определения Fe^{3+} спектрофотометрическим методом	83
5.2. Методика определения Mn^{2+} спектрофотометрическим методом	83
5.3. Определение кальция и магния при их совместном присутствии в растворе с отделением фосфатов	84
5.4. Определение аммиака в солях аммония методом обратного титрования с отделением фосфатов	84
5.5. Определение концентрации оксалата методом перманганатометрического титрования	85
5.6. Определение концентрации PO_4^{3-} по молибденовой сини	86
5.7. Методика определения титана с помощью перекиси водорода [ГОСТ 13997.6-84]	86
5.8. Методика фотометрического определения концентрации аминокислот	87
5.9. Методика определения содержания глюкозы в растворе йодометрическим методом [ГОСТ 3628-78]	87
5.10. Методика фотометрического определения концентрации кремния в виде желтой формы молибдокремниевой кислоты	88
5.11. Методика определения концентрации карбонат-ионов	88
5.12. Методика определения ионов цинка фотометрическим методом с дитизоном [ГОСТ 18293-72]	89
5.13. Методика определения ионов кадмия фотометрическим дитизонатным способом	89
Глава 6. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ	91
6.1. Термодинамические расчеты возможности образования малорастворимых соединений в гипотетическом растворе, моделирующем состав раствора мочи здорового взрослого среднестатистического человека	91
6.2. Поля устойчивости	102
6.3. Термодинамический расчет возможности и условий образования малорастворимых соединений в модельном растворе в присутствии микроэлементов	104
6.4. Термодинамический расчет возможности и условий образования малорастворимых соединений в модельном растворе в присутствии аминокислот	108
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	114
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	115

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых материалов медицинского назначения, предназначенных для контакта со средой живого организма, представляет собой задачу высокой сложности. Особо востребованы специализированные биосовместимые материалы для сформировавшегося в последние годы нового направления медицинского материаловедения – клеточной и тканевой инженерии, связанного с реконструктивной хирургией и разработкой биоискусственных органов. Эти исследования реализуются на стыке химии высокомолекулярных соединений, биотехнологии, биофизики, молекулярной и клеточной биологии и медицины и включают в себя комплекс взаимосвязанных фундаментальных задач: разработку новых материалов, методов модификации и их переработки в специализированные изделия биомедицинского назначения; изучение механизма взаимодействия биоматериалов с кровью и тканями; оценку физико-химических и медико-биологических свойств биоматериалов и изделий из них; экспериментально-клиническое исследование и применение новых материалов и изделий.

В монографии представлены новейшие данные о перспективных материалах биомедицинского назначения, способах их исследования и переработки в специализированные изделия. Книга предназначена для студентов, аспирантов, научных работников и специалистов материаловедения, биотехнологов, химиков-технологов, экологов. Подготовлена по итогам работы молодежной научно-практической школы «Бионанотехнологии», проходившей 23–24 апреля 2016 г. на базе Омского государственного университета им. Ф.М. Достоевского и студенческого конструкторского бюро «Биокомпозит» в рамках реализации программы развития деятельности студенческих объединений.

Глава 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

Представителями большой группы минералов, относящихся к структурному типу апатита, являются соединения с общей формулой $M_{10}X_6Y_2$, где $M = H_2O$, металлы (Ca^{2+} , Pb^{2+} , K^+ , Na^+ и т. д.); $X = P, As, Si, S, Cr, Ge$; $Y = OH^-, F^-, Cl^-, CO_3^{2-}$ [1]. Они имеют очень широкий спектр окраски, вызванной изоморфными примесями, из-за чего их красиво окрашенные природные разновидности часто путали с аквамарином, аметистом, оливином, флюоритом, бериллом и турмалином [2]. Отсюда и происходит название от греч. «апатао» – обманываю. Низкая твердость минералов (значение твердости 5 по шкале Мооса) не позволяет использовать их в качестве полудрагоценных камней, однако они находят широкое применение в других областях деятельности человека. Апатиты служат сырьем для производства удобрений, моющих средств, фармацевтических препаратов, зубных паст, спичек, пластификаторов, инсектицидов и других ядов, добавок к моторным топливам, при производстве фосфорной кислоты и ее солей, а также в стекольной и керамической промышленности, черной и цветной металлургии.

Одним из наиболее важных представителей данного класса соединений является гидроксилapatит $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Он широко распространен в природе. Самые крупные природные месторождения апатитов расположены в Марокко, России, Казахстане и США (Флорида, Теннесси) [3]. Однако в последние несколько десятилетий этот минерал вызывает интерес не только геологов, но и представителей естественных и медицинских наук, поскольку является основным строительным материалом для костей и зубов, входит в состав патогенных минеральных образований в организме человека.

Проведенный сравнительный кристаллохимический анализ особенностей биогенного и abiогенного апатита показал, что образования биогенного происхождения во многом отличаются от природных минералогических объектов, что, видимо, в определенной степени обусловлено различием механизмов, вызывающих их появление, а также условиями протекания данного процесса [4]. Из природных апатитов различного генезиса осадочный наиболее близок к биогенному [4; 5]. Исследования структуры синтетического апатита и тканей организма, в которых отмечается его присутствие, показали, что данный материал обладает свойством биосовместимости вследствие кристаллохимического подобия искусственного вещества костному «минералу» позвоночных. Это обуславливает возможность применения гидроксилapatита при изготовлении имплантатов для протезирования, в медицине в виде керамики, цемента и композитов.

Еще одно направление, вызванное большим интересом к изучению данных минералов, обусловлено тем, что апатиты входят в состав большинства патогенных биоминералов [6], причины и механизм образования которых до сих пор не выявлены. При этом следует отметить, что в последнее время наблюдается рост числа заболеваний, связанных с формированием данных агрегатов в организме человека. Поэтому важным и перспективным направлением является изучение процесса кристаллизации из прототипов биологических жидкостей. Одна из важнейших фундаментальных задач такого рода исследований – установление связи между составом и структурой биоминералов (патогенного и физиогенного происхождения), а также условий их формирования, вызванных аномальными изменениями состояния организма и окружающей среды.

1.1. Обзор фосфатов кальция

Ортофосфаты кальция являются химическими соединениями, которые вызывают интерес многих междисциплинарных областей науки, включая химию, геологию, биологию и медицину.

Все ортофосфаты кальция состоят из трех главных химических элементов: кальций (с.о. = +2), фосфор (с.о. = +5) и кислород (с.о. = -2), как часть ортофосфат-анионов. Эти три химических элемента присутствуют в большом количестве на поверхности нашей планеты: кислород – самый широко распространенный химический элемент поверхности земли (47 массовых %), кальций занимает пятое место (3,3–3,4 массовых %), и фосфор (0,08–0,12 массовых %) находится среди первых двадцати наиболее широко распространенных на нашей планете химических элементов. Кроме того, в химический состав многих ортофосфатов кальция входит водород или в составе кислого ортофосфат-аниона (например, HPO_4^{2-} или H_2PO_4^-), и/или в составе воды (например, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Разнообразные комбинации оксидов кальция и фосфора (в присутствии воды и без нее) обуславливают большое разнообразие фосфатов кальция, которые различают по типу фосфат-аниона: орто-(PO_4^{3-}), мета-(PO_3^{3-}), пиро-($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), и поли-((PO_3) n^{n-}). В случае многозарядных анионов (ортофосфаты и пирофосфаты) фосфаты кальция также отличаются числом ионов водорода, входящих в состав аниона. Примеры включают моно-($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), ди-(CaHPO_4), три-($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) и тетрафосфаты кальция ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) [7–12].

Атомная структура ортофосфатов кальция построена вокруг сетки ортофосфат-ионов (PO_4), что дает стабильность всей структуре. Большинство ортофосфатов кальция относительно мало растворимо в воде. Однако все они легко растворимы в кислотах, но нерастворимы в щелочных растворах. Все химически чистые ортофосфаты кальция являются кристаллическими веществами белого цвета и средней твердости. Природные минералы ортофосфатов кальция всегда окрашены из-за присутствия в них примесей, самые широко распространенные из которых – примеси ионов железа и редкоземельных элементов. Биологически сформированный ортофосфат кальция является главным компонентом всех минерализованных тканей млекопитающих, в то время как природные ортофосфаты кальция являются главным сырьем для производства фосфорсодержащих минеральных удобрений.

Ортофосфаты кальция распространены и в природе, и в живых организмах. Геологически природные ортофосфаты кальция найдены в различных областях, главным образом в виде отложений апатитов (в основном фторапатита (ФА), химическая формула $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) или фосфоритов. На рис. 1 показаны образцы поли- и монокристаллических природных ФА.

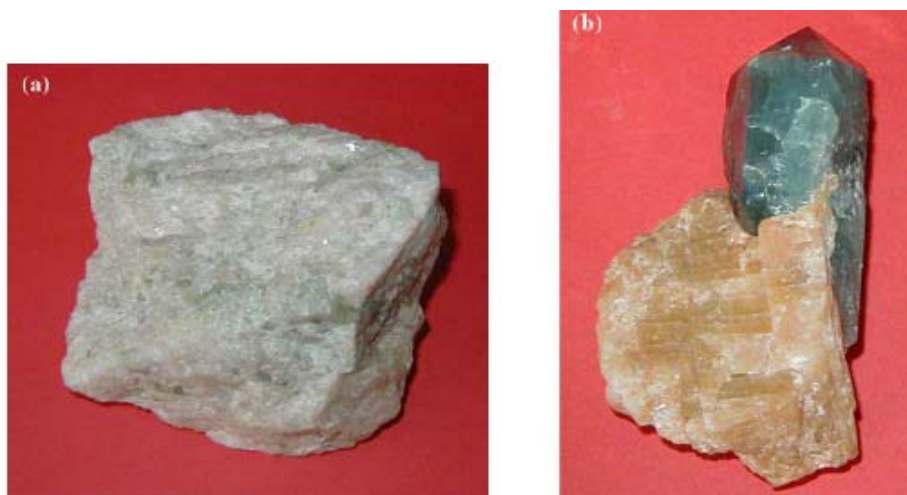


Рис. 1. ФА геологического происхождения: а) поликристаллический; б) монокристаллический (монокристалл имеет серо-зеленый цвет, вызванный включением ионов переходных металлов)

В трехкомпонентной системе $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{--H}_3\text{PO}_4\text{--H}_2\text{O}$ возможно существование 11 известных незамещенных ортофосфатов кальция с атомным соотношением Ca/P в пределах 0,5 и 2,0 (табл. 1) [5]. Наиболее важные параметры – величина атомного отношения Ca/P , основность/кислотность и растворимость. Эти параметры сильно зависят от pH раствора. Чем меньше величина Ca/P , тем более кислый и растворимый в воде ортофосфат кальция. Из-за тройного ионного равновесия, которое существует в растворе, содержащем фосфат-ионы, изменение pH приводит к изменению относительных концентраций четырех полиморфных форм ортофосфорной кислоты (рис. 2) и, следовательно, химического состава и количества ортофосфатов кальция, которые формируются в результате прямого осаждения. Краткое описание всех ортофосфатов кальция приведено в табл. 1.

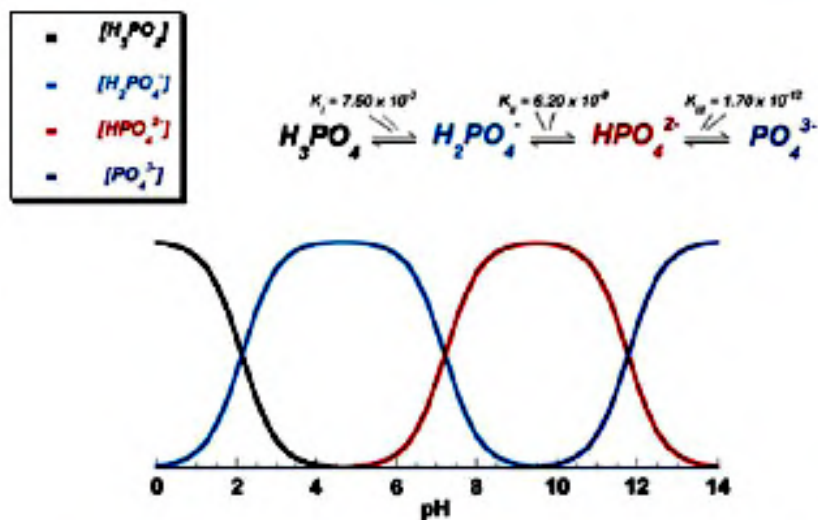


Рис. 2. Изменение ионных концентраций в тройном равновесии для фосфорных кислотных растворов

Таблица 1

Свойства ортофосфатов кальция

Наименование	Формула	Ca/P	Минерал	Аббревиатура	Область существования pH в водном растворе, $t = 25^\circ\text{C}$
Монокальцийфосфат одноводный	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,50	–	МКФМ	0–2,0
Дикальцийфосфат двухводный	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	Брушит	ДКФД	2,0–6,0
Дикальцийфосфат	CaHPO_4	1,00	Монетит	ДКФ	Устойчив при $t > 100^\circ\text{C}$
Октокальцийфосфат	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	–	ОКФ	5,5–7,0
«Осажденный» апатит	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1,50–1,67	–	ОГА	6,5–9,5
Аморфный кальцийфосфат	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ $n=3,0\text{--}4,5$	1,50	–	АКФ	5–12
Монокальцийфосфат	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,50	–	МКФ	Устойчив при $t > 100^\circ\text{C}$
а-трикальцийфосфат	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	–	а-ТКФ	Не могут быть получены осаждением из водных растворов
β-трикальцийфосфат	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	Витлокит	β-ТКФ	
Гидроксилapatит	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	Апатит	ГА	9,5–12
Тетракальцийфосфат	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,00	Хилгенстокит	ТеКФ	Не может быть получен осаждением из водных растворов

Кальций дигидроортофосфат моногидрат (монокальция фосфат моногидрат, МСРМ, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) – самый кислый и растворимый в воде ортофосфат кальция. Он осаждается из очень кислых растворов, которые обычно используются в промышленности по производству фосфорсодержащих удобрений («тройной суперфосфат»). При температурах выше 100°C это соединение теряет молекулу воды и переходит в МСРА. Из-за высокой кислотности и растворимости МСРМ не встречается в биологических тканях и минеральных новообразованиях. Более того, чистый МСРМ не обладает свойством биосовместимости с костью. Однако в медицине МСРМ используется как компонент некоторых самозатвердевающих кальциевых ортофосфатных цементах.

Безводный дигидроортофосфат кальция (безводный фосфат монокальция, МСРА, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) – безводная форма МСРМ. Он кристаллизуется при тех же условиях, что и МСРМ, но при температуре более 100°C (например, из высококонцентрированных растворов в производстве удобрений). Как МСРМ, МСРА не встречается в твердых тканях человека и не является биосовместимым из-за его кислотности. В настоящее время МСРА не применяется в медицине.

Гидрофосфат дигидрат кальция (дигидрат фосфата дикальция, DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, минерал брушит) может легко кристаллизоваться из водных растворов. Он превращается в ДСРА при температурах выше 80°C . DCPD является биологически важным, поскольку он часто встречается в составе патологических минеральных образований (зубные камни, в составе мочевых камней). Предполагается, что образование брушита является промежуточным этапом в процессе минерализации кости и при разрушении эмали в кислотах (эрозия зубной эмали). В медицине DCPD используется в составе цементах на основе фосфата кальция и как полупродукт для реминерализации зубов.

Безводный гидрофосфат кальция (безводный фосфат дикальция, ДСРА, CaHPO_4 , минерал монетит) – безводная форма DCPD. Как DCPD, ДСРА может быть получен осаждением из водных растворов, но при температуре 100°C . В отличие от DCPD, ДСРА не присутствует ни в нормальных, ни в патологических минеральных образованиях живого организма. Он также используется в составе цементах на основе фосфатов кальция. Его применяют как агент для полировки, источник кальция и фосфора в пищевых добавках (например, в готовых хлебных злаковых завтраках, обогащенной муке и макаронных изделиях), в таблетках и как компонент зубных паст.

Октакальция фосфат (ОСР, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) часто образуется как промежуточное соединение во время осаждения термодинамически более устойчивых ортофосфатов кальция (например, CDHA) в водных растворах (рис. 3). Структурно ОСР состоит из апатитовых слоев (с атомными расположениями кальция и фосфат-ионов, подобному таковому в ГА), отделенных гидратными слоями (молекулами воды). ОСР играет важную роль при формировании апатитовых биоминералов в естественных условиях, *in vivo*. В хирургии ОСР используется для внедрения в дефекты кости.

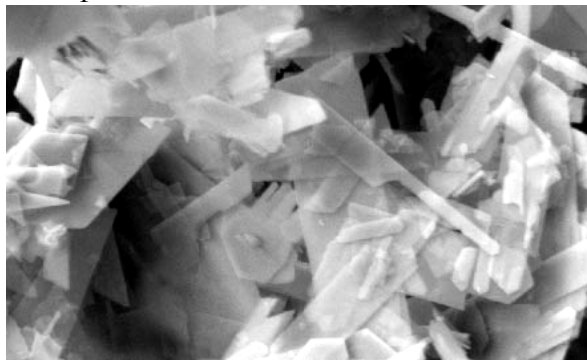


Рис. 3. Морфология частиц октокальцийфосфата

β-ортофосфат кальция (β-трикальция фосфат, β-ТСР, $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) не может быть осажден из водных растворов. Эта фаза является высоко температурной модификацией ортофосфата кальция, которая может быть получена только в результате теплового разложения, например, CDHA, в температурах выше 800 °С. Кроме химических способов получения, ион-замещенный β-ТСР может быть получен при сжигании костей: такой тип β-ТСР иногда называют «костной золой».

При температурах выше 1125 °С β-ортофосфат кальция переходит в высокотемпературную фазу α-ТСР. Будучи устойчивой фазой при комнатной температуре, β-ТСР менее растворим в воде чем α-ТСР. Чистый β-ТСР никогда не встречается в биологических минералообразованиях. Только Mg-замещенная форма, называемая витлокит (β-ТСМР, β-трикальция, магния фосфат, $\beta(\text{Ca}, \text{Mg})_3(\text{PO}_4)_2$), найдена в зубных и мочевых камнях, зубном кариесе, слюнных камнях, подагрическом хряще, а также в некоторых отложениях мягких тканей.

α-ортофосфат кальция (α-трикальция фосфат, α-ТСР, $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) обычно получается из β-ТСР при нагревании выше 1125 °С, и его можно рассматривать как высокотемпературную модификацию β-ТСР.

Хотя у α-ТСР и β-ТСР одинаковый химический состав, они отличаются кристаллической структурой и растворимостью. Кроме того, β-ТСР более устойчив по сравнению с альфа-фосфатом. Поэтому, из них α-ТСР является более реакционноспособным в водных системах, имеет более высокую энергию и может гидролизироваться с образованием смеси других фосфатов кальция. α-ТСР никогда не присутствует в биологических минеральных отложениях, но в медицине химически чистый α-ТСР иногда используется в составе цемента на основе фосфатов кальция.

Аморфный фосфат кальция (АСР, $\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n = 3\text{--}4,5$; H_2O на 15–20 %) часто встречается как переходная фаза, возникающая в процессе формирования ортофосфатов кальция в водных системах. Обычно АСР – первая фаза, осаждающаяся из пересыщенного раствора, полученного быстрым смешиванием растворов, содержащих ионы кальция и фосфат-ионы. Степень аморфности АСР увеличивается с увеличением концентрации кальция и фосфатов в растворе, а также при высоком pH раствора и низкой температуре кристаллизации.

Кальций дефицитный гидроксилapatит (CDHA, $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_2$, $0 < x < 1$) может быть легко получен при одновременном добавлении растворов, содержащих ионы кальция и ортофосфат-ионы, в кипящую воду и при дальнейшем кипячении в течение нескольких часов. В течение этого времени первоначально осажденный АСР переструктурируется и преобразуется в CDHA. Поэтому есть много общих черт в структуре, свойствах и применении осажденного в щелочных растворах ($\text{pH} > 8$) АСР и CDHA. Кристаллы CDHA плохо окристаллизованы и имеют субмикронные размеры. CDHA имеет очень большую площадь поверхности, обычно 25–100 m^2/g . При нагревании выше 700 °С чистый CDHA с $\text{Ca}/\text{P} = 1,5$ переходит в β-ТСР, тогда как CDHA с $1,5 < \text{Ca}/\text{P} < 1,67$ превращается в смесь ХА и β-ТСР (вышеупомянутый ВСР).

Незамещенный CDHA (т. е. содержащий только ионы Ca^{2+} , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} и OH^-) не присутствует в биологических системах. Ион-замещенный CDHA: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} для Ca^{2+} ; CO_3^{2-} для PO_4^{3-} или HPO_4^{2-} ; F^- , Cl^- , CO_3^{2-} для OH^- , плюс некоторое количество воды, входящей в состав биологического апатита, – главная неорганическая часть животных и человеческих физиогенных и патологических минеральных образований. Поэтому CDHA – очень перспективное соединение для промышленного производства искусственных протезов кости.

Гидроксилapatит (ХА $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, но обычно пишется $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, чтобы обозначить, что кристаллическая элементарная ячейка включает две молекулы) является вторым самым устойчивым и наименее растворимым ортофосфатом кальция после FA (см. далее).

Химически чистый ХА кристаллизуется в моноклинной пространственной группе $P2_1/b$. Однако при температурах выше $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ переходит из моноклинной в гексагональную пространственную группу для ХА (пространственная группа $P6_3/m$). Некоторые примеси, например такие, как частичная замена гидроксид-иона фторидом или хлоридом, стабилизирует гексагональную структуру ХА при обычной температуре. Поэтому очень редкие единичные кристаллы природных ХА характеризуются именно гексагональной пространственной группой. Более подробное описание строения гидроксилапатита, его методов синтеза и применения приведено в п. 1.2. и 1.3.

Фтороапатит (ФА (или FAp), $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, но обычно пишут $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, чтобы обозначить, что элементарная кристаллическая ячейка включает две молекулы) является самым твердым (5 баллов согласно шкале Мооса твердости минералов), самым устойчивым и наименее растворимым соединением среди всех ортофосфатов кальция. Из-за этих свойств ФА – единственный ортофосфат кальция, который в природе формирует большие залежи, подходящие для коммерческого использования.

Тетракальция фосфат (ТТСП (или TetCP), $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$; минерал хилгенстокит) – самый основной ортофосфат кальция. Однако его растворимость в воде выше, чем у ХА. ТТСП не может быть осажден из водных растворов. Это соединение может быть получено только с помощью твердофазной реакции при температуре выше $1300\text{ }^{\circ}\text{C}$, например, нагреванием гомогенизированной эквимольной смеси DCPA и CaCO_3 в сухом воздухе или в потоке сухого азота.

Кристаллографические характеристики фосфатов кальция приведены в табл. 2, далее рассмотрим особенности структуры гидроксилапатита.

Т а б л и ц а 2

Кристаллографические характеристики фосфатов кальция

Соединение	Сингония, пространственная группа	Параметры эл. яч., Å, град	Число форм. ед. в эл. яч.	Плотность, г/см ³
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Триклиная, $P\bar{1}$	$a = 5,6261(5)$ $b = 11,889(2)$ $c = 6,4731(8)$ $\alpha = 98,633(6)$ $\beta = 118,262(6)$ $\gamma = 83,344(6)$	2	2,23
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	Триклиная, $P\bar{1}$	$a = 7,5577(5)$ $b = 8,2531(6)$ $c = 5,5504(3)$ $\alpha = 109,87(1)$ $\beta = 93,68(1)$ $\gamma = 109,15(1)$	2	2,58
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Моноклинная, Ia	$a = 5,812(2)$ $b = 15,180(3)$ $c = 6,239(2)$ $\beta = 116,42(3)$	4	2,32
CaHPO_4	Триклиная, $P\bar{1}$	$a = 6,910(1)$ $b = 6,627(2)$ $c = 6,998(2)$ $\alpha = 96,34(2)$ $\beta = 103,82(2)$ $\gamma = 88,33(2)$	4	2,89
$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Триклиная, $P\bar{1}$	$a = 19,692(4)$ $b = 9,523(2)$ $c = 6,835(2)$ $\alpha = 90,15(2)$ $\beta = 92,54(2)$ $\gamma = 108,65(1)$	1	2,61

Соединение	Сингония, пространственная группа	Параметры эл. яч., Å, град	Число форм. ед. в эл. яч.	Плотность, г/см ³
α -Ca ₃ (PO ₄) ₂	Моноклинная, P2 ₁ /a	a = 12,887(2) b = 27,280(4) c = 15,219(2) β = 126,20(1)	24	2,86
β -Ca ₃ (PO ₄) ₂	Ромбическая, R3cH	a = b = 10,439(1) c = 37,375(6) γ = 120	21 (в гексагон. эл. яч.)	3,07
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Моноклинная, P2 ₁ /b	a = 9,84214(8) b = 2a c = 6,8814(7) γ = 120 (моноклинная)	4	3,16
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Гексагональная, P6 ₃ /m	a = b = 9,4302(5) c = 6,8911(6) γ = 120 (гексагональная)	2	3,16

Характеристика гидроксилапатита

Кристаллохимия гидроксилапатита

Кристаллическая структура ГА принадлежит к пространственной группе P6₃/m гексагональной системы ($a = b = 9,432$ Å и $c = 6,881$ Å).

Название минерала происходит от греч. «апатао» – обманываю, поскольку красиво окрашенные природные разновидности апатита часто путали с бериллами и турмалином. Несмотря на очень широкий спектр окраски природных апатитов, вызванной изоморфными примесями, низкая твердость минерала не позволяет рассматривать его в качестве полудрагоценного поделочного камня [13–16].

В структуре апатита различают два типа катионных позиций. Одна из них – CaI – представляет собой девятивершинники CaO₉, где среднее межатомное расстояние Ca–O составляет 2,55 Å, а объем полиэдров равен 30,2 Å³ (рис. 4а).

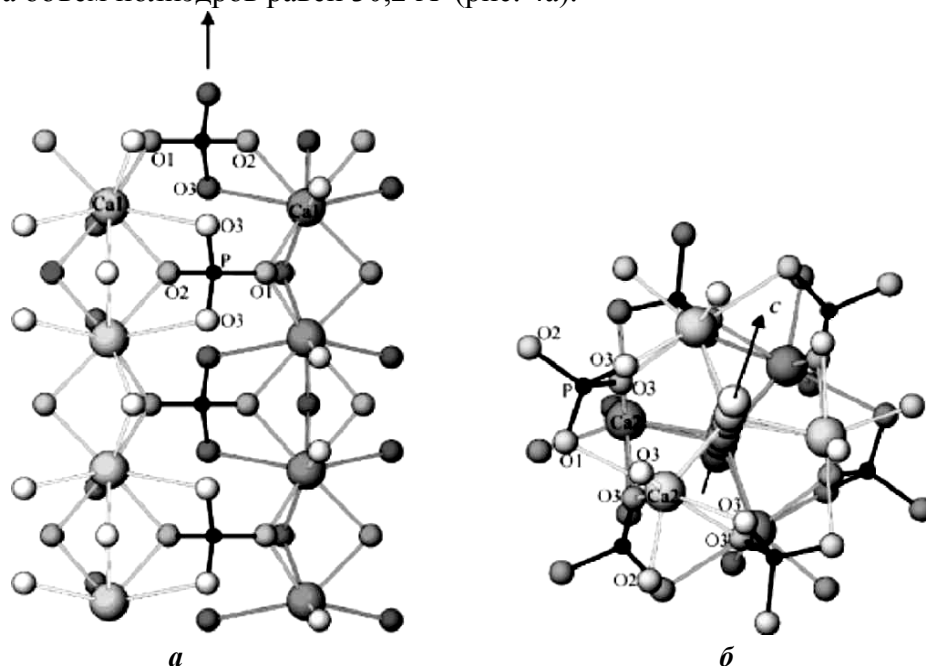


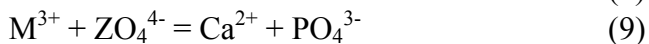
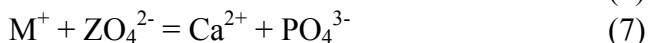
Рис. 4. Координационное окружение кристаллографически разных ионов кальция в структуре гидроксилапатита:

а – колонки ионов CaI с окружением из девяти ионов кислорода (6 близких и 3 более удаленных);
б – треугольники ионов CaII вокруг OH-канала с окружением из семи ионов кислорода

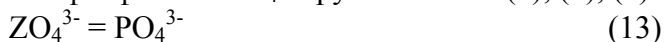
Второй тип катионных позиции – CaII – представляет собой семивершинники $\text{CaO}_6\text{F}(\text{CaO}_7)$ со средним межатомным расстоянием 2,45 Å и объемом 22,0 Å³. Три винтовые оси из CaII образуют треугольники из зеркальной плоскости, формируя каналы вдоль кристаллографической оси *c*. Ионы OH⁻ гидроксилapatита находятся в каналах на расстоянии ~ 0,3 Å вне плоскости Ca^{2+} треугольника, менее крупные ионы F⁻ фторапатита лежат в плоскости (см. рис. 4б). Кристаллическая структура ГА определяет термодинамически равновесную форму кристаллов в виде шестигранной призмы (иглы), вытянутой вдоль оси *c*.

Изоморфные замещения в структуре гидроксилapatита

Полиэдр CaI существенно крупнее по размерам, чем CaII (на 38 % по объему). Поэтому следовало бы ожидать, что более крупные чем Ca^{2+} катионы будут преимущественно заселять позиции CaI при образовании соответствующих твердых растворов. Доминирующим фактором, определяющим заполнение катионных позиций, является характер химической связи, образуемой двухвалентным катионом в определенном положении кристаллической структуры. Фактор размерного подобия ионов заместителя с ионами кальция менее значим. Можно предложить различные механизмы катионных замещений в структуре апатита (\square = вакансия):



Для одно- и трехзарядных катионов более характерно заполнение позиций CaII, поскольку в этом случае больше возможностей для зарядовой компенсации при соответствующем гетеровалентном замещении в анионных подрешетках. Предложенные механизмы замещения фосфатных PO_4^{3-} групп помимо (3), (7), (9) и (11) включают:



Известно, что костный минерал содержит в заметном количестве (~ 8 % масс.) карбонат-ионы, существует также природный минерал сходного состава. Считается, что карбонат-ионы могут занимать две разные позиции в структуре ГА, замещая гидроксил- и/или фосфат-ионы с образованием карбонат-гидроксилapatита (КГА) А- и Б-типа, соответственно. Апатит биологического происхождения относится к Б-типу. Замещение фосфат-ионов карбонат-ионами приводит к уменьшению размеров кристаллов и степени кристалличности ГА, что сильно затрудняет исследование природных биоминералов. Модели образования карбонат-замещенного ГА строятся на результатах ИК-спектроскопии, рентгеновских исследований и данных химического анализа с учетом условия электронейтральности соединения. Замещение карбонатным ионом гидроксила в апатите А-типа приводит к расширению элементарной ячейки вдоль оси *a* и небольшому сжатию вдоль оси *c*, что сопровождается изменением пространственной группы с $\text{P6}_3/\text{m}$ на P6 . В случае КГА Б-типа наоборот наблюдается уменьшение параметра *a* и увеличение *c*. Это вызывает закономерные изменения в равновесной фор-

ме кристалла: вытянутая вдоль оси *c* игла «сплющивается» до пластины, что очень похоже на морфологию биогенного апатита.

Вопрос о предельной степени замещения фосфатных групп силикатными в структуре апатита остается открытым. С ростом степени замещения фосфатных групп силикатными (до 4 % масс. кремния) форма частиц изменяется с равноосной на игольчатую. Исходя из общих положений изоморфной смесимости, заметная разница в размерах тетраэдрических анионов (расстояния Si-O = 1,66 Å, P-O = 1,55 Å) должна приводить к дестабилизации структуры при замещении фосфат-иона на силикат-ион. Наиболее благоприятные возможности для релаксации возникающих микронапряжений в структуре связаны с поверхностной сегрегацией силикатных ионов в апатите. Следовательно, есть основания полагать, что основная масса кремния в однофазных образцах сосредоточена в поверхностном слое частиц гидроксилапатита.

1.2. Особенности состава биогенного апатита

Наиболее важным в биологическом отношении фосфатом кальция является гидроксилапатит – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Он может встречаться в виде карбонат-гидроксилапатита и фторапатита (рис. 5) [6; 7; 17–19].

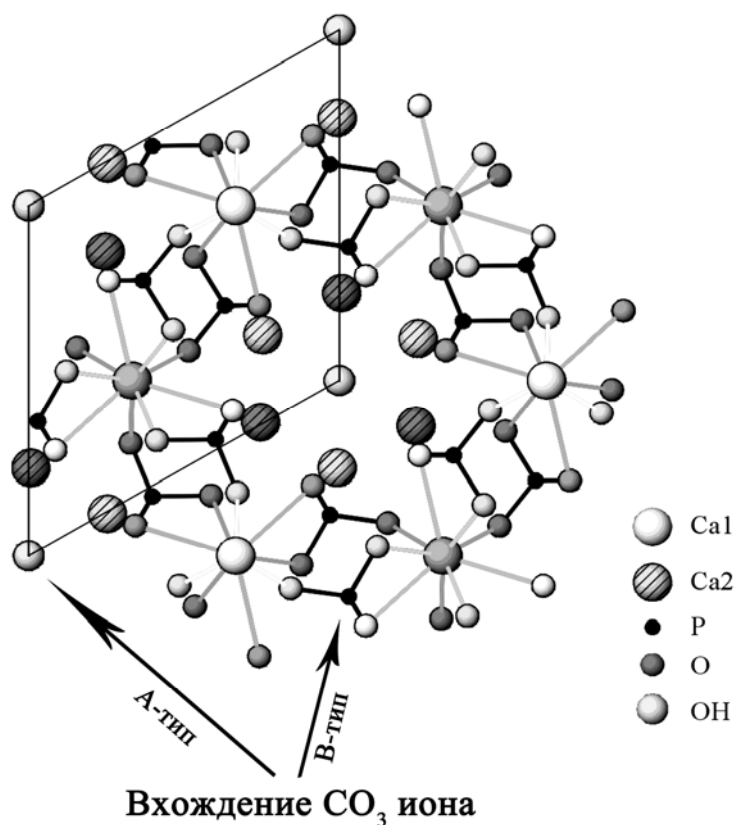


Рис. 5. Кристаллическая структура гидроксилапатита $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$:

A-тип замещения: $2\text{OH}^- \leftarrow [\text{CO}_3]^{2-}$

B-тип замещения: $\text{Ca}^{2+} + [\text{PO}_4]^{3-} + \text{OH}^- \leftarrow \text{Ca} + [\text{CO}_3]^{2-} + \text{OH}$

$\text{Ca}^{2+} + [\text{PO}_4]^{3-} \leftarrow \text{Na}^+ + [\text{CO}_3]^{2-}$

В структуре биогенного карбонат-гидроксилапатита всегда присутствуют группы CO_3 или CO_3OH , которые либо замещают тетраэдр PO_4 (B-тип), либо группы OH в каналах (A-тип). При этом возникают отклонения от стехиометрии, что связано с компенсацией дисбаланса заряда, а также изменение кристалличности и размера кристаллов, параметров кристаллической решетки и пространственной группы симметрии соединения.

Апатит биогенного происхождения относится к В-типу, с помощью РФА и ИК-спектроскопии установлено, что слабо окристаллизованным карбонат-гидроксилапатитом представлена минеральная составляющая зубных камней, которая по содержанию неорганических веществ близка к дентину и зубной эмали.

Основное отличие структур гидроксилапатита и фторапатита заключается в том, что ион фтора находится в плоскости симметрии, гидроксил-ион статистически распределен выше и ниже этой плоскости приблизительно на 0.3 Å. Направление связи О-Н никогда не лежит в плоскости симметрии. Это структурное различие может быть причиной относительной стабильности фторапатитов по сравнению с гидроксилапатитами { $pK_{s, 310}^{\circ}(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH})=117.2$, $pK_{s, 310}^{\circ}(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F})=120.0$ }. Кристаллики фторсодержащих костных гидроксилапатитов росли быстрее и в результате имели большие размеры по сравнению с кристаллами «чистых» гидроксилапатитов. Большая стабильность фторапатита по сравнению с гидроксилапатитом используется в стоматологии для восстановления структурных и механических свойств зубной эмали.

В кристаллическую структуру биогенного апатита также могут изоморфно входить примеси двухвалентных (Mg, Sr, Ba), одновалентных (Na, K) и других катионов, а также одновалентных анионов (F, Cl). С учетом возможных изоморфных замещений формула стехиометрического апатита имеет вид:



где $\text{Me} = \text{Ca}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Mn}^{3+}, \text{Sr}^{2+}, \text{Ba}^{2+}, \text{Na}^+, \text{Rb}^+, \text{Y}^{3+}$;
 $\text{X} = \text{P}^{5+}, \text{Si}^{4+}, \text{S}^{6+}, \text{Mn}^{7+}, \text{As}^{5+}$;
 $\text{Y} = \text{F}^-, \text{Cl}^-, \text{OH}^-, \text{O}^{2-}$.

Установлено, что в водном растворе ионы OH^- в гидроксилапатите самопроизвольно будут замещаться сульфат-, фторид- и карбонат-ионами, в то время как фторапатит самопроизвольно не вступает в анионообменные реакции. Таким образом, по уменьшению замещающей способности в водном растворе анионы можно расположить в виде следующей последовательности:



Таким образом, для гидроксилапатита характерен как гетеровалентный, так и изовалентный изоморфизм.

О том, как сильно исследуемый биоапатит отличается от стехиометрического гидроксилапатита с идеальной формулой $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, принято судить по значению отношения атомных количеств Са/Р. Чем больше дефицит кальция или фосфора, тем сильнее оно отличается от значения 1,67, характерного для идеального состава. Отклонения от стехиометрической величины соотношения Са/Р могут быть вызваны присутствием в структуре соединения ионов H_3O^+ , HPO_4^{2-} , а также молекул воды, которые занимают позиции ионов Ca^{2+} , PO_4^{3-} и OH^- соответственно. Такого рода замещения приводят к формированию кальций дефицитных гидроксилапатитов двух видов:

1) $\text{Ca}_{9-x}(\text{HPO}_4)_{1+2x}(\text{PO}_4)_{5-2x}\text{OH} \cdot m \text{H}_2\text{O}$ – апатиты с недостатком кальция первого типа, характеризуются значениями соотношений Са/Р в области от 1,33 до 1,50;

2) $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x} \cdot n \text{H}_2\text{O}$ – апатиты с недостатком кальция второго типа, для которых Са/Р-показатель принимает значения от 1,50 до 1,67.

Кроме того, предполагается существование соединений со структурой гидроксилапатита, имеющих значения Са/Р-коэффициента $> 1,67$. Возможно, такие соединения являются твердыми растворами $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ и $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Для биогенного апатита изменение Са/Р-параметра наблюдается в относительно широких пределах вследствие наличия примесей.

Методы синтеза гидроксилапатита

Важная биологическая роль гидроксилапатита в организме человека, а также широкое применение в различных сферах деятельности обуславливают высокую потребность в данном материале и возрастающий интерес к нему. В Марокко, России, Казахстане и США (Флорида, Теннесси) разведаны месторождения минерала, однако все большее внимание ученые уделяют разработке методов получения его синтетического аналога. Имеющиеся на настоящий момент методы синтеза гидроксилапатита, в зависимости от условий при которых он осуществляется, можно разделить на две большие группы: твердофазные синтезы и методы осаждения из растворов [20–30].

Среди работ по **твердофазному синтезу** гидроксилапатита можно отметить исследование Wantae Kim с соавторами, осуществивших синтез монокристаллического $\text{Ca}_{10}(\text{PO})_6(\text{OH})_2$ из трех типов порошкообразных смесей: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \triangleleft 2\text{H}_2\text{O}-\text{CaO}$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \triangleleft 2\text{H}_2\text{O} - \text{Ca}(\text{OH})_2$ и $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \triangleleft 2\text{H}_2\text{O} - \text{CaCO}_3$, методом сухого перемалывания порошков [26]. Авторами было установлено, что наиболее эффективным является метод получения гидроксилапатита из смеси $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \triangleleft 2\text{H}_2\text{O} - \text{Ca}(\text{OH})_2$.

В 1999 г. А.С. Тас были проведены пробные опыты по синтезу гидроксилапатита в режиме горения порошков [25]. Удалось синтезировать чистые порошки гидроксилапатита путем обжига при 700–1100 °С вспененного раствора фосфата кальция, полученного при взаимодействии содержащих мочевины растворов нитрата кальция и гидрофосфата аммония. Апатиты, полученные методами высокотемпературного твердофазного синтеза, обладают высокой степенью окристаллизованности. Однако следует отметить, что использование данных методов не всегда оправдано, не только вследствие высокой трудоемкости процесса, но и потому что в настоящее время наибольший интерес представляют методы получения гидроксилапатита, максимально приближенного по структуре и составу к биогенному апатиту в условиях, близких к *in vivo*.

Поскольку одной из целей настоящего исследования является получение биогенного аналога гидроксилапатита, то большее внимание в данном обзоре будет уделено методам синтеза данной фазы из растворов.

Проблеме разработки методов синтеза гидроксилапатита из водных растворов посвящено большое количество литературы как отечественных, так и зарубежных авторов. При этом в зависимости от направления и целей синтеза все методы можно условно разделить на две группы:

1. **Методы синтеза в условиях, отличных от физиологических**, направленные на разработку методик получения массовых количеств гидроксилапатита, используемого в качестве материала в медицине, промышленности и научных исследованиях (сорбент при колоночном хроматографировании биополимеров, создание биосовместимых материалов для протезирования и т. д.);

2. **Методы получения гидроксилапатитов в условиях, близких к физиологическим.**

К синтезам, относящимся к первой группе, можно отнести предложенный в 1979 г. В. Кибальчицем (с соавторами) экспресс-синтез высокодисперсных кристаллов гидроксилапатита. Суть метода заключается в том, что кристаллизацию проводят из растворов с высоким пересыщением при комнатной температуре в условиях быстрого смешения и постоянного перемешивания реагентов. Полученный таким образом гидроксилапатит авторы предлагают использовать в качестве сорбента для колоночной хроматографии.

В серии работ, проведенных В.П. Орловским и Г.В. Родичевой с соавторами, применялась методика, позволяющая получать синтетические гидроксилапатиты различного стехиометрического состава путем изменения молярного отношения Ca/P в растворе.

На основании проведенного литературного обзора по предлагаемым методам синтеза гидроксилapatита, целью которых является получение высококачественных материалов, используемых в различных областях медицины, науки и техники, можно сделать вывод, что несмотря на различие условий, при которых осуществляется тот или иной синтез, общим для всех них можно отметить тот факт, что основной целью данных работ в первую очередь является подбор оптимальных условий, обеспечивающих максимальный выход продукта. Принципиально другой подход присущ методам синтеза гидроксилapatита в условиях, близких к тем, при которых протекают физиологические процессы в организме человека. Следует отметить, что в настоящее время интерес к изучению закономерностей протекания данного процесса существенно возрос, о чем свидетельствует большое количество статей как зарубежных, так и отечественных авторов, посвященных данной проблеме.

В этой связи интересными являются методы разработанные А.С. Тас с соавторами, ими был осуществлен синтез гидроксилapatита при 37 °С в среде синтетических биологических жидкостях (SBF) при pH = 7,4 двумя методами: «*initial addition*» (начальных добавок) и «*continuous addition*» (непрерывных добавок). Суть их заключается в том, что в первом случае к раствору, содержащему SBF, Ca(NO₃)₂ и водный раствор аммиака, при температуре 37 °С добавляют раствор (NH₄)₂HPO₄. Метод «*continuous addition*» отличается от первого тем, что растворы NH₄OH и (NH₄)₂HPO₄ в SBF добавляют к нитрату кальция не сразу, а отдельными порциями. Результаты, полученные в работе, указывают на то, что в данных условиях возможен синтез гидроксилapatита.

Среди отечественных разработок синтетических методов получения гидроксилapatита в условиях физиологической среды можно отметить серию работ П.М. Ларионова и А.Т. Титова с соавторами, целью которых являлось осуществление синтеза гидроксилapatита в условиях, моделирующих состав крови здорового человека, для получения синтетических аналогов кальцификатов сердечных клапанов. Результаты, полученные в данной работе, показали, что в условиях осуществляемого синтеза гидроксилapatит образуется при соотношении Ca/P в исходном растворе > 0,25 в виде спутано-волоконистых кристаллов длиной ≈ 2000 Å.

В заключение следует отметить, что в настоящее время в лабораторной практике синтеза гидроксилapatита применяются различные методики. При этом выбор той или иной схемы, как правило, обусловлен целями и задачами синтеза.

Поскольку одной из целей настоящего исследования является получение биогенного аналога гидроксилapatита в условиях, приближенных к физиологическим, необходимо изучить существующие данные о составе ротовой жидкости, минерализующая функция которой является важнейшей для тканей зуба, а также патогенных агрегатов полости рта, образованных гидроксилapatитом.

Гидроксилapatит в организме человека

В организме человека гидроксилapatит является основой костно-минеральной ткани, а также встречается в значительных количествах в составе патогенных образований [4–6; 10; 31]. Относительно гидроксилapatита пересыщены практически все биологические жидкости, что обуславливает их минерализующую функцию, при нарушениях которой возможно формирование фосфатных отложений различной локализации.

Апатиты биологических тканей, как и продукты лабораторного синтеза, подвержены изменчивости структурных и кристаллохимических параметров. Так, по данным работы В.С. Комлева с соавторами [32], диапазоном изменчивости параметров структуры биоapatита можно считать $a = 9,48 - 9,35 \text{ Å}$ и $c = 6,88 - 6,84 \text{ Å}$. Разнообразие и доля ионных замещений в биоapatитах меньше, чем в геологических, только по причине ограниченности доступных элементов в живых организмах. Реальная структура и состав биоapatита не считаются

окончательно идентифицированными из-за трудности прецизионного рентгенографического анализа. Кроме этого, биоапатит кости может иметь отклонение стехиометрического отношения кальция к фосфору от соответствующей теоретической величины, равной 1,67, эта величина может изменяться в пределах: от 1,37 до 1,77 и более. Причины изменчивости стехиометрического отношения Ca/P минеральной фазы кости можно объединить в две основные группы. Во-первых, теоретическое значение отношения кальция к фосфору соответствует составу одной элементарной ячейки или монокристалла бесконечно больших размеров. В действительности же кристаллы настолько малы, что в поперечном направлении состоят не более чем из 2–3 элементарных ячеек и от половины до двух третей всех элементарных ячеек расположено на поверхности кристаллов. Следовательно, состав исследуемого образца апатита в значительной степени определяется составом ограничивающих кристаллы плоскостей. Изменение состава на поверхности кристалла может существенно повлиять на общий состав, определяемый химическим путем. Таким образом, все изменения стехиометрического отношения биоапатита можно объяснить изменением поверхностного слоя кристаллов.

Вторая группа причин может быть связана с модификациями апатита (например, с избытком PO_4^{3-} или нехваткой Ca^{2+} в кристаллах) или внутренними дефектами кристаллической решетки. Кристаллы биоапатита также характеризуются изоморфными замещениями в катионной и анионной подрешетках (общее количество заместителей может превышать 5 %) [32].

Многими исследовательскими группами на протяжении нескольких десятилетий решалась задача определения точного элементного состава биоапатита. Таблица 3 содержит обобщенные данные, иллюстрирующие концентрационные особенности биоапатита разных тканей в сравнении со стехиометрическим гидроксилapatитом.

Таблица 3

**Состав минеральной компоненты зубной эмали, дентина и костной ткани
в сравнении с гидроксилapatитом, вес. %**

	<i>Эмаль</i>	<i>Дентин</i>	<i>Костная ткань</i>	<i>Гидроксилapatит</i>
Ca^{2+}	37,6	40,3	36,6	39,6
P^{5+}	18,3	18,6	17,1	18,5
Ca/P, ат%	1,59	1,67	1,65	1,67
CO_3^{2-}	3,5	5,6	7,4	—
Na^+	0,7	0,1	1,0	—
Mg^{2+}	0,2	1,1	0,6	—
Cl ⁻	0,4	0,27	0,1	—
K^+	0,05	0,07	0,07	—
F ⁻	0,01	0,07	0,1	—
Минерал/в ткани	97	72	65–72	100
Органика/в ткани	1,5	20	20–25	—
Si^{4+}	0,14	0,01	0,05	—

Большая удельная поверхность кристаллов апатита костной ткани приводит к неоднозначности оценки элементного состава кристаллов из данных о составе всей минеральной составляющей кости.

Наблюдаемые колебания стехиометрического отношения Ca/P, а также размытость дифракционных картин минерала кости побуждали многих исследователей искать в них присутствие других фаз фосфатов кальция. О наличии в биоминералах (кость и эмаль зубов) малых количеств примесных кристаллических фаз, таких как CaCO_3 , $(\text{Mg,Ca})\text{CO}_3$, MgCO_3 , CaO и MgO , свидетельствуют данные методов радиоспектроскопии, электронного парамагнитного резонанса и протонного магнитного резонанса [32]. Проведенные исследования указывают на преимущественную локализацию примесных карбонатных фаз между кристаллами и органическими прослойками. Кроме того, методы радиоспектроскопии не дают количествен-

ной информации о данных примесных фазах, а рентгеноструктурным анализом эти фазы не обнаруживаются, следовательно, из-за ничтожности их количества и неопределенности локализации на представления о прототипе основы костного минерала они повлиять не могут.

Таким образом, в настоящее время преобладает точка зрения, согласно которой основой кристаллической фазы костей и зубов является дефектный карбонатный и Са-дефицитный гидроксилapatит, подвергающийся морфологическим, структурным, ультраструктурным и концентрационным изменениям в зависимости от возраста и внешних условий.

1.3. Области применения материалов на основе фосфатов кальция

Благодаря составу и уникальным физико-химическим характеристикам, материалы на основе фосфатов кальция находят широчайшее применение в медицине в виде керамики, цемента и композитов. Их используют при восстановлении небольших дефектов костной и зубной ткани и операциях на позвоночнике, как глазные и ушные имплантаты, в костной пластике при челюстно-лицевых операциях, в виде покрытий металлических имплантатов и др.

Возможно, развитие биотехнологий позволит создавать участки сложных тканей и органов, тем самым отпадёт необходимость в создании синтетических материалов при решении задач современной медицины. Основные усилия исследователей в ближайшие годы будут сосредоточены на получении новых гибридных материалов. Создание таких материалов потребует использование новейших достижений в области неорганической химии, биохимии, цитологии, молекулярной биологии и генной инженерии. В настоящее время отчетливо вырисовываются перспективы новых направлений использования фосфатов кальция в системах направленной доставки лекарственных веществ в качестве пористых керамических носителей для костных клеток, фактора роста, генов и других биоактивных молекул [16; 26; 33–36].

Существует несколько видов материалов на основе гидроксилapatита.

Гранулы. Гранулы на основе ГА изготавливают в основном путем дробления блоков с последующей обкаткой, распылительной сушкой, закалкой в жидкости, гидротермальным синтезом с получением нерегулярной или близкой к сферической геометрии. Гидроксилapatитовые гранулы в ряде стран выпускаются в настоящее время в промышленном масштабе. В медицинской практике керамические гранулы находят применение в реконструктивно-восстановительной хирургии, стоматологии и системе доставки лекарственных препаратов.

В реконструктивно-восстановительной хирургии гранулы используются при лечении пародонта (локальный и генерализованный пародонтит средней и тяжелой степени, идиопатическая патология пародонта при инсулинозависимом сахарном диабете), околокорневых, фолликулярных и резидуальных кист челюстей и т.д. Например, в клинике челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Военно-медицинской академии при проведении операции цистэктомии с удалением кист челюстей и заполнением послеоперационной костной полости отдают предпочтение гранулированному ГА. Гранулы также используют в сочетании с кальций фосфатными цементами для достижения высокой прочности имплантата. Одно из важных применений гранул на основе ГА и пористой керамики – система доставки лекарственных препаратов. Известно, что подход для решения этой проблемы с использованием керамики является относительно новым, несмотря на то, что первые исследования по системам локальной доставки лекарств начаты еще в 1930 г., а использование керамики как основы для таких систем доставки лекарств – только в 1980 гг.

Главным направлением исследования системы доставки лекарственных препаратов является решение проблемы поддержания постоянной концентрации препарата в крови реципиента в течение заданного времени (продолжительная фармакинетика). Это обусловлено тем, что периодичность перорального приема или парентерального введения лекарственных

препаратов может вызвать превышение допустимой дозы вследствие кумулятивного накопления препарата и, как следствие, общую токсикацию.

Преимущества использования керамики в системе доставки лекарственных препаратов: точечная, локальная терапия; постоянная скорость выделения препарата; минимум побочных эффектов; высокая эффективность; недостатки: высокая стоимость; иногда необходимость хирургического вмешательства.

Керамика (плотная и пористая). Одно из наиболее важных применений плотной керамики – подкожные устройства для продолжительного амбулаторного брюшного диализа, мониторинг давления и сахара в крови, оптическое наблюдение за внутренними тканями тела. Плотная ГА-керамика проявляет превосходную биосовместимость с тканью кожи, намного лучше, чем силиконовая смола, широко используемая для той же самой цели.

Искусственные корни зубов, изготовленные из плотной ГА-керамики, изучались *in vivo* и в клинических условиях. Присоединение десны к имплантату из ГА было сравнимо с фиксацией корня естественным связующим веществом. Также наблюдались положительные результаты в связывании кости с имплантатом. Это важно, поскольку неадекватное уплотнение приводит к чрезмерной подвижности зуба и в результате к его потере. К сожалению, большая часть из нагруженных зубных имплантатов были разрушены в течение года после внедрения из-за недостаточных механических свойств керамики.

В настоящее время основные усилия направлены на разработку в области технологии пористой керамики, содержащей взаимопроникающие канальные поры. Такая керамика может быть использована для заполнения костных дефектов, например, верхней суставной поверхности большеберцовой кости как матрикс для клеточных культур или в системе доставки лекарственных препаратов. Взаимопроникающие поры должны иметь диаметр не менее 100–135 мкм, чтобы обеспечивать доступ крови к контактным поверхностям, а также прорастание и фиксацию костной ткани. Поры меньшего размера также необходимы, поскольку они способствуют повышению адсорбции протеинов и адгезии остеогенных клеток. Таким образом, желательно, чтобы пористая керамика имела бимодальное распределение пор по размерам (крупные и тонкие поры). Применение ГА-керамики в качестве материала для имплантатов, несущих механические нагрузки, часто невозможно из-за недостаточности прочностных характеристик и трещиностойкости.

Фосфатно-кальциевые цементы. Фосфатно-кальциевые цементы применяются в пластике костных тканей и в стоматологии, поскольку цементные материалы легко могут формироваться *in situ*, дозированно инжектироваться в место дефекта с использованием обычных шприцев, время их схватывания и твердения может регулироваться в широких пределах, они характеризуются высокой прочностью и легко регулируемой кинетикой резорбции (соотношением фаз ДКФД и ОГА). Цементная технология позволяет получать как относительно плотные, так и высокопористые материалы, пригодные для специфических применений, например для систем доставки лекарственных препаратов в организм.

Существуют определенные перспективы для применения фосфатно-кальциевых цемента не только в костной хирургии и ортопедии, но также и в стоматологии, например, для защиты пульпы или выстилки полостей. Возможно, цементы могут быть использованы для временной фиксации металлических корневых имплантатов. Однако их применение в качестве несущих нагрузку материалов ограничивается хрупкостью, низкими по сравнению с акрилатными материалами прочностью и сопротивлением усталостному разрушению.

Перспективными направлениями исследований в области фосфатно-кальциевых цемента являются создание технологии макропористых материалов для повышения osteoconductive качеств при сохранении требуемой прочности, регулирование резорбируемости макропористых матриц для клеточных технологий реконструкции костных дефектов и созда-

ние по цементной технологии новых систем доставки лекарственных препаратов. В области технологии целесообразно изучение новых реакционно-твердеющих систем, для которых не требуется проведение предварительного синтеза ортофосфатов кальция, что позволило бы снизить стоимость продукции.

Покрyтия. Покрyтия на основе гидроксилapatита весьма эффективны для обеспечения остеоинтеграции металлических имплантатов с костными тканями. Титановые имплантаты с такими покpытиями используются в стоматологии и ортопедии. Покрyтие должно обладать развитой системой отpытых, взаимосвязанных пор достаточного размера (предпочтительно более 150 мкм) для обеспечения биологических потоков, необходимых для процесса остеоинтеграции. Важной проблемой является долговременная устойчивость покpытия к резорбции, которая зависит не только от адгезионной прочности, но и от фазового состава и степени кристалличности структуры. Резорбция может приводить к образованию дебриса, закупорке кровеносных капилляров и некрозам. Повысить сопротивление биорезорбции позволяет введение фтора в состав ГА-покpытия, поскольку фторгидроксилapatит имеет существенно более низкое значение произведения растворимостей в водных солевых растворах, чем ГА [37–42].

В качестве материалов для стоматологических и ортопедических имплантатов используют нержавеющую сталь, сплавы на основе кобальта, титан и его сплавы. Последние, возможно, наиболее перспективны, обладая такими качествами, как биосовместимость, коррозионная стойкость, относительно низкий модуль упругости и высокая усталостная прочность. К недостаткам титановых сплавов можно отнести относительно низкие износостойкость и сдвиговую прочность.

Таким образом, исследование закономерностей процесса осаждения и природу твёрдой фазы, кристаллизующейся из водных растворов заданной кислотности и ионного состава, актуально, так как материалы на основе фосфатов кальция используют при восстановлении небольших дефектов костной и зубной ткани, операциях на позвоночнике, глазной и ушной имплантации, в костной пластике при челюстно-лицевых операциях в виде покpытий металлических имплантатов и др.

Глава 2. ПРОЦЕСС КРИСТАЛЛИЗАЦИИ

2.1. Понятие кристаллизации

Кристаллизация – один из важнейших процессов, протекающих в природе. Дисперсная фаза может образовываться путем фазового перехода из любого неупорядоченного состояния: паров, растворов, расплавов и т. д.

Процесс кристаллизации всегда осуществляется в два этапа, независимо от того, идет ли кристаллизация в газовой, жидкой или твердой фазе. Первый этап – это возникновение субмикроскопического зародыша кристаллической фазы, способного к дальнейшему росту; второй этап – дальнейший рост этого зародыша [43–56].

Сравнительно недавно в литературе был введен термин «массовая кристаллизация». Это было сделано с целью подчеркнуть особенности одновременного образования и роста большого числа кристаллов. Отличительные черты массовой кристаллизации предопределяются ее течениями. Одновременное зарождение и рост большого числа кристаллов подчиняются общим законам фазовых превращений.

Системный анализ процесса массовой кристаллизации показывает, что структура этого процесса может быть рассмотрена на пяти уровнях. Совершенно условно границы этих уровней разделяют взаимосвязанные и одновременно протекающие процессы. На первом уровне выделяют процессы, идущие на уровне молекул, ионов и их комплексов, на втором – тепло- и массообмен между кристаллами и раствором, на третьем – движение кристаллов под действием гравитационных и инерционных сил, на четвертом – эффекты, связанные со стесненностью движения кристаллов, вызванной их интенсивным образованием, и обуславливающие изменение коэффициентов тепло- и массоотдачи и сопротивления движению, на пятом – влияние специфики конструкции аппарата кристаллизатора на структуру потоков.

В целом кинетика кристаллизации может быть охарактеризована следующими основными параметрами:

- 1) степень пересыщения;
- 2) скоростью зародышеобразования;
- 3) скоростью роста кристаллов.

На скорость кристаллизации существенно влияют температура, пересыщение раствора, перемешивание, растворимые и нерастворимые примеси, вязкость, конструкционные особенности кристаллизатора. В общем виде она может быть представлена двумя основными типами кривых (рис. 6).

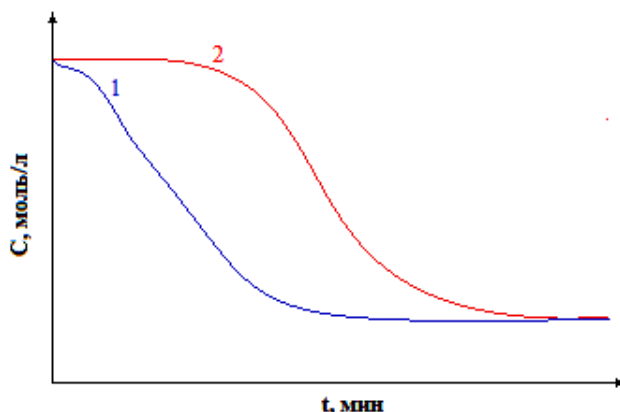


Рис. 6. Изменение концентрации кристаллизующегося вещества во времени

Первая (1) соответствует кристаллизации при больших начальных пересыщениях, а вторая (2) – при умеренных и малых. Возможны промежуточные типы кривых. Наиболее общим является второй тип. На кривой можно выделить три участка. Первый отвечает периоду индукции, в течение которого концентрация практически не изменяется. Второй участок соответствует быстрой кристаллизации, когда скорость изменения содержания вещества в растворе во времени сравнительно велика. Именно за это время происходит образование почти всего осадка. Третий участок соответствует снятию остаточного пересыщения и перекристаллизации осадка, если она в данном случае может происходить.

Кристаллизация может проходить в кинетической, диффузионно-кинетической или диффузионной областях. В первой из них скорость процесса определяется реакцией взаимодействия простейших строительных частиц. Во второй скорости взаимодействия на границе раздела фаз и диффузии примерно равны, и обе влияют на скорость фазового превращения. Наконец, в третьем случае скорость кристаллизации определяется скоростью диффузии. Все это влияет на условия эксперимента и на свойства целевого продукта.

Последние десятилетия актуальным является изучение кристаллизации соединений, близких по своим свойствам к физиологическим. К данному типу веществ относятся фосфаты кальция. Особый интерес к этому направлению исследований вызван широким применением их в медицинской практике. И число работ, посвященных этой тематике, год от года растет. Часто в своих работах авторы исследуют свойства вновь полученных материалов и методы их синтеза. Встречаются публикации в отечественной и зарубежной литературе, в которых описано получение фосфатов кальция в условиях, близких к тем, при которых протекают физиологические процессы в организме человека.

2.2. Стадии кристаллизации

Многообразие различных методологических подходов к проблеме зародышеобразования и роста кристаллов – причина появления и существования большого числа кристаллогенетических теорий, не противоречащих в своей основе и часто дополняющих друг друга [57–66].

Стадия зародышеобразования

С точки зрения термодинамики самопроизвольное образование частиц твердой фазы в растворе может происходить только в том случае, если в результате уменьшится общая энергия системы. Как известно, процессы фазообразования, в том числе и образование осадков в растворах, происходят только в метастабильных системах, состояние которых довольно существенно отличается от равновесного. Причина задержки фазового превращения заключается в том, что процесс кристаллизации является не чисто объемным, а в значительной степени определяется свойствами границы раздела новообразующихся частиц с окружающей средой. Изменение свободной энергии, связанное с образованием поверхностей, является положительным, поэтому оно противодействует протеканию процесса фазового перехода. Кроме того, следует учесть изменение свободной энергии, которое является результатом упругой деформации зародышей при фазовом переходе, но она оказывается значимой только при образовании зародышей внутри твердой фазы, например, при полиморфных фазовых превращениях. Поэтому при рассмотрении процессов кристаллизации в растворах ее не учитывают. На основании этой модели вводится понятие критического размера зародыша, которое связано с удельной поверхностной энергией и пересыщением в растворе следующим соотношением (16):

$$r^* = \frac{2\sigma}{RT \ln S}, \quad (16)$$

где σ – удельная свободная поверхностная энергия, S – степень пересыщения; R – универсальная газовая постоянная; T – абсолютная температура.

Зародыши с размером больше критического способны к дальнейшему росту, так как при этом их свободная энергия уменьшается. Они носят названия стабильных зародышей и при дальнейшем росте образуют макроскопические частицы.

Расчетные радиусы стандартного критического зародыша сферической формы при различных величинах поверхностной энергии показывают, что при низкой величине σ и высоком уровне пересыщения критический размер приближается к размеру единичной молекулы. Это означает, что в подобных условиях термодинамическая концепция перестает действовать, что является ограничением классической теории зародышеобразования.

При описании процессов кристаллизации МРС из пересыщенных растворов, вместо скорости образования зародышей, часто используют понятие индукционного периода (τ).

Индукционным периодом называют время между моментом достижения критического пересыщения и образованием новой фазы. Для его определения могут быть использованы разные методы: визуальные, химические, кондуктометрические, ионометрические и оптические. Обычно после завершения индукционного периода при протекании массовой кристаллизации наблюдается резкое изменение измеряемого параметра (электропроводности, мутности и т. д.). Продолжительность индукционного периода зависит прежде всего от степени пересыщения. Эта зависимость может быть выражена различными уравнениями.

В соответствии с теорией Гиббса–Фольмера эта зависимость (17):

$$\ln \tau = \text{const} + \frac{16\pi\sigma^3(V_M)^2}{3(RT)^3(\ln S)^2}, \quad (17)$$

где V_M – молярный объем вещества твердой фазы, носит линейный характер в координатах $\ln \tau - 1/(\ln S)^2$. В ряде случаев такая зависимость действительно наблюдается (кристаллизация монокальция фосфата).

Основываясь на кинетическом подходе описания процесса кристаллизации, можно прийти к другим зависимостям $\tau = f(S)$. В частности, взаимосвязь между τ и пересыщением может быть выражена уравнением (18):

$$\lg \tau = \lg k - n \lg S, \quad (18)$$

где k – константа скорости зародышеобразования, n – порядок процесса зародышеобразования.

Зависимость периода индукции от пересыщения дает возможность экспериментального определения свободной поверхностной энергии образующихся зародышей. Значение σ находят по уравнению (19):

$$\sigma = \left[\frac{3(RT)^3(\ln \tau_1 - \ln \tau_2) \ln^2 S_1 \ln^2 S_2}{16\pi\sigma^3(V_M)^2(\ln^2 S_1 - \ln^2 S_2)} \right]^{1/3}, \quad (19)$$

что дает возможность определить размер критических зародышей по уравнению (1). Следует, однако, отметить, что данное уравнение оказывается справедливым, когда мы имеем дело со сравнительно узким интервалом исходных пересыщений.

Стадия роста кристаллов

После возникновения зародышей с размером больше критического начинается их рост, в результате чего получают стабильные кристаллы.

Для объяснения механизма и скорости роста кристаллов было предложено несколько теорий, к которым можно отнести: теорию поверхностной энергии, теорию адсорбционного слоя и диффузионную теорию.

Теории поверхностной энергии базируются на идеях Гиббса и Кюри о том, что форма, которую принимает растущий кристалл, соответствует минимуму поверхностной энергии.

Диффузионные теории предполагают, что материал осаждается на грань кристалла непрерывно со скоростью, пропорциональной степени пересыщения. Согласно теории адсорб-

ции, первоначально предложенной Фольмером, рост кристалла – процесс непрерывный, идущий путем адсорбции материала на грани кристалла слой за слоем.

В соответствии с представлениями адсорбционной теории ростовые частицы, поступающие на кристаллическую поверхность (рис. 7), не сразу же встраиваются в решетку, а просто теряют одну степень свободы и могут свободно мигрировать по поверхности (поверхностная диффузия). Такие строительные элементы составляют свободно адсорбированный слой с максимальной толщиной в несколько межплоскостных расстояний, причем между этим слоем и объемом раствора существует динамическое равновесие. Строительные элементы будут входить в решетку в положениях, наиболее выгодных энергетически (т. е. в местах перегибов), при условии отсутствия помех. Такая ступенчатая упаковка будет продолжаться до тех пор, пока не заполнится вся плоскость. Прежде чем кристалл сможет продолжить рост плоской поверхности, на ней должны образоваться двумерные зародыши – центры, способствующие дальнейшему росту.

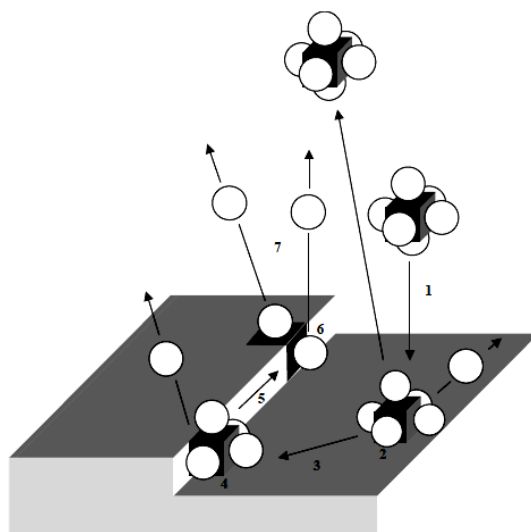


Рис. 7. Основные стадии процесса роста кристалла из раствора

Когда скорость роста грани кристалла лимитируется процессами поверхностного зародышеобразования, в окружающем кристалл растворе обычно отсутствует градиент концентрации растворенного вещества. Данный режим роста называется кинетическим. Однако если процесс зародышеобразования протекает с достаточно высокой скоростью, то стадией, лимитирующей рост кристалла, становится диффузия растворенного вещества к поверхности – это диффузионный режим. Эти особенности влияют на способы проведения всего процесса кристаллизации.

Следует отметить, что особенностью кристаллизации из биологических жидкостей и их прототипов является образование большого количества центров кристаллизации в объеме. Исходя из этого, следует рассмотреть отличительные черты массовой кристаллизации.

Массовая кристаллизация

Массовой кристаллизацией называется процесс зародышеобразования и роста огромного количества малых кристаллов (1–1000 мкм) из раствора или расплава. Массовая кристаллизация является объектом интенсивных научных исследований. При ее проведении в кристаллизаторе одновременно протекает большое количество физических, химических и гидродинамических процессов.

Принципиальными особенностями массовой кристаллизации являются: совмещение во времени процессов зародышеобразования и роста кристаллов, энергичное взаимодействие образующихся частиц между собой, а также необходимость учитывать помимо обычных для

кристаллизации массовый и энергетический баланс также и популяционный баланс в системе. Конечной ее целью является получение огромного количества кристаллов (10^{10} – 10^{20}) с наперед заданным распределением по размеру, форме и составу.

При описании роста кристаллов в ходе массовой кристаллизации обычно используют классические подходы. Обычно при технических расчетах и корреляциях используется простейшая степенная форма зависимости скорости роста кристалла от пересыщения (20):

$$\frac{dR}{dt} = k_n S^n, \quad (20)$$

где n – порядок поверхностной реакции. Это уравнение является хорошим приближением при $1 < n < 2$. Оно также удовлетворительно описывает двумерное зародышеобразование в ограниченном интервале пересыщений.

Известно, что как на любой процесс фазового перехода, на кристаллизацию влияют множество факторов.

Для сравнения процессов кристаллизации, протекающих при различных пересыщениях, используют значение степени полноты протекания процесса кристаллизации (или степени превращения α).

Известно, что скорость кристаллизации как функция от концентрации ионов к моменту времени t рассчитывается по формуле (21):

$$\frac{d\alpha}{dt} = k(C_t - C_s)^n, \quad (21)$$

где k – константа скорости реакции кристаллизации; n – «порядок» реакции, C_s – равновесная концентрация ионов кальция.

После логарифмирования получается уравнение (22):

$$\lg(da/dt) = \lg K' + n \lg(C_t - C_s), \quad (22)$$

откуда построение зависимости в координатах $\lg(da/dt) = f(\lg(C_t - C_s))$ дает $\lg K'$ как отрезок, отсекаемый по оси y , и n – тангенс наклона.

2.3. Факторы, влияющие на процесс кристаллизации

Общим условием, необходимым для выделения кристаллов, является наличие пересыщения, и чем оно больше, тем большее количество зародышей меньших размеров образуется. Таким образом, при малых значениях пересыщения раствора должны образовываться наиболее крупные зародыши.

Влияние механического воздействия на кристаллизуемый раствор резко увеличивает скорость образования зародышей и снижает степень пересыщения, необходимую для начала процесса кристаллизации. С увеличением скорости образования зародышей, несомненно, увеличится их количество в единице объема, а следовательно, уменьшится их размер.

На процесс образования зародышей могут также оказывать существенное влияние другие виды воздействий. Так, например, электрическое поле, наложенное на кристаллизуемый раствор, способствует увеличению скорости образования центров кристаллизации; магнитное поле, радиоактивное излучение и ультразвук также повышают скорость возникновения зародышей и снижают устойчивость пересыщенных растворов [67–75].

Температура является одним из наиболее существенных параметров, влияющих на скорость кристаллизации. С повышением температуры она увеличивается. Это обусловлено увеличением скорости диффузии частиц к поверхности раздела фаз.

Скорость кристаллизации при достаточном пересыщении тем выше, чем выше скорость диффузии. В свою очередь на скорость диффузии оказывает существенное влияние перемешивание, причем функциональная зависимость скорости роста от интенсивности перемешивания,

вания имеет ярко выраженный экстремум. Перемешивание из-за соударения частиц друг о друга, о стенки аппарата приводит к дроблению частиц. Вопросами влияния перемешивания на скорость роста кристалла занимались многие исследователи. Так, например, в некоторых источниках приводятся закономерности для расчета констант скорости процесса кристаллизации с использованием данных о характере движения частиц.

Известно, когда кристалл растёт из раствора, на скорость его роста может сильно влиять присутствие посторонних веществ, растворённых в жидкой фазе. Заметное действие оказывают даже малые количества примесей. Примеси могут действовать на скорость роста всех граней более или менее одинаково. Но чаще влияние примесей на скорость роста разных граней оказывается различным, что приводит к изменению формы кристалла.

Вещества, замедляющие рост, называются ингибиторами, а соединения, ускоряющие процесс роста, называют промоторами. Объясняется подобное явление адсорбцией примесей на поверхности кристалла. Кратко рассмотрим теорию процесса адсорбции, так как она является одним из основных механизмов действия органических и некоторых неорганических добавок.

В кристалле частицы (атомы, ионы) расположены в правильном порядке, и их взаимодействия уравновешены, на поверхности же взаимодействия их не являются сбалансированными, поэтому поверхность притягивает частицы из окружающей среды. Взаимодействие между адсорбируемыми частицами и поверхностью кристалла может иметь различный характер: физический и химический. В простейшем случае физической адсорбции действуют только молекулярные силы Ван-дер-Ваальса. Эти силы в основном дисперсионные, вызываются согласованным движением электронов в сближающихся молекулах на расстояниях, когда еще не перекрываются их волновые функции. Если молекулы являются диполями или имеют сосредоточенные постоянные диполи, то кроме дисперсионных сил возникают силы ориентационные. Диполи могут возникать за счет поляризации самих сближающихся частиц. Этот эффект называется индукционным. Указанные силы притяжения на коротких расстояниях уравниваются силами отталкивания. Если кристалл ионный, а адсорбируется ион или молекула, то возникают электростатические силы притяжения. Для поверхности, заполненной ионами одного знака, кулоновское притяжение может быть достаточно сильным. Если поверхность знакопеременна в отношении заряда, дисперсионные силы могут даже преобладать над электростатическими. Следует отметить, что при физической адсорбции сохраняется индивидуальность адсорбированной частицы. Имеется эмпирическое правило, позволяющее установить, в каких случаях может происходить заметная адсорбция из растворов.

По правилу Панета адсорбция вещества на поверхности осадка определяется следующими факторами:

- 1) количество адсорбированного вещества зависит от общей поверхности осадка, чем эта поверхность больше, тем больше адсорбция;
- 2) количество адсорбированного вещества зависит от его концентрации в растворе, возрастая не прямо пропорционально этой концентрации; зависимость описывается изотермой адсорбции;
- 3) катионы адсорбируются поверхностью осадка тем больше, чем меньше растворимость соединения, образующего из этих катионов и анионов осадок. Справедлива и обратная зависимость: анионы адсорбируются тем больше, чем меньше растворимость соединения, образующего из этих анионов и катионов осадок.

2.4. Методы изучения процесса кристаллизации

В зависимости от физического свойства, лежащего в основе метода определения кинетических параметров можно выделить две основные группы методов: электрохимические и оптические [75–82].

Электрохимические методы

В настоящее время они находят широкое применение при исследовании процессов кристаллизации.

На закономерностях электропроводности основан кондуктометрический метод. Этот метод позволяет с высокой точностью определять изменения концентрации кристаллизующегося вещества в растворе в процессе кристаллизации, если предварительно построить соответствующую калибровочную кривую зависимости электропроводности от концентрации этого вещества. При своей простоте и доступности имеет существенный недостаток: малая селективность аналитического сигнала, вследствие чего невозможно проводить измерения при постоянной ионной силе и рН раствора.

На принципе кондуктометрии основан метод Культера, с помощью которого проводят дисперсионный анализ. Принцип метода основан на измерении электропроводности раствора между электродами при прохождении частицы через микроотверстие. Результаты выдаются в виде интегральных и дифференциальных кривых распределения числа или весовой доли частиц от размера. Этот метод имеет свои достоинства и недостатки.

В основе потенциометрического метода лежит измерение электродных потенциалов. Для исследования реакций осаждения используют электроды, обратимые по отношению к ионам, которые входят в состав осадка. Потенциал таких электродов в ходе кристаллизации определяется относительно какого-либо электрода сравнения.

Потенциометрический метод анализа имеет ряд преимуществ перед кондуктометрией. Так как используются ионоселективные электроды, дающие высоко селективный аналитический сигнал, позволяющий проводить исследования кинетики осаждения, при контролируемом значении рН и ионной силы раствора. Значительным недостатком потенциометрии с ионоселективным электродом является значительное время отклика электрода, что ведет к искажению правильности результатов.

Оптические методы

Наиболее широко из оптических методов исследования процессов кристаллизации используют турбидиметрический и нефелометрический методы анализа. Турбидиметрический метод исследования позволяет определять размеры образовавшихся в результате кристаллизации частиц. Этот метод основан на измерении интенсивности света, прошедшего через дисперсионную систему. Интенсивность падающего светового потока ослабляется в результате его рассеяния дисперсной системой. В основе метода лежит уравнение Релея.

Достоинство турбидиметрического метода исследования состоит в простоте подготовки и проведения измерений. Для измерения используют широко распространенные фотоэлектрокolorиметры.

Нефелометрический метод исследования основан на измерении интенсивности света, рассеянного дисперсной системой. Более высокая чувствительность и точность этого метода по сравнению с достигаемой в турбидиметрии, позволяют определить не только концентрацию и размер частиц, но и форму частиц, межчастичные взаимодействия и другие свойства дисперсных систем. В основе нефелометрии лежит уравнение Релея.

Наиболее простым и распространенным из оптических методов является микроскопия. Микроскопические измерения интересны во многих отношениях, несмотря на то, что они обычно применимы к одному или нескольким отдельным кристаллам. Растущие кристаллы можно наблюдать, измерять размеры, а также фотографировать через определенные промежутки времени. Таким путем можно не только оценивать скорость роста кристалла, но и регистрировать различные поверхностные явления, в также изучать различия в росте отдельных кристаллов, растущих в одной и той же среде.

Существуют также другие, менее распространенные методы изучения процесса кристаллизации, среди них рефрактометрия, dilatометрия.

Следует отметить, что сложность изучения кристаллизации в модельных системах определяется сложностью состава кристаллообразующих сред. Известно, что все биологические жидкости являются многокомпонентными системами, и их свойства до сих пор не изучены полностью. А так как целью настоящего исследования является изучение особенностей кристаллизации фосфатов кальция из систем, моделирующих состав и свойства слюны и жидкой фазы зубного налета, то необходимо рассмотреть существующие в литературе об их составе.

Одной из характеристик кристалла является его структура. Под структурой кристалла понимается взаимное расположение различных фаз, их форма и размер.

Микроструктура – это строение кристалла, видимое при больших увеличениях с помощью микроскопа. С помощью анализа микроструктуры определяют величину и расположение зерен кристалла, их размеры и количество. Установлено, что структура кристалла является одним из основных факторов, определяющих свойства кристалла.

В нашем случае исследования проводились с помощью оптического микроскопа Neophot-2 (рис. 8).



Рис. 8. Конструкция микроскопа Neophot-2 (разрешение 0,3 мкм)

Линейный метод оценки размеров сечений микрочастиц

Линейные размеры характеризуются величиной их диаметра (если сечения имеют форму круга или близкую к ней) или длинами хорд, отсекаемых контурами сечений на случайной секущей прямой (что применимо к выпуклым сечениям любой геометрической формы). При измерении диаметров круглых сечений под микроскопом пользуются окуляр-микрометром с линейкой. Шлиф перемещают микрометрическим винтом столика микроскопа в направлении, строго перпендикулярном к линейке окуляра. При прохождении через линейку центра очередного сечения измеряют и регистрируют его диаметр в делениях шкалы линейки окуляра, не пропуская ни одного сечения, центр которого проходит в пределах длины линейки. Те сечения, центры которых при движении шлифа проходят вне линейки, не учитывают, хотя сами сечения могут частично проходить через концевые точки линейки. Измерив достаточное число сечений (обычно не менее 100), отмечают по микрометрическому винту столика микроскопа длину пути, пройденного шлифом от начала до конца процедуры измерения диаметров. Проанализированная площадь шлифа равна длине этого пути, умноженного на длину линейки окуляра (приведенную к плоскости шлифа). Полученные величины диамет-

ров сечений распределяют на ряд размерных групп, интервалы которых выбирают по арифметическому (0-1, 1-2, 2-3 и т. д.) или геометрическому (1-2, 2-4, 4-8 и т. д.) ряду, в зависимости от выбора метода последующего расчета числа микрочастиц в объеме и распределения их по размерам. Число сечений в каждой размерной группе относят к единице площади шлифа (мм²).

Диаметры сечений можно измерить также обычной линейкой на микрофотографии или на матовом стекле камеры микроскопа с учетом линейного увеличения изображения микроструктуры.

Метод секущей линии оценки числа и размеров сечений микрочастиц

Число микрочастиц в объеме и на площади и их распределение по размерам можно считать, если измерить длины хорд, получаемых при пересечении микрочастиц случайной секущей прямой. При измерении длин хорд при визуальном наблюдении под микроскопом используют окуляр с линейкой. Измерения можно проводить двумя способами.

По первому варианту шлиф перемещают микрометрическим винтом столика микроскопа в направлении, перпендикулярном к осевой линии линейки. Перемещение проводят скачкообразно на одно и то же расстояние (например, на 0,1 мм). В каждом новом положении шлифа регистрируют длины хорд, отсекаемых осевой линией линейки на контурах сечений микрочастиц. Суммарная длина секущей линии равна произведению числа перемещений столика на длину линейки окуляра (приведенную к плоскости шлифа).

По второму варианту шлиф перемещают микрометрическим винтом столика в направлении, строго совпадающем с осевой линией линейки окуляра. При этом осевая линия линейки проходит через сечения микрочастиц, контуры которых отсекают на ней ряд хорд. Длину каждой хорды регистрируют, оценивая в делениях шкалы линейки. Измерив достаточное число хорд, определяют суммарную длину секущей линии. Эта длина равна пути перемещения столика микроскопа в процессе выполнения анализа и определяется разницей показаний микрометрического винта столика в начале и в конце измерения хорд. Измерения повторяют по нескольким секущим, расположенным параллельно или в различных направлениях.

После измерений по любому из двух вариантов устанавливают вместо шлифа объект-микрометр и определяют цену деления линейки окуляра. Полученные длины хорд приводят к плоскости шлифа и распределяют по размерным группам. Число хорд в каждой размерной группе относят к единице длины секущих прямых (мм).

Эти измерения также могут быть выполнены на микрофотографии либо на матовом стекле камеры микроскопа. Длины хорд при этом определяют с учетом линейного увеличения изображения структуры.

Методика измерения средней скорости роста кристаллов

Если происходит изменение роста кристаллов в течение времени, можно оценить среднюю скорость этого процесса по формуле (23):

$$\varpi = \frac{\theta_2 - \theta_1}{t_2 - t_1}, \text{ мкм/ч}, \quad (23)$$

где θ – размеры частиц, мкм; t – время кристаллизации, ч.

Микрокристаллизация биожидкостей (БЖ)

При анализе образовавшихся кристаллических структур под малым увеличением микроскопа обнаружено, что образовавшийся узор неравномерен и неодинаков в различных участках (зонах) высушенной капли (рис. 9). В препарате можно различить три зоны: центральную, промежуточную и периферическую. Наиболее «благоприятный» рост в центре капли: в

слюне там образуются типичные дендритные кристаллы в виде «папоротника», которые растут не только по плоскости, но и в объеме. Участок со структурами папоротника можно считать зоной свободного роста. Следовательно, оценку морфологии можно проводить только в центре кристаллизации [83–93].

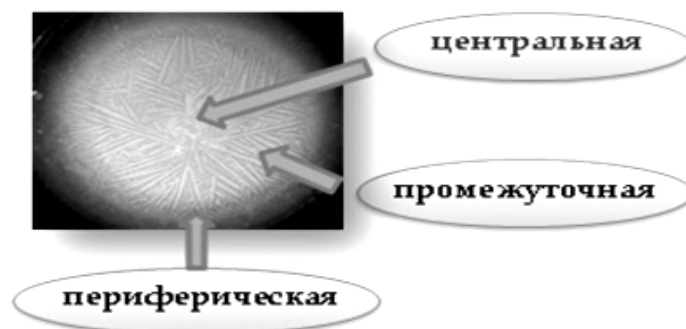


Рис. 9. Зоны высохшей капли смешанной слюны

Диагностическая ценность кристаллографического метода исследования определяется тем, что характер роста кристаллов в капле биологического материала зависит от структуры сложно-белкового геля биожидкостей. Патологические явления нарушают саморегуляцию обмена веществ, одновременно с нарушением функций происходит структурная перестройка в биологических средах организма, что вызывает изменения кристаллизации компонентов сложных систем.

Например, при исследовании слюны больных с холестеатомой среднего уха в структуре твердой фазы (фации) В.И. Самбуловым с соавторами обнаружен характерный пластинчатый морфотип, что предположительно может служить дополнительным критерием в диагностике данного патологического процесса. В структуре фации сыворотки крови беременных с сахарным диабетом Л.И. Трубниковой с соавторами выделены морфотипы, характерные для нарушений углеводного обмена (гипергликемия, гиперхолестеринемия). При сопутствующем гестационном пиелонефрите и кольпите обнаружены языковые структуры, при тяжелом течении сахарного диабета, осложненного гестозом, выявлен пластинчатый морфотип.

Также выявлены морфологические особенности фаций желчи, соответствующие различной степени активности камнеобразования при желчекаменной болезни, а также зависимость структурообразования центральной зоны фации от вязкости желчи. У лиц с различной степенью секреторной функции желудка авторами выявлены особенности системной организации твердой фазы желудочного сока, касающиеся изменений площади зон, их цвета, организации и составляющих структур.

Ряд исследований посвящен морфологии биожидкостей в офтальмологии. Выявлены различия структуры твердой фазы внутриглазной жидкости у больных глаукомой в зависимости от стадии патологического процесса. Выделены преобладающие типы кристаллов слезы больных с заболеваниями слезоотводящей системы. По мнению исследователей, это позволяет косвенно определять наличие аллергического или воспалительного компонента в послеоперационном периоде у больных с заращением устьев слезных канальцев и назначать им адекватную терапию. Другие авторы предлагают использование различных методов кристаллографии в дифференциальной диагностике и клиническом прогнозе при катаракте, глаукоме, миопии и их сочетании, воспалительных заболеваниях глаз.

Таким образом, можно отметить, что в настоящее время методы оценки твердой фазы БЖ нашли достаточно широкое применение в клинической медицине, гигиенических исследованиях, что объясняется весомыми преимуществами:

- дешевизной;

- простотой в исполнении;
- высокой чувствительностью;
- информативностью.

Тем не менее нельзя не затронуть ряд проблем в применении морфологии твердой фазы БЖ. В первую очередь это касается перевода данных методов из теории науки в практическую деятельность медицины. Ведь за исключением отдельных запатентованных способов диагностики заболеваний по особенностям структуризации БЖ, большая часть исследований находится на стадии феноменологического описания вследствие трудности количественного анализа получаемых паттернов, что, в свою очередь, затрудняет применение статистических методов анализа. Высокая степень субъективизма в оценке результатов также не способствует решению данной проблемы. Весомым минусом методов является недостаточная обоснованность механизмов дегидратационной самоорганизации БЖ, а в данном случае особо ценным является не феноменологическое описание типа «вид патологии – наблюдаемые структуры», а анализ обменных процессов, обуславливающих особенности механизмов формирования структуры твердой фазы БЖ.

В настоящее время существуют многочисленные методические подходы к проведению микрокристаллизации биожидкостей, которые отличаются условиями, интерпретацией экспериментальных данных и аналитическими характеристиками, такими как воспроизводимость, чувствительность и т. д. Из большого разнообразия кристаллографических методов можно выделить три основных:

1. Классическая кристаллоскопия (метод открытой капли, метод клиновидной дегидратации) – один из наиболее распространенных вариантов выполнения дегидратационного теста, сущностью которого является непосредственная кристаллизация биологических жидкостей. Этот метод также носит название открытой капли. В нем не требуется предварительной подготовки анализируемого образца. Биожидкость (в частности, ротовая жидкость) наносится на поверхность обезжиренного, стерильного предметного стекла в виде трех капель (рис. 7), объем каждой капли 0,05–0,1 мл.

Этот метод позволяет не только получить диагностически значимые фации, но и установить присутствие отдельных компонентов анализируемого субстрата, что важно для практического выявления патологических включений в биологической среде (патогенные минералы).

2. Тезиграфия – способ выполнения кристаллоскопического теста путем дополнительного введения в высушиваемую биожидкость организма человека различных химических веществ с целью инициации процессов кристаллизации. Для этого используют широкий спектр кристаллообразователей: NaCl, CaCl₂, CuCl₂ (чаще всего 0,9 % растворы) и др.

Этот метод часто используется при анализе фаций мочи и крови, поскольку воспроизводимость результатов в параллельных опытах для этих биосред становится значительно лучше. Препараты наносятся на предметное стекло аналогично первому методу.

3. Тезиокристаллоскопия – включает совместное применение указанных выше классической кристаллоскопии и тезиграфии. Оценка фаций производится обоими методами. В данном случае достигается большая точность оценки физико-химических свойств биоматериала и расшифровка его компонентного состава.

На основании анализа литературы проведена сравнительная характеристика изучаемых методов для исследования ротовой жидкости (см. табл. 3).

Следует отметить, что на сегодняшний день нет детальной шкалы оценки типов микрокристаллизации слюны. В настоящее время для исследований применяется шестибалльная шкала (см. рис. 9). Эта шкала имеет две крайние точки – 5 баллов и 0 баллов.

Сравнительная характеристика кристаллографических методов

Свойство	Классическая кристаллоскопия	Тезиграфия	Тезиокристаллоскопия
Требования к реактивам	—	Базисное вещество	Базисное вещество
Время исполнения	5–7 мин	15 мин	20 мин
Требования к квалификации кадров	Низкие	Высокие	Высокие
Информативность	Высокая	Высокая	Высокая
Сложность интерпритации	Низкая	Высокая	Высокая
Лабораторные условия	Не требуются	Не требуются	Не требуются
Стерильность	Да	Нет	Да
Воспроизводимость	Высокая	Высокая	Высокая
Дополнительный материал	Атлас кристаллограмм или оценочная шкала	Сводные таблицы	Таблицы + атлас

Для результатов микрокристаллизации ротовой жидкости в «норме» характерен чёткий рисунок крупных удлинённых кристаллопризматических структур, идущих от центра капли, сросшихся между собой и имеющих древовидную или папоротникообразную форму (картина соответствует 5 баллам). При оценке результатов микрокристаллизации ротовой жидкости при воздействии различных неблагоприятных факторов отмечается разрушение чёткой структуры кристаллов (рис. 10). Также выявляются следующие типы: рисунок крупных удлинённых кристаллопризматических структур, сросшихся между собой в произвольном порядке (4 балла); в центре капли видны отдельные кристаллы звёздчатой формы, по периферии сохранены укрупнённые древовидные кристаллы (3 балла); отдельные кристаллы в виде прута или веточки, расположенные по всему полю (2 балла); по всей площади капли большое количество изометрически расположенных кристаллических структур, звёздчатой, округлой и неправильной формы (1 балл); полное отсутствие кристаллов в поле зрения (0 баллов).

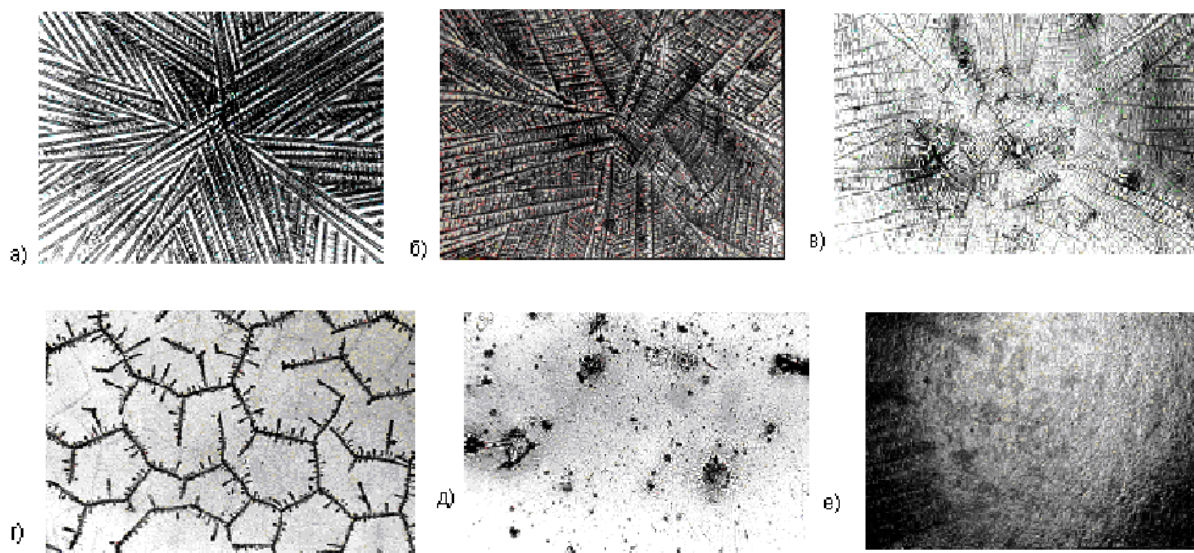


Рис. 10. Типы МКС (а – 5, б – 4, в – 3, г – 2, д – 1, е – 0 баллов соответственно)

Таким образом, анализ литературных источников показывает, что кристаллизационные процессы в биологических жидкостях организма человека протекают в сложной по составу среде, влияние ряда факторов на них до настоящего времени изучено недостаточно. При этом важное фундаментальное и прикладное значение имеет установление кинетических закономерностей нуклеации и роста минеральных фаз из прототипов ротовой жидкости.

Глава 3. МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ

3.1. Пример расчета модельных систем и схема эксперимента

При расчете использовались значения диапазона концентраций основных неорганических компонентов и pH слюны и жидкой фазы зубного налета ($6,93-7,00 \pm 0,05$) здорового взрослого среднестатистического человека, взятые из литературных данных (табл. 5 и 6) [94].

Таблица 5

Состав слюны человека

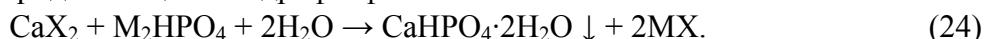
Компонент	Минимальная концентрация (ммоль/л)	Максимальная концентрация (ммоль/л)	Среднее значение концентрации (ммоль/л)
Кальций	1,00	2,00	1,50
Натрий	3,5	24,3	13,9
Калий	14,4	37,9	26,2
Магний	0,40	0,90	0,65
Аммоний	1,2	6,0	3,6
Хлориды	8,5	16,9	12,7
Фториды	0,0053	0,0158	0,0106
Карбонаты	4,5	10,2	7,4
Фосфаты	3,2	8,1	5,6

Таблица 6

Состав жидкой фазы зубного налета (ЖФЗН)

Компонент	Минимальная концентрация (ммоль/л)	Максимальная концентрация (ммоль/л)	Среднее значение концентрации (ммоль/л)
Кальций	2,88	12,00	7,44
Натрий	18,6	35,1	26,9
Калий	61,5	85,1	73,3
Магний	3,70	4,10	3,90
Аммионий	35,6	52,0	43,8
Хлориды	28,5	42,8	35,7
Фториды	0,0020	0,0049	0,0035
Карбонаты	5,0	13,9	9,5
Фосфаты	11,5	23,2	17,4

Выбор исходных реагентов и их соотношение в растворе определялись таким образом, чтобы концентрации ионов и ионная сила раствора были максимально приближены к данным параметрам моделируемой системы. Пересыщение создавалось за счет химической реакции (24), которая реализовалась при смешении в кристаллизаторе растворов легко растворимых соединений хлорида кальция и гидрофосфатов аммония и калия.



В качестве исходных реагентов использовали соли марки ч.д.а. и х.ч. и дистиллированную воду. Для каждой серии экспериментов были приготовлены растворы, содержащие катионы и анионы, при совместном присутствии которых в данных условиях не образуются малорастворимые соединения. В каждом производили корректировку значений pH до физио-

логического значения ($6,93-7,00 \pm 0,01$) путем добавления 20%-го раствора NaOH (KOH) или HCl (конц.). После смешения эквивалентных объемов растворов получили раствор с заданным пересыщением и рассчитанной концентрацией компонентов. Для изучения влияния неорганических и органических веществ в модельную систему добавляли соответствующие компоненты: ионы магния, гидрокарбонат-ионы, фторид-ионы, глюкозу и белок (казеин), в концентрациях, превышающих в 5, 10 и 15 раз физиологическое значение, а добавку белка вводили в концентрации равной физиологической (1 г/л), в 2 и 5 раз превышающей это значение.

В образовавшемся растворе определяли параметры нуклеации, оценивали скорость кристаллизации различными методами (турбидиметрическим, потенциометрическим, дисперсионным анализом), морфологию частиц твердой фазы изучали на лабораторном микроскопе по микрофотографиям капель, образовавшиеся осадки анализировали РФА. Все опыты проводили в термостатируемых условиях при температуре 25 °С, в отсутствии перемешивания. Схема модельного эксперимента представлена на рис. 11.

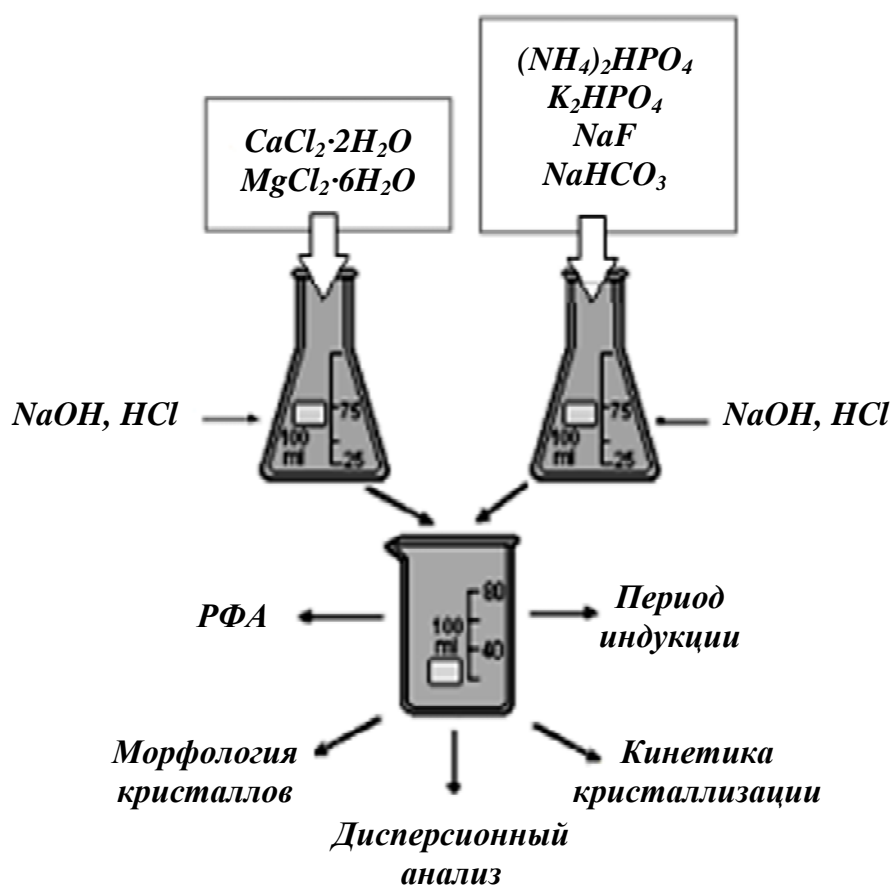


Рис. 11. Схема модельного эксперимента

Расчет модельных систем и схема эксперимента для изучения кристаллизации в модельном растворе плазмы крови

Плазма крови представляет собой воду, содержащую главным образом растворенные соли и белки. Химический состав растворимых в плазме крови веществ относительно постоянен, так как существуют мощные нервные и гуморальные механизмы, поддерживающие гомеостаз (постоянство внутренней среды). Растворимые вещества плазмы составляют около 10 % массы крови, из них на долю белков приходится около 7 %, на долю неорганических солей – 0,9 %, остальную часть образуют небелковые органические соединения. В плазме имеются белки, обеспечивающие иммунитет (иммуноглобулины), и белки, участвующие в свер-

тывании крови. Плазма также содержит гормоны, электролиты, жиры, сахар, минеральные вещества и витамины.

Функции плазмы не ограничиваются транспортировкой клеток крови. Плазма – своего рода запас воды для организма; плазма предотвращает слипание кровеносных сосудов и их закупорку тромбами, участвует в регуляции артериального давления и обеспечивает снабжение всех органов питательными веществами и кислородом. Антитела плазмы (особая группа белков) активно защищают организм от чужеродных агентов – вирусов, бактерий, грибов и злокачественных клеток. Белки свертывающей системы крови, находящиеся в плазме, предотвращают кровотечения. Еще одна функция плазмы – транспортировка гормонов и регулирование их влияний, а также участие в поддержании температуры тела.

Неорганические компоненты плазмы представлены макро- и микроэлементами. Они могут находиться в плазме как в ионизированной форме в виде простых (H^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} и др.) и сложных ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , HCO_3^- , SO_4^{2-} и др.) ионов, так и в составе органических соединений – белки, белковые соли, хелаты и т. д. Неорганический состав плазмы крови достаточно хорошо изучен (табл. 7) [94].

Т а б л и ц а 7

Неорганический состав плазмы крови

<i>Компонент-ион</i>	<i>Минимальная концентрация (ммоль/л)</i>	<i>Максимальная концентрация (ммоль/л)</i>	<i>Среднее значение концентрации (ммоль/л)</i>
Кальций	2,1	2,6	2,35
Натрий	130	156	143
Калий	3,4	5,3	4,35
Магний	0,7	1,2	0,95
Аммиак	0,02	0,06	0,04
Хлориды	97	108	103
Сульфаты	0,3	0,6	0,45
Карбонаты	24	28	26
Фосфаты	1,1	1,5	1,3

Отличительной особенностью этой биологической системы является большое содержание карбонатов и присутствие фосфатной и карбонатной буферной системы. На долю карбонатной буферной системы приходится около 10 % емкости, на долю фосфатной приходится около 1 % буферной емкости. Из катионов ведущее место занимает ион Na , что составляет 82 % от всего их количества. Среди анионов следует выделить хлор и бикарбонат. Сумма анионов и катионов практически одинакова, т. е. вся система электронейтральна. В плазме натрий находится в виде ионов – это основной осмотически активный ион внеклеточного пространства. Концентрация же ионов калия относительно невелика. Уровень калия в клетках значительно выше, чем во внеклеточном пространстве, поэтому при заболеваниях, сопровождающихся усиленным клеточным распадом, содержание калия в сыворотке крови увеличивается. Кальций в плазме находится не только в виде ионов. Различают ионизированный кальций, кальций неионизированный, но способный к диализу, и недиализирующийся (недиффундирующий), связанный с белками кальций.

Кальций принимает активное участие в процессах нервно-мышечной возбудимости (как антагонист ионов K^+), мышечного сокращения, свертывания крови, образует структурную основу костного скелета, влияет на проницаемость клеточных мембран. Отчетливое повышение уровня кальция в плазме крови наблюдается при развитии опухолей в костях, гиперплазии или аденоме паращитовидных желез. В таких случаях кальций поступает в плазму

из костей, которые становятся ломкими. Обнаруживаемые в тканях, в том числе в крови, в очень небольших количествах минеральные вещества получили название микроэлементов. К ним относят йод, медь, цинк, кобальт, селен и др. Большинство микроэлементов в крови находится в связанном с белками состоянии. Органический же состав плазмы крови весьма сложен (табл. 8).

Т а б л и ц а 8

Органический состав плазмы крови

<i>Составные компоненты</i>	<i>Плазма</i>	<i>Составные компоненты</i>	<i>Плазма</i>
Вода, %	90–91	Глюкозамин, ммоль/л	3,9–5,0
Сухой остаток, %	9–10	Пентозы, ммоль/л	0,13–0,26
Общий белок, г/л	65–85	Общие липиды, г/л	3,8–6,7
Фибриноген, г/л	2–4	Гриацилглицерины, ммоль/л	1,2–2,8
Глобулины, г/л	20–30	Холестерин, ммоль/л	3,9–6,5
Альбумины, г/л	40–50	Фосфолипиды, г/л	2,2–4,0
Мочевина, ммоль/л	3,3–6,6	Фосфатидилхолин, ммоль/л	1,5–3,0
Мочевая кислота, ммоль/л	0,24–0,29	Кетоновые тела, ммоль/л в пересчете на ацетон	0,2–0,6
Глюкоза, ммоль/л	3,6–5,5	Ацетоуксусная кислота, ммоль/л	0,05–0,19
Креатинин, ммоль/л	0,06–0,16	Молочная кислота, ммоль/л	1,1–1,2
Креатин, ммоль/л	0,08–0,11	Лимонная кислота, ммоль/л	0,10–0,15
Азот аминокислот, ммоль/л	2,9–4,3	Пировиноградная кислота, ммоль/л	0,07–0,14
Индикан, мкмоль/л	1–4	а-Кетоглутарат, ммоль/л	0,02–0,07
Аланин, моль/л	0,36–0,63	Янтарная кислота, ммоль/л	0,01–0,04
Глицин, моль/л	0,1–0,4	Билирубин общий, мкмоль/л	4–26

Как видно из данных табл. 6, в крови содержится множество различных органических компонентов. Большую часть сухого остатка крови составляют белки. Из 9–10 % сухого остатка плазмы крови на долю белков приходится 6,5–8,5 %. Белки плазмы крови можно разделить на три группы: альбумины, глобулины и фибриноген. Нормальное содержание альбуминов в плазме крови составляет 40–50 г/л, глобулинов – 20–30 г/л, фибриногена – 2,4 г/л. Белки поддерживают коллоидно-осмотическое (онкотическое) давление и тем самым постоянный объем крови. Содержание белков в плазме значительно выше, чем в тканевой жидкости. Белки, являясь коллоидами, связывают воду и задерживают ее, не позволяя выходить из кровяного русла. Белки плазмы принимают участие в поддержании постоянного рН крови, так как составляют одну из важнейших буферных систем крови (около 75 % от общей буферной емкости). В результате образования с белками плазмы недифференцируемых комплексов поддерживается уровень катионов в крови.

Современные физико-химические методы позволили открыть и описать около 100 различных белковых компонентов плазмы крови.

Особое значение приобрело электрофоретическое разделение белков плазмы (сыворотки) крови. В сыворотке крови здорового человека при электрофорезе на бумаге можно обнаружить 5 фракций: альбумины, α^1 , α^2 , β , γ глобулины. Методом электрофореза в агаровом геле в сыворотке крови выделяют 7-8 фракций, а при электрофорезе в крахмальном или полиакриламидном геле – до 16-17 фракций. Еще большее число белковых фракций (свыше 30) получили методом иммуноэлектрофореза.

В крови постоянно содержится некоторое количество свободных аминокислот. Часть из них экзогенного происхождения, т. е. попадает в кровь из пищеварительного тракта, другая часть аминокислот образуется в результате распада белков ткани. Почти пятую часть содер-

жащихся в плазме аминокислот составляют аланин и глутамин. Содержание свободных аминокислот в сыворотке и плазме крови практически одинаково, но отличается от уровня их в эритроцитах.

Патогенные минераллообразования в плазме крови

В последнее время существенно возрос интерес к изучению минералов физиогенного и патогенного (кальцификаты сердечных клапанов, мочевые, почечные, зубные, слюнные камни и др.) происхождения. Это вызвано ростом числа заболеваний, связанных с появлением камней в различных органах и тканях. Однако к настоящему моменту проблема патогенной минерализации недостаточно изучена ввиду сложности самого объекта исследования [28; 55; 95–98].

В процессе изучения кальцинатов выявлены общие закономерности патологического отложения минерального вещества в кровеносной системе человека (рис. 12).

1. Отложению минерального вещества предшествует отложение внеклеточных капель жира и деструкция волокон коллагена, эластина и клеток гладкой мускулатуры сосудистых стенок.

2. Начальным этапом естественного (физиогенного) и патогенного минералообразования является образование так называемых матричных везикул «matrix vesicles». В случае патогенного минералообразования внутри везикул находятся «обломки» разрушенных клеток. Считается, что это внеклеточные образования, окруженные мембраной со сложным внутренним составом, в их числе: белки, жиры, полисахариды, ферменты (щелочная фосфатаза и др.), ионы металлов и т. д. Размер матричных везикул в кости 100 нм. В патогенных кальцинатах, по собственным наблюдениям автора, это более крупные коллоидные, мицеллярные и/или коацерватные структуры различного размера от 30 до 300 мкм. Причем встречаются как одиночные везикулы, так и группы везикул, сгруппированные в одну более крупную фрамбовидную везикулу. В везикулах протекают сложные процессы концентрации одних веществ и распада других, в частности, происходит омыление жиров, распад ферментов и т. д. В поляризационном микроскопе матричные везикулы выглядят сначала как полупрозрачные капсулы шаровидной формы, затем в центре капсул появляется мутное пятно. На этом этапе в скрещенных николях двупреломление полностью отсутствует.

3. Кристаллизация апатита становится заметной на следующем этапе. Когда шарообразные капсулы начинают принимать эллипсоидную форму, ядро становится более вытянутым, более плотным и менее прозрачным, а внешняя прозрачная оболочка начинает неоднородно двупреломляться в поляризованном свете.

4. На завершающем этапе кристаллизации апатита оболочка везикул разрушается растущими кристаллами удлиненно-призматического апатита, эллипсоиды сливаются в пластинчатые или концентрические апатитовые слои, а мутные ядра преобразуются в параллельные вереницы удлиненных, совершенно непрозрачных в проходящем свете, четко ограниченных частиц невыясненной природы. Наличием именно этих частиц патогенный апатит отличается от физиогенного апатита костей. Так завершается кристаллизация патогенного апатита. Так называемый зрелый апатит имеет полупрозрачный, слегка опалесцирующий вид с заметными даже под бинокуляром непрозрачными белыми параллельно-волокнистыми включениями, пронизывающими все зерно.

5. В матричных везикулах под влиянием местных условий происходит минералообразование по другой схеме. При необратимой денатурации энзимов и высвобождении вследствие этого элементов металлов, в везикулах происходит образование минеральных фаз. В этом случае кристаллизуются минералы, нетипичные для организма человека.

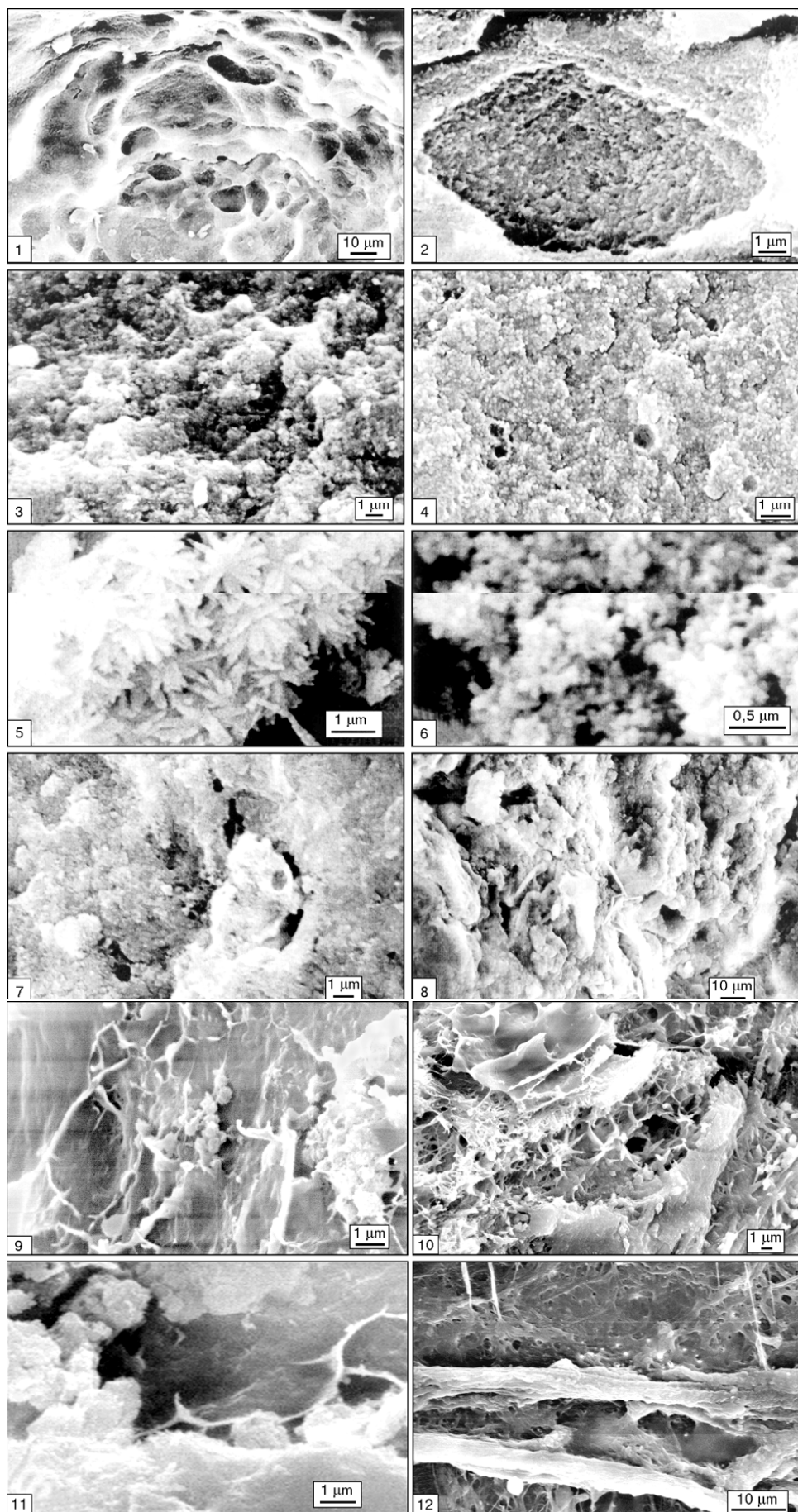


Рис. 12. Микрофотографии минеральных образований на сердечных клапанах человека, выполненные с помощью электронного сканирующего микроскопа

1. Для расчета состава систем для установления процессов кристаллизации использовали значения средней концентрации неорганических веществ, входящих в плазму крови человека, полученные из литературных данных.

Рассчитали ионную силу растворов:

$$I = \frac{1}{2} \left[\begin{aligned} & (C_{Na^+} \cdot 1^2) + (C_{K^+} \cdot 1^2) + (C_{Ca^{2+}} \cdot 2^2) + (C_{Mg^{2+}} \cdot 2^2) + (C_{ам.}^{общ} \cdot \alpha_{NH_4^+} \cdot 1^2) + (C_{Cl^-} \cdot (-1)^2) + \\ & + (C_{SO_4^{2-}} \cdot (-2)^2) + (C_{карб}^{общ} \cdot \alpha_{CO_3^{2-}} \cdot (-2)^2) + (C_{карб}^{общ} \cdot \alpha_{HCO_3^-} \cdot (-1)^2) + (C_{фосф}^{общ} \cdot \alpha_{PO_4^{3-}} \cdot (-3)^2) + \\ & + (C_{фосф}^{общ} \cdot \alpha_{HPO_4^{2-}} \cdot (-2)^2) + (C_{фосф}^{общ} \cdot \alpha_{H_2PO_4^-} \cdot (-1)^2) \end{aligned} \right]. \quad (11)$$

Учли, что мольные доли карбонатов и фосфатов зависят от pH. Рассчитали их и свели в табл. 9.

Таблица 9

Молярные доли ионов в растворе при различных значениях pH

pH	H ₂ PO ₄ ⁻	HPO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻	NH ₄ ⁺
7,0	6,17·10 ⁻¹	3,83·10 ⁻¹	1,91·10 ⁻⁶	8,17·10 ⁻¹	4,39·10 ⁻⁴	9,94·10 ⁻¹
7,5	3,38·10 ⁻¹	6,62·10 ⁻¹	1,05·10 ⁻⁵	9,32·10 ⁻¹	1,58·10 ⁻³	9,82·10 ⁻¹
8,0	1,39·10 ⁻¹	8,61·10 ⁻¹	4,31·10 ⁻⁵	9,73·10 ⁻¹	5,23·10 ⁻³	9,46·10 ⁻¹

Подставили значения концентраций из табл. 4, мольные доли из табл. 5 и получили значения ионной силы для разных pH (табл. 10).

Таблица 10

Ионная сила моделируемых растворов

Концентрация/pH	7,0	7,1	7,2	7,3	7,4	7,5	7,6	7,7	7,8	7,9	8,0
Минимальная	0,132	0,132	0,133	0,133	0,134	0,134	0,134	0,134	0,135	0,135	0,135
Средняя	0,144	0,145	0,145	0,145	0,146	0,146	0,146	0,147	0,147	0,147	0,147
Максимальная	0,156	0,156	0,157	0,157	0,158	0,158	0,158	0,158	0,159	0,159	0,159

2. Следующий шаг – расчет коэффициентов активности ионов (табл. 11), входящих в состав осадков:

$$\lg \gamma_i = -A \cdot z_i^2 \cdot \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + a \cdot B \sqrt{I}} + 0,3 \cdot I \right), \quad (25)$$

$$A = 1,825 \cdot 10^6 \cdot (\varepsilon \cdot T)^{-3/2}, \quad (26)$$

$$B = \left(\frac{2 \cdot e^2 \cdot Na}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot k \cdot T} \right)^{1/2}, \quad (27)$$

где A – коэффициент, зависящий от температуры, диэлектрической проницаемости растворителя (для водных растворов изменяется в диапазоне 0,51–0,52); a – константа, учитывающая минимальное расстояние, на которое сближаются ионы – средний эффективный диаметр ионов, принимается равным 3÷4 Å; B – теоретический коэффициент, равный для водных растворов при 298 К $(0,32 \div 0,33) \cdot 10^8$.

**Коэффициенты активности осадкообразующих ионов для раствора,
моделирующего состав плазмы крови**

рН	7,0	7,1	7,2	7,3	7,4	7,5	7,6	7,7	7,8	7,9	8,0
Минимальная концентрация											
Однозарядные	0,736	0,736	0,735	0,735	0,735	0,735	0,734	0,734	0,734	0,734	0,734
Двухзарядные	0,293	0,293	0,292	0,292	0,292	0,291	0,291	0,291	0,291	0,290	0,290
Трехзарядные	0,063	0,063	0,063	0,063	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062
Средняя концентрация											
Однозарядные	0,729	0,728	0,728	0,728	0,727	0,727	0,727	0,727	0,727	0,727	0,727
Двухзарядные	0,282	0,281	0,281	0,280	0,280	0,280	0,280	0,279	0,279	0,279	0,279
Трехзарядные	0,058	0,058	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057	0,057
Максимальная концентрация											
Однозарядные	0,722	0,722	0,721	0,721	0,721	0,721	0,721	0,720	0,720	0,720	0,720
Двухзарядные	0,272	0,271	0,271	0,271	0,270	0,270	0,270	0,269	0,269	0,269	0,269
Трехзарядные	0,053	0,053	0,053	0,053	0,053	0,053	0,052	0,052	0,052	0,052	0,052

3. $PP(CaHPO_4 \cdot 2H_2O) = 2,34 \cdot 10^{-7}$ – табличное значение произведения растворимости.

Пересыщение (избыточная концентрация гидрофосфата кальция, S) рассчитывается следующим образом:

$$S = \frac{PK}{PP} = \frac{[Ca^{2+}] \cdot [HPO_4^{2-}]}{2,34 \cdot 10^{-7}}. \quad (28)$$

Тогда чтобы рассчитать состав раствора с определенным пересыщением, нужно:

$$S \cdot 2,34 \cdot 10^{-7} = [Ca^{2+}] \cdot [HPO_4^{2-}].$$

Допустим, пересыщение равно 3, тогда:

$$3 \cdot 2,34 \cdot 10^{-7} = [Ca^{2+}] \cdot [HPO_4^{2-}] = 7,02 \cdot 10^{-7}.$$

В состав уравнения входят концентрации, а нам нужно перейти к активностям, поэтому:

$$[Ca^{2+}] \cdot \gamma_{Ca^{2+}} \cdot [HPO_4^{2-}] \cdot \gamma_{HPO_4^{2-}} = 7,02 \cdot 10^{-7},$$

$$[Ca^{2+}] \cdot [HPO_4^{2-}] = \frac{7,02 \cdot 10^{-7}}{\gamma_{Ca^{2+}} \cdot \gamma_{HPO_4^{2-}}}.$$

Допустим, рассчитываем состав раствора плазмы крови для среднего значения концентраций при $pH = 7,4$:

$$[Ca^{2+}] \cdot [HPO_4^{2-}] = \frac{7,02 \cdot 10^{-7}}{0,280^2} = 8,95 \cdot 10^{-6}.$$

Пусть $[Ca^{2+}] = x$, для средних концентраций плазмы крови $\frac{[Ca^{2+}]}{[HPO_4^{2-}]} = \frac{2,6}{1,5} = 1,73$, то-

гда $[HPO_4^{2-}] = [Ca^{2+}] / 1,73 = 0,578 \cdot x$;

$$0,578 \cdot x \cdot x = 8,95 \cdot 10^{-6};$$

$$x = \sqrt{8,95 \cdot 10^{-6} / 0,578} = \sqrt{1,55 \cdot 10^{-5}} = 3,94 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л.}$$

Таким образом $[Ca^{2+}] = 3,94 \cdot 10^{-3}$ моль/л, значит, если в качестве исходного соединения берем $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, а объем раствора, который нужно приготовить, 250 мл, то

$$m(CaCl_2 \cdot 2H_2O) = C(Ca^{2+}) \cdot V \cdot M = 3,94 \cdot 10^{-3} \cdot 0,25 \cdot 147 = 0,1446 \text{ г.}$$

$$[HPO_4^{2-}] = 0,578 \cdot 3,94 \cdot 10^{-3} = 2,28 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л.}$$

Но концентрацию гидрофосфат-ионов создаем с использованием двух солей, поэтому смотрим на концентрации других ионов: $[NH_4^+] = 0,04 \cdot 10^{-3}$ моль/л (табл. 12), поэтому с помощью $(NH_4)_2HPO_4$ мы можем ввести только $[HPO_4^{2-}] = 0,02 \cdot 10^{-3}$ моль/л, остальное – с помощью K_2HPO_4 , т. е. $[HPO_4^{2-}] = 2,28 \cdot 10^{-3} - 0,02 \cdot 10^{-3} = 2,26 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Пересчитываем на массы солей:

$$m((NH_4)_2HPO_4) = C(HPO_4^{2-}) \cdot V \cdot M = 0,02 \cdot 10^{-3} \cdot 0,25 \cdot 132 = 6,60 \cdot 10^{-4} \text{ г.}$$

$$m(K_2HPO_4) = C(HPO_4^{2-}) \cdot V \cdot M = 2,26 \cdot 10^{-3} \cdot 0,25 \cdot 228 = 0,1288 \text{ г.}$$

$$\text{Из табл. 12 } [Mg^{2+}] = 0,95 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л,}$$

$$\text{тогда } m(MgCl_2 \cdot 6H_2O) = 0,95 \cdot 10^{-3} \cdot 0,25 \cdot 203 = 4,82 \cdot 10^{-2} \text{ г.}$$

$$\text{Из табл. 12 } [HCO_3^-] = 26 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л, тогда}$$

$$m(NaHCO_3) = 26 \cdot 10^{-3} \cdot 0,25 \cdot 84 = 0,5460 \text{ г.}$$

Хлорид-ионы вводим с солями кальция и магния:

$$[Cl^-] = 2 \cdot [CaCl_2 \cdot 2H_2O] + 2 \cdot [MgCl_2 \cdot 6H_2O] = 2 \cdot (3,94 \cdot 10^{-3} + 0,95 \cdot 10^{-3}) = 4,89 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л.}$$

$$\text{Ионы калия: } [K^+] = 2 \cdot 2,26 \cdot 10^{-3} = 4,52 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л.}$$

$$\text{Ионы натрия: } [Na^+] = 2,6 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л.}$$

Таблица 12

Данные для приготовления модельного раствора

Компонент	Среднее значение концентрации (ммоль/л)	Расчетное значение для pH = 7,4 и S = 3	Нужно ввести дополнительно
Кальций	2,35	3,94	–
Натрий	143	26	+117
Калий	4,35	4,52	–
Магний	0,95	0,95	–
Аммиак	0,04	0,04	–
Хлориды	103	4,89	+98
Сульфаты	0,45	–	+0,45
Карбонаты	26	26	–
Фосфаты	1,3	2,28	–

Как видно из табл. 12, модельный раствор отличается от средних значений по содержанию натрия, хлорид-ионов и сульфатов, поэтому добавляем хлорид натрия в количестве

98 ммоль/л, тем самым закрываем потребность в хлорид-ионах и частично в ионах натрия. Добавляем сульфат натрия в количестве 0,45 ммоль/л, тогда полностью покрываем потребность в сульфатах. Остается ввести $117 - 98 - 1 = 18$ ммоль/л натрия, можно использовать NaOH для создания необходимого значения pH.

По этому же принципу рассчитывали составы модельных растворов плазмы крови с пересыщением 10, 15, 20, 30, 40, 50, 70, 90.

Выбор исходных реагентов и их соотношение в растворе определялись таким образом, чтобы концентрации ионов и ионная сила раствора были максимально приближены к данным параметрам моделируемой системы.

В качестве исходных реагентов использовали соли марки ч.д.а. и х.ч. и дистиллированную воду. Для каждой серии экспериментов были приготовлены растворы, содержащие катионы и анионы, при совместном присутствии которых в данных условиях не образуются малорастворимые соединения. В каждом производили корректировку значений pH до физиологического значения ($7,4 \pm 0,01$) путем добавления 30 %-го раствора NaOH или HCl (конц.). После смешения эквивалентных объемов растворов получаем раствор с заданным пересыщением и рассчитанной концентрацией компонентов.

Для изучения влияния неорганических и органических веществ в модельную систему добавляли соответствующие компоненты: ионы магния в концентрациях, превышающих физиологическую в 2, 4, 6 раз; глюкозу, лимонную кислоту, молочную кислоту, глицин, аланин – в физиологической концентрации и превышающей физиологическую в 50 и 100 раз (табл. 13).

Таблица 13

Концентрации исследуемых добавок

<i>Вещество</i>	<i>Концентрация, ммоль/л</i>		
	$C_{\text{физ}}$	$C_{\text{физ}} * 50$	$C_{\text{физ}} * 100$
Молочная кислота	1,15	57,5	115
Глюкоза	4,55	227,5	455
Лимонная кислота	0,125	6,25	12,5
Магний-ионы	$C_{\text{физ}} * 2$	$C_{\text{физ}} * 4$	$C_{\text{физ}} * 6$
	1,9	3,8	5,7
<i>Вещество</i>	<i>Концентрация, моль/л</i>		
	$C_{\text{физ}}$	$C_{\text{физ}} * 50$	$C_{\text{физ}} * 100$
Аланин	0,495	24,75	49,5
Глицин	0,250	12,5	25

В образовавшемся растворе определяли параметры нуклеации, оценивали скорость кристаллизации различными методами (турбидиметрическим, потенциометрическим), морфологию частиц твердой фазы изучали на лабораторном микроскопе по микрофотографиям капель, образовавшиеся осадки анализировали с помощью рентгено-фазового анализа и ИК-Фурье-спектроскопии. Все опыты проводили в термостатируемых условиях при температуре 25 °C, в отсутствии перемешивания.

3.2. Методика определения индукционных периодов

В работе использовался визуальный метод определения периодов индукции как наиболее простой, подразумевающий под собой визуальное наблюдение за процессом кристаллизации и фиксирование периода индукции – времени, в течение которого раствор малораствор-

прямого соединения находится в равновесии и выпадение осадка не наблюдается. Метод является достаточно точным (погрешность 5 %) при установлении качественных зависимостей процесса кристаллизации. Регулирование процесса зародышеобразования осуществлялось путем соблюдения постоянства условий смешивания. Время помутнения растворов определялось по секундомеру. Для каждой концентрации проводили 4–5 параллельных измерений.

3.3. Методика турбидиметрического определения кинетических характеристик кристаллизации

Для выявления кинетических зависимостей процесса кристаллизации из модельных систем был использован турбидиметрический метод – метод анализа мутных сред, основанный на измерении интенсивности поглощённого ими света. Рассеянный свет можно считать фиктивно поглощенным, поэтому есть все основания принимать, что закономерности рассеяния света подчиняются уравнению Бугера–Ламберта–Бера.

Приборы и оборудование: колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2 (рис. 13).



Рис. 13. Колориметр фотоэлектрический концентрационный «КФК-2»

Технические характеристики колориметра фотоэлектрического концентрационного «КФК-2»:

1. Спектральный диапазон работы от 315 до 918 нм;
2. Пределы измерения на колориметре коэффициентов пропускания от 100 до 1 % (оптическая плотность – от 0 до 2);
3. Предел допускаемого значения основной абсолютной погрешности колориметра при измерении коэффициентов пропускания ± 1 ;
4. Предел допустимого значения среднеквадратического отклонения отдельного наблюдения 0,3;
5. Дополнительная погрешность колориметра от измерения напряжения сети на ± 22 В от номинального значения 220 В составляет не более 0,3 основной погрешности;
6. Дополнительная погрешность при изменении температуры окружающего воздуха от 20 до 35 °С и от 20 до 10 °С не более 0,3 основной погрешности;
7. Источник излучения – лампа галогенная малогабаритная КГМН 6,3–15.

Подготовка и проведение измерений: пересыщение создавалось за счет химической реакции (10). В качестве холостого раствора использовалась дистиллированная вода. Измерения оптической плотности растворов проводилось при длине волны $\lambda = 670$ нм в стеклянных кюветах с толщиной светопоглощающего слоя $l = 2,007$ см. Показания колориметра отмечались по секундомеру через определенные промежутки времени, подобранные эмпирическим путем. Показания прибора снимали до тех пор, пока значение оптической плотности во времени

не переставало изменяться. Для каждого опыта проводили 3 параллельных измерения. Погрешность не превышала 5 %.

3.4. Методика потенциометрического определения ионов кальция и pH

Для изучения частных зависимостей кинетики кристаллизации по осадкообразующим ионам (ионам кальция) был использован потенциометрический метод.

Приборы и оборудование: иономер «И-150-МИ» (рис. 14).

Сущность метода: определение концентрации ионов кальция в процессе кристаллизации проводили методом прямой потенциометрии с использованием ионоселективного электрода.

Проведение измерений. Перед измерениями электрод промывали дистиллированной водой и слегка просушивали фильтровальной бумагой. Кристаллизацию проводили в термостатируемой ячейке при температуре $25 \pm 0,5$ °С. Ячейка предварительно промывалась хромовой смесью, а затем ополаскивалась дистиллированной водой. Потенциал в анализируемом растворе измеряли через определенные промежутки времени и по градуировочному графику определяли значение концентрации ионов Ca^{2+} . Эксперимент повторяли трижды. Погрешность измерений составляет 5–10 %.

Для измерения pH использовали метод прямой потенциометрии.

Приборы и оборудование: pH-метр «pH-150-МИ».

Проведение измерений. Измерения проводили в стеклянном стакане, который предварительно обработали. Перед измерениями электрод промывали дистиллированной водой и просушили фильтровальной бумагой, после чего погружали в анализируемый раствор. Погрешность измерения: $\pm 0,01$ ед. pH.



Рис. 14. Иономер И-160-МИ(а), pH-метр pH-150-МИ(б)

3.5. Методика дисперсионного анализа

Дисперсионный анализ был проведен на лазерном дифракционном анализаторе размеров частиц ShimadzuSALD-2101 (LaserDiffractionParticleSizeAnalyzer, рис. 15).

Проведение измерений. Дисперсионный анализ анализируемых систем включал следующие основные этапы:

- 1) приготовление модельных растворов;
- 2) изучение образования твердой фазы по данным дисперсионного анализа на анализаторе Shimadzu SALD-2101.



Рис. 15. Дифракционный анализатор Shimadzu SALD-2101

При проведении дисперсионного анализа модельный раствор помещали в кварцевую кювету анализатора, общий объем которой составляет 18 мл, после чего кювету с пробой помещали в анализатор и проводили снятие показаний прибора через определенные промежутки времени.

По результатам анализа, используя специальное программное обеспечение (WING – 2; WING – 3), получили кривую распределения частиц по размеру, а также средний размер частиц в мкм. Для получения более достоверных результатов анализ образцов проводили в 4–5-кратной повторности, при этом относительное стандартное отклонение для данных измерений составило $S_r = 0,02–0,04$.

В результате исследований получили следующие виды кривых:

- 1) зависимость среднего размера частиц от времени эксперимента;
- 2) кривая распределения частиц по размерам.

В соответствии с методикой дисперсионного анализа можно получать два вида графических зависимостей: объемное и численное распределение по размерам. Анализ зависимостей показывает, что средний линейный размер и среднеобъемный размеры отличаются. В средний линейный размер основной вклад вносят частицы с $d = 1–2$ мкм, поэтому по результатам численного распределения нельзя оценить рост частиц. При объемном распределении основной вклад вносят частицы с самым большим объемом и по среднему размеру можно оценить рост частиц. Поэтому в дальнейшем мы будем использовать только объемное (массовое) распределение частиц по размерам и под средним размером кристаллов будем понимать среднеобъемный размер.

3.6. Методика определения типа микрокристаллизации БЖ

Методика приготовления препаратов микрокристаллизации проводилась по рекомендациям П.А. Леуса. Кристаллизация ротовой жидкости осуществлялась методом открытой капли. На стекло, предварительно обработанное спиртом и эфиром, наносили три капли слюны. Высушивание микропрепарата проводили при атмосферных условиях в течение 40 мин. Высохшие капли изучили под микроскопом (МБР-1) при 120-кратном общем увеличении, полученные образцы сфотографировали на цифровой фотоаппарат. Определили тип микрокристаллизации в соответствии с существующей 6-балльной шкалой (см. рис. 10).

Математическую обработку всех данных осуществляли с использованием статистических программ Static2 и Statistika10 из статистического пакета StatSoft.

3.7. Постановка модельного эксперимента in vitro для определения возможности образования малорастворимых соединений в гипотетическом растворе, моделирующем состав раствора мочи здорового взрослого среднестатистического человека

При проведении эксперимента использовались значения диапазона концентраций основных неорганических компонентов и pH мочи здорового взрослого среднестатистического человека [94]. Концентрация катионов и анионов в различных сериях экспериментов отвечала их минимальному, среднему и максимальному значениям диапазона данного показателя, характерного для состава биологической жидкости (табл. 13). При этом изучалось поведение систем при температуре $37,0 \pm 0,5$ °C и двух значениях pH $6,45 \pm 0,05$ и $7,45 \pm 0,05$.

В качестве исходных реагентов использовались соли марки ч.д.а и х.ч. и бидистиллированная вода. Для неустойчивых соединений проводили стандартизацию по стандартным методикам. Выбор исходных реагентов и их соотношение в растворе определялись таким образом, чтобы концентрации ионов и ионная сила раствора были максимально приближены к данным параметрам моделируемой системы.

Для каждой серии экспериментов были приготовлены растворы, содержащие катионы и анионы, при совместном присутствии которых в данных условиях не образуются малорастворимые соединения (растворы № 1 и № 2) (табл. 14).

Таблица 14

Исходные компоненты для приготовления 1000 мл модельных растворов

№	№ раствора	Реагент	Количество вещества, ммоль		
			Минимальные концентрации	Средние концентрации	Максимальные концентрации
1	1	$\text{CaCl}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,70	3,35	5,00
2		$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5,30	8,15	11,00
3		NH_4Cl	6,60	3,18	0,00
4	2	KHSO_4	21,70	45,35	69,00
5		$(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,20	0,31	0,42
6		$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	6,50	15,60	24,60
7		$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,50	7,40	8,40
8		KHCO_3	0,00	16,50	33,00
9		$\text{NaCl}_{\text{pH}=6,5(7,5)}$	53,00(49,00)	95,00(84,00)	64,00(46,00)
10		$\text{NaOH}_{\text{pH}=6,5(7,5)}$	22,00(29,90)	35,80(57,90)	50,00(85,40)
$\Delta I, \text{ммрH}=6,5(7,5)$			0,60(0,45)	0,41(0,35)	0,07(0,23)

После смешения эквивалентных объемов растворов производили корректировку значений pH путем добавления 6 М раствора NaOH. С целью предотвращения уменьшения концентрации в растворе карбонат ионов (за счет гидролиза в кислой среде) необходимое количество KHCO_3 добавляли при pH 5,5–6,0. После корректировки pH моделируемого раствора до необходимого значения ($6,45 \pm 0,05$ и $7,75 \pm 0,05$ ($\text{pH}_{24 \text{ часа}} = 6,45 \pm 0,05$ и $7,45 \pm 0,05$)), добавляли определенную массу кристаллического NaCl, рассчитанную таким образом, чтобы ионная сила раствора была по возможности максимально приближена к моделируемой системе ($\Delta I = 0,1\text{--}0,6$ ммоль). Кристаллизация твердых фаз осуществлялась в течение 24 часов при температуре $37,0 \pm 0,5$ °C (рис. 16).

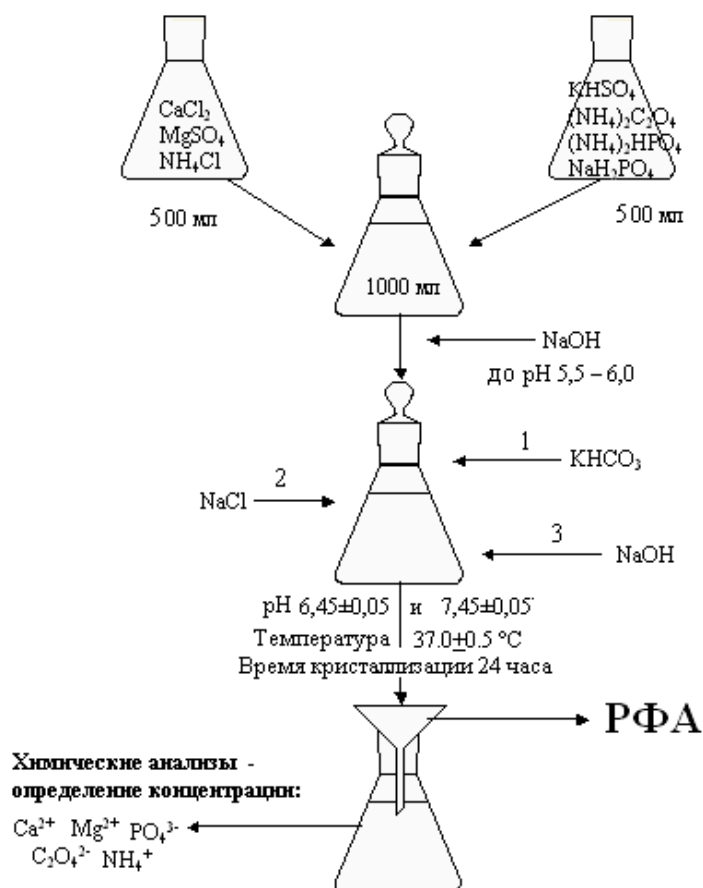


Рис. 16. Схема модельного эксперимента *in vitro*

3.8. Синтез гидроксилапатита при физиологических значениях температуры и pH раствора

Проведенный анализ литературных данных по синтезам гидроксилапатита в условиях, близких к физиологическим значениям температуры и pH раствора, показал, что при осуществлении того или иного метода синтеза данной фазы для выбора состава исходных реагентов и концентрационных параметров растворов авторы в основном руководствуются параметрами биологической среды, из которых моделируется процесс осаждения фазы. При этом следует отметить, что в качестве прототипа биологической жидкости исследователи часто используют плазму крови, где концентрация $\text{Ca}^{2+} = 1\text{--}1,33$ mM, $\text{PO}_4^{3-} = 1\text{--}1,5$ mM. Существуют работы по синтезу данной фазы из растворов, состав которых близок к составу мочи, но они, как правило, трудоемки и требуют специального аппаратного оформления. Целью данного синтеза являлась разработка методики синтеза гидроксилапатита из растворов, концентрации Ca^{2+} и PO_4^{3-} в которых близки к составу среды (моча: концентрации $\text{Ca}^{2+} = 1,7\text{--}5,0$ mM и $\text{PO}_4^{3-} = 13\text{--}33$ mM), в которой протекает процесс образования почечных камней.

В качестве прототипа при разработке данной методики был использован метод «initial addition», предложенный A.S. Tas с соавторами, для получения гидроксилапатита в условиях, близких к физиологическим значениям температуры и pH раствора [25]. Выбор данной методики обусловлен, во-первых, тем, что в качестве исходных реагентов в данном случае используются $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, содержащие ионы NO_3^- и NH_4^+ , которые обладают низкой способностью изоморфно замещать ионы в структуре гидроксилапатита, а во-вторых, тем фактом, что pH раствора, близкое к среднему значению, характерному для мочи (7,4–7,6), генерируется непосредственно в процессе протекания реакции, что является несомненным преимуществом метода. Однако следует отметить, что в качестве исходных реагентов в данном

случае используются высококонцентрированные растворы ($\text{Ca}^{2+} = 174 \text{ мМ}$ и $\text{PO}_4^{3-} = 115,6 \text{ мМ}$). Поэтому целью модификации данной методики являлся подбор начальных условий, обеспечивающих синтез гидроксилапатита различного стехиометрического состава по методу «initial addition» из растворов, в которых содержание PO_4^{3-} близко к среднему значению концентрации данного иона в моче (13–33 мМ).

В ходе проведенных исследований были изучены условия образования нестехиометрических гидроксилапатитов из нитрата кальция, двузамещенного фосфата аммония и водного раствора аммиака. Изучение системы проводили при постоянной концентрации PO_4^{3-} (0,02 моль/л) и гидроксида аммония (в каждую колбу добавляли 1 мл раствора аммиака (1:1)), концентрацию нитрата кальция варьировали таким образом, чтобы соотношению $n_{\text{исх}} = \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 : (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ изменялось в диапазоне от 1,67 до 1,90. При проведении синтеза к 50 мл раствора, содержащему $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и NH_4OH , приливали 50 мл раствора $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ со скоростью 4,5–5,0 мл/мин. Суммарный объем смеси составлял 100 мл. Смеси помещали в термостат при температуре $37,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Время кристаллизации составляло 24 ч. После отстаивания раствор фильтровали и измеряли pH равновесного раствора. Полученные твердые фазы сушили при комнатной температуре. Следует отметить, что для получения необходимого значения pH равновесного раствора (после 24 ч кристаллизации), равного $7,5 \pm 0,1$, необходимо, чтобы начальная pH раствора после сливания реактивов составляла $7,8 \pm 0,1$. Поэтому в экспериментах, проводимых в различных условиях, в частности, в присутствии аминокислот, после сливания реактивов при необходимости проводили корректировку pH раствора с помощью растворов NH_4OH (1:1) или HNO_3 (1:1).

Для установления структуры и состава синтезированных минеральных фаз были использованы методы РФА и химического анализа. Содержание кальция определяли методом комплексометрического титрования с индикатором мурексид; концентрацию фосфата оценивали по методике спектрофотометрического определения по молибденовой сини. Схема эксперимента представлена на рис. 17.

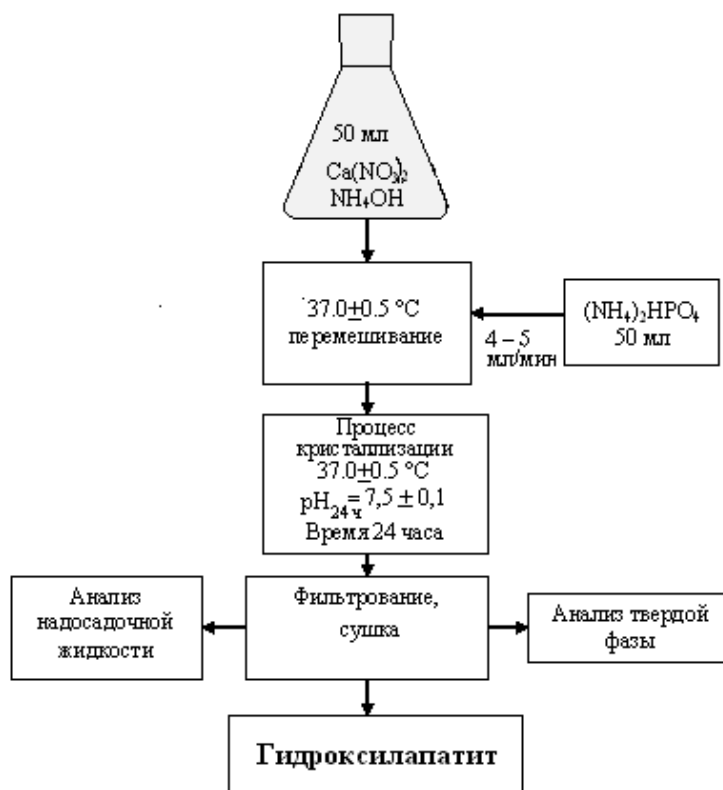


Рис. 17. Схема синтеза гидроксилапатитов различного стехиометрического состава

Синтез гидроксилапатита в присутствии ионов металлов

Процесс кристаллизации гидроксилапатита в присутствии ионов металлов изучали *in vitro* в среде, по электролитному составу приближенной к слюне человека (табл. 8, $\text{pH} = 6,93 \pm 0,05$, $I = 0,04$ моль/л). Концентрации ионов металлов в модельных растворах представлены в табл. 15.

Таблица 15

Концентрации ионов металлов в модельных растворах, мг/л

№	Элемент	Концентрации в модельных растворах		
		Серия I	Серия II	Серия III
1	Магний	16,80	47,40	79,00
2	Железо (II)	0,15	1,50	15,00
3	Медь	0,10	1,00	10,00

Для введения ионов меди в раствор использовали соль $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Концентрация Cu^{2+} в модельных системах превышала физиологическое содержание меди в слюне в 10, 100 и 1000 раз соответственно.

$\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ использовали при приготовлении растворов с добавками ионов железа. Концентрация ионов железа была создана равной физиологической концентрации в ротовой жидкости человека, а также превышала норму в 10 и 100 раз.

Анализ осадков и надосадочных жидкостей проводили по истечении 30, 60, 90, 120 и 150 суток кристаллизации. В надосадочных жидкостях устанавливали концентрации ионов кальция и магния методом комплексонометрического титрования с двумя индикаторами – ЭХЧТ и мурексид (РД 52.24.403-94). Концентрацию фосфат-ионов оценивали по методике спектрофотометрического определения по молибденовой сини [ГОСТ 18309–72]. Осадки анализировали методами РФА, ИК-спектроскопии и АЭС-ИСП.

Синтез гидроксилапатита в присутствии аминокислот (глутаминовой кислоты, серина, лизина, пролина)

Процесс кристаллизации гидроксилапатита изучали *in vitro* в среде, по электролитному составу приближенной к слюне человека ($\text{pH} = 6,93 \pm 0,05$, $I = 0,04$ М).

В качестве добавок были выбраны 4 аминокислоты, которые присутствуют в наибольшей концентрации в ротовой жидкости человека либо содержатся в составе белков слюны в значительной степени: глутаминовая кислота, серин, лизин и пролин. В ходе эксперимента изучали индивидуальное воздействие аминокислот на кристаллизацию в модельной системе. Для этого в 4 сериях растворов были созданы концентрации одной из добавок, указанных в табл. 16.

Таблица 16

Концентрации аминокислот в слюне человека и модельных растворах, г/л

№	Аминокислота	Концентрации в модельных растворах		
		«Норма»	«Камни»	«Норма*10»
1	Глутаминовая кислота	0,107	0,396	1,073
2	Серин	0,128	0,215	1,282
3	Лизин	0,080	0,440	0,880
4	Пролин	0,009	0,046	0,093

Анализ осадков и надосадочных жидкостей проводили по истечении 30, 60, 90, 120 и 150 суток кристаллизации. Конечную концентрацию аминокислот определяли с помощью фотометрической методики, основанной на получении растворимых окрашенных комплексов с медью.

Синтез гидроксилапатита в присутствии белка (казеина)

Процесс кристаллизации гидроксилапатита изучали *in vitro* в среде, по электролитному составу приближенной к слюне человека (табл. 8, $pH = 6,93 \pm 0,05$, $I = 0,04$ моль/л). В отдельных опытах в модельные растворы вводили добавку белка. Концентрацию казеина создавали равной физиологической концентрации белка в слюне – 1 г/л. Для сравнения был проведен эксперимент по кристаллизации гидроксилапатита из прототипа физиологического раствора без добавок органических веществ.

Анализ осадков и надосадочных жидкостей проводили по истечении 30, 60, 90, 120 и 150 суток кристаллизации. Остаточную концентрацию казеина в модельном растворе определяли с использованием биуретовой реакции.

Синтез гидроксилапатита в присутствии глюкозы

Процесс кристаллизации гидроксилапатита изучали *in vitro* в среде, по электролитному составу приближенной к слюне здорового человека (табл. 9, $pH = 6,93 \pm 0,05$, $I = 0,04$ моль/л). В отдельных опытах в модельные растворы вводили добавки глюкозы. Таким образом, в трех сериях модельных растворов содержание глюкозы было создано равным ее нормальному содержанию в слюне здорового человека (0,0108 мг/л) и превышенным относительно нормы в 10 (как при сахарном диабете) и 100 раз.

Анализ осадков и надосадочных жидкостей проводили по истечении 30, 60, 90, 120 и 150 суток кристаллизации. Концентрацию глюкозы в модельном растворе по завершении эксперимента определяли йодометрическим методом [ГОСТ 3628-78].

3.9. Методика получения твердой фазы из модельного раствора синовиальной жидкости при физиологических значениях pH

При проведении эксперимента использовались значения диапазона концентраций основных неорганических компонентов и pH синовиальной жидкости здорового взрослого среднестатистического человека. Концентрации катионов и анионов в эксперименте соответствовали их среднему для состава биологической жидкости. При этом изучалось поведение систем при значениях pH и ионных сил в «норме» $7,40 \pm 0,05$ и патогенных отклонениях в щелочную сторону $7,60 \pm 0,05$, $7,80 \pm 0,05$.

Для приготовления модельных растворов использовались соли марки ч.д.а, х.ч. и дистиллированная вода. Соли и их количество подбирались таким образом, чтобы концентрации их ионов в растворе и ионная сила были приближены к заданным моделируемым условиям (табл. 17). При этом полученная ионная сила варьировалась от 0,172–0,175 ммоль/л и отличалась от исходного значения не более чем на 0,03.

Таблица 17

Средние концентрации неорганических ионов синовиальной жидкости человека при разных значениях pH, ммоль/л

Компонент-ион	pH		
	$7,40 \pm 0,05$	$7,60 \pm 0,05$	$7,80 \pm 0,05$
Кальций	12,1	10,6	11,2
Фосфаты	20,9	18,9	19,4
Натрий	140,00	140,00	140,00
Магний	1,10	1,10	1,10
Калий	4,60	4,60	4,60
Хлориды	103,00	103,00	103,00
Карбонаты	27,00	27,00	27,00
Сульфаты	11,40	11,40	11,40

Схема эксперимента заключалась в приготовлении растворов, содержащих катионы и анионы, при совместном присутствии которых в данных условиях не образуются малорастворимые соединения (*рабочий раствор 1 и 2*, рис. 18).

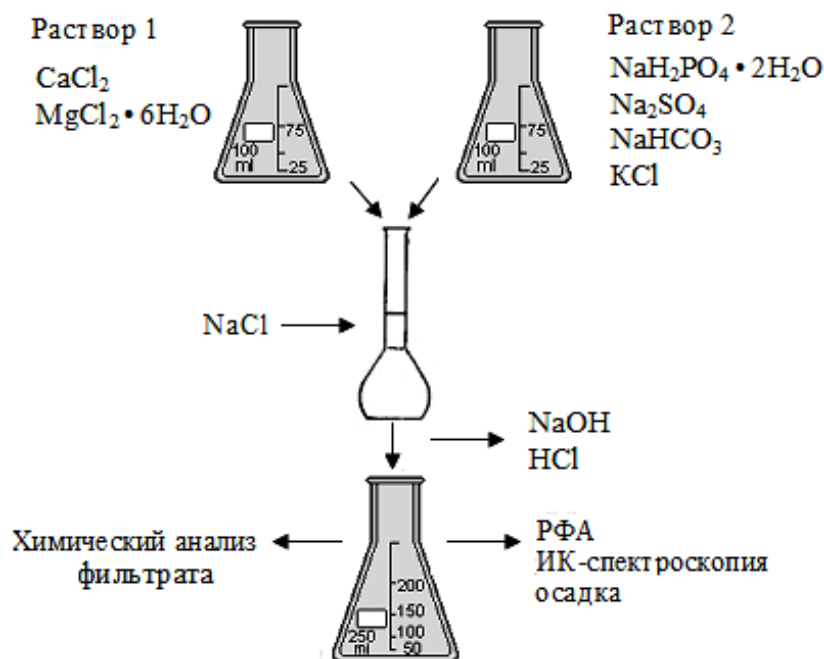


Рис. 18. Схема модельного эксперимента *in vitro*

После смешения эквивалентных объемов растворов в мерной колбе на 250 мл для достижения заданных значений концентраций ионов Na^+ , Cl^- и ионной силы добавляли определенную массу кристаллического NaCl и доводили дистиллированной водой до метки. Полученный раствор с $\text{pH} = 7,50 \pm 0,05$ переливали в коническую колбу с притертой пробкой на 250 мл и проводили корректировку pH до требуемых физиологических значений растворами 20 %-го NaOH или HCl (конц.). Готовые модельные системы закрывали пробками и оставляли для кристаллизации при комнатной температуре на 30 суток. Для изучения влияния органических и неорганических веществ в модельную систему добавляли соответствующие добавки данных соединений.

3.10. Синтез фторапатита из модельного раствора ротовой жидкости

В ходе эксперимента была приготовлена серия водных растворов с различным содержанием фторид-ионов. Заменяют 0,25; 0,5; 0,75 мас. % фосфат-ионов на фторид-ионы. Навески необходимых солей количественно переносят в мерную колбу на 250 мл, устанавливают нужное значение pH раствора. Затем полученный модельный раствор анализируют через определенное время: твердую фазу с помощью ИК и РФА, маточный раствор – используя химические методы анализа. Содержание кальция и фтора определяется методом потенциометрии; концентрацию фосфат-ионов оценивают по методике спектрофотометрического определения по молибденовой сини.

Синтез фторапатита в присутствии аминокислот

Для синтеза в присутствии аминокислот были выбраны три аминокислоты, содержание которых было наибольшим в ротовой жидкости. В эксперименте исследовали влияние аминокислот (табл. 18), концентрация которых соответствовала превышению нормального содержания в слюне здорового человека в 2,5, 5 и 10 раз.

Добавки аминокислот

Аминокислота	Формула	С норма, мас. %
Серин	$C_3H_7NO_3$	0,0128
Глутаминовая кислота	$C_5H_9NO_4$	0,0108
Глицин	NH_2-CH_2-COOH	0,0092

Содержание кальция и фтора определяется методом потенциометрии; концентрацию фосфат-ионов оценивают по методике спектрофотометрического определения по молибденовой сини.

3.11. Методика синтеза фосфатов кальция из модельных растворов, приближенных по электролитному составу внеклеточной жидкости

В качестве прототипа внеклеточной жидкости был использован модельный раствор SBF (SimulatedBodyFluid) (табл. 19).

Таблица 19

Концентрации ионов для приготовления растворов синтеза

Компонент	Концентрация, ммоль/л	Рассчитанные для пересыщения $S = 100$	Нужно ввести дополнительно
Ca^{2+}	2,5	25,46	
Na^+	142	284	+228
K^+	5	20,368	
Mg^{2+}	1,5	3	
Cl^-	105	56,92	+153,08
HPO_4^{2-}	1	10,184	
HCO_3^{2-}	27	54	
SO_4^{2-}	0,5	1	

Осаждение фосфатов кальция (рис. 19) проводится путем сливания растворов хлорида кальция ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$), хлорида магния ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), двузамещенного фосфата калия ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$), гидрокарбоната натрия ($NaHCO_3$), сульфата натрия (Na_2SO_4) и хлорида натрия ($NaCl$) с добавкой кремния в виде силиката натрия (Na_2SiO_3) либо тетраэтоксисилана ($C_8H_{20}O_4Si$).

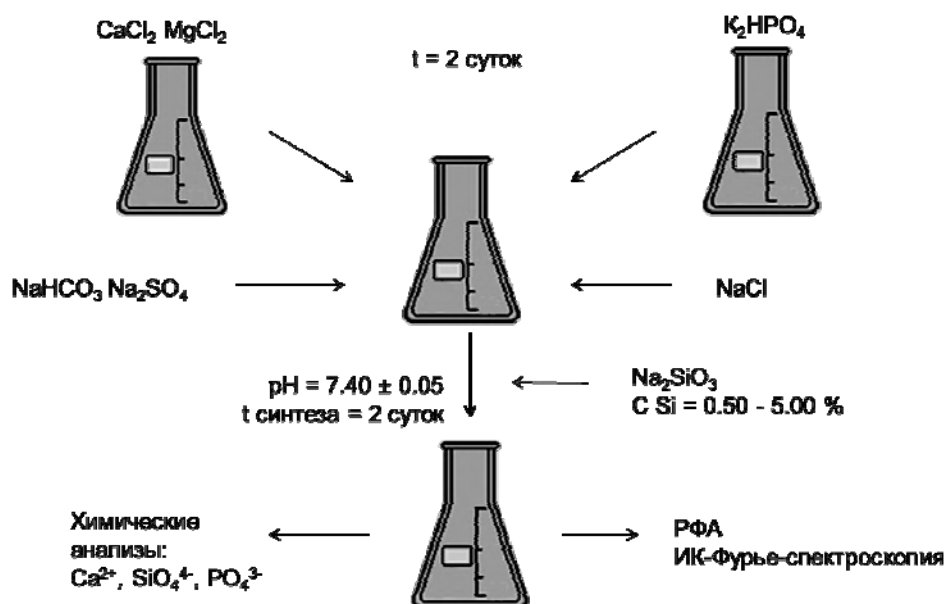


Рис. 19. Схема модельного эксперимента in vitro

При проведении синтеза к 250 мл раствора, содержащего CaCl_2 и MgCl_2 , приливают 250 мл раствора K_2HPO_4 , NaHCO_3 , Na_2SO_4 и NaCl с добавкой Na_2SiO_3 или $\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$. Суммарный объем смеси составляет 500 мл. pH полученного раствора должно составлять 7,40 (с погрешностью корректировки кислотности $\pm 0,05$) раствором HCl или NaOH (20 %). Время кристаллизации составляет 48 ч. После отстаивания раствор фильтруют с помощью водоструйного насоса, колбы Бунзена и воронки Бюхнера (через два фильтра «синяя лента»). Отбирают часть надосадочной жидкости для проведения химических анализов, измеряют pH равновесного раствора. По окончании фильтрования осадок на фильтре промывают водой ($V = 50$ мл), высушивают в сушильном шкафу при температуре $\sim 100^\circ\text{C}$ до полного удаления воды.

3.12. Методика синтеза кристаллов брушита

Синтез кристаллов брушита проводят путем осаждения из водного раствора при комнатной температуре методом спонтанной кристаллизации.

Осадок получают смешением разбавленных растворов нитрата кальция $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ и гидрофосфата аммония $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ с эквимольными концентрациями при комнатной температуре ($22\text{--}25^\circ\text{C}$). Процесс осаждения брушита проводят в присутствии органических веществ и неорганических ионов.

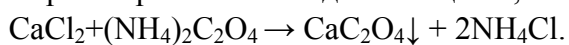
При проведении синтеза к 250 мл раствора, содержащего $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, быстро приливают 250 мл раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ с эквимольной концентрацией (0,050 моль/л). Исследуемую добавку вводят в раствор нитрата кальция либо гидрофосфата аммония, в зависимости от ее природы. Суммарный объем смеси составляет 500 мл. После смешения растворов pH системы корректируют до значения $5,50 \pm 0,05$ при помощи растворов NaOH (20 %) и/или HNO_3 (1:1). Каждый синтез проводят трижды.

После отстаивания гетерогенной системы в течение двух суток раствор фильтруют под вакуумом с помощью водоструйного насоса, колбы Бунзена и воронки Бюхнера (через 2 фильтра «синяя лента»). Отбирают часть надосадочной жидкости для проведения химических анализов, измеряют pH равновесного раствора. Осадок на фильтре промывают водой ($V = 50$ мл) по окончании фильтрования и высушивают в сушильном шкафу при температуре $\sim 80^\circ\text{C}$ до постоянной массы для полного удаления несвязанной воды, а затем при комнатной температуре (в эксикаторе). Высушенный осадок переносят в маркированную емкость и взвешивают на аналитических весах.

По величине остаточной концентрации ионов кальция (и/или фосфат – ионов) в растворе оценивается величина реальной растворимости осажденной фазы фосфата кальция, молярное соотношение Ca/P и степень протекания реакции осаждения. По величине конечной концентрации добавки оценивается участие в процессе осаждении минеральной фазы.

3.13. Синтез одноводного оксалата кальция

В качестве исходных соединений были выбраны хорошо растворимые в воде соли CaCl_2 и $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (оксалат аммония) марки х.ч. Кристаллизацию проводили при пересыщении по оксалату кальция. Пересыщение создается за счет химической реакции в условиях встречной диффузии веществ, так как растворимость образующегося оксалата кальция меньше растворимости исходных веществ, хлорида кальция и оксалата аммония.



Обычно скорости таких реакций высоки, что приводит к резкому пересыщению раствора и появлению мелкокристаллического осадка.

Соответственно пересыщение (γ) рассчитывалось по формуле (29):

$$\gamma = \frac{C_0}{C_s}, \quad (29)$$

где C_0 – концентрация исходного раствора оксалата кальция; C_s – концентрация насыщенного раствора.

Образцы для анализа получали по вышеприведенной реакции при пересыщении по оксалату кальция $\gamma = 20$. Нормальная концентрация CaC_2O_4 в его насыщенном растворе: $C_n = 1,41 \cdot 10^{-4}$ н (нормальная концентрация – число эквивалентов растворенного вещества в одном литре раствора).

При проведении экспериментов в среде аминокислоты раствор оксалата аммония готовился в растворе аминокислоты с заданной концентрацией. Момент сливания считался за начало реакции. Стакан с раствором ставили на механическую мешалку и через определенные промежутки времени пипеткой брали пробы и наносили их на часовое стекло. В табл. 20 представлена схема проведенных экспериментов по кристаллизации оксалата кальция, где указаны варьируемые параметры и пределы их изменения.

Т а б л и ц а 20

Схемы экспериментов по кристаллизации оксалата кальция

<i>Варьируемый параметр</i>	<i>Пределы изменения варьируемых параметров</i>
Ионная сила	$I = 0,003, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4$
Степень пересыщения	$\gamma = 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 25$
Компонент физиологического раствора	1. Оксалат кальция (0,31 ммоль/л, 0,46 ммоль/л, 0,93 ммоль/л). 2. Гидроксилапатит (0,023 ммоль/л, 0,0345 ммоль/л, 0,069 ммоль/л). 3. Хлорид натрия (0,1 ммоль/л, 0,05 ммоль/л). 4. Хлорид магния (8,15 ммоль/л, 0,0122 ммоль/л, 0,0245 ммоль/л). 5. Аспарагиновая кислота (0,9 ммоль/л, 1,8 ммоль/л, 0,45 ммоль/л). 6. Глутаминовая кислота (4,2 ммоль/л, 2,1 ммоль/л \div 0,35 ммоль/л). 7. Глицин (4,0 ммоль/л, 2,0 ммоль/л \div 12 ммоль/л, 0,36 ммоль/л, 0,24 ммоль/л). 8. Мочевина (1,2 ммоль/л, 0,6 ммоль/л \div 0,17 ммоль/л). 9. Глицин + хлорид магния (4,0 ммоль/л; 8,15 ммоль/л). 10. Глицин + хлорид магния + хлорид натрия (4,0 ммоль/л; 8,15 ммоль/л; 100 ммоль/л)

3.14. Методика проведения адсорбционного эксперимента

Экспериментальное проведение адсорбционного эксперимента на бруштите. Навеску брушита массой 0,5 г помещают в колбу и заливают раствором аминокислоты. Варьируется концентрация аминокислоты: 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30 ммоль/л и варьируется pH 5,00–8,00 \pm 0,05 (кроме 6,50) с шагом 0,50. Проводят встряхивание в течение 30 мин, после чего оставляют на 48 ч. По истечении указанного времени содержимое колб фильтруют и определяют содержание аминокислот в фильтрате методом перевода аминокислот в растворимые медные соли и их последующем фотометрическом определении, измеряют pH после адсорбции, определяют массы осадков.

Для определения уравнения, описывающего адсорбцию, проведена обработка экспериментальных данных с позиции теории Лэнгмюра (30) и теории Фрейндлиха (31) [99]:

$$\Gamma = \Gamma_{\infty} \cdot \frac{b \cdot c}{1 + b \cdot c}, \quad (30)$$

где Γ_{∞} – величина предельной адсорбции, ммоль/кг; b – константа адсорбционного равновесия; C – равновесная концентрация адсорбата, ммоль/л.

$$\Gamma = a \cdot C^n, \quad (31)$$

где a – коэффициент пропорциональности, n – показатель степени, $n < 1$.

Определение концентрации аминокислот в ходе эксперимента проводили методом фотометрического определения аминокислот. Сущность метода состоит в том, что для опреде-

ления концентрации аминокислот используется анализ, основанный на переводе аминокислот в растворимые медные соли и их последующем фотометрическом определении. Для измерений используется фотоэлектрокалориметр КФК-2. Рассеянный свет можно считать фиктивно поглощенным, и поэтому есть все основания принимать, что закономерности рассеяния света подчиняются уравнению Бугера–Ламберта–Бера. Для определения концентрации аминокислот в исследуемых растворах строят калибровочный график по серии растворов с концентрациями 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 ммоль/л, которые готовят разбавлением исходного раствора аминокислоты с концентрацией 20 ммоль/л. В мерные или конические колбы на 50,0 мл вносят пипеткой 5 мл раствора аминокислоты с определенной концентрацией, прибавляют 5 мл медной фосфорнокислой взвеси и встряхивают в течение 30 мин. Содержимое колб фильтруют через складчатые фильтры. Фильтрат фотометрируют против холостого раствора на приборе КФК-2. Для сравнения служит контрольный раствор, который готовят аналогично, приливая вместо раствора аминокислоты 5 мл дистиллированной воды и 5 мл медной фосфорнокислой взвеси. Определение оптической плотности стандартных растворов проводится в интервале длин волн, включающем величину 670 нм. Для измерений используются кюветы с толщиной светопоглощающего слоя 1 см. По полученным значениям оптической плотности для серии растворов строят калибровочный график.

Экспериментальное проведение адсорбционного эксперимента на гидроксилapatите. Навеску гидроксилapatита массой 0,5 г помещают в колбу и заливают раствором аминокислоты. Варьируется концентрация аминокислоты: 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30 ммоль/л и варьируется pH 5,00–8,00 \pm 0,05 (кроме 6,50) с шагом 0,50. Проводят встряхивание в течение 30 мин, после чего оставляют на 48 ч. По истечении указанного времени содержимое колб фильтруют и определяют содержание аминокислот в фильтрате методом перевода аминокислот в растворимые медные соли и их последующем фотометрическом определении, измеряют pH после адсорбции, определяют массы осадков.

Результаты адсорбции аминокислот на брусите и гидроксилapatите при фиксированном значении pH

Варьирование времени контакта адсорбата и адсорбента

Равновесие в тех или иных химических процессах может достигаться в течение различных по длительности интервалов времени. Оно зависит от природы взаимодействующих частиц, кинетических и термодинамических факторов и т.д. Так и при адсорбции: условия ее проведения, свойства и структура адсорбата и адсорбента влияют на время, в течение которого система будет приближаться к равновесию.

Согласно принятым теориям [100–102], описывающим адсорбционные явления, в определенный момент концентрация адсорбата в объеме жидкой фазы и поверхностном слое адсорбента будет оставаться неизменной, это значит, что рассматриваемая система достигнет равновесия.

Для определения времени установления такого состояния и проведения адсорбционного эксперимента на первом этапе исследования проведена серия опытов при разных временах контакта растворов аминокислот (табл. 21) с концентрацией 0,020 моль/л с бруситом и ГА (рис. 20).

Согласно полученным данным, концентрация АК в фазе фосфатов кальция повышается при увеличении времени контакта адсорбата и адсорбента от 0 до 48 ч для всех изучаемых аминокислот. В условиях более длительного взаимодействия компонентов системы значительного изменения значения адсорбции не наблюдается. С практической точки зрения для дальнейших экспериментов время проведения адсорбции выбрано 48 ч.

**Характеристика аминокислот
с приведенными значениями константы диссоциации и ИЭТ [100]**

Аминокислота	Структура	Константы диссоциации, pK_d		ИЭТ	$V(AK), \text{\AA}^3$	V Ван-дер-Ваальса, \AA^3
		pK_a (кисл.)	pK_b (осн.)			
Глицин	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,34	9,60	6,20	66	48
Глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,19	9,76	3,09	155	109
Аланин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,34	9,60	6,11	92	67
Аргинин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \qquad \qquad \\ \text{NH} \qquad \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	2,17	9,04	10,76	225	148
Тирозин	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,20	9,11	5,63	203	141
Аспарагиновая кислота	$\begin{array}{c} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,09	9,82	2,98	125	91
Серин	$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,21	9,15	5,68	99	73
Валин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \qquad \\ \text{H}_3\text{C} \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	2,29	9,72	6,00	142	105
Лизин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,18	8,95	9,74	171	135
Гистидин	$\begin{array}{c} \text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \qquad \qquad \\ \text{HC} \qquad \text{CH} \qquad \text{NH}_2 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array}$	1,82	9,17	7,64	167	118
Треонин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \qquad \\ \text{OH} \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	2,63	10,43	6,16	122	93
Лейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ / \qquad \\ \text{H}_3\text{C} \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	2,36	9,60	6,04	168	124
Пролин	$\begin{array}{c} \text{HN}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \qquad \\ \text{H}_2\text{C} \qquad \text{CH}_2 \\ \qquad / \\ \text{CH}_2 \end{array}$	2,00	10,60	7,64	129	90
Фенилаланин	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,58	9,24	5,91	203	135
Изолейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \qquad \qquad \\ \qquad \text{CH}_3 \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	2,32	9,76	5,68	169	124
Метионин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2,28	9,21	5,74	171	124

Факт адсорбции молекул аминокислот на $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ подтверждается данными ИК-Фурье спектроскопии (рис. 21, 22).

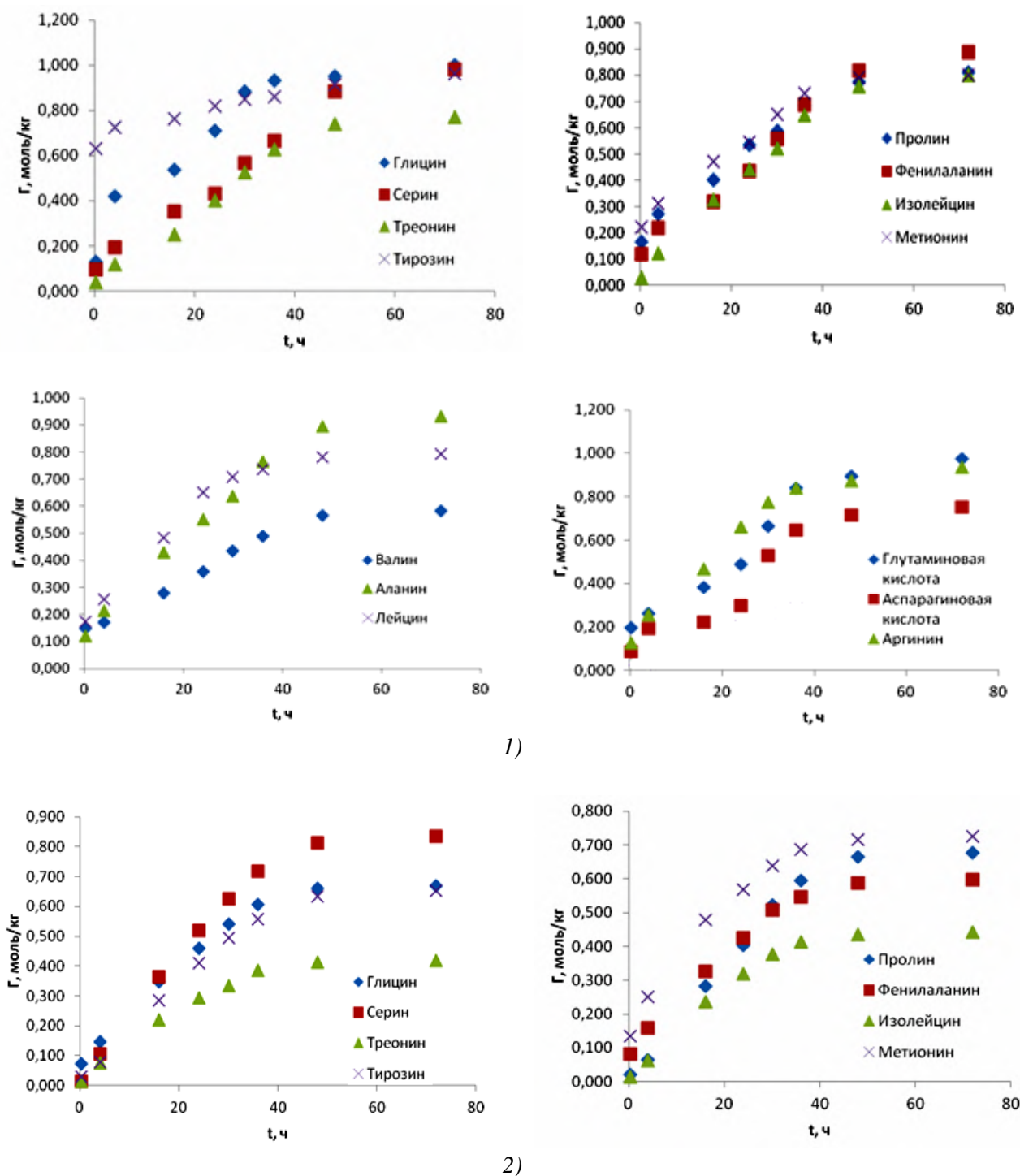
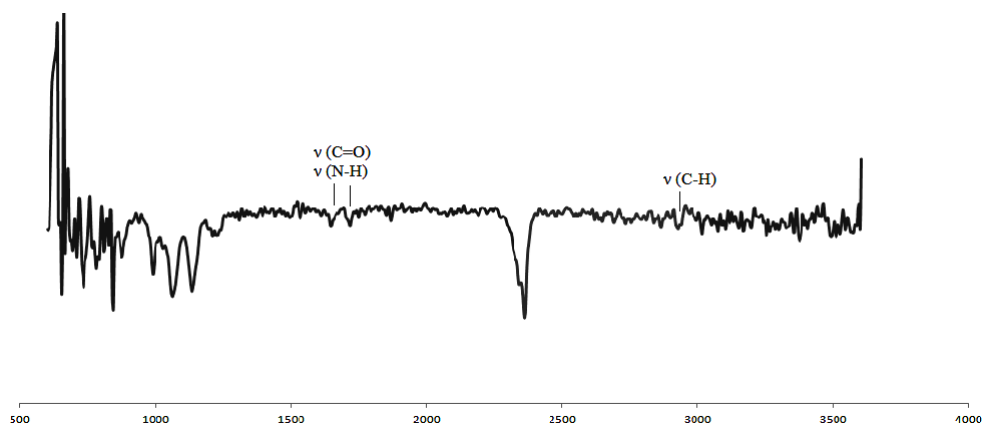
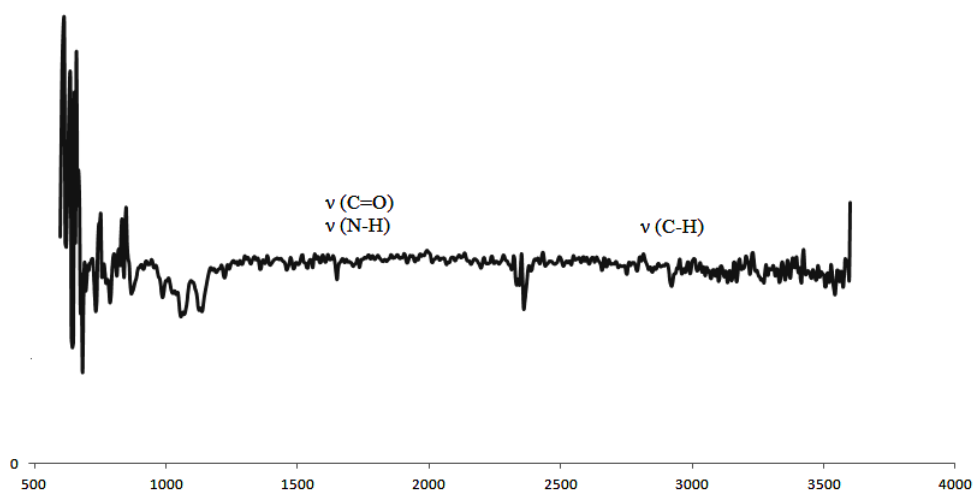


Рис. 20. Зависимость величины адсорбции аминокислот на брусите (1) и гидроксилапатите (2) от времени контакта $T = 298\text{K}$, $\text{pH} = 6,5$

На ИК-спектрах всех образцов после контакта с раствором аминокислот в области $2800\text{--}3000\text{ см}^{-1}$ проявляются полосы, соответствующие колебаниям связей C–H в метиленовых группировках органической составляющей. Полосу колебаний при 1650 см^{-1} следует рассматривать как суммарную, отражающую колебания связей C=O, N–H и O–H в молекулах аминокислоты и OH-ионов в составе фосфата кальция.



a)



б)

Рис. 21. ИК-спектры образцов брушита после адсорбции 72 ч, $pH = 6,5$: а – Ser, б – Gly

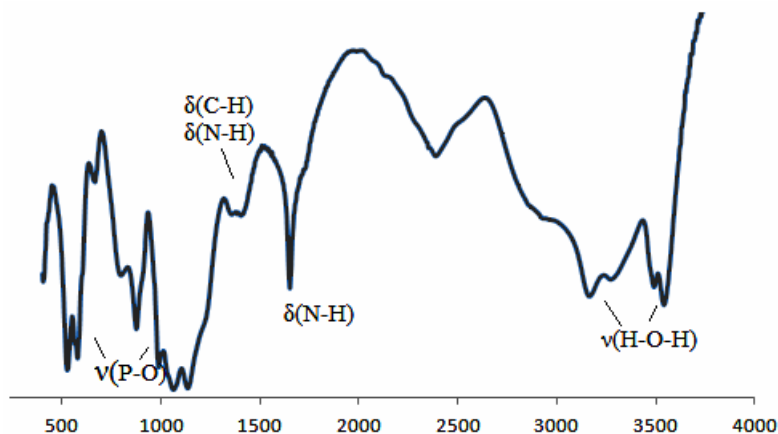


Рис. 22. ИК-спектры образцов гидроксилапатита после адсорбции с Ser, $C = 0,03$ моль/л, $pH = 6,5$

В ИК-спектрах образцов гидроксилапатита после адсорбции с серином, $C = 0,03$ моль/л, $pH = 6,5$ малоинтенсивная полоса поглощения при 1743 см^{-1} , вероятно, соответствует колебаниям связей $C=O$. Наблюдаемая узкая полоса поглощения при 1656 см^{-1} , по-видимому, относится к деформационным колебаниям связей $N-H$ в аминах и ионах типа NH_3^+ . Регистрируемые полосы поглощения при 1347 и 1412 см^{-1} соответствуют деформационным колебаниям связей $C-H$ в структурных фрагментах типа $-CH-$ и $-CH_2-$, а также симметричным деформационным колебаниям связей $N-H$ в ионах типа NH_3^+ . Следует отметить, что, кроме того, в ИК-спектрах данного образца дополнительно регистрируются полосы поглощения в облас-

тях колебаний связей Р-О ионов PO_4^{3-} . Указанные изменения могут быть обусловлены электростатическим взаимодействием молекулы серина и фосфата кальция.

Варьирование концентрации аминокислот

На следующем этапе работы варьировали концентрацию аминокислот в пределах от 0,002 до 0,03 моль/л (диапазон концентрации, характерный для слюны человека [94; 106]), при контактном времени 48 ч были получены изотермы адсорбции исследуемых аминокислот на брусците и гидроксилapatите (рис. 23). Рассчитанные графически уравнения и коэффициент корреляции зависимостей в линейных координатах изучаемых моделей представлены в табл. 21.

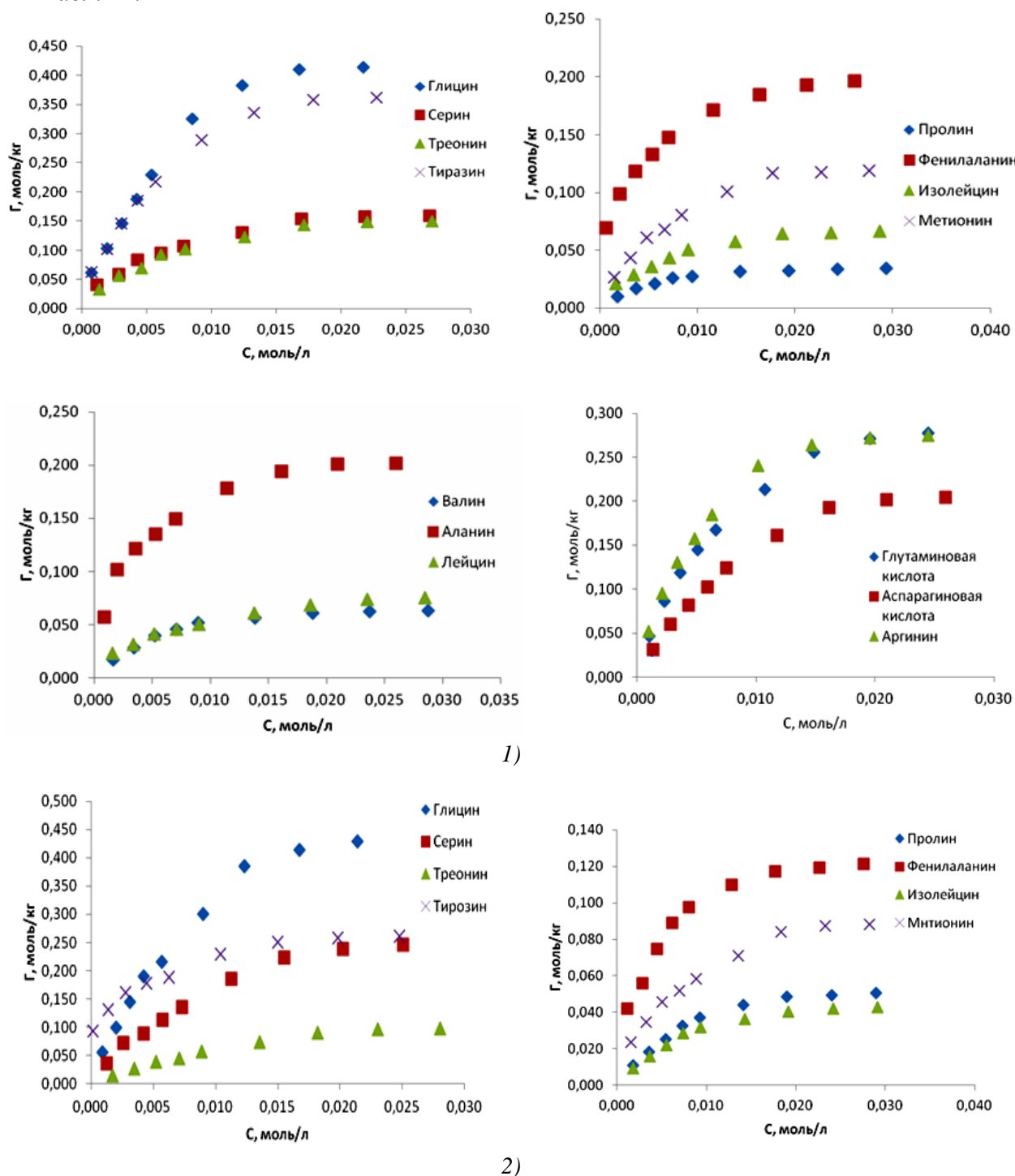


Рис. 23. Изотермы адсорбции аминокислот на брусците (1) и гидроксилapatите (2) от времени контакта $T = 298\text{K}$, $\text{pH} = 6,5$

Уравнения Ленгмюра и Фрейндлиха для адсорбции аминокислот на брушита и гидроксилпатите

Материал	Аминокислота	Γ_{∞}	Уравнения по теории		R^2	
			Ленгмюра	Фрейндлиха	т. Ленгмюра	т. Фрейндлиха
Брушит	Глицин	0,597	$\Gamma = 0,597 \cdot \frac{49,95 \cdot C}{1 + 49,95 \cdot C}$	$\Gamma = 0,509 \cdot C^{0,617}$	0,974	0,978
	Глутаминовая кислота	0,371	$\Gamma = 0,371 \cdot \frac{18,01 \cdot C}{1 + 18,01 \cdot C}$	$\Gamma = 0,013 \cdot C^{0,569}$	0,997	0,970
	Аланин	0,226	$\Gamma = 0,226 \cdot \frac{17,25 \cdot C}{1 + 17,25 \cdot C}$	$\Gamma = 1,652 \cdot C^{0,354}$	0,998	0,948
	Аргинин	0,345	$\Gamma = 0,345 \cdot \frac{22,16 \cdot C}{1 + 22,16 \cdot C}$	$\Gamma = 0,195 \cdot C^{0,518}$	0,995	0,951
	Тирозин	0,474	$\Gamma = 0,474 \cdot \frac{35,91 \cdot C}{1 + 35,91 \cdot C}$	$\Gamma = 0,181 \cdot C^{0,543}$	0,989	0,978
	Аспарагиновая кислота	0,291	$\Gamma = 0,291 \cdot \frac{8,06 \cdot C}{1 + 8,06 \cdot C}$	$\Gamma = 0,271 \cdot C^{0,611}$	0,987	0,956
	Серин	0,197	$\Gamma = 0,197 \cdot \frac{6,55 \cdot C}{1 + 6,55 \cdot C}$	$\Gamma = 2,766 \cdot C^{0,459}$	0,991	0,978
	Валин	0,075	$\Gamma = 0,075 \cdot \frac{1,17 \cdot C}{1 + 1,17 \cdot C}$	$\Gamma = 0,055 \cdot C^{0,436}$	0,997	0,912
	Лизин	0,123	$\Gamma = 0,123 \cdot \frac{1,73 \cdot C}{1 + 1,73 \cdot C}$	$\Gamma = 1,472 \cdot C^{0,560}$	0,991	0,960
	Треонин	0,193	$\Gamma = 0,193 \cdot \frac{5,26 \cdot C}{1 + 5,26 \cdot C}$	$\Gamma = 2,147 \cdot C^{0,517}$	0,994	0,965
	Лейцин	0,091	$\Gamma = 0,091 \cdot \frac{1,32 \cdot C}{1 + 1,32 \cdot C}$	$\Gamma = 0,028 \cdot C^{0,420}$	0,992	0,991
	Пролин	0,041	$\Gamma = 0,041 \cdot \frac{0,341 \cdot C}{1 + 0,341 \cdot C}$	$\Gamma = 0,543 \cdot C^{0,426}$	0,997	0,912
	Фенилаланин	0,214	$\Gamma = 0,214 \cdot \frac{1,17 \cdot C}{1 + 1,17 \cdot C}$	$\Gamma = 0,648 \cdot C^{0,287}$	0,995	0,993
	Изолейцин	0,080	$\Gamma = 0,080 \cdot \frac{1,15 \cdot C}{1 + 1,15 \cdot C}$	$\Gamma = 0,119 \cdot C^{0,417}$	0,994	0,972
	Метионин	0,156	$\Gamma = 0,156 \cdot \frac{3,22 \cdot C}{1 + 3,22 \cdot C}$	$\Gamma = 2,175 \cdot C^{0,460}$	0,992	0,969
Гидроксилпатит	Глицин	0,668	$\Gamma = 0,668 \cdot \frac{41,23 \cdot C}{1 + 41,23 \cdot C}$	$\Gamma = 0,642 \cdot C^{0,671}$	0,983	0,983
	Глутаминовая кислота	0,357	$\Gamma = 0,357 \cdot \frac{37,98 \cdot C}{1 + 37,98 \cdot C}$	$\Gamma = 1,125 \cdot C^{0,375}$	0,989	0,973
	Аланин	0,221	$\Gamma = 0,221 \cdot \frac{21,05 \cdot C}{1 + 21,05 \cdot C}$	$\Gamma = 0,109 \cdot C^{0,197}$	0,990	0,920
	Аргинин	0,315	$\Gamma = 0,315 \cdot \frac{17,80 \cdot C}{1 + 17,80 \cdot C}$	$\Gamma = 0,316 \cdot C^{0,521}$	0,996	0,937
	Тирозин	0,277	$\Gamma = 0,277 \cdot \frac{43,97 \cdot C}{1 + 43,97 \cdot C}$	$\Gamma = 0,5062 \cdot C^{0,208}$	0,993	0,978
	Аспарагиновая кислота	0,188	$\Gamma = 0,188 \cdot \frac{8,79 \cdot C}{1 + 8,79 \cdot C}$	$\Gamma = 1,144 \cdot C^{0,385}$	0,996	0,978
	Серин	0,378	$\Gamma = 0,378 \cdot \frac{11,59 \cdot C}{1 + 11,59 \cdot C}$	$\Gamma = 0,121 \cdot C^{0,647}$	0,982	0,981
	Валин	0,086	$\Gamma = 0,086 \cdot \frac{0,38 \cdot C}{1 + 0,38 \cdot C}$	$\Gamma = 1,146 \cdot C^{0,716}$	0,998	0,975

Материал	Аминокислота	Γ_{∞}	Уравнения по теории		R^2	
			Ленгмюра	Фрейндлиха	т. Ленгмюра	т. Фрейндлиха
Гидроксилпатит	Лизин	0,128	$\Gamma = 0,128 \cdot \frac{1,44 \cdot C}{1 + 1,44 \cdot C}$	$\Gamma = 2,096 \cdot C^{0,603}$	0,989	0,972
	Треонин	0,170	$\Gamma = 0,170 \cdot \frac{1,59 \cdot C}{1 + 1,59 \cdot C}$	$\Gamma = 1,052 \cdot C^{0,702}$	0,979	0,981
	Лейцин	0,090	$\Gamma = 0,090 \cdot \frac{0,89 \cdot C}{1 + 0,89 \cdot C}$	$\Gamma = 0,525 \cdot C^{0,553}$	0,991	0,960
	Пролин	0,068	$\Gamma = 0,068 \cdot \frac{0,53 \cdot C}{1 + 0,53 \cdot C}$	$\Gamma = 0,153 \cdot C^{0,552}$	0,990	0,946
	Фенилаланин	0,137	$\Gamma = 0,137 \cdot \frac{5,55 \cdot C}{1 + 5,55 \cdot C}$	$\Gamma = 0,310 \cdot C^{0,352}$	0,998	0,950
	Изолейцин	0,056	$\Gamma = 0,056 \cdot \frac{0,38 \cdot C}{1 + 0,38 \cdot C}$	$\Gamma = 0,054 \cdot C^{0,546}$	0,991	0,938
	Метионин	0,112	$\Gamma = 0,112 \cdot \frac{1,74 \cdot C}{1 + 1,74 \cdot C}$	$\Gamma = 0,435 \cdot C^{0,471}$	0,991	0,986

Как видно из табл. 23, все изучаемые аминокислоты имеют хорошую корреляцию в линейных координатах обеих моделей адсорбции, но лучшее значение R^2 характерно для изотермы адсорбции в соответствии с моделью Ленгмюра, что говорит об образовании мономолекулярного слоя на поверхности фосфатов кальция. Глицин из-за своего малого размера (табл. 22) может проникать в поры, которые присутствуют в брушита и ГА. Поэтому эта аминокислота имеет несколько большее значение R^2 в линейных координатах уравнения Фрейндлиха.

Сравнивая между собой поверхностно-активные свойства аминокислот при их адсорбции на брушита и гидроксилпатите их можно расположить в ряды для брушита:

Gly>Tyr>Glu>Arg>Asp>Ala>Phe>Ser>Thr>Met>Lys>Leu>Ile>Val>Pro;

для гидроксилпатита:

Gly>Ser>Glu>Arg>Tyr>Ala>Asp>Thr>Phe>His>Met>Leu>Val>Pro>Ile.

Выделенные аминокислоты совпадают по поверхностно-активным свойствам для обоих материалов, видно, что из нейтральных аминокислот лучше адсорбируются глицин и аланин (с меньшим количеством атомов углерода в цепи и малым объёмом молекулы (табл. 22)). Для кислотных наибольшее значение адсорбции отмечено для глутаминовой кислоты, чем для аспарагиновой, что хорошо согласуется с данными литературы [108]. В случае основных кислот отмечена аналогичная зависимость, наибольшее значение получено для аргинина.

Сравнение величины адсорбции при $pH = 6,5$ для выбранных фосфатов кальция показало, что на брушита лучше адсорбируются аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аланин, аргинин, тирозин, треонин, фенилаланин, изолейцин, метионин; на гидроксилпатите – глицин, серин, валин, лизин, пролин. Лейцин имеет примерно одинаковую величину сорбции на двух фосфатах. Это связано со структурой поверхности сорбентов, главным образом зарядом и размерами. Так, например, брушит имеет больше положительных центров, что определяет более сильное сродство с АК.

Оценку величины изменения энергии Гиббса проводили по формуле (32). Полученные данные ΔG приведены в табл. 23. Значения указывают на механизм физической адсорбции и близки для брушита и ГА.

$$\Delta G = -RT \cdot \ln K \quad (32)$$

где R – универсальная газовая постоянная, $R = 8,314$ кДж/(моль·К); T – температура, К; K – константа адсорбционного равновесия.

Значение ΔG для адсорбции аминокислот на брушита (1) и ГА (2)

АК	ΔG , кДж/моль	
	1	2
Ala	-7,06	-7,54
Arg	-7,68	-7,13
Asp	-5,17	-5,38
Glu	-7,16	-9,01
Gly	-9,69	-9,21
Ile	-0,35	–
Leu	-0,70	-0,91
Lys	-1,36	-0,91
Met	-2,9	-1,37
Phe	-0,38	-4,24
Pro	–	–
Ser	-4,65	-6,07
Thr	-4,11	-1,14
Tyr	-8,87	-7,55
Val	-0,39	–

По значениям ΔG , аминокислоты можно расположить в ряд по уменьшению значения энергии Гиббса для брушита:

(≤ -1 кДж/моль) *Ile* > *Phe* > *Val* > *Leu* > *Lys* > ($\leq -3 \div -5$ кДж/моль) *Met* > *Thr* > *Ser* > *Asp* > ($\leq -7 \div -9$ кДж/моль) *Ala* > *Glu* > *Arg* > *Tyr* > *Gly*;

для гидроксилпатита:

(≤ -1 кДж/моль) *Leu* > *Thr* > *Met* > ($\leq -4 \div -6$ кДж/моль) *Phe* > *Asp* > *Ser* > *Arg* > ($\leq -7 \div -9$ кДж/моль) *Ala* > *Tyr* > *Glu* > *Gly*.

Таким образом, хуже всего адсорбируются на поверхности брушита и гидроксилпатита нейтральные гидрофобные аминокислоты.

Методика проведения адсорбционного эксперимента на фторапатите

Для изучения процессов адсорбции навеску фторапатита (с концентрацией фторид-ионов 0,5 в исходном растворе) массой 0,2 г помещают в колбу и заливают раствором аминокислоты. Варьируется концентрация аминокислоты: 0,002, 0,005, 0,008, 0,010, 0,012, 0,015, 0,018 моль/л. Проводят встряхивание в течение 30 мин, после чего оставляют на 48 ч. По истечении указанного времени содержимое колб фильтруют и определяют содержание аминокислот в фильтрате методом перевода аминокислот в растворимые медные соли и их последующего фотометрического определения. Аналогичные опыты проводят с образцами гидроксилпатита. Выбор аминокислот обусловлен содержанием их в биологической жидкости.

Аналогичный эксперимент был проведен при изучении адсорбции ионов металлов на фторапатите и гидроксилпатите. Выбор ионов металлов обусловлен содержанием их в ротовой жидкости (табл. 24). Концентрация ионов металлов превышала норму содержания их в ротовой жидкости в 10, 50, 100, 200 и 250 раз.

Характеристика элементного состава ротовой жидкости, мг/л

Ион	Нормальный элементный состав	Камнеобразование в полости рта	Кариез зубов
Zn ²⁺	0,476±0,183	1,082±1,010	0,544±0,490
Cu ²⁺	0,342±0,314	0,054±0,033	0,102±0,080
Fe ³⁺	0,278±0,041	0,399±0,185	0,164±0,114
Mn ²⁺	0,050±0,014	Нет данных	Нет данных

Глава 4. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Данная глава содержит сведения о наборе современных физико-химических методах, используемых в работе (рентгенофазовый анализ (РФА), ИК-спектроскопия, ДТА, РЭМ и др. [109–113].

4.1. Методика рентгенофазового анализа

Для изучения минерального (фазового) состава синтезированных кристаллических образцов был проведен рентгенофазовый анализ. В аппарате ДРОН-3 для проведения широкого круга структурных исследований различных материалов, в том числе синтезированных твердых образцов (предположительно гидроксилпатита), используется дифракция рентгеновских лучей, для которых кристалл является идеальной дифракционной решеткой.

Дифракция рентгеновских лучей от кристалла подчиняется закону Вульфа–Брегга:

$$2d_{hkl}\sin\Theta = n\lambda,$$

где n – порядок отражения, λ – длина волны, d_{hkl} – межплоскостное расстояние, Θ – угол отражения.

В аппарате используется монохроматическое излучение, источником которого является рентгеновская трубка (источник питания рентгеновской трубки – питающее устройство ПУР-5/50). Дифрактограммы получены «методом порошка» на рентгеновском стационарном аппарате ДРОН-3. При проведении фазового анализа использовалось монохроматизированное медное ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$), кобальтовое ($\lambda = 1,79021 \text{ \AA}$) и молибденовое излучения ($\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$).

Рабочий режим: $U = 35 \text{ кВ}$, $I = 15 \text{ мА}$ – для кобальтового и медного излучений; $U = 38 \text{ кВ}$, $I = 10 \text{ мА}$ – для молибденового излучения, скорость вращения детектора – $1^\circ/\text{мин}$, скорость движения диаграммной ленты – 720 мм/ч , рабочая шкала самописца – $1 \cdot 10^3$ импульсов/сек, юстировочные щели – 1 мм ; $0,25 \text{ мм}$.

Из дифрактограмм определялись углы 2Θ брэгговских отражений и их относительная интенсивность.

Качественный анализ фазового состава образца проводился путем сопоставления экспериментальных значений межплоскостных расстояний и относительных интенсивностей дифракционных максимумов с набором соответствующих табличных значений для каждой из предполагаемых фаз. Идентификация фаз производилась с использованием международной картотеки ASTM и таблиц. Чувствительность метода РФА для данных измерений составляла 3 %.

Расшифровка полученных дифрактограмм проводилась в программном комплексе EVA (Bruker) с использованием базы данных по порошковой дифракции ICDDPDF-2 (версия 2006 г.).

Расчет параметров решетки для образцов гидроксилпатита был выполнен в программе TOPAS 3.0 (Bruker) по методу Ле Бэйля (метод наименьших квадратов). Расчет размеров кристаллитов (областей когерентного рассеяния) также был выполнен в программе TOPAS 3,0 по уравнению Селякова–Шеррера:

$$D = \frac{k \cdot \lambda}{\beta_m \cdot \cos \theta}, \quad (33)$$

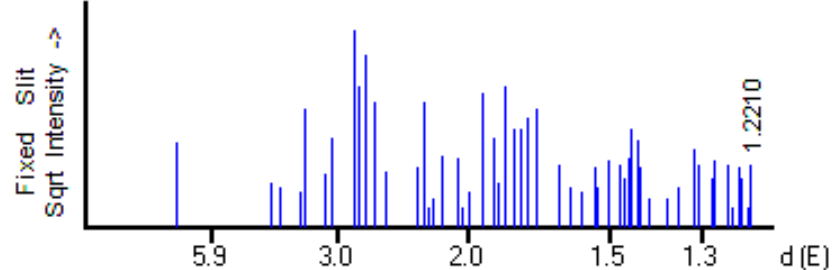
где D – размер кристаллита (\AA), который оценивался по рефлексу $[002]$, k – фактор формы, примерно равный 0,9, λ – длина волны, применяемая для анализа ($1,54056$), β_m – физическое

уширение линии образца, обусловленное малыми размерами кристаллитов (ширина пика на половине высоты или интегральная ширина, выражается в радианах и определяется по дифрактограмме образца), θ – угол дифракции ($\theta = 12,92$).

Пример карточки PFA: XPOW Copyright 1993 Bob Downs, Ranjini Swaminathan and Kurt Bartelmehs For reference, see Downs et al. (1993) American Mineralogist 78, 1104-11.

Гидроксилapatит

34-0010 (Deleted)	Ca ₅ (PO ₄) ₃ (OH)											
CAS Number:	Calcium Phosphate Hydroxide											
Molecular Weight: 502.32	Ref: Heijligers, H., Depart. Phys. Chem. Techn. Univ. Eindhoven, Eindhoven, The Netherlands, Private Communication											
Volume[CD]: 528.06												
Dx: 3.159 Dm:												
S.G.: P6 ₃ /m (176)												
Cell Parameters:												
a 9.414 b c 6.879												
α β γ												
SS/FDM: F30=130(0056, 41)												
I/I _{cor} :												
Rad: CuK α 1												
Lambda: 1.54051												
Filter:												
d-sp: Guinier												
Mineral Name:												
Hydroxylfluorapatite, syn												



d(A)	int-f	h	k	l	d(A)	int-f	h	k	l	d(A)	int-f	h	k	l
8.1530	18	1	0	0	2.0380	1	4	0	0	1.4640	6	5	1	0
4.0770	5	2	0	0	1.9990	3	2	0	3	1.4530	12	3	0	4
3.8850	4	1	1	1	1.9420	45	2	2	2	1.4490	25	3	2	3
3.5070	3	2	0	1	1.8900	20	3	1	2	1.4320	19	5	1	1
3.4400	35	0	0	2	1.8710	5	3	2	0	1.4280	9	3	3	2
3.1690	7	1	0	2	1.8400	50	2	1	3	1.4060	2	4	2	2
3.0820	20	2	1	0	1.8050	25	3	2	1	1.3690	2	3	1	4
2.8120	100	2	1	1	1.7790	25	4	1	0	1.3470	4	5	1	2
2.7770	50	1	1	2	1.7540	30	4	0	2	1.3160	15	4	3	1
2.7180	75	3	0	0	1.7200	35	0	0	4	1.3060	10	5	2	0
2.6290	40	2	0	2	1.6430	10	3	2	2	1.2830	6	5	2	1
2.5280	8	3	0	1	1.6100	4	3	1	3	1.2790	11	4	2	3
2.2950	9	2	1	2	1.5800	3	4	1	2	1.2560	10	2	1	5
2.2610	40	3	1	0	1.5410	9	4	2	0	1.2490	1	4	3	2
2.2270	1	2	2	1	1.5300	4	3	3	1	1.2370	9	4	1	4
2.2070	2	1	0	3	1.5030	11	4	2	1	1.2340	6	5	1	3
2.1480	13	3	1	1	1.5030	11	2	1	4	1.2240	1	6	1	1
2.0610	12	1	1	3	1.4730	10	5	0	2	1.2210	10	5	2	2

4.2. Методика анализа образцов методом ИК-Фурье-спектроскопии

С целью получения информации о фазовом составе синтезированных образцов использован метод инфракрасной спектроскопии (ИК-Фурье-спектроскопии).

ИК-спектры получают на спектрофотометре «ФТ-801» (рис. 24). Прибор предназначен для регистрации в ближней и средней ИК-области спектров поглощения твердых, жидких и газообразных веществ с их последующей идентификацией, а также для качественного и количественного анализа смесей, содержащих несколько компонентов. Фурье-спектрометр «ФТ-801» имеет оригинальную оптическую схему интерферометра, «двойной кошачий глаз», простую, компактную и устойчивую к разбюстировкам. Прибор автоматизирован (используется цифровая электроника) и управляется компьютером (USB-интерфейс).

Образцы готовят методом прессования таблеток с KBr: 0,5 мг полученной в ходе синтеза твердой фазы, растертой в порошок, смешивают с порошком KBr в количестве 50 мг, затем полученную смесь переносят в пресс-форму и запрессовывают в дискообразную таблетку с диаметром 3 мм при комнатной температуре.

Запись спектра исследуемых образцов проводят в области от 4000 до 500 см⁻¹. Все спектры измеряют с общим числом сканирований, равным 32. Программа «ZaIR 3.5» используется для получения, обработки и расшифровки инфракрасных спектров с помощью баз данных, содержащих более 130 тысяч ИК-спектров веществ различной природы. Чувствительность метода ИК-спектроскопии для данных измерений составляет < 5 %.

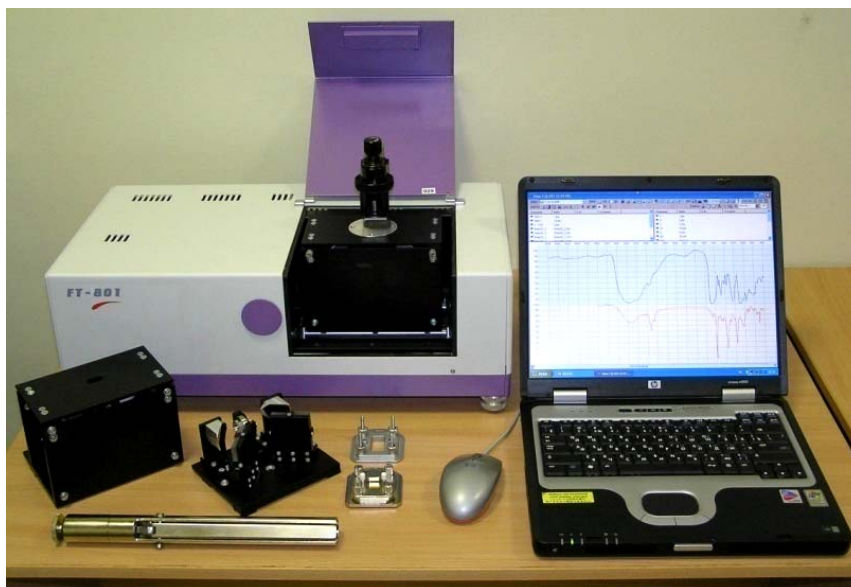


Рис. 24. «ФТ-801» с набором приставок и принадлежностей

Степень кристалличности исследуемого образца оценивалась по величине параметра инфракрасного расщепления антисимметричного деформационного колебания ν_4 связи О-Р-О (спектральная область 500–650 см⁻¹), определяемого как отношение интенсивностей двух пиков к интенсивности «впадины» между ними:

$$K = \frac{I(564 \text{ см}^{-1}) + I(604 \text{ см}^{-1})}{I(584 \text{ см}^{-1})}. \quad (34)$$

В табл. 25–27 приводятся характерные полосы поглощения ИК-спектров, на основании которых также проводилась идентификация синтезированных образцов.

Таблица 25

Характерные спектральные полосы минералов

Минерал	Характерные спектральные полосы
Витлокит	Полосы низкой интенсивности 3600 см ⁻¹ и 1650 см ⁻¹ характерны для колебаний воды; сильная полоса 1083 см ⁻¹ соответствует валентным колебаниям группы PO ₄ ³⁻ , а полосы 604 см ⁻¹ и 546 см ⁻¹ – деформационным колебаниям этой группы
Аморфный фосфат кальция	Полосы, характерные для колебаний воды (3600 см ⁻¹ и 1650 см ⁻¹) и карбонатной группы (865 см ⁻¹) – результат нежелательных нечистот; сильная полоса 1040 см ⁻¹ соответствует валентным колебаниям группы PO ₄ ³⁻ , а полоса 569 см ⁻¹ – деформационным колебаниям этой группы
Карбонатапатит Ca ₅ (PO ₄ ,CO ₃) ₃ ОН	Полосы 3404 см ⁻¹ и 1623 см ⁻¹ характерны для колебаний воды; полоса 873 см ⁻¹ относится к деформационным колебаниям CO ₃ ²⁻ -группы; PO ₄ ³⁻ -группа представлена самой сильной полосой 1035 см ⁻¹ и 602 см ⁻¹ , 566 см ⁻¹
Гидроксилапатит Ca ₅ (PO ₄) ₃ ОН	Полосы 3563 см ⁻¹ , 3418 см ⁻¹ и 1621 см ⁻¹ характерны для колебаний воды; полосы 1090 см ⁻¹ , 1042 см ⁻¹ и 961 см ⁻¹ соответствуют валентным колебаниям группы PO ₄ ³⁻ , а полосы 630 см ⁻¹ , 600 см ⁻¹ и 567 см ⁻¹ – деформационным колебаниям этой группы
Брушит CaHPO ₄ ·2H ₂ O	Полосы 3531 см ⁻¹ , 3484 см ⁻¹ и 1646 см ⁻¹ характерны для колебаний воды; полосы 1135 см ⁻¹ , 1060 см ⁻¹ и 986 см ⁻¹ соответствуют валентным колебаниям группы PO ₄ ³⁻ , а полосы 653 см ⁻¹ , 578 см ⁻¹ и 527 см ⁻¹ – деформационным колебаниям этой группы

Полосы поглощения на ИК-спектрах биогенных и синтезированных апатитов и их примесей

Температура, К	Полоса ИК-поглощения, см ⁻¹				Тип колебаний связей и структурных групп
	Апатит		Примеси		
			β-ТСР как высокотемпературная фаза	ТСР водный СаО Са ₂ Р ₂ О ₇ , НРРО ₄ ²⁻	
—	—	—	—	5408	НРРО ₄ ²⁻
—	—	4305,6	—	—	Дважды вырожденное деформационное колебание ν ₂ О–Р–О в РО ₄ ³⁻ (обозначение δ) ⁵
300–1173	470–472	4755,6	—	—	
300–1173	564–565	5661, 560–6106	—	5491	Трижды вырожденное деформационное колебание ν ₄ О–Р–О в РО ₄ ³⁻ (обозначение δ) ⁵
473–1173	574–578	5703, 5755	—	—	
300–1173	603–605	6041, 6003,5	—	6001	
—	—	6313	—	6305	Трижды вырожденное деформационное колебание ν ₄ О–Р–О в РО ₄ ³⁻ (или ν СаО) ⁵
473–1173	632-634	6321	—	—	Либрационные полосы поглощения ОН ⁻
—	—	710	—	7105, 7107	ν ₄ СО ₃ ²⁻ или (ν СаО) ⁵ или (ν Р ₂ О ₇ ²⁻) ⁵
300–973	872-873	8751,5	—	—	Деформационное колебание О–С–О в СО ₃ ²⁻ В-типа (ν ₂ СО ₃ ²⁻)
300–1173	879	—	—	—	Деформационное колебание О–С–О в СО ₃ ²⁻ А-типа (ν ₂ СО ₃ ²⁻)
—	—	860–8906	—	—	ν ₂ СО ₃ ²⁻
1173	—	—	945	—	Полносимметричное валентное колебание ν ₁ Р–О в РО ₄ ³⁻ в β-ТСР
—	—	893–8944	—	—	Колебания НРРО ₄ ²⁻
300–1173	958–962	9621, 9605, 962–9686	—	9691	Полносимметричное валентное колебание ν ₁ Р–О в РО ₄ ³⁻ в апатите (А тип) ⁵
973–1173	—	—	982–983	—	Полносимметричное валентное колебание ν ₃ Р–О в РО ₄ ³⁻ в β-ТСР
973–1173	—	—	1015	—	Асимметричное валентное колебание ν ₃ Р–О в РО ₄ ³⁻ в β-ТСР
300–473, 973–1173	1034–1039	10331, 10505, 1000–11006	—	10381	Асимметричное валентное колебание ν ₃ Р–О в РО ₄ ³⁻ в апатите
723–1173	1043–1046	10502, 10443	—	—	
300–1173	1089–1095	10901,5, 10893	—	—	
973–1173	—	—	1120–1122	10181	Асимметричное валентное колебание ν ₃ Р–О в РО ₄ ³⁻ в β-ТСР
—	—	12805	—	—	ν ₁ СО ₂
—	—	13805	—	—	ν ₁ СО ₂
300–1173	1412–1414	14221, 1421–14234, 1420–14605,6	—	—	Асимметричные валентные колебания С–О в СО ₃ ²⁻ В-типа (ν ₃ СО ₃ ²⁻) ⁵
300–1173	1452–1456	—	—	—	
300–1173	1469–1472	—	—	—	
300–1173	1495–1501	—	—	—	
300–1173	1547–1551	—	—	—	
—	—	15502, 1536–15404	—	—	Асимметричные валентные колебания С–О в СО ₃ ²⁻ А-типа
300–1173	1629–1650	16211, 16502, 1658–16614, 16405	—	—	Деформационное колебание Н–О–Н в Н ₂ О (обозначение δ Н ₂ О) ⁵
—	—	—	—	16306, 16506, 16656	РО ₄ ³⁻
473–973	2342–2344	23302	—	—	Асимметричные валентные колебания С–О в СО ₂ (ν ₃ СО ₂) ⁵
973	2359	23505, 23605	—	—	—
—	3400	24281, 34405, 34405	—	—	ν Н ₂ О
—	3540	—	—	—	Валентные колебания ν ОН ⁻ в Н ₂ О
—	3570	35701.5, 36001.5	—	—	—

**Полосы ИК-поглощения
на спектрах белковых (амидных) и других органических групп**

<i>Полоса ИК-поглощения, см⁻¹</i>	<i>Тип колебаний связей и структурных групп</i>
1040	Ассиметричные валентные колебания $\nu(\text{C}-\text{C})$
1098	Ассиметричные валентные колебания $\nu(\text{CN})$
1140	Колебания пирольных колец $\delta(\text{CH}_2)$
1170	Ассиметричные валентные колебания $\nu(\text{CN})$
1240, 1242, 1260	Амид III , основной вклад колебания CNH : валентные колебания связи $\text{C}-\text{N}$ и деформационные колебания связи $\text{N}-\text{H}$, причем 1240 – неупорядоченной конформации, а 1260 – структуры α -спирали
1340–1480, 1410	Деформационные колебания метильных $\nu(\text{CH})$ и метиленовых групп $\nu(\text{CH}_2)$ или обозначение $\delta(\text{CH}_2, \text{CH})$ ($\text{C}=\text{O}$ винильный, $\nu(\text{COO}^-)$) или $\nu(\text{CH})$ липидов и жирных кислот
1460	Деформационные колебания метильных $\nu(\text{CH})$ и метиленовых групп $\nu(\text{CH}_2)$ или обозначение $\delta(\text{CH}_2, \text{CH})$
1500	Деформационные колебания $\nu(\text{NH}_2)$ в плоскости пептидных групп или обозначение $\delta(\text{NH}_2)$ свободных аминогрупп (например, аминокислот)
1505, 1517, 1535, 1545, 1550, 1560, 1585	Амид II , основной вклад деформационных колебаний $\nu(\text{NH})$ в плоскости пептидных групп или обозначение $\delta(\text{NH})$, может вносить вклад $\nu(\text{COO}^-)$, 1517 – колебания ароматического тирозинового кольца
1615, 1633, 1642, 1660, 1675	Амид I , основной вклад ассиметричных валентных колебаний $\nu(\text{C}=\text{O})$ полипептидной цепи (1660 – α -спиралей, остальные – β -складчатом слое)
1700–1790, 1710	Поглощение, «плечо» $\nu(\text{C}=\text{O})$ от пептидных, кислотных, лактамных, ангидридных, альдегидных, кетонных, сложноэфирных групп
2200–2203 (при 723–973 К)	Деформационное колебание $\text{N}-\text{C}-\text{O}$ в CN^-
2850–2950	Ассиметричные валентные колебания метильных $\nu(\text{CH})$ и метиленовых групп $\nu(\text{CH}_2)$, используют как внутренний стандарт, так как на интенсивность мало влияют условия обработки коллагена
2700–2900	$\nu(\text{CH}_2)$ жирных кислот
3320	Ассиметричные валентные колебания $\nu(\text{NH})$ в большей степени межмолекулярных водородных связей
3340	Ассиметричные валентные колебания $\nu(\text{NH})$ в большей степени внутримолекулярных водородных связей

Помимо качественного анализа ИК-спектров осуществлялся их полуколичественный анализ по отношению интегральных интенсивностей связей: $\nu_3 \text{C}-\text{O}$ карбонат-ионов к $\nu_3 \text{P}-\text{O}$ фосфат-ионов и $\nu_3 \text{P}-\text{O}$ PO_4^{3-} к $\text{C}=\text{O}$ органической компоненты. По величине $\text{CO}_3^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$ получены представления об упорядоченности минеральной костной структуры («норма» – 1:7).

Кроме того, в работе использовалась математическая обработка спектров с помощью программного пакета PeakFit_v 4.11., заключающаяся в разложении спектральной области 400–650 см^{-1} на три элементарных полосы поглощения (распределение по Лоренцу, $P = 0,99$). По результатам разложения рассчитан параметр инфракрасного расщепления антисимметричного деформационного колебания ν_4 связи $\text{O}-\text{P}-\text{O}$, полученный как отношение интенсивностей двух пиков к интенсивности «впадины» между ними: $\text{IRSF} = I(564 \text{ см}^{-1}) + I(604 \text{ см}^{-1}) / I(584 \text{ см}^{-1})$ (рис. 25). По его величине оценивалась степень кристалличности исследуемого минерала.

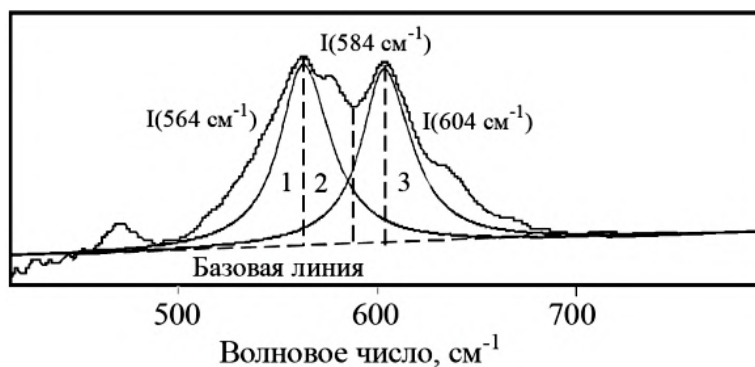


Рис. 25. Разложение ИК-спектра в области $400\text{--}650\text{ см}^{-1}$ колебаний $\nu_4\text{O--P--O}$ связей PO_4^{3-} на три элементарные полосы поглощения (PeakFit_v 4.11.)

4.3. Методика определения Cu^{2+} и Zn^{2+} методом инверсионной вольтамперометрии

Инверсионно-вольтамперометрический метод основан на зависимости тока, проходящего через ячейку анализатора с анализируемым раствором, от массовой доли элемента, содержащегося в растворе и функционально связанного с формой и параметрами приложенного к электродам поляризующего напряжения.

Высота пика элемента, регистрируемого на вольтамперограмме, пропорциональна массовой доле элемента в растворе. Массовую концентрацию элемента в растворах проб определяют методом «стандартных добавок», не требующим построения градуировочной кривой.

Анализ проводят на вольтамперометрическом анализаторе АКВ-07МК (рис. 26).



Рис. 26. Вольтамперометрический анализатор АКВ-07МК

В стеклоглеродный тигель пипеткой вместимостью 20 см^3 помещают 20 см^3 раствора фоновое электролита, закрепляют на подставке-держателе анализатора. В соответствии с руководством пользователя программы «POLAR» устанавливают параметры измерений и регистрируют цикл вольтамперограмм. Для каждого из растворов серии рекомендуется регистрация не менее трех вольтамперограмм. Вольтамперограммы усредняют.

Пробу объемом 20 см^3 , подготовленную к измерениям, пипеткой вместимостью 20 см^3 помещают в стеклоглеродный тигель и закрепляют его на подставке-держателе анализатора.

После регистрации вольтамперограмм пробы в стеклоглеродный тигель пипеточным дозатором вносят растворы-добавки соответствующих ионов. Объем растворов-добавок уста-

навливают экспериментально. Регистрируют вольтамперограммы аналогичным образом. Предел погрешностей результатов измерения – не более 4 %

4.4. Методика рентгено-флуоресцентного анализа с применением синхротронного излучения (РФА СИ)

Для количественного определения содержания элементов K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, W, Hg, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ba, La, Ce, Th, U, Pb в образцах зубных и слюнных камней был проведен рентгенофлуоресцентный анализ с синхротронным излучением. Порошкообразные средние пробы образцов зубных и слюнных камней весом 50 мг прессовались в таблетки диаметром 5 мм с поверхностной плотностью 0,15 г/см². Использовались два уровня энергии возбуждения: 22 кэВ для количественного определения Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Pb, Th, U; 42 кэВ для количественного определения Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ba, La и Ce.

Расчет содержания элементов проводился методом внешнего стандарта. Образцами сравнения служили стандарты горных пород: СТ-1а (трапп), СА-1 (алевролит), СГ-2 (гранит), СИ-1 (известняк), ВСР-32 (фосфорит). Нормировочные коэффициенты для расчета содержаний элементов, не аттестованных в указанных стандартах, получены интерполяцией соответствующих величин для соседних групп элементов. Погрешность определений всех элементов составляла 2–5 отн. %.

4.5. Методика количественного рентгеноспектрального микрозондового анализа (РСМА) петрографических шлифов слюнных камней

Для изучения распределения элементов K, Na, Ca, P, S, Mg, Cl, Si, F от центра к периферии в представленных слюнных камнях использовался метод количественного рентгеноспектрального микрозондового анализа петрографических шлифов. Определение элементов проводили на микроанализаторе «Camebax-Micro» (лаборатория рентгеноспектрального анализа Аналитического центра ОИГГиМ СО РАН г. Новосибирска).

Для анализа изготавливались двусторонние полированные прозрачные шлифы на эпоксидной смоле толщиной 0,04 см. Анализ проводился по универсальной программе RMA-92. Оптимальные параметры съемки: ускоряющее напряжение – 20 кВ, ток поглощенных электронов – 40 нА, угол отбора – 40°, время счета – 10 с на каждой аналитической линии, диаметр зонда – 2–3 мкм. В процессе расчета концентраций методом PAP (Pouchou, Pichoir, 1985) учитывалось наложение на аналитическую линию $R_{K\alpha}$ линии $Ca_{K\beta 1}$, а также взаимные наложения линий $Ti_{K\alpha}$ и $Ba_{L\alpha}$. Погрешность определений всех компонентов находилась в пределах 2 отн. %, за исключением F, погрешность определения которого при концентрациях 0,1–2,0 мас. % составляла 2–3 отн. %, а при более низких содержаниях элемента возрастала до 5 отн. %.

4.6. Методика атомно-эмиссионного спектрального анализа с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП)

Количественное определение содержания элементов K, Ca, Na, P, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, Ni в образцах слюнных камней было проведено методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (Optima 2000 DV, PerkinElmer).

Минерализацию пробы проводят в микроволновой печи. Рабочий стандартный раствор с концентрацией 10–50 мг/л (в зависимости от концентрации определяемых элементов в анализируемом продукте) приготавливают путем соответствующего разбавления стандартного одноэлементного или многоэлементного раствора с аттестованным значением содержания элементов.

Градуировку спектрометра проводят перед началом измерения подготовленных проб. Определение градуировочной характеристики и обработка результатов проводятся с использованием программного обеспечения прибора.

Определение элементного анализа слюны проводят по ГОСТ Р 51309-99. Основной градуировочный раствор смеси элементов готовят из соответствующих ГСО элементов в соответствии с инструкцией по применению ГСО. В 1 см³ основного градуировочного раствора содержится 50 мкг соответствующего элемента.

Контрольный раствор выбирается из серии градуировочных растворов в зависимости от ожидаемой массовой концентрации анализируемых проб. В качестве контрольного раствора рекомендуется раствор с массовой концентрацией элементов 0,05–10 мг/дм³. Результаты измерения массовой концентрации металлов в анализируемых пробах представляются в виде:

$$C \pm \Delta (P = 0,95),$$

где C – массовая концентрация элемента в пробе, мг/дм³; Δ – абсолютная погрешность определения массовой концентрации элемента, мг/дм³; при $P = 0,95$.

Значение Δ рассчитывается по формуле:

$$\Delta = (\delta \cdot C)/100,$$

где δ – доверительные границы погрешности определения элементов. Чувствительность метода составляла 10⁻⁸–10⁻² мас. % для различных элементов, погрешность определений всех элементов находилась в пределах 3–7 отн. %.

Содержание Sr в исследуемых растворах определяли на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Varian 710-ES. Для этого навески образцов растворяли в 5 мл HNO₃(конц.), переносили в мерные колбы и доводили до метки бидистиллированной водой.

Концентрацию катионов Sr²⁺ определяют по методу трех эталонов. Он заключается в том, что по используемой для анализа методике наряду со спектрами анализируемых проб фотографируют на одну и ту же фотопластинку спектры трех образцов сравнения. В этих спектрах измеряют аналитические сигналы определяемого элемента, содержание которого в образцах сравнения известно (0; 3,20000; 6,40000 мг/л). Далее строят градуировочную зависимость, по которой для аналитического сигнала анализируемой пробы определяют содержание измеряемого элемента. Предел обнаружения метода составляет 0,001–0,0001 мг/л, погрешность измерений – около 5 %.

4.7. Методика определения фторид-ионов с помощью ионселективного электрода

Сущность метода. Определение концентрации хлорид-ионов проводят методом прямой потенциометрии с использованием ионоселективного электрода, потенциал которого связан с активностью ионов в растворе уравнением Нернста.

Для определения концентрации фторид-ионов использовался мембранный электрод с внутренним заполнением. Влияние посторонних ионов: коэффициенты селективности для ионов NO₃⁻, ClO₄⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻ составляют 10⁻⁵, т. е. данные анионы практически не мешают определению фторидов; значительное мешающее влияние могут оказывать OH⁻-ионы при pH >10. Предварительно электрод калибруют по стандартным растворам. В качестве электрода сравнения используют хлорсеребряный электрод.

Перед измерениями в анализируемом растворе электрод промывают дистиллированной водой и слегка просушивают фильтровальной бумагой. Измеряют потенциал в анализируемом растворе (рекомендуемый объем 50–100 мл). Сравнивая полученное значение потенциала с калибровочным графиком определяют концентрацию фторид-ионов в анализируемой пробе.

Погрешность определений находится в пределах 3–4 отн. %.

4.8. Методика определения хлорид-ионов с помощью ионселективного электрода

Сущность метода. Определение концентрации хлорид-ионов проводят прямой потенциометрией с использованием ионселективного электрода, потенциал которого связан с активностью ионов в растворе уравнением Нернста.

Предварительно электрод калибруют по стандартным растворам. В качестве электрода сравнения используют каломельный электрод.

Перед измерениями в анализируемом растворе электрод промывают дистиллированной водой и слегка просушивают фильтровальной бумагой. Измеряют потенциал в анализируемом растворе и по градуировочному графику определяют значение концентрации ионов Cl^- .

Погрешность определений находится в пределах 3–4 отн. %.

4.9. Методика определения ионов кальция с помощью ионселективного электрода

Сущность метода. Определение концентрации ионов кальция в ходе исследования растворимости образцов синтетических ортофосфатов кальция проводят методом прямой потенциометрии с использованием ионселективного электрода.

Проведение измерений. Перед измерениями в анализируемом растворе электрод промывают дистиллированной водой и слегка просушивают фильтровальной бумагой. Измеряют потенциал в анализируемом растворе и по градуировочному графику определяют значение концентрации ионов Ca^{2+} .

4.10. Методика измерения краевого угла смачивания фосфата кальция титанового образца

В ходе эксперимента были приготовлены 1 %-ные, 2 %-ные, 5 %-ные и 10 %-ные суспензии из синтезированных твердых фаз фосфатов кальция с варьированием содержания катионов Sr^{2+} 50 % (исходный реагент – соль) и 10 % (исходный реагент – препарат «Бивалос») и временем синтеза (1, 2, 3, 4 недели).

Для измерения краевого угла смачивания был использован метод, базирующийся на измерении геометрических параметров капли жидкости (высоты (h) и диаметра (d)), которая смачивает поверхность (рис. 27). В качестве подложки использовали 10 образцов титановых пластинок: необработанный титановый сплав ВТ1-00, ВТ1-00 ($n = 3$), ВТ-00 ($n = 10$), ВТ6 ($n = 3$), ВТ6 ($n = 10$), ВТ1-00 (травленные в течение 10 с, 30 с, 1 мин, 2 мин). Предварительно поверхность титанового образца обезжиривали раствором этилового спирта, затем при помощи стеклянного капилляра диаметром порядка 0,2 мм наносили каплю, исследуемой суспензии.

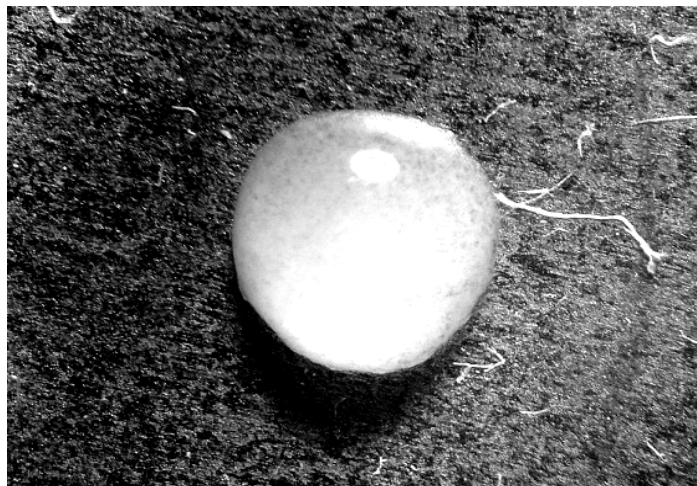


Рис. 27. Капля раствора ГА + 3 % желатин на поверхности титана ВТ1-0 (увеличение 100х)

Измерение геометрических параметров капли производилось на оптическом микроскопе MC-2 ZOOM (рис. 28) с использованием цифровой камеры для микроскопов Tourcam.



Рис. 28. Внешний вид микроскопа MC-2 ZOOM

Дальнейший расчет проводили по формуле (35):

$$\cos \theta = \frac{(d/2)^2 - h^2}{(d/2)^2 + h^2}. \quad (35)$$

4.11. Методика электронной растровой (сканирующей) микроскопии

Исследование микроструктуры поверхностных особенностей полученных покрытий проводилось с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6610LV фирмы JEOL, Япония.

Образец помещали на съемную пластину из алюминиевого сплава предметного столика специальной конструкции. Затем предметный столик переносили в измерительную камеру микроскопа, которую затем откачивали определенное время до получения высокого вакуума. Режим работы: низкий вакуум; диапазон увеличений – от $\times 30$ до $\times 9\,000$; ускоряющее напряжение – 5–10 кВ; виды контраста – вторичные электроны, разрешение – 5–500 мкн.

Погрешность измерений находится в пределах 100 нм.

4.12. Методика определения аминокислотного состава органической составляющей зубных, слюнных камней и ротовой жидкости

Сущность методики заключается в кислотном гидролизе пептидных связей белка по методу Мура и Штейна с последующим определением аминокислотного состава гидролизата методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Для проведения измерений использовали хроматограф жидкостный Series 200 (Perkin Elmer) с флуоресцентным детектором (диапазон длин волн возбуждения – от 200 до 850 нм, диапазон длин волн эмиссии – от 250 до 900 нм, точность установки длины волны – ± 4 нм, относительное СКО выходного сигнала – не более 1,5 %) и автодозатором (точность не хуже 0,5 % СКО по площади пика).

Хроматографический анализ проводят в следующих условиях: колонка – ресосphere 3 \times 3 C18 (33 \times 4,6 мм, 3 мкм), подвижная фаза: метанол и 1,5 % ТГФ в растворе ацетата натрия с концентрацией 50 ммоль/л (рН = 5,9); скорость подвижной фазы – 2,5 мл/мин.

На рис. 29 приведена хроматограмма образца зубного камня.

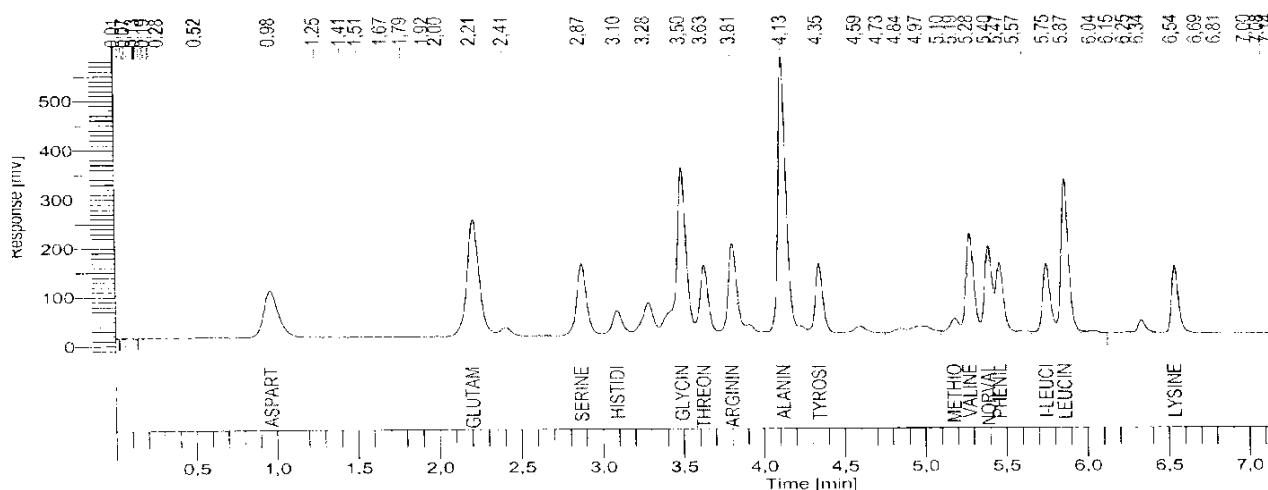


Рис. 29. Хроматограмма образца зубного камня

Для хроматографических измерений используют метод внутреннего стандарта. Массу аминокислоты X_i в граммах вычисляют по формуле:

$$X_i = \frac{K_{отн.} \cdot S_r \cdot m_{вн.ст.}}{S_{вн.ст.} \cdot m_r},$$

где $K_{отн.}$ – коэффициент относительной чувствительности аминокислоты; S_r – площадь пика аминокислоты исследуемой пробы, $mAU \cdot c$; $m_{вн.ст.}$ – масса навески внутреннего стандарта, мг; $S_{вн.ст.}$ – площадь пика внутреннего стандарта, $mAU \cdot c$; m_r – масса навески пробы, взятая на гидролиз, г.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений d и между результатами, полученными в разных условиях D , при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должны превышать соответственно 10 и 25 %.

Предел обнаружения при определении аминокислотного состава органической неминеральной составляющей составляет 10^{-4} масс. %, относительное стандартное отклонение – 0,04.

4.13. Методика определения аминокислот

Сущность метода. Для определения концентрации аминокислот используется анализ, основанный на переводе аминокислот в растворимые медные соли и их последующем фотометрическом определении. Для измерений используется фотоэлектрокалориметр КФК-2.

Реактивы:

- 1) 0,16 моль/л раствор сульфата меди;
- 2) раствор фосфата натрия; растворяют 64,5 г $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ в 0,5 л воды без углекислоты, после добавления 7,2 г NaOH доводят дистиллированной водой до 1,000 л;
- 3) боратный буфер с pH = 8,9; готовят доведением 80,5 мл 0,05 М раствора тетрабората натрия (12,367 г H_3BO_3 в 100 мл 1 н NaOH) до 100 мл 0,1 н раствором HCl;
- 4) взвесь фосфорнокислой меди (готовят перед употреблением из упомянутых выше трех растворов: сначала смешивают растворы 1 и 2 в соотношении 1:2, а затем добавляют 2 (1+2) объема буфера).

Проведение анализа. Для определения концентрации аминокислот в исследуемых растворах строят калибровочный график по серии растворов с концентрациями 0,002, 0,004, 0,006, 0,008, 0,010, 0,015, 0,020 моль/л. В мерные или конические колбы на 50,0 мл вносят пипеткой 5 мл раствора аминокислоты с определенной концентрацией, прибавляют 5 мл медной фосфорнокислой взвеси (реактив 4) и встряхивают в течение 20 мин.

Содержимое колб фильтруют через складчатые фильтры. Фильтрат фотометрируют против холостого раствора на приборе КФК-2. Для сравнения служит контрольный раствор, который готовят аналогично, приливая вместо раствора аминокислоты 5 мл дистиллированной воды и 5 мл медной фосфорнокислой взвеси. Определение оптической плотности стандартных растворов проводятся в интервале длин волн, включающем величину 670 нм. Для измерений используются кюветы с толщиной светопоглощающего слоя 1 см. По полученным значениям оптической плотности для серии растворов строят калибровочный график. Погрешность определений находится в пределах 2–4 % отн.

4.14. Методика термического анализа ТГ-ДТГ-ДТА

Термический анализ проводили на синхронном термическом анализаторе STA-449C «NETZSCH».

Термохимические превращения исследуемых образцов кальций фосфатных материалов анализировались и сопоставлялись между собой с использованием специализированной термической программы Proteus.

Анализ включал стадии начала терморазложения и промежуточных стадий топочимических реакций распада вещества, а также конечную стадию превращения материала. Анализ проводился в температурном интервале 24–1250 °С. Скорость нагрева образцов составляла 10 °С/мин. Массу навесок варьировали от 40 до 70 мг в зависимости от величин регистрируемых сигналов потери массы и теплового эффекта.

Погрешность метода – менее 5 °С.

4.15. Методика удельной поверхности образцов

Определение удельной поверхности кальций фосфатных материалов на основе Sr-содержащего апатита проведено на анализаторе СОРБОМЕТР «Катакон» (Россия).

При определении в качестве стандартного адсорбтива использован газообразный азот особой чистоты (99,999 об. %). Адсорбцию азота вели в криогенных условиях при 77,4 К.

Удельная поверхность измерялась по методике одноточечной абсорбции азота. Линейная форма изотермы адсорбции (уравнения БЭТ) имеет вид (36):

$$\frac{\frac{p}{p_o}}{a(1 - \frac{p}{p_o})} = \frac{1}{a_m C} + \frac{(C-1)p}{a_m C}, \quad (36)$$

где $\frac{p}{p_o}$ – отношение давления в системе к давлению конденсации, a – величина адсорбции, a_m – объем монослоя на поверхности адсорбента, C – отношение констант адсорбционного равновесия в первом слое и константы конденсации.

Метод БЭТ позволяет измерить поверхность в диапазоне от 0,1 до 2000 м²/г с относительной погрешностью 2–5 %.

4.16. Методика изучения морфологии частиц твердой фазы методом оптической микроскопии

Осадки, полученные в ходе синтезов, исследуют методом оптической микроскопии с помощью микроскопа МБР-1 при 120-кратном общем увеличении (увеличение окуляра – ×15, увеличение объектива – ×8) (см. рис. 27).

Для изучения структуры образца устанавливают микроскоп так, чтобы его зеркало находилось напротив источника света. На предметный столик помещают исследуемое вещество, нанесенное тонким слоем на предметное стекло, так, чтобы изучаемый объект находился под объективом. Вращая револьвер микроскопа, выбирают объектив с увеличением $\times 8$, устанавливают его над отверстием в центре предметного столика и фиксируют (при этом слышен щелчок). Для оптимального и равномерного освещения поля зрения при помощи зеркала с вогнутой стороной направляют свет от окна в объектив. Глядя в окуляр и вращая винт грубой наводки, плавно опускают объектив при помощи макровинта до положения, при котором хорошо будет видно изображение объекта. Вращением микрометрического винта добиваются более точной наводки на фокус.

Для фотографирования образцов возможно использование цифрового фотоаппарата любой марки. При этом объектив фотоаппарата помещают вплотную к окуляру микроскопа, таким образом, чтобы добиться точного совпадения изображения, наблюдаемого в окуляре, с фиксируемым фотоаппаратом. Съемку проводят в режиме, оптимальном для получения четких контрастных снимков.

4.17. Методика измерения поверхностного натяжения суспензии фосфата кальция сталагмометрически [ГОСТ 50097-92]

Определение поверхностного натяжения этим методом заключается в сравнении количества капель при истечении из сталагмометра исследуемой жидкости (n_x) и жидкости (n_{cm}) с известным поверхностным натяжением (σ_{cm}). Значение поверхностного натяжения исследуемой жидкости рассчитывают по формуле (37):

$$\sigma_1 = \sigma_0 \frac{\rho_x n_0}{\rho_0 n_x}, \quad (37)$$

где ρ_x и ρ_{cm} – плотность исследуемой и стандартной жидкостей ($\sigma_{\text{воды}} = 72,75 \text{ мДж/м}^2$).

4.18. Методика измерения вязкости модельного раствора синовиальной жидкости

Сущность метода

Определение вязкости модельных растворов заключается в измерении калиброванным стеклянным вискозиметром (рис. 30) времени истечения, в секундах, определенного объема испытуемой жидкости под влиянием силы тяжести при постоянной температуре.

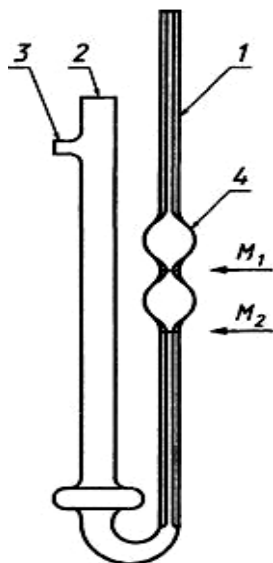


Рис. 30. Вязкозиметр ВПЖ-3

Выполнение анализа

Вязкость модельной синовиальной жидкости создавали с помощью раствора желатина в воде.

1. Для приготовления последнего воду нагревали до 50–60 °С, затем при постоянном перемешивании добавляли твердый желатин до образования густого раствора.

2. После этого 5 мл приготовленного раствор желатина добавляли в колбу с модельным раствором синовиальной жидкости без осадкообразующих ионов (Ca^{2+} , Mg^{2+}).

3. Времена истечения измеряли с использованием капиллярного вязкозиметра ВПЖ-3

4. Рассчитывали кинематическую вязкость n ($\text{мм}^2/\text{с}$) по формуле (38):

$$n = Ct, \quad (38)$$

где C – калибровочная постоянная вискозиметра, $\text{мм}^2/\text{с}^2$; t – среднее арифметическое значение времени истечения, с.

5. В случае недостижения необходимого уровня вязкости пункты 2, 3, 4 повторяли.

4.19. Методика измерения толщины и площади покрытия

Измерение толщины нанесенного покрытия ГАЖ на титановых образцах производили с помощью толщиномера, погрешность в измерениях составила ± 3 мкм.

Для измерения и расчета площади покрытия титанового образца модифицированным силикат-ионом гидроксилатапата производили с помощью программы TourView.

4.20. Методика проведения электронного парамагнитного резонанса

Для получения представлений о структурной организации и упорядоченности костной ткани на молекулярном и ионном уровнях использовался метод электронно-парамагнитного резонанса. В рамках исследования проводилось изучение природы и концентрации парамагнитных центров (ПМЦ), содержащих неспаренные электроны органической и неорганической костных составляющих. ЭПР-спектры регистрировались на радиоспектрометре ESR70-03 DX/2 (Беларусь), который фиксирует поглощение сверхвысокочастотного ($\nu \approx 10$ ГГц) электромагнитного излучения (СВЧ) парамагнитным образцом в поляризующем магнитном поле за счёт квантовых переходов между Зеемановскими уровнями парамагнитных частиц (г. Екатеринбург, Институт геологии и геохимии им. академика А.Н. Заварицкого УрО РАН, лаборатория физических и химических методов исследования минерального вещества).

В качестве эталона использовался MgO:Mn^{2+} с концентрацией парамагнитных центров $8,6 \cdot 10^{14}$ спин и $\Delta H = 1$ Гс, рабочая частота – 9,3–9,7 ГГц, $f_{\text{мод}} = 100$ кГц.

Активация ПМЦ осуществлялась путем варьирования процедур термического и электронного воздействий на костную ткань следующим образом: 1) облучение пучком электронов в течение 5 мин; 2) последовательный отжиг при температурах 23–600 °С с интервалом 30 °С; 3) отжиг с последующим облучением импульсами электронов высокой плотности (время облучения 5 мин) в температурном диапазоне от 23 до 300 °С. Термический отжиг костных проб проводился в электропечи SNOL 6,7/1300, облучение – на ускорителе «Клави Р», изготовитель ИЭ УрО РАН.

Пробоподготовка проб заключалась в измельчении высушенной костной ткани до мелкодисперсного порошкообразного состояния и ее упаковки в полиэтиленовую ампулу (размеры ампулы – 23×10×42 мм, масса исследуемого образца – 10–20 мг). Далее ампула с пробой помещалась в резонаторную полость через защитную кварцевую трубку, где облучалась СВЧ-излучением с постоянной частотой при разной напряженности магнитного поля. Регистрация ЭПР-спектров происходила в виде первой производной кривой поглощения СВЧ-излучения.

Качественная интерпретация сигналов парамагнитных ион-радикалов костных составляющих на ЭПР-спектрах осуществлялась согласно литературным источникам.

Математическая обработка полученных спектров проводилась с помощью программного обеспечения Origin 7.0. Основными количественными ЭПР-характеристиками выступали относительная интенсивность сигнала (амплитуда I , дол. ед. $\cdot \text{г}^{-1}$); положение линии на спектре (g -фактор, или фактор спектроскопического расщепления); ширина линии, определяемая как расстояние по полю между экстремумами на кривых (ΔH , Гс); ширина сигнала на половине высоты ($\Delta H_{1/2}$, Гс); количество и концентрация парамагнитных центров ($N_{\text{ПМЦ}}$, спин; $C_{\text{ПМЦ}}$, спин $\cdot \text{г}^{-1}$) (рис. 31).

Количество парамагнитных центров вычислялось по формулам:

$$N = N_{Mn} \cdot I/I_{Mn} \cdot (\Delta H/\Delta H_{Mn})^2 \text{ или } N = N_{Mn} \cdot I/I_{Mn} \cdot (\Delta H)^2, \text{ так как } \Delta H_{Mn} = 1 \text{ Гс},$$

где N и N_{Mn} – количество ПМЦ в образце и эталоне, спин; I и I_{Mn} – интенсивности сигналов ПМЦ образца и эталона, дол. ед.; ΔH и ΔH_{Mn} – ширина линии сигнала образца и эталона. Концентрация ПМЦ вычислялась: $C_{\text{ПМЦ}} = N/m$, где $C_{\text{ПМЦ}}$ – концентрация ПМЦ образца, спин $\cdot \text{г}^{-1}$; m – масса образца, г.

Чувствительность измерений составляла 5×10^{10} спин.

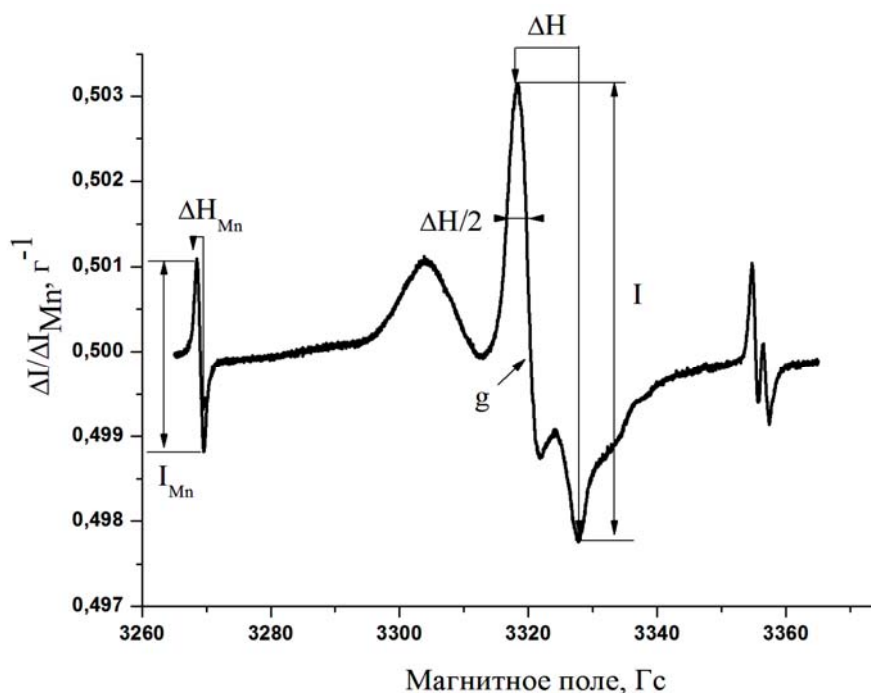


Рис. 31. ЭПР-спектр костной ткани

4.21. Методика термогравиметрического анализа

Сущность метода. Определение массы кремний-замещенного гидроксиапатита после прокаливания в муфельной печи, на аналитических весах.

Проведение измерений. В сухие керамические тигли отбираются навески Si-ГА $m = 0,2000 \pm 0,0005$ г. После чего данные образцы помещаются в муфельную печь на 2 ч. Температура прокаливания составляет от 200 до 1000 °С с шагом в 200 °С. По истечении времени тиглям дают остыть до комнатной температуры, а после проводят взвешивание на аналитических весах. Образцы переносят в специальную маркированную емкость и отправляют на физический анализ.

4.22. Определение ξ -потенциала и знака заряда частиц золей методом электрофореза

Для определения электрокинетических свойств золей синтезированных гидроксилпатитов различного стехиометрического состава и изучение влияния адсорбции аминокислот на значение знака заряда частицы и значение ξ -потенциала были получены фазы с атомным соотношением $\text{Ca/P} = 1,58 \pm 0,01$; $1,65 \pm 0,01$ и $1,67 \pm 0,01$.

Полученные фазы ($m = 0,3$ г) помещались на 24 ч в растворы ($V = 100$ мл), ионная сила, pH и концентрации аминокислот (глицин, лизин, аспарагиновая и глутаминовая кислота) которых близки к данным показателям, характерным для биологической жидкости (мочи), в среде которой протекает генезис почечных камней ($I = 0,3$ М, $\text{pH} = 6,45 \pm 0,05$; $\text{Сак} = 0,004$ моль/л), после чего проводили изучение электрокинетических свойств полученных золей.

Определение электрокинетического потенциала проводилось на приборе Рабиновича–Фодимана (рис. 32). При работе на данном приборе в колена U-образной трубки при открытых кранах через воронку наливали испытуемый золь гидроксилпатита до тех пор, пока жидкость не выступит из верхних отверстий кранов. После этого закрывали все краны прибора и промывали боковые колена дистиллированной водой и боковой жидкостью, в качестве которой использовался 0,3 М раствор KNO_3 . Оба колена заливали почти доверху боковой жидкостью и в верхние отверстия электрофоретических трубок вводили концы агар-агаровых мостиков, другие концы которых помещались в стаканы с 10 % раствором CuSO_4 . При проведении электрофореза электроды соединяли с источником постоянного тока с напряжением 260 В, медленно открывали оба нижних крана прибора, включали источник тока и наблюдали за движением границ золя, фиксируя время перемещения. По полученным значениям определяли ξ -потенциал и заряд частиц гидроксилпатита.

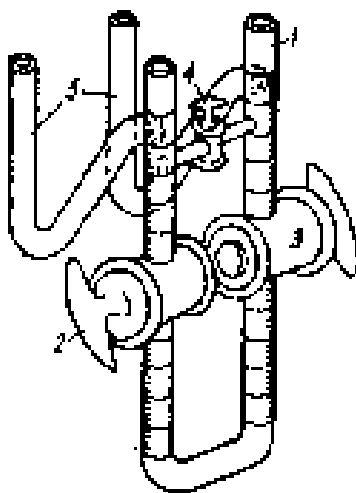


Рис. 32. Прибор Рабиновича–Фодимана

Значение ξ -потенциала рассчитывали из экспериментально найденной скорости электрофореза по уравнению Гельмгольца–Смолуховского:

$$\xi = \frac{4\pi\eta U}{\varepsilon H} 300^2,$$

где η и ε – вязкость и диэлектрическая проницаемость среды на границе скольжения, разделяющей две перемещающиеся относительно друг друга части мицеллы; H – градиент потенциала внешнего электрического поля: $H = \frac{E}{L}$; E – приложенная извне разность потенциалов, В;

L – расстояние между электродами, см; U – скорость электрофореза: $U = \frac{h}{\tau}$; h – смещение, см;

τ – время в течение которого происходит смещение; 300^2 – переводной множитель для вычисления ξ -потенциала.

Электрофоретическую подвижность частиц золя, определяющую путь, который проходят частицы в секунду при градиенте потенциала 1 В/см, рассчитывали как: $U_{\phi} = \frac{hL}{\tau E}$.

4.23. Методика изучения биоактивности ортофосфатов кальция

Для изучения устойчивости образцов ортофосфатов кальция, синтезированных в различных условиях, проводят их растворение в трис-буфере при постоянном перемешивании, контроле концентрации ионов кальция, переходящих в жидкую фазу. Перед началом каждого эксперимента готовят раствор трис-буфера.

На аналитических весах на сухом часовом стекле берут навеску образца фосфата кальция (с известной стехиометрией) массой 0,2000 г и переносят ее в пустой химический стакан объемом 150–200 мл. Помещают его на магнитную мешалку, погружают электроды для измерения кальция селективный электрод (для которого заранее получено уравнение градуировочного графика), приливают 100 мл раствора трис-буфера. Изучение процесса растворения гидроксилапатита проводят при постоянном перемешивании раствора. Через определенные промежутки времени ($\tau = 0$ –60 мин) отмечают значение показателя концентрации ионов кальция в системе. Полученные данные обрабатывают по алгоритму, предназначенному для изучения растворимости труднорастворимых неорганических соединений.

Алгоритм обработки экспериментальных данных:

1. Рассчитывали степень растворения синтезированного фосфата кальция:

$$\omega = 1 - \alpha, \quad (39)$$

где α – степень растворения вещества.

2. Затем по полученным данным о растворимости фосфата кальция при одинаковой степени растворения вещества рассчитывали энергию активации по формуле:

$$\tau_2 = \tau_1 e^{\frac{E}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right)}. \quad (40)$$

Необходимо подчеркнуть, что τ_1 и τ_2 означают время, необходимое для достижения одного и того же значения степени растворения вещества ω в первом и втором опытах. Уравнение (40) показывает, что зависимость τ_2 от τ_1 выражается аппроксимирующей линией, тангенс угла наклона которой к оси абсцисс численно равен энергии активации E/R . Вместо определения углового коэффициента прямой, энергию активации можно вычислить по формуле:

$$E = \frac{2,3R \lg \left(\frac{\tau_2}{\tau_1} \right)}{\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}}. \quad (41)$$

3. По экспериментальным данным строят зависимость τ_2 от τ_1 , где τ_1 и τ_2 отвечают равным значениям ω_1 и ω_2 . Из уравнений для скорости растворения при равных значениях ω следует соотношение:

$$\alpha = \frac{\lg \left(\frac{d\tau_2}{d\tau_1} \right)}{\lg \frac{C_2}{C_1}}. \quad (42)$$

Глава 5. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

5.1. Методика определения Fe^{3+} спектрофотометрическим методом

Сущность метода

Метод основан на взаимодействии ионов железа в щелочной среде с сульфосалициловой кислотой с образованием окрашенного в желтый цвет комплексного соединения. Интенсивность окраски, пропорциональную массовой концентрации железа, измеряют при длине волны 400–430 нм.

Аликвоту исследуемого раствора помещают в колбу на 50 см³. Затем к полученному раствору прибавляют 1,00 см³ хлористого аммония, 5,00 см³ сульфосалициловой кислоты, 5,00 см³ раствора аммиака (2:3), тщательно перемешивая после добавления каждого реактива. По индикаторной бумаге определяют значение pH раствора, которое должно быть 9. Если pH менее 9, то прибавляют еще 1–2 капли раствора аммиака (2:3) до pH 9.

Объем раствора в мерной колбе доводят до метки дистиллированной водой, оставляют стоять 5 мин для развития окраски. Измеряют оптическую плотность окрашенных растворов, используя фиолетовый светофильтр ($\lambda = 400\text{--}430$ нм) и кюветы с толщиной оптического слоя 1 см, по отношению к 50 см³ дистиллированной воды, в которую добавлены те же реактивы. Массовую концентрацию железа находят по градуировочному графику.

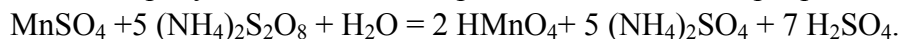
Для построения градуировочного графика в ряд мерных колб вместимостью 50 см³ наливают 0,0; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 см³ рабочего стандартного раствора, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и анализируют как исследуемую пробу.

Суммарная погрешность измерения с вероятностью $P = 0,95$ находится в пределах 0,01–0,03 мг/дм³.

5.2. Методика определения Mn^{2+} спектрофотометрическим методом

Сущность метода

Метод основан на окислении иона двухвалентного марганца до семивалентного надсерноокислым аммонием в присутствии катализатора – азотнокислого серебра:



В колбу вместимостью 50 мл вносят следующие количества стандартного раствора серноокислого марганца (0,1 мг/мл): 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; 10,0 мл. Затем в каждую колбу добавляют по 10 см³ 20 %-го раствора ортофосфорной кислоты, по 10 см³ 1 %-го раствора азотнокислого серебра и около 3 г персульфата аммония или калия, затем добавляют дистиллированную воду до объема около 40 см, нагревают до кипения и держат на водяной бане 10 мин. После охлаждения доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Оптическую плотность стандартных растворов измеряют на электрофотоколориметре с зеленым светофильтром ($\lambda = 530$ нм), используя кюветы с толщиной рабочего слоя 10 мм. По полученным данным строят калибровочный график, по которому определяют содержание Mn^{2+} .

Содержание марганца (X) мг/л определяют по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 1000}{V},$$

где a – содержание марганца, найденное по калибровочному графику, мг; V – объем исследуемой воды, взятый на определение, мл.

Погрешность определений находится в пределах 2–4 % отн.

5.3. Определение кальция и магния при их совместном присутствии в растворе с отделением фосфатов

Сущность работы

Определение основано на титровании раствора, содержащего ионы кальция и магния, стандартным раствором ЭДТА с двумя индикаторами – эриохромом черным Т и мурексидом. С эриохромом черным Т титруется сумма кальция и магния; затем с мурексидом в щелочной среде – только кальций. Разность объемов, затраченных на титрование смеси с разными индикаторами, соответствует содержанию магния в растворе. Титрование проводят с предварительным отделением фосфатов путем осаждения солями висмута в слабокислой среде.

Реактивы, посуда

Этилендиаминтетраацетат натрия двузамещенный – 0,01 М раствор. Аммиачный буферный раствор. NaOH – 20 %-ный раствор. Эриохром черный Т (кр.). Мурексид (кр.). Смесь индикаторная – мурексида с хлоридом натрия в соотношении 1:100 (по массе). Нитрат висмута (III) – 0,25 М раствор (готовят следующим образом: к 30 г азотнокислого висмута ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) приливают при перемешивании 15 см³ концентрированной азотной кислоты и доливают до полного растворения навески раствор $c(\text{HNO}_3) = 0,2$ моль/дм³. Раствор количественно переносят в мерную колбу – вместимостью 0,25 дм³ раствором $c(\text{HNO}_3) = 0,2$ моль/дм³, этим же раствором доводят объем до метки и перемешивают. Если раствор мутный, то его фильтруют).

Колба мерная вместимостью 100 мл. Пипетка вместимостью 20 мл. Бюретка вместимостью 25 мл. Колба коническая вместимостью 250–300 мл. Цилиндр мерный вместимостью 100 мл.

Выполнение работы

К анализируемому раствору (50 мл) в колбе вместимостью 100 мл добавляют 10 мл 0,25 М раствора нитрата висмута. Затем добавляют раствор $c(\text{KOH}) = 2$ моль/дм³ до pH 5–6, доливают водой до метки, перемешивают и через 5–10 мин фильтруют через фильтр «синяя лента», отбрасывая первые порции фильтрата.

В первой пробе определяют сумму кальция и магния. Для этого раствор в колбе для титрования нагревают до 60–70 °С, добавляют 5 мл аммиачного буферного раствора и индикатора эриохрома черного Т до образования винно-красной окраски. После этого медленно титруют 0,01 М раствором ЭДТА до изменения окраски из винно-красной в синюю (V_1).

К другой пробе прибавляют 2 мл 20 %-го раствора NaOH и индикатора мурексида до образования красной окраски. Затем титруют 0,01 М раствором ЭДТА до появления фиолетовой окраски. При низких концентрациях ионов кальция (менее 10⁻⁴ моль/л) раствор предварительно упаривают. Затраченный объем ЭДТА соответствует содержанию кальция (V_2). Погрешность определений составляет в пределах 1–2 отн. %.

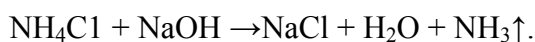
Концентрации кальция и магния в растворе рассчитывают по формулам:

$$C_{\text{Ca}^{2+}} = \frac{C_{\text{ЭДТА}} \cdot V_2}{V_{\text{п-ра}}}; \quad C_{\text{Mg}^{2+}} = \frac{C_{\text{ЭДТА}} \cdot (V_1 - V_2)}{V_{\text{п-ра}}}.$$

5.4. Определение аммиака в солях аммония методом обратного титрования с отделением фосфатов

Сущность работы

Определение основано на том, что к раствору соли аммония добавляют заведомо избыточный объем титрованного раствора NaOH и нагревают смесь до полного удаления аммиака:



Аммиак, вытесненный из солей аммония, поглощается раствором соляной кислоты с известной концентрацией. Предварительное отделение фосфатов с целью предотвращения осаждения струвита ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) в щелочной среде проводят путем осаждения раствором нитрата висмута в кислой среде.

Кислоту титруют стандартным раствором NaOH в присутствии метилового оранжевого.

Реактивы, посуда

Хлороводородная кислота HCl – 0,1 М раствор. Гидроксид натрия NaOH – 0,1 М раствор. Метилловый оранжевый – 0,1 %-ный раствор. Нитрат серебра AgNO_3 – 0,025 М раствор. Сульфат марганца MnSO_4 – 0,18 М раствор. Ацетат бензида – насыщенный раствор в 30 %-ный CH_3COOH . Нитрат висмута (III) – 0,25 М раствор.

Колба мерная вместимостью 100 мл. Пипетка вместимостью 20 мл. Пипетка вместимостью 50 мл. Бюретка вместимостью 25 мл. Колба коническая вместимостью 250–300 мл. Сетка асбестовая.

Выполнение работы

К анализируемому раствору (50 мл) в колбе вместимостью 100 мл добавляют 10 мл 0,25 М раствора нитрата висмута. Затем добавляют 50 мл раствора щелочи. Колбу закрывают пробкой с газоотводной трубкой, конец которой погружают в колбу со стандартным раствором соляной кислоты, ставят на асбестовую сетку и нагревают, не доводя раствор до кипения. Проверяют полноту разложения аммонийной соли ($\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3\uparrow$), поместив над отверстием колбы фильтровальную бумагу, смоченную растворами AgNO_3 и MnSO_4 .

Почернение бумаги указывает на присутствие аммиака; при смачивании бумаги раствором ацетата бензида пятно синее. Нагревание продолжают до отрицательной пробы на присутствие NH_3 в парах. Содержимое колбы с кислотой оттитровывают щелочью в присутствии метилового оранжевого. Погрешность определений составляет 1–2 отн. %.

Концентрацию NH_3 рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{NH}_3} = \frac{C_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}} - C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{p-ра}}}.$$

5.5. Определение концентрации оксалата методом перманганатометрического титрования

Сущность работы

Определение основано на титровании раствора, содержащего оксалат-ионы, стандартизованным раствором перманганата калия в кислой среде при нагревании.

Реактивы, посуда, оборудование

Перманганат калия KMnO_4 (стандарт. р-р). Серная кислота H_2SO_4 – 20 %-ный раствор.

Пипетка вместимостью 20 мл. Бюретка вместимостью 25 мл. Колба коническая вместимостью 250–300 мл. Водяная баня.

Выполнение работы

Отбирают пипеткой (20 мл) пробу раствора оксалата в коническую колбу для титрования, прибавляют 15–20 мл 20 %-ной серной кислоты и нагревают на водяной бане до 60–70 °С. Нагревать раствор до кипения не следует, так как может произойти частичное разложение щавелевой кислоты. Нагретую пробу титруют перманганатом до бледно-розовой окраски. Погрешность определений составляет 1–2 отн. %.

Нормальную концентрацию раствора перманганата калия рассчитывают по формуле (34) [115]:

$$C_{\text{C}_2\text{O}_4^{2-}} = \frac{C_{\text{KMnO}_4} \cdot V_{\text{KMnO}_4}}{V_{\text{p-ра}}}.$$

5.6. Определение концентрации PO_4^{3-} по молибденовой сини

Сущность работы

Определение основано на реакции восстановления фосфорномолибденового комплекса до соединения, отвечающего предположительно формуле $(\text{MoO}_2 \cdot 4\text{MoO}_3)_2 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4$ и окрашенного в синий цвет, и фотометрировании раствора на спектрофотометре при $\lambda_{\text{эфф}} = 690 \text{ нм}$.

Реактивы, посуда, оборудование

1. *Приготовление молибденовокислого аммония (реактив I, кислый раствор).* 2,5 г $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 60 мл дистиллированной воды. К этому раствору осторожно, охлаждая, добавляют 33,7 мл концентрированной 98 %-ной серной кислоты. После охлаждения раствор доводят дистиллированной водой до 100 мл. Раствор хранят в бутылки из темного стекла с притертой пробкой. Пользоваться реактивом можно через 48 ч после приготовления.

2. *Приготовление основного раствора двуххлористого олова.* 1,95 г кристаллического невыветренного $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 50 мл 13,6 %-ной соляной кислоты (18,4 мл 37 %-ной HCl доводят до 50 мл дистиллированной водой). Суспензию тщательно перемешивают, хранят в склянке, покрытой внутри слоем парафина. Перед употреблением суспензию хорошо перемешивают. Суспензия может быть применена непосредственно после приготовления.

3. *Приготовление рабочего раствора двуххлористого олова.* 2,5 мл основного раствора (суспензия) доводят дистиллированной водой до 10 мл. Необходимо применять свежеприготовленный раствор. Раствор устойчив около 4 ч.

Выполнение работы

Построение калибровочного графика. В пробирки вносят пипеткой 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл раствора с концентрацией фосфата 33 ммоль (раствор № 2 (табл. 12)) и доводят объем раствора до 10 мл дистиллированной водой. В каждую колбу добавляют точно 1 мл молибденовокислого аммония (реактив I, кислый раствор), перемешивают и через 5 мин микропипеткой вносят 0,1 мл рабочего раствора двуххлористого олова и перемешивают. Интенсивность окраски измеряют через 10–15 мин спектрофотометрически, пользуясь красным светофильтром ($\lambda_{\text{эфф}} = 690 \text{ нм}$) и кюветами с толщиной слоя 2–3 см. Из полученных величин оптических плотностей вычитают оптическую плотность контрольной пробы и результаты наносят на график. Для определения концентрации PO_4^{3-} в исследуемых растворах пробу готовят аналогичным образом, как и стандартные растворы, используемые для построения графика (объем аликвоты 5,0 мл), затем полученный раствор спектрофотометрируют и по полученному уравнению для калибровочной зависимости рассчитывают содержание PO_4^{3-} в растворе. Погрешность определений находится в пределах 2–4 отн. %.

5.7. Методика определения титана с помощью перекиси водорода [ГОСТ 13997.6-84]

Сущность метода

Метод основан на образовании комплексного соединения титана с перекисью водорода, окрашенного в желтый цвет, измерении интенсивности его окраски в сернокислой среде.

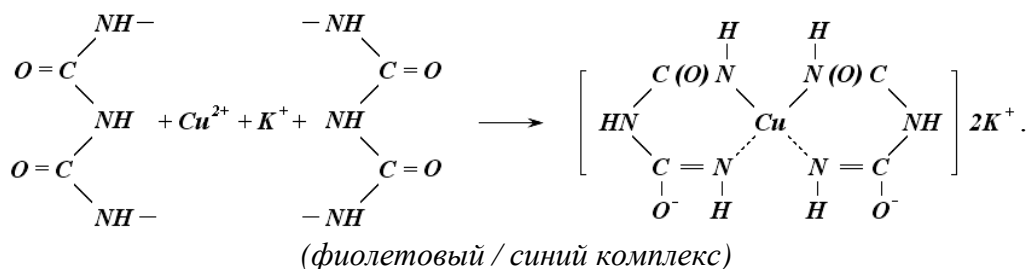
Проведение анализа

Измеряли оптическую плотность растворов на фотоколориметре с синим светофильтром (область светопропускания 400–450 нм) в кювете с толщиной слоя 20 мм. По найденным средним арифметическим значениям оптической плотности из трех серий опытов и соответствующим им содержанию титана строили градуировочный график. Погрешность определений находилась в пределах 0,02–0,18 отн. %.

5.8. Методика фотометрического определения концентрации аминокислот

Сущность метода

Для количественного определения белка используется биуретовая реакция, основанная на образовании окрашенного в фиолетовый цвет комплекса пептидных связей с ионами двухвалентной меди в щелочной среде.



Интенсивность окраски пропорциональна концентрации белка в исследуемой пробе. К достоинствам данной методики можно отнести высокую чувствительность (предел обнаружения белка составляет 30 мкг/мл) и простоту исполнения.

Биуретовую реакцию нельзя проводить в присутствии солей аммония из-за образования прочных медно-аммиачных комплексов, а также с растворами, в которых появляется мутность или осадок.

А. Построение градуировочного графика. Готовится стандартный раствор альбумина 1 г/л, растворяя в растворе 0,0015 М NaCl. Затем готовится стандартный раствор белка разбавлением стандартного в 10 раз ($C = 0,1 \text{ г/л} = 100 \text{ мг/л}$). Из рабочего раствора готовятся калибровочные путем разбавления (от 0,2 до 1,8 мг/л). Затем к 0,5 мл полученных растворов приливают по 5,3 мл 3 % NaOH и 0,2 мл биуретового реактива. Через 15 мин фотометрируется против холостой пробы ($\lambda = 330 \text{ нм}$). Холостая проба содержит 5,8 мл 3 % щелочи и 0,2 мл биуретового реактива.

Определение повторяют трижды и по средним величинам оптических плотностей строят градуировочный график: $D = f \{C(\text{белка})\}$, рассчитывают уравнение регрессии.

Б. Определение концентрации белка.

Выполнение анализа

Для проведения анализа отбирают 10,0 мл испытуемого раствора в коническую колбу на 50,0 мл и прибавляют 10,0 мл биуретового реактива. Раствор хорошо перемешивается и через 20 мин фотометрируется против холостой пробы при $\lambda_{\text{эфф}} = 330 \text{ нм}$ и толщине кювет 1 см. Холостая проба содержит 10 мл биуретового реактива. Предварительно строится калибровочный график по стандартному раствору белка с концентрацией 0,2–1,8 мг.

Погрешность метода составляет 3–5 %.

5.9. Методика определения содержания глюкозы в растворе йодометрическим методом [ГОСТ 3628-78]

Сущность метода

Метод основан на окислении редуцирующих сахаров (лактоза, глюкоза), содержащих альдегидную группу, йодом в щелочной среде. Массовую долю сахарозы определяют по разности между количеством взятого и неизрасходованного йода, определяемого титрованием тиосульфатом натрия.

Массовую концентрацию раствора стандартизируемого перед анализом тиосульфата натрия ($M_c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/S)$) в г/мл вычисляют по формуле (43) [115]:

$$M_c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3/S) = \frac{0,0171 \cdot 20}{V}. \quad (43)$$

После титрования записывают количество тиосульфата натрия, израсходованного на титрование выделившегося йода.

Обработка результатов

Расчет концентрации глюкозы в растворе проводят по формуле (44) [115]:

$$M_{\text{Сглюкозы}} = \frac{Mc(Na_2S_2O_3/S) \cdot V(Na_2S_2O_3/S)}{V_{\text{аликвоты}}}, \quad (44)$$

где $Mc(Na_2S_2O_3/S)$ – массовая концентрация серноватокислого натрия, г/мл; $V(Na_2S_2O_3/S)$ – объем тиосульфата, затраченный на титрование, мл; $V_{\text{аликвоты}}$ – объем аликвоты, взятой на титрование, мл.

За окончательный результат определения принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

5.10. Методика фотометрического определения концентрации кремния в виде желтой формы молибдокремниевой кислоты

Сущность метода

Определение концентрации кремния фотометрическим методом основано на взаимодействии мономерно-димерной формы кремниевой кислоты и силикатов с молибдатом аммония в кислой среде с образованием молибдокремниевой гетерополиоксикислоты желтого цвета.

Выполнение анализа

А. Построение градуировочного графика. Для приготовления образцов для градуировки в мерные колбы вместимостью 25 мл градуированными пипетками вместимостью 1, 5 и 10 мл вносят 0, 0,25, 0,50, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0 и 7,5 мл градуировочного раствора с массовой концентрацией кремния 50,0 мг/л, доводят объем растворов до меток дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Содержимое каждой колбы переносят в конические колбы вместимостью 50 мл. Далее к каждому раствору добавляют 1 мл соляной кислоты 5 моль/л, 2,5 мл раствора молибдата аммония (не допуская перерыва), перемешивают и оставляют на 10 мин. Затем добавляют 2,5 мл раствора винной кислоты, перемешивают и через 10–15 мин исследуемые растворы фотометрируют на спектрофотометре при $\lambda = 410$ нм (400 нм при измерении на фотометре, снабженном светофильтрами) в кюветах с толщиной слоя 2 см относительно холостой пробы, в качестве которой используют 25 мл дистиллированной воды со всеми реактивами, используемыми при подготовке серии стандартных градуировочных растворов.

Обработка результатов

Концентрацию кремния C в моль/л, присутствующего в анализируемой пробе в виде мономерно-димерных форм, находят по формуле (45):

$$C_{SiO_4^{3-}(\text{исх})} = C_{SiO_4^{3-}(\text{гр.пр.})} \cdot \frac{25}{V_{\text{ал}}} \text{ (моль/л)}, \quad (45)$$

где $C_{SiO_4^{3-}(\text{гр.пр.})}$ – концентрация фосфат-ионов в пробе, найденная по градуировочной зависимости, моль/л; $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты пробы, взятой для анализа, мл.

5.11. Методика определения концентрации карбонат-ионов

Сущность метода

Определение CO_3^{2-} и HCO_3^- проводят по методу нейтрализации, в котором в качестве титранта используют стандартный раствор кислоты. Применение двух индикаторов с разными значениями рТ (фенолфталеин и метиловый оранжевый) позволяет раститровать смесь

кислот. Определение суммарного содержания карбонат- и гидрокарбонат-ионов проводят с одним индикатором (м/о).

Обработка результатов

Содержание карбонатов в растворе определяют по формуле (46) [115]:

$$C_{CO_3^{2-}} = \frac{C_{HCl} \cdot V_{HCl}}{V_{ал}} \text{ (моль/л)}. \quad (46)$$

Погрешность определений находится в пределах 1–2 отн. %.

5.12. Методика определения ионов цинка фотометрическим методом с дитизоном [ГОСТ 18293-72]

Сущность метода

Для количественного определения цинка используется реакция, основанная на образовании в кислой среде окрашенного в красный цвет комплексного соединения дитизона с ионами цинка, которое экстрагируют тетрахлоридом углерода.



Определение концентрации цинка

Аликвотную часть раствора подкисляют при помощи раствора HCl (1:1) до значения pH = 2–3 по индикаторной бумаге. Переносят в делительную воронку. Прибавляют 5 мл раствора ацетата натрия 2 н и перемешивают. Добавляют 10 мл 0,002 % раствора дитизона в четыреххлористом углероде и энергично встряхивают в течение 4 мин. После этого дают слоям разделиться и сливают нижний дитизоновый слой. Раствор фотометрируют в кювете с толщиной оптического слоя 1 см и измеряют оптическую плотность при $\lambda = 540$ нм (зеленый светофильтр, чувствительность – 3 черная). Концентрацию цинка в анализируемом растворе рассчитывают по уравнению градуировочного графика.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений.

Обработка результатов

Концентрацию цинка в растворе определяют по формуле (47):

$$C_{Zn} = \frac{C_{Zn(сп.сп.)} \cdot 10}{V_{ал}} \text{ (моль/л)}, \quad (47)$$

где $C_{Zn(сп.сп.)}$ – концентрация цинка в анализируемом растворе, найденная по градуировочному графику, моль/л; $V_{ал}$ – объем анализируемого раствора, взятый для анализа, мл.

5.13. Методика определения ионов кадмия фотометрическим дитизонатным способом

Сущность метода

Метод основан на образовании в щелочной среде окрашенного в розовый цвет дитизоната кадмия, растворимого в органических растворителях. Образующееся соединение дити-

зоната с кадмием экстрагируют из щелочного раствора и определяют фотометрически в органическом слое.

Определение концентрации кадмия

В небольшую делительную воронку переносят аликотную часть анализируемого раствора, разбавляют до 10 мл, приливают к каждому раствору по 5 мл раствора 0,1 н NaOH. Одновременно с анализом пробы проводят холостой опыт с дистиллированной водой, проводя ее через все стадии анализа. Добавляют 2 мл 0,005 % раствора дитизона в четыреххлористом углероде и энергично перемешивают в течение 2 мин. Экстрагирование повторяют до тех пор, пока цвет органического слоя не перестанет окрашиваться в розовый цвет при взбалтывании с анализируемым раствором (3 раза). Оптическую плотность объединенных экстрактов определяют по отношению к холостому раствору, пользуясь кюветами на 2 см при $\lambda = 508$ нм. Содержание кадмия рассчитывают по уравнению градуировочного графика.

Обработка результатов

Концентрацию кадмия в растворе определяют по формуле (48):

$$C_{Zn} = \frac{C_{Zn(зп.зп.)} \cdot 10}{V_{ал}} \text{ (моль/л)}, \quad (48)$$

где $C_{Zn(зп.зп.)}$ – концентрация кадмия в анализируемом растворе, найденная по градуировочному графику, моль/л; $V_{ал}$ – объем анализируемого раствора, взятый для анализа, мл.

Глава 6. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

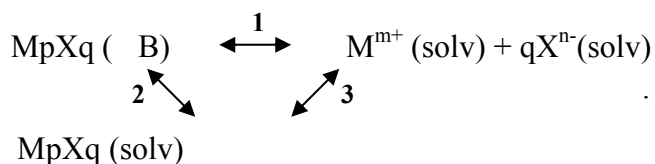
Накопленные эмпирические наблюдения и результаты анализа биологических систем являются основой для создания и построения математических и физико-химических моделей, отражающих закономерности протекания биологических процессов. Хотя попытки такого моделирования в литературе известны, анализ показал, что они имеют весьма частный характер и учитывают очень ограниченное число факторов. Одним из перспективных направлений использования методов физико-химического и математического моделирования является прогнозирование поведения биологической системы при изменении тех или иных ее параметров, что особенно актуально при изучении процессов, обусловленных аномальным функционированием организма, примером которого может служить патогенное биоминералообразование в тканях и органах человека [103–107]. К таким новообразованиям патогенного характера относятся камни мочевой системы человека. Для установления закономерностей формирования минералов из растворов, ионный состав, pH и температура которых приближены к значениям данных показателей, характерных для биологической жидкости, в среде которой протекает образование мочевых камней, была построена термодинамическая модель и проведена серия модельных экспериментов *in vitro*.

6.1. Термодинамические расчеты возможности образования малорастворимых соединений в гипотетическом растворе, моделирующем состав раствора мочи здорового взрослого среднестатистического человека

Описание модели

При проведении термодинамического расчета в качестве прототипа биологической жидкости был взят гипотетический раствор, минеральный состав (неорганические макрокомпоненты), температура, ионная сила и pH (4,5–8,0) которого соответствуют мочи здорового взрослого среднестатистического человека. При этом в изучаемых системах не учитывалось влияние микроэлементов (в частности, ионов тяжелых металлов), а также органических соединений, являющихся компонентами реальных растворов, на образование твердой минеральной фазы.

Упрощенную схему равновесия между осадком M_pX_q и его насыщенным раствором можно представить в виде:



Для соединений с ионной кристаллической решеткой преобладает равновесие 1 (ионная растворимость), а с молекулярной – равновесие 2 (молекулярная растворимость). Однако для большинства систем вкладом в материальный баланс раствора, обусловленным химической формой $\text{M}_p\text{X}_q(\text{solv})$, можно пренебречь.

Термодинамическая константа равновесия 1 (равновесия между малорастворимым соединением и его ионами в растворе) есть термодинамическое произведение растворимости K_s^0 (величина постоянная для данного растворителя, температуры, давления) (49):

$$K_s^0 = \frac{a_{M^{m+}}^p \cdot a_{X^{n-}}^q}{a_{M_pX_q}}, \quad (49)$$

где $a_{M^{m+}}$ – активность катиона малорастворимого соединения, моль/л; $a_{X^{n-}}$ – активность аниона малорастворимого соединения, моль/л; $a_{M_pX_q}$ – активность малорастворимого соединения, моль/л; для чистого твердого вещества $M_pX_q a = 1$.

При проведении термодинамического расчета на первом этапе была создана база данных значений термодинамических произведений растворимости (K_s^0) малорастворимых соединений, которые могут образоваться в исследуемом гипотетическом растворе. Ряд значений термодинамических произведений растворимости при $T = 310$ К для каждого индивидуального соединения соответствует данным справочной литературы и базы данных констант нестойкости комплексов SC-database (SCQUERYVersion 1.37 (1993)). С целью более объективной оценки возможности образования малорастворимых соединений в гипотетическом растворе использовались средние значения произведений растворимости K_s^0 для каждого соединения. Возможность применения такого подхода была обоснована тем, что разброс значений констант (K_s^0) для большинства соединений в составленной базе данных соответствует нормальному вероятностному распределению, что позволяет для статистической обработки данной выборки использовать методы Стьюдента. Рассчитанные средние значения произведений растворимости малорастворимых соединений при 310 К приведены в табл. 28.

Таблица 28

Термодинамические произведения растворимости при 310 К

№	Малорастворимое соединение	$pK_{s, 310}^0$	$K_{s, 310}^0$
1	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,14	$7,24 \cdot 10^{-2}$
2	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1,14	$7,24 \cdot 10^{-2}$
3	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,60	$2,34 \cdot 10^{-7}$
4	$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$	47,95	$1,26 \cdot 10^{-96}$
5	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	25,50	$3,16 \cdot 10^{-26}$
6	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	29,50	$3,16 \cdot 10^{-30}$
7	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	117,20	$6,3 \cdot 10^{-118}$
8	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	8,65	$2,24 \cdot 10^{-9}$
9	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8,17	$6,76 \cdot 10^{-9}$
10	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	8,02	$9,55 \cdot 10^{-9}$
11	CaCO_3 (арагонит)	8,22	$6,03 \cdot 10^{-9}$
12	CaCO_3 (кальцит)	8,35	$4,47 \cdot 10^{-9}$
13	CaSO_4	3,78	$1,66 \cdot 10^{-4}$
14	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (α)	4,09	$8,10 \cdot 10^{-5}$
15	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (β)	3,89	$1,30 \cdot 10^{-4}$
16	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	5,26	$5,50 \cdot 10^{-6}$
17	$\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	5,82	$1,51 \cdot 10^{-6}$
18	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	13,15	$7,08 \cdot 10^{-14}$
19	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	19,3	$5,01 \cdot 10^{-20}$
20	MgC_2O_4	4,10	$7,94 \cdot 10^{-5}$
21	$\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	4,67	$2,14 \cdot 10^{-5}$
22	$\text{Mg}(\text{OH})_2$	10,74	$1,82 \cdot 10^{-11}$

При проведении расчетов в реальных системах параметр активности иона удобнее заменить его концентрацией. Соответственно, вместо термодинамического произведения растворимости K_s^0 можно использовать концентрационные произведения растворимости: реальное K_s (50) (характеризует положение равновесия с учетом влияния электростатических взаимодействий) и условное K_s' (51) (характеризует положение равновесия с учетом суммарного влияния электростатических и химических взаимодействий):

$$K_s = [M^{m+}]^p [X^{n-}]^q, \quad (50)$$

где $[M^{m+}]$ – равновесная концентрация катиона, моль/л; $[X^{n-}]$ – равновесная концентрация аниона, моль/л.

$$K_s' = C_{(M)}^{\text{сумм } p} \cdot C_{(X)}^{\text{сумм } q}, \quad (51)$$

где $C_{(M)}^{\text{сумм}}$ – общая концентрация катиона, моль/л; $C_{(X)}^{\text{сумм}}$ – общая концентрация аниона, моль/л.

Характеристикой глубины протекания побочных (конкурирующих) реакций служат α -коэффициенты (молярные доли) катиона и аниона, которые рассчитываются по уравнениям (52):

$$\alpha_{M^{m+}} = \frac{[M^{m+}]}{(C_M^{\text{сумм}})}, \quad \alpha_{X^{n-}} = \frac{[X^{n-}]}{(C_X^{\text{сумм}})}, \quad (52)$$

где $[M^{m+}]$, $[X^{n-}]$ – равновесные концентрации частиц (катиона и аниона), участвующих в основной реакции, моль/л; $C_M^{\text{сумм}}$, $C_X^{\text{сумм}}$ – соответствующие общие концентрации частиц (катиона и аниона), моль/л.

Поскольку ионы кальция и магния являются слабыми комплексообразователями, то при проведении расчета условных произведений растворимости в качестве конкурирующих учитывали только реакции гидролиза, которые для катионов могут сопровождаться образованием гидроксокомплексов, а для анионов слабых кислот – протонированием. Поэтому гидролиз ионов, имеющий ступенчатый характер, учитывали введением в уравнения для констант равновесия молярных долей тех форм катиона и аниона, которые входят в состав малорастворимого соединения.

Молярные доли катиона $\alpha_{M^{m+}}$ и аниона $\alpha_{A^{n-}}$ являются функцией pH (формулы 53, 54):

$$\begin{aligned} \alpha_{M^{m+}} &= \frac{[M^{m+}]}{C_{M^{m+}}} = \frac{[M^{m+}]}{[M(OH)_m] + [M(OH)_{m-1}^+] + \dots + [M^{m+}]} = \\ &= \frac{1}{\frac{10^{m(pH-14)}}{K_{b1}K_{b2}\dots K_{bm}} + \frac{10^{(m-1)(pH-14)}}{K_{b2}K_{b3}\dots K_{bm}} + \dots + \frac{10^{pH-14}}{K_{bm}} + 1}; \end{aligned} \quad (53)$$

$$\alpha_{A^{n-}} = \frac{[A^{n-}]}{C_{A^{n-}}} = \frac{[A^{n-}]}{[H_n A] + [H_{n-1} A^-] + \dots + [A^{n-}]} = \frac{1}{\frac{10^{-npH}}{K_{a1}K_{a2}\dots K_{an}} + \frac{10^{-(n-1)pH}}{K_{a2}K_{a3}\dots K_{an}} + \dots + \frac{10^{-pH}}{K_{an}} + 1}, \quad (54)$$

где $C_{M^{m+}}$ и $C_{A^{n-}}$ – суммарные концентрации всех форм катиона и аниона, $K_{b1}\dots K_{bm}$, $K_{a1}\dots K_{an}$ – ступенчатые константы взаимодействия катиона и аниона с водой.

Рассчитанные значения молярных долей ионов в зависимости от pH раствора с использованием соответствующих значений констант кислотности и основности приведены в табл. 29.

Молярные доли ионов в растворе при различных значениях pH

α pH	$H_2PO_4^-$	HPO_4^{2-}	PO_4^{3-}	$HC_2O_4^-$	$C_2O_4^{2-}$	HCO_3^-	CO_3^{2-}	NH_4^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
4,5	$9,94 \cdot 10^{-1}$	$1,95 \cdot 10^{-3}$	$3,08 \cdot 10^{-11}$	$3,71 \cdot 10^{-1}$	$6,29 \cdot 10^{-1}$	$1,39 \cdot 10^{-2}$	$2,37 \cdot 10^{-8}$	1,00	1,00	1,00
5,0	$9,92 \cdot 10^{-1}$	$6,15 \cdot 10^{-3}$	$3,08 \cdot 10^{-10}$	$1,57 \cdot 10^{-1}$	$8,43 \cdot 10^{-1}$	$4,28 \cdot 10^{-2}$	$2,30 \cdot 10^{-7}$	1,00	1,00	1,00
5,5	$9,80 \cdot 10^{-1}$	$1,92 \cdot 10^{-2}$	$3,04 \cdot 10^{-9}$	$5,56 \cdot 10^{-2}$	$9,44 \cdot 10^{-1}$	$1,24 \cdot 10^{-1}$	$2,10 \cdot 10^{-6}$	1,00	1,00	1,00
6	$9,41 \cdot 10^{-1}$	$5,84 \cdot 10^{-2}$	$2,92 \cdot 10^{-8}$	$1,83 \cdot 10^{-2}$	$9,82 \cdot 10^{-1}$	$3,09 \cdot 10^{-1}$	$1,66 \cdot 10^{-5}$	$9,99 \cdot 10^{-1}$	1,00	1,00
6,5	$8,36 \cdot 10^{-1}$	$1,64 \cdot 10^{-1}$	$2,59 \cdot 10^{-7}$	$5,85 \cdot 10^{-3}$	$9,94 \cdot 10^{-1}$	$5,85 \cdot 10^{-1}$	$9,94 \cdot 10^{-5}$	$9,98 \cdot 10^{-1}$	1,00	1,00
7,0	$6,17 \cdot 10^{-1}$	$3,83 \cdot 10^{-1}$	$1,91 \cdot 10^{-6}$	$1,86 \cdot 10^{-3}$	$9,98 \cdot 10^{-1}$	$8,17 \cdot 10^{-1}$	$4,39 \cdot 10^{-4}$	$9,94 \cdot 10^{-1}$	1,00	1,00
7,5	$3,38 \cdot 10^{-1}$	$6,62 \cdot 10^{-1}$	$1,05 \cdot 10^{-5}$	$5,88 \cdot 10^{-4}$	$9,99 \cdot 10^{-1}$	$9,32 \cdot 10^{-1}$	$1,58 \cdot 10^{-3}$	$9,82 \cdot 10^{-1}$	1,00	1,00
8,0	$1,39 \cdot 10^{-1}$	$8,61 \cdot 10^{-1}$	$4,31 \cdot 10^{-5}$	$1,86 \cdot 10^{-4}$	1,00	$9,73 \cdot 10^{-1}$	$5,23 \cdot 10^{-3}$	$9,46 \cdot 10^{-1}$	1,00	1,00

Биологическая жидкость в среде, которой протекает генезис почечных камней, является сложной многокомпонентной системой, с точки зрения современных теорий растворов она представляет собой раствор с высоким значением ионной силы. При этом следует отметить, что характер различных физико-химических процессов в подобных условиях во многом отличается от их протекания в идеальных или с малым значением ионной силы растворах. Для учета влияния ионной силы раствора на равновесие в системе «осадок – раствор» в уравнение для расчета произведений растворимости вводят коэффициенты активности ионов, рассчитанных исходя из значения ионной силы раствора (формулы 55, 56).

$$K_s = \frac{K_s^0}{\gamma_{M^{m+}}^p \cdot \gamma_{X^{n-}}^q}, \quad (55)$$

$$K_s' = \frac{K_s}{\alpha_{M^{m+}}^p \cdot \alpha_{X^{n-}}^q} = \frac{K_s^0}{\alpha_{M^{m+}}^p \cdot \alpha_{X^{n-}}^q \cdot \gamma_{M^{m+}}^p \cdot \gamma_{X^{n-}}^q}, \quad (56)$$

где $\gamma_{M^{m+}}$, $\gamma_{X^{n-}}$ – коэффициенты активности катиона и аниона при данном значении ионной силы раствора; $\alpha_{M^{m+}}$ – α -коэффициент (молярная доля) катиона; $\alpha_{X^{n-}}$ – α -коэффициент (молярная доля) аниона.

Расчет ионной силы раствора проводился по уравнению (57):

$$I = \frac{1}{2} \left[(C_{Na^+} \cdot 1^2) + (C_{K^+} \cdot 1^2) + (C_{Ca^{2+}} \cdot 2^2) + (C_{Mg^{2+}} \cdot 2^2) + (C_{ам.}^{общ} \cdot \alpha_{NH_4^+} \cdot 1^2) + (C_{Cl^-} \cdot (-1)^2) + (C_{SO_4^{2-}} \cdot (-2)^2) + \right. \\ \left. + (C_{карб.}^{общ} \cdot \alpha_{CO_3^{2-}} \cdot (-2)^2) + (C_{карб.}^{общ} \cdot \alpha_{HCO_3^-} \cdot (-1)^2) + (C_{окс.}^{общ} \cdot \alpha_{C_2O_4^{2-}} \cdot (-2)^2) + (C_{окс.}^{общ} \cdot \alpha_{HC_2O_4^-} \cdot (-1)^2) + \right. \\ \left. + (C_{фосф.}^{общ} \cdot \alpha_{PO_4^{3-}} \cdot (-3)^2) + (C_{фосф.}^{общ} \cdot \alpha_{HPO_4^{2-}} \cdot (-2)^2) + (C_{фосф.}^{общ} \cdot \alpha_{H_2PO_4^-} \cdot (-1)^2) \right]. \quad (57)$$

Значения коэффициентов активности определялись по уравнению Девиса, основанном на теории Дебая–Гюккеля, которое позволяет вычислить коэффициенты активности ионов для ионных сил 0,2–0,5 М (характерных для исследуемой биологической жидкости) с погрешностью, не превышающей 10 %. Уравнение Девиса для коэффициента активности индивидуального иона имеет вид (58):

$$\lg \gamma_i = -A \cdot z_i^2 \cdot \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + a \cdot B \sqrt{I}} + 0,3 \cdot I \right), \quad (58)$$

где $A = 1,825 \cdot 10^6 \cdot (\varepsilon \cdot T)^{-3/2}$.

$$B = \left(\frac{2 \cdot e^2 \cdot Na}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot k \cdot T} \right)^{1/2}, \quad (59)$$

где A – коэффициент, зависящий от температуры, диэлектрической проницаемости растворителя (для водных растворов изменяется в диапазоне 0,51–0,52); a – константа, учитывающая минимальное расстояние, на которое сближаются ионы, – средний эффективный диаметр ионов, принимается равным $3 \div 4 \text{ \AA}$; B – теоретический коэффициент, равный для водных растворов при 298 К $(0,32 \div 0,33) \cdot 10^8$.

Слагаемое $(0,3 \leq A \leq z^2 \cdot I)$ в уравнении (58) вводится для учета поляризации дипольных молекул растворителя вокруг иона растворенного вещества, а также учета гидратных оболочек ионов.

Проведенный расчет показал, что при изменении pH раствора в диапазоне от 4,5 до 8,0 значения коэффициентов активности при фиксированных концентрациях ионов, входящих в состав биологической жидкости, изменяются незначительно (0,2–3 %), поэтому расчет условных произведений растворимости производился с использованием коэффициентов активности определенных при средних значениях ионной силы растворов, характерных для исследуемых систем.

Таким образом, при построении термодинамической модели были приняты следующие допущения:

- 1) в качестве прототипа биологической жидкости был взят гипотетический раствор минеральный ионный состав (неорганические макрокомпоненты), температура и pH которого близки к моче здорового взрослого среднестатистического человека;
- 2) при расчетах использовались средние значения произведений растворимости, определенных при температуре 310 К;
- 3) расчет коэффициентов активности осадкообразующих ионов проводился по уравнению Девиса, ионная сила раствора в исследуемом диапазоне pH считалась постоянной и равной среднему значению диапазона, рассчитанного для каждой изучаемой системы;
- 4) определение условных произведений растворимости производилось только с учетом влияния гидролиза осадкообразующих ионов, при этом не учитывался вклад молекулярной растворимости исследуемых соединений;
- 5) считалось, что все физико-химические процессы являются равновесными и протекают в гипотетических растворах при постоянной температуре.

Термодинамический расчет возможности и условий образования малорастворимых соединений в гипотетическом растворе

Для проведения расчета использовались данные минимального, среднего и максимального значений диапазона концентраций ионов гипотетического раствора (табл. 30), аналогичного составу мочи здорового взрослого среднестатистического человека. Значение водородного показателя мочи здорового человека может варьироваться от 4,5 до 8,0 в течение дня, в зависимости от питания, образа жизни, условий внешней среды. Поэтому при проведении расчета и интерпретации его результатов основное внимание было уделено рассмотрению закономерностей образования малорастворимых соединений именно в данном диапазоне pH.

Для расчета условных произведений растворимости для каждой серии растворов, различающихся по концентрации ионов (табл. 30), были использованы выше приведенные формулы. Было установлено, что в диапазоне pH 4,5–8,0 значение ионной силы изменяется в пределах от 0,168 до 0,185 М при минимальной концентрации ионов (I_{min}); от 0,286 до 0,323 М – при средних значениях (I_{mid}) и от 0,408 до 0,465 М – при максимальной концентрации ионов (I_{max}) в гипотетическом растворе, моделирующем ионный состав биологической жидкости.

Так как значение ионной силы исследуемого раствора соответствует интервалу $0,2 \div 0,5$ М, то для определения коэффициентов активности ионов применимо уравнение Девиса. При расчете коэффициентов активности использовалось значение ионной силы раствора при среднем значении рН биологической жидкости, равной 6,5 для каждой группы концентраций, равные соответственно $I_{min} = 0,172$ М; $I_{mid} = 0,296$ М и $I_{max} = 0,425$ М.

Таблица 30

Минеральный состав мочи здорового взрослого человека

Компонент	Минимальное значение концентрации (ммоль/л)	Максимальное значение концентрации (ммоль/л)	Среднее значение концентрации, (ммоль/л)
Натрий	67	133	100
Калий	33	47	40
Кальций	1,7	5	3,35
Магний	5,3	11	8,15
Аммиак	20	50	35
Хлориды	67	167	117
Карбонаты	0	33	16,5
Фосфаты	13	33	23
Сульфаты	27	80	53,5
Оксалаты	0,2	0,42	0,31

Показатели реальных условных произведений растворимости pK_s' исследуемых малорастворимых соединений с учетом влияния ионной силы и рН раствора приведены в табл. 31–33.

Таблица 31

Показатели условных произведений растворимости исследуемых малорастворимых соединений при минимальных значениях концентраций ионов в гипотетическом растворе

№	Малорастворимое соединение	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,38	0,38	0,37	0,33	0,23	-0,03	-0,56	-1,33
2	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,38	0,38	0,37	0,33	0,23	-0,03	-0,56	-1,33
3	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2,92	3,42	3,91	4,39	4,84	5,21	5,45	5,56
4	$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$	10,89	13,89	16,88	19,82	22,67	25,27	27,49	29,33
5	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0,71	2,71	4,70	6,67	8,56	10,30	11,77	13,00
6	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	4,71	6,71	8,70	10,67	12,56	14,30	15,77	17,00
7	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	42,08	48,08	54,05	59,94	65,63	70,84	75,27	78,96
8	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	7,44	7,57	7,62	7,64	7,64	7,65	7,65	7,65
9	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,96	7,09	7,14	7,16	7,16	7,17	7,17	7,17
10	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	6,81	6,94	6,99	7,01	7,01	7,02	7,02	7,02
11	CaCO_3 (арагонит)	-0,41	0,58	1,54	2,44	3,21	3,86	4,42	4,93
12	CaCO_3 (кальцит)	-0,28	0,71	1,67	2,57	3,34	3,99	4,55	5,06
13	CaSO_4	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78
14	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (α)	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09
15	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (β)	2,89	2,89	2,89	2,89	2,89	2,89	2,89	2,89
16	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	4,51	4,51	4,51	4,51	4,51	4,51	4,51	4,51
17	$\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	2,11	2,61	3,10	3,58	4,03	4,40	4,64	4,75
18	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,88	1,88	2,88	3,86	4,81	5,67	6,41	7,00
19	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	-5,49	-3,49	-1,50	0,47	2,36	4,10	5,57	6,80
20	MgC_2O_4	2,89	3,02	3,07	3,09	3,09	3,10	3,10	3,10
21	$\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	-3,96	-2,97	-2,01	-1,11	-0,34	0,31	0,87	1,38
22	$\text{Mg}(\text{OH})_2$	9,99	9,99	9,99	9,99	9,99	9,99	9,99	9,99

Таблица 32

**Показатели условных произведений растворимости исследуемых малорастворимых соединений
при средних значениях концентраций ионов в гипотетическом растворе**

№	Малорастворимое соединение	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	0,31	0,31	0,30	0,27	0,16	-0,10	-0,62	-1,40
2	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0,31	0,31	0,30	0,27	0,16	-0,10	-0,62	-1,40
3	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	2,82	3,32	3,82	4,30	4,75	5,12	5,36	5,47
4	Ca ₄ H(PO ₄) ₃ ·2,5 H ₂ O	10,39	13,39	16,37	19,32	22,17	24,77	26,98	28,83
5	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,37	2,37	4,36	6,32	8,22	9,96	11,43	12,66
6	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	4,37	6,37	8,36	10,32	12,22	13,96	15,43	16,66
7	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	40,98	46,98	52,95	58,84	64,53	69,74	74,17	77,86
8	CaC ₂ O ₄ ·H ₂ O	7,35	7,48	7,53	7,55	7,55	7,55	7,55	7,55
9	CaC ₂ O ₄ ·2H ₂ O	6,87	7,00	7,05	7,07	7,07	7,07	7,07	7,07
10	CaC ₂ O ₄ ·3H ₂ O	6,72	6,85	6,90	6,92	6,92	6,92	6,92	6,92
11	CaCO ₃ (арагонит)	-0,50	0,49	1,45	2,34	3,12	3,77	4,32	4,84
12	CaCO ₃ (кальцит)	-0,37	0,62	1,58	2,47	3,25	3,90	4,45	4,97
13	CaSO ₄	2,68	2,68	2,68	2,68	2,68	2,68	2,68	2,68
14	CaSO ₄ ·0,5H ₂ O (α)	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99	2,99
15	CaSO ₄ ·0,5H ₂ O (β)	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79	2,79
16	Ca(OH) ₂	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44
17	MgHPO ₄ ·3H ₂ O	2,01	2,51	3,01	3,49	3,94	4,31	4,55	4,66
18	MgNH ₄ PO ₄ ·6H ₂ O	0,72	1,72	2,72	3,70	4,65	5,51	6,25	6,84
19	Mg ₃ (PO ₄) ₂	-5,83	-3,83	-1,84	0,12	2,02	3,76	5,23	6,46
20	MgC ₂ O ₄	2,80	2,93	2,98	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
21	MgCO ₃ ·3H ₂ O	-4,05	-3,06	-2,10	-1,21	-0,43	0,22	0,77	1,29
22	Mg(OH) ₂	9,92	9,92	9,92	9,92	9,92	9,92	9,92	9,92

Таблица 33

**Показатели условных произведений растворимости исследуемых малорастворимых соединений
при максимальных значениях концентраций ионов в гипотетическом растворе**

№	Малорастворимое соединение	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	0,30	0,30	0,29	0,25	0,15	-0,11	-0,64	-1,41
2	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0,30	0,30	0,29	0,25	0,15	-0,11	-0,64	-1,41
3	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	2,81	3,31	3,80	4,29	4,73	5,10	5,34	5,45
4	Ca ₄ H(PO ₄) ₃ ·2,5 H ₂ O	10,31	13,31	16,29	19,24	22,08	24,69	26,90	28,74
5	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,31	2,31	4,30	6,27	8,16	9,90	11,38	12,60
6	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	4,31	6,31	8,30	10,27	12,16	13,90	15,38	16,60
7	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	40,81	46,80	52,77	58,67	64,36	69,57	73,99	77,68
8	CaC ₂ O ₄ ·H ₂ O	7,34	7,47	7,51	7,53	7,54	7,54	7,54	7,54
9	CaC ₂ O ₄ ·2H ₂ O	6,86	6,99	7,03	7,05	7,06	7,06	7,06	7,06
10	CaC ₂ O ₄ ·3H ₂ O	6,71	6,84	6,88	6,90	6,91	6,91	6,91	6,91
11	CaCO ₃ (арагонит)	-0,52	0,47	1,43	2,33	3,11	3,75	4,31	4,83
12	CaCO ₃ (кальцит)	-0,39	0,60	1,56	2,46	3,24	3,88	4,44	4,96
13	CaSO ₄	2,67	2,67	2,67	2,67	2,67	2,67	2,67	2,67
14	CaSO ₄ ·0,5H ₂ O (α)	2,98	2,98	2,98	2,98	2,98	2,98	2,98	2,98
15	CaSO ₄ ·0,5H ₂ O (β)	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78	2,78
16	Ca(OH) ₂	4,43	4,43	4,43	4,43	4,43	4,43	4,43	4,43
17	MgHPO ₄ ·3H ₂ O	2,00	2,50	2,99	3,48	3,92	4,29	4,53	4,64
18	MgNH ₄ PO ₄ ·6H ₂ O	0,70	1,69	2,69	3,67	4,62	5,49	6,22	6,82
19	Mg ₃ (PO ₄) ₂	-5,89	-3,89	-1,90	0,07	1,96	3,70	5,18	6,40
20	MgC ₂ O ₄	2,79	2,92	2,96	2,98	2,99	2,99	2,99	2,99
21	MgCO ₃ ·3H ₂ O	-4,07	-3,08	-2,12	-1,22	-0,44	0,20	0,76	1,28
22	Mg(OH) ₂	9,91	9,91	9,91	9,91	9,91	9,91	9,91	9,91

Известно, что пересыщение в растворе может создаваться под влиянием различных факторов, в частности, изменения температуры, pH, концентрации осадкообразующих ионов и т. д. Несмотря на то, что создание пересыщения в растворе является движущей силой осаждения соли из раствора, как правило, его величина неодинакова для различных солей. Количественно пересыщение, создаваемое в растворе относительно труднорастворимого соединения ($M_{v+}A_{v-}$), рассчитывают по следующему уравнению (60, 61):

$$S = \left[\frac{(a_{M^{m+}})_s^{v_+} \cdot (a_{A^{a-}})_s^{v_-}}{(a_{M^{m+}})_\infty^{v_+} \cdot (a_{A^{a-}})_\infty^{v_-}} \right]^{\frac{1}{v_+ + v_-}} = \left(\frac{IAP}{K_s^0} \right)^{\frac{1}{v_+ + v_-}}, \quad (60)$$

$$SI = \lg(S). \quad (61)$$

Для оценки возможности образования труднорастворимого соединения в растворе используют рассчитанные значения индексов пересыщения SI (61), при этом считается, что если $SI > 0$, то в данных условиях термодинамически вероятно осаждение данной фазы из раствора.

В табл. 34–36 приведены рассчитанные значения индексов пересыщения для малорастворимых соединений, образование которых гипотетически вероятно в изучаемых системах.

Таблица 34

**Индексы пересыщения исследуемых малорастворимых соединений
при минимальных значениях концентраций ионов в гипотетическом растворе**

№	Малорастворимое соединение	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-2,05	-2,05	-2,06	-2,07	-2,10	-2,19	-2,37	-2,62
2	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	-2,05	-2,05	-2,06	-2,07	-2,10	-2,19	-2,37	-2,62
3	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-0,87	-0,62	-0,38	-0,13	0,09	0,28	0,40	0,46
4	$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$	-1,29	-0,98	-0,67	-0,36	-0,07	0,19	0,41	0,57
5	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-2,27	-1,87	-1,48	-1,08	-0,70	-0,36	-0,06	0,18
6	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-1,47	-1,07	-0,68	-0,28	0,10	0,44	0,74	0,98
7	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	-0,89	-0,50	-0,11	0,27	0,65	0,99	1,29	1,55
8	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,49	0,55	0,58	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
9	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,31	0,34	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
10	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,18	0,24	0,26	0,27	0,27	0,28	0,28	0,28
11	CaCO_3 (арагонит)	—	—	—	—	—	—	—	—
12	CaCO_3 (кальцит)	—	—	—	—	—	—	—	—
13	CaSO_4	-0,78	-0,78	-0,78	-0,78	-0,78	-0,78	-0,78	-0,78
14	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (α)	-0,63	-0,63	-0,63	-0,63	-0,63	-0,63	-0,63	-0,63
15	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (β)	-0,73	-0,73	-0,73	-0,73	-0,73	-0,73	-0,73	-0,73
16	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	-5,75	-5,42	-5,09	-4,75	-4,42	-4,09	-3,75	-3,42
17	$\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	-1,03	-0,78	-0,53	-0,29	-0,07	0,12	0,24	0,30
18	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-1,66	-1,33	-1,00	-0,67	-0,35	-0,06	0,18	0,38
19	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	-3,22	-2,82	-2,42	-2,03	-1,65	-1,30	-1,00	-0,76
20	MgC_2O_4	-1,54	-1,48	-1,45	-1,45	-1,44	-1,44	-1,44	-1,44
21	$\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	—	—	—	—	—	—	—	—
22	$\text{Mg}(\text{OH})_2$	-3,76	-3,43	-3,10	-2,76	-2,43	-2,10	-1,76	-1,43

**Индексы пересыщения исследуемых малорастворимых соединений
при средних значениях концентраций ионов в гипотетическом растворе**

№	Малорастворимое соединение	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-1,81	-1,81	-1,82	-1,83	-1,86	-1,95	-2,13	-2,38
2	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	-1,81	-1,81	-1,82	-1,83	-1,86	-1,95	-2,13	-2,38
3	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-0,65	-0,40	-0,15	0,10	0,32	0,50	0,62	0,68
4	$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$	-1,12	-0,80	-0,49	-0,19	0,11	0,37	0,58	0,75
5	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-2,07	-1,67	-1,27	-0,88	-0,50	-0,15	0,15	0,39
6	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-1,27	-0,87	-0,47	-0,08	0,30	0,65	0,95	1,19
7	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	-0,70	-0,31	0,08	0,46	0,83	1,18	1,48	1,74
8	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,69	0,75	0,78	0,78	0,79	0,79	0,79	0,79
9	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,45	0,51	0,54	0,54	0,55	0,55	0,55	0,55
10	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,37	0,44	0,46	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
11	CaCO_3 (арагонит)	-2,38	-1,89	-1,41	-0,96	-0,57	-0,25	0,04	0,30
12	CaCO_3 (кальцит)	-2,32	-1,82	-1,34	-0,89	-0,51	-0,18	0,10	0,36
13	CaSO_4	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53	-0,53
14	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (α)	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38
15	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (β)	-0,48	-0,48	-0,48	-0,48	-0,48	-0,48	-0,48	-0,48
16	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	-5,68	-5,35	-5,01	-4,68	-4,35	-4,01	-3,68	-3,35
17	$\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	-0,86	-0,61	-0,36	-0,12	0,11	0,29	0,41	0,47
18	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-1,49	-1,15	-0,82	-0,50	-0,18	0,11	0,35	0,55
19	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	-3,07	-2,68	-2,28	-1,88	-1,50	-1,16	-0,86	-0,62
20	MgC_2O_4	-1,40	-1,34	-1,31	-1,30	-1,30	-1,30	-1,30	-1,30
21	$\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	-3,96	-3,47	-2,99	-2,54	-2,15	-1,83	-1,55	-1,29
22	$\text{Mg}(\text{OH})_2$	-3,72	-3,39	-3,06	-2,72	-2,39	-2,06	-1,72	-1,39

**Индексы пересыщения исследуемых малорастворимых соединений
при максимальных значениях концентраций ионов в гипотетическом растворе**

№	Малорастворимое соединение	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-1,65	-1,65	-1,66	-1,67	-1,70	-1,79	-1,97	-2,22
2	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	-1,65	-1,65	-1,66	-1,67	-1,70	-1,79	-1,97	-2,22
3	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-0,49	-0,24	0,01	0,25	0,48	0,66	0,78	0,84
4	$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$	-0,98	-0,67	-0,36	-0,05	0,24	0,50	0,72	0,89
5	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-1,91	-1,51	-1,11	-0,72	-0,34	0,01	0,30	0,55
6	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	-1,11	-0,71	-0,31	0,08	0,46	0,81	1,10	1,35
7	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	-0,56	-0,17	0,22	0,60	0,97	1,32	1,62	1,88
8	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,83	0,90	0,92	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
9	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,59	0,66	0,68	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
10	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,52	0,58	0,61	0,61	0,62	0,62	0,62	0,62
11	CaCO_3 (арагонит)	-2,15	-1,66	-1,18	-0,73	-0,34	-0,02	0,27	0,53
12	CaCO_3 (кальцит)	-2,09	-1,59	-1,11	-0,66	-0,28	0,05	0,33	0,59
13	CaSO_4	-0,37	-0,37	-0,37	-0,37	-0,37	-0,37	-0,37	-0,37
14	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (α)	-0,21	-0,21	-0,21	-0,21	-0,21	-0,21	-0,21	-0,21
15	$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (β)	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31
16	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	-5,62	-5,29	-4,96	-4,62	-4,29	-3,96	-3,62	-3,29
17	$\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	-0,72	-0,47	-0,23	0,02	0,24	0,43	0,55	0,60
18	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-1,35	-1,02	-0,68	-0,36	-0,04	0,25	0,49	0,69
19	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	-2,95	-2,55	-2,15	-1,75	-1,38	-1,03	-0,73	-0,49
20	MgC_2O_4	-1,28	-1,21	-1,19	-1,18	-1,18	-1,18	-1,18	-1,18
21	$\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	-3,76	-3,26	-2,78	-2,33	-1,94	-1,62	-1,34	-1,08
22	$\text{Mg}(\text{OH})_2$	-3,68	-3,35	-3,02	-2,68	-2,35	-2,02	-1,68	-1,35

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что в исследуемых растворах термодинамически вероятно образование следующих малорастворимых соединений: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$; $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; CaCO_3 ; $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Однако следует отметить, что в моделируемых системах при различных значениях pH раствора создаются необходимые условия пересыщения для образования только ограниченного числа малорастворимых соединений. Из перечисленного выше ряда соединений, во всем изучаемом диапазоне $\text{pH} = 4,5\text{--}8,0$, возможно образование только оксалатов кальция различной степени гидротированности, при этом $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ является наиболее термодинамически стабильной модификацией. В растворах с $\text{pH} 4,5\text{--}5,2$ (5,4 или 5,6) осаждение малорастворимых фосфатов кальция и магния термодинамически невозможно. Однако при $\text{pH} > 6,4$ в ряду малорастворимых соединений кальция наибольшую термодинамическую вероятность формирования имеют фосфаты. Сопоставляя индексы пересыщения, рассчитанные для фосфатов кальция различного стехиометрического состава, следует отметить, что в рамках выбранной термодинамической модели в изучаемых системах (при $\text{pH} 5,2\text{--}8,0$) наибольшую степень пересыщения, в соответствии с используемым критерием, имеет гидроксилатапатит, далее при $\text{pH} < 6,5$ по убыванию значений SI исследуемые фосфаты кальция можно ранжировать в следующий ряд: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$, а при $\text{pH} > 7,5$ последовательность имеет следующий вид $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Фосфаты магния могут образовываться в исследуемых растворах только при $\text{pH} > 6,0$. Карбонаты кальция имеют положительные индексы пересыщения при $\text{pH} > 7,0$, однако их значение ниже, чем для фосфатов и оксалатов кальция, поэтому в рамках данной модели их образование термодинамически маловероятно.

На основании полученных значений индексов пересыщения исследуемых малорастворимых соединений можно построить графические функциональные зависимости вида $SI = f(\text{pH})$ в рамках единого координатного пространства, которые наглядно показывают возможность образования твердой фазы при фиксированных концентрациях анионов и катионов в определенном диапазоне pH. Для наглядной иллюстрации и определения термодинамической возможности образования малорастворимых соединений кальция и магния в растворе, моделирующем ионный состав биологической жидкости, были построены графические зависимости вида $SI = f(\text{pH})$. При этом в качестве исследуемых фаз были выбраны минералообразующие компоненты мочевых камней и соединения, имеющие высокие положительные значения индексов пересыщения в диапазоне $\text{pH} = 4,5\text{--}8,0$ (табл. 37, рис. 33, 34).

Таблица 37

Значения pH начала образования твердой фазы в модельных растворах

№	Соединение	$pH_{\text{нач.}}$ (минимальные концентрации ионов)	$pH_{\text{нач.}}$ (средние концентрации ионов)	$pH_{\text{нач.}}$ (максимальные концентрации ионов)
1	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,3	5,8	5,5
2	$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2.5 \text{H}_2\text{O}$	6,6	6,3	6,1
3	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	5,6	5,4	5,2
4	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\beta)$	6,4	6,1	5,9
5	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3,2	2,8	2,5
6	$\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	6,7	6,3	6,0
7	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	7,1	6,8	6,6

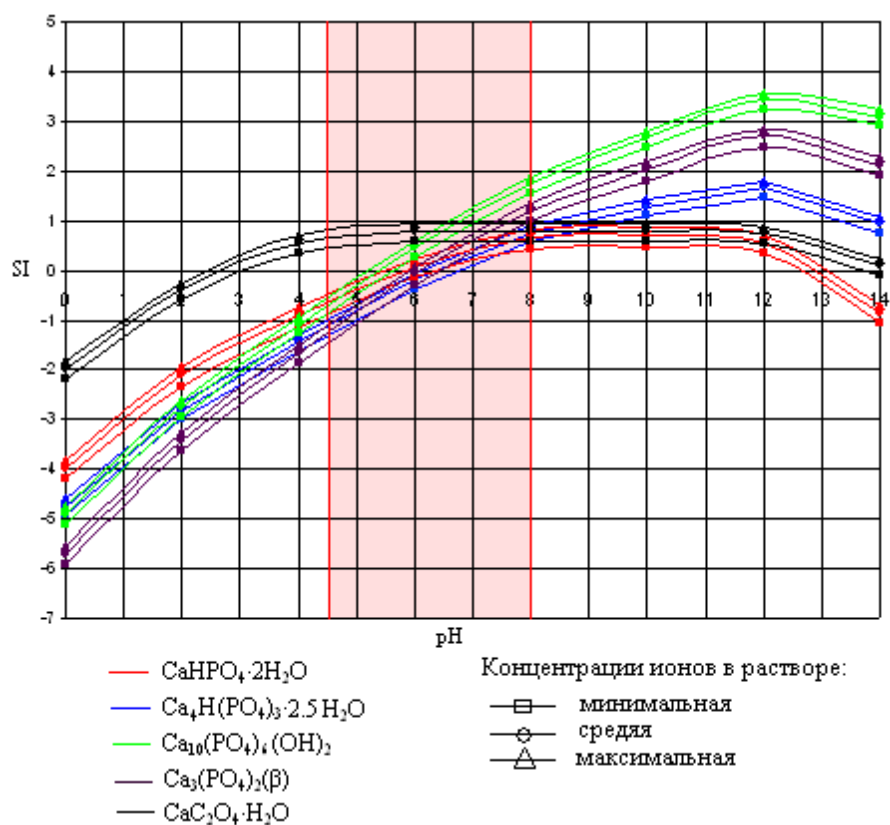


Рис. 33. Графики зависимости значений индексов пересыщения от pH раствора для солей кальция

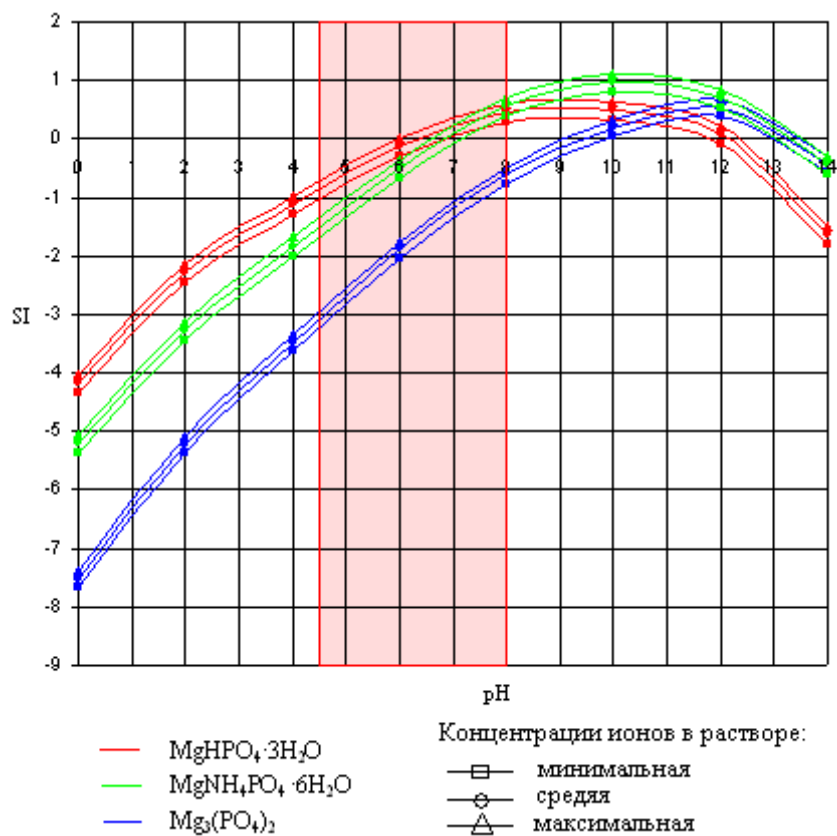


Рис. 34. Графики зависимости значений индексов пересыщения от pH раствора для фосфатов магния

Анализируя результаты расчетов, можно сделать вывод, что в области исследуемых значений температуры, ионной силы и концентраций осадкообразующих ионов в модельном растворе при pH от 4,5 до 5,0 (5,2 или 5,5) образование малорастворимых фосфатов кальция и магния термодинамически невозможно. Этот факт подтверждают существующие экспериментальные данные, указывающие на то, что образование почечных камней фосфатного типа протекает в моче, значение pH которой сдвинуто в щелочную сторону (pH = 5,0–7,8). Следует отметить, что в диапазоне pH от 4,5 до 6,4 наиболее термодинамически вероятно образование оксалатов кальция, что также подтверждается экспериментальными данными по генезису оксалат-содержащих почечных камней (pH = 4,8–7,0). Образование малорастворимых фосфатов кальция в исследуемых системах возможно при pH > 6,0, при этом в рамках выбранной термодинамической модели в растворах при pH > 7,5 наибольшую степень пересыщения в соответствии с используемым критерием имеет струвит.

6.2. Поля устойчивости

Одним из способов графического представления равновесия «осадок↔раствор» в системе, в которой протекает образование труднорастворимого соединения из водного раствора, является построение «полей устойчивости».

Принцип построения подобных диаграмм заключается в установлении функциональной зависимости показателя минимальной концентрации катиона, входящего в состав осадка, которую необходимо создать для начала осаждения фазы при определенном значении pH раствора и концентрации аниона: $pC_{M^{q+}} = f(pC_{X^{p-}}, pH)$. При этом следует отметить, что область, находящаяся выше полученной критической плоскости, характеризует условия, при которых образование данной фазы термодинамически невозможно.

На основании построенных трехмерных диаграмм в координатах $pC_{M^{q+}} - pC_{X^{p-}} - pH$ можно делать выводы об устойчивости данной системы и прогнозировать характер изменения равновесия в различных условиях.

Особенно полезны данные диаграммы для описания сложных равновесий в растворе, примером этого может служить система: $Ca^{2+} - PO_4^{3-} - H_2O$; $Ca^{2+} - C_2O_4^{2-} - H_2O$ и $Mg^{2+} - PO_4^{3-} - NH_4^+ - H_2O$, в которой при различных сочетаниях концентраций аниона и катиона, а также pH раствора (при постоянной температуре и ионной силе раствора) возможно образование осадков различного состава. При этом совмещение нескольких диаграмм, каждая из которых характеризует поведение и устойчивость системы для определенной труднорастворимой фазы, в рамках одного координатного пространства позволяет не только получить информацию о возможности образования отдельно каждой фазы в растворе при данных условиях, но и определить области совместного осаждения различных соединений.

На основании имеющихся данных о термодинамических значениях произведений растворимости при 310 К нами были определены функциональные зависимости вида:

$$pC_{Ca^{2+}} = f(pC_{PO_4^{3-}}, pH), \quad pC_{Mg^{2+}} = f(pC_{PO_4^{3-}}, pC_{NH_4^+}, pH) \quad \text{и} \quad pC_{Ca^{2+}} = f(pC_{C_2O_4^{2-}}, pH),$$

построены трехмерные диаграммы («поля устойчивости») для следующих соединений: $CaHPO_4$, $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5H_2O$, $\beta-Ca_3(PO_4)_2$, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, $CaC_2O_4 \cdot H_2O$, $MgHPO_4 \cdot 3H_2O$ и $MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$. Выбор данных соединений обусловлен тем, что они обладают высокой термодинамической стабильностью и являются минералообразующими фазами почечных камней (рис. 35).

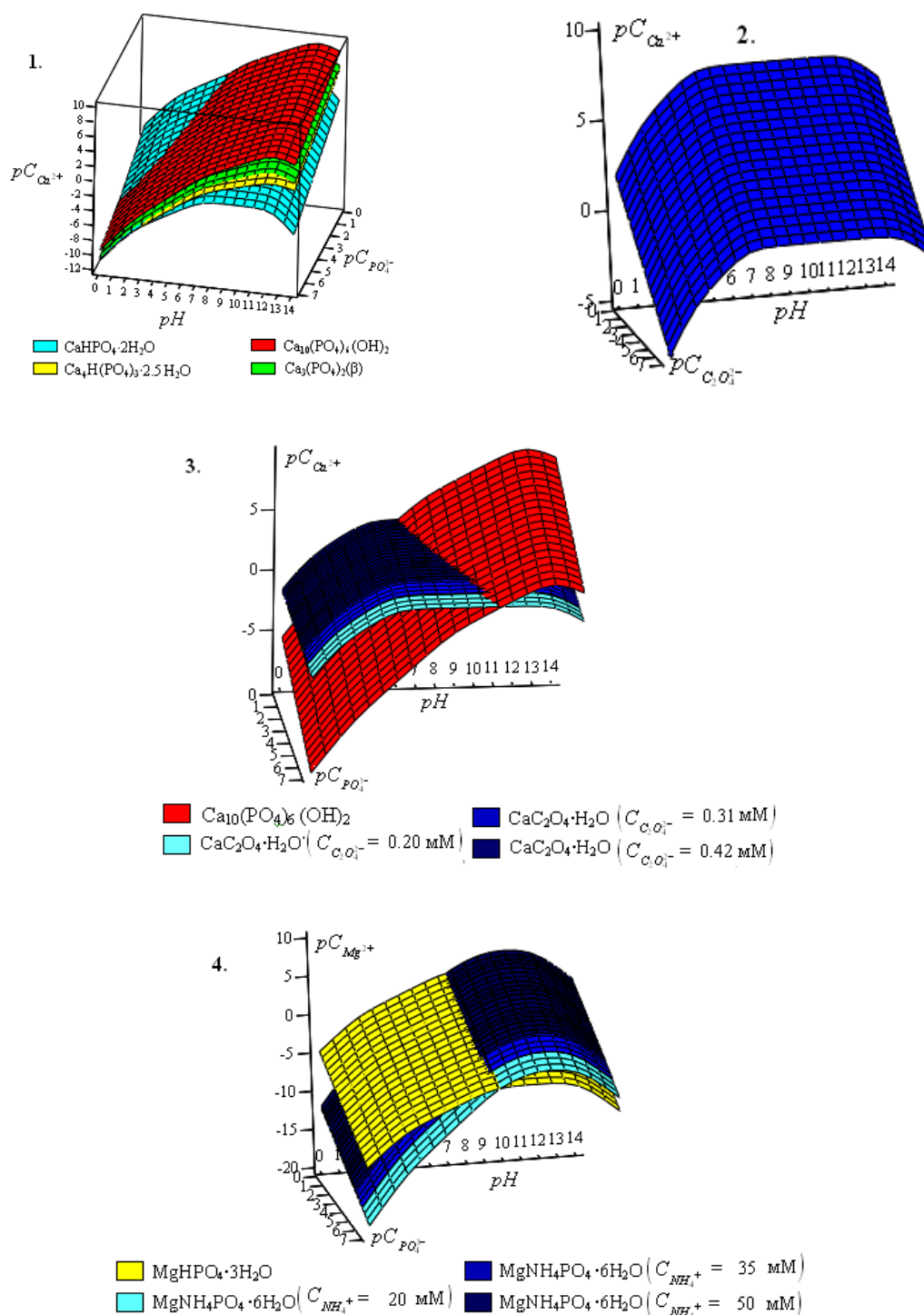


Рис. 35. Поля устойчивости при образовании малорастворимых соединений

из растворов при температуре 37 °C и ионной силе 0,3 M для следующих систем:

1. $Ca^{2+} - PO_4^{3-} - H_2O$; 2. $Ca^{2+} - C_2O_4^{2-} - H_2O$; 3. $Ca^{2+} - C_2O_4^{2-} - PO_4^{3-} - H_2O$; 4. $Mg^{2+} - PO_4^{3-} - NH_4^+ - H_2O$

Совмещение полученных диаграмм в рамках единого координатного пространства позволяет наглядно представить области устойчивости растворов относительно каждого исследуемого малорастворимого соединения, а также определить фазу, образование которой термодинамически наиболее вероятно при данных условиях (рис. 34). При этом интересно отметить, что в диапазоне исследуемых концентраций анионов ($1-10^{-7}$ моль/л) и pH (0–14) (диапазоны значений по данным показателям расширены специально, чтобы показать характер и специфику поверхностей, описывающих состояние системы), существуют области, при ко-

торых наиболее термодинамически вероятным является образование одной или нескольких фаз из выше перечисленных.

В ходе проведенных термодинамических расчетов выявлены условия и возможность образования трудно растворимых соединений в гипотетическом растворе концентрации осадкообразующих ионов, температура и ионная сила которого близка к данным показателям мочи здорового взрослого среднестатистического человека. На основании построенных трехмерных диаграмм («полей устойчивости») для серии фосфатов кальция и магния, а также оксалата кальция, являющихся основными минералообразующими фазами почечных камней, определены области, при которых образование данных фаз из растворов наиболее термодинамически вероятно. При этом следует отметить, что построенная модель отражает возможность образования фаз, только исходя из данных об их термодинамической стабильности в стандартном состоянии, и не учитывает, в частности, кинетические факторы, оказывающие влияние на процесс формирования твердой фазы в реальных условиях. Поэтому необходимым условием определения возможности образования малорастворимых соединений в растворе, ионный состав (неорганические макрокомпоненты), температура и pH которого близки к параметрам, характерным для биологической жидкости, является проведение модельного эксперимента *in vitro*.

6.3. Термодинамический расчет возможности и условий образования малорастворимых соединений в модельном растворе в присутствии микроэлементов

В организме человека формирование гидроксилатапрота протекает в многокомпонентной системе, в состав которой входит ряд микроэлементов. Согласно литературным данным, они могут препятствовать кристаллизации солей кальция, связывая анионы раствора в малорастворимые соединения.

Для оценки возможности образования малорастворимых соединений основными микроэлементами (Zn, Fe, Cu, Al) с анионами смешанной слюны человека проведено термодинамическое моделирование фазообразования в прототипе биологической жидкости. Для расчетов был взят раствор, минеральный состав (неорганические макро- и микрокомпоненты), температура, ионная сила и pH (4,5–8,0) которого соответствуют составу ротовой жидкости здорового взрослого среднестатистического человека. При этом в изучаемых системах не учитывалось влияние органических соединений, являющихся компонентами реальных растворов, на образование твердой минеральной фазы.

Для определения условий образования малорастворимых фаз в прототипах биологических жидкостей для 25 соединений рассчитаны значения условных произведений растворимости и индексов пересыщения (SI).

Установлено, что в диапазоне pH 4,5–8,0 значение ионной силы изменяется в пределах от 0,036 до 0,046 М при средних значениях концентраций ионов (I_{mid}) в гипотетическом растворе, моделирующем ионный состав биологической жидкости. Так как значение ионной силы исследуемого раствора $<0,1$ М, то для определения коэффициентов активности ионов применимо уравнение второго приближения теории Дебая–Гюккеля. При расчете коэффициентов активности использовалось среднее значение ионной силы раствора для исследуемого диапазона pH биологической жидкости.

Известно, что пересыщение в растворе может создаваться под влиянием различных факторов, в частности, изменения температуры, pH, концентрации осадкообразующих ионов и т. д. Несмотря на то что создание пересыщения в растворе является движущей силой осаждения соли из раствора, как правило, его величина неодинакова для различных солей. По рассчитанным значениям энергии Гиббса кристаллизации малорастворимых соединений из мо-

дельного раствора определяли устойчивость индивидуальных веществ, так как известно, что если $\Delta G < 0$, то соединение термодинамически устойчиво; если $\Delta G > 0$, то вещество термодинамически неустойчиво.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что в исследуемых растворах термодинамически вероятно образование следующих малорастворимых соединений: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_8\text{H}(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α, β); CaCO_3 . Помимо солей кальция термодинамически также вероятно образование $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$, ZnCO_3 , FeCO_3 , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_3$. Сопоставляя индексы пересыщения, рассчитанные для фосфатов кальция различного стехиометрического состава, следует отметить, что в рамках выбранной термодинамической модели в изучаемых системах наибольшую степень пересыщения, в соответствии с используемым критерием, имеют фтор- и гидроксилapatит, далее при $\text{pH} < 7,0$ по убыванию значений SI исследуемые фосфаты кальция можно расположить в следующий ряд: $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_8\text{H}(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, а при $\text{pH} > 7,0$ последовательность имеет вид: $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_8\text{H}(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Осаждение фосфатов магния в исследуемых условиях термодинамически невозможно, так как для них $\Delta G > 0$ и $\text{SI} < 0$. Карбонаты кальция характеризуются отрицательными величинами энергии Гиббса кристаллизации $\text{pH} \geq 7,0$, однако их значения ниже, чем для фосфатов кальция, поэтому в рамках данной модели их образование термодинамически маловероятно.

Таким образом, в условиях эксперимента брушит ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), октакальция фосфат ($\text{Ca}_8\text{H}(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), фосфат кальция ($\alpha, \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) являются метастабильными фазами относительно фтор- и гидроксилapatита, а большинство соединений ионов тяжелых металлов термодинамически неустойчиво в исследуемом диапазоне pH.

На основании полученных значений индексов пересыщения исследуемых малорастворимых соединений построены графические функциональные зависимости вида $\text{SI} = f(\text{pH})$, которые наглядно показывают возможность образования твердой фазы при фиксированных концентрациях анионов и катионов в определенном диапазоне pH. При этом в качестве исследуемых фаз выбраны соединения, имеющие высокие положительные значения индексов пересыщения в диапазоне $\text{pH} = 4,5\text{--}8,0$ (рис. 36, 37).

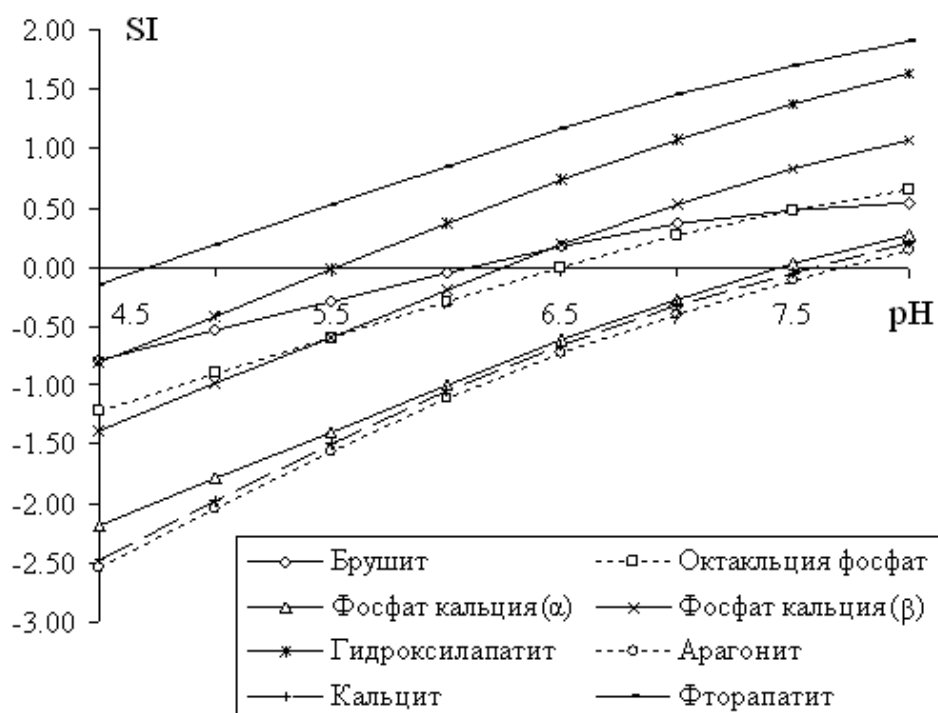


Рис. 36. Графики зависимости значений индексов пересыщения от pH раствора для солей кальция

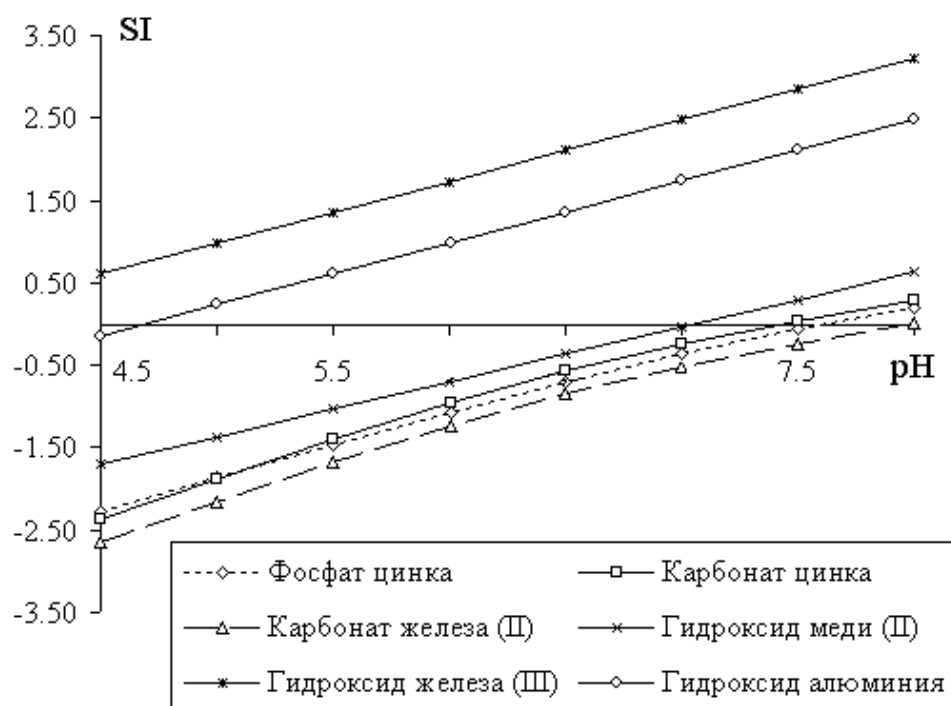


Рис. 37. Графики зависимости значений индексов пересыщения от pH раствора для соединений Fe, Cu, Zn, Al

Также проведена оценка возможности образования катионами Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} малорастворимых гидроксидов в диапазоне pH раствора от 4,5 до 8,0. Рассчитаны значения pH начала осаждения гидроксидов при физиологической концентрации Ca, Mg, Zn, Cu, Fe(II), Fe(III) и Al в исследуемом растворе (табл. 38).

Таблица 38

K_s^0 , K_s и pH начала осаждения гидроксидов металлов

Гидроксид	K_s^0	K_s	$pH_{нач.осажд}^{Me(OH)_p}$
$Ca(OH)_2$	$5,5 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-5}$	13,1
$Mg(OH)_2$	$1,8 \cdot 10^{-11}$	$5,5 \cdot 10^{-11}$	10,6
$Zn(OH)_2$	$1,4 \cdot 10^{-17}$	$4,9 \cdot 10^{-17}$	8,4
$Cu(OH)_2$	$2,2 \cdot 10^{-20}$	$7,6 \cdot 10^{-20}$	7,1
$Fe(OH)_2$	$7,1 \cdot 10^{-16}$	$2,5 \cdot 10^{-15}$	9,3
$Fe(OH)_3$	$6,3 \cdot 10^{-38}$	$7,7 \cdot 10^{-37}$	3,7
$Al(OH)_3$	$3,2 \cdot 10^{-34}$	$3,9 \cdot 10^{-33}$	4,7

Согласно данным табл. 38 в широком диапазоне pH, включая область 4,5–8,0, возможно осаждение гидроксидов Fe (III) и Al (III). Основания кальция, магния, цинка и железа (II) образуются при $pH > 8,0$.

Малорастворимое соединение образуется в том случае, когда произведение концентраций составляющих его ионов в растворе превышает условное произведение растворимости. Следовательно, первым будет осаждаться то соединение, произведение растворимости которого будет достигнуто при минимальной концентрации осадителя. Поэтому далее рассчитаны минимальные концентрации фосфат- и карбонат-ионов, необходимые для осаждения соответствующих солей Ca, Mg, Zn, Cu, Fe(II), Fe(III) и Al (табл. 39).

**Минимальные концентрации фосфатат- и карбонат-ионов,
необходимые для осаждения малорастворимых соединений, моль/л**

Фаза \ pH	4,5	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$3,17 \cdot 10^3$	32,09	3,34	0,38	$5,09 \cdot 10^{-2}$	$9,28 \cdot 10^{-3}$	$2,25 \cdot 10^{-3}$
$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	31,66	0,32	$3,34 \cdot 10^{-2}$	$3,76 \cdot 10^{-3}$	$5,09 \cdot 10^{-4}$	$9,28 \cdot 10^{-5}$	$2,25 \cdot 10^{-5}$
$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	$3,99 \cdot 10^6$	$4,04 \cdot 10^4$	$4,21 \cdot 10^3$	$4,73 \cdot 10^2$	64,04	11,68	2,84
$\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$	$2,74 \cdot 10^3$	27,72	2,89	0,32	$4,39 \cdot 10^{-2}$	$8,02 \cdot 10^{-3}$	$1,95 \cdot 10^{-3}$
Арагонит	$1,31 \cdot 10^3$	14,72	1,87	0,31	$7,06 \cdot 10^{-2}$	$1,95 \cdot 10^{-2}$	$5,92 \cdot 10^{-3}$
Кальцит	$9,70 \cdot 10^2$	10,91	1,38	0,23	$5,23 \cdot 10^{-2}$	$1,45 \cdot 10^{-2}$	$4,39 \cdot 10^{-3}$
$\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$1,16 \cdot 10^7$	$1,31 \cdot 10^5$	$1,66 \cdot 10^4$	$2,76 \cdot 10^3$	$6,26 \cdot 10^2$	$1,73 \cdot 10^2$	52,54
ZnCO_3	$4,32 \cdot 10^2$	4,86	0,62	0,10	$2,33 \cdot 10^{-2}$	$6,46 \cdot 10^{-3}$	$1,96 \cdot 10^{-3}$
CuCO_3	$1,01 \cdot 10^4$	$1,13 \cdot 10^2$	14,38	2,40	0,54	0,15	$4,56 \cdot 10^{-2}$
FeCO_3	$1,52 \cdot 10^3$	17,16	2,18	0,36	$8,23 \cdot 10^{-2}$	$2,28 \cdot 10^{-2}$	$6,90 \cdot 10^{-3}$

Анализ результатов расчета, приведенных в табл. 39, показывает, что в присутствии ионов кальция осаждение фосфатов магния и цинка маловероятно. В диапазоне pH 4,5–8,0 средняя концентрация фосфат-ионов в слюне здорового взрослого среднестатистического человека составляет $\sim 5,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л, следовательно, в данных условиях возможно осаждение только $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Образование малорастворимых карбонатов кальция, цинка и железа (II) возможно, начиная с pH > 7,5, при этом процесс кристаллизации исследуемых солей характеризуется малыми величинами энергии Гиббса, много меньше ΔG для фосфатов различного стехиометрического состава, поэтому их образование в рамках выбранной модели термодинамически маловероятно.

Полученные результаты указывают на то, что образование малорастворимых соединений Zn, Cu, Fe и Al с анионами исследуемого раствора термодинамически маловероятно при малых концентрациях катионов металлов в данном диапазоне pH и в присутствии катионов кальция с концентрацией, во много раз превышающей концентрации микроэлементов. Помимо этого, микроэлементы Zn, Cu, Fe и Al в отличие от кальция и магния склонны к образованию прочных хелатных комплексов с органическими компонентами ротовой жидкости, что еще больше снижает вероятность осаждения соответствующих малорастворимых соединений. Таким образом, для упрощения последующих расчетов влияние микроэлементов можно не учитывать.

По итогам термодинамического моделирования равновесий в гипотетическом растворе в присутствии ионов тяжелых металлов можно сделать вывод, что результаты проведенных расчетов хорошо согласуются с данными по изучению фазового состава коллекции зубных камней жителей Омского региона, согласно которым основным минеральным компонентом всех образцов является гидроксилapatит, в редких случаях встречается брушит (5–10 % от содержания апатита), а собственные фазы микроэлементов ротовой жидкости не идентифицированы. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о том, что ингибирующее влияние микроэлементов на кристаллизацию фосфатов кальция не связано с образованием их малорастворимых соединений с анионами раствора. Вероятно, главными причинами замедления кристаллизации солей кальция в присутствии ионов тяжелых металлов является адсорбция многозарядных ионов на поверхности растущих кристаллов, а также возможность изоморфного замещения кальция на Me^{n+} , что приводит к дестабилизации

ции структуры гидроксилапатита. Данное предположение было проверено в ходе экспериментального моделирования.

6.4. Термодинамический расчет возможности и условий образования малорастворимых соединений в модельном растворе в присутствии аминокислот

Аминокислоты являются исключительно важными в биологическом отношении веществами. Они присутствуют во всех биологических жидкостях, в том числе обнаружены в слюне человека. Существует предположение, что аминокислоты могут ингибировать процесс кристаллизации гидроксилапатита. Это обусловлено:

- 1) адсорбционным взаимодействием, приводящим к изменению скорости роста кристаллов;
- 2) образованием комплексов аминокислот с ионами кальция в растворе.

С целью определения роли аминокислот в процессе кристаллизации гидроксилапатита проведен термодинамический расчет возможности фазообразования в модельной системе с учетом комплексообразования и вклада ионизированных форм аминокислот в ионную силу. Для расчетов был взят раствор, минеральный (неорганические макро- и микрокомпоненты), аминокислотный состав, температура, ионная сила и pH (4,5–8,0) которого соответствуют составу ротовой жидкости здорового взрослого среднестатистического человека.

При расчетах с учетом комплексообразования концентрация свободных ионов кальция в системе определялась как равновесная концентрация в процессе взаимодействия с аминокислотами, входящими в состав ротовой жидкости и обнаруженными в составе зубных и слюнных камней человека, которые имеют высокие значения констант устойчивости комплексов с ионами кальция (табл. 40). Предполагали, что образуются комплексы только состава 1:1.

Т а б л и ц а 40

Константы устойчивости комплексов кальция с аминокислотами

Аминокислота	Константа	[CaL]	
		pK_a	K
Тирозин		1,50	0,063
Аргинин		2,20	0,006
Аспарагиновая кислота		1,60	0,025
Аланин		1,20	0,063
Серин		1,40	0,040
Глицин		1,40	0,040
Глутаминовая кислота		1,40	0,040
Средняя суммарная концентрация АК, моль/л		0,0159	

Для определения природы ингибирующего влияния аминокислот в процессах кристаллизации фосфатов кальция проведены три серии расчетов:

- 1) термодинамический расчет возможности фазообразования в модельном растворе с учетом только образования комплексов аминокислот с ионами кальция;
- 2) расчет возможности фазообразования в модельном растворе при учете вклада ионизированных форм аминокислот в ионную силу раствора;
- 3) расчет возможности фазообразования в модельном растворе при совместном влиянии ионной силы и комплексообразования.

I. На первом этапе рассчитаны показатели условных произведений растворимости pK_s исследуемых малорастворимых соединений с учетом комплексообразования с аминокисло-

тами и pH раствора. При этом расчет коэффициентов активности осадкообразующих ионов проводили по уравнению второго приближения теории Дебая–Гюккеля, так как ионная сила исследуемого раствора $< 0,1$ М. Оценку возможности формирования труднорастворимого соединения в растворе проводили по значениям энергии Гиббса кристаллизации, а также по рассчитанным значениям индексов пересыщения SI, при этом если $SI > 0$, а $\Delta G < 0$, то в данных условиях термодинамически вероятно осаждение твердой фазы из раствора.

Согласно полученным результатам в исследуемых растворах термодинамически вероятно образование следующих малорастворимых соединений: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α , β) и CaCO_3 . В условиях комплексообразования с аминокислотами концентрация свободных ионов кальция, которые участвуют в процессах фазообразования, снижается (табл. 41). Однако изменение количества Ca^{2+} при средней суммарной физиологической концентрации аминокислот незначительно и не оказывает влияния на условные произведения растворимости кристаллических фаз, последовательность и pH начала осаждения (табл. 42, столбцы 3, 4).

Таблица 41

Равновесные концентрации ионов кальция в присутствии аминокислот, ммоль/л

$C(\text{Ca}) \backslash C(\text{AK}), \text{M}$	0	0,0159	1,59	7,95	15,9
Минимум	1,0	0,9996	0,9646	0,8448	0,7313
Среднее	1,5	1,499	1,447	1,267	1,097
Максимум	2,0	1,999	1,929	1,690	1,463

Таблица 42

**Диапазон pH образования твердых фаз в модельных растворах
(с учетом комплексообразования)**

№ п/п	Малорастворимое соединение	$C(\text{AK})=0$	$C(\text{AK})=0,0159 \text{ M}$	$C(\text{AK})=1,59 \text{ M}$	$C(\text{AK})=7,95 \text{ M}$	$C(\text{AK})=15,9 \text{ M}$
1	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	4,8–8,0	4,8–8,0	4,8–8,0	4,8–8,0	4,9–8,0
2	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	5,6–8,0	5,6–8,0	5,6–8,0	5,6–8,0	5,7–8,0
3	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	6,3–8,0	6,3–8,0	6,3–8,0	6,4–8,0	6,4–8,0
4	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,4–8,0	6,4–8,0	6,4–8,0	6,5–8,0	6,6–8,0
5	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	6,5–8,0	6,5–8,0	6,6–8,0	6,6–8,0	6,7–8,0
6	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	7,5–8,0	7,5–8,0	7,5–8,0	7,6–8,0	7,7–8,0
7	CaCO_3 (кальцит)	7,6–8,0	7,6–8,0	7,7–8,0	7,7–8,0	7,8–8,0
8	CaCO_3 (арагонит)	7,8–8,0	7,8–8,0	7,8–8,0	7,8–8,0	7,9–8,0

Несущественный сдвиг pH начала осаждения малорастворимых соединений (0,1–0,2 единицы pH) наблюдается лишь при концентрации аминокислот, в 100 и более раз превышающей физиологическую ($C(\text{AK}) \geq 1,59 \text{ M}$), что никогда не достигается в организме человека. При этом условные произведения растворимости фосфатов и карбонатов кальция увеличиваются, энергия Гиббса процесса кристаллизации приобретает более положительные значения, однако, как показали расчеты, в присутствии исследуемых аминокислот энергия Гиббса не изменяется значительно даже при высоком уровне концентрации органических молекул (табл. 43).

Показатели условных произведений растворимости и энергия Гиббса кристаллизации в зависимости от состава модельной системы и pH раствора (на примере гидроксилапатита)

Соединение	Среда	pH=5,0	pH=6,0	pH=7,0	pH=8,0
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Слюна, C(AK)=0	$\frac{124,74}{2,48}$	$\frac{110,87}{-2,09}$	$\frac{97,97}{-6,34}$	$\frac{87,85}{-9,68}$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Слюна, C(AK)=0.0159 М	$\frac{124,74}{2,48}$	$\frac{110,87}{-2,09}$	$\frac{97,97}{-6,34}$	$\frac{87,85}{-9,68}$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Слюна, C(AK)=1.59 М	$\frac{124,88}{2,53}$	$\frac{111,02}{-2,04}$	$\frac{98,12}{-6,29}$	$\frac{88,00}{-9,63}$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Слюна, C(AK)=7.95 М	$\frac{125,43}{2,71}$	$\frac{111,57}{-1,86}$	$\frac{98,66}{-6,11}$	$\frac{88,54}{-9,45}$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Слюна, C(AK)=15.9 М	$\frac{126,03}{2,91}$	$\frac{112,16}{-1,66}$	$\frac{99,26}{-5,91}$	$\frac{89,14}{-9,25}$

Примечание. Над чертой указаны показатели произведений растворимости гидроксилапатита, под чертой энергия Гиббса кристаллизации.

Сопоставляя индексы пересыщения, рассчитанные для фосфатов кальция различного стехиометрического состава, следует отметить, что в рамках выбранной термодинамической модели во всех изучаемых системах (при pH 4,5–8,0) наибольшую степень пересыщения в соответствии с используемым критерием имеет гидроксилапатит. При pH < 7,00 по убыванию значений SI исследуемые фосфаты кальция можно ранжировать следующим образом: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; тогда как при pH > 7,0 последовательность имеет вид: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Аналогичные ряды были получены для модельной системы, в состав которой входили только неорганические компоненты.

Таким образом, существенное повышение концентрации аминокислот в ротовой жидкости не влияет на образование фосфатов кальция различного стехиометрического состава. Из литературных данных известно, что витлокит, октакальция фосфат и брушит являются метастабильными фазами по отношению к гидроксилапатиту. Данные термодинамического расчета показали, что $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ имеют меньшие по сравнению с гидроксилапатитом значения SI (а также ΔG). Это свидетельствует о том, что данные фазы менее устойчивы в исследуемых условиях.

Таким образом, термодинамический расчет возможности кристаллизации минеральных фаз из модельного раствора показал, что комплексообразование при физиологических концентрациях аминокислот не оказывает влияние на условия и последовательность выпадения солей кальция.

II. На следующем этапе проведен расчет с учетом вклада ионизированных форм аминокислот в ионную силу раствора. Для этого рассчитали ионные диаграммы 15 аминокислот, определенных в составе ротовой жидкости человека (рис. 38).

Проведенные расчеты показали, что заряженные формы аминокислот вносят значительный вклад в ионную силу раствора и уже при физиологической концентрации ионная сила увеличивается почти в полтора раза. Для теоретического изучения также проведен расчет для случаев, когда концентрация аминокислот превышает физиологическую (табл. 44).

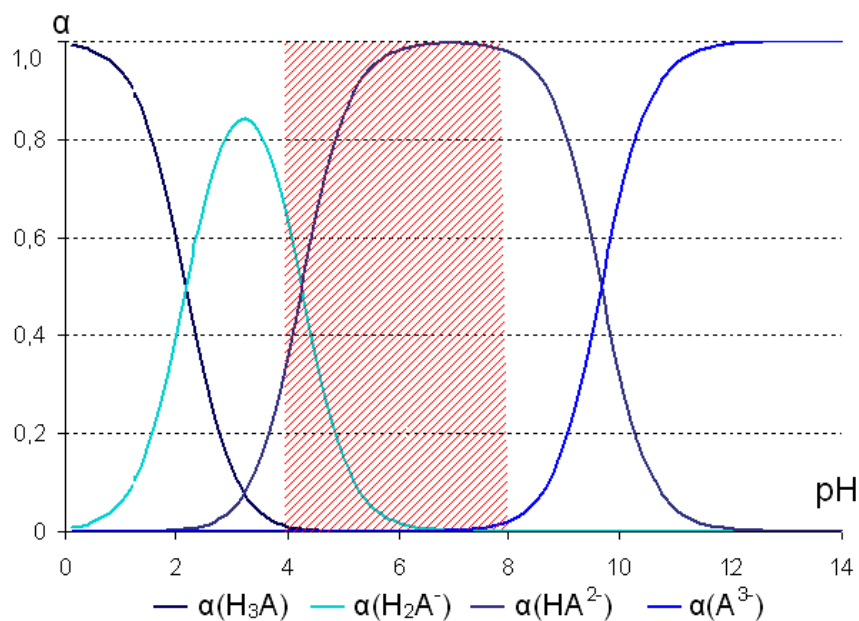


Рис. 38. Ионная диаграмма глутаминовой кислоты

Таблица 44

Изменение ионной силы раствора в зависимости от концентрации аминокислот

№ п/п	Система	Концентрация аминокислот, моль/л	Ионная сила раствора, моль/л
I	Слюна неорг.	0	0,039
II	Слюна + АК (физиол.)	0,0159	0,051
III	Слюна + АК (физиол.)*5	0,0795	0,104
IV	Слюна + АК (физиол.)*10	0,159	0,169
V	Слюна + АК (физиол.)*20	0,318	0,299
VI	Слюна + АК (физиол.)*30	0,477	0,429
VII	Слюна + АК (физиол.)*40	0,636	0,560
VIII	Слюна + АК (физиол.)*50	0,795	0,690
IX	Слюна + АК (физиол.)*75	1,160	0,999
X	Слюна + АК (физиол.)*100	1,590	1,342

В изучаемых условиях возможна кристаллизация следующих фаз: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α , β) и CaCO_3 . Согласно рассчитанным величинам SI для малорастворимых соединений во всех исследуемых системах наибольшую степень пересыщения имеют фтор- и гидроксилapatит. При $\text{pH} < 7,00$ по убыванию значений SI исследуемые фосфаты кальция можно ранжировать следующим образом: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; тогда как при $\text{pH} > 7,0$ последовательность имеет вид: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 > \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Для наглядной иллюстрации и определения термодинамической возможности образования малорастворимых соединений кальция в растворе, моделирующем ионный состав биологической жидкости, с разной концентрацией аминокислот построены графические зависимости вида $SI = f(\text{pH})$. При этом в качестве исследуемых фаз выбраны соединения, имеющие высокие положительные значения индексов пересыщения в диапазоне $\text{pH} = 4,5\text{--}8,0$ (рис. 39).

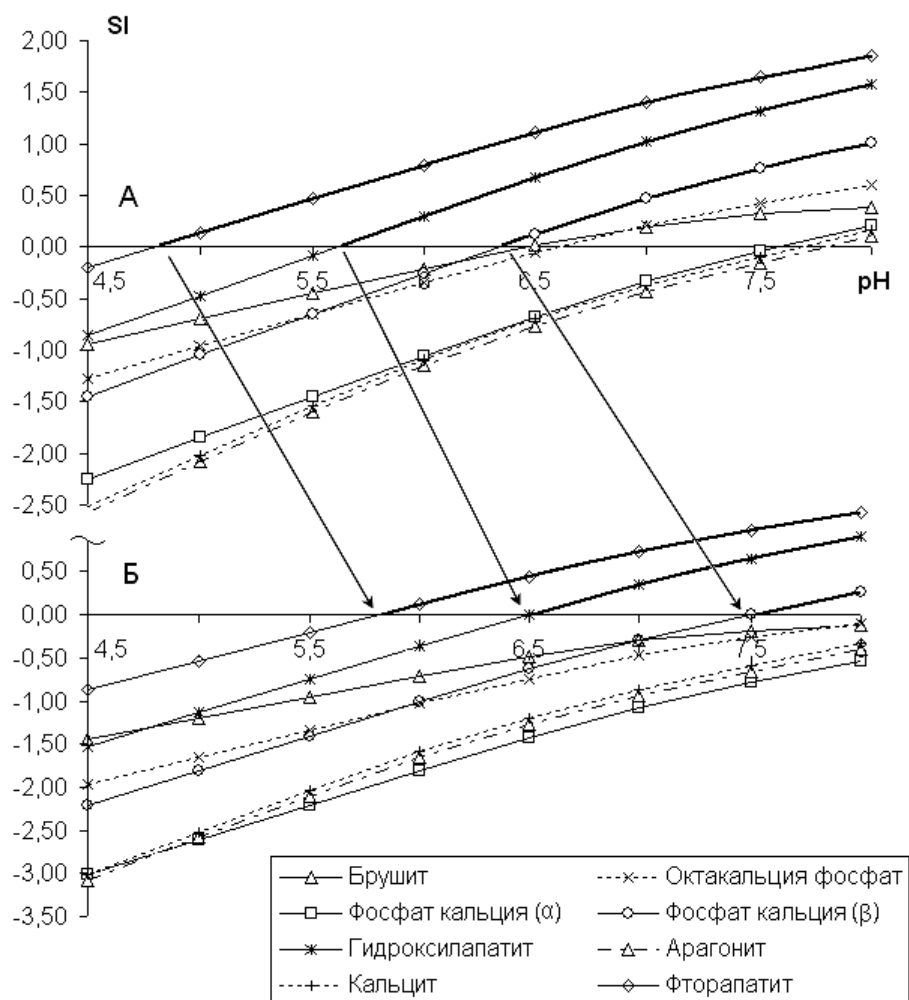


Рис. 39. Зависимость индекса пересыщения от pH раствора:
А – для системы II, Б – для системы V

С ростом ионной силы гипотетического раствора происходит увеличение условных произведений растворимости фосфатов и карбонатов кальция, а энергия Гиббса процесса кристаллизации каждого из соединений приобретает более положительные значения. При этом для каждой системы диапазоны pH, при которых достигаются условия осаждения малорастворимых соединений, значительно различаются (табл. 45).

Таблица 45

**Значения pH начала осаждения твердых фаз в модельных растворах
(с учетом ионной силы раствора)**

№ п/п	Соединение	Система								
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
1	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	4,8	4,9	5,2	5,5	5,9	6,2	6,5	6,7	7,4
2	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	5,6	5,6	6,0	6,2	6,5	6,8	7,1	7,4	—
3	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	6,3	6,4	6,7	7,0	7,5	8,0	—	—	—
4	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,4	6,5	7,0	7,4	—	—	—	—	—
5	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	6,5	6,6	7,1	7,5	—	—	—	—	—
6	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	7,5	7,6	—	—	—	—	—	—	—
7	CaCO_3 (кальцит)	7,6	7,7	—	—	—	—	—	—	—
8	CaCO_3 (арагонит)	7,8	7,9	—	—	—	—	—	—	—

При физиологической концентрации аминокислот в модельной системе (II) происходит сдвиг рН начала осаждения практически всех соединений. Дальнейшее увеличение количества органических веществ в растворе ($C(АК) = 0,0795-0,159$ моль/л) приводит к тому, что в исследуемом диапазоне кислотности среды становится невозможной кристаллизация $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, кальцита и арагонита, а при $C(АК) > 0,3$ моль/л неустойчивы $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Таким образом, изменение количественного аминокислотного состава раствора, сопровождающееся ростом ионной силы, приводит к смещению в щелочную область рН начала осаждения малорастворимых соединений тем большим, чем выше ионная сила.

По данным термодинамического расчета установлено, что аминокислоты (за счет ионизированных форм) вносят значительный вклад в ионную силу раствора. При этом рН начала осаждения малорастворимых солей кальция смещается в более щелочную область, однако ряд термодинамической устойчивости соединений друг относительно друга при этом не изменяется.

III. Поскольку в реальном растворе (ротовой жидкости) аминокислоты участвуют как в процессах образования комплексов, так и ионизации, проведен термодинамический расчет при одновременном учете влияния аминокислот как комплексообразующих, так и ионогенных молекул.

Проведенные расчеты показали, что изменение концентрации ионов кальция в растворе, вызванное комплексообразованием с аминокислотами, очень мало и не сказывается на величине ионной силы системы.

В изучаемых условиях, согласно рассчитанным значениям индексов пересыщения и энергий Гиббса для процесса кристаллизации, возможно осаждение $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α , β) и CaCO_3 . Устойчивость и порядок выпадения солей не изменяется по сравнению с таковыми, установленными в пунктах I и II. При этом для каждой системы диапазоны рН, при которых достигаются условия осаждения малорастворимых соединений, совпадают с определенными в пункте II. Таким образом, по сравнению с расчетом без учета комплексообразования уменьшение степени пересыщения раствора, вызванное связыванием части свободных ионов кальция в комплексы с аминокислотами, мало и не приводит к существенному изменению условных произведений растворимости, SI и энергий Гиббса для процесса кристаллизации исследуемых минеральных фаз.

Полученные результаты указывают на то, что аминокислоты обладают довольно слабой способностью связывать ионы кальция в комплексы, поскольку формирование ионных пар растворенных аминокислот с Ca^{2+} не приводит к значительному снижению пересыщения раствора, в результате которого наблюдались бы изменения в ходе кристаллизации минеральных фаз. В связи с этим, влиянием органических веществ как лигандов в процессах комплексообразования можно пренебречь для упрощения дальнейших термодинамических расчетов для модельной системы. Однако в силу того, что при физиологических значениях рН большая часть молекул аминокислот находится в ионизированном состоянии, необходимо учитывать их вклад в ионную силу раствора.

В целом по результатам термодинамического моделирования возможности фазообразования в прототипе биологической жидкости (слюны человека) можно сделать вывод, что комплексообразование аминокислот с ионами кальция не является главной причиной ингибирующего действия аминокислот в процессах кристаллизации фосфатов кальция. Вероятно, замедление роста и уменьшение размеров образующихся кристаллов в присутствии аминокислот в кристаллизационной среде связано, главным образом, с адсорбционным взаимодействием ионизированных форм аминокислот с заряженными участками поверхности твердой фазы. Данное предположение было проверено в ходе экспериментального моделирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленное в монографии исследование относится к разряду тех, в рамках которых решаются задачи разных научных направлений: химии, кристаллографии, медицины и др. Необходимость такого рода работ диктуется прежде всего прогрессивным увеличением числа костно-суставных повреждений, приводящих довольно часто к ограничению или полной потери человеком трудоспособности.

Стоит признать, что несмотря на высокий уровень разработки современных медицинских технологий, ряд аспектов, касающихся полного восстановления костных тканей, остается не решенными. Известно, что уникальные свойства нативной костной ткани связаны с сочетанием в ней органических (белки коллагеновой природы, полисахариды и др.) и неорганических (гидроксилапатит и примеси других кальцийфосфатных фаз) составляющих. Поэтому представляется целесообразным развитие новых методов синтеза гидроксилапатита, позволяющих получать частицы, включенные в биополимерную матрицу. Такие композиционные материалы усиливают пролиферативную активность остеобластов и стимулируют процессы репаративного остеогенеза на месте введения материала, задерживают развитие воспалительной реакции в костной ране. Особенно эти характеристики важны в репаративной медицине, так как используемые имплантаты должны замещать натуральную костную ткань и нести соответствующую нагрузку.

Используя материалы, изложенные в монографии, исследователями могут быть получены новые научные данные, достоверность которых может быть обеспечена квалифицированным применением комплекса современных физико-химических и физических методов исследования реальных структур и протекающих взаимодействий в сложных многокомпонентных системах, широко представленных в данной монографии.

СПИСОК ИСПОЛЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Данильченко С.Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения (обзор) // Вестник СумДУ. Серия Физика, математика, механика. 2007. № 2. С. 33–59.
2. Смолеговский А.М. История кристаллохимии фосфатов. М.: Наука, 1986. 263 с.
3. Dorozhkin S.V., Epple M. Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates // Angew. Chem. Int. Ed. 2002. V. 41. P. 3130–3146.
4. Пальчик Н.А., Столповская В.Н., Мороз Т.Н., Григорьева Т.Н. Сравнительный кристаллохимический анализ некоторых биогенных минералов и их природных аналогов // Сыктывкар: Минералогия и жизнь, 2000. С. 112–114.
5. Кораго А.А. Введение в биоминералогия. СПб.: Недра, 1992. 280 с.
6. Голованова О.А. Патогенные минералы в организме человека. Омск: Изд-во ОмГУ, 2006. 400 с.
7. Вересов А.Г., Путляев В.И., Третьяков Ю.Д. Химия неорганических биоматериалов на основе фосфата кальция // Российский химический журнал. 2004. Т. 48. № 4. С. 52–64.
8. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates // Journal of Material Science. 2007. Т. 42. P. 1061–1095.
9. Elliot Jc. Structure & Chemistry of the Apatites & Other Calcium Orthophosphates. Amsterdam, 1994.
10. Данильченко С.Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения. Сума, 2004. С. 34–40.
11. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005. С. 202.
12. Ракин В.И., Каткова В.И. Неравновесный синтез оксалатов и фосфатов кальция. Образование и трансформация кристаллических фаз. Сыктывкар, 2005. С. 16–30.
13. Фадеева И.В., Шворнева Л.И., Баринов С.В., Орловский В.П. Синтез и структура магнийсодержащих гидроксилapatитов // Неорганические материалы. 2003. Т. 39. № 9. С. 1102–1105.
14. Фомин А.С., Баринов С.М., Фадеева И.В. и др. Наноразмерный гидроксилapatит, синтезированный осаждением в растворе желатина // Доклады академии наук. 2006. Т. 411. № 3. С. 348–351.
15. Розанцев Г.М., Заславская Л.В., Белоусова Е.Е. Синтез гидроксилapatита, модифицированного ионами лантана и кремния // Журнал неорганической химии. 2005. Т. 50. № 3. С. 357–361.
16. Сафронова Т.В., Шехирев М.А., Путляев В.И., Третьяков Ю.Д. Керамические материалы на основе гидроксилapatита, полученные из растворов различной концентрации // Неорганические материалы. 2007. Т. 43. № 8. С. 1005–1014.
17. Posner A.S., Duckaerts A.S. Infrared study of the carbonate in bones, teeth & francolite // Experientia. 1954. V. 10.
18. Добрыднев С.В., Быков А.П., Богач В.В., Бесков В.С. Расчет ионообменных и сорбционных свойств гидроксил- и фторapatитов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2001. № 2. С. 276–278.
19. Чайкина М.В., Никольская Ю.П. Система $\text{H}_3\text{PO}_4 - \text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_2\text{O}$ при 25 °C // Известия РАН. 1973. № 12. С. 43–49.

20. *Ежова Ж.А., Орловский В.П., Коваль Е.М.* Изучение условий совместного осаждения гидроксилapatита кальция, гидроксида титана и каллогена аммиаком из водных растворов // Журнал неорганической химии. 2000. Т. 45. № 4. С. 727–731.
21. *Кибальчиц В., Комаров В.Ф.* Экспресс-синтез кристаллов гидроксилapatита кальция // Журнал неорганической химии. 1980. Т. 25. № 2. С. 565–567.
22. *Орловский В.П., Ежова Ж.А., Родичева Г.В., Суханова Г.Е., Тезикова Л.А.* Изучение условий образования гидроксилapatита в системе $\text{CaCl}_2 - (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - \text{NH}_4\text{OH} - \text{H}_2\text{O}$ (25 °C) // Журнал неорганической химии. 1992. Т. 37. № 4. С. 881–883.
23. *Родичева Г.В., Орловский В.П., Романова Н.М.* Синтез и физико-химическое исследование глицинсодержащего гидроксилapatита кальция // Журнал неорганической химии. 2000. Т. 45. № 4. С. 648–651.
24. *Bayraktar D., Tas A.C.* Formation of hydroxyapatite precursors at 37 °C in urea – and enzyme urease-containing body fluids // Journal of materials science letters. 2001. V. 20. P. 401–403.
25. *Tas A.C.* Combustion synthesis of calcium hydroxyapatite powders // Abstracts Amer. Ceram. Soc. Westerville (Ohio): Amer. Ceram. Soc. 1999. P. 220.
26. *Kim W., Saito F.* Mechanochemical Synthesis of Hydroxyapatite from Constituent Powder Mixtures by Dry Grinding // Journal of Chemical Engineering of Japan. 2000. Vol. 33. № 5. P. 768–772.
27. *Титов А.Т., Ларионов П.М., Зайковский В.И., Иванова А.С.* Гидроксилapatит в крови человека // Поверхность, рентгеновские, синхротронные и нейронные исследования. 2000. № 7. С. 66–73.
28. *Титов А.Т., Ларионов П.М., Зайковский В.И., Иванова А.С.* Образование фосфатов кальция в органах кровообращения. Сыктывкар: Минералогия и жизнь, 2000. С. 118–120.
29. *Титов А.Т., Ларионов П.М., Щукин В.С., Зайковский В.И.* Гидроксилapatит в крови человека // Поверхность, рентгеновские, синхротронные и нейронные исследования. 2001. № 3. С. 74–79.
30. *Tas A.C.* Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 °C in synthetic body fluids // Biomaterials. 2000. № 21. P. 1429–1438.
31. *Голованова О.А., Герк С.А., Панова Т.В.* Анализ фазового состава и свойств кости человека // Вестник Омского университета. 2017. № 2 (84). С. 66–74.
32. *Комлев В.С., Фадеева И.В., Гурин А.Н. и др.* Влияние содержания карбонат-групп в карбонатгидроксилapatитовой керамике на ее поведение in vivo // Неорганические материалы. 2009. Т. 45. № 3. С. 373–378.
33. *Баринов С.М., Комлев С.В.* Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005.
34. *Баринов С.М.* Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // Успехи химии. 2010. Т. 79. № 1. С. 15–32.
35. *Brown W.E., Chow L.C.* Dental restorative cement pastes. USA, 1985.
36. *Takagi S., Chow L.S., Ishikawa K.* Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cement // Biomaterials. 1998. P. 125–131.
37. *Головин Ю.И.* Наноиндентирование и его возможности. М.: Машиностроение, 2009. 312 с.
38. *Калита В.И.* Физика и химия формирования биоинертных и биоактивных поверхностей на имплантатах. Обзор // Физика и химия обработки материалов. 2000. № 5. С. 28–45.
39. *Hench L.L.* Bioactive materials: The potential for tissue regeneration // J. Biomat. Mater. Res. 1998. V. 41. № 4. P. 511–518.
40. *Кудинов В.В., Бобров Г.В.* Нанесение покрытий напылением: Теория, технология и оборудование. М.: Металлургия, 1992. 187 с.

41. *Fazan F., Marquis P.M.* Dissolution behavior of plasma-sprayed hydroxyapatite coating // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2000. V. 11. P. 787–793.
42. *Park E., Condrate R.A., Hoeltzer D.T., Fishman G.S.* Interfacial characterization of plasma-spray coated calcium phosphate on Ti-6Al-4V // J. Mater. Sci. Mater. Med. 1998. V. 9. № 11. P. 643–649.
43. *Кузнецов В.Д.* Кристаллы и кристаллизация. М., 1953. 202 с.
44. *Стрикленд-Констебл Р.Ф.* Кинетика и механизм кристаллизации. Л.: Недра, 1971. 412 с.
45. *Тимофеева В.А.* Рост кристаллов из растворов и расплавов. М.: Наука, 1978. 268 с.
46. *Лодиз Р.А., Паркер Р.Л.* Рост монокристаллов. М.: Мир, 1974. 540 с.
47. *Lacefield W.* An introduction in bioceramics. New York, 1996. 375 p.
48. *Медведев Е.Ф.* Керамические и стеклокерамические материалы для костных имплантатов // Стекло и керамика. 1993. № 2. С. 18–20.
49. *Лысенко Л.Н.* Остеозамещающие материалы на основе фосфатов кальция в зеркале биоматериаловедения // Новое в стоматологии. 1997. Спец. выпуск. № 6 (56). С. 61–73.
50. *Чумаевский И.А., Орловский В.П., Ежова Ж.А., Минаева Н.А., Родичева Г.В., Стеблевский А.В., Суханова Г.Е.* Синтез и колебательные спектры гидроксилapatита кальция // Журнал неорганической химии. 1992. Т. 37. Вып. 7. С. 1455–1457.
51. *Frank-Kamenetskaya O., Kol'tsov A.* Ion substitutions and non-stoichiometry of carbonated apatite-(CaOH)synthesised by precipitation and hydrothermal methods // J. of Molecular Structure. 2011. V. 9. P. 9–18.
52. *Росеева Е.В., Франк-Каменецкая О.В., Голованова О.А., Зорина М.Л.* Образование минеральных фаз в прототипах ротовых жидкостей человека // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 7: Геология. География. 2009. № 2. С. 12–20.
53. *Измайлов Р.Р., Голованова О.А., Герк С.А., Панова Т.В.* Синтез гидроксилapatита при вариации параметров синовиальной жидкости человека // Бутлеровские сообщения. 2011. Т. 24. № 3. С. 133–137.
54. *Chikanova E.S., Golovanova O.A., Kuimova M.V.* Kinetic Characteristics of Crystallization in Prototypes of Biological Fluids. Biogenic-abiogenic interactions in natural and anthropogenic systems. Lecture Notes in Earth System Sciences. Switzerland, 2016. P. 501–515.
55. *Голованова О.А., Чиканова Е.С., Пунин Ю.О.* Основные характеристики процесса нуклеации в модельных растворах ротовой полости // Кристаллография. 2016. Т. 60. № 3. С. 503–510.
56. *Голованова О.А., Чиканова Е.С.* Кинетические характеристики кристаллизации из модельных растворов ротовой полости // Кристаллография. 2016. Т. 60. № 6. С. 988–996.
57. *Козлова О.Г.* Рост и морфология кристаллов. М.: МГУ, 1972. 303 с.
58. *Кидяров Б.И.* Кинетика образования кристаллов из жидкой фазы. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1979. 131 с.
59. *Мейер К.* Физико-химическая кристаллография. М.: Металлургия, 1982. 480 с.
60. *Банн Ч.* Кристаллы и их роль в природе и науке. М.: Мир, 1980. 312 с.
61. *Асбахов А.М.* Кристаллогенезис и эволюция системы «кристалл-среда». СПб.: Наука, 1993. 154 с.
62. *Хамский Е.В.* Кристаллизация из растворов. СПб.: Наука, Ленинградское отделение, 1969. 150 с.
63. *Голованова О.А., Пунин Ю.О., Высоцкий А.С., Ханнанов В.Р.* Влияние неорганических и органических примесей на нуклеацию одноводного оксалата кальция // Химия в интересах устойчивого развития. 2011. № 5. С. 501–508.

64. *El-Shall H., Jeon Jin-hwan, Abdel-Aal E.A., Khan S., Gower L., Rabinovich Y.* // Cryst. Res. and Technol. 2004. Vol. 39. № 3. P. 214–221.
65. Голованова О.А., Высоцкий А.С. Влияние неорганических и органических примесей на процесс кристаллизации одноводного оксалата кальция // Бутлеровские сообщения. 2011. Т. 26. № 12. С. 45–54.
66. Тодес О.М., Себалло В.А., Гольцикер А.Д. Массовая кристаллизация из растворов. Л., 1984. 232 с.
67. Краснова Н.И., Петров Т.Г. Генезис минеральных индивидов и агрегатов. СПб.: Невский курьер, 1997. 228 с.
68. Чернов А.А., Гиваргизов Е.И., Багдасаров Х.С., Кузнецов В.А. Современная кристаллография // АН СССР Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова. Т. 3. С. 279–298.
69. Bretherton T., Rogers A. // J. Crystal Growth. 1998. V. 192. P. 448–455.
70. Tazzoli V., Domeneghetti C. The crystal structures of whewellite and weddellite: reexamination and comparison // American Mineralogist. 1980. V. 65. № 3/4. P. 327–334.
71. Eckhardt F.E.W. Microorganisms and weathering of a sandstone monument // Krumbein W.E. (Ed.). Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology. The Terrestrial Environment., Ann Arbor Science Publishers. Michigan, 1978. P. 675–686.
72. Caneva G., Salvadori O. Biodeterioration of stone // Larraini L., Peiper R. (Eds.). 1989. The Deterioration and Conservation of Stone, UNESCO. Paris, 1989. P. 182–234.
73. Abonna F., Lundagermadsen H., Boistelle R. Crystallization of two magnesium phosphates. Effect of pH and concentration // Journal of Crystal Growth. 1982. V. 51. P. 6–14.
74. Кумоми Х. Зарождение кристаллов и их распределение по размерам // Неорганические материалы. 1999. Т. 35. № 6. С. 724–731.
75. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. М.: Химия, 1982. 464 с.
76. Мейер К. Физико-химическая кристаллография. М.: Металлургия, 1972. 480 с.
77. Банн Ч. Кристаллы, их роль в природе и науке. М.: Мир, 1970. 312 с.
78. Чернов А.А., Гиваргизов Е.И., Багдасаров Х.С. и др. Современная кристаллография. Образование кристаллов. Т. 3. М.: Наука, 1980. 408 с.
79. Rampazzi L., Andreotti A., Bonaduce I., Colombini M.P., Colombo C., Toniolo L. Analytical investigation of calcium oxalate films on marble monuments // J. Talanta. 2004. P. 967–977.
80. Стрикленд-Констэбл Р.Ф. Кинетика и механизм кристаллизации. Л.: Недра, 1971. 412 с.
81. Трушин Ю.В. Физическое материаловедение. СПб.: Наука, 2000. 385 с.
82. Tiselius H.G., Fomander A.M., Nilsson M.A. Studies on the crystallization process following addition of calcium phosphate crystals to solutions with a composition corresponding to that in the collecting duct // Scanning Microscopy. Vol. 13. No. 2–3. 1999. P. 213–221.
83. Яхно Т.А., Яхно В.Г., Соколов А.В. Процессы формообразования в высыхающих каплях сыворотки крови в норме и патологии // Биофизика. 2005. Т. 50. № 4. С. 726–734.
84. Мартусевич А.К. Кристаллографический анализ: общая характеристика // Вятский медицинский вестник. 2002. № 3. С. 59–61.
85. Самбулов В.И., Шатохина С.Н., Зенгер В.Г. и др. Новый подход к диагностике холестеатомы среднего уха у больных различных возрастных групп // Геронтология и гериатрия. 2001. Вып. 1. С. 104–105.
86. Трубникова Л.И., Албутова М.Л., Кузнецова Т.В. и др. Особенности липидного обмена и кристаллографических показателей биологических жидкостей при сахарном диабете у беременных // Акушерство и гинекология. 2004. № 6. С. 14–18.

87. Потехина Ю.П., Зубеев П.С., Страхов А.В. и др. Кристаллография и вискозиметрия желчи при желчнокаменной болезни // Клиническая лабораторная диагностика. 2001. 3. С. 33–35.
88. Лопатина В.В., Шатохина С.Н., Добровольская Г.В. и др. Особенности системной организации желудочного сока у больных с нормальной, повышенной и сниженной секреторной функцией желудка // Актуальные проблемы геронтологии. М., 1999. С. 183–186.
89. Колединцев М.Н., Майчук Н.В. Современные методы анализа слезной жидкости // Новое в офтальмологии. 2002. № 4. С. 32–37.
90. Колединцев М.Н. Клинические возможности кристаллографического анализа слезной жидкости при некоторых формах патологии глаза: дис. ... канд. мед. наук. М., 1999. 120 с.
91. Чухман Т.П. Кристаллографическое исследование слезной жидкости при воспалительных заболеваниях глаза: дис. ... канд. мед. наук. Самара, 1999. 160 с.
92. Савина Л.В., Павлищук С.А., Самсыгин В.Ю. с соавт. Поляризационная микроскопия в диагностике обменных нарушений // Клиническая лабораторная диагностика. 2003. № 3. С. 11–13.
93. Захарова Г.П., Шабалин В.В., Янов Ю.К., Тырнова Е.В., Клячко Л.Л., Шабалина О.Н. Способ получения биологической жидкости для морфологического исследования. Патент Российской Федерации, RU, 2005, №. 2293324.
94. Практикум по биохимии / под ред. проф. Н.П. Мешковой и акад. С.Е. Северина. М.: Издательство МГУ, 1979. 430 с.
95. Терновой С.К., Федотенков И.С., Гагарина Н.В. Количественный анализ уровня кальциноза коронарных артерий: сравнение информативности мультиспиральной компьютерной томографии и электронно-лучевой томографии // Терапевтический архив. 2006. С. 8–15.
96. Frank-Kamenetskaya O.V., Izatulina A.R., Kuz'mina M.A. Ion Substitutions, Non-stoichiometry and formation conditions of oxalate and phosphate minerals of the human body // Biogenic-Abiogenic Interactions in Natural and Anthropogenic Systems. Springer International Publishing Switzerland, 2016. P. 425–442.
97. Белькинд М.Б., Синицын В.Е., Лякишев А.А., Наумов В.Г., Терновой С.К. Коронарный кальций и лечение статинами // Терапевтический архив. 2006. С. 56–60.
98. Симоненко В.Б., Екимовских А.Ю., Долбин И.В. Кальциноз коронарных артерий – современное состояние проблемы Нижегородской обл. // Клиническая медицина. 2013. № 4. С. 11–15.
99. Малышева Ж.Н., Новаков И.А. Теоретическое и практическое руководство по дисциплине «Поверхностные явления и дисперсные системы». Волгоград: ВолгГТУ, 2008. 344 с.
100. Якубке Х.-Д., Ешкай Х. Аминокислоты, пептиды, белки: пер. с нем. М.: Мир, 1985. 456 с.
101. Ikawa N., Kimura T., Oumi Ya., Sano T. Amino acid containing amorphous calcium phosphates and the rapid transformation into apatite // J. Mater. Chem. 2009. V. 19. P. 4906–4913.
102. Ягодовский В.Д. Адсорбция. М.: БИНОМ: Лаборатория знаний, 2015. 216 с.
103. Wandt M.A.E., Underhill L.G. Covariance biplot analysis of trace element concentrations in urinary stones // British Journal of Urology. 1988. V. 61. № 6. P. 474–481.
104. Россеева Е.В., Голованова О.А., Франк-Каменецкая О.В. Термодинамическое моделирование образования основных минеральных фаз зубных камней // Минералогия техногенеза. Миасс, 2006. С. 160–174.
105. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 544 с.
106. Москалев Ю.И. Минеральный обмен. М.: Медицина, 1985. 288 с.

107. *Shi J., Klocke A., Zhang M., Bismayer U.* Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: Decomposition and transformation of carbonate groups // *Eur. J. Mineral.* 2005. V. 17. P. 769–775.
108. *Fleming D.E., Bronswijk W., Ryall R.L.* A comparative study of the adsorption of amino acids on to calcium minerals found in renal calculi // *Clinical science.* 2001. № 101. P. 159–168.
109. ASTM. Powder diffraction file.
110. *Недома И.* Расшифровка рентгенограмм порошков. М.: Metallurgia, 1975. 424 с.
111. *Гиллер Я.Л.* Таблицы межплоскостных расстояний. М.: Недра, 1966. Т. 1. 362 с.
112. *Кесслер И.* Методы ИК-спектроскопии в химическом анализе. М.: Мир, 1964. 268 с.
113. *Смит А.* Прикладная ИК-спектроскопия: пер. с англ. М., 1982. 244 с.
114. *Измайлов Р.Р., Голованова О.А.* Растворимость гидроксилapatита и карбонатгидроксилapatита, полученных из модельного раствора синовиальной жидкости человека // *Вестник Омского университета.* 2012. № 4. С. 109–113.
115. Основы аналитической химии: в 2 т. Т. 1 / под ред. Ю.А. Золотова. 5-е изд., стер. М.: Издательский центр «Академия», 2012. 384 с.

Технический редактор *Н.В. Москвичёва*
Программно-техническая реализация *Е.А. Малыгиной*

Дата выпуска: 16.11.2017.
1 электрон. опт. диск (CD-ROM); 12 см.
Тираж 10 копий. Объём Mb.

Издательство
Омского государственного университета
им. Ф.М. Достоевского
644077, г. Омск, пр. Мира, 55а
тел.: 8 (3812) 67-32-55, 64-30-61, 64-13-07