

Модельная оценка влияния размеров, формы и состояния поверхности нанокристаллов апатита на отклонение отношения Ca/P от стехиометрического значения

С.Н. Данильченко^{1,2,*}

¹ Сумский государственный университет, ул. Римского-Корсакова, 2, 40007 Сумы, Украина

² Институт прикладной физики НАН Украины, ул. Петропавловская, 58, 40000 Сумы, Украина

(Получено 29.10.2013; опубликовано online 06.04.2014)

В работе проанализированы причины отклонения измеряемого в биологических апатитах отношения Ca/P от стехиометрического значения. Путем простых модельных оценок показано, что отношение Ca/P может отличаться от стехиометрического вследствие малости размеров кристаллов и особенностей химического состава плоскостей их огранки. При этом отмечено, что только размерного эффекта отклонения Ca/P не достаточно для объяснения широких вариаций Ca/P в биологических апатитах. Это свидетельствует о значительном вкладе в вариабельность Ca/P изовалентных и гетеровалентных замещений кристаллической решетки. Задача определения преобладающих причин отклонения Ca/P от стехиометрического и оценка относительного вклада каждой из них связана с выяснением функциональной роли структурных несовершенств биогенных апатитов различного происхождения.

Ключевые слова: Апатит, Отношение Ca/P, Стехиометрия, Поверхностная плотность, Размер кристаллов

PACS numbers: 61.72.Ss, 61.30.Hn

1. ВВЕДЕНИЕ

Отношение Ca/P в апатитах кальция природного (геологического), биологического и синтетического происхождения является очень важным показателем дефектности структуры, в значительной степени определяющим физико-химические свойства минерала. Согласно идеализированной формуле гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, атомное отношение Ca/P равно 1,67. В реальных биологических апатитах это отношение отклоняется от стехиометрического как в большую, так и меньшую сторону, а разброс значений Ca/P может находиться в пределах от 1,37 до 1,79 и больше [1-4]. Недостаток кальция может быть обусловлен как его вакансиями, так и изовалентными (например, Mg^{2+}) и / или гетеровалентными (например, Na^+ , K^+) замещениями в катионной подрешетке апатита. К основным причинам дефицита фосфора относят весьма распространенное в биологических апатитах замещение фосфатного тетраэдра PO_4^{3-} плоским карбонатным треугольником CO_3^{2-} , приводящее к образованию карбонатного апатита В-типа [4, 5]. При этом, компенсация электрического заряда достигается вакансиями Ca^{2+} или гетеровалентными замещениями, приводящими к образованию апатита следующего состава: $\text{Ca}^{2+}_{10-x}\text{X}^+_x(\text{PO}_4^{3-})_{6-x}(\text{CO}_3^{2-})_x(\text{OH})_2$, где X^+ , например, Na^+ . Тогда, если допустить, что одно замещение $\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{PO}_4^{3-}$ соответствует одному замещению $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Ca}^{2+}$, то отношение Ca/P возрастает до $9/5 = 1,8$. При потере одного иона Ca^{2+} для сохранения нейтрального заряда необходимы два замещения $\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{PO}_4^{3-}$, что приводит к соотношению Ca/P $9/4 = 2,25$. Однако, существование вакансий Ca^{2+} маловероятно, особенно принимая во внимание довольно высокие концентрации Mg, Na и K в биоапатите, которые в значительной степени компенсируют имеющийся уровень карбонатных замещений [2, 4].

Одним из вариантов состава биогенного апатита может быть состав, предложенный в работе Legros R., et

al. [3], $\text{Ca}_{8,3\Box_{1,7}}(\text{PO}_4)_{4,3}(\text{CO}_3)_1(\text{HPO}_4)_{0,7}(\text{OH},\text{CO}_3)_{0,3\Box_{1,7}}$, где \Box – вакансии; при этом Ca/P = 1,66. Снижение отношения Ca/P до значений 1,5 и ниже вызывается дальнейшим замещением фосфатного иона PO_4^{3-} гидрофосфатным HPO_4^{2-} , с компенсацией заряда вакансиями Ca^{2+} или замещениями $\text{Na}^+(\text{K}^+) \rightarrow \text{Ca}^{2+}$. Присутствие в решетке апатита иона HPO_4^{2-} обнаруживается по данным инфракрасной спектроскопии [3, 4, 6], хотя при этом его концентрация и локализация не определяется достаточно точно. Кроме этого, теоретически, к снижению Ca/P может приводить образование вакансий Ca^{2+} для компенсации вакансий в позиции OH⁻.

Как видно, необходимость поддержания электрической нейтральности объема кристаллов апатита, в значительной степени ограничивает диапазон колебаний соотношения Ca/P, что не позволяет объяснить существенные отклонения этого отношения от стехиометрии, получаемые при исследованиях биологических апатитов [7, 8].

Причинами более широких вариаций Ca/P могут быть как поверхностные реакции обмена или адсорбции (например, существование т.н. неапатитного окружения кристаллов, в составе которого есть комплексы CaCO_3 или ионы Ca^{2+} и CO_3^{2-}), так и просто высокое значение удельной поверхности биоапатита. Естественно, что при толщине кристаллов, не превышающей 2-4 элементарные ячейки, соотношение Ca/P будет определяться не только объемом, но и поверхностью и любые изменения состава поверхности могут существенно повлиять на состав всего материала.

Целью настоящей работы было проведение модельных оценок влияния размеров и формы кристаллов апатита, а так же состояния ограничивающих их кристаллографических плоскостей на отклонения отношения Ca/P от стехиометрического значения для идеализированного бездефектного гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

* danil50@hotmail.ru

2. ФАКТОРЫ ВЛИЯНИЯ НА ОТНОШЕНИЕ КАЛЬЦИЯ К ФОСФОРУ В АПАТИТАХ

2.1 Структура и поверхность кристаллов апатита

Элементарная ячейка гидроксиапатита, соответствующая формуле $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, представлена на Рис. 1. Как видно, шесть фосфатных тетраэдров и связывающие их четыре иона $\text{Ca}(1)$ расположены внутри ячейки, имеющей форму ромбической призмы. Из остальных ионов кальция $\text{Ca}(2)$ только два находятся внутри ячейки, а четыре составлены из половинок ячеек, условно разделенных границами смежных ячеек. Таким образом, ограничивающие плоскости реальных кристаллов, совпадающие с боковыми гранями ромбических или гексагональных призм $\{100\}$, могут содержать избыток или недостаток Ca , в зависимости от того присутствуют или отсутствуют на них смежные ионы кальция. Не исключено, что в реальных кристаллах может иметь место и чередования областей избытка и недостатка ионов Ca на поверхности, тогда в целом такие кристаллы могут соответствовать стехиометрии апатита. Очевидно, эти особенности поверхности кристаллов апатита имеют функциональное значение в биологических системах, где нанокристаллический биоапатит находится в тесном контакте с органическими макромолекулами, образуя минерал-органические комплексы или природные биокомпозиты. Оборванные на границах кристалла химические связи и локально упорядоченный электрический заряд служат факторами взаимодействия органической и минеральной компоненты. Естественно, что при этом решающую роль играют размеры и форма (морфология) кристаллов биоапатита, поскольку поле этого взаимодействия определяется отношением «поверхность / объем» биокристаллов.

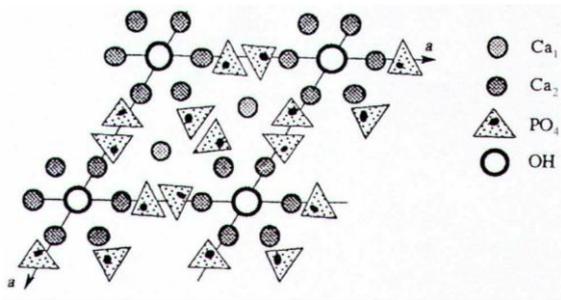


Рис. 1 – Структура гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, спроецированная на базисную плоскость гексагональной элементарной ячейки (согласно с [1, 5 и др.]

Однако, то, что кристаллографические плоскости $\{100\}$ и есть плоскостями гранки реальных кристаллов апатита, является фактом не доказанным, а, возможно, и ошибочным. В работе [9] методами измерения поверхностного заряда показано, что в физиологических условиях поверхность кристаллов апатита представлена фосфатными ионами, и плоскостями гранки реальных кристаллов есть плоскости $\{200\}$, проходящие через центр элементарной ячейки, изображенной на Рис. 1. При этом для одной элементарной ячейки плоскость $\{200\}$ с площадью $0,65 \text{ nm}^2$ содержит четыре фос-

фатных иона и совсем не содержит анионов OH^- . Данные многих работ [6, 10] свидетельствуют о том, что поверхностные фосфатные ионы апатита PO_4^{3-} вследствие гидратации становятся гидрофосфатными HPO_4^{2-} , что есть энергетически оправданным, т.к. уменьшает поверхностный заряд. Косвенным доказательством преимущественной поверхностной локализации HPO_4^{2-} есть повышенное отношение HPO_4/PO_4 в апатите костей молодых животных [6], характеризующихся сравнительно большей удельной поверхностью кристаллов.

Согласно работе [9], при pH 7 и выше, поверхность кристаллов апатита, обогащенная гидрофосфатными ионами, хорошо адсорбирует ионы Ca^{2+} из окружающего раствора. Механизм адсорбции связан с замещением двух ионов H^+ соседних поверхностных HPO_4^{2-} одним ионом Ca^{2+} . Проведенные количественные оценки дают поверхностную концентрацию Ca^{2+} немного превышающую два иона на 1 nm^2 . При этом адсорбция / десорбция Ca^{2+} регулируется показателем pH окружающей среды.

В согласии с вышеизложенным находится и развитая японскими учеными [11] теория построения кристаллов апатита из ионных групп $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$, названных кластерами Познера (“Posner cluster”). Эта модель роста так же приводит к преимущественной концентрации на поверхности фосфатных или гидрофосфатных ионов при сохранении стехиометрии и электрической нейтральности объема кристаллов.

Таким образом, одним из источников избыточного кальция биологического апатита, вероятно, является адсорбированный слой Ca^{2+} , компенсирующий отрицательный заряд поверхностных ионов PO_4^{3-} . Помимо этого, и в условиях сложных биосистем, и в синтетических модельных материалах, кристаллы апатита окружены структурированным гидратным слоем, обогащенным различными ионами, включая и Ca^{2+} [10].

2.2 Размеры и форма нанокристаллов биоапатита

Размеры и форма кристаллов биологического апатита, согласно многочисленным опубликованным данным, имеют довольно широкий разброс значений. Этот разброс, прежде всего, обусловлен принадлежностью биоминерала к различным физиологическим или патологическим тканям. Значительно различаются и физиологические апатиты в зависимости от их функционального назначения. В соответствии с результатами многих работ, длина кристаллов биоапатита костной ткани приблизительно равна 15-40 нм, а ширина (толщина) – 2-4 нм [1, 2]. Есть данные, что кристаллы биоапатита кости могут достигать размеров 110 нм в одном направлении и 5-6 нм в другом [2]. Наибольшими размерами характеризуются кристаллы зубной эмали [2]. Систематизированная информация о размерах и форме кристаллов апатита патологических депозитов в литературе отсутствует. Это объясняется, прежде всего, большим разнообразием биогенных апатитов патологической природы. Некоторые авторы указывают на существенно большие размеры кристаллов эктопических биоапатитов, по сравнению с физиологическими. Так, например, согласно работе [8], для кристаллов

биоапатита депозита митрального клапана (Рис. 2) продольные размеры равны 60-90 нм, а поперечные – 20-30 нм.

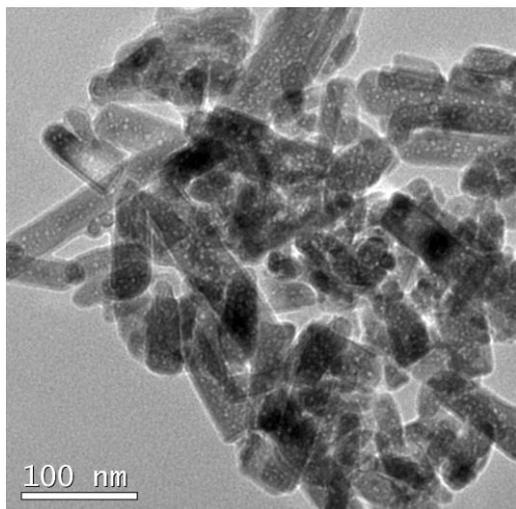


Рис. 2 – Электронно-микроскопическое изображение кристаллов биоапатита патологического депозита створки митрального клапана человека [8]

Следует отметить, что все экспериментальные методы указывают на вытянутость кристаллов биологического апатита в направлении гексагональной кристаллографической оси. Т.е., независимо от того являются ли кристаллы столбчатыми, игольчатыми или пластинчатыми, существенно большая часть их поверхности представлена боковыми гранями гексагональных призм, а не базисными плоскостями.

3. МОДЕЛИРОВАНИЕ ВАРИАЦИЙ ОТНОШЕНИЯ КАЛЬЦИЯ К ФОСФОРУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗМЕРОВ ГИПОТЕТИЧЕСКИХ КРИСТАЛЛОВ АПАТИТА

В модельных расчетах, проведенных в данной работе, использовались гипотетические кристаллы апатита, размеры которых в целом соответствовали результатам исследований разных авторов с применением различных инструментальных методик к разным материалам (биоапатиты костных тканей, зубной эмали, дентина, патологических кальцифи

катов). Внутренний объем кристалла считали соответствующим по составу бездефектному гидроксипатити: $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.

Для каждого варианта гипотетического кристалла были рассчитаны площадь поверхности S , объем V и число элементарных ячеек n , заключенных в кристалле (Таблица 1). Площадь S определяли как суммарную площадь боковых гексагональных граней кристалла. Значения n получали делением V на объем элементарной ячейки, равный $0,53 \text{ нм}^3$ [1]. Удельную поверхность кристаллов апатита находили из соотношения $\sigma = S_{total}/V\rho$, где S_{total} – полная площадь поверхности кристалла, ρ – удельный вес апатита ($\rho = 3,18 \text{ мг/мм}^3$ [1, 2]), и использовали только для сравнения с литературными данными.

Если предположить, что боковая грань элементарной ячейки апатита, с размерами $a = 0,943 \text{ нм}$ и $c = 0,688 \text{ нм}$ [2], имеет один избыточный ион Ca^{2+} , то количество этих ионов на единице площади поверхности кристалла будет $\eta = 1/0,943 \cdot 0,688 = 1,541$ [1/нм²]. Произведение площади поверхности гипотетического кристалла на поверхностную плотность кальция $S \cdot \eta$ даст общее количество избыточных ионов кальция на поверхности. Тогда, для расчета отношения Ca/P гипотетического кристалла следует использовать формулу:

$$Ca/P = \frac{10n + S \cdot \eta}{6n}$$

Значение η может быть выбрано с учетом той или иной особенности поверхности кристаллов (избыток или недостаток кальция). В случае одного недостающего иона на грань, $\eta = 1,541$ следует брать со знаком минус. Если предположить, согласно работе [9], что поверхностная концентрация адсорбированных ионов Ca^{2+} составляет два иона на 1 нм^2 , то принимается $\eta = 2,0$ [1/нм²]. Необходимо отметить, что площадь поверхности боковой грани элементарной ячейки апатита не зависит от того представлена она плоскостями {100} или плоскостями {200}.

В правой колонке Таблицы 1 приведены значения Ca/P для трех вариантов гипотетических кристаллов при одном и при двух избыточных ионах Ca^{2+} на одной боковой грани элементарной ячейки, а также для случая когда $\eta = 2,0$.

Таблица 1 – Результаты модельной оценки отклонение отношения Ca/P от стехиометрического значения в зависимости от размеров, формы и состояния поверхности нанокристаллов апатита

Размеры кристаллов, нм	S, нм ²	V, нм ³	σ, м ² /г	n	η, 1/нм ²	S · η*	(Ca/P), ат. % *
Вариант А 20 × 10 × 4	560	800	252	1509,4	1,541	862,96	1,762
					2,0	1120,0	1,790
					3,082	1725,92	1,857
Вариант В 50 × 20 × 4	2400	4000	201	7547,2	1,541	3698,4	1,748
					2,0	4800,0	1,773
					3,082	7396,8	1,830
Вариант С 70 × 30 × 30	8400	63000	51	118867,9	1,541	12944,4	1,685
					2,0	16800,0	1,690
					3,082	25888,8	1,703

* общее количество избыточных ионов кальция на поверхности кристалла $S \cdot \eta$ и значения Ca/P приведены для соответствующих значений поверхностной плотности Ca^{2+} η из предыдущей колонки

В левой колонке Таблицы 1 указаны три варианта гипотетических кристаллов апатита. Первые два случая (А и В) предусматривают возможность существования сросшихся стержневидных и пластинчатых кристаллических частиц апатита костной ткани [1, 2]. Рассчитанные для этих случаев σ хорошо согласуются со значениями активной поверхности кристаллов биоapatита, известными из литературы [1, 2, 12]. Третий из рассмотренных вариантов ($70 \times 30 \times 30$ нм) соответствует данным наших исследований патологических апатитов сердечнососудистой системы человека [8] и согласуется с результатами других работ. Разумеется, приведенные в Таблице 1 варианты гипотетических кристаллов не могут перекрыть весь спектр размеров и форм реальных кристаллов биогенного апатита, хотя достаточно представительны для этого класса материалов.

Полученные значения Ca/P хорошо отражают общую тенденцию роста отклонений от стехиометрии при уменьшении размеров кристаллов. Однако, величины рассчитанных отклонений не настолько значительны чтобы только размерными эффектами объяснить широкие экспериментальные вариации Ca/P. Это обстоятельство указывает на весомый вклад других причин отклонений Ca/P, важнейшей из которых есть способность апатитов к изовалентными и гетеровалентными замещениям.

Важным моментом в интерпретации экспериментальных результатов об избытке или недостатке кальция в биоapatите есть выяснение локализации избыточного кальция или замещающих его катионов. Помимо собственно объема кристаллов с учетом вариантов их огранки, необходимо рассматривать и адсорбцию ионов на поверхности по механизму образования двойного электрического слоя [12]. Органические ткани и жидкости, окружающие биокристаллы, содержат те же элементы, что и минеральная компонента, хотя с еще большими вариациями концентраций, зависящими от функциональной роли

конкретной минерализованной ткани. Разделение вкладов в общую концентрацию элементов от кристаллической и от некристаллической составляющей минералов биологического происхождения является чрезвычайно сложной экспериментальной задачей.

ВЫВОДЫ

Путем простых модельных оценок показано влияние размеров кристаллов апатита на отклонение соотношения Ca/P от стехиометрического значения в условиях ограниченного и обоснованного избытка адсорбированных ионов Ca^{2+} на поверхности кристаллов. Установлено, что размерный эффект отклонения Ca/P не достаточен для объяснения широких вариаций этого параметра, наблюдаемых экспериментально в биологических апатитах разного происхождения. В большей степени это справедливо для относительно больших кристаллов биоapatита кальцинируемых тканей, чем для минерала костной ткани. Исходя из этого, весомым источником отклонений Ca/P следует считать наряду с размерным фактором и способность апатитов к изовалентными и гетеровалентными замещениям в кристаллической решетке. В большинстве случаев при исследовании реальных биоминералов следует принимать во внимание и состав неапатитных составляющих, включая ионные компоненты гидратного слоя. Задача выявления преобладающих причин отклонения соотношения Ca/P от стехиометрического и оценки относительного вклада каждой из них связана с выяснением функциональной роли структурных несовершенств биогенных апатитов различного происхождения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность Проценко Ивану Ефимовичу за плодотворную дискуссию и ценные замечания при обсуждении рукописи.

Модельна оцінка впливу розмірів, форми та стану поверхні нанокристалів апатиту на відхилення співвідношення Ca/P від стехіометричного значення

С.М. Данильченко^{1,2}

¹ Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, 40007 Суми, Україна

² Інститут прикладної фізики НАН України, вул. Петропавлівська, 58, 40000 Суми, Україна

У роботі проаналізовано причини відхилення співвідношення Ca/P від стехіометричного значення для апатитів. Шляхом простих модельних оцінок показано, що відношення Ca/P може відрізнятися від стехіометричного внаслідок малих розмірів кристалів та особливостей хімічного складу площин їх огранки. При цьому відмічено, що лише розмірного ефекту відхилення Ca/P не достатньо для пояснення широких варіацій Ca/P у біологічних апатитах. Це свідчить про значний вклад у варіабельність Ca/P изовалентних та гетеровалентних заміщень кристалічної решітки. Задача виявлення переважних причин відхилення Ca/P від стехіометричного та оцінка їх відносних вкладів пов'язана з визначенням функціональної ролі структурних недосконалостей біоapatитів різного походження.

Ключові слова: Апатит, Відношення Ca/P, Стехіометрія, Поверхнева густина, Розмір кристалів.

Model Evaluation the Effect of Size, Shape and Surface Condition of Apatite Nanocrystals on the Deviation of Ca/P ratio from stoichiometric

S.N. Danilchenko^{1,2}

¹ Sumy State University, 2, Rimsky Korsakov Str., 40007 Sumy, Ukraine

² Institute of Applied Physics, NAS Ukraine, 58, Petropavlovskaya Str., 40030 Sumy, Ukraine

The causes of Ca/P ratio deviation in biological apatites from stoichiometric one were discussed. By the simple model evaluation Ca/P ratio was shown to deviate from stoichiometric one because of small sizes of crystals, and peculiarities in chemical composition of their facets. Also size effect is noted to be insufficient for explanation of wide variations of Ca/P ratio in biological apatites. It proves the significant contribution of lattice isovalent and heterovalent substitution into variability of Ca/P ratio. The problem of revealing the predominant causes of Ca/P deviation from stoichiometric one and estimation of their relative contribution is related to determination of the functional role of the structural imperfections in biological apatites of different origin.

Keywords: Apatite, Ca/P ratio, Stoichiometry, Surface density, Crystal size.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J.C. Elliot, *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates. Studies in Inorganic Chemistry* (Amsterdam: Elsevier: 1994).
2. J.C. Elliot, *Calcium Phosphate Biominerals. In Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M. (Eds.) Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance. Series: Reviews in mineralogy and geochemistry. 48*, (Mineralogical Society of America: Washington: 2002).
3. R. Legros, N. Balmain, G. Bonel, *J. Chem. Res. (S)* 8 (1986).
4. G. Montel, G. Bonel, J.C. Heughebaert, J.C. Trombe, C. Rey, *J. Cryst. Growth* **53**, 74 (1981).
5. T.I. Ivanova, O.V. Frank-Kamenetskaya, A.B. Kol'tsov, *Zeitschrift für Kristallographie* **219**, 479 (2004).
6. L. Spevak, C.R. Flach, T. Hunter, R. Mendelsohn, A. Boskey, *Calcified Tissue Inter.* **92**, 418 (2013).
7. C. Lange, C. Li, I. Manjubala, W. Wagermaier, J. Kühnisch, M. Kolanczyk, S. Mundlos, P. Knaus, P. Fratzl, *J. Struct. Biol.* **176**, 159 (2011).
8. S.N. Danilchenko, V.N. Kuznetsov, A.S. Stanislavov, A.N. Kalinkevich, V.V. Starikov, R.A. Moskalenko, T.G. Kalinichenko, A.V. Kochenko, Jinjun Lü, Jian Shang, Shengrong Yang, *Cryst. Res. Technol.* **48**, 153 (2013).
9. I.S. Harding, N. Rashid, K.A. Hing, *Biomaterials* **26**, 6818 (2005).
10. S. Cazalbou, C. Combes, D. Eichert, C. Rey, *J. Mater. Chem.* **14**, 2148 (2004).
11. K. Onuma, A. Ito, *Chem. Mater.* **10**, 3346 (1998).
12. A.S. Posner, *J. Biomed. Mater. Res.* **19**, No3, 241 (1985).