

## ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИИ АМИНОКИСЛОТ НА ГИДРОКСИЛАПАТИТЕ

Е.С. Чиканова, О.А. Голованова, А.А. Осенняя

ФГБОУ ВПО «ОмГУ им. Ф.М. Достоевского»

**Введение.** Взаимодействие органической и минеральной составляющих имеет определяющее значение в таких важных процессах биогенной кристаллизации, как формирование костного матрикса млекопитающих, а также зарождение и рост патогенных новообразований. Так, построение твердых тканей *in vivo* всегда происходит за счет минерального укрепления сложившейся ранее структурной матрицы – сети коллагеновых волокон. В условиях нежелательной минерализации молекулы органических веществ также могут служить центрами кристаллизации, о чем свидетельствуют исследования морфологии и текстурно-структурных характеристик физиогенных и патогенных агрегатов (костей, почечных, слюнных, зубных и других типов камней). Центром зародышей таких агрегатов чаще всего является органическое вещество, а на милли- и микро-уровнях исследования прослеживается слоистая структура: чередуются различной толщины зоны органического и минерального состава. Но до настоящего времени недостаточно изученным остается механизм взаимодействия между органическими и минеральными компонентами биологических сред в ходе физиогенного и патогенного минералообразования.

**Материалы и методы.**

*Синтез гидроксилапатита (ГА).* «Мокрый» синтез ГА осуществляли по реакции (1).  $10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3 + 6\text{H}_2\text{O}$  (1)

Осаждение проводили путем сливания растворов нитрата кальция  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (ч.д.а.), двузамещенного фосфата аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (ч.д.а.) и водного раствора аммиака  $\text{NH}_4\text{OH}$  (ч.д.а.). Полученную твердую фазу анализировали методами РФА (D8 Advance, Bruker), ИК-спектроскопии (ФТ-02, МНПВО), БЭТ (Сорптомер), оптической микроскопии (XSP-104).

*Сорбционный эксперимент.* Навеску ГА массой 0,5 г и заливали раствором аминокислоты (АК) с  $\text{pH } 6.50 \pm 0.05$  ( $C_{\text{АК}} = 2\text{--}30$  ммоль/л,  $V_{\text{АК}} = 25.0$  мл, глицин, серин, треонин, тирозин). Адсорбционные сосуды плотно закрывали и проводили 20 минутное встряхивание. После чего выставляли на различные временные промежутки. По истечении заданного времени растворы фильтровали через фильтр синяя лента, фотометрически определяли остаточную концентрацию аминокислот. Осадок после сорбции

высушивали в сушильном шкафу при  $t = 80$  °С, затем в эксикаторе. Образцы взвешивали и изучали на оптическом микроскопе (XSP-104, ув. 100), ИК-спектроскопией (ФТ-02, МНПВО), РФА (Дрон-3).

**Результаты и обсуждения.**

Исследование твердой фазы методом РФА показало, что состав синтезированных образцов представлен ГА (2θ: 25.9, 31.8, 32.9 и 39.8). На ИК-спектрах четко фиксируются полосы поглощения с максимумами при 3570, 1650, 1090, 1040, 962, 630, 603 и 565  $\text{см}^{-1}$ , соответствующие анионам  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{OH}^-$  и молекулами воды в структуре гидроксилапатита. Пики при 1040 и 1090  $\text{см}^{-1}$  вызваны антисимметричными валентными колебаниями связей P-O. Интенсивности с максимумами поглощения при 603 и 565  $\text{см}^{-1}$  обусловлены трижды вырожденными валентными колебаниями связей O-P-O. Пик 630  $\text{см}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям  $\text{OH}^-$  группы [Shi, 2005]. Деформационные колебания связей O-H в молекулах структурно связанной воды и в гидроксид-ионах проявляются при 1650  $\text{см}^{-1}$ . Кроме того, широкая полоса в области 2700–3700  $\text{см}^{-1}$  и пик при 3570  $\text{см}^{-1}$  могут быть отнесены к валентным колебаниям H-O-H и  $\text{OH}^-$ , соответственно. Также можно заметить, что спектры содержат полосы поглощения  $\text{CO}_3^{2-}$  с максимумами при 1460, 1422 и 875  $\text{см}^{-1}$ .

Исследование образцов методом оптической микроскопии показало, что образующиеся частицы представлены в виде агрегатов, характерных для ГА (рис. 1).

Методом БЭТ была рассчитана удельная поверхность ГА и ее значение составило 72,0  $\text{м}^2/\text{г}$ , средний размер кристаллитов ~13 нм.

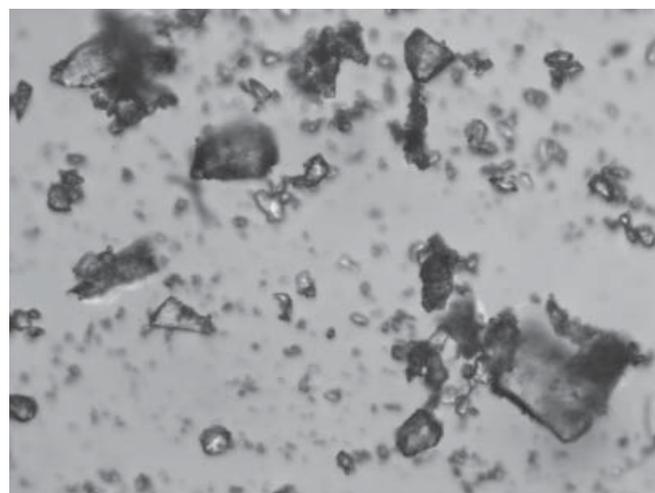
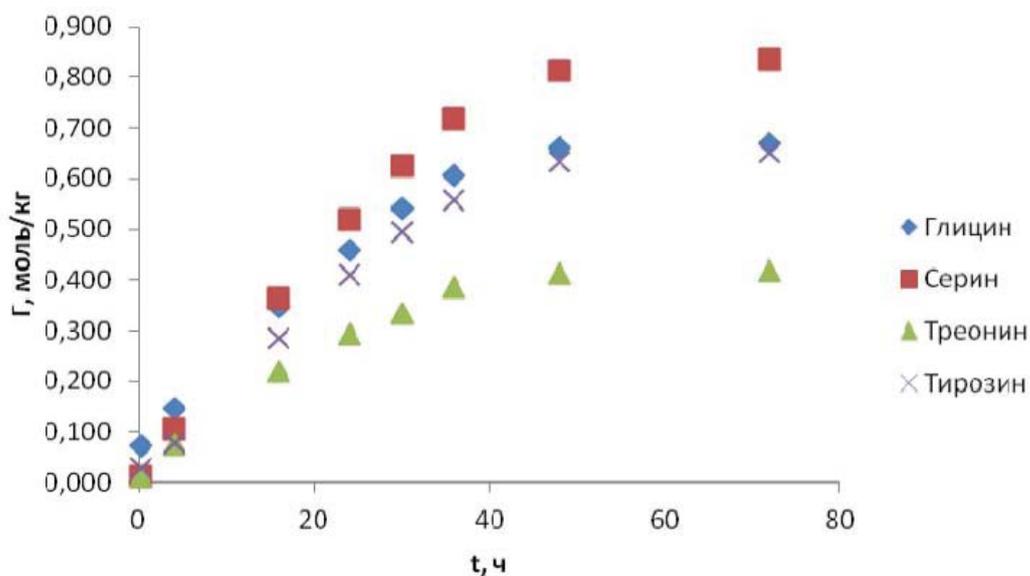
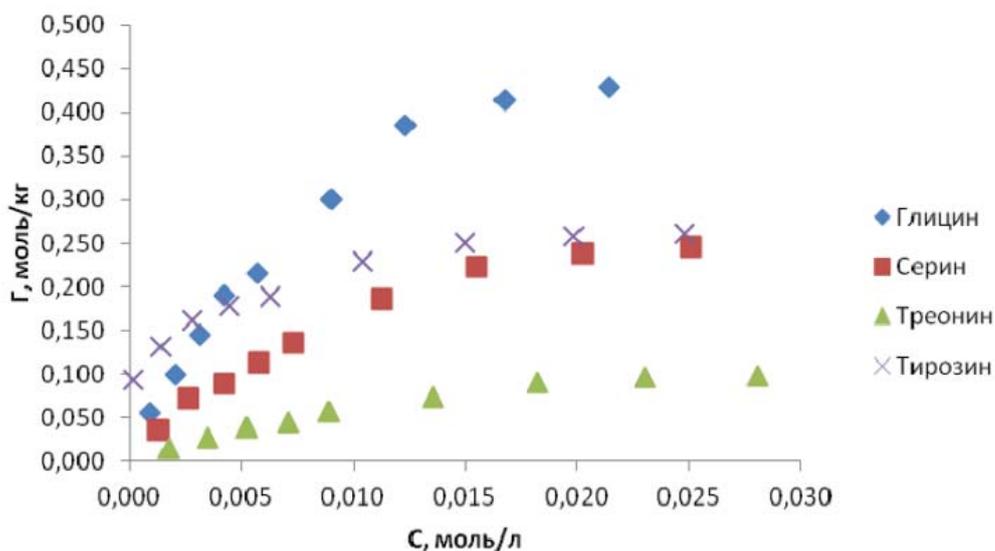


Рис. 1. Фотография ГА

Рис. 2. Зависимость величины сорбции АК на гидроксилapatите от времени контакта,  $T = 298 \text{ K}$ ,  $\text{pH} = 6.50 \pm 0.05$ Рис. 3. Изотермы сорбции АК на гидроксилapatите при  $T = 298 \text{ K}$ ,  $\text{pH} = 6.50 \pm 0.05$ 

Согласно принятым теориям [Fleming et. al., 2001], 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 проведена серия опытов при разных временах контакта растворов аминокислот с концентрацией 0,020 моль/л с ГА. Результаты показывают, что время установления сорбционного равновесия составляет 48 час (рис. 2).

Для построения изотерм сорбции варьировали концентрацию аминокислот в пределах от 0,002 до 0,03 моль/л (диапазон концентрации, характерный для ротовой жидкости человека [Kawasaki et. al., 1989]) (рис. 3).

Исследуемые аминокислоты имеют лучшую корреляцию в линейных координатах изотермы Лэнгмюра ( $r^2 = 0,98-0,99$ ).

В ИК-спектрах образцов гидроксилapatита после адсорбции с серином,  $C = 0.03$  моль/л,  $\text{pH} = 6.50 \pm 0.05$  малоинтенсивная полоса поглощения при  $1743 \text{ см}^{-1}$ , вероятно, соответствует колебаниям связей  $\text{C}=\text{O}$ . Наблюдаемая узкая полоса поглощения при  $1656 \text{ см}^{-1}$ , по-видимому, относится к деформационным колебаниям связей  $\text{N}-\text{H}$  в аминах и ионах типа  $\text{NH}_3^+$ . Регистрируемые полосы поглощения при  $1347$  и  $1412 \text{ см}^{-1}$  соответствуют деформационным колебаниям связей  $\text{C}-\text{H}$  в структурных фрагментах типа  $-\text{CH}-$  и  $-\text{CH}_2-$ , а также симметричным деформационным колебаниям связей  $\text{N}-\text{H}$  в ионах типа  $\text{NH}_3^+$ . Следует отметить, что, кроме того, в ИК спектрах данного образца дополнительно регистрируются полосы поглощения в

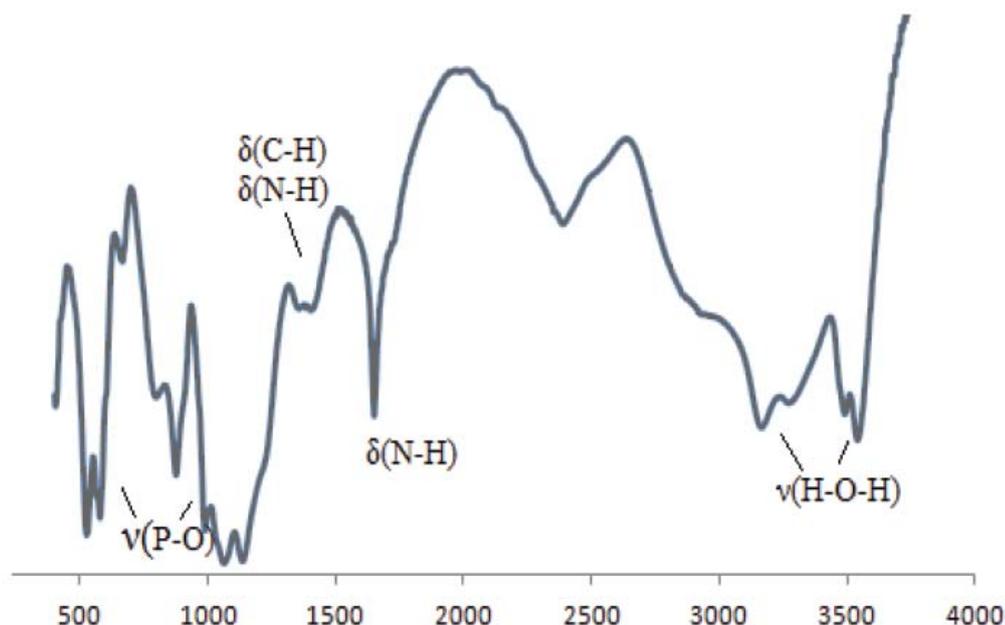
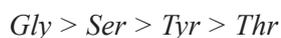


Рис. 4. ИК-спектры образцов гидроксилапатита после адсорбции с серином,  $C = 0.03$  моль/л,  $pH = 6.50 \pm 0.05$

областях колебаний связей P-O ионов  $PO_4^{3-}$ . Указанные изменения могут быть обусловлены химическим взаимодействием молекулы серина и фосфат-иона.

Сравнивая между собой поверхностно-активные свойства аминокислот при их сорбции на гидроксилапатите их можно расположить в ряд по уменьшению величины сорбции:



Аналогичный ряд получен при расчете изменения энергии Гиббса. Меньшее значение характерно для глицина. В условиях эксперимента в водном растворе исследуемые аминокислоты присутствуют в основном в виде заряженных частиц, способных сорбироваться как на положительных, так и на отрицательных областях поверхности кристаллов гидроксилапатита.

#### Заключение.

Таким образом, в ходе эксперимента получены образцы гидроксилапатита. Проведен сорбционный

эксперимент порошка ГА с аминокислотами (глицин, серин, треонин, тирозин). Установлено, что равновесие устанавливается за 48 часов. Наибольшая величина сорбции характерна для глицина.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Shi J. Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: decomposition and transformation of carbonate groups // *Eur. J. Miner.* 2005. V. 17. P. 769–775.
2. Fleming D.E., Bronswijk W, Ryall R.L. A comparative study of adsorption aminoacids on to calcium minerals found in real calculi // *Clinical Science.* 2001. № 101. P. 159–168.
3. Kawasaki A., Kawano K., Terada Y., Hirayasu R. Interaction of hydroxyapatite with aminoacids // *Nihon Hatetsu Shika Gakkai Zasshi.* 1989. V. 33. № 3. P. 522–529.