

На правах рукописи



Чиканова Екатерина Сергеевна

**КИНЕТИКА ОБРАЗОВАНИЯ И РОСТА ТВЁРДОЙ ФАЗЫ ИЗ
МОДЕЛЬНЫХ РАСТВОРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ
ЖИДКОСТЕЙ**

02.00.04 – физическая химия
(химические науки)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Нижний Новгород – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского»

Научный руководитель: доктор геолого–минералогических наук, профессор
Голованова Ольга Александровна

Официальные оппоненты: **Князев Александр Владимирович**
доктор химических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», декан химического факультета

Воротынцев Андрей Владимирович
кандидат химических наук, ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева», доцент кафедры «Нанотехнологии и биотехнологии»

Ведущая организация: ФГБУН Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук (ИФПМ СО РАН), Томск

Защита состоится «22» сентября 2017 года в 15⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 212.165.06 при Нижегородском государственном техническом университете им. Р. Е. Алексеева по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, ул. Минина, д. 24.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородского государственного технического университета им. Р. Е. Алексеева и на сайте университета: <http://www.nntu.ru/content/aspirantura-i-doktorantura/dissertacii>

Автореферат разослан «10» августа 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета Д 212.165.06

Соколова

Соколова Т.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Законы кристаллизации интересны, в частности, тем, что между ними и отдельными законами генезиса и роста в живой и неживой природе обнаруживается сходство (Юшкин Н.П., 2007; Руди Ш., 2014). Однако исследования последних лет показали, что грань между живым и неживым устанавливается с большим трудом, а понятия «кристалл» и «жизнь» не являются взаимоисключающими (Борисова О.Н., 2016). Кристаллы и живой организм можно представить примерами осуществления крайних возможностей в природе. Известно, что обменные процессы в живом организме сопровождаются разложением сложных химических соединений на более простые, и синтезом складывающихся из простых – сложных соединений. Это происходит в жидкой или жидкокристаллической среде с наименьшими затратами энергии. Вместе с тем живой организм остаётся самим собой в течение десятков лет (Хромушин В.А. и соав., 2016). На сегодняшний день разработка и совершенствование методов исследования биологических жидкостей представляют большой интерес при диагностике и моделировании различных состояний живого мира. Данные современных исследований показывают, что первичные изменения, связанные с действием, например, патогенного фактора на организм возникают, прежде всего, на молекулярном уровне (Шатохина С.Н., 1995; Яхно Т.В., 2013). В биологических жидкостях происходят постоянные изменения молекулярного состава и характера взаимодействия различных компонентов. Такие изменения являются наиболее информативными при исследовании гомеостаза молекулярного уровня и могут служить основой для диагностики ранних стадий различных заболеваний. Но в настоящее время недостаточно изучена взаимосвязь процесса кристаллизации биологических жидкостей с данными их химического состава и физическими показателями (Воробьев А.А., 2004). В большинстве работ, посвященных вопросам роста кристаллов, изучаются простые системы, что малоприменимо к биологическим жидкостям (Титов А.Т. и соав., 2001; Росеева Е.В. и соав., 2009).

Сложность изучения кристаллизации в биологических жидкостях заключается в том, что в их состав входит большое число компонентов, а также существует множество факторов, влияющих на процессы кристаллизации в биосредах. Кроме того, образование данных соединений происходит в неравновесных условиях и за их возникновение отвечают кинетические факторы.

Таким образом, изучение процессов кристаллизации в прототипах биологических жидкостей важны как для получения новых фундаментальных знаний, так и для создания новых диагностических методов для предотвращения ряда заболеваний.

Цель работы заключалась в определении кинетических параметров кристаллизации (зарождения, роста и агрегации) малорастворимых соединений из модельных растворов (слюны – раствор 1 и жидкой фазы зубного налёта – раствор 2) и исследовании адсорбционного взаимодействия брушита и гидроксиапатита с аминокислотами.

В соответствии с общей целью в работе решались следующие *задачи*:

1) Изучить закономерности процесса кристаллизации *in vitro* при варьировании состава модельного раствора - пересыщения и кислотности среды.

2) Установить влияние катионов (магния, стронция, марганца), анионов (фторидов, карбонатов), а также органических веществ (аминокислот, белка – казеина,

глюкозы) на стадии кристаллизации.

3) Исследовать адсорбционное взаимодействие 15 аминокислот различных групп (кислотных, нейтральных, основных) с минеральными фазами (брушитом и гидроксиапатитом).

4) Определить изменения кристаллизации модельных растворов в капле малого объема на смачиваемой подложке (микрорекристаллизация) при изменении её химического состава и определить взаимосвязь морфологии кристаллической структуры, образовавшейся при высыхании капель, с её фрактальными размерами.

Научная новизна результатов диссертационной работы:

1) Впервые определены кинетические параметры стадий кристаллизации (нуклеации, роста, агрегации) при 298 К из модельных растворов при варьировании пересыщения. Определены механизмы зарождения и роста фосфатов кальция, установлены лимитирующие стадии процесса.

2) Исследованы кинетические параметры кристаллизации из модельных растворов при варьировании, кислотности среды, неорганических и органических добавок. Установлено замедляющее и ускоряющее действие компонентов раствора.

3) Впервые установлено действие аминокислот различных групп на этапах кристаллизации, определены размеры и скорость образования агрегатов. Показано, что влияние аминокислоты зависит от её природы и исходной концентрации в растворе.

4) Изучены физико-химические параметры сорбции аминокислот на брушите и гидроксиапатите.

5) Предложена термодинамическая модель структурообразования в капле биологической жидкости и её связь с фрактальной размерностью. Показано, что данную величину можно использовать для анализа микроскопических изображений капель биологических жидкостей. Показана связь ионно-электролитного состава с характером структурообразования.

Практическая значимость. Полученные в диссертации результаты по кинетике кристаллизации из модельных растворов с различными пересыщениями, pH и концентрациями компонентов могут быть использованы для профилактических мероприятий в лечении заболеваний полости рта (зубные и слюнные камни). Позволяют наметить пути к разработке эффективных методов профилактики болезней ротовой полости человека с использованием известных фармакологических и витаминных препаратов, биодобавок и минеральных вод соответствующего состава. Показана возможность лабораторной диагностики уровня физической нагрузки на организм человека с целью выявления уровня адаптированности и резервных возможностей организма по составу биологического раствора. Результаты исследования химического состава и структурных свойств разных групп испытуемых могут быть полезны для оценки физической нагрузки и её корректировки (**Патенты РФ № 2463962, № 2556371**), а данные по фрактальной размерности помогут в автоматизации этого процесса (**База данных № 2016620163**).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Кинетические параметры нуклеации, роста и агрегации *in vitro* из модельных растворов биологических жидкостей при варьировании пересыщения и кислотности среды.

2. Кинетические параметры нуклеации, роста и агрегации *in vitro* из модельных растворов биологических жидкостей в присутствии неорганических добавок и варьировании их концентрации.

3. Кинетические закономерности нуклеации, роста и агрегации *in vitro* из модельных растворов биологических жидкостей в присутствии органических добавок и варьировании их концентрации.

4. Термодинамическая модель структурообразования в высыхающей капле биологической жидкости и ее связь с фрактальной размерностью поликристаллических объектов.

Достоверность и надежность полученных результатов обеспечена применением отработанных методик расчетов, экспериментов по кристаллизации и измерений, использованием комплекса взаимодополняющих методов исследования, воспроизводимостью результатов повторных экспериментов, а также согласием с имеющимися литературными данными.

Апробация работы. Результаты работы представлены на следующих всероссийских и международных научных конференциях: V International Symposium “Biogenic-abiogenic interactions in natural and anthropogenic systems” (Санкт-Петербург, 2014); IX Международная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации» (Иваново, 2014, 2016); Всероссийская молодежная конференция «Медицинские основы жизнедеятельности организма в норме, патологии и эксперименте» (Омск, 2012); Школа-конференция «Неорганические соединения и функциональные материалы (ICFM-2015)» (Новосибирск, 2015); Всероссийская молодежная научная конференция «Минералы: строение, свойства, методы исследования» (Екатеринбург, 2013, 2015, 2016); XXVII симпозиум «Современная химическая физика» (Туапсе, 2015); V Всероссийской научной молодежной школы-конференции «Химия под знаком СИГМА: исследования, инновации, технологии» (Омск, 2016); XII Международная научная конференция “Радиационно-термические эффекты и процессы в неорганических материалах” (Севастополь, 2016).

Публикации. По результатам проведенных исследований опубликовано 17 работ, в том числе 2 главы в коллективных монографиях, 6 статей в журналах из перечня рецензируемых научных журналов (ВАК, Scopus, Web of Science), 1 база данных и 8 тезисов докладов.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ в рамках научных проектов: 15-33-50072 мол_нр, 16-33-00684 мол_а, 15-29-04839 офи_м; ФГБОУ ВО «ОмГУ им. Ф.М. Достоевского (грант «Молодым ученым ОмГУ»); стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам (СП-4176.2015.4).

Личный вклад автора состоит в критическом обзоре имеющихся литературных данных по теме работы, на основании которого сформулированы задачи исследования и спланированы эксперименты. Основная часть результатов, приведенных в диссертации, получена непосредственно автором или при его личном участии. Физико-химические исследования частично проведены на базе ОНЦ СО РАН г. Омск. Соискателем самостоятельно выполнена обработка, анализ и обобщение полученных данных.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов и списка литературы (169 наименований). Общий объем диссертации составляет 182 страницы, включая 77 рисунков и 60 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, обозначена научная новизна и практическая значимость работы.

Первая глава посвящена обзору литературы. В ней приведены теоретические основы процесса кристаллизации: стадии, механизмы, методы изучения. Уделено внимание вопросам изучения массовой кристаллизации из водных растворов. Представлен материал по кристаллизации в биологических жидкостях (БЖ): реальных и модельных; показано влияние различных добавок на этот процесс. Приведены сведения о микрокристаллизации в капле БЖ: способы изучения и применение в медицине. Описаны особенности взаимодействия поверхности фосфатов кальция с белками и аминокислотами.

Таблица 1. Средние концентрации неорганических ионов в биосредах, ммоль/л

Ионы	Модельные растворы	
	1	2
	pH = 7.0 I = 40 мМ	pH = 7.0 I = 113 мМ
Ca ²⁺	1.5	7.44
Na ⁺	13.9	26.9
K ⁺	26.2	73.3
Mg ²⁺	0.65	3.90
NH ₄ ⁺	3.6	43.8
Cl ⁻	12.7	35.7
F ⁻	0.0106	0.0035
HCO ₃ ⁻	7.4	9.5
HPO ₄ ²⁻	5.6	17.4

Вторая глава содержит описание основных методик исследований и алгоритмы расчёта физико-химических величин. При проведении эксперимента по кристаллизации использовались значения диапазона концентраций основных неорганических компонентов модельных растворов 1 (слюны) и 2 (жидкой фазы зубного налёта - ЖФЗН) (табл. 1). Пересыщение (S) относительно осадкообразующих ионов кальция и гидрофосфат – ионов создавали в диапазоне 5÷50. Влияние кислотности среды изучали в диапазоне варьирования, характерного для данных растворов – pH=5.5÷8.5. Эксперимент проводили в термостатируемых условиях при температуре 298 К. Для изучения влияния неорганических и органических добавок на процессы кристаллизации использовались

вещества, представленные в табл. 2. Стадию нуклеации изучали визуальным методом по помутнению раствора, кинетику роста и агрегации турбидиметрическим методом (КФК-2), кинетические характеристики методом прямой потенциометрии с ионоселективным электродом на Ca²⁺ (И-160 МИ) в термостатируемой ячейке. Размер частиц определяли на лазерном дифракционном анализаторе Shimadzu «SALD-2101». Рентгенофазовый анализ (РФА) твердых фаз проводили на дифрактометре «D8 Advance» (Bruker) с расшифровкой дифрактограмм в программном комплексе «EVA» (Bruker). Количественный фазовый анализ смесей фосфатов кальция выполняли в программе «TOPAS 3.0» (Bruker). ИК-спектры твердых фаз регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «ФСМ 2202» (Инфраспек), пробы готовили прессованием в таблетки с KBr. Количественное определение содержания Mg²⁺, Sr²⁺ в образцах проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) на спектрометре «710-ES» (Varian). Для изучения сорбции аминокислот (АК) на фосфатах кальция навеску твердой фазы помещали в колбу и заливали раствором аминокислоты: концентрация 2 ÷ 30 ммоль/л, T=298 К, pH=6.5. По истечении заданного времени содержимое отфильтровывали и определяли остаточное содержание АК в фильтрате спектрофотометрическим методом. Удельную поверхность порошков измеряли по методу БЭТ на приборе «Сорботметр». Морфологию частиц исследовали с применением оптической микроскопии (микроскоп «XSP-104»).

Таблица 2. Вид и концентрации добавок в модельных растворах 1 и 2, ммоль/л

Компонент	1	2
Mg ²⁺	3.25 – 9.75	19.5 – 58.5
Sr ²⁺	0.25 – 0.75	
Mn ²⁺ , 10 ⁻³	0.4 – 6	
HCO ₃ ⁻	37 - 111	47.5 – 142.5
F ⁻	0.053 – 0.159	0.0175 – 0.0525
Глицин Gly	1.93 – 9.65	
L – Серин Ser	1.67 – 8.35	
L – Аланин Ala	1.54 – 7.70	
D, L – Аспарагиновая кислота Asp	1.28 – 6.40	
L – Глутаминовая кислота Glu	1.88 – 9.40	
Лимонная кислота	0.125 – 1.875	
Глюкоза, г/л	0.054 – 0.162	
Белок, г/л	1.0 – 5.0	

использованием статистического пакета SPSS 13.0 и StatSoft Statistica 10.0.

В третьей главе приведены результаты экспериментального исследования кинетических закономерностей кристаллизации из модельных растворов. Установлено, что зависимости времени периода индукции от пересыщения не линейны (рис. 1). Сравнивая экспериментальные данные растворов 1 и 2, видно, что первая система более устойчива (до $S=20$). Во второй системе минеральная фаза начинает образовываться уже при $S = 15$, что связано с большей исходной концентрацией осадкообразующих ионов. С использованием зависимости скорости нуклеации от пересыщения были рассчитаны значения удельной поверхностной энергии (σ) по теории Гиббса–Фольмера. Для модельных растворов 1 и 2 величины σ близки и составляют соответственно 46 и 49 мДж/м², что характерно для гетерогенного зарождения кристаллитов. На основании термодинамической модели по рассчитанной величине поверхностной энергии был оценен размер критического зародыша. Результаты расчётов показывают, что размеры критических зародышей для двух растворов имеют близкие значения (~ 8-10 нм) и с ростом пересыщения в растворе уменьшаются, что хорошо согласуется с теоретическими представлениями.

Закономерности процессов термопревращения веществ, слагающих образцы, изучали с помощью термического анализа («СТА-449С Jupiter», Netzsch). Изучение химического состава слюны (Ca²⁺, PO₄³⁻, белок, глюкоза) проводили методом спектрофотометрического анализа на приборах (КФК-2, «ПЭ-5400» ЭКРОС) и прямой потенциометрии (рН, стеклянный микроэлектрод, прибор рН-150 МИ). Тип микрокристаллизации устанавливали по шести бальной шкале (0-5), расчёт фрактальной размерности проводили на основе системы компьютерной алгебры MathCad. Математическую обработку данных проводили с

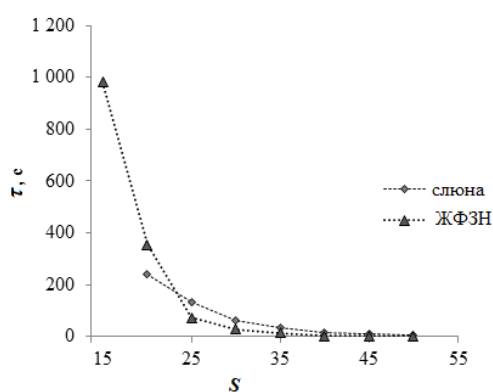


Рис. 1. Зависимость времени периода индукции (τ) от пересыщения (S) в модельном растворе 1 и 2.

Графическим способом определены константы скорости (k) нуклеации (рис. 2). Полученные значения k (табл. 3) больше для модельного раствора 2. Отметим, что рассчитанные величины полезны для сопоставления кинетики нуклеации в рассматриваемых системах, но не связаны напрямую с физическими величинами, определяющими нуклеацию. При этом известно, что значения порядка скорости зародышеобразования соответствуют количеству частиц, входящих в состав зародыша, а значение константы характеризует общее количество образовавшихся частиц.

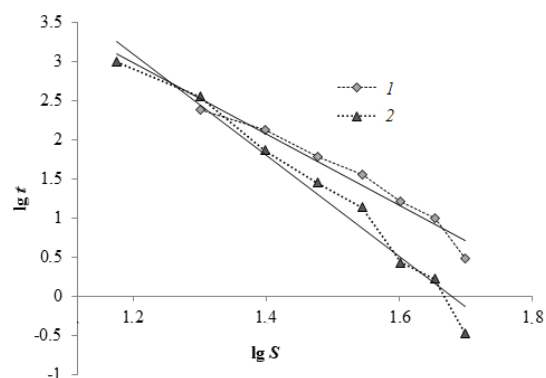


Рис. 2. Графическое определение параметров скорости зародышеобразования в модельном растворе 1 и 2.

Таблица 3. Кинетические параметры скорости зародышеобразования в модельных растворах 1 и 2

Параметр	1	2
$k, \text{с}^{-1} \text{л}^n \text{моль}^{-n}$	$2.78 \cdot 10^8$	$7.26 \cdot 10^{10}$

На основании зависимости времени индукции от пересыщения для исследования кинетики ростовых процессов были выбраны следующие пересыщения: раствор 1 - 25÷35; раствор 2 - 15÷25. На экспериментальных зависимостях (рис. 3.) в рассматриваемых

системах отчетливо выделяются два участка: 1 - соответствует росту образовавшихся частиц в объеме, 2 - их агрегации.

Для каждого из участков графическим методом был определен кажущийся порядок скорости (n) (табл. 4). Для первой и второй стадии $n=0$, что характерно для гетерогенных реакций ионного обмена, протекающих в растворе. Рассчитанные значения констант (k) показывают, что для первого участка это значение больше, чем для второго при всех рассматриваемых пересыщениях. Для раствора 1, скорость второй стадии в 3.3 раза меньше скорости первой, а для раствора 2 различие в скоростях составляет 5.6 раз. При сравнении двух модельных растворов между собой следует отметить, что кристаллизация протекает с большей скоростью в растворе 2.

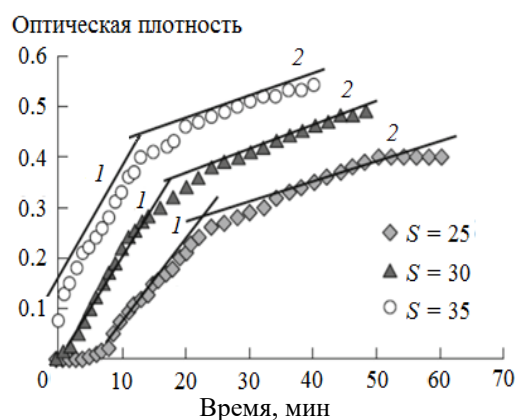


Рис. 3. Кинетические кривые кристаллизации в растворе 1.

Таблица 4. Кинетические параметры скорости роста (1) и агрегации (2)

Модельные растворы					
1			2		
S	$k \cdot 10^3, \text{сек}^{-1} (1)$	$k \cdot 10^3, \text{сек}^{-1} (2)$	S	$k \cdot 10^3, \text{сек}^{-1} (1)$	$k \cdot 10^3, \text{сек}^{-1} (2)$
25	13.0 ± 4.2	4.6 ± 0.6	15	36.7 ± 4.0	6.1 ± 0.4
30	18.0 ± 4.0	5.5 ± 0.5	20	39.3 ± 9.2	6.6 ± 0.8
35	18.5 ± 2.9	5.1 ± 0.8	25	42.1 ± 7.6	6.7 ± 0.6

Значения энергии активации (E), рассчитанные по уравнению Аррениуса при температурах 298 К (T_1) и 323 К (T_2) (табл. 5), указывают на то, что первая стадия

протекает в области смешанной кинетики, а вторая стадия лимитируется скоростью диффузии ионов к поверхности вещества твердой фазы.

Таблица 5. Значение энергии активации процесса кристаллизации в модельных системах

Участок	Раствор	$k_1 \cdot 10^3, c^{-1}$	$k_2 \cdot 10^3, c^{-1}$	$E, \text{кДж/моль}$
1	1	18.0	114.4	62.0
	2	39.3	329.6	67.9
2	1	5.5	7.9	14.1
	2	6.6	11.4	17.9

При определении кинетических характеристик по изменению концентрации ионов кальция установлено, что для систем с большей концентрацией по осадкообразующим ионам (раствор 2 – $S = 20, 25$) на кинетических кривых $\lg(da/dt) = f(\lg(Ct-C_s))$ выделяются три участка (**рис. 4**): 1 – соответствует увеличению общего числа частиц за счет образования зародышей кристаллизации, 2 – росту образовавшихся частиц без увеличения их общего количества, 3 – уменьшению общего числа образующихся частиц за счет растворения мелких и роста крупных агрегатов. Агрегация при высоких концентрациях обусловлена образованием большего числа центров кристаллизации, при этом плотность заполнения объема жидкой фазы частицами малорастворимых фосфатов кальция возрастает, все это способствует агломерации кристаллитов.

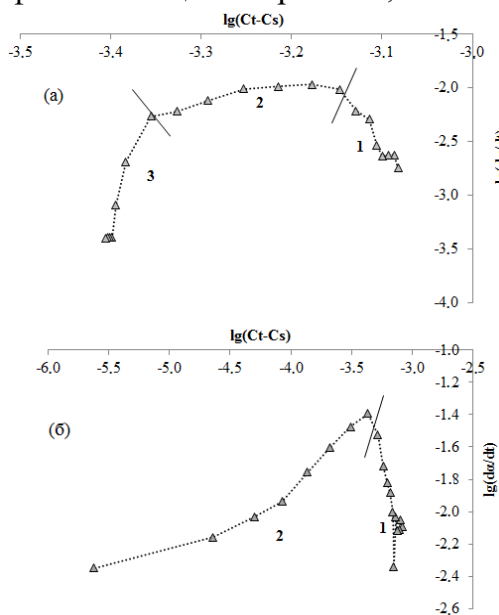


Рис. 4. Зависимость логарифма скорости кристаллизации от логарифма движущей силы в растворе: (а) 2- $S=25$; (б) 1 - $S=30$.

Для систем с меньшими концентрациями ионов кальция и фосфат-ионов (раствор 1 - $S=25 \div 35$, раствор 2 - $S=15$) выделяется два участка. В этом случае скорость агрегации частиц мала и в таких системах должны образовываться кристаллы более крупного размера. При изучении кинетики кристаллизации наибольший интерес представляет второй участок, который использовали при расчете кинетических характеристик. Данные **табл. 6** показывают, что порядок по ионам кальция для системы 1 не превышает единицы и меньше чем для системы 2. В первом случае преобладает гетерогенное зарождение и дальнейший рост, а для системы с большей концентрацией кристаллообразующих компонентов характерно появление большего

количества критических зародышей, при этом преобладающими являются процессы коагуляции. Схожая закономерность и для значений констант роста, отличие между двумя модельными растворами составляет 3-8 порядков.

Важно отметить, что для раствора 1 с ростом пересыщения порядок увеличивается, а для раствора 2 уменьшается при переходе от $S=15$ к $S=20$, а дальнейшее увеличение пересыщения в этом растворе влияния не оказывает. Аналогичные зависимости характерны и для значений констант.

Методом лазерной дифракции определено изменение среднего размера частиц (d) в процессе кристаллизации (табл. 7). Установлено, что с ростом пересыщения размер кристаллических частиц уменьшается, что подтверждает предыдущие исследования - а именно состав модельного раствора 1 благоприятен для роста более крупных кристаллов. С увеличением пересыщения количество образующихся частиц увеличивается, но при этом средняя скорость роста кристаллитов уменьшается.

Таблица 6. Кинетические параметры роста

Раствор	S	n	lgK^*
1	25	0.45 ± 0.10	0.21 ± 0.10
	30	0.64 ± 0.11	0.72 ± 0.04
	35	0.87 ± 0.19	1.45 ± 0.18
2	15	3.35 ± 0.96	8.79 ± 0.24
	20	2.00 ± 0.52	4.24 ± 0.70
	25	1.90 ± 0.63	3.80 ± 0.60

Таблица 7. Средний размер частиц и скорость роста

Модельные растворы					
1			2		
S	d , мкм	Средняя скорость роста, мкм/мин	S	d , мкм	Средняя скорость роста, мкм/мин
25	198.350 ± 0.256	4.38	15	52.648 ± 0.373	1.38
30	94.831 ± 0.349	1.85	20	39.206 ± 0.374	1.24
35	41.824 ± 0.438	0.81	25	26.117 ± 0.427	0.74

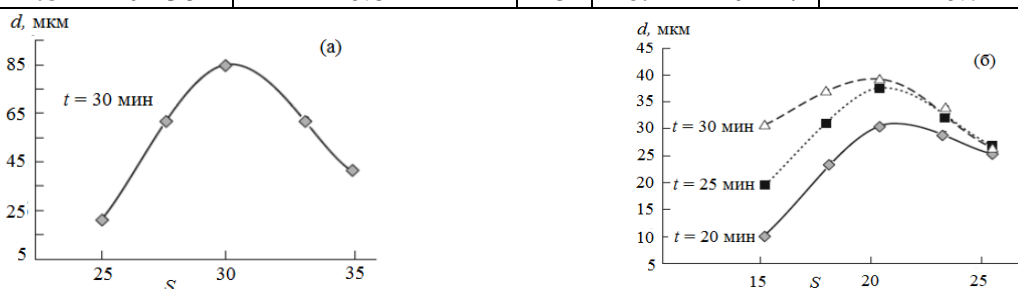


Рис. 5. Зависимость размера частиц от пересыщения в растворах 1 (а) и 2 (б).

Установлено, что зависимость размера частиц от пересыщения при фиксированном времени в моделируемых растворах не линейна, имеет максимальный экстремум и носит одинаковый характер для растворов 1 и 2 (рис. 5). Полученная взаимосвязь указывает на то, что для моделируемых жидкостей характерен дислокационный механизм роста, при этом расчетное значение составляет $n=2.00 \pm 0.06$.

Для раствора 1 – $S=25 \div 35$ и 2 – $S=15, 20$ наблюдается линейная корреляция в координатах $d^3=f(t)$ (рис. 6). Следовательно, на основании теории Лифшица-Слэзова-Вагнера можно утверждать, что рост частиц в этом случае протекает за счёт изотермической перегонки (Оствальдовское созревание), то есть заключается в переносе вещества от мелких частиц к крупным, так как химический потенциал последних меньше (эффект Кельвина).

В растворе 2 с пересыщением $S=25$. рост частиц происходит преимущественно за счет агрегации, заключающейся в слипании (слиянии) частиц дисперсной фазы.

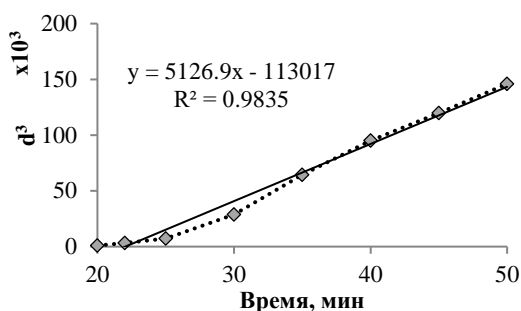


Рис. 6. Зависимость куба размера частиц от времени кристаллизации в растворе 2 $S=15$.

В данном случае образуется большое число центров кристаллизации, следовательно, плотность частиц твердой фазы выше, и они находятся на небольшом расстоянии друг от друга, что облегчает их сближение и взаимную агрегацию.

В четвертой главе приведены результаты сравнительного исследования процессов кристаллизации при варьировании

кислотности среды и концентрации различных добавок. Впервые установлена устойчивость модельных растворов в интервале $pH=5.5 - 6.5$. Минеральная фаза в системах, моделирующих состав биологических жидкостей, со значением $pH=6.5$ начинает образовываться только через сутки. Следовательно, можно предположить, что в реальных системах при таких условиях патогенного минералообразования происходить не будет. Увеличение pH до 7.5 сокращает время индукции в модельных растворах в десятки и сотни раз: раствор 1 – 30 раз, раствор 2 – 235 раз. А при $pH>7.5$ образование малорастворимых соединений происходит сразу же в момент сливания растворов. При исследовании параметров роста графическим методом по кинетическим кривым установлено, что с ростом pH порядок ($n=0$) и константа кристаллизации (k) сохраняются, но меняется лишь скорость образования твердой фазы (табл. 8), что можно объяснить преобладанием одной из форм фосфат-ионов в растворе. Особенно сильно влияние pH оказывает на стадии зародышеобразования. Таким образом, полученные закономерности подтверждают важную роль pH в формировании органо-минеральных агрегатов в организме человека.

Таблица 8. Кинетические параметры кристаллизации на стадии роста (1) и агрегации (2) в растворах ротовой полости при варьировании pH^*

Модельные растворы								
pH	1, $S=30$				2, $S=20$			
	Отн. изменение скорости		$k \cdot 10^3, c^{-1}$		Отн. изменение скорости		$k \cdot 10^3, c^{-1}$	
	1	2	1	2	1	2	1	2
6.8	«-»1.2	«-»1.3	13.5± 3.4	4.5± 0.5	«-»1.3	«-»1.3	35.0± 3.7	6.0± 0.3
6.9	«-» 1.1	«-» 1.2	15.6± 4.7	4.7± 0.6	«-» 1.2	«-» 1.1	37.7± 3.1	6.1± 0.5
7.1	«+»1.3	«+»1.5	18.1± 4.2	5.1± 0.5	«+»1.4	«+»1.6	41.6± 2.8	6.4± 0.7

*Прим. «-» замедление, «+» ускорение, отн. физиологического значения $pH=7.0$

Методом РФА и ИК-спектроскопии через 24 часа кристаллизации в модельных растворах установлено, что образуется смесь фосфатов кальция с преобладанием одной из фаз. Так, например, при $pH=6.5$ для раствора 1 преобладающей фазой является брусит $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ (71.8%), другие фазы – это октакальций фосфат $Ca_4H(PO_4)_3 \cdot 2.5H_2O$ и гидроксиапатит $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, с ростом pH увеличивается доля гидроксиапатита и октакальция фосфата.

Результаты исследования действия неорганических и органических добавок на каждом из этапов кристаллизации приведены в табл. 9-10. Впервые установлено, что на стадии нуклеации ингибирующим действием обладают следующие добавки: белок > Mg^{2+} (во всем диапазоне концентраций и пересыщений) > Sr^{2+} (при $S=35$,

$C_{\text{физ}} \cdot 10$ и $C_{\text{физ}} \cdot 15$) > Mn^{2+} (при $S=25$ и $C_{\text{физ}} \cdot 15$; $S=30$, $C_{\text{физ}} \cdot 10$ и $C_{\text{физ}} \cdot 15$; $S=35$ при всех концентрациях) > лимонная кислота (при $S=30, 35$). Так же выявлено уменьшение удельной поверхностной энергии и, соответственно, размера критического зародыша. Увеличивающими скорость зародышеобразования являются добавки HCO_3^- > глюкозы > F^- > Mn^{2+} (при $S=25$ и $C_{\text{физ}} \cdot 5$, $C_{\text{физ}} \cdot 10$; при $S=30$, $C_{\text{физ}} \cdot 5$) > Sr^{2+} (при $S=25, 30$ все концентрации). При этом, в случае фторид и гидрокарбонат-ионов отмечено уменьшение удельной поверхностной энергии и критического размера, что связано с образованием замещенных апатитов - фторапатита (ФАП) и нестехиометрического карбонатгидроксиапатита (нКГА). С добавкой глюкозы наблюдается противоположный эффект.

На стадии роста и агрегации ингибирующими являются добавки лимонной кислоты > белка > Mg^{2+} > Sr^{2+} > Mn^{2+} . Влияние лимонной кислоты больше на стадии роста, белка и ионов металлов на стадии нуклеации. Ускоряют процесс кристаллизации добавки HCO_3^- > глюкозы > F^- . Причем действие этих добавок наиболее заметно на стадии нуклеации.

Таблица 9. Кинетические параметры зародышеобразования в присутствии добавок

Наличие и вид добавки		Модельные растворы					
		1			2		
		$k, \text{с}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{моль}^{-n}$	$\sigma, \text{мДж/м}^2$	$R_{\text{крит}}, \text{нм}$	$k, \text{с}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{моль}^{-n}$	$\sigma, \text{мДж/м}^2$	$R_{\text{крит}}, \text{нм}$
Без добавки		$2.78 \cdot 10^8$	46	8.42	$7.26 \cdot 10^{10}$	49	10.2
Mg^{2+} 1-0.65; 2-3.9	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$4.99 \cdot 10^7$	2.1	0.38	$6.33 \cdot 10^8$	3.2	0.66
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$5.45 \cdot 10^7$	1.7	0.31	$4.69 \cdot 10^7$	3.0	0.62
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$1.32 \cdot 10^7$	1.6	0.29	$2.75 \cdot 10^7$	2.8	0.58
Sr^{2+} 0.05	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$6.12 \cdot 10^{15}$	1.8	0.33	-	-	-
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$5.62 \cdot 10^7$	1.4	0.26	-	-	-
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$4.89 \cdot 10^7$	1.0	0.18	-	-	-
Mn^{2+} 0.0004	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$3.09 \cdot 10^{12}$	9.7	1.78	-	-	-
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$1.00 \cdot 10^{11}$	9.4	1.72	-	-	-
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$2.59 \cdot 10^{11}$	6.4	1.17	-	-	-
F^- 1-0.0106; 2-0.0035	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$2.83 \cdot 10^{10}$	7.2	1.31	$7.28 \cdot 10^{10}$	45.3	9.41
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$2.08 \cdot 10^{16}$	7.4	1.35	$8.11 \cdot 10^{10}$	46.6	9.68
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$4.42 \cdot 10^{17}$	7.6	1.39	$2.75 \cdot 10^7$	51.1	10.6
HCO_3^- 1-7.4; 2-9.5	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$3.13 \cdot 10^{14}$	32.1	5.88	$8.23 \cdot 10^{12}$	59.1	12.3
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$4.61 \cdot 10^{18}$	55.3	10.1	$4.24 \cdot 10^{15}$	60.2	12.5
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$4.88 \cdot 10^{21}$	57.0	10.4	$5.02 \cdot 10^{17}$	60.4	12.6
$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$ 0.125	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$2.42 \cdot 10^{23}$	11.7	2.14	-	-	-
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$5.87 \cdot 10^{14}$	10.6	1.94	-	-	-
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$2.37 \cdot 10^{13}$	8.8	1.61	-	-	-
Белок 1.0 г/л	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$5.20 \cdot 10^7$	2.5	4.58	$7.18 \cdot 10^9$	2.5	0.52
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$3.42 \cdot 10^7$	2.0	3.66	$4.69 \cdot 10^7$	2.1	0.44
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$2.63 \cdot 10^7$	1.9	3.48	$2.75 \cdot 10^7$	1.9	0.39
Глюкоза 0.054 г/л	$C_{\text{физ}} \cdot 5$	$1.19 \cdot 10^{11}$	47.2	8.63	$4.48 \cdot 10^{14}$	48.2	10.0
	$C_{\text{физ}} \cdot 10$	$2.34 \cdot 10^{15}$	49.0	8.96	$6.91 \cdot 10^{16}$	48.4	10.1
	$C_{\text{физ}} \cdot 15$	$3.87 \cdot 10^{19}$	51.4	9.41	$7.75 \cdot 10^{17}$	49.6	10.3

Таблица 10. Кинетические параметры роста (1) и агрегации (2) в присутствии добавок

Наличие и вид добавки		Модельные растворы			
		1		2	
		$k \cdot 10^3, c^{-1}$		$k \cdot 10^3, c^{-1}$	
		1	2	1	2
Без добавок		18.0	5.5	39.3	6.6
Mg ²⁺ 1-0.65; 2-3.9, мМ/л	C _{физ.} ·5	13.8	0.4	35.0	6.0
	C _{физ.} ·10	3.2	0.5	37.7	6.1
	C _{физ.} ·15	8.6	0.4	41.6	6.4
Sr ²⁺ 0.05, мМ/л	C _{физ.} ·5	3.8	0.3	-	-
	C _{физ.} ·10	6.4	0.2	-	-
	C _{физ.} ·15	2.8	0.5	-	-
Mn ²⁺ 0.0004, мМ/л	C _{физ.} ·5	10	0.2	-	-
	C _{физ.} ·10	10	0.7	-	-
	C _{физ.} ·15	6	0.2	-	-
F ⁻ 1-0.0106; 2- 0.0035, мМ/л	C _{физ.} ·5	14.2	5	37	6.3
	C _{физ.} ·10	16.1	4.8	38.3	6.6
	C _{физ.} ·15	15.3	5.3	41.5	6.8
HCO ₃ ⁻ 1-7.4; 2-9.5, мМ/л	C _{физ.} ·5	14.8	5.3	40.1	6.2
	C _{физ.} ·10	15.2	6.1	41.2	11.2
	C _{физ.} ·15	21.3	11.1	50.8	13.5
C ₃ H ₅ O(COO) ₃ ³⁻ 0.125, мМ/л	C _{физ.} ·5	-	-	-	-
	C _{физ.} ·10	1	0.5	-	-
	C _{физ.} ·15	-	-	-	-
Белок 1.0 г/л	C _{физ.} ·5	8.3	-	15.2	-
	C _{физ.} ·10	8.6	-	13.3	-
	C _{физ.} ·15	8.1	-	14.1	-
Глюкоза 0.054 г/л	C _{физ.} ·5	15.3	5.4	38.6	6.5
	C _{физ.} ·10	16.0	5.3	39.5	6.4
	C _{физ.} ·15	15.8	4.9	40.8	6.2

Таблица 11. Удельная поверхностная энергия σ , мДж/м²

АК	C _{физ.}	C _{физ.} ·5
Без АК	46	
Gly	56.9	34.9
Ser	65.9	42.7
Ala	63.6	31.9
Asp	65.9	32.2
Glu	57.3	32.6

Установлено, что добавки аминокислот, значительно влияют на процессы кристаллизации фосфатов кальция *in vitro* из раствора 1. Получено, что при C_{физ.} и пересыщении S=25, 30 АК уменьшают скорость зародышеобразования в 2.5 – 5.8 раз. Предложен ряд по влиянию АК на процессы нуклеации – Gly (5.8 раз) > Glu (4.5 раз) > Ser ≈ Asp (3.9 раз) > Ala (2.5 раз). При S = 35 действие АК противоположно, т.к. они могут выступать центрами кристаллизации, за исключением глицина – уменьшает скорость нуклеации в 1.7 раз, и глутаминовой кислоты - в 1.2 раза. С ростом содержания добавки в модельном растворе (C_{физ.}·5) время периода индукции в большинстве случаев сокращается. Но отлично от других АК ведут себя аланин (при S=30 – 2.7 раза, S=35 – 2.4 раза) и аспарагиновая кислота (S=35 – 1.7 раз). Таким образом, общий ингибирующий эффект наблюдается при физиологической концентрации и относительно низком пересыщении системы, что наиболее соответствует процессам, протекающим в реальных биологических растворах. АК, адсорбируясь на активных центрах зародыша и образуя комплексы с ионами кальция, уменьшают скорость нуклеации при физиологической концентрации и, следовательно, повышают удельную поверхностную энергию (табл. 11). Однако при увеличении их

концентрации аминокислоты выступают в роли затравок при нуклеации и σ в этом случае снижается.

Сравнивая действие АК на скорость роста и агрегации при разных пересыщениях и варьировании концентрации АК, отмечено, что оно также отличается (табл. 12). Значения констант скорости реакции, полученные при исходном пересыщении $S=25$ меньше, чем без АК, что говорит об

Таблица 12. Кинетические параметры роста и агрегации в растворе 1 в присутствии АК, $C_{\text{физ}}$

АК	$S=25$		$S=30$		$S=35$	
	$k \cdot 10^3, c^{-1}$	$k \cdot 10^3, c^{-1}$	$k \cdot 10^3, c^{-1}$	$k \cdot 10^3, c^{-1}$	$k \cdot 10^3, c^{-1}$	$k \cdot 10^3, c^{-1}$
-	13.0	18.0	5.5	18.5	5.1	
Gly	8.4	25.5	8.9	43.1	11.0	
Ser	11.3	28.9	7.4	47.3	7.7	
Ala	16.3	28.3	13.9	61.0	11.3	
Asp	8.9	18.5	6.2	55.0	12.0	
Glu	8.6	27.6	8.7	45.0	9.0	

ингибирующем действии АК на стадии роста (в скобках указано относительное изменение скорости): Gly (2.0 раза) > Asp (1.9 раз) > Glu (1.2 раз) > Ser (1.5 раза) > Ala (практически не изменяет скорость роста). Одновременное присутствие в кристаллизационной среде большого числа активных центров, а также диффузионные затруднения массопереноса (из-за меньшего исходного пересыщения) обуславливают преимущественное протекание стадии зарождения без последующего активного роста образовавшихся частиц, такие условия характерны для образования агрегатов меньшего размера. Также, как и на стадии зародышеобразования при $S=35$ и $C_{\text{физ}}$ влияние на скорость роста противоположно. Увеличение скорости агрегации частиц с увеличением пересыщения и концентрации добавки связано с тем, что образующиеся агломераты становятся заряженными, поэтому притягиваются друг к другу, также увеличиваются и константы скорости. Методом лазерной дифракции подтверждено, что добавки АК уменьшают размеры и скорость роста. Наименьшие агрегаты образуются в растворе 1 в присутствии аланина физиологической концентрации, а наибольшие в присутствии глутаминовой кислоты. Преобладающим механизмом роста при низком пересыщении и концентрации добавки является оствальдовское созревание, с увеличением концентрации осадкообразующих ионов и АК – агрегация.

В пятой главе представлены результаты адсорбции аминокислот на брусите $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и гидроксиапатите $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. В настоящее время ученые указывают на специфическую роль белковых соединений в процессах образования органоминеральных агрегатов, обусловленную способностью фосфатов кальция (ФК) избирательно взаимодействовать при адсорбции с аминокислотами, находящимися в физиологическом растворе. Физико-химическими методами установлено, что ФК отличаются дисперсностью (размеры соответственно 50 мкм и 13 нм), удельной площадью поверхности (12 и 93 м²/г) и зарядом частиц в водном растворе. Было определено, что не зависимо от природы АК и фосфата кальция адсорбционное равновесие достигается за 48 час. Получено, что изотермы адсорбции АК на выбранных сорбентах при $pH=6.5$ адекватно описываются моделью по типу Ленгмюра.

При расчёте энергии Гиббса адсорбции установлено, что для данных пар адсорбат-адсорбент характерна физическая адсорбция преимущественно за счёт электростатического притяжения концевых заряженных групп АК с противоионами на поверхности фосфатов (для брусита $-\Delta G = 0.35 \div 9.69$ кДж/моль; для гидроксиапатита $-\Delta G = 0.91 \div 9.21$ кДж/моль). С помощью электрофореза определено, что при добавлении даже небольших количеств аспарагиновой и глутаминовой кислоты, которые находятся при данных значениях pH раствора в виде отрицательно

заряженных цвиттер-ионов, происходит перезарядка поверхности брушита и гидроксипатита. Методом ИК-Фурье-спектроскопии, анализом удельной площади поверхности и ДТА подтверждается факт адсорбции АК на выбранных минералах. При этом данные РФА твердых образцов показывают, что фазового перехода в условиях адсорбционного эксперимента не происходит.

В шестой главе описаны результаты исследования кристаллизации в капле биологической жидкости на примере разных испытуемых групп. Результаты показывают достоверное изменение определяемых параметров в процессе физической нагрузки. Далее представлена термодинамическая модель структурообразования в капле и показана её связь с фрактальной размерностью. Известно, что энергия Гиббса G системы в общем случае складывается из вкладов компонентов, находящихся в разных фазах, и поверхностной энергии межфазных границ

$$G = \sum_{liquid} v_{kl} \mu_{kl} + \sum_{solid} v_{ks} \mu_{ks} + \sum_{gas} v_{kg} \mu_{kg} + \Omega \sigma, \quad (1)$$

здесь μ_{kf} и v_{kf} – химические потенциалы и число молей компонентов в жидкой, кристаллической или газовой фазах ($f=l,s,g$), Ω , σ – площадь и поверхностное натяжение межфазной границы.

Основные изменения площади межфазной поверхности связаны с образованием поверхности высокодисперсной кристаллической фазы. Биологические жидкости смачивают стеклянную подложку таким образом, что при высыхании больших капель площадь межфазной поверхности жидкость–подложка не меняется, а поверхность жидкость–газ – несущественно, что позволяет пренебречь вкладом поверхностной энергии для границ раздела жидкость–воздух и жидкость–подложка. Таким образом, избыточная энергия может быть запасена в поверхностной энергии или в отклонении состава системы от химического и фазового равновесия (присутствие химически нестабильных компонентов, пересыщение). Величина избыточной энергии может быть использована в качестве индикатора состояния исследуемого биологического объекта.

Изменение функции Гиббса позволяет предложить грубую оценку величин, характеризующих морфологию кристаллической фазы. Число кристаллов, которые могут возникнуть в капле меняется в интервале $1 \leq n_{cr} \leq \frac{v_1}{10^3} \frac{V_1}{n_{drop}}$ (2) (n_{cr} – число

кристаллов, v_1 – общее количество молей компонента 1 в системе, V_1 – мольный объем, n_{drop} – число капель в моле). Верхний предел ограничен кристаллами, содержащими 1000 кристаллических ячеек, нижний предел – образование единственного монокристалла. Для частиц меньшего размера термодинамическое описание становится менее корректным, возможность образования фрактальных кластеров с произвольной размерностью сокращается. Фрактальная размерность D связана с объемом и площадью поверхности кристаллов следующим соотношением:

$$S = \alpha(V)^{\frac{2}{D}}, D = \lim_{V^{-1/3} \rightarrow 0} \frac{2 \ln V}{\ln S - \ln \alpha}, \quad (3)$$

здесь D – фрактальная размерность (для геометрических фигур правильной формы она совпадает с размерностью пространства: куб, сфера и т.п. $D = 3$), α – численный коэффициент (для куба $\alpha = 6$, для сферы $\alpha = \pi$), s – площадь поверхности отдельного кристалла. В (3) использованы безразмерные модули величин s и V , выраженные в единицах длины сопоставимых с минимальным элементом структуры.

Согласно приведенным в диссертации оценкам, ниже некоторого значения (в насыщенном растворе доля запасённой энергии $\omega \sim 0.003$) уменьшение размера кристаллов (или увеличение числа кристаллов, выпавших при высыхании капли) сопровождается ростом их фрактальной размерности. В этом случае, чем мельче кристаллы, тем более правильную форму они имеют. При высоких ω наблюдается противоположная зависимость: фрактальная размерность мелких кристаллов меньше, чем у крупных. Величина ω характеризует отклонение от термодинамического равновесия. Релаксация системы к равновесному состоянию сопровождается уменьшением ω с соответствующим ростом фрактальной размерности. Если время высыхания капли и образования в ней кристаллической структуры мало по сравнению со временем релаксации, образовавшаяся структура сохраняет информацию об исходном состоянии системы. При самопроизвольной сушке в мягких условиях вряд ли можно получить высокие значения ω . Увеличить долю запасенной в дисперсной структуре энергии ω может принудительная сушка капель.

Для изучения сходимости термодинамического расчета с экспериментальными данными были приготовлены бинарные водно-солевые растворы с различным пересыщением по двухводному гидрофосфату кальция $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $S=5 \div 20$, диапазон характерен для систем 1 и 2. В результате анализа изображений высохших капель модельных водно-солевых растворов установлено, что при исследуемых пересыщениях образуются кольцевые осадки из коллоидных и кристаллических структур различного размера.

Результаты определения фрактальной размерности структуры высохших капель приведены в **табл. 13**. Поскольку структура высохшей капли пространственно неоднородна, а при больших увеличениях поле зрения окуляра микроскопа не захватывает всю структуру, то результаты зависят от выбранного увеличения и выбора анализируемой области. В этом случае представляют интерес не отдельные численные значения, а закономерности, позволяющие установить влияние на фрактальную размерность различных факторов (пересыщения, температуры, количества и состава примесей, размеров капли и т.п.). В качестве примера таблица демонстрирует влияние на фрактальную размерность пересыщения раствора. Эта закономерность воспроизводится экспериментально и сохраняется с ростом увеличения, дающего более детальные изображения, при том, что рост разрешения изображения заметно меняет фрактальную размерность. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о том, что образующиеся фрактальные структуры являются стохастическими и не обладают свойством самоподобия, т.е. объект и его части имеют разную форму.

Таблица 13. Значения фрактальной размерности (D) при различных пересыщениях раствора и увеличении микроскопа

S	x40	x100	x400
	D		
10	1.978	1.835	1.790
15	1.974	1.797	1.771
20	1.969	1.831	1.745

Из приведенной таблицы следует, что фрактальная размерность уменьшается с ростом пересыщения. Данные оптической микроскопии показывают, что с ростом пересыщения исходного раствора размер кристаллитов уменьшается ($18 \div 20$ мкм для $S=10$, $12 \div 15$ мкм для $S=15$ и <10 мкм для $S=20$), при этом увеличивается их общее

количество. Обе тенденции соответствуют тому, что образующаяся кристаллическая структура удаляется от равновесного состояния. При этом доля энергии, запасенной при испарении и кристаллизации, возрастает и зависит от исходного состава. Это позволяет утверждать, что фрактальную размерность можно использовать как индикатор изменения исходного состояния биологических жидкостей. Также была рассчитана фрактальная размерность капель раствора 1, соответствующих разным баллам (типы микрокристаллизации - МКС) (табл. 14).

Таблица 14. Фрактальная размерность (D) капель слюны разных типов МКС

Балл	0	1	2	3	4	5
D	1.765	1.794	1.802	1.814	1.829	1.866

Полученные данные показывают изменение D в зависимости от структуры, высохшей капли раствора 1. Чем меньше она упорядочена, тем меньше величина фрактальной размерности. При этом структура высохшей капли определяется химическим составом исходного раствора. Эту зависимость демонстрируют данные по испытуемым группам 1-3, в которых расчет фрактальной размерности высохших капель раствора 1 проводили до и после физической нагрузки (табл. 15).

Таблица 15. Изменение фрактальной размерности (D) капель раствора 1 (среднее по группе).

Группа	D	
	До физической нагрузки	После физической нагрузки
1	1.830	1.795
2	1.818	1.806
3	1.814	1,790

Уменьшение фрактальной размерности (более сложная форма, меньший размер фрагментов, рост площади межфазных границ) соответствует росту избыточной свободной энергии исследуемого раствора, которая не успела релаксировать за время высыхания капель. Это происходит за счет изменения химических потенциалов кристаллизующихся компонентов. Так, увеличивается вязкость раствора 1 за счет обезвоживания в процессе физической нагрузки и увеличения содержания общего белка. При этом уменьшаются коэффициенты диффузии кристаллизующихся компонентов, поэтому рост кристаллов происходит медленнее, а избыточной энергии становится больше.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что фрактальная размерность зависит от физико-химических условий структурообразования высыхающих капель.

ВЫВОДЫ

1. Определены кинетические закономерности кристаллизации твёрдой фазы из модельных растворов биологических жидкостей на разных этапах кристаллизации (нуклеация, рост и агрегация) при варьировании условий процесса в широком диапазоне характеристик: пересыщения, кислотности, присутствия добавок.

2. Экспериментально определены кинетические параметры скорости нуклеации для модельных растворов (1 и 2) в условиях, близких к физиологическим. Выявлено, что в модельных растворах происходит гетерогенное зарождение кристаллитов, критический размер зародышей которых имеет величину порядка 8-10 нм. Константа скорости на стадии роста больше, чем на стадии агрегации. Стадия кристаллизации протекает в двух областях: смешанной ($E=62-68$ кДж/моль) и диффузионной ($E=14-18$ кДж/моль).

3. Показано, что образование твёрдой фазы в растворе 2 происходит с большей скоростью, в результате образуются небольшие кристаллиты (52.6-26.1 мкм), в растворе 1 образуются более крупные кристаллы (198.4-41.8 мкм). Установлено, что для модельных растворов 1 ($S=25-35$) и 2 ($S=15-20$) рост частиц осуществляется в результате «оствальдовского созревания», а для раствора 2 ($S=25$) в результате коагуляции.

4. Выявлена роль pH среды в кинетике кристаллизации и фазового состава образующихся фосфатов. Модельные растворы устойчивы до $pH=6.5$, с увеличением pH до 7.5 скорость кристаллизации на стадии нуклеации увеличивается для раствора 1 в 30 раз, а раствора 2 в 235 раз. Скорость реакции на стадии роста и агрегации увеличивается в 1.1 – 1.6 раз.

5. Определены характеристики нуклеации для модельных растворов в присутствии неорганических и органических добавок. Показано, что на стадии зародышеобразования ингибирующее действие изменяется в следующем порядке: белок > Mg^{2+} > Sr^{2+} > Mn^{2+} > лимонная кислота. Увеличивающими скорость зародышеобразования являются добавки HCO_3^- > глюкозы > F^- > Mn^{2+} > Sr^{2+} . При этом в случае фторид и гидрокарбонат-ионов наблюдается уменьшение удельной поверхностной энергии и критического размера, что связано с образованием замещенных апатитов - фторапатита (ФАП) и нестехиометрического карбонатгидроксиapatита (нКГА:), глюкоза оказывает обратное влияние, а именно рост поверхностной энергии и размера критического зародыша.

6. Установлено, что на стадии роста и агрегации лимонная кислота, белок, катионы металлов уменьшают значения констант скорости реакции. Для стадии роста и агрегации найден следующий порядок убывания ингибирующего действия добавок: лимонная кислота > белок > Mg^{2+} > Sr^{2+} > Mn^{2+} . Влияние лимонной кислоты больше на стадии роста, белка и ионов металлов на стадии нуклеации. По ускорению процесса кристаллизации для добавок найден следующий порядок HCO_3^- > глюкозы > F^- .

7. Определены кинетические параметры стадии нуклеации в присутствии аминокислот. Выявлено, что при физиологических концентрациях наблюдается ингибирующий эффект добавок, который изменяется в порядке Gly > Glu > Ser ≈ Asp > Ala. С увеличением концентрации аминокислот происходит инверсия во влиянии добавок на скорость нуклеации.

8. Определены кинетические закономерности роста и агрегации в присутствии аминокислот. Ингибирующее действие добавок наблюдается при физиологической

концентрации и малом пересыщении в растворе $S=25$. При увеличении пересыщения и концентрации аминокислот определено противоположное влияние. Установлено, что меньшие агрегаты (12 мкм) образуются из модельного раствора 1 в присутствии аланина физиологической концентрации, а большие (80.6 мкм) в присутствии глутаминовой кислоты. Преобладающим механизмом роста при низком пересыщении и концентрации добавки является «оствальдовское созревание», с увеличением концентрации осадкообразующих ионов и аминокислот – агрегация. Выявлено уменьшение величины предельной адсорбции аминокислот для брушита в ряду Gly > Tyr > Glu > Arg > Asp > Ala > Phe > Ser > Thr > Met > Lys > Leu > Ile > Val > Pro и для гидроксиапатита Gly > Ser > Glu > Arg > Tyr > Ala > Asp > Thr > Phe > His > Met > Leu > Val > Pro > Ile.

9. Показана взаимосвязь термодинамических характеристик, а также физических свойств дисперсных и поликристаллических объектов с размерами и формой кристаллов, возникающих при высыхании капли. Впервые использован фрактальный анализ для изучения капель биологических жидкостей и их прототипов. Предложен диагностический подход использования химического анализа биологического раствора для оценки уровня физической нагрузки на организм человека.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Главы в коллективных монографиях:

1. **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.
2. Голованова О.А., **Чиканова Е.С.** Статистические методы анализа в биологии и медицине. Монография. Глава 7. Омск: из-во - «Вариант-Омск», 2012. С. 198–228.

Статьи в российских рецензируемых научных журналах:

3. 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.
4. **Чиканова Е.С.**, Осенняя А.А., Голованова О.А. Изучение адсорбции аминокислот на брушите // Вестник Омского университета, 2014, №4, С. 69–75.
5. Голованова О.А., **Чиканова Е.С.** Кинетические характеристики кристаллизации из модельных растворов ротовой полости // Кристаллография, 2016, Т. 60, № 6, С. 988-996.
6. **Чиканова Е.С.**, Федосеев В.Б., Голованова О.А. Использование фрактальной размерности при описании структур высыхающих капель // Вестник Омского университета, 2015, №3, С. 62–67.
7. **Чиканова Е.С.**, Федосеев В.Б., Голованова О.А. Биожидкости и фракталы: количественный критерий самоорганизации капли // Вестник Омского университета, 2015, №4, С. 45–49.

Объекты интеллектуальной собственности:

8. База данных № 2016620163, опублик. 04.02.2016 "Анализ фрактальной размерности по полутоновым микроскопическим фотографиям" Авторы: Голованова О.А., **Чиканова Е.С.**, Федосеев В.Б.

Статьи в других изданиях:

9. Golovanova O. A., **Chikanova E.S.**, Malyshev A. V., Mylnikova T. S. Data on granulometric composition of calcium phosphate obtained by dispersion method // IOP Conf. Series: Mater. Sci. Eng., 2015, V. 81, 012064.

Тезисы докладов и материалы конференций:

10. **Chikanova E.S.**, Golovanova O.A. Determination of nucleation of compounds formed a model solution of saliva and plaque liquid // Materials of V International Symposium "Biogenic-abiogenic interactions in natural and anthropogenic systems", Saint Petersburg, 2014, P. 178-179.
11. Голованова О.А., **Чиканова Е.С.** Кинетика кристаллизации фосфатов кальция из растворов, моделирующих состав ротовой полости человека // VIII Международная научная конференция "Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы будущего". Тезисы докладов. Иваново, 2014. С. 297.
12. **Чиканова Е.С.**, Голованова О.А., Осенняя А.А. Изучение сорбции аминокислот на гидроксилapatите // Материалы VII Всероссийской молодежной научной конференции «Минералы: строение, свойства, методы исследования». Екатеринбург, Форт Диалог-Исеть, 2015. С. 127–129.
13. **Чиканова Е.С.**, Осенняя А.А. Изучение адсорбционного взаимодействия аминокислот с брушитом // Программа и тезисы докладов Школы-конференции «Неорганические соединения и функциональные материалы (ICFM-2015)». Новосибирск: ИНХ СО РАН, 2015. С. 135.
14. **Чиканова Е.С.** Изучение капель пересыщенных водно-солевых растворов $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с использованием основ фрактальной геометрии // Программа и тезисы докладов Школы-конференции «Неорганические соединения и функциональные материалы (ICFM-2015)». Новосибирск: ИНХ СО РАН, 2015. С. 136.
15. **Чиканова Е.С.**, Голованова О.А. Кинетика зарождения и роста кристаллитов из модельных растворов биологических жидкостей // Электронный сборник тезисов XXVII симпозиума Современная химическая физика. Туапсе – 2015.
16. **Чиканова Е.С.**, Голованова О.А. Роль аминокислот в процессе кристаллизации *in vitro* из модельного раствора ротовой жидкости // Химия под знаком СИГМА: исследования, инновации, технологии: Тезисы докладов V Всероссийской научной молодежной школы-конференции. Изд-во ИППУ СО РАН, Омск, 2016. С. 353–355.
17. **Чиканова Е.С.**, Голованова О.А. Кинетика кристаллизации из прототипа ротовой жидкости в присутствии аминокислот // IX Международная научная конференция "Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы будущего". Тезисы докладов. Иваново, 2016. С. 228.