

Teoretski taložni dijagrami kalcijevih fosfata

Šulc, Lorena

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:608732>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Lorena Šulc

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Lorena Šulc

TEORETSKI TALOŽNI DIJAGRAMI KALCIJEVIH FOSFATA

DIPLOMSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Jelena Macan

Neposredni mentor: dr. sc. Tea Mihelj Josipović, znan. sur.

Članovi ispitnog povjerenstva:

prof. dr. sc. Jelena Macan

prof. dr. sc. Marko Rogošić

dr. sc. Maja Dutour Sikirić, viši znan. sur.

Zagreb, rujan 2019.

Ovaj rad izrađen je u suradnji sa Zavodom za fizičku kemiju Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu pod neposrednim mentorstvom dr.sc. Tee Mihelj Josipović.

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom „Mehanizmi nastajanja kalcijevih fosfata na anorganskim nanomaterijalima. Biomimetski put priprave multifunkcionalnih nanokompozita za regeneraciju čvrstih tkiva“ IP-2018-01-1493.

Zahvale

Veliku, ogromnu zahvalu, prvenstveno dugujem svojoj neposrednoj mentorici dr. sc. Tei Mihelj Josipović na pruženom strpljenju, pomoći i susretljivosti. Hvala Vam za svaki savjet, kritiku, podršku, osobito pri izradi računskog dijela ovoga Rada. Hvala Vam na Vašem slobodnom vremenu koje ste nerijetko koristili za čitanje pojedinih verzija ovog Diplomskog rada. Zahvaljujem i svojoj mentorici prof. dr. sc. Jeleni Macan, na pruženoj prilici za izradu Diplomskog rada na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu. Hvala vam što ste me naučile koristiti stečeno znanje, te isto pretočiti u rad. Posebnu zahvalu, također, dugujem dr.sc. Maji Dutour Sikirić, za nesebičnu pomoć, utrošak vlastitog slobodnog vremena za čitanje Rada i za svaki savjet, za svaku riječ podrške. Hvala Vam na pruženoj prilici za izradu Rada na Zavodu za fizičku kemiju Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu. Svim članovima spomenutog Zavoda zahvaljujem na podršci, savjetima, pomoći i gostoprimstvu.

Hvala mojim roditeljima, Sanji i Tomislavu što su bili uz mene i što su mi bili ogromna podrška tijekom cijelog studiranja. Hvala vam što ste dijelili sa mnom svaki stres, ali i sreću oko ispita. Hvala za svako buđenje mobitelom i za svaku kunu poslanu na moj račun, hvala za svaku vrećicu i torbu punu domaćih specijaliteta koja je uvijek pronašla put do Zagreba ☺. Hvala mom suprugu Matiasu na podršci u svim trenucima, a posebno onda kad sam mislila da više ne mogu. Hvala ti što si me uvijek podizao i ohrabrivao i što nisi dopustio da odustanem. Hvala svim bakama i didama, Sanji, Ireni, Tomislavu i Borisu, a posebno mojoj majci Sanji na svakom danu čuvanja moga Borne, jer bez vaše pomoći bilo bi jako teško napisati ovaj Diplomski rad. Hvala mojoj braći, Sandiju, Teu, Marinu i Toniju također na čuvanju Borne, i na silnim vožanjima na relaciji Požega-Rajsavac i obrnuto. Hvala mojim bakama, djedu i baki Lidiji na svakoj toploj riječi i podršci.

Veliko hvala mojim prijateljima, a posebno kumi Ivi, Kelavi, Eni, Vekiju, Jeleni i Kučanu. Hvala za svaku ispijenu kavu u Pressu, za svako učenje dugo u noć, pisanje seminara i međusobno ohrabrivanje pred ispit. Hvala i za sve nezaboravne izlaske. Hvala mojoj cimi Eni na kratkom, ali jako lijepom cimerstvu.

SAŽETAK

Kalcijevi fosfati (CaP), teško topljive soli fosfatne kiseline, od posebne su važnosti u raznim interdisciplinarnim područjima znanosti poput geologije, biologije, kemije i (bio)medicine. Široko su rasprostranjeni u živim organizmima i u prirodi. Istraživanja kalcijevih fosfata danas su usmjerena na bolje razumijevanje procesa normalne i patološke biomineralizacije i razvoj novih materijala poboljšanih svojstava. Iako su taložni dijagrami CaP u uvjetima bliskim fiziološkima eksperimentalno istraženi, nisu izrađeni njihovi teoretski taložni dijagrami.

U ovom radu izrađeni su teoretski taložni dijagrami četiri biološki važne faze kalcijevih fosfata (amorfni kalcijev fosfat (ACP), oktakalcijev fosfat (OCP), kalcijev hidrogenfosfat dihidrat (DCPD) i hidroksiapatit (HA)) u sustavima bez aditiva te uz dodatak magnezija, citrata (Cit) ili oba aditiva ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ i pH 7,4):



Dobiveni rezultati su pokazali da se u svim taložnim sustavima mogu, ovisno o sastavu taloga, razlikovati četiri taložna područja, u skladu s topljivosti pojedine soli. Razlike u obliku teoretske granice taloženja za DCPD u odnosu na ostale istraživane CaP ukazuje na moguću razliku u dominantnim procesima kojima otopljene ionske i druge vrste prelaze u krutu fazu. Razlike u položaju teoretskih granica taloženja u različitim taložnim sustavima za pojedinu fazu kalcijevih fosfata u skladu su s eksperimentalno opaženim utjecajima koje Mg^{2+} i Cit^{3-} ioni imaju na procese njihovog nastanja.

Ključne riječi: kalcijevi fosfati, taložni procesi, taložni dijagrami, amorfni kalcijev fosfat (ACP), oktakalcijev fosfat (OCP), kalcijev hidrogenfosfat dihidrat (DCPD), hidroksiapatit (HA), biomineralizacija

SUMMARY

Theoretical precipitation diagrams of calcium phosphates

Calcium phosphates (CaP), the sparingly soluble salts of phosphoric acid, are of particular importance in various interdisciplinary fields of science such as geology, biology, chemistry and (bio) medicine. They are widespread in living organisms and in nature. Calcium phosphate research is today focused on a better understanding of the processes of normal and pathological biomineralization and the development of new materials with improved properties. Although CaP deposition diagrams have been investigated experimentally in conditions close to physiological ones, their theoretical deposition diagrams have not been developed.

In this paper, theoretical precipitation diagrams of four biologically important phases of calcium phosphate (amorphous calcium phosphate (ACP), octacalcium phosphate (OCP), calcium hydrogen phosphate dihydrate (DCPD) and hydroxyapatite (HA)) are made in systems without additives and with the addition of magnesium, citrate (Cit) or both additives ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and pH 7.4):

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$,

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0.0015\text{ mol dm}^{-3}$),

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$ ($c = 0.000125\text{ mol dm}^{-3}$),

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0.0015\text{ mol dm}^{-3}$) $- \text{Na}_3\text{Cit}$ ($c = 0.000125\text{ mol dm}^{-3}$).

The obtained results showed that, in all precipitation systems, depending on the composition of the precipitate, four precipitation areas can be distinguished, in accordance with the solubility of each salt. The differences in the shape of the theoretical precipitation boundary for DCPD with respect to the other CaPs studied indicate a possible difference in the dominant processes by which dissolved ionic and other species enter the solid phase. The differences in the position of theoretical precipitation limits in different deposition systems for each phase of calcium phosphates are consistent with the experimentally observed effects that Mg^{2+} and Cit^{3-} ions have on the processes of their formation.

Keywords: calcium phosphates, precipitation processes, precipitation diagrams, amorphous calcium phosphate (ACP), octacalcium phosphate (OCP), calcium hydrogen phosphate dihydrate (DCPD), hydroxyapatite (HA), biomineralization

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Taložni procesi.....	3
2.1.1. Nukleacija	4
2.1.2. Kristalni rast.....	6
2.1.3. Sekundarni procesi.....	6
2.1.4. Taložni dijagrami.....	7
2.1.5. Taloženje u prisutnosti aditiva.....	9
2.2. Biomineralizacija	12
2.3. Kalcijevi fosfati.....	13
2.3.1. Taložni dijagrami kalcijevih fosfata	18
2.3.2. Utjecaj citrata na taloženje kalcijevih fosfata.....	26
2.3.3. Utjecaj magnezija na taloženje kalcijevih fosfata	28
3. RAČUNSKI DIO	31
3.1. Taložni dijagrami	31
3.2. Obrada podataka	35
4. REZULTATI I RASPRAVA	37
4.1. Analiza taložnih dijagrama	37
4.1.1. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$	37
4.1.2. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$	40
4.1.3. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$	43
4.1.4. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2 - \text{Na}_3\text{Cit}$	46
4.1.5. Usporedba taložnih dijagrama pojedinih faza	49
5. ZAKLJUČAK	55
6. POPIS SIMBOLA I KRATICA.....	56
7. LITERATURA.....	57
8. ŽIVOTOPIS	61

1. UVOD

Istraživanja kalcijevih fosfata, CaP, teško topljivih soli fosfatne kiseline, zanimljiva su zbog važnosti tih spojeva ne samo u biološkoj (kosti, zubi) i patološkoj (mokraćni kamenci, karijes) mineralizaciji, već i za procese taloženja u prirodnim i otpadnim vodama, proizvodnji gnojiva, keramika, bioimplantanata, te nastanku kamenca u industrijskim hladilima.¹ Glavna mineralna komponenta zuba i kostiju je biološki apatit – ionski supstituirani kalcij deficijenti hidroksiapatit (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), dok su oktakalcijev fosfat (OCP, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), kalcijev hidrogenfosfat dihidrat (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) i β -trikalcijev fosfat (β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) sastojci patoloških depozita.²

Taloženje je proces nastajanja nove faze iz homogene roditeljske faze, a odvija se u nekoliko koraka, od kojih je prvi nukleacija, a zatim slijede kristalni rast i sekundarni procesi. Nastajanje kalcijevih fosfata u organizmima može se smatrati procesom taloženja anorganske faze unutar organske matrice.² Kalcijevi fosfati, ovisno o eksperimentalnim uvjetima, mogu nastati ili direktnom kristalizacijom ili preko amornih faza.¹ U neutralnim i bazičnim otopinama kalcijevi fosfati obično nastaju u dva koraka. Prvi korak je nastajanje amornoga kalcijevog fosfata, ACP-a čiji sastav ovisi o eksperimentalnim uvjetima. U dodiru s matičnicom, ovisno o pH i koncentraciji reaktanata, ACP se može transformirati u OCP, kalcij deficijenti apatit, CaDHA ili HA.¹ Taložni dijagrami su grafički prikazi koncentracijskih područja postojanja čvrstih faza definiranog sastava, kristalnog oblika ili morfologije. Konstruiraju se unutar dobro definiranih eksperimentalnih uvjeta i unutar unaprijed određenog vremena starenja. Taložni dijagrami sadrže niz osnovnih podataka o talozima, pa se njihova konstrukcija smatra prvim korakom za svako dodatno i složenije ispitivanje određenog sustava.³ Iako su taložni dijagrami CaP u uvjetima bliskim fiziološkima eksperimentalno istraženi, nisu izrađeni njihovi teoretski taložni dijagrami.

Cilj ovog rada bio je izraditi teoretske taložne dijagrame ACP-a, OCP-a, HA i DCPD-a u četiri različita sustava ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$ i pH 7,4):



$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$ ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$),

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$) – Na_3Cit ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$).

Na temelju indeksa prezasićenosti različitih faza kalcijevih fosfata dobivenih u programu Visual Minteq 3.1, pomoću programa OriginPro 8.1 konstruirani su taložni dijagrami. Kako bi se ustanovila ovisnost taloženja o osnovnim termodinamičkim parametrima, rezultati za pojedine faze uspoređivani su međusobno i s eksperimentalnim rezultatima.

2. OPĆI DIO

2.1. Taložni procesi

Taloženje je proces stvaranja nove faze iz homogene roditeljske faze, kao što je nastajanje kapljica iz pare, mjehurića iz tekućine, čvrste faze iz otopine itd. U užem smislu definirano je kao nastajanje čvrste faze iz, najčešće, elektrolitnih otopina, a ukoliko pri tome nastala čvrsta faza posjeduje kristalnu strukturu proces taloženja naziva se kristalizacija.⁴

Osim u formiranju sedimentnih stijena, kao jedan od prirodnih procesa, taloženje je izuzetno važno u medicini i biologiji, jer se normalna i patološka mineralizacija, što uključuje stvaranje kostiju i zubi, ljuštura školjkaša, te kamenaca, može smatrati taloženjem čvrste anorganske faze unutar složene organske matrice.⁴ Brzina i mehanizmi procesa koji vode do taloženja teško topljivih soli, ovise o prezasićenosti, S , glavnoj pokretačkoj sili taloženja. Prezasićenost je jednaka omjeru produkta aktiviteta konstitutivnih iona i termodinamičkoga produkta topljivosti pojedine soli. Pri konstantnoj temperaturi i tlaku, prezasićenost (S) je definirana kao:

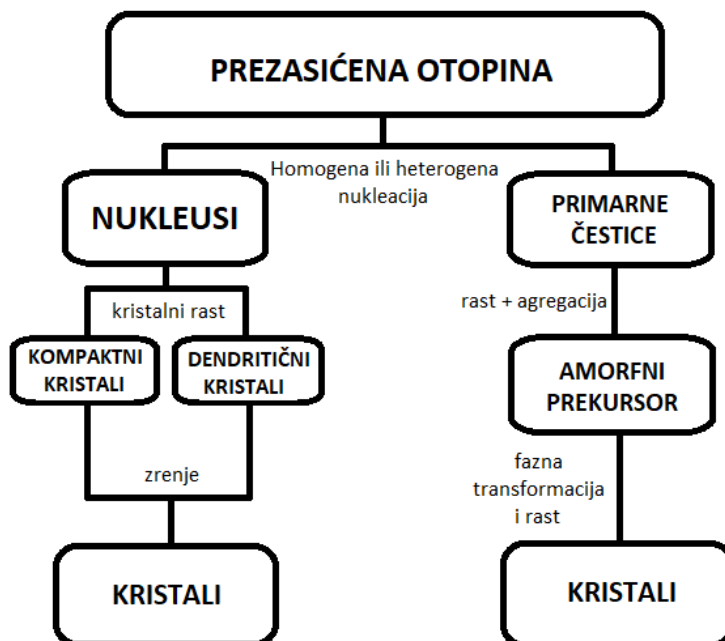
$$S = (a/a_s)_{p,T} \quad (1)$$

gdje su a i a_s aktiviteti otopljene tvari u prezasićenoj i stabilnoj zasićenoj otopini. Tako je za binarni elektrolit (AB), prezasićenost dana jednadžbom:

$$S = [(a_A a_B / K_{sp})^{1/2}]_{p,T} \quad (2)$$

gdje su a_A i a_B aktiviteti iona A i B, a K_{sp} je termodinamički produkt topljivosti.⁵

Proces taloženja odvija se u nekoliko koraka (slika 1.).¹



Slika 1. Taložni procesi koji se odvijaju pri taloženju slabo topljivih soli iz prezasićenih otopina.

Konstruirano prema ref. 5.

Taloženje započinje spontanom nastajanjem embrija ili nukleacijom na nečistoćama nakon čega slijedi rast nukleusa u kristale, koji može biti popraćen nastajanjem sekundarnih nukleusa što uzrokuje prisutnost kristala različitih dimenzija u otopini.⁵ Posljednji stupanj procesa obično je sedimentacija do koje dolazi uslijed rasta kristala ili koaguliranih agregata. Nastali talog podložan je brojnim fizikalnim i kemijskim promjenama izazvanim sekundarnim procesima. Teoretski, taloženje završava kada se ukupan suvišak otopljene tvari istaloži, a sustav postigne termodinamičku stabilnost.⁶

2.1.1. Nukleacija

Nukleacija je nastajanje centara (nukleusa) na kojima može doći do spontanog rasta i predstavlja prvi korak u nastajanju taloga. Prema klasičnoj teoriji nukleacije, nukleusi nove faze spontano nastaju homogenom nukleacijom iznad kritične prezasićenosti (S^*). Do taloženja dolazi i kada je

stupanj prezasićenosti otopine niži od kritične prezasićenosti, ako su u otopini prisutne prašina ili nečistoće koje imaju ulogu centara heterogene nukleacije¹, ili je taloženje potaknuto prisutnošću površine (npr. stijenke posude).⁷

NUKLEACIJA		
PRIMARNA		SEKUNDARNA
HOMOGENA	HETEROGENA	CIJEPLJENJE
		LOM
		STRUJANJE
		KONTAKTNA

Slika 2. Mehanizmi nukleacije. Konstruirano prema ref. 6.

Kao što je prikazano na slici 2., homogena i heterogena nukleacija procesi su primarne nukleacije. Ukoliko je nukleacija inducirana prisutnošću kristala u otopini, govorimo o sekundarnoj nukleaciji.⁷ Brzina homogene nukleacije raste s povišenjem temperature i prezasićenosti te smanjenjem energije površine, a brzina heterogene nukleacije ovisi o prisutnosti nečistoća.^{7,8} Brzina i mehanizmi kristalnog rasta i sekundarnih procesa ovise o nukleaciji.¹ Ukoliko je nukleacija brza, većina kristala formira se istodobno te raste do približno jednake veličine. Suprotno tome, kod spore nukleacije, istovremeno se formira manja količina kristala, prezasićenost otopine se polako smanjuje, dolazi do nukleacije novih kristala te se formiraju kristali različitih veličina.⁹ Količina kristala koja nastaje heterogenom nukleacijom ovisi o količini prisutnih nečistoća i znatno je manja od količine kristala nastalih homogenom nukleacijom pri visokoj prezasićenosti.⁵ Zbog toga je kontrola nukleacije izuzetno važna jer njezinom kontrolom reguliramo veličinu kristala, veličinu raspodjele, polimorfizam i ostala svojstva kristala.^{5,9}

2.1.2. Kristalni rast

Drugi korak taložnih procesa, nakon formiranja stabilnih nukleusa u prezasićenoj otopini, jest kristalni rast. Rast u kristale vidljive veličine rezultat je uzastopnih procesa u otopini i na površini kristala kao što su: prijenos iona ili molekula kroz otopinu, difuzija na površini kristala, adsorpcija na međupovršini kristal – otopina, dehidracija na međupovršini, nukleacija na međupovršini, te ugradnja u kristalnu rešetku.⁶ Brzina kristalnog rasta kontrolirana je najsporijim od tih procesa, bilo procesima na površini, bilo prijenosom tvari kroz otopinu (difuzija ili konvekcija). Glavni parametri koji određuju brzinu i mehanizam kristalnog rasta su: prezasićenost, veličina kristala, dostupna površina i parametri kristalnih strana.²

Pri niskoj i srednjoj prezasićenosti nastaju kompaktni ili dendritični kristali, koji se Ostwaldovim zrenjem ili faznim transformacijama dalje modificiraju, dok pri visokoj prezasićenosti prvotno nastaje metastabilna faza koja se nakon određenog vremena indukcije transformira u stabilniju fazu.²

2.1.3. Sekundarni procesi

Talog nastao u prethodno opisanim procesima podložan je brojnim fizikalnim i kemijskim promjenama, bilo da je u dodiru s matičnicom ili ne.⁶ Te promjene nazivaju se sekundarni procesi, a među najvažnijima su:

- agregacija,
- Ostwaldovo zrenje,
- transformacija metastabilnih faza.⁵

Agregacija je spontano povezivanje dviju ili više manjih čestica u jednu česticu većih dimenzija jakim intermolekulskim silama. Agregacija se uglavnom javlja u zasićenim otopinama, ali se može pojaviti i u prezasićenim i nezasićenim otopinama.¹⁰ Energija potrebna za nastajanje agregata manja je od energije potrebne za njegovu razgradnju.²

Ostwaldovo zrenje je proces rasta velikih kristala uslijed otapanja manjih, što rezultira smanjenjem energije i rastom većih čestica. Do zrenja dolazi zbog povećanja termodinamičke stabilnosti snižavanjem međupovršinske energije između taloga i matičnice. Pri tome se prvo otapaju dijelovi kristala visoke energije (bridovi, uglovi), dok se na mjestima niže energije taloži višak otopljene materije (stepenice, dislokacije).²

Ukoliko u taložnim procesu može nastati nekoliko faza, prvo će istaložiti najtopljivija, najnestabilnija faza. Starenjem se otapaju metastabilne faze i dolazi do taloženja sljedeće, termodinamički stabilnije faze. Nukleacija nastalog sekundanog taloga uglavnom je heterogena, pri čemu je supstrat prekursor. Nastajanje metastabilnih taloga i njihove transformacije važne su u biološkim i industrijskim taložnim sustavima.²

2.1.4. Taložni dijagrami

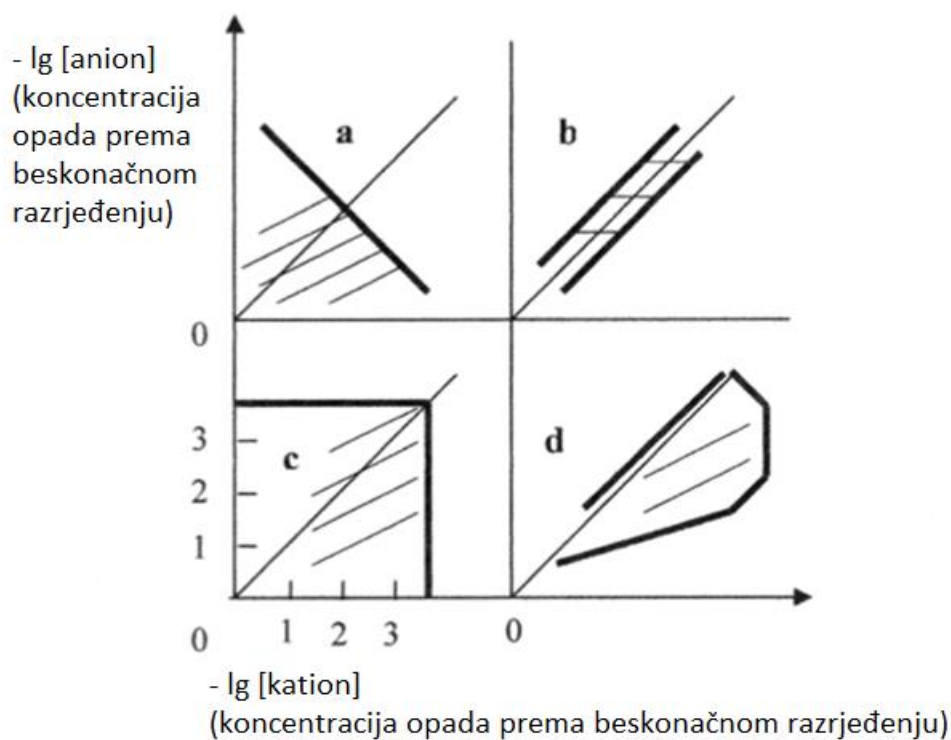
Sistematskim variranjem koncentracija reaktanata u otopini u kojoj nastaje talog, moguće je odrediti koncentracijska područja u kojima nastaju pojedine čvrste faze definiranoga sastava, kristalnog oblika ili morfologije. Rezultati takvih istraživanja se uobičajeno grafički prikazuju u obliku taložnih dijagrama. Konstrukcija taložnih dijagrama jest prvi i bitan korak u istraživanju kompleksnih i specifičnih sustava, budući da sadrže osnovne informacije o talozima, uz pomoć kojih se dalje raznim metodama i tehnikama provode detaljnija istraživanja.¹¹

Prikazivanje eksperimentalnih rezultata u tzv. taložnim dijagramima ili taložnim tijelima jest rezultat sustavnog ispitivanja ravnoteža između heterogenih i homogenih faza pri različitim odnosima koncentracija reaktanata u otopinama. Međusobni odnosi koncentracija reaktanata u otopinama odgovorni su za ravnoteže granica topljivosti te nastajanje makročestica i nanočestica različitih vrsta, struktura i veličina u područjima taloženja.¹¹

Taložni dijagrami konstruiraju se pri točno definiranim eksperimentalnim uvjetima i unutar unaprijed definiranog vremena starenja.³ Za dobivanje podataka o pojedinom taložnom sustavu, uobičajeno se koristiti metoda kontinuirane varijacije koncentracija glavnih taložnih komponenata i pratećih iona otopine u kojoj nastaje talog. Uobičajeno se na apscisi nalaze logaritmi koncentracija kationske komponente, a na ordinati logaritmi koncentracija anionske

komponente. Taložni dijagrami daju uvid u granice između područja u kojemu nastaje talog i područja u kojemu nema taloga te diskontinuitete u brzini stvaranja taloga. Postoje četiri glavna tipa taložnih dijagrama, a međusobno se razlikuju prema dominantnim procesima kojima otopljene ionske i druge vrste prelaze u krutu fazu (slika 3.)¹¹, a to su:

- ionska topljivost,
- neutralizacija,
- stvaranje ionskih parova i asocijata,
- asimetrična ionska topljivost.¹¹



Slika 3. Prikaz taložnih tijela ograničenih granicama topljivosti: (a) produkt topljivosti, (b) neutralizacijsko taloženje, (c) ionski asocijati i (d) asimetrična ionska topljivost.

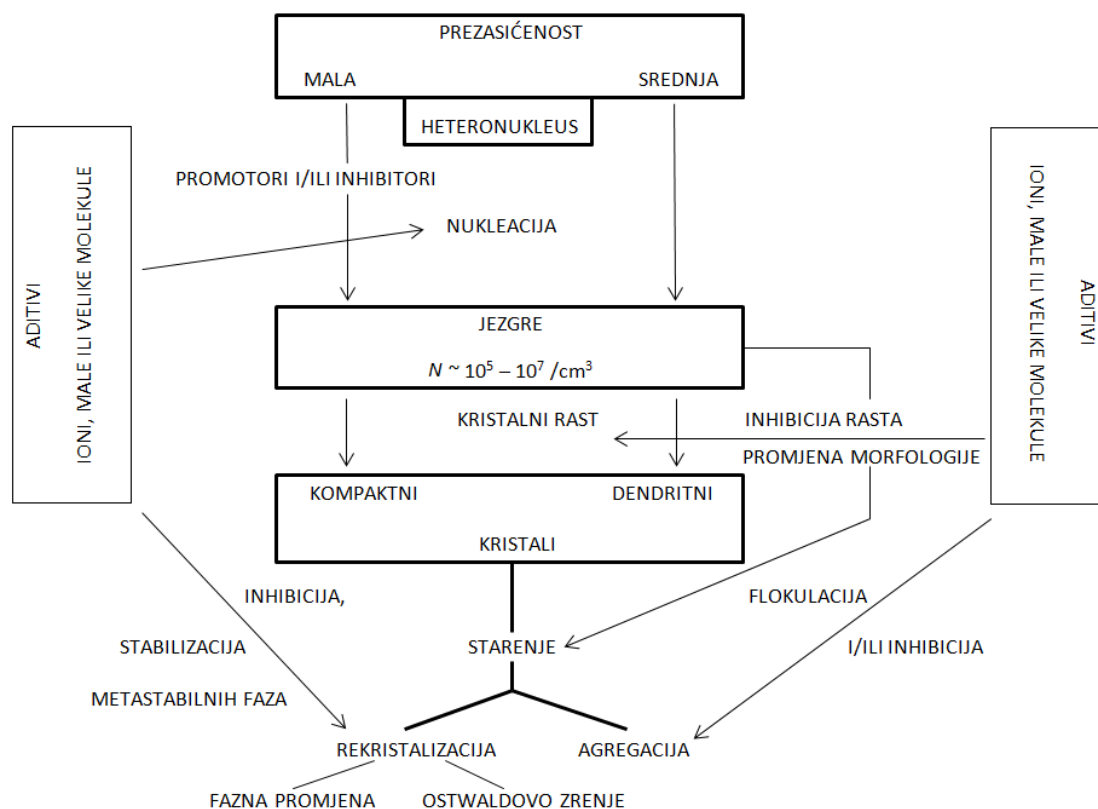
Konstruirano prema ref. 11.

Granice taloženja karakteristične su za vrstu čestica koje se talože iz elektrolitnih otopina uslijed promjene odnosa koncentracije kationske i anionske komponente. Crtkana područja odgovaraju području koncentracija reaktanata u kojem dolazi do taloženja, a područja izvan granica topljivosti označavaju bistrane sustave, sustave u kojima ne nastaje talog (slika 3.).¹¹

2.1.5. Taloženje u prisutnosti aditiva

Aditivi su kemijski spojevi ili smjese koje se dodaju u otopinu radi poboljšanja određenih svojstava kristala (kinetike, međupovršinske energije, morfologije itd.) i mogu utjecati na bilo koji od koraka u procesu taloženja.^{5,12} U brojnim područjima poput geologije, te biološke i patološke mineralizacije, temelj procesa kristalizacije jesu međudjelovanja anorganskih kristala i organskih molekula (aditiva). Osnova istraživanja utjecaja aditiva na taložne procese je strogo ponovljiva procedura taloženja, kako se promjene uzrokovane nereproducibilnošću ne bi pripisale djelovanju aditiva. Istraživanja su pokazala da pojedina molekula aditiva, ovisno o svojoj koncentraciji i vrsti, može biti inhibitor ili promotor taloženja. Ukoliko su prezasićenost, omjer koncentracija reaktanata, temperatura i način miješanja konstantni, proces taloženja kontroliran je aditivima.^{1,5,13}

Na slici 4. prikazane su moguće uloge aditiva u procesu taloženja. Prema tome, aditivi mogu uzrokovati inhibiciju rasta ili promjenu oblika kristala procesima starenja. Flokulacijom ili inhibicijom dalje uzrokuju agregaciju kristala, dok stabilizacijom metastabilnih zona dovode do rekristalizacije koja se manifestira kao fazna promjena ili kroz Ostwaldovo zrenje. Također, aditivi mogu biti promotori ili inhibitori nukleacije. Prilikom nukleacije aditiv se adsorbira na površinu nukleusa što uzrokuje smanjenje međupovršinske energije, a brzina nukleacije trebala bi se povećati. Budući da aditiv zauzima mjesta rasta na nukleusu čiji je broj ograničen, tek nekoliko molekula adsorbiranih na mjesta rasta smanjuje brzinu nukleacije.¹⁴ Promjena brzine nukleacije uzrokuje promjene u broju nukleusa, morfologiji i sastavu čvrste faze.¹



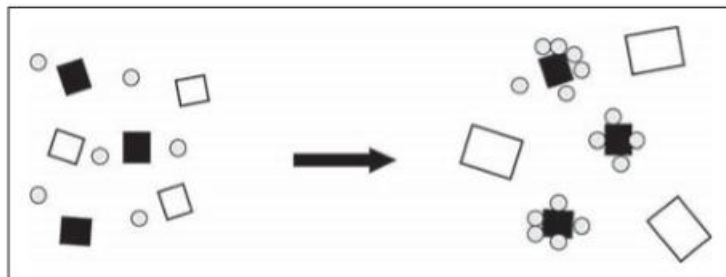
Slika 4. Shematski prikaz moguće uloge aditiva u procesima taloženja teško topljivih soli koji su inicirani heterogenom nukleacijom. Konstruirano prema ref. 13.

Aditivi mogu utjecati na procese rasta kristala, bilo da se odvijaju na površini kristala, ili u otopini. Adsorpcija iona ili molekula aditiva na površinu kristala uzrokuje smanjenje međupovršinske energije između kristala i otopine. Ako se ioni ili molekule prvotno adsorbiraju na određene kristalne plohe na njima će površinska nukleacija biti onemogućena, a rasti će one plohe na kojima ioni ili molekule nisu ili su samo djelomično adsorbirani. To rezultira promjenama u morfologiji kristala.¹⁵ Kemijske veze koje se formiraju između aditiva i površine kristala su Van der Waalsove, vodikove i ionske. Adsorpcija aditiva na površinu kristala može se odvijati samo Van der Waalsovima interakcijama, ili one mogu biti jedna od vrsta interakcija koje se pojavljuju pri adsorpciji. Nastajanje vodikovih veza igra važnu ulogu tijekom adsorpcije aditiva u rastu organskih i anorganskih kristala. Ionske interakcije važne su u kristalizaciji ionskih soli iz vodenih otopina.¹⁶ U slučaju visoke prezasićenosti, velika brzina kristalnog rasta

ometi adsorpciju iona i molekula na kristalne plohe što rezultira smanjenjem njihove učinkovitosti, a može se izbjeći isključivo povećanjem koncentracije aditiva.¹⁴

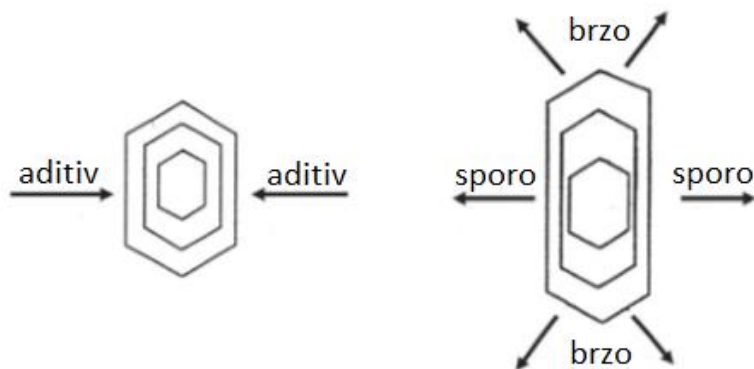
Naboj i struktura aditiva, posebice polielektrolita, određuje hoće li se primarne čestice agregirati ili će biti stabilne u otopini. Djelovanje polielektrolita na taložne procese ovisi o njihovoj koncentraciji, konformaciji i naboju. Pri nižim koncentracijama polielektroliti induciraju agregaciju dok pri većim koncentracijama isti polielektrolit djeluje kao stabilizator.¹³

Mehanizam selektivne adsorpcije aditiva na nukleuse i kristalne površine izuzetno je važan (slika 5.). Mehanizam se temelji na tome da, ako u otopini može nastati više faza, rasti će ona faza na čije se nukleuse aditiv nije adsorbirao. Faza na čije se nukleuse aditiv selektivno adsorbirao rasti će usporeno ili neće rasti.¹



Slika 5. Prikaz selektivne adsorpcije aditiva na nukleuse jedne kristalne faze u prezasićenju otopini s obzirom na dvije faze. Preuzeto iz ref. 17.

Ako između nekih ploha kristala i molekule aditiva postoji strukturna i stehiometrijska kompatibilnost, aditiv će se selektivno adsorbirati na te kristalne plohe, ali ne i na ostale. To usporava rast u smjeru okomitom na tu plohu, što rezultira povećanjem te plohe u odnosu na izvorni kristal (slika 6.) Prisustvo aditiva može uzrokovati nastanak nove kristalne površine, pa se usporedbom morfoloških osobina kristala nastalih u sustavima sa aditivom i bez njega mogu odrediti mehanizmi međudjelovanja kristala i aditiva.¹⁸



Slika 6. Selektivna adsorpcija aditiva na pločama rastućeg kristala. Konstruirano prema ref. 17.

2.2. Biomineralizacija

Biomineralizacija podrazumijeva kompleksne i strogo regulirane biokemijske i fiziološke procese kojima živi organizmi, stvaraju čvrste organsko-anorganske strukture unutar organske matrice koja sadrži proteine.^{19,20} Procesom biomineralizacije formiraju se mineralna tkiva građena od visoko-organiziranih, hijerarhijskih struktura, s rezultirajućim izvrsnim mehaničkim svojstvima i fleksibilnosti.²¹ Tako nastaju ljudski i životinjski endo- i egzoskeleti, zubi, kosti, te ljuštore školjkaša. Pri patološkim uvjetima, mineralizacijom mekih tkiva dolazi do urolitijaze (mokraćni kamenac), gihta, taloženja žučnih kamenaca i drugih poremećaja. Mineralizirana tkiva su u stalnom kontaktu s tjelesnim tekućinama poput krvne plazme, sline i urina, a koje imaju visoku ionsku jakost, izrazito su kompleksne, sadrže biološke makro- i male organske molekule te anorganske ione.²⁰

Ovisno o stupnju biološke kontrole procesi biomineralizacije podijeljeni su u dvije fundamentalno različite skupine. Prva je biološki inducirana mineralizacija u kojoj dolazi do taloženja izvanstaničnih mineralnih faza kao posljedica promjene u biološkim procesima i mikrookolišu. Proces kristalizacije nije strogo kontroliran pa nastale čestice nisu jedinstvenog oblika i široke su raspodjele veličine. Često se javlja u formi patološke mineralizacije.²² U drugom procesu, biološki kontroliranoj mineralizaciji, organizam svojom staničnom aktivnošću kontrolira nukleaciju, kristalni rast te određuje morfologiju i položaj mineralne faze koja se taloži. Takvi procesi dalje se dijele ovisno o mjestu na kojemu se odvija biomineralizacija, pa

tako razlikujemo inter-, intra- i ekstrastaničnu biološki kontroliranu mineralizaciju. Kontroliranom biomineralizacijom postiže se stroga kontrola veličine, morfologije, sastava, položaja i orijentacije čestica.²¹

Strukture nastale procesom biomineralizacije odgovaraju mineralima po kemijskom sastavu i kristalnoj strukturi, ali ih izgrađuju živi organizmi. Najčešći biominerali jesu kalcijevi fosfati koji čine 25 % svih poznatih biominerala i karbonati koji su najbrojniji i najrasprostranjenija skupina biominerala, a međusobno se razlikuju po svojoj funkciji u organizmu. Još su poznati biominerali stroncijevih, silikatnih, barijevih i željezovih soli.²¹

2.3. Kalcijevi fosfati

Kalcijevi fosfati, CaP, teško topljive soli fosfatne kiseline, su od posebnog interesa u mnogim interdisciplinarnim područjima znanosti, uključujući geologiju, biologiju, kemiju i (bio)medicinu.²³ Važni su u biološkoj i patološkoj mineralizaciji.² Prisutni su u živim organizmima (od bakterija do kralježnjaka) te široko rasprostranjeni u prirodi. Kod kralježnjaka, CaP su glavna anorganska komponenta normalnih (kosti, zubi itd.) i patoloških (zubni karijes, mokraćni kamenac itd.) čvrstih tkiva.²⁴

Prirodni kalcijevi fosfati koriste se kao glavni izvor fosfora u proizvodnji poljoprivrednih gnojiva, deterdženata i keramike.²⁵ S obzirom da su materijali bazirani na kalcijevim fosfatima biokompatibilni, nisu toksični, posjeduju osteokonduktivna svojstva, te su slični anorganskoj komponenti kostiju,²⁶ jedna od najatraktivnijih primjena je ona u biomedicini, kao biomaterijali za regeneraciju kostiju i zuba.²⁷ Isto tako, dotična svojstva upućuju i na široku primjenu takvih materijala u biomimetici odn. oponašanju procesa biomineralizacije.^{28,29}

Kada govorimo o biomineralizaciji u tkivima kralježnjaka, najvažnija faza fosfata je biološki apatit, HA, glavna komponenta kostiju i zuba, zatim kalcij deficijentni hidroksiapatit, CaDHA, amorfni kalcijev fosfat, ACP, oktakalcijev fosfat, OCP, te kalcijev hidrogenfosfat dihidrat, DCPD.^{30,31} Kalcijevi fosfati važni za ovaj rad prikazani su u Tablici 1.

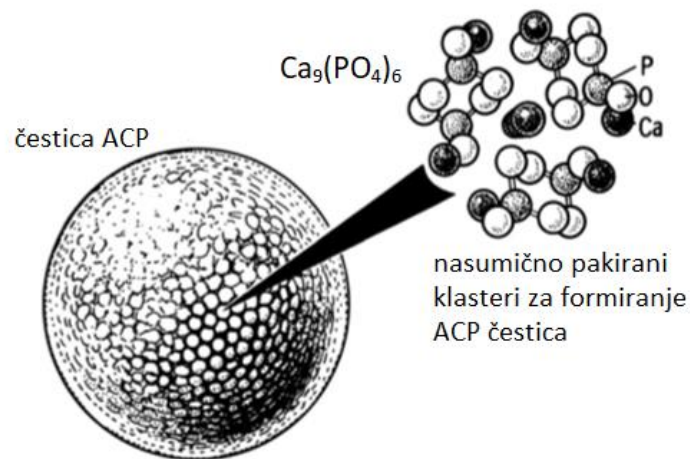
Tablica 1. Biološki važni kalcijevi fosfati, njihove kratice, formule, pripadajući kristalni sustavi i prisutnost u biološkim sustavima. Konstruirano prema ref. 32.

NAZIV	KRATICA	FORMULA	KRISTALNI SUSTAV	PRISUTNOST U BIOLOŠKIM SUSTAVIMA
Amorfni kalcijev fosfat	ACP	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$ $3 < n < 4,5$	–	kalcifikacija mekog tkiva
Oktakalcijev fosfat	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	triklinski	mokraćni i zubni kamenac
Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	monoklinski	zubni kamenac, karijes
Hidroksiapatit	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	heksagonski	kosti, zubni i mokraćni kamenac, dentin

Svi poznati kalcijevi fosfati mogu nastati ili direktnom kristalizacijom (pri vrlo niskoj prezasićenosti) ili preko amorfne faze. U uvjetima bliskim fiziološkim, taloženje kalcijevih fosfata odvija se u dva koraka gdje je prvi korak nastajanje metastabilnog amornog prekursora čiji je sastav određen uvjetima taloženja (temperatura, pH, utjecaj aditiva, način mješanja).¹

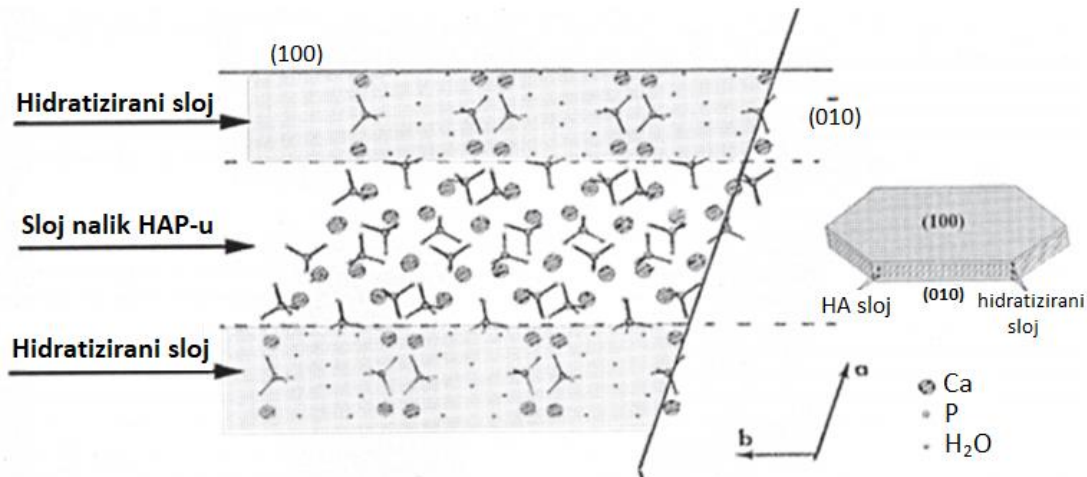
Smatra se da, tijekom taloženja kalcijevih fosfata iz neutralnih i bazičnih otopina, prva faza koja nastaje je *amorfni kalcijev fosfat*, ACP. Osnovna strukturna jedinica ACP-a je sferični klaster iona, $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ promjera oko 0,95 nm, nazvan Posnerovim klasterom (slika 7.). Većina tih klastera je nasumično gusto pakirana u sfere promjera 3000 – 10000 nm.³³ Daljnjim istraživanjima utvrđeno je da je u prostoru između klastera smješteno 15 – 20 % vode od ukupnog udjela vode u ACP-u.³⁴ ACP je vrlo nestabilna faza koja se u dodiru s matičnicom, ovisno o vrijednosti pH i koncentraciji reaktanata, procesima starenja i hidrolize transformira u stabilnije kristalne faze kalcijevih fosfata; OCP, CaDHA ili HA.^{25,35} Bioaktivni kompoziti ACP-a

pogodni su za uporabu u stomatologiji (materijal za punjenje) gdje spriječavaju demineralizaciju zuba i u kirurgiji.²⁵



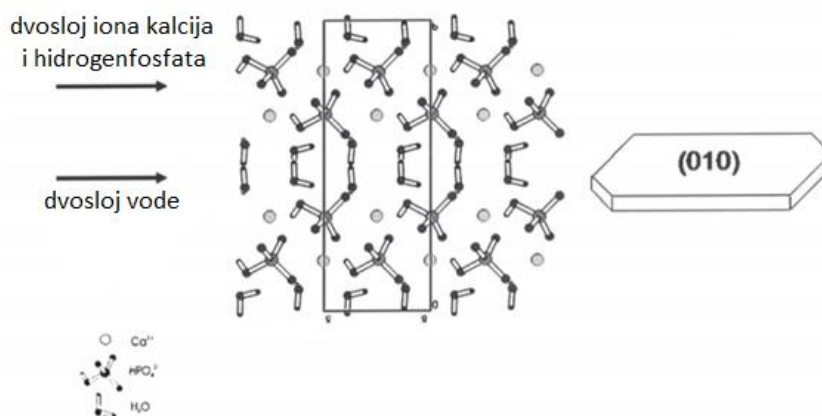
Slika 7. Struktura ACP-a. Konstruirano prema ref. 33.

Oktakalcijev fosfat, OCP je biološki značajan jer je jedna od stabilnijih komponenti ljudskog zubnog i mokraćnog kamenca. Ima važnu ulogu u *in vivo* formiranju apatitnih biominerala;²⁵ često je međuprodukt iz kojeg hidrolizom tijekom taloženja iz vodenih otopina nastaje termodinamički stabilniji HA. Kristalizira u triklinskom kristalnom sustavu, a njegova jedinična ćelija sastoji se od naizmjeničnih slojeva s rasporedom kalcijevih i fosfatnih iona sličnim onima u HA te hidratiziranih slojeva koji sadrže molekule vode, ione kalcija i fosfata (slika 8.).³⁶ U vodenim otopinama na površini kristala formira se hidratizirani sloj s dominantnom (100) plohom.³⁷



Slika 8. Struktura OCP-a. Konstruirano prema ref. 36,37.

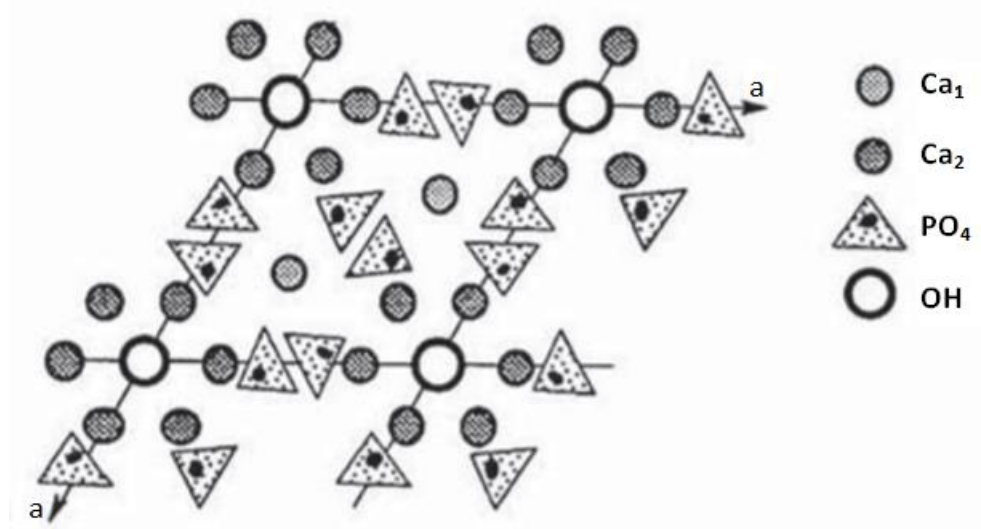
Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat, DCPD, nastaje direktnim taloženjem pri nižim pH (< 5,5).³⁸ Kristalizira u monoklinskom kristalnom sustavu, a njegova jedinična ćelija sastoji se od naizmjeničnih dvosloja kristalne vode i dvosloja iona kalcija i hidrogenfosfata (slika 9).^{39,40} Dvosloji vode su u vodenim otopinama većinu vremena na površini dominantne (010) plohe, dok bočne plohe imaju miješani ionski karakter s uklopljenim molekulama vode.^{40,41} Pri pH < 6,5 DCPD lako kristalizira iz vodenih otopina, a na temperaturama iznad 80 °C prelazi u DCPA, dikalcijev fosfat.⁴²



Slika 9. Struktura DCPD-a. Konstruirano prema ref. 39,40.

Biološka važnost DCPD-a proizlazi iz njegove prisutnosti u patološkim kalcifikacijama (zubni kamenac, kristalurija, mokraćni kamenac, kondrokalcinoza). U medicini se upotrebljava u kalcijevim ortofosfatnim cementima i kao intermedijer za remineralizaciju zuba. Dodaje se zubnoj pasti za zaštitu od karijesa i kao sredstvo za poliranje.⁴²

Biološki apatit, HA, je termodinamički najstabilnija faza CaP.⁵ Jedno od najvažnijih svojstava HA je njegova slaba topljivost u vodi.⁴³ Kristalizira u heksagonskom kristalnom sustavu, a jedinična ćelija se sastoji od deset kalcijevih i šest fosfatnih iona te dvije hidroksilne skupine (slika 10.).⁴⁴ Hidroksidni ioni smješteni su u uglovima jedinične ćelije i okruženi su s kalcijevim i fosfatnim ionima.⁴⁵ Mreža fosfatnih iona od velike je važnosti za stabilnost strukture. Zbog takvog položaja iona u strukturi moguća je jednostavna zamjena kalcijevih iona sa ionima stroncija, silicija, cinka i mangana.⁵ Omjer Ca/P u talozima nastalim u vodenim otopinama, kreće se u intervalu 1,50 – 1,66, pa je posebna pažnja usmjerena na dobivanje stehiometrijskog HA.¹



Slika 10. Struktura HA. Konstruirano prema ref. 44.

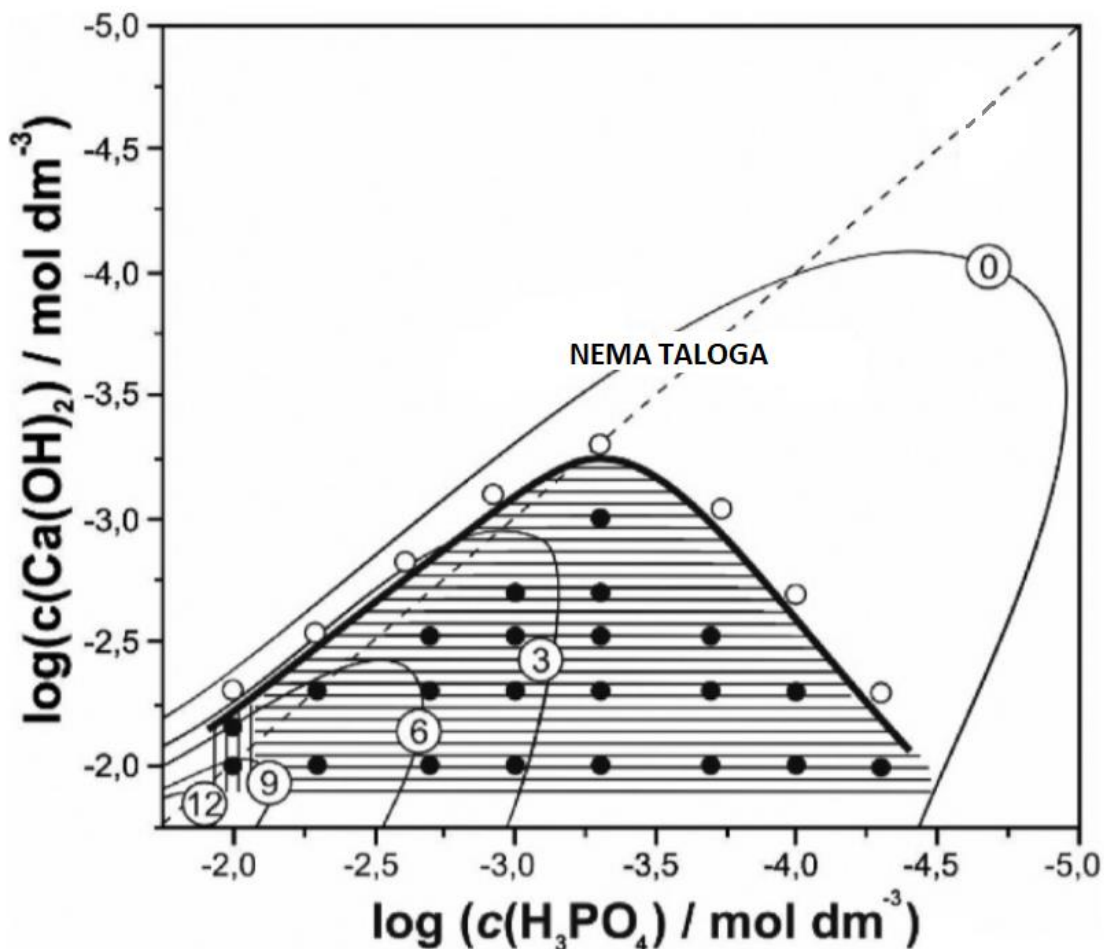
Za dobivanje hidroksiapatita može se koristiti nekoliko metoda koje se mogu podijeliti na reakcije u krutom stanju i reakcije u otopini, koje uključuju taloženje, hidrotermalne reakcije i

hidrolizu drugih kalcijevih ortofosfata. Čisti hidroksiapatit nikada se ne pojavljuje u biološkim sustavima, ali zbog kemijske sličnosti s mineralima zuba i kostiju nerijetko se koristi kao premaz u zubnim i ortopedskim implantatima. Možemo ga pronaći u nekim vrstama paste za zube gdje zamjenjuje kalcijev karbonat kao sredstvo za poliranje. Koristi se u tekućinskoj kromatografiji nukleinskih kiselina, proteina i drugih bioloških spojeva te za isporuku lijekova.⁴²

2.3.1. Taložni dijagrami kalcijevih fosfata

Zbog važnosti kalcijevih fosfata konstruirani su njihovi eksperimentalni taložni dijagrami u uvjetima koji odgovaraju biološkoj ili patološkoj mineralizaciji. Najjednostavniji istražen taložni sustav jest $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$ pri $t = 25\text{ }^\circ\text{C}$ i $\text{pH} = 2,2 - 12,3$, gdje su prisutni CaP konstituirajući ioni, a pripremljen je neutralizacijom otopina kalcijevog hidroksida s odgovarajućom koncentracijom fosforne kiseline (slika 11.). U tom sustavu pH se slobodno mijenjao tokom 60 min starenja. Taloženjem u danim uvjetima nastali su CaDHA kao prevladavajuća faza i DCPD u nešto manjoj količini. Teoretska granica taloženja, $S - 1 = 0$ asimetričnog je oblika. Područje između teoretske i eksperimentalno određene granice taloženja, tzv. metastabilna zona poprilično je velika pri malim koncentracijama fosfata i kalcija.³

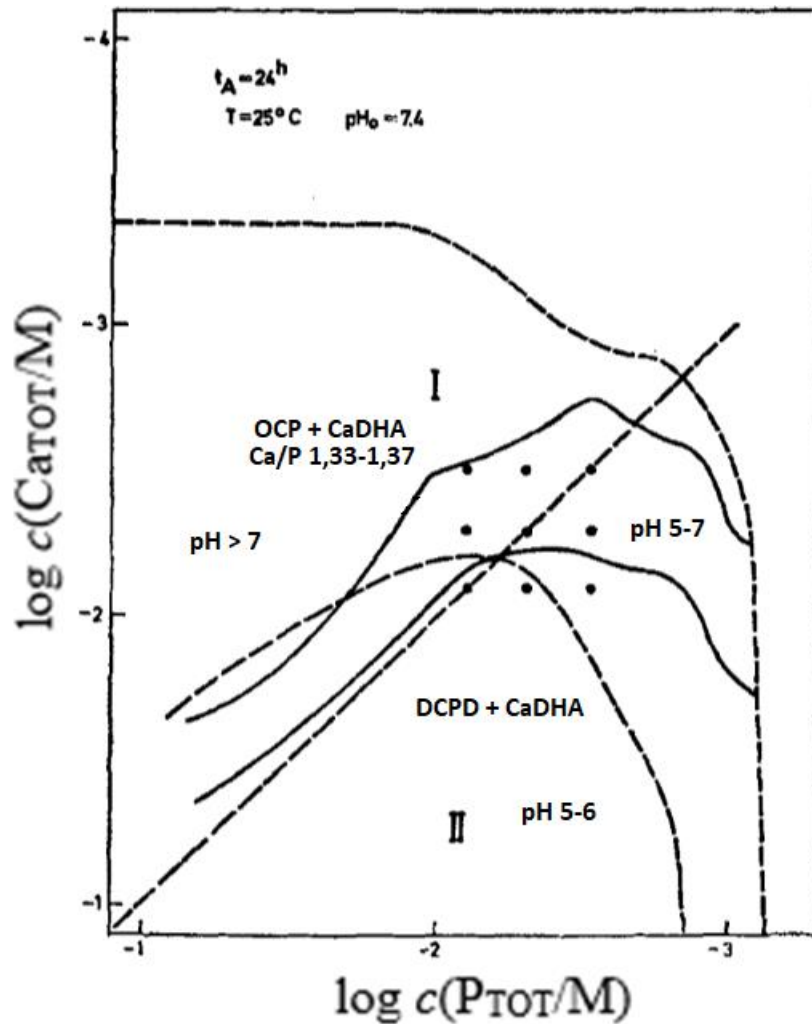
Podebljane linije predstavljaju granice taloženja odnosno granicu između područja detekcije taloga i područja u kojima se talog, u konkretnom slučaju, nije pojavio niti nakon 60 min reakcije. Linija označena kao $S - 1 = 0$ označava granicu topljivosti čvrste faze tj. granicu taloženja. Tanke linije označavaju izergone, tj. izograme konstantne relativne prezasićenosti ($S - 1$). Puni krugovi označavaju sustave u kojima se pojavljuje talog, a prazni krugovi označavaju sustave u kojima je talog izostao. Različito zasjenjena područja označavaju formiranje taloga sličnih i specifičnih sastava obzirom na njihovu termodinamičku stabilnost. U ovom taložnom sustavu uočena su dva područja taloženja, jedno na relativno niskoj prezasićenosti i drugo na relativno visokoj prezasićenosti. Pri niskoj i srednjoj $S - 1$ nastaje jedna čvrsta faza, CaDHA, dok je pri visokoj $S - 1$ nađen samo DCPD.³



Slika 11. Taložni dijagram jednostavnog sustava, $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4$ pri 25°C nakon 60 min starenja, $\text{pH} = 2,2 - 12,3$. Konstruirano prema ref. 3.

Nešto složeniji taložni sustav $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ istraživana je pri početnom $\text{pH} 7,4$ (slika 12.) i bez namještanja pH (slika 14.), a sadržavao je ione konstituenata i njihove protuione. U sustavu s početnim $\text{pH} 7,4$ promjene u pH vrijednostima i totalne koncentracije reaktanata praćene su tijekom formiranja čvrste faze, kako bi se podaci koristili u procjeni sastava taloga tijekom cijelog procesa. U svim istraživanim sustavima uočeno je dvostupanjsko taloženje, s formiranjem amorfnog metastabilnog prekursora (ACP), te sekundarnog taloga čiji je sastav uglavnom odgovarao OCP-u, a uzrokuje značajne promjene u pH vrijednostima otopine. Stabilnost prekursorskog i sastav sekundarnih taloga ovise o početnim koncentracijama reaktanata. Tijekom sekundarnog taloženja tijekom svih kemijskih promjena ovisi o promjeni pH .

Ukratko, u neutralnom pH području OCP prelazi u apatitnu formu, odn. pri $\text{pH} > 7$ nastaje smjesa OCP + CaDHA sa niskim omjerom Ca/P (1,33 – 1,37), dok pri $\text{pH} = 5 - 6$ pretežno nastaje smjesa DCPD + CaDHA (slika 12.). Prema rezultatima dobivenim rentgenskom difrakcijom, prijelazi iz amorfne forme u kristalnu formu nisu u potpunosti završeni tijekom sekundarnog taloženja, stoga se smatra da neko vrijeme nakon taloženja u otopini koegzistiraju forme kalcijevih fosfata različite kristalnosti i sastava.⁴⁶

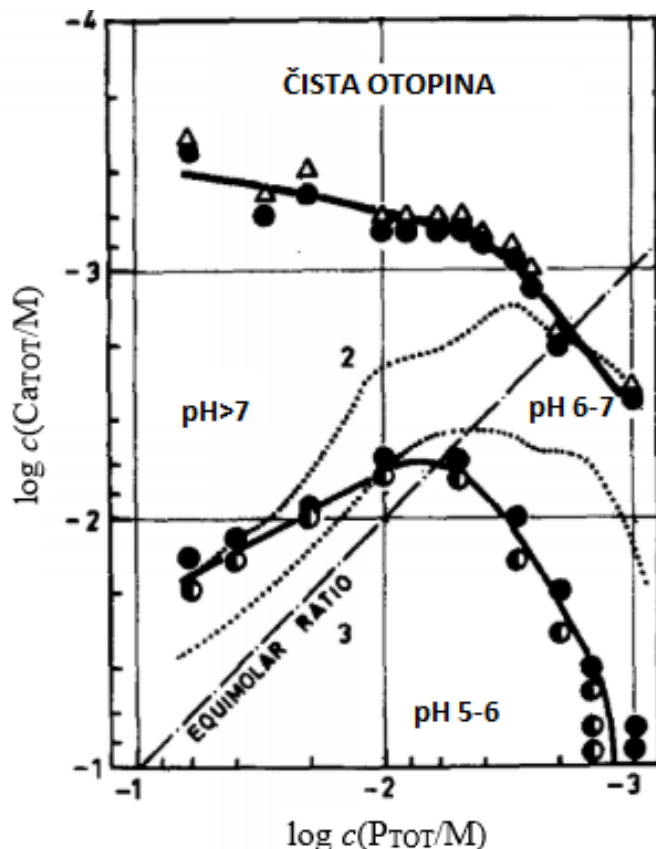


Slika 12. Shematski prikaz 24-satnog taložnog dijagrama sustava ($\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$) pri $\text{pH} 7,4$ i 25°C .

Punim krugom označeni su produkti koncentracije sustava proučavanih u radu.

Konstruirano prema ref. 46.

Taloženje slabo topljivih soli kalcijevih fosfata iz vodenih otopina CaCl_2 ($3 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$) i Na_2HPO_4 ($10^{-3} - 6 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) proučavano je na 25°C , uz prethodno podešen pH na 7,4. Talozi su nakon 24-satnog starenja izolirani i identificirani mikroskopijom, kemijskom analizom i tehnikama određivanja strukture (slika 13.).⁴⁷

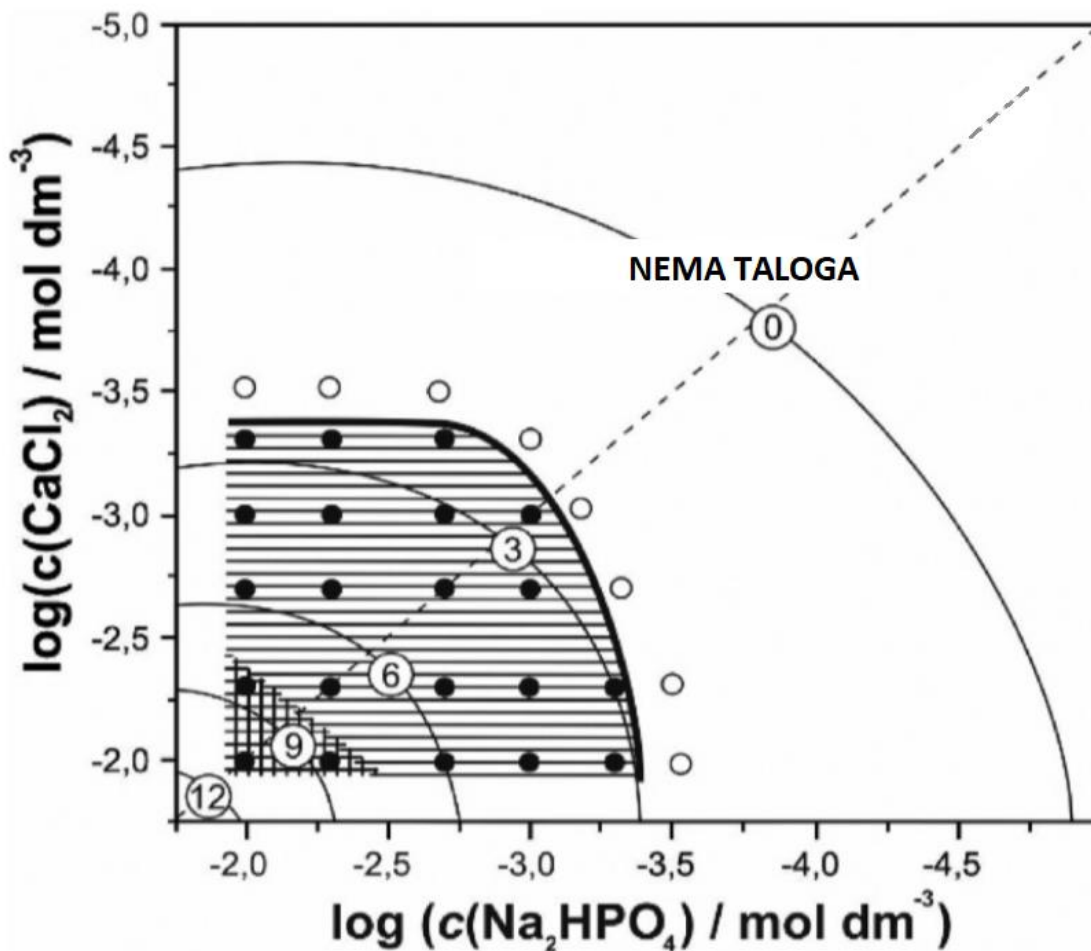


Slika 13. Taložni dijagram sustava CaCl_2 ($3 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$) – Na_2HPO_4 ($10^{-3} - 6 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) pri pH 7,4 i 25°C . Jednakostranični trokut označava čistu otopinu, punim krugom označeno je područje u kojem nastaju mikrokristalni aglomerati OCP-a. Crno bijelim krugom označeno je područje u kojem nastaju smjese DCPD-a i apatita. Konstruirano prema ref. 47.

U području niskih koncentracija označenom kao područje 2, pri 25°C većina taloga sastojala su se od kristalita dobro definirane morfologije, tzv. pločastih i igličastih kristala, pojedinačnih ili povezanih u veće aglomerate. U ovom području je OCP formiran kao dominantna faza nastala

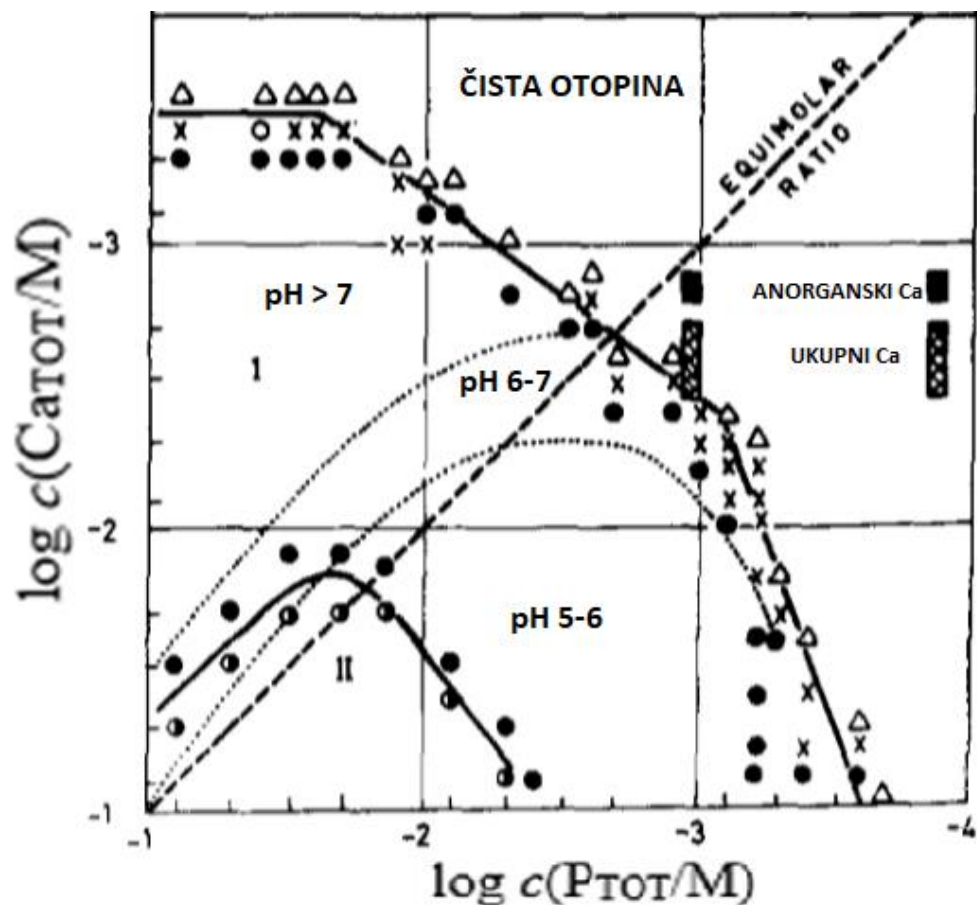
transformacijom iz kriptokristalne faze. U području većih koncentracija označenom kao područje 3, raznim analizama nastalog taloga utvrđeno je da su nastale smjese DCPD-a i apatita, vidljive kao veliki romboidni kristali i mikrokristalni aglomerati. Pri tome nije bilo moguće odrediti radi li se o hidroksiapatitu, HA ili o kalcij deficijentnom apatitu, CaDHA, ali je utvrđeno da apatit nastaje hidrolizom iz OCP-a.⁴⁷

U kompleksnom sustavu, $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$, u kojem početni pH nije namještan (slika 14.), također su uočena dva područja taloženja, jedan pri niskoj, a drugi pri visokoj $S - 1$. Pri niskoj $S - 1$ nastaje samo CaDHA, a pri $(S - 1) > 8$ nastaje smjesa DCPD-a i CaDHA. Teoretska granica taloženja, $S - 1 = 0$ simetričnog je oblika, kao i metastabilna zona koja je prilično velika, kao i u jednostavnom sustavu (slika 11.). Rezultati istraživanja koje su proveli Füredi-Milhofer i suradnici i Buljan Meić sa suradnicima pokazuju da se istovremeno mogu pojaviti dva dominantna mehanizma nastajanja taloga. Mehanizmi su izravna nukleacija DCPD-a i formiranje OCP-a, CaDHA i HA iz prekursorske faze ACP-a.³



Slika 14. Taložni dijagram kompleksnog sustava, $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ pri $25\text{ }^\circ\text{C}$ nakon 60 min starenja, $\text{pH} = 6,8 - 8,6$. Konstruirano prema ref. 3.

Taloženje kalcijevih fosfata iz $0,15\text{ mol dm}^{-3}$ otopine NaCl -a proučavano je u širokom rasponu koncentracija CaCl_2 i Na_2HPO_4 . Taloženje je praćeno 24 sata, pri $25\text{ }^\circ\text{C}$ i $\text{pH} 7,4$ (slika 15.).⁴⁸

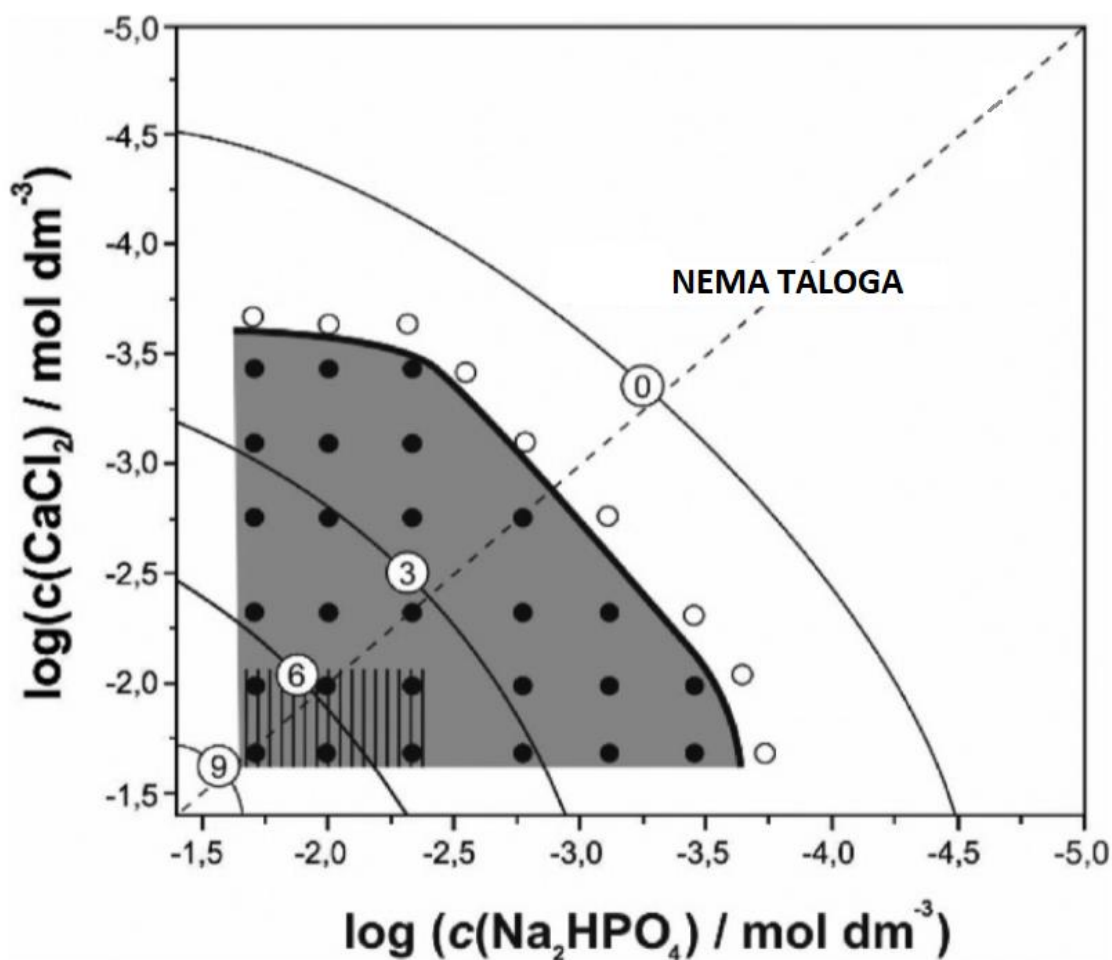


Slika 15. Taložni dijagram sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - 0,15 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaCl}$, pri pH 7,4 i 25 °C.

Prikazani su položaji granica taloženja i granice između područja koncentracije unutar kojih prevladavaju mikrokristalni aglomerati OCP-a (označeni znakom x) u suvišku ukupnog fosfata (područje I) ili CaDHA (označen punim krugom) u suvišku ukupnog kalcija i intrakristalne smjese DCPD-a i CaDHA (označene crno bijelim krugom) (područje II). Izo-pH linije koje dijele područja koncentracija unutar kojih uzorci pokazuju konstantne konačne pH vrijednosti označene su točkastim linijama. Konstruirano prema ref. 48.

Pri srednjoj prezasićenosti u procesu dvostupanjskog taloženja preko amorfnog prekursora nastali su mikrokristalni aglomerati OCP-a i CaDHA (područje I). Molarni omjer Ca/P taloga dobivenih u suvišku fosfatnih iona iznosio je oko 1,33, što odgovara OCP-u. U suvišku kalcijevih iona nastao je kalcij deficijentni apatit, CaDHA s niskim molarnim omjerom Ca/P (1,35 – 1,45).^{49,50} Pri visokim početnim koncentracijama reaktanata identificirana je smjesa CaDHA + DCPD (područje II).⁴⁸

Fiziološki taložni sustav ($\text{CaCl}_2 : \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaCl}$ ($c = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$) – MgCl_2) sastoji se od iona konstituenta, NaCl i MgCl_2 , a istražen je s ciljem simuliranja anorganskog kemijskog okruženja u živim organizmima (slika 16.). Uočena su dva područja taloženja, jedan pri niskoj, a drugi pri visokoj $S - 1$. Pri $(S - 1) < 5,6$ detektiran je samo ACP, dok je pri relativno visokoj $S - 1$ uz ACP detektiran i DCPD. Teoretska granica taloženja, $S - 1 = 0$ simetričnog je oblika i pomaknuta je prema nižim koncentracijama fosfata u usporedbi s teoretskom granicom taloženja kompleksnog sustava. Metastabilna zona simetričnog je oblika te je uža u odnosu na jednostavni i kompleksni sustav, što je pokazatelj promjene sastava otopine.³



Slika 16. Taložni dijagram fiziološkog sustava, $\text{CaCl}_2 : \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaCl}$ ($c = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$) – MgCl_2 pri $25 \text{ }^\circ\text{C}$ nakon 60 min starenja. Konstruirano prema ref. 3.

2.3.2. Utjecaj citrata na taloženje kalcijevih fosfata

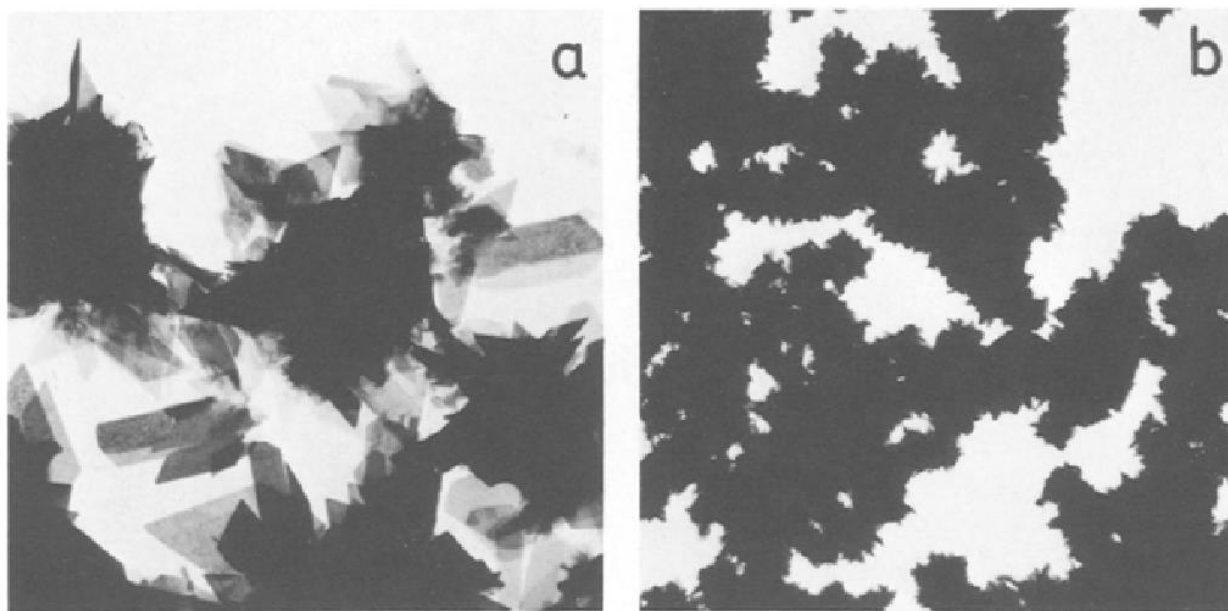
Interes za ispitivanje utjecaja citratnih iona na taloženje kalcijevih fosfata proizlazi iz njegove fiziološke važnosti. Oko 70 % citrata pronađeno je u ljudskom organizmu, a većina se nalazi u mineralnom dijelu. Citratni ioni vežu se na površinu kostiju istovremenim istiskivanjem ekvivalentne količine fosfornih iona.⁵¹ Limunska kiselina je mala molekula čiji su ioni sastojci mokraće i imaju značajnu ulogu u sprječavanju nastajanja oksalatnih i fosfornih kamenaca. Citratni ioni inhibiraju rast i agregaciju kalcijevih oksalata, DCPD-a i HA.^{52,53,54} Primjerice, pacijenti s kalcij-oksalatnim kamencima izlučuju u mokraći znatno manje iona citrata nego zdrave osobe,^{55,56} pa se citrat radi prevencije daje u prehrani bolesnika.⁵⁷

Ispitivanjem utjecaja citrata na taloge kalcijevih fosfata u trajanju od 24 h na temperaturi od 25 °C IR spektroskopijom, dokazano je da citrat ne ulazi u kristalnu rešetku kalcijevog fosfata, ali da je zatvoren ili površinski adsorbiran na njegovoj površini. Istraživanja su pokazala da su učinci citrata na nastajanje i transformaciju taloga kalcijevih fosfata različiti i ovise o koncentraciji citrata. Niske koncentracije citrata tijekom taloženja mogu inducirati usporavanje rasta kristala CaDHA ili OCP-a, promjenu morfologije DCPD-a, usporavanje otapanja DA i usporavanje ekvibrilacije u interkristaličnim smjesama DCPD i apatita. Takvi su učinci vrlo vjerojatno uzrokovani površinskom adsorpcijom negativno nabijenih iona citrata koja je uzrokovala promjenu naboja izvorno neutralnih ili pozitivno nabijenih taloga.⁵¹

Kinetika nukleacije pokazuje da se uvođenjem citrata u otopinu ACP-a produžuje vrijeme njegove indukcije. Naime, citrat se može ugraditi u ACP ili pak adsorbirati na njegovu površinu. Kada se citrat uvede u sustav prije samog formiranja ACP-a, tako da se omogući njegova ugradnja u ACP, a time i znatno veća količina citrata povezana s ACP-om, ono ne utječe na njegovu stabilnost.⁵⁸ Jednom kada je citrat uveden u sustav nakon što je krenulo taloženje ACP-a, najvjerojatnije mjesto povezivanja s citratom je na površini ACP-a.⁵⁹ Pri tome, citrat uzrokuje modifikaciju površine ACP-a, dok se veličina čestica ACP-a bez i u prisutnosti citrata ne mijenja. Posljedično tome, citrat adsorbiran na ACP ima bitnu ulogu u inhibiciji nukleacije HA, dok je efekt citrata ugrađenog u ACP ili onog u otopini izrazito slab. Iz toga proizlazi dokazana tvrdnja da citrat može stabilizirati ACP, tako da je ACP to stabilniji što je više citrata

adsorbirao. Na ovaj način citrat kontrolira nukleaciju povezivanjem sa amorfnom prekursorskom fazom i njenom stabilizacijom, koja dalje inhibira površinske reakcije potrebne za nukleaciju.⁵⁸

U sustavu s kalcijevim kloridom ($c = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$), natrijevim fosfatom ($c = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i citratom ($c = 0 - 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$), pri pH 7,4, nakon 24 h starenja, formira se OCP kao dominantna faza. Međudjelovanjem citrata i OCP-a dolazi do usporavanja kristalnog rasta OCP-a, što je dokazano iz morfoloških razlika uočenih u elektronskim mikrografijama (slika 17.). Također je uočeno da nije došlo do modifikacije kristalnog oblika.⁵¹



Slika 17. Elektronske mikrografije taloga dobivenih miješanjem CaCl_2 ($c = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$), Na_2HPO_4 ($c = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i Na_3Cit ((a) $c = 0$, (b) $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) nakon 24-satnog starenja pri $25 \text{ }^\circ\text{C}$ i pH 7,4. Preuzeto iz ref. 51.

Adsorpcija citrata na površini OCP-a je nespecifična i nije uzrokovala promjenu kristalnog oblika. To je uzrokovano površinskom adsorpcijom negativno nabijenih citratnih vrsta, pri čemu dolazi do preokretanja naboja izvorno neutralno ili pozitivno nabijenih taloga.⁵¹

Međudjelovanja citrata s kristalima DCPD su elektrostatske prirode i to su izraženija što je koncentracija citrata veća. Nađeno je da citratni ioni utječu na brzinu taloženja i uzrokuju specifične promjene u morfologiji DCPD kristala (nastaju štapićasti DCPD kristali), što ukazuje na to da se citrat prvo adsorbira na bočne površine DCPD-a.⁶⁰

Na površini HA citratni ioni adsorbiraju se zamjenjujući fosfatne ione, pri čemu stvaraju intrasferne komplekse. Na taj način citratni ioni mjenjaju karakter površine HA, odnosno uzrokuju povećanja gustoće negativno nabijenih skupina na njegovoj površini. Kao posljedica varijacije vrste i količine dodanih citratnih molekula, formiranje kompleksa Ca-Citrat prati varijacije u ionskim koncentracijama vrsta u otopini, a time i varijacije u stupnju prezasićenosti HA. Čestice HA nastale u prisutnosti citrata su manje veličine od onih nastalih bez citrata.⁶¹ Van Der Houven i suradnici su tijekom provedenih eksperimenata na kalcijevim fosfatima zaključili da citrat povećava prezasićenost potrebnu za taloženje HA, vjerojatno kao posljedica vezanja citrata na aktivna mjesta rasta na HA, a čime se inhibira njegovo taloženje. Stupanj prezasićenosti odn. brzina nukleacije pada s većom količinom dodanog Na₃Cit, ili manjom količinom dodane citratne kiseline. Veličina čestica HA raste s većom količinom dodane citratne kiseline, dok se s većim dodatkom Na₃Cit veličina čestica smanjuje.⁶²

2.3.3. Utjecaj magnezija na taloženje kalcijevih fosfata

Magnezij je anorganska komponenta koja se redovito nalazi u biološkim tekućinama u koncentracijama većim od koncentracije kalcijevih iona. Mg²⁺ ioni imaju važnu ulogu u geokemijskim sustavima i u biomineralizaciji, uglavnom kao inhibitor taloženja CaP-a.^{63,64,65} Mg²⁺ ioni predloženi su kao vitalni čimbenici za inhibiciju spontanog taloženja HA u prirodi.⁶³ Magnezij se javlja u talozima dobivenim iz otopina kalcijevog fosfata koji sadrže magnezij, te u prirodnim i sintetskim mineralima kalcijevog fosfata. Svojstva magnezija slična su svojstvima kalcija.⁶⁶ Smanjene dimenzije kristalne rešetke minerala kalcijevog fosfata koji sadrže magnezij sugeriraju da magnezij zamjenjuje kalcij u kristalnoj rešetki. Magnezij je također prisutan u mineralima kostiju i u koloidnoj fazi mlijeka. U kostima je prisutan u dva oblika različite

topljivosti te je predloženo da se topljiviji oblik apsorbira na površinama koštanih kristala kao Mg^{2+} ili $MgOH^+$, dok manje topljivi zamjenjuje kalcij kristalne rešetke.⁶⁷

Ispitivanjem utjecaja magnezija ($c = 1 - 8 \text{ mol dm}^{-3}$) na taloženje u otopinama kalcijevog fosfata nakon dodavanja alkalija dobiveni su gelasti, granulirani i miješani talozi CaP-a. Taloženje tih soli inducirano je dodavanjem razrijeđenog natrijevog hidroksida vodenim otopinama. Nađeno je da gelasti kalcijev fosfat sadrži manje magnezija nakon suspenzije u otopinama magnezija nego pri taloženju u prisutnosti magnezija. To se događa zbog toga što se Mg^{2+} ion (ili $MgOH^+$) natječe s Ca^{2+} ionom (ili $CaOH^+$) za izmjenu s H^+ ionom gelastog taloga, a veće zadržavanje magnezija dobivenog taloženjem može se pripisati njegovoj ugradnji u kristalnu rešetku taloga.⁶⁷ Granulirani kalcijev fosfat dobiva se taloženjem nakon uklanjanja gelastog kalcijevog fosfata. Rezultati ispitivanja granuliranog taloga pokazali su da je prisutnost magnezija povećala vrijeme indukcije potrebno za taloženje, povećala konačni pH supernatanta i smanjila odnos Ca/P do vrijednosti slične onoj za dikalcijev fosfat. Talози dobiveni u prisutnosti magnezija nisu imali izgled normalnog granuliranog taloga, nego su se sastojali od malih kristala nalik onima dikalcijeva fosfata pomiješani s nekoliko zrnatih čestica. Promjene u omjeru Ca/P ukazuju na to da prisutnost magnezija u otopini za taloženje inhibira konverziju dikalcijeva fosfata u alkalniju granuliranu sol. Progresivno smanjenje konačne vrijednosti pH, pri smanjenoj koncentraciji magnezija ($1 - 2 \text{ mol dm}^{-3}$) upućuje da je došlo do konverzije dikalcijeva fosfata u više alkalni oblik.^{66,67} Pri većim koncentracijama magnezija ($6 - 7 \text{ mol dm}^{-3}$) promjene pH odvijale su se sporije, sadržaj kalcija i fosfata se kontinuirano smanjivao, magnezij je postupno iščezavao iz taloga, a potpuno je nestao kada je odnos Ca/P dostigao vrijednost 1. Gubitak magnezija iz taloga ukazuje da je došlo do otapanja gelaste soli s rekristalizacijom dikalcijeva fosfata.⁶⁷

Miješani kalcijev fosfat dobiven u prisutnosti magnezija mogao bi biti ili granulirani precipitat ili dikalcijev fosfat (ili smjese obaju). Tijekom njegovog stvaranja magnezij se postupno gubi iz taloga, a gelasti talog konvertira se u granulirani. Povećanje koncentracije magnezija u otopini rezultiralo je povećanjem produkta topljivosti gelastog taloga i smanjenjem topljivosti granuliranog taloga.⁶⁷

Utjecaj magnezija na taloženje kalcijevih fosfata istražen je u sustavu za simulaciju tekućina za anaerobnu digestiju i simulaciju otpadnih voda iz kućanstva. Nakon taloženja napravljene su kemijske analize i rendgenska difrakcija dobivenih krutina. Ispitivanje je pokazalo da na taloge

utječu koncentracija magnezija, vrijeme taloženja i pH. Nađeno je da se, pri vrijednostima pH nižim od 9, povećanjem koncentracije magnezija smanjuje uklanjanje fosfata i taloženje kalcijevih fosfata. Porastom pH do 11 povećalo se uklanjanje fosfata, a pri većim vrijednostima pH efekt povećanja koncentracije imao je neznatan učinak. Pri pH 8 u sustavu bez magnezija prvo je došlo do polaganog uklanjanja fosfata, nakon čega je uslijedilo ubrzano uklanjanje fosfata u roku od 8 do 24 h. U prisutnosti magnezija koncentracija fosfata neznatno se smanjila tijekom eksperimenta.⁶⁸

Mg²⁺ može učinkovito stabilizirati ACP kako bi se osigurala regulirana kinetika biomineralizacije.⁶⁹ Stabilizacija ACP-a pomoću Mg pripisana je njegovoj sposobnosti da formira jače komplekse s fosfatnim ionima nego što to čini Ca, čime je spriječeno nastajanje apatita. Niske koncentracije Mg produljuju ukupno vrijeme transformacije ACP-a u HA i vrijeme indukcije, te smanjuju topljivost ACP-a. Smanjenje topljivosti može se objasniti nastajanjem neke vrste površinskog kompleksa magnezijevog fosfata.⁷⁰ Smanjenjem topljivosti ACP-a magnezij inhibira već spomenutu transformaciju ACP-a u HA, pri čemu su adsorbirani Mg²⁺ ioni učinkovitiji od onih ugrađenih u kristalnu rešetku ACP-a.⁷¹ Pri većim koncentracijama magnezija topljivost ACP-a smanjena je do te mjere da uopće ne dolazi do transformacije u HA.⁷⁰

Prisutnost magnezijevih iona nema vidljiv utjecaj na brzinu kristalizacije DCPD-a, ali znatno usporava brzinu kristalizacije OCP-a, gotovo neovisno o stupnju prezasićenosti. Takav učinak magnezijevih iona na brzinu kristalizacije OCP-a pripisuje se također njihovoj adsorpciji na aktivnim mjestima rasta na površini OCP kristala.⁶⁴ Magnezijevi ioni su efektivni i jaki inhibitori nukleacije i kristalnog rasta HA. Oni smanjuju brzinu nukleacije HA stabiliziranjem gel-ACP faze. Također magnezijevi ioni u približno fiziološkim uvjetima (pH = 7,4, $t = 37$ °C, $I = 0,150$ mol dm⁻³) produžuju vrijeme indukcije i transformacije HA.⁷² To je posljedica frakcijskog smanjenja konstante brzine, objašnjeno kao blokiranje aktivnih mjesta rasta putem adsorpcije magnezijevih iona na površini kristala HA.⁷³

3. RAČUNSKI DIO

3.1. Taložni dijagrami

Teoretski taložni dijagrami kalcijevih fosfata u sustavima bez aditiva, s dodatkom magnezijevog klorida, natrijevog citrata i s dodatkom magnezijevog klorida i natrijevog citrata izračunati su pomoću programa Visual Minteq 3.1. (besplatno dostupan na: <https://vminteq.lwr.kth.se/>), a zatim konstruirani u programu OriginPro 8.1. Program Visual Minteq 3.1. simulira različite reakcijske uvjete te na temelju ravnotežnih reakcija pretpostavlja vjerojatnost pojavljivanja pojedinih kemijskih vrsta. Pomoću poznatih početnih koncentracija reaktanata, pH, temperature taložnog sustava, konstanti stabilnosti kompleksa i konstanti produkta topljivosti, računa koncentracije nastalih ionskih vrsta (slobodnih iona i kompleksa), ionsku jakost, ionske produkte aktiviteta, aktivitet slobodnih iona i indeks prezasićenosti.

U Visual Mintequ koncentracija može biti izražena u nekoliko mjernih jedinica; mol kg⁻¹, log(mol kg⁻¹), mmol kg⁻¹, μmol kg⁻¹, mg dm⁻³ i μg dm⁻³. Pri tome prve četiri jedinice predstavljaju molalitet, a preostale dvije (mg dm⁻³ i μg dm⁻³) predstavljaju masenu koncentraciju. U vodenim otopinama i pri niskim ionskim jakostima (< 0,3 mol dm⁻³) vrijedi:

$$b \text{ mol kg}^{-1} \approx c \text{ mol L}^{-1}$$

Stoga se kod $I < 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$ jedinica mol kg⁻¹ može zamijeniti s mol dm⁻³ bez izazivanja ozbiljnih pogrešaka. Kada su odabrane jedinice mg dm⁻³ ili μg dm⁻³ Visual Minteq će pretvoriti jedinice u mol/kg prije izračuna. Pri tome, program pretpostavlja da je gustoća vode 1000 kg m⁻³, što je prihvatljiva aproksimacija za $I < 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$. Kada je $I > 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$ razlika između molaliteta i koncentracije je prevelika da bi se zanemarila. U tim slučajevima, potrebno je pretvoriti koncentracije u molalite prije korištenja programa, jer je molalitet osnova za izračun aktiviteta. U takvim okolnostima bi, dakle, trebalo izbjegavati uporabu jedinica mg dm⁻³ i μg dm⁻³.

Ionska jakost u Visual Mintequ može biti ili definirana od strane korisnika (opcija „Fixed at“ u izborniku programa) ili izračunata pomoću programa (opcija „Calculated“ u izborniku programa). U drugoj opciji, ionska jakost će se izračunati iz molaliteta vrsta prisutnih u otopini

koje se nalaze u ravnoteži. Jedinica ionske jakosti je mol kg⁻¹ (molalitet). Ionska jakost dana je sljedećom jednačinom:

$$I(\text{mol kg}^{-1}) = 0,5 \cdot \sum_i b_i \cdot z_i^2 \quad (3)$$

gdje je b_i molalitet ionske vrste i , a z_i je njezin naboj.

Račun započinje uz pretpostavku da je ionska jakost 0, a koeficijenti aktiviteta 1, dok su konstante ili određene pri $I = 0$ ili korigirane na tu vrijedost ionske jakosti. Ionske koncentracije izračunate u prvom krugu računanja koriste se za izračun daljnjih ionskih jakosti, iz kojih se onda pomoću Daviesove modifikacije proširene Debye-Hückelove jednačine računaju novi koeficijenti aktiviteta, γ_i :

$$-\log \gamma_i = A \cdot z_i^2 \left(\frac{\sqrt{\frac{I}{\text{mol dm}^{-3}}}}{1 + \sqrt{\frac{I}{\text{mol dm}^{-3}}}} - B \cdot \left(\frac{I}{\text{mol dm}^{-3}} \right) \right) \quad (4)$$

gdje je γ_i koeficijent aktiviteta vrste i , A je Debye-Hückelova konstanta koja ovisi o relativnoj permitivnosti i temperaturi, a na 25 °C iznosi 0,51, z_i nabojni broj iona, a I je ionska jakost. B je takozvani Daviesov B parametar, koji ima zadanu vrijednost 0,3 u Visual Minteq. Omjer umnožaka koeficijent aktiviteta produkata i reaktanata za reakciju u kojoj a mola tvari A i b mola tvari B tvore c mola tvari C i d mola tvari D ustvari je konstanta kemijske ravnoteže, K , koja je za takvu reakciju jednaka:

$$K = \frac{a_C^c \cdot a_D^d}{a_A^a \cdot a_B^b} \quad (5)$$

gdje je a aktivitet tvari A, B, C i D koji je jednak umnošku molalnosti i koeficijenta aktiviteta γ , pa je za vrstu i jednak:

$$a_i = b_i \cdot \gamma_i \quad (6)$$

Ključnu teoriju za izračun koeficijenata aktiviteta pri svim uvjetima tek treba utvrditi. Stoga se sve jednačine za izračun γ mogu promatrati kao empirijske, koje mogu biti valjane u danim uvjetima. U Visual Mintequ postoje tri alternativne jednačine za izvođenje korekcija aktivnosti (konverzije između molalnosti i aktiviteta): Daviesova jednačina, proširena Debye-Hückelova

jednadžba i SIT (Teorija specifične interakcije iona prema Brønsted-Guggenheimu). U ovom radu je, kako je ranije navedeno, korištena Daviesova modifikacija proširene Debye-Hückelove jednadžbe. Valjanost Daviesove jednadžbe ograničena je na nisku ili srednju ionsku jakost. Za većinu problema Daviesova jednadžba će vjerojatno dati prihvatljive rezultate kod $I < 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$. Za neke sustave kao što su fiktivni ionski parovi, npr. $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$, može se koristiti kod nešto većih ionskih jakosti. Općenito, uporaba Daviesove jednadžbe na $I > 0,5 \text{ mol kg}^{-1}$ ne preporučuje se ni pod kojim uvjetima. Koncentracije relevantnih ionskih vrsta u otopini izračunate su na temelju početnih koncentracija reaktanata te konstanti ravnoteža i pripadajućih konstanti stabilnosti kompleksa danih u Tablici 2.⁷⁴

Tablica 2. Logaritmi konstanti stabilnosti kompleksa na $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, pri pH 7,4, korištene za izračun prezasićenosti i teoretskih granica taloženja u istraživanim sustavima. Konstruirano prema ref. 74.

RAVNOTEŽA		logK
$\text{Ca}^{2+} + \text{Cit}^{3-}$	\leftrightarrow	CaCit^{-} 4,87
$\text{Ca}^{2+} + \text{Cl}^{-}$	\leftrightarrow	CaCl^{-} 0,4
$\text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{Cit}^{-}$	\leftrightarrow	$\text{CaH}_2\text{Cit}^{+}$ 12,59
$\text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{PO}_4^{-}$	\leftrightarrow	$\text{CaH}_2\text{PO}_4^{+}$ 20,923
$\text{Ca}^{2+} + \text{HCit}^{2-}$	\leftrightarrow	$\text{CaHCit}_{(\text{aq})}$ 9,256
$\text{Ca}^{2+} + \text{HPO}_4^{2-}$	\leftrightarrow	$\text{CaHPO}_{4(\text{aq})}$ 15,035
$\text{Ca}^{2+} + \text{OH}^{-}$	\leftrightarrow	CaOH^{+} -12,697
$\text{Ca}^{2+} + \text{PO}_4^{3-}$	\leftrightarrow	CaPO_4^{-} 6,46
$2\text{H}^{+} + \text{Cit}^{3-}$	\leftrightarrow	H_2Cit^{-} 11,157
H_3PO_4	\leftrightarrow	$\text{H}^{+} + \text{H}_2\text{PO}_4^{-}$ 21,721
$\text{H}_2\text{PO}_4^{-}$	\leftrightarrow	$\text{H}^{+} + \text{HPO}_4^{2-}$ 19,573
$3\text{H}^{+} + \text{Cit}^{3-}$	\leftrightarrow	$\text{H}_3\text{Cit}_{(\text{aq})}$ 14,285
$\text{H}^{+} + \text{Cit}^{3-}$	\leftrightarrow	HCit^{2-} 6,396
HPO_4^{2-}	\leftrightarrow	$\text{H}^{+} + \text{PO}_4^{3-}$ 12,375
$\text{Mg}^{2+} + \text{Cit}^{3-}$	\leftrightarrow	MgCit^{-} 4,89
$\text{Mg}^{2+} + \text{Cl}^{-}$	\leftrightarrow	MgCl^{+} 0,6
$\text{Mg}^{2+} + \text{H}_2\text{Cit}^{-}$	\leftrightarrow	$\text{MgH}_2\text{Cit}^{+}$ 12,29
$\text{Mg}^{2+} + \text{HCit}^{2-}$	\leftrightarrow	$\text{MgHCit}_{(\text{aq})}$ 8,906
$\text{Mg}^{2+} + \text{HPO}_4^{2-}$	\leftrightarrow	$\text{MgHPO}_{4(\text{aq})}$ 15,175
$\text{Mg}^{2+} + \text{OH}^{-}$	\leftrightarrow	MgOH^{+} -11,417
$\text{Mg}^{2+} + \text{PO}_4^{3-}$	\leftrightarrow	MgPO_4^{-} 4,654
$2\text{Na}^{+} + \text{HPO}_4^{2-}$	\leftrightarrow	$\text{Na}_2\text{HPO}_{4(\text{aq})}$ 13,32
$2\text{Na}^{+} + \text{PO}_4^{3-}$	\leftrightarrow	$\text{Na}_2\text{PO}_4^{-}$ 2,59
$\text{Na}^{+} + \text{Cit}^{3-}$	\leftrightarrow	NaCit^{2-} 1,39
$\text{Na}^{+} + \text{Cl}^{-}$	\leftrightarrow	$\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ -0,3
$\text{Na}^{+} + \text{H}_2\text{PO}_4^{-}$	\leftrightarrow	$\text{NaH}_2\text{PO}_{4(\text{aq})}$ 19,873
$\text{Na}^{+} + \text{HPO}_4^{2-}$	\leftrightarrow	NaHPO_4^{-} 13,445
$\text{Na}^{+} + \text{OH}^{-}$	\leftrightarrow	$\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ -13,897
$\text{Na}^{+} + \text{PO}_4^{3-}$	\leftrightarrow	NaPO_4^{2-} 1,43
H_2O	\leftrightarrow	$\text{H}^{+} + \text{OH}^{-}$ -14

3.2. Obrada podataka

Koncentracije reaktanata varirane su unutar širokog područja, $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-1} - 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-1} - 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$, dok su koncentracije magnezijevih i citratnih iona odgovarale fiziološkim uvjetima.^{3,51} Ukupno su ispitana četiri različita sustava:

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$)

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$ ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$)

$\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$) – Na_3Cit ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$)

Za svaku kombinaciju početnih koncentracija iona reaktanata pomoću računalnog programa Visual Minteq 3.1 izračunati su indeksi prezasićenosti, SI , za četiri nastale faze; ACP, OCP, DCPD i HA.

Indeks prezasićenosti definiran je kao:

$$SI = \log \frac{IAP}{K_s} \quad (7)$$

gdje je IAP produkt aktiviteta iona definiran jednadžbom³:

$$IAP = a_A^n \cdot b_B^m \quad (8)$$

U skladu s time, indeks prezasićenosti pojedinih faza CaP-a definiran je kao:

$$SI_{ACP} = \log \left\{ [c(\text{Ca}^{2+})^3 \cdot c(\text{PO}_4^{3-})^2 \cdot \gamma_2^3 \gamma_3^2] / K_{sp}^0 \right\} \quad (9)$$

$$SI_{OCP} = \log \left\{ [c(\text{Ca}^{2+})^4 \cdot c(\text{PO}_4^{3-})^3 \cdot c(\text{H}^+) \cdot \gamma_2^4 \gamma_3^3 \gamma_1] / K_{sp}^0 \right\} \quad (10)$$

$$SI_{DCPD} = \log \left\{ [c(\text{Ca}^{2+}) \cdot c(\text{PO}_4^{3-}) \cdot c(\text{H}^+) \cdot \gamma_2 \gamma_3 \gamma_1] / K_{sp}^0 \right\} \quad (11)$$

$$SI_{HA} = \log \left\{ [c(\text{Ca}^{2+})^5 \cdot c(\text{PO}_4^{3-})^3 \cdot c(\text{H}^+) \cdot \gamma_2^5 \gamma_3^3 \gamma_1] / K_{sp}^0 \right\} \quad (12)$$

gdje brojke u indeksu koeficijenta aktivnosti predstavljaju naboj iona.³

Prezasićenost, S , definirana je kao:

$$S = (10^{SI})^{1/n} \quad (13)$$

gdje je n broj iona u formuli spoja.³

Relativna prezasićenost, $S - 1$ jednaka je:

$$S - 1 = (10^{SI})^{1/n} - 1 \quad (14)$$

Temeljem dobivenih SI izračunate su prezasićenosti za navedene faze prema jednadžbama:

$$S_{ACP} = (10^{SI_{ACP}})^{1/5} \quad (15)$$

$$S_{OCP} = (10^{SI_{OCP}})^{1/8} \quad (16)$$

$$S_{DCPD} = (10^{SI_{DCPD}})^{1/3} \quad (17)$$

$$S_{HA} = (10^{SI_{HA}})^{1/9} \quad (18)$$

Na temelju dobivenih vrijednosti, izračunate su relativne prezasićenosti, $S - 1$ svih dobivenih faza za sve kombinacije koncentracija reaktanata te su pomoću njih u programu OriginPro 8.1 konstruirani istraženi taložni dijagrami.

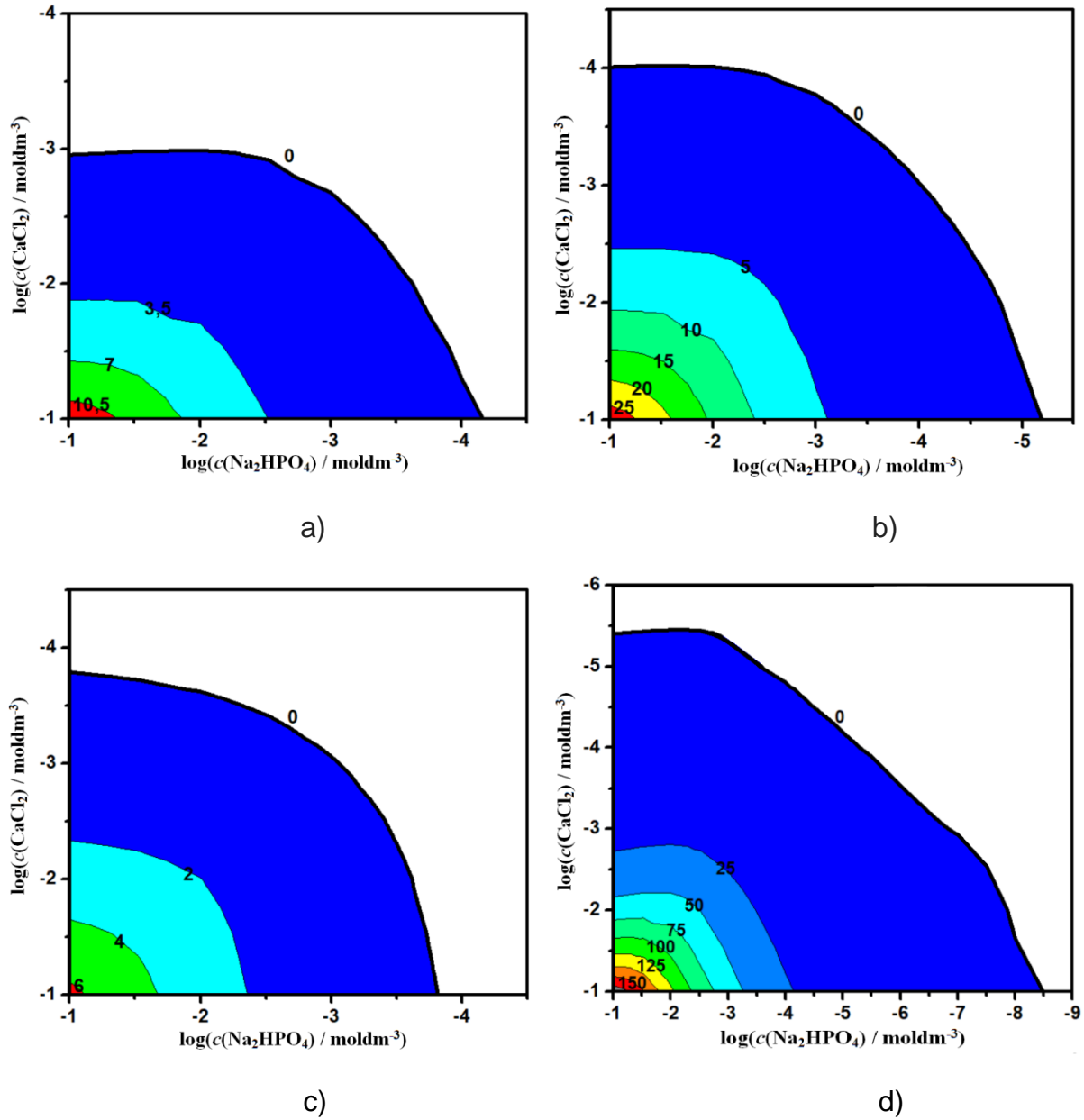
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Analiza taložnih dijagrama

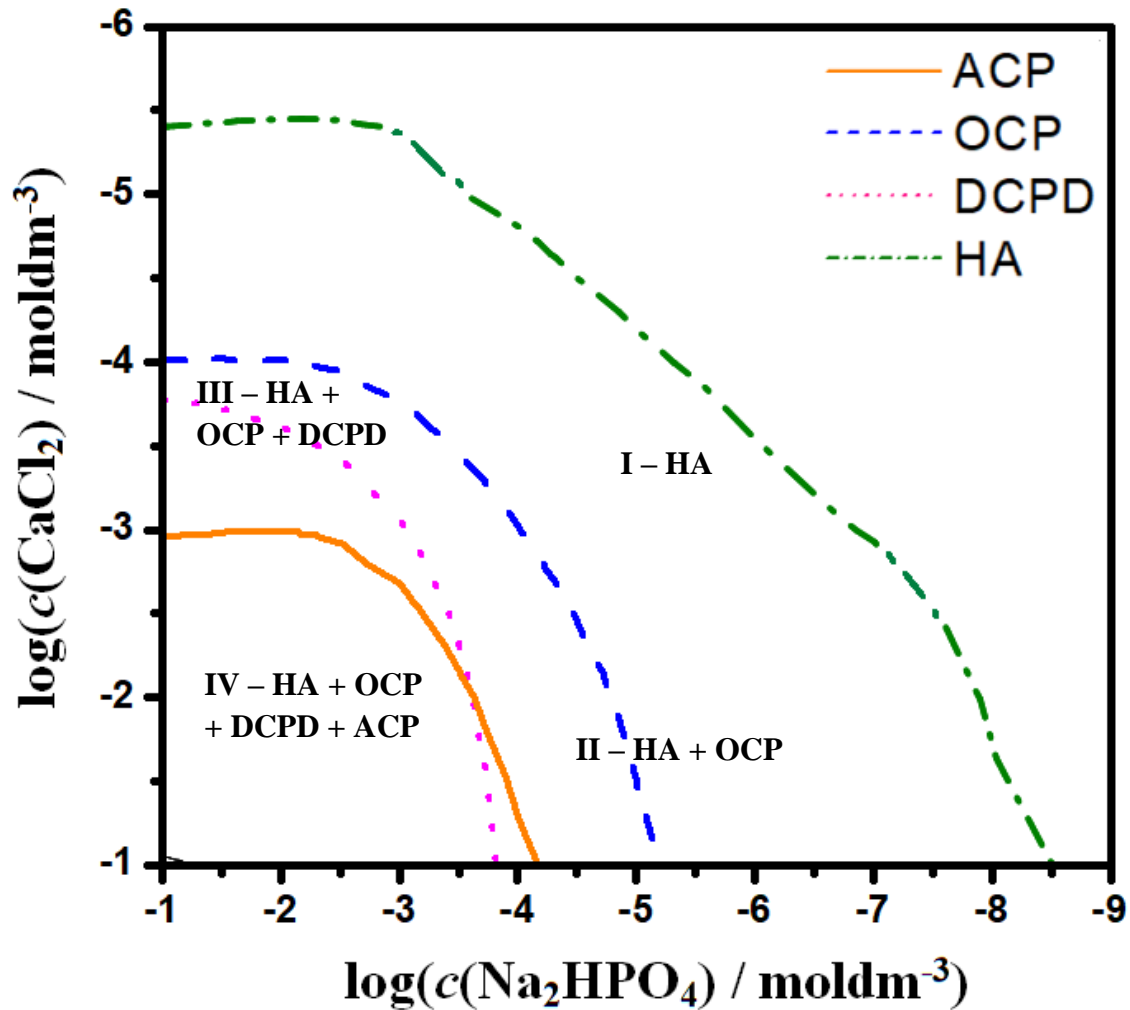
4.1.1. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$

Na slici 18. prikazani su taložni dijagrami ACP, OCP, DCPD i HA u taložnom sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$, pri $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25$ °C. Podebljana linija je granica topljivosti čvrste faze tj. teoretska granica taloženja, a tanke linije su izergone tj. linije konstantne relativne prezasićenosti. Brojevi uz linije označavaju vrijednosti relativne prezasićenosti, $S - 1$. Teoretska granica taloženja ukazuje da do taloženja ACP-a dolazi pri koncentracijama CaCl_2 većim od 10^{-3} mol dm^{-3} i Na_2HPO_4 većim od $10^{-4,1}$ mol dm^{-3} . OCP taloži pri koncentracijama većim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-4}$ mol dm^{-3} i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-5,1}$ mol dm^{-3} , DCPD pri koncentracijama većim od $c(\text{CaCl}_2) = c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-3,8}$ mol dm^{-3} , dok HA pri koncentracijama većim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-5,4}$ mol dm^{-3} i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-8,5}$ mol dm^{-3} . Prema položaju teoretske granice topljivost raste u nizu $\text{HA} < \text{OCP} < \text{DCPD} < \text{ACP}$. Granice taloženja ACP-a, OCP-a i HA asimetričnog su oblika, za razliku od granice taloženja DCPD-a koja je simetrična. Prema Težaku asimetrični oblik taložnih dijagrama može ukazivati na nastajanje specifičnih ionskih parova ili kompleksa u otopini ili na povećanu topljivost čvrstih faza pri većim koncentracijama fosfatnih iona.⁷⁵

Na slici 19. prikazane su teoretske granice topljivosti sve četiri faze CaP-a. S obzirom na položaje granica topljivosti moguće je definirati četiri područja taloženja u kojima nastaje talog različitog sastava. Područje I predstavlja područje najmanje koncentracije reaktanata u kojemu nastaje samo HA. Povećanjem koncentracije, odnosno pri srednjim vrijednostima istraženih koncentracija reaktanata nastaje smjesa HA + OCP označena kao područje II. Pri nešto većim koncentracijama reaktanata (područje III) uz HA i OCP pojavljuje se i DCPD, odnosno nastaje njihova smjesa. Pri najvećim koncentracijama (područje IV) nastaje smjesa sve četiri faze CaP-a; HA + OCP + DCPD + ACP.



Slika 18. Taložni dijagrami: a) ACP-a, b) OCP-a, c) DCPD-a i d) HA u sustavu CaCl_2 - Na_2HPO_4 , $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25^\circ\text{C}$.



Slika 19. Granice taloženja ACP, OCP, DCPD i HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$,
 $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

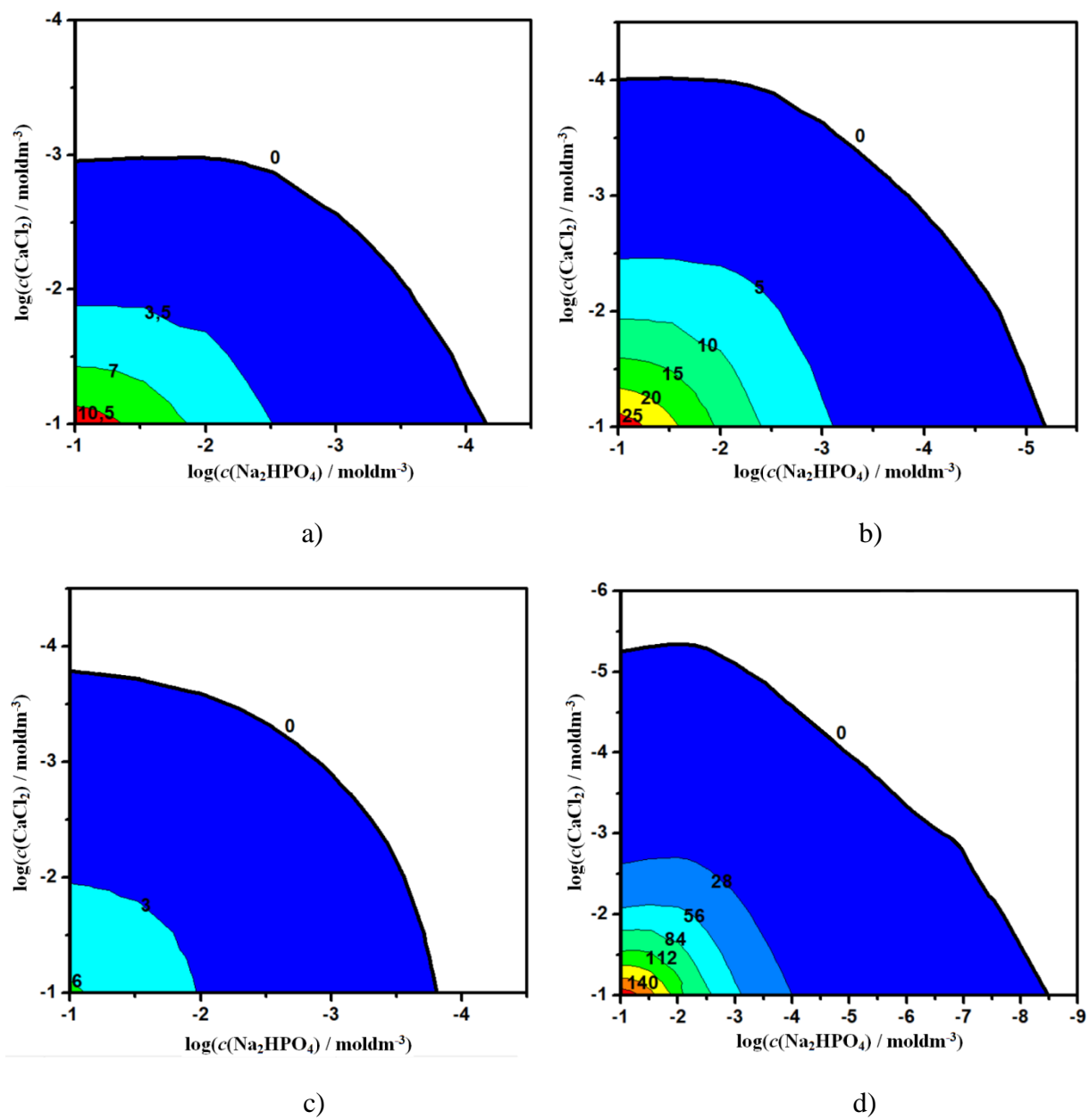
Takvi rezultati djelomično se slažu s rezultatima ispitivanja koja su proveli Füredi-Milhofer i suradnici.⁴⁷ Oni su naime u području manjih koncentracija ($c(\text{CaCl}_2) = 3 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$), pri istim uvjetima pronašli mikrokristalne aglomerate OCP-a nastale transformacijom iz kriptokristalne faze. U ovom istraživanju OCP se pojavljuje u smjesi s HA, pri nešto manjim koncentracijama kalcija i fosfata ($c(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$). Pri većim koncentracijama reaktanata ($c(\text{CaCl}_2) = 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) Füredi-Milhofer i suradnici uočili su i raznim analizama nastalog taloga

dokazali pojavu velikih romboidnih kristala i mikrokristalnih aglomerata, tj. smjese DCPD-a i apatita, čiji točan sastav nisu mogli odrediti (slika 13.).⁴⁷ U ovom eksperimentu pri jednakim koncentracijama kalcija i fosfata nastaje smjesa sve četiri faze fosfata (HA + OCP + DCPD + ACP), a DCPD se javlja pri koncentracijama $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-3,8} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-3,8} \text{ mol dm}^{-3}$ u smjesi s HA i OCP-om (slika 19.).

Prema rezultatim Buljan Meić i suradnika³, u kompleksnom sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ bez prethodnog namještanja pH, detektirana je smjesa DCPD + CaDHA pri koncentracijama $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-2,5} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-2,5} \text{ mol dm}^{-3}$ što je djelomično u skladu s rezultatima ovoga eksperimenta (slika 14.). Naime, ovdje DCPD nastaje pri nešto manjim koncentracijama kalcija i fosfata, što se može pripisati utjecaju fiziološkog pH (7,4). Usporedba teoretskih i eksperimentalnih taložnih dijagrama za sustav $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$, ukazuje da termodinamički parametri nisu dovoljni za opis takvih sustava.

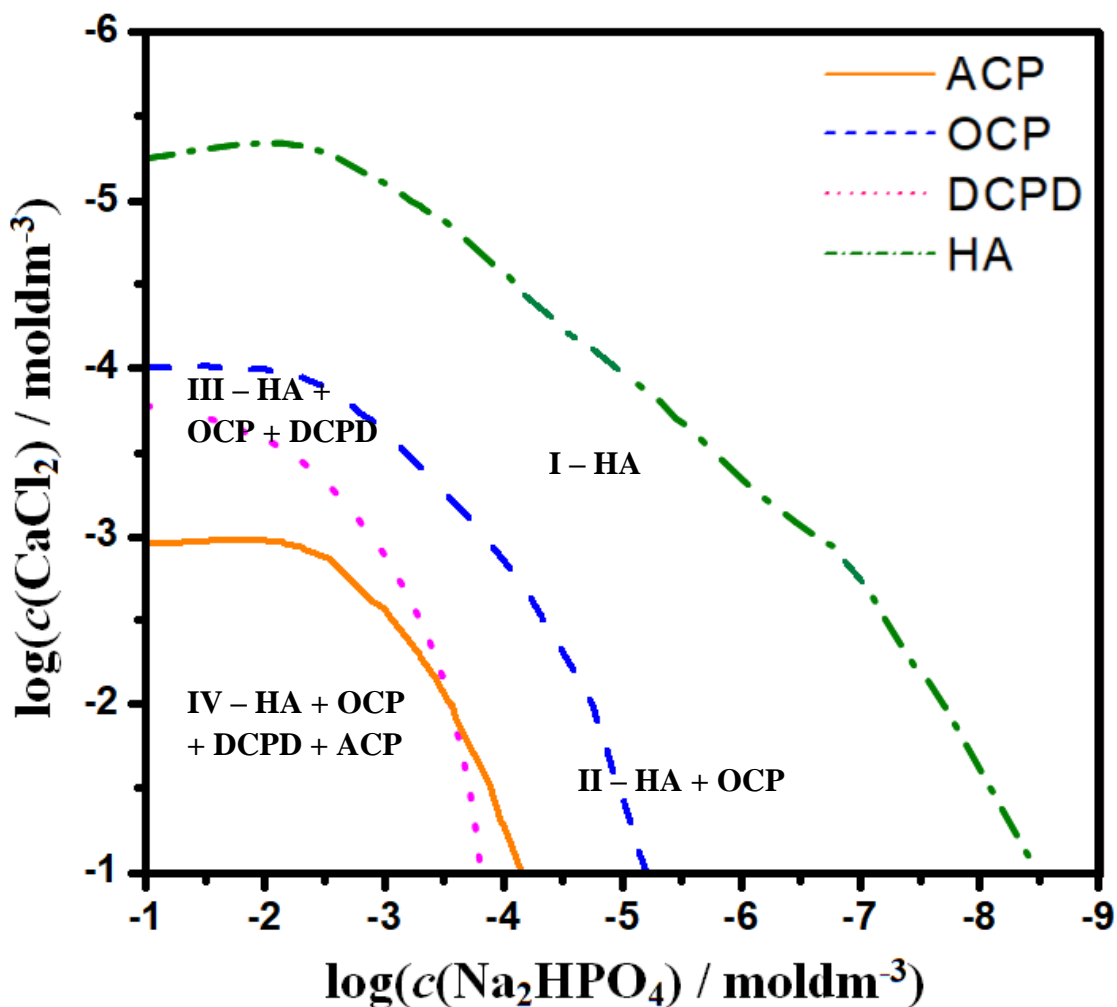
4.1.2. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$

Na slici 20. prikazani su taložni dijagrami ACP-a, OCP-a, DCPD-a i HA u taložnom sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$), pri $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Teoretska granica taloženja ukazuje da do taloženja ACP-a dolazi pri koncentracijama CaCl_2 većim od $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ i Na_2HPO_4 većim od $10^{-4,1} \text{ mol dm}^{-3}$. OCP ne taloži pri koncentracijama manjim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-5,1} \text{ mol dm}^{-3}$, DCPD ne taloži pri koncentracijama manjim od $c(\text{CaCl}_2) = c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-3,8} \text{ mol dm}^{-3}$, a HA pri koncentracijama manjim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-5,3} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-8,5} \text{ mol dm}^{-3}$. Prema položaju teoretske granice topljivost raste u nizu $\text{HA} < \text{OCP} < \text{DCPD} < \text{ACP}$. U ovom sustavu oblik granice taloženja asimetričan je za ACP, OCP i HA te simetričan kod DCPD kao i u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$.



Slika 20. Taložni dijagrami: a) ACP-a, b) OCP-a, c) DCPD-a i d) HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$), $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Na slici 21. nalaze se granice topljivosti sve četiri faze CaP-a. Slično kao i u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ razlikuju se četiri taložna područja. Područje I predstavlja područje najmanje koncentracije reaktanata u kojemu nastaje samo HA. Pri srednjim vrijednostima koncentracija reaktanata nastaje smjesa HA + OCP označena kao područje II. U području III nastaje smjesa HA + OCP + DCPD. Konačno, pri najvećim koncentracijama (područje IV) nastaje smjesa sve četiri faze CaP-a; HA + OCP + DCPD + ACP.

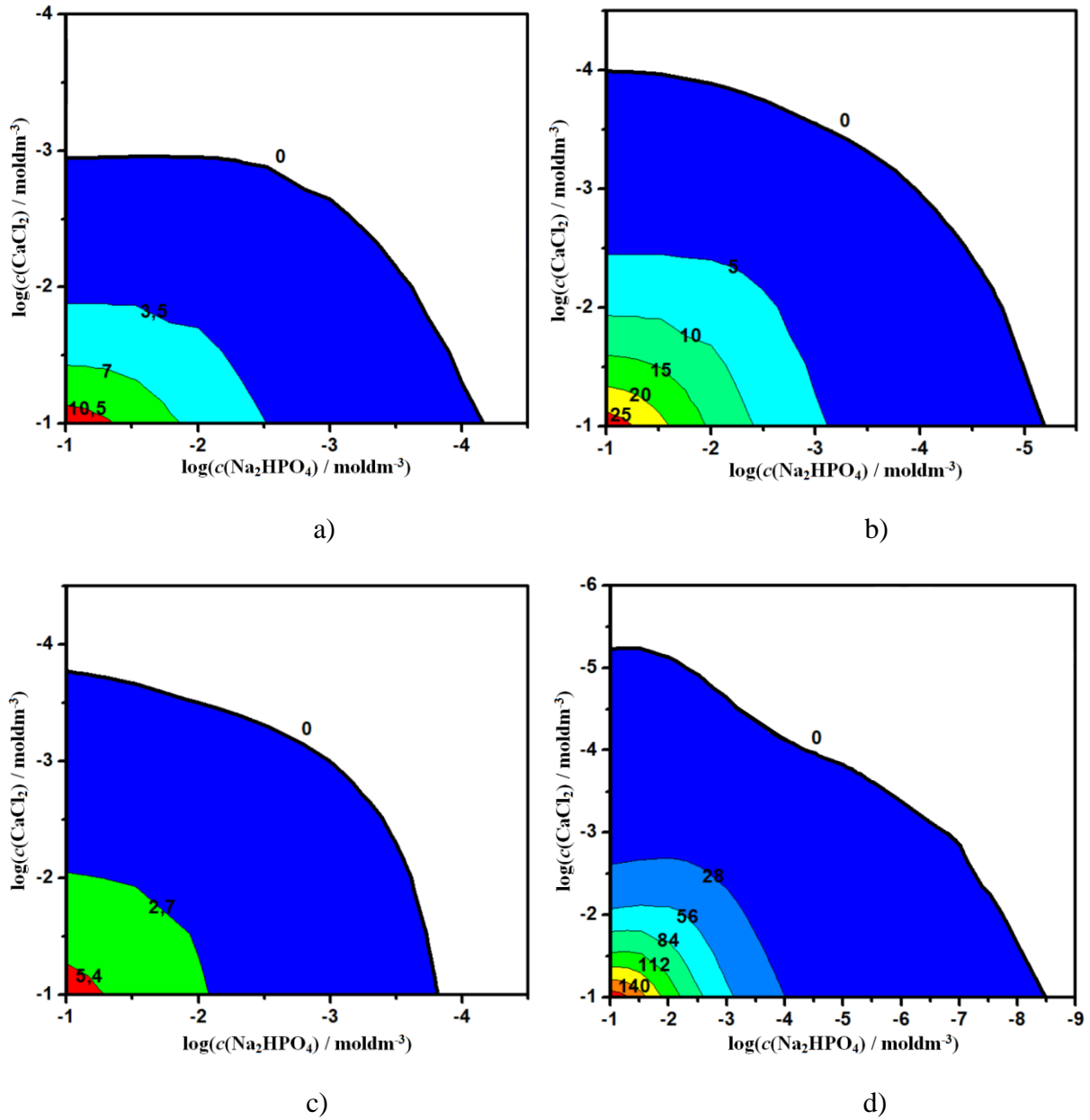


Slika 21. Granice taloženja ACP, OCP, DCPD i HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$
($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.)

Rezultati prikazani na slici 21. djelomično se slažu s rezultatima ispitivanja koja su proveli Buljan Meić i suradnici³, a gdje je u cilju simuliranja anorganskog kemijskog okruženja u živim organizmima ispitan fiziološki taložni sustav, $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaCl}$ ($c = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$) – MgCl_2 pri $25 \text{ }^\circ\text{C}$ i bez prethodnog namještanja pH (slika 16.). Buljan Meić i sur. detektirali su ACP pri koncentracijama reaktanata većim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-3,5} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-3,5} \text{ mol dm}^{-3}$, bilo kao jedinu nastalu fazu, bilo u smjesi s DCPD-om pri koncentracijama reaktanata većim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-2,5} \text{ mol dm}^{-3}$. U teoretskom taložnom dijagramu ACP je detektiran u gotovo jednakom koncentracijskom području ($c(\text{CaCl}_2) = 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-4,1} \text{ mol dm}^{-3}$). Također, kao i u eksperimentalnom dijagramu pri većim koncentracijama reaktanata nastaje DCPD. Ova dva taložna dijagrama se razlikuju u obliku granice taloženja. U eksperimentalnom taložnom dijagramu u kojem pH nije prethodno namješten granica taloženja simetričnog je oblika³, za razliku od teoretskog sustava u kojemu je pH prethodno namješten na 7,4.

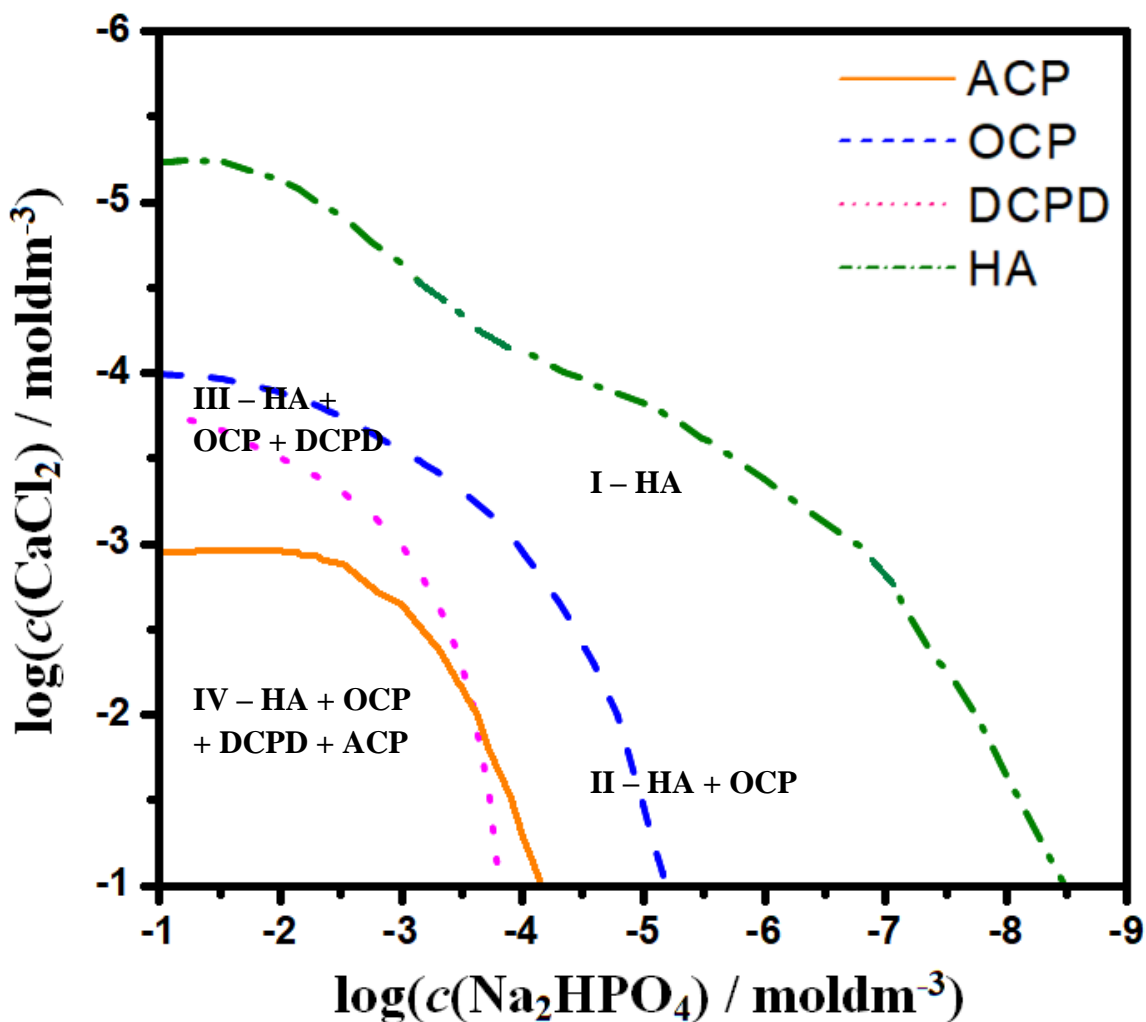
4.1.3. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$

Na slici 22. prikazani su taložni dijagrami ACP-a, OCP-a, DCPD-a i HA u taložnom sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$ ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$), pri $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Teoretska granica taloženja ukazuje da do taloženja ACP-a dolazi pri koncentracijama CaCl_2 većim od $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ i Na_2HPO_4 većim od $10^{-4,1} \text{ mol dm}^{-3}$. OCP ne taloži pri koncentracijama manjim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-5,1} \text{ mol dm}^{-3}$, DCPD ne taloži pri koncentracijama manjim od $c(\text{CaCl}_2) = c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-3,8} \text{ mol dm}^{-3}$, dok HA pri koncentracijama manjim od $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-5,3} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-8,5} \text{ mol dm}^{-3}$. Prema položaju teoretske granice topljivost raste u nizu $\text{HA} < \text{OCP} < \text{DCPD} < \text{ACP}$. Granica taloženja asimetrična je za ACP, OCP i HA, dok je za DCPD simetrična kao i u prethodnim taložnim sustavima. To može ukazivati na razliku u dominantnim procesima kojima otopljene ionske i druge vrste prelaze u krutu fazu prilikom nastajanja DCPD-a u odnosu na nastajanje ACP-a, OCP-a i HA.¹¹ Takav rezultat u skladu je i s dva mehanizma nastajanja CaP-a, direktnom kristalizacijom kojom nastaje DCPD, i preko amorfnih faza kojim HA nastaje preko ACP-a i OCP-a.⁵



Slika 22. Taložni dijagrami: a) ACP-a, b) OCP-a, c) DCPD-a i d) HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$ ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Na slici 23. prikazane su granice topljivosti sve četiri faze CaP-a. I u ovom slučaju detektirana su četiri taložna područja. Područje I predstavlja područje najmanje koncentracije reaktanata u kojemu nastaje samo HA. U području II, pri srednjim vrijednostima koncentracija reaktanata nastaje smjesa HA + OCP. Kod nešto većih koncentracija reaktanata nastaje smjesa HA + OCP + DCPD (područje III). Pri najvećim koncentracijama (područje IV) nastaje smjesa sve četiri faze CaP-a; HA + OCP + DCPD + ACP.

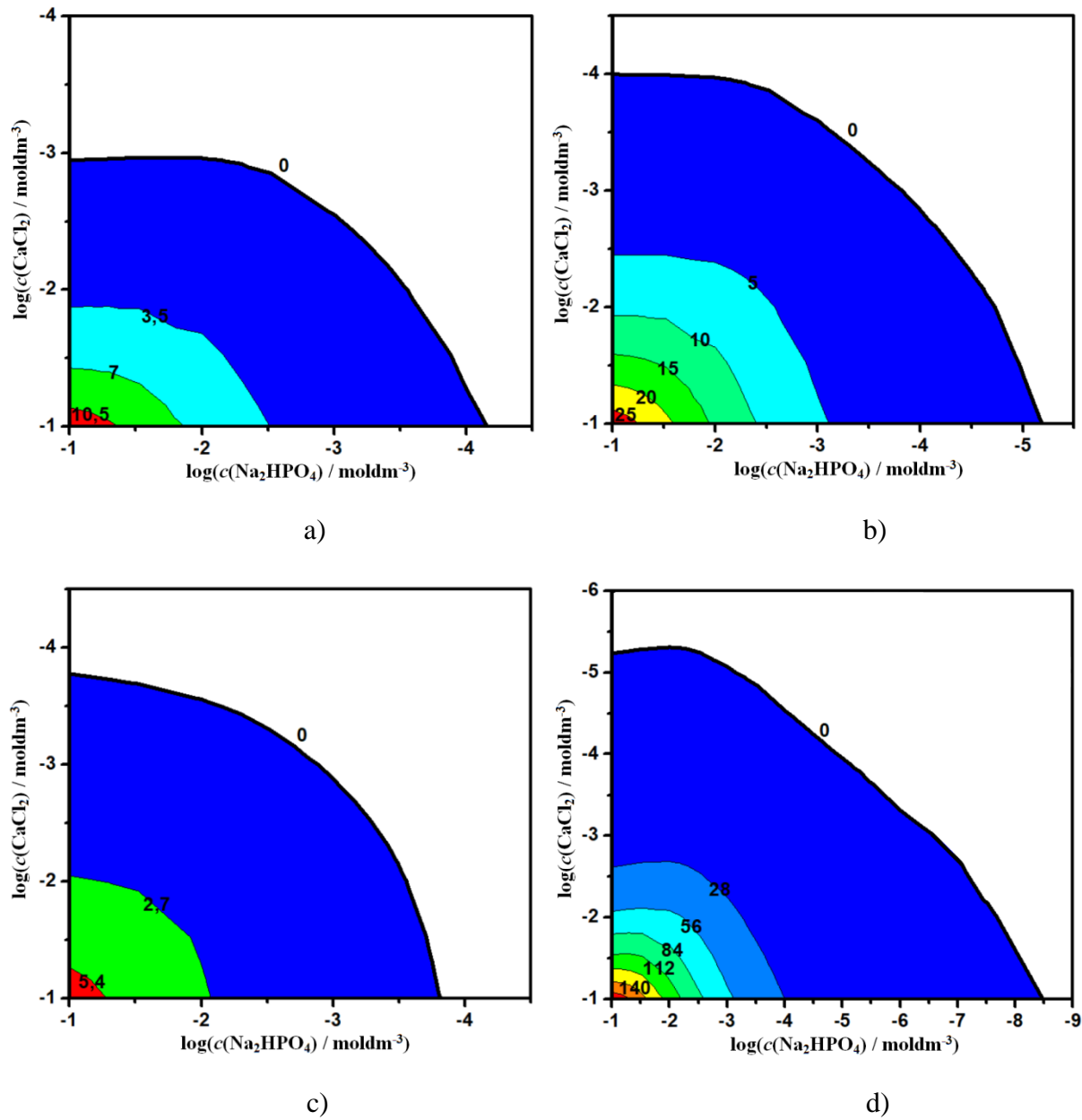


Slika 23. Granice taloženja ACP, OCP, DCPD i HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{Na}_3\text{Cit}$
($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$), $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

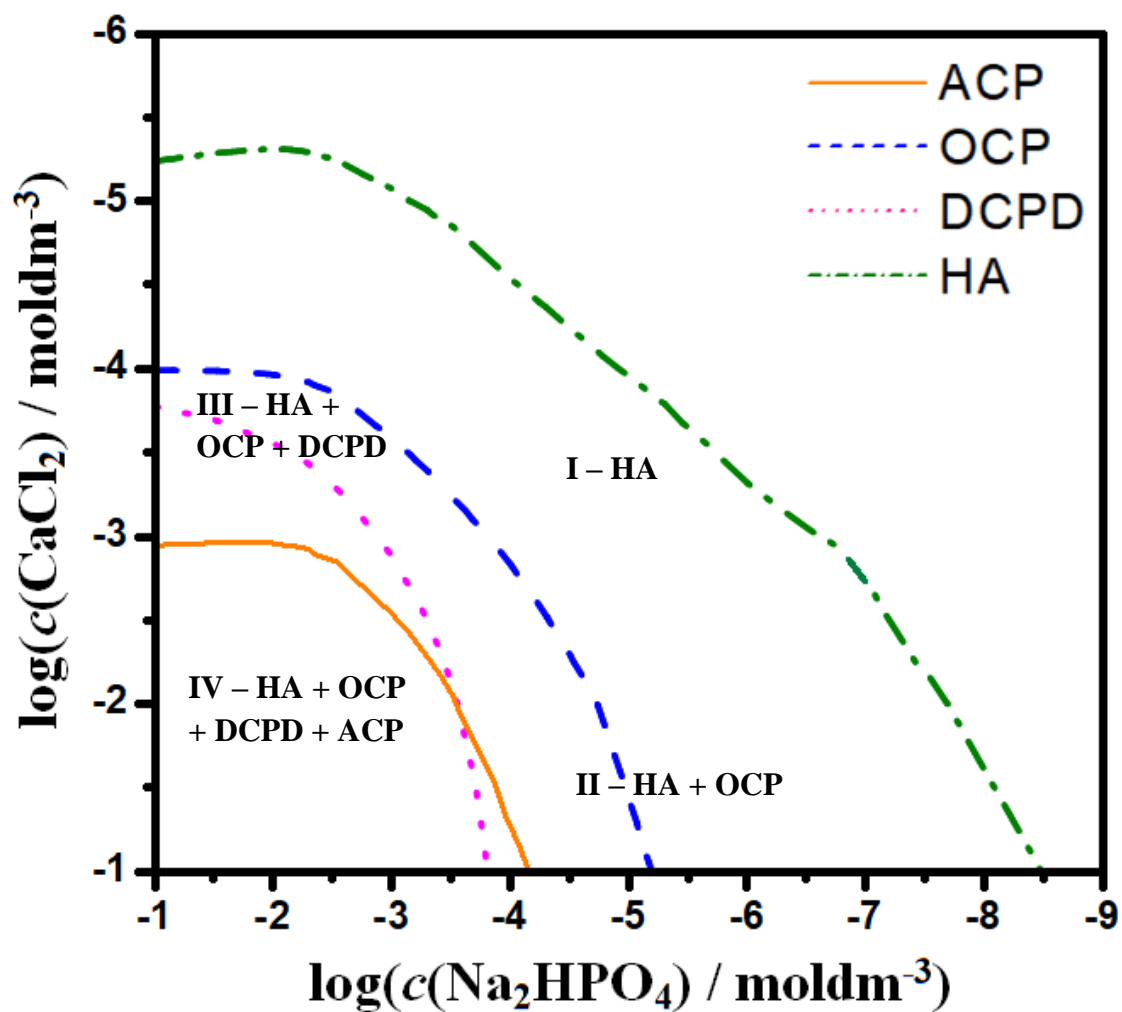
4.1.4. Taložni dijagrami sustava $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2 - \text{Na}_3\text{Cit}$

Na slici 24. prikazani su taložni dijagrami ACP-a, OCP-a, DCPD-a i HA u taložnom sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$) – Na_3Cit ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$), pri $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Prema položaju teoretske granice topljivost raste u nizu $\text{HA} < \text{OCP} < \text{DCPD} < \text{ACP}$. ACP, OCP i DCPD počinju taložiti pri jednakim vrijedostima koncentracija CaCl_2 i Na_2HPO_4 kao u sustavu bez aditiva i u sustavu s dodatkom magnezija. Granica taloženja HA pomaknuta je prema većim koncentracijama kalcija, $c(\text{CaCl}_2) = 10^{-5,3} \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 10^{-8,5} \text{ mol dm}^{-3}$. Također i u ovom sustavu oblik granice taloženja asimetričan je za ACP, OCP i HA, te simetričan za DCPD.

Granice topljivosti za sve četiri ispitane faze CaP-a prikazane su na slici 25. Područje najmanje koncentracije reaktanata u kojemu nastaje samo HA označeno je kao područje I. U području II, pri srednjim vrijednostima koncentracija reaktanata nastaje smjesa HA + OCP. Smjesa HA + OCP + DCPD nastaje u području III. Pri najvećim koncentracijama (područje IV) nastaje smjesa HA + OCP + DCPD + ACP.



Slika 24. Taložni dijagrami: a) ACP-a, b) OCP-a, c) DCPD-a i d) HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$) – Na_3Cit ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$), $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

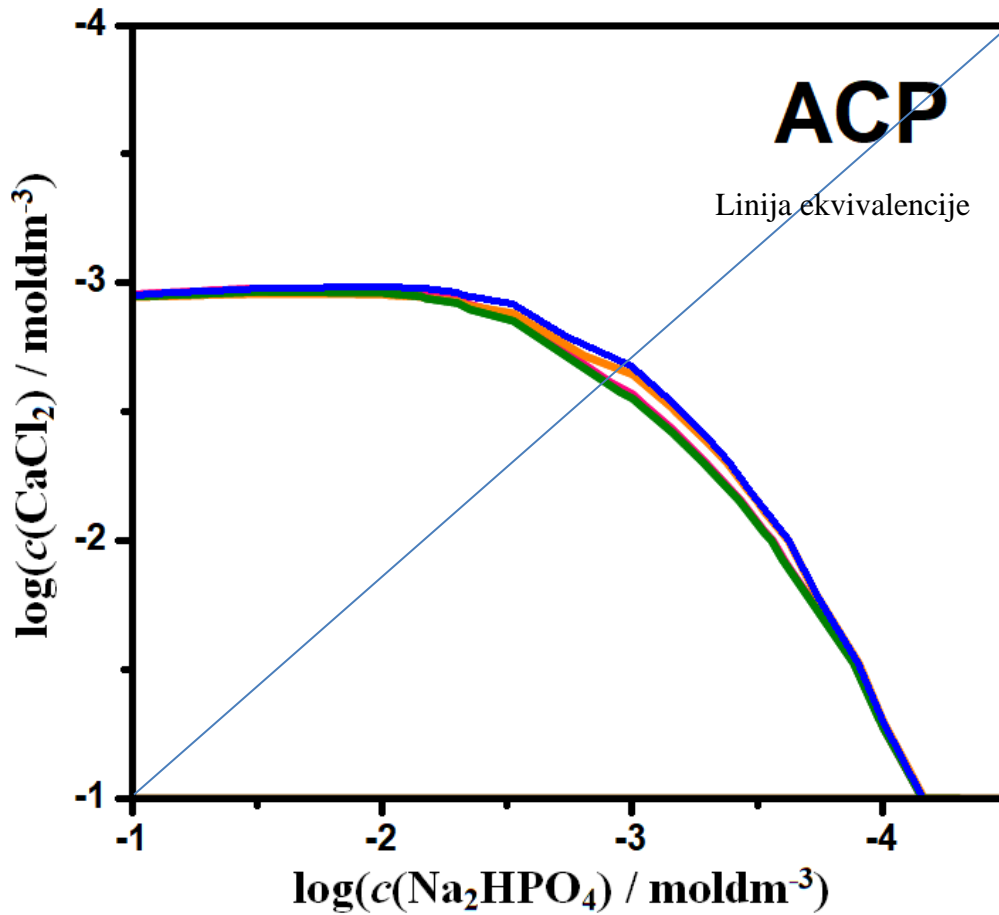


Slika 25. Granice taloženja ACP, OCP, DCPD i HA u sustavu $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{MgCl}_2$ ($c = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$) - Na_3Cit ($c = 0,000125 \text{ mol dm}^{-3}$), $\text{pH} = 7,4$ i $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.1.5. Usporedba taložnih dijagrama pojedinih faza

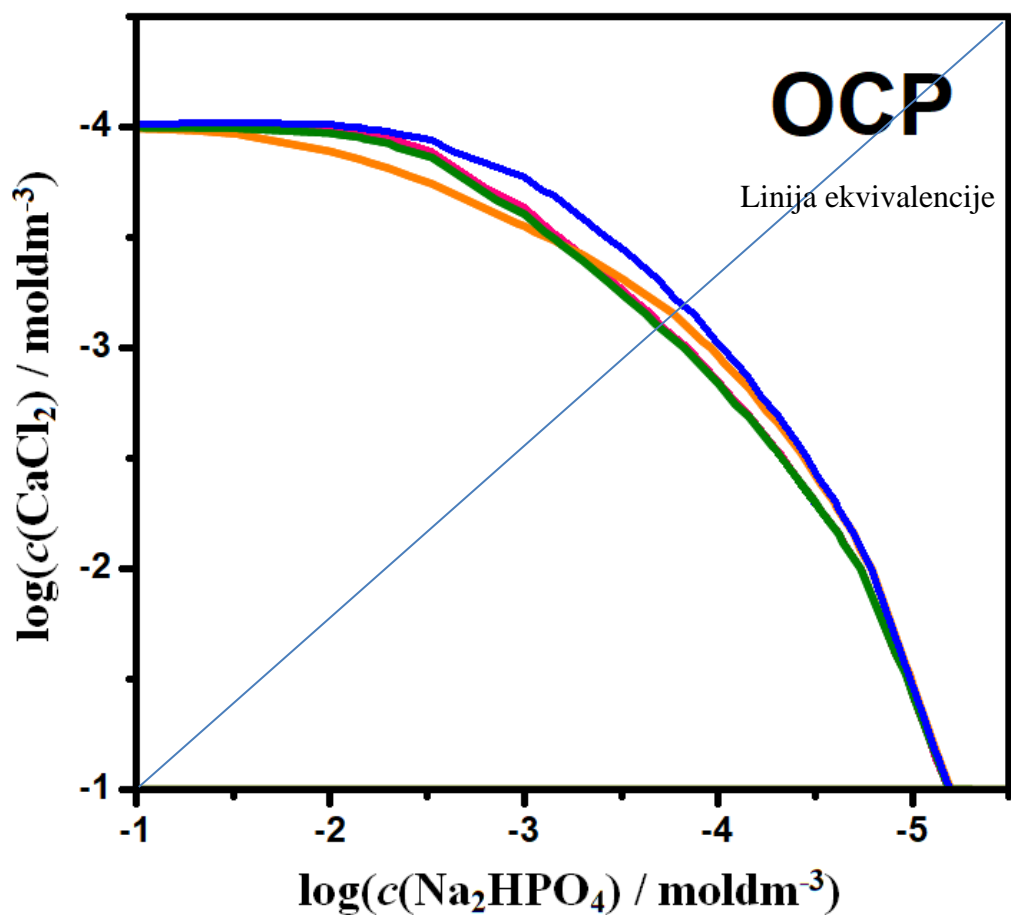
Na slici 26. nalazi se grafički prikaz granica taloženja ACP-a u svim ispitanim sustavima. Dodatak Mg^{2+} i Cit^{3-} iona u taložni sustav ne dovodi do značajnijeg pomaka taložnih granica ACP-a. Obzirom da je poznato da Mg^{2+} i Cit^{3-} stabiliziraju ACP^{58,69,70} dobiveni rezultat se čini neočekivan. No to može potvrditi eksperimentalne nalaze da je za stabilizaciju ACP-a bitnija adsorpcija aditiva na površinu, dok je smanjenje prezasićenja zbog stvaranja kompleksa aditiva s konstitutivnim ionima vrlo malo.⁶³ Najveći pomaci granica taloženja su pri koncentracijama bliskim liniji ekvivalencije, gdje su koncentracije kalcijevih i fosfatnih iona jednake. Najveći pomak granice uzrokuje dodatak oba aditiva u sustav, iako je pomak granice uzrokovan dodatkom Mg^{2+} iona neznatno manji od njega. To može ukazivati da je utjecaj Mg^{2+} iona izraženiji od utjecaja Cit^{3+} .

Grafički prikaz granica taloženja OCP-a u ispitanim sustavima nalazi se na slici 27. Dodatkom Mg^{2+} i Cit^{3-} iona u sustav $CaCl_2 - Na_2HPO_4$ dolazi do izraženijeg pomaka granica taloženja u odnosu na pomake granica kod ACP-a. U području manjih koncentracija fosfata taj pomak je neznatan, a najveći u sustavu gdje su prisutna oba aditiva. U području koncentracija $c(P) > c(Ca)$ odnosno kod većih koncentracija fosfata dolazi do značajnijih pomaka granica taloženja. Najveći utjecaj na oblik i pomak granice taloženja ima dodatak citratnih iona. Pomak granice taloženja OCP-a u prisutnosti citrata može se objasniti međudjelovanjem citrata i OCP-a, pri čemu dolazi do usporavanja kristalnog rasta dotične faze.⁵¹ Također, adsorpcija Mg^{2+} iona na aktivna mjesta rasta na površini kristala OCP-a, dovodi do smanjenja brzine kristalizacije OCP-a⁶⁵ i pomaka granice taloženja prema većim koncentracijama fosfata.



Slika 26. Granice taloženja ($S - 1 = 0$) amornog kalcijevog fosfata u sustavima sa i bez dodatka aditiva, izračunate pri $\text{pH} = 7,4$.

- granica taloženja za sustav bez dodatka aditiva,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 ,
- granica taloženja za sustav s Na_3Cit ,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 i Na_3Cit .

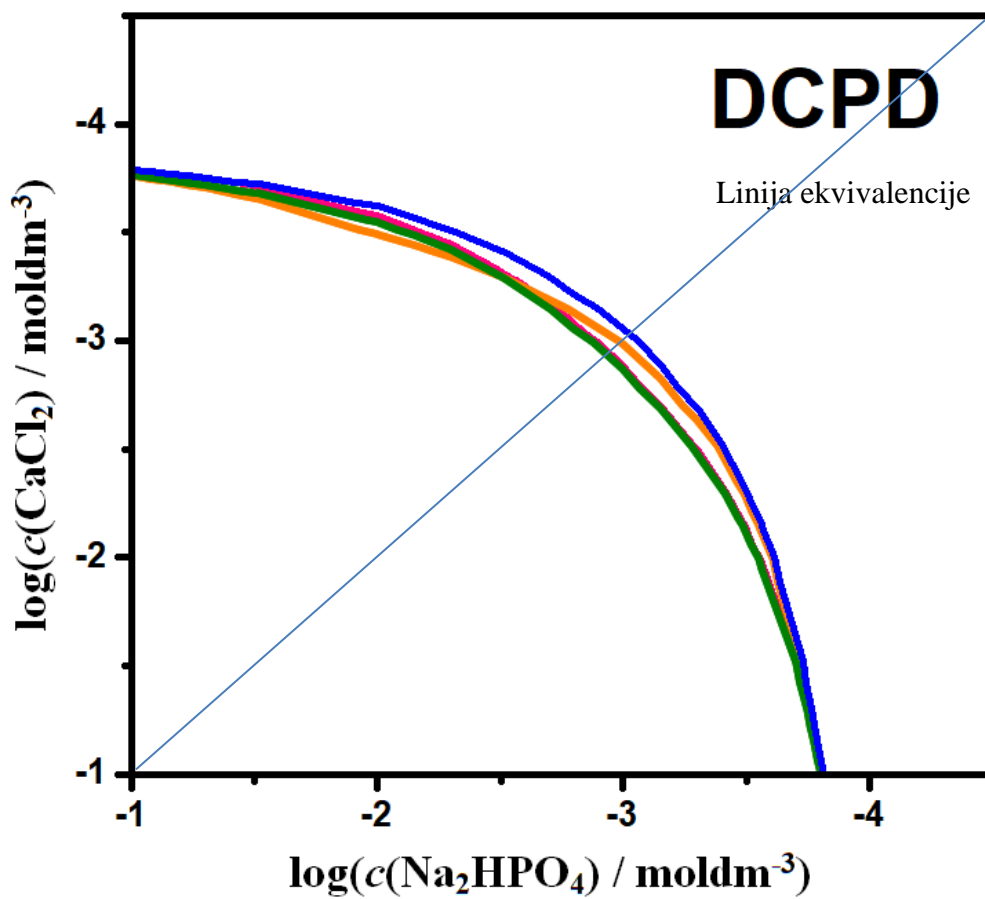


Slika 27. Granice taloženja ($S - 1 = 0$) oktakalcijevog fosfata u sustavima sa i bez dodatka aditiva, izračunate pri $\text{pH} = 7,4$.

- granica taloženja za sustav bez dodatka aditiva,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 ,
- granica taloženja za sustav s Na_3Cit ,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 i Na_3Cit .

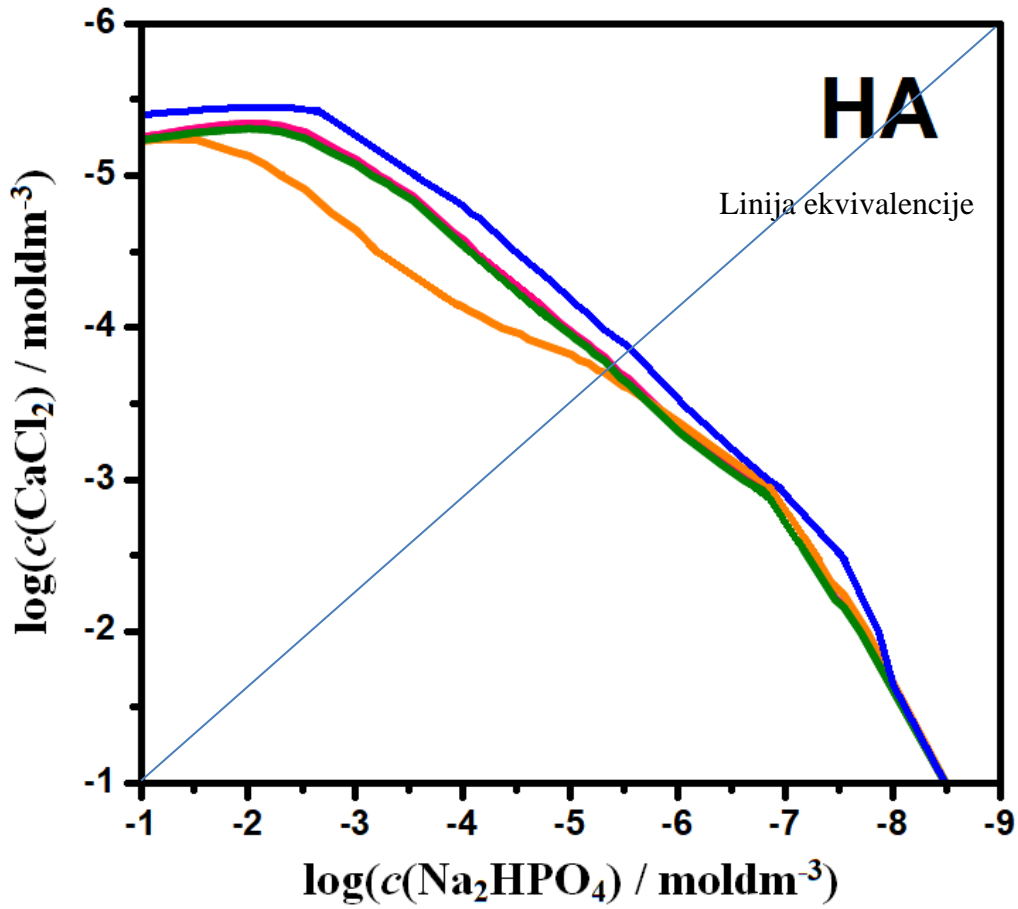
Na slici 28. prikazane su granice taloženja DCPD-a u sustavima bez i sa aditivima. Značajnije promjene oblika i položaja granice taloženja nisu uočene unutar cijelog koncentracijskog područja. Najveći pomak položaja granice taloženja uočen je pri koncentracijama bliskim liniji ekvivalencije. Dodatak Mg^{2+} iona nema znatan utjecaj na taloženje DCPD-a, što je u skladu s literaturnim nalazima.⁶⁴ Citratni ioni utječu na brzinu taloženja DCPD-a, tako da uzrokuju usporavanje taloženja pri koncentracijama većim od $0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, te uzrokuju morfološke promjene njegovih kristala pri koncentracijama manjim od $0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, gdje pločasti kristali DCPD-a prelaze u štapičaste kristale.⁶⁰ Obzirom na to došlo je do očekivanog pomaka granice taloženja nakon dodatka Cit^{3-} iona u sustav. Dodatkom oba aditiva istovremeno u sustav ne dolazi do značajnijeg pomaka granice taloženja niti do promjene njezinog oblika.

Na slici 29. prikazane su granice taloženja HA u sustavima bez i sa dodatkom aditiva. Promjene oblika i položaja granice taloženja HA najznačajnije su u odnosu na ostale faze. Najznačajniji pomaci granice taloženja pojavljuju se u području većih koncentracija fosfata, gdje je najveći pomak granice taloženja ostvaren dodatkom Cit^{3-} iona u sustav. Takvo ponašanje HA je u skladu s rezultatima eksperimenta kojega su proveli Van Der Houven i suradnici.⁶² Oni su zaključili da citrat povećava prezasićenost potrebnu za taloženje HA, vjerojatno kao posljedicu vezanja citrata na aktivna mjesta rasta na HA, čime se inhibira njegovo taloženje,⁶² a što se očituje promjenom položaja i oblika granice taloženja. Granice taloženja gotovo su identične u sustavima s Mg^{2+} i $Mg^{2+} + Cit^{3-}$, i pojavljuju se pri većim koncentracijama u odnosu na granicu taloženja u sustavu $CaCl_2 - Na_2HPO_4$ što je u skladu s prethodnim istraživanjima koja su pokazala da su magnezijevi ioni učinkoviti i jaki inhibitori nukleacije i kristalnog rasta HA.⁷²



Slika 28. Granice taloženja ($S - 1 = 0$) kalcijevog fosfata dihidrata u sustavima sa i bez dodatka aditiva, izračunate pri $\text{pH} = 7,4$.

- granica taloženja za sustav bez dodatka aditiva,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 ,
- granica taloženja za sustav s Na_3Cit ,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 i Na_3Cit .



Slika 29. Granice taloženja ($S - 1 = 0$) hidroksiapatita u sustavima sa i bez dodatka aditiva, izračunate pri $\text{pH} = 7,4$

- granica taloženja za sustav bez dodatka aditiva,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 ,
- granica taloženja za sustav s Na_3Cit ,
- granica taloženja za sustav s MgCl_2 i Na_3Cit .

5. ZAKLJUČAK

Konstruirani su teoretski taložni dijagrami četiri taložna sustava, u kojima su koncentracije magnezijevih i citratnih iona odgovarale fiziološkim uvjetima:^{3,51}



Usporedbom položaja i oblika teoretskih granica taloženja četiri faze kalcijevih fosfata (ACP, OCP, DCP i HA) pokazano je da:

- u svim taloženim sustavima razlikuju se s obzirom na sastav taloga četiri taložna područja:
 - 1.) pri najmanjim koncentracijama reaktanata nastaje samo HA,
 - 2.) pri srednjim vrijednostima koncentracija reaktanata nastaje smjesa HA + OCP,
 - 3.) pri nešto većim koncentracijama reaktanata nastaje smjesa HA + OCP + DCPD,
 - 4.) pri najvećim koncentracijama reaktanata nastaje smjesa HA + OCP + DCPD + ACP.
- teoretska granica taloženja asimetrična je za ACP, OCP i HA, dok je za DCPD simetrična. To može ukazivati na razliku u dominantnim procesima kojima otopljene ionske i druge vrste prelaze u krutu fazu prilikom nastajanja DCPD-a u odnosu na nastajanje ACP-a, OCP-a i HA.
- razlike u položaju teoretskih granica taloženja u različitim taložnim sustavima za pojedinu fazu kalcijevih fosfata u skladu su s eksperimentalno opaženim utjecajima koje Mg^{2+} i Cit^{3-} ioni imaju na procese njihovog nastajanja.

6. POPIS SIMBOLA I KRATICA

a	Aktivitet otopljene tvari u prezasićenoj otopini
a_A	Aktivitet iona A
a_B	Aktivitet iona B
a_s	Aktivitet otopljene tvari u stabilnoj zasićenoj otopini
AB	Binarni elektrolit sastavljen od iona A i iona B
ACP	Amorfni kalcijev fosfat
c	Množinska koncentracija (mol dm^{-3})
CaDHA	Kalcij deficijentni hidroksiapatit
CaP	Kalcijevi fosfati
Cit	Citrat
DCPD	Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat
HA	Hidroksiapatit
IR	Infracrveno zračenje
K	Konstanta kemijske ravnoteže
K_{sp}	Termodinamički produkt topljivosti
m_i	Molalnost
Na ₃ Cit	Natrijev citrat
OCP	Oktakalcijev fosfat
p	Tlak
S	Prezasićenost
T	Termodinamička temperatura
γ_i	Koeficijent aktiviteta

7. LITERATURA

1. M. Dutour Sikirić, V. Babić-Ivančić, N. Filipović-Vinceković, *Med. Vjesn.*, **2010**, *42*, 73-86
2. V. Babić-Ivančić, M. Dutour Sikirić, *Stomatološki glasnik Srbije*, **2012**, *59*, 7-21
3. I. Buljan-Meić, J. Kontrec, D. Domazet Jurašin, B. Njegić Džakula, L. Štajner, D. M. Lyons, M. Dutour Sikirić, D. Kralj, *Cryst. Growth Des.*, **2017**, *17*, 1103-1117
4. Lj. Brečević, D. Kralj, *Kinetics and Mechanism of Crystal Growth in Aqueous Systems*, u: N. Kallay, *Interfacial Dynamics*, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, **2000**, 435-474
5. M. Dutour Sikirić, H. Füredi-Milhofer, *Adv. Colloid Int. Sci.*, **2006**, *128-130*, 135-158
6. J. W. Mullin, *Crystallization*, Butterworth-Heinmann, Oxford, **2001**, 181-288
7. J. Turkevich, P. Cooper Stevenson, J. Hiller, *Discuss. Faraday Soc.*, **1951**, *11*, 55-75
8. A. Sander, *Kristalizacija*, Nastavni materijal iz kolegija Jedinične operacije u ekoinženjerstvu, Sveučilište u Zagrebu, FKIT, **2011**
9. P. G. Velikov, Nucleation, *Cryst. Growth Des.*, **2010**, *10*, 5007-5019
10. M. L. Stoller, M. V. Meng, *Urinary Stone Disease*, Humana Press, New Jersey, **2007**, 59-60
11. Đ. Težak, *Med. Vjesn.*, **2010**, *42*, 87-98
12. K. Sertić-Bionda, Nastavni materijal iz kolegija Procesi prerade nafte, Sveučilište u Zagrebu, FKIT
13. H. Füredi-Milhofer, S. Sarig, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.*, **1996**, *32*, 45-74
14. R. Boistelle, *Fundamentals of nucleation and crystal growth*, u: N. Garti, K. Sato, *Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids*, New York, Marcel Dekker, **1988**, 189-226
15. T. F. Tadros, *Adv. Coll. Int. Sci.*, **1980**, *12*, 141-261
16. K. Sangwal, *Additives and Crystallization Processes: From Fundamentals to Applications*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, **2007**, 161-273
17. H. Füredi-Milhofer, M. Sikirić, L. Tunik, N. Filipović-Vinceković, N. Garti, *Inter. J. Modern Phys. B.*, **2002**, *16*, 359-366
18. L. Addadi, S. Weiner, *Proc. Natl. Sci.*, **1985**, *82*, 4110-4114
19. R. Crichton, *Biological Inorganic Chemistry*, 3rd edition, **2019**
20. H. Furedi-Milhofer, *Croat. Chem. Acta*, **1983**, *53*, 721-740

21. S. Weiner, P. M. Dove, *Rev. Mineral. Geochem.*, **2003**, *54*, 1-29
22. H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**
23. S. V. Dorozhkin, *Biomatter.*, **2012**, *2*, 53-70
24. H. Füredi-Milhofer, M. Marković, M. Uzelac, *J. Cryst. Growth*, **1987**, *80*, 60-68
25. S. V. Dorozhkin, *Prog. Biomater.*, **2016**, *5*, 9-70
26. S. V. Dorozhkin, *Materials (Basel)*, **2009**, *2(4)*, 1975-2045
27. P. Becker, *Phosphate and phosphoric acid: raw materials technology and economics of the wet process*, Fertilizer Science And Tehnology Series, Marcel Dekker, New York, **1989**, 752
28. M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi, *Acta Biomater.*, **2013**, *9*, 7591-7621
29. L. B. Gower, *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 4551-4627
30. R. Z. LeGeros, *J. Clin. Dent.*, **1999**, *10*, 65-73
31. R. Z. LeGeros, *Prog. Cryst. Growth Charact.*, **1981**, 41-45
32. R. Z. LeGeros, *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 4742-4753
33. A. S. Posner, F. Betts, N. C. Blumenthal, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.*, **1980**, *3*, 49-64
34. F. Betts, A. S. Posner, *Mat. Res. Bull.*, **1974**, *9*, 353-360
35. L. Wang, G. H. Nancollas, *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 4628-4669
36. W. E. Brown, J. P. Smith, A. W. Fraizer, J. R. Lehr, *Nature*, **1962**, *196*, 1050-1055
37. H. Füredi-Milhofer, J. Moradian-Oldak, S. Weiner, A. Veis, K. P. Mintz, L. Addadi, *Connect. Tissue Res.*, **1994**, *30*, 251-264
38. B. Kosar-Grašić, B. Purgarić, H. Füredi-Milhofer, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1978**, *40*, 1877-1880
39. M. Sikirić, V. Babić-Ivančić, O. Milat, S. Sarig, H. Füredi-Milhofer, *Langmuir*, **2000**, *16*, 9261-9266
40. F. Abbona, F. Christensson, M. Franchini-Angela, H. E. Lundager Madsen, *J. Cryst. Growth.*, **1993**, *131*, 331-346
41. D. Hanein, B. Geiger, L. Addadi, *Langmuir*, **1993**, *9*, 1058-1065
42. S. V. Dorozhkin, *Materials (Basel)*, **2009**, *2*, 399-498

43. S. Recillas, V. Rodríguez-Lugoc, M. L. Monterod, S. Viquez-Canoc, L. Hernandez, V. M. Castaño, *J. Ceram. Proc. Res.*, **2012**, *13*, 5-10
44. H. Aoki, *Science and Medical Applications of Hydroxyapatite*, Takayama Press, Tokyo, **1991**
45. C. A. Beevers, D. B. McIntyre, *Miner. Mag.*, **1956**, *27*, 254-259
46. R. Despotović, N. Filipović-Vinceković, H. Füredi-Milhofer, *Calcif. Tiss. Res.*, **1975**, *18*, 13-26
47. H. Füredi-Milhofer, Lj. Brečević, B. Purgarić, N. Pavković, *Calc. Tiss. Res.*, **1971**, *8*, 142-153
48. H. Füredi-Milhofer, E. Oljica-Žabčić, B. Purgarić, B. Kosar-Gršić, N. Pavković, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1975**, *37*, 2047-2051
49. H. Füredi-Milhofer, Lj. Brečević, E. Oljica, B. Purgarić, Z. Gass, G. Perović, *Sci. Monogr.*, **1973**, *38*, 109-129
50. H. Füredi-Milhofer, H. Bilinski, Lj. Brečević, R. Despotović, N. Filipović-Vinceković, E. Oljica, B. Purgarić, *The Formation of Ca-Phosphate Precipitates, Metastable Equilibria and Kinetics, PhysicoChimie et Cristalographie des Apatites, Centre National de la Recherche Scientifique, Pariz*, **1973**, 303-310
51. Lj. Brečević and H. Furedi-Milhofer, *Calcif. Tiss. Int.*, **1979**, *28*, 131-136
52. H. G. Tiselius, C. Berg, A. M. Fornander, M. A. Nilsson, *Scann. Microscopy*, **1993**, *7*, 381-390
53. H. G. Tiselius, A. M. Fornander, M. A. Nilsson, *Urol. Res.*, **1993**, *21*, 363-366
54. C. Berg, H. G. Tiselius, *Urol. Res.*, **1989**, *17*, 167-172
55. Lj. Komunjer, M. Marković, H. Füredi-Milhofer, *J. Cryst. Growth*, **1993**, *132*, 122-128
56. N. A. Laminski, A. M. Meyers, M. I. Sonnekus, A. E. Smyth, *Nephron*, **1990**, *56*, 379-386
57. B. S. Levine, J. S. Rodman, S. Weirnerman, R. S. Bockman, J. M. Lane, D. S. Chapman, *Am. J. Clin. Nutr.*, **1994**, *60*, 592-596
58. Y. Chen, W. Gu, H. Pan, S. Jiang, R. Fong, *Cryst. Eng. Comm.*, **2014**, *16*, 1864-1867
59. I. Cifuentes, P. González-Díaz, L. Cifuentes-Delatte, *Calcif. Tissue Int.*, **1980**, *31*, 147-151
60. M. Bujan, M. Sikirić, N. Filipović-Vinceković, N. Vdović, N. Garti, H. Füredi-Milhofer, *Langmuir*, **2001**, *17*, 6461-6470
61. E. Skwarek, W. Janusz, D. Sternik, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **2014**, *299*, 2027-2036
62. J. A. M. Van Der Houwen, E. Valsami-Jones, *Environmental Tech.*, **2001**, *22*, 1325-1335

63. H. Ding, H. Pan, X. Xu, R. Tang, *Cryst. Growth Des.*, **2014**, *14*, 763-769
64. M. H. Salimi, J. C. Heughebaert, G. H. Nancollas, *Langmuir*, **1985**, *1*, 119-122
65. K. J. Davis, *Science*, **2000**, *290*, 1134-1137
66. M. Boulet, J. R. Marier, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1961**, *93*, 157-165
67. I. Houlet, J. R. Marier, D. Rose, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1962**, *96*, 629-636
68. J. F. Ferguson, P. L. McCarty, *Environ. Sci. Technol.*, **1971**, *5(6)*, 534-540
69. W. Jin, Z. Liu, Y. Wu, B. Jin, C. Shao, X. Xu, R. Tang, H. Pan, *Cryst. Growth Des.*, **2018**, *18(10)*, 6054-6060
70. A. L. Bosky, A. S. Posner, *Min. Res. Bull.*, **1974**, *97*, 907-916
71. H. Ding, H. Pan, X. Xu, R. Tang, *Cryst. Growth Des.*, **2014**, *14*, 763-769
72. X. Yang, B. Xie, L. Wang, Y. Qin, Z. J. Henneman, G. H. Nancollas, *Cryst. Eng. Comm.*, **2011**, *13*, 1153-1158
73. Z. Amjad, P. G. Koutsoukos, G. H. Nancollas, , *J. Colloid Int. Sci.*, **1984**, *101*, 250-256
74. Baza podataka Visual Minteq-a
75. B. Težak, *Croat. Chem. Acta*, **1968**, *40*, 63-78

8. ŽIVOTOPIS

Lorena Šulc, rođ. Kifer [REDACTED] Nakon završene osnovne škole „Mladost“ u Jakšiću 2008. godine upisuje, a 2012. godine završava opću Gimnaziju u Požegi. Iste godine upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu kao redovna studentica na sveučilišnom preddiplomskom studiju Primijenjena kemija. Preddiplomski studij završava 2016. godine obranom Završnog rada na temu „Priprava ZnO nanočestica sol-gel postupkom“. Iste godine upisuje diplomski studij, smjer Primijenjena organska kemija. Stručnu praksu odradila je Laboratoriju vinarije tvrtke Kutjevo d.d.

Koristi se engleskim jezikom u govoru i pismu, a u radu na računalu koristi Microsoft Office programski paket, Visual Minteq, Origin i Matlab.