

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ КОМПОНЕНТЫ ИСКОПАЕМЫХ И СОВРЕМЕННЫХ КОСТНЫХ ОСТАТКОВ ПО ДАННЫМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ И МИКРОСКОПИИ

Д. В. Киселева

Большое число публикаций посвящено изучению ИК-спектров минерала апатита, в том числе и биогенного происхождения – из фосфоритов, из современных и ископаемых костных и зубных тканей; тем не менее, и сегодня остаются спорными и неоднозначно решенными некоторые прикладные вопросы использования данных ИК-спектроскопии, в частности, при анализе влияния на костные остатки процессов фоссилизации в различных условиях карстовых полостей. Совершенно новые возможности использования ИК-спектроскопии для получения информации об особенностях локаль-

ной атомной структуры костных и зубных органо-минеральных агрегатов открываются в связи с развитием техники локальной или ИК-микроскопии – появлением коммерческих ИК Фурье спектрометров, оборудованных микроскопами для съемки спектров пропускания (отражения) с локальностью до десятков мкм.

Цель работы: анализ динамики изменения ИК-спектров ископаемых костных тканей как индикатора процесса их фоссилизации.

Объекты и методы исследования. Выполнены ИК-спектроскопические исследования в области $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ для 17 проб костных и зубных остатков (резцов) из опорных местонахождений в карстовых полостях: Навес Старик (голоцен-поздний голоцен), остров Врангеля (современность), Идрисовская пещера (плейстоцен), Грот Филин (современность), Дыроватый камень, р. Чусовая, (плейстоцен), Жилище Сокола (поздний плейстоцен), Атамбазчик (олигоцен), Скородум (ранний плейстоцен). Спектры были получены как в стандартном (интегральном) режиме для поликристаллических образцов, запрессованных в таблетки с KBr, так и в локальном режиме ИК-микроскопии для целых сохранившихся фрагментов костных остатков на двух ИК Фурье-спектрометрах – IR Prestige 21 (фирма Shimadzu) и Nexus-870, оснащенный микроскопом Continuum для выполнения локальных измерений (фирма Thermo Nicolet, ИМин УрО РАН, г. Миасс).

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены фрагменты типичных ИК-спектров ископаемых костных остатков в наиболее информативной области ($500\text{--}2000\text{ см}^{-1}$). Видно, что каждый спектр является наложением большого числа существенно перекрывающихся достаточно широких полос; явно выделяется четыре области (I–IV), в которых сосредоточены полосы: $400\text{--}750$ (I), $800\text{--}1200$ (II), $1300\text{--}1700$ (III) и $2500\text{--}3800\text{ см}^{-1}$ (IV). Фиксируемые на спектрах полосы связаны с разными физическими типами колебаний основных структурных фрагментов неорганической компоненты костных и зубных остатков – ортофосфорных группировок PO_4^{3-} , молекулярной воды H_2O и OH^- -группировок, а также карбонат-ионов CO_3^{2-} в двух различных А и В-позициях структуры минерала карбонат-гидроксилапатита, замещающих PO_4^{3-} -тетраэдры и OH^- группировки, соответственно (табл. 1).

ИК-поглощение

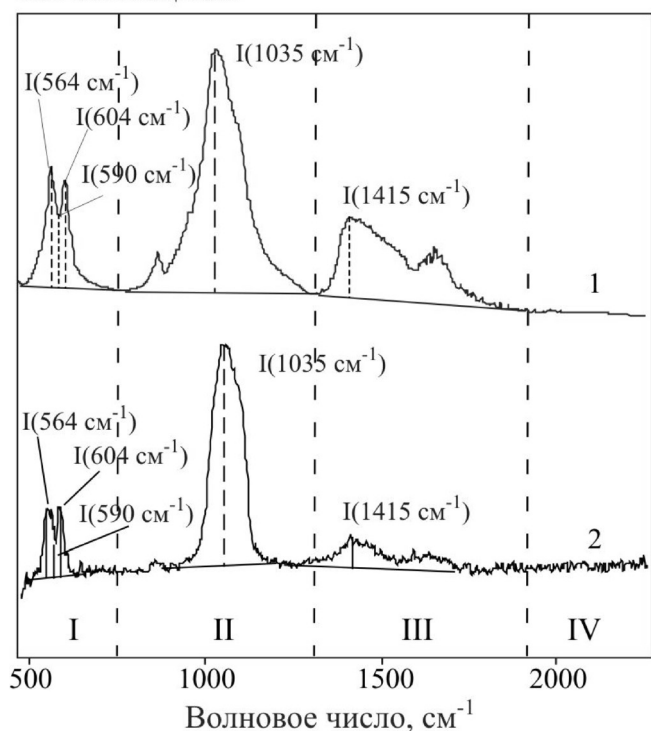


Рис. 1. Фрагменты типичных ИК-спектров поглощения ископаемого костного остатка (1 – в стандартном интегральном режиме записи, 2 – в локальном режиме ИК-микроскопии) и упрощенная схема оценки степени его кристалличности и относительного содержания карбонат-ионов (соотношение CO_3/PO_4) по амплитудам 564 , 585 , 604 , 1035 и 1415 см^{-1} . Образец 5, Идрисовская пещера, плейстоцен; спектрометр Nexus-870 с микроскопом Continuum.

Таблица 1. Основные полосы ИК-поглощения в спектрах карбонат-гидроксилапатитов и соответствующие им типы колебаний, согласно [5]

Полоса, см ⁻¹	Структурный фрагмент и тип колебаний, с которым связана полоса
471	дважды вырожденное деформационное колебание ν_2 O–P–O в PO_4^{3-}
564, 604	трижды вырожденное деформационное колебание ν_4 O–P–O в PO_4^{3-}
650, 670	либрационные полосы поглощения OH ⁻
872	деформационное колебание O–C–O в $CO_3^{2-} \rightarrow PO_4^{3-}$ (B-тип)
879	деформационное колебание O–C–O в $CO_3^{2-} \rightarrow OH^-$ (A-тип)
960	полносимметричное валентное колебание P–O в PO_4^{3-}
1081	асимметричное валентное колебание P–O в PO_4^{3-}
1416, 1472	асимметричное валентное колебание C–O в $CO_3^{2-} \rightarrow PO_4^{3-}$ (B-тип)
1452, 1498, 1547	асимметричное валентное колебание C–O в $CO_3^{2-} \rightarrow OH^-$ (A-тип)
1640	деформационное колебание H–O–H в H ₂ O
3400, 3540, 3570	валентные колебания OH ⁻ в H ₂ O

Качественное сопоставление всех полученных нами ИК-спектров ископаемых проб показывает, что в рамках изученной выборки положения максимумов полос колебаний ортофосфорных группировок PO_4^{3-} , молекулярной воды H₂O, OH⁻-группировок, карбонат-ионов CO_3^{2-} значимо не меняются, т.е. структурные фрагменты и типы их колебаний остаются неизменными. При этом явно видно, что варьируют относительные интенсивности полос и степень их перекрытия между собой вследствие вариаций ширины линий. Для кристаллохимического анализа и интерпретации результатов нами проведены оценки ряда количественных характеристик спектров костных остатков – степени упорядочения (кристалличности) неорганической фосфатной компоненты и степени ионности–ковалентности P–O-связи в ее ортофосфорной группировке, а также относительного содержания и межпозиционного распределения карбонат-ионов.

Степень упорядочения (кристалличности) неорганической компоненты костных остатков. Разупорядочение (снижение степени кристалличности матрицы), как правило, сопровождается уширением ИК-полос. Очевидно, что наиболее сильное влияние эффект разупорядочения фосфатной матрицы должен оказывать на характеристики полос, обусловленных колебаниями связей в ортофосфорных группировках. Действительно, в работах [5, 6] было установлено, что при изменении степени кристалличности наиболее значимо изменяются две полосы ИК-поглощения с максимумами 564 и 604 см⁻¹, обусловленные антисимметричными деформационными колебаниями ν_4 связи O–P–O: при снижении кристалличности полосы уширяются и хуже разрешаются между собой; при этом уменьшается значение так называемого параметра инфракрасного расщепления (далее $IRSF = IR \text{ splitting factor}$, согласно [7]), определенного в первом приближении (без разложения спектра на элементарные составляющие) как отношение суммы интенсивностей в области максимумов 564 и 604 см⁻¹ к амплитуде “седловины” между ними:

$$IRSF = I(564 \text{ см}^{-1}) + I(604 \text{ см}^{-1})/I(584 \text{ см}^{-1}) \text{ (рис. 1).}$$

С использованием данного подхода нами была рассчитана степень кристалличности структуры неорганической компоненты ископаемых костных и зубных остатков (параметр IRSF); степень кристалличности по пробам костных остатков варьирует от 2.44 до 2.91 отн.ед.; для зубных остатков этот параметр несколько выше и варьирует от 2.88 до 3.51 отн.ед.; лабораторный отжиг последних при 600°C приводит еще к некоторому росту их степени кристалличности, что вполне понятно, т.к. при этом происходит переход нестехиометричного карбонат-гидроксилапатита кости в стехиометричный за счет удаления летучих компонентов, преимущественно углекислого газа.

Содержание и межпозиционное распределение карбонат-ионов. Данные ИК-спектроскопии для костных остатков могут быть использованы также и для анализа карбонатных группировок, в частности, для оценки относительного содержания последних (соотношения CO_3^{2-}/PO_4^{3-}) в минеральной компоненте остатков; для этого в работе [2] было предложено использовать отношение полос ИК-поглощения с максимумами при 1035 и 1415 см⁻¹, связанных с колебаниями C–O и P–O во фрагментах CO_3^{2-} и PO_4^{3-} , соответственно. Следуя данному подходу, нами проведены оценки параметра CO_3^{2-}/PO_4^{3-} для серии из 17 проб костных и зубных остатков (рис. 1); вариации по пробам этого параметра весьма значимы – от 0.39 до 0.58 (для костных остатков) и от 0.25 до 0.33 отн. ед. (для зубных остатков). Отмечено, что параметр CO_3^{2-}/PO_4^{3-} после лабораторного отжига проб при 600°C существенно уменьшается (для резцов до 0.10–0.19) из-за потерь при отжиге минеральной фракцией (карбонат-гидроксилапатитом) летучих компонентов, преимущественно углекислого газа. Обращает на себя внимание следующий факт: при увеличении содержания карбонат-ионов в ископаемых костных и зубных остатках степень их кристалличности уменьшается; имеет место и факт влияния на эти два параметра степени фоссилизации отложений (рис. 2а).

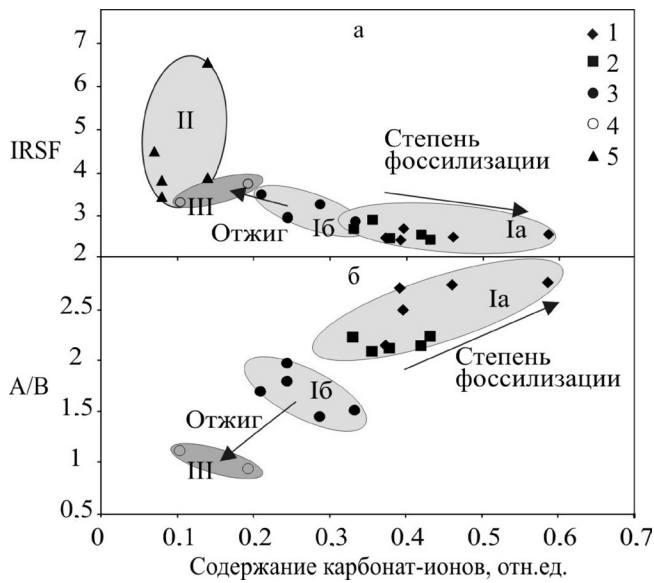


Рис. 2. Соотношение содержания карбонат-ионов и степени кристалличности (а), а также их межпозиционного распределения (А- и В-типов) (б) в ископаемых костных (1, 2, 5, зоны Ia, II) и зубных (3, 4, Ib и III) остатках (4 – после лабораторного отжига при 600°C).

Зоны Ia, б и II – пробы в исходном состоянии (I в стандартном режиме записи спектров, II в режиме локальной ИК-микроскопии); зона III – пробы после лабораторного отжига при 600°C. 1, 5 – спектрометр Nexus-870 (5 – внешняя поверхность костных фрагментов); 2–4 – спектрометр IR Prestige 21.

Хорошо известно, что карбонат-ионы CO_3^{2-} могут занимать две различные А и В-структурные позиции в апатите, замещая PO_4^{3-} -тетраэдры (или) OH^- группы (соответствующие схемы изоморфизма принято обозначать как А и В-тип). На ИК-

спектрах с колебаниями связи $\text{O}-\text{C}-\text{O}$ в карбонат-ионах CO_3^{2-} обоих типов связаны сильно перекрывающиеся полосы в области 1350–1800 cm^{-1} ; заметим, что в этой же области спектра фиксируется интенсивная широкая полоса поглощения молекулярной воды с максимумом 1650 cm^{-1} , что существенно усложняет численные оценки межпозиционного распределения карбонат-ионов. Для количественной оценки интенсивностей полос А и В-карбонат-ионов в области 1350–1800 cm^{-1} необходимо разложение сложного экспериментального спектра на элементарные составляющие; заметим, что ранее [5] в этой области выделялось до шести элементарных полос лоренцевой формы; нами отмечено, что с использованием программного пакета PeakFit **удовлетворительное согласие модельного и экспериментального спектра достигается при введении девяти лоренцевых компонент** (рис. 3а). Для оценки содержания карбонат-ионов использовалось отношение “интегральных” интенсивностей карбонат-ионов А- и В-типов, которые рассчитывались путем суммирования площадей всех соответствующих полос А и В-типа, полученных при разложении. На рис. 2б приведено соотношение общего содержания карбонат-ионов и их межпозиционного распределения в ископаемых костных и зубных остатках; явно видно, что все точки образуют единый тренд роста общего содержания карбонат-ионов, сопровождаемого ростом их доли в PO_4^{3-} тетраэдрах, причем этот тренд начинается с данных для отожженных в лабораторных условиях зубных тканей, продолжается точками для исходных зубных тканей и завершается точками, соответствующими костным тканям. Имеет место факт влияния на соотношение CO_3^{2-} (А)/ CO_3^{2-} (В) и возраста отложений (рис. 2б).

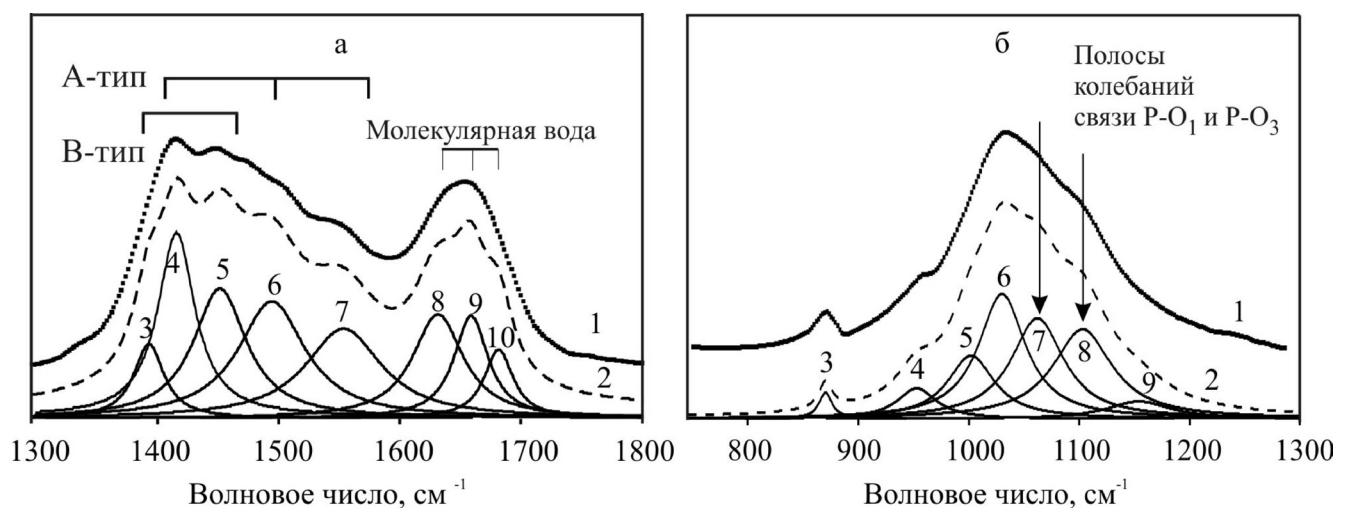


Рис. 3. Экспериментальные ИК-спектры (1) костной ткани в области колебаний CO_3^{2-} группировок А-, В-типа, молекулярной воды (а) и ортофосфорной группировки PO_4^{3-} (б).

Кривая 2 – расчетная суперпозиция элементарных составляющих; кривые 3–10 – разложение на элементарные лоренцевы компоненты; образец ЖС (Жилище Сокола), поздний плейстоцен (а) и остров Врангеля (современность).

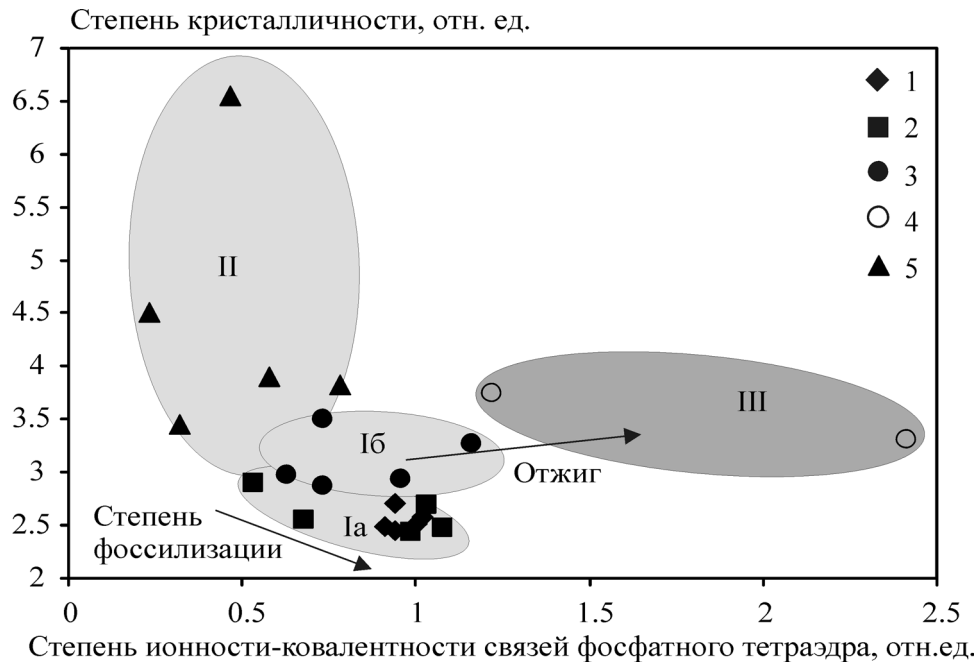


Рис. 4. Соотношение степени кристалличности и степени ионности–ковалентности связей ортофосфорного тетраэдра PO_4^{3-} в ископаемых костных (1, 2, 5, зоны Ia, II) и зубных (3, 4, зоны Ib, III) остатках (4 – после лабораторного отжига при 600°C).

Зоны Ia, б и II – пробы в исходном состоянии (I в стандартном режиме записи спектров, II в режиме локальной ИК-микроскопии); зона III – пробы после лабораторного отжига при 600°C . 1, 5 – спектрометр Continuum, внешняя поверхность костных фрагментов; 2–4 – спектрометр IR Prestige 21.

Степень ионности–ковалентности связей в ортофосфорной группировке. Известно, что характеристики спектра в области $870\text{--}1150\text{ см}^{-1}$, соответствующей валентным колебаниям связей P–O в PO_4^{3-} , чувствительны к кристаллохимическим особенностям фосфор-кислородного тетраэдра – степени его искажения, особенностям химического связывания, ближайшему окружению. В работе [1] сделано предположение, что расщепление асимметричного валентного колебания $\sim 1100\text{ см}^{-1}$ на полосы 1125 , 1100 и 1150 см^{-1} связано с неэквивалентностью атомов кислорода, окружающих атом фосфора (атомы O_1 , O_2 и O_3 , неэквивалентны по типу кристаллографической позиции и расстоянию P–O). В этой работе предположено также, что более высокоэнергетические колебания соответствуют более коротким связям P–O, которые, вероятно, являются и более ковалентными.

Согласно рентгенографическим данным [3, 4], длины связей фосфор–кислород в карбонат-апатитах составляют $\text{P–O}_1 = 1.536\text{ \AA}$ (самая короткая), $\text{P–O}_2 = 1.543\text{ \AA}$, $\text{P–O}_3 = 1.556\text{ \AA}$ (самая длинная). В связи с этим, в первом приближении отношение интенсивностей полос 1100 и 1055 см^{-1} можно рассматривать в качестве некоторого показателя степени искажения симметрии тетраэдра PO_4^{3-} и степени ионности–ковалентности связей P– O_3 /P– O_1 в ортофосфорной группировке. Из сложного, суперпозиционного вида экспериментальных спектров в

области $870\text{--}1150\text{ см}^{-1}$ (рис. 3б) однозначно следует, что для количественной оценки интенсивностей полос 1055 и 1100 см^{-1} в спектре необходимо провести его разложение на элементарные составляющие. На рис. 3б представлены результаты подобного разложения на семь элементарных составляющих лоренцевой формы с максимумами при 870 , 960 , 1000 , 1040 , 1055 , 1100 и 1150 см^{-1} с использованием программного пакета PeakFit; на рис. 4 – вариации рассчитанного показателя степени ионности–ковалентности связей в ортофосфорной группировке (отношения I_{1100}/I_{1055}) и степени кристалличности карбонатгидроксилапатита. Из рис. 4 видно, что точки на нем образуют некий единый тренд роста степени кристалличности, сопровождаемого ростом степени ионности–ковалентности связей в PO_4^{3-} тетраэдрах, причем этот тренд начинается с данных, соответствующих костным остаткам (зона Ia), продолжается точками для зубных остатков-резцов (зона Ib) и завершается точками для резцов, отожженных в лабораторных условиях (зона II). В рамках зоны Ia, соответствующей костным остаткам, имеется тенденция влияния степени фоссилизации отложений на положение точки в ней. Другими словами, с возрастом (или с отжигом) относительное число удлиненных связей PO_4^{3-} -тетраэдров уменьшается, и тетраэдры становятся более симметричными. Поскольку известно, что наиболее симметричным тетраэдр является в бескарбонатном ги-

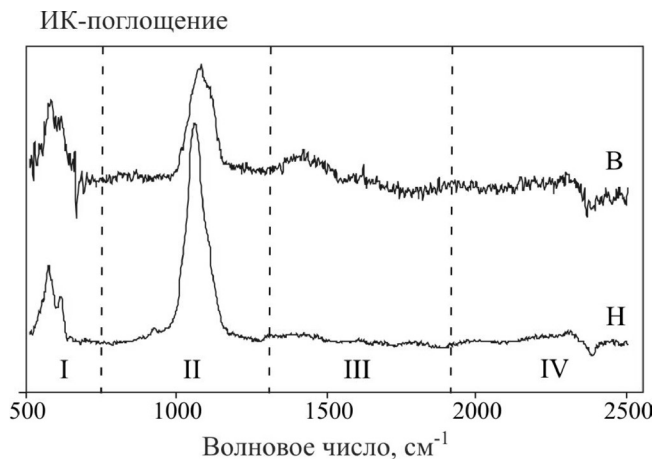


Рис. 5. ИК-микроскопические спектры поглощения ископаемого костного остатка из местонахождения Идрисовская пещера (плейстоцен), пересчитанные из спектров отражения проб, полученных для наружной (н) и для внутренней (в) поверхностей, “вскрытых” после эксгумации остатка в лабораторных условиях.

дроксилапатите ($P-O_1 = 1.537 \text{ \AA}$, $P-O_2 = 1.545 \text{ \AA}$, $P-O_3 = 1.529 \text{ \AA}$), то наблюдаемый результат может быть связан с процессом ухода карбонат-ионов из положений фосфора, например, в каналы или на поверхность и, вследствие этого, с ростом степени кристалличности отожженных (или древних) биоапатитов. Таким образом, спектроскопические результаты указывают на изменение преобладающего типа вхождения углерода в структуру биоапатитов костных остатков с возрастом отложений (или при отжиге).

Анализ общего вида локальных ИК-микроскопических спектров. ИК микроскопические спектры отражения ископаемых костных остатков получены нами как для наружной поверхности, соприкасавшейся при фоссиллизации с внешними грунтовыми водами, почвой, породой и др., так и для внутренней, “вскрытой” после эксгумации остатка в лабораторных условиях. В последующем спектры отражения были пересчитаны на спектры поглощения (рис. 5) с использованием программного пакета Omnic Thermo Nicolet, входящего в комплект поставки ИК-спектрометра Nexus-870.

Сопоставление ИК-спектров, полученных в стандартном (интегральном) режиме (рис. 1) для поликристаллических проб, запрессованных в таблетки с KBr, и в локальном режиме ИК-микроскопии, свидетельствует об их значительном различии, в первую очередь по величине спектрального разрешения и реализуемого отношения сигнал/шум: для ИК-микроскопических спектров эти показатели значительно ниже, и как следствие их “качество” по сравнению со стандартными ИК-спектрами поглощения значительно хуже. На ИК-микроскопических спектрах костных

остатков выделяются три основные группы плохо-разрешенных полос поглощения $450-600$, $750-1200$ и $1350-1550 \text{ см}^{-1}$ (рис. 5); полос поглощения от молекулярной воды и OH-группировок практически не фиксируется. Отмечено, что качество спектров, полученных от внутренней части костных тканей, несколько хуже по сравнению с таковым для внешней, что, по-видимому, отражает различную отражательную способность поверхностей (рис. 5). По локальным ИК-микроскопическим спектрам, полученным от внешних поверхностей костных остатков, нам удалось оценить три численных параметра – индекс их кристалличности (величину инфракрасного расщепления IRSF), степень ионности-ковалентности связей в ортофосфорной группировке и относительное содержание карбонат-ионов (соотношение CO_3/PO_4) в минеральной компоненте костных остатков.

Численные данные по степени кристалличности, относительному содержанию карбонат-ионов и степени ионности-ковалентности связей $P-O_3/P-O_1$, полученные в стандартном (интегральном) режиме (для поликристаллических образцов, запрессованных в таблетки с KBr) весьма значительно отличаются от таковых, полученных в режиме ИК-микроскопии для целых сохранившихся фрагментов костных остатков. Представляется, что это вызвано как чисто техническими особенностями двух режимов работы ИК-спектрометров, так и физико-химическими различиями свойств поверхности костного остатка и его объема. Исследования в данном направлении требуют продолжения.

Таким образом, на основе полученных по данных ИК-спектроскопии и ИК-микроскопии (локальных ИК-спектров) костных и зубных остатков проведен анализ преобразования их неорганической компоненты (степени ее упорядочения, степени ионности-ковалентности химической связи, содержания и межпозиционного распределения карбонат-ионов) как индикатора процесса их фоссиллизации. Предложены показательные диаграммы, связывающие рассчитанные параметры; установлено, что экспериментальные данные образуют на них тренды, коррелирующие со степенью фоссиллизации (возрастом) костных остатков. Установлено, что “качество” ИК-микроскопических спектров костных остатков по сравнению со стандартными ИК-спектрами поглощения значительно хуже; выполненные расчеты параметров IRSF, $P-O_3/P-O_1$ и CO_3^{2-}/PO_4^{3-} сопоставлены с таковыми для интегральных ИК-спектров; проанализированы вариации параметров по внешним и внутренним участкам костных фрагментов.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 07-05-00097-а, 08-04-00663-а, программы “Происхождение и эволюция биосферы” и программы УрО РАН с ДВО РАН “Применение анализа стабильных изотопов углерода, кислорода и азо-

та костных остатков наземных млекопитающих для палеоэкологических и палеоклиматических реконструкций четвертичного периода”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кнубовец Р.Г., Кисловский Л.Д. Исследование анионных замещений в апатитах методом инфракрасной спектроскопии // Физика апатита. Новосибирск: Наука, 1975. С. 63–89.
2. Garvie-Lok S.J., Varney T.L., Katzenberg M.A. Preparation of bone carbonate for stable isotope analysis: the effects of treatment time and acid concentration // J. Archaeological Science. 2004. V. 31. P. 763–776.
3. Ivanova T.I., Frank-Kamenetskaya O. V., Kol'tsov A.B. Synthesis, crystal structure and thermal decomposition of potassium-doped carbonated hydroxyapatite // Z. Krist. 2004. № 219. P. 479–486.
4. Ivanova T.I., Frank-Kamenetskaya O.V., Kol'tsov A.B., Ugolkov V.L. Crystal structure of calcium-deficient carbonated hydroxyapatite. Thermal decomposition // Journal of solid state chemistry. 2001. № 160. P. 340–349.
5. Shi J., Klocke A., Zhang M., Bismayer U. Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: Decomposition and transformation of carbonate groups // Eur. J. Mineral. 2005. V. 17. P. 769–775.
6. Surovell T.A., Stiner M.C. Standardizing infra-red measures of bone mineral crystallinity: an experimental approach // J. Archaeol. Sci. 2001. V. 28. P. 633–642.
7. Weiner S., Bar-Yosef O. States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: a survey // J. Archaeol. Sci. 1990. V. 17. P. 187–196.