



<https://doi.org/10.35597/2313-545X-2026-12-1-6>  
УДК 549.01:549.02:549.752:553.086

## Двухстадийное преобразование костного апатита при нагреве

А.А. Бибко<sup>1</sup>, Р.Ю. Шендрик<sup>2</sup>, О.В. Бухарова<sup>1</sup>, М.С. Антонов<sup>1</sup>,  
М.О. Хрущева<sup>1</sup>, Д.В. Лычагин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
пр. Ленина 36, г. Томск, 634050 Россия, [bibko.geology@gmail.com](mailto:bibko.geology@gmail.com)

<sup>2</sup> Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, ул. Фаворского 1а,  
г. Иркутск, 664033 Россия

Статья поступила в редакцию 24.11.2025 г., после доработки 19.12.2025 г., принята к печати 20.03.2026 г

**Аннотация.** Костная ткань – это природный композитный материал, состоящий из органических компонентов (коллагена и цитрата Са) и минеральной фазы (костного апатита). Методом инфракрасной спектроскопии и рентгеновской дифракции изучены структурные изменения минеральной фазы кортикальной костной ткани лабораторных крыс линии Wistar в процессе термической обработки в интервале температур 50–400 °С с шагом нагрева 50 °С и выдержкой два часа. Показано, что характер преобразований костного апатита коррелирует с разложением органических компонентов костной ткани (коллагена и цитрата Са) на различных этапах нагрева. Изменения структуры костного апатита зафиксированы при нагреве выше 150 °С, что выражается уменьшением полуширины пика (310) на дифрактограмме и уменьшением ширины полосы поглощения 604 см<sup>-1</sup> на ИК спектрах. Это изменение связано с переходом из моноклинной в гексагональную модификацию и исчезновению мозаичной структуры минеральных пластин костного апатита. При нагреве свыше 300 °С по изменению ширины полосы поглощения 604 см<sup>-1</sup> зафиксированы дальнейшие преобразования костного апатита, обусловленные переходом цитрат-иона в карбонат-ион, что приводит к уменьшению расстояния между соседними минеральными пластинами и их слипанию. Полученные данные о трансформации костного апатита при нагреве важны для понимания термической стабильности костной ткани и могут быть использованы при разработке технологий получения биоподобных материалов для костной имплантологии.

**Ключевые слова:** кость, костный апатит, нагревание, коллаген, цитрат, рентгеновская дифракция, ИК спектроскопия.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ FSWM-2025-0015) и при поддержке базовой программы Российской академии наук (№ 0284-2021-0004).

**Благодарности.** Исследования выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Аналитический центр геохимии природных систем» Томского государственного университета (г. Томск, Россия). ИК-спектроскопия проведена в Центре коллективного пользования изотопно-геохимических исследований (Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, г. Иркутск, Россия). Авторы благодарны А.А. Ширяеву и С.М. Аксёнову за продуктивную дискуссию на XV Всероссийской научной конференции «Минералы: строение, свойства, методы исследования», которая помогла улучшить эту работу. Авторы выражают отдельную благодарность Э.В. Сокол и редакторам журнала за ценные замечания, которые помогли усовершенствовать статью.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с рукописью.

**Вклад авторов.** А.А. Бибко, Р.Ю. Шендрик, О.В. Бухарова – разработка концепции, исследование; Р.Ю. Шендрик, М.О. Хрущева – аналитические работы; А.А. Бибко, О.В. Бухарова, Р.Ю. Шендрик, М.С. Антонов, Д.В. Лычагин – написание черновика рукописи, визуализация, редактирование финального варианта рукописи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

**Для цитирования:** Бибко А.А., Шендрик Р.Ю., Бухарова О.В., Антонов М.С., Хрущева М.О., Лычагин Д.В. Двухстадийное преобразование костного апатита при нагреве. *Минералогия*, 12(1), 105–118. <https://doi.org/10.35597/2313-545X-2026-12-1-6>.

## Two stage reorganization of bone apatite during heating

A.A. Bibko<sup>1</sup>, R.Yu. Shendrik<sup>2</sup>, O.V. Bukharova<sup>1</sup>, M.S. Antonov<sup>1</sup>,  
 M.O. Khrushcheva<sup>1</sup>, D.V. Lychagin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Tomsk State University, pr. Lenina 36, Tomsk, 634050 Russia; [bibko.geology@gmail.com](mailto:bibko.geology@gmail.com)

<sup>2</sup> Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, ul. Favorskogo 1a, Irkutsk, 664033 Russia

Received 24.11.2025, revised 19.12.2025 accepted 20.03.2026

**Abstract.** Bone tissue is a natural composite material consisting of organic components (collagen and calcium citrate) and a mineral phase (bone apatite). Infrared spectroscopy and X-ray diffraction are used to study structural changes in the mineral phase of the cortical bone tissue from Wistar laboratory rats during heat treatment in a temperature range of 50–400 °C with a heating step of 50 °C and an exposition time of two hours. It is shown that the nature of bone apatite transformations is correlated with the decomposition of organic bone tissue components (collagen and calcium citrate) at different heating stages. Changes in the bone apatite structure are recorded upon heating above 150 °C as a decrease in the half-width of the peak (310) in an XRD pattern and a decrease in the width of the absorption band at 604 cm<sup>-1</sup> in the IR spectra. This change is associated with the transition from monoclinic to hexagonal modification and the disappearance of the mosaic structure of bone apatite mineral plates. Upon heating above 300 °C, further transformations of bone apatite are related to the change in the width of the 604 cm<sup>-1</sup> absorption band causing by citrate ion to carbonate ion conversion, which leads to a decrease in the distance between the adjacent mineral plates and their adhesion. Our data on the transformation of bone apatite during heating are important for the understanding the thermal stability of bone tissue and can be used in the elaboration of technologies for producing biosimilar materials for bone implantology.

**Keywords:** bone, bone apatite, heating, collagen, citrate, X-ray diffraction, IR spectroscopy.

**Funding.** This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project no. FSWM-2025-0015) and Russian Academy of Science (project no. 0284-2021-0004).

**Acknowledgements.** The analytical studies were conducted using the equipment of the Center for Collective Use “Analytical Center of Geochemistry of Natural Systems” at the Tomsk State University (Tomsk, Russia). IR spectroscopic studies were performed at the Center for Collective Use of Isotopic and Geochemical Studies at the Vinogradov Institute of Geochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (Irkutsk, Russia). We are grateful to A.A. Shiryayev and S.M. Aksenov for the productive discussion at the XV All-Russian Scientific Conference “Minerals: Structure, Properties, and Analytical Methods”, which helped to improve this work. We are grateful to the reviewer E.V. Sokol and editors of the journal for valuable comments that helped significantly to improve this work.

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no conflicts of interest.

**Author contribution.** A.A. Bibko, R.Yu. Shendrik, O.V. Bukharova– conceptualization, investigation; R.Yu. Shendrik, M.O. Khrushcheva– analytical work; A.A. Bibko, O.V. Bukharova, R.Yu. Shendrik, M.S. Antonov, D.V. Lychagin– writing the manuscript, visualization, editing the final version of the manuscript. All the authors approved the final version of the manuscript prior to publication.

**For citation:** Bibko A.A., Shendrik R.Yu., Bukharova O.V., Antonov M.S., Khrushcheva M.O., Lychagin D.V. Two stage reorganization of bone apatite during heating. *Mineralogy*, 12(1), 105–118. <https://doi.org/10.35597/2313-545X-2026-12-1-6>.

## ВВЕДЕНИЕ

Костная ткань является природным композитным материалом, который представлен, в основном, коллагеном и костным апатитом. Коллагеновый матрикс состоит из плотно субпараллельно расположенных фибрилл коллагена диаметром 10–100 нм, которые обрамляют экстрафибриллярные минеральные пластины (МП) апатита. Фибрилла коллагена неоднородна. Ее основной составной частью является так называемая «обособленная структурная единица» (ОСЕ) диаметром ~1.5 нм и длиной 300 нм, представляющая из себя спираль из трех коллагеновых белков, которые удерживаются вместе ковалентными и нековалентными связями. ОСЕ выстраиваются в цепочки, чередуясь с «разрывами» (~67 нм), при этом соседние цепочки плотно прилегают друг к другу. Фибрилла коллагена состоит из некоторого количества таких цепочек, причем «разрывы» располагаются в шахматном порядке. В них размещаются интрафибриллярные МП апатита (Hodge, 1963; Hodge, 1989). МП неоднородна. Это мозаичный агрегат, состоящий из нанокристаллов костного апатита, направление оси *c* которых незначительно меняется и примерно параллельно удлинению фибриллы. В свою очередь, МП формируют пачку (Schwarcz et al., 2014; Бибко и др., 2024).

Согласно литературным данным, МП в пачках разделены «прослойками», заполненными цитрат-ионами  $(C_6H_5O_7)^{3-}$ . Впервые данные о распределении цитрата в организме хордовых с преимущественным нахождением в костной ткани опубликованы в работе (Dickens, 1941). Только в XXI веке благодаря использованию ядерного магнитного резонанса (ЯМР) установлено, что цитрат-ионы взаимодействуют с поверхностью индивидов костного апатита, ориентированную в плоскости (010) (Hu et al., 2010; Schwarcz, Jasiuk, 2025), образуя фосфат-цитратную соль Ca (Duer, 2015). Это соединение выступает своеобразным «клеем» между МП (Pang et al., 2021). Позже появилось мнение, что именно «прослойка» цитрата придает пачкам МП необходимую механическую прочность. Кроме того, ионы цитрата могут выступать центрами для эпитаксиального роста новых МП (Schwarcz, Jasiuk, 2025).

Минеральную фазу костной ткани долгое время считали гидроксилapatитом (Posner et al., 1984; LeGeros, LeGeros, 1993; Legros et al., 1987), который входит в группу апатита супергруппы апатита. Группа апатита включает в себя гексагональ-

ные и псевдогексагональные фосфаты, арсенаты и ванадаты. Фосфаты Ca этой группы представлены фторапатитом, хлорапатитом и гидроксилapatитом, имеющими гексагональную структуру ( $P6_3/m$ ), и клиногидроксилapatитом с моноклинной структурой ( $P2_1/b$ ) (Pasero et al., 2010; Hazrah, Antao, 2022). Костный минерал не следует относить к гидроксилapatиту (Cho et al., 2003; Shah, 2025; Kis et al., 2025), т.к. по данным просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (ПЭМ) костный апатит является моноклинным ( $P2_1/b$ ) (Kis et al., 2025). Во-вторых, количество  $(OH)^-$  анионов в структуре минерала недостаточно, чтобы отнести костный минерал к гидроксилapatиту (Cho et al., 2003, Pasteris et al., 2004). В-третьих, костный минерал имеет специфический состав, который выражается в дефиците кальция и замещениях  $[CO_3]^{2-} \rightarrow [PO_4]^{3-}$  и  $[HPO_4]^{2-} \rightarrow [PO_4]^{3-}$  (Rey et al., 1991; Shah, 2025). В обзоре (Shah, 2025) отмечается, что костный минерал представляет собой уникальную форму апатита с дефицитом Ca и  $(OH)^-$  и характерными  $[CO_3]^{2-}$  и  $[HPO_4]^{2-}$  замещениями. По перечисленным выше причинам для костного минерала мы будем использовать термин «костный апатит». В работе (Shah, 2025) также отмечается, что структура костного апатита вероятнее всего нестабильна. На данный момент механизм стабилизации кристаллической структуры костного апатита не описан, но в ряде работ важная роль в этом процессе отводится органическим компонентам костной ткани (Raspanti et al., 1994; Kalsbeek, Richter, 2006).

В нашей работе показано влияние термической обработки (нагрев до 400 °C) на костную ткань и ее минеральную фазу. Рассмотрены преобразования как органического матрикса (коллаген, цитрат), так и костного апатита. Выбор температуры 400 °C в качестве максимальной обусловлен тем, что нагрев до этого предела сопровождается значительной потерей костной массы, а также это температура полной денатурации коллагена (Raspanti et al., 1994; Kalsbeek, Richter, 2006). Эта температура определена как предельно возможная для существования данного органоминерального агрегата. Полученные данные о корреляции разложения органического матрикса и трансформацией минеральной фазы значимы для понимания пределов термической стабильности костной ткани как природного композита и могут быть учтены при создании биоподобных материалов.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объекта исследования выбраны бедренные кости шести половозрелых самок крыс породы Wistar массой 180–230 г, полученных от сертифицированного производителя. После 14-дневного карантина их содержали в стандартных условиях вивария с естественным освещением и стандартным рационом питания со свободным доступом к воде и пище (без диеты с ограниченным содержанием Ca). В виварии круглосуточно поддерживались относительная влажность воздуха 50–65 % и температура воздуха 20–25 °С. Все процедуры проводили в соответствии с правилами и рекомендациями по гуманному обращению с животными, используемыми в экспериментальных и иных научных целях (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»).

Животных выводили из эксперимента путем одномоментной декапитации под CO<sub>2</sub> наркозом, затем извлекали бедренные кости, которые рандомизировались и зачищались от мышечной ткани, после чего отделялись фрагменты кортикальной кости диафиза. После предварительной подготовки кости нагревались в муфельной печи на воздухе. Диапазон нагрева 50–400 °С, шаг нагрева 50 °С, время нагрева после выхода на заданную температуру составляло два часа. Далее кортикальная кость дробилась, после чего фрагменты еще раз рандомизировались и изучались методами рентгеновской дифракции и инфракрасной (ИК) спектроскопии. До термической обработки часть фрагментов кортикальной кости была также исследована методами рентгеновской дифракции и ИК спектроскопии для получения контрольных значений.

Для рентгеноструктурного анализа фрагменты кортикальной кости измельчались в агатовой ступке до пудры. Диффрактограммы получены на рентгеновском дифрактометре HAOYUAN DX-2700BH (Dandong Haoyuan Instrument Co, Ltd, Китай). Съемка проведена при нормальных условиях по геометрии Брэгга-Брентано с использованием CuK $\alpha$  излучения с NiK $\beta$  фильтром при напряжении на трубке 40 кВ и токе 30 мА. Рентгенограммы снимались с шагом 0.01° в интервале 24–46 °2 $\theta$  с выдержкой 0.5 сек в точке. Диффрактограммы обработаны в программах HighScore и Fityk. Полуширина пика (полная ширина пика на половине его

максимума) определялась в программе Fityk после стандартной процедуры аппроксимации пиков асимметричной функцией Pearson VII.

ИК спектры костной ткани получены с помощью спектрофотометра FT-801 Simex. Костная ткань истиралась и смешивалась в пропорции 1 : 8 с первоначально высушенным KBr чистоты 99.999. Из полученной смеси прессовались таблетки, а спектры пропускания регистрировались относительно таблетки KBr. Количество накоплений при съемке спектров составляло 32, спектральное разрешение – 2 см<sup>-1</sup>. Все исследования проводились при относительной влажности ниже 20 %; сорбция воды истертыми образцами и в процессе прогрева не наблюдалась (интенсивность полос поглощения воды на ИК спектре не увеличивалась). Для деконволюции спектров поглощения использовались гауссианы. Разложение проводилось методом наименьших квадратов в веб-приложении ArDI (Shendrik et al., 2024; Smirnov et al., 2026). Форма базовой линии в спектрах восстанавливалась по модифицированному алгоритму асимметричного сглаживания методом наименьших квадратов (*asymmetric least square smoothing*), реализованному в приложении ArDI.

Для оценки изменений костного апатита анализировалась полуширина пиков (002) и (310) на диффрактограммах и показатель полной ширины полосы поглощения 604 см<sup>-1</sup> на 85 % интенсивности на ИК спектрах (FW85 %). Часто для оценки преобразований апатита используют фактор расщепления моды  $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$  в инфракрасном спектре (Lebon et al., 2010; Pucéat et al., 2004). Данный показатель рассчитывается как сумма интенсивностей полос 565 и 604 см<sup>-1</sup>, разделенная на интенсивность провала между ними (Termine, Posner, 1966). В работе (Dal Sasso et al., 2018) показано, что FW85 % полосы 604 см<sup>-1</sup> лучше коррелирует с размерами областей когерентного рассеяния рентгеновских лучей, чем фактор расщепления в инфракрасном спектре, поэтому предпочтение было отдано FW85 %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Диффрактометрия.* На диффрактограмме костной ткани выделяются пики (002) и (310) и максимальный по интенсивности пик, представляющий собой суперпозицию трех пиков (211), (112) и (300) (рис. 1а). Анализ полуширин пиков, соответствующих плоскостям (002) и (310), позволяет оценить изменения размера области когерентного рассеяния рентгеновских лучей в этих направлениях. Изменение полуширины пиков

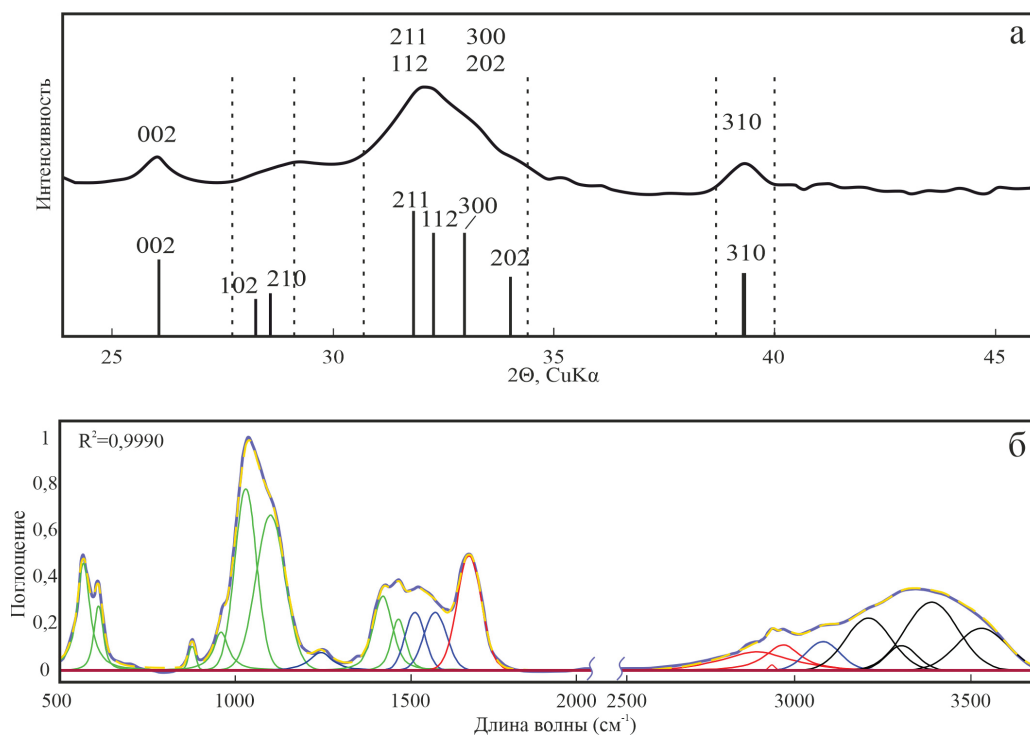


Рис. 1. Рентгеновская дифрактограмма (а) и ИК спектр (б) исходной кости.  
Fig. 1. XRD pattern (a) and IR spectrum (б) of the original bone.

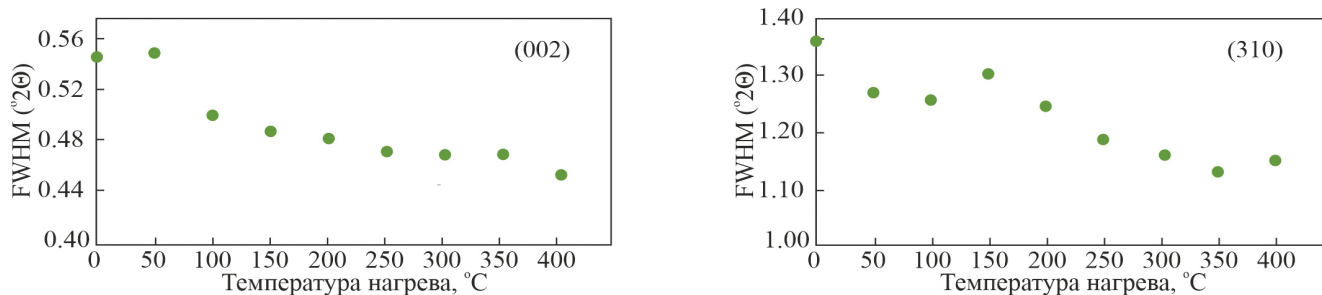


Рис. 2. Полуширина пиков на дифрактограммах в зависимости от температуры нагрева.  
Fig. 2. FWHM of peaks on XRD pattern versus heating temperature.

(002) и (310) зависит от температуры: при нагреве кости от 0 до 400 °С области когерентного рассеяния костного апатита увеличиваются (рис. 2).

**ИК спектроскопия.** На ИК спектре исходной костной ткани темно-синим цветом показан первоначальный спектр, желтым пунктиром – спектр после математической обработки (рис. 1б), в результате чего выделяются собственные полосы поглощения апатита (зеленый цвет), коллагена (синий цвет) и общие полосы поглощения коллагена и цитрата (красный цвет). В области 3200–3400 см<sup>-1</sup> вклад в спектр могут вносить все три соединения (черный цвет). На ИК спектре выделяются колебательные моды в диапазонах 550–610 (ν<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>), 950–1200 (ν<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), ~860 (ν<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) и ~1450 (ν<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>) см<sup>-1</sup> (Madupalli et al., 2017). Эти моды соответствуют собственным

колебаниям костного апатита. Органические компоненты костной ткани фиксируются несколькими полосами поглощения:

1. Полоса поглощения ~1550 см<sup>-1</sup> соответствует колебаниям амида II (RCONHR'), где R – это водород или углеводородный радикал) в коллагене (Xiao et al., 2007).

2. Полоса поглощения ~1650 см<sup>-1</sup> связана с колебаниями связи С=О в цитрате и амиде I (RCONH<sub>2</sub>) в коллагене (Kristoffersen et al., 2023; Punthipayanon et al., 2025).

3. Полосы поглощения 2930 и 2960 см<sup>-1</sup> характерны для колебаний связей С–Н в цитрате и коллагене (Xiao et al., 2007; Mansour, 1994).

Эти полосы поглощения представляют для нашего исследования особый интерес, поскольку

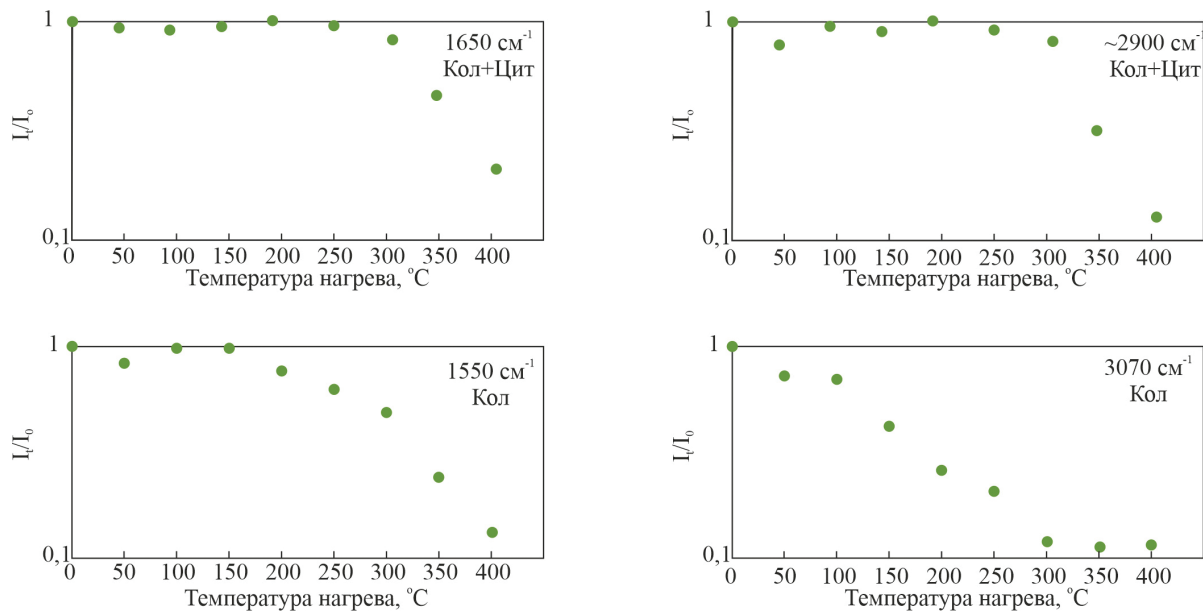


Рис. 3. Изменение интенсивности полос поглощения органических соединений на ИК спектре в кости при нагреве.  $I_t$  – интенсивность полосы поглощения при нагреве,  $I_0$  – интенсивность этой же полосы в исходной кости; Кол – коллаген, Цит – цитрат.

Fig. 3. Change in peak intensity of organic compounds of the bone during heating.

$I_t$  – intensity of the peak upon heating,  $I_0$  – intensity of the same peak in the original bone; Кол – collagen, Цит – citrate.

Таблица. Интенсивность полос поглощения органических соединений костной ткани при нагреве  
 Table. Intensity of absorption bands of organic compounds of bone tissue upon heating

Т нагрева, °C	1550 $\text{cm}^{-1}$ Коллаген	1650 $\text{cm}^{-1}$ Коллаген+цитрат	2930 и 2960 $\text{cm}^{-1}$ Коллаген+цитрат	3070 $\text{cm}^{-1}$ Коллаген
0	+	+	+	+
50	=	=	=	=
100	=	=	=	=
150	=	=	=	↓
200	↓	=	=	↓
250	↓	=	=	↓
300	↓	=	=	–
350	↓	↓	↓	–
400	–	↓	–	–

Примечание. +/- – наличие/отсутствие полосы поглощения; = – отсутствие изменений по сравнению с предыдущей температурой нагрева; ↓ – уменьшение интенсивности полосы поглощения.

Note. +/- – the presence/absence of absorption band; = – no change compared to the previous heating step; ↓ – decrease in intensity of the absorption band.

отражают наличие органической составляющей в костной ткани.

Графики изменения интенсивности полос поглощения органических соединений при нагреве представлены на рисунке 3 и обобщены в таблице, которые демонстрируют уменьшение интенсивности и полное исчезновение полос поглощения на ИК спектрах, отражающих присутствие органиче-

ских составляющих. Как видно из таблицы, первые изменения происходят в коллагене при нагреве до температуры 150 °C, которые фиксируются в виде уменьшения интенсивности полосы поглощения 3070  $\text{cm}^{-1}$ . Следующее изменение регистрируется по уменьшению интенсивности полосы поглощения 1550  $\text{cm}^{-1}$  при 200 °C. По мере дальнейшего нагрева кости интенсивность полос 3070 и 1550  $\text{cm}^{-1}$

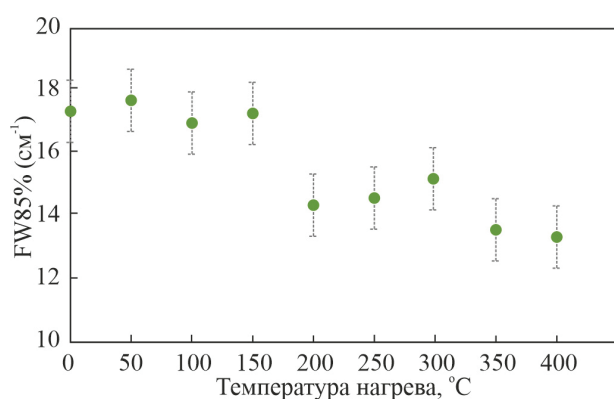


Рис. 4. Изменение полной ширины на 85 % интенсивности полосы поглощения  $604 \text{ см}^{-1}$  (FW85 %) при нагреве.

Fig. 4. Change in the full width by 85 % of the intensity of the absorption band at  $604 \text{ cm}^{-1}$  (FW85 %) upon heating.

снижается вплоть до полного их исчезновения при температурах  $300 \text{ }^\circ\text{C}$  (для полосы  $3070 \text{ см}^{-1}$ ) и  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  (для полосы  $1550 \text{ см}^{-1}$ ). Начиная с температуры  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ , происходит уменьшение интенсивности полос  $\sim 2900$  и  $1650 \text{ см}^{-1}$ , которые соответствуют цитрату и коллагену.

Зафиксировать изменения костного апатита можно также по собственным полосам поглощения на ИК спектре:  $550\text{--}610$  ( $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ ) и  $950\text{--}1200$  ( $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$ )  $\text{см}^{-1}$  (рис. 16). Использование колебательной моды  $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$  для интерпретации изменений костного апатита проблематично из-за вклада в моду большого количества полос, а именно:  $960$ ,  $1035$ ,  $1090$  и  $1110 \text{ см}^{-1}$ . Для расчета показателя FW85 % проведена процедура деконволюции спектров в области, где располагается колебательная мода  $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ . На графике зависимости полученных величин FW85 % полосы  $604 \text{ см}^{-1}$  от температуры нагрева видно, что изменения FW85 % происходят при нагреве кости выше  $150$  и выше  $300 \text{ }^\circ\text{C}$  (рис. 4). В диапазонах  $0\text{--}150$  и  $200\text{--}300 \text{ }^\circ\text{C}$  наблюдаются плато.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

*Преобразования органических компонентов при нагреве.* Первые изменения коллагена фиксируются при температуре  $150 \text{ }^\circ\text{C}$  (таблица). Как отмечалось в работе (Bozec, Odlyha, 2011), при этой температуре происходит тепловое расширение, связанное с набуханием коллагеновых фибрилл в результате удаления прочно связанной воды из структуры белка и изменением стабильности тройной спирали молекул коллагеновых белков (Renugopalakrishnan et al., 1989; Liu, De Yao, 2001). Изменение при температуре  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  связано с деградацией структуры коллагена (Luescher et al., 1974; Bigi et al., 1987). Исчезновение полос поглощения  $3070$  и  $1550 \text{ см}^{-1}$  при температурах  $300$  и  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  связано с полной денатурацией коллагена (Bozec, Odlyha, 2011).

Уменьшение интенсивности полос поглощения, соответствующих комбинации коллагена и цитрата, связано с термическим разложением цитрата, обычно протекающим в три стадии: 1) дегидратация с образованием безводного цитрата Ca (при нагреве до  $145 \text{ }^\circ\text{C}$ ); 2) его преобразование в карбонат Ca в диапазоне температур  $230\text{--}480 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 3) разложение карбоната с образованием оксида Ca при температуре выше  $600 \text{ }^\circ\text{C}$  (Mansour, 1994). Интенсивности полос поглощения, связанных с цитратом, изменяются, начиная с температуры  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ , что соответствует второй стадии термического разложения. Это объясняется тем, что в процессе физиологического формирования костной ткани цитрат Ca секретруется клетками уже в безводной форме, поэтому первая стадия термического разложения в нашем эксперименте не фиксируется. Последние ступени разложения коллагена и вторая ступень разложения цитрата совпадают по температуре. С этим связано уменьшение интенсивности полосы поглощения  $1650 \text{ см}^{-1}$  и одновременное уменьшение интенсивности полос поглощения, расположенных вблизи  $\sim 2900 \text{ см}^{-1}$ .

*Преобразование костного апатита.* Изменение полуширины пика ( $310$ ) и величины FW85 % полосы поглощения  $604 \text{ см}^{-1}$  при  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  указывает на то, что вторая стадия разложения коллагена является ключевой и запускает процесс преобразования костного апатита. Денатурация коллагена приводит к увеличению области когерентного рассеяния рентгеновских лучей, что фиксируется уменьшением полуширины пика ( $310$ ) на дифрактограммах. Это может указывать на исчезновение мозаичной структуры МП, проявляющееся в вариабельности ориентаций оси  $c$  (Schwarcz et al., 2014; Бибко и др., 2024), и, вероятно, вызванное трансформацией  $\text{P}2_1/\text{b} \rightarrow \text{P}6_3/\text{m}$ .

Температура перехода  $\text{P}2_1/\text{b} \rightarrow \text{P}6_3/\text{m}$  рассчитана с помощью теории функционала плотности

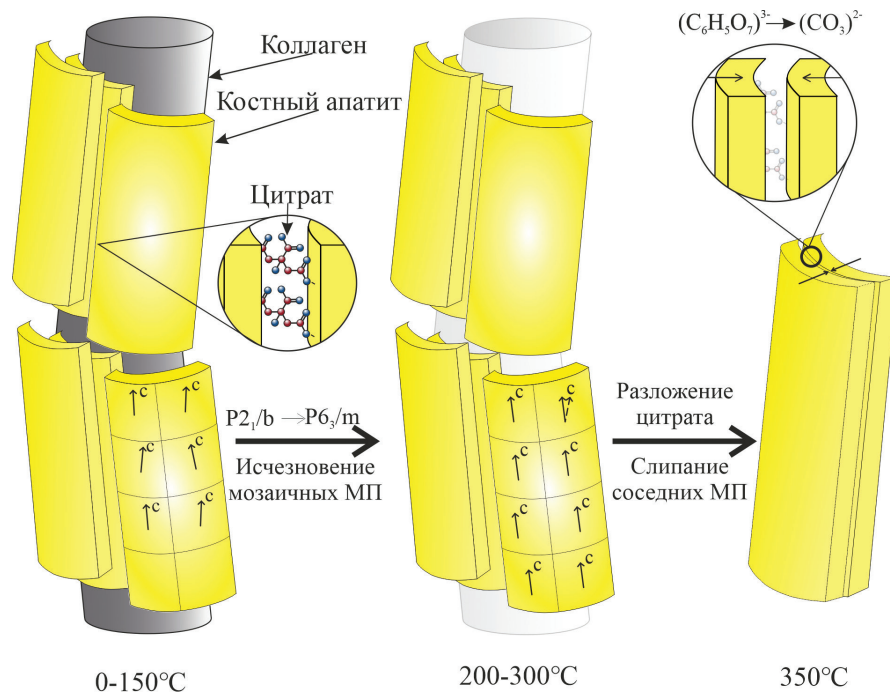


Рис. 5. Схема двухступенчатого преобразования костного апатита при нагреве.  
 Fig. 5. Scheme of two-stage transformation of bone apatite upon heating.

(Slepko, Demkov, 2015) и подтверждена экспериментальными работами с использованием химически чистого клиногидроксиапатита (Ikoma et al., 1998). Моноклинная модификация  $P2_1/b$  гидроксиапатита переходит в гексагональную  $P6_3/m$  при температуре  $\sim 200$  °C (Ikoma et al., 1998; Slepko, Demkov, 2015). Вероятно, температура этого перехода может меняться в зависимости от вариаций содержания примесных компонентов в составе апатите. При температуре 720 °C гексагональный гидроксиапатит может трансформироваться в  $\beta$  трикальций фосфат ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) ( $\beta\text{-TCP}$ ) (Posner, 1969; Gibson et al., 2000; Szekeanecz et al., 2024).

Изменение величины FW85 % полосы поглощения  $604\text{ см}^{-1}$  при температуре 350 °C связано с дальнейшим преобразованием костного апатита. Эта температура не достигает значений, необходимых для трансформации гексагонального апатита в  $\beta\text{-TCP}$ , однако данная температура характерна для второй стадии разложения цитрата кальция и денатурации коллагена.

Роль цитрата в обеспечении уникальных прочностных свойств кости очень велика. Он выступает своего рода «клеем» и является очагом нуклеации соседних МП в пачке (Pang et al., 2021; Schwarcz et al., 2024; Schwarcz, Jasiuk, 2025). Карбонат-ион, формирующийся при деградации цитрат-иона, будет по-прежнему «склеивать» сосед-

ние МП, однако расстояние между МП при этом становится существенно меньше. Данные ИК спектроскопии и рентгеновской дифракции, по нашему мнению, отражают процесс «слипания» соседних МП в пачке с соответствующим увеличением размера областей когерентного рассеяния апатита.

Опираясь на опубликованные данные и с учетом структурных и морфологических особенностей костного апатита, установленных в данном исследовании, можно предложить следующую предварительную схему преобразования костного апатита (рис. 5). При температуре нагрева 200 °C начинается деградация структуры коллагена. Костный апатит претерпевает трансформацию  $P2_1/b \rightarrow P6_3/m$ , что приводит к исчезновению мозаичной структуры МП. При температуре нагрева 350 °C происходит преобразование цитрат-иона в карбонат-ион, что приводит к слипанию соседних МП.

Таким образом, в рамках эксперимента по нагреву костной ткани удалось зафиксировать последовательное преобразование костного апатита, связанное с деградацией и удалением органических компонентов. Известно, что органические компоненты разлагаются и при захоронении костной ткани, когда денатурация коллагена происходит естественным путем (Trueman et al., 2008). Пока органические соединения присутствуют в органическом агрегате, апатит не реагирует с компо-

нентами окружающей среды. В природных условиях естественное разрушение коллагена, уплотнение осадка, содержащего костные остатки, и наличие поровой влаги приводит к перекристаллизации и укрупнению кристаллов апатита и изменению его химического состава (Nielsen-Marsh, Hedges, 2000; Collins et al., 2002; Kohn, 2008). Эти процессы могут протекать стремительно (в течение одной недели), что показано в эксперименте *in situ* по захоронению костей аллигаторов (Keenan, Engel, 2017). После полного разложения органических соединений начинается рост вторичного апатита, состав и структура которого контролируется спецификой условий захоронения (Bartsiokas, Middleton, 1992; Trueman et al., 2008; Trueman 2013; Рянская и др., 2020).

### ВЫВОДЫ

В результате исследований по нагреву костной ткани лабораторных мышей в диапазоне 50–400 °С установлено, что костный апатит претерпевает существенные изменения, которые зафиксированы при помощи рентгеновской дифракции и ИК спектроскопии. На дифрактограммах наблюдается закономерное уменьшение полуширины пиков (002) и (310), а на ИК спектрах – уменьшение параметра FW85 % полосы поглощения 604 см<sup>-1</sup>. Первые признаки изменения костного апатита фиксируются при нагреве выше температуры 150 °С по уменьшению полуширины пика (310) и FW85 % полосы поглощения 604 см<sup>-1</sup>. Вероятнее всего, эти изменения связаны со структурным переходом моноклинной модификации апатита в гексагональную. Температура, при которой зафиксированы эти изменения, коррелирует с температурой начала денатурации коллагена.

Последующие изменения костного апатита зафиксированы при нагреве выше 300 °С. Происходит уменьшение FW85 % полосы поглощения 604 см<sup>-1</sup>, значительно падает интенсивность полос поглощения ~2900 и 1650 см<sup>-1</sup>. Поскольку интенсивность этих полос поглощения зависит от наличия коллагена и цитрата в органоминеральном агрегате, эти изменения следует рассматривать как свидетельства полной деградации органических составляющих костной ткани. В нашем представлении это приводит к слипанию минеральных пластин костного апатита.

Полученные данные о трансформации костного апатита при нагреве важны для понимания термической стабильности костной ткани и могут быть использованы при разработке технологий получения биоподобных материалов для костной имплантологии.

### ЛИТЕРАТУРА

- Бибко А.А., Лычагин Д.В., Бухарова О.В., Коструб Е.А., Хрущева М.О. (2024) Наноконпозиция гидроксилатапата кортикальной костной ткани. *Минералогия*, 10(3), 20–31. <https://doi.org/10.35597/2313-545X-2024-10-3-2>
- Рянская А.Д., Киселева Д.В., Панкрушина Е.А., Косинцев П.А., Бачура О.П., Гусев А.В. (2020) Структурные особенности биогенного апатита субфоссильных скелетных остатков (черепов и рогов) северного оленя из Арктической зоны Западной Сибири. *Труды Ферсмановской научной сессии ГИ КНЦ РАН*. Апатиты, ГИ КНЦ РАН, 477–481. <https://doi.org/10.31241/FNS.2020.17.091>
- Bartsiokas A., Middleton A.P. (1992) Characterization and dating of recent and fossil bone by X-ray diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19(1), 63–72. [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(92\)90007-P](https://doi.org/10.1016/0305-4403(92)90007-P)
- Bigi A., Cojazzi G., Roveri N., Koch M.H.J. (1987) Differential scanning calorimetry and X-ray diffraction study of tendon collagen thermal denaturation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 9(6), 363–367. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(87\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0141-8130(87)90010-9)
- Bozec L., Odlyha M. (2011) Thermal denaturation studies of collagen by microthermal analysis and atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, 101(1), 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.04.033>
- Cho G., Wu Y., Ackerman J.L. (2003) Detection of hydroxyl ions in bone mineral by solid-state NMR spectroscopy. *Science*, 300(5622), 1123–1127. <https://doi.org/10.1126/science.1078470>
- Collins M.J., Nielsen-Marsh C.M., Hiller J., Smith C.I., Roberts J.P., Prigodich R.V., Wess T.J., Csapò J., Millard A.R., Turner-Walker G. (2002) The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry*, 44(3), 383–394. <https://doi.org/10.1111/1475-4754.t01-1-00071>
- Dal Sasso G., Asscher Y., Angelini I., Nodari L., Artioli G. (2018) A universal curve of apatite crystallinity for the assessment of bone integrity and preservation. *Scientific Reports*, 8(1), 12025. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30642-z>
- Dickens F. (1941) The citric acid content of animal tissues, with reference to its occurrence in bone and tumour. *Biochemical Journal*, 35(8–9), 1011. <https://doi.org/10.1042/bj0351011>
- Duer M.J. (2015) The contribution of solid-state NMR spectroscopy to understanding biomineralization: atomic and molecular structure of bone. *Journal of Magnetic Resonance*, 253, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2014.12.011>
- Gibson I.R., Rehman I., Best S.M., Bonfield W. (2000) Characterization of the transformation from calcium-deficient apatite to  $\beta$ -tricalcium phosphate. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11(9), 533–539. <https://doi.org/10.1023/A:1008961816208>
- Hazrah K.S., Antao S.M. (2022) Apatite, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH, F, Cl)<sub>2</sub>: structural variations, natural solid solutions,

- intergrowths, and zoning. *Minerals*, 12(5), 527. <https://doi.org/10.3390/min12050527>
- Hodge A. (1963) Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecule. *Aspects of Protein Structure*, 289–300.
- Hodge A.J. (1989) Molecular models illustrating the possible distributions of "holes" in simple systematically staggered arrays of type I collagen molecules in native-type fibrils. *Connective Tissue Research*, 21, 137–147. <https://doi.org/10.3109/03008208909050004>
- Hu Y.-Y., Rawal A., Schmidt-Rohr K. (2010) Strongly bound citrate stabilizes the apatite nanocrystals in bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(52), 22425–22429. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009219107>
- Ikoma T., Yamazaki A., Nakamura S., Akao M. (1998) Phase transition of monoclinic hydroxyapatite. *Netsu Sokutei*, 25(5), 141–149. <https://doi.org/10.1131/jstc1974.25.141>
- Kalsbeek N., Richter J. (2006) Preservation of burned bones: an investigation of the effects of temperature and pH on hardness. *Studies in Conservation*, 51(2), 123–138. <https://doi.org/10.1179/sic.2006.51.2.123>
- Keenan S.W., Engel A.S. (2017) Early diagenesis and recrystallization of bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 196, 209–223. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2016.09.033>
- Kis V.K., Schwarcz H.P., Nassif N., Szekanez Z. (2025) Bone mineral platelets are mesocrystals formed by monoclinic nanocrystals. *Communications Materials*, 6(1), 192. <https://doi.org/10.1038/s43246-025-00890-4>
- Kohn M.J. (2008) Models of diffusion-limited uptake of trace elements in fossils and rates of fossilization. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(15), 3758–3770. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.05.045>
- Kristoffersen K.A., Måge I., Wubshet S.G., Böcker U., Dankel K.R., Lisleid A., Rønningen M.A., Afseth N.K. (2023) FTIR-based prediction of collagen content in hydrolyzed protein samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 301, 122919. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122919>
- Lebon M., Reiche I., Bahain J.-J., Chadefaux C., Moigne A.-M., Fröhlich F., Sémah F., Schwarcz H.P., Falguères C. (2010) New parameters for the characterization of diagenetic alterations and heat-induced changes of fossil bone mineral using Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Archaeological Science*, 37(9), 2265–2276. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.03.024>
- LeGeros R.Z., LeGeros J.P. (1993) Dense hydroxyapatite. *An Introduction to Bioceramics*, 139–180. [https://doi.org/10.1142/9789814317351\\_0009](https://doi.org/10.1142/9789814317351_0009)
- Legros R., Balmain N., Bonel G. (1987) Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. *Calcified Tissue International*, 41(3), 137–144. <https://doi.org/10.1007/BF02563793>
- Liu W.G., De Yao K. (2001) What causes the unfrozen water in polymers: hydrogen bonds between water and polymer chains? *Polymer*, 42(8), 3943–3947. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00726-6](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00726-6)
- Luescher M., Rüegg M., Schindler Pjbor. (1974) Effect of hydration upon the thermal stability of tropocollagen and its dependence on the presence of neutral salts. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 13(12), 2489–2503. <https://doi.org/10.1002/bip.1974.360131208>
- Madupalli H., Pavan B., Tecklenburg M.M.J. (2017) Carbonate substitution in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite. *Journal of Solid State Chemistry*, 255, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2017.07.025>
- Mansour S.A.A. (1994) Thermal decomposition of calcium citrate tetrahydrate. *Thermochimica acta*, 233(2), 243–256. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(94\)85118-2](https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)85118-2)
- Nielsen-Marsh C.M., Hedges R.E.M. (2000) Patterns of Diagenesis in Bone I: The Effects of Site Environments. *Journal of Archaeological Science*, 27(12), 1139–1150. <https://doi.org/10.1006/jasc.1999.0537>
- Pang S., Schwarcz H.P., Jasiuk I. (2021) Interfacial bonding between mineral platelets in bone and its effect on mechanical properties of bone. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 113, 104132. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.104132>
- Pasero M., Kampf A.R., Ferraris C., Pekov I.V., Rakovan J., White T.J. (2010) Nomenclature of the apatite supergroup minerals. *European Journal of Mineralogy*, 22(2), 163–179. <https://doi.org/10.1127/0935-1221/2010/0022-2022>
- Pasteris J.D., Wopenka B., Freeman J.J., Rogers K., Valsami-Jones E., Van der Houwen J.A.M., Silva M.J. (2004) Lack of OH in nanocrystalline apatite as a function of degree of atomic order: implications for bone and biomaterials. *Biomaterials*, 25(2), 229–238. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00487-3](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00487-3)
- Posner A.S. (1969) Crystal chemistry of bone mineral. *Physiological Reviews*, 49(4), 760–792. <https://doi.org/10.1152/physrev.1969.49.4.760>
- Posner A.S., Blumenthal N.C., Betts F. (1984) Chemistry and Structure of Precipitated Hydroxyapatites/ In: *Phosphate Minerals*. Berlin., Springer, 30–350. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-61736-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-61736-2_11)
- Pucéat E., Reynard B., Lécuyer C. (2004) Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites? *Chemical Geology*, 205(1–2), 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2003.12.014>
- Punthipayanon S., Chanwetprasat P., Seesanong S., Boonchom B., Rungrojchaipon P., Laohavisuti N., Boonmee W. (2025) Influence of organic solvent on the physicochemical characteristics of calcium citrate prepared from mussel shell waste. *Processes*, 13(6), 1866. <https://doi.org/10.3390/pr13061866>
- Raspanti M., Guizzardi S., De Pasquale V., Martini D., Ruggeri A. (1994) Ultrastructure of heat-deproteinated compact bone. *Biomaterials*, 15(6), 433–437. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(94\)90222-4](https://doi.org/10.1016/0142-9612(94)90222-4)

- Renugopalakrishnan V., Chandrakasan G., Moore S., Hutson T.B., Berney C.V., Bhatnagar R.S. (1989) Bound water in collagen: evidence from Fourier transform infrared and Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopic study. *Macromolecules*, 22(10), 4121–4124. <https://doi.org/10.1021/ma00200a054>
- Rey C., Renugopalakrishnan V., Collins B., Glimcher M.J. (1991) Fourier transform infrared spectroscopic study of the carbonate ions in bone mineral during aging. *Calcified Tissue International*, 49, 251–258. <https://doi.org/10.1007/BF02556214>
- Schwarzc H.P., Jasiuk I. (2025) The function of citrate in bone: platelet adhesion and mineral nucleation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 107077. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2025.107077>
- Schwarzc H.P., McNally E.A., Botton G.A. (2014) Dark-field transmission electron microscopy of cortical bone reveals details of extrafibrillar crystals. *Journal of Structural Biology*, 188(3), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2014.10.005>
- Schwarzc H.P., Nassif N., Kis V.K. (2024) Curved mineral platelets in bone. *Acta Biomaterialia*, 183, 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.05.047>
- Shah F.A. (2025) Revisiting the physical and chemical nature of the mineral component of bone. *Acta Biomaterialia*, 196, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2025.01.055>
- Shendrik R.Y., Plechov P.Y., Smirnov S.Z. (2024) ArDI – the system of mineral vibrational spectroscopy data processing and analysis. *New Data Miner*, 58, 2–35. <https://doi.org/10.25993/FM.2024.58.2024.008>
- Slepko A., Demkov A.A. (2015) Hydroxyapatite: Vibrational spectra and monoclinic to hexagonal phase transition. *Journal of Applied Physics*, 117(7). <https://doi.org/10.1063/1.4908001>
- Smirnov S., Shendrik R., Myasnikova A., Plechov P. (2026) ArDI: machine learning driven raman phase analysis for decoding complex mineral assemblages in fluid inclusions. *Journal of Raman Spectroscopy*, 57(2), 305–320. <https://doi.org/10.1002/jrs.70047>
- Szekanecz Z., Besnyi A., Kónya P., Fűri J., Király E., Bertalan É., Falus G., Udvardi B., Kovács-Kis V., Andrásy L., Maros G., Fancsik T., Pethő Z., Gomez I., Horváth Á., Gulyás K., Juhász B., Hodosi K., Sándor Z., Bhattoa H.P., Kovács I.J. (2024) Bones or stones: how can we apply geophysical techniques in bone research? *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19). <https://doi.org/10.3390/ijms251910733>
- Termine J.D., Posner A.S. (1966) Infrared analysis of rat bone: age dependency of amorphous and crystalline mineral fractions. *Science*, 153(3743), 1523–1525. <https://doi.org/10.1126/science.153.3743.1523>
- Trueman C.N. (2013) Chemical taphonomy of biomineralized tissues. *Palaeontology*, 56(3), 475–486. <https://doi.org/10.1111/pala.12041>
- Trueman C.N., Privat K., Field J. (2008) Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 266(3), 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2008.03.038>
- Xiao H., Cai G., Liu M. (2007) Hydroxyl radical induced structural changes of collagen. *Journal of Spectroscopy*, 21(2), 91–103. <https://doi.org/10.1155/2007/496174>

## REFERENCES

Bartsiokas A., Middleton A.P. (1992) Characterization and dating of recent and fossil bone by X-ray diffraction. *Journal of Archaeological Science*, 19(1), 63–72. [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(92\)90007-P](https://doi.org/10.1016/0305-4403(92)90007-P)

Bibko A.A., Lychagin D.V., Bukharova O.V., Kostorub E.A., Khrushcheva M.O. (2024) Nanocomposition of hydroxylapatite from cortical bone tissue. *Mineralogiya (Mineralogy)*, 10(3), 20–31. <https://doi.org/10.35597/2313-545X-2024-10-3-2> (In Russian)

Bigi A., Cojazzi G., Roveri N., Koch M.H.J. (1987) Differential scanning calorimetry and X-ray diffraction study of tendon collagen thermal denaturation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 9(6), 363–367. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(87\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0141-8130(87)90010-9)

Bozec L., Odlyha M. (2011) Thermal denaturation studies of collagen by microthermal analysis and atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, 101(1), 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.04.033>

Cho G., Wu Y., Ackerman J.L. (2003) Detection of hydroxyl ions in bone mineral by solid-state NMR spectroscopy. *Science*, 300(5622), 1123–1127. <https://doi.org/10.1126/science.1078470>

Collins M.J., Nielsen-Marsh C.M., Hiller J., Smith C.I., Roberts J.P., Prigodich R.V., Wess T.J., Csapò J., Millard A.R., Turner-Walker G. (2002) The survival of organic matter in bone: a review. *Archaeometry*, 44(3), 383–394. <https://doi.org/10.1111/1475-4754.t01-1-00071>

Dal Sasso G., Asscher Y., Angelini I., Nodari L., Artioli G. (2018) A universal curve of apatite crystallinity for the assessment of bone integrity and preservation. *Scientific Reports*, 8(1), 12025. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30642-z>

Dickens F. (1941) The citric acid content of animal tissues, with reference to its occurrence in bone and tumour. *Biochemical Journal*, 35(8–9), 1011. <https://doi.org/10.1042/bj0351011>

Duer M.J. (2015) The contribution of solid-state NMR spectroscopy to understanding biomineralization: atomic and molecular structure of bone. *Journal of Magnetic Resonance*, 253, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2014.12.011>

Gibson I.R., Rehman I., Best S.M., Bonfield W. (2000) Characterization of the transformation from calcium-deficient apatite to  $\beta$ -tricalcium phosphate. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11(9), 533–539. <https://doi.org/10.1023/A:1008961816208>

- Hazrah K.S., Antao S.M. (2022) Apatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})_2$ : structural variations, natural solid solutions, intergrowths, and zoning. *Minerals*, 12(5), 527. <https://doi.org/10.3390/min12050527>
- Hodge A. (1963) Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecule. *Aspects of Protein Structure*, 289–300.
- Hodge A.J. (1989) Molecular Models Illustrating the Possible Distributions of "Holes" in Simple Systematically Staggered Arrays of Type I Collagen Molecules in Native-Type Fibrils. *Connective Tissue Research*, 21, 137–147. <https://doi.org/10.3109/03008208909050004>
- Hu Y.-Y., Rawal A., Schmidt-Rohr K. (2010) Strongly bound citrate stabilizes the apatite nanocrystals in bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(52), 22425–22429. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009219107>
- Ikoma T., Yamazaki A., Nakamura S., Akao M. (1998) Phase transition of monoclinic hydroxyapatite. *Netsu Sokutei*, 25(5), 141–149. <https://doi.org/10.1131/jstc1974.25.141>
- Kalsbeek N., Richter J. (2006) Preservation of burned bones: an investigation of the effects of temperature and pH on hardness. *Studies in Conservation*, 51(2), 123–138. <https://doi.org/10.1179/sic.2006.51.2.123>
- Keenan S.W., Engel A.S. (2017) Early diagenesis and recrystallization of bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 196, 209–223. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2016.09.033>
- Kis V.K., Schwarcz H.P., Nassif N., Szekanecz Z. (2025) Bone mineral platelets are mesocrystals formed by monoclinic nanocrystals. *Communications Materials*, 6(1), 192. <https://doi.org/10.1038/s43246-025-00890-4>
- Kohn M.J. (2008) Models of diffusion-limited uptake of trace elements in fossils and rates of fossilization. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(15), 3758–3770. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.05.045>
- Kristoffersen K.A., Måge I., Wubshet S.G., Böcker U., Dankel K.R., Lisleid A., Rønningen M.A., Afseth N.K. (2023) FTIR-based prediction of collagen content in hydrolyzed protein samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 301, 122919. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122919>
- Lebon M., Reiche I., Bahain J.-J., Chadeaux C., Moigne A.-M., Fröhlich F., Sémah F., Schwarcz H.P., Falguères C. (2010) New parameters for the characterization of diagenetic alterations and heat-induced changes of fossil bone mineral using Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Archaeological Science*, 37(9), 2265–2276. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.03.024>
- LeGeros R.Z., LeGeros J.P. (1993) Dense Hydroxyapatite. *An Introduction to Bioceramics*, 139–180. [https://doi.org/10.1142/9789814317351\\_0009](https://doi.org/10.1142/9789814317351_0009)
- Legros R., Balmain N., Bonel G. (1987) Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. *Calcified Tissue International*, 41(3), 137–144. <https://doi.org/10.1007/BF02563793>
- Liu W.G., De Yao K. (2001) What causes the unfrozen water in polymers: hydrogen bonds between water and polymer chains? *Polymer*, 42(8), 3943–3947. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00726-6](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00726-6)
- Luescher M., Rüegg M., Schindler Pjbor. (1974) Effect of hydration upon the thermal stability of tropocollagen and its dependence on the presence of neutral salts. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 13(12), 2489–2503. <https://doi.org/10.1002/bip.1974.360131208>
- Madupalli H., Pavan B., Tecklenburg M.M.J. (2017) Carbonate substitution in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite. *Journal of Solid State Chemistry*, 255, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2017.07.025>
- Mansour S.A.A. (1994) Thermal decomposition of calcium citrate tetrahydrate. *Thermochimica acta*, 233(2), 243–256. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(94\)85118-2](https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)85118-2)
- Nielsen-Marsh C.M., Hedges R.E.M. (2000) Patterns of Diagenesis in Bone I: The Effects of Site Environments. *Journal of Archaeological Science*, 27(12), 1139–1150. <https://doi.org/10.1006/jasc.1999.0537>
- Pang S., Schwarcz H.P., Jasiuk I. (2021) Interfacial bonding between mineral platelets in bone and its effect on mechanical properties of bone. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 113, 104132. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.104132>
- Pasero M., Kampf A.R., Ferraris C., Pekov I.V., Rakovan J., White T.J. (2010) Nomenclature of the apatite supergroup minerals. *European Journal of Mineralogy*, 22(2), 163–179. <https://doi.org/10.1127/0935-1221/2010/0022-2022>
- Pasteris J.D., Wopenka B., Freeman J.J., Rogers K., Valsami-Jones E., Van der Houwen J.A.M., Silva M.J. (2004) Lack of OH in nanocrystalline apatite as a function of degree of atomic order: implications for bone and biomaterials. *Biomaterials*, 25(2), 229–238. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00487-3](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00487-3)
- Posner A.S. (1969) Crystal chemistry of bone mineral. *Physiological Reviews*, 49(4), 760–792. <https://doi.org/10.1152/physrev.1969.49.4.760>
- Posner A.S., Blumenthal N.C., Betts F. (1984) Chemistry and Structure of Precipitated Hydroxyapatites. In: *Phosphate Minerals*. Berlin., Springer, 330–350. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-61736-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-61736-2_11)
- Pucéat E., Reynard B., Lécuyer C. (2004) Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites? *Chemical Geology*, 205(1–2), 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2003.12.014>
- Punthipayanon S., Chanwetprasat P., Seesanong S., Boonchom B., Rungrojchaipon P., Laohavisuti N., Boonmee W. (2025) Influence of Organic Solvent on the Physicochemical Characteristics of Calcium Citrate Prepared from Mussel Shell Waste. *Processes*, 13(6), 1866. <https://doi.org/10.3390/pr13061866>

- Raspanti M., Guizzardi S., De Pasquale V., Martini D., Ruggeri A. (1994) Ultrastructure of heat-deproteinated compact bone. *Biomaterials*, 15(6), 433–437. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(94\)90222-4](https://doi.org/10.1016/0142-9612(94)90222-4)
- Renugopalakrishnan V., Chandrakasan G., Moore S., Hutson T.B., Berney C. V., Bhatnagar R.S. (1989) Bound water in collagen: evidence from Fourier transform infrared and Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopic study. *Macromolecules*, 22(10), 4121–4124. <https://doi.org/10.1021/ma00200a054>
- Rey C., Renugopalakrishnan V., Collins B., Glimcher M.J. (1991) Fourier transform infrared spectroscopic study of the carbonate ions in bone mineral during aging. *Calcified Tissue International*, 49, 251–258. <https://doi.org/10.1007/BF02556214>
- Ryanskaya A.D.; Kiseleva D.V.; Pankrushina E.A.; Kosintsev P.A.; Bachura O.P.; Gusev A.V. (2020) Structural Features of Biogenic Apatite from Subfossil Skeletal Remains (Skulls and Antlers) of Reindeer from the Arctic Zone of Western Siberia. Trudy Fersmanovskoy nauchnoy sessii GI KNTS RAN (*Proceedings of the Fersman scientific session of the Geological Institute of the Kola Science Center of the Russian Academy of Sciences*), Apatity, GI KNTS RAN, 477–481. <https://doi.org/10.31241/FNS.2020.17.091> (In Russian)
- Schwarcz H.P., Jasiuk I. (2025) The function of citrate in bone: platelet adhesion and mineral nucleation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 107077. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2025.107077>
- Schwarcz H.P., McNally E.A., Botton G.A. (2014) Dark-field transmission electron microscopy of cortical bone reveals details of extrafibrillar crystals. *Journal of Structural Biology*, 188(3), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2014.10.005>
- Schwarcz H.P., Nassif N., Kis V.K. (2024) Curved mineral platelets in bone. *Acta Biomaterialia*, 183, 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.05.047>
- Shah F.A. (2025) Revisiting the physical and chemical nature of the mineral component of bone. *Acta Biomaterialia*, 196, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2025.01.055>
- Shendrik R.Y., Plechov P.Y., Smirnov S.Z. (2024) ArDI—The system of mineral vibrational spectroscopy data processing and analysis. *New Data Miner*, 58, 2–35. <https://doi.org/10.25993/FM.2024.58.2024.008>
- Slepko A., Demkov A.A. (2015) Hydroxyapatite: Vibrational spectra and monoclinic to hexagonal phase transition. *Journal of Applied Physics*, 117(7). <https://doi.org/10.1063/1.4908001>
- Smirnov S., Shendrik R., Myasnikova A., Plechov P. (2026) ArDI: Machine–Learning–Driven Raman Phase Analysis for Decoding Complex Mineral Assemblages in Fluid Inclusions. *Journal of Raman Spectroscopy*, 57(2), 305–320. <https://doi.org/10.1002/jrs.70047>
- Szekanecz Z., Besnyi A., Kónya P., Fűri J., Király E., Bertalan É., Falus G., Udvardi B., Kovács-Kis V., Andrásy L., Maros G., Fancsik T., Pethő Z., Gomez I., Horváth Á., Gulyás K., Juhász B., Hodosi K., Sándor Z., Bhattoa H.P., Kovács I.J. (2024) Bones or Stones: How Can We Apply Geophysical Techniques in Bone Research? *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19). <https://doi.org/10.3390/ijms251910733>
- Termine J.D., Posner A.S. (1966) Infrared Analysis of Rat Bone: Age Dependency of Amorphous and Crystalline Mineral Fractions. *Science*, 153(3743), 1523–1525. <https://doi.org/10.1126/science.153.3743.1523>
- Trueman C.N. (2013) Chemical taphonomy of biomineralized tissues. *Palaeontology*, 56(3), 475–486. <https://doi.org/10.1111/pala.12041>
- Trueman C.N., Privat K., Field J. (2008) Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 266(3), 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2008.03.038>
- Xiao H., Cai G., Liu M. (2007) Hydroxyl radical induced structural changes of collagen. *Journal of Spectroscopy*, 21(2), 91–103. <https://doi.org/10.1155/2007/496174>

## Информация об авторах

Бибко Артем Андреевич – младший научный сотрудник, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия; [bibko.geology@gmail.com](mailto:bibko.geology@gmail.com).

Шендрик Роман Юрьевич – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, г. Иркутск, Россия; [r.shendrik@gmail.com](mailto:r.shendrik@gmail.com)

Бухарова Оксана Владимировна – кандидат геолого-минералогических наук, доцент, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия; [bukharovagetina@gmail.com](mailto:bukharovagetina@gmail.com)

Антонов Максим Сергеевич – студент, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия; [a5maksim.a@gmail.com](mailto:a5maksim.a@gmail.com)

Хрущева Мария Олеговна – кандидат геолого-минералогических наук, научный сотрудник, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия; [mashsa2904@mail.ru](mailto:mashsa2904@mail.ru)

Лычагин Дмитрий Васильевич – доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой, Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия; [dvl-tomsk@mail.ru](mailto:dvl-tomsk@mail.ru)

### **Information about the authors**

Artem A. Bibko – Junior Researcher, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia; bibko.geology@gmail.com

Roman Yu. Shendrik – Cand. Sci. (Phys.-Math.), Senior Researcher, Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia; r.shendrik@gmail.com

Oksana V. Bukharova – Cand. Sci. (Geol.-Mineral.), Assistant Professor, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia; bukharovagetina@gmail.com

Maksim S. Antonov – Student, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia; a5maksim.a@gmail.com

Maria O. Khrushcheva – Cand. Sci. (Geol.-Mineral.), Researcher, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia; mashsa2904@mail.ru

Dmitry V. Lychagin – Doct. Sci. (Phys.-Math.), Head of the Department, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia; dvl-tomsk@mail.ru