

БИОМЕХАНИКА И БИОИНЖЕНЕРИЯ/BIOMECHANICS AND BIOENGINEERING

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37>

СИНТЕЗ СФЕРИЧЕСКОГО ВАТЕРИТА ПРИ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ В ПРИСУТСТВИИ АЛЬБУМИНА

Научная статья

Степанова А.А.^{1,*}, Панова Т.В.²

² ORCID : 0009-0004-4725-1146;

^{1, 2} Омский государственный университет имени Ф.М. Достоевского, Омск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (7stepanovaaa[at]mail.ru)

Аннотация

Проведена кристаллизация карбоната кальция из водных растворов солей CaCl_2 и Na_2CO_3 с добавкой бычьего сывороточного альбумина различной концентрации. Методами рентгенофазового анализа, оптической и электронной микроскопии установлено, что морфология, размеры и количество кристаллизующихся частиц зависят от концентрации альбумина и условий кристаллизации. Показано, что при варьировании концентрации альбумина от 4,25 г/л до 5,5 г/л основной кристаллизующейся фазой является ватерит. При добавлении альбумина в концентрации 4,25 г/л средний размер частиц ватерита составил $\sim 1\text{--}3$ мкм. Обнаружено, что для получения сферического ватерита микронных размеров необходимо выдерживать время смешивания маточного раствора перед добавлением примеси альбумина. Подобрано оптимальное время смешивания растворов солей с альбумином для получения пористого сферического ватерита.

Ключевые слова: синтез карбоната кальция, частицы ватерита, бычий сывороточный альбумин, рентгенофазовый анализ.

SYNTHESIS OF SPHERICAL VATERITE DURING THE CRYSTALLISATION OF CALCIUM CARBONATE IN THE PRESENCE OF ALBUMEN

Research article

Stepanova A.A.^{1,*}, Panova T.V.²

² ORCID : 0009-0004-4725-1146;

^{1, 2} Dostoevsky Omsk State University, Omsk, Russian Federation

* Corresponding author (7stepanovaaa[at]mail.ru)

Abstract

Calcium carbonate crystallisation was carried out from aqueous solutions of CaCl_2 and Na_2CO_3 salts with the addition of bovine serum albumen at various concentrations. X-ray phase analysis, optical and electron microscopy showed that the morphology, size and number of crystallising particles depend on the albumen concentration and crystallisation conditions. It was shown that when the albumen concentration varies from 4.25 g/l to 5.5 g/l, the main crystallising phase is vaterite. When albumen is added at a concentration of 4.25 g/l, the average size of the vaterite particles was $\sim 1\text{--}3$ μm . It was found that to obtain spherical micron-sized vaterite, it is necessary to maintain the mixing time of the stock solution before adding the albumen mixture. The optimal mixing time of salt solutions with albumen was selected to obtain porous spherical vaterite.

Keywords: calcium carbonate synthesis, vaterite particles, bovine serum albumen, X-ray phase analysis.

Введение

Актуальность и постановка задачи

В современном мире карбонат кальция находит применение в различных отраслях, но наибольший интерес представляет использование его в медицине [1], [2], [3]. В частности, в регенеративной и тканевой медицине в качестве костного цемента и замещающего композитного материала зубных имплантатов и протезов [2], [3], [4]. Карбонат кальция (CaCO_3) существует в трех полиморфных модификациях: кальцит (кубические кристаллы с ромбодиэдральной кристаллической решеткой), ватерит (сферические кристаллы с гексагональной решеткой), арагонит (игольчатые кристаллы с орторомбической кристаллической решеткой). Также могут встречаться слоистые [5], [6], шестиугольные [6], розеткообразные [7], [8], линзообразные [7], [9] кристаллы, в том числе и их комбинации [10]. Следует отметить, что одна из модификаций карбоната кальция — ватерит — может использоваться в качестве контейнеров для биологически активных молекул благодаря пористости, большой удельной поверхности, низкой токсичности и высокой растворимости. Это позволит переносить различные лекарственные препараты с возможностью контролируемого высвобождения [2].

Стабильное получение сферических частиц карбоната кальция микронного и субмикронного размера достаточно затруднительно, поскольку результат синтеза зависит от ряда параметров. Таких как концентрация солей, концентрация примесей, соотношение растворов, время синтеза и т. д. В литературе описаны различные методики синтеза, в результате которых наблюдается формирование сферического ватерита определенного размера и формы. На сегодняшний день, возможно получать частицы ватерита в пределах от 430 нм [11] до 5 мкм [12]. При варьировании соотношения солей в результате синтеза карбоната кальция могут кристаллизоваться частицы овальной и звездчатой формы соответствующих размеров [13]. Несмотря на большое количество различных методик синтеза, кристаллизация исключительно сферического ватерита определенного размера является большой проблемой. В представленных в

литературе экспериментах наряду с ватеритом обнаружаются и другие модификации карбоната кальция (кальцит и арагонит) в разном соотношении. При этом содержание фазы ватерита и размеры частиц варьируются даже при идентичных условиях кристаллизации. Поэтому подбор концентраций и условий кристаллизации с различными добавками для получения преимущественно сферического ватерита является актуальной задачей.

В настоящее время получение CaCO_3 осуществляется двумя основными химическими методами: твердофазным и методом химического осаждения [14]. Применение твердофазного синтеза крайне ограничено, поскольку, формируются полидисперсные (отличающиеся по размеру) кристаллы неправильной формы. Метод химического осаждения имеет различные модификации для получения карбоната кальция из реакционного раствора, содержащего ионы кальция (Ca^{2+}) и карбонат ионы (CO_3^{2-}), которые, в свою очередь, позволяют регулировать физико-химические характеристики синтеза, что приводит к варьированию размера и качества получаемых частиц.

Целью настоящей работы являлось отработка условий получения сферических частиц карбоната кальция (ватерита) в присутствии бычьего сывороточного альбумина методом химического осаждения.

Выбор в качестве добавки альбумина обусловлен тем, что белки, содержащие большое количество функциональных групп, оказывают влияние на процесс биоминерализации, поскольку на стадии зародышеобразования CaCO_3 является чувствительным к присутствию органических добавок. Молекулы бычьего сывороточного альбумина (БСА) оказывают влияние на кристаллизацию карбоната кальция, поскольку в третичной структуре белка положительно и отрицательно заряженные функциональные группы расположены близко друг к другу. Исходя из этого, они могут связывать ионы из маточного раствора, образуя области, пересыщенные Ca^{2+} и CO_3^{2-} . Так как ватерит является метастабильной модификацией карбоната кальция, то центрами кристаллизации будут являться молекулы белка [17], [18]. Область вокруг молекул БСА будет более пересыщена относительно всего объема раствора, что связано с образованием комплексов между карбонат-ионами и молекулами белка.

Методика эксперимента

Частицы карбоната кальция были получены согласно химической реакции $\text{CaCl}_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3 = \text{CaCO}_3 + 2\text{NaCl}$. Водный раствор бычьего сывороточного альбумина в концентрациях 3,5-5,5 г/л добавляли в полученный раствор солей CaCl_2 и Na_2CO_3 , которые предварительно были смешаны магнитной мешалкой в течение 2 мин. Отбор проб проводился через каждые 10 минут. После подбора концентрации при которой наблюдалась преимущественная кристаллизация ватерита, отбор проб при этой концентрации (4,25 г/л) проводился через 30 с, 1 мин, 10 мин и 30 мин после добавления раствора БСА. Морфологию и размеры полученных порошков исследовали с помощью растровой электронной (JSM-6610LV) и оптической микроскопии (Neophot-2). Фазовый анализ проводили по дифрактограммам, снятым на рентгеновском дифрактометре «ДРОН-3М» с использованием излучения $\text{CuK}\alpha$.

Результаты и их обсуждение

Для получения преимущественно частиц сферического ватерита была проведена серия синтезов при варьировании концентрации альбумина и времени смешивания растворов. Исследования показали, что при наименьшей в данном эксперименте концентрации альбумина 3,5 г/л наблюдалось формирование частиц кальцита со средним размером $\sim 1,6$ мкм. Присутствие данной фазы карбоната кальция подтверждается данными оптической и электронной микроскопии, а также рентгенофазового анализа. Обнаружены частицы характерной для кальцита таблетчатой формы (рис. 1А). При этом увеличение времени кристаллизации приводит к образованию конгломератов из частиц кальцита.

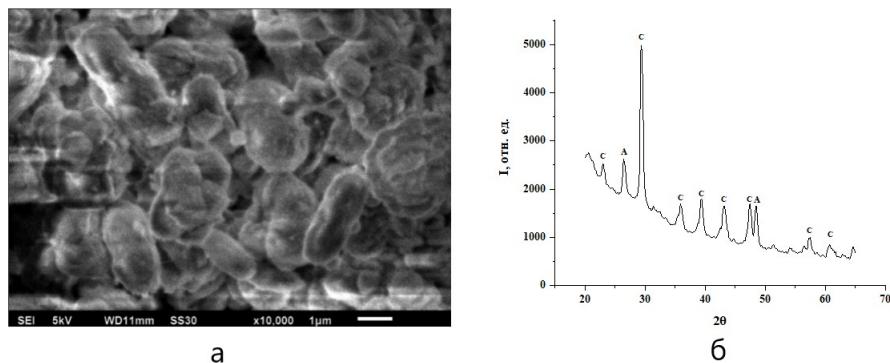


Рисунок 1 - Кристаллы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 3,5 г/л:

а – морфология частиц кальцита; б – дифрактограмма порошка карбоната кальция

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.1>

На дифрактограмме присутствуют рефлексы фазы кальцита и арагонита, при этом преобладающей фазой при данной концентрации бычьего сывороточного альбумина является кальцит (рис. 1Б).

Повышение концентрации бычьего сывороточного альбумина до 4,25 г/л привело к формированию частиц преимущественно шарообразной формы — ватерита. Помимо ватерита, обнаруживаются частицы кубической формы — кальцит (рис. 2).

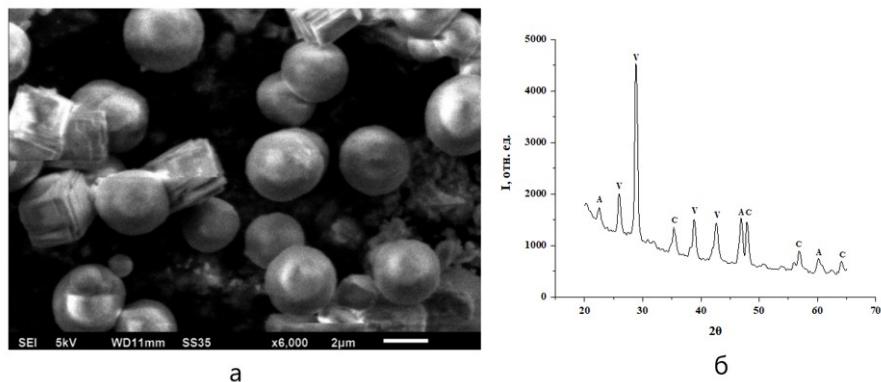


Рисунок 2 - Кристаллы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 4,25 г/л:
а – морфология частиц сферического ватерита и кубического кальцита; б – соответствующая для этой концентрации дифрактограмма порошка карбоната кальция

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.2>

Размеры синтезированных частиц сферического ватерита составили ~1-3 мкм.

Данные рентгенофазового анализа показали присутствие фаз ватерита, кальцита и арагонита. Интенсивность фазы кальцита уменьшилась практически в 3 раза по сравнению с предыдущими результатами (рис. 2Б). Также прослеживается уменьшение интенсивности фазы арагонита.

При увеличении концентрации бычьего сывороточного альбумина до 4,5 г/л наблюдался рост размеров сферических частиц ватерита, которые изменялись в пределах от 5,5 мкм до 55,1 мкм. На фоне небольшого количества мелких частиц овальной, продолговатой и квадратной форм обнаруживались отдельные крупные кристаллы ватерита (рис. 3).

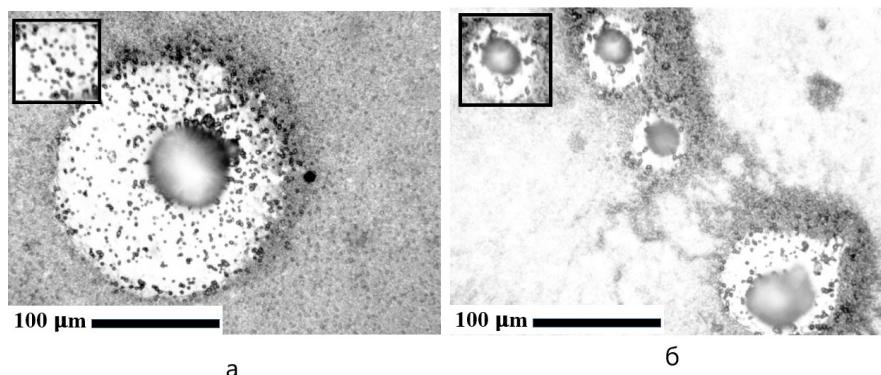


Рисунок 3 - Кристаллы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 4,5 г/л
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.3>

В результате кристаллизации карбоната кальция в наибольших концентрациях БСА в данном эксперименте (5 г/л и 5,5 г/л) сформировались крупные (~55 мкм) разрозненные частицы ватерита, количество которых резко уменьшилось.

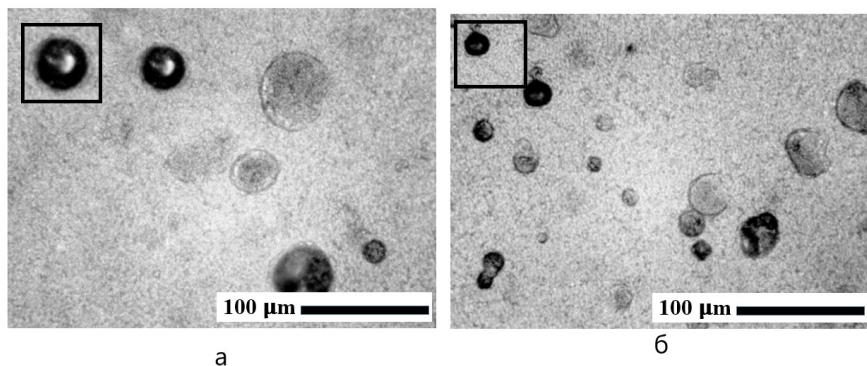


Рисунок 4 - Кристаллы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 5 (а) и 5,5 г/л (б)
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.4>

В результате проведенных экспериментов было установлено, что кристаллизация сферического ватерита микронного размера ($\sim 1\text{--}3$ мкм) наблюдалась при концентрации альбумина 4,25 г/л.

С целью отработки методики синтеза сферического ватерита микронного размера проведены эксперименты по его получению при подобранной концентрации альбумина 4,25 г/л при варьировании времени смешивания маточного раствора и раствора альбумина. Исследование пробы, в которой альбумин был добавлен в маточный раствор сразу после смешивания растворов солей показало, что синтезируется порошок со сросшимися частицами карбоната кальция (рис. 5).

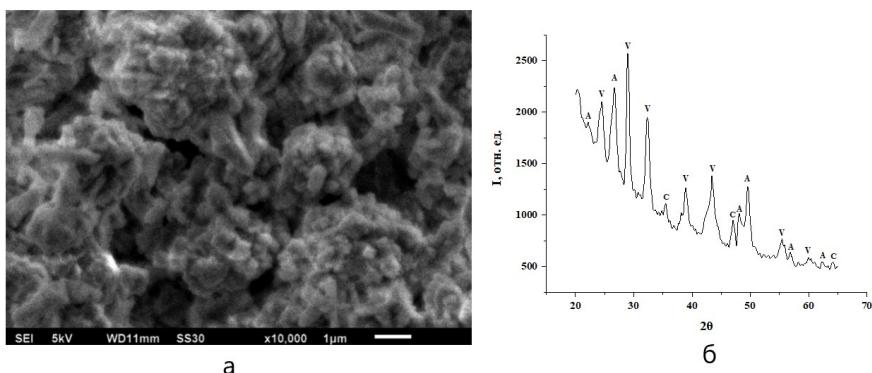


Рисунок 5 - Частицы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 4,25 г/л без выдерживания времени смешивания растворов:

а – морфология частиц; б – соответствующая дифрактограмма порошка карбоната кальция
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.5>

По данным РФА полученная смесь состоит из фаз ватерита, арагонита и кальцита (рис. 5). Интенсивность фазы ватерита уменьшилась практически в 2 раза по сравнению с синтезом при такой же концентрации альбумина, описанным выше. Интенсивность фазы арагонита увеличилась. При этом содержание фазы кальцита уменьшилось. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости выдерживания определенного времени для перемешивания растворов солей перед добавлением альбумина.

Опытным путем подобрано время смешивания растворов солей. По данным оптической микроскопии обнаружено, что при смешивании маточного раствора в течение 10 с кристаллизуются сферические кристаллы со средним размером ~ 19 мкм. Увеличение времени смешивания растворов CaCl_2 и Na_2CO_3 до 20 с привело к уменьшению размеров частиц ватерита в 6 раз (~ 3 мкм). Далее при 30 с перемешивания сформировались кристаллы ~ 7 мкм.

Затем было проведено 4 синтеза по той же методике, однако водный раствор БСА в концентрации 4,25 г/л добавлялся после 20 с смешивания растворов солей. Пробы отбирались через 30 с, 1 мин, 10 мин, 30 минут после добавления в маточный раствор водного раствора бычьего сывороточного альбумина. Смешивание в течение 30 с привело к образованию сферических частиц ватерита с размерами $\sim 1,5\text{--}2$ мкм (рис. 6). При этом помимо сферических частиц ватерита наблюдались также частицы кубической формы. Следует отметить увеличение пористости полученных сферических кристаллов.

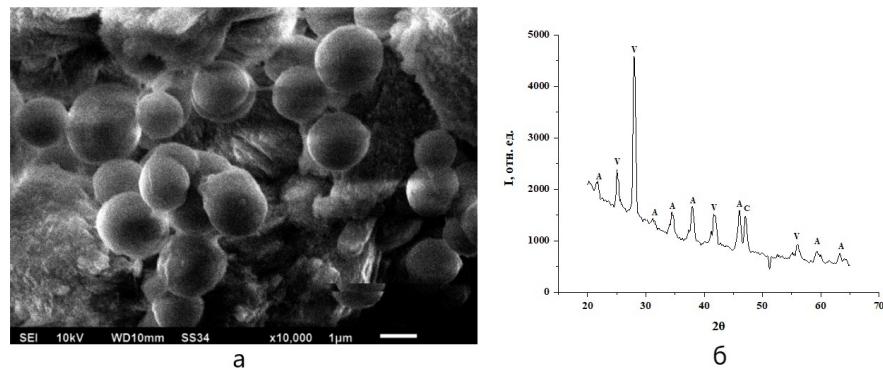


Рисунок 6 - Частицы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 4,25 г/л при смещивании растворов в течение 30 с:

а – морфология частиц сферического ватерита; б – соответствующая дифрактограмма порошка карбоната кальция при этих условиях кристаллизации

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.6>

Анализ рентгеновского спектра данного образца показал присутствие всех трех фаз, что подтверждает данные электронной микроскопии. При этом, по данным РФА наибольшей интенсивностью обладает фаза ватерита, что свидетельствует о ее большем процентном содержании.

Кристаллизация в течение 1 и 10 мин привела к формированию частиц пористого сферического ватерита с небольшим содержанием кальцита и арагонита. Размеры частиц ватерита ~1,5 мкм и ~1-1,5 мкм, соответственно (рис. 7).

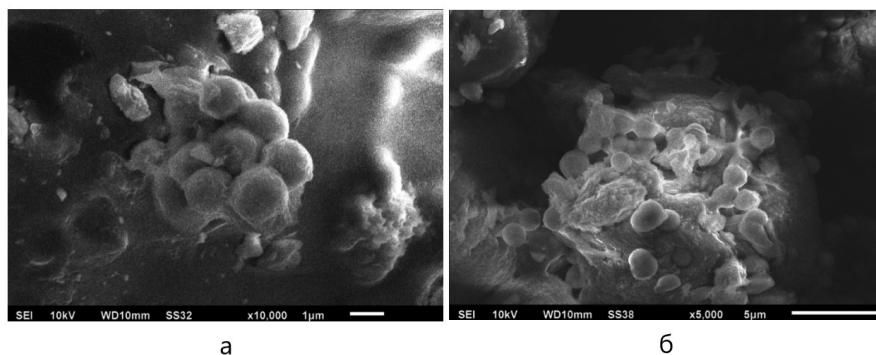


Рисунок 7 - Частицы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 4,25 г/л при смещивании растворов в течение 1 мин (а) и 10 мин (б)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.7>

Анализ дифрактограмм показал, что при смещивании раствора солей и БСА в течение 1 мин наблюдается уменьшение содержания фаз ватерита и кальцита и небольшой рост интенсивности фазы арагонита по сравнению с дифрактограммой образца с 30с временем смещивания растворов (рис. 8А).

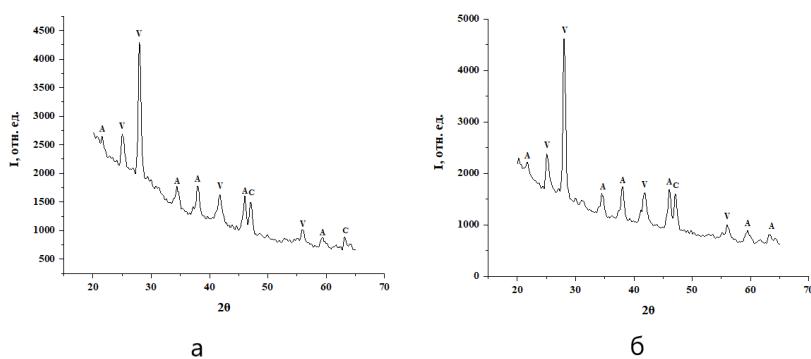


Рисунок 8 - Дифрактограммы карбоната кальция, синтезированного при 4,25 г/л альбумина:

а – при смещивании в течение 1 мин; б – при смещивании в течение 10 мин

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.8>

Исходя из данных РФА, при смещивании растворов течение 10 минут наблюдается небольшое увеличение интенсивности фаз ватерита и кальцита и уменьшение интенсивности фазы арагонита (рис. 8Б). Для двух образцов, при смещивании в течение 1 мин и 10 мин, преобладающей фазой карбоната кальция является ватерит. Прослеживается только незначительное изменение интенсивности фазы арагонита. Из анализа морфологии частиц ватерита и их количества установлено, что оптимальным временем смещивания растворов является 1 минута. При этом режиме кристаллизации образуются отдельные сферические пористые частицы ватерита, количество которых превышает аналогичные при других режимах синтеза.

В результате кристаллизации в течение 30 минут наблюдаются частицы карбоната кальция – кубический кальцит, сферический ватерит со средним размером ~1,5–2 мкм (рис. 9А). При этом обнаружен рост интенсивности фазы арагонита в ~1,3 раза по сравнению с интенсивностью дифракционных рефлексов порошка, полученного через 30 сек после смещивания альбумина с раствором солей (рис. 9 Б).

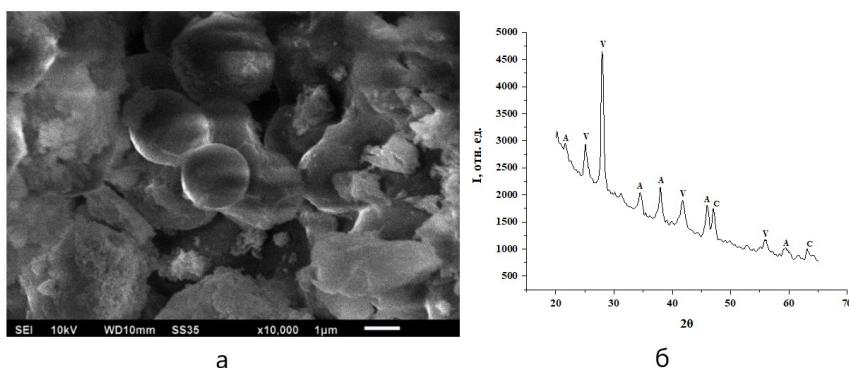


Рисунок 9 - Частицы карбоната кальция, полученные при концентрации альбумина 4,25 г/л при смещивании растворов в течение 30 мин:

а – морфология частиц; б – соответствующая этим условиям кристаллизации дифрактограмма порошка карбоната кальция

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.160s.37.9>

Анализ дифрактограммы показал, что, как и во всех предыдущих четырех синтезах, преобладает фаза ватерита. Тем не менее прослеживается рост содержания фаз кальцита и арагонита при возрастании времени кристаллизации.

Заключение

Синтез карбоната кальция в присутствии бычьего сывороточного альбумина приводит к формированию фаз сферического ватерита, кубического кальцита и арагонита. Наблюдается зависимость концентрации и размеров частиц сферического ватерита от концентрации альбумина и времени его смещивания с раствором солей. При концентрации альбумина 4,25 г/л обнаружена преобладающая кристаллизация гладкого сферического ватерита с размерами ~123 мкм. Синтез с большей концентрацией приводит к росту размеров ватерита до 55 мкм. Увеличение времени смещивания альбумина с раствором солей при найденной фиксированной концентрации 4,25 г/л позволило получить пористые сферические частицы ватерита с размерами 1–1,5 мкм. Установлено, что 1 минута смещивания растворов является оптимальным временем для кристаллизации пористого сферического ватерита, который будет использован для капсулирования биологически-активных веществ. Одновременная кристаллизация с ватеритом кальцита и арагонита говорит о недостаточной эффективности молекул белка на процесс кристаллизации ватерита.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Ma M. Biomimetic Synthesis of Biomimetic and Nanomaterials. / M. Ma, R.-C. Su. // Advances in Biomimetics; — Vienna: InTech, 2011. — P. 13–50.
2. Nakamura J. Tracking the formation of vaterite particles containing aminopropyl-functionalized silsesquioxane and their structure for bone regenerative medicine. / J. Nakamura, G. Poologasundarampillai, J.R. Jonesb et al. // Journal of Materials Chemistry B. — 2013. — 35. — P. 4446–4454.
3. Ohgushi H. Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. / H. Ohgushi, M. Okumura, T. Yoshikawa // Journal of Biomedical Materials Research. — 1992. — 7. — P. 885–895.
4. Pat. 200501061101 USA, IPC C01F 5/24. Stabilized vaterite / Liu Sung-Tsuen; the applicant and the patentee Sung-Tsuen Liu. — № 10717; appl. 2025-10-09; publ. 2005-05-19, — 10 p.
5. Gehrke N. Superstructures of Calcium Carbonate Crystals by Oriented Attachment. / N. Gehrke, H. Cölfen, N. Pinna // Crystal Growth & Design. — 2005. — 4. — P. 1317–1319.
6. Fricke M. Vaterite Polymorph Switching Controlled by Surface Charge Density of an Amphiphilic Dendron-calixarene. / M. Fricke, D. Volkmer, C.E. Krill // Crystal Growth & Design. — 2006. — 5. — P. 1120–1123.
7. Qi L. Biomimetic morphogenesis of calcium carbonate in mixed solutions for surfactants and double-hydrophilic block copolymers. / L. Qi, J. Li, J. Ma // Advanced Materials. — 2002. — 4. — P. 300–303.
8. Tai C.Y. Polymorphism of CaCO_3 , precipitated in a constant-composition environment. / C.Y. Tai, F.-B. Chen // AICHE Journal. — 1998. — 8. — P. 1790–1798.
9. Parakhonskiy B.V. Sub-micrometer vaterite containers: synthesis, substance loading, and release. / B.V. Parakhonskiy, A. Haase, R. Antolini // Angewandte Chemie International Edition. — 2012. — 51. — P. 1195–1197.
10. Volodkin D.V. Matrix Polyelectrolyte Microcapsules: New System for Macromolecule Encapsulation. / D.V. Volodkin, A.I. Petrov, M. Prevot et al. // Langmuir. — 2004. — 20. — P. 3398–3406.
11. Yashchenok M. Polyelectrolyte multilayer microcapsules template on spherical, elliptical and square calcium carbonate particles. / M. Yashchenok, B. Parakhonskiy, S. Donatan // Journal of Materials Chemistry. — 2013. — 1. — P. 1223–1228.
12. Матвалли Х. А. Физико-химические закономерности синтеза субмикронных частиц ватерита и их применение в композитах : диссертация кандидата химических наук : 02.00.00 / Матвалли Халид Али Абдулла. — Саратов, 2015. — 129 с.
13. Feng J. Biomimetic synthesis of hollow calcium carbonate with the existence of the agar matrix and bovine serum albumin. / J. Feng, G. Wu, C. Qing // Materials Science and Engineering. — 2016. — 58. — P. 409–411.
14. Yang L. Cooperativity between Bovine Serum Albumin (BSA) and Crystal Line of Calcium Carbonate in Distilled Water. / L. Yang, X.-M. Ma, X.-Y. Zhang // Journal of the Chinese Chemical Society. — 2002. — 1. — P. 45–50.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Ma M. Biomimetic Synthesis of Biomimetic and Nanomaterials. / M. Ma, R.-C. Su. // Advances in Biomimetics; — Vienna: InTech, 2011. — P. 13–50.
2. Nakamura J. Tracking the formation of vaterite particles containing aminopropyl-functionalized silsesquioxane and their structure for bone regenerative medicine. / J. Nakamura, G. Poologasundarampillai, J.R. Jonesb et al. // Journal of Materials Chemistry B. — 2013. — 35. — P. 4446–4454.
3. Ohgushi H. Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. / H. Ohgushi, M. Okumura, T. Yoshikawa // Journal of Biomedical Materials Research. — 1992. — 7. — P. 885–895.
4. Pat. 200501061101 USA, IPC C01F 5/24. Stabilized vaterite / Liu Sung-Tsuen; the applicant and the patentee Sung-Tsuen Liu. — № 10717; appl. 2025-10-09; publ. 2005-05-19, — 10 p.
5. Gehrke N. Superstructures of Calcium Carbonate Crystals by Oriented Attachment. / N. Gehrke, H. Cölfen, N. Pinna // Crystal Growth & Design. — 2005. — 4. — P. 1317–1319.
6. Fricke M. Vaterite Polymorph Switching Controlled by Surface Charge Density of an Amphiphilic Dendron-calixarene. / M. Fricke, D. Volkmer, C.E. Krill // Crystal Growth & Design. — 2006. — 5. — P. 1120–1123.
7. Qi L. Biomimetic morphogenesis of calcium carbonate in mixed solutions for surfactants and double-hydrophilic block copolymers. / L. Qi, J. Li, J. Ma // Advanced Materials. — 2002. — 4. — P. 300–303.
8. Tai C.Y. Polymorphism of CaCO_3 , precipitated in a constant-composition environment. / C.Y. Tai, F.-B. Chen // AICHE Journal. — 1998. — 8. — P. 1790–1798.
9. Parakhonskiy B.V. Sub-micrometer vaterite containers: synthesis, substance loading, and release. / B.V. Parakhonskiy, A. Haase, R. Antolini // Angewandte Chemie International Edition. — 2012. — 51. — P. 1195–1197.
10. Volodkin D.V. Matrix Polyelectrolyte Microcapsules: New System for Macromolecule Encapsulation. / D.V. Volodkin, A.I. Petrov, M. Prevot et al. // Langmuir. — 2004. — 20. — P. 3398–3406.

11. Yashchenok M. Polyelectrolyte multilayer microcapsules template on spherical, elliptical and square calcium carbonate particles. / M. Yashchenok, B. Parakhonskiy, S. Donatan // Journal of Materials Chemistry. — 2013. — 1. — P. 1223–1228.
12. Matvalli H. A. Fiziko-himicheskie zakonomernosti sinteza submikronnyh chastic vaterita i ih primenie v kompozitah [Physico-chemical patterns of synthesis of submicron waterite particles and their application in composites] : dissertaciya kandidata himicheskikh nauk : 02.00.00 / Matvalli Halid Ali Abdulla. — Saratov, 2015. — 129 s. [in Russian]
13. Feng J. Biomimetic synthesis of hollow calcium carbonate with the existence of the agar matrix and bovine serum albumin. / J. Feng, G. Wu, C. Qing // Materials Science and Engineering. — 2016. — 58. — P. 409–411.
14. Yang L. Cooperativity between Bovine Serum Albumin (BSA) and Crystal Line of Calcium Carbonate in Distilled Water. / L. Yang, X.-M. Ma, X.-Y. Zhang // Journal of the Chinese Chemical Society. — 2002. — 1. — P. 45–50.