

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ

Направление: 03.04.02 - Физика
Профиль: Медицинская физика

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(магистерская диссертация)

ИЗУЧЕНИЕ РАДИАЦИОННО-НАВЕДЕННЫХ ПАРАМАГНИТНЫХ
ЦЕНТРОВ В МОДИФИЦИРОВАННЫХ ИОНАМИ МЕТАЛЛОВ ТРИ-
КАЛЬЦИЙФОСФАТАХ МЕТОДОМ ЭПР

Работа завершена:

Студентка гр. 06-519

«10» 06 2017г.



И. А. Кияева

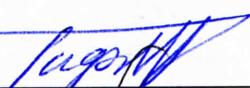
подпись

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

К.н., доцент

«19» 06 2017г.

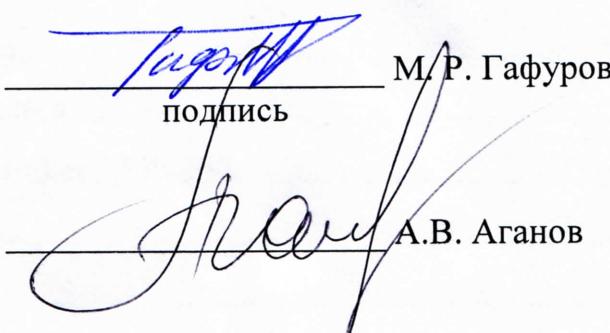


М. Р. Гафуров

подпись

Зав. кафедрой медицинской
физики, д.х.н., профессор

«19» 06 2017 г



А. В. Аганов

Казань 2017 г.

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	5
1.1 Основы ЭПР.....	5
1.1.1 Механический и магнитный моменты электрона.....	5
1.1.2 Эффект Зеемана.....	7
1.1.3 Основное уравнение резонанса	9
1.2 Остеотропные кальций-фосфатные биоматериалы.....	10
1.2.1 Применение, физико-механические и химические свойства	10
1.2.2 Состав, структура и субструктура	11
1.2.3 Ортофосфаты кальция	12
1.3 Гидроксиапатит – структура, виды и параметры радиационно-наведенных парамагнитных центров.....	14
1.4 Трикальцийфосфат, структура.....	18
1.5 Роль примесных ионов марганца (Mn^{2+}) в бифазной системе ГА-ТКФ.....	19
1.6 Рентгеновская дифрактометрия, примеры снимков	20
1.6.1 Теоретические основы метода (общепринятое обозначение - XRD)	20
1.6.2 Идентификация и количественное определение фаз (фазовый анализ)....	21
2 ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	24
2.1 Материалы и методы	24
2.1.1 Методы синтеза фосфатов кальция.....	24
2.1.2 Описание ЭПР-спектрометра Bruker ESP-300.....	26
2.2 Результаты и их обсуждение.....	28
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	39
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	40

ВВЕДЕНИЕ

Синтетические биоматериалы широко применяются в качестве имплантатов для восстановления поврежденных тканей человека. Их биосовместимость (как химическая, так и физическая ее составляющие) является основным объектом в настоящее время[1].

Биоматериалы, полученные на основе фосфатов кальция, являются одними из наиболее перспективных в создании имплантатов, предназначенных для замещения и восстановления костных тканей человека, а также зубной эмали. Для того чтобы создавать материалы улучшенные и биологически совместимые с тканями человека, необходимо применять правильные методики в изучении структуры ФК-материалов.

В настоящее время мощным универсальным неразрушающим методом анализа является спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). В отличие от многих других методов, магнитно-резонансные дают важную структурную и динамическую информацию о протекающих химических или физических процессах, не влияя на сами эти процессы. Поэтому они являются идеальными дополняющими методами для многих других аналитических методик в широком диапазоне исследовательских и прикладных задач.

Явление электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) – резонансного поглощения энергии электромагнитного поля сантиметрового или миллиметрового диапазонов длин волн (частоты примерно от 100 МГц до 1 ТГц) веществом, содержащим парамагнитные центры и находящимся во внешнем магнитном поле – было экспериментально обнаружено Е. К. Завойским в 1944 году. Метод нашел свое широкое применение в различных областях физики, химии, материаловедения, биологии и медицины, как для фундаментальных исследований, так и прикладных, в том числе и рутинных, задач[2].

Тема данной работы важна и актуальна, поскольку на сегодняшний день существует необходимость в создании улучшенных и биологически совместимых с тканями человека имплантатов. Основными компонентами, входящими в

состав имплантатов являются гидроксиапатит (ГА) и трикальцийфосфат (ТКФ). По сравнению с ГА, ТКФ изучен недостаточно.

Новизна нашей работы заключается в том, что изучались образцы трикальций фосфата с примесью ионов различных металлов.

Цель данной работы - изучение радиационно-наведенных парамагнитных центров в «чистых» и модифицированных ионами металлов трикальцийфосфатах методом ЭПР. Исходя из указанной цели, можно выделить задачи, поставленные в работе:

1. Освоить программный пакет Origin для обработки данных;
2. Зарегистрировать спектры ЭПР порошков ТКФ с примесями различных ионов (Mn^{2+} и Cu^{2+}) синтезированных методами твердофазного синтеза и методами осаждения из водных растворов азотных солей и кислот;
3. Зарегистрировать спектры ЭПР облученных порошков ТКФ;
4. Провести анализ полученных спектров ЭПР.

1 ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1 Основы ЭПР

1.1.1 Механический и магнитный моменты электрона

Суть метода ЭПР: электромагнитное излучение радиодиапазона поглощается неспаренными электронами, которые находятся в магнитном поле.

Хорошо известно, что электрон в атоме участвует в орбитальном и спиновом движении, которое можно описать с помощью соответствующих механических и магнитных моментов. Так, орбитальный магнитный момент связан с механическим выражением

$$\mu_l = \frac{e}{2m} P_l \quad (1)$$

где μ_l -магнитный орбитальный момент, а P_l -механический орбитальный момент. В свою очередь механический орбитальный момент может быть выражен через орбитальное квантовое число

$$P_l = \frac{\hbar}{2\pi} \sqrt{l(l+1)} \quad (2)$$

Подставив выражение (1.2) в (1.1) получим, что

$$\mu_l = \frac{e\hbar}{4\pi m} \sqrt{l(l+1)} \quad (3)$$

Величина $\frac{e\hbar}{4\pi m}$ - это элементарный магнитный момент под названием – магнетон Бора для электрона. Она обозначается буквой β и равна $9,27 \cdot 10^{-24}$ Дж/Тл.

Для спинового магнитного момента можно написать аналогичные выражения

$$\mu = \frac{e}{m} P_s \quad (4)$$

$$P_s = \frac{\hbar}{2\pi} \sqrt{s(s+1)} \quad (5)$$

$$\mu_s = \frac{e\hbar}{2\pi m} \sqrt{s(s+1)} \quad (6)$$

где μ_s – спиновый магнитный момент, P_s – механический магнитный момент, а s – спиновое квантовое число. Важно отметить, что коэффициент пропорциональности между μ_s и P_s (e/m) вдвое больше, чем для μ_l и P_l ($e/2m$).

В итоге полный магнитный момент электрона, являющийся вектором, будет равен сумме векторов орбитального и спинового магнитных моментов

$$\vec{\mu}_j = \vec{\mu}_i + \vec{\mu}_s \quad (7)$$

Поскольку абсолютные значения μ_s и μ_l могут сильно отличаться, то для удобства учета вклада орбитального и спинового магнитных моментов в суммарный магнитный момент электрона вводят коэффициент пропорциональности, показывающий долю каждого из моментов в полном магнитном моменте – величину g или g -фактор.

$$\vec{\mu}_j = -g \frac{e}{2m} \quad (8)$$

где P_j – полный механический момент электрона, равный $P_l + P_s$. g -Фактор будет равен единице при $s = 0$ (т.е. при отсутствии спинового движения) и равен двум, когда орбитальный момент будет равен нулю ($l = 0$). g -Фактор - фактор

спектроскопического расщепления Ланде, его можно найти с помощью полных квантовых чисел S , P и J :

$$g = 1 + \frac{J(J+1) - L(L+1) + S(S+1)}{2J(J+1)} \quad (9)$$

Т.к. в основном электронные орбитали очень сильно отличаются от сферических, то орбитальный магнитный момент дает совсем небольшой вклад в суммарный магнитный момент. Для упрощения вычислений этим вкладом можно пренебречь. К тому же, если мы заменим спиновый механический момент на его проекцию на выделенное направление (к примеру, на направление магнитного поля), то мы получится такое выражение:

$$\mu_j = -g \frac{e\hbar}{4\pi m} m_s = \pm \frac{1}{2} g\beta \quad (10)$$

где $e\hbar/4\pi m$ – магнетон Бора, $\frac{e\hbar}{4\pi m} m_s$, а m_s – магнитное квантовое число, являющееся проекцией спинового магнитного момента на выделенное направление и равное $\pm 1/2$.

1.1.2 Эффект Зеемана

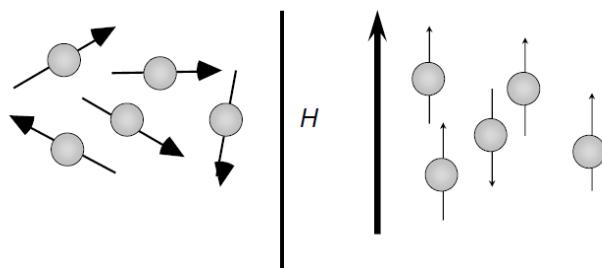


Рисунок 1 – Ориентация электронов во внешнем магнитном поле (H)

Когда отсутствует внешнее магнитное поле, магнитные моменты электронов ориентируются случайным образом (рисунок 1, слева), а их энергии практически не отличаются друг от друга (E_0). Если накладывать внешнее магнитное по-

ле, ориентация магнитных моментов электронов будет зависеть от величины спинового магнитного момента (рисунок 1, справа), и их энергетический уровень будет расщепляться на два уровня (рисунок 2).

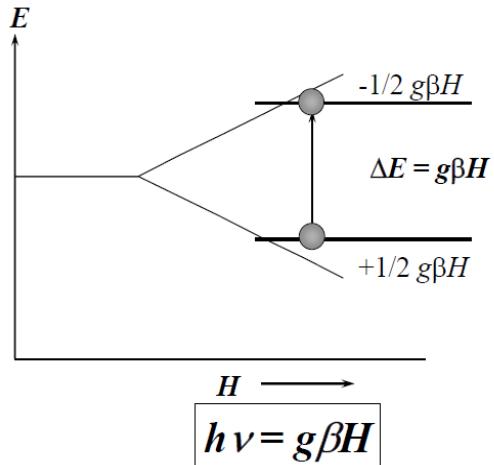


Рисунок 2 – Процесс расщепления энергетических уровней одиночных электронов в магнитном поле (эффект Зеемана)

Следующее уравнение выражает энергию взаимодействия магнитного момента электрона с магнитным полем

$$E = -\mu H = -\mu H \cos \mu H \quad (11)$$

где μ – суммарный магнитный момент электрона, H – напряженность магнитного поля, а $\cos(\mu H)$ – косинус угла между векторами μ и H .

В нашем случае энергия взаимодействия электрона и внешнего магнитного поля выражается:

$$E = \mu_j H = \pm \frac{1}{2} g\beta H \quad (12)$$

а разница в энергии между двумя уровнями составит:

$$\Delta E = g\beta H \quad (13)$$

Расщепление энергетических уровней электронов в магнитном поле зависит от величины спинового момента и интенсивности магнитного поля (эффект Зеемана) [3].

1.1.3 Основное уравнение резонанса

Количество электронов в изучаемой системе, которые имеют ту или иную энергию, определяются соответственно распределению Больцмана:

$$\frac{n_{1/2}}{n_{-1/2}} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = e^{-\frac{g\beta H}{kT}} \quad (14)$$

здесь $n_{1/2}$ и $n_{-1/2}$ – количество электронов на более высоком или более низком энергетическом уровне, которому соответствует магнитный момент электрона с величинами спина $+1/2$ или $-1/2$.

Когда на систему электронов, которая состоит в магнитном поле, попадает электромагнитная волна, то при конкретных значениях величины энергии падающих квантов произойдут переходы электронов между уровнями.

Необходимое условие – энергия падающего кванта ($h\nu$) должна быть равна значению разности энергий между электронными уровнями с различными спинами ($g\beta H$).

$$\Delta E = h\nu = g\beta H \quad (15)$$

Этим уравнением выражается главное условие поглощения энергии электронами, его обозначают как *основное уравнение резонанса*. Электроны, которые находятся под влиянием излучения, находятся на более высоком энергетическом уровне, испускают энергию и возвращаются на нижний уровень, это явление называется индуцированной эмиссией. А электроны, которые будут располагаться на нижнем уровне, поглощают энергию и переходят на более высо-

кий энергетический уровень, это явление называется *резонансным поглощением*. Ввиду того, что вероятности одиночных переходов между энергетическими уровнями равны, а общая вероятность переходов пропорциональна количеству электронов, которые находятся на данном энергетическом уровне, то поглощение энергии преобладает над ее излучением. Это связывают с распределением Больцмана, которое гласит, что заселенность на нижнем выше заселенности на верхнем энергетическом уровне.

Следует помнить, что различие в уровнях энергии электрона в магнитном поле (а также и других заряженных частиц, обладающих спином, например, у протонов) связано с наличием у электрона собственного магнитного момента. У спаренных электронов магнитные моменты скомпенсированы, и они на внешнее магнитное поле не реагируют, поэтому обычные молекулы не дают сигналов ЭПР. Следовательно, с помощью метода ЭПР можно обнаружить и изучить свободные радикалы (их свойства) (имеющих неспаренный электрон на внешних орбиталах) и комплексы металлов с переменной валентностью (у которых неспаренный электрон принадлежит более глубоким электронным оболочкам). Название этих двух групп парамагнитных частиц - парамагнитные центры [4].

1.2 Остеотропные кальций-фосфатные биоматериалы

1.2.1 Применение, физико-механические и химические свойства

Ежегодно в человеческое тело помещают около десятка тысяч имплантов и эндопротезов, в состав которых входят различные органические и неорганические материалы, такие как керамика, полимеры и металлы. Всех их можно разделить на две большие группы по принципу биосовместимости (способности живых организмов принимать чужеродные вещества без отторжения): 1) биоинертные и 2) биоактивные, или остеокондуктивные (в идеале - остеоиндуктивные). К последним относятся два вида кальцийфосфатных материалов: гидроксиапатит и β -трикальцийфосфат, которые признаны как остеотропные и получили широкое распространение в стоматологии и ортопедии. Хороши био-

материалы, в основе которых гидроксиапатит, поскольку после их введения отсутствуют местная и общая токсичная реакции, такие материалы связываются непосредственно с костью, постепенно биодеградируя. Не смотря на данные преимущества до настоящего времени остались спорные вопросы о том, можно ли имплантировать в костные дефекты чистый гидроксиапатит, чистый трикальцийфосфат или композиты на их основе; необходимо ли создавать дефектность в структуре гидроксиапатита, и какую; стоит ли вводить примеси, а какие именно; необходимо ли вводить карбонатные ионы в структуру апатита, какая у них роль в процессе репарации костной ткани; какие необходимы дисперсность порошка и структура пор в гранулах и керамике в каждом конкретном клиническом случае; какая должна быть степень кристалличности, какие должны быть сроки резорбции имплантируемого материала и др. Ко всему прочему, до настоящего времени непонятен механизм резорбции и замещения керамики костной тканью.

На сегодняшний день ограничено применяются в медицине имплантаты, которые изготовлены из чистых фосфатов кальция: во-первых, они очень хрупкие, а во-вторых, из них трудоемко изготавливать изделия необходимой формы. Поскольку у костей и дентина имеется пористая структура и содержится органическая фаза, улучшающая их механические свойства, у идеального костного имплантата должна содержаться органическая фаза, он должен быть пористый, чтобы в него смогли прорастать мягкие ткани живого организма.

1.2.2 Состав, структура и субструктура

Если рассматривать химический состав используемых на практике кальций-фосфатных биоматериалов, то они представляют собой смесь из гидроксиапатита и трикальцийфосфата и характеризуются соотношением Ca/P, которое лежит в пределах от 1,67 до 1,5. Есть вероятность того, что будут присутствовать следовые количества от некоторых металлических элементов, хотя действующие международные стандарты ограничивают допустимое содержание

ряда токсичных элементов (Pb, Hg, Cd и As).

Основным способом получения является синтез или химическое осаждение с последующим старением осадка на воздухе. Химическое модифицирование осуществляют таким образом: вводят добавки в процессе синтеза или изменения исходных реагентов. Наиболее распространенными являются следующие добавки - Mg, Na, Ag, Al, Ti, CO₃.

Если рассматривать структурные характеристики, то большего всего в настоящее время применяются кальций-фосфатные биоматериалы, которые имеют в себе две фазы – гидроксиапатит и β-трикальцийфосфат (иногда и/или α-трикальцийфосфат, еще реже - октакальций фосфат). При рассмотрении данных морфологических исследований, то они являются полидисперсными порошками или спеченными в плотные блоки агломератами с различной степенью пористости. Условиями синтеза и последующей обработкой определяют микро-, макропористость и другие физико-механические характеристики. Обычно у кристаллов синтетического гидроксиапатита имеется стержневидная или пластинчатая форма и вытянутая вдоль с-оси, которая является направлением преимущественного роста. Размеры кристаллов гидроксиапатита в зависимости от состава, условий синтеза и последующей обработки могут колебаться от нескольких нанометров до нескольких микрометров, это часто намного больше в сравнении с минералом кости[5].

1.2.3 Ортофосфаты кальция

Сведения о составе, плотности и растворимости ортофосфатов кальция представлены в таблице 1.

Предложено разделить все ортофосфаты кальция на две группы. К первой относятся соединения, которые могут быть получены синтезом при физиологических условиях; ко второй — высокотемпературные соединения, которые могут быть получены с применением термической обработки промежуточных продуктов синтеза. К последним относятся, в частности, трикальций- фосфат

(ТКФ) α -модификации и тетракальцийфосфат — исходные ингредиенты при получении большинства костных цементов.

Таблица 1 – Состав, структура, некоторые свойства и применение основных биологически значимых ортофосфатов кальция

Соотношение Ca/P	Название	Формула	Плотность, г/см ³	Области применения
0.5	Монокальций фосфат моногидрат (МСРМ)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	2.23	Компонент ряда самотвердеющих цементов в медицине, разрыхлитель и питательное вещество в пекарне, в качестве удобрений.
0.5	Монокальций фосфат безводный (МСРА)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.58	Нет применений в медицине, используется в качестве удобрений
1.0	Дикальций фосфат дигидрат (DCPD), минерал брушит	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	2.32	Реминерализация зубов, добавляется в зубные пасты, производство стекла, хлебопекарные изделия
1.0	Дикальций фосфат безводный (DCPA), минерал монетит	CaHPO ₄	2.89	Компонент стоматологических цементов, шлифовальное средство, источник кальция в пищевых добавках, добавляется в зубные пасты
1.33	Октакальций фосфат (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ ·5H ₂ O	2.61	Регенерация костной ткани, зубные имплантаты
1.5	α -Трикальций фосфат (α -TCP)	α -Ca ₃ (PO ₄) ₂	2.86	Костная и зубная имплантация
1.5	β -Трикальций фосфат (β -TCP)	β -Ca ₃ (PO ₄) ₂	3.08	Стоматологические цементы, костные имплантаты
1.67	Гидроксиапатит (НА)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	3.16	Костная и зубная имплантация, компонент зубных паст

Такая классификация удобна при разработке технологии ФК-материалов, однако она весьма условна. Например, ГА, который относят к высокотемпературным ФК, может быть получен в кристаллической форме гидролизом октакальцийфосфата (ОКФ). Основным минералом костных тканей, дентина и эмали зубов в организме человека является кальцийдефицитный карбонатсодержащий ГА. В кальцификатах мягких тканей обнаружен аморфный фосфат кальция ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) и трикальцийфосфат β -модификации; в камнях мочевого пузыря — ОКФ; в патологических отложениях зубов — ОКФ, магнийсодержащий ТКФ и двухводный дикальцийфосфат. В костной ткани ГА присутствует в виде наноразмерных кристаллов[6].

1.3 Гидроксиапатит – структура, виды и параметры радиационно-наведенных парамагнитных центров

Гидроксиапатит – основное неорганическое вещество в костных тканях и в зубах млекопитающих. Также гидроксиапатит постоянно используют в медицине в качестве биокерамики для ортопедических и стоматологических имплантатов, так как он обладает кристаллографическим и химическим сходствами с минеральной частью кости [7].

Гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ кристаллизуется в гексагональной сингонии, его пространственная группа $P63/m$. В элементарной ячейке содержатся две формульные единицы. Основа структуры апатита (рисунок 3) состоит из изолированных фосфорно-кислородных тетраэдров, которые объединяются с помощью кальция $\text{Ca}(1)$ и, благодаря этому, образуются полые цилиндры (каналы), на стенках которых размещаются ионы кальция $\text{Ca}(2)$. Через центр треугольника проходит Винтовая ось 6_3 из ионов $\text{Ca}(2)$. Ионы $\text{Ca}(1)$ образуют непрерывные колонки, каждый ион в которой связывается с девятью ионами кислорода тетраэдров - $(\text{PO}_4)^{3-}$, образует при этом координационные комплексы CaO_9 . Ближайшим окружением $\text{Ca}(2)$ являются шесть атомов кислорода (координационный комплекс CaO_6). Характерную особенность структуры представля-

ляет хорошая способность ионов и комплексов в элементарной ячейке гидроксиапатита замещаться другими ионами или комплексами, или, поскольку структура пориста, эти ионы будут занимать места в междоузлиях. На рисунке 4 показаны виды замещения в гидроксиапатите [4, 5].

Собранные литературные данные g - и A -значений для радикалов, встречающихся в облученном гидроксиапатите представлены в таблицах 2, 3, 4, 5.

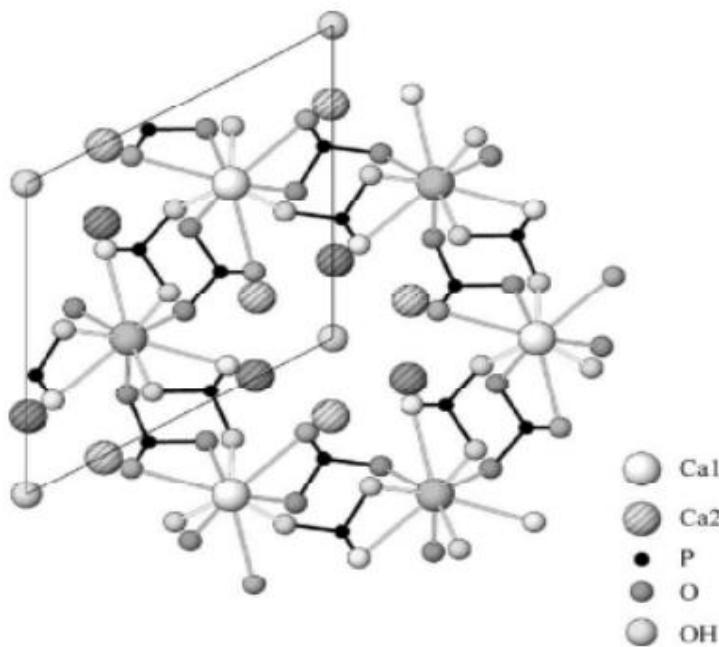


Рисунок 3 – Кристаллическая структура гидроксиапатита, спроектированная на базисную плоскость элементарной ячейки (001)

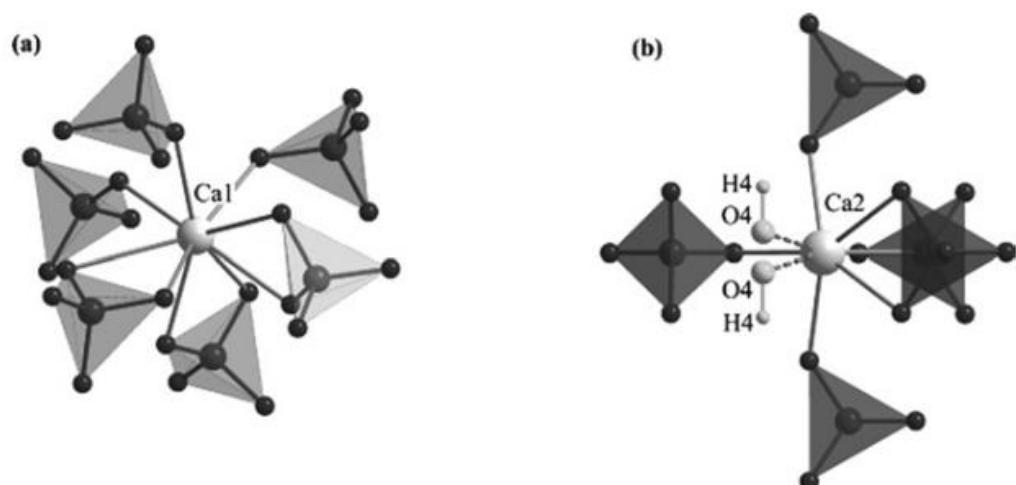


Рисунок 4 – Позиции Ca1 и Ca2 в структуре ГА [8]

Таблица 2 – Параметры карбонатных производных радикалов в ряде материалов (параметры СТС от изотопа ^{13}C , в МГц). НАр=гидроксиапатит; sc=кристалл; ро=порошок [9]

Радикал		g _x	g _y	g _z	g _{izo}	Ax	Ay	Az	Aiso
CO_3^-	CaCO ₃	2.0032	1.9972	2.0016	2.0006	379	369	496	415
	НАр, sc	2.0027	1.9974	2.0027	2.0009				
	MgO	2.0030	1.9970	2.0015	2.0005	513	506	630	550
	НаA, ро				2.0006			410	
	Hap, ро	2.0030	1.9970	2.0015	2.0005	460	556	445	487
O-CO ⁻	MgO	2.0035	1.9970	2.0028	2.0011	485	478	600	521
CO_3^{3-}	CaCO ₃	2.0031	2.0031	2.0013	2.0025	312	312	480	368
Y- CO_3^{3-}	CaCO ₃	2.0024	2.0038	2.0012	2.0025	353	354	528	412
Li- CO_3^{3-}	CaCO ₃	2.0031	2.0031	2.0012	2.0025	354	354		
CO_3^{3-}	CaCO ₃	2.0162	2.0162	2.0051	2.0125	26.5	26.5	36.8	29.9
	CaCO ₃	2.0132	2.0194	2.0055	2.0127				
CO ⁻	MgO	2.0055	2.0055	2.0021	2.0044	75.8	30.9	0	35.8
	Hap, ро	2.0061	2.0061	2.0019	2.0047				
	Hap, ро	2.0058	2.0041	2.0023	2.0041				

Таблица 3 – Параметры кислородных радикалов в апатитах [9]

Радикал	Матрица	g _x	g _y	g _z
O ₂ ⁻	Апатит	1.9512	1.9551	2.4360
O ₃ ⁻	Зубная эмаль	2.0032	2.0182	2.0118
O ⁻	ГА	2.041	2.039	2.0010

Таблица 4 – Параметры фосфатных радикалов в апатитах [9]

Радикал	Матрица	g _x	g _y	g _z	Ax	Ay	Az
PO ₄ ²⁻	Апатит	2.0062	2.0062	2.030	3.08	3.08	2.20

Таблица 5 – Параметры азот-центрированных радикалов в гидроксиапатитах (НАр) и других матрицах [11]

Радикал	Матрица/условия	g _x	g _y	g _z	Ax	Ay	Az
NO ₂ ⁻²	Апатит, 77 К	2.0014	2.0067	2.0051	0.4	0.5	3.88
NO ₃	KNO ₃ кристалл-irr EPR/77	2.0075	2.0075	2.0018	0.06	0.12	0.22
NO ₃ ⁻²	ГА, X-irr, RT	2.006	2.006	2.0019	3.4	3.4	6.8
	ГА, X-irr, RT	2.0061	2.0061	2.0028	3.18	3.18	6.83
	ГА, X-irr, RT	2.0057	2.0052	2.0017	3.27	3.27	6.70
	Нано-ГА, X-irr., 50–300 К	2.0052	2.0052	2.0011	3.35(35)	3.35(35)	6.65(40)

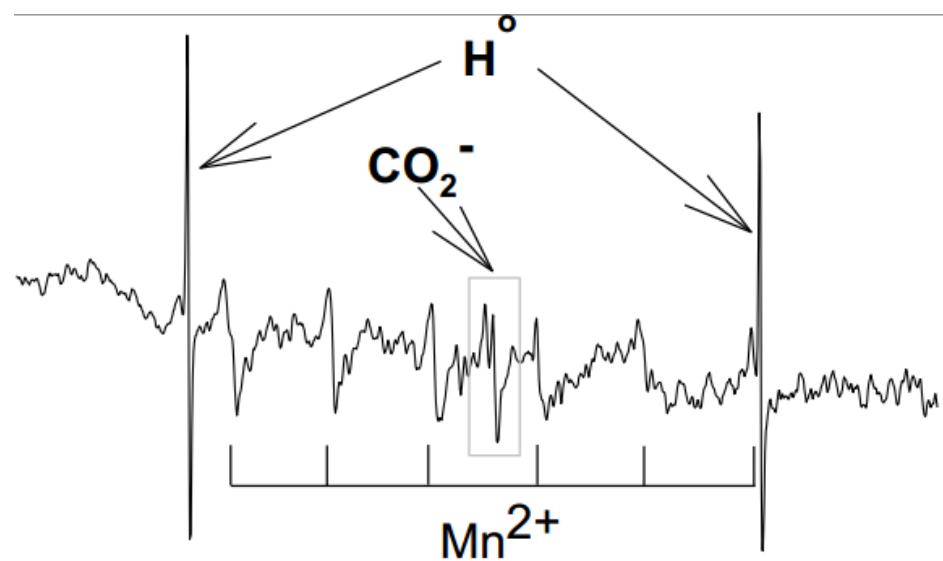


Рисунок 5 - Пример спектра с наличием нескольких парамагнитных центров – ионов Mn^{2+} , радикала CO_2^- и H^\cdot [10]

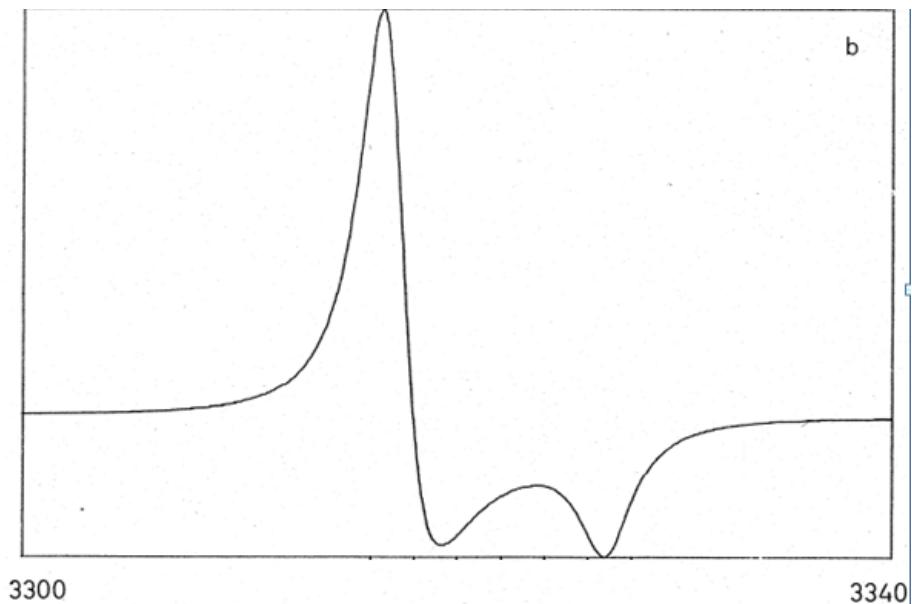


Рисунок 6 – Спектр ЭПР аксиального парамагнитного центра CO_2^- ($g_x=g_y=2.0032$, $g_z=1.9973$) [9]

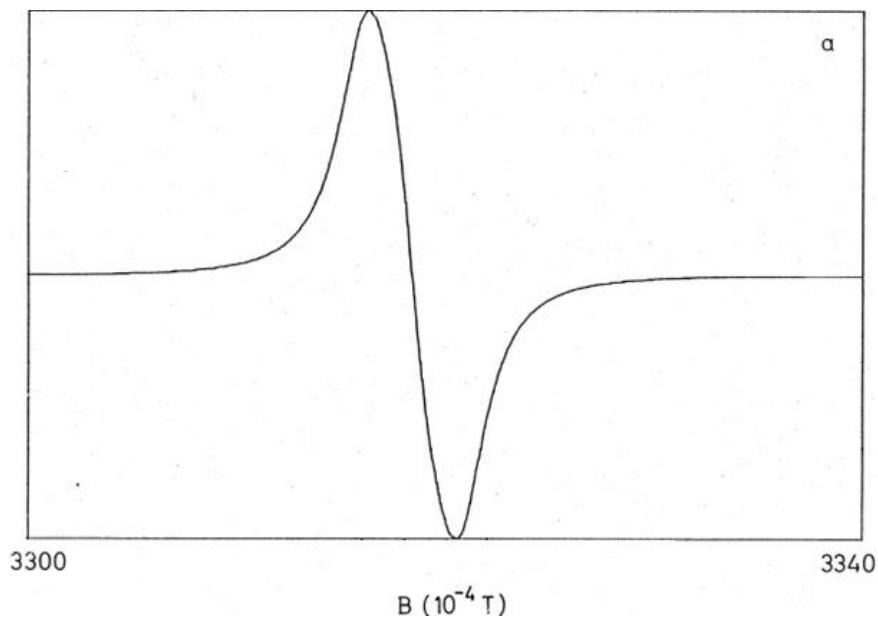


Рисунок 7 – Спектр ЭПР ромбического парамагнитного центра CO_3^{3-} ($g_x=2.0038$, $g_y=2.0024$, $g_z=2.0010$) [9]

1.4 Трикальцийфосфат, структура

Трикальцийфосфат является одним из самых распространенных и важных членов семьи минералов кальций фосфатов, которые сделаны из катионов кальция с различными анионами фосфата, такие как ортофосфаты или пирофосфаты. Его также называют просто фосфат кальция. Его химическая формула: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Трикальцийфосфат в β -форме (β -TCP) - это фосфат кальция, который рассматривают как потенциальный материал для матриц в костной ткани. Несмотря на простые химические формулы, β -ТКФ имеет очень сложную структуру и множество участков для ионных включений даже в сравнении с гидроксиапатитом. Но замещенный β -ТКФ изучен гораздо меньше, чем ГА. Первые результаты вычислительного исследования катионных включений в ТКФ были представлены совсем недавно. Несколько работ посвящены β -ТКФ, содержащих Mg и Zn, но взаимосвязь между легированием, структурой и биологической реакцией (в частности, цитотоксичность) до сих пор не понятна. Кристаллическая

решетка трикальцийфосфата представляет собой ромбоэдрическую структуру, в которую могут быть включены различные ионы, такие как медь или марганец.

Два иона фосфата (PO_4^{3-}) связаны с тремя ионами Ca^{2+} ионов. Один из четырех атомов кислорода присоединен к атому фосфора двойной связью. Остальные три атома кислорода связаны между собой одинарными связями. Шесть атомов кислорода в двух ионах фосфата представляют собой чистый отрицательный заряд 6. Это нейтрализуется тремя Ca^{2+} ионами с положительным зарядом 2. Вот это представление о структуре трикальцийфосфата (рисунок 8).

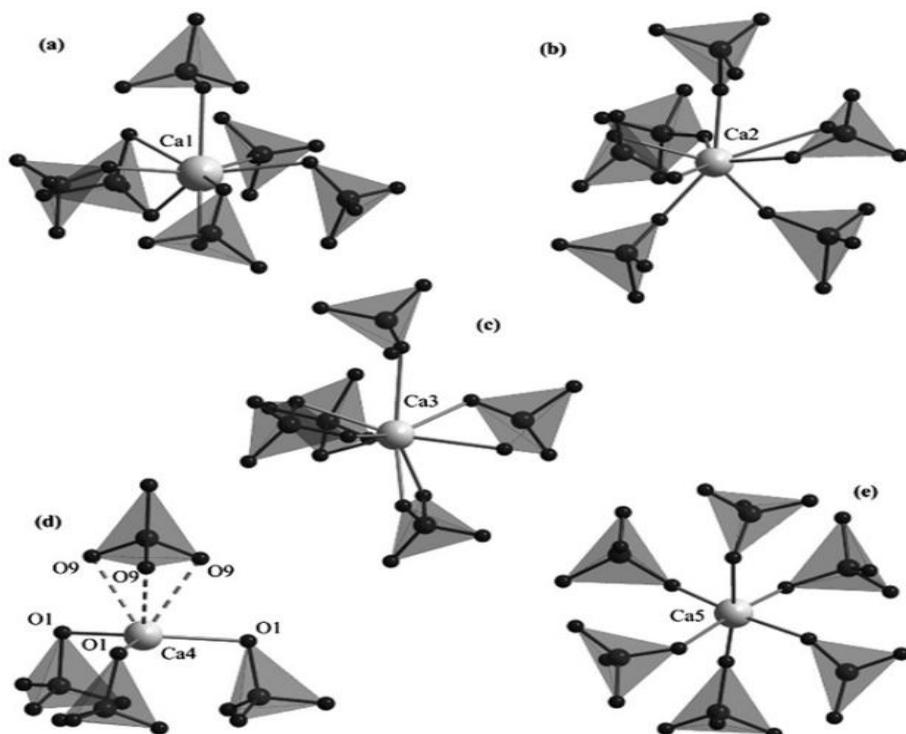


Рисунок 8 - Позиции $\text{Ca}1$, $\text{Ca}2$, $\text{Ca}3$, $\text{Ca}4$ и $\text{Ca}5$ в структуре ТКФ [8]

1.5 Роль примесных ионов марганца (Mn^{2+}) в бифазной системе ГА-ТКФ

Химические, механические и биологические свойства ГА можно изменить путем замены либо включения различных ионов в его структуру. Одна из распространенных добавок это марганец.

Марганец (Mn) влияет на регуляцию костного ремоделирования, а дефицит марганца приводит к уменьшению органического синтеза матрицы и тормозит эндохондральной остеогенез.

Смесь марганец-гидроксиапатит выгодно воздействует на костные клетки, и что относительно высокое содержание марганца в фосфате имеет замечательное благотворное влияние на производство остеокальцина. Было доказано, что марганец влияет на тепловую Стабильность апатитов, как было доказано путем частичного превращения в β -TCP, на 600 1С. Параметры решетки β -TCP, полученные термической конверсией смеси марганец-гидроксиапатит уменьшаются с увеличением концентрации марганца в твердой фазе. Кристаллы гидроксиапатита с более высоким содержанием марганца (1.23% вес) должно быть больше рассасываются, и, следовательно, более биосовместимы [12].

1.6 Рентгеновская дифрактометрия, примеры снимков

1.6.1 Теоретические основы метода (РДА, РФА, РСА, общепринятое обозначение - XRD)

Рентгеноструктурный анализ (рентгенодифракционный анализ) является одним из дифракционных методов исследования структуры вещества. Основу данного метода представляет собой явление дифракции рентгеновских лучей на трехмерной кристаллической решетке. Явление дифракции рентгеновских лучей на кристаллах открыто Лауз, теоретически обосновано явление было Вульфом и Брэггом (условие Вульфа-Брэгга). Метод рентгеноструктурного анализа разработали Дебай и Шеррер. С помощью метода можно определить атомную структуру вещества, в которую входят: пространственная группа элементарной ячейки, ее размеры и форму, а также можно определять группу симметрии кристалла. Рентгеноструктурный анализ и по сегодняшний день один из самых распространенных методов, используемых для определения структуры вещества, благодаря его простоте и относительной дешевизне.

Кристаллическая решетка представляет собой регулярное трехмерное распределение атомов в пространстве, которое может иметь различную симметрию. Кристаллическую решетку в заданном направлении можно рассматривать как серию параллельных плоскостей, которые находятся на расстоянии d друг от друга. Любое кристаллическое вещество можно охарактеризовать определенным набором межплоскостных расстояний d с различными ориентациями плоскостей. При падении монохроматизированного рентгеновского луча с длиной волны равной λ на систему кристаллических плоскостей под углом q , возникает дифракция, только при условии, что пути проходимые лучами, отраженными от различных кристаллических плоскостей, будут различаться на целое число длин волн. Это явление описано законом Брэгга: $nl = 2dsinq$.

Если изменяется угол q , то условия закона Брэгга удовлетворяются поочередно для различных систем плоскостей в поликристаллическом материале, в результате этого, на дифрактограмме исследуемого вещества последовательно, с изменением угла, появляются рентгеновские рефлексы - пики (линии дифрактограммы) с явным максимумом. Исследуемое вещество характеризуется координатами и высотой пиков.

1.6.2 Идентификация и количественное определение фаз (фазовый анализ)

Наиболее распространенным видом дифрактометрических исследований является идентификация фаз и количественный анализ фазового состава образца. На рисунке 9 представлена типичная дифрактограмма образца: она состоит из двух кристаллических фаз с разными размерами кристаллитов и аморфной фазы.

Каждой фазе образца соответствуют свои пики дифракции рентгеновского излучения (показаны различными цветами). Остроконечные пики получены от кристаллических фаз образца, а нелинейный фон - от аморфной фазы.

Дифрактограмма содержит пики от всех фаз образца независимо от их числа. По положению пиков дифрактограммы определяют, какие кристаллические фазы присутствуют в образце, т.е. происходит идентификация фаз.

Идентификацию достигают, когда находят в базе данных такие же рентгеновские пики, как на дифрактограмме исследуемого образца. По высоте (интенсивности) пиков производится количественный анализ кристаллических фаз, то есть определяется концентрация для каждой кристаллической фазы образца.

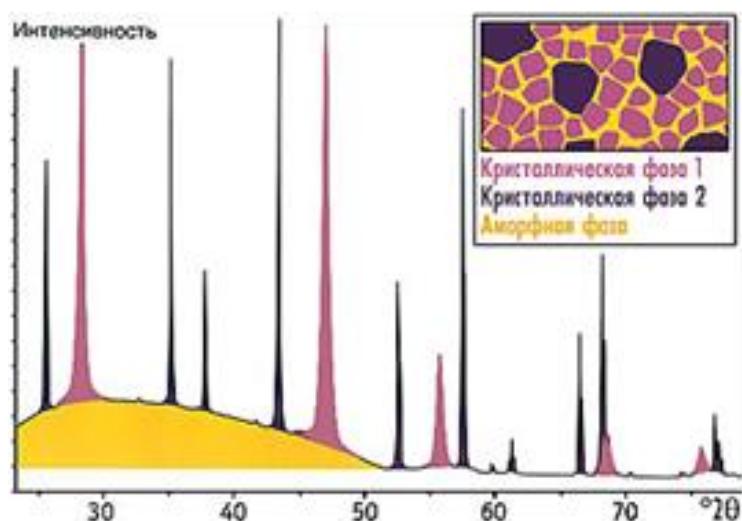


Рисунок 9 – Пример дифрактограммы

В электронных базах данных (PDF2 и PDF4), интегрированных в программное обеспечение дифрактометров, содержится информация о дифракционных пиках десятков тысяч кристаллических веществ, это позволяет уверенно идентифицировать фазы и выполнить расчет их концентраций в любых, даже очень сложных твердых образцах и порошковых смесях [13]. Пример рентгеновской дифрактограммы образцов ТКФ и ГА представлен на рисунке 10.

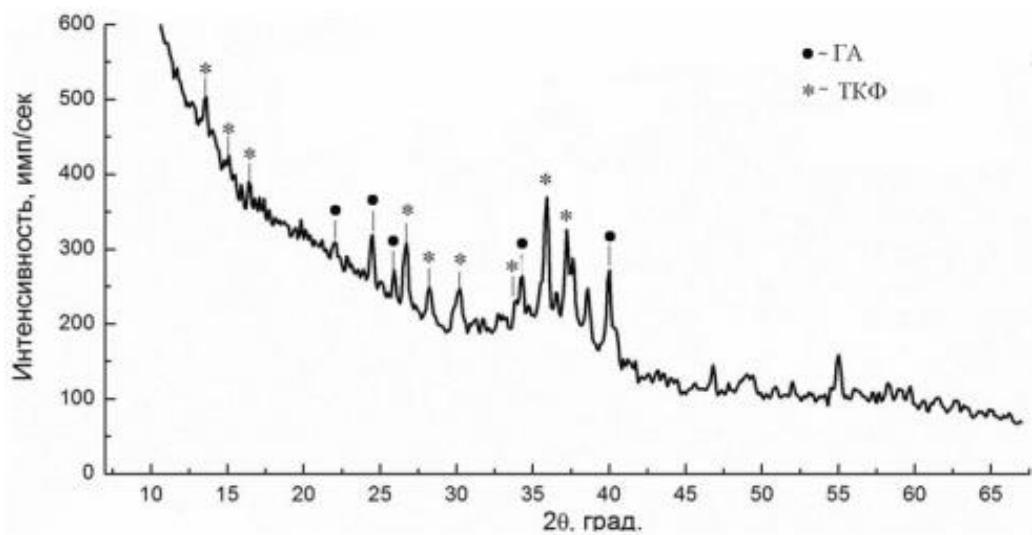


Рисунок 10 – Пример рентгеновской дифрактограммы образцов КФЦ (Кальцийфосфатные цементы) без примесей [14]

2 ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1 Материалы и методы

2.1.1 Методы синтеза фосфатов кальция

Существует три основных метода синтеза фосфатов кальция: осаждением из растворов (мокрый метод), твердофазный синтез (сухой метод) и гидротермальный синтез. На практике больше используют синтез фосфатов кальция из водных растворов. Для этого способа характерно множество факторов, которые изменяются, они не всегда дают возможность достичь красивую воспроизводимость, сохранить стехиометрическое соотношение Ca/P в процессе синтеза, т.е. получить порошок с заданными химическими и физическими свойствами. Среди всех факторов наиболее критические - pH раствора, температура реакции и продолжительность процесса. Твердофазный синтез более продолжителен и энергоемок. К тому же, с помощью этого метода сложно добиться гомогенности конечного продукта.

В зависимости от методов синтеза, могут быть получены порошки с различными характеристиками: удельной поверхностью, морфологией, стехиометрией и степенью кристалличности.

Формально к твердофазному синтезу ТКФ можно отнести термическую конверсию нестехиометрического ГА или аморфного фосфата кальция (АФК), имеющих соотношение Ca/P=1,5. ТКФ также можно синтезировать из порошковых смесей, в составе которых бывают различные фосфаты кальция при брутто-соотношении Ca/P=1,5. Порошки, которые получены в результате взаимодействия в твердой фазе, в дальнейшем можно использовать для получения керамики, вяжущих, композиционных материалов, к которым относят композиты с полимерной матрицей и покрытия на металле. Чаще всего порошки фосфатов кальция, синтезированные в твердофазе, в частности α -модификацию ТКФ, применяются для изготовления вяжущих материалов.

Для получения фосфатов кальция методом осаждения из растворов или суспензий используют растворимые или слаборастворимые фосфаты и соли кальция а также, если это необходимо используют вещества, которые регулируют pH среды в зоне реакции. Для дальнейшего использования синтезированных порошков стоит обратить внимание на формирующийся при синтезе сопутствующий продукт реакции (СПР) — соль, которая является результатом реакции двойного обмена помимо целевой фазы. Такие вещества, как нитрат аммония, натрия или калия, или хлорид аммония, делают полученный порошок цитотоксичным при использовании его в качестве заполнителя костных дефектов, в качестве носителя лекарственных средств, при использовании в качестве наполнителя в композитах с полимерной матрицей. Хлориды же и ацетаты натрия и калия можно отнести к категории условно-биосовместимым [15].

Наша работа была направлена на исследование катионного замещения в структуре β -ТКФ. Мы использовали традиционные методы электронного paramagnитного резонанса (ЭПР) для исследования структуры и отношения между структурными изменениями разработанных материалов.

β -ТКФ порошки с Cu^{2+} и Mn^{2+} были синтезированы методом осаждения из водных растворов нитратов. Для двухвалентных катионов, схема реакции продуктов может быть представлена следующим образом:



где $M = \text{Cu}^{2+}$ и Mn^{2+} .

Полученные порошки были обработаны при температуре 900°C в течение 1 ч для кристаллизации ТКФ. Керамические цилиндрические диски - 6 мм в диаметре и 2 мм в высоту, получены от керамических порошков путем прессования их спеканием при 1100°C в течение 2 ч.

Методом РФА установлено, что основной фазой синтезированных соединений является витлокит (β -ТКФ) (рисунок 11).

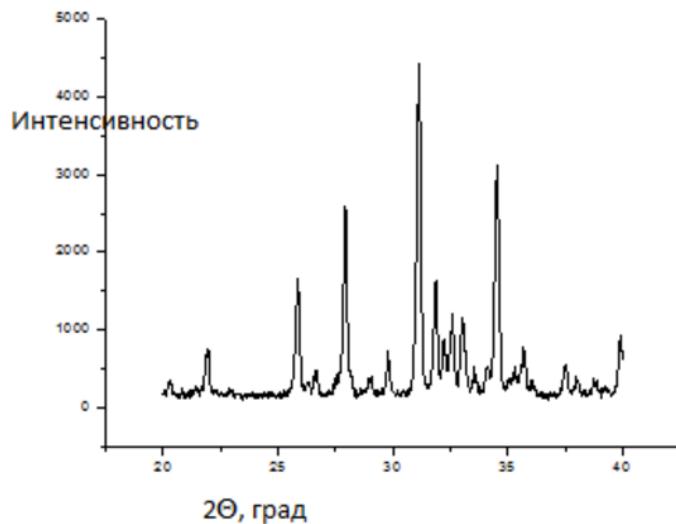


Рисунок 11 – Дифрактограмма 0,1CuTKФ после термообработки при 700⁰С

Образцы были изучены методом сканирующей электронной микроскопии (Tescan VEGA II), рентгеновской дифракции (Shimadzu 6000), ИК-спектроскопии (Nikolet Avatar 330FT-IR) и электронного парамагнитного резонанса (спектрометр Bruker ESP-300) в диапазоне температур (15-300 К). Концентрация парамагнитных центров (ПЦ) была оценена при комнатной температуре в двойной полости ER4105DR путем сравнения интегральных интенсивностей спектров со значениями (Mn^{2+} в MgO и органического радикала DPPH) с известными концентрациями ПЦ. Данные количественного анализа ЭПР можно найти в справ. Интегрирование было выполнено в программе Origin 8.0.

2.1.2 Описание ЭПР-спектрометра Bruker ESP-300

Спектрометр BRUKER ESP-300 (рисунок 12) предназначен для получения спектров электронного парамагнитного резонанса на частотах 9÷10 ГГц и в магнитных полях до 12 кГс. Основные узлы, которые входят в спектрометр, — это микроволновой мост, резонатор и магнит, а также консоль, в которой располагаются электронные приборы управления магнитным полем, микроволновым мостом, процессом получения, усиления, записи и обработки спектров.

Многоцелевой спектрометр ЭПР/ДЭЯР Х-диапазона (9.4-10 ГГц), T=1.5-1000К. Х-диапазон благодаря простоте оборудования является общепринятым стандартом в ЭПР-спектроскопии. Высокочувствительный резонатор ($Q=6000$) позволяет на высоком уровне проводить исследования с помощью спиновых меток и ловушек в химических и биологических системах [16].



Рисунок 12 - Спектрометр BRUKER ESP-300

Требования к образцам:

- Вещество должно быть в твёрдом состоянии.
- При подготовке образца нужно использовать кварцевые трубы, поверхность которых обладает высокой степенью однородности.

2.2 Результаты и их обсуждение

Метод рентгеновской дифрактометрии показал, что ТКФ-замещенные соединения обладают структурой витлокита (карточка JCPDS № 09-0169). Никакие другие кристаллические фазы не встретились. Известно, что катионные замещения существенно влияют на температуру T для α - β перехода структуры ТКФ: T может меняться от 1300 до 1200°C. Наши образцы прокаливали при 900°C, поэтому мы не наблюдали каких-либо ощутимых различий в рентгеновских спектрах.

Спектр ЭПР CuTCP снятый при комнатной температуре отличается от нелегированного ТКФ (рисунок 13). В незамещенном ТКФ детектируется сигнал, присущий ионам Mn^{2+} . По-видимому, ионы марганца включены в состав соединений, использованных для синтеза – нитрата кальция и фосфата аммония.

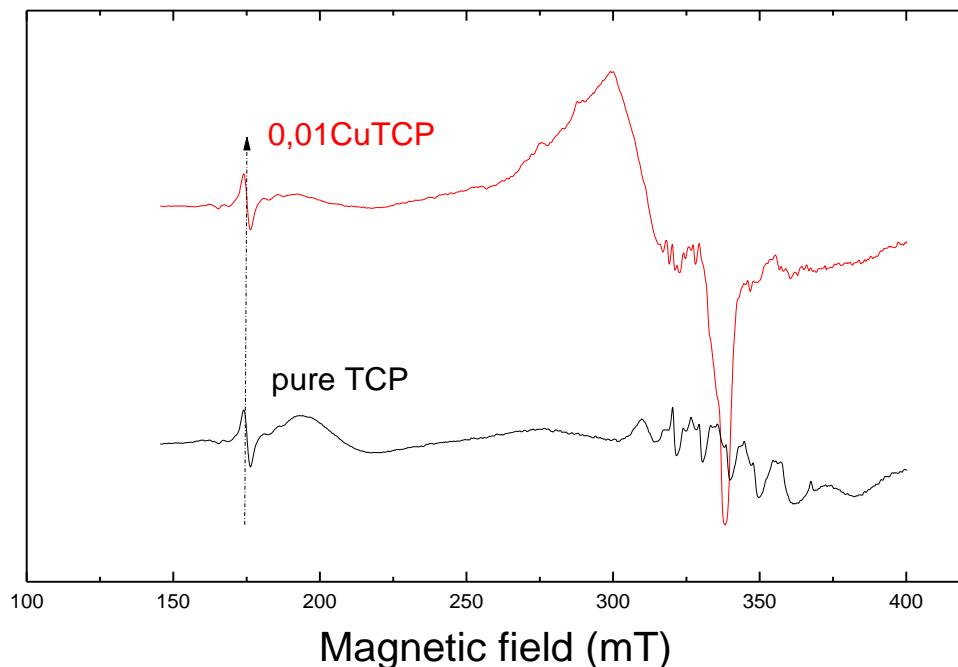


Рисунок 13 - Спектры ЭПР для Cu-содержащих ТКФ (верхняя, красная кривая) и “чистый” ТКФ (ниже, черная кривая), взятого при комнатной температуре ($T = 300$ К). Стрелкой отмечено загрязнение полости

На рисунке 14 представлен спектр ЭПР «чистой» керамики β -ТКФ, синтезированной твердофазным методом и подвергшейся рентгеновскому облучению с дозой 1 кГр. Наблюдались аналогичные гидроксиапатиту 2 линии от стабильных радикалов водорода с расщеплением между ними $A = 50$ мТл. Интенсивность линий начинает уменьшаться при отжиге. Так, нагрев до 400°C в течение 30 минут приводит к уменьшению амплитуды сигналов примерно в 2 раза. Более подробно зависимость амплитуды от температуры не исследовалась.

Спектр ЭПР керамики β -ТКФ, синтезированной из нитратных солей и подвергшейся рентгеновскому облучению с дозой 1 кГр приведен на рисунке 15.

Спектр ЭПР описывается спиновым гамильтонианом аксиальной симметрии [16,17]:

$$H = g\| HzSz + g\perp(HxSx + HySy) + A\| SzIz + A\perp(SxIx + SyIy) \quad (17)$$

где $S=1/2$, $I=1$; с параметрами гамильтониана $g\| =2.002(2)$, $g\perp=2.006(2)$, $A_1 = 2A\| =12.3(3)$ мТл, и $2A\perp$ от $A_2 = 4.8$ мТл до $A_3 =6.7$ мТл. Наличие нескольких ЭПР линий, максимальные и минимальные расстояния между которыми на рисунке 15 обозначены как A_2 и A_3 соответствуют некоторым конформациям азотных центров и различным позициями замещения азотных центров в сложной структуре β -ТКФ. Спектр ЭПР характерен для спектров порошка и обусловлен усреднением по всем возможным ориентациям парамагнитного центра.

Сравнительный анализ спектров на рисунках 14 и 15 показал, что отмеченные линии ЭПР на рисунке 15 обусловлены наличием нитратных примесей в образцах β -ТКФ. Таким образом, в ТКФ, синтезированном мокрым методом, был обнаружен сигнал NO_3^{2-} .

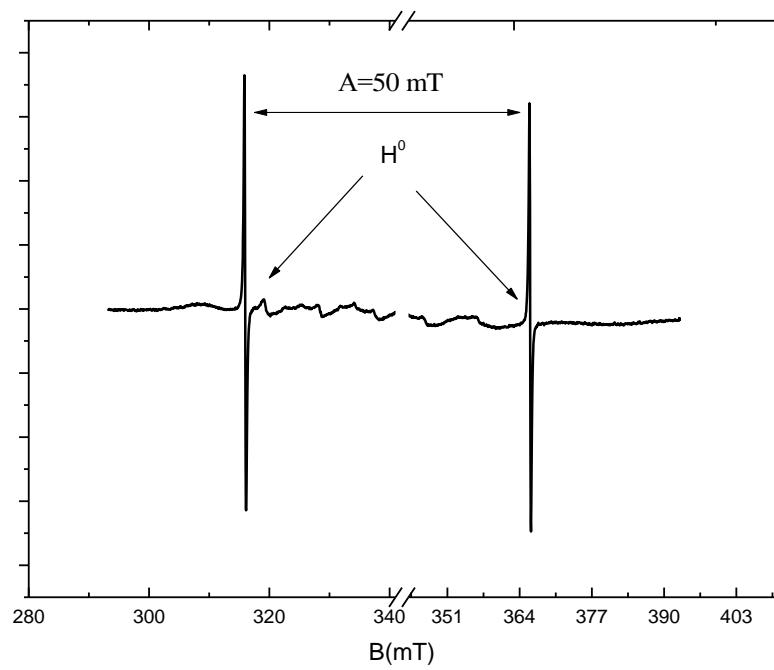


Рисунок 14 - Спектр ЭПР облученного β -ТКФ, синтезированного твердофазным методом.
Центральная часть спектра удалена для улучшения визуального восприятия

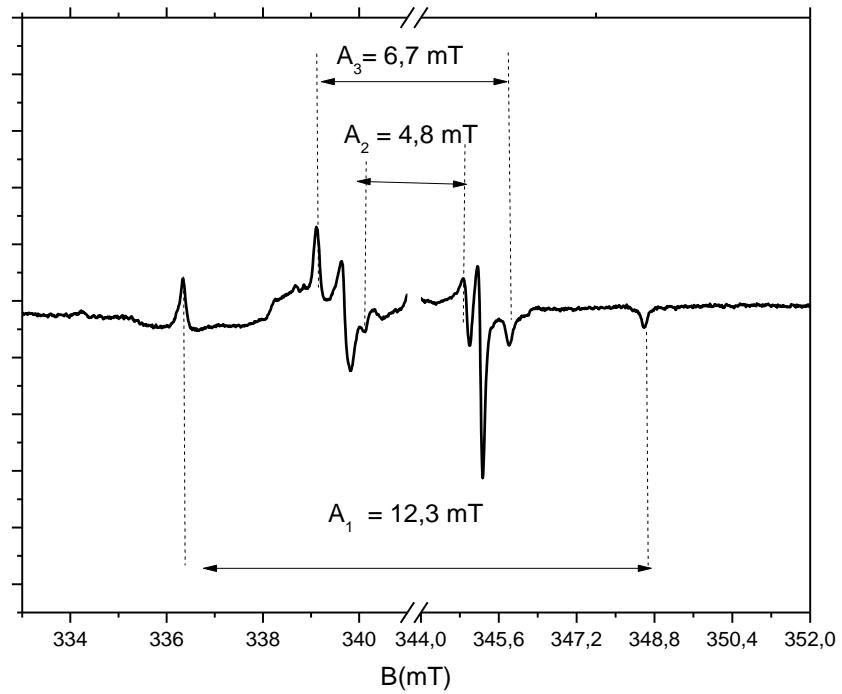


Рисунок 15 - Спектр ЭПР облученного β -ТКФ, синтезированного из растворов солей азотной кислоты. Центральная часть спектра удалена для улучшения визуального восприятия

Как и в ГА [17, 18], данный азотный центр крайне стабилен – отжиг при температуре 500 °С в течение 2 часов не привел к изменению интенсивностей соответствующих линий ЭПР.

Однако, как следует из сравнения с литературными данными (таблица 5), параметры A_{\parallel} и A_{\perp} сильно отличаются от известных в литературе. Наблюдается набор разрешенных в спектре линий, с разными A_{\perp} . Последний факт находил свое отражение в литературе для ГА [11] и приписывается 3 разным стабильным конформациям аниона NO_3^{2-} . Однако для ГА сильных разбросов параметров A_{\perp} не наблюдалось.

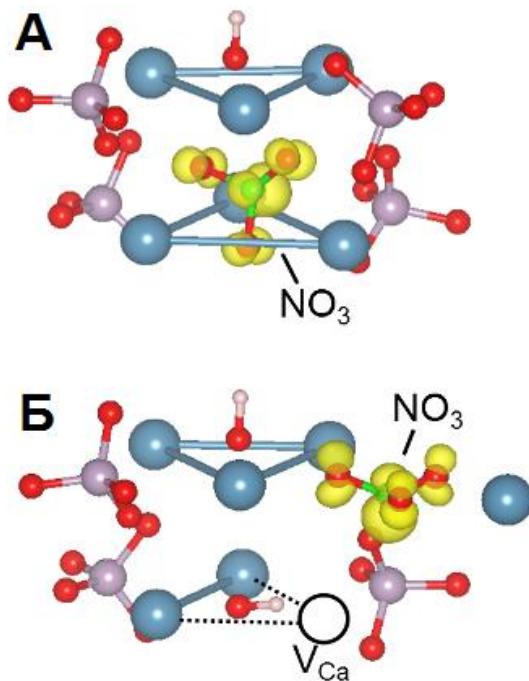


Рисунок 16 - Структура парамагнитного дефекта NO_3^{2-} в конфигурациях А- (А) и В-типа (Б), полученная в результате оптимизации геометрии. Для каждого типа дефекта на рисунке показано распределение спиновой плотности. V_{Ca} на рисунке (Б) обозначает позицию вакансию Ca

Для доказательства зависимости параметров ЭПР от позиции нитрата мы обратились к данным по ГА из работы Биктагирова Т.Б. [19]. Для исследования структуры и магнитных свойств парамагнитного радикала NO_3^{2-} в его диссертации были проведены дополнительные циклы оптимизации геометрии в рамках

спин-поляризованных DFT-расчетов (расчетов в рамках теории функционала плотности, ТФП) с добавлением в расчетную ячейку дополнительного электрона для зарядовой компенсации. В ГА возможны два типа замещения PO_4^{3-} , обозначаемые, обычно, как А и В типы. Пространственная структура парамагнитных центров в разных локализациях показана на рисунке 16.

Основываясь на этих моделях были рассчитаны параметры спектров ЭПР (таблица 6). Следует отметить существенное различие в значениях спектроскопических параметров, полученных для моделей NO_3^{2-} А- и В-типа. Очевидно, ближайшее окружение (пространственная структура, электроотрицательность атомов в первой координатной сфере) значительно влияет на магнитные свойства радикала NO_3^{2-} в кристаллической решетке ГА. Кроме того, для конфигураций дефекта В-типа с различным положением вакансии Са и сравнительно близкими по величине энергиями основного состояния рассчитанные константы сверхтонкого взаимодействия существенно.

Таблица 6 – Значения компонент A сверхтонкой структуры ^{14}N и g -тензора, рассчитанные методом ТФП для А- и В-типа парамагнитного центра NO_3^{2-}

	g_x	g_y	g_z	$A_x, \text{ мТл}$	$A_y, \text{ мТл}$	$A_z, \text{ мТл}$
А-тип	2.0081	2.0077	2.0017	2.478	2.485	5.183
В-тип	2.0054	2.0052	2.0021	3.273	3.277	6.413

Оказалось, что, экспериментальные данные хорошо описываются только для одного типа замещения (В-типа), как это видно из рисунка 17.

Для более сложной структуры ТКФ подобные расчеты гораздо более трудоемки и их до сих пор нет в литературе. На данный момент мы можем предполагать, что наличие трех вероятных позиций фосфат ионов (рисунок 18) обуславливает сложный вид спектра азотных радикалов в ТКФ (рисунок 15).

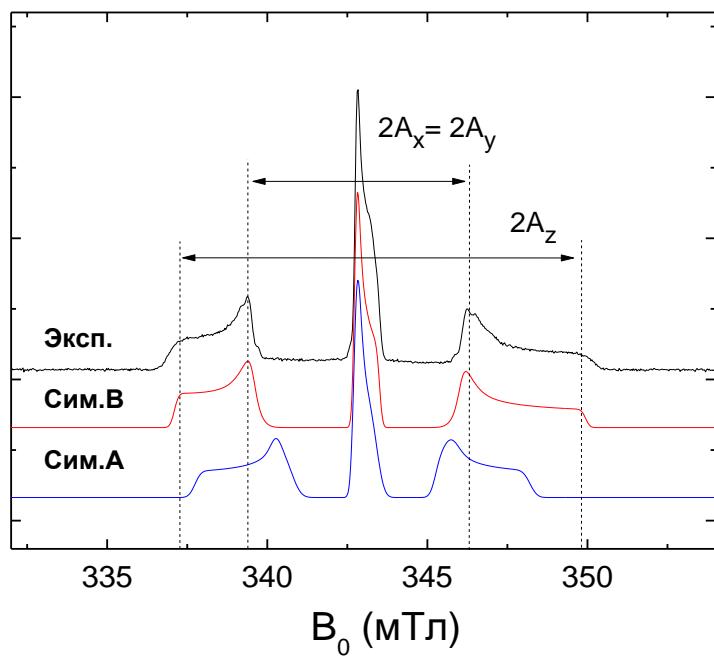


Рисунок 17 - Экспериментальный эхо-детектированный спектр ЭПР стабильного радикала NO_3^{2-} в составе гидроксиапатита (обозначенный как Эксп.) и расчетные спектры, для моделей дефекта В-типа (Сим.В) и А-типа (Сим.А)

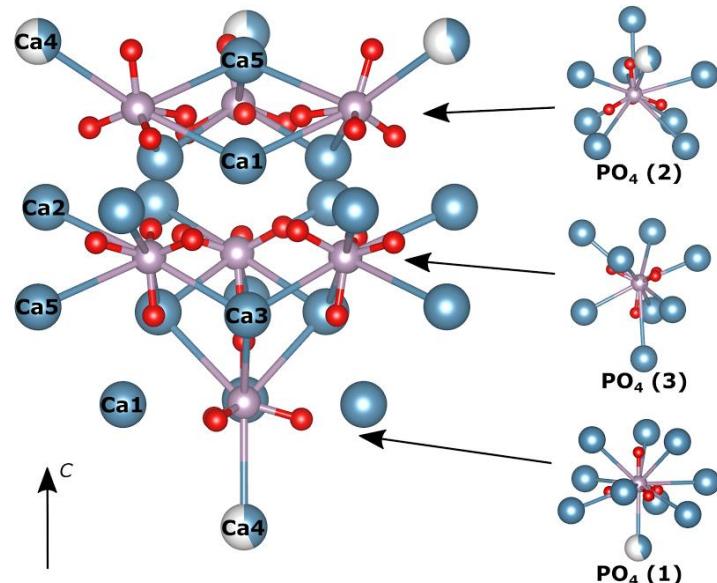


Рисунок 18 - Возможные позиции аниона NO_3^{2-} в структуре ТКФ. Рисунок предоставлен Т.Б. Биктагировым

Был проведен сравнительный анализ спектров для облученного (рисунок 19) и необлученного (рисунок 20) β -ТКФ с примесью ионов Mn^{2+} . Облучение проводилось с целью выявления новых парамагнитных центров в образце. В исходном и облученном образцах наблюдается разрешенная структура центральной линии ЭПР ($g = 2.001$, $A_{iso} = 94 \pm 6$ Гс), обусловленной СТС с ядерным спином изотопа ^{55}Mn с $I = 5/2$.

Для большей точности анализа графики были продифференцированы и наложены друг на друга (рисунок 21). После облучения на спектре появляются дополнительные сигналы от радикалов. Для более точного анализа того, что изменилось в порошке после облучения, было сделано вычитание графиков (рисунок 22). Детальное исследование спектра после облучения позволяет формально определить факторы расщепления для появившихся радикалов: $g_1 = 2.02$, $g_2 = 1.99$ и $g_3 = 1.94$. Если первый можно отнести к карбонатным радикалам, то вторые два, скорее всего, обусловлены наличием кислородных радикалов или фосфатных радикалов (таблицы 2, 3, 4).

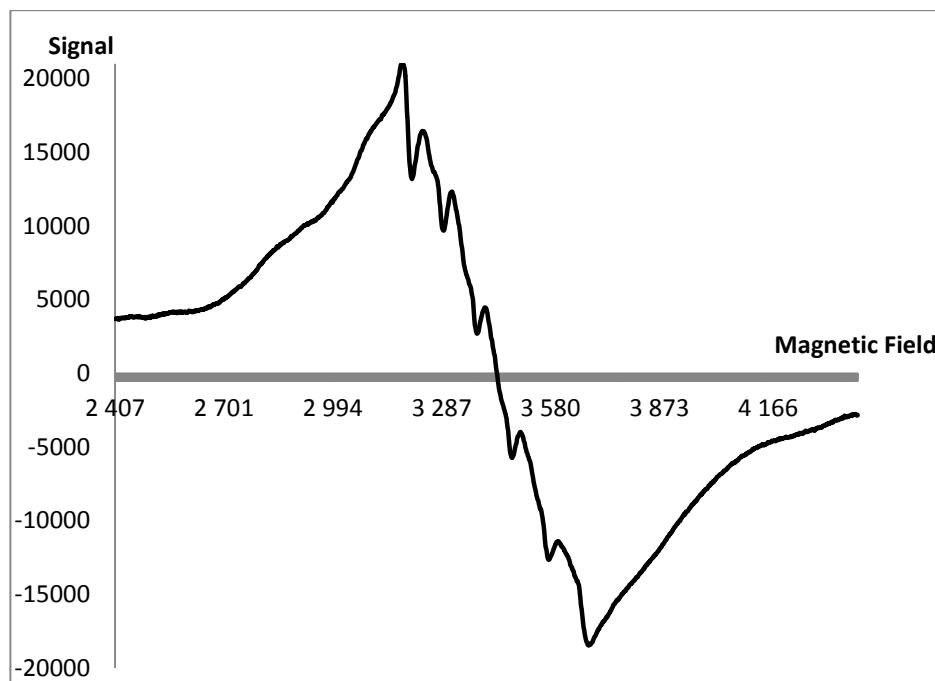


Рисунок 19 – Порошок ТКФ с примесью ионов Mn^{2+} . Данные с Bruker ESP-300

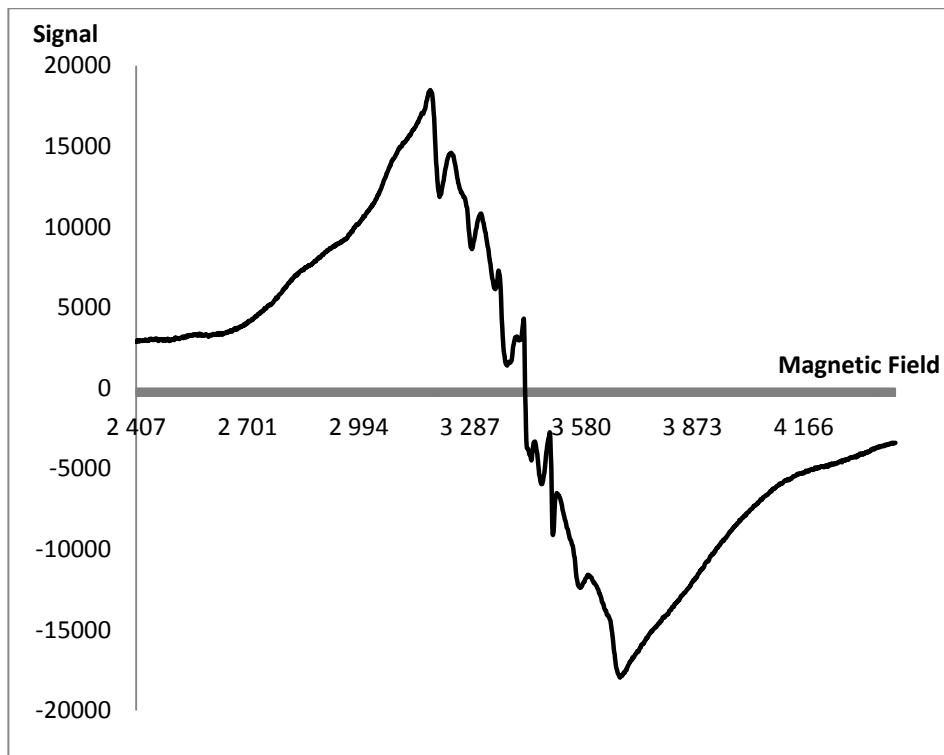


Рисунок 20 – Порошок ТКФ с примесью ионов Mn^{2+} , облученный рентгеном в течение 30 минут. Данные с Bruker ESP-300

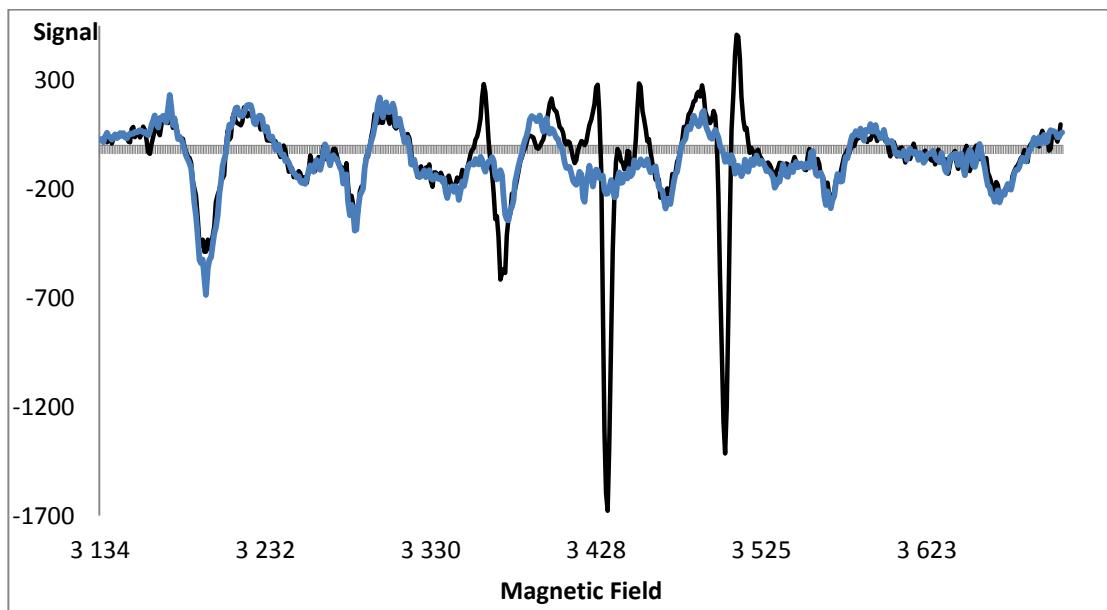


Рисунок 21 – Сравнение продифференцированных спектров исходного образца MnТКФ необлученного (синяя линия), после облучения рентгеном в течение 30 минут (красная линия)

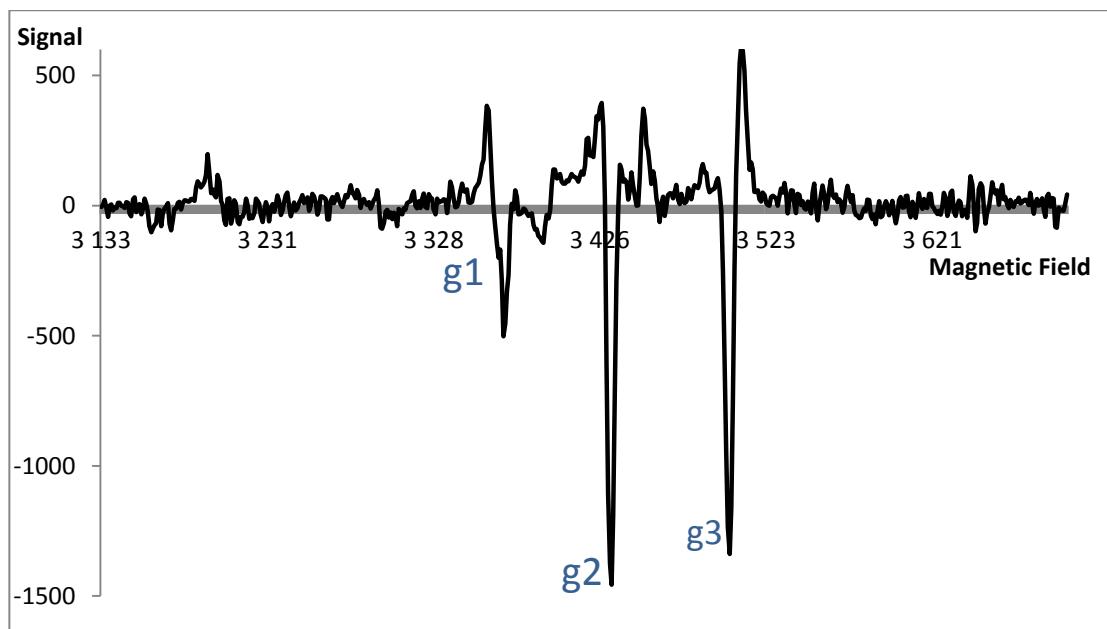


Рисунок 22 – Вычитание спектра необлученного MnТКФ из облученного

Был проведен сравнительный анализ спектров для облученного (рисунок 23) и необлученного (рисунок 24) β -ТКФ с примесью ионов Cu^{2+} . Облучение проводилось также с целью выявления новых парамагнитных центров в образце. Для проведения более точного анализа графики были продифференцированы (рисунки 25 и 26). Из рисунков видно, что после воздействия на образец рентгеновским излучением появились новые радикалы.

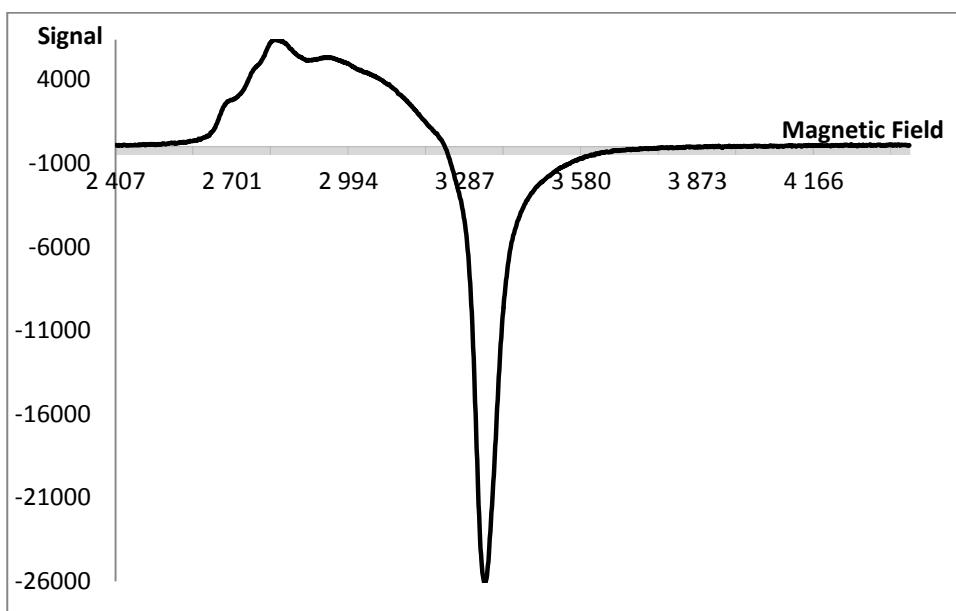


Рисунок 23 - Порошок ТКФ с примесью ионов Cu^{2+} . Данные с Bruker ESP-300

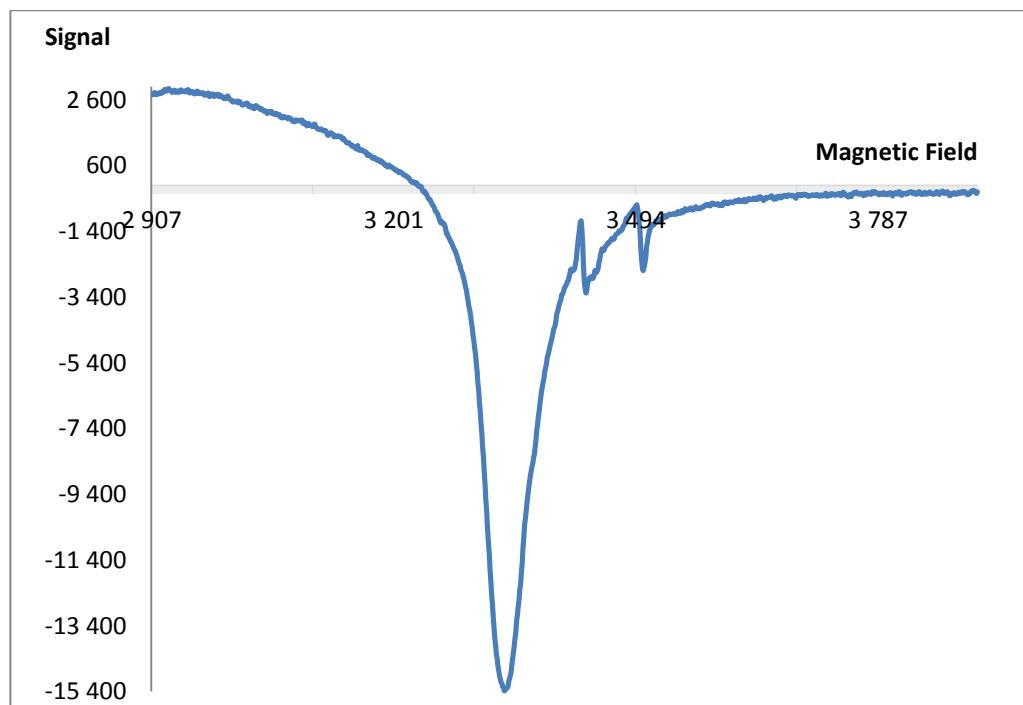


Рисунок 24 – Порошок ТКФ с примесью ионов Cu^{2+} , облученный рентгеном в течение 30 минут. Данные с Bruker ESP-300

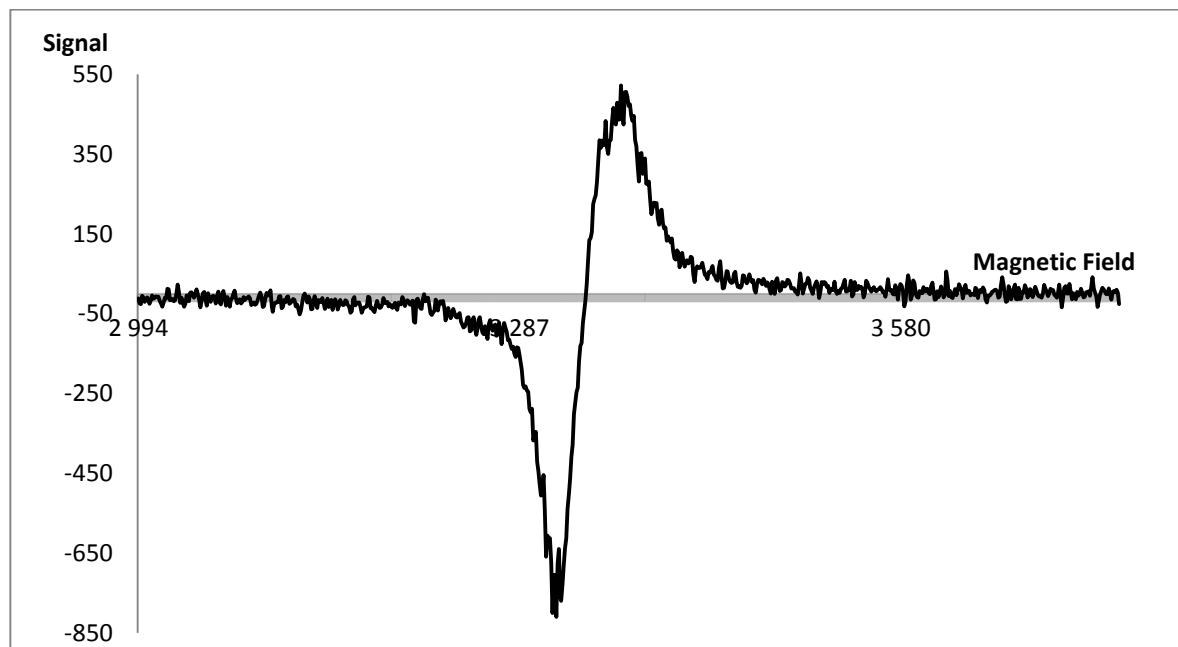


Рисунок 25 – Продифференцированный спектр β -ТКФ с примесью ионов Cu^{2+}

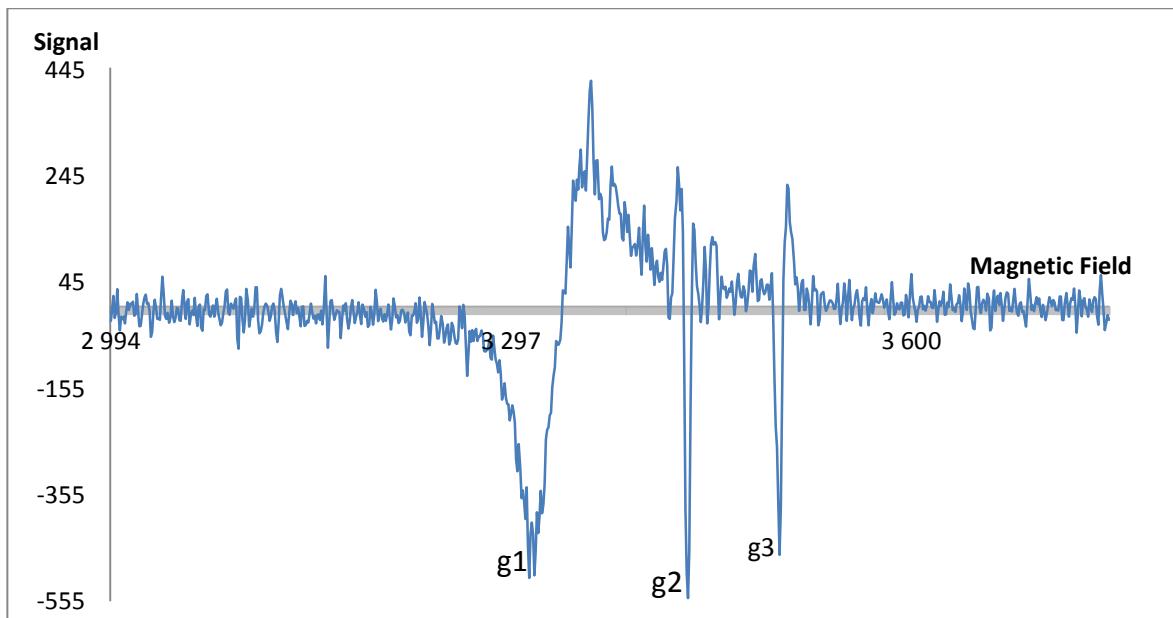


Рисунок 26 – Продифференцированный спектр облученного β -ТКФ с примесью ионов Cu^{2+}

Детальное исследование спектра на рисунке 26 позволяет определить факторы расщепления для появившихся радикалов, и они примерно равны уже указанным: $g_1 = 2.02$, $g_2 = 1.99$ и $g_3 = 1.94$. Расстояние между линиями $A = 6.7$ мТ. Мы не знаем, что это за радиационно-наведенные центры. Исходя из данных таблиц для радикалов, свойственных для ГА, можно сказать, что после облучения образца MnTKF, также, как и в образце CuTKF, на спектре появился, предположительно, фосфорный радикал PO_4^{2-} . Есть сомнения по поводу природы этих радиационно-наведенных центров, поскольку параметры немного отличаются от литературных данных. Более подробных исследований природы наблюденных центров не проводилось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения научно-исследовательской работы были изучены радиационно-наведенные центры в порошках β -ТКФ, синтезированных способами влажного осаждения из нитратных растворов и твердофазным синтезом, а также допированные ионами Cu^{2+} и Mn^{2+} . Как и для ГА обнаружены кислородсодержащие, водородные и азотцентрированные стабильные радиационно-наведенные парамагнитные центры (стабильные радикалы). Определены их параметры. В то время как спектр водородного радикала в образцах, приготовленных методом твердофазного синтеза типичен для разных материалов и веществ, параметры спектра ЭПР стабильных радикалов NO_3^{2-} (в первую очередь константы СТС) в образцах, приготовленных по методике влажного синтеза, отличаются от известных из литературы.

Работа может быть использована для контроля химического состава синтетического β -ТКФ в смысле определения наличия примесей водорода, азота, Cu^{2+} и Mn^{2+} в структуре β -ТКФ, определения метода синтеза коммерческих имплантатов, качественного и количественного определения наличия фаз ГА и ТКФ в бифазных системах и др.

Автор выражает благодарности сотрудникам кафедры квантовой электроники и радиоспектроскопии, а именно научному руководителю Гафурову М.Р. и Габбасову Б.Ф. за всестороннюю помощь в проведении ЭПР экспериментов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Hench, L.L. Bioceramics: From Concept to Clinic [Text] / L.L. Hench. – 1998. – V.81. – P.1705–1727.
2. Мамин, Г.В. Стационарный режим спектрометра ЭПР. Настройка спектрометра и измерение спектров ЭПР на примере спектрометра X-диапазона фирмы Брукер серии Elexsys: Методическое пособие для подготовки специалистов в области магнитного резонанса [Текст] / Г.В. Мамин, Ю.С. Кутькин, С.Б. Орлинский, А.В. Дуглав, М.Р. Гафуров. – М.: 2015. – 55с.
3. Ингрэм, Д. Электронный парамагнитный резонанс в биологии [Текст] / Д. Ингрэм. – М.: 1972. – 67с.
4. Кузнецов, А.Н. Метод спинового зонда [Текст] / А.Н. Кузнецов. – М.: Наука, 1976. – 57с.
5. Данильченко, С.Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения (обзор) [Текст] / С.Н. Данильченко. – С.:2007. – 59с.
6. Баринов, С.М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины [Текст] / С.М. Баринов. – М.: 2010. – 32с.
7. Hydroxyapatite SP-1 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.tusheflora.ru/products/powders/functional-powders/hydroxyapatite> (дата обращения 16.02.2017).
8. Renaudin, G. Structural characterization of sol–gel derived Sr-substituted calcium phosphates with anti-osteoporotic and anti-inflammatory properties [Text] / G. Renaudin, a P. Laquerrie` re, b Y. Filinchuk, c E. Jallotd, J. M. Nedelec. – 2008. – V.18. – P.3593–3600.
9. Fattibene, P. EPR dosimetry with tooth enamel: A review [Text] / P. Fattibene, F. Callens. – 2010. – V.68. – P.2033–2116.

10. Matkovic'a, I. Characterisation of b-tricalcium phosphate-based bone substitute materials by electron paramagnetic resonance spectroscopy [Text] / I. Matkovic'a, N. Maltar-Strmec'ki. – 2012. – V.81. – P.1621-1628.
11. Gafurov, M. A DFT, X- and W-band EPR and ENDOR Study of Nitrogen-Centered Species in (Nano)Hydroxyapatite [Text] / M. Gafurov, T. Biktagirov, G. Mamin, S. Orlinskii. – 2014. – V.45 – P.1189-1203.
12. Šupová, M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications [Text] / M. Šupová // A review Ceramics International. – 2015. - V.41, №8. – P.9203-10342.
13. Рентгеновская дифрактометрия [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.nalkho.com/information/xrd/> (дата обращения 16.12.2016).
14. Баринов, С.М. Фазовый состав, субструктура и морфология кальцийфосфатных цементов [Текст] / С.М. Баринов, Е.К. Белоногов, В. М. Иевлев, В.С. Комлев, С.Б. Кущев, Д.А. Синецкая, В.В. Смирнов, С.А. Солдатенко // Конденсированные среды и межфазные границы. – 2012. - №3. – С.285-291.
15. Синтез ортофосфатов кальция [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.chemiemania.ru> (дата обращения 18.02.2017).
16. Спектрометр BRUKER ESP-300 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://mipt.ru/upload/medialibrary/406/gudeprlab.pdf> (дата обращения 1.03.2017).
17. Свидетельство о государственной регистрации способа [Текст]: пат. № №2465573 Рос. Федерации / Способ определения примесей азота в гидроксиапатите / Н.И. Силкин, М.Х. Салахов, Б. Орлинский, Г.В. Мамин, Ю.А. Челышев, Л.Ф. Галиуллина, Г.А. Токарев, Е.С. Игумнов, М.Р. Гафуров; правообладатель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет" -№2465573; заявл. 17.06.2011; опубл. 27.11.2012.

18. Свидетельство о государственной регистрации способа [Текст]: пат. № №2554288 Рос. Федерации / Способ определения позиции примесей нитратных соединений в синтетическом гидроксиапатите / Т. Б Биктагиров, М. Р Гафуров, Г.В Мамин, С. Б Орлинский правообладатель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет" -№554288; заявл. 27.05.2015; опубл. 27.06.2015.
19. Бигтагиров, Т.Б. ЭПР/ДЭЯР-спектроскопия биосовместимых материалов на основе наноразмерного гидроксиапатита: Дис. ... канд. физ.-мат. наук: 01.04.07. – Казань, 2015. – 113 с. – Библиогр.: с. 100-113.