**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Рентгеновская порошковая дифрактометрия** |  | **ОФС.1.2.1.0032** |
|  |  | **Взамен ОФС.1.2.1.1.0011.15** |

|  |
| --- |
|  |

Рентгеновская порошковая дифрактометрия позволяет качественно и количественно определять кристаллическое состояние фаз порошкового образца аморфной, монокристаллической или поликристаллической структуры испытуемого образца путём анализа дифракционной картины, создаваемой при облучении исследуемого образца рентгеновскими лучам.

**Область применения**

Метод рентгеновской порошковой дифрактометрии применяют для:

- изучения аморфности, кристалличности и степени кристалличности (ОФС «Кристалличность»);

- изучения полиморфизма (ОФС «Полиморфизм»);

- подтверждения подлинности твердого кристаллического вещества (если оно не обладает полиморфизмом).

Преимуществами метода являются высокая достоверность и экспрессность; метод даёт сведения непосредственно о структуре вещества; и не требует его большого количества (не более 0,15 г); испытание можно проводить без разрушения испытуемого образца; метод позволяет оценить количество фаз порошкового образца.

**Метод**

Каждая кристаллическая фаза испытуемого образца даёт характерную картину дифракции рентгеновского излучения. Картину дифракции (при использовании дифрактометра—дифрактограмму, при использовании рентгеновской пленки—рентгенограмму) можно получить из случайно ориентированного кристаллического порошка, состоящего из кристаллитов и кристаллических фрагментов ограниченного размера.

На основе картины дифракции на порошке можно вычислить: угловое расположение дифракционных линий (зависит от геометрии и размера кристаллической ячейки); интенсивность дифракционных линий (зависит, главным образом, от типа и структуры атома, а также ориентации частиц внутри испытуемого образца); профиль дифракционных линий (зависит от разрешения прибора, размера кристаллита, типа и толщины испытуемого образца).

Определение углового расположения и интенсивности линий может быть использовано для качественного фазового анализа (например, идентификация кристаллической фазы) и количественного фазового анализа кристаллических веществ. Так же можно рассчитать содержание аморфной и кристаллической фракций.

Дифракция рентгеновских лучей происходит в результате взаимодействия между рентгеновским излучением и электронными облаками атомов.

К рентгеновским лучам относят излучение, занимающее участок электромагнитного спектра от нескольких сотен до десятых долей ангстрема (*Å*) (1 *Å* = 0,1 нм). Расстояние между атомами в кристаллической решетке твёрдых тел колеблется от единиц до полутора десятков ангстрем. Прохождение рентгеновских лучей через вещество сопровождается разными видами взаимодействия, одним из которых является рассеяние рентгеновских лучей. Вещество, которое подвергается действию рентгеновского излучения, испускает вторичное излучение, длина волны которого равна длине волны падающих лучей (когерентное рассеяние). Каждый изолированный атом рассеивает излучение равномерно во все стороны в виде концентрических сфер. Если падающая волна рентгеновского излучения перпендикулярна атомному ряду, то все атомы ряда одновременно излучают электромагнитные колебания. Поскольку расстояние между атомами соизмеримо с длиной волны вторичного когерентного излучения, то кристалл может служить для него дифракционной решёткой. Энергия этого излучения рассеивается в разных направлениях с различной интенсивностью: по одним направлениям усиливается, по другим – ослабляется и даже полностью гасится. Усиление колебаний происходит по тем направлениям, где разность хода рентгеновских лучей равна целому числу волн или чётному числу полуволн. Это правило (условие интерференции) справедливо для любого излучения. В результате образуется серия плоских волн, которые распространяются в особых направлениях. Дифрагированный луч можно рассматривать как результат отражения от одной из плоскостей атомной решётки. Любая трёхмерная решётка рассматривается как совокупность бесконечного числа параллельных атомных плоскостей, расположенных на равном расстоянии друг от друга. Отражение лучей будет происходить не только от внешней поверхности, а от всех атомных плоскостей (их серий), так как рентгеновский луч, в отличие от оптического излучения, проникает вглубь кристалла.

Серия плоскостей характеризуется межплоскостным расстоянием *d* (рис. 1). Каждая плоскость отражает луч под одним и тем же углом, так как рентгеновские лучи распространяются в веществе практически без преломления. При отражении лучи могут интерферировать в том случае, если их разность хода (*АОВ*) будет равна целому числу волн *Δ (АОВ)* = n*λ*; *АОВ* = 2*d*∙sin*θ*.



Рисунок 1 – Схема отражения лучей от серии плоскостей атомной решётки

Условие дифракции рентгеновских лучей (уравнение Вульфа–Брэгга)

имеет вид:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $2d\_{hkl}$·sin $θ\_{hkl}=nλ$, | (1) |
| где | *n* | – | порядок отражения (*n* = 1, 2, 3); |
|  | *λ* | – | длина волны рентгеновского излучения; |
|  | *θ* | – | угол между падающим лучом и системой плоскостей решётки; |
|  | *d*hkl | – | расстояние между последовательными отражающими плоскостями кристаллической решётки. |

При выполнении условия Вульфа-Брэгга рентгеновский луч регистрируют детектором или на фотоплёнке. Интенсивность максимума зарегистрированного луча зависит от количества и типов атомов, составляющих данное семейство плоскостей, то есть от «заселённости» атомной плоскости. Поэтому интенсивность отраженного луча также является характеристикой изучаемого объекта.

Широкое распространение из-за простоты и универсальности получил метод порошка (метод Дебая-Шеррера), когда монохроматический пучок рентгеновских лучей направляют на поликристаллический образец. Так как кристаллы, из которых состоит испытуемый образец, очень малы (микрокристаллы), то в испытуемом объёме образца их оказываются десятки миллионов. Отраженные разными микрокристаллами лучи различной интенсивности фиксируются либо на специальной фотоплёнке, либо детектором. Рассчитав полученную таким путем рентгенограмму (дифрактограмму), получают сведения о межплоскостных расстояниях в кристалле. Значение межплоскостных расстояний для каждого вещества строго индивидуально, поэтому рентгенограмма (дифрактограмма) однозначно характеризует испытуемый образец.

**Оборудование**

В зависимости от проводимого типа испытания (фазовая идентификация, количественный анализ, определение параметров решётки и др.) используют приборы различной комплектации.

Самыми простыми приборами для определения картины дифракции на порошке являются порошковые дифрактометры или порошковые камеры. Порошковый дифрактометр обычно состоит из пяти основных частей: источник рентгеновского излучения; оптика, образующая падающий луч; гониометр; дифракционная оптика; детектор. Дополнительно требуются блоки сбора и обработки данных. Замена фотографической плёнки как способа детектирования фотонного детектора привела к разработке дифрактометров, в которых геометрическая расстановка оптики является скорее не фокусирующей, а парафокусирующей, как в геометрии Брэгга-Брентано (рис. 2).



Рисунок 2 – Пространственное представление парафокусирующей геометрии Брэгга-Брентано

А – рентгеновская трубка; В – рассеивающая щель; С – образец;

D – антирассеивающая щель; Е – принимающая щель;

F – монохроматор; G – принимающая щель детектора;

Н – детектор; J – круг дифрактометра; К – фокусирующий круг.

Основная геометрическая модель представлена на (рис. 2). Расходящийся луч из рентгеновской трубки (исходный луч) проходит через коллиматоры, через рассеивающую щель и облучает плоскую поверхность образца. Все лучи дифрагируют от ориентированных соответствующим образом в образце кристаллитов под углом 2*θ* и собираются в линию у принимающей щели. Второй набор из коллиматоров и рассеивающей щели может быть помещён до или после принимающей щели. Оси фокусной линии и принимающей щели находятся на равном расстоянии от оси гониометра. Кванты рентгеновского излучения подсчитывают при помощи детектора радиоактивности (сцинтилляционный счётчик, пропорциональный счётчик, пространственно-чувствительный или полу-проводниковый детектор). Принимающая щель и детектор образуют единый блок и движутся по касательной к фокусирующей окружности. Для *θ/*2*θ* сканирования гониометр вращает образец вокруг той же оси, что и ось детектора, но с половинной скоростью вращения, в *θ*/2*θ* движении. Таким образом, поверхность образца находится по касательной к фокусирующей окружности. Коллиматор ограничивает осевое расхождение луча и, таким образом, частично контролирует форму профиля дифрагированной линии. Дифрактометрические методы съёмки рентгенограмм отличаются от фотографических тем, что дифракционная картина регистрируется последовательно во времени.

По способу регистрации рентгеновских лучей вся аппаратура делится на два типа. К первому типу относятся приборы с фотографическим методом регистрации рентгеновских лучей на специальной рентгеновской плёнке (в данном случае дифракционная картина представляет собой ряд концентрических пар чёрных полос), ко второму — приборы с ионизационным методом регистрации, при котором рентгеновское излучение регистрируется с помощью различного типа счётчиков (сцинтилляционных, пропорциональных, полупроводниковых). Усиленный сигнал записывается в файл, а совокупность сигналов затем обрабатывается специальной программой. Условия фокусировки при ионизационном методе регистрации рентгеновских лучей таковы, что максимальную светосилу получают при облучении рентгеновским пучком максимально большой поверхности образца.

В качестве рентгеновского излучения используют откачанные (вакуумные) рентгеновские трубки (с вакуумом 10−5–10−6 мм рт. ст.), представляющие собой мощный диод, в котором поток ускоренных, обладающих высокой энергией, электронов бомбардирует материал анода. Зеркало анода изготавливают из металлов, для которых длины волн рентгеновского излучения лежат в пределах от 2,29 до 0,71 *Å* (W, Cr, Fe, Cu, Ni, Co, Mo, Ag).

Для дифракционных методов исследования органических веществ используют только характеристическое рентгеновское излучение, полученное на основе медных, молибденовых или кобальтовых анодов. Длины волн, используемые в рентгеновской порошковой дифрактометрии, соответствуют *Кα* – излучению анода. В качестве фильтра используют либо металлическую пластину (*К*β – фильтр, имеющий край полосы поглощения между *К*αи *К*β длинами волн рентгеновского излучения, такие фильтры обычно вставляют между рентгеновской трубкой и образцом), либо большой специальный кристалл-монохроматор, преломляющий *К*αи *К*β линии рентгеновского луча под различными углами (этот кристалл помещается перед образцом или после него). Другим способом разделения *К*α и *К*β длин волн является использование изогнутых рентгеновских зеркал, которые одновременно монохромируют и фокусируют или делают параллельными рентгеновские лучи.

**Меры предосторожности**

Рентгеновское излучение является опасным для здоровья человека, поэтому необходимо соблюдать рекомендации по мерам предосторожности и пределам уровней воздействия рентгеновского излучения, установленным национальным законодательством.

**Проверка пригодности дифрактометра (юстировка)**

Оптико-механическая система рентгеновского порошкового дифрактометра требует точной настройки (юстировки) и периодической проверки с использованием сертифицированных стандартных образцов. Минимизация систематических ошибок и оптимизация интенсивности дифрагируемых лучей, регистрируемых детектором, напрямую зависят от точности настройки и определяют качество результатов испытание методом рентгеновской порошковой дифрактометрии. Данную работу должен проводить только высококвалифицированный инженер-специалист.

**Градуировка, испытания пригодности и контроль дифрактометров**

Для установления величины потенциальных ошибок в дифрактометре после его настройки, используя подходящие внутренние и внешние градуировки, можно построить градуировочную кривую следующего типа:

- градуировка по углам;

- градуировка по интенсивностям;

- градуировка по форме сигнала.

Градуировка обычно производится с использованием сертифицированных стандартов сравнения (выбор зависит от типа анализа). Испытание пригодности дифрактометра следует проводить и контролировать периодически, используя рабочие стандарты и/или стандарты сравнения (в зависимости от типа анализа).

**Пробоподготовка порошкового материала**

***Степень измельчённости испытуемого образца***

Для получения чётких рентгенограмм для сьёмки по методу «порошка» необходима тщательная подготовка испытуемых образцов. Испытуемый образец, состоящий из крупных кристаллов даёт нечёткие, мало интенсивные рентгенограммы, поэтому испытуемый образец растирают в агатовой ступке агатовым пестиком (для исключения загрязнения пробы). Оптимальный размер кристаллов составляет около 5–10 мкм. Нельзя сильно перетирать пробу, так как сильное воздействие (особенно с давлением) может привести к нарушению кристаллической структуры испытуемого образца, появлению напряжений в кристаллах, к изменению полиморфной модификации, если вещество обладает полиморфизмом (а значит, к ухудшению качества рентгенограммы). Если размер кристаллов менее 0,1 мкм, то интерференционные линии могут быть размыты (уширение полос спектра), и при малом количестве фазы её линии могут сливаться с фоном. Целесообразно сравнить дифракционную картину необработанного образца с дифракционной картиной, соответствующей образцу с более мелким размером частиц (например, измельчённый образец). Если полученная рентгеновская дифракционная картина имеет качество, соответствующее её предполагаемому назначению, то измельчение не требуется.

***Размещение образца***

Тонко измельчённый испытуемый образец, который является поликристаллическим телом, набивают в капилляр диаметром 0,5–1 мм или насыпают и фиксируют в углублении специальной кюветы из кварцевого стекла (при съёмке в дифрактометре).

Для фиксации образца в кювете достаточно придавливания: можно применять органические клеи (БФ, цапонлак и т.д.), а также обычные технические масла. Порошок можно спрессовать и применить для съёмки в виде таблетки диаметром до 25 мм.

**Качественный фазовый анализ (идентификация фаз)**

Идентификация фазового состава неизвестного образца методом рентгеновской порошковой дифрактометрии обычно основана на визуальном или компьютерном сравнении части его дифракционной картины с экспериментальной или рассчитанной картиной дифракции вещества сравнения.

Каждое кристаллическое вещество даёт специфическую интерференционную картину с определённым количеством, расположением и интенсивностью интерференционных линий, которые определяются природой и расположением атомов в данном веществе.

Рентгенограмма порошкового образца представляет собой сумму (наложение) ряда рентгенограмм индивидуальных кристаллических веществ или полиморфных фаз одного кристаллического вещества при проявлении им полиморфизма.

При съёмке дифрактограммы с органических веществ используют излучение *Сu-К*α (интервал значений углов 2*θ* от 4° до 40°). При этом значения углов 2*θ* для одной кристаллической формы исследуемого вещества и стандартного образца находится в пределах ±0,2°, тогда как относительные интенсивности сигналов могут значительно различаться из-за поликристалличности вещества.

Трудно или даже невозможно идентифицировать кристаллические фазы в следующих случаях:

- если компоненты, которые нужно идентифицировать, присутствуют в малых массовых долях от анализируемых количеств (обычно менее 10 % *м/м*);

- при резко выраженной поликристалличности;

- при отсутствии кристаллической фазы в используемой базе данных;

- при образовании твёрдых растворов;

- при наличии разупорядоченности в положении атомов молекул в элементарной ячейке;

- если образец представляет собой многокомпонентную смесь кристаллических веществ;

- при наличии деформации кристаллической решётки;

- при структурном подобии различных кристаллических фаз.

**Количественный фазовый анализ**

Количественный рентгеновский фазовый анализ применяют для оценки содержания полиморфных фаз в кристаллическом веществе или содержания одного кристаллического вещества в смеси с другими кристаллическими веществами. Метод основан на зависимости интенсивности дифракционных отражений от содержания кристаллической фазы в испытуемом многофазном поликристаллическом образце – интенсивность сигнала пропорциональна мольной доле данной фазы. При одинаковом содержании определяемой фазы интенсивность дифракционного отражения будет меняться в зависимости от величины среднего коэффициента поглощения рентгеновских лучей в испытуемом образце. Поэтому необходимо либо найти эту зависимость и определить коэффициент поглощения образца, либо использовать методы, позволяющие устранить влияние фактора поглощения. Методы количественного фазового анализа:

***-****метод добавок (метод стандартных добавок).*К смеси с неизвестной концентрацией кристаллической фазы *a* прибавляют стандартный образец, содержащий её*.* Измеряют интенсивности сигналов образцов, содержащих пропорционально увеличивающиеся концентрации добавок, и строят график зависимости интенсивности от концентрации.

Средний коэффициент поглощения стандартного образца должен быть близким к коэффициенту поглощения определяемой кристаллической фазы. Исследуемый и стандартный образцы должны быть достаточно измельчены и тщательно перемешаны;

*- метод внешнего стандарта* основан на сравнении дифрактограмм испытуемого и стандартного образцов, последовательно зарегистрированных в одинаковых условиях;

*- метод внутреннего стандарта*используют внутреннее вещество сравнения с размером кристаллитов и коэффициентом рентгеновской абсорбции, сопоставимыми с таковыми для компонентов образца, а также с картиной дифракции, которая не перекрывается картиной дифракции испытуемого образца. Известное количество вещества сравнения прибавляют к испытуемому образцу. Соотношение мольных концентраций испытуемого вещества и вещества сравнения пропорционально отношению интенсивностей их сигналов;

*- метод гомологических пар*основан наполучение серии рентгенограмм смесей из одинаковых компонентов, но в различном соотношении и нахождение на них линий различных фаз одинаковой интенсивности;

*- метод наложения* основан на сравнении рентгенограмм испытуемого образца и рентгенограмм отдельных составляющих в чистом виде;

*- метод съёмки без стандартного образца* предназначен для определения мольной доли кристаллической фазы в смеси кристаллических фаз. Он основан на том, что интенсивность сигнала фазы на рентгенограмме пропорциональна её мольной доле в смеси фаз. Относительную мольную концентрацию кристаллической фазы определяют как отношение интенсивности её сигнала к сумме интенсивностей сигналов кристаллических фаз, присутствующих в смеси.

**Оценка аморфной и кристаллической фаз в образце**

Количество кристаллической и аморфной фаз в испытуемом образце можно оценить несколькими способами в зависимости от его природы:

- если испытуемый образец представляет собой смесь различных веществ, каждое из которых может состоять из кристаллической и аморфной фаз, то количество кристаллических фаз каждого вещества можно рассчитать, используя подходящие стандартные образцы. Суммарное содержание аморфных фаз определяется косвенно путём вычитания.

- если образец состоит из одной аморфной и одной кристаллической фазы или представляет собой однофазную или двухфазную смесь с одинаковым элементным составом, количество кристаллической фазы (степень кристалличности, ОФС «Кристалличность») рассчитывают путём измерения трёх площадей дифрактограммы. Процент кристалличности *(X)* рассчитывают по формуле:

$$X=\frac{100А}{(А+В-С)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$А$$ | – | общая площадь сигналов, возникающих в результате дифракции кристаллической фракции образца; |
|  | $$В$$ | – | общая площадь за исключением площади *А;* |
|  | $$С$$ | – | площадь фонового излучения (обусловлено рассеиванием в воздухе, флуоресценцией, оборудованием и так далее). |

Этот метод не даёт абсолютных величин степени кристалличности и поэтому обычно используют только для сравнительных целей.

Содержание аморфной фазы определяют либо по разности единицы и всех кристаллических фаз (в долях), либо независимым способом. При втором способе учитывают, что интенсивность когерентного рассеяния рентгеновского излучения аморфной фазы пропорциональна её содержанию. Кривая рассеяния на рентгенограмме образца имеет один или несколько пологих максимумов, обычно в области небольших углов рассеяния. При определении содержания аморфной фазы (*С*a) с помощью эталонов используют соотношение:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$C\_{a}=I- \frac{I\_{a}^{0}- I\_{a}\_{ }^{ }}{I\_{a}^{0}- I\_{b}\_{ }^{ }},$$ |  (3) |
| где | $I\_{a}^{0}$,*I*а | – | интенсивности рассеяния полностью аморфным (эталон) и испытуемыми образцами под некоторым фиксированным углом 2*θ*; |
|  | $$I\_{b}$$ | – | интенсивность рассеяния смесью кристаллических фаз, имеющей аналогичный полностью аморфному образцу химический состав. |

Более точной мерой интенсивности рассеяния аморфной фазой служит интегральная интенсивность одного или нескольких максимумов.

Безэталонный метод основан на выделении средней интенсивности рассеяния рентгеновского излучения аморфной фазой *I*а из средней интенсивности рассеяния образца *I*n. Содержание аморфной фазы (*С*a) определяют по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | $$C\_{a}= \frac{ I\_{a}\_{ }^{ }}{ I\_{n}\_{ }^{ }},$$ |  (4) |
| где | *I*а | – | средняя интенсивность рассеяния рентгеновского излучения; |
|  | *I*n | – | средняя интенсивность рассеяния образца. |