**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия** |  | **ОФС.1.2.1.1.0010** |
|  |  | **Взамен ОФС.1.2.1.1.0010.15** |

|  |
| --- |
|  |

Рентгеновская флуоресцентная спектрометрия, основана на зависимости интенсивности рентгеновской флуоресценции от концентрации элемента в образце.

**Область применения**

Метод используется для определения концентраций элементов от бериллия 4Be до урана 92U в диапазоне от долей ppm до 100 % в веществах и материалах различного происхождения. Погрешность рентгенофлуоресцент-ного анализа варьируется в пределах 0,2–3 %.

**Метод**

При облучении образца потоком рентгеновского излучения возникает характеристическое флуоресцентное излучение, которое пропорционально концентрации элемента в образце. Излучение разлагается в спектр при помощи кристалл-анализаторов, далее с помощью детекторов и счетной электроники измеряется его интенсивность. Математическая обработка спектра позволяет проводить количественный и качественный анализ.

При облучении атомов образца фотонами с высокой энергией первичным рентгеновским излучением от рентгеновской трубки атомы переходят в возбужденное состояние, но спустя доли секунды возвращаются к стабильному (основному) состоянию.

Такой переход электронов сопровождается испусканием энергии в виде вторичного фотона с возникновением флуоресценции. Энергия вторичного фотона находится в диапазоне энергий рентгеновского излучения, которое располагается в спектре электромагнитных колебаний между ультрафиолетом и гамма-излучением.

Рентгенофлуоресцентный анализ охватывает следующие диапазоны энергий или длин волн: = 0,11 - 60 кэВ, = 11,30 - 0,02 нм.

Разница энергии между энергетическими уровнями и частота колебаний поглощенного кванта соотносятся между собой уравнением:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | *,* | (1) |
| где |  | – | энергии орбиталей, между которыми произошел переход электрона, эВ; | |
|  |  | – | постоянная Планка (6,625·10-34 Дж·с); | |
|  |  | – | скорость света, с; | |
|  |  | – | длина волны, нм; | |
|  |  | – | частота испускаемого (вторичного) фотона. | |

Длина волны флуоресценции является индивидуальной характеристикой каждого элемента и называется характеристической флуоресценцией. В то же время интенсивность (число квантов, поступающих за единицу времени) пропорциональна концентрации (количеству атомов) соответствующего элемента. Это позволяет проводить количественный элементный анализ вещества.

В качестве единицы измерения интенсивности используется величина, равная числу рентгеновских квантов, измеренных за секунду, имп/с (количество импульсов за секунду) или кимп/с (количество килоимпульсов за секунду).

Существуют два метода регистрации рентгеновской флуоресценции: волнодисперсионная и энергодисперсионная.

**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.

**Оборудование**

Измерение рентгеновского излучения производят с помощью волнодисперсионных или энергодисперсионных рентгенофлуоресцентных спектрометров, различающихся способом детектирования.Приборы рентгенофлуоресцентного анализа состоят из рентгеновского источника, держателя пробы, спектрометра и детектора. Спектрометр измеряет длину волны (*λ*) или энергию (*Е*) и интенсивность флуоресцентного излучения, испускаемого пробой. Рентгеновские источники, используемые для возбуждения атомов в пробе, как правило, не имеют принципиальных отличий в приборах с волновой и энергетической дисперсией. Наиболее широко используемым источником первичного рентгеновского излучения являются рентгеновские трубки.

***Волнодсперсионные спектрометры***

Для разложения излучения в спектр (выделения различных длин волн) в волнодисперсионном методе используют разные кристаллы-анализаторы с кристаллическим плоскостями, параллельными поверхности и имеющими межплоскостное расстояние *d*.  Для волнодисперсионнных спектрометров существуют разные типы детекторов. Для относительно больших длин волн при анализе легких элементов используются газонаполненные пропорциональные детекторы (проточные и запаянные). Их действие основано на ионизации газа излучением и измерении числа электрических импульсов, прошедших через ионизированный газ. Для коротких длин волн (соответствуют тяжелым элементам) применяются сцинтилляционные детекторы, в которых измеряется ток фотоэлемента, чувствительного к светимости специального вещества - сцинтиллятора (*NaI/Tl*) при попадании на него рентгеновского излучения. Количество регистрируемых импульсов прямо пропорционально содержанию элемента в пробе. Многоэлементный анализ для фиксированного набора элементов на спектрометре с волновой дисперсией можно выполнить за несколько минут.

***Энергодисперсионные спектрометры***

В энергодисперсионных спектрометрах диапазон энергий вторичного (характеристического) излучения от пробы регистрируется в один этап. Спектр представляет зависимость интенсивности пиков от энергий излучения элементов. Выделенное излучение поступает в детектор рентгеновского излучения для измерения его интенсивности. Детектирование флуоресцентного излучения основано на преобразовании энергии квантов флуоресцентного излучения в импульсы напряжения определённой амплитуды. Для детектирования флуоресцентного излучения используются полупроводниковые твердотельные детекторы, действие которых основано на ионизации внутри полупроводника. Полупроводниковый детектор изготавливается из кремния 14Si или германия 32Ge. Энергодисперсионные спектрометры также можно комбинировать со сканирующим электронным микроскопом.

Энергодисперсионный метод обладает очень высокой чувствительностью и экспрессностью, что позволяет определять в образцах элементы от натрия 11Na до урана 92U, получать рентгенограммы в проходящих лучах, проводить двумерное и трёхмерное картирование образцов по содержанию тех или иных элементов.

**Пробоподготовка**

Образцы для анализа методом Рентгеновской флуоресцентной спектрометрии могут быть твердыми и жидкими.

***Твёрдые образцы***

Одинаковые навески стандарта и образца, тщательно растирают по отдельности в ступке и прессуют в таблетки (гранулы), иногда после смешивания с подходящим связывающим материалом. Разбавление испытуемого образца прозрачным для рентгеновских лучей веществом (полистирол, борная кислота, крахмал, алюминия гидроксид и т.д.) применяют для уменьшения эффектов поглощения и возбуждения, искривляющих калибровочные графики в соответствии с указанием в материалах на метод. Порошкообразную пробу с равномерно распределённым разбавителем и внутренним стандартом брикетируют или растворяют. Толщина брикета (таблетки) должна быть достаточно большой (около 1-2 мм), чтобы интенсивность излучения образца не зависела от величины навески. Если критическая толщина не достигнута, то интенсивность флуоресценции зависит от толщины образца, вследствие чего возникают ошибки измерения. Оценить критическую толщину образца можно по формуле:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | |  | (2) |
| где | *d* | − | критическая толщина образца (см), ниже которой интенсивность флуоресценции зависит от толщины; | | |
|  | *μ(λc)* | − | коэффициент ослабления образца для флуоресцентного излучения с длиной волны λc (см–1). | | |

Приготовленные брикеты (таблетки) пригодны для многократных измерений. Испытуемое вещество может быть помещено в виде порошка непосредственно в кювету прибора. Порошок образца может быть помещён в держатель из плексигласа и запрессован под полимерной плёнкой или нанесён на клейкую плёнку. При необходимости может применяться метод сплавления анализируемой пробы с флюсовым реагентом в платиновом тигле, при условии, что анализируемое вещество не является летучим.

***Жидкие образцы***

Помещают непосредственнов кювету прибора, при условии, что раствор состоит из одной фазы, прозрачен и обладает достаточно низкой летучестью. В ходе испытаний используют специальный держатель для жидкихобразцов и опорное окно, состоящее из подходящей полимерной плёнки (прозрачной для рентгеновских лучей и стойкой к растворителям). В качестве альтернативы жидкие образцы могут быть перенесены на поверхность диска и высушены перед анализом. Жидкий образец может быть предварительно смешан со стандартным раствором в соответствующих концентрациях для обеспечения точности и специфичности испытаний.

**Методика**

Настройку и использование прибора проводят в соответствии с инструкциями производителя.

Для определения концентрации элемента в образце измеряют скорость счета для нескольких стандартных образцов, содержащих известные количества данного элемента в матрицах определенного состава и рассчитывают или измеряют массовый коэффициент ослабления матрицы анализируемого образца. Для повышения чувствительности при количественном определении легких элементов измерения могут проводиться в вакууме, в среде азота или гелия.

Для калибровки прибора, проверки пригодности системы и контроля работоспособности используют подходящие стандартные образцы, при анализе лекарственных средств - предпочтительно с высоким содержанием углерода.

***Проверка пригодности системы***

Перед проведением испытания для подтверждения правильности работы системы проверяют ее пригодность. Проверка считается пройденной, если полученные результаты не отличаются от действительного значения более чем на 5 % в случае количественного определения содержания компонентов лекарственных средств или вспомогательных веществ, и более чем на 20 % в случае количественного определения содержания примесей элемента. Сравнение с результатами, полученными альтернативным методом, например, с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии, также может быть использовано для проверки пригодности системы, при этом в случае количественного определения критерий приемлемости может быть принят равным 10 %.

***Контроль работоспособности прибора***

Для обеспечения достоверности результатов измерений необходимо гарантировать стабильную работу прибора в течение продолжительного периода времени. Выбор процедур, критериев приемлемости и временных интервалов для этого должен отталкиваться от типа используемого оборудования и его предполагаемого использования. Например, контроль можно осуществлять путем оценки *x*-оси (угол или энергия) и *y*-оси (интенсивность), а также разрешающей способности детектора (с требованиями, что значения разрешающей способности не должны отклоняться от значения, определенного при калибровке оборудования, более чем на 20 % для количественного определения компонентов и более чем на 25 % для подлинности и количественного определения примесей элементов).

***Валидационные требования***

В случае методик определения примесей руководствуются требованиями к валидации, представленными в ОФС «Элементные примеси». В остальных случаях пользуются ОФС «Валидация аналитических методик».

Если при проведении испытания требуется проведение пробоподготовки, то введение добавок в испытуемый образец осуществляют до начала ее первой стадии.

***Калибровка***

С целью точной оценки состава образца необходимо установить зависимость между измеренной интенсивностью линии и концентрацией соответствующего элемента в образце.

При анализе водных растворов и сложных по составу образцов для калибровки применяют метод разбавления (прямой способ внешнего стандарта) добавлением к изучаемому образцу больших количеств слабого поглотителя или малых количеств сильного поглотителя. На графике зависимости = *()* определяют наклон калибровочной кривой по уравнению:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | |  | (3) |
| где |  | – | рассчитанный или измеренный массовый коэффициент ослабления матрицы М; | |
|  |  | – | суммарная интенсивность испускаемого излучения  (скорость счёта); | |
|  |  | – | концентрация определяемого элемента в стандартном образце. | |

***Массовый коэффициент ослабления матрицы образца***

При прохождении рентгеновского излучения через образец происходит ослабление его интенсивности. Степень ослабления зависит как от энергии излучения, так и от химического состава поглощающего образца. Удельной характеристикой поглощения элемента является массовый коэффициент ослабления, связанный с плотностью [г/см3] поглощающего материала и линейным коэффициентом поглощения [1/см]:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | , | (4) |

Коэффициент имеет размерность [см2/г]. Он зависит лишь от атомного номера поглощающего элемента и от энергии поглощаемых рентгеновских квантов. Если эмпирическая формула анализируемого образца известна, его массовый коэффициент ослабления рассчитывают исходя из справочных значений массовых коэффициентов ослабления составляющих элементов.

В случае если элементный состав образца неизвестен измеряют интенсивность рассеянного рентгеновского излучения *IU* (Комптоновское рассеяние) и рассчитывают величину массового коэффициента ослабления матрицы образца по уравнению:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | |  | | | (5) |
| где |  | | – | угловые коэффициенты калибровочной кривой; | |
|  |  | | – | рассчитанный или измеренный массовый коэффициент ослабления образца; | |
|  |  | | – | рассеянное рентгеновское излучение. | |

***Определение суммарной интенсивности элемента в образце***Интенсивность флуоресценции, например, *К*α-линии элемента, (*N*Кα) пропорциональна числу квантов, поглощенных *К*-уровнем, и выходу флуоресценции для *К*-серии.

Рассчитывают суммарную интенсивность излучения () определяемого элемента по измеренным интенсивностям флуоресцентной и фоновой линий, в предположении наличия в образце посторонних примесей.

***Определение следовых количеств элемента***

Для разбавленных растворов, если концентрация элемента находится в линейной части калибровочной кривой, методом рентгенофлуоресцентного анализа можно рассчитать концентрацию () по уравнению:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | |  | (6) |
| где |  | – | коэффициент разбавления; | |
|  |  | – | рассчитанный или измеренный массовый коэффициент ослабления образца; | |
|  |  | – | суммарная интенсивность излучения; | |
|  |  | – | концентрация определяемого элемента в стандартном образце; | |
|  |  | – | наклон калибровочной кривой. | |