

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.05.020

紫外-可见分光光度计性能确认方法的建立

梁爱仙,陈颜清,庞 赛,刘 敏,李玉兰[△],王铁杰

(广东省深圳市药品检验研究院,广东 深圳 518057)

摘要:目的 规范实验室紫外-可见分光光度计性能确认工作,保证仪器设备持续、稳定运行。方法 参考相关文献,结合实际工作经验,从波长准确度、波长精密度、杂散光、吸光度准确度、噪声、漂移、吸收池、光谱宽带对吸光度的影响、吸光度线性方面,建立紫外-可见分光光度计各组件性能确认方法,并对岛津 UV-2600 型和 Evolution 220 型的仪器进行确认。结果 2 个型号的紫外-分光光度计均满足要求,仪器性能符合使用要求。结论 所建立的方法科学、有效,操作简便,可用于实验室紫外-可见分光光度计的性能确认。

关键词:紫外-可见分光光度计;计量性能;实验室管理

中图分类号:R955

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)05-0086-03

Establishment of Performance Qualification Method of UV-Visible Spectrophotometers

LIANG Aixian, CHEN Yanqing, PANG Sai, LIU Min, LI Yulan, WANG Tiejie

(Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen, Guangdong, China 518057)

Abstract: Objective To standardize the performance qualification of laboratory UV-visible spectrophotometers, and to ensure the instruments and equipment work continuously and stably. **Methods** According to relevant literature and practical work experience, the performance qualification method of each module of UV-visible spectrophotometers was established from the aspects of wavelength accuracy, wavelength precision, stray light, absorbance accuracy, noise, drift, absorption cell, the influence of spectral broadband on absorbance and absorbance linearity, and the two models of instruments (Shimadzu UV-2600 and Evolution 220) were qualified. **Results** The two models of UV-visible spectrophotometers met the requirements, and the performance of the instrument met the application requirements. **Conclusion** The established method is scientific, effective and easy to operate, which can be used to qualify the performance of UV-visible spectrophotometers in the laboratory.

Key words: UV-visible spectrophotometers; performance qualification; laboratory management

紫外-可见分光光度计用于测定 190~800 nm 波长范围内物质的吸光度,以及物质的鉴别、杂质检查和定量测定^[1-4],广泛用于食品药品理化检验^[5-10],仪器的性能严重影响检验结果^[11-13]。广东省深圳市药品检验研究院化学药品检验室(以下简称本检验室)于 2018 年通过了世界卫生组织(WHO)“药品质量控制实验室(WHO-PQ)认证”,成为 WHO 的合作实验室,承担国际药典标准起草、产品检测等工作。为规范实验室的紫外-可见分光光度计性能确认工作,监测仪器性能参数是否满足相关技术要求,本研究中参考欧洲委员会质量管理网络文件中 *Qualification of Equipment Annex 3: Qualification of UV-Visible spectrophotometers PA/PH/OMCL (19) 100RI(OMCL)*^[14]和《中华人民共和国国家计量检定规程·紫外、可见、近红外分光光度计检定规程》(JJG178-2007)^[15],结合检验工作经验,制订了可

有效验证实验室中紫外-可见分光光度计性能的规程,并以其中的实验方法对仪器进行试验。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:岛津 UV-2600 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);Evolution 220 型紫外-可见分光光度计(赛默飞世尔科技公司);XSE205DU 型电子天平(瑞士梅特勒公司,精度为十万分之一)。

试剂:重铬酸钾基准物(中国计量科学研究院,批号为 201209,纯度为 99.995%);氧化钬、高氯酸、碘化钠、亚硝酸钠、硫酸均为分析纯,水为超纯水。

1.2 试验方法

1.2.1 波长准确度

以 10% 高氯酸溶液为溶剂,配制 4% 氧化钬溶液,取续滤液;以 10% 高氯酸溶液为空白,取上述续滤液于

第一作者:梁爱仙,女,硕士,副主任药师,研究方向为药物分析与药品质量标准,(电子信箱)804059171@qq.com。

[△]通信作者:李玉兰,女,博士,主任药师,研究方向为药品检验技术新应用、新方法开发和质量控制,(电子信箱)981230481@qq.com。

[22] 瞿 城,乐世俊,林 航,等. 红花化学成分研究[J]. 中草药, 2015,46(13):1872-1877.

[23] 赵 静,夏晓培. 当归的化学成分及药理作用研究现状[J]. 临床合理用药杂志,2020,13(6):172-174.

[24] 辜俊鑫,辜 瑜,张学霞,等. 高效液相色谱法测定枇杷叶

膏中绿原酸含量[J]. 中国药业,2019,28(5):43-45.

[25] 肖 健,刘旺培,陈华龙. 高效液相色谱法同时测定银菊清肝解毒颗粒中绿原酸和迷迭香酸含量[J]. 中国药业, 2019,28(23):34-36.

(收稿日期:2021-04-14;修回日期:2021-08-27)

230 ~ 650 nm 波长范围内扫描6次。溶液的吸光峰波长应为241.13, 278.10, 287.18, 333.44, 345.47, 361.31, 416.28, 451.30, 485.29, 536.64, 640.52 nm, 计算各波长处的误差。

1.2.2 波长精密性

取1.2.1项下扫描结果, 计算各吸收峰波长下测量结果的RSD和极差。

1.2.3 杂散光

取碘化钠适量, 加水制成2.00%(m/V)的溶液(1)。取亚硝酸钠适量, 加水制成5.00%(m/V)的溶液(2)。分别取溶液(1)和(2)置1 cm石英吸收池中, 以水为空白, 分别于220 nm和340 nm波长处测定透光率。

1.2.4 吸光度准确度

取经130℃干燥至恒重的重铬酸钾基准物60 mg, 精密称定, 用0.005 mol/L硫酸溶液溶解, 并稀释至100 mL, 即得溶液(3)。精密量取溶液(3)5 mL, 置50 mL容量瓶中, 用0.005 mol/L硫酸溶液稀释至刻度, 即得溶液(4)。以0.005 mol/L硫酸溶液为空白, 分别取溶液(3)于430 nm波长处, 溶液(4)于235, 257, 313, 350 nm波长处测定吸光度, 并计算吸收系数($E_{1\text{cm}}^{1\%}$), 并与规定的吸收系数($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)进行比较。

1.2.5 噪声

样品室内不放置样品, 积分时间为1 s, 于500 nm波长处重复测量61次吸光度, 将每次测量的吸光度值与61次的平均值进行比较, 并计算误差。

1.2.6 漂移

选择时间扫描方式, 样品室不放置样品, 分别在250 nm和500 nm波长处测量0.5 h内的吸光度漂移。

1.2.7 吸收池

以空气为空白, 吸收池内注入蒸馏水, 分别于240 nm和650 nm波长处测定石英和玻璃吸收池的吸光度, 计算2个配对吸收池的吸光度差值。测定吸收池旋转180°前后的吸光度, 并进行比较, 计算差值。对于单光路的仪器, 只需考察吸收池旋转180°前后的吸光度差值。

1.2.8 光谱带宽对吸光度波动的影响

以空气为空白, 取环己烷、乙醇、甲醇, 狭缝宽度分别为5.0, 2.0, 1.0, 0.5 nm, 于225 nm波长处依次测定吸光度。每次更换不同狭缝时均需以空气做空白归零, 并计算每种溶剂在上述狭缝宽度下测得的吸光度的极差。

1.2.9 吸光度线性

取经130℃干燥至恒重的重铬酸钾基准物60 mg, 精密称定, 置50 mL容量瓶中, 用0.005 mol/L硫酸溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液; 精密量取上述贮备液6, 5, 4, 9, 8 mL, 分别置100, 100, 100, 250, 250 mL容量瓶中, 用0.005 mol/L硫酸溶液稀释至刻度, 摇匀,

作为供试品溶液。以0.005 mol/L硫酸溶液为空白, 分别于235, 257, 313, 350 nm波长处测定上述5种浓度供试品溶液的吸光度, 计算吸光度与相应浓度(C)的线性回归方程。

2 结果

结果均满足要求, 仪器性能均符合使用要求。详见表1。

3 讨论

3.1 波长准确度和精密性

JJG178-2007中, 将仪器的工作波长分为3段, 分别为A段190~340 nm、B段340~900 nm和C段900~2600 nm。测定波长准确度可供选择的标准物质有多种, 要求A段、B段每间隔100 nm至少选择1个波长检测点, 不同波段下波长准确度和精密性的要求不同。根据本检验室的工作性质, 紫外-可见分光光度计的常用检测波长范围为200~650 nm, 故参照OMCL中的方法, 采用较易获得的氧化钛配制溶液, 于200~650 nm波长范围选定特定波长点进行测定。本研究中波长准确度和精密性的限度要求与OMCL中一致。

3.2 杂散光

OMCL和JJG178-2007中均对杂散光进行了检测, 但方法略有不同。本研究中综合2个文件中的方法, 结合本检验室检验需求, 采用碘化钠溶液和亚硝酸钠溶液分别于220 nm和340 nm波长处进行测定。

3.3 吸光度准确度和吸光度线性

JJG178-2007中未对吸光度准确度和吸光度线性进行测定。考虑到本检验室的紫外-可见分光光度计常用于药品的定量分析, 吸光度的准确度和线性对试验结果有重要影响, 故本研究中参照OMCL建立了吸光度的准确度和线性的测定方法, 并规定了限度要求。

3.4 噪声、漂移和吸收池

JJG178-2007中, 以测定透射率的方式测定噪声、漂移和吸收池。考虑到药品检验中, 紫外法常用的测定指标为吸光度, 而较少用透射率, 故本研究中参照OMCL建立了测定吸光度以测定噪声、漂移和吸收池的方法, 并规定了限度要求。

3.5 光谱带宽对吸光度波动的影响

本研究中参照OMCL建立了测定光谱带宽对吸光度波动的影响方法。测定前需对吸收池进行以下测定, 以空气为空白, 狭缝宽度分别为1.0 nm和5.0 nm, 于225 nm波长处测定空吸收池的吸光度, 在2个狭缝宽度下测得的吸光度差值不得超过0.010; 否则需更换能达到此标准的吸光池进行本试验。根据仪器自带的光谱狭缝进行选择, 如果都带有1.2.8项下的狭缝宽度(5.0, 2.0, 1.0, 0.5 nm), 则需对全部狭缝宽度进行测定。

表1 紫外-可见分光光度计性能确认测定结果
Tab.1 Performance qualification of UV-visible spectrophotometers

项目	要求	仪器型号	
		岛津UV-2600型	Evolution220型
波长准确度	400 nm以下波长的允许误差为±1 nm	-0.33 nm	-0.44 nm
	400 nm以上波长的允许误差为±2 nm	-0.65 nm	-0.63 nm
波长精密度	每个吸收峰波长6次测量RSD应不超过0.1%	0.03 %	0.04%
	每个吸收峰波长6次测量值极差应不超过0.2 nm	0.2 nm	0.2 nm
杂散光	2.00%碘化钠溶液在220 nm处的透光率应小于0.1%	0.008%	0.014%
	5.00%亚硝酸钠溶液在340 nm处的透光率应小于0.8%	0.005%	-0.003%
吸光度准确度	波长处的吸收系数		
	235 nm为122.9~126.2(理论值124.5)	123.8	123.2
	257 nm为142.8~146.2(理论值144.5)	146.0	145.9
	313 nm为47.0~50.3(理论值48.6)	48.7	48.8
	350 nm为105.6~109.0(理论值107.3)	107.5	108.4
	430 nm为15.7~16.1(理论值15.9)	15.8	15.7
噪声	于500 nm波长处61次吸光度允许误差为±0.002	0.000	0.000
漂移	于250 nm波长处吸光度漂移不超过±0.001吸收单位	±0.0006吸收单位	±0.0005吸收单位
	于500 nm波长处吸光度漂移不超过±0.002吸收单位	±0.0002吸收单位	±0.0003吸收单位
吸收池*	配对的石英吸收池在240 nm波长处吸光度差值应不超过0.093	0.001	0.004
	吸收池旋转180°前后的吸光度差值应不超过0.005 吸收池1	0.000	0.003
	吸收池2	0.001	0.003
光谱带宽对吸光度波动的影响	于225 nm波长处每种溶剂在各狭缝宽度下的吸光度极差均应小于0.010	甲醇	0.006
		乙醇	0.001
		环己烷	0.004
			0.004
吸光度线性	线性回归方程的回归系数均不应小于0.9990	235 nm	0.9999
		257 nm	0.9998
		313 nm	0.9995
		350 nm	0.9994

注:*指配对的玻璃吸收池于650 nm波长处吸光度差值应不超过0.035。

Note:* indicates that the absorbance difference of the paired glass absorption cell at the wavelength of 650 nm should be not exceed 0.035.

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 39-41.
- [2] 朱莉, 徐晓萍, 黄婷. 紫外-可见分光光度法测定破壁灵芝孢子粉中总三萜及多糖含量[J]. 分析与检测, 2020(30): 85.
- [3] 付晓伟, 吴晓, 姜莉莉, 等. 紫外分光光度法测定水果中维生素C含量[J]. 山东化工, 2020, 49(24): 102-104.
- [4] 蒲翔, 谢宇, 罗君, 等. 紫外可见分光光度法测定丹眠颗粒中总皂苷的含量[J]. 贵州中医药大学学报, 2020, 42(2): 35-37.
- [5] 李昌厚. 紫外-可见分光光度计及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 1-194.
- [6] 马洪争. 药品质量化学检验方法[J]. 生物化工, 2020, 6(6): 148-151.
- [7] 吴琼, 王莹, 龚畅, 等. 基于紫外光谱分析的水质监测技术研究[J]. 节能环保, 2020, 10(11): 17-18.
- [8] 佟林巍. 基于光谱分析的紫外水质检测技术研究[J]. 中国资源综合利用, 2021, 39(2): 33-35.
- [9] 李晓明, 魏旭雅, 赖长江生. 新型络合试剂-紫外分光光度法测定石膏中钙含量[J]. 中国现代中药, 2020, 22(10): 1714-1718.
- [10] 陈竞秀. 干灰化法-紫外可见分光光度法测定食品中铝的残留量[J]. 福建分析测试, 2020, 29(2): 34-38.
- [11] 国家药典委员会. 中国药典分析检测技术指南[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 21-33.
- [12] 张红亮. 检定紫外、可见分光光度计波长用标准的选型[J]. 分析仪器, 2020(2): 115-117.
- [13] 汪洋. 紫外可见分光光度计波长检定中问题的探究[J]. 技术应用, 2020, 27(8): 92.
- [14] Council of Europe. Qualification of Equipment Annex 3: Qualification of UV-Visible spectrophotometers PA/PH/OMCL (19) 100 RI [EB/OL]. (2020-04-01)[2021-01-15]. https://www.edqm.eu/sites/default/files/medias/fichiers/OMCL_Network/Find_information_on/Quality_Management_Documents/omcl_annex_3_qualification_of_uv_visible_spectrophotometers.pdf.
- [15] JJG178-2007, 中华人民共和国国家计量检定规程·紫外、可见、近红外分光光度计[S].
(收稿日期: 2021-03-08; 修回日期: 2021-07-28)