

紫外-可见分光光度法在《中国药典》中的应用

紫外可见分光光度计凭借其高度的精准性与可靠性,成为药物检验的得力助手。依据药物分子独特的紫外或可见光吸收特性,选定最佳测量波长,运用多种方法对原料药及制剂中的成分进行精准测定。同时《中华人民共和国药典》是药品研制、生产、经营、使用和监督管理等均应遵循的法定依据。本文为旨在介绍紫外-可见分光光度法《中国药典》中的应用,帮助广大新老客户更好的理解药典的要求。

一、仪器

在使用紫外可见分光光度计前需对仪器进行检定。原因一是仪器部件如光源会衰减、单色器元件易老化磨损,影响测量准确性;二是依朗伯-比尔定律,未经校正易致波长读数偏差,使定量分析不准;三是为保证不同实验室数据可比,利于学术、科研与质控。仪器检定的项目包括:

1. 波长准确度:

它是测量仪器显示的波长和真实波长之间的误差大小。检定方法包括用低压汞灯、仪器固有的氙灯、氧化钽玻璃、高氯酸钽溶液检定等。紫外光区允差范围为 $\pm 1\text{nm}$, 500nm 附近为 $\pm 2\text{nm}$ 。

标准物质	波长
汞灯	237.83nm、253.65nm、275.28nm、296.73nm、313.16nm、334.15nm、365.02nm、404.66nm、435.83nm、546.07nm 与 576.96nm
氙灯	486.02、656.10
氧化钽玻璃	279.4nm、287.5nm、333.7nm、360.9nm、418.5nm、460.0nm、484.5nm、536.2nm 与 637.5nm
4%氧化钽的高氯酸溶液(10%)	241.13nm、278.10nm、287.18nm、333.44nm、345.47nm、361.31nm、416.28nm、451.30nm、485.29nm、536.64nm 和 640.52nm.

2. 吸光度准确度:

仪器在吸收峰上读出的透射率或吸光度与已知真实透射率或吸光度之间的偏差。该偏差越小,光度准确度越高。可用 60mg/L 重铬酸钾的硫酸溶液(0.0005mol/L)检定,使用 1cm 石英比色皿,以硫酸溶液(0.0005mol/L)为空白,通过测定吸光度并计算其吸收系数,应符合规定的吸收系数比较。

波长(nm)	235-最小	257-最大	313-最小	350-最大
吸收系($E^{1\%}_{1\text{cm}}$)数的规定值	124.4	144.0	48.6	106.6
吸收系数($E^{1\%}_{1\text{cm}}$)的许可范围	123.0~126.0	142.8~146.2	47.0~50.3	105.5~108.5

$$\text{计算公式为: } E^{1\%}_{1\text{cm}} = \frac{A}{c \times l} = \frac{A}{0.6\text{g}/100\text{mL} \times 1\text{cm}}$$

3. 杂散光检查:

除所需波长单色光以外其余所有的光都是杂散光,杂散光是测量过程中

的主要误差来源，会严重影响检测准确度和检测上限。按规定试剂和浓度配制成水溶液，置 1cm 石英比色皿中，以水为空白，在规定波长处测定透光率，应符合表中规定。

试剂	浓度 (g/mL)	波长 (nm)	透过率 (%)
碘化钠	1%	220	<0.8
亚硝酸钠	5%	340	<0.8

二、检测要求

1. 溶剂:

含有杂原子的有机溶剂，通常均具有很强的末端吸收，因此当作溶剂使用时，其使用范围均不能小于截止使用波长。紫外区常见溶剂的截止波长见表。

溶剂	甲醇	乙醇	丙酮	乙腈	正己烷	甲苯	苯	四氯化碳	异丙醇	氯仿
最短可用波长 (nm)	205	205	330	215	220	285	280	265	210	245

2. 吸光度限制

一般供试品溶液的吸光度应在 0.3~0.7 为宜，在此范围内测量误差相对较小。在测定供试品前，应先检查所用的溶剂在供试品所用的波长附近是否符合要求，即将溶剂置 1cm 石英吸收池中，以空气为空白测定其吸光度。溶剂和吸收池的吸光度，在 220~240nm 范围内不得超过 0.40、在 241~250nm 范围内不得超过 0.20，在 251~300nm 范围内不得超过 0.10，在 300nm 以上时不得超过 0.05

3. 其他要求

- **狭缝宽度:** 需小于供试品吸光度半峰宽的 1/10，否则测得的吸光度偏低。对于可调狭缝的仪器，应选择吸光度最大的狭缝。
- **空白:** 由于吸收池和溶剂本身可能有空白吸收，因此测定的供试品的吸光度需扣除空白读数，或由仪器扣除空白吸光度后再计算。
- **PH:** 当 PH 对测定值有影响时，需使供试品溶液的 PH 与对照品 PH 一致。

三、检测方法

在确保紫外-可见分光光度计的性能符合药典要求后，可依据药典中各物质的鉴别、杂质、含量等项目下的方法检测。包括以下检测项目:

1. 吸收峰波长核对:

除另有规定外，应在品种规定的吸收峰波长 $\pm 2\text{nm}$ 范围内测几个点的吸光

度。也可由仪器在规定波长附近自动扫描测定，以核对供试品的吸收峰波长位置是否正确。吸收峰波长应在该品种项下规定的波长 $\pm 2\text{nm}$ 以内，并以吸光度最大的波长作为测定波长。若超出此范围，需考虑样品的同一性、纯度以及仪器波长的准确度等问题。如齐多夫定片应在在 265nm 波长处有最大吸收。

2. 吸收系数测定：

按各品种项下规定的方法配制供试品溶液，在规定的波长处测定其吸光度，并计算吸收系数，应符合规定范围。以甾体激素地塞米松为例，其性状项下规定需采用紫外 - 可见分光光度法测定 240nm 波长处的吸收系数，范围为 $380\text{-}410$ ，以此作为质量控制的一项重要指标。

3. 物质鉴别：

按各品种项下的规定，测定供试品溶液的最大及最小吸收波长，有的还须测定其在最大吸收波长与最小吸收波长处的吸光度比值，均应符合规定。如维生素 K1 需在 243nm 、 249nm 、 261nm 、 270nm 处有最大吸收，且在 228nm 、 246nm 、 254nm 、 266nm 处有最小吸收， A_{254}/A_{249} 应在 $0.70\sim 0.75$ 之间。

4. 检查：

按各品种项下的规定，要求供试品溶液在特定波长下的吸光度不能超过一定范围，可反映药品的质量和稳定性。如维生素 C 要求 440nm 处的吸光度不超过 0.07 。若超过 0.07 ，可能原因为该药品被氧化生成有色杂质或稳定性下降，影响药效。

5. 含量测定：

药典中常用的紫外-可见分光光度法含量测定包括对照品比较法、吸收系数法、标准曲线法等，需根据具体品种项下规定的方法进行操作。

5.1. 对照品比较法

按规定分别配制对照品和供试品溶液，对照品中所测成分的量应在供试品中所测成分标示量的 $(100\pm 10)\%$ 以内。用同一溶剂，在规定的波长处测定供试品和对照品的吸光度，根据公式计算供试品浓度，进而求得所含物质占标示量的百分比。

$$C_{\text{样品}} = \frac{A_{\text{样品}} \times C_{\text{对照品}}}{A_{\text{对照品}}}$$

5.2. 吸收系数法

按规定配制供试品溶液，在规定波长处测定其吸光度。依据药典中该药品在规定的条件下给出的吸收系数，按照公式计算供试品溶液的浓度，再计算含量。如采用紫外分光光度法中的吸收系数法测定对乙酰氨基酚原料、片剂、咀嚼片、栓剂、胶囊及颗粒剂中的对乙酰氨基酚含量。

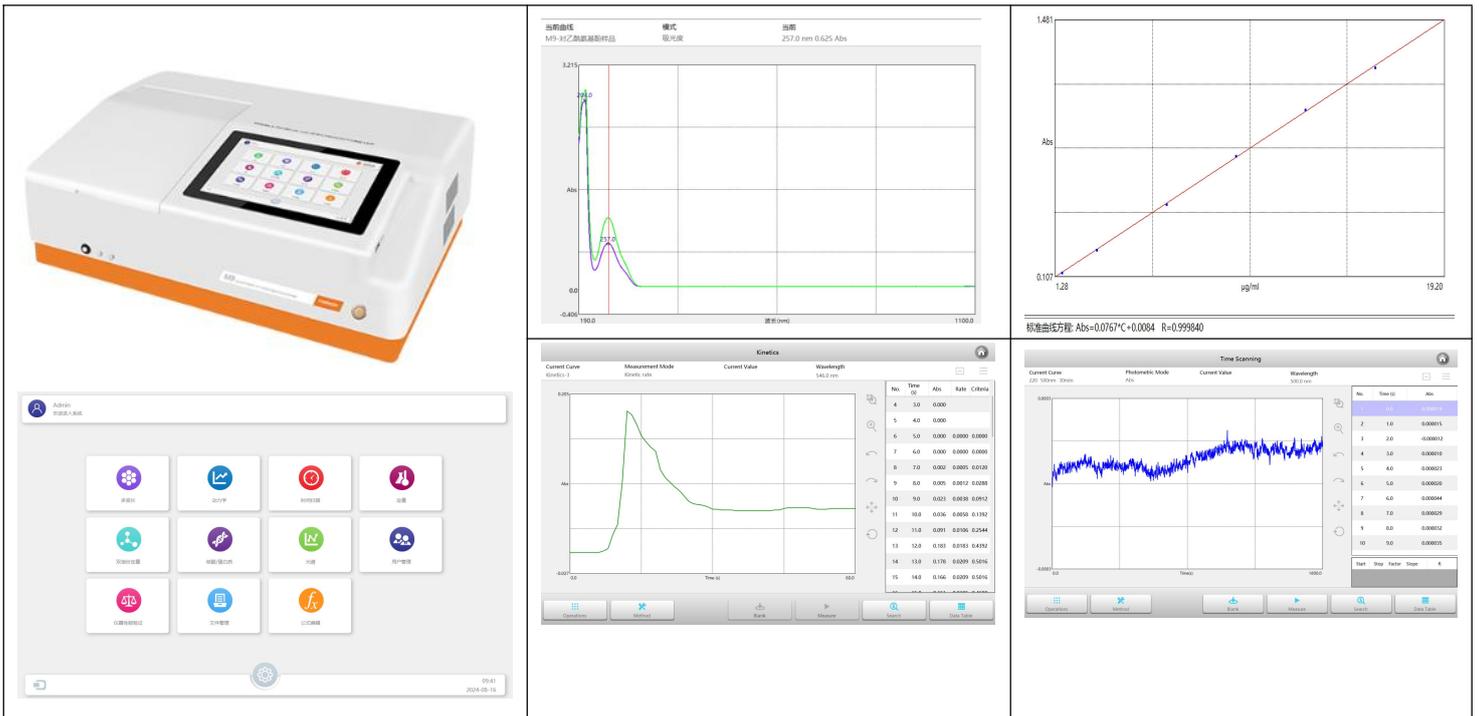
$$C = \frac{A}{E \times l}$$

其中 C 为浓度，A 为吸光度，E 为吸收系数，l 为光路长度

5.3. 标准曲线法

该方法是紫外-可见分光光度法最常用的定量方法。通过配制一系列不同浓度的对照品溶液，测定各对照品溶液的吸光度。以吸光度为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准曲线，并求出回归方程。测定样品溶液的吸光度，代入回归方程，求出样品溶液的浓度，进而计算含量。如检测人参茎叶总皂苷含量，与 1% 香草醛高氯酸试液会发生化学反应在 540nm 波长处，溶液的吸光度与人参茎叶总皂苷的浓度呈现出良好的线性关系，依据样品的吸光度从标准曲线算出样品中人参茎叶总皂苷的含量。

美谱达成立于 2005 年，专注于紫外可见分光光度计的生产、研发、制造、服务 20 余年。作为紫外-可见分光光度计的专业制造商，为您推荐氙灯系列的最新产品 M9，可满足制药行业的检测要求。非常希望美谱达的仪器能成为您在制药行业学习、科研、工作的得力助手！



主要特点：

- 光学系统：双光束光学系统，可避免光源波动、比色皿引起的误差。
- 光源：采用长寿命脉冲闪烁氙灯，减少耗时且昂贵的光源更换，保护样品安全无光降解，还能够避免室光干扰引起的失真。
- 可变光谱带宽：从 0.5nm、1nm、2nm、4nm 到 5nm，可满足所有分析项目对光谱带宽的要求。

- 丰富的附件：光纤测量探头、超微量、程控恒温、反射附件、自动样品池架以及各种尺寸的样品池架，适用于环境、材料、制药等行业对不同样品的测量需求。
- 仪器内置 10.1 英寸 IPS 彩色电容式触摸屏，无需额外配置电脑，可减少实验室占地面积节省宝贵空间。
- 仪器为客户提供便捷的测量方式，不仅包含常规的定量分析方法，还可自定义方法、编辑计算公式等，可满足更高级用户的科研要求。
- 软件：使用全新的 UVStudio 软件，设计符合 21CFR Part11 的要求，测试功能齐全，其中的审计追踪模块包含三级权限管理、电子签名、日志管理、数据库备份和恢复，符合药典的严格要求。
- 可提供主机、软件 IQ/OQ/PQ 所需的认证服务。