



### دستورالعمل کنترل کیفی اسپکتروفتومتر

مهمترین مواردی که در اسپکتروفتومترها مورد ارزیابی قرار می‌گیرند عبارتند از: خطی بودن، صحت فتومتریک، صحت طول موج، رانش و نورهای ناخواسته

#### ۱ خطی بودن Linearity

برای بررسی خطی بودن در طول موج ۵۴۰ نانومتر از محلول سیانومتهموگلوبین استفاده می‌شود.

ابتدا خون را با درابکین مخلوط نمائید، ذخیره ای از محلول سیانومتهموگلوبین با جذب نوری حدود ۲ بدست می‌آید. (مثال: از اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر خون با هموگلوبین ۱۷۰ g/l به ۵ میلی لیتر درابکین محلولی با جذب نوری حدود ۲,۰۹ بدست می‌آید. اگر میزان هموگلوبین نمونه کم باشد بایستی حجم بیشتری از خون را با درابکین مخلوط نمائید.)

"توجه: محلول آماده درابکین شفاف و به رنگ زرد روشن است. جذب آن در طول موج ۵۴۶ نانومتر صفر خوانده می‌شود، در صورت مشاهده کدورت و یا بیرنگ شدن آن را دور بریزید."  
"محلول آماده درابکین حاوی سانور بوده و سمی می‌باشد از تماس با پوست و دهان خودداری شود."  
"تذکر: در هر بار سمپلینگ سر نوک سمپلر یا پیپت های مورد استفاده را از خون پاک کرده و داخل آن را با درابکین شستشو دهید."

سپس از این محلول ذخیره حداقل ۴ رقت تهیه نمائید (به طور مثال ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶) سپس جذب نوری محلول ذخیره و رقت های تهیه شده را در طول موج یاد شده در مقابل بلانک درابکین قرانت نمائید تا ۵ خوانده بدست آید. جذب های نوری خوانده به عنوان مقدار مشاهده شده (observed) در نظر گرفته می‌شود.

برای محاسبه میزان خطا در هر رقت، جذب نوری (OD) رقتی از محلول که در حدود ۰,۴ باشد به عنوان مبنا انتخاب و میزان خطای سایر رقت ها با توجه به آن محاسبه می‌شود تا جذب مورد انتظار بدست بیاید.

بطور مثال اگر جذب نوری نمونه با رقت ۱/۴، حدود ۰,۴ باشد جذب نوری مورد انتظار برای رقت ۱/۲ بصورت زیر محاسبه می‌شود:

رقت	جذب نوری
۱/۴	۰,۴
۱/۲	x

مقدار مورد انتظار جذب نوری نمونه در رقت ۱/۲ می‌باشد = X

مقدار X بدست آمده، مقدار مورد انتظار (Expected) جذب نوری نمونه در رقت ۱/۲ می‌باشد. بدین ترتیب پس از محاسبه جذب نوری مورد انتظار برای رقت های مختلف، میزان عدم صحت هر رقت با استفاده از فرمول Bias تعیین می‌گردد.

$$Bias = \frac{exp ected - obsereved}{exp ected} * 100$$

میزان عدم صحت مجاز در هر رقت حداکثر ۵% پیشنهاد می‌شود.





## ۲- صحت فتومتری

صحت فتومتری با استفاده از محلول دي کرومات پتاسیم ۵۰ می باشد. برای این تست ابتدا اسپکتروفوتومتر توسط بلانک اسید سولفوریک ۰,۰۱ نرمال در طول موج ۳۵۰ نانومتر صفر شده و جذب نوری محلول دي کرومات پتاسیم ۵۰ قرائت می‌گردد. جذب نوری در محدوده  $0,536 \pm 0,005$  نشان دهنده صحت فتومتریك دستگاه می‌باشد.

## ۳- صحت طول موج

برای بررسی صحت طول موج برای اسپکتروفوتومترهایی که با نور مرئی کار می کنند از محلول سیانومتهموگلوبین (۲۰ میکرولیتر خون و ۵ میلی لیتر در ابکین) استفاده می شود که دارای حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر است. ابتدا با محلول در ابکین به عنوان بلانک دستگاه را صفر کرده و سپس جذب نوری نمونه در طول موج های ۵۳۰، ۵۳۵، ۵۴۰، ۵۴۵، ۵۵۰ نانومتر قرائت می گردد (لازم به ذکر است پس از هر تغییر طول موج، باید جذب نوری دستگاه با محلول بلانک صفر گردد). بر اساس طول موج و میزان جذب، منحنی رسم می گردد که در صورت صحت طول موج، حداکثر جذب نوری را در ۵۴۰ نانومتر نشان می دهد.

## ۴- آزمون رانش فتومتری (Drift)

ابتدا دستگاه را با در ابکین صفر می کنیم و پس از ریختن محلول سیانومتهموگلوبین در کووت و بستن درب آن با پارافیلیم، جذب نوری محلول را هر ۵ تا ۱۵ دقیقه یکبار (به مدت یک ساعت) در طول موج ۵۴۰ نانومتر می خوانیم. حداکثر تغییر مجاز در جذب های نوری خوانده شده در طی این مدت  $\pm 0,005$  می باشد.

## ۵- نور های ناخواسته (stray light)

از محلول سدیم نیتريت استفاده می شود که در مقابل بلانک آب مقطر در طول موج های ۳۰۰ تا ۳۸۵ نانومتر خوانش انجام می شود که ترانس میثانس می بایستی ۰٪ باشد.

طرز تهیه اسید سولفوریک ۰,۰۱ نرمال از اسید ۱ نرمال

۱ CC اسید سولفوریک نرمال را با آب مقطر به حجم ۱۰۰ CC می رسانیم.

