

附录IV A 紫外-可见分光光度法

仪器的校正和检定

1. 波长 由于环境因素对机械部分的影响,仪器的波长经常会略有变动,因此除应定期对所用的仪器进行全面校正检定外,还应于测定前校正测定波长。常用汞灯中的较强谱线 237.83nm, 253.65nm, 275.28nm, 296.73nm, 313.16nm, 334.15nm, 365.02nm, 404.66nm, 435.83nm, 546.07nm 与 576.96nm; 或用仪器中氙灯的 486.02nm 与 656.10nm 谱线进行校正; 钨玻璃在波长 279.4nm, 287.5nm, 333.7nm, 360.9nm, 418.5nm, 460.0nm, 484.5nm, 536.2nm 与 637.5nm 处有尖锐吸收峰, 也可作波长校正用, 但因来源不同或随着时间的推移会有微小的变化, 使用时应注意; 近年来, 常使用高氯酸钨溶液校正双光束仪器, 以 10% 的高氯酸为溶剂, 配制含 4% 氧化钨 (WO_3) 的溶液, 该溶液的吸收峰波长为 241.13nm, 278.10nm, 287.18nm, 333.44nm, 345.47nm, 361.31nm, 416.28nm, 451.30nm, 485.29nm, 536.64nm 和 640.52nm。

仪器波长的允许误差为: 紫外区 $\pm 1\text{nm}$, 500nm 处 $\pm 2\text{nm}$, 700nm 处 $\pm 4.8\text{nm}$ 。

2. 吸光度的准确度 可用重铬酸钾的硫酸溶液检定。取在 120℃ 干燥至恒重的基准重铬酸钾约 60mg, 精密称定, 用 0.005mol/L 硫酸溶液溶解并稀释至 1000ml, 在规定的波长处测定并计算其吸收系数, 并与规定的吸收系数比较, 应符合表中的规定。

波长/nm	235 (最小)	257 (最大)	313 (最小)	350 (最大)
吸收系数 ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$) 的规定值	124.5	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

3. 杂散光的检查 可按下表所列的试剂和浓度, 配制成水溶液, 置 1cm 石英吸收池中, 在规定的波长处测定透光率, 应符合表中的规定。

试剂	浓度/% (g/ml)	测定用波长/nm	透光率/%
碘化钠	1.00	220	<0.8
亚硝酸钠	5.00	340	<0.8

对溶剂的要求

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，它们的使用范围均不能小于截止使用波长。例如甲醇、乙醇的截止使用波长为 205nm。另外，当溶剂不纯时，也可能增加干扰吸收。因此，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（即空白光路中不置任何物质）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。

测定法

测定时，除另有规定外，应以配制供试品溶液的同批溶剂为空白对照，采用 1cm 的石英吸收池，在规定的吸收峰波长±2nm 以内测试几个点的吸光度，或由仪器在规定的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。除另有规定外，吸收峰波长应在该品种项下规定的波长±2nm 以内，并以吸光度最大的波长作为测定波长。一般供试品溶液的吸光度读数，以在 0.3～0.7 之间为宜。仪器的狭缝波带宽度应小于供试品吸收带的半高宽度的十分之一，否则测得的吸光度会偏低；狭缝宽度的选择，应以减小狭缝宽度时供试品的吸光度不再增大为准。由于吸收池和溶剂本身可能有空白吸收，因此测定供试品的吸光度后应减去空白读数，或由仪器自动扣除空白读数后再计算含量。

当溶液的 pH 值对测定结果有影响时，应将供试品溶液的 pH 值和对照品溶液的 pH 值调成一致。

1. 鉴别和检查 分别按各品种项下规定的方法进行。
2. 含量测定 一般有以下几种。

（1）对照品比较法 按各品种项下的方法，分别配制供试品溶液和对照品溶液，对照品溶液中所含被测成分的量应为供试品溶液中被测成分规定量的 100%±10%，所用溶剂也应完全一致，在规定的波长处测定供试品溶液和对照品溶液的吸光度后，按下式计算供试品中被测溶液的浓度：

$$c_X = (A_X / A_R) c_R$$

式中 c_X 为供试品溶液的浓度；

A_X 为供试品溶液的吸光度；

c_R 为对照品溶液的浓度；

A_R 为对照品溶液的吸光度。

(2) 吸收系数法 按各品种项下的方法配制供试品溶液，在规定的波长处测定其吸光度，再以该品种在规定条件下的吸收系数计算含量。用本法测定时，吸收系数通常应大于 100，并注意仪器的校正和检定。

(3) 计算分光光度法 计算分光光度法有多种，使用时均应按各品种项下规定的方法进行。当吸光度处在吸收曲线的陡然上升或下降的部位测定时，波长的微小变化可能对测定结果造成显著影响，故对照品和供试品的测试条件应尽可能一致。计算分光光度法一般不宜用作含量测定。

(4) 比色法 供试品本身在紫外-可见区没有强吸收，或在紫外区虽有吸收但为了避免干扰或提高灵敏度，可加入适当的显色剂显色后测定，这种方法为比色法。

用比色法测定时，由于显色时影响显色深浅的因素较多，应取供试品与对照品或标准品同时操作。除另有规定外，比色法所用的空白系指用同体积的溶剂代替对照品或供试品溶液，然后依次加入等量的相应试剂，并用同样方法处理。在规定的波长处测定对照品和供试品溶液的吸光度后，按上述(1)法计算供试品浓度。

当吸光度和浓度关系不呈良好线性时，应取数份梯度量的对照品溶液，用溶剂补充至同一体积，显色后测定各份溶液的吸光度，然后以吸光度与相应的浓度绘制标准曲线，再根据供试品的吸光度在标准曲线上查得其相应的浓度，并求出其含量。