

附錄XIV 紫外—可見分光光度法

儀器的校正和檢定

- (1) **波長**—由於環境因素對機械部分的影響，儀器的波長經常會略有變動，因此除應定期對所用的儀器進行全面校正檢定外，還應於測定前校正測定波長。常用汞燈中的較強譜綫237.8 nm、253.7 nm、275.3 nm、296.7 nm、313.2 nm、334.2 nm、365.0 nm、404.7 nm、435.8 nm、546.1 nm與577.0 nm，或用儀器中氙燈的486.0 nm與656.1 nm譜綫進行校正，鈦玻璃在波長279.4 nm、287.5 nm、333.7 nm、360.9 nm、418.5 nm、460.0 nm、484.5 nm、536.2 nm與637.5 nm處有尖銳吸收峰，也可作波長校正用，但因來源不同或隨著時間的推移會有微小的變化，使用時應注意。
- (2) **吸光度的準確度**—可用重鉻酸鉀的硫酸溶液檢定。取在120°C 乾燥至恒重的基準重鉻酸鉀約60 mg，精密稱定，用0.005 mol/L 硫酸溶液溶解並稀釋至1000 mL，在規定的波長處測定並計算其吸收系數，並與規定的吸收系數比較，應符合表中的規定。

波長/nm	235 (最小)	257 (最大)	313 (最小)	350 (最大)
吸收系數 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) 的規定值	124.5	144.0	48.6	106.6
吸收系數 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) 的許可範圍	123.0 - 126.0	142.8 - 146.2	47.0 - 50.3	105.5 - 108.5

- (3) **雜散光的檢查**—可按下表所列的試劑和濃度，配製成水溶液，置1-cm 石英吸收池中，在規定的波長處測定透光率，應符合表中的規定。

試劑	濃度 / % (g/mL)	測定用波長 / nm	透光率 / %
碘化鈉	1.00	220	<0.8
亞硝酸鈉	5.00	340	<0.8

對溶劑的要求

含有雜原子的有機溶劑，通常均具有很強的末端吸收。因此，當作溶劑使用時，它們的使用範圍均不能小於截止使用波長。例如甲醇、乙醇的截止使用波長為205 nm。另外，當溶劑不純時，也可能增加干擾吸收。因此，在測定供試品前，應先檢查所用的溶劑在供試品所用的波長附近是否符合要求，即將溶劑置1-cm 石英吸收池中，以空氣為空白（即空白光路中不置任何物質）測定其吸光度。溶劑和吸收池的吸光度，在220-240 nm 範圍內不得超過0.40，在241-250 nm 範圍內不得超過0.20，在251-300 nm 範圍內不得超過0.10，在300 nm 以上時不得超過0.05。

測定法

測定時，除另有規定外，應以配製供試品溶液的同批溶劑為空白對照，採用1 cm的石英吸收池，在規定的吸收峰波長 ± 2 nm 以內測試幾個點的吸光度，或由儀器在規定波長附近自動掃描測定，以核對供試品的吸收峰波長位置是否正確。除另有規定外，吸收峰波長應在該品種項下規定的波長 ± 2 nm 以內，並以吸光度最大的波長作為測定波長。一般供試品溶液的吸光度讀數，以在0.3-0.7 之間的誤差較小。儀器的狹縫波帶寬度應小於供試品吸收帶的半寬度的十分之一，否則測得的吸光度會偏低；狹縫寬度的選擇，應以減小狹縫寬度時供試品的吸光度不再增大為準。由於吸收池和溶劑本身可能有空白吸收，因此測定供試品的吸光度後應減去空白讀數，或由儀器自動扣除空白讀數後再計算含量。

當溶液的pH 值對測定結果有影響時，應將供試品溶液和對照品溶液的pH 值調成一致。

(1) **鑒別和檢查** — 分別按各品種項下的方法進行。

(2) **含量測定** — 一般有以下幾種：

- (a) **對照品比較法** — 按各品種項下的方法，分別配製供試品溶液和對照品溶液，對照品溶液中所含被測成份的量應為供試品溶液中被測成份規定量量的 $100\% \pm 10\%$ ，所用溶劑也應完全一致，在規定的波長處測定供試品溶液和對照品溶液的吸光度後，按下式計算供試品中被測溶液的濃度：

$$c_x = (A_x / A_R) c_R$$

式中

c_x	=	為供試品溶液的濃度；
A_x	=	為供試品溶液的吸光度；
c_R	=	為對照品溶液的濃度；
A_R	=	為對照品溶液的吸光度。

(b) **吸收系數法** — 按各品種項下的方法配製供試品溶液，在規定的波長處測定其吸光度，再以該品種在規定條件下的吸收系數計算含量。用本法測定時，吸收系數通常應大於100，並注意儀器的校正和檢定。

(c) **比色法** — 供試品溶液加入適量顯色劑後測定吸光度以測定其含量的方法為比色法。

用比色法測定時，應取數份梯度量的對照品溶液，用溶劑補充至同一體積，顯色後，以相應試劑為空白，在各品種規定的波長處測定各份溶液的吸光度，以吸光度為縱坐標，濃度為橫坐標繪製5點標準曲線，得斜率、截距、回歸方程及相關系數。按下列公式計算供試品溶液中待測成份的濃度：

$$\text{待測成份濃度} = \frac{A - I}{m}$$

式中

A	=	供試品溶液中待測成份吸光度
I	=	5點標準曲線的截距；
m	=	5點標準曲線的斜率。

按下列公式計算供試品溶液中待測成份的濃度

$$\text{待測成份百分含量 (\%)} = \frac{C \times V \times D}{10000W}$$

式中

C	=	供試品溶液中待測成份的濃度 (mg/L)；
D	=	溶液稀釋因子；
V	=	供試品溶液最後製成體積 (mL)；
W	=	用以製備供試品溶液的樣品量 (g)。

也可取對照品溶液與供試品溶液同時操作，顯色後，以相應的試劑為空白，在各品種規定的波長處測定對照品和供試品溶液的吸光度，按上述 (a) 法計算供試品溶液的濃度。