

中华人民共和国国家标准

化学试剂  
分子吸收分光光度法通则  
(紫外和可见光部分)

UDC 543.06: 54-41

GB 9721-88

Chemical reagent

General rules for the molecular absorption spectrophotometry

(ultraviolet and visible)

1 主题内容与适用范围

本标准规定了化学试剂分子吸收分光光度法(紫外和可见光部分)对仪器的要求和测定方法。  
本标准适用于波长在200~850nm之间,无机化学试剂中杂质含量的测定及有机化学试剂、指示剂和特效试剂的定性及定量分析。

2 引用标准

GB 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

GB 6682 实验室用水规格

3 术语及符号

3.1 波长 $\lambda$  (wavelength)

在周期波传播方向上,相邻两波同相位点间的距离。单位为nm。

3.2 吸收峰 $\lambda_{\text{最大}}$  (absorption peak)

吸收光谱中吸收最大的波长。单位为nm。

3.3 吸收光谱 (absorption spectrum)

待测物浓度和吸收池厚度不变时,吸光度(或吸光度的任意函数)对应波长(或波长的任意函数)的曲线。

3.4 光谱带宽 (spectral bandwidth)

用光谱强度的二分之一处的宽度表示。

3.5 入射光通量 $\Phi_0$  (incident flux)

照射介质表面的光通量。单位为lm。

3.6 透射光通量 $\Phi_{tr}$  (transmitted flux)

穿过介质内部后射出的光通量。单位为lm。

3.7 透射比 $\tau$  (transmittance)

透射光通量和入射光通量之比。

$$\tau = \frac{\Phi_{tr}}{\Phi_0} \dots\dots\dots (1)$$

**3.8 吸光度  $A$  (absorbance)**

透射比倒数的对数。

$$A = \log \frac{1}{\tau} \dots \dots \dots (2)$$

**3.9 参比光通量  $\Phi_r$  (reference flux)**

单色光通过参比物质, 并到达检测器的光通量。单位为lm。

**3.10 试样光通量  $\Phi_s$  (sample flux)**

单色光通过待测物质, 并到达检测器的光通量。单位为lm。

**3.11 百分透射率  $\tau'$  (percentage transmittance)**

试样光通量与参比光通量之比, 用百分率表示。

$$\tau'(\%) = \frac{\Phi_s}{\Phi_r} \times 100 \dots \dots \dots (3)$$

**3.12 厚度  $L$  (thickness)**

吸收池的两个平行且透光的内表平面之间的距离。单位为cm。

**3.13 光路长度  $b$  (optical path length)**

光通过吸收池内溶液的人射面和出射面之间的路程。

**3.14 物质的量浓度  $c$  (amount - of - substance concentration)**

溶质的物质的量和溶液体积之比。单位为mol/L。

**3.15 摩尔吸收系数  $\epsilon$  (molar absorptivity)**

厚度以厘米表示、浓度以摩尔每升表示的吸收系数。单位为L/cm·mol。

**4 方法原理**

溶液中待测物分子中的价电子能够选择性地吸收紫外或可见光, 从基态跃迁到激发态, 形成紫外可见吸收光谱。根据紫外可见吸收光谱中的吸收峰和摩尔吸收系数, 进行定性分析。

从光源辐射出的光, 经过波长选择器成为单色光。当单色光通过待测溶液时, 被溶液中具有一定特征吸收的化合物吸收, 吸收大小与溶液中待测物浓度的关系符合朗伯-比尔定律:

$$A = \log \frac{\Phi_0}{\Phi_{tr}} = K \cdot b \cdot c \dots \dots \dots (4)$$

- 式中:  $A$ ——吸光度;  
 $\Phi_0$ ——入射光通量;  
 $\Phi_{tr}$ ——透射光通量;  
 $K$ ——吸收系数;  
 $b$ ——光路长度;  
 $c$ ——溶液中待测物浓度。

当光路长度  $b$  与吸收系数  $K$  一定时, 吸光度  $A$  与溶液中待测物浓度  $c$  成正比。利用此定律可进行定量分析。

**5 试剂**

**5.1 水**

校正仪器时配制溶液的水应符合GB 6682中二级水的规格。检验样品时所用的水, 根据测定要求选择GB 6682中二级水或三级水。

**5.2 有机溶剂**

根据产品标准的要求选择适宜的溶剂，并检查所用溶剂在测定波长附近是否符合要求，不得有干扰吸收峰。

检定方法是用 1 cm 石英吸收池，以空气为参比，在规定波长下测定有机溶剂的吸光度。不同波长下的吸光度见表 1。

表 1

波长范围, nm	吸光度
220 ~ 240	<0.4
241 ~ 250	<0.2
251 ~ 300	<0.1
300 以上	<0.05

### 5.3 缓冲溶液

按产品标准规定配制，当在紫外光区测定时，所用试剂应无吸收。

### 5.4 标准样品溶液

按产品标准中规定，与待测样品溶液同时配制。

## 6 仪器

### 6.1 仪器主要组成部分

分光光度计的主要部件包括光源、波长选择器、吸收池、检测器及测量系统等。

#### 6.1.1 光源

能发射所需波长范围的光的器件。可见光源常用钨丝灯（或碘钨灯），波长范围约为 320 ~ 2500 nm，紫外光源常用氢灯（或氘灯），波长范围约为 200 ~ 350 nm。

#### 6.1.2 波长选择器

能从光源辐射光中分离出一定波长范围光的器件。通常为滤光片、棱镜或光栅。固定波长选择器常用滤光片，连续变化波长选择器常用棱镜或光栅。

#### 6.1.3 吸收池

盛放待测样品溶液的容器。该容器应具有两面互相平行、透光且有精确厚度的平面。按材质可分为玻璃和石英两种。玻璃吸收池用于可见光波长范围的测定；石英吸收池用于紫外光及可见光波长范围的测定。

#### 6.1.4 检测器

能把光信号转变为电信号的器件。通常为光电管或光电倍增管等。

#### 6.1.5 测量系统

能放大电信号并将其转变为用百分透射率或吸光度显示的器件。由放大器及指示器等组成。

### 6.2 仪器性能要求及测定方法

#### 6.2.1 光谱范围

光谱范围是指仪器能测量的波长范围。紫外光谱范围是 200 ~ 380 nm，可见光谱范围为 380 ~ 850 nm。

#### 6.2.2 测量范围

仪器的测量范围即百分透射率或吸光度的测定范围。百分透射率为 0 ~ 100%，吸光度为 0 ~ 2。

#### 6.2.3 波长准确度

单色光的最大强度波长值与波长指示值之差，应符合仪器规定的数值。可选择下述一种方法确定波长准确度：

- a. 利用汞灯的较强光谱线253.65、296.73、313.16、365.02、404.66、435.83、546.07nm；  
 b. 利用氢灯光谱线486.13、656.28nm（或氘灯光谱线486.02、656.10nm）；  
 c. 利用钛玻璃或锗玻璃的特征吸收峰，其吸收峰以各仪器给定的波长数值为准。  
 若波长准确度大于规定的数值时，应按仪器说明书调整波长刻度至仪器规定的数值。

#### 6.2.4 分辨率

是指仪器分开相邻的两条谱线的能力。

分辨率的确定可选择下述一种方法：

- a. 用汞灯为光源时，当仪器狭缝较小（约0.2nm）时，汞灯三条谱线365.02、365.48、366.33nm应能明显分清；  
 b. 用氢灯（或氘灯）为光源时，当仪器狭缝较小（约0.2nm）时，测定氢灯波长在486.13、656.28nm（或氘灯波长在486.02、656.10nm）的光谱带宽应小于0.5nm。

#### 6.2.5 吸光度的准确度

吸光度的仪器读数与标准溶液的标准值之差。测定方法分为紫外光区和可见光区两部分。

##### 6.2.5.1 紫外光区的测定

用1cm石英吸收池，以硫酸溶液 $[c(\frac{1}{2}H_2SO_4) = 0.005mol/L]$ 为参比溶液，在表2中规定的波长处测定重铬酸钾溶液的吸光度，标准吸光度值见表2。测定相对误差为 $\pm 1\%$ 。

表 2

波长, nm	235	257	313	350
吸光度	0.748	0.865	0.292	0.640

注：1) 重铬酸钾溶液的配制：准确称取0.0600g在120℃干燥至恒重的基准重铬酸钾，用硫酸溶液 $[c(\frac{1}{2}H_2SO_4) = 0.005mol/L]$ 溶解并稀释至100mL。

##### 6.2.5.2 可见光区的测定

用1cm吸收池，以硫酸溶液（1+100）为参比溶液，在表3中规定的波长处测定硫酸铜溶液的吸光度，标准吸光度值见表3。测定相对误差为 $\pm 1\%$ 。

表 3

波长, nm	650	700	750
吸光度	0.224	0.527	0.817

注：1) 硫酸铜溶液的配制：准确称取2.000g硫酸铜 $(CuSO_4 \cdot 5H_2O)$ ，用硫酸溶液（1+100）溶解并稀释至100mL。

#### 6.2.6 杂散光

检测器在给定标称波长处所接收的光线中夹杂有不属于入射光束的或带通外部的光线。

杂散光的测定：用1cm石英吸收池，以水为参比溶液，在表4中规定的波长处分别测定碘化钠溶液（10g/L）及亚硝酸钠溶液（50g/L）的百分透射率。百分透射率应小于1%。

表 4

波长, nm	220	380
测定溶液	碘化钠溶液	亚硝酸钠溶液

#### 6.2.7 吸收池的校准及配对

在定量工作中，尤其是在紫外光波长测定时，需对吸收池作校准及配对工作，以消除吸收池的误差。

校准及配对方法：在测定的波长下，于干净的吸收池中注入测定用的溶剂，以其中一个吸收池为参比，测定其他吸收池的吸光度。若测定的吸收池吸光度为零，或两个被测吸收池的吸光度相等，则为配对吸收池。若不能配对，则选出吸光度最小的吸收池为参比，测定其他吸收池的吸光度，并求出校正值。

测定样品时，将待测溶液注入校准过的吸收池中，将测定的吸光度值减去该吸收池的校正值，即为测定的真实值。

### 6.3 仪器实验室条件

仪器的设置条件应符合下述要求：

- a. 在仪器的附近不应有产生强磁场、电场及高频电磁场等的设备；
- b. 在仪器附近不应有强振动或连续的振动；
- c. 室内无腐蚀性气体或灰尘，仪器不受阳光直射；
- d. 室温在 5 ~ 35℃ 之间，相对湿度在 30 ~ 85% 之间。

## 7 测定

### 7.1 测定条件的选择

#### 7.1.1 光源

根据测定的波长选择光源。测定波长 200 ~ 350 nm 时用氢灯（或氘灯），测定波长 350 ~ 850 nm 时用钨丝灯（或碘钨灯）。

#### 7.1.2 狭缝宽度

根据待测物的类别及检验要求，选择适宜的狭缝宽度。在保持入射光和透射光狭缝宽度一致的情况下，调节狭缝宽度，使狭缝透出的光谱带宽小于样品吸收带的带宽。狭缝宽度的选择，应以减少狭缝宽度时待测物的吸光度不再增加为准。通常测定时选用狭缝宽度为 1 mm。

#### 7.1.3 测定的波长

在制定产品标准时，根据待测物吸收峰的位置确定测定的波长，通常是在吸光度最大的波长范围内选择。若最大吸收峰很尖锐或有其他吸收峰干扰时，可选择吸收曲线中的其他波长。

#### 7.1.4 吸收池

根据测定的波长选择不同材质的吸收池。波长为 200 ~ 350 nm 时用石英吸收池，波长为 350 ~ 850 nm 时用玻璃或石英吸收池。若样品溶液有易挥发的有机溶剂、酸、碱时，应加盖防止挥发。测定强腐蚀性溶液时，应尽快测定，测定后迅速洗涤吸收池。

#### 7.1.5 样品溶液

按产品标准规定配制。该溶液应均匀和非散射性，即不能有气泡和悬浮物等影响光线吸收的物质存在。

#### 7.1.6 吸光度的读数范围

为了减少测定的误差，吸光度读数一般在 0.2 ~ 0.8 之间，必要时可调节溶液的浓度或改变吸收池厚度，使溶液的吸光度在此范围内。

#### 7.1.7 其他仪器条件

根据测定方法及要求，对仪器波长扫描速度、记录纸速、满刻度表示的吸光度等仪器条件均按仪器说明书作适当选择。

### 7.2 测定方法

#### 7.2.1 吸收曲线法

使用自动记录型仪器时，可自动扫描绘出吸收曲线。

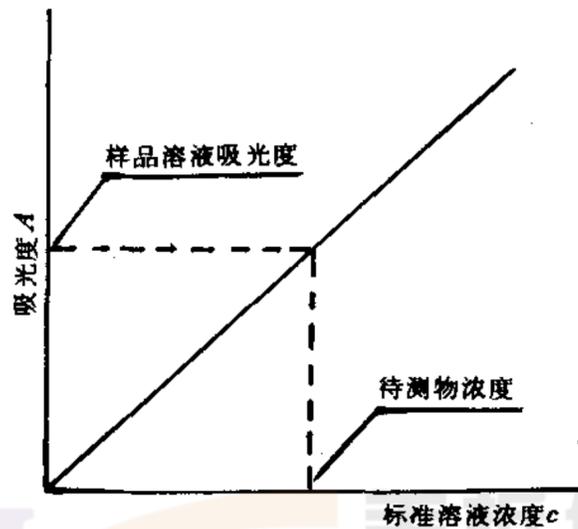
使用非自动记录型仪器时，在规定的波长范围内每隔 10 nm 测定一次吸光度，在吸收峰附近时，

可见光区每隔 2 nm、紫外光区每隔 1 nm 测定一次。以波长为横坐标，相应的吸光度为纵坐标，绘制吸收曲线。

此方法适用于定性分析及样品纯度的确定。

7.2.2 工作曲线法

按产品标准的规定配制四个以上浓度成适当比例的标准溶液，以空白溶液为参比溶液<sup>1)</sup>，在规定波长下，分别测定吸光度。以标准溶液浓度为横坐标，相应的吸光度为纵坐标，绘制工作曲线。同时配制适当浓度的样品溶液，在上述条件下测定吸光度，并在工作曲线上查出待测物浓度<sup>2)</sup>（见下图）。待测物的浓度应在工作曲线范围内。



此方法适用于杂质含量的测定。

- 注：1) 必要时可选用溶剂作为参比溶液进行测定，同时用空白溶液的吸光度进行校正。  
2) 该浓度也可根据测定的吸光度用回归方程法计算。

7.2.3 分光含量测定

根据产品的不同性质确定测定方法。特效试剂可在测定条件下与金属离子生成有色络合物，测定其溶液的吸光度，用标准对照法计算含量；酸碱指示剂可采用柱层析等方法，将杂质分离后，测定主体溶液的吸光度，用标准对照法计算含量。

7.2.4 灵敏度测定

根据产品的不同性质确定测定方法。灵敏度可用摩尔吸收系数 $\epsilon$ 表示。

摩尔吸收系数按式(5)计算：

$$\epsilon = \frac{A}{c \cdot b} \dots\dots\dots (5)$$

- 式中： $\epsilon$  —— 摩尔吸收系数，L / cm · mol；  
A —— 吸光度；  
c —— 被测物之物质的量浓度，mol / L；  
b —— 光程长度（即吸收池厚度），cm。

8 精密度

- 杂质含量测定的相对标准偏差不大于 5%。  
分光含量及灵敏度测定的相对标准偏差不大于 2%。

**附加说明：**

本标准由全国化学标准化技术委员会化学试剂分会提出。

本标准由北京化学试剂总厂归口。

本标准由北京化学试剂总厂负责起草。

自本标准实施之日起，原化工部部标准HG 3—1005—76《化学试剂 分光光度法通则（可见和紫外部分）》作废。

 美析仪器  
MACY INSTRUMENT  
专业光度计系列生产厂家  
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686