**紫外-可见分光光度法测定未知物**

**（一）仪器**

1.紫外可见分光光度计（UV-1800PC-DS2）；配1cm石英比色皿2个（比色皿可以自带）；

2.容量瓶：100mL 15个；

3.吸量管：10mL 5支；

4.烧杯： 100mL 5个；

**（二）试剂**

1.标准物质贮备溶液：山梨酸（2.0000mg/mL），磺基水杨酸（2.5000mg/mL）、苯甲酸（1.5000mg/mL）

2.未知液：三种标准物质溶液中的任何一种，浓度范围（0.7~1.5mg/mL）

**（三）操作步骤**

1.吸收池配套性检查

石英吸收池在220nm装蒸馏水，以一个吸收池为参比，调节τ为100%，测定其余吸收池的透射比，其偏差应小于0.5%，可配成一套使用，记录其余比色皿的吸光度值。

2.未知物的定性分析

将三种标准试剂溶液和未知液配制成约为一定浓度的溶液。以蒸馏水为参比，于波长200～350nm范围内测定溶液吸光度，并作吸收曲线。根据吸收曲线的形状确定未知物，并从曲线上确定最大吸收波长作为定量测定时的测量波长，190～210nm处的波长不能选择为最大吸收波长。

3.标准工作曲线绘制

分别准确移取一定体积的标准溶液于所选用的100mL容量瓶中，以蒸馏水稀释至刻线，摇匀（绘制标准曲线必须是七个点，七个点分布要合理）。根据未知液吸收曲线上最大吸收波长，以蒸馏水为参比，测定吸光度。然后以浓度为横坐标，以相应的吸光度为纵坐标绘制标准工作曲线。

4.未知物的定量分析

确定未知液的稀释倍数，并配制待测溶液于所选用的100mL容量瓶中，以蒸馏水稀释至刻线，摇匀。根据未知液吸收曲线上最大吸收波长，以蒸馏水为参比，测定吸光度。根据待测溶液的吸光度，确定未知样品的浓度。未知样品平行测定3次。

**（四）结果处理**

根据未知样品溶液的稀释倍数，求出未知物的含量。

计算公式：

——原始未知溶液浓度，μg/mL；

——查出的未知溶液浓度，μg/mL；

——未知溶液的稀释倍数。