

Agilent Cary 3500 紫外-可见分光光度计具有优异的吸光度准确度以及超过 3 Abs 的线性动态范围

根据美国药典 (USP) 所述的指导原则，使用不同浓度的重铬酸钾 ($K_2Cr_2O_7$) 证明 Agilent Cary 3500 可提供高达 3.5 Abs 的线性动态范围和该范围内优异的光度准确度。

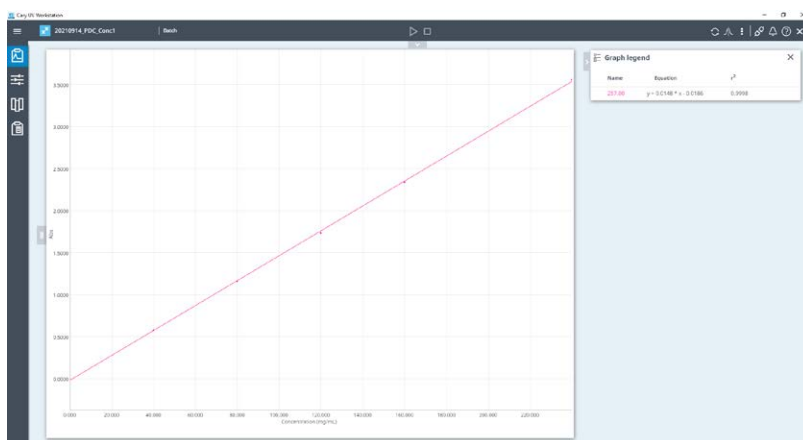
分光光度计的光度准确度和线性决定了其测量化合物吸光度的能力，该吸光度与已知的吸光系数或浓度直接相关。

光度准确度决定了仪器测量样品吸光度的准确程度。光度准确度不佳时，将会导致错误的结果。

光度线性则决定了仪器在浓度不断增加的情况下测量吸光度的准确程度。光度线性不佳时，也会产生错误的结果。

针对这两个参数的所有测试均依赖于朗伯-比尔定律，该定律指出吸光度与样品浓度之间存在线性关系（参见图 1）。吸光度与浓度之间简单的线性关系以及紫外-可见光相对容易的测量方法使得紫外-可见光谱法成为了数千种定量分析方法的基础。

图 1. Cary UV 工作站软件的屏幕截图，显示了在 257 nm 下得到的 40–240 mg/L 重铬酸钾的校准曲线。在最高浓度下，吸光度高于 3.5 Abs。校准曲线的 R^2 为 0.9998



分光光度计保持线性检测的动态范围也很重要。宽线性动态范围可以允许分析高度浑浊的样品以及各种浓度的样品，而且可以缩短样品前处理（稀释）所需的时间。

根据美国药典 (USP) 所述的指导原则，使用不同浓度的重铬酸钾 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 可证明 Agilent Cary 3500 的光度准确度和线性动态范围。

光度准确度

使用重铬酸钾 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 有证标准物质进行光度准确度测试。测试紫外区光谱的光度准确度的 USP 方法需要使用重铬酸钾 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 的稀高氯酸溶液进行检测。然后测定其在 235 nm、257 nm、313 nm 和 350 nm 下的吸光度。吸光度低于 1 Abs 时，吸光度准确度（误差）必须在 ± 0.01 Abs 以内；吸光度高于 1 Abs 时，准确度必须在实测吸光度的 $\pm 1\%$ 以内。

表 1 显示了测量五种不同的重铬酸钾有证标准物质所得到的结果。所有结果都处于 USP 要求的准确度范围内。

表 1. 使用经认证的 40–240 mg/L 重铬酸钾 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 测得的光度准确度。利用 0.001 mol/L 高氯酸溶液作为空白，并且测量过程中将参比光束留空

重铬酸钾 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 40 mg/L					
波长 (nm)	标准值	Cary 3500 实测值 (n = 6)	实测值与标准值之差	准确度容差	典型结果
235.00	0.4931	0.4973	0.0042	± 0.010 Abs	合格
257.00	0.5704	0.5779	0.0075	± 0.010 Abs	合格
313.00	0.1914	0.1973	0.0059	± 0.010 Abs	合格
350.00	0.4239	0.4336	0.0097	± 0.010 Abs	合格
重铬酸钾 ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 80 mg/L					
波长 (nm)	标准值	Cary 3500 实测值 (n = 6)	实测值与标准值之差	准确度容差	典型结果
235.00	0.9995	1.0029	0.0034	± 0.010 Abs	合格
257.00	1.1562	1.1627	0.0065	$\pm 1\%$	合格
313.00	0.3874	0.3961	0.0087	± 0.010 Abs	合格
350.00	0.8559	0.8659	0.0100	± 0.010 Abs	合格

重铬酸钾 (K ₂ Cr ₂ O ₇) 120 mg/L					
波长 (nm)	标准值	Cary 3500 实测值 (n = 6)	实测值与标准值之差	准确度容差	典型结果
235.00	1.4974	1.4915	-0.0059	±1%	合格
257.00	1.7352	1.7319	-0.0033	±1%	合格
313.00	0.5751	0.5827	0.0076	±0.010 Abs	合格
350.00	1.2753	1.2807	0.0054	±1%	合格
重铬酸钾 (K ₂ Cr ₂ O ₇) 160 mg/L					
波长 (nm)	标准值	Cary 3500 实测值 (n = 6)	实测值与标准值之差	准确度容差	典型结果
235.00	2.0188	2.0141	-0.0047	±1%	合格
257.00	2.3451	2.3439	-0.0012	±1%	合格
313.00	0.7716	0.7791	0.0075	±0.010 Abs	合格
350.00	1.7147	1.7209	0.0062	±1%	合格
重铬酸钾 (K ₂ Cr ₂ O ₇) 240 mg/L					
波长 (nm)	标准值	Cary 3500 实测值 (n = 6)	实测值与标准值之差	准确度容差	典型结果
235.00	3.0867	3.0747	-0.0120	±1%	合格
257.00	3.5899	3.5886	-0.0013	±1%	合格
313.00	1.1686	1.1768	0.0082	±1%	合格
350.00	2.5988	2.6091	0.0103	±1%	合格

光度线性

为验证光度响应（线性），美国药典 (USP43-NF 38) 章节 <857> 紫外-可见光谱法指出：

“需要验证光度响应（线性），并且应使用适合所需波长的标准品类型评估光度响应，测量适合并涵盖所需操作范围的至少三种不同的吸收度水平。鉴于上述要求，无需通过计算标样响应的相关系数来证明线性；只需证明在所选的不同吸光度水平下均符合准确度的可接受限值即可”，而表 1 所列的数据证明符合该要求^[1]。

使用 Cary 3500 测量五份重铬酸钾标样，在 235 nm 和 257 nm 下生成的校准曲线处的 R² 值为 0.9998，在 313 nm 和 350 nm 下生成的校准曲线的 R² 值为 0.9999。如图 2 所示，Cary 3500 具有超过 3 Abs 的优异的光度线性。良好的光度线性意味着可以在不经稀释的情况下准确测量高浓度液体样品。

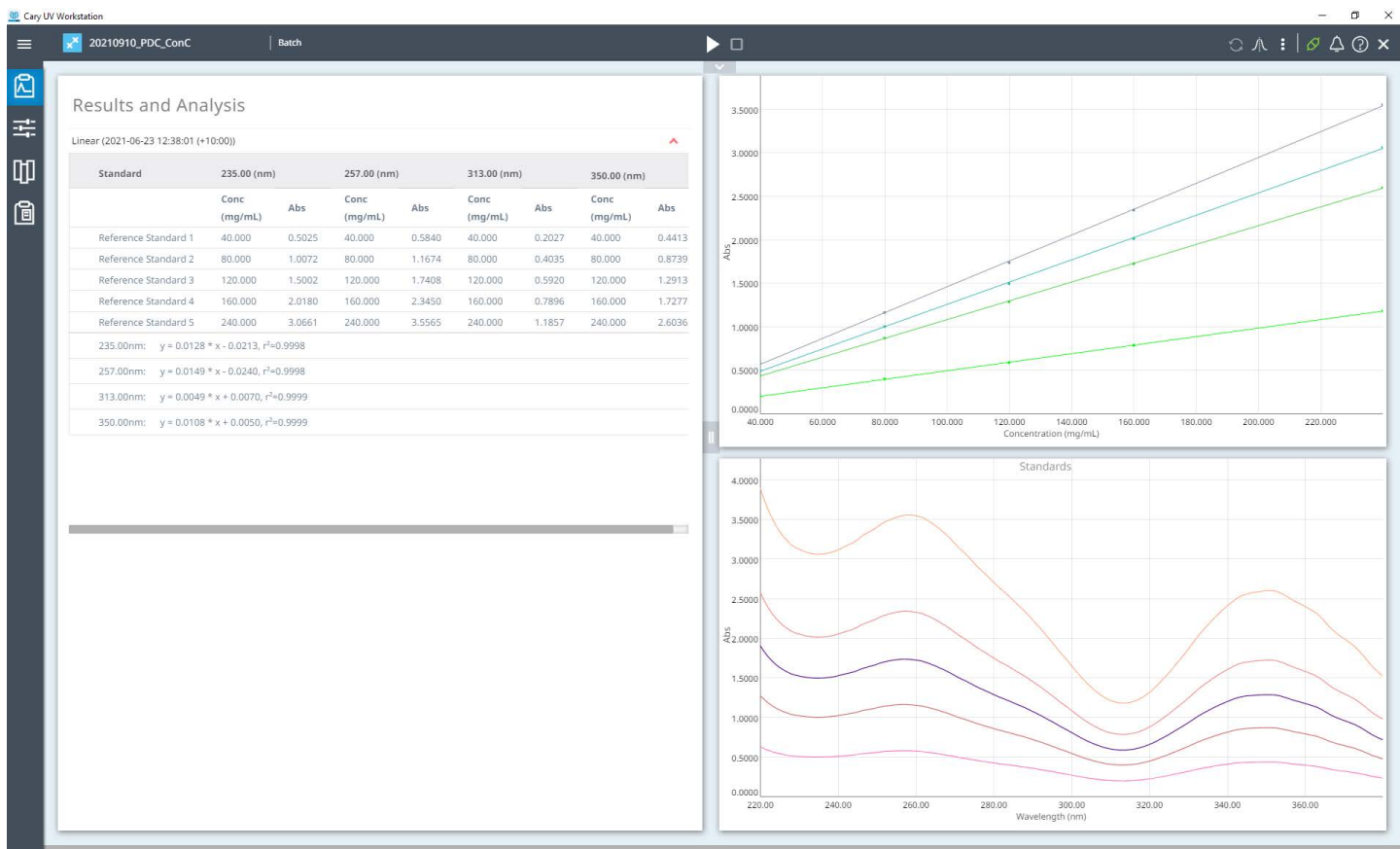


图 2. Cary UV 工作站软件的屏幕截图，显示了在 235 nm、257 nm、313 nm 和 350 nm 下得到的重铬酸钾的校准曲线（右上图）以及标样的相关波长扫描结果（右下图）。在左侧可以看到线性方程和相关系数，以及 235 nm、257 nm、313 nm 和 350 nm 下的原始值

吸光度与浓度 (mg/L) 的关系图表现出宽动态范围，并确认在 257 nm 的最大吸收波长下可成功对 40–240 mg/L 重铬酸钾进行定量分析。在最高的重铬酸钾浓度下，该波长下的吸光度超过 3 Abs。

参考文献

Chapter <857> Ultraviolet-Visible Spectroscopy. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP43-NF38 - 7166). DocID: GUID-4C5C1937-524A-4BED-95E7-384EDE3745E0_3_en-US

www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis

DE44467.2379976852

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2021
2021 年 10 月 17 日，中国出版
5994-3931ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

 **Agilent**
Trusted Answers