

采用 Agilent Cary 7000 全能型分光光度计 (UMS) 测量超过 10 Abs 的光密度

技术概述



准确测量高衰减光学滤光片

高截止度滤光片广泛用于多种消费品和工业产品中，在光控制方面起到十分重要的作用。高衰减（即高光密度）滤光片不仅应用于个人防护装备（例如激光防护眼镜），还可用于精确控制光学系统中的低光线水平，用以增强优选波长下的灵敏度。本技术概述展示了 Cary 7000 UMS 测量此类材料的性能。本研究采用的分析流程选用额定光密度已知，但实际精确光密度未知的滤光片来验证分光光度计的光度测量性能。借助滤光片叠加技术，我们在可见光区域超过 10 个吸光度单位 (Abs) 和近红外 (NIR) 波长区域超过 8 Abs 的范围内测量了此分光光度计的光度测量范围、准确度和线性。

前言

高光密度（或吸光度）的测量无论对于科学家、工程师，还是对于从事生物、光子行业到太阳镜设计等应用领域的生产商都具有重要意义。在其他一些领域中，高光密度测量同样至关重要，例如带通滤光片、阻挡滤光片以及截止滤光片的设计、生产和验证，强吸光性液体介质（例如高锰酸钾 [1]）的定量分析，以及混浊生物样品（例如含有细胞色素 P450 的样品 [2]）的

测定等等。准确测量这些高光密度样品的核心性能指标是所用分光光度计的光度准确度、线性和动态范围。

光度测量线性将决定分光光度计能否在光密度或浓度不断增加的情况下准确测量吸光度。如果仪器的线性较差，则校准曲线（例如）在高吸光度水平下可能会偏离线性，进而导致高光密度测量的准确性降低。光度准确度与线性共同决定分光光度计准确测量给定光密度或吸光度的能力。

要想精准测量吸光度，仪器的光度准确度和线性至关重要。与此类似，分光光度计响应的线性范围也同样重要。这个范围被称为“线性动态范围”，传统意义上是指吸光度与样品浓度彼此可以直接具备比例关系的范围 [3]。线性动态范围越宽，可测定的样品浓度（光密度）范围就越宽，此外，宽泛的线性动态范围还能大幅减少为了将样品浓度降至仪器性能范围之内而进行样品分析的次数和样品制备（稀释）次数 — 液体样品可能需要稀释，而固体样品则可能需要进行额外（有时甚至是破坏性的）处理。

在本例中，我们以制造光学滤光片使用的材料为样品，在可见光和 NIR 光谱范围内测量了这种材料的光密度。借助滤光片叠加技术，我们证明了仪器在可见光区域（约 640 nm）超过 10 Abs 和 NIR 区域（约 1500 nm）超过 8 Abs 范围内的光度测量范围、准确度和线性。

理论

“滤光片叠加技术”为确定分光光度计的光度测量线性和范围提供了一种直接、低成本的方法，该方法无需使用昂贵的校准标准品。使用该方法在电磁光谱可见光区域测量吸光度的应用请参阅其他文献 [4]。本例中，我们在分析样品之前采用相同的方法在可见光和 NIR 区域评估了仪器的光度测量性能，必要时还应用了后光束衰减。

当样品光束中的入射光发生高度衰减时，需要借助后光束衰减 (RBA) 来拓宽仪器的动态范围，以便平衡探测器上的样品信号和参比信号（或光强度）。使用 RBA 的典型情况包括测量高密度光学滤光片、在使用会导致光束衰减的样品支架或附件时进行光束平衡，或者测量高吸光度的样品（常见应用）。RBA 功能可通过使用下文介绍的网式滤光片或使用全自动化 Cary 后光束衰减器实现 [5]。

测量

为了研究可见光区域的光度测量范围，我们叠加 BG25 滤光片和网式滤光片进行了测量。

采集流程如下：将 RBA 的吸光度设置为 4.5 Abs。以 1 s 的光谱平均时间采集基线，然后分别测量 BG25 和网式滤光片。接下来将光谱平均时间延长至 50 s 以测量阻挡光束，然后测量叠加的 BG25 滤光片和网式滤光片。所有测量结果都用 %T 表示。在测量之间定位和移动滤光片时需格外小心。

接下来，从所有滤光片测量结果中扣除阻挡光束测量结果，并将结果转换为吸光度单位。将 BG25 滤光片和网式滤光片的光谱相加，得到的光谱即为所有滤光片叠加测量的预测光谱。采集参数汇总于表 1 中。

表 1. 用于在可见光区域测量叠加滤光片的参数汇总

参数	值
数据间隔	1 nm
光谱带宽	5 nm
光谱平均时间	1 s 或 50 s
后光束衰减	4.5 Abs
测量模式	双光束
狭缝高度	完整

Cary 7000 全能型分光光度计

使用类似方法在 NIR 区域测量两个叠加的 UG 11 滤光片。参数汇总于表 2 中。

表 2. 用于在 NIR 区域测量叠加滤光片的参数汇总

参数	值
数据间隔	4 nm
光谱带宽	可变
能量	1.0
光谱平均时间	1 s 或 10 s
后光束衰减	2.2 Abs
测量模式	双光束
狭缝高度	完整
检测器	PbSmart 硫化铅 (PbS)

结果与讨论

可见光区域叠加滤光片的测量结果见图 1。最大吸收峰位于约 640 nm 处，吸光度达 10 Abs 以上，实测值（红色光谱图）和预计值（绿色光谱图）能够完美匹配。滤光片叠加后测量得到的良好信噪比表明 Cary 7000 UMS 具有卓越的性能，甚至可以测量最大吸光度附近极弱的信号。

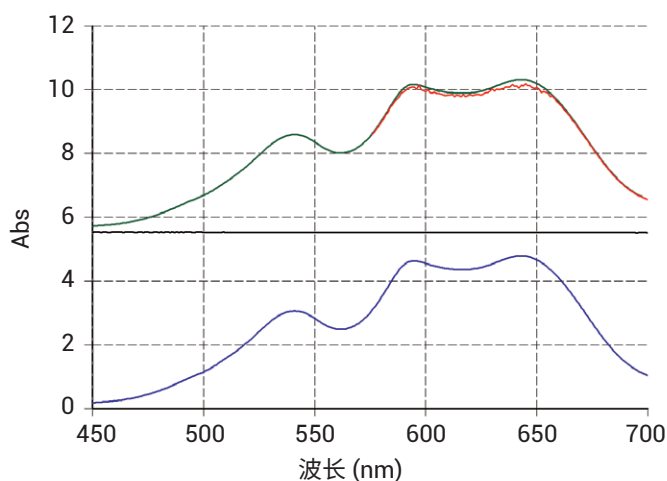


图 1. BG25 滤光片（蓝线）、网式滤光片（黑线）以及 BG25 与网式滤光片叠加（红线）测得的光谱图。绿色光谱是基于蓝色和黑色光谱加和的预测结果

NIR 区域叠加滤光片的测量结果见图 2。最大吸收峰位于约 1500 nm 处，吸光度达 8 Abs 以上，实测值（红色光谱图）和预计值（绿色光谱图）能够完美匹配。

Cary 7000 UMS 和 Cary 5000 UV-Vis-NIR 的 PbS NIR 检测器都使用了 PbSmart 技术，是市场上使用此技术仅有的两款产品。PbSmart 是一项控制 Agilent PbS 检测器的专利技术。它完美结合了优异的杂散光消除和仪器光学设计，拥有业界领先的 NIR 性能。相较市场上的其他仪器采用宽带 InGaAs 检测器来扩展 NIR 区域的线性动态范围，Cary 7000 UMS 和 Cary 5000 系统则是通过拓宽 PbSmart PbS 检测器的波长范围来实现。如果您的应用需要在 NIR 区域达到超过 8 Abs 的线性动态范围，Cary 6000i 分光光度计配备了窄带 InGaAs 检测器以及专为该检测器设计的衍射光栅，可以很好地满足您的需求。

所述滤光片叠加实验可以证明，该分光光度计在可见光区域超过 10 Abs 的范围内，以及 NIR 区域超过 8 Abs 的范围内均具有精准测量能力。实验结果清晰地表明，该分光光度计能够准确地测量高光密度。

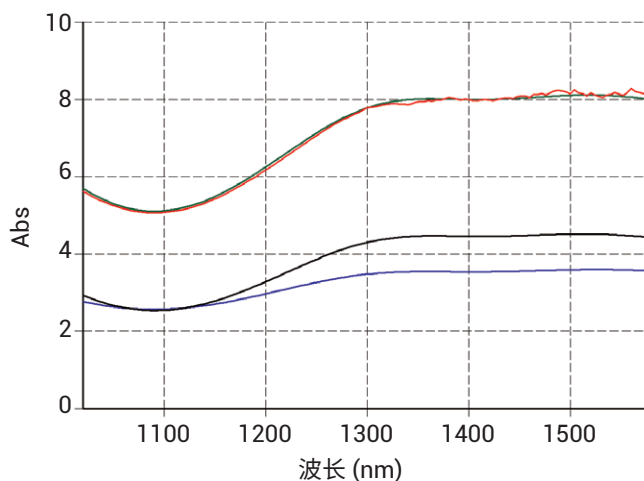


图 2. UG11 滤光片 1 的光谱（蓝色）、UG11 滤光片 2 的光谱（黑色）以及 UG11 滤光片 1 与 UG 11 滤光片 2 叠加测得的光谱（红色）。绿色光谱是基于蓝色和黑色光谱加和的预测结果

结论

通过滤光片叠加实验成功证明了 Cary 7000 全能型分光光度计在紫外-可见-近红外区域的光度测量范围、准确度和线性。使用同样的仪器，可轻松获得 NIR 区域超过 8 Abs 范围内的样品光谱，还能获得可见光区域超过 10 Abs 范围内的样品光谱。

参考文献

1. The Linear Dynamic Range of the New Generation Cary 4000, 5000 and 6000i spectrophotometers (新一代 Cary 4000、5000 和 6000i 分光光度计的线性动态范围)，产品说明，5990-7836EN，www.agilent.com
2. Josephy, D and Logan, D., 'A whole cell assay for spectroscopic measurement of recombinant cytochrome P450 expression in bacteria', *UV-Vis- NIR At Work* No.87, www.agilent.com
3. Hind, A.R., 'To improvements in spectrophotometry', *American Laboratory*, 34(24) 2002 32
4. Photometric Linearity Range of the New Generation Cary 4000/5000/6000i spectrophotometers (新一代 Cary 4000/5000/6000i 分光光度计的光度测量线性范围)，产品说明，5990-7843EN，www.agilent.com
5. Cary 后光束衰减器附件，www.agilent.com

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

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、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，2013

2013 年 5 月 30 日，中国出版
出版号：5991-2528ZHCN

