

8-2 液体吸光度测量

——软件操作

吸光度是用来衡量物质对光的吸收程度的物理量，用 A 表示。

$$A_{\lambda} = -\log_{10} \left(\frac{S_{\lambda} - D_{\lambda}}{R_{\lambda} - D_{\lambda}} \right)$$

A_{λ} = 波长 λ 处样品的吸光度；
 S_{λ} = 波长 λ 处样品光谱的强度；
 D_{λ} = 波长 λ 处背景光谱的强度；
 R_{λ} = 波长 λ 处参考光谱的强度。


朗伯比尔定律描述了浓度与吸光度的关系：

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} c l$$

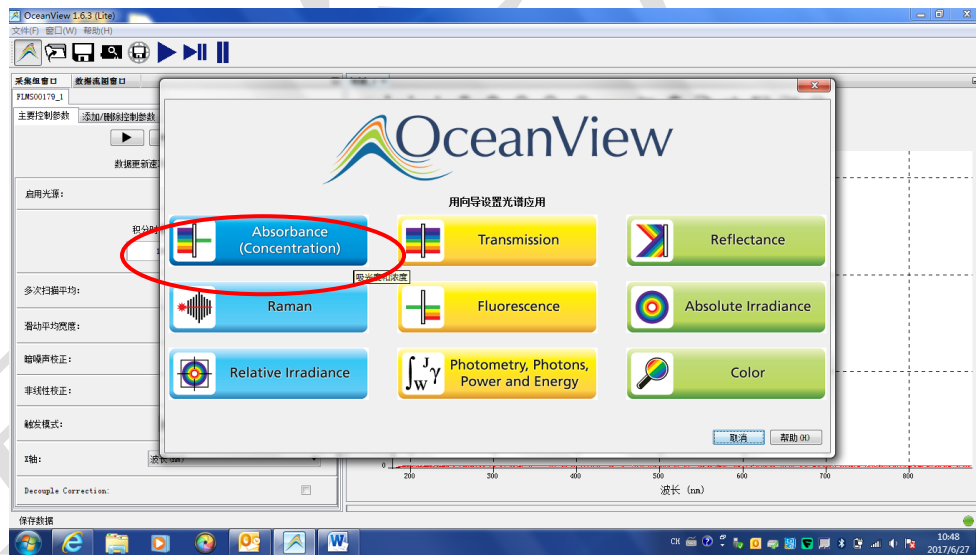
ϵ_{λ} = 波长 λ 处样品的消光系数； c = 样品的浓度； l = 吸收光程；

【软件操作】

本部分介绍吸光度测量的软件操作流程，具体操作步骤如下：

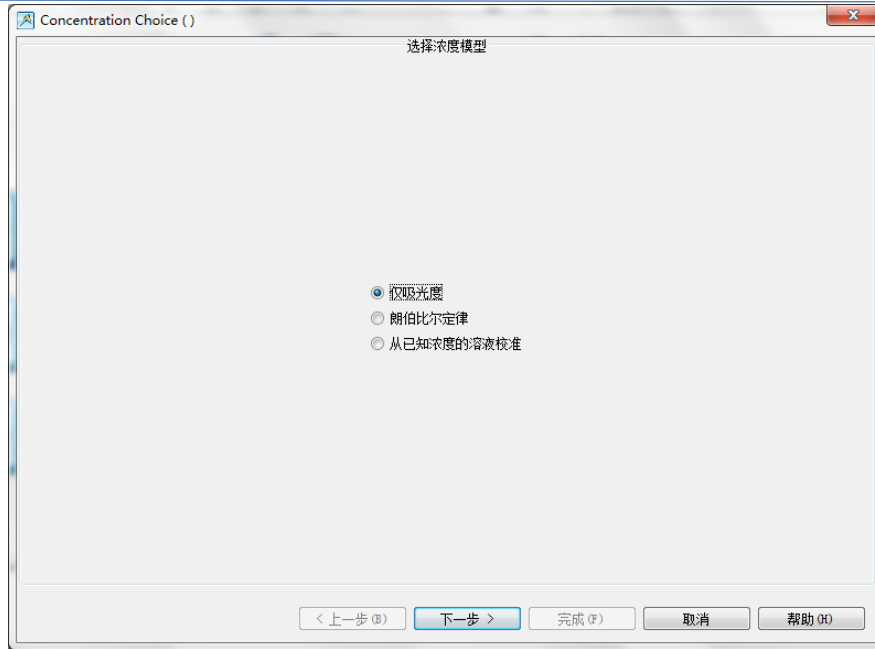
1. 从欢迎界面或者点击图标  创建新的光谱应用，在光谱应用向导中点击吸光度

测量向导 。



2. 出现“选择浓度模型”窗口，点击“仅吸光度”选项，其他两项见文档最后的补充介绍。

- **仅吸光度：** 测量液体或气体样品的吸光度。
- **朗伯比尔定律：** 适用于测量未知浓度的样品，在吸光度测量的基础上，输入样品的消光系数和光程，利用朗伯比尔定律 $A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} c l$ ，得到样品的浓度。
- **从已知浓度的溶液校准：** 如果用户已经测得样品在几组不同浓度情况下的吸光度，输入吸光度与浓度的数据后，软件可将数据点进行曲线拟合。当用户再次测量未知浓度的同一样品时，软件将根据样品的吸光度和前期数据拟合的曲线，计算得到样品的浓度。



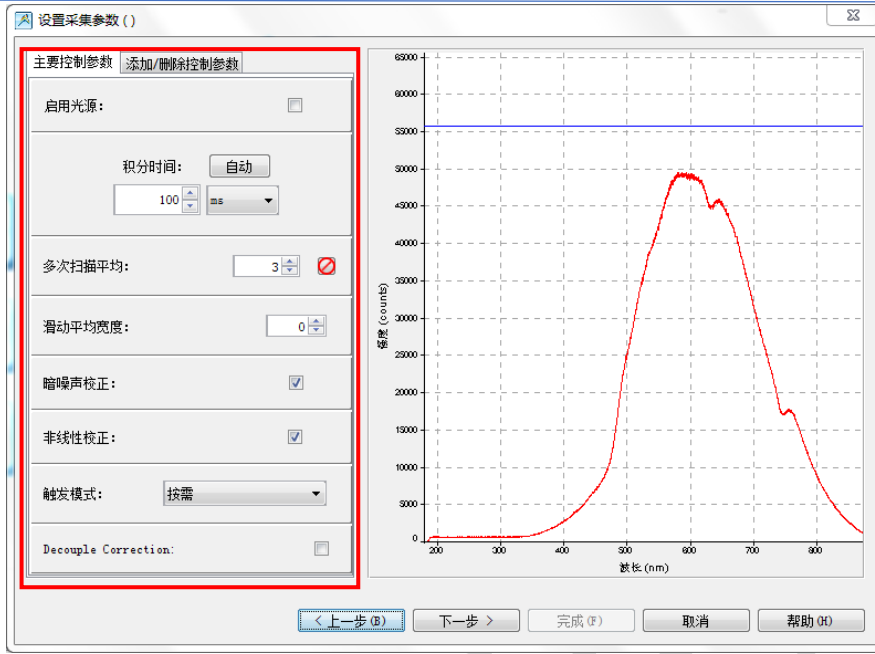
3. 调整好硬件配置后，在软件中设置数据采集参数，包括积分时间(integration time)、平均次数(average)和滑动平均(boxcar)。用户可根据光源的强度，调节积分时间和平均次数等参数，勾选“暗噪声校准”和“非线性校准”功能。注意参考谱测量和样品测量时的参数设置应相同。设置完成，光谱将显示在右侧谱图界面，点击“下一步”按钮。


各个参数的详细含义请参考软件手册或help菜单。或者打开下面链接：

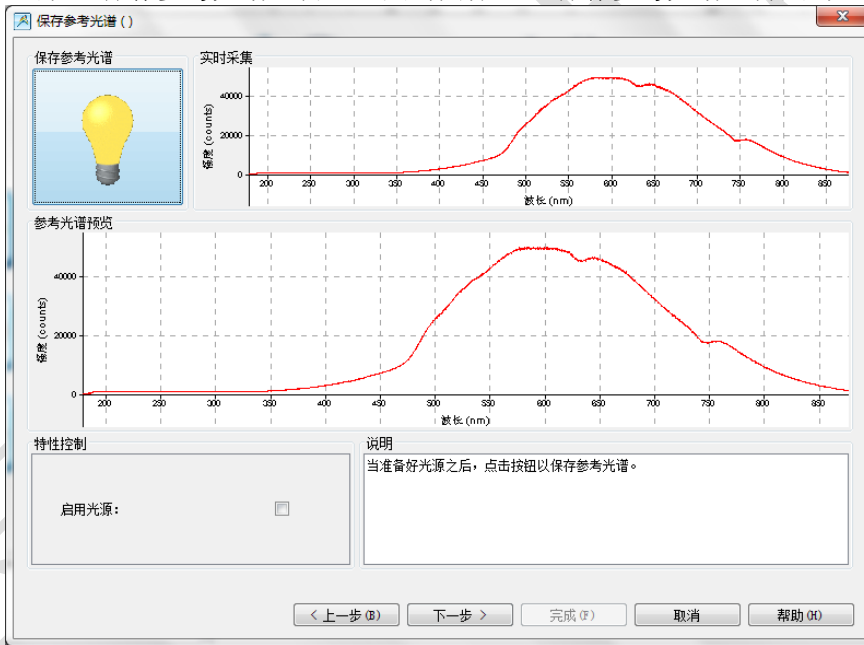
http://www.oceanoptics.cn/spectroscopy_glossary


以下对采集参数进行简单介绍：

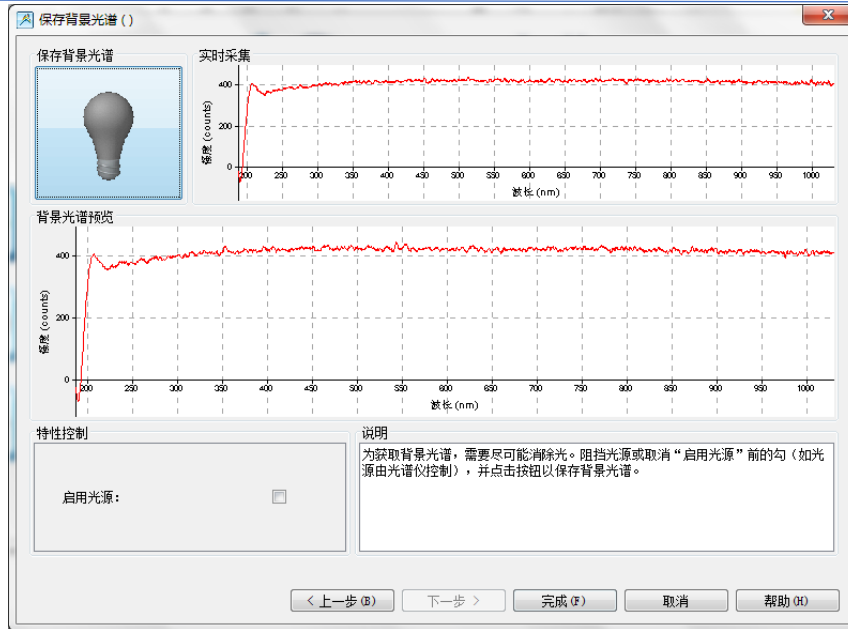
- **积分时间：**积分时间是检测器在将累积的电荷通过A/D转换器加工之前，被允许收集光子的时间长度。最小积分时间是设备支持的最短积分时间，它取决于检测器读出所有像素信息的快慢，积分时间与数据传输速度是不同的概念。
- **平均次数：**光谱被显示到软件里之前会采集多次，然后取平均。
- **滑动平均：**平滑是一种可以应用于光谱的空间平均。该过程通过平均相邻像素点的值来消除噪声，因此它会以牺牲光学分辨率为代价来提高信噪比。空间平均在光谱相对平坦以及相近像元变化较小的情况下使用是非常有效的，但由此产生是分辨率的损失会使得尖锐的光谱特征峰难以分辨。当应用空间平均时，信噪比会以像元平均的平方根为基数进行提高。请注意，在海洋光学软件中，平滑宽度的值是指所有像元以中间为基准靠左或靠右的像元和的平均数。平滑值是4实际上是将9个像元一起平均（4个靠左像元+1个中心像元+4个靠右像元），信噪比将以3为倍数增加。同样的，平滑值是2（5个像元）将使信噪比以2.2为倍数增加，平滑值是0（1个像元），信噪比以1为倍数增加（因此光谱不改变）。
- **暗噪声校准：**海洋光学的大部分光谱仪都有自带的遮光像元。暗噪声校准会用当前光谱读数减去遮光像元的读数，以排除温漂等系统性影响。
- **非线性校准：**光谱仪出厂前已完成。如无特殊需求，请默认勾选。
- **触发模式：**请参考海洋网站的相关文档。如无特殊需求，可保持默认设置不变。



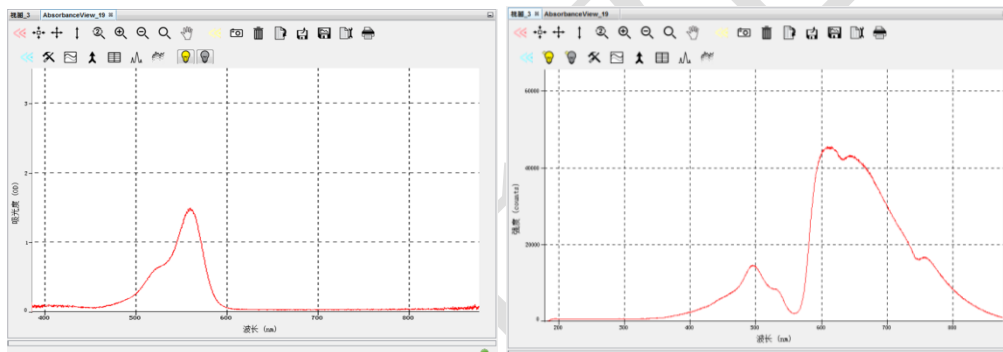
4. 出现“保存参考光谱”窗口，点击图标保存参考光谱，再点击“下一步”。



5. 出现“保存背景光谱”窗口，点击图标保存背景光谱，再点击“完成”。



6. 在视图窗口中，吸光度测量结果以两张图谱的形式显示。如下图所示，左侧为吸光度图谱，右侧为光谱全谱，图谱结果均实时更新。点击 “以表格形式查看结果”，即可查看图谱的数据表，表中的数据可复制后粘贴到 Excel 或 txt。



7. 数据保存

- (1) 暂停采谱，保存此时的光谱数据。OceanView 界面左上方工具栏中有运行、单步采集以及暂停采集的快捷键。



: 开始连续采集光谱数据。





: 单步采集光谱数据，单次采集后停止，点击运行，可继续采集。



: 暂停采集光谱数据，终结采集过程。

- (2) 点击 图标进行数据保存的设置，包括数据保存格式、路径、保存方式等。点击“应用”按钮确认配置，之后点击“退出”按钮关闭对话框。



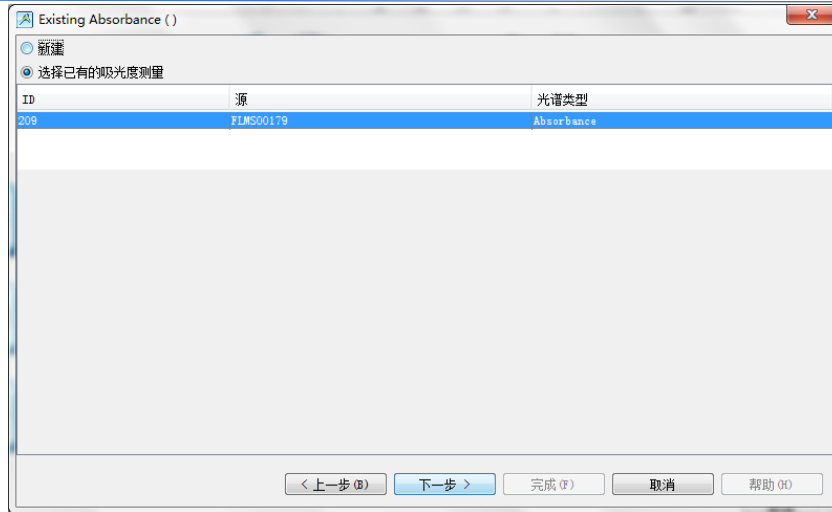
- (3) 点击  启动数据保存，该按钮变红，表明保存工作正在进行。如果需要停止保存，请再次点击该按钮。
- (4) 也可以点击  按钮，将全谱数据保存到电脑剪贴板，然后将数据直接粘贴到 Excel 或 txt。

补充内容:

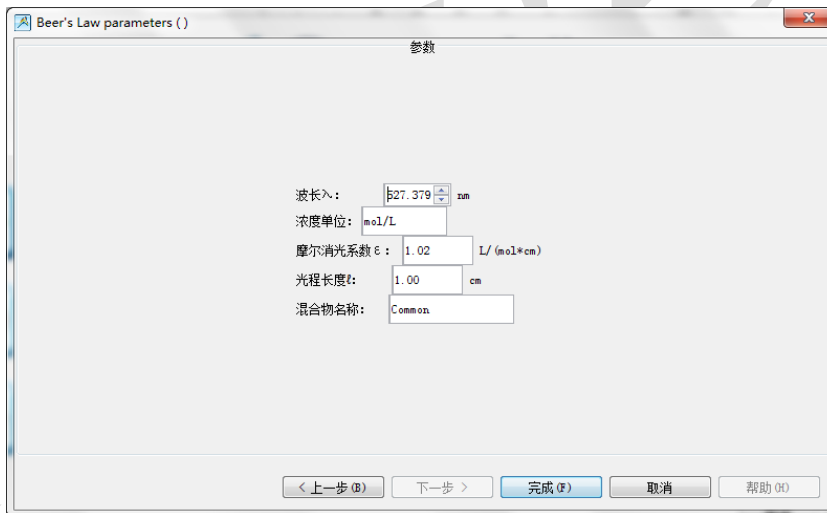
1. 在“选择浓度模型”窗口中，点击“朗伯比尔定律”选项。



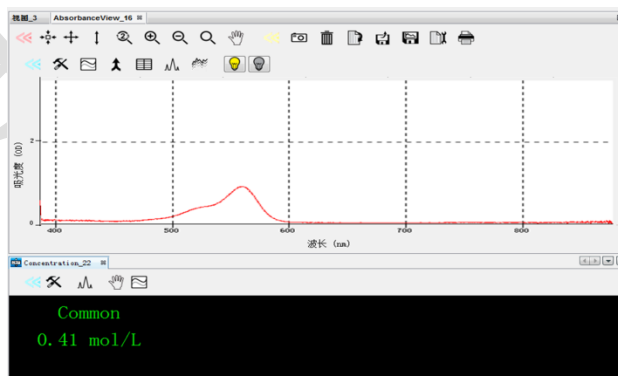
2. 出现“Existing Absorbance”窗口，可选下列操作：
 - 新建：新建样品的吸光度测量；
 - 选择已有的吸光度测量：在已有的吸光度测量基础上，进行下一步操作；此处点击“选择已有的吸光度测量”。



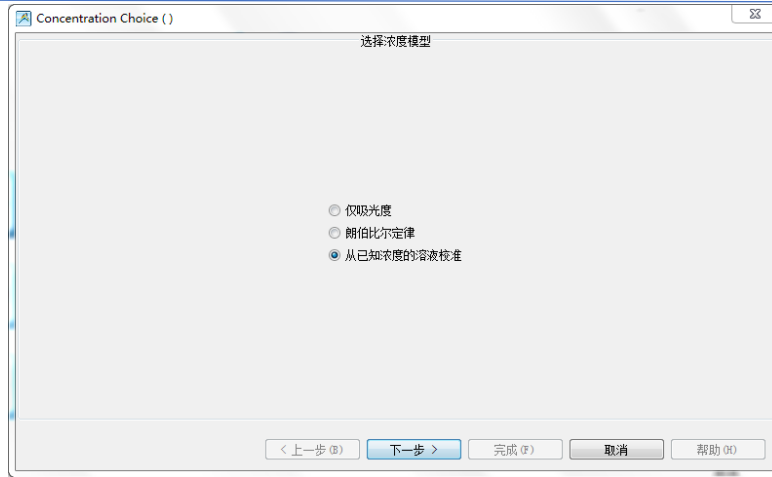
3. 出现“Beer’s Law parameters”窗口，设置吸收波长、浓度单位、摩尔消光系数、光程长度以及混合物名称，并点击“完成”。



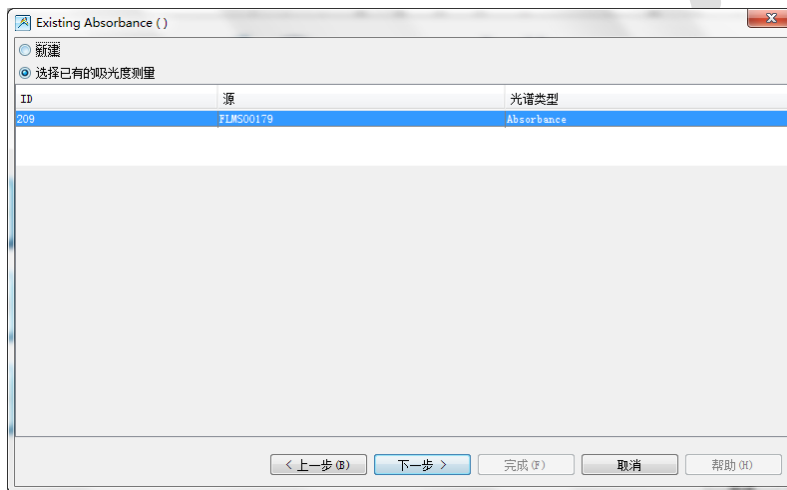
4. 在主界面窗口中，可以看到实时更新的吸光度图谱和样品浓度。可进一步对结果进行寻峰和时序图操作。



5. 在“选择浓度模型”窗口中，点击“从已知浓度的溶液校准”选项。



6. 出现“Existing Absorbance”窗口，点击“新建”或“选择已有的吸光度测量”。

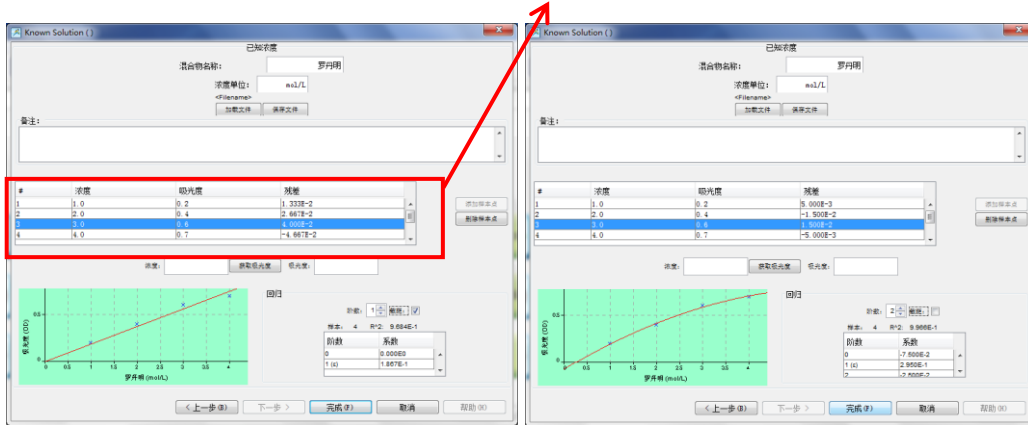


7. 出现“波长选择”窗口，可选择设置单一波长，一段波长范围内的波长平均值或波长积分值。积分方法有三种：矩形法、梯形法和辛普森法。



8. 点击“下一步”，出现“Known Solution”窗口。在以下窗口中，请根据用户的样品实际情况设置样品的名称、浓度单位和备注。在样品组列表中，可自定义添加或删除几组不同浓度的吸光度数据。对用户输入的数据，可选择1阶或2阶拟合曲线，每组数据的误差显示在样品组列表中。

样品组列表



9. 点击“完成”，在主界面窗口中，可以看到实时更新的吸光度图谱和样品浓度。可进一步对结果进行寻峰和时序图操作。

