

## UV-Vis 및 ATR을 이용한 불투명 액체 측정

Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계와 ATR 광섬유 프로브의 결합



### 저자

Alex Clarke  
Hellma UK Ltd  
Rob Wills  
Agilent Technologies  
LDA UK Ltd

### 개요

감쇠 전반사(ATR) 프로브를 Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계와 함께 사용하면 희석 없이 불투명한 액체를 빠르고 쉽게 측정하는 데 유용한 것으로 입증되었습니다.

## 소개

오늘날 ATR은 FTIR 분광법과 동의어로 여겨지며, 가장 널리 사용되는 샘플링 기술입니다. 하지만 ATR은 UV-Vis 분광법에도 적용될 수 있으며, 특히 광섬유 프로브를 사용하여 불투명한 액체를 측정하는 데 유리합니다.

페인트, 잉크, 식용 색소, 자외선 차단제, 액체 의약품과 같은 시료는 종종 색소 함량이 높아 광학적으로 불투명합니다. 어떤 경우에는 표준 10mm 경로 길이 큐벳을 사용하여 이러한 유형의 시료를 측정할 수 있지만, 수백 배 희석 후에만 가능하며 상당한 용매 소모가 필요하고 큰 희석 오류가 발생할 가능성이 있습니다. 페인트나 자외선 차단제와 같은 유화액 시료의 경우, 희석 과정에서 시료가 "분리"되어 구성 성분으로 나뉘는 경우가 많아 희석이 불가능한 경우가 흔합니다.

ATR 분광법은 이러한 어려움을 극복하는 혁신적인 샘플링 기술입니다. ATR에서는 분광기에서 나오는 입사광이 특정 각도로 측정 결정에 입사됩니다. 결정 내부의 반사로 인해 결정 표면에서 소멸파가 발생하며, 이로 인해 결정과 직접 접촉하는 시료는 정재파와 상호작용하여 빛 에너지의 일부를 흡수할 수 있습니다.

UV-Vis 광섬유 ATR 프로브에서 일반적으로 사용되는 결정은 사파이어이며, 입사광은 결정 표면에 60°의 각도를 이루어 결정 내로 들어갑니다. 이 결정은 표면에서 세 번의 반사를 일으키도록 설계되었습니다(그림 1). 표면 위 파동의 "유효 높이"는 결정과 시료 매질의 상대적인 굴절률, 입사각 및 파장의 함수입니다. 여러 번의 반사로 인해 유효 경로 길이가 늘어납니다. 이 프로브의 경우 250nm에서의 유효 경로 길이는 약 3 $\mu$ m이고 1,000nm에서는 약 13 $\mu$ m까지 증가합니다.

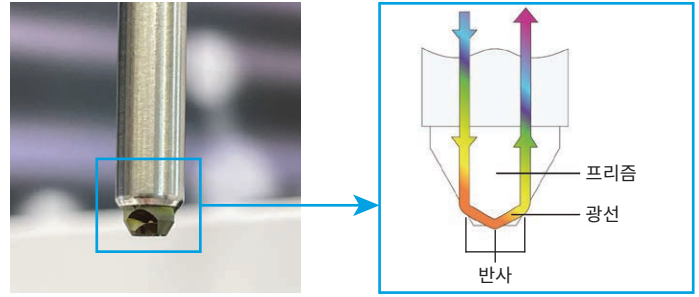


그림 1. 감쇠 전반사 프로브에서 사파이어 결정 내 입사광의 경로를 나타낸 모식도.

광섬유 프로브가 정확하고 신뢰할 수 있는 결과를 제공하려면 빛이 분광 광도계에서 광섬유 샘플링 헤드로, 그리고 다시 기기로 효과적으로 전달되는 것이 중요합니다. Cary 60 UV-Vis 분광 광도계(그림 2)는 광섬유로의 효율적인 광 결합을 가능하게 하는 고도로 집중된 빔을 사용합니다. Cary 60 UV-Vis에 탑재된 강력한 xenon 플래시 램프는 밝은 광 펄스를 생성하여 광섬유 측정에 충분한 빛의 강도를 보장합니다. 신뢰성이 뛰어난 xenon 플래시 램프는 10년 보증이 제공됩니다. 또한, Cary 60의 독특한 광학 설계 덕분에 실내 조명으로 인한 왜곡 효과나 간섭에 영향을 받지 않으므로, 시료 구획 외부에서 원격으로 광섬유 측정을 수행하는 데 매우 효과적입니다.



그림 2. Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계.

## 실험

예시 데이터는 광섬유 인터페이스와 Hellma Katana XP 6, 3회 반사 ATR 프로브(Hellma 부품 번호 PK1KSSZUEASM210N)가 장착된 Cary 60 UV-Vis 분광 광도계를 사용하여 수집했습니다. 스펙트럼은 먼저 깨끗한 결정을 사용하여 베이스라인을 측정한 다음, 결정을 시료에 담근 상태에서 시료를 측정하여 얻었습니다. Agilent Cary WinUV 소프트웨어는 스펙트럼을 수집하고 측정된 스펙트럼을 처리하는 데 사용되었습니다. 모든 스펙트럼은 표 1에 제시된 측정 조건을 사용하여 수집했습니다.

표 1. 측정 조건.

파라미터	값
측정 모드	Absorbance
파장 범위	800-250nm
스펙트럼 대역폭	1.5nm
신호 평균화 시간	0.4s
데이터 간격	2nm
스캔 속도	150nm/min

## 페인트

그림 3에서와 같이 빨간색, 노란색, 파란색 페인트 병에 ATR 프로브 끝을 각 시료에 직접 삽입하여 측정했습니다. 시료 채취 사이에 프로브 끝을 종이 타월과 물로 닦고, 새로 세척한 결정을 사용하여 새로운 베이스라인을 기록했습니다.

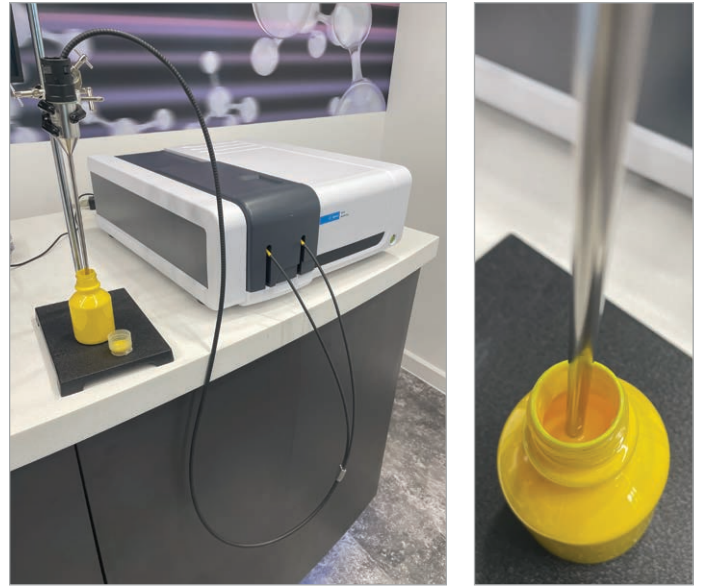


그림 3. 노란색 페인트는 Hellma Katana XP 6 ATR 광섬유 프로브가 장착된 Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계를 사용하여 측정했습니다.

노란색 페인트 시료를 예로 들면, 스펙트럼은 약 0.15 Abs의 흡광도를 갖는 440nm 부근의 피크를 보여줍니다. 이 파장에서 유효 경로 길이는 약  $6\mu\text{m}$ 입니다. 만약 시료를 표준 10mm 큐벳에서 측정한다면 흡광도는 약 250 Abs에 해당할 것이며, 이는 분광 광도계의 측정 범위를 훨씬 벗어나는 값입니다. 따라서 10mm 큐벳에서 이 시료를 측정하려면 약 200배 희석이 필요합니다.

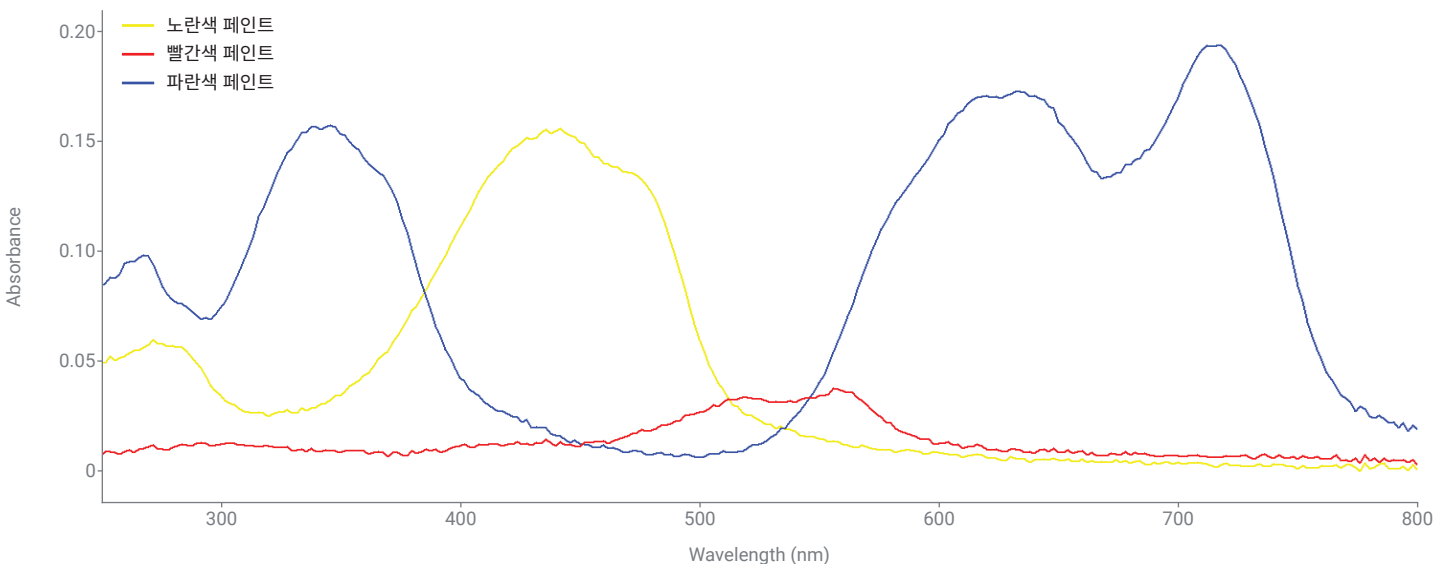


그림 4. 분석 대상 페인트의 흡광 스펙트럼. 각 트레이스의 색상은 분석한 페인트의 색상에 해당합니다.

### 식용 색소

측정된 로열 블루 식용 색소의 스펙트럼(그림 5)을 그림 6에 나타내었습니다. 이 시료는 650nm에서 1.27 Abs를 측정할 강렬한 흡수 띠를 나타냅니다. 이 파장에서 유효 경로 길이는 약 8.5 $\mu$ m로 계산됩니다. 이는 표준 10mm 큐벳에서 측정할 경우 이론적인 흡광도가 1,500 Abs에 해당하며, 대부분의 상용 UV-Vis 기기의 측정 범위 내로 시료를 맞추기 위해 최소 1,000배 희석이 필요합니다.



그림 5. 로열 블루 식용 색소.

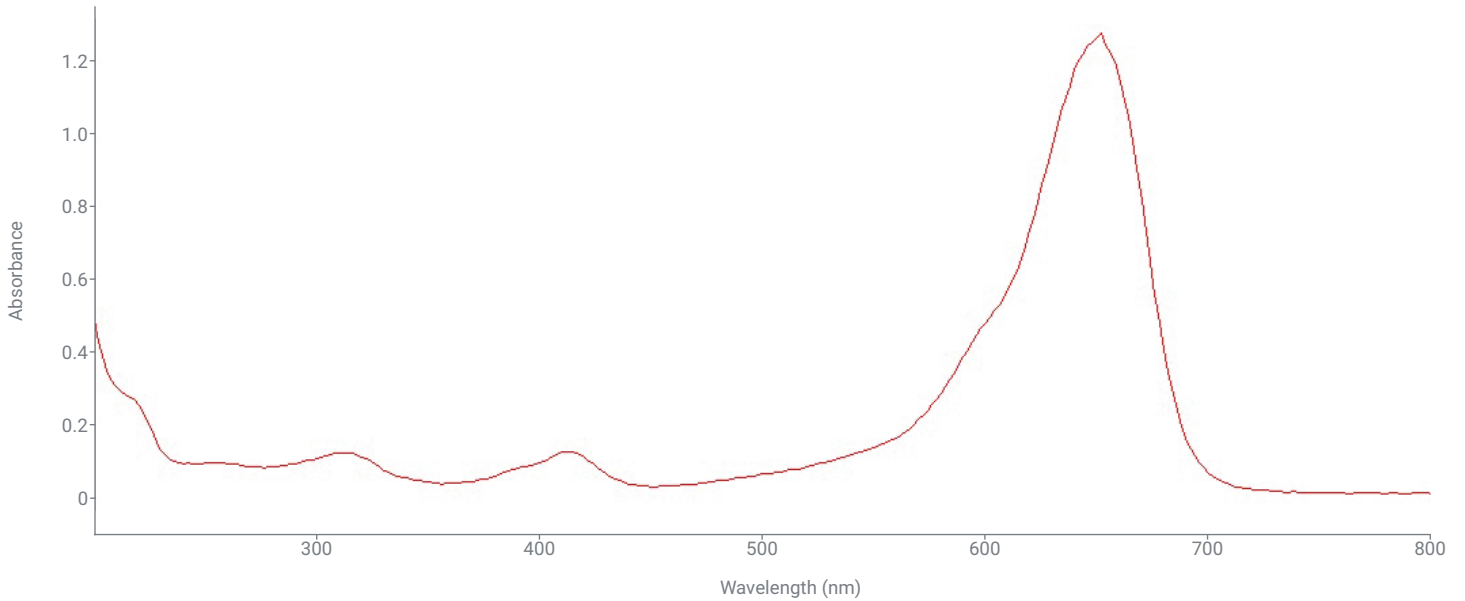


그림 6. 로열 블루 식용 색소의 흡광도 스펙트럼 측정.

## 자외선 차단제

자외선 차단제에는 미네랄 성분이 함유되어 있어 (유해한) UVA 광선과 (매우 유해한) UVB 광선을 피부에서 반사시켜 피부를 보호합니다. 그림 7의 스펙트럼은 서로 다른 자외선 차단 지수를 가진 동일 브랜드의 자외선 차단제 세 병에 대해 측정된 결과를 보여줍니다.

자외선 차단 지수가 높아질수록 흡광도 수준은 감소하는데, 이는 높은 지수의 제품일수록 더 많은 빛을 반사하도록 설계되었기 때문에 예상되는 결과입니다.

흡광도 스펙트럼을 반사 스펙트럼으로 수학적으로 변환하면 추세를 시각화하기가 더 쉬워집니다. 그림 8의 이미지는 보호 지수가 증가함에 따라 반사율이 증가하는 것을 명확하게 보여줍니다. UVA, UVB, UVC 영역은 정보 제공용으로만 표시했습니다.

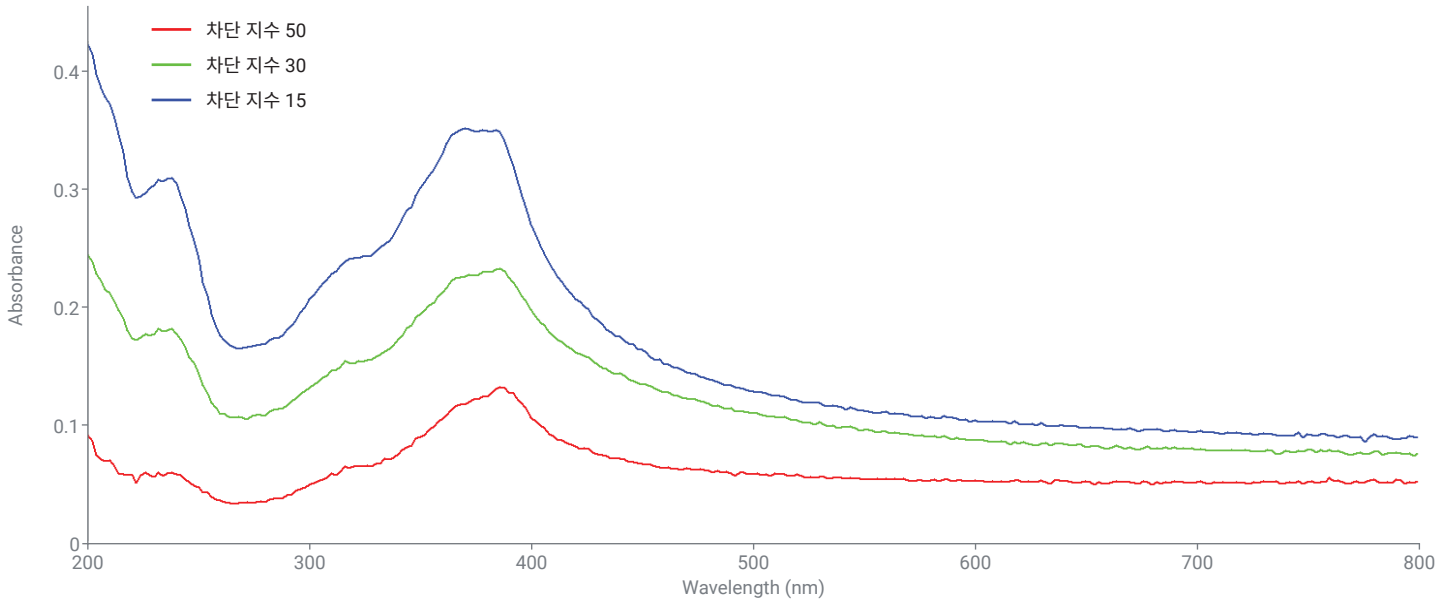


그림 7. 자외선 차단 지수가 각기 다른 동일 브랜드의 세 가지 자외선 차단제에서 얻은 흡광도 스펙트럼.

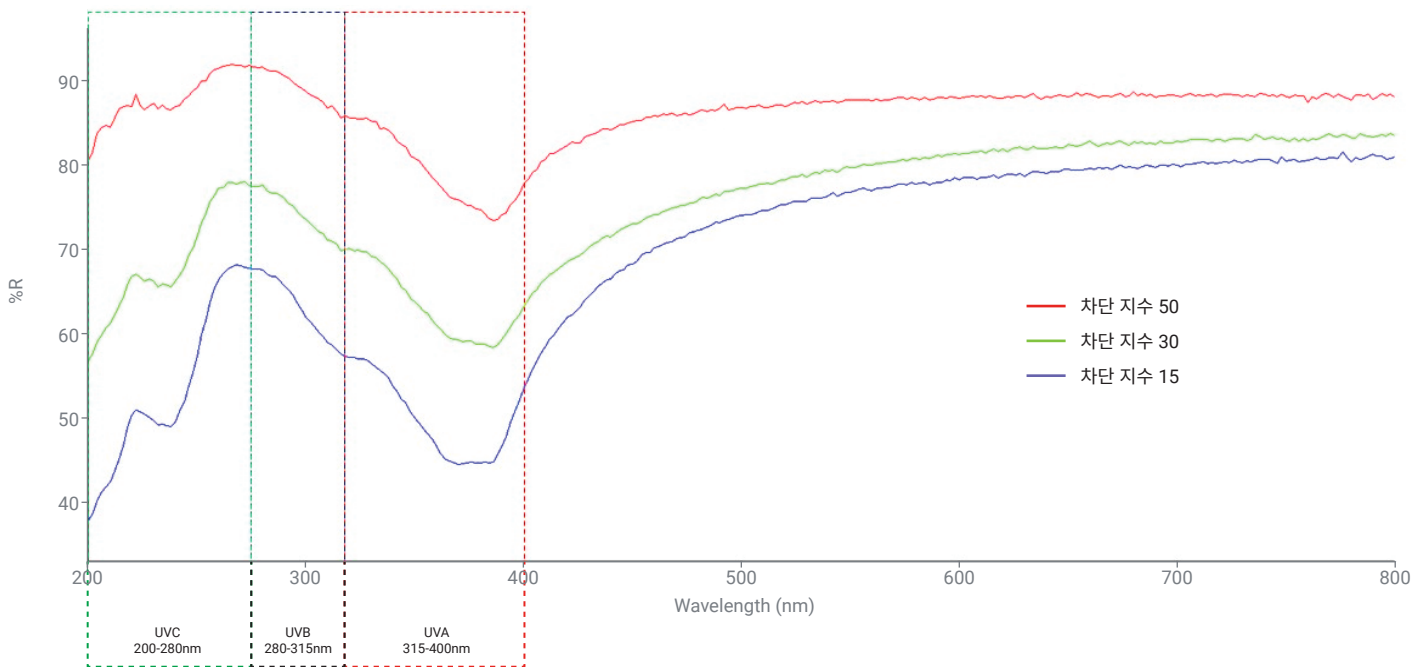


그림 8. 자외선 차단 지수가 서로 다른 세 가지 자외선 차단 제품의 반사 스펙트럼을 측정된 결과, 자외선 차단 지수가 높아질수록 반사율이 증가하는 것을 확인할 수 있습니다.

### 반응 동역학

ATR 프로브가 장착된 Cary 60 UV-Vis는 흡광도의 급격한 변화를 수반하는 반응의 키네틱을 추적하는 데 유용한 도구가 될 수 있습니다. 플루오레닐메톡시카르보닐(Fmoc)은 고체상 펩타이드 합성에서 널리 사용되는 염기 분해성 보호기입니다. 피페리딘을 첨가하면 빠르게 제거할 수 있는데, 피페리딘은 Fmoc와 반응하여 매우 강력한 UV 흡수체인 다환 방향족 탄화수소인 부산물 디벤조플렌을 형성합니다(그림 9).

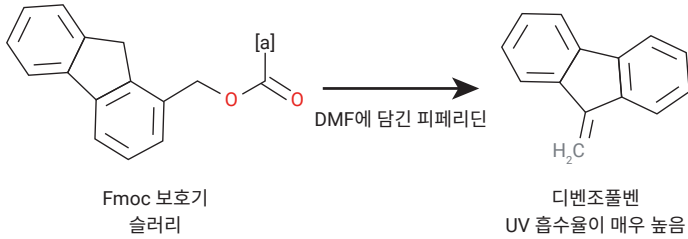


그림 9. 플루오레닐메톡시카르보닐과 피페리딘의 반응으로 디벤조플렌이 생성됩니다.

그림 10은 ATR 프로브가 장착된 Cary 60 UV-Vis를 사용하여 분리 반응을 추적하는 방법을 보여줍니다. N,N-다이메틸포름아미드 (DMF) 용매에 폴리스티렌 수지 비드에 결합된 Fmoc 말단 펩타이드의 탁한 슬러리 용액이 담긴 베셀에 프로브를 삽입합니다. 데이터 수집은 Cary 60 UV-Vis를 사용하여 280nm에서 매초 흡광도 값을 측정하도록 설정하여 시작합니다. 이 예에서는 약 2.8분 후에 DMF 용액에 20% 피페리딘을 첨가하여 반응이 시작됩니다. 6분 후 반응 곡선이 평탄해지는데, 이는 Fmoc가 완전히 분리되었음을 나타냅니다.

전체 흡광도 증가는 0.05 Abs에 불과하지만, 표준 10mm 경로 길이 큐벳에서 측정한다면 140 Abs 이상의 증가에 해당합니다.

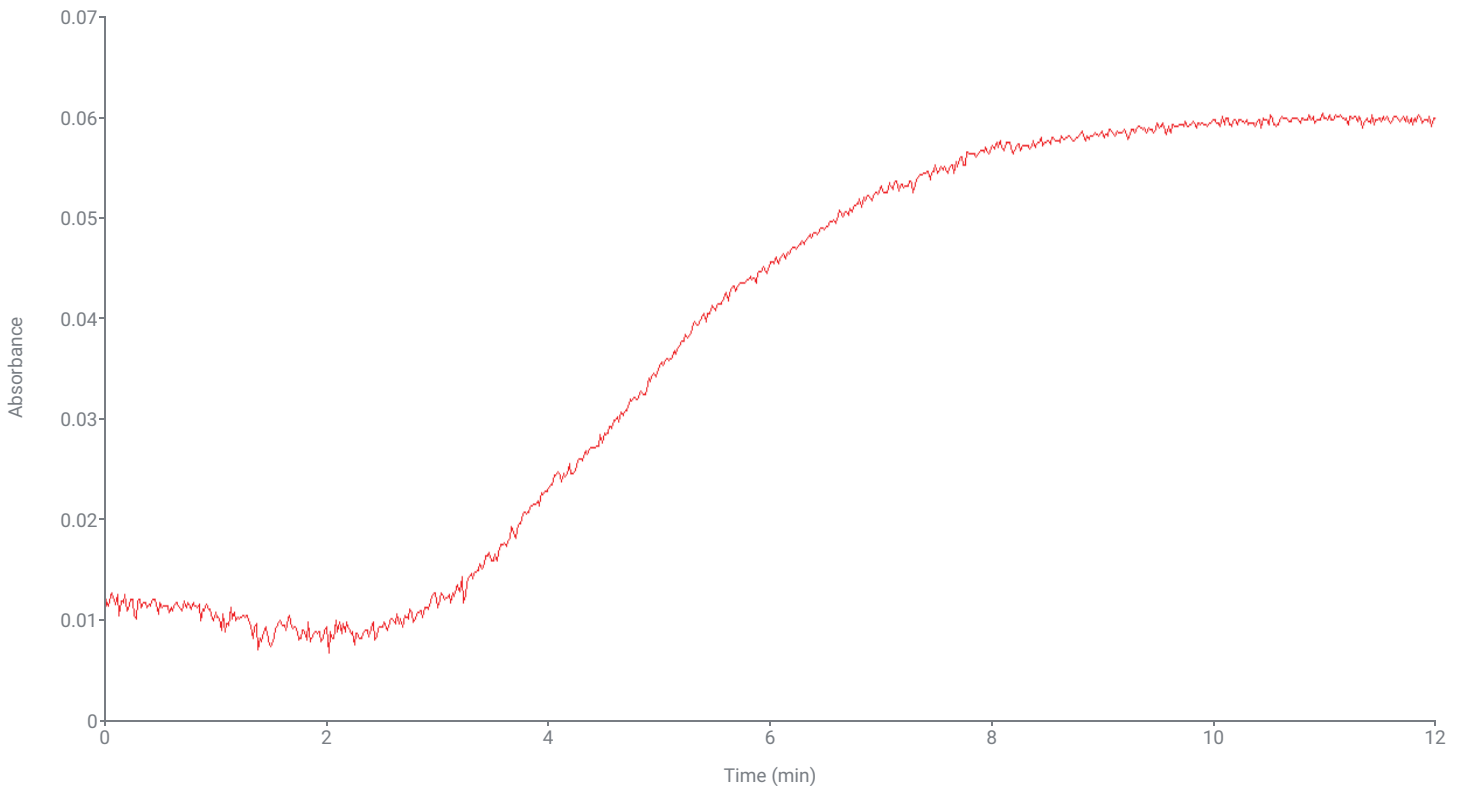


그림 10. Fmoc 말단 펩타이드와 폴리스티렌 수지 비드의 분리 반응 진행 과정.

ATR 프로브가 장착된 Cary 60 UV-Vis를 사용하여 측정된 흡광도 값과 표준 10mm 큐벳을 사용하여 측정했을 때의 이론적인 흡광도 값을 비교하면 표준 10mm 큐벳 사용의 한계를 알 수 있습니다. 표 2에서 볼 수 있듯이, 상당한 희석 과정을 거치지 않고는 표준 큐벳으로 시료를 측정할 수 없었을 것입니다. 사용자의 추가적인 처리 작업으로 인해 다음과 같은 결과가 초래될 수 있습니다.

- 희석 오류의 위험 증가
- 오염 유발
- 시료 변화(예: 성분 분리)
- 반응 및 반응 속도에 영향

표 2. 서로 다른 네 가지 시료의 흡광도 값을 비교했습니다.

시료/적용	노란색 페인트	파란색 식용 색소	자외선 차단제 SPF 15	Fmoc 탈보호 모니터링
측정된 흡광도 ATR	0.15 Abs	1.27 Abs	0.35 Abs	0.05 Abs
10mm 표준 큐벳에 해당하는 Abs	250 Abs	1,500 Abs	700 Abs	140 Abs
필요한 희석	대략 200배	대략 1,000배	희석 불가능	희석 불가능

## 결론

본 응용 자료에서는 Agilent Cary 60 UV-Vis 분광 광도계와 Hellma Katana XP 6 ATR 프로브를 결합하여 광학적으로 불투명한 액체를 측정하는 실용적이고 사용하기 쉬운 솔루션을 제공하는 방법을 보여주었습니다. 이러한 솔루션은 기존 방법이었던 필요했을 상당한 희석을 피하고, 흡광도 변화가 너무 커서 기존 방법으로는 측정이 어려운 반응을 모니터링하는 데에 유용합니다. ATR 프로브가 장착된 Cary 60 UV-Vis는 일상적인 품질 관리, R&D 연구 및 교육 실험실을 포함한 광범위한 응용 분야에 강력한 도구입니다.

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)  
[maps\\_agilent@agilent.com](mailto:maps_agilent@agilent.com)

DE-010245

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2025  
 2025년 10월 14일, 한국에서 인쇄  
 5994-8652KO

한국애질런트테크놀로지스(주)  
 대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,  
 DF타워 9층, 06621  
 전화: 82-80-004-5090(고객지원센터)  
 팩스: 82-2-3452-2451  
 이메일: [korea-inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:korea-inquiry_lsca@agilent.com)