

## 利用紫外-可见光谱和 ATR 测定不透明液体

Agilent Cary 60 紫外-可见分光光度计联用 ATR 光纤探头



### 作者

Alex Clarke  
Hellma UK Ltd

Rob Wills  
安捷伦科技（英国）有限公司

### 摘要

研究表明，使用衰减全反射 (ATR) 探头搭配 Agilent Cary 60 紫外-可见分光光度计，可以快速便捷地测量不透明液体，而无需稀释。

## 前言

如今，ATR 已成为 FTIR 光谱的代名词，是应用最广泛的采样技术。然而，ATR 同样可应用于紫外-可见光谱，为使用光纤探头测量不透明液体提供了独特的优势。

油漆、油墨、食用色素、防晒霜及液体制剂等样品通常含有大量色素，呈光学不透明状态。在某些情况下，虽然可以使用标准 10 mm 光程比色皿测量这类样品，但往往需要稀释数百倍，这不仅要消耗大量溶剂，还可能引入显著的稀释误差。对于油漆和防晒霜这类乳状液样品，稀释操作常会导致样品破裂、分层，因此通常无法直接稀释。

ATR 光谱是一种创新的采样技术，能够解决上述难题。在 ATR 中，来自光谱仪的入射光以一定角度射入检测晶体。晶体内部会发生多次反射，在晶体表面产生隐失波，使与晶体直接接触的样品与驻波发生相互作用，并吸收部分光能。

在紫外-可见光纤 ATR 探头中，常用的晶体为蓝宝石，当入射光射入晶体时，在晶体表面形成  $60^\circ$  入射角。该晶体的设计可使光在表面发生三次反射（图 1）。波在表面上方的“有效穿透深度”取决于晶体和样品介质的相对折射率、入射角及波长。多次反射可延长有效光程长度。对此探头而言，250 nm 下的有效光程约为  $3\ \mu\text{m}$ ，1000 nm 下则增至约  $13\ \mu\text{m}$ 。

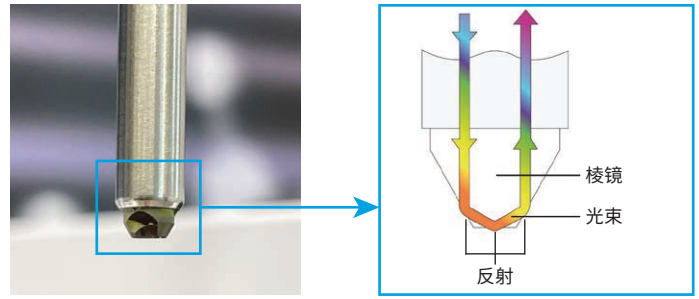


图 1. 衰减全反射探头中入射光在蓝宝石晶体内的路径示意图

使用光纤探头要获得准确、可靠的检测结果，关键在于光线能从分光光度计高效传输至光纤采样探头，再返回仪器。Cary 60 紫外-可见分光光度计（图 2）采用高度聚焦光束，能够高效地将光耦合到光纤中。Cary 60 紫外-可见分光光度计搭载的强大脉冲氙灯能发出高强度光脉冲，确保光纤测量所需的充足光强度。这款性能稳定的脉冲氙灯还享有 10 年质保。此外，Cary 60 独特的光学设计使其免受环境光线的影响，防止产生测量失真或干扰，这对于在样品室外进行远程光纤测量至关重要。



图 2. Agilent Cary 60 紫外-可见分光光度计

## 实验部分

示例数据使用配备光纤接口的 Cary 60 紫外-可见分光光度计搭配 Hellma Katana XP 6 三反射 ATR 探头 (Hellma 部件号 PK1KSSZUEASM210N) 采集。光谱采集流程为：首先使用洁净的晶体测量基线，然后将晶体浸入样品中进行样品测量。使用 Agilent Cary WinUV 软件完成光谱采集与数据处理。所有光谱均采用表 1 所示的测量条件进行采集。

表 1. 测量条件

参数	设定值
测量模式	吸光度
波长范围	800-250 nm
光谱带宽	1.5 nm
信号平均时间	0.4 s
数据间隔	2 nm
扫描速度	150 nm/min

## 油漆

如图 3 所示，将 ATR 探头的尖端插入油漆瓶中，直接测量红色、黄色和蓝色油漆样品。检测完一个样品后，用纸巾和水清洁探头尖端，并使用清洁后的晶体重新采集基线。



图 3. 使用 Agilent Cary 60 紫外-可见分光光度计和 Hellma Katana XP 6 ATR 光纤探头测量黄色油漆

以黄色油漆样品为例，光谱显示在 440 nm 处有一个峰，吸光度约为 0.15 Abs。在此波长下，有效光程约为 6  $\mu\text{m}$ 。如果用标准的 10 mm 比色皿测量样品，吸光度将高达 250 Abs 左右，远远超出了分光光度计的检测范围。因此，若使用 10 mm 比色皿测量该样品，大约需要稀释 200 倍。

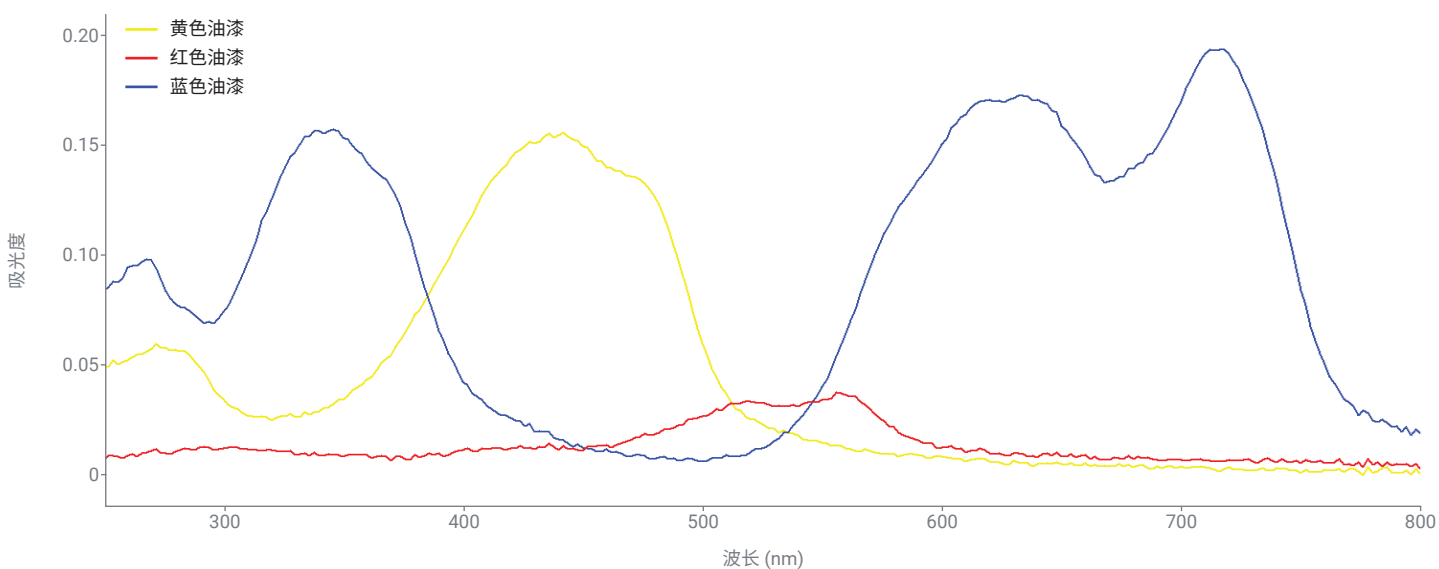


图 4. 所分析油漆的吸收光谱。光谱曲线的颜色对应于相应油漆样品的颜色

## 食用色素

图 6 为皇家蓝食用色素 (图 5) 的实测光谱。该样品在 650 nm 处出现强吸收峰, 吸光度为 1.27 Abs。在此波长下, 有效光程经计算约为 8.5  $\mu\text{m}$ 。如果使用标准的 10 mm 比色皿, 则理论吸光度可达 1500 Abs, 需要至少稀释 1000 倍才能使样品处于大多数商用紫外-可见分光光度计的检测范围内。



图 5. 皇家蓝食用色素

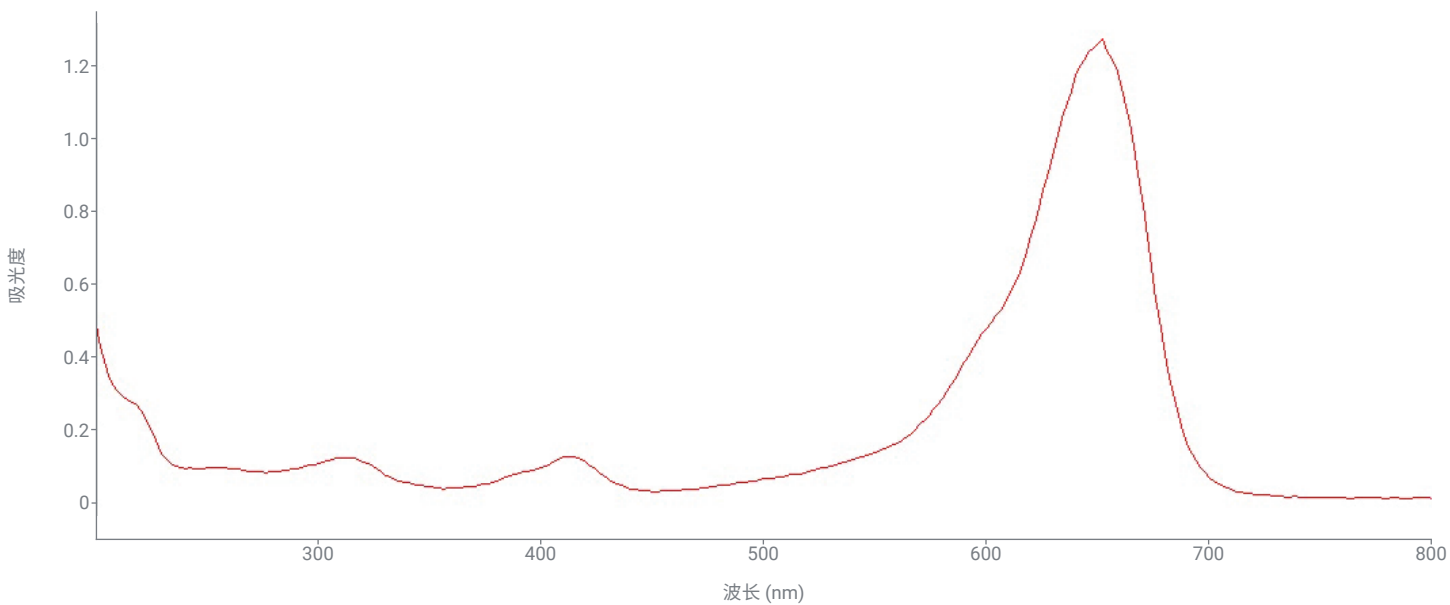


图 6. 皇家蓝食用色素的实测吸收光谱

## 防晒霜

防晒霜含有矿物成分，能够反射有害的 UVA 射线和极具危害性的 UVB 射线，保护皮肤免受伤害。图 7 中的光谱为同一品牌、三款不同防晒指数的防晒霜的检测结果。

可以看到，吸光度随防晒指数的升高而降低，符合预期，因为高指数配方的设计初衷就是反射更多光线。

将吸收光谱通过数学方法转换为反射光谱，可以更直观地展现这种趋势。图 8 清楚地表明，反射率随防晒指数的升高而增加。标出了 UVA、UVB 和 UVC 区域，仅供参考。

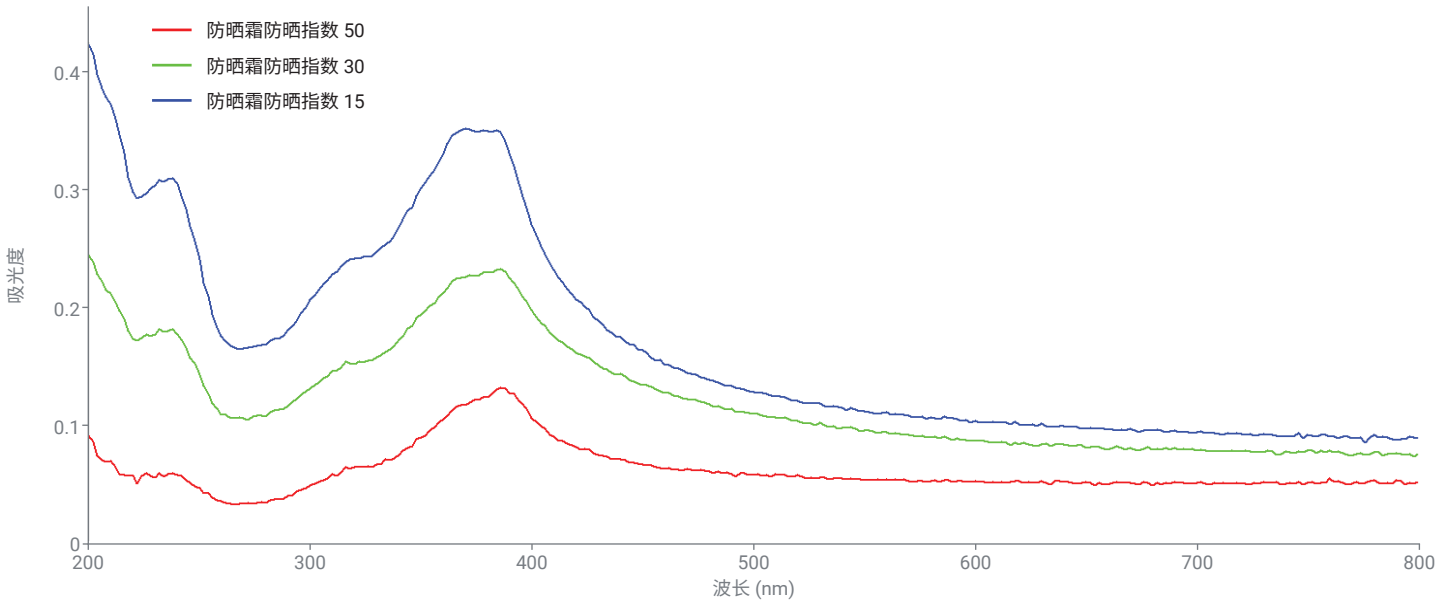


图 7. 同一品牌、三款不同防晒指数的防晒霜的吸收光谱

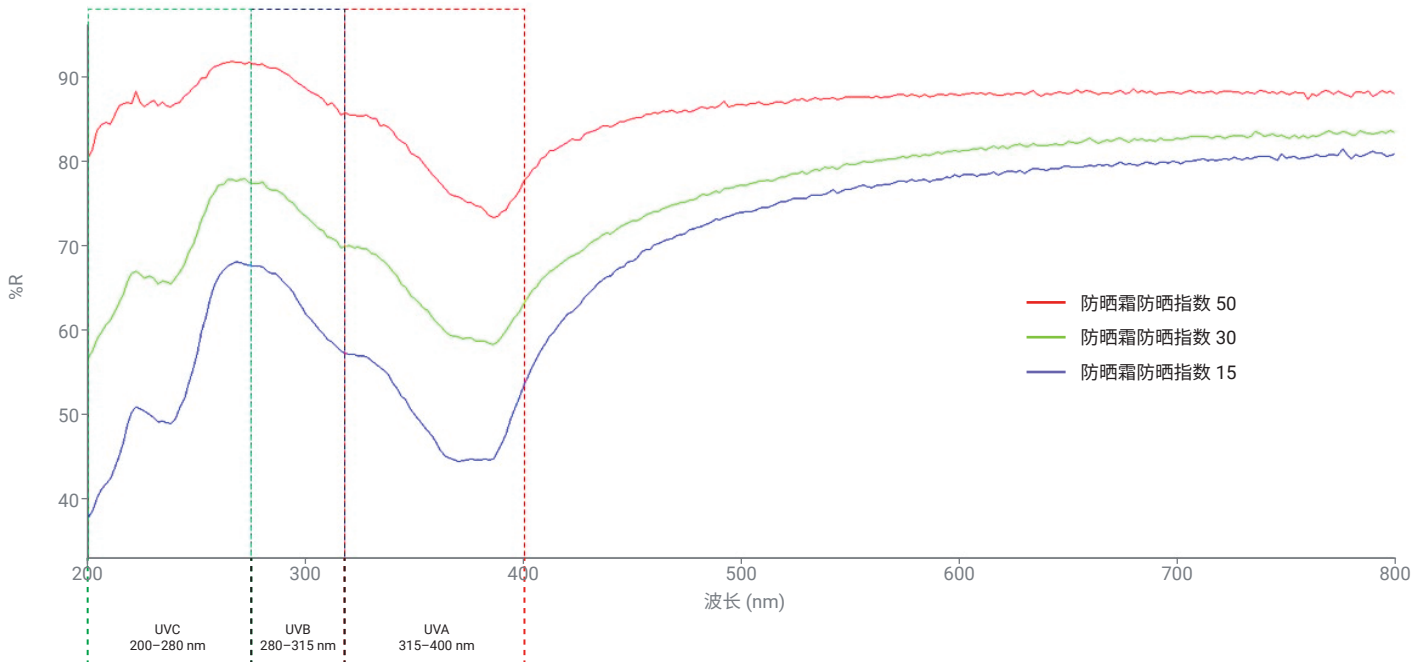


图 8. 三款不同防晒指数防晒霜的反射光谱，反射率随防晒指数增加而增加

## 反应动力学

配备 ATR 探头的 Cary 60 紫外-可见分光光度计，也可用于追踪吸光度发生显著变化的反应动力学过程。芴甲氧羰基 (Fmoc) 是一种碱不稳定的保护基团，广泛应用于固相多肽合成。加入哌啶可快速将其脱除，哌啶与 Fmoc 反应生成副产物二苯并富烯，这是一种多环芳烃，具有极强的紫外吸收性 (图 9)。

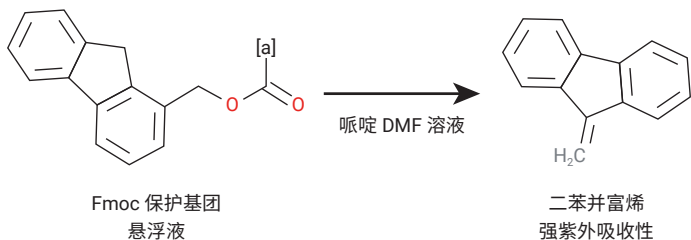


图 9. 芴甲氧羰基与哌啶反应生成二苯并富烯

图 10 展示了如何使用配备 ATR 探头的 Cary 60 紫外-可见分光光度计追踪该脱保护反应。将探头插入反应容器中，容器内装有结合了 Fmoc 末端基团的聚苯乙烯树脂微球，这些微球分散在 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶剂中，形成浑浊悬浮液。将 Cary 60 紫外-可见分光光度计设置为在 280 nm 处每秒采集一次吸光度，然后开始采集数据。本示例中，大约 2.8 分钟后，通过加入 20% 的哌啶 DMF 溶液，引发反应。6 分钟后，反应曲线趋于平稳，表明 Fmoc 已完全脱除。

整个吸光度仅增加 0.05 Abs，但如果使用标准 10 mm 光程比色皿进行测量，对应吸光度增幅将超过 140 Abs。

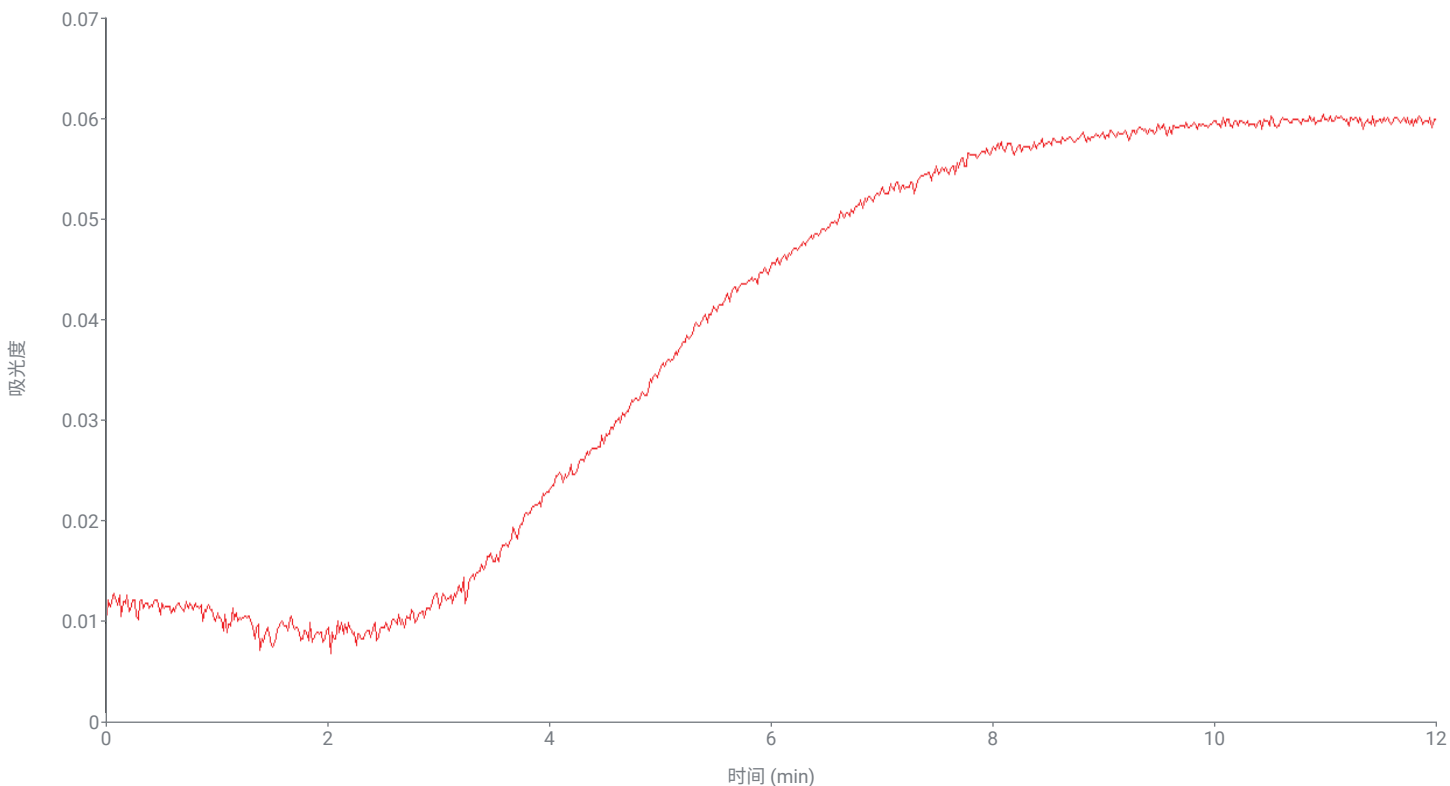


图 10. Fmoc 末端肽从聚苯乙烯树脂微球上脱除的反应进程

将使用 Cary 60 紫外-可见分光光度计和 ATR 探头测得的吸光度与使用标准 10 mm 比色皿进行测量将获得的理论吸光度进行比较, 可直观体现标准 10 mm 比色皿的应用局限性。如表 2 所示, 如果不进行大量的稀释, 就无法使用标准比色皿测量样品。但额外的人工操作会带来以下问题:

- 增加稀释误差风险
- 引入污染
- 导致样品发生变化 (例如, 组分分离)
- 影响反应进程与反应动力学测定

表 2. 比较四个不同样品的吸光度

样品/应用	黄色油漆	蓝色食用色素	防晒霜 SPF 15	监测 Fmoc 脱保护
实测吸光度 ATR	0.15 Abs	1.27 Abs	0.35 Abs	0.05 Abs
10 mm 标准比色皿当量 Abs	250 Abs	1500 Abs	700 Abs	140 Abs
所需稀释倍数	约 200 倍	约 1000 倍	无法稀释	无法稀释

## 结论

本应用简报表明, Agilent Cary 60 紫外-可见分光光度计搭配 Hellma Katana XP 6 ATR 探头, 为测量光学不透明液体以及监测吸光度变化超出常规方法检测范围的反应提供了实用且易于使用的解决方案, 避免了额外的大量稀释操作。Cary 60 紫外-可见分光光度计与 ATR 探头的组合是一款功能强大的分析工具, 适用于常规质量控制、研发以及科研及教学实验室等多种应用场景。

查找当地的安捷伦客户中心:

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价:

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

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

DE-010245

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, 2025  
2025 年 10 月 14 日, 中国出版  
5994-8652ZHCN