

온도 제어 UV-Vis 분광기를 이용한 우조 효과(ouzo effect)의 상평형도

Agilent Cary 3500 UV-Vis와 멀티셀 샘플링 모듈의 다중
구역 기능을 사용한 동시 온도 램핑 실험

저자

Marc-André Gagnon 및
Claire Cislak
Agilent Technologies, Inc.

소개

상평형도는 화학 분야에서 기본적인 개념입니다. 이는 물질의 물리적 상태가 온도와 압력, 또는 온도와 농도와 같은 두 변수의 함수로 어떻게 변하는지를 보여줍니다. 상평형도는 물질의 서로 다른 상이 평형 상태로 공존하는 조건을 보여주는 곡선을 그려 나타낸 것입니다. 상평형도의 선은 고체와 액체 사이의 경계, 액체와 기체 사이의 경계와 같은 상 경계를 나타냅니다. 이러한 경계는 상전이(phase transitions)가 발생하는 조건을 나타냅니다. 따라서 특정 상평형도에서 적절한 변수를 변경하여 값을 그 경계의 한쪽에서 다른 쪽으로 이동시키는 것은 상전이가 일어나기 위한 조건을 나타냅니다. 이 과정은 포괄적인 상평형도를 확립하기 위해 여러 실험을 수행해야 하므로 시간이 많이 걸릴 수 있습니다.

상평형도와 관련된 것으로 간주되는 용해도 차트는 하나 이상의 물질이 다른 물질과 결합하는 방식을 설명합니다. 용해도 차트는 용해도(농도와 온도에 따라 용질이 용매와 함께 용액을 형성하는 것)와 혼화성(물질이 침전 없이 균일한 용액으로 혼합되는 것)을 알려줍니다. 이 차트는 연구 대상 화학물질 간의 친화적이거나 불친화적인 상호 작용을 기반으로 작성되었습니다.

용해도 차트와 상평형도는 화학물질이 서로 간에, 그리고 환경과 물리적으로 어떻게 상호 작용하는지에 대한 정보를 보여줍니다. 그러므로 이러한 연구는 화학의 원리를 이해하는 데 필수적입니다.

UV-Vis 분광법은 탁한 시료의 특성을 분석하는 데 적합한 것으로 알려져 있어¹, 우조 효과(Ouzo Effect)를 연구하는 데 이용되고 있습니다. 우조 효과는 그리스 우조나 프랑스 파스티스와 같은 알코올성 음료의 테르펜과 물 사이에서 발생하는 일종의 유화 현상을 설명합니다. 예를 들어, 잘 알려진 한 파스티스 브랜드에는 소수성이 강한 테르펜인 아네톨(그림 1)이 들어 있는데, 이것이 리큐어에 아니스 풍미를 만들어냅니다. 순수한 형태의 리큐어는 에탄올 농도가 45%(v/v)입니다. 이 에탄올 알코올 농도에서는 아네톨 분자가 물/알코올 혼합물에 완전히 용해됩니다.

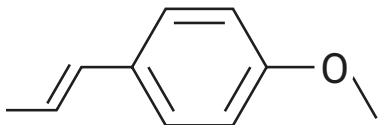


그림 1. 일부 파스티스 리큐어에 존재하는 소수성이 매우 강한 테르펜인 아네톨의 화학 구조

파스티스는 희석을 통해 알코올 수치를 낮추고 혼합물의 온도를 낮추기 위해, 일반적으로 물 및 얼음과 함께 제공됩니다. 결과적으로, 아네톨 분자가 수용액 부분으로 침전되어 리큐어가 맑은 호박색에서 흐린 노란색으로 변합니다(그림 2). 이러한 현상의 형성 메커니즘은 아직 완전히 밝혀지지 않았지만, 거의 즉각적인 변화는 화학자와 비화학자 모두에게 매력적으로 다가옵니다.²



그림 2. 우조 효과(ouzo effect)를 보여주는 전형적인 파스티스 음료를 만드는 과정. 순수한 파스티스(왼쪽), 물(왼쪽 가운데) 및 얼음 조각(오른쪽 가운데)을 합치면 탁한 황색 음료(오른쪽)가 만들어집니다

이 연구에서는 파스티스 혼합물에 있는 아네톨 현탁액에 의해 생성된 광산란 정도를 측정하여 다양한 물/에탄올 혼합물의 상전이를 평가했습니다. 이전에 보여준 것처럼, Agilent Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계는 독특한 광학 설계를 통해 탁한 시료를 특성 규명하는 독보적인 기능을 가지고 있습니다.¹

Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계

Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계는 크세논(Xe) 플래시 램프를 광원으로 사용하고 이중 평면 외 Littrow 모노크로메이터를 사용하는 완벽히 상호 교환 가능한 모듈식 시스템입니다. 모노크로메이터의 스펙트럼 대역폭(SBW)은 0.1nm에서 4.0nm까지 다양할 수 있습니다. 소스 신호를 모든 큐벳에 동시에 직접 전달하기 위해 광섬유 기술이 사용됩니다.

애질런트 소형 샘플링 모듈을 일반적인 Cary 3500 UV-Vis 엔진과 함께 사용하면 큐벳 위치 2개에 접근할 수 있는 반면, 애질런트 멀티셀 샘플링 모듈을 사용하면 큐벳 8개에 접근할 수 있습니다.

소형 Peltier와 멀티셀 Peltier 샘플링 모듈은 모두 공랭식 Peltier 온도 제어 시스템을 사용하여 -5에서 110°C까지의 설정 온도에 도달하고 유지할 수 있습니다. 이 시스템은 또한 0.1-40°C/분의 속도로 온도를 램핑할 수 있습니다.

멀티셀 샘플링 모듈의 고유한 다중 구역 기능을 사용하면 4개의 온도 제어 실험(4개의 시료 및 참조 쌍)을 별도의 구역에서 동시에 수행할 수 있습니다. 이 다중 구역 기능은 다중점 상평형도를 작성하는 생산성을 크게 향상시킵니다.

이 연구에서는 멀티셀 Peltier 샘플링 모듈이 장착된 Cary 3500을 사용하여 4가지 알코올/물 혼합물에 대한 온도 램핑 연구를 동시에 수행했습니다. 각 실험 세트에 대해 샘플링 모듈에서 8개의 큐벳(시료 큐벳 4개와 기준 셀 4개)을 사용하여 일정한 교반 하에 온도를 55°C에서 -2.5°C까지 순환시켰습니다. 그 결과, Cary 3500 멀티셀 Peltier UV-Vis 시스템을 사용하여 시간 효율적인 방식으로 우조 효과(ouzo effect)의 8-포인트 용해 상평형도를 만들 수 있음을 보여주었습니다.

실험

시료 전처리

파스티스 시료의 희석액 8개를 별모양 교반막대와 뚜껑이 있는 표준 개방형 10mm 석영 큐벳에 직접 준비했습니다. 시료의 알코올 농도는 45.0(순수), 44.0, 42.5, 40.0, 37.5, 35.0, 32.5, 30.0%(v/v)였습니다. 일관성을 위해 각 큐벳에 총 2.00mL의 용액을 채웠습니다.

이에 대응하는 에탄올과 탈이온수(DI)의 희석액을 포함한 기준 셀은 광학적으로 일치하고 마찬가지로 교반막대와 뚜껑이 있는 석영 큐벳에 준비했습니다. 광학적으로 일치하는 석영 큐벳 쌍을 사용하면 측정을 시작하기 전에 영점 조정이나 기준선을 설정할 필요가 없습니다. 모든 시료 큐벳에는 온도 프로브가 장착되었으며, 팁이 용액에 완전히 잠기도록 고정된 높이로 맞춰졌습니다(그림 4).

기기

멀티셀 Peltier 샘플링 모듈이 장착된 Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계는 Agilent Cary UV Workstation 소프트웨어를 사용하여 제어했습니다.

멀티셀 Peltier 모듈의 각 셀은 자체 검출기와 연결되어 있으며, 각 큐벳에는 교반기와 독립적인 온도 프로브를 장착할 수 있습니다. 따라서 이 연구에서는 4개의 시료 셀 모두에 온도 프로브를 장착하여 시료 큐벳의 실제 온도 판독값을 바탕으로 각 구역(시료와 기준 구역으로 구성)의 온도를 모니터링, 측정, 제어했습니다.

주요 혼합물/성분의 파장 스캔

다양한 알코올 농도에서 온도 조절 실험을 수행하기 전에 순수 파스티스 리큐어, 에탄올을 첨가하여 최대 45%(v/v) 알코올로 만든 희석된 파스티스 용액, 그리고 30%(v/v) 알코올로 희석된 파스티스 용액의 UV-Vis 스펙트럼을 표 1에 주어진 설정을 사용하여 수집했습니다. 기준 셀에서는 탈이온수에 해당 에탄올 용액을 사용했습니다.

표 1. 25°C에서 순수 및 희석된 파스티스 시료의 UV-Vis 스펙트럼을 얻는 데 사용된 Agilent 3500 UV-Vis 파라미터.

파라미터	설정
파장 범위	200-1,100nm
데이터 간격	1.00nm
평균화 시간	0.02초
스펙트럼 대역폭	4.0nm
교반 속도	800rpm
온도	25.0°C

용해도 온도에 대한 조사

각 파스티스 혼합물의 용해 온도를 측정하는 데 사용된 온도 램핑 파라미터는 표 2에 요약되어 있습니다. 모든 실험에서 시작 온도로 25.0°C를 선택했습니다. 일부 혼합물은 실온에서 용해되지 않는 것으로 나타났습니다. 따라서 온도 램핑 프로그램의 1단계에서는 큐벳의 온도를 55°C까지 높여 부유물에 남아 있는 입자가 완전히 용해되도록 했습니다. 2단계에서는 흡광도 모드에서 55에서 -5°C까지의 실제 데이터를 수집했습니다. 모든 측정에서 각 구역의 시료 셀에 장착된 온도 프로브를 온도 컨트롤러의 피드백 루프에 사용했습니다. 다음 섹션에서는 이러한 파라미터 선택에 대해 자세히 논의합니다.

표 2. 온도 프로그램의 각 단계에 대한 Agilent 3500 UV-Vis 파라미터.

	1단계(가열)	2단계(냉각)
파장	750.0nm	750.0nm
평균화 시간	1.0초	1.0초
스펙트럼 대역폭	4.0nm	4.0nm
교반 속도	400rpm	400rpm
시작 온도	25.0°C	55.0°C
종료 온도	55.0°C	-5.0°C
유지 시간	10.0분	0분
데이터 간격	1.0°C	1.0°C
속도	5.0°C/분	1.0°C/분

Cary 3500 멀티셀 Peltier 샘플링 모듈에는 이슬점 이하의 온도에서 실험을 수행할 때 큐벳 외벽에 응축이 생기는 것을 방지하기 위한 퍼지 라인이 장착되어 있습니다. Ouzo 용해 상평형도 연구에는 물의 어는 점인 0°C 이하에서 흡광도를 측정해야 하므로 질소(N₂)를 퍼지 가스로 사용하여 10L/분 유량에서 실행했습니다.

결과 및 토의

파장 범위의 식별

알코올 농도 45%(v/v)의 순수 파스티스가 지닌 특유의 호박색은 이 연구에 사용된 특정 리큐어의 조성 및 관련된 발색단에 의해 발생합니다. 따라서 상전이 측정에 적합한 파장 범위를 확립하기 위해 몇 가지 초기 제어 스캔을 수행했습니다.

순수 파스티스(그림 3의 파란색 곡선)는 멀티셀 Peltier 모듈이 장착된 Cary 3500의 광도 범위 최대값인 500nm 이하의 파장에서 예를 들어, 약 4.5 흡광도 단위의 강한 흡광을 보입니다.

파스티스 리큐어와 관련된 발색단을 시각화하기 위해 에탄올 농도를 일정하게 유지하여 아네톨이 침전되는 것을 방지하면서 희석된 파스티스 용액을 준비했습니다. 그림 3의 노란색 곡선은 244nm와 297nm에서 두 개의 뚜렷한 피크와 460nm까지의 테일링을 보이는데, 이러한 테일링은 아마도 확인되지 않은 피크의 가장자리에서 나온 것으로 보입니다. 이러한 테일링 특징은 순수한 파스티스 리큐어 스펙트럼(파란색 곡선)에서 600nm까지 확장될 가능성이 높습니다. 이러한 측정 결과로부터 600nm 이상의 측정에 영향을 미치는 중요한 발색단이 없다는 결론을 내릴 수 있습니다. 그림 3의 녹색 곡선은 낮은 알코올 농도 혼합물(30%)을 나타내며, 이는 실온에서 흐린 파스티스 용액으로 나타납니다.

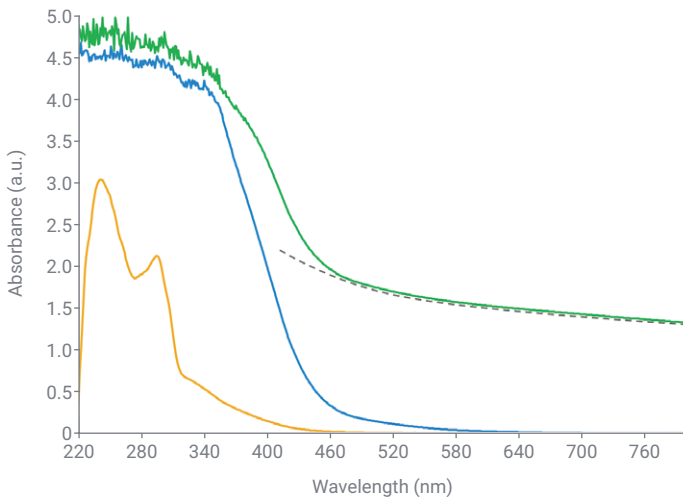


그림 3. 희석되지 않은 파스티스(파란색), 45%(v/v) 에탄올에 10배 희석한 파스티스(노란색), 30%(v/v) 알코올에 섞은 탁한 파스티스 용액(녹색)의 UV-Vis 스펙트럼. 녹색 곡선에 대한 빛 산란의 영향을 회색 점선으로 강조 표시했습니다

200-600nm 범위의 발색단 특징 외에도 그림 3의 회색 점선으로 알 수 있듯이 600nm 이상에서 추가적인 기여를 관찰할 수 있습니다. 전체 스펙트럼 범위에서 신호를 상쇄하여 느리게 감쇠되는 신호는, 부유물에 용해되지 않은 입자에 의해 발생하는 빛 산란과 관련이 있습니다.

상전이 온도를 결정하기 위해 750.0nm의 파장이 선택되었습니다. 750.0nm의 겔보기 흡광 신호는 오로지 빛 산란의 함수이며 발색단의 어떤 영향도 받지 않습니다.

온도 조건 및 냉각 속도 최적화

이 연구에서 사용된 낮은 농도의 알코올 혼합물은 주변 온도에 가까운 전이 온도를 나타냈습니다. 그림 4는 낮은 농도의 알코올 시료에 대한 일반적인 용해도 곡선을 보여줍니다. 25.0°C의 시작 온도에서 부유물의 용해되지 않은 아네톨에 의한 빛 산란으로 인해 750nm에서 상당한 겔보기 흡광도가 나타납니다. 시료를 55.0°C 까지 처음 가열하면(표 2의 1단계) 침전된 아네톨이 파스티스 용액의 에탄올 분획에 재용해되면서 겔보기 흡광도가 약 0으로 낮아집니다. 이 단계에서는 빛의 산란을 일으킬 수 있는 입자를 용해하는 것이 목표이므로 가열 속도는 중요하지 않습니다. 느린 용해 과정이 완료될 수 있도록 시료를 높은 온도에서 10분 동안 보관합니다.

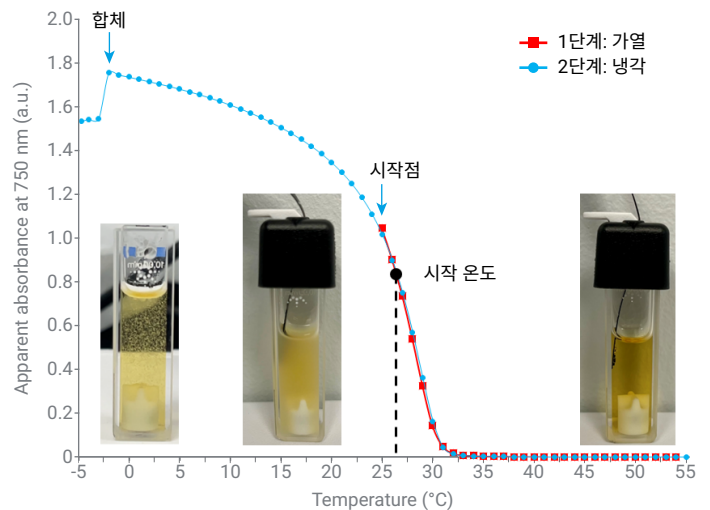


그림 4. 30%(v/v) 알코올 농도에서 파스티스 시료의 상전이와 관련된 일반적인 곡선. 1단계 동안(■), 시료를 일정하게 교반하면서 55°C로 가열하여 오른쪽 큐벳에서 볼 수 있는 투명한 용액을 만들었습니다. 2단계 동안(●), 시료를 천천히 -5°C로 냉각하여 가운데 큐벳에서 볼 수 있는 탁한 용액을 만들었습니다. 왼쪽의 큐벳에서 볼 수 있듯이, 물의 어는 점 근처에서 추가적인 상전이가 발생했습니다

냉각 단계(표 2의 2단계)에서 각 구역의 온도는 1.0°C/분의 속도로 천천히 -5.0°C까지 낮아졌습니다. 더 빠른 냉각 속도(>2°C/분)에서 실시한 예비 실험 결과, 용액을 효율적으로 교반했음에도 불구하고 아네톨 상전이가 평형에 도달하지 못한다는 사실이 밝혀졌습니다. 빠른 냉각 속도에서는 상전이의 운동 속도가 너무 느려서 냉각/가열 곡선에 이력 효과(hysteresis)가 나타났습니다(결과는 표시하지 않음).

1.0°C/분 또는 그 이하의 냉각 속도에서 재현성 있는 결과를 얻었습니다. 온도 조건이 충족되면 겔보기 흡광도는 정점에 도달하기 전에 급격히 증가합니다. 이러한 전환점을 시작 온도(onset temperature)라고 합니다. 아네톨 침전물이 많아질수록 빛 산란량이 증가하고, 약간 희석된 파스티스 시료의 수용액 분획에도 약간의 아네톨 침전이 발생합니다.

일부 용액의 경우, 그림 4에 표시된 바와 같이 -3°C 이하에서 갑자기 흡광도가 떨어지는 것이 관찰되었습니다. 용액을 계속해서 철저히 저어주었음에도 불구하고 일부 용액은 -3°C 이하에서 불안정적이고 상분리되기 시작했는데, 이는 큐벳을 시각적으로 관찰한 결과였습니다. 이런 현상은 이전에도 관찰되었으며, 합체(아네톨 액적이 더 큰 액적으로 합쳐짐), 응집(아네톨 액적이 합쳐지지 않고 모임), 침전(밀도 차이로 인한 분리) 및 Ostwald 숙성(아네톨 물방울의 크기 증가)으로 설명되었습니다.² 이러한 각각의 과정으로 인해 침전된 아네톨의 균일한 덩어리가 붕괴되면서 흡광도가 크게 감소합니다. 이 저온 상전이는 가역적이지 않은 것으로 밝혀졌습니다. 즉, 용액을 다시 가열하면 이력 효과(hysteresis)가 관찰되었습니다. 이러한 관찰에 따라 -2.5°C보다 낮은 온도는 초기 침전 개시에 영향을 미치지 않으므로 용해 상평형도에서 제외되었습니다.

알코올 농도(%)가 침전 온도에 미치는 영향

다양한 알코올 농도(순수 농도에서 30.0% v/v까지)에서 새로 제조한 용액을 사용하여 실험을 반복했습니다. 그림 5에서 다양한 시료의 냉각 곡선을 볼 수 있습니다. 결과에 따르면 리큐어에 물을 아주 약간만 첨가해도 아네톨이 침전되는 시작 온도가 바뀌는 것으로 나타났습니다. 용액 내 에탄올의 비율이 감소함에 따라 침전 온도가 높아지는 경향이 뚜렷합니다.

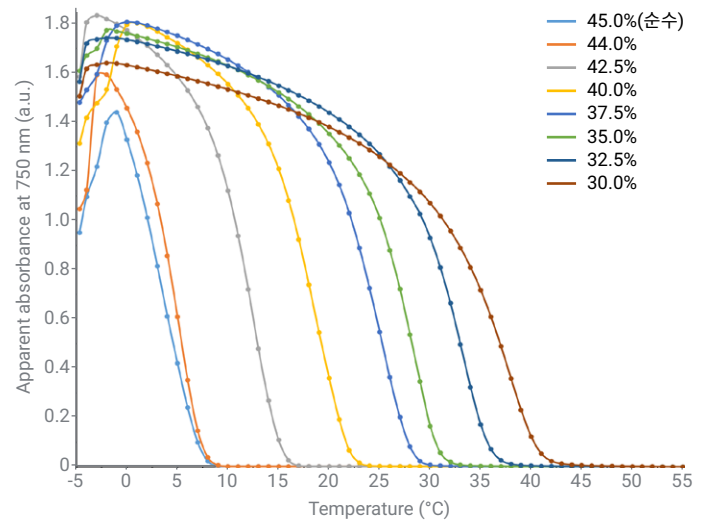


그림 5. 45.0, 44.0, 42.5, 40.0, 37.5, 35.0, 32.5 및 30.0%(v/v) 알코올 농도에서 파스티스 용액의 UV-Vis 냉각 곡선(2단계)

실험은 30% (v/v) 알코올로 제한되었는데, 알코올 농도가 낮은 시료의 경우 혼합물을 처음에 용해시키기 위해 에탄올/물의 비등점에 가깝게 온도를 낮춰야 하기 때문입니다.

상 온도 결정

그림 5에 표시된 각 곡선의 상 온도를 정확하게 결정하기 위해 1차 도함수 분석법을 적용했습니다. 평균 온도는 그림 6에 나타난 아네톨 용해 상평형도를 구성하는 데 사용되었습니다. 오차 막대는 3회 반복 값의 표준편차에 해당합니다.

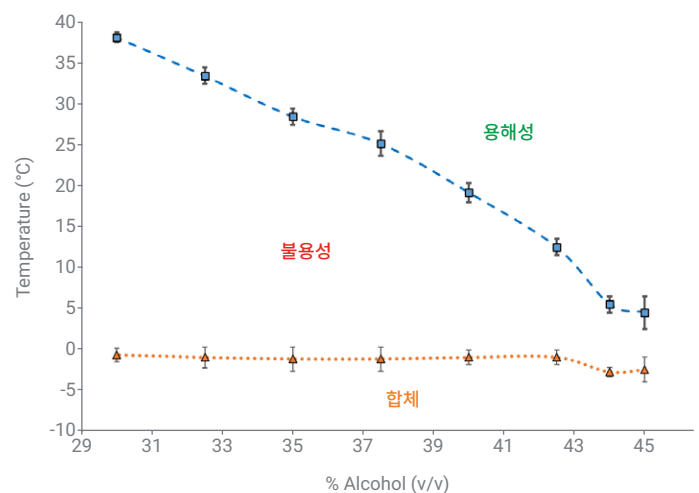


그림 6. 파스티스 리큐어에 대한 아네톨의 용해 상평형도. 각 데이터 포인트는 평균 온도 값에 해당하며, 오차 막대는 세 번의 반복 실험의 표준편차를 나타냅니다

UV-Vis 분광법은 물의 어는 점 근처에서 발생하는 상 분리를 조사하는 데 사용하기에 가장 명확하거나 적합한 도구가 아닐 수 있습니다. 그러나 이러한 현상이 발생하는 온도는 1차 도함수 분석법을 사용하여 추정할 수도 있습니다. 그림 6의 주황색 점선에서 볼 수 있듯이, 이러한 추가적인 상전이는 용액의 알코올 농도와 무관한 것으로 보입니다. 전이가 0°C에 매우 가깝게 일어나기 때문에 에멀전 내의 순수한 물 영역과 관련이 있다고 추측할 수 있습니다.

결론

애질런트 멀티셀 Peltier 샘플링 모듈이 장착된 Agilent Cary 3500 UV-Vis 분광 광도계를 사용하여 파스티스 리큐어 내 아네톨에 대한 8-포인트 상평형도를 작성했습니다.

Peltier 온도 제어되는 멀티셀의 다중 구역 기능을 이용하면 시료와 기준 쌍을 포함한 큐벳으로 구성된 4개의 온도 램핑 실험을 동시에 실행할 수 있습니다. 이 기능을 사용하면 Cary 3500 UV-Vis를 사용하여 73분 동안 두 번 실험하여 파스티스의 포괄적인 용해 상평형도를 수립할 수 있었습니다. 이는 다른 기술을 사용하여 상평형도를 작성하는 데 필요한 시간보다 훨씬 빠른 것입니다.

측정 중 침전이 생기는 것을 막기 위해 멀티셀의 8개 큐벳 각각에 독립적인 교반기를 장착했습니다. 끊임없는 교반으로 모든 큐벳의 온도가 균일하게 유지되었으며, 이는 온도 램핑 실험에 매우 중요합니다. 공랭식 Peltier 시스템과 질소 가스 퍼지 기능을 결합해 주변 온도보다 상당히 높고 물의 어는 점보다 낮은 온도 설정점을 응축 없이 얻었습니다.

본 연구에서는 사용하기 간편한 Cary 3500 UV-Vis 시스템이 복잡한 시료의 상평형도를 확립하고 우조 효과(ouzo effect)에 대한 통찰력을 제공하는 데 적합하고 효율적임을 보여주었습니다.

참고 자료

1. United States Pharmacopeia (2024). General Chapter, {855} Nephelometry and Turbidimetry. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeia. DOI: https://doi.org/10.31003/USPNF_M9373_03_01
2. Sitnikova, N. L.; Sprik, R.; Wegdam, G.; Eiser, E. Spontaneously Formed *trans*-Anethol/Water/Alcohol Emulsions: Mechanism of Formation and Stability. *Langmuir* **2005**, 21, 16, 7083–7089.

추가 정보

- Cary 3500 멀티셀 UV-Vis 분광 광도계
- Cary 3500 소형 UV-Vis 분광 광도계
- Cary UV Workstation 소프트웨어
- UV-Vis 분광법 및 분광 광도계 FAQ

www.agilent.com/chem/cary3500uv-vis

DE-000868

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 9월 12일, 한국에서 인쇄
5994-7767KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com