

# 광학적 색상 분석을 이용한 고농도 시료의 농도 및 반응 속도 측정법

이은아 · 장지웅<sup>†</sup>

금오공과대학교 화학공학과  
(2023년 2월 6일 접수, 2023년 2월 14일 수정, 2023년 2월 14일 채택)

## Measurement of Concentration of Highly Concentrated Samples and Reaction Kinetics through Color Analysis

Euna Lee and Ji Woong Chang<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Kumoh National Institute of Technology, Gumi-si 39177, Republic of Korea  
(Received February 6, 2023; Revised February 14, 2023; Accepted February 14, 2023)

### 초 록

가시광선 영역에서 빛을 흡수하는 고농도 시료의 농도를 색상 좌표 값을 이용해 측정하는 법을 개발하였다. 이성분계 고농도 시료와 색상 좌표 사이의 관계식을 실험식으로 구하고 Resazurin에서 Resorufin으로의 촉매 반응 속도를 평가하였다. 제시한 방법은 자외선가시광선분광법에서 비선형적으로 측정범위 한계를 넘어선 영역의 농도를 시료를 희석하지 않고 직접 측정할 수 있다.

### Abstract

We developed a method to measure the concentration of highly concentrated colored samples using color coordinates. We present a color analysis to estimate the concentration of highly concentrated binary solutions with an empirical function and apply it to estimate the kinetics of a catalytic irreversible reaction of resazurin to resorufin. The developed method enabled one to measure the concentration of solutions whose range of concentrations is nonlinear and beyond the limit of UV-vis spectroscopic measurement directly without dilution.

**Keywords:** Color analysis, High concentration, Resazurin, Resorufin, Reaction kinetics

## 1. 서 론

액상에서의 농도 측정은 high-performance liquid chromatography (HPLC), inductively coupled plasma (ICP), 분광계, 또는 두 개 이상의 농도 측정 기술이 결합된 형태의 분석기기를 이용하며 화학, 바이오, 나노재료, 촉매 등의 다양한 분야에서 이용되고 있다[1-5]. 광학기기 중에 자외선가시광선분광법은 액상에서의 다양한 물질의 농도를 측정하는 데 사용하는 데 널리 사용되고 있고[6] 시료의 광학적 흡수 파장을 이용해 정량적 농도를 측정할 수 있다. 이러한 광학적 특성을 이용한 분석기기는 HPLC[7-12] 또는 ICP[13-16]와 비교할 때 column의 선택이나 이온화와 같은 전처리 필요성이 없어 유용하다. 자외선가시광선분광법을 이용한 농도 분석은 용액의 흡수율은 용액 내 흡수 중의 농도와 경로 길이에 정비례한다는 Beer 법칙에 기초한다[17]. 따라서 자외선가시광선분광법의 장점은 단순성, 다기능성, 정확성, 속도 및 비용 효율성으로 정량 및 정성 분석, 액상에서의 반응속도 관측,

분자 수준에서 메커니즘 정의 등이 가능하다[18-25]. 하지만 자외선가시광선분광기의 실제 작동 범위는 200~800 nm이며 이 외의 범위는 분석의 유효성이 떨어지고 용매에 따라 cutoff 파장을 고려해 선택해야 한다[25,26]. 또한 고농도 시료일수록 물질 간 활발한 상호작용이 발생하여 Beer의 법칙에서 벗어나 농도와 흡광도 사이 비선형이 나타나게 되어[25] 고농도 시료 분석을 위해서는 희석하여 측정하고 농도를 추정하는 과정이 필요하다.

색상 분석법은 화학, 환경, 화장품 등의 분야에서 색상 좌표를 활용하여 빠른 색채 및 농도 분석에 활용되고 있다[27-30]. 색상 분석에 사용되는 색 공간은 RGB, HSV, CIE LCH, -CIE L\*a\*b\*, CIE xyY, CIE Yu'v', CMYK 등이 있으며 색상 분석을 통한 농도 분석은 높은 처리량, 짧은 분석 시간, 향상된 성능 및 신뢰성, 실시간 분석의 가능성 등 다양한 이점을 가지고 있다[27,28]. 이러한 분석법을 이용하여 RGB 또는 HSV 모델을 사용한 색상 분석을 통해 15 min 내에 150개 샘플의 빠른 분석 가능하며[27], 토양 속 필요한 물의 양, 이온 농도, pH, 경도 관측 등에 이용되고 있다[27-30]. 색상 분석은 빠른 측정이 가능하지만 주로 정적 상태에서 저농도와 양을 측정하는 데 이용되어 왔고 시간에 따라 농도와 양이 변하는 촉매 반응 등에는 거의 사용되지 않았다.

이 논문에서는 색상 분석을 이용한 고농도 시료의 농도 분석법을

<sup>†</sup> Corresponding Author: Kumoh National Institute of Technology  
Department of Chemical Engineering, Gumi-si 39177, Republic of Korea  
Tel: +82-54-478-7693 e-mail: jwchang@kumoh.ac.kr

Table 1. Concentration of Mixture of RZ and RF for Color Analysis of Highly Concentrated Solution

Total conc. ( $\mu\text{M}$ )	200	400	600	800	1000
Ratio of RZ (%)	RZ:RF ( $\mu\text{M}:\mu\text{M}$ )				
0	0:200	0:400	600:0	0:800	0:1000
20	40:160	80:320	120:480	160:640	200:800
40	80:120	160:240	240:360	320:480	400:600
50	100:100	200:200	300:300	400:400	500:500
60	120:80	240:160	360:240	480:320	600:400
80	160:40	320:80	480:120	640:160	800:200
100	200:0	400:0	600:0	800:0	1000:0

제시하고 자외선가시광선분광법 분석 결과와 비교함으로써 유효성을 검증한다. 제시된 색상 분석을 이용한 농도 분석법은 반응 용액의 디지털 이미지 획득, 소프트웨어를 통한 이미지의 색상 분석, 색상 좌표와 농도 사이 관계식에 추출한 반응 용액의 색상 좌표 대입, 농도 계산 순서로 진행된다. Resazurin (RZ)에서 Resorufin (RF)으로의 환원 반응은 단일 나노 촉매의 단일 분자 연구, 물질 전달 계수 측정 등에 이용되고 반응물과 생성물 모두 가시광선 영역에서 흡수 파장을 갖고 있어[31,32] 색상 분석의 대상 모델로 이용될 수 있다. 농도 측정 및 반응 속도 측정을 위해 RZ, RF 및 RZ 환원반응을 활용하였다. 색상 좌표와 농도 사이 관계식은 RZ와 RF의 농도 별 관계식을 얻고 이를 바탕으로 환원 반응 동안 시간 변화에 따른 RZ와 RF의 농도를 계산하고 반응 속도를 계산하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 기기 구성

Resazurin sodium salt (RZ), hydroxylamine (50% in water, HA), gold nanoparticle (5 nm diameter, stabilized suspension in citrate buffer, GNP)은 Sigma-Aldrich에서 구입하였다. Resorufin sodium salt (RF)은 Santa Cruz Biotechnology Inc.에서 구입하고 정제 없이 사용하였다.

디지털 이미지 획득 방법은 이전에 제시한 방법[33]에서 확인할 수 있다. 획득 방법을 간단히 설명하면 석영 셀을 중심으로 Nikon D5600 카메라와 5 W 백색 LED를 수직 방향으로 위치하였다. 이때 각각의 거리는 15 cm이며 카메라는 ISO 1/25, F 5.6, 조리개 최대 개방 5로 세팅하였다. Wien의 변위 법칙에 LED의 온도에 따라 파장 및 강도가 바뀔 수 있기 때문에[34] LED가 일정한 온도에 도달할 때까지 10 min 이상 기다렸다. 자외선가시광선분광법 분석과 동일한 조건에서 실험하기 위해 석영 셀을 사용하고 5 W 백색 LED를 15 cm 거리에서 조사하였다.

### 2.2. 실험 방법

고농도의 용액의 농도 분석을 위해 RZ와 RF의 혼합물의 총 농도를 200, 400, 600, 800, 1000  $\mu\text{M}$ 를 HA 9 mM를 용매로 하여 준비하고 각각의 농도에서 RZ와 RF의 100, 80, 60, 40, 20, 0%의 비율로 혼합을 하고 각각의 농도는 Table 1과 같다. 고농도(초기 농도: 200  $\mu\text{M}$  RZ)에서의 반응 속도를 계산하기 위해 RZ 800  $\mu\text{M}$  1 mL, HA 20 mM 1.8 mL, 5 nm GNP 0.321 mM 1.2 mL를 혼합하여 상온에서 반응을 일으켜주었다. 자외선가시광선분광기를 이용하여 5 min마다 흡수 파

장을 얻고 카메라를 이용해 30 s마다 디지털 이미지를 얻었다. RZ 환원 반응의 반응 속도를 자외선가시광선분광법으로 분석하기 위해 시간에 따라 얻어진 용액의 일부를 채취하여 반응 속도를 낮추고 기기 분석이 가능하도록 20배 희석하여 이전에 방법[33]으로 계산하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 자외선가시광선분광법을 고농도 분석의 한계

Figure 1은 RZ와 RF의 농도에 따른 자외선가시광선분광법의 최대 흡광도를 표시한 그래프이다. RZ와 RF의 최대 흡광도는 각각 601 nm와 571 nm에서 나타나며[33,35] 농도 5, 20, 50, 100  $\mu\text{M}$ 에서의 RZ와 RF의 흡광도는 단조 증가한다. 점선으로 표시되었듯이 RZ와 RF 농도에 따른 최대 흡광도는 50  $\mu\text{M}$ 까지는 선형으로 증가하고 하는데 이는 일반적으로 Beer 법칙을 적용할 수 있는 범위이다. 50  $\mu\text{M}$  이상의 RZ와 RF는 선형성에서 벗어나게 되며 100  $\mu\text{M}$  이상에서는 자외선가시광선분광기에서의 측정할 수 있는 흡광도 범위를 벗어난다. 따라서 Beer 법칙에 따른 RZ와 RF의 농도 분석 범위는 약 50  $\mu\text{M}$  이내로 한정되며 고농도의 시료에 대해서는 희석하여 측정하여야 자외선가시광선분광기를 이용한 농도 측정이 가능하다.

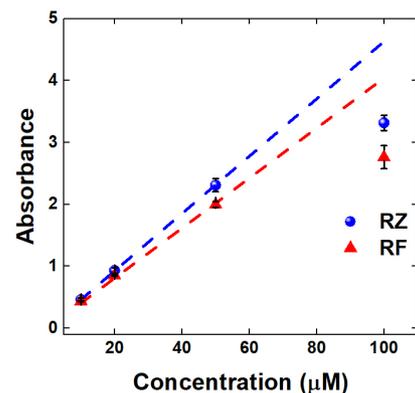


Figure 1. UV-visible spectroscopy of RZ (blue dot) and RF (red triangle) and their linear relationship between concentration and absorbance at low concentration range for RZ (blue dash line) and RF (red dash line).

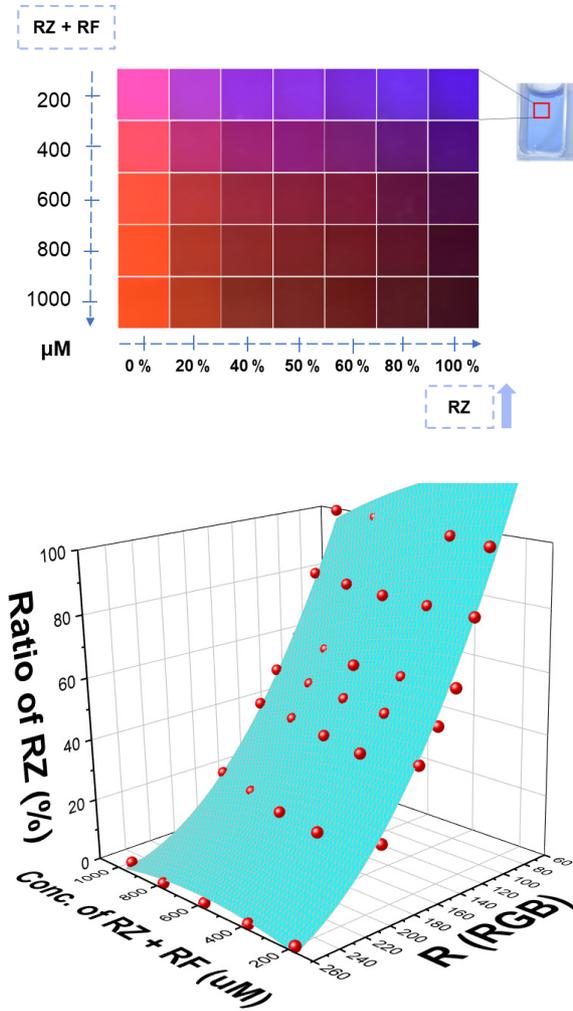


Figure 2. Concentration estimation of highly concentrated solution through color analysis: (a) color of mixtures of RZ and RF, (b) 3D plot of relationship of color coordinate and the concentration of RZ and RF: experiment (Red dot) and fitting (blue surface).

### 3.2. 고농도 시료의 색상 분석

Figure 2a는 5 W 백색광 LED를 15 cm 거리에 둔 상태에서 RZ와 RF의 혼합물의 농도와 RZ 비율에 따른 디지털 이미지이다. 상대적으로 낮은 농도인 200 μM에서는 RZ의 비율이 높을 때 푸른 색, RF의 비율이 높을 때는 붉은 계열의 색을 나타낸다. 전체 농도가 높아짐에 따라 RZ의 농도가 높을 때는 보라색, RF의 농도가 높을 때는 오렌지 색을 보인다. 자외선가시광선분광기의 흡수 파장은 약 450 nm부터 700 nm까지의 좁은 가우시안 분포 형태가 아닌 한쪽으로 치우친 분포를 보이며[33,35] 각각의 파장에서의 고농도에서 농도에 따라 흡광도가 비선형과 선형이 혼재되어 나타난다. RZ와 RF의 최대 흡수 파장인 601 nm와 571 nm는 시각적으로 주황색과 노란색이며 농도가 높아지면서 Figure 2에서 보듯이 최대 흡수 파장의 흡수도가 다른 파장과 비교할 때 상대적으로 낮아지면서 주황색과 노란색의 투과도가 높아지는 효과를 보이므로 푸른색인 RZ는 시각적으로 보라색, 붉은 색인 RF는 시각적으로 주황색으로 보인다. 따라서 농도가 높아짐에 따라 RZ와 RF는 넓은 스펙트럼에서 농도에 따른 흡광도가 비선형적으로 바뀐다. 색상을 이용한 분석법에서도 전체 스펙트럼의 비선형성으로 인

해 superposition principle을 적용할 수 없어 이전 연구결과와 같은 선형식을 사용할 수 없다. 이러한 농도와 흡광도의 비선형성 관계를 갖는 영역에서의 색상과 농도의 관계식을 얻기 위해서 다양한 농도와 다양한 비율의 RZ와 RF 혼합물 이용해 분석하였다.

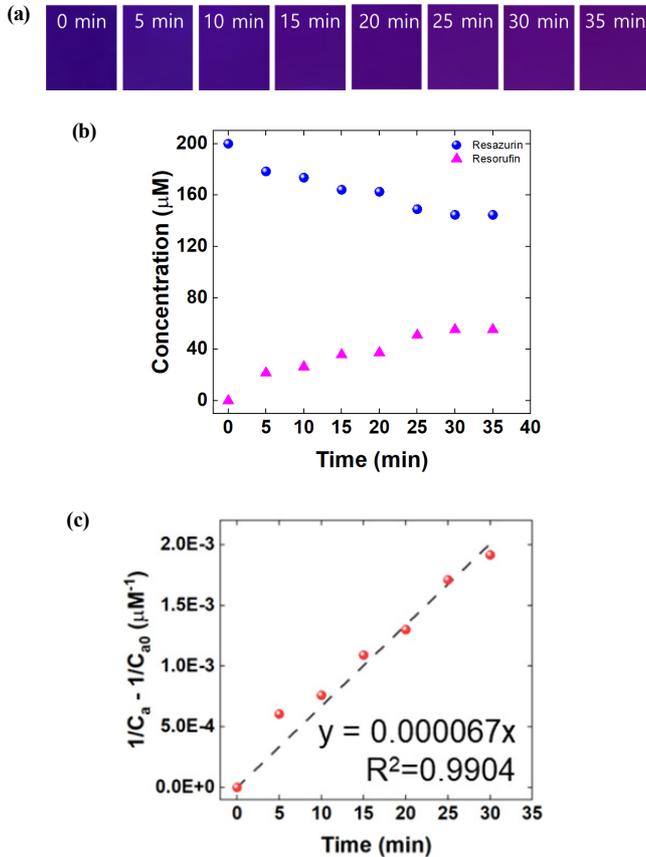
Figure 2b는 Figure 2a의 디지털 이미지를 분석하여 RZ + RF 농도, RZ 비율, 색상 공간을 변수를 사용한 2차식을 피팅하여 전체 농도와 RGB의 R값에 따른 RZ의 비율을 계산할 수 있는 그래프이다. 전체 농도와 RZ의 비율에 따른 RGB의 R값은 볼록한 곡면을 가진다. 전체 농도와 R값으로 RZ의 비율을 구하는 형태로 그래프를 변형하면 Figure 2b와 같이 오목한 곡면을 갖는다. 전체 농도가 일정할 때 R값에 따른 RZ의 비율은 단조 증가하는 것을 보여주지만 동일한 RZ의 비율에서 R과 전체 농도에 관계는 극값을 가지는 함수 형태를 보여준다. 따라서 이 그래프를 통해 RZ와 RF가 동시에 존재하는 경우에는 superposition principle이 적용되지 않음을 확인할 수 있다. RZ와 RF로 구성된 이성분계의 액상의 농도에 대한 관계를 얻기 위해서 RZ + RF 농도, RZ 비율, 색상 공간을 변수로 비선형 관계식을 구하였다. 비선형 관계식은 실험식을 이용할 수 있으며 다항식, 삼각함수, 지수함수 등과 같은 다양한 실험식 중에서 농도에 따라 단조증가하는 흡광도의 특성으로 식 (1)과 같은 다항식을 이용하였다.

$$Z = Z_0 + Ax + By + Cx^2 + Dy^2 + Exy \quad (1)$$

여기서  $x$ 는 RZ와 RF 혼합 농도,  $y$ 는 추출한 색상 좌표,  $Z$ 는 전체 혼합 용액에서 RZ의 비율(%)을 나타내며  $Z_0, A, B, C, D, E$ 는 관계식에 포함되는 상수 값이다. 다양한 색상 공간에 관해서 실험식에 적용하였는데 상관관계도가 가장 높게 나온 색상 공간은 RGB이었으며 2차 다항식에서 상관관계가 높게 나왔다. 관계식에 포함되는 상수 값인  $Z_0, A, B, C, D, E$ 는 각각 207.363, -0.01413, -1.4503,  $-2.32 \times 10^{-5}$ , 0.00239,  $1.70 \times 10^4$ 이다. RGB 모델을 사용하여 2차 다항식 식으로 피팅 한 결과 RGB 각각  $R^2$ 이 0.9926, 0.9436, 0.1885이다. RZ의 시각적인 색상은 푸른색으로 RGB 색상 분석에서는 푸른색은 투과하고 붉은 색과 녹색 계열의 색이 흡수되어 파란색은 농도 변화에 따른 색 변화가 붉은색과 녹색에 비하여 적어 signal to noise 비율이 높아 상관관계가 작은 것으로 보인다. RZ의 초기 농도를 알고 있다고 한다면 RGB 색상 좌표에서 R 또는 G를 사용하였을 때 RZ와 RF의 농도비를 구할 수 있으므로 각각의 농도를 구할 수 있다. 이것은 이성분계의 혼합물의 농도는 전체 농도를 알고 있을 때 자유도가 1로 한 개의 색상 좌표로 농도를 구할 수 있다.

### 3.3. 고농도 RZ 환원 반응

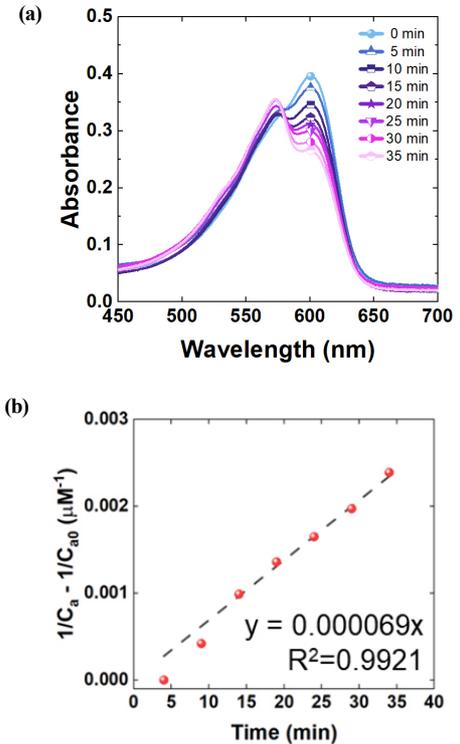
Figure 3a는 RZ 환원 반응을 5 min마다 촬영한 디지털 이미지이다. 5 W 백색광 LED를 15 cm 거리에 둔 상태에서 카메라는 ISO 1/25, F 5.6, 조리개 최대 개방 5로 세팅하였다. 시간이 지날수록 붉은 색 계열로 변화하는 것을 관찰하여 RZ가 RF로 환원되는 것을 알 수 있다. 이미지소프트웨어를 사용하여 200 × 200 픽셀 크기의 색상 좌표의 평균 값을 추출하였다. 초기 RZ 농도 200 μM를  $x$ 로, 소프트웨어를 통해 추출한 색상 좌표 R값을  $y$ 로 하여 식 (1)에 대입하여 RZ의 비율을 얻고 RZ와 RF의 농도를 계산하였다. Figure 3b는 초기 RZ 농도 200 μM를 가지는 환원반응에서 색상 분석을 이용해 시간에 따른 RZ와 RF의 농도를 보여준다. RZ와 RF의 농도를 색상 좌표 R을 이용해 직접 구할 수 있으며 다양한 반응 차수에 대한 선형화를 이용해 반응 속도를 구할 수 있다. Figure 3c는 색상 분석을 통해 분석한 RZ 환원 반응의



**Figure 3.** Color analysis of reduction reaction of RZ with initial condition of 200 μM of RZ, 9 mM of hydroxylamine, and 160.5 μM gold NPs: (a) color change of solution (R = 50, 64, 67, 73, 75, 82, 85, and 86 at 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, and 35 min), (b) calculated concentrations of RZ and RF through color analysis, (c) plot of the linearized 2nd order reaction kinetics.

반응 속도 식을 선형화 한 그래프이다. 선형화한 데이터의  $R^2$ 은 0.99로 이전 연구 결과[33]와 같이 2차 환원반응임을 확인할 수 있다. 0, 1, 3차에서는  $R^2$ 이 0.99 미만으로 나왔다. 그래프의 기울기는 0.000067이며 반응 속도 상수가  $67 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 이며, 촉매 질량 당 반응 속도 상수는  $3.53 \text{ mmol/min gcat}$ 이다.

색상 좌표를 이용한 고농도 시료의 농도 측정법의 유효성을 확인하기 위해 자외선가시광선분광법으로 색상 좌표를 이용한 고농도 RZ의 환원 실험을 진행하였다. Figure 4a는 고농도의 RZ 환원 반응 용액의 일부를 희석한 후 자외선가시광선분광법 분석한 것이다. Figure 1에서 볼 수 있듯 RZ와 RF 약 50 μM 이상에서 자외선가시광선분광기를 이용해 직접 분석이 어렵고 분석 동안의 추가적인 반응을 줄이기 위해 반응 용액을 약간 추출하여 20배 희석하여 반응 속도를 낮추고 자외선가시광선분광기로 분석 가능한 농도 범위에서 분석하였다. 이전의 방법[33]으로 구한 농도에서 20배 높여 주어 희석 전의 농도를 계산하였다. Figure 4b는 2차 반응 속도 식을 선형화 한 결과로 색상 좌표를 이용한 방법과 동일하게 2차에서 가장 높은  $R^2$ 가 얻어졌으며 이때의 기울기는 0.000069이다. RZ 환원 반응은 2차식이며 반응 속도 상수는  $69 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 이며 촉매 질량 당 반응 속도 상수는  $3.53 \text{ mmol/min gcat}$ 이다. RZ 환원 반응은 색상 좌표를 이용한 분석과 희석을 통한 자외선가시광선분광법 모두 2차 반응 속도가 가장 적합하게 나왔다. 반응 속



**Figure 4.** UV-vis spectroscopic analysis of reduction reaction of RZ with initial condition of 200 μM of RZ, 9 mM of hydroxylamine, and 160.5 gold NPs μM 160.5: (a) UV-vis spectra of 20 times diluted aliquots, (b) plot of the linearized 2nd order reaction kinetics.

도 상수의 경우에는 자외선가시광선분광법을 이용한 경우가 색상 좌표를 이용한 직접 분석법에 비해 약 3% 정도 높게 측정되었는데 이것은 희석과 자외선가시광선분광기를 이용한 측정에서 시간이 흘러 용액의 추출했을 때 보다 반응이 더 진행되어 높게 나온 것으로 판단된다. 따라서 고농도에서의 직접 분석법에 비해 희석을 이용한 자외선가시광선분광기를 이용한 방법은 오차가 발생할 수 있다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 가시광선 영역에서 빛을 흡수하는 이성분계 시료의 농도와 색상 좌표 값 사이의 관계식을 통해 시간에 따라 변화하는 시료의 농도를 측정하고 고농도에서 직접 측정을 할 수 있는 방법을 제시하였다. RZ와 RF의 농도가 50 μM 한계를 초과하는 범위에서는 자외선가시광선분광기를 이용할 때 비선형성과 superposition principle 적용이 어렵고 peak의 크기가 측정 한계를 넘는 문제가 발생하여 직접 농도 측정이 불가능하다. 색상 분석을 이용할 경우 200~1000 μM의 RZ와 RF의 농도에서 RZ + RF 농도, RZ 비율, 색상 좌표의 3가지 변수를 이용해 2차 다항식을 이용하면 자외선가시광선분광기의 농도 분석 한계를 극복할 수 있다. 더 나아가 고농도의 RZ 환원 반응에서는 자외선가시광선분광기를 이용할 경우 시료의 희석, 이동, 분석을 하는 동안에 추가적인 반응이 진행될 수 있으나 색상 분석을 사용할 경우에는 직접 분석이 가능하여 반응 속도 상수를 더 정확히 측정할 수 있었다. 또한 이성분계 시료의 농도 측정에서는 전체 농도를 알 수 있는 경우 자유도가 1인 관계식을 얻을 수 있어 색상 좌표 하나로 간단히 농도 측정이 가능하다. 이성분계 이상의 시료가 존재할 경우에

는 자유도가 시료의 개수에 따라 늘어나므로 복잡한 상관관계식이 사용될 수 있다. 그리고 농도가 높아짐에 따라 명도가 낮아져 색상 분석 좌표의 해상도가 낮아질 수 있어 고농도에서는 높은 광원이 필요할 수 있다. 그럼에도 불구하고 색상 분석을 통한 농도 분석법은 기존의 액상 시료의 농도 측정 범위뿐만 아니라 측정 범위 이상의 고농도에서도 희석 없이 직접 분석이 가능한 방법으로 UV, IR과 같은 다른 파장 영역에 활용할 수 있다. 또한 다성분계의 시료의 경우 자유도를 고려하여 시료의 농도 측정이 가능할 수 있다.

## 감 사

이 연구는 2020년 국립대학 육성사업비로 지원되었음

## References

1. U. Pinkernell, S. Effkemann, and U. Karst, Simultaneous HPLC Determination of Peroxyacetic Acid and Hydrogen Peroxide, *Anal. Chem.*, **69**, 3623-3627 (1997).
2. B. L. Baldock and J. E. Hutchison, UV-visible spectroscopy-based quantification of unlabeled DNA bound to gold nanoparticles, *Anal. Chem.*, **88**, 12072-12080 (2016).
3. W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, and D. G. Fernig, Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra, *Anal. Chem.*, **79**, 4215-4221 (2007).
4. A. Scheffer, C. Engelhard, M. Sperling, and W. Buscher, ICP-MS as a new tool for the determination of gold nanoparticles in bio-analytical applications, *Anal. Bioanal. Chem.*, **390**, 249-252 (2008).
5. M. A. Rauf, M. A. Meetani, A. Khaleel, and A. Ahmed, Photocatalytic degradation of Methylene Blue using a mixed catalyst and product analysis by LC/MS, *Chem. Eng. J.*, **157**, 373-378 (2010).
6. F. S. Rocha, A. J. Gomes, C. N. Lunardi, S. Kaliaguine, and G. S. Patience, Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy—UV-Vis, *Can. J. Chem. Eng.*, **96**, 2512-2517 (2018).
7. M. P. Patil, HPLC Method Development-A Review, *J. Pharm. Edu. Res.*, **1**, 243-260 (2017).
8. K. Raval, and H. Patel, Review on common observed HPLC troubleshooting problems, *Int. J. Pharm. Res. Health Sci.*, **8**, 3195-3202 (2020).
9. S. Deshmukh, G. Chavan, S. Vanjari, and R. Patil, A review on Analytical method development and validation by High Performance Liquid Chromatography Technique, *J. Pharm. Sci. Res.*, **11**, 3599-3605 (2019).
10. J. Wolfender, HPLC in natural product analysis: the detection issue, *Planta Med.*, **75**, 719-734 (2009).
11. B. P. Shah, S. Jain, K. K. Prajapati, and N. Y. Mansuri, Stability indicating HPLC method development: A Review, *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, **3**, 2978-2988 (2012).
12. M. R. Siddiqui, Z. A. AlOthman, N. Rahman, Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A Review, *Arab. J. Chem.*, **10**, S1409-S1421 (2017).
13. J. W. Olesik, Elemental analysis using ICP-OES and ICP/MS, *Anal. Chem.*, **63**, 12A-21A (1991).
14. S. D. Tanner, V. I. Baranov, and D. R. Bandura, Reaction cells and collision cells for ICP-MS: A tutorial review, *Spectrochim. Acta B*, **57**, 1361-1452 (2002).
15. N. Jakubowski, L. Moens, and F. Vanhaecke, Sector field mass spectrometers in ICP-MS, *Spectrochim. Acta, B*, **53**, 1739-1763 (1998).
16. B. Meermann and V. Nischwitz, ICP-MS for the analysis at the nanoscale - A tutorial review, *J. Anal. At. Spectrom.*, **33**, 1432-1468 (2018).
17. A. Beer, Determination of the absorption of red light in colored liquids, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **162**, 78-88 (1852).
18. M. Malik, K. Chan, and G. Azimi, Quantification of nickel, cobalt, and manganese concentration using ultraviolet-visible spectroscopy, *RSC Adv.*, **11**, 28014-28028 (2021).
19. X. Xiao, Y. Sun, W. Sun, H. Shen, H. Zheng, Y. Xu, J. Zhao, H. Wu, and C. Liu, Advanced treatment of actual textile dye wastewater by Fenton-flocculation process, *Can. J. Chem. Eng.*, **95**, 1245-1252 (2016).
20. P. Quinlan, N. Grishkewich, and K. Tam, Removal of 2-naphthoxyacetic acid from aqueous solution using quaternized chitosan beads, *Can. J. Chem. Eng.*, **95**, 21-32 (2017).
21. W. Giufrida, F. Voll, A. Feihmann, M. Kunita, E. Madureira, M. Guilherme, D. Vedoy, V. Cabral, and L. Cardozo-Filho, Production of microparticles of PHBV polymer impregnated with progesterone by supercritical fluid technology, *Can. J. Chem. Eng.*, **94**, 1336-1341 (2016).
22. R. Brooker, C. Bell, L. Bonville, H. Kunz, and J. Fenton, Determining vanadium concentrations using the UV-Vis response method, *J. Electrochem. Soc.*, **162**, A608(2015).
23. M. Soylak, B. Ozdemir, and E. Yilmaz, An environmentally friendly and novel amine-based liquid phase microextraction of quercetin in food samples prior to its determination by UV-vis spectrophotometry, *Spectrochim. Acta A*, **243**, 118806 (2020).
24. G. Verma and M. Mishra, Development and optimization of UV-Vis spectroscopy-A review, *World J. Pharm. Res.*, **7**, 1170-1180 (2018).
25. F. Rocha, A. Gomes, C. Lunardi, S. Kaliaguine, and G. Patience, Experimental methods in chemical engineering: ultraviolet visible spectroscopy-UV-Vis, *Can. J. Chem. Eng.*, **96**, 2512-2517 (2018).
26. S. L. Upstone, Ultraviolet/visible light absorption spectrophotometry in clinical chemistry, In: R. A. Meyers (ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, 1699-1714, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK (2000).
27. M. Xia, L. Wang, Z. Yang, and H. Chen, A novel digital color analysis method for rapid glucose detection, *Anal. Methods*, **7**, 6654-6663 (2015).
28. A. Al-Naji, A. B. Fakhri, S. K. Gharghan, and J. Chahl, Soil color analysis based on a RGB camera and an artificial neural network towards smart irrigation: A pilot study, *Heliyon*, **7**, e06078 (2021).
29. N. Phuangsaichai, J. Jakmunee, and S. Kittiwachana, Investigation into the predictive performance of colorimetric sensor strips using RGB, CMYK, HSV, and CIELAB coupled with various data pre-processing methods: A case study on an analysis of water quality parameters, *J. Anal. Sci. Technol.*, **12**, 1-16 (2020).
30. F. Kulapichitr, C. Borompichaichartkul, M. Fang, I. Suppavorasatit, and K. R. Cadwallader, Effect of post-harvest drying process on chlorogenic acids, antioxidant activities and CIE-Lab color of Thai Arabica green coffee beans, *Food Chem.*, **366**, 130504 (2022).
31. S. Simoncelli, E. L. Pensa, T. Brick, J. Gargiulo, A. Lauri, J. Cambiasso, Y. Li, S. A. Maier, and E. Cortés, Monitoring

- Plasmonic Hot-Carrier Chemical Reactions at the Single Particle Level, *Faraday Discuss.*, **214**, 73-87 (2019).
32. N. Dietrich, K. Loubière, M. Jimenez, G. Hébrard, and C. Gourdon, A new direct technique for visualizing and measuring gas-liquid mass transfer around bubbles moving in a straight millimetric square channel, *Chem. Eng. Sci.*, **100**, 172-182 (2013).
33. E. Lee and J. W. Chang, Evaluation of Concentration and Reaction Kinetics through Color Analyses, *App. Chem. Eng.*, **33**, 279-283 (2022).
34. R. Das, Wavelength- and frequency-dependent formulations of wien's displacement law, *J. Chem. Educ.*, **92**, 1130-1134 (2015).
35. Y. J. Park, and J. W. Chang, Resazurin redox reaction mechanism using silver nanoparticles synthesized with monosaccharides and disaccharides, *App. Chem., Eng.*, **31**, 229-304 (2020).

**Authors**

Euna Lee; M.Sc., Researcher, Department of Chemical Engineering, Kumoh National Institute of Technology, Gumi-si 39177, Korea; eu3ue@kumoh.ac.kr

Ji Woong Chang; Ph.D., Professor, Department of Chemical Engineering, Kumoh National Institute of Technology, Gumi-si 39177, Korea; jwchang@kumoh.ac.kr