

# 화학실험 (004): 색소의 분리와 흡광 분석 결과보고서

제출일 2023.03.17

담당 교수님: 이은성 교수님

담당 조교: 백승현 조교

공과대학 컴퓨터공학부

강명석 (2024-10387)

## 실험개요

이 실험에서는 황색, 청색 색소 용액을 흡광분석해본다. 그리고 흡광분석한 결과와 Beer의 법칙을 이용해 두 색소가 모두 섞인 용액M 속에 색소가 어떤 비율로 혼합돼 있는지 파악해본다. 또한 용액M을 역상 크로마토그래피를 이용해 분리해보고 마찬가지로 흡광분석 결과와 Beer의 법칙을 활용해 회수율을 알아본다.

## 배경이론

### 1) 흡광분석

흡광분석법은 일정한 파장을 용액에 투과시켜 빛의 세기가 감소한 정보를 분석하는 분석법으로, 주로 용액의 농도를 정량적으로 측정할 때 사용한다. 시료에 입사한 빛의 세기를  $I_0$ , 투과한 후 빛의 세기를  $I$ 라고 한다면, 흡광도  $A = \log \frac{I_0}{I}$ 로 표현할 수 있다.

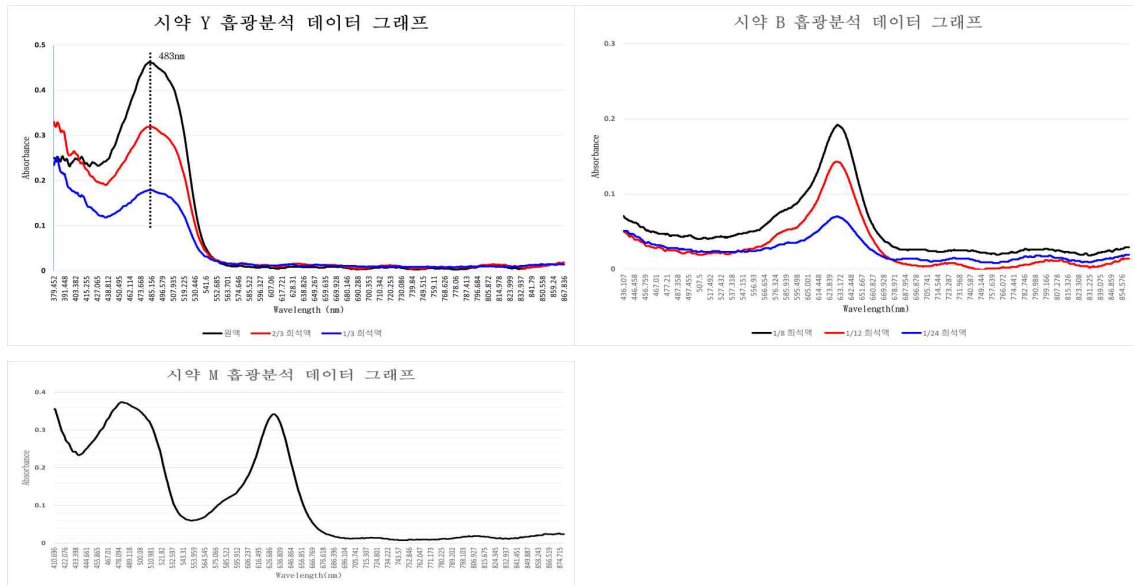
### 2) Beer의 법칙

Beer의 법칙은 흡광도와 용액의 농도 사이의 관계법칙이다, beer법칙에 따르면, 흡광도  $A = \epsilon bc$ 로 계산가능하다. 이때  $\epsilon$ 는 용액의 몰흡광계수로  $M^{-1}cm^{-1}$ 단위를 갖고,  $b$ 는 빛이 용액을 투과한 길이를 cm단위로 나타낸 것이며  $c$ 는 용액의 몰농도로 단위는 M이다.

## 실험1 Data & Result

### 1) 흡광분석

흡광분석을 한 후, 그 데이터 값을 흡광도-파장으로 그래프로 나타내었다. 시약 Y는 약 483nm에서 최대 흡광도가 나타났고, 이때 원액의 흡광도는 0.462, 2/3희석액의 흡광도는 0.319, 1/3희석액의 흡광도는 0.391로 나타났다. 시약 B는 약 631nm에서 최대 흡광도가 나타났으며, 이때 1/8희석액의 흡광도는 0.192, 1/12희석액의 흡광도는 0.143, 1/24희석액의 흡광도는 0.070으로 나타났다. 시약 M은 좌측에서는 약 483nm에서 최대흡광도가 나타났으며, 이때 흡광도는 0.374였다. 우측에서는 약 631nm에서 최대흡광도가 나타났으며 이때 흡광도는 0.342였다.



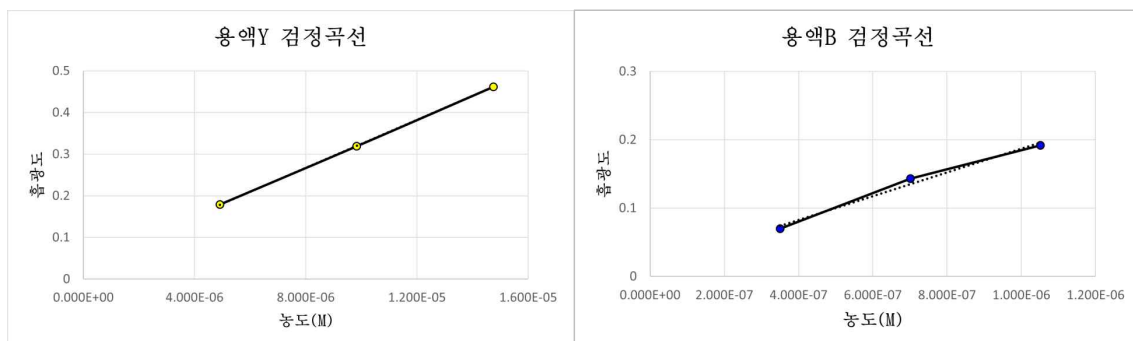
용액Y, B의 원액의 농도가 6.67mg/L라는 사실과 용질의 분자량을 알고 있으므로 Y원액의 농도는  $\frac{6.67 \cdot 10^{-3}}{452.4} = 1.47 \cdot 10^{-5}(\text{M})$ , B원액의 농도는  $\frac{6.67 \cdot 10^{-3}}{792.9} = 8.41 \cdot 10^{-6}(\text{M})$ 이라는 사실을 알 수 있다. 구한 농도 값과 Beer의 법칙  $A = \epsilon bc$ 를 활용해 몰흡광계수까지도 구할 수 있었고 이 값을 농도, 흡광도와 함께 표로 정리하였다.  $b = 1\text{cm}$ 이다.

용액 Y	원액	2/3	1/3
몰농도(M)	$1.47 \cdot 10^{-5}$	$9.83 \cdot 10^{-6}$	$4.92 \cdot 10^{-6}$
최대흡수파장(nm)	483		
흡광도	0.462	0.319	0.179
몰흡광계수( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )	$3.64 \cdot 10^4$	$3.24 \cdot 10^4$	$3.13 \cdot 10^4$

용액 B	1/8	1/12	1/24
몰농도(M)	$1.05 \cdot 10^{-6}$	$7.01 \cdot 10^{-7}$	$3.50 \cdot 10^{-7}$
최대흡수파장(nm)	631		
흡광도	0.192	0.143	0.070
몰흡광계수( $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )	$2.00 \cdot 10^5$	$2.04 \cdot 10^5$	$1.83 \cdot 10^5$

## 2) 검정곡선

표의 몰농도와 흡광도를 이용해 검정곡선을 그릴 수 있다. 그린 그래프의 추세선을 이용해 계산한 Y용액의 검정곡선은  $y = 28792x + 0.037$ , B용액의 검정곡선은  $y = 174034x + 0.013$ 이다. 이것은 Beer의 법칙  $A = \epsilon bc$ 이 어느정도 성립하고 있다는 것을 보여준다



### 3) 용액M 몰농도 및 혼합비율 계산

검정곡선을 계산하였으므로 이것을 바탕으로 용액M에 들어있는 색소들의 몰농도를 유추할 수 있다.  $0.374 = 28792c_Y + 0.037$ 이므로  $c_Y = 1.17 \cdot 10^{-5} \text{M}$ 이고,  $0.342 = 174034c_B + 0.013$ 이므로  $c_B = 1.89 \cdot 10^{-6} \text{M}$ 이다.

용액M	색소Y	색소B
최대흡수파장(nm)	482	631
흡광도	0.374	0.342
몰농도(M)	$1.17 \cdot 10^{-5}$	$1.89 \cdot 10^{-6}$

구한 몰농도를 바탕으로 1mL의 용액M에 들어 있는 색소의 몰 수를 구할 수 있다. 1mL에 있는 Y의 양은  $(1 \times 10^{-3} \text{L}) \times (1.17 \times 10^{-5} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 1.17 \times 10^{-8} \text{mol}$ 이고, 같은 방법으로 구한 1mL의 M에 들어있는 B의 양은  $1 \text{mL} \times (1.89 \times 10^{-6} \text{M}) = 1.89 \times 10^{-9} \text{mol}$ 이다.

용액 Y와 용액 B를 1:x비율로 혼합했다고 한다면, 용액 M의 색소 Y,B의 몰농도 비는  $1.474 \cdot 10^{-5} : x \times 8.41 \cdot 10^{-6} = 1 : 0.57x$ 이다. 이 비가  $1.17 \cdot 10^{-5} : 1.89 \cdot 10^{-6} = 1 : 0.1615$ 이고, 따라서  $x = 0.2833$ 이고, 혼합비율은  $1 : 0.2833 \approx 7 : 2$ 이다.

## 실험2 Data & result

### 1) 추출용액 몰농도 계산

용액 Y, B를 각각 물과 30% 에탄올을 이용해 추출을 진행하였다. 추출한 용액의 최대흡수파장과 흡광도는 아래 표와 같다. 추출용액의 흡광도를 알고 있으므로 마찬가지로 검정곡선을 통해 몰농도를 구할 수 있다.

	Y의 추출용액	B의 추출용액
최대흡수파장 (nm)	487	633
흡광도	0.074	0.114
몰농도 계산식	$0.074 = 28792c_Y + 0.037$	$0.114 = 174034c_B + 0.013$
몰농도 (M)	$1.29 \cdot 10^{-6}$	$5.80 \cdot 10^{-7}$

### 2) 회수율 계산

추출한 용액의 부피가 6mL라는 것을 알고 있으므로 구한 몰농도를 근거로 해 구한 용액M에서 추출한 Y, B색소의 몰 수는 각각  $7.74 \cdot 10^{-6} \text{mol}$ ,  $3.48 \cdot 10^{-6} \text{mol}$ 이다. 또한 실험 1에서 용액M 1mL속에 존재하는 색소의 몰 수를 알고 있으므로, 용액M 3mL에 존재하는 색소의 몰수는 각각  $3.51 \cdot 10^{-5} \text{mol}$ ,  $5.67 \cdot 10^{-6} \text{mol}$ 임을 알 수 있다. 이들을 근거로 색소의 회수율을 계산가능하다.

	용액 Y	용액 B
용액M 3mL에 존재하는 양	$3.51 \cdot 10^{-5} \text{mol}$	$5.67 \cdot 10^{-6} \text{mol}$
추출된 양	$7.74 \cdot 10^{-6} \text{mol}$	$3.48 \cdot 10^{-6} \text{mol}$
회수율 계산공식	$\frac{7.74 \cdot 10^{-6} \text{mol}}{3.51 \cdot 10^{-5} \text{mol}} \times 100$	$\frac{3.48 \cdot 10^{-6} \text{mol}}{5.67 \cdot 10^{-6} \text{mol}} \times 100$
회수율 (%)	22.0	61.4

## Discussion

실험 데이터에서 몰흡광계수가 비슷한 값을 가지는 것을 확인하였다. 이를 통해 같은 온도와 압력조건에서 몰흡광계수는 거의 같은 값을 가질 것을 예측할 수 있었다. 또한 실험 데이터에

서 같은 용질의 용액은 다른 용질과 함께 섞여있는 용액 그리고 추출된 용액에서도 모두 비슷한 최대흡수파장을 보였다. 이것은 시료 입자 자체의 물리적 성질이 변하지 않았기 때문이다.

아주 높거나 낮은 파장에서 용액의 흡광도가 0에 가까운 음수가 나오는 현상이 있었다. 이러한 현상이 발생하는 정확한 원인은 파악할 수 없었다. 그러나 음의 값을 가지는 흡광도가 매우 낮은 몰농도를 가지는 용액을 흡수가 거의 일어나지 않는 파장에서 측정했을 때 나타남을 감안하면, 투과한 빛이 입사시킨 빛과 세기가 같거나 매우 근소하게 낮아 발생한 현상이라 추측할 수 있다.

각각의 실험에서는 몰 흡광계수가 조금씩 다른 값을 가지거나, 추세선이 완벽한 비례관계를 보이지 않는 등 일반적이지 않은 결과나 나타났다. 특히 용액 Y에서 그러한 현상이 두드러지게 나타났다. 원인으로서는 희석용액 제작 시 정확하지 못한 부피 측정, 완전히 건조되지 못한 실린더 등이 있을 수 있으며, 해당 원인을 포함한 다양한 원인이 종합되어 오차가 나타났을 거라 생각된다.

## Assignment 1

흡광도를  $A$ , 몰흡광계수를  $\epsilon$ , 빛이 시료를 투과한 거리  $b$ 를 그리고 농도를  $c$ 라 하자.

이때 Beer의 법칙에 따르면,  $A = \epsilon bc$ 가 성립한다. 이것을 변형하면  $c = \frac{\epsilon b}{A}$ 라는 사실을 알 수 있고, 여기에 주어진 값을 대입하면 미지시료의 농도값을 계산할 수 있다.

$$c = \frac{0.037}{493\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1} \times 0.5\text{cm}} = 1.50 \times 10^{-4}\text{M}$$

## Assignment 2

Beer법칙의 성립에는 시료 입자가 다른 분자에 영향을 끼치지 않고, 모든 시료 입자가 동등하게 빛을 흡광할 수 있다는 가정이 필요하기 때문이다. 용액의 농도가 증가하면 입자간의 상호작용이 발생하고, 몇몇 시료는 흡광을 더 약하게 하게 되어 Beer법칙에 오차가 발생한다.

## Reference

DF Swinehart, 『Journal of chemical education』, ACS Publications, 1962, 333~334p  
김희준, 『일반화학실험』, 자유아카데미, 2010, 81~85p

# 실험 랩노트

24. 03. 12

생소의 분리과 흡광 분석, 랩노트

가령석 (2024 - 10387)

흡광도	측정	482.952			
		최대파장	원액	1/3희석	2/3희석
샘플 Y		<del>482.9</del>	0.462	0.179	0.319
		최대파장	1/8 희석	1/8 x 1/3 희석	1/8 x 2/3 희석
샘플 B		631.148	0.192	0.070	0.143
		최대파장1	최대파장2	1의 흡광도	2의 흡광도
샘플 M		481.628	631.148	0.374	0.342

## 크로마토그래피 결과

	최대파장	흡광도
물로 elution 한 용액	486.744	0.074
	최대파장	흡광도.
30% EtOH로 elution한 용액	632.924	0.114

김동준