

화학실험 (004): 색소의 분리와 흡광 분석

예비보고서

제출일: 2023.03.

담당 교수님: 이은성 교수님

담당 조교: 백승현 조교

공과대학 컴퓨터공학부

강명석 (2024-10387)

실험목표

이 실험은 무극성 정지상과 극성 이동상을 활용하여 용액에 녹아있는 두 식용색소를 크로마토그래피로 분리하고, 농도를 분석한다. 실험을 수행하며 극성, 비극성, 소수성 입자 간의 상호작용 그리고 분배의 원리 등 크로마토그래피와 관련된 원리를 익힌다. 또한 Beer의 법칙, 흡광도, 검정 곡선 등의 개념을 이용하여 분리된 용질을 흡광 분석으로 분리하고 그 양을 계산한다.

실험배경

1) 역상 크로마토그래피 (reversed phase chromatography)

크로마토그래피는 혼합물을 분리하는 방법 중 하나로, 극성 분자는 극성 분자끼리 그리고 비극성 분자는 비극성 분자끼리 잘 섞이려고 하는 점을 이용한 것이다. 크로마토그래피에는 정지상과 이동상이 존재하는데, 이동상에 녹아있는 여러 용질들 중 정지상과 더 잘 섞이는 것은 느리게, 정지상에 덜 잘 섞이는 것은 빠르게 이동하면서 용질들 간의 분리가 일어난다. 이때 정지상이 극성, 이동상이 무극성인 크로마토그래피를 정상 크로마토그래피로, 정지상이 무극성, 이동상이 극성인 크로마토그래피를 역상 크로마토그래피라고 한다.

2) Beer-Lambert 법칙

비어-램버트 법칙은 물질의 농도에 관한 법칙이다. 빛이 어떤 용액을 통과했을 때, 투과광이 입사광에 비해 더 약해진 정도가 빛이 진행한 거리와 용액의 농도에 비례한다는 법칙이다. 입사한 빛의 세기를 P_0 , 투과해 나온 빛의 세기를 P 라고 하자. 이때 투과율 T 그리고 흡광도 A 를 아래처럼 정의한다.

$$T = \frac{P}{P_0}, \quad A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{P_0}{P}$$

이때, 적절한 농도의 용액에 대해서 $A = \epsilon bc$ 가 성립한다. b 는 cm단위로 나타낸 빛의 진행 길이이고, c 값은 용액의 몰 농도(mol/L)이며, ϵ 값은 몰흡수계수이다. 몰흡수계수는 $M^{-1}cm^{-1}$ 의 단위를 갖는다. 이 값은 파장마다 다른 값을 갖는다.

실험 준비물

분광광도계, 큐벳, C18 카트리지, 10mL 시린지, 피펫(1.0mL, 10mL), 50mL 용량 플라스크, 비커, 30%에탄올, 증류수, 황색 색소(Y) 용액(분자량 452.4; 6.67mg/L), 청색 색소(B) 용액(분자량 792.9; 6.67mg/L), Y와 B의 혼합 용액(M)

실험과정

1) 혼합 용액의 흡광 분석

증류수로 2/3정도 채워진 큐벳을 광원과 검출기 사이에 넣어준다. 이후 컴퓨터에서 REFERENCE, MEASURE순으로 클릭을 한다. 이때 모든 파장에서 0의 흡광도를 가지는 지 확인한다. 세 종류의 용액을 각각 증류수를 활용해 열 배 묹힌 후, 흡광도를 측정한다. 이때 빛의 파장은 450nm에서 시작하여 650nm까지 20nm간격으로 두어 측정한다. 나타난 세 개의 스펙트럼을 하나의 그래프에 그려낸다. 이후 각 색소가 가장 빛을 많이 흡수하는 파장을 구하고 그 파장에서의 몰흡광계수를 구한다. (2)의 희석용액을 다시 2/3, 1/3으로 희석한다. 희석한 용액의 흡광도를 측정한 다음, 이를 통해서 검정 곡선을 그려준다. 검정 곡선을 분석하여 미지의 용액 M에 들어있는 용액 Y와 B의 비율, 1.0mL의 묹힌 용액에 들어 있는 황색과 청색 색소의 몰수를 계산한다.

2) 색소의 분리와 흡광분석

30% 에탄올 수용액 5mL를 10mL시린지에 채운다. 그후 C18카트리지를 연결하여 세척하고 소량의 증류수로 다시 세척한다. 피펫으로 용액 M 1.0mL를 연결된 10mL 시린지에 넣은 다음, 밀대를 사용해 시료 전체가 카트리지 상층부에 도달할 수 있게끔 한다. 시린지에 증류수를 넣고 밀대로 밀어 낸다. 이때 흘러나오는 황색 색소(Y)를 50mL 플라스크에 받는다. 이후 50mL 눈금까지 증류수를 채우고 흡광도를 측정한다. 시린지에 잔존하는 증류수를 버리고 30% 에탄올을 이용해 청색 색소(B)를 뽑아낸다. 황색 색소(Y)와 같은 과정을 통해 흡광도를 측정한다. 이때 REFERENCE를 이전과 다르게 30% 증류수로 설정해야 하는 것에 주의한다. 구한 흡광도로부터 플라스크 속에 있는 색소의 양을 mol단위로 구하고, 실험1에서 얻은 값을 이용하여 회수율을 계산한다.

유의사항

유리기구를 사용할 경우, 사용하기 전에는 유리기구에 오염이나 손상이 있는 지 확인한다.

시약을 다룰 때 보호장갑/보호의/보안경/안면보호구를 착용한다.

실험 후 사용한 용액은 분류에 따라 적절한 폐액통에 버린다.

에탄올은 열, 스파크, 화염, 고열로부터 멀리하고 용기를 단단히 밀폐해야한다. 그리고 에탄올을 다룰 때에는 스파크가 발생하지 않는 도구를 사용하고 정전기 방지 조치를 취해야 한다.

참고문헌

DF Swinehart, 『Journal of chemical education』, ACS Publications, 1962, 333~334p

김희준, 『일반화학실험』, 자유아카데미, 2010, 81~85p

안전보건공단, “MSDS검색”, 안전보건공단 화학물질정보, 2017.12.20,
<https://msds.kosha.or.kr/MSDSInfo/kcic/msdsdetail.do#>