|  |
| --- |
| **실험8. 에탄올 분석 결과보고서** |
| |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | **실험일** | **제출함 No.** | **담당교수** | **점수** | | **Jun 01, 2023** |  | **박민진** |  | | **학과** | **학번** | **이름** | | **화학과** | **2023160236** | **정원준** |  1. **Abstract**   잘 알려진 물질의 농도를 구할 때는 해당 물질의 calibration curve를 이용해서 구할 수 있다. 이때 분광분석법으로 농도에 따른 표준 용액의 흡광도 변화를 분석하는 것 또한 calibration curve를 그리는 한 방법이다. 본 탐구에서는 여러 술 속 에탄올의 농도를 알아내기 위해 UV-Vis를 이용한 calibration curve를 제작하여 정량분석하였다.  우선, CrO3 10.0212g을 이용해 1.0M CrO3(aq) 100mL를 제조했다. 이후 6.0%, 8.0%, 10.0%, 18.0%, 22.0% 에탄올 표준 용액 각 1mL를 제조한 1.0M CrO3(aq) 수용액 10mL를 취한 후 반응시켜 의 반응을 일으켰다. 반응이 완결된 용액은 0.5mL를 취하고 증류수 9.5mL를 더해 묽히고 UV-Vis로 흡광도를 측정하여 calibration curve를 제작했다.  화이트와인, 진로, 한라산 속 에탄올 농도를 구하기 위해 1mL를 취하여 동일한 과정을 거쳐 처리하였다. 이를 calibration curve를 통해 정량분석한 결과 에탄올 농도(%, v/v)는 차례대로 14.6%, 16.8%, 18.4%로 나타났다. |

|  |
| --- |
| **실험8. 에탄올 분석 결과보고서** |
| 1. **Data**    1. **알코올의 정량**  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 조 | **알코올의 종류** | **흡광도 (A580 nm)** | **조** | **알코올의 종류** | **흡광도 (A580 nm)** | | 1 | 6.0 % EtOH | 0.067 | 7 | 12.0 % EtOH | - | | 2 | 10.0 % EtOH | 0.12 | 8 | 16.0 % EtOH | - | | 3 | 14.0 % EtOH | - | 9 | 20.0 % EtOH | - | | 4 | 18.0 % EtOH | 0.16 |  | **와인** | 0.131 | | 5 | 22.0 % EtOH | 0.177 |  | **병소주** | 0.151 | | 6 | 8.0 % EtOH | 0.083 |  | **팩소주** | 0.187 |  1. **Results** 2. **알코올의 정량**  |  |  | | --- | --- | | [그래프 첨부] 흡광도 그래프 | [그래프 첨부] 검정 곡선 |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | [그래프 첨부] 흡광도 그래프 |  | **알코올의 종류** | **알코올의 농도(%)** | |  | (화이트)와인 | 14.6 | |  | 병소주(한라산) | 18.4 | |  | 팩소주(진로) | 16.8 | |  |  |  | |  |  |  |  1. **Calculation & Analysis**  * **A580nm 값을 통한 회귀분석으로 calibration curve y=0.009x을 얻을 수 있었다.**   이때 일차함수의 역함수 또한 일차함수이므로 농도 추정 함수 를 얻을 수 있었다. 여러 술의 A580nm 값을 대입하여 농도를 추정하였다.   * **한계반응물에 대한 고찰**   CrO3 10.0212g을 사용해서 만든 용액 10mL에 해당하는 CrO3의 몰수는 다음과 같이 구할 수 있다.  실험에서 가장 에탄올의 양이 많았던 22% EtOH(v/v) 용액 1mL 속 몰수는  제공된 크로뮴이 에탄올보다 대략 30배 많으므로 일련의 실험들에서 에탄올이 한계 반응물인 것은 타당하다. 이는 Cr의 산화-환원 반응이 일어난 양을 비교하기 위한 실험이기에 크로뮴염이 한계반응물이라면 그 목적에 부합하지 않는다. 에탄올이 의 반응을 일으키기 위해서는 투입한 에탄올의 몰수의 1.33배 이상의 CrO3가 필요하다. (에서 Cr은 모두 CrO3에서 기원하기에 일련의 근사는 타당하다.) 30배의 차이는 에탄올이 한계 반응물로서 충분히 기능하게 한다.   1. **Discussions1, 2**  * **측정된 흡광도의 값이 1보다 크면 정확한 농도 측정이 안되는 경우가 발생한다. 그 이유는 무엇인가? 이 방법을 해결하기 위해서는 어떻게 해야 할까?**   투광도는 초기에 주사한 빛의 세기()에 대한 검출기에 도달한 빛의 세기()로 정의하며, 흡광도는 투광도의 -log 로 정의한다. 보통 흡광도의 스케일은 0.1~1.0(0.5~0.6 정도로 보기도 함)을 채택하며, 따라서 많은 경우 (교양실험용) UV-Vis는 이 영역에서 분석이 가장 잘 되도록 설계되었다.  따라서 흡광도의 값이 1보다 크면 정확한 농도 측정이 되지 않는 것은 직관적인 사실이다. 우선, 기기의 설계 범위 밖으로 벗어난 값이기에 정확도가 필연적으로 떨어질 수밖에 없다(램프 외 검출기 등의 한계). 둘째, beer-lambert 법칙에 의해 제대로 측정되지 않은 흡광도일지라도 그 값이 커진다는 것은 시료의 농도가 증가한다는 개연성이 있음을 설명한다. 이때 시료의 농도가 증가한다는 것은 시료의 상대적인 양이 증가한다는 것을 의미하므로 시료 간의 상호작용(인력)이나 반응 등으로 이해 구한 물리량이 왜곡될 수 있다. 셋째, 램프의 출력이 충분히 강하지 않을 수 있다. 즉, 초기에 주사한 빛의 양이 적고 시료의 농도가 과하게 높은 경우 입자 분포, 암실 조건(기계적 컨디션) 등에 따라 장비가 농도 변화에 따라 기민하게 반응하지 못할 확률이 높다.  이를 해결하기 위한 첫 번째 방법은 장비를 개선하는 것이다. 비싼 램프의 경우 크기가 크고 출력이 강하므로 비싼 가격과 정밀도를 요구하는 UV-Vis에서는 이를 많이 사용한다. 따라서 흡광도를 낮출 특별한 방법이 없다면 기자재를 좋은 것으로 바꾸는 것 또한 하나의 방법이다. 하지만 동일한 분광광도계를 이용하여 실험을 해야 하는 경우 기계적 조건에 변화를 주기 어렵다. 이때 흡광도는 Beer-Lambert 법칙에 의해 로 정의되고, 동일한 장비와 시약에서 사용되는 몰 흡광계수()와 셀의 두께(b)는 동일하기에 바꿀 수 있는 변수가 농도밖에 없다. 따라서 농도를 최대한 묽혀 낮은 농도에서 실험을 진행하는 것이 합리적이다. 만일 이 또한 불가능하다면 다른 분석법을 채택하는 것 또한 방법이다. 예를 들어, ABTS의 경우 암실 조건에서의 합성이 필연적이라 재실험을 위해서는 긴 시간이 걸린다는 단점이 있다. 하지만, 라디칼 소거능을 측정할 수 있는 비슷한 시약인 DPPH는 에탄올에 묽혀진 용액이 이미 시중에 많이 유통되고 있으며, 묽히는 것 또한 어렵지 않아 많이 활용되고 있다.   * **실험값으로 검정곡선을 그릴 때 그래프의 절편 값은 어떻게 취급해야 하는지 설명하시오.**   Blank값을 고려하지 않은 경우를 생각해 보자. Beer-Lambert 법칙에 의해 이다. 따라서 흡광도를 농도에 대해 기술하면 계수가 이고, 원점을 지나는 직선이 나오는 것이 타당하다. 이를 calibration에 대한 standard fit이라고 한다. 보통 분광광도계는 동일한 큐벳을 가지고 진행하기 때문에 흡광도를 농도에 대해서 도시하면 기울기는 (몰) 흡광계수의 의미를 갖는다. 따라서 서로 다른 두 condition을 가지고 실험할 때 기울기를 이용하면 특정 조건에서의 흡광계수를 파악할 수 있다.  하지만 이때, 실제 실험에서는 용매에 대한 영향을 간과할 수 없다. 즉, 농도가 0인 경우에도 흡광도가 존재하게 된다. 따라서 blank값을 처리하지 않은 경우 y-절편은 blank값이 되며, 이는 계산을 통해 얻는 것이 아니라 실험적으로 측정해야 한다. 따라서 해당 자료를 가지고 least square fit을 하여 calibration curve를 얻은(blank의 data를 지나가도록 force) 경우 y절편은 blank 값 이상의 의미를 갖지 않는다.  그러나 기술의 발전으로 multi-cell spectrophotometer에서는 blank 시료를 동시에 측정할 수 있다. 이 경우 농도가 0인 표본이 하나가 존재하기는 하지만, 시료에 반영은 되지 않는다. 예를 들어, 7개의 set을 분석하여 blank 포함 8개의 data를 얻었다고 가정하자. 이때 8개의 data를 처리하는 방식에는 여러 가지가 있다. 우선, 무조건 y절편이 0이 되도록 force하고 least square fit을 하는 방법이다. 이 경우 y절편은 0으로, standard calibration curve를 강제로 얻는 방법이 된다. 또 다른 방법은 위 문단에서 기술한 원점을 지나지 않는 calibration curve를 절편이 0이 되도록 강제로 모든 점을 평행이동하는 방법이다. 이는 순서만 다를 뿐 앞서 소개한 방법과 동일하므로 standard calibration curve를 얻을 수 있다.  하지만 blank를 포함하고(force하지 않은 채로) least square fit을 하면 성격이 다소 달라진다. 이때 얻은 calibration curve의 절편은 0이 아니다. 이런 상황에서는 2가지 경우를 가정할 수 있다. 우선, y절편의 경우가 0과 비슷한 경우이다. 이 상황에서 우리는 data set이 재현성을 가지며, corrected absorbance가 linear fit이 잘 된다는 사실을 직관적으로 이해할 수 있다. 하지만 반복 측정에도 불구하고 y절편의 값이 0에 비해 심하게 벗어나는 경우(음수가 나오기도 하며, 큰 양수가 나올 수도 있다.) 이는 blank 값 이외에도 y절편에 영향을 주는 다른 요인이 존재함을 의미한다. 이는 시료-용매 사이의 강한 반응성 때문일 수도 있으며, 용매 자체의 부반응으로 인한 것일 수도 있다. 일련의 요인들을 종합하여 매트릭스 효과(matrix effect)라고 한다. 따라서 이 경우 y절편은 matrix effect와 실험 오차를 모두 포함한 값이라고 할 수 있다. 따라서 경우에 따라서는 blank를 이탈하도록 하는 것이 오히려 정확도가 높을 수 있으며, 따라서 실험을 할 때 blank 값이 아닌 미량의 시료를 첨가한 용액을 유사-표준으로 사용하는 것이 타당할 수 있다.  요약하자면, least square fit을 해서 얻은 결론은 경우에 따라 그 의미가 달라지며, 동시에 정확도 또한 변화한다. 실험자와 편의성에 따라 원점을 지나게 강제(strictly force to standard)할 수도 있으며, 일부러 y절편을 살려 활용할 수도 있다. 따라서 일련의 방법들은 모두 가설검정의 대상이 되며, 가설검정의 결과를 토대로(p-검정, f-검정, 카이제곱검정 등) 신뢰도가 가장 높은 방법을 채택하는 것이 옳다.  하지만 본 탐구에서는 calibration standard가 명확히(참값이 명확히) 제시되지 않았으며, 가설검정을 도입하기에 표본 수조차 너무 부족하기에(근사한 분포나 검정통계량의 신뢰도가 너무 적다.) calibration curve를 원점을 지나게 의도적으로 조작하여 사용하였다.  \* 제언 : 실험에 따라 다르지만 정량의 미지 시료에 표준 용액을 부피를 다르게 하면서 가하면 x절편은 미지 시료의 농도로 해석할 수 있다(standard addition method).   1. **References**   1. Harris, Quantitative Chemical Analysis, 7/ed., Freeman, 2007, pp63-95  2. Same book, pp424-449 |