

32. 흡광도측정법

흡광도측정법은 검체가 일정한 좁은 파장범위의 빛을 흡수하는 정도를 측정하는 방법이다. 물질의 용액의 가시부 및 자외부흡수스펙트럼은 그 물질의 화학구조에 따라 정하여진다.

그러므로 여러가지 파장에 있어서의 흡수를 측정하여 물질을 확인할 수 있다. 보통 흡수의 극대파장(λ_{max}) 또는 극소파장(λ_{min})에 있어서의 일정한 농도용액의 흡광도를 측정하여 확인시험, 순도시험 및 정량시험을 한다.

단색광이 어떤 물질용액을 통과할 때, 투과광의 강도(I)와 입사광의 강도(I_0)와의 비를 투과도(T)라 하고, 투과도의 역수의 상용대수를 흡광도(A)라 한다.

$$T = \frac{I}{I_0} \quad A = \log \frac{I_0}{I} = -\log T$$

흡광도(A)는 용액의 농도(c) 및 액층의 길이(l)에 비례한다.

$$A = kc l$$

l을 1cm, c를 1%용액으로 환산한 때의 흡광도를, l을 1cm, c를 1M용액으로 환산한 때의 흡광도를 분자흡광계수(E)라 한다.

흡수의 극대파장에 있어서의 분자흡광계수는 E_{max} 로 표시 한다

흡광도측정은 규정된 용매를 쓴 용액에 대하여 시험한다. 용액의 농도는 측정에서 얻은 흡광도가 0.2~0.7의 범위가 되는 것이 적당하므로

용액의 흡광도가 이보다 높을 때에는 적당한 농도가 되도록 용매로 희석한 다음 측정한다. 또는 E를 구할 때는 다음 계산식에 따른다.

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{a}{c(\%) \times l} \qquad E = \frac{a}{c(\text{mol}) \times l}$$

- l : 액층의 길이(cm)
- a : 측정에서 얻은 흡광도
- $c(\%)$: 검체용액의 농도(w/v%)
- $c(\text{mol})$: 검체용액의 농도(mol)

가. 장치 및 조제법

측정장치로서 광전분광광도계 또는 광전비색계를 쓴다. 광전분광광도계는 모노크로미터와 광전광도계를 구비한 것으로서, 광원으로는 텅스텐램프 또는 수소방전관을 쓰며 각각 가시부 및 자외부의 흡수를 측정한다. 광전비색계는 광학적필터와 광전광도계를 구비한 것으로서, 광원으로는 텅스텐램프를 써서 가시부의 흡수를 측정한다. 큐벳트는 자외부흡수측정에는 석영제, 가시부흡수측정에는 유리제를 쓴다.

우선 각각의 시험법에 표시되어 있는 필터 또는 정하여진 측정과장을 중심투과과장으로 하는 필터를 써서 분광광도계의 과장눈금을 측정과장에 맞추어 대조액을 광로에 넣고 조절하여 흡광도를 0이 되도록 한 다음 측정하고자 하는 용액을 광로에 바꾸어 넣고 이때에 나타나는 흡광도를 읽는다. 필터는 될 수 있는 대로 그 중심투과과장이 용액의 흡수의 극대과장과 일치하고 필터투과과정의 과장폭이 흡수대의 폭보다 좁은 것을 택하는 것이 좋다.

각 품목중의 흡광도의 항에서 “공시험을 하여 보정한다”라고 기재한

것은 대조액으로서 검체를 쓰지 아니하고 위와 같이 조작한 액을 쓰는 것을 말하며, “용매를 대조로 하여 공시험을 한다”라고 기재한 것은 대조액으로서 검체용액에 쓰인 용매와 같은 것을 쓰는 것을 말한다.

나. 흡광도측정에 의한 물질의 정량법

흡광도(A)를 표시하는 위의 식은 램베르트·베어의 법칙이라 하는 것으로서, 이 법칙은 보통 검체의 어느 일정한 농도범위에서 성립되는 것이므로 흡광도측정에 의하여 물질의 정량을 할 때에는 미리 측정 가능한 농도범위를 알 필요가 있다.

특히 표준용액이 정하여져 있지 아니할 때에는 검체의 순품을 써서 각종 농도의 용액을 만들어 위와 같이 흡광도를 측정하여 흡광도와 성분량(농도)과의 관계곡선을 만들 때, 베어의 법칙이 성립하는 범위에서는 직선이 되므로 이를 검량선으로 하여 정량한다.

다. 파장 및 흡광도눈금의 검정

파장눈금은 보통 석영수은등 또는 유리수은등 239.95, 253.65, 302.16, 313.16, 334.15, 365.48, 404.66, 435.83, 546.10nm 및 수소방전관 486.13, 656.28nm의 파장을 써서 검정한다. 흡광도눈금은 중크롬산칼륨(표준시약)을 0.01N 황산에 녹여 0.006w/v%로 한 액을 써서 검정한다.

이 액의 파장 235(극소), 257(극대), 313(극소) 및 350nm(극대)에 있어서 각 125.2, 145.6, 48.9 및 107.0이다.