

次亜塩素酸塩漂白による 青色色素のカイネティクス測定

漂白剤はどのように漂白するのか？

はじめに

青色No.1の色素は、最大吸収波長 (λ_{\max}) が632 nmにある強い吸収帯を持つ単一分子で構成されています。色素分子が着色されているのは、エネルギーギャップによって空の軌道と満たされた軌道を占める電子に対応する発色団と呼ばれる電子構造を持っているからです。正しいエネルギーの光子が分子に当たると、光子は吸収され、その励起された電子は空の軌道に飛び上がります。

色素分子の電子的または物理的構造が変化すると、満たされた軌道と空の軌道との間のエネルギーギャップの大きさに影響を及ぼす可能性があります。エネルギーギャップの小さな変化は、分子を異なる色に見せますが、分子の一部を酸化するなどのより大きな変化は、発色団を完全に不活性化し、色を消失させることができます。

分子を酸化するために使用される一般的な製品は、液体漂白剤です。漂白剤は、次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) の希釈溶液であり、着色された化合物と反応して無色に変換します。たとえば、衣類の汚れを除去するために漂白剤が利用されていることが一つの例です。

この実験では、青色の食品着色料と次亜塩素酸塩漂白剤の反応を調べます：



この反応の速度則を次のように書くことができます：

$$\text{反応速度} = k [\text{色素}]^m [\text{漂白剤}]^n \quad \text{式 2}$$

ベールの法則によると、濃度は吸光度に比例するため、反応中の632 nmの吸光度を測定することによって、色素 (染料) の濃度をモニターすることができます。

パートAでは、[色素] に関する反応の次数を決定します。実験では、[漂白剤] の濃度が [色素] よりもはるかに高くなるように設定されており、反応全体を通して効果的に一定に保たれます。これには、式2を簡略化する効果があります：

$$\text{速度} = k' [\text{色素}]^m \quad \text{式 3}$$

ここで、 $k'=k [\text{漂白剤}]^n$ とし、 k' は、擬似速度定数と呼ばれます

反応物を混合した後、時間の関数として吸光度を記録することで、反応物の濃度と時間のデータが取得でき、統合された速度グラフを作成することができます。反応の次数を定義する速度論の複雑さについて、以下の表1に従い、最良の線形フィットに基づいて、ゼロ、一次、および二次反応についての積分速度則を割り当てることができます。

反応における [色素] の次数は、以下のグラフのいずれが最良の直線を与えるかによって決定することができます：

- ゼロ次の場合：時間に対して、吸光度 (Abs) または色素の濃度 ([色素]) をプロットします。[色素] の反応はゼロ次です (式3の $m=0$)。
- 一次の場合：時間に対して、吸光度 ($\ln(\text{Abs})$) または色素の濃度 ($\ln[\text{色素}]$) の自然対数をプロットします。[色素] ($m=1$) の反応は一次です。

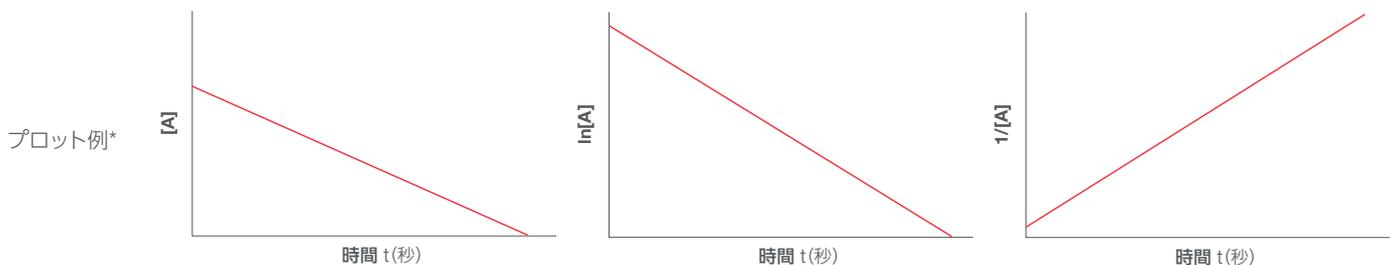
- 二次の場合：時間に対して、吸光度 ($1/\text{Abs}$) または色素の濃度 ($1/[\text{色素}]$) の逆数をプロットします。[色素] ($m=2$) の反応は二次です。

パートBでは、[色素] をパートAと同様に保ちながら [漂白剤] を2倍にして第2の反応をモニターし、反応の開始に近い瞬間初期速度を計算して、反応速度を再度測定します。

この速度は、短時間の濃度の変化を秒数で割ることによって計算できます。同じ時点での瞬間的な初期速度をパートAの速度と比較することにより、[漂白剤] が反応速度にどのような影響を与えるかを観察できます。[漂白剤] に関する次数 n がゼロである場合、式2は、[漂白剤] を2倍にしても測定された速度に影響を及ぼさないことを示します。同様に、 $n=1$ の場合、[漂白剤] を2倍にすると速度が2倍になり ($2^1=2$)、 $n=2$ の場合、速度は4倍になるはずで ($2^2=4$)。

表1

反応次数	ゼロ	一次	二次
説明	速度は反応物濃度に依存しません	速度は一つの反応物の濃度に比例します	速度は一つの反応物の濃度の二乗に比例します
速度則	速度 = k	速度 = $k [A]$	速度 = $k [A]^2$
速度式*	$[A] = -kt + [A]_0$	$\ln [A] = -kt + \ln [A]_0$	$\frac{1}{[A]} = kt + \frac{1}{[A]_0}$
半減期	$t_{1/2} = \frac{[A]_0}{2k}$	$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$	$t_{1/2} = \frac{1}{k [A]_0}$
線形プロット*	$[A]$ vs t	$\ln [A]$ vs t	$\frac{1}{[A]}$ vs t
Y切片*	$[A]_0$	$\ln [A]_0$	$\frac{1}{[A]_0}$
傾き*	$-k$	$-k$	k



*ゼロ、一次および二次の反応次数の積分速度式は、直線 $y = mx + b$ の方程式に適合します。ここで、 m は傾き、 b はY切片です。[A_0] は初期濃度であり、[A] は別の時点における濃度です。

速度を測定した時点で、[色素] および [漂白剤] の両方について測定された瞬間初期速度の実験データがあります。ここで、式2の m と n がわかるので、すべての既知の数値を代入し、速度定数 k を求めることができます。

パートCでは、わずかに異なる二つの温度でパートAの実験を繰り返します。速度則は温度を変えても変わりませんが、速度定数 k は変わります。これら二つの温度における速度定数を計算し、続いて $\ln(k)$ (y軸) 対 $1/T$ (x軸、ケルビン単位の温度) をプロットします。

このプロットは、アレニウス方程式に由来します：

$$\ln(k) = -\frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \ln[A] \quad \text{式 4}$$

線の傾きは、 E_a (反応の活性化エネルギー) を R (気体定数 $=8.314\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) で割った負の値です。

速度論は複雑な話題ですが、それを理解し、実験を注意深く設計することによって、反応のすべての速度パラメーターを決定することができます。

目的

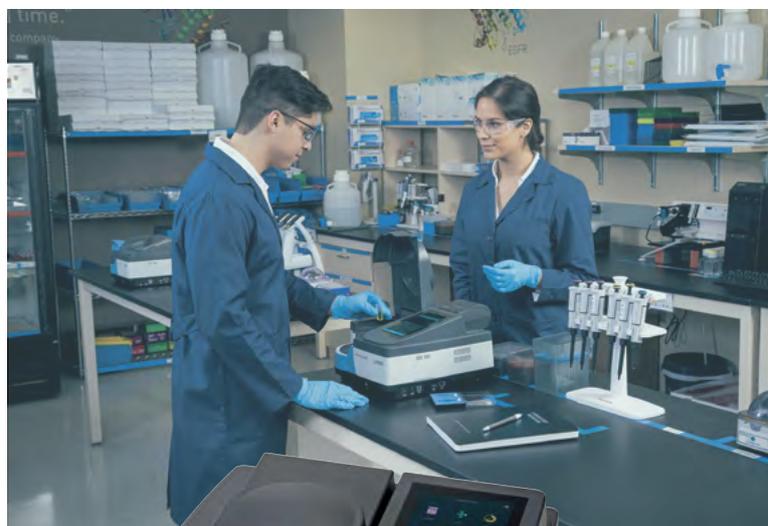
この実験は三つの異なる部分から成り、これらの操作は、順番にまたは個別のセッションで完了することができます。

1. パートA: [色素] の濃度に関する反応次数の決定
2. パートB: [漂白剤] の濃度に関する反応次数の決定
3. パートC: 反応 E_a の活性化エネルギーの決定

実験

試薬

- McCormick®Blue No.1色素溶液
 - 約 10.0×10^{-6} M の原液は、18滴の色素を1 Lの水に希釈することで調製できます。
 - 色素溶液の実際の濃度は、 $\epsilon = 130,000 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ である色素のモル吸光係数を使用して計算できます。
- Clorox®ブランドの次亜塩素酸ナトリウム漂白剤
 - 漂白剤溶液の濃度は、1.00 Mと推定することができます。
 - ボトル内の漂白剤の正確な濃度は、次亜塩素酸ナトリウムの重量濃度と密度を用いて算出します。



GENESYS50 UV-可視分光光度計

パート A. [色素] の反応次数を決定

- 分光光度計で測定するために、光路長がよく一致したキュベットを四つ、およびキュベットを置くためのキュベットラックを用意します。光学面に傷がなく、キュベットが清潔で、以前の実験での使用で汚染されていないことを確認します。
 - 一つのキュベットに蒸留水を満たし、ブランクとします。キュベットラックの1番目の位置に保管します。
- 原液の青色色素溶液25 mLをビーカーに入れ、水2 mLを加えて混合します。2番目のキュベットにこの溶液を満たします。これは、「比較の標準」として役立ちます。キュベットラックの2番目の位置に置きます。
- 原液25 mLと水1 mLを二つ目のビーカーに入れます。この溶液の温度を測定し、記録します。1 mLの漂白剤を用意し、以下の工程を迅速に行うための準備を行います。
 - カインेटクスメソッドを選択し、測定波長として632 nmを入力します。実験時間を800秒、データ間隔を5秒、積分時間を0.5秒に設定します (図1)。
 - 手順1のブランクキュベットの光学面を繊維くずの出ないラボ用ティッシュで拭き、サンプルステージに置きます。光学面がビーム内にあることを確認します。蓋を閉じ、「Continue (続行)」を選択し、「Blank (ブランク)」を選択して装置をゼロ設定にします。ブランク測定が完了したらキュベットを取り外し、キュベットラックの位置1に戻します。
 - 手順3のビーカー内の溶液に漂白剤1 mLを加えます。攪拌棒で十分に混合します。
 - キュベット3および4に手順3cの溶液を素早く入れます。
 - キュベット3をキュベットラックの3番目の位置に置き、反応の進行を観察します。
 - キュベット4の光学面を繊維くずの出ないラボ用ティッシュで拭きとり、分光光度計のサンプルステージに入れ、蓋を閉じます。
 - 「測定」を選択して、反応中に観察したキュベット3が無色に見えるまで吸光度を記録します。「停止」を選択すると、データ収集を終了できます (図2)。分光光度計のキュベット4には反応物が含まれており、キュベット3の反応物とまったく同じように見えることを覚えておいてください。実験時間を延長する必要がある場合、さらに時間を追加できます。GENESYS タッチスクリーン上で時計を選択してください。キュベット3の色の強度に何が起るかを観察し記録します (図3)。
- キュベット1および2とその内容物をキュベットラックに保持し、キュベット3および4の溶液を廃棄した後、蒸留水ですすぎます。
- データをエクスポートし、スプレッドシートプログラムを使用してプロットを生成し、計算を完了します。

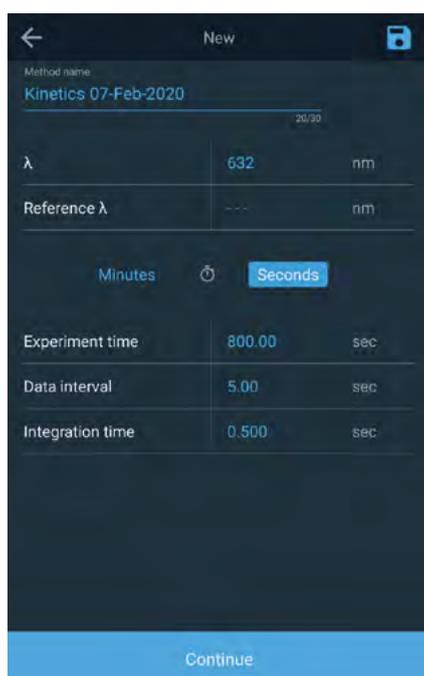


図1. カインेटクスメソッド設定



図2. カインेटクスメソッドの停止機能

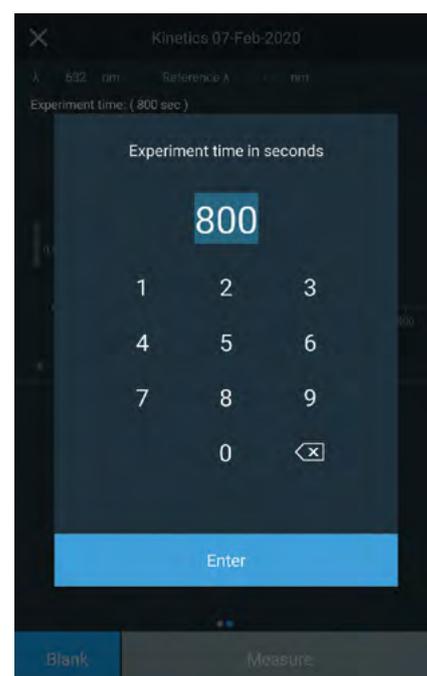


図3. 測定時間の設定

パートB. [漂白剤] 中の反応次数を決定

1. 色素原液25 mLを3番目のビーカーに入れます。2 mLの漂白剤を用意し、以下の工程を迅速に行うための準備を行います。
 - a. 分光光度計の設定およびブランク測定を行っていない場合、パートA (手順3a、3b) に記載されているように、カイネティクスメソッドに測定条件を入力し、ブランクキュベットを測定します。
 - b. 溶液に漂白剤2 mLを加え、混合します。
 - c. キュベット3、4にこの溶液を素早く満たします。
 - d. キュベットラックの3番目の位置にキュベット3を置き、観察します。
 - e. キュベット4を分光光度計に挿入します。
 - f. 「測定」を選択して、キュベット3が無色になるまで吸光度を記録します。反応が進行するまでキュベット3を観察します。必要に応じて反応時間を延長してください。
2. キュベット1および2とその内容物をキュベットラックに保管し、キュベット3および4の溶液を廃棄した後、蒸留水ですすぎます。
3. データをエクスポートし、スプレッドシートプログラムを使用してプロットを生成し、ラボレポートの質問に答えるために必要な計算を完了します。

パートC. 反応の活性化エネルギーを決定

1. 原液25 mLと水1 mLを4番目のビーカーに入れます。1 mLの漂白剤を用意し、以下の工程を迅速に行うための準備を行います。
 - a. 分光光度計の設定およびブランク測定を行っていない場合、パートA (手順3a、3b) に記載されているように、カイネティクスメソッドに測定条件を入力し、ブランクキュベットを測定します。
 - b. 250 mL容量のビーカーに約150 mLの水を入れ、ホットプレートで加熱することによって、湯浴を準備します。
 - c. 25 mLの色素溶液を入れたビーカーを、用意した湯浴中で加温します。
 - d. 溶液を室温より5°C (±1°C) 高くなるように温めます。室温および加熱した溶液の温度を記録します。
 - e. 溶液に漂白剤1 mLを加えて混合し、この溶液をキュベット3および4に素早く満たします。
 - f. キュベットラックの3番目の位置にキュベット3を置き、観察します。
 - g. キュベット4を分光光度計に挿入します。
 - h. キュベット3が無色に見えるまで吸光度を記録します。「停止」を選択すると、データ収集を終了できます。反応が進行するまでキュベット3を観察します。
2. 室温よりも10°C (±1°C) 高くなるように加温した溶液を用いて、パートCのステップ1 (a~h) と同じ手順を繰り返します。正確な温度を記録してください。
3. データをエクスポートし、スプレッドシートプログラムを使用してプロットを生成し、ラボレポートの質問に答えるために必要な計算を完了します。
4. すべての溶液を廃棄し、キュベットおよびすべての実験室用ガラス器具を洗浄し、元に戻します。



ラボレポート

次亜塩素酸塩漂白剤を用いた 青色色素のカイネティクス測定

名前: _____
日付: _____
セクション番号またはラボ期間: _____

パートA. [色素] の反応次数を決定

1. 反応全体の時間と吸光度のデータをスプレッドシートプログラムに入力して、列C、D、Eを計算します。カラムCの濃度を計算するには、モル吸光度 $\epsilon=130,000$ の値を使用します。

スプレッドシートの例

	A	B	C	D	E
1	時間 (秒)	吸光度	[色素] (M)	\ln [色素]	1/[色 素] (M^{-1})
2	0				
3	5				
4	10				

2. スプレッドシートプログラムを使用して、ゼロ、一次、および二次速度プロットを作成します。三つのうち最適なグラフに、対応する速度方程式、 R^2 値、最適な直線を書きます。
3. このレポートを提出するときは、統合速度則グラフのプリントアウト用紙をこのページにホチキス留めます。
4. 実験開始時の色素溶液の温度を記録します：

5. 反応が完了するまでにどのくらいの時間がかかりましたか (キュベット 3 の色が見えなくなりましたか)？

メモ:

- 手書きまたは印刷したグラフをラボレポートにホチキス留めます。
- 提出する前に、ラボレポートの4枚のシートを一緒にホチキス留めてください。

6. 速度プロットから、[色素] の反応次数は何ですか？

ゼロ 一次 二次

7. 積分速度プロットからの速度定数 k' の値はいくつですか？

8. 吸光度 (Abs) または [色素] 対時間データを確認します。選択した吸光度または濃度値が半分に減少するのに要する時間によって、三つの異なる吸光度間隔での反応の半減期を決定します。

データ表 1

From (Abs) または [色素]	To (Abs) または [色素]	半減期 (秒)

- a. 数値はほぼ同じですか、あるいは根本的に異なりますか？

- b. 半減期が類似している場合は、三つの値の平均値を計算します。

名前: _____

9. 前ページの質問 8 で測定した半減期から、速度定数 k' の値を計算します。前ページの質問 6 で決定した反応の次数に基づいて、適切な方程式を使用します。

たとえば、30 ~ 35 秒の時間間隔を選択することができます。

- a. これを計算するには、1 mL (パートA) または 2 mL の漂白剤 (パートB) との反応についてのスプレッドシートにおける [色素] 対時間データを使用します：

$$\text{瞬間初期速度} = \frac{\Delta [\text{色素}]}{\Delta \text{時間}}$$

10. プロット (前ページの質問 7) から得られた k' の値と半減期の式 (上の問題 9) とのパーセント誤差を計算します。

4. 計算した瞬間初期速度を記入します。正しい単位を含めてください。

データ表 2

パート	瞬間初期速度	単位
A		
B		

5. 漂白剤の濃度を 2 倍にしたとき、反応の瞬間的な初期速度はどうなりましたか？

パートB. [漂白剤] 中の反応次数を決定

1. スプレッドシートプログラムを使用して作成します：

a. [色素] 対時間のプロット

b. パート A で決定した反応の次数についての適切な積分速度プロット。2 番目のプロットに、対応する速度式および R^2 値を含む最適な直線を書きます。

2. このレポートを提出するときに、このページにプリントアウトしたプロットをホチキス留めしてください。

3. パート A とパート B の両方の反応について、一定時間での [色素] の変化に対応する、両方の実行の開始に近い同じ時点での瞬間初期速度を計算します。

6. このデータを使用して、[漂白剤] に関する反応の次数を計算します。 m と n の値を入力して、式 2 の形式で全速度則を書いてください。

名前: _____

7. 前ページの質問 6 における全速度則から、速度定数 k の値を解きます。速度定数の正しい単位を含めてください。次の値を使用して、式に挿入します:
- 前ページの質問 3 で使用したパート A またはパート B のデータからの瞬間初期速度
 - 瞬間速度を計算した時点における [色素] 濃度 (スプレッドシートの C 列から)
 - [漂白剤] 濃度 (原液の濃度と、実験手順のパート B (ステップ 1b) で色素溶液に添加したときに用いた希釈から計算されます)

8. パート B では、パート A と比較して漂白剤の量を 2 倍にして加え、パート A の 2 倍の漂白剤濃度を達成しました。この違いを考慮して、パート A で添加した水 1 mL の目的を説明します。ただし、パート B では添加しませんでした。

パート C. 反応の活性化エネルギーを決定

- 各データセットについて、スプレッドシートプログラムを使用して、パート A で決定した反応の次数に対する適切な積分速度プロットを作成します。各プロット上に、対応する速度式および R^2 値を含む最適な直線を書きます。
- レポートを提出するときに、プリントアウトしたプロットをホチキス留めします。
- 最適線の傾きを使用して k' を計算し、この値を [漂白剤] で割って k の値を取得します。パート A およびパート C で得られたデータについてこれを行います。 k の値は三つあります。

データ表 3

プロット	傾き	k'	[漂白剤]	k
1				
2				
3				

- y 軸に $\ln(k)$ 、x 軸に $1/T$ (ケルビン単位) を用いてアレニウスプロット (式 4 参照) を作成します。

データ表 4

プロット	温度		$1/T$	k	$\ln(k)$
	(°C)	(K)			
1					
2					
3					

- このプロットの傾きは以下に等しいです。

$$-\frac{E_a}{R}$$

プロットの傾きを記録: _____

6. 反応の活性化エネルギーである E_a の値を計算します。

8. 質問 6 と質問 7a で決定された E_a の値とのパーセント誤差を計算します。

7. アレニウス方程式は、以下の二つの温度でのデータについて書き直すことができます：

a. この二つの値のうち、どちらがより信頼できますか？その理由を説明してください。

$$\ln\left(\frac{k_2}{k_1}\right) = \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)$$

a. この式を使用して E_a を決定するには、 T_1 として室温、 T_2 として室温 +10°C のデータを使用します。

詳細はこちら thermofisher.com/genesys

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. 無断複写・転載を禁じます。 UV029-A2008OB
ここに記載の会社名、製品名は各社の商標または登録商標です。
また、記載されている製品は研究用機器であり、診断目的およびその手続き上での使用はできません。
記載の価格は 2020 年 8 月現在のメーカー希望小売価格です。消費税は含まれておりません。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
実際の販売価格は、当社販売代理店までお問い合わせください。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC