

# 平衡定数

化学実験 A

比色法による BTB の解離指数の決定

東京電機大学 類家正稔

2014 年 7 月 18 日



## 1 目的

1. 酸塩基指示薬であるプロモチモールブルーの解離定数を比色法により決定する。

## 2 概要

酸塩基指示薬であるプロモチモールブルー (BTB) は酸性領域で黄色を示し、中性領域 (pH 6.0–7.6) で緑色に変色し、アルカリ性で青くなる。これは BTB の 1 個のプロトンが解離することに起因する。図 1 に BTB の解離を示した。

### 2.1 解離平衡と解離指数

BTB の解離平衡について考える。BTB の酸性条件下での構造 (酸型とよぶ) を  $\text{InH}$  で表し<sup>\*1</sup>、塩基性条件下での構造 (塩基型とよぶ) を  $\text{In}^-$  で表すと、解離平衡は次のように書ける。



この解離平衡で、平衡定数は次のように定義される。

$$K_{\text{In}} := \frac{[\text{In}^-][\text{H}^+]}{[\text{InH}]} \quad (2)$$

この式の両辺の対数をとると次のようになる。

$$-\log K_{\text{In}} := -\log \left( \frac{[\text{In}^-]}{[\text{InH}]} \right) - \underbrace{\log [\text{H}^+]}_{=\text{pH}} \quad (3)$$

ここで  $\text{p}K_{\text{In}} := -\log K_{\text{In}}$  で解離指数を定義すると

$$\text{p}K_{\text{In}} = -\log \left( \frac{[\text{In}^-]}{[\text{InH}]} \right) + \text{pH} \quad (4)$$

と解離指数と溶液の pH に関係があることが分かる。

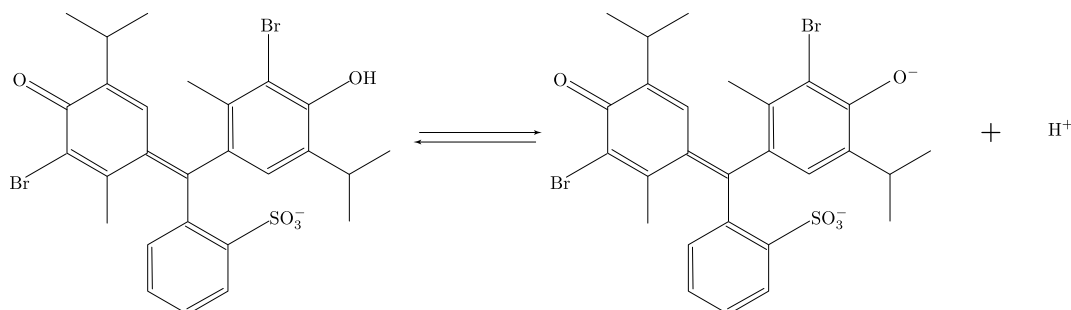


図 1 BTB の解離平衡。

\*1 もちろん、In は Indicator の略である。

## 2.2 BTB の色系列

図 1 から分かるように、BTB が可視光領域に吸収を持つのは BTB の構造が共役  $\pi$  電子系を有するからである。pH の異なる一連の水溶液に BTB を滴下すると黄色から緑色を経て青色に変わる様が観

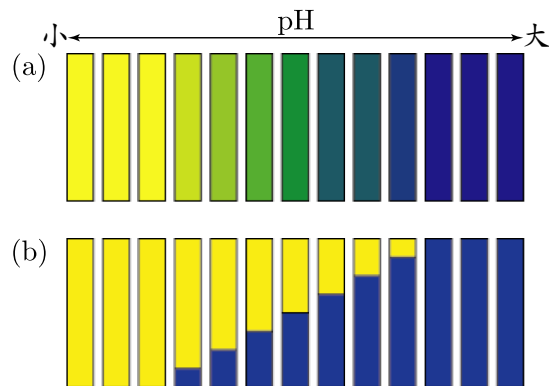


図 2 BTB 溶液の色系列の解釈。(a) 黄色 – 緑色 – 青色の変化を (b) 黄色成分と青色成分の組成比の変化と考える。

察される。これを色系列と呼ぶ。BTB の構造には酸型  $\text{InH}$  と塩基型  $\text{In}^-$  しかないのに、黄色 – 緑色 – 青色の色変化を示すのは、緑が黄色と青の混ざった色であると解釈すれば説明できそうである。(図 2 参照) しかし、我々が目で感じている色が補色であることを思い出せば、こんなに簡単ではないことが推測できよう。補色とは、可視光線からある色を除いたときに見える色 (物理補色\*2) をいう。可視光線が赤、緑、青の 3 色\*3 が混ざったものであると非常に単純化して説明すれば、図 3 に示したように、青色の光を吸収する性質をもつ物体は黄色く見えて、赤い光を吸収する性質を持つ物体は青く見えるということだ。つまり、BTB が緑色に見えるということは、青と黄色が混ざって緑に見えるのではな

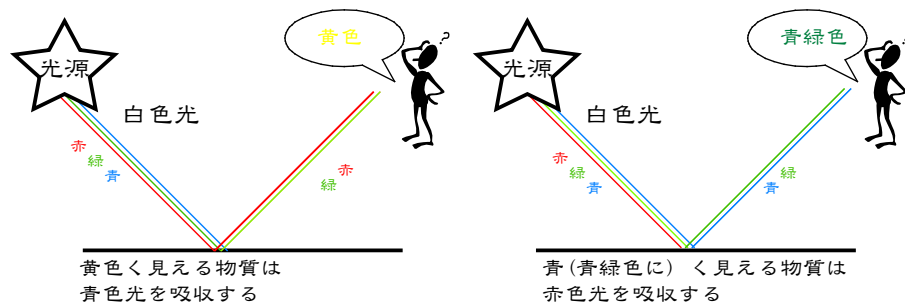


図 3 見えている「色」は.....

く、白色光から青色と赤色の光が除かれた結果、緑色に見えると考えるのが正しい。ここで青色は黄色 ( $\text{InH}$  の呈する色) の補色であり、赤色は青色 ( $\text{In}^-$  の呈する色) の補色である。表 1 に可視光線からある色を除いたときに、人間にはその光が何色に見えるかの対応表を載せた。

\*2 似た言葉で「心理補色」がある。ネットで「補色」でググって見ると、「見え方」がいかに複雑なのかが分かる。

\*3 いわゆる RGB である。

表 1 補色：可視光線からその色を除いたときに見える色

波長/nm	色	補色	エネルギー/kJ·mol <sup>-1</sup>
380 – 435	紫	黄緑	315 – 275
435 – 480	青	黄	275 – 249
480 – 490	緑青	橙	249 – 244
490 – 500	青緑	赤	244 – 239
500 – 560	緑	紫赤	239 – 214
560 – 580	青緑	紫	214 – 206
580 – 595	黄	青	206 – 201
595 – 605	橙	緑青	201 – 198
605 – 750	赤	青緑	198 – 159
750 – 780	紫赤	緑	159 – 153

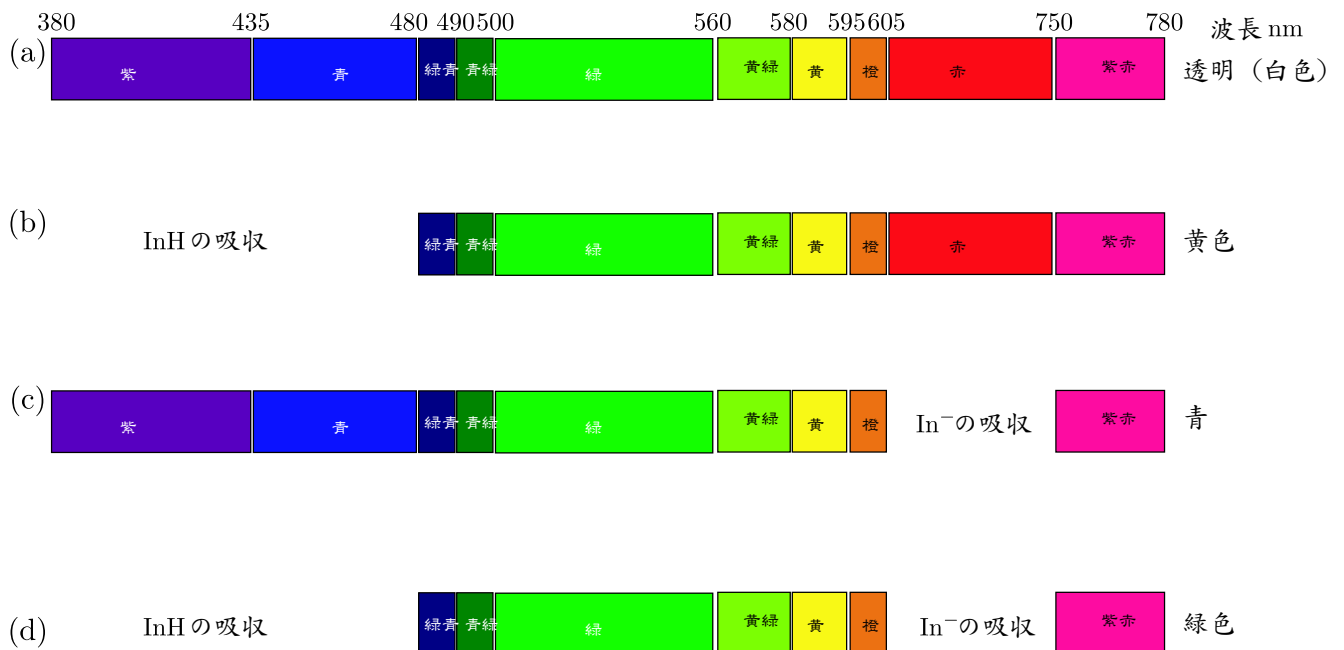


図 4 BTB の呈する色。(a) 白色光, (b) InH は青色の光を吸収する。青色以外の光を混ぜ合わせると黄色に見えるから InH は黄色に見える。(c) In<sup>-</sup> は赤色の光を吸収する。赤色以外の光を混ぜ合わせると青色に見えるから In<sup>-</sup> は青色に見える。(d) InH と In<sup>-</sup> が混ざった溶液は青色と赤色の光を吸収する。青色と赤色以外の光を混ぜ合わせると緑色に見えるから、中性領域で BTB 溶液は緑色を呈する。**注意**：(b) を再度見てほしい。この波長領域の光を混ぜ合わせると黄色に見える。もっと簡単には、赤い光と緑の光を混ぜ合わせると、黄色に見える。(図 7 参照) つまり、これらは混ぜ物の黄色だ。これに対して、波長が 580~590 nm の光は単色で黄色を示す。いわば、純粋な黄色だ。厄介なことに、人間の視覚ではこの混ぜ物の黄色と純粋な黄色は区別できないことが知られている。

### 3 実験

#### 3.1 試薬と器具

表2 試薬と器具。全て1班に対する数量である。

器具	数量	器具	数量
pH メータ	1 台	分光光度計	1 台
比色管	11 本	試験管立て	1 ケ
防護めがね	1 ケ	ピペット掛け	2 ケ
三角フラスコ (50 mL)	10 ケ	ポリビン (100 mL)	6 ケ (下注)
駒込ピペット (2 mL)	4 ケ	シリコンゴム球	4 ケ
マイクロピペット (1000 $\mu\text{L}$ )	1 ケ	ピペットチップ	1 箱
ビーカー (100 mL, pH メータ洗浄用)	1 ケ		
試薬	数量	試薬	数量
HCl (0.1 mol·L <sup>-1</sup> , 液性調整用)	100 mL	NaOH (0.1 mol·L <sup>-1</sup> , 液性調整用)	100 mL
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1 mol·L <sup>-1</sup> )	30 mL		
プロモチモールブルー (BTB) アルコール溶液 (0.04%)			20 mL

- 100 mL のポリビンは、下記の試薬名が書かれたものを4本と、書かれていないもの2本を受け取る。試薬名が書かれた100 mL のポリビンには、共通実験台から
  - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.1 mol·L<sup>-1</sup>) : 30 mL
  - HCl (0.1 mol·L<sup>-1</sup>) : 50 mL
  - NaOH (0.1 mol·L<sup>-1</sup>) : 50 mL
  - プロモチモールブルー (BTB) アルコール溶液 (0.04%) 20 mL
 をとってくる。残りの2本で HCl (0.01 mol·L<sup>-1</sup>) と NaOH (0.01 mol·L<sup>-1</sup>) を適量調製する。

#### 3.2 BTB の解離指数 pK<sub>In</sub> の決定

##### 3.2.1 試料調製

- 三角フラスコ 10 ケにマイクロピペットを用いて、BTB 溶液を 1.2 mL, 約 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液を 2 mL 加える。(BTB は 600  $\mu\text{L}$  を 2 回, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> は 1000  $\mu\text{L}$  を 2 回で計りとるとよい。)
- 脱イオン蒸留水を加えて約 30 mL にする。(三角フラスコが目盛りでよい)
- 駒込ピペットで 0.1 mol·L<sup>-1</sup> および 0.01 mol·L<sup>-1</sup> の HCl 水溶液もしくは 0.1 mol·L<sup>-1</sup> および 0.01 mol·L<sup>-1</sup> の NaOH 水溶液を加えて溶液の色が完全な黄色 (酸性色) から緑色を経て完全な青色 (塩基性色) にいたる溶液を調製し、その後脱イオン蒸留水を加えて一定の体積 (50 mL) とする。

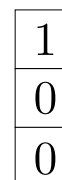


図5 1000  $\mu\text{L}$  F.S. マイクロピペットの目盛りの読み方。100 と表示された場合、1000  $\mu\text{L}$  を意味する。

### 3.2.2 $pK_{In}$ の決定

1. 各溶液の吸光度を測定する\*4。測定波長は 615 nm を用いる（ゼロ調用の標準液は、脱イオン蒸留水を用いよ）。
2. 各溶液の pH を測定する（pH メータの使い方は説明書を参照せよ。また、必ず校正せよ）。
3. 時間があれば、溶液をどれか 1 つ選び、スペクトルを測定する。

## 4 検討事項

1. BTB 溶液の吸光度 (615 nm) の pH 依存性をプロットしなさい。
2. BTB の解離指数  $pK_{In}$  を求めなさい。ヒント：最大吸光度の半分の吸光度を示す pH が解離指数  $pK_{In}$  となる。なぜこのような関係になるのかは各自考えて、詳しく論じなさい。\*5

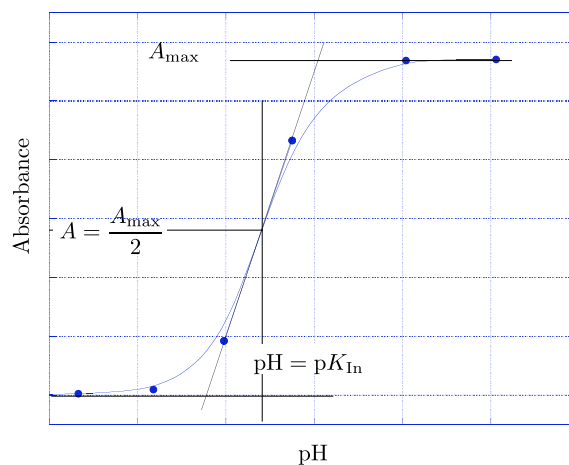


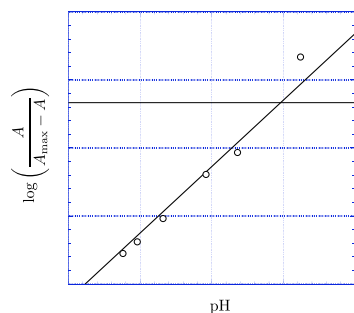
図 6 BTB 溶液の吸光度の pH 依存性

## 5 参考文献

1. 関根達也ら著，“化学平衡の計算 – 考え方と演習 –”，理学書院 (1986)
2. 斉藤信房ら著，“分析化学”，裳華房 (1967)

\*4 比色管に入れた溶液は実験終了までそのまま保管せよ。

\*5 (4) 式を見れば自明であろう。また、 $\log\left(\frac{A}{A_{\max} - A}\right) = 0$  から  $pK_{In}$  を求めることができる。



## 6 実験上の注意

1. 本実験では塩基を扱う。必ず防護めがねを使用するように。
2. pHメータは、電極部が非常に壊れやすいので丁寧な扱いを心がけよ。

## 7 後片付け

- ビーカー、三角フラスコは洗浄後、乾燥用のヒーターへ入れる。
- ポリビンはラベルをはがして洗浄し、共通実験台のかごへ戻す。(水が切れるように、下向きにおくこと。)
- 比色管はブラシで洗ったりせずに、洗瓶を使って脱イオン水をかける程度の洗浄にとどめ、共通実験台の試験管立てに戻す。(水が切れるように、下向きにおくこと。)

## 8 補足：光の3原色

光の示す色のうち、赤 (Red), 緑 (Green), 青 (Blue) の3色を光の3原色という\*6。光は色を混ぜ合わせていくにつれて、明るい色になる。このように色がまじり合うことを加法混色という。3色を全て混ぜると白 (無色) になる。また、この3色を適当に混ぜ合わせることで、人間が感知できるほとんど全ての色の光を再現できる。光の3原色は人間が感知できる全ての色を、できるだけ少ない色の組み合わせで再現するために選ばれたものであるから、人間の視覚を司る生物学的な構造に強く (というより、完全に) 依存している。つまり、原色という言葉は原理に似たイメージを持つのは完全な誤解である。

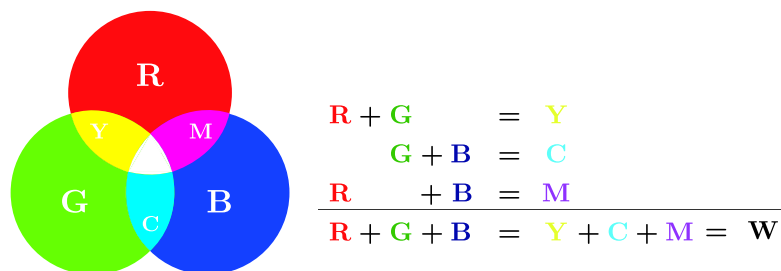
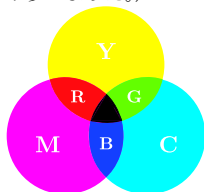


図7 光の3原色

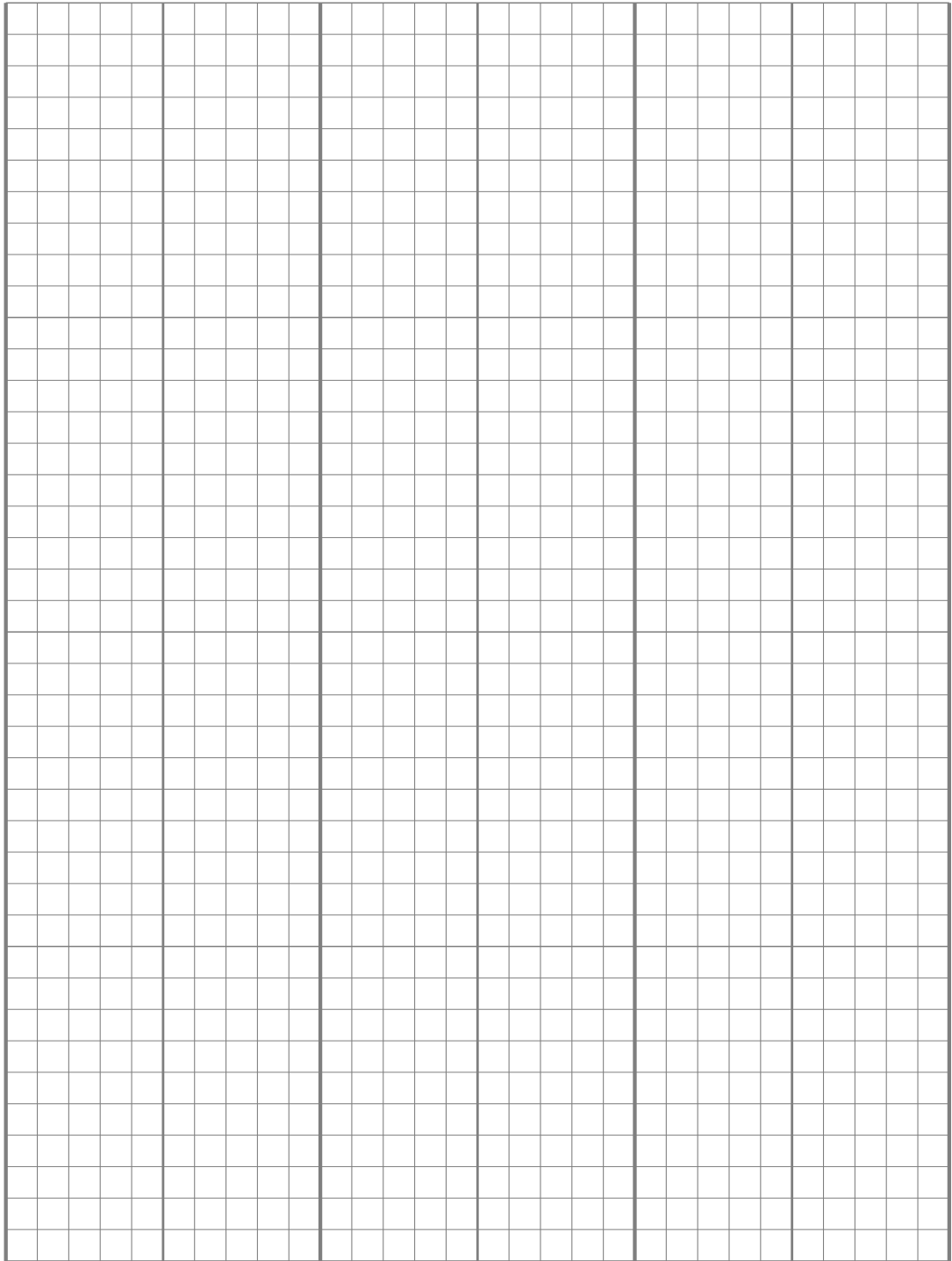
\*6 これと似た言葉に、「色材の3原色」がある。色材の3原色は、シアン (Cyan), マゼンダ (Magenta), 黄色 (Yellow) である。色材を混ぜ合わせていくにつれて、暗い色になる。このように色がまじり合うことを減法混色という。プリンタのインクはこの3色と、黒 (black) の合計4色で印刷をしている。(実際の技術としては、CMYで黒を表現するのが難しいことと、黒は黒インクを単独で準備しておいた方がコスト的に有利であることなどから、CMY + K方式をとることが多いようだ。)





# 平衡定数

1. 実験3 BTB 溶液の吸光度を pH に対してプロットせよ。(裏にグラフ用紙あり)



## 9 補助をしてくれる方へ

### 9.1 夏休み前に確認していただきたい在庫

表3 夏休み前に確認していただきたい在庫

試薬名	必要量*7	在庫の目安
pHメータ (佐藤計量, SK-620PH)		必要数あるかチェック願います。
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O (固体) 和光純薬 192-02815 1,480円 (500g)	15.6 g	500g 瓶に半分程度
HCl 0.1 mol·L <sup>-1</sup> 和光純薬 083-01115 950円 (500g)	2000 mL	500 mL 瓶を4本以上
NaOH 0.1 mol·L <sup>-1</sup> 和光純薬 196-02195 1,000円 (500g)	2000 mL	500 mL 瓶を4本以上
プロモチモールブルー (BTB) アルコール溶液 (0.04%) 和光純薬 026-14615 2,100円 (500g)	400 mL	500 mL 瓶を2本以上
pH標準液3点セット pH4.01 フタル酸, pH6.86 中性リン酸塩, pH10.01 炭酸塩	各 500 mL	各 500 mL 瓶を1本以上

pH標準液は「佐藤計量」で3本セットで購入できます。上表の在庫の目安の量に対して在庫が不足している場合には、類家までお知らせ下さい。

### 9.2 調製していただきたい試薬

- 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
  1. NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O ( $M_w=156.01$ , 固体) 15.6 gを精秤し, 1 Lのメスフラスコにいれます。
  2. 脱イオン蒸留水を少しずつ加え, その度に NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>を溶かすようにメスフラスコをよくふります。NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>は水に溶けにくいので注意します。
  3. 脱イオン蒸留水を加え, 全量が正確に1 Lになるようにします。
  4. スターラーの攪拌子を入れ, スターラーで攪拌します。
  5. 500 mLのポリビン2つに小分けします。
- 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl
  - 濃度に精度は求めません。だいたい 0.1 mol·L<sup>-1</sup>であれば結構です。濃塩酸を希釈して 0.1 mol·L<sup>-1</sup>に調製するのが最もコストがかかりませんが, 面倒であれば 0.1 mol·L<sup>-1</sup>の試薬を購入して下さい。
- 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH
  - 濃度に精度は求めません。だいたい 0.1 mol·L<sup>-1</sup>であれば結構です。水酸化ナトリウム結晶を水に溶解して 0.1 mol·L<sup>-1</sup>に調製するのが最もコストがかかりませんが, 面倒であれば 0.1 mol·L<sup>-1</sup>の試薬を購入して下さい。

\*7 履修者数が20班までの場合

### 9.3 実験数日前に類家に念押しをして欲しいこと

- 「RB 実験室からマイクロピペットをもってこい」と伝えて下さい。

### 9.4 実験前日にチェックしていただきたいもの

- pH メータを校正して下さい。

### 9.5 実験当日に用意していただくもの

表 4 平衡定数の実験時に用意していただくもの

個数は、各班あたりです。			
下記の数 × 班の数で用意願います。			
pH メータ	1 台	分光光度計	1 台
比色管	11 本	試験管立て	1 ケ
防護めがね	1 ケ	ピペット掛け	2 ケ
三角フラスコ (50 mL)	10 ケ	目盛り付き三角フラスコ (50 mL)	1 ケ
ポリビン (100 mL)	6 ケ		
駒込ピペット (2 mL)	4 ケ	シリコンゴム球	4 ケ
マイクロピペット (1000 $\mu$ L)	1 ケ	ピペットチップ	1 箱
ピーカー (100 mL, pH メータ洗浄用)	1 ケ		
共通実験台に準備願います			
下記の量 × 班の数で用意し、500 mL ポリビンに入れて下さい。			
HCl (0.1 mol·L <sup>-1</sup> , 液性調整用)	50 mL	NaOH (0.1 mol·L <sup>-1</sup> , 液性調整用)	50 mL
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.1 mol·L <sup>-1</sup> )	30 mL		
ブロモチモールブルー (BTB) アルコール溶液 (0.04%) (購入した物そのままでもよい。)			20 mL
各試薬を小分けする際に 100 mL メスシリンダー (HCl), 50 mL メスシリンダー (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ), 20 mL メスシリンダー (BTB), とトレイが必要です。各 6 ケ準備願います。また、使用済みチップ (ピペットの先端) を回収する容器 (小さなトレー等でよい) を共通実験台に準備願います。			

pH メータ 20 ケ

ピペッター 17 ケ ← あと 3 個

### 9.6 実験当日に板書していただくもの (副手の方へ)

1. すぐに分光光度計に電源を入れて下さい。
2. はじめてマイクロピペットを使う場合は、副手に使い方を聞いて下さい。

1
---

0
---

3. マイクロピペットの目盛りは 

0
---

 で 1000  $\mu$ L を意味します。これ以上大きな目盛りにはしてはいけません。