化学発光を用いた酸化反応の研究 (第 2 報)

酸化防止剤の評価

二木 鋭雄*, 谷村 立子, 神谷 佳男

東京大学工学部反応化学科, 113 東京都文京区本郷 7-3-1

(昭和 58 年 5 月 2 日受理)

石油製品などの酸素による酸化劣化に対するラジカル捕捉型酸化防止剤の評価を簡便, 迅速に行う手法を開発することを目的として, 化学発光法の応用を試みた。過シュウ酸ジ-*t*-ブチルをエチルベンゼンの *o*-ジクロロベンゼン溶液中で分解させ, 一定強度の化学発光 I_0 を生じさせている系に酸化防止剤を添加すると, 化学発光は急激に減少し, 極小値 $I_{\min}$ をとったあと, 酸化防止剤の消費につれて発光強度が増し, 一定の期間 t_{inh} 後, 再び元のレベル I_0 に戻ることを認めた。酸化防止剤を添加する前後の発光強度の割合 ($I_{\min}/I_0$) から, 酸化防止剤による連鎖担体ペルオキシラジカルの捕捉速度定数 k_{inh} を求める方法を考案した。また, 上のようにして化学発光から求めた t_{inh} と, 酸素吸収から求めた誘導期の間に良い相関性があることを認めた。化学発光法が, 酸化防止剤の評価を行うのに有力な手段となることを明らかにした。

1. 緒 言

石油製品, 食品, 高分子化合物などの有機化合物は大気中の酸素により酸化され, その結果物性, 品質の低下が起こる。そのため, これらの酸素酸化反応を抑制, 防止することは実用的に重要な課題である。これまでに種々の酸化防止剤が合成, 開発されてきており, それらの一部は実用に供されている。これら酸化防止剤の開発に当たって, 種々の構造をもった安定剤の効果を正しく, 定量的に評価することが重要である。特に, 酸化劣化という現象が長時間かかって発現する現象であることから, 現在いわゆる加速試験により評価する手法が多くとられているが, 加速試験時と実際に使用される場合の条件の違いなどが常に問題となり, 加速試験の結果の解釈には細心の注意を払う必要がある。こういったことから, 比較的短時間で, 正しく評価することが可能な方法を開発することが強く望まれている。特に, ある特定の条件下だけの議論ではなく, 一般化することができ, しかも定量的に評価することが可能なデータを得ることのできる手法の開発が要求される。今回, われわれは過シュウ酸ジ-*t*-ブチル (DBPO) を用いて一定強度の化学発光を生ずる系を設定し, そこへ酸化防止剤を添加したときの化学発光強度の変化の度合から, 酸化防止剤の抗酸化能を定量的に評価することを試みた。

2. 実験方法

過シュウ酸ジ-*t*-ブチル (DBPO) は常法により合成し, 再結晶により精製した。 α -トコフェロールはエーザイ株式会社より提供されたものを使用した。その他の酸化防止剤は市販品をそのまま使用した。用いた酸化防止剤の構造, 略号を **Table 1** に示す。その他の有機試薬は市販品を必要に応じ, 精製して使用した。

化学発光強度は前報¹⁾で述べた装置を用いて測定した。酸素

吸収量はすでに報告した装置²⁾により求めた。

3. 実験結果と考察

酸素存在下, *o*-ジクロロベンゼン中, あるいはエチルベンゼン-*o*-ジクロロベンゼン溶液中, 25°C で DBPO を分解させると, 一定強度の化学発光が生ずることを前報¹⁾で報告した。この系に酸化防止剤を添加すると, **Fig. 1** に示したように, 化学発光強度は急激に低下して最小値をとったあと, 酸化防止剤の消費につれて化学発光強度は再び増加し, 最終的には元のレベルにまで戻ることが認められた。化学発光強度の最小値 $I_{\min}$ と, 元のレベルに戻るまでの時間 t_{inh} は, 酸化防止剤の種類と濃度とに依存することが認められた。

種々の酸化防止剤について求めた $I_{\min}/I_0$ および t_{inh} を, それぞれ **Fig. 2** と **Fig. 3** に示した。ここで I_0 は酸化防止剤を添加する前の発光強度である。化学発光から求めた t_{inh}

Fig. 1 Effect of Addition of Inhibitor (IH) on the Chemiluminescence Intensity I during the Decomposition of DBPO in *o*-Dichlorobenzene

* 連絡先

Fig. 2 Plot of $I_{\min}/I_0$ as a Function of Inhibitor Concentration in the Decomposition of DBPO in Ethylbenzene-*o*-Dichlorobenzene at 25°C

Table 1 Structure and Abbreviation of Inhibitors used in this Study

Compound (Abbreviation)	Structure
2, 6-Di- <i>t</i> -butyl-4-methylphenol (BMP)	<chem>CC(C)(C)c1cc(C)c(O)cc1C(C)(C)C</chem>
2, 4, 6-Tri- <i>t</i> -butylphenol (TBP)	<chem>CC(C)(C)c1cc(C)c(O)c(C(C)(C)C)c1C(C)(C)C</chem>
α -Tocopherol (TOC)	<chem>CC(C)(C)C1C(C(C)C)C(C(C)C)C(C(C)C)C1O</chem>
<i>p</i> -Methoxyphenol (MQ)	<chem>COc1ccc(O)cc1</chem>
2, 5-Di- <i>t</i> -butylhydroquinone (BHQ)	<chem>CC(C)(C)c1cc(O)c(C(C)(C)C)cc1O</chem>
2, 2'-Methylene-bis(4-methyl-6- <i>t</i> -butylphenol) (MBP)	<chem>CC(C)(C)c1cc(O)c(C(C)C)cc1C(C)Cc2cc(O)c(C(C)C)cc2C(C)(C)C</chem>
2, 2'-Methylene-bis(4-methyl-6(1-methylcyclohexyl)-phenol) (CBP)	<chem>CC1(C)CCCCC1c2cc(O)c(C)cc2C(C)Cc3cc(O)c(C)cc3C1(C)CCCCC1C</chem>
4, 4'-Thio-bis(3-methyl-6- <i>t</i> -butylphenol) (BRS)	<chem>CC(C)(C)c1cc(O)c(C)cc1SCc2cc(O)c(C)cc2C(C)(C)C</chem>
<i>o</i> -Phenylenediamine (OPD)	<chem>Nc1ccccc1N</chem>

The symbols are the same as in Fig. 2.

Fig. 3 Plot of Inhibition Time t_{inh} as a Function of Inhibitor Concentration in the Decomposition of DBPO in Ethylbenzene-*o*-Dichlorobenzene at 25°C

と、酸素吸収量から求めた t_{inh} は、互いに良好な相関性を示した。

油脂類、高分子化合物などの酸化において抗酸化剤を添加した場合、一般に **Fig. 4** に示したような現象が認められる。すなわち、酸化防止剤が存在すると (**Fig. 4** の曲線 B, C) ある一定の期間酸化が抑制され、酸化防止剤が消費されると酸化が速やかに進行する。その場合の速度は、酸化防止剤が存在しない場合 (**Fig. 4** の直線 A) と同程度である。言い換えると、誘導期 t_{inh} 後の B, C と A の直線は平行となる。

この場合、酸化防止剤としての評価は、**Fig. 4** から求められる誘導期 t_{inh} と、その期間における酸化速度 R_{inh} によって決定される。誘導期間が長く、しかもその間の酸化速度 R_{inh} が小さいほど抗酸化能が大きいといえる。少々の酸化が進行しても、長い期間使用することを要求する場合には誘導期が長いほど好ましく (**Fig. 4** の C)、一方、使用期間はむしろ短い、その間の酸化を極力抑制する必要がある場合には、むしろ誘導期間中の酸化速度が小さいことが望ましい (**Fig. 4** の B)。いずれにしろ **Figs. 1~3** に示した化学発光強度の測定から、これらの項目について知見を得ることができる。

Fig. 4 Rate of Oxidation in the Absence (A) and Presence (B, C) of Inhibitor

連鎖開始剤および酸化防止剤 IH 存在下でのエチルベンゼン RH の酸化は以下のスキームにより進行すると考えられる。

連鎖開始反応

連鎖成長反応

連鎖停止反応

酸化防止剤の活性 (k_{inh}) が大きく、これからの水素移行反応 (5) により生成する I・ラジカルが安定で、これが連鎖移動反応を起こすことがない場合には、誘導期間中の酸化速度は次式で与えられる。

$$R_{inh} = k_p[\text{RH}]R_i/nk_{inh}[\text{IH}] \quad (7)$$

ここで R_i は連鎖開始速度であり、 n は酸化防止剤 1 モルが捕捉するラジカルの量論数である。誘導期は Eq. (8) で表される。

$$t_{inh} = n[\text{IH}]/R_i \quad (8)$$

また、誘導期間内のある一定時間 t の間に吸収される酸素量 $(\Delta\text{O}_2)_t$ は Eq. (9) で与えられる^{3), 4)}。

$$(\Delta\text{O}_2)_t = -\frac{k_p[\text{RH}]}{k_{inh}} \cdot \ln\left(1 - \frac{t}{t_{inh}}\right) \quad (9)$$

これらの方法では、誘導期間内でもある程度の連鎖長が必要であること¹⁾、量論数 n が既知であること²⁾、そして何よりも極めて小さい酸化速度、あるいは酸素吸収量を正確に測定する必要がある、実際にはなかなか難しく、 k_{inh} の測定にかなりの誤差が入りやすい。

しかし、Eq. (7) からわかるように、 k_{inh} は誘導期間中の酸化速度を決定する重要な因子であり、 k_{inh} を知ることに

¹⁾ 誘導期を求め、これから n などについて考察する場合には連鎖長が長いことは必要でなく、極端な場合、連鎖成長反応がなくても良い。

²⁾ Eq. (9) から k_{inh} を求める場合、 n の値は必要でなく、利点である。

防止剤の評価を行うことができる。本研究では化学発光強度から、以下のようにして k_{inh} の値を求めた。

Fig. 1 にも示したように、酸化防止剤を添加した場合、それは時間とともに消費されていき、それにつれてペルオキシラジカルの濃度も変化するため、この反応系が定常状態にあるとはいえない。その場合ペルオキシラジカルの濃度は Eq. (10) で表される。

$$\frac{d[\text{RO}_2\cdot]}{dt} = R_i - 2k_t[\text{RO}_2\cdot]^2 - k_{inh}[\text{RO}_2\cdot][\text{IH}] - k_o[\text{RO}_2\cdot][\text{I}\cdot] \quad (10)$$

ところで、I・ラジカルについては定常状態にあると考えられるので Eq. (11) が成立する。

$$d[\text{I}\cdot]/dt = k_{inh}[\text{RO}_2\cdot][\text{IH}] - k_o[\text{RO}_2\cdot][\text{I}\cdot] = 0 \quad (11)$$

Eqs. (10), (11) より

$$\frac{d[\text{RO}_2\cdot]}{dt} = R_i - 2k_t[\text{RO}_2\cdot]^2 - 2k_{inh}[\text{RO}_2\cdot][\text{IH}] \quad (12)$$

発光強度が極小値 I_{min} をとる時点においては、

$$\frac{d[\text{RO}_2\cdot]}{dt} = R_i - 2k_t[\text{RO}_2\cdot]_{min}^2 - 2k_{inh}[\text{RO}_2\cdot]_{min}[\text{IH}] = 0 \quad (13)$$

とおくことができよう。

一方、酸化防止剤が存在しない系では、酸化反応は Eqs. (1), (2), (3), (4) で進行し、定常状態が成立するので

$$-d[\text{O}_2]/dt = R_i - 2k_t[\text{RO}_2\cdot]_0^2 = 0 \quad (14)$$

となり、これより

$$[\text{RO}_2\cdot]_0 = (R_i/2k_t)^{1/2} \quad (15)$$

を得る。Eqs. (13) および (15) より

$$\begin{aligned} \frac{I_{min}}{I_0} &= \frac{[\text{RO}_2\cdot]_{min}^2}{[\text{RO}_2\cdot]_0^2} \\ &= \frac{R_i - 2k_{inh}[\text{RO}_2\cdot]_{min}[\text{IH}]}{2k_t} \cdot \frac{1}{(R_i/2k_t)} \\ &= 1 - \frac{2k_{inh}[\text{IH}]}{(2k_t \cdot R_i)^{1/2}} \cdot \left(\frac{I_{min}}{I_0}\right)^{1/2} \end{aligned} \quad (16)$$

ここで $Q = (I_{min}/I_0)^{1/2}$ とおくと

$$\frac{1}{Q} - Q = \frac{2k_{inh}}{(2k_t R_i)^{1/2}} \cdot [\text{IH}] \quad (17)$$

を導くことができる。

実験的には、まず I_0 という強度の化学発光を示す系に、ある特定の濃度の酸化防止剤を添加したときの化学発光強度の変化を測定し、その極小値 I_{min} を求める。次に酸化防止剤の濃度を変化させ、同様に I_0 , I_{min} を求める。こうして得られる $(1/Q) - Q$ を酸化防止剤濃度に対してプロットすると直線が得られ、そのこう配が $2k_{inh}/(2k_t R_i)^{1/2}$ となる。 k_t , R_i の値をそれぞれ別途に求め、それらの値とこう配とから k_{inh} を計算することができる。このように、化学発光の絶対強度ではなく、酸化防止剤を添加する前後の発光強度の割合をとることににより、反応条件の微かな差による発光強度のバラツキの影響などを小さくすることができる。また、誤差をできるだけ小さくするために、 I_{min}/I_0 の値が 0.3~0.8 の間にくるように、酸化防止剤の濃度を選択した。

測定例として、エチルベンゼンの *o*-ジクロロベンゼン溶液

Table 2 Rate Constants k_{inh} for the Trapping of α -Phenylethylperoxy Radical by Various Inhibitors at 25°C

Inhibitor	$10^{-4} k_{inh}, M^{-1}s^{-1}$
TOC	15
CBP	13
BRS	11
OPD	5.7
MQ	5.5
BHQ	4.9
MBP	3.1
TBP	1.2
BMP	1.0

Fig. 5 Plot of $Q^{-1} - Q$ as a Function of TBP Concentration in the Decomposition of DBPO in Ethylbenzene-*o*-Dichlorobenzene at 25°C

中での DBPO の分解の系に 2,4,6-トリ-*t*-ブチルフェノール (TBP) を添加した場合に得られたプロットを Fig. 5 に示した。なお、酸化防止剤を添加してから発光強度が極小値をとるまでの時間が極めて短かい (通常 2~3 分) ことから、酸化防止剤の濃度としてその初濃度をとった。

25°C における α -フェニルエチルペルオキシラジカルの連鎖停止反応速度定数⁵⁾ $k_t = 2 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$ 、DBPO の分解速度定数 $k_d = 1.6 \times 10^{-5} s^{-1}$ より求めた、いくつかの酸化防止剤に対する k_{inh} の値を Table 2 に示した。なお、DBPO の分解において少量の *t*-ブトキシラジカルが溶媒かご内で再結合し、ラジカルの発生効率 e が 1 より小さくなるが⁶⁾、その k_{inh} に

及ぼす影響は小さいので、 $e=1$ として計算した。

Fig. 2 では、 k_{inh} がそれぞれ 10^4 , 10^5 , $10^6 M^{-1}s^{-1}$ に相当するところを点線で示した。この Fig. 2 から、ある酸化防止剤濃度に対する I_{min}/I_0 を測定すれば、Fig. 5 のようなプロットをするまでもなく、おおよその k_{inh} を知ることができる。

このように、化学発光法により種々の酸化防止剤について、絶対反応速度定数 k_{inh} と誘導期 t_{inh} いずれについても、少量の試料で、極めて簡便、迅速に測定することができ、従来の方法と比較して大きな利点といえよう。なお、化学発光法により k_{inh} を求めようという試みはすでにソ連、ハンガリーにおいてもなされており^{7,8)}、Eq. (17) と異なった式が誘導されているが、本報告の Eq. (17) により求める方法がより妥当と思われる。また、薄木、金田ら⁹⁾ も同じケミルミネッセンスアナライザーを用い、抗酸化効力を判定することを試みている。

4. 結 語

化学発光法により、酸化防止剤の定量的な評価を行う手法を考案した。すなわち、エチルベンゼンの *o*-ジクロロベンゼン溶液中で DBPO を分解させて一定強度の化学発光を発生させておき、その系に酸化防止剤を添加して化学発光強度の変化を追跡し、それより連鎖担体であるペルオキシラジカルの抗酸化剤による捕捉の絶対反応速度定数と誘導期を求める。この方法は従来の方法と比較して、少量の試料で簡便、迅速にできるという大きな利点を有している。

References

- 1) Niki, E., Tanimura, R., Kamiya, Y., *J. Japan Petrol. Inst.*, **27**, 15 (1984).
- 2) Niki, E., Takaishi, Y., Kamiya, Y., *Nippon Kagaku Kaishi*, **1975**, 1559.
- 3) Tsepalov, V. F., Kharitonova, A. A., Gladyshev, G. P., Emanuel, N. M., *Kinet. Katal.*, **18**, 1261 (1977).
- 4) Burton, G. W., Ingold, K. U., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6472 (1981).
- 5) Howard, J. A., *Adv. Free Radical Chem.*, **4**, 49 (1972).
- 6) Niki, E., Kamiya, Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 2129 (1974).
- 7) Karupkhin, O. N., Shlyapintokh, V. Ya., Zolotova, N. V., *Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk*, 1718 (1963).
- 8) Goldberg, V. M., Luckas, J., Vasvari, G., Gal, D., *Oxidation Commun.*, **1**, 189 (1980).
- 9) Usuki, R., Endoh, Y., Kaneda, T., *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **28**, 583 (1981).

Summary

Study of Autoxidation by Chemiluminescence (Part 2) Evaluation of Antioxidant

Etsuo NIKI, Ritsuko TANIMURA and Yoshio KAMIYA

Faculty of Engineering, University of Tokyo, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113

The chemiluminescence method has been applied to evaluate the activity of chain-breaking antioxidants. The thermal decomposition of di-*t*-butyl peroxyoxalate in a mixture of ethylbenzene and *o*-dichlorobenzene gave a strong chemiluminescence of constant intensity. However, when an antioxidant was added to the above solution, the chemiluminescence diminished markedly, and after showing a minimum intensity, it increased again to the above level after some period of time as the antioxidant was consumed (**Fig. 1**). This period of time was dependent on the concentration of the inhibitor added, and it correlated well with the inhibition time observed in the oxidation of hydrocarbons in the

presence of an antioxidant (**Fig. 3**). The rate constant k_{inh} for the trapping of the peroxy radical by an antioxidant could be estimated from the plot of I_{min}/I_0 against inhibitor concentration (**Fig. 2**), where I_{min} and I_0 are the minimum chemiluminescence intensity and the intensity before the addition of the antioxidant, respectively. Furthermore, the absolute rate constant k_{inh} could be calculated from Eq. (17). The rate constants were obtained in this way for nine antioxidants as shown in **Table 2**. It is suggested that the chemiluminescence method is a useful tool for evaluating the chain-breaking antioxidant activity.

Keywords

Antioxidant, Autoxidation, Chemiluminescence, Di-*tert*-butyl peroxyoxalate