— 論 文 —

ベンゼン誘導体-蛍光性化合物-酢酸系のオゾンによる化学発光

(昭和43年9月10日受理)

神谷 功^{*1}・岩城 良次郎^{*2}

ベンゼン誘導体単独系 (I_P), 蛍光性物質単独系 (I_R), および両者混合系 (I_M) のオゾンによる化学発光強度の反応時間, 反応物質の濃度に対する変化を研究した。

ローダミンBによる増光効果 ($I_M \gg I_R + I_P$) の認められたのは, 多価フェノール, アミノフェノール, フェニレンジアミンなどの系で, これらはいずれも単独で微光の現われる場合であった。増光のない系 ($I_M \leq I_R + I_P$) では, I_M -発光の形状は I_R -発光の形状に類似する場合もしない場合もあった。

この I_M -発光の挙動は $I_M = I_{PR} + I_R'$ (I_{PR} は蛍光物質による I_P の増光, I_R' は蛍光物質とオゾンの反応によっておこる発光) と設定することによって説明できた。この設定は次の実験事実からも支持できる。

自身オゾンとの反応によって発光しないアントラセン系では, I_M -発光は $I_M = I_{PR}$ で示される。また自身化学発光するが増光能力のないメチレンブルー系では $I_M = I_R'$ で示される。

1 緒 言

化学発光は古くから種々の反応系に認められ, 興味深い現象としてのみならず反応エネルギーの移動過程の解明などと関連して反応の本性を研究する上にも重要な手段として注目されてきたが, その多くの研究は肉眼観測に近い方法によったため比較的強い発光系に限られていた。近年, 電子工学の発展により, いわゆる, "Photomultiplier", "Image Intensifier" などが発明され微光の測定が容易になった結果, 微弱な化学発光系がつぎつぎ発見され, その内容が豊富になったと同時に分析手段の開発, 励起分子に関する理論の進展などにも支援されて急速な進展をみるに至った¹⁾。

しかしながら, これら微弱な化学発光系の挙動は蛍光性不純物などによって影響をうけるため再現性に乏しく, 従って定量的な研究が困難である場合が多い。多価フェノールの酢酸溶液にオゾン化空気を通じたときに現われる微光もこのような例の一つでその機構に関する研究はほとんど行なわれなかった。

神谷と岩城は上記の化学発光系の微光がローダミンBの添加で著しく増光する現象²⁾に着目し, その増光挙動に検討を加えた結果, この増光作用はかなりよい再現性をもっておこること, および増光の時間変化と微光の時間変化との間にある種の類似性のあることなどが確認できた。そこで種々の条件下で増光の時間変化を測定するとともに, 同一条件における反応系の示す吸収スペクトルの変化から求めた反応物質, 生成物質(中間生成物もふくむ)および添加色素などの濃度の時間変化と対比して考察を進め, こ

の反応に対し, 次の反応スキームを提出した³⁾。

オゾンの一定量をたえず通じこむとき, 多価フェノールをP, 添加するローダミンBをRとすると,

一方, Rも分解するとき発光する。しかし, この分解はPによって阻止される場合が多く, 従って発光挙動は複雑なものになる⁴⁾。

発光反応は先に著者らによって研究されたアルカリ性溶液中のキサンテン系色素の化学発光機構⁵⁾に類似するとして,

つづいて VII, IX がおこる。

微弱な化学発光が蛍光性物質の添加によって増光のおこる現象はしばしば他の系においても認められている。この場合, 増光はいずれも上記のスキームと同様, エネルギー移動によると解されている⁶⁾。

その後の研究で, 多価フェノールの他に, フェニレンジアミン-, アミノフェノール-ローダミンB系でも増光現象が現われることを知ったので, さらに広くベンゼン誘導体について検討を行なうとともに, ローダミンB以外にアントラセン, メチレンブルーな

*1 Isao KAMIYA 名古屋大学教養部: 名古屋市千種区不老町。

*2 Ryojiro IWAKI 一橋大学: 東京都国立市。

1) 最近の総説としては, 例えば, a) E. J. Bowen, "Org. Photochem.", Buthersworth (1965) p. 473. b) K. D. Gundermann, *Angew. Chem.*, 78, 527 (1965). c) F. McKapra, *Quat. Rev.*, 20, 485 (1966). d) 神谷 功, 名大教養部紀要, 11, 44 (1967). e) J. W. Haas, Jr., *J. Chem. Educ.*, 44, 396 (1967). f) V. Ya. Shlyapintokh 他, "Chemiluminescence Techniques in Chemical Reactions" (A Spec. Res. Rep., Trans. from Russ.) c/b Consult. Bur., N. Y. (1968).

2) D. S. Bersis, *Z. Phys. Chem. (N.F.)*, 26, 359 (1960).

3) R. Iwaki, I. Kamiya, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 42, No. 5 (1969) 掲載予定。

*3 分解阻止力は, 例えばハイドロキノン, フロログルシンなどは強く, 没食子酸は弱いと考えられた。

4) I. Kamiya, R. Iwaki, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 39, 225, 264, 269, 277 (1965).

5) 例えば, a) R. F. Vassilév, *Nature*, 168, 668 (1962); *Opti. i Spektroskopiya*, 18, 236, 415 (1965). b) G. Lundeen, R. Livingstone, *Photochem. Photobiol.*, 4, 1085 (1965). c) L. J. Ballyky, H. H. Whitman, R. A. Clark, M. M. Rauhut, *J. Org. Chem.*, 32, 1163 (1967).

どを添加した系についても研究を進め、これらの結果を総合してベンゼン誘導体-蛍光性化合物-酢酸系のオゾンによる化学発光の挙動を統一的な立場で考察した。

2 実 験

2.1 試料の作成

A 液：ベンゼン誘導体の $2.4 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ の酢酸溶液，B 液：ローダミンBの $1.6 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ の酢酸溶液，CおよびD液：それぞれ，アントラセン，メチレンブルーの $1.6 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ の溶液。

反応液はA液，B液（またはC，D液）および酢酸を適量（ ml ）混合し，すべて 10 ml になるようにして使用した。試料作成に用いた 42 種のベンゼン誘導体，アントラセン，色素類および氷酢酸はすべて市販の試薬特級品で，アントラセン，色素を再結晶して用いた以外はすべて市販品そのままを使用した。これは前処理によってかえって変質するものもあったからである。

2.2 オゾンの発生

装置の概略を図1に示す。反応セル中に常に一定量のオゾンを通じこむため^{*4} ポンプAで送られた空気の流れを活栓Bの開閉で調節して一定に保つとともに放電管内の温度変化によってオゾンの生成率の変わるのを放電管を入れたうすい食塩水槽の温度を一

図1 オゾン発生装置

A：送風ポンプ，B：調節コック，C：流量計，D：水酸化カルシウム管，E：シリカゲル管，F：オゾン発生槽，G：試料へ，H：オゾン流の方向変換用コック

定に保つことによって防止した。同一量のオゾンが通じこまれているかどうかを検するには，一定濃度のローダミンBの酢酸溶液の発光強度の時間変化を測定し，これが標準曲線と類似するか否かによった。オゾンは絶えず生成させておき，必要に応じて活栓Hを回転して反応セルに導く方法を採用した。

2.3 発光強度の時間変化の測定

反応セルは図2に示すような長さ 15 cm ，径 2 cm の硬質ガラス管の底部を扁平にしたもの

図2 反応セル

A：オゾン導入管，B：試料液

を用いた。オゾン化空気は反応セルのスリ合せ栓の中心を通してセルの底部にまで達した細いガラス管から通じこまれた。反応セルは暗箱でかこった小窓つき定温水槽中におき，反応温度を常に 30°C に保つようにした。反応によって発する光は小窓を通った後“Photomultiplier”で受けて電流に変え，その時間変化を増幅器と連結した自記記録計で記録した。

添加物を加えた場合の発光曲線は少なくとも2回の測定結果がほぼ一致するまで行なった。一方，微光の測定は数回行ない，この平均値をとった。

3 実験結果

3.1 ベンゼン誘導体-ローダミンB-酢酸系の発光挙動

図3に種々のベンゼン誘導体で得られた結果を示す。ここで，たとえば， $I_P(9-0-1)^{*5}$ は（A液 9 ml + 酢酸 1 ml ）の系を示す。従って，（ ）内の第一の数字はA液，第二，第三の数字はそれぞれB液および酢酸の ml 数である。このようにして，たとえば $I_R(0-1-9)$ ， $I_M(9-1-0)$ はそれぞれ（B液 1 ml + 酢酸 9 ml ），および（A液 9 ml + B液 1 ml ）の系を示す。 I_M の表示は見やすくするため縦軸の強度スケールを変えて示したが，相互の間の比較は図中点線で付記した $I_R(0-1-9)$ を参照することで行なわれる。

I_P 曲線は一つの傾向（とくにピークの現われる時間）を描いたもので強度を相互に比較したものではない。

3.2 多価フェノール-アントラセン系の挙動

図4に没食子酸，フロログルシンおよびハイドロキノン系で得た結果を示す。ただし，ここで I_M の（ ）内の第二の数字はC液の ml 数である。

3.3 多価フェノール-メチレンブルー系の挙動

図5に没食子酸，レゾルシン，フロログルシンおよびハイドロキノン系で得た結果を示す。ここで I_M の（ ）内の第二の数字はD液の ml 数を示す。

4 考 察

ローダミンB添加系では増光^{*6}が顕著に現われるのは I_P の認められる系である。換言すれば， I_P の認められない系では増光作用がないということが出来る（ただし，クロルアニリンは I_P が現われても増光がほとんどない。これについては後で考察する）。

増光の現われる系において， I_M -曲線と I_P -曲線とを比較してつぎの四つの型に分けることができる。

A型：没食子酸系にみられ， I_M も I_P も一つのピークをもち，この両者の現われる時間は大体等しい。

A'型：カテコール系にみられ， I_M は一つのピークをもつのに対し， I_P は二つのピークをもつ。この場合， I_M のピークは I_P の第二のピークと対応する。

B型：フロログルシン系にみられ，A型と反対に I_M に二つのピーク， I_P には一つのピークが現われ， I_M の第一のピークが I_P のピークと対応する。

B'型：作成後二昼夜放置したピロガロール系にみられ^{*7}， I_M ， I_P とも二つのピークをもち， I_M の第一のピークと I_P の第二の

*4 発光強度はオゾン量に比例することが知られている。D. Bersis, E. Vassiliou, *Analyst*, 91, 499 (1966)。

*5 ベンゼン誘導体単独，ローダミンB単独，および両者混合系に対して，それぞれ I_P ， I_R および I_M の記号で区別した。

*6 増光の定義は $I_M \gg I_R + I_P \approx I_R$ で示される。

*7 作成直後の系はB型になる。

図3 ベンゼン誘導体-ローダミンB-酢酸系の発光強度の時間変化

図 3 ベンゼン誘導体-ローダミン B-酢酸系の発光強度の時間変化

プロトカテキン酸系

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (9-1-0), 3: I_P (9-0-1)

ピロガロール系 (作成直後)

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (1-1-8), 3: I_M (5-1-4), 4: I_M (9-1-0),
5: I_P (1-0-9), 6: I_P (5-0-5), 7: I_P (9-0-1) 4,4'-ジヒドロキシフェニル系
1: I_R (0-1-9), 2: I_M (9-1-0), 3: I_P (9-0-1)

ピロガロール系 (作成後2昼夜経過したもの)

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (1-1-8), 3: I_M (5-1-4), 4: I_M (9-1-0),
5: I_P (1-0-9), 6: I_P (5-0-5), 7: I_P (9-0-1)

図3 ベンゼン誘導体-ローダミンB-酢酸系の発光強度の時間変化

没食子酸系

1: I_M (1-1-8), 2: I_M (5-1-4), 3: I_M (9-1-0)

フロログルシン系

1: I_M (1-1-8), 2: I_M (5-1-4), 3: I_M (9-1-0)

ヒドロキノン系

1: I_M (5-1-4), 2: I_M (9-1-0)

図4 多価フェノール-アントラセン-酢酸系の発光強度の時間変化

ピークが対応する。

I_P に二つのピークが現われる場合、第二のピークのみ I_M のピークに対応する。このことは単独系の呈する微光に二つの過程のあることを暗示する。実際、 I_P の第二のピークは I_M のピークと同様にベンゼン誘導体の濃度の増加とともに長時間側に移動するのに対し、第一のピークは濃度にはほとんど無関係に反応初期に現われる。またピロガロール系では2昼夜放置した系のみに現わ

れることから恐らくある種の酸化によって生成した不純物によるものとも考えられる。あるいは別に反応器壁と液の内部で生成する励起種の差異⁶⁾によるものかも知れない。いずれにせよ、今後の研究課題の一つである。クロルアニリンの I_P が現われるにもかかわらず増光されないのは第一のピークのみ現れると考えれば説明可能である。

6) R. A. Rloyd, *Trans. Faraday Soc.*, 21, 2173, 2182(1965).

没食子酸系

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (1-1-8), 3: I_M (5-1-4),
4: I_M (9-1-0)

フロログリシン系

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (1-1-8), 3: I_M (5-1-4),
4: I_M (9-1-0)

時間 (sec)

図 6 フロログリシン-ローダミン B 系の
発光挙動に対するローダミン B 濃度の
影響

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (9-1-0), 3: I_M (9-0.4-0.6),
4: I_M (9-0.1-0.9), 5: I_P (9-0-1)

形状をとり、この場合は I_R -曲線と比較する
とつぎの三つの型に分けることができ
る。

C型: フタル酸系にみられ, I_M の形状
と I_R の形状が大体類似する。

D型: *p*-ベンゾキノン系にみられ, I_M の
形状は I_R と異なるが, 全発光量は I_R の

全発光量と大体等しい。

E型: クレゾール系にみられ, I_M は I_P に比して著しく低下し
て現われる (図7参照)。

これらの型から推察して, 増光されない系での発光は添加色素
の分解によるもので, この分解過程が共存するベンゼン誘導体によ
って影響をうけるものと考えられる。このことはローダミン B
添加系で増光を示した多価フェノール系がメチレンブルー系では
増光が現われず, C~E 型と類似の挙動が現われる事実からも支

レゾルシン系

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (1-1-8), 3: I_M (5-1-4),
4: I_M (9-1-0)

ヒドロキノン系

1: I_R (0-1-9), 2: I_M (1-1-8), 3: I_M (5-1-4),
4: I_M (9-1-0)

図 5 多価フェノール-メチレンブルー-酢酸系の発光強度の時間変化

I_M に二つのピークが現われる場合, 例えばフロログリシン系
ではローダミン B の濃度が低下するに従い第二のピークが消失す
る事実 (図 6) から, このピークは色素自身の分解による発光と
解される。このことはアントラセン添加系がすべて A 型を呈する
ことから一層はっきりする。なぜならアントラセン単独系の発
光はきわめて弱いから、このような I_M の第二のピークは当然消
失すると考えられるからである。

I_P の現われない, 従って増光されない系における I_M も種々の

A 型

B 型

C 型

D 型

E 型

図 7 典型的な発光挙動の型

持できる。

以上の結果をまとめて表1に示す。この分類は一つの典型的な場合を想定して得たもので、すべて完全にこの型をとるというものではない。したがって、分類の困難な系や挙動がさらに複雑な系もある。これらについては表の備考欄に付記した。

表 1 種々の系の発光挙動の分類

ベンゼン誘導体	型	ベンゼン誘導体	型
[ローダミンB添加系]			
レゾルシン	A'	クレゾール	$\begin{cases} o & E \\ m & E \\ p & E \end{cases}$
カテコール	A'		
ハイドロキノン	B	p-ニトロアニリン	$\begin{cases} o & E \\ m & E \\ p & E \end{cases}$
アミノフェノール	$\begin{cases} o & B \\ m & B \\ p & B \end{cases}$	メトキシフェノール	$\begin{cases} o & D^{b)} \\ m & D^{b)} \\ p & D \end{cases}$
ジフェニルアミン	$\begin{cases} o & A' \\ m & A' \\ p & A' \end{cases}$	アミノ安息香酸	$\begin{cases} o & A' \\ m & A' \\ p & A' \end{cases}$
ヒドロキシ安息香酸	$\begin{cases} o & C \sim D \\ m & C \sim D \\ p & D \end{cases}$	クロロアニリン ^{c)}	$\begin{cases} o & D \sim E \\ m & C \sim D \\ p & C \end{cases}$
ニトロフェノール	$\begin{cases} o & C \sim D \\ m & C \\ p & D \end{cases}$	フタル酸	$\begin{cases} o & C \\ m & C \end{cases}$
クロルフェノール	$\begin{cases} o & D^{a)} \\ m & C \\ p & C \end{cases}$	p-ベンゾキノン	D \sim E
ブロムフェノール	$\begin{cases} o & D^{a)} \\ m & C \sim D \\ p & C \sim D \end{cases}$	フロログルシン	B
		没食子酸	A
		プロトカチン酸	A
		4,4'-ジヒドロキシジフェニル	A'
		ビロガロール (作成直後)	B
		ビロガロール (2昼夜後)	B'
[アントラセン添加系]			
没食子酸	A ^{d)}	ハイドロキノン	A \sim (B)
フロログルシン	A		
[メチレンブルー添加系]			
没食子酸	C \sim D	フロログルシン	D \sim E
レゾルシン	D	ハイドロキノン	D \sim E

a) 弱い発光が長時間継続する。

b) 幾分増光するとも考えられる (I_P なし)。

c) I_P が現われても増光認められず。

d) 初期に弱いピークが現われる。

これらの結果を総合して、 I_M は一般に

$$I_M = I_{PR} + I_{R'} \quad (1)$$

で示されよう。(ここで I_{PR} は I_P の増光、 $I_{R'}$ は添加色素の分解による発光である)。

一方、先に示した反応スキームに定常状態近似法を適用すると

$$I_M = k_8[R^*] = k_2k_7k_8[M][R] / \{ (k_3 + k_4[M] + k_5[P] + k_6 + k_7[R]) (k_8 + k_9[R]) \} + k_8k_{10}k_{11}[R]^2\rho / (k_{11}[R] + k_{12}) (k_8 + k_9[R])^{*8}$$

ここで ρ は色素の分解が共存するベンゼン誘導体によって影響をうけるためにつけ加えられる因子で時間の複雑な関数である。

ここでさらに、

$e = k_2[M] \cdots \cdots$ 励起分子 (S^*) の生成する割合。

$T = k_7[R] / (k_3 + k_4[M] + k_5[P] + k_6 + k_7[R]) \cdots \cdots$ 励起分子 (S^*)

の脱活のうち R にエネルギーが移動して R^* を生成せしめる割合。

$f = k_8 / (k_8 + k_9[R]) \cdots \cdots R^*$ の蛍光収率。

$\epsilon = k_{10}k_{11}[R]^2 / (k_{11}[R] + k_{12}) \cdots \cdots$ 色素単独系において励起体

^{*8} この式の第1項は I_{PR} 、第2項は $I_{R'}$ に相当する。また I_P の値は小さいので無視する。

(M_E^*) を生成し、これからエネルギー移動によって R^* を生成する割合。

とおくと、Vassilév⁷⁾ と同様な表示法を得る。

$$I_M = I_{PR} + I_{R'} = eTf + \rho\epsilon f \quad (2)$$

式(2)を用いると I_M -発光の呈する挙動をつぎのように説明することができる。

ローダミン添加系：A型、B型とも I_P -発光(第二のピーク)が現われるので $e > 0$ 、従って式(2)の第一項が現われて増光がおこる。この場合、A型の系では色素の分解を阻止する能力が弱いので $I_{R'}$ -発光は比較的反応の初期から現われ I_{PR} と時間的に重なる^{*9}。B型の系では色素の分解阻止能力が強いので $I_{R'}$ -発光は反応が進行してベンゼン誘導体がほとんど消失してから始まる。したがって、 I_{PR} と $I_{R'}$ とは時間的にずれて二つのピークが現われる。一方、C~E型の系では I_P -発光は現われないので、 $e = 0$ 、従って、 $I_M = \rho \cdot \epsilon \cdot f$ が成立して増光がない。この場合、 ρ の値の差異によって各型に別れる。

アントラセン添加系：自身発光しないので $\epsilon = 0$ になり、従って、 $I_M = e \cdot T \cdot f$ が成立してすべてA型が現われる。

メチレンブルー添加系： I_R が現われるが増光作用がないので $T = 0$ 、従って、 $I_M = \rho \cdot \epsilon \cdot f$ が成立してすべて C~E 型が現われる。ここでローダミン添加系でA型を呈したものはこの系で C~D 型、B 型を呈したものは D~E 型になる事実は色素の分解阻止能力に対する著者らの考察^{*10} の妥当性を示すものである。

増光の現われる系は還元されやすい水酸基やアミノ基を少なくとも二つ以上置換基にもった系であることが知られる(フェノールやアニリン系では微光も増光も現われなかった)。したがって、これら置換基が発光反応に何らかの影響をあたえるものと思われるが、o-, m-, p-置換による差異は I_M -発光、 $I_{R'}$ -発光の形状に若干の変化をあたえる程度で、 I_P の出現、増光作用などには決定的要因になり得ないことがわかった。このことは発光反応がベンゼン環が開裂した以後におこることを暗示する。Bernater⁸⁾ の研究によって酢酸エチル中の多価フェノールはオゾン分解によって、一酸化炭素、二酸化炭素、ギ酸、シュウ酸およびグリオキサールなどを生成することが知られている。一方、Hartley⁹⁾ は気相ではあるが、フォルミラジカルの結合によって励起されたグリオキサールが生成し発光する現象を認めた。この両者の間にどのような関連があるかを検討することは本発光反応の機構解明の上に興味深いものであろう。

(昭和 43 年 4 月 1 日、日本化学会第 21 年会講演 (大阪))

^{*9} 実験結果から、 $I_M \gg I_{R'}$ 、従って $eT \gg \epsilon \cdot \rho$ が推測されるので、A型の発光は $I_M \approx eTf$ で示されよう。

^{*10} 色素分解に対する阻止作用は A, C 系で弱く、B, D, E 系で強い。

7) R. F. Vassilév, *Photochem. Photobiol.*, 6, 35 (1967).

8) E. Bernater, J. Mørskeland, K. Valen, *Acta. Chem. Scand.*, 15, 1454 (1961).

9) D. B. Hartley, *Chem. Commun.*, 1967, 1281.