



## サイクリックボルタモグラムのデジタルシミュレーションによるアスコルビン酸の油水界面電子移動の反応機構

杉原, 崇康

堀田, 弘樹

大塙, 利行

---

(Citation)

分析化学, 52(9):665-671

(Issue Date)

2003-09

(Resource Type)

journal article

(Version)

Version of Record

(Rights)

© 2003 The Japan Society for Analytical Chemistry

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/90004302>



報 文

## サイクリックボルタモグラムのデジタルシミュレーションによる アスコルビン酸の油水界面電子移動の反応機構

杉原 崇康<sup>1</sup>, 堀田 弘樹<sup>1</sup>, 大堺 利行<sup>®1</sup>

Mechanistic study of the electron transfer of L-ascorbic acid at an oil/water interface by a digital simulation of cyclic voltammograms

Takayasu SUGIHARA<sup>1</sup>, Hiroki HOTTA<sup>1</sup> and Toshiyuki OSAKAI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Kobe University, 1-1, Rokkodai, Nada-ku, Kobe-shi, Hyogo 657-8501

(Received 2 May 2003, Accepted 4 June 2003)

L-ascorbic acid (AsA), a water-soluble antioxidant, is known to exhibit a synergistic inhibition of oxidation by reacting with a lipophilic antioxidant, such as vitamin E, at biomembrane surfaces. In this study, we electrochemically investigated the oxidation of AsA by chloranil (Q) at a nitrobenzene (NB)/water (W) interface, which is considered to be the simplest model of a biomembrane, by using a four-electrode electrolytic cell. The cyclic voltammograms obtained by changing the pH of the W phase and the concentrations of AsA and Q were analyzed using a digital simulation technique. Regression analyses based on various reaction mechanisms have supported the previously proposed mechanism in which the oxidation of AsA occurs not at the NB/W interface, but homogeneously in the W phase. However, it has been clarified that the two electron oxidation of AsA occurs in two one-electron steps.

**Keywords :** ascorbic acid; chloranil; oil/water interface; cyclic voltammetry; digital simulation; reaction mechanism.

### 1 緒 言

L-アスコルビン酸 (AsA) や  $\alpha$ -トコフェロール ( $\alpha$ -Toc)などのビタミン類、カフェイン酸などのポリフェノール類などは、DNA の損傷や老化、細胞のがん化などを引き起こす活性酸素種の働きを抑制する抗酸化剤として重要であり、これまで多くの研究がなされてきた<sup>1)~7)</sup>。このような抗酸化剤には、水溶性のものと脂溶性のものがある。水溶性の AsA は、単独では脂質過酸化のような疎水性環境での酸化に対する抗酸化作用は弱いが、脂溶性の  $\alpha$ -Toc がラジカル捕そく剤として脂質過酸化を抑制し、その際生じる  $\alpha$ -トコフェロキシルラジカルを AsA が生体膜表面で還元することで、相乗的抗酸化作用を示すことが知られている<sup>6)7)</sup>。このような水溶性抗酸化剤の生体膜表面での反応

は、生体内での脂質過酸化など、疎水性環境での過酸化の抑制において重要な役割を担っており、その詳細な反応メカニズムの解明は興味深い。

生体膜表面での反応の研究において、生体膜の最も単純なモデルと考えられる油水界面を用いた研究は有効と思われる。1997 年、木原らは電流規制ポーラログラフ法を用いて、1,2-ジクロロエタン/水界面における AsA と、2,3,5,6-テトラクロロ-1,4-ベンゾキノン (クロラニル, Q) との間の界面電子移動反応を初めて報告した<sup>8)</sup>。その後、AsA と Q の同様の反応は大堺らによって詳細に研究され、サイクリックボルタシメトリー (CV) 及び電位規制ポーラログラフ測定<sup>9)</sup>、電位変調全反射分光測定<sup>10)</sup>、油水界面マイクロフローセルを用いた反応電子数の解析<sup>11)</sup>及び界面での物質移動を遮断できる電導体分離油水 (ECSOW) 系を用いた CV 測定<sup>12)</sup>などが行われた。その結果、この反応が AsA 1 分子当たり 2 つの電子が界面を移動する 2 電子反応

<sup>1</sup> 神戸大学理学部化学科: 657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町 1-1

であること、また、反応機構は Q の一部が水 (W) 相へ分配し、W 相中で homogeneous な電子移動を行う反応機構であることが示された (Fig. 1)。しかしながら、AsA の酸化還元反応は、AsA 自身が pH によってプロトンの解離反応を起こすこと、反応にプロトンが関与するため AsA と Q の反応が pH に依存すること、AsA の酸化還元挙動が 1 電子のみが関与する単純な反応ではないことなど複雑な要素が多く、界面付近の反応層を仮定した先の解析<sup>9)</sup>では、十分な反応機構の解明には至らなかった。

本研究では、ニトロベンゼン (NB)/W 界面における AsA と Q との間の電子移動反応を CV 測定によって観察し、デジタルシミュレーション<sup>13)~19)</sup>を用いて反応機構の解析を行った。デジタルシミュレーションには、一般に解析解が得られないサイクリックボルタモグラムから、かなり複雑な系であっても反応機構を数値的に解析できる利点

があり、また、測定データへの回帰分析から得られたフィッティングパラメーターから、測定系に関する熱力学的及び速度論的パラメーターを見積もることもできる。本研究では、デジタルシミュレーションを用いて、上記の系のより詳細な反応機構を明らかにすることができた。

## 2 実験

### 2・1 試薬

NB 相の支持電解質として用いたテトラペンチルアンモニウムリンタンゲステン酸塩  $\{(TPnA)_3PW_{12}O_{40}\}$  の合成、NB 相の参照電極に用いた塩化テトラペンチルアンモニウム (TPnACl) 水溶液の調製、及び NB の精製は先の方法<sup>9)</sup>に従った。その他の試薬はすべて特級試薬を用いた。

### 2・2 CV 測定

CV 測定は、先に報告したコンピュータ制御システム<sup>20)</sup>を用いて行った。四電極式の電解セルの構成を Fig. 2 に示す。

NB 相 (II) と W 相 (III) の間の界面が試験界面 (表面積  $0.096 \text{ cm}^2$ ) であり、そのガルバニ電位差を二つの参照電極 (RE1 及び RE2) を用いて制御した。また、試験界面を流れる電流は、二つの白金対極 (CE1 及び CE2) を用いて検出した。電位の制御と電流の検出には、液抵抗補正用の正帰還回路を備えた四電極式ポテンショスタット<sup>20)</sup> (北斗電工製、HA1010mM1A) を用いた。W 相 (III) の pH は  $50 \text{ mM}$  のリン酸緩衝液を用いて調整した。なお、溶存酸素を取り除くため、NB 相、W 相共に窒素ガスを 30 分間通気した後に測定を行った。すべての測定は  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$  で行った。

界面のガルバニ電位差 ( $\Delta_O^\text{W}\phi$ ) は、Fig. 2 と同様のセル系を用いて測定したテトラメチルアンモニウムイオンの移動の可逆半波電位 ( $E_{1/2}^\text{r} = 0.343 \text{ V}$ ) を基準として、 $\Delta_O^\text{W}\phi = E - 0.299 \text{ V}$  ( $E$  は印加電位) の関係式によって見積もった (式の導出は文献<sup>21)</sup>を参照)。

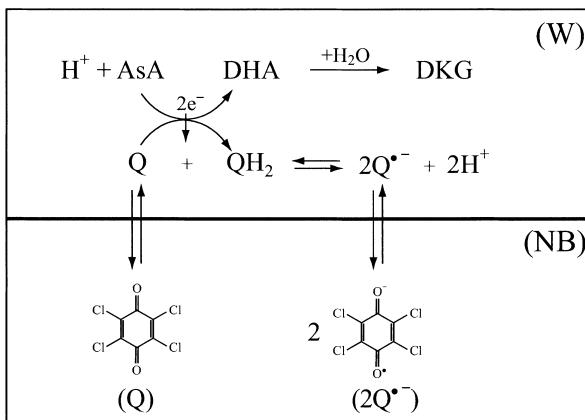


Fig. 1 Previously proposed model for the oxidation of L-ascorbic acid (AsA) by chloranil (Q) at the nitrobenzene (NB)/water (W) interface

In this "1 step" ET-IT (electron transfer-ion transfer) mechanism, the two electron oxidation of AsA occurs in one step homogeneously in the W phase, followed by the IT of the resultant semiquinone radical anion ( $Q^{\bullet-}$ ) from W to NB. DHA = dehydro-L-ascorbic acid, DKG = 2,3-diketogulonic acid.

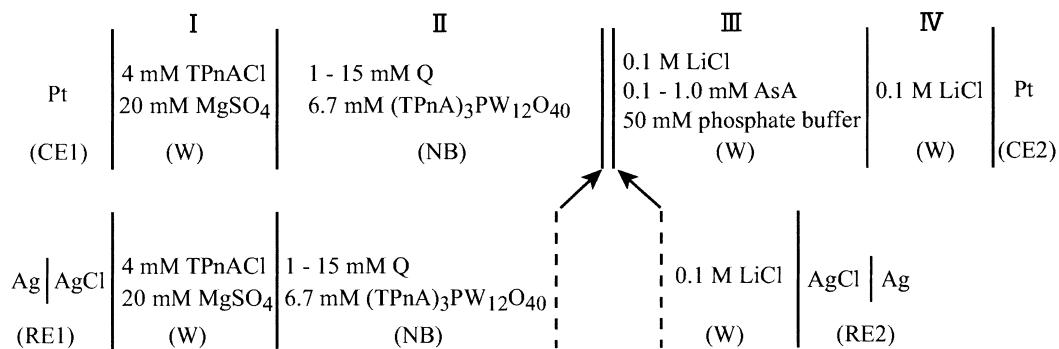


Fig. 2 Electrochemical cell used for the cyclic voltammetric measurements

### 2・3 Q の分配係数の測定

Q の NB/W 界面での分配係数 ( $K_D = 900$ ) は、NB 中及び W 中での飽和濃度の比から求めた。

$$K_D = \frac{[Q]_o}{[Q]_w} \quad (1)$$

ここで、 $[Q]_o$  及び  $[Q]_w$  はそれぞれ、Q の NB 中及び W 中での飽和濃度である。 $[Q]_o$  ( $= 31.2 \text{ mM}$ ) は、Q の飽和溶液の吸光度測定から求めた ( $\epsilon = 76.1 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  at  $423 \text{ nm}$ )。一方、 $[Q]_w$  ( $= 34.6 \mu\text{M}$ ) は、フローカラム電解セル（北斗電工製、HX-203）を用いる Q の還元電気量の測定から求めた。この測定では、サンプルインジェクターから  $20 \mu\text{l}$  の Q の飽和水溶液を  $0.1 \text{ M KCl}$  のキャリヤー溶液中に注入し、ペリスタポンプを用いて電解セルに送った（流速、 $2 \text{ ml min}^{-1}$ ）。なお、電解電位は  $-0.3 \text{ V vs. Ag/AgCl (sat. KCl)}$  に設定した。

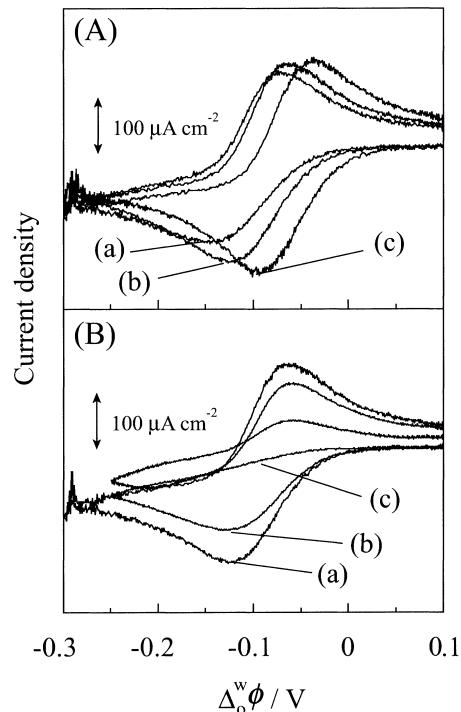
### 2・4 デジタルシミュレーション

デジタルシミュレーションは、有限差分法<sup>16)</sup>を用いて行った。この手法では、単位断面積の界面から、油水両相に向かって垂直方向に連続する体積要素を考え、それぞれの体積要素について拡散及び化学反応の微分方程式を、差分で近似して計算する<sup>16)17)</sup>。本研究では、計算時間の短縮のため、界面からの体積要素の大きさを界面から遠ざかるに従って指数関数的に大きくして計算した。これは、より精度の高い計算が必要な界面近傍での体積要素を小さくすることで、精度を落とすことなく、体積要素の総数を減らして計算時間の短縮を図る手法である<sup>16)</sup>。なお、シミュレーションのプログラムは、マイクロソフト社の Visual C++ (ver. 6.0) を用いて作成した。

## 3 結果と考察

### 3・1 CV 測定

Fig. 2 の電解セルを用いて、pH、Q 濃度、AsA 濃度、掃引速度を様々に変化させて CV 測定を行った。Fig. 3 に、W 相の pH を変化させた場合と、NB 相中の Q の濃度を変化させた場合の結果を例示する。pH を変化させた場合 {Fig. 3(A)}、pH 8.0 ではピーク電位幅が約  $60 \text{ mV}$  となつたが、pH の減少に伴ってピーク電位幅が広がるとともに電流値が幾らか減少した。また、pH が 1 变化するのに対して中点電位が約  $60 \text{ mV}$  シフトした。これらの結果は、この系の反応機構に速度論的なプロセスが含まれることと、反応に全体として 1 分子のプロトンが関与していることを示唆している。NB 中の Q 濃度を変化させた場合 {Fig. 3(B)} は、Q 濃度の減少に伴って電流値の減少が見られたが、特に低濃度条件 ( $[Q] = 1 \text{ mM}$ ) においては特異的な変化を示し、還元波のピーク電位のみが大きく負側



**Fig. 3** Cyclic voltammograms of the oxidation of AsA ( $0.5 \text{ mM}$ ) at the NB/W interface, which were obtained (A) for different pH values: (a) pH 7.0; (b) pH 7.5; (c) pH 8.0 and (B) for different concentrations of Q in NB: (a)  $15 \text{ mM}$ ; (b)  $5 \text{ mM}$ ; (c)  $1 \text{ mM}$ . For (A), the concentration of Q was  $15 \text{ mM}$ . For (B), the pH was 7.5. Scan rate:  $0.1 \text{ V/s}$ .

へシフトした。

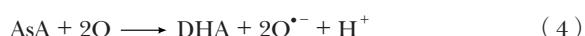
上の CV 測定に加え、クロラニルの 1 電子還元体であるセミキノンラジカルアニオン ( $\text{Q}^{\bullet-}$ ) のイオン移動の式量電位 ( $\Delta_o^W \phi_{\text{Q}^{\bullet-}}^o$ ) を先と同様の CV 測定<sup>10)</sup>によって求めたところ、 $\Delta_o^W \phi_{\text{Q}^{\bullet-}}^o = 0.053 \text{ V}$  が得られた。

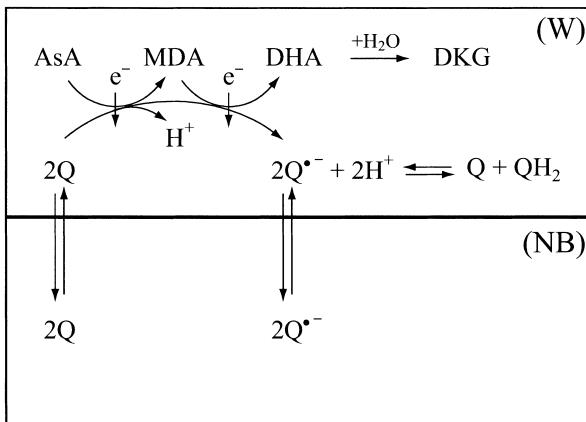
### 3・2 デジタルシミュレーション

**3・2・1 反応機構の設定** Fig. 1 に示す 1 段階の 2 電子酸化反応に基づく反応機構<sup>9)</sup>（1 段階反応機構と呼ぶ）では、AsA は W 相に一部分配した Q によって式(2)のように 2 電子酸化され、デヒドロアスコルビン酸 (DHA) になる。また、この反応は式(3)に示すように、Q と  $\text{QH}_2$  からの  $\text{Q}^{\bullet-}$  の生成を伴う。



これらをまとめると、次式のように表される。

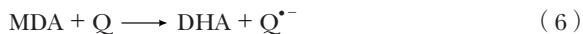
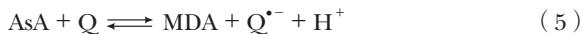




**Fig. 4** Proposed model for the oxidation of AsA by Q at the NB/W interface

In this “2 step” ET-IT mechanism, the two electron oxidation of AsA in the W phase occurs in two one-electron steps. MDA = monodehydro-L-ascorbic acid.

しかしながら、先の論文<sup>10)</sup>で指摘したように、AsA の 2 電子酸化反応は、1 電子ずつ 2 段階で進行する場合も考えられる<sup>1)</sup>。つまり、式(5) の 1 電子酸化反応により、ラジカルアニオンであるモノデヒドロアスコルビン酸(MDA) が生成し、更に MDA が式(6) のようにもう 1 分子の Q によって 1 電子酸化されて DHA になる。



この場合にも、式(3) に示す反応を伴う。Fig. 4 に、このような 2 段階の電子移動反応を仮定した場合の反応機構(2段階反応機構)を示す。ここでは、W 相へ一部分配した Q が W 相中で式(5), (6) のように反応し、生成物である Q<sup>•-</sup>が界面電位差に応じて油相へと移動する。このような 2 段階の酸化反応を考えた場合にも、全体としての反応式は式(4) と同じであり、AsA 1 分子当たり、2 分子の Q, 1 分子のプロトンが関与することになる。

上記の 2 つの反応機構は、AsA との反応生成物が QH<sub>2</sub> であるのか、あるいは Q<sup>•-</sup>であるかという点、及び AsA との反応におけるプロトン濃度(すなわち、pH 値)の寄与が異なる、という 2 点で区別することができる。どちらの反応機構においても、AsA は最終的に 2 電子酸化体である DHA になるが、DHA は中性水溶液中では極めて不安定であり<sup>1)</sup>、非可逆的に開環してジケトグロン酸(DKG)を生成することから、この反応は非可逆的に進行すると考えられる<sup>22)</sup>。このため、上記の電子移動反応が界面を隔てて heterogeneous に進行すると仮定した場合には、反応が非可逆であるために Q の酸化波が得られないことになり、実験結果と一致しない。したがって、heterogeneous な電

子移動による反応機構は除外される。

なお、測定した電位領域ではプロトンの NB 相への分配が無視できるため、QH<sub>2</sub> の NB 相中の生成、すなわち NB 相への分配が起こりにくいものと考え、簡単のため考慮しなかった。

**3・2・2 測定結果へのフィッティング** 以下のデジタルシミュレーションでは、界面での Q の分配は非常に速く、界面最近傍の体積要素において常に式(1) が成り立つものとして計算を行った。また、Q<sup>•-</sup>のイオン移動も可逆であると仮定し、同様に次式が成立するとした。

$$\Delta_0^W \phi = \Delta_0^W \phi_{Q^{\bullet-}}^o - \frac{RT}{F} \ln \frac{[Q^{\bullet-}]_W}{[Q^{\bullet-}]_0} \quad (7)$$

1 段階反応機構 (Fig. 1) を仮定したシミュレーションでは、W 相中の化学反応の計算は以下の式(相を示す ‘w’ は省略した)に基づいて行った。

$$\frac{d[QH_2]}{dt} = k[Q][AsA] \quad (8)$$

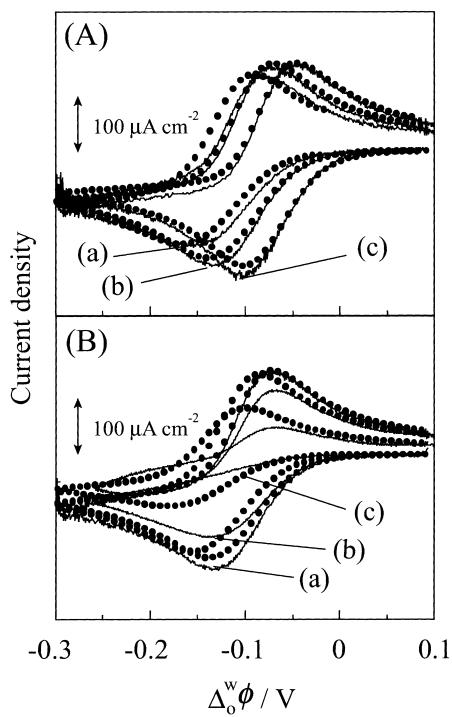
$$K = \frac{[Q^{\bullet-}]^2}{[Q][QH_2]} \quad (9)$$

ここで、k は 2 次の反応速度定数、K は式(3) に示す平衡反応の平衡定数である。それぞれのパラメーターの pH に依存した変化は、速度定数については  $k = k'[\text{H}^+]$  として、また平衡定数については  $K = K[\text{H}^+]^{-2}$  として計算した ( $k'$ ,  $K$  は pH に依存しない定数)。Fig. 5 に、このような 1 段階反応機構を仮定した場合のシミュレーション結果を示す。AsA と Q との 2 次反応を比較的速いとした場合、pH を変化させたときのボルタモグラムの挙動についてはおおむねよく再現することができたが [Fig. 5 (A)], 同じパラメーターを用いて Q の濃度を変化させた場合には、Fig. 5(B) の (c) に示すようにピーク電流値が実験値から大きく外れ、またピーク電位幅も濃度変化に対してもあまり依存しないなど、実験結果をうまく再現できなかった。この結果から、1 段階反応機構ではこの系の反応を十分に説明できないことが明らかとなった。

2 段階反応機構 (Fig. 4) を仮定したシミュレーションでは、以下の式を用いて W 相中の化学反応の計算を行った。

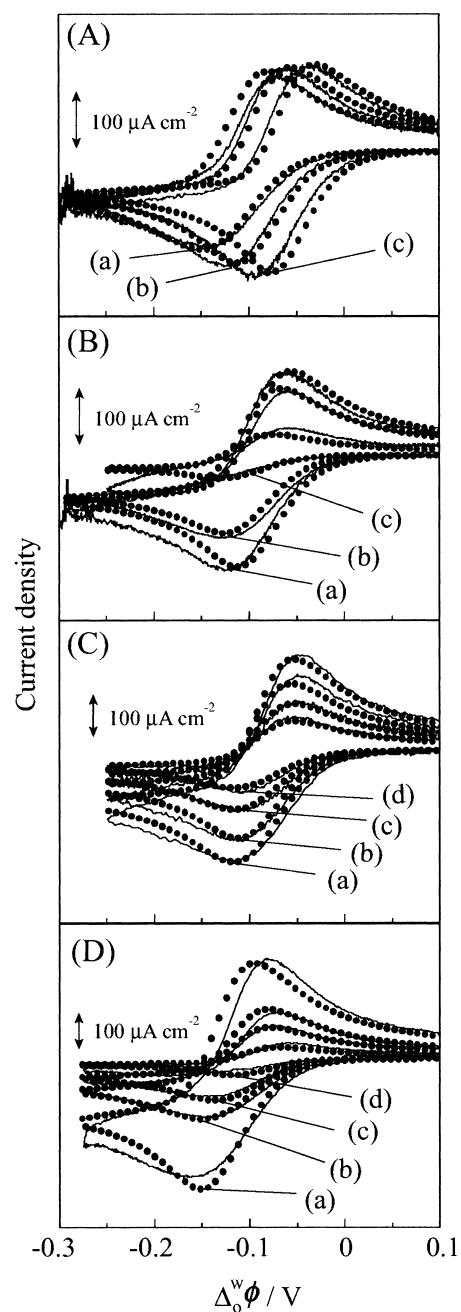
$$\frac{d[Q^{\bullet-}]}{dt} = k_1[Q][AsA] - k_{-1}[MDA][Q^{\bullet-}] + k_2[Q][MDA] \quad (10)$$

ここで、 $k_1$ ,  $k_{-1}$ ,  $k_2$  はそれぞれ、Q と AsA, MDA と Q<sup>•-</sup>, Q と MDA との反応の 2 次の速度定数である。速度定数  $k_1$ ,  $k_2$  の pH 依存性については、上記の 1 段階反応機構の場合と同様に仮定した。なお、式(3) に示す Q の平



**Fig. 5** Digital simulation analysis of the cyclic voltammograms shown in Figs. 3(A) and 3(B)

Solid circles show the regression data based on the 1 step ET-IT mechanism (Fig. 1).



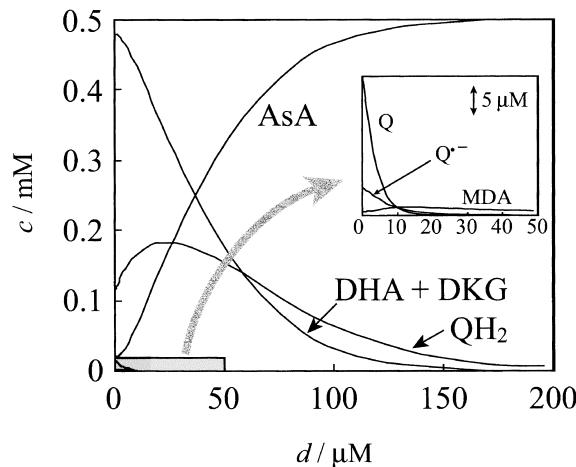
**Fig. 6** Digital simulation analysis of the cyclic voltammograms (A) for different pH values, (B) for different concentrations of Q in NB, (C) for different scan rates, and (D) for different concentrations of AsA (pH 7.0)

For (A) and (B), the measurement conditions are as in Figs. 3(A) and 3(B). For (C), the scan rate was: (a) 0.2; (b) 0.1; (c) 0.05; (d) 0.02 V/s, and the other conditions are as in curve (b) in Fig. 3(A). For (D), the concentration of AsA was: (a) 1.0; (b) 0.5; (c) 0.3; (d) 0.1 mM, and the other conditions were as in curve (a) in Fig. 3(A). Solid circles show the regression data based on the 2 step ET-IT mechanism (Fig. 4).

衡反応は式(9)に従った。1段階反応機構を仮定した場合と異なり、2段階反応機構を仮定したデジタルシミュレーションでは、pH、掃引速度、AsA濃度を変化させた場合には実験結果と計算値がよく一致し、更にQ濃度を変化させた場合にも、実験結果をおおむねよく再現した(Fig. 6)。これらの結果から、この系の反応は2段階反応機構でよりよく説明されることが明らかとなった。但し、Fig. 6(B)に示すように、Qの濃度が1mMと低い条件では、負電位領域( $<-0.15$  V)の負電流ピークが、計算値よりも実験値が大きくなる傾向を示した。Fig. 5(B)に示す1段階反応機構の場合に比べて、ピーク電位当たりまでの電流値は比較的よく再現できているものの、この結果は $Q^\bullet-$ 以外の化学種の電流への関与を示唆した。これについては後述の濃度プロファイルの解析において考察する。

**3・2・3 フィッティングパラメーター** 上記の2つの反応機構を仮定したシミュレーションに用いたパラメーター(pH 7.0における値)をTable 1にまとめた。1段階反応機構を仮定した場合、AsAとQとの反応の2次の速度定数 $k$ は $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ と、比較的大きな値となつたほか、調節パラメーターとして得られた $\Delta_o^w \phi_{Q^\bullet-}$ についても実験値(0.053 V)と一致しなかった。これに対し、2段階反応機構を仮定した場合、AsAとQとの反応の2次の速度定数 $k_1$ は、他の類似の2分子反応の速度定数<sup>7)(23)(24)</sup>と同じ

オーダーの値( $\sim 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )であった。MDAが関与する反応の速度定数( $k_{-1}, k_2$ )は比較的大きな値( $\sim 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )になったが、これは一般にラジカル種が高い反



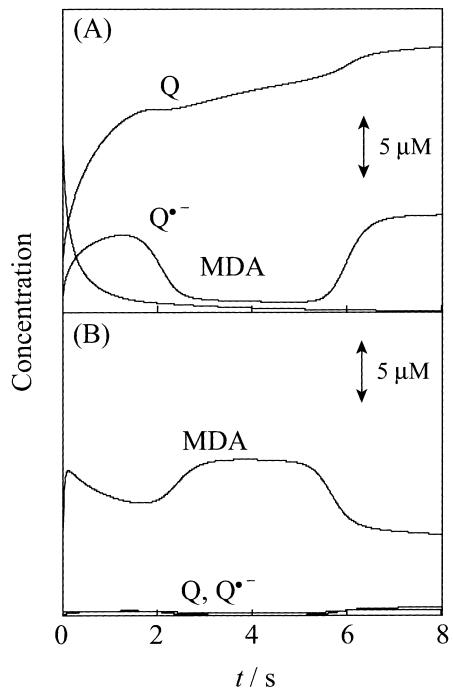
**Fig. 7** A snapshot of concentration profiles of the reaction species in W phase at  $\Delta\phi_w = -0.1$  V during a forward voltage scan (at 0.1 V/s), which was calculated from the digital simulation based on the 2 step ET-IT mechanism

The initial conditions:  $[AsA]_w = 0.5$  mM;  $[Q]_0 = 15$  mM; pH 7.5. The x axis labeled by  $d$  represents the distance from the NB/W interface.

応性を持つため<sup>25)</sup>、妥当な値であると思われる。また、 $\Delta\phi_{w,0}$ は実験値とよく一致した。これらの結果は、この系の反応が2段階反応機構で説明されることを支持した。

**3・2・4 界面付近の濃度プロファイル** Fig. 7に、2段階反応機構のデジタルシミュレーションから得られた、ある一定条件での電位掃引中の界面付近の各物質の濃度プロファイルを示す (DHAとDKGについては、これらの変換反応を計算に入れていないため、トータル濃度を示した)。W相へ一部分配したQがAsAと界面近傍で反応して、 $Q^{+}$ ,  $QH_2$ , MDA, DHA + DKGが生成し、それぞれバルク側に拡散する様子が読み取れる。図中の挿入図を見ると、QとAsAが反応している反応層は、界面からバルク側に少なくとも10 μm程度まで広がっており、この反応はW相中でのhomogeneousな電子移動であるといえる。

Q濃度が低い場合にシミュレーション結果と実験結果が一致しなかったことに関して、低濃度条件での計算から求めた濃度プロファイルについて考察を行った。Fig. 8に、NB相中のQ濃度がそれぞれ15 mMと1.0 mMのときの、W相中の界面から1 μm地点での各物質の濃度の時間変化を示した。Q濃度が1.0 mMの場合は、15 mMの場合に比べてW相中の $Q^{+}$ の濃度が非常に小さくなっている。電流値の減少に対応している。また特に注目すべき点として、MDA濃度はQ濃度が小さい場合のほうがいずれの時間領域においても大きかった。これは、W相に分配するQが少なくなることにより、界面近傍での未反応のAsAがMDAに対して過剰に存在し、相対的にMDAと



**Fig. 8** Concentration changes for  $Q$ ,  $Q^{+}$ , and MDA at  $d = 1$  μm during a cyclic voltammetric scan (0.1 V → -0.3 V → 0.1 V at 0.1 V/s), which was calculated from the digital simulation based on the 2 step ET-IT mechanism

The initial conditions:  $[Q]_0 = (A) 15$  mM and (B) 1.0 mM;  $[AsA]_w = 0.5$  mM; pH 7.5

Qとの反応が遅くなるためであると考えられる。この結果は、Q濃度が低い条件での負電位領域の負電流ピークにMDAが関与していることを示唆している。つまり、MDAはAsAが1電子酸化されたラジカルアニオンであるため、この界面イオン移動がQの低濃度条件下で関与する可能性が考えられる。このことを検討するには、今回用いた実験条件とは逆にAsAが過剰な条件での測定が有効であると考えられる。また、このようなAsA過剰の条件は生体内の濃度条件に近いと考えられ、今後の研究課題としても興味深い。

### 3・3 油水界面におけるAsAの酸化反応機構

NB相中のQ濃度が低い場合には、上記のように複雑な反応を含むことが示唆されたが、油水界面におけるAsAの酸化反応機構は、おおむね次のように説明されることが明らかとなった。W相へ分配したQは、W相中でAsAと反応して $Q^{+}$ とMDAを生じる。この反応は可逆であり、解析の結果で得られた速度定数 (Table 1) からは逆反応のほうがより速いと考えられる。しかし、MDAは速やかにもう1分子のQと反応するため、その濃度は常に小さい。また、生成物である $Q^{+}$ についても、界面電位差に従って速やかにNB相へ移動することによって、W相中で

Table 1 Fitting parameters obtained from regression analyses based on the 1 step and 2 step ET-IT mechanisms (at pH 7.0)

1 step ET-IT mechanism	
$k/\text{M s}^{-1}$	$5 \times 10^8$
$K$	$1 \times 10^{-6}$
$\Delta\phi_{\text{ext}}^{\text{W}}/\text{V}$	0.096
2 step ET-IT mechanism	
$k_1/\text{M s}^{-1}$	$5 \times 10^6$
$k_{-1}/\text{M s}^{-1}$	$5 \times 10^8$
$k_2/\text{M s}^{-1}$	$2 \times 10^8$
$K$	$5 \times 10^{-4}$
$\Delta\phi_{\text{ext}}^{\text{W}}/\text{V}$	0.047

の濃度は非常に小さくなっている。結果として、この反応の逆反応は非常に起こりにくくなり、このため、系全体として Q は AsA によって速やかに還元される。

このように、油水界面における AsA の酸化反応は、油相中の酸化体が一部 W 相へ分配した後、AsA と反応し、生成物が速やかに油相へ戻る、という一連の反応によってスムーズに進行していると考えられる。そして、界面を流れる電流は、界面での電子移動ではなく、Q<sup>-</sup>のイオン移動による。この知見は、生体膜表面におけるビタミン E やカロチノイドなどの脂溶性抗酸化剤と AsA との相乗的抗酸化作用の反応機構を理解する上で、有益な示唆を与えるものと思われる。

(2002 年 5 月、第 63 回分析化  
学討論会において一部発表)

## 文 献

- 木本英治：“L-アスコルビン酸カスケード”，(1994)，(開成出版)。
- 中野 稔、浅田浩二、大柳善彦：“活性酸素”，(1988)，(共立出版)。
- G. W. Burton, K. U. Ingold: *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 6472 (1981).

- Y. Kono, K. Kobayashi, S. Tagawa, K. Adachi, A. Ueda, Y. Sawa, H. Shibata: *Biochim. Biophys. Acta*, **1335**, 335 (1997).
- O. Arrigoni, M. C. De Tullio: *Biochim. Biophys. Acta*, **1569**, 1 (2002).
- E. Niki: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **498**, 186 (1987).
- R. H. Bisby, A. W. Parker: *Arch. Biochem. Biophys.*, **317**, 170 (1995).
- M. Suzuki, S. Umetani, M. Matsui, S. Kihara: *J. Electroanal. Chem.*, **420**, 119 (1997).
- T. Osakai, N. Akagi, H. Hotta, J. Ding, S. Sawada: *J. Electroanal. Chem.*, **490**, 85 (2000).
- T. Osakai, H. Jensen, H. Nagatani, D. J. Fermin, H. H. Girault: *J. Electroanal. Chem.*, **510**, 43 (2001).
- S. Sawada, M. Taguma, T. Kimoto, H. Hotta, T. Osakai: *Anal. Chem.*, **74**, 1177 (2002).
- H. Hotta, N. Akagi, T. Sugihara, S. Ichikawa, T. Osakai: *Electrochim. Commun.*, **4**, 472 (2002).
- R. S. Nicholson, I. Shain: *Anal. Chem.*, **36**, 706 (1964).
- R. S. Nicholson: *Anal. Chem.*, **37**, 1351 (1965).
- D. S. Polcyn, I. Shain: *Anal. Chem.*, **38**, 370 (1966).
- A. J. Bard, L. R. Faulkner: “*Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*”, 2nd ed., (2001), (Wiley, New York).
- 大堺利行, 加納健司, 桑畠 進: “ベーシック電気化学”, p. 126 (2000), (化学同人)。
- T. Konse, K. Kano, T. Kubota: *J. Electroanal. Chem.*, **246**, 385 (1988).
- H. Hotta, M. Ueda, S. Nagano, Y. Tsujino, J. Koyama, T. Osakai: *Anal. Biochem.*, **303**, 66 (2002).
- 青柳重夫, 松平昌昭, 鈴木貴博, 片野 肇, 澤田惠夫, 堀田弘樹, 市川聖子, 杉原崇康, 大堺利行: *Electrochemistry*, **70**, 329 (2002).
- T. Osakai, S. Himeno, A. Saito: *J. Electroanal. Chem.*, **332**, 169 (1992).
- P. Karabinas, D. Jannakoudakis: *J. Electroanal. Chem.*, **160**, 159 (1984).
- M. A. Dayton, A. G. Ewing, R. M. Wightman: *Anal. Chem.*, **52**, 2392 (1980).
- D. Sopchak, B. Miller: *J. Phys. Chem. A.*, **104**, 7545 (2000).
- K. B. Patel, M. R. L. Stratford, P. Wardman, S. A. Everett: *Free. Rad. Biol. Med.*, **32**, 203 (2002).

## 要 旨

水溶性抗酸化剤として知られるアスコルビン酸 (AsA) は、生体膜表面においてビタミン E のような脂溶性抗酸化剤と反応することによって相乗的抗酸化作用を示すことが知られている。本研究では、生体膜の最も単純なモデルとして考えられるニトロベンゼン/水界面におけるクロラニル (Q) による AsA の酸化反応を、四電極式サイクリックボルタメトリー法を用いて測定し、デジタルシミュレーション法を用いて反応機構の解析を行った。水相の pH や AsA 及び Q の濃度を変えて測定したボルタモグラムについて、幾つかの異なる反応機構を仮定する回帰分析を行った結果、AsA の酸化反応が界面ではなく、水相中で起こるという先の反応機構が支持された。しかしながら、この AsA の 2 電子酸化反応は、1 電子ずつ 2 段階で進行することが新たに示された。