

PDF issue: 2025-05-11

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 大堺, 利行

<mark>(Citation)</mark> 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¹, 堀田 弘樹¹, 大堺 利行^{®1}

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

Takayasu Sugihara¹, Hiroki Hotta¹ and Toshiyuki Osakai¹

¹ 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α-トコフェロール (α-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^{1)~7)}.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 α-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 α-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⁶⁾⁷⁾.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⁸⁾.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 クリックボルタンメトリー(CV)及び電位規制ポーラロ グラフ測定⁹⁾、電位変調全反射分光測定¹⁰⁾、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¹¹⁾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¹²⁾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

¹ 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⁹⁾ 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^{13)~19)}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



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.

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 ニウムリンタングステン酸塩 {(TPnA)₃PW₁₂O₄₀} 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⁹⁾ 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²⁰⁾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 cm²)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²⁰⁾ (北斗電工製、HA1010mM1A)を用いた.W相(III)の pH は 50 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 ± 0.1°C で行った.

界面のガルバニ電位差($\Delta_{0}^{W}\phi$)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 ($E_{1/2}^{r} = 0.343 \text{ V}$)を基準として、 $\Delta_{0}^{W}\phi = E - 0.299 \text{ V}$ (*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²¹⁾を参照).



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.

$$K_{\rm D} = \frac{[\mathbf{Q}]_{\rm O}}{[\mathbf{Q}]_{\rm W}} \tag{1}$$

ここで, $[Q]_{0}$ 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. $[Q]_{0}$ (= 31.2 mM) は, Qの 飽和溶液の吸光度測定から求めた (ε = 76.1 M⁻¹ cm⁻¹ at 423 nm). 一方, $[Q]_{w}$ (= 34.6 μ 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 μ l の Qの飽和水溶液を 0.1 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 ml min⁻¹). なお, 電解電位は – 0.3 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¹⁶⁾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¹⁶⁾¹⁷⁾.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¹⁶⁾.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 mV となっ 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 変化するのに対 して中点電位が約 60 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 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 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 mM; (b) 5 mM; (c) 1 mM

For (A), the concentration of Q was 15 mM. For (B), the pH was 7.5. Scan rate : 0.1 V/s.

ヘシフトした.

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 (Q⁻⁻) のイオン移動の式量 電位 ($\Delta_{0}^{W}\phi_{0-}^{Q}$) を先と同様の CV 測定¹⁰によって求めたと ころ、 $\Delta_{0}^{W}\phi_{0-}^{Q} = 0.053$ 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⁹⁾ (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 QH₂ からの Q⁻⁻の生成を伴う.

$$AsA + Q + H^{+} \longrightarrow DHA + QH_{2}$$
(2)

$$Q + QH_2 \Longrightarrow 2Q^{\bullet^-} + 2H^+$$
 (3)

これらをまとめると、次式のように表される.

$$AsA + 2Q \longrightarrow DHA + 2Q^{\bullet-} + H^{+}$$
(4)



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¹⁰⁾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¹⁾.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.

$$AsA + Q \Longrightarrow MDA + Q^{\bullet-} + H^{+}$$
(5)

$$MDA + Q \longrightarrow DHA + Q^{-}$$
 (6)

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⁻⁻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,AsA1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QH₂ であるのか、あるいはQ⁻⁻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¹⁾、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²²⁾. 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、QH₂の NB 相中での生成、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[・]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.

$$\Delta_{\mathcal{O}}^{\mathsf{W}}\phi = \Delta_{\mathcal{O}}^{\mathsf{W}}\phi_{\mathcal{Q}^{\bullet}}^{\mathsf{o}^{\bullet}} - \frac{RT}{F}\ln\frac{[\mathbf{Q}^{\bullet}]_{\mathsf{W}}}{[\mathbf{Q}^{\bullet}]_{\mathsf{O}}}$$
(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.

$$\frac{d[\mathbf{QH}_2]}{dt} = k[\mathbf{Q}][\mathbf{AsA}] \tag{8}$$

$$K = \frac{[\mathbf{Q}^{\bullet}]^2}{[\mathbf{Q}][\mathbf{QH}_2]} \tag{9}$$

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 $k = k[H^+]$ と して、また平衡定数については $K = K[H^+]^{-2}$ 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.

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

ここで, k_1 , k_{-1} , k_2 はそれぞれ, QとAsA, MDAと Q⁻, 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).

衛反応は式(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(<-0.15V)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⁻⁻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5×10⁸ M⁻¹s⁻¹と,比較的大きな値となったほ か,調節パラメーターとして得られた $\Delta_{0}^{W}\phi_{0}^{Q}$.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⁷⁾²³⁾²⁴と同じ



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).

オーダーの値 (~ $10^6 M^{-1} s^{-1}$) 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 (~ $10^8 M^{-1} s^{-1}$) 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 $\Delta_0^W \phi = -0.1$ 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: $[AsA]_W = 0.5 \text{ mM}$; $[Q]_O = 15 \text{ mM}$; pH 7.5. The x axis labeled by *d* represents the distance from the NB/W interface.

応性を持つため²⁵⁾, 妥当な値であると思われる.また, Δ^Wφ^Q₂-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⁻,QH₂,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10µm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15mMと1.0mMのと きの,W相中の界面から1µm地点での各物質の濃度の時 間変化を示した.Q濃度が1.0mMの場合は,15mM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 おり,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 $d = 1 \,\mu\text{m}$ during a cyclic voltammetric scan (0.1 V \rightarrow $-0.3 \,\text{V} \rightarrow 0.1 \,\text{V}$ at 0.1 V/s), which was calculated from the digital simulation based on the 2 step ET-IT mechanism

The initial conditions: $[Q]_0 = (A) 15 \text{ mM}$ and (B) 1.0 mM; $[AsA]_W = 0.5 \text{ mM}$; 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

| 1 step ET-IT mechanism | |
|--|--------------------|
| $k/M s^{-1}$ | 5×10^8 |
| K | 1×10^{-6} |
| $\Delta_0^{\mathrm{W}} \phi_{\bullet^-}^{\mathrm{o}} / \mathrm{V}$ | 0.096 |
| 2 step ET-IT mechanism | |
| $k_1 / M s^{-1}$ | $5 	imes 10^6$ |
| $k_{-1}/M \text{ s}^{-1}$ | 5×10^8 |
| $k_2/{ m M~s}^{-1}$ | 2×10^8 |
| K | $5 	imes 10^{-4}$ |
| $\Delta_0^{\mathrm{W}} \phi_{\bullet^-}^{\mathrm{o}} / \mathrm{V}$ | 0.047 |

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

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と戻る, 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⁻⁻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).
- 2) 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).
- 5) O. Arrigoni, M. C. De Tullio: *Biochim. Biophys. Acta*, **1569**, 1 (2002).
- 6) 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).
- 9) 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).
- 11) S. Sawada, M. Taguma, T. Kimoto, H. Hotta, T. Osakai: Anal. Chem., **74**, 1177 (2002).
- 12) H. Hotta, N. Akagi, T. Sugihara, S. Ichikawa, T. Osakai: *Electrochem. Commun.*, **4**, 472 (2002).
- 13) R. S. Nicholson, I. Shain: Anal. Chem., 36, 706 (1964).
- 14) R. S. Nicholson: Anal. Chem., 37, 1351 (1965).
- 15) D. S. Polcyn, I. Shain: Anal. Chem., 38, 370 (1966).
- 16) A. J. Bard, L. R. Faulkner: "Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications", 2nd ed., (2001), (Wiley, New York).
- 17) 大堺利行,加納健司,桑畑 進: "ベーシック電気 化学", p. 126 (2000), (化学同人).
- 18) T. Konse, K. Kano, T. Kubota: J. Electroanal. Chem., 246, 385 (1988).
- 19) H. Hotta, M. Ueda, S. Nagano, Y. Tsujino, J. Koyama, T. Osakai: *Anal. Biochem.*, **303**, 66 (2002).
- 20) 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).
- 21) T. Osakai, S. Himeno, A. Saito: J. Electroanal. Chem., 332, 169 (1992).
- 22) P. Karabinas, D. Jannakoudakis: J. Electroanal. Chem., 160, 159 (1984).
- 23) M. A. Dayton, A. G. Ewing, R. M. Wightman: Anal. Chem., 52, 2392 (1980).
- 24) D. Sopchak, B. Miller: J. Phys. Chem. A., 104, 7545 (2000).
- 25) 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ン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 の異なった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.