脂質ベシクル内水相のアスコルビン酸

イオンを電子供与体とする

メチルビオロゲンの光還元

(1988年3月4日受理)

中村朝夫*・西村亮治・米山和祐・梅田智重・戸田不二緒

水溶性の色素であるアクリジンオレンジ (AOH^+) を増感剤とし、脂質ベシクル内水相のアスコルビン酸イオン (Asc^-) を電子供与体とするバルク水相のメチルビオロゲン (MV^{2+}) の光還元反応機構を解析し、エネルギー的に上り坂の光電子輸送反応において脂質二分子膜が果たす役割を検討した。この反応系では、光照射をつづけるとメチルビオロゲンの還元体 (MV^+) の濃度が定常になる。この定常状態は、 AOH^+ が励起三重項状態で MV^{2+} に電子を渡したときに生成する AOH^+ の酸化体 (AOH^{2+}) の Asc^- による還元・再生の速度と、 MV^+ の酸化の速度とが釣り合うことによって出現する。ベシクルの膜は AOH^{2+} を吸着することによって、この正孔キャリアを MV^+ との再結合から守る働きをする。また、 Asc^- の一電子酸化体 ($\text{sAsc}^\cdot$) と MV^+ の間で起こる逆反応を防ぐ障壁としての役割も果たす。 $\text{sAsc}^\cdot$ はその寿命が長くなると、不均一化反応によって Asc^- の二電子酸化体であるデヒドロアスコルビン酸に変化し、 MV^+ のような一電子還元剤では容易には還元できなくなる。したがって、ベシクル内水相の Asc^- によるバルク水相の MV^{2+} の還元は、実質的には不可逆であるといえる。

1 緒言

植物やバクテリアの光合成は、光のエネルギーを酸化還元反応の自由エネルギーに変換する一連の化学反応である。この反応系を模倣したいわゆる人工光合成系が、これまでも数多く発表されてきたが、それらはまだ、真の意味で人工光合成系と称することのできる段階にはいたっていない。本来、真の意味で人工光合成系と呼ぶことができるのは、エネルギーの蓄積と放出をくり返し随意に行なうことのできる系だけであるはずだが、これまでの光酸化還元反応を利用した系の場合は、反応が不可逆であったり、反応全体の ΔG が負であったりして、エネルギーの貯蔵と解放を可逆に行なうことのできる系はほとんどなかった。不可逆な反応や ΔG が負の反応は均一系でも行なうことができるが、 ΔG が正の可逆な反応は、均一系では行なうことができない。可逆なエネルギー貯蔵反応は、不均一系を利用することによって反応にベクトル性を与え、逆反応を抑制することができたときに、初めて可能になると考えられる。

このような目的に適した不均一系の一つとして、脂質や合成界面活性剤のつくるベシクルが注目され、ベシクルを用いた人工光合成系がいくつか報告された^{1)~6)}。そのほとんどは、EDTA などの犠牲的な電子供与体を使って逆反応の問題を除外した反応系で

あるが、中には可逆な酸化還元を行なう電子供与体であるアスコルビン酸 (Asc^-) を電子供与体として用い、メチルビオロゲン (MV^{2+}) の光還元を行なったという例もある^{7)~8)}。 Asc^- から MV^{2+} への電子移動はエネルギー的に上り坂の反応である。Krasnovsky らは、クロロフィルを増感剤とする系で Asc^- を電子供与体として MV^{2+} の光還元を行なった。彼らは、光照射下での MV^{2+} の還元と暗所下での再酸化を交互にくり返すことができたと報告し、暗所下での酸化は、膜を横切って内水相に達した MV^{2+} の還元体 (MV^+) から Asc^- の酸化体であるデヒドロアスコルビン酸への逆電子移動であると主張した⁸⁾。

そこで、著者らは、エネルギー的に上り坂の光電子輸送反応における脂質二分子膜の役割について、詳細に検討することにした。この論文では、水溶性の色素であるアクリジンオレンジ

東京工業大学工学部生物工学科, 152 東京都目黒区大岡山

- 1) Y. Toyoshima, M. Morino, H. Motoki, M. Sukigara, *Nature*, **265**, 187(1977).

- 2) W. E. Ford, J. W. Otvos, M. Calvin, *Nature*, **274**, 507 (1978).
3) W. E. Ford, G. Tollin, *Photochem. Photobiol.*, **35**, 809 (1982); *ibid.*, **38**, 441(1983).
4) T. Matsuo, K. Itoh, K. Takuma, K. Hashimoto, T. Nagamura, *Chem. Lett.*, **1980**, 1009.
5) Y. Sudo, F. Toda, *Nature*, **279**, 807(1979).
6) E. E. Yablonskaya, V. Ya. Shafirovich, *Nouv. J. Chim.*, **8**, 117(1984).
7) T. Katagi, T. Yamamura, T. Saito, Y. Sasaki, *Chem. Lett.*, **1981**, 1451.
8) A. A. Krasnovsky, A. N. Semenova, V. V. Nikandrov, *Photobiophys.*, **4**, 227(1982).

(AOH⁺)を増感剤とする反応系について反応機構の解析を行ない、MV⁺の生成効率を決める要因を分析する。そして、ベシクル溶液におけるAsc⁻によるMV²⁺の還元が本当に可逆であるかどうかについて検討を加える。

2 実 験

2.1 試 薬

卵黄ホスファチジルコリン(以下EPCと略記する)はSingletonらの方法⁹⁾によって抽出、精製したのち、さらにシリカゲルのカラムクロマトグラフィーによって精製したものを用いた。アクリジノオレンジは、市販の塩酸塩(関東化学製)をそのまま用いた。その他の試薬は、市販のものから純度の高いものを選んでそのまま使った。

2.2 ベシクルの作成法

EPCを凍結乾燥し、ここに1 mol・dm⁻³の2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール(Tris)を含むアスコルビン酸ナトリウム溶液(塩酸を用いてpH 7.5に調整したもの)を加えて分散、懸濁したのち、超音波処理を行なった。超音波処理には大岳製作所製のプローブ型ソニケーター(5202型)を用い、アルゴン雰囲気下、4℃で1時間、最高出力で超音波を照射した。この溶液を1 mol・dm⁻³のNaClを含む1 mol・dm⁻³のTris-HCl緩衝液(pH 7.5)で平衡にしたSephadex G-50のカラムにかけて、内水相にトラップされなかったアスコルビン酸イオンを除いた。

2.3 定常光照射

定常光照射は、500 Wのキセノンアークランプからの光を色ガラスフィルター(東芝Y-46およびIRA-25S)を透してあてた。試料溶液はアルゴン置換して石英セル中に封じ、恒温水に浸し、水層を透して光をあてた。光照射中は、試料溶液のかきまぜをつづけた。

2.4 測 定

反応の進行の追跡は、分光光度計(日立220A型)による吸収スペクトルの測定によって行なった。蛍光スペクトルは、日立850型分光蛍光光度計を使って測定し、また、蛍光寿命は堀場NAES-550システムを使って測定した。

2.5 アスコルビン酸の定量

ベシクル内水相のアスコルビン酸の定量は、つぎのようにして行なった。アスコルビン酸を含むベシクル水溶液を適当な濃度に希釈し、1 mmol・dm⁻³のK₃[Fe(CN)₆]を加えたのち、10 μmol・dm⁻³の2,6-ジクロロフェノールインドフェノールを加えると、[Fe(CN)₆]³⁻が還元され、420 nmにおける吸光度が減少する。この減少量によってアスコルビン酸を定量した。

3 結 果

3.1 MV⁺の生成と定常状態の出現

アスコルビン酸ナトリウム水溶液を内包するベシクル、AOH⁺、およびMV²⁺を含む水溶液に光照射すると、メチルビオロゲンの還元体(MV⁺)の生成が観測された。この結果は、Asc⁻、AOH⁺、およびMV²⁺を溶かした均一水溶液では光照射を行なってもMV⁺の蓄積がまったく見られないこと¹⁰⁾と対照的で

Fig.1 Time course of the formation of MV⁺ on illumination with visible light (>460 nm) of the vesicle solution containing 1.0 mol·dm⁻³ ascorbate in the inner solution, 5.0 × 10⁻⁶ mol·dm⁻³ AOH⁺, and 0.01 mol·dm⁻³ MV²⁺ in the bulk

Lipid concentration in the vesicle solution is 2.0 mmol·dm⁻³

The experiment was conducted at 7℃

ある。均一水溶液では、過渡的なMV⁺の生成は観測されるが、Asc⁻の一電子酸化体であるセミアスコルビン酸イオンラジカル(sAsc⁻)との再結合反応によってすぐに消滅してしまう。ベシクル溶液では、この再結合が抑制されているものと思われる。

MV⁺濃度の時間変化を600 nmにおける吸光度の測定によって追跡すると、図1のようになった。ベシクル溶液に光照射をつづけると、MV⁺の濃度は時間とともに増加するが、その増加速度は次第に減少し、ついには一定の濃度に達した。この定常状態におけるMV⁺の濃度は、これまでに試みたすべての条件下において、MV²⁺の初濃度の10%以下であった。この状態でさらに長時間光照射をつづけると、MV⁺濃度はわずかに減少する。この減少速度は1時間に約10%である。定常状態において光照射を中断すると、MV⁺濃度はゆっくりと減少する。この反応系では反応容器内から完全に酸素を除去するのが困難である上に、MV⁺は酸素によって容易に酸化されるので、MV⁺濃度の暗所下における減少速度を正確に測定するのはむずかしいが、十分に脱気を行なった場合の減少速度は、図1に示すように、非常に小さい。

また、MV⁺濃度が一定になっている状態で照射光強度を増加させると、ふたたびMV⁺が増加し、新たな定常状態に達した。図2は、照射装置の絞りをを使って照射光強度を変化させた実験の結果である。フィルターによって照射光強度を変化させた場合にも、同様の結果が得られた。MV⁺濃度が高くなった段階で光強度を元に戻しても、MV⁺濃度は光強度増加以前のレベルにすぐには復帰せず、暗所下に放置したときよりもゆっくりとした速度で減少するのみであった。

3.2 ベシクル内水相におけるAsc⁻濃度の経時変化

これまでに述べたようなMV⁺の生成が、Asc⁻濃度の変化とどのように対応するかを確かめるために、系内に残存するAsc⁻

9) W. S. Singleton, M. S. Gray, M. L. Brown, J. L. White, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 53(1965).

10) A. I. Krasna, *Photochem. Photobiol.*, **31**, 75(1980).

Fig. 2 Change in the MV^+ concentration on the change in incident light intensity

Conditions are the same as in the experiment in Fig. 1 except that light intensity was adjusted by an iris of the light projector

Fig. 3 Time course of the change in total mole number of Asc^- and MV^+ in the reaction mixture during illumination

The vesicle solution contains $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ Asc^- in inner space, and $0.01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ MV^{2+} in the bulk before illumination

The experiment was conducted at 15°C

□: Asc^- , ○: MV^+

の定量を行なった。

図3は、ベシクル内水相に $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ の Asc^- を含む系について、生成した MV^+ と残存している Asc^- のモル数の経時変化を示したものである。生成した MV^+ のモル数は減少した Asc^- のモル数の2倍¹¹⁾よりやや少ない。このことは、 Asc^- の大部分は MV^{2+} の還元を使用されるが、一部分は他の何らかの酸化剤の還元消費されることを示している。 MV^+ 濃度が一定になった時点でも Asc^- はまだ残っているが、その後も少しずつ減り続ける。 MV^+ 濃度が一定になった状態は一種の定常状態と考えられるが、この状態では、 MV^+ の生成速度（これは Asc^- の消費速度の2倍に等しいはずである）と MV^+ の酸化速度とが釣り合っている。

11) Asc^- が完全に二電子酸化されれば、消費されたモル数の2倍の MV^{2+} を還元できるはずである。

Fig. 4 Dependence of initial rate of MV^+ formation (v_0) and MV^+ concentration at the steady state (c_s) on MV^{2+} concentration

The vesicle solutions contain $1.0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ Asc^- in inner space, and $5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ AOH^+

Lipid concentration is $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

The experiments were conducted at 25°C

△: v_0 , ○: c_s

Fig. 5 Stern-Volmer plots for the quenching of AOH^+ fluorescence by MV^{2+} in aqueous solutions containing $2.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ AOH^+

Ionic strength is kept at constant by adding $MgCl_2$

The fitting curve for I_0/I drawn in the figure is obtained by nonlinear least square method on the basis of theoretical equation for static quenching

○: τ_0/τ , △: I_0/I

り合っていて、しかも MV^+ が失った電子は Asc^- には戻っていないと考えられる。内水相に $0.5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ の Asc^- を含む系でも、同様の結果が得られた。

3.3 MV^{2+} および Asc^- の濃度の違いが反応に与える影響

反応系に加える MV^{2+} の濃度を変化させると、 MV^+ の初期生成速度 (v_0) は図4のように変化した。 MV^{2+} が高濃度の領域で生成速度が減少するのは、 MV^{2+} が反応の進行を妨げる効果も持っていることを示している。

AOH^+ の励起一重項状態は MV^{2+} によって強く消光される。

Fig. 6 Fluorescence intensity of AOH^+ in solutions of various concentration of vesicles with or without MV^{2+} in the bulk

The solutions contain $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ AOH^+ , and $1.0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ Tris-HCl

○: $0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ MV^{2+} , ◇: $0.05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ MV^{2+}

この消光が静的消光であることは、図5において蛍光寿命の Stern-Volmer プロットと蛍光強度の Stern-Volmer プロットが大きく離れることから明らかである。図6に示すように、ベシクル溶液においても蛍光の消光が見られる。このような励起三重項状態の消光は、励起三重項状態の生成効率を下げる。この反応系における AOH^+ から MV^{2+} への電子移動は励起三重項状態からのみ起こることが、ナノ秒レーザーフラッシュ光分解の結果からわかっているので¹²⁾、 S_1 状態の消光による T_1 状態の生成効率の低下は MV^{2+} への電子移動速度の低下につながる事が予想される。このような S_1 状態の消光を考慮したさいの T_1 状態からの電子移動の効率は、図4に描いた曲線のように二次的双曲線を描いて変化するはずである。

一方、定常状態における MV^+ の濃度 (c_s) は、 v_0 とは無関係に MV^{2+} 濃度の増加とともに単調に増加している。このことは、定常状態における MV^+ の濃度を決定している要因と反応初期における MV^+ の生成速度を決めている要因の間には直接の相関がないことを示唆している。

ベシクル内水相のアスコルビン酸イオンの濃度を 0.1, 0.5, $1.0 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ と変化させても、 v_0 および c_s はほとんど変化しなかった。

3.4 AOH^+ の水相-膜相間での分配

AOH^+ の蛍光の強度は、図6に示すようにベシクルの添加によってわずかに増大した。これと同時に、蛍光の寿命も 1.9 ns から 2.1 ns へと増加した。これは、 AOH^+ のベシクルへの吸着を示していると考えられる。

また、 AOH^+ の蛍光の MV^{2+} による消光の実験をベシクル (内水相に Asc^- を含まないもの) を添加した溶液で行なうと、図6に示すように、消光はベシクルの添加によって抑制された。これは、 AOH^+ のベシクルの吸着によって、バルクの溶液中に存在する AOH^+ の基底状態と MV^{2+} の錯体の濃度が減少し、この錯

Fig. 7 Dependence of v_0 and c_s on vesicle concentration

Vesicle concentration is represented by total lipid concentration in the solution

MV^{2+} concentration is $0.01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

The other conditions are the same as the experiments in Fig. 4

△: v_0 , ○: c_s

Fig. 8 Dependence of v_0 and c_s on temperature

The conditions are the same as the experiments in Fig. 7 except for temperature

△: v_0 , ○: c_s

体形成に由来する静的消光が解消されるためであると解釈できる。

図6の曲線は、 AOH^+ のベシクルに対する吸着曲線に対応すると考えられるが、 MV^{2+} の存在下と非存在下で曲線の形が異なっている。これは、 AOH^+ と MV^{2+} が競争的に吸着するために、 MV^{2+} によって AOH^+ がベシクル表面から排除された結果であると思われる。この結果から、 MV^{2+} の存在している反応条件下では、バルクの溶液中にもかなりの AOH^+ が存在していることがわかる。

3.5 ベシクル濃度および反応温度の効果

ベシクル内水相の Asc^- 濃度を一定に固定して、反応溶液中のベシクル濃度 (あるいはベシクル数) を変化させたさいの反応初速度 v_0 および定常濃度 c_s の変化を示したのが図7である。こ

12) 戸田不二緒, 中村朝夫, 池田 宰, 旭硝子工業技術奨励会 研究報告, 49, 123(1986).

の図では、ベシクル濃度は脂質の濃度を使って表わしてある。 v_0 はベシクル濃度に比例して増加したが、 c_s のベシクル濃度依存性は小さかった。このことも、 MV^{2+} の定常濃度と v_0 の間に強い相関関係がないことを示唆している。

図8には、 v_0 および c_s の温度依存性を示した。両者の温度依存性は若干異なっているが、反応温度を低くするほど v_0 も c_s も大きくなるのがわかる。

4 考 察

結果に示したように、アスコルビン酸イオンをベシクル内水相に封入した系では、 AOH^+ を増感剤として MV^{2+} を光還元することができた。 Asc^- と MV^{2+} の酸化還元電位差から計算すると、この反応は、10.9 kcal/mol のエネルギー蓄積反応である。

この反応系が完全に可逆な反応系であれば、この蓄積されたエネルギーを何らかの方法で解放して使うことができるはずである。しかし、 Asc^- の一電子酸化生成物であるセミアスコルビン酸ラジカルイオン ($sAsc^-$) は、不均一化反応によって二電子酸化体であるデヒドロアスコルビン酸 ($dAsc$) を生じ¹³⁾、この $dAsc$ はもはや MV^{2+} のような一電子還元剤によっては容易には還元されない。また、 $dAsc$ も不安定な化合物で、中性付近の水溶液では10数分の半減期でジオキソクロン酸になることが知られている¹⁴⁾。 Asc^- 、 AOH^+ 、および MV^{2+} を含む均一水溶液中で MV^{2+} が蓄積されないのは、 $sAsc^-$ と MV^{2+} の間で逆電子移動が起こるためと考えられるが、この両者の直接の接触が避けられているベシクル系では、 $sAsc^-$ は $dAsc$ に変化してしまい、逆電子移動は起こらない。十分に酸素が除かれた系では光照射を停止しても MV^{2+} は安定で、ゆっくりと酸化されるのみである。Krasnovsky らの報告⁹⁾ のような速い酸化は、脱気の不十分な系以外では観測されなかった。これらのことから、ベシクル内水相のアスコルビン酸は、実際上不可逆な電子供与体と見なしたほうがよいと思われる。

しかし、光照射をつづけると、 Asc^- も MV^{2+} もまだ反応系内に十分残っている段階で MV^{2+} の増加は止まり、一定の濃度に落ちついてしまう。この状態が一種の定常状態であって、膜電位などの反応の進行を止めるような力が発生したり、反応に必要な何らかの要素が失われてしまった状態ではないということは、照射光強度や温度を変えると MV^{2+} 濃度をさらに高めることができることから明らかである。

MV^{2+} の濃度に関して定常状態をつくり出す原因になっている MV^{2+} の酸化反応は、どのような反応であろうか。これには、酸化剤 X との暗反応：

と励起状態の関与する反応：

とが考えられる。しかし、照射光強度を高めると MV^{2+} の定常濃度 (c_s) が高まることから、 MV^{2+} の酸化においては、暗反応の

Fig. 9 Scheme for AOH^+ -sensitized transmembrane electron flow from ascorbate in inner solution to methylviologen in the bulk solution

A^+ : AOH^+ , A^{2+} : AOH^{2+} ,

$dAsc$: Dehydroascorbic acid

The other symbols are the same as those in text

寄与が大きいと判断できる。反応(1)における酸化剤Xの候補としては、まず酸素が挙げられるが、それだけではなく、脂質に関係のある他の酸化剤が関与している可能性も高い。

この反応系において、膜を横切って電子が輸送される機構については、メチレンブルーやその他の酸化還元色素についてこれまでに考えられてきたもの⁹⁾¹⁵⁾と類似であると考えられる(図9)。まず、 T_1 状態の AOH^+ がバルク水溶液中(あるいはベシクルの外表面)で MV^{2+} に電子を渡して AOH^{2+} となる。 AOH^{2+} は分配平衡にしたがってベシクル膜に溶けこみ、さらに内水相へ拡散し、内水相の Asc^- によって還元されて AOH^+ に戻る。この AOH^+ は再びベシクル外水相へと拡散する。このうち、どの段階が律速となるかについては、以下のように考えることができる。まず、 T_1 状態の AOH^+ と MV^{2+} との反応はバルクでも起こりうるにもかかわらず v_0 がベシクル濃度に比例するのは、 v_0 が、ベシクルに取り込まれた AOH^{2+} の濃度(溶液全体の体積を基準にした濃度)に比例しているからであると考えられる¹⁰⁾。このような速度式が成り立つのは、 AOH^{2+} のベシクル膜中での拡散が律速である場合と、 AOH^{2+} の Asc^- による還元が律速である場合の二つである。このうち、 v_0 が Asc^- 濃度によらないことと矛盾しないのは、前者である。この場合、反応速度を決めるのは、 AOH^{2+} の膜中での拡散速度そのものと AOH^{2+} のバルク水相-膜間での分配係数の積である。したがって、低温ほど v_0 や c_s が大きいのは、この分配平衡が低温では、より膜相側に片寄っていることによるものと思われる。

定常状態における MV^{2+} 濃度 (c_s) を決めている要因を速度論的に考察するために、定常状態のモデルを組み立ててみた(図10)。このモデルによると、 MV^{2+} (あるいは AOH^{2+}) の生成速度 v_1 は次式のように表わせる。

15) A. Nakamura, F. Toda, *Makromol. Chem., Suppl.*, 14, 201(1985).

16) AOH^{2+} とベシクルの衝突を考えても v_0 がベシクル濃度に比例することになるが、このような過程は現在議論している反応速度よりもっと速いと考えられる。この時間のスケールでは、分配平衡が十分に成立するものとして扱うことにする。

13) B. H. J. Bielski, A. O. Allen, H. A. Schwarz, *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 3516(1981).

14) 寺田和子, 大村京生, 農化, 40, 196(1966).

Fig. 10 Kinetic model for the electron flow in the steady state

V_{ox} : MV^{2+} , V_{red} : MV^+

X : Some compound(s) oxidizing V_{red}

$$v_1 = k_1 [^3AOH^{2+}] [MV^{2+}] \quad (4)$$

ここで、定常状態における AOH^{2+} の濃度を c_A とおくと、定常状態においては、 AOH^{2+} および MV^+ の生成と消滅についてつぎの二つの式が成り立つ。

$$v_1 = k_2 c_A c_s + k_3 c_A \quad (5)$$

$$v_1 = k_2 c_A c_s + k_4 [X] c_s \quad (6)$$

ここで、 X は MV^+ を酸化する何らかの酸化剤を示している。この二つの式が同時に成り立つためには

$$k_3 c_A = k_4 [X] c_s \quad (7)$$

でなければならない。(5) 式、あるいは(6) 式の右辺第二項は第一項より十分に小さいと見なせるから、この右辺第二項を無視したうえで(5) 式(あるいは(6) 式) から c_A を求め、(7) 式に代入すると、(8) 式が得られる。

$$c_s = \sqrt{\frac{v_1 k_3}{k_2 k_4 [X]}} \quad (8)$$

一方、 MV^+ の初期生成速度 v_0 は、 MV^+ 濃度 c_v とすると

$$v_0 = v_1 - (k_2 c_A c_v + k_4 [X] c_v) \quad (9)$$

と書ける。ここで AOH^{2+} の濃度に関して定常状態を仮定すると(5) 式と同様に

$$v_1 = k_2 c_A c_v + k_3 c_A \quad (10)$$

が成り立つ。(9) 式と(10) 式から

$$v_0 = k_3 c_A - k_4 [X] c_v \quad (11)$$

が得られる。 c_v がその飽和濃度(定常濃度)にくらべて十分小さいとき($c_v \ll c_s$ のとき)にはこの式は近似的に

$$v_0 = k_3 c_A \quad (12)$$

となる。(10) 式においては、 c_v が非常に小さい場合を除いて第一項が第二項より大きいと考えられるから¹⁷⁾、第二項を無視すると

$$c_A = \frac{v_1}{k_2 c_v} \quad (13)$$

が得られる。これを(12) 式に代入すると、

$$v_0 = \frac{v_1 k_3}{k_2 c_v} \quad (14)$$

となる。本論文中で扱った v_0 の実測値は、 MV^+ 濃度(c_v)の時間変化曲線の $c_v = 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 付近における接線の傾きと見なすことができる。

(8) 式や(14) 式に含まれる速度定数は、実際には、反応に関与する化学種の多相系における分配係数を含んでいるので、ベシクル濃度や反応温度などの反応条件の変化によって、様々な影響を受けるはずである。たとえば、前に述べた反応温度の効果は、分配係数の変化が k_3 に与える効果として解釈できる。このような観点から、パルス光照射にともなう過渡吸収の測定によって、個々の反応速度定数とベシクル濃度などの反応条件との間の関係を調べることは非常に興味もたれるが、それは今後の課題である。

(8) 式と(14) 式を比較すると、 v_0 と c_s が異なった挙動をする理由が理解できる。ただし、 MV^{2+} の濃度に対する v_0 と c_s の依存性の違いについては、(8) 式では十分に説明できないかもしれない。しかし、 MV^{2+} と AOH^+ がベシクルに競争的に吸着したように(図 6) MV^{2+} が AOH^{2+} や MV^+ と競争的に吸着することによって、 k_3 や k_4 に影響を与え、 v_0 と c_s の関係を変化させることもありうるかもしれない。

5 結 論

水溶性の色素であるアクリジンオレンジを含むベシクル水溶液において、ベシクル内水相のアスコルビン酸によってバルク水溶液中の MV^{2+} を光還元することができた。光照射をつづけると、 MV^+ の濃度は定常になる。この定常状態は、酸化された AOH^+ (AOH^{2+}) がベシクル膜を横断して拡散する過程の速度と MV^+ の酸化の速度が釣り合うことによって成り立っている。

この系における MV^+ の酸化の速度は、アスコルビン酸の一電子酸化体の不均一化の速度より遅いので、アスコルビン酸の酸化体は二電子酸化体になり、反応は不可逆になる。 MV^+ の酸化には、酸素やその他の酸化剤が関与しているものと思われる。

MV^+ の生成効率や蓄積される濃度は、光電子移動の速度だけではなく、 AOH^{2+} と MV^+ の再結合の速度、 AOH^{2+} のベシクル内水相への拡散速度、および MV^+ の酸化速度によって支配されている。これらの反応速度は、ベシクル水溶液においては、反応に関与する化合物のバルク水相-膜相間での分配率の影響を大きく受ける。効率のよい反応系の設計には、この点を考慮することが大切であると考えられる。

MV^+ は、プロトンの還元による水素の発生や、 NAD^+ の還元を行なうことのできる強力な還元剤である。本研究では、脂質ベシクルを用いた光酸化還元反応系が、光エネルギーの水素や $NADH$ などの化学エネルギーへの変換に利用できる可能性が示

17) c_v がゼロと見なすことができる場合には、 $v_0 = v_1$ で、 MV^+ の生成速度は(4) 式で表現されるような光化学反応の速度のみによって決まる。しかし、レーザーフラッシュ光分解の結果によれば、 v_1 はベシクル濃度の影響をほとんど受けない。

された。

Special Articles on
Chemistry and Technology of Energy Conversion

Photoreduction of Methylviologen with Ascorbate
Incorporated in Inner Solution of Lipid Vesicles

Asao NAKAMURA*, Ryoji NISHIMURA, Kazumasa YONEYAMA,
Tomoshige UMEDA and Fujio TODA

*Department of Bioengineering and Bioscience, Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Technology;
O-okayama, Meguro-ku, Tokyo 152 Japan*

Methylviologen (MV^{2+}) was reduced with ascorbate (Asc^-) in inner solution of egg-phosphatidylcholine vesicle in the course of reaction photosensitized by Acridine Orange (AOH^+). Electron was transported against thermodynamical potential gradient. Accumulation of $MV^{\cdot+}$ slowed down as the reaction proceeded and the concentration of $MV^{\cdot+}$ reached a constant value after an hour (Fig. 1). Accumulated $MV^{\cdot+}$ was reoxidized slowly in the dark. This reoxidation must be the effect of small residual amount of oxygen which cannot be purged by our deaeration procedure and/or some other oxidizing agents.

In homogeneous aqueous solution containing Asc^- , MV^{2+} and AOH^+ , accumulation of $MV^{\cdot+}$ was not observed. In the homogeneous system, electron is transferred rapidly from $MV^{\cdot+}$ to the oxidized dye (AOH^{2+}), and from $MV^{\cdot+}$ to the oxidized form of Asc^- ($sAsc^-$). But, in the vesicle solution, these backward electron-transfer reactions were intercepted by adsorption of the oxidized dye onto the vesicle surface and by immediate reduction of the oxidized dye by ascorbate in the vesicle interior. Ascorbate radical ($sAsc^-$) generated by one-electron process disproportionates into ascorbate and dehydroascorbic acid, the latter can hardly be reduced by one-electron donor such as $MV^{\cdot+}$.

Continuous illumination was performed under various conditions. A reaction under a specific condition may be characterized by two parameters, initial rate of $MV^{\cdot+}$ formation (v_0) and $MV^{\cdot+}$ concentration at the steady state (c_s). Dependence of these parameters on the reaction conditions is shown in Figs. 4, 7 and 8.

These results are explained by the kinetic model for the steady state shown in Fig. 10. On the basis of this model, one obtains eqs. (8) and (14). Partitioning of the charge-separation products between bulk and membraneous phase is essential for efficient accumulation of $MV^{\cdot+}$, because it affects the value of k 's in these equations.

In conclusion, although photoreduction of MV^{2+} in the vesicle solution is irreversible, the existence of bilayers is essential for effective charge separation.