酵素触媒定常電流

辻村清也

Steady-state bioelectrocatalytic current

Seiya Tsujimura

Received August 12, 2006

The enzyme-catalyzed electrochemical reaction, called bioelectrocatalysis, is classified into direct electron transfer system and mediated electron transfer system. Fundamental properties and theoretical equations of steady-state catalytic current and current-potential curve of both systems are summarized.

1 緒言

酵素反応と電極反応を共役させる、つまり酵素を電極触媒として利用しようとするバイオエレクトロカタリシス反応は、古くから関心を集めてきた。本来電極活性が非常に低い糖、アルコール、アミンや脂質といった生体関連物質の電気化学反応を非常に穏和な条件下で実現できることで、生体関連物質の電気化学的な検出や生体関連物質からの電気エネルギーへの変換等への展開がこれまで検討されてきた。現在では、本反応を利用した血糖センサが大きな市場を獲得しており、多くの糖尿病患者のQOL向上に役立っている。バイオエレクトロカタリシスに関する総説はこれまでにいくつ

か発表されているが^{1, 2)}、本稿では、酵素機能電極の設計し評価する際の基礎となるバイオエレクトロカタリシス反応の触媒定常電流に関する理論式を整理した。

NAD 依存性酵素を除く酸化還元酵素(E)のほとんどは”Ping Pong Bi-Bi”機構に従って反応は進行する。(注:本稿では、基質(=S: 酵素反応における反応物、還元剤)の酸化反応を触媒する酵素反応についてまとめた。還元反応の場合も考え方は同じである)酸化反応は、次式に示すように、基質は酵素反応で酸化され、生成物(P)となる。

続いて、酸化剤である電子受容体(EA)が電子を受け取り、酵素が再び酸化体に戻る。

n は反応電子数である。バイオエレクトロカタリシス反応においては、電極が EA と

京都大学大学院農学研究科 (〒606-8502 京都市左京区北白川追分町) Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan
Key words: bioelectrocatalysis, steady-state catalytic current, current-potential curve, reaction layer

図1 バイオエレクトロカタリシス反応

なり，電極反応によって E_{red} は E_{ox} に再生される．その反応系は，図1に示すように，直接電子移動反応系とメディエータを用いる電子移動反応系の2つに大別できる．直接電子移動反応系の場合，(3)式に示す反応が進行する．

ただし，ほとんどの酵素は酸化還元反応を担う活性中心が絶縁性のタンパク質の殻に覆われているため電極とは容易に反応できない．活性中心が酵素表面近くに存在している場合に，直接電子移動が可能となる．しかし，このような酵素は少数しかない．多くの場合，酵素を電気化学的に再酸化するためにはEAのように，埋れた活性中心の近傍まで近づき酸化還元反応できる低分子酸化還元化合物を用いる．そして，この化合物が電解酸化されることで，電極と酵素間の電子伝達を仲介するメディエータとして働く．以上をまとめると，メディエータ型の場合では反応(1)に続いて以下の反応が進行する．

M はメディエータである．このメディエータを用いる方法は非常に汎用性が高くほとんどの酸化還元酵素に適応できる．

本稿では，基質の濃度分極がないという条件下における触媒電流の触媒定常電流と電流電圧曲線に関する理論式を直接電子移動型，メディエータ型に分類し，まとめていく．

2 直接型電子移動系

2-1 酵素単分子層吸着型直接電子移動³⁾

先述したように，酵素の酸化還元部位が酵素表面に近傍に存在しているような酵素が電極表面に吸着している場合に酵素電極間の直接電子移動が観察される．このとき，触媒電流が観察されるのは，多くの場合，基質との反応部位と電極との反応部位が別々にあるような酵素を用いた場合である．例えば，キノンやフラビンのような基質の酸化を行う反応部位と，ヘムや鉄硫黄クラスターのような電子受容体と反応する部位の両方を持ち合わせる酵素や，マルチ銅酵素のように電子供与体との反応部位と酸素還元反応を触媒する反応部位が異なる酵素である．

このとき得られる触媒定常電流（限界電流）は次式で表される．

$$\frac{i_s^{\lim}}{nFA} = k_c \Gamma_E \quad (6)$$

k_c , Γ_E はそれぞれ吸着した酵素のターンオーバー数 (s^{-1}) と電極表面の酵素濃度 (mol cm^{-2}) である． F , A はそれぞれ，ファラデー定数，電極表面積である．この式は，酵素から電極に電子が流れ込むフラックスと，基質から酵素へのフラックス（と電極から逆戻りするフラックス）が釣り合うことか

ら導かれる。実際の電極反応においては、吸着している酵素が必ずしも電極と電子移動できるとも限らない。つまり、酵素が電極上に適切な向きで吸着している必要がある。もちろん吸着する過程で酵素が変性し不活性な状態になる場合も考えられる。従って、それらを考慮にいった次式を考えたほうが適当であると考えられる。

$$\frac{i_s^{\text{lim}}}{nFA} = k_c \Gamma_E \lambda \quad (7)$$

λ ($0 < \lambda < 1$) は電極上に固定化された酵素のうち直接電子移動可能な酵素の割合を示す。酵素の配向性を向上させるのは容易ではないが、酵素や電極表面を修飾し特異的な相互作用を持たせたり、酵素サイズに応じたメソ孔などに酵素を入れたり、電極との接触面積を増加させたりすることで λ を向上させることが可能であると考えられる。

また、この場合の電流電圧曲線は以下の式で表すことができる。

$$i = \frac{i_s^{\text{lim}}}{1 + k_c / k_{f,s} + k_{b,s} / k_{f,s}} \quad (8)$$

$$k_{f,s} = k_s^{\circ} \exp[-\alpha(F/RT)(E - E_E^{\circ})] \quad (9)$$

$$k_{b,s} = k_s^{\circ} \exp[(1-\alpha)(F/RT)(E - E_E^{\circ})] \quad (10)$$

E_E° は酵素の活性中心の式量電位である。 k_s° は、 $E = E_E^{\circ}$ における電極表面での吸着した酵素の標準電子移動速度定数である。また、 α は転移係数である。この式より、反応の進行する電位が酵素反応と電極反応の比で決まることがわかる。図2に示したように、 k_c に比べ、 k_s° が十分に大きいとき、そのボルタモグラムは、 $E = E_E^{\circ}$ のときに定常電流の半分の値をとる形となる。 $k_c \gg k_s^{\circ}$ となると、電位は正側にシフトし、酵素の電位がシフトしているように見えるので、解析の際に

図2 酵素反応速度と電極反応速度とボルタモグラムの関係

は注意が必要である。

実験で得られたボルタモグラムを、分光電気化学的手法にて別途求められた E_E° を用い、上記の(8-10)式から非線形最小自乗法にて解析することで、 k_c/k_s° および $k_c \Gamma_E \lambda$ を評価することができる。このとき、一般的な電極反応において α は0.5付近の値をとることが多いが、実際の酵素電極反応をみると0.3から0.4の値をとることが多い。この α のもつ意味を酵素電極反応の特性と照らし合わせて議論していく必要があるかもしれない。また、強引に k_c を溶液中での酵素反応速度定数(k_{cat}) (ただし、酵素と電子受容体との電位差に依存しない反応速度定数である)と同じとすると、 $\Gamma_E \lambda$ や k_s° を得ることができる。 k_s° の値は、電極の種類、酵素の酸化還元活性中心と電極との距離が大きく影響していると考えられる。また、水晶振動子マイクロバランス (QCM)、各種顕微鏡や分光法などで得られる Γ_E と比較することで、 λ に関する検討が可能になると考えられる。

2-2 酵素拡散型直接電子移動⁴⁾

次に酵素が酵素固定化膜中などを拡散し電極と直接反応する場合を考える。この場合の定常電流は、反応層の概念⁵⁾を導入し次式のように表すことができる。

$$\frac{i_s^{\lim}}{nFA} = k_{\text{cat}} c_E \mu = c_E \sqrt{k_{\text{cat}} D_E} \quad (11)$$

$$\mu = \sqrt{D_E / k_{\text{cat}}} \quad (12)$$

c_E は酵素濃度, D_E は酵素の拡散係数である。また, μ は反応層の厚みである。式(11)が成立するのは, μ が酵素単分子層の厚みよりも十分に厚い場合である。たとえば, k_{cat} が非常に高く μ が非常に薄い場合, その電極は単分子吸着層と同じ挙動を示す。また, この場合においても, 酵素が電極と直接電子移動できる距離に近づいたとき酵素の3次元構造を考えると実際に反応しうる部位が制限されるはずである。従って酵素の構造因子である ρ ($0 < \rho < 1$) を導入した次式で表すほうが実情を表している。

$$\frac{i_s^{\lim}}{nFA} = c_E \rho \sqrt{k_{\text{cat}} D_E} \quad (13)$$

また, このときのボルタモグラムは先ほどと同様に以下の式で表される²⁾。

$$i = \frac{i_s^{\lim}}{1 + D_E / \mu k_{E,f} + k_{E,b} / k_{E,f}} \\ = \frac{i_s^{\lim}}{1 + \sqrt{k_{\text{cat}} D_E} / k_{E,f} + k_{E,b} / k_{E,f}} \quad (14)$$

$$k_{E,f} = k_E^{\circ} \exp[-\alpha(nF/RT)(E - E_E^{\circ})] \quad (15)$$

$$k_{E,b} = k_E^{\circ} \exp[(1 - \alpha)(nF/RT)(E - E_E^{\circ})] \quad (16)$$

k_E° は, $E = E_E^{\circ}$ における電極表面での拡散種の標準電子移動速度定数である。2-1 と同様に, $k_{\text{cat}} \mu / k_E^{\circ}$ によってボルタモグラムの形状が決められる。また, 実験で得られたボルタモグラムの(13-16)式を用い, $k_{\text{cat}} \mu / k_E^{\circ}$ と $c_E k_{\text{cat}} \mu$ を評価することができる。 D_E と k_{cat} を別の方法で得られた値と等しいものと仮

定することで, c_E と k_E° を見積もることができる。

3 メディエータ型電子移動系

メディエータ型の場合, 酸化還元酵素反応式は (1, 4, 5) 式に示す通りである。このとき酵素反応速度 (v) は

$$v = \frac{(n_S / n_M) k_{\text{cat}} c_E}{1 + K_M / c_M + K_S / c_S} \quad (17)$$

と表される。ここで K_M , K_S はメディエータおよび基質に対するミカエリス定数である。 S が K_S よりも十分大きいとき, 次に示すミカエリスメンテン型の式となる。

$$v = \frac{(n_S / n_M) k_{\text{cat}} c_E}{1 + K_M / c_M} \quad (18)$$

本稿では, この酵素反応が M の物質輸送と釣り合い, 定常状態となる場合について考える。つまり, このとき,

$$D_M \frac{\partial^2 c_M}{\partial x^2} = v \quad (19)$$

となり, メディエータ濃度の時間変化はなくなり $\frac{\partial c_M}{\partial t} = 0$ となる。 D_M はメディエータ

の拡散係数である。

また, 本稿では反応層の厚み(μ) ($c_M \ll K_M$

のとき $\mu = \sqrt{\frac{D_M K_M}{(n_S / n_M) k_{\text{cat}} c_E}}$, $c_M \gg K_M$ のとき

$\mu = \sqrt{\frac{2 D_M c_M}{(n_S / n_M) k_{\text{cat}} c_E}}$) に対する酵素とメデ

ィエータの存在している層の厚み (L) によって2つのケースに分けて, それぞれの触媒定常電流に関する理論式を紹介していく。

3-1 酵素層($L \ll$ 反応層(μ))における触媒定常電流⁶⁾

L が μ を超えないとき, 具体的には酵素反応速度が非常に遅いとき (あまり現実的にあり得ないが D_M が非常に大きいとき),

図3 触媒電流のサイクリックボルタモグラム(A)と触媒定常電流値(B)のメディエータ濃度依存性。

$$E^{\circ'} = 0 \text{ V}, k_{\text{cat}} = 200 \text{ s}^{-1}, c_E = 1 \text{ } \mu\text{M}, K_M = 5 \text{ } \mu\text{M}, D_M = 1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}, n_S = n_M = 1, k_M^{\circ} = 1 \text{ cm s}^{-1}$$

もしくは膜厚が非常に薄いときは、膜内のメディエータの濃度分極が生じない。このときの定常電流は、

$$\frac{i_s^{\text{lim}}}{n_M F A} = \frac{n_M}{n_S} k_{\text{cat}} c_E L \left(\frac{c_M}{K_M + c_M} \right) \quad (20)$$

と表され、触媒定常電流は膜厚に比例する。また、 c_M の上昇につれて電流が飽和するというミカエリスメンテン型の応答を示す。膜内の c_M が K_M を下回る ($c_M \ll K_M$) とき、

$$\frac{i_s^{\text{lim}}}{n_M F A} = \frac{n_M}{n_S} \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} c_E L c_M \quad (21)$$

と表され、 c_M が K_M より十分に濃い ($c_M \gg K_M$) ときには、

$$\frac{i_s^{\text{lim}}}{n_M F A} = \frac{n_M}{n_S} k_{\text{cat}} c_E L \quad (22)$$

と表される。

3-2 酵素層(L) $\gg$ 反応層(μ) における触媒定常電流⁶⁾

L が μ よりも十分に大きくなるとメディエータの濃度分極の影響が大きくなり、電極から遠いバルク側では電解によって生成する M_{ox} がほとんど存在していない状態とな

る。よって最大電流は L に依存しなくなり、 M_{ox} が存在している層、つまり反応層の厚みが非常に重要になってくる。

図3Aに触媒電流のボルタモグラムを示す。触媒電流が c_M に依存して増加しているのがわかる。このときの触媒定常電流は次式で表される。

$$\frac{I_s^{\text{lim}}}{n_M F A} = \sqrt{2 \frac{n_S}{n_M} D_M k_{\text{cat}} K_M c_E \left[\frac{c_M}{K_M} - \ln \left(1 + \frac{c_M}{K_M} \right) \right]} \quad (23)$$

この触媒定常電流値の c_M 依存性から酵素反応速度パラメータ(k_{cat} , K_M)の値を評価することができる⁷⁾。

$c_M \ll K_M$ において、反応層の厚みは、

$$\mu = \sqrt{\frac{D_M K_M}{(n_S/n_M) k_{\text{cat}} c_E}} \quad \text{であり、触媒定常電流は、}$$

$$\frac{I_s^{\text{lim}}}{n_M F A} = \sqrt{\frac{n_S}{n_M} D_M \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} c_E c_M} \quad (24)$$

と表すことができ、触媒定常電流はメディエータ濃度に比例して増加する(図3B, 挿入図)。

$c_M \gg K_M$ においては、反応層の厚みは、

$\mu = \sqrt{\frac{2D_M c_M}{(n_S/n_M)k_{cat}c_E}}$ となり、反応層の厚みはメディエータ濃度に依存し、その平方根に比例する (図 3B). このときの触媒定常電流は下記のように簡略化できる.

$$\frac{I_s^{lim}}{n_M F A} = \sqrt{2 \frac{n_S}{n_M} D_M k_{cat} c_E c_M} \quad (25)$$

3-3 メディエータ濃度プロファイル⁶⁾

3-1, 3-2 で述べたメディエータ型酵素電極反応について、これらの酵素・メディエータ層内におけるメディエータの濃度プロファイルを $c_M \ll K_M$ と $c_M \gg K_M$ (図では $c_M/K_M=100$) の場合のそれぞれについて図 4 にまとめた. 横軸は電極からの距離の割合 (z/L : z は電極からの距離) と反応層の厚みに対する酵素・メディエータ層の厚み (L/μ) の 2 乗であり、縦軸はメディエータの全体 ($c_{Mox}+c_{Mred}$) に対する酸化体 (c_{Mox}) の割合を示している. いずれも L/μ の値が小さいときは、メディエータの濃度は層内でほぼ均一となっており、濃度分極は見られない. しかし、 L/μ の値が大きくなるにつ

れ、バルク側にはほとんど M_{ox} が存在せず、電極表面近傍でしか酵素反応が進行していないことがわかる.

3-4 膜厚の依存性⁶⁾

(24), (25) 式をそれぞれ前節の (21), (22) 式と見比べると、 L を μ と置き換えた形となっていることに気づく. つまり、触媒定常電流が、メディエータのフラックス、つまり電極表面からのある厚みにおける単位時間あたりの濃度変化 ($\text{mol s}^{-1} \text{cm}^{-2}$) で決まり、その厚みというのが酵素・メディエータ層と反応層の薄いほうで決定されるということを表している.

L と μ が近い場合も含めた触媒定常電流値と L の関係式を次にしめす. $c_M \gg K_M$ の場合においては、

$$\begin{aligned} \frac{I_s^{lim}}{n_M F A} &= \sqrt{2 \frac{n_S}{n_M} k_{cat} c_E D_M c_M \tanh\left(\frac{L}{\mu}\right)} \\ &= \sqrt{2 \frac{n_S}{n_M} k_{cat} c_E D_M c_M \tanh\left(L \sqrt{\frac{(n_S/n_M)k_{cat}c_E}{2D_M c_M}}\right)} \end{aligned} \quad (26)$$

で表される. (26)式より、膜厚が反応層の厚

図4 メディエータの濃度プロファイル. 左図: $c_M \ll K_M$, 右図: $c_M \gg K_M$ ($c_M/K_M=100$)

L : 酵素およびメディエータが存在する層の厚さ, z : 電極からの距離, μ : 反応層の厚み (本文参照), c_M : 総メディエータ濃度, c_{Mox} : 酸化体メディエータ濃度

みより十分に厚くなると飽和し層厚に依存しなくなることがわかる. $c_M \ll K_M$ のときもまったく同様に定常電流値は膜厚に対して $\tanh$ の関数となり, 以下の式で表される.

$$\begin{aligned} \frac{I_s^{\lim}}{n_M F A} &= \sqrt{\frac{n_S}{n_M} \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} c_E D_M c_M} \tanh\left(\frac{L}{\mu}\right) \\ &= \sqrt{\frac{n_S}{n_M} \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} c_E D_M c_M} \tanh\left(L \sqrt{\frac{(n_S/n_M) k_{\text{cat}} c_E}{D_M K_M}}\right) \end{aligned} \quad (27)$$

センサなどへの応用を目指し, 酵素およびメディエータを電極上に固定化する場合, この酵素膜厚は非常に重要な因子となる. おおよその酵素反応速度パラメータが予め得られていれば, 投入酵素量に対して最大の電流値を得ることができる最適な膜厚も予測することができる. 特に, 膜厚が厚くなると実際の反応が起こっている電極表面への基質の供給が滞り, 基質の濃度分極が生じ定常電流が得られなくなることもある.

3-5 ボルタモグラム解析⁸⁻¹⁰⁾

メディエータ型の電流電圧曲線についても簡単にまとめる. メディエータの電極反応速度が非常に速く, 可逆反応である場合, 定常電流の式における c_M の項を

$$\begin{aligned} c_M \left(\frac{\eta_M}{1 + \eta_M} \right) \quad (\text{ただし, } \eta_M &= \left(\frac{c_{M_{\text{ox}}}}{c_{M_{\text{red}}}} \right)_{x=0} \\ &= \exp\left(\frac{nF}{RT} (E - E_M^{\circ'}) \right)) \end{aligned}$$

に置き換えることでボルタモグラムを表すことができる.

しかし, 多くの場合メディエータの電極反応は準可逆であることが多く, その場合の電流電圧曲線は,

$$i = \frac{i_s^{\lim}}{1 + D_M / \mu k_{M.f} + k_{M.b} / k_{M.f}} \quad (28)$$

$$k_{M.f} = k_M^{\circ} \exp[-\alpha(nF/RT)(E - E_M^{\circ'})] \quad (29)$$

$$k_{M.b} = k_M^{\circ} \exp[(1-\alpha)(nF/RT)(E - E_M^{\circ'})] \quad (30)$$

と表すことができる. k_M° はメディエータの拡散種としての標準電極反応速度定数である. ただし, この式は $c_M \ll K_M$ の場合に成り立つことが確認されているが, $c_M \gg K_M$ の場合ではずれが生じてしまう. 詳細な検討はまだできていない.

4 定常と非定常

本稿では, 触媒電流が時間に依存せず一定になる定常状態について紹介してきた. しかし, 実際にバイオエレクトロカタリシス反応の実験を行うと, 定常電流が得られない場合もある. このとき (19) 式が成り立っていないのであるが, その原因として, ①基質が枯渇している, ②(ボルタンメトリの場合) 掃引速度が速すぎる, ③酵素反応速度が遅すぎる, ④メディエータ濃度が高すぎる, といった要因が考えられる.

①については, 反応が進行するに従い, 反応がおこっている層内の基質濃度が時間とともに減少していく. c_S が K_S 付近もしくはそれ以下の濃度になると, (17) 式において K_S/c_S 項が無視できなくなり酵素反応速度が急速に低下し, 定常電流が得られなくなる. 基質濃度を K_S より大きくすると定常電流が得られるが, それが不可能な場合は, (i)基質をバルクから供給する, もしくは, 測定時間中の基質消費量を減らす方法として(ii)掃引速度を上げるなどして短い時間内での測定を終わらせる, (iii)酵素濃度を下げ反応速度を下げるといった方法が考えられる. バルクから基質を供給する際は, 電極反応する物質の濃度プロファイルを乱さ

ないように注意しなければならない。言い換えると、単分子吸着型直接電子移動型の場合では、回転電極を用いれば基質濃度依存性も簡単に観測できる。

基質の濃度が K_S に比べ十分に存在している場合は②-③が定常電流の得られない原因と考えられ、メディエータを用いた場合によく観察される。酵素反応が遅くなるとメディエータの拡散電流が支配的になってしまうが、適当な時間を経ると、拡散電流が小さくなり酵素反応による定常電流が得られる。つまり、電極表面での拡散によるメディエータ濃度の時間変化と酵素反応速度が釣り合っていないのである^{9,10)}。従って、メディエータの濃度の時間変化を小さくするには、メディエータの濃度を下げる、掃引速度を下げるもしくは時間を十分おく（拡散層の厚み $\delta = \sqrt{\pi Dt}$ ）といった方法が挙げられる。もちろん、酵素濃度を増やして酵素反応速度を上げる方法でもよい。

5 まとめ

酵素機能電極は 1980 年代からその基礎および応用に関する研究が盛んに行われてきた。基本的な理論については、1950-60 年代に盛んに研究された電極触媒反応理論をもとに、Savéant, Albery, Bartlett らによって酵素電極反応に関する理論はかなり精緻に研究されてきた。しかし、彼らの論文は数式が多くこれから研究を始めようという初学者にとって敷居が高いものであり、結果として理解が曖昧で基礎がおろそかになってしまうくらいがあった。また、多くの電気化学の教科書には酵素電極の理論に関する記述はほとんどなく、筆者自身勉強するのには苦労した覚えがある。緒言に挙

げたようにバイオエレクトロカタリシスの基礎に関する総説もいくつかあるが、本稿ではちょっと視点を変えて触媒定常電流に関する理論とその考え方を中心に整理し紹介させて頂いた。本稿が、酵素修飾電極に関心のある方、もしくはこれから研究を始めようという方の一助となれば幸いである。また、本稿で示した触媒定常電流の理論式は、酵素反応に限らず、反応サイトが有限である触媒機能電極全般で適応可能である。

6 参考文献

- 1) K. Kano and T. Ikeda, *Anal. Sci.*, **16**, 1013 (2000).
- 2) K. Kano and T. Ikeda, *Electrochemistry*, **71**, 86 (2003).
- 3) S. Tsujimura, T. Nakagawa, K. Kano, and T. Ikeda, *Electrochemistry*, **72**, 437 (2004).
- 4) S. Tsujimura, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **576**, 113 (2005).
- 5) P. Delahay, *New Instrumental Methods in Electrochemistry*, Interscience, NY, 1954; Reprint edn., Krieger, Huntington, NY, 1980, pp. 87-113.
- 6) W. J. Albery, A. E. G. Cass, and Z. X. Shu, *Biosensors & Bioelectronics*, **5**, 367 (1990).
- 7) K. Kano, T. Ohgaru, H. Nakase, and T. Ikeda, *Chem. Lett.*, 439-440 (1996).
- 8) Y. Ogino, K. Takagi, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **396**, 517 (1995).
- 9) A. J. Bard and L. R. Faulkner, "Electrochemical Methods - Fundamentals and Applications", Wiley, NY, 2001, Chap. 12.3.5.
- 10) J. M. Savéant and E. Vianello, *Electrochim. Acta*, **10**, 905 (1965).