

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：13102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18257

研究課題名(和文)超小型電源の実現に向けた腸管内微小階層構造を模した新規バイオ有機電子素子の開発

研究課題名(英文)Development of a novel bioorganic electronic device mimicking a micro-hierarchical structure in the intestinal tract for a miniature electrical power source

研究代表者

桑原 敬司(Kawahara, Takashi)

長岡技術科学大学・工学研究科・助教

研究者番号：50525574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：バイオ燃料電池の小型化にともない限定される電極上の空間の効率的な利用を目指し、酵素電極への微小構造の付与を行った。酵素固定化担体には電解重合により作製したポリチオフェン誘導体膜を用いた。膜の作製条件の検討により、ナノ繊維から形成された粒状構造やサブミクロンサイズの絨毛状構造、ナノ繊維の網目状構造の作製に成功した。ナノ構造の付与による表面積の拡大およびマイクロ構造が担う反応物質の効率的な拡散が酵素触媒電流の増大には重要であった。

研究成果の概要(英文)：Aiming at efficient use of the electrode space that is limited by the miniaturization of biofuel cell, we imparted fine structures to enzyme electrode. For the enzyme-immobilized carrier, a polythiophene derivative film prepared by electrochemical polymerization was used. By investigating the film fabrication conditions, we succeeded in producing a structure with hemispherical indentations on the electrode, and a hierarchical structure with submicron-villiiform structure and a network structure of nanofibers. The results of this research showed that the enlargement of the surface area and the control of the diffusion of reactants by applying nano- and microstructures is the key to efficient use of the space on the electrode.

研究分野：生物電気化学

キーワード：酵素電極 バイオ燃料電池 導電性高分子 電解重合 ポリチオフェン 微小階層構造 ナノ繊維

1. 研究開始当初の背景

酵素を触媒として利用するバイオ燃料電池は構成がシンプルなため小型化が容易である。そのため、電子機器の小型化にもなって電源の小型化が強く求められるなか、多方面から注目が集まっている。現在、バイオ燃料電池は省電力機器を駆動することができる。しかし、小型・汎用化するためには他の電池と同様にさらに出力を増大させていく必要がある。バイオ燃料電池の起電力はすでに熱力学的な理論値にほぼ達している。そのため、今後さらに出力を増大していくためには電池が発生可能な電流を増加させる必要がある。

電池電流の増大を目指し、微細構造の付与による電極表面積の拡大が検討されている。ナノテクノロジーの発展も相まって同様の検討が多くなされているが、電池が小型化されることで縮小される電極が占有可能な空間の最適な利用法は未だ不明であり、その確立は超小型電源の実現のためには不可欠である。腸管内壁は表面付近に存在する酵素を利用して水に溶けた物質を効率的に消化・吸収しており、酵素電極と類似した機能を有している。また、生物が作り出す微小階層構造は「水」の扱いに最適化されている可能性が高い。以上より、本研究では電流増大のためのモデルとして腸管内の微小階層構造に注目した。

2. 研究の目的

本研究では、酵素触媒電流の増大に効果的な酵素電極上の微細空間の利用法を明らかにすることを目指した。具体的には、微小階層構造を有する導電性高分子膜の作製およびその物性評価、膜表面に酸化還元酵素を固定した酵素電極の作製および微小階層構造の酵素触媒電流への影響を評価した。

3. 研究の方法

(1) 微細構造を有する導電性高分子膜の作製

ポリマーテンプレート法を利用した電解重合により逆オパール型構造を有するポリ(3,4-エチレンジオキシチオフェン)(PEDOT)膜を作製した。重合溶液は0.10 MのKCl水溶液に0.010 Mの3,4-エチレンジオキシチオフェンを超音波処理により分散させたものを用いた。電極にはインジウムスズ酸化物(ITO)を片面に塗り固めたガラス板を用いた。テンプレートはポリスチレン(PS)粒子を単層となるように、マスキングを施したITO電極上にキャストすることで形成した。単層化に際し、PS粒子分散液の粒子濃度およびキャスト量を検討した。粒子の分散媒は水である。電解重合後、PS粒子はトルエンにより溶解させることで除去した。形成した膜は酵素電極として利用する際は、トルエンによる粒子の溶解後、エタノール、水の順で洗浄

し、0.05 Mの酢酸緩衝液中で保存した。走査型電子顕微鏡(SEM)観察に資する際は、トルエンのみによる洗浄後乾燥させた。酵素、フルクトースデヒドロゲナーゼ(FDH)、は酵素を含む緩衝液中に膜をITO電極ごと浸すことで吸着固定した。

(2) 電解重合条件による導電性高分子膜の微細構造の制御

3-メチルチオフェンとチオフェン-3-酢酸の共重合膜(PTh膜)の作製は、それぞれのモノマー(モノマー比で9:1)および支持電解質として0.10 M過塩素酸テトラエチルアンモニウムを含むアセトン、アセトニトリル、炭酸プロピレン、ニトロメタン中、電解重合により行った。重合溶媒の影響を調べるため、16種類の溶媒の利用を検討したが、再現よく膜が形成できたのはこの4種のみであった。また、重合電圧および重合時の通過電荷量の影響についても検討した。酵素としてはグルコースオキシダーゼを用いた。SEMによる膜の形状観察には微細構造を確認するためにAuなどをスパッタリングしていない、そのままの状態の膜を用いた。膜の導電性が高いため、帯電の影響は見られなかった。

4. 研究成果

(1) PS粒子を用いた微細構造の付与

PS粒子をキャストしたITO電極を用いてPEDOT膜を形成した結果、PEDOTにより完全に覆われたPS粒子が多数観察され、粒子表面にPEDOTが積極的に付着することが明らかとなった(Fig. 1a)。また、重合時間を調節することにより、粒子の隙間がPEDOTにより埋まり、六角形が隙間なく敷き詰められた構造が見られた(Fig. 1b)。このことから、PS粒子の付与によりPEDOT膜の構造を制御できることが確認された。しかしながら、PEDOTによりPS粒子を完全に被覆した場合、その後の粒子の溶解が困難であり、再現よく多孔膜を形成することは難しかった。粒子を一部加熱溶解することにより、粒子同士を繋ぐなどの操作も試みたが芳しい結果は得られなかった。そのため、キャストの際の粒子濃度および量、PEDOT膜の電解形成条件を検討し、電極上に単層でPS粒子を敷き詰め、電極面から粒子の半径程度の厚さまで

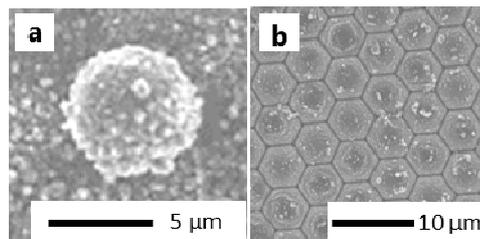


Fig. 1 SEM image of (a) a single PS particle covered with PEDOT and (b) PS particles templated PEDOT film with a high passed charge amount.

PEDOT 膜を形成することとした (Fig. 2a,b)。この条件では、電解重合後も PS 粒子の上半分は PEDOT により覆われないため、容易にトルエンによる粒子の溶解を行うことができる。この手法により形成された膜は使用した PS 粒子の直径 (5 μm) 程度のカップ状の構造を敷き詰めた形状となった。この結果は、形状に乱れが見られるが、粒径が 1 μm の粒子を用いた場合にも同様に得られた (Fig. 2c,d)。ただし、膜厚はそれぞれの粒子の半径程度であるため大きく異なる。また、重合の際に要した通過電荷量はそれぞれ 9 mC および 1.5mC であった。

(2) PS 粒子を用いて微細構造を付与した酵素電極の性能評価

PS 粒子を用いて微細構造を付与した膜および PS 粒子を用いないで形成した膜を用いて作製した FDH 固定化電極により生成されるフルクトースの酸化に起因する酵素触媒電流の比較を行った (Fig. 3)。PS 粒子の粒径が 5 μm の PS 粒子を使用した場合、使用しない場合と比較して酵素触媒電流は 1.3 倍程度に増加した。単純に半球状の構造が付与されたと考えただけでも表面積は平滑な場合と比較して 2 倍となる。球間の空隙を考慮すると実際の表面積差はさらに大きくなるはずである。それにもかかわらず、電流増加量が 1.3 倍程度であった理由は、粒子を使用しないで作製した PEDOT 膜も多孔構造を示すため、面積増加の利得の割合が小さくなったためと考えられる。なお、粒子の溶解の問題から、比較的単純な構造の膜を使用したため、電気化学インピーダンスによる電極の評価では物質拡散に対する微細構造付与の影響は確認されなかった。また、粒径 1 μm の PS 粒子を使用した場合には電流値は使用しない場合と比較して 1/6 程度に低下した。PS

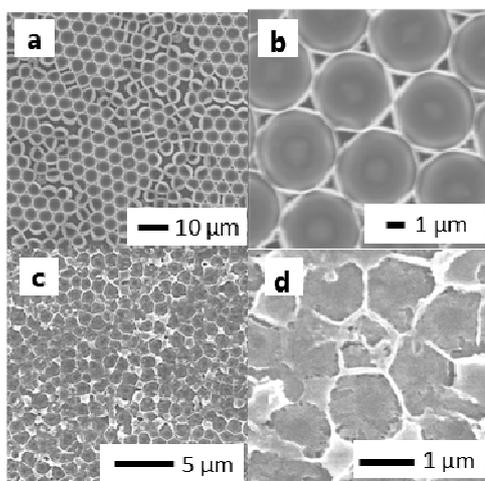


Fig. 2 SEM image of PS particles templated PEDOT films. (a, b) A diameter of a particle is 5 μm , and a passed charge amount is 9 mC. (c, d) A diameter of a particle is 1 μm , and a passed charge amount is 1.5 mC.

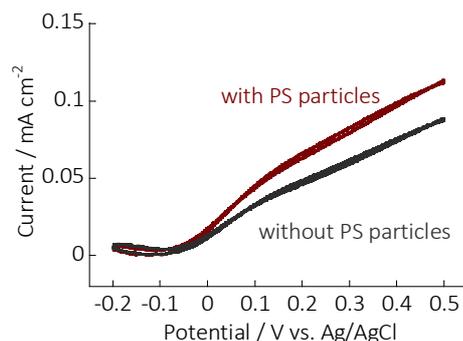


Fig. 3 Background-subtracted bioelectrocatalytic fructose oxidation current obtained with FDH immobilized electrodes fabricated using PS particles (5 μm) and without using PS particles. Measurements were performed in 0.05 M acetate buffer solution (pH 4.5) containing 0.20 M fructose. Scan rate was 5 mV s^{-1} .

粒子存在下では、モノマーの拡散が阻害され、膜が形成し難い。粒径 1 μm の粒子を用いた場合では、重合時間も短いため、膜質の低下を招いたものと考えられる。なお、ITO 電極に直接 FDH を吸着した電極と比較すると、5 μm と 1 μm の PS 粒子を使用した場合に得られた酵素触媒電流の大きさは、それぞれ 61 倍および 3.7 倍であった。

以上の結果から、微小な粒子を利用した微細構造の付与は酵素触媒電流の増加に効果的であることが確認された。粒子の積層による膜厚方向への構造の拡大によりさらなる電流の増加効果の増大が期待されるが、粒子の溶解法およびモノマーの拡散にさらについて詳細に検討する必要がある。

(3) 電解重合条件の検討による PTh 膜への微細構造の付与

PTh 膜を用いて作製した酵素電極により生成される酵素触媒電流への電解重合条件の影響を検討した。電解重合により形成した PTh 膜は一般に微小な粒状構造が積み重なった多孔構造を形成する。本研究で検討した重合条件内においても粒子サイズや密度に違いはあるものの、そのような形状となった (Fig. 4a)。本研究ではこの粒状構造をより詳細に観察することで、粒子が直径 30 nm 程度のナノ繊維により構成される場合があること、ナノ繊維の形成は使用する重合溶媒に影響されることを明らかにした (Fig. 4b)。

ナノ繊維により形成される微細構造は酵素触媒電流の大きさに影響した。表面積の増大効果であると考えられる。しかしながら、粒状構造の密度の影響も強く見られ、ナノ繊維が形成された場合であっても、形成されない条件よりも酵素触媒電流が小さい場合もあった (Fig. 5)。つまり、ナノ繊維の形成は表面積の増大に効果的であるが、それらにより形成される空隙 (本研究では直径 50 nm 程度) が小さい場合には、物質の拡散が遅く、

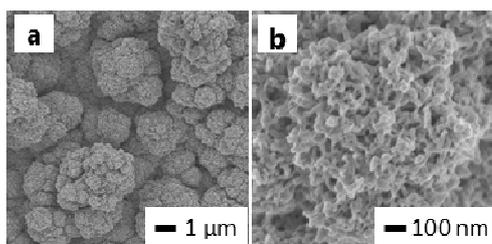


Fig. 4 (a,b) SEM image of a PTh film prepared in acetonitrile solution at 2.2 V vs. SCE. Amount of passed charge was 0.80 C cm⁻².

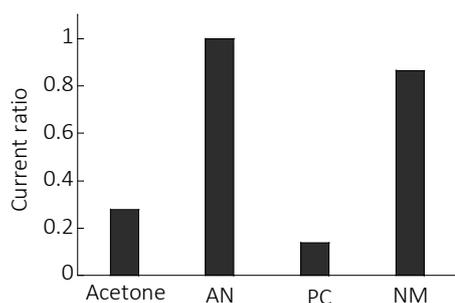


Fig. 5 Comparison of bioelectrocatalytic current generated by enzyme electrodes with PTh films prepared in different solvents. Measurements were carried out in 0.10 M phosphate buffer solution (pH 7.0) containing 0.10 M glucose and 1 mM *p*-benzoquinone.

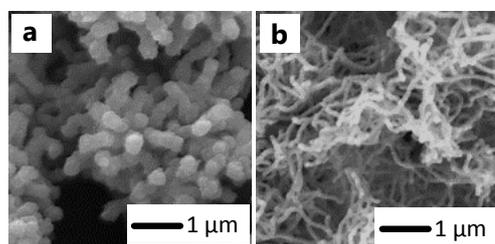


Fig. 6 SEM image of the surface morphology of PTh films prepared at (a) 3.0 V and (b) 2.2 V vs. SCE. Amount of passed charge was (a) 0.80 C cm⁻² and (b) 1.6 C cm⁻².

粒子構造により形成されるさらに大きな空隙構造(数百 nm~μm)内への物質拡散の影響が酵素触媒電流に強く影響したといえる。この結果は、研究開始時の予想を支持するものであり、微細空間を有効に活用するための電極構造のデザインの重要性を示している。

PTh膜は重合電圧を最適化することにより上記の粒状構造からさらに突起状構造(直径 250 nm 程度, 長さ 800 nm 程度)を形成する。また、重合時間を長くすると直径 100 nm 程度の繊維により形成された数百 nm から μm オーダーの空隙を有する網目状構造を示す (Fig. 6)。いずれにおいても、構造の形成は酵素触媒電流の増大を導いた。

ヒトの小腸内では、輪状ひだ、絨毛、微絨毛と階層構造が存在しており、腸内の表面

積の拡大に貢献している。二段階目の絨毛であっても長さはミリオーダーに達するため、そのまま酵素電極に適用することは困難であるが、上述のように多孔構造の表面に突起状構造を形成した状態は腸管内の階層構造と類似している。なお、今回作製した突起状構造は腸管内で見られる微絨毛と比較すると直径が 2 から 3 倍程度、長さは 2/3 程度である。以上の結果から、腸管内を模した電極表面構造の付与は酵素触媒電流の増大に有効であり、限られた空間内における物質の拡散と表面積の増大の関係に対して腸管は師事すべき存在であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件) すべて査読有

1. 桑原敬司, 吉田貴郎, 石川 輝, 近藤みずき, 下村雅人, グルコースオキシダーゼを担持したチオフェン共重合体膜の電極反応—電解重合条件の影響, 高分子論文集, 74, 517-523 (2017).
2. T. Kuwahara, M. Kameda, K. Isozaki, K. Toriyama, M. Kondo, M. Shimomura, Bioelectrocatalytic fructose oxidation with fructose dehydrogenase-bearing conducting polymer films for biofuel cell application, React. Funct. Polym., 116, 87-91 (2017). 他 2 件

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 磯崎桂太, 近藤みずき, 桑原敬司, 下村雅人, “ポリアニリン水ゲルを用いたフルクトースデヒドロゲナーゼ固定化電極の作製とその単層型バイオ燃料電池への応用”, 第 66 回高分子学会年次大会(幕張メッセ, 2017 年 5 月 31 日)
2. 桑原敬司, 菅原武, 近藤みずき, 下村雅人, “ポリチオフェン誘導体膜の電解形成条件と酵素電極の性能の関係”, 第 22 回高専シンポジウム (鳥羽商船高等専門学校, 2017 年 1 月 28 日)
3. 磯崎桂太, 桑原敬司, 下村雅人, “ポリアニリン水ゲルを用いたフルクトースデヒドロゲナーゼ固定化電極の作製と性能評価”, 第 65 回高分子討論会(神奈川大学, 2016 年 9 月 16 日)
4. 桑原敬司, 磯崎桂太, 近藤みずき, 下村雅人, “酵素と導電性高分子間の電子移動を利用したフルクトース/酸素燃料電池”, 第 65 回高分子討論会(神奈川大学, 2016 年 9 月 16 日) 他 12 件

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桑原敬司 (Kuwahara Takashi)
長岡技術科学大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号: 50525574