

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25600053

研究課題名(和文) 酵素反応で自立駆動するマイクロゲルシステムの開発

研究課題名(英文) Hydrogel-based Device Driven by Enzymatic Battery

研究代表者

西澤 松彦(Nishizawa, Matsuhiko)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20273592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ハイドロゲルシートに酵素電極を組み合わせて、フレキシブルな酵素発電デバイスの実現を目指した。バイオアノードは、ハイドロゲルタンクに含まれるフルクトースを燃料として酸化反応を起こすのに対し、バイオカソードは、大気中の酸素を還元する反応を行う。ハイドロゲルは90%以上が水分である高含水性素材であるが、機械的ストレスに脆く実用性に欠くので、大きな変形にも耐え得るダブルネットワーク(DN)ゲルを利用することで、ヒトの皮膚などに貼ったまま利用でいる柔軟かいバイオ発電デバイスが実現した。

研究成果の概要(英文)：A totally flexible, sheet-shaped biofuel cell has been developed by stacking a bioanode fabric, a hydrogel sheet containing electrolyte and fuel (fructose), and an O₂-diffusion biocathode fabric. The results presented include two strategies to improve the performance of the device. (1) An anode modified with an appropriate CNT dispersion showed higher activity. (2) The gas-diffusion biocathode was improved by optimizing its hydrophobicity. The improved biofuel cell sheet produced a maximum power density of 1.0 mW/cm² at 0.36 V even when bent. Such a flexible, sheet-shaped power source could be combined in the future with flexible electronic to make wearable devices.

研究分野：電気化学

キーワード：酵素 電池 ハイドロゲル

1. 研究開始当初の背景

本研究が目指す「電力を要しないエネルギー自立型バイオデバイス」の開発が世界中で行われ始めており、培養心筋細胞の収縮・弛緩運動を利用して運動する構造体や、酵素による局所的な化学反応を動力に換えるシステムが報告されている。酵素を電極触媒とするバイオ電池は、自立駆動デバイスを実現するエネルギー源のオプションとして注目されている。酵素発電の長所(安価・小型・安全)を活かし弱点(比較的短寿命など)を補うデバイス構造を、ハイドロゲルと組み合わせることで、エネルギーハーベスティング型の自律デバイスが実現しようとしている。

2. 研究の目的

フレキシブルな酵素発電デバイスの実現を目指した。図1に示すように、燃料溶液を含むハイドロゲルタンクを酵素電極(バイオアノードとガス拡散バイオカソード)で挟んだ構造を作製する。バイオアノードは、ハイドロゲルタンクに含まれるフルクトースを燃料として酸化反応を起こすのに対し、バイオカソードは、大気中の酸素を還元する反応を行う。これら酸化還元反応は、電極上に固定した酵素の触媒能を利用し、アノードでは、フルクトースデヒドロゲナーゼ(FDH)、カソードでは、ピリルビンオキシダーゼ(BOD)を用いる。酵素を固定するための電極には、柔軟なカーボン繊維(Carbon Fabric, CF)を使い、そこへカーボンナノチューブ(CNT)を修飾することで電極の比表面積を大きくし、出力性能の改善を行う。また、親水性の酵素と撥水性のCNTとの馴染みを改善するため、界面活性剤を用いた表面処理技術も開発する。一方、ハイドロゲルは、90%以上が水分である高含水素材であるが、機械的ストレスに脆く実用性に欠く。そこで、本研究では、大きな変形にも耐え得るダブルネットワーク(DN)ゲルを利用することで、例えばヒトの皮膚などに貼ったまま利用している柔軟なバイオ発電デバイスの開発を行った。

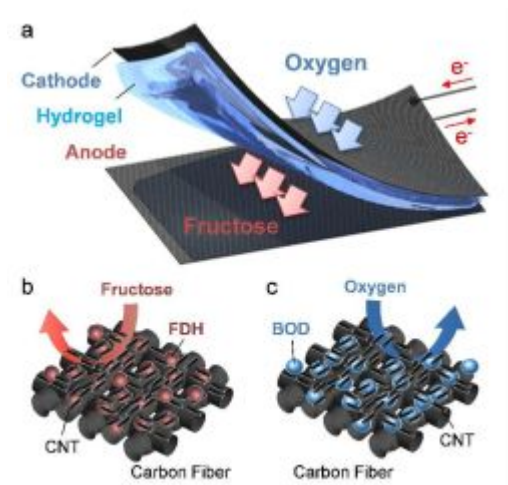


図1 発電ゲルシートの開発

3. 研究の方法

(1) 酵素電極の作製方法

CF電極(東邦テナックス, TCC-3250, 厚さ 320 μm)に 10 mg ml^{-1} の CNT 分散液(0.5% Triton X-100 を含む)を滴下し、10 分間 75 のオープンで乾燥させる。乾燥させた電極は、攪拌された緩衝溶液中に浸漬し、余分な界面活性剤を洗浄する。その後、10 mg ml^{-1} の FDH 溶液、あるいは、5 mg ml^{-1} の BOD 溶液中に電極を浸漬し、酵素を物理吸着させる。バイオカソードの作製に関しては、酵素固定前にエタノールを使った洗浄、酵素固定後の疎水性 CNT の塗布処理を行うことで、電極を撥水性にした。これは、空気中の酸素を電極上で効率良く利用するための表面処理である。

(2) DNゲルタンクの作製方法

1st ネットワークゲルのモノマーである 2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(AMPS)を 1M、架橋剤の N,N'-メチレンビスアクリルアミド(MBAA)を 40 mM、そして重合開始剤の 2-オキソグルタル酸を 1 mM となるように蒸留水を溶媒として調製した溶液へ、0.88 M のペルオキシ二硫酸アンモニウム(APS)水溶液を少量加えてモノマー水溶液を作製し、UV ランプ(265 nm, 8 W)を室温で 5h 照射しゲル化させる。本ゲルを 2nd ネットワークゲルのモノマーであるアクリルアミド(AAm)を 4 M、開始剤の 2-オキソグルタル酸を 1 mM、そしてゲルの膨潤を防ぐための NaCl を 80mM となるように蒸留水を溶媒として調製した溶液へ、さらに 0.88 M の APS 水溶液を少量加えてモノマー水溶液中に浸漬し、遮光、4 の条件下で 4h 静置した。その後、UV ランプを室温で 5h 照射した。蒸留水で 24 時間洗浄した後、2nd ネットワークをより強固にするため、AAm を 2M、開始剤の 2-オキソグルタル酸を 1 mM、NaCl を 80 mM、APS を 0.88 M に調整したモノマー水溶液中に浸漬し、遮光、4 の条件下で 4h 静置させた。その後、UV ランプを室温で 5h 照射した。得られたゲルを蒸留水に 24h 浸し、未反応のモノマーを取り除き DN ゲルを得た。最後に、200mM のフルクトース溶液に浸漬することで、ハイドロゲルタンクが完成する。

(3) 電気化学測定

電極性能の評価は、ポテンシostat(BSA, 730Electrochemical analyzer)を用いた 3 極式電気化学測定にて行った。参照電極に Ag/AgCl(飽和 KCl)、対極に白金電極を用いた。サイクリックボルタンメトリー(CV)の評価は、電位掃引速度 10 mV/s にて行った。また、作製した電極の比表面積を評価するための電気二重層容量の測定を行った。まず、McIlvaine buffer(pH5.0) 中で cyclic voltammetry 測定(10 mV s^{-1})を行い、0 V(vs Ag / AgCl sat KCl)での容量電流値を得る。そ

の後、コンデンサの静電容量と充電電圧についての式を用いて各電極の電気二重層容量を求めた。酵素電池の出力測定は抵抗を並列に繋いだ際、抵抗の両端にかかる電圧をポテンシostatを用いて測定した後、オームの法則から電流値、電力を算出した。また、すべての測定は室温で行った。

4. 研究成果

(1) バイオアノード性能の評価

図 2a に、フルクトース 200 mM を含む McIlVainebuffer 中で測定した FDH 修飾アノードの性能を示す。CNT の修飾がない場合はフルクトースの酸化電流は数十マイクロアンペア程度であったが、CNT の修飾によって約 2 桁も大きな酸化電流を確認できた。これは、CF のキャパシタンスが約 0.07 mF cm^{-2} であるのに対し、CNT を約 $40 \mu\text{l}$ 滴下した CF は 6.5 mF cm^{-2} 程度であることから、比表面積が増加し、高密度な酵素固定化ができたためと推察される。さらに、アノード性能は CNT を分散する Triton X-100 の濃度に依存した。これは、図 2b に示した顕微鏡像から分かるように、Triton X-100 が薄くなるにつれ、CF 上で CNT が凝集している様子が見られた。このような凝集体への酵素修飾や燃料の拡散は困難となるため、出力低下につながったと考えられる。結果的として、0.5 wt% 濃度の Triton X-100 で調製した CNT 分散液で電極を作製した場合、 0.6 V において約 11.5 mA cm^{-2} という非常に大きな電流値を得ることに成功した。さらに、バッファ濃度を高くすることで、性能が大きくなることを確認した。図 2c に示すように、バッファ濃度を高くするにしたがって性能は良くなり、約 500 mM のバッファ濃度で電流密度は最大値の 28 mA cm^{-2} (at 0.6 V) を示した。これは、バッファ濃度の増加に伴う緩衝能力 (buffer capacity) が高くなったことに起因する。一般に、酵素反応によって生じる pH 変化 (例えばアノードではプロトンを放出し酸性となる) は、バッファによって常に緩衝される。しかし、ナノ構造体に高密度に固定された酵素反応においては、局所的な pH の変

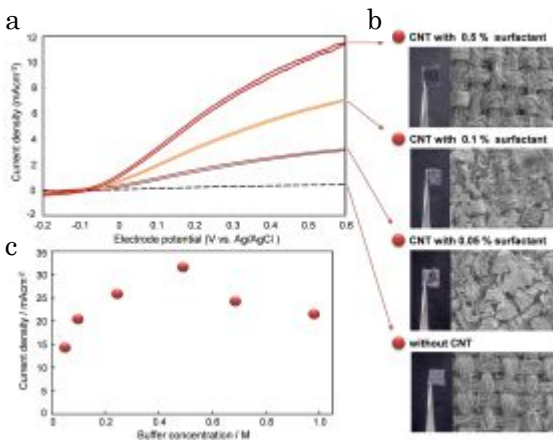


図 2 アノード CF の最適化

化を緩和できず酵素の活性が低下したと考えられる。すなわち、バッファの緩衝能力を高めたことで、酵素付近の局所的な pH 変化を抑制し、本来の酵素活性を維持できたことが出力性能の増加に繋がったと考えられる。ただし、バッファ濃度を高くしすぎると、イオン強度が大きくなり、逆に酵素活性の低下に繋がりが、電流値の減少を引き起こす。

(2) ガス拡散バイオカソード性能の評価

作製したカソード電極を異なる配置で (電極を溶液に浸した溶存酸素を燃料とする系と電極の片面のみを溶液に浸漬させて空気中の酸素を燃料とする系)、出力性能を評価した。図 3a に示すように、溶存酸素系と比べ、空気中酸素系カソードは、約 2.3 倍の大きな還元電流を得ることに成功した。これは、溶存酸素濃度が僅か 0.3 mM 程度であるのに対し、空気中の豊富な酸素 (10 mM) を利用出来たことが主たる要因と言える。これら電極の配置改善に加え、電極を CNT で被覆する撥水処理によって、さらに還元電流が大きくなることを確認した。CNT ナノ材料は、基本的には疎水性を示すが、酵素や界面活性剤で修飾された CNT 電極は、親水性を示す (図 3c)。この電極表面に、さらに CNT を被覆すると、溶液に対する撥水性が増す。このことは、電極への溶液の浸透を抑制し、気体である酸素の浸透が増すことを意味する。すなわち、性能の増加は、この液相 (溶液)、気相 (酸素)、固相 (酵素) の三相界面を制御したことに起因する。さらに、アノード同様、カソードにおいてもバッファ濃度の最適化を行った。250 mM の濃度まで増加させると、出力は大きくなり、それ以上に濃度を上げると、出力は低下することが分かった (図 3b)。

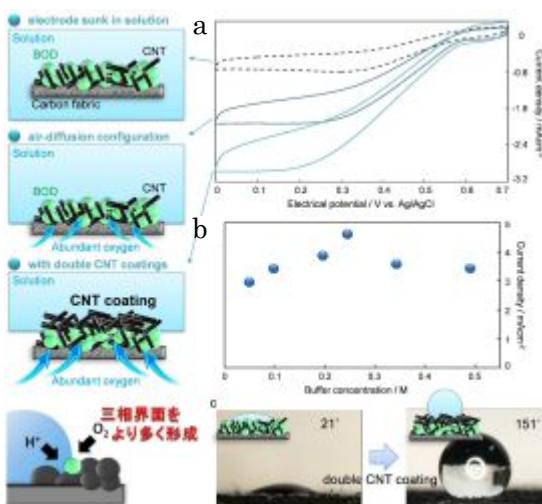


図 3 カソード CF の最適化

バッファ濃度による性能変化は、アノード同様、緩衝能力とイオン強度で説明できる。ただし、カソードでは、酸素を水に還元する際、プロトンも必要とするため、プロトン供

給が増えた点も考慮する必要がある。最終的に得られた還元電流の最大値は、0 Vにおいて約 -4.6 mA cm^{-2} を示した。

(3) 酵素電池シートの性能評価

バイオアノードとガス拡散カソード間に、200 mM フルクトースを含む DN ゲルを挟み込んで電池を組み立て、平面状態と円形状態における出力を比較した(図 4 上)。平面状態において、開回路電圧は、約 0.74 V を示し、これは各電極性能を評価した結果(酸化開始電位: -0.12 V 、還元開始電位: 0.62 V)と一致する。さらに、最大出力密度は、0.36 V において約 1 mW cm^{-2} の大きな出力を示し、円形状態でも出力の低下は見られなかった。つまり、機械的ストレスに強い酵素電池であることが分かる。この酵素電極とハイドロゲルから構成される電池は、様々な電池構成が可能となる。市販の化学電池同様、パッケージ内部での電池の直列化により昇圧することも重要である。筆者らの電池構成は、ただ酵素電池シートを積層させるだけで、電池の直列化を可能とする利便性を有している。実際

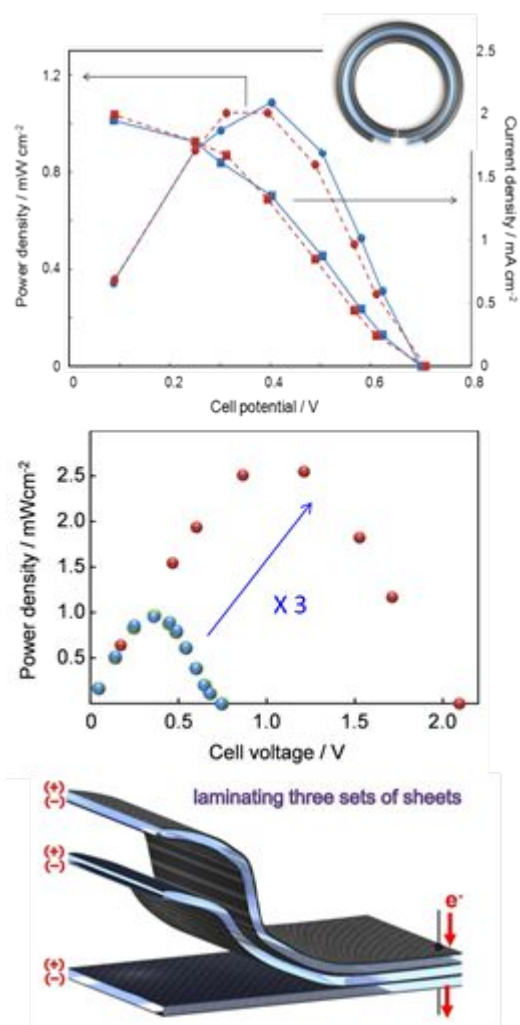


図 4 発電ゲルシートの性能

に、三つのセルを直列化させた電池の性能を図 4 下に示したが、単セルの約 2.8 倍の開回路電圧(2.09V)を示し、最大出力密度は、約 2.55 mW cm^{-2} (1.21 V) の大きな出力を示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Masato Sasaki, Bijoy Chandapillai Karikkineth, Kuniaki Nagamine, Hirokazu Kaji, Keiichi Torimitsu, and Matsuhiko Nishizawa, Highly Conductive Stretchable and Biocompatible Electrode-Hydrogel Hybrids for Advanced Tissue Engineering, *Adv. Healthcare Mater.*, 査読有, 3, 2014, pp.1919-1927, DOI:10.1002/adhm.201400209

Yudai Ogawa, Syuhei Yoshino, Takeo Miyake and Matsuhiko Nishizawa, Surfactant-Assisted Direct Electron Transfer between Multi-Copper Oxidases and Carbon Nanotube-Based Porous Electrodes, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有, 16, 2014, pp.13059-13062, DOI:10.1039/C4CP00872C

Kuniaki Nagamine, Kohei Okamoto, Hirokazu Kaji, and Matsuhiko Nishizawa, Bonding of Synthetic Hydrogels with Fibrin as the Glue to Engineer Hydrogel-Based Biodevices, *J. Biosci. Bioeng.*, 査読有, 118, 2014, pp.94-97, DOI:10.1016/j.jbiosc.2013.12.024

Takeo Miyake, Keigo Haneda, Syuhei Yoshino, Matsuhiko Nishizawa, Flexible, Layered Biofuel Cells, *Biosens. Bioelectron.*, 査読有, 40, 2013, pp.45-49, DOI:10.1016/j.bios.2012.05.041.

[学会発表](計 4 件)

Matsuhiko Nishizawa, Moist Electronic Devices with High Affinity to Living Systems, EMNT2014, 2014 年 11 月 8 日、コンベンションセンター・沖縄・那覇

西澤松彦, 導電性高分子電極のプロセッシングとバイオメディカル応用、電気化学会、2014 年 9 月 27 日、北海道大学・北海道・札幌

西澤松彦, バイオ発電シート、高分子学会燃料電池研究会、2014 年 6 月 13 日、日本化学会館・東京・御茶ノ水

西澤松彦, バイオ発電デバイス、最先端電池技術セミナー、2014 年 1 月 23 日、タワ

ーホール船堀・東京・船堀

〔図書〕(計 1 件)

西澤松彦、CMC 出版、酵素反応で発電する無害・安全なバイオ電池、2014、スマートヒューマンセンシング第 5 章 185-193

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：酵素電極の製造方法及び酵素電極

発明者：西澤松彦、小川雄大

権利者：国立大学法人東北大学

種類：特許

番号：特願 2015-023437

出願年月日：平成 27 年 2 月 9 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

http://www.biomems.mech.tohoku.ac.jp/index_j.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西澤 松彦 (NISHIZAWA, Matsuhiko)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：20273592