

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K04767

研究課題名(和文) 酵素/カーボン界面の構造制御によるバイオ燃料電池高電流密度化へ向けた研究

研究課題名(英文) Control of interface between enzyme and carbon for high current density biofuel cells

研究代表者

田巻 孝敬 (Tamaki, Takanori)

鹿児島大学・理工学域工学系・教授

研究者番号：80567438

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)：本研究では酵素を触媒に用いるバイオ燃料電池の高電流密度化へ向けて、酵素-電極間で電子を授受するメディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度かつ安定に固定化するために、酵素/カーボン界面の構造制御を行った。カーボン表面に強く吸着するアントラセン二量体と、メディエータであるフェロセンを固定化したポリエチレンジアミンを複合化したところ、メディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度かつ安定にカーボン表面へ固定化できることが示された。また、高電流密度と触媒電流の安定性の両立には、適切なポリマー・メディエータの可動性が存在することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルコースなどの生体に安全・安心な燃料から発電するバイオ燃料電池は、人体の近くで使用する機器のポータブル電源として開発が期待されている。酵素が本来持っている十分に高い反応性をバイオ燃料電池で有効に活用するために、本研究では酵素と電極として用いるカーボンとの界面構造を制御した。界面構造の制御により高い電流密度が得られ、生体分子が有する機能をデバイスで有効活用するためには、生体分子とデバイスを構成する材料との界面の制御が重要であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Enzymatic biofuel cells with the possible use of nontoxic fuels under moderate operating conditions have attracted attention as energy sources used near the body. Considering a high intrinsic activity of enzymes, combinations of enzymes and nanostructured materials enable to achieve high current density. Our numerical calculation suggests that an important parameter is an effective concentration of a mediator. Thus, we aim to achieve highly stable and concentrated immobilization of mediators that can effectively react with both the enzyme and the electrode. Ferrocene was used as a mediator and was immobilized to poly(ethyleneimine) to form a redox polymer. Conjugation of the redox polymer with anthracene dimer resulted in the high current density and stable immobilization of the mediator. In addition, a flexibility of the polymer and the mediator was shown to be important for achieving both the high current density and the retention of the catalytic current.

研究分野：化学工学

キーワード：バイオ燃料電池 メディエータ 酵素 ポリエチレンジアミン デバイス設計 エネルギー・物質変換
フェロセン アントラセン二量体

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

酵素を触媒に用い、生体に安全・安心なグルコースなどの燃料を利用できるバイオ燃料電池は、医療用補助具や携帯機器のポータブル電源として開発が期待されているが、従来研究では電流密度の低さが課題であった。当研究室では酵素電極中の反応拡散過程を考慮したモデル計算を行い、酵素が有する高い反応速度をナノカーボン材料で構成される高表面積な三次元電極で活用できれば、従来型の液体燃料を利用する燃料電池に匹敵する 10^2 mA/cm^2 の高電流密度化が可能であることを示している¹⁾。また、現状で得られている電流密度とモデル計算との差異についての実験的な検証から、電流密度を制限している要因が、電極-酵素間で電子を授受する酸化還元分子であるメディエータを、酵素との高い反応性を有する状態で高密度に固定できないこと、およびカーボン表面への吸着時の酵素失活であることを明らかにしている。メディエータ固定法について、従来汎用的に用いられているメディエータ固定化ポリマー(レドックスポリマー)と酵素の架橋により形成されるレドックスポリマーゲルでは、ポリマー層が厚膜となった場合にレドックスポリマー中の電子伝導律速となり、ポリマー層厚みに制限がある。また、レドックスポリマーの電子伝導律速を解消するために当研究室で開発したレドックスポリマーのカーボン表面へのグラフト重合では、固定化密度が低いことが課題であった。そこで本研究では、カーボン表面に強く吸着するアントラセン二量体²⁾に着目する。アントラセン二量体は研究協力者である吉沢道人教授(東京工業大学)が開発した化合物である。これまでに当研究室での検討により、アントラセン二量体ヘスペーサーを介してメディエータと複合化することで、メディエータを高密度に固定化できることや、スペーサーの可動性や長さが酵素との反応性に重要であることを示しているが、高電流密度化は実現していなかった。

2. 研究の目的

本研究では、酵素型バイオ燃料電池の高電流密度化へ向けて、メディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度固定し、酵素をカーボン表面へ活性を維持した状態で固定化するために、酵素/カーボン界面の構造制御を行う。界面構造の制御では、図1に示すようにアントラセン二量体とメディエータユニット・親水ユニットを導入したポリマーの複合体を開発する。ポリマーとしてイオン性ポリマーを用い、酵素の電荷との静電相互作用により、固定化メディエータと酵素を近接させ、メディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度に固定する。また、親水ユニットにより酵素の失活要因となっているカーボン表面への物理吸着を抑制する。



図1. 本研究で提案するアントラセン二量体とメディエータユニット・親水ユニットを導入したポリマーの複合体による酵素/カーボン界面の構造制御

3. 研究の方法

モデル計算は、実験で得られている電流密度とモデル計算との差異の検証実験における酵素吸着特性の評価結果等をもとに、既に構築済みの数値モデル¹⁾を改良して行った。

イオン性ポリマーとしてはカチオン性のポリエチレンイミン(PEI)を用い、作動環境でアニオン性を示す酵素グルコースオキシダーゼ(GOx)との静電引力により、ポリマー固定メディエータユニットと酵素が近接した構造の形成を図った。メディエータユニットとして酵素との反応速度が十分に高いフェロセン誘導体、親水ユニットとしてオリゴエチレングリコールを用い、各々PEIのアミノ基との高分子反応(図2a)により導入した。PEI-ユニット複合体は、ポリマー末端の官能基との反応によりアントラセン二量体と複合化(図2b)した。

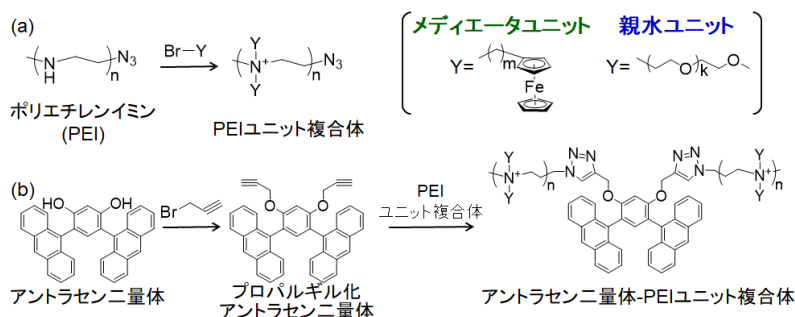


図2 (a) PEI へのユニット導入、および(b)アントラセン二量体への PEI ユニット複合体の導入

4. 研究成果

構築済みの数値モデルへ、酵素吸着特性の評価結果を反映するとともに、メディエータ吸着系の電気化学測定結果を考慮できるように改良を行った。改良後の数値モデルによる計算の結果、有効に機能しているメディエータ濃度(有効メディエータ濃度)が、固定化メディエータの数%程度にとどまっていることが明らかとなった。また、図3へ示すように、メディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度に固定化することで約6倍、酵素吸着特性の改善により約2倍の電流密度の増加が可能であることが示された³⁾。これまで電流密度の制限要因については実験的な検証結果に基づく定性的な議論にとどまっていたが、モデル計算の改良により各要因の改善が電流密度へ与える影響が定量的に示された。

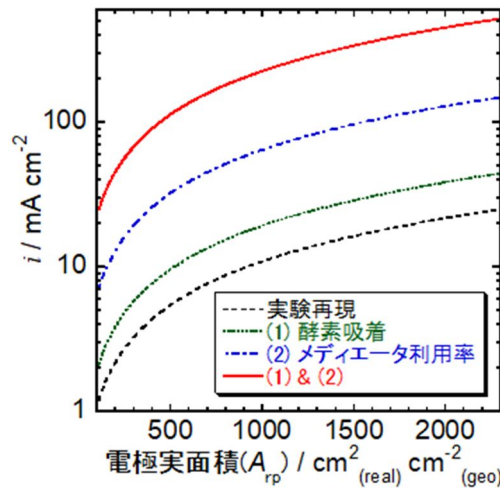


図3 電流密度へ制限要因の改善が与える影響³⁾

数値モデルにより、メディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度に固定化することが高電流密度化へ与える寄与が大きいことが示されたため、PEIとメディエータユニットの複合体形成について検討した。スパーサーが炭素鎖1つとなる(図2aの $m=1$)フェロセン誘導体をPEIへ導入したうえで、アントラセン二量体と複合化した。酵素グルコースオキシダーゼ(GOx)との反応性を電気化学測定により評価した結果、図4(a)へ示すように高い触媒電流密度が得られた。また、GOx非存在下での固定化メディエータの安定性として、過塩素酸ナトリウム存在下で電位掃引を繰り返し電位サイクルに対するフェロセン由来のピーク面積の保持率を測定したところ、図4(b)へ示すようにアントラセン二量体との複合化前のPEIユニット複合体のみを電極へ物理吸着させた場合と比較して、アントラセン二量体との複合化により保持率が増加した。したがって、アントラセン二量体への複合化によりメディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度かつ安定にカーボン電極表面上へ固定化できることが示された。

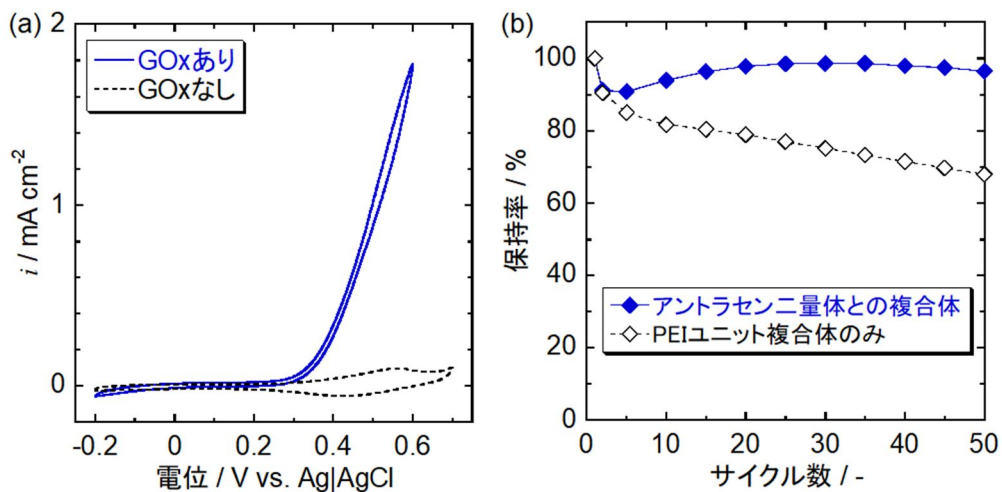


図4 PEIフェロセン複合体(炭素鎖1つのスパーサー)の(a)アントラセン二量体との複合化後のGOxとの反応性評価、および(b)アントラセン二量体との複合化が保持率へ与える影響

しかし、GOx存在下・酢酸緩衝液中で測定を行ったところ、アントラセン二量体との複合化後も電位サイクルに対して触媒電流が減少し、触媒電流の安定性が低いことが示された。これは、緩衝液中のアニオンを介したPEIとフェロセンカチオンの錯形成に由来する電気化学的失活によるものと考えられた。

そこで、炭素鎖 6 つ(図 2a の $m = 6$)のアルキル Spacer を介してフェロセンを固定化した。酵素グルコースオキシダーゼ(GOx)との反応性を電気化学測定により評価した結果、炭素鎖 1 つの Spacer の場合と比較して初期の触媒電流値はわずかに減少したものの、GOx と良好な反応性を示した。そこで、GOx 存在下・酢酸緩衝液中で触媒の保持率を評価したところ、電位サイクルに対して触媒電流が保持され、高電流密度と触媒電流の高安定性を両立するメディエータ固定化法が明らかとなった。

さらなる高電流密度・触媒電流の高安定性へ向けた酵素/カーボンの界面構造制御として、酵素とメディエータの接近性やポリマー鎖の可動性に着目し、図 5 に示すように PEI への親水ユニット導入、PEI ポリマー鎖長・複合体の修飾密度の変化、PEI 間の架橋構造の導入を行った。

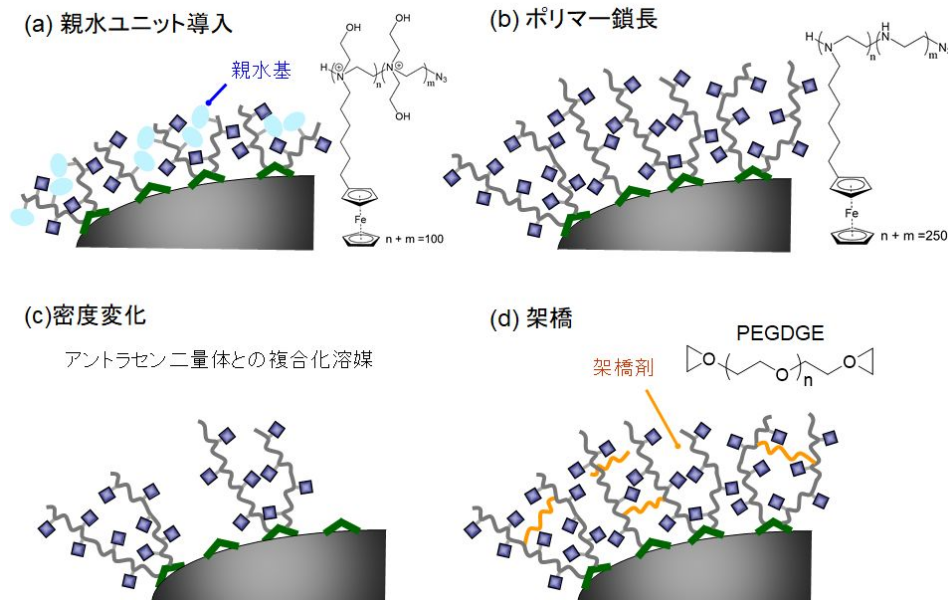


図 5. 酵素/カーボンの界面構造制御 (a)PEI への親水ユニットの導入、(b)PEI ポリマー鎖長の変化、(c)複合体の修飾密度の変化、(d)架橋構造の導入、

親水ユニットの導入では電流密度・触媒電流の安定性ともに大きな変化はなく、ポリマー鎖長や修飾密度を増加させたところ触媒電流の安定性が低下した。触媒電流の安定性の低下は、PEI とフェロセンカチオンの錯形成による電気化学的失活の促進が要因と考えられた。そこで、ポリマー鎖の可動性を抑制するために、PEI 間の架橋を行ったところ、触媒電流の安定性は向上した。一方で、初期の触媒電流値は減少し、高電流密度・触媒電流の高安定性の両立には、適切な可動性が存在することが示された。

以上の結果、アントラセン二量体へメディエータユニットを導入した PEI を複合化することにより、メディエータを酵素との高い反応性を有する状態で高密度かつ安定にカーボン表面へ固定化できることが示された。一方で、フェロセンと PEI との複合化では、緩衝液中のアニオンを介した PEI とフェロセンカチオンの錯形成に由来する電気化学的失活により触媒電流の安定性が低下することも明らかとなった。触媒電流の安定性はポリマー骨格とフェロセン間の Spacer 長さの増加や架橋構造の導入により向上することが示され、高電流密度・触媒電流の安定性の両立には、適切な可動性が存在することが示された。

< 引用文献 >

- 1) Tamaki T., Yamaguchi T. et al., *Fuel Cells*, **9**, 37-43 (2009)
- 2) Kondo K., Yoshizawa M. et al., *Chem. Euro. J.*, **21**, 12741-12746 (2015)
- 3) Tamaki T., Yamaguchi T. et al., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **61**, 4504-4513 (2022)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tamaki Takanori, Sugiyama Tomoharu, Yamaguchi Takeo	4. 巻 34
2. 論文標題 Degradation of 2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid) in the Presence of Laccase	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 3155 ~ 3161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM3905	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 田巻 孝敬	4. 巻 71
2. 論文標題 レドックスポリマーを用いた酵素型バイオ燃料電池	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 高分子	6. 最初と最後の頁 483 ~ 487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamaki Takanori, Nishigaya Ryutaro, Yamazaki Ryota, Yamaguchi Takeo	4. 巻 61
2. 論文標題 Numerical Modeling and Experiment of a Thin-Film Enzyme Electrode with an Enzyme Adsorption Experiment to Design High-Current-Density Biofuel Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Industrial & Engineering Chemistry Research	6. 最初と最後の頁 4504 ~ 4513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.iecr.1c04210	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田巻 孝敬
2. 発表標題 酵素型バイオ燃料電池における レドックスポリマー薄層ゲルの形成
3. 学会等名 第33回日本MRS年次大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 氏田峻ノ介, 田巻孝敬
2. 発表標題 酵素型バイオ燃料電池の色素系レドックスポリマーの開発
3. 学会等名 第33回九州地区若手ケミカルエンジニア討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久原友希, 田巻孝敬, 山口猛央
2. 発表標題 多電子酵素酸化系を志向したNAD酸化用メディエータ固定電極の開発
3. 学会等名 化学工学会第53回秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田巻孝敬
2. 発表標題 バイオ燃料電池の高電流密度化へ向けたレドックスポリマーのカーボンへの薄層固定
3. 学会等名 第32回日本MRS年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田巻孝敬
2. 発表標題 酵素型バイオ燃料電池および高選択エチレン生成へ向けたCO ₂ 電解における触媒設計と劣化挙動
3. 学会等名 第16回 触媒劣化セミナー (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久原友希, 田巻孝敬, 山口猛央
2. 発表標題 多段階酵素反応系を志向したNAD酸化用メディエータ固定薄層ゲル電極の開発
3. 学会等名 化学工学会第88年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久原友希, 田巻孝敬, 山口猛央
2. 発表標題 多段階酵素反応系を志向したNAD酸化用メディエータ固定薄層ゲル電極の開発
3. 学会等名 電気化学会第90回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山崎諒太, 田巻孝敬, 吉沢道人, 山口猛央
2. 発表標題 アントラセン二量体-ポリマー複合体による酵素型バイオ燃料電池の高電流密度化
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎諒太, 田巻孝敬, 吉沢道人, 山口猛央
2. 発表標題 アントラセン二量体-ポリエチレンイミン複合体による酵素型バイオ燃料電池の高電流密度化
3. 学会等名 分離技術会2021シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田巻孝敬
2. 発表標題 酵素・メディエータを物理吸着させた薄層電極の実験およびモデル計算による解析
3. 学会等名 第31回日本MRS年次大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎諒太, 田巻孝敬, 吉沢道人, 山口猛央
2. 発表標題 直鎖ポリエチレンイミンを用いた酵素型バイオ燃料電池の高電流密度化へ向けた表面設計
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 富永昌人（分担執筆：田巻孝敬）	4. 発行年 2022年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 410
3. 書名 近未来のデジタルヘルスを支える酵素バイオ技術（分担執筆：第III編 電極材と電極界面の開発技術 第5章 高分子型メディエータ固定化電極）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山崎 諒太 (Yamazaki Ryota)	東京工業大学・大学院生 (12608)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	久原 友希 (Kuhara Yuki)	東京工業大学・大学院生 (12608)	
研究協力者	吉沢 道人 (Yoshizawa Michito)	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授 (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関