

グルコースを用いたバイオ電池の開発

戸木田裕一

1. はじめに

植物は太陽から降り注ぐ光のエネルギーを、水と二酸化炭素を伴いながら光合成というきわめて巧みなシステムを用いて、ブドウ糖をはじめとする炭水化物（化学エネルギー）に変換する。一方、動物は呼吸システムにより（酸素を利用）、炭水化物を水と二酸化炭素に分解することで、生命維持のための活動エネルギーを得ている。では生命はなぜブドウ糖のような炭水化物をエネルギー源に選んだのであろうか。その答えをここで一義的に述べることはできないが、一つの理由としては、ブドウ糖が非常にエネルギー密度の高い物質であるということが出来る。たとえばブドウ糖を多く含むご飯1杯（100 g）は160 kcalのエネルギーを有し、これを市販の単三電池に換算すると64本分に相当する。もう一つの理由として考えられるのが、ブドウ糖自身がきわめて安定な物質であることがあげられる。安定であるということは、取り扱いが容易であり、自己崩壊現象に伴う急激なエネルギー放出により、自分自身が傷ついたり、生命維持自体ができなくなったりするようなことがないことを意味している。これは生命体を維持するためのエネルギー源としてはとても大事な要素である。では安定なブドウ糖から生命体はどのようにエネルギーを取り出しているのだろうか。ここで登場するのが生体触媒である酵素である。酵素は生体内においてきわめて特異的な反応を加速させることが知られており、ブドウ糖のような分解しにくい物質においても、何種類もの酵素を用いることにより、二酸化炭素まで分解することが知られている（解糖系）。生体内ではこの分解に伴い生じる電子とプロトンの流れを利用して、エネルギーをさまざまな形（熱エネルギーや他の化学エネルギーなど）に変えながら生命活動を維持するわけである。

バイオ電池はこの生命の巧みなエネルギー獲得システムの中心を担っている酵素の力を借りて、電気エネルギーをブドウ糖のような炭水化物から直接取り出す電池のことをいう¹⁾。バイオ電池には大きく分けて微生物型と酵素型の2種類に分けることができる。前者はブドウ糖を分解するのに微生物を用いるもので、糖を完全分解することができるというメリットがある。しかしながら

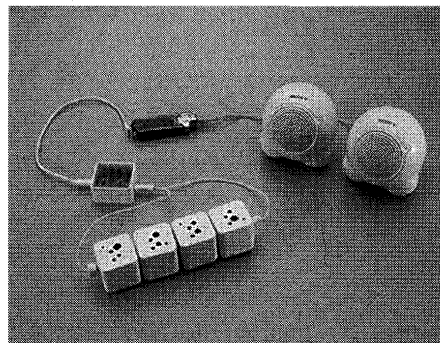


図1. バイオ電池によるウォークマンのデモンストレーション (<http://www.sony.net/SonyInfo/News/Press/200708/07-074E/index.html>)

ブドウ糖分解時に発生する電子やプロトン効率よく電極に受け渡すことが困難であるため、その出力は電極面積あたり1 W/m²、体積あたり10 W/m³に留まっている¹⁾。一方、後者では、ブドウ糖を分解するのに微生物そのものではなく、生体中に存在する酵素を用いている。この方法では、ブドウ糖分解時に発生する電子やプロトンは微生物電池の系と比較すると、現状格段に効率が高く、その出力は直接電子移動型で電極面積あたり0.9 mW/cm²を示し²⁾、メディエーター型では著者らのグループにおいて電極面積あたり1.5 mW/cm²、体積あたり1.25 mW/cm³の出力を達成している³⁾（図1）。本稿では、著者らが進めているパッシブ型バイオ電池の研究開発において、2007年8月に発表した1.5 mW/cm²を達成した技術の概要³⁾、および現時点での最高出力値（3.0 mW/cm²）を達成した技術について紹介し⁴⁾、今後の課題や展望について言及する。

2. バイオ電池のしくみ

バイオ電池の概略を図2に示す。主な構成部は負極、正極、電解質、セパレーターであり、通常の燃料電池と類似した構造を有している。特徴は負極、正極に用いる触媒に生体触媒である酵素を固定している点である。負極側でブドウ糖が分解され、プロトンと電子が発生する。そして、プロトンはセパレーターを介して正極側に、電子も外部回路を介して正極側に移動する。正極では負極から流れてきたプロトンと電子を用いて、酸素の還元反

特 集

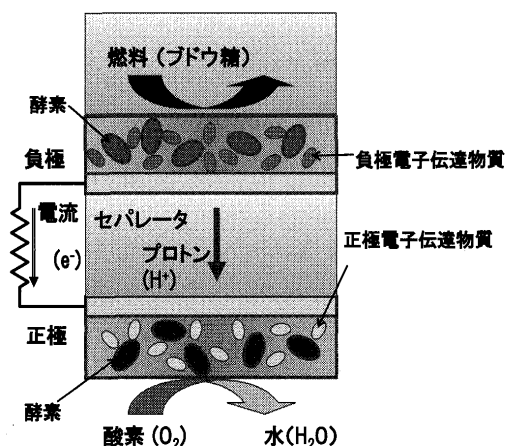


図2. バイオ電池のしくみ

応（水の生成反応）を酵素の力を借りて行い、生成した水は最終的に系外に放出される。この負極反応と正極反応が電解質を介して連動することによりプロトンと電子の流れを作り、電気エネルギーを発生させる。

3. パッシブ型バイオ電池の要素技術

著者らは2007年に、面積あたり 1.5 mW/cm^2 、体積あたり 1.25 mW/cm^3 の出力を達成したことをプレス発表した³⁾。3.1 から 3.3 でこの出力を達成した要素技術について紹介する。そして 3.4 では 3.0 mW/cm^2 を達成した最新技術について紹介する⁴⁾。

3.1. 負極酵素固定化電極の最適化 バイオ電池を構成する電極には酵素が固定化されているが、電池として機能させるためには、その固定化状態がさまざまな要件を満たす必要がある。一つは、生体内で働く酵素（グルコースデヒドロゲナーゼ：GDH、ジアホラーゼ：DI）を生体外で、それも多孔質カーボン電極上に固定した状態で、酵素活性を保持させる必要があるという点である。また、電極上には酵素だけでなく、酵素間や酵素－電極間の電子のやり取りを行う電子伝達物質（ビタミン K_3 ：VK3、ニコチアミドジヌクレオチド（NAD(H)））も同時に電極上に固定化する必要がある。これらの要件を満たす固定化方法として、著者らはアニオン性ポリマーであるポリアクリル酸とカチオン性ポリマーであるポリ-L-リシンを用いたポリイオンコンプレックス法を採用した。この方法を用いることにより、グラッシーカーボン電極上に高密度に酵素や電子伝達物質を、酵素活性を保持したまま固定化することに成功し、図3に示すように酵素電極としては非常に大きな電流値を獲得することに成功した（ $700 \mu\text{A/cm}^2$ ）。また、この固定化方法をそのまま多孔質電極に適用したところ、 0.1M 、 $\text{pH}7.0$ のリン酸ナトリウム緩衝溶液中で 3 mA/cm^2 の電流を得ること

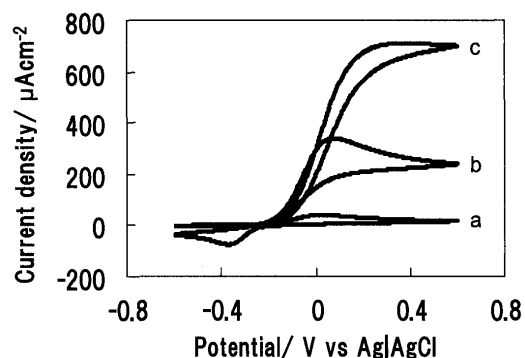


図3. バイオ負極の触媒電流値。 (a), (b), (c) はそれぞれ0, 10, 400 mMのブドウ糖溶液。

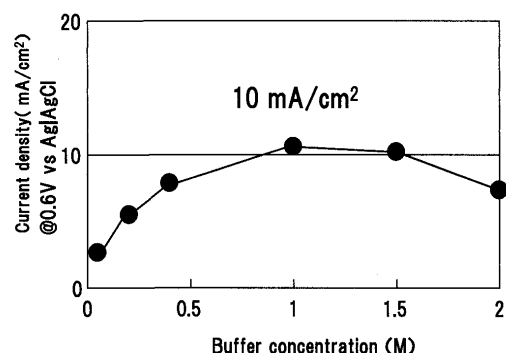


図4. 負極電流密度のリン酸緩衝溶液濃度（電解質濃度）依存性

ができた。

3.2. 電解質濃度の最適化 次に、電解質であるリン酸ナトリウム緩衝溶液の濃度に着目し、濃度の最適化を行った。一般に、酵素を取り扱う場合、リン酸ナトリウム緩衝溶液では 0.1M 前後を使用するのが常識である。主な理由は、緩衝溶液の濃度を生体内の塩濃度近辺にもってこえることで、酵素などのタンパク質の居心地を良くしてあげるということである。この常識に従うと、緩衝溶液の濃度を極端に上げるということは異常であり、実際にあまり検討されてこなかった。著者らは、酵素が電極に固定化された場合、通常の酵素の挙動とは異なるという感触を得ていたことから、緩衝溶液濃度に関しても常識にとらわれずに、大きく濃度を変化させてみた。結果を図4に示す。この結果を見ると、濃度 1M のところに極大点を示しており（ 10 mA/cm^2 ）、高濃度領域においても固定化された酵素は活性を十分に保っていることがわかった。電流値向上の原因は、現在のところはっきりとしたことは言えないが、緩衝溶液濃度向上による溶液抵抗の低減や多孔質電極内の pH 維持能力の向上などの要因が考えられる。

3.3. 正極構造の改良 正極は負極と違って、酵素と反応する基質が気体である酸素という点が大きな特徴で

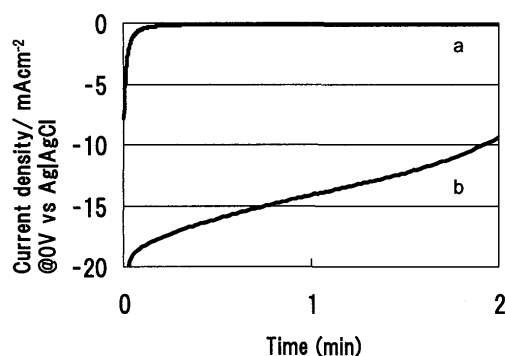


図5. バイオ正極のクロノアンペロメトリー, (a) は浸水型, (b) は大気開放型

ある。酵素（ビリルビンオキシダーゼ）は電極上に固定されているので、状態としては固体である。そして、酵素自身は溶液中でないと反応しないので、反応場は液体である。このように気体、固体、液体の三相が必要となる特殊な反応場を作る必要がある。実際、酸素の水溶液中の溶解度は低く（0.25 mM）、拡散速度も空気中（ $1.8 \times 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ）に比べて水溶液中では極端に低いため（ $2.0 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ）、液中に電極を沈めてしまうと、攪拌や酸素を強制的に正極に送り込むようなことをしないとほとんど電流を得ることができない。そこで、著者らは気体、固体、液体の三相界面を作りこむために、電極構造に工夫を加えた。この電極の特徴は、酵素を固定化した電極を空気に曝す状態にする。そして、反対側にセロファンの膜を置き、その先に電解質溶液（緩衝溶液）を配置する。このようにすると、適度な電解質溶液が酵素電極側に染み込み、うまく三相界面を形成することで、1分後で 14.1 mA/cm^2 という大きな電流をとることに成功した（図5）。

3.4. 新規負極用電子メディエーターの導入

上記3.1～3.3までの技術で、 1.5 mW/cm^2 を達成したわけであるが、既存の燃料電池、たとえばダイレクトメタノール型燃料電池（DMFC）などと出力（数 10 mW/cm^2 ）を比較するとまだまだ小さく、実用化を考えた場合、さらに出力を向上させなくてはならないことは明白である。またDMFCでは開回路電圧が0.6V、実用動作電圧が0.3V程度であるのに対して、著者らのバイオ電池では、適当な電子メディエーターを選択することにより、開回路電圧、実用動作電圧ともに上げることが可能である。実際にVK3を負極の電子メディエーターに用いた場合には開回路電圧0.8V、実用動作電圧0.3Vであり、電圧に関してはDMFCと比較しても同等かそれ以上の性能を有している。そこで筆者らは、さらに出力を向上させるために、効率のよい負極用電子メディエーターの探索を

行った。

電子メディエーターは言うまでもなく、メディエーター型のバイオ電池において、大変重要な役割を果たしている⁵⁻⁷⁾。負極の電子メディエーターの場合、その酸化還元電位はより低く、そして触媒電流値はより高い値を示す必要がある。しかしながら、実際には拡散律速領域を除き、触媒電流値と酸化還元電位は一般的に比例関係にあることから（linear free energy relationship⁸⁾、この要件はトレードオフの関係にある。そこで筆者らは、理想的な性質を有する（より低い酸化還元電位をもちながら、高い触媒電流値を有する）電子メディエーターを探索するために、コンピュータシミュレーションによるスクリーニングを実行し、2-アミノ-1,4-ナフトキノン（ANQ）が高い性能を有することを発見した。以下にシミュレーション、およびANQを用いた酵素電極の性能について詳述する。

3.4.1. コンピュータシミュレーションによるスクリーニング コンピュータシミュレーションにはアクセルリス社のTsarプログラムを用いた。図6に示すナフトキノン骨格の2位と3位を103種類の置換基（Tsar内の構造データベース）で置換することで、5304種類のナフトキノン類をコンピューター上に発生させた。その後、Tsarに組み込まれている半経験的分子軌道プログラムであるVAMPを用いて、発生させたすべてのナフトキノンの構造最適化を行い（PM3法）、最低空軌道（LUMO）のエネルギーを、式1に従って解析した。式1は酸化還元電位が分子のLUMOのエネルギーと比例関係にあることを表した経験式で、

$$E_{1/2} = a\varepsilon_{\text{LUMO}} + b \quad (1)$$

$E_{1/2}$ はナフトキノン類の酸化還元電位、 $\varepsilon_{\text{LUMO}}$ はLUMOのエネルギー、 a と b は定数である⁹⁾。またこれとは別に、全ナフトキノン類のLogPの値（溶解度パラメータ）もTsarを用いて計算した。酸化還元電位は既存のメディエーターであるビタミンK₃（VK3, -0.22V ）や2-アミ

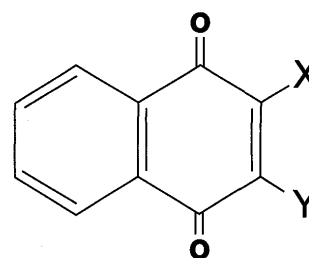


図6. ナフトキノンの基本骨格。XとYは置換基導入位置。

特 集

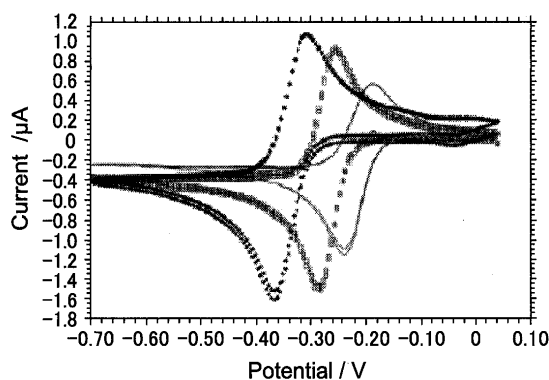


図7. VK3 (実線), ACNQ (□), ANQ (◆) のサイクリックボルタメトリー. メディエーター濃度は0.1 mM, 掃引速度は5 mV/s, 電解液はリン酸ナトリウム緩衝溶液 (0.1 M, pH 7.0).

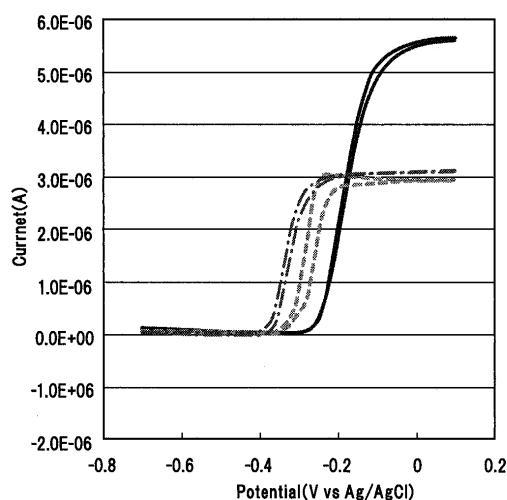


図8. VK3 (—), ACNQ (---), ANQ (- - -) のサイクリックボルタメトリー. メディエーター濃度は0.1 mM, DI濃度は0.16 mM, NADH濃度は10 mM, 掃引速度は5 mV/s, 電解液はリン酸ナトリウム緩衝溶液 (0.1 M, pH 7.0).

ノ-3-カルボキシ-1,4-ナフトキノン (ACNQ, -0.26V) よりも0.1Vほど卑である -0.35V を, LogPは酵素電極作成時に最適な -0.5 をターゲットとしてスクリーニングを行った.

3.4.2. 負極用電子メディエーターとしてのANQの性質 図7にVK3, ACNQおよびANQのCVを示す. ANQはVK3やACNQと同様に可逆のCVを示し, その酸化還元電位は -0.36V となった. これはシミュレーションからすると想定どおりである. 一方, DIとの触媒電流値は, LFERの観点からすると, ANQの値はかなりVK3やACNQと比較して小さくなることが予想される⁸⁾. しかしながら図8に示すようにDI-ANQの反応は予想に反してかなり大きく, 触媒電流値の立ち上がり電位がACNQと比較して低くなっているにもかかわらず, 同等の触媒電流値を示すことがわかった. この要因はいまの

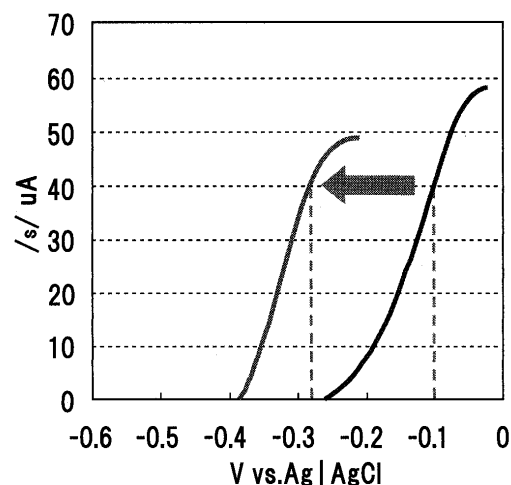


図9. VK3 (—) とANQ (---) を用いた固定化電極のリニアスイープボルタメトリー. 掃引速度は5 mV/s, 電解液はリン酸ナトリウム緩衝溶液 (0.1 M, pH 7.0).

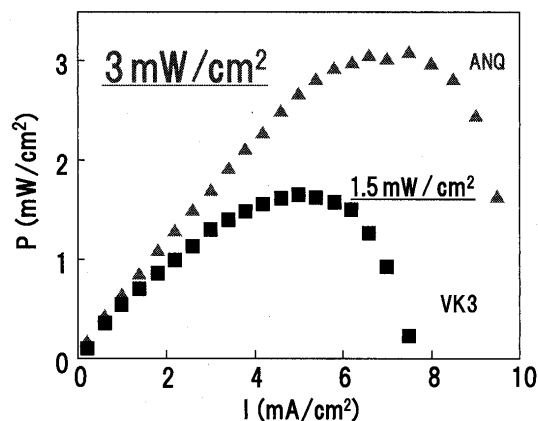


図10. バイオ電池の電流-出力密度曲線. ■はVK3を用いた場合, ▲はANQを用いた結果.

ところ明らかではないが, バイオ電池の電子メディエーターとしては, 理想的な性質を有することから, 固定化系においても同様の性質を示すかどうかの検討を行った. ポリ-L-リシン ($M_w = 513000$) とグルタルアルデヒドを用いて, DIとVK3もしくはANQをGC電極に固定化し, LSVの測定を行った⁴⁾. 結果を図9に示す. この図から明らかなように, 固定化電極の系においても, ANQの系はVK3の系と比較して, 約0.2V触媒電流の立ち上がり電位が卑側にシフトしており, なおかつ高い触媒電流値を維持していることがわかる.

セル特性

次に, 実セルでの測定結果を図10に示す. 電子メディエーターがVK3の場合, 開回路電圧が0.8V, 最高出力時の動作電圧が0.3Vで 1.5 mW/cm^2 を示した³⁾. VK3を

メディエーターに用いて、昨年多層セルを作製し、 1.25 mW/cm^2 というパッシブ型バイオ電池としての世界最高出力を達成している。この多層セルを直列に4個つなぐことで、図1に示すようにメモリー型ウォークマンの2時間連続再生に成功した³⁾。これは、世界初のバイオ電池を用いた実デバイス動作のデモンストレーションである。電子メディエーターにANQを用いた場合、開回路電圧が0.9V、最高出力時の動作電圧が0.5Vで 3.0 mW/cm^2 を達成した⁴⁾。この値はプレス発表時の倍の値であり、今後さまざまな技術を導入することで、更なる出力の向上が期待される。

おわりに

本稿ではパッシブ型高出力バイオ電池の要素技術について紹介した。負極酵素固定化方法、電解質濃度の最適化、正極電極構造の改善、および新規負極用電子メディエーターの導入により、大きな出力をとることがわかった。バイオ電池は、まだまだ技術的課題は多くあるが、本質的に炭水化物のような優れた燃料（環境親和性が高く、エネルギー密度も高い）を利用できることから、次

世代エネルギーデバイスとして有望である。今後、出力向上もさることながら、信頼性の向上も重要になってくことは明らかであり、学際的な業界の盛り上がりが期待される。

研究全般に関して有意義なアドバイスをいただいた京都大学の加納健司教授、辻村清也助教、福井県立大学の池田篤治教授に、この場をお借りしてお礼申し上げます。

文 献

- 1) Ikeda, T.: *Practical Bioelectrochemistry -Recent Developments in Biosensors & Biofuel Cells-*, CMC Publishing, Tokyo (2007) [in Japanese].
- 2) Kamitaka, Y. *et al.*: *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **9**, 1793 (2007).
- 3) Sakai, H. *et al.*: *Energy Environ. Sci.*, **2**, 133 (2009).
- 4) Tokita, Y. *et al.*: *ECS Trans.*, **13**, 89 (2008).
- 5) Tsujimura, S. *et al.*: *J. Electroanal. Chem.*, **496**, 69 (2001).
- 6) Katz, E. *et al.*: *J. Electroanal. Chem.*, **479**, 64 (1999).
- 7) Chen, T. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 8630 (2001).
- 8) Kano, K. and Ikeda, T.: *Anal. Sci.*, **16**, 1013 (2000).
- 9) Hoijtink, G.: *Rec. Trav. Chim.*, **74**, 1525 (1955).



糖鎖のはなし

平林 淳 著 B6判, 176 頁, 定価1,470円, 日刊工業新聞社

直球勝負なタイトルである。だからといって、藤川球児のような豪速球がくるのではないかと身構える必要はない（ここ最近の様子をみるとちょっと無理のある例えですが期待を込めて）。本書の約半分は糖化学の良い入門編になっていて、いきなり Man だの GlcN だのという記号に振り回されることはない。また、糖と生命の関わりについて生化学者の視点からの記述のみで終わるのではなく、糖の起源について化合物の安定性や反応性から考察されている点が興味深い。こんな風に著者の思いが縦横に語られるのも教科書ではない本書の良さであろう。後半は糖鎖の基本的な合成経路やその役割についての解説に始まり、糖鎖のプロファイリング法、グライコプロテオミクスなどの先端的な分析手法から糖鎖の産業利用の展望へと話が広がっていく。この辺りにくると話題が多岐にわたるので、詳細な解説というよりは筆者の仕事も含めた糖鎖研究のトピックス紹介という趣になる。そういうわけで本書を一通り読めば、糖化学の基礎を踏まえたうえで、糖鎖研究の現状と課題が俯瞰できるという構成になっている。あくまで一般向けの本であろうが、基礎から応用まですっきりとした構成になっているため、授業でも十分使える本だと感じられた。ただし、本書のみで授業を進めるのではなく、他の資料なども使い内容をより深く検証するようなやり方が良いと思う。特に前半の糖化学の基礎や糖の起源については、分子模型やソフトを使って立体構造を組み立てることができれば、さらに理解が深まると思われる。一点、本書について些細な文句をつけたいことは化学のルールに則した記載がなされていないことである。N-アセチルグルコサミンはN-アセチルグルコサミンでなければならないし、L-フコースはL-フコースでなければならない。これについては出版社側の方針であるのかもしれないが、私個人としては一般向けの本であろうがなかろうが専門用語の記述は正確を期さなければならないと考えている。球界においても学界においてもプロの世界は厳しいのだ。

（大阪大学大学院工学研究科 岡澤敦司）