

## 海水中に固定化された炭酸塩を燃料としたメタノール生成機能を持つ 光駆動型酵素電池

天尾 豊

大分大学工学部

**概要** 地球温暖化防止京都会議において二酸化炭素削減に関する議定書が締結されており、二酸化炭素による地球温暖化現象は国際社会においても早急に解決すべき問題である。京都議定書の約束期間の第1期は、2008年～2012年の5年間であり、二酸化炭素の総排出量世界第4位の日本は最大で6%の二酸化炭素削減を約束している。これを達成するためには、二酸化炭素の排出を抑制するだけでなく、大気中の二酸化炭素を大幅に削減あるいは利用する技術開発が必要である。さらには2009年国連地球変動サミットで「日本は2020年までに1990年比で25%の温室効果ガスを削減する」と明言されたことから、二酸化炭素も大幅に削減する技術も同時に必要となっている。大気中や海洋中に豊富に存在する水と二酸化炭素を原料として積極的に利用しメタノールなどの有用な有機化合物に変換できれば、二酸化炭素の削減と有用物質生産の2つの目標を達成できる。海洋に固定化された二酸化炭素はプランクトンや藻類によって吸収され、長い年月の末、最終的には石油として再利用される。一方、短期間で海洋中に固定化された二酸化炭素を利用する技術開発も望まれている。海水中において二酸化炭素は炭酸塩の形で溶解しており、海水を直接原料としてメタノールなどの燃料として有用な有機化合物に変換できれば、海水の燃料としての新たな利用方法の確立につながる。

本研究では、多糖類バイオマスと海水中に含まれる炭酸塩を原料とし、太陽光エネルギーで発電しながらメタノールを同時に生産できる酵素燃料電池を構築することを目的としたものである。

今回はメタノール生成機能を持つ光駆動型酵素電池を達成する第一段階として、FDHおよび長鎖アルキルピオローゲンを固定したITO電極を用い、光照射による発電に伴う二酸化炭素の消費及びギ酸の生成について検討した。ギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の光起電力・電流応答を調べた結果、光照射・未照射のサイクルに対応して、光電流値・光起電力の増減が見られたことから、光照射によって電子サイクルが駆動し、発電していることが示唆された。さらに光照射による発電時における電解質溶液中の成分を分析した結果、発電中に炭酸水素イオンが還元され減少するとともに、ギ酸が生成した。1時間発電させることによって10 mMのギ酸が生成した。このことから光照射によって炭酸水素イオンを削減しながら発電し、さらに低炭素燃料となりうるギ酸を生成させることができた。

### 1. 研究目的

地球温暖化防止京都会議において二酸化炭素削減に関する議定書が締結されており、二酸化炭素による地球温暖化現象は国際社会においても早急に解決すべき問題である。京都議定書の約束期間の第1期は、2008年～2012年の5年間であり、二酸化炭素の総排出量世界第4位の日本は最大で6%の二酸化炭素削減を約束している。これを達成するためには、二酸化炭素の排出を抑制する

だけでなく、大気中の二酸化炭素を大幅に削減あるいは利用する技術開発が必要である。さらには2009年国連地球変動サミットで「日本は2020年までに1990年比で25%の温室効果ガスを削減する」と明言されたことから、二酸化炭素も大幅に削減する技術も同時に必要となっている。大気中や海洋中に豊富に存在する水と二酸化炭素を原料として積極的に利用しメタノールなどの有用な有機化合物に変換できれば、二酸化炭素の削減と有用物質生産の

2つの目標を達成できる。海洋に固定化された二酸化炭素はプランクトンや藻類によって吸収され、長い年月の末、最終的には石油として再利用される。一方、短期間で海洋中に固定化された二酸化炭素を利用する技術開発も望まれている。海水中において二酸化炭素は炭酸塩の形で溶解しており、海水を直接原料としてメタノールなどの燃料として有用な有機化合物に変換できれば、海水の燃料としての新たな利用方法の確立につながる。これまでに、筆者らはバイオマスを原料とした光で作動する酵素燃料電池について報告をしている<sup>[1-6]</sup>。このシステムに二酸化炭素や海水中に含まれる炭酸塩を燃料に変換可能な機能を付与できれば新しいエネルギー創製技術に展開できる。

そこで本研究では、多糖類バイオマスと海水中に含まれる炭酸塩を原料とし、太陽光エネルギーで発電しながらメタノールを同時に生産できる酵素燃料電池を構築する。本研究で構築される酵素燃料電池は、太陽光エネルギーを利用、バイオマスと海水を原料とし、二酸化炭素を削減しながら発電し、さらに同時に低炭素燃料であるメタノールの生産を可能とすることを目的としたものである。

具体的なメタノール生成機能を持つ光駆動型酵素電池の構成を Fig. 1 に示す。酵素燃料電池は光合成色素クロロフィル誘導体分子クロリン e<sub>6</sub> (Chl-e<sub>6</sub>) を固定した酸化チタン薄膜電極(電極 A)、電子伝達分子吸着層の上にギ酸 (FDH)・アルデヒド (AldDH)・アルコール脱水素酵素 (ADH) を固定した電極(電極 B)、電極 A 側にはグルコース・グルコース脱水素酵素 (GDH) および NADH 生成反応溶液(バイオマス燃料)を加え、プロトン透過隔膜を介して

電極 B 側には炭酸塩を含む海水を電解溶液として用いる。電極 A に光を照射すると発電するとともに電極 B では炭酸塩がメタノールに変換される。今回はメタノール生成機能を持つ光駆動型酵素電池を達成する第一段階として、電極 B として FDH および長鎖アルキルピオローゲンを固定した ITO 電極を用い、光照射による発電に伴う二酸化炭素の消費及びギ酸の生成について検討した。

## 2. 研究方法

### 2.1 試薬

ギ酸脱水素酵素 (FDH) 及びアルデヒド脱水素酵素 (AldDH) はロシュ製のものを購入してそのまま用いた。アルコール脱水素酵素 (ADH) はオリエンタル酵母から購入したものをそのまま用いた。クロリン e<sub>6</sub> (Chl-e<sub>6</sub>)、グルコース脱水素酵素 (GDH) 及び NAD<sup>+</sup> は和光純薬より購入した。その他の試薬は特級試薬を購入し用いた。

### 2.2 長鎖アルキルを有するピオローゲン分子の合成

合成スキームを Fig. 2 に示す。最初に 4,4'-ビピリジンの 4 位の窒素をメチル化したヨウ化 1-メチル-4,4'-ビピリジニウム (VCH<sub>3</sub>) を合成した。具体的には、4,4'-ビピリジン (0.16 mol) とヨウ化メチル (0.18 mol) とを 400 ml のアセトンに溶解し、1 リットルのナス型フラスコ中、室温で攪拌しながら 24 時間反応させた。生成物 VCH<sub>3</sub> は黄色沈殿として得られた。吸引ろ過後、アセトンで洗浄し、エタノール-水混合溶媒から再結晶した。

次に、VCH<sub>3</sub> の 4'位の窒素を 11-ブロモウンデカン酸で四級化し、長鎖アルキルを有するピオローゲン分子 CH<sub>3</sub>V(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>COOH を合成した。VCH<sub>3</sub> (0.34 mmol) を 150

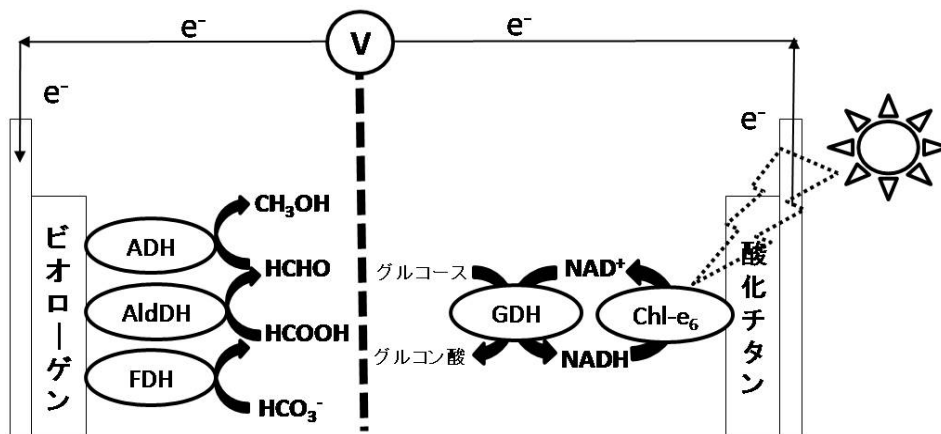


Fig. 1. Constructor of photo-operated bio fuel cell with the function of methanol production from HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> salt

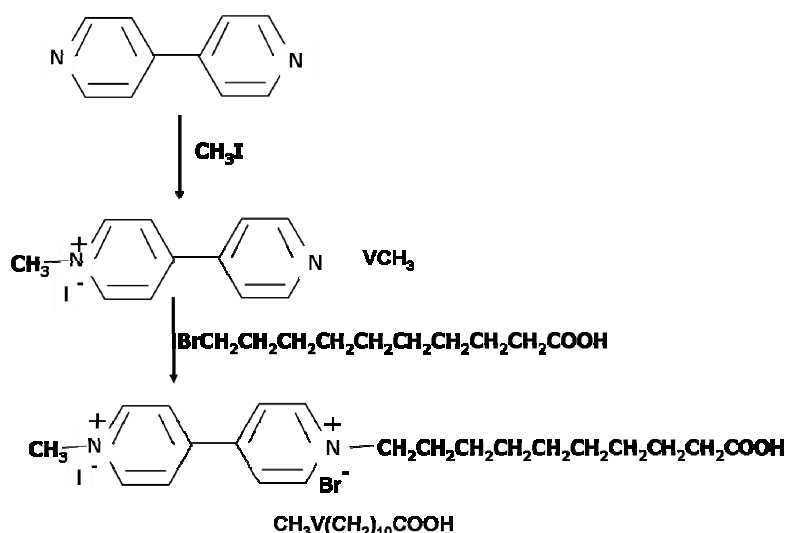


Fig. 2. Synthesis route of viologen molecule with long alkyl chain

mlのアセトニトリルに溶解し、10倍等量の11-ブロモウンデカン酸を加え、24時間加熱還流した。生成物 $\text{CH}_3\text{V}(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ は黄色沈殿として得られた。吸引る過後、アセトニトリルで洗浄し、エタノールから再結晶した。

### 2.3 ギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の構築

ギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池はFDHおよび長鎖アルキルピオローゲン固定電極をカソード極、Chl- $e_6$ 吸着酸化チタン薄膜電極をアノード極とし、グルコース、グルコース脱水素酵素(GDH)、 $\text{NAD}^+$ を含む溶液と炭酸水素ナトリウムを含む溶液を燃料として用いたものである。

アノード極 Chl- $e_6$ 吸着酸化チタン薄膜電極は以下の方法により調製した。洗浄した導電性ITOガラス基板に、酸化チタンペースト(P-25)を滴下し、薄く押し広げた。その後、電気炉で $450^\circ\text{C}$ 、30分間加熱焼成し、酸化チタン薄膜電極を作成した。これをChl- $e_6$ メタノール溶液に含浸しChl- $e_6$ 吸着酸化チタン薄膜電極を調製した。

カソード極はFDHおよび長鎖アルキルピオローゲンをITOガラス基板上に固定化したものを用いた。

Chl- $e_6$ 吸着酸化チタン薄膜電極側にグルコース、グルコース脱水素酵素(GDH)、 $\text{NAD}^+$ を含む溶液、FDH-長鎖アルキルピオローゲン固定電極側に炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、両極間を水素イオン透過膜で仕切り燃料電池を構築した。

光駆動型バイオマス燃料電池の発電特性は、以下ののような手法で評価した。

ギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の光電流応答特性は、一定時間ごとに光の照射・未照射を繰り返し、電流値の経時変化を調べた。具体的には、アノード極Chl- $e_6$ 吸着酸化チタン薄膜電極側から白色光を照射し、電流値の変化を測定した。光照射強度は $100\text{ mWcm}^{-2}$ である。

ギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の電流-電圧特性の測定は、電流計と電圧計及び $500\ \Omega$ の変抵抗を用いて測定した。測定回路をFig. 3に示す。得られた電流-電圧曲線から短絡電流( $I_{\text{SC}}$ )、開放電圧( $V_{\text{OC}}$ )、最大仕事量( $P_{\text{max}}$ )、及びフィルファクター( $ff$ )を求めた。ソーラーシミュレータを光源として用いアノード極側から光照射を行った。フィルファクターは以下の式(1)を用いて計算した。

$$ff = I_{\text{Ph}(\text{max})} V_{\text{Ph}(\text{max})} / I_{\text{SC}} V_{\text{OC}} \quad (1)$$

ここで、 $I_{\text{Ph}(\text{max})}$ と $V_{\text{Ph}(\text{max})}$ の積は、最大仕事量( $P_{\text{max}}$ )である。さらに、照射した光に対するエネルギー変換効率( $\eta$ )は以下の式(2)を用いて算出した。

$$\eta = I_{\text{SC}} V_{\text{OC}} ff / P_{\text{in}} \quad (2)$$

ここで、 $P_{\text{in}}$ は、入射光の強度で、本実験では $100\text{ mWcm}^{-2}$ である。

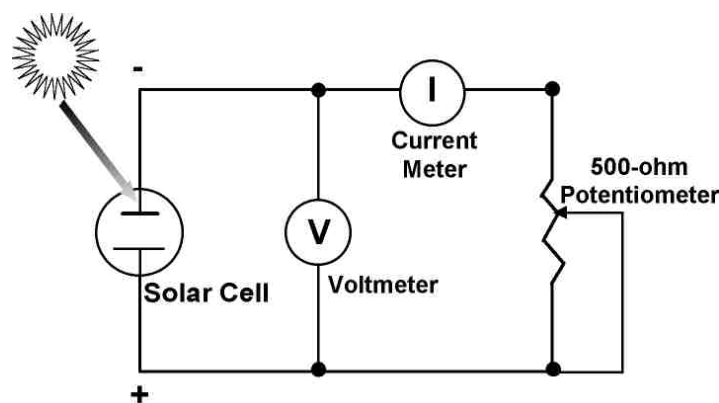


Fig. 3. Schematic representation of circuit of solar cell

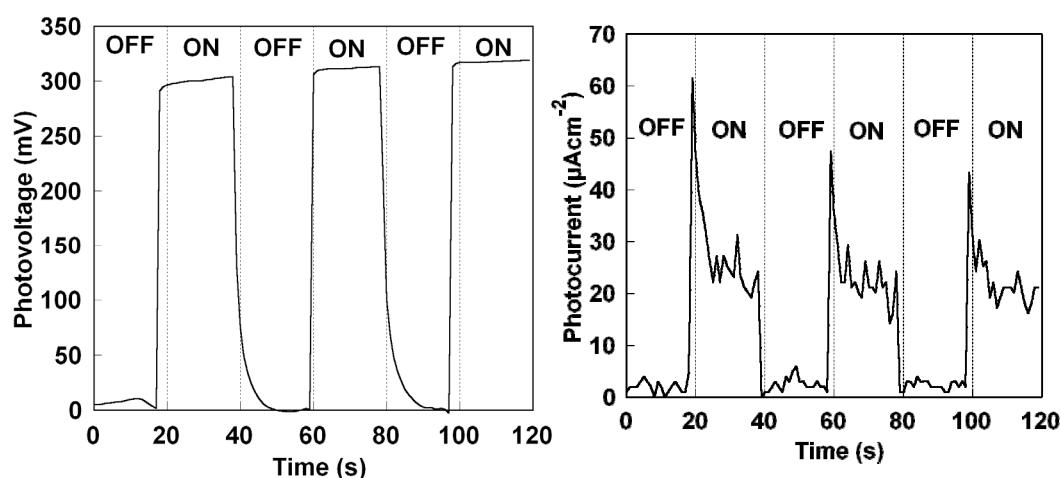


Fig. 4. Photovoltage (left) and current (right) response of visible light operated  $\text{HCO}_3^-$ -glucose enzyme fuel cell consisting of Chl- $e_6$  adsorbed on  $\text{TiO}_2$  layer onto OTE as an anode, FDH and viologen immobilized OTE as a cathode, and the solution containing glucose, GDH and  $\text{NAD}^+$  as a fuel under  $100 \text{ mWcm}^{-2}$  irradiation

### 3. 研究結果と考察

#### 3.1 光電流・起電力応答特性

最初にギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の光起電力・電流応答を調べた。具体的にはソーラーシミュレーター(光強度: $100 \text{ mWcm}^{-2}$ )を光源とし、一定時間ごとに光の照射・未照射を繰り返し、電圧値および電流値の経時変化を調べた。最初に光起電力応答を調べた結果を Fig. 4(左)に示す。白色光を照射すると起電力が約  $310 \text{ mV}$  まで上昇し、暗条件では直ちに電圧値が低下し、ほとんどゼロになった。また、光照射・未照射のサイクルに対応して、起電力の増減が見られた。次に、光電流応答を調べた結果を Fig. 4(右)に示す。白色光を照射すると電流値が約  $30 \text{ } \mu\text{Acm}^{-2}$  まで上昇し、暗条件では直ちに電流値が低下し、ほとんど電流が流れなくなった。また、光照射・未

照射のサイクルに対応して、光電流値の増減が見られることから、光照射によって電子サイクルが駆動し、発電していることが示唆された。

次にギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の発電特性について、電流-電圧曲線を調べた。Fig. 5 から開放電圧および短絡電流はそれぞれ  $380 \text{ mV}$  および  $38 \text{ } \mu\text{Acm}^{-2}$  と見積もることができた。さらに、これらの値から最大仕事量を求めると  $55 \text{ } \mu\text{W cm}^{-2}$  であった。

最後に光照射による発電時における電解質溶液中の成分を分析した。その結果、発電中に炭酸水素イオンが還元され減少するとともに、ギ酸が生成した。1時間発電させることによって  $10 \text{ mM}$  のギ酸が生成した。このことから光照射によって炭酸水素イオンを削減しながら発電し、さらに低炭素燃料となりうるギ酸を生成させることができた。

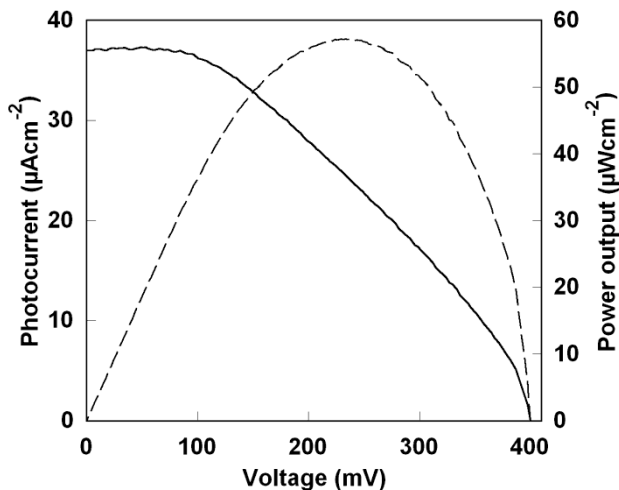


Fig. 5. Photocurrent-photovoltage characteristics of visible light operated  $\text{HCO}_3^-$ -glucose enzyme fuel cell irradiated with  $100 \text{ mWcm}^{-2}$ . Dash line indicated the photovoltage-power curve.

#### 4. 今後の課題

本研究では、多糖類バイオマスと海水中に含まれる炭酸塩を原料とし、太陽光エネルギーで発電しながらメタノールを同時に生産できる酵素燃料電池を構築する。本研究で構築される酵素燃料電池は、太陽光エネルギーを利用、バイオマスと海水を原料とし、二酸化炭素を削減しながら発電し、さらに同時に低炭素燃料であるメタノールの生産を可能とすることを目的とした研究を進めた。今回はメタノール生成機能を持つ光駆動型酵素電池を達成する第一段階として、FDH および長鎖アルキルピオローゲンを固定した ITO 電極を用い、光照射による発電に伴う二酸化炭素の消費及びギ酸の生成について検討した。ギ酸生成機能を持つ光駆動型酵素電池の光起電力・電流応答を調べた結果、光照射・未照射のサイクルに対応して、光電流値・光起電力の増減が見られたことから、光照射に

よって電子サイクルが駆動し、発電していることが示唆された。さらに光照射による発電時における電解質溶液中の成分を分析した結果、発電中に炭酸水素イオンが還元され減少するとともに、ギ酸が生成した。1 時間発電させることによって  $10 \text{ mM}$  のギ酸が生成した。このことから光照射によって炭酸水素イオンを削減しながら発電し、さらに低炭素燃料となりうるギ酸を生成させることができた。

以上のことから、本研究では、太陽電池、二酸化炭素の削減、低炭素燃料生成能を併せ持つ新しいタイプのバイオ燃料電池を構築することに成功した。

今後は、メタノール生成機能までを付与した光で駆動するバイオ燃料電池へと展開する予定である。

#### 参考文献

- 1) 天尾 豊: 光と糖類で発電するバイオ燃料電池, *燃料電池*, **8**, 94-99 (2008).
- 2) Amao, Y. and Takeuchi, Y.: Visible Light-operated Glucose- $\text{O}_2$  Biofuel Cell, *Int. J. Global Energy Issues*, **28**, 295-303 (2007).
- 3) 天尾 豊: バイオマスと可視光を利用した水素製造と燃料電池への展開, *ペテロテック*, **32**, 323-327 (2009).
- 4) Amao, Y. and Takeuchi, Y.: Visible light operated saccharide- $\text{O}_2$  biofuel cell based on the photosensitization of Chlorophyll derivative on  $\text{TiO}_2$  film, *Int. J. Hydro. Energy*, **33**, 2845-2849 (2008).
- 5) Amao, Y. and Maki, Y.: Development of Biomass-Oxygen Photoinduced Biofuel Cell, *Proceedings of 17th World Hydrogen Energy Conference* (2008).
- 6) 天尾 豊: デンプンを原料とした光駆動型バイオ水素生産と燃料電池への展開, *バイオサイエンスとインダストリー*, **67**, 258-262 (2009).

## Photo-Enzyme Cell using Fuel of Carbonate in Sea Water with the Function of Methanol Production

Yutaka Amao

Department of Applied Chemistry, Oita University

### Summary

Energy utilization of the biomass resources is important in the environmental science and the development of energy source research fields. Biomass resources based biofuel cells have been paid much attention for renewable energy utilization. We previously reported some photo-operated saccharide-O<sub>2</sub> biofuel cell. In these reports, the photo-operated glucose and sucrose-O<sub>2</sub> biofuel cells using chlorophyll-*a* derivative chlorin-e<sub>6</sub> (Chl-e<sub>6</sub>) adsorbed onto TiO<sub>2</sub> layer with optical transparent conductive glass plate electrode, platinum electrode and solution with enzymatic saccharide hydrolysis. By using formate dehydrogenase FDH and viologen immobilized electrode instead of platinum electrode, photo-operated saccharide-CO<sub>2</sub> enzyme fuel cell with formic acid production will be developed. Thus, CO<sub>2</sub> or HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (including sea water) reduces and the fuel produces while generating electricity with visible light irradiation to this enzyme-fuel cell.

In this work, new visible light operated HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (including sea water)-glucose enzyme fuel cell consisting of chlorin-e<sub>6</sub> (Chl-e<sub>6</sub>) adsorbed on TiO<sub>2</sub> layer onto optical transparent conductive glass electrode (OTE) as an anode, formate dehydrogenase (FDH) and viologen immobilized OTE as a cathode, and the solution containing glucose, glucose dehydrogenase (GDH) and NAD<sup>+</sup> as a fuel are developed.

The short-circuit photocurrent and the open-circuit photovoltage of this cell are 38 μA cm<sup>-2</sup> and 380 mV, respectively.

After 1 h irradiation to cell, 10 mM formic acid is produced. Thus, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> reduces and the fuel (formic acid) produces while generating electricity with visible light irradiation to this enzyme-fuel cell.