特集

バイオ燃料電池

エネルギー問題に関心が集まる昨今、糖、アルコール、ビタミンなどの生体関連物質を燃料に用いるバイオ燃料電池が注目されている。バイオ燃料電池は、適当な電極触媒を利用することによって生体関連物質の効率的な電気化学反応を導いている、一般に、バイオ燃料（生体関連物質）のアノード反応と酸素のカソード反応を組み合わせ、発電することが可能となる。本特集では、バイオ燃料電池の研究開発において世界をリードしている先生方にご執筆をお願いし、バイオ燃料電池の開発において重要となる酵素や電極触媒の選択、電極構造の最適化や発電環境について、基礎から最新の研究成果までを紹介して頂いた。

（東京理科大学 駒場慎一）

1 バイオ電池のための 酵素触媒機能電極

辻村 清也，加納 健司

1 はじめに

地球上の酸化還元反応（元素サイクル）のほとんどは生物が関与している。生物は多種多様な有機物や無機物を酸化する能力と、酸素、硝酸イオン、硫酸イオン、あるいは有機酸を還元する能力を共に備えており、この総体としての酸化還元反応のエネルギーを巧みに生物エネルギーに変換している。これら生物が利用する電子供与体あるいは電子受容体の電子授受の活性化エネルギーは一般的に大きい。このことは、必要な時にエネルギー変換するという点では重要である。しかし、その反応を生体条件（一般的には常温、常圧）で進行させるためには、触媒として酸化還元酵素が必要となる。このような事実はすべて、生体系に見習ったエネルギー変換システムの構築という考え方につながる。生体に関連する電子供与体と電子受容体（酸素）を燃料として、それぞれを酸化する酵素と還元する酵素を電極触媒として電極上に修飾し、Fig. 1のような電池を組めば、燃料の化学エネルギーを電気エネルギーに変換できるはずである。これがバイオ（燃料）電池の概念である¹⁻⁵⁾。燃料電池の無機触媒を生体触媒に置き換えたものとも考えられる。そして、この触媒の違いが、

Table 1にまとめたように、バイオ電池と燃料電池の特徴との違いに大きく反映される。この表はバイオ電池の利点を強調してあるが、電流密度が必ずしも高くないこと、酵素の安定性が（無機触媒に比べて）劣ること、そして、バイオマスの多電子酸化系の構築が困難であることなど、実用化を考え

Table 1 バイオ電池とPEMFC/DMFCとの比較。

PEFC・DMFC	バイオ電池
水素・メタノール	バイオマス全般
白金	酸素・微生物
アノード	
カソード	アノード
隔膜（固体高分子膜） （改質器）	カソード
ケース etc.	
cm ² ～	μm ² ～
常温～90℃	20～40℃

ると、解決せねばならない課題があることも事実である。

一方、酸化還元酵素は電子授受に関与する2つ（以上）の物質を基質とし、さらに、本来、基質特異性が高いものである。酵素を電極触媒にするということは、Fig. 2（上）に示したように、基質の一方を電極に置き換えることであり、これを直接電子移動（direct electron transfer, DET）型酵素機能電極反応という。酵素の基質特異性を考えると実現は容易なことではないが、いくつかの例が報告されてきている。これに対してFig. 2（下）のように、（低分子）酸化還元物質（これをメディエータという）を一方の基質の代わりとなるように反応系を組み立てることが考えられる。これを電子伝達メディエータ（mediated electron transfer, MET）型酵素機能電極反応といい、ほとんどの酸化還元酵素系に適用できる。どちらの反応系を利用するにせよ、バイオ電池のキーテクノロジーはこのような酵素－電極間の接合系の構築にある。結局、どの酵素を選ぶか、どのように酵素機能を改変す

るか、どのようなメディエータを使うか、どのような電極を使うか、そして、どのように酵素やメディエータを電極に固定するかが焦点となる。つまり、電気化学、酵素科学、材料科学の3つの視点から学際的にアプローチしなければならない。次世代のエネルギー・環境問題を考えると、誰かがしなければならない課題であるように思う。

2 DET型酵素機能電極反応

シトクローム *c* (Cyt *c*) に代表される酸化還元タンパク質のDETに関する電気化学は1970年代から精力的に行われてきていた。酸化還元酵素に関するDETあるいはDET型触媒反応に関する報告も急増している。DET型酵素触媒反応の観測例は、ラッカーゼに始まり⁶⁾、その後、Ikedaらにより、フラボヘムあるいはキノヘム酵素で観測されることが発表された^{7,8)}。Armstrongらも、フマル酸還元酵素（フラビンアデニンジヌクレオチド（FAD）と鉄硫黄クラスター含有）やヒドロゲナーゼ（Ni等の触媒中心金属イオンと鉄硫黄クラスター含有）等⁹⁾におけるDET反応を報告している。これらの酵素で共通している点は、酵素中に2つ以上の酸化還元中心があることである。こうした事実から、Ikedaは、DET型触媒の一つの要件として、Fig. 3のように（溶液中の）基質との触媒反応部位と、電極と電子授受できる別の酸化還元部位があることが重要であることを提唱した¹⁰⁾。後者は分子内に組み込まれたメディエータ（built-in mediator）として機能している。当然、このような反応モデルでは酵素の吸着配向が重要になる。酸化還元タンパク質の電極への吸着の配向制御についてはいろいろ試みがなされてきているが、サイズの大きな酵素については未だ明確な成功例は報告されておらず、今後の重要な課題のひとつとなる。一方で、最近、酸化還元触媒中心としてFADのみを含有するグルコース酸化酵素（GOD）で、DET型触媒電流の観測例が報告された¹¹⁾ことから、単一酸化還元中心の酵素に関するDET型触媒反応の研究も重要になるであろう。

DET型触媒反応の場合、酵素－電極間の電子移動速度が非常に重要な鍵となる。界面電子移動の障壁の影響は、触媒反応による電流の増幅により、より顕著に表れてくる（後述）。遠距離電子移動のモデルで考えるならば、できるだけ小さい過電圧で迅速に反応を進めるためには、酵素内の酸化還元中心と電極間の距離が短いこと、電子を通しやすいこと、酸化還元に関する再配向エネルギーが小さいことが重要になる¹²⁾。

Fig. 1 バイオ電池のしくみ。

直接電子移動型

メディエータ型

Fig. 2 DET型/MET型酵素－電極間電子移動反応様式の比較。

Fig. 3 直接電子移動反応モデル。

天然の酵素を対象とするため、これらの因子を制御することは、非常に困難であり、結局、酵素の探索が非常に重要な意義を持つ。一方で、金微粒子やカーボンナノチューブさらにはアントラセンを伝導性のナノワイヤーとして電極と酵素の間に介入させて、酵素-電極間電子移動速度を向上させる方法も提案されており¹³⁾、今後の電極表面の(サブ)ナノオーダーでの構造制御に関する研究が期待される。

2.1 DET型定常電流-電圧曲線

Michaelis-Menten式としてよく知られているように、(定常的)酵素反応速度(v_E)は、基質濃度(c_s)に対して飽和曲線的な依存性を示し、 c_s が過剰になると一定の最大値($v_{\max} = k_c c_E$, k_c :触媒定数, c_E :酵素濃度)に達する(K_s :基質のMichaelis定数)。

$$v_E = \frac{k_c c_E}{1 + K_s/c_s} \quad (1)$$

酸化還元酵素は2つ(以上)の基質があるので、第二基質濃度にも依存するが、ここではその詳細には触れない。重要な点は、酵素機能電極反応の電流は、 c_s が十分大きいと界面電子移動反応律速か酵素反応律速となり、原理的には定常電流(i_s)が観測される。ここでは簡単のため、こうした定常電流について話を進める。

単分子固定(吸着)している酵素がDET型触媒をする場合、定常触媒電流-電圧曲線は、酵素反応速度と電極反応速度が等しいとして次の式が導かれ、Fig. 4の実線のようなシグモイド曲線となる¹⁴⁾。

$$\frac{i_s}{n_E F A} = \frac{k_c \Gamma_E}{1 + k_c/k_f + k_b/k_f} \quad (2)$$

ここで、 Γ_E :電極触媒活性は酵素吸着量、 n_E :酵素の反応電子数を示し、基質の反応電子数(n_s)と n_E が異なる場合には、式(2)の k_c は、式(1)の k_c に n_s/n_E を乗じたものとなる。また k_f と k_b は吸着酵素種の界面電子移動速度定数で、たとえば、酸化反応を例にとれば次のButler-Volmer式で表される(E :電極電位、 E_E° :酵素の式量電位、 α :転移係数、 k_s° :界面電子移動の標準速度定数)。

$$k_f = k_s^\circ \exp \left[\frac{\alpha F}{RT} (E - E_E^\circ) \right] \quad (3)$$

$$k_b = k_s^\circ \exp \left[\frac{(\alpha - 1)F}{RT} (E - E_E^\circ) \right] \quad (4)$$

従って、電流-電圧曲線の半波電位は、 E_E° と k_c/k° で決まる。 k_c/k° が大きくなるにしたがい(つまり、酵素電極間界面電子移動速度が低下するにしたがい)、準可逆系定常電流の場合のように、半波電位が過電圧側にずれたシグモイド型電流-電圧曲線となる(Fig. 4, 破線)。しかしながら触媒電流の立ち上がり電位は、 E_E° に近接している。この性質を利用して、触媒波から E_E° を大まかに評価することもできる。

酵素触媒反応においては、Fig. 4の点線で示すように触媒定常電流が限界値をとらず、電位を正側に掃引するにつれて、増加し続けるという独特の波形が観察されることが多い。これを説明するため、より複雑なモデルも提案されており¹⁵⁾、

Fig. 4 直接電子移動型触媒反応のサイクリックボルタモグラム。

実験結果の波形をよく説明できている。しかし、多くのパラメータが必要で、そのパラメータを独立の実験で求められないため、結果としてあてはめの要素が強くなる欠点がある。一方、上述の単純なモデルでも α をパラメータとすることにより、本波形を説明することができる。ただし、この場合、 α の物理的意味は、一般的な電極反応のそれとは異なり、酵素の配向分布や酸化還元中心の位置の情報も含まれてくる¹⁶⁾。

2.2 DET型カソード酵素

酵素還元カソード酵素としては、 O_2^- , H_2O_2 , OH^- といった酸素還元反応中間体(活性酸素種)を生成しないものを選ぶ必要がある。生体に習うという意味では、呼吸鎖末端酵素であるCyt cオキシダーゼを利用することも考えられる。しかし、これは巨大な膜酵素である上、Cyt cに対する特異性が高く、Cyt cをメディエータとした反応系を組み立てねばならない¹⁷⁾。また、生体系ではCyt cから酸素への電子移動エネルギーで生体エネルギー生成していることからわかるように、この2つの酸化還元種の酸化還元電位差が大きいため、エネルギーロスが非常に大きくなり、カソード酵素としては相応しくない。そこで、より有力な候補として、マルチ銅オキシダーゼ(MCO)を挙げることができる。MCOは、分光学的、磁気学的性質の異なる銅を含んでいるオキシダーゼの総称であり、ラッカーゼ、アスコルビン酸オキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ(BOD)等、自然界に広く多様に存在する。MCOは溶液中ではブルー銅と呼ばれるタイプ1(T1)銅サイトで電子を受け取り、タイプ2-3銅クラスターで酸素を4電子還元する¹⁸⁾。冒頭に述べたようにDET型触媒電流が初めて観測されたのもMCOである。

多種多様なMCOからどのように適切な酵素を選ぶかということも重要である。第1の着眼点は、上述のように、電極と電子授受できる酸化還元部位の E_E° である。すなわち、 E_E° が酸素-水の酸化還元電位により近いほうが電位のロスが少なく、電池は高い電圧で作動する。酵素のどの部位と電極は電子移動反応をしているかを調べるために、著者らはMCOのT1銅サイトの E_E° を変えた部位特異的変異酵素を作成し、その触媒電流特性により、DET型触媒反応においても、電

Table 2 MCOの電位とタイプI銅の軸配位子.

	Axial ligand	E° (mV vs. Ag AgCl)	Ref.
Laccase (<i>Trametes versicolor</i>)	Phe	580	21
Laccase (<i>Polyporus pinsitus</i>)	Phe	550-590	21
Laccase (<i>Rhizoctonia solani</i>)	Leu	430-480	21
Laccase (<i>Myceliophthora thermophila</i>)	Leu	250-280	21
Fet3p (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Leu	236	22
Bilirubin oxidase (<i>Myrothecium verrucaria</i>)	Met	460	23
Bilirubin oxidase (<i>Trachderma tsunodae</i>)	Met	510	23
Laccase (<i>Rhus vernicifera</i>)	Met	230	24
CueO (<i>Escherichia coli</i>)	Met	260	20
CotA (<i>Bacillus subtilis</i>)	Met	258	25
Ascorbate oxidase (<i>Cucurbita pepo medullosa</i>)	Met	147	26
Stellacyanin (<i>Rhus vernicifera</i>)	Gln	-20	27

極と電子授受するのはT1銅サイトであると結論した^{19,20)}. Table 2に種々の天然のMCOのT1銅サイトの E_E° と軸配位子アミノ酸を示している. 非配位的なフェニルアラニンを軸配位子アミノ酸とするとT1銅サイトの E_E° が高くなり, 酸素還元反応の過電圧を小さくできる. 実際, こうした考え方で*Trametes*属のラッカーゼをカソード触媒として選択し, 非常に高い電圧で作動するDET型バイオ電池を構築することに成功している^{28,29)}.

第2の着眼点は, 酵素反応速度である. 著者らは, 幾つかのMCOを対象にスクリーニングを行い, CueO (copper efflux oxidase) の電極触媒活性が非常に高いことを見いだした³⁰⁾. さらに, 後で述べる多孔性炭素電極を用いることにより, 溶液中での酸素供給律速で十数 mA cm^{-2} の電流密度を実現している^{20,31)}. ごく最近では気相中の酸素を供給するカソード極を作成し, 数十 mA cm^{-2} にも至る電流密度を実現しており³²⁾, 中性付近での酸素還元触媒として, MCOは過電圧や電流密度という観点から白金等の無機触媒をしのぐ性能があることが明らかにされつつある.

第3の着眼点は, 作動pHである. 多くのMCOは弱酸性中で機能することが知られている. バイオ電池の場合, 後で述べるフルクトース脱水素酵素 (FDH) のように, アノード酵素の至適pHも弱酸性であれば問題ない. しかし, 多くの酵素は中性付近に至適pHがあるものが多いうえに, 体内埋め込み型バイオ電池を目標とするならば, 中性付近でも機能するMCOが必須となる. このような観点から筆者らはBODを選択し, これが中性付近でのカソード触媒として非常にうまく機能することを示し³³⁾, 現在では世界的に利用されるに至っている. 逆にアノードに無機触媒を用いた電池を構想するのであれば, 酸性中で機能するMCOも魅力的である. CueOを炭素微粒子修飾電極に吸着固定させることにより, pH 2くらいの低pHでも機能することがわかり³¹⁾, 更なる酵素の探索や固定化法の改良により, pH 1くらいまで使用できるようになる可能性もある.

2.3 DET型アノード酵素

バイオ電池では, 糖, アルコール, 有機酸, アミン, 水素, あるいは無機化合物等といった, 生物がエネルギー源として利用できるすべての還元物質が燃料の対象となる. したがって, それらを酸化反応を触媒する酵素がアノード酵素となる.

Fig. 5 多孔性炭素電極に固定化したフルクトースデヒドロゲナーゼの触媒電流電圧曲線.

このカテゴリーに分類される酵素は, 生命維持の根幹に関わるため, 膨大な種類がある. ここでは, 2つ以上の酸化還元中心を有する脱水素酵素に焦点を絞って話を進める.

Armstrongのグループによる研究では, フマル酸還元酵素やヒドロゲナーゼが, 基質がない状態で, それらの酸化還元中心に由来するDETシグナルを示すと同時に, 基質存在下ではそのDETシグナルの電位付近から立ち上がる明瞭なDET型触媒電流を観察している⁹⁾. DETシグナルとDET型触媒電流の双方が観測できている非常に稀な例である. 特筆すべきは, 隔膜なしで作動する水素-酸素バイオ電池である²⁹⁾. これまで知られていたヒドロゲナーゼは酸素でその活性を失うが, 酸素耐性のある膜結合型ヒドロゲナーゼを用いることで可能とした. 電池を意識した新規酵素の探索により, 新たな展開が期待できる. Ikedaらのグループは酢酸菌等微生物由来の膜結合型の脱水素酵素を対象として, DET型触媒電流が観測できることを示している^{7,8)}. これら酵素は, 細胞膜上に存在し, 液相につきでた活性中心部位にて基質を酸化し,

分子内電子移動を経て膜内のキノンに電子を渡す。まさにこの仕組みを電極反応に置き換えた形である。一方, Gortonらは, 担子菌由来のセロビオースデヒドロゲナーゼのDET型触媒反応を報告している³⁴⁾。本酵素もフラボヘム酵素であるが, 菌体外に放出される。また, 同様の活性を示すものが幾つかの菌体からもみつかった³⁵⁾。今後のスクリーニング次第では, 新規DET型酵素が見つかる可能性が高い。

以前まではDET型触媒電流が観測されたとしても, 数 $\mu\text{A cm}^{-2}$ あるいはそれ以下の電流密度であり, センサであれば適用できるかもしれないが, 電池への応用には困難であった。しかし, 多孔性炭素電極などを利用することにより, 大きな電流密度での酵素触媒電解ができることがわかってきた。例えば, FDH (1つのFADと3つのヘムcを含有) では, 数 mA cm^{-2} もの大きな電流密度を実現し (Fig. 5)³⁶⁾, DET型バイオ電池の性能を飛躍的に向上させることにつながった²⁸⁾。

3 MET型酵素機能電極反応

ニコチンアミドジスクレオチド (リン酸) (NAD (P)) 非依存性の酸化還元酵素は, フラビンやキノン, あるいはヘムや鉄硫黄クラスターといった酸化還元部位を分子内に有する。そして, 糖やアルコールといった基質の酸化反応の場合, 酵素の電子受容体に対する特異性はさほど高くなく, 多くの低分子酸化還元物質に置き換えることができる。その低分子酸化還元物質が可逆的に電極反応すれば, メディエータとして機能することになり, MET型触媒反応系を構築できる。この反応系は, 血糖センサ等の実用デバイスにも利用されており, 後述するように, 理想的にはDET型触媒反応より電流密度が大きい利点もある。しかし, バイオ電池におけるメディエータの選択と固定化に関する課題は, 大きな電流密度, 小さい過電圧, 高い安定性, クロスオーバーの回避など, センサの場合と比べて, より難度の高い条件が要求される。

一方, NAD(P)依存性酵素は, 遊離のNAD(P)を補酵素として機能する。基質酸化反応を触媒する酵素反応で還元された遊離NAD(P)Hは電極で酸化することができ, NAD(P)そのものがメディエータとして機能し得るような図式が描かれる。しかし, NAD(P)Hの直接電解の過電圧は非常に大きい³⁷⁾, 酸化還元色素や o -キノン類³⁸⁻⁴⁰⁾といった触媒を利用する必要がある。NADH電解の過電圧を最も効果的に下げる方法として, NADH-キノン酸化還元酵素の一種であるジアフォラーゼ (DI) を触媒とし, 適当なメディエータとして用いる反応系がある^{41,42)}。

3.1 MET型定常電流-電圧曲線

溶液中の基質濃度 (c_s) が K_s に比べて十分高いとしても, メディエータ型の電流-電圧曲線は, 酵素反応に寄与し得る酸化還元状態のメディエータの濃度は電極界面からの距離の関数となるので, メディエータ総濃度や酵素・メディエータの固定層の膜厚 (L) に依存していろいろなケースが考えられる。ここでは, 2章の場合と同様, $c_s \gg K_s$ の条件, つまり, 基質の濃度分極がない場合について, 代表的なケースだけを紹介する。

膜厚がきわめて薄く, 膜内でのメディエータの濃度分極を考えなくてもよい場合には, DET型の電流-電圧曲線と同様な波形となる。ただし, この場合電極で電子授受しているものは酵素ではなくメディエータであるため, 酸化還元電位や, 電極反応速度パラメータは, メディエータそのものの特

性となる。また, 式 (2) の酵素反応速度 v_E に相当する項 $k_c \Gamma_E$ は次のようになり, 電流密度を増加するには, 固定化膜中のメディエータ濃度 (c_M) を増加させる必要がある (K_M : メディエータのMichaelis定数)。

$$v_E = \frac{k_c c_E}{1 + K_M / c_M} \quad (5)$$

固定化膜中でのメディエータ濃度の分極がある場合で, メディエータの反応層の厚さが固定化膜の膜厚より薄い場合 (典型的な例として, 溶液中に酵素とメディエータがある場合) の定常触媒電流 (i_s) は, 次のように表わされる⁴³⁾

$$\frac{i_s}{n_M F A \sqrt{D_M k_c K_M c_E}} = \sqrt{2 \left[\frac{\eta_M}{1 + \eta_M} \frac{c_M}{K_M} - \ln \left(1 + \frac{\eta_M}{1 + \eta_M} \frac{c_M}{K_M} \right) \right]} \quad (6)$$

ここで, n_M : メディエータの反応電子数, D_M : メディエータの拡散係数であり, 基質の電子数 (n_s) と n_M が異なる場合には, 式 (6) で用いる k_c は, 式 (5) の k_c に n_s/n_M を乗じたものとなる。また, η_M はメディエータの電極表面における酸化還元種の平衡濃度を表わし, 酸化方向では

$$\eta_M = \exp \left[\frac{n_M F}{RT} (E - E_M^{\circ}) \right] \quad (7)$$

となる (E_M° : メディエータの式量電位)。このシグモイド曲線の半波電位は, c_M が増加すると過電圧が減少する方向にシフトする。式 (7) からわかるように, 式 (6) はメディエータが電極表面でNernst応答できるほど, 界面電子移動速度が十分大きい場合を表している。反応速度が遅くなると, (通常の準可逆的定常電流と同様) シグモイド曲線の半波電位は, 過電圧方向にシフトする。 $\eta_M \rightarrow \infty$ では電極反応速度には依存せず, 酵素反応速度だけに律速される限界定常電流 (i_s^{lim}) が得られる。しばしば, こうした酵素・メディエータ系で膜が十分に厚い場合あるいは溶液内反応の場合は, i_s^{lim} の c_M 依存性は, $c_M \ll K_M$ の場合, 直線的に増加し ($i_s^{\text{lim}} = n_M F A c_M \sqrt{\frac{D_M k_{\text{cat}} c_E}{K_M}}$), $c_M \gg K_M$ では場合, $c_M^{1/2}$ に比例して増加する ($i_s^{\text{lim}} = n_M F A \sqrt{2 D_M k_c c_E c_M}$)。Fig. 6にラッカーゼを触媒としてオスミウム錯体をメディエータとする典型的な酸素還元触媒電流を示す。これらの電流-電圧曲線は○印で示すように式 (6) でよく説明でき, 酵素反応速度パラメータを求めることができる。また, Fig. 6の挿入図に示すような i_s^{lim} の c_M 依存性が得られる。 $\eta_M \gg 1$ 式の場合の式 (6) より, 非線形最小自乗法により k_c 値と K_M 値をそれぞれ求めることができる。

一方, i_s^{lim} がどのように L に対してどのように変化するかということも非常に重要な考察点である。むやみに L を増加しても, 物質移動の妨げになるだけで, 触媒としての機能向上にはつながらないことは容易に想像でき, L の最適化は非常に重要になる。一般に, L が反応層の厚さよりも薄い場合を含めて (つまり有限拡散の状況も含めて考えると), $c_M \gg K_M$ の場合の i_s^{lim} は次のように表わされる⁴⁴⁻⁴⁶⁾。

Fig. 6 触媒電流解析 (オスミウム錯体をメディエータとしたラッカーゼによる酸素還元反応を例に)

$$i_s^{\text{lim}} = n_M F A \sqrt{2k_c c_E D_M c_M} \tanh \sqrt{\frac{k_c c_E L^2}{2D_M c_M}} \quad (8)$$

これは、基本的には、 L , $c_M D_M$, および $k_c c_E$ の3つのパラメータで特徴づけられる。実験結果を式(8)で解析して膜厚を最適化することも可能である⁴⁷⁾。

いずれにしても、現実的な酵素・メディエータ固定膜を考えた場合、電極表面の粗さ係数 (roughness factor) = 1 として最大電流密度として $1 \sim 10 \text{ mA cm}^{-2}$ まで期待でき、DET型触媒反応の場合の数倍から数十倍となる。

こうした電流密度は、電池という概念から考えると決して大きくないかもしれない。その要因のひとつとして、酵素は原子レベルではなく巨大な分子として初めて機能するため、触媒の表面濃度が低下することが挙げられる。従って今後は、roughness factorを増加させるため、多孔性炭素電極の微細構造の利用が重要になる。現状では、DET型、MET型ともに、酵素触媒電極において、数～数十 mA cm^{-2} (投影面積) の電流密度までは達成できている。今後は、当然のことながら、物質 (燃料) およびイオン移動抵抗を軽減し、酵素の安定化を向上させるという観点でのアプローチも重要になる。そのために、どのようなサイズの細孔を、どのように利用するか、あるいは L をどの程度にするかが、MET型酵素電極を設計する上で重要なポイントとなる。

3.2 メディエータの選択

バイオ電池のメディエータを選択する観点は、反応速度、過電圧、安定性、溶解度、固定化の難易、コスト、安全性、酸素との反応性等の因子を考慮して選択する必要がある。通常は、酵素 (あるいは基質) - メディエータ間の電子移動を熱力学的に有利になるように反応系を設定する。キノン類は安価である上、その酸化還元電位は、置換基効果のほかに、芳香環を増やすことにより大きく負にシフトする性質のため、非常に幅広く、メディエータとして好都合な化合物である。オスミウム錯体もその電位はMET型触媒反応に好都合な領域にあり、配位子による電位チューニングが容易で電位スペクトルも広いという利点を有する^{48,49)}。しかし、白金族元素

Fig. 7 酵素-メディエータ間の二分子反応速度定数の対数と酵素とメディエータの式量電位差の関係。

であるためコスト面での問題や毒性の懸念もある。また、シアノ金属錯体も電位幅が広いメディエータとして有用である⁵⁰⁾。

出力を大きくするためには、小さな過電圧で電子移動速度が速い酵素-メディエータ反応系の探索が必要となる。Fig. 7に典型的な酵素とメディエータの式量電位差と酵素-メディエータ間の二分子反応速度定数の対数の関係を示す。このときメディエータの酸化還元電位が酵素 (あるいは基質) の酸化還元電位に近いほど、電池としてはより大きな電圧を得ることが出来る。しかし、両者の酸化還元電位の差 (反応の駆動力) が小さくなればなるほど、(キノン類等、同一系列化合物の間では) 直線自由エネルギー関係に従い、酵素-メディエータ間の二分子反応速度定数 (k_c/K_M) は指数関数的に小さくなり、電流値もそれに伴い減少する。逆に先の電位差 (反応の駆動力) をある程度以上大きくすると、反応物質の拡散や酵素-メディエータ間の長距離電子移動 (など別の反応過程が律速段階となり、二分子反応速度定数は電位差に関係せずほぼ一定となる⁴⁸⁻⁵⁵⁾。むやみに電位差を増大することは過電圧の増大、結果として出力の低下を招くだけであり、適切な酸化還元電位のメディエータを選択する必要がある。この直線自由エネルギー関係や電位非依存領域の限界値は、メディエータのサイズや自己電子交換速度、親水性・疎水性や静電的特性に依存するほか、当然酵素側の特性の影響をうけるため、酵素ごとにメディエータ特性を調べる必要がある。電池という観点からは二分子反応速度定数のみならず、最大電流密度に深くかかわる k_c にも注目する必要がある。また、メディエータ自身の電極反応速度も重要となってくる。すなわち、金属錯体やナフトキノン類は比較的電極反応速度が大きい、ベンゾキノン類は可逆性が低く、過電圧の増大を招きやすいものが多い。さらにメディエータの式量電位があまりに負であるとメディエータの還元体は酸素により自動酸化され易くなり⁵⁶⁾、酸素のクロスオーバーによって、出力低下を招く。

また、触媒電流値はメディエータの拡散係数に影響をうける。Hellerらは、バックボーンポリマーにペンダント状にぶら下がったオスミウム錯体をメディエータとし、酵素も架橋剤を用いてそのポリマーに共有結合させて、電極に固定化している。多くの場合で、固定化することで拡散係数は低下す

るが、メディエータとポリマーと間のリンカーの長さを制御し、錯体自身の動きをよくすることで電流値の向上を達成している⁵⁷⁾。

3.3 MET型カソード酵素・メディエータ

DET型と同様に、この場合も、酵素としてはMCOが有望視されている。Hellerらは、オスミウム錯体が結合したポリマーとラッカーゼやBODを電極上に固定し、数mA cm⁻²の電流密度を得ることに成功しており、中性付近で非常に優れた触媒活性を発揮することを報告している⁵⁸⁻⁶⁰⁾。筆者らは、カチオン性のポリマーにアニオン性のBODとシアノ金属錯体の静電的相互作用による共固定化⁵⁰⁾や、ポリイミダゾールにペンタシアノ鉄錯体を配位させ、さらに架橋剤を用いてBODを共有結合させた共固定化に成功し⁶¹⁾、数mA cm⁻²の電流密度を得ている。電極の比表面積（幾何表面積に対する実効表面積）を向上させることで、さらに数倍から数十倍の電流密度の向上を達成できる。気相からの酸素供給を考慮した空気極も提案され、それを利用したバイオ電池も有効に機能することが示された⁶²⁾。また、Bartonらは、カソードにラッカーゼとオスミウム修飾ポリマーを用いたMEA（アノード触媒には白金もしくは白金・ルテニウム）を作成し、PEMFCおよびDMFCとして作動することを報告している⁶³⁾。

3.4 MET型アノード酵素・メディエータ

最も多く研究されてきたのは、自己計測用血糖計の研究開発の流れをくんだグルコース2電子酸化系である。GODとオスミウム錯体が結合したハイドロゲルを利用した系は得られる電流値も高いことからよく研究されている^{64,65)}。ただしGODは本来酵素を電子受容体とするので、酸素の混入による出力低下を引き起こしやすい。それを回避するためのセル設計に関する研究も多いが、むしろ脱水素酵素を利用する方が理にかなっている。ピロロキノリンキノン（PQQ）依存性のグルコース脱水素酵素（PQQ-GDH）は、触媒活性が非常に高いのでバイオ電池の触媒としては非常に有望である^{54,66)}。またNAD依存性のグルコース脱水素酵素（NAD-GDH）とDIを利用したバイオアノードも提案され、バイオ電池が試作されている^{62,67)}。その際、DIと電極間の電子伝達メディエータについては、電位と速度の関係を考慮に入れた形で最適化されている。

燃料を完全酸化するという観点も非常に重要である。その点では水素の酸化系が最も単純である。触媒としてはヒドロゲナーゼが適するが、先述の通り酸素耐性に劣り単離および取り扱いが容易ではない。そのため、筆者らはヒドロゲナーゼを多く含む菌体（硫酸還元菌）を“酵素の袋”としてそのまま用いる方法を提案し、適切なメディエータを選択することにより、ほぼ過電圧のない水素酸化系を構築している^{68,69)}。また、有機化合物の二酸化炭素への完全酸化については、生体内代謝反応を模倣し、NADH（FADH₂）に変換する方法が考えられる（Fig. 8）。メタノールから二酸化炭素への生物電気化学的6電子酸化系を、3つのNAD依存性脱水素酵素とNADH脱水素酵素を利用して実現する報告もされている⁷⁰⁾。グルコースの場合、二酸化炭素までの24電子酸化できるが、これを生物的に実現しようとする、解糖系とTCA（トリカルボン酸もしくはクエン酸）サイクルに参与するすべての酵素が必要となる。関係する酸化還元酵素は、ほとんどNAD依存性である。TCAサイクルの再構築と電極反応との共役系については最近Minteerのグループや著者らのグルー

Fig. 8 代謝反応と還元力のNADHへの変換。

プで報告されている^{71,72)}。TCAサイクルを利用すると乳酸の12電子酸化系が容易に実現できる。また、少し改良すれば、酢酸の8電子酸化も可能になり、夢が膨らむ課題である。NADHの電解酸化を達成するためには、メディエータの電位の適切な設定により、十分な反応速度を確保しつつ、その自動酸化やCoAの酸化を回避し、熱力学的なバランスを考慮に入れた反応系の設計が重要である^{73,74)}。

他の興味あるアプローチとして、基質特異性が低い酵素の利用である。Minteerのグループは、グリセロールから二酸化炭素への14電子酸化系が報告している⁷⁵⁾。グリセロールは燃料として非常に扱いやすい利点があるが、この酸化反応に対して、キノヘムアルコールデヒドロゲナーゼ（QH-ADH）を用い、基質をメソシュウ酸まで6電子酸化し、シュウ酸酸化酵素とQH-ADHを利用してさらにCO₂まで酸化することを試みている。論文ではDET型として報告されている上、電極反応特性についての詳細は記載されていないが、今後MET型反応として展開する価値はあるように思われる。これは両酵素の基質特異性が低いことをうまく利用しており、今後同様の酵素のスクリーニングにより新たな展開が期待される。

3.5 修飾方法

酵素の電極上への固定化について、バイオリアクタの分野で培われてきた技術をベースに、酵素およびメディエータ固定化電極に関する研究は古くから行われてきたが、バイオセンサへの応用を意識したものがほとんどで、高電流密度を目指した研究はほとんどなかった。しかし、上述のように、ポリビニルイミダゾール等のハイドロゲルにメディエータと酵素を固定して用いる方法や、ポリイオンコンプレックスを利用する方法などにより、電極表面に酵素とメディエータを高密度に固定化する研究が盛んに行われた結果、アノード、カソード共に大きな電流密度を実現することがわかってきた。

電極表面にメディエータ機能を導入するアプローチもある。

例えば、これまでに Willner らによって、金電極上に PQQ などの酸化還元種を修飾した電極が報告されてきた^{17,76)}。メディエータとして機能するが、より簡便で、なおかつ炭素電極でも活用できる手法が望まれる。筆者らは、金属錯体の配位子のひとつにアミノ基を導入し、アミンを電解酸化することにより電極表面に CN 結合を形成して固定化した⁷⁷⁾。このような単分子修飾型メディエータ固定も、酵素反応のメディエータとして有効に機能する。また、グラフト重合法を利用することで炭素電極表面にメディエータを修飾する方法も報告されている⁷⁸⁾。このような手法を用いると、炭素電極の微小構造内の効率的な修飾も可能になると考えている。これら修飾電極により、メディエータの供給や隔膜を不要とし、従来の燃料電池にない機能や特性を有した新しい電池ができることが実証されつつある。今後は酵素活性を損なわず、かつ固定化酵素と電極間の速い電子移動、酵素への迅速な基質の供給をいかに実現するための固定化法の改良が、重要な課題となる。

4 多孔性炭素電極

電池の実用化という観点からは、あと一桁の電流密度の向上、つまり数十 mA cm⁻² 程度の電流密度の実現が望まれる。酵素活性を 10 倍にするのは現在のところ技術的に困難であるので、新しい酵素の探索が引き続き重要である。それとともに、電極比表面積を増加することは、現実的にきわめて重要な課題になる。このことは、これまでの燃料電池や色素増感太陽電池といった界面反応を利用するエネルギー変換デバイスで、微細構造を有する電極基盤の利用によりブレークスルーし、実用化が見えてきたという経緯を踏まれば当然のアプローチである。バイオ電池という観点で、無機触媒系と異なる重要な点は、酵素のサイズがナノオーダーであることに加え、変性しやすいソフトな物質であることである。したがって、現在バイオ電池で主に用いられている平板もしくは炭素繊維をベースとした電極だけではなく、酵素のサイズ等を考慮に入れたナノオーダーで制御された多孔性炭素材料を開発し、その三次元マトリックスを積極的に有効活用できる電極を利用することを考えなければならない。Fig. 9 に多孔性炭素電極のモデル図を示す。メソ孔を有しており、かつ、物質輸送を可能とするマクロ孔が発達しているものが理想的である。こうした電極を利用することにより、電極比表面積の向上による電流密度の上昇、電極と酵素の接触面積を増加させることによる効率的な電子移動パスの形成、さらには酵素の高次構造を保つことで安定性の向上等が期待され、実際そのような効果が観測されている^{20,28,36,79)}。固定化酵素が工

業的に利用されている現状を考えても、固定化による安定化は期待できる。酵素の安定性の向上が、バイオ電池の実用化を考える上での大きな課題のひとつとなっているが、酵素自身の耐久性を向上させる一般的な技術は現在のところ確立されていない。こうした現状を考えると、このような多孔性電極を利用することにより、酵素の (pH, 熱あるいは時間に対する) 安定性を向上できることは、現実的観点からも朗報である。同時に、多孔性担体上での酵素の安定化の向上を科学することは、酵素機能を利用するすべての研究領域に対しても、大きな意義を持つであろう。ただし、多孔性電極を用いる場合には、燃料の供給システム、物質輸送速度、局所的 pH 変動、作動温度等の問題も統合的に考慮する必要がある。

多孔性炭素材料は、シリカやポリスチレン等の微粒子を鋳型とし有機分子を吸着や含浸させた後に炭素化させる方法⁸⁰⁾や、含水有機ゲルを乾燥させた後に炭素化させる方法^{81,82)}などを利用して作成でき、目的とする細孔特性を調整することも可能である⁸³⁾。カーボンナノチューブやカーボンブラックといった炭素ナノ構造体を、結着剤を用いたり、加熱加圧したりすることによりメソ孔を有する構造体を形成することができる。また、カーボンペーパー上にカーボンナノチューブを成長させることにより電極比表面積を増加させる方法も報告されている⁸⁴⁾。こうした技術のベースは、すでに電気化学キャパシタ、固体高分子型燃料電池、リチウムイオン電池などで盛んに研究されてきた。ただし、バイオ電池の反応液は水系であり、主な反応物が分子量 100 から 200 程度の有機物であり、高濃度では粘度も高くなるといった点で従来の電気化学デバイスと異なるので、それらの問題も考慮に入れて設計、作成、評価する必要がある。多孔性炭素材料の細孔径 (nm ~ μm)、炭素微粒子の粒子径、炭素微粒子を結びつける結着剤の特性 (電荷やサイズ)、およびその量 (炭素材との割合)、それらを混合させる溶剤の調整、といった複数の因子の関連を明らかにし、酵素を高密度に安定に担持し、かつイオンおよび物質輸送がスムーズに進行できるような最適な条件を見いだす必要がある。また、酵素吸着および物質輸送を効率的に行うためには、炭素電極の物理的構造のみならず、表面官能基などの表面特性を制御することが必要とされるであろう。

5 おわりに

以上のように、バイオ電池は、原理上はいろいろな作動形態が考えられ、夢もある。環境負荷がきわめて小さく、安全で安心して使える電源として、バイオマス燃料の使用、家庭用電源、モバイル機器電源、使い捨て電源、体内埋め込み電源など多方面への応用が考えられる。もちろん、要求される性能は当然その用途によって異なってくる。また、本稿では酵素と電極間の接合について述べてきたが、電池としての作動するためには、スタッキングや燃料供給などのシステムなどまだまだ検討すべき内容は多い。このようなバイオ電池の開発研究は、学際的なアプローチが必要であり、異分野の研究者が共同参画する必要がある。今後、バイオ電池という課題が、ナノ材料とバイオ機能の電気化学融合を目指すテクノロジーとして発展することを期待したい。

文 献

- 1) G. T. R. Palmore and G. M. Whitesides, *ACS Symp.*

Fig. 9 多孔性炭素材料とメソ孔を利用した酵素固定。

- Series No.556, 271-290 (1994).
- 2) S. C. Barton, J. Gallaway, and P. Atanassov, *Chem. Rev.*, **104**, 4867 (2005).
 - 3) R. A. Bullen, T. C. Arnot, J. B. Lakeman and F. C. Walsh, *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 2015 (2006).
 - 4) J. A. Cracknell, K. A. Vincent, and F. A. Armstrong, *Chem. Rev.*, **108**, 2439 (2008).
 - 5) バイオ電気化学の実際, 監修池田篤治, シーエムシー出版 (2007).
 - 6) M. R. Tarasevich, A. I. Yaropolov, V. A. Bogdanovskaya, and S. D. Varfolomeev, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **6**, 393 (1979).
 - 7) T. Ikeda, F. Fushimi, K. Miki, and M. Senda, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2655 (1988).
 - 8) T. Ikeda, F. Matsushita, and M. Senda, *Biosens. Bioelectron.*, **6**, 299 (1991).
 - 9) C. Léger, S. J. Elliott, K. R. Hoke, L. J. C. Jeuken, A. K. Jones, and F. A. Armstrong, *Biochemistry*, **42**, 8653 (2003).
 - 10) T. Ikeda, in "Frontiers in Biosensorics I", (W. Scheller, F. Schubert and J. Fedrowitz, eds.), Birkhäuser Verlag, Berlin, p. 243, (1997).
 - 11) M. Tominaga, S. Nomura, and I. Taniguchi, *Electrochem. Commun.*, **10**, 888 (2008).
 - 12) R. A. Marcus and N. Sutin, *Biochim. Biophys. Acta*, **811**, 265 (1985).
 - 13) C. F. Blanford, R. S. Heath, and F. A. Armstrong, *Chem. Commun.*, 2007 1710.
 - 14) S. Tsujimura, T. Nakagawa, K. Kano, and T. Ikeda, *Electrochemistry*, **72**, 437 (2004).
 - 15) C. Léger and P. Bertrand, *Chem. Rev.*, **108**, 2379 (2008).
 - 16) S. Tsujimura, T. Abo, K. Matsushita, Y. Ano, and K. Kano, *Electrochemistry*, **76**, 549 (2008).
 - 17) E. Katz, I. Willner, and A. B. Kotlyar, *J. Electroanal. Chem.*, **479**, 64 (1999).
 - 18) S. Shleev, J. Tkac, A. Christenson, T. Ruzgas, A. I. Yaropolov, J. W. Whittaker, and L. Gorton, *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 2517 (2005).
 - 19) Y. Kamitaka, S. Tsujimura, K. Kataoka, T. Sakurai, T. Ikeda, and K. Kano, *J. Electroanal. Chem.*, **601**, 119 (2007).
 - 20) Y. Miura, S. Tsujimura, S. Kurose, Y. Kamitaka, K. Kataoka, T. Sakurai, and K. Kano, *Fuel Cells*, in press. (DOI: 10.1002/fuce.200800027).
 - 21) F. Xu, R. M. Berka, J. A. Wahleithner, B. A. Nelson, J. R. Shuster, S. H. Brown, A. E. Palmer, and E. I. Solomon, *Biochem. J.*, **334**, 63, (1998).
 - 22) C. S. Stoj, A. J. Augustine, E. I. Solomon, and D. J. Kosman, *J. Biol. Chem.*, **282**, 7862 (2007).
 - 23) S. Tsujimura, A. Kuriyama, N. Fujieda, K. Kano, and T. Ikeda, *Anal. Biochem.*, **337**, 325 (2005).
 - 24) F. Xu, W. S. Shin, S. H. Brown, J. A. Wahleithner, U. M. Sundaram, and E. I. Solomon, *Biochim. Biophys. Acta*, **1292**, 303 (1996).
 - 25) P. Durao, I. Bento, A. T. Fernandes, E. P. Melo, P. F. Lindley, and L. O. Martins, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **11**, 514, (2006).
 - 26) P. M. H. Kroneck, F. A. Armstrong, H. Merkle, and A. Marchesini, *Adv. Chem. Ser.*, **200**, 223, (1982).
 - 27) O. Ikeda and T. Sakurai, *Eur. J. Biochem.*, **219**, 813 (1994).
 - 28) Y. Kamitaka, S. Tsujimura, N. Setoyama, T. Kajino, and K. Kano, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **9**, 1793 (2007).
 - 29) K. A. Vincent, J. A. Cracknell, O. Lenz, I. Zebger, B. Friedrich, and F. A. Armstrong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 16951 (2005).
 - 30) Y. Miura, S. Tsujimura, Y. Kamitaka, S. Kurose, K. Kataoka, T. Sakurai, and K. Kano, *Chem. Lett.*, **36**, 132 (2007).
 - 31) S. Tsujimura, Y. Miura, and K. Kano, *Electrochim. Acta*, **53**, 5716 (2008).
 - 32) R. Kontani, S. Tsujimura, K. Hamamoto, and K. Kano, *The 214th ECS Meeting (PRiME 2008)*, Abs. #1431 (2008).
 - 33) S. Tsujimura, H. Tatsumi, J. Ogawa, S. Shimizu, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **496**, 69 (2001).
 - 34) T. Larsson, A. Lindgren, T. Ruzgas, S.-E. Lindquist, and L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.*, **482**, 1, (2000).
 - 35) A. Lindgren, L. Gorton, T. Ruzgas, U. Bamingier, D. Haltrich, and M. Schulein, *J. Electroanal. Chem.*, **496**, 76, (2001).
 - 36) Y. Kamitaka, S. Tsujimura, and K. Kano, *Chem. Lett.*, **37**, 218 (2007).
 - 37) J. Moiroux and P. J. Elving, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 6533 (1980).
 - 38) D. C.-S. Tse and T. Kuwana, *Anal. Chem.*, **50**, 1315 (1978).
 - 39) N. K. Cenas, J. J. Kanapienienė, and J. J. Kulys, *Biochim. Biophys. Acta*, **767**, 108 (1984).
 - 40) L. Gorton and E. Domínguez, *Rev. Mol. Biotech.*, **82**, 371 (2002).
 - 41) K. Miki, T. Ikeda, S. Todoriki, and M. Senda, *Anal. Sci.*, **5**, 269 (1989).
 - 42) T. Matsue, H. Yamada, H. C. Chang, I. Uchida, K. Nagata, and K. Tomita, *Biochim. Biophys. Acta*, **1038**, 29 (1990).
 - 43) R. Matsumoto, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **535**, 37 (2002).
 - 44) W. J. Albery, A. E. G. Cass, and Z. X. Shu, *Biosens. Bioelectron.*, **5**, 367 (1990).
 - 45) P. N. Bartlett, P. R. Birkin, and E. N. K. Wallace, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **93**, 1951 (1997).
 - 46) S. Tsujimura, *Rev. Polarogr.*, **52**, 81 (2006).
 - 47) A. Ishii, S. Tsujimura, and K. Kano, *Bunseki Kagaku*, **56**, 419 (2007).
 - 48) S. M. Zakeeruddin, D. M. Fraser, M-K. Nazeeruddin, and M. Grätzel, *J. Electroanal. Chem.*, **337**, 253 (1992).
 - 49) J. W. Gallaway and S. A. Calabrese Barton, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 8527 (2008).
 - 50) S. Tsujimura, M. Kawaharada, T. Nakagawa, K. Kano, and T. Ikeda, *Electrochem. Commun.*, **5**, 138 (2003).

- 51) J. Kulys and N. K. Cnas, *Biochem. Biophys. Acta.*, **744**, 57 (1983).
- 52) Y. Ogino, K. Takagi, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **396**, 517 (1995).
- 53) K. Takagi, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **445**, 211 (1998).
- 54) N. Okumura, T. Abo, S. Tsujimura, and K. Kano, *Electrochemistry*, **74**, 639 (2006).
- 55) L. A. Coury, Jr., R. W. Murray, J. L. Johnson, and K. V. Rajagoplan, *J. Phys. Chem.*, **95**, 6035 (1991)
- 56) H. Tatsumi, H. Nakase, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **443**, 236 (1998).
- 57) A. Heller, *Curr. Op. Chem. Biol.*, **10**, 664 (2006).
- 58) N. Mano, J. L. Fernandez, Y. Kim, W. Shin, A. J. Bard, and A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 15290 (2003).
- 59) N. Mano, V. Soukharev, and A. Heller, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 11180 (2006).
- 60) V. Soukharev, N. Mano, and A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8368 (2004).
- 61) K. Ishibashi, S. Tsujimura, and K. Kano, *Electrochemistry*, **76**, 594 (2008).
- 62) H. Sakai, T. Nakagawa, A. Sato, T. Tomita, Y. Tokita, T. Hatazawa, T. Ikeda, S. Tsujimura, and K. Kano, *Energy Environ. Sci.*, (DOI: 10.1039/b809841g).
- 63) N. S. Hudak and S. C. Barton, *J. Electrochem. Soc.*, **152**, A876 (2005).
- 64) B. A. Gregg and A. Heller, *J. Phys. Chem.*, **95**, 5970 (1991).
- 65) T. Chen, S. C. Barton, G. Binyamin, Z. Gao, Y. Zhang, H.-H. Kim, and A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 8630 (2001).
- 66) S. Tsujimura, K. Kano, and T. Ikeda, *Electrochemistry*, **70**, 940 (2002).
- 67) M. Togo, A. Takamura, T. Asai, H. Kaji, and M. Nishizawa, *Electrochim. Acta*, **52**, 4669 (2007).
- 68) H. Tatsumi, K. Kano, and T. Ikeda *J. Phys. Chem. B*, **104**, 12079 (2000).
- 69) S. Tsujimura, M. Fujita, H. Tatsumi, K. Kano, and T. Ikeda, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **3**, 1331 (2001).
- 70) G. T. R. Palmore, H. Bertschy, S. H. Bergens, and G. M. Whiteside, *J. Electroanal. Chem.*, **443**, 155 (1998).
- 71) 福田 潤, 辻村清也, 加納健司, 第22回生体機能関連化学シンポジウム講演要旨集, p.288 (2007).
- 72) D. S.-Lazic and S. D. Minter, *214th ECS meeting (PRiME 2008)*, Abs. #2811 (2008).
- 73) S. Tsujimura, K. Kano, and T. Ikeda, *Chem. Lett.*, **31**, 1022 (2002).
- 74) J. Fukuda, S. Tsujimura, and K. Kano, *Electrochimica Acta*, 54,328 (2008)
- 75) R. L. Arechederra and S. D. Minter, *Fuel Cells*, in press. (DOI: 10.1002/fuce.200800029).
- 76) I. Willner, V. Heleg-Shabtai, R. Blonder, E. Katz, G. Tao, A. F. Bckmann, and A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 10321 (1996).
- 77) S. Tsujimura, A. Katayama, and K. Kano, *Chem. Lett.*, **35**, 1244 (2006).
- 78) T. Tamaki and T. Yamaguchi, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **45**, 3050 (2006).
- 79) S. Tsujimura, Y. Kamitaka, and K. Kano, *Fuell Cells*, **7**, 463 (2007).
- 80) A. A. Zakhidov, R. H. Baughman, Z. Iqbal, C. X. Cui, I. Khayrullin, S. O. Dantas, I. Marti, and V. G. Ralchenko, *Science*, **282**, 897 (1998).
- 81) R. W. Pekala, C. T. Alviso, F. M. Kong, and S. S. Hulsey, *J. Non-Cryst. Solids*, **145**, 90 (1992).
- 82) H. Tamon, H. Ishizaka, T. Yamamoto, and T. Suzuki, *Carbon*, **37**, 2049 (1999).
- 83) H. Tamon, H. Ishizaka, T. Araki, and M. Okazaki, *Carbon*, **36**, 1257 (1998).
- 84) S. C. Barton, Y. Sun, B. Chandra, S. White, and J. Hone, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **10**, B96 (2007).

●著者プロフィール

氏名：辻村 清也 Seiya TSUJIMURA
 所属：京都大学大学院農学研究科（〒606-8502 京都市左京区北白川追分町）
 役職：助教

氏名：加納 健司 Kenji KANO
 所属：京都大学大学院農学研究科（〒606-8502 京都市左京区北白川追分町）
 役職：教授