

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	鰐淵 瑞絵
論文題目	Three-dimensional Structural Effects of Porous Materials on the Direct-electron-transfer-type Bioelectrocatalysis of Bilirubin Oxidase (ビリルビンオキシダーゼの直接電子移動型バイオエレクトロカタリシス反応に及ぼす多孔質材料の立体構造効果)		
(論文内容の要旨)			
<p><i>Myrothecium verrucaria</i>由来のビリルビンオキシダーゼ (BOD) は、酵素と電極間で電子を直接授受する直接電子移動型酵素電極反応 (DET型反応) により、O_2からH_2Oへの還元反応を促進する電極触媒としてバイオ燃料電池等に利用されている。DET型反応の速度は酵素内の電極活性部位と電極間距離の増大に応じて指数関数的に減少するため、電極表面における酵素の吸着量と配向が重要となる。そのため、比表面積が大きい様々な多孔質材料が電極として検討されて来た。また、電極表面のナノ微細構造は酵素の配向の問題を低減し、DET型反応を促進すると予想される。</p> <p>本研究では、金ナノ粒子で構築された多孔質金電極、粒径と形状の異なる3種類の炭素微粒子で作製した多孔質炭素電極、炭素材料同士を組み合わせた多孔質炭素複合電極を用いて、多孔質電極表面の微細構造がDET型反応に及ぼす影響を評価した。その結果、粒子同士が形成するナノ微細間隙が、DET型反応の触媒電流密度を決定する重要な因子であることを見出した。そして、酵素が多点で接触できるナノ微細構造を形成することで、DET型反応に有利な配向を持つ酵素の割合が劇的に増大することを明らかにした。</p> <p>第1章では、多孔質化の程度が制御可能で表面の化学状態を規定しやすい多孔質金電極をモデル電極として、多孔質金電極上におけるBODのDET型反応を解析した。多孔質金電極は金をグルコース存在下で電気分解することで作製した。そして、非ファラデー電流を指標として多孔質金電極の電気化学的な有効表面積を決定し、走査型電子顕微鏡(SEM)によって電極表面の微細構造を観察した。その上で、多孔質電極表面にBODを吸着させてDET型の触媒電流の電極表面積依存性を精査した。その結果、BODの触媒電流は多孔質化の初期過程では増強されず、金ナノ粒子の集積した構造が形成すると増強されることが判明した。金ナノ粒子自体はBODの大きさに比べて十分に大きいため、金ナノ粒子単体とBODの相互作用ではこの挙動を説明できない。そこで、金ナノ粒子同士の接触によって形成されるナノ微細間隙がBODのDET反応を増強すると考え、この挙動を説明するために、微小剛体球を最密充填した際のナノ微細間隙における微粒子の接点数を見積もるモデルを構築した。このモデルが実験結果をよく説明したことから、微細な間隙中において酵素は複数箇所電極と接触するので、多孔質電極上ではDET型反応に有効な酵素の割合が増大することが明らかとなった。</p> <p>第2章では、第1章での知見を元に、炭素微粒子で構築される多孔質炭素電極に注目した。多孔質炭素電極はこれまで多くのDET型酵素電極反応の足場として検討されているが、多孔質炭素電極の構造に注目した研究例はごくわずかである。本研究では粒</p>			

粒子径が小さく中空状の炭素微粒子であるKetjen Black (KB)、粒子径が小さく緻密な炭素微粒子であるVulcan、粒子径が大きく緻密な黒鉛粒子 (JSP)を用いて多孔質炭素電極を作製し、BODのDET型反応に対して電極の構造が及ぼす影響を調べた。多孔質炭素電極の特性評価は、第1章同様に非ファラデー電流の測定とSEM観察と共に、多孔質炭素電極の分布状態を評価するためにレーザー顕微鏡を用いた形態観察を行った。このように表面特性が明らかとなった多孔質炭素電極上にBODを吸着させ、DET型の触媒電流を評価した。積層させる炭素微粒子の量が少ない場合は、触媒電流は多孔質炭素電極の表面積に比例し、その比例係数は $JSP \geq Vulcan \gg KB$ の順となった。このことから、KBの中空構造にはBODあるいは基質である酸素が侵入していないことが示唆された。一方で過剰量の炭素微粒子を積層した場合に到達する触媒電流は $KB \geq Vulcan \gg JSP$ の順となった。粒子を積層して構築した多孔質電極におけるDET型反応をシミュレーションしたところ、過剰量の炭素粒子で構築された場合は多孔質電極内部における基質輸送が電流を決め、炭素微粒子が少ない場合には酵素反応速度が電流を決める。そのため、多孔質電極表面がDET型反応に及ぼす影響は、触媒電流が表面積に比例する領域で評価する必要がある。また、粒子径が大きい場合は物質輸送が制限されるために触媒電流が小さくなることが判明した。なお、多孔質金電極の場合と同様に、炭素微粒子間のナノ微細間隙がBODの酵素電極反応において重要であることが再確認された。

第3章では、ナノ微細間隙の寄与についてさらに追求すべく粒子径の異なるVulcanとJSPを組み合わせた炭素複合材料を構築した。炭素複合材料の組成を制御しつつBODのDET型の酵素電極反応について検討を行ったところ、VulcanとJSPの重量比が50:50で混合した多孔質炭素電極の場合にBODのDET型反応に対する特性が最大となり、VulcanあるいはJSP単体の場合と比べて電極表面積に対して高い酵素活性が得られた。よって、Vulcan粒子とJSP粒子の接触している境界領域がBODのDET型反応に対して有利であることが明らかとなった。電流電圧曲線に基づいて電極表面におけるBODの向きを解析したところ、炭素複合材料間での酵素の配向に明瞭な違いは見いだされなかった。これは電極表面においてDET型反応に不利な配向で吸着したBODが近接する炭素粒子と電子授受できるという、多孔質電極上における酵素の多点接触モデルを支持している。

以上の検討から、BODは多孔質電極上では電極と多点で接触することで、電極と電子授受の可能な酵素の割合が増大することが分かった。そのため、平坦な電極と比べた場合、電極表面積の増大以上に酵素活性が強化されるという多孔質電極上でBODのDET型反応が増強される原因が明らかになった。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

バイオ燃料電池は酵素反応に伴う電子移動を電極反応と共役させることで、化学エネルギーを電気エネルギーに直接変換するデバイスである。バイオ燃料電池の基盤技術であるDET型反応の速度は酵素内の電極活性部位と電極間距離の増大に応じて指数関数的に減少するため、電極表面における酵素の吸着量と配向が重要となる。そのため、様々な多孔質材料が電極として検討されて来た。

本研究では、電極表面の微細構造と酵素の配向性の関係を念頭において、①金ナノ粒子で構築された多孔質金電極、②粒径と形状の異なる3種類の炭素微粒子で作製した多孔質炭素電極、③2種の炭素微粒子を混合した多孔質炭素電極を用いて、DET型反応の速度増大効果を評価した。その結果、粒子同士が形成するナノ微細間隙が、DET型反応の触媒電流密度を決定する重要な因子であることを見出した。加えて、ナノ微細間隙中で酵素が多点多点で電極と接触することで、DET型反応に有利な配向を持つ酵素の割合が劇的に増大することを明らかにした。本論文で評価できる点は以下の通りである。

1. 多孔質金電極上でのBODのDET型反応を精査した。疎に分布した金ナノ粒子ではDET型反応は促進されず、金ナノ粒子が凝集した多孔質構造が形成されることでDET型反応による触媒電流が顕著に増大した。金ナノ粒子間に構築されたナノ微細間隙が、高速のDET型反応に有効な反応場であることを明らかにした。
2. 形状と粒径の異なる3種類の炭素材料を用いて多孔質炭素電極を作製し、BODのDET型反応の触媒電流を精査した。中空状の炭素粒子内部はDET型反応に寄与せず、炭素微粒子同士が形成するナノ微細間隙がDET型反応の触媒電流密度を決定する重要な因子であることを明らかにした。
3. VulcanとJSPを混合した多孔質炭素電極上におけるBODのDET型反応による触媒電流を精査した。重量比50:50で混合して作製した多孔質炭素電極は、それぞれの炭素材料単独の場合に比べてBODのDET型反応に適したナノ微細間隙を形成し、高速のDET型反応が可能な酵素の割合が増大することを明らかにした。

以上のように、本論文では多孔質電極によるBODのDET型反応増強の諸因子を明らかにした。一連の研究成果は、分析化学、電気化学、および酵素化学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和3年2月10日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)