

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2007年8月23日 (23.08.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/094429 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 27/30 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01) 学法人京都大学大学院 農学研究科内 Kyoto (JP). 加納健司 (KANO, Kenji) [JP/JP]; 〒6068502 京都府京都市左京区北白川追分町 国立大学法人京都大学大学院 農学研究科内 Kyoto (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2007/052770
- (22) 国際出願日: 2007年2月15日 (15.02.2007) (74) 代理人: 長濱 範明 (NAGAHAMA, Noriaki); 〒1040028 東京都中央区八重洲2-10-10 ムラキビル8階 長濱国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (30) 優先権データ:
特願2006-041245 2006年2月17日 (17.02.2006) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): トヨタ自動車株式会社 (TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 Aichi (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 梶野 勉 (KAJINO, Tsutomu) [JP/JP]; 〒4801192 愛知県愛知郡長久手町大字長湫字横道4-1-1 株式会社豊田中央研究所内 Aichi (JP). 瀬戸山 徳彦 (SETOYAMA, Norihiko) [JP/JP]; 〒4801192 愛知県愛知郡長久手町大字長湫字横道4-1-1 株式会社豊田中央研究所内 Aichi (JP). 上村 恵子 (UEMURA, Keiko) [JP/JP]; 〒4801192 愛知県愛知郡長久手町大字長湫字横道4-1-1 株式会社豊田中央研究所内 Aichi (JP). 福嶋 喜章 (FUKUSHIMA, Yoshiaki) [JP/JP]; 〒4801192 愛知県愛知郡長久手町大字長湫字横道4-1-1 株式会社豊田中央研究所内 Aichi (JP). 加藤 久雄 (KATO, Hisao) [JP/JP]; 〒4718571 愛知県豊田市トヨタ町1番地 トヨタ自動車株式会社内 Aichi (JP). 辻村 清也 (TSUJIMURA, Seiya) [JP/JP]; 〒6068502 京都府京都市左京区北白川追分町 国立大
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ELECTRODE MATERIAL AND ENERGY CONVERSION DEVICE USING SAME

(54) 発明の名称: 電極材料、並びにそれを用いたエネルギー変換デバイス

(57) Abstract: Disclosed is an electrode material comprising a carbon porous body and an oxidation-reduction enzyme supported by the carbon porous body.

(57) 要約: カーボン多孔体と、前記カーボン多孔体に担持された酸化還元酵素とを備える、電極材料。

WO 2007/094429 A1

明 細 書

電極材料、並びにそれを用いたエネルギー変換デバイス

技術分野

[0001] 本発明は、電極材料、並びにそれを用いたエネルギー変換デバイスに関し、より詳しくは、炭素複合材料からなる電極材料、並びにそれを用いたエネルギー変換デバイスに関する。

背景技術

[0002] 従来、多孔体に関する様々な研究がなされており、その吸着性を利用して、触媒、電極材料等の担体への適用が検討されている。そして、このような多孔体を担体として、その担体に機能性分子を担持させた様々な炭素複合材料が開示されている。

[0003] 例えば、A.Vinu et al., "Adsorption of Cytochrome C on New Mesoporous Carbon Molecular Sieves", J.Phys.Chem.B, 2003, Vol.107, p.8297~8299(文献1)においては、メソポーラスカーボンモレキュラーシーブにチトクロームCを担持させた炭素複合材料が開示されている。

[0004] しかしながら、上記文献1においては、メソポーラスカーボンモレキュラーシーブにチトクロームCを担持させた炭素複合材料を電極材料に適用する旨の記載はない。

発明の開示

[0005] 本発明は、上記従来技術の有する課題に鑑みてなされたものであり、担持成分の十分な安定性と優れた活性とを得ることができ、担体と担持成分との間の効率的な電子伝導が可能な電極材料及びそれを用いたエネルギー変換デバイスを提供することを目的とする。

[0006] 本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、カーボン多孔体に酸化還元酵素を担持させることによって、担持成分の十分な安定性と優れた活性とを得ることができ、担体と担持成分との間の効率的な電子伝導が可能な電極材料が得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0007] すなわち、本発明の電極材料は、カーボン多孔体と、前記カーボン多孔体に担持された酸化還元酵素とを備える、ものである。

- [0008] 上記本発明にかかる前記カーボン多孔体としては、比表面積が $100\text{m}^2/\text{g}$ 以上であり、且つ、細孔径分布領域が $2\text{nm}\sim 100\text{nm}$ の範囲における全細孔容量を基準として、平均細孔径の $\pm 25\%$ の範囲における細孔容量が 60% 以上のものであることが好ましい。
- [0009] また、上記本発明にかかる前記カーボン多孔体としては、スキャン領域 $2\theta = 0.5\sim 10^\circ$ (CuK $_{\alpha}$ 線)においてX線回折ピークが認められず、吸脱着等温線から計算された細孔径分布において、分布ピークトップの細孔径値が 1nm 以上 10nm 未満の範囲に存在する場合には該細孔径値(d)に対して $d\pm 2\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の 60% 以上が含まれており、また分布ピークトップの細孔径値が 10nm 以上 50nm 以下の範囲に存在する場合には該細孔径値(D)に対して $(0.75\times D)\sim (1.25\times D)\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の 60% 以上が含まれるカーボンゲルであることが好ましい。
- [0010] また、本発明においては、前記カーボンゲルが、分布ピークトップの細孔径値が $1\sim 20\text{nm}$ のものであることが好ましい。
- [0011] さらに、本発明においては、前記カーボンゲルが、平均粒径が $2\sim 50\text{nm}$ の一次粒子からなるものであることが好ましい。
- [0012] また、上記本発明にかかる前記酸化還元酵素としては、ラッカーゼ及びビリルビンオキシターゼからなる群から選択される少なくとも1種の酵素であることが好ましい。
- [0013] さらに、上記本発明の電極材料においては、前記カーボン多孔体に担持された電子伝達物質を更に備えることが好ましい。
- [0014] また、上記本発明の電極材料においては、前記カーボン多孔体が細孔を有し、前記酸化還元酵素のうちの少なくとも一部が前記細孔内に担持されていることが好ましい。
- [0015] さらに、本発明のエネルギー変換デバイスは、上記本発明の電極材料を備えるものである。
- [0016] 本発明によれば、担持成分の十分な安定性と優れた活性とを得ることができ、担体と担持成分との間の効率的な電子伝導が可能な電極材料及びそれを用いたエネルギー変換デバイスを提供することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]図1は、実施例5で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用いて得られたサイクリックボルタムグラムである。

[図2]図2は、比較例1で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用いて得られたサイクリックボルタムグラムである。

[図3]図3は、実施例7及び比較例2で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用いて得られたサイクリックボルタムグラムである。

[図4]図4は、図3に示すサイクリックボルタムグラムの電流 $-200\sim 100\mu\text{A}$ の範囲を拡大して示すサイクリックボルタムグラムである。

発明を実施するための最良の形態

[0018] 以下、本発明をその好適な実施形態に即して詳細に説明する。

[0019] 本発明の電極材料は、カーボン多孔体と、前記カーボン多孔体に担持された酸化還元酵素とを備えるものである。

[0020] (カーボン多孔体)

本発明にかかるカーボン多孔体としては、担持成分の安定性及び活性を十分に向上させることが可能となる比表面積、細孔径及び細孔容量を有するカーボン多孔体であるメソポーラスカーボン粒子やカーボンゲルが含有され、いわゆるカーボンブラックは含有されない。

[0021] このようなカーボン多孔体の平均細孔径としては、 $2\sim 50\text{nm}$ であることが好ましく、 $2\sim 20\text{nm}$ であることが特に好ましい。カーボン多孔体の平均細孔径が 2nm 未満では、細孔の大きさが担持成分の大きさよりも小さくなることが多くなり、吸着性が低下してしまう傾向にあり、他方、 50nm を超えると、比表面積の低下を招き、吸着性が低下してしまう傾向にある。また、カーボン多孔体の平均細孔径が 20nm を超えると、一部の担持成分を担持する際に不都合が生じ易くなる傾向にある。

[0022] また、担持成分の担持量の低減を防止する観点から、本発明にかかるカーボン多孔体の平均細孔径は担持成分の分子径以上であることが好ましく、担持成分の分子径の $1\sim 1.25$ 倍程度であることがより好ましい。本発明にかかるカーボン多孔体の平均細孔径が、前述のような大きさであると、担持成分がその分子径に合わせた細

孔内に固定されることから、熱により担持成分が失活する際に生じてしまう構造変化を細孔外壁が抑制するため、担持成分の失活を防ぐことができ、熱的安定性が向上する傾向にある。

[0023] また、本発明にかかるカーボン多孔体としては、細孔径分布領域が2nm～100nmの範囲における全細孔容量を基準として、平均細孔径の±25%の範囲における細孔容量が60%以上であるものが好ましい。細孔径の均一性がこれより悪いと酸化還元酵素等の担持成分の担持に最適な細孔径以外の細孔の成分が多くなり、酸化還元酵素の安定性及び活性が十分に向上しない傾向にある。

[0024] また、本発明にかかるカーボン多孔体の比表面積は、 $100\text{m}^2/\text{g}$ 以上であることが好ましく、 $500\sim 1000\text{m}^2/\text{g}$ であることが更に好ましい。カーボン多孔体の比表面積が $100\text{m}^2/\text{g}$ 未満の場合には、担持成分との接触面積の低下及び担持成分を取り込む細孔の減少が生じ、吸着性が低いものになってしまう傾向にある。

[0025] さらに、本発明にかかるカーボン多孔体の細孔容量は、上記比表面積及び平均細孔径によっても変動するため特に制限されないが、 $0.1\sim 50\text{ml}/\text{g}$ であることが好ましく、 $0.2\sim 2.5\text{ml}/\text{g}$ であることがより好ましい。

[0026] また、担持成分の担持量の低減を防止する観点から、本発明にかかるカーボン多孔体の細孔のうちの前記酸化還元酵素の分子径以上の細孔径を有する細孔の全容量が、担持された前記酸化還元酵素の全体積以上であることが好ましい。

[0027] 本発明にかかるカーボン多孔体の比表面積、平均細孔径及び細孔容量は、以下に述べる方法により求めることができる。すなわち、カーボン多孔体を所定の容器に入れて液体窒素温度(-196°C)に冷却し、容器内に窒素ガスを導入して定容量法又は重量法によりその吸着量を求める。次いで、導入する窒素ガスの圧力を徐々に増加させ、各平衡圧に対する窒素ガスの吸着量をプロットして窒素吸着等温線を得る。この窒素吸着等温線を用い、SPE(Subtracting Pore Effect)法により比表面積、平均細孔径及び細孔容量を算出することができる(K.Kaneko, C.Ishii, M.Ruiké, H.Kuwabara, Carbon 30, 1075, 1986)。上記SPE法とは、 α_s -プロット法、 t -プロット法等によってマイクロ細孔解析を行い、マイクロ細孔の強いポテンシャル場の効果を取り除いて比表面積等を算出する方法であり、マイクロ細孔性多孔体の比表面積等の

算出においてBET法よりも精度の高い方法である。

[0028] また、前記メソポーラスカーボン粒子とは、2～100nmの細孔径分布における細孔容量の全体を基準として、2～10nmの細孔径分布における細孔容量が80%以上であり、粒子内にメソ細孔を有するカーボン粒子である。なお、このような細孔径分布を測定する方法としてはXRD及び窒素吸着法により測定する方法が挙げられる。

[0029] このようなメソポーラスカーボン粒子を製造する方法は特に限定されず、例えば、以下のような方法を採用することができる。すなわち、シリカ、チタニア等の多孔質粒子に対して、ショ糖、フルフリルアルコール等の有機分子を吸着、含浸させた後に、不活性雰囲気下で炭素化する。その後、フッ酸や、NaOH/EtOH等によりシリカ等の鑄型となった粒子を溶解、除去することでシリカ等の多孔質粒子を鑄型とするメソポーラスカーボン粒子が製造できる。例えば鑄型となる多孔質粒子としては、シリカメソ多孔体のMCM-48が使用できる。

[0030] また、前記カーボンゲルとは、以下の(i)～(ii)の条件を満たすものである。

(i) X線回折測定(XRD)において、スキャン領域 $2\theta = 0.5 \sim 10^\circ$ (CuK _{α} 線)においてX線回折ピークが認められない。

(ii) 吸脱着等温線から計算された細孔径分布において、分布ピークトップの細孔径値が1nm以上10nm未満の範囲に存在する場合には前記細孔径値(d)に対して $d \pm 2\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の60%以上が含まれており、また分布ピークトップの細孔径値が10nm以上50nm以下の範囲に存在する場合には該細孔径値(D)に対して $(0.75 \times D) \sim (1.25 \times D)\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の60%以上が含まれる。

[0031] ここで、X線回折ピークは、そのピーク角度に相当するd値の周期構造が試料中にあることを意味する。したがって、スキャン領域 $2\theta = 0.5 \sim 10^\circ$ (CuK _{α} 線)において1本以上のピークが認められる炭素系多孔体は、細孔が0.9～17.7nmの周期で規則的に配列している、いわゆるメソポーラスカーボン(MPC)である。そして、担体がこのようなメソポーラスカーボンの場合、担持される成分に対する安定性及び活性化の十分な向上が達成されない傾向にある。

[0032] 前記カーボンゲルは、スキャン領域 $2\theta = 0.5 \sim 10^\circ$ (CuK _{α} 線)においてX線回

折ピークが認められないものであり、その細孔が周期的配列構造を有しておらず、相互に連結した3次元的ネットワーク構造を有している。このようなカーボンゲルを担体として用いることにより、その理由は定かではないが、担持成分に対する安定性及び活性化が驚くべきことに向上する。

- [0033] なお、X線回折測定(XRD)においてバックグラウンドノイズ強度に対するピーク強度の比が3未満のものはX線回折ピークと認めない。すなわち、「スキャン領域 $2\theta = 0.5 \sim 10^\circ$ (CuK $_{\alpha}$ 線)においてX線回折ピークが認められない」とは、スキャン領域 $2\theta = 0.5 \sim 10^\circ$ (CuK $_{\alpha}$ 線)において、バックグラウンドノイズ強度に対するピーク強度の比が3以上のX線回折ピークは1本も観測されないことをいう。
- [0034] また、前記カーボンゲルは、前記一次粒子からなる凝集体であり、吸脱着等温線から計算された細孔径分布において、(ii-1)分布ピークトップの細孔径値が1nm以上10nm未満の範囲に存在する場合には該細孔径値(d)に対して $d \pm 2\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の60%以上が含まれており、また、(ii-2)分布ピークトップの細孔径値が10nm以上50nm以下の範囲に存在する場合には前記細孔径値(D)に対して $(0.75 \times D) \sim (1.25 \times D)\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の60%以上が含まれるものである。細孔径の均一性がこれより悪いと、酵素等の担持に最適な細孔径以外の細孔の成分が多くなり、得られる効果が低減する。
- [0035] さらに、前記カーボンゲルの前記分布ピークトップの細孔径値は1~20nmであることが好ましい。カーボンゲルの前記細孔径値が1nm未満では、細孔の大きさが担持成分の大きさよりも小さくなることが多くなり、吸着性が低下してしまい、他方、50nmを超えると、比表面積の低下を招き、吸着性が低下してしまう。また、カーボンゲルの前記細孔径値が20nmを超えると、担持成分を担持する際に不都合が生じ易くなる傾向にある。
- [0036] また、前記カーボンゲルとしては、平均粒径が2~50nmの一次粒子からなるものが好ましく、より好ましくは平均粒径が4~20nmの一次粒子からなるものである。カーボンゲルを構成する一次粒子の平均粒径が2nm未満では、細孔の大きさが担持成分の大きさよりも小さくなることが多くなり、吸着性が低下してしまい、他方、50nmを超えると、比表面積の低下を招き、吸着性が低下してしまう。

- [0037] このようなカーボンゲルを製造する方法は特に制限されず、従来公知の方法を採用して適宜製造することが可能である。このようなカーボンゲルの製造方法としては、例えば、以下に説明する方法が挙げられる。
- [0038] すなわち、先ず、例えば、文献(R. W. Pekala, C. T. Alviso, F. M. Kong, and S. S. Hulsey, J. Non-cryst. Solids vol. 145, p. 90(1992年))に記載の方法に準じて有機ゲルを合成する。すなわち、レゾルシノール等のフェノール類とホルムアルデヒド等のアルデヒド類をアルカリ触媒又は酸触媒の存在下で反応させ、熟成させてフェノール樹脂からなる有機ゲルを得る。次に、得られた有機ゲルを乾燥させた後、不活性雰囲気下で焼成して炭素化せしめることにより、カーボンゲルを得ることが可能である。
- [0039] (酸化還元酵素)
- 本発明にかかる酸化還元酵素は、本発明の電極材料を正極側の材料として用いるか、あるいは負極側の材料として用いるかによって、それに見合う好適な酵素を適宜選択して用いる。
- [0040] 本発明の電極材料を正極側の材料として用いる場合には、本発明にかかる酸化還元酵素は反応により電子を受け取ることができる酵素であれば特に制限されず、プロトンと酸素を基質に水を生ずる反応を触媒することが可能なラッカーゼやビリルビンオキシダーゼが特に好ましい。
- [0041] 一方、本発明の電極材料を負極側の材料として用いる場合には、本発明にかかる酸化還元酵素は反応により電子を放出できる酵素であれば特に制限されず、アルコールを酸化して電子を放出する反応を触媒することが可能なアルコールデヒドロゲナーゼ、アルデヒドやギ酸を酸化するアルデヒドデヒドロゲナーゼやギ酸デヒドロゲナーゼ等を挙げることができる。また、このような負極側の電極材料に用いられる酸化還元酵素としては、電子を供給する原料に応じて対応するオキシダーゼやデヒドロゲナーゼ等の酸化酵素を利用でき、具体的には、アルコールを原料とするアルコールオキシダーゼ、ギ酸などの有機酸を原料とする有機酸デヒドロゲナーゼ、糖を原料とするグルコースオキシダーゼやグルコースデヒドロゲナーゼ等の糖オキシダーゼや糖デヒドロゲナーゼが好適である。更には、水素を原料とするヒドロゲナーゼも好適に用い

ることができる。

[0042] (電極材料)

上述のように、本発明の電極材料は、カーボン多孔体と、前記カーボン多孔体に担持された酸化還元酵素とを備えるものである。

[0043] 本発明の電極材料において、カーボン多孔体に担持されている酸化還元酵素の量は、酵素活性が示されれば特に制限されないが、得られる電極材料において酸化還元酵素が十分な活性を示すようになるという観点から、カーボン多孔体100質量部に対して酸化還元酵素の担持量が0.01~80質量部程度であることが好ましい。

[0044] また、カーボン多孔体に酸化還元酵素を担持せしめて本発明の電極材料を得る方法も特に制限されず、昇華法、含浸法等の方法を採用することが可能であるが、以下の含浸法がより好適である。すなわち、先ず、酸化還元酵素を沈殿が生じない濃度(好ましくは0.1mg/ml~1000mg/ml)となるように水又は緩衝液に溶解させる。そして、その溶液が凍結することなく、また酸化還元酵素が変性することのない温度(好ましくは0℃~50℃)でカーボン多孔体を懸濁させて、少なくとも5分以上、好ましくは30分以上酸化還元酵素とカーボン多孔体とを接触させることによりカーボン多孔体の細孔内に酸化還元酵素が固定化されて本発明の電極材料が得られる。

[0045] 上記溶液にカーボン多孔体を懸濁させる際の濃度は特に制限されないが、0.1~1000mg/ml程度とすることが好ましい。また、上記担持工程の後に、更に、遠心分離等を行ってカーボン多孔体複合材料を溶液と分離して取り出す工程を有していてもよく、また、乾燥等を行って液体成分を除去した状態のカーボン多孔体複合材料を得る工程を有していてもよい。

[0046] また、本発明の電極材料は、前記カーボン多孔体に担持された電子伝達物質を更に備えることが好ましい。前記カーボン多孔体に酸化還元酵素に加えて電子伝達物質を更に担持させることで、電子伝達物質と酸化還元酵素とが相俟って、より効率的な電子伝導が可能となる傾向にある。このような電子伝達物質としては、チトクロームC、フェレドキシン等の電子伝達タンパク質、オスmium(Os)錯体、ルテニウム(Ru)錯体等の金属錯体、電子伝達機能を有する有機化合物等が挙げられる。なお、本発明の電極材料においては、前記カーボン多孔体に担持させる電子伝達物質の量が

酸化還元酵素の量よりも過剰であることが好ましい。

[0047] また、カーボン多孔体に電子伝達物質を担持せしめる方法としては、前述のようなカーボン多孔体に酸化還元酵素を担持せしめる方法と同様の方法を採用することができる。また、カーボン多孔体に電子伝達物質と酸化還元酵素とを同時に担持させてもよい。

[0048] また、本発明の電極材料においては、前記カーボン多孔体が細孔を有し、前記酸化還元酵素のうちの少なくとも一部が前記細孔内に担持されていることが好ましい。このようなカーボン多孔体の細孔内に担持させる酸化還元酵素の量は特に制限されず、目的とする電極材料の設計に応じて適宜調整することができ、所望の発電に必要な量とすることが好ましい。

[0049] 次に、本発明のエネルギー変換デバイスについて説明する。すなわち、本発明のエネルギー変換デバイスは、上記本発明の電極材料を備えるものである。このようなエネルギー変換デバイスとしては、バイオセンサー、燃料電池、太陽電池等が挙げられる。

[0050] このようなバイオセンサーとしては、例えば、生体成分等の検出を行うための検出部に上記本発明の電極材料を備えるものが挙げられる。このように、バイオセンサーに上記本発明の電極材料を備えることで、酵素と電極間の電子移動が効率的に行なわれるため高感度のセンシングが可能となる。また、このようなバイオセンサーの製造方法は特に制限されず、公知の製造方法を適宜採用することができる。なお、前記生体成分とは、一般に生体の範疇に含まれる生物そのもの及びこれらを構成しているあらゆる組織や細胞のことを意味し、更には、そのようなものを原料として製造、加工された食品等についても生体成分に含まれるものとする。また、このようなバイオセンサーとしては、検出したい生体中の成分に合わせて、上記本発明の電極材料中に含有される酸化還元酵素を選択すればよい。

[0051] また、前記燃料電池又は前記太陽電池としては、例えば、前記燃料電池用又は前記太陽電池用の電極に上記本発明の電極材料を備えるものが挙げられる。

[0052] このような燃料電池用又は前記太陽電池用の電極は、例えば、上記本発明の電極材料を所定の形状を有する電極用の芯材の表面に修飾させて得ることができる。ま

た、このような芯材としては特に制限されず、燃料電池や太陽電池の電極に用いることができる種々の材料を用いることができる。また、芯材の表面に本発明の電極材料を修飾させて電極を得る方法は特に制限されないが、例えば、本発明の電極材料を有機溶剤に分散させて得られる懸濁液を、前記芯材の表面に塗布して芯材の表面に本発明の電極材料を修飾させて方法や、前記芯材の表面にカーボン多孔体を懸濁させた溶液を塗布し、前記芯材の表面にカーボン多孔体を修飾させた後、そのカーボン多孔体に酸化還元酵素を担持させて電極を製造する方法等を挙げることができる。

実施例

[0053] 以下、実施例及び比較例に基づいて本発明をより具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0054] (合成例1～5:カーボンゲルの合成)

先ず、文献(R. W. Pekala, C. T. Alviso, F. M. Kong, and S. S. Hulsey, J. Non-cryst. Solids vol. 145, p. 90(1992年))に記載の方法に準じて有機ゲルの合成を行った。すなわち、レゾルシノール5.5g(和光純薬)及び炭酸ナトリウム26.5mg(和光純薬)を蒸留水16.9gに溶解し、その後37%ホルムアルデヒド水溶液8.1g(和光純薬)を加え、攪拌混合した。混合溶液は薄黄色透明となった。なお、各成分のモル比は以下の通りである。

レゾルシノール:炭酸ナトリウム:ホルムアルデヒド=200:1:400

次いで、上記のようにして調製した溶液を更に水で希釈することにより、細孔径の制御しつつ有機ゲルを得た。すなわち、上記のようにして調製した原液を体積比で0.1から3倍(体積比)に希釈した溶液を調製し(合成例1:希釈倍率0.1倍、合成例2:希釈倍率0.5倍、合成例3:希釈倍率1倍、合成例4:希釈倍率3倍、合成例5:希釈倍率2倍)、これらの溶液をバイアル瓶に入れて密栓し、室温で24時間、50℃で24時間、更に90℃で72時間静置することで、水和された有機ゲルを得た。

[0055] 次に、得られた有機ゲルを、以下のようにして乾燥せしめた。すなわち、先ず、有機ゲル中の水分を除去するために交換溶媒であるアセトン(和光純薬)中に水和された有機ゲルを浸漬した。有機ゲル中の水分がアセトン中に拡散することで、ゲル中の水

分は完全にアセトンに置換された。この際、置換溶媒であるアセトンを数度にわたり、新品と交換することにより、さらに水分の置換率が向上した。続いて、浸漬溶媒をn-ペンタン(和光純薬)に変更し、上記と同様にして有機ゲル中のアセトンがn-ペンタンに完全に入れ替わるまで、溶媒交換-浸漬を繰り返した。そして、n-ペンタンに溶媒置換された有機ゲルを風乾することで、乾燥有機ゲルを得た。

[0056] 次いで、得られた乾燥有機ゲルを、以下のようにして炭素化せしめてカーボングエルを得た。すなわち、乾燥有機ゲルを窒素気流下(流量300ml/min)、1000°Cで加熱することで、ゲルの炭素化を行った。加熱時間は6時間とした。

[0057] <X線回折測定(XRD)>

合成例1~5で得られたカーボングエル及び比較合成例1で得られたメソポーラスカーボンについてX線回折を測定したところ、合成例1~5で得られたカーボングエルにおいてはスキャン領域 $2\theta = 0.5 \sim 10^\circ$ (CuK α 線)におけるX線回折ピークは確認されなかった。このことから、合成例1~5で得られたカーボングエルにおいては細孔が周期的配列構造を有しておらず、細孔が相互連結した構造になっており、3次元的なネットワーク構造を有していることが確認された。

[0058] <細孔径分布等の測定>

合成例1~5で得られたカーボングエルについて窒素吸着測定を行い、得られた窒素吸着等温線に基づいてカーボングエルの細孔径分布を求めた。その結果、合成例1~5で得られたカーボングエルの細孔径は2~約40nmの範囲のみに分布しており、平均細孔径の $\pm 25\%$ の範囲における細孔容量が60%以上であり、且つ平均細孔径の $\pm 2\text{nm}$ の範囲に全細孔容量の60%以上が含まれていることが確認され、その分布形状から均一性の高い細孔を有していることが確認された。また、合成例1~5で得られたカーボングエルの平均細孔径は表1に示す通りであった。

[0059] [表1]

	希釈倍率 (体積比)	平均細孔径 (nm)	比表面積 (m^2/g)
合成例 1	0.1倍	3.9	545
合成例 2	0.5倍	8.0	393
合成例 3	1倍	10.1	656
合成例 4	3倍	36.3	653
合成例 5	2倍	22.0	850

[0060] (実施例1～4)

合成例1～4で得られたカーボンゲルを用いて、本発明の電極材料を製造した。すなわち、先ず、酵素としてビリルビンオキシダーゼ(BOD)を蒸留水に溶解し、0.7mg/mlの酵素溶液を調整した。次に、各カーボンゲル12.5mgに、それぞれ酵素溶液0.5mlを加え、4℃の温度条件下において緩やかに一晩混和して前記酵素を各カーボンゲルに固定化した。その後、酵素を固定したカーボンゲルを遠心分離により酵素溶液から分離、回収し、5mlの蒸留水で3回洗浄を繰り返して本発明の電極材料(実施例1:合成例1で得られたカーボンゲルを使用、実施例2:合成例2で得られたカーボンゲルを使用、実施例3:合成例3で得られたカーボンゲルを使用、実施例4:合成例4で得られたカーボンゲルを使用)を得た。

[0061] <酵素の固定化量の測定>

固定化された酵素量を、固定化前後の酵素溶液中の酵素量を280nmの吸光度により求め、カーボンゲルに固定化された酵素量を算出した。酵素の分子量から推定される酵素の分子径(BOD:6.4nm)より大きな平均細孔径を有する実施例2～4で得られた電極材料においては、添加したほぼ全量の酵素が固定化されていることが確認された。

[0062] <固定化された酵素の熱安定性試験>

実施例2～4で得られた電極材料を用いて、カーボン多孔体に固定化されたBOD

の熱安定性を評価した。12.5mgの各電極材料を、それぞれ1mlの50mMリン酸緩衝(pH7.5)に懸濁し、60°Cで所定時間(5~60分)熱処理した後、氷中で十分冷却し、その後、遠心分離により各電極材料を回収した。

[0063] 次に、回収された各電極材料に、基質溶液(2.5mMフェロシアン化ナトリウム、50mMリン酸緩衝液(pH7.5)、酸素飽和)を2.5ml添加し、37°Cで25分間攪拌した後、冷却し、上清の420nmの吸光度を測定することにより残存活性(加熱処理前の活性を100%とする相対活性)を求めた。得られた結果を表2に示す。

[0064] 表2の結果からも明らかなように、実施例2~4で得られたいずれの電極材料も十分な熱安定性があることが確認された。また、酵素分子の大きさにあった細孔を有する合成例2及び合成例3で得られたカーボングェルに酵素を固定化した電極材料(実施例2~3)においては、固定化された酵素の熱安定性がより高いものとなることが確認された。

[0065] [表2]

	残存活性(%)	
	10分	30分
実施例2 (平均細孔径:8.0nm)	81	65
実施例3 (平均細孔径:10.1nm)	65	36
実施例4 (平均細孔径:36.3nm)	53	28

[0066] (実施例5)

先ず、合成例2で得られたカーボングェル20mgを、10%ポリビニルジフルオライドを含有するn-メチルピロリドン(NMP)に懸濁させた懸濁液を得た。次に、φ6/φ3グラッシーカーボン(GC)筒型電極の表面に前記懸濁液を10μlずつ3回スピコート(1500rpm)してカーボン多孔体修飾電極を得た。次いで、得られたカーボン多孔体修飾電極を5μM酵素(BOD)水溶液に4°Cの温度条件下で一晩浸漬した後、MilliQ

水で3回洗浄して、電極表面に修飾されたカーボン多孔体(カーボンゲル)にBODを固定化せしめ、電極の表面において本発明の電極材料を製造し、本発明の電極材料が表面に修飾された電極を得た。

[0067] (実施例6)

5 μ M酵素(BOD)水溶液の代わりに5 μ Mアルコールデヒドロゲナーゼ(ADH)水溶液を用いた以外は実施例5と同様にして、電極表面に修飾されたカーボン多孔体(カーボンゲル)にADHを固定化せしめ、電極の表面において本発明の電極材料を製造し、本発明の電極材料が表面に修飾された電極を得た。

[0068] (比較例1)

また、5 μ M酵素(BOD)水溶液の代わりに5 μ M電子伝達タンパク質(チトクロームC)水溶液を用いた以外は実施例5と同様にして、電極表面に修飾されたカーボン多孔体(カーボンゲル)にチトクロームCを固定化せしめ、電極表面において、カーボンゲルにチトクロームCを担持させた比較のための電極材料を製造し、比較のための電極材料が表面に修飾された電極を得た。

[0069] <電極の電気特性試験>

実施例5及び比較例1で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用い、酸素あるいはアルゴン飽和した0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)を電解質として、サイクリックボルタムグラム法(実施例5:電位0~600mVとの間で電位掃引(掃引速度20mV/秒)、比較例1:電位0~600mVとの間で電位掃引(掃引速度20mV/秒))により各電極の電気特性を測定した。実施例5で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用いて得られたサイクリックボルタムグラムを図1に示し、比較例1で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用いて得られたサイクリックボルタムグラムを図2に示す。

[0070] 図1に示すサイクリックボルタムグラムからも明らかなように、カーボンゲルにBODを固定化した本発明の電極材料(実施例5)を表面に修飾させた電極においては、酵素の基質となる酸素が存在しないときには還元電流は観測されないが、酸素の存在下においては還元電流が観測された。このような結果から、本発明の電極材料(実施例5)においては、酵素と電極との間に直接電子移動が起きて還元電流が効率よく流

れることが確認された。

[0071] 一方、図2に示すサイクリックボルタムグラムからも明らかなように、カーボンゲルにチトクロームCを固定化した比較のための電極材料(比較例1)を表面に修飾させた電極においては、酸素の存在下においても還元電流は観測されなかった。このような結果から、比較のための電極材料(比較例1)においては、基質となる酸素と反応する酵素が存在しないため、電子伝達タンパク質のみでは還元電流が流れないことが確認された。

[0072] 次に、実施例6で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用い、1%アルコールを含有する0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)或いはアルコールを含有しない0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)を電解質として、サイクリックボルタムグラム法により電気特性を測定した。

[0073] 測定の結果、1%アルコールを含有する0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)を電解質とした場合には特徴的な酸化電流が観測された。一方、アルコールを含有しない0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)を電解質とした場合には電流が認められなかった。このような結果から、本発明の電極材料(実施例6)においては、酵素と電極との間に直接電子移動が起きて酸化電流が効率よく流れることが確認された。

[0074] (実施例7)

まず、合成例5で得られたカーボンゲル10mgを、0.1%ポリビニルジフルオリドを含有するn-メチルピロリドン(NMP)20 μ lに懸濁させた懸濁液を得た。次に、直径5mmのQCM電極の表面に前記懸濁液1 μ lを塗布し、60°Cで乾燥して、PVDFをバインダーとしたカーボン多孔体修飾電極を得た。次いで、得られたカーボン多孔体修飾電極を5 μ M酵素(BOD)水溶液に4°Cの温度条件下で一晩浸漬した後、Milli Q水で3回洗浄して、電極表面に修飾されたカーボン多孔体(カーボンゲル)にBODを固定化せしめ、電極の表面において本発明の電極材料を製造し、本発明の電極材料が表面に修飾された電極を得た。

[0075] (比較例2)

合成例5で得られたカーボンゲル10mgの代わりに、カーボンブラック(ケッチェンブラック)を用いた以外は実施例7と同様にして比較としての電極を得た。

[0076] <電極の電気特性試験>

実施例7及び比較例2で得られた電極材料が表面に修飾された電極を用い、電解質として50mMリン酸バッファー(pH7.0)を用いて、電解質溶液を静止あるいは攪拌しながらサイクリックボルタムグラム法(電位0~600mVとの間で電位掃引(掃引速度20mV/秒))により各電極の電気特性を測定した。得られたサイクリックボルタムグラムを図3に示し、図3に示すサイクリックボルタグラムの電流-200~100 μ Aの範囲を拡大して示すサイクリックボルタグラムを図4に示す。

[0077] 図3及び図4に示すサイクリックボルタムグラムからも明らかなように、静止状態における酸化電流は、カーボンゲルを用いて実施例7で得られた電極がカーボンブラックを用いて比較例2で得られた電極の約3倍であることが確認された。また、カーボンブラックを用いて比較例2で得られた電極においては攪拌しても電流値は変わらなかったのに対して、カーボンゲルを用いて実施例7で得られた電極においては、電解質溶液を攪拌して反応基質となる溶存酸素量を増やすことによって、更に大きな酸化電流が流れ、比較例2で得られた電極の約10倍の酸化電流が流れることが確認された。

[0078] このような結果から、カーボンブラックを用いて得られた電極(比較例2)においては、酵素と電極担体との間の電子移動が反応律速となっているのに対して、カーボンゲルを用いて得られた電極(実施例7)においては、反応基質の物質移動が反応律速となっていると考えられ、電極材料にカーボン多孔体としてカーボンゲルを利用することで、より効率的に酵素と電極間の電子移動が成し遂げられることが確認された。

産業上の利用可能性

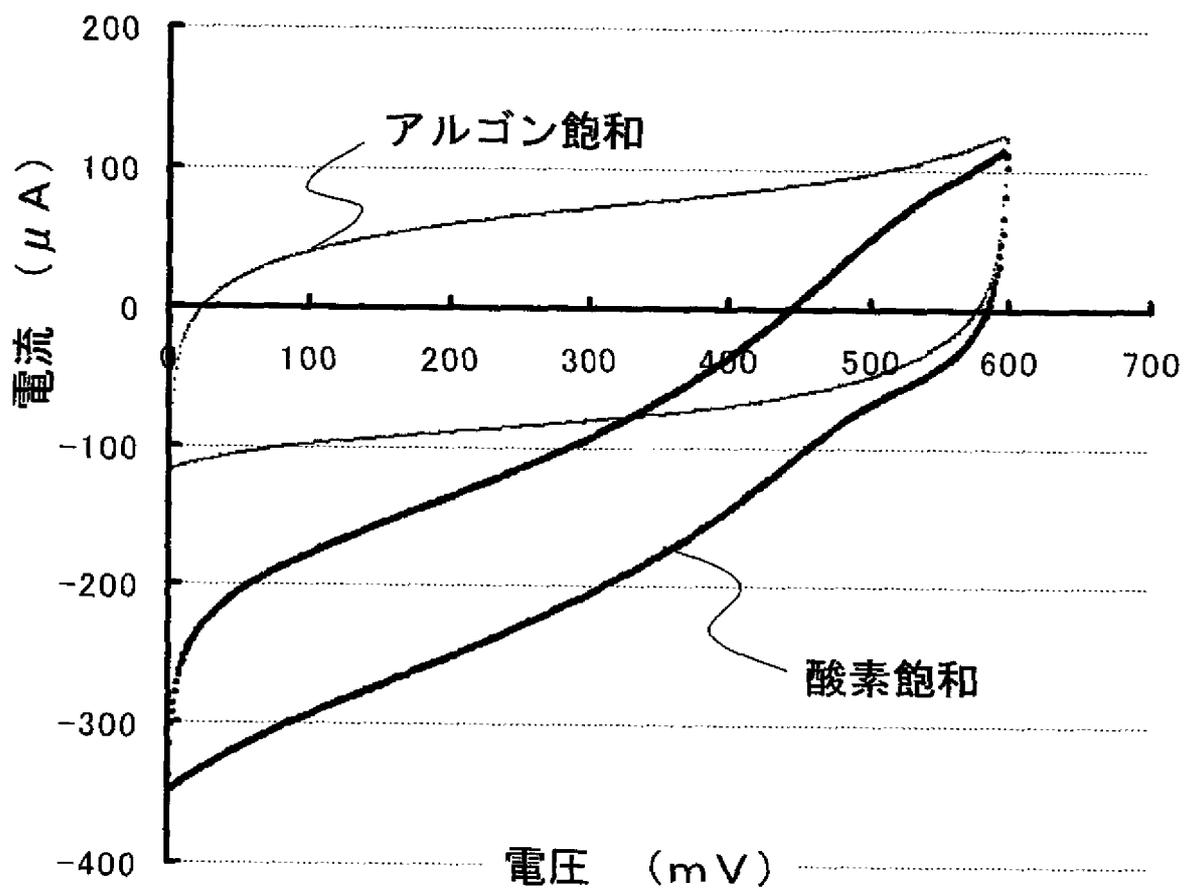
[0079] 以上説明したように、本発明によれば、担持成分の十分な安定性と優れた活性とを得ることができ、担体と担持成分との間の効率的な電子伝導が可能な電極材料を提供することが可能となる。

[0080] したがって、本発明の電極材料は、燃料電池の電極に用いる材料等として有用である。

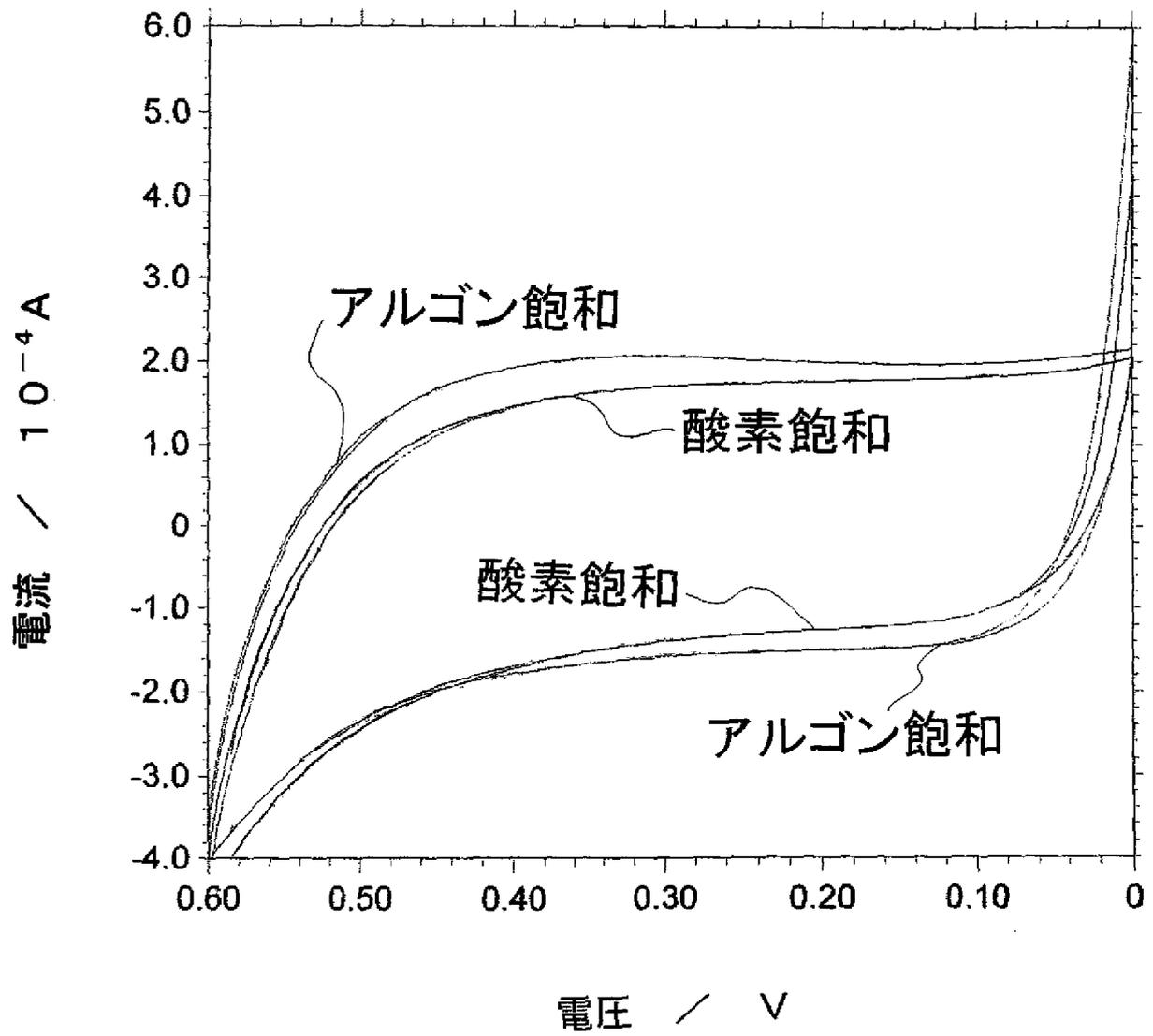
請求の範囲

- [1] カーボン多孔体と、前記カーボン多孔体に担持された酸化還元酵素とを備える、電極材料。
- [2] 前記カーボン多孔体が、比表面積が $100\text{m}^2/\text{g}$ 以上であり、且つ、細孔径分布領域が $2\text{nm}\sim 100\text{nm}$ の範囲における全細孔容量を基準として、平均細孔径の $\pm 25\%$ の範囲における細孔容量が 60% 以上のものである、請求項1に記載の電極材料。
- [3] 前記カーボン多孔体が、スキャン領域 $2\theta = 0.5\sim 10^\circ$ (CuK α 線)においてX線回折ピークが認められず、吸脱着等温線から計算された細孔径分布において、分布ピークトップの細孔径値が 1nm 以上 10nm 未満の範囲に存在する場合には該細孔径値(d)に対して $d\pm 2\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の 60% 以上が含まれており、また分布ピークトップの細孔径値が 10nm 以上 50nm 以下の範囲に存在する場合には該細孔径値(D)に対して $(0.75\times D)\sim (1.25\times D)\text{nm}$ の細孔径領域に全細孔容量の 60% 以上が含まれるカーボンゲルである、請求項1に記載の電極材料。
- [4] 前記カーボンゲルが、分布ピークトップの細孔径値が $1\sim 20\text{nm}$ のものである、請求項3に記載の電極材料。
- [5] 前記カーボンゲルが、平均粒径が $2\sim 50\text{nm}$ の一次粒子からなるものである、請求項3に記載の電極材料。
- [6] 前記酸化還元酵素が、ラッカーゼ及びビリルビンオキシターゼからなる群から選択される少なくとも1種の酵素である、請求項1に記載の電極材料。
- [7] 前記カーボン多孔体に担持された電子伝達物質を更に備える、請求項1に記載の電極材料。
- [8] 前記カーボン多孔体が細孔を有し、前記酸化還元酵素のうちの少なくとも一部が前記細孔内に担持されている、請求項1に記載の電極材料。
- [9] 請求項1～8のうちのいずれか一項に記載の電極材料を備える、エネルギー変換デバイス。

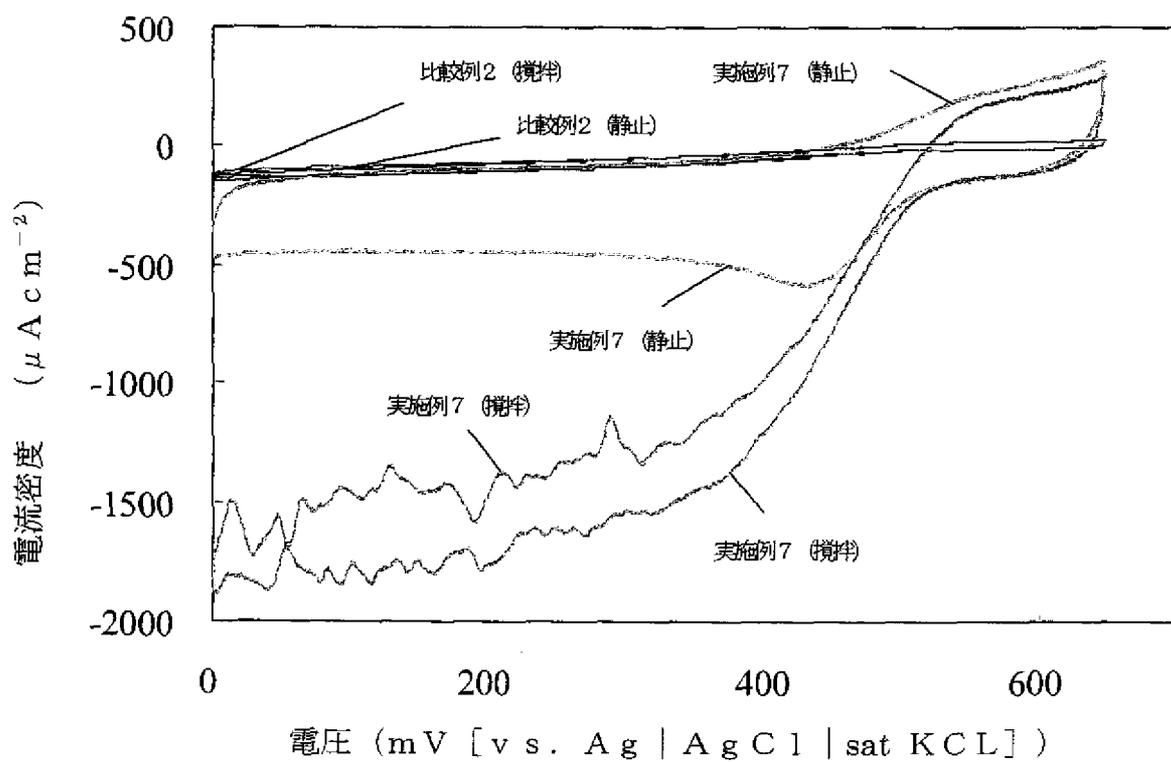
[図1]



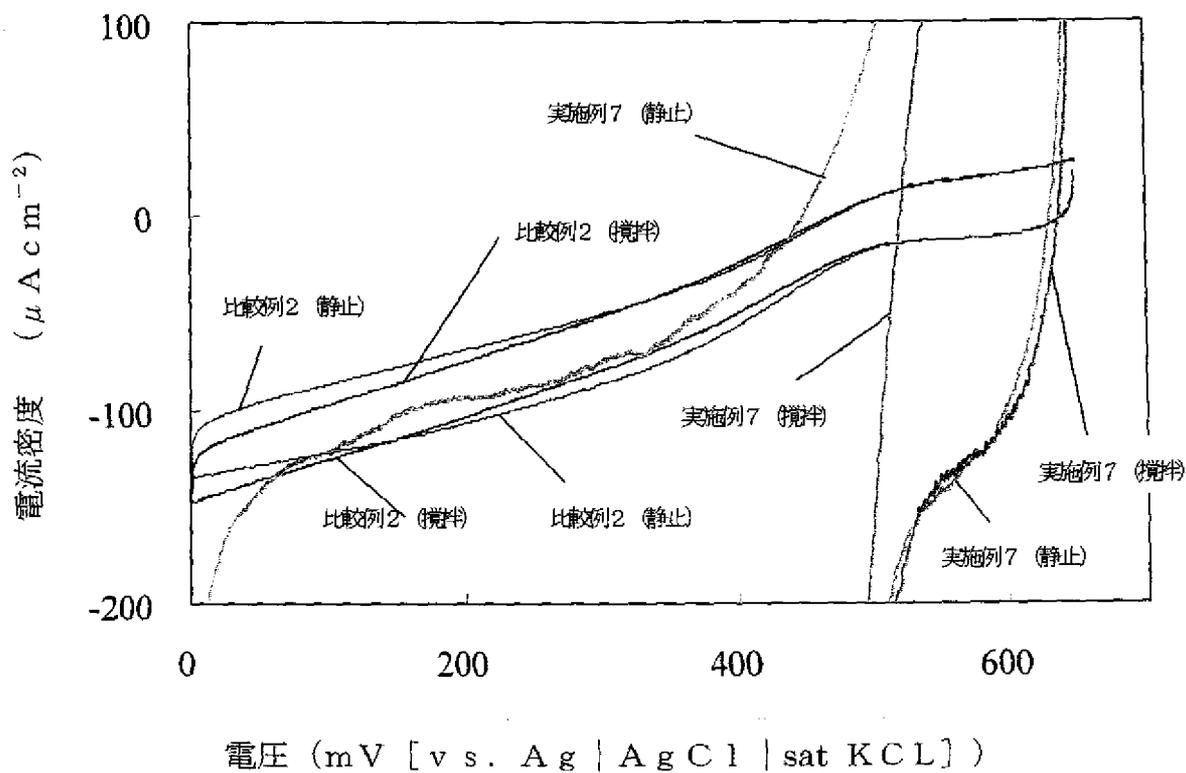
[図2]



[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/052770

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N27/30(2006.01) i, G01N27/327(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N27/30, G01N27/327

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	Takaaki NAKAGAWA et al., "Koso Mediator Koteika Carbon Felt Denkyoku o Mochiita Sanso 4 Denshi Kangen Hanno Kaiseiki", Review of Polarography, 14 November, 2003 (14.11.03), Vol.49, No.3, page 193	1,6-9 2-5
X A	JP 2005-60166 A (Canon Inc.), 10 March, 2005 (10.03.05), Full text; Figs. 1 to 10 (Family: none)	1,2,8,9 3-7
X A	JP 2000-314714 A (Canon Inc.), 14 November, 2000 (14.11.00), Full text; Figs. 1 to 7 (Family: none)	1,2,8,9 3-7

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
25 April, 2007 (25.04.07)

Date of mailing of the international search report
15 May, 2007 (15.05.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/052770

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 6-94671 A (Director General, Agency of Industrial Science and Technology), 08 April, 1994 (08.04.94), Claims; Fig. 1 (Family: none)	1-9
E,X	JP 2006-96653 A (Toyota Central Research and Development Laboratories, Inc.), 13 April, 2006 (13.04.06), Full text; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. G01N27/30(2006.01)i, G01N27/327(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N27/30, G01N27/327

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2007年
日本国実用新案登録公報	1996-2007年
日本国登録実用新案公報	1994-2007年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus(JDream2)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	中川貴晶、外3名、"酵素メディエータ固定化カーボンフェルト電極を用いた酸素4電子還元反応解析", Reivew of Polarography, 2003. 11. 14, Vol. 49 No. 3, p. 193	1、6-9
A		2-5
X	J P 2 0 0 5 - 6 0 1 6 6 A (キャノン株式会社) 2005. 03. 10, 全文, 図1-10 (ファミリーなし)	1、2、8、9
A		3-7

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25. 04. 2007

国際調査報告の発送日

15. 05. 2007

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

野村 伸雄

2 J

9 3 1 1

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	J P 2000-314714 A (キャノン株式会社) 2000.11.14, 全文, 図1-7 (ファミリーなし)	1、2、8、9
A		3-7
A	J P 6-94671 A (工業技術院長) 1994.04.08, 【特許請求の範囲】、図1 (ファミリーなし)	1-9
E, X	J P 2006-96653 A (株式会社豊田中央研究所) 2006.04.13, 全文, 図1-5 (ファミリーなし)	1-9