

氏名（本籍）	高橋昌利（神奈川県）
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	甲第936号
学位授与の日付	平成29年3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	生体内加工セルロース（牛糞）を基質とした グルコース生成法とこれを燃料として利用し た直接グルコース形燃料電池の開発

論文審査委員	（主査）教授 酒井 秀樹
	教授 郡司 天博 教授 湯浅 真
	教授 星 伸一 教授 堂脇 清志

論文内容の要旨

近年、化石燃料の枯渇が深刻化され、これらに替わる新たなエネルギー源の開発が進んでいる。その中でも単糖であるグルコースは電力エネルギー源やバイオエタノールにも利用可能なため、新規エネルギー源として注目されている。セルロースはグルコースを基本構成単位としており、地球上に豊富に存在するため、セルロースを効率的に分解できればグルコースの大量生産が可能となる。ウシやブタ等の家畜排泄物中には消化しきれなかったセルロースが含まれており、我が国において牛糞は年間約4000万トン排出されている。牛糞は一部堆肥に利用されているものの、大部分は廃棄物として処理されているため家畜排泄物の有効利用が望まれている。そこで、本研究では、廃棄物の有効利用の観点から牛糞をセルロース源(基質)とし効率的にグルコースを生成するプロセスの構築を目指した。

一方、東日本大震災以降、その安全性の問題から原子力発電所のほとんどが停止し、電力供給の大部分は火力発電が占めている。これに伴い、電力の供給と引き換えに大気中への大量の二酸化炭素の排出が問題視されている。種々の再生可能エネルギーの導入も進められているが、太陽光や風力、地熱発電は電力の安定供給が難しく、経済面や立地面においても問題を抱えており、また、バイオマス発電は二酸化炭素の排出が避けられない。こうした現状から、二酸化炭素を排出せずに電力を計画的に生産できる経済的な発電法の研究・開発が求められている。

そこで、申請者は上記の研究背景に基づき、①生体加工セルロース(牛糞)からのグルコース生成法、および②グルコースを燃料源とした直接グルコース形燃料電池を開発することを目的とする。

1. 生体内加工セルロース(牛糞)からのグルコース生成法の検討

セルラーゼを用いた酵素糖化法は環境への負荷が少なく、またグルコースの過分解が起こらないことから注目されている。セルロースをセルラーゼで分解させるには、原料を粉砕し膨軟化して、セルラーゼとセルロースの接触効率を上げる必要がある。しかし、セルロースは強固な結晶構造を有していることから、その前処理技術が重要となっている。そこで申請者は、牛糞由来の生体内加工セルロースからグルコースへの糖化における種々の物理的前処理法の影響について検討した。

その結果、ミキサー粉砕、乳鉢粉砕、遊星ボールミルを用いて粉砕することで牛糞中のセルロースの微細化に成功した。また、それぞれの基質を酵素により糖化した結果、遊星ボールミルを用いたときの糖化性が最も高かった。特に、遊星ボールミルの回転数を 750 rpm、酵素として 20 mg/mL Meicelase を用いて反応させた場合、牛糞基質(乾燥重量)1 g あたりから得られるグルコース量は 192.6 mg/g (収率 80%) であり最も高い収率でグルコースが得られることが分かった。以上より、牛糞中に含まれる生体内加工セルロースから効率的にグルコースを産出することができることが分かった。

2. 牛唾液によるセルラーゼ糖化促進効果の作用機序に関する検討

反芻動物は稲わらなどの植物、つまりセルロースを食べることで生活に必要なエネルギーを得ている。その消化の過程では、強固な結晶構造であるセルロース繊維を物理的に破壊する咀嚼、一度飲み込んだ餌を再び口の中に戻し再咀嚼する反芻、そしてこれらの工程を繰り返し、餌を消化しやすくしており、このときにセルロースを円滑に消化されやすい形にするための役割を担っているのが唾液である。通常、セルロース分解には大量の酵素が必要であるため、糖化する際の酵素使用量の低減が課題となっている。そこで申請者は、牛の唾液がセルロース酵素糖化に及ぼす効果について詳細な検討を行った。

基質・セルラーゼ溶液、基質・ウシ唾液溶液、基質・セルラーゼ溶液・ウシ唾液溶液を調製し、還元糖量を定量した結果、基質・セルラーゼ溶液・ウシ唾液溶液において還元糖の生成量が著しく増大し、その収量は基質・セルラーゼ溶液の約 15 倍となった。一方、基質・ウシ唾液溶液では還元糖の生成が確認されなかったことから、唾液が基質を直接糖に変換しているのではなく、セルロース分解反応を促進する作用があることが示唆された。そこで、ウシ唾液中に含まれるセルラーゼ促進物質の探索を行った。透析、変性処理及び分子量分画を行った唾液を用いて酵素加水分解を行った結果、セルロースの加水分解を促進する原因物質は分子量 14 kDa 以上 100 kDa 未満の高分子であることが示唆された。

ウシ唾液がセルロースの分解反応を促進させるメカニズムについて、基質、酵素、唾液の添加順序を変化させた結果、基質/唾液/酵素の順で添加した際に還元糖量が最大となった。このことより、唾液が酵素を活性化させているわけではなく、唾液中の有機高分子が基質

へ作用し影響を及ぼしていると考えられる。さらに唾液が基質の結晶形に及ぼす影響について X 線回折と赤外吸収スペクトルを用いて評価した結果、牛唾液の添加によりセルロースの結晶形は変化しないことが分かった。牛唾液中のタンパク質がセルロース分解の際にセルラーゼの安定性を高め、また唾液タンパク質によるブロッキング効果により、不可逆的なセルラーゼの吸着を防ぐことができるため、微結晶セルロース糖化効率が向上したと考えられる。

3. 貴金属ナノ粒子触媒のグルコース酸化特性と電気化学的評価

グルコース酸化触媒には酵素触媒、金属触媒が知られているが、酵素触媒は温度や pH に依存することから、その耐久性や安定性が低いという問題がある。また、酵素触媒は固定化が困難であり、触媒を大量に用いる必要があるためコスト面での問題も挙げられる。そこで申請者は、少量の触媒量で活性を示し、使用環境に依存せず安定で耐久性の高い金属触媒に着目し、貴金属ナノ粒子触媒のグルコース酸化特性について検討を行った。

種々の金属ナノ粒子触媒(Pt, Au, Pd, Ru)のグルコース酸化特性について検討した結果、Pt ナノ粒子触媒並びに Au ナノ粒子を用いたときにグルコース酸化が促進されることが分かった。また、高活性を示した Pt と Au を組み合わせた Pt-Au 合金ナノ粒子触媒を用いたところ、Pt:Au=1:4 の比率で調製したとき、単金属粒子の触媒特性よりも 5 倍以上のグルコース酸化特性を示すことが分かった。

そこで、次に Pt-Au 合金ナノ粒子触媒におけるグルコース酸化特性を向上させるため、ナノ粒子触媒の分散剤として用いているポリビニルピロリドン(PVP)の濃度の影響について検討した。

その結果、PVP の濃度が $[PVP] / [金属] \geq 1$ のときに Pt-Au 合金ナノ粒子は凝集せず単独で分散することが分かった。サイクリックボルタモグラム測定を行ったところ、PVP を使用していない Pt-Au 合金ナノ粒子触媒における酸化ピーク時の電流密度値は 7 mA/cm^2 であったが、PVP 濃度の増加に伴い電流密度値が上昇し、 $[PVP] / [金属] = 1$ の時に 10 mA/cm^2 で最大となった。一方、PVP 濃度が高い $[PVP] / [金属] = 10$ における電流密度値は 4 mA/cm^2 と減少することが分かった。これは金属ナノ粒子表面に PVP が過剰量吸着しグルコース酸化に係る金属ナノ粒子表面が PVP で被覆されるために、電流密度値が低下したものと推察される。

4. Pt-Au 金属触媒を用いた直接グルコース形燃料電池の最適発電条件の検討

近年、エネルギーを有効に利用する発電手段として、クリーンで高い発電効率を有する燃料電池が注目されている。その中でもグルコースを燃料として用いた燃料電池は、水素を燃料とした燃料電池と比較して、安全かつ常温で作動可能であり、燃料改質器を使用せずに燃料を直接用いることができるという利点がある。また、グルコースの酸化反応において二酸化炭素の排出はない。さらに、燃料としてのグルコースを安定に供給することができれば計画的に電力を生産し続けることができると考えられる。そこで申請者は、3.で

得られた知見を基に、Pt-Au 合金ナノ粒子触媒をアノード電極に用いた直接グルコース形燃料電池を開発し、その出力特性について検討した。

その結果、燃料電池の電極部に用いるイオン交換膜としてカチオン交換膜を用い、電極素材と触媒を結着させるためアイオノマーの量を[アイオノマー質量]/[触媒炭素質量]比=0.1 としたときに、最も高い出力密度が得られることが分かった。また、アノードにグルコース燃料(0.4 M グルコース/1.0 M KOH 水溶液)を流速 5 mL/min で供給し、カソードに加湿混合空気を 2 L/min で供給することにより、室温条件下で 13.9 mW/cm² の出力を得ることができた。この値は、これまで報告されている Pt-Au 触媒を用いた燃料電池の中で最も高い値である。

次に、このシングルセルを重ね合わせたスタック式直接グルコース形燃料電池（スタック数:20）を作製したところ、12 V 7 Ah 型の蓄電池へ充電できることが分かった。バッテリーに蓄電された電力は、コンバーターやインバーターを用いて日常の家電製品等を稼働させることも可能であることから、低コストでクリーンな発電システムの一つになることが期待できる。

本研究で得られた知見により、有効利用が求められている生体内加工セルロース(牛糞)からグルコースを生成することができ、そのグルコースは Pt-Au 金属ナノ粒子触媒により効率的に酸化できることが分かった。また、グルコースを燃料として用いた直接グルコース形燃料電池を開発したところ、Pt-Au 触媒を用いた燃料電池の中で最も高い出力を示し、電力としてバッテリーへ蓄電できることが分かった。以上より、本研究で得られた成果は汎用性の高い再生エネルギー開発の一助となるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年、化石燃料の枯渇が深刻化され、代替エネルギー源の開発が進んでいる。中でもグルコースは電力エネルギー源やバイオエタノールにも利用可能なため注目されている。セルロースはグルコースを基本構成単位としており、地球上に豊富に存在するため、これを高効率で分解できればグルコースの大量生産が可能となる。ところで、我が国において年間 4000 万トン排出されている牛糞は、一部堆肥に利用されているものの大部分は廃棄物として処理されているためその有効利用が望まれている。そこで本研究では、牛糞をセルロース源(基質)とし、効率的にグルコースを生成するプロセスの構築を目指した。

一方、東日本大震災以降、電力供給の大部分は火力発電により占められている。これに伴い、大気中への二酸化炭素の排出が問題視されている。そこで、二酸化炭素を排出せずに電力を計画的に生産できる経済的な発電法の研究・開発が求められている。

そこで、本研究では上記研究背景に基づき、①生体加工セルロース(牛糞)からのセル

ラーゼを用いたグルコース生成法、および②グルコースを燃料源とした直接グルコース形燃料電池を開発することを目的とした検討を行った。

第2章では、「生体内加工セルロース（牛糞）からのグルコース生成法の検討」を行った。セルラーゼを用いた酵素糖化法は環境への負荷が少ないことから注目されているが、セルロースは強固な結晶構造を有していることから、その前処理技術が重要となっている。そこで、本章では、牛糞由来の生体内加工セルロースからグルコースへの糖化における種々の物理的前処理法の影響について検討した。各種前処理を施した基質を酵素により糖化した結果、遊星ボールミルを用いたときの糖化性が最も高いことを明らかにした。特に、遊星ボールミルの回転数を 750 rpm、酵素量を 20 mg/mL とした時に、収率 80%という高い収率でグルコースが得られることを示した。

第3章では、「牛唾液によるセルラーゼ糖化促進効果の作用機序に関する検討」を実施した。通常、セルロース分解には大量の酵素が必要であるため、糖化する際の酵素使用量の低減が課題となっている。そこで、牛の唾液に注目し、これがセルロース酵素糖化に及ぼす効果について検討を行った。基質・セルラーゼ溶液・ウシ唾液からなる溶液を調製し、還元糖量を定量した結果、ウシ唾液の添加により還元糖の生成量が約 15 倍に増大することを見いだした。様々な検討の結果、牛唾液中のタンパク質がセルロース分解の際にセルラーゼの安定性を高め、また不可逆的なセルラーゼの吸着を防ぐために、微結晶セルロース糖化効率が向上すると考察した。

第4章では、「貴金属ナノ粒子触媒のグルコース酸化特性と電気化学的評価」について検討を行った。少量の触媒量で活性を示し、使用環境に依存せず安定で耐久性の高い金属触媒に着目し、貴金属ナノ粒子触媒のグルコース酸化特性について検討を行った。種々の金属ナノ粒子触媒およびその合金系についてグルコース酸化特性を評価した結果、Pt-Au 合金、特に Pt:Au=1:4 の比率で調製したナノ粒子触媒を用いた時に、最も優れたグルコース酸化特性を示すことを見いだした。さらに、ナノ粒子触媒の分散剤として用いているポリビニルピロリドン(PVP)の濃度の影響について検討した結果、その濃度増加に伴い電流密度値が上昇し、[PVP]/[金属]=1の時に 10 mA/cm²と最大値を示すことを明らかにした。

第5章では、「Pt-Au 金属触媒を用いた直接グルコース形燃料電池の最適発電条件の検討」を行った。グルコースを燃料として用いた燃料電池は、安全かつ常温で作動可能であり、燃料改質器を使用せずに燃料を直接用いることができるという利点がある。そこで本章では、第4章で得られた知見を基に、Pt-Au 合金ナノ粒子触媒をアノード電極に用いた直接グルコース形燃料電池を開発し、その出力特性について検討した。その結果、電極素材と触媒を結着させるためアイオノマーの量を、[アイオノマー質量]/[触媒炭素質量]比=0.1 としたときに、最も高い出力密度が得られることを見いだした。また、各種運転条件の最適化により、これまで報告されている Pt-Au 触媒を用いた燃料電池の中

で最も高い 13.9 mW/cm^2 の出力が室温で得られることを明らかにした。

以上より、本学位論文では、有効利用が求められている生体内加工セルロース(牛糞)からグルコースを生成することができ、また、Pt-Au 合金触媒を用いることにより、高い出力を有するグルコース形燃料電池を開発することを可能とした。以上より、本研究で得られた知見は工学的な貢献度が極めて高いと判断される。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として十分に価値あるものと認める。