

Von in vitro zu in vivo – Biobrennstoffzellen werden erwachsen

Uwe Schröder*

Biokatalyse · Brennstoffzellen · Elektrochemie · Energieumwandlung · Enzyme

Biobrennstoffzellen (auch bioelektrochemische Brennstoffzellen genannt) sind Hybridsysteme, die die Effizienz elektrochemischer Energieumwandlung mit derjenigen der Biokatalyse verbinden. Diese Kombination eröffnet den Zugang zur elektrochemischen Umwandlung von Verbindungen, für die es keinen chemischen Elektrokatalysator gibt. In Abhängigkeit vom Typ des Biokatalysators wird zwischen enzymatischen und mikrobiellen Brennstoffzellen unterschieden. Mikrobielle Brennstoffzellen nutzen die komplexe Enzymmaschinerie lebender Mikroorganismen. Eine einfache Elektrodenpräparation (die Besiedlung von Elektrodenoberflächen durch elektroaktive Bakterien erfolgt aktiv und freiwillig und erfordert zumeist keine chemische Elektrodenvorbehandlung), Robustheit und Langlebigkeit (die Bakterien reproduzieren und erneuern sich), der Zugang zu einer nahezu unbegrenzten Zahl selbst komplexer Substrate sowie das Vermögen der vollständigen Substratoxidation sind die Hauptvorteile mikrobieller Brennstoffzellen. Diese Eigenschaften prädestinieren sie für einen möglichen Einsatz in großtechnischen Anwendungen wie der Energiegewinnung aus Abwässern. In enzymatischen Brennstoffzellen andererseits werden Redoxenzyme in ihrer isolierten Form als Elektrokatalysatoren eingesetzt. Ohne die schützende Zellmembran sind diese Enzyme deutlich stärker Degradationsprozessen ausgesetzt, jedoch unterbindet ihre Reaktions- und Substratspezifität Nebenreaktionen, die chemische wie auch mikrobielle Elektrokatalysatoren beeinflussen und sich durch Mischpotenzialbildung und so genannte interne Ströme äußern. Wegen dieser Spezifität kann selbst die für konventionelle und mikrobielle Brennstoffzellen notwendige physische Trennung von Anoden- und Kathodenraum überflüssig werden, was eine deutliche Vereinfachung im Aufbau sowie eine Miniaturisierung ermöglicht.^[1,2] Auf Grundlage einer solchen Miniaturisierung wurde das Konzept implantierbarer Brennstoffzellen geboren, die Energie aus Blut oder vergleichbaren Körperflüssigkeiten zur Versorgung implantierter Systeme wie Herzschrittmachern gewinnen.^[3]

Nach Jahren des Fortschritts gelten enzymatische Brennstoffzellen jedoch noch immer als „implantierbar“, mit nur

sehr wenigen Beispielen wirklich implantierter Systeme. Das gleiche trifft auf mikrobielle Brennstoffzellen zu, die noch immer als „skalierbar“ bezeichnet werden, mit nur sehr wenigen Beispielen wirklich skalierten Pilotsystemen.^[4] Was gestaltet also den Übergang von der Grundlagenforschung in die angewandte Forschung so schwierig?

Herausforderung Skalierung: Grundlagenuntersuchungen an Biobrennstoffzellen werden gewöhnlich an Laborsystemen mit Elektroden im Quadratzentimeterbereich durchgeführt. Der Übergang zur angewandten Forschung erfordert somit für mikrobielle Brennstoffzellen eine Skalierung in den Quadratmeterbereich (Aufskalierung), während er für enzymatische Brennstoffzellen eine Miniaturisierung, d.h., eine Herunterskalierung in den Mikrobereich erfordert. Die Skalierung bedeutet jedoch nicht die einfache Vergrößerung oder Verkleinerung von Elektroden: Sich ändernde Massentransferregime sowie zunehmende interne Widerstände bei großen und bei miniaturisierten Systemen erfordern neuartige Elektroden- und Zelldesigns.

Herausforderung Realsystem: Eine systematische Grundlagenforschung beruht auf einer Durchführung von Experimenten unter reproduzierbaren und vergleichbaren Bedingungen. Für Biobrennstoffzellen bedeutet dies: Während das eigentliche Zielsubstrat einer mikrobiellen Brennstoffzelle beispielsweise Abwasser und dasjenige einer enzymatischen Brennstoffzelle Blut ist, werden Laborsysteme zumeist nur auf der Basis künstlicher, stark vereinfachter Substratlösungen betrieben. Diese Lösungen bestehen aus einem bestimmten Substrat (Brennstoff) sowie einem Puffer/Elektrolyten (z.B. Phosphat oder Carbonat) zur Einstellung des pH-Werts und zur Erhöhung der Leitfähigkeit. Die grundlegenden physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser Lösungen können zwar in der Tat an die Bedingungen der Zielsubstrate angepasst werden, erreichen aber bei weitem nicht deren biologische und chemische Komplexität. So mögen die aus einer In-vitro-Untersuchung einer enzymatischen Brennstoffzelle ermittelten Eigenschaften wie Lebenserwartung und elektrochemische Leistung nicht mit den Eigenschaften einer entsprechenden, real implantierten Zelle übereinstimmen.

Die ethische Barriere: Unweigerlich führt die Entwicklung implantierbarer Brennstoffzellen zu einem Punkt, an dem der Übergang vom In-vitro- zum In-vivo-Experiment, d.h. zum Tierversuch, stattfinden muss. In Abhängigkeit von der eingesetzten Lebensform (Wirbellose, Wirbeltiere, Säu-

[*] Prof. Dr. U. Schröder
Institut für Ökologische und Nachhaltige Chemie
Technische Universität Braunschweig
Hagenring 30, 38106 Braunschweig (Deutschland)
E-Mail: uwe.schroeder@tu-braunschweig.de

getiere, Primaten) kann die ethische Barriere für die Durchführung dieser Experimente erheblich werden.

Was sind die eigentlichen Voraussetzungen für die Funktionsfähigkeit einer implantierbaren Biobrennstoffzelle? Zunächst müssen die an Anode und Kathode eingesetzten Redoxenzyme räumlich an die entsprechende Elektrode angebunden, idealerweise immobilisiert sein. Die Reaktions- und Substratspezifität sollte hoch genug sein, um Nebenreaktionen zu vermeiden. Die Verwendung löslicher Cofaktoren und Redoxmediatoren sollte grundsätzlich vermieden werden. Die implantierten Elektroden müssen biokompatibel sein, um z. B. Blutgerinnungen zu verhindern.

Die erste in einem Tier implantierte Biobrennstoffzelle wurde 2010 von Cinquin et al. vorgestellt.^[5] In dieser Arbeit wurde eine Brennstoffzelle auf Basis von Glucose-Oxidase (Anode) und Polyphenol-Oxidase (Kathode) in den Bauchraum einer Ratte implantiert. Für einen vereinfachten Aufbau und eine größtmögliche Flexibilität bei der Enzymselektion nutzten die Autoren einen mechanischen Einschluss der Enzyme (sowie der hier auch eingesetzten Mediatoren) mithilfe von Dialysemembranen. Der Einsatz der größe selektiven Dialysemembranen stellte die Versorgung der Elektroden mit Glucose und Sauerstoff bei gleichzeitiger Verhinderung des Verlustes an Enzymen und Mediatoren sowie deren Kreuzreaktionen sicher. Es lässt sich vorstellen, dass ein solches Konzept eine Möglichkeit zur zukünftigen Stromversorgung von Implantaten wie Herzschrittmachern sein kann, jedoch schöpft es das eigentliche Potenzial von Enzymelektroden nicht aus; insbesondere sind die Möglichkeiten der Miniaturisierung begrenzt.

Vor Kurzem konnte in unabhängigen Studien zweier Forschungsgruppen ein maßgeblicher Fortschritt demonstriert werden. Diese Studien nutzten das Miniaturisierungspotenzial der enzymatischen Brennstoffzellen, um diese in wirbellose Tiere implantieren zu können. Trotz Ähnlichkeiten in der Gesamtkonzeption verfolgten beide Gruppen unterschiedliche Philosophien und Konzepte hinsichtlich Implantierung und Enzymimmobilisierung. Die resultierenden Brennstoffzellen wurden in vivo an Insekten (Schaben) und Weichtieren untersucht und demonstriert. Diese besitzen ein für viele Wirbellose typisches, offenes Blutssystem, in dem das Blutäquivalent, das so genannte Hämolymp, in großen Bereichen nicht adergebunden ist, sondern frei im Körper zirkuliert. Dies ermöglicht eine verhältnismäßig einfache Implantation der Biobrennstoffzellenkomponenten in den Organismus, ohne ernsthafte Schäden am Organismus zu verursachen.

Unter der Führung von Evgeny Katz demonstrierte ein internationales Team der Clarkson University (USA) und der Ben-Gurion University of the Negev (Israel) in zwei aufeinander folgenden Studien den Betrieb vollständig in Schnecken (*Neohelix albolabris*, eine nordamerikanische Land-Gehäuseschnecke)^[6] und Muscheln (*Mercenaria mercenaria*, eine Salzwassermuschel aus der Familie der Venusmuscheln)^[7] implantierter Biobrennstoffzellen. In beiden Studien nutzten die Autoren den direkten Elektronentransfer (DET) zwischen Enzym und Elektrode. Für diesen Zweck wurde zur Herstellung der Enzymelektroden eine PQQ-abhängige (PQQ = Pyrrolochinolinchinon) Glucose-Dehydro-

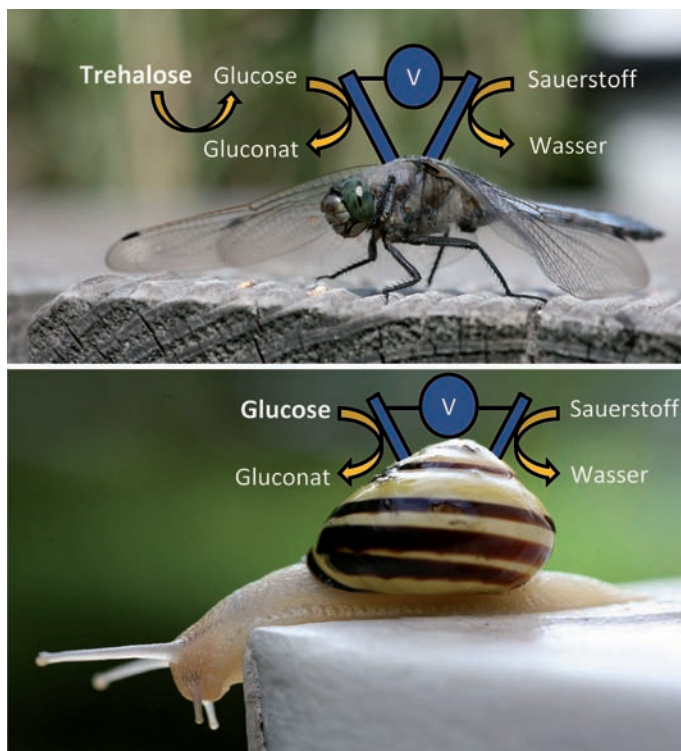


Abbildung 1. Insekt und Molluske: Autonome Biosensoren oder bioelektronische Spione der Zukunft? Implantierte, an die Energiequelle (den Blutzucker) des Wirtorganismus adaptierte Biobrennstoffzellen könnten neue Einsatzfelder erschließen.

genase (Anode) sowie eine Sauerstoff reduzierende Laccase (Kathode) jeweils kovalent mithilfe eines heterodifunktionalen Vernetzers (1-Pyrenbuttersäuresuccinimidylester) an verdichtete Kohlenstoffnanoröhren gebunden, um einen effizienten direkten Elektronentransfer zu ermöglichen. Die implantierten Zellen konnten mehr als zwei Wochen lang ohne sichtbare Zeichen der Degradation betrieben werden.

Ein Wettbewerbsteam von der Case Western Reserve University (USA) unter der Leitung von Daniel Scherson beschritt einen anderen Weg.^[8] Das Team wählte Schaben (*Blaberus discoidalis*) als Wirtorganismen zur Brennstoffzellimplantation. Der Blutzucker von Schaben und vielen anderen Insekten ist Trehalose, ein Glucose-basiertes Disaccharid. Da kein Redoxenzym in der Lage ist, Trehalose direkt zu oxidieren, nutzten die Autoren ein bi-enzymatisches System aus Trehalase (eine Hydrolase, die Trehalose in seine Glucoseeinheiten spaltet) und Glucose-Oxidase. Eine solche Kombination aus Hydrolase und Oxidoreduktase ist sehr wichtig, um Biobrennstoffzellen an die Natur des vorherrschenden Blutzuckers zu adaptieren und dabei nicht auf Glucose als Blutzucker eingeschränkt zu sein. Anders als bei den oben genannten Studien wurde der Elektronentransfer zwischen Enzym und Elektrode durch einen immobilisierten Redoxmediator (einen Bipyridin-Osmium-Komplex) realisiert. Weiterhin wurde die Kathode, eine Bilirubin-Oxidase-Kathode, nicht implantiert. Offensichtlich verfolgen die Autoren die Entwicklung nicht implantierter Luftkathoden. Ein solches Konzept wurde bereits von Miyake et al. vorgeschla-

gen.^[9] Dabei besteht das Ziel darin, die teilweise sehr geringen Sauerstoffkonzentrationen im Organismus dadurch zu umgehen, dass die Kathode auf der Hautoberfläche platziert wird. Dies ist sicherlich ein eleganter Ansatz, erfordert jedoch Maßnahmen, den Innenwiderstand der Biobrennstoffzelle zu minimieren und einen hinreichenden Protonenfluss von Anode zu Kathode sicherzustellen.

Wohin führt diese Forschung (Abbildung 1)? Die Presereseonanz auf die Studien („Forscher entwickeln Cyborgs“) war geprägt vom militärischen Aspekt – der Entwicklung biologischer Drohnen und biologisch betriebener Monitoringsysteme, unter anderem zur Detektion von Sprengstoffen und chemischen Kampfstoffen. Jedoch geht das Potenzial deutlich über die militärische Anwendung hinaus: So könnten Umweltmonitoring und die Überwachung von Schadstoffemissionen wichtige Einsatzfelder sein. Nicht zuletzt legen diese Studien jedoch das Fundament für die Entwicklung einer biologischen „on board“-Energieversorgung biomedizinischer Implantate.

Eingegangen am 27. April 2012

Online veröffentlicht am 4. Juni 2012

- [1] A. Heller, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6, 209.
- [2] T. Chen, S. C. Barton, G. Binyamin, Z. Gao, Y. Zhang, H.-H. Kim, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8630.
- [3] S. Calabrese Barton, J. Gallaway, P. Atanassov, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 4867.
- [4] K. Rabaey, L. Angenent, U. Schröder, J. Keller, in *Integrated Environmental Technology Series* (Hrsg.: P. Lens), IWA Publishing, London, New York, **2010**.
- [5] P. Cinquin, C. Gondran, F. Giroud, S. Mazabrard, A. Pellissier, F. Boucher, J. P. Alcaraz, K. Gorgy, F. Lenouvel, S. Mathé, P. Porcu, S. Cosnier, *PLoS ONE* **2010**, 5, e10476.
- [6] L. Halámková, J. Halánek, V. Bocharova, A. Szczupak, L. Alfonta, E. Katz, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 5040.
- [7] A. Szczupak, J. Halánek, L. Halámková, V. Bocharova, L. Alfonta, E. Katz, *Energy Environ. Sci.* **2012**, DOI: 10.1039/C2EE21626D.
- [8] M. Rasmussen, R. E. Ritzmann, I. Lee, A. J. Pollack, D. Scherson, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 1458.
- [9] T. Miyake, K. Haneda, N. Nagai, Y. Yatawaga, H. Onami, S. Yoshino, T. Abe, M. Nishizawa, *Energy Environ. Sci.* **2011**, 4, 5008.