

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18213

研究課題名（和文）バイオ無機光触媒による革新的な高効率物質変換

研究課題名（英文）Innovative and efficient materials conversion by bio-inorganic photocatalyst

研究代表者

石原 達己（Ishihara, Tatsumi）

九州大学・工学研究院・教授

研究者番号：80184555

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は1)無機光触媒の高効率化、2)バイオ光触媒の新しい反応の開拓、3)光電気化学セルへの展開という内容で検討した。1)ではエオシンYが良好な増感効果を示し、520nmの可視光に対するAQYが1.5%と高くなり、バイオ触媒と組み合わせ、犠牲剤存在下で水素発生のSTHが2.5%と高い値を示した。2)では新規反応としてニトロゲナーゼを用いるNH<sub>3</sub>合成を検討し、ニトロゲナーゼの大量合成を実現するとともに、NH<sub>3</sub>とH<sub>2</sub>の発生が可能であることを示した。3)ではTiO<sub>2</sub>を正極とした電気化学セルでの評価を行い、光照射下では0.1V程度の電圧を印加することで、MVの還元と酸素の発生が行えることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、カーボンニュートラルエネルギー社会の達成が強く求められている。本研究では光エネルギーを直接、水素として固定するために、効率の高い光触媒として、バイオ触媒と無機触媒を組み合わせるというコンセプトで、通常は、平衡の制約がある反応で、平衡を超えて、大きな効率で水素やアンモニアを合成できることを示した。とくにアンモニアは現在、肥料として必要不可欠であり、エネルギー消費の大きいハーバーボッシュ法で作成されているが、今回、室温、常圧で、気相N<sub>2</sub>と水からNH<sub>3</sub>と水素が合成できる可能性を示すことができたので、今後は、さらに生成速度を向上することで、環境調和なアンモニア合成プロセスになる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：This research was mainly studied on 1) increasing the efficiency of inorganic photocatalysts, 2) developing new biophotocatalytic reactions, and 3) developing photoelectrochemical cells. As for subject 1), Eosin Y showed a good sensitizing effect, and the AQY for visible light at 520 nm was as high as 1.5%. In combination with hydrogenase, STH for hydrogen formation in the presence of a sacrificial agent was as high as 2.5%. As for subject 2), ammonia synthesis using nitrogenase was studied as a new reaction, and it was possible to synthesize large quantities of nitrogenase by modifying the culture medium, and formation of NH<sub>3</sub> and H<sub>2</sub> was successfully demonstrated. As for subject 3), electrochemical cell using TiO<sub>2</sub> as the positive electrode was studied, and reduction of MV and oxygen formation were achieved by applying a voltage of about 0.1 V under light irradiation.

研究分野：触媒化学

キーワード：光触媒 バイオ触媒 物質変換

### 1. 研究開始当初の背景

現在、人類の活動に伴い発生した CO<sub>2</sub> による気候変動が深刻になっており、環境調和型エネルギー発生の方法が求められている。太陽光は、唯一、無限と云ってよいエネルギー源なので、太陽エネルギーを効率よく、水素や有用な化合物へ直接変換できる触媒プロセスの開発は、今後の持続的な人類の発展という観点で、重要な意義がある。本研究では直接光エネルギーを化学エネルギーに変換可能という観点から、光触媒に着目し、従来の考え方を大きく変える新しいバイオ光触媒というコンセプトの創出を行う。光触媒では、強力な酸化力を持つホールにより細菌などは酸化除去されるので、光触媒の最も有望な応用先は殺菌と言われているが、従来の研究でメチルビオロゲン(MV)を酸化・還元メディエータに用いると、無機光触媒で光励起した電子を、細胞内のヒドロゲナーゼに伝達でき、優れた効率で、水から水素を発生できることを示してきた。そこで、本研究では、従来の無機光触媒ではバイオ触媒との複合は、バイオ触媒の寿命の観点から不可能と考えられてきた常識に挑戦し、酸化還元対で電荷を伝達することで、酵素を光触媒と組み合わせて、従来は進まないと考えられている多電子系の反応を行うことのできる新規なバイオ光触媒系を開発することを検討する。

### 2. 研究の目的

従来の研究で図1に示すような、無機光触媒とヒドロゲナーゼを遺伝子組み換えで[Fe-Fe]ヒドロゲナーゼを大量発現した大腸菌を、MVを用いて、電子的に連結して、水の分解反応を行ったところ、ヒドロゲナーゼを単離しなくても水素を発生できることを見出した。とくに無機触媒としてルチル型 TiO<sub>2</sub> を用いると、

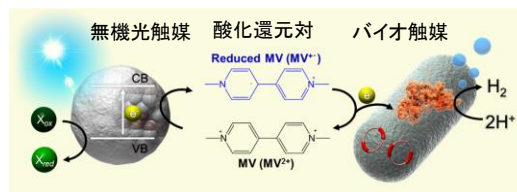


図1 本研究で検討するバイオ光触媒の概念図

350nmの光に対して、AQY=36%という優れた収率を達成できることを示した。また8時間の光触媒後の大腸菌の生物活性を調べたところ、大腸菌の数は、減ってはいたものの、生物活性を維持しており、反応後、増殖も可能であった。つまり、生体触媒に関しては、酵素を単離しないことが可能である。さらに、同方法で、細胞壁が薄い大腸菌に代えて、細胞壁が厚いシアノバクテリアでも同様な方法での水素の発生が可能であった。反応後のシアノバクテリアを破砕して細胞内へのMVの透過を分析したところ、大腸菌に比べると少ないものの細胞壁の厚いシアノバクテリアにおいてもMVの透過が観測された。本バイオ光触媒では無機触媒の効率を向上すれば、全体としてのエネルギー変換効率を向上でき、酵素のバイオ触媒を変えることで、単純な水の分解から、CO<sub>2</sub>の物質変換などの通常の光触媒では進行できない、多電子系の反応を行うことが可能となる。そこで、本研究では、バイオ触媒に従来検討していない多電子系の反応を生じることが可能な触媒を検討し、光バイオ触媒という新しい概念の触媒系の構築を目的とする。

### 3. 研究の方法

従来の研究成果に基づいて、本研究では、①バイオ触媒の性能向上および新規酵素の使用による水の光分解、CO<sub>2</sub>の有用化合物(エタノール、酢酸など)への転換、CH<sub>4</sub>からのメタノールの合成などを検討する。②太陽光エネルギー変換効率の向上を目的に、無機光触媒の探索、おもに酸化窒化物系の応用や色素増感による可視光の利用、③犠牲剤を用いないシステムへの転換を目的とした2室型電極システムへの展開を行う。2電極型セルでは、課題の犠牲剤を用いなくて反応を完結できる可能性があり、場合によっては少ないバイアス電圧で反応を進行できる可能性があるため、光電気化学セルについても検討を行う。

### 4. 研究成果

#### ①バイオ触媒の性能向上および新規酵素の使用による水の光分解

従来検討を行ってきたヒドロゲナーゼによる水素発生に代えて、新たにシアノバクテリア中のFe-Mo系ニトロゲナーゼを用いるNH<sub>3</sub>合成を検討した。シアノバクテリアは天然由来のバクテリアで、ベジターティブ細胞とヘテロシス細胞から構成されている。本研究では培地組成を検討し、Moを添加した培地で、なるべくMoの含有量が得られる条件を用いて、シアノバクテリアの培養を行った。その結果、通常の培地に比べるとMoの含有量を9.7倍に増加したシアノバクテリアを得ることができ、ニトロゲナーゼ量を増加することができた。

このヘテロシス細胞の割合を増加したシアノバクテリアを用いて sodium dithionite (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)を還元剤に用いて、還元したメチルビオロゲン(MV)とベンジルビオロゲン(BV)を電子伝達体とする系でのシアノバクテリアからのNH<sub>3</sub>の合成の経時変化を検討した。シアノバクテリアのみ、または細胞壁を通しての透過の遅いベンジルビオロゲン(BV)を用いると、N<sub>2</sub>の消費はほとんどなく、NH<sub>3</sub>やH<sub>2</sub>の生成はほとんど観測されなかった。一方、細胞壁を通して、細胞内への透

過速度が比較的、大きいメチルビオロゲン(MV)を用いると  $N_2$  が時間とともに消費され、 $NH_3$  と  $H_2$  の生成が観測され、反応時間とともに増加することが分かった。そこで、還元した MV を用いると、 $N_2$  から  $NH_3$  と  $H_2$  を合成できることが示された。

次に MV の還元を、 $TiO_2$  を光触媒として用いて行い、 $NH_3$  と  $H_2$  の合成を検討した。その結果、図 2 に示す様に、シアノバクテリアと MV および犠牲剤にグリセロールを用いると気相中の  $N_2$  が消費され、 $NH_3$  および  $H_2$  が時間とともに生成することを見出した。気相中の  $N_2$  から  $NH_3$  が生成していることを確認するために、気相に  $^{15}N_2$  を用いて反応を行ったところ、 $^{15}NH_3$  が生成することを確認することができた。 $NH_3$  の生成速度は  $TiO_2$ /MV の非共存下に比べると 10 倍以上、大きく、カルビンサイクルを  $TiO_2$  で光還元された MV から電荷輸送に代えることで、 $NH_3$  生成速度を大きく向上できることがわかる。以上より、従来、まったく報告例のない、無機光触媒とシアノバクテリア中のニトロゲナーゼを組み合わせることで、気相中の  $N_2$  と  $H_2O$  から  $NH_3$  と  $H_2$  の合成という 8 電子還元反応を進行できることが分かった。

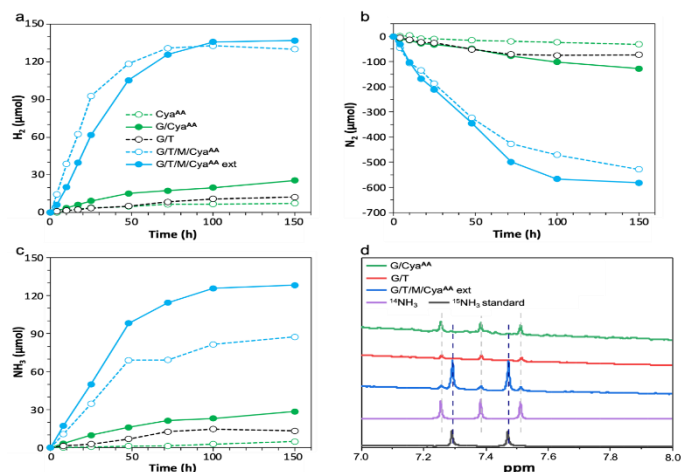


図 2 グリセロール(G)/ $TiO_2$ /MV/シアノバクテリア(Cya)を用いる  $N_2$  からの  $NH_3$  と  $H_2$  合成 (a)  $H_2$  生成量 (b)  $N_2$  消費量 (c)  $NH_3$  生成量 (d)  $^{15}N_2$  から得た  $NH_3$  の H-NMR 測定結果の  $^{15}NH_3$ ,  $^{14}NH_3$  との比較

次に  $CO_2$  の転化を目的に、気相に  $CO_2$  を導入し、ヒドロゲナーゼで発生した水素による有用化合物の合成の可能性を検討した。気相に  $CO_2$  を導入すると  $CO_2$  量に大きな変化は観測されなかったが、図 3 に示す様に、 $H_2$  の生成速度が大きく向上できることが分かった。そこで、ヒドロゲナーゼでは  $CO_2$  を他の化合物に転化できなかつたが、ヒドロゲナーゼによる  $H_2$  生成には正の効果認められた。このような  $CO_2$  の気相系への共存効果は現在までに報告がなく、新しい現象である。図 3 (b) には  $CO_2$  の気相系への添加の有無が、大腸菌内の MV 濃度に及ぼす影響を検討した。図に示す様に、 $CO_2$  を気相中に導入すると大腸菌内部の MV 濃度の増加が認められ、検討している光バイオ触媒での律速過程と考えられる細胞壁を通しての電子伝達物質の MV の透過が加速できることが分かった。今後、生成する  $CO_2$  と  $H_2$  の反応を促進できる水素化触媒と組み合わせることで、 $CO_2$  を有用な化合物に転化できることが期待できる。

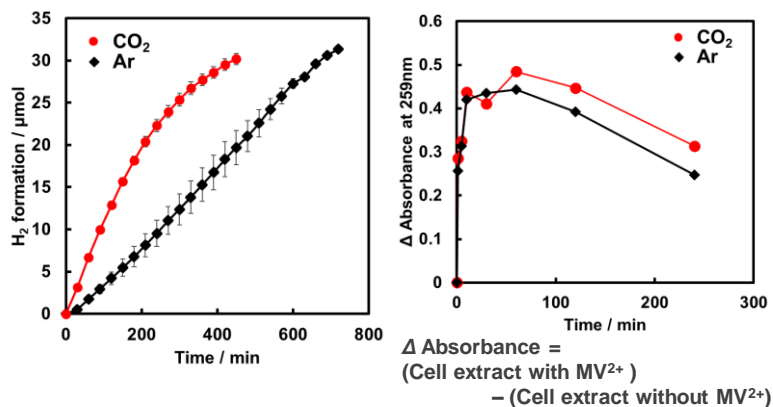


図 3  $TiO_2$ /ヒドロゲナーゼを発生した大腸菌の光  $H_2O$  分解に及ぼす気相  $CO_2$  の影響 (a)  $H_2$  生成速度の経時変化 (b) 大腸菌内の MV 濃度の経時変化

## ② 太陽光エネルギー変換効率の向上のための可視光の利用

現在までに光触媒として  $\text{TiO}_2$  を用いた系が最も活性が高く、ヒドロゲナーゼを発現した大腸菌をバイオ触媒とすると比較的早い速度で  $\text{H}_2\text{O}$  から  $\text{H}_2$  を発生できることが分かったが、 $\text{TiO}_2$  では光励起に紫外光しか、利用できない。そこで、本研究では可視光を利用できる触媒系について検討を行った。その結果、色素としてエオシン Y で修飾した  $\text{TiO}_2$  が可視光でも反応を進めることが可能なことが分かった。そこで、エオシン Y の特異的な吸収バンドである 520nm での励起に対する  $\text{H}_2$  発生の見かけ量子収率 (AQY) を見積もった。その結果、520nm の波長において AQY は 2.5% と犠牲剤存在下ではあるが、非常に高い値に到達できることが分かった。

一方、バイオ触媒の高い活性と安定性の達成を目的に、有機金属フレームワークの ZIF-8 内へのヒドロゲナーゼの固定を検討した。図 4 には ZIF-8 中に固定したヒドロゲナーゼを用いる水の分解活性を比較して示した。大腸菌を破碎してヒドロゲナーゼを取り出した Free HydA が最も活性が高いが、ZIF-8 に固定したヒドロゲナーゼ (HydA@ZIF-8) も高い活性を有し、固定により、活性を向上できることがわかった。この固定化された酵素では広い pH 範囲や温度範囲で活性を維持でき、不安定な Free HydA に比べると、初期の活性はやや劣るものの、安定性に関しては大きく向上できることが分かった。今後は、他の酵素への展開も検討する予定である。

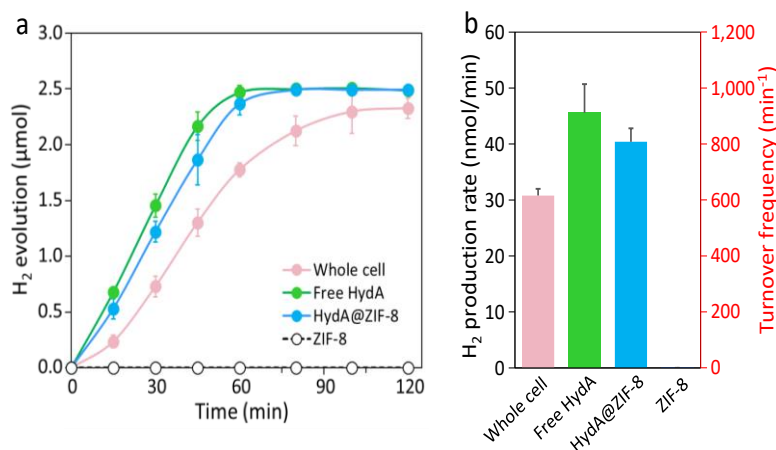


図 4 ZIF-8 に固定したヒドロゲナーゼ (HydA) と細胞から取り出したヒドロゲナーゼの水の光分解の経時変化と活性比較。  $\text{TiO}_2$  を無機触媒とし、MV を電子伝達剤に使用。

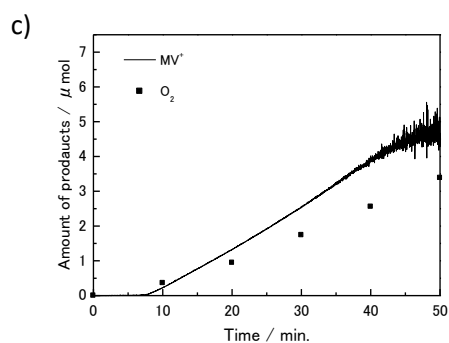
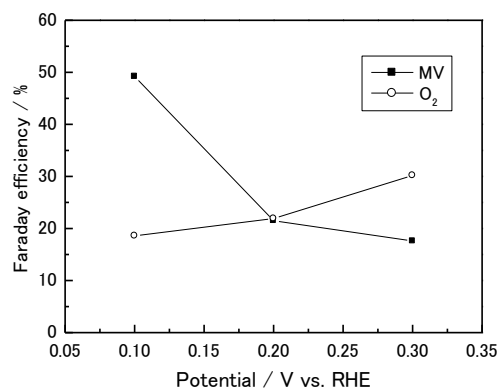
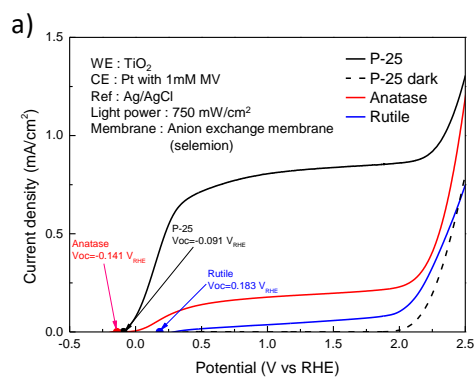
## ③ 2 室型電極システムへの展開

バイオ光触媒では優れた見かけ量子収率で  $\text{H}_2$  または  $\text{NH}_3$  の合成を行うことが可能であるが、反応の進行には酵素の安定性から、犠牲剤が必要であった。そこで、犠牲剤を用いる代わりに電位を印加して、完全分解を達成できないかを検討した。その結果、 $\text{TiO}_2$  を正極の透明電極に製膜し、Pt を陰極として MV の還元を行ったところ、光照射により流れる電流は増加した。そこで、 $\text{TiO}_2$  が光機能電極として、電位を印加すると MV を還元できることは分かったが、酸素の発生が明確に確認できなかった。電気化学セルへの展開では新たに電気化学的な 2 室型セルを設計し、その MV と正極からの酸素発生を検討した。その結果、図 5 に示す様に、0V 付近より、光電流を観測することができた。図 5(b) には、光照射下において印過電圧と MV および酸素の発生量の印加電圧依存性を示す。図に示す様に、電圧を印加するにしたがって、MV の還元に対するファラデー効率は低下し、光電気分解による  $\text{H}_2$  の発生量が大きくなった。一方、 $\text{O}_2$  生成のファラデー効率は、印過電圧とともに増加し、0.3V の印加時には、ファラデー効率が 23 および 30% で還元 MV と  $\text{O}_2$  の生成が確認できた。MV 還元の効率は水素生成により低下すると考えられるが、正極での  $\text{O}_2$  生成のファラデー効率が低い理由は十分わかっておらず、今後、さらに検討が必要である。

図 5(c) には、0.1V 印加時の MV 還元量と  $\text{O}_2$  発生量の時間依存性を示す、図に示す様に定電圧印加時において、MV の還元量と酸素の発生量は、時間とともに増加することから、0.1V 程度の低い電圧で、電気化学セルにより MV 還元と  $\text{O}_2$  発生が可能であり、犠牲剤を用いなくても、バイオ光触媒で、水を完全分解できる可能性が示唆された。

今後は、実際にヒドロゲナーゼを発現された大腸菌と組み合わせて、完全分解の達成を検討する予定である。





電解液:  $1 \text{ M KH}_2\text{PO}_4 + 1 \text{ M KOH}$  で pH8 に調節  
 MV 濃度:  $1 \text{ mM}$   
 アノード 電極: P-25  
 カソード 電極: 白金黒  
 光源: Hg/Xe ランプ  $400 \text{ W}$  ( $722 \text{ mW/cm}^2$ )、全光照射  
 電圧:  $0.3$  or  $0.2$  or  $0.1 \text{ V vs. RHE}$

図 5 (a)  $\text{TiO}_2$  を光機能電極とする電気化学セルでの暗電流と明電流の電圧依存性 (b) MV と  $\text{O}_2$  発生のファラデー効率の印加電圧依存性、(c)  $0.1 \text{ V}$  印加時の還元 MV 量と  $\text{O}_2$  発生量の経時変化

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kosem Nuttavut, Shen Xiao-feng, Ohsaki Yutaka, Watanabe Motonori, Song Jun Tae, Ishihara Tatsumi	4. 巻 342
2. 論文標題 Photobiocatalytic conversion of solar energy to NH <sub>3</sub> from N <sub>2</sub> and H <sub>2</sub> O under ambient condition	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Applied Catalysis B: Environmental	6. 最初と最後の頁 123431 ~ 123431
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.apcatb.2023.123431	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kosem Nuttavut, Watanabe Motonori, Song Jun Tae, Takagaki Atsushi, Ishihara Tatsumi	4. 巻 651
2. 論文標題 A comprehensive study on rational biocatalysts and individual components of photobiocatalytic H <sub>2</sub> production systems	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Applied Catalysis A: General	6. 最初と最後の頁 119019 ~ 119019
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.apcata.2022.119019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kosem Nuttavut, Ohsaki Yutaka, Watanabe Motonori, Song Jun Tae, Ishihara Tatsumi	4. 巻 12
2. 論文標題 [FeFe]-Hydrogenase Encapsulated in Zeolitic Imidazolate Framework (ZIF)-8 Nanoparticles as a Robust Biocatalyst for Photocatalytic Hydrogen Production	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ACS Sustainable Chemistry & Engineering	6. 最初と最後の頁 6300 ~ 6309
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acssuschemeng.3c08560	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大崎 穰, KOSEM, Nuttavut, SONG, Jun Tae, 渡邊源規, 石原達己
2. 発表標題 無機 /whole-cell バイオハイブリッド光触媒におけるCO <sub>2</sub> の効果
3. 学会等名 第132回触媒討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yutaka Ohsaki
2. 発表標題 Novel effect of CO2 in inorganic / whole-cell bio hybrid photocatalyst system
3. 学会等名 The Sino-Japan Symposium on Environmental Catalysis (SSEC) 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nuttavut Kosem, Watanabe Motonori, Ishihara Tatsumi
2. 発表標題 Enhancement of photobiocatalytic H2 production using different sacrificial agents and redox mediators.
3. 学会等名 第128回触媒討論会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	Song Juntae  (Song Juntae)  (10865348)	九州大学・工学研究院・助教    (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------