

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：24506

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26630370

研究課題名(和文) 超微細加工技術を利用した超高効率金属-酵素ハイブリッド水素発生触媒電極の開発

研究課題名(英文) Development of metal-enzyme hybrid electrodes by using a microforming technologies

研究代表者

山崎 徹 (Yamasaki, Tohru)

兵庫県立大学・工学研究科・教授

研究者番号：30137252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：水の電気分解により水素ガスを製造すれば、不安定な自然エネルギーを水素ガスとして貯蔵することができる。しかしながら、水の電気分解にはPt触媒を含む電極が必要である。本研究では、Ptの代わりにヒドロゲナーゼと呼ばれる生体酵素を用いた新しい水素発生触媒電極を開発する。ヒドロゲナーゼは、水素ガスから陽子と電子を生成でき、また、その逆の反応も促進する。このような酵素は直径10nm程度の大きさを持ち、これを導電性の金属電極基板上に担持することが極めて困難である。本研究では、超微細加工に適したナノ結晶合金および金属ガラスを用いて、超高効率の金属-酵素ハイブリッド水素発生触媒電極を開発することを目的とした。

研究成果の概要(英文)：Producing hydrogen by water electrolysis is a promising solution to store the renewable energy. However, water electrolysis requires catalysts containing platinum. Purpose of this study is development of new catalytic electrodes for water electrolysis without platinum, but with bio-molecular catalysts that called hydrogenases. Hydrogenases are enzymes which catalyze the reversible oxidation of dihydrogen into two protons and electrons. However, there are many technological problems, i.e., hydrogenases with their diameter of about 10 nm must be fixed on electrodes in very large quantities. In this study, development of new catalytic electrodes with nanoporous surface structures of nanocrystalline Ni-W alloys by electrodeposition and also Zr-based bulk metallic glasses that may be suitable to fix the hydrogenases in very large quantities. In addition, development of our proposed new liquid-type electrode for producing hydrogen gas that contains large amounts of hydrogenases.

研究分野：材料設計学

キーワード：水素発生酵素 水素発生電極 ナノポーラス ナノ結晶組織 アモルファス構造 金属ガラス

1. 研究開始当初の背景

近年のCO₂排出による地球温暖化現象や東日本大震災による原子力発電所の事故を通して、早急なクリーン代替エネルギー開発が重要な社会的要請となっている。しかしながら、現状の風力や太陽光発電技術のみでは蓄電・送電技術に限界があり、安定したエネルギー源としては不十分である。これら自然エネルギーを水素ガス等の形態で貯蔵し、水素エネルギー利用社会を構築すればこれらの問題を解決できる。

一般に、代表的な水素ガス製造方法として水の電気分解法があるが、陰極から発生する水素の発生効率は低く、反応触媒性の高いPt系合金等を用いた電極が使用される。また、一般に使用される炭素電極基材は高い水素発生電圧の負荷により、徐々に崩れて消耗する問題を有し、機械的に耐久性のある新しい電極基材の開発が必要とされている。Ptを用いない金属電極開発の研究例としては、Ptよりも高活性なCo-Fe-Cアモルファス合金等が報告されているが、これらを実用化する目はたっていないのが現状である¹⁾。

2. 研究の目的

自然界の葉緑体中に見られる水素発生酵素触媒であるヒドロゲナーゼの水素発生反応効率は、上述の金属系触媒の数千倍から数万倍も大きく、僅かな電流で超高効率の水素生成が可能である²⁾。しかしながら、このような酵素を導電性の電極基板に担持することが困難であり、酵素担持に最適の20~30nmの多孔質構造を有する金属電極の開発が望まれる。また、生体酵素を担持させる金属基板は、生体毒の発生しない合金系を選択する必要がある。本研究では、筆者らの有する超微細成形加工技術と超微細加工に適したナノ結晶合金および金属ガラスを用いて、生体酵素であるヒドロゲナーゼを担持するのに最適の細孔構造を有する合金電極基板を作製し、超高効率の金属-酵素ハイブリッド水素発生触媒電極を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

電極基板に用いる合金系としては、生体毒の効果を抑制するため、Ni基合金表面に酸化性不動体皮膜を形成させることや、Zr基等の合金系を検討した。さらに、金属基板上に酵素を担持させる方法においては、担持できる酵素量が制限される。このため、大量の生体酵素を安定して大量に水素発生させることを目的として、生体酵素を金属基板に担持させることなく、大量の酵素を含んだ帯電溶液を用いて直接水素発生を試みた。

図1に樋口ら²⁾による水素発生酵素ヒドロゲナーゼのX線結晶構造解析結果と、生体酵素担持電極のイメージ図を示す。生体酵素であるヒドロゲナーゼの水素発生反応効率は、金属系触媒の数千倍から数万倍も大きく、従来からその実用的な応用利用が期待されて

いたが、金属電極上に担持させることが困難である。本研究は超微細加工技術を利用して金属上へヒドロゲナーゼを担持させるのに最適の形状を形成させ、金属-酵素ハイブリッド電極を作製し、飛躍的な水素発生効率を有する電極を開発することを目的としている。生体酵素であるヒドロゲナーゼは兵庫県立大学生理学研究科の樋口教授から継続的に供与されている。

本提案のPtを含まない安価な新規電極の開発が実現すれば、社会の隅々にまで、水素エネルギーを利用した燃料電池による発電システムの構築が可能となり、画期的なエネルギー循環型社会の構築を目指す。

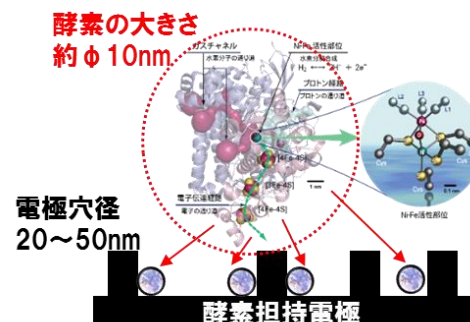


図1 水素発生酵素ヒドロゲナーゼ²⁾のX線結晶構造解析結果と、生体酵素担持電極のイメージ図。

4. 研究成果

4-1. 水素発生基板電極表面の高比表面積化

図2(a),(b)に、金属電極表面の高比表面積化を目的としてCu基板表面に黒化処理を施してナノファイバー組織を形成させた後の基板表面のSEM像を示す。ナノファイバーの直径は20nm~50nm程度で、長さは1000nmに達している。黒化処理Cu基板表面の比表面積は平滑Cu板に比べて約100~200倍にも達すると推定された。しかしながら、後述するように、陰極電極基板として電位印加前後の黒化Cu基板表面はナノファイバー上の構造が消失し、電極として繰り返し使用するには表面構造が溶解しやすく不安定であった。

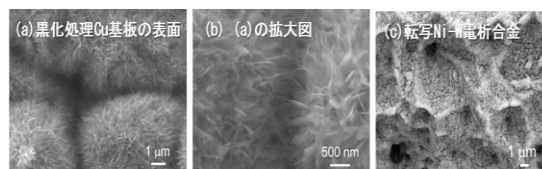


図2 黒化処理によるCu基板表面のナノファイバー化と電析Ni-W合金による表面形状転写 (SEM像)

一方、図2(c)に示したように、黒化処理Cu板上に高強度・高耐食性能を有するナノ結晶Ni-W合金^{3,4)}を電析処理し、Cu基板を溶解除去することによりCu基板表面上のナノファイバー形状を転写した。その表面のSEM写真を示す。ここでは、Cu基板表面のナノファ

イバー構造を転写し、直径数十 nm の多孔質表面が形成されている。転写表面構造を有する Ni-W 電析合金は、生体酵素ヒドロゲナーゼを担持させるのに適当な表面構造となっている。

4-2. 生体酵素ヒドロゲナーゼを担持した転写 Ni-W 電析合金陰極基板の電位電流曲線

図 3 に、生体酵素ヒドロゲナーゼを担持する前後の表面形状転写した Ni-W 合金電極の電位電流曲線の結果を比較して示した。ここでは、0.1 mol/L のリン酸緩衝溶液(pH6.0)中で、電圧掃引速度 20 mV/s、電圧 0 V \sim -1.5 V の条件で測定した。担持前の Ni-W 合金では、水素発生電流は、-0.5 V 付近から徐々に増加していくのに対して、担持後の Ni-W 合金の水素発生電極は、-0.6 V 付近から急激に増加している。その後、5 mA/cm² 付近で一定値になったが、この値はヒドロゲナーゼの担持量に比例すると考えられ、表面転写処理により、生体酵素担持効果が得られたといえる。

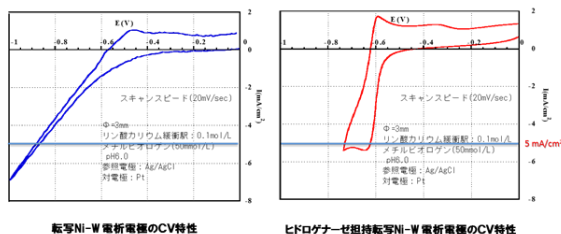


図 3 生体酵素ヒドロゲナーゼを担持する前後の転写 Ni-W 合金電極の電位電流曲線

4-3. 金属ガラス電極基板表面のナノポーラス化

Zr は生体適合性の高い材料であり、生体酵素担持用基板材料としての利用が期待される。また、Zr-Cu-Ni-Al 系金属ガラスに Pd, Pt, Ag もしくは Au 等の貴金属を添加すると、ナノサイズの準結晶相が析出すること、これにより高塑性変形性が付与されることが明らかとなっている⁵⁻¹¹⁾。本研究では、これらナノサイズの準結晶相が析出した Zr-Cu-Ni-Al-Pd 系金属ガラスの表面にエッチング処理することにより、電極表面のナノポーラス化を試みた。

図 4 に液体状態から傾角鋳造法により作製した Zr₆₅Cu₂₀Ni₅Al₁₀(Zr65), Zr₆₅Cu₁₇Ni₅Al₁₀Pd₃(Zr65Pd3), Zr₆₅Cu₁₅Ni₅Al₁₀Pd₅(Zr65Pd5)および Zr₆₅Cu₁₀Ni₅Al₁₀Pd₁₀(Zr65Pd10)金属ガラスを、(Tg+20) K-30 min の熱処理によりナノ準結晶相を析出させ、0.1 M HCl + 2 M NaF エッチング液を用いて 1.8V-20s の条件で基板表面のナノポーラス化処理を行った試料の表面形状を SEM 観察した結果を示す。いずれの材料においても、直径 300 nm \sim 1000 nm の緻密なナノポーラスの表面構造が形成されているが、Pd 含有量が 10 at. %に増加すると、ナノポーラス構造体の間壁部(リガメント)の厚さが増大しており、平均孔径も大きくなる傾

向が観察される。

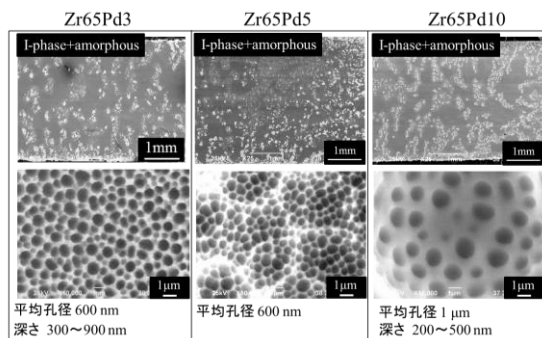


図 4 ナノ準結晶相を析出させた金属ガラス合金 (Zr65Pd3, Zr65Pd5, Zr65Pd10)を、0.1 M HCl + 2 M NaF 溶液用いて 1.8V-20s の条件でエッチング処理し、基板表面のナノポーラス化を行った試料表面 (SEM 像)。

図 4 中のリガメント部分の Pd 含有量に注目すると、EPMA 分析の結果、Zr65Pd3 材ではリガメントの厚さは薄く、この部分の Pd 含有量は平均の添加濃度に比較して大きく減少していた。一方、Zr65Pd10 材のリガメントの厚さは太くなり、この部分の Pd 含有量は増加していた。この原因として、Zr65Pd3 材では、添加した Pd の殆どが合金中の Zr-Pd クラスターの形成に消費され、このクラスターが I 相となって析出後、エッチング処理により溶け落ちることから、残ったリガメント部分の Pd は平均添加量に比べて大きく減少したものと考えられる。一方、Zr65Pd10 材では、添加した Pd 量が多く、合金中の Zr-Pd クラスターの形成後も、過剰な Pd が合金母相中に固溶体として残留することから、エッチング処理後のリガメントにも、多量の Pd が濃縮・残留したものと推定できる。

これら表面処理した金属ガラス電極にヒドロゲナーゼを担持して、希硫酸溶液中で電位-電流曲線を測定したところ、約-0.6 V 付近から水素発生による急激な電流増加が認められ、最大 5 mA/cm² の水素発生反応が認められ、ナノポーラス化がヒドロゲナーゼ担持効果に有効であることが分かった。

4-4. Pt フリーの大容量水素発生溶液型電極の開発

水素発生電流のさらなる増加のためには、①電極表面のさらなる高比表面積化と、②ヒドロゲナーゼ担持量のさらなる増加が求められた。以上のことから、次世代型の水素発生電極として、ヒドロゲナーゼを電極基板上に担持することなく、ヒドロゲナーゼ含有の帯電溶液のまま、水素発生を行う Pt フリーの溶液型水素発生電極の開発を試みた。

図 5 に、電子伝達体であるメチルビオロゲン(MV)のみを添加した溶液(a)と、MV+ヒドロゲナーゼの両方を添加した溶液(b)を、負に帯電させたときの溶液の色の経時変化を示す。この時の電気化学セル中の MV の反応は

下記の分子反応式のように考えられ、溶液が負に帯電してMVが電子を受取ると青色に呈色する。MVとヒドロゲナーゼを同時添加すると、青色に呈色したMVからヒドロゲナーゼが電子を受け取るため、MVは無色透明に戻ることになり、結果としては、溶液は発色しなくなる。



図から明らかなように、MVのみ添加した溶液(a)は、定電圧下で時間とともに還元され青色に呈色(10分〜)する。この結果から、溶液を負に帯電(還元)させることに成功している。一方、ヒドロゲナーゼを含むMV溶液(b)は青色に変化しないことから、ヒドロゲナーゼが還元されたMV(MV⁺)から電子を奪って、再び酸化状態(MV²⁺)になっているため変色せず、奪われた電子はプロトンに渡されて水素を発生させているといえる。

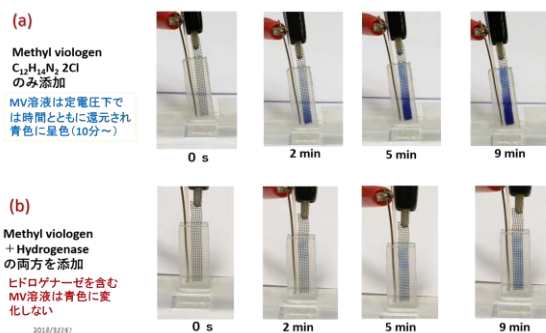


図5 ヒドロゲナーゼ含有液体を用いた水素発生溶液型電子伝達体(メディエータ):メチルビオロゲン(MV)3mM MVをpH7.0の0.1Mリン酸カリウム緩衝液に溶解して使用100μMヒドロゲナーゼを2μL添加(終濃度:2μM)室温(約25°C=298.15K),定電圧電解(-700mV)で測定。

まとめ

Ptを含まない安価で高耐久性の水素発生電極の開発を目的として、高比表面積を有する金属電極基板の作製と、その基板上への水素発生酵素ヒドロゲナーゼの担持による更なる高水素発生機能の向上を試みた。

- 1) 銅基板表面を酸化処理することにより、ナノファイバー状の表面形状が形成され、100~200倍の高比表面積化を実現できた。この表面形状を安定化させるために、ナノファイバー構造のCu基板表面に高強度・高耐食性のNi-W合金を電着させることにより、表面構造を転写させた転写Ni-W電極を作製した。これに水素発生酵素であるヒドロゲナーゼを担持することが可能であった。
- 2) 生体適合性のよりZr貴金属ガラスをエッチング処理することにより、基板表面をナノポーラスかすることを試みた。Zr貴金属ガラスに貴金属を添加して、ナノ準結晶を分散析

出させると、表面ナノポーラス化が進行した。表面ポーラス化したZr貴金属ガラスにヒドロゲナーゼを担持することにより水素発生電流が観察された。

3) ヒドロゲナーゼの効率的な利用を目的として、新しい帯電溶液型水素発生電極の開発を試みた。水溶液中の帯電を確認するため、メチルビオロゲンを用いた。その結果、水溶液中に添加したヒドロゲナーゼが機能することが確認できた。水素発生効率の向上に向けた更なる研究開発が必要とされる。

ヒドロゲナーゼの提供および電極への酵素担持に関してご協力を頂いた、兵庫県立大学・樋口教授および窪田助教に対して、深く感謝の意を表します。また、金属ガラスの作製に関し、東北大学金属材料研究所の共同利用研究を利用して頂きました。

(参考文献)

- 1) Hashimoto et. al., J. Japan Inst. Metals, **68**, 447-455 (2004).
- 2) 樋口: 燃料電池, **11**, 65-70 (2012).
- 3) T. Yamasaki et. al., NanoStructured Materials, **10**, No. 3, 375-388 (1998).
- 4) T. Yamasaki, Y. Yokoyama et. al., Microsyst. Tech., **20**, 1941-1948 (2014).
- 5) 山田昌弘、山崎 徹、横山嘉彦; 日本金属学会誌, **78**, 449-458 (2014).
- 6) 山田昌弘、山崎 徹、横山嘉彦; 日本金属学会誌, **78**, 90-97 (2014).
- 7) M. Yamada, T. Yamasaki, K. Tsuchiya and Y. Yokoyama et. al., Mat. Sci. and Eng. **63** (2014) 012167.
- 8) Y. Yokoyama, K. Fujita, and T. Yamasaki et. al., : Mater. Sci. Eng. **A 606**, 74-80 (2014).
- 9) 徳永、小山、藤田、横山、山崎、井上ら、日本金属学会誌、**75**, 569-574 (2011).
- 10) Y. Yokoyama, T. Yamasaki, K. Fujita, A. Inoue et. al., :Intermetallics, **19**, 1683-1687 (2011).
- 11) 山崎、山田、藤田、加藤、Do. Hyang Kim: 粉体および粉末冶金, Vol. 64, No. 4 (2016).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

- [雑誌論文] (計4件)
- 1) 「Zr-Cu-Ni-Al系金属ガラスの塑性変形挙動に及ぼす貴金属添加の影響」
山崎 徹, 山田昌弘, 藤田和孝, 加藤秀実, Do Hyang Kim: 粉体および粉末冶金, Vol. 63, No. 4, 230-238 (2016). (査読有り)
 - 2) 「Zr基バルク金属ガラスのねじり応力下における破壊特性と疲労特性」
藤田和孝, 西川裕之, 山崎 徹, 加藤秀美: 粉体および粉末冶金, Vol. 63, No. 4, 223-229 (2016). (査読有り)
 - 3) "Development of plastic elongation in nanocrystalline and amorphous Ni-W dual phase

alloy by brushing technique”, (査読有り)
S. Nakayama, H. Adachi, T. Yamasaki; J. Alloys and Compounds Vol. 643, S22–S26 (2015).
DOI: 10.1016/j.jallcom.2015.12.209
4) “Nano-microscale moulding of some metal plates with high strength Ni-W alloy moulds”
T. Yamasaki, M. Yamada, H. Adachi, T. Nabeshima and Y. Yokoyama,
Microsystem Technologies, Vol. 20, 1941-1948 (2014). (査読有り)
DOI: 10.1007/s00542-013-2005-7

[学会発表] (計 11 件)

- 1) (Invited Presentation)
“Plastic deformation of Zr-Cu-Ni-Al-NM (NM: Noble Metal) Bulk Metallic Glasses”,
T. Yamasaki, M. Yamada, K. Fujita, K. Amiya, H. Kato : ISMANAM’2016, July 4-8, (2016), Nara, Japan.
- 2) (Invited Presentation)
“Effects of Au and Pd additions on plastic deformation of Zr-Cu-Ni-Al bulk metallic glasses”, T. Yamasaki, Y. Mukai, K. Fujita, K. Amiya, H. Kato : Thermec’2016, May 29-June 4, (2016), Graz, Austria.
- 3) (優秀ポスター賞)
「Zr-Cu-Ni-Al 系金属ガラス合金の塑性変形能に及ぼす Au, Pd 添加影響」,
土居利行, 山崎徹, 網谷健児, 加藤秀実 :
日本金属学会第 159 回秋期講演大会, (2016) 9/21-23, 大阪.
- 4) 「Zr-Cu-Ni-Al-(Pd, Cr, Nb)金属ガラスの準結晶析出を利用したナノポーラス化」
野原一成, 網谷健児, 山崎徹 :
日本材料学会・第 2 回材料 WEEK (2016) 10/11-13, 京都.
- 5) "Plastic Deformation of High-strength Ni-W Alloys with Amorphous and Nanocrystalline Duplex Structure",
T. Yamasaki, T. Nabeshima, S. Nakayama and Hiroki Adachi : 22nd International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials, 13-17 July 2015, Paris, France (OR-69).
- 6) “Effects of Noble Metal Additions on Plastic Deformation of Zr-Cu-Ni-Al Bulk Metallic Glasses”, T. Yamasaki, M. Yamada, H. Adachi, K. Fujita and H. Kato : 22nd International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials, 13-17 July 2015, Paris, France.
- 7) “Mechanical Properties and Microstructure Change by W content in Ni-W Dual Phase Alloys”, S. Nakayama, H. Adachi, T. Nabeshima and T. Yamasaki : 14th International Union of Materials Research Societies – International Conference of Advanced Materials, ICC-Jeju, Korea, Oct. 25-29, (2015), V-4MoP-20.
- 8) 「高強度 Ni - W 電析合金のナノ結晶/アモルファス二相化による高延性化」: 足立大樹,

中山翔太, 萬永周輝, 山崎徹:
粉体粉末冶金協会・H27 年度春季大会 (早稲田大、H27 年 5/26~28 日 2—14A.
9) 「Zr-Cu-Ni-Al 系金属ガラスの塑性変形挙動に及ぼす貴金属添加の影響」: 大伴昭人, 山田昌弘, 山崎徹, 藤田和孝, 加藤秀実 : 粉体粉末冶金協会・H27 年度春季大会 (早稲田大、H27 年 5/26~28 日) 2—20A.
10) 「ヒドロゲナーゼの性質の電気化学的解析と就職用電極の探索」
窪田慎太郎, 山崎徹, 矢沢哲夫, 安川智之, 水谷文雄, 樋口芳樹 : 第 60 回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会 (京都工芸繊維大学, 2014.11.15-16)
11) 「Ni-W ナノ結晶/アモルファス二相合金の塑性変形挙動に及ぼすアモルファス安定性の影響」
足立大樹、中山翔太、鍋島隆行、岡本佳奈、山崎徹 : 日本金属学会 2014 年秋期講演大会 (名古屋大学, 2014.9.24-26)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 徹 (YAMASANKI Tohru)

兵庫県立大学・工学研究科・教授

研究者番号 : 30137252

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者 なし

以上