

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2014～2015  
課題番号：26810038  
研究課題名(和文) 酸性耐性能を備えた酵素燃料電池の創製

研究課題名(英文) Robust hydrogenase for a fuel cell

## 研究代表者

松本 崇弘 (MATSUMOTO, TAKAHIRO)

九州大学・小分子エネルギーセンター・准教授

研究者番号：90570987

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：排出物が水のみである燃料電池は、火力発電と原子力発電に替わるクリーンな発電システムとして期待されている。しかし、燃料電池の電極触媒には埋蔵量に限りのある白金を用いているため、白金代替触媒の開発が急務である。本研究では、非白金触媒として自然界に存在する酵素に着目し、酵素及びそのモデル触媒を用いた燃料電池の開発を行った。用いた酵素は、新規に探索・単離したニッケル・鉄ヒドロゲナーゼ(S-77と命名)であり、その酵素燃料電池は、白金燃料電池の性能を超えることを明らかにした。さらにそのモデル触媒として、ニッケル・鉄錯体で、世界で初めて酸素を捕らえた中間体の構造解析に成功した。

研究成果の概要(英文)：Reported herein is an electrode for H<sub>2</sub> oxidation, and it is based on [NiFe]Hydrogenase from *Citrobacter* sp. S-77 ([NiFe]S77). It has a 637 times higher mass activity than Pt (calculated based on 1 mg of [NiFe]S77 or Pt) at 50 mV in a hydrogen half-cell. The [NiFe]S77 electrode is also stable in air and, unlike Pt, can be recovered 100% after poisoning by carbon monoxide. Following characterization of the [NiFe]S77 electrode, a fuel cell comprising a [NiFe]S77 anode and Pt cathode was constructed and shown to have a higher power density than that achievable by Pt. O<sub>2</sub>-tolerant [NiFe] hydrogenases catalyze not only the conversion of H<sub>2</sub> into 2H<sup>+</sup> and 2e<sup>-</sup> but also the reduction of O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>O. Chemists have sought to mimic such bifunctional catalysts with structurally simpler compounds to facilitate analysis and improvement. Herein, we report a new [NiFe]-based catalyst for O<sub>2</sub> reduction via an O<sub>2</sub> adduct. Structural investigations reveal the first example of a side-on iron(IV) peroxo complex.

研究分野：生物無機化学

キーワード：燃料電池 ヒドロゲナーゼモデル 水素 酸素

### 1. 研究開始当初の背景

水素と酸素で駆動する燃料電池は、作動中に水しか生成しないクリーンな発電システムである。そのなかでも固体高分子形燃料電池は、電力密度の高さや作動温度の低さ(室温~90℃)から自動車や家庭用電源のような比較的小型な移動用電源としての使用が期待されている。しかし、固体高分子形燃料電池の電極触媒には、枯渇資源である白金が用いられており、その実用化のためには、白金代替触媒の開発が必須である。これまで多くの研究グループが、非白金電極触媒を開発してきたが、そのような固体触媒は、高温(500~1000℃)でアンモニアガスを使用するというエネルギー多消費型・高環境負荷型の方法で調整されている。一方、このような固体触媒とは異なり、申請者は、天然の水素活性化酵素であるヒドロゲナーゼをモデルとした分子触媒を電極に利用した分子燃料電池を報告している(T. Matsumoto et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11202; *ChemCatChem* **2013**, *5*, 1368; 化学と工業 **2013**, *66*, 114)。これらの分子触媒は酸性耐性を持ち、合成法も極めて簡便であるが、燃料電池としての発電性能は低いため、新しい電極触媒の開発が必要である。本申請では、環境調和型の最たる触媒であるヒドロゲナーゼを用いた高性能酵素燃料電池の開発と新規ヒドロゲナーゼモデル錯体の開発を行った。

### 2. 研究の目的

排出物が水のみである燃料電池は、火力発電と原子力発電に替わるクリーンな発電システムとして期待されている。およそ170年前にその実施試験が行われ、燃料電池の有用性が知られていたにも関わらず、未だ実用化に至っていない大きな要因は、その電極触媒に白金を使用しているためである。埋蔵量に限りのある白金を用いる限り、世界の電力を燃料電池が担うことは不可能である。申請者はこれまで非白金電極触媒として貴金属分子触媒を用いた新しい固体高分子形燃料電池を開発したが、その発電性能の低さや貴金属を使用しているという問題点があった。本研究では、非貴金属触媒として自然界に存在する酵素に着目し、酵素を固体高分子形燃料電池に初めて適応したヒドロゲナーゼ燃料電池を作製した。さらに、非貴金属分子触媒として、新規ヒドロゲナーゼモデル錯体の合成を行った。

### 3. 研究の方法

酵素燃料電池は次のように作製した。ヒドロゲナーゼとカーボンブラックを混合し、カーボンクロスに塗布し、酵素アノードを作製した。対極となる白金カソードは市販のものを使用した。ナフィオン膜をアノードとカソードで挟み込み、膜・電極接合体を作成し、燃料電池に搭載し、電流-電圧曲線を測定した。

また、アノードの半電池測定により、ターフェルプロットで交換電流密度を決定し、アレニウスプロットにより活性化エネルギーを決定した。さらにインピーダンススペクトルを測定し、抵抗成分を解析した。

また、ヒドロゲナーゼの活性中心をモデル化したニッケル・鉄錯体の合成とその酸素結合状態の結晶構造解析に成功した。本酸素錯体が酸素を水に還元することを $^{18}\text{O}_2$ を用いた同位体実験により明らかにした。

### 4. 研究成果

(4-1) 酵素燃料電池の作製と性能評価 (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 8895)

本研究で使用するヒドロゲナーゼは、当研究室で探索・単離・精製した酸素耐性型ヒドロゲナーゼである(ヒドロゲナーゼ S-77 と命名)。本ヒドロゲナーゼをアノードとして使用し、アノードの半電池測定を行った(図1)。比較実験のために、標準型ヒドロゲナーゼミヤザキと白金も測定した。図1の縦軸はiRフリー過電圧であり、横軸は、ヒドロゲナーゼ S-77、ヒドロゲナーゼミヤザキ、および白金の1 mg 当たりに流れる電流値(質量活性)である。50 mV で比較すると、質量活性はヒドロゲナーゼ S-77の方が白金よりも637倍高い。また、50 mVでの1秒あたりの turnover frequency (TOF) は  $258\,000\text{ s}^{-1}$  であり、これまでのヒドロゲナーゼ ( $1500\text{-}9000\text{ s}^{-1}$ ) と比較すると格段に水素酸化能が高い。

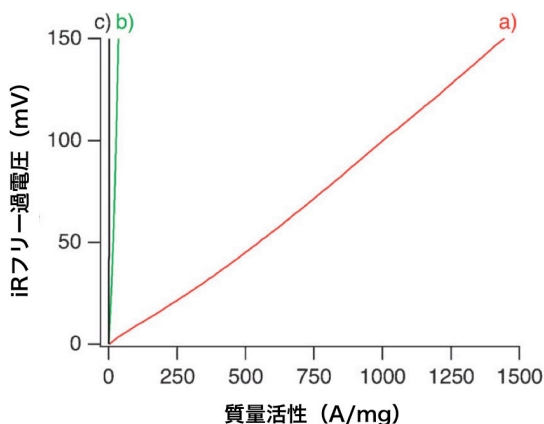


図1 (a) 酸素耐性型ヒドロゲナーゼ S-77、(b) 標準型ヒドロゲナーゼミヤザキ、(c) 白金のアノード半電池測定

電極反応の抵抗成分を解析するために、酸性耐性型ヒドロゲナーゼ S-77 のインピーダンススペクトルを測定した(図2)。比較実験のために、標準型ヒドロゲナーゼミヤザキと白金も測定した。いずれの電池でも、オーミック抵抗は非常に小さく、プロトン透過の抵抗は反応抵抗に比較して格段に小さいことが分かる。本結果は、酸素耐性型ヒドロゲナーゼ S-77 は、標準型ヒドロゲナーゼミヤザキや白金よりも反応抵抗が小さいことを示しており、ヒドロゲナーゼ S-77 の水素酸化能の高さを明らかにしている。

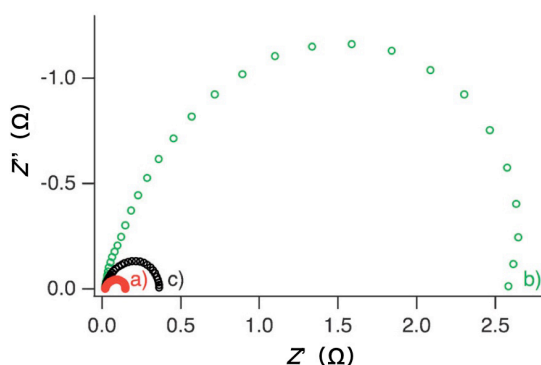


図2 (a) ヒドロゲナーゼ S-77、(b) ヒドロゲナーゼミヤザキ、(c) 白金のインピーダンススペクトル

酸性耐性型ヒドロゲナーゼ S-77 を電極触媒とした燃料電池を作成し、その性能評価実験を行った (図3)。比較実験のために、標準型ヒドロゲナーゼミヤザキと白金も測定した。カソードにはいずれも白金を用いている。酸性耐性型ヒドロゲナーゼ S-77 をアノード、白金をカソードとした燃料電池の開放電圧は 0.95 V、最大電力密度は 180 mW/cm<sup>2</sup> である。この最大電力密度は白金の燃料電池の 1.8 倍である。この値は、これまで報告された酵素燃料電池の中で最も高い値である。また、温度依存のターフェルプロット (図4) により、各温度での交換電流密度を決定し、アレニウスプロットによって、活性化エネルギーを算出した (10.1 kJ/mol)。

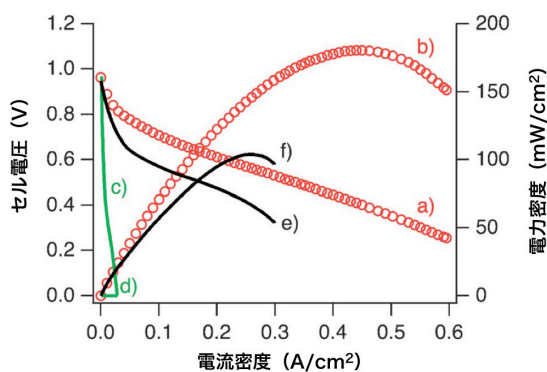


図3 (a,b) ヒドロゲナーゼ S-77、(c,d) ヒドロゲナーゼミヤザキ、(e,f) 白金の燃料電池評価実験

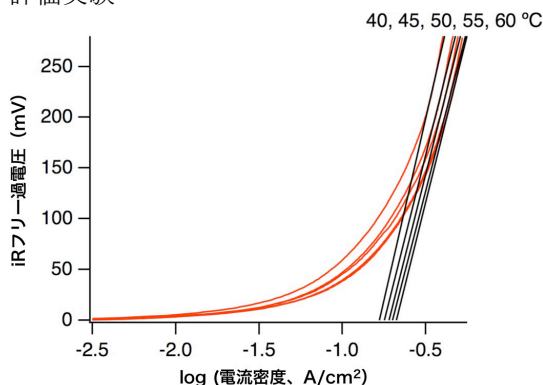


図4 ヒドロゲナーゼアノードの温度依存ターフェルプロット

#### (4-2) 新規ヒドロゲナーゼモデル錯体の開発 (Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 724)

ニッケル・鉄ヒドロゲナーゼは、水素酸化能を有する天然の酵素であり、その活性中心は、ニッケルと鉄がシステイン残基により架橋された 2 核構造である。このニッケル・鉄ヒドロゲナーゼは、酸素に対する反応性によって 2 種類に分かれる。1 つは、酸素存在下で水素酸化能を失う標準型、もう 1 つは、酸素存在下でも水素酸化能を維持できる酸素耐性型である。水素酸化反応では、休止状態が水をヘテロリティックに開裂し、ヒドリドイオンをニッケルと鉄の間に捉えた活性化状態を生成する。この種が電子を電子伝達系に授与し、元の休止状態に戻る。一方で、休止状態が酸素と反応すると、鉄に酸素が結合した酸素結合種が生成する。この種は、電子を受容し、水を生成することで、元の休止状態に戻ることができる。すなわち、酸素耐性反応は、ヒドロゲナーゼの酸素に対する防御機構である。本研究では、この酸素結合種の構造と性質を明らかにするために、モデル錯体の合成を行った。

新規に開発したニッケル・鉄錯体 [Ni<sup>II</sup>LFe<sup>II</sup>(RCN)(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>Me<sub>5</sub>)]<sup>+</sup> (**1**, R = Me or Et) は、速やかに酸素と反応して、酸素錯体 [Ni<sup>II</sup>LFe<sup>II</sup>(η<sup>2</sup>-O<sub>2</sub>)(η<sup>5</sup>-C<sub>5</sub>Me<sub>5</sub>)]<sup>+</sup> (**2**) を生成する。本酸素錯体 **2** は、エックス線構造解析 (図5)、赤外分光法 (図6)、エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (図7)、メスバウアー分光法 (図8)、核磁気共鳴分光法 (図9) によって同定した。O-O 結合の距離は、1.381(3) Å であり、酸素が 2 電子還元されたペルオキシ基であると同定できる (図5)。赤外分光法では、940 cm<sup>-1</sup> に O-O の伸縮振動が観測され、<sup>18</sup>O-<sup>18</sup>O では、887 cm<sup>-1</sup> にシフトした (図6)。本結果もペルオキシ基であることを示している。また、エレクトロスプレーイオン化質量分析法によっても、<sup>18</sup>O<sub>2</sub> が取り込まれていることを確認した (図7)。メスバウアー分光法からは、鉄中心が 4 価であることを確認した (図8)。また、核磁気共鳴分光法では、反磁性領域にプロトンのシグナルが観測されたことから、本ペルオキシ錯体 **2** は低スピン Fe<sup>IV</sup> 中心を持つことを明らかにした (図9)。

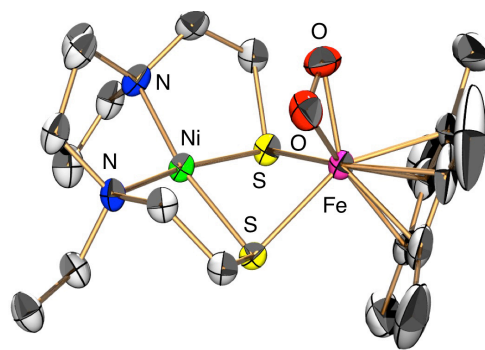


図5 ニッケル・鉄ペルオキシ錯体 **2** のエックス線構造解析

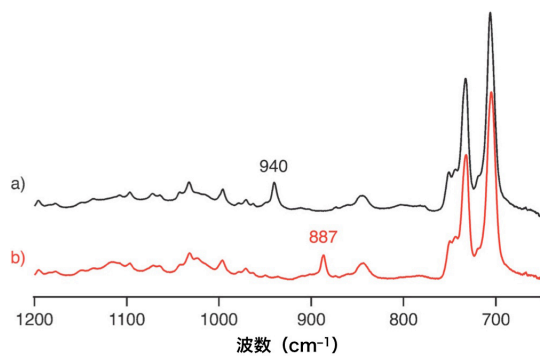


図6 ニッケル・鉄ペルオキシ錯体 **2** の赤外スペクトル

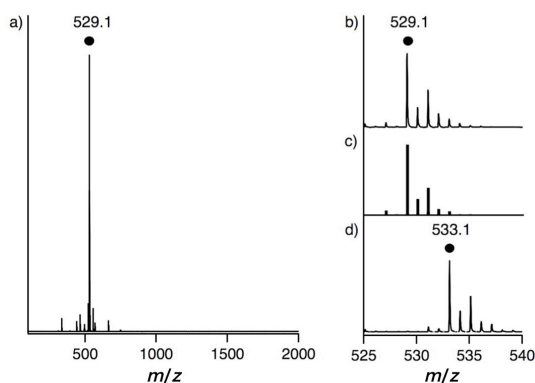


図7 ニッケル・鉄ペルオキシ錯体 **2** のエレクトロスプレーイオン化質量スペクトル

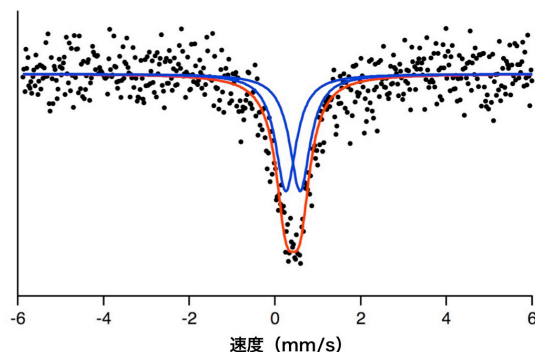


図8 ニッケル・鉄ペルオキシ錯体 **2** のメスバウアースペクトル

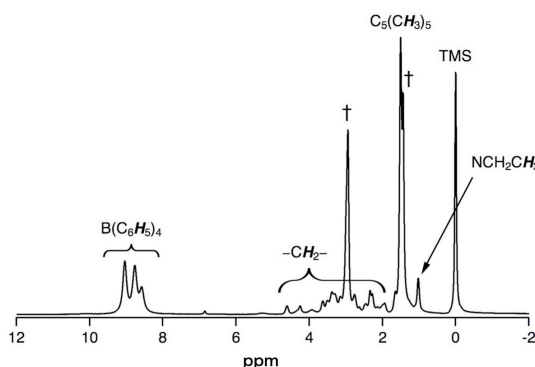


図9 ニッケル・鉄ペルオキシ錯体 **2** のプロトン核磁気共鳴スペクトル

以上の種々の分光学的手法によりペルオキシ錯体を同定した。本研究で開発したニッケル・鉄錯体は、 $^{18}\text{O}_2$  から  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  を触媒的に生成する (図 10)。すなわち、酸素耐性型ヒドロゲナーゼと全く同じ反応性を示すことを明らかにした。

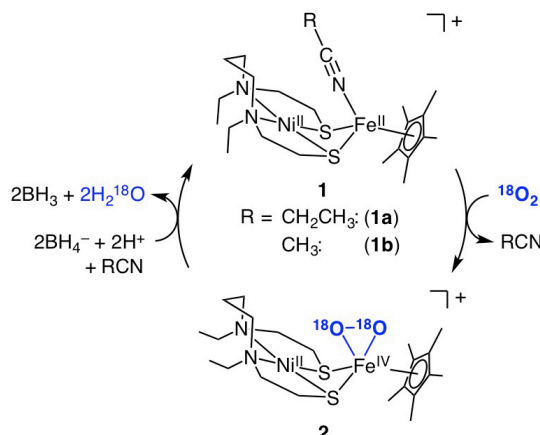


図10 ニッケル・鉄ペルオキシ錯体 **2** による酸素の水への還元反応

以上要するに、本研究では、酵素燃料電池の開発 (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 8895) と新規ヒドロゲナーゼモデル錯体の開発 (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 724) を達成することができた。

## 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 17 件)

(1) Kishima, Takahiro; Matsumoto, Takahiro; Nakai, Hidetaka; Hayami, Shinya; Ohta, Takehiro; Ogo, Seiji.

**A High-Valent Iron(IV) Peroxo Core Derived from  $\text{O}_2$ .**

*Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*(2), 724–727.

DOI: 10.1002/anie.201507022. 査読有

(2) Matsumoto, Takahiro; Eguchi, Shigenobu; Nakai, Hidetaka; Hibino, Takashi; Yoon, Ki-Seok; Ogo, Seiji.

**[NiFe]Hydrogenase from *Citrobacter* sp. S-77 Surpasses Platinum as an Electrode for  $\text{H}_2$  Oxidation Reaction.**

*Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*(34), 8895–8898.

DOI: 10.1002/anie.201404701. 査読有

(3) 松本崇弘、小江誠司

分子および酵素燃料電池

化学と工業、**2015**、*68*(5)、441.

査読有

[学会発表] (計 6 件)

(1) 発表者：松本崇弘

発表標題：分子燃料電池

学会等名：電気化学会第 83 回大会「シンポ

ジウム：有機電気化学の新しい展開」  
発表年月日：平成 28 年 3 月 29 日  
発表場所：大阪大学吹田キャンパス（大阪府吹田市）

(2) 発表者：松本崇弘  
発表標題：Molecular Fuel Cell  
学会等名：I2CNER Annual Symposium 2016  
発表年月日：平成 28 年 2 月 3 日  
発表場所：九州大学 I2CNER（福岡県福岡市）

(3) 発表者：松本崇弘  
発表標題：H<sub>2</sub> Activation by Hydrogenase and its Model  
学会等名：I<sup>2</sup>CNER International Workshop 2015 Catalytic Materials Transformations Research Division  
発表年月日：平成 27 年 2 月 4 日  
発表場所：九州大学 I<sup>2</sup>CNER（福岡県福岡市）

(4) 発表者：松本崇弘  
発表標題：酵素の基礎研究から燃料電池の実用化へ  
学会等名：第 27 回生物無機化学夏季セミナー  
発表年月日：平成 26 年 8 月 31 日  
発表場所：書写山円教寺会館（兵庫県姫路市）

(5) 発表者：松本崇弘  
発表標題：Activation of H<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> by Hydrogenase Mimics in a Fuel Cell  
学会等名：41st International Conference on Coordination Chemistry (ICCC-41) Activation of Small Molecules by Biomimetic Compounds  
発表年月日：平成 26 年 7 月 22 日  
発表場所：シンガポール、Suntec Shingapore Convention & Exhibition Centre

[その他]  
ホームページ等  
<http://web.cstm.kyushu-u.ac.jp/ogo/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者  
松本 崇弘 (MATSUMOTO, Takahiro)  
九州大学・小分子エネルギーセンター・  
准教授  
研究者番号：9 0 5 7 0 9 8 7

(2)研究分担者：なし

(3)連携研究者：なし