

小江誠司

九州大学大学院工学研究院応用化学部門・教授  
水素活性化アクア触媒界面による常温・常圧エネルギー変換

## §1. 研究実施体制

### (1) 小江グループ

- ① 研究代表者: 小江 誠司 (九州大学大学院工学研究院応用化学部門、教授)
- ② 研究項目
  - ・水素活性化アクア触媒界面による常温・常圧燃料電池の開発

### (2) 樋口グループ

- ① 主たる共同研究者: 樋口 芳樹 (兵庫県立大学大学院生命理学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・ヒドロゲナーゼの研究

### (3) 大島グループ

- ① 主たる共同研究者: 大島 俊二 (JNC 株式会社水俣研究所、グループリーダー)
- ② 研究項目
  - ・水素活性化アクア触媒界面による常温・常圧還元反応の研究

## § 2. 研究実施内容

### 2.1 研究進捗状況

(文中右肩の番号は(3-1)の文献リストに対応する)

#### (1) 水素と酸素の選択的活性化触媒の開発とその活性化反応メカニズムの解明

酸素耐性ヒドロゲナーゼは、多種多様なヒドロゲナーゼの中で現在最も注目されている。一般的にヒドロゲナーゼは酸素に不安定であり、酸素により失活すると水素活性化能を喪失するが、酸素

耐性水素ゲナーゼは、水素の電子により酸素を還元する防御機能を有しており、これは燃料電池のカソードと同様の反応である。しかしながら、どのようなメカニズムで水素と酸素を活性化するかを調べた研究例はこれまでに無く、本研究により初めてそのメカニズムを明らかにした<sup>9</sup>。

図1に示すように、酸素耐性水素ゲナーゼモデル錯体であるニッケル-ルテニウム錯体のルテニウムの支持配位子の電子供与性を **1-9** まで系統的に変化させ、水素と酸素に対する反応性を検討した。その結果、**8a** と **9a** は水素、酸素ともに反応せず、**5a-7a** は水素を活性化しヒドリド錯体 **5b-7b** を生成し、**1a-4a** は酸素を活性化しペルオキシ錯体 **1c-4c** を生成することが分かった。これらの錯体は ESI-MS、<sup>1</sup>H NMR 等の分析法により同定した。

さらに詳細にこれらの反応を追跡するために、反応速度とルテニウム中心の酸化還元電位との関係を調べると、図2のような結果が得られた。これは、水素と酸素の活性化をルテニウムの電位で制御できることを示した非常に有用な結果である。

また、反応メカニズムを詳細に検討するために、水素または酸素の濃度と擬一次速度定数をプロットすると、水素では一次プロット(図3)になるが、酸素ではミカエリスメンテンタイプの飽和曲線が得られた(図4)。これらの結果から、水素の活性化反応では図5の path B、酸素の活性化反応では図6の path B のメカニズムが提案できる。このように、単一の骨格を持つ錯体の一部支持配位子を系統的に変化させ、水素と酸素との反応メカニズムを明らかにした研究は本研究が初めてであり、今後の水素と酸素の化学に対して非常に有用な知見が得られた。

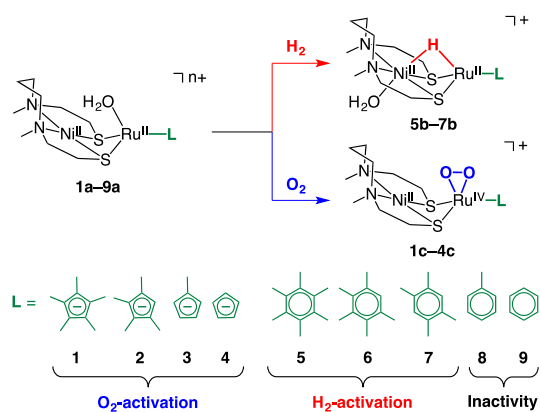


図1 ニッケル-ルテニウム錯体による水素と酸素の活性化

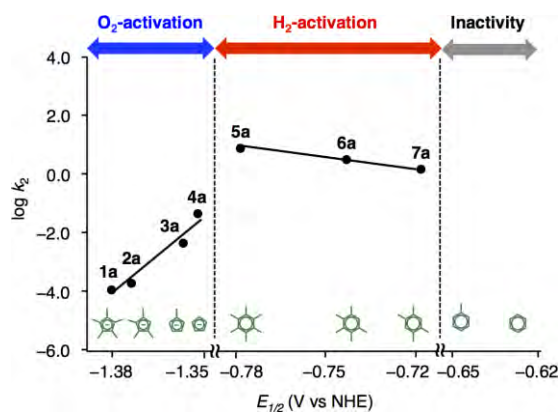


図2 ルテニウム中心の酸化還元電位と反応速度との関係

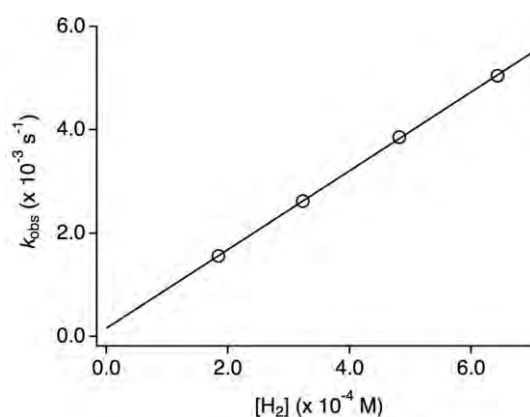


図3 水素濃度と擬一次速度定数のプロット

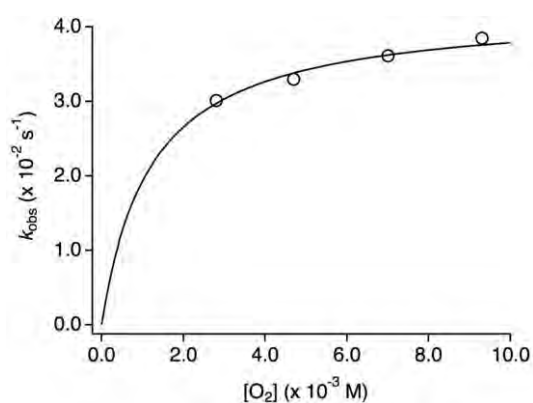


図4 酸素濃度と擬一次速度定数のプロット

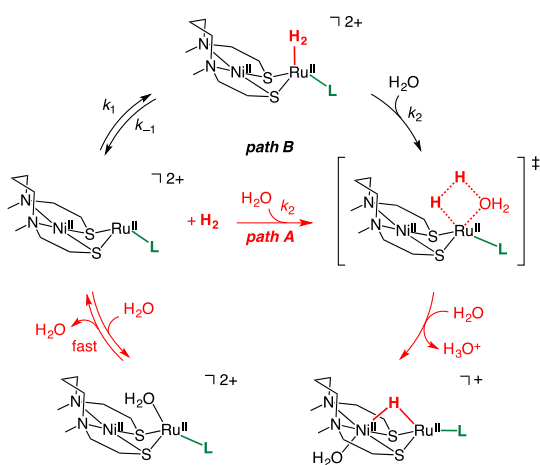


図5 水素活性化反応のメカニズム

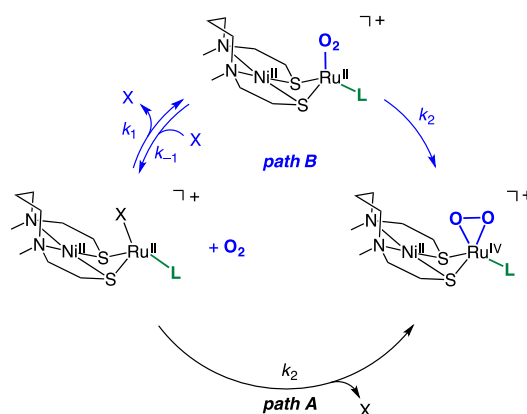


図6 酸素活性化反応のメカニズム

## (2) 新規水素活性化貴金属フリー触媒の開発

小江グループが開発したニッケル-ルテニウム錯体 **5a** は唯一のニッケル-鉄ヒドロゲナーゼの機能モデルであったが、ニッケルと鉄を使って水素を活性化することが本分野においては非常に重要である。これまでの多くの研究グループが、ニッケル-鉄錯体を用いた水素の活性化を目指してきたが、いずれのグループも達成することはできなかった。本研究では、鉄の支持配位子にフォスファイトを用いるという新しい着眼点の下、モデル錯体 **10a** を設計・開発することで、世界で初めてニッケル-鉄錯体による水素活性化反応に成功した<sup>10</sup>。ヒドリド錯体 **10b** の構造は X 線構造解析、<sup>1</sup>H NMR、ESI-MS 等で同定した(図7)。さらに、水素から取り出した電子で、メチルビオロゲンやフェロセニウムイオンなどの基質の還元成功した(図8)。

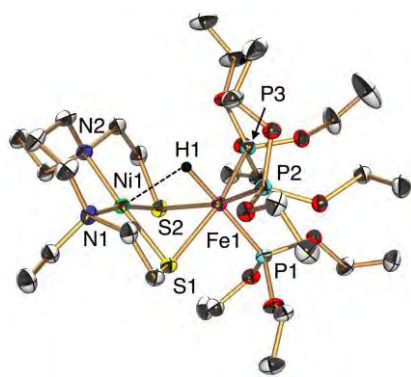


図7 ニッケル-鉄ヒドリド錯体 **10b**

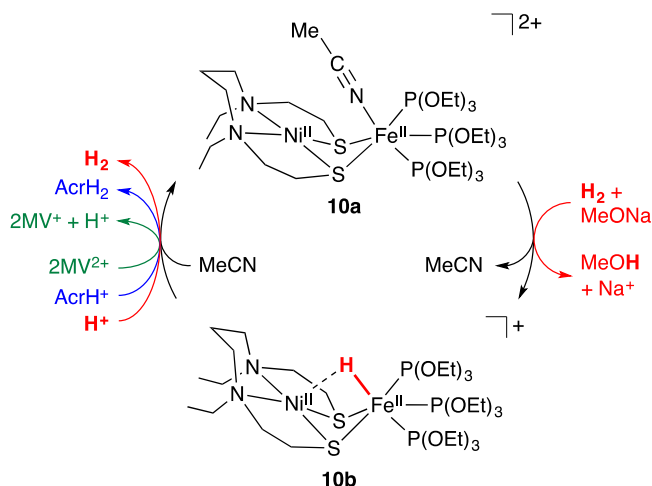


図8 ニッケル-鉄錯体による水素からの電子抽出反応

### (3) ニッケル-ルテニウム触媒を用いた分子燃料電池の特性評価

本研究では、分子燃料電池の特性評価及び電極上での反応メカニズムの解明を行った<sup>12</sup>。反応活性や水中での安定性等を考慮し、アノード触媒として **5b**、カソード触媒として **1c** を選択し、分子燃料電池を作成し、その性能評価を行った(図9)。この燃料電池の起電力は 0.42 V を示し、セル電圧が 0.23 V、電流密度が  $112 \cdot \text{A cm}^{-2}$  の時に最大電力密度は  $26 \cdot \text{W cm}^{-2}$  であった(図10)。燃料電池の性能評価は、図10のような電流-電圧、電流-電力曲線を測定することによって行う。この図は横軸が電流密度、左縦軸がセル電圧、右縦軸が電力密度を表している。この測定は、電池の回路に負荷を掛け電流を取り出す際のセル電圧の降下を追跡するもので、電力密度は電圧と電流密度の積で算出する。ちなみに、開回路(回路に負荷を掛けない状態)でのセル電圧を起電力という。

カソードにおいて、酸素が4電子還元されて水が生成するか、2電子還元されて過酸化水素が生成するかを調べることは、燃料電池では重要である。なぜなら、過酸化水素は金属触媒存在下で強力な酸化力を持つラジカル種となり、ナフィオン膜や触媒を劣化されるためである。次の手順により Koutecky-Levich プロットを行い、カソードでの酸素還元の電子数を決定した(図11)。**1c** を含む酸素飽和の水溶液に一定の電圧を掛け、ディスクの回転数を変化させると、流れる電流値が変化する。その電流値の逆数を縦軸に、 $\omega^{-1/2}$  ( $\omega$  は回転の角速度)を横軸とし、その直線の傾きから酸素が還元される電子数を見積もることができる。電子数は 3.9 と計算され、酸素が水に 4 電子還元されており、副生成物として過酸化水素が生成していないことが分かった。

次に **1c** のカソード触媒としての特性を評価するために、半電池で電気化学的測定を行った。比較として、以前にカソード触媒として機能すると報告した **5b** についても調べた。図12は **5b** と **1c** をカソードに用いた時のターフェルプロットを示す。ターフェルプロットによって交換電流密度は、**5b** が  $110 \cdot \text{A cm}^{-2}$ 、**1c** が  $250 \cdot \text{A cm}^{-2}$  と決定されることより、カソードとしての性能は **1c** の方が優れている。また、図13は、**5b** と **1c** のカソードでのインピーダンススペクトルを示しており、縦軸に容量的成分 ( $Z'$ )、横軸に抵抗的成分 ( $Z''$ ) をプロットしている。いずれの酸素の還元

においても反応抵抗と拡散抵抗が大きいことを表しているが、比較すると **5b** よりも **1c** の方が全体の抵抗は小さい。

分子触媒を用いる利点の1つは、反応メカニズムの解明が容易なことである。ニッケルルテニウム分子触媒のカウンターイオンを  $\text{CF}_3\text{SO}_3^-$  (OTf) から  $\text{NO}_3^-$  に変えると、触媒が水に可溶になり、反応溶液および排液に含まれる化学種の同定がエレクトロスプレーイオン化質量分析装置や多くの分光学的手法により可能になる。そのようにして解明したカソードの反応メカニズムを図14に示す。**1c** が  $\text{H}^+$  と電子を受け取り、ヒドロペルオキシ種 **A** が生成し、さらに  $\text{H}^+$  と電子を受け取り **1a** が生成する。**1a** は酸素と反応して **1c** を再生する。触媒サイクルで  $\text{O}_2$  由来の  $\text{O}$  が  $\text{H}_2\text{O}$  に含まれることは、 $^{18}\text{O}_2$  を用いた実験で確認した。以上本研究では、ニッケルルテニウム触媒を用いた分子燃料電池の詳細な特性評価を行った。

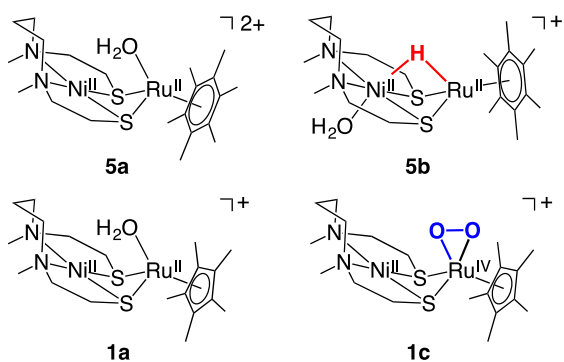


図9 分子電極触媒

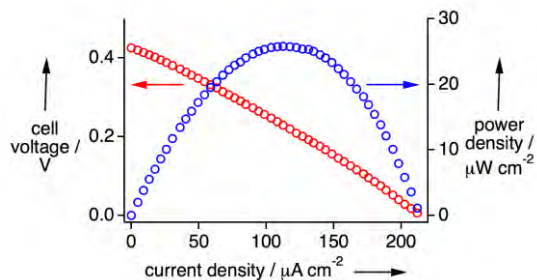


図10 分子燃料電池の性能

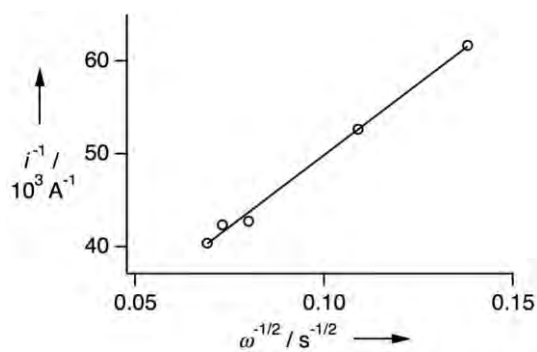


図11 Koutecky-Levich プロット

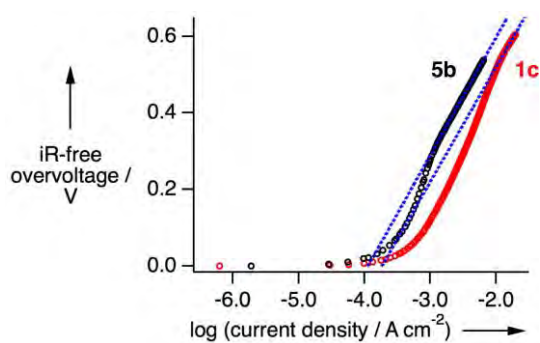


図12 ターフェルプロット

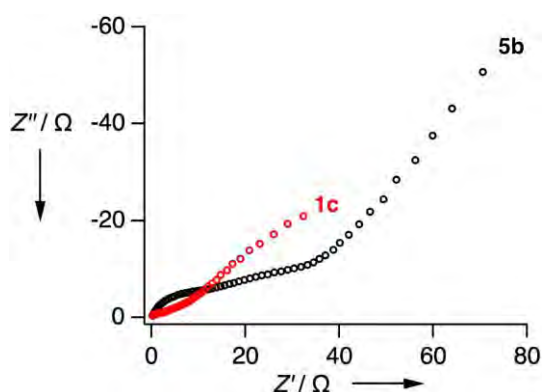


図13 インピーダンススペクトル

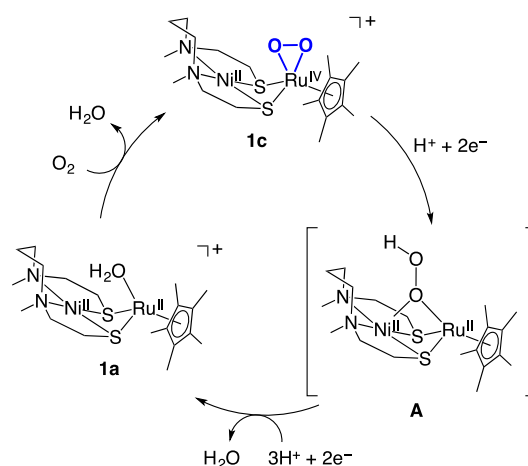


図14 カソードでのメカニズム

#### (4) 過酸化水素の直接合成触媒の開発

本研究では、過酸化水素の直接合成用触媒の開発とその合成メカニズムの解明を行った。過酸化水素は、殺菌剤、紙、パルプ、繊維等の漂白剤、エポキシ化及びヒドロキシル化等の酸化反応の酸化剤、半導体基板等の表面の清浄、銅、錫及び他の銅合金表面の化学的研磨、並びに電子回路の蝕刻等に用いられる重要な化合物である。現在、過酸化水素はアントラキノン法により工業的に合成されているが、この方法はエネルギー多消費型プロセスであることから、新たな合成法の開発が必要である。しかし、これまでは不均一系固体触媒しか開発されておらず、そのため、その合成メカニズムは全く不明であった。本研究では、初めて分子触媒を用いての過酸化水素の合成法、さらにその反応メカニズムの解明を行っている。

#### (5) 還元反応への応用として新規貴金属フリー触媒による基質の還元反応の開発

小江グループでは以前に、ニッケル-鉄ヒドロゲナーゼの全ての機能を再現したニッケル-ルテニウム錯体 **5a** を開発した。この錯体は水中、常温で水素をヘテロリティックに活性化でき、水素から抽出した電子を使って基質を還元することができる。しかし、2. 3(2)に記載したように、ニッケル-ルテニウム錯体のルテニウムを鉄に替えることが、強く望まれていた。本研究では、ルテニウムを鉄に置換した、その錯体を用いた水素の活性化反応の開発、及び基質のヒドリド還元反応の開発を行っている。

#### (6) NAD<sup>+</sup>還元型ヒドロゲナーゼの構造解析

昨年度は水素酸化細菌・*Hydrogenophilus thermoluteolus* の TH-1 株の有する NAD<sup>+</sup>還元型ヒドロゲナーゼの精製法を確立し、また 0.01 mm の微結晶の調製に成功した。今年度は、さらに良質で大型の結晶を得るべく、シーディング法による結晶化条件の探索を進め、X 線回折実験に供することが可能な単結晶の調製に成功した(図 15a)。得られた結晶について SPrin-8 の BL-44XU に回折実験を行ったところ、図 15b に示す回折データを得た。この回折データの異常



分散効果を利用して 3.2 Å 分解能の初期電子密度図を計算したところ、図 15c に示すように、酵素分子の 4 個のサブユニットがもつ金属クラスターのおよその位置を見出すことに成功した。

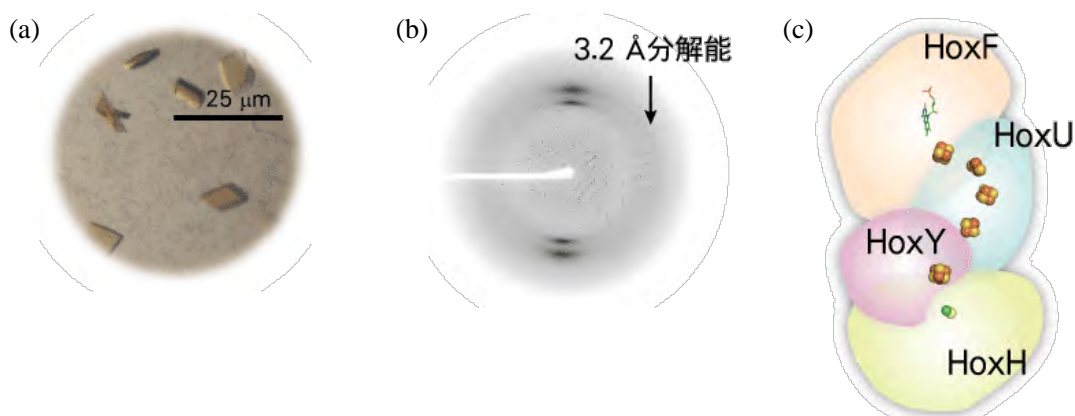


図15 (a)NAD<sup>+</sup>還元型ヒドロゲナーゼの結晶、(b)回折データ、(c)解析結果

## 2.2 今後の見通し

新しい触媒開発を行うために、範となりうる有用な性質を持つ水素活性化細菌・酵素の構造と反応メカニズムを解明することが極めて重要であることをこれまで実証してきた。地球上には未知の水素活性化細菌・酵素が存在し、未だ知られていない有用な反応特性を持つ可能性が非常に高い。そこで、さらに新規ヒドロゲナーゼを探索・単離し、その構造・反応性を範に、新規な水素活性化触媒を合成し、その触媒作用機構を解明する研究を継続する。また、分子燃料電池の電極触媒の開発を進める。具体的には、触媒として本命のニッケル-鉄錯体の燃料電池触媒としての性能評価の他、触媒固定法や新規触媒の開発など、発電性能の向上に向けた研究を進める。

## § 3. 成果発表等

### (3-1) 原著論文発表

#### ● 論文詳細情報

1. K. Jeong, H. Nakamori, S. Imai, T. Matsumoto, S. Ogo, Hidetaka Nakai, “A Neutral Five-coordinated Organoruthenium(0) Complex: X-ray Structure and Unique Solvatochromism”, *Chem.Lett.*, **2012**, *41(6)*, pp.650-651 (DOI: 10.1246/cl.2012.650).
2. S. Eguchi, K.-S. Yoon, S. Ogo, “O<sub>2</sub>-stable Membrane-bound [NiFe]hydrogenase from a Newly Isolated *Citrobacter* sp. S-77”, *J. Biosci. Bioeng.*, **2012**, *114(5)*,

pp.479-484, (DOI: 10.1016/j.jbiosc.2012.05.018).

3. H. Komori, Y. Nitta, H. Ueno, Y. Higuchi, "Purification, Crystallization, and Preliminary X-ray Analysis of Human Histidine Decarboxylase", *Acta Crystallogr.*, **2012**, *F68*, pp.675-677, 2012 (DOI: 10.1107/S1744309112015692).
4. Y. Shomura, Y. Higuchi, "Structural Basis for the Reaction Mechanism of S-carbamoylation of HypE by HypF in the Maturation of [NiFe]-hydrogenases", *J. Biol. Chem.*, **2012**, *287(34)*, pp.28409-28419 (DOI: 10.1074/jbc.M112.387134).
5. S. Nagao, H. Osuka, T. Yamada, T. Uni, Y. Shomura, K. Imai, Y. Higuchi, S. Hirota, "Structural and Oxygen Binding Properties of Dimeric Horse Myoglobin", *Dalton Trans*, **2012**, *41*, pp.11378-11385 (DOI: 10.1039/c2dt30893b).
6. H. Komori, Y. Nitta, H. Ueno, Y. Higuchi, "Structural Study Reveals Ser345 Determines Substrate Specificity on Human Histidine Decarboxylase", *J. Biol. Chem.*, **2012**, *287(34)*, pp.29175-29183 (DOI: 10.1074/jbc.M112.381897).
7. Y. Hayashi, S. Nagao, H. Osuka, H. Komori, Y. Higuchi, S. Hirota, "Domain Swapping of the Heme and N - Terminal  $\alpha$  - Helix in *Hydrogenobacter thermophilus* Cytochrome c552 Dimer ", *Biochemistry*, **2012**, *51(43)*, pp.8608–8616 (DOI: 10.1021/bi3011303).
8. K. Kihira, Y. Shimizu, Y. Shomura, N. Shibata, M. Kitamura, A. Nakagawa, T. Ueda, K. Ochi, Y. Higuchi, "Crystal Structure Analysis of the Translation Factor RF3 (release factor 3)", *FEBS Letters*, **2012**, *586(20)*, pp.3705-3709 (DOI: 10.1016/j.febslet.2012.08.029).
9. K. Kim, T. Kishima, T. Matsumoto, H. Nakai, S. Ogo, "Selective Redox Activation of H<sub>2</sub> or O<sub>2</sub> in a [NiRu] Complex by Aromatic Ligand Effects", *Organometallics*, **2013**, *32(1)*, pp.79-87 (DOI: 10.1021/om300833m).
10. S. Ogo, K. Ichikawa, T. Kishima, T. Matsumoto, H. Nakai, K. Kusaka, T. Ohhara, "A Functional [NiFe]Hydrogenase Mimic that Catalyzes Electron and Hydride Transfer from H<sub>2</sub>", *Science*, **2013**, *339(6120)*, pp. 682-684 (DOI: 10.1126/science.1231345).



11. K. Nonaka, N. T. Nguyen, K.-S. Yoon, S. Ogo, “Novel “H<sub>2</sub>-oxidizing” [NiFeSe]hydrogenase from *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F”, *J. Biosci. Bioeng.*, **2013**, 115(4), pp.366-371 (DOI: org/10.1016/j.jbiosc.2012.10.011).
12. T. Matsumoto, K. Kim, H. Nakai, T. Hibino, S. Ogo, “Organometallic Catalysts for Use in a Fuel Cell”, *ChemCatChem*, in press (DOI: 10.1002/cctc.201200595)

### (3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 2 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 5 件)