

# 太陽光を利用した大豆成分オリゴ糖廃液からの 水素製造技術に関する研究

天尾 豊\*

大分大学工学部

## Solar Hydrogen Production from Soybean Oligosaccharide Waste Fluid

Yutaka AMAO

Department of Applied Chemistry, Oita University, Oita 870-1192

### ABSTRACT

Visible light-induced enzymatic hydrogen production coupling the saccharide degradation with invertase and glucose dehydrogenase (GDH) and hydrogen production with platinum colloid as a catalyst using the visible light-induced photosensitization of Mg chlorophyll-*a* (Mg Chl-*a*) has been developed. The continuous hydrogen gas production was observed when the reaction mixture containing saccharide sucrose, invertase, GDH, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>), Mg Chl-*a*, methylviologen (MV<sup>2+</sup>, an electron relay reagent) and platinum colloid was irradiated by visible light. Moreover, this system was applied to the photoinduced hydrogen production from saccharide waste fluid containing 10% sucrose. After 4 h irradiation, 0.3 μmol of hydrogen was produced with the system containing saccharide waste fluid containing sucrose, invertase, GDH, NAD<sup>+</sup>, Mg Chl-*a*, MV<sup>2+</sup> and platinum colloid. *Soy Protein Research, Japan* **13**, 66-69, 2010.

Key words : Solar hydrogen, Biomass, Oligosaccharide, Photosynthesis

近年、セルロース・デンプン等の糖質系バイオマスの再利用・エネルギー利用が注目を浴びている。特に食品・製菓会社では多量に糖類を含む廃棄物・廃水処理の問題がクローズアップされている。たとえば、製菓会社では、大豆を使った食品加工において、多量の糖類を含む廃水を短時間で処理する必要があり、様々な形での再利用方法が望まれている。大豆に含まれる

糖類は様々な水溶性オリゴ糖（ショ糖、スタキオース、ラフィノース等）であり、これらの成分が大量に廃液として処理されているのが現状である。

一方、糖類を有効利用する一つ的手段として、提案者はセルロース、デンプン、ショ糖等の糖類の加水分解反応と光合成色素クロロフィル・白金微粒子系による光化学反応を連結し、太陽光を駆動力として糖類を原料とした水素製造反応系に関する研究を進めている<sup>1-7)</sup>。大豆の成分であるショ糖・スタキオース・ラフィノースの加水分解反応系を確立し、光合成色素クロロ

\*〒870-1192 大分市旦野原700

フィル・白金微粒子系による光化学反応と連結することによって、太陽光を駆動力とし、糖を含む廃水から水素を獲得することができる。つまり、非食品工業に関する研究ではあるが、大豆の成分を利用し、水素エネルギーという次世代燃料を獲得することができる。

そこで本研究では、Fig. 1に示すような大豆の主成分である混合オリゴ糖（シヨ糖、スタキオース、ラフィノース）の酵素による加水分解反応と光合成色素クロロフィル・白金微粒子系による光化学反応とを連結し、太陽光によって駆動する水素エネルギー獲得システムの構築を目指した。当該研究成果は大豆成分の非食品工業への革新的利用につながるものと期待できる。具体的には大豆を利用した製菓工場から排出されるシヨ糖を含む廃水を原料として用い、酵素によるシヨ糖の加水分解反応と光合成色素クロロフィル・白金微粒子系による光化学反応とを連結したシステムを構築した成果について述べる（Fig. 2）。

## 方 法

クロロフィル、インベルターゼ、シヨ糖、グルコース脱水素酵素（GDH）およびNAD<sup>+</sup>は和光純薬から購入しそのまま用いた。メチルビオローゲンは東京化成から購入した。

白金微粒子はヘキサクロロ白金（IV）酸六水和物をクエン酸三ナトリウム二水和物により還元することによって調製した。内容積1Lの丸底三つ口フラスコおよび冷却器を用いて行った。これらの器具は硝酸で洗浄し、蒸留水で硝酸が残らないよう洗い流してから用いた。マントルヒーターに左右の口をすり合わせガラス栓で封じた三つ口丸底フラスコを設置し、蒸留水をおよそ480 mL入れた。中央のフラスコ口に冷却器を取り付け、発生する蒸気の冷却回収を行う準備をした。1時間沸騰させた後、左右どちらかの口から塩化白金酸水溶液30 mL（ヘキサクロロ白金（IV）酸六水和物0.03 g（0.0579 mmol）を蒸留水で溶解した溶液）を少量ずつ加え、再び30分沸騰させた。その後、クエン酸ナトリウム水溶液60 mL（クエン酸三ナトリウム二水和物0.06 g（0.204 mmol）を蒸留水で溶解した溶液）を少量ずつ加え、4時間還流した。

Fig. 2の過程1であるNADH生成反応は以下のように行った。今回用いた廃水には10%のシヨ糖が含まれている。シヨ糖を含む廃液、インベルターゼ（4 units）およびGDH（5 units）をガラスセルと試験管が連結した反応管に入れ、pH7.0のリン酸塩緩衝液で全体積が3 mLになるようにし、NAD<sup>+</sup>（0.16 mM）を

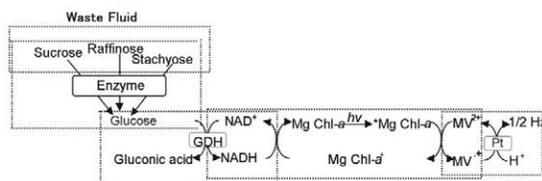


Fig. 1. Visible light-induced enzymatic hydrogen production system coupling the waste fluid containing oligosaccharides hydrolysis with enzyme, NADH formation with glucose dehydrogenase (GDH), and hydrogen production with platinum nano-particle using the photosensitization of chlorophyll (Mg Chl-a) in the presence of methylviologen (MV<sup>2+</sup>).

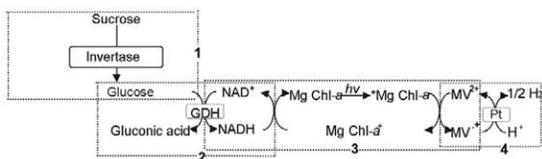


Fig. 2. Visible light-induced enzymatic hydrogen production system coupling the sucrose hydrolysis with invertase, NADH formation with GDH, and hydrogen production with platinum nano-particle using the photosensitization of Mg Chl-a in the presence of MV<sup>2+</sup>.

添加することによって反応を開始した。NADH濃度はNADHの特異的な吸収極大である340 nmにおける吸光度とモル吸光係数（ $\epsilon_{340\text{ nm}} = 6.2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ）から求めた。なお対照として、廃液の代わりにシヨ糖溶液を用いたNADHの生成反応を行った。

光水素生産反応は以下のような手法で行った。シヨ糖を含む廃液、インベルターゼ（4 units）、GDH（5 units）、NAD<sup>+</sup>（5.0 mM）、クロロフィル（9  $\mu\text{M}$ ）、メチルビオローゲン（0.4 mM）および白金微粒子（0.5 units）を体積が11.5 cm<sup>3</sup>の反応管に入れ、pH7.0のリン酸塩緩衝液で全体積を3 mLとした。溶液中の溶存酸素を除くために6回凍結脱気を行った後、5分間アルゴン置換を行った。200 Wタングステンランプにより光を照射することで反応を開始した。反応温度は30℃で行った。発生した気体はマイクロシリンジで採取し、ガスクロマトグラフィー（SHIMADZU, GC-14B, カラム:活性炭, カラム温度:40℃, 検出器温度:80℃）により定量した。NADH生成反応と同様対照として、廃液の代わりにシヨ糖溶液を用いた光水素生産反応についても検討した。

## 結果と考察

シヨ糖は二糖類であり転化酵素インベルターゼによってグルコースとフルクトースに加水分解される。はじめにシヨ糖を出発物質としたNADH生成反応について述べる。シヨ糖、インベルターゼ、GDHおよびNAD<sup>+</sup>を含む反応溶液によるNAD<sup>+</sup>からのNADH生成率の経時変化を調べた結果、反応時間80分程度でほぼ100%NAD<sup>+</sup>がNADHに変換された。つまりインベルターゼによるシヨ糖の加水分解反応は迅速に進行していると考えられる。この系に対して、10%のシヨ糖を含む廃液を用い、NAD<sup>+</sup>からのNADH生成率の経時変化を調べた結果、反応時間120分程度でほぼ100%NAD<sup>+</sup>がNADHに変換された。このことから、シヨ糖を含む廃液を用いた場合でも、Fig. 2の過程1が進行していることが示唆された。

次にこの反応系に光増感剤としてクロロフィル、電子伝達体としてメチルビオローゲンおよび触媒として白金微粒子を添加した水素生産反応系について述べる。シヨ糖、インベルターゼ、GDH、NAD<sup>+</sup>、クロロフィル、メチルビオローゲンおよび白金微粒子を含む溶液に光照射した結果、Fig. 3のように光照射時間とともに水素が定常的に発生した。光照射4時間後で水素は約3  $\mu\text{mol}$ 発生した。シヨ糖の初期量が0.3 mmolであるので、約1.0%のシヨ糖が水素に変換されたことになる。

最後にシヨ糖を含む実廃液を利用した光水素生産反応について述べる。10%シヨ糖を含む廃液とインベルターゼ、GDH、NAD<sup>+</sup>、クロロフィル、メチルビオローゲンおよび白金微粒子とを混合し、200 Wタングステンランプにより光を照射することで反応させた結果をFig. 4に示す。光照射時間とともに水素が定常的に発生し、4時間後の水素発生量は約0.3  $\mu\text{mol}$ であった。以上のようにシヨ糖を含む実廃液を光水素生産系に応用できた。用いた廃液中にはスタキオース、ラフィノース等のオリゴ糖も含まれているので、今後、これらのオリゴ糖に対応する加水分解酵素を混在させることによってより効率的な水素生産が期待できる。

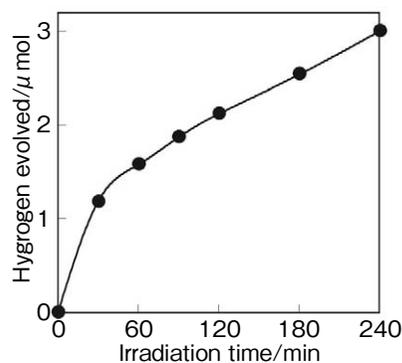


Fig. 3. Time dependence of hydrogen production under steady state irradiation with visible light using 200 W tungsten lamp. The sample solution consisting of sucrose (4.0 mM), NAD<sup>+</sup> (5.0 mM), invertase (4.0 units) and GDH (5.0 units) Mg Chl-a (9.0  $\mu\text{M}$ ), MV<sup>2+</sup> (0.4 mM), and platinum nano-particle (0.5 unit) in 3.0 mL of 10 mmol dm<sup>-3</sup> phosphate buffer (pH 7.0).

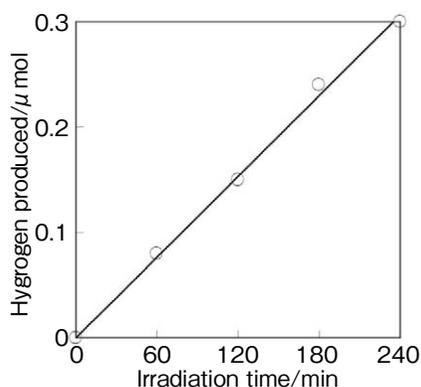


Fig. 4. Time dependence of hydrogen production under steady state irradiation with visible light using 200 W tungsten lamp. The sample solution consisting of waste fluid including 10 % sucrose, NAD<sup>+</sup> (5.0 mM), invertase (4.0 units) and GDH (5.0 units) Mg Chl-a (9.0  $\mu\text{M}$ ), MV<sup>2+</sup> (0.4 mM), and platinum nano-particle (0.5 unit) in 3.0 mL of 10 mmol dm<sup>-3</sup> phosphate buffer (pH 7.0).

## 要 約

本研究では、製菓工場から排出され、大豆の主成分である混合オリゴ糖（シヨ糖、スタキオース、ラフィノース）を含む廃液を原料とし、加水分解酵素による加水分解反応と光合成色素クロロフィル・白金微粒子系による光化学反応とを連結し、太陽光によって駆動する水素エネルギー獲得システムの構築を目指した。その結果、製糖工場からのシヨ糖を含む実廃液を利用した光水素生産反応の構築を試みた結果、構築したシステムを用いると照射時間とともに水素が定常的に発生し、照射4時間で約0.3  $\mu\text{mol}$ を獲得することができた。

## 文 献

- 1) Amao Y (2008): Photoinduced Biohydrogen Production From Biomass, *Int J Mol Sci*, **9**, 1156-1172.
- 2) Amao Y, Hirakawa T and Himeshima N (2008): Photoinduced Biohydrogen Production from Saccharide Mixture with the Photosensitization of Mg Chlorophyll-a from Green Plant, *Catalysis Communications*, **9**, 131-134.
- 3) Sugiyama N, Toyoda M and Amao Y (2006): Photoinduced Hydrogen Production with Chlorophyll-platinum Nano-conjugated Micellar System, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 284-285, 384-387.
- 4) Himeshima N and Amao Y (2005): Green Process for Hydrogen Production from Cellulose Derivative Using Visible Light-harvesting Function of Mg Chlorophyll-a, *Green Chem*, **7**, 742-746.
- 5) Saiki Y and Amao Y (2004): Visible Light-induced Enzymatic Hydrogen Production from Oligosaccharides Using Mg Chlorophyll-a and Platinum Colloid Conjugate System, *Int J Hydrogen Energy*, **29**, 695-699.
- 6) Takeuchi Y and Amao Y (2003): Biohydrogen Production from Sucrose Using the Visible Light-sensitization of Artificial Zn Chlorophyll-a, *Bioconjug Chem*, **14**, 268-272.