

## つる性植物の酵素糖化

瀬山智子<sup>1</sup>・鈴木康平<sup>1</sup>

1 東京農業大学地域環境科学部

**要旨**：つる性植物は、生活の中に取り入れられている一方、生育が旺盛なため、街路、森林内および木材生産において被害をもたらしていることがある。本研究では、除去や剪定したツルの有効利用を目的として、アルカリ前処理の後に酵素糖化を試みた。試料には、フジとクズを用い、採集場所や幹と葉に分けて、合計5種類について酵素糖化特性について検討した。いずれの試料においても、1.0 mol/lのアルカリ前処理条件において高い遊離グルコース量が得られた。また、5種類の試料の中では、二次木部が発達したフジの幹から最も高い遊離グルコース量が得られた。さらに、クズでは、前処理により幹と葉から同等の遊離グルコース量を得られることが明らかとなった。したがって、除去や剪定により発生したツルは、酵素糖化のための有用な資源としての利用が期待される。

**キーワード**：つる性植物、フジ、クズ、酵素糖化、アルカリ前処理

### Enzymatic saccharification of vine plants

Tomoko SEYAMA<sup>1</sup>, Kohei SUZUKI<sup>1</sup>

1 Faculty of Regional Environment Science, Tokyo University of Agriculture

**Abstract**: Vine plants are used for ornamental plants, but, on the other hand, their vigorous growth causes serious damages not only to roads, forests but also to the process of timber production. In this study, we attempted enzymatic saccharification after alkaline pretreatment for the purpose of effective utilization of removed and pruned vines. Wisteria (*Wisteria floribunda*) and Kudzu (*Pueraria lobata*) were used as samples. The characteristics of enzymatic saccharification were examined in five types of samples. An alkaline pretreatment condition of 1.0 mol/l gave good results in all the samples. Of the five samples, the highest level of free glucose content was obtained in the stem of wisteria with secondary xylem. Furthermore, in Kudzu, almost the same contents were obtained in the stem and the leaves after pretreatment. In conclusion, removed and pruned vines will be expected as a useful saccharification raw materials.

**Key-word**: vine plant, wisteria, kudzu, enzymatic saccharification, alkaline pre-treatment

### I はじめに

つる性植物は、グリーンカーテンやガーデニング等、身近な植物として生活の中に取り入れられている。一方、生育旺盛のため、他の植物を被覆して光合成を妨げたり、巻き付きにより成長を阻害したりすることがある。また、我々の日常生活において被害をおよぼす恐れもあり、例えばトゲや鉤毛による傷害が発生する場合もある。そして、障害リスクとしては、クズ(*Pueraria lobata*)によるガードレール、道路標識および道路ミラーなどへの隠蔽による交通障害リスクがある(3)。さらに、街路や土手など市街地だけではなく、林内においても他の樹木や植物を被覆し、生育等の被害が発生している。一方、機械的な防除方法として、刈取り、つる切り(樹林地)、つるの引きむしりなどがある。つる切りでは、つるの先方を切ると

無処理よりも子づるの総伸長量や節発根率がともに大幅に増大することや、つるの引きむしりでは、8月までに実施することが望ましいなど(4)、防除の方法や時期の選択も重要である。

森林施業の現場や林内では、ツルの巻き付きによる被害が発生している(7, 1)。ヒノキ造林地においては、木本性のつる植物による被害が多く、具体的な影響を与えているのは巻き付き型であり、なかでもフジ(*Wisteria floribunda*)とミツバアケビ(*Akebia trifoliata*)による被害が多いことが報告されている(7)。よって、森林内での適切な管理がなされなければ、幹折れ被害が発生し、木材としての価値を低下させる恐れもある。そのため、森林保育では、ツル切り作業によって木材生産へ影響をおよぼさないように環境を整えている。さらに、植栽された広

葉樹林への被害に関する研究では、甚大な被害である食い込み型として、フジやミツバアケビが多かったと報告されている(1)。

森林の保育施業でのツル切り、林内でのツルの除去、公園や街路でのツルの除去や剪定作業等によりツルが発生すると考えられる。また、被害が発生している場合だけでなく、定期的な剪定等の管理の中でもツルは発生する。

そこで、本研究では、除去や剪定した後のツルの有効利用を目的として酵素糖化を試みた。酵素糖化は、植物の細胞壁成分である多糖を酵素を用いて加水分解することにより単糖であるグルコースを得る手法である。ツルからグルコースを得ることが可能になれば、様々な製品やエネルギーの原料として使用することができ、これまで廃棄されていた除去や剪定したツルの資源としての価値が付加されることにより利用用途が広がると期待される。また、リグノセルロース系資源を酵素糖化する際には、細胞壁にリグニンが堆積しているため酵素と反応する糖質成分を露出させる必要がある。そのため、リグニンを予め除去する手法としてアルカリ前処理を用いた。試料は、林内で被害をおよぼしているツル(フジ)、剪定作業により発生するツル(フジ)、および街路における被害をおよぼしているツル(クズ)の3つの状況に着目し、各試料における酵素糖化特性を比較した。

## II 試料と方法

### 1. 試料の採集 供試試料は、以下のとおりである。

フジの試料は、3種類を用いた。フジ幹(I)は、東京農業大学奥多摩演習林内で採集した(図-1)。巻き付き被害をおよぼしているツルとして、除去される対象になるツルであることから試料に用いた。

フジ幹(II)とフジ葉(III)は、管理されている公園内のフジ棚から採集した(図-2)。定期的な剪定等の作業により発生するツルとして、上述のフジ幹(I)と比較するため、試料に用いた。また、部位による影響を比較するため、幹と葉に分けて検討した。

クズの試料は、2種類を用いた。街路における被害をおよぼしているツルとして、植栽された植物を覆うように繁茂しているツルを街路から採集した(図-3)。フジ幹(I)と同様に除去される対象になるツルであることから、試料に用いた。また、フジ幹(II)やフジ葉(III)と同様にクズ幹(IV)とクズ葉(V)に分けて検討した。

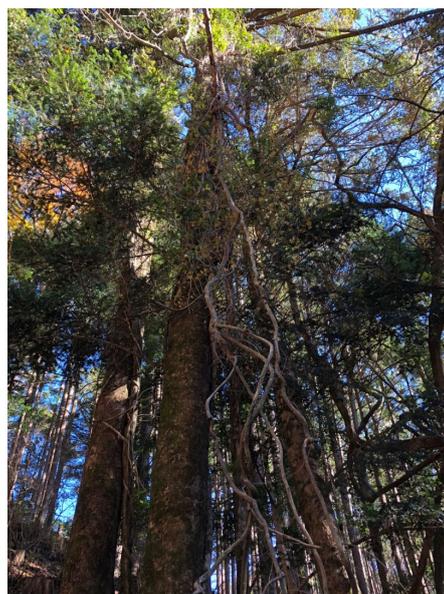


図-1. 巻き付き被害をおよぼしているフジ (東京農業大学奥多摩演習林内)

Fig.1 Wisteria vine of wrapping damage (Okutama practice forest).



図-2. 公園のフジ棚

Fig.2 Wisteria shelf in the park.



図・3. 街路に繁茂しているクズ  
Fig.3 Kudzu vine grows on the road.

## 2. 実験方法

### 2. 1 供試試料

採集したフジとクズは、50℃で乾燥後にそれぞれ以下の方法で調製し、供試試料は5種類とした。

フジ幹(I)は、自動カナで切削後にワンダーブレンダー(大阪ケミカル株式会社)で粉砕した。フジ幹(II)とフジ葉(III)、クズ幹(IV)とクズ葉(V)は、幹と葉に分けて、剪定ばさみで細かく切断したのちにワンダーブレンダーで粉砕した。

なお、粉砕後の試料は、20-80メッシュのふるいにより粒径を調整し、使用まで室温下で保管した。

### 2. 2 アルカリ前処理

各試料は、固液比が5%になるように水酸化ナトリウム水溶液により前処理した。水酸化ナトリウム水溶液の濃度は、0.1Mと1.0Mの2種類とし、処理期間は、3週間とした。なお、処理期間中は、室温下、静置とした。

処理後は、遠心分離により上清を除去したのち、純水または0.1Mの塩酸を用いて中和した。中和後、純水により洗浄し、再び遠心分離によって上清を除去したのち、残渣を凍結乾燥させて酵素糖化処理に供した。

### 2. 3 酵素糖化

以下の3種類の酵素を混合して用いた。

Cellulase “ONOUZUKA” RS (2%, ヤクルト薬品工業株式会社), Cellulase from *Trichoderma reesei* (24 µl/ml, SIGMA), β-Glucosidase (0.01%, SIGMA)

上記の濃度になるように、3種類の酵素を0.05Mクエン酸緩衝液(pH 5.0)に溶解させ、固液比が5%となるように混合酵素溶液を試料に加えて反応させた。なお、反応条件は、50℃、24時間とし、振とう条件は、70往復/分とした。また、酵素糖化反応の繰り返し回数は3回とした。

### 2. 4 遊離グルコースの定量

酵素糖化処理後の試料は、ヒートブロックを用いて酵素を失活させた。遠心分離により上清を回収し、ろ過(ADVANTEC, 孔径 0.22 µm)したのちに遊離グルコースの定量へ供した。

遊離グルコースの定量には、GOD法(グルコース CII-テストワコー, 富士フィルム和光純薬株式会社)を用い、呈色反応による515 nmの吸光度を測定した。グルコース CII-テストワコーに付属のグルコース標準液を用いて検量線を作成し、試料中1g当たりの遊離グルコース量(mg)を算出した。また、Tukey検定を用いて有意差を求めた。なお、 $p < 0.05$ とした。

## III 結果と考察

本研究では、ツルが発生する3つの状況から試料を採集し、フジとクズの2種類のつる性植物についてツルの有効利用を目的として酵素糖化特性を比較した。前処理は、比較的温和な室温下、静置の条件とした。

**1. フジの酵素糖化特性** 結果を図・4に示した。いずれの試料も、0.1 mol/lと比較して、1.0 mol/lのアルカリ前処理により有意に多くグルコースが得られた。脱リグニン等の効果が良好であったためと考えられる。特に、フジ葉(III)における前処理の効果が高かった。また、3種類のフジの試料の中では、フジ幹(I)から最も多くグルコースが得られた。フジ幹(II)とフジ葉(III)と比較して、二次木部が発達していたためと考えられる。林内でも、フジの巻き付きによる被害が報告されており(1, 7), ツル切り等の除去による資源としての有効利用が期待される。また、フジ幹(II)とフジ葉(III)においても、剪定等により定期的にツルが発生するため、アルカリ前処理の条件等をさらに工夫することにより有用な資源として利用できると考えられる。

**2. クズの酵素糖化特性** 公園から採集したフジと同様に、クズ幹(IV)とクズ葉(V)に分けて検討した。結果を図・4に示した。いずれの試料も、フジ同様に、0.1 mol/lと比較して、1.0 mol/lのアルカリ前処理により有意に多くグルコースが得られた。特に、アルカリ前処理の効果は、クズ葉(V)において高く、1.0 mol/lの前処理後には、クズ幹(IV)と同等のグルコースが得られ有意差は認められなかった。よって、前処理により部位の差がなくなり、分別することなく刈り取ったツルと葉を共に有効に利用することができると考えられる。

## IV おわりに

近年では、剪定により得られたツルの有効利用も研究

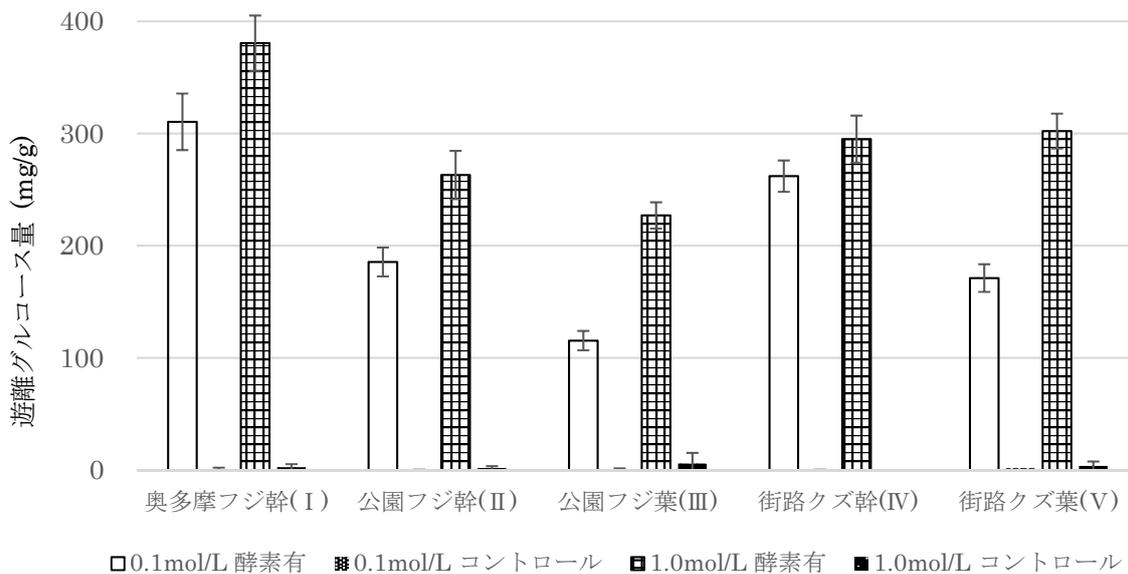


図-4. 酵素糖化における各試料からの遊離グルコース量  
Fig.4 Amounts of free glucose from each sample from enzymatic saccharification.

されており(6), 資源としてのツルの価値が期待されている。本研究で用いたフジとクズを比較すると, いずれも 1.0 mol/l のアルカリ前処理の効果が高かった。さらに, 1.0 mol/l 前処理後のフジ幹(I)から最も多くグルコースが得られたことから, 被害をおよぼしている木化したツルの資源としての価値が明らかになった。一方, クズでは, 1.0 mol/l のアルカリ前処理により茎と幹から同等のグルコースが得られたことから, 除去後のツルと葉の分別が不要であることは大きな利点となりうる。クズは, 生育旺盛な特徴から, 日本国外でも古くから利用方法が研究されており(8), 近年では国内においても根に含まれるでんぷんを採集した後の試料の有効利用や葉の機能性成分について研究されている(5, 2)。カスケード利用を考慮した場合, これらの手法と組み合わせることによって, より無駄なく資源を活用することが可能になると期待される。

本研究では, つるの性植物としてフジとクズを用いて酵素特性を明らかにした。今後は, トゲなどによる障害リスクの高い種類や剪定により大量に発生する種類等にも着目して資源としての価値を見出したい。

#### 引用文献

(1) 新井一司・畑尚子・吉岡さんご・菅原泉・中村健一 (2017) 植栽された広葉樹に及ぼすツル植物の被害予測

と誤伐・シカ食害を防ぐ単木ネットの開発. 東京農総研研報 12: 73-78

(2) 團迫智子・中野智彦・間島いつか・野本享資 (2011) クズ葉における機能性成分の季節変動. 奈良県農業総合センター研究報告 42: 13-19

(3) 伊藤幹二 (2017) 雑草ウォッチ報告 雑草リスク情報—その1: 雑草による傷害. 草と緑 9: 27-36

(4) 伊藤操子 (2010) 雑草紹介シリーズ クズ (*Pueraria lobata* Ohwi). 草と緑 2: 36-41

(5) 松本陽一・西松豊典・東義昭・森鎮雄・福嶋一成 (2007) 廃棄葛根を用いたヘミセルロース繊維集合体の作製. Journal of Textile Engineering 53(6): 217-223

(6) Senila L, Kovacs E, Scurtu DA, Cadar O, Becze A, Senila M, Levei EA, Dumitras DE, Tenu I, Roman C (2020) Bioethanol production from vineyard waste by autohydrolysis pretreatment and chlorite delignification via simultaneous saccharification and fermentation. Molecules 25: 2606

(7) 鈴木和次郎 (1989) ヒノキ造林地における植栽木のつる被害とその発生機構. 日林誌 71(10): 395-404

(8) Tanner RD, Hussain SS, Hamilton LA, Wolf FT (1979) Kudzu (*Pueraria lobata*): Potential agricultural and industrial resource. Economic Botany 33(4): 400-412