この表に見る様に著者分離菌は在來の酸化細菌分類の見地からすれば當然眞正グルコン酸菌に屬せしむべきものである。しかし *Pseudomonas* 菌の中に酸化細菌の發見された今日、グルコース酸化能のみをもつて細菌の分類、命名を行うのはゆきすぎと云うべく、著者は KLUYVER 及び VAN NIEL⁽⁵⁾ の基準に従い、むしろ *Pseudomonas* に屬せしめた方が妥當と考えたので著者分離菌に *Ps. gluconicum* なる名前を與えた。即ち KLUYVER 等は細菌をその力源的代謝様式の面から分類し、*Ps.* 菌に對してはその色素生産性を重視せず、むしろアルカリ性で炭水化物を酸化（直接酸化だけを意味しない）する chemo-heterotrophic な細菌として *Acetobacter* に隣る分類上の位置を與えているが、この見地からすれば生育の最適 pH がアルカリ性にあるか酸性にあるかで *Ps.* 菌と *Acetobacter* は分れ、酸化的性質に於て両者が同列にあつても差支えないことになる。この點醋酸菌、グルコン酸菌の研究が主に醗酵等の面から進められ、*Ps.* 菌の研究が病原菌、腐敗菌の面から行われ、研究方法自體のうちにくいちがいがあつたためと思われるので今後更に詳しい検討が必要である。

次に *Phytomonas* と *Ps.* との關係であるがこの兩者の相違は文獻⁽⁶⁾ 上も明らかでなく病原性の有無等を除いては殆んど一致する様なのでここでは *Phytomonas* なる名を特にあげず *Ps.* 菌のうちに含まれるものとして論を進めてきた。

- (1) 朝井：農化誌，11，686 (1935)
- (2) 田中：同上，13，844 (1937)
- (3) 植村，近藤，兒玉：同上，18，201 (1942)
- (4) STEPHENSON：Bacterial Metabolism, 2nd ed. p.189 (1939)
- (5) KLUYVER und Van Niel：Zentbl. f. Bakt. II. 94，369 (1936)
- (6) BERGEY：Manual of Determinative Bacteriology. 5th ed. p. 144 (1939)

Summary

Dr. Asai classified such bacteria as *Engluconobacter* which could oxidize glucose to gluconic acid, but not oxidize ethanol to acetic acid according to the classification of Kluýver and Van Niel these bacteria have a close relation to *Pseudomonas*. The difference of these two bacteria were studied and discussed.

たばこ酵素の基礎的研究 (第1報)

中井武文，稻葉泰（日本専賣公社泰野たばこ試験場化學部）

昭和 25 年 1 月 11 日 受理

Fundamental Studies of Tobacco Enzymes. Part 1.

By Takefumi NAKAI and Yutaka INABA (Department of Chemistry, Hatano Tobacco Laboratory, Japan Monopoly Corporation)

黄色種葉たばこ耕作では他の多くの作物と異り、種子を最終の目的とせず、栄養體である葉を收穫する點では桑や茶と似ている。而して葉を適熟期に收穫しこれを火力乾燥するという重要な作業が行われ、乾燥中にその酵素作用により内容成分が分解せられて喫煙に適した状態に變化せられるものであるから、内容成分中特に重要な糖分に關係する Amylase, Invertase, 色澤に關係する Peroxidase, 呼吸作用に關係深い Catalase について苗床期より圃場期間、收穫期、乾燥中、及び乾燥終了後等について上記 4 酵素の活性度を測定し、耕作中の諸作業並びに乾燥操作を酵素學的に検討した。

實 驗 方 法

葉の中骨を除き葉肉部を二分し、一部は水分定量に、他の一部は酵素定量に供した。水分定量は常法により 65° の定溫器中に 24 時間放置して秤量し、他の一部について酵素の定量を行つた。

(1) Catalase, Peroxidase の酵素液の調製：採取資料 ag(5~10 g) に硅砂を加えて乳鉢で磨碎し、19a cc の水を加えて 30 分間振盪機に掛け、次でこれを毎分 3,000 回轉の遠心分離機で 40 分間遠心分離を行い、上澄

液を酵素液とした。

(2) Amylase, Invertase の酵素液の調製：採取資料 a g (5~10g) に a cc の pH 7.2 の MCILVAINE の磷酸緩衝液と珪砂を加えて磨碎し、8 a cc の水を加えてよく混合し、これを毎分 3,000 回転の遠心分離機で 40 分間遠心分離を行い上澄液を酵素液とした。

(3) Catalase の定量法：作用前後の H_2O_2 を沃度法で定量して求めた。即ち上記酵素液 5 cc, pH 7.2 の MCILVAINE の磷酸緩衝液 10 cc 及び蒸溜水 10 cc の混合液よりピペットで 5 cc を吸取り、50 cc 容の小三角壺に分注し、これを、 $0\sim 2^\circ$ に冷却し、豫め $0\sim 2^\circ$ に冷却した 0.1% H_2O_2 5 cc を加え、 $0\sim 2^\circ$ の氷水中で 10 分間作用させ、直ちに 1:4 硫酸約 10 a を加え反応を停止させる。次に 5% KI 5 cc を加え 5 分の後遊離した沃度を 0.025 N の $Na_2S_2O_3$ 溶液で 1% 澱粉液を指示薬として滴定する。対照として 0.1% H_2O_2 を加える前に 1:4 硫酸 10 cc を加え予め酵素を不活性化したものにつき同様に滴定を行い、兩者の滴定數の差をもつて Catalase の強さをあらわした。

(4) Peroxidase の定量法：原理は H_2O_2 の分解によつて生ずる酵素を酸化されやすい物質 guaiacol に作用させ、生ずる酸化生成物 tetra-oxy-guaiacol を定量して求めた。即ち 50 cc 容の小三角壺に 0.1% guaiacol 溶液 2 cc, 0.1% H_2O_2 2 cc, pH 4.4 の MCILVAINE の磷酸緩衝液 6 cc, 蒸溜水 8 cc を入れ定温器内で 35° に達せしめ、上記酵素液 2 cc を加え 10 分間反応させて後 0.005% KCN 2~3 滴を入れ、少時氷水中に浸して反応を停止し、生成した tetra-oxy-guaiacol の色度を DUBOSCQ の比色計を用い、標準液 (10% $Co(NO_3)_2$ 50 cc に 5% $K_2Cr_2O_7$ 1.2 cc を加えて作る) と比色定量してその比をもつて Peroxidase の強さとした。

(5) Amylase の定量法：可溶性澱粉を分解して出来る還元糖量を沃度法により定量した。即ち 50 cc 内容の小三角壺に 1% 可溶性澱粉液 20 cc, pH 4.4 の MCILVAINE の磷酸緩衝液 10 cc, 蒸溜水 16 cc 及び上記酵素液 4 cc, トルオール 2 滴を加えて密栓し、 40° の恒温器内で 20 時間反応させ、此の混合液 5 cc を取り SOMOGYI 法⁽¹⁾により存在する還元糖に相當する 0.01 N $Na_2S_2O_3$ 溶液の滴定數を測定し、対照として混合直後 (0 時間) について同様の方法で予め存在する還元糖量に相當する 0.01 N $Na_2S_2O_3$ の滴定數を知り、兩者の差をもつて Amylase の強さとした。

(6) Invertase の定量法：蔗糖を分解して出来る還元糖量を沃度法により定量した。即ち 50 cc 容の小三角壺に 1% 蔗糖液 10 cc, pH 4.4 の MCILVAINE の磷酸緩衝液 5 cc, 蒸溜水 9 cc 及び上記酵素液 1 cc 及びトルオール 2 滴を加え、 40° の恒温器で 20 時間反応させ、この反應液 5 cc を取り蒸溜水で 50 cc となし、この内から 5 cc を取つて SOMOGYI の法により存在する還元糖に相當する 0.01 N $Na_2S_2O_3$ の滴定數を知り、対照として混合直後 (0 時間) について同様の方法で予め存在する還元糖に相當する 0.1 N $Na_2S_2O_3$ の滴定數を知り、兩者の差を以て Invertase の強さとした。

實驗結果の摘要並びに考察

黄色種について實驗を行い酵素の活性度は各次の單位で示した。

Amylase：生體 0.04 g により基質 (可溶性澱粉) より分解生成された還元糖に相當する 0.01 N $Na_2S_2O_3$ 溶液の滴定數 (cc)

Invertase：生體 0.002 g により基質 (蔗糖) より分解生成された還元糖に相當する 0.01 N $Na_2S_2O_3$ 溶液の滴定數 (cc)

Catalase：生體 0.05 g により分解した過酸化水素に相當する 0.025 N $Na_2S_2O_3$ 溶液の滴定數 (cc)

Peroxidase：生體 0.05 g により guaiacol を酸化して出来た tetra-oxy-guaiacol の量

表中 $a = (\text{標準液の tetra-oxy-guaiacol 量}) \times 0.05$

標準液：10% $Co(NO_3)_2$ 50 cc に 5% $K_2Cr_2O_7$ 1.2 cc を加えて作る。

Reducing sugar：還元糖に相當する 0.01 N $Na_2S_2O_3$ の滴定數 (cc)

(1) 生育期間中のたばこ酵素の活性度の變化

分析資料は毎回晴天の日の 10.00 時に標準株 (品種の特性をそなえ順調な生育をなしたもの) 5 本を選出して上記方法で Sample を調製した。

Table 1. Changes of the Enzyme Activities of Leaf Tobacco at Various Growth-periods (Topping at July 8th)

1949	Time of transplanting (May 4th)	7 days after transplanting (May 11th)	17 days after transplanting (May 21th)	45 days after transplanting (June 18th)	56 days after transplanting (June 29th)	70 days after transplanting (July 13th)	8 days after transplanting (harvest-time) (August 1st)
Amylase	0.72	0.83	1.16	1.40	1.64	1.56	1.92
Invertase	2.38	2.64	4.17	4.21	4.24	3.49	3.16
Catalase	2.11	3.23	6.49	1.70	0.28	0.08	0.04
Peroxidase	1.3 a	3.0 a	6.5 a	7.5 a	8.0 a	7.7 a	15.0 a
Moisture %	90.02	84.93	83.39	86.06	83.76	85.22	80.91

Table 2. Changes of the Catalase Activity of Leaf Tobacco at Various Growth-periods.

1948	Time of Transplanting (May 7th)	20 days after transplanting (May 27th)	60 days after transplanting (July 6th)	80 days after transplanting (July 28th)	95 days after transplanting (harvest time) (August 13th)
Catalase	5.90	3.66	1.34	0.26	0.18

摘要並びに考察： (i) Amylase, Peroxidase は摘心直後一時低下するが生育と共に順次活性度を増加する。 (ii) Invertase は移植後順次活性度を増し、60 日位に最高となり摘心後生育と共に順次低下する。 (iii) Catalase は 1948 年の実験では生育と共に順次低下したが本年は前年に比べると初期極めて弱く移植後 17 日位迄強くなり、その後は前年同様順次低下し末期は極めて微弱となった。本年初期極めて弱い原因は確實ではないが、恐らく苗床期降雨多量で低温であつたのと、移植後旱魃の爲に枯死に瀕した爲と思われる。

(2) 移植によるたばこ酵素の活性度の變化

(分析資料は毎回晴天の日の 10.00 時に標準株 5 本を選出して上記方法で Sample を調製した)。

Table 3. Changes of the Enzyme Activities of Leaf Tobacco by Transplanting

1949	Time of transplanting	2 days after transplanting	5 days after transplanting	7 days after transplanting	13 days after transplanting	17 days after transplanting	45 days after transplanting
Amylase	0.72	1.17	0.76	0.83	0.79	1.16	1.40
Invertase	2.38	2.53	3.20	2.64	3.44	4.17	4.21
Catalase	2.11	2.72	2.52	3.23	6.45	6.49	1.70
Peroxidase	1.3 a	1.5 a	2.6 a	3.0 a	4.0 a	6.5 a	7.5 a
Moisture %	90.02	88.83	81.61	84.93	81.72	83.39	86.06

摘要並びに考察： (i) 移植 2 日後は分解酵素の活性度は何れも強くなり、養分飢餓の状態を貯蔵養分で補っているものと考えられる。次で兩分解酵素は弱くなり、Amylase は 17 日目、Invertase は 13 日目に常態に復している。 (ii) Catalase は 13 日目に急に強くなり、植物體が活着して生活力旺盛となつたことが想像される。 (iii) Peroxidase は順次強くなっている。

以上の點を総合すると移植 13 日前後で活着して常態に復するものと考えられる。

(3) たばこ苗の酵素の活性度の日變化

摘要並びに考察： (i) Amylase, Invertase の活性度は 10 時が一番強く、朝の 6 時が一番弱くなつた。 (ii) Catalase は 14 時の最高気温の時が一番強く、朝の 2 時が一番弱くなつた。 (iii) Peroxidase は 18 時が最高となり、晝間より夜間の方が強かつた。 (iv) 直接還元糖は 14 時が最高となり、6 時が最低となつた。これは 14 時頃同化作用が旺盛なために多くなり、朝 6 時頃には轉流すべき處に行き再び澱粉等に合成されるために少くなるものと考えられる。直接還元糖量は Invertase の活性度と大體比例的關係があるようである。 (v) 水分含量は 14 時の最高気温の時に最低となり、6 時の最低気温の時には最高となつた。これは蒸散作用及び同化作用と關係

あるものと考えられる。

Table 4. Changes of the Enzyme Activities of Leaf Tobacco of a Young Tobacco Plant in a Day

1949 Atmospheric temperature	May 27th at 6 a. m. 9.5°C	May 27th at 10 a. m. 20.3°C	May 27th at 2 p. m. 21.5°C	May 27th at 6 p. m. 17.9°C	May 27th at 10 p. m. 16.5°C	May 28th at 2 a. m. 15.0°C
Amylase	0.40	0.98	0.93	0.89	0.76	0.60
Invertase	2.21	3.59	3.10	3.03	2.74	2.66
Reducing sugar	0.72	1.46	1.56	1.40	1.26	1.23
Catalase	3.43	4.38	7.85	4.75	2.39	2.00
Peroxidase	2.5 a	3.1 a	4.1 a	7.1 a	6.0 a	6.4 a
Moisture %	88.98	86.12	85.32	85.43	85.45	86.29

(資料は各の時刻に標準株 5 本を選出した)。

(4) 温度処理によるたばこ酵素の活性度の變化

(分析資料は予め標準株 5 本宛を選出して温度処理をなし毎日 10.00 時に採取した)

Table 5. Changes of the Enzyme Activities of Leaf Tobacco affected by Heat Treatment.

1948	Before treatment	Control	Treated with 25°C for 7 days	Treated with 40°C for 7 days
Amylase	0.63	0.70	0.40	1.66
Invertase	2.76	2.86	1.88	3.22
Catalase	8.10	7.78	3.66	6.16
Peroxidase	1.2 a	2.2 a	2.4 a	4.0 a

摘要並びに考察: (i) 低温処理した方が高温処理したものより酵素の活性度は強くなる。(ii) 標準に比較すると

Amylase は低温、標準、高温の順に強く
Invertase は低温、標準、高温の順に強く
Catalase は標準、低温、高温の順に強く
Peroxidase は低温、高温、標準の順に強い。

考察 (ii) より低温処理したものが早期發着

をする原因の一端が考えられると思う、即ち第一の「たばこの生育期間中における酵素の活性度の變化」において明らかな如く、Amylase, Peroxidase は生育の日時の経過と共に順次強くなり、Invertase は初期は強くなるが Catalase は順次弱くなるという結果になっている。低温処理したものを標準に比較すると Amylase, Invertase Peroxidase は強くなり、Catalase は弱くなっている。これは酵素的に見ると低温処理したものは標準よりも生育の状態が少し進んでいることになり、この酵素の状態が開花ホルモンの生成に影響し早期に發着すると考えられる。これに反し高温処理の方は標準に比較し、Amylase, Invertase では遅れた型、Catalase, Peroxidase では進んだ型となり一定の傾向を示していない。

(5) バイラス罹病たばこの酵素の活性度の相違

Table 6. Differences in the Enzyme Activities of Leaf Tobacco infected with Virus

1949	Virus (July 13th)	Control (July 13th)	Control (July 18th)
Amylase	2.12	1.62	1.82
Invertase	2.70	3.81	3.56
Reducing sugar	2.26	2.33	2.55
Catalase	0.34	0.16	0.14
Peroxidase	13.0 a	7.0 a	7.7 a

(分析資料は 10.00 時に採取した)

Amylase, Peroxidase が異常に強いことは非常に消耗型となつてゐることを意味する。

摘要並びに考察: (i) Amylase, Peroxidase, Catalase はバイラスに侵されたものの方が強い。

(ii) 逆に Invertase はバイラスに侵された方が弱い。(iii) 直接還元糖はバイラスに侵された方が少ない。

以上の點より考察するとバイラスに侵されたものの方が健全なものに比べ Catalase が強いにもかかわらず、Amylase, Peroxidase が非常に強く、逆に直接還元糖が少ないことは消耗量が甚だしい爲と考えられる。何れにしても未だ成熟期でないものが

Table 7. Changes of the Enzyme Activities of Leaf Tobacco due to Insufficient Nutrition and Moisture.

1914	Upside normal leaf	Lower withered leaf
Amylase	4.13	9.75
Invertase	17.40	10.65
Reducing sugar	13.27	7.15
Catalase	17.58	1.08
Peroxidase	16.3 a	6.96 a
Moisture (%)	81.61	48.25

The figures in the table are for dry matter.

に移行し(fructose と一時結合して sucrose となり、これを Invertase により再び単糖に分解して呼吸作用に消費されるものと考えられる。この點は Catalase も上位葉の方が極度(約 15 倍)に強く、呼吸作用は上位の方が旺盛に行われている點よりも證據付けられる。(iii) Peroxidase は正常の状態では下位葉の方が強いが、飢餓の状態では逆になつている。その意味は不明である。

総 括

黄色たばこ生葉中の主要酵素 Amylase, Invertase, Catalase, Peroxidase について耕作中における活性度の變化を見た。

(1) Amylase, Peroxidase の活性度は摘心後一時低下するが、生育と共に順次活性度を増加した。Invertase の活性度は移植後 60 日迄は順次強くなるが摘心後順次低下した。Catalase の活性度は生育と共に順次弱くなつた。

(2) 罹病、栄養飢餓、水分不足等になると酵素の活性度は一時強くなつた。特に Amylase の活性度が強くなって貯蔵養分の消耗が甚しくなつた。

(3) たばこ苗の酵素の活性度は Amylase は 10 時、Invertase は 13 時、Catalase は 13 時、Peroxidase は 16 時が最も強かつた。

終りに臨み御懇篤な御指導を賜つた日本専賣公社岡山たばこ試験場長石戸谷賢慥氏、日本専賣公社秦野たばこ試験場化学部長高橋達郎氏並びに種々御助力を忝うした日本専賣公社秦野たばこ試験場化学部山中道勇氏、伊東和子氏に深厚な謝意を表する。

- (1) 有山登：化学實驗學 二部，12，243~315
- (2) 金兵忠雄，松島秀太郎：熱農誌，9，1 號
- (3) 松島秀太郎：臺北農林學會報，1，3 號
- (4) 仁藤武雄：日農化，12，1，2 號
- (5) 奥田讓，片井喜太郎：日農化，14，10，11 號
- (6) 大池國威：農化，17，3 號
- (7) 大谷武夫：實驗酵素化學
- (8) 坂口，植村：觸媒化學酵素
- (9) 松下丈夫：黄色種煙草耕作講話
- (10) L. BARTA Z. F.: *Untersuchungen der Lebensmittel*. Bd. 78, 322 (1939)
- (11) J. BODNER, U. L. BARTA: *Ergeb. der Eenzymforschung*, IV.
- (12) H. BRÜCHNER *Die Biochemie des Tabaks*
- (13) JOHNSON: *J. Agr. Research*, 49, 137 (1943)

Summary

This study was carried out in order to know the changes of the enzyme activities (amylase, invertase, catalase and peroxidase) of leaf tobacco at various growth-periods of tobacco plant (Bright Yellow).

(6) 水分及び養分飢餓のたばこ酵素の活性度の變化

(分析資料は 1,000 時に採取した)

摘要並びに考察：(i) Amylase は枯死葉の方が上位葉より約 2 倍の強さがあるが、直接還元糖はかえつて約半分となつている。これは下位葉の貯蔵養分を分解して上位葉に送り上位葉の生命を保つためである。若し此の場合下位の枯死葉を除去すると次の葉が枯死するもので、除去することは不可である。(ii) Invertase は上位葉の方が強いが、これは下位葉の澱粉を分解して出來た glucose が上位葉

- (1) After watching the changes of the enzyme activities of leaf tobacco at various growth periods, we can say that the activities of amylase and peroxidase become higher gradually with growth, but they are lowered temporarily after the topping. The activity of invertase become higher gradually until about sixtieth day after transplanting, but then after the topping it becomes lower gradually with the growth. The activity of catalase decreases gradually with the growth.
- (2) The enzyme activity of sick leaf tobacco and that of insufficient nutrition and moisture become high temporarily. Especially the activity of amylase becomes high, so we can say that tobacco plant evidently consumes preserved nutrients.
- (3) As for changes of the enzyme activities of leaf tobacco within a day, we note that amylase and invertase become strongest at 10 a. m., catalase at 2 p. m., and peroxidase at 6 p. m.,

纖維質の消化利用に関する研究 (第 3 報) 莖葉類の纖維質に就て

岩 田 久 敬, 西 村 顯 (九州大學農藝化學教室)

昭 和 25 年 3 月 7 日 受 理

Digestion and Utilization of the Fibrous Materials. Part 3. On the Fibrous Materials of Stems and Leaves.

By Hisayoshi IWATA and Akira NISHIMURA

(Department of Agricultural Chemistry, Kyushu University, Fukuoka)

I. 緒 言

植物纖維の性質については多くの研究があり、本誌上に於てもかつて志方博士等⁽¹⁾によりパルプの見地から纖維素原料に関する研究成績が報告されている。また齋藤博士⁽²⁾、江藤氏等は莖葉類の加水脱纖維法について研究し、粗飼料の濃厚飼料化について報告している。筆者等は野草類、樹葉類、農産廢莖葉類から簡易な方法で纖維の多い部分と肉質の多い部分とに分けてその若干の性質を調べたので、ここにその一端を報告しようと思う。

II. 纖維質と肉質の分別法

植物莖葉類から脱纖維するには乾式法と湿式法とがある。本実験では、湿式法の内の加水式脱纖維法を簡易化して行つた。即ち野草類、樹葉類、農産廢莖葉類を約 4 cm の長さに切つて、1 kg 内外を秤取し、約 3 分間蒸熱して軟化させた後、肉挽器でナイフをつけずによく磨碎し、次に水中で 3 mm 目の篩を通過するものを分離し、残渣を再び肉挽器又はスリパチで磨碎し、適宜の纖維塊を集めて、よく水洗し搾汁して乾燥した。これが纖維部 (Fibrous residue) である。

上述の操作中に篩を通過したものは大型圓筒に集め、數時間靜置して沈渣を濾紙上に採取し 60° で乾燥した。これが肉質部 (Soft residue) である。

III. 肉 質 部 の 組 成

上節に述べたようにして得た肉質部は多くは暗色を帯びた粉末であつたが、なお相當量の微細な纖維を夾雜して、純良な肉質部ではなかつた。その一般組成は次表の如くであつた (莖葉類の比較的的肉質の多い水に溶けない部分の風乾物組成)。

次表によつて明かなように、莖葉類の肉質部、即ち碎け易い部分の水に難溶の部分には、甚だ多量の蛋白質が含まれている。この部分にはなお柔軟な纖維も相當量含まれているので、これを充分に除去分離すれば蛋白質含量は更に一層高くなる。またこの肉質部には易糖化性の粗澱粉の含量も相當に多いことが分る。