drogenase remains fully active. And by using this enzyme preparation, D-lactic acid can be determined volumetrically, by WARBURG apparatus, from the oxygen-uptake in the presence of methylene blue.

The reaction scheme in this case has been indicated as follows :

(2) Among the species of lactic acid bacteria, in which racemiasse is absent, it has been known that *L. batatas* can dehydrogenate only D-lactic acid, and, on the contrary, that *L. sake* can dehydrogenate only L-form.

Dried cells of *L. batatas* and *L. sake* can be utilized directly for determining D- and L-lactic acid respectively, but in these cases the above mentioned scheme must be modified as follows, owing to the co-operation of pyruvicodehydrogenase.

It has been experimentally confirmed that this method can be conveniently applied for investigating the properties of cell-free racemiasse.

緑葉中に於ける同化澱粉の分解機構 (第 3 報)

甘藷葉に於ける澱粉分解酵素活性度の変化*

馬 場 明, 島 林 幸 英 (滋賀県立農業短期大学)

昭和 27 年 4 月 30 日 受 理

Enzymatic Degradation of Assimilation Starch in Green Leaves. Part 3. Change of the Amylase Activities in Green Leaves of Sweet Potato Plants at Various Growth Periods.

By Akira BABA and Yoshihide SHIMABAYASHI (Shiga Agricultural College)

東大中村氏等⁽¹⁾は甘藷葉中にも β -amylase の分布することを認め、著者等⁽²⁾も甘藷の葉より抽出した粗酵素液が澱粉を糖化することを認めたが、甘藷葉中の澱粉分解酵素も、甘藷植物体の生理的变化に応じて其の活性度に変化を来することが予想される。そこで著者等は甘藷の葉を生育時期別、1 日中の各時刻別及び葉の老若別 (葉の附着位置による) に採取して澱粉分解酵素の活性度を測定し、其の各に変化のあることを認めた。

実 験 の 部

1. 酵素の抽出及び作用時における最適 pH の測定 試料は農林 1 号種の正常に伸長した蔓 5 本を任意にとり、生長点より 15~20 枚目の葉を全部摘採して集め、直ちに其の 5 g 宛を秤取し、各に pH を異にする M/5 McILVAINE 緩衝液 5 cc と蒸留水 45 cc とを加え、3 g の精製砂とともに乳鉢で磨砕した後トルエン 1 滴を加え、30° で 2 時間抽出し、遠心して上澄をとり、さらに 37° で 1 時間保温して後次の如く実験した。即ち 2% の可溶性澱粉液 20 cc に M/5 McILVAINE 緩衝液 (pH 5.6) 5 cc を加え、37° に温めてから上記酵素液 5 cc を加え 37° に 2 時間保温後、糖化液 3 cc をとり、生じた還元性物質を BALLS 等⁽³⁾の方法に従つて測定して $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ の滴定値を求め、可溶性澱粉の代りに蒸留水を加えた対照の滴定値との差を酵素の活性度とした。其の結果は Fig. 1 の如くであつて pH 7 において最高値を得た。次に pH 7 の M/5 McILVAINE 緩衝液を用いて前記の如く抽出した酵素液 5 cc を 2% 可溶性澱粉液 20 cc に加え、更に pH を異にする M/5 McILVAINE 緩衝液を 5 cc 宛加え、其の各について前記同様に実験して作用時の最適 pH を求めた。其の結果は Fig. 2 の如くであつて pH 6.0 において最高の作用を示した。

2. 澱粉分解酵素活性度の変化

(a) 生育時期による変化 材料として農林 1 号、紅赤、農林 5 号の 3 品種を用い、いずれも 6 月 1 日挿苗

* 本稿の要旨は 1952-4-5 の日本農芸化学会大会において口演した。

Fig. 1. Opt. pH of extraction
(in MCLVAINE's phosphate buffer)
Date 1951, 7, 10.

Fig. 2. Opt. pH of enzyme action
(in MCLVAINE's phosphate buffer)
Date 1951, 7, 10.

Fig. 3. Amylase activities in green leaves of sweet potato plants at various growth periods 37°, pH 6.0 (MCLVAINE's phosphate buffer)
Enzyme solution, 4 hr : 0.4 cc, 24 hr 0.05 cc

し、肥料は与えなかつた。試料の採取は1週間毎に行い(雨天の場合には順延)晴天或は曇天の午前9時、正常な蔓5本を任意にとり、生長点から15~20枚目の葉を全部摘みとり、直ちに水分の定量及び酵素液の調製に用いた。水分の定量は緑葉5gを秤取後すばやく切片となし、100°で乾燥して常法の如く行つた。また酵素液は緑葉5gにpH7.0のM/5 MCLVAINE緩衝液5cc及び蒸溜水45ccを加え、精製砂3gとともに磨碎した後、前記のように調製した。酵素の活性度の測定は、2%可溶性澱粉液20ccにM/5 MCLVAINE緩衝液5cc

を加え、37° に温めてから所要量の酵素液を加え、最後に水を加えて全量を 30 cc とし、37° で 4 時間或は 24 時間作用させてから作用液 3 cc をとり、生じた還元性物質を BALLS 等の方法にしたがつて定量した。此の場合酵素液は、4 時間作用させるときには 0.4 cc (生体約 0.04 g 相当) を用い、24 時間のときには 0.05 cc (生体約 0.005 g 相当) を用い、活性度は基質より分解生成された還元性物質に相当する $N/20 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ の cc 数で表した。其の結果は Fig. 3 の如くであつて、生育の時期によつて活性度を異にすること、及び其の消長が品種によつて異なることが知られる。また農林 5 号種が最高値を示した 11 月 19 日には農林 1 号種及び紅赤の葉は既に寒冷の爲枯死していたのかかわらず農林 5 号種のみ大部分が健全であつたことは注目すべきである。酵素作用後における沃素呈色は 4 時間或は 24 時間後においても全部青色を示した。

(b) 1 日中の時刻による変化 農林 1 号種を用い、8 月 31 日の午前 9 時より 4 時間おきに前記同様に蔓の先端より 15~20 枚目の葉を採取し、前記同様に水分の定量、酵素液の調製を行つて後、活性度を測定した。其の結果は Fig. 4 の如くであつて午前 5 時に最低を、午前 1 時に最高を示した。

(c) 葉の老若による変化 10 月 18 日午後 2 時農林 1 号種の蔓 5 本を任意の場所より切り取り、先端、中部、基部の 3 部分に等分して各部の葉を集め、前記同様に処理して活性度を測定した。其の結果は Fig. 5 の如くであつて中部の葉が最も強く、古い葉がこれに次ぎ、若い葉が最も弱かつた。

Fig. 4. Diurnal variations of amylase activities in green leaves of sweet potato plants.

37°, pH 6.0 (McIlvaine's phosphate buffer)
Enzyme solution, 4 hr : 0.4 cc, 24 hr : 0.05 cc

期によつて異なり、かつ其の消長の状態が品種によつて異なる。(2) 日変化については午前 1 時頃に最高値を示し午前 5 時頃に最低値を示す。(3) 先端部の若い葉或は基部の古い葉よりも中間部の葉において高い活性度を示す。

然しながらここに測定した澱粉分解酵素の活性度は粗酵素を可溶性澱粉に作用せしめて生じた還元性物質を測定したのであつて、此の場合還元力の増加に關する酵素の何れが如何に作用したかは不明である。従つて本実験の初めに求めた最適 pH が各測定時にも適用し得るか否かの問題もある。また葉の水分含量は参考のため測定するに止め、これによつて抽出の際の加水量の調節、或は活性度の補正を行つていないが、水分含量の変化と活性度の変化との間に明かな相関が認められない点より、本実験においては大きな誤差を生じていないと考えてよいと思われる。上記の如くなお検討すべき多くの問題があるが、甘藷葉中の澱粉分解酵素系の活性度は、甘藷植物体の生育期、1 日中の各時刻及び葉の老若によつて異なり、緑葉中における炭水化物代謝に生理的役割を果しているものと考えられる。

Fig. 5. Amylase activities in young, middle and old leaves of sweet potato plant.

37°, pH 6.9 (McIlvaine's phosphate buffer). Enzyme solution, 4 hr. : 0.4 cc, 24 hr. : 0.05 cc

考 察

以上の実験によつて次のことが一応考えられる。即ち (1) 甘藷葉中の澱粉分解酵素の活性度は生育の時

期によつて異なり、かつ其の消長の状態が品種によつて異なる。(2) 日変化については午前 1 時頃に最高値を示し午前 5 時頃に最低値を示す。(3) 先端部の若い葉或は基部の古い葉よりも中間部の葉において高い活性度を示す。

なお予報⁽²⁾において“甘藷葉中の amylase が相当強力であることを認めた”としたが、本実験で得た最高値を BALLS の activity unit として計算すると 13 unit/cc となり（作用時間 4 時間の値であるから 10 分間では更に小さい値となるものと考えられる）、本実験終了後掘取つた塊根の抽出液を BALLS の方法に従つて測定した結果、農林 1 号種において 40 unit/cc、紅赤で 50 unit/cc、農林 5 号種で 65 unit/cc を示したのに比べると非常に弱いことが知られるので、ここに訂正し度い。

終りに臨み御教示を頂いた東大中村道徳氏、実験に協力された大久保幸子嬢に厚く感謝する。

(1) 中村, 山崎, 戸田 : 農化, 25, 119 (1951).

(2) 馬場, 島林, 岩本 : 農化, 25, 252 (1951).

(3) A. K. BALLS, M. K. WALDEN and THOMPSON : *J. Biol Chem.*, 173, 9 (1948).

Summary

The change of the amylase activities in the green leaves of sweet potato plants at various growth periods and their diurnal variation were examined with the following result.

(1) Amylase activities in the green leaves varied with the growth periods and species.

(2) As the diurnal variation of the amylase activity, it was strongest at 1 a. m. and most weakest at 5 a. m.

(3) The amylase activity in the middle leaf was stronger than in the young and old leaf.

連続醱酵に関する研究（第1報）糖蜜のアルコール

醱酵に関する基礎的研究（其の1）

朝井 勇 宣, 上 田 清 基, 小 嶋 哲 也（東京大学農学部農芸化学教室）

昭和 27 年 6 月 12 日 受 理

Studies on the Continuous Fermentation. Part 1. Fundamental Studies of Alcohol Fermentation of Molasses.

By Toshinobu ASAI, Kiyomoto UEDA and Tetsuya KOJIMA (Dept. Agr. Chem., Fac. Agr., Univ. of Tokyo)

化学工業に比べ醱酵工業の大きな欠点は反応速度のおそい事と製造工程の非連続操作である。醱酵工業で最も普遍的なアルコール工業に於てもその製造の根幹をなす蒸煮、糖化、醱酵等の工程は吾国では現在すべて非連続的操作であつて、これの最も大きい原因は、主として醱酵工程が生物学的制約を受けていることにある。原料の蒸煮、糖化は既に連続的方式が解決され実際にアメリカで行はれているし、又蒸溜作業は實際的に昼夜間断なく行われているのであるから醱酵を除いては純然たる化学工業的作業が可能となつている。従つて醱酵工程の連続的操作ということが重要な研究課題として検討されなければならない。

一般に澱粉質原料は麦芽法、麹法、アミロ法等の如く酵素の糖化法が行われ、同時に醱酵が併行して進むといういわゆる複式併行醱酵型式が採られている。従つて糖化と醱酵の二つの反応系を同時に完全に進行させ、しかも連続的に行うことは、操作上からも、装置の設計上からも技術的に非常に困難である。従つて早くから中村等⁽¹⁾の指摘するように澱粉質原料は酸糖化液として使用するならば連続醱酵に対する利用は容易となるし、含糖質原料は直ちに使用し得るから更にその適用が容易である。吾々は斯る見地から糖蜜、亜硫酸パルプ廃液、甘藷酸糖化液を原料として連続醱酵の研究に着手した。連続醱酵の方式は既にアルコール醱酵に就いて非常に多くのものが考案されているが、現在既存の醱酵工場設備をそのまま或はわずか改める事に止め、且つ操作が容易である事に着目し、二槽式連続醱酵方式を採用した。亜硫酸パルプ廃液は既に連続的方式で醱酵が工業的に行われているが、醱酵時間が長い事、醱酵力の維持等に未だ解決されない問題があり、甘藷の酸糖化液は従来より麹法、アミロ法によるものより醱酵歩合の劣る為、殆んど用いられていない。しかしながらその原因の除去を行つて他方の