

生体内の鉄及び含鉄成分に関する研究 (第1報)⁽⁸⁾

定量法並に植物界に於ける分布について

金 森 正 雄

Studies on Form of Iron and Iron-containing Material in Living Tissue.

I. On the Determination of Iron and the Distribution of
Iron in Vegetable Kingdom.⁽⁹⁾

By

MASAO KANAMORI

A. 緒 言

鉄が全植物を通じて必須不可欠な要素であることは、周知の事実であつて、普通植物体中に於ては、簡単な鉄塩として存在する溶解性のものと、錯塩をなして存在するもの及び無機、有機形態の鉄別言すれば non-hemin hemin 態の鉄があるが、その生理的意義を有するものは、むしろ後者の状態で存在する鉄にあるのである。

鉄は光合成に関与する chlorophyll との関係に於て血液と類似構造を有する chlorophyll の構成成分中には入らぬが、之が欠乏によつて黄白化するために chlorophyll 形成には必須不可欠な要素とされてゐるが、その原因機構については詳しくは未だ不明である。又暗反応に於ける鉄触媒の機作も十分に解明され得ぬ現状であり、尙亦重要な問題として酸化還元系、呼吸系、に関与するところの cytochrome 類, catalase peroxidase, 数種の oxidase 等々の酵素に於て、それら酵素の補欠分子簇として hemin 形態で、その構成成分に含まれており、単独或は特異蛋白と特異的な結合によつて、各種の重要な生理現象の役割を果してゐると推察されてゐるが、是等の諸点に関し、縦來の個々の詳細な研究や、酵素模型実験に於てすら、殆ど明確な説明は与へられず数多くの疑問が残されてゐる。

是等鉄触媒に関しては其他色々の問題があり、著者は生体内に於ける鉄の分布、形態及びその生理的意義、並に鉄を作用基とする各種酵素作用の究明等々を目的として研究を行つてゐるが、先づ本報に於ては鉄の定量法の検討、並に分布についての結果を以下順を追ふて報告する。

B. 鐵 の 定 量 法

[I] Determination of Total Iron.

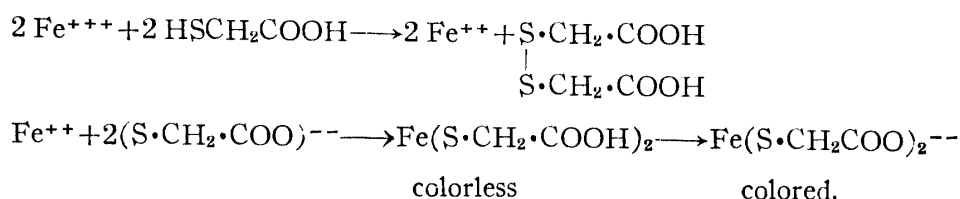
縦來鉄の微量定量法には大別して次の2の方法即ち滴定法と比色法⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾とがある。

滴定法は、鉄の酸化還元作用を利用する方法であつて、permanganate, bichromate, iodine,

* 西京大学栄養化学研究室

cerium sulfate, zinc chloride, titanium 等を用ふる方法があるが、何れも biological material に対しては使用出来ぬ難点がある。一方比色法は、 Fe^{++} 、 Fe^{+++} の化合物の呈色によるのであつて、hydrochloric acid, ferrocyanide, thiocyanate, sulfosalicylate, isonitrosoacetophenon, pyrimidon, 7-iodo-8-oxyquinoline-5-sulfonic acid, 10-phenanthroline pyrimidon, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 及び thioglycollic acid 等を用ふる方法がある。

著者は是等の方法を追試して、その中で比較的簡單で鋭敏、而も正確な方法であつた E Lyons⁽³⁾ 氏等の thioglycollic acid method を採用し、之を modify した次の如き方法によつて定量した。本法の原理とするところは下記の如く、総ての鉄を2價の鉄として、定量するのである。



(イ) 試薬

- (a) 25% HCl (iron free)
- (b) 25% NH_4OH (iron free).
- (c) Thioglycollic acid solution. (蒸溜水50^{cc} に25% NH_4OH 8^{cc} を加へ更に thioglycollic acid 4^{cc} を加へた溶液。)
- (d) Standard iron solution. (Mohr's salt 及び電解鉄を用て 1^{cc} = 10 γ iron となる様に調製する。)

(ロ) 方法

試料 1~5g を dry ash method によつて灰化し、25% HCl 1^{cc} を加へ湯浴上で蒸発乾固した後、温水にとかし一定量 (25~50^{cc}) となし、その 5^{cc} (略 10~20 γ の鉄を含有する如く試料を取る。) 之に thioglycollic acid solution 1^{cc} 及び 25% NH_4OH 1^{cc} を加へて微アルカリ性となし赤色に発色させる。別に同様の操作によつて standard iron solution を作つて比色する。

本法による鉄の検出限界は 1^{cc} 中 1/100000 mg 以上であつて、Duboscq colorimeter による比色量の限界は、Table 1 の如く 1^{cc} 中 0.5 γ 以上を要し。その誤差は 3% 以下であつた。尙本法の定安度は、Table 2 の如く、30分以内なれば正確で安定であり standard solution は 3 時間後と雖も安定であつた。

次に本法を用ひて、植物界に於ける鉄の分布を見た結果は Table 3, Table 4, Table 5 に示す如くであつた。是等の結果によると種実類に於ては、榿実、豆科では外皮に少く内果に多く、甘藷の如きは内果より外皮に多く含有されており、水稻では bran に最も多く含まれてゐたが、何れの種実も 100~200 γ . per. lg. of dry matter の鉄を含有し殊に檜の種子及び水稻の bran には多量に含まれてゐた。花に於てはエノコログサ、菊芋、朝顔のように特異的に含

Table. 1.

| Experimental no. | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------|----------|------|------|------|------|------|
| * Standard iron solution | c.c. | 1 | 0.5 | 0.1 | 0.05 | 0.01 |
| H ₂ O | c.c. | 7 | 7.5 | 7.9 | 7.95 | 7.99 |
| Thioglycollic acid | c.c. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 25% NH ₄ OH | c.c. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Total volume | c.c. | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Iron content per. 1 c.c. | γ | 1.02 | 0.51 | 0.10 | 0.05 | 0.01 |
| Reading of colorimeter | m.m. | 17 | 35 | — | — | — |

* 1 c.c. of standard iron solution is contened of 10.2 γ iron.

Table. 2.

| Compo- sition Mins. | A | | A' | B | |
|-------------------------------|--|----------------------------|---|--|----------------------------|
| | Standard iron solution H ₂ O Thioglycollic acidsolution 25% NH ₄ OH | 2 c.c. 1 c.c. 1 c.c. | prepared A solution when each determi- nation | Sample Thioglycollic acid solution 25% NH ₄ OH | 5 c.c. 1 c.c. 1 c.c. |
| 5 | 20.0 m.m. 0.0204 mg Fe | | 20.0 m.m. 0.0204 mg Fe | 15.0 m.m. 0.0272 mg Fe | |
| 30 | 〃 | | 〃 | 〃 | |
| 80 | 〃 | | 〃 | 17.0 m.m. 0.0240 mg Fe | |
| 105 | 〃 | | 〃 | 17.5 m.m. 0.0233 mg Fe | |
| 120 | 〃 | | 〃 | 18.0 m.m. 0.0227 mg Fe | |
| 180 | 〃 | | 〃 | 〃 | |

量の多いものがあるが、其他は略 100~300 γ . per. 1g. of dry matter の鉄を含有し、同種の種実より多く、葉より少い傾向にある。亦ボケ、朝顔についてみられる如く、花の中でも蕊の部分に極めて多く、即ち生殖器官中に比較的多く含まれてゐることは、注目すべき事実である。葉莖についてみれば、何れも葉に多く、アカザ、檜には殊に多い。檜の莖は極めて多くの鉄を含有してゐた。尙水稻、菊芋の根中には、非常に多量の鉄を含有してゐた。之等植物界の鉄含量と比較のため牛の肝臓中の鉄を定量したところ 300 γ . per. 1g. of dry matter で dry matter としては、植物界に多く鉄が含まれてゐることがわかる。

Table. 3. Iron content in various seeds.

| | γ per. 1g. of fresh matter. | γ per. 1g. of dry matter | mg. per. 1g. of ash. | note |
|---|------------------------------------|---------------------------------|----------------------|------------|
| <i>Spinacia oleracea</i> L. | 208.5 | 237.7 | 5.1900 | |
| <i>Brassica campestris</i> L. var. <i>Komatsuna</i> MAKINO. | 163.5 | 175.5 | 3.6639 | |
| <i>Brassica pekinensis</i> RUPR. | 121.7 | 132.2 | 2.5089 | |
| <i>Vicia Faba</i> L. | 78.1 | 90.7 | 2.8753 | exocarp. |
| | 125.9 | 144.5 | 2.9203 | cotyledon. |
| <i>Phaseolus angularis</i> WIGHT. | 155.1 | 178.9 | 4.7328 | |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> L. | 115.5 | 134.3 | 2.8038 | |
| <i>Pisum sativum</i> L. | 224.0 | 260.4 | 8.1831 | |
| <i>Ipomoea Batatas</i> LAM. var. <i>edulis</i> MAKINO | 31.1 | 155.9 | 2.2859 | bark |
| | 11.5 | 44.5 | 2.2589 | pulp |
| <i>Oryza sativa</i> L. | 14.9~23.1 | 25.1~68.2 | 0.3397~2.3650 | ear |
| | 32.1 | 39.5 | 0.1062 | rough rice |
| | 454.5 | 526.0 | 6.6215 | bran |
| <i>Capsicum annuum</i> L. | 10.7 | 183.3 | 1.8133 | green |
| | 18.9 | 108.1 | 1.5906 | red |
| <i>Helianthus tuberosus</i> L. | 27.8 | 110.8 | 1.8573 | |
| <i>Quercus antissima</i> CARRUTH | 59.5 | 73.9 | 3.1749 | bark |
| | 14.2 | 89.9 | 4.0692 | pulp |
| <i>Chamaecyparis obtusa</i> ENDL. | 1094.7 | 1337.6 | 19.9048 | |

Table. 4. Iron content in various flowers.

| | γ per. 1g. of fresh matter | γ per. 1g. of dry matter | mg. per. 1g. of ash | note |
|--|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------|-------------------|
| <i>Achyranthes japonica</i> NAKAI. | 34.1 | 88.7 | 1.1640 | |
| <i>Setaria Viridis</i> BEAUW. | 1374.4 | 2420.1 | 19.6596 | |
| <i>Chenopodium album</i> L. var. <i>centrosubrum</i> MAKINO. | 67.4 | 285.0 | 2.0925 | |
| <i>Ipomoea Nil</i> ROTH. | 16.1 | 221.9 | 2.7003 | petal |
| | 66.7 | 477.8 | 5.8910 | pistil and ovary. |
| | 48.0 | 297.9 | 2.7309 | calyx |
| <i>Helianthus tuberosus</i> L. | 205.2 | 1213.5 | 10.6354 | |

| | | | | |
|-------------------------------------|--------|-------|--------|--------|
| <i>Chaenomeles lagenaria</i> Koidz. | 12.8 | 128.6 | 4.1798 | petal |
| | 50.1 | 191.0 | 1.3738 | pistil |
| | 10.9 | 28.4 | 0.9657 | ovary |
| | 11.9 | 44.1 | 1.4539 | calyx |
| <i>Lespedeza cyrtobotrya</i> Miq. | 24.1 | 119.4 | — | white |
| | 47.0 | 186.5 | — | red |
| Beer yeast | 1050.4 | — | — | |
| Sake yeast | 737.1 | — | — | |
| Liver (Bovine) | 82.2 | 287.9 | — | |

Table. 5. Iron content in various leaves, stems and roots.

| | γ per. 1g. of fresh matter | γ per. 1g. of dry matter | mg. per. 1g. of ash | note |
|--|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------|------|
| <i>Brassica chinensis</i> L. | — | 121.7 | 2,2283 | leaf |
| <i>Chenopodium album</i> L. var. <i>centrorubrum</i> MAKINO. | 276.5 | 1097.1 | 5,1096 | 〃 |
| | 46.4 | 151.9 | 1,5939 | stem |
| <i>Glycine Soja</i> . | 20.3 | 85.6 | — | leaf |
| <i>Ipomoea Batatas</i> LAM. var. <i>edulis</i> MAKINO. | 36.2 | 217.0 | 1,6757 | 〃 |
| | 38.2 | 331.6 | 3,3802 | stem |
| <i>Ipomoea Nil</i> ROTH. | 12.9 | 90.7 | 0,6678 | leaf |
| <i>Oryza sativa</i> L. | 25.3~64.6 | 84.6~213.9 | 0,6111~2,0875 | 〃 |
| | 9.3~26.0 | 53.6~156.4 | 0,8156~1,6494 | stem |
| | 671.9~2057.1 | 4167.3~15675.0 | 0,8156~1,1985 | root |
| <i>Setaria Viridis</i> BEAUW. | 109.0 | 195.6 | 1,0214 | leaf |
| <i>Allium Cepa</i> L. | 7.9 | 94.3 | — | bulb |
| <i>Capsicum annuum</i> L. | 38.9 | 223.0 | 1,0031 | leaf |
| <i>Achyranthus japonica</i> NAKAI | 207.9 | 922.4 | 4,2684 | 〃 |
| | 58.6 | 232.0 | 2,1866 | stem |
| <i>Helianthus tuberosus</i> L. | 59.5 | 275.3 | 1,2710 | leaf |
| | 19.9 | 79.8 | 1,2296 | stem |
| | 153.9 | 584.2 | 7,6167 | root |
| <i>Tea sinensis</i> L. | 59.5 | 176.2 | — | leaf |
| <i>Chaenomeles lagenaria</i> Koidz. | 69.9 | 215.1 | 3,7091 | 〃 |

| | | | | |
|----------------------------------|-------|--------|---------|------|
| <i>Chamacyparis obtusa</i> ENDL. | 223.2 | 611.3 | 7.1749 | 〃 |
| | 456.5 | 1051.6 | 30.8387 | stem |

〔II〕. Determination of Non-hemin and Hemin Iron.

動植物体及びその各器官中に含まれてゐる鉄の形態を調査するために、有機、無機形態の鉄に、或は hemin non-hemin 態の鉄に區別する必要がある。

先づ hemin-Fe 共存中の non-hemin-Fe を測定するには、non-hemin-Fe 丈を抽出して、hemin-Fe を抽出せぬ reagent が必要で、その方法として、Tingy, Tompsett 氏等の方法⁽⁴⁾及び之を改良した Brückman & Zondek method⁽⁵⁾があるが、共に $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ を抽出剤としてゐる。其他 5 N-HCl で抽出する Starkenstein & Weden's method⁽⁶⁾がある。以上両者を modify した下記 (a), (b) の如き方法によつて non-hemin-Fe を定量した。

(a). 1g の試料に硝子粉を加へて良く搗碎した後、飽和 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液 5°C と 10% CCl_3COOH 10°C とで之を centrifugal tube に移し、boiling water bath 上で正確に 7 分 boil し、直ちに centrifuge して上澄液を得る。沈澱は更に $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ CCl_3COOH でよく洗滌し、洗液と上澄液とを合して、一定量となして (50°C) 前述の如く total-Fe を定量して non-hemin-Fe とする、

(b) 1g の試料に硝子粉を加へてよく搗碎し、5 N-HCl 10°C を加へ、更に磨碎した後に 5 N-HCl 10°C で centrifugal tube に移し、boiling water bath 上正確に 7 分 boil し、之に 20% CCl_3COOH 10°C を加へて、centrifuge して得られた上澄液と沈澱を 10% CCl_3COOH で洗滌した洗液とを合して一定量となし (50°C) 前述の如く total-Fe を定量して non-hemin-Fe とする。

上述した (a), (b) 法から non-hemin-Fe の含量を知り得る。而して (total-Fe) - non-hemin-Fe = (hemin-Fe) によつて hemin-Fe を求めた。

一方 no-hemin-Fe 共存中の hemin-Fe を測定するには、hemin-Fe 丈を抽出し得る reagent が必要あつて、Yabusoe 氏⁽⁷⁾は HCl-methanol によつて、hemin-Fe を抽出したが、著者は本法を modify して下記 (c) の如き方法によつて直接に hemin-Fe を定量した。

(c) 1g の試料に硝子粉を加へてよく搗碎し、N-HCl 2°C ; absolute ice cold methanol 8°C を加へて磨碎、攪拌して centrifuge し、数回抽出操作を繰返した後、抽出液に $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 粉末 1g を加へて、30 分後に centrifuge し上澄液を得、methanol で一定量となし (50°C) 別に pure hemin (horse の血液より常法によつて単離、精製したものを使用した。) について同様の処理操作を行ひ、標準液を作り、前述の如く total-Fe を定量し hemin-Fe とする。而して (total-Fe) - (hemin-Fe) = (non-hemin-Fe) によつて non-hemin-Fe の量を求めた。

hemoglobin, beer yeast, chloroplast について以上の (a), (b) 及び (c) 法を比較検討した処、Table 6 に示す如く hemoglobin beer yeast については (a) 及び (b) 法は何れも略相等的な値を得た。更に chloroplast について (a) 及び (c) 法を比較したところ何れも良く一致し

た。縦つて以上の結果から (a), (b) 及び (c) 法の何れの方法によつても, hemin-Fe 及び non-hemin-Fe の定量は可能であることが確認出来た。

Table. 6.

| | H ₂ O % | Ash % | mg. of total Fe per. 1g. of fresh matter | mg. of non-hemin-Fe per. 1g. of fresh matter | | | mg. of hemin-Fe per. 1g. of fresh matter | | |
|--|-----------------------|----------|---|---|---------------|-------------------|---|---------------|-------------------|
| | | | | (a) | (b) | (c) | (a) | (b) | (c) |
| | | | | Na ₄ P ₂ O ₇ method | HCl method | Metanol method | Na ₄ P ₂ O ₇ method | HCl method | Metanol method |
| Hemoglobin | 10.05 | 3.95 | 2.2415 | 1.1815 | 1.2582 | — | 1.0600 | 0.9833 | — |
| Beer yeast | 22.24 | 1.98 | 1.0504 | 0.2903 | 0.2247 | — | 0.7601 | 0.8257 | — |
| Chloroplast from <i>Brassica pekinensis</i> RUPR | 7.89 | 11.21 | 1.4747 | 1.1126 | — | 1.1179 | 0.3621 | — | 0.3568 |

[III]. Determination of Ferric and Ferrous Iron.

動植物体に於ける鉄の酸化還元機構を究明し、亦各種含鉄酵素の生理作用の解明に ferric, ferrous 両形態の鉄を區別して定量することが必要であることは言を待たぬのである。縦來鉄の比色定量法は ferric, ferrous iron 化合物の呈色を利用してゐるのであつて、この事から容易に目的を達し得る訳である。著者は ferrous iron と反応呈色する $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl method⁽²⁾ 及び前述の thioglycollic acid method⁽³⁾ を combine して、両形態の鉄を定量してみた。 $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl method は ferrous iron によつて赤色に呈色するが、ferric iron の影響をうけず、他の金属の影響をもうけないので、適当な還元剤の使用によつて、総ての iron を ferrous state に還元して定量すれば、total iron を求め得る訳である。かかる還元剤としては、glucose, hydroquinone, thioglycollic acid, Na-hydrosulphite, cystein etc. があるが、是等の還元剤の可否を検討した処、Table 7 の如く thioglycollic acid が最も強い還元力を有し、而も何れの還元剤も呈色には影響がなかつた。

Table. 7.

Composition of experimental solution

| | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|------|-----------------|
| Iron solution | c.c. | 1 | 2 |
| H ₂ O | c.c. | 1 | — |
| $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl solution | c.c. | 0.3 | 0.3 |
| p.H. 5.0 acetate buffer | c.c. | 5 | 5 |
| Reducing reagent | 25% Glucose | c.c. | 2 (5 mins heat) |
| | Hydroquinone | g. | 0.1 |
| | Thioglycollic acid drops. | | 3 |

FeCl₃ solution (Ferric iron)

| Reducing reagent | | 25% Glucose | | Hydroquinone | | Thioglycollic acid | |
|--------------------------|------------|-------------|------|--------------|------|--------------------|------|
| Iron solution | c.c. | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| After | 0.5 hrs γ. | 6.1 | 9.7 | 8.8 | 15.7 | 17.3 | 35.3 |
| | 16 hrs γ. | 7.7 | 10.1 | 11.9 | 18.0 | 〃 | 〃 |
| | 40 hrs γ. | 10.8 | 18.2 | 13.3 | 20.2 | 〃 | 〃 |
| | 110 hrs γ. | 13.3 | 22.1 | — | — | 〃 | 〃 |
| | 170 hrs γ. | 15.7 | 25.5 | — | — | 〃 | 〃 |
| Theoretical iron content | γ. | 20 | 40 | 20 | 40 | 20 | 40 |

Mohr's salt solution (Ferrous iron)

| Reducing reagent | | 25% Glucose | | Hydroquinone | | Thioglycollic acid | |
|--------------------------|------------|-------------|------|--------------|------|--------------------|----|
| Iron solution | c.c. | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| After | 0.5 hrs γ. | 20 | 38.2 | 39.5 | 20.4 | 20 | 40 |
| | 16 hrs γ. | 〃 | 40 | 20 | 40 | 〃 | 〃 |
| | 40 hrs γ. | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 |
| | 110 hrs γ. | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 |
| | 170 hrs γ. | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 |
| Theoretical iron content | γ. | 20 | 40 | 20 | 40 | 20 | 40 |

Table. 8.

| | | Mohr's salt solution | | | | FeCl ₃ solution | | |
|---|------|----------------------|-----|------|------|----------------------------|------|------|
| Iron solution | c.c. | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| H ₂ O | c.c. | 1.2 | 1 | 1 | — | 1 | 1 | — |
| Thioglycollic acid | c.c. | — | 0.2 | — | — | 0.2 | — | — |
| Na ₂ S ₂ O ₄ | c.c. | — | — | 0.25 | 0.25 | — | 0.25 | 0.25 |
| αα'-Dipyridyl | c.c. | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| p.H. 5.0 acetate buffer | c.c. | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Theoretical iron content | γ. | 20 | 20 | 20 | 40 | 14.5 | 14.5 | 29.0 |
| Measured iron content | γ. | Standard=Standard | | 20.3 | 41.2 | 11.7 | 12.0 | 23.3 |

Table. 9.

| | | I | | II | | (III) | |
|----------------------------|------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|------------------------|
| | | (a) | (b) | (c) | (d) | (e) | (f) |
| Iron solution | c.c. | Mohr'ssalt 1 | FeCl ₃ 1 | Mohr'ssalt 1 | FeCl ₃ 1 | Mohr'ssalt 1 | FeCl ₃ 1 |
| H ₂ O | c.c. | 3drops | 3drops | — | — | 3 | 3 |
| $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl | c.c. | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | — | — |
| pH. 5.0 acetate buffer | c.c. | 5 | 5 | 5 | 5 | — | — |
| Thioglycollic acid | c.c. | — | — | 3drops | 3drops | 1 | 1 |
| 25% NH ₄ OH | c.c. | — | — | — | — | 1 | 1 |
| Theoretical iron content. | γ . | 18.9 | 18.5 | 18.9 | 18.5 | 18.9 | 18.5 |
| | | | | | | | |
| Measured iron content. | γ . | Standard | 7.2 | Standard | 12.7 | Standard | 12.7 |

尙亦 thioglycollic acid と Na-hydrosulphite とを比較した処、Table 8 の如く、両者は殆ど同程度の還元能を有し、而も Na-hydrosulphite も亦呈色に影響をあたへなかつた。次に $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl method と thioglycollic acid method とを比較検討した結果は、Table 9 に示す如くであつた。即ち (a) と (c) を比色すれば、同値を得、尙 thioglycollic acid の比色に及ぼす影響はなく、而も亦 thioglycollic acid method と、還元剤として thioglycollic acid を使用した $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl method とは、全く同じ値が得られた。縦つて、先述した如く thioglycollic acid method⁽⁹⁾ によつて total-Fe を求め、次に還元剤を使用せず $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl method によつて ferrous-Fe を求めれば次式即ち

$$\begin{array}{c}
 (\text{thioglycollic acid method}) - (\alpha\alpha'\text{-Dipyridyl method}) = \text{ferric-Fe.} \\
 \parallel \qquad \qquad \qquad \parallel \\
 \text{total-Fe} \qquad \qquad \qquad \text{ferrous-Fe}
 \end{array}$$

によつて正確に ferric-Fe を求め得る。

終りに臨み終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた恩師京都大学農学部教授近藤金助先生に深甚の謝意を表する次第である。

C. 要 約

- (1) 鉄の既知比色定量法を吟味した後、thioglycollic acid method を改良した本法が、簡單、鋭敏、而も正確であることを確認した。
- (2) hemin-Fe, non-hemin-Fe は直接法、間接法即ち Na₄P₂O₇ 法、HCl 法、Methanol 法

- を改良した本法で定量可能であり、而もよく一致することを認めた。
- (3) ferric, ferrous-Fe は thioglycollic acid method 及び $\alpha\alpha'$ -Dipyridyl method を併用した著者の方法によつて充分正確に定量し得ることを認めた。
- (4) 各種植物の各部位に於ける鉄含量を定量した結果、種実では檜、花ではアサガホ、エノコログサ、根では水稻、莖ではアカザ、キノコヅチ、檜等に特異的に多く、其他は略 100~300 γ . per. 1g. of dry matter 程度含有されており、而も葉、莖、根を比較すれば、より多く葉に含まれてゐることを認めた。

文 献

- (1) L. G. SAYWELL & B. B CUNNINGHAM: J. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **9** 1913 67, 83
 C. HÜTTER: Z. Anorg. Chem. **86** (1914) 341
 G. C. HOSTETTER: J. Amer. Chem. Soc. **41** (1919) 1531
 WALKER: Analyst. **50** (1925) 279
 VANÜRK: Phasm. Weckbl. **63** 1926 1101, 1121
 F. KROHNKE: Ber. deutsch. Chem. Ges. **60** (1927) 527
 R. STAUGART: J. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **3** (1931) 390
 W. D. Mc FASLANE: Biochem. G. **261** (1932) 1034, 1039
 G. H. YOE: J. Ann. Chem. Soc. **54** (1932) 4139
 A. WEILAND & R. HILL: Z. Anorg. u. Allg. Chem. **215** (1933) 81
 G. E. FARRAR: J. Biol. Chem. **110** 1935 693
- (2) R. HULL: Proc. Roy. Soc. London B **107** (1931) 205
 F. FEIGL, P. KRUMHOLZ & H. HAMBURG: Z. Anal. Chem. **90** (1932) 199
 H. I. COOMBS: Biochem. J. **30** (1936) 1588
- (3) E. LYONS: J. Amer. Chem. Soc. **49** (1927) 1916
 B. R. BURMEISTER: J. Biol. Chem. **105** (1934) 189
 G. LEAVELL & N. R. ELLIS: Ind. Eng. Chem. **6** (1934) 46
 S. L. TOMPSETT: Biochem. J. **28** (1934) 1536
 " " : " " **29** (1934) 480
- (4) S. L. TOMPSETT: Biochem. J. **29** (1934) 480
 TINGY: J. Ment. Sc. **83** (1937) 452
 " : " " " **84** (1938) 980
 G. BRÜCKMAN & S. G. ZONDEK: Biochem. J. **33** (1939) 1845
- (5) G. BRÜCKMANN & S. G. ZONDEK: J. Biol. Chem. **135** 1940 23
- (6) STARKENSTEIN & WEDEN: Arch. exp. Path. Pharmak. **134** (1928) 274
- (7) YABUSOE: Biochem. Z. **157** (1925) 388
- (8) 本報は1948年10月16日日本農芸化学会関西支部にて講演。

Summary

- (1) I have testified various colorimetric determination of iron and realized thioglycollic acid method was simple, sharp and correct, and in this improvement I could determined the quantity of iron in various vegetable tissue.
- (2) I have realized that by direct method or indirect method, the determination of hemin-iron and non-hemin-iron is possible and the value of direct method is pararell to the value of indirect method.
- (3) I have realized that the determination of ferric and ferrous iron is possible by my method which is the combination of thioglycollic acid method and $\alpha\alpha'$ -dipyridyl method.
- (4) I have realized that by the determination of iron in every part of various vegetable, seed, flower, stem and root of the *Chamaecyparis obtusa* Endl, *Ipomoea Nil* Roth, *Setaria Viridis* Beauw. *Chemodium album* L. var. *centrorubrum* Makino, *Achyranthus japonica* Nakai, *Oryza sativa* L. contains remarkably quantity of iron but other vegetable contains about 100~300 γ of iron per, 1g. of fresh matter and leaf contains much more iron than stem and root.