

## 2. 緑葉に含まれる微量金属に就て

森 茂 樹

### On the Trace Metals in Green Leaves.

*Shigeki Mori*

In the previous paper<sup>1)</sup>, I have reported with my coworkers that the amount of trace metals, such as iron, copper, manganese and zinc, was accumulated more in deep green colored part, and less in pale green part of green leaves. The chemical affinity of these metals to chloroplasts is different. The chloroplastic and cytoplasmic matters as well as water soluble substances are separated by centrifuge from the pressed juice obtained from the ground pepper plant leaves. On each fraction of the separated filtrate we have analysed the trace metals, whose results are shown in the tables given in my Japanese report on the following page. As seen in the tables, the greater part of iron is found to be fixed in the chloroplastic matter, while other metals mainly in the cytoplasmic matter. In the chloroplastic matter there are found, besides iron, small amounts of copper, manganese and zinc. It is uncertain whether they are the essential constituents of chloroplasts or not.

In addition to these results I discussed the biocatalytic significance of heavy metals relating to photosynthesis.

1) K.Kondo, S.Mori and M.Kajima: This report 19, 66 (1949)

#### A 緒 言

G. Bertrand<sup>1)</sup> は多数の植物材料に就て微量元素の定量を行ひ、その分布を明かにしたが、その中で Zn に就ては、緑葉に於て濃緑部と淡緑部とを比較すると、その含量に著しい相違があつて、この金属は主に濃緑色の部分に集積<sup>2)</sup>することを指摘した。

このことは筆者も他の植物材料につき事実であることを確かめたのであるが、單に Zn のみならず、Fe, Cu 及 Mn 等に就ても全く同じ関係にあることを数種の葉菜に就て実験<sup>3)</sup>を試みた結果之を明かにした。

之等の重金属は緑葉中で主に葉緑体又はその周辺に於て夫々特定の触媒として光合成に関與して居るものであらうとは、一應何人も想像するところであらう。

けれども従來葉緑体成分に関する研究は多数に上つて居るのに拘らず、微量元素に関して

はその分布、含量及び役割に就て論議したものは、Fe に関するものを除けば極めて僅少である。もとより微量元素の生体触媒的意義に関する知見は Fe 及び Cu 以外のものに就ては、現在のところ、未だ端緒についた程度であるから生体組織に於ける微量元素の分布並に意義に就ての検討が現在尙不充分であるのは独り葉緑体の問題に限らないのである。よつてこの問題を対象として、緑葉に含まれる微量金属が葉緑体成分と如何なる関係にあるかを明かにせんとして次の如き実験を試みた次第である。

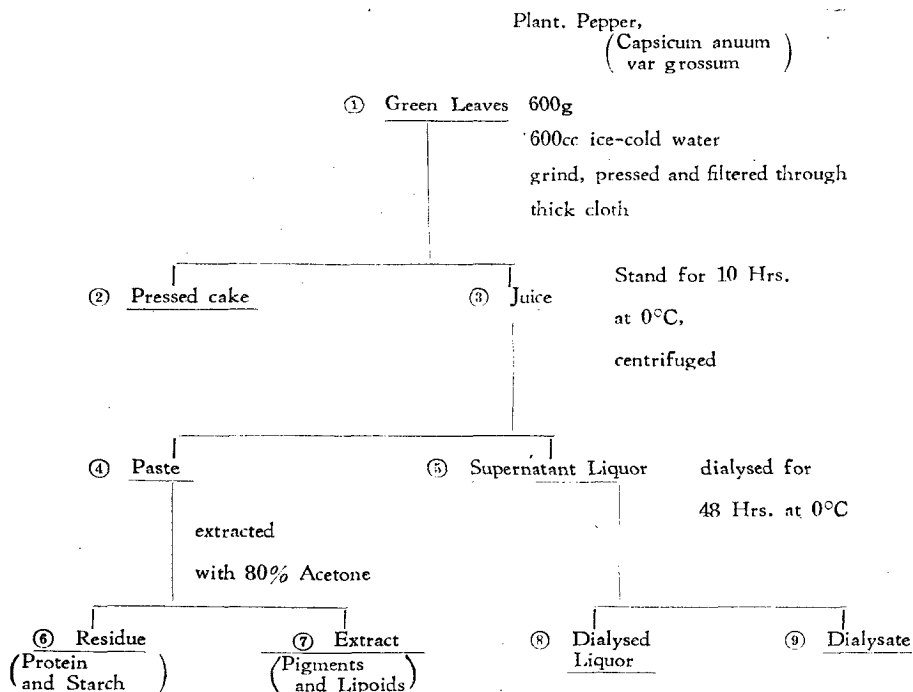
## B 実験方法及び実験結果

実験材料 ししとうがらし (*Capsicum anuum var grossum*) の葉

採取時期、1949年9月中旬

分別方法は下表に示す如くであつて、その分析結果は第1表及第2表に示す通りである。

### Method of Separation



## C 実験結果に対する考察

### (a) 分別方法に対する吟味

葉緑体成分の化学分析を行ふには先づ特定の方法によつて細胞破壊を行ひ、その内容物より葉緑体を分別するのであるが、かゝる目的には普通搾汁を遠心分離又は塩類添加による凝

Table 1  
Analysis of Ash and Trace Metals  
(Amount in 100g Fresh Material)

Fraction	Dry matter g	Ash g	Fe mg	Cu mg	Zn mg	Mn mg	
(1) Fresh material	14.300	2.754	33.33	4.47	4.17	5.00	
(2) Pressed cake	7.930	1.328	9.92	1.86	1.64	1.85	
(3) Juice	6.359	1.406	23.35	2.60	2.50	3.13	
(4) Chloroplastic matter	3.414	0.433	20.00	0.52	0.63	0.63	
(5) Cytoplasmic matter ※	2.924	0.937	3.33	2.08	1.78	2.50	
Chloropl. matter	(4) Chloropl. matter	3.414	0.433	20.00	0.50	0.63	0.63
	(6) Protein	2.344	0.070	18.50	0.46	0.54	0.49
	(7) Pigments and Lipoids	1.020	0.063	—	—	—	—
Cytoplasmic matter	(5) Cytoplasmic matter	3.213	0.914	1.83	1.59	2.29	2.93
	(8) Dialysed Liquor	0.696	0.112	0.33	+	+	0.16
	(9) Dialysate	2.476	0.783	1.47	1.47	2.13	2.63

Table 2  
(Amount in 100g Fresh material)

	Ash g	Fe mg	Cu mg	Zn mg	Mn mg
(a) Chloropl. matter	0.43	20.00	0.52	0.63	0.63
(b) Whole leaves	2.75	33.33	4.47	4.17	5.00
a/b × 100	15.64	60.01	11.66	15.11	12.60

※ mixture of Cytopl. matter and water soluble substanses

析等の方法が採られて居る。斯様な手段によつて葉緑体にゆるやかに結合する成分の離脱、又は原形質物質の葉緑体へ爽雜すること等が多少作ふことは当然考へられるので、分離されたものは純粋な葉緑体そのものでなくて、葉緑体成分を主成分とするもの、所謂 Chloroplastic matter である。筆者が分離したのも勿論この程度のものであつて、且つ分別の各段階に於て、故意に洗滌を行はなかつたから、前記の如く前後の区分が爽雜して居ることは勿論認めるところであるが、実験の目的が先づ定性的事実を確認することにあつたから、これを以て一應許容した次第である。但し分別の各段階に於て蛋白を變質せしめるような処理は極度にさけ、自然状態を失はないような方法を力めて探つたのである。

(b) 分析結果について

葉緑体成分に関して最近行はれた研究のうちで、筆者の研究と關聯のあるものを挙げると

Krossing,<sup>4)</sup> Menke<sup>5)</sup> 及 Neish<sup>6)</sup> 等の研究である。夫等のうちで Krossing の研究は主に酵素の分布に関するものであり、Menke の実験に於ては微量金属は研究の対象としてゐない。独り Neish の実験に於ては Fe 及 Cu を定量した以外には Mn に就て定性的にその存在を認められた程度である。

偕て筆者の実験結果は第1表に示すが如く Fe の大部分は葉緑体部分に集積するが、Cu, Zn 及 Mn は之とは甚だ趣を異にする。即ち第2表に示すが如く Fe はその全量の60%が葉緑体部分に集積されるのに Cu, Zn 及 Mn は夫々全含量の11.7, 15.1及12.6%に過ぎない。このことは大いに考慮すべき事柄であつて、緑葉に於ける各種金属は夫々の触媒性を發揮するための最適量が含まれて居るのか、或は Fe の如く同一金属の間にも異なる触媒性を持つ異なる形態があるのであるか、更に又葉緑体部分に見出される Cu, Zn 及 Mn 等は恰も血球に於ける Cu 及 Zn の如く夫々蛋白と結合して、その場所に於て Fe と協同的な役割を演じて居るのか審かでない。若し、果して然らばこの部分に於ける各種の微量金属はその含量に於て微少であるが、その意義は極めて重要であらうと予想される。

#### (c) 微量金属の関與する酵素系に就て

葉緑体を主体として行はれる光合成には Frank<sup>7)</sup> の唱へる如く数個の段階があつて、その一段階に青酸に敏感に阻害される Catalyst のあることは何人も疑はないが、従來この Catalyst に関して行はれた実験及び論議は殆ど鐵触媒に限られて居る。言ふまでもなく葉緑体又はその周辺に分布する Fe 以外の重金属は夫々酵素或ひは酵素の補助的要素として、相互に密接に、一聯の關係を持つものと考へられるが、青酸によつて阻害されるものは鐵触媒に限らず金属触媒に共通するところである。鐵触媒の重要性に就ては説くまでもないが、同じく鐵酵素でも Catalase と Peroxydase とでは葉緑体周辺に於て、その分布状態が全く別であることが Krossing<sup>4)</sup> の研究によつて明かにされて居る。今諸種の金属酵素を夫々活度の計測により、葉緑体周辺に於ける分布を推定すると、先づ葉緑体に密に局在して居ると考へられるものは Catalase (Krossing) 及 Polyphenolase (Arnon)<sup>8)</sup> で、局在してゐないと考へられるものに Peroxydase (Krossing) 及 Carbonic Anhydrase (Neish) (Zn 酵素としての確証は尙不充分であるが) 等がある。

偕て、植物に対する Mn の重要性に関しては今更説く必要もないが、植物体に於けるこの金属の分布に就ては今猶餘り明かにされて居ない。Mn によつて賦活される酵素即ち Mn の関與する酵素系には窒素代謝に關係するもの、又は炭素代謝に關係するもの等があつて、その間一貫した關聯が審かでないが、最近或種の酵素例へば  $\beta$ -Carboxylase は特殊の助酵素 Triphospho-pyridine nucleoside, TPN と Mn の存在によつて完全賦活が成立するこ

とが Ochoa<sup>9)</sup> 及 Vennesland<sup>10)</sup> 等によつて確証せられ、解糖作用、逆に糖合成の機序に有力なる示唆を與えた。氏等の実験によると Mn は酵素体と極めてゆるやかに結合し、透析によつて容易に游離する程度であるから、この場合 Mn は酵素の Co-factor と言うべきである。従つて Mn は Porphyrin 核に強固に結合する Fe をもつ Catalase 及 Peroxydase 等とは結合の様式が全く別であると思はれる。

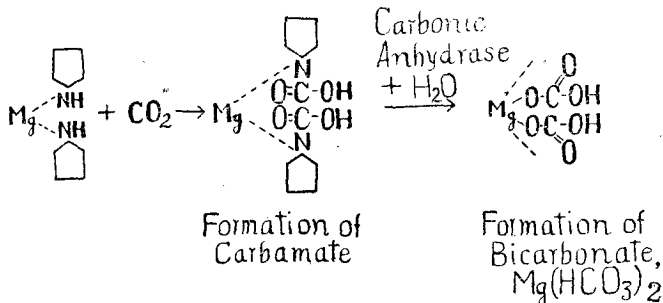
Zn の植物に対する触媒的意義に関しては動物の Carbonic anhydrase の本体が確認されて以來注目されるところとなつた。植物に於ける Carbonic anhydrase 作用をなすもの本体と、動物に於けるそれとの異同に関しては尙検討の餘地があるが、筆者の実験の範囲で認めた事実は前報<sup>11)</sup>に記載した通りである。動物の Carbonic anhydrase と同様の作用をなす酵素は植物にも確かに存在することは既に充分認められて居るところであるが、筆者等は植物の体部位、生育時期、日照度の差異及び植物の種類の間違等による酵素活度の比較を行つた結果、この酵素は光合成と密接なる関係があると思はれること、酵素活度の発現に Chlorophyll b が関係すると予想される事<sup>12)</sup>を見出した。

併せて光合成に於て Carbonic anhydrase が行ふ脱炭酸作用の行はれる酵素系の存在を考へることは困難であるが、その逆反應である加水の方向を考へるならば、光合成初期の段階に於ける重要な問題に直ちに當面するのである。即ち植物による炭酸吸収の機構に就ては二つの重要な過程が考へられて居るのであるが、その一は炭酸の Hydration であり、他は炭酸の Carbamation である。筆者等は別の実験に於て植物汁液又はこれを精製して得た酵素液を用ひ、炭酸の吸収に対して最適水素イオン濃度は pH 8.0~8.2 であること、炭酸の吸収が Histidine, Tryptophane 等の -NH 化合物の添加により明かに促進されることを確かめた。この事実により、2種の Chlorophyll のうち、Pyrrol 核に2個の -NH をもつ Chlorophyll b が炭酸の吸収に関係のあることを予想し、このものを添加することによつて吸収が促進されるや否やを実験して見た。その結果、Chlorophyll b の添加によつて明かに炭酸の吸収が促進せられたのに拘らず、Chlorophyll a にはこの作用は認められなかつた。

而して以上の反應は青酸の存在によつて全く阻害されるから、金属酵素の協助を必要であることが判る。

これらの事実を根拠として、植物による炭酸の吸収と Carbonic anhydrase の作用

機作を筆者は下の如く考えるのである。



以上綠葉に含まれる微量元素の含量及び分布を明かにし、夫等の関與する酵素系に就て若干の考察を附した次第であるが、葉綠体の機能及び性格を明かにするためには之等の微量金属の触媒的意義を更に明かにすることは極めて重要であると思ふ。

#### D 要 約

1. 綠葉(ししとうがらし, *Capsicum anuum var grossum*)の压榨汁液を遠心分離により分別した葉綠体及非葉綠体成分中の Fe, Cu, Zn 及 Mn を分析し、兩成分への各種金属の配分を明かにした。葉綠体成分中には Fe が多量含まれるが、その他に Cu, Zn 及 Mn が夫々全量の 11.7, 15.1 及 12.6% 含まれることを確かめた。

2. 葉綠体又はその周辺に於ける酵素の分布及び酵素系に関し、特に Carbonic anhydrase の作用機作に関し筆者等の実験を基礎として若干の考察を附加した。

終りに臨み本稿の校閲を賜はりたる近藤金助先生に深甚の謝意を表すると共に、実験を協力分擔した加島守一、河合文雄兩君の勞を感謝する。尙本研究は文部省科学研究費の補助により遂行したことを附記し茲に謝意を表する次第である。

#### 文 献

- 1) R. Berg: Die Spurenelemente in unserer Nahrung und in unserem Körper, Beih. zur Zeitschr. "Die Ernährung". Heft 7 (1940)
- 2) G. Bertand & B. Benzon: Compt. rend., 187 1093 (1928)
- 3) 近藤, 森 加島: 本誌 19 66 (1949)
- 4) G. Krossing: Biochem. Z., 305, 359 (1940)
- 5) W. Menke: Z. physiol. Chem., 203, 104 (1940)
- 6) A. C. Neish: Biochem J., 33 293, 300 (1939)
- 7) E. I. Rabinowitch: Photosynthesis and related Process. vol. I New York (1945) 379
- 8) D. I. Arnon: Plant Physiol 24, 1 (1949)
- 9) A. Kornberg, S. Ochoa & A. H. Mehler: J. Biol. Chem. 174, 159 (1948)
- 10) B. Vennesland: J. Biol. Chem., 178 591 (1949)
- 11) 近藤, 森, 河合: 本誌 18 33 (1949), 19 68, 69 (1949)
- 12) 近藤, 森, 河合: 本誌 21 (1950) 印刷の予定

(1949年11月1日受理)