

海産動物に遍在するヒ素化合物アルセノベタインとその微生物分解

花岡 研一¹⁾・田川 昭治¹⁾・貝瀬 利一²⁾
(¹⁾水産大学校*, ²⁾神奈川県衛生研究所**)

Ubiquity of Arsenobetaine in Marine Animals and Degradation of Arsenobetaine by Sedimentary Micro-organisms

Ken-ichi HANAOKA¹⁾, Shoji TAGAWA¹⁾ and Toshikazu KAISE²⁾

¹⁾*Department of Food Science and Technology, Shimonoseki University of Fisheries*

²⁾*Kanagawa Prefectural Public Health Laboratories*

Arsenic compounds were extracted with chloroform/methanol/water from tissues of marine animals (four carnivores, five herbivores, five plankton feeders). The extracts were purified by cation and anion exchange chromatography. Arsenobetaine, dimethylarsinic acid, trimethylarsine oxide and arsenite, arsenate and methylarsonic acid as a group with the same retention time were identified by high-pressure liquid chromatography. Arsenobetaine found in all the animals was almost always the most abundant arsenic compound in the extracts. These results show that arsenobetaine is present in marine animals independently of their feeding habits and trophic levels.

Arsenobetaine-containing growth media (ZoBell 2216E; solution of inorganic salts) were mixed with coastal marine sediments as the source of micro-organisms. Arsenobetaine was converted in both media to trimethylarsine oxide and trimethylarsine oxide was converted to arsenite, arsenate or methylarsonic acid. The conversion rates in the inorganic medium were faster than in the ZoBell medium.

ヒ素は、海水中において非常に低い濃度で無機体（2～3 ppb, 主として V 価）として存在しているのに対し、海産動物には ppm のオーダーにまで濃縮されて存在している。Lunde¹⁾は、海産動物のヒ素について無機体と有機体とに分別定量し、その大部分は有機体として存在することを報告した。その後、この有機体のヒ素化合物として、Edmonds ら²⁾によりアルセノベタイン（AB）が最初に単離・同定されて以来、この化合物は多くの高次栄養段階生物から見い出されてきた。その結果、海水中の無機ヒ素はプランクトンあるいは藻類によって有機化・蓄積された後順次生化学的に変換され、最終的に AB と

*所在地：下関市吉見永田本町1944番地（〒759-65）

**所在地：横浜市旭区中尾町52番地の2（〒241）

して高次栄養段階生物に蓄積されるとの考えが一般的となった。

今回の研究では、上記の考え通り AB は高次栄養段階生物にのみ蓄積されているのかどうかについて、および、AB の微生物分解について検討した。

材料および方法

材料 海産動物としては、肉食性動物 4 種、草食性動物 5 種およびプランクトン食性動物 5 種を水産大学校裏海岸から採集して試料とした。その他、市販のマガキ（プランクトン食性、広島産）を -40°C に凍結保存しておいたものも試料とした。底泥としては、1987年 7 月および 12 月に、水産大学校前の海岸からこれを採集し、ただちに実験室に持ち帰り試料とした。

培地および培養条件 培地としては、基礎塩からなる培地 (PH7.5)³⁾ および 1/5ZoBell 2216E (1/5Z) を用いた。合成 AB ($(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$) 50mg および底泥約 1g を各培地 25ml に加えた後、 25°C で遮光下、80日間好氣的に振とうした。底泥を添加後、 120°C で 20分オートクレーブにかけたものもコントロールとして同様に振とうした。

ヒ素化合物の精製 水産大学校裏海岸から採集した海産動物については、それぞれ 10g から Folch の方法⁴⁾に準じて抽出された水溶性画分を水溶性ヒ素化合物画分とし、この画分において、まず Dowex 50W-X8 (H^+ 型、 $20\times 80\text{mm}$) から 1.5M アンモニア水で溶出され、次いで Dowex 1-X8 (OH^- 型、 $20\times 80\text{mm}$) から水で溶出された画分を 10ml に濃縮して部分精製物とした。一方、マガキについては、主要な水溶性ヒ素化合物について単離と同定を試みた。すなわち、従来、当研究室で行われている方法⁵⁾により剥き身約 1kg からこれを精製した。

結果および考察

海産動物におけるヒ素化合物⁶⁾ 各海産動物における部分精製されたヒ素化合物画分について、ODS カラムを用いて高速液体クロマトグラフィー (HPLC)⁷⁾を行った結果を Fig. 1 に示す。サザエ *Batillus cornutus* 筋肉を除いてすべての組織あるいは器官から AB が検出された。一方、マガキにおいては精製された主要な水溶性ヒ素化合物について機器分析を行った。このヒ素化合物の赤外吸収スペクトルは合成 AB のそれとほぼ一致した。合成 AB の FAB マススペクトルを測定した結果、基準ピークは $m/z = 179$ のピークであり、これは分子イオンピークに相当した。その他、分子イオンから CO_2 , ($\text{CO}_2 + \text{CH}_3$) の取れた $m/z = 135$, 120 のピークが認められた。マガキの主要な水溶性ヒ素化合物においてもこれらのピークが示され、この化合物を AB と同定した。今後は、マガキにおける AB 以外のヒ素化合物についての研究が望まれる。このプランクトン食性であるマガキでの知見を含めて、以上の結果から、AB は栄養段階に関係なく、海産動物一般に遍在しているものと結論した。

AB の微生物による分解^{3,6)} AB の海洋生態系における遍在が明らかになったので、次に、その微生物による分解について研究した。AB を添加した基礎塩培地および 1/5Z に対し 7 月に底泥を接種し、77 日間、常法により経日的に HPLC 分析を行った結果を Fig. 2 に示す。ここで、培養中に検出された 3 種のピークについては、コントロールに対する回収率で示した。基礎塩培地において AB は代謝物 1 (M-1,

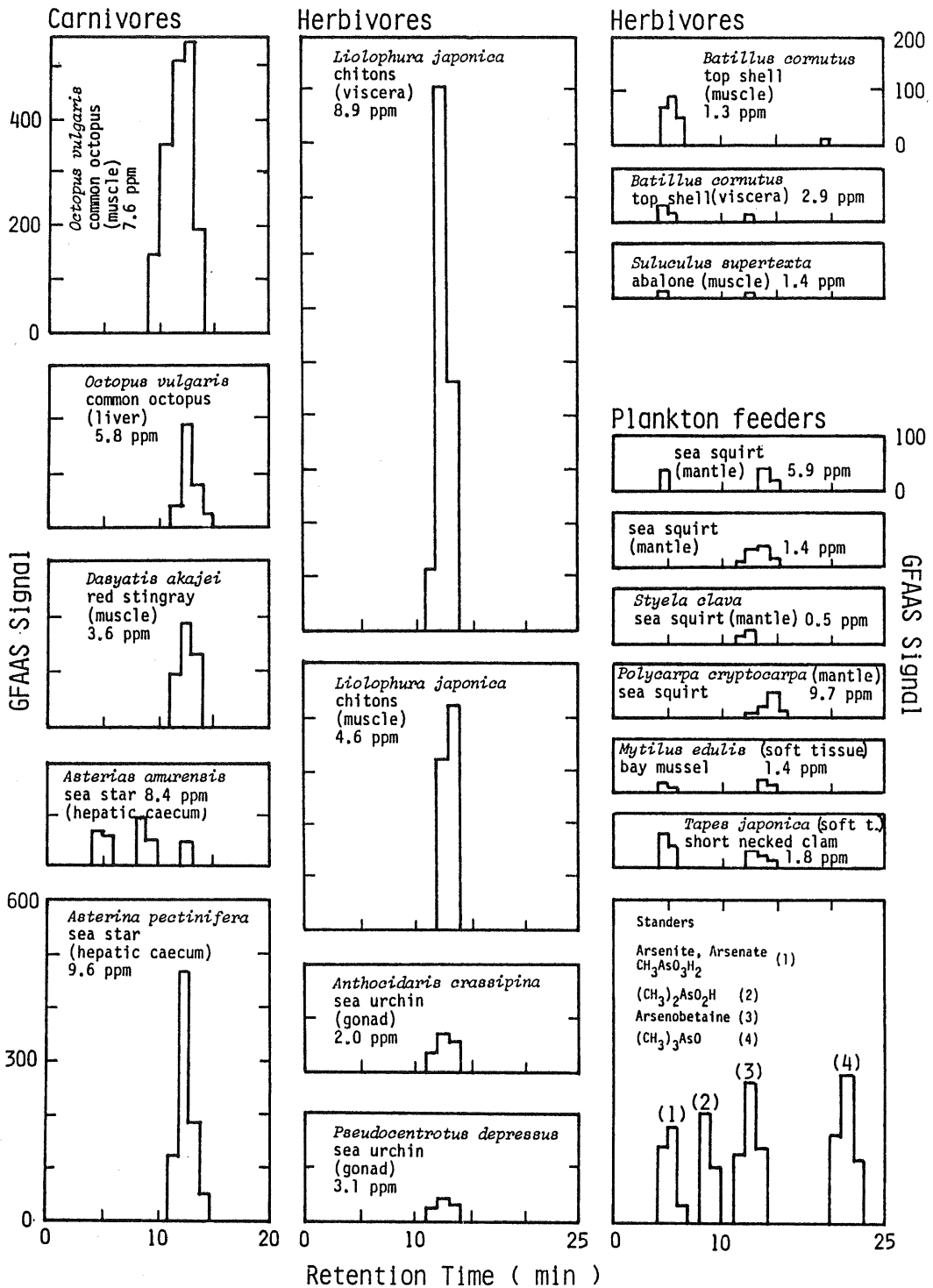


Fig.1. HPLC GFAA chromatograms of partially purified extracts from carnivores, herbivores and plankton-feeding marine animals with total arsenic concentrations (wet weight). For the standards, only their retention times are shown and the GFAA signal is on an arbitrary scale.

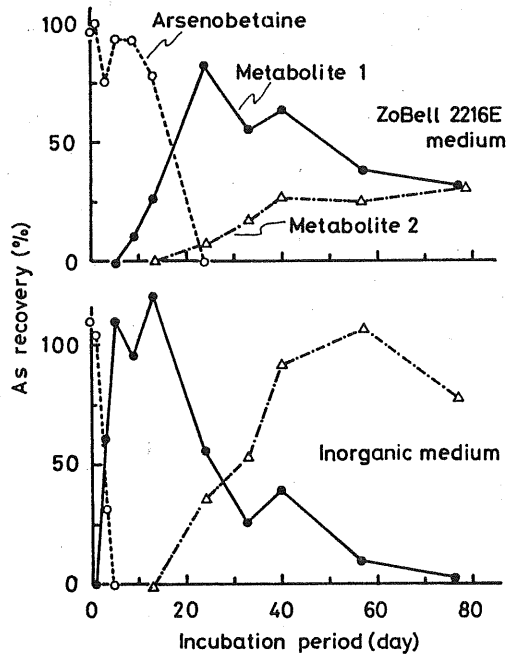


Fig.2. The microbial conversion of arsenobetaine to metabolite-1 and metabolite-2 in a ZoBell medium and an inorganic salt medium.

トリメチルアルシンオキシド (TMAO) の RT に検出), さらに代謝物 2 (M-2, 亜ヒ酸, ヒ酸, およびメタンアルソン酸の RT に検出, これら 3 種の化合物は今回の HPLC 条件では相互に分離されない) へと代謝され, 77 日では M-2 のみとなった。1/5Z においても同様のパターンが示されたが, この培地では, 変換はより遅かった。いっぽう, 12 月に採取した底泥の場合には (図は省略), 7 月の底泥の場合と異なり, 基礎塩培地では変換が非常に遅く, 他方, 1/5Z では M-2 を含めてヒ素化合物は 40 日以降ほとんど検出されなくなった。以上の結果から, AB の微生物による利用・変換が明らかとなったが, その変換パターンは炭素源の差異や微生物相の差異に大きく影響されることが示された。

AB から誘導されたヒ素化合物の同定^{6,8)} M-1 を Dowex 50W-X8 (ピリジニウム型) を用いて精製したものについて, ¹H および ¹³C-NMR スペクトル (D₂O, Bruker-AAM-400 型) を測定した結果, 前者では 1.79ppm, 後者では 17.28ppm にシグナルを示して合成 TMAO のスペクトルと一致した。FAB マススペクトル (日本電子(株)製, JEOL JMS・DX300 型マススペクトロメータ) を測定した結果, M-1 および合成 TMAO とともに基準ピークは m/z = 137 のピークであり, 分子イオンピークに相当した。この他にも (2M + H)⁺ に相当する m/z = 273 のピークも認められた (Fig. 3)。これらの測定結果から, M-1 は TMAO と同定された。

底泥中の微生物により最初に AB から誘導されるヒ素化合物は TMAO であり, 第二代謝物は HPLC 分析の結果から亜ヒ酸, ヒ酸あるいはメタンアルソン酸と推定された。これらのことから, 底泥中の微生物はまず AB のカルボキシメチル基を炭素源として利用して AB を TMAO へと変換し, その後 TMAO のメチル基を利用するようになると思われる。結論として, 海産動物には AB が遍在し, この

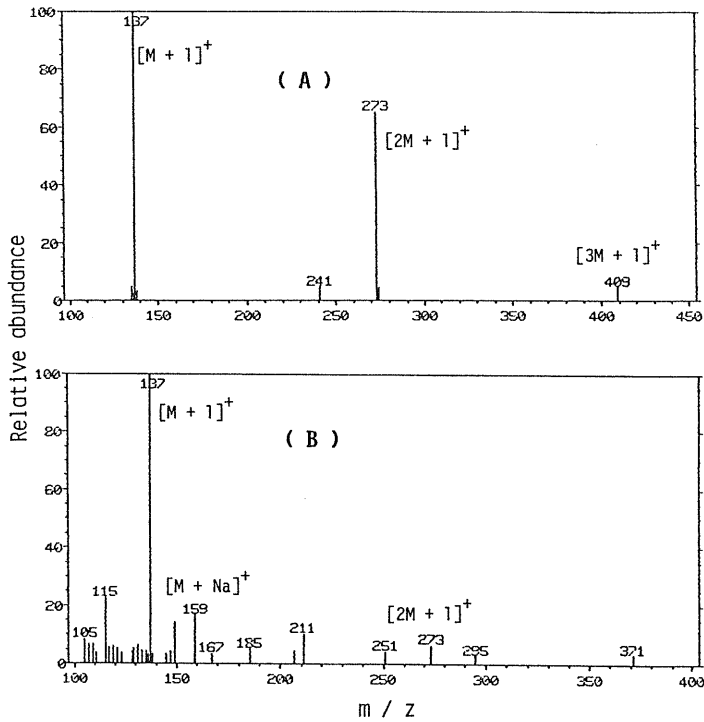


Fig. 3. FAB MS (Xe, 6KeV) of trimethylarsine oxide (A) and metabolite 1 (B).

ABは動物の死後、微生物により段階的に分解を受けると推定した。

謝 辞

マガキの研究に御協力いただきました日本クリニック株式会社に感謝申し上げます。

文 献

1. LUNDE, G. (1977) Environ. Health Perspectives 19 : 47
2. EDMONDS, J. S., K. A. FRANCESCONI, J. R. CANNON, C. L. RASTON, B. W. SKELTON and A. H. WHITE (1977) Tetrahedron Lett. 18 : 1543
3. HANAOKA, K., T. MATSUMOTO, S. TAGAWA and T. KAISE (1987) Chemosphere 16 : 2545
4. FOLCH, J., M. LEES and S. H. Sloane STANLEY (1957) J. Biol. Chem. 226 : 497
5. HANAOKA, K. and S. TAGAWA (1985) Nippon Suisan Gakkaishi 51 : 1203
6. HANAOKA, K., H. YAMAMOTO, K. KAWASHIMA, S. TAGAWA and T. KAISE (1988) Applied Organometallic Chemistry 2 : 371
7. STOCKTON, R. A. and K. J. IRGOLIC (1979) Environ. Anal. Chem. 6 : 313
8. KAISE, T., K. HANAOKA and S. TAGAWA (1987) Chemosphere 16 : 2551