

自然界におけるヒ素のスペシエーションと植物との相互作用

長谷川 浩*

1. はじめに

元素の化学的性質は化学種によって異なることから、自然界における微量元素の挙動を解明するためには、対象となる元素を化学種別に定量するスペシエーション (speciation) 分析が重要である。環境中における微量元素の濃度分布や季節変化、生物への影響 (毒性, 生理的役割, 生体内濃縮等) の研究において、スペシエーション (化学種組成) を明らかにすると、研究対象から得られる情報量が飛躍的に多くなる。特に、生物との関わりが大きい元素に関しては、スペシエーションと合わせて各化学種の bioavailability (バイオアベイラビリティ/生物可用性, 生物学的有効性) を求める必要がある。

自然界において、ヒ素は、酸化状態 (価数)、無機態・有機態、溶存態・コロイド態・粒子態など様々な化学形態で分布している。ヒ素の有機態は、ヒ素原子と炭素原子が安定な σ 結合を形成しており、自然環境でも寿命が長い。ヒ素は化学形態によって植物に対する生物学的有効性は異なるが、逆に、植物プランクトン等の代謝によって自然水中におけるヒ素の化学形態は変化する。本稿では、陸水中におけるヒ素の分布と存在形態を紹介するとともに、様々なスペシエーション分析によって明らかになりつつあるヒ素の化学種変化と水棲植物との相互作用について報告する。

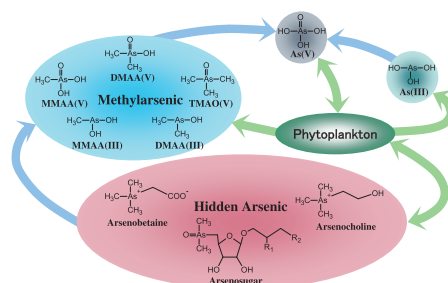


図1 自然水中におけるヒ素の化学種

2. 自然界におけるヒ素の化学種と生物への影響

自然水中で報告されているヒ素の主な溶存化学種を図1に示す¹⁾。多くの水域で、全ヒ素のほとんどの割合を無機ヒ素の酸素酸が占めている。酸素が十分に溶存する酸化的雰囲気下においては、主な溶存化学種は熱力学的に安定な5価無機ヒ素 (As(V)) であり、酸素が枯渇する還元的雰囲気下では、3価無機ヒ素 (As(III)) の割合が多くなる。無機ヒ素の5価から3価への還元は、植物プランクトン、微生物等の生物作用や硫化水素、メタンによる化学反応により進行する。有機ヒ素としては、3価及び5価のメチルヒ素が報告されており、生物活動が活発な水域においてメチルヒ素濃度は増加する。

ヒトを含む多くの生物種にとってヒ素は必須元素の一つである。一般に、水棲生物の方が陸上生物よりも高濃度のヒ素を含む傾向にある。水棲生物中のヒ素含有量は、乾燥重量あたり $100\mu\text{g/g}$ を越える場合も多いのに対し、ほとんどの陸上生物では $1\mu\text{g/g}$ 以下である。図2

*金沢大学理工研究域物質化学系教授

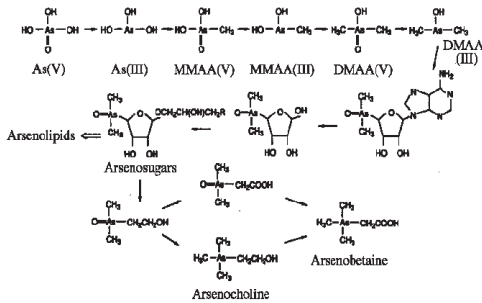


図2 生体内におけるヒ素の化学種

に、水棲生物中の主な有機ヒ素化合物の化学形と生合成経路を示す²⁾。水棲生物の生体内における主要な有機ヒ素化合物としては、5価メチルヒ素（モノメチルアルソン酸 (MMAA(V); $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$), ジメチルアルシン酸 (DMAA(V); $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$), ヒ素糖 (アルセノシュガー), アルセノベタイン, アルセノコリンが報告されている。アルセノベタインとアルセノコリンは、それぞれベタイン, コリンの N 原子が As 原子で置換された構造である。これらの化合物は水溶性であるが、藻類では疎水性のヒ素脂質類 (アルセノリピッド) も見出される。

ヒ素の毒性は、特に酸化数によって大きく変化する。3価と5価のヒ素化合物を比較すると、急性毒性は3価の方が圧倒的に強い。猛毒として有名な亜ヒ酸は、3価無機ヒ素の酸化物で、ヒトに対する致死量は約0.2gである。一方、環境中におけるヒ素汚染では、慢性毒性が発現したものが多く、5価ヒ素化合物の急性毒性はそれほど高くないが、3価、5価の価数に係わらず無機ヒ素をある濃度以上を長期間摂取し続けると慢性中毒の原因となる。また、ほとんどの有機ヒ素化合物は同じ価数の無機ヒ素化合物よりも毒性が低い。自然界に多く存在するメチルヒ素では、メチル化が進行してヒ素原子に配位したメチル基の数が多き化合物ほど毒性が低くなる。一方、ほ乳類に対する毒性の研究にお

いて、ヒ素による正常細胞の癌化、奇形誘発などの発現メカニズムでは、ヒ素の化学形態と生体内における化学変換過程が密接に関わっていることが解明されている。

3. 湖沼におけるヒ素のスペシエーション分布と季節変化

陸水中のヒ素濃度は、水源や周囲の環境に大きく影響される。湖沼におけるヒ素濃度は10 nM 以下であるが、ヒ素を多く含む土壌の影響を受けて100 μM に達することもある。環境水中におけるヒ素のスペシエーション分析には、コールドトラップを組み合わせた還元気化原子吸光法 (CT-HG-AAS) が用いられてきた。最近では、HPLC-ICP-MSの感度が向上しており、自然水中におけるヒ素のスペシエーション分析も可能になりつつあるが、現段階では信頼できるデータの報告は少ない。

湖沼における典型的なヒ素の鉛直分布として、琵琶湖北湖の雄松崎沖 (水深70m) における著者らの観測データを図3に示す^{3,4)}。温度躍層は水深20m付近に形成されている。底層水

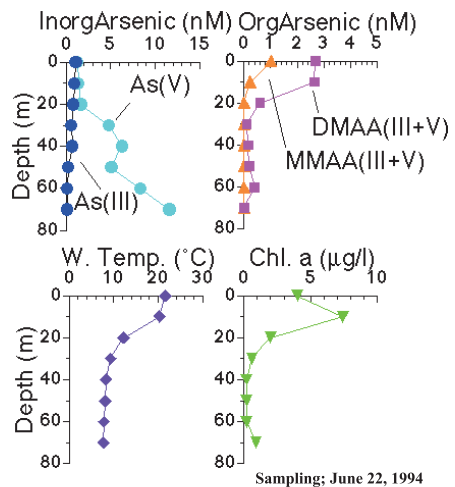


図3 琵琶湖北湖におけるヒ素スペシエーションの鉛直分布

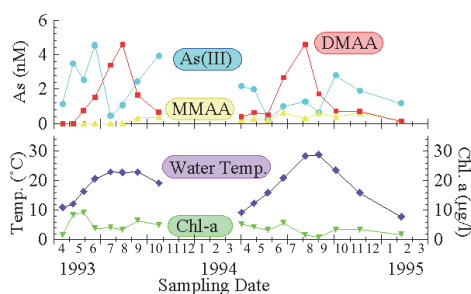


図4 琵琶湖北湖表層水中におけるヒ素スペシエーションの季節変化

では一年を通して主溶存種は As (V) であるが、表層水では夏季に As (V) が減少し As (III) およびメチルヒ素（特に DMAA (V)）が増加した。鉛直分布において、As (III) および DMAA (V) の濃度分布は、クロロフィル a と正の相関を示した。室内培養実験で琵琶湖から単離したミカヅキモ (*Closterium aciculare*) に As (V) を与えると、無菌培養中において As (III), DMAA (V) の順に変換された⁵⁾。琵琶湖表層水における As (III) および DMAA (V) の生成には、植物プランクトンの生物活動が関与している可能性が極めて高い。一方、同じ地点の表層水中におけるヒ素化学種の季節変化では、DMAA (V) は7-8月に、As (III) はその前後で濃度が極大になり、両者で異なる挙動が観測された (図4)³⁾。季節変化では、As (III) はクロロフィル a, DMAA (V) は水温と高い相関を示した。湖水中のメチルヒ素は、植物プランクトンから直接放出されるだけでなく、別の経路から生成している可能性がある。

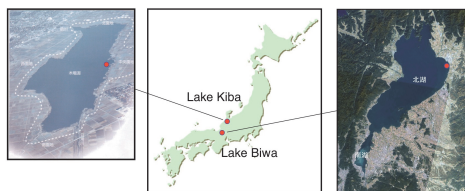
著者らは、表層水におけるメチルヒ素の生成経路として、高次有機ヒ素化合物からメチルヒ素への分解反応が重要であると発想した。As-C 結合形成の場とみなされている生体内では無機および単純なメチルヒ素の割合は少なく、ヒ

素糖、ヒ素脂質、アルセノコリン、アルセノベタイン等の化学種で存在する (図2)。従って、自然水中には、CT-HG-AAS で測定できる無機ヒ素、メチルヒ素 (図1) 以外に、高次の有機ヒ素化合物が“隠れたヒ素化学種” (hidden arsenic species) として存在する可能性がある。そこで、高次有機ヒ素化合物の濃度を測定するスペシエーション分析法として、高圧水銀ランプを用いた紫外線照射による有機ヒ素分解法、タンジェンシャルフロー限外ろ過を用いたサイズ分画法を開発した⁶⁾。本分析法において、高次有機ヒ素は、紫外線によって無機ヒ素、ジメチルヒ素に分解される画分、UV-As, UV-DMAA としてそれぞれ定量される。琵琶湖表層水に適用した結果、従来測定されてきた無機ヒ素、メチルヒ素濃度の和の10~150%に相当する隠れたヒ素化学種が存在することが分かった。次章で詳細を後述するが、琵琶湖表層水で夏季に増加したメチルヒ素は、水温の上昇から微生物による分解活動が活発になった結果、隠れた As 化学種から生成したと考えられる。

なお、琵琶湖におけるメチルヒ素の増加は、底層水においても酸素-無酸素境界面で観測された³⁾。従属栄養微生物によるメチルヒ素の直接生産とともに、表層からの沈降粒子に含まれる高次有機ヒ素化合物が亜嫌気性および嫌気性微生物の働きにより分解されてメチルヒ素が生成した可能性が考えられる。

4. 湖沼の富栄養化とヒ素のスペシエーション

自然水中においてヒ素のスペシエーション変化は、植物プランクトンやバクテリアなどの生物活動によって生じる。従って、湖沼においては、富栄養化の段階によってヒ素のスペシエーションに特徴が現れると考えられる。しかしながら、ヒ素のスペシエーション分布に関する報



	木場潟(富栄養湖)	琵琶湖北湖(中栄養湖)
As(V) (nM)	2.3-7.6	2.0-6.0
As(III) (nM)	N.D.-4.1	1.0-3.0
MMAA (nM)	N.D.	0.3-0.5
DMAA (nM)	N.D.-2.5	1.0-4.5
NO ₃ -N (μM)	0.4-57	<0.7-14
NH ₄ -N (μM)	0.3-19	<0.7-1.4
PO ₄ -P (μM)	0.1-0.3	<0.032
Chl-a (μg/L)	3.0-89	0.8-10

図5 中栄養湖(琵琶湖北湖)と富栄養湖(木場潟)におけるヒ素化学種及び栄養塩濃度の比較

告例をまとめると、富栄養化が進行して生物活動の多い湖沼でメチルヒ素の割合が少ない場合が意外に多い。一例として、著者らの観測データから、滋賀県琵琶湖北湖と石川県木場潟におけるヒ素化学種や栄養塩等の濃度範囲を図5に示す。中栄養湖である琵琶湖北湖と比較して、富栄養湖の木場潟では、クロロフィル濃度が著しく高いが、無機ヒ素に対するメチルヒ素の割合は明らかに低い。

生物生産性とメチルヒ素生成の傾向が相反するという矛盾は、高次有機ヒ素化合物の濃度分布を求めると解決することができた。高次有機ヒ素化合物を含めたヒ素のスペシエーション分布として、2006年7月に採水した琵琶湖及び木場潟表層水における観測データを図6に示

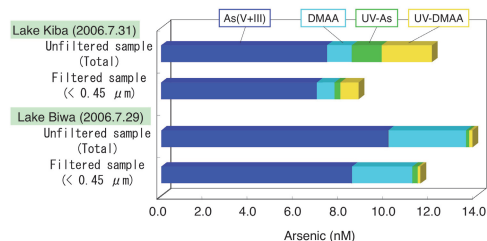


図6 琵琶湖と木場潟におけるヒ素のスペシエーション分布

す⁷⁾。従来のCT-HG-AASで分析できる無機ヒ素、メチルヒ素のみに着目すると、琵琶湖の方がヒ素の有機態は多くなる。しかしながら、木場潟では、メチルヒ素以外の有機態として高次有機ヒ素(UV-As, UV-DMAA)の割合が高い。中栄養湖の琵琶湖では、有機化の比較的初期の化合物であるメチルヒ素が増加し、富栄養湖の木場潟では、ヒ素の有機化が著しく進行した結果、高次有機ヒ素が増加したと考えられる。木場潟における季節変化では、UV-As, UV-DMAAの濃度は、冬季に減少し、5月から10月にかけて増加した。このように、ヒ素の有機態をメチルヒ素と高次有機ヒ素を合わせて評価すると、ヒ素のスペシエーション分布は、一次生産性の指標の一つであるクロロフィルaや富栄養度と一致する傾向を示した。

そこで、北陸地区を中心に、石川県、福井県、長野県、滋賀県から18の湖沼を選定し、湖沼の富栄養化とヒ素のスペシエーション分布を夏季と冬季において調査した⁸⁾。湖沼の富栄養度については、OECDの区分に基づいて、クロロフィルaとリン酸濃度から、貧栄養湖、中栄養湖、富栄養湖に分類した(図7)。各湖沼の表層水におけるヒ素のスペシエーション分布(図8)では、夏季にメチルヒ素や高次有機ヒ素の割合が増加し、冬季に無機ヒ素の割合が増加した。琵琶湖、諏訪湖、河北潟等の一部の湖

区分	年平均全リン(μmol/l)	年平均クロロフィル-a(μg/l)
貧栄養湖	≤ 0.32	≤ 2.5
中栄養湖	0.32 ~ 1.13	2.5 ~ 8
富栄養湖	1.13 ≤	8 ≤

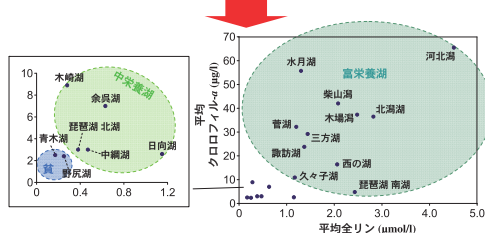


図7 湖沼における富栄養度の分類

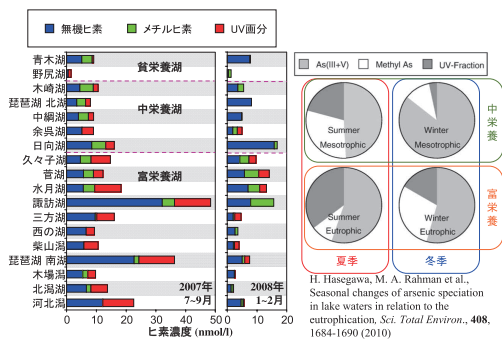


図8 湖沼の富栄養度とヒ素の化学種組成

沼で夏季に全ヒ素の濃度が著しく高くなるのは、堆積物直上における無酸素層の形成により堆積物から大量のヒ素が溶出することが原因と考えられる。

湖沼における生物活動の程度は、異なる湖沼を比較する場合は富栄養度に概ね比例し、同じ湖沼では夏季に高くなり冬季に低くなる。そこで、試料数の少ない貧栄養湖を除く16湖沼における無機ヒ素、メチルヒ素、UV画分(UV-As+UV-DMAA)の割合に関して、湖沼における生物活動を4つのケース(富栄養湖夏季、富栄養湖冬季、中栄養湖夏季、中栄養湖冬季)に分類して円グラフにまとめた(図8)。ヒ素のスペシエーション分布は、最も生物生産性の高い富栄養湖夏季に高次有機ヒ素に相当するUV画分が多くなり、次に生物生産性の高い富栄養湖冬季及び中栄養湖夏季にUV画分よりもメチルヒ素の割合が増加し、最も生物生産性の低い中栄養湖冬季に有機ヒ素よりも無機ヒ素が優先する傾向に分かれた。以上のように、高次有機ヒ素、メチルヒ素、無機ヒ素の割合を指標とすると、湖沼におけるヒ素のスペシエーション分布と富栄養度や生物活動は良く一致することが明らかになった。

5. 水棲植物に対するヒ素化学種の生物学的有効性

十数年前より、バングラデシュにおいて深刻なヒ素汚染が問題となっている。バングラデシュにおいて、国土の大半は数え切れないほどの河川が流れる平地であり、大小さまざまな湖沼が点在している。バングラデシュの人口密度は高く下水道普及率は低いことから、多くの湖沼で富栄養化が進行している。国際的なヒ素の環境基準を超える汚染区域に数千万人レベルの人々が生活しており、水源となる湖沼でヒ素濃度が高い。湖沼において、水棲生物中のヒ素濃度は周囲の水に比べて高く、無機ヒ素を $10^2\sim 10^3$ 倍ほど生体濃縮される例が報告されている。幸いなことに、食物連鎖を経由してヒ素が生体に濃縮される程度は低く、むしろ高次の消費者ほどヒ素の含有濃度を下げる場合が多い。

著者らの研究グループでは、バングラデシュにおいて高濃度のヒ素を吸収する株を被子植物に属する水棲植物から探索するとともに、特に、スペシエーションの観点から無機及び有機ヒ素の主要化学種に対する生物学的有効性についてヒ素の化学形態別分析を行って評価した^{9,10}。図9にバングラデシュの水棲植物から見つけ出したヒ素の高集積植物、ウキクサ(*Spirodela polyrhiza* L.)、サンショウモ(*Salvinia natans* L.)に対してAs(V)を与えた際の吸収挙動を示す。As(V)の吸収量は、培養液中におけるAs(V)/リン酸イオン比によって影響を

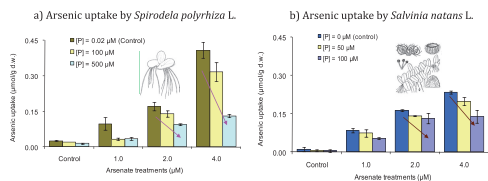


図9 水棲植物のAs(V)取り込み量に及ぼすリン酸イオンの影響

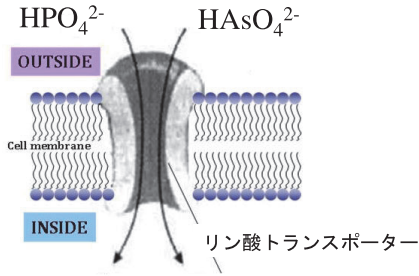
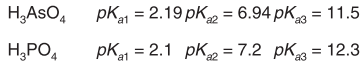


図10 リン酸トランスポーターを経由したAs(V)とリン酸イオンの取り込み過程

受け、リン酸イオンの割合が低くなるとヒ素吸収量は増加した。このような現象は、湖沼中植物プランクトンのヒ素の取り込み挙動において報告されてきた傾向と一致する。水溶液中においてAs(V)の化学的性質（化学形、電荷等）はリン酸イオンと類似するため、As(V)とリン酸イオンの生体内への取り込みは拮抗すると考えられている（図10）¹¹。すなわち、細胞内へのリンとヒ素の取り込みは、リン酸トランスポーターが担っており、周囲のリン酸イオン濃度が高いとAs(V)の取り込み量が減少し、逆に、As(V)濃度が高いとリン酸イオンの取り込み量が減少する。更に、著者らの研究グループでは、As(V)の取り込みが培地中における鉄濃度と相関することを明らかにした¹²。水棲植物の根の細胞内外におけるヒ素、リン、鉄のスペシエーション分布を化学的分画法により解析した結果、根細胞のリン酸トランスポーターに加えて、根細胞表面に形成された鉄酸化物粒子（iron plaque）におけるヒ素やリンのイオン交換や濃縮の過程がヒ素の取り込みに複雑に影響することが分かった。

一方、植物に対するメチルヒ素の生物学的有効性は、無機ヒ素とは大きく異なる傾向を示し

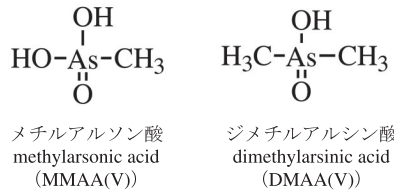
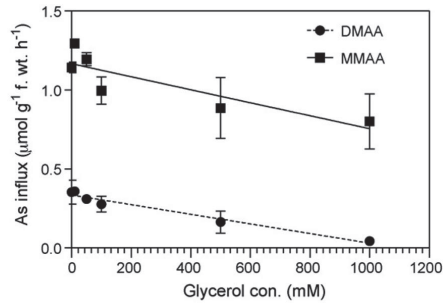


図11 メチルヒ素の取り込み量に及ぼすグリセロールの影響

た。上記の水棲植物やイネを用いた室内培養実験において、DMAA(V)、MMAA(V)の取り込み量はAs(V)と比較して一桁低くなった。一方、メチルヒ素の細胞内への取り込みにおいて、リン酸イオンや鉄イオンが共存してもほとんど影響しなかったが、イオンチャネルのアクアポリンを利用するグリセロールと拮抗した（図11）¹³。細胞内外におけるヒ素化学種の輸送を担うイオンチャネルは、As(V)がリン酸トランスポーターであるに対して、メチルヒ素はアクアグリセロポリンであると考えられる。以上より、As(V)とメチルヒ素の取り込み経路はトランスポーターのレベルで異なることを明らかにした。

6. おわりに

本稿では、湖沼水中におけるヒ素のスペシエーションと生態系との相互作用に関して、著者らの研究を中心に紹介した。同じ元素でも化学形により化学的性質が変化することは実験室の化学では基本中の基本であるが、自然

界における微量元素の研究では化学種に関する情報は明確に説明されないことが多いと感じている。自然界には多くの物質が存在しており、微量元素の存在する系が複雑すぎるのが原因としてよく指摘されている。本稿で取り扱ったヒ素の挙動に関しても、化学的な反応だけでなく、地球科学、生物学など複数の分野に関わる課題が含まれるため、一つの専門分野に自らを特化することが多い研究者には関心が向かない研究対象とも考えられる。

著者自身は、現段階のスペシエーション分析に求められるのは特定の要素に特化したハイテク技術ではなく複数の分野にわたるローテク技術の塊^{かたまり}と割り切って研究を進めている。例えば、ヒ素の bioavailability (生物学的有効性) に関しては、地球化学分野では自然水中における化学種分布や物質循環に関する研究が伝統的に続けられており、生物化学分野ではミクロな視点からの先端研究として細胞膜におけるイオンチャネルやトランスポーター等の膜透過システムの研究が華やかである。しかし、自然界におけるヒ素化学種の影響を評価するためには、双方の研究に十分に対応した上で、これらの知見をつなぐために細胞近傍における化学反応の解明に泥臭く取り組み、明確に説明しなくてはならない。化学反応や生物としては決して最先端の課題ではないが、スペシエーション研究の進展にはこのような課題に時間をかけて取り組む研究者がいても良いのではないかと考えている。

また、更に大きく環境分野における微量元素研究の未来像を考えると、環境を解明する化学から環境を改善・修復する化学へ展開することが必要になるかもしれない。ひとたび社会を揺るがす環境問題が起きた場合、教育論と同じく環境論に関しては、誰もが専門家でも誰もが素人である。環境に取り組む化学者として、100年

後の評価に耐えることができる取り組みを進めて新しい学問分野を開拓することが一つの目標である。

参考文献

- 1) M.A. Rahman, H. Hasegawa, Arsenic in freshwater systems: Influence of eutrophication on occurrence, distribution, speciation, and bioaccumulation, *Applied Geochemistry*, **27**, 304-314 (2012).
- 2) J.S. Edmonds, K.A. Francesconi, Arsenic and marine organisms. *Adv. Inorg. Chem.*, **44**, 147-189 (1997).
- 3) H. Hasegawa, The behavior of trivalent and pentavalent methylarsenicals in Lake Biwa. *Appl. Organomet. Chem.*, **11**, 305-311 (1997).
- 4) Y. Sohrin, M. Matsui, M. Kawashima, M. Hojo, H. Hasegawa, Arsenic biogeochemistry affected by eutrophication in Lake Biwa, Japan. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 2712-2720, (1997).
- 5) H. Hasegawa, Y. Sohrin, K. Seki, M. Sato, K. Naito, K. Norisue, M. Matsui, Biosynthesis and release of methylarsenic compounds during the growth of freshwater algae. *Chemosphere*, **43**, 265-272 (2001).
- 6) H. Hasegawa, M. Matsui, S. Okamura, M. Hojo, N. Iwasaki, Y. Sohrin, Arsenic speciation including 'hidden' arsenic in natural waters. *Appl. Organomet. Chem.*, **13**, 113-119 (1999).
- 7) H. Hasegawa, M.A. Rahman, T. Matsuda, T. Kitahara, T. Maki, K. Ueda, Effect of eutrophication on the distribution of arsenic species in eutrophic and

- mesotrophic lakes. *Sci. Total Environ.*, **407**, 1418-1425 (2009).
- 8) H. Hasegawa, M.A. Rahman, K. Kitahara, M. Mae, H. Tada, T. Maki, K. Ueda, Seasonal changes of arsenic speciation in lake waters in relation to the eutrophication. *Sci. Total Environ.*, **408**, 1684-1690 (2010).
- 9) M.A. Rahman, H. Hasegawa, K. Ueda, T. Maki, C. Okumura, M.M. Rahman, Arsenic accumulation in duckweed (*Spirodela polyrhiza* L.): A good option for phytoremediation. *Chemosphere*, **69**, 493-499 (2007).
- 10) M.A. Rahman, H. Hasegawa, K. Ueda, T. Maki, M.M. Rahman, Influence of phosphate and iron ions in selective uptake of arsenic species by water fern (*Salvinia natans* L.). *Chemical Engineering Journal*, **145**, 179-184 (2008).
- 11) M.A. Rahman, H. Hasegawa, Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes, *Chemosphere*, **83**, 633-646 (2011).
- 12) M.A. Rahman, K. Kadohashi, T. Maki, H. Hasegawa, Transport of DMAA and MMAA into rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Environmental and Experimental Botany*, **72**, 41-46,(2011).