HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	海洋細菌によるアミノ酸からの尿素の生成量の見積り
Author(s)	米田, 義昭; 松永, 勝彦; 西村, 雅吉
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 23(4), 185-190
Issue Date	1973-05
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23482
Type	bulletin (article)
File Information	23(4)_P185-190.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
23(4), 185–190. 1973.

海洋細菌によるアミノ酸からの尿素の生成量の見積り

米田義昭*・松永勝彦**・西村雅吉**

Estimation of Urea Production from Amino Acid in the Ocean by Marine Bacteria

Yoshiaki MAITA*, Katsuhiko MATSUNAGA** and Masakichi NISHIMURA**

Abstract

It is known that urea is produced from arginine by the action of some bacteria. The authors tried to estimate the production rate of urea from arginine in sea water, and to know what is the main source of urea in the ocean.

The decomposition of arginine is considered as follows:

$$\begin{tikzcd} \text{Arginine} \arrow[r, "k_1"] \arrow[rr, bend right, "k_3"'] & \text{Urea} \arrow[r, "k_2"] & \text{Ammonia} \end{tikzcd}$$

, where k denotes a decomposition rate constant.

The decomposition rate constants of arginine (k_1+k_3) and urea (k_2) were experimentally determined by using arginine added to sea waters taken at the coast of Hakodate and Mutsu Bay, and the production rate constant (k_1) of urea was calculated from the following equation:

$$[Ur] = -\frac{k_1}{k_2-(k_1+k_3)} \cdot [Ar]_0 [\exp\{-(k_1+k_3)t\} - \exp(-k_2 t)] + [Ur]_0 \exp(-k_2 t),$$

where $[Ar]_0$ and $[Ur]_0$ denote the initial concentrations of arginine and urea, and $[Ur]$ the concentration of urea after t days. The mean value of k_1 of both sample waters was 0.013/day.

The possible amount of urea supplied in the ocean was estimated. (a) Production of urea from arginine: By using the production rate constant of urea (k_1) and the available data of arginine concentration in sea water, the supply of urea from the arginine was calculated to be 1.5×10^{21} μg urea-N/yr. (b) Release of urea contained in dead fish: 1.2×10^{18} μg urea-N/yr. (c) Excretion from aquatic animals: 2.5×10^{17} μg urea-N/yr. (d) Supply by human activities: 4.6×10^{18} μg urea-N/yr.

Judging from these estimations, it is very likely that arginine in sea water is the main source of urea.

緒　　言

海水中の尿素は Newell ら[1], McCarthy[2][3], 三田村[4], 佐々田・多賀[5], Remsen[6], によって報告され, 尿素の海洋における分布が次第に明らかになってきた。

海洋における尿素の起源としては, 有機窒素化合物の海洋細菌による分解, 水棲動物による排泄,

* 北海道大学水産学部海洋化学講座
(*Laboratory of Marine Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)
** 北海道大学水産学部分析化学講座
(*Laboratory of Analytical Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

その死後の分解に伴う尿素の放出，人類活動によるし尿，尿素肥料などが考えられる。このうち，し尿，尿素肥料については，河川水において高濃度の尿素が検出される[7]ことがあるので，局地的に，たとえば沿岸水，湾内で高濃度の尿素が検出されることは[8]人類活動によるものと推定される。

一般に，蛋白質が細菌によって分解され，尿素が分解物の一つとして生成することは，Ripel-Baldes[9]などによって報告されており，海洋においても尿素の生成に細菌が関与するであろうことは当然考えられているが，著者らもアルギニンを加えた人工海水に海洋細菌 *Pseudomonas* sp. を加えてインキュベートすることにより，尿素が生成することを確めた。

この事実から，著者らはアルギニンを添加した天然海水を用いて，アルギニンからの尿素の生成速度ならびに尿素の分解速度を実験的に求め，海洋の尿素の起源について考察を試みた。

実 験 方 法

アルギニンから尿素の生成速度ならびに尿素の分解速度

天然状態下での尿素の生成速度ならびに分解速度を求めるために，函館沿岸と陸奥湾の海水を用い，海水 1l に 0.1mM になるようにアルギニン，ならびに尿素を別々に添加し，20°C の暗所でインキュベートした。一定時間毎に 50ml を取り出し，直ちにあらかじめ洗浄した HA 型ミリポアフイルターで濾過し，濾液についてアルギニン添加の実験についてはアルギニンと尿素を，尿素添加の実験については尿素を定量した。

分析法

尿素：Newell ら[1]の改良法[10]。

アルギニン：坂口法[11]。

なお，Newell ら[1]の方法による尿素の定量法ではアミノ酸の一種であるシトルリンも発色するが，本実験においても，また天然海水においてもシトルリンの存在は認められなかった[12]。

結果ならびに考察

実験結果

海洋における尿素の生成と消費については Fig. 1 の経路が考えられる。

アルギニン，尿素の分解実験結果を Fig. 2, 3 に示すが，いずれも 1 次反応とみなされ，それらの直線の勾配からアルギニンの分解速度定数 (k_1+k_3) ならびに尿素の分解速度定数 (k_2) を求めた。

アルギニンに由来する尿素濃度の時間変化は (1) 式で表わされる。

$$d[Ur]/dt = k_1[Ar]-k_2[Ur] \qquad (1)$$

ここで k_1, k_2, $[Ur]$, $[Ar]$ はそれぞれ尿素の生成速度定数，分解速度定数，尿素ならびにアルギニンのモル濃度である。(1) 式の解は初期条件 $t=0$ で $[Ar]=[Ar]_0$, $[Ur]=[Ur]_0$ とおいて $[Ar]$ に $[Ar]_0\exp[-(k_1+k_3)t]$ を代入すれば，t 時間後の尿素は (2) 式で与えられる。

$$[Ur]=\frac{k_1}{k_2-(k_1+k_3)}\cdot[Ar]_0[\exp\{-(k_1+k_3)t\}-\exp(-k_2t)]+[Ur]_0\exp(-k_2t) \qquad (2)$$

尿素の生成速度定数 k_1 は，実験で求めた t 時間後の $[Ur]$, k_1+k_3, k_2 ならびにアルギニンの添加量 $[Ar]_0=0.1$mM を (2) 式に代入することにより求められる。アルギニンの分解実験で生成した尿素の測定値を Table 1 に，実験ならびに計算で求めた k_1+k_3, k_2, k_1 の値を Table 2 に示す。

海洋における尿素の供給量についての考察

(a) アルギニンからの供給量：海水中の溶存アルギニンの測定値は Chau & Riley[13], Siegel & Degens[14], Starikova & Korzhikova[15] によって報告されているにすぎない。ここでは Starikova & Korzhicova による黒海での値，0.01μM を除いて，前二者による値，0.05μM を用いる。海水中の

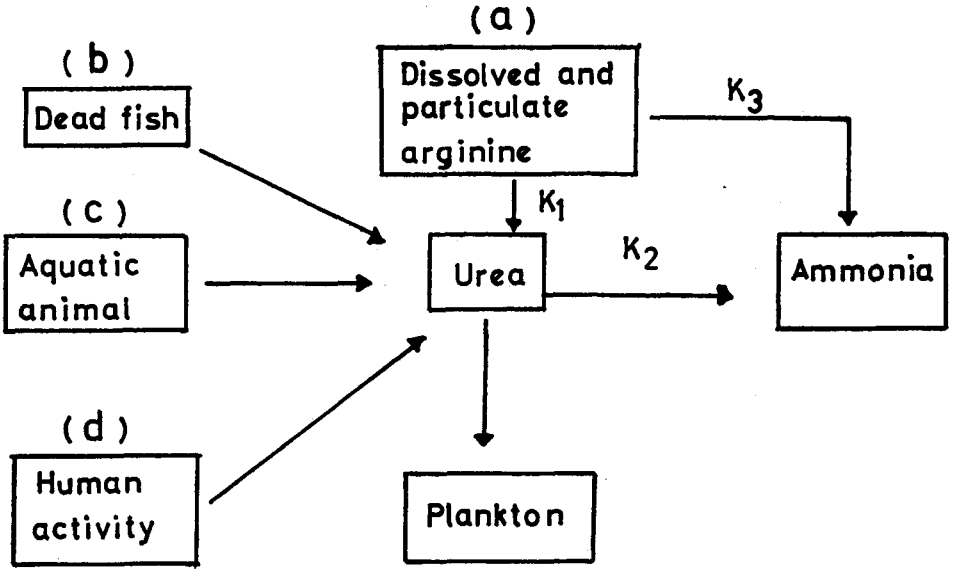

Fig. 1. Production and consumption of urea in sea water. k denotes a decomposition rate constant.

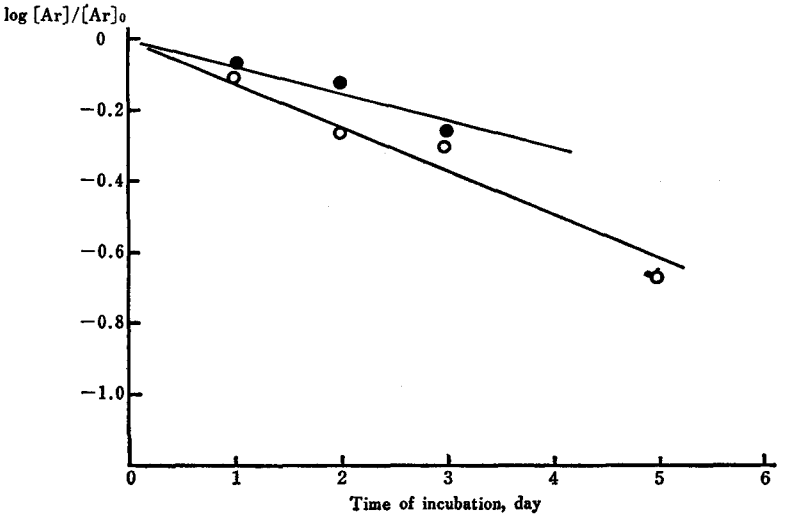

Fig. 2. Decomposition of arginine added in the sea water samples taken at the coast of Hakodate and Mutsu Bay.
○ Hakodate: ● Mutsu Bay

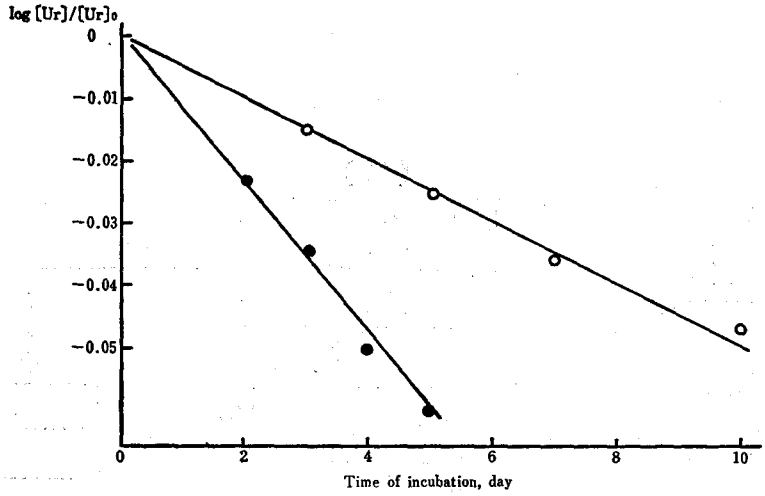

Fig. 3. Decomposition of urea added in the sea water samples taken at the coast of Hakodate and Mutsu Bay.
○ Hakodate: ● Mutsu Bay

Table 1. *Concentration of urea produced by decomposition of arginine in sea water samples taken at the coast of Hakodate and Mutsu Bay.*

Time of incubation (day)	Urea found (μM)	
	Hakodate	Mutsu Bay
1	1.0	1.6
2	1.7	2.9
3	—	4.2
5	3.1	—

Table 2. *Production rate constant of urea and decomposition rate constants of urea and arginine in sea water taken at the coast of Hakodate and Mutsu Bay.*

Rate constant	Hakodate	Mutsu Bay
k_1+k_3	0.053	0.033
k_2	0.0022	0.0050
k_1	0.011, 0.0089	0.017, 0.015
	0.0071	0.016
Mean value of k_1	0.0090	0.015
Mean value of k_1 at both stations	0.013	

アルギニンは定常状態で存在するとし，$k_1=0.013$/day，全海水量 $1.4\times10^{21}l$ を用いれば，全海洋での年間の供給量は $9.2\times10^{21}\mu$g urea-N/yr となる。バクテリアによるアミノ酸の同化分解速度に及ぼす温度の影響について，20°C から 5°C への温度変化によって，その速度は 1/3〜1/6 に減少するとの報告がある[16]。本実験で求めた k_1 の値が，海水の平均水温 5°C では 1/6 に減少するとすれば，年

間の供給量は $1.5\times10^{21}\mu g$ urea-N/yr となる。

(b) 魚類の死後の分解による含有尿素の放出量：魚類は年間で 2.4×10^{8} トン生産されるが[17]，死量も同量とし，含有尿素態窒素量を大石[18]を参考にして 0.5% と見積れば，供給量は $1.2\times10^{8}\mu g$ urea-N/yr となる。

(c) 水棲動物による尿素の排泄量：海棲魚類の排泄尿量 20 ml/kg/day[19]，尿中の尿素態窒素濃度を 5ppm[20] とすれば，排泄尿中の尿素態窒素量は 0.1mg/kg/day となる。全魚類の現存量については明らかではないが，1970 年の全漁獲量 7×10^{7} トン[21] の 100 倍を現存量とすれば，排泄尿素態窒素は $2.5\times10^{17}\mu g$ urea-N/yr となる。

(d) 人類活動に伴う尿素の供給量：し尿，尿素肥料によるもので，主に河川水を通して海洋へ供給されると考えられる。河川水の濃度を大きく見積って 100μg urea-N/l とすれば[7]，年間海洋に流入する河川水量[22] は $4.6\times10^{16}l$ であるから，$4.6\times10^{18}\mu g$ urea-N/yr となる。

なお，本実験では沿岸の海水を用いたが，函館，陸奥湾の海水はともに沿岸水による影響をほとんどうけない津軽暖流水であり，本実験値を全海洋に適用しても大幅な変動はないものと推定される。

以上の見積りのように，海洋中の尿素の生成は細菌によって海水中のアルギニンから生成したものが主なるものであると考えられる。

本研究にあたり，魚類の生産量などについて本学部辻田時美教授に御助言を，また海洋細菌の純粋培養について本学部信濃晴夫助教授の御指導をいただいた。ここに深く謝意を表わす。

文　　献

1) Newell, B.S., Morgen, B. and Cundy, J. (1967): The determination of urea in sea water. *J. Mar. Res.*, **25**, 201–202.
2) McCarthy, J.J. (1970): A urease method for urea in sea water. *Limnol. Ocean.*, **15**, 309–313.
3) McCarthy, J.J. (1972): The uptake of urea by natural populations of marine phytoplankton. *Ibid*, **17**, 732–748.
4) 三田村緒佐武 (1971): 海水中の尿素の存在量，海洋学会 46 年度春季大会講演要旨集，p. 82.
5) 佐々田憲・多賀信夫 (1971): 海洋における尿素ならびに尿素分解菌の分布．同誌，p. 99.
6) Remsen, C.C. (1971): The distribution of urea in coastal and oceanic waters. *Limnol. Ocean.*, **16**, 732–740.
7) 松永勝彦・小西繁樹・工藤隆士 (1973): 化学的手段によるし尿汚染の判別．投稿準備中.
8) 佐藤泰哲・半谷高久 (1971): 天然水中の尿素について．1971 年度地球化学討論会講演要旨集，p. 15c 113.
9) Rippel-Baldes, A. (1965): The dissolved organic constituents of sea water, p. 433–475. In Riley, J.P. and Skirrow, C. (ed.), *Chemical Oceanography*. Academic Press, New York.
10) 松永勝彦・西村雅吉 (1972): 水中尿素定量法の改良法の検討．分析化学，**21**, 1387–1389.
11) Sakaguchi, S. (1925): Über eine neue Farbenreaktion von Protein und Arginin. *J. Biochem*, **5**, 25–31.
12) 米田義昭・松永勝彦・西村雅吉 (1972): アルギニン分解生成物中の尿素ならびに関連物質．海洋学会昭和 47 年度秋季大会講演要旨集，p. 151.
13) Chau, Y.K. and Riley, J.P. (1966): The determination of amino-acides in sea water. *Deep-Sea Res.*, **13**, 1115–1124.
14) Siegel, A. and Degens, E.T. (1966): Concentration of dissolved amino acid from saline waters by ligand-exchange chromatography. *Science*, **151**, 1098–1101.
15) Starikova, N.D. and Korzhikova, R.I. (1969): Amino acide in the black sea. *Oceanology*, **9**, 509–518.

16) Maita, Y., Yanada, M. and Rikuta, A. (1973): Factors of the assimilation of dissolved amino acids by marine bacteria. in preparation.
17) Ryther, J.H. (1965): Photosynthesis and fish product in the sea. *Science*, **166**, 72–76.
18) 大石圭一 (1968): 魚介肉のエキス成分. *New Food Industry*, **10**, No. 12, 1–12.
19) Wood, J.D. (1958): Nitrogenous excretion in some marine teleosts. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 1237–1240.
20) 出口吉昭 (1970): 水質, p. 272–278. 川本信之編集, 魚類生理. 恒星社厚生閣, 東京.
21) 水産年鑑編集委員会 (1972): 水産年鑑, 502 p. 水産社, 東京.
22) 山本荘毅 (1968): 陸水の循環, p. 56–64. 地球科学講座第9巻, 陸水. 共立出版, 東京.