

硝酸塩中毒の栄養学的防除に関する研究

高橋潤一

畜産管理学科家畜生産管理学講座

1. 目 的

L-システインには反芻家畜の硝酸塩-亜硝酸塩中毒に対する顕著な制御効果が認められる¹⁻⁶⁾。本研究は、L-システインと化学的に類似構造を持つ幾何異性体およびラセミ体を含むL-システイン関連化合物の硝酸塩還元阻害効果を明らかにする目的でin-vitroで検討を行った。さらに硝酸塩の亜急性中毒症に対するL-システインの改善効果についてもガス代謝の面から検討を加えた。

2. 方 法

In-vitro：ルーメンフィスチュラ装着去勢羊（サフォークダウン種）3頭供試し、アルファルファキューブで維持した（54 g 乾物 $\text{kg}^{-0.75}$ 体重 \cdot 日 $^{-1}$ ）。3頭より嫌氣的に採取混合したルーメン液のナイロン布濾液をイノキュラムとし、4倍容の人工唾液と混合して培養液とした。カゼイン添加区を正の対照区、20 mM 硝酸塩区を負の対照区として20 mM 硝酸塩+10 mM L-システイン、20 mM 硝酸塩+10 mM L-システイン塩酸塩、20 mM 硝酸塩+10 mM D-システイン、20 mM 硝酸塩+10 mM DL-システイン、20 mM 硝酸塩+5 mM L-システインおよび20 mM 硝酸塩+フェザーミールの6添加処理区を設定した。共通の基質として、10 mM グルコースと40 mM 乳酸塩を添加し、24時間の嫌気培養試験を1処理区について5反復実施した。培養終了後、培養液中の硝酸塩および亜硝酸塩濃度を測定し、硝酸塩還元量および亜硝酸塩生成量について処理間の比較を行った。

In-vivo：ルーメンフィスチュラ装着去勢羊（サフォークダウン種）4頭供試し、アルファルファキューブで維持した（乾物 54 g \cdot kg $^{-0.75}$ 体重 \cdot 日 $^{-1}$ ）。硝酸塩区、硝酸塩+L-システイン（1/2）区、硝酸塩+L-システイン（1/4）区および無添加区の4区について4 \times 4ラテン方格法による代謝試験を実施した。試験実施日には硝酸塩投与全区に硝酸ナトリウム水溶液のスプレー散布によって調製した硝酸塩添加アルファルファキューブ（乾物中0.18%（W/W）NO₃-N）を給与した（維持量/2）。またL-システインは、イオウ当量で日許容量を上限値として算出した。L-システイン（1/2）区および（1/4）区では許容量の1/2量および1/4量を日投与量として設定し、各半量を一回分として硝酸塩添加アルファルファキューブに添加し、給与した。各試験期について一週間の予備飼育期間経過後に開放式フード法によるガス代謝試験を実施した。ガス代謝試験と並行してルーメンフィスチュラおよび頸静脈穿刺によりルーメン液および血液を経時的に採取し、硝酸塩、亜硝酸塩およびメトヘモグロビン濃度を測定した。

3. 結 果

In-vitro：図1に示すように、L-システインとL-システインの幾何異性体および関連化合物のいずれにも、硝酸塩還元を有意に ($P < 0.05$) 抑制する効果が認められた。その結果、図2に示すとおり、L-システインとL-システインの異性体および塩酸塩の添加区では、24時間培養後の培養液中に亜硝酸塩は検知されなかった。しかし、L-シスチンおよびフェザーミール添加区は高い亜硝酸塩の蓄積を示した。

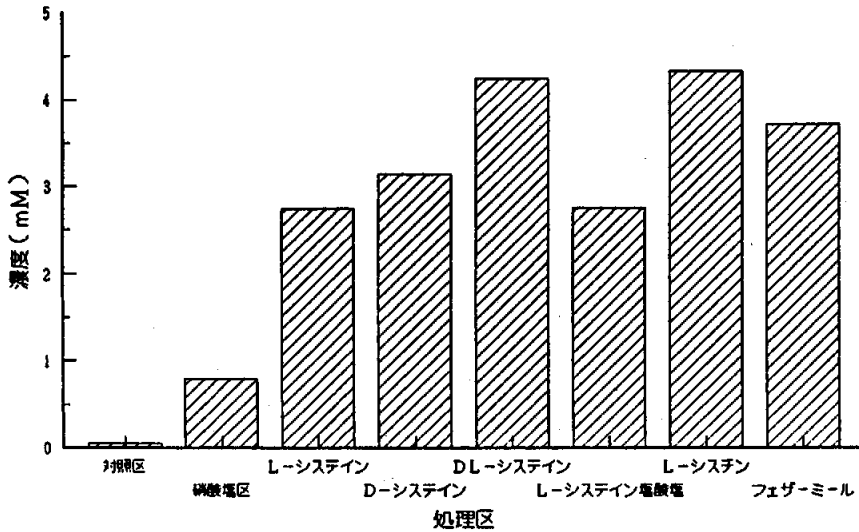


図1. In-vitro 硝酸塩濃度に及ぼす硝酸塩とL-システイン異性体および関連化合物の影響

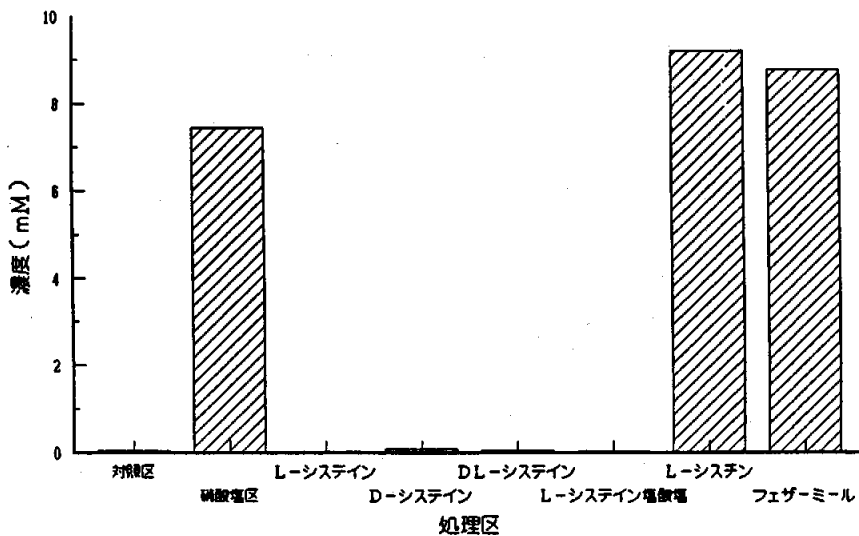


図2. In-vitro 亜硝酸塩濃度に及ぼす硝酸塩とL-システイン異性体および関連化合物の影響

In-vivo : 図3に示すように、硝酸塩区ではルーメン内および血中で顕著な亜硝酸塩の生成が示され、給与3時間後に約18% (W/W) のメトヘモグロビン形成が認められた。ガス代謝試験の結果、図4に示すように、メトヘモグロビン形成時に代謝率の若干の減少が示された。これらの硝酸塩中毒関連諸元は前報¹⁻⁴⁾と同様に飼料へのL-システインの添加により防除し得ることが明らかになったが、その効果は添加濃度に依存することが示唆された。

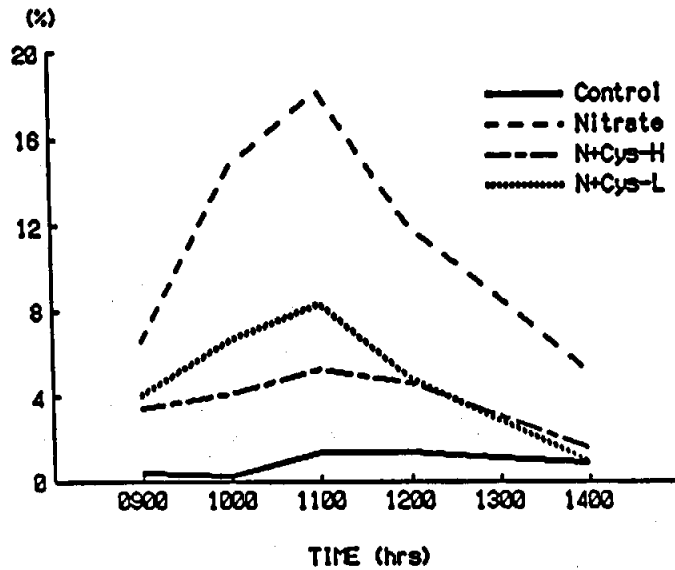


図3. メトヘモグロビン濃度に及ぼす硝酸塩およびL-システインの影響

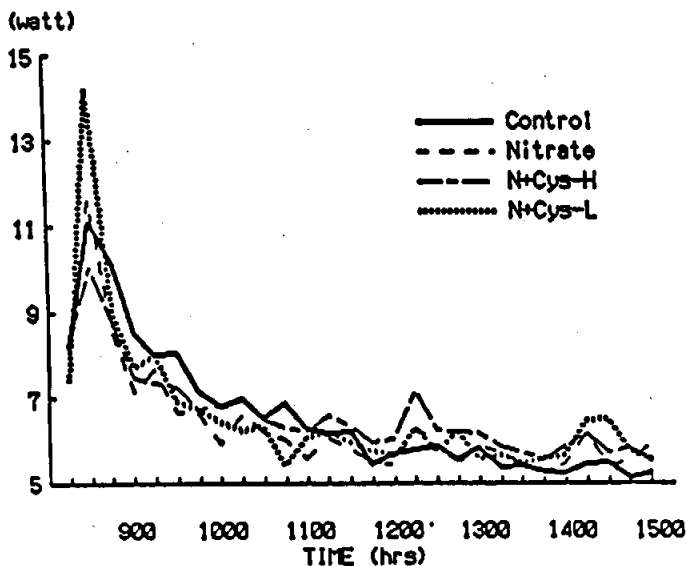


図4. 代謝率に及ぼす硝酸塩およびL-システインの影響

4. 考 察

通常、動物の体内で利用されるアミノ酸はL-型であるが、本研究の結果は、反芻胃内微生物がL-型、D-型分解酵素のいずれをも有する可能性があることを示唆するものである。L-システインの硝酸塩還元的作用機序はTakahashi and Young⁵⁾によって説明されているとおり、L-システインが反芻胃内細菌由来のL-システイン分解酵素(システインスルフィドラーゼ(EC 4.4.1.1))によって容易に加水分解されてH₂Sが産生され、H₂Sに由来する2価イオンのSが硝酸(塩)還元酵素に必要なMoと結合するため、硝酸塩の還元を抑制するものと考えられる。本研究の結果から、L-システインと同様に、反芻胃内細菌がD-システイン、DL-システインおよびL-システイン塩酸塩を分解する酵素を有し、L-システインと同様の作用機序によって硝酸塩還元阻害効果を示したと推察される。

- 1) **Takahashi, J.** 1989. Control of ruminal nitrate reduction by sulphur compounds. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2 : 530-532.
- 2) **Takahashi, J., Johchi, N. and Fujita, H.** 1989. Inhibitory effects of sulphur compounds, copper and tungsten on nitrate reduction by mixed rumen. *Br. J. Nutr.*, 61 : 741-748.
- 3) **Takahashi, J.** 1990. Suppression of nitrate reduction by sulphur. *Br. J. Nutr.*, 63 : 670-671.
- 4) **Takahashi, J. and Young, B. A.** 1990. Prophylactic effect of L-cysteine on nitrate-nitrite poisoning and gaseous exchange in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 70 : 1201.
- 5) **Takahashi, J. and Young, B. A.** 1991. Prophylactic effect of L-cysteine on nitrate-induced alterations in respiratory exchange and metabolic rate in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 35 : 105-113.
- 6) **Takahashi, J. and Young, B. A.** 1992. The modulation of nitrate-enhanced hypothermia by sulphur compounds in cold-exposed sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 39 : 347-355.