

口腔内細菌による亜硝酸塩の代謝

松 浦 康

緒 言

亜硝酸塩は食肉製品、魚介製品に発色剤として添加することが認められているが、最近、この亜硝酸塩が第2級アミンと反応して生成するニトロソアミンが強力な発癌性を有することが証明されて⁽¹⁾、亜硝酸塩の毒性が改めて問い直されている。酒井ら⁽²⁾はこのような立場から研究をおこなって、動物胃内で発癌性物質の1つであるジメチルニトロサミンが生成することを証明したが、その生成量は微量であるとしている。

一方、亜硝酸塩そのものも毒性を持っており、硝酸塩を多量に含むホウレン草を食べて、硝酸塩が消化管内で細菌によって還元されて、亜硝酸塩を生成したため、メトヘモグロビン血症を起したという報告もある⁽³⁾。

著者は、亜硝酸塩と第2級アミンからニトロソアミンの生成について追試中、亜硝酸塩が動物胃内で、かなり減少していることを見出して、その原因について調べたので報告する。

実 験 方 法

1. 亜硝酸の定量

原田ら⁽⁴⁾の方法によったが、抽出の必要のない場合は加熱をおこなわなかった。

2. ラット胃内容物の亜硝酸の定量

24時間絶食させたラット（ウイスター系ラット、体重100g）に亜硝酸ナトリウムを0.01%の割合に混入した飼料（日本クレア製、飼育用飼料）、または、市販魚肉ハムを与えて、ラットが摂食をはじめてから1時間、3時間ごと殺して、胃内容物を取り出して、2つに分けた。一方は亜硝酸の定量をおこない、一方は110°Cで乾燥して、乾燥重量を計って、乾燥重量中の亜硝酸量として計算した。

3. ヒト唾液の食品中の亜硝酸に対する作用

市販キナ粉とラット飼料に亜硝酸ナトリウムを0.01%の割合に混入したもの、および、市販魚肉ハムを乳鉢でよくすりつぶしたもの各1gに唾液2.0ml、水2.0mlを加えて、かゆ状にして、37°Cで1時間作用させた。唾液の代りに水を加えたものを対照とした。

4. 唾液および菌浮遊液による亜硝酸の代謝

新鮮な唾液または菌浮遊液1.0ml、液体培地（pH7.0）1.0ml、1mM 亜硝酸ナトリウム液1.0mlの組成で37°C、1時間反応させた。

5. 細菌の分離、培養

培地は、肉エキス4g、ペプトン10g、ブドウ糖1gを1,000mlの水に溶かして、pHを7.0とした。固形培地はこれに寒天を15g溶かして、pH7.0とした。

細菌の分離は新鮮な唾液を上記固形培地に塗抹培養しておこなった。

実 験 結 果

1. ラット胃内飼料中の亜硝酸の残存量

亜硝酸混入飼料および市販の魚肉ハムを摂食しはじめてから、胃内における亜硝酸の残存率

は、飼料では1時間で52.4~85.7%、3時間で45.7~60.6%、魚肉ハムでは1時間で75.3~82.4%であった(表1)。

表1 ラット胃内飼料中の亜硝酸の残存量

	ラット No.	1 時 間	ラット No.	3 時 間
ラット 飼料	1	74.3%	5	60.6%
	2	52.4	6	62.6
	3	69.5	7	45.7
	4	84.5		
魚肉 ハム	8	75.3	—	—
	9	82.4	—	—
	10	76.5	—	—

2. ヒト唾液による食品中の亜硝酸の分解

魚肉ハム、亜硝酸を混入したキナ粉およびラット飼料にヒトの唾液を作用させ、亜硝酸の分解を検討したところ、ヒト唾液を37°Cで1時間作用させた場合、キナ粉、魚肉ハム中の亜硝酸は存在量の80%、ラット飼料中のそれは50%を分解した(表2)。

表2 ヒト唾液による食品中の亜硝酸の分解量(%)

	キナ粉	魚肉ハム	ラット飼料
唾 液	81.8	80.3	50.0
水	0	0	0

3. ヒト唾液の亜硝酸代謝分画

ヒト唾液を遠心沈澱によって(2,000 r. p. m.)上清と沈澱とに分けて、それぞれについて、亜硝酸代謝能を調べたところ、上清には亜硝酸の消費はみられず、沈澱区分にのみ、強い亜硝酸代謝能を認めた。

4. ヒト唾液の亜硝酸代謝の至適 pH

ヒト唾液亜硝酸代謝の至適 pH はほぼ pH 7.0 附近であった(図1)。

5. ヒト唾液の亜硝酸代謝の個人差

ヒト16人について唾液の亜硝酸代謝能を調べた結果、唾液にその代謝能を持っているヒトと持っていないヒトがあることがわかった。強力な代謝能を持っているヒトは16例中2例、比較的弱い代謝能を持っているヒトは16例中5例であった(表3)。

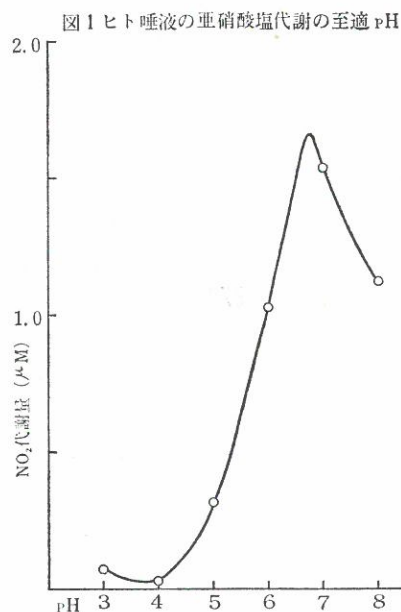


表3 ヒト唾液による亜硝酸塩分解の個人差

個人名	Y. W	Y. N	M. U	T. O	Y. M	K. Y	N. F	S. T	T. M	M. S	Y. K	A. M	N. H	M. Y	T. K	M. Y
分解率(%)	11	0	36.8	0	96.6	0	37	0	0	0	0	34	0	9	93.4	0

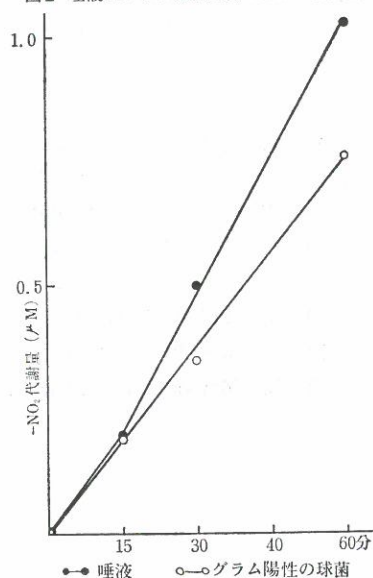
6. 細菌の分離と亜硝酸代謝能

表3の強力な代謝能を持っているヒトの唾液を平板で分離培養して、5つの異なるコロニーを得た。それぞれのコロニーについて、亜硝酸の代謝能を調べた結果、コロニーの数が最も多く、円形、白色、不透明のコロニーで、グラム陽性の球菌が強力な亜硝酸代謝能を持っていることが分かった。あと2つのコロニーにも弱い亜硝酸代謝能がみられた。

7. 分離した菌および唾液による亜硝酸の代謝

分離した菌も唾液と同様に亜硝酸を代謝した(図2)。

図2 唾液とグラム陽性球菌の亜硝酸塩代謝



考 察

キナ粉、ラット用飼料に亜硝酸を添加したもの、および、市販の魚肉ハムにヒトの唾液を作用させたところ、38°C、1時間の作用でキナ粉、魚肉ハムでは存在量の80%、ラット用飼料で50%が消費された。しかし、この作用の至適pHは7.0附近であって、pH 4.0以下ではほとんど作用しなくなるので、食物が胃に送りこまれてpHが下がってくると、その作用は止ってしまうと考えられる。このことから、ヒトの口腔内および胃内において、亜硝酸が分解されると考えられるが、その消費量はここに唾液のみで得られた値より小さく考えられる。ラットの場合は、口腔内および胃内における消費は摂食をはじめてから1時間でラット用飼料の場合、15.5~47.6%、魚肉ハムでは20~25%のものが減少していた。

ヒトの場合、亜硝酸代謝能を持っているヒトと、持っていないヒトがあることが分かったが、後述するように唾液の亜硝酸代謝能は細菌によるものであるため、この違いは口内細菌叢の種類、および数の違いによるものと考えられる。いずれにしても、ヒトの場合、その有する細菌によっては、摂取した亜硝酸が分解されるであろう。

亜硝酸を分解するヒト唾液の分画は、その沈殿部に集まるので、唾液そのものにその作用のないことは明らかである。このことより細菌の関与が考えられるので、細菌の分離をおこなったところ、強力な亜硝酸代謝能を有する細菌が分離できた。この亜硝酸代謝能を検討してみると、唾液と同様に亜硝酸を分解した。この菌は使用した培地上に最も多く生育してくる菌であることなどを考えると、唾液中の亜硝酸分解作用の大部分はこのグラム陽性の球菌によるものと考えられる。自然界において、亜硝酸塩を代謝する菌はかなり報告されており、その代謝産

物は、アンモニア^(5,6)、窒素酸化物(N₂O, NO)または窒素ガス^(7,8)であるとされている。ヒトの消化器官内に存在する細菌の亜硝酸塩代謝産物を検討する必要があると考える。

要 約

1. 食品中の亜硝酸塩を代謝するグラム陽性の球菌を、ヒトの唾液より分離した。
2. 食品中の亜硝酸塩は、この菌の作用によって、消化器官内で分解される可能性がある。しかし、この菌を持っているヒトと持っていないヒトがある。

文 献

- 1) P. N. Magee, J. M. Barnes: *Adv. in Cancer Res.*, **10**, 163 (1967)
- 2) 酒井綾子, 谷村顕雄: *食衛誌*, **12**, 170 (1971)
- 3) W. Schuphan, H. Schlotteman: *Z. Lebensmittel. untersuch. u. Forsch*, **128**, 71 (1965)
- 4) 原田基夫, 中村洋子, 谷村顕雄: 日本食品衛生学会22回学術講演要旨, P. 5 (1971)
- 5) A. Nason, H. J. Evans: *J. Biol. Chem.*, **203**, 655 (1953)
- 6) S. Taniguchi, H. Mitsui, J. Toyoda: *J. Biochem.*, **40**, 175 (1953)
- 7) H. Iwasaki, T. Matsubara: *J. Biochem.*, **71**, 645 (1972)
- 8) L. Edmond, et al: *Chem. Abs.* **70**, 94165C