



Kan nitrit og nitrat syntetiseres i organismen hos svin?

Af B. O. Eggum, R. M. Beames og J. Wolstrup
Afdelingen for dyrefysiologi, biokemi og analytisk kemi, S. H.
Afdelingen for mikrobiologi, K.V.L.

I et balanceforsøg med 12 grise hvor vi søgte at måle mikrofloraens betydning på protein- og energiudnyttelsen, måltet samtidig NO_2 og NO_3 i foder, gødning og urin. Der blev givet to fodertyper – et kommercielt svinefoder samt et foder med 28% græsmel (højt i NO_2 og NO_3). Halvdelen af svinene på de to blandinger fik tilsat 0.7% nebacitin i foderet for at reducere den mikrobielle aktivitet i fordøjelseskana-len. Ved at sammenligne NO_3 i gødning for grise uden og med antibiotika i foderet fremgik det, at den daglige udskillelse var 20–100% højere hos de antibiotikabehandlede dyr. For urinen var forholdet omvendt, idet svin uden antibiotika i foderet udskilte langt mere NO_3 med urinen end de dyr, der fik mikrofloraen reduceret. Ved at sammenholde de totale værdier for NO_3 i foderet med de totale udskillelser i gødning + urin fremgik det, at der syntetiseredes signifikante mængder NO_3 i organismen hos de dyr, der fik et kommercielt foder uden græsmel. Nettosyntesen af NO_3 hos disse dyr varierede fra 200–700 μmol pr. dyr pr. dag. For de dyr derimod der fik tilført meget NO_3 i foderet, var NO_3 mængderne i urin + gødning op til 1000 μmol lavere end de konsumerede mængder.

Indledning

Nitrit er forstadiet til de formodede cancerfremkaldende N-nitroso forbindelser, som måske kan dannes in vivo hos mennesker og dyr. Disse forbindelser formoder man kan dannes i maven, blæren og i den bagerste del af fordøjelseskana-len. Senere undersøgelser tyder på, at en bakteriell reduktion af nitrat i spyt er hovedkilden for nitritdannelsen hos mennesker (White 1975).

*Tannenbaum et al. (1978) har i balanceforsøg med mennesker vist, at både nitrit og nitrat kan syntetiseres in vivo. Hypotesen er, at der sker en heterotrop nitrifikation af ammoniak eller organiske kvælstofforbindelser i den øverste aerobe del af fordøjelseskana-len. Medens føden passerer

ned igennem fordøjelseskana-len, bliver omgivelserne langsomt mere anaerobe (Gorbach et al. 1967). Dette medfører en akkumulering af nitrat såvel som nitrit. En stor del af disse forbindelser kan måske blive udnyttet af andre fekale mikroorganismer. En vis del kan også blive absorberet igennem tarmvæggen, medens signifikante mængder nitrit kan reagere og danne N-nitroso forbindelser i de mere sure omgivelser i blind- og tyktarm (Tannenbaum et al. 1978).

Da de omtalte spørgsmål må være af interesse i fødevareproduktion, konservering af fødevarer med NO_2 og NO_3 e.t.c., har vi bl.a. målt NO_2 og NO_3 i foder, gødning og urin hos 12 grise i balanceforsøg.

Materiale og metoder

I et forsøg hvor man søgte at måle mikrofloraens betydning på protein- og energiudnyttelsen, målte vi samtidig NO_2 og NO_3 i foder, gødning og urin hos 12 grise. 6 grise blev tildelt foder med højt træstofindhold (HT), medens de andre 6 grise blev fodret med et kommercielt svinefoder lavt i træstof (LT). Det høje træstofindhold blev opnået ved at benytte 28% græsmel i foderet. Græsmel har endvidere et højt indhold af NO_2 og NO_3 sammenlignet med andet foder. For tre af dyrene på hver af de to fodertyper blev der tilsat 0.7% nebacitin for at reducere den mikrobielle aktivitet i fordøjelseskanalen hos disse dyr (Eggum *et al.* 1979). En sådan behandling

skulle give os mulighed for bl.a. at få et estimat for mikrofloraens betydning ved *in vivo* syntesen af NO_2 og NO_3 . Ved måling af metanproduktionen hos samtlige dyr fremgik det, at de antibiotikabehandlede dyr ikke havde nogen metanproduktion, medens de ubehandlede dyr producerede signifikante mængder metan. Heraf kunne det konkluderes, at den anvendte nebacitin reducerede den mikrobielle aktivitet i dyrenes fordøjelseskanal signifikant.

Nitrit og nitrat i foder, gødning og urin blev bestemt efter en metode af Bremner & Keeney (1965). Urinen blev dog kun analyseret for nitrat, da der ikke findes nitrit i urin.

Table 1. Daglige mængder af nitrat og nitrit i foder, gødning og urin hos svin fodret på to træstofniveauer samt uden og med antibiotika i foderet.

Behandling	LT, NM ($\mu\text{mol}/\text{dag}$)	LT, RM ($\mu\text{mol}/\text{dag}$)	HT, NM ($\mu\text{mol}/\text{dag}$)	HT, RM ($\mu\text{mol}/\text{dag}$)
(Gns. vægt pr. gris, kg	30.1	31.5	29.8	30.8)
NO_3 i foder	1429	1429	2902	2687
NO_3 i gød.	359	629	560	1270
NO_3 i urin	1262	1097	1155	1019
Per. NO_3 i gød. + urin	1621	1726	1715	2289
I				
NO_2 i foder	266	266	431	399
NO_2 i gød.	138	142	166	230
(Gns. vægt pr. gris, kg	39.5	42.3	38.5	39.8)
NO_3 i foder	1988	1908	3869	3823
NO_3 i gød.	507	779	912	1374
NO_3 i urin	2097	1590	1981	1870
Per. NO_3 i gød. + urin	2604	2369	2893	3244
II				
NO_2 i foder	357	357	575	568
NO_2 i gød.	164	142	146	158
(Gns. vægt pr. gris, kg	52.0	55.4	48.0	49.8)
NO_3 i foder	2383	2383	4836	4836
NO_3 i gød.	975	1142	1809	2242
NO_3 i urin	1815	1584	2268	1947
Per. NO_3 i gød. + urin	2790	2726	4077	4189
III				
NO_2 i foder	444	444	719	719
NO_2 i gød.	156	151	172	226

LT = lavt træstof
HT = højt træstof

NM = normal mikroflora
RM = reduceret mikroflora

Resultater

Af tabel 1 fremgår det, at de dyr, der blev fodret med højt træstof (HT), også konsumerede ca. dobbelt så meget nitrat pr. dag. Nogenlunde det samme gjorde sig gældende for nitrit. Det høje indhold af NO_2 og NO_3 i disse blandinger fremkom – som anført – ved at græsmel udgjorde ca. 30% af blandingerne.

Ved at sammenligne NO_3 i gødning fra grise på normal (NM) og reduceret (RM) mikroflora fremgår det tydeligt, at den daglige udskillelse er fra 20–100% højere hos dyr med reduceret mikrobiel aktivitet. For NO_3 i urin er forholdet derimod omvendt, idet grise med normal mikroflora udskilte langt mere NO_3 med urinen end de, der fik mikrofloraen reduceret. Endvidere ser det ikke ud til at NO_3 -udskillelsen med urinen er afhængig af NO_3 -indholdet i foderet i samme grad som NO_3 -udskillelsen med gødningen. Ved at addere værdierne for NO_3 i gødning og urin fremgår det, at de dyr, der fik mest NO_3 i foderet, også har den største totale udskillelse. Sammenholder man de totale værdier for NO_3 i foder med de totale udskillelser i gødning + urin ses, at der er syntetiseret signifikante mængder NO_3 in vivo for de dyr, der fik et kommercielt foder uden græsmel. Netosyntesen af NO_3 for disse dyr varierede fra 200–700 μmol pr. dyr pr. dag. For de dyr der fik tilført meget NO_3 i foderet, var NO_3 mængderne i urin + gødning op til 1000 μmol lavere end de konsumerede mængder.

Nitrit-udskillelsen i gødningen var i alle tilfælde lavere end de konsumerede mængder. Endvidere synes NO_2 -udskillelsen at være uafhængig af NO_2 i foder såvel som af den mikrobielle aktivitet i fordøjelseskanalen. Udskillelsen synes også at være uafhængig af dyrenes alder.

Diskussion

Forudsætningen for dannelse af de formodede cancerfremkaldende nitroso-aminer i fordøjelseskanalen, hvor pH er omkring neutralpunktet, er tilstedeværelsen af sekundære aminer, nitrit samt bakterier, der kan katalysere dannelsen af nitrosaminer ud fra disse stoffer (Hill *et al.* 1973).

Bestemmende for koncentrationen af nitrit er ikke alene mængden af nitrit indtaget med foderet, men også koncentrationen af nitrat, idet flere bakteriearter, blandt andre *Eschericia coli*, kan omdanne nitrat til nitrit.

Man har hidtil antaget, at nitrat kun tilføres tarmkanalen via fodermidler, idet nitrifikation er en strengt aerob proces, som ikke skulle kunne foregå i tarmkanalen. Autotrof nitrifikation foregår bedst ved pH 8 og standser næsten fuldstændig ved pH 5. Alene af den grund kan autotrof nitrifikation formentlig anses for udelukket, idet pH i de dele af tarmkanalen, hvor der eventuelt er ilt tilstede, har pH værdier på omkring 5.

Tannenbaum (1978) har i balanceforsøg med mennesker vist, at både nitrit og nitrat kan dannes i tarmkanalen. Hypotesen er, at der sker en heterotrof nitrifikation af ammoniak, eventuelt dannet ud fra organiske kvælstofforbindelser, i den øverste, delvis aerobe del af fordøjelseskanalen. Evnen til heterotrof nitrifikation er påvist både hos bakterier og svampe i renkulturer, men dens kvantitative betydning i f.eks. jordbunden synes at være meget lille (Alexander 1977, Beck 1979).

Herværende undersøgelser tyder dog på, at mikrofloraen i fordøjelseskanalen er involveret i NO_3 -omsætningen. Dette ses bedst hos de dyr, der fik et kommercielt svinefoder (lavt i NO_2 og NO_3) idet der udskiltes langt mere NO_3 med gødningen hos antibiotikabehandlede dyr end hos de ikke behandlede. For urinen var forholdene dog modsatte. Endvidere kunne det fastslås, at grise er i stand til at syntetisere NO_3 i organismen, idet der udskiltes langt mere med urin + gødning, end der blev fortæret med et kommercielt foder. For foder med højt indhold af NO_3 udskiltes der dog mindre end de fortærede mængder.

Herværende undersøgelser med svin er således i overensstemmelse med observationer foretaget på mennesker (Tannenbaum *et al.* 1978), idet også svin er i stand til at syntetisere signifikante mængder NO_3 i organismen. Denne problematik burde måske indgå i diskussionen vedrørende brugen af NO_3 og NO_2 i fødevarerindustrien.

En endelig forklaring på hvordan nitratdannelsen foregår i organismen, kan først gives, når der foreligger yderligere undersøgelser. Iltkoncentrationsmålinger og tælling af mikroorganismer, der kan udføre nitrifikation, bør naturligvis medtages i sådanne undersøgelser.

Litteratur

Alexander, M. (1977). *Soil Microbiology* 2nd edition. John Wiley & Sons, New York 467pp.

- Beck, T. (1979). *Zeitschr. Pflanzenernähr.* 142:344.
Bremner, J. M. & Keeney, D. R. (1965). *Anal. Chim. Acta* 32:485.
Eggum, B. O., Fekadu, M., Wolstrup, J., Sauer, W. C. & Just, A. (1979). *J. Sci. Food Agric.* 30:177.
Gorbach, S. L., Nahas, L., Weinstein, L., Levitan, R. & Patterson, J. F. (1967). *Gastroenterology* 53:856.
Hill, M. J., Hawksworth, M. J. & Tattersall, G. (1973). *Br. J. Cancer* 28:572.
Tannenbaum, S. R., Fett, D., Young, V. R., Land, P. D. & Bruce, W. R. (1978). *Science* 200:1487.
White, J. W. (1975). *J. Agric. Food Chem.* 23:886.