

—総説—

亜硝酸性窒素の健康影響

永瀬久光

要約: 水道水質基準の健康に関する項目に「硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素」があるが、これは幼児のメトヘモグロビン血症の防止という観点から、その合計量について「10 mg/l 以下」と設定されている。亜硝酸単独の毒性面から、1998年6月に水道法水質基準の監視項目として「亜硝酸性窒素」が加わり、その指針値は「0.05 mg/l 以下」と設定された。これは、ラットでの試験において認められた副腎球状帯過形成や心臓・肺の組織病理学的変化に対する無作用量に基づいている。古くて新しい水環境中汚染物質である亜硝酸性窒素のヒトや動物に対する毒性を中心に、生態毒性、代謝及び水道水質基準に関してまとめた。

索引用語: 亜硝酸性窒素、毒性、発ガン性、変異原性、代謝、生態毒性、水環境、飲料水

Health Effects of Nitrite-nitrogen

Hisamitsu NAGASE

Abstract: "Nitrate-nitrogen and nitrite-nitrogen" serve as a Japanese standard for drinking-water quality, which stipulates <10 mg total of nitrate-nitrogen and nitrite-nitrogen per liter to prevent methemoglobinemia especially for infants. In June of 1998, "nitrite-nitrogen" was also included in the standards as a monitoring item, with "<0.05 mg nitrite-nitrogen per liter" as the guideline value, based on the non-observed effect level (NOEL) from the rat studies on hypertrophy of adrenal zona glomerulosa and histopathological changes in the heart and lung. Toxicity, metabolism, drinking water standards, and ecotoxicity of nitrite-nitrogen, old but new contaminant in water environment, are reviewed.

Keyphrases: nitrite-nitrogen, toxicity, carcinogenicity, mutagenicity, ecotoxicity, water environment, drinking water,

亜硝酸性窒素は、水の汚染を判定する指標として古くから採用されてきた。ヒトや動物から排泄される糞便汚染の指標として、アンモニア性窒素、亜硝酸性窒素及び硝酸性窒素の窒素三態を使用していた時代があった。しかし、硝酸塩等の化学肥料が大量に使用され、これが水環境を汚染するようになり、糞便汚染の適切な指標にはならなくなった。

亜硝酸性窒素及び硝酸性窒素については、ヒトが摂取した場合の健康影響が認められている。自然水中では、その多くが硝酸性窒素の形態で存在すると言われている。これをヒトが摂取した場合、その一部が消化器系によりメトヘモグロビン血症を惹き起こす亜硝酸性窒素に還元される。このことから、現在、水道法の水質基準で「硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の合計量で 10 mg/l 以下であること」とあるように、一つのグループとして取り上げ

られている。

1998年WHOは、飲料水のガイドラインとして亜硝酸塩 0.2 mg/l (亜硝酸性窒素としては 0.06 mg/l に相当)を示した。これは、ラットでの試験において認められた副腎球状帯過形成や心臓・肺の組織学的変化に対する無作用量に基づいている。これを受けて、我が国は1998年6月に水道法水質基準の監視項目としての指針値「亜硝酸性窒素 0.05 mg/l 以下」を追加した。

亜硝酸性窒素の影響としては、メトヘモグロビン血症が良く知られている。亜硝酸性窒素は血液中のヘモグロビンに含まれる二価鉄を酸化して三価鉄を含むメトヘモグロビンに変化させる。このメトヘモグロビンが 10%以上になると、メトヘモグロビン血症と呼ばれるチアノーゼ症状を呈し、さらに、30~40% で窒息状態となる。この他、亜硝酸塩が胃の内容物と反応して、発ガン性を示

すニトロソ化合物を生成することが知られており、二次的生成物による発ガン性が問われているが、その疫学的な証拠は十分に得られていない。

ここでは、飲料水や食品等から摂取される亜硝酸性窒素のヒトや動物に対する毒性を中心に、水道水質基準と代謝、さらには環境水中の生物に対する生態毒性についても合わせて述べる。ただし、二次的生成物としてのニトロソ化合物による発ガン性については、詳しく触れないこととする。

1. 毒性

1.1. 急性毒性

(1) ヒト

Burden¹⁾は、成人における亜硝酸ナトリウムの致死量は 32~154 mg/kg であるとしている。

ヒトにおけるメトヘモグロビンの形成に関する亜硝酸塩の毒性は、亜硝酸塩の種類により異なる。

Walley と Flanagan²⁾は、高濃度に亜硝酸塩を含む肉を食べてメトヘモグロビン血症になったケースを報告している。その一つは、41 歳の女性と 18 歳の息子が亜硝酸塩 15,000 ppm を含む肉を食べたケースであり、入院した病院での血液検査の結果、血中メトヘモグロビン濃度が女性で 23%、息子が 7.7% であった。酸素以外の治療なしで 12 時間以内に二人とも回復した。もう一つは 36 歳の男性のケースで、この男性は 10,000 ppm の亜硝酸塩を含む肉を食べて 1 時間後に重篤なチアノーゼと低酸素状態となった。病院到着時の血中メトヘモグロビン濃度は 66% であったが、酸素とメチレンブルーの治療により回復した。これらのケースの亜硝酸摂取量は、亜硝酸性窒素として、およそ 2,000-3,000 mg と推定される。

(2) 動物

Speijers³⁾は、亜硝酸塩の毒性については、硝酸塩に比べて毒性が強く、マウスやラットでの LD₅₀ 値として硝酸ナトリウムが 1,600-9,000 mg/kg・bw であるのに対し、亜硝酸ナトリウムは 85-220 mg/kg・bw であると報告している。動物に対する亜硝酸塩の経口投与による LD₅₀ 値を表 1 に示した。

Imaizumi ら⁴⁾は、ラットにおける亜硝酸ナトリウムの単回投与による影響を調べた。Sprague-Dawley ラットに亜硝酸ナトリウム塩 0, 10, 25, 50, 100 及び 150 mg/kg となるように胃内投与した。高い投与群では投与 1 時間後にメトヘモグロビン濃度が 45-50% に増加したが、24 時間後にはコントロールレベルに戻っていた。亜硝酸塩投与量とメトヘモグロビンレベルには明らかな相関が認められ、25, 50, 100 及び 150 mg/kg の各投与群の最高メトヘモグロビンレベルはそれぞれ 10, 40, 70 及び 80% であった。

表 1 経口投与による亜硝酸塩の LD₅₀ 値

動物名	陽イオン	LD ₅₀ 値		文献
		mg NO ₂ /kg	mg N/kg	
ラット	Na ⁺	100	30	4)
ラット	Na ⁺	120	36	5)
ラット	K ⁺	46	14	6)
ラット	Na ⁺	105	30	4)
ラット (1 年齢)	Na ⁺	51-87	15-26	7)
ラット (3 月齢)	Na ⁺	73	22	7)
マウス	K ⁺	119	36	6)
マウス	K ⁺	95	28	6)
ウサギ	K ⁺	108	32	5)

1.2. 亜急性及び慢性毒性

(1) ヒト

ヒトにおける亜硝酸塩の亜急性及び慢性毒性に関する報告はない。

(2) 動物

Druckrey ら⁷⁾は、ラットの雌雄各群 30 匹に亜硝酸ナトリウムを飲水に溶かし、その投与量が 100 mg NO₂/kg/day となるように投与した。70 日間の投与により、メトヘモグロビンレベルはコントロール群の 0.8% に比べ、投与群では 7% であった。

Shuval と Greuner⁸⁾は、生後 50 日のマウスに亜硝酸イオン（亜硝酸ナトリウムとして）を体重 1 kg 当り 133 mg/day と 178 mg/day を飲水として 3 週間与えたところ、メトヘモグロビン濃度が増加したが、88 mg/day では増加しなかったと報告している。

Chow ら⁹⁾は、雄 Sprague-Dawley ラットに亜硝酸ナトリウムを含まない水、または 2,000 mg/l を含む飲水を 14 ヶ月与え、メトヘモグロビンの血液中濃度を測定した。亜硝酸塩投与群はメトヘモグロビン濃度が 1% から 35% まで大きく変動したが、6 ヶ月間の平均メトヘモグロビン濃度は 8.2% で、これに対して対照群は 1.0% と有意に高かった。この研究から亜硝酸ナトリウムの最小作用量 (LOAEL) は、40 mg NO₂-N/kg/day としている。

Imaizumi ら⁴⁾は、4 匹の Sprague-Dawley ラットに亜硝酸塩 0 mg/day と 5,000 mg NO₂/l を含む飲水を 6 ヶ月間与え、メトヘモグロビンの血中濃度及び血液学的パラメーターを測定した。ラットの亜硝酸ナトリウム塩一日平均摂取量は 50 mg/kg となった。最高メトヘモグロビン濃度範囲は 33-88% であり、最低濃度範囲は 4-19% であった。6 ヶ月間の平均メトヘモグロビン濃度は 8.2%、

これに比べて対照は 1.0% であった。メトヘモグロビン血症以外に、不同細胞症、ハインツ小体、hypoglobinemia などの血液学的な影響が見られた。

Til ら¹⁰⁾は、雌雄各 10 匹のラットに亜硝酸カリウム 0, 100, 300, 1,000 と 3,000 mg KNO₂/l を含む飲水を 13 ヶ月経口投与し、メトヘモグロビンの血中濃度及び亜慢性毒性を調べた。これらの濃度は、0, 1.7, 5, 17, 50 mg NO₂-N/kg/day の投与量と一致する。カリウムの投与量はどれも等しくなるように調整している。メトヘモグロビン濃度範囲が、対照群では 1.7-2.3% であるのに比べて、高投与群では 5.7-7.6% と増加した。低投与群では有意な差は見られなかったとして、メトヘモグロビン濃度を基にした最少作用量 (LOAEL) を 50 mg NO₂-N/kg/day、最大無作用量 (NOAEL) を 17 mg NO₂-N/kg/day としている。

Fritsch ら¹¹⁾は、ラットの 6 ヶ月間の食餌調査で、体重 1 kg 当り硝酸塩 250 mg/day と 2500 mg/day、また同様に亜硝酸塩 25 mg/day と 225 mg/day を与えたところ、脾部に出血面を誘発した。従って、硝酸塩 250 mg/kg/day と亜硝酸塩 25 mg/kg/day を、この調査における最少作用量 (LOAEL) とみなした。

Inai¹²⁾らは、ICR マウスを用いた 2 つの長期間の調査において、非常に高濃度の硝酸ナトリウム(硝酸塩 2500 と 5000 mg/kg/day)と亜硝酸塩ナトリウム(亜硝酸塩 208, 416 及び 833 mg/kg/day)を摂取した後に、類澱粉症(類澱粉変性による沈着)とヘモシリデン沈着症が増加したと報告している。

1.3. 催奇形性および繁殖毒性

米国 FDA^{13,14)}は、亜硝酸ナトリウムと亜硝酸カリウムの生殖毒性及び催奇形性について、マウス、ラット、ハムスター及びウサギを用いて研究を行っている。マウス、ラット、ハムスターについては 1 群 20-26 匹、ウサギについては 1 群 10-13 羽を用い、マウス、ラットについては妊娠 6-15 日目に、ハムスターについては 6-10 日目に、また、ウサギについては 6-18 日目に経口投与した。投与量のレベルは、マウスに対して 0.04-4.6 mg NO₂-N/kg/day、ラットに対して 0.1-2 mg NO₂-N/kg/day、ハムスターに対して 0.04-5.3 mg NO₂-N/kg/day、ウサギに対して 0.03-4.6 mg NO₂-N/kg/day であった。母性の繁殖パラメーターとしての妊娠率、流産頻度、出産仔数、また、胎仔毒性としての母獣当たりの生胎仔数、平均胎仔体重もしくは胎仔の催奇形性に関しては、何れの動物においても、その最高投与量に至るまで有意な差は認められなかったとしている。

Globus と Samuel¹⁵⁾ が生育上の毒性調査を報告しているが、亜硝酸塩による生殖の影響は明らかでないとしている。

Druckrey ら⁷⁾は、亜硝酸ナトリウムを飲水に加えて 3

世代に渡って、常に 100 mg/kg/day で投与した結果、催奇形性や生殖に関する毒性は、どの世代においても認められなかったとしている。

Olsen ら¹⁶⁾は、亜硝酸カリウムを含んだ食餌を雄 70 匹、雌 140 匹の Wistar 系ラットに与えた。食餌中の亜硝酸カリウム含量は 2, 4, 94 mg/kg であった。ラットは、交尾 10 週間以前より、この食餌を与え、妊娠率、1 匹当たりの出産仔数、平均体重、その生存を観察したが、対照群に比較して有意な差はなかったし、催奇形性もなかったと報告している。

Roth ら¹⁷⁾は、1 群 8-10 匹のラットに亜硝酸ナトリウム濃度 0, 200, 3000 mg/kg の飲水を、妊娠、授乳期間を通して与えたが、水摂取率から計算して妊娠期間中は 44, 60 mg NO₂-N/kg/day 授乳期間中は 84, 103 mg NO₂-N/kg/day をそれぞれ投与したことになる。母親に対する毒性を示すものは何もなかった。出産時における 1 匹当たりの出産仔数、仔の平均体重及び性別比に関して、対照群との間に有意な差はなかった。

塩原¹⁸⁾は、1 群 25 匹の妊娠マウスに対して、妊娠 6-15 日に投与量 0, 4, 8, 16, 24 mg NO₂-N/kg/day で強制経口投与した。胎仔は妊娠 17 日に外見と骨格の奇形がないか調べた。高い投与量 16, 24 mg NO₂-N/kg/day の 2 群では、母マウスの体重増加抑制が有意に認められ、24 mg NO₂-N/kg/day 投与群では着床数、生存胎仔数と妊娠胎仔数の減少が有意であった。摘出胎仔の外表面奇形として、口蓋裂が各群に見られたが、対照群の発生頻度と比較して有意な差はなかった。自然分娩した母マウスの 24 mg NO₂-N/kg/day 投与群に体重増加が認められ、その出生仔は生後 2 週齢時までは発育遅延が認められたが、7 週齢時には正常な発育を示したと報告している。

1.4. 変異原性

米国 FDA^{19,20)}は、亜硝酸ナトリウムの変異原性をマウスの宿主経路試験(host-mediated assays)で評価し、陰性であるとしている。なお、他のマウス²¹⁾やラット及びマウス²²⁾による宿主経路試験でも、亜硝酸ナトリウムの変異原性は認められていない。

亜硝酸ナトリウムは、ラットの優性致死遺伝子試験で陰性であり^{19,20)}、また、ラットの骨髓細胞の細胞遺伝子検定でも陰性であった。

Kodama ら²³⁾は、FM3A 細胞 (C3H マウスの乳ガン細胞)を用いた染色体異常試験において、亜硝酸ナトリウムが 3 mM で 40%、10 mM で 80% の重篤な染色体異常を観察している。

亜硝酸ナトリウムは *Salmonella typhimurium*²⁰⁾や *E. coli* sd-4 で変異原性があつた²⁴⁾。

El-Nahas ら²⁵⁾は、ラット親の骨髓及び胎児肝細胞に対する変異原性を調べるために、亜硝酸ナトリウム 1, 250

mg KNO₂/l を含む飲水を妊娠アルビノラット妊娠 5 日目から 18 日目にかけて経口投与した。これは、亜硝酸ナトリウム 42 mg NO₂-N/kg/day の投与量に相当するとしている。親ラットの骨髄や胎児の肝細胞の染色体異常を調べたところ、何れにおいても有意に異常が増加していた。断裂が最も頻度高く観察された母親ラットの骨髄の投与群では 7.3%、対照群では 3.3%、胎児肝細胞の投与群では 6.4%、対照群では 1.7%であった。

Ishidate ら²⁶⁾は、*Salmonella typhimurium* を用いた変異原試験で代謝活性化のあるなしにかかわらず亜硝酸ナトリウムは用量依存的に変異原性を示し、また、チャイニーズハムスターの繊維芽細胞を亜硝酸ナトリウム 250, 500, 1,000 mg/l 中で培養したところ、染色体の構造異常出現頻度がそれぞれ 11%, 16%, 22% と、やはり用量依存的に増加したと報告している。

Sidorkina²⁷⁾は、亜硝酸の変異原性と致死性を、大腸菌 (*E. coli*) の塩基除去修復酵素欠損株と野性株と比較した。除去修復酵素欠損株である *uvrA*⁻ 変異体は、野性株に比べて極めて感受性が高く、亜硝酸に対する変異原性と致死性には除去修復酵素が大きな働きをしていると示唆した。

1.5. 発ガン性

ニトロソ化合物を含まない亜硝酸塩については、多くの動物実験がなされているが、発ガン性を示す明確な証拠はなく、亜硝酸塩自身の発ガン性はないだろうとされている³⁾。

発ガンの危険性評価のために米国 EPA が提案したガイドラインに記載されているクライテリアを適用すると、硝酸塩及び亜硝酸塩はグループ D に分類される。このカテゴリーは動物による発ガン性の証拠が不十分な物質である。

米国 EPA²⁸⁾は、ニトロソ化合物の存在しない硝酸塩と亜硝酸塩の経口投与による発ガン性の根拠が明らかでない場合は Newberne^{29,30)}や Maekawa ら³¹⁾の動物学的研究が有効であると判断した。

Newberne^{29,30)}は、亜硝酸ナトリウムを雌雄 Sprague-Dawley ラット各 68 匹に、水または食餌により生涯期間与えて試験した。投与量は 12.5-200 mg/kg/day (4-60 mg NO₂-N/kg/day) であった。生存には何ら影響を与えておらず、老齢ラットにおける癌病変と非癌病変について調べた。亜硝酸投与群全てと、非投与群の全てについてのリンパ腫の発生率は各々の 8.5%、12.5%であった。また、リンパ性網皮腫の発生頻度は、非処理群 15.3%、処理群 23.7%であったとし、リンパ腫の増加は統計的に有意で、さらに飲水により投与された群に特によく反映しているとしている。しかし、米国政府の亜硝酸に関するワーキンググループにより、彼らの研究の標本スライドについ

て組織病理学的検証を行ったところ、リンパ腫と判定されていたものを確認できなかったとし、投与群と非投与群との間に有意な差は認められなかったとした。

Maekawa ら³¹⁾は、雌雄各 50 匹のラットに亜硝酸ナトリウム 0, 1,250 と 2,500 mg NaNO₂/l を含む飲水を 2 ヶ年経口投与したが、これらの濃度は、0, 2.5, 5 mg NO₂-N/kg/day の投与量と一致する。腫瘍の発生率は何れの群の場合もほぼ 100% であった。しかし、生存期間、腫瘍発生までの期間、悪性腫瘍の増加などどれをとっても有意な差は見られなかったとしている。

その他の亜硝酸ナトリウム経口投与による発ガン性試験の結果を表 2 に示した。

Speijers³⁾は、動物に対する亜硝酸塩の発ガン性に関する数多くの研究結果を基に、亜硝酸塩自身は動物に対して発ガン性はないと結論づけている。

表 2 経口投与による亜硝酸ナトリウムの発ガン性

動物名	投与法	期間	投与量 mg NO ₂ -N/kg/日	発ガン性	文献
マウス	飲水	18 ヶ月	42, 83, 167	-	12)
マウス	飲水	2 年	200	-	32)
ラット	飲水	2 年	40	-	33)
ラット	食餌	115 週	20, 50	-	34)
ハムスター	食餌	生涯	400	-	35)

発ガン性：- は「対照群と有意差なし」

亜硝酸塩と第二級アミン類等との反応により、容易に体内でニトロソ化合物が生成することが知られており、亜硝酸塩やニトロソ化合物を動物に経口投与した発ガン性 (成獣や胎仔) について、多くの調査資料がある。これらの点に関しては、米国科学アカデミー (NAS)³⁶⁾がまとめているが、その他にも多くの成書^{37,38,39)}等がある。

1.6. 生態毒性

Rodorigez-Moreno 及び Tarazona⁴⁰⁾は、高濃度の塩化物存在下でニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) を亜硝酸塩に曝露し、メトヘモグロビンの時間-発生プロフィールを観察した。実験は 82.36 mg/l の塩化物濃度、0.68, 1.69, 3.09 mg/l の NO₂-N 濃度で行い、メトヘモグロビンの有意な増加は NO₂-N が最大濃度の時のみ観察され、その値は曝露 192 時間後には 50%付近まで上昇した。また、回復は極めて速やかであった。亜硝酸塩毒性の生物標識としてのメトヘモグロビンの有用性を示した。

Russo と Thurston⁴¹⁾は、魚類の急性毒性値を表 3 のようにまとめ、魚の種類により毒性値が大きく異なるこ

と、また同じ科の中でも差があることを指摘している。

表3 亜硝酸塩の魚類に対する急性毒性⁴¹⁾

種類 (学名)	48-又は 96-時間 LC ₅₀ 値 (mg NO ₂ -N/l)
ニジマス (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	0.19-0.39
ニジマス (<i>Salmo clarki</i>)	0.48-0.56
マスノスケ (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	0.88
コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	2.6
チャンネルキャットフィッシュ (<i>Ictalurus punctatus</i>)	7.1-13
ラビリンスキャットフィッシュ (<i>Clarias lazera</i>)	28-32
ファットヘッドミノー (<i>Pimephales promelas</i>)	2.3-3.0
キンギョ (<i>Carassius auratus</i>)	52
ブルーギル (<i>Lepomis macrochirus</i>)	80
オオクチバス (<i>Micropterus salmoides</i>)	140
コクチバス (<i>Micropterus dolomieu</i>)	160
グリーンサンフィッシュ (<i>Lepomis cyanellus</i>)	160
グアダループバス (<i>Micropterus treculi</i>)	190

2. 代謝

(1) 吸収

亜硝酸塩は、次のような経口投与で容易に吸収される。亜硝酸塩は、胃の粘膜や腸管の壁を通して、拡散により吸収される。経口投与で ¹³NO₃⁻ と ¹³NO₂⁻ をマウスに体重 1 kg あたり 10~100 mg を投与した後、10 分以内に完全に吸収された⁴²⁾。

(2) 分布

亜硝酸塩は、組織中に分布するが、生物蓄積は起こさない²⁸⁾。

(3) 代謝

ヒトの唾液や胃に存在する細菌は、硝酸塩を亜硝酸塩に還元できる²⁸⁾。特に、哺乳ビンで授乳している乳児の胃で酸が減少 (pH の上昇) すると、細菌により硝酸塩が亜硝酸塩に還元されやすくなり、胃に亜硝酸塩が増加する。このために、3 ヶ月以下の乳児には亜硝酸塩が多く生成する²⁸⁾。

亜硝酸塩は、赤血球中のヘモグロビン (各組織へ酸素を運搬するため、血液の能力として科学的役割が大きい) と反応してメトヘモグロビンを形成し、酸素の運搬ができなくなる⁴²⁾。

Spiegelhalder ら⁴³⁾ は、唾液中の細菌は吸収した硝酸塩の 5% を亜硝酸塩に還元すると報告している。

胃の中の亜硝酸塩は、第二級アミンや他のアミン基質と反応して発ガン性物質とされている N-ニトロソ化合物を生成する^{44,45)}。

(4) 排泄

Schneider と Reary⁴⁶⁾ は、イヌ、ヒツジ及びシエッタランドポニーにおける亜硝酸塩の半減期は 0.5~0.6 時間と、腎排泄により非常に速いことを報告している。

3. 疫学

当然のことながら、亜硝酸性窒素単独の健康影響に関する疫学的調査はない。ただし、硝酸性窒素を含有する水は条件により亜硝酸性窒素が共存するし、摂取された場合に体内で亜硝酸性窒素に還元されることから、ここでは亜硝酸性窒素に関する疫学調査を紹介する。

Walton⁴⁷⁾ は、米国公衆衛生協会 (American Public Health Association) による調査で、乳児の 278 人以上にチアノーゼ患者が発生し、これは、乳児や母親が使用する水中の硝酸塩汚染が明らかに関係していると発表した。しかし、大半の症例において硝酸塩濃度 40 mg/l 以上であり、しかも、患者はほとんど例外なく 3 ヶ月未満の乳児であるという関係を認めている。また、水中の硝酸塩-亜硝酸塩が 10 mg/l 以下では乳児のチアノーゼ患者は発見されなかったとしている。下痢は比較的乳幼児に一般的であり、下痢を伴った乳児が最も敏感に硝酸塩や亜硝酸塩の毒性影響を受ける人口群である。下痢症状を有する乳児を含めた Walton⁴⁷⁾ の報告は、すべての乳児保護のための根拠として提案されている。

Craun ら⁴⁸⁾ は、イリノイ州 Washington 郡において 1~8 才までの子供 102 人に対して疫学的な調査を行った。調査対象として、64 人は高濃度の硝酸塩 (硝酸性窒素 22~111 mg/l) を含む水を使用する人、38 人は低濃度の硝酸塩 (硝酸性窒素 10 mg/l 以下) を含む水を使用する人について行った。この結果、硝酸性窒素濃度 22~111 mg/l の水を使用する人でもメトヘモグロビンの濃度は低濃度

グループと比べ有意な差はなく、102 人のうちメトヘモグロビン濃度が 2 %以上のヒトは 5 人であった。

4. WHOガイドライン及び外国の水質基準

1995 年 JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) は、ラットを用いた 13 週間の飲水投与試験により副腎球状帯過形成が認められたことから、その無作用量 (NOEL) を 5.4 mg NO₂/kg/day とし、また、ラットを用いた 2 年間の飲水投与試験から心臓及び肺の組織学的変化を認めたことから、その NOEL を 6.7 mg NO₂/kg/day としている。そして、これらを基に、不確実係数 100 (種間差および種内差) から、亜硝酸塩の一日許容摂取量 (ADI) を亜硝酸イオンとして 0-0.06 mg NO₂/kg・体重と決定した。これは体重 60 kg のヒトでは 3.6 mg/day となり、一日 2 l の水を飲料するとして、飲料水に ADI の 10 % を当てるとすると水質のガイドラインは 0.18 mg/l となる。この値は、1993 年の WHO ガイドライン値 3 mg/l よりかなり低い値となっている。しかし、3 ヶ月未満の乳児は哺乳ビンで育てられており、亜硝酸によるメトヘモグロビン形成に非常に弱いと考えられ、このリスク評価に対しての定量的データが欠けているため、飲料水のガイドラインの設定はより慎重に、用心深くならざるを得ない。そこで、WHO の新しい飲料水質ガイドライン値は、亜硝酸イオンとして 0.2 mg/l と提案された。

米国科学アカデミーの水質基準委員会 (The Committee on Quality Criteria) は、公共水道における亜硝酸窒素を 1 mg/l 以下と勧告した⁴⁹⁾。EPA の水質クライテリア⁵⁰⁾では、生活用水の亜硝酸窒素が 1 mg/l を超えないように提案している。

5. 我が国の水質基準

硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素は、水の汚染を判定する指標として古くから採用されていた。1906 年 (明治 39 年) の日本薬学会協定衛生試験法飲料水検査法における飲料水の判決では、「亜硝酸: 含有すべからず」、「硝酸: 1 リートルにつき 20 ミリグラムに止まるべし」と定めている。1922 年 (大正 11 年) の内務省令第 3 号及び 1932 年 (昭和 7 年) の内務省令第 35 号の常水判定標準及び試験法においても、「亜硝酸は含有すべからず」、「1 リートルにつき 20 ミリグラム以上の硝酸 (N₂O₅) を含有すべからず」と定めている。

その後、1936 年 (昭和 11 年) の水道協会協定上水衛生試験法で「亜硝酸性窒素」については「定性で検出すべからず」、「硝酸性窒素」については、「5 mg/l」と初めから数値が示された。この数値は先の内務省令の基準を換算

したものである。1950 年 (昭和 25 年) の「飲料水の判定基準とその試験方法」では、硝酸性窒素について「10 mg/l を超えてはならない」と改正された。これは、硝酸性窒素についての健康影響が明らかになってきたことによる改正である。

1958 年 (昭和 33 年) の水道水質基準に関する省令 (厚生省令第 23 号) では、「アンモニア性窒素及び亜硝酸性窒素は同時に検出してはならない」と規定された。

この基準までの亜硝酸性窒素は、糞便汚染の指標とされており、これが検出されることは比較的時間的に近い汚染があったことを意味している。アンモニア性窒素との同時検出は、少し前から検査時点まで汚染源が存在していることを意味している。

1978 年 (昭和 33 年) の水道水質基準に関する省令 (厚生省令第 56 号) では、アンモニア性窒素が削除され、「硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の合計量で 10 mg/l 以下であること」とされた。この基準は、「亜硝酸性窒素については、自然水中では硝酸性窒素に比べて一般に極めて低い濃度で存在することが知られており、健康影響は硝酸性窒素が体内で亜硝酸性窒素に還元され、同様にメトヘモグロビン血症を惹き起こすことが考えられる。さらに、測定方法が両者を一度に測定することが可能で、別々に検査する必要性が低い」とされ、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の合計量について基準値が定められた。水質項目の意義付けが変わってきたものの一つである。

1998 年 WHO は飲料水のガイドラインとして亜硝酸塩 0.2 mg/l (亜硝酸性窒素としては 0.06 mg/l に相当)を示し、我が国は 1998 年 6 月に水道水質基準の監視項目としての指針値「亜硝酸性窒素 0.05 mg/l 以下」を追加した。ただし、従来の健康に関する項目としての水質基準値「硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の合計量で 10 mg/l 以下であること」はそのまま継続されている。

参考文献

- 1) E.H.W.J. Burden, *Analyst*, **86**, 429-433 (1961).
- 2) T. Wally and M. Flanagan, *Postgraduate Medical Journal*, **63**, 643-644 (1987).
- 3) G.J.A. Speijers, "Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food". WHO Food Additives series 35, ed. by WHO, Geneva, 1996, pp.269-324.
- 4) K. Imaizumi, I. Tyuma, K. Imai, H. Kosaka and Y. Ueda, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **45**, 97-104 (1980).
- 5) Merck Index, Ninth Edition. Merck Co., Inc., 1976.
- 6) WHO, "Evaluation of the toxicity of a number antimicrobials and antioxidants. (Sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Adittives)", WHO Technical Report Series No.228, Geneva, 1962.

- 7) H. Druckrey, D. Steinhoff, H. Beuthner, H. Schneider and P. Klärner, *Arzneim. Forsch.*, **13**, 320-323 (1963).
- 8) H.I. Shuval and N. Guener, "Health effects of nitrates in water (EPA600/1-77-030)". U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, 1977
- 9) C.K. Chow, C..J. Chen and C. Gailola, *Tox. Lett.*, **6**, 199-206 (1980).
- 10) H.P. Til, H.E. Falke, C.F. Kuper and Willems, *Food Chem. Toxicol.*, **26**, 851-659 (1988).
- 11) P. Fritsch, M. Canal, G. Saint-Blanquat and E. Hollande, *Ann. Nutr. Alim.*, **34**, 1098-1114 (1980).
- 12) K. Inai, Y. Aoki and S. Tokuoka, *Gann*, **70**, 203-208 (1979).
- 13) FDA, "Teratologic evaluation of FDA 71-9 (sodium nitrite) (Rept. No.FDABF-GRAS-061", FDA, Mespeth, NY, 1972.
- 14) FDA, "Teratologic evaluation of FDA 71-10 (potassium nitrite) (Rept. No.FDABF-GRAS-065)", FDA, Mespeth, NY, 1972.
- 15) M. Globus and D. Samuel, *Teratology*, **18**, 367-377 (1978).
- 16) P. Olsen, J. Gry, I. Knudsen, O. Meyer and E. Poulsen, "Animal feeding study with nitrite-treated meat", IARC Scientific Publications No.57, IRAC, Lyon, 1984, pp.667-675.
- 17) A.C. Roth, G.E. Herkert, J.P. Bercz and M.K. Smith, *Fund. Appl. Toxicol.*, **9**, 668-677 (1987).
- 18) 塩原正一, 日衛誌, **42**, 836-846 (1987).
- 19) FDA, "Study of mutagenic effects of sodium nitrate", FDA, Menlo Park, CA, 1972.
- 20) FDA, "Study of mutagenic effects of sodium nitrite", FDA, Menlo Park, CA, 1972.
- 21) D.B. Couch and M.A. Friedman, *Mutat. Res.*, **31**, 109-114 (1975).
- 22) W.Z. Whong, N.D. Speciner and G.S. Edward, *Mutagenesis*, **1**, 277-282 (1979).
- 23) F. Kodama, M. Umeda and T. Tsutsui, *Mutat. Res.*, **40**, 119-124 (1976).
- 24) S. Hussain and L. Ehrenberg, *Mutat. Res.*, **26**, 419-422 (1974).
- 25) S.M. El-Nahas, M. Globus and S. Vethamany-Globus, *J. Toxicol. Environ. Health*, **13**, 643-64 (1984).
- 26) M. Ishidate, T. Sofuni, K. Yoshikawa, M. Hayashi, T. Nohmi, M. Sawada and A. Matsuoka, *Food Chem. Toxic.*, **22**, 623-636 (1984).
- 27) O. Sidorkina, M. Saparbaev and J. Laval, *Mutagenesis*, **12**, 23-27 (1997).
- 28) U.S. Environmental Protection Agency. "Health effects criteria document for nitrate/nitrite", Washington, DC, 1985.
- 29) P.M. Newberne, "Dietary nitrite in the rat ", FDA, Rockville, MO, 1978.
- 30) P.M. Newberne, *Science*, **204**, 1079-1081 (1979).
- 31) A. Maekawa, T. Ogiu and H. Onodera, *Food Cosmet. Tox.*, **20**, 25-33 (1982).
- 32) A.M. Pearson and S.D. Sleight, *Proc. Eur. Meet. Meat Res. Work*, **26**, 216-218 (1980).
- 33) W. Lijinsky and R.M. Kovatch, *Toxicol. Indust. Health*, **5**, 25-29 (1989).
- 34) D. Grant and W.H. Butler, *Food Chem. Toxicol.*, **27**, 565-571 (1989).
- 35) H. Ernst, H. Ohshima, H. Bartsch, U. Mohr and P. Reichart *Carcinogenesis*, **8**, 1843-1846 (1987).
- 36) NAS (National Academy of Science), "The health effects of nitrate, nitroso-compounds", National academy Press, Washington, DC, 1981.
- 37) H. Bartsch, I.K. O'Neil, M. Castegnaro and M. Okada, "N-Nitroso Compounds :Occurrence and Biological Effects (IARC Monograph No. 41)", IARC, Lyon, France, 1982.
- 38) I.K. O'Neil, J. Chen, S.H. Lu and H. Bartsch, "Relevance to Human Cancer of N-Nitroso Compounds, Tobacco Smoke and Mycotoxine (IARC Monograph No. 105)", IARC, Lyon, France, 1990.
- 39) I.K. O'Neil, R.C. von Borstel, C.T. Miller and H. Bartsch, "N-Nitroso Compounds:Occurrence and Biological Effects and Relevance to Human Cancer (IARC Monograph No. 57)", IARC, Lyon, France, 1984.
- 40) P.A. Rodriguez-Moreno and J.V. Tarazona, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **53**, 113-119 (1994).
- 41) R.C. Russo and R.V. Thurston, "Advances in World Aquaculture, Vol.3", ed. by D.G. Brunes and J.R. Tomasso, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 1991, pp.58- 89.
- 42) N.J. Parks, K.A. Krohn, C.A. Mathis, J.H. Chasko, K.R. Geiger, M.E. Gregor and N.F. Peek, *Science*, **212**, 58-61 (1981).
- 43) B. Spiegelhalter, G. Eisenbrand and R. Preussmann, *Food Cosmet. Tox.*, **14**, 545-548 (1976).
- 44) J. Sander and F. Schweinsberg, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsk. Hyg. Abt.1:Orig. Reihe*, **B 156**, 299-340 (1972).
- 45) H. Ohshima and H. Bartsch, *Cancer Res.*, **41**, 3658-3662 (1981).
- 46) N.R. Schneider and R.A. Yeary, *Am. J. Vet. Res.*, **36**, 941-947 (1975).
- 47) G. Walton, *Am. J. Pub. Health*, **41**, 986-996 (1951).
- 48) G.F. Craun, D.G. Greathouse and D.H. Gunderson, *Int. J. Epidemiol.*, **10**, 309-317 (1981).

- 49) National Academy of Science, "Water quality criteria",
National Academy Press, Washington, DC., 1972.
- 50) U.S. EPA, "Quality criteria for water", U.S.EPA,
Washington, DC., 1976.