

平成 11 年度厚生科学研究費補助金  
生活安全総括研究事業報告

「タバコ煙及び加熱食品中のダイオキシン類の定量及びその評価」

(H-11-生活-025)

主任研究者 若林 敬二

国立がんセンター研究所 がん予防研究部

平成 11 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

総括研究報告書

「タバコ煙及び加熱食品中のダイオキシン類の定量及びその評価」

(H-11－生活-025)

主任研究者 若林 敬二

国立がんセンター研究所 がん予防研究部

研究要旨

ダイオキシンに代表される内分泌攪乱作用物質が、環境中に広く存在している。本研究においては、生活環境中に存在している内分泌攪乱物質の由来を正確に把握することを目的として、タバコ煙中のダイオキシン類の定量を行うとともに、未知の内分泌攪乱物質の検索を行った。まず、タバコ煙の主流煙及び副流煙中のダイオキシン類は石英繊維フィルター及びポリウレタンフィルターを重ね合わせるにより効率良く回収できることが分かった。次に5銘柄の国産タバコの主流煙及び副流煙、更にはタバコの葉の中に含まれているダイオキシン量を測定したところ、全ての試料中よりダイオキシン類が検出された。主流煙及び副流煙中のダイオキシン類の濃度はタバコ一本あたり 8.5～25 pg および 9.5～35 pg であり、これらはタバコの葉に由来するものとタバコの葉の燃焼によって生ずるものがあることがわかった。。また、河川水中より、変異原性を有し、AhR に結合する新規 coplanar PCB である 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl を同定した。更に、卵巣摘出ラットを用いた実験系は in vivo エストロゲン様作用物質の検出系として有用であることが示唆された。

分担研究者

川森俊人 国立がんセンター研究所  
がん予防研究部 室長

多田敦子 国立がんセンター研究所  
がん予防研究部 研究員

後藤純雄 国立公衆衛生院地域環境  
衛生学部環境健康影響室  
室長

#### A. 研究目的

乳がん、精巣がん等の発生に環境中の内分泌攪乱物質が関与していることが示唆されている。更に、内分泌攪乱作用を示すダイオキシン等の化合物は生物濃縮が起こりやすく、大きな社会問題になっている。

ダイオキシン類は食物、大気、水及び土壤中より検出されており、そのヒト曝露量は大都市地域で 0.52-3.53 pgTEQ/kg/day と報告されている。ダイオキシン類の大きな発生原因の一つとして、ゴミの焼却炉における加熱反応が関与していることが指摘されている。

一方、我々のより身近な生活環境で、加熱反応が係っているものとして

は、喫煙や加熱調理食品が挙げられる。タバコの煙は喫煙者に直接摂取される主流煙と空気中に拡散する副流煙があり、両者の煙ともニトロソアミン類、多環性芳香族炭化水素化合物等の発がん物質が含まれている。又、焼肉、焼魚等に代表される加熱調理食品にもヘテロサイクリックアミン等の発がん物質が存在していることが報告されている。しかしながら、タバコの煙及び加熱食品中のダイオキシン類の広範な分析研究は未だ行われておらず、正確な定量値の報告はほとんどない。

本研究においては、日常生活に密着したタバコの煙中のダイオキシン類の定量を行い、生活環境中に存在しているダイオキシン類の由来を正確に把握し、それらのヒト健康に及ぼす影響を評価することを目的とする。また環境中にはダイオキシンや PCB 類と同様な毒性を有する未知化合物が多く存在しているものと推定される。そこで、内分泌攪乱作用を示す新規物質の同定についても本研究で行う。以上の研究をどうして得られる成果は、公

衆衛生学的見地より重要な基礎的研究資料となるばかりでなく、ダイオキシン類等の内分泌攪乱物質のヒト曝露量のバックグラウンドを知る上で貴重なデータになるものと思われる。

## B. 研究方法

研究は以下の4つに分けて行った。すなわち

1) タバコ煙中のダイオキシン類定量のための前処理法の開発。

2) タバコ煙中のダイオキシン類の定量

3) 環境中の新たな内分泌攪乱作用物質の検索

4) 内分泌攪乱作用物質の *in vivo* 毒性評価系の検討

具体的には

1) については、種々の回収方法、特にタバコ煙成分のフィルター捕集に際しての、フィルターの種類、捕集速度、その後のカラム分離における分析妨害成分の除去、ならびにコンタミネーションに対する防御策など、広い観点から前処理法の検討を行った。

2) については種々の銘柄のタバコの煙及びタバコの葉の中に存在するダ

イオキシン類含量を分析し、タバコの葉の燃焼に由来するダイオキシン化合物の種類及び生成量を測定する。更に、タバコの煙からのダイオキシン類のヒト曝露量を測定し、それらのヒト健康に及ぼす影響を評価する。

3) については報告例の少ない河川水に注目し、新たな内分泌攪乱作用物質の検索を行った。

4) では、内分泌攪乱作用物質の評価を行うことを目的として、現在、内分泌攪乱作用の *in vivo* 試験として広く用いられている卵巣摘出ラットの子宮重量変化を指標とした検出方法を用いその有効性を検討した。更に加熱食品中に含まれる発がん性ヘテロサイクリックアミンの子宮重量変化に及ぼす影響について検討した。

## C. 研究結果

上記研究方法により以下の成果を得た。

1) タバコ煙中のダイオキシン類の捕集、精製

タバコ煙の捕集・精製に関し以下の方法により効率よく捕集・精製、その後のGC/SIMS分析を行えることが明らかとなった。

すなわち定量型自動喫煙装置を用い、国際標準喫煙モードに基づき燃焼させたタバコの主流煙及び副流煙は、石英繊維フィルター及びポリウレタンフォーム (PUF) を用いて回収した。フィルターまたは PUF をメタノール及びトルエンで超音波抽出し、内部標準物質を加えた後、1M 塩酸、次いで 1M 水酸化ナトリウム溶液を加えて液-液分配を行った。得られたトルエン溶液を順次、シリカゲルカラム、硫酸酸性エクストレルートカラム、シリカゲルカラム、塩基性アルミナカラムを用いて精製し、最終的に塩化メチレン-ヘキサン溶離液で溶出しサンプルを GC/SIMS で分析した。

2) タバコ煙中のダイオキシン類の定量

国際喫煙モードに基づいてタバコを燃焼させ、そのすべての主流煙および副流煙から PCDD 類ならびに PCDF 類が検出された。我々の用いた捕集方法において、タバコ煙中のダイオキシン類は、フィルター及び PUF でほぼ完全に捕集されていると考えられた。主流煙中のダイオキシン類濃度が

高い銘柄については、副流煙中の濃度も高い傾向がみられた。また、PCDD はフィルターで、PCDF は PUF でトラップされている傾向がみられた。主流煙および副流煙中のダイオキシン類の濃度は、タバコ 1 本当たり 8.5~25 pg および 9.5~35 pg であった。それらの毒性等価換算濃度は、1998 年 WHO/ICPS の毒性等価係数 (TEF) を用いて 2,3,7,8-TCDD の毒性に換算した結果、主流煙はタバコ 1 本当たり 0.0005~0.6 pg-TEQ、副流煙は 0~0.36 pg-TEQ であった。3 種類の国産タバコについて、その葉からもダイオキシン類がタバコ 1 本当たり 60~65 pg の濃度で検出された。タバコの主流煙及び副流煙中のダイオキシン類の種類および濃度と、タバコの葉のそれらを比較することにより、タバコの煙中のダイオキシン類はタバコの葉に由来するものと、タバコの葉の燃焼によって生じたものがあることが考えられた。

3) 環境中の新規内分泌攪乱作用物質の検索

河川水の変異原活性の強いことが指

摘されている和歌川に注目し、この河川水中の変異原物質の単離を行った。その結果、新規変異原物質として 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl を同定した。この化合物の変異原性は *S. typhimurium* TA98 に対して、1 µg 当り S9 mix の非存在下で 202,000 であり、MeIQx (145,000 rev./ µg) とほぼ同様の比活性を示すことがわかった。また、同化合物はアリルヒドロカーボンレセプター (AhR) を発現させた酵母を用いた系において AhR と結合し、その活性は β-naphthoflavone とほぼ同等であることがわかった。また、この化合物は、和歌川の河川水中に 21 ppb の濃度で存在することが明らかになった。

#### 4) 内分泌攪乱作用物質の *in vivo* 毒性評価系の検討

卵巣摘出したラットの子宮重量変化を指標とした試験系を用いて、17β-estradiol および加熱食品中の発がん物質として知られている 3 種類のヘテロサイクリックアミン、IQ、PhIP、

Glu-P-2 の活性を調べた。17β-Estradiol 投与により、子宮重量、子宮内膜及び上皮細胞の高さが増加した。又、細胞増殖率も増加した。このことより、本試験は *in vivo* エストロゲン様作用物質の検出系として有用であることが示唆された。一方、今回検討した 3 種類のヘテロサイクリックアミン、IQ、PhIP、Glu-P-2 は、この実験系において、明らかなエストロゲン様作用を示さなかった。今後、この実験系を用いて様々な環境中のエストロゲン様作用物質の検索を行なっていく予定である。

#### D. 考察

ダイオキシン類は食物、大気、水および土壤中より検出されており、そのヒト暴露量は大都市地域で、0.52-3.53 pgTEQ/ kg/ day と報告されている。今回、5 種類の国産タバコの主流煙及び副流煙のフィルター上に採集された全ての試料中よりダイオキシン類が検出された。主流煙及び副流煙中のダイオキシン類の濃度は 8.5~25 pg および 9.5~35pg/ 本であり毒性等価換算濃度は、各々、0.0002~0.24

pgTEQ/kg/day および 0~0.14 pgTEQ/kg/day と計算され、主流煙中からのダイオキシン類の毒性評価換算濃度と大都市地域の大気中からのそれと (0.18 pgTEQ/kg/day) ほぼ同じレベルであることがわかった。タバコの煙中のダイオキシン類はタバコの葉に由来するものと、タバコの葉の燃焼によって生成したものとがあることが考えられた。尚、タバコの葉中のダイオキシン類は農業由来であることが示唆された。

和歌川より単離された 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl は変異原性を示すのみならず、AhR と結合する能力を有するユニークな化合物であり、今後、種々の生物活性を調べることが必要と考えられる。又、河川水中の新規 PCB 化合物は、この化合物のみならず、他にも存在することが考えられることにより、今後更に検索を続けていくことが重要と思われる

現在、ER 及び AhR を発現させた酵母を用いた実験系で、*in vitro* で ER および AhR に結合する化合物を検索することができる。これら *in vitro* で得

られた結果を *in vivo* で確認する系の一つとして卵巣を摘出したラットを用いた実験系があり、本研究でもその有用性を確認した。

今後、*in vitro* および *in vivo* の実験系を組み合わせることにより、環境中に存在する種々の内分泌攪乱作用物質を同定し、ダイオキシンを始めとする内分泌攪乱物質のヒト健康に及ぼす影響を評価する上で、有用な研究資料を提出することが重要であると思われる。

## E. 結論

1) 国際モードに従い定量型自動喫煙装置でタバコを燃焼させ、種々の捕集方法を用いて、タバコ中のダイオキシン類定量法を検討した。その結果、石英フィルターとウレタンフィルターの二重トラップを用いることにより PCDD 類、PCDF 類を効率よく回収できることが分かった。

2) タバコの主流煙、副流煙中のダイオキシン類の含量はタバコ 1 本あたり、18~60 pg であった。一日に体重 50 kg の人が一箱喫煙した場合の主流

煙中のダイオキシン類の毒性等価換算濃度は 0.0002 ~ 0.24 pgTEQ/kg/day であり、大都市地域の大气中からのそれらとほぼ同程度であった。

3) タバコの主流煙、副流煙及びタバコの葉中に含まれているダイオキシン類を定量した結果より、タバコ煙中のダイオキシン類はタバコの葉に由来するものと、タバコの葉の燃焼によって生じたものがあることがわかった。

4) 和歌川河川水中よりコプラナー PCB 誘導体 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl を同定した。この化合物は変異原性を示すとともに AhR に  $\beta$ -naphthoflavone と同程度の強さで結合する事がわかった。

5) 卵巣摘出ラットを用いた実験系は in vivo エストロゲン作用物質の検出系として有用であることが示唆された。一方、乳がん誘発物質である PhIP 及び IQ は本実験系においてはエスト

ロゲン作用を示さなかった。PhIP 及び IQ による乳がんの発生にはエストロゲン作用以外の機構が関与していることが推定された。

## F. 研究発表

### 学会発表

中井淳子, 西島知恵, 後藤純雄, 四宮貴久, 池北雅彦. タバコ煙の種々細胞株に及ぼす細胞死誘導効果の比較. 日本薬学会第 1999 年会, 徳島, 3 (1999)

後藤純雄. 室内空気中の変異原性物質について. 平成 11 年度室内環境学会セミナー 第 2 回「室内空気環境」講演会, 東京, 11;1-13 (1999)

孫成均, 杉田和俊, 小谷野道子, 遠藤治, 森康明, 河合昭宏, 後藤純雄. 分級採取粒子試料及びガス状試料中の PAH 測定法. 平成 11 年度室内環境学会総会, 東京, 12;2(1)72-73 (1999)

川森俊人: ヘテロサイクリックアミン類の卵巣摘出ラットにおけるエストロゲン様作用の検討 第 16 回日本毒性病理学会 (2000 年 1 月 27 日)

塩谷岳樹, 多田敦子, 渡辺徹志, 平山晃久, 大江武, 糠谷東雄, 杉村隆, 若林敬二: 和歌川河川水中の変異原物



質の単離・同定、日本環境変異原学会、第28回大会、岐阜（1999年、12月）

Takeji Enya, Tetsushi Watanabe, Haruo Nukaya, Takeshi Ohe, Keiji Wakabayashi, Teruhisa Hirayama  
Isolation of Mutagen Present in Water from the Waka River in Wakayama, Japan

The 3rd IWA Specialized Conference on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants ECHOHAZARD 99, Otsu City, Shiga, Japan, (December, 1999)

G. 知的所有権の取得状況

なし

平成 11 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

「タバコ煙及びタバコ葉中のダイオキシン類の定量法の開発」

分担研究者 後藤 純雄 国立公衆衛生院 地域環境衛生学部

環境健康影響室長

研究要旨

タバコ喫煙によるダイオキシン類の人体曝露量を把握するための研究の一環として、本研究ではタバコ煙中のダイオキシン類の正確な捕集法について、定量型自動喫煙装置、高分解能 GC/MS、内部標準試料などを用いて検討した。その結果、タバコ煙発生源の後方に石英繊維フィルターを 2 枚重ね 1 段、次いで、ポリウレタンフォームを 3 段重ね 2 段をセットして採取すると、タバコ煙中のダイオキシン類の殆どが捕集出来ることを認めた。その捕集効率(総 PCDD, PCDF)は、石英繊維フィルターで 87%、ポリウレタンフォームでは 13%であった。

A. 研究目的

生活環境空気中には様々な有害な物質がガス状あるいは粒子状で存在している。人は呼吸することで、空気と一緒に空気中に含まれる有害物質も取り込んでいる。空気中の有害物質の発生源としては自動

車排ガスやごみ焼却炉からの排ガスなど様々であり、最も身近な発生源の一つとしてタバコの煙が挙げられる。タバコの煙は、喫煙者に直接曝露する主流煙と空気中に拡散する副流煙があり、どちらもニトロソアミン類や多環芳香族炭化水素

類（PAH）などの多種類の有害物質を含んでいる。また、ダイオキシン類のように、PAH 等に較べてその存在量が低いにもかかわらず、生体影響や残留性が高いことから一日摂取量基準が非常に低く設定されている物質もタバコの煙には含まれている。これまで、ダイオキシン類の化学構造や各種環境媒体中の含有量などを中心に研究が進められ、タバコ煙中の当該物質の種類などについても若干明らかにされつつある。しかし、それらの含有量があまりにも微量であるため、主流煙、副流煙中の濃度及びその曝露実態や曝露要因に関する知見は極めて少ない現状にある。

そこで、本研究では、タバコ喫煙に伴う有害物質の曝露実態を把握し、対策を講ずるための基礎的研究の一環として、タバコ煙中（主流煙及び副流煙）のダイオキシン類の濃度を正確に測定するための手法について検討し、当該物質の人体曝露量や発生要因に関する基礎資料を得ることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1) タバコ煙中ダイオキシン類の捕集法の検討

タバコ煙中のダイオキシン類は、粒子ばかりでなく石英繊維フィルターを通過したガス中にも存在することが懸念されたため、ポリウレタンフォーム(PUF)を用いてガス中のダイオキシン類の吸着捕集法について検討を加えた。石英繊維フィルター (2 枚重ね) の後方にポリウレタンフォーム3段を2セット分 (ポリウレタンフォーム-1 及びポリウレタンフォーム-2) を追加し、ダイオキシン類の捕集効率の検討を行った。即ち、タバコ (銘柄A)の副流煙を用い、石英繊維フィルター、ポリウレタンフォーム-1 及びポリウレタンフォーム-2 試料を捕集し、それらに含まれるダイオキシン類を測定した。なお、ポリウレタンフォーム1段の大きさは2.5cm  $\phi$   $\times$  5cm であった。

### 2) 試料の採取

タバコ煙（主流煙及び副流煙）試料は

定量型自動喫煙装置（中央産商社製）を使い、国際標準喫煙モード（1 分間 1 パフ、パフ流量 35ml/2 秒）に従ってタバコを燃焼させ、発生した副流煙を石英繊維フィルター及びポリウレタンフォームに捕集した。

### 3) ダイオキシン類の抽出及び分析

捕集した石英繊維フィルター及びポリウレタンフォーム試料は、秤量した後抽出時まで $-80^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存した。試料の抽出では、メタノールとトルエンを抽出溶媒として用い、20 分間の超音波照射を各 2 回及び 1 回行った。抽出液の 1/2 を分取し、内部標準物質 ( $^{13}\text{C}$  同位体：4~7 塩素 PCDD 及び PCDF は 1ng、8 塩素 PCDD 及び PCDF は 5ng) を添加した。1M NaOH 水溶液による液-液分配を行い、次いでトルエン溶液をシリカゲルカラムクリーンアップ処理に供した。得られた溶出液を硫酸を含浸させた Extrelut® NT20 カラムに通すことにより硫酸処理を行い、次いでシリカゲルカラム処理および塩基性アルミナカラム処

理を行い、塩化メチレン-ヘキサン溶出液に含まれるダイオキシン類を高分解能 GC/MS 分析に供した。

高分解能 GC/MS 測定には、HP-5890series (HP 社製)を備えた JMS-700(日本電子製)を用い、分解能 10000 で測定を行った。キャピラリーカラムは、4 塩化物から 6 塩化物の分離用には SP-2331(長さ：60m、内径：0.32mm、膜厚：0.2 $\mu\text{m}$ 、スペルコ社製)、7 塩化物と 8 塩化物の分離用には RH-17(長さ：30m、内径：0.32mm、膜厚：0.25 $\mu\text{m}$ 、インヴェンテックス社製)をそれぞれ用いた。なお、ダイオキシン類の濃度は、同位体内部標準法を用いて算出した。

### C. 研究結果

石英繊維フィルターで捕集されたダイオキシン類、ポリウレタンフォーム (3 段分) 1 セット目で捕集されたダイオキシン類及びポリウレタンフォーム 2 セット目で捕集されるダイオキシン類を別々に分析した結果を表-1 に示してある。

この表からフィルターで約 87%が捕集され、更に前部のポリウレタンフォーム(3 段分)1 セット目でほぼ 100%が捕集されることが判った。ポリウレタンフォーム 2 セット目では、定量下限以下であったが、H7CDF の小さなピークが認められた。しかし、それ以外の同族体ではピークが認められなかったことから、石英繊維フィルター 2 枚とポリウレタンフォーム(3 段)1 セットで捕集を行うこととした。

なお、得られた各測定値のうち、定量下限値(4~5 塩素化物:10 pg/試料; 6~7 塩素化物:20 pg/試料; 8 塩素化物:50pg/試料)以下を N.D.として毒性等価係数(TEQ)は「0」として、各データを整理してある。

#### D. 考察

タバコの煙中のダイオキシン類は、粒子ばかりでなくフィルターを通過したガス中にも存在することが懸念されたため、日本産タバコ銘柄 A の副流煙を用いて

採取方法を検討した。採取には粒子状物質捕集用の石英繊維フィルター 2 枚の後方にポリウレタンフォームを 3 段を 2 セット直列につなぎ採取した。

その結果、石英繊維フィルター 2 枚重ね 1 段と PUF3 段 1 セットで、ダイオキシン類(PCDDs 及び PCDFs)を十分捕集出来ることが認められた。これまで、XAD 系樹脂がタバコ煙中のダイオキシン類の捕集に用いられた例があるが、XAD 系樹脂はその洗浄が繁雑な難点があった。今回用いたポリウレタンフォームはアセトンで 3 回洗浄して、乾燥させた後用いることが可能であったため、洗浄用の溶媒が少なくすむことなどの利点も認められた。

#### E. 結論

これまでの GC/MS 等の分析感度や測定精度が現在よりも低かったため、タバコ煙中のダイオキシン類に関しては、国内外とも研究例が少なく、タバコの種類や燃焼方法等、曝露状況や発生要因に

関する詳細な情報は少なかった。今回、定量型自動喫煙装置、高分解能 GC/MS 及び内部標準試料等を用いて、分析感度及び測定精度を上げることなどにより、タバコ煙試料中のダイオキシン類の測定が可能となった。

また、石英繊維フィルター(2枚)を通過したタバコ副流煙中のガス状物質にもダイオキシン類が含まれることや、それらはポリウレタンフォーム(3段1セット)で完全に吸着捕集出来ることが認められた。今回の捕集方法を用いることにより、タバコの各銘柄から発生した煙中のダイオキシン類の正確な濃度が求められそれとともにタバコ喫煙者の曝露量を推定することが可能となる。また、大気からの曝露基準濃度との比較評価も可能となることなどが判った。

## F. 研究発表

### 1. 発表論文

小谷野道子, 孫成均, 遠藤治, 後藤純雄, 渡辺征夫, 町井研士, 峯木茂, 松

下秀鶴. 低流量・小型カスケードインパクターで分級捕集した空気浮遊粒子の変異原性及び PAH 濃度:環境化学, 9(4):955-968 (1999)

森康明, 節田節子, 後藤純雄, 小野寺祐夫, 中井里史, 松下秀鶴. O-(2,3,4,5,6-ペンタフルオロベンジル)ヒドロキシルアミン含浸シリカゲルを充填したパッシブサンプラーによる室内環境中のアルデヒド類の測定. Journal of Health Science, 45(2):105-110 (1999)

相沢貴子, 浅見真理, 小笠原英城, 雨宮潤治, 後藤純雄. 水中有機物の物性変化による光触媒処理特性の評価. 水環境学会誌, 22(11):916-920 (1999)

Totsuka Y, Ushiyama H, Ishihara J, Sinha R, Goto S, Sugimura T, Wakabayashi K. Quantification of the co-mutagenic  $\beta$ -carbolines,

norharman and harman, in cigarette smoke condensates and cooked foods. Cancer Letters, 143:139-143 (1999)

Goto S, Sugita K, Takagi Y, Kohzaki K, Endo O, Yajima H, Ishii T, Matsushita H. Size-distribution measurement of mutagenic particles in indoor air. ; Indoor Air99; (4):267-272 (1999)

## 2.学会発表

中井淳子, 西島知恵, 後藤純雄, 四宮貴久, 池北雅彦. タバコ煙の種々細胞株に及ぼす細胞死誘導効果の比較. 日本薬学会第 1999 年会, 徳島, 3 (1999)

後藤純雄. 室内空気中の変異原性物質について. 平成 11 年度室内環境学会セミナー 第 2 回「室内空気環境」講演会, 東京, 11;1-13 (1999)

孫成均, 杉田和俊, 小谷野道子, 遠藤治, 森康明, 河合昭宏, 後藤純雄. 分級採取粒子試料及びガス状試料中の PAH 測定法. 平成 11 年度室内環境学会総会, 東京, 12;2(1)72-73 (1999)

後藤純雄, 遠藤治, 松本寛, 麻野間正晴, 平山晃久, 渡辺徹志, 世良暢之, 若林敬二. 日本各地における大気浮遊粉じん, 河川水および土砂試料の変異原性 (II). 日本環境変異原学会第 28 回大会, 岐阜, 12;105 (1999)

宇都宮公子, 町井研士, 後藤純雄, 遠藤治, 松木幸代, 深井文雄, 高木敬彦, 光崎研一, 加藤基恵. 大気浮遊粉じんの細胞間連絡阻害測定法の検討. 日本環境変異原学会第 28 回大会, 岐阜, 12;137 (1999)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1.特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



表-1 タバコ副流煙中ダイオキシン類の捕集効率

	Concentration * (pg/ 20 本)	捕集効率 (%)
石英繊維フィルター	330	87
ポリウレタンフォーム-1	48	13
ポリウレタンフォーム-2	N.D.	0

\*Total PCDD/ PCDF

平成 11 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

「タバコ煙及びタバコ葉中のダイオキシン類の定量」

分担研究者 若林 敬二 国立がんセンター研究所 がん予防研究部部長

研究要旨

空気中の有害物質に関する研究の一環として、タバコの主流煙および副流煙中のダイオキシン類(PCDD)ならびにポリクロロジベンゾフラン (PCDF)の濃度を測定した。さらに、タバコ煙中のダイオキシン類の生成原因を調べる目的で、タバコ葉中のダイオキシン類についても測定した。5 種類の異なる国産タバコについて、国際喫煙モードに基づいてタバコを燃焼させ、そのすべての主流煙および副流煙からダイオキシン類が検出された。主流煙および副流煙中のダイオキシン類の濃度は、タバコ 1 本当たり 8.5~25 pg および 9.5~35 pg であった。それらの毒性等価換算濃度は、1998 年 WHO/ ICPS の毒性等価係数 (TEF) を用いて 2,3,7,8-TCDD の毒性に換算した結果、主流煙はタバコ 1 本当たり 0.0005~0.60pg-TEQ、副流煙は 0~0.36 pg-TEQ であった。タバコ葉の中からダイオキシン類が検出されたことより、タバコの煙中のダイオキシン類はタバコの葉に由来するものと、タバコの葉の燃焼によって生じたものことがあることが考えられた。

A. 研究目的

近年、環境中の発がん物質や内分泌攪乱物質の曝露とヒトの健康との係わりについての感心が高まりつつ

ある。これらに関する情報は次第に蓄積されつつあるが、環境中に微量に存在する発がん関連物質及び内分泌攪乱物質の汚染状況を把握するためには、高感度かつ高精度な測定手

法が必要であることより、その実態  
解明は十分な状況ではない。特に、  
ダイオキシン、PCBなどの微量物  
質の環境中での存在実態に関しては  
不明な点が多い。

喫煙はヒトがん発生に深く関与し  
ていることが報告されている。タバ  
コの煙は喫煙者に直接摂取される主  
流煙と空気中に拡散する副流煙があ  
り、両者の煙ともニトロソアミン類、  
多環性芳香族炭化水素化合物等の発  
がん物質が含まれている。しかしな  
がら、タバコ煙中のダイオキシン類  
の分析に関する研究については、わ  
ずかにスウェーデンのグループが報  
告しているにすぎず、タバコ煙中の  
ダイオキシン類の広範な分析データ  
はほとんど見当たらない。そこで、  
空気中の有害物質に関する研究の一  
環として、タバコの主流煙および副  
流煙中のダイオキシン類(PCDD)なら  
びにポリクロロジベンゾフラン

## B. 研究方法

国産で好んで喫煙される市販の

タバコ銘柄を用い、1箱(20本)を  
1サンプルとした。タバコは定量型  
自動喫煙装置を用い、国際標準喫煙  
モードに基づき燃焼させた。主流煙  
及び副流煙は、石英繊維フィルター  
及びポリウレタンフォーム(PUF)  
で集めた。フィルターまたはPUFを  
メタノール及びトルエンで超音波抽  
出し、内部標準物質(4~7塩素PCDD  
及びPCDFは1ng, 8塩素PCDD及  
びPCDFは5ng)を加えた後、1M塩  
酸、次いで1M水酸化ナトリウム溶  
液を加えて液-液分配を行った。得  
られた溶液をシリカゲルカラム、硫  
酸酸性エクストレルートカラム、シ  
リカゲルカラム、塩基性アルミナカ  
ラムに付し、塩化メチレン-ヘキサ  
ンで溶出し、得られたサンプルをH  
RGC/HRMSで分析した。タバコ  
の葉及び巻き紙は、ソックスレー抽  
出器にいれ、トルエンで16時間連続  
抽出した。得られた抽出液を煙と同  
様の精製操作を行った後、GC/SIMS  
で分析した。

## C. 研究結果

### 1)ダイオキシン(PCDD)

5種類の異なる国産タバコについて、

国際喫煙モードに基づいてタバコを燃焼させて採集した主流煙および副流煙のすべてのサンプルから PCDD が検出された（表 1～5）。我々の用いた捕集方法において、タバコ煙中の PCDD は、フィルター及び PUF でほぼ完全に捕集されており、とくに PCDD はフィルター上に捕集される傾向が見られた。

主流煙、および副流煙から同定された異性体は 1,3,6,8-TCDD, 1,3,7,9-TCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HCDD ならびに OCDD であったが、毒性の強い 2,3,7,8-TCDD や 1,2,3,7,8-TCDD は検出されなかった。これらの異性体は主流煙中よりも副流煙中の濃度が高い傾向が観測された。

今回、三種類の銘柄（A, C, E）について同様の手法を用いてタバコ葉中のダイオキシン類の分析を行った。その結果、タバコ煙中と同様な異性体がタバコ葉中から検出された。タバコ煙中のダイオキシン類濃度はタバコ葉中のダイオキシン類に比べて低かった（ただし銘柄 C の煙中の 1,2,3,6,7,8-HCDD を除く）。このためタバコ煙中のダイオキシン類の発生は、タバコ葉中のダイオキシン

類の加熱による高温のための揮発（もしくは昇華）による可能性がある。

## 2) PCDF

主流煙および副流煙中の PCDF についてはタバコ銘柄により検出されないものもあった。検出された 3 銘柄のタバコについては、PCDF は PUF でトラップされている傾向がみられた。

主流煙、および副流煙から同定された異性体は多種に亘っているが 1,2,3,7,8-PCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HCDF が、主として検出された。PCDF の場合も PCDD と同様に、主流煙中よりも副流煙中の異性体の濃度が高い傾向が観測された。

PCDF が検出された三種類の銘柄のうち 2 銘柄は、タバコ葉中の PCDF の分析を行った。その結果、この 2 銘柄のタバコ煙中の PCDF の濃度はタバコ葉中の PCDF 濃度に比べて明らかに高かった（ただし銘柄 B を除く）。このためタバコ煙中の PCDF の発生は、タバコ葉中に由来するものと、タバコの葉の燃焼過程で生成したものがあることが推察された。

## 3) 毒性評価指数

主流煙および副流煙中のダイオキシン