

緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 主要国産たばこのたばこ葉及び主流煙中化学物質量の化学成分測定および比較 第 81 回日本衛生学会, 2011 年 3 月, 昭和大学, 第 81 回日本衛生学会講演要旨集

- 22) 杉山晃一, 稲葉洋平, 大久保忠利, 内山茂久, 高木敬彦, 櫻田尚樹. 日本産たばこ主流煙中 tobacco-specific N'-nitrosamines の分析 第 81 回日本衛生学会, 2011 年 3 月, 昭和大学, 第 81 回日本衛生学会講演要旨集
- 23) 稲葉洋平, 大久保忠利, 杉田和俊, 内山茂久, 鈴木元, 櫻田尚樹. 尿中 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol 測定法の検討 日本薬学会 第 131 年会, 2011 年 3 月, 静岡, 講演要旨集 (CD-ROM)
- 24) 杉山晃一, 稲葉洋平, 大久保忠利, 内山茂久, 高木敬彦, 櫻田尚樹. 日本産たばこ主流煙中 volatile N'-nitrosamines の分析 日本薬学会 第 131 年会, 2011 年 3 月, 静岡, 講演要旨集 (CD-ROM)
- 25) 大久保忠利, 稲葉洋平, 内山茂久, 鈴木元, 櫻田尚樹. 尿中 F2-isoprostane 類の測定法の開発 日本薬学会 第 131 年会, 2011 年 3 月, 静岡, 講演要旨集 (CD-ROM)

緒方裕光

1. 論文発表

- 1) Shimotohno KW, Kawamura F, Natori Y, Nanamiya H, Magae J, Ogata H, Endo T, Suzuki T, Yamaki H. Inhibition of septation in *Bacillus subtilis* by a peptide antibiotic, edeine B₁. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2010 ; 33(4) : 568-71.
- 2) Suzuki G, Yamaguchi I, Ogata H, Sugiyama H, Yonehara H, Kasagi F, Fujiwara S, Tatsukawa Y, Mori I, Kimura S. A Nation-wide survey on indoor radon from 2007 to 2010 in japan. *Journal of Radiation Research* 2010 ; 51 : 683-9.

2. 学会発表

- 1) 稲葉洋平, 松本真理子, 大久保忠利, 杉田和俊, 内山茂久, 吉見逸郎, 緒方裕光, 櫻田尚樹, 鈴木元. 0.01, 0.05 mg ニコチンたばこを喫煙した喫煙者の曝露量推計 第 80 回日本衛生学会学術総会, 2010 年 5 月, 仙台国際センター, 第 80 回日本衛生学会学術総会講演集. p.340.
- 2) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 化学分析および変異原性試験によるネオシーダーの評価 第 80 回日本衛生学会学術総会, 2010 年 5 月, 仙台国際センター, 第 80 回日本衛生学会学術総会講演集. p.341.
- 3) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. メンソール等配合市販たばこの化学分析および変異原性 日本環境変異原学会 第 39 回大会 2010 年 11 月, つくば市, 講演要旨集 p.139
- 4) 稲葉洋平, 大久保忠利, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 国産たばこのたばこ葉に含まれる変異原性および化学分析 日本環境変異原学会 第 39 回大会 2010 年 11 月, つくば市, 講演要旨集 p.139
- 5) 櫻田尚樹, 稲葉洋平, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元. 電子たばこの安全性評価 第 69 回 日本公衆衛生学会総会 2010 年 10 月, 東京, 講演要旨集.
- 6) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 主要国産たばこのたばこ葉及び主流煙中化学物質量の化学成分測定および比較 第 81 回日本衛生学会, 2011 年 3 月, 昭和大学, 第 81 回日本衛生学会講演要旨集

内山茂久

1. 論文発表

- 1) Uchiyama, S.; Inaba, Y.; Kunugita, N., Derivatization of carbonyl compounds with 2,4-dinitrophenylhydrazine and their subsequent determination by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 2011, In Press, Corrected Proof.
- 2) Uchiyama, S.; Inaba, Y.; Kunugita, N., A diffusive sampling device for simultaneous determination of ozone and carbonyls. *Analytica Chimica Acta* 2011, 691, 119-124.
- 3) Uchiyama, S.; Inaba, Y.; Kunugita, N., Determination of acrolein and other carbonyls in cigarette smoke using coupled silica cartridges impregnated with hydroquinone and 2,4-dinitrophenylhydrazine. *J. Chromatogr. A* 2010, 1217 (26), 4383-4388.
- 4) Koshida, H.; Onodera, T.; Arai, R.; Inaba, Y.; Uchiyama, S.; Ohta, T. Photomutagenicity of Side-stream Smoke Condensate of Cigarette with UVA-irradiation. *Genes and Environment* 2010, 32(2), 25-30.
- 5) 山田智美; 太田真由; 内山茂久; 稲葉洋平; 後藤純雄; 櫻田尚樹 冬季における居住環境のガス状汚染物質濃度 *産業医科大学雑誌* 2010, 32(3), 245-255.
- 6) 稲葉洋平; 内山茂久 日本たばこ主流煙の化学分析法と測定結果 *保健医療化学* 2010, 59(2), 139-144.
- 7) 後藤純雄; 遠藤治; 内山茂久; 稲葉洋平 たばこ煙中の成分測定 *臨床化学* 2010, 39(2), 123-129.

2. 学会発表

- 1) 太田和司, 内山茂久, 稲葉洋平, 中込秀樹, 櫻田尚樹. ハイドロキノンと 2,4-ジニトロフェ

ニルヒドラジンを含浸させたシリカカートリッジを用いた電子タバコから発生するカルボニル化合物の分析 日本化学会第 91 春季年会 2011 年 3 月, 日本化学会第 91 春季年会講演要旨集 (CD-ROM)

- 2) 坂元宏成, 内山茂久, 稲葉洋平, 中込秀樹, 櫻田尚樹. グルタルアルデヒド 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの還元的アミノ化による高速液体クロマトグラフ分析 日本化学会第 91 春季年会 2011 年 3 月, 神奈川大学, 日本化学会第 91 春季年会講演要旨集 (CD-ROM)
- 3) 太田真由, 内山茂久, 稲葉洋平, 後藤純雄, 櫻田尚樹. 2-ハイドロキシピリジンを脱離溶媒としたヘッドスペース/ガスクロマトグラフ法による空气中揮発性有機化合物の分析 日本化学会第 91 春季年会 2011 年 3 月, 日本化学会第 91 春季年会講演要旨集 (CD-ROM)
- 4) 稲葉洋平, 大久保忠利, 内山茂久, 大和浩, 櫻田尚樹. 嗅ぎたばこ葉に含まれる化学成分の分析 第 81 回日本衛生学会, 2011 年 3 月, 昭和大学, 第 81 回日本衛生学会講演要旨集
- 5) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 主要国産たばこのたばこ葉及び主流煙中化学物質の化学成分測定および比較 第 81 回日本衛生学会, 2011 年 3 月, 昭和大学, 第 81 回日本衛生学会講演要旨集
- 6) 杉山晃一, 稲葉洋平, 大久保忠利, 内山茂久, 高木敬彦, 櫻田尚樹. 日本産たばこ主流煙中 tobacco-specific N'-nitrosamines の分析 第 81 回日本衛生学会, 2011 年 3 月, 昭和大学, 第 81 回日本衛生学会講演要旨集
- 7) 稲葉洋平, 大久保忠利, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 櫻田尚樹. 国産たばこのたばこ葉に含まれる変異原性および化学分析 日本環境変異原学会 第 39 回大会 2010 年 11 月, つくば市, プログラム・要旨集. p. 139.

- 8) 杉山晃一, 稲葉洋平, 杉田和俊, 北田雅子, 吉見逸郎, 内山茂久, 浅野牧茂, 樺田尚樹. イタドリタバコの化学分析および変異原性. 日本環境変異原学会第 39 回大会 2010 年 11 月, プログラム・要旨集. p. 140.
- 9) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 樺田尚樹. メンソール等配合市販タバコの化学分析および変異原性 日本環境変異原学会第 39 回大会 2010 年 11 月, つくば市, プログラム・要旨集. p. 139.
- 10) 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹 trans-1,2-ビス (2-ピリジル) エチレンと 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの混合溶液を含浸させたシリカを用いた大気中オゾンとアルデヒド類の同時分析 日本分析化学会第 59 年会, 2010 年 9 月, 東北大学, 日本分析化学会第 59 年会講演要旨集 P. 286.
- 11) 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹. 拡散サンプラーを用いた大気中オゾンとカルボニル化合物の同時分析 第 51 回大気環境学会年会, 2010 年 9 月, 大阪大学, 第 51 回大気環境学会年会講演要旨集 P. 329.
- 12) 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹. trans-1,2-ビス (2-ピリジル) エチレンと 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを用いたオゾンとカルボニル化合物の同時分析 第 51 回大気環境学会年会, 2010 年 9 月, 大阪大学, 第 51 回大気環境学会年会講演要旨集 P. 330.
- 13) 太田和司, 内山茂久, 稲葉洋平, 中込秀樹, 樺田尚樹. ハイドロキノン含浸シリカカートリッジを用いたアクロレインの分析 — 電子タバコから発生する気体の測定 — 第 51 回大気環境学会年会, 2010 年 9 月, 大阪大学, 第 51 回大気環境学会年会講演要旨集 P. 331.
- 14) 太田真由, 山田智美, 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹, 後藤純雄. 室内環境中の VOC 及びアルデヒド類濃度調査 第 51 回大気環境学会年会, 2010 年 9 月, 大阪大学, 第 51 回大気環境学会年会講演要旨集 P. 302.
- 15) 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹. ハイドロキノン含浸シリカおよび 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン含浸シリカを用いた大気中アクロレインの分析 第 19 回環境化学討論会, 2010 年 6 月, 中部大学, 第 19 回環境化学討論会講演要旨集, P. 678-679.
- 16) 山田智美, 太田真由, 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹, 後藤純雄. 室内室外におけるガス状汚染物質の挙動について (冬季) 第 19 回環境化学討論会, 2010 年 6 月, 中部大学, 第 19 回環境化学討論会講演要旨集, P. 676-677.
- 17) 山田智美, 内山茂久, 稲葉洋平, 樺田尚樹. ガス状汚染物質測定用拡散サンプラーの安定性について 第 19 回環境化学討論会, 2010 年 6 月, 中部大学, 第 19 回環境化学討論会講演要旨集, P. 674-675.
- 18) 金子敏郎, 内山茂久. アセトニル枯渇問題対応として 2,4-dinitrophenylhydrazine 誘導体化法によるカルボニル化合物定量におけるメタノールの利用 第 19 回環境化学討論会, 2010 年 6 月, 中部大学, 第 19 回環境化学討論会講演要旨集, P. 712-713.
- 19) 稲葉洋平, 松本真理子, 大久保忠利, 杉田和俊, 内山茂久, 吉見逸郎, 緒方裕光, 樺田尚樹, 鈴木元. 0.01, 0.05 mg ニコチンタバコを喫煙した喫煙者の曝露量推計 第 80 回日本衛生学会学術総会, 2010 年 5 月, 仙台国際センター, 第 80 回日本衛生学会学術総会講演集. p.340.
- 20) 大久保忠利, 稲葉洋平, 杉田和俊, 内山茂久, 緒方裕光, 鈴木元, 樺田尚樹. 化学分析および変異原性試験によるネオシダーの評価 第 80 回日本衛生学会学術総会, 2010 年 5 月, 仙台国際センター, 第 80 回日本衛生学会学術総会講演集. p.341.

井埜利博

1. 論文発表
 - 1) Ino T., Shibuya T, Saito K, Ohtani T: Effects of maternal smoking during pregnancy on body composition in the offspring. *Pediatr Int* 2010 (in press)
 - 2) Ino T: Urinary biomarkers for second hand smoke. *J Clin Lab Analysis* 2010 (in press)
 - 3) 井埜利博: 喫煙障害のバイオマーカー 臨床化学 2010 ; 39 : 130-6
2. 学会発表
 - 1) 井埜利博: 熊谷市における受動喫煙検診と禁煙外来 (講演), 深谷市薬剤師会講演会, 2010年4月, 深谷市, 埼玉
 - 2) 井埜利博: 熊谷市における受動喫煙検診と禁煙外来の実際 (講演), 鴻巣・禁煙外来検討会, 2010年4月, 鴻巣市, 埼玉
 - 3) 井埜利博, タバコとアルコールの健康影響について (講演), 桐生大学喫煙防止講演会 2010年5月, 桐生, 群馬
 - 4) 井埜利博: タバコ, アルコールの健康被害について (講演), 第1回荒川中学校学校保健委員会, 2010年7月, 熊谷, 埼玉
 - 5) Ino T.: Significance of environmental tobacco smoke screening in children, *Asia Pacific Conference on Tobacco or Health*, 2010, October, Sydney, Australia
 - 6) 井埜利博: 受動喫煙検診から得られた成績 (講演), 深谷市豊里小学校学校保健会, 2010年11月, 深谷市, 埼玉
 - 7) 井埜利博: 熊谷市における7年間の受動喫煙検診から得られたこと (講演), 第26回アポック研究発表会, 工学院大学, 2010年11月, 東京
 - 8) 井埜利博: 熊谷市における7年間の受動喫煙検診から得られたもの (会長講演), 第1回日本小児禁煙研究会学術集会, 大手町カンファレン

スセンター, 2010年12月, 東京

三觜雄

1. 論文発表
 - 1) 太田優, 花井潤師, 福士勝, 矢野公一. 受動喫煙防止啓発DVDの視聴効果に関するアンケート調査について. *北海道小児保健研究会誌(平成22年度)*, p29-35, 2010.
 - 2) 三觜雄. 札幌市衛生研究所のこれまで, いま, これから(お国自慢-地方衛生研究所シリーズ6). *公衆衛生*, 74(9), 808-810, 2010.
 - 3) 扇谷陽子, 水嶋好清, 高橋広夫, 三觜雄. 「札幌市における主な感染症の発生動向」公開サイトにおけるアクセス状況. *公衆衛生*, 37, 52-55, 2010.
2. 学会発表
 - 1) 太田優, 花井潤師, 福士勝, 矢野公一. 受動喫煙防止啓発DVDの視聴効果に関するアンケート調査について. *平成22年度北海道小児保健研究会*, 2010-5.

竹田真由

1. 論文発表
 - 1) 竹田真由, 船渡忠男. 喫煙障害の分子機序 臨床化学 2010 ; 39 : 112-6.
2. 学会発表
 - 1) 竹田真由, 船渡忠男, 齊藤邦明. 喫煙における酸化ストレスとグルタチオン-S-転移酵素遺伝子(GST)多型の関連性について 第17回日本遺伝子診療学会, 2010年8月, 三重

G. 知的財産権の出願・登録状況

内山茂久

- (1) 内山茂久 不飽和アルデヒド化合物量の測定方法及び不飽和アルデヒド化合物の空气中濃度測定用のガス吸収カートリッジ 特許公開 2010-164467, 2010年7月29日
- (2) 内山茂久 気体分析用カルボニル化合物捕集管, 気体試料の分析方法, 及びオゾンスクラバー 国際出願 PCT/JP2010/ 70935 2010年11月24日

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

WHO TobLabNetラウンドロビン研究
—たばこ葉中ニコチンの測定—

研究分担者 稲葉洋平 国立保健医療科学院
研究分担者 内山茂久 国立保健医療科学院
研究分担者 樺田尚樹 国立保健医療科学院

研究要旨

たばこ規制枠組条約に基づいたWHOたばこ研究室ネットワークによる国際共同研究の一環として、たばこ対策に有用な測定データを得ることを目的とするラウンドロビン研究に参加した。今回は、第3回目として、5種類のたばこ試料（標準たばこ3R4F, 同1R5F, 同CM6, 米国銘柄マルボロレッド及び英国銘柄マルボロゴールド）についてたばこ葉中のニコチン測定が17カ国22研究所で実施された。銘柄ごとに7回前処理・測定を行ったところ、5銘柄のニコチン測定結果は、17.2～20.8 mg/cigであり、ばらつきは3.9～4.6%であった。最終的に、指定のデータシートに測定結果を記載しWHOに報告した。2010年7月にシンガポールで開催された会議において、本ラウンドロビン研究の結果が発表され有用な結果を得ることができた。今後、この手法を用いて、国産たばこ銘柄についても測定する計画である。また、WHO TobLabNetラウンドロビン研究は、ベンゾ[a]ピレンなど他の化学物質についても計画されており、今後も継続参加していく予定である。さらに本ラウンドロビン研究を通して、国際協力に加え得られた情報を国内のたばこ対策資料として提供していく。

A.研究目的

WHOたばこ研究室ネットワーク(TobLabNet)は、たばこ規制枠組条約(FCTC)第9条「たばこ製品の含有物に関する規制」と第10条「たばこ製品についての情報の開示に関する規制」に基づいてたばこ製品の含有物及び排出物の新しい国際標準化試験法を確立する研究室ネットワークである。このTobLabNetは、たばこ企業から独立した各国の大学、研究機関が連携し、国際的な共同研究を実施することで科学的により正確・客観的な測定手法を確立し、たばこ規制に有用な測定データを得ることを目的としている。

たばこ製品のテストをするために全世界的に比較可能な測定結果を得ることを目的として、たばこ特有の排出物（主流煙中成分）、内容物（たばこ葉中成分）の測定するための総意を得られる手法が必要である。WHOタバコ規制枠組み条約の第3回締約国会合(COP3)は、2008年11月にダーバン（南アフリカ）で開催された。この会合では、国際標準化機構の定めた機械喫煙法(ISO法)とカナダ保健省の提案する喫煙法(HCI法)の両喫煙法で得られるたばこ主流煙中から有害化学物質成分とたばこ葉に含まれる成分の分析法の確立がWHO's Tobacco Free Initiativeに要求された。この要求に応えるもの

としてラウンドロビン研究は共通のたばこ試料を用いて繰り返し実験を行い測定手法の比較検討を行うものであり、国立保健医療科学院生活環境部では、これまでにたばこ主流煙中のタール、ニコチン、一酸化炭素のラウンドロビン研究に参加実施してきた。

今年度は、その一環としてたばこ葉中のニコチン分析のラウンドロビン研究が開催された。その測定結果を報告する。

B. 研究方法

1. 装置と試薬

ガスクロマトグラフィー／質量分析計 (GC/MS) は、GCがHewlett Packard社製のHP6890、MSがAgilent Technologies社製MSD5973を使用した。分離カラムは、HP-INNOWAX (30 m Length, 0.25 mm Diam, 0.25 μ m Film, Agilent Technologies社製) を用いた。分析条件は、Table 2に示す。なお測定結果は、たばこ葉重量を0.0001g単位そしてニコチン量は、たばこ葉1 gあたり0.1 mg単位で報告した。

試料調整用の超純水はMillipore製Milli-Qシステムを使用した。ニコチン、*n*-Hexane、2-Propanol、水酸化ナトリウム (NaOH) は、和光純薬製、*n*-Heptadecaneは東京化成工業製を使用した。

2. たばこ試料

5種類のたばこ試料 (標準たばこ1R5F, 同3R4F, 同CM6, 米国銘柄マルボロレッド及び英国銘柄マルボロゴールド) を測定対象とした。Table 1に測定対象となったたばこ試料を示す。試料はいずれもTobLabNet事務局が一括購入し、サンプルを各参加機関にたばこ1銘柄につき20本が発送された。発送作業終了後、TobLabNetから参加機関にその旨通知された。各参加機関は試料受領後、受領確認及び破損その他の問題があれば電子メールによりTobLabNet事務局に報告した。もし輸送

中に問題が生じた場合、TobLabNetから2週間以内に代替サンプルが再発送されることになっていた。参加機関はサンプル受領後47日以内に測定を完了し、直ちに測定データを報告することが義務付けられた。また、受領後のサンプルはすべてプラスチック製の袋に入れて、-20°C以下の冷凍庫内に保存した。

3. 試料調整

たばこ葉の破碎と恒湿化

たばこ葉は、たばこ本体から分離し、ミル付ミキサー (TWINBIRD KC-4508型, ツインバード工業製) で1分間粉碎した。粉碎したたばこ葉試料はすべて、ISO3402 (1999) に準拠し、抽出実験前、最低48時間～最大10日間、温度22 \pm 2°C、相対湿度60 \pm 3%で恒湿化を行い実験に供した。

抽出溶液

80 gのNaOHをMilli-Q水1000 mLに溶解し、2M NaOHを作成した。また、0.5 gの*n*-Heptadecaneを1000 mLの*n*-Hexaneに溶解し、0.5 mg/mL *n*-Heptadecaneの抽出溶液を作成した。

ニコチン標準溶液

200 mgのニコチンを50 mLのMilli-Q水に溶解し、2M NaOH 25 mLと抽出溶液100 mL添加後、60 \pm 2分間振とう抽出を行った。有機層を回収し、これをニコチン標準溶液 (2 g/L) とした。

4. 前処理操作

恒湿化したたばこ葉1.5 gは、200 mL容の共栓付三角フラスコに入れた。なお、このときたばこ葉は、Mettler Toledo AT 201 (メトラー・トレド社製) を用いて0.0001 gまで秤量した。この三角フラスコにMilli-Q水20 mL、抽出溶液 40 mLそして2M NaOH 10 mLを添加し、ニコチン標準溶液と同様に振とう抽出した。遠心分離後 (3,500 rpm, 10分間)、有機層を回収し、測定まで4°Cで保存した。なお、有機層は、2-Propanolで2000倍希釈し、

GC/MSへ供した。なお、GC/MS測定は、選択イオン検出法（SIM法）を用い、内部標準法によって定量した。

C. 結果及び考察

今回のラウンドロビン研究で使用したたばこ葉の重量をTable 3に示す。たばこ銘柄ごとに7回前処理・測定を実施した。その結果、たばこ葉重量のばらつきは、0.13～0.20%であり、良好であった。

各サンプルのたばこ葉中ニコチン測定結果をTable 4に示す。標準たばこ1R5Fのたばこ葉中ニコチン含有量が 17.2 ± 0.7 mg/cig、3R4Fが 19.5 ± 0.8 、CMが 20.8 ± 0.9 mg/cigであった。また、市販たばこマルボロレッドは 20.0 ± 0.9 、マルボロゴールドが20.5 mg/cigであった。測定結果のばらつきは、3.9～4.6%となった。最終的に、指定のデータシートに測定結果を記載しWHOに報告した。この結果を受けて2010年7月にシンガポールで開催された会議において、ラウンドロビン研究の結果が発表された。本研究室の測定結果は、平均値と比較すると若干高い値であったが妥当な結果であると通知された。今回、本研究室の測定結果が、高めに出了原因を考えると2つ上げられる。まず、1点目は、測定装置の違いである。WHO指定の分析装置はGC/FIDであるが、本研究室は保有していないためGC/MSを使用した点である。この点について、評価結果をFig. 1に示す。前処理を行ったたばこ試料液をGC-MSとGC-FIDに供し得られた結果を比較したところ、 r^2 が0.8975であり傾きが0.9599であった。以上の結果より、分析装置の違いは、高値の測定結果に寄与する可能性は低いと考えられた。次に2点目は、たばこ葉の破碎具合である。WHOのたばこ葉の破碎条件は、4 mm以下となっていた。本研究室で行った破碎は、4 mm以下であるが、粉末にしたため抽出効率が上昇してしまっただと考えている。国産たばこ葉中のニコチン

測定を実施する際には、この2点について検討する計画である。

D. 結論

WHO TobLabNetが主催するたばこ葉中ニコチン測定のラウンドロビン研究に参加した。研究室の保有装置の都合上、GC/MSでニコチン分析を実施した。試料は、標準たばこ3銘柄と市販紙巻たばこ2銘柄を使用し、7回ずつ前処理・測定を実施した。測定結果をWHOに報告したところ、2010年7月に開催された会議において、若干高めの値ではあるが妥当な結果であると通知された。

今後は、測定法の更なる改良を実施する計画である。

E 研究発表

統括報告書に一括記載した。

F 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 Test items for nicotine study in tobacco

Sample code	Product type	Sample name
A	Reference cigarette	1R5F
B	Reference cigarette	3R4F
C	Reference cigarette	CM6
D	Cigarette	Marlboro Full-Flavor Kingsize - USA
E	Cigarette	Marlboro Gold Kingsize Hardpack - UK

Table 2 Operating conditions in GC/MS analysis

GC	HEWLETT PACKARD HP 6890
Column	HP-INNOWAX, 30 m x 0.25 mm id, 0.25 µm film
Column temp.	50°C (2 min hold) → (15°C/min) → 180°C → (5°C/min) → 190°C → (30°C/min) → 250°C (1 min hold)
Injection temp.	220°C (Split 10:1)
Injection volume	1 µL
MS	Agilent 5975
Ionization method	EI
Ion source temp.	230°C
Ionizing voltage	70 eV
Msacq. Mode	SIM
Target ion (m/z)	Nicotine; 84, 161 n-Heptadecane; 57, 84

Table 3 Test tobacco weight for each extraction

Sample No.	Whole Tobacco (g)				
	1R5F	3R4F	CM6	Marlboro red	Marlboro gold
1	1.5095	1.5009	1.5088	1.5062	1.5023
2	1.5042	1.5010	1.5081	1.5030	1.5086
3	1.5057	1.5093	1.5081	1.5024	1.5020
4	1.5009	1.5068	1.5073	1.5070	1.5085
5	1.5005	1.5014	1.5039	1.5024	1.5042
6	1.5033	1.5046	1.5027	1.5029	1.5040
7	1.5052	1.5051	1.5018	1.5032	1.5043
Average	1.5042	1.5042	1.5058	1.5039	1.5048
CV (%)	0.20	0.22	0.19	0.13	0.18

Table 4 Amounts of Nicotine in whole tobacco.

Sample No.	Nicotine (mg/g)				
	1R5F	3R4F	CM6	Marlboro red	Marlboro gold
1	19.2	20.3	20.8	20.0	20.1
2	18.6	19.7	20.5	19.9	19.4
3	18.4	20.3	21.2	19.9	20.4
4	17.8	20.2	21.3	20.3	19.7
5	17.4	19.3	20.6	19.1	19.2
6	18.8	20.9	22.3	20.9	20.4
7	17.5	19.1	21.0	19.4	20.0
Average	18.2	20.0	21.1	19.9	19.9
SD	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5
CV (%)	3.7	3.2	2.8	3.1	2.4

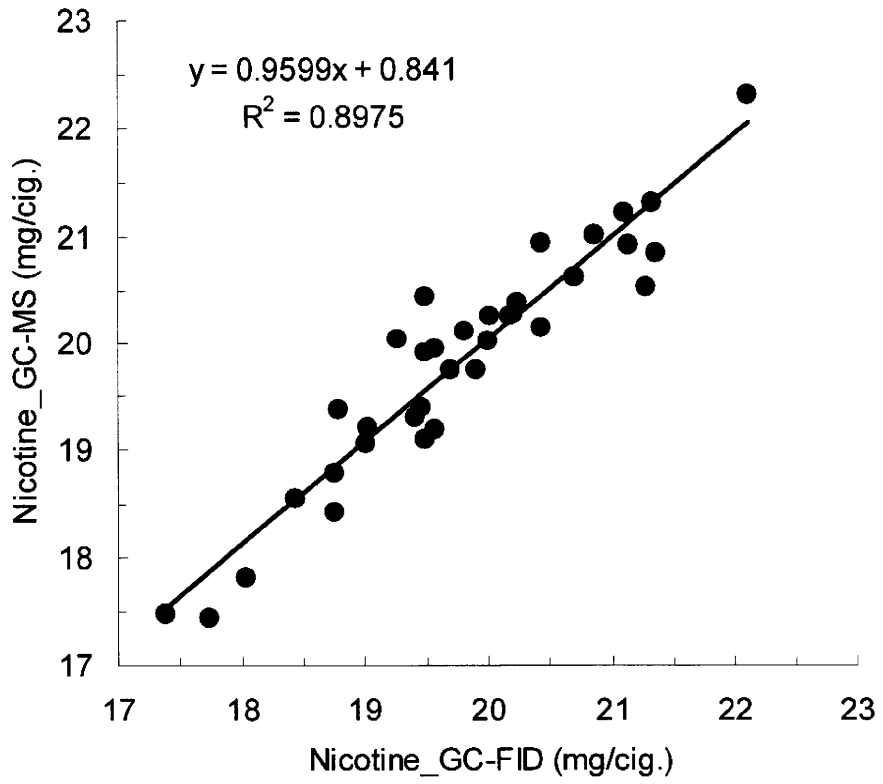


Fig. 1 Comparison between GC-FID and GC-MS

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

WHO TobLabNetラウンドロビン研究
ーたばこ主流煙中たばこ特異的ニトロソアミンの測定ー

研究分担者 稲葉洋平 国立保健医療科学院
研究分担者 内山茂久 国立保健医療科学院
研究分担者 樺田尚樹 国立保健医療科学院
研究協力者 大久保忠利 国立保健医療科学院

研究要旨

本研究班は、世界保健機関（WHO）の定める「たばこ規制枠組条約」（FCTC）に基づいたWHOたばこ研究室ネットワーク（TobLabNet）の国際協力研究の一環であり、たばこ対策に資する実験データ収集・整理・解析を目的とするラウンドロビン研究に参画している。今回は、たばこ試料5種類（標準たばこ3R4F, 同1R5F, 同CM6, Marlboro Red及びPlayer's）の主流煙中たばこ特異的ニトロソアミン（TSNA）測定を実施した。たばこ主流煙捕集はISO法及びHCI法の両手法で行い、たばこ銘柄毎に7日間抽出・測定を行った。その結果、TSNA濃度の範囲はISO法で、NNKが13.5–105.0 ng/cig, NNNが10.9–150.7 ng/cig, NATが19.8–145.8 ng/cig, NABが6.0–44.3 ng/cigであり、またHCI法でNNKが36.1–279.6 ng/cig, NNNが25.7–333.1 ng/cig, NATが42.5–318.1 ng/cig, NABが12.1–95.7 ng/cigであった。これら測定結果を、指定のデータシートに記載しWHOに報告した。今回の測定結果は2010年7月にシンガポールで開催された会議において、本ラウンドロビン研究の結果として発表され、その有用性が評価・確認された。WHOによるTobLabNetラウンドロビン研究は、今後も多岐に渡るたばこ関連化学物質についても計画されており、本研究班も可能な限り継続参加していく予定である。さらに本ラウンドロビン研究に参画することで、たばこ研究の国際協力に助力でき、加えて得られた情報を国内のたばこ対策に資することを行う。

A 研究目的

たばこ主流煙中には、発がん関連物質であるたばこ特異的ニトロソアミン類（tobacco specific *N*-nitrosamines, TSNA）が存在する。TSNAはたばこ葉のアルカロイドであるnicotine, nornicotine, anatabine, anabasineがニトロソ化することで生成される。TSNAには4種はあり、上記アルカロイドと亜硝酸や硝酸が反応して、各々4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone（NNK）が nicotine から、*N*-nitrosornicotine

（NNN）が nicotine と nornicotine から、*N*-nitrosoanatabine（NAT）が anatabine から、*N*-nitrosoanabine（NAB）が anabasine から生成される。TSNA4種は、NNKとNNNがInternational Agency for Research on Cancer（IARC）の発がん性リスク一覧においてGroup 1（Carcinogenic to humans, ヒトに対する発がん性が認められる）に分類されて、NATとNABがGroup 3（Not classifiable as to its carcinogenicity to humans, ヒトに対する発がん性が分類できない）に分類されている。

一方、世界保健機構（WHO）が主催するたばこ研究室ネットワーク（TobLabNet）は、たばこ規制枠組条約（FCTC）の第9条「たばこ製品の含有物に関する規制」と第10条「たばこ製品についての情報の開示に関する規制」に基づいてたばこ製品の含有物及び排出物の新しい国際標準化試験法を確立する研究室ネットワークである。TobLabNetは、たばこ関連企業から独立した各国の大学や研究機関が連携して共同研究を実施することで、科学的に正確で客観的な測定手法を確立し、たばこ規制に有用な測定データを得ることを目的とした国際的な研究グループである。今年度は、その一環としてたばこ主流煙中のTSNA分析のラウンドラビン研究が開催されたのでその測定結果を報告する。

B 研究方法

(1) たばこ試料

たばこ試料5種類には標準たばこ1R5F, 同3R4F, 同CM6, Marlboro Red及びPlayer'sを用いた。Table 1に測定対象となったたばこ試料を示す。試料はいずれもTobLabNet事務局が一括購入し、これらを各参加機関に発送した。発送作業終了後、TobLabNetから参加機関にその旨通知された。各参加機関は試料受領後、受領確認及び破損その他の問題があれば電子メールによりTobLabNet事務局に報告した。もし輸送中に問題が生じた場合、TobLabNetから2週間以内に代替サンプルが再発送されることになっていた。参加機関はサンプル受領後47日以内に測定を完了し、直ちに測定データを報告することが義務付けられた。また、受領後のサンプルはすべてプラスチック製の袋に入れて、-20°C以下の冷凍庫内に保存した。

(2) HPLC機器構成

高速液体クロマトグラフィー／質量分析計（LC/tandem MS）のHPLC装置には以下のものを使

用した。

デガッサー（HP 1100シリーズ, G1322A, Hewlett Packard社製）、ポンプ（HP 1100シリーズ, G1312A, Hewlett Packard社製）、オートサンプラー（Agilent 1200シリーズ, G1329A, Agilent Technologies社製）、カラム恒温槽（HP 1100シリーズ, G1316A, Hewlett Packard社製）。

(3) HPLC測定条件

HPLC分離カラムとしてZorbax Eclipse XDB C-18カラム（2.1 mm×150 mm, 3.5 μm, Agilent Technologies社製）にプレカラムフィルター（0.5 μm, Supelco社製）を繋げたものを使用した。また、移動相として、0.1%酢酸水溶液（A液）と、酢酸0.1%を含むメタノール溶液（B液）を用いた。送液プログラムは流量を200 μL/minとし、0 min（A液：80%，B液：20%）、0→8 min（A液：40%，B液：60%）、8→10 min（A液：40%，B液：60%）、10→12 min（A液：80%，B液：20%）と設定し、分析時間は合計35 minとした。また、試料注入量は10 μL、カラム温度は40 °Cとした。

(4) 質量分析法

質量分析装置には三連四重極型質量分析器Micromass Quattro LC（Micromass社製）を用いた。測定条件は2010年度の本研究班分担研究「たばこ主流煙に含まれるたばこ特異的ニトロソアミン（TSNA）測定法の確立及び日本産たばこでの適用」を参照した[1]。つまり、大気圧イオン化（API）ガスはコンプレッサー（SLP-22BD, アネスト岩田株式会社製）により圧縮された空気から窒素を分離し（N₂ Supplier Model 20E, システムインスツルメンツ株式会社製）、質量分析部に導入した。圧力は0.69 MPa、流量は100 L/hとした。コリジョンガスはアルゴンを用い、圧力は0.13 MPa、流量は600 L/hとした。イオン化モードはESI+/MRMを用い、キャピラリー電圧は3.5 kV、イオン源温度

は130℃、イオン源周囲の温度は450℃、フォトマルチプライヤー検出器の電圧は753 Vに設定し、200 msecでイオンをモニターした。コリジョンエネルギーとコーン電圧は分析種ごとに適切な条件を設定した。データ解析にはMassLynx V4.0 (Micromass社製) を用いた。

(5) TSNA及び各種試薬

TSNAの標準品及び試薬調製には以下の薬品を用いた。NNK, NNN, NAT, NAB (Toronto Research Chemicals社製), NNK-*d*₃, NNN-*d*₄, NAT-*d*₄, NAB-*d*₄ (Toronto Research Chemicals社製), 酢酸 (LC/MS用, 和光純薬社製), 酢酸アンモニウム (HPLC用, 和光純薬社製), アセトニトリル (HPLC用, Sigma-Aldrich社製), メタノール (LC/MS用, 和光純薬社製), アセトン (残留農薬濃縮300, 和光純薬社製) を使用した。

(6) TSNA標準溶液の作成

上記NNK, NNN, NAT及びNABの標準品をアセトニトリルに溶解し、各々1 µg/mLに調製した。作製した試料は分析時までアルミホイルで遮光して-20±5℃で冷凍保管した。

(7) 内部標準溶液 (TSNA-*d*溶液) の作成

内部標準溶液には上記の各対象物質の重水素体 (*d*体) であるNNK-*d*₃, NNN-*d*₄, NAT-*d*₄, NAB-*d*₄ をアセトニトリルに溶解し、各々1 µg/mLに調製した。作製した試料は分析時までアルミホイルで遮光して-20±5℃で冷凍保管した。

(8) 検量線の作成用溶液の調製

各TSNA溶液を2, 5, 10, 20, 50, 75, 100及び150 ng/mLの8段階に希釈し、それぞれに対応するTSNA-*d*溶液を100 ng/mLになるよう添加し調製した。

(9) たばこ主流煙の捕集方法

たばこ試料の恒温・恒湿化はISO3402 (1999) [2]に準拠し、捕集直前まで48時間-10日間、温度22±2℃、湿度60±3%で行った。たばこ主流煙の捕集は小型チャンバー内 (幅1.7 m×奥行き2.4 m×高さ3 m) に設置された半自動喫煙装置 (Borgwaldt single channel linear smoking machine model LM1, Borgwaldt KC社製) で行った。捕集中はチャンバー内をISO3308 (2000) [3]に準じ、温度22±2℃、湿度60±5%で維持した。たばこ主流煙は、ISOの定める機械喫煙方法 (ISO法) に準じ、吸煙量35 mL, 吸煙時間2 sec, 吸煙間隔60 secでCambridge filter pad (CFP) (44 mm, Borgwaldt KC社製) に捕集し、これを粗タール量として測定した。粗タール量の測定方法はISO4387 (2000) [4]に準じ、[捕集後CFPの重量] - [捕集前CFPの重量]で求めた。重量測定にはMettler Toledo AB265-S (Mettler-Toledo International社製) を用い、0.01 mg単位で記録した。また、カナダ保健省が提案するHealth Canada Intense (method T-115, HCl法) も同時に用いた。HCl法は、吸煙量55 mL, 吸煙時間2 sec, 吸煙間隔30 secとし、更にフィルター部に通気孔があるたばこを用いた際はテープで完全に塞いで捕集を行なった。たばこ主流煙測定回数は、ISO法で1銘柄につき1日に4回で7日間 (計28試料)、またHCl法では1銘柄につき1日に7回で7日間 (計49試料) 行った。

(10) TSNAの抽出

半自動喫煙装置によりたばこ主流煙を捕集したCFPを100 mL容共栓付三角フラスコに入れ、上記TSNA-*d*溶液400 µLを添加した後、100 mM酢酸アンモニウム溶液を20 mL加えた。三角フラスコをアルミホイルで遮光し、180 rpm, 30 minで振盪抽出を行った。振盪終了後、50mL容プラスチック遠沈管に移し、アルミホイルで遮光して4-10℃で一時冷蔵保存した。次に、抽出液2 mLを自作珪

素土カラム (1.5 g/3 mL) に供した。抽出液導入後5分間静置し、ジクロロメタン/2-プロパノール (95/5) 8 mLで溶出を行った。溶出液は窒素気流下にて溶媒留去した。溶媒留去後、10%メタノール溶液1 mLで再溶解したものをLC/tandem MSに供した。

C 結果及び考察

Table 2及び3に、それぞれISO法及びHCl法でのTSNA測定結果を示す。各TSNAの濃度範囲は、ISO法ではNNKが13.5–105.0 ng/cig, NNNが10.9–150.7 ng/cig, NATが19.8–145.8 ng/cig, NABが6.0–44.3 ng/cigであった。HCl法においては、NNKが36.1–279.6 ng/cig, NNNが25.7–333.1 ng/cig, NATが42.5–318.1 ng/cig, NABが12.1–95.7 ng/cigであった。また、7回の繰り返し抽出・測定におけるばらつきはISO法で、NNKが4.3–19.4%, NNNが5.1–8.3%, NATが4.8–6.1%, NABが5.7–11.8%であり、HCl法では、NNKが3.9–22.2%, NNNが4.0–11.7%, NATが2.8–5.4%, NABが4.6–7.7%であった。

今回のTSNA測定のラウンドロビン研究では、多くの参加研究機関が高感度のLC/tandem MSを利用して分析を行っているが、本研究班は設備の都合上他機関よりも幾らか感度の低いLC/tandem MSを使用することとなった。このため他の研究機関は、CFPより100 mM酢酸アンモニウム溶液で抽出したものを直接分析可能であったが、本研究班の使用機器では夾雑物の多い本試料を測定することは難しかった。そこで、酢酸アンモニウムで抽出した溶液をさらに珪素土カラムに通液することで試料の精製を行い、精度の良好なTSNA分析を可能とした。

D 結論

今回、WHOのTobLabNetのラウンドロビン研究の一環としてたばこ主流煙中のTSNA測定を行っ

た。測定対象としたたばこ試料5種をISO及びHCl法の両手法で主流煙を捕集して、LC/tandem MSにて分析を行った。その結果、抽出過程に珪素土カラムによる精製工程を加えることにより、比較的低感度の分析装置でも良好な測定データを得ることができた。この測定結果は指定のデータシートに記入後直ちにWHOに送付した。集められたデータは解析等を行い、2010年7月のシンガポールの会議でその有用性が確認された。

[引用文献]

- [1] 稲葉洋平；櫻田尚樹，たばこ主流煙に含まれるたばこ特異的ニトロソアミン (TSNA) 測定法の確立及び日本産たばこでの適用，厚生労働科学研究費補助金 第3次対がん総合戦略研究事業 たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質の国際標準化試験法及び受動喫煙対策を主軸とした革新的ながん予防に関する研究 平成21年度 総括・分担研究報告書，40-54，2010
- [2] ISO 3402 Tobacco and tobacco products - Atmosphere for conditioning and testing, International Organization for Standardization, 1999
- [3] ISO 3308 Routine analytical cigarette - smoking machine - Definitions and standard conditions, International Organization for Standardization, 2000
- [4] ISO 4387 Cigarettes - Determination of total and nicotine-free dry particulate matter using a routine analytical smoking machine, 2000

E 研究発表

統括報告書に一括記載した。

F 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 Specification of tobacco samples

Sample name	Product type
1R5F	Reference cigarette
3R4F	Reference cigarette
CM6	Reference cigarette
Marlboro Red	Commercial cigarette
Player's	Commercial cigarette

Table 2 Concentration of TSNA in mainstream of tobacco sampled with ISO regime

Sampling No	TSNA (ng/cig)												
	NNK			NNN			NAT			NAB			
	Avg	SD	RSD (%)	Avg	SD	RSD (%)	Avg	SD	RSD (%)	Avg	SD	RSD (%)	
3R4F	1	100.4	8.1	8.1	122.7	43.1	35.1	105.9	9.0	8.5	26.9	2.7	10.2
	2	89.6	12.1	13.5	104.9	0.8	0.7	95.5	9.3	9.7	27.9	1.2	4.2
	3	88.1	7.1	8.1	110.3	5.0	4.5	104.3	5.4	5.2	28.8	2.5	8.8
	4	102.2	9.9	9.7	109.2	10.5	9.6	107.2	6.1	5.7	29.3	1.9	6.4
	5	102.5	5.4	5.2	116.1	6.4	5.5	96.3	11.4	11.8	30.0	1.9	6.3
	6	110.7	6.5	5.8	115.6	10.9	9.4	103.4	5.6	5.4	33.5	2.7	8.1
	7	112.4	7.4	6.6	111.1	8.3	7.5	107.3	11.4	10.6	35.3	5.7	16.2
	Avg	100.9			112.8			102.8			30.3		
	SD	9.4			5.8			5.0			3.1		
	RSD (%)	9.3			5.1			4.8			10.1		
1R5F	1	24.1	3.7	15.4	42.9	4.0	9.4	44.2	4.5	10.2	14.7	1.4	9.3
	2	26.2	3.9	14.9	47.2	4.8	10.2	47.2	8.1	17.2	19.4	4.4	22.7
	3	24.1	2.1	8.7	43.6	3.2	7.4	40.3	5.8	14.5	16.9	1.5	9.0
	4	25.6	3.2	12.4	46.0	4.9	10.6	45.1	2.8	6.2	17.2	2.5	14.8
	5	28.9	3.6	12.6	49.5	6.0	12.2	45.4	4.5	10.0	14.1	2.2	15.5
	6	26.6	2.2	8.3	47.7	5.0	10.5	42.5	2.5	5.9	16.9	1.1	6.4
	7	24.6	0.8	3.4	43.8	5.2	11.9	42.7	4.9	11.5	19.0	2.7	14.1
	Avg	25.7			45.8			43.9			16.9		
	SD	1.7			2.5			2.3			2.0		
	RSD (%)	6.7			5.4			5.2			11.8		
CM6	1	29.7	3.2	10.9	20.6	1.5	7.4	33.0	3.6	10.8	7.3	0.4	6.1
	2	29.0	3.6	12.4	21.2	1.4	6.8	31.6	2.4	7.6	8.3	0.2	2.4
	3	28.5	8.9	31.1	19.1	1.0	5.3	28.8	2.5	8.6	7.2	0.4	5.8
	4	29.4	1.2	4.1	20.0	1.2	5.8	32.0	1.0	3.2	7.6	0.9	11.4
	5	28.7	2.4	8.3	19.2	0.2	0.9	30.9	2.3	7.5	8.3	0.6	7.8
	6	30.8	3.5	11.4	21.4	1.1	5.2	30.5	4.1	13.6	7.8	0.3	3.2
	7	26.8	1.9	7.2	17.5	1.9	10.9	33.3	0.6	1.9	7.4	0.5	7.3
	Avg	29.0			19.9			31.4			7.7		
	SD	1.2			1.4			1.6			0.4		
	RSD (%)	4.3			6.9			4.9			5.8		
Marlboro Red	1	100.9	8.1	8.1	137.9	11.7	8.5	148.7	11.4	7.6	40.8	2.6	6.3
	2	106.0	9.8	9.2	162.3	11.6	7.2	158.6	4.1	2.6	44.6	2.7	6.1
	3	97.3	5.2	5.3	138.1	9.5	6.9	136.2	8.1	6.0	41.9	5.1	12.1
	4	109.5	13.6	12.4	157.5	10.4	6.6	145.1	9.6	6.6	46.0	2.7	5.9
	5	113.1	13.2	11.7	146.3	10.5	7.2	134.5	8.4	6.2	46.5	5.5	11.8
	6	100.9	4.4	4.4	161.0	12.1	7.5	145.6	5.4	3.7	42.7	2.2	5.1
	7	107.5	3.2	2.9	151.8	14.1	9.3	151.9	5.8	3.8	47.4	4.5	9.4
	Avg	105.0			150.7			145.8			44.3		
	SD	5.6			10.2			8.5			2.5		
	RSD (%)	5.3			6.8			5.8			5.7		
Player's	1	11.4	2.0	17.9	10.2	2.0	19.9	19.6	2.1	10.5	5.0	1.2	24.6
	2	16.1	6.1	37.9	12.1	1.0	8.3	21.3	1.9	8.9	6.8	1.0	14.5
	3	10.4	1.5	14.6	10.7	0.5	5.1	18.0	1.9	10.3	5.9	1.1	18.7
	4	12.8	0.2	1.3	10.2	1.3	12.5	20.2	0.4	2.1	6.1	0.3	5.3
	5	17.4	11.2	64.6	12.0	2.1	17.6	18.7	1.8	9.4	5.9	1.0	17.2
	6	14.5	1.7	11.5	10.9	0.4	3.8	19.4	2.5	13.1	6.0	0.6	10.6
	7	11.7	1.0	8.7	9.8	1.1	11.1	21.1	0.8	3.8	6.1	0.5	7.5
	Avg	13.5			10.9			19.8			6.0		
	SD	2.6			0.9			1.2			0.5		
	RSD (%)	19.4			8.3			6.1			8.7		

Table 3 Concentration of TSNA in mainstream of tobacco sampled with HCI regime

Sampling No	TSNA (ng/cig)												
	NNK			NNN			NAT			NAB			
	Avg	SD	RSD (%)	Avg	SD	RSD (%)	Avg	SD	RSD (%)	Avg	SD	RSD (%)	
3R4F	1	267.4	20.1	7.5	275.7	12.3	4.5	263.4	14.1	5.4	65.9	5.9	9.0
	2	269.4	15.4	5.7	269.9	8.7	3.2	250.2	19.5	7.8	71.3	3.4	4.8
	3	267.3	27.3	10.2	267.0	21.1	7.9	248.8	18.6	7.5	74.8	6.3	8.5
	4	285.7	24.2	8.5	294.1	12.9	4.4	260.5	16.4	6.3	75.2	7.7	10.2
	5	271.0	24.6	9.1	287.3	17.9	6.2	243.6	8.2	3.4	77.6	16.2	20.9
	6	303.5	20.6	6.8	292.5	12.5	4.3	263.3	22.0	8.3	79.9	13.5	16.8
	7	293.1	15.1	5.2	273.6	14.4	5.3	282.3	24.0	8.5	77.6	3.2	4.1
	Avg	279.6			280.0			258.9			74.6		
SD	14.5			11.1			12.9			4.7			
RSD (%)	5.2			4.0			5.0			6.3			
1R5F	1	132.7	10.4	7.9	244.6	15.9	6.5	225.6	5.2	2.3	69.8	4.0	5.7
	2	149.5	16.1	10.8	276.3	15.0	5.4	240.4	22.1	9.2	79.6	10.2	12.8
	3	134.4	10.6	7.9	238.2	19.4	8.1	214.2	17.8	8.3	69.2	7.9	11.4
	4	144.3	10.9	7.5	247.6	22.4	9.1	226.9	9.0	4.0	75.5	7.4	9.8
	5	130.5	11.1	8.5	238.2	26.1	11.0	211.5	16.4	7.8	69.9	4.0	5.7
	6	138.1	17.2	12.4	237.9	14.2	6.0	209.8	19.3	9.2	74.2	9.7	13.0
	7	145.5	4.4	3.0	240.2	20.0	8.3	207.9	21.3	10.2	72.1	9.3	12.9
	Avg	139.3			246.1			219.5			72.9		
SD	7.2			13.8			11.9			3.8			
RSD (%)	5.2			5.6			5.4			5.2			
CM6	1	53.7	3.3	6.2	35.1	3.7	10.6	60.1	3.5	5.8	14.1	1.6	11.1
	2	57.1	9.0	15.7	39.4	5.3	13.4	58.6	6.7	11.4	15.3	2.0	12.9
	3	54.1	5.4	9.9	39.4	5.7	14.5	59.2	3.7	6.2	15.4	2.3	15.0
	4	63.6	12.0	18.9	44.3	6.3	14.2	63.4	7.9	12.5	15.8	1.8	11.2
	5	59.2	7.3	12.3	39.4	3.8	9.7	60.9	7.3	12.0	15.5	1.4	9.1
	6	62.2	1.9	3.1	38.3	2.9	7.4	60.7	5.5	9.1	14.1	1.7	12.4
	7	60.3	6.9	11.4	36.1	3.0	8.3	58.8	3.7	6.3	14.6	2.1	14.6
	Avg	58.6			38.9			60.2			15.0		
SD	3.8			2.9			1.7			0.7			
RSD (%)	6.5			7.6			2.8			4.6			
Marlboro Red	1	227.8	24.3	10.7	327.8	26.6	8.1	300.7	25.1	8.4	91.4	7.4	8.1
	2	230.7	12.7	5.5	339.1	23.9	7.0	295.5	36.2	12.2	88.5	11.2	12.6
	3	234.9	21.4	9.1	319.8	28.6	8.9	330.4	30.8	9.3	91.5	6.0	6.5
	4	226.3	23.1	10.2	338.7	15.3	4.5	313.4	33.5	10.7	94.3	6.0	6.3
	5	247.4	14.7	5.9	325.6	33.1	10.2	324.0	11.9	3.7	100.2	10.2	10.2
	6	247.3	18.1	7.3	360.3	34.3	9.5	323.3	25.1	7.8	100.9	5.6	5.5
	7	244.0	31.0	12.7	320.7	24.0	7.5	339.3	21.1	6.2	103.4	9.4	9.0
	Avg	236.9			333.1			318.1			95.7		
SD	9.2			14.3			15.8			5.7			
RSD (%)	3.9			4.3			5.0			6.0			
Player's	1	34.8	13.8	39.7	24.3	2.5	10.4	40.4	5.1	12.8	11.1	0.9	8.3
	2	24.6	2.7	11.1	21.1	2.3	10.8	43.4	4.4	10.1	11.2	1.4	12.5
	3	38.0	13.7	36.0	27.5	7.1	25.8	45.3	6.9	15.3	12.0	1.1	8.9
	4	35.9	23.3	65.0	26.8	3.3	12.2	41.4	1.1	2.6	12.0	1.2	10.1
	5	51.1	29.3	57.3	25.0	3.0	12.0	41.2	3.7	9.0	12.0	1.6	13.3
	6	31.4	4.5	14.4	30.6	15.0	48.9	41.2	2.6	6.4	12.6	2.3	18.1
	7	36.8	20.2	54.7	24.3	2.9	11.8	44.8	5.5	12.4	13.9	1.6	11.7
	Avg	36.1			25.7			42.5			12.1		
SD	8.0			3.0			1.9			0.9			
RSD (%)	22.2			11.7			4.6			7.7			

国産たばこ銘柄のたばこ葉中ニコチンの測定

研究分担者 稲葉洋平 国立保健医療科学院

研究分担者 鈴木元 国際医療福祉大学

研究要旨

本研究では、これまでに報告数が少ない国産たばこ銘柄のたばこ葉中ニコチン量を調査した。先行研究において国産たばこ喫煙者は、各人の喫煙操作によってタール・ニコチンをはじめとする化学物質質量が変動することが報告されている。この原因の一つとしてたばこ葉中のニコチン量が、たばこ外箱表示量に依存しないことによると推測している。また、WHOたばこ研究室ネットワークは、たばこ葉中ニコチンの含有量は、たばこ対策上重要であると考えている。そこで国産たばこ10銘柄についてたばこ葉中ニコチンの測定を実施した。まず、たばこ葉抽出法の検討を行い、たばこ葉は粉末状になるまで十分に粉砕することが有効であることが分かった。次に、確立した前処理法を用いて国産たばこ銘柄のたばこ葉中ニコチン測定を行ったところ、含有量は13.7～17.2 mg/gの範囲であり、平均値は15.7 mg/gであった。本研究によって得られた結果は、低ニコチンたばこであっても、外箱ニコチン表示量が高いたばこと同等のたばこ葉ニコチン量が認められていた。よって、たばこ葉ニコチン量は、先行研究でのたばこ主流煙中のニコチン量が、喫煙法によって変動する原因の一つであると考えられる。また、たばこ製品の評価指標として利用できると推測できる。

A. 研究目的

喫煙は、発がんに関連することが認知されており、近年は、たばこ外箱タール・ニコチン表示量の低いたばこの販売量が増加している。わが国は、でたばこ事業法施行規制に基づき「財務大臣の定める方法により測定したたばこ煙中に含まれるタール量及びニコチン量」がたばこの外箱側面に印字されている。この数値は、国際標準化機構（International Organization for Standardization; ISO）の定める測定法に基づいて、機械喫煙装置を用いて主流煙をガラス繊維フィルターへ捕集後、化学分析した結果である¹⁻³⁾。この喫煙方法は、1回の吸煙量が35 mL、そのときの吸煙時間が2秒、吸煙間隔が60秒、そしてたばこフィルター部分に設けられた通気孔が開放と指定されている。しか

しながら、ISO法で得られたタール・ニコチン量は、喫煙者がたばこを1本喫煙する際に吸収する値ではないため、カナダ保健省は、ヒトの喫煙行動に近い喫煙法としてHCl法を提案している⁴⁾。その喫煙法は、吸煙量が55mL、喫煙間隔30秒、たばこフィルターの通気孔をすべて塞いでいる。我々の研究班では、上記2つの喫煙法で国産たばこ主流煙を捕集後、測定したタール・ニコチン量が、同銘柄であっても差があり、HCl法で得られる値が高いことを報告している⁵⁾。これはHCl法が、フィルター部分を塞ぎ、吸煙量が増加し、喫煙間隔が短いために捕集されるタール・ニコチン量が増加するためであると考えられる。また、外箱表示量が低いたばこは、HCl法とISO法で得られた値の差が表示量の高いたばこと比較すると大きく