

Table 1 Japanese cigarette of top ten selling brands, 2006

Brand name	Tar (mg/cig.)	Nicotine (mg/cig.)	Filter type ^{a)}	Vent. Hole
Pianissimo One	1	0.1	P	40
Mild Seven One	1	0.1	DC	200
Mild Seven Extra Lights	3	0.3	DC	100
Caster Mild	5	0.4	NC	90
Mild Seven Super Lights	6	0.5	DC	100
Cabin Mild	8	0.6	NC	50
Mild Seven Lights	8	0.7	DC	50
Mild Seven Original	10	0.8	DC	50
Hope	14	1.1	P	0
Seven Stars	14	1.2	DC	0

a) P: plain, DC: dual charcoal, NC: neo charcoal

Table 2 Effect of elution volume for TSNA with K-Solute column

Elution volume (mL)	TSNA (ng/g)											
	NNK			NNN			NAT			NAB		
	Ave	S.D	c.v (%)	Ave	S.D	c.v (%)	Ave	S.D	c.v (%)	Ave	S.D	c.v (%)
20	480 ± 48	10	460 ± 46	9.8	910 ± 9.0	1.0	89 ± 1.6	1.7				
30	500 ± 95	19	410 ± 6.0	1.5	930 ± 12	1.3	91 ± 4.5	4.9				
40	450 ± 26	5.8	400 ± 10	2.5	910 ± 9.3	1.0	89 ± 2.3	2.6				
50	470 ± 20	4.2	420 ± 36	8.5	900 ± 5.4	0.6	88 ± 1.8	2.1				

※ Ave ,Average; S.D ,Standard Deviation; c.v ,coefficient of variation
Cigarette brand; Pianissimo Petil Menthol One

Table 3 Between-run precision of TSNA analysis in whole tobacco

Sample Days	TSNAs (ng/g)			
	NNK	NNN	NAT	NAB
1	180	500	790	77
2	190	490	790	78
3	190	480	780	76
4	190	450	780	75
5	190	450	760	72
6	180	470	760	72
7	180	490	760	72
Average	190	480	770	75
Stdev	5.3	20	14	2.7
CV (%)	2.8	4.1	1.8	3.6

Cigarette brand: Mild Seven Original (Tar 10 mg, Nicotine 0.8 mg)

Table 4 Concentrations of TSNA in whole tobacco among 10 product numbers

Lot	TSNAs (ng/g)			
	NNK	NNN	NAT	NAB
A	320	400	880	76
B	270	390	750	67
C	320	460	850	75
D	290	430	810	73
E	290	430	780	71
F	290	430	780	67
G	350	490	890	81
H	280	440	800	71
I	320	440	800	73
J	300	480	870	75
Average	300	440	820	73
Stdev	24	31	48	4.4
CV (%)	8.0	7.1	5.9	6.0

Cigarette brand: Marlboro Red (Tar 12 mg, Nicotine 1.0 mg)

Table 5 Concentrations of TSNA in the whole tobacco of Japanese Top 10 seller brands at 2006

Sample	Tar (mg)	Nicotine (mg)	TSNAs (ng/g), n=5									
			NNN		NNK		NAT		NAB			
			Ave	S.D	Ave	S.D	Ave	S.D	Ave	S.D		
Pianissimo One	1	0.1	980 ± 20	410 ± 12	410 ± 12	930 ± 4.8	930 ± 4.8	110 ± 1.6	110 ± 1.6			
Mild Seven One	1	0.1	900 ± 48	230 ± 9.5	230 ± 9.5	780 ± 9.8	780 ± 9.8	88 ± 1.3	88 ± 1.3			
Mild Seven Extra lights	3	0.3	1000 ± 18	180 ± 11	180 ± 11	780 ± 20	780 ± 20	88 ± 2.4	88 ± 2.4			
Caster Mild	5	0.5	490 ± 23	190 ± 11	190 ± 11	430 ± 6.6	430 ± 6.6	43 ± 2.7	43 ± 2.7			
Mild Seven Super lights	6	0.5	870 ± 20	180 ± 5.5	180 ± 5.5	700 ± 5.4	700 ± 5.4	69 ± 0.8	69 ± 0.8			
CABIN Mild	8	0.6	1200 ± 33	370 ± 9.3	370 ± 9.3	840 ± 23	840 ± 23	87 ± 2.6	87 ± 2.6			
Mild Seven Lights	8	0.7	870 ± 33	180 ± 8.9	180 ± 8.9	650 ± 9.5	650 ± 9.5	63 ± 1.7	63 ± 1.7			
Mild Seven Original	10	0.8	890 ± 53	190 ± 7.2	190 ± 7.2	770 ± 30	770 ± 30	77 ± 9.2	77 ± 9.2			
HOPE	14	1.1	370 ± 5.8	130 ± 4.2	130 ± 4.2	420 ± 10	420 ± 10	40 ± 0.8	40 ± 0.8			
Seven Stars	14	1.2	380 ± 6.9	110 ± 6.5	110 ± 6.5	410 ± 8.3	410 ± 8.3	38 ± 1.2	38 ± 1.2			

※ Ave , Average ; S.D , Standard Deviation

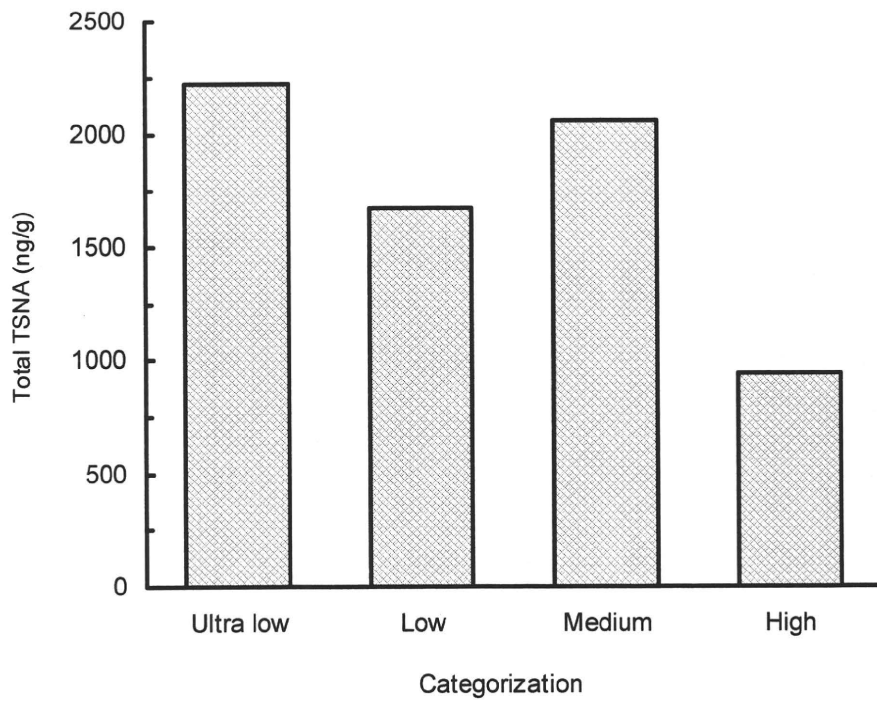


Fig. 1 Amounts of TSNA of whole tobacco in Japanese cigarettes

国産たばこのたばこ葉の変異原性

研究分担者 稲葉洋平 国立保健医療科学院

研究分担者 竹田真由 東北福祉大学

研究協力者 船渡忠男 東北福祉大学

研究協力者 大久保忠利 国立保健医療科学院

研究要旨

国産たばこ銘柄の外箱にはタールとニコチンの含有量以外の記載はなく、製造企業の広報でも他の一部含有成分についてのみの告知である。しかしながら、既報のたばこ研究で主流煙中の有害成分についての化学分析や毒性試験が行われており、それらを鑑みた場合たばこ製品には公表されているもの以上の化学物質が含まれている可能性がある。そこで、本研究では国産主要たばこ銘柄のたばこ葉抽出物の変異原性試験を行った。その結果、殆どのたばこ銘柄がYG1024菌株で擬陽性の活性を示した。しかしながら、その変異原活性は同銘柄の主流煙抽出物の変異原性試験結果と比較しても低いことから、たばこ主流煙中の変異原性物質はその喫煙時の燃焼によって生成することが判った。

A 研究目的

これまでたばこに含まれる化学物質の人体への影響評価をするためには、たばこ主流煙もしくは副流煙測定や喫煙者及び受動喫煙者の生体試料分析を行い、その結果を踏まえて喫煙者や受動喫煙者へのたばこ煙による健康影響が数多報告されてきた。この結果、多くの国々でたばこ製品の管理や対策など多岐に渡るの政策決定が行われてきた。しかしながら、科学的見地から考えた場合、たばこ煙中のこれら有害物質の発生原理や作用機序にはいまだ不明な点も多くあり、健康影響の本質的な解明には至っていない。また、「たばこの規制に関する世界保健機関枠組条約（WHO たばこ規制枠組条約，FCTC）」には、9条「たばこ製品の含有物に関する規制」と10条「たばこ製品についての情報の開示に関する規制」が設けられている。これに対してたばこ企業は、たばこ製品の内容物や喫煙時に発生するタール等の化学物質の記載や公表を行っているが、未だその含有

量を提示されていない化合物も多い。そこで本研究では、たばこ煙中化学物質の由来元と考えられており、また多くの化合物を含むたばこ葉の微生物による遺伝毒性試験を行い、検討・評価した。

B 研究方法

たばこ試料

たばこ銘柄には2006年国産たばこ銘柄売上位10製品を用いた。

たばこ葉の破砕及び恒湿化

たばこ葉は紙巻たばこ本体より取り出し、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。粉末状たばこ葉試料はISO3402（1999）に準拠して、抽出試験直前まで最低48時間－最大10日間，温度 22 ± 2 °C，相対湿度 60 ± 3 %で恒温・恒湿化した。

たばこ葉試料の抽出

恒温・恒湿化したたばこ葉試料2 gは、20 mLの2-プロパノールで20分間、3回振盪抽出した。得られた抽出液60 mLは濾過後、エバポレータで減圧濃縮して3-4 mLの濃縮溶液とした。この溶液をさらに窒素気流下で溶媒留去し、ジメチルスルホキシドに再溶解し変異原性試験試料溶液とした。

変異原性試験

微生物を用いる変異原性試験には、エイムス試験法 [1] の改良法であるプレインキュベーション法 [2] を用いて、サルモネラ菌TA100, TA98及びYG1024株と代謝活性化酵素系 (S9mix) の添加・無添加の両条件下で実施した。

C 研究結果

国産たばこ10銘柄の変異原活性

Table 1に国産たばこ10銘柄の変異原性試験結果を示す。なお、変異原活性は試料濃度 (g/プレート, x軸) に対して復帰変異コロニー数 (Revertants/プレート, y軸) をプロットし、生育阻害がない試料濃度範囲で一時回帰直線 ($y=ax+b$) を算出し、その傾き (a, Revertants/g) を変異原活性とした。また、上記試料濃度範囲での最も多い復帰変異コロニー数が試料濃度0での復帰変異コロニー数 (自然復帰変異コロニー数, spontaneous control) に対して、2倍以上の場合を陽性、1.5倍以上2倍未満を擬陽性、1.5倍未満を陰性の変異原性と判定した。

たばこ銘柄別では、Mild Seven Extra Lightsが全ての菌株・代謝活性化条件下で活性を示さず、残りのMild Seven銘柄であるMild Seven One, Mild Seven Super Lights, Mild Seven Lights及びMild Seven OriginalがYG1024株の-S9mix条件下でのみ擬陽性の変異原活性を示した。また、他のたばこ銘柄全てがYG1024株のS9mix両条件下で同じく擬陽性の活性を与え、Seven StarsがTA100株の+S9mix条件下で、Caster MildがTA100株の-S9mix

とTA98株の+S9mix条件下で擬陽性であった。

以上のように今回測定対象にしたたばこ銘柄のたばこ葉の変異原性は陰性結果が多く、また活性を示しても全て擬陽性であった。また、TA100及びTA98株よりも含窒素化合物に対して高感度のYG1024株の-S9mix条件下でのみ擬陽性の変異原活性を示したことから、たばこ葉の変異原性は殆どなく、限られた条件のもののみであることが判った。しかしながら今回対象としたたばこ銘柄は2006年度の上位10銘柄のみであり、現在市販されているたばこ銘柄は上記以外に80余种あるが、今回の結果から他のたばこ銘柄のたばこ葉の変異原性について推測するのは難しいと考えられる。さらに近年販売されているたばこ銘柄にはメンソール等の添加物が含有されるものも増えていることから、これらたばこ銘柄のたばこ葉の変異原活性については、全ての添加物が公表されていないことから未知の部分が多い。

D 考察

今回測定対象にしたたばこ銘柄は2006年度売上上位10製品であり、同銘柄の主流煙粒子成分抽出物の変異原性試験を菌株等同一条件で行っている (Table 2) [3]。その試験結果と比べた場合、変異原活性が強く認められたYG1024株の+S9mix条件において、たばこ1本当たりたばこ葉が600-700 mg程度であることを考慮しても、たばこ1本あたりの変異原活性に数十倍の差がある。また、たばこ葉の変異原性試験では活性が殆ど認められなかったTA100株の代謝活性両条件下やTA98株の+S9mix条件下で高い変異原活性を示したことから、たばこ主流煙粒子成分中の変異原物質の多くが燃焼によって生成することが示唆された。さらに、たばこ葉抽出物が擬陽性ながら変異原活性を示したYG1024株の-S9mix条件下で、たばこ主流煙粒子成分抽出物の変異原性試験結果が陰性であったことから、燃焼によりたばこ葉に含まれ

る変異原物質が分解、消失や他の化合物に変化している可能性も推測された。

E 結論

本研究では、既に多くのたばこ主流煙の変異原性試験結果から、その変異原性物質が強い活性を示すことが判っており、その由来元と考えられるたばこ葉の微生物を用いた遺伝毒性試験（変異原性試験）を行った。その結果、測定対象にしたたばこ10銘柄のたばこ葉の変異原性は殆どが陰性であり、YG1024株で擬陽性を示すのみであった。このことから、たばこ主流煙中の変異原物質が燃焼時に生成することが示唆された。

F 引用文献

- [1] Ames, BN, McCann J and Yamasaki, E, Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test, *Mutat Res*, 31, 347-363, 1975
- [2] Maron DM, Ames BN, Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, *Mutat Res*, 113, 173-215, 1983
- [3] Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Goto S, Ogata H and Suzuki G, Nicotine, Tar, and Mutagenicity of Mainstream Smoke Generated by Machine Smoking with International Organization for Standardization and Health Canada Intense Regimens of Major Japanese Cigarette Brands, *J Health Sci*, 55(3), 421-427, 2009

G 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 Mutagenicity of whole tobacco of Japanese cigarette of top 10 selling brands in 2006

Brand name	Revertants/g					
	TA100		TA98		YG1024	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
Pianissimo One	neg	neg	neg	neg	800	2,700
Mild Seven One	neg	neg	neg	neg	1,200	neg
Mild Seven Extra Lights	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Caster Mild	<i>1,400</i>	neg	neg	<i>1,500</i>	<i>1,300</i>	<i>1,800</i>
Mild Seven Super Lights	neg	neg	neg	neg	500	neg
Cabin Mild	neg	neg	neg	neg	500	1,400
Mild Seven Lights	neg	neg	neg	neg	3,000	neg
Mild Seven Original	neg	neg	neg	neg	1,000	neg
Hope	neg	neg	neg	neg	3,300	2,300
Seven Stars	neg	3,200	neg	neg	400	1,400

neg, negative; italic letter, pseudo positive

Table 2 Mutagenicity of mainstream of Japanese cigarette of top 10 selling brands in 2006

Brand name	Revertants/cig					
	TA100		TA98		YG1024	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
Pianissimo One	neg	neg	neg	1,600	<i>neg</i>	8,100
Mild Seven One	neg	neg	neg	2,000	<i>neg</i>	14,100
Mild Seven Extra Lights	<i>1,500</i>	neg	<i>700</i>	4,800	neg	24,900
Caster Mild	<i>4,900</i>	<i>1,800</i>	neg	4,800	<i>neg</i>	29,600
Mild Seven Super Lights	9,100	3,600	neg	9,200	<i>neg</i>	38,500
Cabin Mild	<i>1,600</i>	3,200	neg	5,700	800	57,300
Mild Seven Lights	11,200	5,400	neg	13,300	<i>neg</i>	78,600
Mild Seven Original	<i>5,100</i>	<i>3,900</i>	neg	10,800	<i>neg</i>	80,900
Hope	<i>3,600</i>	<i>3,300</i>	neg	7,500	<i>1,300</i>	50,500
Seven Stars	neg	<i>6,100</i>	neg	7,700	<i>neg</i>	43,200

neg, negative; italic letter, pseudo positive; smoking protocol, ISO method

**J Health Sci 2009, 55, 421-427*

たばこの葉に含まれる重金属類の測定

研究分担者 後藤純雄 麻布大学
研究分担者 稲葉洋平 国立保健医療科学院
研究協力者 杉田和俊 三菱化学アナリティック（株）

研究要旨

たばこ煙に含まれる有害物質の曝露挙動把握に関する研究の一環として、発がん関連重金属類を取り上げ、市販たばこ10銘柄の葉に含まれる発がん関連重金属類を含む11元素についてICP/質量分析計（MS）及びICP/発光分光分析計（AES）を用いて含有量を測定した。その結果、測定対象とした11元素のうちクロム（Cr）、マンガン（Mn）、コバルト（Co）、ニッケル（Ni）、銅（Cu）、亜鉛（Zn）、ヒ素（As）、カドミウム（Cd）及び鉛（Pb）の9元素が全ての被検銘柄のたばこの葉から検出され、ベリリウム（Be）と水銀（Hg）はどの銘柄からも検出されなかった。これらの重金属類うち労働環境での曝露で肺がん発生原因と認められている重金属4元素（IARCでクラス1）では、Crの含有量は1.1～1.8 µg/g乾燥重量、Niでは1.2～1.7 µg/g乾燥重量、Asは0.2 µg/g乾燥重量、Cdでは0.9～1.2 µg/g乾燥重量となった。また、IARCでクラス2BのCoの含有量は0.4～0.6 µg/g乾燥重量、Pbでは0.6～1.2 µg/g乾燥重量であった。また、今回の10銘柄のたばこ間での9種の重金属含有量の大きな差は認められなかった。

A.研究目的

たばこの葉は、それに含まれるニコチンを効率良く経気道摂取するために、400～700℃で燃焼される。しかし、燃焼温度としてはたばこの燃焼は比較的低いため、たばこの不完全燃焼による発がん性PAH類などの新たな有害物質が生成¹⁾し、たばこの葉に含まれていた気化成分とともに摂取される。従って、たばこの煙に含まれる発がん関連物質の曝露挙動を把握するためには、不完全燃焼で発生した有害物質ばかりでなく燃焼前のたばこの葉に含まれていた有害成分、その気化条件、経気道摂取量などの挙動について詳細に把握する必要がある。一方、幾つかの重金属類（Cr、Ni、As及びCd）には労働環境下でヒト肺がんの原因として確認されているものがあり²⁾、これらが外国産たばこの主流煙や外国産たばこの葉中に含まれていたことが報告されている³⁻⁵⁾。これらの4種の重金属類の標的臓器は少なくとも肺であるため喫

煙によるこれらの重金属類と肺がん発生との関係究明や曝露対策も重要である。そこで本年度は、たばこの葉に含まれる重金属類をICP/MS及びICP/AESを用いて測定し評価した。

B.研究方法

(1) 試料の調製

2010年に日本国内で市販されており比較的売上の高い10銘柄を選び3ロット（1ロットにつき1カートン）購入した。そのうちの1ロットの中の1箱から3本のたばこを取り出し、3本分のたばこの葉を十分混合し、金属測定試料とした。

(2) マイクロウェーブによる前処理

調製したたばこの葉 約0.3gを秤取し、これに7 mLの硝酸（60%電子工業用EL；関東化学）を加え、マイクロウェーブ（ETHOS PLUS；マイルストーン社）処理を行った。マイクロウェーブ処理の条

件は、常温～（2 min）50℃～（3 min）30℃～（16 min）210℃～（1 min）180℃～（4 min）210℃～（20 min）継続、とした。分解後、分解液及び容器の洗液を合わせて、50 mLに定容し、ICP/MS及びICP/AES測定用試料とした。

(3) ICP/MSを用いた重金属類の分析

ICP/MS装置及び測定は以下の条件とした。

装置;ICP/MS: Agilent7500C (Agilent Technologies社製)

ICP/MSリアクションガス;ヘリウム, 水素

内部標準元素: Re(187),Ir(193)

測定質量数: Be(9), Cr(52), Mn(55), Co(59), Ni(60), Cu(63), Zn(64), As(75), Cd(111), Hg(202), Pb(208)

(4) ICP/AESを用いた重金属類の分析

ICP/AES装置及び測定は以下の条件とした。

装置; ICP/AES: 5300DV (パーキンエルマー社製)

測定波長: Mn (257.6 nm), Zn (206.2 nm)

なお、ICP/MS測定で濃度が高かったものについてICP/AES測定を行った。

C.研究結果

(1) 重金属類の分析精度の検討

たばこの葉に含まれる重金属類のICP/MS及びICP/AESによる測定能について、添加回収試験で確認した。

試料（約0.3 g）をマイクロウェーブ分解用容器に秤取り、それにCr, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, 及びPbの標準品（和光純薬工業社, 原子吸光分析用）を500 ng添加し、Asの標準を50 ng添加した。マイクロウェーブ分解後、容器内壁を洗い込みながら

50 mLに定容し、ICP/MS及びICP/AESによる定量を行った。試験にはマイルドセブンスーパーライト (SL) 及びセブンスター (SS) の葉を用いた。測定対象とした元素はBe(9), Cr(52), Mn(55), Co(59), Ni(60), Cu(63), Zn(64), As(75), Cd(111), Hg(202), Pb(208)の12元素の測定を行った。なお、括弧内は定量に用いた質量数である。そのうち、添加した元素は揮発性の高いHg, As, Cdなどを含めてCr, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Hg及びPbの8成分とした。

得られた結果をTable 1に示す。Table 1から、Cr (99.9%), Ni (88.1%), As (85.7%) 及びCd (84.6%) の4元素は良好な値を示したが、Cuは57.8%, Znは412.5%となった。Table 1には実試料の含有量 (ng) も示してあるが、Cu及びZnは実試料中の含有量が他の元素やそれらの添加量に比べて高かったため評価できない結果になったことが判った。

Cu及びZnを除く6元素の添加回収試験の結果から硝酸によるマイクロウェーブ処理条件やICP/MS及びICP/AESによる測定条件等は有効であることが認められた。

(2) 主要10銘柄の重金属類の測定結果

添加回収試験と同様の条件で主要10銘柄, 3ロットについて測定を行った。試料は各パッケージ (箱) から3本を無作為に選び、タバコの葉を巻紙と分離しながらほぐし、よく混合し、マイクロウェーブ分解用試料とした。これを約0.3 g秤取り、分解後、50 mLに定容し、ICP/MS測定試料とした。

得られた結果をTable 2に示す。Table 2から、Be及びHgはどの銘柄でも定量下限 (Be:2 µg/g, Hg:0.2 µg/g) 未満となることが判った。本試験で測定した11種類の元素のうち検出された元素はCr (1.1~1.8 µg/g), Mn (127~167 µg/g), Co (0.4~

Table-1 Results of recovery test

	Cr (52)	Ni (60)	Cu (63)	Zn (64)	As (75)	Cd (111)	Hg (202)	Pb (208)
含有量(ng)	338	370	3070	11800	53.8	325	ND	118
回収率(%)	99.9	88.1	57.8	412	85.7	84.6	73.3	70.7

Table-2 concentration of elements for Tobacco leaves

unit: $\mu\text{g/g}$

Sample	Lot	Be	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Hg	Pb	
HOPE	A	<2	1.3	190	0.6	1.6	11	39	0.2	1.3	<0.2	0.7	
	B	<2	1.9	130	0.5	1.7	11	34	0.2	1.2	<0.2	0.7	
	C	<2	1.8	100	0.4	1.3	9	29	0.2	1.0	<0.2	0.7	
PIANISSIMO	A	<2	1.0	140	0.6	1.1	10	30	0.1	0.9	<0.2	0.4	
	B	<2	1.6	170	0.7	1.9	12	32	0.3	1.0	<0.2	0.6	
	C	<2	1.9	170	0.6	0.6	2.1	1.7	11	10.9	32	31	
Caster	A	<2	1.5	130	0.6	1.3	13	35	0.2	0.9	0.9	<0.2	0.6
	B	<2	2.0	130	0.5	1.3	10	33	0.2	1.2	<0.2	0.6	
	C	<2	1.8	120	0.4	0.5	1.2	10	10.9	35	34	0.2	0.2
CABIN	A	<2	1.3	140	0.6	1.5	11	34	0.2	1.0	1.0	<0.2	0.6
	B	<2	1.4	180	0.7	1.8	11	41	0.2	1.0	<0.2	0.5	
	C	<2	1.1	180	0.6	0.6	1.4	1.6	10	10.7	37	37	0.2
Seven Stars	A	<2	1.6	150	0.5	1.5	11	37	0.2	1.0	<0.2	0.7	
	B	<2	1.3	130	0.4	1.1	9	36	0.2	1.0	<0.2	0.8	
	C	<2	1.8	130	0.4	0.4	1.1	1.2	12	10.8	39	37	0.2
MS-one	A	<2	1.3	110	0.4	1.6	9	29	0.2	1.0	<0.2	0.6	
	B	<2	1.0	180	0.5	1.3	10	35	0.2	1.1	<0.2	0.6	
	C	<2	1.0	180	0.6	0.5	1.4	1.4	11	10.0	36	33	0.2
MS Super Light	A	<2	1.9	180	0.7	2.6	11	40	0.3	1.2	<0.2	0.8	
	B	<2	1.1	160	0.5	1.2	10	35	0.2	1.0	<0.2	0.6	
	C	<2	1.2	160	0.6	0.6	1.4	1.7	12	11.0	38	38	0.2
MS Extra Light	A	<2	1.6	130	0.4	1.8	11	39	0.2	1.0	<0.2	0.8	
	B	<2	1.4	170	0.7	1.3	12	37	0.2	1.0	<0.2	0.9	
	C	<2	1.1	150	0.6	0.6	1.2	1.4	12	11.7	42	39	0.2
MS Light	A	<2	1.2	150	0.6	1.7	10	32	0.2	1.1	<0.2	0.6	
	B	<2	1.1	150	0.6	1.5	9	37	0.2	1.1	<0.2	0.7	
	C	<2	1.3	170	0.5	0.6	1.6	1.6	12	10.2	41	37	0.2
MS Original	A	<2	2.1	120	0.4	1.4	10	36	0.2	1.2	<0.2	0.6	
	B	<2	0.9	180	0.6	1.4	10	38	0.2	1.1	<0.2	1.4	
	C	<2	1.0	140	0.5	1.4	11	10.3	38	37	0.2	0.2	

Mn, Zn: 高濃度の為、ICP/AESで再測定

0.6 $\mu\text{g/g}$, Ni (1.2~1.7 $\mu\text{g/g}$), Cu (10.0~11.7 $\mu\text{g/g}$), Zn (31~39 $\mu\text{g/g}$), As (0.2 $\mu\text{g/g}$), Cd (0.9~1.2 $\mu\text{g/g}$) 及びPb (0.6~1.2 $\mu\text{g/g}$) の9種類であった。各銘柄におけるLot間の差は見られるものの、銘柄間の差と同程度であった。主流煙中に含まれるニコチンやタールの表示は大きく異なるものの、タバコ葉そのものに含まれる当該重金属類の含有量には大きな差は認められなかった。

D. 考察

国産10銘柄のタバコの葉には、銘柄にかかわらずほぼ同比率で重金属類が含まれていることが明らかになった。これらの結果と外国産タバコの葉からの当該重金属類の含有量^{4,5)}を比較すると、Cr (1.1~1.8 $\mu\text{g/g}$) では1.87 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び9.44 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾, Mn (127~167 $\mu\text{g/g}$) では79.7 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び128.5 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾, Co (0.4~0.6 $\mu\text{g/g}$) では0.43 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び5.09 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾, Ni (1.2~1.7 $\mu\text{g/g}$) では16.92 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾, Cu (10.0~11.7 $\mu\text{g/g}$) では18.2 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び12.53 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾, Zn (31~39 $\mu\text{g/g}$) では43.3 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び33.76 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾, As (0.2 $\mu\text{g/g}$) では0.97 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾, Cd (0.9~1.2 $\mu\text{g/g}$) では1.52 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び2.5 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾及びPb (0.6~1.2 $\mu\text{g/g}$) では22.1 $\mu\text{g/g}$ ⁴⁾及び12.16 $\mu\text{g/g}$ cig⁵⁾となり、PbやNiが国産銘柄の方が低いことなどが認められた。この差の要因は明らかではないが国産タバコの葉の輸入先やその混合率、葉の乾燥時の条件、分析法の違いなども考えられる。

一方、これらの重金属類のうち労働環境下での経気道曝露で肺がんの発生原因と認められた4種の重金属類は比較的高濃度でタバコの葉に含まれていることも判った。即ち、IARC (monograph vol. 83) で報告された主流煙中の発がん性重金属類の濃度がAs: 40~120 ng/cig, Cd: 41~62 ng/cig及びCr: 4~7 ng/cigであり、タバコ1本当たり600 mgであることを考慮すると、今回のタバコの葉に含まれるこれらの重金属は、Asは0.2 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量、Cdでは0.9~1.2 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量重Crが1.1~1.8 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量と大幅に高い値となっていた。一方、IARCでクラス1の重金属類のリスク (inhalation unit risk) とその 10^{-5} risk levelはUS EPAのIRIS database²⁾から、

$$\text{As: } 4.3 \times 10^{-3} \text{ per } \mu\text{g/m}^3 \rightarrow 0.002 \mu\text{g/m}^3$$

$$\text{Cd: } 1.8 \times 10^{-3} \text{ per } \mu\text{g/m}^3 \rightarrow 0.006 \mu\text{g/m}^3$$

$$\text{Cr(VI): } 1.2 \times 10^{-2} \text{ per } \mu\text{g/m}^3 \rightarrow 0.0008 \mu\text{g/m}^3$$

$$\text{Ni: } 2.4 \times 10^{-3} \text{ per } \mu\text{g/m}^3 \rightarrow 0.04 \mu\text{g/m}^3$$

となることが示されており、Cr中のCr(VI)濃度が10%程度と考えると、これらの重金属類の経気道曝露は発がんリスクを上昇させているものと考えられる。また、今回測定したタバコ葉中にはIARCでクラスB2: Co (2B) : 0.4~0.6 $\mu\text{g/g}$, Pb (2B) : 0.6~1.2 $\mu\text{g/g}$ も含まれていることを考慮すると、これらの対策は極めて重要であると考えられる。今後、タバコの不完全燃焼に伴う当該金属類の気化(煙中)濃度等についても研究を進める予定で

ある。

E. 結論

発がん物質の曝露実態把握のための基礎資料作成は発がんリスク低減対策に極めて重要である。本研究ではたばこの葉の不完全燃焼に伴って気化して経気道曝露する重金属類を取り上げ、不完全燃焼する前のたばこの葉に含まれる重金属類の含有量を調べた。国産たばこ10銘柄を調べた結果、測定対象とした11元素のうちベリリウム (Be) と水銀 (Hg) はどの銘柄からも検出されなかったがクロム (Cr), マンガン (Mn), コバルト (Co), ニッケル (Ni), 銅 (Cu), 亜鉛 (Zn), ヒ素 (As), カドミウム (Cd) 及び鉛 (Pb) の9種類が検出された。これらのうちヒト肺に対して発がんに関連の深い重金属4種 (IARCでクラス1) では、Crが1.1~1.8 µg/g乾燥重量, Niが1.2~1.7 µg/g乾燥重量, Asは0.2 µg/g乾燥重量, Cdでは0.9~1.2 µg/g乾燥重量となった。また、IARCでクラス2BのCoは0.4~0.6 µg/g乾燥重量, Pbは0.6~1.2 µg/g乾燥重量であった。今回の10銘柄のたばこ間の被測定重金属含有量の大きな差は認められなかった。これらのことから、たばこ喫煙に伴う発がん関連重金属類の曝露対策は他の発がん関連化学物質とともに重要であることが示唆された。

F. 引用文献

[1] IARC: Certain polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic compounds (in; IARC Monographs

on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol.3) WHO, Lyon, France (1973)

[2] US EPA Integrated Risk Information System (IRIS) Database: <http://www.epa.gov/IRIS/> (2010)

[3] IARC: Tobacco smoke and involuntary smoking (in; IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol.83) WHO, Lyon, France (2004)

[4] Nicolas Lugon-Moulin a, Florian Martin, Marc R. Krauss, Patrice B. Ramey b, Luca Rossi, Cadmium concentration in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) from different countries and its relationship with other elements, *Chemosphere* (2006) **63** 1074–1086.

[5] O.I. Asubiojo, F.M. Adebisi, J.G. Ayenimo, O.O. Olukoko and J.A.O. Oyekunle, Chemical analysis of tobacco cigarette for organochlorine insecticides and heavy metal composition., *Toxicological & Environmental Chemistry*, (2009) **91** 611–618.

G. 研究発表

統括報告書に一括記載した。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

電子タバコから発生するホルムアルデヒド等カルボニル化合物

研究分担者 内山茂久・稲葉洋平・樺田尚樹 国立保健医療科学院
研究協力者 太田和司 千葉大学工学部

研究要旨 電子タバコとは、専用カートリッジ内の液体を内蔵の充電電池でニクロム線を発熱させることにより霧状化し、その微粒子を吸引することで煙草の代替とする製品である。煙草の増税に伴い、最近急速に普及しているが、安全性に関する情報は少ない。昨年度、我々は煙草から発生するカルボニル化合物の分析法として、ハイドロキノン（HQ）と 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）を用いた方法（HQ-DNPH 法）を報告した。本研究では、この HQ-DNPH 法を用いて電子タバコから発生する煙の成分を測定し、発生する化学物質、生成メカニズム等の検討を行った。

電子タバコから発生する気体を分析した結果、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサール等、多くの有害なカルボニル化合物が高濃度で検出され、ホルムアルデヒドの場合、最大で 260 mg/m^3 の濃度が測定された。電子タバコ専用カートリッジに含まれる液体を GC/MS で分析した結果、主成分はプロピレングリコール、グリセロール等のグリコール類であり、これらのカルボニル化合物は含有していなかった。そこで、様々なグリコール類をコイル状のニクロム線に塗布した後、電圧を印加し、そこから発生する気体を分析した。その結果、3V 以上の電圧を印加すると、エチレングリコールからグリオキサールが、プロピレングリコールからメチルグリオキサールが発生することが明らかになった。このことから、グリコール類が酸化されグリオキサール等のカルボニル化合物が生成するという酸化反応が示唆される。また、同じ銘柄の電子タバコでもカルボニル化合物がほとんど発生しない場合も見受けられたが、これは、ニクロム線とグリコール類の接触状況や電圧変化によることが推測される。

現在市販されている全ての電子タバコは、偶発的に、非意図的に高濃度のカルボニル化合物を発生する危険性を有していることが明らかになった。

1. はじめに

電子タバコは、香港に所在する北京 SBT 如煙科技發展有限公司が 2003 年に世界で初めて開発したとされ、現在、世界各国に普及している。それはバッテリー、蒸発ユニット、液体カートリッジで構成され「煙草」に模した気体吸引機であり、実際に吸引することで液体カートリッジに入れられた液体が蒸発ユニットを通過し霧状となりそれを吸引する仕組みである。世界保健機関 WHO は 2008 年 9 月に海外で販売されているニコチン入り電子タバコの利用について、「安全性は確認されておらず、禁煙療法とは考えられない」と警鐘を鳴らし、2009 年に Technical Report Series 955¹ を発行している。またアメリカ食品医薬品局 FDA は、2009 年 7 月、米国で

販売されている電子タバコより不凍液成分であるジエチルグリコールや発がん物質であるニトロサミン類が検出されたと報告している²。国内では、国民生活センターの調べで、個人輸入されている海外販売のニコチン含有電子タバコだけでなく、国内販売している商品からもニコチンがわずかながら検出され問題となった（平成 22 年 8 月 18 日）。しかし、電子タバコから発生する気体の化学分析が困難であったため、現在までに十分に報告されていない。

ホルムアルデヒドやアセトアルデヒドなどのカルボニル化合物は人体に有害な物質である。比較的高濃度のホルムアルデヒドやアセトアルデヒドの長期間暴露は、喘息³やガン⁴のリスクを高めることも知られている。また、アクロレインやクロ

トンアルデヒドなどの α,β -不飽和アルデヒドは反応性が高く、人への影響が懸念されている物質である。2006年にFengらは、煙草煙中のアクロレインが肺がんのリスクを増加させることを報告している⁵。したがって、カルボニル化合物の人に対する健康影響や生成機構を解明することは重要であり、そのためには、精度の高い分析方法が要求される。最近、 α,β -不飽和アルデヒドを含む広範囲のカルボニル化合物の分析方法として、ヒドロキノン(HQ)含浸シリカと2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)⁶含浸シリカを用いたHQ-DNPH cartridge法⁷が開発された。これはラジカル捕捉剤であるHQによりDNPHシリカ中のアクロレインのヒドラゾン誘導体の分解や重合を防ぎ、 α,β -不飽和アルデヒドを含む広範囲のカルボニル化合物の分析を可能とする方法である。

本研究ではHQ-DNPH cartridge法を用いて、電子タバコから発生する気体に含まれる有害なカルボニル化合物の分析を行い、その発生量や発生メカニズムを検討した。

2. 実験

2.1. 装置と試薬

HPLCは、LC-20AD送液ポンプを二台、SPD M20Aフォトダイオードアレイ検出器を備えた島津製作所製Prominence LC-20を使用した。分離カラムはAscentis Express RP-Amide (2.7 μm particle size, 150 mm \times 4.6 mm i.d., Supelco社製)を用い、カラムオープン温度を40 $^{\circ}\text{C}$ 、注入量を10 μL とした。グラジエントモードの移動相にはアセトニトリル(40%)と水(60%)の混合溶液(B溶液)と、5 mmol/Lの酢酸アンモニウムを含むアセトニトリル(75%)と水(25%)混合溶液(A溶液)を用いた。A溶液100%を8分間保ち、37分間でB溶液100%にした後、15分間B溶液100%を保った。アイソクラティックモードでは、5 mmol/Lの酢酸アンモニウムを含むアセトニトリル(75%)と水(25%)混合溶液を使用した。

自動喫煙装置はBorgwaldt Technik GmbH製(model LM1/PLUS)を使用し、一回の吸煙量を55 mL、吸煙時間を2秒、吸煙間隔を28秒に設定した。

HPLC、試料調整用の純水はMillipore製Milli-Qシステムを使用した。2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸塩は東京化成工業製、ヒドロキノン、リン酸

(85%)、エタノールはSigma-Aldrich製の特級を使用した。シリカゲルはAGC Si-Tech製の60/80 mesh, 120 \AA を使用した。

電子タバコは、国内で一般に市販されている13銘柄(A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M)について検討を行った。

2.2. DNPH-cartridge および HQ-cartridge の作製

DNPH-cartridge : 高濃度測定用と低濃度測定用の二種類のDNPH-cartridgeを作製した。シリカゲル50 gを純水500 mLで3回洗浄する。次に500 mLのメタノールで2回洗浄した後、500 mLのアセトニトリルで2回洗浄する。2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸塩を、低濃度測定用の場合は0.25 g、高濃度測定用の場合は1 g、及びリン酸1 mLをアセトニトリル300 mLに溶かす。この溶液を洗浄シリカに添加した後、40 $^{\circ}\text{C}$ に設定したロータリーエバポレーターでアセトニトリルを留去した。このDNPH-silicaを280 mg秤量し、1 mLのレゾリアンチューブに充填してDNPH-cartridgeとした。

HQ-cartridge : ヒドロキノン0.05 g秤量し50 mLのアセトニトリルに溶かす。この溶液を洗浄シリカ50 gに添加した後、40 $^{\circ}\text{C}$ に設定したロータリーエバポレーターでアセトニトリルを留去した。このHQ-silicaを280 mg秤量し、1 mLのレゾリアンチューブに充填してHQ-cartridgeとした。

2.3. 電子タバコから発生するカルボニル化合物の捕集と分析

DNPH-cartridgeの前段にHQ-cartridgeを接続しHQ-DNPH-cartridge (Fig. 1)を作製する。

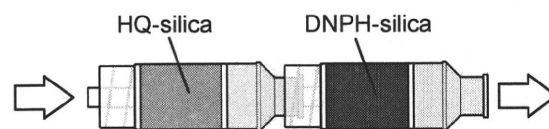


Fig. 1. Schematic drawing of the HQ-DNPH-cartridge.

主流煙を測定するときは、電子タバコのカートリッジ(吸引口)にHQ-DNPH-cartridgeのHQ-cartridge側を接続し、DNPH-cartridge側を自動喫煙装置の試料口に接続する。HCI (Health Canada Intensive)法⁸に準拠し、27.5 mL/sの流速で2秒間吸引した後、28

秒間休止する操作を電子タバコ1本あたり10回繰り返した。捕集後、直ちに抽出、分析を行わない場合は再びHQ-DNPH-cartridgeをDNPH-cartridgeとHQ-cartridgeに分割し、冷暗所に保管した。

捕集終了後、HQ-DNPH-cartridgeのDNPH-cartridge側から、リン酸を1%含むアセトニトリル溶液4mLで溶出し、誘導体化のため10分間放置した後、過剰な付加反応を抑制するために、エタノールを1mL添加した。この溶液をHPLCに導入し、各種のカルボニル化合物DNPH誘導体を分析した。

3. 結果と考察

3.1. 電子タバコから発生する気体に含まれるカルボニル化合物

国内で市販されている13銘柄の電子タバコ(A~M)から発生するカルボニル化合物を測定した。代表的なクロマトグラムをFig. 2に示す。未反応のDNPHの他に、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサールなどを含む様々なカルボニル化合物の誘導体のピークが検出された。Table 1aにA~E, Table 1bにF~J, Table 1cにK~Mの電子タバコから発生したカルボニル化合物の濃度を示す。ホルムアル

デヒド、アセトアルデヒド、アクロレイン、プロパナールグリオキサール、メチルグリオキサール等炭素数が1~3のアルデヒド類が多く発生することが明らかになった。WHOが策定したホルムアルデヒドの室内指針値は0.1 mg/m³であるが、A~Mのホルムアルデヒド発生量の平均値は、それぞれ14, 17, 4.4, 0.3, 2.3, 20, 8.1, 2.8, 6.9, 0.5, 13, 2.8, 2.0 mg/m³を示し、いずれの銘柄も指針値以上の数値を示した。ホルムアルデヒド以外のアセトアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサールなどの物質についても、非常に高濃度で発生した。しかし、それらの発生量は同一銘柄でも大きく変動している。例えば、銘柄Fでは、ホルムアルデ

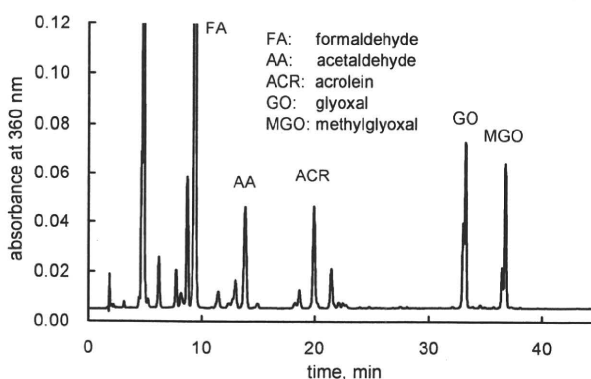


Fig. 1. Representative chromatogram of carbonyl-DNPH derivatives generated from electronic cigarette.

Table 1a. Concentrations of carbonyl compounds generated from various electronic cigarettes. mg/m³

Compound	A (n=30)			B (n=30)			C (n=30)			D (n=30)			E (n=30)		
	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.
formaldehyde	11	67	0.4	13	97	0.1	4.6	31	0.0	0.3	1.3	0.0	1.6	5.2	0.1
acetaldehyde	0.3	0.8	0.1	0.9	6.4	0.0	2.2	14	0.5	0.3	0.5	0.2	0.2	0.9	0.0
acetone	0.4	1.5	0.0	0.7	4.5	0.0	0.5	1.9	0.1	0.1	0.2	0.1	0.3	1.2	0.0
acrolein	4.0	18	0.0	3.4	32	0.0	1.8	14	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	1.4	0.0
propanal	0.7	3.9	0.0	1.8	16	0.0	0.3	2.4	0.1	0.2	0.3	0.0	0.2	0.4	0.0
crotonaldehyde	0.3	0.5	0.2	0.2	0.3	0.0	0.1	0.1	0.0	0.2	0.3	0.0	0.1	0.3	0.0
butanal	0.6	3.2	0.0	0.5	4.0	0.0	0.1	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0
benzaldehyde	0.0	0.2	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
<i>i</i> -valeraldehyde	0.0	0.2	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
valeraldehyde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
glyoxal	6.4	42	0.0	5.6	36	0.0	1.2	5.6	0.0	0.1	0.8	0.0	0.2	1.5	0.0
<i>o</i> -tolualdehyde	0.2	1.0	0.0	0.2	1.4	0.0	0.1	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0
<i>m</i> + <i>p</i> -tolualdehyde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
methylglyoxal	6.9	29	0.3	7.5	38	0.0	2.4	15	0.0	0.0	0.3	0.0	2.9	7.1	0.1
hexanal	0.2	3.9	0.0	0.2	3.4	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2,5-DMBA	0.0	0.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0
heptanal	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
octanal	0.0	0.0	0.0	0.2	0.7	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
nonanal	0.0	0.2	0.0	3.5	10	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0
decanal	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 1b. Concentrations of carbonyl compounds generated from various electronic cigarettes. mg/m³

Compound	F (n=51)			G (n=50)			H (n=24)			I (n=5)			J (n=13)		
	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.
formaldehyde	20	260	0.1	8.1	45	0.1	2.8	8.6	0.2	6.9	13	0.4	0.5	1.3	0.2
acetaldehyde	15	210	0.0	6.9	46	0.1	4.8	23	0.0	2.1	2.9	1.2	0.2	0.5	0.0
acetone	1.3	17	0.0	2.5	30	0.1	1.3	4.4	0.1	0.6	1.2	0.3	1.0	2.3	0.1
acrolein	2.6	22	0.0	11	73	0.0	5.0	15	0.0	1.5	2.1	0.7	0.0	0.1	0.0
propanal	5.2	83	0.0	6.3	68	0.0	6.0	20	0.0	0.6	0.8	0.3	0.1	0.7	0.0
crotonaldehyde	0.1	0.6	0.0	0.3	0.7	0.0	0.1	0.7	0.0	0.1	0.2	0.0	0.0	0.2	0.0
butanal	0.5	7.5	0.0	0.6	3.8	0.0	0.8	4.7	0.0	1.7	2.3	0.0	0.1	0.2	0.0
benzaldehyde	0.1	0.6	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>i</i> -valeraldehyde	0.0	0.4	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
valeraldehyde	0.6	10	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0	0.2	0.0	1.4	3.2	0.0	0.0	0.4	0.0
glyoxal	1.6	21	0.0	2.2	13	0.0	0.1	0.3	0.0	1.5	3.3	0.0	0.1	0.5	0.0
o-tolualdehyde	0.1	0.9	0.0	0.1	0.7	0.0	0.1	2.3	0.0	0.1	0.3	0.0	0.0	0.1	0.0
<i>m+p</i> -tolualdehyde	0.0	1.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
methylglyoxal	2.0	19	0.0	3.5	24	0.0	0.4	2.2	0.0	3.3	6.4	0.0	0.2	1.2	0.0
hexanal	0.8	12	0.0	0.8	34	0.0	0.5	4.3	0.0	0.3	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0
2,5-DMBA	0.5	18	0.0	0.1	1.7	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
heptanal	0.0	0.2	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
octanal	0.1	1.6	0.0	0.1	0.4	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
nonnal	0.1	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0
decanal	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 1c. Concentrations of carbonyl compounds generated from various electronic cigarettes. mg/m³

Compound	K (n=34)			L (n=26)			M (n=4)		
	mean	max.	min.	mean	max.	min.	mean	max.	min.
formaldehyde	13	53	0.0	2.8	53	0.1	2.0	5.1	0.2
acetaldehyde	12	44	0.0	1.3	19	0.1	2.6	7.3	0.3
acetone	4.0	20	0.0	0.4	3.4	0.0	1.3	3.1	0.5
acrolein	15	54	0.0	0.8	19	0.0	0.6	1.8	0.0
propanal	12	58	0.0	0.5	6.3	0.0	0.5	1.3	0.0
crotonaldehyde	0.3	0.9	0.0	0.2	0.9	0.0	0.3	0.3	0.1
butanal	0.8	4.9	0.0	0.6	11	0.0	0.4	1.2	0.0
benzaldehyde	0.1	0.3	0.0	0.6	7.8	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>i</i> -valeraldehyde	0.0	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
valeraldehyde	0.0	0.1	0.0	0.5	11	0.0	0.1	0.4	0.0
glyoxal	3.5	18	0.0	0.8	17	0.0	0.1	0.3	0.0
o-tolualdehyde	0.2	1.0	0.0	0.1	1.3	0.0	0.0	0.1	0.0
<i>m+p</i> -tolualdehyde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
methylglyoxal	4.0	29	0.0	1.7	37	0.0	1.2	4.3	0.0
hexanal	4.7	53	0.0	0.3	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0
2,5-DMBA	0.2	2.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
heptanal	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.5	0.0
octanal	0.0	0.2	0.0	0.1	0.8	0.0	0.4	1.2	0.1
nonnal	0.1	0.7	0.0	0.4	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0
decanal	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ヒド発生量の平均値は 20 mg/m^3 であるが、最大値は 260 mg/m^3 、最小値は 0.1 mg/m^3 であり、変動幅が非常に大きい。また、それぞれの銘柄間でも大きな変動が認められ、D, J 銘柄のようにカルボニル化合物発生量が低い電子タバコも存在した。次に、A, B, C, D, E の銘柄について、それぞれ 10 ロットずつ購入し、1 ロットにつき 3 回ずつの測定を行なった。Fig. 3 に各銘柄における、ホルムアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサールの発生量を示す。銘柄 E を除いて、測定した全ての電子タバコから各種のカルボニル

化合物が発生したが、銘柄ごとに発生量、物質の種類が異なった。また、ロット間でも大きなバラツキが認められた。例えば、銘柄 A では、10 個のロット中、No.7 と No.9 の 2 個のロットがホルムアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサールを多く発生した。ホルムアルデヒド、グリオキサールは、発生量の低いロットと比較すると、概ね 10 倍程度の高濃度である。また、同一ロット内でも測定回数による濃度差が大きく、ロット No.9 のグリオキサール濃度は 1 回目と 3 回目では 5 倍程度発生量に差が生じている。

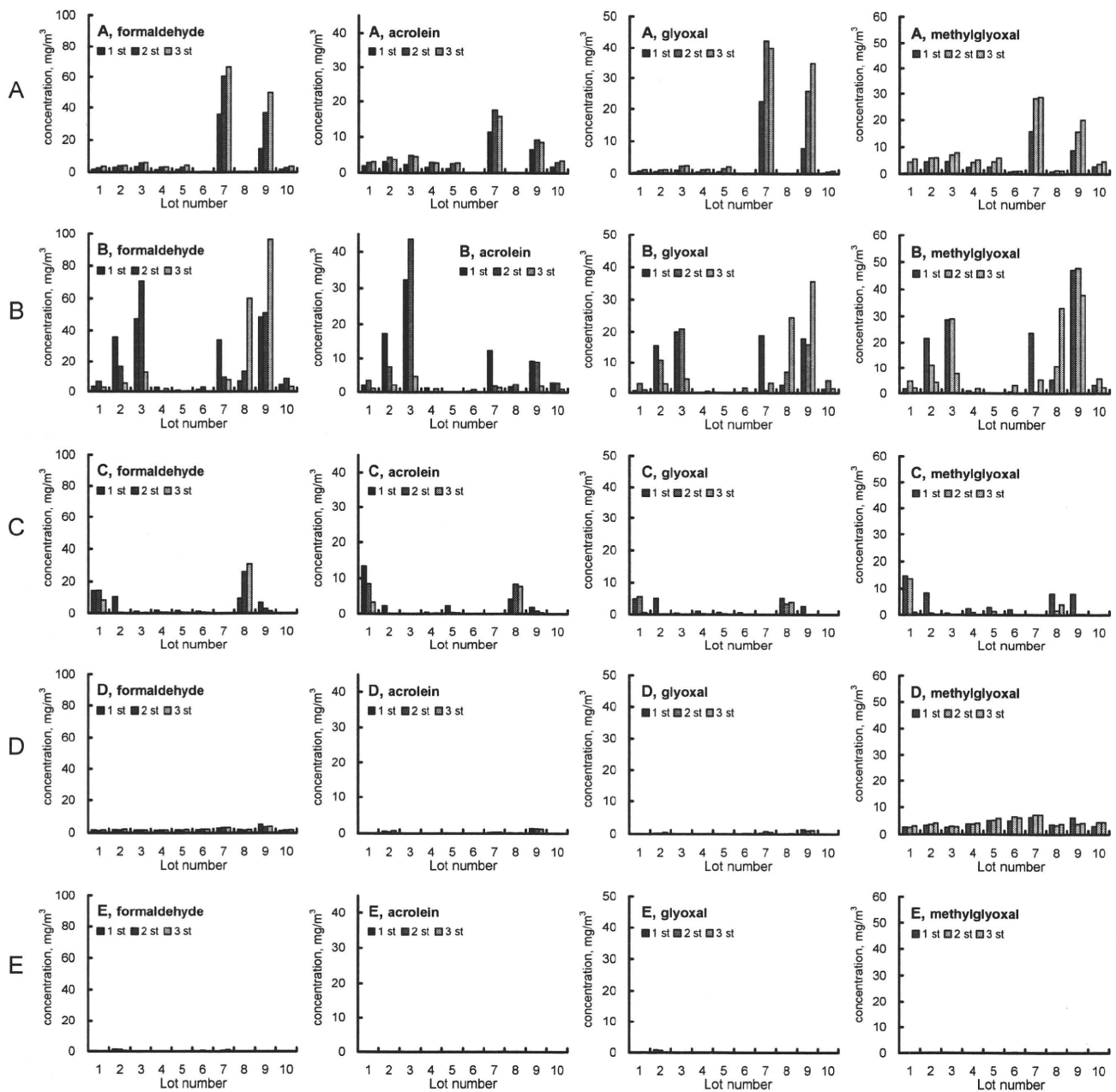


Fig. 3. Concentrations of formaldehyde, acrolein, glyoxal and methylglyoxal generated from various brands of electronic cigarettes.

銘柄 B では、全 10 個のロット中、No.2, No.3, No.7, No.8, No.9 の 5 個のロットがホルムアルデヒド、アクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサールを多く発生した。これらの発生量は、A 銘柄と同程度であるが、ホルムアルデヒドは 97 mg/m^3 の高い値を示した。また、銘柄 A と同様に、同一ロット内の測定回数による濃度差は大きい。銘柄 C では、銘柄 A, B と比較すると、全体的にカルボニル化合物の発生量は少ないが、全 10 個のロット中、2 個のロットが多く発生した。

銘柄 D では、全体的に発生量は少ないが、全てのロットで $2.6\sim 7.1 \text{ mg/m}^3$ のメチルグリオキサールが発生したのに対し、アクロレイン、グリオキサールはほとんど検出されなかった。

銘柄 E では、何れのロットにおいてもカルボニル化合物の発生量は非常に少なかった。

以上の結果から、カルボニル化合物の発生量には三つの大きなバラツキがあることが明らかになった。即ち、1. ロットごとの発生量のバラツキ、2. ロット内のバラツキ、3. 銘柄間のバラツキである。

3.2. 電子タバコカートリッジに含まれる液体中の化学物質の分析

カルボニル化合物の分析：銘柄 F, G, H, I の電子タバコカートリッジの液体をカートリッジからピペットでバイアルに移し、DNPH 溶出液と混合させ、誘導体化を行った後、HPLC で分析した。その結果、変霧器によって気化される前のカートリッジには、カルボニル化合物がほとんど含まれていないことが明らかになった。

揮発性有機化合物の分析：銘柄 F, G, H, I の電子タバコ

カートリッジ 2, 3 本分の液体をカートリッジからピペットでバイアルに移し、それをメタノールで希釈した後、GC/MS で分析した。その結果、電子タバコカートリッジに含まれる液体の主成分は、エチレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、グリセロール、トリエチレングリコール、ペンタエチレングリコールなどのグリコール類であった。また、これらのグリコール類は、成分比率は異なっているものの、どの銘柄にも含有していた。

この結果から、電子タバコカートリッジに含まれる液体の成分はグリセロール、グリコール類であり、電子タバコを吸煙するとき、すなわち、煙を発生させるとき、カルボニル化合物が生成することが示唆される。

3.3. 電子タバコから発生するカルボニル化合物の生成メカニズム

前述したように、電子タバコはバッテリー、蒸発ユニット、液体カートリッジで構成され、実際に吸引することで液体カートリッジに入れられた液体がニクロム線により霧状となりそれを吸引する仕組みである。そこで、ニクロム線と乾電池で構成される、市販の電子タバコに模した“霧発生器”を作製し、発生するカルボニル化合物を検討した。ニクロム線をコイル状に巻き、エチレングリコール、プロピレングリコール、グリセロールを $20 \mu\text{L}$ 塗布した後、一定の電圧を印加し、“煙”を発生させる。この煙を HQ-DNPH-cartridge を用いて、 0.5 mL/min の流速で 3 分間捕集し、前述の分析方法で各種のカルボニル化合物を測定した。エチレングリコール、プロピレン

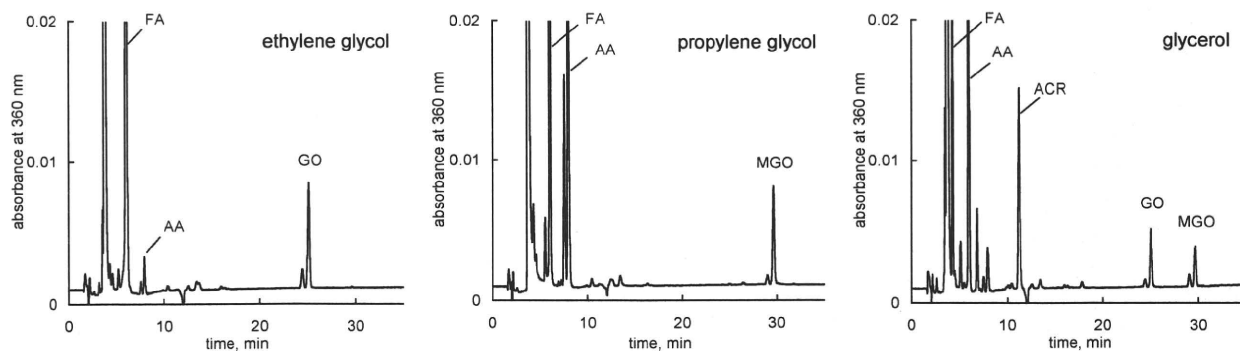
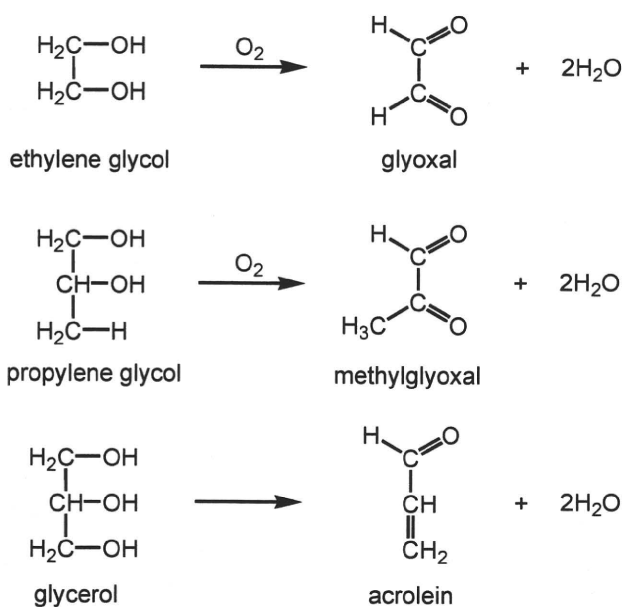


Fig. 4. Chromatographic profiles of carbonyl compounds generated by heating glycol (left panel), ethylene glycol (middle panel) and propylene glycol (right panel).

グリコール、グリセロールの加熱によって発生したカルボニル化合物のクロマトグラムを Fig. 4 に示す。様々なカルボニル化合物が検出された。ホルムアルデヒド (FA)、アセトアルデヒド (AA) は全てのグリセロール、グリコール類から発生したが、グリセロールからはアクロレイン (ACR) が、エチレングリコールからはグリオキサール (GO)、プロピレングリコールからはメチルグリオキサール (MGO) が多く発生する傾向が認められた。これらの物質は Scheme 1 の酸化反応により発生したことが推測される。



Scheme 1. Formations of aldehydes from glycerol and glycols.

前述したように、市販されている電子タバコには、数種類のグリセロール、グリコール類の混合物が使用されている。Fig. 5 にグリセロールとプロピレングリコールの混合液をニクロム線に塗布し、6 V の電圧を印加したときに発生したカルボニル化合物のクロマトグラムを示す。比較として、銘柄 G、B の電子タバコから発生したカルボニル化合物のクロマトグラムも合わせて表示した。グリセロール、プロピレングリコールの混合液から発生した成分と銘柄 G、E の電子タバコから発生した成分は非常に類似している。このことから、電子タバコから発生するカルボニル化合物はカートリッジに含まれるグリコール

類の化学変化により生成することが推測される。次

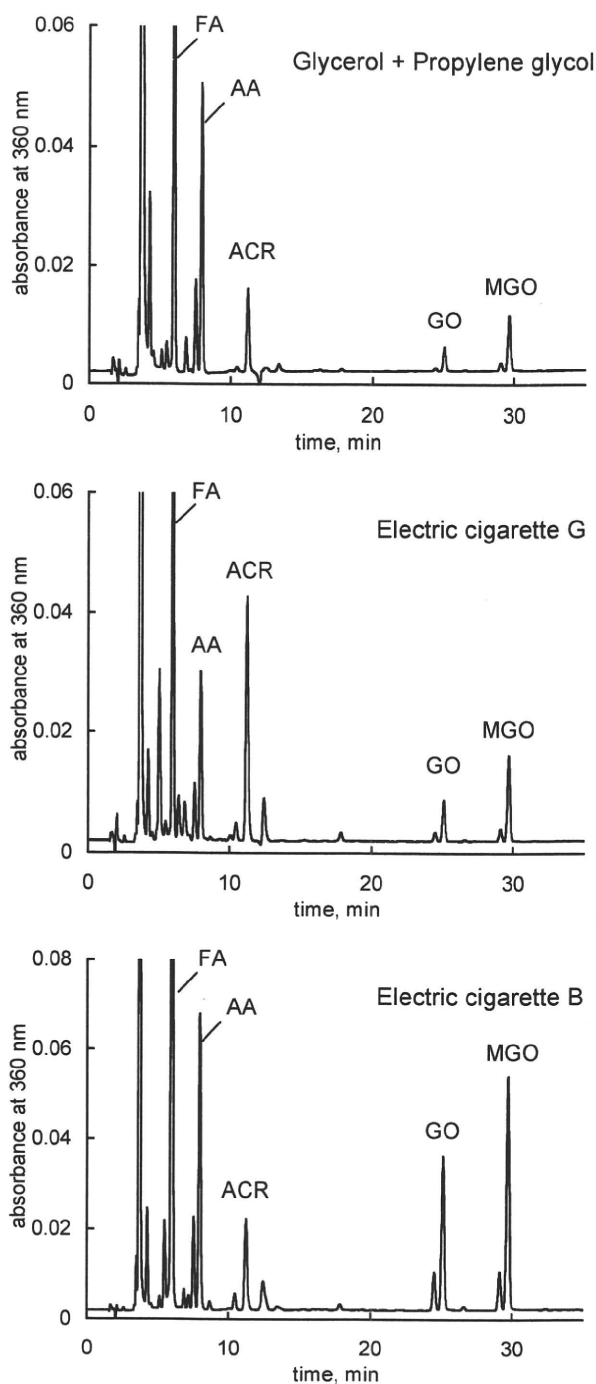


Fig. 5. Chromatographic profiles of carbonyl compounds generated by heating a mixture of glycerol and propylene glycol (upper panel), and from electronic cigarettes (lower panel).

に、印加電圧によるカルボニル化合物発生量の変化を知るために、エチレングリコール、プロピレングリコール、グリセロールをニクロム線に塗布し、それぞれに 1.5~7.5 V の電圧を印加し、発生した

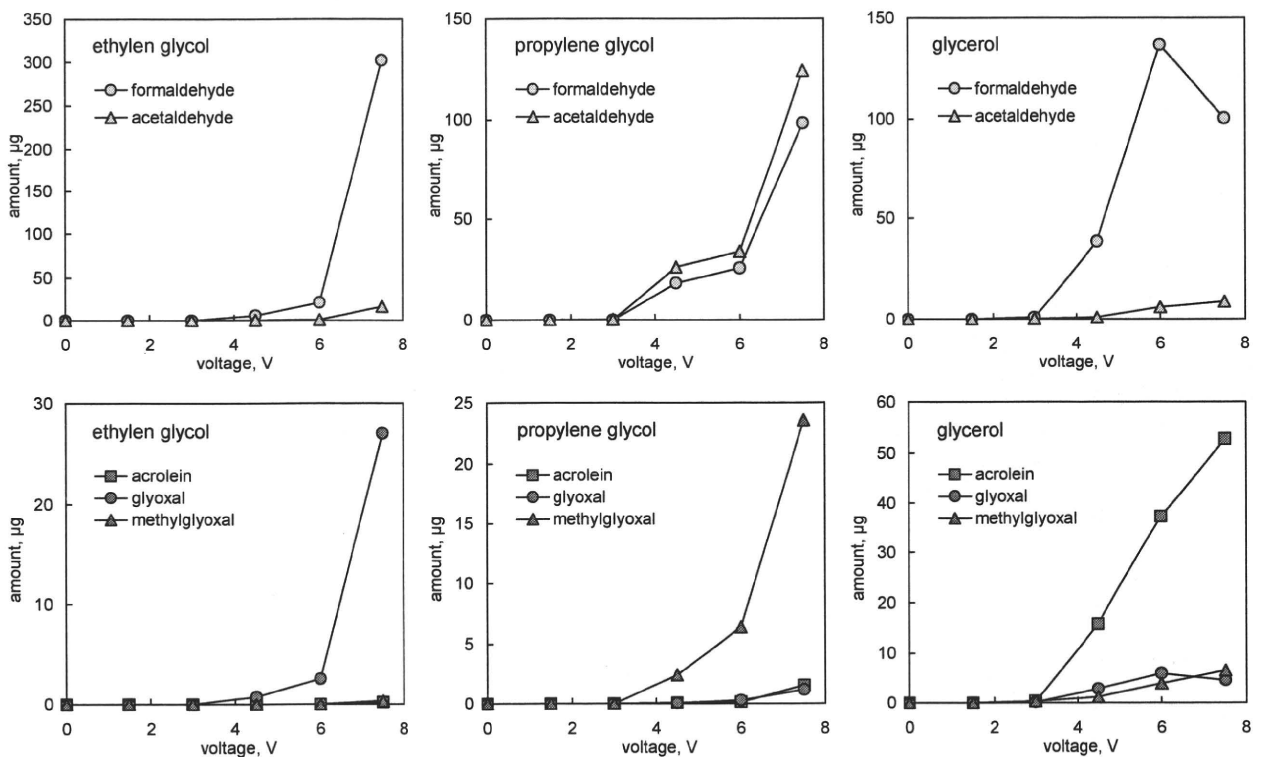


Fig. 6. Generation of carbonyl compounds from ethylene glycol, propylene glycol, glycerol heated using a Nichrome wire.

気体を前述した分析方法により測定した。エチレングリコール、プロピレングリコール、グリセロールから発生した、カルボニル化合物量の電圧による変化を Fig. 6 に示す。ホルムアルデヒドの発生量は、他の物質に比較して際立って多い。また、炭素数が2のエチレングリコールからはホルムアルデヒド、グリオキサールが多く発生し、炭素数が3以上のアクロレイン、メチルグリオキサールの発生はほとんど無かった。一方、炭素数3のプロピレングリコールからはホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの他に炭素数が3のメチルグリオキサールが多く発生した。同じ炭素数3のグリセロールからはホルムアルデヒド、グリオキサール、アクロレインが多く発生したが、メチルグリオキサールの発生は少なかった。このように同じ炭素数のグリコール類でも発生する物質は異なっているが、何れの物質も3Vを超える電圧を印加すると発生量が急増した。市販の電子タバコに使用されているバッテリーの電圧は4~5Vであるため、十分にカルボニル化合物を生成することが可能である。また、これらの発生成分と Table 1 の電子タバコからの発生成分は概ね一致している。

前述したように、電子タバコから発生するカルボニル化合物の量は、大きく変動する。この原因とし

て、電子タバコに使用されているバッテリーの電圧が、測定時の環境により多少変化することで発熱量が変わり、発生量が変動することが推測される。

4. まとめ

本研究で、電子タバコから有害なカルボニル化合物が、非意図的に高濃度で発生することが明らかになった。しかし、これら有害物質の発生量にはバラツキがあり、そのバラツキにはロットごとのバラツキ、捕集ごとのバラツキが認められた。ロットごとのバラツキについて、カルボニル化合物を多量に発生するものと発生しないものでは、変霧器に内蔵されるニクロム線の状態に差が見られた。そこで、ニクロム線に電子タバコカートリッジの液体成分（グリコール類、グリセリン）を塗布し、電圧を印加した結果、電子タバコから発生した物質と同種のカルボニル化合物が検出された。従って、電子タバコから発生するカルボニル化合物は、グリコール類、グリセリンの加熱が原因であることが推測される。グリコール類やグリセリンは人体に対して毒性の低い物質であるが、加熱されることで有害な物質を発生することが明らかになった。エチレングリコールからグリオキサール、プロピレングリコールからメチ