

日本公衆衛生学会総会抄録集 p. 504.

- 11) 内山茂久; 稲葉洋平; 樫田尚樹 ハイドロキノンと2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをを用いた大気中オゾンとアルデヒドの同時測定 日本分析化学会第60年会, 2011年9月, 名古屋大学, 日本分析化学会第60年会講演要旨集 P. 310.
- 12) 内山茂久; 坂元宏成; 稲葉洋平; 中込秀樹; 樫田尚樹 2-ピコリンボランを用いたグルタルアルデヒド2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの還元的アミノ化および高速液体クロマトグラフ分析 第20回環境化学討論会, 2011年7月, 熊本県立大学, 第20回環境化学討論会講演要旨集, P. 751-752.
- 13) 稲葉洋平; 内山茂久; 後藤純雄; 高木敬彦; 樫田尚樹 尿中酸化ストレスマーカーの測定-家庭飼育犬の尿中濃度 第20回環境化学討論会, 2011年7月, 熊本県立大学, 第20回環境化学討論会講演要旨集, P. 808-809.
- 14) 大久保 忠利; 杉山晃一; 稲葉洋平; 内山茂久; 樫田尚樹 国産たばこ主流煙中及び葉中のたばこ特異的ニトロソアミンの測定 第20回環境化学討論会, 2011年7月, 熊本県立大学, 第20回環境化学討論会講演要旨集, P. 810-811.
- 15) 杉田和俊; 鈴木ひとみ; 稲葉洋平; 内山茂久; 後藤純雄; 樫田尚樹 たばこ葉中の重金属類 第20回環境化学討論会, 2011年7月, 熊本県立大学, 第20回環境化学討論会講演要旨集, P. 862-863.

## 井埜利博

### 1.論文発表

- 1) Ino, T.; Ohtani, T.; Yoshimi, I. Urinary biomarkers for secondhand smoke. Journal of Clinical Laboratory Analysis 2011, 25, 354-358.
- 2) Ino, T.; Shibuya, T.; Saito, K.; Ohtani, T. Effects of maternal smoking during pregnancy on body

composition in offspring. Pediatrics International. 2011 (in press).

### 2.学会発表

なし

## 三觜 雄

### 1.論文発表

なし

### 2.学会発表

- 1) 水嶋好清, 立野英嗣, 三上篤, 三觜雄. 市有施設における分煙状況の実態調査 第63回北海道公衆衛生学会, 2011-11

## 竹田真由

### 1.論文発表

- 1) 竹田真由, 船渡忠男, 他. 「MASPER 法によるグルタチオン-S-転移酵素遺伝子(GSTA1)の遺伝子変異検出法」日本臨床検査自動化学会会誌(2011)36,62-67
- 2) 竹田真由, 船渡忠男, 他. 「臨床化学からみた喫煙障害 喫煙障害の分子機序」臨床化学 39,112-116

### 2.学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録

なし

## II. 分担研究報告

## 固体捕集法によるタバコ主流煙に含まれるカルボニル化合物の分析

研究分担者 内山茂久・稲葉洋平・櫻田尚樹 国立保健医療科学院

研究協力者 富澤卓弥 東京薬科大学

**研究要旨** 従来、タバコから発生するカルボニル化合物の分析法として、溶液捕集法が用いられてきた。しかしこの方法は、操作が煩雑であり、低濃度の物質を測定できない欠点がある。そこで、本研究では個体捕集法を応用し、高い精度で分析する方法（二連カートリッジ法）を開発した。二連カートリッジは、それぞれ試薬を含浸させたシリカゲルから構成される。一段目のカートリッジには、アクロレインの重合を防ぐために重合禁止剤ヒドロキノロン（HQ）を含浸させたシリカを充填し、二段目のカートリッジにはカルボニル化合物の誘導体化試薬 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）を含浸させたシリカゲルを充填した。測定時に、タバコ煙は最初に HQ を含浸させたシリカゲル（HQ-silica）を通過してから、二段目の DNPH を含浸させたシリカゲル（DNPH-silica）を通過する。このとき、タバコ煙中のアクロレイン等  $\alpha,\beta$ -不飽和アルデヒドは一段目の HQ-silica に完全に捕捉されるため過剰の DNPH が付加することは無い。アセトアルデヒドの一部は、HQ-silica を通過するが二段目の DNPH-silica に完全に捕捉され、ヒドラゾン誘導体を生成する。溶出は捕集時とは逆に DNPH-silica 側から行う。溶出液中には、HQ-silica に捕捉されたアクロレインを含むカルボニル化合物と未反応の DNPH が含まれるので、誘導体化反応が開始する。タバコ煙に含まれる全てのカルボニル化合物は、DNPH と反応して対応するヒドラゾン誘導体を生成する。そして、これらのヒドラゾン誘導体は高速液体クロマトグラフィーで分析することが可能である。本研究で開発した HQ-DNPH 法は、アクロレインなどの  $\alpha,\beta$ -不飽和アルデヒドばかりでなく、広範囲のカルボニル化合物を分析できる。また、より効率的な分析方法として、HQ-silica の代わりにカーボンモレキュラーシーブ（Carboxen 564）を用いてタバコ主流煙を捕集し、溶出してから誘導体化する方法も確立した。

### 研究目的

空気中のカルボニル化合物の分析方法として、最も広く使用されているのは 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）による誘導体化法である。これは、DNPH がアルデヒド類やケトン類と選択的に反応し、対応するカルボニル-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体を生成することを利用している。DNPH 誘導体化法は Allen<sup>1)</sup>と Brady<sup>2)</sup>により最初に報告された。この方法の特徴は、様々なアルデヒド類、ケトン類を同時に分析できることである。現在では、DNPH と酸を含浸させたシリカゲルをカートリッジに充填した「DNPH-カートリッジ」が主流になり、アクティブサンプリング<sup>3)</sup>、拡散サンプリング<sup>4,5)</sup>として広く使用され、環境省、厚生労働省をはじめ多くの公定法にも採用されている。このように空気中のカルボニル化合物の分析には、固体捕集方法が主

流であるが、タバコから発生するカルボニル化合物の分析法は、ISO 法<sup>6)</sup>、HCl 法<sup>7)</sup>をはじめとして、DNPH の酸性溶液を用いたインピンジャー法が使用されている。しかし、インピンジャー法は、操作が煩雑であるばかりでなく、低濃度の測定は困難である。我々は 2010 年に、アクロレイン等の  $\alpha,\beta$ -不飽和アルデヒドを分析できるヒドロキノロン(HQ)含浸シリカと DNPH 含浸シリカを用いた HQ-DNPH 法<sup>8)</sup>を開発した。しかし、タバコの主流煙には非常に高濃度のカルボニル化合物が存在しているため、誘導体化のために大量の DNPH-シリカが必要となるなど、問題が多い。そこで本研究では、HQ-DNPH 法の改良を行うと同時に、一旦高濃度のカルボニル化合物を、カーボンモレキュラーシーブを充填したカートリッジで捕集し、溶出を行った後、誘導体化する方法も検討した。

## A. ハイドロキノンおよび 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをを用いたタバコ主流煙の分析

### A.1. 研究方法

#### A.1.1. 装置と試薬

装置：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  $\mu\text{m}$  particle size, 150 mm  $\times$  4.6 mm i.d., Supelco 社製) を用いた。移動相にはアセトニトリル (40%) と水 (60%) の混合溶液 (A 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 (B 溶液) を用いた。グラジェント分析では、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。

自動喫煙装置は Borgwaldt Technik GmbH 製 (model LM1/PLUS) を使用し、一回の吸煙を 35 mL、吸煙間隔を 1 分間に設定した。

試薬：HPLC 及び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、ハイドロキノン、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  $\text{\AA}$  を使用した。

#### A.1.2. DNPH-カートリッジおよび HQ-カートリッジの作製

DNPH-カートリッジ：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 1 g とリン酸 1 mL をアセトニトリル 500 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 560 mg を 1 mL のレゾリアンチューブに充填して LDNPH-カートリッジとした。また、2500mg を 5 mL のレゾリアンチューブに充填して HDNPH-カートリッジとした。

HQ-カートリッジ：ハイドロキノン を 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-カートリッジとした。

#### A.2.3. 主流煙の捕集

LDNPH-カートリッジの前段に HQ-cartridge を接続し HQ-LDNPH-カートリッジ (Fig. 1) を作製する。

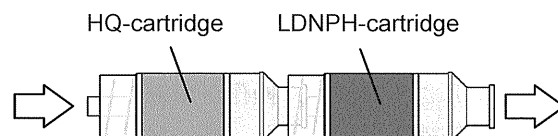


Fig. 1. Schematic drawing of the HQ-LDNPH-cartridge.

タバコ主流煙の測定の際には、自動喫煙装置のフィルターとシリンダーの間のチューブを切断し、その間に HQ-LDNPH-カートリッジを HQ-カートリッジ側から吸引するように接続して捕集を行った。捕集は、ISO 法<sup>1</sup> または HCI (Health Canada Intensive) 法<sup>2</sup> に準拠し Table 1 の条件で行った。

Table 1. Summary of the smoking parameters.

Variable	ISO	HCI
Puff Volume (mL)	35	55
Interval (s)	50	28
Duration (s)	2	2
Vent	open	close

捕集後、直ちに抽出、分析を行わない場合は再び HQ-LDNPH-カートリッジを L-DNPH-カートリッジと HQ-カートリッジに分割し、冷暗所に保管した。

## A.2. 結果及び考察

### A.2.1. 溶出と HPLC 分析

HQ-DNPH-カートリッジの溶出の概要を Fig. 2 に示す。ISO 法で捕集した HQ-LDNPH-カートリッジは、LDNPH-カートリッジ側から、リン酸を 1% 含むアセトニトリル溶液 8 mL 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 2 mL 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

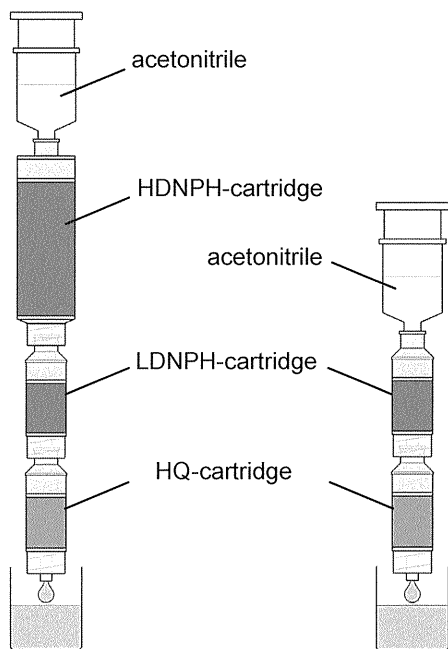


Fig. 2. Outline of the elution of HQ-DNPH-cartridge.

の DNPH 誘導体を分析した。一方、HCl 法で捕集した HQ-LDNPH-カートリッジは LDNPH-カートリッジ側に、HDNPH-カートリッジを接続してから、リン酸を 1% 含むアセトニトリル溶液 20 mL 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 5 mL 添加した。この溶液を HPLC に導入して、各種のカルボニル化合物 DNPH 誘導体を分析した。一方、ISO 法で捕集した HQ-LDNPH-カートリッジは LDNPH-カートリッジ側から、リン酸を 1% 含むアセトニトリル溶液 8 mL で溶出し、10 分間放置した後、エタノールを 2 mL 添加した。この溶液を HPLC

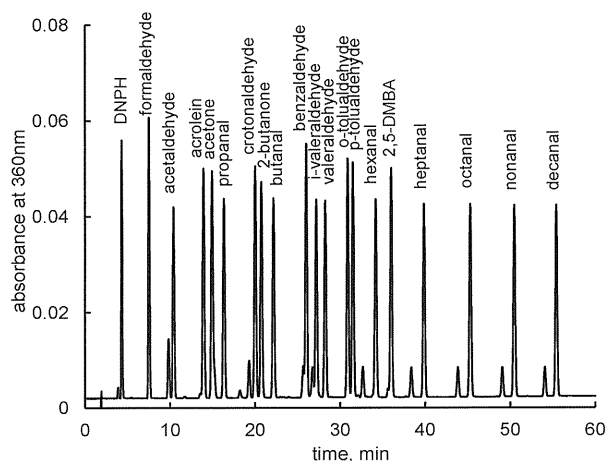


Fig. 3. HPLC Chromatographic profile of carbonyl DNPH derivatives in the standard solution. (40  $\mu\text{mol/L}$ )

に導入し、各種のカルボニル化合物 DNPH 誘導体を分析した。カルボニル化合物 DNPH 誘導体の標準溶液 (40  $\mu\text{mol/L}$ ) の HPLC クロマトグラムを Fig. 3 に示す。C<sub>1</sub> から C<sub>10</sub> までの 22 種類のカルボニル化合物を 60 分以内に分離することが可能である。実試料として、セブンスターを HQ-LDNPH-カートリッジを用いて、HCl 法で分析した時のクロマトグラムを Fig. 4 に示す。アセトアルデヒド誘導体の大きなピークの外に、アセトン、2-ブタノンなどのケトン類、アクロレイン、クロトンアルデヒドなどの 2-アルケナールのピークが検出された。

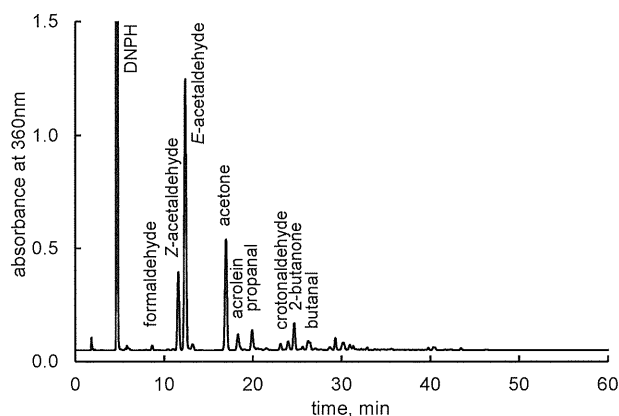


Fig. 4. HPLC chromatographic profile of carbonyl DNPH derivatives in the eluate of the HQ-LDNPH coupled cartridge.

次に、国産タバコ 10 銘柄 (マイルドセブン、マイルドセブンライト、マイルドセブンスーパーライト、マイルドセブンエクストラライト、マイルドセブンワン、セブンスター、キャビンマイルド、ホープ、ピアニッシモワン、キャストマイルド) について、HQ-LDNPH-カートリッジを用いて、ISO 法、HCl 法でタバコ主流煙の分析を行った。なお、参考として、タバコに類似した“ネオシーダー”についても分析を行った。ネオシーダーとは、アンターク本舗が 1959 年から販売しているタバコ風味の咳止め薬で、OTC 医薬品である。タバコのような形状をしており、使用方法もタバコの喫煙方法と全く同じである。各銘柄のタバコ、及びネオシーダーの主流煙に含まれるカルボニル化合物量を Table 2 に示す。Table 2a は HCl 法、Table 2b は ISO 法による捕集であり、分析値は 6 回の測定の平均値である。HCl 法による測定値は ISO 法より 2~24 倍高い値を示した。ネオシーダーを除いた銘柄間のバラツキ (変動係数) は、HCl 法が 7.1%、ISO 法が 49%であった。



Table 2b. Amounts of carbonyls in the mainstream smoke of various brands of cigarettes, determined by the ISO method. n = 6, µg/cigarette

ISO	Mild Seven Original	Mild Seven Lights	Mild Seven Super Lights	Mild Seven Extra Lights	Mild Seven one	Seven Stars	Cabin Mild	Hope	Pianissimo	Caster Mild	ネオシーダー
formaldehyde	2.7	2.5	2.5	1.2	0.7	3.1	2.3	3.8	2.4	2.7	0.8
acetaldehyde	450	390	290	210	79	240	530	620	230	290	89
acetone	220	190	150	110	42	120	250	300	120	150	34
acrolein	34	30	22	17	5.9	18	37	43	17	22	5.3
propanal	39	43	26	19	7.5	0.2	45	54	23	25	8.8
crotonaldehyde	14	9.7	7.2	5.1	1.7	8.0	14	24	6.1	6.9	2.0
2-butanone	59	49	40	29	10	33	67	84	36	39	9.4
butanal	29	25	22	17	6.9	14	33	40	18	18	7.5
benzaldehyde	23	18	17	12	0.3	4.5	27	33	15	15	
i-valeraldehyde	12	9.9	8.0	5.9	2.2	16	14	18	8.4	7.5	2.7
valeraldehyde	10	8.0	6.8	5.1	0.1	17	12	1.9	0.5	5.9	0.2
glyoxal	0.4	0.3	0.5	0.5	0.1	0.7	0.5	0.7	0.2	0.2	0.2
o-tolualdehyde	1.1	0.7	0.5	0.3	0.2	1.0	1.0	2.0	0.4	0.4	0.1
p-tolualdehyde	1.7	1.4	0.9	1.3	0.1	1.4	2.6	3.1	1.2	1.0	0.1
methylglyoxal	0.6	0.5	1.1	0.2	0.1	0.4	0.6	1.8	0.4	0.2	0.1
hexanal	0.6	0.4	0.4	0.2	0.0	2.0	0.2	1.0	0.0	0.2	0.1
2,5-DMBA	0.4	0.4	0.3	0.3	0.2	0.7	0.4	0.8	0.3	0.4	0.1
heptanal	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.7	1.9	0.3	0.5	3.2
octanal	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	2.3	0.3	0.7	0.0	0.1	0.0
2-nonenal	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
nonnal	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.2	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	0.0	0.0

## B. ハイドロキノンおよびカーボンモレキュラーシーブ (Carboxen 564) を用いたタバコ主流煙の分析

### B.1. 実験

#### B.1.1. CX-カートリッジの作製

Carboxen 564 (20/40 mesh, スペルコ社製) をヘリウム気流中において、400°Cで、24 時間加熱し、コンディショニングを行う。コンディショニングを行った Carboxen 564 を 500 mg 秤量し、レゾリアンチューブ (1 mL, スペルコ社製) に充填して CX-S カートリッジとした。同様に 1500 mg 秤量したものを CX-L とした。

#### B.1.2. 高濃度 DNPH 溶液の作製

アセトニトリル (ACN) 25 mL, リン酸 25 mL, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸塩 1 g を混合し、高濃度 DNPH 溶液とした。

#### B.1.2. タバコ主流煙の捕集と分析

自動喫煙装置に CX カートリッジ及びバックアップ用の DNPH カートリッジを接続し、主流煙の捕集を行った (Fig. 5)。捕集法は HCl 法に準拠し、2 秒間で 55 mL 吸引した後、28 秒間休止する工程を 10 回行った。なお、CX-S カートリッジでは、タバコを一本捕集し、CX-L カートリッジでは、連続して 3 本捕集した。捕集を終えたカートリッジは、溶出液を満たした注射筒を接続して、溶出を行った。CX-S カートリッジの場合は、10 mL, CX-L カートリッジの場合は 30 mL に定溶した。それぞれの溶出液から 0.5 mL を分取し、5 mL メスフラスコに移す。そこに高濃度 DNPH 溶液を 0.1 mL 添加した後、アセトニトリルで定容した。この溶出液を高速液体クロマトグラフ (HPLC) で分析しカルボニル化合物を定量した。

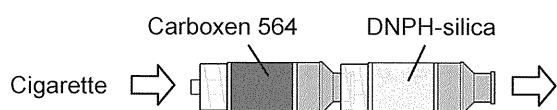


Fig. 5. Schematic drawing of CX-S - DNPH-cartridge.

## B.2. 結果と考察

### B.2.1. CX カートリッジからの溶出

捕集を終えた CX-S カートリッジを、ジメチルスルオキシド (DMSO) とアセトニトリル (ACN) の

混合溶液を用いて 1 mL/min の流速で溶出しながら、1 mL ずつ分取した。これらの溶出液に高濃度 DNPH 溶液を添加して誘導体化を行った後、HPLC で分析した。DMSO と ACN の様々な混合比におけるカルボニル化合物の溶出量変化を Fig. 6 に示す。

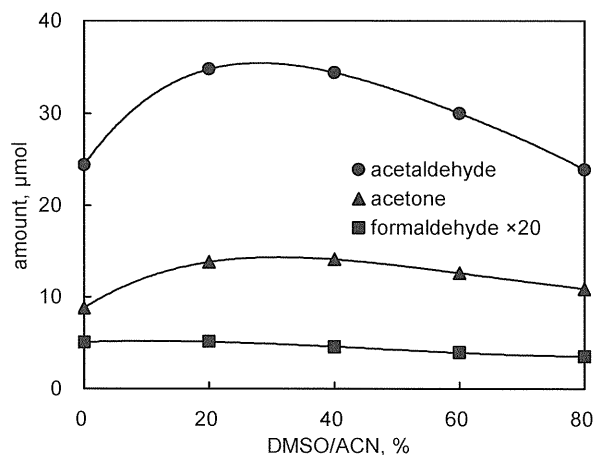


Fig. 6. Changes in amount of acetaldehyde, acetone and formaldehyde in eluant with the various composition rates of eluent.

DMSO/ACN 比率が 20~40% の時、最大の溶出効率を示した。DMSO/ACN 比率が 20% の時の溶出分布を Fig. 7 に示す。溶出液量が 6 mL で全てのカルボニル化合物が溶出したことから、余裕を持って、溶出液量を、10 mL に決定した。

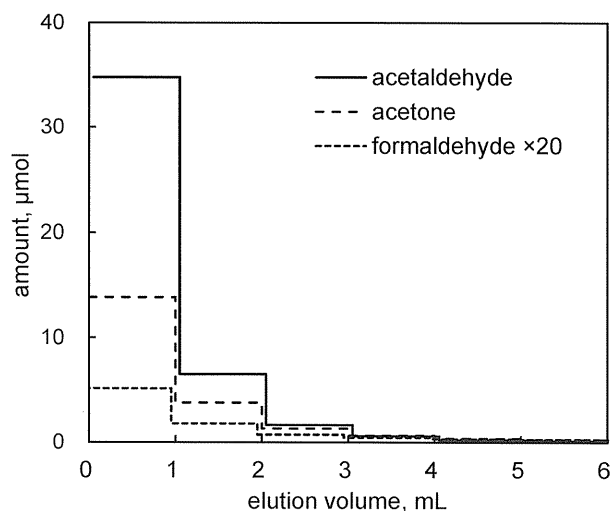


Fig. 7. Elution of acetaldehyde, formaldehyde. and acetone from CX-S cartridge.

### B.2.2. タバコ主流煙の分析

CX カートリッジにタバコ主流煙を捕集した後、前記の方法で分析した。典型的な HPLC クロマトグラムを Fig. 8 に示す。また、検出されたカルボニル化



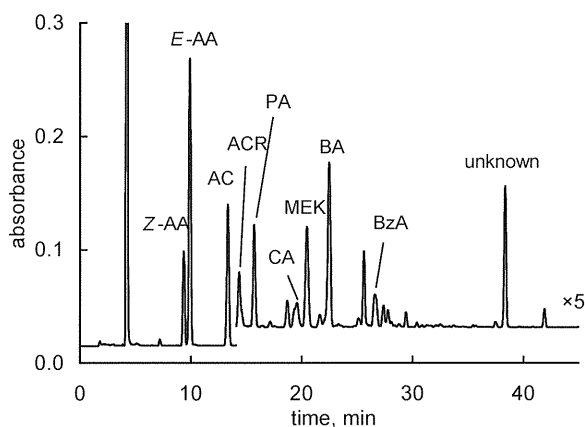


Fig. 8. Chromatographic profile of the eluate from CX-S-cartridge. FA: formaldehyde, AA: acetaldehyde, AC: acetone, ACR: acrolein, PA: propionaldehyde, CA: crotonaldehyde, MEK: methyl ethyl ketone, BA: butyraldehyde, BzA: benzaldehyde

化合物の発生量を Table 3 示す。未反応の DNPH ピークの他に、アセトアルデヒド、アセトン、アクロレイン等多くのカルボニル化合物が検出された。中でも、アセトアルデヒドの発生量が多く全体の 45%を占めた。次いでアセトンが 26%となった。後段に接続した DNPH カートリッジにはカルボニル化合物が検出されなかったことから、前段の CX カートリッジに全てのカルボニル化合物が捕集されたことが考えられる。また、HQ を前段に取り付けた HQ-DNPH カートリッジでも同様の結果が得られた。

Table 3. Amount of carbonyls in mainstream smoke vapors generated from cigarettes. ( $\mu\text{g}/\text{cigarette}$ )

compound	No.1	No.2	No.3	mean
formaldehyde	9.6	15	11	12
acetaldehyde	1100	1100	1100	1100
acetone	630	640	700	660
acrolein	49	62	69	60
propanal	110	110	97	100
crotonaldehyde	52	55	53	53
2-butanone	160	160	180	160
butyraldehyde	220	240	190	220
benzaldehyde	84	87	74	82
i-valeraldehyde	36	35	34	35
valeraldehyde	1.8	1.0	3.2	2.0
o-tolualdehyde	2.8	2.7	3.5	3.0
p-tolualdehyde	2.6	3.0	3.5	3.1

## 結 論

WHO タバコ規制枠組み条約に基づく研究活動の一環として、タバコから発生するカルボニル化合物の分析法の開発を行った。現在、広く利用されている ISO や Health Canada Intensity (HCI) 等の公定法は、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) 溶液を用いたインピンジャー法であり、操作が煩雑であるばかりでなく、低濃度の測定は困難であった。本研究では、従来のインピンジャー法に代わる方法として、HQ-DNPH カートリッジ法および CX カートリッジ法を開発を行った。これらの方法は、簡便に高い精度で、タバコ主流煙に含まれるカルボニル化合物を分析できることが明らかになった。また、従来は分析が困難であったアクロレインの分析が可能になった。さらに、それぞれのカートリッジが小型なので、サンプリングしたカートリッジを分析機関に送付するなど、幅広い応用が期待される。

## 文 献

- Allen, C. F. H. The identification of carbonyl compounds by use of 2,4-dinitrophenylhydrazine. *Journal of the American Chemical Society* 1930, 52 (7), 2955-2959.
- Brady, O. L., The use of 2,4-dinitrophenylhydrazine as a reagent for carbonyl compounds. *Journal of the Chemical Society* 1931, 756-759.
- Determination of Formaldehyde in Ambient Air Using Adsorbent Cartridge Followed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Compendium method TO-11A. U.S. Environmental Protection Agency: Research Triangle Park, NC, 1999.
- Uchiyama, S.; Aoyagi, S.; Ando, M., Evaluation of a diffusive sampler for measurement of carbonyl compounds in air. *Atmospheric Environment* 2004, 38 (37), 6319-6326.
- Uchiyama, S.; Hasegawa, S., A reactive and sensitive diffusion sampler for the determination of aldehydes and ketones in ambient air. *Atmospheric Environment* 1999, 33 (13), 1999-2005.
- ISO 3308 Routine analytical cigarette - smoking machine - Definitions and standard conditions. International Organization for Standardization: 2000.
- Method T-115, Determination of "Tar", Nicotine and Carbon Monoxide in Mainstream Tobacco Smoke. Health Canada: Ottawa, Canada, 1999.
- 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. *Journal of Chromatography A* 2010, 1217(26), 4383-4388.

## 研究発表

統括報告書に一括記載した

メンソールたばこの化学物質曝露評価

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

要旨

現在、低タール・低ニコチン量のたばこの販売量は全体の1/4にまでなった。またこれらたばこ銘柄にはメンソール入りのものも少なくなく、メンソールたばこの販売量も全体の20%を占めている。メンソールたばこは爽快感等により喫煙の導入においても、通常のたばこよりも刺激を軽減する効果があると考えられる。このため、メンソールたばこを好んで愛煙する喫煙者も多い。そこで、本研究ではメンソールたばこのヒトへの健康影響を評価するため、国内販売11銘柄の主流煙と葉中含有物質の化学分析及び変異原性測定を行った。その結果、主流煙中タール量は0.78–7.95 mg/cig (ISO) 及び13.5–26.1 mg/cig (HCl) であり、ニコチン量は0.10–0.74 mg/cig (ISO) 及び0.98–2.07 mg/cig (HCl) となり、一酸化炭素 (CO) 量は0.25–6.34 mg/cig (ISO) 及び17.0–27.4 mg/cig (HCl) となった。また主流煙の変異原活性はTA98及びYG1024株のS9mix添加条件下で陽性を示し、ISO及びHCl両法の主流煙中タール量及びニコチン量とYG1024株 (S9mix添加) の変異原活性との相関は、タール量とは $r=0.9530$  (TA98) と $r=0.9357$  (YG1024) , ニコチン量とは $r=0.9380$  (TA98) と $r=0.9077$  (YG1024) と非常に良好な値を示した。さらにたばこ葉中ニコチン量は銘柄による大きな差はなく、たばこ葉抽出物の変異原活性も殆ど認められなかった。

A 目的

2009年アメリカで制定された「喫煙防止及びたばこ規制法」は、公衆衛生を保護することを目的として米国食品医薬品局 (U.S. Food and Drug Administration: FDA) にたばこ製品を規制する権限を与えた [1]。この「喫煙防止及びたばこ規制法」は既に味付きのたばこを規制しているものの、メンソールについて行っておらず、そのためメンソールたばこは、現在ではアメリカのたばこ販売市場の約30%を占めるようになった。そこで、FDAは「たばこ製品の科学的な諮問委員会 (Tobacco Products Scientific Advisory Committee: TPSAC)」を組織し「使用開始直後の喫煙者、ア

フリカ系アメリカ人、スペイン系アメリカ人及び他の人種や少数民族の間でメンソールの使用を含む公衆衛生上の影響」に関する報告書の作成を委ねた。そして2011年3月23日にTPSACは「メンソールたばこの排除はアメリカの公衆衛生に有益である」と勧告した [2]。その理由として、メンソールたばこを吸う喫煙者の割合が成人よりも未成年で高いことと、喫煙習慣がある喫煙者よりも吸い始めて一年未満の人々のメンソールたばこを好む可能性が考えられた [3]。さらにコホート群研究 [4] においても、メンソールたばこで喫煙を開始すると非メンソールたばこで開始するよりも定着した喫煙に結びつくことも示し

た。これはメンソールには爽快感と麻酔作用があるため、喫煙を始めたばかりの人にとっては、たばこ煙の刺激が少なく吸いやすいためだと考えられている。この勧告を受けてFDAは、メンソールたばこがアメリカの公衆衛生に悪影響を及ぼし、非メンソールたばこと比較して、公衆衛生に利点がないと結論を下した [5]。一方、日本では、メンソールたばこは危険視されることなく、2010年国産たばこ販売上位100銘柄中のメンソールたばこ販売量が20%を占めるようになった。さらに現在、喫煙によるリスクの低減を意図し低タール、低ニコチンたばこを使用する喫煙者が増加している。販売されているたばこのタール、ニコチン表示量は国際標準化機構が定める試験法 (ISO法) で測定された数値であるが、喫煙者はISO法で定められた喫煙方法とは異なって「代償性補償喫煙行動」をするために、低タール、低ニコチンたばこを使用していても曝露量はパッケージ表示値よりも多く、リスクが増していると考えられている [6]。

また海外におけるメンソールたばこ主流煙中有害化学物質の研究報告 [4, 7, 8] は増えているものの、我が国のメンソールたばこに関する研究報告はわずかである。そこで本研究では、これまでに本研究班が確立した各種化学物質の測定法とカナダ保健省が提案する喫煙法 (HCl法) とISO法による2種類の喫煙法を用いて、日本で市販されているメンソールたばこ11銘柄の主流煙中ニコチン、タール、一酸化炭素及び変異原性を測定し、さらにメンソール以外の国産たばこの比較・検討を行った。加えて、メンソールたばこのたばこ葉中のニコチン及び変異原性の測定も行ったので合わせて報告する。

## B 方法

### (1) たばこ試料

たばこ試料は、現在販売されているメンソール

たばこ11銘柄を測定対象とした (表1)。

### (2) たばこ主流煙の捕集及び化学分析と変異原性試験

たばこ主流煙の捕集方法 [9, 10] 及び各化学物質の分析方法と変異原性試験方法は、昨年度の報告書記載内容に準じ [11], タール [9, 12], ニコチン [13], 一酸化炭素 (CO) [14] と微生物を用いた遺伝毒性試験 (変異原性試験) [15] を行った。

### (3) たばこ葉の前処理及び化学分析

たばこ葉の前処理方法及び各化学物質の分析は、昨年度の報告書記載内容に準じ、ニコチン [16] と遺伝毒性試験 (変異原性試験) [15] について行った。

## C 結果

### たばこ主流煙中化学成分測定及び変異原性試験結果

表2にメンソールたばこ11銘柄の主流煙中タール、ニコチン及びCOの測定結果を示す。主流煙中タール量はたばこ1本当たり0.78–7.95 mg (ISO) 及び13.5–26.1 mg (HCl) であり、ニコチン量はたばこ1本当たり0.10–0.74 mg (ISO) 及び0.98–2.07 mg (HCl) となった。実測のタール量及びニコチン量共にISO法で外箱表示の各成分量と同等の値を示したのに対し、HCl法ではISO法での測定値と比してタール量が3.3–19.6倍、ニコチン量が2.6–11.0倍と高い値を示した。一酸化炭素量は0.25–6.34 mg/cig (ISO) 及び17.0–27.4 mg/cig (HCl) となり、上記同様のHClとISOの比率は3.0–77.8倍と大きな差が認められた。主流煙抽出物の変異原性試験結果を表3に示す。全ての試料 (ISO及びHCl両法合わせて22試料) がフレームシフト型の変異原性を検出する菌株 (TA98及びYG1024株) のS9mix添加条件下で陽性を示した。また、塩基

対置換型の変異原性に対応したTA100株のS9mix添加・無添加両条件下及びTA98とYG1024株のS9mix無添加条件下では陽性を示す試料は少なく、殆どの試料が陰性もしくは偽であった。タール及びニコチンと同様にHClとISOの変異原性を比較すると、TA98 (S9mix添加) で2.5–16.6倍、YG1024 (S9mix添加) では2.2–14.8倍の差が認められた。

### たばこ葉中化学物質測定と変異原性試験結果

メンソールたばこの葉中ニコチン量は14.7–19.8 mg/gであり、銘柄による大きな差は認められなかった。変異原試験結果 (表5) は一部条件下で偽陽性を示す試料があったものの、殆どの条件及び試料が陰性であった。

### **D 考察**

今回測定したメンソールたばこには低タール・低ニコチン量の製品が多く含まれる。特に低タール・低ニコチン量 (タール1 mg/ニコチン0.1 mg, 3銘柄) の製品ではISO法とHCl法の測定結果に大きな差が生じ、タール量では10.2–19.6倍 (残り8銘柄のHCl/ISO比率の平均値は4.6倍)、ニコチン量では6.3–11.0倍 (同4.0倍) そしてCO量では16.5–77.8倍 (同5.6倍) となった。この比率の要因の一つはたばこフィルター部の通気孔であると考えられる。ISOの規定した捕集法 (ISO法) は吸煙量35 mL、吸煙間隔60秒であるのに対し、カナダ保健省が提唱する捕集法 (HCl法) は吸煙量55 mLとより多く、吸煙間隔30秒とより短く、さらに上記通気孔を閉鎖する。このためHCl法はISO法と違い、吸煙した主流煙の殆どを捕集することが可能となり、また一般に通気孔の数は低タール・低ニコチン量の製品に多いことから、捕集タール量、ニコチン量及びCO量が増加しHCl/ISO比率も増大したものと考えられる。このことは変異原性試験結果にも現れており、上記低タール・低ニコチン量の3銘柄の変異原性におけるHCl/ISO比率

はTA98 (S9mix添加) で6.3–16.6倍 (残り8銘柄のHCl/ISO比率の平均値は3.4倍) となり、YG1024 (S9mix添加) が11.9–14.8倍 (同4.6倍) であった。また、たばこフィルター部の通気孔の影響はニコチン量にも及んでいる。たばこ葉中ニコチン量を主流煙中ニコチン量と比較した場合、ISO及びHCl法のどちらに対しても高い値を示しているものの、たばこ葉当りの含有量が近いことから、使用するたばこ葉は数種類を混合し、通気孔の数、形状及び配列等で外箱表示のニコチン量を最終的に調整しているものと考えられた。たばこ葉の変異原性試験結果は、横軸をタール量 (mg/cig) とニコチン量 (mg/cig) のISOとHCl法における実測値とし、縦軸をTA98株及びYG1024株のS9mix添加条件下での変異原活性 (revertants/cig) として描点した場合 (図)、タール量–変異原活性の相関は $r=0.9530$  (TA98) と $r=0.9357$  (YG1024) であり、ニコチン量–変異原活性の相関は $r=0.9380$  (TA98) と $r=0.9077$  (YG1024) と良好であった。このことから捕集方法に関らず、たばこ主流煙の変異原活性はタールまたはニコチン量に依存することが分かった。また、本研究班の国産たばこ銘柄の測定結果と同様にその殆どが陰性もしくは偽陽性であったことから、たばこ主流煙の変異原性物質は燃焼によりその多くが生成するものと推測された。

### **E 結論**

近年、健康を意識しての低タール・低ニコチン量のたばこやメンソール入りたばこの販売量が増加している。しかしながら、上記測定結果からこれらメンソールたばこが喫煙法によってはよりタール量/ニコチン量が多い銘柄と同等の有害化学物質を含有することが認められたことから、今後はさらに詳細なデータ測定を行い、その健康影響を評価する必要がある。特に、メンソールたばこは非メンソールたばこと異なりフィル

ター部に活性炭を含まないことから、VOCやカルボニル類等のガス状成分を主流煙中により多く排出する可能性が考えられる。

#### [引用文献]

- [ 1 ] H.R. 1256. (111th): Family Smoking Prevention and Tobacco Control Act, Public Law 111-131, 123 Stat. 1776, 2009.
- [ 2 ] Tobacco Products Scientific Advisory Committee (TPSAC). Menthol cigarettes and public health: review of the scientific evidence and recommendations. Rockville MD, Food and Drug Administration, 2011.
- [ 3 ] Hersey JC, Nonnemaker JM, Homs G. Menthol cigarettes contribute to the appeal and addiction potential of smoking for youth. *Nicotine Tob Res*, 12, S136-S146, 2010.
- [ 4 ] Daniel HJ. A review and assessment of menthol employed as a cigarette flavoring ingredient. *Food Chem Toxicol*, 48, S1-S38, 2010.
- [ 5 ] Benowitz NL, Jonathan MS. The threat of menthol cigarettes to U.S. public health. *N Engl J Med*, 364, 2179-2181, 2011.
- [ 6 ] 鈴木元, アジア太平洋たばこ研究－日本人喫煙者の喫煙行動パターン及びバイオマーカーを用いた曝露評価－, 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新しい国際標準化試験法に関する研究. 平成20年度総括・分担研究報告書 12-18, 2009.
- [ 7 ] Gordon SM, Brinkman MC, Meng RQ, Anderson GM, Chuang JC, Kroeger RR, Reyes IL, Clark PI. Effect of cigarette menthol content on mainstream smoke emissions. *Chem Res Toxicol*, 24, 10, 1744-1753, 2011.
- [ 8 ] Celebucki CC, Wayne GF, Connolly GN, Pankow JF, Chang EI. Characterization of measured menthol in 48 U.S. cigarette sub-brands, *Nicotine Tob Res*, 7, 4, 523-531, 2005.
- [ 9 ] ISO 4387. Cigarettes – Determination of total and nicotine-free dry particulate matter using an routine analytical smoking machine. 3rd ed., International Organization for Standardization, 2000.
- [10] T-115. Determination of tar, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke, Health Canada, 1999.
- [11] 研究代表者 稲葉洋平. 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 (H21-3次がん一般-005) 平成22年度 総括・分担研究報告書, 2011.
- [12] ISO 10362-1. Cigarettes – Determination of water in smoke condensates – Part 1: Gas-chromatographic method. 2nd ed., International Organization for Standardization, 1999.
- [13] ISO 10315. Cigarettes – Determination of nicotine in smoke condensates - Gas-chromatographic method. 2nd ed., International Organization for Standardization, 2000.
- [14] ISO 8454. Cigarettes – Determination of carbon monoxide in the vapour phase of cigarette smoke – NDIR method. 2nd ed., International Organization for Standardization, 1995.
- [15] Maron DM, Ames BN. Revised method for the salmonella mutagenicity test, *Mutat Res*, 113, 173-215, 1983.
- [16] 稲葉洋平, 内山茂久, 櫻田尚樹. WHO TobLabNetラウンドロビン研究－たばこ葉中ニコチンの測定－, 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（H21-3次がん一般-005）平成22年度 総括・分担研究報告書，29-35，2011.

#### **F 研究発表**

統括報告書に一括記載した。

#### **G 知的財産権の出願・登録状況**

なし

表1 メンソールたばこ11銘柄の諸元

Cigarette brands	abbreviation	Tar (mg)	Nicotine (mg)
BEVEL Flair MENTHOL	BVL1	1	0.1
PIANISSIMO Pétit MENTHOL One	PIA1	1	0.1
VIRSINA SLIMS One MENTHOL	VS1	1	0.1
PIANISSIMO Ultra Lights	PIA3	3	0.3
VIRSINA SLIMS Ultra Lights MENTHOL	VS3	3	0.3
Marlboro Ultra Lights MENTHOL BOX	MB4	4	0.3
PIANISSIMO icene MENTHOL	PIA5	5	0.4
BEVEL Lights	BVL6	6	0.5
VIRSINA SLIMS Lights MENTHOL	VS6	6	0.5
Marlboro Lights MENTHOL BOX	MB8	8	0.7
KOOL Boost 8 BOX	KOOL	8	0.7

表2 メンソールたばこ11銘柄主流煙中各成分量

Regime	Cigarette brands	Tar (mg/cig)		Nicotine (mg/cig)		CO (mg/cig)	
		AVG	SD	AVG	SD	AVG	SD
ISO	BVL1	1.33 ± 0.05		0.16 ± 0.00		1.66 ± 0.30	
	PIA1	1.12 ± 0.16		0.16 ± 0.01		1.08 ± 0.18	
	VS1	0.78 ± 0.03		0.10 ± 0.00		0.25 ± 0.11	
	PIA3	2.42 ± 0.24		0.25 ± 0.01		3.20 ± 0.25	
	VS3	3.74 ± 0.22		0.29 ± 0.02		2.96 ± 0.34	
	MB4	3.20 ± 0.33		0.33 ± 0.02		2.72 ± 0.18	
	PIA5	4.29 ± 0.19		0.37 ± 0.02		2.90 ± 0.17	
	BVL6	5.94 ± 0.37		0.50 ± 0.03		4.31 ± 0.47	
	VS6	5.05 ± 0.37		0.44 ± 0.01		3.89 ± 0.23	
	MB8	7.35 ± 0.44		0.63 ± 0.05		6.34 ± 0.29	
KOOL	7.95 ± 0.31		0.74 ± 0.03		4.76 ± 0.35		
HCI	BVL1	13.5 ± 0.50		1.10 ± 0.04		27.4 ± 2.41	
	PIA1	14.0 ± 0.91		0.98 ± 0.09		26.4 ± 3.71	
	VS1	15.3 ± 1.04		1.10 ± 0.05		19.1 ± 1.13	
	PIA3	15.8 ± 0.68		1.14 ± 0.09		25.3 ± 2.61	
	VS3	21.3 ± 0.86		1.61 ± 0.07		25.2 ± 2.19	
	MB4	18.1 ± 0.99		1.44 ± 0.14		17.0 ± 1.05	
	PIA5	18.1 ± 0.50		1.44 ± 0.07		17.9 ± 0.35	
	BVL6	20.6 ± 0.78		1.88 ± 0.10		18.3 ± 0.70	
	VS6	24.3 ± 0.29		1.87 ± 0.05		18.9 ± 0.99	
	MB8	24.3 ± 1.12		1.62 ± 0.18		18.8 ± 0.67	
KOOL	26.1 ± 1.37		2.07 ± 0.13		17.4 ± 0.73		

表3 メンソールたばこ11銘柄の主流煙抽出物の変異原性

Regime	Cigarette brands	Mutagenicity (revertants/cig)					
		TA100		TA98		YG1024	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
ISO	BVL1	-	( 267)	( 97)	930	-	5,700
	PIA1	-	( 400)	( 50)	1,340	-	3,100
	VS1	-	( 349)	100	620	-	5,400
	PIA3	-	( 701)	( 169)	2,870	( 68)	8,800
	VS3	( 1,250)	( 1,370)	450	3,600	-	25,000
	MB4	( 900)	( 1,180)	580	3,850	( 270)	24,000
	PIA5	-	( 1,670)	( 310)	4,770	420	9,800
	BVL6	( 3,470)	( 2,370)	( 435)	4,150	( 420)	19,000
	VS6	( 1,420)	( 2,380)	790	4,660	( 550)	39,000
	MB8	( 2,400)	( 2,820)	840	8,740	( 460)	46,700
	KOOL	( 2,640)	( 3,080)	( 1,120)	7,520	( 520)	46,800
HCI	BVL1	( 3,980)	5,060	-	7,630	-	73,000
	PIA1	-	( 3,730)	-	8,450	-	46,000
	VS1	6,110	( 6,680)	( 3,000)	10,300	-	64,000
	PIA3	-	-	-	9,430	-	61,000
	VS3	10,200	(10,980)	3,060	15,670	-	102,000
	MB4	( 5,990)	-	( 3,920)	18,400	-	95,000
	PIA5	( 4,380)	( 6,610)	( 1,450)	14,000	-	107,000
	BVL6	( 4,410)	( 6,890)	-	14,100	-	64,000
	VS6	10,000	11,970	( 3,100)	15,300	-	95,000
	MB8	(10,260)	(10,540)	( 2,660)	21,520	-	132,000
	KOOL	9,870	( 8,630)	4,570	19,510	-	101,000

- , negative; ( ), psuedopositive



表4 メンソールタバコ11銘柄の葉中ニコチン量 (n=5)

<b>Cigarette brands</b>	<b>Nicotine (mg/g)</b>
BVL1	19.8 ± 0.27
PIA1	17.0 ± 0.32
VS1	14.8 ± 0.28
PIA3	17.0 ± 0.20
VS3	15.6 ± 0.18
MB4	16.6 ± 0.13
PIA5	16.5 ± 0.40
BVL6	17.1 ± 0.25
VS6	15.6 ± 0.09
MB8	14.7 ± 0.18
KOOL	19.1 ± 0.39

表5 メンソールタバコ11銘柄の葉抽出物の変異原性

	<b>Mutagenicity (revertants/g, whole tobacco)</b>					
	<b>TA100</b>		<b>TA98</b>		<b>YG1024</b>	
	<b>-S9</b>	<b>+S9</b>	<b>-S9</b>	<b>+S9</b>	<b>-S9</b>	<b>+S9</b>
BVL1	–	(2,450)	–	–	–	( 860)
PIA1	–	–	–	–	–	–
VS1	–	–	–	–	–	–
PIA3	–	–	–	–	–	–
VS3	–	–	–	–	–	–
MB4	–	–	–	–	–	–
PIA5	–	–	( 600)	–	–	–
BVL6	–	(5,120)	–	–	–	–
VS6	–	–	–	–	–	–
MB8	–	–	–	–	–	–
KOOL	–	–	–	–	–	–

–, negative; ( ), psuedopositive

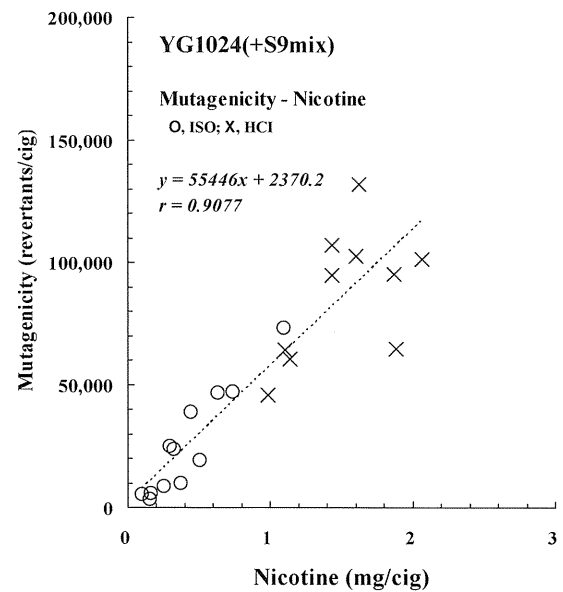
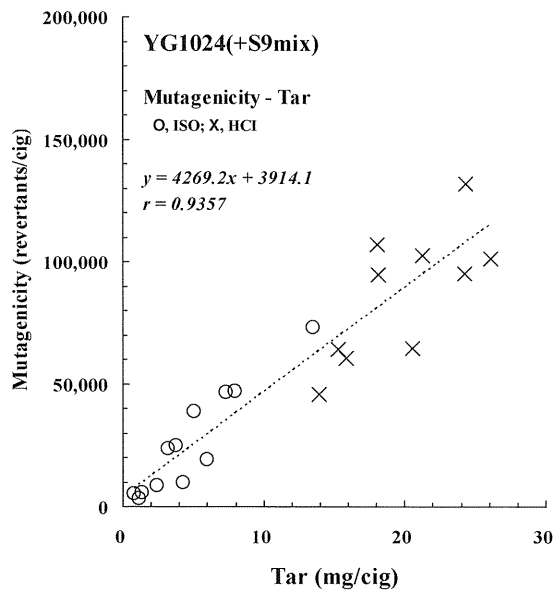
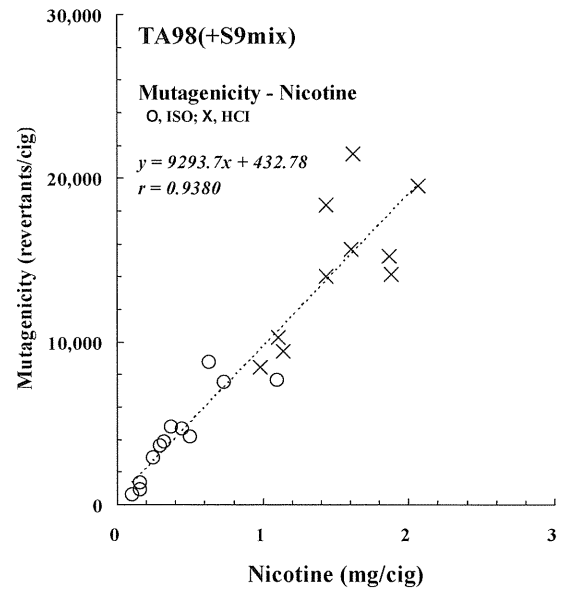
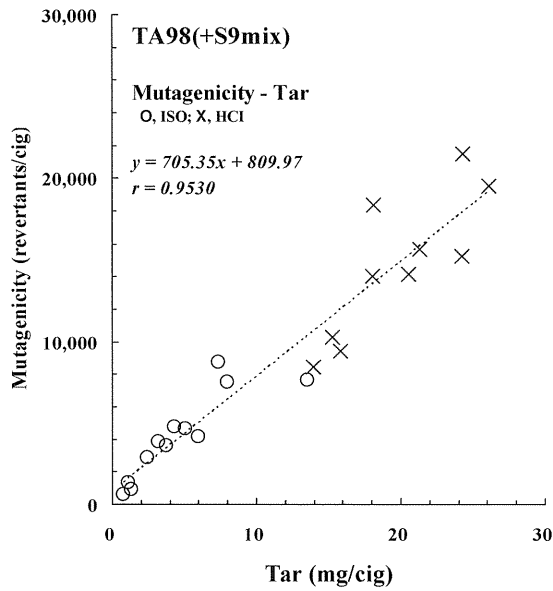


図 メンソールたばこ11銘柄の主流煙抽出物の変異原活性とタール量及びニコチン量との相関

個人輸入たばこの測定

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 緒方 裕光 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

2011年10月に国内でのたばこ製品の値上げが行われた。このため、日本よりもたばこ税が軽く安価な海外製品を個人でインターネット上の輸入代行業者を通じて購入することが行われている。前記のような経緯で購入したたばこ製品は、必ずしも国産品と同一の原材料や製法での製品であるとは限らないため、使用した場合喫煙者への健康影響も未知数となる。そこで、国内で販売されている製品と同一銘柄の海外産たばこ製品を上記と同様の手段で購入し、その成分測定を行った。その結果、たばこ主流煙中タール、ニコチン及びCO量はそれぞれタール量が7.27–11.3 mg/cig (ISO) 及び22.2–30.7 mg/cig (HCl) となり、ニコチン量が0.69–0.92 mg/cig (ISO) 及び1.52–1.98 mg/cig (HCl) であり、一酸化炭素量が5.91–8.52 mg/cig (ISO) 及び18.8–21.9 mg/cig (HCl) となった。また主流煙抽出物の変異原性試験結果はTA98及びYG1024株のS9mix添加条件下で強い陽性と与え、特にHCl法の試料がISO法の試料の2倍以上の活性を示した。さらにたばこ葉中のニコチン量とTSNA量はニコチン量が15.1–20.3 mg/gとなり、銘柄間での大きな差異は認められなかったものの、TSNA量は、NNNが885–1388 ng, NNKが186–744 ng, NATが770–1279 ng, NABが77.4–148 ngとなり、銘柄間で2倍近い差があった。以上のように個人購入したたばこ製品が必ずしも国産品を同等の品質でないことから、これらによる健康影響を評価するにはさらに測定項目を増やし、詳細な測定値を得る必要がある。

### A 目的

国内たばこ製品は昨年10月の値上げ以降一時的にはあるが販売量が減少した。これは値上げ前の買い溜めや値上げ後の買い控えが大きく影響したものと考えられるが、これら以外にもたばこ製品の販売量減少の一つとして安価な海外製品購入も挙げられる。現在、インターネットの普

及により海外に渡航せずとも、たばこ税が軽く国内製品に比して安価なたばこ製品が個人で簡単に購入できるようになった。特に個人輸入を代行する業者の存在がこれを後押ししており、購入者は直接海外の販売業者と取引することなく、通常の通信販売と変わることなく簡便に購入が行える状況である。また、国内製品と同等銘柄の海外

産たばこ製品が国外で安価に販売されているため、購入希望者は躊躇なく製品を購入できるものと考えられる。しかしながら、これら同銘柄製品が国内製品と同等の品質を維持しているかは不明であり、それ故喫煙した場合の健康影響も推測し難い。そこで、個人輸入希望者と同様にインターネット上の複数の代行業者を通じて国内販売されているたばこ銘柄を購入し、その主流煙中成分の化学分析と変異原性試験及び葉中成分の測定を行った。

## B 方法

### (1) たばこ試料

たばこ試料はインターネット上の個人輸入代行業者を通じて購入した。購入したたばこ銘柄は国内で販売されているものと同じの名称もしくは類似名を冠した製品（MILD SEVEN ORIGINAL）とし、5業者から5銘柄となった。販売元は、韓国、マレーシア、タイの合計3ヶ国で、製品に表記されていた製造元及び工場は3ヶ国であった（表1）。内容物は全ての製品で20本の紙巻たばこであった。また、外観上では外箱の注意書き等にいくつかの違いがあるものの、内容物は同一形状の製品であった。

### (2) たばこ主流煙の捕集及び化学分析と変異原性試験

たばこ主流煙の捕集方法 [1, 2] 及び各化学物質の分析方法と変異原性試験方法は、昨年度の報告書記載内容に準じ [3], タール [1, 4], ニコチン [5], 一酸化炭素 (CO) [6] と微生物を用いた遺伝毒性試験 (変異原性試験) [7] を行った。

### (3) たばこ葉の前処理及び化学分析

たばこ葉の前処理方法及び各化学物質の分析は、昨年度の報告書記載内容に準じ、ニコチン [8] とTSNA [9] について行った。

## C 結果及び考察

表2にたばこ主流煙中タール、ニコチン及びCO量の測定結果を示す。全試料の主流煙中タール量はたばこ1本当たり7.27–11.3 mg (ISO) 及び22.2–30.7 mg (HCl) となり、ニコチン量はたばこ1本当たり0.69–0.92 mg (ISO) 及び1.52–1.98 mg (HCl) であり、一酸化炭素量は同じく5.91–8.52 mg (ISO) 及び18.8–21.9 mg (HCl) となった。主流煙中成分は全てISO及びHClの両捕集方法でたばこ銘柄による大きな差が認められなかった。また主流煙中全成分が、HClでISOの測定値の2倍以上を示した。変異原性試験結果 (表3) は、全ての試料 (ISO及びHCl共) がTA98及びYG1024株のS9mix添加条件下で陽性となり、またHCl法の試料がISO法の試料の2倍以上の活性を示した。さらにTA100株では、ISO法のD試料がS9mix無添加条件下で陽性を示した以外、全ての試料が陰性もしくは偽陽性を示した。TA98及びYG1024株のS9mix無添加条件下で陽性を与える試料はなかった。

個人輸入たばこ葉中のニコチン量とTSNA量を表4に示す。葉中ニコチン量は15.1–20.3 mg/gとなり、銘柄間での大きな差異は認められなかった。また主流煙中ニコチン量 (g当り) と比較すると、平均で13倍 (ISO) と6倍 (HCl) 以上含まれていることが分かった。TSNAは国際がん研究センター (IARC) の発がん性リスク一覧においてグループ1及びグループ3に分類されている4種すべてが検出された。なお、C試料のTSNA量は欠測で現在再測定中である。各TSNA量 (葉g当り) は、NNNが885–1388 ng, NNKが186–744 ng, NATが770–1279 ng, NABが77.4–148 ngとなり、銘柄による差があった。特に、D試料はTSNA4種でF試料の2倍近い測定値を示した。

今回個人輸入たばこの主流煙及び葉中化学物質の化学分析及び変異原性試験を実施した。その結果、主流煙中タール、ニコチン、CO量及び変異