

てたばこ煙中のacrolein含有量が増加することを報告している [1]。

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葉中のグリセロール類3種（図1）の分析をラウンドラビン研究で開催したのでその測定結果を報告する。

## B 方法

### (1) たばこ試料

はじめに、本ラウンドロビン研究実施に先立ち、TobLabNet事務局より各研究機関へ標準化手法が本研究への参加問い合わせ等を記載した協約書類と共に送付された。参加締め切り終了後、たばこ試料はTobLabNet事務局により一括購入され、本ラウンドロビン研究参加機関に発送された。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。本研究に必要なたばこ総数は参加問い合わせ終了後、参加機関数を基に決定している。送付されたたばこ試料は、研究手順及び測定結果記載のためのデータシートが掲載された標準作業書（SOP）が同梱されていた。なお、データシートは

データ解析の利便性を重視し一切の改竄を許可しないものであった。参加機関はサンプル受領後予定期間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、測定開始時まで $-20^{\circ}\text{C}$ 以下の冷凍庫内に保存した。今回測定したたばこ試料8種類は、標準たばこ1R5F, 同3R4F, 同CM6及び市販製品Marlboro Full Flavor, American Spirit, Sample 1 (Low), Sample 2 (High), Sample Blankを用いた。表1に測定対象となったたばこ試料を示す。

### (2) ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）機器構成及び測定条件

GC/MS機器構成及びグリセロール類測定条件は表2に示す。

### (3) グリセロール類及び各種試薬類

グリセロール類の標準品及び試薬調製には以下の薬品を用いた。1,3-Butanediol（特級，和光純薬工業製），glycerol（特級，和光純薬工業製）及びpropylene glycol（特級，和光純薬工業製），triethylene glycol（99%，sigma-aldrich製），メタノール（LC/MS用，和光純薬工業製）。

### (4) 内部標準及び抽出溶液の作成

内部標準溶液及び抽出溶液は、1,3-butanediol 20 g（ $\pm 0.05$  gで秤取）を100 mL容メスフラスコにてメタノールで定容し原液（200 mg/mL）とした。この原液20 mLは2 L容メスフラスコにてメタノールで定容し、内部標準及び抽出溶液（2 mg/mL）とした。なお、作成した溶液は試験時まで冷蔵庫内（ $4-8^{\circ}\text{C}$ ）で保管した。

### (5) 各グリセロール類標準用原液の作成

各グリセロール類標準用原液は以下の手順で作成した。Glycerol 10 g（ $\pm 0.05$  gで秤取）は100 mL

容メスフラスコにてメタノールで定容しglycerol原液(100 mg/mL)とした。Propylene glycol 1 g(±0.05で秤取)は100 mL容メスフラスコにてメタノールで定容しpropylene glycol原液(10 mg/mL)とした。Triethylene glycol 2.5 g(±0.05で秤取)は100 mL容メスフラスコにてメタノールで定容しtriethylene glycol原液(25 mg/mL)とした。作成した各原液は使用時まで冷蔵庫内(4-8 °C)で保管した。

#### (6) 検量線用標準原液の作成

検量線用標準原液は上記各グリセロール類原液と内部標準及び抽出溶液を用いて作成した。Glycerol原液20 mL, propylene glycol原液2.5 mL及びtriethylene glycol原液16 mLは100 mL容メスフラスコにて抽出溶液で定容し検量線用標準原液とした。この検量線用標準原液は抽出溶液を用いて、検量線用各標準溶液として調製した(表3)。

#### (7) たばこ葉中グリセロール類の抽出

たばこ葉中グリセロール類の抽出は以下の手順で行った。たばこ葉はたばこ本体から分離し、ミル付きミキサー(TWINBIRD KC-4508型, ツインバード工業製)で1分間粉碎した。粉碎したたばこ葉すべてはISO3402(1999)に準じ[2]恒温・恒湿化(温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 相対湿度 $60 \pm 3\%$ , 最低48時間-最大10日間)した。恒温・恒湿化したたばこ葉4 gは100 mL容共栓付三角フラスコに入れ、抽出溶液50 mL(内部標準試料1,3-butanediol(2.0007 g/mL)含メタノール溶液)で振盪抽出(200 rpm, 60 min)に供した。振盪後、抽出溶液は室温で30 min静置し、上清の清澄を促した。さらに浮遊物を除くため、上記上清10 mLは15 mL容プラスチック試験管に入れ、遠心分離(3,000 rpm, 20 min)した。得られた溶液1 mLは分析測定用試料バイアルに移し、GC/MSに供した。

## C 結果及び考察

### たばこ試料の葉中グリセロール類含有量

たばこ試料の葉中グリセロール類の測定結果を表4-1及び4-2に示す。まず、使用したたばこ銘柄の葉の重量はばらつきが0.04-0.23%と良好であった。また、各たばこ銘柄の葉中グリセロール類濃度(mg/g, CTF)は、標準たばこである1R5F(試料A)が $0.21 \pm 0.01$ (propylene glycol, 以下PPG),  $20.60 \pm 0.50$ (glycerol, 以下GLC), 定量下限値以下(以下, <LOQ)(triethylene glycol, 以下TEG)であり, 3R4F(試料B)は $0.17 \pm 0.01$ (PPG),  $20.36 \pm 1.17$ (GLC), <LOQ(TEG)であり, CM6(試料C)は $0.10 \pm 0.01$ (PEG), <LOQ(GLC), <LOQ(TEG)であった。さらに市販たばこ銘柄の葉中グリセロール類濃度(mg/g,CTF)は, Marlboro Full Flavor(試料D)が $6.76 \pm 0.63$ (PPG),  $13.61 \pm 0.50$ (GLC), <LOQ(TEG)となり, American Spirit(試料E)がすべて<LOQとなり, Sample 1(Low)(試料F)が $1.47 \pm 0.09$ (PPG), <LOQ(GLC), <LOQ(TEG)となり, Sample 2(High)(試料G)が $1.40 \pm 0.08$ (PPG), <LOQ(GLC),  $7.49 \pm 0.15$ (TEG)となり, Sample Blank(試料H)が $1.48 \pm 0.08$ (PPG), <LOQ(GLC), <LOQ(TEG)となった。全たばこ試料の測定結果におけるばらつきは, PPGが5.33-9.38%, GLCが2.42-5.73%, TEGは2.02%(試料Gのみ)であった。なお, 今回測定したたばこ試料のうち, 試料F(Sample 1(Low))と試料G(Sample 2(High))はそれぞれTEG含有量が低いもしくは高いたばこ試料として, 提供されていたが, 測定した全たばこ試料中TEGを定量できたのは試料Gのみであった。

## D 結論

今回, WHO TobLabNetラウンドロビン研究の一環としてたばこ葉中のグリセロール類の分析を行った。測定対象となったたばこ試料の葉中グリセロール類の含有量は, propylene glycolが試料E

(American Spirit)を除く7試料で定量でき、glycerol が試料A, B及びD (1R5F, 3R4F及びMarlboro Full Flavor) で定量され、triethylene glycolが試料G (Sample 2 (High)) でのみ定量可能であった。また、TobLabNet事務局より送付された測定手順書において、振盪抽出後の上清の状態を判断し、分散型固相抽出カラム (無水MgSO<sub>4</sub> 150 mg 及びN-propylethylene diamine (PSA) 25 mg含) の使用を推奨していたが、本カラムの使用により内部標準物質を含む各グリセロール類の回収量が著しく低下することが判明した。このため今回の測定において上記固相抽出カラムは使用せず、遠心分離により振盪抽出後の上清の清澄を行うこととした。さらに、本ラウンドロビン研究に先立ちTobLabNet事務局によって行われた事前測定で、試料B (3R4F) のグリセロール類含有量 (mg/g, CTF) がpropylene glycolが0.23-0.27, glycerolが21.25-23.75, triethylene glycolが定量下限値以下 (<LOQ) との事前報告が記載されていた。今回本研究班での同試料の各グリセロール類の測定値 (mg/g, CTF) は、propylene glycolが0.15-0.19 (平均0.17) , glycerolが18.65-22.35 (平均20.36) と低値を示した。

## E 引用文献

- [1] Carmines EL, Gaworski CL. Toxicological evaluation of glycerin as a cigarette ingredient. Food Chem Toxicol, 43, 1521 - 1539, 2005.
- [2] ISO 3402. Tobacco and tobacco products - Atmosphere for conditioning and testing, International Organization for Standardization, 1999.

## F 研究発表

総括研究報告書に一括記載した。

## G 知的財産権の出願・登録状況

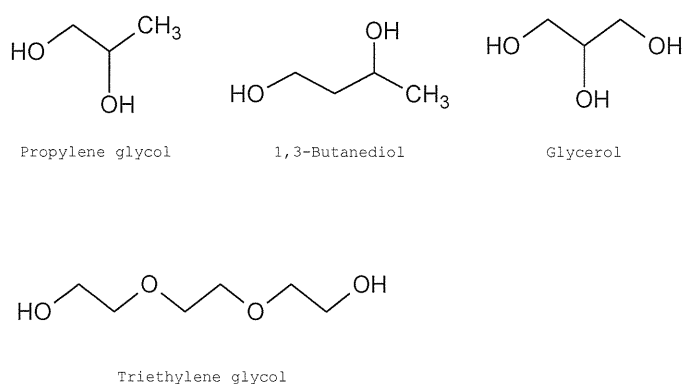


図1 測定対象グリセロール類3種及び内部標準物質の構造

表1 測定たばこ試料8銘柄

Sample code	Sample name	Product type
A	1R5F	Reference cigarette
B	3R4F	Reference cigarette
C	CM6	Reference cigarette
D	Marlboro Full Flavor	Commercial cigarette
E	American Spirit	Commercial cigarette
F	Sample 1 (Low)	Commercial cigarette
G	Sample 2 (High)	Commercial cigarette
H	Sample blank	Commercial cigarette

表2 GC/MS機器構成及びグリセロール類の測定条件

質量電荷比 (m/z) :	Propylene glycol, 45, 43 1,3-Butanediol, 43, 72 Glycerol, 43, 61 Triethylene glycol, 45, 89
GC装置 :	Hewlett-Packard製 HP6890シリーズ
MS装置 :	Agilent Technologies製 Agilent N5973 MSD
分離カラム :	Agilent Technologies製 HP-INNOWAX (30 m × 0.25 mm)
移動相 :	ヘリウム (99.99995%以上)
流速 :	1 mL/min
カラム温度 :	70 °C
注入量 :	1 µL (スプリット比 1/100)
タイムプログラム :	70 °C (2 min保持) 70 – 185 °C (15 °C/min) 185 °C (11 min保持) 185 – 230 °C (20 °C/min) 230 °C (5 min保持) 230 – 250 °C (20 °C/min) 250 °C (10 min保持)

表3 検量線用標準溶液の濃度設定及び調製

Standards	Standard soln (mL)	Final vol (mL)	Glycerol (mg/mL)	Propylene glycol (mg/mL)	Triethylene glycol (mg/mL)
1	0.2	10	0.4	0.005	0.08
2	0.4	10	0.8	0.01	0.16
3	0.8	10	1.6	0.02	0.32
4	1.6	10	3.2	0.04	0.64
5	3.2	10	6.4	0.08	1.28

表4-1 測定たばこ試料8銘柄の葉中グリセロール類濃度 (n=7)

Sample	Replicate	Cigarette tobacco filler (g)	Concentration (mg/g, CTF)		
			Propylene glycol	Glycerol	Triethylene glycol
A	1	4.0261	0.23	19.60	< LOQ
	2	4.0030	0.20	20.71	< LOQ
	3	4.0037	0.19	20.32	< LOQ
	4	4.0195	0.22	20.74	< LOQ
	5	4.0053	0.22	21.09	< LOQ
	6	4.0026	0.21	20.89	< LOQ
	7	4.0127	0.21	20.83	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0104	0.21	20.60	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0093	0.01	0.50	
	<b>CV</b>	0.23	6.71	2.42	
B	1	4.0059	0.19	18.65	< LOQ
	2	4.0196	0.18	19.44	< LOQ
	3	4.0078	0.18	20.39	< LOQ
	4	4.0013	0.17	20.31	< LOQ
	5	4.0021	0.15	20.38	< LOQ
	6	4.0139	0.17	21.03	< LOQ
	7	4.0074	0.16	22.35	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0083	0.17	20.36	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0065	0.01	1.17	
	<b>CV</b>	0.16	7.73	5.73	
C	1	4.0033	0.11	< LOQ	< LOQ
	2	4.0053	0.10	< LOQ	< LOQ
	3	4.0085	0.10	< LOQ	< LOQ
	4	4.0047	0.10	< LOQ	< LOQ
	5	4.0027	0.10	< LOQ	< LOQ
	6	3.9999	0.11	< LOQ	< LOQ
	7	4.0066	0.11	< LOQ	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0044	0.10	< LOQ	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0028	0.01		
	<b>CV</b>	0.07	5.86		
D	1	4.0009	7.94	13.02	< LOQ
	2	4.0062	7.13	13.42	< LOQ
	3	4.0218	6.96	13.62	< LOQ
	4	4.0019	6.47	13.77	< LOQ
	5	4.0046	6.27	13.16	< LOQ
	6	4.0094	6.11	13.75	< LOQ
	7	4.0085	6.44	14.53	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0076	6.76	13.61	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0070	0.63	0.50	
	<b>CV</b>	0.17	9.38	3.65	

< LOQ, less than limit of quantitation

AVG, average; SD, standard deviation; CV, coefficient variation

表4-2 測定たばこ試料8銘柄の葉中グリセロール類濃度 (n=7)

Sample	Replicate	Cigarette tobacco filler (g)	Concentration (mg/g, CTF)		
			Propylene glycol	Glycerol	Triethylene glycol
E	1	4.0230	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	2	4.0051	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	3	4.0084	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	4	4.0123	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	5	4.0090	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	6	4.0156	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	7	4.0054	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0113	< LOQ	< LOQ	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0064			
	<b>CV</b>	0.16			
F	1	4.0151	1.56	< LOQ	< LOQ
	2	4.0019	1.49	< LOQ	< LOQ
	3	4.0077	1.33	< LOQ	< LOQ
	4	3.9996	1.52	< LOQ	< LOQ
	5	3.9985	1.40	< LOQ	< LOQ
	6	4.0115	1.41	< LOQ	< LOQ
	7	4.0048	1.55	< LOQ	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0056	1.47	< LOQ	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0062	0.09		
	<b>CV</b>	0.15	6.02		
G	1	4.0163	1.46	< LOQ	7.58
	2	4.0100	1.35	< LOQ	7.43
	3	4.0035	1.28	< LOQ	7.58
	4	4.0099	1.50	< LOQ	7.51
	5	4.0030	1.44	< LOQ	7.46
	6	4.0121	1.34	< LOQ	7.19
	7	4.0063	1.41	< LOQ	7.66
	<b>AVG</b>	4.0087	1.40	< LOQ	7.49
	<b>SD</b>	0.0048	0.08		0.15
	<b>CV</b>	0.12	5.42		2.02
H	1	4.0068	1.55	< LOQ	< LOQ
	2	4.0060	1.41	< LOQ	< LOQ
	3	4.0063	1.39	< LOQ	< LOQ
	4	4.0054	1.59	< LOQ	< LOQ
	5	4.0029	1.53	< LOQ	< LOQ
	6	4.0034	1.41	< LOQ	< LOQ
	7	4.0026	1.49	< LOQ	< LOQ
	<b>AVG</b>	4.0048	1.48	< LOQ	< LOQ
	<b>SD</b>	0.0018	0.08		
	<b>CV</b>	0.04	5.33		

< LOQ, less than limit of quantitation

AVG, average; SD, standard deviation; CV, coefficient variation

## タバコ主流煙に含まれる揮発性有機化合物およびカルボニル化合物の同時分析

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 伊豆里奈 千葉大学工学部

研究要旨 タバコ主流煙に含まれる揮発性有機化合物（VOCs）やカルボニル化合物には発がん性物質が含まれており人への影響が懸念される。人への健康影響を評価するためには、これらの物質の測定が重要であるが、同時に測定した報告はない。また、今までの分析法では、溶液捕集法によりタバコから発生する VOCs, カルボニル化合物を個別に分析していた。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もある。そこで、本研究ではカーボンモレキュラーシーブス Carboxen 572 (CX-572) を用いた固体捕集法により、国産市販タバコ 10 銘柄とタバコ類似品であるネオシーダーについて VOCs とカルボニル化合物の同時測定を行い、発生量を検討した。また、VOCs では従来、ISO や CORESTA (タバコに関する国際的な情報交換機関) で測定されていた 1,3-ブタジエン、イソプレン、アクリロニトリル、ベンゼン、トルエンの 5 種類以外にもピークが検出され、それらの解析を行い、ピーク強度や有害性を考慮し、新たにフラン、2-メチルフラン、2,5-ジメチルフラン、ピリジン、エチルベンゼン、*o*-キシレン、*d*-リモネンの 7 種類を加えた成分を分析対象とした。さらに、CX-572 法は非常に感度が高く、操作が簡便であるので、1本のタバコだけでなく、一服毎の測定も行った。国産市販タバコでは、今回新たに測定を行ったフラン、2-メチルフランなどのフラン類が従来測定を行っていたベンゼンとほぼ同じ割合を占めることが明らかになった。また、タバコ型の医薬品であるネオシーダーでは一般的なタバコと成分比が異なることがわかり、イソプレンの発生量は少ないが、発がん性物質であるベンゼン、フランなどの発生量が多いことが明らかになった。このほか、一服ごとの分析により 1,3-ブタジエン、イソプレンなどのビニル基を持つ物質において二服目以降の発生量が一服目に比べて減少する傾向が見られるが、そのほかの VOCs, カルボニル化合物において、一服ごとの発生量はほぼ一定であることが明らかになった。

### A. 研究目的

タバコは20世紀で1億人の死の原因となっている。もし現在の流行が続けば、21世紀には10億人の死の原因となる恐れがあり、さらに、今後抑制されなければ、タバコ関連死は2030年までに毎年800万人以上に増加するだろうとされている<sup>1</sup>。現在、世界10億人の喫煙者の約80%は低所得国に暮らしており、タバコ喫煙者が早死にすることで、家族が収入を失い、また、医療費を増大させることで経済発展を妨げている。タバコ主流煙には5000以上の化学物質が複雑に混ざっており、人体に有害なものは250種類を超える。特に、発がん性を疑われるものは50種類を超えるとされている<sup>2,3</sup>。具体的には、ベンゼン、1,3-ブタジエンなどの揮発性有機化合物（VOCs）や、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドなどのカルボニル化合物が含まれており、これらは国際がん研究機関（IARC）<sup>4</sup>によって発がん性物質

として分類されている。

そのため、タバコ煙の中のVOCs、カルボニル化合物を測定することは人体への健康影響を評価する上でとても重要であり、タバコ関連死亡の低減、経済発展にもつながる。現在、タバコ主流煙中のVOCs、カルボニル化合物の分析は、インピンジャーを用いた溶液捕集法によって行われている。しかし、この方法は操作が煩雑で、低濃度の物質を測定できない欠点がある。そこで、操作が簡便であり、かつ高精度で分析可能な炭素系吸着剤、カーボンモレキュラーシーブスを用いた固体捕集を開発し、国産市販タバコ10銘柄とタバコ類似品であるネオシーダー主流煙中のVOCsおよびカルボニル化合物の同時分析を行い、発生量を検討した。また、この方法により従来測定されることのなかったフラン類などの分析や、一服ごとの分析なども行い、発生量や捕集量を検討した。



## B. 実験

### B.1. 実験装置と試薬

装置：ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) は島津製作所製 QP2010 Ultra を使用した。分離カラムは GL Sciences 社製 InertCap AQUATIC-2 (60 m × 0.25 mm i.d., 1.4 μm) を用い、カラム温度 40°C を 6 分間保持した後、250°C まで 35 分間で昇温 (6°C/min) した。キャリアガスにはヘリウムを用い 0.61 mL/min の流速で分析した。注入量は 1 μL (スプリットインジェクション, スプリット比 10 : 1, セブタムパーズ 1 mL/min) で、インジェクター温度は 240°C とした。質量分析の条件は m/z 40–500 のフルスキャンモード測定、イオン化電圧は 70 eV である。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、LC-20AD 送液ポンプを 2 台、SIL-20AC オートサンプラーと SPD M20A フォトダイオードアレー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 RP-Amide (3 μm particle size, 150 mm × 3 mm i.d., Supelco 社製) を用い、カラムオープン温度 30°C, 注入量 10 μL とした。グラジェントモードの HPLC 分析には、移動相に 10 mmol/L の酢酸アンモニウムを含むアセトニトリル (50%) と水 (50%) の混合溶液 (A 溶液) と、アセトニトリル (80%) と水 (20%) の混合溶液 (B 溶液) を用いた。カラム流量 0.7 mL/min で A 溶液 100% を 5 分間保ち、50 分間で B 溶液を 100% にした後、10 分間 B 溶液 100% を保った。

タバコ主流煙の捕集には自動喫煙装置 Borgwaldt Technik GmbH 製 (Model LM1/PLUS) を使用した。

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。ベンゼン-d<sub>6</sub> (99.95%), イソプレン (95.0%), アクリロニトリル (97.0%), ベンゼン (99.7%), トルエン (99.7%), フラン (98.0%), 2-メチルフラン (98.0%), 2,5-ジメチルフラン (97.0%), ピリジン (99.5%), o-キシレン (98.0%), 二硫化炭素 (99.0%), メタノール (99.8%) は和光純薬工業製, d-リモネンはシグマアルドリッチ製を使用した。また, 1,3-ブタジエン標準溶液 (2.0 mg/mL), エチルベンゼン標準溶液 (2.0 mg/mL) は AccuStandard Inc. から購入した。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, アセトニトリル (HPLC グレード, >99.9%), エタノール (99.5%), リン酸 (85%), アンモニウムアセトン (99.999%) はシグマアルドリッチ

社製のものを使用した。吸着剤である Carboxen 572 (CX-572, 20/45 mesh) はシグマアルドリッチ社製のものを使用した。シリカゲルは AGC Si-Tech 製の 60/80 mesh, 120 Å を使用した。

### B.2. CX-572-カートリッジの作製

CX-572-カートリッジ：CX-572粒子を300 mgガラスチューブに充填し、窒素50 mL/minの流速条件のもと、チューブコンディショナー (TC-20, Markes Int. Ltd., Mid-Glamorgan, UK) を用い、380°Cで、5時間加熱し、コンディショニングを行う。室内温度で冷やした後、炭素吸着剤はポリエチレンカートリッジ (Rezorian tube, 1 mL, Supelco Inc, Bellefonte, PA) に充填してCX-572カートリッジとした。

DNPH-カートリッジ：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200 mLに溶かす。この溶液を洗浄シリカゲル50 gに添加した後、40°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する。このDNPHシリカをポリエチレンカートリッジに充填してDNPHカートリッジとした。

### B.3. 主流煙の捕集

試験タバコは恒湿化 (温度 22°C, 湿度 60% の恒温湿装置に 48 時間) したものをを使用した。吸着カートリッジは自動喫煙装置のポンプとガラスフィルターの間で接続し、捕集を行った。捕集法は HCl (Health Canada Intensive) 法<sup>5</sup>もしくは ISO 法<sup>6</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)	60	30
Duration (s)	2	2
Vent	open	close

## C. 結果と考察

### C.1. 国産タバコの主流煙に含まれる VOCs とカルボニル化合物

国内で市販されている 10 銘柄のタバコ (セブンスター, セブンスターボックス, メビウスワン, メビ

ウスエクストラライト, メビウススーパーライト, メビウスライト, メビウス, わかば, エコー, マールボロライトメンソール) とタバコ型の咳止め薬として指定第 2 類医薬品に分類されているネオシーダーの主流煙に含まれる成分を分析した。代表的な VOCs のクロマトグラムを Fig. 1, カルボニル化合物のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。

VOCs では従来, ISO や CORESTA<sup>7</sup> (タバコに関する国際的な情報交換機関) で測定されていた 1,3-ブタジエン, イソプレン, アクリロニトリル, ベンゼン, トルエンの 5 種類以外にもピークが検出された。それらのピークの解析を行った結果, イソブタンや 1,1-ジメチルシクロプロパン, フラン, 1,3-ペンタジエン, 1,3-シクロペンタジエン, 2-メチルフラン, ジアセチル, メチルビニルケトン, プロパンニトリル, 1,3,5-ヘキサトリエン, 2-メチルブタナール, エチルアセトン, 2,5-ジメチルフラン, 2,3-ペンタンジオン, シクロプロピルメチルケトン, ピリジン, 1-アジリジンエタノール, 7-メチル-2-オキセパノン, エチルベンゼン, *o*-キシレン, フルフラール, 2-シクロペンテノン, スチレン, ネロール, *m*-エチルメチルベンゼン, *d*-リモネンなどであった。これらの中で, ピーク強度や有害性を考慮し, 新たにフラン, 2-メチルフラン, 2,5-ジメチルフラン, エチルベンゼン, ピリジン, *o*-キシレン, *d*-リモネンの 7 種類を加えた成分を分析対象物質とした。

HCI 法に従って捕集したタバコから発生した VOCs とカルボニル化合物の量を Table 2, ISO 法に従ったものを Table 3 に示す。人の喫煙方法により近いとされる HCI 法が ISO 法に比べ, 発生した VOCs, カルボニル化合物の量が多いことがわかる。HCI 法は ISO 法の数倍の量を検出したが, これは HCI 法ではタバコのフィルター部分にある小さな穴をテープで塞ぐことと, 喫煙量が多いことによるものと考えられる。

VOCs では, イソプレンが最も多く検出され, 10 銘柄のほとんどで VOCs 全体の約 50% とほぼ半分近くを占めた。次いで, トルエン, 1,3-ブタジエン, ベンゼンが多く検出された。1,3-ブタジエンとベンゼンは国際がん研究機関 (IARC) よってグループ 1 (Carcinogenic to humans) に分類されている発がん

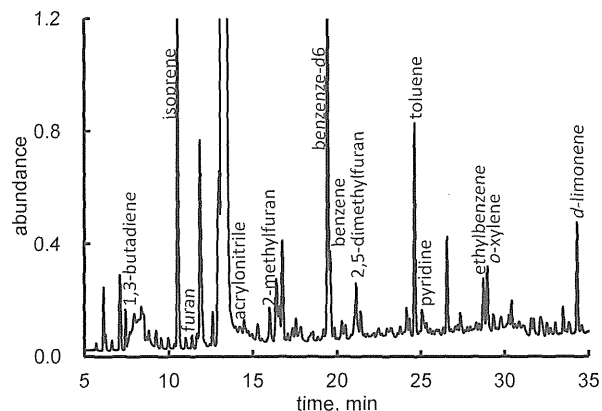


Fig. 1. Chromatograms of VOCs in the eluate from CX-572 cartridge after collection of mainstream cigarette smoke.

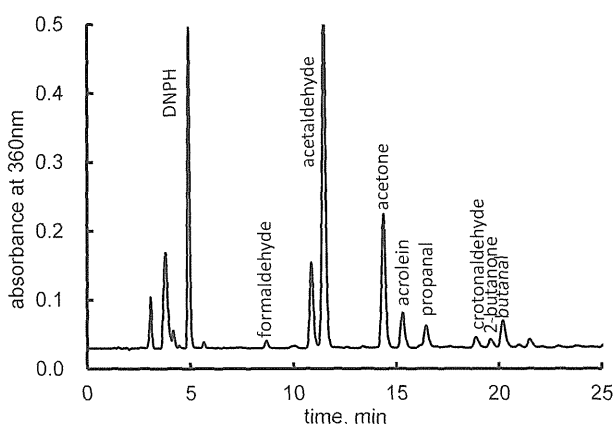


Fig. 2. Chromatograms of carbonyl DNPhhydrazones in the eluate from CX-572 cartridge after collection of mainstream cigarette smoke.

ん性物質である。また, 今回初めて定量を行った VOCs 7 種類のうち, フラン, 2-メチルフラン, 2,5-ジメチルフランなどのフラン類がそれぞれ VOCs 全体の約 5, 6% とベンゼンとほぼ同じ割合を占め, ベンゼンに次いで発生量が多いことがわかった。フランはタバコ煙だけでなく, 加熱加工した食品中に広範囲に含まれることが確認されており, 2004 年に欧州食品安全機関 (EFSA) が入手できる全てのデータを検討した結果, フランはおそらく遺伝毒性を持つ発がん性物質であろうと報告している<sup>8</sup>。IARC では, グループ 2B (Possibly carcinogenic to humans)<sup>9</sup> に分類されている。エチルベンゼンも IARC によってグループ 2B に分類される発がん性物質であるが, 発生量は HCI 法, ISO 法ともに VOCs 全体の約 3% であった。国産市販タバコにおいては, 銘柄ごとに検出される各種化学物質はほぼ同じ割合を占めた。

カルボニル化合物に関しては, アセトアルデヒドが最も多く検出され, カルボニル化合物全体の約 50% と, イソプレンと同じくほぼ半分を占めた。次

いで、アセトンが約 22%、2-ブタノンが約 8%となった。アセトアルデヒドが多く発生するのは、タバコの燃焼部分に炭水化物であるセルロース(C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>が含まれており、これが燃焼によってアセトアルデヒドを生成したことが考えられる。

VOCs、カルボニル化合物ともに、銘柄による検出量の割合に大きな差はみられなかったが、発生量は異なり、わかばの VOCs、カルボニル化合物の発生量が 10 銘柄の中で最も多いことが明らかになった。これは、わかばのフィルターがセブンスターやメビウスと比べ簡素な作りであることが主な要因であると推測される。セブンスターやメビウスのフィルター部分には活性炭(チャコール)が含まれるが、わかばのフィルターには含まれない。この活性炭が主流煙中の VOCs やカルボニル化合物を吸着しているため、セブンスターやメビウスの発生量がわかばより少なくなったと推測される。

この他、価格が安く、禁煙用途やタバコ代用品として利用されることもあるタバコ型の医薬品であるネオシーダーでは、一般的なタバコと VOCs やカルボニル化合物の発生量が異なった。また、HCl 法と ISO 法で発生量に大きな差があることが明らかになった。測定したタバコの中で、カルボニル化合物の総発生量は最も高い値を示した。各種カルボニル化合物の発生量は全体的に高い値を示したが、中でもアセトアルデヒドが 1700 µg/cigarette と最も高い値を示した。しかし、発生した化学物質の割合はカルボニル化合物においては、一般的なタバコと相違なかった。ネオシーダーから発生する VOCs は、一般的なタバコに比べ、イソプレンの発生量が極めて小さく、その割合も VOCs 全体の約 7%と一般的なタバコの 7分の 1 程度の量であった。しかし、フラン、2-メチルフラン、ベンゼン、トルエンの発生量が多く、それぞれ VOCs 全体の約 15~20%を占めた。VOCs の中で最も発生量が多かったのはベンゼンで、次いでトルエンが多く発生した。ベンゼンやフラン、アセトアルデヒドは発がん性物質であり、一般的なタバコより医薬品であるネオシーダーのほうが発がん性物質を多く発生することが明らかになった。これは、ネオシーダーの原材料は不明であるが、主な用法は咳や痰の除去であるため、タバコ葉とは異なること推測される。

### 3.2. CX-572 カートリッジを用いた一服ごとの分析

CX-572 カートリッジを用いた固体捕集法は、非常に感度が高く、操作が簡便であるため自動喫煙装置に接続し、吸煙間隔以内の 5 秒程度でカートリッジを交換することができる。そのため、1 本のタバコだけでなく、一服ごとの VOCs、カルボニル化合物の測定が可能である。そこで、セブンスターとわかばの 2 銘柄を HCl 法に従い、ガラスフィルター有無の場合について捕集を行った。測定対象物質は自動喫煙装置のガラスフィルターを通過したガス状物質である。Fig. 3~Fig. 10 にガラスフィルター有無の場合のセブンスター、わかばから発生した代表的な VOCs の捕集量を、Fig. 11~Fig. 16 にガラスフィルター有無の場合のセブンスター、わかばから発生する代表的なカルボニル化合物の捕集量を示す。(A : セブンスター, ガラスフィルター有, A' : セブンスター, ガラスフィルター無, B : わかば, ガラスフィルター有, B' : わかば, ガラスフィルター無)

ガラスフィルター有無ともに、1,3-ブタジエン、イソプレンなどのビニル基を持つ物質は、二服目以降の発生量が一服目に比べて減少する傾向が見られた。一方で、2-メチルフラン、2,5-ジメチルフランについては増加傾向が見られ、フランやベンゼン、d-リモネンなどの環式化合物や、アセトン、2-ブタノンなどのケトン類、クロトンアルデヒドなどの物質については二服目以降の発生量と一服目の発生量に大きな差はなく、発生量はほぼ一定であった。しかし、減少する物質ではガラスフィルター有無によって一服目から二服目の減少率が異なっていた。

VOCs において、セブンスターの 1,3-ブタジエンとイソプレンの一服目から二服目の減少率を比較すると、1,3-ブタジエンでは、ガラスフィルター有の場合は 35.5%であるが、ガラスフィルター無の場合は 53.2%と 17.7%の差があった。イソプレンについてもガラスフィルター有の場合は 29.5%、ガラスフィルター無の場合は 43.2%と 13.7%の差があった。わかばの場合、1,3-ブタジエンにおいて、ガラスフィルター有の場合は 1.0%、ガラスフィルター無の場合は 35.2%であり、差は 34.2%であった。イソプレンにおいてはガラスフィルター有の場合は-8.5%、つまりわずかではあるが増加していた。ガラスフィルター無の場合はセブンスターと同じく減少しており、減少率は 23.0%と差は 31.5%であった。よって、セブンスター、わかばともにガラスフィルター無の場合の

ほうが一服目から二服目の減少率は大きいことがわかった。

一方で、カルボニル化合物では、多くの物質が吸い終わりに近づくにつれ発生量がわずかではあるが、増加する傾向が見られた。また、一服目の発生量と二服目以降の発生量において、減少する物質は VOCs と同じくガラスフィルター無の場合のほうが減少率は大きかった。

VOCs, カルボニル化合物ともにほとんどの物質において累積量はガラスフィルター有無に関係なく、ほぼ等しくなり、また1本のタバコから発生する量とも等しかった。しかし、二服目の発生量が減少する物質に関しては、ガラスフィルター無の場合、一服目の発生量がガラスフィルター有の場合に比べて多いため、累積量は多くなった。

以上のことから、ガラスフィルターの影響によって一服目と二服目の捕集量に差が生じること、銘柄によってその減少率が異なることがわかった。銘柄で一服目から二服目の減少率が異なるのは3.1に述べたように、セブンスターとわかばのフィルターの構造の差によるものであり、セブンスターでは一服目の吸煙からタバコ自身のフィルターに含まれる活性炭が吸着を行っているために、わかばより減少率が小さいと考えられる。

### C.3. タバコ主流煙に含まれるホルムアルデヒドの分析

タバコ主流煙に含まれるホルムアルデヒドの分析は DNPH カートリッジを用い、一服ごとに行った。また、試験タバコはセブンスターとわかばの2銘柄を用い、HCI 法に従って、ガラスフィルター有無の場合、また一服ごとに CX-572 カートリッジとともにガラスフィルターも取り換えた場合、ガラスフィルターかつ、タバコフィルター無の場合について分析を行った。

Fig. 17 にセブンスターから発生するホルムアルデヒドの捕集量を Fig. 18 に、わかばから発生するホルムアルデヒドの捕集量を示す。ホルムアルデヒドにおいても CX-572 カートリッジで測定した VOCs, カルボニル化合物と同様に、セブンスターに比べわかばの発生量が多く、その差は約2倍であった。ガラスフィルター有無やカートリッジとともにガラス

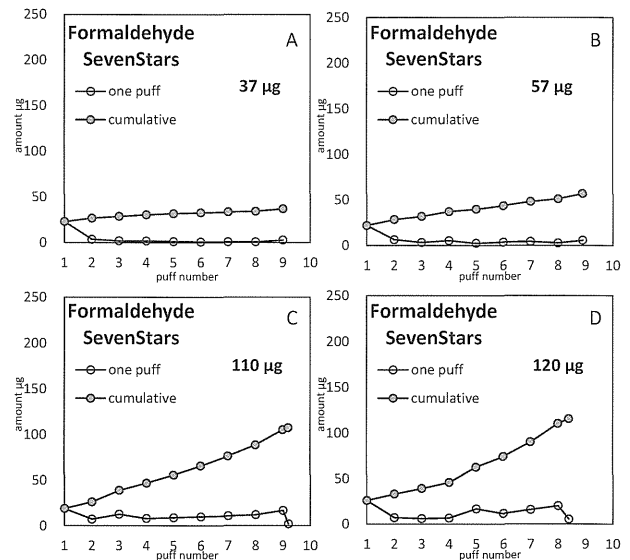


Fig. 17. Changes in collected amounts of formaldehyde in mainstream cigarette smoke with puff number. (A: with glass filter, B: exchanging glass filter every puff, C: without glass filter, D: without both glass filter and cigarette filter)

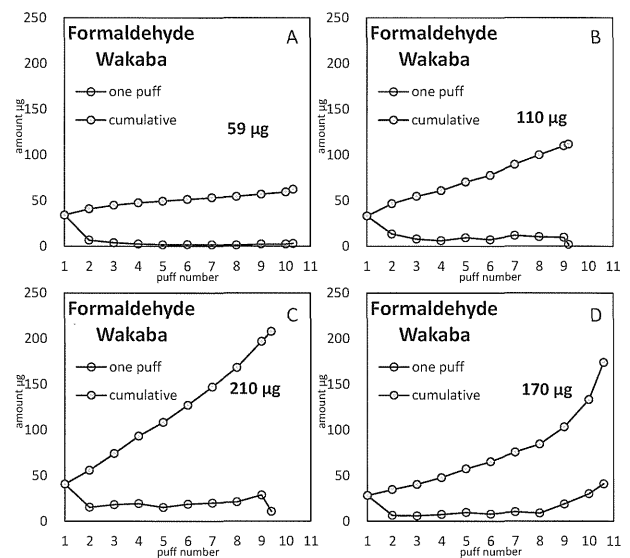


Fig. 18. Changes in collected amounts of formaldehyde in mainstream cigarette smoke with puff number. (A: with glass filter, B: exchanging glass filter every puff, C: without glass filter, D: without both glass filter and cigarette filter)

フィルターも取り替えた場合のセブンスター、わかばの一服ごとの捕集量の傾向はほぼ等しく、どの場合でも一服目の発生量が二服目以降に比べて多くその差は数倍となり、二服目以降の発生量はほぼ一定であることがわかる。

ガラスフィルター有無の場合について、puff number ごとの捕集量の差をみると、セブンスターでは一服目の捕集量はほぼ等しいが、二服目以降の捕集量はガラスフィルター無の場合のほうが約5~10

µg/cigarette 多くなった。わかばでもセブンスターと同様の傾向であったが、二服目以降の捕集量はガラスフィルター無の場合のほうが約 10～30 µg/cigarette とセブンスターより捕集量が約 2 倍以上であるため、総量はわかばの方が約 2 倍多く検出した。

ガラスフィルター有の場合と、一服ごとにカートリッジとともにガラスフィルターも取り換える場合を比較すると、セブンスター、わかばともに一服ごとに取り換える場合のほうが捕集量は多く、puff number ごとの捕集量の差は、一服目は等しいが、セブンスターの場合、二服目以降は約 2～4 µg/cigarette 程度の差があった。わかばの場合、二服目以降は約 5～10 µg/cigarette の差があった。また、捕集量はガラスフィルター無の場合が最も多く、最も少なかったのはガラスフィルター有の場合であった。

タバコフィルター無の場合の測定は、タバコフィルターを取り外し、代わりに電子タバコのフィルター部品をテープで取り付けて行った。わかばにおいて、ガラスフィルター無の場合とガラスフィルターかつタバコフィルター無の場合を比較すると、ガラスフィルター無の場合の捕集量が多かった。しかし、タバコフィルターに活性炭を含むセブンスターにおいては、タバコフィルターを取り外した場合のほうがわずかではあるが、捕集量が増加した。このことから、わかばのフィルターはホルムアルデヒドの捕集量の減少に影響はないが、セブンスターのフィルター、つまり活性炭が含まれていると、ホルムアルデヒドの捕集量の減少に相関があることが推測される。

#### 4. まとめ

本研究で、CX-572 を用いた固体捕集法により国産タバコの主流煙に含まれる VOCs, カルボニル化合物の同時測定を行うことができ、発がん性のある物質が多く含まれていることが明らかになった。そのうち、今まで測定されることのなかったフラン類は従来測定されているベンゼンとほぼ同じ割合を占めたこと、フランにおいては IARC によってグループ 2B に分類される発がん性物質であることから今後測定対象物質として検討が必要であると思われる。

また、銘柄によって主流煙に含まれている物質の発生量が多少であるが異なり、タバコフィルターの構造に関係があることが推測される。

さらに、タバコ類似品であるネオシーダーは医薬品であるが、セブンスターやわかばといった一般的なタバコに比べ、フランやベンゼンなどの発がん性物質を多く発生することが明らかになった。医薬品であるにもかかわらず毒物が検出されているため、早急に対応が必要であると思われる。

このほか、最初の一服目に発生量が多い物質と、発生量が変わらない物質があることが明らかになった。また、セブンスター、わかばともに自動喫煙装置と CX-572 カートリッジの間にあるガラスフィルター無の場合、一服目と二服目の吸煙時に発生量の差が生じる物質では、ガラスフィルター有の場合に比べ、累積量が多くなった。これは、一服目の発生量がガラスフィルター有の場合に比べて多いためである。

最後に、タバコから発生するホルムアルデヒドはタバコフィルターと自動喫煙装置のガラスフィルターに吸着、分解されていることが明らかになった。ホルムアルデヒドは IARC によってグループ 1 に分類される発がん性物質であり、シックハウス症候群の原因でもあるため、正確に測定する方法が必要である。そのため、ホルムアルデヒドを正確に測定する場合はタバコフィルターとガラスフィルターを取り外すことと、タバコフィルターの代替品として主流煙を漏れなく捕集可能な装置の検討が必要である。

Table 2. Amounts of VOCs and carbonyls in the mainstream cigarette smoke generated from various brands of cigarettes. Unit is  $\mu\text{g}/\text{cigarette}$ . Smoking machine was performed according to the HCI regime.  $n = 3$

SS : SevenStars, SSB : SevenStars box, MO : Mevius one, MEL : Mevius extra lights, MSL : Mevius super lights, ML : Mevius lights, MV : Mevius, WK : Wakaba, EC : Echo, MLM : Marlboro lights menthol, NC : Neo cedar

compounds	SS	SSB	MO	MEL	MSL	ML	MV	WK	EC	ML M	NC
Puff number	8.5	9.1	7.4	7.6	7.4	7.3	7.4	9.5	7.2	8.3	11.9
1,3-butadiene	57	90	71	64	68	57	66	96	79	69	71
isoprene	470	650	500	450	480	350	490	540	430	500	52
furan	41	56	42	38	42	35	44	74	60	41	120
acrylonitrile	9.5	13	12	11	13	9.0	13	17	10	10	9.2
2-methylfuran	56	69	46	41	48	37	49	100	82	46	99
benzene	64	72	61	55	60	44	71	91	72	62	150
2,5-dimethylfuran	47	52	34	31	36	28	40	91	70	36	47
toluene	100	120	100	92	96	70	130	150	110	110	140
pyridine	0.9	14	13	13	12	7.3	21	17	13	12	1.2
ethylbenzene	23	23	23	22	23	19	30	35	26	22	18
<i>o</i> -xylene	30	29	24	22	67	14	34	120	88	26	23
<i>d</i> -limonene	58	53	51	47	46	25	61	72	54	50	1.9
Total VOCs	960	1200	980	890	990	700	1000	1400	1100	980	730
acetaldehyde	1100	1200	1100	1200	1100	1200	1200	1400	1100	930	1700
acetone	490	550	460	500	480	530	520	650	500	440	610
acrolein	120	140	130	130	110	120	120	180	150	95	180
propanal	110	120	100	110	94	130	120	180	130	84	160
crotonaldehyde	43	37	43	44	40	43	44	71	59	30	59
2-butanone	180	180	160	190	200	200	190	240	190	120	210
butanal	49	52	50	53	44	54	51	65	49	43	68
benzaldehyde	3.0	59	1.2	1.8	0.8	1.3	0.9	3.4	1.9	49	62
<i>i</i> -valeraldehyde	29	34	30	31	27	29	31	41	33	28	37
valeraldehyde	1.8	4.5	2.3	2.4	3.2	1.6	3.6	4.9	3.2	3.2	0.0
<i>o</i> -tolualdehyde	1.2	1.0	1.9	1.7	1.2	1.4	2.0	2.6	4.3	0.0	0.0
<i>p</i> -tolualdehyde	3.8	8.1	5.1	3.8	5.2	7.2	3.8	9.4	6.6	6.4	2.7
hexanal	1.7	0.0	1.1	1.1	1.8	1.9	1.5	1.9	1.1	0.0	0.0
2,5-DMBA	1.6	7.6	1.5	1.9	1.6	1.8	3.4	2.9	1.2	4.2	13
heptanal	1.4	5.6	1.2	0.9	1.0	1.2	2.0	1.2	1.4	6.8	0.0
octanal	1.8	0.0	1.0	1.1	1.4	1.7	1.1	1.5	1.9	0.0	0.0
2-nonenal	1.4	0.0	1.5	1.0	1.0	1.2	1.1	1.0	1.0	0.0	0.0
nonanal	1.7	0.0	1.3	1.6	1.3	2.5	1.6	1.6	1.3	0.0	0.0
decanal	1.4	0.0	2.4	1.3	1.5	1.4	1.7	2.6	2.2	0.0	0.0
Total carbonyls	2100	2400	2100	2300	2100	2300	2300	2800	2200	1800	3100

Table 3. Amounts of VOCs and carbonyls in the mainstream cigarette smoke generated from various brands of cigarettes. Unit is  $\mu\text{g}/\text{cigarette}$ . Smoking machine was performed according to the ISO regime.  $n = 3$

SS : SevenStars, SSB : SevenStars box, MO : Mevius one, MEL : Mevius extra lights, MSL : Mevius super lights, ML : Mevius lights, MV : Mevius, WK : Wakaba, EC : Echo, MLM : Marlboro lights menthol, NC : Neo cedar

compounds	SS	SSB	MO	MEL	MSL	ML	MV	WK	EC	ML M	NC
Puff number	6.6	6.6	7.0	6.2	6.2	6.1	6.4	7.9	5.8	6.0	10.1
1,3-butadiene	30	44	10	9.4	17	20	34	54	49	36	7.4
isoprene	240	300	72	65	110	130	220	330	280	260	4.9
furan	23	27	7.4	6.7	11	11	22	46	36	21	17
acrylonitrile	4.5	2.0	0.0	0.0	0.0	0.5	2.2	4.9	3.3	0.5	0.0
2-methylfuran	29	32	8.0	7.2	12	12	25	63	45	23	13
benzene	32	34	8.4	7.6	14	14	32	57	44	32	16
2,5-dimethylfuran	22	22	5.0	4.5	8.0	7.8	19	53	37	17	4.7
toluene	47	51	11	10	20	21	48	89	65	55	11
pyridine	1.7	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	5.2	1.8	0.4	0.0
ethylbenzene	10	8.5	0.6	1.4	3.1	4.5	8.7	18	14	9.0	1.0
<i>o</i> -xylene	10	10	1.5	1.4	8.9	3.6	10	64	47	9.8	5.3
<i>d</i> -limonene	18	15	0.1	0.1	3.3	4.6	12	33	27	14	0.0
Total VOCs	470	550	120	110	200	230	440	820	650	480	80
acetaldehyde	580	600	120	200	300	380	500	740	510	470	170
acetone	250	250	41	70	120	160	210	350	230	200	49
acrolein	51	53	6.1	12	21	26	41	79	58	41	10
propanal	49	45	9.4	15	24	26	41	74	49	37	13
crotonaldehyde	20	15	3.4	5	8.8	9.4	17	34	25	13	6.4
2-butanone	87	77	16	25	45	53	78	130	85	55	17
butanal	25	22	4.1	7.0	12	14	22	35	22	20	6.7
benzaldehyde	0.8	23	0.6	0.8	0.8	0.6	1.7	1.6	1.8	13	0.0
<i>i</i> -valeraldehyde	14	12	1.3	2.3	3.7	6.2	11	20	14	11	0.0
valeraldehyde	1.5	0.0	1.0	0.8	0.8	0.8	1.2	1.0	1.8	0.0	0.0
<i>o</i> -tolualdehyde	0.8	0.0	1.9	0.3	1.2	0.7	1.0	1.2	0.9	0.0	0.0
<i>p</i> -tolualdehyde	3.1	1.1	1.0	1.1	2.0	2.7	3.1	2.6	2.0	3.3	0.0
hexanal	0.9	0.0	0.6	1.7	0.5	1.2	1.0	1.1	1.0	0.0	0.0
2,5-DMBA	5.6	5.1	1.8	1.4	1.7	1.9	1.2	1.8	1.5	5.1	2.3
heptanal	1.5	3.9	1.0	1.3	2.9	1.2	1.0	1.7	1.3	0.0	0.0
octanal	1.5	0.0	1.8	1.4	1.3	1.2	2.1	1.2	1.6	0.0	0.0
2-nonenal	1.5	0.0	1.0	1.0	1.1	1.3	1.4	1.5	0.9	0.0	0.0
nonanal	1.7	0.0	1.3	1.5	1.6	1.3	2.0	1.6	2.0	0.0	0.0
decanal	2.1	0.0	1.3	2.1	1.5	2.0	1.7	2.1	1.9	0.0	0.0
Total carbonyl	1100	1100	210	340	540	680	940	1500	1000	870	270

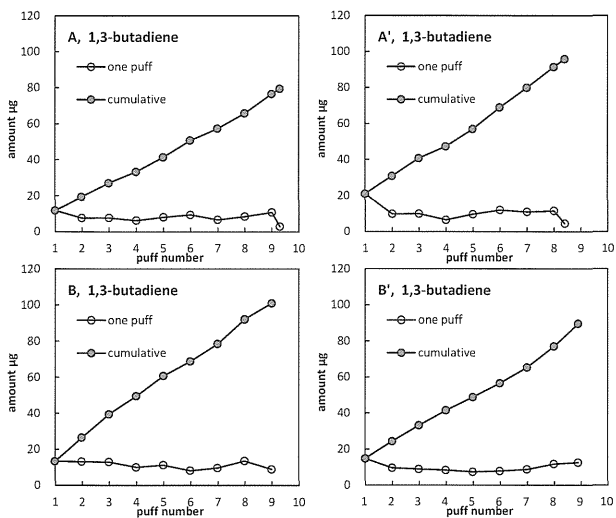


Fig. 3. Collected amounts of 1,3-butadiene with puff number.

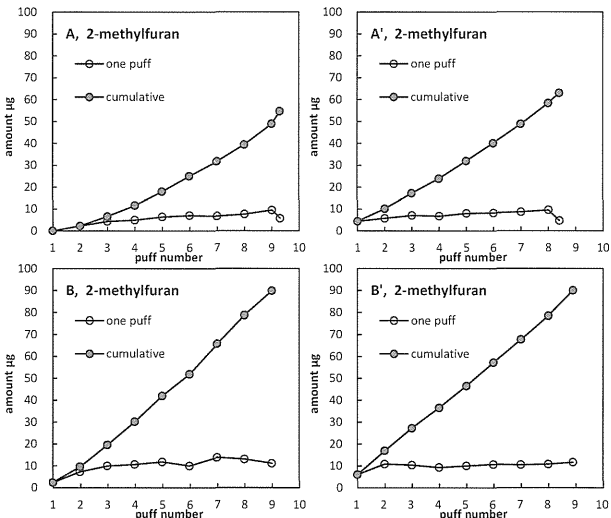


Fig. 6. Collected amounts of 2-methylfuran with puff number.

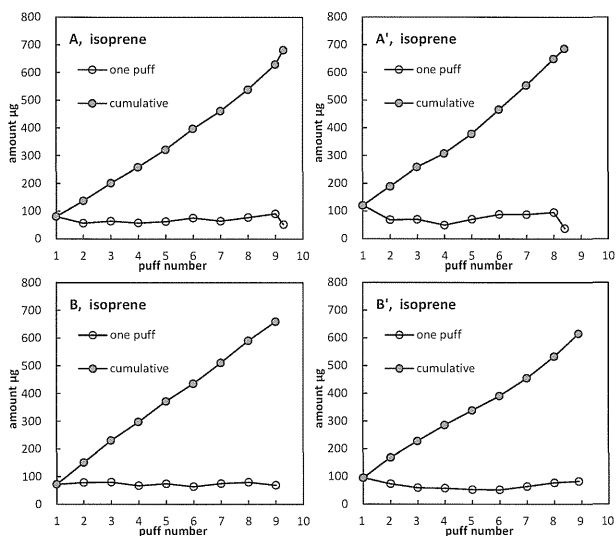


Fig. 4. Collected amounts of isoprene with puff number.

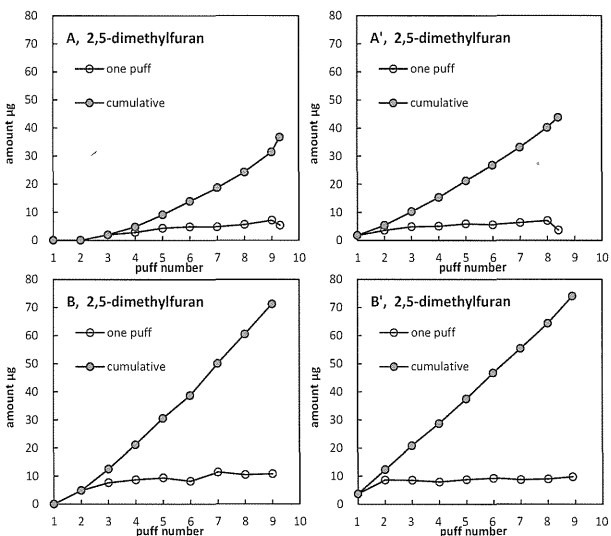


Fig. 7. Collected amounts of 2,5-dimethylfuran with puff number.

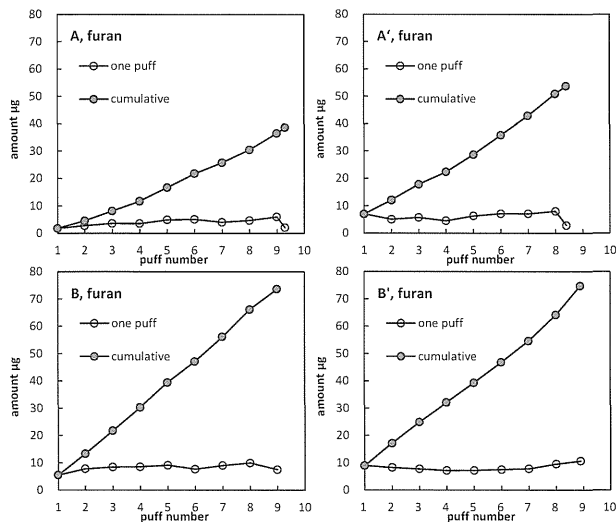


Fig. 5. Collected amounts of furan with puff number.

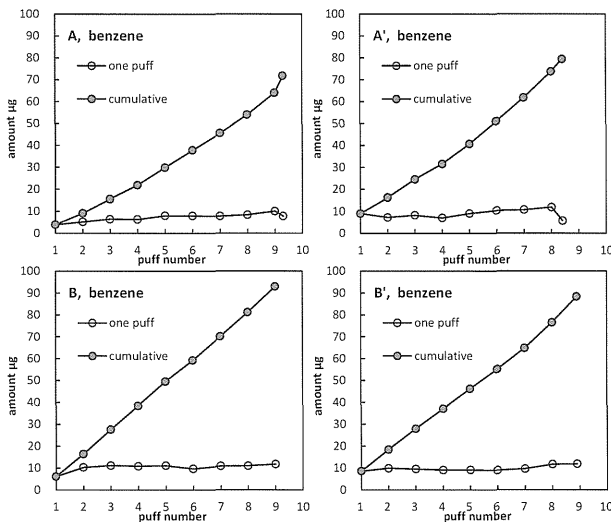


Fig. 8. Collected amounts of benzene with puff number.



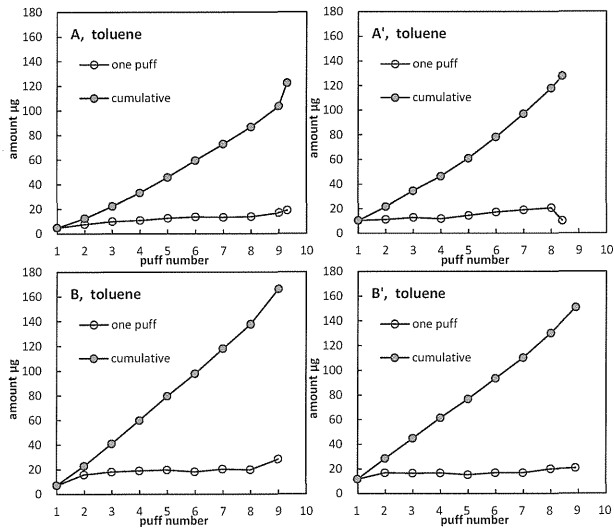


Fig. 9. Collected amounts of toluene with puff number.

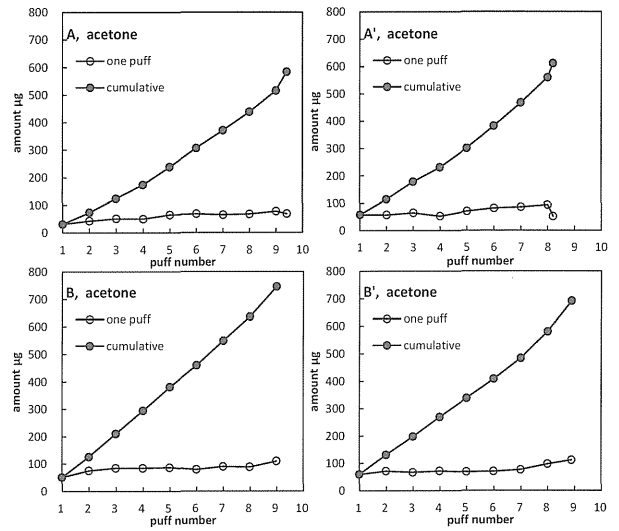


Fig. 12. Collected amounts of acetone with puff number.

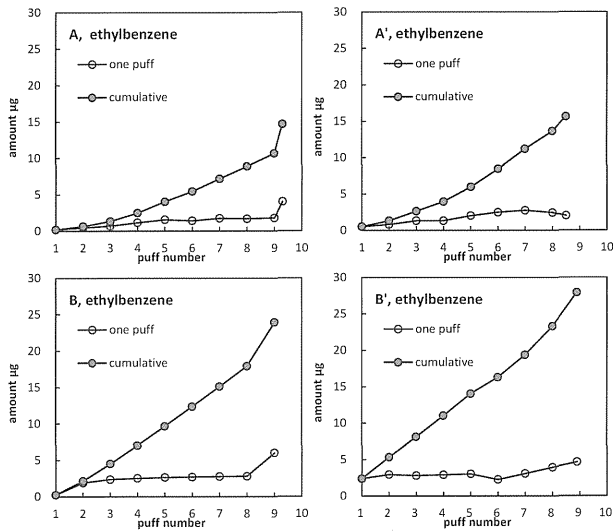


Fig. 10. Collected amounts of ethylbenzene with puff number.

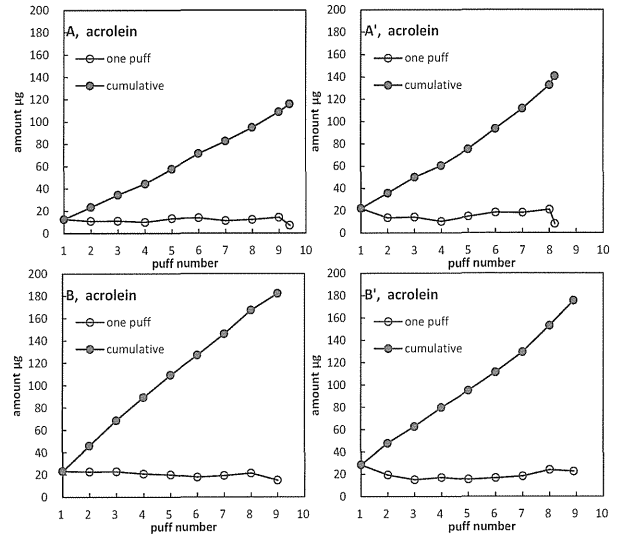


Fig. 13. Collected amounts of acrolein with puff number.

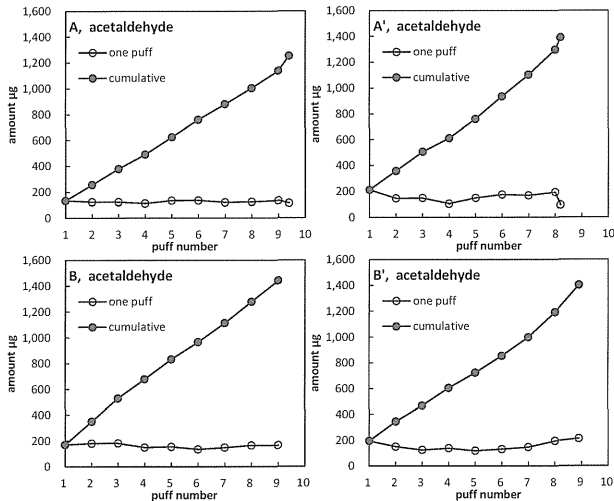


Fig. 11. Collected amounts of acetaldehyde with puff number.

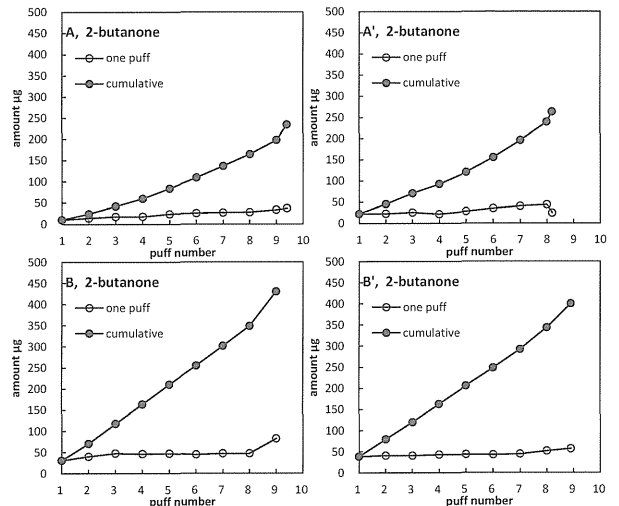


Fig. 14. Collected amounts of 2-butanone with puff number.

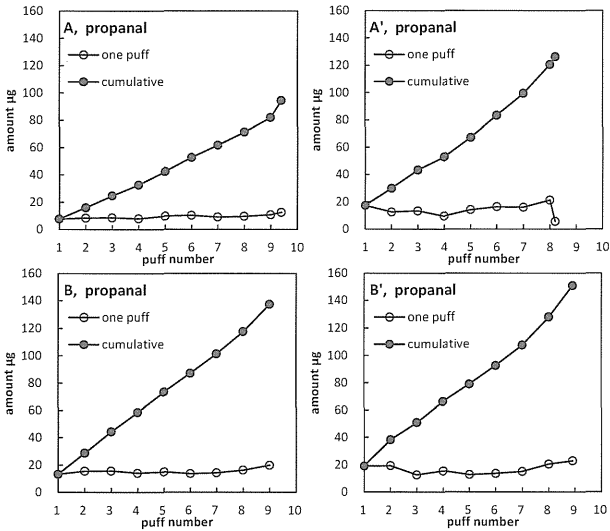


Fig. 15. Collected amounts of propanal with puff number.

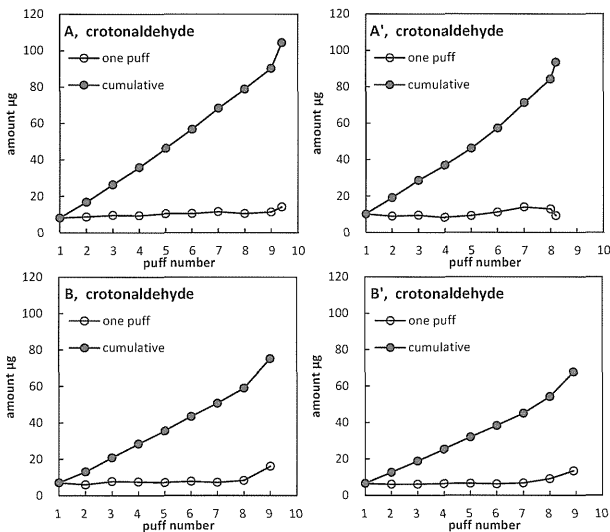


Fig. 16. Collected amounts of crotonaldehyde with puff number.

6. (ISO), I. O. f. S., *ISO 3308, Routine Analytical Cigarette - Smoking Machine - Definitions and Standard Conditions*. 2000.

7. CORESTA, *CORESTA, Recommended Method No. 70, Determination of Selected Volatile Organic Compounds in the Mainstream Smoke of Cigarettes - Gas Chromatography - Mass Spectrometry Method*. March, 2013.

8. Commission, F. S., *Furan, Fact sheet*.

9. Furan. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer* **1995**, 63, 393-407.

E. 研究発表 (平成 25 年度)

総括研究報告書に一括記載した。

文 献

1. (WHO), W. H. O., *Tobacco, Fact sheets N 339, Media centre*.
2. Borgerding, M.; Klus, H., Analysis of complex mixtures--cigarette smoke. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie* **2005**, 57 Suppl 1, 43-73.
3. Thielen, A.; Klus, H.; Muller, L., Tobacco smoke: unraveling a controversial subject. *Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie* **2008**, 60 (2-3), 141-56.
4. IARC, *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Vol. Suppl. 7, pp. 120.
5. Canada, H., *Method T-115, Determination of Tar, Nicotine and Carbon Monoxide in Mainstream Tobacco Smoke*. 1999.

国産たばこ銘柄の葉中グリセロール類の測定

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

要旨

今回、前掲の「WHO TobLabNetラウンドロビン研究－たばこ葉中グリセロール類の分析－」の手法を一部改良して、国産たばこ葉中グリセロール類測定法の確立を行い、国産たばこ8銘柄（MEVIUS製品5銘柄、Seven Stars, echo及びわかば）の測定を実施した。その結果、確立した手法（たばこ葉1 g/抽出溶液25 mL）はラウンドロビン採用の手法（4 g/50 mL）と同等の測定結果を得られた。また、本手法を用いた国産たばこ8銘柄の測定対象グリセロール類3種中propylene glycolとglycerolの2種が定量でき、triethylene glycolはいずれの銘柄でも定量下限値以下であった。Propylene glycolの濃度範囲は2.50–3.00 mg/g, CTFであり、銘柄間での顕著な差は認められなかった。Glycerolの濃度範囲は13.44–18.81 mg/g, CTFとなり、Seven Stars, echo及びわかばが他銘柄よりも若干高い値を示した。さらに、標準たばこ銘柄3R4F（propylene glycolが0.17 mg/g, CTF, glycerolが20.36 mg/g, CTF）の測定結果と比較すると、国産たばこ銘柄はpropylene glycolが14.7–17.6倍と高値であったが、glycerolが0.66–0.92倍と低値を示した。

A 目的

Glycerol (glycerin) は食品、化粧品及び医薬品製造において、可塑剤、増粘剤、香料、変性剤、柔軟剤、潤滑剤、保湿剤、抗菌剤として幅広く使用されている。そして、たばこ製品では保湿作用と添加物中の香気成分の表面活性剤、たばこ葉が製品時に粉砕するのを防止する役割を担っていると考えられている [1]。また同様に、propylene glycolもたばこ製品の製造過程及び製品販売後の急速なたばこ葉の乾燥を防ぐために添加される保湿成分である [2]。このようにたばこ製品にはその添加物の保護と品質保持のため上記グリセロール類化合物（図1）が添加されている。グリ

セロール類はたばこ葉に元来微量に含有されており、また、上記のとおり食品や医薬品等に使用される安全な化学物質であるが、たばこ製品ではその使用状況（燃焼及び吸煙）が食品や医薬品と大きく異なるため、健康への影響が懸念される物質となる可能性がある。Carminesらはたばこ製品にglycerolを添加することで、その添加量に応じてたばこ煙中のacrolein含有量が増加することを報告している [1]。また、Gaworskiらはpropylene glycolをたばこ製品に加えると、たばこ煙中propionaldehyde濃度が高くなることを確認している [2]。

そこで本研究では、本報告書掲載の「WHO

TobLabNetラウンドロビン研究「たばこ葉中グリセロール類の分析」 [3] に続き、市販されている国産たばこ8銘柄のグリセロール類3種 (propylene glycol, glycerol, triethylene glycol) を測定し、銘柄間での比較・検討を行った。

## B 方法

### (1) 国産たばこ銘柄の葉中グリセロール類測定法の確立

国産たばこ銘柄の葉中グリセロール類測定法の確立は、本報告書掲載の「WHO TobLabNetラウンドロビン研究「たばこ葉中グリセロール類の分析」」の手法 [3] を一部改良して行った。また、たばこ試料は、国産たばこであるMEVIUS ORIGINAL (タール10 mg/ニコチン0.8 mg, MEVIUS 10) と標準たばこ3銘柄 (米国ケンタッキー州立大学製 1R5F, 3R4F 及び CORESTA MONITOR No. 6 (CM6)) の合計4試料を用いた。

### (2) たばこ試料

たばこ試料は、2012年度国内販売たばこ銘柄売上上位20銘柄のうち国産たばこ8銘柄を対象とした (表1)。

### (3) たばこ葉中グリセロール類の測定

たばこ葉の恒温・恒湿化は、ISO3402 (1999) に準じ [4]、グリセロール類の測定は上記手法に従って行った。

## C 結果及び考察

### 国産たばこ銘柄の葉中グリセロール類測定法の確立

たばこ葉中グリセロール類の抽出は以下の手順で行った。たばこ葉はたばこ本体から分離し、ミル付きミキサー (TWINBIRD KC-4508型, ツインバード工業製) で1分間粉碎した。粉碎したたばこ葉すべては恒温・恒湿化 (温度 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 相

対湿度 $60 \pm 3\%$ , 最低48時間-最大10日間) した。恒温・恒湿化したたばこ葉 (1, 2及び4 g) は100 mL容共栓付三角フラスコに入れ、抽出溶液 (内部標準試料1,3-butanediol (2.0007 g/mL) 含メタノール溶液, 25及び50 mL) で振盪抽出 (200 rpm, 60 min) に供した。振盪後、抽出溶液は室温で30 min静置し、上清の清澄を促した。さらに浮遊物を除くため、上記上清10 mLは15 mL容プラスチック試験に入れ、遠心分離 (3,000 rpm, 20 min) した。得られた溶液1 mLは分析測定用試料バイアルに移し、ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) に供した (表2)。

グリセロール類の測定手法の確立は、初めに必要なたばこ葉量及び抽出溶液量を国産たばこ銘柄 (MEVIUS 10) を用いて検討した。たばこ葉量は1, 2及び4 gを、抽出溶液量は25及び50 mLを選択した。その結果 (表3) として、propylene glycolは抽出溶液量が50 mLの場合、たばこ葉量が4, 2, 1 g (試料A, B, C) と低下しても濃度 (たばこ葉g当たりの含有量, mg/g, CTF) は2.78, 2.66, 2.56となり、また抽出溶液量が25 mLでは2.75 mg/g, CTF (たばこ葉量2 g, 試料D), 2.82 mg/g, CTF (たばこ葉量1 g, 試料E) であった。glycerolは、試料A, B, C, D及びEの順で濃度 (mg/g, CTF) が15.53, 15.95, 定量下限値以下 (<LOQ), 15.47, 17.39となった。以上から、今回検討した抽出条件のうちでたばこ葉量及び抽出溶液量が共に最も少ない条件 (1 g/25 mL) において、WHO TobLabNetラウンドロビン研究で採用している手法 (4 g/50 mL) と同等の測定結果を得られた。さらに、標準たばこ3銘柄を用いて確立した本手法をラウンドロビン研究で採用している手法 (4 g/50 mL) と比較した (表4)。1R5F及び3R4Fではpropylene glycol及びglycerolの濃度は手法による差はなく、CM6では、本手法 (1 g/25 mL) がグリセロール類総てを定量下限値以下かもしくは未検出であったのに対し、ラウンドロビン採用手法 (4 g/50 mL) も