

Fig. 2. Flow chart of the analytical procedure for simultaneous determination of volatile organic compounds and carbonyls in mainstream electric cigarette smoke.

溶液を 200 μL 添加する。5 分間静置した後、エタノールで 5 mL に定容してからオートサンプラーのバイアルに移し、HPLC で分析する。

VOC を分析する際には、1 mL を 1.5 mL オートサンプラーバイアルに分取し、10 mg/mL ベンゼン- d_6 溶液 (内部標準溶液) を 10 μL 添加した後、GC/MS で分析を行う。

実験に使用した電子タバコは国内で使用されている 10 銘柄で、全て未使用の新品を使用した。リキッドはニコチンを含む製品を用い、リキッドが付属している製品は付属のリキッドを使用し、付属していない場合は同一のリキッド (アップルフレーバー) を用いた。被験用の 10 銘柄の電子タバコの概要を Table 1 に示す。なお、電圧、抵抗は実測値である。

Table 1. Outline of the e-cigarettes tested in this study.

Bland	Liquid	Voltage (v)	Resistance (Ω)	VA
A	apple	4.8	2.2	11
B	apple	3.7	2.6	5.1
C	apple	4.0	2.0	8.1
D	apple	3.7	2.5	5.5
E	cola	3.8	2.8	5.3
F	tobacco	5.1	2.3	12
G	apple	5.1	2.1	12
H	apple	3.9	1.6	9.9
I	apple	4.9	1.6	14
J	apple	4.2	1.9	10

C. 結果と考察

C.1. 電子タバコから発生する化学物質

電子タバコミストを固体捕集 / 二段階溶出法で分析したところ、一部の製品から、各種のカルボニル化合物が検出された。Fig. 3 に粒子状物質とガス状物質を分析した時の HPLC クロマトグラムを示す。

粒子状物質としてホルムアルデヒド (FA)、グリオキサール (GO)、メチルグリオキサール (MGO) が、ガス状物質としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒド (AA)、アセトン (AC)、アクロレイン (ACR)、プロパナル (PA) が多く検出された。ホルムアルデヒドは約 80%、アセトアルデヒドは 100%、アクロレインは 100% がガス中に存在したが、グリオキサールは約 90%、メチルグリオキサールは約 70% が粒子中に存在した。

電子タバコのリキッドの主成分は炭素数が 3 のグリセロール、プロピレングリコールである。電子タバコはこれらの成分からなるリキッドをニクロム線等で加熱して霧状の煙を発生させるものである。これらのリキッド成分が Scheme 1 の反応により、プロピレングリコールからメチルグリオキサール、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドが、グリセロールからアクロレインなどの炭素数が 3 以下のカルボニル化合物が生成することが考えられる。

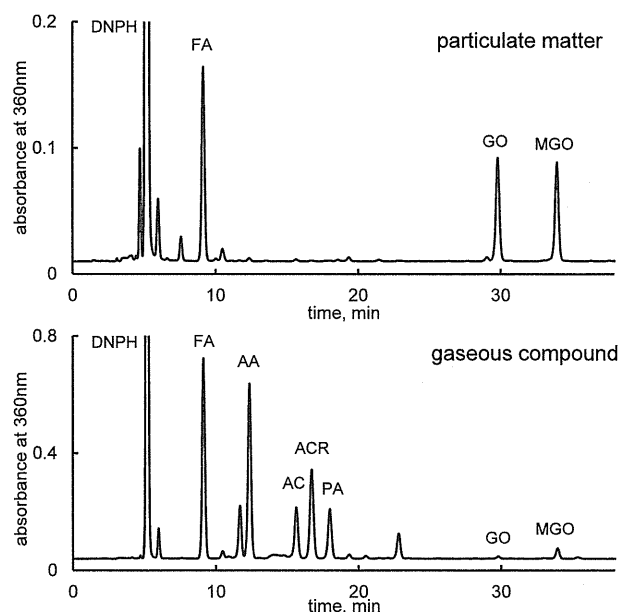
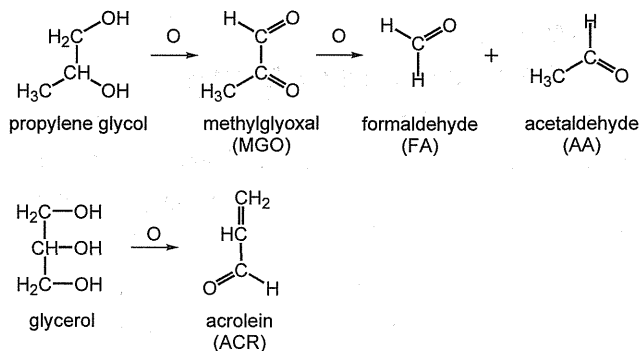


Fig. 3. Representative chromatographic profiles of carbonyl compounds in particulate matter (upper panel) and gaseous compound (lower panel) generated from E-cigarette. FA, formaldehyde; AA, acetaldehyde; AC, acetone; ACR, acrolein; PA, propanal; GO, glyoxal; MGO, methylglyoxal.



Scheme 1. The oxidation reaction of propylene glycol and glycerol to form various aldehydes.

ガス状物質に含まれる VOCs の GC/MS クロマトグラムを Fig. 4 に示す。電子タバコから発生するガス状物質の VOC として、酢酸エチル (EA), 酪酸エチル (EB), バナナオイル (BO), アップルオイル (AO) など多くのエステル類が検出された。これらの物質は香料としてリキッドに含有していることが推測される。

C.2. パフ回数による発生量の変化

電子タバコを一服 (パフ) する毎に, CX-572 カートリッジを交換し, 30 パフまで連続して捕集を行った。自動喫煙装置は Canadian Intense 法に従い吸煙量 (パフ容量) は 55 mL, 吸煙時間は 2 秒に設定した。使用した電子タバコは銘柄 A であり, リキッドはアップルフレーバーを使用した。

Fig. 5 にパフ間隔を 15 秒, 30 秒, 60 秒に設定した時のパフ回数によるガス状カルボニル化合物発生量の

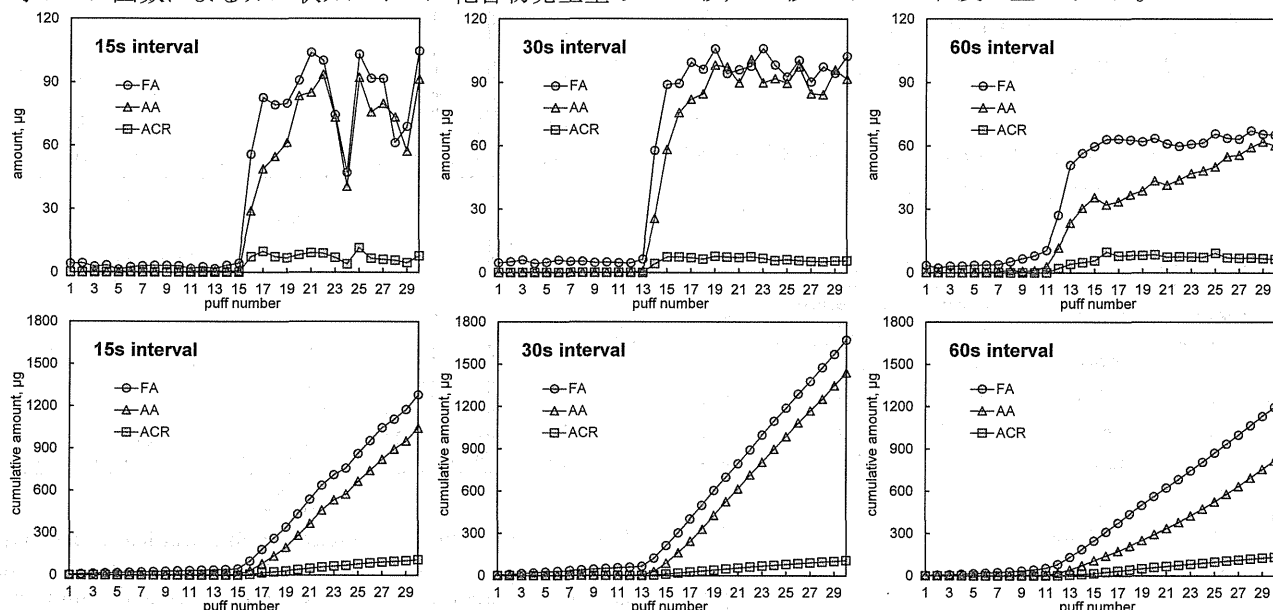


Fig. 5. Changes in the generation amount of carbonyl compounds from E-cigarette with puff number. Upper panels indicate each puff data and lower panels indicate cumulative puff data.

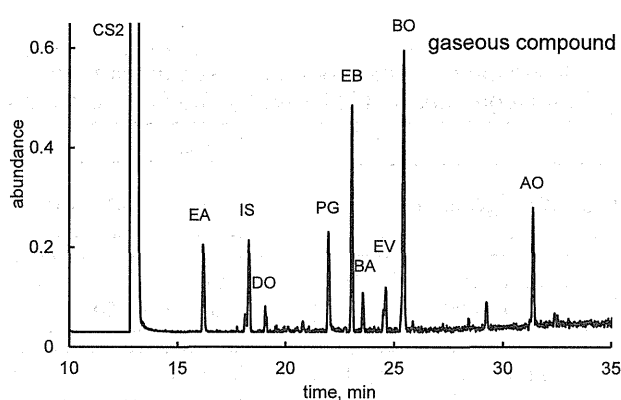


Fig. 4. Representative chromatographic profiles of VOCs in gaseous compound generated from E-cigarette. EA, ethyl acetate; DO, 1,3-dioxane; PG, propylene glycol; EB, ethyl butyrate; BA, butyl acetate; EV, ethyl isovalerate; BO, isoamyl isovalerate (banana oil); AO, isoamyl acetate (apple oil).

変化を示す。上図はパフ毎の発生量, 下図は累積発生量である。一定のパフ数を超えると急激に発生量が増加した。すなわち, パフ間隔が 15 秒の時は, パフ回数 15 回目, 30 秒間隔の時は 13 回目, 60 秒間隔の時は 11 回目から発生量が急増することが認められた。

電子タバコからカルボニル化合物が発生するメカニズムとして, リキッド成分がアトマイザーにより過度に加熱されることにより酸化することが報告されている。従って, パフ間隔が長い程冷却時間が長くなり, リキッドが加熱され難いはずであるが, パフ間隔が長い程, 少ないパフ回数でカルボニル化合物発生量が急増する結果になった。ただし, パフ間隔が 60 秒の時の発生量は 15 秒, 30 秒の時の 2/3 程度の量であった。

C.2. 長時間吸煙時における発生量の変化

自動喫煙装置を連続して 150 パフ、75 分間稼働させ、15 パフ (1 スモーク) 毎に Cambridge filter pad および CX-572 カートリッジに捕集し、カルボニル化合物発生量の変化を測定した。なお、自動喫煙装置は Canadian Intense 法に従い、パフ容量は 55 mL、吸煙時間は 2 秒、パフ間隔は 30 秒に設定した。被験電子タバコは銘柄 A, B, C にリキッドを 90% 程度充填したものを使用した。また、スモークの前後で電子タバコ本体の重量を量ることで、電子タバコミストの発生量も測定した。Fig. 6 に 15 パフ (1 スモーク) 毎におけるカルボニル化合物の変化を示す。

A 銘柄の電子タバコでは、最初のスモークではカルボニル化合物の発生量が少ないが、2 回以降急増した。1 回目と 2 回目のデータは、それぞれ同じ A 銘柄である Fig. 5 のパフ間隔 30 秒の 15 パフと 30 パフの積算値とよく一致している。また、ミストの発生量は、10 スモークまではほぼ一定 (約 50 mg) を示し、B, C 銘柄と比較すると少ないが、カルボニル化合物の発生量は一番多かった。

B 銘柄の電子タバコでは、3 回目のスモークまでカルボニル化合物の発生量は非常に少なかったが、4 回目から急激に増加した。ミストの発生量は A 銘柄と比較して非常に多く 2 回目、3 回目で最大の発生量であったが、5 回目以降は急激に減少した。リキッドの残量がほぼ無くなったため、いわゆる“空焚き”の状態になったと思われるが、この状態ではカルボニル化合物の発生量は非常に少なくなった。この他、カルボニル化合物の発生量のパターンがミストの発生量のパターンより後ろにシフトしていることが認められた。

C 銘柄の電子タバコでは、8 回目のスモークまで、粒子中にもガス中にもカルボニル化合物がほとんど発生しなかった。また、B 銘柄と同様にミストの発生量が 5 回目以降は急激に減少した。5 回目以降は、ほぼ“空焚き”に近い状態になったわけであるが、9 回目以降カルボニル化合物の発生量が増加している。リキッドの残量がほぼ無くなった B 銘柄の場合と異なり、若干リキッドの残量があったため、リキッドの“空焚きに近い”加熱によりカルボニル化合物の発生量が増加したことが推測される。

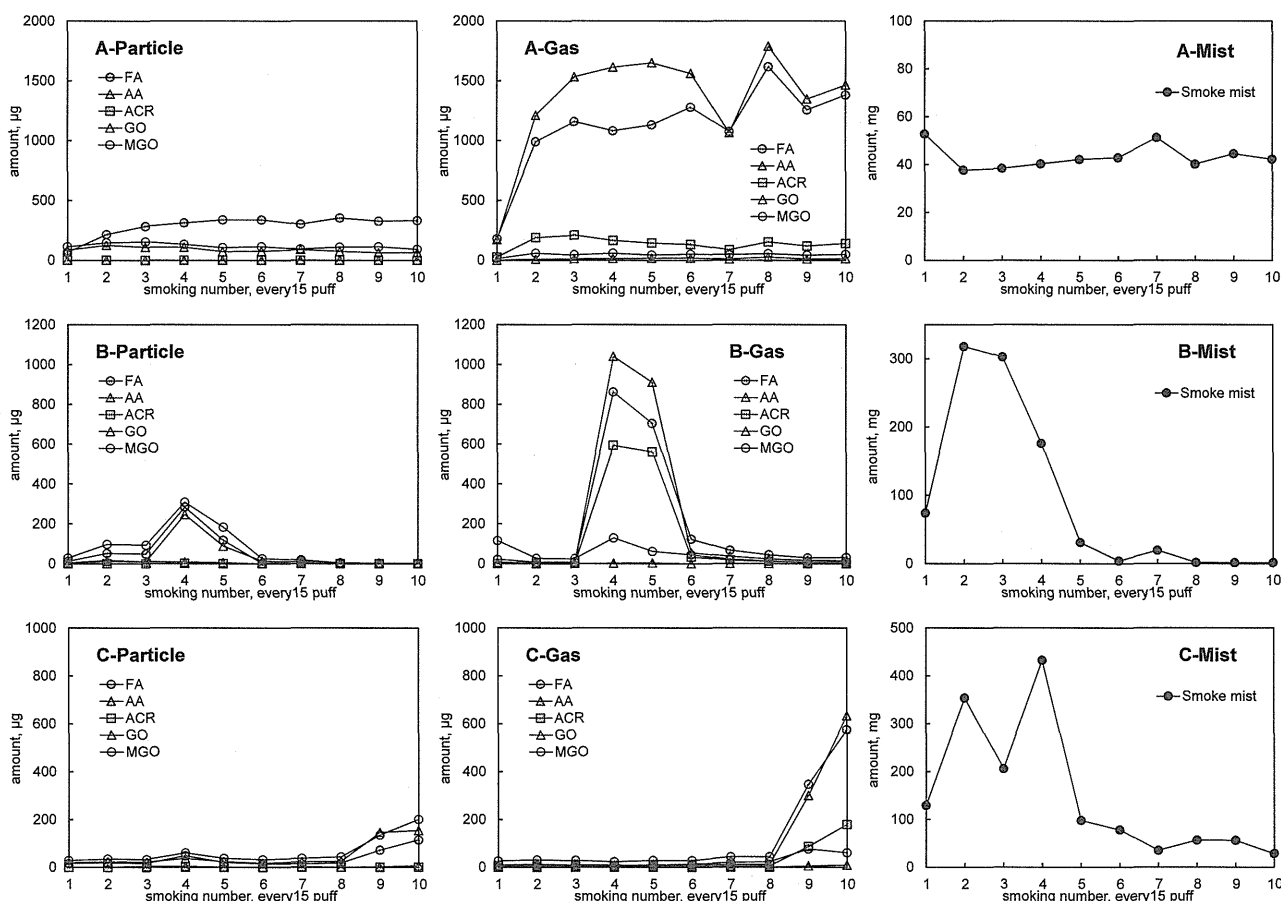


Fig. 6. Changes in the generation amount of carbonyl compounds from E-cigarette with smoking number.

C.3. ミスト発生量とカルボニル化合物発生量の関係

Fig. 6 の結果から電子タバコミストの発生量が多いからと言って、必ずしもカルボニル化合物の発生量が多くなるとは限らない。各種の電子タバコを 30 パフ連続捕集した時の 1 パフあたりの電子タバコミストと総カルボニル化合物発生量の関係を Fig. 7 に示す。

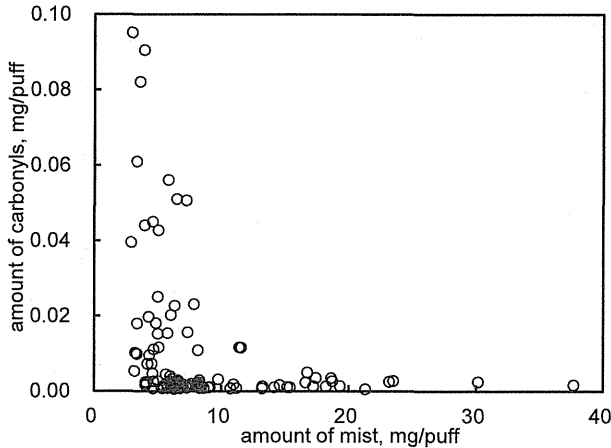


Fig. 7. Relationship between mist generation and carbonyl generation.

電子タバコミストの発生量が少ない方がカルボニル化合物の発生量が多くなる傾向が認められた。特に、ミスト発生量が 12 mg/puff を超えると、カルボニル化合物はほとんど発生しなかった。

C.4. カルボニル化合物発生量と印加電圧の関係

銘柄 D のアトマイザーに、他の電圧を変化させることが可能な電源装置を接続し、印加電圧と発生するミスト、カルボニル化合物の関係を検討した。なお、銘柄 D の電子タバコには 3.66 V の電源装置が付属していた。自動喫煙装置は Canadian Intense 法に従い、パフ容量 55 mL、吸煙時間 2 秒、パフ間隔 30 秒で捕集を行い、設定した電圧毎に 30 パフ捕集を行った。

Fig. 8 に電圧とミスト量、総カルボニル化合物量の関係を示す。4V 以下の時は、カルボニル化合物はほとんど発生しないが 4V を超えると急激に発生量が増加した。太田ら[7]は、コイル状にしたニクロム線にプロピレングリコールを塗布し電圧を印可することで、カルボニル化合物の発生を検討しているが、やはり 4V 付近から急激に発生することを報告している。一方、ミストの発生量は、電圧の上昇に伴い増加し、3.2 V の時は 140 mg を示し、4.4 V の時は 260 mg と 2 倍程度になったが 4.8 V では 250 mg と若干減少した。

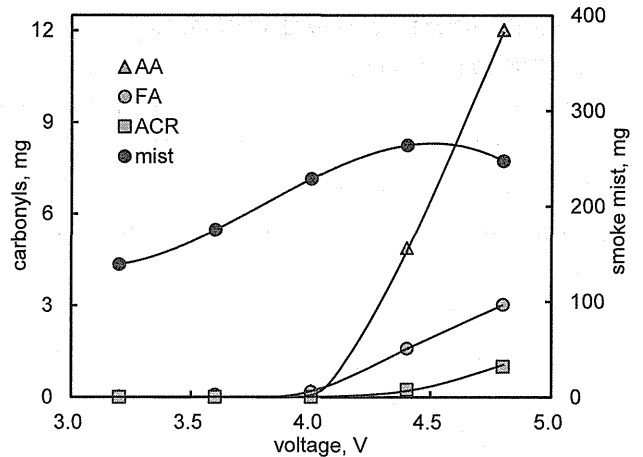


Fig. 8. Changes in generation amount of carbonyl compounds from electronic cigarette with applied voltage to a heater coil in the atomizer.

C.5. 9 銘柄の電子タバコから発生したカルボニル化合物量

前述したように電子タバコから発生する化学物質量は一定ではなく、パフ回数によって大きく変化した。また、同一条件で、同一の電子タバコを測定した場合でも、測定値が変動した。したがって、個々の電子タバコから発生する化学物質量を定量的に評価することは困難であるが、Fig. 5 と Fig. 6 の結果を考慮して、1 本の電子タバコに対し 30 パフを 1 スモキングとして、5 本測定することにより発生量を比較検討した。

自動喫煙装置は Canadian Intense 法に従い、パフ容量は 55 mL、吸煙時間は 2 秒、パフ間隔は 30 秒に設定した。被験電子タバコは銘柄 B, C, D, E, F, G, H, I, J の 9 種類で、各銘柄 5 本 (試料番号 1~5) ずつ用意し、リキッドを毎回 90% 程度に充填して、1 本当たり 30 パフの捕集を行った。測定は、1 本につき 3 回、2~3 日間放置してから測定を行った。

Fig. 9 に各銘柄 5 本の電子タバコから発生したホルムアルデヒド、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および電子タバコミストの量を示す。

銘柄 B, C, D, E の電子タバコからは比較的高濃度のカルボニル化合物が発生したが、F, G, H, I, J は発生量が少なかった。カルボニル化合物発生量多い電子タバコは、同一製品間のバラツキ、測定回数間のバラツキが大きい。例えば、銘柄 C の場合、試料番号 3 からの発生量が際立って高く、ホルムアルデヒド発生量は、一回目の測定では 2400 μg であったが、二回目は 800 μg 、三回目の測定では 190 μg である。また、

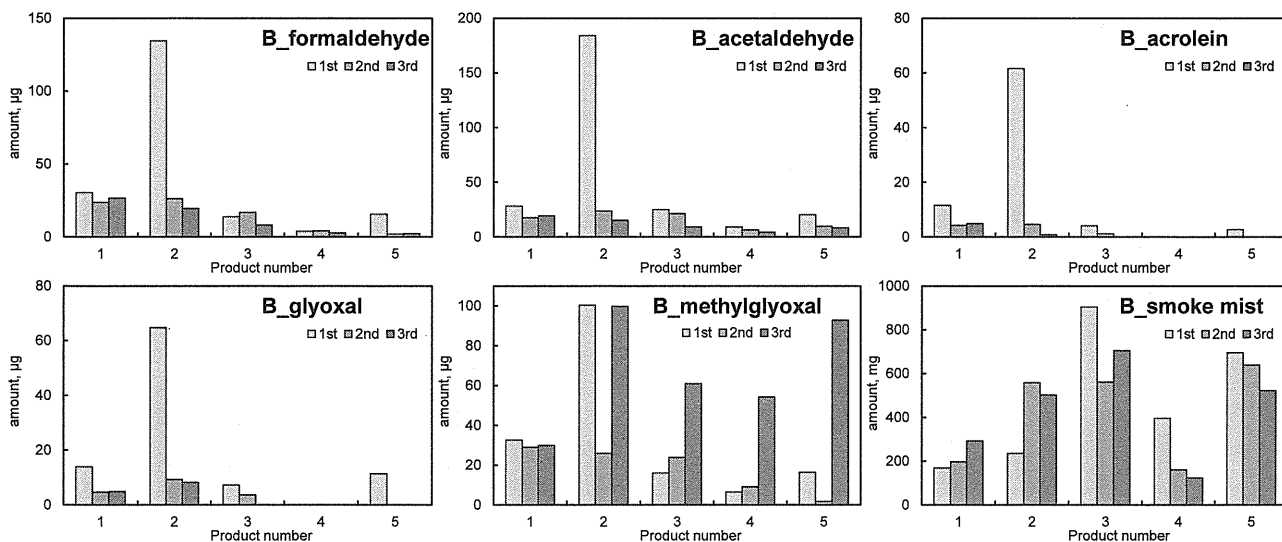


Fig. 9-B. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from B brand of electronic cigarette.

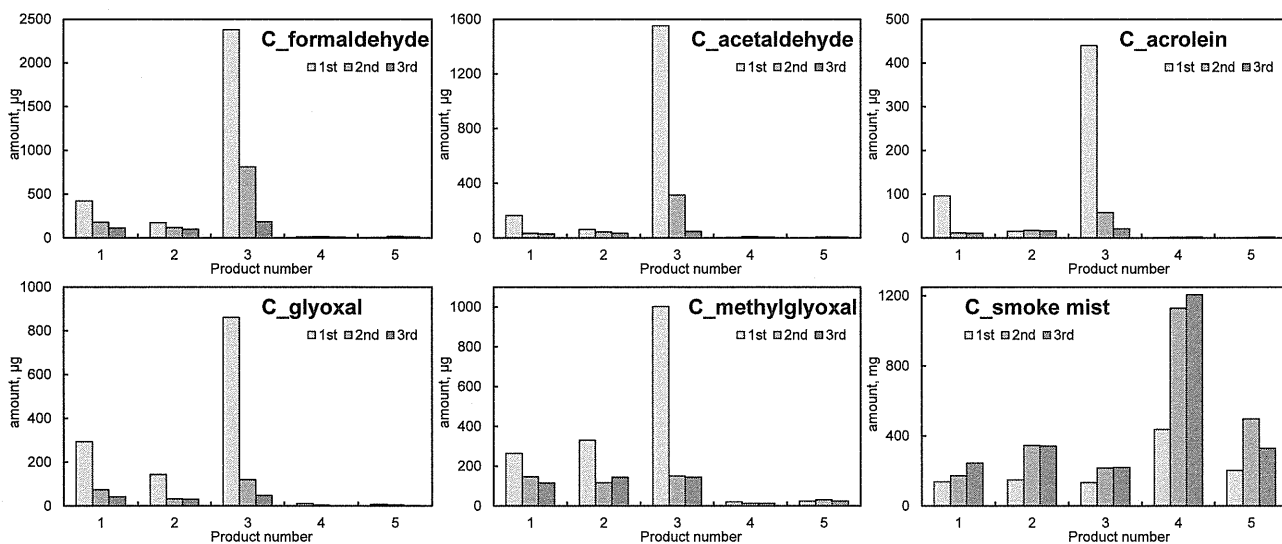


Fig. 9-C. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from C brand of electronic cigarette.

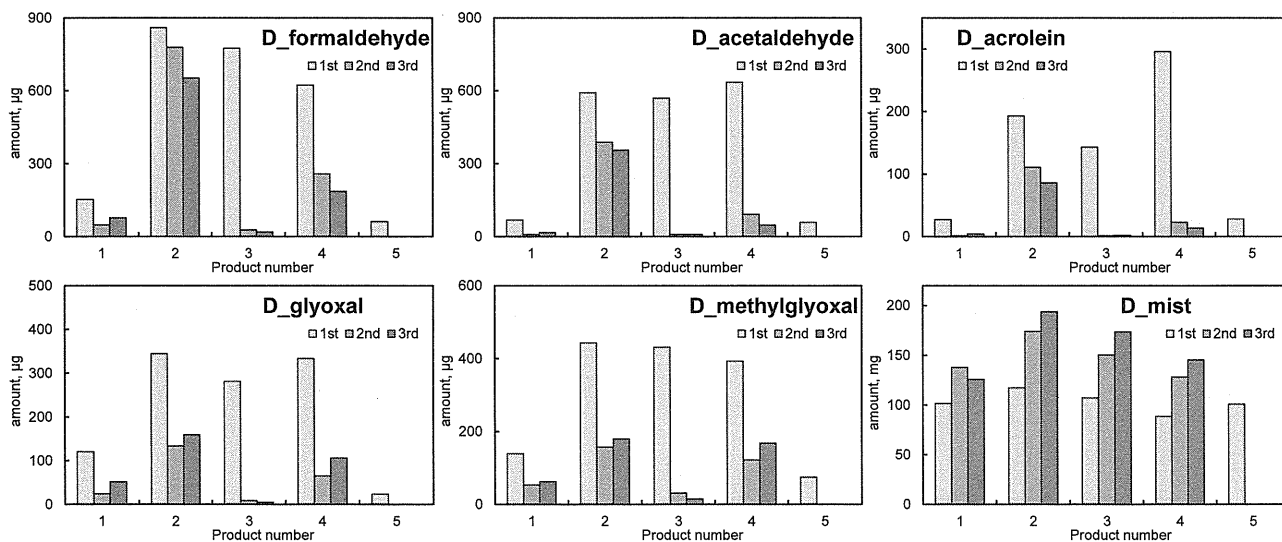


Fig. 9-D. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from D brand of electronic cigarette.

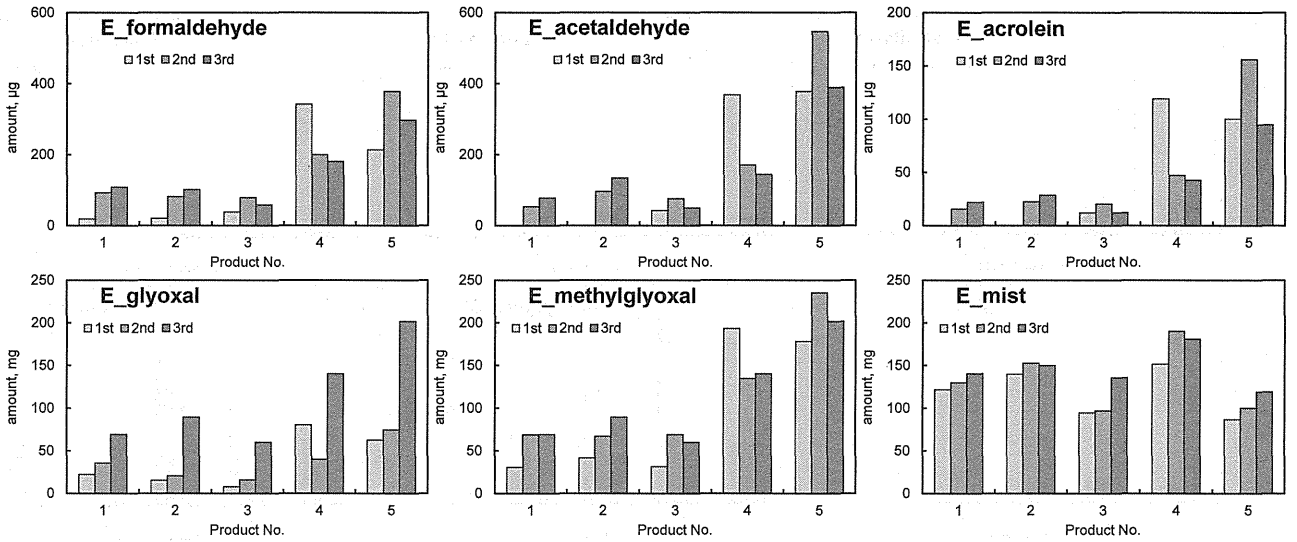


Fig. 9-E. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from E brand of electronic cigarette.

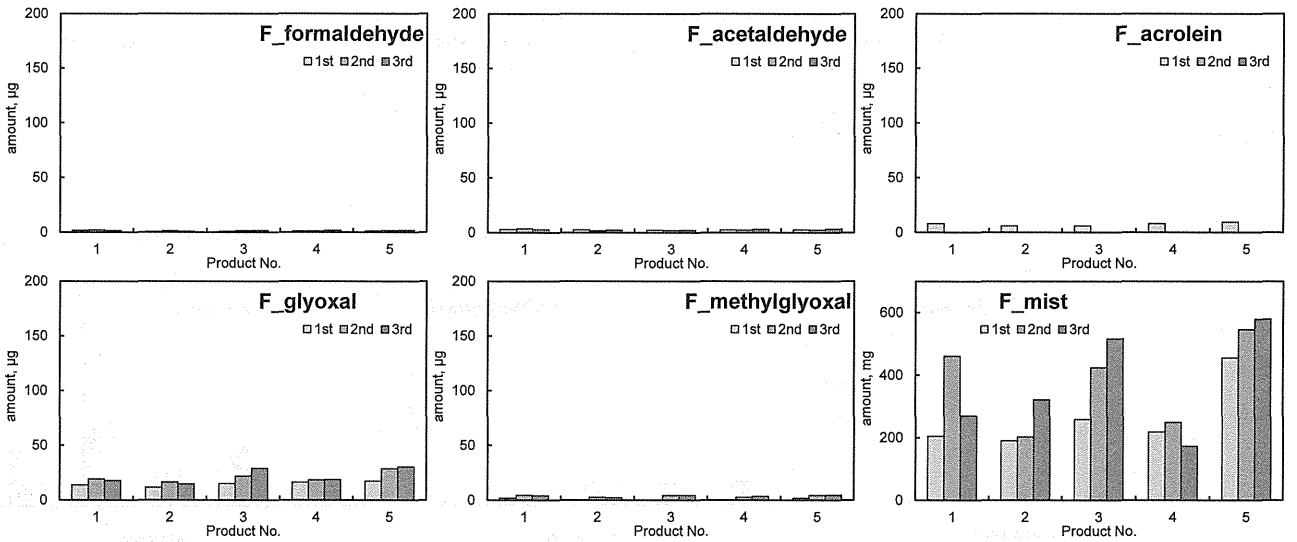


Fig. 9-F. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from F brand of electronic cigarette.

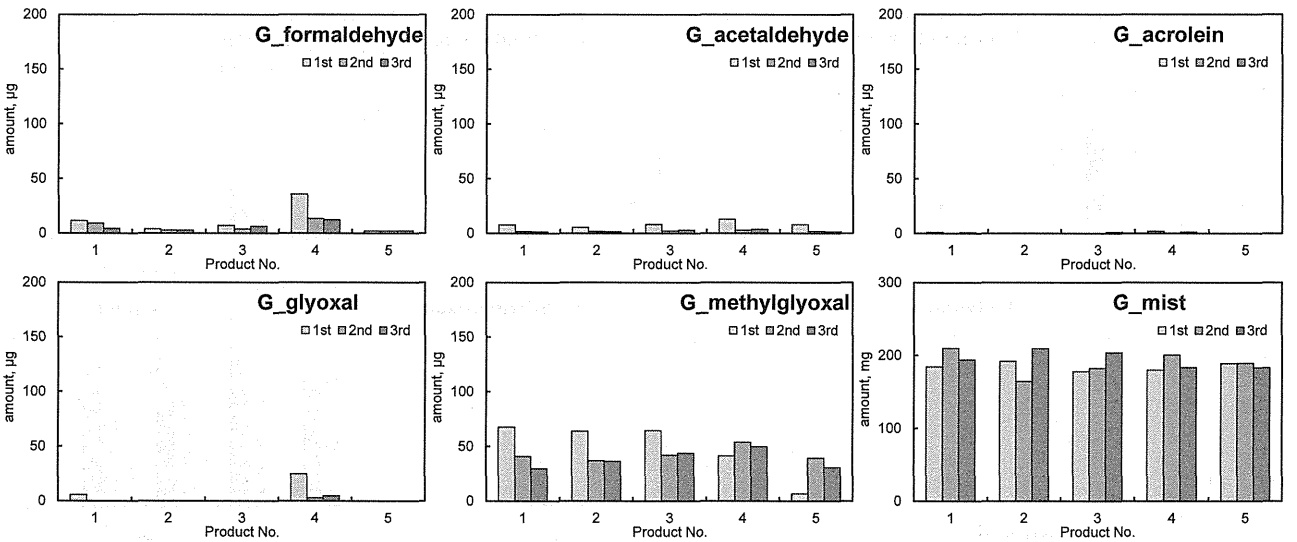


Fig. 9-G. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from G brand of electronic cigarette.

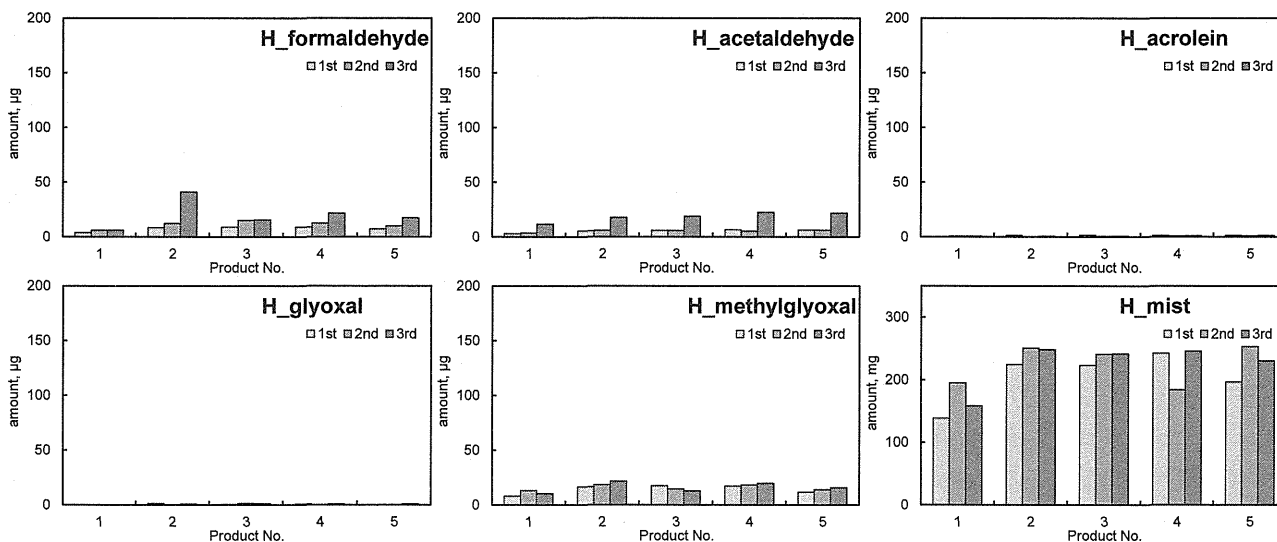


Fig. 9-H. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from H brand of electronic cigarette.

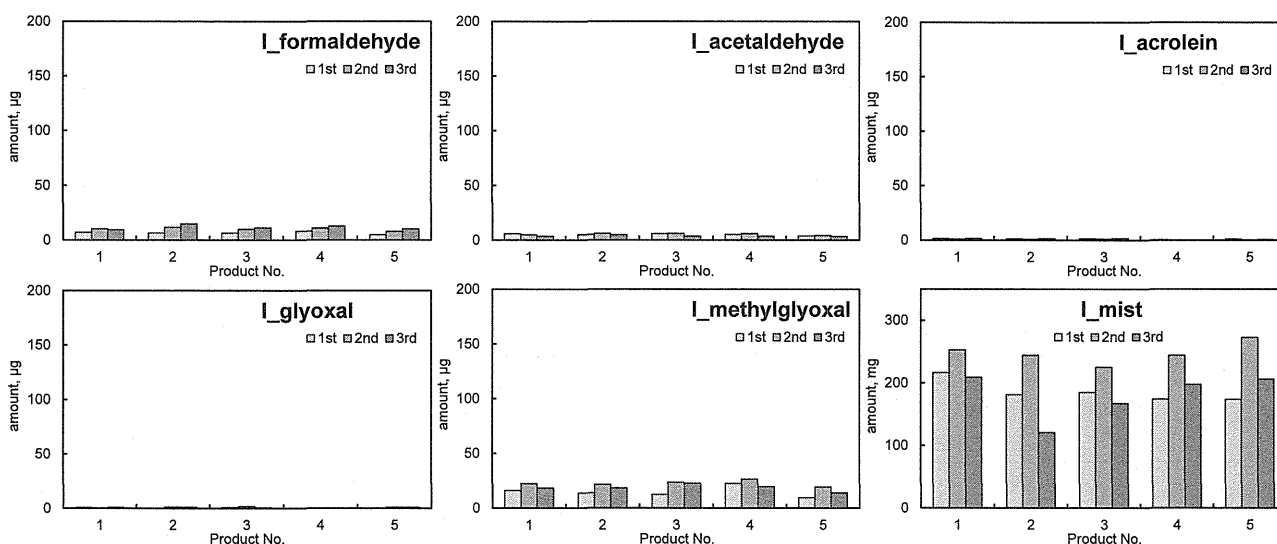


Fig. 9-I. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from I brand of electronic cigarette.

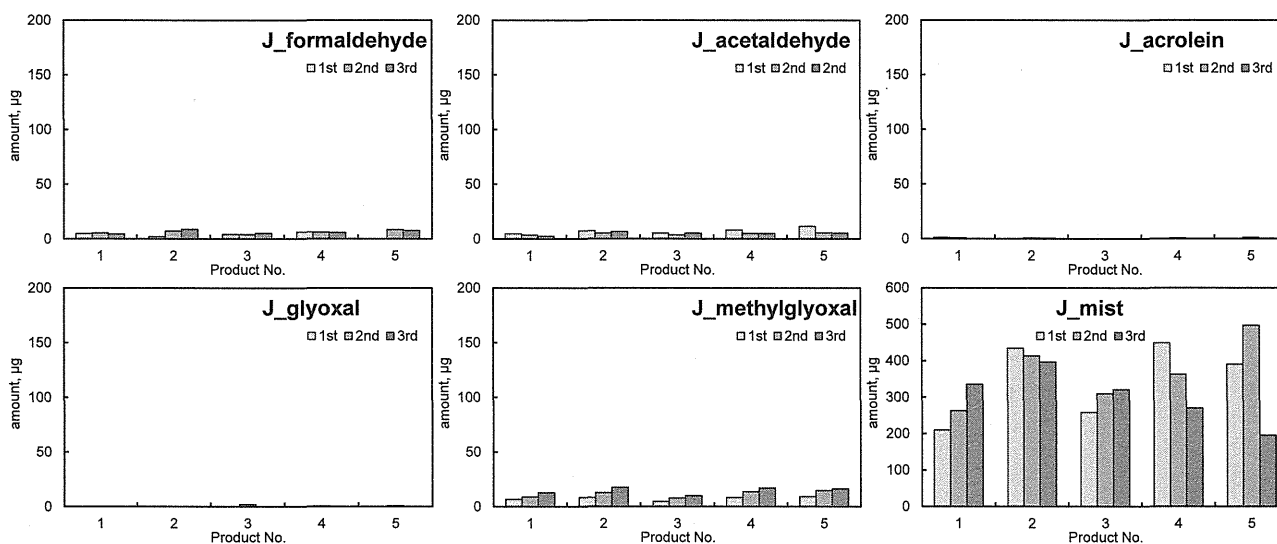


Fig. 9J. Amounts of various aldehydes and smoke mist generated from J brand of electronic cigarette.

試料番号 4 と 5 が他のものより発生量が非常に少なかった。一方、全体的に発生量が少なかった銘柄 F と G を比較すると、F はグリオキサールの発生量が多く、逆に G はメチルグリオキサールの発生量が多かった。メチルグリオキサールはプロピレングリコールが酸化して生成することが推測される (Scheme 1)。F は他の製品と異なるリキッドを使用した。このリキッドはプロピレングリコールの含有量が少なかったことが推測される。この他、カルボニル化合物の発生量が多い電子タバコ (B, C, D) はミスト発生量のバラツキが大きく、カルボニル化合物の発生量が少ない電子タバコ (G, H, I) はミスト発生量のバラツキが小さい傾向が確認された。

9 銘柄の電子タバコを 5 本ずつ、3 回に分けて測定したときの平均値 (上段) 最小値 (下段左) 最大値 (下段右) を Table 2 に示す。なお、自動喫煙装置はパフ容量 55 mL, 吸煙時間 2 秒, パフ間隔 30 秒に設定し、電子タバコ一本当たり、30 パフ捕集を行った。また、通常のタバコと比較するため、分析値は 10 puff 相当に換算してある。Table 2 に示すように、各銘柄ごとに発生

するカルボニル化合物量は大きく変動した。全ての測定値の中で最大濃度は、ホルムアルデヒド 790 μg , アセトアルデヒドは 520 μg , アセトン 64 μg , アクロレイン 150 μg , プロパナール 89 μg , ブタナール 44 μg , グリオキサール 290 μg , メチルグリオキサール 330 μg であった。参考として標準タバコ 3R4F (Kentucky Reference Cigarettes) の主流煙の分析値[12]を Table 2 の最下段に記した。

標準タバコ 3R4F から発生した総カルボニル化合物量は 2800 μg であり、電子タバコから発生した総カルボニル化合物量より多い。しかし、グリオキサールとメチルグリオキサールは通常のタバコからはほとんど発生せず、電子タバコ特有の物質である。また、ホルムアルデヒドの発生量は、平均値で比較した場合、銘柄 C と D が標準タバコ 3R4F より多くなったが、グリオキサール、メチルグリオキサールを除き、他のカルボニル化合物は電子タバコの方が低い値であった。しかし、C 銘柄の試料番号 1 から発生したホルムアルデヒドの最大値は 790 μg であり、標準タバコ 3R4F の 10 倍程度高い値を示した。

Table 2. Amounts ($\mu\text{g}/10$ puff) of major carbonyl compounds generated from 13 brands of Japanese e-cigarettes. Smoking machine was performed at 30 puffs and amounts were converted into 10 puff values. The upper line indicates the mean value and the lower line indicates the minimum – maximum values.

Product	voltage V	Smoke (mg/10puff)	FA ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	AA ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	AC ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	ACR ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	PA ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	BA ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	GO ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	MGO ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)	T-Carb ($\mu\text{g}/10\text{puff}$)
B	3.70	150 41 - 300	7.4 0.7 - 45	8.9 1.5 - 61	3.1 0.6 - 2.0	2.1 n.d. - 20	1.4 n.d. - 21	1.0 n.d. - 9.4	2.9 n.d. - 22	13 0.6 - 34	40 5.3 - 230
C	3.97	130 44 - 400	100 2.3 - 790	52 n.d. - 520	5.6 n.d. - 52	16 n.d. - 150	5.2 n.d. - 32	1.5 n.d. - 12	37 0.5 - 290	57 4.4 - 330	280 12 - 2100
D	3.66	43 30 - 58	120 6.3 - 290	73 2.8 - 210	13 n.d. - 60	24 n.d. - 99	18 0.5 - 89	7.3 n.d. - 44	43 1.6 - 120	58 5.0 - 150	350 20 - 950
E	3.77	44 29 - 63	49 6.3 - 126	56 n.d. - 180	15 n.d. - 64	15 n.d. - 52	20 n.d. - 76	1.2 n.d. - 5.7	11 3 - 27	36 10 - 78	200 24 - 610
F	5.12	110 58 - 190	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6.5 3.9 - 10	n.d.	9.8 6.9 - 13
G	5.12	63 55 - 70	2.7 n.d. - 12	1.4 n.d. - 4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	14 2 - 23	20 6 - 40
H	3.93	73 46 - 84	3.3 1.3 - 5.0	1.8 1.0 - 2.1	1.8 0.5 - 3.2	n.d.	1.5 0.5 - 4.4	n.d.	n.d.	5.1 2.7 - 6.2	13 7.0 - 19
I	4.85	69 40 - 91	3.2 1.1 - 2.1	1.6 n.d. - 3.2	1.4 n.d. - 2.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6.2 3.2 - 8.8	12 8.0 - 16
J	4.22	110 65 - 160	1.9 n.d. - 2.9	1.9 n.d. - 3.8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3.8 1.5 - 5.9	8.6 2.6 - 13
3R4F			76	1600	600	160	120	72	n.a.	n.a.	2800

n.a., not available; n.d., not detected.

D. 結論

最近急速に普及している第二世代の電子タバコに関して、発生する化学物質を固体捕集 / 二段階溶出法で分析することにより、発生量や発生挙動を検討した。

その結果、一部の電子タバコミストから、炭素数が3以下のカルボニル化合物が検出された。粒子状物質としてホルムアルデヒド、グリオキサール、メチルグリオキサールが、ガス状物質としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトン、アクロレイン、プロパナールが多く検出された。ホルムアルデヒドは約80%、アセトアルデヒドは100%、アクロレインは100%がガス中に存在したが、グリオキサールは約90%、メチルグリオキサールは約70%が粒子中に存在した。

カルボニル化合物の発生メカニズムとして、電子タバコのリキッド成分であるグリセロール、プロピレングリコールが熱分解して生成したことが推測されるが、特に、メチルグリオキサールは濃度差があるものの10銘柄全てから検出された。電子タバコはリキッドを電熱コイルで加熱してミストを発生させる器具であることから、印加電圧の上昇に伴いカルボニル化合物の発生量も増加した。しかし、最高電圧である5.1Vでもカルボニル化合物をほとんど発生しない製品も存在した。

今回測定した10銘柄の電子タバコから発生したカルボニル化合物量は、通常のタバコと平均値で比較すると、非常に低かった。しかし、通常のタバコと異なり発生量のバラツキが非常に大きく、ホルムアルデヒド発生量が通常のタバコの10倍に達する場合もあった。また、グリオキサールとメチルグリオキサールは通常のタバコ主流煙にはほとんど含まれておらず、電子タバコ特有の物質である。これらの物質の有害性に関して精査することが必要である。

E. 文献

- [1] Who Technical Report #955: The Scientific Basis of Tobacco Product Regulation: Third Report of a Who Study Group, World Health Organization, 2010.
- [2] H.-J. Kim, H.-S. Shin, *Journal of Chromatography A* 1291 (2013) 48.
- [3] R.Z. Behar, B. Davis, Y. Wang, V. Bahl, S. Lin, P. Talbot, *Toxicology in Vitro* 28 (2014) 198.
- [4] V. Bahl, S. Lin, N. Xu, B. Davis, Y.-h. Wang, P. Talbot, *Reproductive Toxicology* 34 (2012) 529.
- [5] M.E. Hadwiger, M.L. Trehy, W. Ye, T. Moore, J. Allgire, B. Westenberger, *Journal of Chromatography A* 1217 (2010) 7547.
- [6] M.L. Goniewicz, J. Knysak, M. Gawron, L. Kosmider, A. Sobczak, J. Kurek, A. Prokopowicz, M. Jablonska-Czapla, C. Rosik-Dulewska, C. Havel, P. Jacob, 3rd, N. Benowitz, *Tob Control* 23 (2014) 133.
- [7] 太田和司, 内山茂久, 稲葉洋平, 中込秀樹, 樺田尚樹, *分析化学* 60 (2011) 791.
- [8] S. Uchiyama, Y. Inaba, N. Kunugita, *Journal of Chromatography A* 1217 (2010) 4383.
- [9] S. Uchiyama, K. Ohta, Y. Inaba, N. Kunugita, *Analytical Sciences* 29 (2013) 1219.
- [10] S. Uchiyama, T. Tomizawa, Y. Inaba, N. Kunugita, *Journal of Chromatography A* 1314 (2013) 31.
- [11] Health Canada (1999) Official method T-104, Determination of Selected Carbonyls in Mainstream Tobacco Smoke, Ottawa, Canada, December 1999.
- [12] CORESTA (2013) Recommended Method No. 74, Determination of selected carbonyls in mainstream cigarette smoke by high performance liquid chromatography (HPLC). Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco, March 2013. (second edition).

E. 本研究に関する研究発表

論文発表

- Uchiyama, S.; Tomizawa, T.; Tokoro, A.; Aoki, M.; Hishiki, M.; Yamada, T.; Tanaka, R.; Sakamoto, S.; Yoshida, S.; Bekki, K.; Inaba, Y.; Nakagome, H.; Kunugita, N. Gaseous chemical compounds in indoor and outdoor air of 602 houses throughout Japan in winter and summer. *Environmental Research* 2015, 137, 364-372.
- Bekki, K.; Uchiyama, S.; Ohta, K.; Inaba, Y.; Nakagome, H.; Kunugita, N. Carbonyl compounds generated from electronic cigarettes. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2014, 11, 11192-11200.
- 伊豆里奈; 内山茂久; 戸次加奈江; 稲葉洋平; 中込秀樹; 樺田尚樹 固体捕集管を用いた国産タバコ主流煙中の揮発性有機化合物, カルボニル化合物の同時捕集とGC/MS, HPLC分析 *分析化学* 2014, 63(11), 885-893.

富澤卓弥; 内山茂久; 稲葉洋平; 樺田尚樹; 太田敏博
イオン液体を脱離溶媒とするヘッドスペース GC/MS
法による空气中揮発性有機化合物の分析 分析化学,
2014, 63(9), 727-734.

吉田勤; 内山茂久; 武口裕; 宮本啓二; 宮田淳; 戸次加
奈江; 稲葉洋平; 中込秀樹; 樺田尚樹 拡散サンプラ
ーを用いた札幌市における屋内外のガス状化学物質の
実態調査 分析化学 2015, 64(1), 55-63.

坂元宏成, 内山茂久, 木原颯子, 都竹豊茂, 戸次加奈
恵, 稲葉洋平, 中込秀樹, 樺田尚樹 拡散サンプラ
ーを用いた千葉市周辺の住宅における室内外空気質の実態
調査 日本産業衛生学雑誌 2015, 印刷中.

学会発表

妹尾結衣; 内山茂久; 伊豆里奈; 太田和司; 戸次加奈
江; 稲葉洋平; 中込秀樹; 樺田尚樹 電子タバコから
発生するカルボニル化合物の分析-2 日本薬学会第
135 年会, 2015 年 3 月, 神戸

内山茂久; 妹尾結衣; 伊豆里奈; 戸次加奈江; 稲葉洋
平; 中込秀樹; 樺田尚樹 電子タバコから発生するカ
ルボニル化合物の分析-1 日本薬学会第 135 年会,
2015 年 3 月, 神戸

妹尾結衣; 内山茂久; 稲葉洋平; 樺田尚樹; 中込秀樹
電子タバコから発生する有害なアルデヒド類の分析
第 73 回日本公衆衛生学会, 2014 年 10 月, 宇都宮市

電子たばこ充填液のニコチン分析

担当責任者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院
担当責任者 戸次加奈江 国立保健医療科学院
担当責任者 内山 茂久 国立保健医療科学院
担当責任者 樺田 尚樹 国立保健医療科学院

研究要旨

電子たばこは充填液を電熱線で加熱し、ミストを発生させ、それを使用者が吸引するための製品である。海外では、充填液にニコチンを含有する製品が広く販売されている。一方、我が国ではニコチンを含む電子たばこは、2010年に厚生労働省が医薬品医療機器等法に違反してしまうと通知した。現在も我が国において電子たばこが継続的に販売されており、それに伴って電子たばこ充填液は様々な種類が販売されている。しかしながら、その充填液中ニコチン分析の報告は少ない。本研究では、充填液のニコチン前処理法を開発し、国内で販売される電子たばこ充填液 103 製品の分析を行なうことを目的とした。電子たばこ充填液中ニコチン分析法は固相抽出とガスクロマトグラフィー／質量分析装置を組み合わせで確立した。定量下限値は 100 ng/mL であり、検出下限値は 10 ng/mL であった。分析法の同時再現性 (n=5) は 5.1-7.9% であり、添加回収率は 88-110% と良好な結果が得られた。確立した電子たばこ充填液中ニコチン分析法を使用して、国内で流通する 103 製品についてニコチン分析結果は、本分析法の定量下限値以上 (100 ng/mL) の充填液が 48 製品となり、ほぼ半数の製品にニコチンが含有されることが分かった。また、2010年に国民生活センターが発表したニコチン下限値 1000 ng/mL 以上の充填液は 8 製品であった。最も高いニコチン量は、No. 103 の 15300 ng/mL であった。今回、分析した電子たばこ充填液はニコチンが含まれる製品が多く、医薬品医療機器等法に抵触する恐れがあると考えられた。また、ニコチンを含む電子たばこ充填液を電子たばこ製品で利用すると医療機器になると考えられるため、利用者、販売者ともに注意する必要がある。

A. 研究目的

電子たばこの報告書が、2014年10月にロシア、モスクワで開催された「たばこの規制に関する世界保健機関枠組条約の第6回の締約国会議 (Conference of the Parties: COP) で示された (1)。電子たばこは、充填液を電熱線で加熱し、ミストを発生させ、それを使用者が吸引するための製品である。我が国では、現在のところ家庭用品に分

類されている。充填液の主成分は、グリセロールとプロピレングリコールである。中にはグリセロールと香料が含まれない充填液もある。この電子たばこは、従来のたばこ製品（紙巻たばこ、葉巻、パイプ）のような形状をしているものもあるが、ペン型、ジッポライターなど様々な形をしている。バッテリー電圧と電圧可変装置及び噴霧器の種類によって、充填液を加熱しミストを発生する能

力にも差が生じる。その違いは、ニコチン含有の充填液を使用した場合にはニコチンの送達に影響を与え、毒性成分の発生にも影響すると考えられる。この電子たばこは我が国においても 2010 年に社会問題となった (2)。ニコチンを含有する充填液を使用した電子たばこ製品が販売され、健康影響も懸念され、さらに無承認無許可医薬品等の販売等として旧薬事法 (現「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律：医薬品医療機器等法」) に違反することが疑われた。これを踏まえ厚生労働省は、「ニコチンを含有する電子たばこに関する危害防止措置について (依頼) (薬食監麻発 1227 第 4 号)」を発売した。しかしながら、電子たばこの使用は、明らかに急拡大している。2014 年には世界で 465 ブランドが販売され、2013 年には ENDS の購入に 30 億米ドルが支払われた (1)。最終的に、売り上げは 2030 年までに 17 倍に増えると予想されている (1)。我が国においても電子たばこを取り扱う店舗が増え、さらにはインターネットを介した販売も普及するようになった。現在、電子たばこ充填液は、ニコチン 0% や 0 mg/mL 表示で販売され、民間の分析機関に依頼した結果を報告している。しかし、ながらその分析数は少なく、また定量下限値を 1 000 ng/mL に設定している。

電子たばこ充填液中のニコチン分析は、充填液を希釈し、高感度分析が可能な高速液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析装置 (LC/MS/MS) を利用する手法 (3)、ガスクロマトグラフィー/質量分析装置 (GC/MS) を使用する手法 (3) が行われている。我が国で販売される充填液はニコチン表示が 0% または 0 mg/mL であるため、電子たばこ充填液に含まれるプロピレングリコール、グリセロールを除去し、充填液を濃縮する前処理法の開発が必要となる。本研究では、充填液の前処理法を開発し、国内で販売される電子たばこ充填液 103 製品の分析を行なうことを目的とした。

B. 研究方法

1. 装置と試薬

GC/MS は、GC が Hewlett Packard 社製の HP6890, MS が Agilent Technologies 社製 MSD5973 を使用した。分離カラムは、HP-5MS (J&W Scientific 製, 30 m x 0.25 mm id, 0.1 μ m film) を用いた。オーブン温度は、50°C で 2 分間保持後、毎分 10°C で 180°C まで昇温後、毎分 20°C で 280°C まで昇温して 10 分間保持した。注入口温度は 250°C, インターフェイス温度は 250°C に設定した。キャリアガスにはヘリウムを用い、流量は 1 mL/min に設定した。試料はスプリットレスで 1 μ L 注入した。MS 部については、電子イオン化エネルギーは 70 eV, 測定する m/z は、ニコチンは 84, 161, ニコチン- d_3 は、87, 164 で、SIM モードで測定した。

試料調整用の超純水は Millipore 製 Milli-Q システムを使用した。ニコチン標準溶液は、シグマアルドリッチ社製を使用した。メタノールは LC/MS 用 (和光純薬製) を使用した。ニコチンの検量線範囲は、5-500 ng/mL とした。

2. 電子たばこ充填液試料

インターネット及び店舗で販売される電子たばこ充填液を 7 (A~G) 社で販売する種類の異なる製品を 103 種類購入し分析対象試料とした。なお、購入した充填液試料は分析時まで室内で保存した。

3. 前処理操作

電子たばこ充填液試料は、充填液 0.5 mL に Mili-Q 水 0.5 mL, ニコチン- d_3 液 1 mL (100 ng/mL) と 0.1% 酢酸 8 mL を添加して調整した。電子たばこ充填液中ニコチンの固相抽出には、Oasis-MCX (150 mg/6 mL; Waters 社製) を用いた。Oasis-MCX をメタノール 3 mL, Mili-Q 水 3 mL, 次に 1% 酢酸 3 mL でコンディショニングしたのちに、上述の試

料 10 mL を供した。次に、メタノール 3 mL で洗浄し、5%アンモニア含有メタノール 3 mL で溶出した。得られた溶出液は、遠心減圧濃縮装置で 30 μ L まで濃縮し、2-プロパノールで 1 mL に定容した。この試料液を GC/MS へ供した。

C. 結果及び考察

我が国で流通している電子たばこ充填液のニコチン表示は、0%か 0 mg/mL と記載されている。この充填液の約 90%はプロピレングリコール、グリセロールが占めており、これら成分とニコチンを分離する前処理法の確立が必要になる。ニコチンは、酸性条件下の場合、陽イオン交換体に保持される。この原理を利用して Oasis-MCX カラム処理を行った。なお、本研究の定量下限値は、100 ng/mL とした。検出下限値は 10 ng/mL であった。

電子たばこ充填液サンプル量の検討

Fig. 1 は、電子たばこ充填液のサンプル量を検討した結果を示す。電子たばこ充填液は、香料及び着色料が含まれる製品もあり、その成分が GC/MS 分析に影響を与える可能性もあるため、1 回の前処理で使用する充填液量を調査する必要がある。そこで、1 回に前処理を行なう充填液量を 0.05~1 mL の範囲で検討した。使用した電子たばこ充填液試料は、No. 25, 26, 29 と着色されている充填液を採用した。その結果、各試料とも 0.5~1 mL の範囲では、ニコチン量と試料液量との間に直線性が認められた。これらの結果は、電子たばこ充填液の前処理の液量は、0.05~1 mL で使用可能であるとした。よって、本研究では 0.5 mL を採用して電子たばこ充填液中のニコチン分析を行った。また、ニコチンの検量線範囲を越えた試料に関しては、充填液を希釈した後に、再分析を行った。

前処理法の同時再現性

次に、6 種類の電子たばこ充填液 (No. 1, 53, 77, 85, 102) のニコチン量 7 回繰り返し前処理を行い分析した結果を Table 2 に示した。各充填液量の濃度範囲は 490~8850 ng/mL であり、ばらつきは 5.1~7.9%と良好な結果が得られた。また、本分析法は、2010 年に国民生活センターが公表した分析法の定量下限値 1000 ng/mL から 100 ng/mL に低減したものの、安定した分析結果が得られた。

添加回収実験

Table 2 は電子たばこ充填液ニコチン終濃度が 200, 400, 1000 ng/mL になるようにニコチンを添加して、添加回収実験を行った結果を示した。4 種類の電子たばこ充填液に実施したところ、No. 25 の充填液が 118~123%と若干回収率が高いものの、それ以外の充填液では 88~110%と良好な結果が得られた。

電子たばこ充填液 103 製品の分析

確立した電子たばこ充填液中ニコチン分析法を使用して、国内で流通する 103 製品についてニコチン分析を行った (Fig. 2)。本分析法は、国民生活センターの定量下限値 1000 ng/mL から 100 ng/mL へ変更し分析を行った。その結果、本分析法の定量下限値以上 (100 ng/mL) の充填液は 48 製品となり、ほぼ半数の製品にニコチンが含有されることが分かった。Brand A の電子たばこ充填液は、24 製品中 2 製品にニコチンが含有されていた。このようにすべての製品を分析することでニコチンの含有が判明した。よって、電子たばこ充填液は、すべての製品についてニコチン分析の必要があると考えられる。また、2010 年に国民生活センターが発表したニコチン下限値 1000 ng/mL 以上の充填液は 8 製品であった。最も高いニコチン量は、No. 103 の 15300 ng/mL であった。今回の電子たばこ充填液ニコチン表示量は、0%または 0 mg/mL と記載されているため、分析結果は表示量

に適応していた。しかしながら、2010年に国民生活センター、厚生労働省はニコチンを含有する電子たばこを医薬品医療機器等法に抵触する恐れのある製品と指摘している。今回、分析した電子たばこ充填液もニコチンが含まれる製品は、医薬品医療機器等法に抵触する恐れがあると考えられた。また、ニコチンを含む電子たばこ充填液を電子たばこ製品で利用すると医療機器になると考えられるため、利用者、販売者ともに注意する必要がある。

製造番号の異なる製品の比較

No. 1, 13, 15, 21, 22, 26, 29, 33, 43 の電子たばこ充填液について、製造番号の違いによる含有ニコチン量の比較を行った (Table 3)。この結果から、製造番号の異なる電子たばこ充填液中ニコチン量には、大きな変動は確認されなかった。

D. 結論

国内で流通する電子たばこ充填液 103 製品についてニコチン分析を行うために、電子たばこ充填液中ニコチン分析法を確立した。定量下限値は 100 ng/mL であり、検出下限値は 10 ng/mL であった。分析法の同時再現性 (n=5) は 5.1-7.9% であり、添加回収率は 88-110% と良好な結果が得られた。確立した電子たばこ充填液中ニコチン分析法を使用して、国内で流通する 103 製品についてニコチン分析を行ったところ、本分析法の定量下限値以上 (100 ng/mL) の充填液は 48 製品となり、ほぼ半数の製品にニコチンが含有されることが分かった。また、2010年に国民生活センターが発表したニコチン下限値 1000 ng/mL 以上の充填液は 8 製品であった。最も高いニコチン量は、No. 103

の 15300 ng/mL であった。今回、分析した電子たばこ充填液はニコチンが含まれる製品が多く、医薬品医療機器等法に抵触する恐れがあると考えられた。

E 研究発表

統括報告書に一括記載した。

F 知的財産権の出願・登録状況

なし

G 参考文献

- (1) Conference of the Parties to the World Health Organization (WHO) Framework Convention on Tobacco Control. FCTC/COP/6/10 Electronic nicotine delivery systems. Geneva, World Health Organization, 2014. (http://apps.who.int/gb/fctc/PDF/cop6/FCTC_COP6_10Rev1-en.pdf) 2015年3月17日接続.
- (2) 厚生労働省. ニコチンを含有する電子タバコに関する危害防止措置について. 2010年12月27日 (<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985200000zlvf.html>) 2015年3月17日接続.
- (3) Famele M, Ferranti C, Abenavoli C, Palleschi L, Mancinelli R, Draisci R. The Chemical Components of Electronic Cigarette Cartridges and Refill Fluids: Review of Analytical Methods. *Nicotine Tob Res.* 2015;17:271-279.

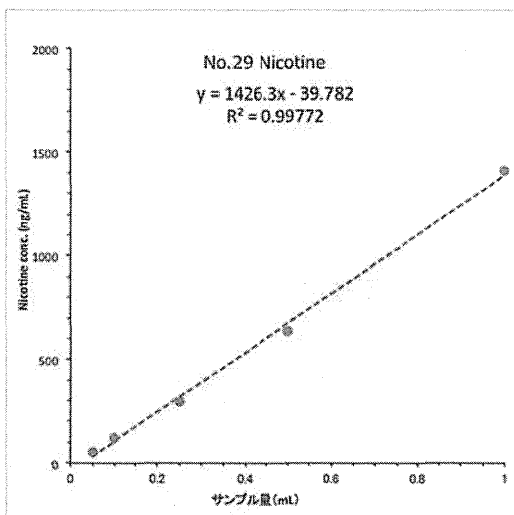
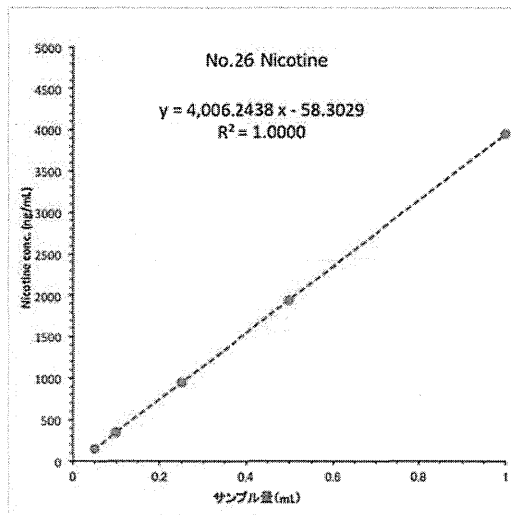
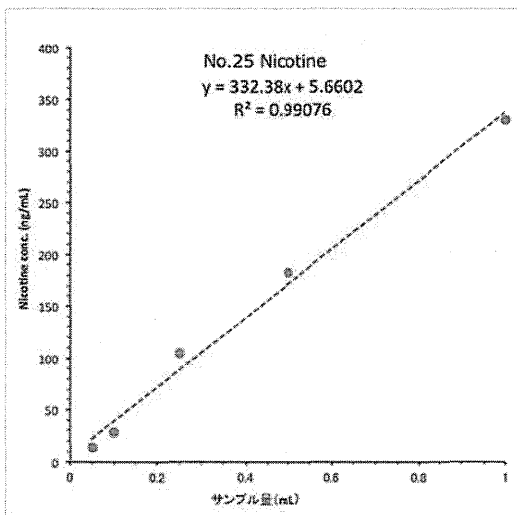


Fig. 1 電子たばこ充填液中ニコチン分析に供するサンプル量の検討

Table 1 電子たばこ充填液中ニコチン分析の同時再現性

No.	Nicotine (ng/mL)				
	E-cigarette No.				
	1	53	77	85	102
1	8490	481	4060	694	782
2	8260	473	4540	788	673
3	9680	470	4140	768	724
4	8970	577	4400	811	666
5	8370	481	4530	737	679
6	9590	482	4150	816	697
7	8580	465	4590	686	674
Mean	8850	490	4340	757	699
S.D.	582	38.9	221	53.3	41.5
CV (%)	6.6	7.9	5.1	7.0	5.9

Table 2 電子たばこ充填液中ニコチン分析の添加回収率

Sample	Nicotine (ng/mL)		Recovery (%)
	Add (A)	Sample (B)	(B-A)/B0 x 100
Brand A No.25	0	289	
	200	535	123
	400	762	118
	1000	1517	123
Brand B No.29	0	1268	
	200	1488	110
	400	1709	110
	1000	2164	90
Brand C No.43	0	453	
	200	647	97
	400	869	104
	1000	1435	98
Brand D No.56	0	18	
	200	196	89
	400	371	88
	1000	996	98

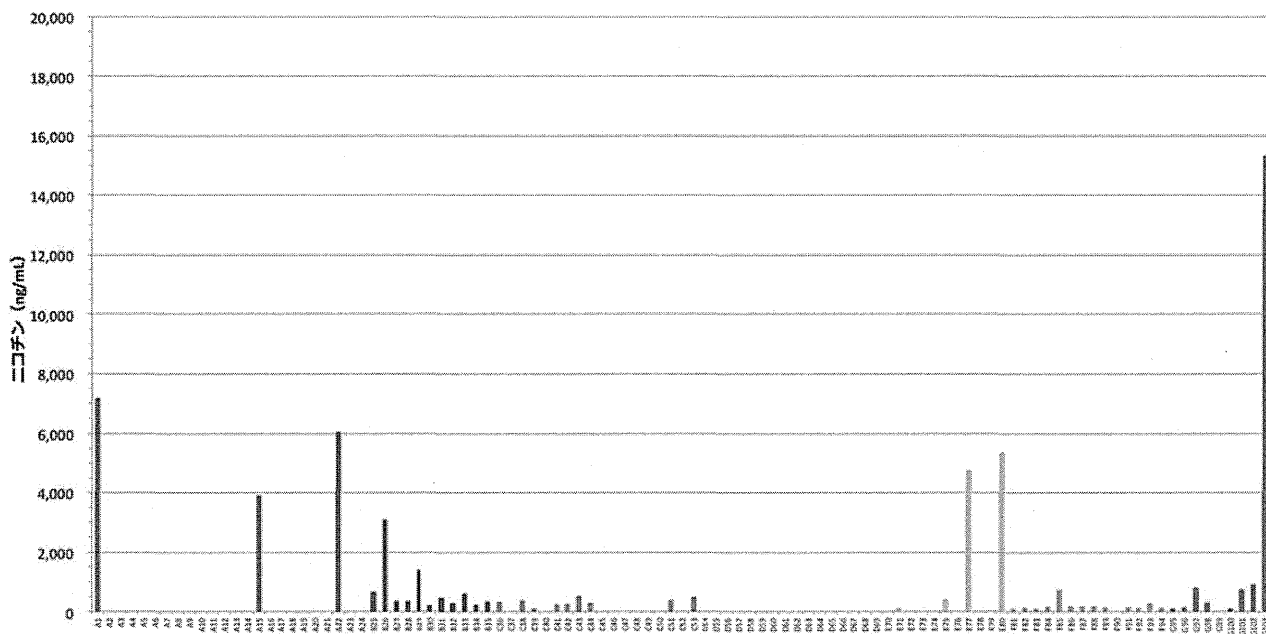


Fig. 2 電子たばこ充填液中のニコチン量

Table 2 製造番号が異なる電子たばこ充填液のニコチン分析

Lot. No	Nicotine (ng/mL)								
	Brand A					Brand B			Brand C
	1	13	15	21	22	26	29	33	43
1	7180	11	3920	19	6060	3110	1410	612	537
2	8990	60	4130	50	7460	3900	1230	751	608
3	8100	68		60	6360	4550	1310	671	664
4				60					

厚生労働科学研究委託費（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

電子たばこ充填液のたばこ特異的ニトロソアミン類の分析

担当責任者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院
担当責任者 戸次加奈江 国立保健医療科学院
担当責任者 内山 茂久 国立保健医療科学院
担当責任者 樺田 尚樹 国立保健医療科学院

研究要旨

たばこ特異的ニトロソアミン（Tobacco-specific nitrosamine; TSNA）は4種類存在し、国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer ; IARC）発がん性リスク一覧において分類最上位のグループ1と3に分類される。これらTSNAは、電子たばこ充填液からも検出されると報告がある。また、電子たばこ製品はここ数年で販売が拡大しており、最終的に、売り上げは2030年までに17倍に増えると予想されている。本研究では、我が国で販売される電子たばこ充填液中TSNA分析を行い我が国における実態調査を目的とした。本分析法は、固相抽出と高速液体グラフィー／四重極型質量分析装置を組み合わせ実施した。4種類のTSNA定量下限値は、0.05 ng/mLに設定した。国内で流通する電子たばこ充填液103製品のTSNA分析をOasis-MCX処理とLC/MS/MSによって行った。その結果、NNNは4製品で検出され、その濃度範囲は0.08-0.88 ng/mLであった。NNKは3製品から検出され、濃度範囲は0.19-1.25 ng/mLであった。NATとNABは5製品と2製品で検出され、それぞれの濃度範囲は0.11-1.11 ng/mLと0.07, 0.10 ng/mLとなった。さらにニコチン入り電子たばこ充填液のTSNA分析を行ったところ、すべての製品でTSNAが検出された。ニコチン入りの電子たばこ充電液が医薬品医療機器等法に違反する可能性がある現在の状況では、我が国で販売される電子たばこ充填液はニコチンがほとんど含有されない製品が多いと考えられる。よってTSNAの含有量は低い傾向にあると考えられる。TSNAが発がん性物質である点から考慮すると、今後もこの政策を維持する必要が求められる。

A. 研究目的

たばこ特異的ニトロソアミン（Tobacco-specific nitrosamine; TSNA）は、たばこ葉中アルカロイドであるニコチン、ノルニコチン、アナタピン及びアナバシンが、たばこの発酵、製造過程において亜硝酸や硝酸と反応することで生成される(1)。4種類のTSNAである4-(メチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタノン(NNK)はニコチン

から、*N'*-ニトロソノルニコチン(NNN)がニコチンとノルニコチンから、*N'*-ニトロソアナタピン(NAT)がアナタピンから、そして*N'*-ニトロソアナバシン(NAB)がアナバシンから生成される。このNNKとNNNは、世界保健機関(WHO)の付属機関である国際がん研究機関(International Agency for Research on Cancer ; IARC)発がん性リスク一覧において分類最上位のグループ1

(carcinogenic to humans. ; ヒトに対する発がん性が認められる) に, NAT と NAB はグループ 3 (not classifiable as to its carcinogenicity to humans. ; ヒトに対する発がん性が分類できない) に分類されている。

2009 年に米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration; FDA) は, 電子たばこの充填液及び使用者が吸引するミスト中の TSNA の分析を行ったところ, 定量下限値以下であった (2)。この報告が, 電子たばこ充填液中の TSNA を分析した最初の研究である。それ以降, 電子たばこ製品は世界中で急速に普及し, 2014 年には世界で 465 ブランドが販売され, 2013 年には ENDS の購入に 30 億米ドルが支払われた。最終的に, 売り上げは 2030 年までに 17 倍に増えると予想されている (3)。電子たばこ充填液中 TSNA は, 幾つかの製品で検出されるようになった (4-6)。Kim らは, 電子たばこ充填液に多く含まれるプロピレングリコールと TSNA を分離する手法として, 液液抽出法を採用している。Kim らは同時に固相抽出法も検討したが回収率が低いと報告している (6)

この電子たばこは我が国においても 2010 年に社会問題となった (7)。ニコチンを含有する充填液を使用した電子たばこ製品が販売され, 健康影響も懸念され, さらに無承認無許可医薬品等の販売等として旧薬事法 (現「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律: 医薬品医療機器等法」) に違反することが疑われた。これを踏まえ厚生労働省は, 「ニコチンを含有する電子たばこに関する危害防止措置について (依頼) (薬食監麻発 1227 第 4 号)」を発出した。我が国においても電子たばこを取り扱う店舗が増え, さらにはインターネットを介した販売も普及するようになった。これまで我が国で販売される電子たばこ充填液中 TSNA 分析の報告は, ほとんどない。そこで本研究では, 我が国で流通する電子たばこ充填液中 TSNA 分析を実施すること

を目的とした。

B. 研究方法

1. 装置と試薬

N'-nitrosonornicotine (NNN), 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), *N'*-nitrosoanatabine (NAT) と *N'*-nitrosoanabasine (NAB) および TSNA の重水素体 (NNN-*d*₄, NNK-*d*₃, NAT-*d*₄, NAB-*d*₄) は Tronto Research Chemicals 社製を使用した。メタノールおよび酢酸は和光純薬社製の LC/MS 用を使用した。アセトニトリルは Sigma-Aldrich 社製, 酢酸アンモニウムは和光純薬社製の HPLC 用を使用した。なお, HPLC と試薬調整用の純水には Millipore 社製の Milli-Q システムを使用した。TSNA 分析は, HP 1100 シリーズのデガッサー, ポンプおよびカラムオープン (Hewlett Packard 社製) に Agilent 1200 シリーズのオートサンプラー (Agilent Technologies 社製) を備えた装置を使用した。質量分析には四重極型質量分析装置 Micromass Quattro LC (Micromass UK 社製) を用い, イオン化モードは ESI+/MRM とした。高速液体クロマトグラフィー用分離カラムは, プレカラムフィルター (0.5 μm, Supelco 社製) を繋げた Zorbax Eclipse XDB C-18 カラム (2.1 × 150 mm, 3.5 μm, Agilent Technologies 社製) を使用した。なお, TSNA 分析条件は杉山らの手法をもとに行った (8)。なお, LC/MS/MS の定量範囲は, 4 種類の TSNA とも 0.5-100 ng/mL であった。

2. 各種試薬の調製

TSNA の重水素体 (NNN-*d*₄, NNK-*d*₃, NAT-*d*₄, NAB-*d*₄) はアセトニトリルに溶解し, TSNA-*d* 混合溶液は 1 μg/mL になるよう混合調製した。この混合溶液を Mili-Q 水で希釈し, 100 ng/mL TSNA-*d* 溶液を調製した。酢酸アンモニウムは Milli-Q 水に溶解して 100 mM に調製し, TSNA の

抽出に用いた。酢酸は、各々0.1%になるようにメタノールおよび Milli-Q 水に添加し、HPLC の移動相に用いた。

3. 電子たばこ充填液試料

インターネット及び店舗で販売される電子たばこ充填液を 7 (A~G) 社で販売する種類の異なる製品を 103 種類購入し分析対象試料とした。さらにニコチンを含有する電子たばこ充填液 8 製品を個人輸入した。なお、購入した充填液試料は分析時まで室内で保存した。

3. 前処理操作

電子たばこ充填液試料は、充填液 1 mL に TSNA-*d* 溶液 1 mL (100 ng/mL) と 0.1%酢酸 8 mL を添加して調整した。電子たばこ充填液中 TSNA の固相抽出には、Oasis-MCX (150 mg/6 mL; Waters 社製) を用いた。Oasis-MCX をメタノール 3 mL, Mili-Q 水 3 mL, 次に 1%酢酸 3 mL でコンディショニングしたのちに、上述の試料 10 mL を供した。次に、メタノール 3 mL で洗浄し、5%アンモニア含有メタノール 3 mL で溶出した。得られた溶出液は、遠心減圧濃縮装置で乾固濃縮し、10%メタノールで 0.1 mL に定容した。この試料液をフィルター濾過 (0.22 μ m) 後 LC/MS/MS へ供した (8)。

C. 結果及び考察

我が国で流通している電子たばこ充填液のニコチン表示は、0%か 0 mg/mL と記載されているものの、発がん性物質である 4 種類の TSNA 濃度の記載はない。本研究では、国内で流通する電子たばこ充填液 103 製品とニコチンを含有する電子たばこ充填液 8 製品を個人輸入し TSNA 分析を行った。本研究の 4 種類の TSNA 定量下限値は、電子たばこ充填液を 10 倍濃縮し、0.05 ng/mL に設定した。この数値は、本研究班より高感度の

LC/MS/MS を使用した Kim らの報告 (6) と同等であった。

電子たばこ充填液 103 製品の分析

国内で流通する電子たばこ充填液中 NNN は、4 製品で検出され、その濃度範囲は 0.08–0.88 ng/mL であった (Fig. 1)。NNK は 3 製品から検出され、濃度範囲は 0.19–1.25 ng/mL であった (Fig. 2)。NAT と NAB は 5 製品と 2 製品で検出され、それぞれの濃度範囲は 0.11–1.11 ng/mL と 0.07, 0.10 ng/mL であった (Fig. 3, 4)。

ニコチンを含有する電子たばこ充填液 8 製品の分析

次に、ニコチンを含有する電子たばこ 8 製品について TSNA 分析を行った結果を Table 1 に示す。No. 6, 7 の NAB と NAT が定量下限値であったものの、すべての製品で TSNA が検出された。IARC グループ 1 に指定されている NNN と NNK の平均値は 1.71 と 0.76 ng/mL であり、総 TSNA の平均値も 6.87 ng/mL となった。これらの結果から、電子たばこ充填液中 TSNA 量は、微量であった。本研究班の分析結果は、Kim らが報告した 105 製品の平均値 (NNN 4.06 ± 9.34 , NNK 1.71 ± 1.69 , NAT 6.36 ± 12.52 , NAB 0.90 ± 1.72 , 総 TSNA 12.99 ± 18.23 ng/mL) (6) より若干低値であった。今後、電子たばこ充填液の TSNA 分析法の精度の確認を行い、ニコチン入りとニコチンの含有されていない電子たばこ充填液の比較を行なう計画である。ニコチン入りの電子たばこ充電液が医薬品医療機器等法に違反する可能性がある現在の状況では、日本で販売される電子たばこ充填液はニコチンがほとんど含有されない製品が多いと考えられる。よって TSNA の含有量は低い傾向にあると考えられる。TSNA が発がん性物質である点から考慮すると、今後もこの政策を維持する必要が求められる。