

令和3年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業)
分担研究報告書

電子たばこから発生する一酸化炭素とフェノール類の分析について

分担研究者 稲葉 洋平 国立保健医療科学院
分担研究者 戸次 加奈江 国立保健医療科学院
分担研究者 中田 光紀 国際医療福祉大学
研究協力者 内山 茂久 国立保健医療科学院

研究要旨

本研究班では、これまでに低出力の電子たばこ製品の連続使用による調査結果から、70Wの電子たばこでは、一酸化炭素(CO)が紙巻たばこよりも高値で50回目の喫煙時は、46.9 mg/回となった。28Wの電子たばこは、50回目の喫煙時は3.90 mg/回となった。また、フェノール類に関してもハイドロキノン、レゾルシノール、3種類のクレゾールなども検出された。

しかし、これら有害化学物質が発生する条件はまだ解明されていない。そこで本年度は、電子たばこリキッド(配合、香料の種類)を変更することによってCOの発生条件を調査した。これまでの研究ではグリセロール(VG)の配合率が高いリキッドでは発生量が高いと考えられていた。そこで、香料なしのリキッドを調整しCO分析を行ったが、検出されることはなかった。次に複数種類のPG/VG配合比率のリキッドに香料を添加したがCOは検出されなかった。最後に、市販のリキッドを分析したところ、PG/VGが25:75条件で香料がスイーツ系と呼ばれている糖度がある製品においてCO、フェノール類が定量された。CO量(mg/回)が40Wの出力の電子たばこは、2日目からCOの発生が生じ、最高12.5 mg/回まで上昇した。90W出力の電子たばこも2日目からCOの発生が生じ、最高35.5 mg/回まで上昇した。これらの結果は、我々の先行研究と同様の結果となった。次にフェノール類は、カテコールの発生量が多く、90Wの電子たばこでは、130,000 ng/回となった。本研究結果から、電子たばこのCO、フェノール類発生の要因は、VGの配合比率が高く、スイーツ味のように糖度がある電子リキッドの使用が考えられた。これは、VGと糖度の影響で、電熱コイルが劣化したためにCOなどが発生したと考えている。引き続き、他の電子たばこリキッドについても重ねて調査を続ける計画である。

A. 研究目的

我々は、電子たばこの高出力タイプの製品の調査結果から、ホルムアルデヒドをはじめとするカルボニル類が発生することを報告してきた(1, 2)。電子たばこは出力の幅が広い製品が、販売されており、それぞれの電子たばこ製品の能力によって発生する有害化学物質量が変動することを使用者には周知されていない。

さらに、電子たばこの主流エアロゾルには、一酸化炭素(CO)、フェノール類が含まれると報告があった(3-5)。これは、電子たばこのリキッドに含まれるプロピレングリコール、グリセロールを原料として、高出力の電子たばこを使用するとCOとフェノール類が発生すると報告されている(3-5)。我々は、低出力100W以下の電子たばこにおいてもCO、フェノール類が発生するのかを

検討したところ、数日間使用することで CO、フェノール類の発生を 2020 年度の厚生労働行政推進調査事業費の研究で確認した。さらに本研究では、電子たばこの連続使用によって発生する CO、フェノール類は、どのような条件で発生するのか。より詳しい検討が必要であると考えた。今年度は、香料を添加しないプロピレングリコール/グリセロール (PG/VG) 混合溶液を複数種類調整し、電子たばこで主流エアロゾルの捕集・分析を行った。さらに、香料を添加して同様の実験を行った。他にも香料の種類を変更して分析を行って CO、フェノール発生条件の探索を目的とした。

B. 研究方法

1. 電子たばこ加熱装置

電子たばこは、40W と 90W の電子たばこ装置 A、B を使用した。アトマイザーは、電熱線がコイル状の製品とメッシュ状の製品の二種類を使用した。抵抗値はそれぞれ 0.40 Ω (28W), 0.17 Ω (70W) であった。

2. 電子たばこ主流煙 (エアロゾル) の化学物質の分析

電子たばこ主流煙 (エアロゾル) の捕集

電子たばこ主流煙の捕集方法は、自動喫煙装置 (LM4E, Borgwaldt KC GmbH) を用いて CORESTA RECOMMENDED METHOD N 81 法 (CRM81) を行った。CRM81 法は、一服につき 3 秒間で 55 mL 吸引、30 秒毎に一服させた (6)。電子たばこ主流煙中の総粒子状物質 (total particle matter ; TPM) は Cambridge filter pad (CFP, φ 44 mm, Borgwaldt KC GmbH) で捕集した。CRM81 法では CFP1 枚につき、6 回の吸引を捕集し、1 試料とした。

主流煙の分析

(1) フェノール類と一酸化炭素の分析

分析対象フェノール類及び各種試薬

分析対象フェノール類は、Hydroquinone、

Resorcinol、Catechol、Phenol、p-Cresol、m-Cresol、o-Cresol、Guaiacol、3-Methylcatechol、4-Methylcatechol、4-Chlorophenol の 11 成分とした。Hydroquinone、Resorcinol、Catechol、Guaiacol、3-Methylcatechol、4-Methylcatechol、4-Chlorophenol は東京化成社製を、Phenol は SIGMA-ALDRICH 社製の標準原液 (100 mg/dL) を、o-Cresol、p-Cresol、m-Cresol は SIGMA-ALDRICH 社製の analytical standard を使用した。アセトニトリルは SIGMA-ALDRICH 社製の HPLC 用を使用した。酢酸は和光純薬社製の精密分析用を使用した。ギ酸は東京化成社製の LC/MS 用を使用した。メタノールは和光純薬社製の LC/MS 用を使用した。なお、HPLC 及び試薬調製用の超純水の作製には Millipore 社製の Milli-Q システムを使用した。

主流煙サンプルの前処理

たばこ主流煙を捕集した CFP は、すぐに遮光した 100 mL の三角フラスコに入れ、1%酢酸水溶液 40 mL を加え振とう抽出を行った。振とう抽出は 45 分間 180 回転/分とし、抽出液はサンプル濃度に応じ、1%酢酸水溶液で 5 倍に希釈した。希釈により定量下限値以下になるサンプルでは、抽出液を希釈せず分析を行った。

主流煙の分析 ; HPLC 測定条件

フェノール類の分析には、prominence シリーズのデガッサー (DGU-20A3)、ポンプ (LC-20AD)、オートサンプラー (SIL-20ACHT)、カラムオープン (CTO-20AC) (島津製作所社製) 及び蛍光検出器は RF-10AXL (島津製作所社製) を使用した。分離カラムは、プレカラムフィルター (0.5 μm, Supelco 社製) を接続した Kinetex F5 カラム (4.6 mm×250 mm, 5 μm, Phenomenex 製) を使用した。カラムオープン温度は 27°C とし、試料注入量は 5-20 μL とした。また、移動相には 0.1%ギ酸水溶液 (A 液) と 0.1%ギ酸メタノール (B 液) を用いた。送液プログラムは流量

を 1 mL/分とし、0→5 分 (A : B=88% : 12%)、5→15 分 (A : B=98% : 12%→65% : 35%)、15→25 分 (A : B=65% : 35%→45% : 55%)、25→27 分 (A : B=45% : 55%→10% : 90%)、27→31 分 (A : B=10% : 90%)、31→34 分 (A : B=10% : 90%→88% : 12%)、34→45 分 (A : B=88% : 12%) と設定し、分析時間は 45 分とした。蛍光/励起波長 (Em / Ex) は 0→13.5 分 (Em / Ex = 310 / 280)、13.5→30 分 (Em / Ex = 298 / 274)、30→45 分 (Em / Ex = 310 / 280) と設定した。得られたピークの強度と濃度から検量線を作成し、定量した。

一酸化炭素 (CO) 分析

一酸化炭素 (CO) は、テドラバックに捕集し、ISO8454 (7) に準じて、非分散型赤外線分析計 (Non-dispersive infrared ; NDIR, IR200, 横河電機製) を用いて分析した。

C. 結果及び考察

1. プロピレングリコール/グリセロール混合溶液の電子たばこ主流エアロゾル分析

実験室でプロピレングリコール/グリセロール (PG/VG) 溶液について 50:50 と 20:80 の 2 種類調整した。これらの溶液を出力が 40W と 90W の 2 種類の電子たばこについて、1 日 10 回の喫煙を 5 日間使用して CO の分析を行った (計 50 回の喫煙)。その結果、2 条件ともに CO の発生は確認されなかった。実験に使用した電子たばこの電熱コイルを確認すると、コイルの焦げもなく綺麗な状態であった。VG の比率が高いリキッドを使用すると CO の発生が生じやすいと考えられているが、PG と VG のみの環境では発生が確認されなかった。

2. プロピレングリコール/グリセロール混合溶液に香料を添加した電子たばこ主流エアロゾル分析

1. の実験と同様に出力が 40W と 90W の 2 種類の

電子たばこについて、1 日 10 回の喫煙を 5 日間行いフェノール類の分析を行った (計 50 回の喫煙)。本実験では、PG/VG 溶液を 30:70、40:60、50:50 の 3 種類の溶液にフルーツ味の香料を添加し主流エアロゾルの捕集を行った。香料の添加によって CO の値は 1 mg/12 puff 程度の分析値は得られた。しかしながら、昨年度の研究で得られた高濃度とはならなかった。

3. 香料入りの電子たばこリキッドの分析

数種類の電子たばこリキッドの分析を行った。まず PG/VG の比率が 30:70、50:50 でフルーツ味のリキッドで CO 分析を行った。その結果は、CO 量が 1 mg/12puff を越えることはなかった。次に、PG/VG の比率が 50:50 でスイーツ味 (ソフトクリーム) のリキッドで CO 分析を行った。このリキッドにおいても主流エアロゾルの CO が 1 mg/12 puff を越えることはなかった。最後に PG/VG の比率が 25:75 でスイーツ味 (カスタードバニラ) のリキッドで CO 及びフェノール類分析を行った (Fig. 1-2)。まず、CO 量 (mg/回) が 40W の出力の電子たばこは、2 日目から CO の発生が生じ、最高 12.5 mg/回まで上昇した。90W 出力の電子たばこも 2 日目から CO の発生が生じ、最高 35.5 mg/回まで上昇した。これらの結果は、我々の先行研究と同様の結果となった。次にフェノール類は、カテコールの発生量が多く、90W の電子たばこでは、130,000 ng/回となった。本研究結果から、電子たばこの CO、フェノール類発生の要因は、VG の配合比率が高く、スイーツ味のように糖度がある電子リキッドの使用が考えられた。これは、VG と糖度の影響で、電熱コイルが劣化したために CO などが発生したと考えている。引き続き、他の電子たばこリキッドについても重ねて調査を続ける計画である。

D. 結論

本研究では、低出力の電子たばこから発生する一酸化炭素 (CO) とフェノール類の発生要因の調

査を行なった。その結果、グリセロールの配合量が多く、糖度が多いスイーツ系のリキッドで有害化学物質が多く発生した。

E. 参考文献

- (1) Uchiyama, S.; Noguchi, M.; Sato, A.; Ishitsuka, M.; Inaba, Y.; Kunugita, N. Determination of Thermal Decomposition Products Generated from E-cigarettes. *Chemical Research in Toxicology* 2020, 33, 576-583.
- (2) 内山茂久, 櫻田尚樹 電子タバコから発生する化学物質と健康影響 現代化学 2020, 3, 54-57.
- (3) El-Hellani A, Al-Moussawi S, El-Hage R, Talih S, Salman R, Shihadeh A, Saliba NA. Carbon Monoxide and Small Hydrocarbon Emissions from Sub-ohm Electronic Cigarettes. *Chem Res Toxicol.* 2019 Feb 18;32(2):312-317. doi: 10.1021/acs.chemrestox.8b00324. Epub 2019 Feb 4. PMID: 30656934.
- (4) Son Y, Bhattarai C, Samburova V, Khlystov A. Carbonyls and Carbon Monoxide Emissions from Electronic Cigarettes Affected by Device Type and Use Patterns. *Int J Environ Res Public Health.* 2020 Apr 17;17(8):2767. doi: 10.3390/ijerph17082767. PMID: 32316435; PMCID: PMC7215697.
- (5) El-Hage R, El-Hellani A, Salman R, Talih S, Shihadeh A, Saliba NA. Vaped Humectants in E-Cigarettes Are a Source of Phenols. *Chem Res Toxicol.* 2020 Sep 21;33(9):2374-2380. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00132. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32786548.
- (6) CORESTA RECOMMENDED METHOD N 81. Routine Analytical Machine for E-Cigarette Aerosol Generation and Collection - Definitions and Standard Conditions. 2015. https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/CRM_81.pdf

[cal_documents/main/CRM_81.pdf](https://www.coresta.org/sites/default/files/technical_documents/main/CRM_81.pdf)

- (7) ISO 8454: Cigarettes – Determination of carbon monoxide in the vapour phase of cigarette smoke – NDIR method. 2007.

F. 研究発表

1. 論文発表

Sawa M, Ushiyama A, Inaba Y, Uchiyama S, Hattori K, Ogasawara Y, Ishii K. A Newly Developed Aerosol Exposure Apparatus for Heated Tobacco Products for In Vivo Experiments Can Deliver Both Particles and Gas Phase With High Recovery and Depicts the Time-Dependent Variation in Nicotine Metabolites in Mouse Urine. *Nicotine Tob Res.* 2021 Nov 5;23(12):2145-2152.

2. 学会発表

1. Mizuno Y, Masuoka H, Kibe M, Kosaka S, Inaba Y, Natsuhara K, Hirayama K, Inthavong N, Kounnavong S, Tomita S, Umezaki M. Associations between arsenic, cadmium, and selenium exposure and oxidative stress in rural residents of northern Laos. the 33rd Annual Conference of the International Society for Environmental Epidemiology (ISEE 2021) 2021.8.23-26. Web開催.

2. Azuma K, Bekki K, Inaba Y, Kim H. Questionnaire survey for health risk assessment of exposure to semi-volatile organic compounds-contaminated floor dust in housing: preliminary survey on prevalence. ISEE 2021 New York.

3. 稲葉洋平, 郡司夏美, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 2種類の前処理を組み合わせたたばこ主流煙の芳香族アミン分析 第29回環境化学討論会. 2021.6.2-3. ハイブリッド開催 同要旨集 p254-255.

4. 稲葉洋平, 松本知大, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛

山明. 加熱式たばこ IQOS と互換機から発生する有害化学物質量の比較 フォーラム 2021 衛生薬学・環境トキシコロジー 2021.9.10-11. オンライン開催. 同講演要旨集 p279.

5. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 加熱式たばこ副流煙(エアロゾル)のニコチンとたばこ 特異的ニトロソアミンの分析. 第 80 回日本公衆衛生学会総会. 2021.11.21-23 ; ハイブリッド開催 (東京). 同講演抄録集. p.370

6. 清水萌花, 内山茂久, 稲葉洋平, 櫻田尚樹, 牛山明, 小倉裕直. 電子タバコから発生する熱分解物質の発生量に及ぼす加熱温度の影響. 2021 年室内環境学会学術大会. ハイブリッド開催(京都) 2021.12.2-3. 講演要旨集

7. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 加熱式たばこ主流煙のタール・ニコチン・一酸化炭素・たばこ特異的ニトロソアミンの分析. 2021 年室内環境学会学術大会 ; 2021.12.2-4 ; 京都. 同講演集. p.314-315

8. 稲葉洋平, 内山茂久, 戸次加奈江, 牛山明. 紙

巻たばこ専用加熱装置から発生する主流煙の有害化学物質の分析. 第 31 回日本禁煙推進医師歯科医師連盟学術総会 (静岡) 2022.2.26-27. プログラム要旨集 p61.

9. 澤麻理恵, 石川智, 牛山明, 服部研之. IQOS エアロゾルばく露は肺組織及び肺胞マクロファージに酸化ストレスを発生させる. 第 92 回日本衛生学会学術総会 (兵庫) 2022.3.21-23. 同予稿集 S205.

10. 澤麻理恵, 牛山明, 稲葉洋平, 中舘和彦, 服部研之. 加熱式たばこエアロゾルを短期間ばく露した際のマウス肺の組織学的評価. 日本薬学会第 142 年会 (名古屋) 2022.3.25-28. Web 予稿集.

11. 稲葉 洋平, 内山 茂久, 戸次 加奈江, 牛山 明. 電子たばこの連続喫煙による一酸化炭素, フェノール類の発生. 日本薬学会第 142 年会 (名古屋) 2022.3.25-28. オンライン要旨集

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

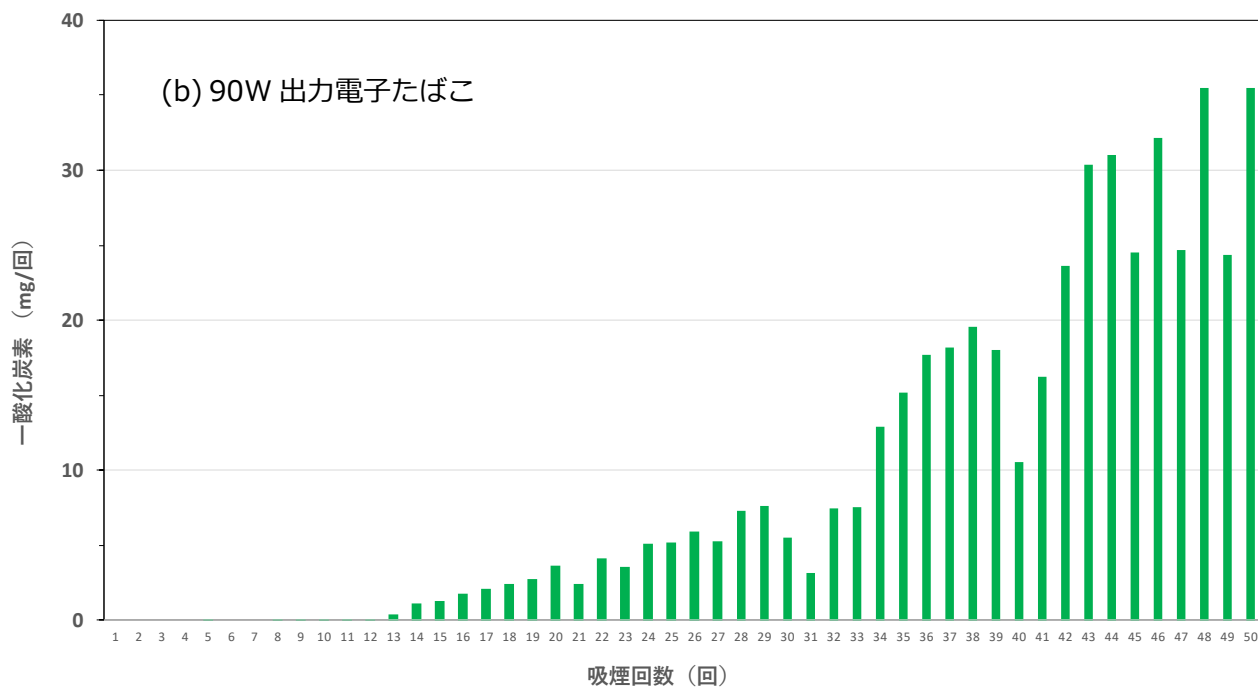
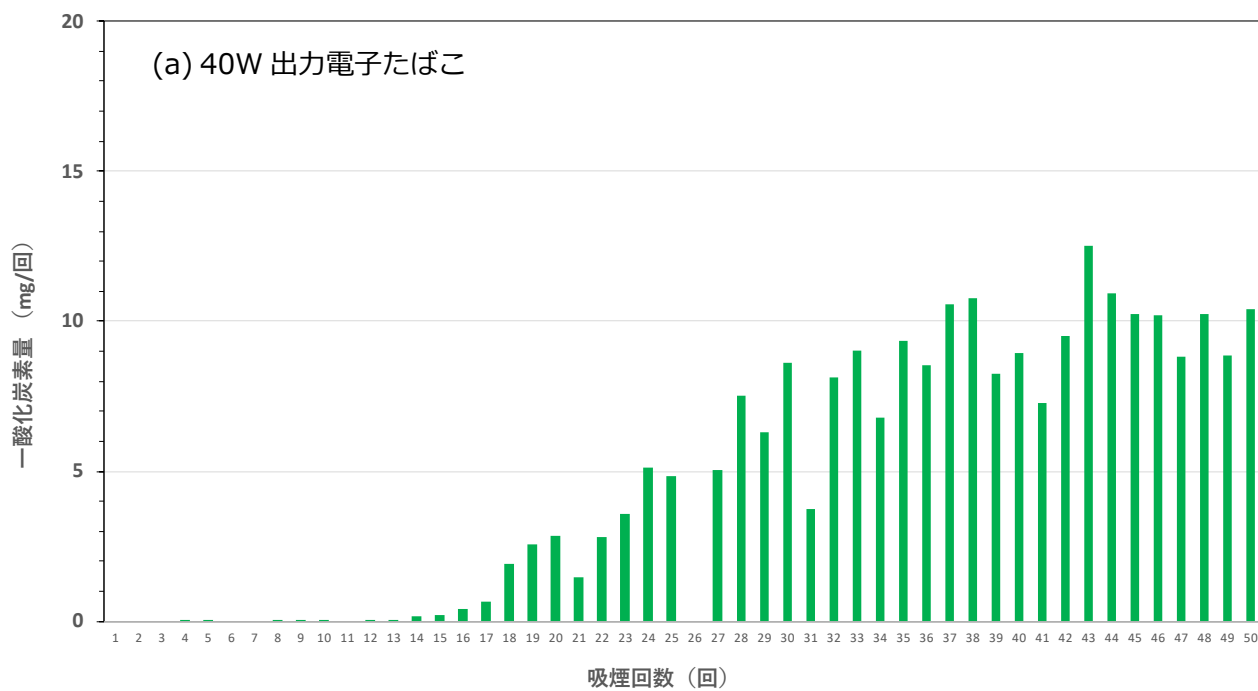


Fig. 1 電子たばこから発生する一酸化炭素量の変動

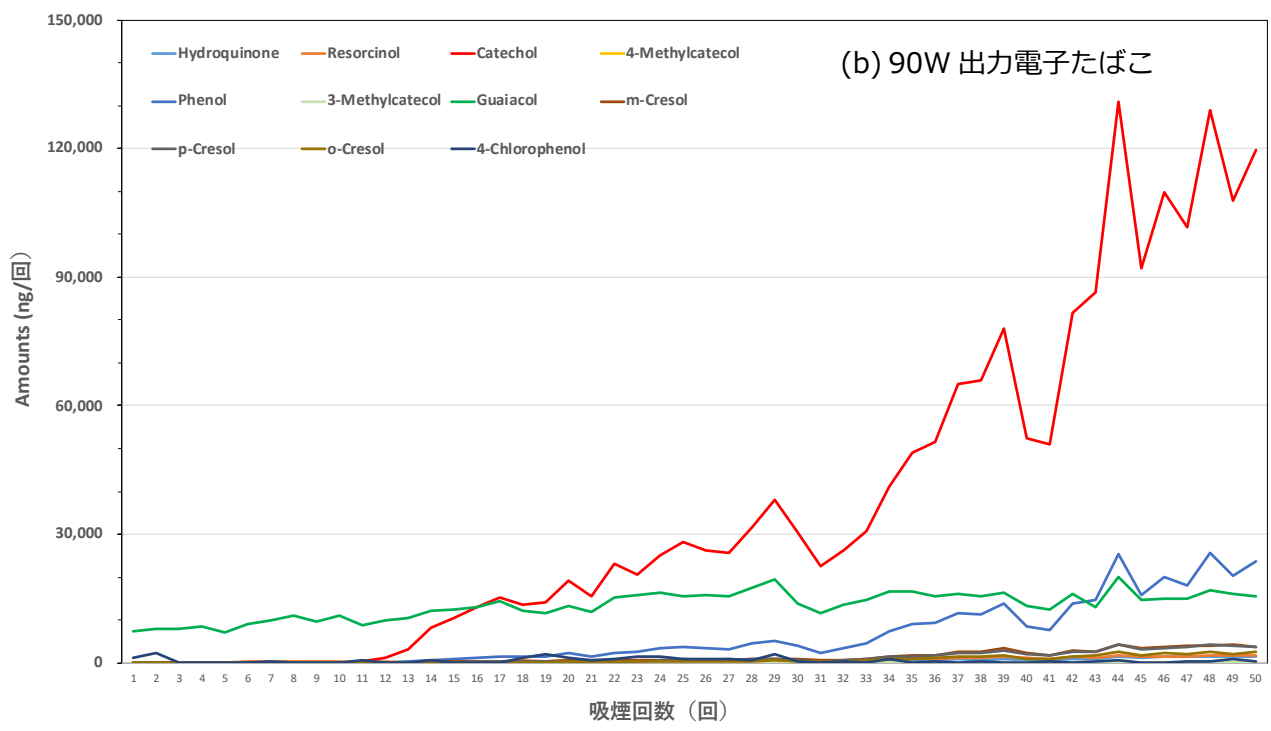
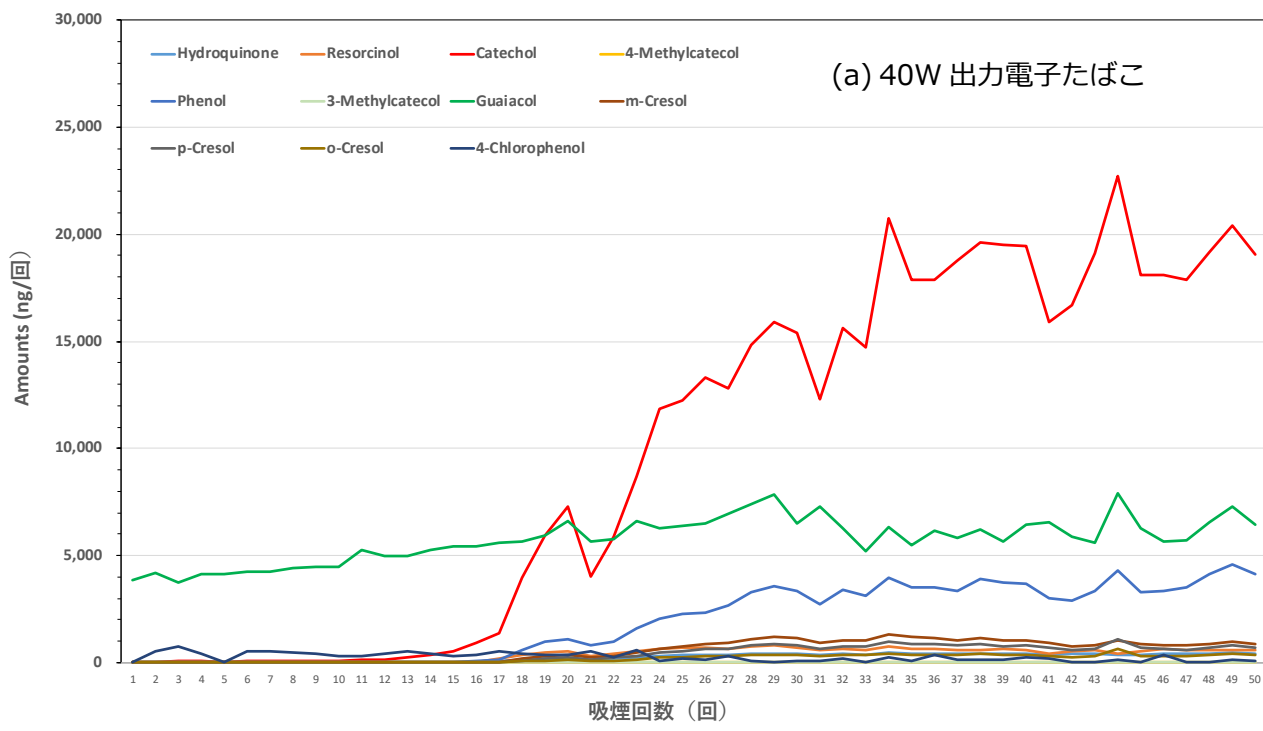


Fig. 2 フェノール類の合計量の変動