

令和6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

加熱式たばこ製品の主流煙に含まれるヒドロキノン類の分析

分担研究者 鳥羽 陽 長崎大学

研究要旨

日本国内で販売されている加熱式たばこ6種 (IQOS3, IQOS ILUMA, glo, glo hyper+, PloomS, PloomX) の各レギュラー及びフレーバースティック, 比較対象としての紙巻たばこの主流煙に含まれるヒドロキノン (HQ) 類及び2環以上の母核を有するジヒドロキシ体を同定・定量することを目的とした。各主流煙について, 自動喫煙装置を用いてフィルターに捕集し, ジクロロメタンで抽出した後, 分析対象成分をトリメチルシリル (TMS) 誘導体化してガスクロマトグラフ-タンデム質量分析計 (GC-MS/MS) で測定した。加熱式たばこの主流煙から, 7種類のHQ類が検出され, 2環以上のジヒドロキシ体は検出されなかった。定量できた多くのHQ類について, 対応するベンゾキノン (BQ) 類の存在量と比較して半分以上がHQとして存在していた。HQ類の濃度は加熱温度の上昇に伴い増加する傾向があり, たばこスティックの種類はHQ類の生成に大きく影響しなかった。加熱式たばこ煙中のHQ類濃度は, 最も高い濃度の装置であっても紙巻たばこの主流煙の3%程度にとどまっており, たばこ製品の主流煙におけるHQ類の生成には, 加熱 (燃焼) 温度が深く関与していた。

A. 研究目的

たばこ煙には約5,300種類の化学物質が含まれており, そのうち有害物質は約250種類以上, 多環芳香族炭化水素 (PAH) をはじめとする発がん性物質は約70種類以上存在している (1,2)。近年, その中でもPAHの酸化誘導体であるPAHキノン類 (PAHQ) が注目を集めている。PAHQは, 生体内でレドックスサイクルを介して触媒的に酸化還元反応を起こし, 活性酸素種 (ROS) を過剰産生し, 酸化ストレスを誘発することから, 呼吸器疾患や循環器疾患との関連が指摘されている。また, 呼吸を介して曝露されたPAHQは, ヒトの生体内で代謝されて尿中に代謝物が排泄されていることが明らかになっている (3)。従って, 喫煙に関連したPAHQ曝露によって誘発される酸化ストレスによる健康影響の検証は重要であり, たばこ煙中のPAHQ濃度を知ることは, 喫煙による健

康影響の解明に必要である。これまでに加熱式たばこ主流煙中に含まれるPAHQの分析・定量を行ってきたが, それらには測定原理上, PAHQの還元体であるジヒドロキシ体も同じ誘導体として検出されている可能性がある。PAHQの分析の際に誘導体化する過程で中間体としてジヒドロキシ体が形成されるため, 骨格及びケトン基または水酸基の位置が同じPAHQとそのジヒドロキシ体が混在した場合, 同じ誘導体化物として検出される。特に, 単環の母核をもつベンゾキノン (BQ) 類のジヒドロキシ体であるヒドロキノン (HQ) 類については, 実際にたばこ煙に含まれているという報告があることから, 加熱式たばこ煙についてもジヒドロキシ体 (HQ類) の定量を行う必要がある。

そこで本研究では, 分析対象とした39種類のPAHQについて, 非還元条件下で加熱式たばこ主

流煙中のジヒドロキシ体を同定し、検出されたジヒドロキシ体について定量して対応する PAHQ との濃度比較を行った。さらに、加熱式たばこ製品間での違いや、紙巻たばこことの違いについても検証した。

## B. 研究方法

### 1. 使用たばこ銘柄

#### たばこ試料

国内で販売されている加熱式たばこである IQOS3 (R: REGULAR, F: TROPICAL MENTHOL), IQOS ILUMA (R: TEREA REGULAR, F: TEREA PURPLE MENTHOL), glo (R: KENT bright tobacco, F: neo BOOST BERRY), glo hyper+ (R: KENT TRUE TOBACCO, F: KENT TRUE BERRY), PloomS (R: MEVIUS REGULAR, F: CAMEL APPLE FLAVOR), PloomX (R: MEVIUS RICH, F: CAMEL MUSCAT GREEN) の主流煙を測定対象とした (R: レギュラータイプ, F: フレーバータイプ)。また、紙巻たばこの標準たばこである 3R4F および CM8 の主流煙を比較対象とした。

### 2. たばこ主流煙の化学物質の分析

#### たばこ主流煙の捕集

たばこ主流煙の捕集は、自動喫煙装置 (LX20, Borgwaldt KC GmbH) を用いて HCl 法により実施した。HCl 法では、Health Canada Intense protocol T-115 (4,5) に準拠して行い、一服につき 2 秒間で 55 mL 吸引, 30 秒毎に一服させた。たばこ主流煙中の総粒子状物質 (total particle matter ; TPM) は Cambridge filter pad (CFP,  $\phi$  44 mm, Borgwaldt KC GmbH) 上に捕集し, 1 枚につき, スティック 3 本分 (紙巻たばこは 30.3~33.6 本分) の主流煙を捕集し, 1 試料とした。たばこ銘柄ごとに 5 試料調製し, それぞれ測定に供した。

#### HQ 類及び BQ 類の分別の分析

##### 前処理法

各フィルター試料について、それぞれジクロロメタンによる超音波抽出を行なった。抽出液にジメチルスルホキシド (DMSO) を添加した後で減圧濃縮し、アセトニトリルに再溶解した。HQ 類の測定では、アセトニトリル溶液の一部にトリメチルシリル (TMS) 化試薬 [BSA+TMCS+TMSI (3:2:3)] を加えて 80°C, 30 分間 TMS 誘導体化を行った。誘導体化後、ヘキサンと水を加えて抽出して得られたヘキサン相を乾固してヘキサン 200  $\mu$ L に再溶解して検液とした。また、亜鉛とジチオスレイトール (DTT) を添加して誘導体化する還元条件下において誘導体化してから定量し、HQ 類と対応する BQ 類の合計濃度を算出した (6)。

##### 定量対象成分

非還元条件下で誘導体化し、スクリーニング的に測定して主流煙試料中のジヒドロキシ体の有無を確認した結果として検出された単環の母核をもつ 7 種類の HQ 類, すなわち 1,4-hydroquinone (HQ), 2-methyl-1,4- hydroquinone (MHQ), 2,5-dimethylhydroquinone (2,5-DMHQ), 2,6-dimethylhydroquinone (2,6-DMHQ), tetramethylhydroquinone (TMHQ), 2-tert-butyl- 1,4-hydroquinone (2-tb-HQ), 2,5-di-tert-butyl-1,4-hydroquinone (2,5-Dtb-HQ), を定量対象とした。

##### GC/MS/MS 条件

Thermo Fisher Scientific 社製 GC-MS/MS (TSQ Quantum GC) システムを用いた。カラムは DB-5MS (30 m  $\times$  0.25 mm i.d., 0.25  $\mu$  m, J&W) を使用し, 50-310°C (25°C/min, 7 分間維持) の昇温プログラムで分析した。その他の GC 条件は, 注入口温度 250°C, スプリットレスモード, 注入力 1  $\mu$ L とした。MS 条件は, EI モード, イオン源温度 300°C, インターフェース温度 280°C とし, イオン化電圧は 70 eV とした。検出は, [M]<sup>+</sup>イオンをプリカーサーイオンとして最も強度の高いプロダクトイオン 2 種を用いた選択反応モニタリ

ング (SRM) モードで測定した (6)。

## C. 結果及び考察

### 1. HQ 類の定量性の確認

HQ 類の分析は、非還元条件下で PAHQ の定量と同様に行ったが、分析の前処理においてキノンは異なり回収率が低下したことから、前処理 (誘導体化前の液-液抽出) 操作を行わずに TMS 誘導体化を行った。加熱式たばこ煙中の夾雑物質に影響されず、実際に HQ 類の定量が可能であるかを確認するために、glo hyper<sup>+</sup>のフレーバータイプ (KENT TRUE BERRY)の主流煙抽出物に既知量の標準物質を添加して真度や精度を評価するバリデーション試験を行った。加熱式たばこの主流煙中に確認された 7 種類の HQ 類を分析対象として定量性を確認した結果 ( $n = 4$ ), 日内および日間変動について  $100 \pm 20\%$  の真度が得られ、定量値のばらつきを示す RSD 値も 20%以下と良好な精度を得ることができた。以上より今回測定した加熱式たばこの主流煙に含まれる HQ 類の定量値が信頼性のあるデータであることを確認できた。

### 2. 加熱式たばこ主流煙中 HQ 類及び BQ 類の濃度と組成比

非還元条件下で測定して得られた定量値は HQ 類 (ジヒドロキシ体) のみの定量値となり、対象とした 6 種類の加熱式たばこのレギュラー及びフレーバースティックすべてから HQ, MHQ, 2,5-DMHQ, 2,6-DMHQ, TMHQ, 2-tb-HQ, 2,5-Dtb-HQ の 7 種類の HQs が検出され、2 環以上の母核を有するジヒドロキシ体は検出されなかった (図 1) また、HQ 類の検出種について加熱式たばこ製品の違いやフレーバーの有無は影響しないことが分かった。BQ (PAHQ) 類及び同じ母核を持つ HQ 類 (ジヒドロキシ体) の合計値となる還元条件下の定量値は、6 種類の加熱式たばこのレギュラー及びフレーバースティックで PAHQ 類のみ検出されるものも含めて 11~17 種が検出・定量され、本研究課題でこれまでに同定・定量された結果と概

ね同じ検出種・定量値であった。

また、検出された HQ 類について還元条件下での定量値 (BQ 類と HQ 類の合計) に対して占める割合を算出したところ、HQ 類はほとんどのたばこ製品で 6 割程度を占め、還元下で定量されたうちの半分以上が HQ 類であることが示唆された。また、IQOS3, IQOS ILUMA, glo, glo hyper<sup>+</sup>の MHQ, 2,5-DMHQ, 2,6-DMHQ, 2-tb-HQ の約半分がジヒドロキシ体として存在し、一方で TMHQ, 2,5-Dtb-HQ については、多くの製品でほとんどが BQ 体として存在していた。紙巻たばこ 3R4F 及び CM8 について、HQ は約 7 割が HQ 体として存在していたのに対し、TMHQ や 2,5-Dtb-HQ などは約 9 割がキノン体として存在していることが示唆された。Zhu ら (7) は、ジヒドロキシ体からキノン体への酸化は 2 段階で進行すると報告し、量子化学計算プログラムを用いて、DMSO 溶液中における HQ 類や PAH のジヒドロキシ体の結合解離エネルギー (Bond Dissociation Energies, BDE) を求め、キノン体への酸化を評価した。HQ 類と 2 環以上のジヒドロキシ体の BDE を比較すると、後者の方が小さくなっていることから、2 環以上の PAHQ では生成過程でジヒドロキシ体が生成されたとしても、より安定なキノン体へ容易に酸化されると考えられる。また、TMHQ について報告されている BED は他の報告された HQ 類の BED よりも小さいため、キノン体への酸化が進行しやすく、HQ 体の存在量が少なくなったと考えられる。

### 3. 加熱温度による比較

測定対象とした 6 種の加熱式たばこのうち、加熱温度が公開されている 5 種類 (IQOS3: 約 350°C, glo: 約 240°C, glo hyper<sup>+</sup>: 約 260°C, PloomS: 約 200°C, PloomX: 約 295°C) について、加熱温度と含まれている総 HQ 類濃度との関係を示した (図 2)。加熱温度と総 HQ 濃度の間に  $r = 0.88$  ( $p < 0.05$ ) と高い正の相関係数を示したことから、加熱式たばこ製品の加熱温度の上昇に伴い、HQ 類濃度が増加することが示唆された。また、HQ 類と

BQ 類の総濃度との間にも  $r = 0.86$  の正の相関が観察され、HQ 類のみの結果と同じ傾向を示した。また、加熱温度と HQ 類の HQ 類と BQ 類の総和に占める割合との間に統計的に有意な相関は観察されなかった。燃焼温度が 700~950°C と非常に高い紙巻たばこについても、HQ 類の割合は加熱式たばこと比べ大きく変わらないため、加熱温度は HQ 類の生成割合には大きく影響しないことが示唆された。以上より、加熱式たばこ製品の加熱温度は、HQ 類の生成量には影響するが、HQ 類の BQ 類に対する割合には大きく影響しないと考えられる。

#### 4. 紙巻たばこ煙と加熱式たばこ煙との濃度比較

加熱式たばこ煙から検出された 7 種類の HQ 類は、研究用の紙巻たばこである 3R4F 及び CM8 の主流煙からも検出された。非還元条件下で定量された総 HQ 類濃度は、6 種類の加熱式たばこ製品の中で比較的高濃度であった IQOS3 でも紙巻たばこの 3% 程度であり、濃度が最も低かった PloomS では 0.01% 以下であった。また、還元条件下で定量した HQ 類と BQ 類の合計濃度についても、加熱式たばこ製品で紙巻たばこの 3% 未満となった。個々の HQ 類について、一部の加熱式たばこ煙中の 2,5-Dtb-HQ は紙巻たばこ煙と同等もしくはそれ以上となったが、その他の HQ 類は紙巻たばこの 4% 未満の含有量であった。

Torikai ら (8) は、タバコ葉を加熱した際の熱分解による HQ の生成について、加熱温度の上昇に伴って生成量が増加したことを報告している。また、Lu ら (9) は、タバコ葉を抽出し熱分解温度を変えて熱分解生成物の分析を行ったところ、HQ の収量が 450°C で最大となったことを報告した。加熱式たばこでは 200~350°C ほどでたばこ葉を加熱するのに対し、紙巻たばこの場合約 700~950°C でたばこ葉を燃焼させる。従って、加熱式たばこの加熱温度では HQ 類が紙巻たばこよりも生成しにくく、HQ 類の酸化体である BQ 類の濃度も結果として低かったと考えられる。

#### D. 結論

測定した 6 種類すべての加熱式たばこのレギュラー及びフレーバースティックを使用した際の主流煙から単環の母核を有する 7 種類の HQ 類を検出することに成功し、2 環以上の母核を有するジヒドロキシ体は検出されなかった。また、PAHQ については BQ 類を含む 17 種類が検出された。定量できた HQ 類の BQ 類との総量に対する割合を比較すると、ほとんどのたばこ製品で半分以上が HQ 体として存在している物質や、逆にほとんどがキノン体として存在している物質もあった。HQ 類の濃度は、たばこ製品の加熱温度の上昇に伴って増加することが確認されたが、HQ 類が BQ 類との総濃度に占める割合に関して加熱温度は大きく影響しなかった。さらに、測定した加熱式たばこ煙と紙巻たばこ煙中の HQ 類濃度を比較したところ、比較的高濃度の IQOS3 で 3% 程度、最も低濃度であった PloomS で 0.01% 以下となり、加熱式たばこでは紙巻たばこに比べて HQ 類が 10% 以下にとどまっていた。これは、加熱式たばこが 200~350°C でたばこ葉を加熱するのに対し、紙巻たばこでは 700~950°C の高温で燃焼させるという加熱（燃焼）温度の違いに起因するものであると考えられる。今回加熱式たばこ煙に含まれる PAHQ に加えて、HQ 類を含む対応する還元体を測定することに成功したが、未同定の有害物質を継続して同定・定量することは、加熱式たばこの健康影響を検証する上で有用である。

#### E. 参考文献

- (1) Rodgman, A., Perfetti, T.A., Alphabetical component index. In: The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke Second Edition. CRC Press, (2013).
- (2) IARC. A review of human carcinogens: personal habits and indoor combustions. IARC monogr Eval Carcinog Risks Hum, 100E, 1-579 (2012).

- (3) Asahi, M., Kawai, M., Toyama, T., Kumagai, Y., Chuesaard, T., Tang, N., Kameda, T., Hayakawa, K., Toriba, A., Identification and quantification of in vivo metabolites of 9,10-phenanthrenequinone in human urine associated with producing reactive oxygen species. *Chem. Res. Toxicol.*, 27 (1), 76-85 (2014).
- (4) Health Canada Test Method T-115. Determination of the tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.
- (5) WHO. Standard operating procedure for intense smoking of cigarettes: WHO Tobacco Laboratory Network (TobLabNet) official method (Standard operating procedure 01). Geneva, World Health Organization, 2012.
- (6) Toriba A., Homma C., Kita M., Uzaki W., Boongla Y., Orakij W., Tang N., Kameda T., Hayakawa K., Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbon quinones by gas chromatography-tandem mass spectrometry, following a one-pot reductive trimethylsilyl derivatization, *J. Chromatogr. A*, 1459, 89-100 (2016).
- (7) Zhu, X.Q., Wang, C.H., Liang, H., Scales of oxidation potentials, pKa, and BDE of Various Hydroquinones and Catechols in DMSO, *Journal of Organic Chemistry*, 75(21), 7240-7257 (2010).
- (8) Torikai, K., Yoshida, S., Takahashi, H., Effects of temperature, atmosphere and pH on the generation of smoke compounds during tobacco pyrolysis, *Food and Chemical Toxicology*, 42(9), 1409-1417 (2004).
- (9) Lu, P., Wu, R., Xu, G., Wang, G., Influencing factors and identifying precursors in phenolic compounds formation from tobacco extracts pyrolysis, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 180 (2024).

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

該当なし

### 2. 学会発表

多良春希, 吉田さくら, 安孫子ユミ, 戸次加奈江, 稲葉洋平, 鳥羽陽, 加熱式たばこ製品の主流煙に含まれるヒドロキノン類とベンゾキノン類の濃度比較 日本薬学会 第145年会. 2024.3.26-29 (福岡) 同要旨集.

### 3. その他

該当なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

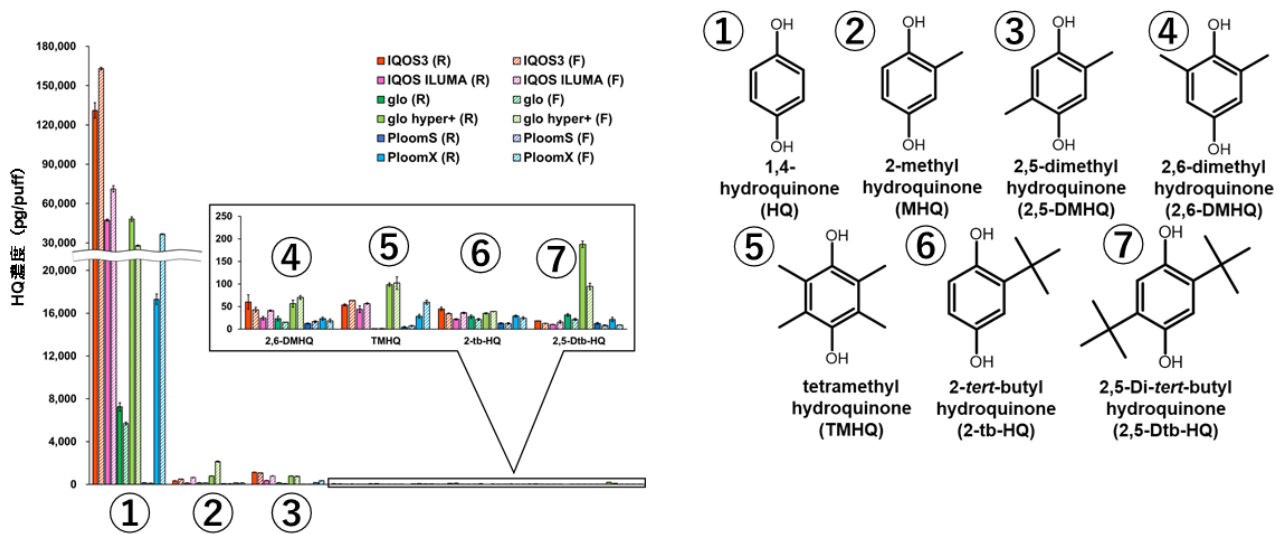


図1 加熱式たばこ主流煙中の HQ 濃度と構造式

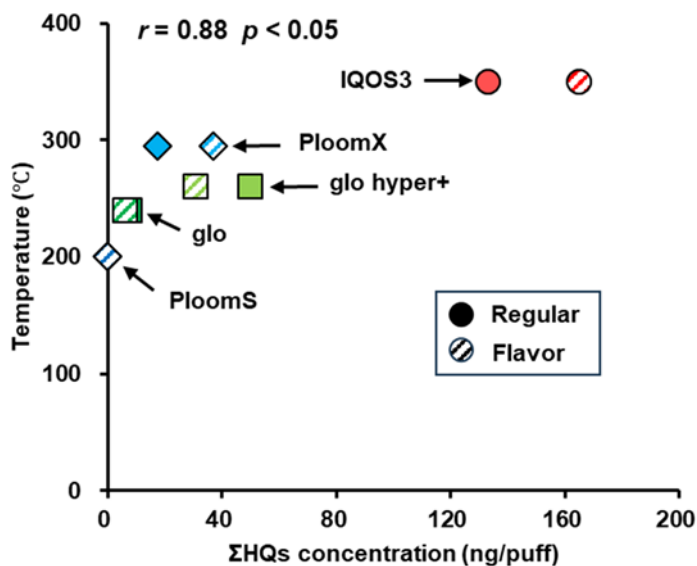


図2 加熱式たばこの加熱温度とHQ類濃度との関係