

特集：平常時・災害時の衛生対策**< 総説 >****日本産たばこ主流煙の化学分析法と測定結果**

稲葉洋平, 内山茂久

国立保健医療科学院 生活環境部

Determination of Chemical Substances in Mainstream of Japanese Cigarettes

Yohei INABA, Shigehisa UCHIYAMA

Department of Environmental Health, National Institute of Public Health

抄録

わが国では、2005年に「たばこの規制に関する世界保健機関枠組条約」に締結し、条約に基づきたばこ対策が実施されている。しかしながら、対策後の受動喫煙の状況変化やたばこより発生する各種化学物質の正確な実態調査などの化学的数値の積み上げは少ない。なかでもたばこ喫煙において重要な喫煙者に関する数値が乏しく、特に、喫煙者が取り込む主流煙成分測定結果が非常に少ない状況であり、国内で販売されているたばこ外箱表示には、タール及びニコチン量のみが記載されている。しかしながら、この主流煙にはニコチンばかりでなく、発がん性を有する有害化学物質が粒子・ガス成分に多数含有されている。粒子成分には、IARCの発がん性リスク一覧においてグループ1に分類されたたばこ特異的ニトロソアミン類と多環芳香族炭化水素なども含有される。また、ガス成分には、グループ1に分類されたホルムアルデヒドをはじめとするアルデヒド類なども含まれる。これまでたばこ主流煙は、国際標準化機構が定める喫煙法で捕集されてきたが、ヒトの喫煙行動（代償性補償喫煙）に近い喫煙法（カナダ保健省提案）で捕集すると主流煙の化学成分量は増加する。今後、上記喫煙法での新たな主流煙測定結果が報告されることを期待する。

キーワード：たばこ, 喫煙者, 主流煙, 発がん性, 化学物質, 代償性補償喫煙

Abstract

Japan executed the tobacco control program under the Framework Convention on Tobacco Control (FCTC) in 2005. However, after the program was carried out, scientific data about the assessment of passive smoking has been limited and there have been few accurate surveys of the various chemical substances contained in tobacco smoke. Additionally, there has been a lack of scientific evidence of smoking and smoker. In particular, data on chemical substances in a mainstream of tobacco smoke is not publicized in Japan. Therefore only tar and nicotine yields have been printed on domestic cigarette packages. However, the mainstream contains not only nicotine, but various carcinogens in a particle matter and in a gaseous phase. Among the particle matter 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, *N*'-nitrosonornicotine and benzo[*a*]pyrene classified as IARC Group 1 substances (human carcinogens) have been reported. Also, the gaseous phase contains carbonyl compounds such as formaldehyde classified as an IARC Group 1 substance. Up to the present date, International Organization for Standardization (ISO) method has been used to collect the substances of the particle matter and the gaseous phase in the mainstream with smoking machine. But many studies have showed that the amount of chemical substances in mainstream increases through

〒 351-0197 埼玉県和光市南 2-3-6
2-3-6 Minami, Wako-shi, Saitama, 351-0197, Japan.
FAX: 048-458-6270
e-mail: yohei_inaba@niph.go.jp
[平成22年6月16日受理]

a human smoking behavior that is similar to the modified method (Health Canada Intense smoking method: HCI) that is called "compensatory smoking". We hope that the amount of chemical substances in mainstream will be measured using HCI and that many reports will be published.

Keywords: tobacco, smoker, mainstream, carcinogen, chemical substance, compensatory smoking

I. はじめに

わが国は、2005年に「たばこの規制に関する世界保健機関枠組条約（たばこ規制枠組条約）」に締結した。この条約の目的は、「たばこの使用及びたばこの煙にさらされることの広がりを継続的かつ実質的に減少させるため、締結国が自国においてならびに地域の及び国際的に実施するたばこの規制のための措置についての枠組みを提供することにより、たばこの消費及びたばこの煙にさらされること健康、社会、環境及び経済に及ぼす破壊的な影響から現在及び将来の世代を保護すること」と記されている。わが国は、2006年からはニコチン依存の根拠をもとに禁煙治療に対する保険適用が開始されている。加えて2009年には、「受動喫煙防止対策のあり方に関する検討会報告書」がとりまとめられるなど受動喫煙に対する対策がまとまりつつある。さらに神奈川県では、本年（2010年）4月より「神奈川県公共施設における受動喫煙防止条例」を施行するなど、受動喫煙に対する規制もおこなわれている。また、2010年10月1日からは、たばこ1本あたりの税が引き上げられるなど、たばこ及び喫煙者への関心が高まっている。

喫煙者は生体内にニコチンを摂取するために、喫煙行動を繰り返す。このニコチンは体内で速やかに代謝され、コチニンとなる。そのため多くの喫煙者は、一日に10-20本のたばこを喫煙すると考えられ、ニコチン依存度が高まることでさらに喫煙本数も増加する。喫煙者がたばこ末端（吸い口）より生体内に取り込む煙を主流煙と呼ぶ。この主流煙にはニコチンばかりでなく、発がん性を有する有害化学物質が粒子・ガス成分に多数含有されている。このため、北米カナダでは、たばこ外箱にタール、ニコチン、一酸化炭素（CO）、ホルムアルデヒド、シアン化水素、ベンゼンの測定値が表示されている。一方、わが国はたばこの外箱側面に、たばこ事業法施行規制に基づき「財務大臣の定める方法により測定したたばこ煙中に含まれるタール量及びニコチン量」が印字されている。この数値は、国際標準化機構（International Standardization Organization; ISO）の定める測定法に基づいて、機械喫煙装置を用いて主流煙をガラス繊維フィルターへ捕集後、化学分析した結果である^{1,3)}。この喫煙方法は、1回の吸煙量が35 mL、そのときの吸煙時間が2秒、吸煙間隔が1分、そしてたばこフィルター部分に設けられた通気孔が開放と指定されている。この吸煙法によるたばこ1本あたりの吸煙回数は、6-8回となる。このとき粒子成分は、喫煙装置に設置したガラス繊維フィルターに捕集され、一方、ガス成分は測

定対象物質ごとに捕集法が確立している。

本論文では、喫煙者が吸い込む主流煙に含まれている化学物質について、過去の先行研究をもとに説明する。また、低タール・低ニコチンたばこ喫煙者はより多くのニコチンを生体内に取り込もうと喫煙行動をするために喫煙時の吸煙量が多くなる傾向がある。この喫煙行動を採用した喫煙法（HCI法）がカナダ保健省によって提唱されている⁴⁾。このHCI法を用いて捕集したニコチン量とISO法によって測定した結果も合わせて報告する。

II. ニコチン

ニコチンは、たばこの葉中に含有されるアルカロイドであり、依存性の高い物質である。平成20年度の国民栄養・調査によると現在習慣的に喫煙している者で、たばこをやめたいと思う者は、男性28.5%女性37.4%であり、さらに禁煙を試みたことがある者は、男性52.1%、女性57.0%であった。以上のことから禁煙することが簡単ではないことが伺える。またニコチンは、「毒物及び劇物取締法」で医薬用外毒物に指定されているが、発がん性は確認されていない。一般的に主流煙のニコチン測定は、ガスクロマトグラフィー（GC）を利用したISO10315に準拠して行なわれている。ニコチンの濃度は、たばこ外箱に表示されているとおりである。

III. たばこ特異的ニトロソアミン（TSNA）

主流煙には、ニトロソアミン類が含まれており、特にtobacco specific N-nitrosamines (TSNA)として4種が存在する。TSNAはたばこ葉のアルカロイドである nicotine, nornicotine, anatabine, anabasine と亜硝酸や硝酸が反応して、4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), N'-nitrosoanatabine (NAT), N'-nitrosoanabasine (NAB) が生成される⁵⁾。また、たばこの発酵、製造過程により生成されるものや、たばこの燃焼時に熱合成により生成されるものもある⁶⁾。4種のTSNAのうち、NNKとNNNはIARCの発がん性リスク一覧においてグループ1（The agent is 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（The agent is 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。

たばこ主流煙中TSNAの測定は、主にガスクロマトグ

ラフィー/熱エネルギーアナライザ (GC/TEA) を用いて行われている^{7,8)}。近年は、検出感度が良く選択性の高い高速液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を用いて実施されている^{6,9)}。TSNA は主に粒子成分に含まれるため、まず機械喫煙装置によって喫煙させて発生した主流煙をガラス繊維フィルターで採取する。この採取フィルターから振盪抽出後、抽出液を直接 LC/MS/MS に供する方法がある¹⁰⁾。しかし、溶液中の夾雑物が LC/MS/MS のイオン化を抑制、または測定結果を高めてしまうこともある¹¹⁾ ため、液-液抽出法や固相抽出法を組み合わせて夾雑物を除去後、LC/MS/MS に供する方法¹²⁾ も検討されている。これまでの日本産たばこの TSNA 測定は、GC/TEA を使用した報告がほとんどである。旧厚生省は 1999 - 2000 年に国産たばこの測定を実施しており、その結果を Table 1 に示す¹³⁾。この結果は、TSNA 量は、たばこ外箱に表示されたタール量に依存せず、かならずしもタール量が有害性の指標ではないことを示唆している。

IV. 多環芳香族炭化水素 (PAH)

多環芳香族炭化水素類 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH) は、一般的に炭化水素のみで構成された環状不飽和化合物 (芳香環) が 2 つ以上縮合したもの一群を指し、有機物質の不完全燃焼により発生することが知られている。発生した PAH は環境状況 (気温、湿度等) により気体だけでなく粉塵に吸着した状態などで大気中に拡散していくことも報告されている。このような PAH の代表的なものとして Benzo[a]pyrene (BaP) があり、これら化合物は IARC の発がん性リスク一覧においてグループ 1 に分類されている。たばこ主流煙には、BaP をはじめとする 10 種ほどの PAH が含有されている¹⁴⁾。PAH の測定法は、主に HPLC/蛍光光度法 (HPLC/FLD) やガスクロマトグラフィーと質量分析を組み合わせた方法 (GC/MS) が多用されている¹⁵⁻¹⁷⁾。また、主流煙中 BaP 測定法については、公定法が作成されており、ISO 法では GC/MS 法¹⁷⁾ が、カナダ保健省の公定法では、HPLC/FLD¹⁶⁾ が採用されている。国産たばこの測定結果は、Table 1 に示すとおりで

ある。BaP は、TSNA と異なりたばこ外箱表示タール量に依存して、増加することが確認された。なお、この結果は、Hyodo らと同様の傾向であった¹⁸⁾。

V. アルデヒド類

たばこ主流煙中に含まれるアルデヒド類のうち IARC で発がん性が評価されているものはホルムアルデヒドとアセトアルデヒドの 2 種類である。ホルムアルデヒドは IARC のグループ 1 に分類され、アセトアルデヒドはグループ 2B に分類される。主に主流煙中のアルデヒド類は、燃焼によって発生し、ガス成分に含有される。

アルデヒド類やケトン類 (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 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 Allen¹⁹⁾ と Brady²⁰⁾ 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。空気中のカルボニル化合物の捕集には、当初 DNPH の酸性溶液のインピンジャー法²¹⁾ が行われていたが、現在は DNPH を含浸させた担体を用いた固体捕集法が主流となっている。固体捕集法に用いられる DNPH の担体には、XAD-2^{22,23)}、シリカゲル^{24,25)}、ガラスビーズ²⁶⁾、オクタデシルシラン結合シリカゲル²⁷⁾、フロリジル²⁸⁾、ガラスファイバーフィルター²⁹⁾ など多くの種類が使われてきたが、最近では、シリカゲルが最も多く使われており、DNPH を含浸させた DNPH-silica が主流である。この DNPH-silica を捕集剤とし、分析には紫外吸収検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる方法が、世界各国の公定法に採用されている³⁰⁾。この方法で著者らはたばこ主流煙中のアルデヒド類を分析し、ホルムアルデヒドやアセトアルデヒド以外 8 種類のアルデヒド類を測定している³¹⁾。特に、毒性の高いアクロレイン、グリオキサール、メチルグリオキサールが検出、定量可能であった。環境たばこ煙 (ETS) に含まれるアルデヒド類の分析には DNPH-silica を充填したカートリッジが使われ

Table 1 Amounts of TSNA and BaP in mainstream smoke of Japanese cigarettes

| Cigarette Brands | Nicotine (mg/cig.) | Tar (mg/cig.) | NNN (ng/cig.) | | NNK (ng/sig.) | | NAT (ng/cig.) | | NAB (ng/cig.) | | BaP (ng/cig.) | |
|-------------------------|--------------------|---------------|---------------|--------|---------------|--------|---------------|--------|---------------|--------|---------------|---------|
| | | | mean | SD | mean | SD | mean | SD | mean | SD | mean | SD |
| Frontier Lights | 0.12 | 1.4 | 21.9 | ± 1.56 | N. D. | | 18.5 | ± 1.97 | N. D. | | 2.15 | ± 0.133 |
| Mild Seven Extra Lights | 0.30 | 3.2 | 45.6 | ± 3.16 | 27.7 | ± 1.91 | 44.4 | ± 3.49 | 9.9 | ± 1.26 | 3.72 | ± 0.198 |
| Mild Seven Super Lights | 0.44 | 5.2 | 47.8 | ± 2.20 | 28.1 | ± 4.13 | 55.5 | ± 2.69 | 11.7 | ± 1.62 | 5.51 | ± 0.479 |
| Marlboro Menthol Lights | 0.60 | 7.5 | 125 | ± 4.36 | 89.9 | ± 5.61 | 120 | ± 8.54 | 19.6 | ± 0.45 | 6.43 | ± 0.442 |
| CABIN Mild | 0.66 | 8.7 | 116 | ± 6.94 | 52.8 | ± 3.56 | 84 | ± 3.86 | 15.7 | ± 0.55 | 8.87 | ± 0.678 |
| Mild Seven | 0.96 | 11.8 | 81 | ± 4.28 | 47.7 | ± 3.54 | 96.2 | ± 6.51 | 15.9 | ± 1.09 | 11.4 | ± 0.576 |
| Seven Stars | 1.44 | 16.3 | 65 | ± 6.07 | 40.3 | ± 3.19 | 77.6 | ± 4.58 | 13.1 | ± 1.87 | 14.6 | ± 0.984 |

Smoking protocol is ISO regimen. Source modified from reference 13.

N. D. : Not detected

Table 2 Amounts of carbonyls in mainstream smoke vapors of Japanese cigarettes

| Cigarette brands | Formaldehyde | | Acetaldehyde | | Acetone | | Acrolein | | Propionaldehyde | | Crotonaldehyde | | Methyl ethyl ketone | | Butyraldehyde | |
|-------------------------|-----------------------------------|---------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|---------|-----------------------------------|---------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|---------|
| | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD | mean ($\mu\text{g}/\text{cig}$) | SD |
| Frontier Lights | 3.46 | ± 0.047 | 112 | ± 17.7 | 82.5 | ± 5.81 | 9.93 | ± 1.09 | 11.8 | ± 1.36 | 2.33 | ± 0.367 | 13.6 | ± 1.35 | 12 | ± 0.962 |
| Mild Seven Extra Lights | 7.64 | ± 0.691 | 228 | ± 11.9 | 142 | ± 4.63 | 18.9 | ± 1.2 | 21.4 | ± 0.892 | 2.23 | ± 0.191 | 23 | ± 2.04 | 14.4 | ± 0.872 |
| Mild Seven Super Lights | 11.3 | ± 0.976 | 301 | ± 34.2 | 161 | ± 16.4 | 22.5 | ± 3.14 | 28.1 | ± 3.08 | 4.08 | ± 0.394 | 26.5 | ± 3.8 | 16.3 | ± 1.24 |
| Marlboro Menthol Lights | 15.8 | ± 1.75 | 397 | ± 60.6 | 212 | ± 20.2 | 34.8 | ± 4.44 | 36.8 | ± 2.08 | 5.66 | ± 0.535 | 44.4 | ± 2.36 | 26.8 | ± 2.58 |
| CABIN Mild | 19.3 | ± 1.07 | 491 | ± 26.8 | 249 | ± 9.27 | 37.4 | ± 1.71 | 45 | ± 2.53 | 5.37 | ± 0.371 | 42.5 | ± 4.5 | 25.5 | ± 1.85 |
| Mild Seven | 37.9 | ± 2.22 | 560 | ± 50.7 | 295 | ± 26.8 | 47.6 | ± 4.05 | 44.4 | ± 2.96 | 12.3 | ± 0.624 | 55 | ± 5.23 | 35.4 | ± 2.12 |
| Seven Stars | 70.7 | ± 5.51 | 766 | ± 51.2 | 362 | ± 19.2 | 73.8 | ± 5.16 | 72.3 | ± 5.35 | 18.3 | ± 1.29 | 72.9 | ± 1.13 | 42.6 | ± 1.63 |

Source modified from reference 13.

るが、主流煙の分析にはDNPH酸性溶液のインピンジャー法³²⁾が用いられている。この理由は、一般に、たばこ主流煙に含まれるアルデヒド類の濃度が非常に高く、通常のカートリッジ法で分析すると、DNPHを全て消費してしまい破過するためである。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、感度が低いため、高濃度のアセトアルデヒド等は分析できるが、低濃度の物質は測定できない欠点がある。たとえ低濃度でも、毒性の高いアルデヒド類がたばこ煙に存在する可能性もあるので、今後、高感度分析法の開発が必要である。最後に、国産たばこのアルデヒドの測定結果をTable 2に示す。

VI. HCI法によるニコチン測定結果とその比較

カナダ保健省は、ヒトの喫煙行動を考慮した喫煙法(HCI法)を提案している。この喫煙方法は、1回の吸煙量が55 mLでそのときの吸煙時間が2秒、吸煙間隔が30秒、そしてたばこフィルター部分に設けられた通気孔が閉鎖と指定されている。我々の研究グループは、過去に日本人喫煙者を対象としてその吸煙量を調査したところ、ニコチン表示量が0.6 mg未満のたばこを吸う喫煙者は、平均で58.4 mLの吸煙量であり、0.6 mg以上の場合は、同値50.0 mLであった³³⁾。上記研究結果から喫煙者は、ISO法よりもHCI法に近い喫煙行動を行なうことを示唆した。これは、低タール・低ニコチンたばこを喫煙する喫煙者がニコチンを体内に取り込むために「代償性補償喫煙」を行った結果であると考えられる。次にEndo³⁴⁾らによる国産たばこ10銘柄におけるISO, HCI法で捕集した主流煙中のニコチン測定結果をTable 3に示す。たばこ外箱表示が0.6 mg未満のたばこは、喫煙法をHCIにするとニコチン量は、0.89 - 1.4 mg/cig.となった。この結果から吸煙量の増加にともなってニコチン量も増加することが証明された。また、この研究で最もニコチン表示量が高いたばこをHCI法で捕集し、ニコチン量を測定したところ2.21 mg/cig.であり、ニコチン表示量が最も低いたばこのHCI法による捕集後のニコチン量0.89 mg/cig.と比較すると2.5倍ほどであった。ここで外箱ニコチン表示量の差は12倍であるが、喫煙法による違いは12倍以下であった。このことか

Table 3 Amounts of nicotine in mainstream smoke of Japanese cigarettes

| Cigarette brands | Nicotine (mg/cigarette) | | | |
|-------------------------|-------------------------|--------|------|--------|
| | ISO | | HCI | |
| | Mean | SD | Mean | SD |
| Pianissimo One | 0.20 | ± 0.01 | 0.89 | ± 0.01 |
| Mild Seven One | 0.19 | ± 0.03 | 0.97 | ± 0.07 |
| Mild Seven Extra Lights | 0.32 | ± 0.02 | 1.28 | ± 0.19 |
| Caster Mild | 0.47 | ± 0.06 | 1.29 | ± 0.07 |
| Mild Seven Super Lights | 0.53 | ± 0.05 | 1.40 | ± 0.08 |
| CABIN Mild | 0.63 | ± 0.03 | 1.46 | ± 0.08 |
| Mild Seven Lights | 0.66 | ± 0.05 | 1.52 | ± 0.09 |
| Mild Seven Original | 0.78 | ± 0.12 | 1.81 | ± 0.17 |
| HOPE | 0.95 | ± 0.06 | 2.04 | ± 0.04 |
| Seven Stars | 1.11 | ± 0.13 | 2.21 | ± 0.20 |

Source modified from reference 34.

ら喫煙法によって、ニコチン量は、たばこ外箱表示量とは異なる結果となることが確認され、また実際の喫煙においてもニコチン摂取量が変化するものと考えられた。

現在、わが国では、低タール・低ニコチンたばこがたばこ販売本数においてその多くを占めている。今後は、喫煙者が代償性補償喫煙を行なうことを考えて、HCI法による主流煙の捕集やニコチン以外のTSNA, PAH, アルデヒド類の測定結果がより多く公表されることを期待している。また、毎年、新しい銘柄のたばこが発売されているが、これら国産たばこの測定報告が、非常に少ないのは残念である。加えて、本報告で紹介することが出来なかった重金属をはじめとする有害化学物質の測定がさらに実施されることを期待する。

参考文献

- 1) ISO Standard 3308. International Organization for Standardization. Routine analytical cigarette smoking machine-definitions and standard conditions, fourth ed. 2000.

- 2) ISO Standard 4387. International Organization for Standardization. Cigarettes-determination of total and nicotine free dry particulate matter using a routine analytical smoking machine, third ed. 2000.
- 3) ISO Standard 10315. International Organization for Standardization. Determination of nicotine in smoke condensates-gas chromatographic method, second ed. 2000.
- 4) Method T-115. Health Canada. Determination of "Tar", nicotine and carbon monoxide in mainstream tobacco smoke. 1999.
- 5) Anderson RA, Kasperbauer MJ, Burton HR, Hamilton JL, Yoder EE. Changes in chemical composition of homogenized leaf-cured and air-cured burley tobacco stored in controlled environments. *J Agricultural Food Chem* 1982;30:663-8.
- 6) Wu W, Zhang L, Jain RB, Ashley DL, Watson CH. Determination of Carcinogenic tobacco-specific nitrosamines in mainstream smoke from U.S.-brand and non-U.S.-brand cigarettes from 14 countries. *Nicotine Tob Res* 2005;7:443-51.
- 7) Counts ME, Hsu FS, Laffoon SW, Dwyer RW, Cox RH. Mainstream smoke constituent yields and predicting relationships from a worldwide market sample of cigarette brands: ISO smoking conditions. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004;39:111-34.
- 8) Fischer S, Castonguay A, Kaiserman M, Spiegelhalter B, Preussmann R. Tobacco-specific nitrosamines in Canadian cigarettes. *J Cancer Res Clin Oncol* 1990;116:563-8.
- 9) Rickert WS, Joza PJ, Sharifi M, Wu J, Lauterbach JH. Reductions in the tobacco specific nitrosamine (TSNA) content of tobaccos taken from commercial Canadian cigarettes and corresponding reductions in TSNA deliveries in mainstream smoke from such cigarettes. *Regul Toxicol Pharmacol* 2008;51:306-10.
- 10) Wagner KA, Finkel NH, Fossett JE, Gillman IG. Development of a quantitative method for the analysis of tobacco-specific nitrosamines in mainstream cigarette smoke using isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2005;77:1001-6.
- 11) Rfernandez-Alba A, Aguera A. NITROSAMINES. In: Worsfold P, Townshend A, Poole C, editors. *Encyclopedia of analytical science*, 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 2005. p.197-202.
- 12) Wu W, Ashley DL, Watson CH. Simultaneous determination of five tobacco-specific nitrosamines in mainstream cigarette smoke by isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2003;75:4827-32.
- 13) 厚生労働省. 平成 11-12 年度 たばこ煙の成分分析について (概要). <http://www.mhlw.go.jp/topics/tobacco/houkoku/seibun.html>
- 14) IARC. Tobacco smoke and involuntary smoking. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol.83) Lyon, France: WHO; 2004.
- 15) Mineki S, Kawakami Y, Nakajima D, Shiozaki T, Sugita K, Shiraishi F, et al. Recovery rate in the concentration of semivolatile polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) solution. *J Environ Chem* 2008;18:43-50.
- 16) Method T-103. Health Canada. Determination of benzo[a]pyrene in mainstream tobacco smoke. 1999.
- 17) ISO Standard 22634. International Organization for Standardization. Determination of benzo[a]pyrene in cigarette mainstream smoke - Method using gas chromatography/mass spectrometry. 2008.
- 18) Hyodo T, Maruta Y, Itaya H, Mikita A, Kodera T, Meger M. Evaluation of functional relationships for predicting mainstream smoke constituent machine yields for conventional cigarettes from the Japanese market. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007;48:194-224.
- 19) Allen CFH. The identification of carbonyl compounds by use of 2,4-dinitrophenylhydrazine. *J Am Chem Soc* 1930;52: 2955-9.
- 20) Brady OL. The use of 2,4-dinitrophenyl hydrazine as a reagent for carbonyl compounds. *J Chem Soc* 1931:756-759.
- 21) Grosjean, D. Formaldehyde and other carbonyls in Los Angeles ambient air. *Environ Sci Technol* 1982;16:254-62.
- 22) Andersson G, Andersson K, Nilsson CA, Levin JO. Chemosorption of formaldehyde on Amberlite XAD-2 coated with 2,4-dinitrophenyl- hydrazine. *Chemosphere* 1979;8:823-7.
- 23) Andersson K, Hallgren C, Levin JO, Nilsson CA. Solid chemosorbent for sampling sub-ppm levels of acrolein and glutaraldehyde in air. *Chemosphere* 1981;10:275-80.
- 24) Beasley RK, Hoffmann CE, Rueppel ML, Worley JW. Sampling of formaldehyde in air with coated solid sorbent and determination by high performance liquid chromatography. *Anal Chem* 1980;52:1110-4.
- 25) Guenier JP, Simon P, Delcourt J, Didierjean MF, Lefevre C, Muller J. Air-sampling of aldehydes - Application to chromatographic determination of formaldehyde and acetaldehyde. *Chromatographia* 1984;18:137-44.
- 26) Grosjean D, Fung K. Collection efficiencies of cartridges and microimpingers for sampling of aldehydes in air as 2,4-dinitrophenylhydrazones. *Anal Chem* 1982;54:1221-4.

- 27) Kuwata K, Uebori M, Yamasaki H, Kuge Y, Kiso Y. Determination of aliphatic aldehydes in air by liquid chromatography. *Anal Chem* 1983;55:2013-6.
- 28) Lipari F, Swarin SJ. 2,4-Dinitrophenylhydrazine-coated Florisil sampling cartridges for the determination of formaldehyde in air. *Environ Sci Technol* 1985;19:70-4.
- 29) Levin JO, Andersson K, Lindahl R, Nilsson CA. Determination of sub-part-per-million levels of formaldehyde in air using active or passive sampling on 2,4-dinitrophenylhydrazine-coated glass fiber filters and high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* 1985;57:1032-5.
- 30) U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. Determination of formaldehyde in ambient air using adsorbent cartridge followed by high performance liquid chromatography (HPLC) , Compendium method TO-11A. Research Triangle Park, NC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development; 1999.
- 31) 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, *J Chromatogr A* 2010;1217:4383-8
- 32) Method T-104: Determination of selected carbonyls in mainstream tobacco smoke, prescribed by Health Canada, dated Dec. 31, 1999.
- 33) 鈴木元. 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. 厚生労働省科学研究費補助金 第3次対がん総合戦略事業「たばこ規制枠組条約に基づく有害化学物質等の新しい国際標準化試験法に関する研究」(主任研究者: 遠藤治). 平成20年度分担報告書. 2009.
- 34) Endo O, Matsumoto M, Inaba Y, Sugita K, Nakajima D, Ogata H, Suzuki G. Nicotine, tar, and mutagenicity of mainstream smoke generated by machine smoking with International organization for standardization and Health Canada intense regimens of major Japanese cigarette brands. *J Health Sci* 2009;55:421-7.