

## **Abschlussbericht**

**zum Forschungsauftrag 05HS039**

**Toxikologische Bewertung durch chemische Analyse  
von Zusatzstoffen und deren Pyrolyseprodukte für  
Tabakprodukte**

**Auftraggeber:**

**Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und  
Verbraucherschutz**

**Projektgeber:**

**Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung**

**Durchführung des Forschungsauftrages:**

**Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt  
Sigmaringen**

**Hedingerstraße 2/1**

**72488 Sigmaringen**

**Laufzeit:**

**15. November 2007 bis 18. Juli 2008**

## Inhaltsverzeichnis

Kapitel Nr.		Seite
1	Ziele und Aufgabenstellung des Projektes	2
1.1	Planung und Ablauf des Projektes	2
2	Material und Methoden	6
2.1	Material	6
2.2	Methoden	8
2.2.1	Methoden zur Bestimmung von Rauchinhaltsstoffen	8
2.2.2	Methoden zur Bestimmung der Zusatzstoffe in der Tabakmischung	9
3	Ergebnisse	9
3.1	Ausführliche Darstellung der Untersuchungsergebnisse	9
3.1.1	Untersuchung der Versuchszigaretten	9
3.1.2	Vorstellung der Analyten	12
3.1.2.1	Kohlenmonoxid, Nikotin und nikotinfreies Trockenkondensat	12
3.1.2.2	Tabakspezifische Nitrosamine	14
3.1.2.3	Carbonylverbindungen	16
3.1.2.4	Flüchtige Verbindungen	17
3.1.2.5	Benzo(a)pyren	18
3.1.3	Bewertung der untersuchten Zusatzstoffe Glycerin, Kakao und Saccharose	19
3.2	Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	19
4	Zusammenfassung	20
5	Literaturverzeichnis	20

### 1. Ziel und Aufgabenstellung des Projektes

Zigaretten enthalten neben Tabak auch eine Vielzahl an Zusatzstoffen. Es handelt sich dabei um Einzelstoffe, wie z. B. Glycerin, Menthol und Vanillin oder

um komplexe Gemische wie Aromen, Gewürze, Honig oder Kakao.

Die Tabakverordnung vom 20. Dezember 1977 regelt im Detail die Verwendung von Zusatzstoffen für Zigaretten. Die Verordnung schreibt vor, welche Zusatzstoffe erlaubt sind und in welcher Art und Menge sie zugesetzt werden dürfen. Die Tabakverordnung folgt dem Gedanken des Verbotsprinzips, „Alles ist verboten, was nicht ausdrücklich erlaubt ist“.

Aus Publikationen des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) und der internationalen Tabakindustrie lassen sich für den deutschen Zigarettenmarkt abschätzen, dass bis zu 500 Zusatzstoffe für die Herstellung verwendet werden. Für alle Tabakprodukte auf dem deutschen Markt muss diese Anzahl noch deutlich vergrößert werden.

Bei der Bewertung für die Zulassung der Zusatzstoffe durch das BMELV konnten bisher nur die Daten der unverbrannten Substanzen berücksichtigt werden. Die Zusatzstoffe für Tabakerzeugnisse sind in der öffentlichen Diskussion im Hinblick auf eine mögliche gesundheitsgefährdende und suchtfördernde Wirkung.

Nach neuen Erkenntnissen kann nicht ausgeschlossen werden, dass beim Verbrennungsprozess durch die zugesetzten Stoffe gesundheitsschädliche Substanzen beim Rauchen entstehen. Diese Substanzen, die zusätzlich zu den Pyrolyseprodukten des Tabaks entstehen, können ein zusätzliches Risiko beim Rauchen darstellen. Zukünftig sollen für die Bewertung von national zugelassenen Zusatzstoffen auch die Besonderheiten des Pyrolysevorganges bei Zigaretten herangezogen werden. Die Problematik der Zulassung von Zusatzstoffen in Tabakerzeugnissen ist auch von der Europäischen Kommission aufgegriffen worden. Seit November 2002 wird durch die Richtlinie 2001/37/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 05. Juni 2001 zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten über die Herstellung, die Aufmachung und den Verkauf von Tabakerzeugnissen u.a. von den Tabakfirmen die Angabe der Zusatzstoffe in Tabakprodukten und - sofern vorhanden - deren toxikologische Bewertung, auch in verbrannter Form, gefordert.

Eine Rücknahme der Zulassung eines Zusatzstoffes kann nur auf Erkenntnissen erfolgen, die auf wissenschaftlich anerkannten Methoden basieren. Hierzu ist eine Reevaluierung der zugelassenen Stoffe unter Berücksichtigung der in dem Forschungsprojekt zu bestimmenden Pyrolysedaten und einer eventuellen zusätzlichen Gefährdung notwendig.

Ziel des Projektes ist die Bestimmung von verschiedenen chemischen Pyrolysedaten als Grundlage für eine wissenschaftliche Entscheidungshilfe des BMELV zur Reevaluierung der für Tabakerzeugnisse zugelassenen Stoffe.

## **1.1 Planung und Ablauf des Projektes**

Im Zuwendungsbescheid vom 14.11.2006 Az.: 514-33.31/05HS039 wurde das Forschungsprojekt für den Zeitraum vom 15.11.2007 bis 31.01.2008 genehmigt. Es war das analytische Abrauchen von drei Zigarettentypen mit unterschiedlichen Kondensatgehalten geplant. Den Zigaretten sollten 3 Zusatzstoffe in unterschiedlichen Konzentrationen zugemischt werden. Als Rauchinhaltsstoffe sollten Tabakspezifische Nitrosamine (TSNA) und Benzo(a)pyren (BaP) analysiert werden.

Am 04.12.2006 fand eine Besprechung mit Vertretern des BMELV, des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) und des Chemischen und Veterinäruntersuchungsamtes (CVUA) Sigmaringen statt. Im Rahmen der Besprechung wurden folgende Zusatzstoffe ausgewählt, die in den vergangenen Jahren verstärkt Gegenstand öffentlicher Diskussionen waren (Bates et al. 1999, DKFZ 2005):

- Glycerin  
Glycerin ist ein häufig genutztes Feuchthaltemittel in Zigaretten. Im Zigarettentabak wird Glycerin in einer Menge von 1-5% des Tabakgewichtes eingesetzt (Carmines and Gaworski, 2005). In Pyrolysestudien wurde gezeigt, dass Glycerin zu über 98% unverbrannt in den Tabakrauch übergehen kann (Baker and Bishop, 2004). Dennoch besteht die Gefahr, dass durch die Zugabe von Glycerin der Anteil von niedermolekularen Aldehyden im Zigarettenrauch steigt (DKFZ, 2005).
- Kakao  
In Deutschland liegt die maximale Zugabe von Kakao, bzw. Kakaoprodukten im Tabak bei ~ 1,3% des Tabakgewichtes. Durch den natürlichen Gehalt von ~ 2,6% Theobromin im Kakao besteht eine theoretische Möglichkeit, dass Raucher diese bronchodilatatorische Substanz inhalieren (Bates et al., 1999; DKFZ, 2005; Rambali et al., 2002). Zusätzlich kann die Zugabe von Kakao zu einem höheren Gehalt an toxischen Substanzen, wie beispielsweise Phenolen und Benzo[a]pyren im Rauch führen (Rodgman, 2002).
- Saccharose  
Zucker ist ein natürlicher Inhaltsstoff des Tabaks, der über 20% des Blattgewichtes ausmachen kann (Leffingwell, 1999). Dennoch werden bei der Zigarettenproduktion verschiedene Zucker (wie Saccharose oder Invertzucker) bis zu 5% des Tabakgewichtes auf dem Tabak appliziert. Saccharose ist nicht flüchtig und wird während des Rauchens vollständig pyrolysiert oder verbrannt. Diskutiert wird, ob die Zugabe von Zuckern zu Zigaretten generell zu einer Zunahme an toxischen Substanzen im Zigarettenrauch führt und speziell zu einer Zunahme an niedermolekularen Aldehyden (Acetaldehyd, Formaldehyd, Acrolein) im Zigarettenrauch führt (DKFZ, 2005; Talhout et al., 2006).

Zahlreiche Analysen über den Einfluss von Zusatzstoffen im Zigarettenrauch sind in den letzten 50 Jahren publiziert worden (reviewed von Paschke et al., 2002 und Rodgman, 2004). Meistens werden in diesen Untersuchungen Stoffgemische, wie sie realistischerweise bei der Produktion von Zigaretten verwendet werden, untersucht. Für die toxikologische Bewertung eines Zusatzstoffes muss aber der Einfluss einer einzelnen Substanz betrachtet werden. Der bei der Verbrennung des Tabaks entstehende Rauch enthält generell eine Vielzahl an toxischen Substanzen. Die Beurteilung, ob ein Zusatzstoff die Menge an toxischen Substanzen im Rauch erhöht, muss demnach durch den Vergleich zwischen dem Rauch einer Vergleichszigarette ohne den jeweiligen Zusatzstoff und dem Rauch der Zigarette mit dem Zusatzstoff erfolgen.

Auf Grund der Auswahl der Zusatzstoffe erschien es aus toxikologischer Sicht sinnvoller, die Anzahl der zu untersuchenden Marken von 3 auf 2 Marken zu reduzieren. Um aussagekräftige Ergebnisse hinsichtlich der toxikologischen Beurteilung durch das BfR zu erhalten, wurde die Zahl der zu untersuchenden Rauchinhaltsstoffe deutlich erhöht. Der Hauptstromrauch sollte auf folgende Substanzen überprüft werden:

- Tabakspezifische Nitrosamine (TSNA)
- Formaldehyd
- Acetaldehyd
- 1,3 Butadien
- Isopren
- Benzo(a)pyren (BaP)
- Nikotinfreies Trockenkondensat (NFDPM)
- Nikotin
- Kohlenmonoxid (CO)

Ursprünglich waren die Tabakspezifischen Nitrosamine und Benzo(a)pyren aus dem toxikologischen Spektrum des Hauptstromrauches ausgewählt worden, weil gerade diese Substanzen in der Partikelphase in der Literatur ausführlichst diskutiert worden sind (IARC, 2004). Das CVUA Sigmaringen hat dieses Untersuchungsspektrum in Absprache mit dem Auftraggeber erweitert, um weitere toxisch relevante Parameter aufzunehmen, wie 1,3-Butadien, welches ein hohes kanzerogenes Potential im Zigarettenrauch aufweist (Fowles and Dybing, 2003), sowie Isopren. Beide Substanzen repräsentieren die flüchtigen Kohlenwasserstoffe der Gasphase.

Formaldehyd und Acetaldehyd, ebenfalls Bestandteile der Gasphase, wurden aufgenommen, weil es in der Literatur in korrelativem Zusammenhang mit dem Zuckergehalt im Tabak diskutiert wird (DKFZ, 2005).

Die aufgeführten Substanzen können unter analytischen Gesichtspunkten zu Gruppen zusammengefasst und in einem Abrauchgang bestimmt werden.

- |              |  |
|--------------|--|
| 1. Rauchgang | Carbonyle: Formaldehyd, Acetaldehyd                                |
| 2. Rauchgang | Leicht flüchtige Verbindungen: 1,3-Butadien, Isopren und TSNA.     |
| 3. Rauchgang | Benzo(a)pyren  |
| 4. Rauchgang | Nikotinfreies Trockenkondensat (NFDPM), Nikotin und Kohlenmonoxid. |

Pro Zusatz und Konzentrationsniveau müssen 4 Rauchgänge durchgeführt werden um alle geforderten Substanzen bestimmen zu können. Auf Grund der hohen Varianz, bedingt durch die analytischen und produktionstechnischen Schwankungen, wird jeder Rauchgang 10 mal wiederholt.

Darstellung der erforderlichen Abrauchgänge:

Zusatzniveau	Carbonyle		Flüchtige Verbindungen und TSNA		BaP		NFDPM, Nikotin, CO		Summe der Rauchgänge
	K 1	K 2	K 1	K 2	K 1	K 2	K 1	K 2	
Glycerin 1	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Glycerin 2	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Glycerin 3	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Kakao 1	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Kakao 2	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Kakao 3	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Saccharose 1	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Saccharose 2	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Saccharose 3	10	10	10	10	10	10	10	10	80
Referenz-zigarette	10	10	10	10	10	10	10	10	80
							Summe der Abrauchgänge:		800

K 1 = Kondensatlevel 1

K 2 = Kondensatlevel 2

Für Wiederholmessungen und Qualitätssicherungsmaßnahmen mussten ca. 300 Abrauchgänge zusätzlich durchgeführt werden. Weiterhin wurden verschiedene Monitorzigaretten mit bekannten Gehalten der zu bestimmenden Substanzen mindestens einmal pro Untersuchungstag analysiert.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Material

Im Rahmen des Forschungsprojekts wurden in der Versuchsanlage (Pilot Plant) der British American Tobacco (BAT) Germany 20 Prüflinge hergestellt. Die Herstellungsschritte für die Prüflinge innerhalb der Pilot Plant entsprechen dabei genau denen bei der Herstellung von Fabrikzigaretten im industriellen Maßstab. Im Wesentlichen lässt sich der Herstellungsprozess in zwei Teilschritte unterteilen:

Tabakvorbereitung (Primary) und Zigarettenherstellung (Secondary).

In der Primary wird der Tabak für die Herstellung von Zigaretten vorbereitet. Als wichtigste Prozesse sind hier das Blenden (Zusammenstellen und Mischen der verwendeten Tabake), das Casen (Auftrag von Additiven) und das Schneiden der vorbereiteten Tabakmischung zu nennen. In der Secondary wird die in der Primary hergestellte Tabakmischung zur Herstellung von Zigaretten, in diesem Fall Prüflinge, verwendet. Zur Herstellung wird ein Tabakstrang geformt und von einem Zigarettenpapier umschlossen. Anschließend wird der Filter mit Filterumhüllungs- und Tippingpapier mit entsprechender Filterventilation angebracht. Im Anschluss daran werden die Zigaretten/Prüflinge verpackt.

Als Ziel bei der Herstellung der Prüflinge wurden zwei unterschiedliche Kondensatniveaus anvisiert: 6 mg/Zig. und 10 mg/Zig. Darüber hinaus sollten die Additive, Glycerin (Feuchthaltemittel), Kakao (Casingmaterial) und Rohrzucker (Casingmaterial) in drei verschiedenen Konzentrationsniveaus zur Verwendung kommen. Als Referenzen dienten die zwei Prüflinge (6 mg/Zig. und 10 mg/Zig.), welche ohne Additive hergestellt wurden. Für die Herstellung aller 20 Prüflinge wurde immer die gleiche Tabakmischung (Blend) verwendet, welche in einer Mischungsgröße von 200 kg in der Primary mit folgenden Blendanteilen erstellt worden ist: 50% Virginia (flue cured) Tabake, 20% Burley (air cured) Tabake, 20% Tabakrippen und 10% Orient (sun cured) Tabake. Diese Mischung entspricht in ihrer Zusammensetzung sehr vielen Produkten auf dem deutschen Markt. In diesem speziellen Fall ist eine auf dem deutschen Markt befindliche Mischung nur leicht modifiziert worden und in den Prüflingen zum Einsatz gekommen.

Die eingesetzten drei Zusatzstoffe (Additive) wiesen folgende Reinheiten oder prinzipielle Eigenschaften auf: Glycerin (Reinheit >99%), Rohrzucker (Saccharosegehalt >99%) und Kakao (Fettgehalt 10– 12%). Dabei ist festzustellen, dass Tabak Glycerin und Saccharose als Naturstoff enthält. Im Rahmen der Herstellung der Prüflinge wurde bei den Referenzproben (ohne Additive) der Glycerin- und Saccharosegehalt im Tabak bestimmt. Für Glycerin ergab sich ein Durchschnittswert von 0,2 % und für Saccharose von 0,7%. Diese Gehalte stimmen mit den Literaturangaben überein.

Folgende gemessene Konzentrationen an Additiven wurden bei der Herstellung der Prüflinge (gültig für beide Kondensatniveaus) erzielt: Glycerin 1,5%, 3,1% und 5,5%; Kakao 0,4%, 1,1% und 2,2%; Saccharose 1,6%, 2,1% und 4,8%. Es ist dabei festzuhalten, dass die jeweils niedrigste Konzentration eines Zusatzstoffes einer Konzentration entspricht, welche typisch für ein handelsübliches Produkt ist. Die höheren Konzentrationen der Zusatzstoffe sollten als eher experimentell betrachtet werden, um deren Einfluss auf die Zusammensetzung der Chemie des Hauptstromrauches zu testen. Ferner sei darauf hingewiesen, dass während der Herstellung der Tabakmischungen mit den erhöhten bzw. stark erhöhten Konzentrationen von Additiven nicht unerhebliche Verluste entlang des Produktionsweges aufgetreten sind. Damit wird klar, dass derart hohe Konzentrationen von Additiven bei der industriellen Herstellung von handelsüblichen Produkten nicht denkbar sind.

Um einen Prüfling in der Secondary herstellen zu können, muss der Tabakstrang eine bestimmte Härte aufweisen. Diese Härte ist im Wesentlichen von den physikalischen Eigenschaften der Tabakmischung („Elastizität“) abhängig und wird durch Gewichtsreduktion bzw. -erhöhung über den Produktionsprozess aller Prüflinge konstant gehalten. Da es Ziel war, die Prüflinge mit vorgegebenen Kondensatniveaus (6 mg/Zig. und 10 mg/Zig.) herzustellen, ist es notwendig, das Design (z.B. Zigarettenpapier, Filtertyp und Ventilationsgrad) der Prüflinge anzupassen. Das Design der Prüflinge – Filter und Zigarettenpapier – wurde für ein Kondensatniveau immer konstant gehalten. Ebenfalls wurde das Tabakeinsatzgewicht für ein Kondensatniveau konstant gehalten, um die Menge an verbrannter Masse ebenfalls konstant zu halten. So ergab sich für die Prüflinge mit der Zielvorgabe 10 mg Kondensat ein durchschnittliches Gewicht des Tabakstocks von 674 mg, für die Prüflinge mit der Zielvorgabe von 6 mg Kondensat ein durchschnittliches Tabakstockgewicht von 611 mg. Die Unterschiede im Tabakeinsatzgewicht zwischen den Prüflingen der beiden Kondensatniveaus rührt durch die Verwendung zweier verschiedener Filterlängen her: Für die Herstellung der Prüflinge mit 10 mg

Kondensat kam ein Filter mit 22 mm Länge und für die Prüflinge mit 6 mg ein Filter mit der Länge von 27 mm zum Einsatz. Die Packungsdichte des Tabaks, vereinfacht die Tabakmasse pro Längeneinheit, wurde für beide Kondensatniveaus konstant gehalten, so dass auch die verbrannte Tabakmenge pro Längeneinheit für beide Kondensatniveaus als identisch angesehen werden kann. Da bekannt ist, dass Abweichungen des Gesamtgewichts (Tabak, Papier- und Filtermaterialien) des Prüflings hauptsächlich von dem schwankenden Tabakeinsatzgewicht herrühren, sollte an dieser Stelle angemerkt werden, dass eine Toleranz des Tabakeinsatzgewichtes von +/- 2-4% um den spezifizierten Wert eingeräumt wird. Die für die Untersuchungen herangezogenen Prüflinge zeigten produktionspezifische Streuungen des Tabakeinsatzgewichtes innerhalb der erlaubten Toleranz.

Um die vorgegebenen Kondensatniveaus von 6 mg/Zig. und 10 mg/Zig. einzustellen, wurde die Ventilation des Filters verwendet, welche via off-line Laser auf die Prüflinge aufgebracht wurde. Für Prüflinge mit dem Kondensatniveau von 10 mg wurde ein Ventilationsgrad von 27% spezifiziert, welcher für die Prüflinge mit einem Saccharosegehalt von 2,1% und 4,8% um 3% nach unten und für den Prüfling mit einem Glyceringehalt von 5,5% um 2% nach oben korrigiert werden musste, damit das vorgegebene Kondensatniveau von 10 mg erreicht werden konnte. Im Falle der Prüflinge für das 6 mg Kondensatniveau wurde ein Ventilationsgrad von 47% spezifiziert. Hier musste für den Prüfling mit einem Glyceringehalt von 5,5% die Ventilation um 2% nach oben korrigiert werden, um das vorgegebene Kondensatniveau zu erreichen. Zusammenfassend ist festzustellen, dass obwohl die Gesamtheit aller Prüflinge eine große Spann-breite der Konzentrationen von verschiedenen Additiven aufwies, nur geringfügige Änderungen des Ventilationsgrades vorgenommen werden mussten, welche im Bereich der Schwankungsbreite der Ventilation bei der industriellen Herstellung von Zigaretten liegt.



## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Methoden zur Bestimmung von Rauchinhaltsstoffen

Folgende Methoden wurden für die Bestimmung der Emissionen im Hauptstromrauch verwendet:

Lfd. Nr.	Substanz	Verwendete Methode
1		DIN ISO 3402 Tabak und Tabakerzeugnisse Klima zum Konditionieren und Prüfen (ISO 3402:1999)
2	1. Nikotinfreies Trockenkondensat, 2. Nikotin	DIN ISO 4387 Tabak und Tabakerzeugnisse Zigaretten; Bestimmung des Rohkondensates und des nikotinfreien Trockenkondensates unter Verwendung einer Zigaretten-Abrauchmaschine für Routineanalysen (ISO 4387:2000)
3	Kohlenmonoxid	DIN ISO 8454 Tabak und Tabakerzeugnisse Zigaretten - Bestimmung des Kohlenmonoxidgehaltes in der Gasphase von Zigarettenrauch - NDIR-Verfahren (ISO 8454:1995)
4	Wasser	DIN ISO 10362-2: Tabak und Tabakerzeugnisse Zigaretten - Wasserbestimmung in Rauchkondensaten - Karl-Fischer-Verfahren (ISO 10362-2:1994)
5	Wasser	DIN ISO 6488 Tabak und Tabakerzeugnisse - Bestimmung des Wassergehaltes - Karl-Fischer-Verfahren (ISO 6488:2004)
6	1. Formaldehyd 2. Acetaldehyd 3. Acrolein 4. Propionaldehyd	Official method of Health Canada TT104 Determination of selected carbonyls in mainstream tobacco smoke, 1999
7	1. n-nitrosornicotin (NNN) 2. 4-(N-nitrosomethylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanon (NNK) 3. N-nitrosoanatabin (NAT) 4. N-nitrosoanabasin (NAB)	Official method of Health Canada T-111, Determination of nitrosamines in mainstream tobacco smoke, 1999
8	Benzo(a)pyren	Official method of Health Canada T103, Determination of Benzo(a)pyrene in mainstream tobacco smoke, 1999
9	1. 1,3 Butadien 2. Isopren 3. Acrylnitril 4. Benzol 5. Toluol 6. m+p-Xylol 7. o-Xylol 8. Styrol	Official method of Health Canada T-116 Determination of 1,3-Butadien, Isoprene, Benzene and Toluene in mainstream tobacco smoke, 1999

## 2.2.2 Methoden zur Bestimmung der Zusatzstoffe in der Tabakmischung

Lfd. Nr.	Zusatzstoffe	Methode
1	Glycerin	Bestimmung des Gehaltes an Feuchthaltemitteln in Tabakerzeugnissen. Gaschromatographisches Verfahren. CVUA Sigmaringen; Prüfverfahren 01P0800, 2003
2	Kakao (Theobromin)	Bestimmung von Theobromin und Coffein in Kakao, L 45.00-1, 1999, Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren § 64 LFGB
3	Saccharose	DIN 10371, 2001 Tabak und Tabakerzeugnisse Bestimmung des Glucose-, Fructose- und Saccharosegehaltes. Hochdruckflüssigchromatographisches Verfahren.

## 3. Ergebnisse

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden über 1.100 Abrauchanalysen durchgeführt. Um die statistische Sicherheit der einzelnen Substanzen zu gewährleisten und um wissenschaftlich robuste Ergebnisse zu erhalten mussten mehr als 7.000 Einzeldaten produziert werden. Das Komprimieren dieser Einzeldaten und die wissenschaftliche Zuordnung zu signifikanten Wirkungseffekten der einzelnen Zusatzstoffe war eine besondere Herausforderung des Forschungsprojektes.

### 3.1 Ausführliche Darstellung der Untersuchungsergebnisse

#### 3.1.1 Analyse der Versuchszigaretten

Zusatzstoff Glycerin:

In der Vorbesprechung zur Durchführung des Forschungsprojektes wurde die Zugabe von 3 unterschiedlichen Konzentrationen vereinbart. Die Glycerinkonzentration sollte sowohl im Bereich der praktischen Anwendung, als auch über der gesetzlichen Höchstmenge (5 % i.d.Trm.) liegen.

Zielvorgaben für Glycerin

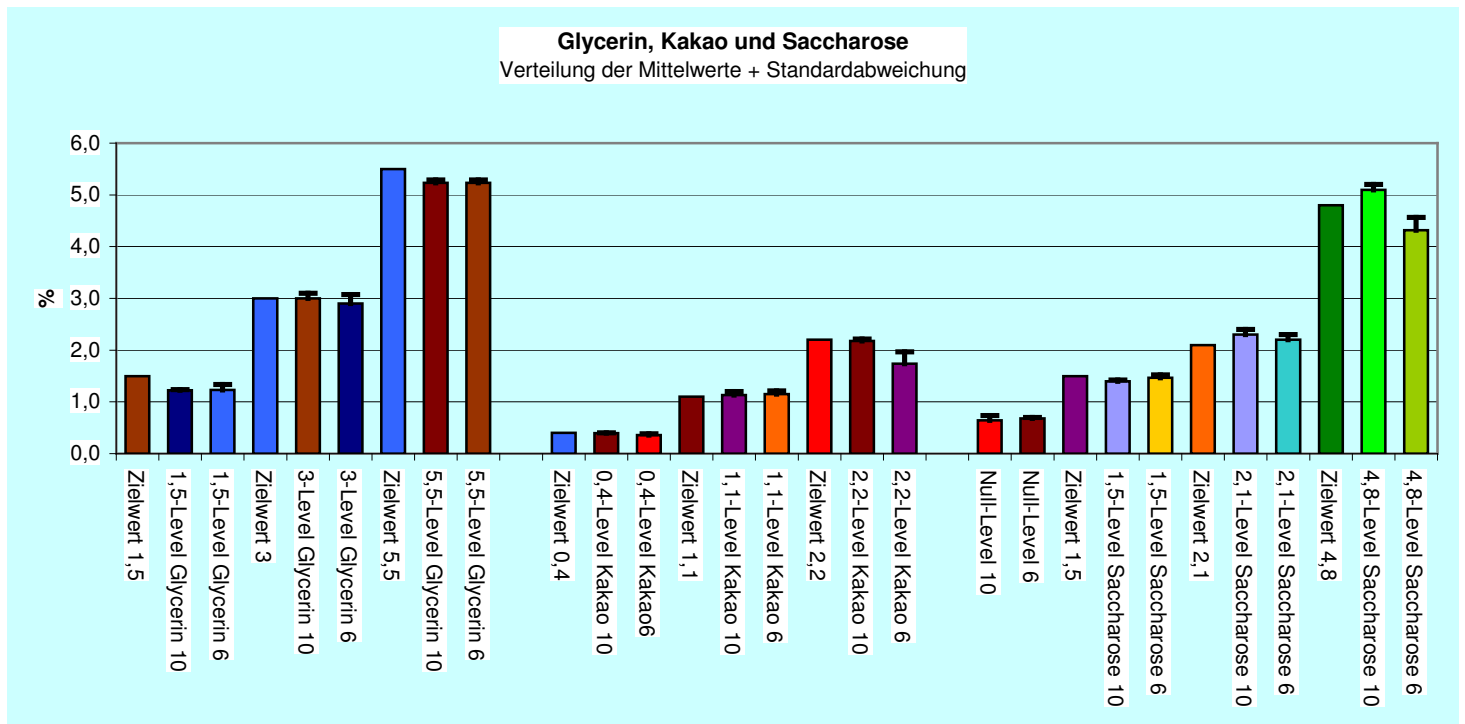
Kennziffer	Interne Kennung	Sollwert in %		Istwert in %	
		K=6 mg/Zig	K=10 mg/Zig	K=6 mg/Zig	K=10 mg/Zig
355XC4	Null-Level 10 (Referenzzigarette)		0,0%		0,0%
355XD4	Null-Level 6 (Referenzzigarette)	0,0%		0,0%	
357XC4	1,5 Level G 10		1,5%		1,2%
359XC3	3 Level G 10		3,0%		3,0%
484XA5	5,5 Level G 10		5,5%		5,2%
357XD4	1,5 Level G 6	1,5%		1,2%	
359XD3	3 Level G 6	3,0%		2,9%	
484XB5	5,5 Level G 6	5,5%		5,2%	

% = Gewichtsprozent bezogen auf die Tabakeinwaage.

Zielvorgaben für Kakao

Kennziffer	Interne Kennung	Sollwert		Istwert	
		K=6 mg/Zig	K=10 mg/Zig	K=6 mg/Zig	K=10 mg/Zig
355XC4	Null-Level 10 (Referenzzigarette)		0,0%		0,0%
355XD4	Null-Level 6 (Referenzzigarette)	0,0%		0,0%	
361XA4	0,4 Level K 10		0,4%		0,39%
363XA4	1,1 Level K 10		1,1%		1,13%
365XA4	2,2 Level K 10		2,2%		2,18%
361XB4	0,4 Level K 6	0,4%		0,36%	
363XB4	1,1 Level K 6	1,1%		1,15%	
365XB4	2,2 Level K 6	2,2%		1,74%	

% = Gewichtsprozent bezogen auf die Tabakeinwaage.



Zu Beginn der Analytik wurden die angestrebten Glycerin-, Kakao- und Saccharosekonzentrationen in der Tabakmischung analytisch überprüft. Die Zielvorgaben bei der Herstellung wurden für beide Zusatzstoffe im Rahmen der technischen Möglichkeiten eingehalten.

## Zielvorgaben für Saccharose

Kennziffer	Interne Kennung	Sollwert		Istwert	
		K=6 mg/Zig	K=10 mg/Zig	K= 6 mg/Zig	K= 10 mg/Zig
355XC4	Null-Level 10 (Referenzzigarette)				0,64%
355XD4	Null-Level 6 (Referenzzigarette)			0,68%	
367XA4	1,5 Level S 10		1,5%		1,4%
369XA3	2,1 Level S 10		2,1%		2,3%
371XA5	4,8 Level S 10		4,8%		5,1%
367XB4	1,5 Level S 6	1,5%		1,5%	
369XB3	2,1 Level S 6	2,1%		2,2%	
371XB5	4,8 Level S 6	4,8%		4,3%	

% = Gewichtsprozent bezogen auf die Tabakeinwaage.

Der Saccharosegehalt in den beiden Referenzzigaretten beträgt 0,64% bzw. 0,68%. Dieser Gehalt liegt im Bereich des natürlichen Saccharosegehaltes von Tabak. Der in der Tabelle angegebene Saccharosegehalt entspricht der Summe aus Zusatz plus natürlicher Gehalt der Ausgangsmischung.

Die Zielvorgaben für den Gesamtsaccharosegehalt in der Tabakmischung wurden mit guter Genauigkeit erreicht. Zu Beginn des Forschungsprojektes wurde vereinbart, das Tabakeinsatzgewicht bei allen Zigarettenprüflingen innerhalb der gleichen Kondensatgruppe konstant zu halten. Diese Vorgabe wurde sehr gut eingehalten.

Gewicht der Zigarettenprüflinge K = 6 mg/Zigarette

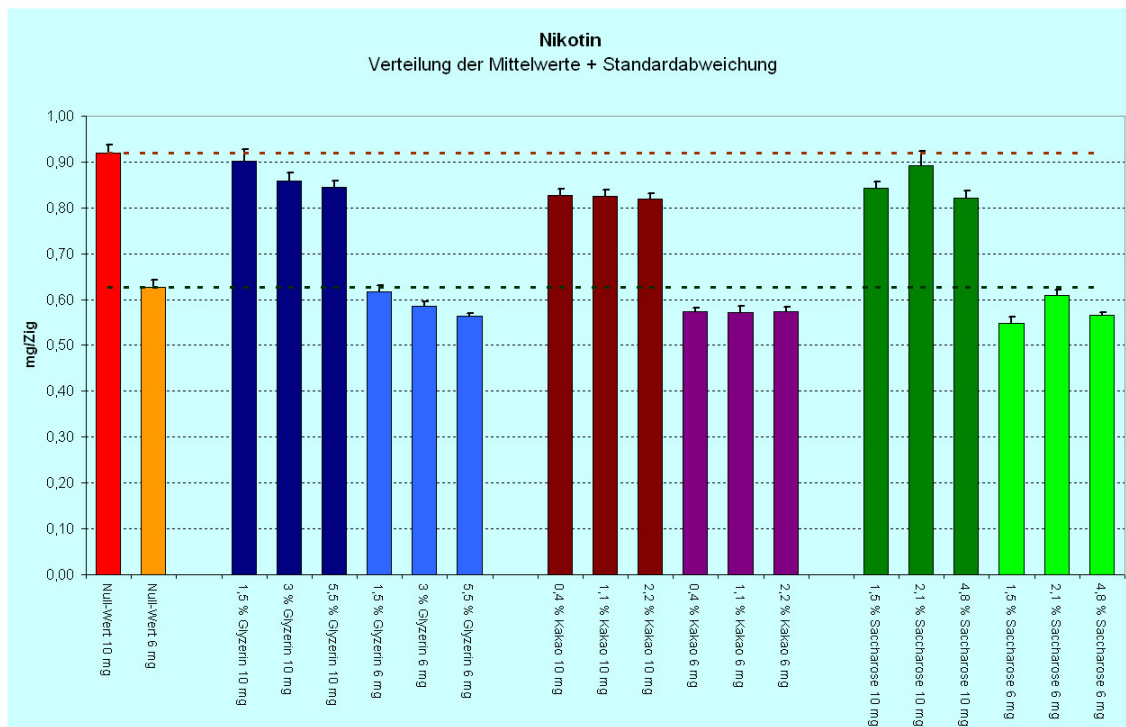
Proben-Nr.	Gewicht Papier/Filter g/Zig.	Gewicht Tabak g/Zig.
355XC4	0,20129	0,65323
357XC4	0,20015	0,67879
359XC3	0,20109	0,67521
484XA5	0,20467	0,68607
361XA4	0,19816	0,66423
363XA4	0,20001	0,67200
365XA4	0,19840	0,66853
367XA4	0,20254	0,68561
369XA3	0,20094	0,68077
371XA5	0,20173	0,67868
Mittelwert	0,2009	<b>0,6743</b>
Standardabweichung	0,0018	<b>0,0097</b>

Gewicht der Zigarettenprüflinge K = 10 mg/Zigarette

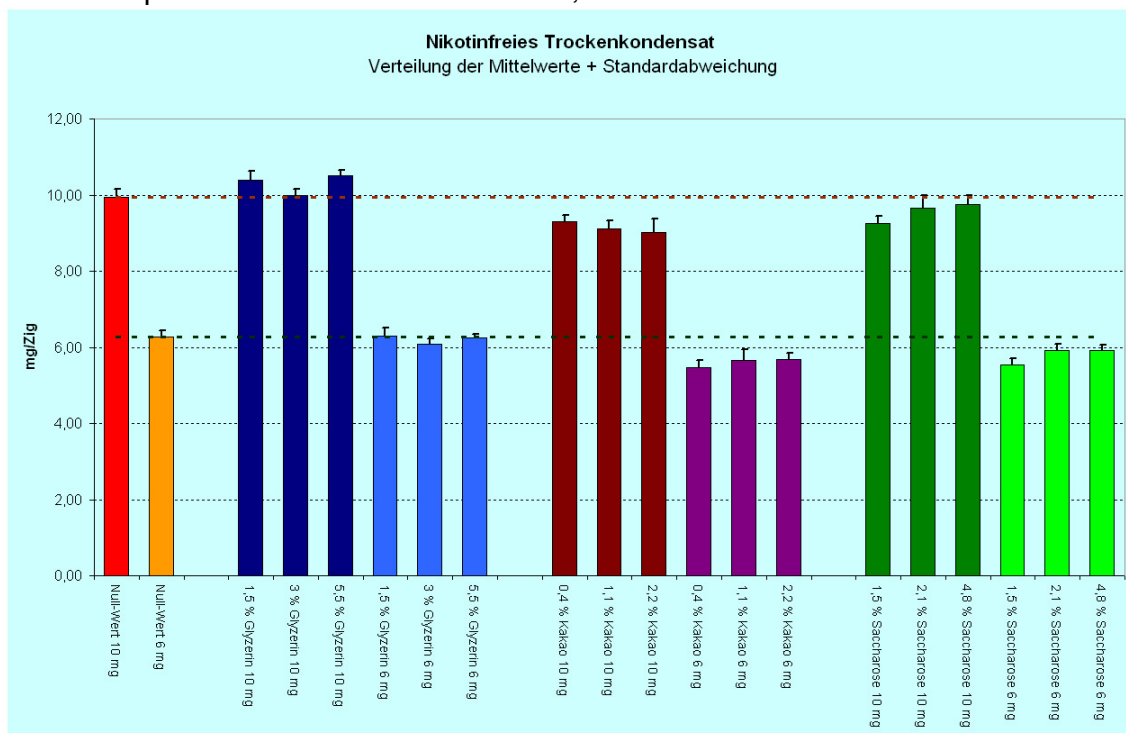
Proben-Nr.	Gewicht Papier/Filter pro Zig.	Gewicht Tabak pro Zig.
355XD4	0,23782	0,60448
357XD4	0,23638	0,61072
359XD3	0,2372	0,61101
484XB5	0,24102	0,63019
361XB4	0,23795	0,62289
363XB4	0,23852	0,61765
365XB4	0,23502	0,61508
367XB4	0,23802	0,61022
369XB3	0,23926	0,61542
371XB5	0,23825	0,60496
Mittelwert	0,2379	<b>0,6143</b>
Standardabweichung	0,0015	<b>0,0075</b>

### 3.1.2 Vorstellung der Analyten

#### 3.1.2.1 Kohlenmonoxid, Nikotin und nikotinfreies Trockenkondensat



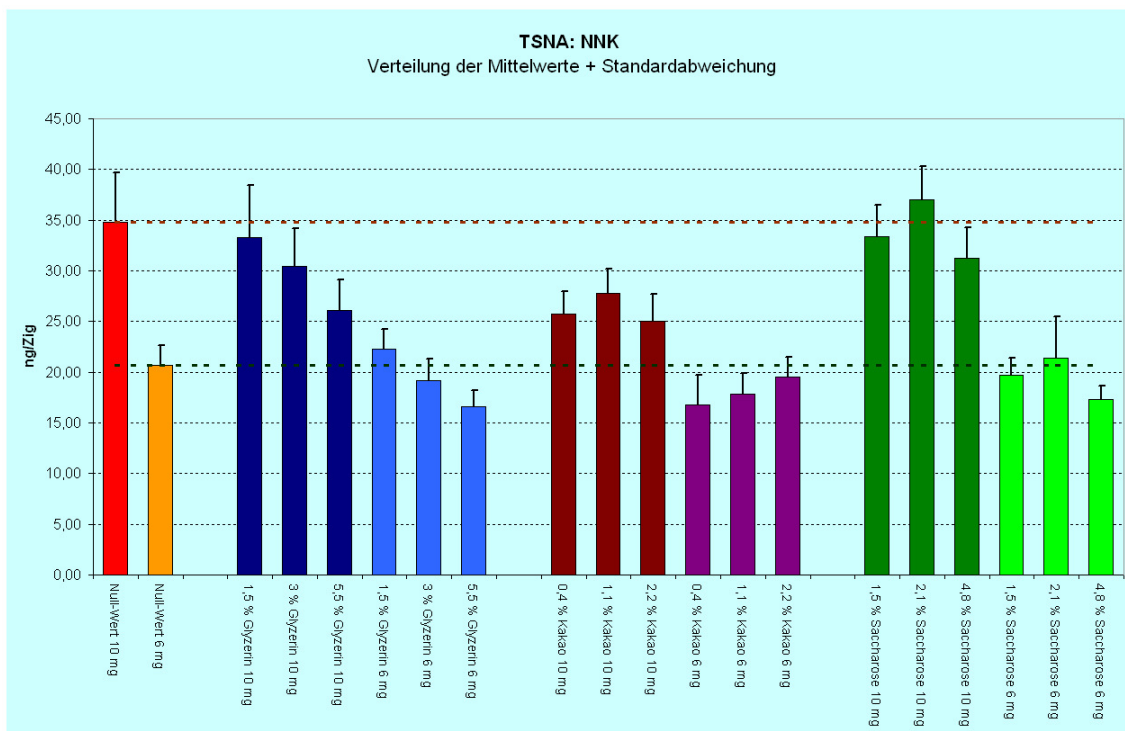
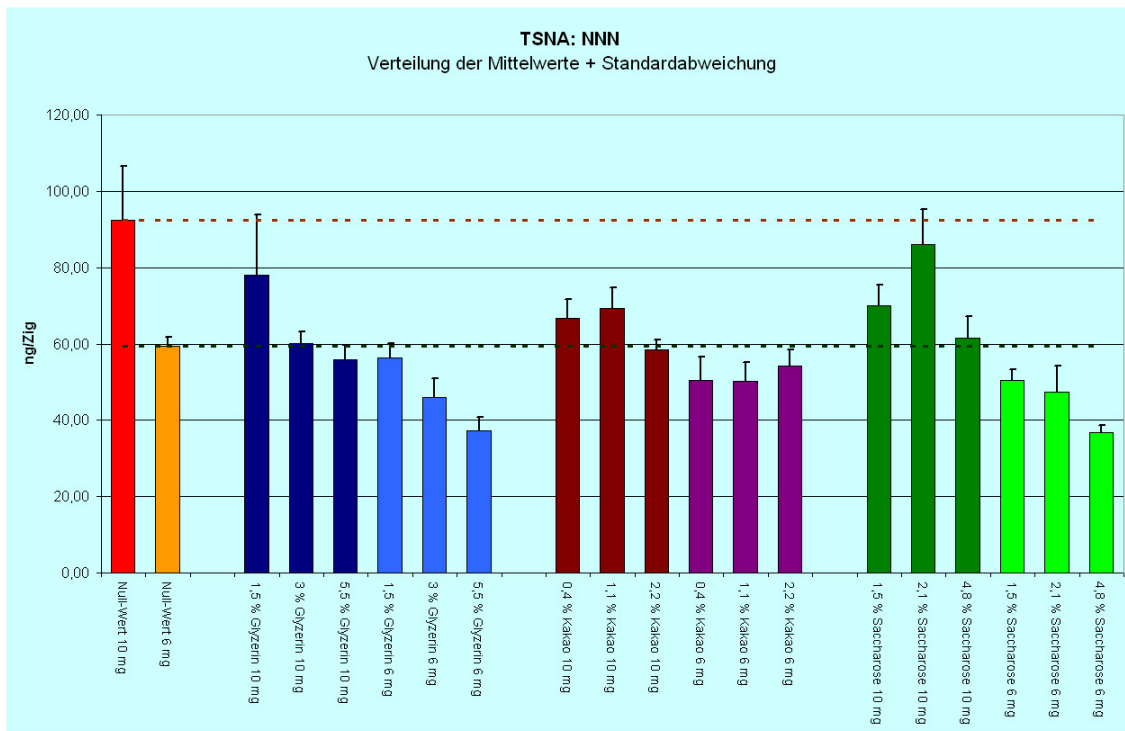
## Die Basisparameter Kohlenmonoxid, Nikotin und das nikotinfreie Trocken-

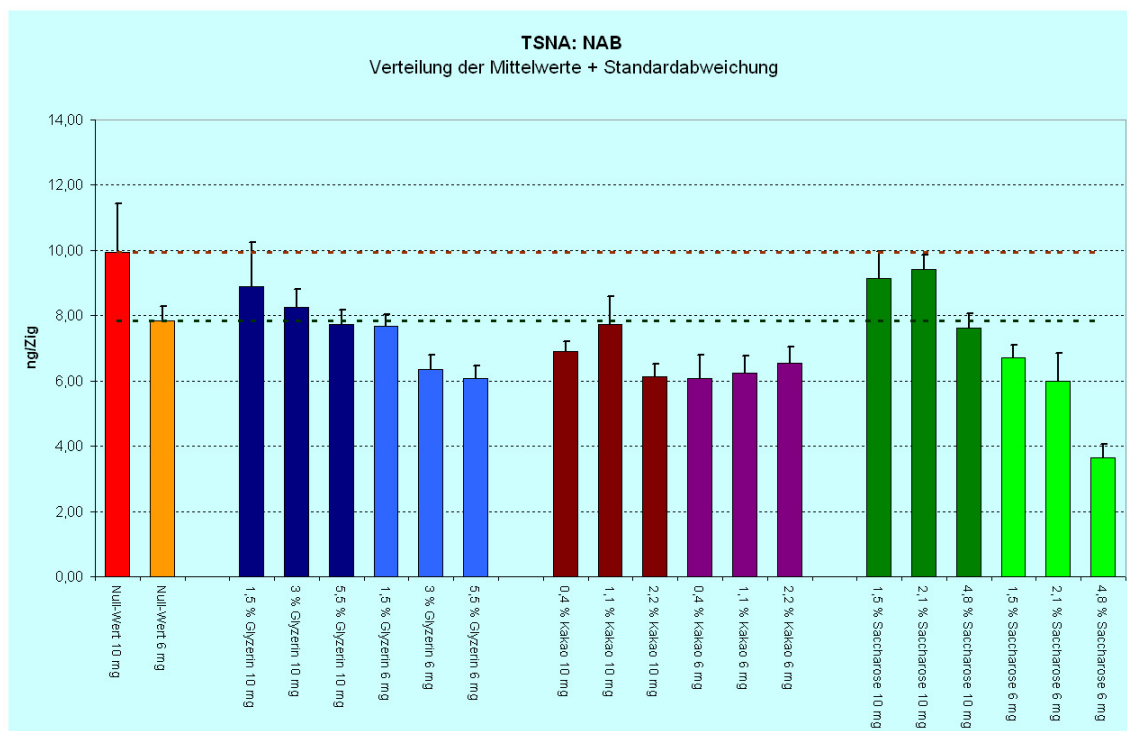
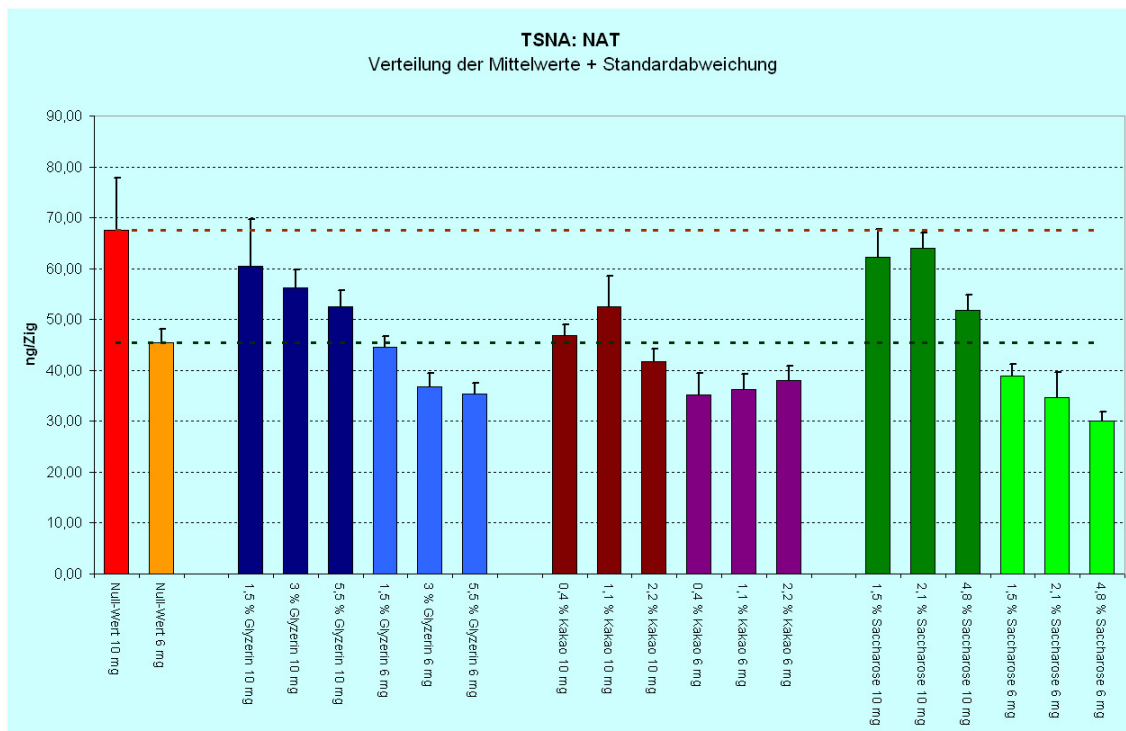


kondensat zeigen hinsichtlich der verschiedenen Zugaben an Glycerin, Kakao und Saccharose keine Auffälligkeiten. Die Daten belegen, dass die Herstellung der Prüflinge mit den jeweiligen Zielvorgaben für das nikotinfreie Trockenkondensat im Rahmen der analytischen und produktionstechnischen Schwankungen gut gelungen ist.

Die analysierten Daten der drei Analyten Kohlenmonoxid, Nikotin und nikotinfreies Trockenkondensat führen zu dem Ergebnis, dass die Gewinnung des Hauptstromrauches gemäß den international anerkannten ISO Rauchmethoden sehr gut gelungen ist. Alle im folgenden aufgeführten Bestandteile des Hauptstromrauches beruhen auf der ordnungsgemäßen Durchführung der ISO-Rauchmethoden.

### 3.1.2.2 Tabakspezifische Nitrosamine (TSNA)

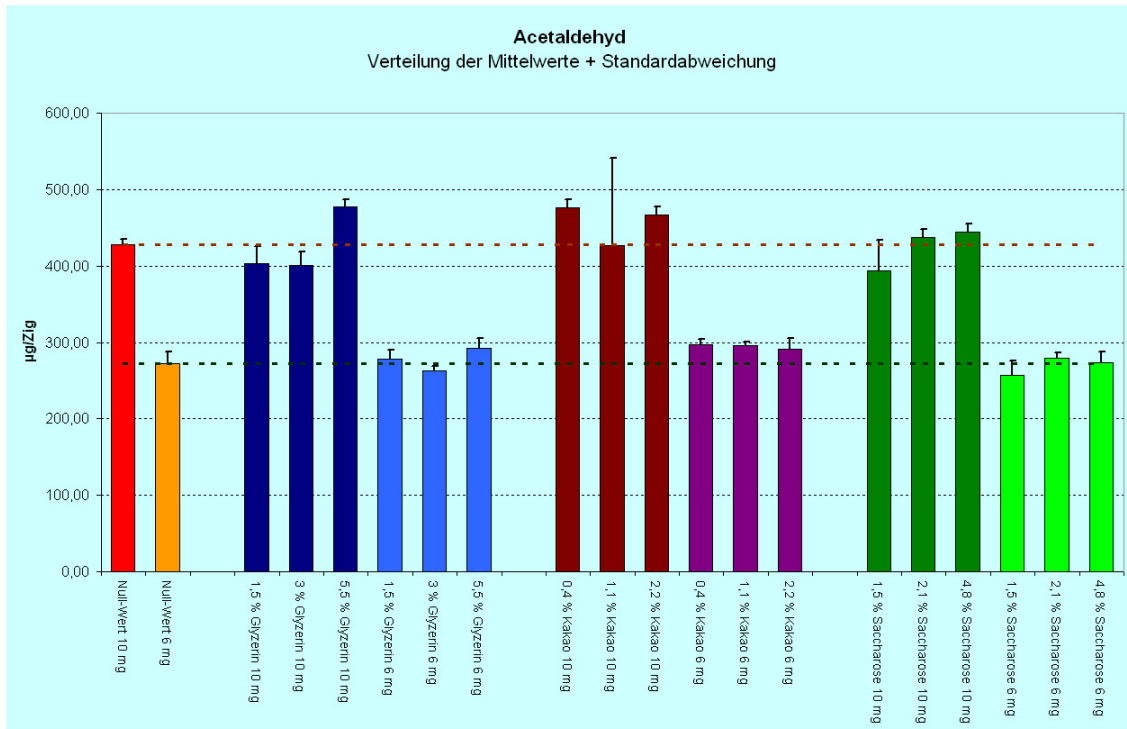




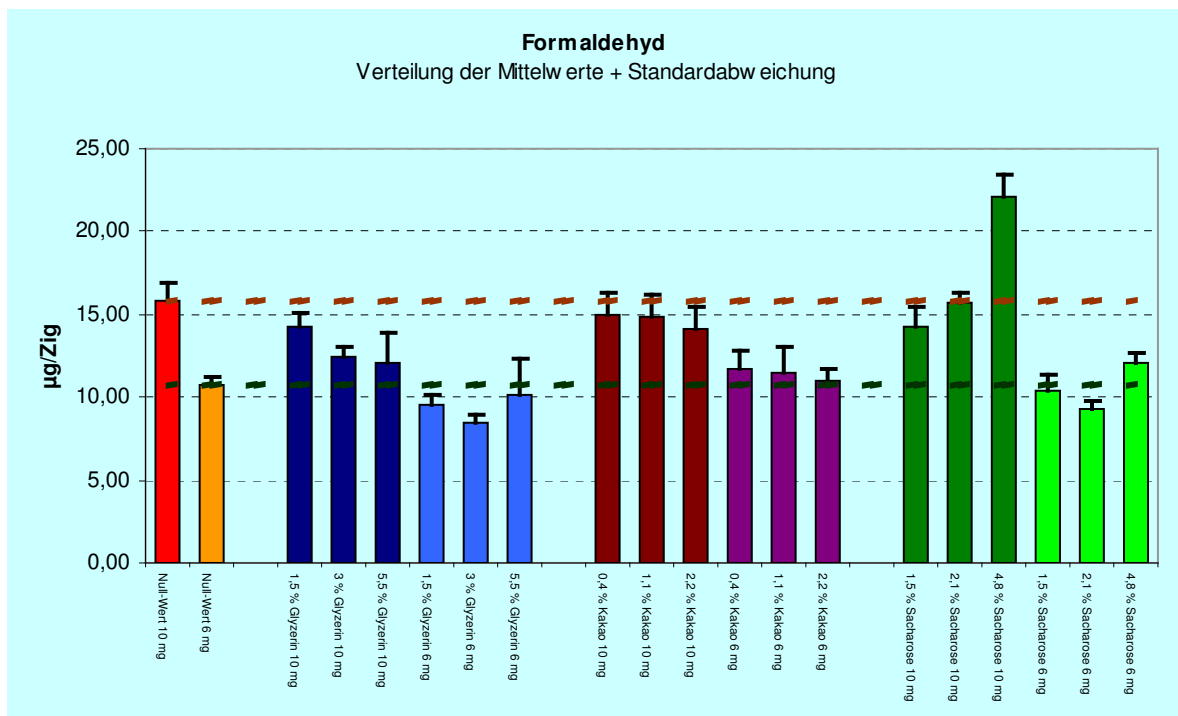
Im Vergleich zu den Referenzzigaretten ist bei den TSNA eine absteigende Tendenz zu beobachten. Bei Kakao ist der Rückgang am deutlichsten ausgeprägt. TSNA werden bei der Pyrolyse zusätzlich gebildet. Eventuell hat Kakao einen Einfluss auf die Intensität der Pyrolyse, was zu einer geringeren Synthese der TSNA durch Pyrolyse führt. Es können bei der Pyrolyse gebildete Carbonylverbindungen in Konkurrenz zu den Stickstoffquellen treten. Dadurch geht der Anteil an pyrosynthetisch gebildeten TSNA (im Vergleich zu den Referenzzigaretten) zurück.



### 3.1.2.3 Carbonylverbindungen



Bei Acetaldehyd sind keine auffälligen Veränderungen im Vergleich zu den jeweiligen Referenzigaretten festzustellen. Die getesteten Zusatzstoffe zeigen in dieser Untersuchung keinen wesentlichen Einfluss auf die Bildung von Acetaldehyd im Hauptstromrauch von Zigaretten.

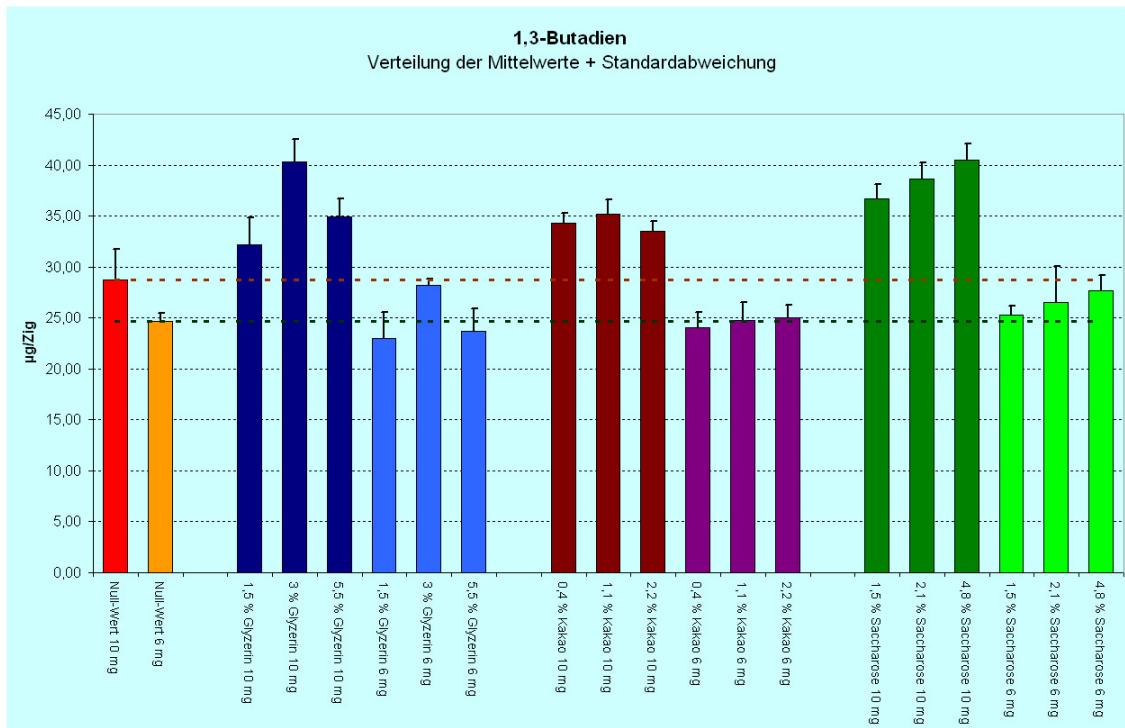


Bei Glycerin ist für beide Kondensatlevel der in der Literatur beschriebene Effekt deutlich eingetreten. Der Erhöhung der Glycerinkonzentration folgt eine Reduktion des Formaldehydgehaltes. Dies kann durch die verringerte Tabakeinwaage erklärt werden. Laut Literaturangaben liegt die Transferrate von Glycerin in den Hauptstromrauch bei 80%.

Die Formaldehydkonzentration bei Kakaozugabe ist für beide Kondensatlevels im Bereich der Referenzzigaretten. Es liegt jedoch keine der Tabakreduzierung entsprechende Abnahme des Formaldehydgehaltes vor. Eine Bildung von Formaldehyd bei der Pyrolyse kann nicht ausgeschlossen werden.

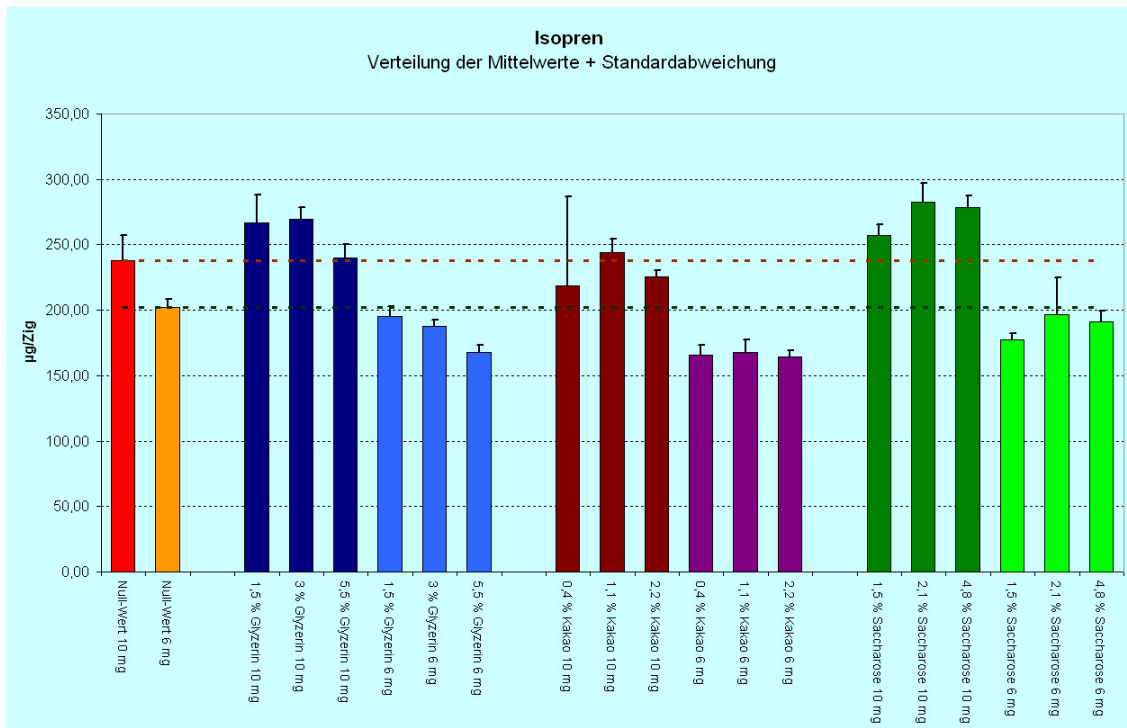
Eine deutlich steigende Tendenz des Formaldehydgehaltes ist bei der Saccharosezugabe für den 10 mg Zigarettenprüfling festzustellen. Es liegt ein signifikanter Unterschied für die Saccharosezugabe von 4,8% gegenüber der 10mg-Referenzzigarette vor.

### 3.1.2.4 Flüchtige Verbindungen



Die Zunahme an 1,3-Butadien für die jeweilige 3% Dotierung an Glycerin kann an produktionstechnischen Änderungen gegenüber den anderen Zigarettenprüflingen liegen. Die Zigarettenprüflinge mit der 3% Dotierung wurden zu einem späteren Zeitpunkt produziert als die Zigarettenprüflinge mit der 1,5% und 5,5% Dotierung.

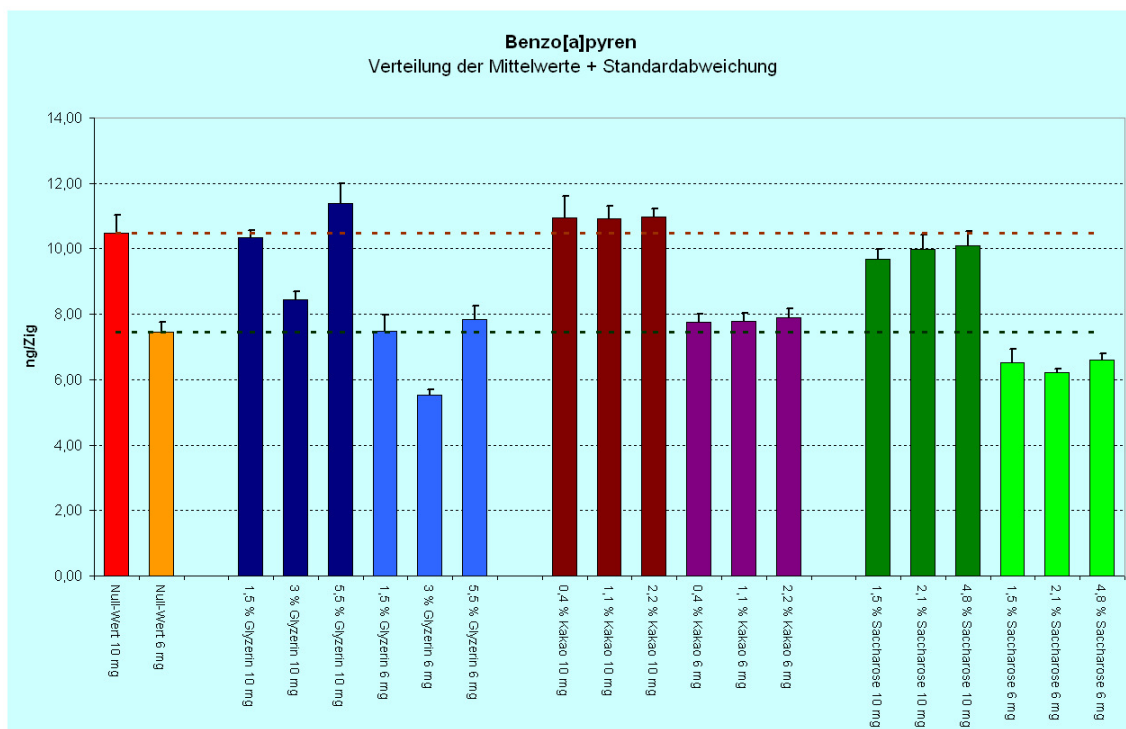
Ein deutlicher Anstieg an 1,3-Butadien im Vergleich zu der Referenzzigarette ist bei der Saccharosezugabe für den 10-mg-Zigarettenprüfling festzustellen, während bei dem 6-mg-Zigarettenprüfling unter Berücksichtigung der analytischen Schwankung kein Anstieg festzustellen ist. Auffällig ist, dass die Differenz zwischen dem Mittelwert der 10-mg-Prüfungszigaretten und dem Mittelwert der 6-mg-Prüfungszigaretten größer ist als die Differenz der beiden entsprechenden Referenzzigaretten. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass der gemessene Gehalt an 1,3-Butadien bei den Referenzzigaretten zu niedrig ist. Welche Einflüsse für diese Effekte verantwortlich sind, konnte im Rahmen des Forschungsprojektes nicht abschließend geklärt werden.



Für den Kondensatlevel 6 mg ist keine Zunahme der Substanzen 1,3-Butadien und Isopren festzustellen.

Bei Isopren liegen die Zunahmen für den 10 mg Zigarettenprüfling innerhalb der analytischen Schwankungsbreite.

### 3.1.2.5. Benzo(a)pyren



Die Substanz Benzo(a)pyren zeigt bei keinem der Zusatzstoffe Glycerin, Kakao und Saccharose einen signifikanten Anstieg. Die Abnahme bei der 3% Dotierung an Glycerin ist vermutlich ebenso produktionstechnisch bedingt wie bei 1,3-Butadien.

### 3.1.3 Bewertung der untersuchten Zusatzstoffe Glycerin, Kakao und Saccharose

Bei Glycerin und Kakao sind keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu der Referenzzigarette festzustellen. Der Zusatzstoff Saccharose bewirkt eine konzentrationsabhängige signifikante Zunahme an Formaldehyd (Baker, 2006). Dieser Effekt wird ebenfalls in der gängigen Literatur beschrieben. Es liegen keine Formaldehyddaten von deutschen Markenzigaretten vor, so dass ein Vergleich mit dem tatsächlichen Marktniveau nicht möglich ist.

### 3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Ergebnisse des Forschungsprojektes können in den Bereichen Verbraucherschutzes und Verbraucherinformation genutzt werden.

Hinsichtlich des Verbraucherschutzes stellte sich die Frage, ob durch die Zusatzstoffe Glycerin, Kakao und Saccharose unter Berücksichtigung des Verbrennungsvorganges bei Zigaretten in Gegenwart von Tabak eine erkennbare Zunahme an toxisch relevanten Substanzen zu beobachten ist. Das Forschungsprojekt hat robuste Daten für eine Vielzahl an toxisch relevanten Substanzen geliefert, die als Entscheidungshilfe für die toxikologische Bewertung und Zulassung von Zusatzstoffen herangezogen werden können. Bei Saccharose haben sich deutliche Effekte bei hoher, nicht marktüblicher Dotierung gezeigt. Der Formaldehydgehalt im Hauptstromrauch ist signifikant angestiegen.

Eine grundlegende Aussage auf Basis der in diesem Forschungsvorhaben erhobenen Datenlage ist durch die wesentliche Eigenschaft des Tabakrauches beschränkt: Die Toxizität des Gesamtrauches setzt sich aus einer Vielzahl von Komponenten zusammen (siehe hierzu auch die Diskussion um die sogenannten Hoffmann Analytes, IARC 2004).

Zwei prinzipielle Arten der Testung/Beschreibung der Toxikologie des Tabakrauches werden verwendet:

- Summarische Bewertung der Rauchttoxikologie (DIN 2004, Hahn und Scherer 2007) durch Testung des Kondensates und des nativen Gesamtrauches
- Über eine chemische Untersuchung des Hauptstromrauches „Hoffmann Analyten“

Idealerweise wäre die Durchführung dieses gesamten Spektrums notwendig, um eine möglichst aussagekräftige Bewertung zu ermöglichen.

Die gesetzlich vorgeschriebene Deklaration der Gehalte an Kondensat, Nikotin und Kohlenmonoxid in Zigaretten ist wegen möglicher Irreführung des Verbrauchers in der Diskussion. Es werden andere Möglichkeiten der Verbraucherinformation und eventuell andere Regulierungsmöglichkeiten für Zigaretten gesucht. Das Forschungsprojekt hat gezeigt, dass durch die chemische Analyse von toxischen Substanzen bei einer verbrauchernahen, anwendungsgerechten Prüfung von Zigaretten Effekte von Zusatzstoffen nachweisbar sind. Die Bewertung dieser Effekte für Einzelsubstanzen sollte wegen der beschriebenen komplexen toxischen Struktur des Hauptstromrauches unter Einbeziehung aller

Kenntnisse erfolgen. Andere Pyrolyseprodukte könnten sich gleichzeitig reduzieren und somit die Gesamtoxizität deutlich beeinflussen.

#### **4. Zusammenfassung**

Das Forschungsprojekt war konzipiert als Entscheidungshilfe für das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz zur Bewertung von Zusatzstoffen und deren Pyrolyseprodukte in Tabakerzeugnissen durch chemische Analyse. Die chemisch analysierten Daten sind robust und wurden unter verbrauchernahen Bedingungen in Gegenwart von einer marktüblichen Tabakmischung an einer analytischen Rauchmaschine mit dem international anerkannten ISO-Abrauchregime generiert.

Der Gesetzgeber fordert von der Industrie eine Liste mit toxikologischen Daten von Zusatzstoffen, einschließlich der Verbrennungsprodukte. Nach Auffassung des Projektleiters ist die alleinige Pyrolyse von einzelnen Zusatzstoffen ohne Tabakmatrix nicht ausreichend, um eine Gesamtbeurteilung eines Zusatzstoffes zu gewährleisten. Im Beisein von Tabakmatrix und unter verbraucher-gerechten Abrauchbedingungen kann durch Matrixeinflüsse die Zusammensetzung des Hauptstromrauches stark geändert werden. Letztendlich raucht der Verbraucher nicht den Zusatzstoff, sondern ein Produkt mit ca. 90% Tabakanteil. Um für Zigaretten einen praxisnahen Verbraucherschutz zu gewährleisten ist von Interesse, welche Schadstoffe das Filterende der Zigarette verlassen und somit vom Raucher tatsächlich aufgenommen werden. Eine toxikologische Testung des nativen Hauptstromrauches mit anschließender chemischer Analyse würde der Anwendung des Produktes gerecht werden. Derzeit werden geeignete und aussagefähige Testbatterien für die toxikologische Bewertung von Zigarettenrauch getestet. Durch die chemische Bestimmung von toxikologisch relevanten Substanzen mit anschließender toxikologischer Bewertung können auch neue gesetzliche Vorgaben zur Regulierung von Zigaretten erarbeitet werden.

In dem Forschungsprojekt hat sich z.B. bei Kakao gezeigt, dass eine Pyrolyse des Zusatzstoffes im Beisein von Tabakmatrix zu Effekten führt. Die TSNA-Konzentration ist mit steigendem Kakaogehalt rückläufig. Es können jedoch ebenso Effekte auftreten, die ein Ansteigen von gesundheitsrelevanten Substanzen bewirken.

Bei dem Zusatzstoff Saccharose hat sich mit steigendem Gehalt ein Anstieg von Formaldehyd im Hauptstromrauch ergeben.

#### **5. Literaturverzeichnis**

Baker, R. R. and Bishop, L. J. (2004). The pyrolysis of tobacco ingredients. *J and Anal and Appl and Pyrolysis* 223-311

Baker, R. R. (2006). The generation of formaldehyde in cigarettes--Overview and recent experiments. *Food Chem Toxicol* 44, 1799-1822

Bates, C., Jarvis, M., and Connolly, G. (1999). Tobacco additives: Cigarette engineering and nicotine addiction *Action on Smoking and Health*, London

Carmines, E. L. and Gaworski, C. L. (2005). Toxicological evaluation of glycerin as a cigarette ingredient. *Food Chem. Toxicol.* 43, 1521-1539

Das Europäische Parlament und der Rat der Europäischen Union (2001). Richtlinie 2001/37/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 5. Juni 2001 zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten über die Herstellung, die Aufmachung und den Verkauf von Tabakerzeugnissen. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaft. pp. 26-34. L194

DIN Deutsches Institut für Normung (2004). Toxikologische Bewertung von Zusatzstoffen f. Tabakprodukte - Ein Leitfaden Berlin : Beuth, Fachbericht 133.

DIN ISO 3402 Klima zum Konditionieren und Prüfen (ISO 3402:1999)

DIN ISO 4387 Zigaretten - Bestimmung des Rohkondensates und des nikotinfreien Trockenkondensates unter Verwendung einer Zigaretten-Abrauchmaschine für Routineanalysen (ISO 4387:2000)

DIN ISO 8454 Zigaretten - Bestimmung des Kohlenmonoxidgehaltes in der Gasphase von Zigarettenrauch - NDIR-Verfahren (ISO 8454:1995)

DIN ISO 10362-2 Zigaretten - Wasserbestimmung in Rauchkondensaten - Karl-Fischer-Verfahren (ISO 10362-2:1994)

DIN ISO 6488 Tabak und Tabakerzeugnisse - Bestimmung des Wassergehaltes - Karl-Fischer-Verfahren (ISO 6488:2004)

Deutsches Krebsforschungszentrum (Hrsg.): Erhöhte Gesundheitsgefährdung durch Zusatzstoffe in Tabakerzeugnissen – Konsequenzen für die Produktregulation. Heidelberg 2005

Fowles, J. and Dybing, E. (2003) Application of toxicological risk assessment principles to the chemical constituents of cigarette smoke. Tobacco control; 12:424-430

Hahn, J., Scherer, G. (2007) DIN Technical Report 133, Poster BfR Congress Alternativ Test Methods in Inhalation Toxicology, Berlin 7.-9.05.07

Heckman, R. A., Dube, M. F., Lynn, D., and Rivers, J. M. (1981) The role of tobacco leaf precursors in cigarette flavor, pp. 107-153

IARC (2004). Tobacco Smoke and Involuntary Smoke pp. 1-1452. Lyon : World Health Organization, International Agency for Research on Cancer

Leffingwell, JC. (1999) Leaf Chemistry. Davis, D. L and Nielsen, M. T. Tobacco. Production, Chemistry and Technology. [8], 265-284. Blackwell Science  
Official method of Health Canada TT104  
Determination of selected carbonyls in mainstream tobacco smoke, 1999

Official method of Health Canada TT104  
Determination of selected carbonyls in mainstream tobacco smoke, 1999

Official method of Health Canada T-111, Determination of nitrosamines in mainstream tobacco smoke, 1999

Official method of Health Canada T103, Determination of Benzo(a)pyrene in mainstream tobacco smoke, 1999

Official method of Health Canada T-116 Determination of 1,3-Butadien, Isoprene, Benzene and Toluene in mainstream tobacco smoke, 1999

Paschke, T., Scherer, G., and Heller, W. D. (2002). Effects of Ingredients on Cigarette Smoke Composition and Biological Activity: A Literature Overview. *Beitr. Tabakforsch. Int.* 20, 107-247

Rambali, van, A., I., Schenk, E., Wolterink, van, d. W., G., Stevenson, H., and Vleeming, W. (2002). The contribution of cocoa additive to cigarette smoking addiction. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu RIVM (National Institute for Public Health and Environment)

Rodgman, A. (2002). Some Studies of the Effects of Additives on Cigarette Mainstream Smoke Properties. II. Casing Materials and Humectants. *Beitr. Tabakforsch. Int.* 120, 279-299

Rustemeier, K., Stabbert, R., Haussmann, H. J., Roemer, E., and Carmines, E. L. (2002). Evaluation of the potential effects of ingredients added to cigarettes. Part 2: chemical composition of mainstream smoke. *Food Chem. Toxicol.* 40, 93-104

Tabakprodukt-Verordnung BGBl I, 2002, 4434