

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
（総括・分担）研究報告書

法令改正に向けた産業用途大麻栽培における管理基準策定に資する研究

研究代表者 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所

薬用植物資源研究センター筑波研究部栽培研究室・室長 瀧野裕之

研究要旨

令和 5 年 12 月に大麻取締法改正が公布され、新たな産業用途の大麻草栽培拡大に向けては、収穫する前に THC 検査を実施し、THC が基準値以下であることを確認するための手法と、基準を満たす種子であることの確認をするための手法が必要となった。発芽前的大麻草種子を、人工光を用いた屋内環境制御栽培で、短日処理栽培を実施することで、栽培期間を圃場栽培の約半分以下に大幅に短縮した上で、THC 含量の確認を行い、検査手法の標準化のための基礎データを得た。大麻草の人工栽培と同ロットの種子を圃場栽培した個体について、THC 含量の同等性の検証を行い、ほぼ同程度の含量で推移することが分かった。また、屋外圃場サンプリングにより、採取部位と THC 含量の相関を調査し、最適な採取時期、採取部位の検討も行い、頭頂部が最も THC 含量が高く、人工環境制御栽培での検討では、雌株未熟花穂が現れる時期が最適な採取時期であることが推定された。人工環境制御下において短日処理を行うと、圃場栽培では播種から開花まで約半年かかるところを、その期間を約半分に短縮できることが分かった。分析手法については、AOAC や UNODC の推薦手法を検証し、UHPLC、LC/MS/MS により、4 成分(Δ^9 -THC、THCA-A、CBD、CBDA)が同時に定量可能であった。

研究分担者

河野徳昭 国立研究開発法人医薬基盤・健康・
栄養研究所薬用植物資源研究センター筑波研
究部 育種生理研究室・室長

A. 研究目的

大麻取締法では、大麻の不正取引及び不正使用を防ぐため、大麻を取扱う者を免許制とし、免許を受けた者以外の者が大麻を取扱うことを禁止して

おり、大麻草の栽培についても繊維または種子を採取する目的に制限されてきたが、国内における大麻事犯者の検挙数の増加や海外における大麻草の医療用途・産業用途への活用を踏まえ、同法の見直しの方向性が示され、令和 5 年 12 月に改正法が公布された。その中で大麻草採取栽培者の免許を 2 種類に区分し、大麻草の製品の原材料として栽培する場合を第一種大麻草採取栽培者免許、医薬品の原料として栽培する場合を第二種大麻草採取栽培者免許と区分することになった。特に第一

種大麻草採取栽培者に関しては、THC の濃度が基準値以下的大麻草から採種した種子等を用いて栽培しなければならないと規定されている。

大麻草の産業用途目的の栽培に係る花穂・葉の低 THC 濃度の確認・確保が重要であるが、同法施行にあたっては、海外から輸入された種子や国内で入手された種子を短期間で栽培し、THC の分析を行うことが必要となるが、国内外においてその実施方法について公的に規定されている国は存在していない。このため、新たな産業用途の大麻草栽培拡大に向けて、①収穫する前に THC 検査を実施し、THC が基準値以下であることを確認するための手法、②基準を満たす種子であることの確認をするための手法が必要である。これらの手法を用いた栽培用種子管理を徹底することにより、THC 含量の基準値の適合性の確保ができ、さらには検査機関が基準を満たす種子であることを確認する手法を確立することができる。

発芽前の種子の段階においては THC 含量の推定はできないことから、医薬基盤・健康・栄養研究所薬用植物資源研究センター（以後、センター）においては、人工光を用いた大麻草の屋内環境制御栽培技術を取り入れ、短日処理の植物体の栽培を実施することで、栽培期間を圃場栽培の約半分以下に大幅に短縮した上で THC 含量の確認を行い、検査手法の標準化のための基礎データを得るとともに、大麻草の人工栽培と同ロットの種子を圃場栽培した個体について、THC 含量の同等性の検証を行った。この際、サンプリングについても、成分の植物体内での偏在性を考慮した上での検証を合わせて行った。

B. 研究方法

本研究は以下の 2 項目から構成される。

①収穫する前に THC 検査を実施し、基準値以下であることを確認するための手法の検討・開発

●大麻草の圃場での栽培・管理（渕野裕之、河野徳昭）

・諸外国における栽培・管理手法の文献調査及び THC 定量におけるサンプリング試料採取のためのサンプリング手法の検討（大麻草部位、採取時期等）

●THC 定量のための分析法の検証（渕野裕之）

・サンプリング試料からの成分抽出（精製）法の検討・確立及び分析条件の検証・確立

②登録検査機関が基準を満たす種子であることの確認をするための手法の検討・開発

●大麻種子の短日処理法の検討・開発（河野徳昭）

・国内外における短日処理法の文献調査

・人工気象器等を用いた短日処理（迅速花芽（花穂）形成）法の確立（THC 定量におけるサンプリング試料採取のためのサンプリング手法の検討（大麻草部位、栽培期間の検討）も含む。）

・来歴を同一とする大麻草の人工迅速栽培と圃場栽培での THC 成分量の差異の考察

項目①、センター屋外圃場での栽培においては、3 月下旬（2023 年は 3 月 24 日）に低 THC 種の播種を行っており、その後継続して管理作業（間引き、除草、殺虫剤散布など）を行い、9 月初旬に雌花の開花が始まり、その後 10 日前後で開花盛期になる。開花前後の雌花序及び葉をサンプリングする。夏場に急激に草丈が伸びるため、倒伏防止措置などの管理を継続する。これら作業に関して適切な栽培・管理方法を検討する。また、育成ステージや部位などのサンプリングの適正化を検討する。分析条件については、分析化学分野の規格・標準化で実績のある AOAC (Association of Official Agricultural Chemists) International の大麻分析科学プログラムにおいて公式基準を立ち上げている。それらを参考に LC/MS 法を検討し、正確で信頼性のある分析方法の検証・確立を行う。

項目②、人工環境制御室内において過去の当センターでの実施方法に従い、人工光下で育成し短日処理を行うことにより得られた雌花及び葉等を

サンプリングし、 Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)、 Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid (THCA-A)、cannabidiol (CBD)、cannabidiolic acid (CBDA)含量を測定する。ここで①と同様に育成ステージや部位などのサンプリングの適正化を検討する。別途①における屋外圃場栽培の同一種個体を用いて、人工光下での個体との含量差異を検証し、そのサンプリングが適正であるかどうかを判断する。また、検査所要期間のさらなる短縮を目標とし、短日処理法の文献等調査結果に基づき、短日処理開始時期の調整等、人工光下での開花までの期間短縮について検討を行う。

上記方法により育成した大麻草個体サンプルの THC 定量結果を踏まえて、登録検査機関が基準を満たす種子であることの確認をするための手法の開発を行うとともに、人工光下で短日処理により生育促進させた個体と屋外圃場により育成した個体との同等性を検証する。

屋外圃場での栽培育成については、交雑する可能性があるため毎年 1 品種しか栽培はできないが、今年度は低 THC 含量の国内種（センター導入番号 0382-86TS、1986 年導入）を播種した。また、人工光での環境制御下育成については、同低 THC 含量種その他、高 THC 含量系統であるメキシコ産（センター導入番号 0678-03TS）を用いることとした。

項目②について、大麻草は光周性植物であり、一日の日長時間を感じ取り花芽を形成することが知られている。屋外では播種から花芽形成まで約半年かかるが、人工光による環境制御下においては、日長を制御すれば、花芽形成までの期間を半分以下に短縮できる。大麻草の THC 含量は発芽前の種子の段階では判断ができないため、人工光下において発芽させ短日処理により花芽形成を促して出現した花穂をサンプリングして THC 及び CBD 含量を測定することで、迅速に判定をすることが

可能となる。

センターにおいては高 THC 含量系統（メキシコ産）及び低 THC 含量種（国内産）の種子をグロースチャンバー内でセルトレイを用いて育成し、各生育ステージ毎にサンプリングを行い、THC 含量（及び CBD 含量）を測定することとした。（実験方法の詳細は、C.研究結果の中に示す）

（倫理面への配慮）

人や動物を用いた研究ではないため特に問題はない。

C. 研究結果

①収穫する前に THC 検査を実施し、基準値以下であることを確認するための手法の検討・開発

●大麻草の圃場での栽培・管理

・諸外国における栽培・管理手法の文献調査及び THC 定量におけるサンプリング試料採取のためのサンプリング手法の検討（大麻草部位、採取時期等）

大麻草を対象にした生育及び採取時期、部位と THC 含量との相関に関する記述のある文献は多い。例えば北海道の野生大麻を対象とした THC の季節変動を検討した論文（本間正一ら、北海道立衛生研究所報、21、186-190 (1971)）では、採取時期と部位（双葉、苞、花穂、苞葉）についてそれぞれ THC、CBD、CBN の含量を求め、THC 含量は雌株は 10 月に 2%を超え、雄株は 9 月をピークに減少に転じ、枯れる時期に低下する傾向と報告している。また、同グループの別論文（本間正一ら、北海道立衛生研究所報、21、180-185 (1971)）では、雌株の双葉、葉、苞葉では、苞葉が最も含量高く、ついで苞、双葉であったと報告している。海外の THC 分析におけるサンプリングでは、米国、EU、カナダ、UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime 国連薬物犯罪事務所) では「花頂、雌花序」またはそれらを含む部位をガイドライン等に

において規定している。葉は植物体上部において THC 含量が高く、受粉前雌花序が最も THC 含量が高いとされている。これらの情報を参考にし、各ステージ毎にサンプリングを行った。圃場栽培の大麻草については、以下のように今年度は栽培を行った。

1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
		播種	発芽	間引き 追肥 除草						収穫	

栽培暦

例年センターで行っている大麻草の栽培暦を示した。例年は3月下旬に播種を行うが、それに合わせて3月上旬に施肥を行った。この場合の施肥(1aあたりの施肥量)としては、堆肥:200kg/a、苦土石灰:10kg/a、過燐酸石灰:3kg/a、ようりん:2.5kg/a、化成肥料 8-8-8:7.5kg/a である。播種後約10日目に発芽するが、その後は鳥害を防ぐために畝全体にネットを被せる必要がある。また、適宜間引きをしながら追肥を行う必要がある。追肥としては、化成肥料(15-15-15)を14kg/aで2回(5月、7月)に行う。最終的に今年度行った圃場での栽培記録は以下の通りである。

- 3月09日:施肥日
- 3月24日:播種日
- 4月03日:発芽開始日
- 4月27日:間引き日(第1回)
- 5月09日:間引き日(第2回)
- 5月10日:追肥日(第1回)
- 6月15日:追肥日(第2回)
- 8月14日:蕾(雄花)の形成がはじまる。
- 8月17日:雄花の開花が始まる。
- 9月05日:雄花開花盛期。
- 9月05日:雌しべがでる。
- 9月26日:雄株は開花後、落葉し始める。
- 9月27日:防鳥ネット設置。
- 9月30日:雄花の開花が終了。

- 10月20日:雄株がすべて枯れる。
- 11月22日:種子収穫、株の抜き取り、乾燥。



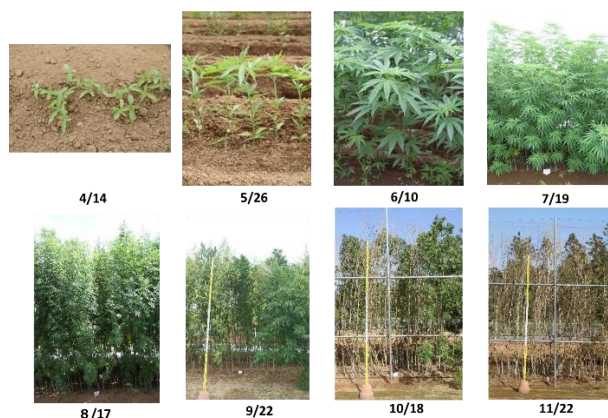
播種



3月24日から4月14日まで鳥害防止のためネット被せる



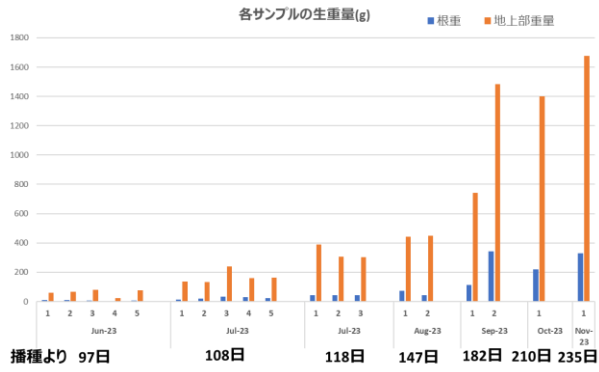
防鳥ネット設置



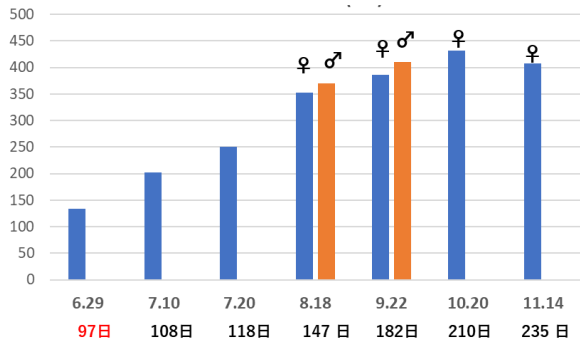


7/3 7/18 7/27

各時期での成長の様子



各採取段階での地上部と根の重さ



屋外圃場栽培での大麻草の各採取段階での地上部全長 (cm)



6/29 (播種から 97 日目) の地上部 (全長 1m26cm, 生重量 68.9g, 乾燥重量 16.97g)



8/18 雄花が咲いていない株 (全長 3m23cm)

生重量 503.34g 乾燥重量 190g)



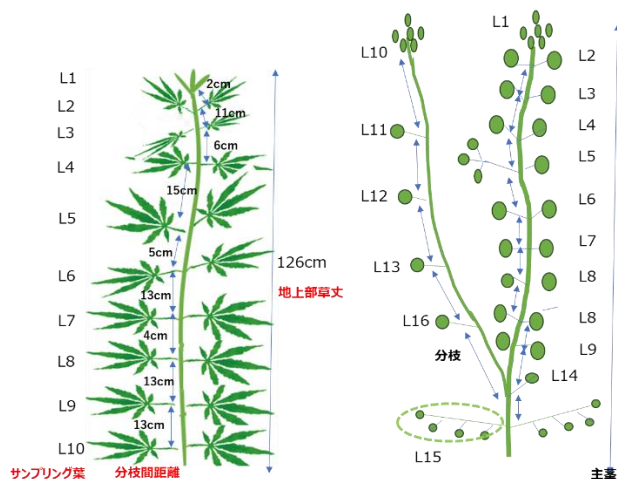
8/18 雄株 (全長 3m36cm)



雄花周辺の分離



9/22 雄株 (雄花から大量の花粉が発生)



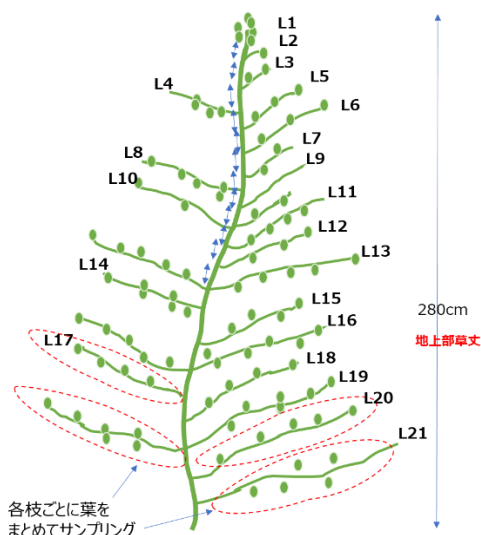
6/29 採取 (播種後 97 日目)

屋外圃場試料のサンプリングは、6月29日採取の場合は上図のように、各節毎に採取を行ったが、それ以降の試料については単枝（茎）に葉が複数対発生するため、枝毎にサンプリングを行った（下図）。調査測定項目としては、

1. 地上部重量
2. 根重量
3. 地上部草丈

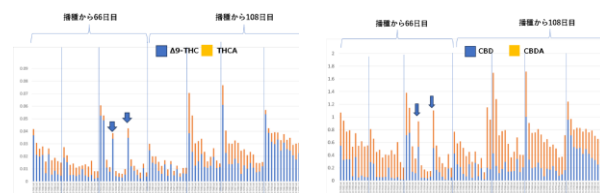
を各試料ごとに調査した。（これらの結果については、前頁に記載済み）サンプリングの際には、葉柄は含めるが、枝（茎）は除いた。

なお、熱を加えることにより THCA、CBDA は THC、CBD に変化してしまうため、生植物を大量に自然乾燥で完全に乾燥させるには時間がかかる。緩和な温度（40℃程度）での乾燥と自然乾燥との比較を行うため、一部試料については両方で乾燥を行った。それ以外の試料については大型乾燥機での 40℃、3 日間での乾燥を行った。



7/2 採取 (播種後 118 日目)

これらのサンプリング試料を後述の LC/MS による分析手法により総 THC 含量を求めた結果を以下に示す。



圃場で栽培した大麻草（国内産）の葉の Δ^9 -THC、THCA 含量（左）と CBD、CBDA 含量（右）

（頭頂部から地際に向けてサンプリングした葉の含量：

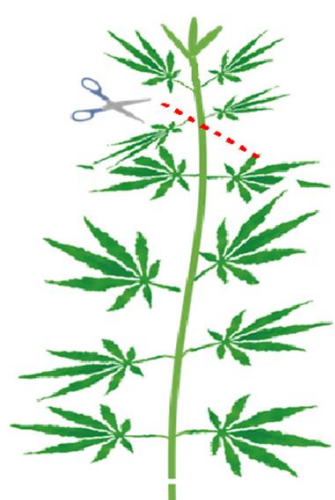
植物個体ごとに青縦線で区切）

（左側が頭頂部で地際に向かって含量が低くなる。

矢印は分枝の頭頂部）

植物成分はその個体内において偏在性があり、それを考慮した上でサンプリングを行う必要がある。大麻草の THC 含量は、雌株の花穂が高含量であり、また頭頂部に近い葉の含量が高いことが知られている。UNODC では、大麻草栽培圃場の境界を除いた部分に生えている植物から、無作為に選んだ 30 本の結実または開花した頂部（1 植物個体あたり 1 本）を、約 20cm の長さに切断し、紙袋に保管するとしている。センターにおける低 THC 含量種の栽培において、個体中の葉の THC

含量の偏在の調査では、上図からわかるように、頭頂葉が最も含量が高く、以降地際に向けて低下する傾向が見られた。このことから分析用の大麻草サンプリングは屋外栽培の場合、雌株の頭頂部の花穂を含む上部 20～30cm、また出穂前の株については頭頂部を含む上部 20～30cm とすることが適当と考えられた。またその際に茎は除去するが、葉柄は含めた。花穂を含む試料の場合は、花穂中に入り組んだ葉は長さが 2 センチ以上の葉はなるべく除き、花穂と葉は別の試料とした。その際種子は極力除いた。



大麻草サンプリングの例

後に述べる人工光による環境制御下で栽培した大麻草については、セルトレイから抜去後に水洗し、地上部を乾燥し、そのすべてを分析に供した。ただし草丈が 50 センチを超える場合は屋外栽培のサンプリングと同様に行った。



播種後 4 か月目の屋外栽培大麻草



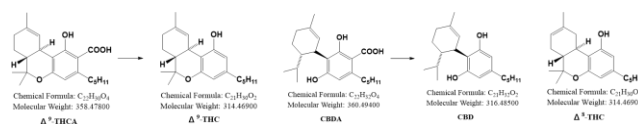
人工光下での大麻草栽培（左：セルトレイ中での栽培、
右：不織布ポットでの栽培）

サンプリングした大麻草試料は可能な限り実験室に送る前に乾燥させた。THC は空気や紫外線に敏感であり、THC を cannabinol (CBN) に酸化させる可能性がある。光にあたらない場所に数日間自然乾燥させることが望ましいが、今回試料が大量だったため、緩和な温度である 40℃で 3 日間の機械乾燥を行った（後述するが、40℃、3 日間乾燥と自然乾燥の比較を行い、大きな差は見られなかった）。乾燥した試料は紙袋に入れて乾燥剤を入れたデシケーター中で保管した。

●THC 定量のための分析法の検証

・サンプリング試料からの成分抽出（精製）法の検討・確立及び分析条件の検証・確立

抽出条件、分析条件については、AOAC、UNODC により報告されている方法を参考に検討を行った。対象標準化合物としては、 Δ^9 -THC、THCA-A、CBD、CBDA の 4 種類を選択した。これら 4 化合物はすべて輸入手配となるため、入手には非常に時間がかかった。



分析対象とした標準品 4 化合物

使用した試薬類

1. Δ^8 -THC (CRM) Cayman chemical 製 1mg/mL MeOH
2. Δ^9 -THC (CRM) Cayman chemical 製 1mg/mL MeOH
3. CBDA シグマアルドリッチ社製 1mg/mL Acetonitrile
4. Cannabidiol(CBD) シグマアルドリッチ社製 1mg/mL MeOH

5. THCA-A シグマアルドリッチ社製 1mg/mL Acetonitrile
6. LCMS 用メタノール ThermoFischer Scientific 製
7. LCMS 用ギ酸アンモニウム Fischer Chemical 製
8. LCMS 用超純水 富士フイルム和光純薬製
9. ギ酸 富士フイルム和光純薬製

試料の粉碎

乾燥した大麻草試料は、マルチビーズショッカー（安井機械 MB-3000 シリーズ）などの粉碎機を用いて粒径 1 mm 以下の粉末試料を作成した。試料量が少ない場合はフィンガーマッシャー（アズワン M70001）を利用した。粉碎後の試料は、デシケーター中で室温保存した。分析前には最低 10 時間程度真空乾燥を行い、残存水分を完全に除去した。

抽出手順

- ①十分に均一化した試料 0.50 ± 0.01 g を 50 mL 遠沈管に量り取る。
- ② 20 mL のエタノールを加え、よく混合した後に 30 分間振とうする。
- ③遠沈管を 3000 g 以上で 5 分間遠心分離し、その上清をろ過、あるいはパスツールピペットで採取して 50 mL のメスフラスコに入れる。
- ④ろ紙上の試料を 50 mL の遠沈管に戻し、②と③の操作を繰り返し、同様の抽出液の上清を③と同じ 50 mL メスフラスコに採取する。
- ⑤メスフラスコをエタノールで 50 mL にメスアップする。
- ⑥ $0.22 \mu\text{m}$ PFTE シリンジフィルターを取り付けたプラスチックシリンジで抽出液 3 mL をろ過し、15 mL の遠心チューブに入れる。
- ⑦抽出液をメタノールで 10 倍及び 100 倍に希釈する。必要に応じて、より高い希釈倍率を使用することができる。
- ⑧希釈抽出液を LC 用（または LCMS 用）バイアルに移し、キャップをし、LC-DAD (MS) で分析する。

サンプル量が少ない場合は上記の手順を最大 1

／5 スケールまで縮小した。

分析方法について

分析条件について、分析化学分野の規格・標準化で実績のある AOAC International は、大麻分析科学プログラムにおいて公式基準を立ち上げている (AOAC Official Method 2018.11 Quantitation of Cannabinoids in Cannabis Dried Plant Materials, Concentrates, and Oils. Liquid Chromatography - Diode Array Detection Technique with Optional Mass Spectrometric Detection. First Action 2018, Revised First Action 2020 (非公開) . (First Action 2018.11 J. AOAC Int. 102(6):1822-1833 (2019)))。また、UNODC も「大麻草及び大麻製品の同定と分析に推奨される方法」を発刊している (UNODC, Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products (2009), <https://www.unodc.org/unodc/en/scientists/recommended-methods-for-the-identification-and-analysis-of-cannabis-and-cannabis-products.html>)。これらの内容においては使用する分析機器は DAD による UHPLC または LC-MS/MS を推奨している。UHPLC 法を適用した場合、検出波長は 240nm となり、グラジエント条件において起こる著しいベースラインドリフトの補正が必要となる。UHPLC での AOAC と UNODC の分析条件を以下に示すが、両者に大きな違いはない。

	AOAC (revised 2020)	UNODC
使用カラム	Supelco Ascentis Express C18, 2.0 μm , 150x2.1mm	Waters UHPLC HSS, 1.6 μm , 150x2.1mm or equivalent
カラム温度	25°C	40°C
移動相 A	20mM ギ酸アンモニウム水溶液, pH3.2	0.1% ギ酸+ 20mM ギ酸アンモニウム
移動相 B	100% アセトニトリル	0.1% ギ酸 in アセトニトリル

使用カラム：SUPELCO Ascentis Express 90A
C18 2.1mmx10cm, 2 μm

カラム温度：25℃

オートサンプラークーラー：10℃

溶媒 A：20mM ギ酸アンモニウム（ギ酸で pH 3.2
に調整）

溶媒 B：アセトニトリル

注入量：1.0 μL

グラジエント条件：

時間(min) 流量(mL/min) A 濃度(%) B 濃度(%)

0.00	0.4	40.0	60.0
9.60	0.4	12.0	88.0
9.70	0.6	5.0	95.0
10.70	0.6	5.0	95.0
10.71	0.4	40.0	60.0
13.70	0.4	40.0	60.0

化合物名	ブッカー イオン	プロダクト イオン	+/-	Dwell time (msec)	保持時間 開始	保持時間 終了	Q1 pre bias (V)	CE	Q3 pre bias (V)	イベント時 間
CBD	315.10	193.10	+	144.0	4.14	6.14	-16.0	-23.0	-19.0	0.294
	315.10	123.15	+	144.0	4.14	6.14	-16.0	-31.0	-23.0	0.294
Δ ⁹ -THC	315.10	193.10	+	95.0	6.80	8.80	-16.0	-21.0	-19.0	0.196
	315.10	122.95	+	95.0	6.80	8.80	-16.0	-35.0	-20.0	0.196
Δ ⁸ -THC	315.10	193.10	+	95.0	7.00	9.00	-16.0	-23.0	-19.0	0.196
	315.10	123.00	+	95.0	7.00	9.00	-16.0	-32.0	-11.0	0.196
CBDA	357.10	339.20	-	144.0	3.20	5.20	13.0	22.0	23.0	0.294
	357.10	245.15	-	144.0	3.20	5.20	13.0	31.0	26.0	0.294
THCA-A	357.10	313.20	-	95.0	7.20	9.20	13.0	24.0	21.0	0.196
	357.10	245.25	-	95.0	7.20	9.20	13.0	32.0	17.0	0.196

大麻草分析の MRM 設定の例

Q1 分解能 unit、Q3 分解能 low

インターフェース：ESI

ネブライザーガス流量：3L/min

ヒーティングガス流量：8 L/min

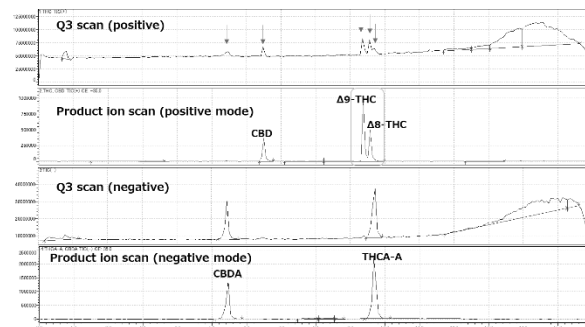
インターフェース温度：330℃

脱溶媒温度：526℃

DL 温度：250℃

ヒートブロック温度：400℃

フィライングガス流量：12 L/min



トリプル四重極質量分析計による MRM 法での

大麻標準化合物のクロマトグラム

対象とする標準化合物について

本検査法目的における大麻草分析で使用する標準化合物は、Δ⁹-THC、THCA-A、CBD、CBDA の 4 種類である。

最終的には、総 THC 含量（Δ⁹-THC と THCA-A を THC 換算した含量の総和）、総 CBD 含量（CBD と CBDA を CBD 換算した総和）で表現することとした。

$$\text{総 THC、\% (w/w)} = \Delta^9\text{-THC} + (\text{THCA-A} \times 0.877)$$

$$\text{総 CBD、\% (w/w)} = \text{CBD} + (\text{CBDA} \times 0.877)$$

標準溶液の調製について

上記 4 化合物の混合溶液を作成にあたっては、市販の上記 4 種のカンナビノイド類は、濃度 1mg/mL の溶液として販売されている。そのため、それぞれをメタノールで希釈して混合溶液を調製した。標準混合ストックメタノール溶液として 10μg/mL を最初に調製し、これをさらにメタノールで希釈して以下の濃度の混合標準溶液を調製した。作成した標準混合溶液はアンプルに小分け封入し、-20℃で保管した。

標準溶液の各濃度(μg/mL)：10.0、5.0、2.5、1.0、0.5 の 5 種類（場合により 0.1 を追加した）にて検量線を作成し、R² が 0.995 以上の濃度範囲で測定を行った。

●大麻種子の短日処理法の検討・開発

グロースチャンバー内での栽培方法

閉鎖系環境（例えば、グロースチャンバー、人工気象器等）下において大麻草を育成した方法を示す。

1. 実生幼植物の葉を成分分析に供試する場合の栽培法（本葉第5対期まで：栽培期間1ヶ月以内）

大麻草の種子を播種し、発芽生育した対生の本葉第5対期までの大麻草実生植物試料（全草または葉）を成分分析等に供試するための栽培方法。

【栽培条件（GC 設定条件）】

植物体育成に使用したグロースチャンバー（GC）の温度条件等は以下のとおりである。

温度：25℃（通期）

相対湿度：60%（通期）

照明：育苗期：明期 18 時間（開花誘導期：明期 12 時間）

LED 光源、光合成光量子束密度（photosynthetic photon flux density：PPFD）：約 600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ （栽培棚上 10 cm）、約 660 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ （栽培棚上 30 cm）

【播種用資材】

用土は混合培土：赤玉土-堆肥-タキイの育苗培土 草花・野菜育苗用-川砂=6：2：1：1 を使用した。50 穴の育苗用セルトレイ（東海化成プラグトレイ 50 穴）に混合培土を充填し、1 cm 程度の深さの底面灌水トレーに設置した。

【播種】

底面灌水トレーにオーバーフローするまで水を供給し、土を十分に湿らせておき、軽くくぼみを付け、種子 1 粒を置床した。その上に薄く覆土を行った。

【灌水】

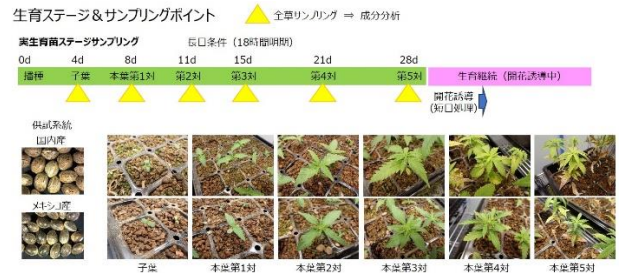
灌水は底面灌水により行った。

【施肥】

播種 1 週間後より、底面灌水トレー（容量約 5 L）にマグアンプ K 中粒（ハイポネックスジャパン）を 5 g 施用した。

【生育調査及び試料サンプリング】

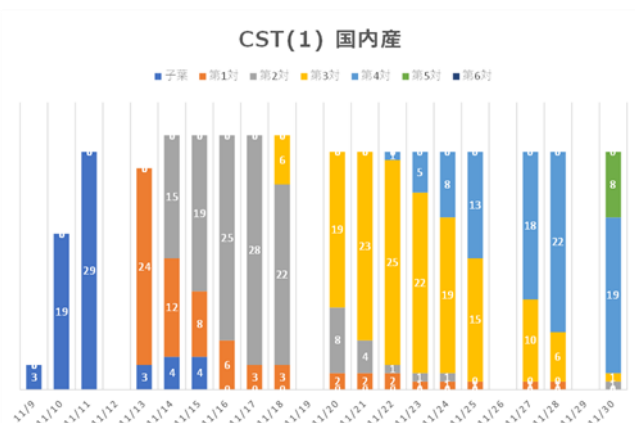
播種後、随時、本葉の対生対数及び草丈の計測を行った。両系統について、本葉の対生対数に応じ、その一部（5 個体）の全草をサンプリングし、成分分析に供した。

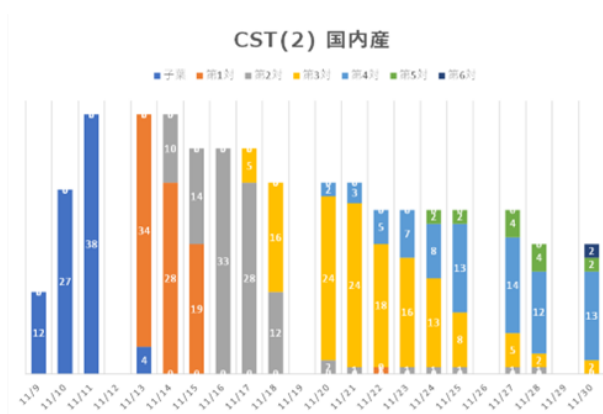


セルトレイ栽培での大麻草幼植物の生育状況

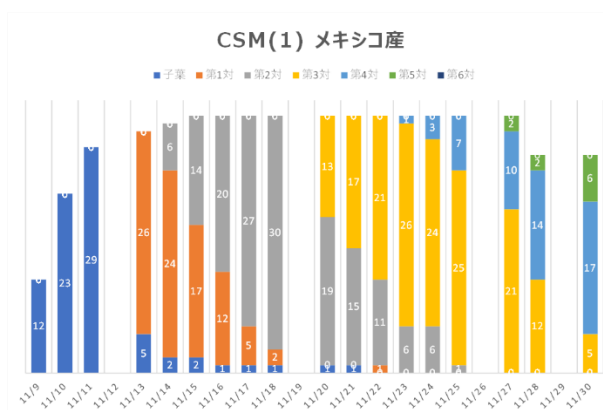
【結果】

GC において、温度 25℃、相対湿度 60%、明期 18 時間の栽培条件で国内産（CsT）、メキシコ産（CsM）各系統の大麻草の種子を播種したところ、播種 2 日後から発芽が認められ、4 日後までに子葉展開がほぼ完了した。その後、本葉第 1 対、本葉第 2 対と対生の本葉が展開を続け、約 4 週間後までに本葉第 5 対が展開した。この間の国内産（CsT）、メキシコ産（CsM）各系統の本葉対数の推移を下図に示す。





セルトレイで栽培した大麻草の本葉対数の推移
[国内産（低 THC 含有種）]



セルトレイで栽培した大麻草の本葉対数の推移
[メキシコ産（高 THC 含有種）]

この間、子葉：播種 4 日後、本葉第 1 対期：同 8 日後、第 2 対期：同 11 日後、第 3 対期：同 15 日後、第 4 対期：同 21 日後、第 5 対期：同 28 日後と、播種後 4 週間後までに本葉第 5 対期までの試料サンプリングを終えた。

以上のように、発芽後の幼植物の全草や葉を成分分析に供試したい場合、試料のサンプリングは上記期間内に可能であることが示された。

2. 開花期の花穂の採取を目的とする場合の栽培法（雌株開花までの栽培期間：約 2 ヶ月半）

未熟花穂等の開花期の大麻草試料を成分分析等に供試するため、迅速に開花を誘導するための方法。

【材料】

4℃で保存した大麻草種子（国内産（低 THC 含量種）、メキシコ産（高 THC 含量系統））を供試した。

【栽培条件（GC 設定条件）】

植物体育成に使用したグロースチャンバー（GC）の温度条件等は以下のとおりである。

温度：25℃（通期）

相対湿度：60%（通期）

照明：育苗期：明期 16 時間、不織布ポット移植後：明期 18 時間、開花誘導期：明期 12 時間

LED 光源、光合成光子束密度（photosynthetic photon flux density：PPFD）：約 600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ （栽培棚上 10 cm）、約 660 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ （栽培棚上 30 cm）

【資材】

用土は混合培土：赤玉土-堆肥-タキイの育苗培土 草花・野菜育苗用-川砂=6：2：1：1 を使用した。播種・育苗には、直径 7.5 cm のポリポットに混合培土を充填し、底面排水トレーに設置した。移植後の育成には、混合培土を充填した直径 18 cm、高さ 16 cm の不織布ポットを使用した。

【播種】

湿らせた育苗用培土の中央に軽くくぼみを付け、種子 1 粒を置床した。その上に薄く覆土を行った。

【育苗、移植】

本葉（対生葉）が第 6～第 8 対に生育した播種 4 週間後に不織布ポットに移植した（11/8）。また、移植時期について検討するため、同様に播種 5 週間後（11/15）、6 週間後（11/22）にも不織布ポット

への移植を行った。なお、照明条件を不織布ポット移植後に明期 16 時間から 18 時間に変更した。
(本変更は GC のスペースの問題によるものであり、育苗は通期、明期 18 時間で問題ない。)

【開花誘導】

短日条件下で開花を誘導するため、播種 6~8 週間後(移植 2~4 週間後)に本葉が第 8~12 対まで生育した時点で、照明を短日条件に変更した。

【灌水】

育苗期(不織布ポット移植前)の灌水は底面灌水によって行った。不織布ポット移植後は、上面の土が乾かない程度に適宜灌水を行った。

【施肥】

播種 1 週間後に、底面灌水トレイ(容量約 5 L)にマグアンプ K 中粒(ハイポネックスジャパン)を 5 g 施用した。ポット移植 1 週間後より、ハイポネックス微粉(6.5-6-19、ハイポネックスジャパン)(1 g/L)を週 1 回、株あたり 250 mL 散布した。

【生育調査及び試料サンプリング】

不織布ポット移植時から毎週 1 回、本葉の対生対数及び草丈の計測を行った。育成した植物体の葉及び頭頂部(最上部から 30 cm)のサンプリングを随時行い、成分分析に供した。



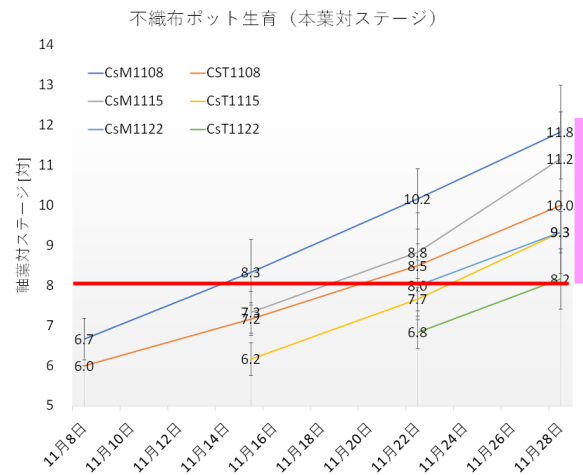
不織布ポット移植後の大麻草の生育状況
(播種週間後にポットへ移植)

【結果】

短日条件下で開花を誘導するため、播種 8 週間後(不織布ポット移植 4 週間後)に本葉が第 7~12 対まで生育した時点で、照明を明期 18 時間から 12 時間の短日条件に変更した。

なお、播種 8 週間後には、対生対に加え、ほとんどの株で互生の葉が出現していることを確認した。

不織布ポット移植後の両系統の各移植日別の本葉対生対数の推移を下図に示す。この図に示すように、播種 4 週間後に不織布ポットへ移植したものが、他の移植日と比較してその後の生育が良好であった。



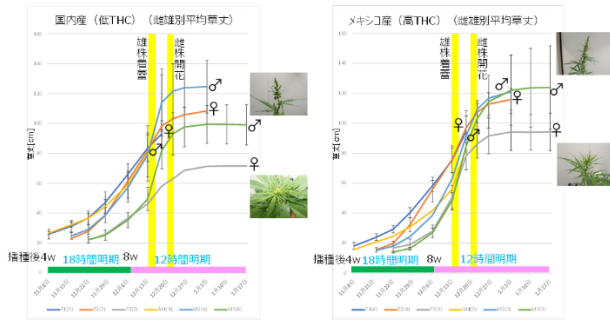
不織布ポット移植日別の本葉対ステージの推移

短日条件変更 8 日後にすべての雄花の開花が確認され、この時点で雌雄の判別が可能であった。そして、短日条件変更 12 日後に雌花の形成が確認され、その 4 日後(短日条件変更 16 日後)までにすべての雌花の開花を確認した(白い糸状の雌蕊を確認した)。なお、国内産の雌株の割合は 11/18 (61%)、メキシコ産では 7/18 (39%)であった。

また、不織布ポットへの移植日は、両系統とも開花の時期に影響を及ぼさなかった。

雄株は開花後に雌株よりも先に枯れ始めたが、雌株は果実(種子)が完熟するまで生育を続け、果実(種子)が完熟したのち枯れた。個体によっては、果実(種子)完熟後も葉が成長を続けるものもあった。

不織布ポット移植後からの両系統の生育(草丈)の推移を下図に示す。雄株の花穂は鉛直方向に伸びるため、同じ移植日で比較すると、雄株の方が雌株よりも草丈が高い傾向がある。



不織布ポット移植後の雌雄別生育曲線

F:雌株、M:雄株、F/M の後の数字は移植時期 1: 11/8,

2:11/15, 3:11/22 を、

カッコ内の数字は個体数を表わす

以上のように、上記栽培条件で国内産大麻草、及び、メキシコ産大麻草を育成した場合、播種から9週間後に雄花の花穂が形成され、10週間後に雌花の花穂が形成された。

大麻草の開花期の未熟花穂や果実（種子）を成分分析に供試する場合、サンプリングは上記生育期間に随時可能であることが示された。

グロースチャンバー内で栽培した大麻草のサンプリング

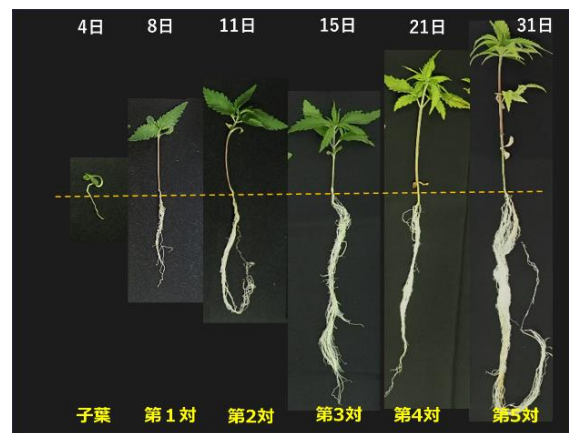
前項の方法により、閉鎖系環境内で育成した大麻草については、各ステージ毎にサンプリングを行った。今回は低 THC 含量種（国内産）の他、高 THC 含量系統（メキシコ産）の種子をグロースチャンバー内で前項方法1のセルトレイを用いて育成した大麻草を、各生育ステージ毎にサンプリングを行い、THC 含量を測定した。

各生育ステージは以下のとおりである。

生育ステージ	播種後日数	地上部の高さ（草丈）（cm）（平均±SD）	生長の様子	
		メキシコ産	国内産	
1	4	2.3±0.6	2.5±0.7	子葉が展開
2	8	2.7±0.3	4.4±0.8	本葉第1対生葉出現
3	11	3.8±0.6	8.2±0.4	本葉第2対生葉出現
4	15	5.2±0.4	8.9±0.6	本葉第3対生葉出現
5	21	5.6±0.8	11.8±1.5	本葉第4対生葉出現
6	31	6.8±1.6	12.5±2.5	本葉
(短日処理による開花誘導を開始)				
7	44	28.9±8.9	28.7±1.6	本葉第8～11対生葉出現 未熟花穂出現
8	50	56.8±0.4	48.5±25.5	雄、雌の花穂出現
9	60	39.0±32.5	52.8±51.2	成熟花穂 雄花から大量の花粉飛散
10	71			雄株は枯死寸前

人工光下での大麻草栽培（各生育ステージにおける

地上部高さ：草丈と生育の様子）



人工光下におけるセルトレイでの大麻草栽培

(国内産低 THC 含量種、播種後一か月間の生長：

生育ステージ1～6)

人工光下と圃場での大麻草栽培の比較

A)人工光下で栽培した大麻草について

(1)総 THC 含量

前項で述べた人工光を用いた環境制御下でのセルトレイ栽培では、播種後4日目で子葉展開が観察され、LC/MSによる分析では、高 THC 含量種においてはその段階で既に微量ながら THC が検出されることが分かった。その後の生育ステージ毎の総 THC 含量の推移は、高 THC 含量系統であるメキシコ産においては、ステージ6（播種後31日目、第5対生葉期）において約2%に達し、その後開花誘導後において含量は安定した。ステージ7（播種後44日目、開花誘導後）では未熟な花穂を含む雌株が最も含量が高く、ステージ8（播種後

50 日目) ではやはり雌花が最も高含量であった。ステージ9 (播種後 60 日目) では雄花から大量の花粉が飛散するが、雄花、雌花ともに高含量であった。このステージでは枯死する葉が出現するが、その場合は低含量であった。また低 THC 含量種である国内産においては、ステージ4 (播種後 15 日目、第3対生葉期) において約 0.2% 近くになるが、その後含量は増えない傾向であった。

(2) 総 CBD 含量

メキシコ産においては全ての生育ステージにおいて検出されなかった。また国内産では開花誘導後のステージ8 (播種後 50 日目) に 1.8% 近い高含量の株 (雌花) が出現した。開花誘導後の各ステージにおいて雌株の花穂における含量が最も高い傾向が見られた。また枯死した葉は含量が低かった。



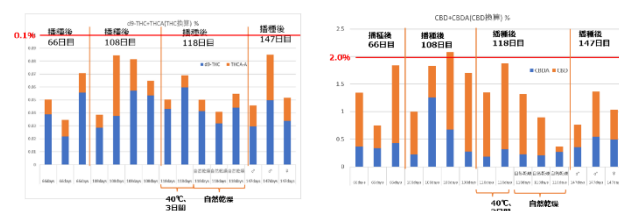
環境制御下栽培による大麻草の葉と花穂の

総 THC 含量及び総 CBD 含量

B) 圃場で栽培した大麻草について

前述のように大麻草の圃場栽培においては開花前個体においては頭頂に近い葉が最も THC 含量が高い傾向があった。センター圃場で栽培した品

種は、人工光下での栽培と同じ国内産の低 THC 種である。各ステージ (播種後 97、108、118、147 日目) の総 THC 含量を比較すると既に 0.1% 以下で安定に推移していることが分かった。また総 CBD 含量についても 2.0% 以下で推移していた。なお、今回のサンプリング時期において含量は既に安定化していたものと考えられた。



圃場栽培による大麻草 (国内種) 頭頂葉の総 THC 含量 (左)

及び総 CBD 含量 (右)

D. 考察

これらの結果から、大麻草種子の総 THC の含量は、人工光を用いた環境制御下において迅速栽培を行った上で成分定量を行えば、その個体の THC 含量の性質が推定できることが分かった。

高 THC 含量系統であるメキシコ産を用いた今回の検討では、最も THC 含量が高いのは未熟花穂であった。よって未熟花穂をもって成分含量を推定するのが好ましいと考えられた。栽培条件や品種にもよるが、未熟花穂が出現するのは播種からおおむね 50 日前後 (播種から 31 日後に短日処理による開花誘導を行った場合) である。ただし大麻草の品種・系統や栽培条件によってその日数は異なるため、成分分析用試料供給のための栽培手法の標準化に向けては、供試系統・品種を増やし、生育データを取得する必要があると考えられる。

より早く開花を誘導するためには、育苗過程で本葉第 8 対の形成を確認した時点で、短日条件に変更することが有効と考えられる。国内産大麻草の場合、最短で播種約 8 週間後に雌花の形成 (未熟花穂) が確認できると期待される。

E. 結論

大麻草の成分分析に用いる植物体試料供試に資する人工栽培環境下の迅速栽培法について、国内産系統（低 THC 含量種）及びメキシコ産系統（高 THC 含量系統）の大麻草を試験材料として人工光グロースキャビネットを用い、検討を行った。その結果、1. 実生幼植物の葉を成分分析に供試する場合の栽培法検討では、両系統とも、播種後1か月間で、本葉第5対生期までの幼植物の育成が可能なることを示した。2. 開花期の花穂の採取を目的とする場合の栽培法検討では、両系統とも、播種9週間後に雄花の開花を、同じく10週間後までに雌花の開花を誘導することが可能なることを示した。上記の栽培条件で育成した植物体は、それぞれ成分分析に供することが可能である。

それら試料の分析に当たっては、圃場でのサンプリング手法及びその分析の検討を通じて頭頂葉を含む先端部分の葉においては THC 含量が高いことを示し、採取時期については雌株の未熟花穂が最も含量が高いことが分かった。分析方法についてはその抽出方法も含めて検討した結果、AOAC 法を改良して UHPLC を用いた LC-MS または LC-MS/MS 法において行くと効率よく一斉分析が行えることが分かった。分析法の確立において

は、さらなるバリデーションを含めた検討が必要であり、今後はそれら分析法の各機関による再確認を行った後に公的な分析法として確立する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし