

分析案の策定及び分析法の妥当性評価

研究分担者:花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 部長

大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の分析案の検討及び策定

研究要旨:大麻由来製品(CBD含有製品)中に混在する微量の $\Delta^9$ -THC( $\Delta^9$ -THC及び植物体中に存在する $\Delta^9$ -THCのフェノールカルボン酸体tetrahydrocannabinolic acid,  $\Delta^9$ -THCA-Aの総和)について、仮に設定した $\Delta^9$ -THC残留限度値(飲料中0.00001% (100 ng/g), その他の製品0.001%(10 µg/g))が測定可能な分析法の検討を行った。はじめに、文献調査により各国・機関の分析法を調査し、文献調査結果を基に分析法素案を作成した。作成した素案に基づき、分析対象以外の大麻成分との分離の確認及び添加回収試験等を行い、修正案(分析案)を作成した。研究分担者に標準試料・標準溶液を作成・交付し、分析案に対して分析法妥当性評価を実施した。また、インターネットで流通している大麻由来製品を試買し研究分担者に送付し、分析案を用いて定量試験を実施した。その結果、今回分析対象とした薬物添加コントロール試料ならびに実試料においては、本研究で設定した分析案を用いて、総 $\Delta^9$ -THC量の限度値として想定した0.001 % (飲料0.00001%)を超える含有の有無についての判定が可能であると考えられた。

研究協力者

河村麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部  
水谷佐久美 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部

A. 研究目的

現在、世界で最も多くの人に乱用されている薬物は大麻やその製品であり、その乱用は世界的規模で広がりを見せている。日本においても、大麻事犯の検挙人員は2017年以降2023年まで6年間連続で過去最高を記録しており、2023年には覚醒剤を上回り薬物事犯で最多となった。一方、大麻をめぐるのは、近年、産業用途、医療用途、そして嗜好用途の使用について、諸外国で様々な議論がおきている。2023年時点では、日本では医薬品として的大麻草及び大麻抽出物の使用は認められていないが、大麻抽出物が医薬品として使用されている国も多く存在する。特に、主要なカンナビノイド成分のひとつであるCannabidiol

(CBD)は、諸外国で難治性小児てんかん薬など、医薬品としての活用が進んでいる。また、CBDを含む様々な製品群が合法的に販売され、市場規模が世界的に拡大している。厚生労働省は、大麻をめぐる状況の変化を鑑みて、2023年10月に、大麻取締法及び麻薬及び向精神薬取締法の一部を改正する法案を国会に提出した。改正法案では、医薬品の施用規制の見直しによる医療ニーズへの対応、大麻使用罪の設定、部位規制から成分規制へと原則を変更するとともに、安全かつ適切な製品流通の確保のための麻薬成分 $\Delta^9$ -THCの残留限度値の設定、そして大麻草の栽培及び管理の規制の見直しが見直しが示された。改正後は、大麻由来成分を含む医薬品の国内での使用が可能となり、大麻取締法下での規制にあった大麻由来成分 $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC)が麻薬として位置付けられ、麻薬取締法下での規制となる。一方、現行の大麻取締法には使用罪は

ないが、改正後は $\Delta^9$ -THCを含有する大麻及びその製品の使用について麻薬取締法違反となる。また、大麻取締法は、栽培に関する内容に特化し「大麻草の栽培の規制に関する法律」となる。本改正法案は2023年12月に国会で可決、12月13日に公布され、1年以内に施行予定となっている。

法改正の方向性のひとつとして、CBD含有食品等的大麻由来製品の安全かつ適切な流通の確保のため、麻薬成分 $\Delta^9$ -THCの残留限度値を設定(製造販売者が限度値適合性を担保)し、買い上げ調査等を含めた行政による監視指導を行う必要があることが示されている。大麻製品中の主活性成分 $\Delta^9$ -THCの分析法としては、国連薬物犯罪事務所(UNODC)の推奨法や、分析法の標準化に取り組んでいる国際的な組織であるAOAC Internationalが制定した公定分析法等が知られている。しかし、これらの分析法は、相当量の $\Delta^9$ -THCを含有する乾燥大麻や大麻濃縮物、また液体大麻を分析対象としているため、CBD含有食品等に混在する可能性があるごく微量の $\Delta^9$ -THCの分析法としてそのまま適用することは難しい。そこで、本研究では、大麻由来製品(CBD含有製品)中に混在する微量の $\Delta^9$ -THC( $\Delta^9$ -THC及び植物体中に存在する $\Delta^9$ -THCのフェノールカルボン酸体tetrahydrocannabinolic acid,  $\Delta^9$ -THCA-Aの総和)について、将来的に設定されうる残留限度値が測定可能な試験法を策定することを目的とした。仮の $\Delta^9$ -THC残留限度値として、本研究では、飲料中0.00001% (100 ng/g)、その他の製品0.001%(10  $\mu$ g/g)と設定して検討を行った。

研究内容としては、①文献調査による各国・機関の分析法の調査、②文献調査結果を基に分析法素案の作成し、作成した素案に基づき添加回収試験等を行い、修正案を作成、修正案に対して研究分担者において分分析法妥当性評価を実施するための標準試料・標準溶液を作成し交付、③インターネットで流通している大麻由来製品を試買し、研究分担者(東京都健康安全研究センター及び大阪健康安全基盤研究所)に送付、④最

終試験法の策定を行うこととした。

## B. 研究方法

### 1. 試薬

標準化合物として、 $\Delta^9$ -THC(1 mg/mL メタノール溶液, Cerilliant Corporation 社製)および $\Delta^9$ -THCA-A(1 mg/mL アセトニトリル溶液, Cayman Chemicals 社製)を使用し、アセトニトリルで適宜希釈して実験に用いた。アセトニトリルおよびギ酸はLC-MS用、水は超純水、その他の試薬および溶媒は、いずれも試薬特級品を用いた。なお、 $\Delta^9$ -THC及 $\Delta^9$ -THCA-Aは、定量NMR法( $^1$ H-qNMR法)により純度を別途測定したものを使用した( $\Delta^9$ -THC 93.04~94.75%、 $\Delta^9$ -THCA-A 95.51~96.82%)<sup>1)</sup>。

また、 $\Delta^9$ -THCと $\Delta^9$ -THCA-Aとともに、その他大麻成分との分離を検討するために下記の14化合物を使用した。Cannabidivarin (CBDV), Cannabigerolic acid (CBGA), Cannabigerol (CBG), Cannabidiol (CBD), Cannabicyclol (CBL), Cannabinol (CBN)はCerilliant Corporation社より、Cannabidibutol (CBDB), Cannabidiolic acid (CBDA),  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabivarin ( $\Delta^9$ -THCV),  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabibutol ( $\Delta^9$ -THCB), Cannabidiphorol (CBDP), Cannabichromene (CBC),  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabiphorol ( $\Delta^9$ -THCP)。これら化合物はCayman Chemicals社より入手した。また $\Delta^8$ -THCは過去に国立衛研で合成したものを使用した。16成分の構造を図1に記載した。

試料を量り取るポリプロピレン製遠沈管はLabcon社製(型番3131-345)を、試料の抽出/精製に用いたQuEChERS dSPEチューブはThermo Fisher Scientific社製(型番S2-15-GFV-EN-KIT, QuEChERS EN 15662 Method Clean-up Kit; 900 mg MgSO<sub>4</sub>, 150 mg PSA pre-filled in 15 mL Tube)を、測定試料調製に用いたフィルターはメルク社製Ultrafree-MC, PTFE, 0.2  $\mu$ m (型番UFC30LG25)を使用した。

### 2. 測定試料の調製(最終案)

オイルはそのまま、もしくはカプセル状のものはカプセルから内容物を取り出し、クッキーは粉碎機を用いて細かく粉碎し、グミはハサミで細断して試料とした。

各試料 200 mg を 15 mL ポリプロピレン製遠沈管に精密に量り取り、ジクロロメタン 1 mL、水 1 mL を加え、よく振り混ぜた後、アセトニトリル 5 mL 程度を加えた。その後、超音波抽出を 30 分間行い、室温に戻した後、ギ酸 100  $\mu$ L とアセトニトリルを加えて 10 mL にメスアップした。その際、pH 試験紙で pH 3~4 程度であることを確認した。内容物を新しい 15 mL ポリプロピレン製遠沈管に移し、油分の多い試料は冷凍 (-20°C) で 30 分間静置した。5 分間遠心分離 (4000 rpm, 5°C) し、上清 5 mL を QuEChERS dSPE チューブへ入れ、1 分間よく振り混ぜた後、5 分間遠心分離 (4000 rpm, 5°C) し、上清を 0.2  $\mu$ m フィルターで遠心ろ過し、測定試料とした。

飲料の場合には、試料 1 mL を 5 mL メスフラスコに精密に量り取り、アセトニトリル約 3 mL およびギ酸 50  $\mu$ L を加え、アセトニトリルで 5 mL にメスアップした。全量を QuEChERS dSPE チューブへ移し、1 分間よく振り混ぜた後、5 分間遠心分離 (4000 rpm, 5°C) し、上清を 0.2  $\mu$ m フィルターでろ過し、測定試料とした。

### 3. 測定条件(最終案)

#### 1) LC-MS/MS

装置:UPLC/Xevo-TQSmicro (Waters 社製)

#### LC 条件

カラム:CAPCELL PAK C18 MG II Column (3  $\mu$ m, 2.0  $\times$  100 mm, 大阪ソーダ)

カラム温度:40°C, サンプルクーラー温度:25°C

流速:0.3mL/min, 注入量:1  $\mu$ L

(飲料については 5  $\mu$ L)

移動相:0.1%ギ酸(A), 0.1%ギ酸アセトニトリル(B)

(A)/(B) 95/5-35/65(3 min,17 min hold)-0/100

(25 min, 5 min hold)

#### 質量分析条件

Capillary voltage: 2.5 kV, Source temp.: 150°C,  
Desolvation temp.: 400°C,

N<sub>2</sub> Cone gas flow: 50 L/hr, Desolvation gas flow:  
800 L/hr, Collision gas flow: Ar 0.15 mL/min,  
MRM 条件, MRM1 :6-20 min, ESI<sup>+</sup>, THC, CBD  
検出用,

MRM2:20-25 min, ESI, THCA 検出用

$\Delta^9$ -THC,  $\Delta^9$ -THC-A 及び  $\Delta^9$ -THC と同一の組成式(分子量)を有する  $\Delta^8$ -THC, CBD, CBC, CBL について, MRM 測定条件を表 1 に記載した。

#### 2) LC-QTOF MS

装置:TripleTOF® 6600 LC/MS/MS system (AB SCIEX, MA, USA)/ [UPLC] Nexera X2 system (Shimadzu, Kyoto, Japan)

#### LC 条件

LC-MS/MS に同じ

#### 質量分析条件

イオン化:エレクトロスプレーイオン化 (ESI),  
positive mode

Source temperature: 550°C, Gas: N<sub>2</sub>

Ion source gas 1 :50 psi; Ion source gas 2 :50 psi

Curtain gas :25 psi

Ion spray voltage: 5500 V

Declustering potential: 80 V

Collision Energy: 10V

Mass spectral range: m/z 100–650

LC-QTOF MS における  $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^9$ -THCA-A 及び関連大麻成分 16 化合物の測定条件を表 2 に示した。

### 3. 検討方法

#### ①分析法の文献調査

大麻由来製品 (CBD 含有製品) 中に混在する  $\Delta^9$ -THC の分析法に関する海外公定法, 論文等について文献調査を行い, 本研究において仮の限度値として定めた濃度付近の定量分析を実施している文献における抽出法, 測定法を精査した。文献調査は, 化合物情報の検索ツールとして

SciFinder を用い、PubMed および Google Scholar も併用して検索を行なった。

## ②分析法案の作成

①で調査した分析法について、 $\Delta^9$ -THC の仮の残留限度値付近が測定可能な抽出法及び分離検出法となりうるか、国立衛研で、LC-MS/MS もしくは LC-QTOFMS 測定時における分析対象成分と他の大麻成分との分離識別(特に  $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A と同じ分子量を有する化合物)、製品試料調製時における分析対象化合物の回収率と安定性について検討を重ね、分析法案を作成した。また、作成した分析法案に基づき、研究分担者所属機関である東京都健康安全研究センター及び大阪健康安全基盤研究所において、国立衛研から  $\Delta^9$ -THC (1 mg/mL メタノール溶液, Cerilliant Corporation 社製),  $\Delta^9$ -THCA-A (1 mg/mL アセトニトリル溶液, Cayman Chemicals 社製)を正式に譲渡するとともに、薬物を含有しないことが確認されている市販の製品(オイル, グミ, クッキー), 飲料(ペットボトルの水)について分析法バリデーションを実施するための標準試料として配付した。配付した製品は下記の通りである。

1. オイル:食用オリーブオイル 100%  
(J-オイルミルズ)
2. グミ:水グミ みかん味(味覚糖)3.2g/個
3. クッキー:ソルティーバタークッキー 3.3g/個  
(ブルボン)
4. 飲料:超純水・蒸留水

## ③分析法の評価と標準的な分析法の策定

分析法妥当性評価が行われた分析法に基づき、実試料において定量分析を実施するために、インターネットより購入した、CBD 含有を表示する代表的な 3 製品(オイル, グミ, クッキー)及び飲料(CBD ウォーター)を研究分担者所属機関である東京都健康安全研究センター及び大阪健康安全基盤研究所に配付した。配付した製品は下記の

通りである。また、定量結果をふまえて課題を整理すると共に、最終的な分析法を策定した。

1. オイル:Retreat capsule Hemp oil CBD  
(カプセル入黄褐色オイル)  
250mg/1 カプセル, 60 入
2. グミ: CBD GUMMIES mixed berry flavor  
(表面が固い赤色グミ), 4.4g/個, 8 入
3. クッキー: It's me CBD cookie  
(茶褐色, 不均一な粒あり)  
9.7g/個, 7 入
4. 飲料: CANOVY WATER (無色透明)  
CBD ウォーター  
500 mL 入りペットボトル

## C. 結果

### ①分析法の文献調査

大麻由来製品(CBD 含有製品)中に混在する  $\Delta^9$ -THC について、本研究において仮の限度値として定めた濃度付近の定量分析を実施している文献を調査した。その結果、候補として 5 論文が抽出された<sup>2)6)</sup>。その中でも、多種多様なマトリックスの食品について、油分が多い試料、糖分が多い試料、その他の試料の 3 群に分け、抽出手法として食品分野で広く利用されている QuEChERS 法を使用し、LC-MS/MS の MRM モードで測定を実施した論文<sup>2)</sup>を、主となる参考文献として選択した。本文献に記載されている分析法を下記に示した。文献の測定では、3 タイプすべての試料で  $\Delta^9$ -THC の LOD が 0.1 ng/g, LOQ は 0.3 ng/g であった。ただし、本文献では、分析対象は CBD と  $\Delta^9$ -THC のみであり、 $\Delta^9$ -THCA-A の測定は検討していなかった。

<文献<sup>2)</sup>記載の分析法>

### 試料

Type I: 脂質が多い製品(チョコレート, エナジーバー, オイル等)

Type II: 糖分が多い製品(キャンディ, ゼリー, グミ等)

Type III: その他の製品(スナック菓子, シリアル等)

### 試料調製法

オイルと粉末を除くすべてのサンプルを-20°Cで凍結し、25,000 rpm で粉砕してホモジナイズ (IKA Tube-mill, ドイツ)した。

#### A) Type I の試料の調製法

試料 1 g にジクロロメタン 5 mL を加え、さらにアセトニトリルを加える。その後、超音波抽出を 30 分間行い、アセトニトリルを加えて 50 mL にメスアップし、冷凍 (-20°C) で 30 分間静置する。試料を 5 分間遠心分離 (4000 rpm, 4°C) し、上清 5 mL を 15 mL QuEChERS チューブへ入れよく振り混ぜた後、5 分間遠心分離 (4000 rpm, 4°C) し、上清を 0.2 μm PTFE フィルターで遠心ろ過し、測定試料とする。

#### B) Type II 及び Type III の試料の調製法

試料 1 g に蒸留水 5 mL を加え、さらにアセトニトリルを加える。その後、超音波抽出を 30 分間行い、アセトニトリルを加えて 50 mL にメスアップする。試料を 5 分間遠心分離 (4000 rpm, 4°C) し、上清 5 mL を 15 mL QuEChERS チューブへ入れよく振り混ぜた後、5 分間遠心分離 (4000 rpm, 4°C) し、上清を 0.2 μm PTFE フィルターで遠心ろ過し、測定試料とする。

#### 測定条件

##### LC-MS/MS

装置: NASCA2 LC システム (Osaka Soda, Tokyo, Japan) / API 4500 QTRAP 四重極 MS システム (AB Sciex, Framingham, MA, USA)

##### LC 条件

カラム: CAPCELL PAK C18 MG II Column  
(3 μm, 2.0 × 100 mm)

カラム温度: 30°C, サンプルクーラー温度: 25°C

流速: 0.2 mL/min, 注入量: 1 μL

移動相: 0.1% ギ酸 (A), アセトニトリル (B)

(A)/(B) 95/5 (2 min hold)-5/100 (5 min, 9 min hold)-95/5 (15 min, 3 min hold)

##### 質量分析条件

ESI, positive mode, MRM 測定

Curtain gas 及び collision gas: N<sub>2</sub>

Curtain gas pressure: 30 psi

Collision gas pressure: 9 psi

Ion voltage: 5500 V

Source temperature: 500°C

Pressures of the gas sources 1: 55 psi 2: 60 psi

#### ② 分析法素案の作成

文献<sup>2)</sup>が提示している LC-MS/MS 測定条件について、 $\Delta^9$ -THC と同じ分子量の CBD,  $\Delta^8$ -THC, CBL, CBC を含む、計 16 種類の大麻成分の分離を検討した。また、参考文献の分析法に従って、オイル、グミ、クッキーのコントロール試料に、 $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A を添加し分析を行い、分析中における化合物の安定性や、暫定的な回収率を検討した。さらに、飲料のコントロール試料 (超純水) において、 $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A を添加した試料を、直接膜ろ過して、LC-MS/MS で測定を行った。その結果、下記の問題点が明らかとなった。

(1) 選択した文献の分析法では、LC-MS/MS, LC-QTOF MS において、 $\Delta^9$ -THC と同じ精密質量で同じプロダクトイオンを生じる  $\Delta^8$ -THC が分離識別できなかった。そこで、LC のグラジエント条件を変更し、代表的な大麻 16 成分が分離識別可能な測定条件を設定した。16 成分の LC-QTOFMS の抽出イオンクロマトグラムを図 2 に示した。16 成分のうち、 $\Delta^9$ -THC と  $\Delta^8$ -THC, CBD, CBL, CBC は同じ分子量 314.46 を有する。また、 $\Delta^9$ -THCA-A と CBDA も同じ分子量 358.47 を有する。これら異性体についても、設定した測定条件で十分な分離識別が可能であった。

(2) 選択した参考文献の分析法では、分析対象とされていなかった  $\Delta^9$ -THCA-A のオイル、グミ、クッキーからの回収率が数%程度と、極めて低い結果となった。そこで、QuEChERS 法により抽出/精製する前に、試料にギ酸を 1%程度加え、pH3~4 としたところ、 $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A の両化合物共に回収率はほぼ 100%となった。なお、ギ酸 0.1%の添加では、回収率の改善は認められなかった。1%となるようにギ酸を加えても、測定試料に

については、24 時間室温で安定であり、CBD から THC の生成、また  $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A の分解は認められなかった。

(3)  $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A を添加した水試料を、直接膜ろ過して、LC-MS/MS で測定を行ったが、膜への吸着等により、回収率が極めて低く、ピークが検出できなかった。また、色や味が付いている飲料の場合は、膜ろ過だけでは、糖分や着色料等の夾雑物の影響が無視できないと考えられた。そこで、飲料についても QuEChERS を用いた抽出/精製過程を入れ、最終的に 100% 付近の回収率を得ることが可能であった。

(4) 参考文献では、油分が多い試料、糖分が多い試料、その他の試料の 3 群に分け、それぞれ別の抽出法を設定していたが、油分も糖分も多いチョコレートやクッキー等 3 群に分けることが難しい試料が想定された。そこで、過去の文献<sup>7)</sup>を参考に、飲料以外のすべての試料に適用可能な抽出/精製法を検討した結果、ジクロロメタン、水を加え、よく振り混ぜた後、アセトニトリルを加えて超音波抽出を行うことで対応可能であった。

これらの結果をもとに、2. 研究方法の項に記載の、測定試料の調製(最終案)及び測定条件(最終案)を設定し、分析法案とした。

### ③分析法の評価と大麻製品の標準的な分析法の策定

作成した分析法案に基づき、研究分担者の所属機関である東京都健康安全研究センター及び大阪健康安全基盤研究所において、分析対象化合物及び薬物を含有しないことが確認されている市販の製品(オイル、グミ、クッキー)、飲料(蒸留水)を用いて分析法妥当性評価を実施した<sup>8)-10)</sup>。

東京都健康安全研究センターにおいては、タンドム四重極型 LC/MS/MS の MRM モードで検討した。その結果、特異性、定量下限値( $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A で、それぞれ 0.05  $\mu\text{g/g}$  および 0.01  $\mu\text{g/g}$ 、飲料はそれぞれで 1 ng/mL および 0.5 ng/mL)、直線性、添加回収率、検討した 3 濃度

(低濃度 1  $\mu\text{g/g}$ 、中濃度 10  $\mu\text{g/g}$ 、高濃度 50  $\mu\text{g/g}$ 、飲料はそれぞれ 10, 100, 500 ng/mL)における真度及び精度について、比較的良好な結果が得られた。また、大阪健康安全基盤研究所において、LC-QTOFMS を用いた測定で評価した結果においても、特異性、定量下限値( $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A 共に 0.25  $\mu\text{g/g}$ 、オイルの  $\Delta^9$ -THCA-A については 1  $\mu\text{g/g}$ 、飲料ではそれぞれ 2.5 ng/mL および 5 ng/mL)、直線性、添加回収率、検討した 3 濃度における真度及び精度について、特に高濃度領域の検量点を低濃度領域に置換した検量線を用いて評価を行った場合、良好な結果が得られた。

そこで、次に、分析法妥当性評価が行われた分析法を使用して、国立衛研がインターネットより購入し、各機関に配付した代表的な形態の CBD 含有 3 製品(オイル、グミ、クッキー)及び飲料(CBD ウォーター)製品について、2 機関(LC-MS/MS 及び LC-QTOF MS 使用)、3 試験者で、定量分析を実施した。その結果、オイルについては、3 試験者共に THC 総量は同一で 0.014% を示し、グミについても、0.0003~0.0004% 程度とほぼ同程度の値を示した。また、飲料については、いずれも、 $\Delta^9$ -THC 及び  $\Delta^9$ -THCA-A は検出限界以下であった。一方、クッキーにおいては、LC-MS/MS 測定では、 $\Delta^9$ -THC 総量として 0.0006% 程度検出された。しかし、LC-QTOFMS による測定では、クッキーから、 $\Delta^9$ -THC のピークが確認されたが、同一精密質量( $m/z$  315.2319  $\pm$  10 mDa)の抽出イオンクロマトグラム上に保持時間が近接し、完全分離できないピークが認められたため、正確な定量を実施することができなかった。ただし夾雑ピークを考慮しても限度値 0.001% を超える含有量ではないと考えられた。

以上の結果より、今回分析対象とした薬物添加コントロール試料ならびに実試料(大麻由来製品、CBD 含有製品)においては、本検討で設定した分析法案を用いて、総  $\Delta^9$ -THC 量の限度値として想定した 0.001% (飲料は 0.00001%) を超える含

有の有無について判定が可能であると考えられた。

#### D. 考察

国内外で流通する大麻由来製品(CBD含有製品等)は、様々な形態が存在し、マトリックスも多種多様である。抽出効率や、質量分析におけるイオン化のマトリックス効果を考慮すると、正確な定量分析を行うためには、分析対象である $\Delta^9$ -THC及び $\Delta^9$ -THCA-Aの重水素標識体を内標準物質として用いる内標準法が望ましいと考えられる。しかし、今回はこれら重水素標識体の輸入購入が研究期間内に不可であったため、本研究班においては、絶対検量線法を用いて検討を行った。 $\Delta^9$ -THCは麻薬として規制されており、また、 $\Delta^9$ -THCA-Aについても法改正後は麻薬として規制されることになる。これら標準物質や重水素標識体等は輸入購入が必要であり、費用・手間・時間がかかる。必要な試薬を必要なときに、正規分析機関が入手することが可能となるようにすることが課題のひとつと考える。また、定量にあたり、標準品の純度、保存方法や使用期限等についても考慮する必要があると考える。

本検討に供した製品はオイル・グミ・クッキー・飲料のコントロール試料・実試料それぞれ1製品ずつのみであった。その中でも、クッキーの実試料で $\Delta^9$ -THCの妨害となる未知ピークが確認されている。グミ製品ひとつをとっても、ハードグミ、ソフトグミ、糖でコーティングされたグミ等、多種多様なマトリックスを有する製品が存在する。様々な要素によって定量可能な範囲が影響されることを鑑みて、標準添加法で定量分析を行う、使用する分析機器で適宜分析条件の最適化を図る等の検討が必要である。また、今回検討を実施した製品と異なる性状のCBD含有製品にも対応可能な分析法とするには、引き続き慎重な検討が必要と考えられる。また、測定において、限度地付近の $\Delta^9$ -THCが検出された場合には、「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」(厚生

労働省健康・生活衛生局食品基準審査課長通知、健生食基発 0308 第1号)等を参考に、それぞれの製品について、分析法の妥当性を確認する必要もあると考えられた。

#### E. 結論

本研究では、大麻由来製品(CBD含有製品等)中に混在する微量の $\Delta^9$ -THC( $\Delta^9$ -THC及び $\Delta^9$ -THCA-Aの総和)について、仮の残留限度値(本研究では、飲料0.00001% [100 ng/g]、その他の製品0.001% [10 µg/g]を設定)が測定可能な試験法を検討した。その結果、今回分析対象とした薬物添加コントロール試料ならびに実試料(大麻由来製品、CBD含有製品)においては、本検討で設定した分析法案を用いて、総 $\Delta^9$ -THC量の限度値として想定した0.001% (飲料は0.00001%)を超える含有の有無について判定が可能であると考えられた。

#### F. 参考文献

1. 厚生労働行政推進調査事業費(厚生労働科学特別研究事業)「大麻由来製品中に混在する微量 $\Delta^9$ -THCの試験法策定に資する研究」令和5年度研究分担報告「大麻草由来カンナビノイド試薬のNMRを用いた純度測定」(田中理恵)
2. Ji Hyun Lee, *et al.*, Development and validation of LC-MS/MS method with QuEChERS clean-up for detecting cannabinoids in foods and dietary supplements *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2020; 37(9):1413-1424.
3. Nicolas Christinat, *et al.*, Development, validation and application of a LC-MS/MS method for quantification of 15 cannabinoids in food. *Food Chemistry*, 318, 126469 (2020).
4. Ilaria Di Marco Pisciotano, *et al.*, A survey of  $\Delta^9$ -THC and relevant cannabinoids in products from the Italian market: A study by LC-MS/MS of food, beverages and feed. *Food*

*Chemistry*, 346, 128898 (2021).

5. Qingfang Meng, *et al.*, A reliable and validated LC-MS/MS method for the simultaneous quantification of 4 cannabinoids in 40 consumer products. *PLoS ONE*, 13(5), e0196396 (2018).
6. 城克巳 他, QuEChERS 法及び水素炎イオン化検出ガスクロマトグラフィーを用いる食品中  $\Delta^9$ -THC の定量試験法の検討. *法科学技術*, 27(1), 15-16 (2022).
7. Guozhu Liu, *et al.*, Development of an improved method to extract pesticide residues in foods using acetonitrile with magnesium sulfate and chloroform. *J. Chromatogr. A*, 1218, 1429–1436 (2011).
8. 厚生労働行政推進調査事業費(厚生労働科学特別研究事業)「大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の試験法策定に資する研究」令和 5 年度研究分担報告「LC-MS/MS による大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の分析法妥当性評価と実試料の測定」(鈴木俊也)
9. 厚生労働行政推進調査事業費(厚生労働科学特別研究事業)「大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の試験法策定に資する研究」令和 5 年度研究分担報告「LC-QTOF MS による大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の分析法妥当性評価と実試料の測定 1」(土井崇広)
10. 厚生労働行政推進調査事業費(厚生労働科学特別研究事業)「大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の試験法策定に資する研究」令和 5 年度研究分担報告「LC-QTOF MS による大麻由来製品中に混在する微量  $\Delta^9$ -THC の分析法妥当性評価と実試料の測定 2」(浅田安紀子)

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

学会発表

なし

論文発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



表1 LC-MS/MS における  $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^9$ -THCA-A 及び  $\Delta^9$ -THC と同一の組成式(分子量)を有する  $\Delta^8$ -THC, CBD, CBC, CBL の MRM 測定条件

		Rt (min)	定量用				確認用		
			Q1	Q3	Cone voltage(V)	Collision voltage(eV)	Q3	Cone voltage(V)	Collision voltage(eV)
$\Delta^9$ -THC	pos	15.7	315.2	193.0	30	30	259.0	30	30
$\Delta^9$ -THCA-A	neg	21.8	357.2	313.2	12	30	245.1	12	22
$\Delta^8$ -THC	pos	16.5	315.2	193.0	30	30	259.0	30	30
CBD	pos	9.50	315.2	193.0	30	30	259.0	30	15
CBL	pos	18.4	315.2	81.1	30	30	235.1	30	15
CBC	pos	20.4	315.2	81.1	30	30	193.1	30	30

表2 LC-QTOF MS における  $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^9$ -THCA-A 及び関連大麻成分 16 化合物の測定条件

	[M+H] <sup>+</sup>	組成式	Rt.	モニターイオン $\pm 10$ mDa	
				TOFMS-1st	TOFMS-2nd
CBDV	287.2006	C19H26O2	6.75	287.2006	
THCV	287.2006	C19H26O2	9.49	287.2006	
CBDB	301.2162	C20H28O2	7.93	301.2162	
$\Delta^9$ -THCB	301.2162	C20H28O2	12.13	301.2162	
CBN	311.2006	C21H26O2	13.17	311.2006	
CBD	315.2319	C21H30O2	9.68	315.2319	
$\Delta^9$ -THC	315.2319	C21H30O2	16.01	315.2319	
$\Delta^8$ -THC	315.2319	C21H30O2	16.79	315.2319	
CBL	315.2319	C21H30O2	18.75	315.2319	
CBC	315.2319	C21H30O2	20.81	315.2319	
CBG	317.2475	C21H32O2	9.53	317.2475	193.1222
CBDP	343.2632	C23H34O2	16.24	343.2632	
$\Delta^9$ -THCP	343.2632	C23H34O2	24.22	343.2632	
CBDA	359.2217	C22H30O4	8.83	341.2110	359.2217
$\Delta^9$ -THCA-A	359.2217	C22H30O4	21.90	341.2112	359.2217
CBGA	361.2373	C22H32O4	9.56	343.2268	361.2373

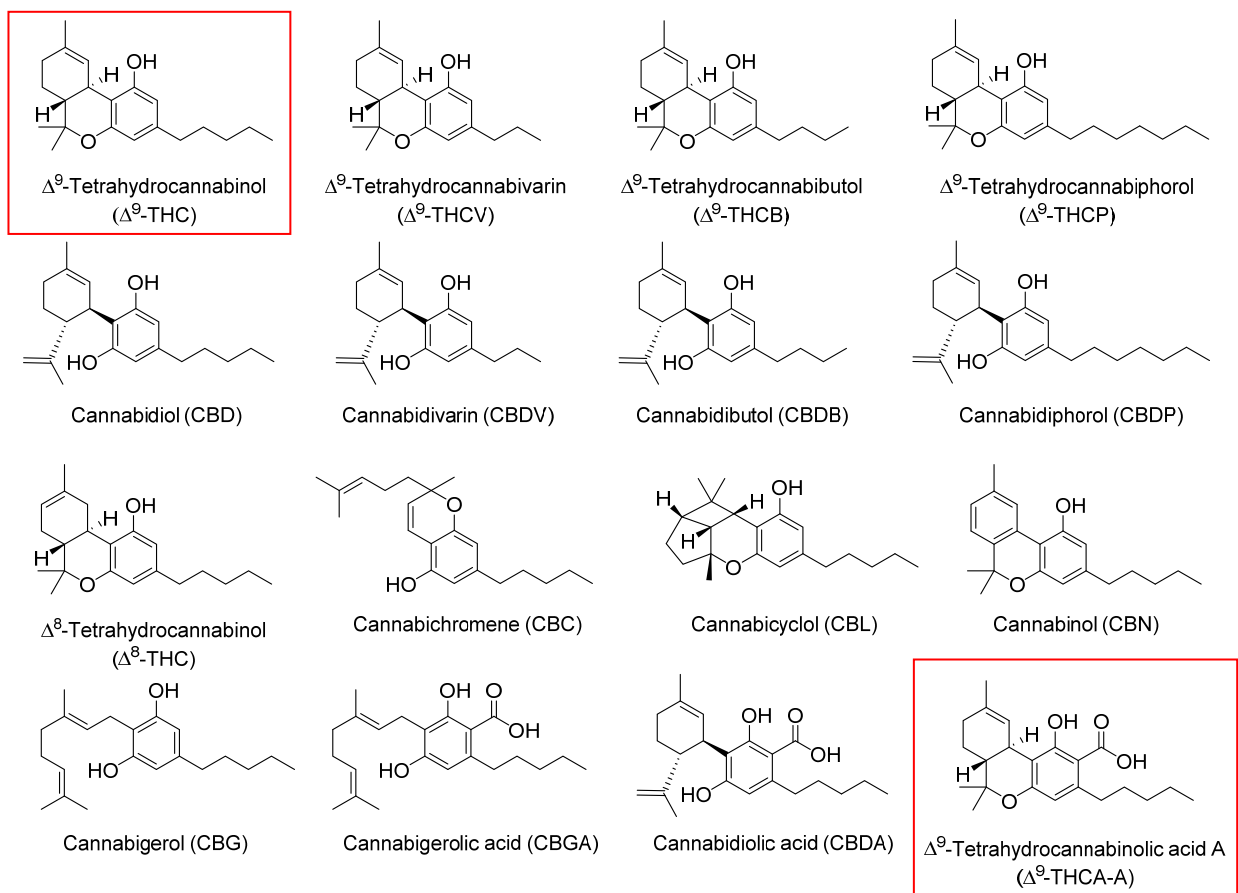


図1 分離識別を検討した  $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^9$ -THCA-A 及び関連大麻成分 16 化合物の構造

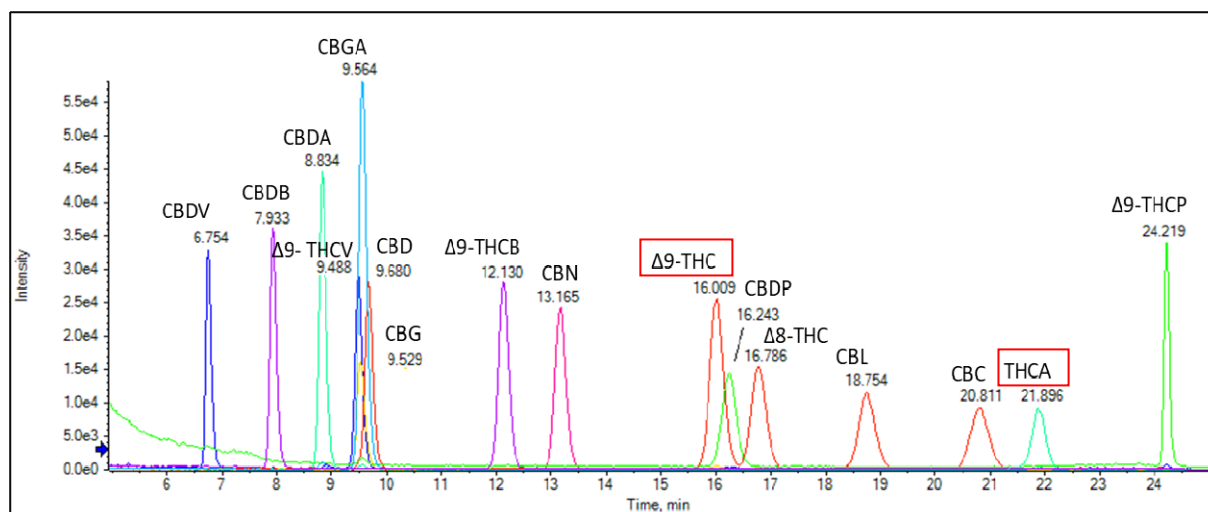


図2 分離識別を検討した  $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^9$ -THCA-A 及び関連大麻成分 16 化合物の LC-QTOF MS イオンクロマトグラム (各化合物のモニターイオン  $\pm 10$  mDa でのマスクロマトグラムの重ね書き)