

分担研究課題:分析法案の策定と分析法の妥当性評価(LC-QTOF MS)1
研究分担者:土井 崇広 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 主幹研究員

LC-QTOF MS による大麻由来製品中に混在する微量 Δ^9 -THC の
分析法妥当性評価と実試料の測定 1

研究要旨:大麻取締法及び麻薬及び向精神薬取締法の一部改正により,大麻草の濫用による保健衛生上の危害の発生を防止するため,大麻草由来製品に微量に残留する Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)の残留限度値が設けられることとなった.また,大麻草由来の成分のうち,化学的変化により容易に麻薬を生じ得る一部の成分について麻薬とみなすこととなり,tetrahydrocannabinolic acid (THCA-A)についても併せてその対象となっている.設定された残留限度値のモニタリングには,適切な定量分析法の設定が必要となるが,これまで当該目的達成のために Δ^9 -THC および THCA-A を同時定量した報告は見当たらない.

本研究ではオイル・クッキー・グミおよび飲料の 4 製品群を対象として,分析法開発に必要な分析法バリデーションを行うとともに,各製品実試料を用いて Δ^9 -THC 含有量の測定を実施した.

A. 研究目的

本研究では,大麻由来製品中に含まれる微量 Δ^9 -THC および THCA-A の定量分析法の構築を目的として,液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析装置(LC-QTOF/MS)を用いた検討を行った.

B. 研究方法

1) 試薬および試料

①試薬

Δ^9 -THC は Cerliant 社から, THCA-A は Cayman 社より入手したものをを用いた. QuEChERS dSPE チューブは EN Method QuEChERS Clean-up Kit, General Fruits and Vegetables, 15 mL Tube (Thermo Scientific 製)または DisQuE 900 mg MgSO₄ & 150 mg PSA, 15 mL Tube (Waters 製)を用いた.その他試薬は富士フィルム和光純薬株式会社から購入したものをを用いた.

②試料

分析法バリデーションのブランク試料には CBD が添加されていない市販品のオリーブオイル・グミ・クッキーおよびミネラルウォーターを用いた.

CBD 含有製品は代表研究者より送付されたオイル,グミ,クッキー,飲料を用いた.

2) 機器および分析条件

①使用機器

質量分析装置:6546 LC/Q-TOF MS system (Agilent Technologies, CA, USA)

UPLC 部分:1290 Infinity II UHPLC system (Agilent Technologies, CA, USA)

②LC 分離条件

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

カラム温度:40°C, サンプルクーラー温度:25°C

流速:0.3 mL/min, 注入量:1 μ L (飲料は 5 μ L)

移動相 A:0.1% ギ酸水溶液,

移動相 B:0.1% ギ酸アセトニトリル溶液,
グラジエント条件:A/B = 95/5-35/65(3 min,17 min
hold)-0/100(25 min, 5 min hold) [-95/5(31 min, 5
min hold)]

③MS 測定条件

質量分析装置の条件は既報を参考にした^{1),2)}.

Ion source: Dual-AJS ion source, Ionization: ESI
positive mode, Gas temperature: 325 °C, Gas: N₂,
Drying Gas: 10 L/min, Nebulizer: 20 psi, Sheath
Gas Temperature: 400 °C, Sheath Gas Flow: 12
L/min, Capillary voltage: 3000 V, Nozzle
Voltage: 600 V, Fragmentor: 120 V, Skimmer: 45 V,
Oct 1 RF Vpp: 750 V, Mass spectral range: m/z
100–1000, MS reference mass ions: 121.0509 and
922.0098

④解析条件

取得データの解析には Agilent MassHunter
Qualitative Analysis 10.0 (Agilent 製)を用いた。
 Δ^9 -THC の定量には m/z 315.2319 ± 10 mDa,
THCA-A の定量には m/z 359.2217 ± 10 mDa の
抽出イオンクロマトグラムを用いた。

3) 試料溶液の調製

試料溶液の調製は、既報³⁾を参考に一部変更
して実施した。

①オイル・クッキーの試料溶液調製法

1. 試料(クッキーは事前に粉砕)約 200 mg を 15 mL チューブ(深江化成社製)に精密に量り取った。
2. 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(QToFMS 用)5 mL 程度を加えた。
3. 超音波抽出を 30 分間行い、室温に戻った後、ギ酸(LC/MS 用)100 μ L とアセトニトリルを加えて 10 mL にメスアップした。
4. 内容物を新しい 15 mL 遠心チューブにうつし、冷凍(-20°C)で 30 分間静置した。
5. 5°C で 5 分間, 4000 rpm で遠心分離した。
6. 上清 5 mL を QuEChERS dSPE チューブへ入

れ、よく振り混ぜた。

7. 5°C で 5 分間, 4000 rpm で遠心分離した。

8. 上清を 0.2 μ m フィルター(コスモスピンフィルタ-G, ナカライテスク(株)製)で遠心ろ過し、試料溶液とした。

②グミの試料溶液調製法

1. 試料はハサミで細切し、冷凍(-20°C)で一晩静置した。

2. 試料約 200 mg を 15 mL チューブ(深江化成社製)に精密に量り取り、4. の冷凍処理を除き、①2~8. の操作を実施して試料溶液を調製した。

③飲料の試料溶液調製法

1. 試料 1 mL にアセトニトリル及びギ酸 50 μ L を加え、アセトニトリルで 5 mL にメスアップした。

2. 全量を QuEChERS dSPE チューブへ移した。

3. よく振り混ぜた後、5°C で 5 分間, 4000 rpm で遠心分離した。

4. 上清を 0.2 μ m フィルターでろ過し、試料溶液とした。

4) 混合標準溶液の調製

①THC, THCA-A 100 μ g/mL アセトニトリル溶液

Δ^9 -THC 1 mg/mL メタノール溶液(Cerliant 製)および THCA-A 1 mg/mL アセトニトリル溶液(Cayman 製)を各 900 μ L とり、アセトニトリル(QToFMS 用)7.2 mL を加え、THC, THCA-A 100 μ g/mL アセトニトリル溶液 を調製した。

②THC, THCA-A 50 μ g/mL アセトニトリル溶液

①を 3 mL とり、アセトニトリル 3 mL を加えて調整した。

③THC, THCA-A 20 μ g/mL アセトニトリル溶液

②を 4 mL とり、アセトニトリル 6 mL を加えて調製した。

④THC, THCA-A 10 μ g/mL アセトニトリル溶液

③を 4 mL とり、アセトニトリル 4 mL を加えて調製した。

⑤THC, THCA-A 5 μ g/mL アセトニトリル溶液

④を 6 mL とり、アセトニトリル 6 mL 加えて調製した。

⑥THC, THCA-A 2.5 ug/mL アセトニトリル溶液

⑤を 1.0 mL とり, アセトニトリル 1.0 mL 加えて調製した。

⑦THC, THCA-A 2 ug/mL アセトニトリル溶液

⑤を 4 mL とり, アセトニトリル 6 mL を加えて調製した。

⑧THC, THCA-A 1 ug/mL アセトニトリル溶液

⑦を 4 mL とり, アセトニトリル 4 mL を加えて調製した。

⑨THC, THCA-A 0.5 ug/mL アセトニトリル溶液

⑧を 2 mL とり, アセトニトリル 2 mL を加えて調製した。

⑩THC, THCA-A 0.1 ug/mL アセトニトリル溶液

⑨を 2 mL とり, アセトニトリル 8 mL を加えて調製した。

5) 分析法バリデーション

オイル・クッキー・グミ・飲料の試料ごとに, 特異性・検出限界 (LOD), 定量限界 (LOQ), 回収率, 直線性, 精度, および真度を算出した。

①特異性

各ブランクサンプルを 3) 試料溶液の調製, に従って抽出・測定し, Δ^9 -THC 及び THCA-A の保持時間, モニタリングイオンにおける, 試料由来成分の妨害の有無を確認した。

②検出限界 (LOD), および定量限界 (LOQ)

標準溶液を添加したブランク試料において, それぞれ LOD はシグナル対ノイズ比 (S/N) 3 以上, LOQ は 10 以上で評価した。

1. 飲料以外の試料

ブランク試料 200 mg に対して, それぞれ添加量が 20 ng, 50 ng, 200 ng になるように混合標準溶液を添加し, 3) に従って試料調製を行った。試料溶液を 2) の条件で分析・解析し, 得られたピークの S/N 比からそれぞれ LOD・LOQ を求めた。各濃度 3 試料ずつ添加試料の調製および分析・解析を行い, S/N 比の平均値を各濃度の値とした。

2. 飲料

ブランク試料 1 mL に対して, それぞれ添加量が 1 ng, 2.5 ng, 5 ng になるように混合標準溶液を添加し, 3) に従って試料調製を行った。試料溶液を 2) の条件で分析・解析し, 得られたピークの S/N 比からそれぞれ LOD・LOQ を求めた。各濃度 3 試料ずつ添加試料の調製および分析・解析を行い, S/N 比の平均値を各濃度の値とした。

③直線性

1. オイル, グミ, クッキー

各ブランク 3 試料に対し, ブランク試料 200 mg あたり 0.2, 1, 2, 5, 10 μg となるように Δ^9 -THC, THCA-A アセトニトリル溶液 100 μL ずつを添加した。各試料を 3) に従って抽出し, 得られた試料溶液を 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出し, その平均値を求めた。原点および測定した 5 点の添加量とピーク面積値から検量線を作成し, 各試料それぞれの化合物について R^2 値を求めた。

2. 飲料

ブランク 3 試料に対し, ブランク試料 1 mL あたり 10, 100, 1000 ng となるように Δ^9 -THC, THCA-A アセトニトリル溶液 100 μL ずつを添加した。各試料を 3) に従って抽出し, 得られた試料溶液を 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出し, その平均値を求めた。原点および測定した 5 点の添加量とピーク面積値から検量線を作成し, それぞれの化合物について R^2 値を求めた。

④回収率

対応する濃度の標準溶液のピーク面積と, 標準溶液をブランク試料に添加して抽出を行った時のピーク面積のパーセンテージ (%) を比較することにより, 3 つの濃度 (低濃度, 中濃度, 高濃度) で評価した (n=3)。

1. オイル, グミ, クッキー

各ブランク 3 試料に対し, ブランク試料 200 mg あたり 0.2, 2, 10 μg となるように Δ^9 -THC, THCA-A

アセトニトリル溶液 100 μ L ずつを添加した。各試料を 3) に従って抽出し、得られた試料溶液を 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出し、その平均値を求めた。別に 20, 200, 1000 ng/mL の Δ^9 -THC, THCA-A 混合標準溶液を測定し、得られたピーク面積から各試料それぞれの化合物について回収率を求めた。

2. 飲料

ブランク 3 試料に対し、ブランク試料 1 mL あたり 10, 100, 1000 ng となるように Δ^9 -THC, THCA-A アセトニトリル溶液 100 μ L ずつを添加した。各試料を 3) に従って抽出し、得られた試料溶液を 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出し、その平均値を求めた。別に 2, 20, 100 ng/mL の Δ^9 -THC, THCA-A 混合標準溶液を測定し、得られたピーク面積からそれぞれの化合物について回収率を求めた。

⑤精度・真度

1. オイル, グミ, クッキー

各ブランク 3 試料に対し、ブランク試料 200 mg あたり 0.2, 2, 10 μ g となるように Δ^9 -THC, THCA-A アセトニトリル溶液 100 μ L ずつを添加した。各試料を B. 3) に従って抽出し、得られた試料溶液を B. 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出した。④で作成した検量線から各試料・各濃度について化合物ごとの Δ^9 -THC, THCA-A の精度 (RSD) および真度を求めた。

2. 飲料

ブランク 3 試料に対し、ブランク試料 1 mL あたり 10, 100, 1000 ng となるように Δ^9 -THC, THCA-A アセトニトリル溶液 100 μ L ずつを添加した。各試料を B. 3) に従って抽出し、得られた試料溶液を B. 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出した。④で作成した検量線から各試料・各濃度について化合物ごとの Δ^9 -THC, THCA-A の精度 (RSD) および真度を求めた。

6) 実試料の測定

CBD 含有製品オイル・グミ・クッキー・飲料について、3) に従って抽出し、得られた試料溶液を 2) の条件で分析して各化合物のピーク面積を算出した。オイルは Δ^9 -THC の含有量が多く、試料溶液の測定結果が直線性の範囲を逸脱したため、アセトニトリルで 5 倍希釈して再度測定した。④で作成した検量線から各試料 1 g (飲料は 1 mL) あたりの Δ^9 -THC, THCA-A 定量値を算出した。最終的には下記計算式から Δ^9 -THC 総量として換算し、お各試料中の Δ^9 -THC 含量を計算した。

飲料以外: Δ^9 -THC 総量 (μ g/g) = Δ^9 -THC 量 (μ g/g) + 0.877 x THCA-A 量 (μ g/g)

Δ^9 -THC の含量 (%) = Δ^9 -THC 総量 (μ g/g) / 10^6 x 100

飲料: Δ^9 -THC 総量 (ng/mL) = Δ^9 -THC 量 (ng/mL) + 0.877 x THCA-A 量 (ng/mL)

Δ^9 -THC の含量 (%) = Δ^9 -THC 総量 (ng/mL) / 10^9 x 100

C. 結果

1) 分析法バリデーション

分析法バリデーションは B. 5) の方法に従って実施した。

各ブランク試料を分析法に従って抽出・測定し、 Δ^9 -THC 及び THCA-A の保持時間、モニタリングイオンにおいて、すべての試料で試料由来成分の妨害がないことを確認できた (データ示さず)。

各試料の LOD, LOQ, および直線性については表 1 に示した。標準溶液を添加した各ブランク試料を用いて、LOD, LOQ の検討を行ったところ、飲料以外の試料については LOD が 0.25 μ g/g, LOQ が 1 μ g/g となったオイルの THCA-A を除き、すべての試料において Δ^9 -THC および THCA-A の LOD が 0.1 μ g/g, LOQ が 0.25 μ g/g (表 1a) であり、飲料では Δ^9 -THC の LOD が 1 ng/mL, LOQ が 2.5 ng/mL, THCA-A の LOD が 2.5 ng/mL, LOQ が 5 ng/mL であった (表 1b)。各試料での直線性

の検討の結果、検量線の R^2 値は Δ^9 -THC では 0.9933~0.9984, THCA-A では 0.9960~0.9998 と THCA-A の方がより良好な直線性を示した(表 1)。

試料の回収率(recovery), 精度(precision), および真度(accuracy)については表 2 に示した。すべての試料において recovery は, Δ^9 -THC では 95.8~109.5%, THCA-A では 101.6~118.8%の範囲にあり, いずれの試料についても概ね良好であった。Precision は Δ^9 -THC で最大 3.43%以下, THCA-A で最大 6.66%とやや THCA-A でばらつきが大きい傾向が確認されたものの, 概ね良好な結果であった。Accuracy は Δ^9 -THC で 95.2~134.5%, THCA-A で 93.6~108.5%と Δ^9 -THC の低濃度試料で 120%を超える試料が見られたものの, いずれの試料においても中濃度以上の添加試料では良好な結果であった。

2) 実試料の分析

CBD 含有製品(オイル・グミ・クッキー・飲料)について各 3 サンプルを秤量し, 分析・解析した定量結果を表 3 にまとめた。

今回測定用いた試料のうち, オイル試料からは Δ^9 -THC と THCA-A がともに検出され, 分析したオイル試料中の定量値はそれぞれ $140 \pm 1.63 \mu\text{g/g}$ および $1.18 \pm 0.0534 \mu\text{g/g}$ であった。この結果から求められる試料溶液中の Δ^9 -THC 総量は $141 \pm 1.67 (\mu\text{g/g})$, オイル試料中の Δ^9 -THC の含量(%)は 0.0141 %と算出された。グミ試料からは測定の結果 Δ^9 -THC のみが検出されその量は $3.36 \pm 0.116 \mu\text{g/g}$, 含量(%)は 0.000336 %であった。クッキーからは検出下限を上回ると思われる Δ^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(図 1)。飲料試料からは Δ^9 -THC および THCA-A に該当するピークは検出されなかった。

D. 考察

1) 感度について

今回の検討では, 分析法の感度は良好であり, 定量性に問題ない感度が得られていると考えられた。オイルの THCA-A で LOQ が直線性の検討範囲の下限値と同じ $1 \mu\text{g/g}$ であったが, 当該濃度での S/N 比は 3 試行の平均値で 21.9 と 10 を大きく上回っており, 実際にはより低い濃度まで定量性を担保できるものと考えられた。

本検討において質量分析の条件については, 同一メーカーの装置(6545 LC/Q-TOF MS system, Agilent Technologies, CA, USA)を用いて Δ^9 -THC および THCA-A を含むカンナビノイドに対して最適化の検討を行った既報¹⁾の条件を採用した。詳細な検討は実施していないが, Capillary voltage, Nozzle Voltage, Fragmentor, Skimmer のパラメータを上下に変動させて分析したところ, 両化合物のプロトン化イオンをともに感度よく検出できたのが当該条件であったため, そのまま用いた。本条件下では $[M+H-H_2O]^+$ と一致する m/z 343.2111 の抽出イオンクロマトグラム上に, THCA-A と保持時間が合致したピークが見られており, こちらのイオンの検出について条件の最適化を行うことでも感度の改善が期待できるかもしれない。

2) 直線性について

直線性の検討では, Δ^9 -THC において高濃度領域でピークが飽和し, やや検量点が直線から外れているものが確認された。その傾向は R^2 値が 0.9934 と最も低かったオイル試料において最も顕著であった(図 2a, 表 2)。オイル試料の検量点のうち, 高濃度領域 2 点(50, 100 $\mu\text{g/g}$)を LOQ, LOD の確認に用いた低濃度試料 2 点(0.1, 0.25 $\mu\text{g/g}$)に置き換えたところ R^2 値は 0.9999 となり, 直線性は大きく改善された(図 2b, 表 4)。同じように検量点を置き換えた検量線で R^2 値を確認したところ, グミ試料では 0.9998, クッキー試料では 0.9999 と共に直線性は大きく改善された。飲料で

は最も高い添加濃度 (500 ng/mL) の試料を (5 ng/mL) に置き換えたところ、0.9969 であった R² 値は 0.9990 となり、直線性は改善された (表 4)。

3) Recovery・Precision・Accuracy について

Recovery はオイルの低濃度 Δ^9 -THC 試料 (1 $\mu\text{g/g}$) で 95.8 % と 100% を下回ったのを除き、すべての試料で 100% を上回った。濃度レベルによる一定の傾向は確認できなかったが、結果が 110% を超えたものは THCA-A のみであり、 Δ^9 -THC と比較すると recovery が高い傾向が見られた。しかしながら、回収率の範囲はすべての濃度・化合物・マトリックスにおいて 95.8 ~ 118.8% と 70 ~ 120% の範囲に収まっており、定量ではなく限度値との対比という観点では限度値相当の濃度の標準溶液を分析し、前処理した試料溶液と比較することで可能かもしれない。

Precision は低濃度試料で高い傾向が見られ、また化合物間の比較では THCA-A において高い傾向が確認された。低濃度試料では、ベースラインの乱れやマトリックス等の影響を受けやすく、精度を下げる要因となったと考えられた。本条件では Δ^9 -THC に比べて THCA-A の感度がやや低かったことから、化合物間で比較すると THCA-A の方がより精度が低い傾向が見られたものと推定された。Precision については、最大でも 6.66% であり分析法の性能として問題ないものと考えられた。

Accuracy については、 Δ^9 -THC の低濃度・中濃度領域で 120% を超える試料が見られた。これは D. 2) で述べたように高濃度領域でピークが飽和し、濃度に対してピーク面積が小さくなっていることに起因すると思われた。D. 2) において作成した、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 Accuracy を算出したところ、その直線性範囲に含まれる低濃度 ~ 中濃度領域ではすべての試料で 96.4% ~ 113.4% の範囲であり、良好な結果となった (表 4)。高濃度領域についても算出したところ、80.3% ~ 86.6% とピークの飽和に

よる影響でやや低かったものの、許容範囲内であった。

THCA-A については元の検量線を用いた場合でも Accuracy が 93.6% ~ 108.5% と良好な結果が得られた。 Δ^9 -THC と異なり THCA-A は検量線の R² 値が低いもので 0.9960 と比較的直線性が良好であり、特に高濃度領域での明確なピーク面積低下等は確認できなかったことから、低濃度領域においても 100% に近い結果が得られたものと考えられた。

4) 実試料の分析結果について

4 種類の CBD 含有製品 (オイル・グミ・クッキー・飲料) の分析結果は表 3 の通りであり、オイル試料溶液からは Δ^9 -THC, THCA-A が検出され、その総 Δ^9 -THC 量は限度値として想定した 0.001% を上回っていた。グミ試料溶液からは想定限度値を下回る量の Δ^9 -THC が確認され、飲料試料溶液からは LOD を超える Δ^9 -THC, THCA-A は検出されなかった。

クッキー試料溶液においては、LOD を上回る Δ^9 -THC の検出が疑われたが、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た妨害ピークが確認された。完全分離できておらず、正確な定量が期待できないことから今回は「定量できず」としている。しかし、確認された妨害ピークは完全分離ではないものの分離はできている。今回は含有する Δ^9 -THC 量が少ないため、妨害ピークの肩として確認されたが、妨害ピークは想定限度値の相当の Δ^9 -THC と比較するとおおむねピーク高さが半分程度であり、今回の試料については限度値相当を上回らないという判定はできるものと考えられた。

本検討で分析法バリデーションに用いたクッキーの試料溶液では、 m/z 315.2319 \pm 10 mDa の抽出イオンクロマトグラム上に Δ^9 -THC 定量の妨害となるピークは確認されておらず、実試料との結果の相違から、ブランク試料・実試料共に分析

対象試料を増やして検討する必要があるものと考えられた。

5) その他

本研究で分析対象とした Δ^9 -THC は麻薬及び向精神薬取締法の麻薬に該当し、日本においては標準品の入手に通常の化合物と比べて多大なコストがかかるだけでなく、発注から入手までおおむね半年程度の時間を要すると考えられる。大麻由来製品中に含まれる微量 Δ^9 -THC の定量には標準品の整備が必須であり、監視指導等を目的として定量分析を継続的に実施するには、国内の分析機関において安価かつ短納期で入手しうる、安定な供給体制の整備が重要であると考えられた。

また、 Δ^9 -THC には2か所の不斉炭素に由来する立体異性体や、不飽和結合の位置異性体などを含めて数多く同一組成式(精密質量)の類縁化合物が多数存在している。今回用いたLC分離条件では不飽和結合の位置異性体について過去に分離が確認されているが、分離の確実性という観点からは同じ条件下で標準品を用いて異性体等の分析を実施して分離を確認することが好ましい。中には標準品の入手が極めて困難な化合物もあるが、今回の法改正により入手しやすくなる化合物もあると考えられる。今後、 Δ^9 -THC のみならず異性体や類縁化合物等も含めて、必要な標準品の供給体制整備に期待したい。

E. 結論

今回分析対象としたブランク試料ならびにCBD製品の実試料においては、本検討で用いた分析条件を用いて、総 Δ^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しうるものと考えられた。

しかしながら、本検討に供した製品はオイル・グミ・クッキー・飲料のブランク試料・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 Δ^9 -THC 量の妨害となるピークが確認

されている。分析対象を拡充・充実させるとともに、詳細な分離条件の検討を加え、確実な定量を実施できる条件を設定する必要があると考えられた。

また、 Δ^9 -THC をはじめとして大麻関連化合物の標準品は入手が困難なものが多く存在している。LC-QTOF/MS の分析では、同一精密質量の化合物との識別が重要であり、 Δ^9 -THC の異性体・類縁化合物等を含めて、十分な種類の標準品を整備しうる環境づくりが望まれる。

F. 参考文献

- 1) Song L, Carlson S, Valenzuela G, Chao M, Pathipaka S B: Development of a validated method for rapid quantification of up to sixteen cannabinoids using ultra-high-performance liquid chromatography diode-array detector with optional electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry detection. *J Chromatogr A*. 2022; 1670: 462953.
- 2) Song L, Valenzuela G, Carlson S, Zachary D, Adisa M: Potency testing of up to twenty cannabinoids by liquid chromatography diode array detector with optional electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2022; 1207: 339827.
- 3) Lee J H, Min A Y, Han J H, Yang Y J, Kim H, Shin D: 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: 1413.

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

なし

表1 オイル・グミ・クッキー試料(a)および飲料(b)における検量線の直線性と感度

a.

	Δ9-THC				THCA-A			
	Range (μg/g)	R ²	LOD (μg/g)	LOQ (μg/g)	Range (μg/g)	R ²	LOD (μg/g)	LOQ (μg/g)
オイル	1 - 50	0.9933	0.1	0.25	1 - 50	0.9960	0.25	1
グミ	1 - 50	0.9977	0.1	0.25	1 - 50	0.9993	0.1	0.25
クッキー	1 - 50	0.9984	0.1	0.25	1 - 50	0.9992	0.1	0.25

b.

	Δ9-THC				THCA-A			
	Range (ng/mL)	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Range (ng/mL)	R ²	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
飲料	10 - 500	0.9969	1	2.5	10 - 500	0.9998	2.5	5

表2 オイル・グミ・クッキー試料(a)および飲料(b)における回収率(recovery), 精度(precision), および真度(accuracy)

a.

	Δ9-THC				THCA-A			
	Conc. (μg/g)	Recovery (%)	Precision (RSD%)	Accuracy (%)	Conc. (μg/g)	Recovery (%)	Precision (RSD%)	Accuracy (%)
オイル	1	94.8	3.19	114.8	1	103.8	4.55	110.5
	10	109.9	2.34	112.9	10	110.0	1.38	111.1
	50	106.3	1.37	98.5	50	111.6	1.15	97.7
グミ	1	105.4	3.96	136.2	1	115.1	5.46	102.7
	10	104.3	0.64	118.6	10	113.0	0.49	102.9
	50	103.8	0.47	98.8	50	105.5	0.23	98.7
クッキー	1	105.8	3.06	130.4	1	106.7	4.96	110.9
	10	101.9	1.47	116.5	10	110.5	1.53	104.8
	50	102.3	1.09	98.0	50	105.5	0.74	99.2

b.

	Δ9-THC				THCA-A			
	Conc. (ng/mL)	Recovery (%)	Precision (RSD%)	Accuracy (%)	Conc. (ng/mL)	Recovery (%)	Precision (RSD%)	Accuracy (%)
飲料	10	106.5	5.15	128.7	10	115.5	6.79	106.5
	100	107.2	1.28	114.3	100	109.5	1.63	95.2
	500	106.8	0.85	95.3	500	115.1	0.66	93.1

表 3 実試料の定量結果 (n=3)

	限度値	Δ^9 -THC (ug/g)	THCA-A (ug/g)	THCとしての総量	THCとしての含有%
オイル	0.001%	140±1.63	1.18±0.0534	141±1.67	0.0141%
グミ	0.001%	3.36±0.116	N.D.	3.36±0.116	0.0003%
クッキー	0.001%	定量できず(*)	N.D.	定量できず(*)	定量できず(*)
飲料	0.00001%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

*測定成分ピークと重複するピークが存在したため

N.D.; Not Detected

表 4 分析法バリデーションにおいて検量点を置き換えて算出した精度 (Accuracy)

	オイル	グミ	クッキー		飲料
Conc. ($\mu\text{g/g}$)	Accuracy (%)	Accuracy (%)	Accuracy (%)	Conc. (ng/mL)	Accuracy (%)
1	100.0	112.3	106.8	10	113.4
10	99.6	99.3	96.4	100	105.3
50	84.3	80.3	81.4	500	86.6

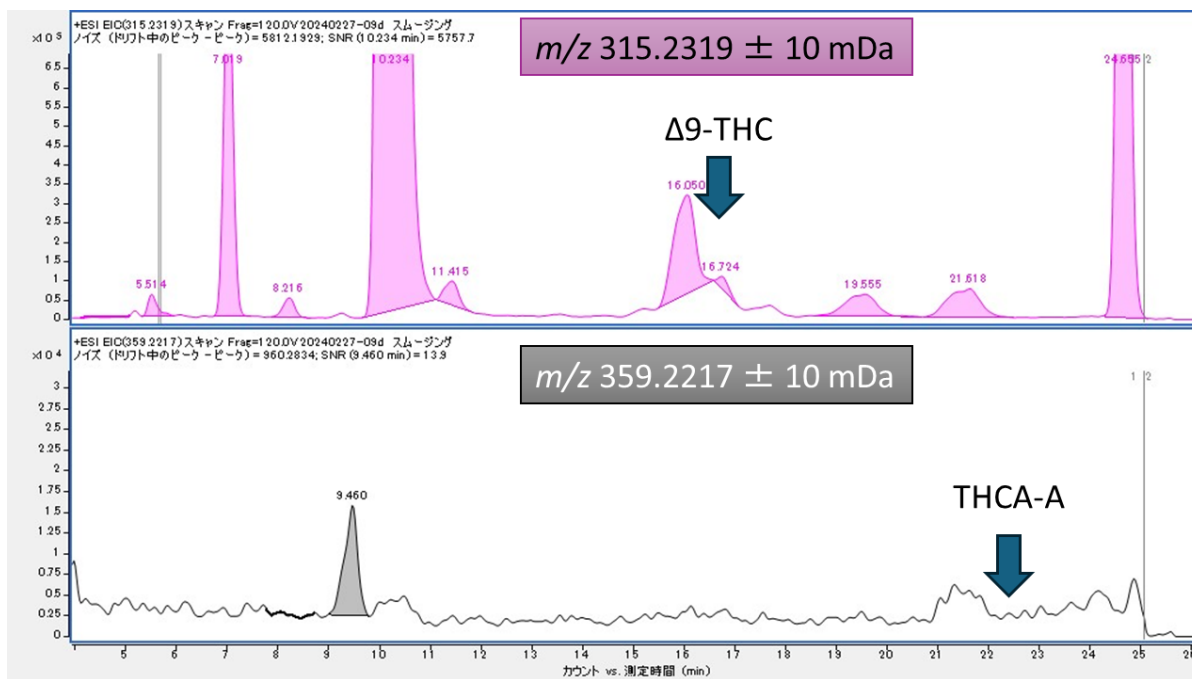


図 1 試料溶液（クッキー）の代表的な抽出イオンクロマトグラム

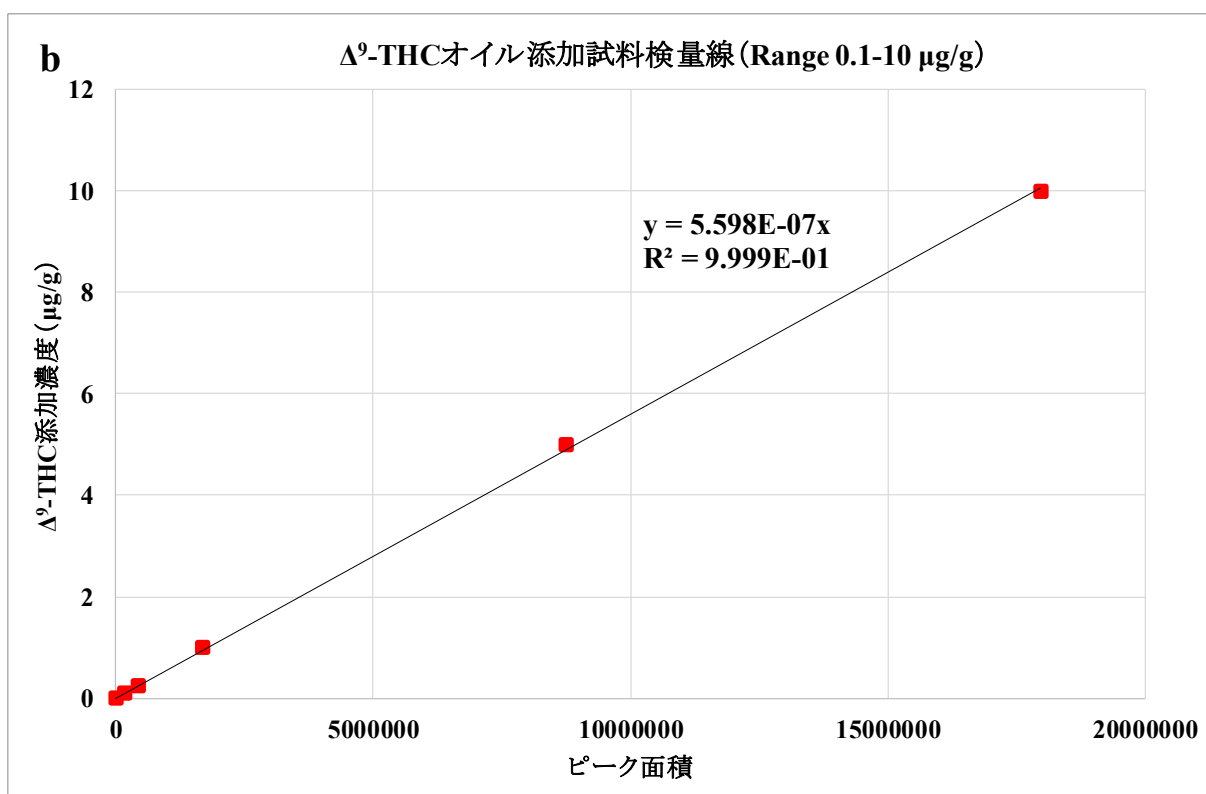
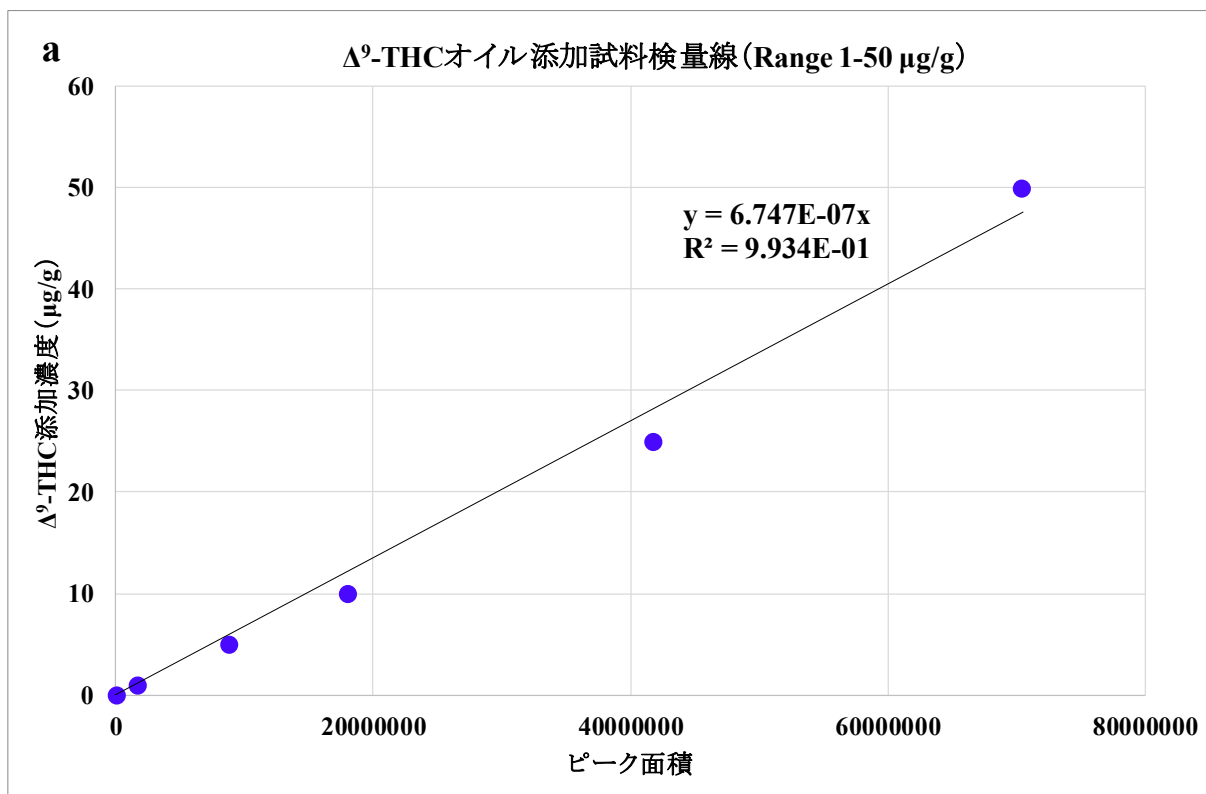


図2 範囲 1-50 $\mu\text{g/g}$ (a)および 0.1-10 $\mu\text{g/g}$ (b)におけるオイル添加試料の Δ^9 -THC 検量線