

大麻由来製品中に混在する微量 Δ^9 -THC の試験法策定に資する研究

研究代表者: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

研究要旨: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 Δ^9 -THC (Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A)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においては、本研究で設定し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 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。しかし、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とそれらの実試料がそれぞれ1製品ずつのみであり、その中でもクッキーの実試料で Δ^9 -THC の妨害となる未知ピークが確認された。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大麻由来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た。今後、実際に各試験機関において製品を分析する際には、「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」(厚生食基発 0308 第1号, 令和 6 年 3 月 8 日厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査課長通知)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があると考えられる。なお、 Δ^9 -THC をはじめとして大麻関連化合物の標準品は、日本において現時点で入手が困難なものも多く存在している。 Δ^9 -THC, Δ^9 -THCA-A, また内標準物質として用いることが想定されるそれら化合物の重水素標識体のみならず、異性体や類縁化合物等、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。最後に、本研究班で検討した結果を参考に、「大麻製品の標準的な分析法」を提示した。

研究分担者

花尻 瑠理 国立医薬品食品衛生研究所
医薬安全科学部 部長
田中 理恵 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 主任研究官
鈴木 俊也 東京都健康安全研究センター
薬事環境科学部医薬品研究科科長
土井 崇広 大阪健康安全基盤研究所
衛生化学部医薬品課 主幹研究員
浅田安紀子 大阪健康安全基盤研究所
衛生化学部医薬品課 主任研究員

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
植村 望美 東京都健康安全研究センター
佐藤 美紀 東京都健康安全研究センター
西山 麗 東京都健康安全研究センター

A. 研究目的

大麻草には 120 種類以上のカンナビノイド成分が存在しており、主カンナビノイドとして、幻覚作用などの中枢作用を有する

Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), また幻覚作用を示さない cannabidiol (CBD) 等を含有する。現在, 日本において, 大麻(草)は大麻取締法で規制され, Δ^9 -THC 及び THC の 6 種類の異性体(化学合成物)が麻薬及び向精神薬取締法上の麻薬として規制されている。 Δ^9 -THC は生の植物体中ではフェノールカルボン酸体 Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid (Δ^9 -THCA-A)の状態が存在し, 光や熱などによって脱炭酸がおこり活性体である Δ^9 -THCへと変化する。CBD は, 諸外国で難治性小児てんかん薬の主成分として活用されている一方で, CBD 成分を含む様々な製品群が合法的に販売され, 市場規模が急速に拡大している。厚生労働省は, 昨今の大麻をめぐる様々な状況の変化を鑑み, 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律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 Δ^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を示されている。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, また, 大麻取締法下での規制にあった大麻及び大麻成分由来 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 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。なお, 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。

上述した通り, CBD含有食品等の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 Δ^9 -THCの残留限度値を設定し(製造販売者が限度値適合性を担保), 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。大麻製

品中 Δ^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 Δ^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 Δ^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 Δ^9 -THC (Δ^9 -THC及び Δ^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)を測定可能な試験法を検討した。

B. 研究方法

①分析法の文献調査及びインターネット等における大麻由来製品流通調査(国立衛研)

大麻由来製品 (CBD 含有製品) 中に混在する Δ^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。一方, インターネット等において実際に流通が認められている大麻由来製品 (CBD 含有製品) の製品形態を調査し, 分析法作成において対象となりうる代表的な形態 3 製品を選択し, 入手した。

②分析法素案の作成(国立衛研)

①で調査した分析法について, Δ^9 -THC の仮の残留限度値付近の測定が可能な抽出法及び分離検出法となりうるか, 国立衛研で予備分析を行い, 問題点について検討を重ね, 分析法案を作成した。なお, 分析用標品として使用した薬物 Δ^9 -THC (1mg/mL メタノール溶液, Cerilliant Corporation 社製), Δ^9 -THCA-A (1 mg/mL アセトニトリル溶液, Cayman Chemicals 社製) については, 定量 NMR 法 ($^1\text{H-qNMR}$ 法) により純度

を別途測定した。定量の結果、 Δ^9 -THC は 93.04～94.75%、 Δ^9 -THCA-A は 95.51～96.82%であった。

③分析法素案における分析法妥当性評価の実施(東京都健康安全研究センター, 大阪健康安全基盤研究所)

②で作成した分析法素案に基づき、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、国立衛研から譲渡した薬物、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(ペットボトルの水)を使用して分析法妥当性評価を実施し、課題を整理した。分析法妥当性評価では、 Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A を添加した各試料を用いて、特異性、検出下限値(S/N > 3)および定量下限値(S/N > 10)、検量線の直線性、回収率、真度および精度を調べた。

④分析法の評価(国立衛研, 東京都健康安全研究センター, 大阪健康安全基盤研究所)

分析法妥当性評価が行われた分析法に基づき、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、CBD 含有を標榜する代表的な 3 製品(オイル、グミ、クッキー)及び飲料(CBD ウォーター)について、定量分析を実施した。また、結果をふまえて課題を整理すると共に、最終的な試験法を作成した。

C. 結果

①文献調査及びインターネット等における大麻由来製品流通調査(国立衛研)

大麻由来製品(CBD 含有製品)中に混在する Δ^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、多種多様なマトリックスの食品について、油が多い試料、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(Ji Hyun Lee, *et al.*, *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2020; 37(9):1413-1424)を、主となる参考文献として選択した。本文献の記載では、3 タイプすべての試料で Δ^9 -THC の LOD が 0.1 ng/g、LOQ は 0.3 ng/g であった。一方、インターネットにおいて実際に流通が認められている大麻由来製品(CBD 含有製品)の製品を調査した結果、代表となる製品形態として、オイル、グミ、クッキー、飲料(CBD ウォーター)を選択し、実際にインターネットの販売サイトを通じて製品を購入した。また、上記製品と同様の形態で大麻由来化合物を含有しない製品を、一般店舗において購入し、コントロール試料とした。

②分析法素案の作成(国立衛研)

①で選定した主となる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、 Δ^9 -THC 及び Δ^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。また、飲料(市販ペットボトルの水)については、 Δ^9 -THC 及び Δ^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。さらに、参考文献が提示した LC-MS/MS 測定条件において、 Δ^9 -THC と同じ分子量の CBD、 Δ^8 -THC、CBL、CBC を含む、計 16 種類の大麻成分の分離を検討した。その結果、下記の問題点が明らかとなった。これらの点を修正し、文献記載分析法に修正を加え、分析法案を設定した。

(1) 文献の分析法では、LC-MS/MS、LC-QTOFMS において、 Δ^9 -THC と同じ精密質量で同じプロダクトイオンを生じる Δ^8 -THC が分離識別できない。

解消法:LC のグラジエント条件を変更し、各大麻成分が分離識別可能な測定条件を設定した。

(2) 参考文献では分析対象とされていなかった Δ^9 -THCA-A のオイル、グミ、クッキーからの回収率が極めて悪い。

解消法: 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 とする。なお、抽出液は、24 時間室温で安定であった。

(3) Δ^9 -THC 及び Δ^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。

解消法: 飲料についても QuEChERS を用いた抽出/精製過程を検討し、分析法に加えた。

(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、油分も糖分も多い試料等、3 群に分けることが難しい試料が想定された。

解消法: 飲料以外の試料は全て、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した。

③分析法素案における分析法妥当性評価の実施(東京都健康安全研究センター、大阪健康安全基盤研究所)

(1) LC-MS/MS による検討(東京都健康安全研究センター)

Δ^9 -THC と Δ^9 -THCA-A の分析には、ウォーターズ社製のタンデム四重極型 LC/MS/MS を用いて、MRM モードで測定した。特異性では、 Δ^9 -THCA-A と同じところに非常に弱いピークが認められたが、仮の製品限度値の 1/1000 未満であり、定量に際して問題ないと判断した。定量下限値は、 Δ^9 -THC 及び Δ^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) であった。検量線は、1 ~ 50 $\mu\text{g/g}$ (飲料は 10 ~ 500 ng/mL) の範囲で良好な直線性 ($R^2 = 0.997 \sim 0.999$) が得られた。 Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A の添加回収率は、それぞれ 104.4 ~ 118.3% および 116.9 ~ 156.4% であった。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) において、真度は Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A 共に概ね 100% 前後であり、精度は RSD10% 未満であった。これら分析法妥当性評価におけるパラメーターは、比較的良好な結果が得られた。

(2) LC-QTOFMS による検討(大阪健康安全基盤研究所)

分析した 4 種類のコントロール試料を分析法に従って抽出・測定し、 Δ^9 -THC 及び Δ^9 -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した。

Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A の定量限界は全ての場合で仮の限度値を下回り、飲料はそれぞれ 2.5 ng/mL および 5 ng/mL , その他の製品では Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A 共に 0.25 $\mu\text{g/g}$ であったが、オイルの Δ^9 -THCA-A については、1 $\mu\text{g/g}$ であった。また検出限界は定量限界の 0.25 ~ 0.5 倍の濃度であり、飲料では Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A はそれぞれ 1 ng/mL , 2.5 ng/mL であり、その他の製品では両化合物共に 0.1 $\mu\text{g/g}$ (オイルにおける Δ^9 -THCA-A のみ 0.25 $\mu\text{g/g}$) であった。回収率はすべての試料で Δ^9 -THC 95.8 ~ 109.5%, Δ^9 -THCA-A 101.6 ~ 118.8% (分析者 1), Δ^9 -THC 94.8 ~ 106.3%, Δ^9 -THCA-A 103.8% ~ 115.5% (分析者 2) と、概ね良好な結果であった。

検量線(1 ~ 50 $\mu\text{g/g}$, 飲料は 10 ~ 500 ng/mL) の直線性については R^2 値で評価した。 Δ^9 -THC の R^2 値は 0.9933 ~ 0.9984 (分析者 1), 0.9978 ~ 0.9984 (分析者 2) であり 0.999 を下回った。一方、 Δ^9 -THCA-A の R^2 値は、0.9960 ~ 0.9998 (分析者 1), 0.9992 ~ 0.9999 (分析者 2) であり良好な結果であった。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 0.9933 と最も低かったオイル試料において顕著であった。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。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 R^2 値は 0.9990 となり、直線性は改善された。

精度 (RSD, %) については、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) のうち、 Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A の低濃度試料で数値が大きくなる傾向にあったが、最大でも 6.66% (分析者 1), 6.79% (分析者 2) でと良好な結果であった。真度については Δ^9 -THC の低濃度添加試料で、134.5% (分析者 1), 136.2% (分析者 2) と、120% を超えるものが見られたが、 Δ^9 -THC の中・高濃度および Δ^9 -THCA-A の場合は 93.9% ~ 120.0% (分析者 1), 98.0% ~ 118.6% (分析者 2) と、概ね良好な結果であった。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真度を算出したところ、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。

なお、QuEChERS キットで処理を行う際、吸水による発熱が認められた。すなわち、ほぼ水分で構成されている飲料を処理する場合、キットに含まれる脱水剤の影響が大きくなる。飲料への添加回収実験 (添加量 100 ng) の際、QuEChERS キットを使用してなるべく速やかに調製した試料溶液と QuEChERS キット処理を省略した試料溶液の分析結果を比較したところ、 Δ^9 -THC の回収率は平均値で 10% 程度低下した。これはキットを用いた場合に溶液中の測定対象成分が濃縮されているためと考えられ、定量値が設定限度値付近となる場合は特に注意が必要である。

④分析法の評価 (国立衛研, 東京都健康安全研究センター, 大阪健康安全基盤研究所)

(1) LC-MS/MS による検討 (東京都健康安全研究センター)

検討した分析法について、国立衛研が配付した市販の実試料 (大麻由来製品, CBD 含有製品) の定量に適用したところ、オイル製品では、 Δ^9 -THC 総量が仮の製品限度値を超える濃度 0.014% であった。グミやクッキー製品においても Δ^9 -THC 総量がそれぞれ 0.0004% 及び 0.0006% で検出されたが、飲料については、 Δ^9 -THC 総量は検出限界未満であった。いずれの製品においても、精度は RSD 10% 未満であった。以上のことから、本分析法は大麻由来製品 (CBD 含有製品) の分析に適用可能であると考えられた。

(2) LC-QTOFMS による検討 (大阪健康安全基盤研究所)

検討した分析法について、国立衛研が配付した市販の実試料 (大麻由来製品, CBD 含有製品) の定量に適用したところ、オイル製品から、 Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A が検出され、THC 総量としての含有は 0.0141% (分析者 1), 0.0140% (分析者 2) となり、仮の限度値 0.001% を超過していた。グミおよびクッキーからは Δ^9 -THCA-A は検出されず、 Δ^9 -THC のみが検出され、グミは THC 総量として、0.0003% (分析者 1), 0.0003% (分析者 2) であった。クッキーからは、 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。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。限度値付近の測定を実施するには、感度面で優れた LC-MS/MS を用いることが好ましいと考えられた。また、飲料試料からは Δ^9 -THC および Δ^9 -THCA-A に該当するピークは検出されなかった。すべての実試料から CBD と思われるピークが

検出されたが、標準品がないため同定はできなかった。以上より、提示した分析法は、今回検討を実施した CBD 含有製品に含まれる恐れのある微量 Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A について、総含有量として食品 0.001%、飲料 0.00001%の定量が可能であった。

D. 考察

分析法妥当性評価が行われた分析法を使用し、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-QTOFMS 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、 Δ^9 -THC 及び Δ^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、 Δ^9 -THC 総量として 0.0006%程度検出された。しかし、LC-QTOFMS においては、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が、 Δ^9 -THC と同一精密質量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。

国内外で流通する大麻由来製品(CBD 含有製品)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 Δ^9 -THC 及び Δ^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は不可であったため、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。 Δ^9 -THC は麻薬として規制されており、また、 Δ^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。

E. 結論

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 Δ^9 -THC (Δ^9 -THC 及び Δ^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が可能であると考えられた。

しかし、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 Δ^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大麻由来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。今後、実際に各試験機関において製品を分析する際には、令和 6 年 3 月 8 日に厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査課長通知として発出された「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」(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があると考えられた。

なお、 Δ^9 -THC をはじめとして大麻関連化合物の標準品は、日本において現時点で入手が困難なものが多く存在している。 Δ^9 -THC、 Δ^9 -THCA-A、また内標準物質として用いることが想定されるそれら化合物の重水素標識体のみならず、異性体や類縁化合物等、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。

本研究で設定した分析法案をもとに、「大麻由来製品に含まれる Δ^9 -THC の標準的な分析法」として別紙に記載した。なお、本研究では、飲料(コントロール試料:水, 製品:CBD ウォーター)について、妥当性評価結果、採取量等を mL 単位で記載したが、水試料を用いていたため、標準的な分析法においては、重量単位 g で記載している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

なし

論文発表

なし

H. 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

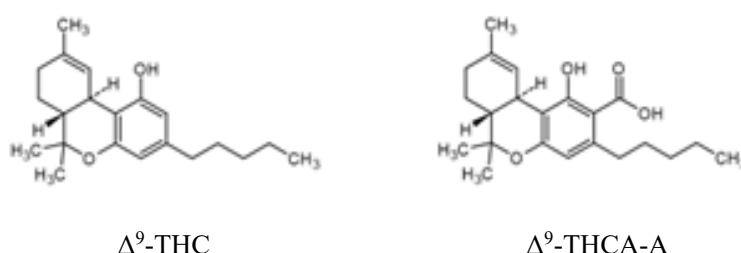
3. その他

なし

大麻由来製品に含まれる Δ^9 -THCの標準的な分析法

大麻草には120種類以上のカンナビノイド成分が報告されており、主カンナビノイドとして、幻覚作用などの中枢作用を有する Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)、また幻覚作用を示さないcannabidiol (CBD)等を含む。 Δ^9 -THCは生の植物体中ではフェノールカルボン酸体 Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid (Δ^9 -THCA-A)の状態が存在し、光や熱などによって脱炭酸が起こり活性体である Δ^9 -THCへと変化する。通常、大麻由来製品中の Δ^9 -THCの含有量は、 Δ^9 -THCと Δ^9 -THCA-Aの総和で表す。

【分析対象化合物】



令和5年12月13日に公布された「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律」では、これら、CBD含有製品等の安全かつ適切な流通の確保のため、麻薬成分 Δ^9 -THCの残留限度値を設定することとなり、この限度値に対する適合性を担保しうる大麻由来製品の分析法が必要とされている。

ここでは、大麻由来製品(CBD含有製品)中に混在する微量の Δ^9 -THC(Δ^9 -THC及び Δ^9 -THCA-Aの総和)について、政令で示された残留限度値(飲料 0.000010%(0.10 mg/kg)、オイル製品 0.0010%(10 mg/kg)、その他の製品 0.0001%(1 mg/kg))が測定可能¹⁾な液体クロマトグラフ-三連四重極質量分析計(LC-MS/MS)又は液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計(LC-QTOF MS)を用いた標準的な大麻製品中の Δ^9 -THC分析法を示す^{2),3)}。

1. 試料等

①試料

実際に流通が認められている大麻由来製品の代表的な製品形態として、オイル、グミ、クッキー及び飲料等が挙げられる。オイル及び飲料はそのまま試料とし、固形の食品などは粉砕機⁴⁾を用いて細かく粉砕し、又は細断して試料とする。

②試薬

標準化合物として、 Δ^9 -THC(1 mg/mLメタノール溶液)及び Δ^9 -THCA-A(1 mg/mLアセトニトリル溶液)を使用し、アセトニトリルで適宜希釈する。アセトニトリル及びギ酸は液体クロマトグラフィー質量分析用、水は超純水、その他の試薬及び溶媒は、いずれも試薬特級品を用いる。

2. 測定試料の調製

各試料 200 mg を 15 mL ポリプロピレン製遠沈管⁵⁾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 程度を加える。その後、超音波抽出を 30 分間行い、室温に戻した後、ギ酸 100 μ L とアセトニトリルを加えて 10 mL にメスアップする^{6),7)}。その際、pH 試験紙で pH 3 ~4 程度であることを確認する⁸⁾。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 分間静置する。5 分間遠心分離(4000 rpm, 5°C)し、上清 5 mL を QuEChERS dSPE チューブ⁹⁾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 μ m フィルター¹⁰⁾で遠心ろ過し、測定試料とする。

なお、飲料の場合には、試料 1 g 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 及びギ酸 50 μ L を加え、アセトニトリルで 5 mL にメスアップする。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 μ m フィルターでろ過し、測定試料とする。

3. 測定^{11), 12)}

測定は LC-MS/MS の多重反応モニタリング Multiple Reaction Monitoring (MRM) 測定、又は LC-QTOF MS を用いた精密質量測定により絶対検量線法で行い¹²⁾、 Δ^9 -THC の含有量は、 Δ^9 -THC と Δ^9 -THCA-A の総量として換算する。

$$\Delta^9\text{-THC 総量 (mg/kg)} = \Delta^9\text{-THC 量 (mg/kg)} + 0.877 \times \Delta^9\text{-THCA-A 量 (mg/kg)}$$

LC 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)

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 (飲料については 5 μ L)

移動相: 0.1%ギ酸(A)、0.1%ギ酸アセトニトリル(B)

95/5-35/65(3 min, 17 min hold)-0/100(25 min, 5 min hold)

MS 測定条件

LC-MS/MS MRM 測定、若しくは LC-QTOFMS 精密質量測定

① LC-MS/MS MRM 測定条件

分析装置: ACQUITY Premier/Xevo TQ Absolute (Waters 社製)

Capillary voltage: 1.0 kV、Source temp.: 150 °C、Desolvation temp.: 500 °C

N₂ cone gas flow: 150 L/hr、Desolvation gas flow: 1000 L/hr

Collision gas flow: Ar 0.15 mL/min

MRM 測定条件

	測定モード	プレカーサーイオン	プロダクトイオン (定量用)	Cone voltage(V)	Collision voltage (eV)	プロダクトイオン (確認用)	Cone voltage(V)	Collision voltage(eV)
Δ^9 -THC	Positive	m/z 315.1	m/z 193.0	22	24	m/z 259.1	22	18
Δ^9 -THCA-A	Negative	m/z 357.1	m/z 313.2	8	22	m/z 245.1	8	30

② LC-QTOF MS の測定条件

分析装置: 6546 LC/Q-TOF MS system (Agilent Technologies 社製)

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 V_{pp}: 750 V

Δ^9 -THC の定量には m/z 315.2319 \pm 10 mDa、 Δ^9 -THCA-A の定量には m/z 359.2217 \pm 10 mDa の抽出イオンクロマトグラムを用いた。

【注解】

- 1) 残留限度値の表記はその有効数字を考慮したものとなっている。それぞれ記載された残留限度値の一桁下までの定量性を担保すること。
- 2) 本分析条件において、オイル、グミ、クッキー及び飲料のコントロール試料に標準薬物溶液を添加し、 Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A の定量下限値 (S/N > 10) を検討した結果、LC-MS/MS による測定では、飲料は各 0.001 mg/kg 及び 0.0005 mg/kg、その他の製品では各 0.05 mg/kg 及び 0.01 mg/kg であった。また、LC-QTOF MS による測定では、飲料は各 0.0025 mg/kg 及び 0.005 mg/kg、その他の製品では Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A 共に 0.25 mg/kg であったが、オイルの Δ^9 -THCA-A については、1 mg/kg であった。限度値付近の測定を実施するには、感度面で優れた LC-MS/MS を用いることが好ましい。
- 3) 本分析法を用いて、オイル、グミ、クッキー及び飲料の実試料各 1 製品 (CBD 含有を表示してインターネット上で流通していた製品の試買品) を分析した結果、総 Δ^9 -THC 量の限度値を超える含有の有無についての判定は可能であると考えられた。しかし、試料の種類および装置構成によってはマトリックスと定量成分のピークが重なる事例が確認されており、判定が困難な場合にはピークが完全分離する LC 測定条件を検討するなど定量に際して細心の注意が求められる。
- 4) IKA ジャパン社製 Tube Mill 100 control 等
- 5) Labcon 社製 型番 3131-345 又は WATSON 社製 型番 1332-0158 等
- 6) ギ酸は全体試料の 1% 程度の濃度を加える。ギ酸を加えない、又はギ酸を 0.1% 程度しか加えないと Δ^9 -THCA-A の回収率は極端に低下する。
- 7) チューブをアセトニトリルで洗いながら、内容物をメスフラスコに移してメスアップする。クッキー及びグミの場合には、本分析法の抽出溶媒に溶解しないものが一部残存するが、定容時に抽出溶媒に溶解しない残留物のメスフラスコへの移行量は、定量値にほとんど影響しないことが示されている。
- 8) ギ酸添加時に、局所的に pH3 以下にならないように攪拌しながら少しずつ添加する。pH3 以下となると目的成分の分解が認められる。なお、測定試料について、24 時間室温にて保管し、安定性を確認した結果、CBD から THC への変換、また Δ^9 -THCA-A から Δ^9 -THC への分解は認められなかった。
- 9) Thermo Fisher Scientific 社製 型番 S2-15-GFV-EN-KIT 等
(QuEChERS EN 15662 Method Clean-up Kit; 900 mg MgSO₄, 150 mg PSA pre-filled in 15 mL Tube)
- 10) ナカライテスク社コスモスピンフィルター G, PTFE, 0.2 μ m, 型番 06549-44、又はメルク社 Ultrafree-MC, PTFE, 0.2 μ m, 型番 UFC30LG25) 等
- 11) 本分離条件における Δ^9 -THC、 Δ^9 -THCA-A 及び Δ^9 -THC と同じ分子量を有する代表的な大麻由来成分 Δ^8 -THC、CBD、Cannabicyclol (CBL)、Cannabichromene (CBC)、 Δ^9 -THCA-A と同じ分子量を有

する Cannabidiolic acid (CBDA) の各保持時間は下記の通りである。

(測定機器: TripleTOF 6600 LC/MS/MS system (AB SCIEX 社製) / Nexera X2 system (Shimadzu 社製))

	CBDA	CBD	Δ^9 -THC	Δ^8 -THC	CBL	CBC	Δ^9 -THCA-A
保持時間(分)	8.6	9.4	15.5	16.3	18.1	20.1	21.2

- 12) 大麻製品は多種多様な形態で販売されており、今回分析に用いたオイル、グミ、クッキー並びに飲料の他、チョコレート及び飴など、さまざまなマトリックスを有する製品が存在する。製品によって、今回提示した製品の調製法において回収率が異なったり、クロマトグラム上、目的成分のピークを妨害するピークが検出されたりするおそれがある。また、質量分析においてマトリックス効果が強く現れる製品も存在することが予想される。様々な要素によって分析結果が影響されることを鑑み、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、測定において、限度値付近の Δ^9 -THC が検出された場合には、例えば「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」(令和 6 年 3 月 8 日付け厚生食基発 0308 第1号厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査管理課長通知)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があると考えられる。
- 13) 本分析法は絶対検量線法で定量を行っているが、標品が入手可能である場合、 Δ^9 -THC 及び Δ^9 -THCA-A の重水素標識体を内標準物質として使用する内標準法で行うことにより、より精度が高い定量分析が可能となる。

なお、ここに示した方法と同等以上の検出感度及び精度を有する場合は、代替法の適用も可能である。