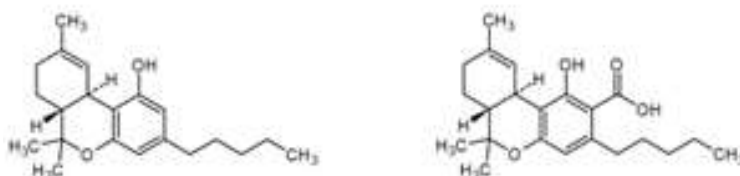


大麻由来製品に含まれる Δ^9 -THC の標準的な分析法(案)

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)等を含有する。 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】



Δ^9 -THC

Δ^9 -THCA-A

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 0.00010% (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

36 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
37 戻した後、ギ酸 100 μL 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
38 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
39 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
40 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 μm フ
41 イルター¹⁰⁾で遠心ろ過し、測定試料とする。

42 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
43 酸 50 μL 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
44 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 μm フィルターでろ過し、測定試
45 料とする。

46

47 3. 測定^{11), 12)}

48 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-
49 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 -
50 THCA-A の総量として換算する。

$$51 \Delta^9\text{-THC 総量 (mg/kg)} = \Delta^9\text{-THC 量 (mg/kg)} + 0.877 \times \Delta^9\text{-THCA-A 量 (mg/kg)}$$

52

53 LC 分離条件

54 カラム: CAPCELL PAK C18 MG II Column (3 μm, 2.0 × 100 mm, 大阪ソーダ)

55 カラム温度: 40°C、サンプルクーラー温度: 25°C

56 流速: 0.3 mL/min、注入量: 1 μL (飲料については 5 μL)

57 移動相: 0.1%ギ酸(A)、0.1%ギ酸アセトニトリル(B)

58 95/5-35/65(3 min, 17 min hold)-0/100(25 min, 5 min hold)

59 MS 測定条件

60 LC-MS/MS MRM 測定、若しくは LC-QTOFMS 精密質量測定

61 ① LC-MS/MS MRM 測定条件

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

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

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

65 Collision gas flow: Ar 0.15 mL/min

66 MRM 測定条件

	測定 モード	プレカーサ 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

67

68 ② LC-QTOF MS の測定条件

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

70 Ion source: Dual-AJS ion source、

71 Ionization: ESI positive mode、
72 Gas temperature: 325 °C、 Gas: N₂、 Drying Gas: 10 L/min、
73 Nebulizer: 20 psi、 Sheath Gas Temperature: 400 °C、 Sheath Gas Flow: 12 L/min、
74 Capillary voltage: 3000 V、 Nozzle Voltage: 600 V、 Fragmentor: 120 V、 Skimmer: 45 V、
75 Oct 1 RF V_{pp}: 750 V
76 Δ⁹-THC の定量には m/z 315.2319 ± 10 mDa、 Δ⁹-THCA-A の定量には m/z 359.2217 ± 10 mDa
77 の抽出イオンクロマトグラムを用いた。

78
79 【注解】

- 80 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
81 値の一桁下までの定量性を担保すること。
- 82 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、
83 Δ⁹-THC 及び Δ⁹-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
84 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。
85 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
86 Δ⁹-THC 及び Δ⁹-THCA-A 共に 0.25 mg/kg であったが、オイルの Δ⁹-THCA-A については、1 mg/kg
87 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。
- 88 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
89 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 Δ⁹-THC 量の限度値を超える含有の有無
90 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ク
91 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
92 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。
- 93 4) IKA ジャパン社製 Tube Mill 100 control 等
94 5) Labcon 社製 型番 3131-345 又は WATSON 社製 型番 1332-0158 等
- 95 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
96 Δ⁹-THCA-A の回収率は極端に低下する。
- 97 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
98 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
99 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。
- 100 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
101 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
102 した結果、CBD から THC への変換、また Δ⁹-THCA-A から Δ⁹-THC への分解は認められなかった。
- 103 9) Thermo Fisher Scientific 社製 型番 S2-15-GFV-EN-KIT 等
104 (QuEChERS EN 15662 Method Clean-up Kit; 900 mg MgSO₄、 150 mg PSA prefilled in 15 mL Tube)
- 105 10) ナカライテクス社コスモスピンフィルター-G, PTFE, 0.2 μm, 型番 06549-44、又はメルク社 Ultrafree-MC,
106 PTFE, 0.2 μm, 型番 UFC30LG25) 等
- 107 11) 本分離条件における Δ⁹-THC、Δ⁹-THCA-A 及び Δ⁹-THC と同じ分子量を有する代表的な大麻由来
108 成分 Δ⁸-THC、CBD、Cannabicyclol (CBL)、Cannabichromene (CBC)、Δ⁹-THCA-A と同じ分子量
109 を有する Cannabidiolic acid (CBDA) の各保持時間は下記の通りである。

110 (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

111 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
112 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
113 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
114 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
115 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
116 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
117 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
118 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
119 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
120 する必要があると考えられる。

121 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 -
122 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
123 量分析が可能となる。

124

125 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。

126