

ガスクロマトグラフ・質量分析計によるテトラヒドロカンナビノール及びテトラヒドロカンナビノール酸の測定条件の検討

池田勝*, 清水和世*, 平木利一*, 甲田正人**, 氏原覚*, 佐貫薫***, 倉嶋直樹***, 池原裕可里***

A Study of Measurement Conditions for Tetrahydrocannabinol and Tetrahydrocannabinol Acid by Gas Chromatograph Mass Spectrometer

Masaru IKEDA*, Kazuyo SHIMIZU*, Toshikazu HIRAKI*, Masahito KOTA**, Satoru UJIHARA*,
Kaori SANUKI***, Naoki KURASHIMA***, Yukari IKEHARA***

*Osaka Customs Laboratory

4-11-28, Nankohigashi, Suminoe-ku, Osaka 559-0031, Japan

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882, Japan

Tetrahydrocannabinol (THC) and tetrahydrocannabinol acid (THCA) extracted from cannabis were measured by a gas chromatograph mass spectrometer (GC/MS) to examine the measurement conditions.

Suitable temperatures at the injection port ranged from 250°C to 280°C. Detection limits for THC and THCA by a quadrupole type GC/MS were 1 ng and 5 ng respectively and 0.2 ng for THC by a time-of-flight type GC/MS.

1. 緒 言

大麻草の有効成分であるテトラヒドロカンナビノール (THC) の検出には、各種の呈色反応、赤外吸収スペクトル、紫外吸収スペクトル、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィー・質量分析法 (GC/MS) 等の方法が用いられている。中でも GC/MS は、簡便で高感度な分析も可能であることから、重要な検出手法の一つとなっている。

THC は、大麻草中ではカルボキシル基を有するテトラヒドロカンナビノール酸 (THCA) として存在し、この THCA が貯蔵中の乾燥や抽出時又は分析時の加熱等によって脱炭酸して THC を生成することが知られている^{1) 2)}。GC/MS による THC の分析では、大麻草や大麻樹脂に含まれる THC (貯蔵中に THCA が脱炭酸して生成したもの) だけでなく、THCA が GC/MS の注入口で脱炭酸して生成した THC も検出している。従って、極微量の大麻草等から THC を検出するためには、THC 自体の検出条件の最適化だけでなく、GC/MS の注入口において、THCA の脱炭酸による THC の生成を効率よく行うことが重要と考えられる。

本研究では、大麻草から抽出した THCA 及び THCA の脱炭酸か

ら得られた THC を用いて GC/MS によるこれら成分の最適な検出条件を検討すると共に、THCA が効率的に脱炭酸して THC として検出する条件についても検討を行ったので報告する。

2. 実 験

2. 1 試料及び試薬

大麻草

ワコーゲル C-200 (75~150 μ m) (和光純薬製)

N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA)

(ALDRICH 製)

ペンタン (和光純薬製)

ジエチルエーテル (和光純薬製)

2. 2 分析装置及び分析条件

赤外分光光度計 (IR)

FTIR-8700 (島津製)

ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC/MS)

(1) 四重極型 (GC/QMS)

装置: HP6890N/HP5973 (Agilent 製)

カラム: HP-5MS (30 m $\times$ 0.25 mm I.D. 膜厚 0.25 μ m)

* 大阪税関業務部 〒559-0031 大阪府大阪市住之江区南港東 4-11-28

** 大阪税関業務部 〒552-0021 大阪府大阪市港区築港 4-10-3

***財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

イオン化法：EI

温度条件：150℃(1 min)→10℃/min→300℃(0 min)

注入方法：スプリットレス

インターフェイス温度：310℃

マスレンジ：m/z 33~400 又は 33~550

注入量：1 µl

(2) 飛行時間型 (GC/TOFMS)

装置：6890N/JMS-T100GC (Agilent 製/JEOL 製)

カラム：DB-5MS (30 m×0.32 mm I.D. 膜厚 0.25 µm)

イオン化法：EI

温度条件：150℃(1 min)→10℃/min→300℃(0 min)

注入方法：スプリットレス

インターフェイス温度：310℃

マスレンジ：m/z 33~400

注入量：1 µl

2. 3 実験方法

2. 3. 1 THCA の抽出

大麻草から石油エーテルで抽出して得られた抽出物約 1 g をシリカゲルカラム (内径 3 cm×高さ 13 cm) 上に採り、ペンタン 100 ml を用いて油脂類を除去した後、ペンタン/ジエチルエーテル (9:1) 300 ml を用いて溶出物を回収し、溶媒を留去することにより茶褐色ペースト状物を得た。

2. 3. 2 THCA の脱炭酸

THCA を乾燥機 (140℃) で 20 分間加熱することによって赤褐色ペースト状物を得た。

2. 3. 3 GC/MS 条件 (注入口温度) の検討

THC 及び THCA の 10 ppm メタノール溶液について、GC/MS の注入口温度を 220、250、280 及び 310℃ に設定し、それぞれ 2. 2 の条件で測定を行い、トータルイオンクロマトグラム (TIC) の変化を確認した。

2. 3. 4 検出限界の検討

上記 2. 3. 2 で調製したメタノール溶液を順次希釈し、それぞれ 2. 2 の条件 (ただし、注入口温度は 250℃ とした) に設定した GC/MS に注入し、測定を行った。

GC/TOFMS については、装置の性能を活かすために、スペクトル記録間隔を 0.20 s に、データ収集間隔を 0.5 ns にして測定を行った。

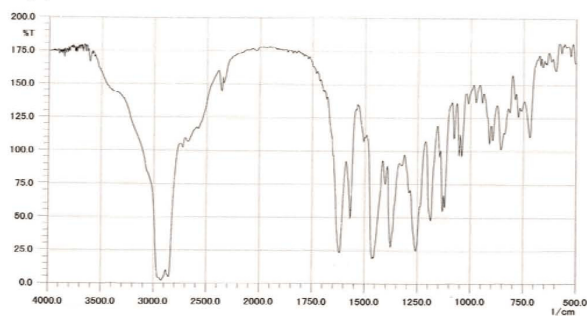
3. 結果と考察

3. 1 THCA の抽出

大麻草から抽出して得られた茶褐色ペースト状物の赤外吸収スペクトル及びマススペクトルを Fig.1 及び Fig.2 に、MSTFA により誘導体化した THCA の TIC 及びマススペクトルを Fig.3 及び Fig.4 に示す。

いずれの結果も、THCA の標準データに一致した。

(a) Extracted THCA



(b) Standard THCA

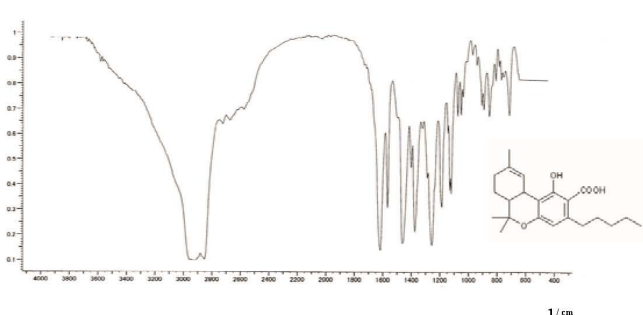


Fig. 1 IR spectra of THCA.

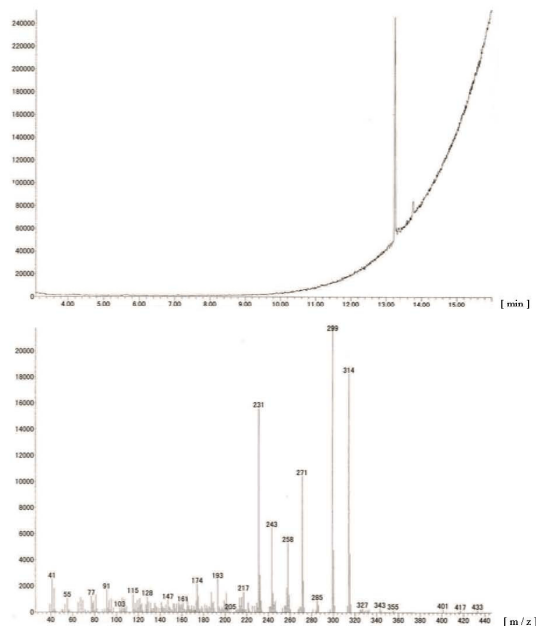


Fig. 2 Total ion chromatogram and EI/MS spectrum of THCA.

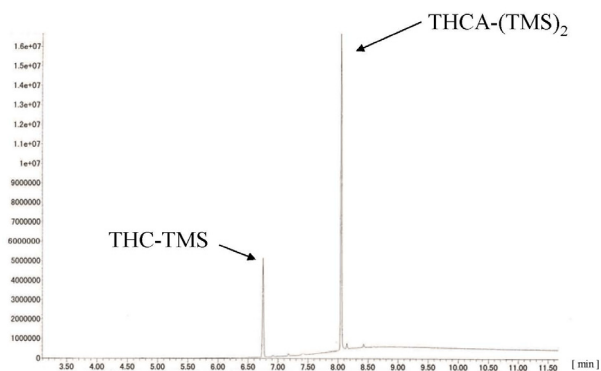


Fig. 3 Total ion chromatogram of THCA derivatized by MSTFA.

(a) Retention time at 8.1 min

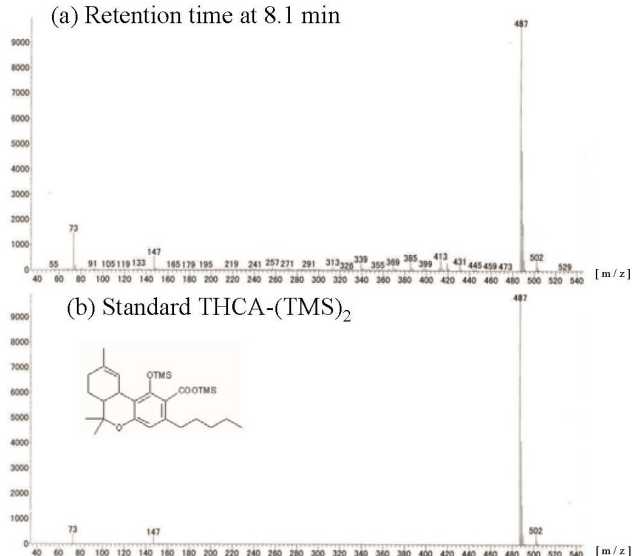
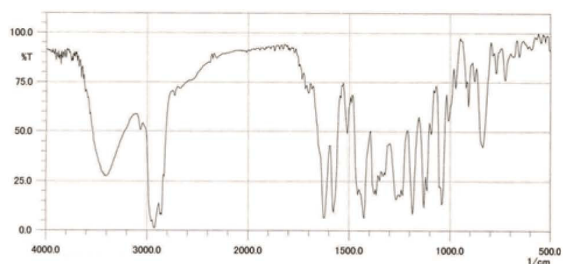


Fig. 4 EI/MS spectra for peak of retention time at 8.1 min of THCA derivatized by MSTFA.

3. 2 THCA の脱炭酸

THCA を加熱して得た赤褐色ペースト状物の赤外吸収スペクトル、TIC 及びマススペクトルをFig.5～Fig.7に示す。
いずれの結果も、THC の標準データに一致した。

(a) THC after decarboxylation at 140°C



(b) Standard THC

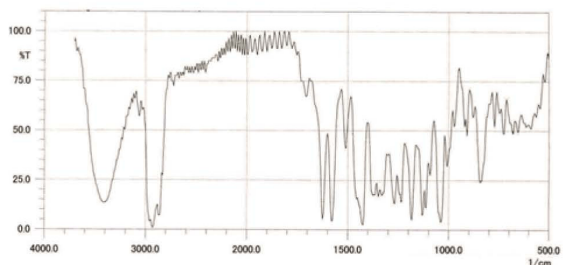


Fig. 5 IR spectra of THC.

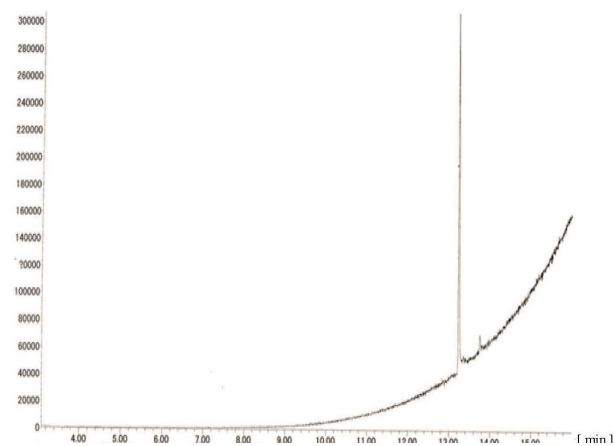


Fig. 6 Total ion chromatogram of THC.

(a) THC after decarboxylation at 140°C

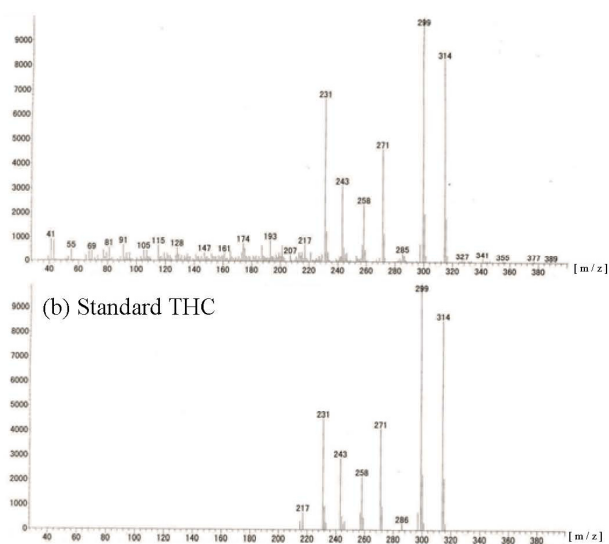


Fig. 7 EI/MS spectra of THC.

3. 3 GC/MS 条件（注入口温度）の検討

GC/MS の注入口温度を 220 °C から 310 °C まで変化させた場合の THC 及び THCA の TIC をそれぞれ Fig.8 及び Fig.9 に示す。

THC を注入した場合の注入口温度 220 °C における THC のピーク強度は、注入口温度 250~310 °C における THC のピーク強度と比較して弱くなっている。また、注入口温度が高くなるにしたがって、保持時間 13.8 分に検出されるカンナビノール (CBN) のピーク強度が強くなる傾向があり、注入口温度 310 °C では CBN のピークが顕著に認められる。これは、注入口が高温になることで、THC が CBN に変化するためと考えられる。

また、THCA も THC と同様の挙動を示した。

以上の結果より、THC 及び THCA を測定する際の GC/MS の最適な注入口温度は 250~280 °C である。

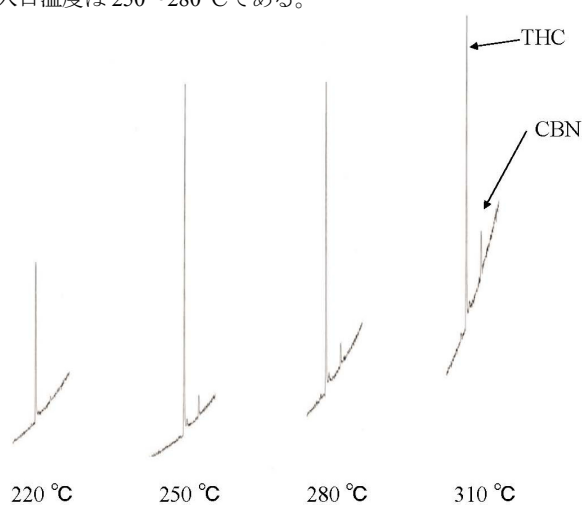


Fig. 8 Total ion chromatogram of THC at various inlet temperatures.

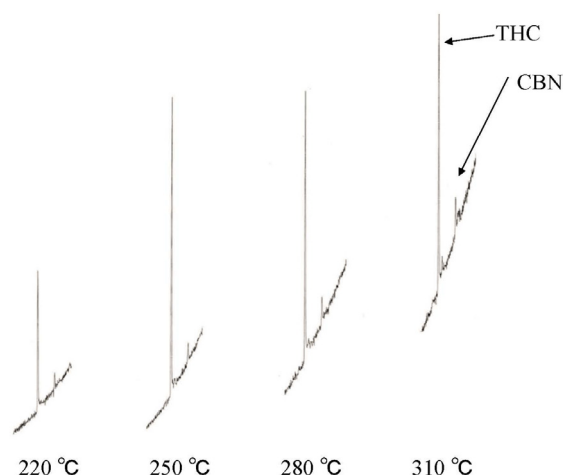


Fig. 9 Total ion chromatogram of THCA at various inlet temperatures.

3. 4 検出限界の検討

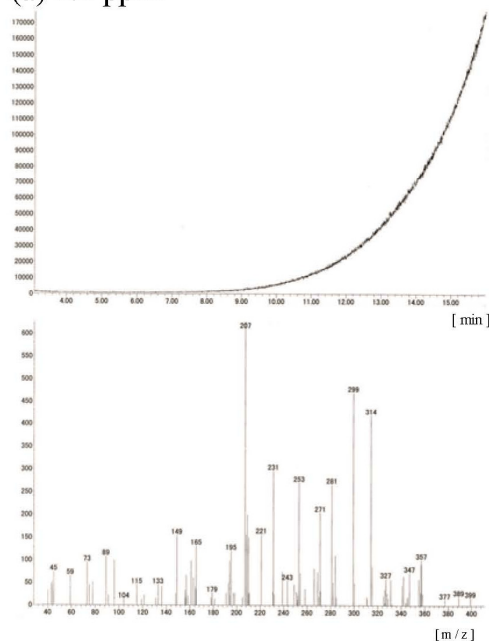
3. 4. 1 GC/QMS

0.5 ppm 及び 1.0 ppm の THC メタノール溶液を四重極型 GC/MS で測定した結果を Fig.10 に示す。0.5 ppm 濃度のもは、THC の保持時間である約 13.2 分にピークが検出されないが、1.0 ppm 濃度のもはピーク (S/N 比は 2.0) が検出され、THC のマススペクトルが得られた。

3.0 ppm 及び 5.0 ppm の THCA メタノール溶液を同様に測定した結果を Fig.11 に示す。いずれの結果についても保持時間約 13.2 分に THC のピークが検出され、マススペクトルが得られており、それぞれのピークの S/N 比は、1.8 (3.0 ppm)、2.2 (5.0 ppm) であった。

検出限界を S/N 比 2.0 とした場合³⁾、THC の検出限界は 1 ng、THCA の検出限界は 5 ng 程度と考えられる。

(a) 0.5 ppm



(b) 1.0 ppm

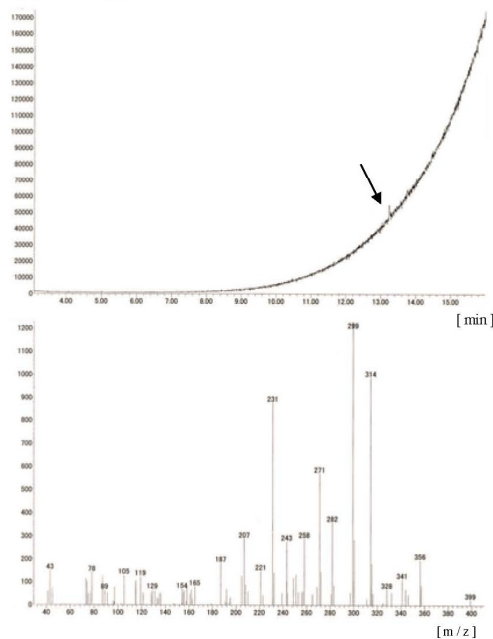
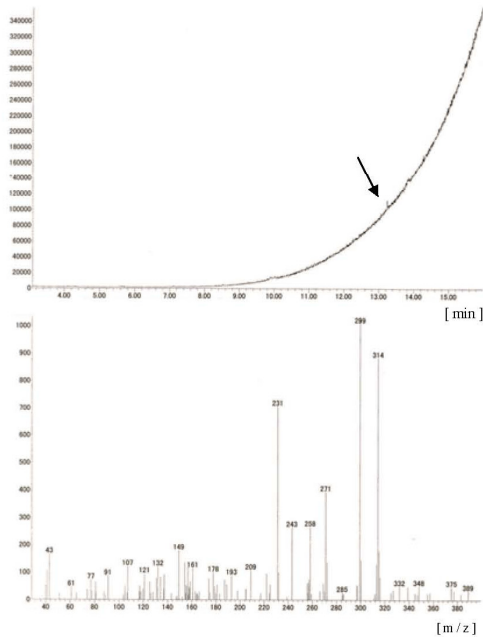


Fig. 10 Total ion chromatogram of THC (0.5 ppm and 1.0 ppm) by GC/QMS.

(a) 3.0 ppm



(b) 5.0 ppm

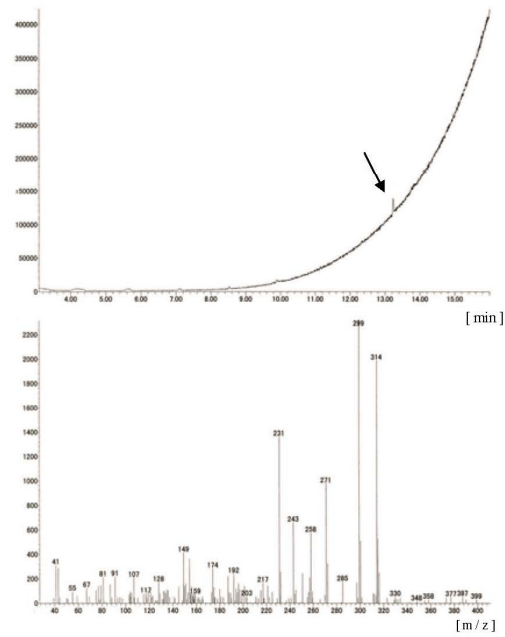


Fig. 11 Total ion chromatogram of THCA (3.0 ppm and 5.0 ppm) by GC/QMS.

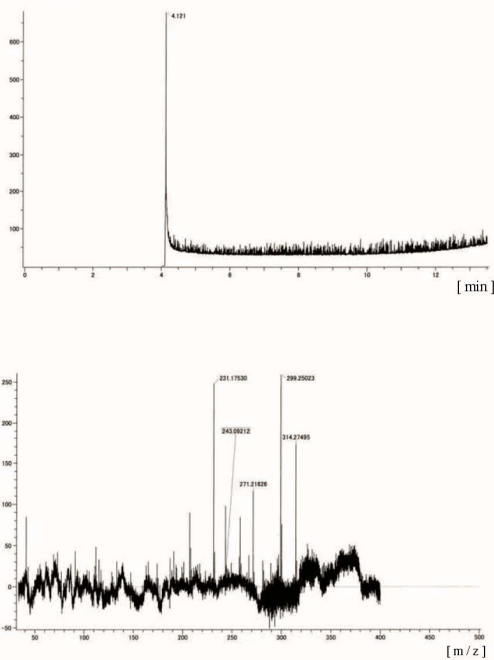
3. 4. 2 GC/TOFMS

1.0 ppm 及び 0.2 ppm の THC メタノール溶液を GC/TOFMS で測定した結果を Fig.12 に示す。1.0 ppm 濃度のものは、THC の保持時間である約 13.2 分にピークが検出されるが、0.2 ppm 濃度のもの

のは、ピークの検出は困難であった。しかしながら、THC の保持時間である 13.2 分には、THC のマススペクトルが認められた。

従って、マススペクトルから判断した THC の検出限界は 0.2 ng であると考えられる。

(a) 0.2 ppm



(b) 1.0 ppm

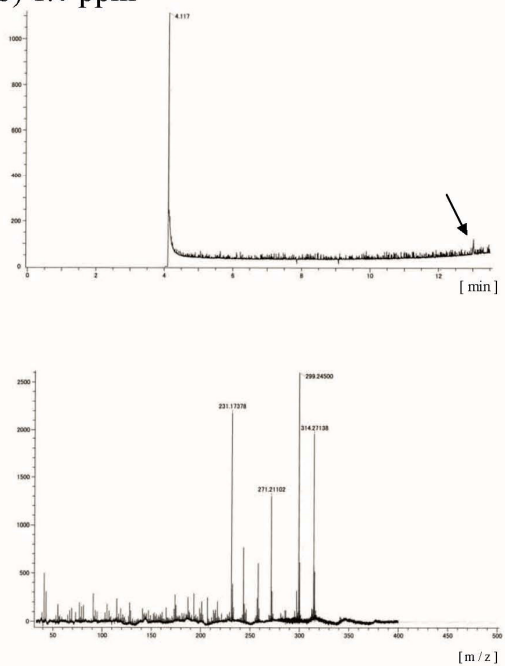


Fig. 12 Total ion chromatogram of THC (0.2 ppm and 1.0 ppm) by GC/TOFMS.

4. 要 約

大麻草から抽出した THCA 及びそれを脱炭酸して得た THC を標準品として、それぞれについて、四重極型及び飛行時間型の GC/MS における最適な測定条件を検討し、検出限界を求めた。

その結果、GC/MS において、THC を検出する最適な注入口温度及び THCA が効率的に脱炭酸する注入口温度は、250～280 °C であることが分かった。上記の最適な条件での四重極型における検出限界は、THC では 1 ng、THCA では 5 ng 程度であり、飛行時間型における THC の検出限界は、0.2 ng であると考えられる。

文 献

- 1) 日本薬学会編：“薬毒物化学試験法注解”、P.207 (1974)、(南山堂)
- 2) 塚元久雄編：“新裁判化学”、P.194 (1972)、(南山堂)
- 3) 長倉三郎編：“理化学辞典第 5 版”、P.431 (1998)、(岩波書店)