

ヘッドスペースーガスクロマトグラフィー質量分析法による 大麻の分析

堀田佳江*, 早川彬*, 廣瀬達也*, 中村文雄*

Analysis of delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) in Hemp and Hemp Products by Use of Headspace - Gas Chromatography - Mass Spectrometry

Yoshie HORITA*, Akira HAYAKAWA*, Tatsuya HIROSE* and Fumio NAKAMURA*

*Osaka Customs Laboratory

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

A method using headspace - gas chromatography - mass spectrometry (HS-GC-MS) has been developed for detection of delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) in hemp. The limit of detection was 0.21 μ g for the hemp and 3.5 ng for Δ^9 -THC (on the assumption that the hemp contains 3% of Δ^9 -THC). Δ^9 -THC was also easily detected in several hemp products by using this method.

1. 緒 言

大麻の鑑定において、大麻草 (*Cannabis sativa* L.) の特異成分である Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール (Δ^9 -THC) の検出は、剛毛の確認に代表される植物学的特徴の確認とともに、重要な要件である。

Δ^9 -THC を検出する主な分析法として、現在、ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) 法が用いられている。GC-MS 法では、通常、試料の有機溶媒抽出液を機器に導入するが、大麻及び大麻含有食品等から抽出された樹脂成分や油脂等の難揮発性成分も導入され、機器を汚染する原因となる。

ヘッドスペース (HS) 法は、試料を容器に密封し、一定温度下で試料から気化した揮発性成分を、ヘッドスペースガス (HS ガス) として、直接 GC-MS に導入する方法である。

これまで HS 法による大麻の分析については、ヘッドスペースー固相マイクロ抽出ーGC-MS (HS-SPME-GC-MS) 法により、大麻喫煙後の室内空気、唾液、毛髪を検体とした Δ^9 -THC の検出についての報告¹⁾⁻³⁾や、大麻含有食品中のカンナビノイドを、ヘッドスペースー固相マイクロ抽出法による抽出濃縮後、GC-MS 導入前に TMS 誘導体化し、検出する方法についての報告⁴⁾がある。これらは、いずれも HS 法による抽出が比較的低温で行われ、さらに、テナックス等の吸着剤により濃縮して GC-MS に導入されている。

一方、大麻の摂取方法のひとつにヴェポライザーという吸引具を用いる方法がある。これは、大麻草を燃焼しない程度に加熱

(170℃程度) し、発生するガスを吸引する方法である。この吸引具が用いられているということは、大麻草が燃焼しない程度の加熱であっても、大麻の薬理活性成分であるカンナビノイドが揮発しているものと考えられる。

本研究では、誘導体化やテナックス等により濃縮することなく、単に大麻草を加熱し、HS ガスを直接 GC-MS に導入することにより、 Δ^9 -THC を検出する方法について検討した。さらに、この方法が大麻含有製品に応用できるかについても検討した。

2. 実 験

2. 1 試料及び試薬

2. 1. 1 試料

大麻草 (当関所有)

ヒムカ (大麻成分入りたばこ)、大麻クッキー、大麻チョコレート、大麻オイル (いずれも当部門にて作成)

2. 1. 2 試薬

n-ヘキサン HPLC 用 (キシダ化学)

2. 2 分析装置及び条件

2. 2. 1 ヘッドスペース法

装置: GCMS-QP2010 (島津製作所(株)製)

使用カラム: DB-5 (30 m×0.25 mm I.D. 膜厚 0.25 μ m)

キャリアーガス: ヘリウム

GC-MS 温度条件: 160 $^{\circ}$ C (3 min) $\rightarrow$ (5 $^{\circ}$ C/min)

$\rightarrow$ 275 $^{\circ}$ C $\rightarrow$ (15 $^{\circ}$ C/min) $\rightarrow$ 310 $^{\circ}$ C (5 min)

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

インターフェイス温度：310 °C

注入口温度：310 °C

注入モード：スプリットレス

注入量：1.0 ml

オートサンプラー：AOC5000（島津製作所製）

イオン化法：電子イオン化法（EI）

2. 2. 2 溶媒抽出法

装置：HP6890 (GC)/HP5973(MS) (Hewlett Packard 社製)

使用カラム：HP-5MS (30 m×0.25 mm I.D. 膜厚 0.25 μm)

キャリアーガス：ヘリウム

GC-MS 温度条件：160 °C (3 min) → (5 °C/min)

→275 °C→ (15 °C/min) →310 °C (5 min)

インターフェイス温度：310 °C

注入口温度：310 °C

注入モード：スプリットレス

注入量：1.0 μl

イオン化法：電子イオン化法（EI）

2. 3 実験方法

2. 3. 1 試料の加熱温度の検討及び検出下限の測定

大麻草を乳鉢で均一になるように粉碎した。粉碎した大麻草粉末 12.5mg を 25ml 容メスフラスコに精秤し、n-ヘキサンで定容し、5 分間超音波振とうを加えた後、3 時間室温で放置して抽出し、ろ過した。ろ液 20ml を 10 倍に希釈したもの 1ml を HS 用 10ml バイアルに入れ、溶媒が揮発するまで室温で放置した（大麻草 0.05mg からの抽出物に相当する）。その後、バイアルを密封し、アジテーター中で 5 分間加熱し、HS ガス 1 ml を GC-MS に導入した。

アジテーター温度を 100°C から 180°C まで変化させたときの Δ^9 -THC の検出量を比較した。

また、得られた最適条件における検出下限を求めた。

2. 3. 2 大麻草中の Δ^9 -THC の検出

乳鉢で均一になるよう粉碎した大麻草粉末 1 mg を HS 用 10ml バイアルに入れ密封し、アジテーター中で 5 分間加熱した後、HS ガス 1 ml を GC-MS に導入した。

2. 3. 3 大麻含有製品中の Δ^9 -THC の検出

大麻含有製品をそれぞれ以下のように調製した。

(1) ヒムカ

大麻草粉末 50 mg にアセトン 50 ml を加えて、30 分間抽出してろ過した。ろ液をホットプレートで濃縮し、たばこの葉 500 mg を加えて混合した後、静かに加熱して溶媒を留去した。

(2) 大麻クッキー⁵⁾

マーガリン 100 g、砂糖 60 g、卵黄 2 個、薄力粉 120 g を混合したもの 3 g に、大麻草粉末 100 mg を加えて混合した後、180 °C のオーブンで 10 分間焼いた。

(3) 大麻チョコレート

チョコレート 3 g を湯せんで溶かし、大麻草粉末 100 mg を加えて混合した後、冷却して固めた。

(4) 大麻オイル

大麻樹脂 12.8 mg に大豆油 1 ml を加え、混合した後、1 日放

置した。

それぞれを HS 用 10 ml バイアルに採取し、アジテーター中で 5 分間加熱した後、HS ガス 1 ml を GC-MS に導入した。採取量は、(1)は約 1 mg、(2)及び(3)は約 30 mg である。(4)については、オイル 0.05 ml を HS 用 10 ml バイアルに採取し、4N 水酸化カリウム-エタノール溶液 0.2 ml を添加し、湯浴上でエタノールを蒸発させ、同様に GC-MS に導入した。

2. 3. 4 溶媒抽出法との比較

2. 3. 3 (1) で調製したヒムカ 11.0 mg に n-ヘキサン 1 ml を加え、5 分間超音波振とうを加えて抽出した。ろ過した後、ろ液を GC-MS に導入し測定を行い、ヘッドスペース法と比較した。

3. 結果及び考察

3. 1 試料の加熱温度の検討

大麻草の n-ヘキサン抽出物を試料として、アジテーター温度を 100 °C から 180 °C まで変化させた場合の、加熱温度と Δ^9 -THC 検出量の関係を Fig.1 に示す。140 °C 以上の加熱で Δ^9 -THC の検出が認められた。また、加熱温度が 180 °C で飛躍的に検出量が増加した。これは、加熱温度上昇に伴う揮発量の増加及び大麻草（抽出物）中のテトラヒドロカンナビノール酸が 180 °C において脱炭酸してテトラヒドロカンナビノールが生成したこと⁶⁾によるものと考えられる。

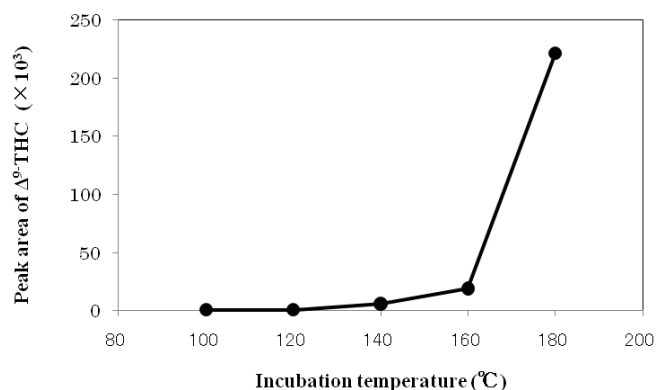


Fig. 1 Effect of incubation temperature

分解等の影響がなかったこと及び検出量の大きさから、加熱温度は 180 °C が適当と考えられる。なお、アジテーターの仕様による都合上、更なる高温での条件検討は行わなかった。

この条件のもと、大麻草 0.02 mg 相当分の大麻草抽出物を測定し、得られたクロマトグラムから、S/N=3 として検出下限を計算すると、大麻草として 0.21 μg (Δ^9 -THC として 3.5 ng：大麻草中の Δ^9 -THC 含有率を 3 % として換算) であった。

3. 2 大麻草中の Δ^9 -THC の検出

加熱温度を 180 °C として、大麻草 1 mg を用いて、HS 法による測定したトータルイオンクロマトグラム (TIC) を Fig.2 に示す。

Δ^9 -THC の他、カンナビノールを検出できた。しかし、この測定後にブランク測定を行うと、キャリーオーバーが認められた。これは、試料の加熱温度が 180 °C である一方で、シリンジ温度が 110 °C であったためと考えられる。シリンジの耐熱温度の関係上、それ以上高温にすることはできなかった。そこで、試料量を少量にし、HS ガス中の Δ^9 -THC 濃度を小さくして測定を試みた。大麻草の n-ヘキサン抽出物を用いて、キャリーオーバーの確認を行った結果、大麻草 1.00 mg 相当の抽出物では、キャリーオーバーが認められたが、0.02 mg 相当の抽出物を用いた場合は認められなかった。

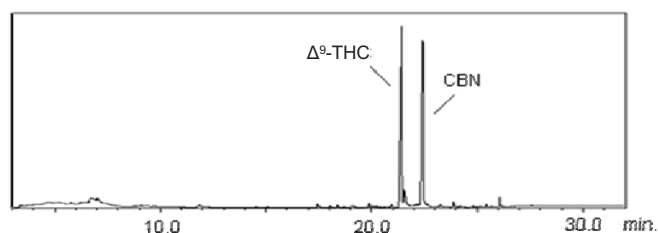


Fig. 2 Total ion chromatogram of hemp

3. 3 大麻含有製品への応用

確定した条件により、大麻含有製品である、ヒムカ、大麻クッキー、大麻チョコレート及び大麻オイルについて測定を行った TIC を Fig.3 に示す。ヒムカ、大麻クッキー及び大麻チョコレートについて、 Δ^9 -THC を検出することができた。大麻クッキー及び大麻チョコレートは、大麻草及びヒムカに比べ、 Δ^9 -THC の検出量が少なかった。これは、トリグリセリドなどのマトリックスが、その粘性や揮発性等により、 Δ^9 -THC の揮発を妨害しているものと考えられる。さらに、大麻クッキーは、加熱調理の段階で Δ^9 -THC の一部が揮発するため、 Δ^9 -THC 含有量が加熱調理前と比較して減少していることも、検出量が少ない理由として考えられる。大麻オイルは、他の試料と同じ操作で測定を行った場合は、 Δ^9 -THC を検出できなかったが、アルカリを添加し、トリグリセリドの加水分解を行った場合は、SIM (分子量 231,299,314) により Δ^9 -THC の検出を確認することができた。

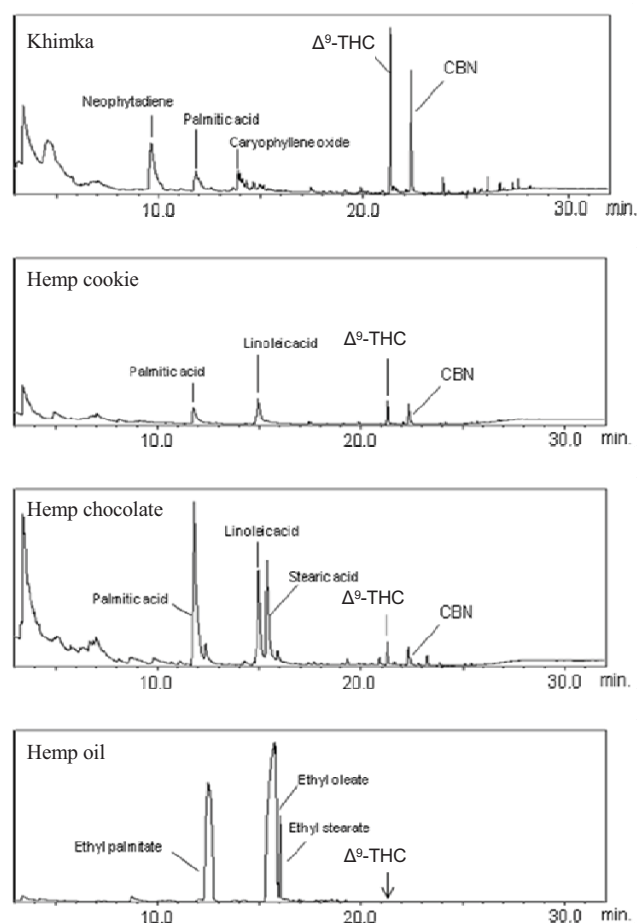


Fig. 3 Total ion chromatograms of hemp products

3. 4 HS 法と溶媒抽出法の比較

ヒムカ 11.0 mg (大麻草 1.0 mg 相当) を従来法である溶媒抽出法と HS 法各々で処理し、測定を行った TIC を Fig.4 に示す。溶媒抽出法に比べ、HS 法の検出量が顕著に大きかった。

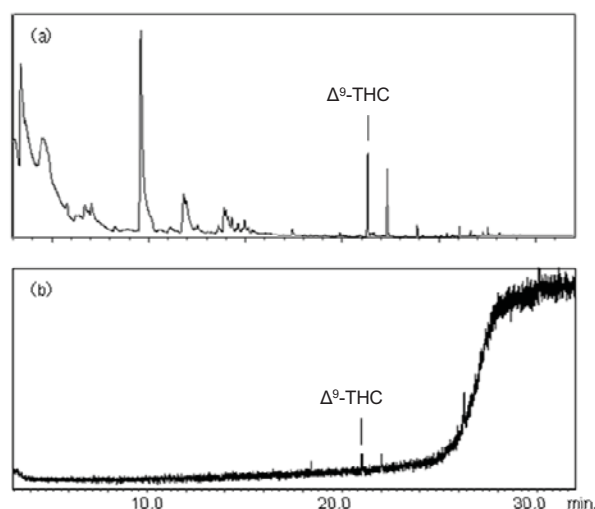


Fig. 4 Total ion chromatograms of Khimka
(a) HS extraction (b) liquid-liquid extraction

これは、溶媒抽出法では、1 ml の抽出液のうち 1 μ l、すなわち、試料全体の 0.1 % しか GC-MS に導入されないが、HS 法では、10 ml 発生した HS ガスを 1 ml、すなわち試料の 10 % を導入することができるためと考えられる。今回用いた試料の分析では、HS 法では、試料を更に少量にしても検出が可能であるが、溶媒抽出法では、何らかの濃縮操作が必要となる。このように、HS 法は試料の導入割合が大きいことから、微量試料においても有用であるといえる。

4. 要 約

HS-GC-MS 法を用い、180℃の加熱によって大麻の薬理活性成分である Δ^9 -THC を気化させ検出することができた。

HS-GC-MS 法は、簡単な操作で大麻草及び大麻含有製品中の Δ^9 -THC が検出可能な優れた分析法である。特に、試料の消費が少ない点、微量の試料でも確実に検出できる点で有用である。

文 献

- 1) Su-Lien Chou, Yong-Chien Ling, Mo-Hsiung Yang, Chung-Yen Pai: *Analytica Chimica Acta*, **598**, 103 (2007)
- 2) Carolina Dizioli Rodrigues de Olivia, Mauricio Yonamine, Resina Lucia de Moraes Moreau: *Journal of Separation Science*, **30**, 128 (2007)
- 3) Mauricio Yonamine, Nadia Tawil, Resina Lucia de Moraes Moreau, Ovandir Alves Silva: *Journal of Chromatography B*, **789**, 43 (2003)
- 4) Dirk W. Lachenmeier, Lars Kroener, Frank Musshoff, Burkhard Madea: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **378**, 183 (2004)
- 5) 大麻研究会：“大麻大百科” P.499 (2007), (DATA HOUSE)
- 6) 日本薬学会編：“薬毒物化学試験注解 第2版” P.216 (1982), (南山堂)