

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 20 日現在

機関番号：82505

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：平成 20 年度～平成 22 年度

課題番号：20590051

研究課題名（和文） 安定同位体比プロファイルによる大麻の異同識別に関する研究

研究課題名（英文） The use of stable isotopic compositions for cannabis comparison

研究代表者

岩田祐子 (Iwata Yuko)

科学警察研究所・法科学第三部・主任研究官

研究者番号：20356190

研究成果の概要（和文）：安定同位体組成を用いた大麻の異同識別（押収試料同士の関連性を明らかにすることを目的として、試料同士が異なるか同一かを判断する）について検討を行った。乾燥大麻中の大麻主成分について、ガスクロマトグラフィー安定同位体比質量分析装置を用いた分析方法を確立した。異なった被疑者から得られた資料同士の異同識別を行い、成分ごとの安定同位体組成を用いることにより識別することが可能となることを確認した。

研究成果の概要（英文）：We developed an analytical procedure using gas chromatograph-isotope ratio mass spectrometer which allows acquisition of compound specific stable-isotopic compositions of herbal cannabis, marijuana, and evaluated the stable-isotopic compositions for distinguishing or linking marijuana samples. The sets of marijuana samples from different origin were able to discriminate using stable-isotopic compositions of the principal constituents of cannabis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	0	1,200,000
2009年度	1,000,000	0	1,000,000
2010年度	1,300,000	0	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000		3,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：分析化学、ガスクロマトグラフィー、安定同位体比質量分析

1. 研究開始当初の背景

乾燥大麻及び大麻樹脂は大麻取締法により規制されている物質であるが、我が国では、覚せい剤に次いで押収量が多い乱用薬物である。乱用薬物の大部分は、国外から密輸されたものであり、取締り上、その密輸ルート及び国内での流通経路の解明が重要視されている。捜査部門の流通経路解明の科学的な支援としては、押収された試料同士が異なるか同一かを判断する“異同識別”を行い、押収された試料間の関連性を明らかにするこ

とが有用である。

安定同位体比は、主に、地球宇宙化学分野や環境科学分野で、物質の移動を明らかにするトレーサーとして用いられてきた手法で、安定同位体比質量分析装置(IRMS)により測定される。IRMSに導入する方法としては、気体を濃縮精製して導入する方法、元素分析計(EA)による燃焼分解により気体にして導入する方法、ガスクロマトグラフ(GC)により分離された成分を燃焼分解炉により気体にして導入する方法等がある。犯罪捜査に関連

する試料を取り扱う法科学分野では、試料ごとの安定同位体比の違いに着目して、爆薬、土壌、工業製品、乱用薬物等の“異同識別”について検討が行われており、大麻については、粉碎した試料を EA に導入し、IRMS で炭素及び窒素安定同位体比の測定を行い、“異同識別”を行った報告が 2007 年の時点で 5 例報告されている。この 5 例は、いずれも丸ごとの植物体として見積もったもので、含有する成分ごとに分離し、安定同位体比を測定する GC-IRMS は行われていない。

大麻の GC による異同識別については、粉碎した大麻試料を有機溶媒抽出し、水素炎イオン化検出器 (FID) 等により検出し、得られたクロマトグラムのピーク面積値を用いる方法が報告されているが、GC-IRMS 分析の検討を行い、FID におけるピーク面積値に代えて、安定同位体比を用いることで、“ガスクロマトグラフィー-安定同位体比質量分析プロファイル”を得、大麻試料同士の異同識別の為の手がかりの一つとなるのではないかと期待し、本研究を着想したものである。

2. 研究の目的

大麻について GC-IRMS を行い、“ガスクロマトグラフィー-安定同位体比質量分析プロファイル”を得て、より詳細な異同識別を行うことを目的とした。

GC-IRMS による検討の前段階として、大麻の部位間の炭素及び窒素安定同位体比の違いについて EA-IRMS 分析で検討し、その後、GC-IRMS による分析条件の検討を行い、確立した方法で、交付されている各大麻試料について分析を行い、異同識別の有効性について検討を行うこととした。

また、大麻の EA-IRMS 分析についても、これまで、測定に用いるワーキングスタンダード (WS) や、測定量については詳細に検討されておらず、また、日本で押収された大麻については、EA-IRMS によるバルクプロファイルについても報告例が無いことから、GC-IRMS の結果と比較することを考え、併せて検討を行うこととした。

3. 研究の方法

① 厚生労働省関東信越厚生局麻薬取締部より交付された乾燥大麻について、押収時期の異なる数種の乾燥大麻について、茎・葉・種子等の部位にわけて、凍結粉碎した後に、EA-IRMS で、炭素及び窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ 及び $\delta^{15}\text{N}$ 値) を測定し、部位による違いの有無の検討を行った。これに先立ち、一般に IRMS は安定な値が得られる量の範囲が狭いことから、各々の試料について、測定に供する量を段階的に変えた測定もを行い、適切な測定量の検討を行った。同時に、試料

の安定同位体比換算用のワーキングスタンダード (WS) の検討を行い、値決めを行った。

② 各種乾燥大麻の葉について、EA-IRMS によるバルクプロファイルについて測定を行った。

③ 乾燥大麻の GC-IRMS による $\delta^{13}\text{C}$ 分析の検討を行った。大麻の主成分の一つである cannabinol (CBN) を多く含有する乾燥大麻を凍結粉碎した後、抽出溶媒 (メタノール-クロロホルム (9:1)) により抽出を行い、GC-IRMS により $\delta^{13}\text{C}$ を測定し、安定した値を示すピーク強度 (適正濃度) 範囲を確認した。次に、同じ乾燥大麻の凍結粉碎物を用いて抽出溶媒の量、抽出回数を変えて抽出し、GC-IRMS により CBN の $\delta^{13}\text{C}$ の測定を行い、同位体効果の有無について検討を行った。GC-IRMS 測定では、EA-IRMS により決定した WS について、あらかじめ安定した値を示すピーク強度 (適正濃度) 範囲を確認した後、混合溶液を作成、大麻抽出物 10 試料程度毎に 1 回ずつ測定を行って、大麻試料の $\delta^{13}\text{C}$ の計算に使用した。

④ 数種の乾燥大麻について、抽出操作を行い、成分同定のための GC-MS による測定を行った後、GC-IRMS による測定を行った。

⑤ THC は長期の保存で分解し、CBN はその分解物であることが知られていることから、いくつかの試料について、 100°C で一週間加熱して THC を全て分解し、GC-IRMS により測定を行って、加熱前後でのこれらの化合物の $\delta^{13}\text{C}$ 値の比較を行った。

4. 研究成果

① EA-IRMS による分析では、凍結粉碎した大麻の量として、 $4.5\sim 8.2\text{ mg}$ を用い、炭素を 96% 希釈することにより、安定した $\delta^{13}\text{C}$ 及び $\delta^{15}\text{N}$ 値が同時に得られることを確認した。 $\delta^{13}\text{C}$ 測定のための WS として、大麻含有成分であるカンナビノイド及びテルペノイドとほぼ同様の保持指標を示し、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が大麻試料をほぼ網羅する化合物を探索し、国際二次標準 (IAEA-C-6, IAEA-CH-7, L-SVEC) を用いて値決めを行った。決定した WS と値: phenanthrene (-24.75%), eicosane (-35.36%), pentacosane (-31.04%)。これらの WS は、メタンフェタミン等、大麻以外の物質の測定にも使用可能であった。以降の EA-IRMS による測定では、上記の量を用いて、上記で決定した WS と、 $\delta^{15}\text{N}$ 値の市販 WS である IVA Analysentechnik 製 urea (-0.49%), SI Science 製 histidine (-7.64%), SI

Science 製 alanine (11.00%)と同一シーケンスで EA-IRMS により測定を行って大麻試料の δ 値の計算に使用した。茎、葉、種子のついて乾燥大麻を部位ごとに分け、その凍結粉砕物について、 δ 値の測定を行ったところ、部位による違いはほとんど見られなかったことから、以降の分析では、葉を試料として用いることに決定した。

- ② 同一被疑者から、複数資料押収された乾燥大麻並びに 1 本の大麻草から複数箇所採取した大麻について、EA-IRMS により測定を行ったところ、同一被疑者からの押収物の δ 値は、 $\delta^{13}\text{C}$ 値で 1.5‰、 $\delta^{15}\text{N}$ 値で 2.0‰の範囲内で同様の値を示した。屋外または屋内栽培であることが分かっている大麻の $\delta^{13}\text{C}$ 値について、米国の大麻の測定報告と比較すると、-26‰以上が屋外栽培、-32‰以下が屋内栽培であるという報告値²⁾に対し、屋外と屋内が混在している領域に集中値が集中しているものの、この米国の報告と矛盾が無いことが確認された。

1) Jason B. West *et al.*, *J. Forensic Sci.*, 54 (2009) 84-89.

異なった被疑者からの押収物を比較した場合、 δ 値の幅は、 $\delta^{13}\text{C}$ 値で 8.2‰、 $\delta^{15}\text{N}$ 値で 23.3‰であった。 $\delta^{13}\text{C}$ 値のみでは、異なった被疑者からの押収物を識別することが困難な組み合わせが存在したことから、 $\delta^{15}\text{N}$ 値の方がより識別能力が高いと考えられた (図 1)。

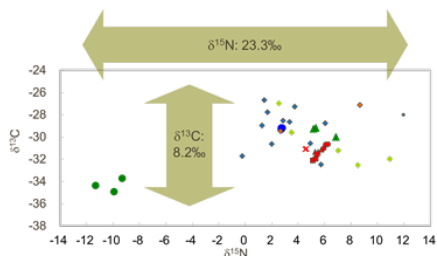


図 1 EA-IRMS によるバルクプロフィール

- ③ 抽出率 100%なら同位体分別は無い。抽出溶媒の量、抽出回数を増やしても、同位体比に差がなかったことから、最も溶媒量が少ない、1 mL の抽出溶媒で 1 回の抽出 (100 mg の粉砕試料に対し) で、同位体分別の無い試料調製が可能であることが確認された (表 1)。

表 1 各抽出物の CBN の $\delta^{13}\text{C}$ 値

	$\delta^{13}\text{C}$ (n = 4)	
	Ave	SD
1 mL x 1	-29.1	0.1
1 mL x 5	-28.9	0.1
5 mL x 1	-29.3	0.1

- ④ 数種の乾燥大麻について分析を行ったところ、GC-IRMS 測定が可能なピーク強度で検出できた化合物は、CBN に加えて大麻の幻覚成分である tetrahydrocannabinol (THC) 及び大麻の主成分の一つである cannabidiol (CBD) の 3 種類であった (図 2)。

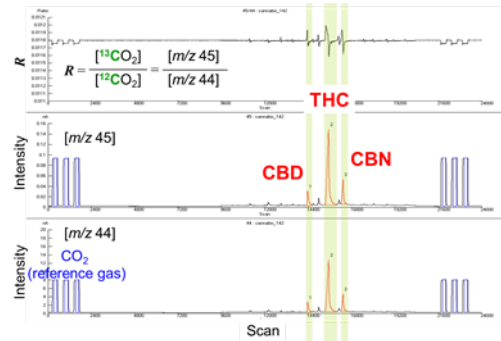


図 2 大麻抽出物の GC-IRMS のクロマトグラムの一例

同一被疑者から得られた乾燥大麻の $\delta^{13}\text{C}$ 値は、1.2‰の範囲内で同様の値を示した。化合物ごとの $\delta^{13}\text{C}$ 値を用いることにより、バルクの $\delta^{13}\text{C}$ 値では識別出来なかった組み合わせについても、識別することが可能であった (表 2)。

表 2 大麻の $\delta^{13}\text{C}$ 値

Case Sample	Bulk		Compound specific					
	Ave	SD	THC		CBN		CBD	
X 1	-34.4	0.1	-35.7	0.1	-37.4	0.5		
X 2	-33.7	0.0	-34.5	0.3	-36.7	0.2	-37.9	0.2
X 3	-34.9	0.3	-35.6	0.1	-37.5	0.4		
Y 4	-29.3	0.1	-28.5	0.4	-31.9	0.4		
Y 5	-29.2	0.1	-28.8	0.4	-31.8	0.2	-31.5	0.2
Y 6	-30.0	0.1	-29.4	0.4	-32.6	0.3	-31.7	0.4
Z 7	-29.2	0.1	not distinguished		-30.3	0.1		
Z 8	-29.2	0.1	not distinguished		-30.3	0.0		
Z 9	-29.3	0.1	not distinguished		-30.4	0.1		

一方、バルクの $\delta^{13}\text{C}$ 値を用いた方がよく識別できた組み合わせもありバルク及び化合物ごとのプロフィールの組み合わせが、大麻試料の異同識別に有用であると考えられた。

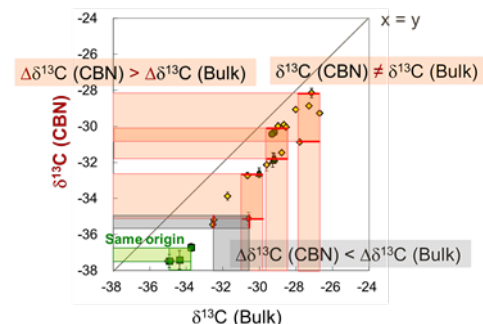


図 3 バルクと CBN の $\delta^{13}\text{C}$ 値の比較

- ⑥ 加熱後も十分なピーク強度で検出できた試料について、加熱前後でのこれらの化

化合物の $\delta^{13}\text{C}$ 値の比較を行った。加熱前に THC のみ含有していた試料の加熱後の CBN の $\delta^{13}\text{C}$ 値は、加熱前の THC の $\delta^{13}\text{C}$ 値と同一と考えられる範囲であった。また、加熱前に THC 及び CBN を含有していた試料については、それぞれの $\delta^{13}\text{C}$ 値に存在比（ピーク強度から算出）を掛けたもの之和が、加熱後の CBN の $\delta^{13}\text{C}$ 値と同一と考えられる範囲であった。本結果からは、加熱前の THC は、加熱後にほぼ 100% CBN に変化したと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Iwata, Y.T., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Kanamori, T., Inoue, H.
Seized methamphetamine samples with unique profiles of stable nitrogen isotopic composition documented by stable isotope ratio mass spectrometry
Forensic Toxicology (査読有), 28, 119-123, 2010
- ② Iwata, Y.T., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Kanamori, T., Inoue, H.
Evaluation method for linking methamphetamine seizures using stable carbon and nitrogen isotopic compositions: A complementary study with impurity profiling
Rapid Communications in Mass Spectrometry (査読有), 22, 3816-3822, 2008

[学会発表] (計 6 件)

- ① Iwata, Y.T., Inoue, H.
The Use of Isotope Ratio Mass Spectrometry for Drug Profiling
IUPAC international congress for analytical sciences 2011 (ICAS 2011)
May 25, 2011
京都府京都市
- ② Iwata, Y.T., Inoue, H., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Kanamori T., Fukushima, H.
The use of gas chromatographic isotope ratio mass spectrometry for cannabis profiling
48th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists
September 2, 2010
Bonn, Germany

- ③ 岩田祐子, 三熊敏靖, 桑山健次, 辻川健治, 宮口一, 金森達之, 井上博之
安定同位体比分析による大麻の異同識別
日本法中毒学会第 29 年会
2010 年 5 月 24 日
東京都文京区
- ④ Iwata, Y.T., Inoue, H., Kuwayama, K., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Kanamori T., Fukushima, H.
Evaluation method for linking drug seizures using stable carbon and nitrogen isotopic compositions: A complementary study with impurity profiling
47th International Meeting - The International Association of Forensic Toxicologists
August 27, 2009
Geneva, Switzerland
- ⑤ 岩田祐子, 井上博之
安定同位体比分析による薬物プロファイリング
第 57 回質量分析総合討論会
2009 年 5 月 14 日
大阪府大阪市
- ⑥ 岩田祐子, 桑山健次, 辻川健治, 宮口一, 金森達之, 井上博之
安定同位体比分析によるメタンフェタミンの異同識別
日本法科学技術学会第 14 回学術集会
2008 年 11 月 7 日
東京都港区

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 祐子 (IWATA YUKO)
科学警察研究所・法科学第三部・主任研究官
研究者番号: 20350190

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし