

亜酸化窒素試験法の検討及び「シバガス」中の主成分の同定について

藤永 祐介 笠木 祥弘 渡邊 真弓 宇野 玲子 浅井 紀夫

Examination of Analytical Methods to Detect Nitrous Oxide and a Trial to Identify the Main Ingredient of “Siva Gus”

Yusuke FUJINAGA Yoshihiro KASAKI Mayumi WATANABE Reiko UNO Norio ASAI

亜酸化窒素(笑気ガス)を小型ボンベに封入した製品が「シバガス」等と称してインターネット上で販売され、問題となっている。しかし、「シバガス」は気体試料のため、他の危険ドラッグと同様の方法で成分を検出することができないことから、ガスクロマトグラフ質量分析計及びフーリエ変換赤外分光光度計を用いた亜酸化窒素試験法の検討を行った。亜酸化窒素標準試料の調製方法、測定条件等についての検討を行った後、試験法の妥当性を確認した。亜酸化窒素に特有の分子イオン及びフラグメントイオンが検出されること、亜酸化窒素及び二酸化炭素のピークの分離が良好であること、繰り返し測定時に良好な再現性が得られることを検証し、定性的な亜酸化窒素の試験法を確立した。次に、「シバガス」の小型ボンベに封入された試料の採取方法及び調製方法を検討した後、確立した亜酸化窒素試験法を用いて測定を行った。測定結果から、試料中の気体の主成分が亜酸化窒素であると同定し、本法を用いることにより小型ボンベに封入された亜酸化窒素を検出することができることを確認した。

キーワード：亜酸化窒素(笑気ガス)、シバガス、ガスクロマトグラフ質量分析法、フーリエ変換赤外分光分析法

Keywords：Nitrous oxide (Laughing gas), Siva Gus, Gas chromatography-mass spectrometry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy

はじめに

平成26年度後半以降、危険ドラッグに対する規制及び取締り強化が実施され、危険ドラッグの流通が減少し、平成27年7月には国内の危険ドラッグ販売店舗がゼロとなった。しかし、亜酸化窒素(笑気ガス)を小型ボンベに封入した製品が「シバガス」等と称してインターネット上で販売され、新たな危険ドラッグとして社会問題となっている。

亜酸化窒素は工業や産業など幅広い分野で使用されている無色の気体である¹⁾。医療分野においては国内外で古くから吸入麻酔薬として用いられ、わが国では日本薬局方に収載されている²⁾。多幸感等の精神作用を有するため、海外では医療関係者等が乱用目的で吸引し、酸欠状態に陥って死亡した例が報告されており^{3,4)}、重篤な健康被害をもたらすおそれがある。

一般的に、危険ドラッグはガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)及びフォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフ質量分析計(HPLC-PDA-MS)等で測定されるが、危険ドラッグとしての亜酸化窒素については試験法が確立されていない。そこで、亜酸化窒素の試験法について検討を行い、日本薬局方(第16改正)の「分析法を適用する試験法の分類」⁵⁾を参考に試験法の妥当性を確認し、定性的な亜酸化窒素の試験法を確立した。「シバガス」は小型ボンベに封入された気体試料のため、試料の採取方法及び調製方法を検討し、確立した亜酸化窒素の試験法により、「シバガス」から

亜酸化窒素を検出することができることを確認したので報告する。

材料と方法

1. 試料

公的機関から正式に譲渡された「シバガス」を試料とした。試料は全長約65 mm、外径約18 mmの小型ボンベで、「Siva Gus」等と表記されたシールが貼付されていた(図1)。



図1. 「シバガス」の外観写真

2. 標準品、試薬及び器具等

標準品はジャパンファインプロダクツ(株)製のプッシュ缶タイプ亜酸化窒素標準ガス(純度99.5%)を使用した。

ブランクとしてヘリウムガスを選定し、太陽日酸(株)製のG1高圧ガス(純度99.99995%以上)を使用した。二酸化炭素は大気中に存在し、亜酸化窒素と同じ分子量であることから分離確認用物質として選定し、ジャパンファインプロダクツ(株)製のプッシュ缶タイプ二酸化炭素標準ガス(純度99.9%)を使用した。

ガスアダプターはキリンビール(株)製の飲料用サーバーを

(平成28年9月30日受理)

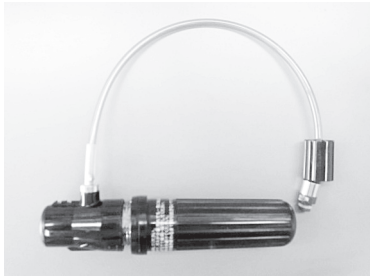


図2. 試験試料(シバガス)を調製するために独自に改良された飲料用サーバー

独自に改良したもの(図2)を、サンプリングバッグはジーエルサイエンス(株)製のスマートバッグPA(1L及び10L)を、キャニスターは三紳工業(株)製のガラスバイアルと(株)第一計器製作所製の内圧チェックゲージを接続したものを、シリンジはハミルトン社製のガスタイトシリンジ(1mL及び10mL)を、真空捕集びんはジーエルサイエンス(株)製の1L真空捕集びん(φ80×360mm)を、ガスセルは(株)島津製作所製の光路長10cmのガスセルを、攪拌用ボールはジーエルサイエンス(株)製の攪拌用ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)製ボールをそれぞれ使用した。試料を均一化するため、標準ガス等を分取したそれぞれの真空捕集びんは、攪拌用PTFE製ボールを入れて10分間攪拌した。

真空捕集びんは以下の方法により、予め十分に洗浄されたものを使用した。すなわち、真空捕集びんのシリコンセパタムを外し、真空ポンプを接続して10分間吸引し、その後、真空ポンプを取り付けたキャニスターに真空捕集びんを接続して吸引し、内圧チェックゲージの値が-50cmHgに到達した後、大気圧までヘリウムガスを導入した。この操作を3回繰り返した。

3. 標準試料の調製

3-1. 亜酸化窒素標準試料及び二酸化炭素標準試料の調製

亜酸化窒素標準ガスあるいは二酸化炭素標準ガスのブッシュ缶を1Lのサンプリングバッグとシリコンチューブで接続し、それぞれの標準ガスを適量分取した。これを亜酸化窒素標準試料及び二酸化炭素標準試料とした。GC-MS用及びフーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)用の標準試料について、花井ら⁶⁾の方法を参考に以下の方法で調製した。

3-2. GC-MS用標準試料等の調製

3-1で調製した亜酸化窒素標準試料をシリンジで4mL分取し、ヘリウムガスを充填した真空捕集びんに注入し、0.4%(v/v)の亜酸化窒素を調製した。これをシリンジで20mL分取し、ヘリウムガスを充填した真空捕集びんに注入し、0.008%(v/v)の亜酸化窒素を調製した。3-1で調製した二酸化炭素標準試料についても同様に希釈し、0.008%(v/v)の二酸化炭素を調製した。

3-3. FT-IR用標準試料等の調製

3-1で調製した亜酸化窒素標準試料をシリンジで0mL、5mL、8mL、10mL、15mL及び20mL分取し、それぞれ

をヘリウムガスで充填したガスセルに注入し、0%(v/v)、5%(v/v)、8%(v/v)、10%(v/v)、15%(v/v)及び20%(v/v)の亜酸化窒素を調製した。3-1で調製した二酸化炭素標準試料についても同様に希釈し、5%(v/v)の二酸化炭素を調製した。

4. 混合試料の調製

GC-MS用及びFT-IR用の混合試料について、以下のとおり調製した。

4-1. GC-MS用混合試料の調製

亜酸化窒素標準試料及び二酸化炭素標準試料をシリンジで各4mLずつ分取し、1:1の割合でヘリウムガスを充填した真空捕集びんに注入した。これをシリンジで20mL分取し、ヘリウムガスを充填した真空捕集びんに注入し、0.008%(v/v)の亜酸化窒素及び二酸化炭素混合試料を調製した。

4-2. FT-IR用混合試料の調製

3-1で調製した亜酸化窒素標準試料及び二酸化炭素標準試料をシリンジで各5mLずつ分取し、1:1の割合でヘリウムガスを充填したガスセルに注入し、5%(v/v)の亜酸化窒素及び二酸化炭素混合試料を調製した。

5. 試験試料(シバガス)の調製

5-1. 試験試料の調製

GC-MS用及びFT-IR用の試験試料について、以下の方法で調製した。

ガスアダプターを10Lのサンプリングバッグとシリコンチューブで接続し、飲料用サーバーに「シバガス」の小型ポンペを挿入し、サンプリングバッグに全量採取した。

5-2. GC-MS用試験試料の調製

5-1で採取した試験試料をシリンジで4mL分取し、ヘリウムガスを充填した真空捕集びんに注入した。これをシリンジで20mL分取し、ヘリウムガスを充填した真空捕集びんに注入した。

5-3. FT-IR用試験試料の調製

5-1で採取した試験試料をシリンジで15mL分取し、ヘリウムガスを充填したガスセルに注入した。

6. 機器及び測定条件

すべての試料について、GC-MS及びFT-IRによる測定を行った。機器及び測定条件を表1及び表2に示す。GC-MSの測定条件は、ジーエルサイエンス(株)がホームページで公開している無機ガスのパルス放電型光イオン化検出器付きガスクロマトグラフの測定条件(http://www.glsiences.com/pdf/inertsearch_gc/GA213.pdf)を参考に設定した。FT-IRについては、気体試料のため分解能を下げ測定した。

表1. ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)による亜酸化窒素の測定条件

GC 部	6890N (Agilent Technologies 社製)
カラム	TC-BOND Q(内径 0.32 mm×30 m, 膜厚 10 μm) (ジーエルサイエンス(株)製)に PLOT Column Particle Trap (内径 0.25 mm×2.5 m, w/2 Connectors) (ジーエルサイエンス(株)製) を接続したもの
キャリアーガス	He, 2.9 psi (定圧)
注入口温度	120°C
注入方法	スプリット (スプリット比 1:20)
カラム温度	40°C
注入量	400 μL
MS 部	JMS-K9 (日本電子(株)製)
イオン化法	電子イオン化法 (70 eV)
測定法	スキャン法 (m/z 20-100)
インターフェース温度	250°C
イオン源温度	250°C

表2. フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)による亜酸化窒素の測定条件

装置	FT-IR 8900 ((株)島津製作所製)
ソフトウェア	IR solution ((株)島津製作所製)
測定範囲	4600~400 cm^{-1}
分解能	8 cm^{-1}
積算回数	50 回
使用セル	10 cm ガスセル

結果及び考察

1. GC-MSによる測定条件の検討結果

GC-MS用標準試料、二酸化炭素及びブランク(ヘリウム)の測定結果を図3に示す。GC-MS用標準試料においては、保持時間2分17秒及び2分30秒にピークが検出された。一方、二酸化炭素及びブランクにおいては、保持時間2分17秒付近にピークが検出された。

保持時間2分30秒のピークにおいては、 m/z 44及び m/z 30のマススペクトルが認められ、保持時間2分17秒のピークにおいては、 m/z 44のマススペクトルが認められた。

亜酸化窒素のマススペクトルは m/z 44の分子イオン及び m/z 30の NO^+ フラグメントイオンが検出されるが、二酸化炭素のマススペクトルは m/z 30のフラグメントイオンが検出されないことを花井らが報告している⁶⁾。したがって、

GC-MS用標準試料における保持時間2分30秒のピークは亜酸化窒素由来のものであり、そのマススペクトルは亜酸化窒素に特有の分子イオン及びフラグメントイオンであると推測された。一方、GC-MS用標準試料、二酸化炭素及びブランクの測定で検出された保持時間2分17秒のピークは、二酸化炭素由来のものであると推測された。また、GC-MS用標準試料及びブランクで検出された二酸化炭素は、外部から混入したものと推測された。

亜酸化窒素及び二酸化炭素のGC-MS用混合試料の測定を行い、ピーク分離について検討した。測定結果を図4に示す。二酸化炭素、亜酸化窒素の順に溶出し、両者のピーク分離度は1.5以上であり、良好な分離が得られた。

GC-MS用標準試料の測定において、保持時間2分17秒に二酸化炭素のピークが検出されたが、上記の結果から亜酸化窒素及び二酸化炭素のピークは完全に分離しており、二酸化炭素のマススペクトルからは m/z 30のフラグメントイオンが検出されないことから、二酸化炭素は本測定条件の検討結果に影響を及ぼさないと判断した。

0.008% (v/v)のGC-MS用標準試料を6回繰り返し測定し、本測定条件下での再現性を検討した。ピーク面積及び相対標準偏差を表3に示す。検出された亜酸化窒素のピーク面積の相対標準偏差は0.35%となり、良好な再現性が得られた。

2. FT-IRによる測定条件の検討結果

0% (v/v)のFT-IR用標準試料(ブランク)でバックグラウンド補正後、5% (v/v)のFT-IR用標準試料及び5% (v/v)の二酸化炭素を測定した結果を図5に示す。5% (v/v)のFT-IR用標準試料においては、600 cm^{-1} 、1270 cm^{-1} 及び2250 cm^{-1} 付近に赤外吸収スペクトルピークが検出された。一方、5% (v/v)の二酸化炭素においては、680 cm^{-1} 及び2320 cm^{-1} 付近に赤外吸収スペクトルピークが検出された。

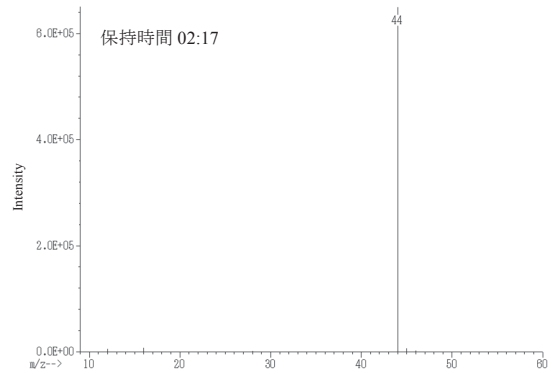
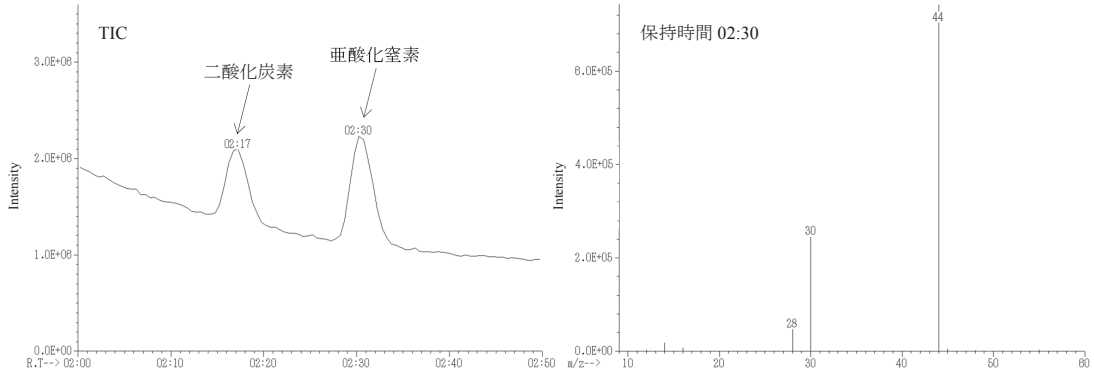
亜酸化窒素及び二酸化炭素の赤外吸収スペクトルの分離について検討した。FT-IR用混合試料の測定結果も図5に示す。亜酸化窒素の分子構造由来と考えられる赤外吸収スペクトルのうち、600 cm^{-1} 及び2250 cm^{-1} には二酸化炭素の分子構造由来と考えられるピークが近接して認められたが、1270 cm^{-1} にはFT-IR用標準試料を測定した際のピークと同様の赤外吸収スペクトルが認められ、二酸化炭素の吸収帯と分離していた。

FT-IR用標準試料で検出された1270 cm^{-1} 付近の赤外吸収スペクトルについて、亜酸化窒素の濃度とピーク面積との相関性を調べた結果を図6に示す。亜酸化窒素の濃度とピーク面積との相関係数は0.99以上となり、実験条件下で良好な直線性が得られた。

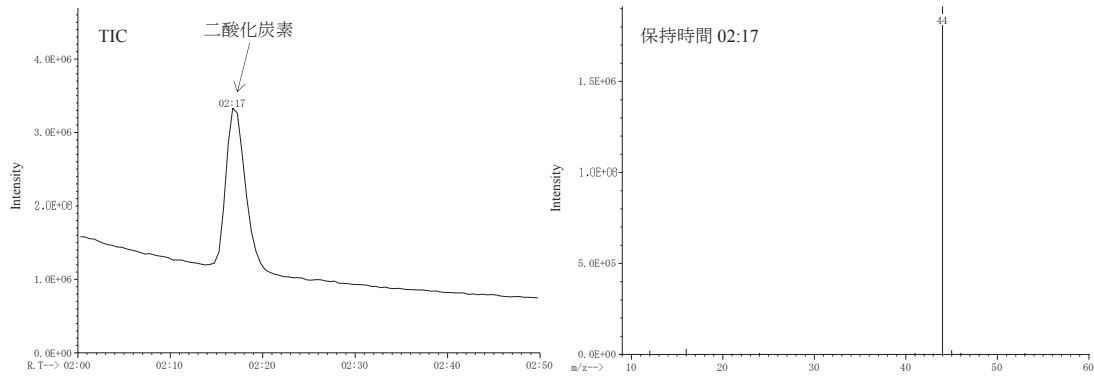
以上の結果から、1270 cm^{-1} 付近の赤外吸収スペクトルは亜酸化窒素の分子構造由来のものであると推測した。

10% (v/v)のFT-IR用標準試料を6回繰り返し測定し、本測定条件下での再現性を検討した。ピーク面積及び相対標準偏差を表4に示す。1270 cm^{-1} 付近の亜酸化窒素のピーク面積の相対標準偏差は0.39%となり、良好な再現性が得られた。

GC-MS用標準試料



二酸化炭素



ブランク(ヘリウム)

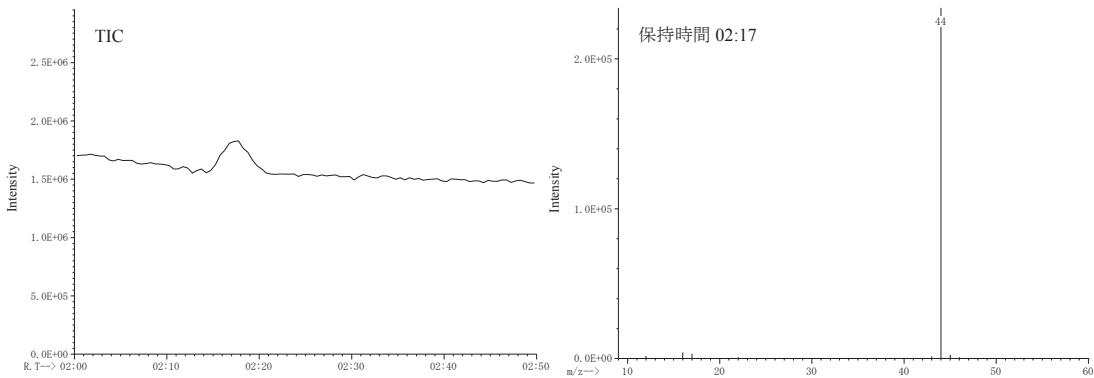


図3. 0.008% (v/v)のガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)用亜酸化窒素標準試料等のクロマトグラム(左)及びマススペクトル(右)

GC-MS用標準試料

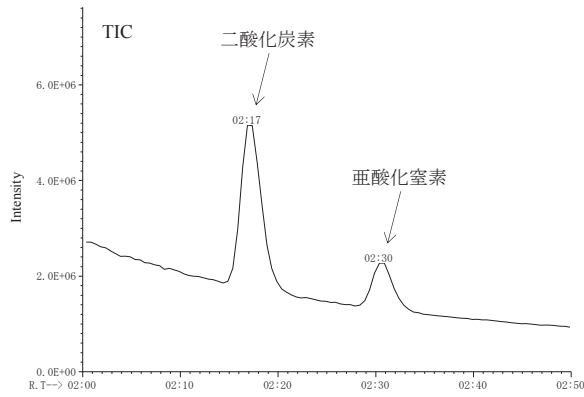
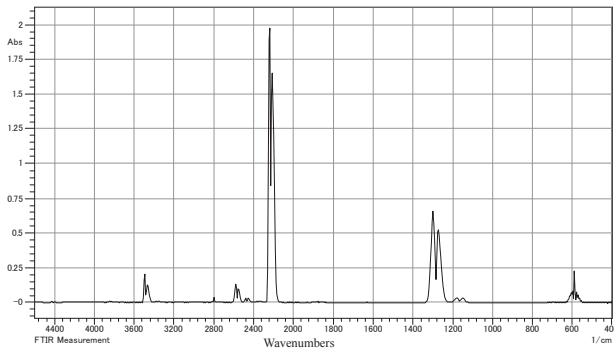


図4. 0.008% (v/v) のGC-MS用亜酸化窒素・二酸化炭素混合試料のクロマトグラム

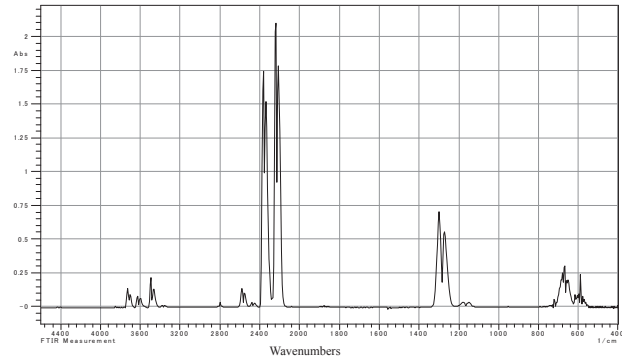
表3. GC-MS測定における0.008% (v/v) の亜酸化窒素のピーク面積及び相対標準偏差

	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回	第 5 回	第 6 回	平均	標準偏差	相対標準偏差
ピーク面積	5680232	5659292	5636811	5683818	5690412	5664508	5669179	19771.53	0.35

FT-IR用標準試料



FT-IR用混合試料



二酸化炭素

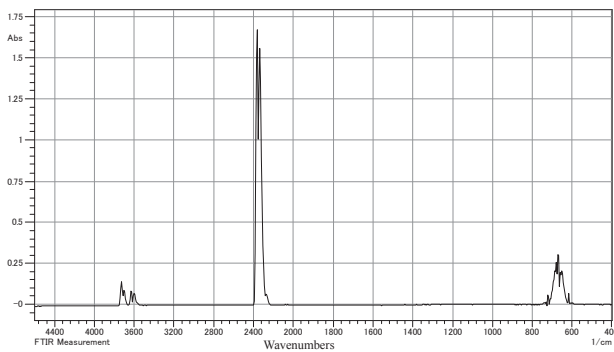


図5. 5% (v/v) のフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) 用亜酸化窒素標準試料、5% (v/v) のFT-IR用亜酸化窒素・二酸化炭素混合試料等の赤外吸収スペクトル

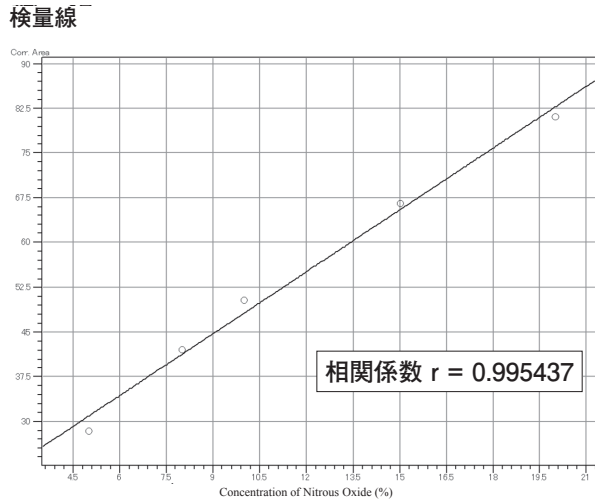
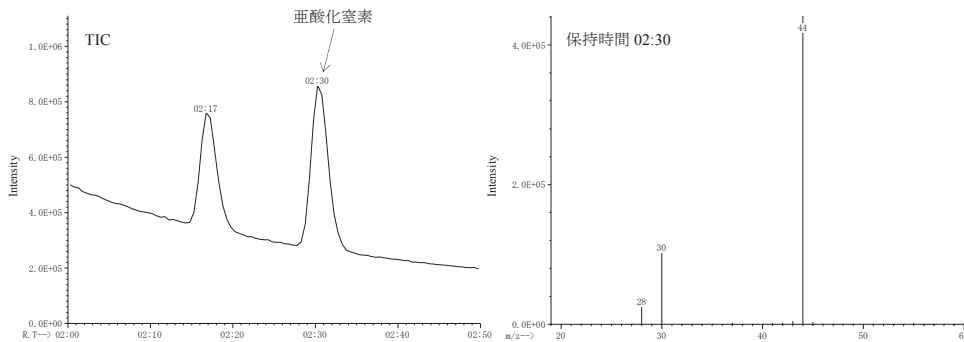


図6. FT-IRにおける亜酸化窒素の濃度とピーク面積との関係

表4. FT-IR測定における10% (v/v)の亜酸化窒素のピーク面積及び相対標準偏差

	第1回	第2回	第3回	第4回	第5回	第6回	平均	標準偏差	相対標準偏差
ピーク面積	54.713	55.151	55.121	55.104	55.169	55.366	55.104	0.21366	0.39

GC-MS用試験試料



GC-MS用標準試料

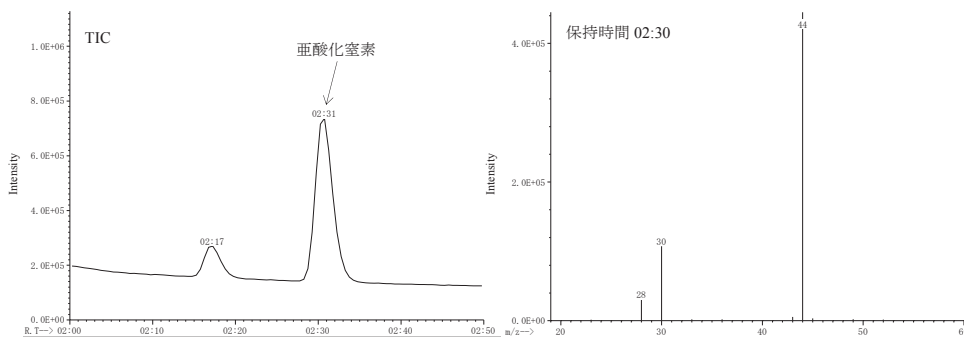


図7. GC-MS用試験試料及び0.008% (v/v)のGC-MS用亜酸化窒素標準試料のクロマトグラム(左)及びマススペクトル(右)

3. 試験試料(シバガス)の測定結果

3-1. GC-MSによる試験試料の測定結果

GC-MS用試験試料及び0.008% (v/v)のGC-MS用標準試料の測定結果を図7に示す。GC-MS用試験試料からは保持時間2分17秒及び2分30秒付近にピークが検出された。保持時間2分30秒のピークには、 m/z 44及び m/z 30にマスペクトルが認められ、GC-MS用標準試料のマスペクトルと一致した。

3-2. FT-IRによる試験試料の測定結果

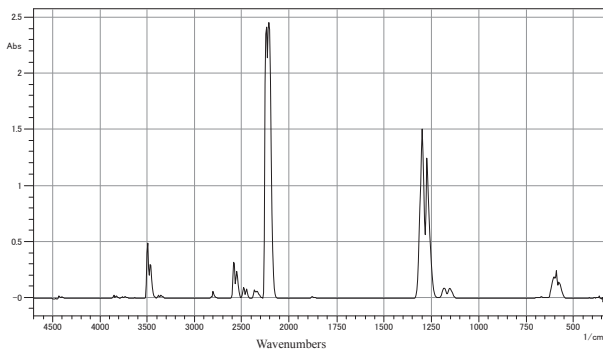
0% (v/v)のFT-IR用標準試料でバックグラウンド補正後、FT-IR用試験試料及び15% (v/v)のFT-IR用標準試料を測定した結果を図8に示す。FT-IR用試験試料から 1270 cm^{-1} 付近に赤外吸収スペクトルピークが検出された。

4. 結論

亜酸化窒素の標準試料を用いて、GC-MS及びFT-IRによる亜酸化窒素試験法を検討するとともに、その妥当性を確認し、定性的な亜酸化窒素の試験法を確立した。

さらに、「シバガス」の小型ボンベに封入された試料の採取方法及び調製方法を検討し、確立した亜酸化窒素試験法を用いて測定を行った。その結果、試料中の気体の主成分が亜酸化窒素であると同定し、小型ボンベに封入された亜酸化窒素を検出することができることを確認した。

FT-IR用試験試料



FT-IR用標準試料

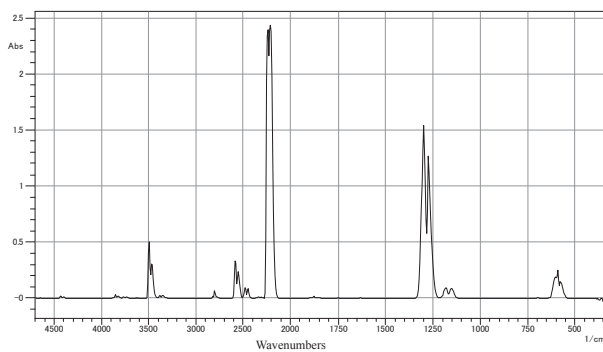


図8. FT-IR用試験試料及び15% (v/v)のFT-IR用亜酸化窒素標準試料の赤外吸収スペクトル

まとめ

新たな危険ドラッグとして問題となっている「シバガス」の検査を行うにあたり、亜酸化窒素試験法の検討を行った。

他の危険ドラッグの検査はGC-MS、HPLC-PDA-MS等で測定することが一般的であるが、今回、「シバガス」の封入容器からの採取方法、試料調製方法、亜酸化窒素の測定条件等について検討を行い、気体試料についてGC-MS及びFT-IRを併用した測定が有用な分析法となり得ることを示した。本検査結果をもとにして、京都府では平成27年10月9日付けで亜酸化窒素を全国初の知事指定薬物に指定した。また、国においても平成28年2月18日付けで亜酸化窒素を指定薬物に指定し、著者らが開発した検査方法に準じ測定が行われている。

府民の健康被害を未然に防止するためには、「シバガス」のような新しい形態の危険ドラッグが府内で流通した場合に備え、当研究所で迅速に対応することができるよう検査体制の一層の充実を図ることが重要であると考えられる。

引用文献

- 1) (株)ガスレビュー. 2014. 亜酸化窒素. 「ガスジオラマ 2015」(小泉善樹 編), pp.86, (株)ガスレビュー, 大阪.
- 2) 日本薬局方解説書編集委員会. 2011. 亜酸化窒素. 「第十六改正 日本薬局方解説書」. pp.C-30-C-32, 株式会社 廣川書店, 東京.
- 3) S.A. Wagner, M.A. Clark, D.L. Wesche, D.J. Doedens, A.W. Lloyd. 1992. Asphyxial deaths from the recreational use of nitrous oxide. *Journal of Forensic Sciences*, 37 (4), 1008-1015.
- 4) V.J.M.DiMaio, J.C.Garriott. 1978. Four Deaths Resulting from Abuse of Nitrous Oxide, *Journal of Forensic Sciences*, 23 (1), 169-172.
- 5) 日本薬局方解説書編集委員会. 2011. 参考情報 G1. 理化学試験関連 分析法バリデーション 3. 分析法を適用する試験法の分類. 「第十六改正 日本薬局方解説書」. pp.F-39-F-40, 株式会社 廣川書店, 東京.
- 6) 花井義道, 加藤龍夫, 荒井隆則. 1979. 大気中亜酸化窒素のGC-MSによる測定. *横浜国立大学環境科学研究センター紀要*, 05 (1), 35-39.