

イムノクロマト法を用いたコカイン検査キットの評価

荻野 雅人*、佐貫 薫*、松本 啓嗣*、池原 裕可里*

Evaluation of Cocaine Test Kit Using Immuno-chromatography

Masato OGINO*, Kaori SANUKI*, Yoshitsugu MATSUMOTO* and Yukari IKEHARA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

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

On the assumption that a cocaine test kit using immuno-chromatography is used by customs offices, tests for cross reaction, detection limit and others were carried out and the method of using the test kit was examined. In the samples used, substances which reacted falsely with a color reagent for cocaine did not show cross reaction in the testing by the kit. Cocaine was detectable not only in bulk powder of cocaine but also in mixtures of cocaine and other substances, coca leaves containing a small amount of cocaine and cocaine-containing foods when solutions of them were prepared properly. As a result of the evaluation, this test kit is considered to be an efficient means of screening for cocaine at customs control and inspection sites.

1. 緒 言

2. 実 験

税関の取締・検査現場で発見された覚せい剤や麻薬、大麻等の「不正薬物」と嫌疑される物品については、現在、呈色反応を利用した簡易試験（呈色試験）により、不正薬物か否かのスクリーニングを行っている。しかし、呈色試験は不正薬物以外の物品にも陽性を示す場合（交差反応）があるうえ、コカイン呈色試薬においてコカ葉やコカキヤンディーといったコカインを微量含む物品については陰性を示す場合がほとんどであるため、他のスクリーニング方法の導入が求められている。

近年、特定成分の検出における選択性及び検査の簡便性から、イムノクロマト法が様々な分野で用いられおり、不正薬物のスクリーニングにイムノクロマト法を用いることへの有効性が報告されている¹⁾が、コカインか否かのスクリーニングに用いた場合についての検証はまだ行われていない。コカインに選択的に反応を示し、かつコカインを微量含む試料からコカインを検出することができれば、税関の取締・検査現場においても有用であると考えられる。

本研究ではイムノクロマト法によるコカイン検査キットの評価を行い、税関の現場でコカインのスクリーニングに用いる際の使用法について検討したので報告する。

2. 1 コカイン検査キット一式

Fastect® II Drug Screen Dipstick Test COC300（以下コカイン検査キットと略記する）：Branan Medical Corporation 製（USA）、ステンレス製丸細 150 mm ミクロスパーテル、ポリプロピレン製 1.5 ml マイクロチューブ、ピンセット

2. 2 試料及び試薬

使用した試料及び試薬を、Table 1 に示す。

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

Table 1 Results of tests using cocaine test kit on various samples

Classification	Sample					
Illegal drugs (21 species)	Opium	—	Ketamine hydrochloride	—	Cannabis	—
	Coca (leaves)	○	MDA	—	Cannabis resin	—
	Cocaine hydrochloride	○	MDMA	—	Diazepam	—
	Codeine phosphate	—	Morphine hydrochloride	—	Nitrazepam	—
	Dihydrocodeine phosphate	—	d-Amphetamine sulfate	—	Phenobarbital	—
	Egonine	○	Ephedrine hydrochloride	—		
	Freebase cocaine	○	Methamphetamine hydrochloride	—		
	Heroin	—	Pseudoephedrine	—		
Foods containing coca (6 species)	Coca candy	○	Coca cookie	○	Coca toffee	○
	Coca chocolate	○	Coca tea	○	Cocaine honey	○
Chemical reagents for general studies (46 species)	1,10-Phenanthroline hydrochloride	○	D(+)-Glucose	—	Sodium hydroxymethanesulfonate	—
	1,5-Naphthalenedisulfonic acid disodium salt	○	D-fructose	—	Sucrose	—
	2,4-Dinitrophenylhydrazine	—	Ethylenediamine-N,N,N',N'- tetraacetic acid disodium salt	—	Tannic acid	×
	2-Phenylethylamine	—	Ferric chloride	×	Thioacetamide	—
	4-Aminoantipyrine	—	Gum arabic	—	Triethanolamine	—
	Alkyldimethylbenzene ammonium chloride	×	Hexamethylenetetramine	—	Tropane	—
	Anhydrous caffeine	—	Ipratropium bromide	—	Tropine	—
	Aspartame	—	Lactose	—	Tyramine	—
	Atropine sulfate	—	Monomethylamine hydrochloride	—	Urea	—
	Benzalkonium chloride	×	N-Acetyl-D-glucosamine	—	Vanillin	—
	Benzyltriphenylphosphonium chloride	—	Polyethylene glycol	—		
	Calbazole	—	Polyoxyethylene lauryl ether	—		
	Cetylpyridinium chloride	×	Procaine base	—		
	Cetyltrimethylammonium bromide	—	Pseudopelletierine hydrochloride	—		
	Cholesterol	—	Pyrrolidine	○		
	Chromotropic acid disodium salt	○	Scopolamine hydrobromide n-hydrate	—		
	Coumarin	—	Sodium dodecyl sulfate	×		
	D(-)-Fructose	—	Sodium dodecylbenzenesulfonate	×		
Foods (10 species)	Black tea	—	Green tea	—	Nikka Whisky	—
	Caramel	—	Honey	—	Skim milk	—
	Chocolate	—	Milk cookie	—		
	Coffee	—	Mint candy	—		
Amino acids (22 species)	Glycine	—	L-Alanine	—	L-Ornithine monohydrate	—
	L(-)-Cystine	—	L-Asparagine monohydrate	—	L-Proline	—
	L(-)-Threonine	—	L-Aspartic acid	—	L-Serine	—
	L(+)-Arginine	—	L-Cysteine	—	L-Tryptophan	—
	L(+)-Glutamine	—	L-Glutamic acid	—	L-Tyrosine	—
	L(+)-Isoleucine	—	L-Histidine	—	L-Valine	—
	L(+)-Lysine	—	L-Leucine	—		
	L(+)-Phenylalanine	—	L-Methionine	—		
The others (3 species)	Hair conditioner	—	Hair treatment	—	Tobacco	—

○ : Positive

— : Negative

× : Invalid

2. 3 試料溶液調製法及び検査方法

以下の方法で試料溶液の調製及び検査を行った。

- ・スパークル又はピンセットを用いてマイクロチューブに試料を入れる
- ・水道水約1.5 mlを入れて1分間振とうする
- ・コカイン検査キットの先端を試料溶液に10秒間浸漬する
- ・平らな場所に5分間静置する
- ・判定を行う

但しコカインの検出限界濃度の試験においては、メスフラスコを用いて調製した。

判定は、C領域のみに赤色の線が発現した場合を陽性、T領域とC領域との両方に赤色の線が発現した場合を陰性、T領域の線の有無に関わらずC領域に赤色の線が発現しなかった場合を検査無効とした(Fig.1)。

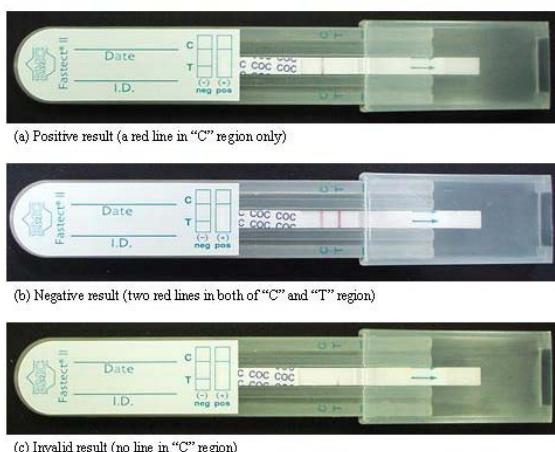


Fig.1 Examples of results

2. 4 コカイン呈色試薬

チオシアノ酸コバルト試薬

チオシアノ酸コバルト1g+水50ml+グリセリン50ml

2. 5 実験項目

2. 5. 1 コカインの検出限界濃度

コカイン塩酸塩の10mg/ml水溶液及びコカイン遊離塩基の1mg/ml水溶液を調製して検査を行った。陽性を示した場合は10倍に希釈して検査し、陰性を示す濃度まで検査を繰り返した。また、水道水の代わりに蒸留水を使用した場合の検出限界濃度について試験した。

2. 5. 2 交差反応

Table 1に掲げる試料及び試薬のうちコカインを含有しないものについて、それぞれ10mg/ml水溶液(一部100mg/ml水溶液)を調製して検査を行い、交差反応の有無を確認した。

2. 5. 3 コカイン呈色試薬との比較

Table 1に掲げる試料及び試薬について、コカイン呈色試薬による呈色試験を行った。

2. 5. 4 共存物質による検査結果への影響

ウイスキー、ヘアコンディショナー、タンニン酸及び塩化第二鉄にコカインを10% (w/w) 加えた試料を調製し、呈色試薬及びコカイン検査キットによる検査を行った。

2. 5. 5 試料採取量の検討

コカイン原末、コカ葉及びコカ含有食品の検査を行う場合の適切な採取量について、コカ葉については葉片の面積を、コカイン原末及びコカ含有食品についてはスパークルを用いた際に何杯程度が適当か検討した。

3. 結果及び考察

3. 1 コカインの検出限界濃度

水道水を用いた場合も蒸留水を用いた場合も、検出限界濃度はコカイン塩酸塩及びコカイン遊離塩基とともに100μg/mlであった。

3. 2 交差反応

検査結果をTable 1に併せて示す。交差反応を確認した試料及び試薬の構造式及びその濃度をFig.2に示す。エクゴニンはコカインとともに麻薬に指定されており、コカイン検査キットの測定対象物質である。エクゴニン以外について陽性を示したのは10mg/ml以上の高濃度領域のみにおいてであり、それより低い濃度領域においてはいずれも陰性を示した。タンニン酸、陽イオン界面活性剤及び陰イオン界面活性剤のほか、粘性の高い試料では10mg/ml以上の高濃度領域において検査無効となる場合があった。

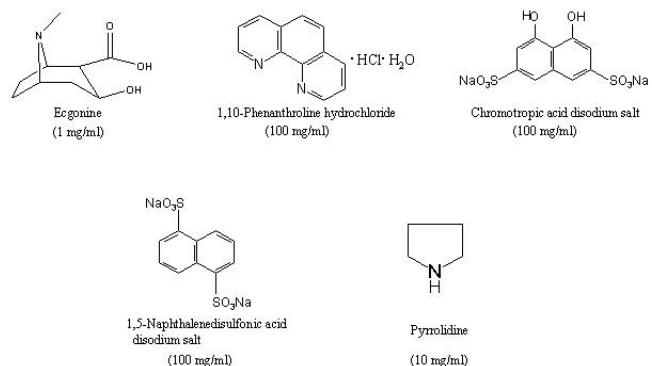


Fig.2 Chemical structures and minimum concentrations of compounds found in cross reaction

3. 3 コカイン呈色試薬との比較

コカイン呈色試薬で陽性を示したものとFig.3に示す。コカイン呈色試薬では第三級アミン及び第四級アンモニウム塩で陽性を示す場合が多いことを確認した。第四級アンモニウム塩を含有するヘアコンディショナーも陽性を示した。コカ含有食品において陽性を示したものはなかった。また、コカイン呈色試薬で誤反応を示した試料について、コカイン検査キットで交差反応を示す試料はなかった。

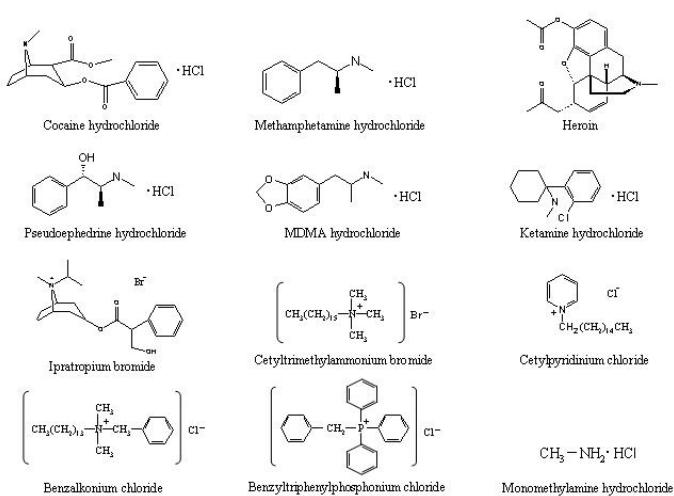


Fig.3 Chemical structures of compounds which reacted falsely with cobalt thiocyanate reagent

3.4 共存物質による検査結果への影響

検査結果を Table 2 に示す。

呈色試験において、コカインを添加したウイスキーは陽性を示したが、タンニン酸もしくは塩化第二鉄にコカインを添加したものは陰性を示した。ヘアコンディショナーはコカインが含まれていないものについても陽性を示した。

コカイン検査キットによる検査において、塩化第二鉄もしくはタンニン酸とコカインとの混合物で 10 mg/ml 以上の高濃度領域において検査無効となる場合があったが、混合物の濃度が 1 mg/ml の場合には検出可能であった。ウイスキーもしくはヘアコンディショナーとコカインとの混合物においては共存物質の影響を受けて検出可能であった。

Table 2 Results of tests using color reagent and cocaine test kit

Sample	Color reaction of cobalt thiocyanate reagent	The result of the test used cocaine test kit			
		100 mg/ml*	10 mg/ml*	1 mg/ml*	100 µg/ml*
Ferric chloride	— (dark red)	×	×	—	—
Cocaine + Ferric chloride	— (dark red)	×	×	○	—
Tannic acid	— (no change)	×	×	—	—
Cocaine + Tannic acid	— (no change)	×	○	○	—
Nikka Whisky	— (no change)	—	—	—	—
Cocaine + Nikka Whisky	○ (blue)	○	○	○	—
Hair conditioner	○ (blue)	—	—	—	—
Cocaine + Hair conditioner	○ (blue)	○	○	○	—

○ : Positive — : Negative

× : Invalid

* concentration of mixed sample

3.5 試料採取量の検討

コカイン原末については食塩一粒程度の量（数百 µg）で陽性を示した。原末と推定される試料については、スペーテル半分程度の採取量で十分に検出が可能であると考えられる。

コカ葉については 1 cm² の葉片 (7.3 mg) で陽性を示した。しかし葉片が水になじまずコカインが抽出されにくい場合も想定されるため、実際の検査の際には一円玉大程度の葉片を用いたほうがよいと考えられる。

コカ含有食品で陽性を示した際の採取量を Table 3 に示す。コカ含有食品については、採取量が多すぎると水が検査キット内で十分に展開せず検査無効となり、少ないと検出限界を下回る場合があるため、試料によって適切な量を調製する必要がある。

なお、葉やクッキーなど水に溶解しない検体の場合、より効率よく成分を抽出するために、試料を出来るだけ細かくした後に検査を行ったほうがよいと考えられる。

Table 3 Minimum amounts of coca-containing foods allowing detection of cocaine

Sample	The times of spatula	Average mass of sample (mg/spatula)
Coca tea 1,2,3,4,5	1	5
Coca candy 1	3	12
Coca candy 2,3	1	12
Coca cookie 1	3	12
Coca cookie 2	5	12
Coca honey	3	43
Coca chocolate	5	12
Coca toffee 1	5	14
Coca toffee 2	3	14

4. 要 約

イムノクロマト法を用いたコカイン検査キットを税関で用いることを想定し、交差反応、検出限界等の試験を行い、使用法を検討した。その結果、今回使用した試料の中でコカイン呈色試薬を使用した場合に誤反応を起こす物質について、コカイン検査キットでは交差反応を示さなかった。またコカイン原末だけでなく、コカインと他の物質との混合物や、コカインを微量含むコカ葉及びコカ含有食品についても、溶液調製を適切にすることでコカインを検出することが可能であった。以上より本検査キットは税関の取締・検査現場におけるコカインのスクリーニングに有効な手法であると考えられる。

文 献

- 1) 藤井友和：関税中央分析所報, 47, 47 (2007)