

CERI NEWS

No.85 2018 April

CONTENTS

● 巻頭言

AIを生分解性評価に活用する

静岡大学大学院 総合科学技術研究科工学専攻
化学バイオ工学コース 教授 金原和秀

● 業務紹介

①平成30年4月化審法における試験法の改正について

a) 分解度試験

b) 濃縮度試験

c) 高分子フロースキーム

②加硫ゴムの水劣化と耐久性

● 技術情報

①L-column3を用いたアプリケーションの紹介

—アルカリ性移動相の有用性—

②イソシアネートにおける各種動物実験代替法の組み合わせによる
皮膚感作性評価の適用性の検討

③基幹比較(プロパン標準ガス)について

● 本機構の活動から

平成30年度CERI公募型研究助成

● お知らせ

平成30年度CERI寄付講座

第23回化学物質評価研究機構研究発表会のご案内

● 編集後記

AI を生分解性評価に活用する

静岡大学大学院 総合科学技術研究科工学専攻
化学バイオ工学コース 教授 金原和秀



定量的構造活性相関（QSAR）を分解度試験の評価に活用する試みは、これまでも行われています。精度に議論はありますが、知見のある物質に類似した構造を持つ物質の難分解性は、ある程度評価可能です。しかし、易分解性を評価するには、まだまだその精度に問題があります。グレーゾーンの物質の判断は専門家が行っています。現在、物質の構造は多様かつ複雑になる傾向にあり、専門家の判断にも限界があります。人間は、頭に入れたデータをもとに、これまでの経験も踏まえて分解性の判断を行っています。しかも、無意識のうちにそれぞれのデータの構造活性相関を考え、「定量的らしい」判断をしています。これには、第六感も含まれます。

筆者はPCBを中心とした塩素化芳香族化合物の微生物分解の専門家です。これまでの研究成果と他の知見から、同じような構造を持つ物質に関しては、ある程度分解性の判断は可能です。しかし、判断が必要な物質の構造は多様化し、分解度試験のデータは日々増え続けています。それらのデータを頭にインプットして判断するというのもなかなか難しくなっています。しかも年を取るとますます難しいのが実情です。

そこで、AIを活用しようということです。AIはデータを取り入れるだけではなく、自ら確からしいアルゴリズムを創ることが可能です。これは、ヒトが無意識に相関関係を捉えることに似ています。結果が正しいかどうかは別にして、確からしい考えを自ら導き出すということです。この試みは、囲碁や将棋で成功しています。勝つという目標に向かって、規則性のある動かし方をして、相手の動きを見極めて次の一手を判断するというものです。この過程は、構造活性相関から定量的なデータを導き出す過程にも当てはまります。特定の物質が分解するという目標に向かって、規則性のある構造から過去のデータと照らし合わせて分解産物を推定し、その推定された分解産物がさらに分解するのかを予測する。しかし、それではどんな物質でもなんとか分解してしまうという誤った判断につながるかもしれません。そうだとすると、易分解か難分解か判断できるのを目標にすれば、あらゆるアルゴリズムを駆使して、正解に近づくかもしれません。

どのような判断基準で考えるのか、最初アルゴリズムをAIに植え付けるのはあくまで人間です。人間も同じですが、最初の目標を誤ると、とんでもない結果を出すこともあります。そのあとはAI任せです。AIが間違った判断を繰り返すようなら、植え付けた目標が誤っていたと判断して修正すれば、確からしさはどんどん向上すると予想できます。

まあ、それでは人間でも可能な感じです。しかし、人間の問題は、多くの情報を取り入れるのに時間がかかり、忘れることもあることです。AIにデータを入れるのも人間ですが、インプットするデータの規則性をあらかじめ決めておけば、多くのデータを素早く入れることが可能です。もちろん、AIのみで判断するわけではありません。あくまで、AIの力を借りて専門家の判断材料を多くすることです。規則性のある業務は、今後AIに代わると考えられています。しかし、判断した結果が地

地球上のあらゆる生物の安全にかかわることは、機械にすべてを託すことはできません。日々大量のデータが出てくるいま、AIを活用してヒトを補佐することは必要かつ不可欠であると言われています。少なくとも、その方法論を取り入れていかないと、世界の動向に遅れることは間違いないと思われます。

業務紹介

平成 30 年 4 月化審法における試験法の改正について

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）に基づく新規化学物質審査の合理化を望む産業界からの要請、経済協力開発機構（OECD）のテストガイドライン（TG）の一部が改正されたことなどを踏まえ、厚生労働省、経済産業省及び環境省は、平成 30 年 4 月に新規化学物質の審査に用いる知見を得るための試験方法「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成 23 年 3 月 31 日薬食発 0331 第 7 号、平成 23・03・29 製局第 5 号、環保企発第 110331009 号）の一部を改正しました。本稿では「分解度試験」、「濃縮度試験」及び「高分子フロッスキーム」について、改正内容を紹介します。

分解度試験

久留米事業所 樽木 正範

1. はじめに

化審法における化学物質の生分解性評価に用いられる分解度試験は、これまで OECD TG301C に相当する試験方法のみでしたが、今回の改正によって OECD TG301F に相当する試験方法が追加されました。

2. 分解度試験の改正のポイント

TG301C と TG301F の試験条件の概要を表 1 に示します。大きな違いの一つは試験に使用する植種源（微生物源）です。TG301C では培養汚泥を用いますが、TG301F では下水処理場の活性汚泥を用います。分解活性は培養汚泥よりも下水処理場の活性汚泥の方が高い傾向を示します（茅島ら、2014）。また、もう一つの大きな違いとして、TG301F では TG301C にはない試験条件（追加試験区）を設定可能です。追加試験区の概要を表 2 に示します。通常の試験条件（表 1 参照）よりも追加試験区の方がより生分解

表 1 TG301C と TG301F の試験条件の概要

試験条件	TG301C（従来法）	TG301F（新法規法）
被験物質濃度	100 mg/L	100 mg/L
植種源（微生物源）	試験法に従って培養した活性汚泥	主として家庭排水を処理する下水処理場の好氣的反応槽の活性汚泥
汚泥濃度	30 mg/L（懸濁物質濃度）	30 mg/L（懸濁物質濃度）
試験区	・非生物区 1 連 ・生分解区 3 連 ・ブランク区 1 連 ・基準物質区 1 連	・生分解区 少なくとも 2 連 ・ブランク区 2 連 ・基準物質区 1 連 ※ 追加試験区（表 2 参照）も設定可能

表 2 TG301F の追加試験区の概要

	非生物区	微生物阻害区	補助物質添加区
内容	非生物的影響を確認する目的で TG301C の非生物区と同様の試験区を設定する。	微生物への阻害性がある被験物質に対してより低濃度における生分解性を確認する目的で、濃度 30mg/L の生分解区を設定する。	難水溶性物質について、試験液中での分散状態を改善する目的で、補助物質を添加した生分解区、ブランク区及び基準物質区を設定する。
備考	特になし。	通常の濃度（100mg/L）において微生物阻害が認められた場合に限り設定可能。	難水溶性物質に限り設定可能。補助物質の妥当性（生分解性及び微生物阻害性が無い）を示す必要がある。

が進んだ試験結果が得られる可能性があります。

3. おわりに

今後はこれら 2 つの試験方法からお客様がいずれか 1 つを選択して、分解度試験を実施することになります。本機構は、これまでの TG301C の豊富な実施経験及び化審法への TG301F の導入検討（経済産業省委託事業*¹⁾）への参画を通して蓄積した知見をいかし、お客様にとって適切な試験設計をご提案いたします。

* 1 平成 26 及び 27 年度経済産業省委託事業化学物質安全対策（化学物質の評価手法に関する調査・検討）

濃縮度試験

久留米事業所 井上 義之

1. はじめに

化学物質の生物蓄積性に関する評価は、化審法に定められた「魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験」及び OECD TG によって実施されています。OECD TG305 については、2012 年 10 月に改正され、新 TG305（Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure）が発効されました。化審法においても、今回の改正により TG305 に合わせて試験法の整備が行われました。

2. 濃縮度試験の改正のポイント

2.1 水暴露法

魚を用いた濃縮度試験では、原則、水暴露法を用いるとされています。この試験方法では、通常、試験区として試験濃度が互いに 10 倍異なる二濃度区で試験（二濃度区の水暴露法）を実施していましたが、一部の物質を除き、試験濃度を「試験用水に対する被験物質の溶解度の 10 分の 1 以下」とすれば、一濃度区での水暴露法が可能となり、お客様の試験費用の負担軽減が期待されます。

2.2 簡易水暴露法

試験方法は「水暴露法」と同様ですが、生物使用数及び分析回数を削減した試験方法です。つまり、

試験水のサンプリング回数は削減しませんが、試験魚のサンプリングを取込及び排泄期間において各2回に削減し、簡易的に生物蓄積性を求める試験方法です。このように、本方法は試験魚のサンプリングを削減できますが、試験の有効性は、取込及び排泄試験の両試験結果から判断（判定）するため、試験データを化審法申請に適用できない場合もあり、お客様にとってメリットの少ない試験方法といえます。

2.3 餌料投与法

食物連鎖を想定し、餌料からの被験物質の取り込みを評価する試験であり、水溶解度が0.01mg/L未満、かつlog Powが5を超える被験物質（難水溶性物質）、あるいは水暴露法が困難な被験物質に適用されます。餌料に被験物質を添加して、試験魚に暴露（投与）するため、試験濃度が水暴露法のように被験物質の水溶解度で制約されることがないため、前処理方法の確立が早く、水暴露法と比較して短期間で試験が完了するメリットがあります。

表3 濃縮度試験における新試験法の概要

試験方法	水暴露法	簡易水暴露法	餌料投与法
暴露（取り込み）経路	水（経鰓）	水（経鰓）	餌料（経口）
試験区	1又は2濃度区	1又は2濃度区	1濃度区
試験期間	取込：28～60日間 排泄*2：例えば95%消失するまで	取込：28～60日間 排泄：例えば95%消失するまで	取込：通常7～14日間 排泄：原則28日間
分析項目	水：被験物質 魚：被験物質・脂質	水：被験物質 魚：被験物質・脂質	餌料：被験物質・脂質 魚：被験物質・脂質
試験魚サンプリング回数	取込：5回 排泄*2：4回	取込：2回 排泄：2回	取込：1回 排泄：4～6回
試験魚サンプリング数	少なくとも4尾	少なくとも4尾	5～10尾
主なエンドポイント	BCF _{SS} 又はBCF _K	BCF _{Km}	dietary BMF

*2 BCF_{SS}の算出には排泄試験（排泄速度定数）は不要です。

3. おわりに

新試験法では、試験方法や生物蓄積性を評価するエンドポイントが複数存在し、その試験方法の選択や試験設計の妥当性がより科学（専門）的に求められるようになります。本機構は、水暴露法については約4,000物質、餌料投与法についても約20物質の試験実績があり、新試験法に関する研究成果はTG305ガイダンスドキュメントにも多数引用されています。

高分子フロッスキーム

久留米事業所 古谷 悦子

1. はじめに

従来の高分子フロッスキームについて、より合理的な試験法で高分子化合物の有害性が評価でき、かつ、その方法で化審法の審査への取込が可能であるか検討が行われました。その結果、高分子フロッスキーム

表 4 安定性試験の概要

変更箇所	現行	改正内容
試験区	pH1.2、pH4.0、 <u>pH7.0</u> 、pH9.0	pH4.0、pH9.0
分析項目	・IR スペクトル ・分子量分布 ・重量 ・<u>溶存有機炭素濃度 (DOC)</u>	・IR スペクトル ・分子量分布 ・<u>重量又は DOC</u>
判定基準 (DOC)	試験前後で変化がない。 (<u>5mg/L 以下</u>)	試験前後で変化がない。 (<u>1% *3 以下</u>)

*3 被験物質濃度 1000 mg/L で有機炭素含有率が 80% の場合の判定基準は 8 mg/L 以下となります。

キームが合理化され、それに伴い試験内容が簡素化されました。

2. 高分子フロースキームの改正のポイント

2.1 安定性試験

安定性試験では被験物質を緩衝液中で一定期間攪拌して試験を行います。表 4 に示すように今回の改正に伴い、試験区及び分析項目数が削減されました。改正された判定基準 (DOC) では、被験物質の構造式 (炭素含有率) により判定に用いる DOC 濃度が異なってきます。

2.2 溶解性試験

溶解性試験では被験物質を水中及び有機溶媒中で一定期間攪拌して試験を行います。表 5 に示すように今回の改正に伴い、適用溶媒数が削減されました。

表 5 溶解性試験の概要

変更箇所	現行	改正内容
適用溶媒	水、THF、DMF、 <u>n-オクタノール、n-ヘプタン</u>	水、THF、DMF

3. おわりに

上記のとおり、試験条件の合理化により、お客様の試験費用の負担軽減が期待されます。本機構では、水溶性高分子や変化しやすい高分子化合物を含め、多数の試験実績があります。これらのノウハウを基に最適な試験設計をお客様にご提案いたします。改正後の試験等のご相談は随時受けていますので、お気軽にお問い合わせください。

加硫ゴムの水劣化と耐久性

高分子技術センター 大武 義人

1. はじめに

合成高分子材料は日常生活の必需品となり、産業活動の要になっても他材料、例えば金属等と比べると、実際には一般に考えられている程頑丈ではありません。特に加硫ゴムは主鎖に二重結合を有するため、自動車に用いられている部品のごとく油・熱（高・低）・振動等厳しい環境下に曝されていなくとも、自然環境下に放置されているだけでも劣化は少しずつ進行しています。これは、高分子材料の強度発現の源となっている単分子鎖の分子量、分子構造とその集合状態、高次構造が様々な劣化要因によって変化が生ずるためで、その変化の種類や量が劣化メカニズムによって異なります。特に加硫ゴムは、一重結合よりも安定性に欠ける二重結合を主鎖に有するため（もちろんこの二重結合の存在のおかげでゴムは容易に加硫反応を生じ易いのですが）劣化現象はプラスチックよりも加硫ゴムの方が顕著になる傾向があります。

2. 加硫ゴムの劣化メカニズムの複雑さ

海外のジャーナル（例えば polymer degradation stability）等では、劣化メカニズム（劣化化学反応式）を推定でもよいから示さないとなかなか受理されない厳しい現実があります。しかしそのメカニズムは同じポリマーで同じ劣化因子でも、投入される劣化因子の強弱や暴露時間によって異なりを見せます。したがって我々は、ダメージを受けたポリマーを徹底的に分析・解析を実施し、十分な劣化メカニズムを把握することにより正確な対策がとれるようになります。図1に天然ゴム（NR）の劣化機構を示します。

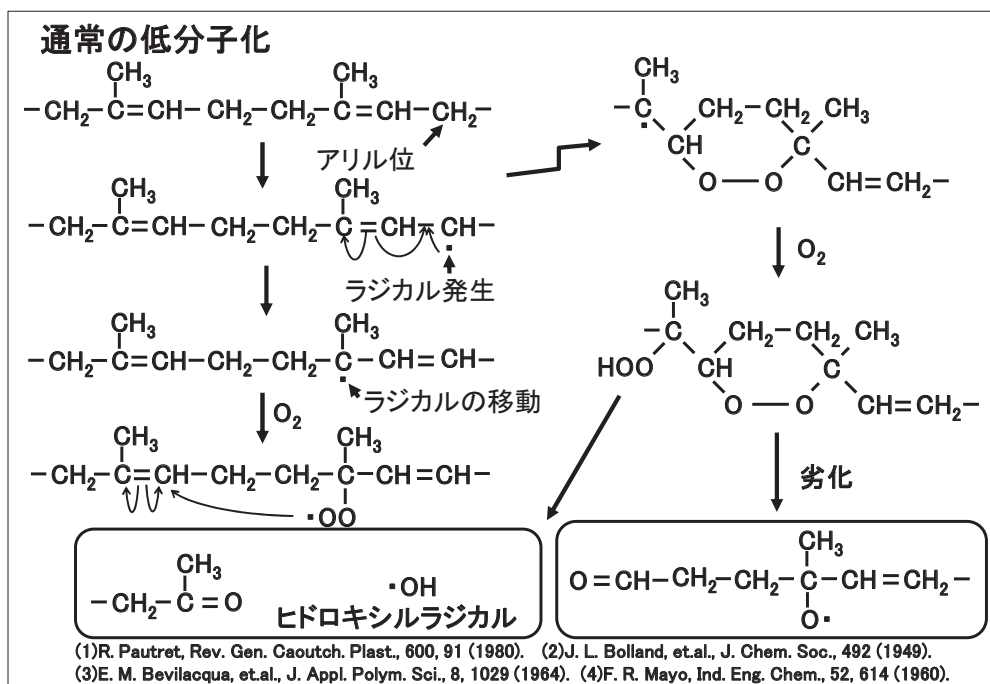


図1 天然ゴム（NR）の劣化機構

2.1 NR（天然ゴム）の熱酸化の場合

NRはインプレンの重合体でシス-1,4結合で構成され、分子構造に規則性が高く結晶性がありますが、前記したように主鎖に二重結合があるため、ゴムの中でも最も耐熱性が低く酸化劣化し易く、主鎖切断による解重合が生じます。その反応式を図2に示しますが、一方で高温に急激に暴露された場合図2に示すように主鎖切断を生ずるもののすぐさま共鳴反応を示し、逆に架橋反応を生じ固化現象を生ずるようになります。このような同一劣化因子でも投入の仕方によって全く逆の反応が発生します。

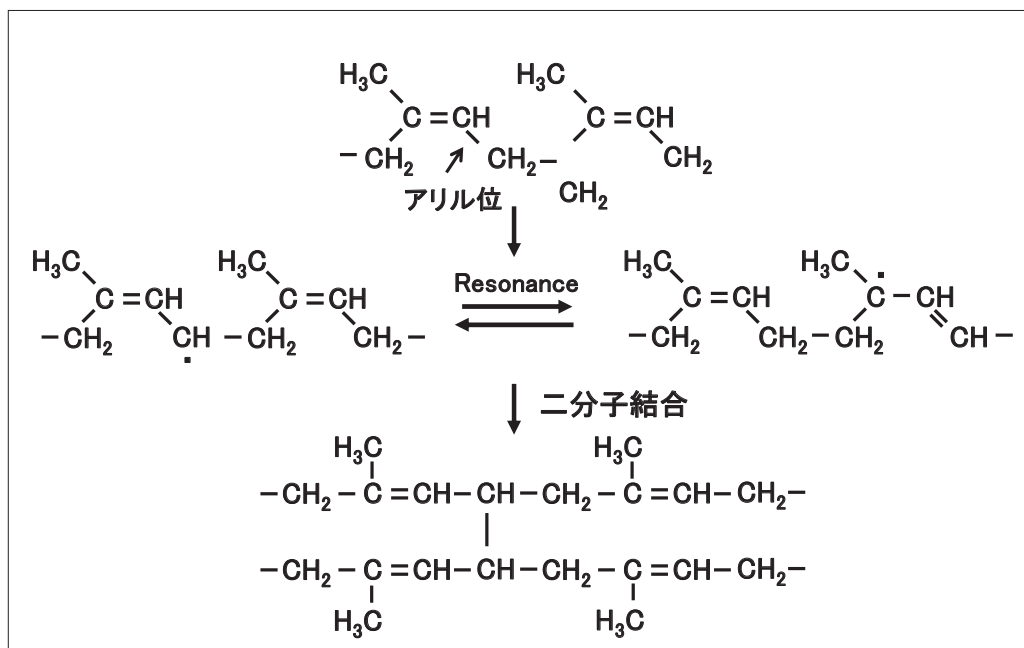


図2 天然ゴムの急激な高温時の高分子量化
(スペースシャトルコロンビアの場合)

2.2 EPDM（エチレンプロピレン-ジエン三元共重合体）の水道水中残留塩素による場合

EPDM にはカーボンブラック (CB) が 40 ~ 50% も含まれ、CB が水中の塩素を吸着することによって劣化が生じます。食品工場などで用いられる高濃度の塩素雰囲気下では、X 線光電子分光 (XPS) による分析から Cl (2p) ピークが検出され C-Cl 結合の生成が認められます。固体 NMR (^{13}C -NMR) では、ジエン成分側鎖の末端メチル基が塩素化され、更に塩素化されたメチル基同士の架橋反応によって架橋

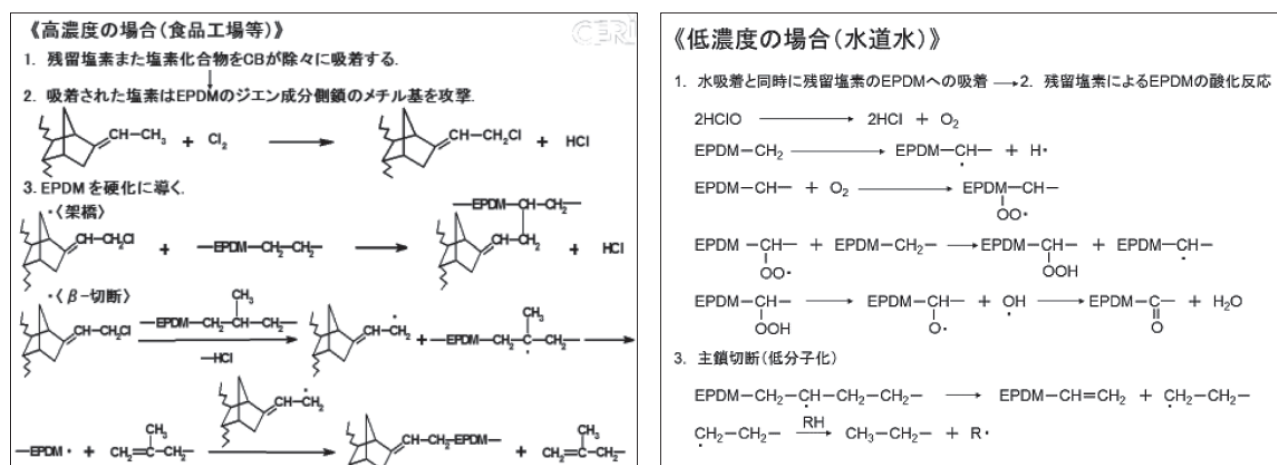


図3 EPDMの残留塩素による高濃度（食品工場等）と低濃度（一般濃度等）劣化メカニズム

密度が上昇、硬化劣化が生じ、クラックの発生、崩壊、脱落につながります。一方水道水などの低濃度の塩素雰囲気下では、次亜塩素酸による酸化反応による $>C=O$ 結合と主鎖切断による $>C=C<$ 結合が生じ、メチル基 ($-CH_3$) が生成、その結果、架橋密度の低下に伴う軟化劣化を生じ表面層から水流によって微細な黒粉が流出します。以上の二つの劣化反応式を図3に示します。

3. 寿命（品質保証の限界点）

製品や材料の寿命と一口にいてもユーザーの違い、その製品特有の機能性の違い等があり、寿命ラインを引くことは、筆者の属する化学物質評価研究機構で寿命推定の依頼に來られた依頼者自身も定かでないことが多々あります。

寿命の定義には様々な要素があり、耐用寿命、故障寿命、外観寿命、保管寿命などが挙げられます。一般的には商品としての商品限界寿命と、機能としての機能限界寿命の2つに大きく分けられます。

ゴム・プラスチックは利便さと耐久性の向上のために、あらゆる製品に部品として、また主材として使われるようになりました。しかし、無機材料や金属材料と比べて、歴史は浅く信頼性の点ではまだ問題が残ります。どこまで信頼性、安全性を保てるかを把握することこそ、真の寿命の決定といえるでしょう。

寿命を語る場合、ページ数が限られた紙面の中では不可能に近いので、もし読者の中に少しでも興味があるなら polyfile.2009.4 月号 P18 ～を参照していただきたい。

4. 長寿命化の取り組み

ーゴム・プラスチックを安全に 50 年間使用することが望まれている工業部門ー

1995 年 7 月より PL 法（Product・Liability：製造物責任）が我が国で初めて施行されました。PL 法は製造業者等が製品をユーザーに引き渡してから 10 年を経過した時、時効にかかる旨を規定しています。すなわち 10 年間を保証期間といえます。しかし我が国での最近の一般の自動車の寿命は約 15 万 km、使用期間にして 10 ～ 15 年といわれています。また、家電製品は性能から推し計ると商品寿命（機能性が古くなる）は、製品の機能性向上が甚だしいため、せいぜい数年です。このような工業部門に 50 年という長期耐久性を付与することは無駄であり、まさに過剰品質管理といえるでしょう。

ところが最近建築設備関係でのゴム・プラスチックの、需要が著しい土木建設関係では長期耐久性・向上がさげばれ、200 年住宅（200 年間保持するものを作ろう）、一般ビルでは 50 年間は使用可能にしようというキャンペーンが張られています。しかし建屋自体は、最低条件さえ整っていれば 200 年は保存可能だが、水廻り、上水、下水等、水に接している部材は過酷な条件であるため、かなり耐久性が劣り、現実には 200 年可能にするためには、上水、下水等の水劣化を気にする必要があります。

4.1 水と接触する汎用ゴム・プラスチックに劣化を生じさせないためには

フッ素樹脂、フッ素ゴム系は C-F 間の結合エネルギーが極めて高いため、様々な劣化因子に耐えられますが、一方で非常に高価です。そのため従来から使用されている廉価で汎用性の高いポリマーに対して、長期耐久性を付加させる必要があります。

ゴム・プラスチックの劣化は、使用中に存在する複数の劣化要因が相乗効果を生みながら、ポリマーの分子構造の弱い部分より開始されます。一般には二重結合の隣の隣が電子密度の関係から水素結合が反応の開始点になり、ラジカルが生じ、酸素を介しながら化学反応が継続します。その際の反応機構として架橋反応が優先されれば固く脆くなります。低分子反応が優先されればベタベタしてきます。このような劣化反応を、制御・抑制するためには、用途に応じ、多種多様な添加剤が用いられています。とりわけ重要なのが酸化防止剤です。

使用中においては、不特定多数の劣化因子が複合的にポリマーにダメージを与えることから、より劣

化が激しくなる傾向にあります。例えば、図4に示すように水に接触している加硫ゴムは老化防止剤が成形品より水の影響で離脱します。この現象は空気中での使用よりはるかに速く、特に酸化防止剤が成形品より消滅することは、即、劣化のダメージを受ける状態に入り、続いて酸化劣化、同時に物性の低下を伴うことを意味し、寿命に大きな影響を及ぼします。筆者の属する化学物質評価研究機構ではゴム・プラスチック・繊維・金属等に生ずる事故解析を日常業務として行っていますが、事故発生品を分析するとほとんど酸化防止剤は失われており、その結果成形品全体の物性の低下、破壊等のトラブルが生じています。

すなわちゴム・プラスチックを安全に50年使用するためには、ポリマー中に含まれる酸化防止剤の減少をできるだけ防いでやれば、確実に機能性を失わないまま安全に、実使用可能と考えてよいでしょう。では、どうしたら酸化防止剤を過酷な条件価下で使用できるのでしょうか。

4.2 酸化防止剤の減少を防ぐには ー酸化防止剤自身の分子量の影響ー

ゴムやプラスチック、特に加硫ゴムの場合はプラスチックと比べブルーム現象が著しく生じます。これはポリマー中に添加し、均一にブレンドした添加剤が少しずつ成形品表面に析出してくる現象で、ゴム分子鎖の分子運動（ミクロブラウン運動・マクロブラウン運動）によっても運ばれます。これらの

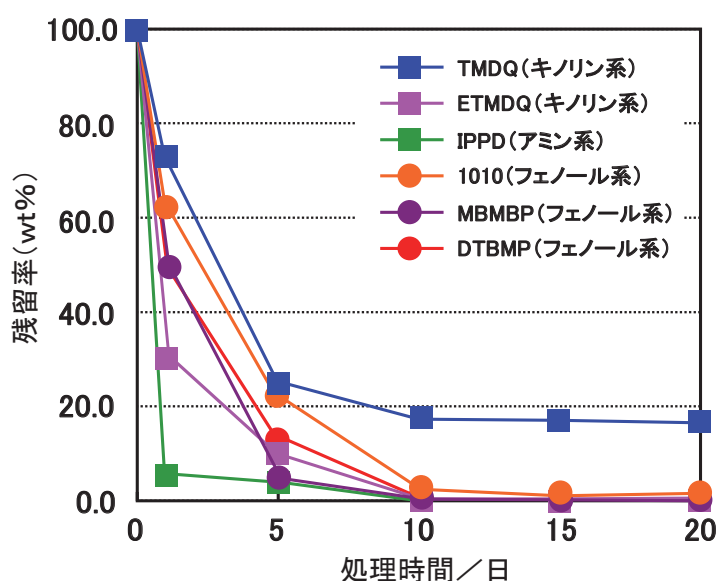
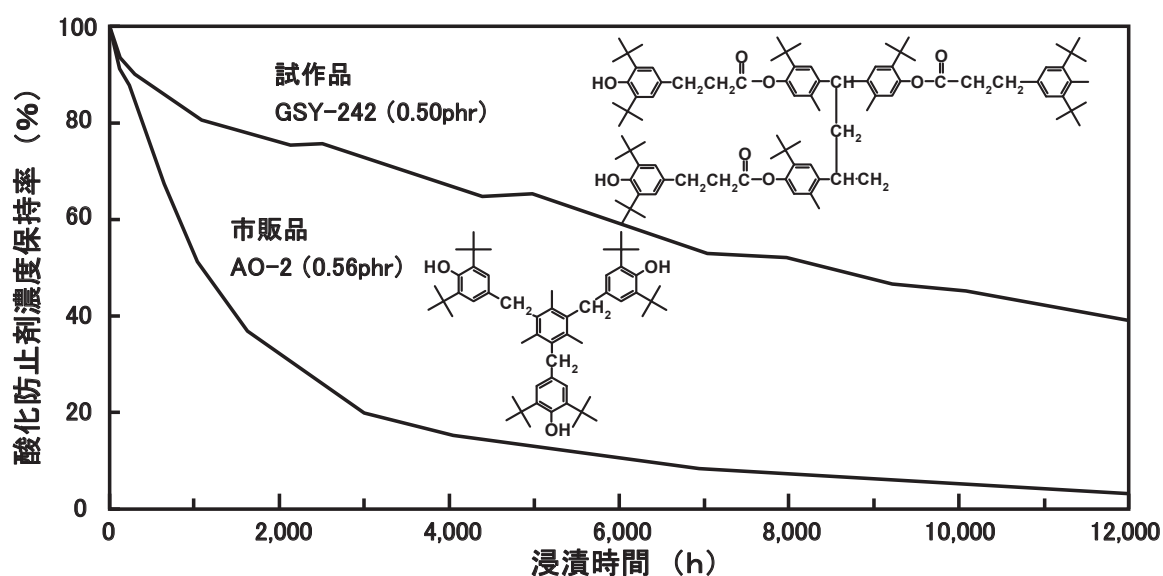


図4 80℃の残留塩素水溶液中での酸化防止剤の残存率



PP 0.5mm シート 90℃蒸留水中浸漬処理
フェノール性水酸基赤外吸収強度追跡

図5 水中浸漬ポリプロピレン中の酸化防止剤残存量

現象はゴム中の添加された添加剤自身の分子量、更に添加剤の極性基の有無 SP (Solubility parameter) 等が影響してきます。

添加剤としては比較的、分子量の大きいイルガノックス 1010 や多量体でポリマー化されている TMD polymer of 2,2,4,4-tetramethyl-1,2-dihydroquinoline は移行性が低く、また、高分子量の酸化防止剤を添加した場合には低分子量のものより移行による溶出が抑制できます。すなわち同じ分子構造を有しているならば、分子量の大きい方が流出量が少なく、それだけ成形材中に長く滞在することになります。図 5 に水中浸漬 PP 中の酸化防止剤残存量を示します。もちろん製品として使用中に様々な劣化ダメージを受け、その酸化防止剤本来の働きをするため、ダメージの受け方によっては消費がはるかに流出分より多いことも多々あります。

5. おわりに

ゴムは最も劣化し易い材料であり、ユーザーからは極力ゴムを使用したくないというあきらめに似た言葉を聞くことも多くありますが、そんなことはありません。工夫をすれば長寿命化は可能です。ゴム・プラスチックでお困りの方はぜひ御一報を。

参考文献

本論文は大武義人, 化学工学 (Chemical Engineering of Japan), Vol. 79, No.5, 2015 (P362 ~ 366) を参考にしました。

技術情報

***L-column3* を用いたアプリケーションの紹介 —アルカリ性移動相の有用性—**

東京事業所クロマト技術部 中野 裕太

1. はじめに

シリカゲル系逆相カラムは、高速液体クロマトグラフィー分析において最も汎用されています。しかしながら、アルカリ性移動相を用いるとシリカゲルを基材に用いたカラムは簡単に侵食されてしまい、カラム性能が著しく低下します。そのため、使用可能な pH 範囲が大きく制限されていました。そこで、本機構では pH 1 ~ pH 12 まで使用可能な新規 C18 カラム：*L-column3* を開発しました。これにより、移動相の選択肢が広くなりアルカリ性移動相を用いることができるようになりました。アルカリ性移動相を用いることで、塩基性物質の解離を抑えた状態で分析できるので、十分な保持が期待できます。また、LC/MS/MS 分析においても感度の向上が期待できます。本稿では、*L-column3* を用いたアルカリ性移動相の有用性について紹介します。

2. *L-column3* を用いたアプリケーションの紹介

2.1 イオン性化合物の分析

L-column3 は、非常に幅広い pH 領域でメソッド設計が可能なことから、イオン性化合物の分析に対してその性能を十分に発揮することができます。イオン性化合物は移動相の pH によって解離状態及び

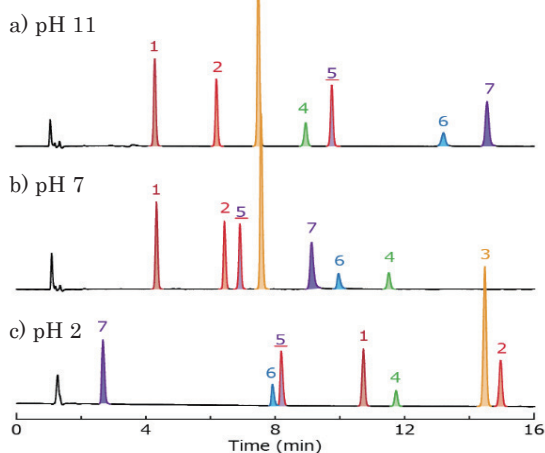
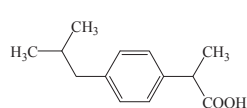
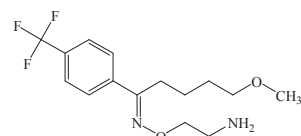


図1 *L-column3* を用いた移動相の pH によるイオン性化合物の分離パターン変化



2. イブプロフェン



6. フルボキサミン

【分析条件】

カラム: *L-column3 C18* 5 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm

移動相: A: CH₃CN

B: 25 mM Phosphate buffer (pH 2、pH 7 及び pH 11)

A/B: 20/80-70/30 (0-20 min)

流速: 0.3 mL/min、カラム温度: 40°C

試料: 1. ケトプロフェン (酸性)
2. イブプロフェン (酸性)
3. インドメタシン (酸性)
4. イソブチルパラベン (弱酸性)
5. フェキシフェナジン (両性)
6. フルボキサミン (塩基性)
7. トリプロジン (塩基性)

注入量: 1 μ L

非解離状態が変化し、保持が大きく変化します。そのため、移動相の pH 変化が分離改善に大きく寄与します。図1では、各 pH (pH 2、pH 7 及び pH 11) の移動相によるイオン性化合物の分離パターンを示します。

塩基性物質であるフルボキサミンの pKa は 9.2 であることから、pH 2 及び pH 7 の移動相ではほぼ解離しているので保持時間が短くなりますが、pH 11 の移動相では解離が抑えられた状態になることから、保持時間が長くなります。酸性物質では、塩基性物質と逆の傾向となります。このような挙動は、他の塩基性物質及び酸性物質でも同様の傾向が見られました。以上のことから、*L-column3* は移動相の pH に制約されることなく、目的に応じた分析条件を選択することができます。

2.2 LC/MS/MS を用いた農薬成分の一斉分析

LC/MS/MS を用いた食品中の残留農薬の分析は、移動相に酢酸アンモニウム溶液及びメタノールを使用したグラジエント分析法が公定法になっています。そこで、中性の酢酸アンモニウム溶液をアルカリ性のアンモニア水に変更し、農薬成分の分離挙動や感度を比較しました (図2)。

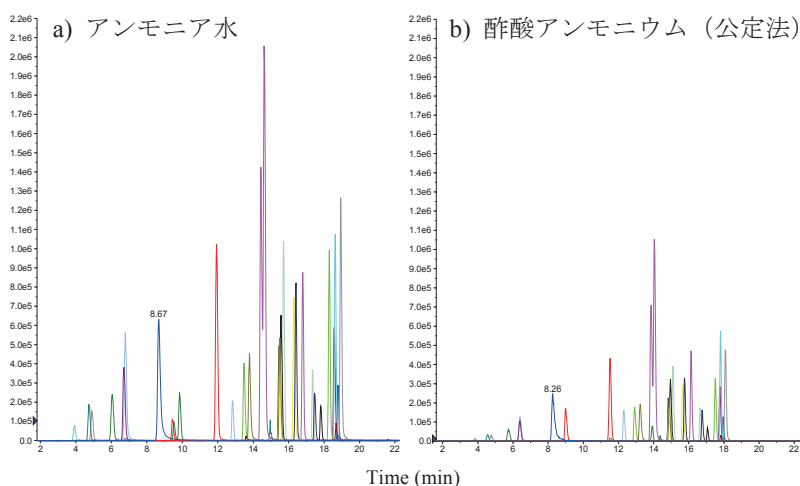


図2 移動相の違いによる農薬成分の分離挙動及び感度の比較

【分析条件】

カラム: *L-column3 C18* 3 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm

移動相: a) アンモニア水

A: 5 mM NH₄OH in H₂O

B: 5 mM NH₄OH in CH₃OH

b) 酢酸アンモニウム

A: 5 mM CH₃COONH₄ in H₂O

B: 5 mM CH₃COONH₄ in CH₃OH

A/B: 85/15-60/40-60/40-50/50-

45/55-5/95-5/95

(0-1-3.5-6-8-17.5-30 min)

流速: 0.2 mL/min、カラム温度: 40°C

注入量: 5 μ L

検出: ESI-MS/MS(+)

移動相にアンモニア水を用いた結果、公定法よりも成分間の分離を改善することができました。感度は平均で2～3倍向上しました。その他の農薬混合標準溶液についても同様に分析した結果、約200成分中190成分で感度の向上が認められました。これにより、食品中に残留する微量な農薬成分について、更に高感度に検出できる可能性があります。

3. おわりに

*L-column3*は使用可能なpH範囲が広いので、移動相を自由に選択することができます。そのため、今回紹介したような分析では、アルカリ性移動相を用いることで分離挙動を大きく変化させることができます。ほとんどの成分の感度を向上させることができます。ご興味をお持ちの方は是非お問い合わせください。また、今回紹介した新製品の*L-column3*以外にも内面に金属を使用していないメタルフリーカラムなど特長的なカラムも販売しております。本機構では、これからもユーザーの皆様の要望に応えるよう、クロマトグラフィー用カラムの開発を行ってまいります。

6月に開催する本機構研究発表会において、本稿では紹介しきれなかった*L-column3*の更なる活用方法について紹介します。

イソシアネートにおける各種動物実験代替法の 組み合わせによる皮膚感作性評価の適用性の検討

安全性評価技術研究所 大竹 利率

1. はじめに

皮膚感作性は、化学物質に対するアレルギー反応であり、一度発症すると長期にわたって現れることが多く、日常生活への影響が大きいため、化学物質の皮膚感作性を評価することは健康的な社会生活を送るために重要です。従来、皮膚感作性の評価にはマウスを用いた局所リンパ節増殖試験(LLNA)などの動物実験が行われてきました。しかし、近年は、動物福祉の観点から動物実験に対する規制が厳しくなっているため、動物を用いない代替法が注目されています。経済協力開発機構(OECD)でテストガイドライン(TG)化された各種代替法は、皮膚感作成立過程の一部の機序しか評価できていないことから動物実験を完全に代替することは難しく、複数の代替法を組み合わせた統合試験体系が推奨されています。

ポリウレタンの原料であるイソシアネート類は、生体分子との反応性が非常に高いNCO基を有する化合物群であり、職業性アレルギーの原因物質の一つとして知られていますが¹⁾、皮膚感作性に関して、代替法を用いて評価した報告例が少ないのが現状でした。そこで本研究では、各種代替法の組み合わせ評価(ITS)を用いてイソシアネート類の皮膚感作性を評価しました。さらに、LLNA(OECD TG429)の結果と比較することで、イソシアネート類に対する代替法の適用性を検討しました。

2. 方法

工業的に主要な9種のイソシアネート類(toluene 2,4-diisocyanate [TDI]、methylenediphenyl 4,4'-diisocyanate [MDI]、hexamethylene diisocyanate [HDI]、isophorone diisocyanate [IPDI]、1,5-diisocyanatonaphthalene [NDI]、*m*-xylylene diisocyanate [XDI]、dicyclohexylmethane 4,4'-diisocyanate [HMDI]、2-isocyanatoethyl acrylate [AOI] 及び 2-isocyanatoethyl methacrylate [MOI])を試験に用いました。ITSはTakenouchiらの方法²⁾に従い、表1に示した基準を用いて定量的構

表 1 ITS における各種代替法結果のスコア換算基準

スコア	Derek Nexus	DPRA (平均減少率、%)	h-CLAT (MIT、 $\mu\text{g/mL}$)
0	陰性	< 6.376	Not calculated
1	陽性	≥ 6.376 、 < 22.62	> 150 、 ≤ 5000
2	設定なし	≥ 22.62 、 < 42.47	> 10 、 ≤ 150
3	設定なし	≥ 42.47	≤ 10

平均減少率：被験物質と 2 種の合成ペプチドを混合し、24 時間反応させた後の各ペプチド減少率の平均値

MIT：h-CLAT で陽性と判定される最小被験物質濃度

造活性相関 (QSAR) 予測ツールである Derek Nexus、代替法である DPRA (OECD TG442C) 及び h-CLAT (OECD TG442E) の各結果をスコア化しました。合計スコアが 2～7 の場合を陽性と判定し、さらに、被験物質の感作性強度を Weak (2～6) 又は Strong (7) に分類しました。

3. 結果と考察

3.1 各種代替法の評価結果

各種代替法及び LLNA の評価結果を表 2 にまとめました。9 種のイソシアネート類はいずれも Derek Nexus 及び DPRA で陽性と判定され、これらの結果は LLNA と一致しました。一方、h-CLAT では、媒体に溶解せず実施不能であった NDI を除く 8 種のうち 7 種が陽性と判定されましたが、HDI は陰性と判定されました。ただし、HDI は無血清培地を用いて再評価したところ、陽性と判定されたことから偽陰性の原因はイソシアネート基と培地中のタンパク質との反応に起因するものと推察されました。

表 2 各種代替法の評価結果まとめ

化合物	ITS									LLNA	
	Derek Nexus		DPRA		h-CLAT		合計 スコア	判定	感作性 強度	LLNA (EC3)	感作性 強度
	判定	スコア	判定 (減少率)	スコア	判定 (MIT)	スコア					
TDI	P	1	P(55.2)	3	P(127.9)	2	6	P	Weak	P(0.02)	Extreme
MIDI	P	1	P(52.8)	3	P(71.5)	2	6	P	Weak	P(0.02)	Extreme
HDI	P	1	P(54.6)	3	N	0	4	P	Weak	P(0.005)	Extreme
IPDI	P	1	P(63.1)	3	P(17.4)	2	6	P	Weak	P(0.01)	Extreme
NDI	P	1	P(60.3)	3	適用不可		4	P	Weak	P(0.01)	Extreme
XDI	P	1	P(66.9)	3	P(62.7)	2	6	P	Weak	P(0.01)	Extreme
HMDI	P	1	P(56.4)	3	P(5.7)	3	7	P	Strong	P(0.06)	Extreme
AOI	P	1	P(81.0)	3	P(12.6)	2	6	P	Weak	P(0.02)	Extreme
MOI	P	1	P(60.0)	3	P(78.1)	2	6	P	Weak	P(0.05)	Extreme

P：陽性、N：陰性、EC3：LLNA で陽性と判定される最小被験物質濃度

減少率及び EC3 の単位は %、MIT の単位は $\mu\text{g/mL}$

3.2 ITSによる感作性強度予測

表2に示したように、ITSによる合計スコアは4～7となり9種全て陽性と判定され、LLNAの結果と一致しました。しかしながら、皮膚感作性強度判定においては、LLNAでは全てExtremeに分類されたものの、ITSでStrongに分類されたHMDI以外の8種はWeakに分類されました。イソシアネート類のITSによる感作性強度判定での過小評価はh-CLATにおけるスコアの低値が原因となっていました。h-CLATでは、イソシアネート基が培地中の水及びタンパク質と反応し、細胞にばく露されるイソシアネート基の濃度が減少したことでMITが大きくなり、結果としてスコア値が低くなったと考えられました。

以上のことから、*in vitro* 試験を含むITSによる皮膚感作性定性評価はイソシアネート類のような反応性が高い物質でも適用可能でありましたが、感作性強度結果の解釈には注意を要することが示唆されました。

4. おわりに

本研究で得られた、高反応性化合物における各種皮膚感作性代替法の適用性に関する知見の詳細は学術雑誌でもご覧いただけます³⁾。この成果は複数の代替法を組み合わせた評価体系を構築する際の参考データとして広く活用され、今後の国際的な皮膚感作性代替法の発展に貢献できると考えられます。

本機構は皮膚感作性に関する基礎研究、試験法開発を通して豊富な知識・高度な技術を保有しています。皮膚感作性評価における試験設計、結果の解釈に至るまでコンサルテーションを含めた対応も可能です。皮膚感作性評価を検討される場合には、化学物質の感作性評価において豊富な知識と経験を有する本機構に是非ご相談ください。

本研究成果は、6月に開催する本機構研究発表会でも発表いたします。

参考文献

- 1) Redlich, C. A., 2010. Proc. Am. Thorac. Soc. 7, 134-137.
- 2) Takenouchi, O. et al., 2015. J. Appl. Toxicol. 35, 1318-1332.
- 3) Ohtake, T., et al., 2018. Toxicology 393, 9-14.

基幹比較（プロパン標準ガス）について

東京事業所化学標準部 上原 伸二

1. はじめに

本機構は計量法トレーサビリティ制度（JCSS）において、経済産業大臣から指定をうけて、濃度（標準ガス及び標準液）の分野における指定校正機関になっています。また国立研究開発法人産業技術総合研究所から、指名計量標準機関（DI）として指名を受け、標準ガスの国際的な基幹比較に参加しています。本稿では、本機構が参加した最新のプロパン標準ガスの基幹比較について紹介します。

2. 基幹比較について

JIS Q17025（試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項）で認定された機関は、技能試験に参加し、技術能力を証明することが重要になりますが、国家計量標準機関（NMI）及びDIは、基幹比較に参加して、校正能力及び測定能力を証明することが重要になります。また基幹比較は、国家計量標準

間の整合性を確認する上で重要な比較になります。

基幹比較には、国際度量衡委員会（CIPM）の下で実施される世界規模の比較及び地域計量組織（RMO）の下で実施される比較があります。通常、CIPM の基幹比較に参加した機関が、RMO で幹事機関になり基幹比較を実施します。このように比較することによって、より多くの国家計量標準の整合性を明らかにすることができます。これらの比較の結果は、各国家計量標準を、国際度量衡局（BIPM）が管理する校正能力及び測定能力に関するデータベースに登録する際に利用されます。本機構はプロパン標準ガスに関して CIPM の基幹比較に参加し、日本が所属するアジア太平洋計量計画（APMP）の基幹比較を幹事機関として実施しました（図 1）。

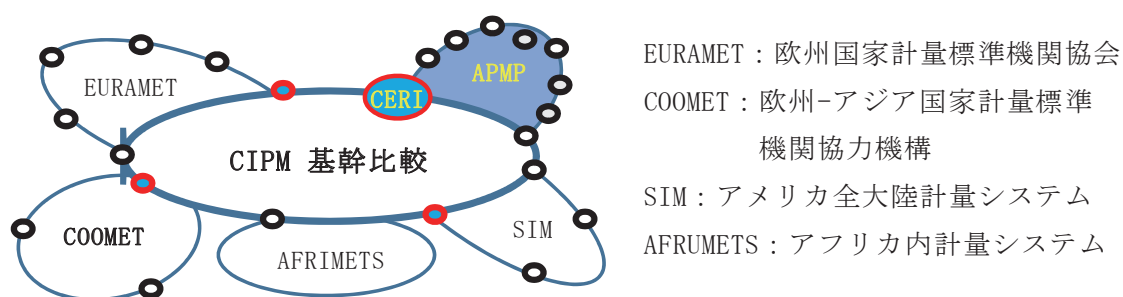
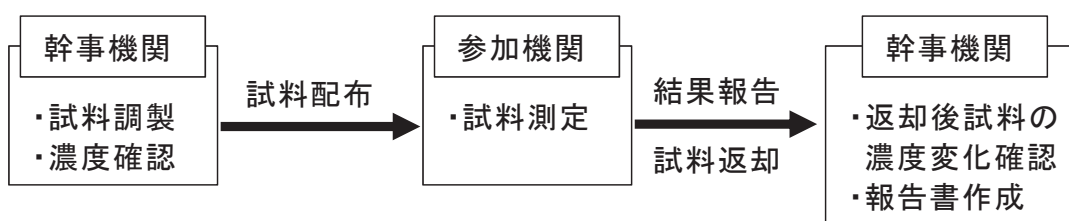


図 1 基幹比較のスキーム

3. CIPM のプロパン標準ガスの基幹比較（識別記号番号：CCQM-K111）

目的は参加機関の測定能力の比較であり、測定対象量は窒素を希釈ガスとする $1000 \mu\text{mol/mol}$ プロパンで、VSL が幹事機関となり、8 機関¹⁾ が参加して行われました。比較は次の手順で行われ、結果は図 2 のようになりました。



横軸が参加機関、縦軸が参照値（幹事機関の調製濃度）と参加機関の測定値の差、エラーバーは不確かさの大きさを表しています。NMISA 以外の機関の結果は、概ね参照値と一致していました。NMISA の結果に関して調査したところ、測定に使用した標準ガスの調製に用いた原料中の不純物が多いことが原因と推測されました。

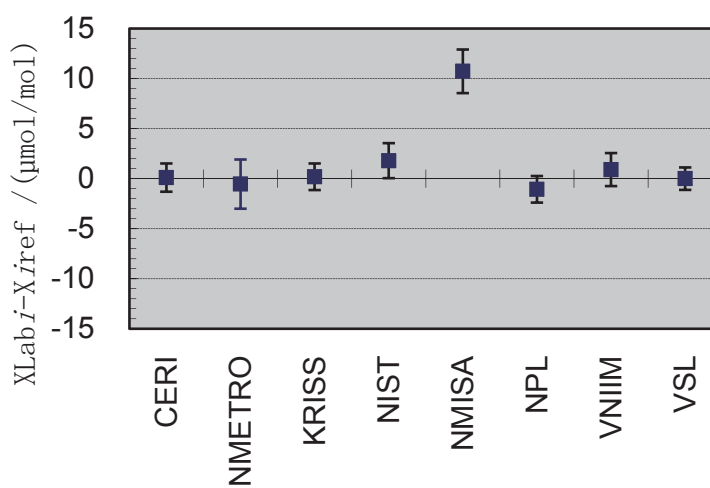


図 2 CCQM-K111 の結果³⁾

4. APMP のプロパン標準ガスの基幹比較（識別記号番号：APMP.QM-K111）

目的、測定対象量及び比較の手順は、CIPM の基幹比較と同じです。本機構が幹事機関となり、9 機関²⁾ が参加して行われました。結果は図3のようになりました。NML SIRIM 以外の結果は、概ね参照値と一致していました。NML SIRIM の結果に関して調査したところ、測定に使用した標準ガスは、プロパン以外の成分も含む多成分混合標準ガスで、これらの成分が測定に影響を与えていたことが分かりました。

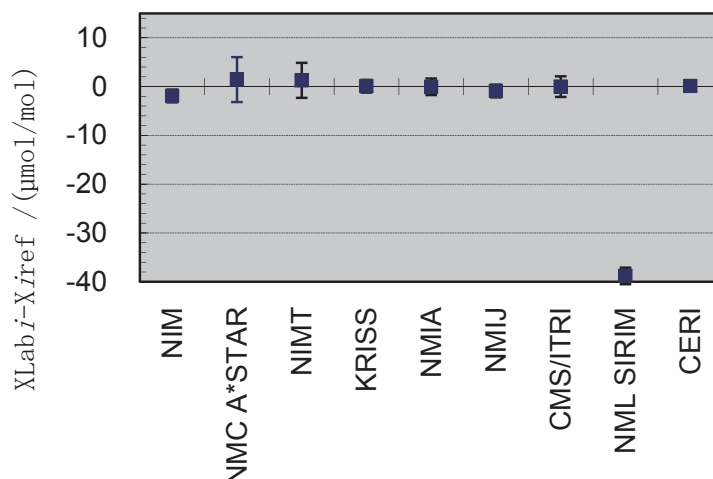


図3 APMP.QM-K111 の結果⁴⁾

5. おわりに

今回の基幹比較における本機構の結果が、アジア地域と他の地域の標準ガスの整合性を示す上で、重要な役割を果たすことができました。また、これらの結果から、NMI のような高度な技術を有する機関であったとしても、信頼性を確保するためには、このような比較に参加することが重要であり、不適切な結果が出た場合には、原因を追究し改善する必要があるといえます。

本機構では JCSS 標準ガスが供給されている範囲に関して、継続的に基幹比較に参加し、良好な結果を残してきました。そのため、本機構の標準ガス（特定標準ガス）は、国際的にも信頼性が高いといえます。このような信頼性の高い標準ガスをトレーサブルソースとした切れ目のない校正の連鎖によって、JCSS 標準ガスの信頼性も確保されています。

本機構は、これからも関係機関、登録事業者等と協力し、信頼性の高い JCSS 標準物質の供給に貢献してまいります。

<参加機関の略称と所属国等>

- 1) CCQM-K111 INMETRO：ブラジル、KRISS：韓国、NIST：アメリカ、NMISA：南アフリカ、NPL：英国、VNIIM：ロシア、VSL：オランダ
- 2) APMP.QM-K111 NIM：中国、NMC A*STAR：シンガポール、NIMT：タイ、KRISS：韓国、NMIA：オーストラリア、NMIJ：日本（国立研究開発法人産業技術総合研究所 計量標準総合センター）、CMS/ITRI：台湾、NML SIRIM：マレーシア

<参考文献及び出典>

- 3) Adriaan M.H. van der Veen: International Comparison CCQM-K111- Propane in nitrogen, Metrologia, 2017, 54, Tech. Suppl., 08009
- 4) 上原伸二：プロパンの国際比較（CCQM-K111 及び APMP.QM-K111）, 平成 29 年度標準ガスクラブ講演会

本機構の活動から

平成 30 年度 CERI 公募型研究助成

本機構の研究支援事業である平成 30 年度 CERI 公募型研究助成に多数のご応募ありがとうございました。研究助成審査委員会において慎重に審査を行い、次の 3 題を採択しました。この授与式を 6 月 8 日開催の第 23 回化学物質評価研究機構研究発表会において行います。

研究者：山田 美穂氏（昭和大学 医学部 法医学講座 助教）

研究題目：「メタルフリー HPLC-MS/MS によるヒト涙液中 TS-1 成分の高精度かつ高感度分析法の確立」

研究者：堀江 好文氏（秋田県立大学 生物資源科学部 助教）

研究題目：「汽水・海産メダカを用いた新たな生態毒性試験法の開発に向けた基盤的研究」

研究者：片島 拓弥氏（大阪大学 大学院理学研究科 助教）

研究題目：「高分子ゲルの動的セグメントサイズと破壊挙動」

お知らせ

平成 30 年度 CERI 寄付講座

本機構は、化学物質等、製品の評価、管理技術の発展に貢献できる人材を育成することを目的に寄付講座を開設しています。平成 30 年度も九州大学及び東京工業大学において寄付講座を開講いたします。カリキュラム等の詳細は、開講日近くになりましたら本機構ホームページ等でご案内いたします。興味のある方は是非この機会にご受講ください。

☆ 九州大学

平成 24 年度から九州大学大学院工学研究院応用化学部門のご協力のもと、CERI 寄付講座を開設しています。平成 30 年度は「先端分子材料科学 ～設計、構造・物性から機能化まで～」と題して講座を開設いたします。

本講座では、九州大学大学院工学研究院応用化学部門・先導物質化学研究所の先生方を中心に、有機化学、無機化学、高分子化学等の分子材料創製や環境・材料分析等について解説し、最先端材料の基礎的な知識と技術について講義していただきます。

また、九州大学大学院工学研究院応用化学部門では、環境に調和した豊かな人間生活を実現する未来都市の創出を目的に、企業及び化学関係の研究者が広く集えるコンソーシアムを設立し、社会的に要望の高い未来化学技術の開発及び実証を行っており、この寄付講座を通してシーズの発信や情報交換等を

行う予定になっています。

講座名：先端分子材料科学 ～設計、構造・物性から機能化まで～

前期：平成 30 年 5 月 26 日～7 月 7 日 全 14 回

後期：平成 30 年 10 月 6 日～11 月 24 日 全 14 回

講義時間：13：00～14：30、14：40～16：10（90 分／回）

☆ 東京工業大学

平成 27 年度から東京工業大学物理工学院のご協力のもと、CERI 寄付講座を開設しています。平成 30 年度は「ゴム・プラスチックの安全、安心 –身の回りから先端材料まで–」と題して講座を開設いたします。

本講座では、広く社会に浸透し私たちの身の回りにある化学品を含むプラスチックやゴムとその関連製品の安全・安心を取り上げ、それらに関する情報とやさしい科学を紹介し、正しい知識を広く一般の方に紹介します。また、学生を含む専門家に対しては、最先端の安全性評価技術、劣化と寿命予測技術、耐性向上技術、更には高性能・高強度化技術・材料に関する科学を紹介し、将来の安心・安全な材料の設計の基礎を学んでいただきます。

講座名：ゴム・プラスチックの安全、安心 –身の回りから先端材料まで–

前期：平成 30 年 6 月 16 日～8 月 4 日 全 14 回

後期：平成 30 年 9 月 26 日～平成 31 年 1 月 30 日 全 16 回

講義時間：前期 13：20～14：50、15：05～16：35（90 分／回）

後期 10：45～12：15（90 分／回）

第 23 回化学物質評価研究機構研究発表会のご案内

第 23 回本機構研究発表会を次のとおり開催いたします。

お忙しい折とは存じますが、是非ご参加くださいますようご案内申し上げます。

主 催：一般財団法人化学物質評価研究機構

後 援：経済産業省

開催日時：平成 30 年 6 月 8 日（金）14 時 00 分から

開催場所：経団連会館 2 階「国際会議場」（東京都千代田区大手町 1 - 3 - 2）

参 加 費：無料（資料付）

プログラム：14：00 開会挨拶

理事長 細川 幹夫

14：05 基調講演 化学物質の安全管理政策 経済産業省の取組について（仮題）

経済産業省製造産業局化学物質管理課長 宮本 岩男氏

14：35 研究発表 1 化学物質審査規制法の生分解性試験に関する研究

～新試験法（301F）を用いる生分解性評価～

久留米事業所 鍋岡 良介

15：00 研究発表 2 イソシアネートにおける各種動物実験代替法の組み合わせによる

皮膚感作性評価の適用性の検討

安全性評価技術研究所 大竹 利幸

15：25 研究発表 3 シリカ分散状態が異なるゴムの加工性及び物理的特性評価

東京事業所 町田 悟史

15：50 休 憩

16：10 授与式 平成 30 年度 CERI 公募型研究助成

16：20 技術報告 1) JCSS 標準物質の供給体系とその信頼性確保について 化学標準部門 上野 博子

2) pH1 から pH12 まで使用可能な HPLC カラム ～ L-column3 の開発～

クロマト技術部門 坂牧 寛

3) 化学製品中の不純物分析

環境技術部門 和田 丈晴

4) 製品中の含有化学物質の健康リスク評価

安全性評価技術研究所 片桐 律子

5) 医用材料の溶出物・浸出物（Extractables & Leachables）試験

高分子技術部門 三輪 怜史

6) 医療機器 GLP 対応の細胞毒性試験

化学物質安全部門 藤島 沙織

17：20 閉 会

17：30～18：30 懇親会

申込方法：本機構ホームページの専用フォームからお申込みください。

URL <http://www.cerij.or.jp/>

申込締切：平成 30 年 5 月 31 日（木）

各事業所連絡先

●東京事業所

Tel：0480-37-2601 Fax：0480-37-2521
（高分子、環境、標準、クロマト、評価研）

●名古屋事業所

Tel：052-761-1185 Fax：052-762-6055

●大阪事業所

Tel：06-6744-2022 Fax：06-6744-2052

●化学物質安全センター

Tel：03-5804-6134 Fax：03-5804-6140

●久留米事業所

Tel：0942-34-1500 Fax：0942-39-6804

●日田事業所

Tel：0973-24-7211 Fax：0973-23-9800

●安全性評価技術研究所

Tel：03-5804-6135 Fax：03-5804-6139

編 集 後 記

CERI NEWS 第 85 号をお届けします。巻頭言は「AI を生分解性評価に活用する」と題して、静岡大学大学院 金原和秀教授にご執筆いただきました。誠にありがとうございます。

本機構では 6 月 8 日に第 23 回化学物質評価研究機構研究発表会を開催いたします。本号に掲載した内容の一部も研究成果発表や技術報告でご紹介いたします。お忙しい折とは存じますが、多くの方々のご参加をお待ち申し上げます。

（企画部 宮田 良太）

<http://www.cerij.or.jp>

CERI NEWS

発行日 平成 30 年 4 月

編集発行 一般財団法人化学物質評価研究機構 企画部

〒112-0004 東京都文京区後楽 1-4-25 日教販ビル 7F

Tel:03-5804-6132 Fax:03-5804-6139 E-mail : cerinews@ceri.jp