

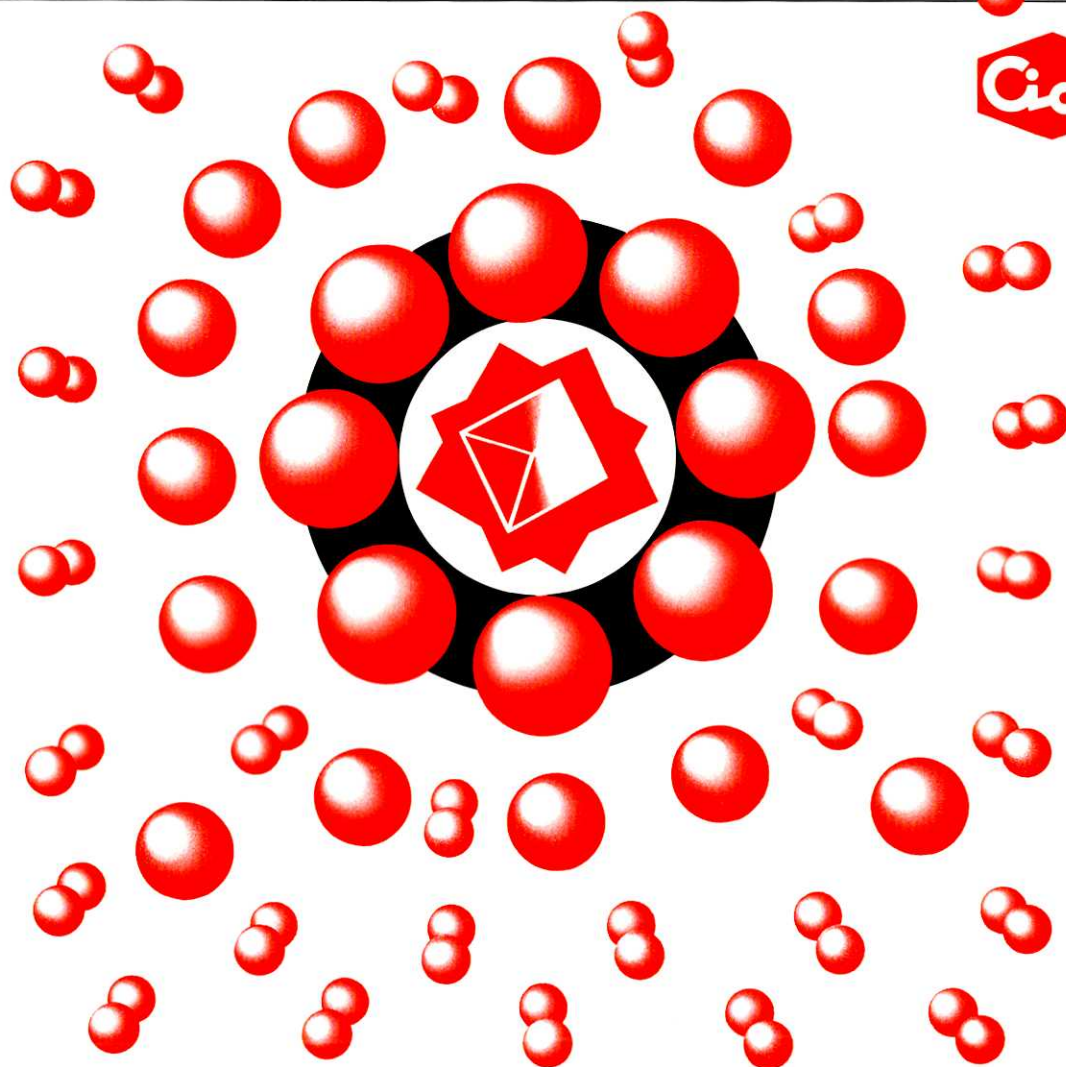
THE

ISSN 0285-2446

KANTO CHEMICAL CO., INC.

2002 No.4 (通巻186号)

CHEMICAL TIMES



目 次

CIPM (国際度量衡委員会) CCQM (物質計量諮問委員会) における標準物質	中 村 進	2
— 国際的に認められうる分析値とするために —		
遺伝子情報を医薬品へ (その 8)	坂 田 恒 昭	6
海外のバイオクラスター (1) メディコンバレー		
求電子的フッ素化剤: MEC-31 & MEC-01 シリーズ	足 達 健 二	9
こんなにも似ていたクロマトグラフィーとマラソン	岩 瀬 廣	13
ISO 17025 試験所認定制度と分析の不確かさ	井 上 達 也	20

編集後記		24
------	--	----

CIPM(国際度量衡委員会)CCQM(物質質量諮問委員会)における標準物質 —国際的に認められうる分析値とするために—

独立行政法人 産業技術総合研究所 計測標準研究部門 主任研究員 中 村 進

1. はじめに

我々は、多くの人に信頼されうる分析値を得るために化学分析を行っている。実際に信頼される分析値を得るためには、多くの解決すべき要因が存在する。これを積極的に解決する方法として標準物質の使用がある。しかし、その標準物質も認証を与える組織により、その信頼性は異なる。たとえば、日本工業規格(JIS)は日本国内では、多大な影響力を持っていることは疑いないが、一步日本国の外に出ると、その影響力は少ない。そこで、国際的に信頼されうる分析値を得るためには、国際的に影響力を持った標準物質を使用する必要がある。ここでは、その一つと考えられるCIPM(国際度量衡委員会)CCQM(物質質量諮問委員会)が認証する標準物質を紹介する。

2. トレーサビリティとは

濃度などの化学標準の信頼性を考える前に、長さや質量、温度などの物理標準の信頼性を考える。長さの信頼性はどのように評価されるのだろうか？長さのSI unitと同等と国際的に認められる物差しを用いて測定対象物に当て、数値を読みとることでその長さは評価される。すなわちその信頼性は、使用する物差しのSI unitに対する正確さと物体に当てる技術に依存する。濃度の信頼性も同様である。測定する試料と組成の近いものでSI unitと同等と国際的に認められた標準物質を用い、測定試料と同様の操作を行い結果を得る。この結果から分析方法と分析技術の信頼性評価を行い、測定試料の濃度を評価する。

では、SI unitと同等と国際的に認められるものとは、どのようなことであろうか？

長さや質量などの物理量においては、市販の物差しや分銅がSI unitと同等と国際的に認められている。それは、物差しや分銅の示す値は国家計量標準(日本の場合は、産業技術総合研究所計量標準センター)で保証され(トレーサビリティ)、その値はメートル条約によって国際的なCIPM(国際度量衡委員会)で各国の標準研究所の値とつながっているからである(図1,2)。従って、日本の東

京で測定した1 mの棒や1 kgの質量はフランスのパリや世界中のどこでも同様に1 m, 1 kgである。

Fig. 1 Traceability system for Physical and Chemical standards

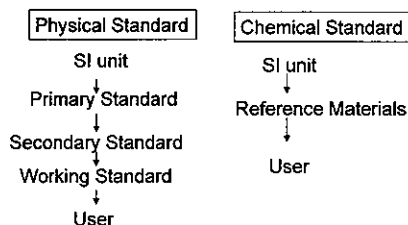
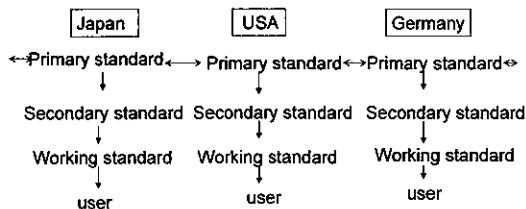


Fig. 2 CIPM system



3. 化学標準におけるトレーサビリティと前処理操作

しかし、化学(物質)量においては、話が少し異なる。多くの分析試料はその構成成分(マトリックス)が異なり、しかも分析操作も異なるために、国際機関や国家でトレーサビリティを確保するのは非常に難しい。試料に分析操作を行うたびにトレーサビリティの鎖が切れる。しかも、試料の処理方法は千差万別なので、トレーサビリティを一般的に議論するのは不可能である。たとえば、試料を酸などに溶解する場合には、そこでトレーサビリティ

イの連鎖を失う。従って、トレーサビリティを確保するためには、実験室では最初の試料と試料から調製された溶液との関係、つまり試料は完全に溶解されたか、損失は何であったか、汚染されなかったか、また一つの元素でなく化合物を定量する場合には、溶解中に化合物が変化しなかったか、などを実証しなければならない。さらに、試料処理後にその溶液をさらに予備濃縮や沈殿などの操作を加えるならば、それぞれの段階でのトレーサビリティを検討しなくてはならない。また、これらは定量すべき元素や化合物よりもマトリックスに依存することはよく知られている。このような問題を解決するために標準物質が使われる。

4. 標準物質

ISO Guide 30によれば、標準物質とは、「物質・材料の特性値を決定するための基準となる物質」であり、その定義として、"Materials or substance one or more of whose property values are sufficiently homogeneous and well established to be used for the calibration of an apparatus, the assessment of a measurement method, or for assigning values to materials"「測定装置の校正、測定方法の評価又は材料に値を付与することに用いるために一つ以上の特性値が十分に均一で、適切に確定されている材料または物質」としている。更に、特定の機関（国際機関や国の機関など）で特性値を保証する認証値の付いた標準物質としての認証標準物質も "Reference materials, accompanied by a certificate, one or more of whose property values are certified by a procedure which establishes its traceability to an accurate realization of the unit in which the property values are expressed, and for which each certified values is accompanied by an uncertainty level of confidence"「認証書の付いた標準物質で、一つ以上の特性値が、その特性値を表す単位を正確な現示へのトレーサビリティが確立された手順によって認証され、各認証値にはある表記された信頼水準での不確かさが付いているもの」と定義している。従って、認証標準物質を用いて分析値を得れば、国際的に信頼された分析値が得られることになる。

5. 認証値の認証と保持

しかし、問題はだれが標準物質の認証値を付けるのか。また、その認証値を保持させていくのはどこかである。ISOによれば、国際機関あるいは国家が認証することであるが、問題は、どの国際機関あるいは国家が、この認証値を付けているかである。化学標準に関係深い国際機

関は、国際標準化機構 (ISO: International Organization for Standardization)、国際純正応用化学連合 (IUPAC: International Union for Pure and Applied Chemistry)、国際計量法定機構 (OIML: International Organization for Metrology Legal)、国際度量衡委員会 (CIPM: International Committee of Metrology) などがある。しかし、実際には、これらの国際機関で標準物質の値を認証し、その後一定期間その認証値を保持することは不可能である。長さや質量などの物理標準においては、メートル条約に基づき各国の標準研究所がSI unitを一次標準法で決定し、その値を保持している。各国標準研究所間で組織されるCIPMでは、それぞれの標準研究所の能力をお互いに認証し、それぞれの認証値に差を生じないようにround robin testなどで、SI unitを保持している。実際には、CIPM内に諮問委員会 (CC; Consultant committee) を組織し、長さや質量のCCにおいて認証すると共に、各地域 [日本はAPMP (Asia Pacific Metrology Program) に所属している] においても同様の技術委員会 (TC; Technical committee) を組織し議論をさらに深めている。化学 (物質) 標準に対しても、CIPMではCCQM (Consultant Committee of amount of substance: 物質質量諮問委員会) をAPMPにおいてもTCQM (Technical Committee of amount of substance) を組織し議論と理解を深めている (図3.4)。

Fig. 3 CIPM Interregion

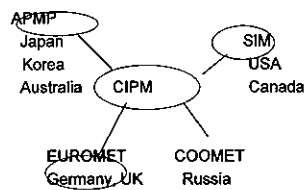
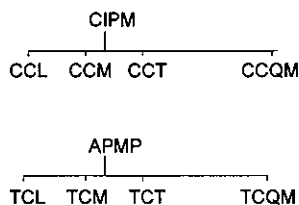


Fig. 4 CIPM and APMP



6. CCQM review meeting

2001年8月6～8日にフランスのパリで第1回目のCCQM, Interregional review of chemistry CMCs会議が行われた。この会議では、各国標準研究所の測定能力(CMC: Calibration and Measurement Capability)とその能力から生み出される認証標準物質(CRM: Certified Reference Materials)をAppendix Cに表示し、その存在を国際的に認めさせることとした。ただし、各国標準研究所の測定能力は、国際比較(Key comparison)の他に、peer reviewを各region (日本の場合はAPMP)で実施、保証することとした(図5)。このときに提出された標準物質を表1に示した。9月13日に第2回会合としてTeleconferenceが行われ約1000のCMC, CRMが承認された。2002年4月12日にフランスのパリで第3回会議が行われ更に400程度の標準物質が承認された(表1)。この中でどの程度標準

物質と組成が一致していれば標準物質としての役割が果たせるのか。また、各国の標準研究所はどこまでの整備が要求されるのかなどが問題点として残っている。しかし、今後数年以内に日本で国際的に承認された多くの認証標準物質が市販され、我々はそれを自由に手に入ることが可能になることだけは間違いない。

Fig. 5 CMC and CRM

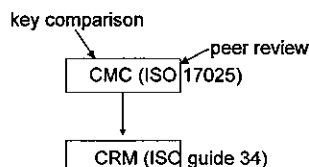


表1

Number of CMCs Submitted for Summer 2001 Interregional Review Cycle													Revised 11 Aug 2001							
(note that as currently formatted, many CMCs include >one measurement, counted were entries with unique NM identifiers)													Meas. Service Cat. and No.							
RMO	Country	Country	NMI	High Purity Chemicals 01	Inorganic Solutions 02	Organic Solutions 03	Gases 04	Water 05	pH 06	Electrolytic Conductivity 07	Metals and Metal Alloys 08	Advanced Materials 09	Biological Fluids and Materials 10	Food 11	Fuels 12	Sediments, Soils, Ores, and Particulates 13	Other Materials 14	Total		
APMP	Australia	AU	NARL	20				2						2		2		26		
APMP	China	CN	NRCCRM	8	7				6									21		
APMP	Japan	JP	NMIJ	3	19								1	0				23		
APMP	Korea	KR	KRUS		4	3			1				1	3				12		
COOMET	Russian Federation	RF	UINIM	3		1												4		
COOMET	Russian Federation	RF	VNIIFTRI		10				6	1								17		
COOMET	Russian Federation	RF	VNIM	25	29	10		1	1	3		2		5		4		80		
EUROMET	Bulgaria	BG	NCM						10	8								18		
EUROMET	Czech Republic	CZ	METROCHEM VSCHT										7					7		
EUROMET	Germany	DE	BAM	20	2	1		3			73	16	1	1	1	11	5	134		
EUROMET	Germany	DE	PTB		2			3	2	4		2	13	2		1		29		
EUROMET	Denmark	DK	DFM							2								2		
EUROMET	Denmark (European Union)	DK	DPL						6									6		
EUROMET	France	FR	IRMM	9				2					2			2		15		
EUROMET	France	FR	BNM		2			1			10			3	4	1		21		
EUROMET	Hungary	HU	OMH						7	4								11		
EUROMET	Netherlands	NL	NMI VSL					1								3		4		
EUROMET	Poland	PL	GUM						13	6								19		
EUROMET	Slovakia	SK	SMU	11	8	2			3	2							7	33		
EUROMET	United Kingdom	UK	LGC	13	2	3		2				1	1	1		1		24		
SIM	Canada	CA	NRC		0	0		30					40	0	0	32	0	102		
SIM	Mexico	MX	CENAM		28	0		7	4	1			0	2	2 deferred	1	0	43		
SIM	United States	US	NIST		73	150		21	10	3			201	122	60 deferred	213	0	793		
APMP				31	30	3	0	2	7	0	0	0	2	5	0	2	0	82		
COOMET				28	39	11	0	1	7	4	0	2	0	5	0	4	0	101		
EUROMET				53	16	6	0	12	41	26	83	19	24	7	5	19	12	323		
SIM				0	101	150	0	58	14	4	0	0	241	124	62 Deferred	246	0	938		
TOTALs				112	186	170	0	73	69	34	83	21	267	141	5	271	12	1444		

7. 標準物質の使い方

では、実際に標準物質を用いて化学分析を行う場合、どのようにすればよいのだろうか。いくつかの注意点を指摘したい。まず、測定試料とほぼ同一、もしくは近似していると思われるマトリックスの標準物質を選定する。次に、標準物質と測定試料を同時に同一操作を行い、それぞれの分析値を得る。標準物質の分析値と認証値を比較し、分析値が統計的に一致していると考えられる場合には、測定試料の分析値は正しく求められたと考えてよい。しかし、標準物質の分析値が認証値と異なるという結果になった場合には、分析手法、分析技術、装置のメンテナンス、使用した酸などの試薬、ピーカーなどの容器など、分析操作に使用したすべてをもう一度検討する必要がある(図6)。

Fig. 6 How to use CRM

1. Select a CRM with a similar composition of a sample.
2. The CRM and a sample are analyzed on the same analytical procedure and at the same time.
3. To calculate each mean value and standard deviation.
4. We check the mean value and standard deviation of CRM.
5. To compare the values obtained by CRM and the certified values of CRM.
6. If ok, obtain a value of sample.
7. If not ok, please check our method.

8. 統計処理方法

分析値が統計的に一致しているとは、具体的にどのようなことなのか？この統計処理には χ^2 関数を使用する。つまり、使用した分析方法が適切だったかとか、分析技術の腕前などは標準物質の特性値やその標準偏差と χ^2 関数で判定できる。 χ^2 関数とは平方和を母分散で割った値である。この式は

$$\chi^2 = \sum (x_i - x_m)^2 / \sigma^2$$

と表示され、母集団の分散の範囲を推定するために用いる。この値は自由度(f)に近い値を示すことが予想され、期待値はf、標準偏差は σ である。

判定には、まず測定値の精度を計算する。そして、その後真度で評価する。以下に手順を示す。

- ① まず測定値の平均値(x_m)を求める。
- ② つぎに測定の精度を評価するために、 χ_0^2 を計算する。

$$\chi_0^2 = \sum (x_i - x_m)^2 / \sigma_0^2$$

- ③ ここで σ_0 は標準物質の室内標準偏差の要求値を用い

る。つまり、分析方法や分析技術の評価は室内標準偏差の要求値との比較で求められるわけである。

- ④ χ^2 分布表から自由度f [$f=n-1$]、危険率 α での $\chi^2(f, \alpha)$ を求める。危険率 α は、一般に0.05(5%)を用いる。
- ⑤ $\chi_0^2 > \chi^2(f, \alpha)$ であれば、 s と σ_0 とは差があるといえる。逆に、 $\chi^2(f, \alpha) > \chi_0^2$ ならば、差があるとはいえない。
- ⑥ 測定精度で「差があるとはいえない」という分析方法に対しては、さらに真度を評価する。真度の評価は、測定値と標準物質の認証(特性)値との差と室間標準偏差の要求値とを比較することで行う。

なお、ISOでは、室内標準偏差と室間標準偏差が異なる場合を想定して、それぞれの要求値での使用方法を述べているが、CCQMで承認された標準物質では不確かさとして両方の値を統一している。従って、CCQMの標準物質を用いる場合には、室内標準偏差、室間標準偏差の要求値を区別する必要はない。

参考文献

- 日本工業規格(JIS) Q 0030 標準物質に関連して用いられる用語及び定義(ISO Guide 30)
- 日本工業規格(JIS) Q 0033 認証標準物質の使い方(ISO Guide 33)
- 日本工業規格(JIS) Q 0035 標準物質の認証—一般的及び統計学的原則(ISO Guide 35)
- 日本工業規格(JIS) Z 9041 測定値の処理方法
- 中村 進 ぶんせき1998,420.

遺伝子情報を医薬品へ(その8)

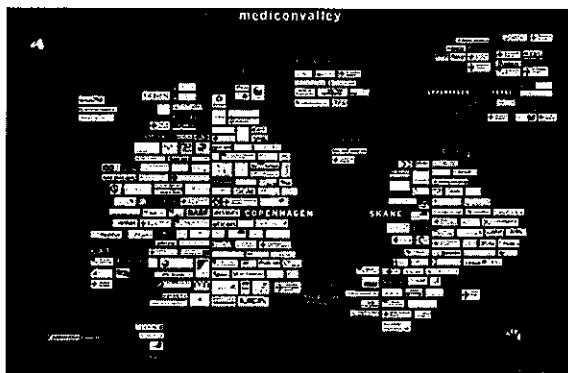
海外のバイオクラスター (1) メディコンバレー

塩野義製薬(株)創業研究所 主管研究員 坂田 恒 昭

近年、欧米各国はもちろんアジア諸国においても、バイオクラスター建設の動きが盛んである。今回はデンマークコペンハーゲン地域と、スウェーデン南端部のスコネ地域にまたがるバイオクラスターメディコンバレーについて紹介する。本稿を書くにあたっては、JETROコペンハーゲンの片山一夫所長のご協力を頂いた。

8.1 メディコンバレーの概要

デンマークのコペンハーゲン地域とスウェーデン南端部のスコネ地域を併せた地方は、オーレスン地域と呼ばれており、人口は約320万人(欧州第6位)で、バイオ(ライフサイエンス)、食品、IT関係のクラスター、また物流ハブとして発展している。この地域には、欧州第6位のコペンハーゲン空港があるほか、北欧最大のルンド大学など12の大学(学生数13.5万人、研究者数2万人)、26の病院、イデオン・サイエンスパーク(北欧初のサイエンスパークでEricsson社の起業地として知られる)など5つのサイエンスパークがある。また、2000年7月のオーレスン橋・トンネルの開通により、更なる一体的発展が見込まれている(図参照)。



(詳細は、<http://www.mediconvalley.com>にてご覧下さい)

メディコンバレーは、1996年にコペンハーゲンキャバシティ(コペンハーゲン地域の自治体の共同出資による投資誘致機関)とスコネ地方通商産業局によって命名

され、バイオ・医療関連の産業・技術を育成していくこととされたものである。同地域には、Astra Zeneca社、Novo Nordisk社、Pharmacia社、Lundbeck社、Ferring社、Leo Pharm社などの多数の大手製薬会社があること、ルンド大学、コペンハーゲン大学、デンマーク工科大学など多数の大学があること、シンピオンサイエンスパークなどのインキュベーション施設が充実していること、ベンチャーキャピタルが多数存在することなどから、製薬会社及び大学からのスピンオフによりバイオベンチャーが多数起業されている。

この5～6年間のメディコンバレーの発展には目覚ましいものがあり、現在、バイオテク企業100社、製薬企業71社、メディコテク企業125社、臨床試験16社など、バイオ・医療関連企業が450社存在しており、毎年15社程度のベンチャー企業が設立されている。具体的には、コペンハーゲン地域では、NeuroSearch社(中枢神経系医薬品)、AlkAbello社(アレルギー治療ワクチン)、Pharmexa社(ポリクロナル技術を使用した喘息・癌治療ワクチン)、ZealandPharmaceuticals社(糖尿病・関節炎)、Topo Targert社(抗癌剤)などのベンチャー企業が、スコネ地域では、ActiveBiotech社(自己免疫・炎症・癌)、Amarin Development社(ナノキャリア等によるdrug delivery)、Biora社(歯槽膿漏治療薬)、Clinical Data Care(CRO)などのベンチャー企業が活躍している。

メディコンバレーは特に、中枢神経系医薬品、糖尿病・肥満治療薬、癌治療薬、骨粗鬆症治療薬の開発のほか、drug deliveryシステムの開発、幹細胞や頭痛の研究、歯科技術などが進んでいる。また、同地域では国民に臨床試験を受け入れる土壌があるほか、当局の新薬認可・臨床試験許可の審査が早いこと、国民総番番号制でフォローアップが容易であることなどから、ヨーロッパでの販売を目的とする新薬の臨床試験が広く行われている。

8.2 メディコンバレーの主なサイエンスパーク

8.2.1 シンピオン・サイエンスパーク

TSUNEAKI SAKATA, Ph.D.

Shionogi Research Laboratories
Shionogi & Co.

スタート段階の企業のためのインキュベータ施設で、1986年に設立。100人の科学者が500DKK(デンマーククローネ)ずつ拠出する基金が株式の30%を保有している。コペンハーゲン市の中心近くにあり、広さは20,000m²で、テナントは78社、650人が働いている。内訳は、IT企業47%、バイオ・メディコ企業35%、コンサル14%、環境5%。

入居者に対して、オフィス・研究室の提供、財務・特許・営業・研究上のコンサルティング、会議場・会議室の貸与などを行っている。政府がシードマネーの補助を行っており、その次の段階として革新的で独創的なバイオ・IT企業に対してSymbion Capital I A/S(300百万DKK)が資金の供給を行っている。それで上手くいけば、さらにその次の段階としてベンチャー・キャピタルが資金を供給していくこととなる。

Symbion Capital I A/Sは、500以上のプロジェクトを審査した上で投資を行っており、バイオ・IT分野については専門的であることから、アドバイザリー・ボードが投資アドバイスを行っている。

入居のリクルート活動は、大学、学生・スタッフ、製薬会社からのスピノフ、過去に起業に失敗した者、米国・英国・スウェーデンの起業家などに対して行っている。

新薬開発企業では、7TMPharma社(蛋白質受容体)、Astion社(炎症性疾患、癌)、HemeBiotech社(新陳代謝疾患)、TopoTarger(抗癌剤)などの有力ベンチャー企業が入居している。

8.2.2 フアスホルム・サイエンスパーク

コペンハーゲン市の北25kmのHoersholmに、もともと国立研究所として設立され、現在は財団が所有する国立サイエンスパーク(法律に基づいて設立され、土地は財団が所有)で、北欧最大のサイエンスパークの一つ。建物の延べ面積は、現在13万m²に及び、将来は25万m²まで拡張できる。約70社が入居し、3000人が働いている。

同サイエンスパークとデンマーク工科大学等が出資するDTU Innovation A/S(資本金15百万DKK)が、シードマネーの供給を行っている。具体的には、フィージビリティ段階で、特許弁護士、マーケットリサーチ等の費用のため5万DKK、第二段階として、そのビジネスプランに見込みがある場合には82.5万DKK(うち75万DKKを国が、残りをDTU Innovationが拠出)を投資する。さらに、成長が見込めそうな場合には、growth fundから2百万DKKの投資を行う。これらの制度は、スタート段階から投資を行うベンチャーキャピタルがほとんどないことを踏まえたものである。

70社のうち、上場企業は、Chr.Hansen(機能性食品製造、AlkAbelloを傘下にもつ)とPharmexa(ポリクロナル技術を使用した喘息、癌治療ワクチンの開発等)の2社。これは、デンマークにはNASDAQのような小企業のための上場市場がなく、ベンチャーキャピタルに頼っていることによる。

8.2.3 イデオン・サイエンスパーク

1983年にルンド市内に北欧初のサイエンスパークとして設立され(当時は7社が入居)、現在は182社、2000人が入居している。オフィス・研究室のスペースは8.5万m²であり、バイオ・医薬品関係が31%、IT関係が39%、コンサル・サービス関係が16%、その他のハイテク関係が14%となっている。

イデオン・サイエンスパークは、北欧初のサイエンスパークとしてのブランド、北欧最大のルンド大学の存在により、発展した。現在、400人程度のルンド大学の学生・研究者が同サイエンスパークのプロジェクトに関係している。Ericsson社も、ここで起業し発展した。1992年にリセッションで14社が潰れ、1996年にEricsson社は本店をストックホルム近郊へ移転したが(但し同社のR&D施設は同サイエンスパークの隣接地に残る)、その後は小企業も受け入れるよう方針転換を行った。

イデオン・サイエンスパークはイデオンセンター株式会社(株)が運営しており、その所有者は2社の不動産会社である。同社は、2つのレストラン、保育所、財務・コンサルタントセンター、電話・コンピュータ通信施設、会議場・会議室施設、不動産サービスの提供を行っており、マーケティング、アプリケーションの受付も行っている。

2000年3月には、インキュベータ施設としてグリーンハウス(VAXTHUSET)が設立され、現在、Decuma社(ソフトウェア開発)、Erysave社(血液洗浄)など10社が入居している。同施設へ入居した場合、最初の半年間は、家賃・サービス料は無料である。また、その後も、無料でネットワークの利用、訓練コースの受講、コンサルティングの利用ができる。同施設への入居審査は運営委員会が行っているが、実際にはテクノボール(technology transfer system)がスクリーニングを行っている。

8.3 主なバイオ関連企業

8.3.1 NeuroSearch A/S社(デンマーク)

大学及び企業からのスピノフにより1987年設立で、従業員数130人(うちPhD40~50人)。2000年に上場、2002年中には黒字見込み。中枢神経系医薬品に強く、イオンチャネルのモジュレーション分野の研究のリーダー

企業。

アルツハイマー、パーキンソン、鬱病、常習、脳卒中、赤血球異常など、研究開発のポートフォリオは多岐にわたっており、うち4つが臨床Phase II、2つが臨床Phase Iの段階にある。Azigen Biosciences A/S社、Poeidon社(肺疾患、アレルギー、免疫不全)、NsGene社(アルツハイマー、パーキンソン)、Sophion社(スクリーニング装置等)の4つの子会社を有するほか、Glaxo Smithkline社、Pfizer社、Abbott社、Organon社などと共同研究等の提携を行っている。

日本企業との接触はあるが、現在提携は行っていない。

8.3.2 ALK Abello A/S社(デンマーク)

1990年に、Chr.Hansen社、Lundbeck社、機関投資家の出資により設立され、資本金120百万ドル、従業員数1000人で、アレルギー治療ワクチン分野の市場シェア40%。

枯草熱錠剤ワクチンは、臨床試験では80%超の有効性を示しており、2005年に欧州、2006年に日本での市場化を目指す。また、家庭のダニ及び花粉症ワクチンは、2007年に欧州、2008年に日本での市場化を目指しているが、日本での市場化の時期は、日本のパートナー次第である。

同社の治療ワクチンは、自然界の物質から抽出したものであり、化合物ではない。この抽出物は、多くのアラゲン蛋白質を含んでいるが、そのうち90%は樺の単一の蛋白質であると解明できている。枯草熱を防止できれば、将来の喘息を予防できることから(臨床試験では3年間ワクチンを続ければ80%超は予防できるとの結果)、この治療ワクチンは非常に重要と考えている。

また、錠剤は5秒間で舌の中で溶け、1日に1回だけ服用すればよい。また、服用時に舌が若干痒くなるという副作用があるが、2～3分でその症状はなくなる。

日本のパートナー企業を積極的に探している。

8.3.3 Zealand Pharmaceuticals A/S社(デンマーク)

NeuroSearch社、Lundbeck社などからのスピノフにより1998年10月設立、従業員数46人。3つの特許を有し、56の特許申請を行っている。Elan Corporation plcと提携を行っているほか(株主でもある)、米国・英国・ドイツ・イタリアなどの15以上の企業と研究提携を行っている。

糖尿病治療薬(臨床Phase II、2006年市場化予定)、心臓麻痺治療薬(臨床前試験)、関節炎治療薬(臨床前試験、2007年市場化予定)、骨粗鬆症・脳膜炎・癌治療薬(発見段階)などを開発中。

現在日本には提携先がなく、ライセンス先等を探している。

8.3.4 Amarin Development AB社(スウェーデン)

1985年の設立で、鎮痛剤や中枢神経系医薬品についてのナノキャリア等によるdrug deliveryシステムの提供を行っており、従業員数は50人(2～3年以内に倍になる可能性有)。NASDAQに上場しており、2000年3月に黒字化。現在3つが臨床Phase III段階にある。

同社のライセンスにより、Pharmacia(スウェーデン)、Synthelabo(仏)、Sigma-Tau(伊)、田辺製薬、Watson(米)、Custom(英)などの企業が製造を行っているほか、Hormos Medical(フィンランド)、Microdrug(スイス)、NueroSearch(デンマーク)、久光製薬などの企業と技術提携している。また、日本企業に対して、臨床試験の提供も行っている。

日本企業との取引関係は古く、これまで多くの企業と取引があったが、現在は2社と取引がある。また、日本に代理店があり、さらにこの4月からは日本人のコンサルティング会社とも契約する予定であるが、将来は支店をもちたいと考えている。

8.3.5 Biora社(スウェーデン)

1986年の設立で、歯周病治療薬の開発・販売を行っており、1997年に上場、98年には日本市場での販売も開始。従業員数は83人。

同社の歯周病治療薬のエムドゲイン(その発展系のエムドゲイン・ジェル)は、豚の奥歯の組織から抽出したものであり、歯茎の肉を若くして丈夫にするほか、歯茎の再生を促進する効果もあることから、歯周病の治療だけでなく、口内の手術後にも使用される。その再生プロセスは、骨も再生させる必要があることから、18～24ヶ月はかかるが、そのメカニズムについては十分に解明はされていない。

米国だけで年間1800万人が歯槽膿漏の治療を受けており、年間約200万人が手術を受けており、その潜在的市場は非常に大きい。2001年の売上は、米国55%、独22%、その他23%となっているが、これは日本市場についてエムドゲインからエムドゲイン・ジェルへの切替えの時期に当たったためであり、2002年については日本市場の比率が高まるものとみている。日本市場については、代理店があり、非常に良くやっていると評価している。

また、現在口内が乾燥する病気の治療薬を研究開発中であり、これも、潜在的市場が非常に大きい(40歳以上の15%、80歳以上の40%が罹患)とみている。

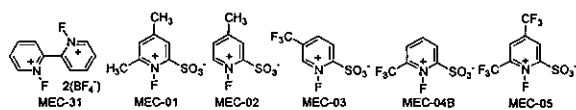
求電子的フッ素化剤：MEC-31&MEC-01シリーズ

ダイキン工業株式会社 化学事業部第二研究開発部 主任研究員 足 達 健 二

1. はじめに

有機化合物にフッ素原子を導入すると、その高い電子求引性、炭素との強い結合力、脂溶性効果等により元の化合物の性質が著しく変化する。このようなフッ素原子独特の性質を利用して、近年特に医薬、農薬、機能性材料へのフッ素導入が盛んに行われている。

我々は、フッ素原子を有機化合物に直接導入するためのさまざまな技術開発を進めており、安全で取り扱い易く、汎用性が高いさまざまなフッ素化剤を開発してきた。これらの試薬を直接、開発中の化合物に作用させることで容易に新規フッ素化合物を得ることが可能となり、新たな合成ルートを開発するよりも非常に迅速に研究を進めることができる。フッ素化剤はフッ素アニオンが活性種となる求核的フッ素化剤と電子欠乏性のフッ素原子が反応活性種となる求電子的フッ素化剤に分類され、求電子的フッ素化剤としては、*N,N'*-Difluoro-2,2'-bipyridinium bis(tetrafluoroborate) (商品名：MEC-31)¹⁾およびカウンターアニオン結合型フッ素化剤 (商品名：MEC-01～05で以下、MEC-01シリーズという)²⁾があり、求核的フッ素化剤としては、 $\text{CF}_3\text{CHFCF}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ ³⁾および $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$ ⁴⁾が存在する。ここでは、高い反応性を有する求電子的フッ素化剤MEC-31と反応選択性に優れたフッ素化剤MEC-01シリーズについて紹介する。



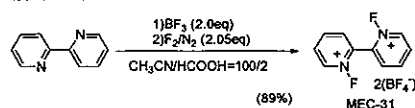
2. 高い有効フッ素含量を有する強力な求電子的フッ素化剤：MEC-31¹⁾

2-1. MEC-31の合成

MEC-31は、2,2'-bipyridineに0℃で BF_3 ガスを導入し、ついでフッ素ガスを導入することで、1ポットで合成することができる。MEC-31は非常に結晶性が良く、反応進行とともに結晶として析出し、ろ過操作のみで高純度

のMEC-31を高収率で単離することができる。

Scheme 1



2-2. MEC-31の反応性および応用

MEC-31は、融点166-168℃の自己反応性、爆発性のない安定な結晶であり、種々の求核的な基質と混合するだけでフッ素化が進行する。反応はガラス容器で実施でき、反応後は希塩酸水溶液による洗浄操作のみでビピリジニウム塩が水層に抽出され、フッ素化生成物との分離が非常に容易である。MEC-31はFig. 1に示すように、さまざまな基質のフッ素化に適用することができる。特にアリール系、エノールエーテル系の化合物に対し、収率、選択性などの面で好結果を与える傾向がある。これはMEC-31の構造が電子欠乏性の芳香核であるので、これら電子豊富な化合物と π 錯体を形成しやすいことによるためと考えられる。フッ素化反応の進行が遅い場合は、触媒量のトリフルオロメタンスルホン酸ナトリウムの添加が有効である。これは塩交換によりMEC-31の有機溶媒に対する溶解度が著しく向上するからであり、基質によっては反応時間が非常に短くなる場合がある。

しかしながら、求核性の高い溶媒 (たとえば水やDMSOなど) や反応性の高い求核剤を用いると、Scheme 2に示すとおり、N-F結合のオルト位の水素引き抜き反応が優先し、カルベン1が発生する機構で分解が起こる。このカルベンに求核剤が反応しフッ素がF⁻アニオンとして脱離するため、基質のフッ素化は起こらない^{5,6)}。求核剤が水の場合は、下記のように3,3'-ジヒドロキシ-2,2'-ビピリジン3が主生成物として生成する¹⁾。

Scheme 2

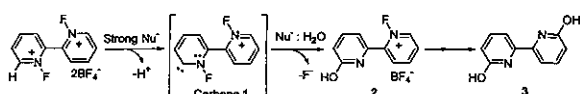
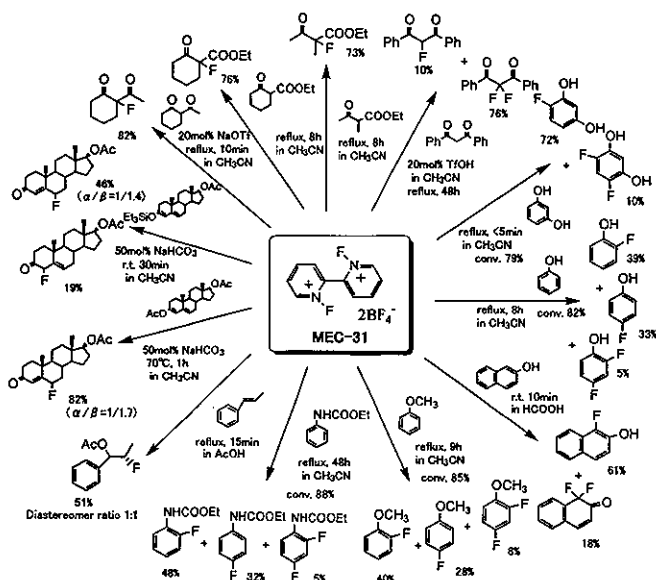


Fig. 1. Fluorination of Various Nucleophiles with MEC-31

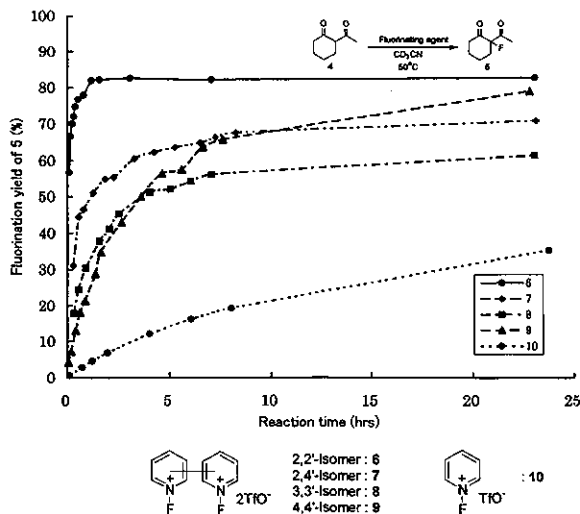


2-3. 他の*N,N'*-ジフルオロピリジニウム塩異性体との比較

Fig. 2に2-アセチルシクロヘキサノン4のフッ素化反応を通して、各ピリジニウム塩のフッ素化剤の反応性を比較した。反応は重アセトニトリル中、50℃でNMRチューブ内において実施し、¹⁹F-NMRでフッ素化生成物5の収率を時間経過とともに追跡した。その結果、これらフッ素化剤の反応性は2,2'-*(6)* > 2,4'-*(7)* > 3,3'-*(8)* ≒ 4,4'-*(9)* >> 10の順に低下し、*N,N'*-ジフルオロピリジニウム塩が単環の*N*-フルオロピリジニウム塩10に比べ著しく反応性が高くなり、基本的に分子内にある2つのN-F結合のフッ素が反応に使用できることが判明した。反応性が向上した理由は、*N,N'*-ジフルオロピリジニウム塩における2つの*N*-フルオロピリジニウム環が互いに電子求引性基として作用し、N-F結合を活性化したためと考えられる。この中でも2,2'-異性体6の反応性がもっとも高いことがFig. 2よりわかる。4,4'-異性体9はすべての異性体の中でもっとも反応性が低く、この結果はこの系でのπ電子共役がフッ素化力を高める上で効果が低いことを示している。Fig. 2より、2,2'-以外の異性体7, 8, 9によるフッ素化においても、1段階目のフッ素の反応性は比較的高いと言えるが、2段階目のフッ素の反応性は著しく低下し、単環の*N*-フルオロピリジニウム塩10と同程度かそれ以下にまで落ちることがわかる。これに対し2,2'-異性体6の場合は、1段階目と2段階目におけるフッ素の反応性の差が非常に小さく、極めて短時間に反応が終了す

る。これは、1段階目のフッ素の反応後に生成する*N*-ハイドロピリジニウム塩の部分構造が、もう一方のN-F結合を活性化しているためと考えられる。*N*-ハイドロピリジニウム塩の電子求引性は、*N*-フルオロピリジニウム塩のそれよりは低下するが、2,2'-異性体の場合、もっとも近いオルト位で作用するためN-F結合が十分活性化され、2段階目のフッ素が高い反応性を保持しているものと理解できる。以上述べてきたように、2,2'-異性体のみ、分子内の2個のフッ素原子をともに高い反応性でフッ素化に使用できることが示された。

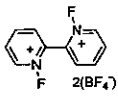
Fig. 2. Comparison of Reactivity with Other Isomers



2-4. 有効フッ素含量：他のフッ素化剤との比較

MEC-31と同等の反応性を有する強力な求電子的フッ素化剤として、以下のものが販売されている⁷⁾。MEC-31は上述したように、分子内の2つのフッ素原子がともに高い反応性を保持して使われるので、他のフッ素化剤に比べ単位重量あたりの有効フッ素含量(反応に使われるフッ素原子を分子量で割った値)が格段に高い(Table 1)。すなわち同じフッ素化を行う場合、収率が同程度であるなら実際に使用するフッ素化剤の量は、MEC-31の場合、非常に少なく済み、経済的である。

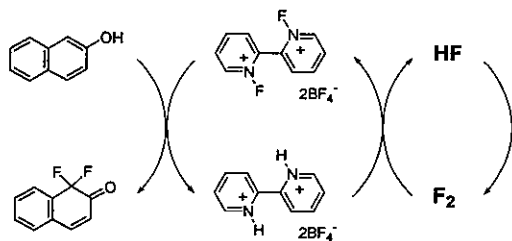
Table 1. Comparison of Effective Fluorine Content

				
	MEC-31	Selectfluor	Accufluor NfTh	FP-B800
分子量	367.8	354.3	321.8	253.8
有効フッ素含量 (g/kg)	103	54	59	75

2-5. MEC-31リサイクルによる次世代工業用フッ素化テクノロジー

MEC-31はFig. 3に示すとおり、対アニオンも含めたほぼ完全な形でリサイクルが可能である。2-フルオロナフトールを88%の収率でジフルオロ化し、MEC-31自身はプロトン塩の形で定量的に回収される。MEC-31の反応後のプロトン塩は、結晶性が高く溶媒に溶けにくいいため回収が非常に容易である。プロトン塩はふたたびフッ素ガスによりMEC-31にほぼ定量的に変換することができ、単離することなく反応溶液に基質を加え、1ポットでフッ素化を行うことが可能である。このMEC-31のリサイクルによるフッ素化システムは、環境への負荷の小さい次世代型の工業用フッ素化テクノロジーと位置付けられている。

Fig. 3. Perfect Recycled System in Fluorination with MEC-31



3. 優れた選択性を示す求電子的フッ素化剤：MEC-01シリーズ²⁾

MEC-01シリーズは、N-フルオロピリジニウム塩の対アニオンをスルホン酸の形でピリジン環に直結させたものであり、ピリジン環上の置換基を電子供与性(メチル基)からより電子求引性(トリフルオロメチル基)に変えていくことで、フッ素化力が徐々に増大する反応力可変型のフッ素化剤群となっている。フッ素化力は



- MEC-01 $R^{1,3}=\text{CH}_3, R^{2,4}=\text{H}$
 MEC-02 $R^{1,2,4}=\text{H}, R^3=\text{CH}_3$
 MEC-03 $R^{1,3,4}=\text{H}, R^2=\text{CF}_3$
 MEC-04B $R^1=\text{CF}_3, R^{2,3,4}=\text{H}$
 MEC-05 $R^{1,3}=\text{CF}_3, R^{2,4}=\text{H}$

MEC-01<02<03<04B<05の順に強くなる。反応性が異なるこれらのフッ素化剤が必要な理由は、フッ素化する基質の反応性により最適な収率を与えるフッ素化剤が異なるからである。一般的には反応性の高い基質には反応力の低いMEC-01, 02が好ましく、反応性の低い基質には反応力の高いMEC-04B, 05が最適な収率をもたらす。反応後に副生するピリジンスルホン酸は水溶性なので、水洗操作で容易に取り除くことができる。

MEC-01シリーズのユニークな点は、対アニオン結合型であることにより、フッ素化において優れた位置選択性を示すことである。特にフェノール類のフッ素化においては、Table 2に示すとおりフッ素化剤10を用いると、オルト位とパラ位の両方にフッ素化が起こるところ、MEC-04B, 05を用いるとオルト位にのみフッ素化が進行し、パラ位にフッ素化された化合物はまったく生成しない。アニソールのフッ素化では、MEC-01シリーズによるこのようなオルト位選択性はまったく見られないことから、フェノールのオルト位選択性はFig. 4に示すように、N-Fのオルト位に結合したスルホン酸アニオンがフェノールの水酸基と水素結合し、 π 錯体を形成して反応点がオルト位に固定するためと考えられる。その他、ステロイドのシリルエーテルのフッ素化においても、MEC-02を用いて極めて高い位置選択性が確認されている(Table 3)。

Fig. 4. Transition State

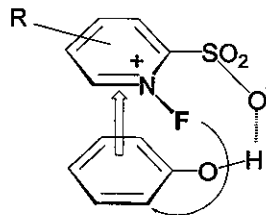
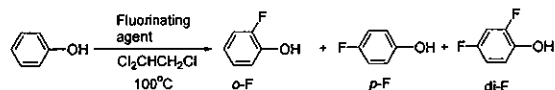
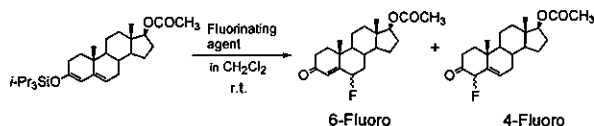


Table 2. Fluorination of Phenol



Run	Fluorinating agent	Time	o-F	p-F	di-F
1	 10	24hr	51%	18%	6%
2	MEC-04B	15.5hr	88%	0%	0%
3	MEC-05	3min	72%	0%	0%

Table 3. Fluorination of Conjugated Enol Silyl Ether of Steroid



Run	Fluorinating agent	time	6-Fluoro	4-Fluoro
1	 10	2.5hr	33% ($\alpha/\beta=1/4$)	8%
2	MEC-02	90hr	93% ($\alpha/\beta=1/4$)	0%

MEC-01シリーズは、その合成のために多段階を要しバルク対応は困難であるが、MEC-31と同様にリサイクルが容易であり、それにより低コストでのフッ素化が可能である。

4. まとめ

今回、我々が所有する求電子的フッ素化剤について紹介した。有機化合物へのフッ素導入は、市販されている含フッ素ビルディングブロックを用いない限り困難であると思われるが、上述のように実験室で安全に取り扱うことができる汎用なフッ素化剤を用いると、直接化合物をフッ素化することが可能となり、さまざまなフッ素化合物が容易に得られる。

また、このようにして合成されたフッ素化合物を工業

的に合成し、大量にかつ安価に供給するために、ダイキンではこれらのフッ素化に対応する工業用フッ素化テクノロジーを有している。すなわち、フッ素ガス⁸⁻¹¹⁾、5フッ化ヨウ素/Et₃N-3HF錯体^{12,13)}、4フッ化硫黄¹⁴⁻¹⁶⁾などであり、毒性、危険性は非常に高いが極めて有用であるこれら反応試剤を用いるフッ素化技術を確立し、さまざまなフッ素化合物の工業生産に対応している。これらのフッ素化技術により、さまざまな分野で有用な新規フッ素化合物がより多く生まれることを願っている。

参考文献

- 1) T. Umemoto, M. Nagayoshi, K. Adachi, G. Tomizawa, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 3379.
- 2) T. Umemoto, G. Tomizawa, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 6563.
- 3) Takaoka, A.; Iwakiri, H.; Ishikawa, N., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1979**, 52, 3377.
- 4) M.A. McClinton, *Aldrichimica Acta*, **1995**, 28, 31.; O.A. Mascaretti, *Aldrichimica Acta*, **1993**, 26, 47.
- 5) T. Umemoto, G. Tomizawa, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 1726.
- 6) T. Umemoto, G. Tomizawa, H. Hachisuka, M. Kitano, *J. Fluorine Chem.*, **1996**, 77, 161.
- 7) G.S. Lal, G.P. Pez, R.G. Syvret, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1737.
- 8) S.T. Purrington, B.S. Kagan, T.B. Patrick, *Chem. Rev.*, **1986**, 86, 997.
- 9) B. Baasner, "Houben-Weyl, *Organo-Fluorine Compounds*", **2000**, 159, Thieme.
- 10) Japan Registration Number: 3220986 (Daikin Industries, LTD.)
- 11) Japan Publication Number: H11-303945 (Daikin Industries, LTD.)
- 12) N. Yoneda, T. Fukuhara, *Chem. Lett.*, **2001**, 222.
- 13) S. Ayuba, N. Yoneda, T. Fukuhara, S. Hara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2002**, 75, 1597.
- 14) G.A. Jr. Boswell, W.C. Ripka, R.M. Schribner, C.W. Tullock, "Org. Reactions", **1974**, 21, Chap. 1.
- 15) C-L. J. Wang, "Org. Reactions", **1985**, 34, Chap. 2.
- 16) B. Baasner, "Houben-Weyl, *Organo-Fluorine Compounds*", **2000**, 321, Thieme.

こんなにも似ていたクロマトグラフィーとマラソン

味の素株式会社 中央研究所 岩 瀬 廣

1. はじめに

人は何を求めて走るのだろうか。フルマラソンにかけ
る夢は、何だろうか。感動および胸の高まり、また、新
たな可能性を求めて1つのカベ(限界)を乗り越え、新
しい自分(世界)を発見したいために走るのだろうか。
自分の思いを全力で表現し、自分を証明するために挑戦
するのだろうか。

ふとしたきっかけで、多摩川の土手を走り始めてから
25年以上になる。初めは数km走るのがやっとであった。
学生時代に陸上部で指導を受けたこともなかった。体育
はどちらかというと苦手であった。しかし、走ることは
好きであった。1984年、河口湖マラソン(42,195km)に、
40歳の私は一人で参加し、4時間14分50秒で完走した。
苦しく、はげしい筋肉痛に悩まされたレースであった。
その時のすばらしい感動が忘れられず、いつしかボスト
ン、ロンドン、パリ、ホノルルなどの海外マラソン20回を
含めて、フルマラソンを88回完走した。因に、フルマラソ
ンのベストタイムは、3時間28分24秒(勝田マラソン.1991)
である。有名な青梅マラソン(30km)は、2時間16分16秒
(1987)である。いずれ、100回は完走したいと思っている。
今日までに多くの出会いがあった。特に、同じ町内会に住
む1953年のボストンマラソン優勝者の山田敬蔵先生との出
会いが、私のマラソンへの興味を深くさせた。

一方、クロマトグラフィーとの出会いは、学生時代に
金属イオンの分析に薄層クロマトグラフィー [1-4] を
用いたときに始まる。その後、現研究所でガスクロマトグ
ラフィー [5, 6], ガスクロマトグラフィー/マススペク
トロメトリー [7, 8], を用いて、主にアミノ酸の分析を行
った。最近、生体試料中のアミノ酸 [9, 10] および食品
中のビタミン [11-17] を固相抽出法 [18, 19] を用いて
試料調製後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によ
り分析する方法を開発している。

上記マラソンおよびクロマトグラフィーとの出会い
から、25年以上になる。両者を経験している中で、両者
にはおもしろい類似点があることに気がついた。本文で

は、独断と偏見でこじつけたところもあるが、主に下記
の類似点について、論文スタイルでコミカルに述べてみ
たい。

- | | |
|--|----------------|
| (1) 分離(カラムの長さ, 太さ, ーマラソンの距離, 道路
温度) | の道幅, 気温 |
| (2) デッドボリウム | ースタートライン |
| (3) 装置の据え付け場所 | ーランニング環境 |
| (4) 試料調製法 | ーウォーミングアップ |
| (5) カラムスイッチング法 | ー遅いランナーを収容するバス |
| (6) 誘導体化法 | ーインターバル走法 |
| (7) 内部標準物質 | ーペースメーカー |
| (8) クロマトグラフィー(保持時間) | ーランニングフォーム |
| (9) 定量(検量線) | ーラップタイム |
| (10) 粘り, 感謝および出会い | |

2. 試薬, 装置および器具

2.1. 試薬とランニンググッズ

2.1.1. 試薬は、HPLC用または試薬特級品を用いた。
試料に用いた食品は、市販品である。使用したガラス器
具は、全て褐色製である。

2.1.2. ランナーのシャツ, パンツ, 手袋, 靴下, 帽子,
サングラスは、全て市販品である。記録用の時計は、公
認の時計を用いた。エイドステーションで出されるドリ
ンクおよび食べ物は、全て公認されたものである。

2.2. 注意点

2.2.1 HPLCの装置のメンテナンスは、日頃からき
ちんに行い、工程管理, 品質管理および研究がスムーズ
に進行できるようにする。また、保持時間が長くカラム
から溶出しない時には、カラムスイッチング法を用いて
分析カラムを清潔にする。

2.2.2. ランナーは、レースを楽しむために、ケガや病
気にならないように、日頃から体の手入れを十分行っ
ておくこと。レースを適正に実施するため、30kmの地点
を3時間以内で通過できないランナーは、交通規制が解除

されるため、カラムスイッチング法が適用されバスに収容される。

2.3. 装置および測定条件

2.3.1. 高速液体クロマトグラフィー操作条件

ポンプ、検出器、カラム、カラムオープン、カラムスイッチング装置を装着したHPLCを用いた。試料の導入は、レオダイン7125型インジェクターを用いた。移動相の流速は、1ml/minに設定した。

2.3.2. ランナーの分離は、公認コースである関東化学製の Mightysil ODS カラム (長さ42.195km, 道幅30m) 上で行う。カラムの温度は、定温でない(ambient)。ランナーは、公認のセンサーのついたチップをシューズにつけ、スタートラインまでのロスタイムを補正する。また、これにより、中間点およびゴールした時間が公認記録として計時される。

3. 実験結果および考察

3.1. 試料からの分析対象物の分離とランナー同士の分離

最初に、カラム上での試料中の共存物質と分析対象物質の分離およびランナー同士の分離の類似点について述べる。

3.1.1. 食品および生体試料中の分析対象物をHPLCで分析する場合、共存物質との分離は、主にカラムの長さ、太さおよび温度に影響される。また、移動相に含まれるメタノール、アセトニトリル、リン酸緩衝液およびイオンペア試薬などは、試料中の共存物質と分析対象物質を分離するためのエネルギーとして使用される。移動相の流速を一定 (e. g. 1ml/min) にすることも、大切である。類似構造の物質は、クロマトグラフ上ほとんど同じ保持時間を示す。

3.1.2. マラソンにおいて、ランナーの分離は主にレースの長さ (e. g. 10, 20, 30, 42.195km), 道路の幅, 気温に影響され、コンスタントに走る (e. g. 5min/km) ことが重要である。食事および栄養補助食品などから摂取し、吸収された血液中のアミノ酸、ビタミン、糖類、ミネラルなどが、ライバルのランナーとの分離をするためのエネルギーとして使われる。

力量の同じランナーは、ほとんど同じ時間でゴールする。

3.2. デッドボリウムとスタートライン

次に、デッドボリウムとスタートラインの類似点について述べる。

3.2.1. HPLCの分析カラムを評価する上で、デッドボリウムの測定は大切である。これは、カラムに注入した清潔な水の保持時間から求める。

3.2.2. 同じような現象が、マラソンレースのスタートラインにおいても観察される。20,000人以上のランナーが参加するボストンマラソンでは、スタートラインの近くからスタートできるランナーは30-50人である($V_0=0$)。しかし、多くのランナーは、スタートラインに到達するまでに5-7分を要する(ロスタイム)。このロスタイムを調整するため、ボストン、ロンドン、パリ、ウィーン、ロッテルダム、ハンブルグおよび勝田マラソンなどでは、ランナーはセンサーのついたチップ(500円玉位の大きさ)をシューズにつけて走る。10km, 20km, 30kmの地点およびゴールには、幅1m位のジュータンのようなものが敷かれている。ランナーシューズがこのジュータンの上ののると、センサーが働いてこの地点の通過タイムが自動的に計時される。このチップの開発により、ランナーは安心してスタートラインに立てるようになった。また、多くのランナーの完走時間および着順を正確に測定できるようになった。しかし、スタートラインまでの時間は補正されても、5-6kmはラッシュアワーの満員の駅で走っているようで、なかなか前に進めない。足を踏まれたり、シューズを脱がされたり、時には転倒するランナーもいる。私は、世界のマラソンレースで使用できるイエローチップをもっている(一般のランナーは、赤いチップ)。

3.2.3. HPLCカラムに注入された試料は、カラムの先端ではマラソンのスタートラインと同様、多くの共存物質で大変混雑しているであろう。その後、ゆくりと分離される。

3.3. 据え付け場所およびメンテナンスとランニング環境および体の手入れ

HPLCの据え付け場所およびメンテナンス、ランナーの走る環境および体の手入れについて述べる。

3.3.1. HPLC装置は、直射日光、強い風のあたる場所、ほこり、腐蝕性ガスの発生する場所は避け、風のあたらな水平な場所に据え付ける。

工程管理、品質管理および研究を適正に行うためには、定期的なメンテナンスが必要である[20]。

3.3.2. ランナーも直射日光、ほこり、自動車の排気ガス、強い風、歪んだ道路は苦手な、特に、カゼと二日酔いは大敵である。ケガおよび故障なくマラソンを楽しく走る秘訣は、毎日の注意深い体への思いやりと適度のトレーニングである。

3.4. 試料調整法と日頃のトレーニングとウォーミングアップ

試料調整法とウォーミングアップ(トレーニング)について述べる。

3.4.1. 共存成分の多い試料中の微量分析対象物質を迅速、簡便に分析するためには、いずれの分析法を用いても、試料調製を適正化することがきわめて重要である。前にも述べたが、試料調整法は主に下記の目的で行われる[21]。

- (1) 分析対象物質の分離、精製
- (2) 分離対象物質の濃縮
- (3) 分離対象物質を高感度、高選択的に分析するための誘導体化
- (4) 調製した試料の安定化

試料調製を適正に行うことは、その後の HPLC 分析を正確に行う上できわめて重要である。食品および生体試料などの共存成分の多い試料中の微量分析対象物質を分析するために、多くの方法が開発されている。

後述[11]する誘導体化法も大切な手法の1つである。前報[21]で、固相抽出-HPLCによる食品中の超微量シアノコバラミン(ビタミンB₁₂)の分析法の開発について報告した。試料液に分散した油滴の除去は、迅速、簡便な方法として、メンブランフィルター(HLC-DISK)がきわめて有効であった。これも、上記の試料調整法の目的(1)を行う新しい1つの方法となると考える。

また、多くの分野で適用されている固相抽出法(SPE)[1, 2]は、共存成分の多い試料中の分析対象物を分離、精製、濃縮するのに適している。試料調整法は、HPLC分析する前のウォーミングアップのようなものである。特にSPEは、分析カラムに分析対象物質が走る前のウォーミングアップとして、すぐれたトレーニング法と考える。またSPEは、分析対象物質と共存成分とを予め分離するので、SPEに保持された物質は、予選を勝ち抜き決勝(分析カラム)に出場するエリートランナーである。

有名なマラソン大会(ボストン、東京、福岡)では、それぞれの大会規定に従い、すぐれた公認記録を持っていないと参加資格がない。すなわち、市民ランナー(共存成分)と、予め他のリース(SPE)で分離されたエリートランナーのみが42.195kmのクロマトグラフィーを行える。

3.4.2. 日頃のトレーニングとウォーミングアップは、ランナーがケガ、故障を防止して、楽しく、日頃の練習成果を発揮する上で、大切である。

第57回ボストンマラソン(1953年)で優勝した山田敬蔵先生[22]から次の言葉を聞いた。

- (1) 苦しく(きつく)なってからが、マラソンだ
- (2) 練習で苦しみ、レースで楽しみ
- (3) 努力すれば、いつかは、必ずむくわれる。どんなに苦しくても、ガンバレば、いつかはいい意味でプラスになって自分にもどってくる。マラソンは、人生そのものである。

分析法の開発において、試料調製に苦しみ、共存物質との分離に苦しみ、あきらめてしまいたくなることが多々ある。工夫、努力を積み重ねても、よい結果が出ないこともある。ここで悩み苦しんだことは、後でプラスになったことも経験している。

ウォーミングアップは、HPLCにおける試料調整法のようなものである。Warming upの目的も、ランナーの目的意識により様々である。

すなわち、これを適正に行うと本番(マラソン)で、アクシデント(故障、腹痛などによるブレーキ)を起こすことなく、納得したクロマトグラフィー(ランニング)ができ、また納得したタイムがえられる。

3.5. 誘導体化法とインターバル走法

次に、誘導体化法とインターバル走法について述べる。

3.5.1. 誘導体化法は、主に次のような目的で誘導体化される[23, 24]。

- (1) 検出器に対する感度を大幅に増大させる。または選択性を持たせる。
- (2) 分離係数を母化合物より大きくする。
- (3) 固定相に対する吸着を少なくする。
- (4) 官能基の有無、未知物質の構造を推定する。
- (5) 同定を確実にする。
- (6) 光学異性体を分離する。

カルボキシル基、カルボニル基、アミノ基などを誘導体化している例が多い。また、イオンペア試薬を用いて分析している。

3.5.2. 一流ランナーは、ライバル選手にせり勝つためにインターバル走法を使う。

この走法を使う場所は、1つの駆け引きである。HPLCにおいて、どの試薬を用いて分析対象物質を誘導体化して、どの検出器で測定するかを選択と似ていると思う。

3.6. 内部標準物質法とベースメーカー

内部標準物質とベースメーカーについて述べる。

3.6.1. 分析法を最適化するため、よく内部標準物質が用いられる。内部標準物質は、分析対象物質と構造が類似で、保持時間が近く、共存物質と分離するものを選ぶことが大切である。

3.6.2. ランナーも自分の近くをコンスタントに走るランナーをペースメーカーにすると、楽しくよい記録ができる。特に初心のランナーは、内部標準物質と同様、自分にあったペースメーカーの選択も大切である。ペースメーカーは、必ずしも一人でなくてもよい。内部標準物質と異なり、気軽に変えてもよい。なぜなら、長いレース中、ペースメーカーも自分のペースも変化するからである。

3.7. カラムスイッチング法と遅いランナーを収容するバス

カラムスイッチング法と遅いランナーを収容するバスについて述べる。

3.7.1. カラムスイッチング法は、食品および生体試料など共存成分と分析対象物質とを迅速、簡便に分離するために用いられる [25, 26]。特に、分析対象物が溶出した後、保持時間の長い物質 (ex. 1時間) を系外に出し、分析時間を短くするのに適している。

3.7.2. マラソンにおいて、ある地点を決められた時間で通過できないランナーは、レースを適正に終了させるため、遅いランナーを収容するバスにのり、レースを続けることはできなくなる。

3.8. クロマトグラフィー (保持時間とランニングフォーム (完走時間))

次に、HPLCとマラソンランナーのクロマトグラフィーについて述べる。

3.8.1. HPLCにおいて、注入 (スタートライン) から検出器 (ゴールライン) までの距離は同じであるが、分子量の小さい物質は、一般的にクロマトグラム上に速く溶出し、ピークはシャープである。また、分子量の大きい物質は、保持時間が長く、ピークはブロードである。

分子量の小さい物質は軽いので、分析カラムを走る時片足にかかる負担が少なく、疲れないので元気でシャープなピークになる (3.8.2. 参照)。ブロードのピークは、栄養のバランスが悪いために元気でない。移動相 (e. g. アセトニトリルの濃度) の組成を最適化にすると、栄養状態が改善されるために元気になる。その結果速く溶出し、シャープなピークとなる。

3.8.2. 走る距離は同じであるが、速いランナーは、ゴールしても元気である。また、筋肉痛もほとんどない。一般に、スリムなランナーは速い。一方、太ったランナーは遅く、特に足にひどい筋肉痛があり、大変疲れている。

一般にランナーは、平坦なコースを走ると片足に約 3

倍の体重がかかり、下り坂では約 4.5 倍がかかると言われている。従って、軽いランナーの方が、長距離には有利である。遅いランナーに、適当な食事 (栄養) を与えれば、疲れもとれ少しは元気になり完走時間もよくなる。適当なトレーニングと減量は大切である。

小生は、フルマラソンを走る 1 週間前から、アミノ酸、ビタミンおよびミネラルが含まれている栄養補助食品を摂取している。マラソンのスタート 30 分前、20km, 30km およびゴールしてからもこれを取るようになってから、スタミナの持続、筋肉痛もなくなり、元気で次の日に仕事ができるようになった。これを取る前には、栄養のバランスをくずして、度々口内炎ができて悩まされたことがあった。また、カゼをよくひいた。最近では、口内炎にもカゼにも悩まされなくなった。いかに早く、消耗した栄養を摂取しなければならないかを痛感している。

3.9. 定量 (検量線) とラップタイム

最後に、分析結果と完走時間について述べる。

3.9.1. HPLCにおいて、分析対象物質の濃度とピークの高さ (面積) は、直線性のある検量線としてかくことができる (ex. $Y = 0.342 X - 0.023$, $Y = \text{peak-height ratio}$, $X = \text{amount of analyte in ng}$)。

3.9.2. マラソンにおいて、一流ランナーのラップタイムはコンスタントである (3分/km)。このラップタイムと走行距離をプロットすると、直線性のある検量線が得られる ($t = aX + b$)

いずれも結果は正直に数値 (分析値, 完走時間) で示され、これをどのように解釈して正しく表現するかが重要である。

3.10. 粘り, 感謝および出会い, その他

3.10.1. 小生が、共存物質の多い試料中の微量物質の分析法を開発する場合、90%以上はネガティブデータである。悩み苦しむ日々の連続である。ここでガンバッテ目的の新しい分析法を開発しないと、何も残らない。

3.10.2. マラソンは、苦しくなってから 30-35km の地点がマラソンであると言う。あきらめてしまえば、何も残らない。一度あきらめると、次も苦しくなった時、ガンバレない。しかし体調の悪い時は、勇気をもって収容バスに乗ることも必要である。

3.10.3. 私たちが、HPLC 法により分析結果を出せるのは、性能のよい HPLC 装置、カラム、カラムスイッチング装置、オープン、オートサンプラー、各種試薬、分析試材および廃液処理設備などがあるからで、決して自分の工夫と努力によるものだけではない。

3.10.4. 1999年にボストンマラソンを完走した時、活気のある沿道の応援にびっくりした。それは、ボストン市民が完走者を作っているのだというプライドを感じた。ゴールの後ろには、多くの仲間がいる。

飛行機、鉄道、バス、タクシーなどの交通機関、宿泊設備、病院、警察、ボランティアの人、大会事務局および地元の理解と協力がないと、ランナーを完走させることはできない。すなわち、全てが整っている町でない、ランナーを完走させることができない。

3.10.5. 小生の論文に興味を持っていた外国の研究者と、国際学会のほかに海外マラソンに行った時に会う機会にも恵まれた。また、外国人の親切にも触れた。HPLCの論文およびマラソンが、多くの出会いを作ってくれた。

分析結果および完走の文字は、多くの人の力の結集により書くことができる。これからも、多くの人に感謝して、出会いを大切にHPLCカラムおよびマラソンのカラムを楽しく走りたい。

試験管を振っていないと、微妙な分析のセンスは湧いてこない。教科書では、うまく表現できないノウハウを後輩に体験させたい。たとえば、分析化学会の中に試料調整法の部会を作ったり、これに関する本を官民一体出版して、日本の分析技術をさらに向上させることも大切であろう。

3.10.6. 山田敬蔵先生(75歳)は、海外マラソンおよび国内レースを積極的に走り、走ることのすばらしさを後輩に実証している(フルマラソン完走250回)。このような名ランナーの方がいるから、日本の長距離は世界のトップクラスにいるのであると考える。走って見ないと判らないのもマラソンであり、マラソンは自己申告である。分析結果も、また自己申告である。

3.11. おさそい

クロマトグラフィーを用いた仕事を一生懸命しているが、スポーツに興味のない人もいると思う。HPLCとマラソンは異なるもので、上述したように両者がこんなにも多くの類似点があるとは思っていなかったでしょう。HPLCのみに熱中するのではなく、一度、気分転換のためマラソン(ジョギング)をしてみませんか。ランニングが楽しくなり、また、さらにHPLCが楽しくなると思いますよ。また、いつも同じ環境(実験室)にいと、同じ発想しかできないことが多々ある。しかし、マラソンでは刻々、まわりの環境(風景)が変わる。また、いつもと違ったスタイル(Tシャツ、パンツ・ランニングシューズ)になる。血液の循環もよくなり、いつもとは違

った発想もできると思う。内臓の調子もよくなり、食事もうまいし、足腰も強くなる。スタミナもつく。実験室で長い時間立って仕事をしていても疲れない。自分の体へのいたわり、HPLC装置へのおもいやりもつく。一段と自分および装置を大切にするようになる。

専門のインストラクターによる腹筋および持久力などの体力測定結果は、26.6歳で30歳も若かった。最近ランニングを始めた同期の友人は、コレステロールおよび中性脂肪が高かったが、それぞれ低下してきたと喜んでいて。ランニングがさらに楽しくなったと言う。私のフルマラソン100回完走の時、友人は1回目のフルマラソンで、私と一緒に走ると言う。完走した感動はうまく表現できないが、分析法の開発において苦労を重ねた結果、新しい方法を開発した時のよこび(達成感)に類似している。

仕事とスポーツに限らず、自分の趣味との類似点を捜してアクセントをつけてみると、両者がさらに、楽しくなるのではないのでしょうか。

4. まとめ

本文では、HPLCとマラソンの類似点(分離、デッドボリューム、装置の据え付け環境、試料調整法、カラムスイッチング法、誘導体化法、クロマトグラフィーおよび定量など)について、こじつけたところもあるが、論文スタイルでコミカルに述べてみた。両者の類似点について、まとめてTable 1に示した。

私は、次の2つの質問をしたい。

1. 分析カラムおよびマラソンのカラムを走って、何が得られるのだろうか。
2. 分析試料およびランナーが、カラムの先端(スタートライン)にどんな気持ちで立つのだろうか。

一流ランナーおよび市民ランナーは、自己ベストをめざすため、毎日、工夫努力を重ねている。特に一流ランナーは、より強く、速く走るために、科学的なトレーニングに工夫努力を重ねている。記録は必ず破られる。それは、記録を破ろうとする選手、監督、コーチなどの関係者および応援者がいるからである。たといいい記録がでなくても、苦しみ悩み、工夫、努力したことは、いずれ何らかのかたちでプラスになって自分に戻ってくる。

21世紀、科学の進歩により、科学的トレーニングの導入、よりよい栄養補助食品の開発、栄養の摂取方法、ウェアおよびシューズなどの改良、ランナーおよびスタッフの工夫と努力の積み重ねにより、さらに記録は更新され、やがて1時間50分台で走るランナーもでてくるであろう。また、ランナーの要求により、科学も進歩する。

両者は、車の両輪のようなものである。

HPLCにより得られたデータは、ますます記録の更新に貢献するであろう。マラソンの高速化とHPLCの高速化、どちらが速いのか興味がある。HPLCはきわめて有効な分析法である。最後に、初心者向けに恩師と共著の本“わかりやすい高速液体クロマトグラフィー”（廣川書店）をここに紹介させていただいた[24]。

海外を含めて88回のクロマトグラフィーを完走して、いろいろな出会いにも巡り会えた。小生のいくつかのHPLCの論文に興味を持っていたニュージーランドの研究者には、ホームステイさせていただき、オークランドマラソンを完走した。いずれ100回完走をめざしたい。その時また、紙面で出会えればうれしく思います。

成功のカギは、夢を実現化させるために注いだ工夫と

努力と粘り強い意志であろう。

楽しいこと、やりたいことがある人およびやり残したことに気が付き、よりよい状態にしたいと行動できる人は幸福である。約1/4世紀、クロマトグラフィーを用いた分析法の開発および趣味のマラソンを走ってきたが、本当のゴールになかなか近づけない。今後、少しでも2つのゴールに近づけられるような大きな夢を持ってガンバリたい。100回を完走し、もっと論文を書いたら近づけるかもしれない。

最後に、自分の仕事と趣味との類似点を捜し、アクセントをつけてみると、両者がさらに楽しくなるのではないのでしょうか。クロマトグラフィーとマラソンよりも楽しい類似点が見つかると思います。一度挑戦してみませんか。

Table 1. Similarity of HPLC and marathon

HPLC	marathon
Sample	Many runners
analyte	runner
co-existing compounds	fellow
Apparatus and conditions	
conditioning time	warming-up
injection	starting line
analytical column length	distance
column diameter	road width
column temperature	ambient temperature
dead volume	from her to starting line
detector	finishing line (goal)
mobile phase	runner's blood
(e. g. methanol, acetonitrile)	(nutrients ; amino acids, vitamins, minerals)
stainless tube	runner's artery (vein)
flow-rate (e. g. 1ml/min)	running speed (e. g. 3min/km)
HPLC pump	runner's heart
Reagents and materials	running shirts, pants, shoes, official watch, chips, aid station
Sample preparation	Daily training
SPE	pre-running before marathon
labelling	interval running
Maintenance	health care
Chromatography and Determination	Marathon race
retention time	finishing time
mobile phase	runner's blood
sharp and broad peaks	fast and late runners
column-switching	bus for the later runners
internal standard	pace maker
calibration graph	lap time
analytical date	finishing time
Reagents, materials and instruments supplier	pa volunteer, watcher, goes-equipments
	hotel, traing, bus, hospital etc.

謝 辞

本文の作成にあたり、御助言をいただいた恩師の薬学博士宮崎元一先生（金沢大学薬学部名誉教授）に感謝いたします。

文 献

- 1) 山根靖弘, 宮崎元一, 岩瀬 廣, 村松早苗 衛生化学, 13(1967)212.
- 2) 山根靖弘, 宮崎元一, 岩瀬 廣 衛生化学, 14(1968)106.
- 3) 山根靖弘, 宮崎元一, 岩瀬 廣 分析化学, 17(1968)1131.
- 4) 山根靖弘, 宮崎元一, 岩瀬 廣 衛生化学, 16(1970)254.
- 5) H. Iwase and A. Murai, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 22(1974) 8.
- 6) H. Iwase and A. Murai, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 22(1974) 2075.
- 7) H. Iwase and A. Murai, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 25(1977) 285.
- 8) H. Iwase and A. Murai, *Anal. Biochem* 78(1977)340.
- 9) H. Iwase and I. Ono, *J. Chromatogr.*, 6663(1995)15.
- 10) H. Iwase and I. Ono, *Anal. Sci.*, 11(1995)73.
- 11) H. Iwase and I. Ono, *J. Agric. Food and Chem.*, 45(1987)4664.
- 12) H. Iwase and I. Ono, *J. Chromatogr.*, 771(1997)127.
- 13) H. Iwase, *J. Chromatogr.*, 881(2000)317.
- 14) H. Iwase, *J. Chromatogr.*, 881(2000)327.
- 15) H. Iwase, *J. Chromatogr.*, 881(2000)189.
- 16) H. Iwase, *J. Chromatogr.*, 881(2000)243.
- 17) H. Iwase, *J. Chromatogr.*, 881(2000)261.
- 18) N. Simpson and K. C. Van Horne (Editors), *Sorbent Extraction Technology*, 2nd Edition, 1993, Varian Sample Preparation Product, Harbor City, CA, USA.
- 19) N. J. K. Simpson (Editor), *Solid-Phase Extraction*, 2000 Marcel Dekker, New York, NY, USA.
- 20) F. M. Rabel, *J. Chromatogr. Sci.*, 18(1980)394.
- 21) 岩瀬 廣, *The Chemical Times*, 182(4)2001 13-18.
- 22) 山田敬蔵氏（ヘルシンキオリンピック日本マラソン代表(1952), 第57回ボストンマラソン優勝者, (1953)) 私信.
- 23) K. Blau and G. King, *Derivatives for chromatography*. 1978 Heydenm, London Great Britain.
- 24) 今泉範子, 岩瀬 廣, 木津良一, 中沢裕之, 早川和一, 宮崎元一, わかりやすい高速液体クロマトグラフィー, 1991 廣川書店.
- 25) K. Matsumoto, H. Kikuchi and H. Iri, *J. Chromatogr.*, 425 (1989)323.
- 26) A. Mikan, J. M. Lanam, F. G. Lopez and A. D-G. Hurle, *Biomedical Chromatogr.*, 4(1990)154.

GLP / GMP Validation Support · Certified Quality



KANTO Reagents

分析バリデーションサポート高純度シリカ系ODSカラム

Mightysil® RP-18 GP

GLP / GMP における分析バリデーションをサポートします。



環境保全と健康維持は、私たちの願いです

製品に関する資料をご用意しております。下記までお問い合わせ下さい。

充填剤パッチ間・カラムロット間偏差を厳しい規格として設定し、高精度の充填を行っています。

バリデーションが必要とされるあらゆる分析工程において、安心してご利用いただけます。

常時3パッチの充填剤をご用意しています。

医薬品などの分析法検討の際、充填剤パッチの異なるカラム3本をあらかじめ試験することができます。

充填剤の物性・溶解特性を証明する「Certificate of Analysis」を添付。

酸性、塩基性、金属配位性化合物などの幅広い試料に対して、抜群のピーク形状と高い再現性をお約束します。

Cica 関東化学株式会社 試薬事業本部

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町 3-11-5 03(3663)7631
 〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2-5-1 06(6222)2796
 〒812-0007 福岡市博多区東比恵 2-22-3 092(414)9361

<< <http://www.kanto.co.jp> E-mail: reag-info@gms.kanto.co.jp >>

ISO 17025試験所認定制度と分析の不確かさ

関東化学株式会社 草加工場 検査部 井 上 達 也

1. はじめに

近年、各分野において国際化が重要性を増している。その根幹には世界貿易機構(WTO: World Trade Organization)の“貿易の技術的障害に関する協定(TBT協定: Agreement on Technical Barriers to Trade)”に代表される市場開放、自由貿易のための国際的な調和が大きなウェイトを占め、化学分析も適合性評価(conformity assessment)の重要な一翼をなしている。こうした状況下で、分析の信頼性確保がその重要性を増し、ISO/IEC 17025試験所認定制度、医薬品ICH(International Conference of Harmonization)、食品CODEX(Worldwide Commodity Codex Committees)等の活動を通じ、認識されてきている。

ここに至り、試験所は信頼性確保のシステムを構築し、第三者に対して説得力のある能力の証明を行うことが急務になりつつある。具体的な例としては、多くの試験所がISO 17025に注目し、取得を考慮していることに現れている。当社も試業業界で最初に、ISO/IEC 17025(旧ISO/IEC GUIDE 25)を平成12年10月に取得した。本稿では試験所認定及び不確かさを紹介する。

2. 試験所認定の歴史

試験所認定制度の歴史は、1947年にオーストラリアで非営利機関であるオーストラリア試験機関協会(NATA: National Association of Testing Authorities)の設立に始まる。当時、第二次世界大戦後の軍事資材調達急増に対し、公的機関の検査処理能力が追いつかない状況が生じ、その解消手段として公的機関と遜色のない民間機関を認定し、その試験結果を公的機関のものと同等に扱うことを認めた。

一方、欧州では域内統合を目指し、CEマーキング制度をスタートし、試験所の認定にISO/IEC ガイド25に相当するEN45001を制定した。また、アメリカでは1980年代にアジアからの輸入品及び自国製のファスナー(ボルト、ナット等の締結用部品)に偽表示品が出回り、これ

主な認定機関の設立

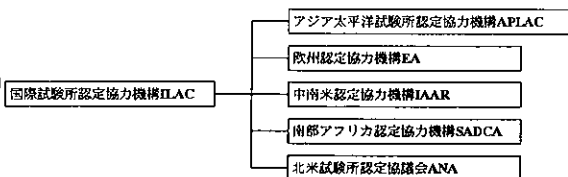
1972年	IANZ (ニュージーランド)
1976年	NVLAP (米)
1979年	PALCAN (加)
1985年	NAMAS (英)
	(1995年 UKASに変更)
	HOKLAS (香港)
1987年	A2LA (米)
1988年	DAP (独)
1990年	CNLA (中)
1992年	KOLAS (韓), DACH (独)
1994年	COFRAC (仏)
1996年	JAB (日)

に起因する自動車事故の発生が社会問題化し、その対策としてファスナー品質法(Fastener Quality Act, FQA)が制定された。この法律の重要な要素が関連試験を行う試験所の認定であった。こうした背景のもと、試験所認定が徐々に世界中に広がり、同時に国際的な統一の必要性から、1978年に試験所認定の一般的要求事項であるISO/IEC GUIDE 25が制定された。その後の改訂を経て、2000年にISO/IEC 17025へと引き継がれた。日本では、以下に示す5系統の試験所認定制度を基に展開が図られている。

JAB	[Japan Accreditation Board for Conformity Assessment]試験所・校正機関認定制度
JNLA	[Japan National Laboratory Accreditation System]工業標準化法に基づく試験事業者認定制度
JCSS	[Japan Calibration Service System]計量法に基づく校正機関認定制度
JCLA	[Japan Chemical Laboratory Accreditation](社)日本化学工業協会試験所認定制度
VLAC	[VCCI Laboratory Accreditation](株)電磁環境試験所認定センター

試験所認定制度の背景には、一つの試験所が発行した試験報告書が他国でも有効に使用されることで受け入れ検査等の省略を目指している(One Stop Testing)。これを具現化するためには、認定機関の能力把握及び相互承認(MRI: Mutual Recognition Agreement)が必要となり、相互承認の仕組みとして各地域に国際組織が構築され、地域内での相互承認が実施され、さらには国際組織同士の相互承認が実施された。

日本からは、JAB, JNLA, JCSSがMRIに参加しており、JABに認定された当社の試験報告書は世界の大部分の国で通用することとなる。



3. ISO/IEC 17025とは

ISO 17025試験所認定は、ISO 9001, 14001とはかなり異なった特徴をもっている。ISO 9001, 14001は認定機関によって認定を受けた審査登録機関が各事業所を認証する流れであるが、ISO 17025では認定機関が直接、試験所を認定する。したがって、下表に示すように認定された試験所はISO 9001, 14001の審査登録機関と同じ階層に位置する。また、認証と認定は後述する定義が示すように性質が異なる。

国際的MRI枠組み	製品認証		MS適合登録	試験/校正	検査
	IAF/PAC		ILAC/APLAC		
相互評価	ISO/IEC Guide 61		ISO/IEC Guide 58	ISO/IEC TR 17010	
認定機関	認定機関 (JAB他)				
認定	ISO/IEC Guide 65	ISO/IEC Guide 62	ISO/IEC 17025	ISO/IEC 17020	
適合性評価機関	製品認証機関	QMS・EMS適合登録機関	試験所・校正機関	検査機関	
認証審査登録試験検査	製品規格 ISO 9000	ISO 9000 ISO 14000	試験規格 製品規格	検査規格 製品規格	
評価の対象	製品・プロセス	組織	サンプル	製品	

ISO/IEC 17025の解説とその適用指針 17025研究会編著(丸善)より引用

認証(Certification): 製品、工程又は付帯サービスが特定の要求事項に適合することの保証を書面により第三者が与える行為

認定(Accreditation): 機関又は個人が特定の業務を行う能力があることの正式の承認を正式な機関が与える行為

<ISO/IEC GUIDE 2>

ISO 17025の認定を取得した試験所が手にするメリットを以下に挙げる。

(1) 試験所の信頼性、報告書の信頼性向上(競争力の強化)

(2) 試験所の信用向上と国際的認知度向上(事業、人材確保のグローバル化)

(3) 国際的な流通促進(one stop testing)

(4) 供給者の適合宣言の基礎確保(ISO/IEC GUIDE 22: JIS Q 0022)

(5) 重複した認定取得の回避

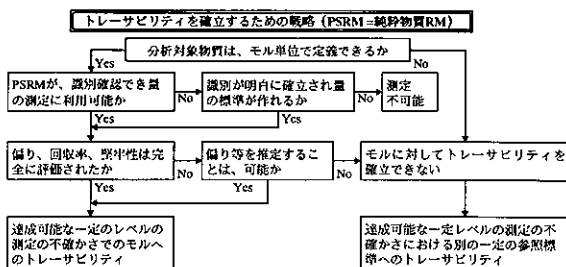
4. トレーサビリティと不確かさ

試験所認定に際しては、試験方法がSI単位にトレーサブルであるかが重要なポイントの一つとなる。

一般的にJIS等で規定された試験方法以外の場合に問題が起きやすく、特に試験所独自で開発した試験方法の場合、SI単位へのトレーサビリティの確保が重要である。

以下にその戦略の一例を掲載する。

4.1 トレーサビリティを確立するための戦略



APLAC-Workshop Report June 2001 prepared by Bernard King

ISO 17025は、常に第三者が客観的に試験所の能力を把握できることを要求しており、その重要な要素が技能試験、精度管理試験等への参加である。近年、技能試験、精度管理試験等の実施が増加の一途をたどり、試薬メーカーはその配付試料の調製が重要な業務になりつつある。試験所が参加する技能試験プログラムは、ISO/IEC GUIDE 43に則って実施されるものが好ましい。技能試験は国内のみならず、海外でも多く実施されているが、その種類には限りがあり、必要とする技能試験が実施されないケースも多い。

ISO 17025はその品質システムに対する要求事項もさることながら技術的要求事項が極めて重要である。その柱は、妥当性確認、トレーサビリティと不確かさである。このうち妥当性確認は、医薬品のGLP, GMP等で既に周知の事項である。トレーサビリティは、すでに十分に理解されているように思われるが、これが不確かさと結びついて議論されると十分に理解されているとはいえない状況にある。トレーサビリティの定義は、“不確かさがすべて表記された、切れ目のない比較の連鎖を通じて、

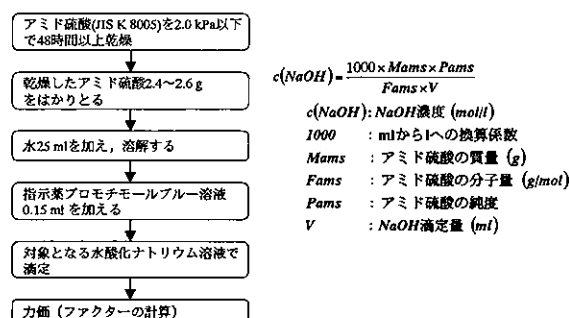
通常是国家計量標準又は国際計量標準である決められた標準に関連づけられる測定結果又は標準の値の性質”であり、不確かさと一対で考えなければならない。

この定義によれば、JCSS適合の複数元素の1000mg/L標準液を希釈して1mg/Lの検量線用混合標準液を調製した場合、厳密に言えばこの混合標準液の不確かさを算出しなければトレーサビリティは途切れたことになる。一方、不確かさの定義は、“測定の結果に付随した、合理的に測定量に結び付けられ得る値のばらつきを特徴づけるパラメータ”と難解なものである。初歩の段階として、不確かさはあらゆるばらつきを合成したものであると理解することから、徐々に知識を深めていくことが現実的であろう。

4.2 水酸化ナトリウム溶液の事例

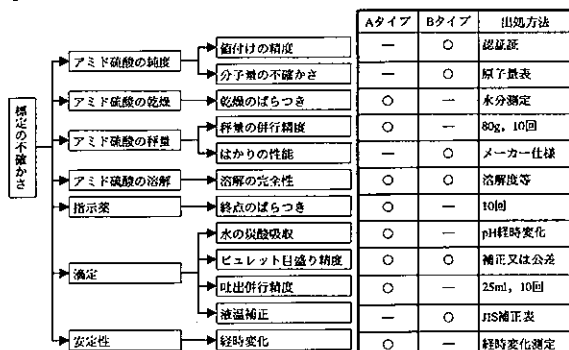
JIS K 8001の0.1mol/l水酸化ナトリウム溶液を例に取れば、次のようになる。

【工程】容量分析用標準物質のアミド硫酸を使用



【不確かさの要因】

滴定用溶液の不確かさの要因を系統図法(Tree diagram)で示す。



Aタイプ評価：一連の観測値の統計解析による不確かさ

の評価の方法

Bタイプ評価：一連の観測値の統計解析以外の手段による不確かさの評価の方法

Aタイプは、繰り返し観測から得られる標準偏差を利用してばらつきを求めるが、Bタイプで入手可能な情報に基づき、測定値の分布を仮定して標準偏差あるいは分散を求める。

【不確かさの合成】

要因ごとのばらつきを標準不確かさとして求め、合成する。

	説明	値 X	標準不確かさ	相対標準不確かさ
mams	アミド硫酸の質量	2.510 5 g	0.000 138 g	0.000 055
Fams	アミド硫酸の純度	0.999 1	0.000 058	0.000 058
Pams	アミド硫酸の式量	97.093 72 g/mol	0.002 9 g/mol	0.000 030
V	滴定量	25.83 ml	0.012 ml	0.000 460

濃度を計算する。

$$C_{\text{NaOH}} = 1000 \times 2.5105 \times 0.9991 / (97.09372 \times 25.83) = 1.000 \text{ mol/L}$$

相対標準不確かさを合成する。

$$u(C_{\text{NaOH}}) / C_{\text{NaOH}} = (0.000055^2 + 0.000058^2 + 0.000030^2 + 0.000460^2)^{1/2} = 0.000 47$$

不確かさを求める。

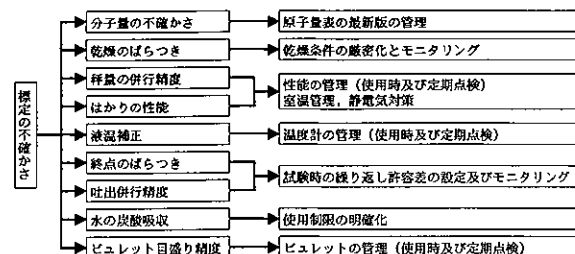
$$u(C_{\text{NaOH}}) = 1.000 \times 0.00047 = 0.00047 \text{ mol/L}$$

n=10で推定しており、自由度がn-1=9となり、95%の信頼水準でt分布表より包含係数2.262を選択し不確かさに乗じて、拡張合成不確かさを求める。

$$U = 2.262 \times 0.00047 = 0.001 \text{ mol/L (ファクターはそのままとする。)}$$

【不確かさの維持】

多くの試験所にとって、不確かさの推定は大きな負担となることが多く、頻繁に実施することができない。そのため、いったん推定された不確かさを維持する必要性がある。以下にその具体例を示す。



上図ではかりに対する室温変動の影響はしばしば議論されているが、静電気のそれについては議論が少ない。実際に湿度が低下する冬季にPFA容器を摩擦し静電気を蓄え、上皿はかりに接近させると静電気の強さにもよるがマイナス2g程度の値が得られる場合がある。試験所活動では、こうしたばらつきの要因を取り除くことが重要である。

5. 試薬に対する要求事項

こうした精度管理を必要とする分野における試薬、標準物質に対する要求事項をCITACガイド1に求めると以下ようになる。

CITACガイド1

“分析化学における分析値の質に関する国際的指針 — 認定・認証のための補助 —”

13 試薬

13. 1

試薬および他の消耗材料の品質は、その使用目的にかなうものでなければならない。試薬および消耗品は、できればISO 9000などの品質保証システムを取得している製造業者から購入するべきである。

13. 2

使用する試薬(水を含む)の品位は、調製、保管および使用に対する特別の注意事項とともに、分析法の中に記述するべきである。この注意事項には、毒性、可燃性、さらに、熱、空気および光に対する安定性、他の化学薬品に対する反応性、特別な容器に対する反応性、およびその他の危険性を含める。試験所で調製した試薬および標準物質には、ラベルを付けて、物質名、濃度、溶媒(水でない場合)、特別の注意事項または危険性、使用制限、調製日時および使用期限を明示すること。調製責任者を、ラベルまたは記録から特定できなければならない。

13. 3

不要試薬の正しい処分は、分析データの質とは直接的には関係がない。しかし、これはGLP(優良試験所基準)の事項であり、国内環境基準または安全衛生規則に従って正しく行わなければならない。

13. 4

試薬の品質が試験にとって重要である場合、新バッチを使用する前に、旧バッチがまだ使用可能な間に新しいバッチの品質と旧バッチとを比較・検証しなければならない。

16 標準物質

16. 1

標準物質、認証標準物質およびトレーサビリティは、ISOガイド30に定義されている。これらの定義を標準(standard)という用語の使用説明とあわせて、3章に示す。

16. 2

標準物質はさまざまな形態をとる場合がある。例えば、次のものはすべて標準物質である。

- ・ 純度95%の塩化ナトリウム
- ・ 1% (w/v) 硫酸銅(2価)と2% (w/v) 塩化マグネシウムを含有する水溶液
- ・ 特定の重量分布範囲をもつ粉体状ポリマー
- ・ 150~151℃の範囲で融解する結晶(固体)
- ・ 既知量のビタミンCを含有する乾燥粉ミルク

16. 3

各種分析における校正は、純度および組成のわかった化学薬品/試薬から試験所内で標準物質を調製して行うことができる。一部の化学薬品/試薬は、製造業者から純度を証明する証明書付きで購入することができる。また、ISO 9000を取得している製造業者から、純度の表示はあるが認証されていない化学薬品/試薬を購入することもできる。そのもとがどうあれ、これら物質の品質が満足なものであることを検証するのは使用者の責任である。通常、化学薬品/試薬の新規に納入されたバッチを旧バッチに照らして検査しなければならない。理想的には、標準物質の目的で使用するすべての化学薬品/試薬は、ISO 9000の認証を取得した製造業者から購入することが望ましい。しかし、品質保証システムは製造業者の製品の品質を自動的に保証するものではないので、試験所はかかる物の品質を確認するためのあらゆる妥当な手段を講じなければならない。

16. 4

適切な標準物質を使用すれば、化学測定におけるトレーサビリティを確保でき、それによって、

分析者は測定結果の正確さを実証でき、装置と方法を校正でき、試験所の能力が監視でき、かつ分析方法も確認できる。また、標準物質を持ち回り、これを(測定)標準として使用することによって分析法や試験所間の比較もできる。上記のことが良い場合には、標準物質の使用が奨励される。

16. 5

標準物質の純度への要求事項は、適用する分析法で認められている許容範囲を基にして定めても良い。例えば、期待値が0.1 %未満の場合には、標準物質は間違いなく99.9 %を超える確かさであることが要求される。

16. 6

認証標準物質の組成は、試料の組成に可能な限り近いことが望ましい。マトリックス効果がある場合には、信頼できる方法で認証された同等のマトリックスを合わせた標準物質(組成標準物質)で実証する方法を採るべきである。かかる試料が作成できない場合には、標準物質としてスパイクされた試料を使用しても良い。

16. 7

使用する認証標準物質は技術的に認められた方法で製造され、性格付けされていることが重要である。

CRMのすべてが同じ方法で確認されているとはかぎらない事に注意をしなければならない。均一性試験の詳細、安定性試験の詳細、認証で使用された方法の詳細、および指定された成分値の不確かさと変動値は、通常、製造業者から入手できるので、それがどのようになされたかを判断することが大切である。標準物質には、認証値およびその不確かさの値の付いた証明書を添付しなければならない。21章参照。

ISOには標準物質に関係する多数のガイドがつけられている(参考文書参照)。ISOガイド34は、標準物質製造業者に対する品質システムの基準を示している。このガイドは、将来にわたる標準物質の製造の認定または認証の基礎を示している。

16. 8

標準物質および認証標準物質には、ラベルを付けて明確に識別し、添付された証明書およびその他の文書も参照しやすくしておくこと。また、保存期限、保管条件、適用範囲、使用制限も添付しておくこと。試験所内で調合した標準物質(例えば、溶液)は、ラベルをつけて試薬として扱う方がよい。

16. 9

不純物の管理は重要である。特に微量成分分析においては重要である。保管および保存期限に関する製造者の勧告には注意を払うべきである。

16. 10

標準物質および測定標準は、汚染または値付け値が損なわれないように取り扱うこと。教育・訓練手順書にはこれらの要求事項を反映させること。

[分析所認定ガイドブック 日本分析化学会編(九善)より引用]

6. まとめ

ここで述べた試験所認定をはじめとする精度管理の世界は、着実に広がりを見せている。この動きに連動するように各種JIS試験方法通則の内容も年々充実し、精度に関する要求事項が増加している。したがって、試験所及び試験要員は常に最新の情報を入手し、自らのシステムに素早く反映させることを要請される。また、こうしたシステム構築に際し、品質を管理された試薬、標準物質の重要性が益々高まるとともに、各種の関連情報を正しく理解することが重要な時代になりつつある。

〈編集後記〉今年は猛暑の夏となり、厳しい暑さが景気回復の好材料に期待されましたが、皆様の地域はどんな夏でしたでしょうか。早いもので10月を迎え、私たちの環境は、冷んやりと涼しいかぜが吹き、空の青さが増し、

木々の葉も少しずつ変化して、秋の訪れを感じます。味覚の代表“秋刀魚(サンマ)”，花の代表“秋桜(コスモス)”，虫の代表“蟋蟀(コオロギ)”等の身近にある秋を堪能する絶好の機会になりますよう祈念申し上げます。(三城記)



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>
編集責任者 三城 侑三 平成14年10月1日 発行