

工業用ナノ材料に関する
環境影響防止ガイドライン
(仮称)
(素案)

平成21年1月27日

ナノ材料環境影響基礎調査検討会

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、
最終版ではありません

目 次

第1章	はじめに	1
1. 1	背景及び目的	1
1. 2	本ガイドラインの位置付け	2
第2章	当面の対応の基本的考え方	4
第1節	本ガイドラインで対象とするナノ材料とは	4
第2節	ナノ材料の使用の実態と環境放出の可能性	4
2. 1	ナノ材料のライフサイクルと想定されるばく露シナリオ	4
2. 2	個別のばく露経路と取扱い時に取り得る対策の検討	6
第3節	管理方策	8
3. 1	管理の方針	8
3. 2	当面採るべき対策	8
第3章	今後の課題	10
	「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の検討委員及び開催状況	12
	(参考1) ナノ材料の定義・用途等	13
	(参考2) ナノ物質に関する用語	15
	(参考3) ナノ材料がヒトの健康、動植物への影響をもたらす可能性	17
	(参考4) ナノ材料の測定方法及び環境中ばく露の現状	23
	(参考5) ナノ材料の計測事例	29
	(参考6) ナノ材料の環境中挙動に関する情報	31
	(参考7) ナノ材料の試験方法及び今後の課題	33
	(参考8) 既存技術によるナノ材料の除去の可能性	36
	(参考9) 排気中のナノ材料の除去のためのフィルター	38
	(参考10) ナノ材料の管理方策に関する既存指針等における廃棄物の取扱い	39
参考資料1	有害性に関する試験結果	40
参考資料2	測定方法の原理・特徴（主に作業環境の測定方法）	44
参考資料3	環境への放出の可能性（整理集約表）	45
参考資料4	国内外の取組の現状と動向（整理集約表）	48

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、
最終版ではありません

第1章 はじめに

1. 1 背景及び目的

ナノテクノロジーは、微小な大きさ及び特殊な形態や化学構造等の特性を持ち、従来の素材にはない物性を示すことが知られている新素材の開発・利用に関する技術分野である。

現在、世界各国で研究開発が推進されているところであり、日本でも第3期科学技術基本計画（平成18～22年度）において、第2期基本計画に引き続いて重点推進4分野の一つに取り上げられている。また、環境省においてもナノテクノロジーによる環境制御、環境計測、汚染の除去・修復等の応用研究を平成15年度以降実施しているところである。

ナノテクノロジーは、革新的な機能や用途、雇用拡大といった側面も含めて、エネルギー・環境、医学、通信、運輸といった様々な分野において今後の国民生活に便益をもたらすことが期待されているが、その利用を我々が享受するためには、利用面での研究開発とともに社会受容性の向上を図ること、特にヒト及び生態系へのばく露が懸念される工業的使用を目的にして意図的に製造されるナノ材料（以下「ナノ材料」という。）がそれらに悪影響を及ぼさないための管理が適切に行われることが必要である。

一方、我が国において、法的な枠組みによるナノ材料に対する管理・規制措置は、現時点では講じられていない。その背景として、その管理措置の前提となるべきナノ材料の有害性についての知見が必ずしも十分ではないこと、ナノ材料は利用の拡大が見込まれているもののその見通しについても先端技術として取り扱われ情報公開が必ずしも十分ではなく、現時点で将来にわたるばく露経路を同定することが困難であること等が挙げられる。これらに関する評価手法については、国際的に検討・評価されている現状であり、各ナノ材料の詳細なリスク評価の実施にはまだ時間を要するものと考えられる。

しかしながら、これらのナノ材料の中には、ヒト健康被害が発生するアスベストと形状が似通っている物質や、二酸化チタンのように、ナノ材料の特性を踏まえた粒子サイズ特有の毒性に関する知見は限られていても、物質としての有害性の一定の評価がなされている物質もある。これらの物質が環境中に放出された後にその有害性が明らかになった場合に、当該物質を回収し、かつ環境を回復するために多大な困難を伴うであろうことは想像に難くない。また、環境中へのばく露が現実的なものとなれば、有害性の評価が確定される前に、ヒトあるいは生態の被害が顕在化するおそれもある。

我が国及び世界においては、有害性の同定がなされないままに使用が拡大し環境への放出がおこった結果、深刻な健康被害が発生した。同じ過ちを犯すことはできない。アジェンダ21の第15原則でも予防的な取組が求められており、これは被害が発生した際に、原因事業者にも求められる多大な負担を軽減する意味でも重要な取組みである。このため、ナノ材料の利用にあたっては、そのような被害の防止を未然に図ることが肝要である。

物性・毒性及び用途についてはナノ材料を取り扱う事業者（製造する事業者、使用し製品として利用する事業者、運搬あるいは廃棄物として処理する事業者等）が最も多くの知見を有す

ることに鑑みれば、ナノ材料の利用が現に拡大しつつある現時点においては、ナノ材料を取り扱う事業者等によって、環境中放出を防止するための自主的な管理が行われることが期待される。環境政策においては、汚染物質について、規制等に基づき、環境への排出抑制等の対応が行われている。しかし、ナノ材料の特徴については社会が普遍的な知見を共有するに至っておらず、また、その一方で、取扱い事業者は社会が共有できていない情報も把握できる立場にある。

本ガイドラインは、このような背景を踏まえ、ナノ材料を取り扱う事業者等によって適切な管理措置が講じられることで、ナノ材料が環境経路でヒトあるいは生態系にばく露することによって生ずる悪影響を未然に防止することを目的とし作成されたものである。また、現時点で得られている知見及び今後の課題の整理についても試みた。

1. 2 本ガイドラインの位置付け

本ガイドラインは、上述の通り、環境経路でのばく露を防止するためにナノ材料を取り扱う事業者がナノ材料の性状等に基づいて則るべき方針についてまとめたものである。この役割に沿って、以下に示す3つの観点から整理した。

(1) 現時点での情報・知見

現時点で得られる情報・知見を収集・整理し、広く公開することにより、取扱事業者、行政、市民で情報を共有し、不正確な情報や漠然とした不安を解消するとともに、可能な対策を検討するための基礎材料となるものとする（情報は主に参考として資料に添付した）。

(2) 当面の対応の基本的考え方の提示

ナノテクノロジーの責任ある開発を推進する観点から、一般環境保全に係る予防的取組の必要性に鑑み、国や事業者等が取り組むべき事項、留意すべき点等を提示する。

(3) 今後の課題

事業者自らによる適切な管理の促進のため、現時点で得られる情報・知見、未だ解明されていない問題を整理し、一般環境経路のヒトあるいは生態系に与える影響防止の観点から、今後優先的に知見やデータの収集あるいは技術開発等に取り組むべき課題を明確化し、国等と連携すべき内容を呈示する。

なお、ナノ材料がヒト及び生態系に悪影響をもたらす可能性は、本ガイドラインが対象とする環境経路のばく露以外にも、事業場内で作業従事者が受けるばく露及びナノ材料を含有した製品の使用時に消費者等が受けるばく露が想定される。これらについても未然防止の取組が必要であるが、このための対応については厚生労働省において検討され、通知あるいは報告書が

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

公表されているところである¹。また、経済産業省においても、事業者の自主的取組の観点からの対策について検討が行われている。

本ガイドラインは、現状で確認できたナノ材料の使用状況を前提としたもので、新素材や新製品の開発によっては新たな環境への放出が生じる可能性がある。このような場合についても、本ガイドラインに示した基本的考え方に沿って、事業者により適切な管理手法が選択されることが期待される。

※本ガイドラインの作成に当たっては、有識者、学識経験者からなる「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」を開催し、4回にわたる検討会等を通じ、委員より御意見、御助言等を得つつ取りまとめた（巻末資料参照）。

¹ 「ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会（ナノマテリアルについて）報告書」（平成20年11月）
<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2008/11/dl/s1126-6a.pdf>

第2章 当面の対応の基本的考え方

化学物質による環境リスクを管理する場合、その有害性の程度を確認し、それに応じた管理方針（放出量を一定のレベルに抑制することで、ヒトや動植物へのばく露の程度を悪影響のおそれの無いレベルに制御すること）を採ることが必要とされる。しかし、ナノ材料の場合、前章で整理したとおり、有害性の評価が困難な状況であり、環境影響を防止するために必要なばく露管理レベルが設定できない状況である。

このような現状の下、ナノ材料については、有害性の懸念を示す試験結果等があり、また、一旦環境中に放出されれば環境浄化が困難なことに鑑みれば、環境中への放出を可能な限り防止する対策を採ることで、それらが及ぼし得る悪影響を未然防止する観点が必要である。

本章では、ナノ材料が環境経路でヒト健康や動植物に及ぼす影響を未然防止するための当面の基本的考え方として、使用実態と環境放出の可能性及び望ましい管理方針についてまとめる。

第1節 本ガイドラインで対象とするナノ材料とは

ナノとは、10のマイナス9乗（ 10^{-9} ）を表す言葉であり、長さの単位として用いられる場合、1ナノメートル（1nm（ 10^{-9} m））とは1メートルの10億分の1である。人や生物を構成している細胞の大きさがマイクロメートル（1メートルの100万分の1）というサイズのオーダーであるのに比べ、ナノメートルは分子の大きさのオーダーであり、生体内への取り込まれやすさ、取り込まれた後の反応が、従来扱われて来た物質とは異なることが明らかになりつつある。

本ガイドラインで対象にする物質は、その大きさ（粒径あるいは少なくとも1辺の長さ）がナノスケール（1nm～100nm）で表されるものである。それら物質をナノ粒子と呼んだ場合、ナノ粒子の起源には、①自然界に元々存在するもの、②燃焼や摩擦により非意図的に発生するもの、③人工的にある用途のため意図的に製造されるもの、が挙げられる。このうち、③については、今後様々な用途でその利用の拡大が見込まれるものである一方、管理が十分で無い場合には環境中への放出を通じた健康等への被害が生ずる危険性がある。そこで、本ガイドラインでは、③の工業的に製造・利用されるナノ粒子を「ナノ材料」と呼び、主に扱うこととする。

第2節 ナノ材料の使用の実態と環境放出の可能性

ここでは、ナノ材料の使用の実態とそれに伴う環境放出の可能性について、文献調査及び事業者からのヒアリング等により得られた知見を取りまとめた。これについては、次節で、事業所ごとに必要な対策を検討する上での参考となる。

2.1 ナノ材料のライフサイクルと想定されるばく露シナリオ

ナノ材料の製造、使用、廃棄といったライフサイクル、及びその過程で一般環境にナノ材料が放出される全般的な経路を図に示す。ここでは、特定のナノ材料に着目せず、一般的に想定される経路を想定した。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

例えば、化粧品に含まれるナノ材料は洗顔時に下水に流入し、下水処理場で一部汚泥として回収され、処理できない部分は公共用水域に流れ込む。下水汚泥は廃棄物（産業廃棄物）となり、直接又は中間処理を経た後、焼却処分されると想定される。

また、ナノ材料を含むプラスチック類は廃棄物として焼却処分、マテリアルリサイクル、埋立処分等の処理が実施される。焼却の際、一部のナノ材料は熱分解するが、熱分解しないものはばいじんや燃え殻に残存し、一部は大気中に放出される。リサイクル施設では、処理途中で一部は排水中に移行し、汚泥として回収されない部分は公共用水域に放出されると想定される。

このようにして、ナノ材料の製造、使用、廃棄の状況に関する種々の情報を整理した上で、ナノ材料が環境に放出される経路を網羅的に推測した。なお、各材料の検討結果は参考資料3に集約した。

なお、土壌汚染は現状では直接の放出の可能性は小さいことから本検討では含めていないが、将来、土壌微生物に対する有害性等の情報が増加し、蓄積されれば、これらを含め本ガイドラインを更新する必要性を検討することが必要であろう。

なお、現時点では知見が乏しいが、ナノ材料を大量に埋立処分を行う場合、廃棄物処分場跡地の改変及び利用の際に問題となる可能性がある。

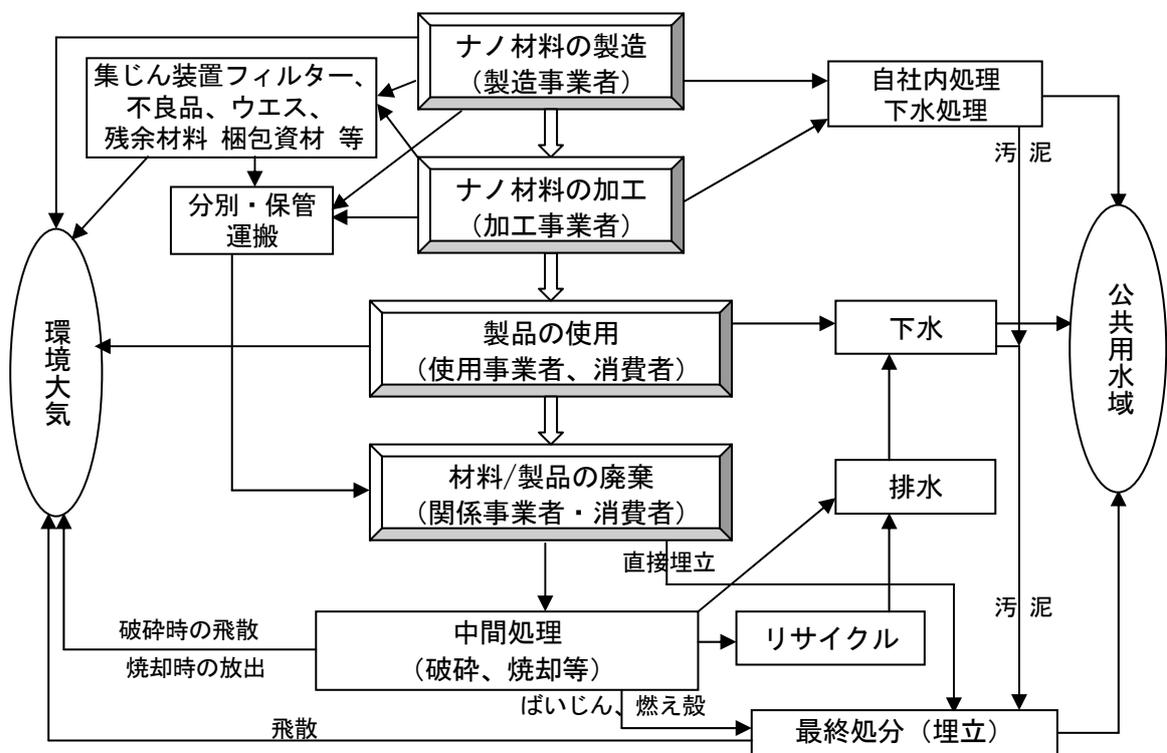


図 製造、使用、廃棄に伴うナノ材料の移行経路の概要（全体想定図）

2. 2 個別のばく露経路と取扱い時に取り得る対策の検討

前節の整理を基に、各事業所が、ナノ材料を扱う段階として図中のどこに相当するのか、扱っているナノ材料の性状や形状、種類と加工プロセスを想定すればどの環境媒体への放出の可能性があるのか、具体的なばく露経路と可能性を特定することが必要である。その可能性があった場合には現実の放出を防止するため、特定されたばく露経路ごとに、適切な管理技術を個別に検討する必要がある。ばく露経路を特定することで、取扱い時に採るべき対策、採り得る対策を具体化することが可能となる。

ここでは、その作業の参考として、個別のばく露経路の抽出と、それに応じてナノ材料の取扱時毎に取り得る対策を整理した。

(1) ナノ材料の製造時及びナノ材料の加工（使用製品の製造）時

ナノ材料の大気放出の可能性としては、まず製造又は加工プロセスからのナノ材料の放出・飛散がある。

ナノ材料の大気への飛散を防ぐためには、工程を密閉化するか、事業場からの排気を処理し、排気中のナノ材料を除去することが考えられる。除去のためには局所排気装置を設置し、排気からナノ材料が放出されないよう、ナノ材料を捕集できるフィルターを設けることが考えられる。

使用するフィルターの選択に当たっては、ナノ材料が凝集していることも考慮し、粒径又は凝集の状態、フィルターの捕集能力等を考慮する必要がある。

厚生労働省が「ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会報告書（2008年11月）」により指導している局所排気装置（HEPA フィルター等の高性能フィルターの使用）を使用することで、放出抑制には効果があると考えられるが、適正な頻度での交換等の取扱上の管理を十分に行う必要がある。

製造プロセス又は加工プロセスからの廃水、清掃等の作業により生じた廃水に含まれるナノ材料による公共用水域への放出の可能性もある。事業者が排水処理施設を設置し、凝集沈殿等の処理を行うことが想定されるが、それによる除去効率が十分かどうかについては今後確認を行う必要がある。なお、既存のナノ材料について、科学的な検討により凝集性が確認されているものもあることから、取り扱うナノ材料の凝集性に関する知見を収集した上で、導入される凝集沈殿方法が適切であるか、専門家と相談することが適切である。なお、凝集処理された排水処理汚泥は産業廃棄物として固化処理あるいは焼却処理されることから埋立処分された場合の環境中への再放出の可能性は少ない。

ナノ材料を輸送する際には、輸送時の大気への飛散、梱包又は開封時の飛散の可能性もある。この点に関しては、輸送する場合の取扱（梱包、開封等）場所や取扱方法、梱包紙等の適切な取扱いによりこれらの飛散は抑えることが可能である。

事業場で使用したフィルター（HEPA フィルターなど）、清掃時に使用した紙類、布類、使用済みの運搬容器や袋等は、取扱いが適切でない場合、大気への飛散が生じる可能性がある。そのため、取扱方法には注意する必要がある。これらを廃棄・保管する際は、後述するように密閉化が最も適した軽減策であり、そのためにもナノ材料を含むことを表示することが適当である。

不良品や開発用に使用したナノ材料で不要となったもの等、ナノ材料自体が直接廃棄される場合がある。これらについては、廃棄物処理事業者に引き渡された後、その内容に応じた処理方法が採られない場合には、廃棄物処理過程を通じてナノ材料が環境に放出される可能性がある。

(2) 製品の使用時

化粧品や日用品でナノ材料が使用されているもの（二酸化チタン、酸化亜鉛、銀、ポリスチレン等）は、その使用中（洗顔等を含む）に一般家庭下水から公共用水域に放出される可能性がある。

光触媒機能を有する塗料（アナタース型二酸化チタン等）では、ナノ材料がもつ光触媒機能による塗料の劣化等が避けられず、塗料の劣化及び剥離によって環境中に放出される可能性がある。

さらに、ナノ材料を含むスプレーの場合は、その使用時に環境中に直接的に放出される可能性がある。

(3) 廃棄物の処理時

中間処理の段階で破砕処理されるものでは、破砕時にナノ材料が飛散する可能性がある。

焼却処理された場合は、炭素系のナノ材料は、現在我が国で規定されている焼却施設の性能（800℃以上、滞留時間2秒以上）では分解される可能性が高い（参考10参照）。

一方、金属系のものについては焼却時の挙動及び集塵装置の捕集効率が不明であり、一部は集じん装置で捕集できずに大気中に直接放出される可能性がある。

焼却施設で生じたばいじん及び燃え殻は、熔融等の固化処理が施されており、これらから環境中に再放出される可能性は少ない。

下水処理では、処理工程で活性汚泥への吸着や凝集沈殿で除去される割合は高いと考えられるものの、除去効率は現状では不明であり、公共用水域に放出される可能性がある。下水処理で生じた汚泥は、コンポスト化や焼却処分が実施されている。

焼却処分された場合には上記と同様に炭素系のものは分解される可能性が高いが、金属系のものは一部が集じん装置で除去できず大気中に放出される可能性がある。

一方、コンポスト化されているものはナノ材料が残留している可能性がある。

埋立処分された場合は、覆土等の措置により環境中への飛散の可能性は少ない。

なお、浸出水への溶出については、土壌等による吸着の可能性も考えられるが関連情報が乏しく、現状では環境への放出の可能性は否めない。また、ばいじんや燃え殻、汚泥等の処理過程では、取扱場所や取扱方法によっては大気中に飛散する可能性がある。

第3節 管理方策

3. 1 管理の方針

前節で整理したように、ナノ材料は、製造・使用・廃棄に伴い適切な措置が取られない場合、環境中に放出され、ヒトあるいは動植物がばく露する可能性がある。これによる被害を未然に防止するための管理方策としては、ばく露経路を特定し、それを踏まえたナノ材料を放出しない製造プロセス、製品設計、分別・管理等が行われることが基本である。また、外部放出が避けられない場合には、それを補足し、除去する工程を置くことが必要となる。仮に、外部放出されたナノ材料を除去する方策が採られない製造プロセスや用途等があった場合、事業者により安全性が十分証明されない限り、代替物質の導入の検討等により、利用は自主的に控えられるべきである。

管理方策としては、これらの直接的管理技術に加えて、その効果を検証・確認するための測定、有害性情報等の収集、ばく露量の測定、リスク評価による安全性の確認等の対応も含まれる。

3. 2 当面採るべき対策

ナノ材料の環境中への放出管理のためには、各事業者がそれぞれの事情に応じた対応を取ることになるが、以下に一般的に採ることが推奨される対策をまとめた。各事業者が対応を検討する際の参考に利用されることが期待される。

(1) ナノ材料の製造・加工事業場

ナノ材料の製造事業場及び加工事業場では、取り扱っているナノ材料の種類が特定でき、また集中的な放出管理が可能である。これらの事業場では、ナノ材料の環境中への放出を抑制するために、可能な限りプロセス外への放出が行われない措置を実施することが適当である。

- 製造、梱包、運搬等ナノ材料の取り扱う経路を確認し、閉鎖された場所や密閉容器等を使用する、プロセスを閉鎖系に変更するなど、ナノ材料を放出しない措置を施す。

また、プロセス外への放出を遮断することが困難である場合には、一般環境中にナノ材料が放出されないよう適切な処理プロセスを置く必要がある。

- 一般大気中への放出を防止するため、排気装置を外部への拡散防止に有効な箇所に設置する。ナノ材料のために設置された排気装置では、使用しているナノ材料の性状（粒子状のナノ材料は繊維状のものに比べてフィルターによる捕集は困難である）を勘案し、排気部分に環境への放出を防止できるフィルター（HEPA フィルター等の高性能フィルター）を使用する。
- ナノ材料を含む排水は必ず排水処理施設による処理を施すとともに、ナノ材料を含むと考えられる汚泥は、その素材によって焼却（炭素系ナノ材料）や固化（金属系ナノ材料）といった措置を実施する。
- 取り扱っているナノ材料について、用いた高性能フィルターの除去効率や排水処理による除去効率についての情報収集を行う。

多くの場合、環境中への放出の主な経路は、廃棄物としてナノ材料を扱う際に生ずると推測される。特に、純度の高い、まとまった分量を扱うことになるため、それらを環境中に拡散させないための措置が必要となる。

- 使用済みのフィルター、清掃時の紙・布類、不要になったナノ材料、ナノ材料の運搬容器や袋等、ナノ材料が付着している廃棄物あるいはナノ材料そのものは、他の廃棄物と区別して密閉容器に保管し、ナノ材料が含まれることを表示したうえで、廃棄物処理事業者に引き渡す。廃棄処理においては素材に応じて焼却（炭素系ナノ材料）や固化（金属系ナノ材料）といった措置を施すことが必要であり、分別保管と表示はそのために重要である。

（2）ナノ材料を含む製品の設計・販売事業者

ナノ材料を含む製品について、使用時の放出の可能性、放出後の処理の可能性について、製品の企画・設計の段階に配慮し、製品を経由したばく露の防止策、表示等による利用者への注意喚起等を検討する必要がある。

- ナノ材料を用いて製品を設計することを予定する場合、その使用時の放出（例：スプレー）、使用中の放出（例：塗料）、使用後の放出（例：化粧品）、廃棄時の放出の可能性について考慮する。
- 基本的には、ナノ材料を放出させない用途、設計を検討することが基本となる。放出した後の処理可能性も考慮した上で、仮に環境へのばく露が避けられない場合は、安全性が確認されている代替品の活用を検討するべきである。当該ナノ材料の使用が不可避な場合、その毒性、環境残留性について、専門家へ相談しつつ評価を行い、一定のリスク以下であることを確認し、それを使用者に明らかにした上で使用すべきである。
- 環境放出を避けるため、使用時あるいは廃棄時に取り扱いに注意が必要な場合には、表示等により利用者への注意喚起を行うべきである。

（3）ナノ材料を含む製品の廃棄処理時

製品に含有されるナノ材料が明確な場合は、中間処理施設を含めて、製品に記載された注意事項に留意した廃棄処理が可能となる。廃棄物処理事業者は、素材によって焼却（炭素系ナノ材料）や固化（金属系ナノ材料）による埋立といった措置を基本とすることが適当である。

- 含有されるナノ材料が不明な場合には、廃棄物事業者による適切な選択が不可能である。よって、ナノ材料を含む廃棄物を排出する事業者は、適正な分別と表示が必要である。
- ばいじんや燃え殻、乾燥した汚泥などの飛散しやすい廃棄物の運搬等の取扱時は飛散防止措置の実施の上、できる限り飛散しない丁寧な取扱いが必要である。
- 破碎処理を行う中間処理施設等では湿潤化等の適当な処理を施すことが重要である。なお、不必要な破碎も避ける方が適当である。

第3章 今後の課題

ナノ材料の環境影響の未然防止のためには、今後さらに以下の点について検討を深める必要があるものと考えられる。本ガイドラインはナノ材料を製造・使用・廃棄する事業者を対象としたものであるが、事業者自らの努力により情報収集等を行うのみならず、行政との連携により管理方策の改良を行うことが有用であろう。例えば、国は、現時点での知見をとりまとめた本ガイドラインについて、今後とも行政及び事業者が収集した科学的知見に基づき、適時、見直しを行う必要があり、こうした活動に事業者が連携することが必要となろう。

(1) ナノ材料に関する情報の集約

現状ではナノ材料については、その物理特性や有害性等の基礎的な情報が不十分である。

海外においては企業の自主的な情報提供が実施されており、日本においても情報収集整理のシステムを経済産業省が検討中である。

今後、国において情報提供システムの整備がなされた場合には、ナノ材料の物理化学特性や有害性に関する情報を有する企業や研究機関は、積極的な情報提供が望まれる。

(2) 有害性の確認（試験方法）

ナノ材料の有害性については徐々に情報が得られつつあるが、まだ確定された状況にはない。

今後は、有害性に関する試験の積極的な推進が必要であるとともに、それらの結果に関する情報の交換を促進する機構・システムの構築が必要である。特に、ナノ材料の体内での挙動、残留性、慢性毒性について、ナノ材料の物理化学特性を考慮しつつ出来る限り情報収集をすることが望まれる。

また、ナノ材料の物理化学特性に関する知見が不十分なため、その試験方法（試料の調整方法を含む）やエンドポイントが確立していない。試験方法等については現在 OECD 等の国際機関で検討中であり、国はその活動に対する積極的な参画するとともに検討結果を周知する必要がある。

(3) 測定方法

ナノ材料を扱う事業場の作業環境については複数の測定技術の適用が可能とされている。

しかしながら、一般環境中でのナノ材料の測定は、ナノスケールの粒子の分級と同時にナノ材料の化学成分の分析が必要である。これには既存の技術の適用の可能性はあるものの、これまでに一般環境中で計測された事例はない。

繊維状のナノ材料は石綿と類似の手法による採取が可能と考えられるが、粒子状ナノ材料については、特に水試料についての分級技術等が未検討である。

また、成分分析については、金属系のナノ材料は定量下限の問題はあるものの PM2.5 等で使用されている分析方法の活用が可能であるが、炭素系のナノ材料で有機溶媒に溶解しないもの（カーボンナノチューブ等）については分析が困難であり検討を要する。

国は、ナノ材料の計測技術の検討や一般環境中での計測の可能性についての検討を進める必要がある。

(4) 環境中での挙動、実態把握

ナノ材料の環境中での挙動については、推測情報はあるものの、実際の調査結果はない。ばく露経路の推定のためには環境中の挙動に関する情報は必須であり、また環境試料の的確な採取場所や採取方法等を計画する上でもナノ材料の環境中での挙動に関する情報が必要である。

国は、測定方法の検討とあわせて、一般環境中でのナノ材料の存在状況等に関する情報の収集、蓄積を行う必要がある。

(5) 管理技術

現状の排気処理、排水処理、廃棄物処理で実施されている処分技術でのナノ材料の適正な除去等については不明な点が多い。

特に以下のような点について、国は既存技術の有効性の確認及び新技術の検討をする必要がある。

- 排水処理施設におけるナノ材料の除去効率
- バグフィルター等の大型の集じん装置によるナノ材料の除去効率
- 焼却処分時のナノ材料の挙動（特に、金属系のナノ材料について、大きな粒子としてばいじんや燃え殻中に残存する可能性等）
- 埋立処分後の浸出水への移行挙動（土壌への吸着等）
- 破碎処理を実施する際の製品中のナノ材料の飛散状況及び飛散防止技術
- ナノ材料を含むスプレー及び塗料については、現状では環境中への放出防止技術が見当たらず、環境中への放出状況の確認とあわせて、放出防止技術の検討が必要である。

「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の検討委員及び開催状況

「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」検討委員

(敬称略。所属・役職は平成20年4月時点)

川島 昭二	ナノテクノロジービジネス推進協議会 社会受容・標準化委員会委員 (前任 宗兼史典 ナノテクノロジービジネス推進協議会 社会受容・標準化委員会委員)
菅野 純	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部長
貴田 晶子	独立行政法人国立環境研究所 循環型社会・廃棄物研究センター 廃棄物試験評価研究室長
神山 宣彦	東洋大学 経済学部経済学科 教授
小林 隆弘	東京工業大学 統合研究院 ソリューション研究機構 特任教授
櫻井 博	独立行政法人産業技術総合研究所 計測標準計測部門 物性統計科 応用統計研究室 室員
庄野 文章	(社)日本化学工業協会 REACHタスクフォース事務局長 兼 化学物質管理部長
高月 峰夫	財団法人化学物質評価研究機構 常務理事
鷹屋 光俊	独立行政法人労働安全衛生総合研究所 環境計測管理研究グループ 上席研究員
鑪迫 典久	独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター 環境曝露計測研究室 主任研究員
谷本 憲弘	日本酸化チタン工業会 ナノ酸化チタン小委員会 副委員長
中杉 修身 (座長)	上智大学大学院 地球環境研究科 教授
平野 靖史郎	独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター 環境ナノ生態影響研究室長
明星 敏彦	産業医科大学 産業生態科学研究所 准教授

「ナノ材料環境影響基礎調査検討会」の開催状況

- ・第1回検討会 : 平成20年 6月16日
- ・第2回検討会 : 平成20年 8月 6日
- ・第3回検討会 : 平成20年12月24日
- ・第4回検討会 : 平成21年 1月27日

(参考1) ナノ材料の定義・用途等

1 ナノ材料の定義

08年9月に発行されたISO資料によれば、ナノ物質とは、3つの次元（縦、横、高さ）のいずれかがナノスケール（1nm～100nm）²の物質を示すものとされている（参考2参照）。

本ガイドラインでは、ナノ物質のうち、工業的使用を目的に意図的に製造されたもの（OECDに設置されたWPMN（Working party of manufactured nanomaterials）が定義する「特殊な特性あるいは特殊な構造を持つように意図的に作成されたナノ物質」とほぼ同趣旨）を「ナノ材料」と定義し、火山灰や自動車排ガス中等に含まれる非意図的に生じたナノ粒子は含まないものとする。

2 ナノ材料の種類及び用途、使用状況

ナノ材料の使用状況等の情報を表に集約した。

この情報に基づけば、現在我が国において、1トン／年以上が使用されているナノ材料は下記のものである。

- ・1000トン／年以上：カーボンブラック、シリカ、酸化チタン、ニッケル
- ・100トン／年以上：顔料微粒子、アルミナ、酸化亜鉛、モンモリロナイト、アクリル微粒子
- ・10トン／年以上：カーボンナノファイバー、複層カーボンナノチューブ、 dendrimer、銀＋無機粒子、ポリスチレン、
- ・1トン／年以上：酸化セリウム、フラーレン
- ・国内情報はないが1トン／年以上の使用の可能性のある物質³：酸化イットリウム

3 検討対象とする主なナノ材料

本ガイドラインで、主に取り上げるナノ材料について次項に整理した。

まず、OECDのWPMNが優先的に検討を進める対象として選定したナノ材料は下記の14物質であり⁴、2007年時点での国際的な商業的利用状況を勘案して作成されている。これらのナノ材料については、我が国においても、現在、あるいは将来幅広く利用される可能性がある物質として参照することとする。

² nmとは 10^{-9} mの大きさの単位であり、 $1\text{nm}=0.001\mu\text{m}$ である。なお、髪の毛の直径は $10\mu\text{m}$ 程度、細胞の大きさは $10\mu\text{m}$ 程度、ウイルスの大きさは $10\sim 100\text{nm}$ 程度である。

³ UNEP GEO Year Book 2007によれば、2006-2007年の全世界での使用量は2500トン／年、2011-2014年の使用量は7500トン／年と予想されている。

⁴ LIST OF MANUFACTURED NANOMATERIALS AND LIST OF ENDPOINTS FOR PHASE ONE OF THE OECD TESTING PROGRAMME. ENV/JM/MONO(2008)13/REV 07-Jul-2008

[http://www.olis.oecd.org/olis/2008doc.nsf/LinkTo/NT000034C6/\\$FILE/JT03248749.PDF](http://www.olis.oecd.org/olis/2008doc.nsf/LinkTo/NT000034C6/$FILE/JT03248749.PDF)

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、
最終版ではありません

- | | |
|--------------------------|------------------------|
| 1) フラーレン (C60) | 8) 酸化アルミニウム |
| 2) 単層カーボンナノチューブ (SWCNTs) | 9) 酸化セリウム |
| 3) 多層カーボンナノチューブ (MWCNTs) | 10) 酸化亜鉛 |
| 4) 銀ナノ粒子 | 11) 二酸化ケイ素 |
| 5) 鉄ナノ粒子 | 12) ポリスチレン |
| 6) カーボンブラック | 13) 樹状高分子 (dendrimers) |
| 7) 二酸化チタン | 14) ナノクレイ |

(参考2) ナノ物質に関する用語

ナノ物質に関する用語はISO資料 (ISO/TS 27687)⁵では下記のように定義されている。また、幾つかの用語の階層的構造は下図のように説明されている。

- ナノスケール (nanoscale) : およそ 1nm から 100nm の大きさの範囲
- ナノ物質 (nano-object) : 1, 2 あるいは 3 つの外部次元がナノスケールである物質
- ナノ粒子 (nanoparticle) : 3 つの外部次元がナノスケールであるナノ物質
- ナノロッド (nanorod) : 2 つの外部次元がナノスケールであるナノ物質
- ナノプレート (nanoplate) : 1 つの外部次元がナノスケールであるナノ物質
- ナノワイヤー (nanowire) : ナノロッドの連続又は半連続体
- ナノチューブ (nanotube) : 中空のナノロッド
- ナノファイバー (nanofibre) : 柔軟性のあるナノロッド
- アグリゲート (aggregate) : 強く結合した又は溶融した粒子からなるもので、その表面積が個々の構成する物質の表面積の合計よりもかなり小さな粒子 (共有結合や焼結、複雑な物理的絡み合い)
- アグロメレート (agglomerate) : 粒子又はアグリゲート又は両者が弱く集合したもので、その表面積が個々の構成する物質の表面積の合計とほぼ同じもの (ファンデルワールスカや同様の単純な物理的絡み合い)

(アグリゲートやアグロメレートは2次粒子とも呼ばれる)

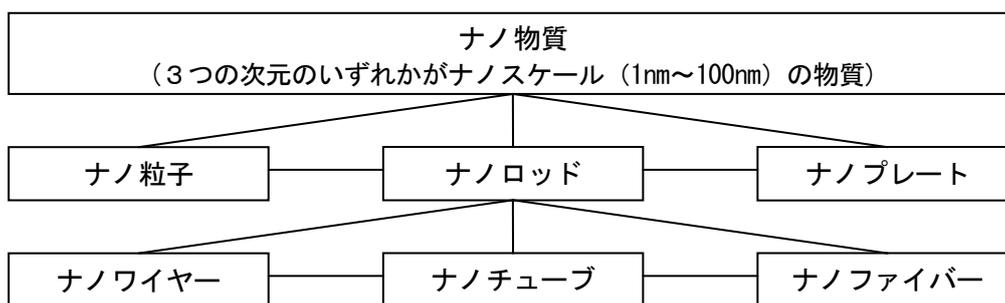


図 ナノ物質に関連した用語の階層構造 (ISO/TS 27687 から作成)

⁵ ISO/TS 27687 Nanotechnologies — Terminology and definitions for nano-objects — Nanoparticle, nanofibre and nanoplate (2008-08-11)

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

表 ナノ材料の種類、使用状況、用途等

ナノ材料の種類	国内使用量 (2006年)	主な用途	将来用途
フラーレン	約2トン	スポーツ用品：100%	燃料電池、太陽電池、バイオ医療、化粧品
単層カーボンナノチューブ (SWCNTs)	約100kg	研究開発中：100%	高速動作トランジスタ、燃料電池、水素ガス吸蔵等
多層カーボンナノチューブ (MWCNTs)	約60トン	半導体トレイ：90%、 その他：10%	導電ペースト、蓄電デバイス、燃料電池、医療等
銀＋無機微粒子	約50トン	日用品、キッチン回り、 食品密封容器等	—
鉄	200～300トン	家電・電気電子製品	—
カーボンブラック	約83万トン	タイヤ：95%、 顔料：4%等	燃料電池・化粧品・高品質 タイヤ
二酸化チタン (ルチル型の使用が多いが、 光触媒塗料にはアナターズ型の 使用が多い)	約1,250トン	化粧品：60%、 トナー：33%、 自動車用塗料：5%	化粧品拡大、トナー・ディスプレイ用、 反射防止フィルム
酸化アルミニウム	約700トン	家電・電気電子製品	—
酸化セリウム	2～3トン	半導体関連の研磨剤	—
酸化亜鉛	約480トン	化粧品：80%、 その他：20%	透明導電膜利用(酸化インジウム スズの代替)
二酸化ケイ素	約13,500トン	シリコンゴム：57%、 FRP：11%、塗料：10%、 その他：22%	既存用途の成熟化
ポリスチレン	約10トン	ディスプレイの反射防止 光拡散用途、化粧品	—
ナノクレイ	約250トン	塗料、化粧品、医薬品、 食品添加物、触媒等	—
樹状高分子 (デンドリマ)	約50トン	紙用途：95%、 その他：5%	紙用途の拡大、医療、燃料電池
顔料微粒子	約800トン	インクジェット等	—
アクリル微粒子	約225トン	化粧品、インクジェット	—
カーボンナノファイバー	60～70トン	リチウムイオン電池：50%、 その他：50%	スポーツ、風力発電用ブレード、 燃料電池
白金	約0.09トン	食品・パッケージ、 化粧品、触媒	家電・電気電子製品
量子ドット	数kg	研究用試薬	医薬品、電気電子製品
ニッケル	約1,200トン	家電・電気電子製品	—
酸化イットリウム	—	蛍光膜	—

参考資料：

- ・「第2回ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会、第2回ナノマテリアルの安全対策に関する検討会(第2回合同会合)、資料3：ナノマテリアルの用途・生産量調査結果報告」
- ・中部経済産業局資料 (<http://www.chubu.meti.go.jp/technology/hp/pdf/283.pdf>)

「—」は明確な情報がないことを示す

(参考3) ナノ材料がヒトの健康、動植物への影響をもたらす可能性

ナノ材料については、一定の条件の下で実施された人や動植物に対する有害性試験の結果が数多く報告されているものの、有害性評価の実施・確定までは至っていない。そのため、ナノ材料の有害性については、OECD等によりその評価手法が検討されている状況である。

1 ヒトの健康への毒性

ナノ材料のヒトへの毒性に関しては、ヒト細胞等を用いた *in vitro* 試験と哺乳類（げっ歯類）を用いた *in vivo* 試験の事例がある。社会的注目も集めた試験として、多層カーボンナノチューブを用いて、遺伝子変異マウス（アスベストに感受性が高く中皮腫の発生が早いマウス）の腹腔内に投与した研究がある。これについては、一定期間に渡る観察により、クロシドライト（青石綿）での発症を上回る中皮腫の形成が確認された。ヒトが多層カーボンナノチューブを吸入した場合に、実際に中皮腫を引き起こすリスクについては、この知見からは明らかではなく、更なる検討が必要である。ただし、この研究例を含めて、仮に十分なばく露とその後の体内への吸収があった場合には、ナノ材料が何らかの悪影響を及ぼす可能性を持っていることは否定できない。

現状は、試験方法や評価方法については国際的に検討されている状況であるため、本ガイドラインでは、毒性に関する評価についてこれ以上の結論は見いだせない。そのため、詳細参考及び参考資料1で整理した各情報についても、それぞれの試験結果を評価する場合には留意が必要である。

2 生態毒性

ナノ材料の生態毒性に関しては、主に、水生生物を用いた毒性試験の事例がある。動植物へ与える影響については、ヒト毒性の研究以上に、得られる情報が少ないのが現状である。ナノ材料を被験生物に投与するばく露の方法についても、そのサイズをどう設定すべきか、それをどう制御すべきか、標準となる試験方法が固まっていない。

よって、詳細参照及び参考資料1では、魚類へ悪影響を与える可能性を示唆する結果等が整理されているが、信頼性の確認、他の試験との比較が困難であり、ヒト健康への影響と同様に、一定の評価を与えることはできない。

3 ナノ材料の特徴と毒性メカニズム

前節までで例示したとおり、ナノ材料は、ヒトの健康あるいは動植物へ悪影響を及ぼす可能性を示唆する試験結果が報告されている。一般に化学物質がそれらに悪影響を及ぼす場合、化学物質そのものが本質的に持つ有害性（個別の物質が固有に持つ化学的性状）の他、分子の形状・サイズや酸性度等の物理的な特徴が有害性に影響を及ぼし得ることが知られている。ナノ材料についても、それぞれの化学的組成（炭素、チタン・銀等の金属等）の違いによって影響の種類や程度が決まるだけでなく、「サイズが小さいこと、表面積が大きいこと、及び酸素反応の活性化の能力の複合作用が、肺損傷の重要な要素になっている (U. S. EPA (2007))」とした報告があるように、ナノ材料がナノサイズであるが故に持つ特性に起因する有害性が懸念されることが指摘されている。

以下に、ナノ材料の形状・サイズが有害性に及ぼす特徴に関連した情報を集約した。なお、これらについても、十分な成果の蓄積があるものではなく、まだ一定の評価に至っている状況ではない。しかし、ナノ材料及びその使用製品の開発、それらの利用、取扱いにおいて、これらの情報を考慮に入れることで、可能な対策を取ることが期待される。

(1) サイズ及び表面積の関係

ナノ材料は（一次）粒子のサイズが小さく、また、サイズが小さくなれば重量あたりの表面積が大きくなるため、同じ成分のより大きな粒子よりも、重量ベースで見れば毒性が強いことが一般に知られている。

(2) 表面特性等

ナノ材料表面の結晶構造や活性酸素種の形成能力、荷電状況等の表面特性がナノ材料の有害性に関係しているという指摘がある。ナノ材料の毒性も表面の特性に大きく左右されていると考えられている。

(3) 形状等

ナノ材料の有害性に関して、特にカーボンナノチューブのような繊維状のものは、その形状が毒性に関与する可能性があるとした指摘がある。

なお、多層カーボンナノチューブでは、ラットの腹腔内注射及びマウスの陰嚢内注入により中皮腫の発現が確認されている。

(4) 皮膚の透過性等

ナノ材料のヒトへのばく露経路の一つとして想定される皮膚を經由した影響（経皮ばく露）に関連し、ナノ材料が皮膚を透過する可能性を示す報告があるが、否定する事例も報告されている。

なお、経口毒性に関しては、食品、添加物、薬品、土壌ダスト、吸入した粒子の摂食といったばく露が考えられるが、質量ベースでは少ないと推測されたとした情報がある。しかし、現状ではナノ材料の経口毒性に関する情報は無い。

(5) 体内での分布、移動

ナノ材料が生体内に取り込まれた際の体内における分布や移動に関する特徴として以下のような情報がある。

- ナノ粒子の健康影響に関する衝撃的な発見の一つは、最初の沈着部位ばかりでなく、より広い範囲で毒性反応を生じさせることである。
- ヒト及び動物実験によれば、大気中に浮遊したナノ粒子は吸入され、気管支に沈着する。そして、動物実験によれば、ナノ粒子は血流によって他の器官に移行する。鼻部に沈着したナノ粒子（中央粒径は 35-37nm）は嗅覚神経に沿った輸送で脳に入り込むことが、近年のラットによる実験で観察されている。

(6) ナノ材料の毒性の発現機序

ナノ材料の毒性の発現機序としては、酸化ストレス及び細胞の障害（炎症）を引き起こすという指摘がなされている。

(7) ナノ材料の生態系への影響に関する特徴

動植物へのナノ材料の影響については、ナノ材料の水中での挙動状況から、以下のような影響を懸念する資料がある。

- ヒトの健康に関する知見から哺乳類についてはある程度想像可能である一方、他の生物では状況が異なることから（例えば、水生生物の鰓呼吸、鳥類の気嚢及び一定方向の空気の流れ）、想像外の経路が存在するかもしれない。
- いくつかの種は抗酸化機能が乏しく、活性酸素の生成を促進するナノ粒子に対して特別に脆弱である可能性がある。
- 魚類については、その表面に存在する粘液層（物質交換の主体となる鰓においても粘液層が存在する）にトラップされやすいため、粘液層がナノ材料に対する保護膜になると推測される。一方で、取り込みによる毒性だけでなく、鰓や体表の表面付着による影響も考慮する必要がある。また、ナノ材料は凝集後には沈降し易くなることから、海底に生息する生物は影響を受け易いと考えられると同時に、海洋表面にもトラップされ易いと考えられ、海洋表面に存在する生物、卵、動物プランクトン等の生物は影響を受け易いと考えられる。

(詳細参考)

ヒト健康及び生態系に及ぼす影響の観点から幾つかの試験結果を参考として紹介する。

なお、下記の情報は有害性情報の一例である。ここで紹介をした試験結果を含めた哺乳類についての *in vivo* 試験結果、及び生態毒性に関する試験に関する情報は参考資料1に集約した。

1 ヒトへの毒性

ナノ材料の哺乳類（げっ歯類）を用いた *in vivo* 試験の事例を数例示す。

- 多層カーボンナノチューブを遺伝子変異マウス（P53+/-）⁶に 3mg/匹の量を腹腔内投与（単回）した結果、25 週後の観察でクロシドライト（青石綿）での発症率（14/18）を上回る中皮腫の形成が確認された（14/16）（同様に実施したフラワーレン（C60）では 152 日後でも腫瘍の発生及び途中死亡は認められなかった）。（Takagi et. al. (2008)）。
- 多層カーボンナノチューブを Fischer 344 系雄性ラット⁷の陰嚢内に単回投与した試験で、26 週までに発がん過程が始まり、52 週以内に高頻度で中皮腫が発生した（坂本ら（2008））。
- マウス及びラットを用いた多層カーボンナノチューブ及び単層カーボンナノチューブ

⁶アスベストに感受性が高く、中皮腫の発生が早いマウス。

⁷自然発生がんのモデル動物として開発されたラット

ブの試験では、気管内注入、肺滴下、口咽頭部吸入によるばく露は炎症を生じさせたとする複数の試験結果がある。(Sato et. al. (2005)、Miller et. al. (2005)、Lo et. al. (2007)、Nmmar et. al. (2007))

- マウスの肺にフラーレン(C60)を滴下した試験では、0.2~3.0mg/kgの投与のいずれにおいてもばく露後1日で炎症及び細胞の損傷が確認されたが、その他の所見では顕著な影響は確認されなかった。(Sayes et. al. (2007))
- 二酸化チタン(直径136-150nm)ではOECDテストガイドライン等に準じた以下の試験結果がある。復帰突然変異試験⁸(OECDテストガイドライン471)及び染色体異常試験⁹(同473):両者とも陰性。急性毒性(局所リンパ節検定¹⁰(同429):低い(EC3が算出できなかった)、皮膚刺激性(同404):少ない、目刺激性(同405):発赤、急性経口毒性(同425):低い(5000mg/kg以上)。(Warheit et. al. (2007))
- 銀ナノ粒子を最大61 μ g/m³の濃度で噴霧してラットにばく露させた試験では(28日間反復、6時間/日、5日/週)、肺組織中の銀濃度はばく露量に依存したが、体重や血液性状に優れた影響は確認されなかった。(Ji et. al. (2007))
- 酸化亜鉛(直径50-70nm)をラットの気管内に点滴した試験では(1.5mg/kg)、TNF- α はほとんど活性しなかったが、IL-6¹¹が産生した。(Sayes et. al. (2007))
- シリカ(10nm)を用いたラットに対するばく露試験では、20mgの気管内滴下で、ばく露後1,2か月での細胞小結節Stage Iで、ナノ粒子のほうが線維の形成が軽度とした報告があり(Chen et. al. (2004))、同様に12, 50, 300-2000nmのシリカ粒子をラットに気管内滴下した試験では、肺毒性は粒子の大きさよりも界面の活性状況に影響されるとした報告がある。(Warheit et. al. (2007))

なお、ナノ材料の素材に関するIARCによる発がん性評価の状況を下表に示す。ただし、IARCの評価はサイズに関係したものではない。

⁸アミノ酸の代謝能力を失った細菌が突然変異で代謝能力を回復することで、被験物質のDNAの損傷性や突然変異誘発能を確認する試験。

⁹染色体の形態又は数に異常を起こすか調べる試験で、ほ乳類の培養細胞を用いることが多い。

¹⁰アレルギー反応に関する試験で、リンパ節中のリンパ球の増殖状況を確認するもの。

¹¹インターロイキン-6。種々の生理活性を持つが、ここでは炎症反応の目安に用いられている。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

表 各物質の発がん性に関する情報（IARCによる評価結果（※））

種類	発がん性の評価	種類	発がん性の評価
カーボンブラック	2（B）	酸化亜鉛	—
ポリスチレン	3	モンモリロナイト	—
アクリル	3	酸化セリウム	—
フラーレン（C60）	—	ニッケル	2（B）
多層カーボンナノチューブ ¹²	—	酸化イットリウム	—
単層カーボンナノチューブ ¹²	—	酸化アルミニウム	—
銀	—	二酸化ケイ素	1（結晶質シリカ）
二酸化チタン	2（B）		3（非晶質シリカ）
鉄	—		

※ 1：ヒトに対する発癌性が認められる、2（B）：ヒトに対する発がん性が疑われる、
3：ヒトに対する発がん性が分類できない、—：記載なし

2 生態毒性

ナノ材料の生態毒性に関する試験事例を数例示す。

- フラーレン（C60）がミジンコの遊泳に及ぼす影響を確認した試験（急性遊泳阻害試験）については、その分散方法に有機溶媒（THF：テトラヒドロフラン）を用いた場合と水中へ直接分散させた場合とでは、ばく露の際の粒子の大きさが異なるが、それぞれの条件により異なった毒性値が報告されている（下表参照）（Oberdorster et. al. (2006)等）。
- 蛍光ポリスチレン（直径 39.4nm）を用いて微少粒子がメダカの体内に蓄積される様子を確認した試験（シースルーメダカ（体が透明で内部が透けて見える）における体内分布に関する試験）では、メダカの卵では卵膜、油球、卵黄、胆のうに、孵化した魚では鰓、消化管、脳、精巣、肝臓、血液中に体内で移行することがそれぞれ観察された。また、シースルーメダカに対する毒性は凝集性の効果を確認するために実施した高塩分域でむしろ毒性が高くなることが認められた（Kashiwada(2006)）。
- 単層カーボンナノチューブによる微小なコペポダ（微小な甲殻類の一種で実験に用いられたものは海底泥中の孔に生息する）を使用した 28-35 日間の飼育試験では、最大 10mg/L の単層カーボンナノチューブ濃度で確認した結果、死亡及び成長に悪影響は与えなかった。（Templeton et. al. (2006)）
- 単層カーボンナノチューブによるニジマス未成魚への影響を確認した試験（0.1～0.5mg/L の濃度）では、鰓の水腫、粘液の増加、鰓蓋活動の増加、及び鰓と消化管での Na⁺K⁺ATPase¹²とグルタチオン¹³の増加が確認されたが、脳と肝臓では確認されなかった。（Smith et. al. (2007)）

¹² Na⁺, K⁺-ATPase は動物細胞に広く存在する酵素で、細胞の体積や浸透圧の調節に関与するほか、神経や筋肉細胞の興奮性の維持等に関与する。

¹³ 細菌からヒトまで普遍的に存在する細胞内物質で、抗酸化作用及び毒物などの細胞外への排出に関与し、細胞を内外の変化から守る役割を持っている。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

- 二酸化チタンについては、OECD テストガイドライン¹⁴等に準じた複数の試験結果があり、藻類の成長阻害に関する試験においてはEC50は44mg/L以上、ミジンコの遊泳阻害影響に関する試験ではEC50は50ppm以上と、影響は比較的小さかった。魚類の急性毒性（死亡）に関する試験でも影響は小さい、といった結果が得られている。(Warheit et. al. (2007)、Lovern & Klaper (2006)、Hund-Rinke & Simon(2006))。
- 銀ナノ粒子（でんぷんあるいはBSE¹⁵でコーティングしたもの、直径5-20nm）がゼブラフィッシュの受精卵（胚）に及ぼす影響を確認した試験（濃度5-100μg/mL）では、濃度の増加につれて胚が茶色に着色し、粘膜で覆われるようになった。また、LC50は25-50μg/mLであり、悪影響が観察された。(Asharani et. al. (2008))

表 フラーレン(C60)の分散方法の相違による
ミジンコ急性遊泳阻害試験結果の比較

(単位：mg/L)

物質	凝集した粒子の 大きさ	分散方法	EC50 (※1)	NOEC (※2)	出典
フラーレン (C60)	93 nm	THF(※3)を 用いた分散	0.46	0.18	Lovern & Klaper (2006)
	10-200 nm		0.8		Zhu et. al. (2006)
	20-100 nm	水への 直接分散	7.9	0.2	Lovern & Klaper (2006)
	10-200 nm		35以上		Zhu et. al. (2006)
	10-200 nm		35以上		Oberdorster et. al. (2006)

※1：試験生物の50%が影響を受ける濃度（50% effect concentration）。

※2：影響が見られない濃度（No observed effect concentration）。

※3：テトラヒドロフラン。有機化合物を溶解しかつ水と混和するため、そのままでは水に溶解しない有機化合物の分散剤として利用される。

¹⁴化学物質の安全性評価のための試験方法を国際的に共通なものとして集成的なもので、国を越えて別々の試験所でも同じように試験が実施できるようになっている。

¹⁵ bovine serum albumin

(参考4) ナノ材料の測定方法及び環境中ばく露の現状

ナノ材料の環境を経由したヒトの健康あるいは動植物へ及ぼす影響を考慮する場合、ナノ材料がどの程度環境中に放出されているのか、将来（例えばナノ材料が使用された製品が使用されている間や廃棄の後に）放出される可能性があるのかについて検討する必要がある。ここでは、ナノ材料の測定技術、環境中のナノ材料の濃度の程度について、現状を整理した。

1 測定技術

(1) ナノ粒子の測定技術

ナノ粒子は、ナノサイズの大きさを持つ特徴から、通常において測定に用いられる技術の多くが原理的に適用されない。粒子サイズの分離、粒子の数や重量の特定のため、特殊な装置を用いる必要がある。例えば、作業環境中で使用可能な技術として参考資料2に示す技術がある。これらは、ナノ材料への適用が可能な技術であるが、後に述べるように、環境中の測定にそのまま利用できる訳ではないことに留意が必要である。

(2) 一般環境大気中におけるナノ粒子の測定技術

一般環境大気中におけるナノ粒子の測定技術について、まだ現状では定まったものはない。次章に示すように、SPMS（走査型移動度粒径測定器）等を用いた一般環境大気中でのナノ粒子の測定事例はいくつか存在するものの、ナノ材料を対象とした測定事例は見当たらない。SPMS等を用いた測定事例が報告されている作業環境中（参考5参照）と異なり、一般環境大気中では測定対象とするナノ材料以外のナノ粒子が多く存在するため、成分分析等も同時に要するといった点に困難さがあるためと考えられる。

ナノ粒子（ナノ材料とは特定されていない）の大きさ別の測定事例があるSPMSでは分級機能が組み込まれているが、その他の装置では分級装置と組み合わせが必要であり、成分分析のためには分級装置によるサイズ別の粒子の捕集が必要になる。

ナノ粒子の分級については、参考資料2に記載したELPI及びDMA（Differential Mobility analyzer：SPMSの分級装置部分）や多段インパクタといった装置を用いることで可能となる。ただし、「多段インパクタでは分解能が十分ではない」、「DMAは捕集量が少ないため濃度レベルが低い場合には適用が困難である」等の問題がある。

分級した粒子（フィルター上に捕捉）については、その後に成分分析に供することが可能であるが、目的とするナノ材料によって難易度は異なる。

金属系のナノ材料の場合はPM2.5に適用される酸分解とICP-MS法を組み合わせた方法が適用可能である（「大気中微小粒子状物質（PM2.5）測定方法暫定マニュアル（改定版）」（環境省、2007年7月））。

しかし、金属系以外のナノ材料（例えば炭素系のフラーレン）では分解して分析する方法は適しておらず、粒子を溶媒等に溶解させた上で計測するといった手法が必要になる。

フラーレンは有機溶媒に溶解することから、生体中のものについて有機溶媒を用いたHPLC及び

GC/MS 等による分析事例があり(国立環境研究所資料¹⁶)、同様の方法で分析が可能と考えられる。

一方、カーボンナノチューブについては水や有機溶媒に溶解しないことから分析は容易ではなく、石綿分析のように形状を電子顕微鏡で確認しつつ EDX による X 線分析法を用いることが考えられる。

なお、オンラインでの成分分析装置としてはエアロゾル化学組成成分装置(ATOFMS)のような装置が開発されているが、大型かつ高価である等一般環境大気中での計測に用いるには課題が残されている。

(3) 一般環境水中でのナノ材料の測定の可能性

ナノ材料の水生生物影響試験等では分光吸光度計等の計測方法の使用例があるが、いずれも実験系として対象とするナノ材料が予め分かっている場合であり、一般の水環境中でのナノ材料の計測事例は見当たらない(参考5参照)。

水中のナノ材料を計測するためには、一般環境大気中での計測と同様に分級した後に成分分析を行う必要となる。水中の微小粒子の成分分析は上述の大気中のナノ粒子の分析と同様にして分析可能である。

即ち、水中あるいはフィルターに捕捉された金属粒子は酸で溶解した後に ICP-MS 法を用いて分析可能であり、フラーレンについても有機溶媒に溶解させた後に HPLC 及び GC/MS 等での分析が可能である。また、大気環境での分析と同様に、電子顕微鏡と EDX による X 線分析法を用いることで、カーボンナノチューブを含む多くのナノ材料も分析可能である。

水中の粒子の分級は現状では 1 μ m で行われており(水質の SS(懸濁物質)の計測方法)、より小さな分級は実施されていないが、実験室や特殊な用途に使用されている 0.1 μ m 以下の粒子のろ過技術には詳細参考に示すものがある。

ただし、これらのろ過技術を組み合わせて環境水中の微小粒子の化学分析を実施した事例はなく、フィルターの目詰まりや分離性能に関する検討も含め、今後の十分な検討が必要である。

2 環境中での計測事例

(1) 環境大気中のナノ粒子の計測事例

一般環境大気中でのナノサイズレベルの粒子状物質の測定事例については幾つか存在する(参考5参照)。ただし、既存事例の対象は自動車排ガス中等に含まれると考えられるナノ粒子であり、ナノ材料そのものの測定事例は確認できなかった。

これは、3.1に記載したように、ナノ粒子の分級等の技術は既存の技術が適用できるものの、一般環境中の他の起源のナノ粒子との区別が困難であるためと考えられる。

¹⁶ 生体試料中分析および皮膚透過性について。(www.nihs.go.jp/center/nanotech_pdf/6.pdf)

(2) ナノ材料の作業環境における測定事例

ナノ材料の作業環境中での測定事例も幾つかある（参考5参照）。

しかしながら、バックグラウンド濃度が高く、複数の測定方法を用いてもナノ材料に起因する明瞭な濃度増加は確認できなかったとされている。

対象とするナノ材料が特定されていても、このようなバックグラウンドの存在といった今後の検討課題が残されている。

(3) 水中のナノ材料の測定事例

水中でのナノ材料の測定事例については、前述のように、室内実験等において単一のナノ材料を分散させた場合の測定事例はあるものの、組成が不明な粒子を含む環境試料についての測定事例は確認できなかった。大気環境と同様に他の起源のナノ粒子との区別もさることながら、ナノ粒子の分級技術といった基礎的な技術の適用性の検討が必要であると考えられる。

3 環境中における挙動

(1) 大気中でのナノ材料の挙動に関する知見

大気中でのナノ材料の挙動については、粒子径の類似する非意図的に生成された超微粒子との類似性が高いと推定されており（参考6参照）、ナノ材料の多くが含まれる大きさの範囲（80nm未満）では、速やかに凝集して大きな粒子になるとされている。

なお、現状では炭素系又は金属系といったナノ材料の組成による大気中での挙動の相違に関する情報はない。

(2) 水中でのナノ材料の挙動に関する知見

水中におけるナノ粒子の挙動については、水のイオン強度（イオンの含まれる量。海水は淡水に比べイオン強度が大きい）や自然由来の界面活性剤等の存在で傾向は異なるものの、一般にはコロイド粒子と類似の挙動を示すと推測されており（参考6参照）、5nm～100nmの範囲では主に凝集作用が生じると考えられる。

このため、ナノ材料の有害性等に関する試験などでは、安定した試験懸濁液の作成のために特殊な分散剤や分散方法を用いられることが一般的であるが、環境中に放出されたナノ材料の凝集の程度や、凝集後の挙動に関する科学的知見については現段階では得られていない。

なお、現状では炭素系又は金属系といったナノ材料の組成による水中での挙動の相違に関する情報はない。

4 環境中挙動及び測定技術に関するまとめ及び課題

(1) 環境中でのナノ材料の挙動

先に述べた通り、ナノ材料に顕著な性質の一つに凝集し易いということが挙げられるが、環境中に放出されたナノ材料の凝集の程度や、凝集後の挙動については科学的知見が得られていないのが現状である。

このように、現実には、大気環境中、あるいは水環境中にナノ材料が放出された場合、どのよう

に挙動するののかについては、明確な情報がない。

(2) ナノ材料の成分分析及び非意図的発生粒子等との区別

一般環境大気中あるいは一般環境水中には種々の起源、サイズの物質が含まれている。カーボンナノチューブについては自然界での存在についての情報はないが、金属系のナノ材料はもちろん、フラーレンも自然界に微量に存在することが知られている（北海道のブラックシリカ石や中国の高級墨等）。

サイズについては分級等の方法を採用することでナノスケールに特定することは可能であるが、定量と定性の両方を同時に分析できる技術の導入にはまだ課題がある。なお、一旦分級し補足した粒子について、更に成分を特定することは金属系のナノ材料であれば比較的容易であるものの炭素系では困難であることが知られている。仮に特定されたとしても、同一の化学成分、金属成分の粒子について、工業的に製造されたナノ材料と自然起源など他の起源の粒子との区別については容易ではないものと推測される。

(3) 測定技術の実現性、汎用性

上記のように、現状の技術の組み合わせでナノ材料の分級や成分分析については、限定的な分析内容であれば可能な場合がある。

一般環境大気については、作業環境測定に用いられる手法が応用できる可能性は大きいものの、それでも、大気環境中には種々の粒子が存在すること、測定対象とするナノ材料の一般環境中濃度レベルが非常に低いと想定されること等を勘案すると、各装置の適用性について十分な予備検討が必要である。

また、現状では一般環境水中のナノ材料の測定事例はなく、分級技術（例えば、水のろ過ではフィルターの性能（目詰まり、ろ過能力等）によってろ過に多大の時間を要する可能性がある）や各分析技術の検出濃度レベル等について十分な予備検討が必要であり、使用の容易さや汎用性も加味した検討が必要である。

(詳細参考)

既存の計測・分析手法のうち、ナノ材料の環境中での計測・分析に応用可能と考えられる技術は以下の通りである。

1 粒子の大きさ別の個数の測定器

- ・凝縮式粒子計数器（CPC：Condensation Particle Counter）（以下、「CPC」）

※アルコール等で粒子を拡大して計数するので、大きさを区別するには分級装置と併用することが必要。

- ・走査型移動度粒径測定器（SMPS：Scanning Mobility Particle Sizer）

※分級装置が組み込まれている。

※DMAS（Differential Mobility Analyzing System）の名称も用いられる。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

- ・電子式低圧インパクト (ELPI : Electrical Low Pressure Impactor)
※分級装置が組み込まれている。
- ・電子顕微鏡 (走査型、透過型) (Electron Microscopy (SEM, TEM))

2 粒子の大きさごとの重量の測定器

- ・フィルター振動法測定器 (TEOM: Tapered element oscillating microbalance)
※分級装置は組み込まれていないので、分級装置を併用することが必要。
- ・走査型移動度粒径測定器 (SMPS)
※個数を計測するもので、密度が分からないと重量換算はできない。
- ・電子式低圧インパクト (ELPI)
※個数を計測するもので、密度が分からないと重量換算はできない。

3 粒子の表面積の測定器

- ・走査型移動度粒径測定器 (SMPS)
※個数を計測するもので、形状が分からないと表面積換算はできない。
- ・電子式低圧インパクト (ELPI)
※個数を計測するもので、形状が分からないと表面積換算はできない。
- ・拡散荷電装置 (Diffusion Charger)
- ・(走査型、透過型) 電子顕微鏡 (Electron Microscopy (SEM, TEM))

4 成分の分析器

- ・エアロゾル化学組成成分装置 (ATOFMS) (30-300nm の分級が可能なモデルがある)
- ・エアロゾル質量分析計 (AMS) (10nm 程度以上の分級が可能)

5 水生生物影響試験等において用いられたことがある計測方法

- ・透過型電子顕微鏡 (TEM) 及び走査型電子顕微鏡 (SEM)
- ・分光吸光度計、紫外線分光光度計、ICP-OES (ICP 発光分光分析)
※供試試料で予め有効な波長及び検量線を作成した上で計測する。
- ・動的光散乱光度計 (dynamic light scattering device)
※ブラウン運動によって生じる散乱光のゆらぎを計測する方法。
- ・液体シンチレーションによる C^{14} でラベルしたカーボンナノチューブの計測
※放射性同位体である C^{14} を計測することで対象の物質を計測する方法。
- ・微分干渉顕微鏡、蛍光解剖顕微鏡、暗視野光学顕微鏡分光装置を用いた挙動観察
※特定のナノ材料の蛍光発色や光学的特性を利用し、その存在場所を把握する手法。

6 0.1 μm 以下の粒子のろ過技術

- ・メンブレンフィルター (孔径 0.1 μm 以上)
- ・限外ろ過膜あるいは精密ろ過膜 (孔径 1~100nm のものがある)

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

- ・セラミックフィルター（数 nm～ μ m の孔径のものがある）
- ・逆浸透膜（nm 以下のレベルでの分離が可能）

(参考5) ナノ材料の計測事例

1. 環境大気中のナノ粒子の計測事例

下図はイギリスのロンドン市内及び郊外での一般大気中の微小粒子を SMPS (走査型移動度粒径測定器) で測定した事例である。

ロンドン市内では 100nm 以下の粒子が 800-1000 個/cm³¹⁷であるのに対し、郊外では 100-200 個/cm³程度であった。また粒子サイズはロンドン市内では 20-30nm 程度のものが多いのに対し、郊外では 80-100nm 程度のものが多いことが認められている。

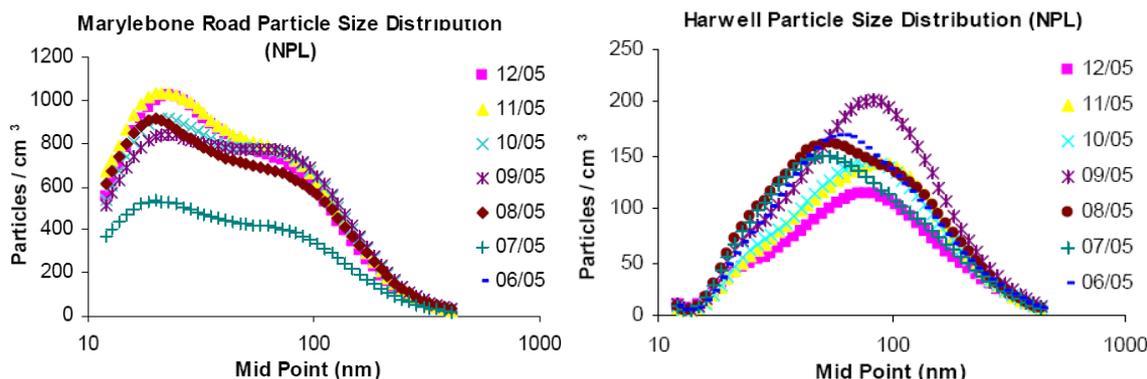


図 ロンドン市内 (左) 及び郊外 (ロンドンから西約 70km) での大気中の微小粒子の分布 (2006 年) (測定機材 : SMPS (走査型移動度粒径測定器))

(イギリス DEFRA web site 資料から引用)

また、東京都内の 304 箇所の沿道での微小粒子を走査型移動度粒径測定器で測定した結果では (2002 年)、直径 30-40nm の粒子の濃度として $0.5 \times 10^5 \sim 2.5 \times 10^5$ 個/cm³ と、上記のロンドン市内と同程度の濃度の測定結果がある ((財) 石油産業活性化センター資料)。

2. ナノ材料の作業環境における測定事例

ナノ材料の取扱事業場での計測事例として、フラーレンを用いた加工工場における測定事例を次頁の図に示す (「ナノテク取り扱い職場の現場例その1 フラーレン加工 2008 年 10 月 28 日、独立行政法人 労働安全衛生総合研究所」)。測定には SMPS (走査型移動度粒径測定器) が用いられている。

反応容器からの掻き出し作業が 12:20 頃に実施され、その直後に <20nm、20~50nm の大きさの粒子がわずかに増加するものの、全体にバックグラウンド濃度が高く、ナノ材料の明瞭な濃度増加は確認できなかったとされている。

¹⁷ 各分画での値。分画数が約 30 あるので、市内では $10^4 \sim 10^5$ 個/cm³ のレベル、郊外では 10^3 個/cm³ のレベルとなる。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

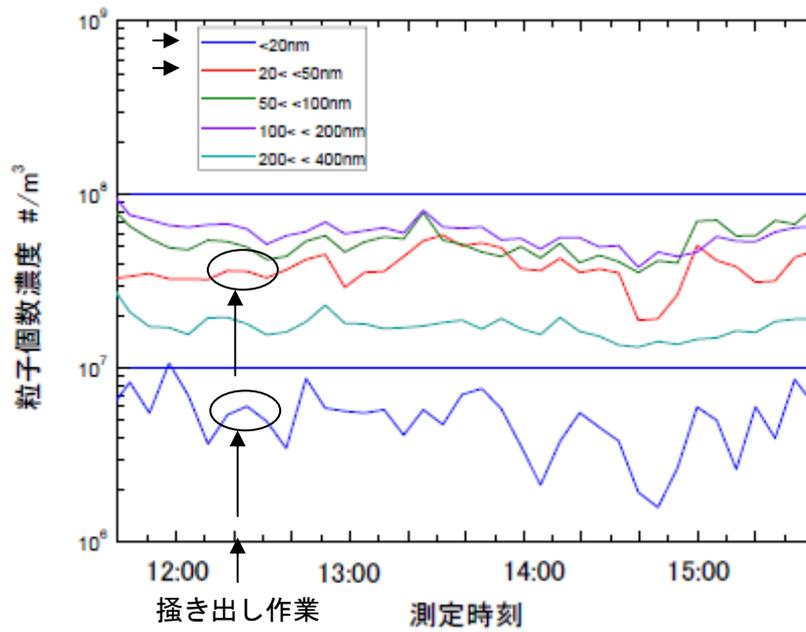


図 フラーレン加工工場における作業環境中のナノ粒子の計測事例

(測定方法：SMPS (走査型移動度粒径測定器))

(「ナノテク取り扱い職場の現場例その1 フラーレン加工 2008年10月28日、
独立行政法人 労働安全衛生総合研究所」から引用)

(参考6) ナノ材料の環境中挙動に関する情報

1. 大気中でのナノ材料の挙動に関する知見

大気中でのナノ材料の挙動については、下記のように、粒子径の類似する非意図的に生成された超微粒子との類似性が高いと推定されている。(U. S. EPA Whitepaper (2007))

なお、現状では炭素系又は金属系といったナノ材料の組成による大気中での挙動の相違については情報はない。

- 粒子の大気中での輸送の理解においては、分散、凝集 (agglomeration)、湿性/乾性降下及び重力沈降が重要である。超微粒子についてのこれらの特性は比較的よく知られており、ナノ物質にもほぼ適用できると考えられる。
- 大気中の粒子の挙動は大きさによって大きく3グループに大別される。
 - ・ 小さい粒子 (80nm未満) : これらは凝集モード (agglomeration mode) と呼ばれ、短命で、すぐに凝集して大きな粒子になってしまう。
 - ・ 大きな粒子 (2000nm以上) : これらは粗粒モード (coarse mode) と呼ばれ、重力沈降の作用が大きい。
 - ・ 中間の粒子 (80~2000nm) : これらは集合モード (accumulation mode) と呼ばれ、大気中に数日から数週間の長期間浮遊し、乾性及び湿性降下により大気中から除去される。
- 沈降した粒子は再び粒子として浮遊することは少ない。
- 多くのナノ粒子は光学活性を持っているとされているが、大気中での光分解についてはほとんど知られていない。また、大気中の他の化学物質との相互作用といった点についてはほとんど知られていない。

2. 水中でのナノ材料の挙動に関する知見

水中におけるナノ粒子の挙動については、下記のようにコロイド粒子と類似の挙動を示すと推測されている (Chrostian et. al (2008))。

なお、現状では炭素系又は金属系といったナノ材料の組成による水中での挙動の相違については情報はない。

- 水中での微小な粒子に関する理論では、ナノ粒子には次頁の図のように2種類の力(ファンデアワールス力、静電反発力)が作用し、両者の関係で凝集、分散の容易さが異なり、5nm~100nmの範囲では主に凝集作用が生じる。
- 水中の粒子には同一の荷電の層が生じ(多くは表面にマイナス荷電が集積する)、そのため粒子間には反発力が作用し、凝集しにくくなる。
- ただし、静電的安定性は溶媒のイオン強度で変化し、イオン強度が増加すると急激に粒子間の電荷による反発力は小さくなる(即ち、海水などのイオン強度の大きな水中では凝集が生じやすくなる)。
- また、界面活性作用を持つ天然由来の有機物により、凝集が抑制されるといった報告

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

がある。

- 即ち、表流水等から淡水域に流入したナノ材料は、安定あるいは凝集した状態となり、一部は底泥に沈降する。また海水中では凝集・沈降の程度が大きくなる。
- 水生生物には、分散した状態及び凝集した状態の両方の状態でばく露するものと考えられる。

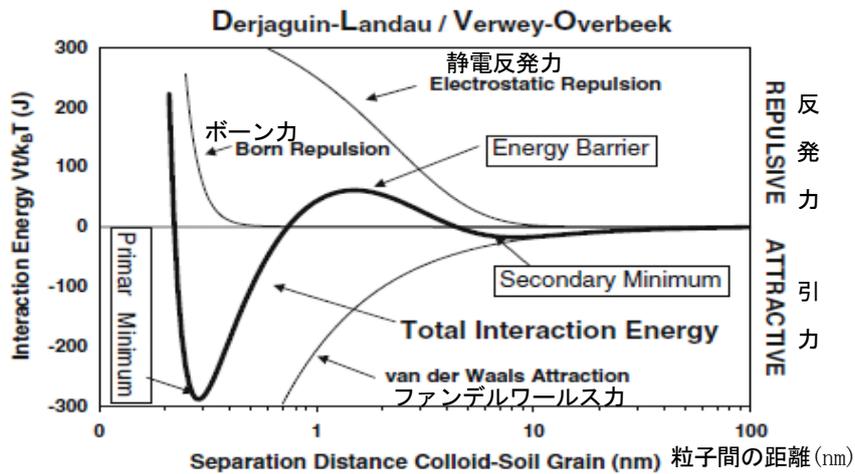


図 ナノ材料の粒子間に作用する力

(Chroastian et. al (2008) から引用)

(参考7) ナノ材料の試験方法及び今後の課題

1 試験方法

(1) 諸外国等における有害性試験方法に関する議論

ナノ材料の生物に対する有害性試験は既に複数の報告事例があるが、ナノ材料の物理化学特性(凝集性等)を踏まえた試験方法あるいはエンドポイントは定まったものがない。

現在、OECD 化学物質委員会の下に設置された工業用ナノ材料作業部会(WPMN: Working Party on Manufactured Nanomaterials)において、ナノ材料の厳格な安全性評価の開発を促進するため、8つのステアリンググループ(SG)の基で、工業ナノ材料のヒト健康及び環境の安全性に関する国際協力が進められている。

試験方法の詳細についても検討されており、現状での結論を集約すると、下記の点で課題は残されているが、健康影響に関する試験では現状のOECDガイドライン(以下「TG」と呼ぶ。)がおおむね適用可能であり¹⁸、生態毒性試験も基本的な枠組みは適用できるとされている¹⁹。

- ・ 媒体中(特に水中)での分散性
- ・ ナノ材料の物理化学特性に適した指標(表面積、ゼータ電位等)
- ・ 計測方法

一方、分解試験及び濃縮試験については現状の試験方法の適用は困難とされている²⁰。特に濃縮試験は、元来の試験が水からの直接吸収を想定したものであり、0.5nm以上の粒子では適用できないとされている²¹。

(2) ナノ材料の分散方法に関する議論

ナノ材料の水中における分散方法については、主に有機溶媒を用いる方法、超音波処理により分散させる方法、攪拌程度の操作で直接水に分散させる方法の3種類があり、それぞれの問題点

¹⁸ 急性毒性: TG 420, 423, 425、皮膚ばく露: TG 402

皮膚、眼の炎症、腐食及び皮膚の感査性: TG 404, 405, 406, 429

(ただし、TG 430, 431, 435のMTTアッセイ等の細胞活性測定は適当でない可能性がある)

反復投与試験: TG 407, 409(経口ばく露)

(TG 412, 413(経気道ばく露)は神経毒性や免疫毒性を扱っていない等のことから注意)

遺伝毒性についてのin vitro試験: TG 471, 473, 476、同in vivo試験: TG 474, 475, 486

生殖毒性: TG 421, 422, 415, 416, (414)

¹⁹ 藻類生長阻害試験: TG 201

ミジンコ急性遊泳阻害試験: TG 202

魚類急性毒性試験: TG 203

²⁰ 分解性試験: TG 310、生物蓄積性(BCF)試験: TG 305、ミミズを用いた試験(準備中)

²¹ 4th WPMN 資料(Paris, 11-13 June 2008) Progress report of project4 “manufactured nanomaterials and test guidelines”

は下記に集約できるが、現状でも標準となる分散方法についての結論は得られていない。

- 溶媒等の利用は、使用する溶媒の毒性が付加される危険性がある。
(フラーレンについて有機溶媒 (THF : テトラヒドロフラン) を用いた場合に水で分散した場合よりも毒性が大きくなったという報告がある。(Oberdorster ら (2006))
- 超音波や攪拌ではナノ材料の破壊や表面構造の変化等の問題が生じる可能性がある。
- 加えて、超音波処理では活性酸素の発生による問題が生じる可能性が高い。

2 今後の課題

以上で集約した情報に基づけば、ナノ材料の有害性試験に関する今後の課題と考えられる点は以下の通りである。なお、この項は、有害性試験方法そのものの課題をまとめたものであり、今後、化学物質管理に関する既存法制度等においてナノ材料に関する有害試験の手法を検討する必要が生じた場合には、更に内容や課題について精査する必要がある。

(1) 既存の有害性試験方法のナノ材料への適用性

OECD TG 等の従来の試験方法は、試験液の調整等の幾つかの問題を除いては、ナノ材料の有害性試験方法として有効であるとの指摘が得られているが、実際にナノ材料を用いて有害性試験を実施するに当たっては、これら既存の有害性試験方法が適用可能か、検討する必要がある。

反復投与試験のうち経口ばく露に関しては OECD TG が有効であるとの見解が示されているが、経気道ばく露については神経毒性や免疫毒性を扱っていないため、ナノ材料の有害性 (酸化ストレス) を考慮した適切な検査項目の追加実施も検討する必要がある。

一方、分解性試験及び濃縮試験については、ナノ材料には不溶性のものが多く、金属は分解試験を実施する対象として不相当であること等から、現状の OECD テストガイドラインをそのまま適用することは困難であるとの指摘がある。これら試験を実施する上では、先行研究を参照し、適切な試験方法を選択・検討する必要がある。

(2) 水中での分散、凝集性

ナノ材料の有害性試験の実施に当たっては、ナノ材料の媒体 (水、底泥、土壌) 中での分散、凝集及び均一性をどのように整理するかを検討する必要がある。特に、水生生物を用いた生態毒性試験については水中でのナノ材料の凝集をどのように判断するかを整理する必要がある。

ナノ材料に関する既存の有害性試験においては、分散剤の使用、超音波処理、攪拌などによって試験媒体中のナノ材料の分散を図っているが、それぞれに長所及び短所が存在する。このため、試験実施に当たってはこれら長所及び短所を理解した上で分散方法を検討する必要がある。なお、ナノ材料については、一般環境水中での実態に関する知見がなく、実環境を想定すれば特に分散といった操作を講じる必要はない (いわゆる「有り姿」での試験をするべきである) という意見もある。

更に、一般環境水中では凝集するとの知見もある一方、凝集したナノ材料が体内では分散するといった指摘もあり、体内摂取後の挙動 (マクロファージの関与等) についても留意する必要がある。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

(3) ナノ材料の計測項目、計測方法

有害性試験の実施に当たっては、ナノ材料の実験媒体中の濃度等についての計測が必要である。

しかしながら、環境中での計測はもちろん試験系での計測についても微量かつ微小な粒子の計測であり、既存の計測法の適用性を含め、計測方法に関する検討を進める必要がある。

なお、水中での分散状態を示す項目としてゼータ電位の計測が適当との指摘もあり、従来の試験では試験項目として挙げられていないこれらの項目の計測の必要性についても検討が必要であろう。

(参考8) 既存技術によるナノ材料の除去の可能性

(1) 排気処理技術

ナノ材料を使用する事業場で使用される局所排気装置等の排気に HEPA フィルター等の高性能フィルターを使用することで、一般大気環境中へのナノ材料の放出をある程度防止することは可能である。ただし、その場合でも高性能フィルター等の取扱方法（取替頻度等）によっては十分な効果が期待できない可能性がある。

なお、HEPA フィルター以外の除去装置（例えばバグフィルター等）でのナノ材料の除去効率についての情報は現段階ではない。

(2) 排水処理技術

現状では、排水中のナノ材料に対する水処理技術の事例は確認されていないが、ナノ材料は水中で凝集しやすいとされることから、排水中のナノ材料も凝集する可能性が高く、凝集沈殿といった処理技術で除去される可能性が高いと考えられる。また、特に、繊維状のナノ材料ではその形状からして凝集除去される可能性が高い。

ただし、その除去効果については十分なデータが現状では得られておらず²²、また、ナノ材料の用途や環境媒体中の濃度によっても異なることから、ナノ材料を扱う事業者が測定等により確認することが望まれる。

なお、下水処理についても同様の状況である。

(3) 製品使用時のナノ材料の放出防止技術

現状では、スプレー等のように使用時に環境中に直接放出されるナノ材料について、その使用時の環境中への放出防止技術は確認できない。

また、塗料については、二酸化チタンが本来持つ光触媒効果により、二酸化チタン粒子を中心に基材が劣化し、ナノ粒子として放出される可能性もあるが、使用中の劣化の程度及び防止技術は確認できていない。なお、化粧品についても、使用後の洗顔により水系に放出されることは避けられないものの、浄化槽あるいは下水道による凝集沈殿処理による除去が可能であろう。

(4) 廃棄処理時のナノ材料の放出防止技術

1) 破碎処理時

破碎処理時に製品中に含まれるナノ材料が飛散する程度については不明であるが、粗大ゴミ等の廃棄物の中間処理過程で実施される破碎時のナノ材料の飛散は無視し得ない。

このような飛散を防止する技術としては、既に非飛散性の石綿製品の扱いに関して湿潤化等の措置が実施されており、ナノ材料にも適用が可能であろう。このためには、ナノ材料及びその製品が、分別され、その情報とともに廃棄物処理事業者に引き渡されることが必要である。

²² スイスの研究者によれば、実験室でのモデル排水処理過程で最大6%程度の酸化セリウム(200nm未満)が処理後の排水中に含まれていたとする報告がある(Limbach et. al. (2008))

2) 焼却処分時

炭素系のナノ材料については、現在日本で使用されている焼却施設の性能(800℃以上、滞留時間2秒以上)では分解する可能性が高い。

このため、炭素系のナノ材料の処理については、確実に焼却処理が行われるよう措置する必要がある。

一方、金属系のナノ材料では熱分解は期待できず、一部はばいじんや燃え殻中に残存し、それら以外は大気中に放出すると考えられるが、集じん装置による捕集効率は現状では不明である。

焼却時の金属系のナノ材料の挙動(大きな粒子への焼結等)及び現状の集じん装置での除去の可能性についての検討が必要である。

3) ばいじん、燃え殻、排水処理汚泥、下水処理汚泥

焼却施設から発生するばいじん及び燃え殻、排水処理施設で発生する汚泥は、現状では溶融やセメント固化等の措置が実施され、その後の埋立処分時も含め環境中に放出される可能性は少ないであろう。

また、下水処理汚泥は焼却処理されることが多く、上記の焼却処分時の未確認事項(金属系のナノ材料の挙動及び集じん装置での捕集効率)を検討する必要がある。

4) 埋立処分時

埋立処分時には一般に覆土等の措置が実施されることから、適切な飛散防止策が取られる限りにおいて、大気中への再飛散はほとんどないであろう。

一方、ナノ材料の土壌中での挙動についてはほとんど知見がなく、埋立処分場からの浸出水にナノ材料が含まれるかは現状では不明である。この点について、実態確認を含めた検討が必要である。

5) 廃棄物の運搬時

ばいじんや燃え殻といった飛散しやすい廃棄物はもちろん、乾燥汚泥や不要となったナノ材料、使用済みフィルター、清掃に用いられた紙類や布類及び輸送に用いた袋類等では、運搬等の取扱方法によっては大気中に飛散する可能性がある。

これらの廃棄物の取扱いについては、飛散性の廃石綿の運搬における措置事例等(密閉化)が有効と考えられ、そのためにも、他の廃棄物と区別してナノ材料を含む廃棄物であることを表示することが必要である。

(参考9) 排気中のナノ材料の除去のためのフィルター

現状では、ナノ材料の除去に対応したフィルターの規格はないが、粒子状のナノ材料に関するフィルターの除去効率等については、以下のような情報がある。

表及び図に示すように「現状のHEPAフィルターはナノスケールの粒子の捕集に有効である」とした複数の報告がある(米国NIOSH(2006)、ドイツBAuA(2007)等)。

厚生労働省が2008年11月にとりまとめた「ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会報告書」でも、「通常のナノマテリアルに対してはHEPAフィルターの捕集効率は十分であると思われる」とし、排気装置のフィルターについては、「排気からナノマテリアルが放出されないよう、ナノマテリアルを保守できる高性能フィルターを局所排気装置等に設けることが必要である」とされている。

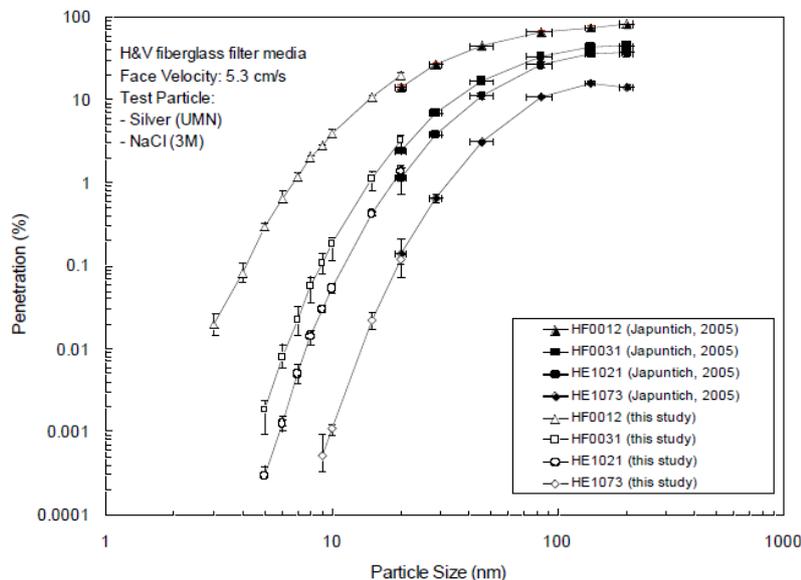


図 各種のフィルターの粒径別の透過率
(Pui and Kim(2006)から引用)

表 試験に使用されたフィルターの種類 (Pui and Kim(2006)から作成)

フィルター (※)	HE1073	HE1021	HF0031	HF0012
DOP 透過率 (平均%) (0.3 μm at 5.3 cm/s)	12.8	39	45.8	79.9
有効繊維径 (μm)	1.9	2.9	3.3	4.9
有効孔径 (μm)	8.8	13.4	16.1	26.2

※: HE、HFはある会社のろ紙の規格記号で、HEは小さい粒子サイズに対応するHEPA領域に近いものであり、HFは標準的なHVACシステムと同程度のものである。

(参考10) ナノ材料の管理方策に関する既存指針等における廃棄物の取扱い

ナノ材料の取扱事業場での廃棄物の扱いについての国外の複数の指針(米国DOE(2007年6月)、イギリス規格協会(BSI)(2007年12月)、ドイツBAuA(2007年8月))では、下記のような措置の実施を推奨している(OECDを含む国内外での検討状況については参考資料4を参照)。

- ナノ材料を含む廃棄物の区分
- ナノ材料を含む廃棄物の密封容器での保管
- ナノ材料を含む廃棄物の保管容器へのラベルの添付

また、日本では、厚生労働省が2008年2月に示した「ナノマテリアル製造・取扱作業現場における当面のばく露防止のための予防的対応について(基発第0207004号)」で、事業場からの廃棄物の扱いについて下記のように記載されている。

- 清掃に用いた布は袋に封入し適切に廃棄すること
- 使用した保護手袋を廃棄する場合は袋に封入し適切に廃棄すること
- ナノ材料の付着した保護衣は事業場外に持ち出さないこと

なお、廃棄物の燃焼については以下の知見がある。

- 多層カーボンナノチューブの廃棄物は850°Cで最低2秒間の燃焼、あるいは物質の毒性に關与するナノ次元の構造を破壊するような科学的措置で無害化される。(イギリス(2008年5月))。
- 多層カーボンナノチューブ及び単層カーボンナノチューブは約500°C以上では空気中で容易に酸化する((独)物質・材料研究機構 web site 資料)。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、
最終版ではありません

参考資料1 有害性に関する試験結果

対象物質	試薬の外形等	試薬の調整方法	試験生物	試験方法等	試験結果	出典
フラーレン(C60)		Tween80(界面活性剤、最終濃度1.0%)で分散	P53+/-マウス(9-11week)	1×10^6 個/匹(3mg/匹)(溶液として1mL)をマウスの腹腔内に投与(単回)。	フラーレン投与群及び対照群では腫瘍発生及び途中死亡は認められなかった。	Takagi et al.(2008)
フラーレン(C60,C60(OH)24)	C60(160±50nm)、C60(OH)24	水分散	ラット(CD(SD)IGSBR)	0.2,0.4,1.5,3.0mg/kgを肺に滴下注入(単回)。	どちらのフラーレンもばく露後1日で一過性の炎症と、細胞傷害を示したが、その他は水を滴下したものと差は無かった。C60を1.5,3mg/kgばく露したラットのBALの過酸化脂質がばく露1日、3ヶ月で増加。	Sayes et al.(2007)
フラーレン派生物(C60HxC70Hx)	30nm	THFを用いて分散	ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>)	・17°C、12L:12D ・260ppbと2.0ppm	Hopping:+(増加)、拍動数:-、付属肢の活動:+(増加)、尾爪:-、回復状況:左記の有意に増加したものは全て回復した。	Lovern et al.(2007)
フラーレン(C60)	直径50-200nmで、平均直径95nm	同上	<i>Bacillus Subtilis</i> (グラム陽性菌)のCB310	低濃度:0.01mg/L、高濃度:0.75mg/L	低濃度(0.01mg/L)ばく露群で、iso-及びanteiso-分枝脂肪酸が有意に増加し、高濃度(0.75mg/L)ばく露群では1価不飽和脂肪酸が増加した。また、 <i>P. putida</i> とは異なり、相転送温度は低下し、膜の流動性は低下した。	Fang et al.(2007)
フラーレン(C60)	同上	同上	<i>Pseudomonas putida</i> (グラム陰性菌)のF1	低濃度:0.01mg/L、高濃度:0.5mg/L	不飽和脂質の減少、シクロプロパン脂肪酸の増加⇒酸化ストレスに対する保護の可能性。また、高濃度(0.5mg/L)ばく露群で、相転送温度の若干の上昇と増殖のための膜の流動性が増加した。	Fang et al.(2007)
フラーレン(C60)		同上	グラム陽性菌(<i>Bacillus subtilis</i> CB315)	作用濃度:0.04-4mg/L	0.4および4mg/Lで増殖が見られず、4mg/LでCO ₂ 発生量が低下した	Fortner et al.(2005)
フラーレン(C60)		同上	グラム陰性菌(<i>Escherichia coli</i> DH5α)	同上	0.4および4mg/Lで増殖が見られず、4mg/LでCO ₂ 発生量が低下した	Fortner et al.(2005)
フラーレン(C60)	水中の粒子サイズ:85nm	同上	大学内の土壌(きょう雑物を除去、4mmで篩)	・C60:1μg/mL/g soil	細菌及び細菌群集に対してほとんど影響はない(呼吸量、酵素活性等)	Tong et al.(2007)
フラーレン C60		同上及び水分散	ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>)	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994)))	0.8ppm(THF分散、48hrEC50)、35ppm以上(水分散48hrEC50)	Zhu et al.(2006)
フラーレン(C60)	93nm	THFを用いて分散(20mgのC60)	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) 作用濃度:40,180,260,350,440,510,700,880ppb	0.46ppm(EC50)、0.880ppm(EC100)、0.260ppm(LOEC)、0.180ppm(NOEC)	Lovern & Klaper(2006)
フラーレン(C60)	20-100nm	水中で30分以上超音波	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) 作用濃度:0.2,0.45,0.9,2.25,4.5,5.4,7.2,9ppm	7.9ppm(EC50)、NA(9ppm以上)(EC100)、0.5ppm(LOEC)、0.2ppm(NOEC)	Lovern & Klaper(2006)
フラーレン(C60)	直径10-200nmの凝集物	水分散法(2ヶ月間以上スターラーで攪拌)	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994)))	35ppm以上(48hrEC50)、35ppm以上(96hrEC50)、5ppm以上(21日間の遊泳阻害)	Oberdorster et al.(2006)
フラーレン(C60)	10-20nm	THFを用いて分散	同上	・17°C、12L:12D ・260ppbと2.0ppm	Hopping:+(増加)、拍動数:+(増加)、付属肢の活動:+(増加)、尾爪:-、回復状況:左記の有意に増加したものは全て回復しなかった。	Lovern et al.(2007)
フラーレン(C60)	直径10-200nmの凝集物	水分散法(2ヶ月間以上スターラーで攪拌)	Copepods(海底匍匐製の <i>Harpacticoid</i>)	作用濃度等:96hrLC50、3.75,7.5,15,22.5ppm	22.5ppm以上(96hrEC50)	Oberdorster et al.(2006)
フラーレン(C60)	同上	同上	ヨコエビ(<i>Hyalella</i>)	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994)))	7ppm以上(48hrEC50)、7ppm以上(96hrEC50)	Oberdorster et al.(2006)
フラーレン(C60)	同上	同上	メダカ	作用濃度:0.5ppmで96hr、投餌(1ppmでも試験をしたが、ここでは掲示しない)	0.5ppm以上(mRNAの損傷)	Oberdorster et al.(2006)
フラーレン(C60)	同上	同上	Fatheadminnow	作用濃度等:試験前96hr無投餌、0.5ppmで96hrばく露、試験中は無投餌、24hr及び72hrに半量ずつ換水	0.5ppm以上(mRNAの損傷)	Oberdorster et al.(2006)
フラーレン(C60)		同上	同上	作用濃度:0.5ppm	脳の過酸化脂質濃度を上昇させ、鯉中の過酸化脂質濃度は有意に増加した。また、肝臓中のCYP2の一群の酵素はコントロールに比べて有意に増加した	Zhu et al.(2006)
フラーレン(nC60)	不定形、平均サイズ約100nm	ベンゼンに溶解⇒THF溶液へ⇒200mLのアセトン(スターラーで攪拌)に滴下⇒蒸留水をゆっくり添加⇒75°Cで加熱濃縮	ゼブラフィッシュ(実験室で産卵した二世代目の受精卵(受精後1.5時間以内))	作用濃度:1.5mg/L、ばく露時間:最大96hr	nC60 1.5mg/Lは生残率を低下させた。また鰵の孵化率を低下させた。毒性は抗酸化剤で緩和された	Zhu et al.(2007)
フラーレン(C60)	溶液中で30-100nmの安定した凝集物	THFを用いて分散	オオクチバス幼魚(体重5.3±2.0g)	0.5mg/L 48時間	脳の過酸化脂質濃度、鯉の過酸化脂質濃度及び鰵の総グルタチオンで有意な差が確認された。	Oberdorster (2004)
水溶性フラーレン(C60(OH)22-24)		THFを用いて分散	グラム陰性菌(<i>Escherichia coli</i> DH5α)	作用濃度:5mg/L	顕著な影響は認められなかった。	Fortner et al.(2005)
水溶性フラーレン(C60(OH)22-24)		同上	グラム陽性菌(<i>Bacillus subtilis</i> CB315)	作用濃度:5mg/L	顕著な影響は認められなかった。	Fortner et al.(2005)
水溶性フラーレン(C60(OH)22-24)	不定形、平均サイズ約100nm	10mgを100mLの精製水(Milli-Q)に溶解(100mg/L)	ゼブラフィッシュ(実験室で産卵した二世代目の受精卵(受精後1.5時間以内))	作用濃度:50mg/L、ばく露時間:最大96hr	50mg/L以上	Zhu et al.(2007)
ポリスチレン(蛍光)	39.4nmφ(写真で見ると球形)		シースルーメダカ(<i>Oryzias latipes</i> 、ST II ストレイン)	蛍光粒子1mg/Lを3日間接触	39.4-42000nmの粒子は卵膜に吸着し、油球に蓄積する。39.4nmの粒子は卵黄及び胆のうに蓄積した。39.4nmの溶液(10mg/L)中においた場合、成魚のメダカでは鰵及び消化管に多く分布した。また、ナノ粒子は脳、精巣、肝臓、血液に観察された。雄及び雌のメダカの血中のナノ粒子の濃度は血中蛋白質あたり16.5及び10.5ng/mgであった。これらの事実はナノ粒子は脳血液関門を通過し脳に到達することを示している。	Kashiwada(2006)
ポリスチレン(蛍光)	球形、39.4nm		同上	作用濃度:1mg/L(3日間接触)	塩分依存性の急性毒性が確認された(コントロール及び異なるナノ粒子濃度については不明)	Kashiwada(2006)

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料 1 有害性に関する試験結果 (続き)

対象物質	試薬の外形等	試薬の調整方法	試験生物	試験方法等	試験結果	出典	
MWCNT	MWCNT(20~40nm×220、825nm)	20mgMWCNTを400mLエタノールで1時間超音波処理	ラット(Wistar、雄、6週齢)	in vivo 0.1mg/匹、4週間皮下埋め込み。	ラット皮下組織では、長さ220nmの方が炎症反応が弱かった。	Sato et al.(2005)	
MWCNT	MWCNT(精製品、粉砕物)	Tween80を1%添加0.9%生理食塩水、超音波処理	ラット(SD、雌、200~250g)	MWCNTを0.5、2、5 mg、1回気管内注入投与。	MWCNTの毒性は濃度依存性を示し、炎症反応と肉芽腫形成を示した。60日後にも肺に残存し、2ヶ月後肺にコラーゲンリッチな肉芽腫腫瘍発生。60日後にも肺に残存した。	Miller et al.(2005)	
MWCNT	MWCNT(平均50nm×10μm、95%純度、表面積280m ² /g)	生理食塩水(Tween80 1%添加)、超音波処理	マウス(kunming マウス、雌、30g、10週齢)	肺に滴下注入。MWCNTエアロゾルを吸入チャンバーで6時間/日ばく露を5日間、10日間、15日間ばく露。	MWCNTの肺動脈における凝集は気管支より少ない。注入16日後までは肺動脈にMWCNT沈着があるが炎症はない。24日目には炎症が引き起こされていた。	Li et al.(2007)	
MWCNT	15層、平均内径5.1±2.1nm、5.2±1.5nm、平均外径11.3±3.9nm、9.7±2.1nm	15分超音波処理、1分以下のポルテックス	スイスマウス(雄、雌、40~45g)	200~400μgをシリンジで気管内注入後、空気を50μL注入。	CNTによって引き起こされる肺の炎症は弱く一過性だが、速やかなP-セレクチン依存的な全身性炎症が認められた。白血球の活性化により凝集原活性化を誘発し、血栓形成を促進すると考えられた。	Nemmar et al.(2007)	
MWCNT (tang1~4の4種類)	tang1: 14.84nmφ、1-5μm L、tang2: 10.4nmφ、5-20μm L、long1: 84.89nmφ、平均13μm L、long2: 165.02nmφ、最大56μm L		C57Bl/6S/マウス♀(8weeks)	各50μg/匹、腹腔内注射	長いアモサイトおよびlong1、long2では24hrおよび7日後に炎症を示すタンパク総量と多核白血球の増加、および横隔膜での巨大異型細胞や病変部の面積が明らかに増加した。他の粒子ではほとんど変化は認められなかった。	Poland et al.(2008)	
MWCNT	MWCNTの粒子密度: 3.55×10 ¹¹ 個/g	Tween80(界面活性剤、最終濃度1.0%)で分散	P53+/マウス(9-11week)	・1×10 ⁸ 個/匹(3mg/匹)(溶液として1mL)をマウスの腹腔内に投与(単回)。 ・上記の操作を、MWCNTおよびフラーレン、クロソライトについて実施	p53(+/-)マウスにおいてMWCNTの腹腔内投与により25週後までに中皮腫が惹起された。中皮腫の発生は、MWCNT投与群においては、全体を通じての発生率は14/16(87.5%)で、クロソライト投与群では14/18。大きな線維性癒着/肉芽(granulation)の中に、凝集塊が包み込まれていることが認められた。また、MWCNT及びクロソライトの分散した繊維が線維化病変部の細胞外マトリックスに、又は食細胞によって貪食された像として認められた。	Takagi et al.(2008)	
MWCNT		2%CMC(カルボキシメチルセルロース溶液)に懸濁(0.5mg/mL、1.0mg/mL)	Fischer 344系雄性ラット(12週齢、体重250-300g)	・陰嚢内に単回投与 一実験1: MWCNT=1.0mg/kg×7尾、クロソライト=2.0mg/kg×10尾、52週間後までに解剖、観察 一実験2: MWCNT=2.0mg/kg×7尾、30週間までに解剖、観察	クロソライト群では52週まで無死亡、中皮腫の発生はなし。MWCNTでは52週までに6/7例で死亡、血性腹水、大小の白色結節が腹膜に播種状に分布、一部腹腔内にも観察。中皮細胞の肥大及び随所に大小の結節性ないし乳頭状の中皮腫が観察された。結論として、MWCNTは発がん性を有し、雄性ラットの陰嚢内単回投与で26週間までに発ガン過程が開始され、52週間以内に高頻度で中皮腫を発生する。	坂本ら(2008)	
MWCNT、N-dopedMWCNT	MWCNT(長さ50nm以下)、N-dopedMWCNT(30~50nm×100~300μm)	PBS	マウス(CD1系(C129S2-Cd1tm1Gru)、雄、4週齢)	単回、1、2.5、5mg/kg、鼻腔、経口、気管、腹腔投与。投与後24、48、72時間、7日後に解剖	N-dopedMWCNTよりMWCNTの方が毒性が高かった。	Carrero-Sanchez et al.(2006)	
MWCNT	直径30-70nm	溶媒に分散させたMWCNTを底泥に混入	オヨギゴカイ(<i>Lumbriculus variegatus</i>)	作用濃度: 0.37mg/g乾泥、0.037mg/g乾泥(泥に混入前に超音波で分散) 底泥(有機炭素含有率0.66%): ピート(有機炭素含有率45.1%)=9:1で混合したものを底泥として水槽に敷く	試験生物の有意な死亡率の増加はなかった 濃縮率: 0.40±0.1	Petersen et al.(2008)	
SWCNT	SWCNT(1.4nm×1μm)	PBS	ラット(Crl:CD(SD)IGS BR、雄、8週齢、240~255g)	0、1、5mg/kg、24時間、1週間、1ヶ月、3ヶ月肺に滴下注入ばく露。BAL検査	5mg/kgばく露群は24時間以内の死亡率は~15%であった。SWCNTによって引き起こされた多発性肉芽腫にはいくつかの矛盾がある	Warheit et al.(2004)	
SWCNT	SWCNT(2nm×0.5~40μm)	生体適合性非イオン性界面活性剤(PurionicF-68(BASF Corp)とPBS液。ウェットミル5分	ラット(CDF(F344)/CrIBR、雌、6週齢)	2mg/kgを口咽頭吸入	ばく露後1日、21日後はBALでは明確な炎症反応はみられなかったが、21日後の肺に局所的な小さな間質性線維性病変があった。	Mangum et al.(2006)	
SWCNT	SWCNT(CNI社)	PBS、3分超音波処理	マウス(C57Bl/6、雄、2、3ヶ月齢)	10~40μg/匹、咽頭に滴下単回ばく露。	大動脈ミトコンドリアグルタチオン量、蛋白カルボニル化活性の変化に伴うmtDNAダメージ有り。ApoE-ノックアウトマウスで、アテローム性動脈硬化症の進行を増強する。しかしマウスの脂質組成は変化しなかった。	Li et al.(2007)	
SWCNT	SWCNT(長さ1~4nm、表面積1040m ² /g)	PBS	マウス(C27BL/6、雌、7~8週齢)	SWCNTを0~40μg/匹咽頭経口で肺にばく露。 SWCNTは5mg/m ³ 、8時間/日。	BALの炎症細胞、炎症サイトカイン、蛋白質の迅速な増加により、SWCNTが急性炎症反応を引き起こした。SWCNTのマクロファージとの反応性の低さから、炎症は一過性と考えられた。	Shvedova et al.(2005)	
SWCNT	未精製・精製CNT(Rice大学)	剪断2分、超音波処理0.5分。熱処理したマウス血清に懸濁	マウス(B6C3F1、雄、2ヶ月齢)	2mg/mL(0.1mg)、10mg/mL(0.5mg)気管内ヘカテール挿入により注入、ばく露後7日、90日に解剖	肺に用量依存性の間質性肉芽腫が認められた。CNTが肺に到達した場合カーボンブラックより有害性が強い。	Lam et al.(2004)	
SWCNT			微小コペボダ(<i>Amphiscus tenuiremis</i>)	ASTM E-2317-04 作用濃度: 0.058、0.97、1.6、10 mg/L	最大10mg/Lまで生率に影響はなかった。精製しなかったSWCNTではやや影響が認められた	Templeton et al.(2006)	
SWCNT			同上	同上	純粋化したSWCNTは成長には影響がなかった。精製しなかったSWCNTではやや影響が認められた	Templeton et al.(2006)	
SWCNT	SWCNT	溶媒に分散させたSWCNTを底泥に混入	オヨギゴカイ(<i>Lumbriculus variegatus</i>)	作用濃度: 0.03mg/g乾泥、0.003mg/g乾泥(泥に混入前に超音波で分散) 底泥(有機炭素含有率0.66%): ピート(有機炭素含有率45.1%)=9:1で混合したものを底泥として水槽に敷く	有意な死亡率の増加はなかった 濃縮率: 0.28±0.03	Petersen et al.(2008)	
SWCNT	1.1nmφ外径、5-30μm L	3g/L SDS(Sodium dodecyl sulphate)⇒超音波(2時間、35kHz)	ニジマス未成魚(30.0±5.0g)	試験前1日及び試験期間中は無投餌	作用濃度: 0.1、0.25、0.5	鰓の病理(水腫、粘液細胞の変化・過形成)が確認された。鰓、消化管でのNa ⁺ K ⁺ ATPaseの有意な増大(ただし、脳、肝臓では変化はない)。鰓と肝臓でのグルタチオンレベルの増加(脳と消化管のグルタチオンは変化なし)	Smith et al.(2007)
SWCNT	同上	同上	同上	同上	同上	粘液の排泄及びいらいら状態(irritation)。鰓の活動量は投与量に比例して増大。鰓の病理(水腫、粘液細胞の変化・過形成)が確認された。SWCNTの混じった粘液の排泄の確認。	Smith et al.(2007)
SWCNT(酸化SWCNT=水溶性)	直径2-10nm、長さ500nm未満	100nmのフィルターでろ過し、精製水に再懸濁させて1hr超音波。遠心分離(22000g,5hr)により大きな粒子を除去	繊毛虫(原生動物)(<i>Tetrahymena thermophyla</i>)	作用濃度: 0-17.2μg/mL(ばく露濃度は明記されていないが、文中から0、1.6、6.8、11.9、17.2μg/mLの5段階はある)	11.9μg/mLで、試験直後に全ての生物が凝集、運動の消失が観察され、その後再活動個体もあるが徐々に死亡も確認され、液が暗くなっていく。6.8μg/mLでは、当初の凝集は生じるが、3日後でも運動の消失は生じない。凝集の程度、運動消失の程度、死亡は1.6-11.9μg/mLの範囲では濃度の上昇とともに増加する。CB試験で見た摂餌能力では、3.6μg/mL以上で摂餌能力が確認できなかった(1.8μg/mL以下では対照と同等の摂餌能力が確認された)	Ghafari et al.(2008)	
SWCNT(脂質でコーティングしたもの)	直径: 約1.2nm 平均分子量: 106 Da	CNTを脂質(Lysophosphatidylcholine)でコートした	ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>)	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA)(1993)) (毎日投餌、水交換)	5mg/L以下では死亡率0%、10mg/Lで死亡率20%、20mg/Lで死亡率100%。ミジンコは脂質でコートしたSWCNTを摂食し、脂質部分を消化した。	Roberts et al.(2007)	
同上	同上	同上	同上	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA)(1993)) (毎日投餌、非水交換)	0.5mg/L以上で死亡率が増大したが(2.5mg/Lで約60%死亡)、0.5mg/L以下でも濃度が低下するほど死亡率が増大した。ミジンコは脂質でコートしたSWCNTを摂食し、脂質部分を消化した。	Roberts et al.(2007)

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、
最終版ではありません

参考資料1 有害性に関する試験結果 (続き)

対象物質	試薬の外形等	試薬の調整方法	試験生物	試験方法等	試験結果	出典
TiO ₂	uf-A: 136.0nm, uf-B: 149.4nm, uf-C: 140.0nm, 対照超微粒子: 129.4nm, 微粒子TiO ₂ : 約380nm	水分散及びPBS(phosphate buffered saline)分散	Salmonella typhimurium strains TA98, TA100, TA1535, and TA1537 and Escherichia coli strain	遺伝子毒性試験(復帰突然変異試験)(OECDテストガイドライン471)	陰性	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	同上	同上	Chinese hamster ovary (CHO) cells (Aroclor-induced rat liver S9の有無の両者)	遺伝子毒性試験(染色体異常試験)(OECDテストガイドライン473)	陰性	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	29nm, 250nm	PBS, 超音波処理	マウス(BALB/cANNCrI, 雌, 6~8週齢)	鼻腔に0日目, 1日目, 2日目の3回, 総投与量ナノ粒子200μg およびオボアルブミン30μgを投与(オボアルブミン, オボアルブミン+ナノ粒子)。	小さくて, 表面積の大きい粒子は, アジュバンド効果を示した	de Haar et al.(2006)
TiO ₂	粒子サイズ5nm, 表面積210 ± 10 m ² /g	噴霧チャンパー使用	マウス(C57Bl/6, 雄, 6週齢, 22~25g)	急性毒性4時間/1回, 亜急性毒性4時間/日を10日チャンパーで全身ばく露(2.5mg/Lを25L/minばく露)。LDH, BAL 検査	8.88 mg/m ³ ばく露後1~2週間でBALの肺胞マクロファージ数増加。ばく露後3週間で回復。そのほかの毒性指標に影響は認められなかった。	Grassian et al.(2007)
TiO ₂	80, 25 nm	HPMC 溶液, 15~20分超音波処理	マウス(CD-1, 雌雄40匹ずつ, 19 ± 2g)	TiO ₂ を5g/kg体重, 1回から経管投与。2週間観察。対象に155nmTiO ₂ を投与	BUN(腎臓影響有り), 血清LDH, αHBDH(心筋障害)。肝臓の病理学(中心性静脈部の肝細胞ネクロシス)。心臓, 肺, 睪丸(卵巣), および脾臓組織には病理学的異常なし。肝臓に一番蓄積。脾臓, 腎臓, 肺組織に蓄積。	Wang et al.(2007)
TiO ₂	Rutile crystal phase, 19~21nm, 表面積50 ± 15m ² /g	生理食塩水, 培養液, 超音波処理	マウス(ICR, 雄, 2ヶ月齢, 30g)	0.1, 0.5mg/匹, 単回, マウス気管内投与, ばく露後3日, 1週間, 2週間の肺検査。	肺気腫, マクロファージ浸潤, 肺胞隔壁破壊, タイプII肺胞細胞の肥厚化, 上皮細胞アポトーシスなどが0.1mgばく露で見られた。100以上の遺伝子発現に変化があった。	Chen et al.(2006)
TiO ₂	3nm, 20nm	水, 15分超音波処理	マウス(Kunming マウス, 雄, 7週齢)	ナノ粒子0.4, 4, 40mg/kg, 肺に注入ばく露, ばく露後3日目にBAL試験	急性毒性は3nmのTiO ₂ では0.4mg/kgのばく露では現れず, 4mg/kgでわずかに毒性が表れ, 40mg/kgで肺に負荷がかかった。	Li et al.(2007)
TiO ₂	平均粒径0.29 μm, BSAコートTiO ₂		ラット(SD, 雄, 7週齢)	ラットに4mgのTiO ₂ を気管内注入ばく露し肺組織解析。	TiO ₂ ばく露群は, マクロファージ遊走阻止因子(MIF)に関連するmRNAを増加させた。MIFはTiO ₂ ばく露後48時間で気管支上皮細胞に発現し, 肺全体で発現増加した。	Cha et al.(2007)
TiO ₂	uf-A: 136.0nm, uf-B: 149.4nm, uf-C: 140.0nm, 対照超微粒子: 129.4nm, 微粒子TiO ₂ : 約380nm	PBS, 15分超音波処理	ラット, ウサギ	急性毒性: OECDガイドライン429(局所リンパ節検定) 皮膚刺激性: 同404, 目刺激性: 同405	急性毒性(局所リンパ節検定): 低い(EC3が算出できなかった), 皮膚刺激性: 少ない, 眼刺激性: 発赤	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	同上	同上	ラット, ウサギ	急性経口毒性: OECDガイドライン425(急性経口毒性)	急性毒性(経口): 低い(5000mg/kg以上)	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	同上	水分散及びPBS(phosphate buffered saline)分散	藻類	藻類生長阻害試験(OECDテストガイドライン201)	中程度の影響	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	粒子径: 25nm(主にアナターゼ)	500mLの脱イオン水に10gのTiO ₂ を添加し, 19hr室温で攪拌(スターラーによる)	藻類(<i>Desmodesmus subspicatus</i>)	藻類生長阻害試験(ISO8692, OECD201, DIN38412-33) 作用濃度: 0, 3.1, 12.5, 25, 50 mg/L	50%影響濃度は44mg/L	Hund-Rinke & Simon(2006)
TiO ₂	同上	2000gを1hr遠心分離⇒沈殿物を500mLの脱イオン水に再分散⇒24hr攪拌⇒遠心分離して55°Cで乾燥。	同上	藻類生長阻害試験(ISO 8692の改法) 作用濃度: 0, 3.1, 12.5, 25, 50 mg/L	50mg/L以上	Hund-Rinke & Simon(2006)
TiO ₂	同上	同上	ミジンコ(<i>Daphnia magna</i>)	同上	短時間の強い照明(250W, 30分)をした実験では, 照明をしなかった場合よりも影響が大きくなった(図からは)短時間の強い照明をしなかった実験では3mg/Lまでは影響は認められなかった。(図からは)粒子径25nmのものが100nmのものよりも影響が大きい	Hund-Rinke & Simon(2006)
TiO ₂	同上	500mLの脱イオン水に10gのTiO ₂ を添加し, 19hr室温で攪拌(スターラーによる)	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(ISO6341, OECD202, DIN38412-30) 作用濃度: 0, 3.1, 12.5, 25, 50 mg/L	短時間の強い照明(250W, 30分)をした実験では, 照明をしなかった場合よりも影響が大きくなった。(図からは)粒子径25nmのものが100nmのものよりも影響が大きい	Hund-Rinke & Simon(2006)
TiO ₂	100-500nm	水分散: 水中で30分以上超音波	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(US EPA プロトコル(EPA(1994))) 作用濃度: 50, 200, 250, 300, 400, 500ppm	500ppm以上(EC50), 500ppm以上(EC100), 500ppm以上(LOEC), 500ppm以上(NOEC)	Lovern & Klaper(2006)
TiO ₂	10-20nm	THFを用いて分散	同上	+17°C, 12L-12D +260ppbと2.0ppm	Hopping: -, 拍動数: -, 付属肢の活動: -, 尾爪: -, 回復状況: -	Lovern et al.(2007)
TiO ₂	uf-A: 136.0nm, uf-B: 149.4nm, uf-C: 140.0nm, 対照超微粒子: 129.4nm, 微粒子TiO ₂ : 約380nm	水分散及びPBS(phosphate buffered saline)分散	同上	ミジンコ急性遊泳阻害試験(OECDテストガイドライン202)	影響は小さい	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	同上	同上	ニジマス	魚類急性毒性試験(OECDテストガイドライン203)	影響は小さい	Warheit et al.(2007)
TiO ₂	平均の直径: 21nm, 比表面積50 ± 15m ² /g	超音波(6時間, 35kHz, 毎日の投与前に30分の超音波)	ニジマス未成魚(28.1 ± 0.4g) 試験前1日及び試験期間中は無投餌	作用濃度(mg/L): 0.1, 0.5, 1.0	鰓の膜の水腫及び肥厚が認められた。ヘマトクリットの血液性状や組織のNa ⁺ , K ⁺ 濃度では変化がなかった。組織の金属濃度(Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mn)は変化がなかった。ただ, CuとZnについては特に脳において濃度依存の傾向が見られた。Na ⁺ , K ⁺ ATPase活性は, 鰓及び消化管では顕著に減少し, 脳においては減少の傾向が認められたが, 肝臓ではそのような傾向は無かった。鰓のグルタチオン濃度は有意に増加したが, 脳及び消化管ではそのような変化は無かった。	Federici et al.(2007)
TiO ₂	同上	同上	同上	同上	試験後半では粘液を放出するものが多かった。 1.0mg/Lの試験区では試験の後半で位置を喪失する(水中で縦になる)ものがあり, 浮力調節に異常をきたしていた。が, それ以外の異常な行動はなかった。	Federici et al.(2007)

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料1 有害性に関する試験結果（続き）

対象物質	試薬の外形等	試薬の調整方法	試験生物	試験方法等	試験結果	出典
銀ナノ粒子	平均長径(nm) 低ばく露量群 11.93±0.22、中ばく露量群 12.4±0.15、高ばく露量群 14.77±0.11	ドライパウダー	ラット(SD、8週齢、雄283g、雌192g)	28日間(4週間)、6時間/日で5日/週ばく露。ばく露量1.73×10 ⁴ 個/cm ³ 、1.27×10 ⁵ 個/cm ³ 、1.32×10 ⁶ 個/cm ³ (61μg/m ³)を噴霧チャンバーでばく露	28日ばく露後、肺組織中の銀の量は、ばく露量に比例していた。体重、血液生化学指標に有意差は認められなかった。	Ji et.al.(2007)
銀ナノ粒子(デンプン溶液を加えてデンプンでコートしたもの)	粒子径:5-20nm、形状はTEM画像ではほぼ球形	攪拌(2時間)のみ	ゼブラフィッシュ(<i>Danio rerio</i>)の胚	作用濃度:5,10,25,50,100μg/mL	銀ナノ粒子の濃度の増加につれ、卵は茶色に着色し、粘膜で覆われた。また、DAPI染色観察では卵内の液中への拡散の流出が確認された。50%死亡率は25-50μg/mLの間にあった。(図からは)孵化率の50%影響は50-100μg/mLの間にある	Asharani et.al.(2008)
銀ナノ粒子(BSE(bovine serum albumin)でコートしたもの)	同上	超音波(分散前に銀ナノ粒子を遠心分離して還元剤やBSAを除去)	同上	同上	50%死亡率は25-50μg/mLの間にあった。(図からは)孵化率の50%影響は50-100μg/mLの間にある	Asharani et.al.(2008)
銀ナノ粒子	直径11.6±3.5nmの球形の粒子(試験時の観察では最終的に5-46nm)		同上	不明(右の記載から最低でも20.52ng/Lの用量はある)	銀ナノ粒子は胚のchorion pore canals(絨毛膜の裂孔)通して胚に入り込む。その運動はブラウン運動のような動きで能動的なものではない。chorion pore canalsの拡散係数は大きいですが、胚の内側では小さくなり拡散は抑制される。銀ナノ粒子は正常に発達した胚や死亡した胚等にすべて見られ、影響の出現は濃度依存であると思われる、その限界は0.19nMであった(20.52ng/L)。他の粒子と異なり、銀ナノ粒子は光学的に確認できるので、生体内の影響検討等に有用である。	Lee et.al.(2007)
銀ナノ粒子	粒子径:5-20nm(形状はTEM画像ではほぼ球形)	攪拌(2時間)及び超音波	同上	作用濃度:5,10,25,50,100μg/mL	銀ナノ粒子の濃度の増加につれ、卵は茶色に着色し、粘膜で覆われた。TEMでの観察では、銀ナノ粒子は脳、心臓、卵のうおよび肺の血液に認められた。毛かには分散方法による相違はなかった	Asharani et.al.(2008)
MnO	MnO、Mn ₃ O ₄ 、Mn ₂ O ₃ 、MnO ₂ 混合物(30nm、~500μg/m ³)	生理食塩水、超音波処理	ラット(Fischer344、雄、200-250g、3ヶ月齢)	鼻腔に5-7μgを6時間/日、5日/週で12日目までばく露し12日目に全身組織中のMn測定、11日目にジーンおよびプロテインアッセイを実施	ばく露12日後、嗅球のMn量が増加していた。肺のMn量も倍増していた。線条体、前頭皮質、小脳でもMnが増加していた。11日目のBALでは肺の炎症はみられなかったが、TNFα-mRNAと蛋白が検出された。	Elder et.al.(2006)
酸化亜鉛	酸化亜鉛(50~70nm)、酸化亜鉛(<1000nm)	PBS、培養液、30分超音波処理	ラット(Crl:CD[SD]IGS BR、雄、8週齢、240~255g)	1、5mg/kg(PBS懸濁液)を気管内点滴。ばく露後24時間、1週間、1ヶ月、3ヶ月にBAL検査。	TNF-αはほとんど活性していないが、IL-6がZnO(ナノ)で産生した。in vivoとin vitroの結果は相関しなかった。	Sayes et.al.(2007)
銅(ナノ)	Cu(25nmタイプ、平均粒径23.5nm)、ミクロン銅(17μm)、イオン(0.072nm)	1%w/vHPMC溶液、10分超音波処理、2分ボルテックス	マウス(ICR、雌雄、8週齢、20~22g、5匹ずつ)	急性経口毒性試験(OECDテストガイドライン425)ナノ(108~1080mg/kg投与)、ミクロン(500~5000mg/kg投与)、イオン(24~237mg/kg)	経口投与によるLD50はナノ銅:413mg/kg、銅イオン:110mg/kg、ミクロン銅:5000mg/kg以上。ナノ、ミクロンともに腎臓形態学的変化を示した、脾臓はナノで強い形態学的変化を示した。血清BUN、Cr、TBR、ALPは高用量(736mg/kg)ナノ銅群で影響が認められた	Chen et. Al.(2006)
量子ドット(CdTe)	CdTe	PBS、脱イオン水、超音波処理	ラット(SD、雄、1ヶ月齢)	CdTe2mM/1mL/kgを静脈注射しばく露後0、0.5、1、2、4時間後測定、24時間後解剖	ラットへ投与後2時間で自発運動が一過性に低下し、24時間後には増加したが、その他の毒性指標に影響は見られない。	Zhang et.al.(2007)
量子ドット(CdSe)	水溶性量子ドット(CoCdSe、キャッピングCdS、poly[ethyleneglycol]被覆の量子ドット、37nm)	0.2μmフィルター濾過	ヘアレスマウス(Crl:SKH-1(hr/hr)、雌、9週齢)	皮下投与4、8、12、24時間後解剖し各臓器のCd、Se分析	皮膚注射により皮膚沈着。量子ドット(QD)は流入領域リンパ節や肝臓、その他の臓器に分布した。	Gopee et.al.(2007)
量子ドット(CdTe)	粒子の85%が100nm以上、15%が100nm未満	ストック溶液を遠心分離して(2000rpm、5分)0.1% Na-thioglycolateで透析(10kDa membrane dialysis pores)(pH10、4hr、20°C)	淡水の二枚貝: <i>Elliption complanata</i>	1.6、4 and 8 mg/L	免疫系の検査では、CdTe濃度の増加により、血球密度の増加と活性の低下が確認された。食細胞の活性の低下も確認されたが濃度依存性は明確ではなかった。K542細胞による免疫機能(細胞殺傷能)は濃度依存的に増加した。脂質過酸化酵素活性は鰓では濃度依存的に上昇し、逆に消化管では濃度依存的に低下した。DNAの損傷は鰓ではわずかに濃度依存的に上昇した(ものの明瞭な変化はなく=図からの読み取り)、消化管ではむしろ対照区よりも少なくなった。全体を通して、CdTeは淡水二枚貝の免疫系に影響を及ぼし、鰓および消化管に酸化ストレスを与えDNAに損傷を与えた(消化管のDNA損傷は明瞭ではない)。	Gagne et.al.(2008)
シリカ	ナノSiO ₂ (10±5nm、表面積640±50m ² /g)、マイクロSiO ₂ (0.5~10μm)	生理食塩水、ボルテックス混合	ラット(Wistar、雌、7週齢、180~200g)	40mg/mL(SiO ₂ 総量20mg)気管内点滴。ばく露後1ヶ月、2ヶ月で解剖	ばく露1ヶ月後ナノSiO ₂ は細胞小結節Stage I、マイクロ群はStage II、II+、2ヶ月後ナノSiO ₂ はStage Iのまま、マイクロSiO ₂ 群はStage II+、IIIを示した。IL-4、TGF-β1の発現はナノSiO ₂ の方が低い。線維形成はナノSiO ₂ の方が軽度であった。	Chen et.al.(2004)
シリカ	Min-U-Sil α-quartz particles(300nm~2μm)、Nanoscale quartz particles I(50nm)、nanoscale quartz particles II(12nm)、fine quartz(300nm)	PBS	ラット(Crl:CD[SD]IGS BR、雄、8週齢、240~310g)	5mg/kg、1mg/kg 気管内に滴下ばく露、24時間、1週、1ヶ月、3ヶ月のBAL検査	α-シリカの肺毒性は、粒子大きさや表面積よりも界面活性が影響している。	Warheit et.al.(2007)

※ 参考資料1に紹介した有害性の事例は、近年の研究の状況を示す参考として示すものであり、内容について精査されたものではない。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料2 測定方法の原理・特徴（主に作業環境の測定方法）

測定方法等	測定の対象			原理	特徴等
	個数	質量	表面積		
CPC : Condensation Particle Counter 凝縮式粒子計数数器	○			気化させたアルコールや水を粒子に凝縮させて粒径を大きく揃えて光学的に計数する方法。	原理的に個数の測定のみが可能
SMPS : Scanning Mobility Particle Sizer 走査型移動度粒径測定器	○	○	○	帯電させた粒子を電場内で移動させ、その到達距離等で粒子サイズ別の個数をカウントする方法。	リアルタイムのサイズ別の個数の測定装置。 測定可能範囲：10nm～1000nm。 粒子の形状や密度から重量、表面積に換算。
PCS : Photon Correlation Spectroscopy 光子相関分光法	○			ブラウン運動による散乱光を測定することで粒子サイズを測定する方法。	3nm以上の粒子に適用できる。 ナノ材料の品質管理に利用される。
Optical Particle Counter 粒径別粒子数計測装置	○			光束中に吸引空気を流し空気に含まれる粒子による散乱光により粒子の大きさと数を測定する方法。	100-300nmの粒子に適しており、ナノには適していない。
Electron Microscopy (SEM, TEM) (走査型、透過型) 電子顕微鏡	○		○	光学顕微鏡で光の代わりに電子線を用いた顕微鏡。	電子顕微鏡試料の計測により、サイズ別のエアロゾルの個数濃度に関する情報が得られる。
Size-selective personal sampler 個人用多段分級装置		○		多段の分級装置を個人用に小型化した装置。	現状では100nmを区切った装置はない。オフラインでの重量分析か化学分析が必要である。質量はサイズ分布計測から得られる。
Size-selective static sampler 水平重力式多段分級装置		○		水平に気流を流し、重力で沈降する粒子をその到達する水平位置の差で区分する分級装置。	100nmに区切りのあるカスケードを持つ唯一の装置。
TEOM: Tapered element oscillating microbalance フィルター振動法測定器		○		固有の振動が与えられたフィルター上に粒子を捕集し、振動数の減衰量より質量濃度をリアルタイムに計測する。	ナノ粒子に適した粒径区分での質量測定が可能である。
ELPI : Electrical Low Pressure Impactor 電子式低圧インパクトター	○	○	○	特定の大きさ以上の粒子を捕集し小さいものは透過させる多段のノズルを重ねることで粒子の大きさ別の計測ができる装置。	リアルタイムのサイズ別個数の測定装置。 粒子の形状や密度から重量、表面積に換算。
Diffusion Charger 拡散荷電装置			○	コロナ放電によるイオンの粒子への拡散荷電が粒子表面の化学的性質とは無関係に表面積に比例することから粒子の表面積を測定する方法。	リアルタイムのエアロゾル表面積の測定。100nm以上には不適で、100nm以下に有効な方法。100nm以上を分級できるならば、ナノ粒子にも適している。

ISO/TR 27628(2007-02-01)、BSI PD6699-2(2007-12)等の資料から作成

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料3 環境への放出の可能性（整理集約表）

<製品の製造時（一次製造場及び二次製品製造場を含む）> (○：環境中に放出される可能性がある。 ×：環境中への放出の可能性は少ない)

ナノ材料	検討した製品の種類	除じん装置からの大気への放出	残余材料や使用済みフィルター、ウエス、運搬容器等の廃棄処理時の取扱による再飛散		排水処理施設からの公共用水域への放出	製造・運搬時の大気への放出	備考
			焼却処理	その他の扱い			
カーボンブラック	タイヤ等	○	×（※1）	○	○	○	
ポリスチレン	化粧品	○	×（※1）	○	○	○	
	ディスプレイ表面						
アクリル微粒子	化粧品	○	×（※1）	○	○	○	
	インクジェット						
フラーレン	スポーツ用品	○	×（※1）	○	○	○	
多層カーボンナノチューブ	半導体トレイ	○	×（※1）	○	○	○	
カーボンナノファイバー	リチウム二次電池	○	×（※1）	○	○	○	
二酸化チタン	化粧品	○	○	○	○	○	
	トナー						
	塗料						
酸化亜鉛	化粧品	○	○	○	○	○	
銀	繊維製品	○	○	○	○	○	
	家電製品						
酸化セリウム	研磨剤	○	○	○	○	○	
備考		※2			※3		

※1：現在日本で使用されている焼却施設（800℃以上、滞留時間2秒以上）では分解すると考えられる。

※2：HEPA フィルターは効果があると考えられるが、取扱方法によってはナノ材料を十分に除去できない可能性がある。
また、集じん装置のナノ材料の除去効率についてはデータがなく、除去できない可能性がある。

※3：排水処理で除去できなかったナノ材料が公共用水域に放出される可能性がある。排水処理汚泥は固化等の措置により環境中への放出の可能性は少ないと考えられる。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料3 環境への放出の可能性（整理集約表）（続き）

<製品の使用時> (○：環境中に放出される可能性がある。 ×：環境中への放出の可能性は少ない)

ナノ材料	検討した製品の種類	下水処理施設から公共用水域への放出	使用中の劣化に伴う環境中への放出	使用時に直接大気中に放出	備考
カーボンブラック	タイヤ等		○		
ポリスチレン	化粧品	○	○	○	
	ディスプレイ表面				
アクリル微粒子	化粧品	○	○	○	
	インクジェット				
フラーレン	スポーツ用品				
多層カーボンナノチューブ	半導体トレイ				
カーボンナノファイバー	リチウム二次電池				
二酸化チタン	化粧品	○	○	○	
	トナー				
	塗料		○	○	
酸化亜鉛	化粧品	○	○	○	
銀	繊維製品	○	○		
	家電製品	○	○		
酸化セリウム	研磨剤				
備考		※1	※2	※3	

※1：凝集処理、活性汚泥処理でナノ材料が吸着される可能性があるが、ナノ材料の除去効率についてはデータがない。
 ※2：大気環境に粉じんとして放出されるが、又は雨水排水を通じて下水処理施設を通じて公共用水域に放出される。
 ※3：スプレーとしての使用を想定した。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料3 環境への放出の可能性（整理集約表）（続き）

<製品の廃棄処理時>

（○：環境中に放出される可能性がある。 ×：環境中への放出の可能性は少ない）

ナノ材料	検討した製品の種類	破碎処理時の飛散	焼却処理		下水処理汚泥の焼却処理に伴う環境中への放出	埋立処分場からの浸出水による環境中への放出	備考
			大気中への放出	ばいじん・燃え殻からの飛散			
カーボンブラック	タイヤ等	○	×（※1）	×（※1）	×（※1）	○	
ポリスチレン	化粧品				×（※1）		
	ディスプレイ表面	○	×（※1）	×（※1）	×（※1）	○	
アクリル微粒子	化粧品				×（※1）		
	インクジェット		×（※1）	×（※1）	×（※1）		
フラーレン	スポーツ用品	○	×（※1）	×（※1）	×（※1）	○	
多層カーボンナノチューブ	半導体トレイ	○	×（※1）	×（※1）	×（※1）	○	
カーボンナノファイバー	リチウム二次電池	○	×（※1）	×（※1）	×（※1）	○	
二酸化チタン	化粧品				○		
	トナー		○	×	○	○	
	塗料	○	○	×	○	○	
酸化亜鉛	化粧品				○		
銀	繊維製品		○	×	○		
	家電製品	○	○	×	○	○	
酸化セリウム	研磨剤			×			
備考		※2		※3		※4	

※1：現在日本で使用されている焼却施設（800℃以上、滞留時間2秒以上）では分解すると考えられる。

※2：材料中に含有されるナノ材料の破碎時の飛散を想定している。

※3：ばいじん・燃え殻は固化等の措置により環境中への放出の可能性は少ないと考えられる。

※4：埋立処分場からの浸出水中のナノ材料については、土壌吸着等に関する十分な情報がないことから、環境中への放出の可能性があったとした。

※本ガイドライン案は1月27日に開催された検討会用資料であり、最終版ではありません

参考資料4 国内外の取組の現状と動向（整理集約表）

米国	EC	英国、ヨーロッパ諸国	日本	OECD	その他
<ul style="list-style-type: none"> ・21世紀ナノテク研究開発法（2004） ・国家ナノテク戦略（NNI：2004/12、2007/12） ・EPA：White Paper（2007/2） ・EPA：Stewardship programによる情報の収集（2008/1～） ・NIOSH：TiO₂作業環境に関するガイドライン（draft）（2005/11） ・DOE：配下の研究所での取扱ガイドライン（2007/6） ・EPA：カーボンナノチューブ及びナノシリカ、ナノアルミナの一種はTSCAの基で新規化学物質と考えられることを公表（2008/10、2008/11） ・EPA：5月にNGOから提出された銀ナノ粒子を殺虫剤と扱う嘆願書の扱いをパブコメに公表（2008/11） 	<ul style="list-style-type: none"> ・Framework Programmeを中心とした種々の活動 ・「Towards a European Strategy for Nanotechnology」（2004/5） ・EFSAによる食品中のナノ材料に関する情報の募集（～2008/3） ・SCCPによる化粧品中のナノ材料に関する意見募集（2007/12に結果報告） ・予防原則に基づく事業者の責任ある開発をうたった行動規範（Code of Conduct）の公表（2008/2） ・その他、Nanosafe2等のweb siteでの情報開示、収集等を広く実施。 	<ul style="list-style-type: none"> ・The Royal Societyのレポート（2004/7） ・DEFRAからのレポート（2005/12、2007/12） ・自主的情報提供システムを開始（2006/9～） ・BSIによる種々の規格（一般仕様書等）の発行（2007/12） ・英国環境汚染委員会からナノ材料の安全問題に関するレポートが公表（2008/11） <p>〔ドイツ〕労働安全衛生研究所による労働安全に関するガイドライン（2008/4）</p> <p>〔アイルランド〕食品部門官庁からの予防的原則に基づいたレポート（2008/9）</p> <p>〔フランス〕労働安全部局から予防原則を主とした提言を報告（2008/11）</p> <p>〔スイス〕アクションプランの公表（2008/5）</p> <p>ナノ材料チェック表の公表（2008/12）</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・内閣府 科学技術連携施策「ナノテクノロジーの研究開発推進と社会受容に関する基盤開発」（2007～）等 ・文部科学省 科学技術振興調整費「ナノテクノロジーの社会受容促進に関する調査研究」（2005～）等 ・経済産業省「ナノ粒子特性評価手法の研究開発」（2006～）等 ・厚生労働省「ナノマテリアル安全対策調査業務」 <p><検討会></p> <ul style="list-style-type: none"> ・経済産業省「ナノマテリアル製造時業者等における安全対策のあり方研究会」（2008/11～） ・厚生労働省「ヒトに対する有害性が明らかでない化学物質に対する労働者ばく露の予防的対策に関する検討会」（2008/3～） 「ナノマテリアルの安全対策に関する検討会」（2008/3～） ・環境省「ナノ材料環境影響基礎調査」（2008/6～）等 	<ul style="list-style-type: none"> ・WPMN(Working Party on Manufactured Nanomaterials)がChemical Committeeの下に設置（2006/9） ・8つのSG(Steering Group)に分かれて論議 ・これまでに4回の会合（～2008/6） ・第5回会合は2009/3予定（SG3で優先検討物質のデータセット作成のためのSponsorship Programが始動。日本はフラーレン、SWCNT、MWCNTの研究に参画） 	<p>〔ISO TC229〕定義情報等を検討（定義情報は2008/10に公表）</p> <p>〔WWI〕PENシリーズで多くの政策提言を公表 その他、EPAやOECDの活動と協働</p> <p>〔デュポン他〕Environmental defenseとの協働による情報集約作業（Nano Risk Framework）（2007/7～）</p> <p>〔オーストラリア ニューサウスウェールズ州〕ナノ材料の扱いに関する提言レポート（2008/11）</p> <p>〔生活保護団体等〕CTIやFoE等の非政府団体によるU.S.EPAに対する銀ナノ粒子規制の嘆願書（2008/5）</p>