

第2回計測技術ワーキンググループ

議事次第

日時： 平成24年3月8日(木)15:00～17:00

場所： 柳屋ビル地下1階 A会議室

議題：

- (1) 前回議事の確認等について
- (2) ナノ粒子の計測のための検討項目について
- (3) その他

<配付資料>

- | | |
|-----|--------------------|
| 資料1 | 計測技術 WG 委員名簿 |
| 資料2 | 第1回 WG 議事要旨(案) |
| 資料3 | 計測技術WGの検討課題(案) |
| 資料4 | 検討項目の抽出と測定法の絞込み(案) |

参考資料1 EC のナノマテリアル定義において粒径分布で
個数ベースを採る根拠について

参考資料2 RIP-oN2 における粒径と粒径分布測定に関する記述

参考資料3 「Nanomaterials in REACH」の計測技術

参考資料4 超遠心沈降法について

参考資料5 ナノ粒子計測技術/装置に関する業界意見

計測技術ワーキンググループ委員名簿

- 遠藤 茂寿 技術研究組合単層CNT複合新材料研究開発機構 主任研究員
- 菊地 亮一 (株)住化分析センター 取締役
- 熊本 正俊 一般社団法人日本化学工業協会 化学品管理部 部長
- 平田 一郎 一般社団法人ナノテクノロジービジネス推進協議会 事務局次長
- 藤本 俊幸 (独)産業技術総合研究所 計測標準研究部門 副研究部門長
兼ナノ材料計測科長
- 増田 弘昭 京都大学 名誉教授
- 一般社団法人 日本粉体工業技術協会 ISO対応委員会 委員長
- 松田耕一郎 一般社団法人日本分析機器工業会環境技術委員会委員長
(株)堀場製作所 産業活性化推進室 室長
- ◎ 森 康維 同志社大学理工学部化学システム創成工学科 教授
- 山本 和弘 (独)産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門 主任研究員
- 鷲尾 一裕 一般社団法人 日本粉体工業技術協会 計装・測定分科会代表幹事
(株)島津製作所 分析計測事業部応用技術部

◎：座長

※敬称略、五十音順。

オブザーバー：内閣府、厚生労働省、環境省、(独)産業技術総合研究所 等

第1回計測技術ワーキンググループ議事要旨(案)

日時：平成24年1月24日(火)15:00～17:00

場所：柳屋ビル地下1階 A 会議室

議題：

- (1)計測技術ワーキンググループの開催について
- (2)ナノ物質の計測のための検討課題について
- (3)その他

出席者

委員

- 遠藤 茂寿 技術研究組合単層CNT複合新材料研究開発機構 主任研究員
- 吉岡 孝文 (株)住化分析センター 環境事業部 副事業部長(菊地委員代理)
- 熊本 正俊 一般社団法人日本化学工業協会 化学品管理部 部長
- 平田 一郎 一般社団法人ナノテクノロジービジネス推進協議会 事務局次長
- 藤本 俊幸 (独)産業技術総合研究所 計測標準研究部門 副研究部門長
兼ナノ材料計測科長
- 増田 弘昭 京都大学 名誉教授
一般社団法人 日本粉体工業技術協会 ISO 対応委員会 委員長
- 松田耕一郎 一般社団法人日本分析機器工業会環境技術委員会委員長
(株)堀場製作所 産業活性化推進室 室長
- 森 康維 同志社大学理工学部化学システム創成工学科 教授
- 山本 和弘 (独)産業技術総合研究所 計測フロンティア研究部門 主任研究員
- <欠席>
- 鷺尾 一裕 一般社団法人 日本粉体工業技術協会 計装・測定分科会代表幹事
(株)島津製作所 分析計測事業部応用技術部

オブザーバー

内閣府、厚生労働省、環境省、(独)産業技術総合研究所 等

事務局

経済産業省製造産業局化学物質管理課
JFE テクノリサーチ株式会社

<配付資料>

- 資料1 計測技術ワーキンググループ委員名簿
- 資料2 計測技術ワーキンググループの開催について
- 資料3 リスク評価ワーキンググループ主要論点(案)
(計測 WG に関しては3.および4.)
- 資料4 ナノマテリアルの定義に関する欧州委員会勧告
- 資料5 第1回リスク評価ワーキンググループ概要
- 資料6 ナノ物質計測技術について
- 参考資料1 国際機関等におけるナノ材料の定義
- 参考資料2 EC/JRC 報告書における計測法

議事要旨

座長に森委員が指名された。

ナノ物質の計測技術のための検討課題について、以下の議論が行われた。

1. 本 WG でのナノ物質の計測項目の範囲に関する論議
 - ・ ナノ物質の EU 定義に対する対応を検討するため、粒径・粒度分布に絞って検討していくことを確認した。なお、比表面積からも平均粒径を導き出せることから、比表面積測定についても検討対象に加えることとした。
 - ・ 一次粒子、二次粒子(凝集体)の扱い方についても議論した。
2. ナノ物質の EU 定義に関する議論
 - ・ 個数ベースの定義の狙い・根拠についての議論があり、正確な情報の収集が必要とされた。
 - ・ ドイツが提案している粒径・粒度分布の計測技術について、情報収集が必要とされた。
 - ・ 既存の粉体製品において EU 定義で問題となる点に関する議論があった。
3. 3つの計測目的に対応した計測技術に関する議論
 - ・ 品質管理、安全衛生管理、EU 定義対応の目的ごとの計測技術に対する要求項目についての議論があった。安全衛生管理、定義対応の計測技術については、リスク評価 WG の議論を受けて行なう必要があるとされた。

- ・ 既存の計測技術の特徴、長所・短所に関する概括的な議論がなされた。
- ・ 粒径・粒度分布を重量ベースから個数ベースに換算するとした場合に妥当と考えられる典型的な粒度分布パターンに関する議論がなされた。

4. 次回の分科会開催日

各委員の都合を調整して、設定することとされた。

計測技術WGの検討課題(案)

1. 目的

国内企業が製造しているナノ物質の生産管理やユーザーとの商取引に必要なナノ物質のサイズ、含有量等の測定が可能な技術を整理し、提案する。(実存する粉体材料がナノ物質の定義に合致するか否かの判断の物差しを提案)

計測技術に関しては、時間と費用を費やす精緻な計測方法ではなく、必要な信頼性が確保でき、中小企業を含む産業界が日常管理に使える実用的な計測方法を提案していく。

ナノ材料の商機を逸しないためにも最初は現在国内で利用可能な計測方法を提案(工業団体規格など)し、将来的にはJISや国際標準として提案することも視野に入れて取り組む。(労働作業環境、一般環境(大気、水質、土壌等)計測は検討対象外)

2. 検討内容

計測技術WGで、各工業団体や専門家の意見を伺いながら最適な計測方法をとりまとめていく。

最初は、ナノ物質の素材毎(炭素系物質、酸化物系物質、金属系物質)を分け、さらに、形状(粒状、繊維状など)や特性(溶解性など)を考慮して検討していく。(最適な計測方法が導き出せるようなフローチャートなどを作成。一つの計測方法に限定せず、計測可能な複数の計測方法や計測機器の選択もあり得る。)

提案された計測方法について、工業会や企業の協力を得て、適切に計測可能かどうかを確認する。

3. スケジュール

第1回WG(1/24): 検討会の開催趣旨説明

第2回WG(3/8): 検討項目の抽出、中間報告案の作成

第3回WG(5月頃): 計測方法の提案

第4回WG(6月頃): 提案された計測方法の精査、中間とりまとめ案の作成

平成24年(夏頃): 検討会にて「中間とりまとめ」

(提案された計測技術の確認)

平成24年度内: 提案された計測方法について、関係工業団体で具体的な計測実務(操作手順)などを精査し、団体規格として策定を検討。

ナノマテリアル粒径(分布)測定法検討項目の抽出と絞込み(案)

1. ナノマテリアル粒径(分布)測定法に関する検討項目の抽出

(1)「対象技術の絞込み」

①目的の再確認

- (ア)生産管理やユーザーとの商取引に必要なナノ物質のサイズ、含有量の測定技術とその確保策の明確化（実存する粉体材料がナノ物質の定義に合致するか否かの判断の物差し）
- (イ)必要な信頼性が確保でき、中小企業を含む産業界が日常管理に使える実用的な計測方法の明確化

②上記技術に求められる具体的な条件

- (ア)計測機器のコストや1サンプル当たりの計測のコストが大企業だけでなく中小企業にとっても許容できる範囲であること(現状と比較して値下げ目標がどの程度であるか具体的に考える余地があるのではないか)。
- (イ)計測機器の校正が日常業務の一環としてあまり手間がかからずに実施できる状況となっていること。可能であれば、計測データの信頼性を確認する方法(或いは計測データの信頼性に問題が生ずる場合)が明らかになっていること。
- (ウ)計測実務(手順)自体が、多少のトレーニングによって信頼できるデータが取得できる程度に簡易なこと。
- (エ)計測を実施する場所で使用できる程度の大きさ等を備えた機器が、現実的なコストで入手できること。

(2)検討項目の抽出

第1回WG「資料6」の表1に挙げた計測法・分級法(追加すべき技術があれば挙げて頂く)について上記の観点から委員に議論／絞込みしていただく。

検討／評価項目としては、以下が考えられる。

- (ア)粒子径範囲／精度
- (イ)測定の難易度(サンプル調整、測定時間、計測実務の程度など)
- (ウ)信頼性(校正、検定が日常的に可能、体積(重量)基準の測定法の場合には、個数濃度への変換の信頼性)
- (エ)機器コスト(大きさを含む)
- (オ)測定コスト(測定時間、(イ)、(エ)で決まってくる)

(3) 検討の前提条件

① 基本的な考え方

この資料に基づく検討の対象は粒子状物質に絞る。

一方、繊維状ナノ物質は、2次元材料であるため、その径の大きさ／分布の計測が必要であり、第3回以降のWGにおいて別途考慮する。具体的な対象はカーボンナノチューブであり、現時点においては電子顕微鏡による計測に限定される等問題がある。

② 重要度が高い技術

ナノマテリアルのキャラクタライゼーションに際しては、一次粒子の粒子径計測が重要であるが、表1に掲載した各種技術の内これが可能であるのは固体を対象としている計測法のみである。

これらの内、電子顕微鏡(TEM/SEM)は一次粒子1個、1個を認識して、その幾何学的な径を求めることができ、凝集状態も観察できる。測定可能な粒径範囲も十分に広いので、他の計測法の検定にも用いることができ、測定法の基礎となるものであり、必須の技術である。

一方、X線回折(XRD)は、一次粒子(結晶子)の平均径しか求めることができず、粒子径分布は計測できない。このため、TEM/SEMと比較して重要性は低い。

なお比表面積計測(BET)も平均値的な情報(表面積相当径)しか得られないが、二次粒子の情報しか得られない測定法に対して、凝集状態の情報が得られるので補助的な測定法として欠かせない。

③ 気中計測法と液中計測法の位置づけ

気中計測法は、試料を気中に適切に分散させるという難度の高いプロセスを必要としており、その手順を標準化しなければ計測データの信頼性を確保しがたいという問題があるので、本WGでの検討対象からは除外し、原則的に液中測定法について今後の検討の対象とする。

④ 以上の点を考慮し、本WGの検討対象とする技術を、試料がEU定義に該当するかを決めるフロー(案)の中に示す(図1)。

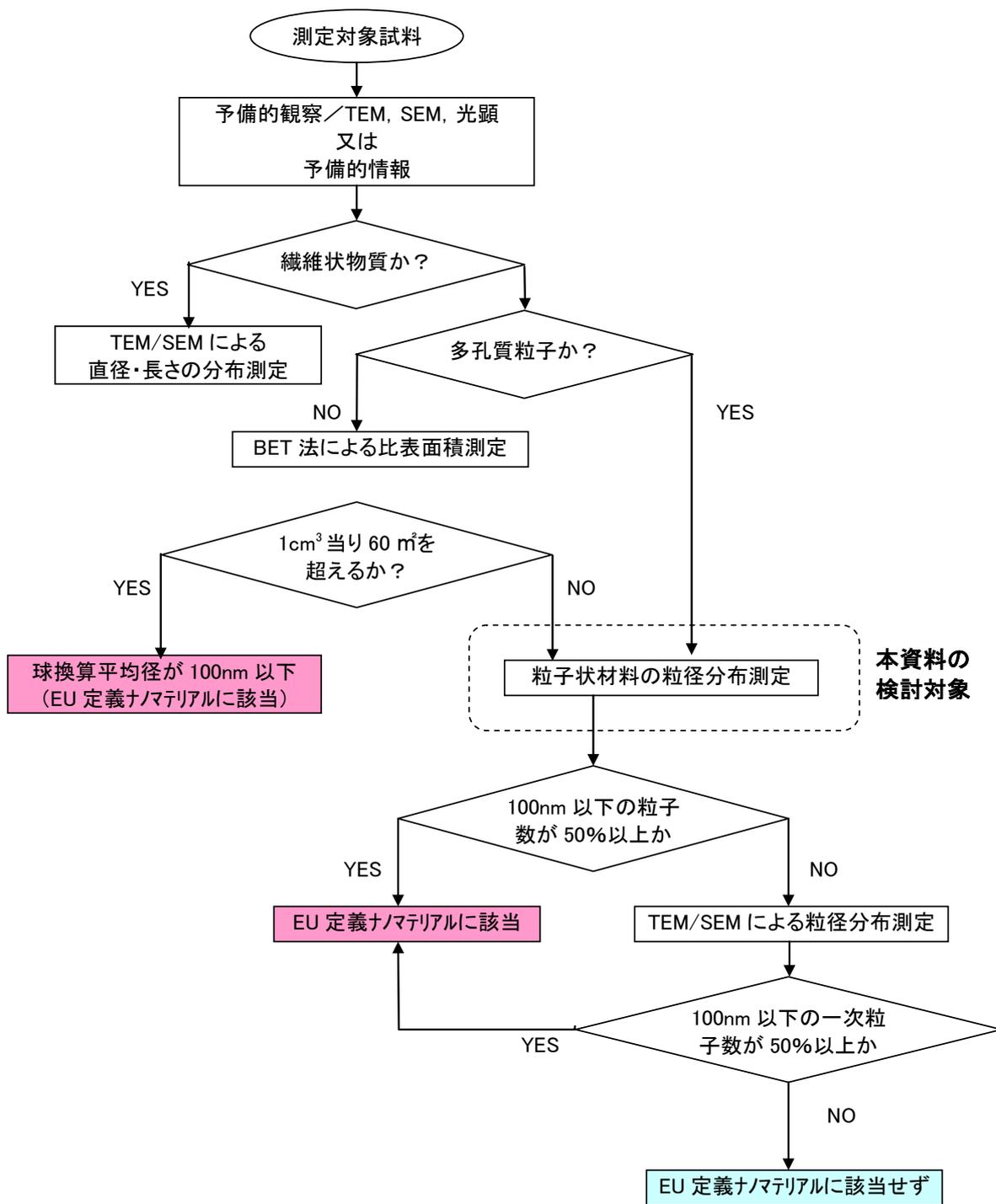


図1 試料が EU 定義に該当するか否かを決めるための計測フロー(案)

2. 第一段階の検討対象の絞込み;表2に記載した技術の表1からの選定

- (1)表1から「適用サイズ範囲」の下限が10nm以下・上限が100nm以上で、粒径分布も測定可能で、「平均粒径」の信頼性が◎である測定法を選び出すと共に、分級法のうち粒径分布が測定できる流動場分離(FFF)を検討対象に加えることとした。
- (2)これらの方法について、上記1.(2)の検討項目に関して現時点で得られている知見を整理・記載して表2とした。

3. 今後の検討の手順

- (1)本WGにおいては、表2をたたき台としてその内容を精査しつつ、生産管理やユーザーとの商取引に必要な計測のために最善と考えられる技術を選定することとしてはどうか。

この最善の技術は、技術を提供する側と技術を利用する側の双方から見て有望であることが重要である。技術を提供する側、利用する側から見た有望性については、可能な範囲で本WGで審議すると共に、関係の団体等においても検討が進められ、その結果を本WGのとりまとめにおいて考慮することが望まれるものである。(後者の技術を利用する側から見た有望性に関連して、前述1.(1)②のような点が具体的に考慮されて利用者のニーズが明確になることが望まれるところである。)

- (2)本WGにおいて有望技術が選定された上で、その有望技術の実用性を確かなものとするためには、更に以下のような課題が残ると考えられる。このため、本WGにおいては、第3回以降のWG会合において有望技術の選定後に残る課題に関して具体的な検討を行い、関係各方面の将来的な取り組みの方向性を整理することとしたい。

- ①計測機器・計測手順の洗練・高度化
- ②計測機器・計測手順の標準化
- ③計測機器の校正方法の明確化
- ④計測データの処理方法・解釈方法等のガイダンスの作成

表1 ナノサイズ径計測・分級法（第1回WG資料6より）

測定法	対象の状態	測定対象			適用サイズ範囲	信頼性		備考	
	気・液・固	一次・二次粒子*	個数・表面積・体積・光強度	測定物理量	(それぞれの等価径による)	平均粒径	粒径分布		
計測法	透過型電子顕微鏡(TEM)	固	一次粒子・二次粒子	個数	幾何学径	0.05 nm -	○	○	信頼ある平均値を求めるためには大量の測定点が必要
	走査型電子顕微鏡(SEM)	固	一次粒子・二次粒子	個数	幾何学径	1 nm -	○	○	信頼ある平均値を求めるためには大量の測定点が必要
	X線回折(XRD)	固	一次粒子(結晶子)	体積	回折線幅(シェラー法)	3 nm - 100 nm	◎	×	アモルファスに適用できない
	Brunauer-Emmett-Teller比表面積計測(BET)	固	-	表面積	ガス吸着量	1-500 μm	◎	×	多孔質材料ですれが大きい
	動的光散乱(DLS)	液	二次粒子	光強度	拡散係数相当径	3 nm - 1 μm	◎	△	分布はモデル仮定の数値解析
	静的光散乱(SLS)	多角度光散乱(MALS)	液	二次粒子	光強度	レーリー散乱相当径	◎	×	
		単一角度光散乱(OPC)	気・液	二次粒子	個数(=光強度)				
	小角X線散乱(SAXS)	液	二次粒子	光強度	X線散乱相当径	1 nm - 100 nm	◎	△	分布はモデル仮定の数値解析
	磁場勾配核磁気共鳴法(PFG-NMR)	液	二次粒子	個数	拡散係数相当径	- 100 nm	◎	△	分布はモデル仮定の数値解析
	レーザー回折散乱(LD)	液	二次粒子	体積	ミー散乱相当径	30 nm** - 3 μm	◎	△	分布はモデル仮定の数値解析
	誘電泳動グレーティング(IG)	液	二次粒子	体積	拡散係数相当径	1 nm - 200 nm	◎	△	分布はモデル仮定の数値解析
	コールターカウンター	液	二次粒子	体積	電気抵抗換算径	400 nm - 10 μm	○	○	
	(超)遠心沈降法	液	二次粒子	体積	ストークス径	10 nm - 10 μm	◎	△	分布はモデル仮定の数値解析
	超音波減衰分光法	液	二次粒子	体積	超音波散乱相当径	100 nm - 100 μm	○	△	分布はモデル仮定の数値解析・濃厚でないとき計測不可
ナノ粒子画像解析法(NPT)	液	二次粒子	個数	レーリー散乱・拡散係数相当径	10 nm - 500 nm	○	△	希薄でないとき計測不可・アンサンブル量を求めるためには長時間測定が必要	
飛行時間測定(TOF)(APS)	気	二次粒子	個数	空気動力学径	500 nm - 20 μm	○	○	粒径は換算粒径で定性的	

分級法	対象の状態	測定対象			適用サイズ範囲	分離分解能	備考	
	気・液・固	一次・二次粒子 ^{注1}	---	分級原理	(それぞれの等価径による)			
分級法	流動場分離(FFF)	液	二次粒子	---	並進拡散・熱拡散	1 nm - 1 μm	◎	
	超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)	液	二次粒子	---	ゲル孔径・吸着性	- 10 nm	◎	分離サイズレンジが狭い
	サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)	液	二次粒子	---	ゲル孔径・吸着性	1 nm - 50 nm	◎	分離サイズレンジが狭い
	(ゲル)電気泳動	液	二次粒子	---	(ゲル孔径)・静電気力	1 nm - 100 nm	◎	
	ふるい法	液	二次粒子	---	ふるい孔径	20 nm -	○	
	微分型静電分級(DMA)	気	二次粒子	---	電気移動度	1 nm - 1 μm	◎	
	エアロゾル質量分級(APM)	気	二次粒子	---	遠心力・静電気力	10 nm - 1 μm	◎	
	カスケードインパクター	気	二次粒子	---	慣性・ストークス	10 nm - 10 μm	○	
多段サイクロン	気	二次粒子	---	慣性・ストークス	500 nm - 10 μm	○		

(産業技術総合研究所作成)

*: 凝集体がない場合は一次粒子も二次粒子と表記。

** : 最近10nmまで拡張された(JFEテクノロジー)

表2 検討対象ナノ粒子粒径/粒径分布測定法

測定法	測定原理	粒子径範囲	測定の難易度	信頼性	機器/測定コスト	外注分析の可否	総合判定
動的光散乱 (DLS)	粒子にレーザー光を照射し、互いに干渉しあう散乱光を光子検出器で観測する。このとき粒子の位置はブラウン運動により変化するため、散乱光の干渉による強度分布も揺らぐ。このブラウン運動の様子を散乱光強度の揺らぎとして観測する。観測される散乱光の時間的な揺らぎの変動は粒子の大きさによって変化するため、この散乱強度の揺らぎをある時間内における散乱強度の変化を観測し、光子相関法により自己相関関数を求め、拡散係数を算出する。重量当りの拡散係数相当径が求められる。	3-1000nm	装置の使用方法が非常に簡便で、液中粒径計測汎用装置として現在大量に販売されており、液中粒子の品質管理などの観点から需要性は高く、ナノ粒子における液中粒径・粒径分布計測装置として最も汎用的な装置。	規格化された「電場自己相関係数」の解析法によって粒径分布は容易に変化してしまう。小さな粒子の存在が大きな粒子の散乱に隠されてしまう弱点がある。ブラウン運動が支配的な系の信頼性は高い。	710~780万円、国産あり。 測定時間数分。 大きさ; W:320× D500× H310程度		絞込み対象となる; 但し解析法の明確化、大粒子が有れば分級が必要。
小角 X 線散乱 (SAXS)	入射したX線の粒子内の異なる位置の電子の散乱から生ずる光路差による位相のずれの散乱角度に対する散乱X線の強度が減衰する散乱プロファイルを解析する。X線散乱相当径が求められる。	1-100nm	材料に応じた解析が必要。ソフトウェア。	主として構造解析に用いられる。結晶子等規則的な構造を持つもの。比較的狭い粒度分布に対応。	650万円から。 国産あり。		適用対象が狭い。
磁場勾配核磁気共鳴法 (PFG-NMR)	通常のNMR測定にパルス磁場を印加し、粒子の拡散移動距離に関する情報を取り出し、個数当りの拡散係数相当径を求める。	0.5-100nm	専門性が高い。測定に長時間の積算が必要。	大粒子の影響が無い。	(産総研開発)装置が巨大で、維持管理が困難。		市販品がない
レーザー回折散乱 (LD)	液中分散の粒子により回折した光をレンズで集光するとレンズの焦点面に回折パターンができ、光の回折角度は粒径の小さいものほど大きく、粒径の大きいものほど小さい。このためにレンズ焦点面での光強度分布はさまざまな大きさの粒子からの回折光が混ざり合った結果となり、粒子サイズが小さくなるにつれて角度に対する回折パターンの変化が小さくなっていくことを利用して回折光強度分布から Fraunhofer の回折理論を用いる	30nm-3mm	ルーチン化。短時間で測定可能。	レーザー回折散乱法は光の回折現象と Mie の散乱現象の双方を利用して粒径を求めるため、極めて広い粒径範囲での測定が可能である。温度や流れ場の影響が少ない。	980万円 国産あり。		絞込み対象となる; 但し解析法の明確化が必要。

	ことにより粒径分布、平均粒径を算出する。また散乱光も Mie 散乱理論に基づき同様に粒径に依存した各角度における散乱強度パターンを示す。このため観測される光強度パターンは粒子による回折光と散乱光の混合したパターンとして観測され、角度依存の光強度パターンを解析することにより、平均粒子径だけでなく粒子径分布を同時に得ることが可能である。			粒径分布は数学的解析法を用いて算出しているため、測定結果が解析装置に大きく依存する。また解析には測定粒子自身の屈折率を必要とする。			
誘電泳動 グレーティング (IG)	外力により媒質中に粒子の周期的な濃度分布を形成すると、回折格子を形成、外力を停止すると拡散により回折格子は消滅する。この粒子密度回折格子の消滅過程を、回折光の強度変化で計測し、拡散係数を求める。	1～ 200nm	ルーチン化。30 秒で測定。	粗大粒子の影響を受けない。シングルナノ領域での粒子測定における不安・あいまいさ解消。屈折率不要。	1,000 万円～。 国産。		価格がやや高い。
(超)遠心沈降法 (AUC)	大きく分けて沈降速度法と沈降平衡法の 2 通りの測定方法がある。沈降速度法では沈降係数や拡散係数が得られ、粒子径や粒度分布が求められる。沈降平衡法では比較的低速でローターを回転させ、溶質の沈降と拡散が平衡に達した時点における濃度分布を観測する。光検出系でセル全体を走査し、位置による粒子濃度分布パターンを得て、経時変化による沈降パターンを解析し、粒度分布を得る。Stokes 径が求まる。	10nm～ 10mm	測定はルーチン化されている。測定時間は若干必要。 (粒子密度による)	粗大粒子の影響を受けず、高分解能である。	AUC は 2,000 ～ 3,000 万円。 国産なし。 比較的大型装置。 ディスク型はより小さい。 国産あり。		価格が高い。
流動場分離 (FFF)	粒子のサイズに依存した自己拡散現象と外部から拡散と逆方向に力を与えることにより、粒径によるサイズ分離を行う。このとき外部から与える力として流れ、遠心力、熱、磁場、静電エネルギー、パルスなど多々あり、それぞれの装置において分離条件の最適化を行っていくことで広い粒径領域・物性を持つ粒子をさまざまな物理化学パラメータを元に多種多様な分離を行うことができる可能性を持っている。	1～ 1000nm	測定装置自身の汎用性が非常に低く、また理論通りに粒径分離が進まないことが多く、測定条件の決定や最適化の困難さが課題。	平均粒径や解析的手法で求められた粒径分布ではなく、直接分級した粒径分布を求めることが可能。	1,000～ 5,000 万円。 国産無し。		測定が難しく、価格が高い。

本表は下記の技術資料を参考として、一部追記したものである。

加藤晴久;産総研計量標準報告 Vol.6, No.4 p185-200(2007年12月)「ナノ粒子粒径分布標準物質に関する調査研究」

EC のナノマテリアル定義において個数ベースの粒径分布を採る根拠について

1. 「ナノマテリアルの定義に関する勧告」の前文から

- ・(8)より 規制目的のためには、定義をより洗練するために、平均サイズとサイズの標準偏差を使った個数濃度のサイズ分布もまた考慮すべきである。ある材料のサイズ分布は個数濃度に基づいたサイズ分布(つまり、あるサイズ範囲内の物体の個数÷物体の個数の合計)として表すべきであり、(小さな質量割合が最大の粒子数を含む可能性があるので)ナノマテリアルの中のナノスケール粒子の質量割合に基づくサイズ分布とすべきではない。……
- ・(10)より 個数濃度のサイズ分布は、ナノマテリアルが通常、ある特定の分布において異なるサイズで存在する多数の粒子で成り立っているという事実に対応している。個数濃度のサイズ分布を特定しなければ、100 nm 未満の粒子やそうでない粒子がある場合、ある特定の材料が定義に適合するかどうか判断するのが難しいだろう。このアプローチは、ある材料のサイズ分布は個数濃度(つまり粒子個数)に基づく分布として表されるべきであるという SCENIHR の意見に沿うものである。

2. 「勧告」に関する Q&A(ECによる)から

- ・9. なぜ粒子分布は、よく使われる質量ではなく、個数で計測されなければならないのですか？

あるマテリアルの中にあるナノ粒子の量は、質量(マテリアルの総重量に対するナノ粒子の重量)あるいは個数(粒子数合計に対するナノ粒子の数、「個数粒径分布」)に基づいて決定することができます。すべてのマテリアルについて、これら2つの計測の間には対応性がありますが、サイズと質量の分布は直接変換可能ではありません。科学委員会(SCENIHR)は、意見の中で「製品中のナノ粒子が低い質量濃度であっても粒子数が多いことを表しているかもしれず、質量に基づく分布は比較的少数の大きな、従って重い粒子の存在によって歪曲され得る」(*a low mass concentration of nanoparticles in a product may still represent a high number of particles and a mass based distribution can be skewed by the presence of relatively few large and thus heavy particles*) という見解を示しました。従って科学委員会は個数粒径分布が質量濃度よりもナノ粒子の影響の可能性を測るより妥当性の高い測定基準であると考えています。

欧州委員会はこの論理が妥当であると考え、この測定基準に従うことを決定しました。計量の側面については当然さらなる研究が必要です。欧州委員会は計測手法についての実践ガイダンスを提供するための取り組みを始める考えです。この問題は、2014年に計画されている見直しの一部としてさらに詳細に研究される主題の1つにもなるでしょう。(訳; Nanosafety Website(TASC)より)

3. 「SCENIHRの意見」より

SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks)は、ECの保健・消費者保護総局(Doctorate-General for Health and Consumer Protection)によって管理される独立した科学委員会で、消費者製品に関係した事柄について EC に科学的助言を行う。2010年7月、SCENIHRは、求めに応じて「“ナノマテリアル”の定義のための科学的根拠」と題した文書を公表し、Public Consultationにかけた。その後、寄せられた意見を取捨選択して、12月、最終的な文書を決定した。

その中で、粒径分布について記述した部分では、2. で引用されている記述があることを確認した。それ以外では、「小さな質量濃度が、最大の数分率を含むかもしれないので、マテリアルの粒径分布は、質量濃度ではなく数濃度に基づいた粒径分布として与えられなければならない。」という記述があるのみである。

4. 「SCENIHRの意見」に対する公開討論への EC 当局(健康・消費者 DG)の説明ノートから

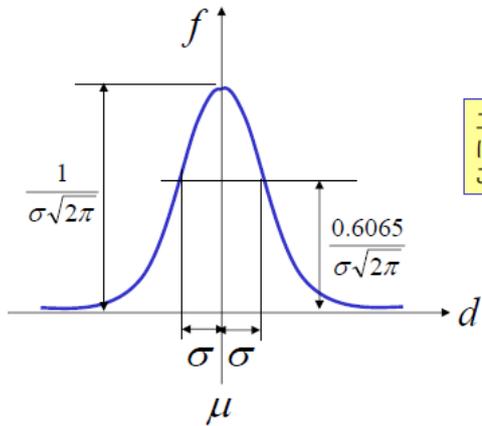
重量ベースの粒径分布を使用すべしとの意見が多く寄せられた。しかし、ナノマテリアルへの毒性上の懸念は、そのサイズが小さいことか比表面積が大きいことによるものである。それゆえ、重量ベースで粒径分布を見ると、考慮する必要があるナノスケールの粒子を含む分布曲線のより低い部分を最小化してしまう傾向になる。この部分は重量ではマイナーな部分になるが、数ベースでは最大の割合になり、毒性の観点からは最も関連が深い。従って、ナノマテリアルを同定するには数基準の粒径分布が考慮されなければならない。“数基準粒径分布”という言葉は維持される。さらに、「意見」は、粒子状物質においては一次粒子とその分布が考慮/測定されるべきであるという説明が採用されている。

注)「SCENIHRの意見」においては、次のような記述がある。

もしも、粒径分布が正規分布ならば、サイズは平均粒径で、分布は標準偏差で記述される、しかし、大部分のナノマテリアルは、正規分布をとらず、多くが対数正規分布をとる。それは幾何平均粒径と幾何標準偏差で記述される。多くのナノマテリアルについて、平均粒径と径分布の二つの統計的な尺度であらわされるということが本質的である。(正規分布および対数正規分布については、図1、2参照。)

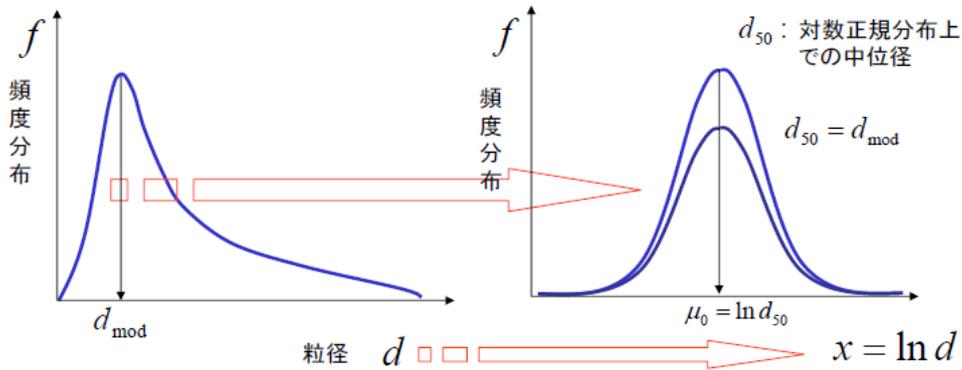
$$f(d) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left[-\frac{1}{2}\left(\frac{d-\mu}{\sigma}\right)^2\right] \quad \int_0^{\infty} f(d) dd = 1$$

$$\mu = d_{50} \quad \text{中位径}$$



工業的な現場で扱われる粉粒体で粒径分布は一般に非対称。∴正規分布は適用されることは少ない。

図1 正規分布



$$f(d) = f(x) = \frac{1}{\sigma_0\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left[-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu_0}{\sigma_0}\right)^2\right] \quad x = \ln d$$

$$\mu_0 = \frac{\ln d_1 \cdot \Delta n_1 + \ln d_2 \cdot \Delta n_2 + \dots + \ln d_l \cdot \Delta n_l}{n} = \ln d_{50} = \ln d_{\text{mod}} \quad \text{: 幾何平均粒径}$$

$$\sigma_0^2 = \frac{(\ln d_1 - \mu_0)^2 \cdot \Delta n_1 + (\ln d_2 - \mu_0)^2 \cdot \Delta n_2 + \dots + (\ln d_l - \mu_0)^2 \cdot \Delta n_l}{n} \quad \text{: 幾何標準偏差}$$

図2 対数正規分布

RIP-oN 2 の最終報告書における粒径/粒径分布についての記述

1. RIP-oN とは、REACH の関係

EU では、2007 年 6 月に施行された化学物質類の登録・評価・許可・制限に関する規則 (REACH) が、あらゆる化学物質について、安全性関連情報の収集と欧州化学物質庁 (ECHA) への登録を製造業者と輸入業者に義務付けており、ナノ材料への直接の言及はないが、ナノ材料も化学物質であるから、同規則の対象となることが明示されている。しかし、REACH の登録義務対象となるのは、最も有害性が高い物質であっても年間の生産・輸入量が 1 トン以上のものであることから、実際には生産量がまだ少ないナノ材料を同規則によって規制できない。こうした事情とナノ材料の安全性への懸念から、ナノ材料を対象とした規則を作ることや、REACH の修正などを提案する声が NGO はもちろん、欧州議会 (EP) などから上がっており、EC は現在、REACH を含め、ナノ材料の EHS 面のリスクに関する政策と規則の見直し、および情報収集に取り組んでいる。

2011 年 10 月 20 日、EC は、予定されている 2012 年の REACH ガイダンス文書改訂に向けて、共同研究センター (JRC) に依頼して進めていた 3 つのナノ材料に関連する検討プロジェクト

- ・ナノ材料として扱う物質の特定 (Substance Identification: RIP-oN1)
- ・届出に必要な情報要件 (Information Requirements, RIP-oN2)
- ・安全性評価 (Safety Assessment, RIP-oN3)

のうち RIP-oN2 及び RIP-oN3 の最終報告書を公表した。あわせて、3 月時点で合意が得られなかった RIP-oN1 についての勧告レポートも発表した。これらの報告書は REACH ガイダンス文書改訂に責任をもつ欧州化学物質庁 (ECHA) に渡される。

企業はこれらの報告書を参照して REACH 登録文書の準備又は更新をすること、CLP の下での分類のためのハザード情報を評価することが可能になる。

EC は、RIP-oN1 についての勧告レポートをもとに、(ナノマテリアル定義に関する勧告を受けて) メンバー国の「REACH と CLP 当局 (Caracal)」とともに物質同定に関する協議を進めることになる。

本資料は、RIP-oN2 の報告書の、粒径、粒径分布に関する記述の部分を訳出したものである。REACH 登録文書において、どのような測定法が使用されるかが、これから推定できると考える。

注) CLP 規則とは、EU において 2008 年 12 月 31 日に公示された物質と混合物そして火薬等の爆発性のある成形品の分類 (Classification)、表示 (Labelling) および包装 (Packaging) に関する規則、REACH と一体のもの。

RIP-on 2 の最終報告書: REACH の下で、ナノマテリアルの 情報要件を満たすための特定の助言

3.5 REACH 情報要件を満たす上で、既存の情報の関連性と適用性についての実際的な助言 (TASK B3)

3.5.2 B3 Sub-Task I : REACH の文脈の中で FP6/7 のプロジェクト中で報告された経験の関連性と適用性についての実際的な助言のサマリー

3.5.3 PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES INFORMATION)

3.5.16 粒径/粒径分布

3.5.17 FP6/7 プロジェクトの成果のレビューは、粉体、懸濁液およびエアロゾル形態中のナノマテリアルの粒径/粒径分布を測定するための一般に採用されている幾つかの方法を提供している。

3.5.18 粉体については、次の方法がナノ粒子の粒径を決定する一般的な方法であると確認された: 透過電子顕微鏡法(TEM)、走査電子顕微鏡法(SEM)、X 線回折(XRD)および原子間力顕微鏡(AFM)。粉体状態のナノ材料の粒度分布の決定のために、TEM、SEM、走査型移動度粒径測定器(SMPS)、フィールドフローフラクシオン(FFF)、レーザー回折粒径アナライザーおよび光子相関分光測定法(光子相関法)(PCS)は利用可能な方法であると確認された。

3.5.19 懸濁液に分散したナノマテリアルについては、粒径は、FP6/7 プロジェクトの中で SEM および原子間力顕微鏡法(AFM)を使用して一般に決定された。一般性がより少ないもので、採用された方法は、クライオ-TEM、クライオ-SEM および蛍光相関分光法(FCS)を含んでいる。懸濁液中でのナノマテリアルの粒径分布の決定のために、動的光散乱(DLS)、PCS およびナノ粒子追跡(トラッキング)分析(NTA)は一般に採用された方法であるが、一方、しかしより少ない程度で分析用超遠心器(AUC)、水力学的フラクシオネーション(HDF)およびクライオ-TEM も利用されている。しかしながら、SEM/TEM が分散粒子を含んでいる溶液または生物媒体中で測定される平均粒径値をしばしば反映していないこと、種々の媒体中の平均粒径の測定のために DLS がよりルーチンな方法であることを Fadeel と Garcia-Bennett (2010)が示唆していることに注目することが重要である。

3.5.20 分散したナノマテリアルの粒子径/粒径分布に加えて、有効流体力学的径(それはナノ粒子の表面上の生物分子の層を考慮に入れる)も、より大きな粒子がある径の細孔に入ることができないかもしれないので、生物学的応用のために特徴づけるべき重要なパラメーターとして示

唆された(Sperling ら、2007 年)。このパラメーターは、REACH ガイダンスの最新版に関して考慮するのに重要かもしれないし、詳細調査が求められる。しかしながら、Sperling ら(2007)は、粒子表面により多くの分子が付けられ粒子がより大きくなれば、その測定はより信頼性が低くなると結論を下す。このように、実際の粒子性質に従って、十分注意して適切な測定方法を選ばなければならない。コロイド状のナノ粒子の有効径を測る異なる測定法は、異なる物理的原理に基づいており、異なる方法間の生じる粒径の偏差に帰着する。これらの難しさが考慮に入れられるべきである。

3.5.21 ナノマテリアルのエアロゾルについては、粒径は飛行時間顕微鏡法によって決定されるであろう。ナノエアロゾルの粒径分布を決定する、一般に利用される方法には、微分型移動度分析器および走査型移動度粒径測定器(SMPS)がある。さらに電子式低圧インパクター(ELPI)、光散乱式粒子計数器(OPC)、エアロゾル粒径測定器(APS)、高速移動度粒径測定器(FMPS) のような方法が使用されているが、それほど頻繁ではない。

3.5.22 カスケードインパクターもエアロゾルの空気力学的質量中央径(MMAD)を決定するために使用されるであろう。Ma-Hock ら(2007)は、この方法はマイクロメートル範囲の直径を備えた微粒子のためにはよく確立されているが、ナノ粒子になるともはや空気力学の法則に従わないのでその寸法を表さないと強調している。しかしながら、カスケードインパクターは凝集体の MMAD を決定するために使用することができるので、この方法はナノマテリアルを用いた吸入研究にはまだ価値がある。さらに、粒度分布の全体像を提供するために異なる方法(例えば OPC、SMPS)で得た測定データと組み合わせるのは、この方法に使用されている法則が異なるため適切ではないかもしれないと言及している(Ma-Hock ら、2007)。しかしながら、二つの方法からのデータは、それぞれの測定範囲のエアロゾルの量に関連した粒径分布についての情報を提供するという点でまだ価値がある。

3.5.23 さらに、平均粒径を増加させ(凝集の結果)かつ濃度を減少させつつ、ナノ粒子はそれらが元々放出された粒径範囲とは時間の経過とともに異なる粒径範囲で存在していくというナノエアロゾルの特性が実証されてきていることを考慮することは重要である(Wu ら、2008)。したがって、作業場所研究では、それらが元々放出されたかもしれないナノ粒径範囲のナノ粒子を捜すことは十分に無く、時間の経過とともにアグロメレートが形成される粒径範囲も考慮が必要である。

3.5.24 粒径/粒径分布とナノマテリアルの毒性学上の影響の間の潜在的な関係に関する情報は、ENRHES (Stone ら、2009 年)のレビューの一部である。さらに、Zuin ら(2010)は、一次粒子径と沈着可能性の間の次の関係を示した:

- 10nm 未満の径の粒子は、もし吸入されれば、粒子の 80%以上が人間の気道の 3 つの部位(つまり、胸郭外気道、気管気管支、肺胞)に留まるかもしれないので、高い沈着を示すと考えられた;

- o 10~30nm 径の粒子は、吸入粒子の 80%から 60%が人間の気道に沈着されるので、中位の沈着を示すと考えられた;
- o 30nm より大きい径の粒子は、吸入されたナノ粒子の 60%より少ない量で保持されるかもしれないので、低い沈着を示すと考えられた。

3.5.25 Zuin ら(2010)は、一次粒径と移行可能性の次の関係をさらに定義している:

- o 2.5nm 未満の粒子は、高い移行可能性を示すと考えられた;
- o 2.5~5nm の粒子は、中位の移行可能性を示すと考えられた;
- o 5nm より大きい粒子は、低い移行可能性を示すと考えられた。

3.5.26 PARTICLE RISK プロジェクトの一部として試みられた毒物動態学の研究の中で、ラットに対する気管内注入あるいは静脈注射に続いて、侵入路を越えた他の器官への移行は、金ナノ粒子の径および表面積の両方に強く依存すると測定された(Kreyling、日付がない)。粒径も、WC-Co 材料の毒性学的・生物学的反応の評価の重大な因子であると示唆された (Ding ら、2009)。

3.5.27 アグリゲーション/アグロメレーション状態

3.5.28 FP6/7 プロジェクトの成果のレビューは、粉体および懸濁液中のナノ材料のアグリゲーション/アグロメレーション状態の測定のための一般に採用されている幾つかの方法を提示している。

3.5.29 ナノマテリアル粉体のアグリゲーションの程度を測定するための一般に採用されている方法は、SEM と TEM を含んでいる。アグロメレーション状態および溶液中のナノ粒子の分散安定性の測定のために、ゼータ電位測定がしばしば使用される。しかしながら、Meissner ら(2009a、2009b、2010)は、ゼータ電位測定だけでは生理学的懸濁液中のナノ粒子の安定性の予測は十分ではないので、粒径分布の測定も DLS を使用して試みられるように勧める、と結論付けている。アグロメレート**の強さを測定する方法が必要であることが示唆され**(Wu ら、2008)、これはこれからの開発が必要であると考えられる。

3.5.30 いくつかのプロジェクトがアグロメレートしたナノ粒子の挙動および効果はそれらの潜在毒性との関係性を評価するために重要であり(Ma-Hock ら、2007; Wu ら、2008; Stone ら、2009)、それがアグロメレートの毒性とそれらの安定性に焦点を当てた研究が、これから必要であると見なされるべきであると示唆してきた。さらに、ナノエアロゾルに関して、アグロメレーションの時間的変化は、それらの粒度分布との関係およびに暴露評価において考慮すべき重要なかぎであると NANOTRANSPORT プロジェクトにおいて実証された。

3.5.138 B3 Sub-Task II : REACH の文脈の中で、ナノマテリアルのキャラクタリゼーション、労働者、消費者及び環境に対するハザード同定と評価に関する 科学文献中で報告された経験の関連性と適用性についての実際的な助言のサマリー

3.5.139 PHYSICO-CHEMICAL PROPERTY INFORMATION)

3.5.147 粒径/粒径分布

3.5.148 粒径測定に関する現在の REACH ガイダンス(ミクロンサイズの粒子の焦点を当てているとはいえ)は、より現代的な粒子サイジング(分粒)技術を限定承認して、1981 年に出版された TG110ドキュメントを参考にしている。この文献レビューは、粉体状態、懸濁液およびエアロゾル中のナノ材料の粒径/粒度分布を検知し正確にキャラクタライズするために利用可能な多くの方法を示した。

3.5.149 多くの重要な点が指摘されてきており、ギャップ分析の中で一層の考察が進められるであろう、特に、提案されたガイダンスへの修正点を以下にあげる。

- 同じナノオブジェクトあるいは構造上の特徴を測定する場合、異なる測定原理に基づいた異なる方法は異なる結果をもたらすかもしれないことが強調された(Lövestam ら、2010);
- 測定された粒径値は「方法依存である」と見なされるべきであり、データを得るために使用した分析技術および生データから粒径を推定するために適用されたプロトコルに関して充分詳細に報告されるべきことが勧められた(Lövestam ら、2010)。これは、さらに粒径/粒径分布測定に加えて他の物理化学的性質に当てはまる;
- 単一の技術で、アーティファクト(試料作製あるいは観察段階で人為的に生じた架空の構造)がないと考えられるものはないし、ナノ粒子径を測定する場合すべての場合に使用することができるものはないことが指摘される。したがって、また、ナノ粒子の特性を評価する場合、複数の分析技術および(または)多数の試料調製技術が使用されるべきことが勧められる(Domingoes ら、2009);
- 動的光散乱(DLS)は全粒径分布を提供しないことが指摘される。DLS は、ブラウン運動によって引き起こされた散乱光の強度の変動を測定する。それから、流体力学的径が計算され、粒径分布の評価を可能にする。したがって、たとえ DLS が粒径分布を直接測定していなくても、この方法は全粒径分布の推測によい背景を提供する。さらに、この方法は粒子集団の多分散を示す数(「多分散インデックス」)を提供する。DLS データからの粒度分布の計算を容易にする利用可能なソフトウェアルーチンがあるが、これらの妥当性および同等性をさらに評価することが必要である(Lövestam ら、2010)。
- 電子顕微鏡法を使用した分析のための真空下でのサンプル乾燥は、物性評価する粒子の大きさおよび形を変えるかもしれない。導電性材料の層を表面に付着させるためのプラズマスパツ

ター被覆は、物性評価するサンプルを変化させるかもしれない;

- 溶液中の粒子の分析は環境制御形走査電子顕微鏡法の開発を通じて進められた;これは、観察された粒度分布に影響を及ぼすかもしれないサンプルの乾燥の必要性をなくすので暴露/毒性学的実験のために調製される分散したサンプルの特性を評価できる;
- 電子顕微鏡検査技術を使用して分析されるイメージの質は決定的に重要である。また、電子顕微鏡法が通常二次元画像だけを提供することはさらに注目されるべきであり、配向効果からもたらされるバイアスを回避するよう注意しなければならない。高解像度顕微鏡法は試料調製または特殊な分析条件によって引き起こされたアーティファクトの影響を受けるかもしれない;
- エアロゾル物理学で、粒径測定のために最も一般に用いられている方法は、微分型電気移動度(約 10~1000nm)および光散乱エアロゾル分光測定(60nm~45 μ m)である。
これらの方法は、顕微鏡検査技術で測定された幾何学的な直径とは異なる空気力学相当径の測定を提供する(Lövestam ら、2010);
- 科学文献の中で公表された毒性学的研究で、直接、金属のナノ微粒子およびマイクロ粒子形態を比較したものは、比較的わずかしかない。それは、今は、REACH の文脈の中での見なし代用(read-across)の正当性を確立することは制限されることを意味するであろう;

- 全体として、真にナノスケールの特性が観察されるサイズは材料に強く依存し、また、ほとんどのこれらの効果は 30nm 以下の径で現われるが、一般的な限界は与えることができない(Lövestam ら、2010)。そのようなわけで、個別的な研究はすべての材料に必要なであり、そのため、サイズと新奇な効果あるいは機能の間には、直接の、材料から独立した関係がない。

3.5.150 アグリゲーション/アグロメレーション状態

3.5.151 ナノ粒子のアグリゲーション/アグロメレーション状態は、(生態)毒性学的実験のために準備されたナノ粒子分散体の安定性に影響する。アグリゲート粒子の大きさは、「粒径/粒径分布」分析のために上に記述された同じ方法の多くを使用して、測定することができ、その概観は、「粒径/粒径分布」および「アグリゲーション/アグロメレーション状態」RNC/RIP-oN2/B3/2/FINAL の 4.1 章のサブセクションの中ですでに提供されている。

3.5.152 さらに、多くの重要な点が指摘されており、ギャップ分析の中で一層の考察が進められ、特に、REACH ガイダンスへの修正案に通知するために使用されるであろう:

- 分散(つまり(デ)アグロメレーションのレベル)の状態は、振動、超音波処理、溶液中でナノ粒子を分散させるために一般に使用される界面活性剤と共に、定型的には粒径測定の比較により評価される。しかしながら、これらのツールは細胞を破損したり、もし生物系の中で使用されれば毒性試験の邪魔をするかもしれない(Powers ら、2006);
- 誘電泳動装置とラマン分光法の結合した使用は、これらの方法のどちらか 1 つのみを使用した

場合よりカーボンナノチューブのアグリゲーション状態のより敏感な測定法であると提案された (Kumatani と Warburton, 2008);

- 表面エネルギー、電荷および溶媒和は、ナノ粒子—ナノ粒子相互作用に関して考慮すべき適切なパラメーターであると示唆された(SCENHIR, 2006)。
- 粒子がアグリゲートになる傾向は、特に CNT の場合には、研究者に対し、超音波処理あるいは粒子懸濁液中での分散剤の含有の使用を通じてその発生を防ぐように促してきた。しかしながら、さらに CNT の単一分散を考えることの適切さは考察を要求する。何故なら、これが実験的に達成するのが非常に難しい場合、人間と環境への暴露との関連は疑わしいであろう。調査中のモデルのための一様より容易に特性評価できる暴露条件を促進する、制限があるか抑制されたアグリゲーションを持った CNT 懸濁液を達成するほうが有用かもしれない。さらに、暴露ルートは CNT のアグリゲーションおよびアグロメレーションに影響を与えるであろう。例えば、エアロゾルを生成する場合に CNT のアグリゲーションを制限することは困難であるが、しかし、多くの分散剤は CNT 懸濁液の分散を改善するために使用することができる;
- 分散を増加させるために磨砕を使用することは、長さおよび表面特性の両方に、したがって MWCNT の毒性に影響を与えることが実証された(Muller ら、2005)。
- アグリゲートする傾向が強いため、CNT 毒性をテストすることに困難がある。また、単一状態の CNT が含まれている懸濁液またはエアロゾルを達成することは困難である。したがって、CNT の間の相互作用(それらはより大きな構造の構成を促進する)が CNT の毒性にどのように影響を与えるか考えることは重要である;
- MWCNT の分散で一般に用いられている界面活性剤(すなわち 0.1-10%濃度の Pluronic L61, Pluronic L92, Pluronic F127, Tween 20, Tween 60)の含有に関する予備的研究によって、すべての界面活性剤(Pluronic F127 の例外があるが)がすべての濃度で細胞の生存率を減少させることが示された。したがって、それらの CNT アグロメレーションを減少する能力にもかかわらず使用するのは不適當であると考えられた(Monteiro-Riviere ら、2005);
- ろ過は SWCNT の分散する懸濁液内のアグロメレート存在を減少させるための技術として使用することができる(Raja ら、2007);
- 金属酸化物の投与に関連した粒子アグリゲーションとアグロメレーションの程度が、粒径に加えて、これらの粒子タイプの結果として生じる毒性に恐らく影響を及ぼしていることが示唆されてきた。しかしながら、アグロメレート形成するナノ粒子はナノ粒径範囲内にあり、これはそれらの毒性を引き起こさせる根本的要因とみなせる;
- さらに、ナノ粒子アグリゲーションは広範囲の公表された環境研究で報告されてきた一般的な問題点である。前記のように試験懸濁液を調製する手順と媒体の相違と粒子タイプによって粒子アグリゲーションの程度が影響を受けることが報告されてきた;
- ほんの少数の研究が、様々なナノ材料の生態毒性に対するアグリゲーションの影響を系統的に調査してきた;
- 現在まで公表された研究から、ナノ粒子の様々なレベルのアグリゲーションがどのようにそれら

の生態毒性に影響を及ぼすかはまだ明らかで無く、LC50、EC50 および NOEC の導出はさらに不確かなままである。この問題の複雑さに加え、媒体中のアグリゲーション挙動が非線形な濃度—アグリゲーション関係に従うかもしれないことが最近見出された(Baalousha ら、2009; Baun ら、2009)。

3.5.227 B3 Sub-Task III: REACH のデータ要求を満たす上で、OECD-WPMN(OECD の工業ナノ材料作業部会)からの情報の利用に関する実際的な助言

3.5.234 粒径/粒径分布

3.5.235 ギャップ分析の中で一層の考察が進められ、REACH ガイダンスへの修正案に通知するために使用される、粒径/粒径分布に関して OECD 出版物から指摘された重要な点は:

- 物質がさらされる条件が物質の離散した(discrete)状態の大きさに影響するかもしれないことが示唆された(ENV/JM/ MONO (2009)20/REV);
- 1 つの技術によって報告された粒子の大きさが別の技術で測定された時の大きさと同じではないかもしれないように、粒子の測定された大きさが、それを検査するか、測定するか、視覚化するために使用されている特定の方法に常に依存することが強調された(ENV/JM/ MONO (2009)20/REV);
- 適切な測定量は、ナノ粒子の代表サンプルとして、サンプルの個々の粒子の平均粒径および粒径分布の両方であると示唆された(ENV/JM/MONO(2009)20/REV);
- OECD は、粒径分布/繊維長および直径分布を決定するための試験ガイドライン(OECD TG 110)の方法 A(水と空気中の不溶性粒子の輸送および堆積作用についての情報を提供するよう設計された)が「ナノ材料に適用可能ではない」一方、方法 B(顕微鏡検査を含む、繊維を形成することができる材料の特殊な例の中で使用される)は「ある修正(長さ 5 ミクロン未満および直径 100 nm 未満の繊維を含有)で、ナノチューブおよびナノ繊維と同様にナノ粒子に適用可能になるだろう。」と結論を下した。研究がナノスケールの繊維への適用可能性の範囲を拡張するために行なわれるべきことが示唆される。(ナノ)粒子の粒径分布のための代替方法が既に存在し、そのような研究が試みられる場合、それは考慮に入れられるべきであることを OECD は提案していることが知られている(ENV/JM/MONO(2009)21)。

3.5.236 スポンサーシップ・プログラムの中で使用される OECD によって示唆された代替方法は、RNC/RIP-oN2/B3/2/FINAL の 5.1 章の中のサブセクション「粒径/粒径分布」の中で明白に詳述される。

3.5.237 アグロメレーション/アグリゲーション

3.5.238 ギャップ分析の中で一層の考察が進められ、REACH ガイダンスへの修正案に通知するために使用される、アグロメレーション/アグリゲーションに関して OECD 出版物から指摘された重要な点は:

- (そうであるべきと)提案されてきた興味のある、粒子の事前測定ユニットを備えて始まる測定量(測定の対象)は(ENV/JM/MONO(2009)20/REV):
 - a) 与えられた媒体中での有効な平均粒子径およびその時間変化(標準偏差を含む);および/または;

- b) アグリゲーション状態の定性的評価および TEM 写真による一次粒子径の評価;
および/または;
- c) 熱により生じる酸化物には典型的な無ないし低い内部空隙率の材料のための、BET の測定による推定一次粒子径の間接的確認。
- o 自然の水中のアグロメレーションの予測は粒子のホモアグリゲーションに限定されるだろう。何故なら、自然の表面(例えば Hamaker 定数およびゼータ電位)の異種混合のセットを備えた析出を予測に必要とするデータが多くの場合利用可能ではないからである(ENV/JM/MONO(2010)25).

3.5.239 アグリゲーション/アグリゲーション状態の評価のためにスポンサーシップ・プログラムの中で使用するように OECD によって示唆された方法は、RNC/RIP-oN2/B3/2/FINAL の 5.1 章のサブセクション「アグロメレーション/アグリゲーション」の中で明白に詳述される。

3.5.240 結晶子と粒径

3.5.241 特定の理由/証拠は提供されていないが、結晶子サイズは、(生態)毒性学上の評価のための重要な試験エンドポイントの OECD リストに含まれている(ENV/JM/MONO(2010)46)。このため、REACH の文脈の中のこの特性およびその試験方法に関する実際の助言を提供する我々の能力は制限される。

4. 推奨 (Recommendations)

REACH のガイダンス文書の修正等

4.1 現ガイダンスのアップデート

4.1.2 エンドポイントのガイダンス

4.1.84 粒度解析 (Granulometry)

4.1.112 表 R.7.1-30 (R.7a, pg. 146)の第 1 列が下記に修正されることを勧める:

方法と詳細	物質と粒径範囲	データの形式
<p>光学顕微鏡検査</p> <p>粒子の形および大きさに影響を及ぼさないようにサンプルを直接準備することが望ましい。</p> <p>この方法は、呼吸域及び吸入域の大きさの粒子の分布を測定し、空気中で運ばれるほこり、分散した粒子あるいは噴霧された粒子には適用しない。</p> <p>光学顕微鏡法は、既知の繊維状のあるいは繊維が放出する物質あるいは他のデータとの類似点の比較により存在する物体の繊維らしさを評価するために使用することができる。試料調製の間、繊維の切断や凝集を回避するために、極度の注意が要求される。さらに、空気中で運ばれてくる繊維による汚染を回避するために注意すべきである。サンプルは、(a)ゆるい手攪拌あるいは渦混合 (vortex mixing) により水中に懸濁させる、あるいは(b)直接あるいはアトマイザーまたはピペットの使用によって乾燥した繊維をスプレーすることにより乾燥した資料を銅テープ上に移すことにより、準備されるであろう。長さおよび直径分布は独立に少なくとも2度測定され、また、少なくとも 70 本の繊維が数えられるべきである。どちらがより大きくても、得られたヒストグラム間隔の 2 つの値が 50%を超えるあるいは 3 本の繊維だけ異なってはならない。長細い繊維の存在は、更なるより正確な測定の必要を示すであろう。この方法は呼吸域及び吸入域の大きさの繊維の分布を測定するのに適切かもしれない。</p>	<p>繊維を含む全ての種類の粒子:</p> <p>粒径範囲: 0.2 ~ 5000 μm</p> <p>繊維径 0.2 μm ~ 100 μm、長さ 5 μm ~ 300 μm</p>	<p>粒径 / 粒径分布、それから空気力学的中央粒径 (MMAD) は粒子密度を用いて計算することができる</p> <p>WHO(1997) によって定義されるような繊維数: アスペクト比 >3:1 および繊維長 >5 ミクロン</p>

4.1.113 したがって、光学顕微鏡検査による「繊維長さおよび直径分布の測定」に関する現在の表 R.7.1-30 (R.7a, pg. 146)の最後の列が削除されることが勧められる。

4.1.114 方法の次の追加の列が表 R.7.1-30 (R.7a, pg. 146)に加えられることが勧められる:

方法と詳細	物質と粒径範囲	データの形式
<p>透過電子顕微鏡法 (TEM)</p> <p>TEM は、分離およびサンプリング道具からのサンプルを含め、大気から採取したまたは TEM グリッド上に浮遊して準備されたサンプルに対して使用することができる。粉体の調製はこの方法にとって非常に簡単で速い。TEM は、粒径と粒子形状の定性的評価およびアグロメレートと一次粒子の間の区別が可能である。一次粒子の粒径分布の定量的測定は、アグロメレーションが重大でない場合に達成可能である。TEM は非常に高い分解能(nm)を持っており、0.2nm よりよい解像度で格子面および原子の個々の列を描像できる。追加機能を有するTEM は、さらに詳しい情報を提供することができ、例えば、走査TEM(STEM)、高解像度TEM(HRTEM)あるいは環境制御TEMを使用したその場測定は、測定評価される分散したサンプルの可能性を提供する。</p> <p>しかしながら、TEM は非常に労働集約的な方法で、サンプルの手作業による作成が必要である。分散液は、希釈(約 1%まで)するかもしれない労働集約的な cryo-セクションを作成することが必要である。分析のための真空下でのサンプル乾燥は、測定評価しようとする粒子の大きさおよび形状を変化させるかもしれない。サンプルの非常に小さな領域が分析されるため、それは十分に代表的では無いかもかもしれない。比較的小さな割合の粒子が評価されるので(約 1,000 個)、統計的な正確さは限定される。粒子の二次元の画像だけが目に見え、評価することができる;また、写真の解釈は難しく、アグロメレーションが大きい場合、写真の分析は不可能である。粒子の輪郭は、いくつかのサンプルではっきりと分解されないかもしれない。分析される画像の質は極めて重要で、配向効果により引き起こされるバイアスを回避するために注意しなければならない。</p> <p>この方法についてのさらに有益な情報は ISO/TR 27628:2007 において利用可能である。静的および動画画像解析によって粒径をそれぞれ決定する場合、ISO/13322-1:2004 および ISO/13322-2:2006 は測定記述およびその確認のために一般的なガイダンスを提供する。</p>	<p>固体、パウダーおよび懸濁状態の粒子</p> <p>粒径範囲:<0.1 ~ 10 μm 1 ~ 500nm の粒径範囲に特に適している。</p>	<p>粒径 / 粒径分布、それから数/質量中央径は粒子密度を用いて計算することができる。</p>
<p>走査電子顕微鏡法 (SEM)</p> <p>SEM は、分離およびサンプリング道具からのサンプルを含</p>	<p>固体、粉体および懸濁状態の粒</p>	<p>粒径 / 粒径分布、それから数/</p>

<p>め、大気から採取したまたは SEM グリッド上に浮遊して準備されたサンプルに対して使用することができる。試料調製は TEM のためによりも容易である。また、少量のサンプルのみが必要である。テストは水を割っていない分散液およびエマルジョンで可能である。SEM は、サンプルの非破壊試験を可能にし、高い分解能で非常に正確なサイズ測定でのサンプル構造の画像を供給する。この方法は、環境制御形 SEM としてその場観察に使用することができる。</p> <p>資料の代表サンプルが使用されなければならない。サンプルが導電性でない場合は、導電性材料の層で表面付着された粒子でプラズマ・スパッタ・コーティングをすることがしばしば必要である。このプロセスは、測定評価しようとするサンプルを変化させるかもしれない。サンプルの小さな領域だけが写され、画像は表面の特徴に限定される。分析される画像の質は極めて重要で、配向効果により引き起こされるバイアスを回避するために注意しなければならない。</p> <p>この方法についてのさらに有益な情報は ISO/TR 27628:2007 において利用可能である。静的および動画像解析によって粒径をそれぞれ決定する場合、ISO/13322-1:2004 および ISO/13322-2:2006 は測定記述およびその確認のために一般的なガイダンスを提供する。</p>	<p>子</p> <p>粒径範囲:< 0.01 ~10 μm</p> <p>10nm~1 μm の粒径範囲に特に適している。</p>	<p>質量中央径は粒子密度を用いて計算することができる。</p>
<p>遠心沈降 (ISO 13318-1:2001; ISO 13318-2:2007; ISO 13318-3:2004)</p> <p>分級によって液体中に分散した粒子材料の粒径分布を測定する。遠心沈降法は液体中の粒子の遠心力場の下での沈殿の程度に基づく。沈降速度と粒径の関係は低いレイノルズ数でストークス方程式に従う。したがって、この方法を使用する粒径の計算はストークスの法則に依存する。この技術は OECD TG 110 の Method A に従ってデータを供給するために使用することができる。</p> <p>光学的混濁度検知を使用する場合、計測範囲は、試料の密度、媒体の粘度、遠心分離機の回転数に依存する。粒子標準を用いた目盛り調べを通しての粒径の高い絶対的な正確さおよび他の方法に対する高解像度。少量のサンプルで十分である。この方法は、分離なしで全ての分割分を一緒に測定する積分的方法(例えば光散乱)より、より少数の人為的外乱およびあり得るエラーしか含んでいない。しかしながら、測定する濃度は非常に低くかなりの稀釈が必要である。アグロメレーションの可</p>	<p>液体に分散した粒子材料</p> <p>粒径範囲:0.1~5 μm</p>	<p>沈降速度 (m s⁻¹)、それから粒径はストークスの法則に基づいて計算することができる。</p>

<p>能性は考慮されなければならない、また、分析するために懸濁液/エマルジョンは安定していなければいけない。その中で密度勾配が測定のために形成されることができる、試料に適した堆積用液体が選定されなければならない。小さな粒子が存在するサンプルの測定時間は長い。評価のために、粒子の密度および光学定数は分かっているなければならない。広い分布の中の細かい分割分の評価はクリティカルである。</p> <p>X線検知を使用する場合、計測範囲は試料の密度に依存する。実行と評価は、校正、勾配、mie補正あるいは光学情報の必要が無く、単純である。分布スペクトルの高解像度は可能である。また、少量のサンプルしか必要としない。1010個の粒子が1回の測定作業で評価でき、この方法は統計的に優れている。しかしながら、5%までの希釈が必要で、評価のために粒子の密度が分かっているなければならない。</p>		
<p>超音波分光法 (ISO/20998-1:2006)</p> <p>液体の中に分散した1つ以上の試料相の粒径分布の測定を提供する。測定は、体積で0.1~50%の範囲での分散相の濃度で行なうことができる。濃縮された系でアグロメレーションもしくはフロック形成を含めて、粒径分布中の動的変化がモニターすることが可能である。</p> <p>しかしながら、この方法は空気かつ温度に対して敏感である。パラメータ調節は複雑である。測定結果は異なるvol%に応じて変わるかもしれない。</p>	<p>コロイド、分散液 および乳剤中の 粒子</p> <p>粒径範囲: 10 nm ~3 mm</p>	<p>減衰スペクトル、 それから質量/ 数に基づいた粒 径分布はモデル によって引き出 すことができる (それは経験的 かもしれない か、基本的原則 に基づくかもし れない)。</p>
<p>X線小角散乱 (SAXS) (ISO/TS 13762:2001)</p> <p>超微粉と懸濁液の粒径分布の測定を提供する。サンプルの粒子分散の要求は、他の方法に対してと同じ程度には厳密ではない。SAXSは、粒子から気孔を区別ことができず、したがって、多孔性の粒子から成る粉体に使用することができない。この方法は、粒子が等方性で球形と仮定し、例えばカーボンナノチューブのような非球状のナノ物体のようなモルフォロジーが球状と程遠い粒子を含んでいるに粉体への適用可能性が制限される。さらに、濃縮サンプルが必要なため、粒子間の干渉効果が発生するかもしれない。</p>	<p>粉体および懸濁 状態中の粒子</p> <p>粒径範囲: 1 ~ 300nm</p>	<p>ディフラクトグラ ムの数学的な適 用によって評価 されたサンプル の平均粒径</p>
<p>X線回折 (XRD)(BS EN 13925-1、BS EN 13925-2 および BS EN 13925-3)</p> <p>XRDは、実測に対する推算されたディフラクトグラムの数学的な適用によって平均粒径を測定する。結晶度の高い統計的</p>	<p>単結晶あるいは 多結晶の材料</p> <p>結晶子サイズ範</p>	<p>ディフラクトグラ ムの数学的な適 用によって評価 されたサンプル</p>

<p>適切さでの計量が可能で、代表サンプリングを必要としない。</p> <p>存在する相の結晶構造および設備とサンプルに特有のパラメーターは知られていなければならない。粒径が結晶子サイズと等しくないことは重要である。さらに、微小歪み、格子欠陥、温度要因のような他の要因は、ピーク幅に影響を及ぼす場合がある。より大きな結晶サンプル(>1mg)が分析に必要である。</p>	<p>困: ~1~100nm</p>	<p>の平均粒径</p>
<p>動的光散乱(DLS)/光子相関分光法(PCS) (ISO/22412:2008;ISO/13321:1996;ASTM E2490?09)</p> <p>平均粒径の迅速で単純な評価および液体中に分散したサブミクロンサイズの粒子あるいは小滴の粒径分布の広さの測定を可能にする。懸濁しているナノ粒子に対して、DLS/PCS は、粒径と粒径分布のその場観察で特性評価を提供する最も一般に使用される技術のうちの 1 つで、時間と媒体に関して粒子懸濁安定性の尺度を提供するためにゼータ電位測定と一緒にしばしば適用される。少量のサンプルしか必要でなく、そして、<100nm の粒径範囲内で、屈折率が必要でない。これらの方法はより正確に暴露条件に擬した溶液での粒径を測定できるため、DLS/PCS は毒性評価にとって特に有益である。高濃度用の不透明な懸濁液へのこの技術の拡張したものは光子相関分光法(PCCS)であり、粒径およびナノ粒子懸濁液の安定を提供する。</p> <p>しかしながら、広範囲なサンプル希釈が必要である。粒子の分散状態を維持するのが難しい場合、あるいは粒径で>2 μ m の粒子が存在する場合、この方法は利用が制限される。この方法は温度に敏感で、低分解能でのみ可能である。光学的パラメーターはデータ分析のために知られていなければならない。また、この方法は異なる光学的性質を備えた粒子には適していない。</p> <p>動的光散乱(DLS)は全粒径分布を提供しないことが指摘される。DLS は、ブラウン運動によって引き起こされた散乱光の強度の変動を測定する。それから、流体力学的径が計算され、粒径分布の評価を可能にする。したがって、たとえ DLS が粒径分布を直接測定しなくても、この方法は全粒径分布の推測により背景を提供する。さらに、この方法は粒子集団の多分散を示す数(「多分散インデックス」)を提供する。DLS データからの粒径分布の計算を容易にする利用可能なソフトウェアルーチンがあるが、これらの妥当性および同等性をさらに評価することが必要である(Lövestam ら、2010)。</p>	<p>液体中に分散した粒子または小滴</p> <p>粒径範囲:1 ~ 1000nm</p>	<p>質量/数に基づく粒径分布。平均粒径および多分散インデックス(無次元; 粒径分布の広さの基準)。</p>

4.1.124 表 R.7.1-31 (R.7a, pg. 149)が下の表 R.7.1-30に直接移動され、以下のように更新されることを勧める:

方法と詳細	物質と粒径範囲	データの形式
<p>カスケードインパクション</p> <p>カスケードインパクターはエアロゾル(あるいは塵雲)の粒径分布を得るために使用することができる。大気サンプルは、粒子がガラスまたはガラス繊維上に堆積される幾つかのステージから成る装置を通して吸引される。粒子は、それらの大きさに依存して、あるステージにインパクトを与えていく。サンプリング前後に各ステージの重さを量ることで、カットオフ径は各ステージの噴射速度から計算でき、それらの計算から MMAD 導かれる。</p> <p>呼吸域か吸入域の大きさの粒子の分布を測定するために十分に確立された技術。しかしながら、カスケードインパクションは、空気力学の法則にもはや従わない高い縦横比のナノ粒子の寸法は記述できないであろう(Ma-Hock ら、2007)。従来のカスケードインパクターは、250 nm より大きな粒子の捕集に制限された粒径選択ステージを持つであろう。これは捕集方式で、さらにエアロゾル化が要求される。</p> <p>ISO/TR 27628:2007 は有益な記述を提供する。</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲: 0.1 ~ 20 μm および 0.5 ~ 80 μm MMAD が割り当てられ連結された分析技術によって決定することができる。</p>
<p>電子式低圧インパクター(ELPI)</p> <p>ELPI は、直径 7nm より大きな粒子にほぼリアルタイムのエアロゾル粒度分布を供給するために電気的な粒子探知と慣性捕集を組み合わせた一種のカスケードインパクターである。エアロゾル粒子は、カスケードインパクターによってサンプリングされる前に単極のイオン帯電器の中で帯電される。その装置が測定するサイズの上限は 10 μm であるが、実際上、信頼できるデータはより大きな粒径で著しいロスがあるため約 2.5 μm までのみで得ることができる。</p> <p>集めたエアロゾル粒子は、オフライン分析に利用可能であるが、それが直接測定を提供しないので制限がある。しかしながら、それは電子顕微鏡検査および化学種分析を含む一連のオフライン分析手法をサンプルに適用することができる。ELPI は暴露量推定に関して有用に適用できる。</p> <p>最低ステージからのデータは、実サイズ・チャンネル幅の損失および不確実性により比較的大きな不確実性を持っている。</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲: 7nm ~ 10 μm MMAD が割り当てられ連結された分析技術によって決定することができる。</p>

ISO/TR 27628:2007 は有益な記述を提供する。		
<p>回転ドラム法 (EN 15051)</p> <p>この方法は、回転ドラム中での材料の繰り返される上昇と落下より産みだされた空気に運ばれた塵雲の粒径選択的なサンプリングに基づく。ドラムを通して吸引された空気は、特別に設計された出口と2つの多孔質ウレタンフォームおよび薄膜フィルタから成る3段分級システムを通過する。各収集ステージに集められたほこりの質量は生物学的に関連した粒子群の直接的測定を与えるために測定される。この方法は、産業での広範囲の材料取り扱い工程をシミュレートし、空気に運ばれた状態の材料の生物学的に関連した粒径部分(size fractions)を測定する。全粒径分布は集じんステージ上の内容物の分析により得ることができる。</p> <p>この方法は呼吸域か吸入域の大きさの粒子の分布を測定するのに適している。回転ドラムダスティネス試験は、3回の繰り返し試験で通常行なわれ、かなり大量の試験試料、典型的には300~600g、を必要とする。もし有毒でかつ、または高価な物質が試験されたり、非常に少量の試料を使用して、制御された大気環境の下で操作することができる試験システムの必要があるなら、そのような大量の試験試料が実際的ではないかもしれないことが強調された(Schneider & Jensen, 2008)。</p>	<p>乾燥粉体/粒状体/砕けやすい製品</p>	<p>粒径範囲:0.5 ~ 10,000 μm MMADが割り当てられ連結された分析技術によって決定することができる。</p>
<p>連続的落下法 (EN 15051)</p> <p>この方法は、遅い垂直の気流中での試料の連続的な単一落下により産み出される空気に運ばれる塵雲の粒径選択的なサンプリングに基づく。落下試料から放たれたほこりは気流によってサンプリング部に導かれ、吸入域と呼吸域の粒径部分に分離される。</p> <p>この方法は、呼吸に適しているか吸入することができるおおきさの粒子の分布を決定するのに適している。連続的落下法は、5回の実験のために総量500gを必要とする。もし有毒でかつ、または高価な物質が試験されたり、非常に少量の試料を使用して、制御された大気環境の下で操作することができる試験システムの必要があるなら、そのような大量の試験試料が実際的ではないかもしれないことが強調された(Schneider & Jensen, 2008)。</p>	<p>乾燥粉体/粒状体/砕けやすい製品</p>	<p>粒径範囲:0.5 ~ 10,000 μm MMADが割り当てられ連結された分析技術によって決定することができる。</p>

4.1.125 新しい表 R.7.1-33 が「空気に運ばれ分散したあるいは噴霧された粒子を測定する方法」は表 R.7.1-32(R.7a, pg.150)の後に、次の内容(注 これは R.7.1 の残りの中の表の番号付けする含意を持つ。)と共に、挿入されることを勧める。

方法と詳細	物質と粒径範囲	データの形式
<p>走査型移動度粒子径測定器 (SMPS)(ISO 15900:2009; ISO 10808:2010; ISO 28439:2011)</p> <p>SMPS は、粒子を帯電させ粒子が電極間を通過する時それらの移動度に基づいて分級することにより操作される。この方法は微分型移動度分析器(DMA)および光学粒子計数器(OPC)を組み合わせる。SMPS はナノ粒子を検知し数え、108 粒子/cm³ までのナノエアロゾルの粒径分布および計算中位径の測定を可能にする。さらに、この方法は、吸入毒性試験結果の有効な分析を支援するためにナノ粒子表面積、質量服用量、組成、分散の評価を可能にする。SMPS にはさらに暴露量推定に関して有用な適用ができる。</p> <p>SMPS を用いた測定は、100nm 未満の粒径範囲で次の必要条件をすべて満たす、現在利用可能な唯一の方法である: i)粒径分布と濃度の安定性をチェックするのに適した時間分解能を備えた連続的方法で粒子暴露中での粒径分布の測定; ii)粒径と濃度の測定範囲は、毒性試験中に試験系に暴露されたナノ粒子エアロゾルのものをカバーする; iii)粒径と濃度測定は、ナノ粒子毒性試験には十分に正確で、適切な参照基準に対する校正のような方法によって確認できる; iv)粒子サイジングの分解能は、数基準分布から表面積基準もしくは体積基準分布に換算することを許すことに対して十分に正確である。</p> <p>しかしながら、SMPS は比較的遅く、連続して異なる粒径間隔を測定するには走査アプローチが要求される。この方法は、35° C より下の周囲温度に制限され(CPC 中のブタノールの蒸発による)、サンプルのエアロゾル化が必要である。SMPS はアグロメレートと一次粒子を識別することができない。非球状の粒子(例えば HARN)については、SMPS による直径および質量濃度の評価は大きな誤差を生じる場合がある。粒径分布の全容を提供するために SPMS と OPC からの測定データを組み合わせることは、2 つの方法によって使用された異なる法則により適切ではない(Ma- Hock ら、</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲: ~ 3 ~ 800nm 数えられた数基準の粒度分布 (粒径間隔毎に数えられた数)。分布から、MMAD は、粒子の密度の情報をもとに、計算することができる。</p>

<p>2007)。粒径分布、粒子濃度あるいは両方の迅速な変化が粒径分布の測定に影響する場合があるため、測定対象の安定性が知ることは重要である。このために大気中でアグロメレートになる傾向が高いナノ材料のために考慮することが適切である。</p>		
<p>高速移動度粒径測定器 (FMPS)</p> <p>FMPS は、107 粒子/cm³ まで(粒径に依存して)のサブミクロンのエアロゾル粒子の粒径分布の測定を可能にする。測定は 1 秒以下の時間分解能で行なえ、リアルタイムでの粒径分布の可視化が可能である。しかしながら、FMPS は、SMPS ほど、低い粒子濃度では通常敏感ではない。</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲: ~ 5 ~ 560nm 数えられた数基準の粒度分布 (粒径間隔毎に数えられた数)。分布から、MMAD は、粒子の密度の情報をもとに、計算することができる。</p>
<p>拡散バッテリー</p> <p>拡散バッテリーの操作はエアロゾル粒子のブラウン運動に基づく。拡散による堆積ロスには粒径の関数である。幾何学的形状を変化させるシステムを用いて拡散基準の堆積速度を測定することによって、粒径分布を測定することが可能である。堆積システムは、拡散バッテリーを形成するために通常直列に一緒に設置される。拡散バッテリーは、機械装置に依存して、2nm 程度の低粒径の測定のために設計することができる。この方法には暴露量推定に関して有用に適用できる。</p> <p>測定された一次特性は粒子の拡散係数で、これは粒径に変換されなければならない。各拡散ステージ前後に個数濃度を決定するために、装置は粒子計数器(典型的には連続流凝縮核計数器)を取り付けて操作される必要がある。生データの実粒径分布への転換は複雑で、方程式の解は、多分散系エアロゾル粒径分布の場合には明白な結果をもたらさない。</p> <p>ISO/TR 27628:2007 は、この方法の有益な記述を提供する。</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲: 0.005 ~ 0.1 μm 拡散直径に従った間隔の粒子数、それから中央の拡散直径が、粒子の密度についての情報を基に決定することができる。</p>
<p>光散乱式粒子計数器(OPC)</p> <p>OPC はエアロゾル化された粒子を検知し数える広く用いられている方法で、広い温度範囲(0~120° C)にわたって作動する。一次粒子のアグロメレート/アグリゲートを測定し数えることができる。OPC は暴露量推定に関して有用に適用できる。</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲: 0.3 ~ 17 μm 粒子数濃度</p>

<p>しかしながら、OPC は直径およそ 100~300nm より小さな粒子を検知せず、一次粒子の全体をカバーすることが出来ない。粒度分布の全容を提供するために SPMS と OPC からの測定データを組み合わせることは、2 つの方法によって使用された異なる法則により適切ではない(Ma- Hock ら、2007)。</p> <p>ISO/TR 27628:2007 は、この方法の有益な記述を提供する。</p>		
<p>レーザー散乱/回折</p> <p>一般に、入射光線の散乱は検知器によって測定される特徴的パターンを与える。この技術は粒子の特性に依存する一つまり、材料は独特の散乱および回折特性があり、それはさらに粒径に依存する。類似した(測定される試料と同じ粒径範囲の)試料で装置を校正することは重要である。レーザー散乱技術は幾何学的な粒子、すなわち球体、立方体および mono 結晶のものに適している。粒径は光学的に決められるであろう。MMAD は計算修正することができる。</p> <p>方法は呼吸域と吸入域の大きさの粒子の分布を測定するのに適している。レーザー回折は球状の粒子形状を仮定する。したがって、試験製品は、極端なアスペクト比を持つべきではなく、非球状の粒子に対し 1:3 の制限をもつ。この方法は 100nm 以下の範囲において実際に適切な適用可能性を制限する。数ミクロンより下の範囲では、結果は、強く粒子の光学定数に依存する。</p>	<p>すべての種類の粒子</p>	<p>粒径範囲:0.06 ~ 100 μ m 粒径/粒度分布、それから質量中位径は粒子の密度についての情報を基に決定することができる。</p>
<p>光散乱エアロゾルスpektロメータ(LSAS)</p> <p>LSAS は一種の光散乱装置で、ガス中に懸濁された粒子の粒径、個数濃度、数/粒径分布の測定に適用できる。LSAS は 10¹¹ 粒子/m³ までの、比較的高濃度での粒径分布および粒子数濃度の測定に使用できる。</p> <p>LSAS が広い測定範囲を有することは逆にナノスケール測定での高い不確実性があることにつながるかもしれない。測定は粒子の反射率に依存するであろう。レーザー回折は球状の粒子形状を仮定する。したがって、試験製品は、極端なアスペクト比を持つべきではなく、非球状の粒子に対し 1:3 の制限をもつ。この方法は 100nm 以下の範囲において実際に適切な適用可能性に制限がある。数ミクロンより下の範囲では、結果は、強く粒子の光学定数に依存する。</p>	<p>エアロゾル粒子</p>	<p>粒径範囲:0.06 ~ 45 μ m 粒径/粒度分布、それから質量中位径は粒子の密度についての情報を基に決定することができる。</p>

「Nanomaterials in REACH」の計測技術

Nanomaterials in REACH (副題: 化学物質安全評価の現在の手順のナノマテリアルへの適用性評価)は、SKEP ARA-Net (Scientific Knowledge for Environmental Protection) のプロジェクトの報告書(2011年8月)である。SKEPは当初(2005-2009)ECのFP6の基金で運営されていたが、現在は、加盟国であるドイツ、オランダ、ベルギー、オーストリア、英国とウェールズ、スコットランド、北アイルランド、アイルランド、スウェーデン、フィンランドの政府環境省と環境保護庁の仕事をサポートする最も有効なエビデンスを活用するためのパートナーシップであり、メンバー国の出資による独立したパートナーシップである。SKEPは、より良い環境規制のために、科学、実行、政策とが明確に結合した、協調したエビデンスを開発することを目的としている。

本報告書は、ナノ材料の標準化と規制に関するEUメンバー国と当局に対する有用なガイド、REACH規制の適用性についての総合的な概観となるものとしている。著者は、スウェーデンの王立工科大学、英国バーミンガム大学、アイルランドのダブリン大学、フィンランドのヘルシンキ大学の教授達8人である。報告書は多くの学会、のワークショップで発表されるとともに、特に英国当局およびECHAに送られている。

ナノマテリアルのキャラクタリゼーションのための共通の分析技術

Handy ら (2008)、Hassellövら(2008)、Powers ら (2006)、Tiede ら (2009)から編集し、また(2009)利用可能な新しい知識に基づいて拡張した。

(出所:「Nanomaterials in REACH Project Report 15 August 2011」)

方法	作動原理	長所	短所	試料形式	粒径範囲 (nm)	測定値の変動レベル	適用性
TEM: 透過電子顕微鏡法	イメージング技術。電子線は薄い試料を透過し、その間に試料と相互作用する。	非常に高い解像度が達成可能。元素分析と結び付けることができる。	もしLETEM(環境制御TEM)が利用可能でなければ、イメージングは真空中で行なわなければならない。これは様々な問題や表面の人為的乱れを引き起こす場合がある。本質的に単一粒子技術。代表的でしっかりした量的集団データを得るために時間が掛かる。	乾燥試料 (通常)	1 - 1,000	高	高
XRD: X線回折	X線は試料を通過して回折像を作る。鉱物組成、サイズおよび構造を評価することができる。	化学的組成および内部構造の両方の情報を得る。バルク法はTEMを補足する。周囲の条件から受ける影響が小さい。	TEMと比較して低感度および低空間分解能(長い測定時間あるいはサイクロトロン源の改善が必要)。大きな試料サイズと複雑なデータ解析が必要。	乾燥粉末	0.5 - 500	高	中
EDX - EM: エネルギー分散型X線透過電子顕微鏡法	粒子表面から回折もしくは反射した電磁放射の波長は、試料の元素組成を反映する。	元素組成と濃度を検知する。TEMあるいはSEMと共に使用。優れた空間分解能(TEM-X-EDSで<10nm)。	重元素に対して有効な傾向がある。したがって重元素が試料組成の>0.1%の場合は正確さが向上する。真空中で測定が行なわれる。定量的データを得ることは困難であり、定性的記述に通常使用される。	乾燥試料	—	高	中
DLS: 動的光散乱	予測可能な形で粒子が持つ光を散乱する能力に基づく。散乱光の変動を測定し、拡散係数に相関させる。	液体中の分散全体の粒径測定。アグリゲーションの指標に対してが最もよい使用。	多分散系の材料では信頼できない: 大きな粒子/アグリゲート/汚染物の存在は結果にバイアスをかけることがある。複雑なバイオ流体にはあまり適さない。	懸濁液	0.6 - 6,000	最小	高

方法	作動原理	長所	短所	試料形式	粒径範囲 (nm)	測定値の変動レベル	適用性
PIDS: 偏光強度示差分散法	偏光効果と波長効果を組み合わせ、散乱の影響を低下させるために多重角測定を行なう。	多重角測定から計算した粒径および粒径分布。多分散の試料に対する良好な分解能。	DLSより十分には確立されていない。複雑な計算は、ソフトウェアの適性さに極度に依存する。	懸濁液 複雑な媒体	10 – 1,000	最小	中
FI-FFF: フロー・フィールド・フラクショネーション	粒子分離技術、適用する流体中での粒子の移動性の差異に依存する。	分離と粒径測定を提供し、サイズ分解能が高い。非破壊なので他の技術と共に使用することができる。	測定に時間が掛かり、そして習得が難しい。通常高濃度が要求される。試料—膜の相互作用によるロスがあるかもしれない。	懸濁液 複雑な媒体	1 – 500	中	低
SEC: 体積排除クロマトグラフィー	懸濁液は、多孔質媒体カラム中での粒径に依存する粒子通過速度の差異によって分離される。	高分解の分子量分布を得ることができる。設備は広く利用可能である。粒径分解能は低くない。複雑なバイオ流体のその場測定に適している。	カラム内での試料ロスの可能性。カラムとの非サイズ相互作用および分子量の校正は問題を抱えている。	懸濁液	細孔径に依存 およそ 0.5 – 10	中	中
分析用遠心法/分画沈降遠心法	シヨ糖密度勾配中で回転速度を変えて、異なる粒径の沈降速度の差により測定する。より重い/より濃厚な粒子はより低い速度で沈殿する。	広い範囲の粒径に適応できる。よく知られている技術、広く利用可能な装置。複雑な媒体でのNMのその場測定に適している。	適切な勾配が使用される場合、よい粒径分解能となる。粒子形状、密度および懸濁媒体は測定結果に影響を及ぼすかもしくは混乱させることがある。	懸濁液	10 – 1,000	低	中
SEM: 走査電子顕微鏡法	イメージング技術。電子線はラスタースター・パターン中の粒子の表面を横切って走査する。	非常により解像度が達成可能。	サイズと形を含む一連のパラメータについての情報を提供することができる。TEMに関してと同様に、一般に空間分解能は低い。	乾燥試料	10 – 1,000	高	中
AFM: 原子間力顕微鏡	超微細な先端はラスタースター・パターンにより表面を横切って走査される。先端の偏差は高さプロフィールおよびその結果としての3Dイメージを生成するためにモニターされる。	ぬれた/乾燥している試料のイメージングが出来、3Dイメージを形成、極めて高解像度である。先端は界面化学についての情報を与えるために機能付加することができる。	本質的に単一粒子技術。代表的でしっかりした量的集団データを得るために時間が掛かる。側面の寸法測定は不正確。	乾燥および液体試料	0.5 – 1,000	低 – 中	中
ESEM: 環境制御形走査電子顕微鏡法	高湿度雰囲気中で作動できるイメージング技術。電子線はラスタースター・パターン中の粒子の表面を横切って走査する。	試料は高真空に耐える必要がなく、したがって、濡れた試料のイメージングが可能で、その結果不安原因はより少なくなる。非常により解像度が達成可能。	本質的に単一粒子技術。代表的でしっかりした集団の定量データを得るために時間が掛かる。	湿気を帯びた試料	10 – 1,000	中	低
SAED: 制限視野回折	TEM中で電子線が標本を通過すると、回折回折像が形成される。結晶格子パターンを決定することができる。	極めて高解像度 – 結晶構造決定のための信頼できる方法。	TEM(SEMではない)にのみ利用可能である。程度の高い専門知識が必要である。	乾燥試料	—	高	中
BET分析: Brunnauer, Emmett, Teller法	有効表面積に相関する試料への窒素ガスの吸着を測定する。	簡易な技術。BETの分析者は標準プロトコル付きで市販品を入手可能。	試料乾燥は粒子清浄の変化を引き起こすことがある。	乾燥粉末	1 – 1,000	高	高

方法	作動原理	長所	短所	試料形式	粒径範囲 (nm)	測定値の変動レベル	適用性
ゼータ電位法	適用された電界に応じた粒子移動の速度を測定する。これは粒子のゼータ電位と関係付けられる。	十分に確立した技術。装置は広く利用可能である。	懸濁液中での粒子の平均値を与える-電荷の不均質さについての情報は制限される。理論は剛体球に適用され、柔らかい粒子あるいはアグリゲートした試料のゼータ電位を計算することは難しい。粒子表面よりむしろ剪断面の電荷を測定する。	懸濁液	3 - 1,000	最小	高
UV-Vis: 紫外・可視分光法	紫外線か可視光線の吸収あるいは透過。生成されたピークまたはプロフィールは溶液中またはコロイド状の有機物の濃度を評価するために使用することができる。	装置は広く利用可能である。分析は非侵襲的である。サンプルはさらなる分析に使用できる。	信号は濃度と減衰係数に依存する。濁りは測定結果を害することがある。	懸濁液	—	最小	高

(超)遠心沈降法/分析超遠心沈降法(AUC)について

1. 測定原理

超遠心沈降法は、液体中の遠心力による沈降速度を測定するが、大きく分けて沈降速度法と沈降平衡法の2通りの測定方法がある。沈降速度法では沈降係数や拡散係数が得られ、粒子径や粒度分布が求められる。沈降平衡法では比較的低速でローターを回転させ、溶質の沈降と拡散が平衡に達した時点における濃度分布を観測する。

2. 歴史

1920年代にスウェーデンの科学者 Svedberg(スベドベリー)により世界で始めて分析用超遠心機 Analytical Ultracentrifuge(AUC)が開発された。微小粒子を解析するために、より高速遠心機本体からの開発であった。「光学系を備えたもの」、「単なる分離を超えたもの」という意味で「超」と名づけた。超遠心というと分析用超遠心機が発端であるが、現在では一般に分離用超遠心機を指すことが多い。1947年にはベックマン・コールター社の遠心機部門の前身である Spinco 社(スピスコ社,米)から分析用超遠心機が製品として発売された。主として、たんぱく質、高分子の分子量測定などバイオ系に使用されている。

3. 国際 AUC 会議

AUC 法の分析技術に関する国際会議が行なわれている。生物学、コロイド、高分子系をカバーしており、大学や研究機関の関係者らが参加している。分析機器メーカーが、スポンサーとなって支援している。

直近では、第20回が2012年3月25日から30日まで米国テキサス州サンアントニオで開催される。前回第19回は2010年9月12日から16日まで英国ノッティンガムで開催された。

4. Bayer MaterialScience からのヒアリング

- ・ AUC は確かにナノ粒子の粒径分布を測定できる。検出が吸光度であれば測定下限は限られるが、X線を用いると相当小さい粒径まで測定可能である。当然ながら二次粒子径である。
- ・ 測定法は他にもいろいろあり、one of them である。欧州で、計測法をリスタンピングする機会があり、それに参加した。
- ・ ドイツがこの方法を特に推奨して、国際標準に持っていくという動きは国としてない。
- ・ 一次粒子径を測るとなると、TEMしかない。しかし、時間がかかり労力を要する。

ナノ粒子計測技術/装置に関する業界意見

NBCIは関連する団体、機関と連携し、「ナノ工業計測評価WG(仮称)」を立ち上げ予定で、この準備会を2月20日に開催しました。この中で掲題の件について業界アンケートを行いましたので、結果を報告します。

〈WG設立の目的〉

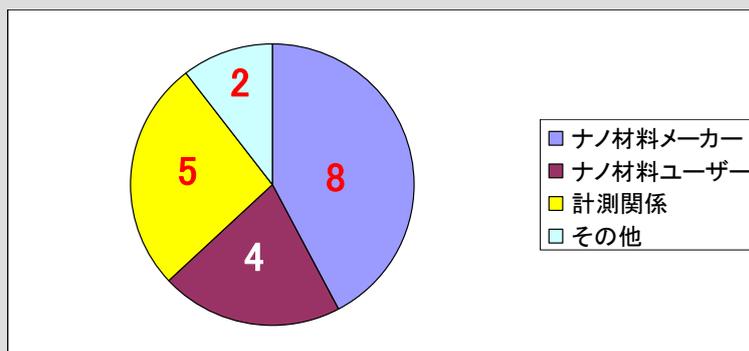
安全性評価に比べてナノ計測評価手法の統一或いは標準化は進みが遅いとの印象があります。現在3省(経産省、厚生労働省、環境省)では其々ナノに関する検討会を開催し、基準作りに乗り出す気配が見えていますが、そのためには計測手法が欠かせません。NBCIではナノテクビジネスを推進する立場から各団体様、機関と連携しながら不足している部分を補う活動を行う計画を立てております。本件は関係先からもナノテク振興のために重要であるとリコmendを頂いております。

準備会参加者とナノテク事業内容

準備会参加者:

企業数 17社(19名)、産総研 4名、粉技協 2名、カーボンブラック協会 1名
講演者 4名 計30名参加(事務局員は除く)

ナノテク事業内容:



(アンケート提出数 企業16社(事業内容重複2社)、カーボンブラック協会)

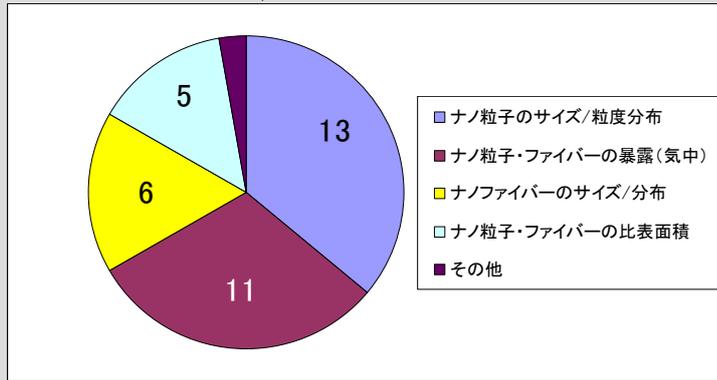
取り組むべき「対象」の興味順位

興味 対象No.	大	←	→	小
1	7名	6名	3名	1名
2	3名	2名	3名	9名
3	0名	6名	6名	3名
4	7名	4名	5名	2名
5	1名	0名	0名	0名
回答者数	18名	18名	17名	15名

対象:

1. ナノ粒子のサイズ及び粒度分布測定方法
2. ナノ粒子・ファイバーの比表面積測定方法
3. ナノファイバーのサイズ及び分布の測定方法
4. ナノ粒子・ファイバーの暴露測定方法(気中)
5. その他

↑ 上位2位までの集計



ナノ粒子のサイズ及び粒度分布測定方法と
ナノ粒子・ファイバーの暴露測定方法(気中)
が取り組むべき対象として挙げた企業が多い

意見まとめ

1. 取り組むべき「対象」は？

ナノ粒子のサイズ及び粒度分布測定方法と、
ナノ粒子・ファイバーの暴露測定方法(気中)を挙げる企業が多い

2. 測定方法は？ (アンケート意見より抜粋)

- ・サイズ/粒度分布は、DLS、SLS、レーザー回折、画像処理、CPC、遠心沈降、
暴露測定については、DLS、SLS、小角X線などが挙げられた
- ・研究レベルならばTEM等になるが、求めているのは、現場管理に使える
かつ早く簡易的に計測できるもの(粒子個数、分布に関して期待する改善は
携帯タイプの測定器が理想)
- ・まず製造現場での計測確立(工程の空気中の濃度計測)を期待
(キャラクタリゼーションは、TEM、SEM、BET、動的光散乱法などで計測、評価はできている)
- ・開発中の簡易手法を紹介したい
- ・海外の計測機メーカーの動きもウォッチすべき、等

～以上～