

ナノテク部材・イノベーションプログラム 「低炭素社会を実現する革新的カーボンナノ チューブ複合材料開発プロジェクト」(中間評価)

(2010年度～2014年度 5年間)

③ナノ材料簡易自主安全管理技術の確立(公開)

産業技術総合研究所
単層CNT融合新材料研究開発機構
産業医科大学、大阪大学、岡山大学、東京大学

2012年 7月 20日

1/31

研究開発項目③「ナノ材料簡易自主安全管理技術の確立」

公開

Ⅲ. 研究開発成果

CNT等ナノ材料の持つ特徴

- 多様性: 分子式が同じでも異なる特性を持つ
- 新規性: 技術革新が早く、法規制を待つと国際競争に敗れる
- 社会の変化: 「分からないものはとりあえず危険とみなす」という時代
- ライフサイクル: 製造に加えて、加工、使用、廃棄への関心の高まり
- 差別化: 安全性を示すことで製品の差別化を行う事業者の出現
- 風評対策: 「ナノ(CNT)だから危険」という風評のおそれ

→ 安全性を確保していることをエビデンス付きで関係者に自ら示す必要がある。

= 自主安全管理技術の必要性

① 法規制ができるまでのつなぎとして

② 法規制が補足し切れない細かな特性変化への対応

備えるべき要件: 簡易、迅速、安価

3/31

研究開発項目③のターゲット

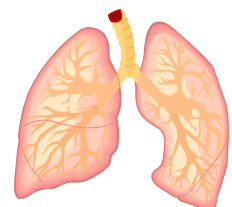
対象: 作業員

CNT等ナノ材料のライフサイクルにおいて、より高暴露の状況が想定されること。



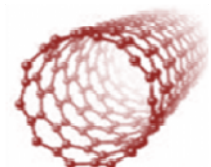
経路: 吸入(肺への影響)

吸入に伴う呼吸器への影響は今までに様々な粒子や繊維で見られており、特に懸念されていること。



材料: 単層CNT(CNT全般)

多様な用途への応用が期待される材料であり、日本がリードする材料であること。

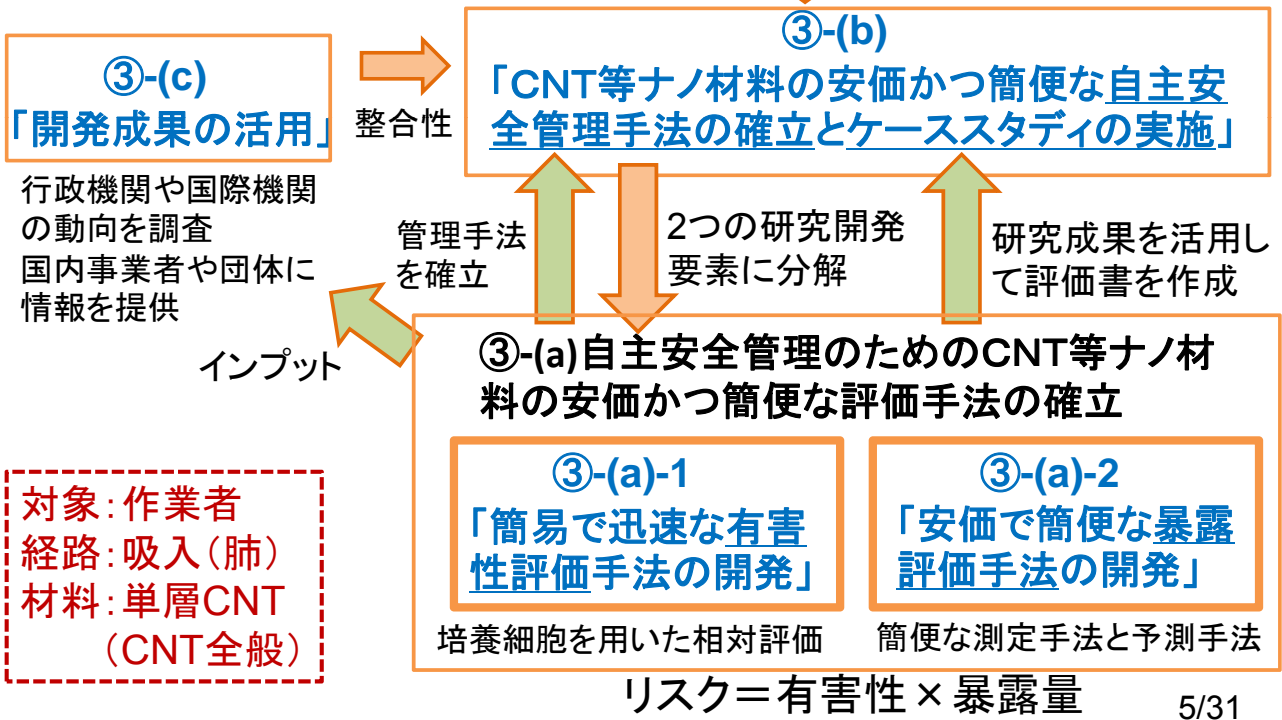


4/31

研究開発項目③の構成(4チームから編成)

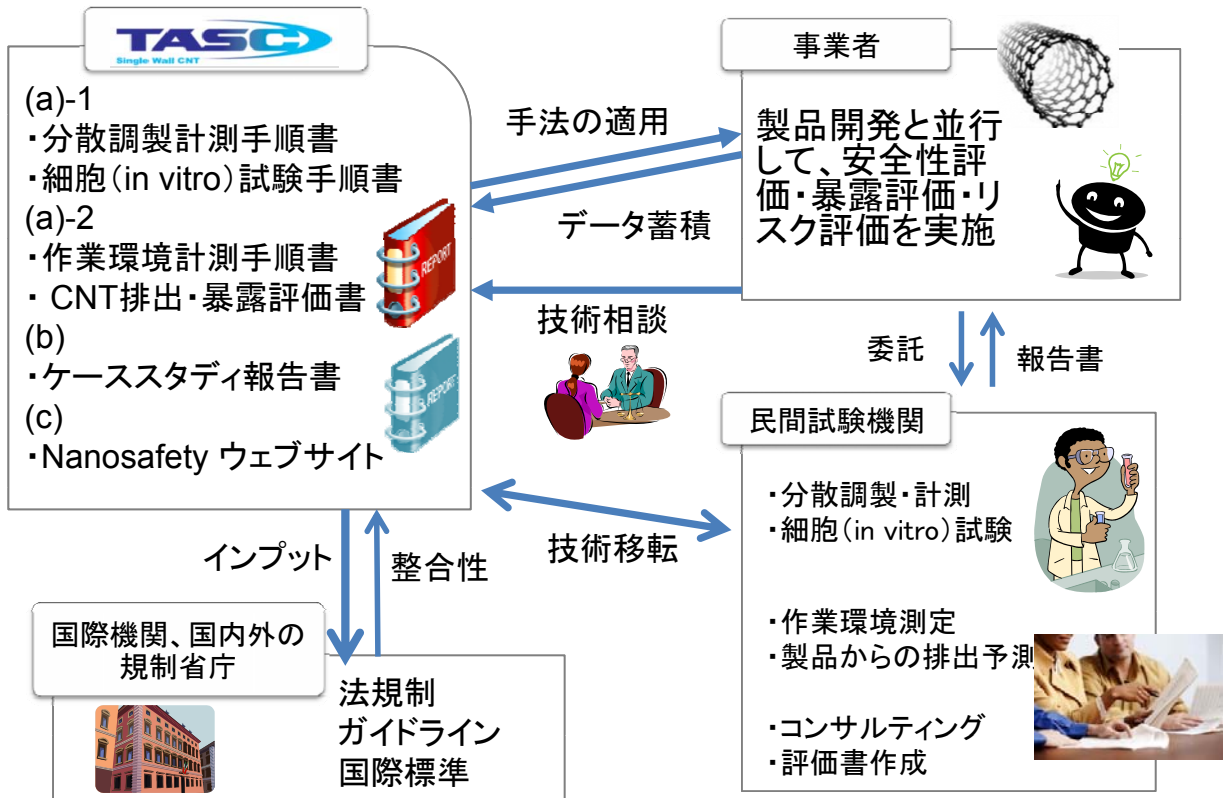
大目標 = 個別ナノ材料の(自主的な)安全性確保

安全 = 懸念すべき
リスクのないこと



	中間目標	最終目標
(1) 自主安全管理のためのCNT等ナノ材料の安価かつ簡便な評価手法の確立 (a)-1 (a)-2	a. 動物実験に依存しないCNT等ナノ材料の有害性評価手法(簡易手法)を開発した上で、安価かつ簡便な自主安全性評価のために最低限必要な試験項目や試験系を設定し、評価手法を確立する。 b. CNT等ナノ材料の実環境(製造から廃棄まで)におけるばく露を迅速かつ簡便に評価するための手法を確立する。 基盤技術	c. a. 及びb. を確立した上で、CNT等ナノ材料の安価かつ簡便な自主安全性評価手法を確立する。 産業技術 (事業者が実施する)
(2) CNT等ナノ材料の安価かつ簡便な自主安全管理手法の確立とケーススタディの実施 (b)		d. c. の自主安全性評価手法に基づき、CNT等ナノ材料生産事業者の自主安全管理手法(一般手法)を確立する。 e. 具体的なナノ材料に適用した安全管理に関する事例(ケーススタディ)報告書を作成する。
(3) 開発成果の活用 (c)		国際的な機関(OECD、ISO等)の動向を的確に把握し、国際標準化に向けた取組みを行う。

自主管理支援技術としての出口イメージ



事業原簿 p.4-8~4-10

7/31

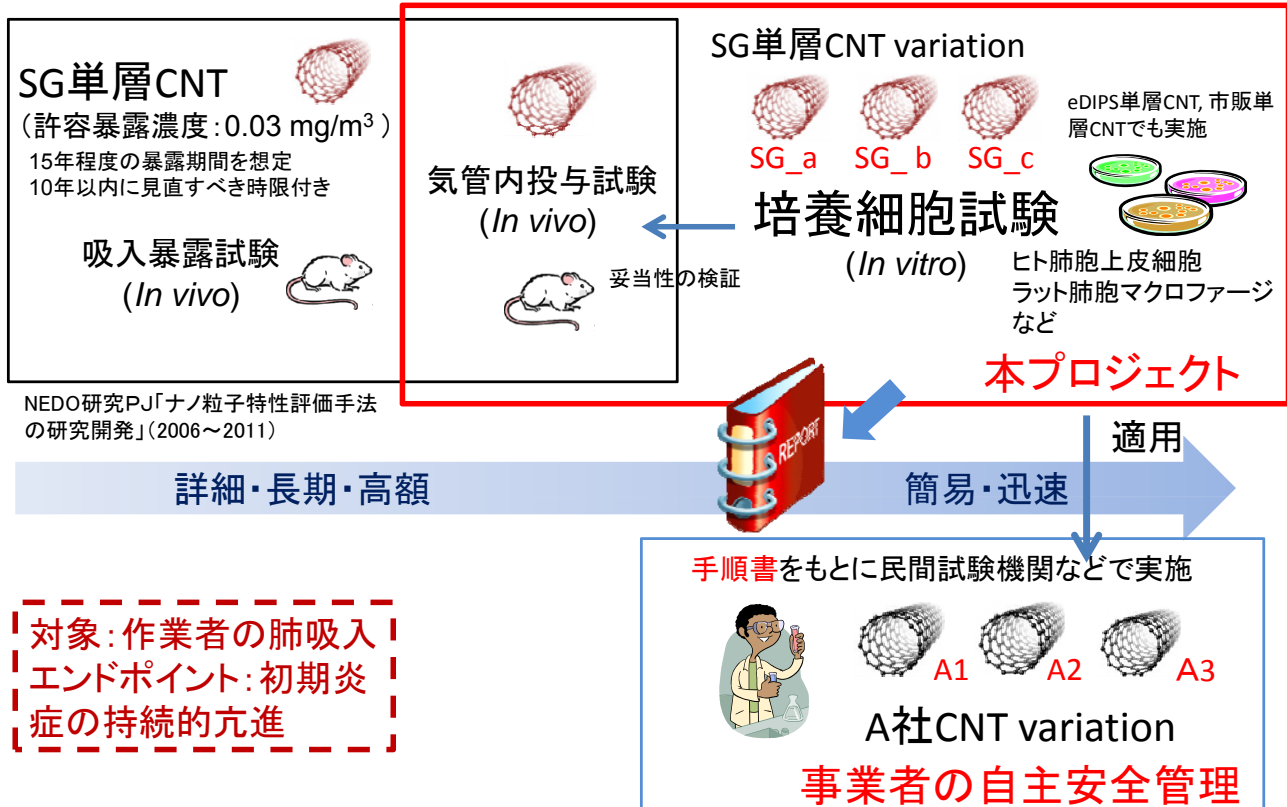
各研究項目ごとの説明

③-(a)-1: 簡易で迅速な有害性評価手法の開発

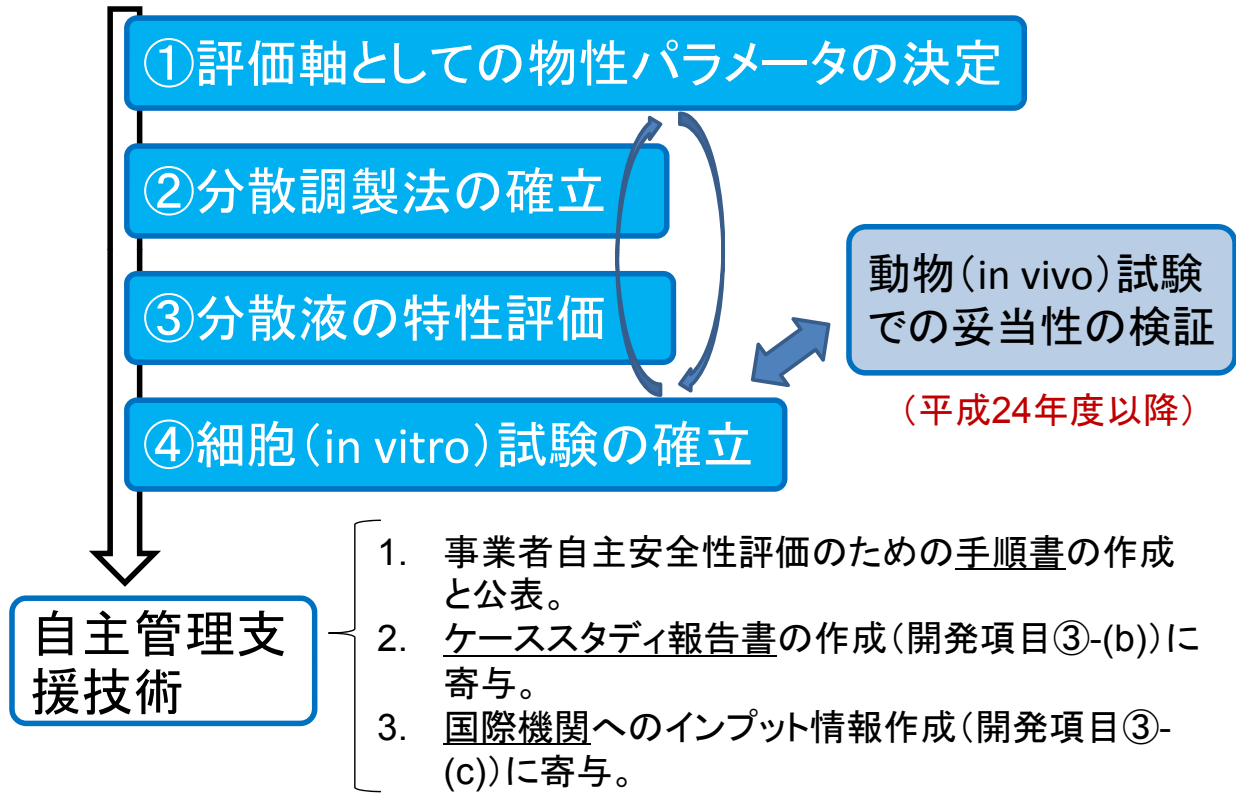
中間目標		最終目標
動物実験に依存しないCNT等ナノ材料の有害性評価手法(簡易手法)を開発した上で、安価かつ簡便な自主安全性評価のために最低限必要な試験項目や試験系を設定し、評価手法を確立する。	達成	CNT等ナノ材料の安価かつ簡便な自主安全性評価手法を確立する。 (③-(a)-2と共通)

研究開発項目③「ナノ材料簡易自主安全管理技術の確立」

有害性評価における細胞(in vitro)試験の位置付け

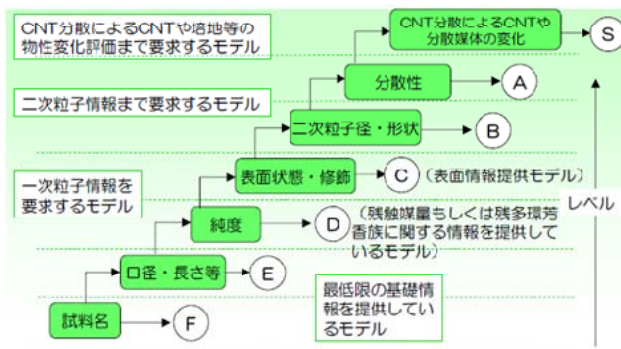


研究戦略



①評価軸としての物性パラメータの決定

文献(約250報)における特性評価の程度を分類



有害性評価として必須な単層CNTの物性パラメータ候補を決定した。

一次粒子物性として

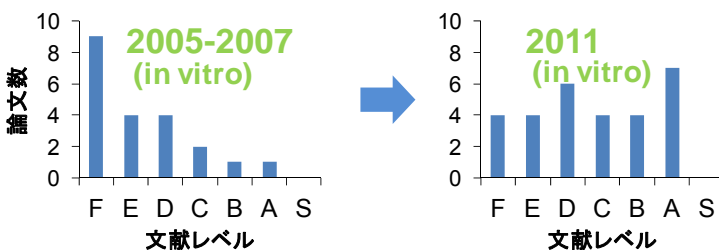
1. 口径/長さ
2. 残触媒濃度と種類
3. 層状態

二次粒子物性として

4. 細胞培地中でのCNTの凝集体サイズ(状態)
5. 培地分散に使用する分散剤の種類

これら5つの物性パラメータと、「④細胞 (in vitro) 試験」の結果との関連性を評価。

細胞 (in vitro) 試験において、CNTの特性評価を行う重要性は年々高まっている。

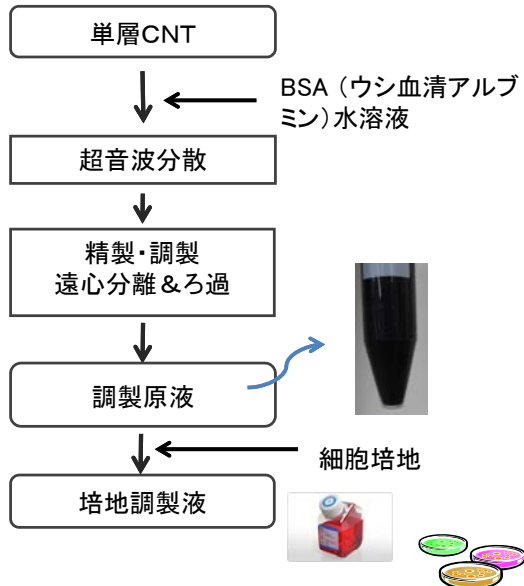


②分散調製法の確立

SG単層CNTと約10種類の市販単層CNTで検証

高い再現性を持つ簡易で迅速な単層CNT分散調製方法を開発した。

分散調製の手順



特性の異なるCNTを調製

超音波照射時間と遠心分離の条件を変えることで、調製原液中での異なる長さや凝集サイズをもつ単層CNTを調製できた。

【実施例】

特性の異なる2種類のSG単層CNT(二次粒子)

	長さ (幾何平均値、nm)	凝集サイズ (DLS*平均値、nm)
SG1	200	284
SG2	1700	1038

*DLS: 動的光散乱

③分散液の特性評価

SG単層CNTと約10種類の市販単層CNTで検証

・細胞(in vitro)試験のための分散液が満たすべき条件を3つ設定し、開発した分散調製法(②)がこれらを満たすことを、液中計測技術を用いて明らかにした。

①培地中での分散安定性

DLS(動的光散乱法)により、形状が異なる単層CNTの分散安定性を確認した。

②分散剤の細胞無影響

開発調製方法で用いたBSA(ウシ血清アルブミン)が、最も細胞への影響(酸化ストレスの誘導)が少ないことを確認した。

③培地中栄養成分の非枯渇

流動場分離測定により、単層CNTが細胞生育に必要な培地栄養成分を吸着しないことを確認した。

④細胞 (in vitro) 試験の確立

SG単層CNTと約10種類の市販単層CNTで検証

単層CNTの有害性評価として適切な試験方法を選定した。



①培養方法の適性

- ・細胞種
 - ・暴露方法
 - ・培養時間
 - ・細胞播種密度
- などの最適な条件を選定した。

②試験方法の適性

エンドポイント	試験方法	試験方法としての適性	これまでの知見	細胞 (in vitro) 試験 既存文献(2005-10) での実施数(137報)
細胞生存率	MTT	×	暴露CNTにより比色定量値が阻害されるため不適。	45
細胞生存率	WST-1	○	適切な方法と考える。	9
細胞生存率	WST-8	○	WST-1より、やや高感度。	3
細胞障害	LDH放出	×	暴露CNTにより比色定量値が阻害されるため不適。	19
アポトーシス	カスパーゼ	○	適切な方法と考える。	4
酸化ストレス	DCFH	○	細胞内の活性酸素種(ROS)の上昇。	12
細胞周期	pH3- (Ser10)	○	可能。	0
炎症マーカー	サイトカイン	○	サイトカイン13種類から、数種を選択。	23
遺伝子発現解析	DNA マイクロアレイ, q-PCR	○	進捗中。遺伝子発現によるマーカー探索やプロファイル。	4
細胞形態やCNTの取り込み観察	TEM	○	細胞の前固定方法に工夫が必要。	6



アウトプット: 調製・計測版を含め、事業者の自主管理技術のための手順書として公表 (平成24年度: SG単層CNTを実施例とした暫定版)。

	H22	H23	H24	H25	H26	アウトカム
(1)調製・計測・細胞 (in vitro) 試験の確立 ①評価軸としての物性パラメータの決定 ②分散調製法の確立 ③計測手法の確立 ④細胞 (in vitro) 試験の確立			SG単層CNTをケーススタディとした基盤研究 中間目標 手順書	各種単層CNTをケーススタディとした応用研究		ケーススタディ報告書 手順書 (暫定版)
				SG単層CNT 最終目標 手順書		手順書 (最終版)
(2)動物 (in vivo) 試験 (バリデーション) ・動物 (in vivo) 試験による細胞 (in vitro) 試験の妥当性の検証				調製/計測のラウンドロビン	OECD/WPMN ISO/TC229	国際機関へのインプット情報作成
(3)ラウンドロビン試験 ・調製/計測/細胞試験の客観性検証				分散液規格の提案		
					外部試験機関による調製/計測/細胞試験のラウンドロビン	

③- (a) -2 安価で簡便な 暴露評価手法の開発

中間目標		最終目標
CNT等ナノ材料の実環境(製造から廃棄まで)における暴露を迅速かつ簡便に評価するための手法を確立する。	達成	CNT等ナノ材料の安価かつ簡便な自主安全性評価手法を確立する。 (③-(a)-1と共通)

③- (a) -2: 安価で簡便な暴露評価手法の開発 公開

(1) 簡便なCNT等ナノ材料計測手法の開発 ←作業環境計測の手法が未確立
 作業環境における飛散CNTについて、事業者が自ら実施可能な簡便な計測手法を開発する。

i) 計測技術の開発

- ①小型・簡便な装置のCNT応答・有効性評価
- ②炭素分析によるCNTの定量
- ③バックグラウンド粒子の低減技術
- ④電子顕微鏡観察のための粒子捕集技術

主な課題

- ・安価・簡便な方法
- ・バックグラウンド粒子との識別
- ・飛散CNTの存在確認と定量評価

ii) 実計測実施
 iii) 手順書作成

(2) 粒子飛散および暴露濃度の予測手法の開発 ←リスク評価のためには、
 CNT粉体およびCNT複合材料からのCNT飛散性等の評価手法を開発し、評価データを集積する。
 飛散CNTの濃度、サイズ、形態等の情報が必要

i) CNT飛散性の評価手法の開発

- ⑤CNT粉体
- ⑥CNT複合材料

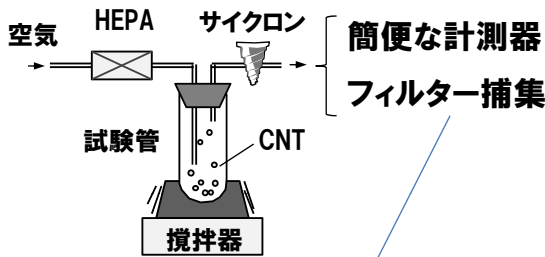
主な課題

- ・簡便な評価方法
- ・種類や用途、物性による違い
- ・プロセスによる違い

ii) 評価の実施
 iii) 評価書作成/公開

研究成果

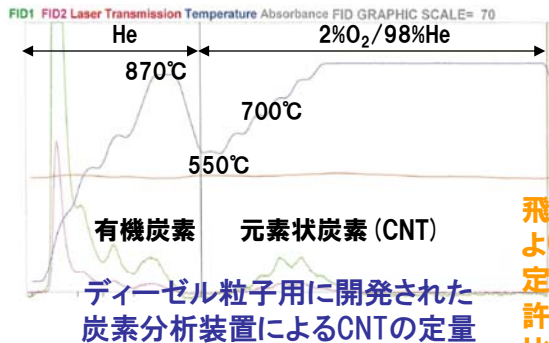
(1) 簡便なCNT等ナノ材料計測手法の開発



計測法の簡易な評価試験系を開発

②炭素分析によるCNT定量方法の検討

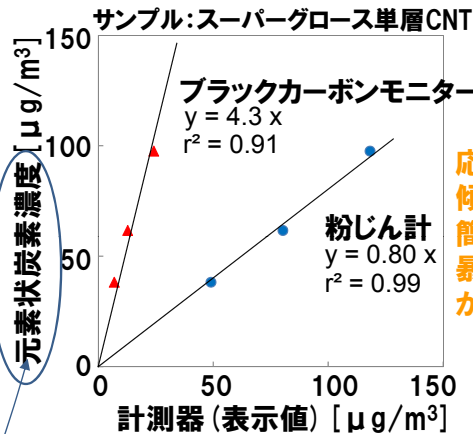
最適な測定条件
粒子捕集条件
サンプル前処理



ディーゼル粒子用に開発された炭素分析装置によるCNTの定量

事業原簿 p.3-83~3-92

①小型・簡便な装置のCNT応答・有効性評価



簡易

応答係数(図の傾き)を得ることで簡便な計測器での暴露の日常管理が可能に!

簡便な計測装置のCNT応答の評価

正確

飛散CNTのより正確な定量評価、許容濃度との比較が可能に!

成果

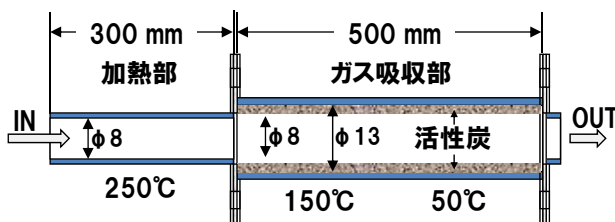
各CNTに対する応答係数や適切な測定条件を得た。
また、TASC内のCNT製造施設で実際に計測を行い、計測法の有用性を確認すると共に計測事例を得た。
→手順書の作成

研究成果

(1) 簡便なCNT等ナノ材料計測手法の開発

③バックグラウンド粒子の低減技術

サーモデニューター法の適用:揮発性粒子の除去



成果 作業環境計測に最適な小型で粒子透過率の高い装置を作製し、その基礎性能と有用性を確認

④定量性のある電子顕微鏡観察のための粒子捕集技術

SEM観察の場合

- ・80nmポアフィルターでの粒子捕集効率を評価

TEM観察の場合

- ・拡散法:フィルター上にTEMグリッドを置いて、拡散によるTEMグリッドへの捕集効率を評価
- ・溶解法(アスベストの方法):フィルターの溶解によるTEMグリッドへのCNTの転写効率を評価

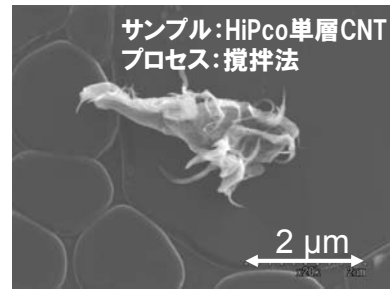
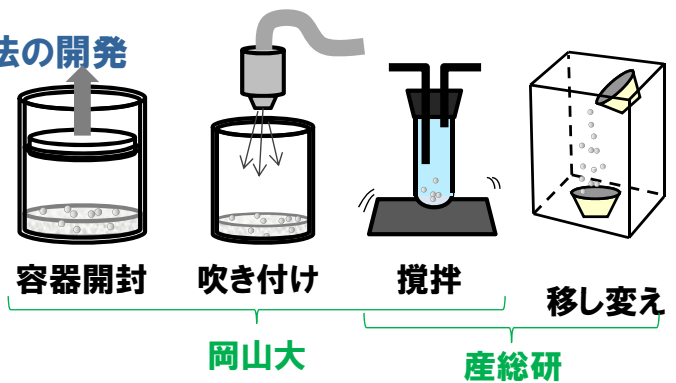
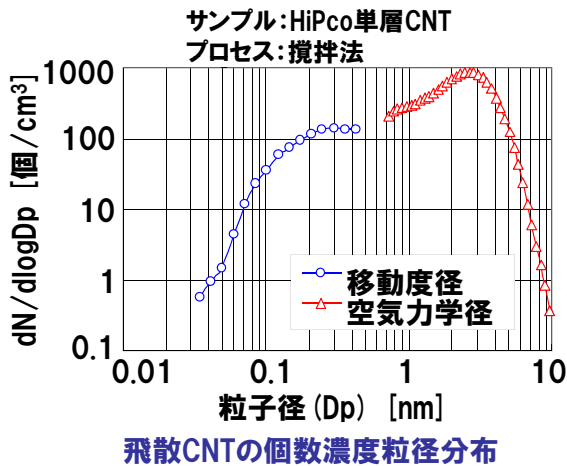
成果 定量性のある電子顕微鏡観察のための粒子捕集技術オプションを検討し、それぞれの方法の捕集効率を得た

事業原簿 p.3-83~3-92

研究成果

(2) 粒子飛散および暴露濃度の予測手法の開発

⑤CNT粉体の飛散性評価手法



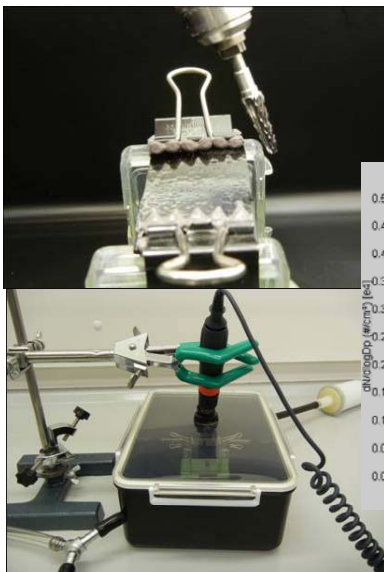
飛散CNTの電子顕微鏡写真

成果 評価試験系を設計・作製するとともに、複数種類の飛散CNTの、
相対濃度、サイズ、形態、プロセスによる違い、などのデータを取得

研究成果

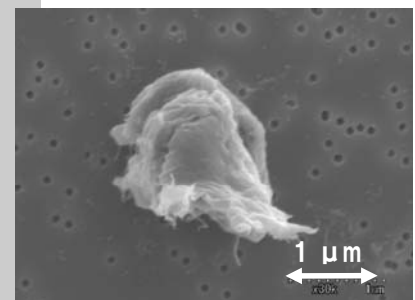
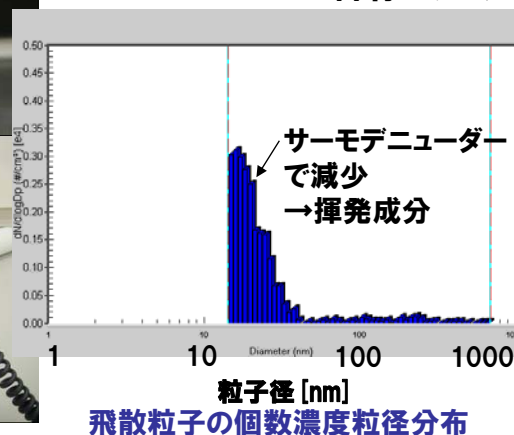
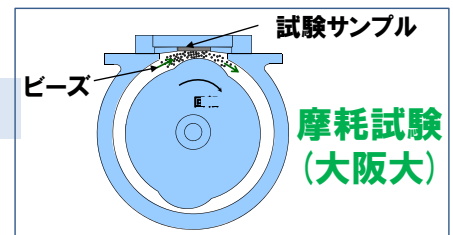
(2) 粒子飛散および暴露濃度の予測手法の開発

⑥CNT複合材料の切削や摩耗時の飛散粒子の評価



切削試験
(産総研)

CNT 5%含有ポリスチレンの切削試験



飛散粒子の電子顕微鏡写真

成果 評価試験系を設計・作製するとともに、様々な単層CNT複合材料に
ついて、切削時と摩耗時に飛散する粒子や切削・摩耗表面データを取得

	H22	H23	H24	H25	H26	アウトカム	
(1) 簡便なCNT等ナノ材料計測手法の開発							
i) 計測技術の開発	計測手法の技術開発 ①簡便装置や②炭素分析の応答・有効性 ③バッググラウンド粒子除去技術 ④電顕観察のための捕集・前処理技術			適用事例・検証・改善 実計測フィードバック 多様なCNTのデータと解析		計測技術	
ii) 実計測実施	実計測実施 TASC関連施設 大型工場						計測事例
iii) 手順書作成	中間目標 初版 既存技術・開発技術			最終目標 最終版 計測事例 各国動向		手順書	
(2) 粒子飛散および暴露濃度の予測手法の開発							
i) 評価手法の開発	評価試験系の作成 ⑤粉体: 攪拌、開封、吹き付け、移し替え ⑥複合材: 切削、摩耗			対象プロセスの多様化 プロセス間比較、解析 その他のプロセス		評価手法	
ii) 評価の実施	代表的な材料 CNT等粉体、部材(プラ、ゴム、金属等)			種類・用途の多様化 応用製品(製品化に近いもの)		評価事例 類型的予測	
iii) 評価書作成	中間目標: 代表的な材料について評価			最終目標 作成		評価書	

③ - (b) : CNT等ナノ材料の安価かつ簡便な自主安全管理手法の確立とケーススタディの実施

中間目標	最終目標
—	d. c. の自主安全性評価手法に基づき、CNT等ナノ材料生産事業者の自主安全管理手法(一般手法)を確立する。
—	e. 具体的なナノ材料に適用した安全性管理に関する事例(ケーススタディ)報告書を作成する。

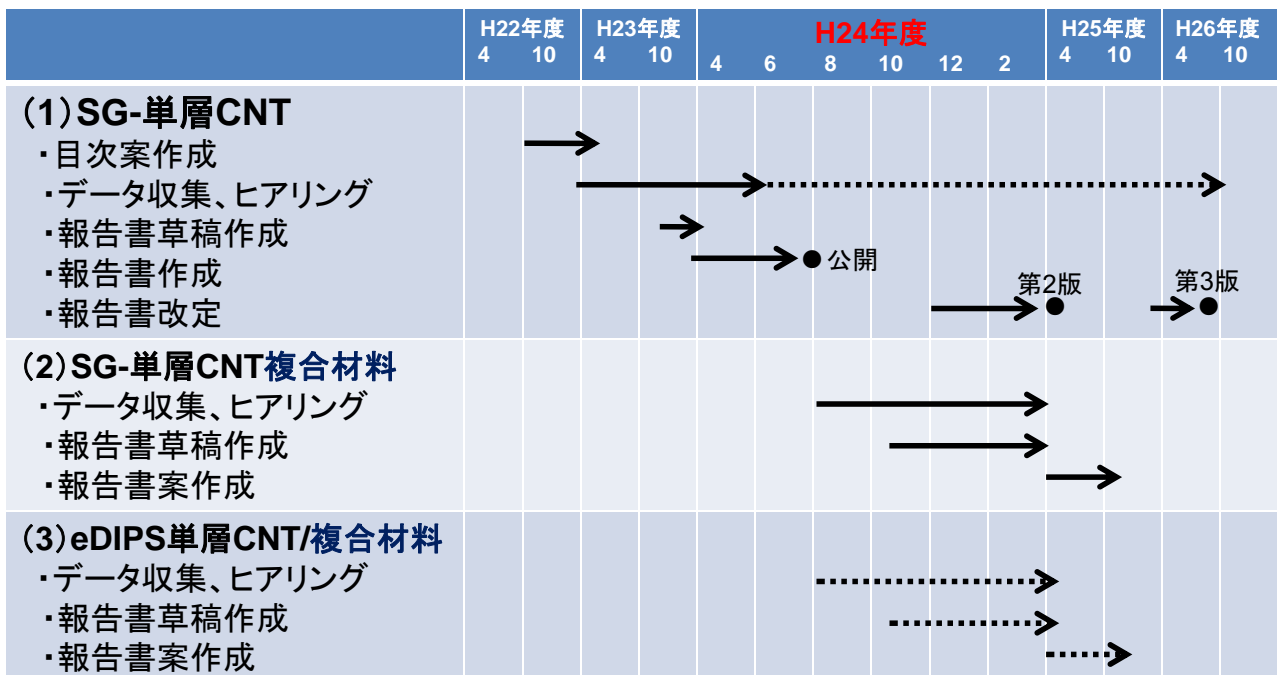
中間評価までの実施項目

1. 自主管理基準濃度の設定およびその管理のための手順の確立
2. 自主安全管理に資するデータベースの構築
3. OECDプリンシパル材料のためのデータ整備（環境中運命、生態毒性評価）

【最終達成目標】（平成26年度）

- ・自主管理基準濃度の設定手法の確立および暴露管理プロセスの確立
- ・生産事業者に適用可能な一般的な自主安全管理手法の確立
- ・TASCで開発する新規ナノ材料のケーススタディ報告書の作成と一般公表

自主安全管理に資するデータベースの構築:ロードマップ



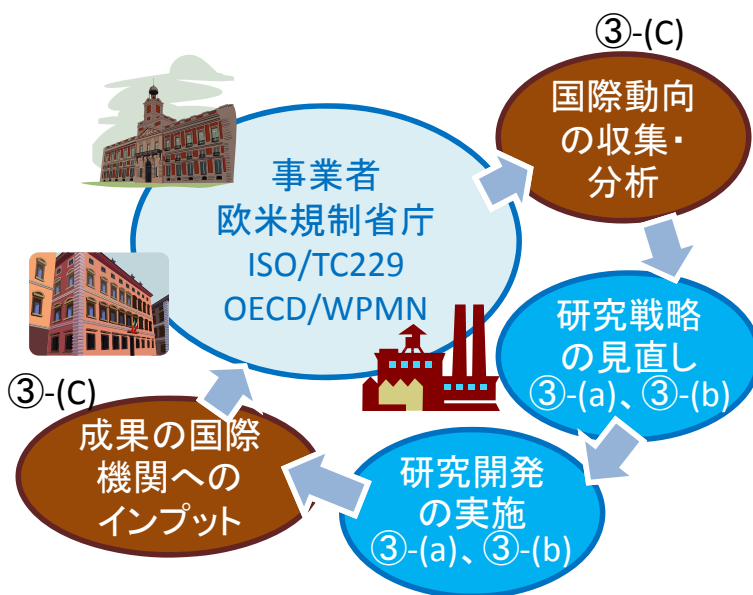
③- (c) : 開発成果の活用

中間目標	最終目標
—	国際的な機関(OECD、ISO等)の動向を的確に把握し、国際標準化に向けた取り組みを行う。

③- (c) : 開発成果の活用 公開

中間目標 ナノ安全規制動向に関する情報収集 & 提供体制の確立 (自主的)

これまでの成果



- ◆ISO /TC229(ナノテクノロジー)の規格草稿へのコメントの提出、国内関係者への情報提供

- ◆OECD/WPMN(工業ナノ材料作業部会)に データ提出、国内への情報提供 (SG単層CNTをプリンシパル材料として登録)

- ◆ナノ材料の法規制や自主安全管理に関する重要文書の翻訳や要約の作成(次スライド)

- ・Nanosafety Web Siteの開設と記事(和訳を含む)作成(約20本)
- ・twitter(@Nanosafety)での迅速な情報提供(300報近く)



事業者からの問い合わせ。
雑誌原稿・講演依頼など。

事業原簿 p.3-96~3-100

- 2012年5月 ECHAがナノ材料に適用されるためのガイダンス附属書を作成
- 2012年5月 欧州で殺生物製品の上市と使用に関する規制が採択
- 2012年4月 米国FDAがナノテクノロジーを利用した食品と化粧品の安全性を評価するための手引き案を発表
- 2012年4月 OECD環境政策委員会のナノ廃棄物に関する取組
- 2011年10月 欧州委員会の規制上のナノ定義のQ&A
- 2011年12月 米国EPAがカーボンナノチューブ7物質にSNURを提案
- 2011年10月 欧州委員会が規制上のナノ材料の公式定義を発表
- 2011年10月 米国NNIが「環境、健康、および安全(EHS)研究戦略」の最終版をリリース
- 2011年6月 米国食品医薬品局(FDA)が製品がナノかどうかの判断するためのガイダンス案を発表
- 2011年6月 米国大統領府が連邦規制省庁に向けてナノテク規制のための原則を発表
- 2011年6月 米国とカナダがライフサイクル暴露評価手法の標準化を目指した「NanoRelease」プロジェクトを開始
- 2011年6月 欧州で成立した改正RoHS指令に残る「ナノ材料」関連の記述
- 2011年4月 米国事業者団体がEPAに毒性試験枠組みを提案
- 2011年2月 経済協力開発機構(OECD)の工業ナノ材料作業部会(WPMN)についての基礎知識
- 2011年1月 米国EPAによるTSCAを使ったCNT規制の現状
- 2011年1月 欧州EFSAによるナノ食品のリスク評価ガイダンス案
- 2011年1月 CEN/ISOによるナノラベリング規格提案の帰結
- 2011年1月 フランスANSESがコントロールバンディングツールを発表
- 2010年12月 米国NIOSHのCNT/CNFの推奨暴露限度(REL)提案文書
- 2010年11月 欧州RoHS指令改正案が欧州議会で決着

IV. 実用化の見込み

事業原簿 p.4-8~4-10

成果の(2つの意味での)実用化の手段

- TASC内で開発された材料/製品のリスク評価の実施
→SG-単層CNT(中間目標)、応用製品や特性の異なる材料*の
評価書の作成(最終目標)

*物理化学的特性の異なるSG-単層CNT、SG-単層CNT応用製品、eDIPS法CNT、およびeDIPS応用製品、などを指す。

- CNT等ナノ材料の自主安全管理手法の開発/普及
 - OECD/WPMN・・・SG単層CNTをプリンシパル材料として登録(→安全性データの整備、安全性試験のための無償サンプル提供、分散調製プロトコルの提供)
 - ISO/TC229・・・細胞(in vitro)試験のための分散液規格を提案
 - 事業者・事業者団体・・・作業環境測定、複合材料の排出試験、リスク評価のための技術相談、民間試験機関への技術移転
 - 行政機関・・・随時情報提供