

ナノ材料の測定方法

ナノ材料の国際的に統一された測定方法や試験方法については、現在、ISO や OECD で検討されているところであり、標準化された測定方法等はないのが現状である。

1. 作業環境中でのナノ材料の測定方法

労働安全衛生の観点から、幾つかの資料が公表されており、その中で作業環境の測定方法を記述した 3 種類の資料を整理した。

その結果は末尾の表 1 に示すとおりである。

概況すると、2007 年 2 月に公表された ISO/TR 27628 が基本になっており、2007 年 12 月に英国規格協会 (BSI) から公表された PD 6699-2 においても、ISO/TR 27628 を適用した旨が記載されている。

(1) 粒子の個数の測定

下記の 4 種類の測定方法の適用が提示されている (Optical Particle Counter は 100nm 以下の粒子では適用できないとされている)。

1) 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。

2) 走査型移動度粒径測定器 (SMPS : Scanning Mobility Particle Sizer あるいは DMPS : Differential mobility particle sizer)

(以下、それぞれ、「SMPS」及び「DMPS」)

※分級装置が組み込まれている。

※DMPS は現在ほとんど使用されていない。

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

3) 電子式低圧インパクト (ELPI : Electrical Low Pressure Impactor)

(以下、「ELPI」)

※分級装置が組み込まれている。

4) (走査型、透過型) 電子顕微鏡 (Electron Microscopy (SEM, TEM))

(2) 粒子の大きさごとの重量の測定

下記の 3 種類の測定装置方法の適用が提示されている。ただし、下記 TEOM 以外の 2 つ (SMPS、ELPI) は基本的には個数を計測するものであり、密度が分からないと重量換算はできない。

1) フィルター振動法測定器 (TEOM: Tapered element oscillating microbalance) (以下、「TEOM」)

※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。

2) 走査型移動度粒径測定器 (SMPS あるいは DMPS)

3) 電子式低圧インパクタ (ELPI)

(3) 粒子の表面積の測定

下記の4種類の測定装置方法の適用が提示されている。

1) 走査型移動度粒径測定器 (SMPS あるいは DMPS)

2) 電子式低圧インパクタ (ELPI)

3) 拡散荷電装置 (Diffusion Charger)

4) (走査型、透過型) 電子顕微鏡 (Electron Microscopy (SEM, TEM))

2. 一般大気環境におけるナノ粒子の測定方法

作業環境中と一般大気環境中では、前者が測定対象とする物質が比較的多く存在する環境下で測定するのに対し、後者は、測定対象物質以外のバックグラウンドとしてのナノ粒子も多く含むため、定性的な分析も同時に要する点に困難さがあると考えられる。

(1) ナノ粒子の個数、重量測定等

- ナノ粒子の大きさ別の個数の測定は1. に示した SPMS (移動度粒径測定器) あるいは CPC (凝集式粒子計数器) の利用が可能である。ただし、SMPS は分級機能が組み込まれているが、CPC では分級装置と組み合わせが必要である。
- これらの測定法はともにナノ粒子の個数の測定のみが可能であることから、重量への換算のためには、別途密度等を測定する手法を組み合わせる必要がある。
- 重量の測定には同様に1. に示した TEOM が有効で、分級装置と組み合わせることで粒径別の重量の測定は可能である。ただし、粒子の組成を区別することはできない。
- 表面積の測定については、拡散荷電装置 (Diffusion Charger) を用いた方法が有効であるが、種々の粒子が混在する一般大気環境でのナノ材料の成分別の測定には適していない。
- 1. に示した方法のうち電子顕微鏡による確認とあわせて成分分析 (X線分析) を行う方法によれば、ナノ材料の成分の確認が可能であるが、その場合でも種々の大きさの粒子が混在する一般大気環境で実施する場合には分級が必要になる。

(2) ナノ粒子の分級

- ナノ粒子の分級については、参考(1)に記載したインパクタや上記のELPIおよびDMA(Differential Mobility analyzer: SPMSの分級装置部分)といった装置を用いることで可能であり、既にELPIによる自動車排ガス中の超微粒子の計測等に用いられた事例がある(表2)。
- ただし、多段インパクタでは分解能が十分ではなく、DMAは捕集量が少ないため(1/100程度)濃度レベルが低い場合には適用が困難といった問題がある。

表2 ELPIの各ステージの性能例

ステージNo	ノズル数	ノズル径	50%カット オフ径
		[mm]	[μ m]
13	1	8.3	9.97
12	1	6.3	6.54
11	3	3.2	4.09
10	14	1.4	2.52
9	17	1	1.65
8	20	0.7	1.02
7	48	0.4	0.66
6	50	0.3	0.41
5	27	0.3	0.26
4	19	0.3	0.17
3	21	0.3	0.107
2	40	0.3	0.065
1	69	0.3	0.034

「新世代環境改善ディーゼル燃料技術に関する研究開発((財)石油産業活性化センター資料)」から引用

(3) ナノ粒子の成分分析

- 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ものと思われる。
- 金属系のナノ材料の場合は参考(1)2)に示したような酸分解とICP-MS法を組み合わせた方法が適当であろう。
- しかし、金属系のナノ材料以外(例えば炭素系)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いうで計測することが必要になる。
- フラーレンについては、生体中の分析について有機溶媒を用いてHPLC及びGC/MS等による分析の事例はある(国立環境研究所資料)¹。大気中のフルーレン濃度の分析事例は確認できなかったが、方法としては可能であろう。

¹ www.nihs.go.jp/center/nanotech_pdf/6.pdf

- 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い。むしろ、参考（２）に示した石綿分析のように、その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。
- 表 3 に示した水生生物試験でも電子顕微鏡による確認が行われている事例が多い。特に、一般環境中には同様の繊維状物質が多く存在すると考えられることから、形状もあわせて分析の対象とすることが必要になる。電子顕微鏡による分析は一つの方法であると考えられる。
- なお、オンラインでの成分分析装置としては下記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、一般環境中での計測に用いるには課題が残されている。
- 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あり）
- エアロゾル質量分析計（AMS）（10nm 程度以上の分級が可能）

3. 水中におけるナノ粒子を対象にした測定方法

（１）ナノ材料を用いた水生生物試験での分析事例

ナノ材料の水生生物影響を実施した試験等に関する文献から、その中で使用されている測定方法を整理した。

その結果は表 3 に示すとおりで、下記のような方法が用いられていることが確認された。

- 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
- ICP-OES（ICP 発光分光分析）
- 紫外線分光光度計
- 動的光散乱光度計(dynamic light scattering device)

この他、結晶構造の確認に X 線回折(X-ray diffraction: XRD)が用いられた事例がある。

特殊な事例として C^{14} でラベルしたカーボンナノチューブを液体シンチレーションで測定した事例がある。

また、形態観察に微分干渉顕微鏡や蛍光解剖顕微鏡(fluorescence dissecting microscope) が用いられた事例があり、また、暗視野光学顕微鏡分光装置を用いたシースルーメダカの体内での銀ナノ粒子の挙動観察の事例がある。

（２）一般環境水中でのナノ材料の測定の可能性

1) ナノ粒子の分級

参考（３）に示したように、環境濃度の測定において水中の粒子の分級は通

常では1 μ mで行われており、より小さな分級は実施されないが、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下記のようなものがある。

- メンブレンフィルター（孔径0.1 μ 以上）
（材質：ポリテトラフルオロエチレン、ポリエステルスルホン酸等）
- 限外ろ過膜あるいは精密ろ過膜（孔径1～100nmのものがある）
（材質：酢酸セルロース、ポリアクリロニトリル、ポリスルホン等）
- 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）
（材質：酢酸セルロース、ポリスルホン等）

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の実施事例はなく、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) ナノ粒子の成分分析

水中のナノ粒子の成分分析の事例は（2）に示した実験室レベル以外では見当たらないが、分級された水中の微小粒子の成分分析は2.（1）の大気中のナノ粒子の分析と同様にして分析できる。

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同様に分析可能である。

4. 特定の物質（ナノ材料）を測定するための技術的課題

（1）環境中でのナノ材料の挙動

ナノ材料に顕著な性質の一つは他の粒子と凝集し易いということである。ナノ材料を用いた有害性試験においても、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。

一方、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。

したがって、環境中での試料の採取方法、採取場所、採取時期等は明確でなく、測定時の操作の影響といった懸念も存在する。

（2）一般環境中における製造されたナノ材料の区別

一般環境大気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など）。

サイズについては分級等上記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、更に成分を特定することは困難なケースも多い。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他の起源のものとの区別については容易ではないものと想定される。

（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、作業環境測定の延長として可能性は大きいと思われるものの、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パフォーマンス（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、より以上の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。

【参考】一般大気環境におけるナノ粒子の測定方法

ナノ粒子一般を対象にする訳ではないが、現在、特定の種類のナノ粒子について適用されている測定方法を、参考に以下に示す。

(1) 大気環境中の微小粒子状物質 (PM2.5) の測定方法

環境省が 2007 年 7 月に公表した「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)」では、下記のような PM2.5 に関する数種の測定方法が記載されている。

1) 質量濃度測定方法 (自動測定を含む)

原理：測定の基本は、粒子径 $2.5\mu\text{m}$ 以上の粒子を除去する分級装置を装着したロウボリュームエアサンプラで一定量の大气を捕集することである。

分級装置：インパクト、サイクロン、バーチャルインパクトといった 3 種類。

測定系 (標準法)：

- a) フィルター (粒径 $0.3\mu\text{m}$ の空気力学的粒子に対して 99.7%以上の保守効率を有するもの) で捕集して秤量 (捕集は約 24 時間)。

測定系 (自動法)：下記の 3 種 (基本的に連続して測定可能)

b) β 線吸収法自動測定器

テープ状フィルター (上記と同様の孔径 ($0.3\mu\text{m}$)) に 1 時間ごとにスポット状に捕集し、フィルター上の物質による β 線の吸収量から質量を測定する方法 (吸収 β 線量は質量に比例)

c) TEOM (Tapered Element Oscillating Microbalance)

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方法。

d) 光散乱法

フィルターを用いず浮遊状態の粒子に照射した光の散乱量を測定するもので、基本的には投影面積に比例するので形状や質量を予め想定されれば、あるいは別途上記の標準法での測定から換算係数を求めたうえで、質量に換算できる。原理的に光の波長よりも小さいナノ粒子には適用が困難である。

2) 成分測定法

原理：上記の方法でフィルターに捕集した粒子の成分分析を行う。対象とする化学成分によって使用すべきフィルターの材質に注意が必要である。

測定方法：下記の 5 種類の方法が示されている。

- a) イオンクロマトグラフ法：塩化物等のアニオン、カチオンの測定
- b) ICP-MS 法：酸分解法による金属の同時測定

- c) エネルギー分散型蛍光 X 線分析法：金属成分の非破壊同時測定
- d) 炭素成分分析法：熱による揮発分画の分析（化学種は不明）
- e) HPLC 法および GC-MS 法：多環芳香族炭化水素の分析

（2）石綿の測定方法

環境省が 2007 年 5 月に公表した改定した「アスベストモニタリングマニュアル（第 3 版）」での石綿の計測方法は以下のとおりである。

1) 捕集方法

原理：平均孔径 $0.8\mu\text{m}$ のフィルターを装着した吸引ポンプ（10L/m）で 4 時間大気を吸引し、フィルター上に捕集された石綿を計数する。

2) 計数方法

下記光学顕微鏡法を標準として、精度確認等のため（例えばクリソタイル以外の石綿の存在等）にはその他、下記の 4 種類がある。

- a) **光学的顕微鏡法**：光学顕微鏡を用い、一定視野内の繊維を生息する。一定の屈折率の浸液の有無での視認される繊維数の差から石綿数を算出する。
- b) **分析走査電子顕微鏡法**：SEM による計数と併せてエネルギー分散型 X 線分析装置（EDX）で繊維の構成成分を確認する方法
- c) **分析透過電子顕微鏡法**：上記と同様に TEM での計数および EDX 分析を行う方法
- d) **分散染色法**
位相差・分散顕微鏡を用い、一定の屈折率を持つ浸液を用い、位相差顕微鏡で観察することで、石綿の種類によって特性の色彩で観察されることを利用した計測方法

（3）水質分析における懸濁物質の扱い

種々の水質測定に活用されている JIS K0101 1998（工業用水試験法）では、試料の扱い(3.2)に関して下記のような記述がある。

試験は、特に断らない限り試料中に含まれる全量について行う。このため、試料に懸濁物がある場合には、十分に振り混ぜて均一にした後、試料を採取して試験に用いる。（中略）

その他、溶存状態のものだけを試験する場合には、試料採取後、直ちにろ紙 5 種 C でろ過し、はじめのろ液約 50ml を捨て、その後のろ液を試料とする。

上記で「ろ紙 5 種 C」の孔径は $1\mu\text{m}$ である。

また、懸濁物質は、逆に $1\mu\text{m}$ のろ紙に残留したものとされており、したがって、現状の通常の水質測定の方法では $1\mu\text{m}$ 以下の粒子は溶存態とみなされることになる。

表 1 作業環境でのナノ材料の測定に用いられる測定方法

※1:ISO/TR 27628(2007-02-01) Workplace atmospheres- Ultrafine, nanoparticle and nano-structured aerosols- Inhalation exposure characterization and assessment.

Table 3- Readily available instruments and techniques for monitoring nanoaerosol exposure

※2:PD 6699-2: 2007(2007-12) Nanotechnologies- Part 2: Guide to safe handling and disposal of manufactures nanomaterials.

Table 1 Devices for direct measurement of number, mass and surface area concentration (adapted from PD/ISO TR 27628)

※3:BAUA (2007-02-27) Guidance for Handling and Use of Nanomaterials at the Workplace. IV.1 Measuring Methods

※4:原理、備考は種々の資料から作成

測定の対象	測定方法等	引用 (上記参照)			原理 (※4)	特徴等	備考 (※4)
		※1	※2	※3			
個数	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。		
	SMPS: Scanning Mobility Particle Sizer(※1、※3) あるいは DMPMS: Differential mobility particle sizer(※2) 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
	ELPI: Electrical Low Pressure Impactor 電子式低圧インパクター	○			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の個数の測定装置。	
	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を集光して得られる信号の大きさと数から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。	オフラインの電子顕微鏡試料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。	
質量	Size-selective personal sampler 個人用多段分級装置	○				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	○	○			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。	
	SMPS: Size-selective (mobility diameter) detection of number concentration. (※1、※3) あるいは DMPMS: Differential mobility particle sizer(※2) 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。粒子の形状や密度がわからないと重量に換算できない。	測定可能範囲: 10nm~1000nm
	ELPI: Electrical Low Pressure Impactor 電子式低圧インパクター	○			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の個数の測定装置。粒子の形状や密度がわからないと重量に換算できない。	

測定の対象	測定方法等	引用（上記参照）			原理（※４）	特徴等	備考（※４）
		※１	※２	※３			
表面積	SMPS:Size-selective (mobility diameter) detection of number concentration.(※1、※3) あるいは DMPS:Differential mobility particle sizer(※2) 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。粒子の形状がわからないと表面積に換算できない。	測定可能範囲:10nm～1000nm
	ELPI: Electrical Low Pressure Impactor 電子式低圧インパクター	○	○		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の個数の測定装置。粒子の形状がわからないと表面積に換算できない。	
	SMPS と ELPI の併用	○				両者の直径の相違(SMPSは電気的移動度換算、ELPIは空力学的換算)から形状の推定が可能で表面積の推定まで可能。	
	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、この方法はナノ粒子に適した方法である。	
	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。	オフラインの電子顕微鏡試料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。	

表 3 水中でのナノ材料の計測に用いられた方法

○No. は下記の文献の番号を示す

測定方法	ナノ材料	SWCNT	MWCNT	TiO ₂	フラーレン (C60)	銅	蛍光 ポリスチレン	銀ナノ粒子
TEM		①	⑥	②、④	④、⑧			
SEM						⑫		
分光吸光光度計 (332nm)		⑦			⑤、⑩、⑭			
ICP-OES (ICP発光分光分析)						⑫		
紫外線分光光度計				④				
動的光散乱光度計 (dynamic light scattering device)				⑪	⑨			
X線回折 (X-ray diffraction: XRD)				⑪ (結晶構造の 観察)				
液体シンチレーション		⑬ (C14でラベル したもの)	⑬ (同左)					
微分干渉顕微鏡			⑥					
蛍光解剖顕微鏡 (fluorescence dissecting microscope)							③	
暗視野光学顕微鏡分光装置								⑮ (生体内の粒子を 直接観察)

①	Smith, C. J. et.al.(2007)	⑨	Fang J. et.al.(2007)
②	Federici, G. et.al.(2007)	⑩	Tong, Z. et.al.(2007)
③	Kashiwada,S.(2006)	⑪	Warheit, D. B. et.al.(2007)
④	Lovern, S.B. and R. Klaper(2006)	⑫	Griffitt, R. J. et.al.(2007)
⑤	Oberdorster, E. et.al.(2006)	⑬	Petersen, E. J. et.al.(2008)
⑥	Hyung, H. et.al.(2007)	⑭	Baum, A. et.al.(2008)
⑦	Roberts, A. P. et.al.(2007)	⑮	Lee, K. J. et.al.(2007)
⑧	Lovern, S. B. et.al.(2007)		