

ナノマテリアルの水生生物に対する影響等について
(中間とりまとめ)

令和 7 年 3 月

ナノ材料の環境影響評価に関する検討委員会

はじめに

環境省では、ナノマテリアルの環境影響の未然防止の観点から、平成 21 年（2009 年）3 月に「工業用ナノ材料に関する環境影響防止ガイドライン」¹を策定した。その後、環境省ではナノマテリアルの環境影響評価等について情報収集を進め、ナノマテリアルの水生生物への影響に関する文献調査を継続的に行ってきた。

本『ナノ材料の環境影響評価に関する検討委員会（座長：中杉修身 元上智大学教授）』はこのような業務の一環として設置され、ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響等に関して得られた知見について整理、確認及び評価を進めてきたところであり、その概要を今般とりまとめた。

『ナノ材料の環境影響評価に関する検討委員会』委員名簿

（敬称略）

氏名	所属・役職	在任期間 (年度)
菅谷 芳雄	国立環境研究所 客員研究員	H28～R6
鑪迫 典久	愛媛大学大学院 農学研究科 教授	H28～H30 R3～R6
○中杉 修身	元 上智大学 教授	H28～R6
西村 哲治	帝京平成大学 名誉教授	H28～R6
広瀬 明彦	化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所 技術顧問	H28～R6
山本 裕史	国立環境研究所 環境リスク・健康領域 領域長	R1～R6
水越 達也	日本化学工業協会 化学品管理部 部長	H28
仲井 俊司		H29
稲若 邦文		H30～R2
須方 督夫		R3
森 剛志		R4～R6

○：座長

注：委員の所属・役職は、在任期間中の最終のものを示した。

本検討委員会の事務局は環境省請負業務の下で日本エヌ・ユー・エス株式会社が務め、知見の収集整理、委員による信頼性評価の補助、中間とりまとめ原稿作成等に関する作業を担った。

¹ http://www.env.go.jp/chemi/nanomaterial/eibs-conf/guideline_0903.pdf

目次

はじめに.....	i
1. ナノマテリアルに関する一般情報	1
1-1 ナノマテリアルの大きさ、定義等	1
1-2 ナノマテリアルの種類、特徴、主な用途、販売量等	2
1-3 本中間とりまとめが対象とするナノマテリアル	5
2. ナノマテリアルの水生生物への影響等について	5
2-1 ナノマテリアルの環境水中での挙動について	5
2-2 ナノマテリアルの水生生物への影響に係る情報の整理結果	6
(1) 金属系ナノマテリアルの水生生物への影響	8
(2) 炭素系ナノマテリアルの水生生物への影響	9
(3) その他のナノマテリアルの水生生物への影響	9
2-3 ナノマテリアル特有の水生生物への影響について	10
2-4 まとめ	12
別表：ナノマテリアルの水生生物への影響に関する報告値	15
別添：本調査での科学文献の収集・整理方法の概要	33
3. 参考文献	35
付録1：生態毒性や環境中挙動に関する ISO、OECD の主な関連文書一覧	40
付録2：OECD GD317 「ナノマテリアルの水生及び底生生物毒性試験に関する ガイダンス文書」概要	41

1. ナノマテリアルに関する一般情報

1-1 ナノマテリアルの大きさ、定義等

ナノ粒子とは一般に大きさ（粒子の直径等）がナノスケール²の非常に小さい粒子の総称である（図1-1参照）。天然のナノ粒子も広く存在するが、1970年代以降にこのような極小の物質の利用技術（ナノテクノロジー）が進展し、特定の目的や機能を持つように設計されたナノマテリアルが工業的に製造されるようになった。

ナノマテリアルの代表的な定義としては、ISO（国際標準化機構）による定義（ISO TS 80004-1:2023）や欧州委員会が採用したナノマテリアルの定義（Commission Recommendation 2022/C 229/01）がある。

ISO TS 80004-1:2023 では、「ナノスケール」とは「およそ 1 nm から 100 nm の長さの範囲」と定義され、「ナノマテリアル」は、「ナノスケールの外寸を有する材料、またはナノスケールの内部構造もしくは表面構造を有する材料」と定義されており、この定義が一般的に用いられている。ISO TS 80004-1:2023 ではまた、「特定の目的や機能を持つよう設計されたナノマテリアル」を **engineered nanomaterial**、「選ばれた特性や組成を持つよう意図的に製造されたナノマテリアル」を **manufactured nanomaterial** とし、あるプロセス（製造、バイオテクノロジーや自然を含むその他のプロセス）の非意図的な副産物として発生したナノマテリアルを **incidental nanomaterial** と定義している。

欧州委員会によるナノマテリアルの定義（Commission Recommendation 2022/C 229/01）では、以下のように定義されている。

1. 「ナノマテリアル」とは、自然の、または偶然にできた、または製造された材料（マテリアル）であり、単独で、あるいはアグリゲートまたはアグロメレートの識別可能な構成粒子として存在する固体粒子であり、個数濃度のサイズ分布で 50%以上の粒子が少なくとも次の条件の 1 つを満たす粒子である：

- (a) 1 つ以上の方向の寸法が 1 nm から 100 nm のサイズ範囲である。
- (b) ロッド、ファイバーやチューブのように細長い形状の場合、2 つの方向の寸法が 1 nm よりも小さく、他の方向の寸法が 100 nm よりも大きい。
- (c) プレートのような形状の粒子の場合、1 つの方向の寸法が 1 nm よりも小さく、他の方向の寸法が 100 nm よりも大きい。

個数濃度のサイズ分布の決定にあたっては、直交の方向の寸法 2 つ以上が 100 μm よりも大きい粒子は考慮に入れなくともよい。

一方、体積に対する比表面積が 6 m^2/cm^3 未満のマテリアルはナノマテリアルとはみなさない。

² ナノは 10 の-9 乗（十億分の一）を表す単位（接頭語）の一つで、マイクロの千分の一。

2. 「粒子」、「アグロメレート」、「アグリゲート」は以下のように定義される：
- (a) 「粒子」とは明確な物理的境界を持つ、物質の微小な一片である。単一分子は「粒子」とはみなされない。
 - (b) 「アグリゲート」とは強く結合または融合した粒子で構成された粒子である。
 - (c) 「アグロメレート」とは粒子またはアグリゲートの弱く結合した凝集体で、その外側の表面積が個々の構成要素の表面積の合計と同等の粒子である。

ナノマテリアルの定義は上記のとおりであり、ナノマテリアルのアグリゲートやアグロメレートが凝集して 100 nm を超えても、凝集前の粒子が 1～100 nm であればナノマテリアルとみなされている。

ナノマテリアルには、天然のナノマテリアルも含むとした定義もあるが、本中間とりまとめでは工業的に製造されたナノマテリアルを『ナノマテリアル』と呼ぶこととし、それに関わる特徴や生態影響に係る情報等を整理した。

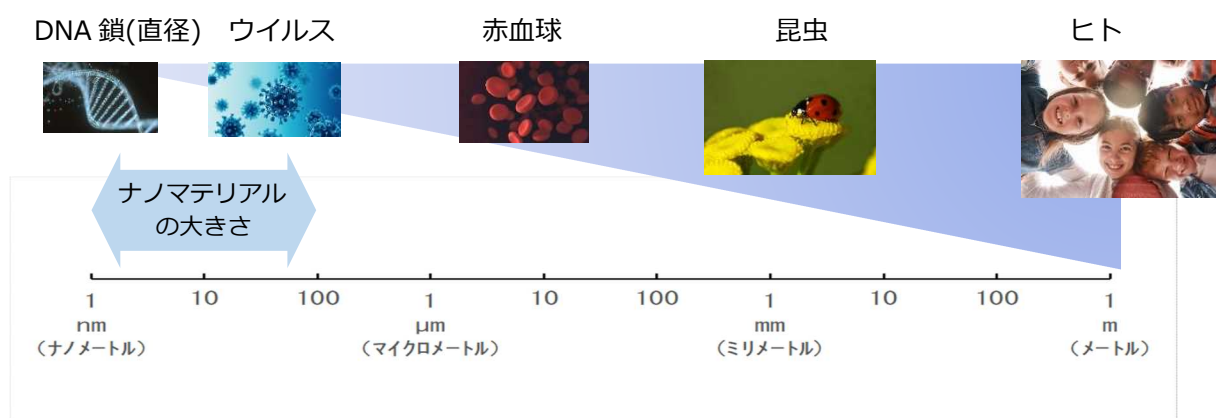


図1-1 ナノマテリアルの大きさのイメージ

1-2 ナノマテリアルの種類、特徴、主な用途、販売量等

ナノマテリアルは微小であるために同じ化学成分のより大きな粒子とは異なる物理的及び化学的特性を有しており、その特性を活用した種々のナノマテリアルが開発・利用されている。

表1-1に代表的なナノマテリアルの種類と特徴、主な用途、販売量等を整理した（販売量等は、ナノスケール以外のマテリアルも含めた値）。ここではナノマテリアルを金属系、炭素系及びその他の3つに区分したが、多種多様な種類があるナノマテリアルについては、どの特徴に着目するかによって様々な区分の仕方が考えられるものであり、これは本中間とりまとめにおける仮の区分である。

二酸化チタンは白い粉末状の物質であり白色顔料に使用されているが、可視光線の波長より小さなナノサイズの二酸化チタン（主にルチル型³の二酸化チタン）では、可視光線は透過するが紫外線は反射するといった特性があり、そのことで透明感のある日焼け止め化粧品として利用されている。また、アナターゼ型の二酸化チタンは光触媒作用（紫外線の照射で活性酸素を放出すること）による有機物の分解作用や水に対する親和性を有するために防汚効果を有するとされており、自動車のコーティングや建物の外壁に利用されている。

銀のナノマテリアルは、導電性を活用した電子基板に利用されている他、その強い抗菌作用を活用したキッチン用品等にも利用されている。

酸化亜鉛のナノマテリアルは、高い分散性や無色で高い透明性、紫外線遮蔽性を持つことから、化粧品やトナー、塗料等に利用されている。

また、複数の金属化合物の層状構造物⁴である量子ドットは、電子が封じ込められた微小な半導体ともいえるナノマテリアルであり、高効率のエネルギー変換（光を吸収し、高効率で放出する）が可能であるといった特性を有することから、光学的電子デバイス（液晶ディスプレイ等）のほか、量子コンピューターや極めて高効率な太陽電池といった未来技術の素材として開発が進められている。

カーボンナノチューブは、炭素が筒状に結合した繊維状のナノマテリアルであり、一重の単層カーボンナノチューブや多重の層を形成した多層カーボンナノチューブがある。機械的強度が強く導電性があるため、高性能の電極に利用されているほか、ICチップ等の静電気に脆弱な製品の搬送トレイ（樹脂にカーボンナノチューブを混練したトレイ）等に利用されている。

二酸化ケイ素のナノマテリアルは、樹脂の強度増加、つや消し、研磨に有用な特性を持ち、シリコンゴム、繊維強化プラスチック、塗料、研磨剤、タイヤ、ゴム、歯磨き粉等に利用されている。

³ 二酸化チタンには、ルチル型、アナターゼ型、ブルッカイト型の3つの結晶構造があり、工業的にはルチル型、アナターゼ型が利用されている。

⁴ 一般にコアと呼ばれる中心部とシェルと呼ばれる被覆層の二層構造となっている。

表 1-1 代表的なナノマテリアルの種類・特徴・用途・年間販売量等

代表的な ナノマテリアル	特徴等	主な用途等	国内年間販売量等 (注)
【金属系】	二酸化チタン (ルチル型)	日焼け止め化粧品、紫外線遮蔽塗料等に利用される。	高純度酸化チタン 4,060 トン ^a 光触媒用酸化チタン 213 トン ^a 超微粒子酸化チタン 850 トン ^a (2019 年 国内販売量)
	二酸化チタン (アナターゼ型)	光(紫外線)を照射すると光触媒作用で有機物を分解する。また、親水性が強く、汚れが落ちやすい。	
	銀	高い電気伝導率を有する。また、強い抗菌作用がある。	電子基板に多用される。日用品(キッチン用品、消臭スプレー等)にも利用される。
	酸化亜鉛	高分散性、無色でかつ高い透明性、高紫外線遮蔽性、抗菌性、消臭性を有する。	化粧品、トナー・塗料等に利用される。
	量子ドット	微小な半導体結晶。特定波長の光を放出する等の特性を有する(放出光の波長は化学組成や大きさで異なる)。	液晶ディスプレイ、LED。また、量子コンピューターやエネルギー変換装置等への応用が期待される。
【炭素系】	カーボン ナノチューブ	炭素が筒状に結合した繊維状粒子。機械的強度が高く、導電性を有する。	【主に多層カーボンナノチューブについて】電池電極添加剤(自動車用電池等)、導電性樹脂(ICチップ搬送用トレイ等)、面状発熱体(布ヒータ等)等に利用される。
	グラフェン	炭素がシート状に結合したナノマテリアル。導電性が高く、軽量で、機械的強度も強い。	樹脂等への添加、塗料・潤滑油等への利用等の幅広い応用が期待される。
	セルロース ナノファイバー	機械的強度が高く、水に混ざればゲル化し粘度を増加させる。	紙おむつ、増粘剤(インク)、スピーカー振動板、タイヤ、食品添加物等に利用される。
【その他】	二酸化ケイ素	樹脂の強度増加、つや消し、研磨剤として有用である。	フュームドシリカ 20,600 トン ^a 高純度コロイダルシリカ 13,000 トン ^a 湿式シリカ 100,000 トン ^a (2019 年 国内販売量)
	ナノクレイ	機械的強度の増加、ガスバリア性、耐燃性・耐熱性、耐摩耗性等を有する。	樹脂製品に混練(軽量化)、食品・塗料・容器包装材料等に利用される。

^a 株式会社富士キメラ総研「2020 年 微粉体市場の現状と将来展望」

^b 株式会社富士キメラ総研「2016 年 微粉体市場の現状と将来展望」

^c 厚生労働省「平成 29 年度 ナノマテリアル安全対策調査事業報告書」

<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/nano/nanopdf/H29houkoku/honbun/all.pdf>

^d 国立医薬品食品衛生研究所「平成 25 年度 消費者製品等に含まれるナノマテリアル等の情報の収集」:

<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/nano/nanopdf/H25houkoku/honbun/1.pdf>

注: 販売量等は、ナノスケール以外のマテリアルも含めた値である。また、この表には含まれていないが、経済産業省 ナノマテリアル情報収集・発信プログラムによる「ナノマテリアルの製造量等の推移」では、国内数社によるカーボンナノチューブ、二酸化チタン、酸化亜鉛、シリカ等の製造・輸入量の各年度の報告の推移がみられる。

https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/other/nano_program.html

1-3 本中間とりまとめが対象とするナノマテリアル

ナノマテリアルの安全性評価に関しては、2006年にOECD（経済協力開発機構）に設置された工業ナノ材料ワーキングパーティ等、各種機関において検討が進められてきた。本中間とりまとめでは、OECDの工業ナノ材料ワーキングパーティが実施したナノマテリアルの試験評価プログラム（スポンサーシッププログラム）で対象としたナノマテリアルを参考に、銀、酸化亜鉛、銅、二酸化チタン、二酸化セリウム、金、二酸化ケイ素、量子ドット、単層カーボンナノチューブ、多層カーボンナノチューブ及びグラフェンのナノマテリアルを中心として情報をとりまとめた（ナノプラスチックは対象外）。

2. ナノマテリアルの水生生物への影響等について

ナノマテリアルは、非常に微小であることで、同じ化学成分のより大きな粒子とは環境水中での挙動や水生生物への影響の程度が大きく異なる可能性があると考えられている。このため、本中間とりまとめでは、まずナノマテリアルの環境水中での挙動について整理した（2-1節）。ナノマテリアルの水生生物への影響を評価するための適切な試験法については議論が続いているが、ここでは一般的な化学物質の評価に用いられている生態毒性試験手法を用いた研究で得られた藻類、甲殻類、魚類への影響に関する情報を中心に整理し（2-2節、別表、別添）、ナノマテリアル特有の水生生物（ここでは底質ではなく水層に生息する生物とする）への影響とその検討結果を整理した（2-3節）。

2-1 ナノマテリアルの環境水中での挙動について

一般的に粒子は微小であるほど体積に対する比表面積が大きくなる。このため微小であるナノマテリアルは、特に一部の金属系ナノマテリアルの場合、より大きな粒子と比べて水中での可溶成分の溶出速度が高くなり、溶出したイオン等の水中濃度が高くなると考えられる。

また、ナノマテリアルに特有な水中での特性は凝集性である。微小粒子には2種類の相反する力である静電反発力（同じ種類の荷電による反発力）とファンデルワールス力（分子や原子間にはたらく引力）が作用する。この引力は、同じ種類の粒子の間だけでなく、異なる種類の粒子（ナノ粒子とは限らない）との間にも作用し、前者の凝集体はホモ凝集体、後者はヘテロ凝集体と呼ばれている。環境水中ではナノマテリアル以外の粒子が様々な存在するため、多くがヘテロ凝集体であると推測される。表面修飾により凝集を抑制している製品もあるが、多くのナノマテリアルは水中において凝集する。

ナノマテリアルが水中で凝集する程度は水中のイオン強度や共存する化学物質等によって異なることについて、以下のような報告がある。

- イオン強度が高い媒体（例えば、海水）ではナノマテリアルは凝集し易くなる（Chae *et al.*, 2012; Domingos *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2016 等）。

- 共存する自然起源の有機物 (NOM)⁵等は、ナノマテリアルの分散性を向上させ凝集抑制的に作用したり、ナノマテリアルを表面吸着したりすることで、ナノマテリアルの水生生物に対する影響を低減する方向に作用する傾向がある (Angel *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2016; Seitz *et al.*, 2015 等)。

河川のような流れは再現できてはいないが、天然の湿原を模擬した大規模な野外試験では、水中に添加したナノマテリアルの濃度が短時間で減少し、その多くが堆積物 (底泥) に移行したといった報告がある (Espinasse *et al.*, 2018; Lowry *et al.*, 2012)。

一般的に環境水中における化学物質の濃度を把握する方法としては、実測とモデル推計によるアプローチがある。本報告が対象としている工業的に製造されたナノマテリアルの環境水中での実測に関しては、その検出感度、凝集や溶解による経時的な粒径の変化、工業的に製造されたナノマテリアルと天然に存在するナノサイズの粒子との判別等の課題がある。モデルを用いた推計も行われているものの、まだ不確実性が高い。環境水中のナノサイズの粒子の濃度を実測した研究 (二酸化チタンについて) 及びモデルを用いて濃度を推計した研究 (二酸化チタン、銀、酸化亜鉛、カーボンナノチューブ、フラーレン、酸化セリウムについて) では、表流水中に ng/L から数十 µg/L の濃度範囲で存在するとした報告がある (Gottschalk *et al.*, 2013) が、信頼性は高いとはいえない。ナノマテリアルの用途や凝集性等の特性を踏まえると、ナノマテリアルは環境水中において高濃度とはなりにくいことが推測される。

上記に示したナノマテリアルの溶解速度や凝集性及び共存物等によるその性質の変化は、ナノマテリアルの環境水中でのばく露評価を困難にしているだけでなく、ナノマテリアルの生態毒性試験の実施、そしてナノマテリアルの環境水中での生態リスクの予測を困難にしている要因でもある。

2-2 ナノマテリアルの水生生物への影響に係る情報の整理結果

1-3 節に示したナノマテリアルについて、総計 500 編程度の報告を確認し、その水生生物への影響に係る情報の中から顕著な影響や特異な結果を示した報告について別表に集約した。得られた報告について、その信頼性について検討を行ったが、一定の信頼性があるとされた科学文献は少数であったので、ナノマテリアルの生態影響の概要を把握するために信頼性が十分でないと考えられた科学文献 (ナノマテリアルを対象とする試験特有の観点に一部欠ける科学文献) の情報も整理した (文献の収集・整理、信頼性の検討等の方法は別添を参照。)。

⁵ NOM (Natural Organic Matter) : 自然起源の有機物の総称で、陸上植物やプランクトンの死骸等の有機物及びその分解物等から生成される。フミン酸等の腐植酸や分解途中の炭水化物、タンパク質等の多種多様な有機物を含む。

本中間とりまとめでは、水生生物への影響として、一般的な化学物質の影響評価で用いられている水生生物（藻類、甲殻類、魚類）に対する下記のような影響に関する半数影響濃度（EC₅₀ 値）や最小影響濃度（LOEC）⁶等の情報を対象とし、遺伝子発現やバイオマーカー等の変化は含めないこととした。

- 藻類の生長阻害
- 甲殻類（主にミジンコ類）の急性毒性（遊泳阻害、致死）あるいは繁殖毒性（産仔数の減少等）
- 魚類の急性毒性（致死、孵化率等）あるいは亜急性毒性（生残率等）

ナノマテリアルは凝集しやすく、凝集によりその粒径が大きくなり、そのことによる沈降や試験容器への吸着等が試験中に生じやすい。また、一部の金属系ナノマテリアルについては、イオンとして溶出するため、試験生物が粒子と溶出した金属イオンの両方のばく露を受ける可能性がある。そして試験生物が受けるばく露が生態毒性試験中にも凝集や溶出により刻々と変化し続けることも、ナノマテリアルの試験の結果を評価する際に特有な留意事項の一つである。

ナノマテリアルを対象とした生態毒性試験の方法については OECD 等において検討が続けられており、試験時の留意点を取りまとめた「ナノマテリアルの水生及び底生生物毒性試験に関するガイダンス文書」（付録2参照）が2021年に OECD より公開された。このガイダンス文書では、工業ナノマテリアルについて、基本的に一般的な化学物質を対象とした OECD の試験ガイドラインによる水生及び底生生物を対象とした生態毒性試験手法を適用可能ではあるが、ナノマテリアルの特性を考慮した対応が必要であるとしている。ナノマテリアルの特性として、試験中のナノマテリアルの凝集、沈降、溶解等の留意すべき事項があるため、試験の実施にあたっては、ナノマテリアルのキャラクタリゼーション（特性の把握）⁷、その特性や目的に沿った試験懸濁液の作成や試験系の改変、試験懸濁液の安定性のモニタリング、用いた各種手法の報告等を行う必要があるとしている。

ナノマテリアルは凝集しやすいこと及びそのことによる沈降等により、生態毒性試験での設定濃度と試験期間中の実際のばく露濃度に差異がある（実際のばく

⁶ EC₅₀、LC₅₀、IC₅₀：それぞれ生態毒性試験結果を表す略称で、50%の個体に影響が認められた濃度を示す。影響試験の種類によって、EC₅₀：半数影響濃度（Effect Concentration）、LC₅₀：半数致死濃度（Lethal Concentration）、IC₅₀：半数阻害濃度（Inhibition Concentration）と表現される。

LOEC、NOEC：それぞれ生態毒性試験結果を表す略称で、LOEC（最小影響濃度（Lowest observed Effect Concentration））は影響が認められた最小のばく露濃度を、NOEC（無影響濃度（No observed Effect Concentration））は影響が認められなかった最高濃度を示す。

⁷ キャラクタリゼーションで分析・測定すべき事項としては、製造または入手時点での試験物質については、元素組成及び濃度、粒子形状、粒子サイズ（一次粒子、凝集体（アグロメレートまたはアグリゲート）及びサイズ分布）、比表面積等があり、ストック懸濁液及び試験中の試験懸濁液中については、重量濃度（粒子、溶解成分）、粒子サイズ（一次粒子、アグロメレート及びサイズ分布）、電荷による分散安定性等）がある。

露濃度が設定濃度よりも低い可能性がある）点は、念頭に置いておくべき事項である。

以降に記載した生態影響がみられた濃度範囲は設定濃度に基づく値である。別表には、試験に用いた生物種や影響濃度に加え、ナノマテリアルの特性を勘案した参考情報として、試験中のナノマテリアルの大きさの変化に関する情報や、その他試験の実施時の留意点やその結果（例えば、金属イオンなどの溶出成分の影響を勘案した陽性対照の試験結果）等も示した。

さらに、ナノマテリアルの水生生物への影響の報告は、すべて室内実験の結果であり、実環境水中での影響として報告された結果ではない。ナノマテリアルの凝集及び沈降等の挙動特性を勘案すれば、実際の環境水中のナノマテリアル濃度は室内実験に比べて低くなる可能性があることには留意が必要である。

（１）金属系ナノマテリアルの水生生物への影響

金属系ナノマテリアルの水生生物への影響に係る情報を別表１－１～１－７に整理した。

比較的報告例が多い銀については数 $\mu\text{g/L}$ 以下の影響濃度が報告されている（別表１－１）。また、酸化亜鉛や銅（酸化銅を含む）については数十 $\mu\text{g/L}$ の影響濃度が報告されている（別表１－２、１－３）。

これらのナノマテリアルについては、別表１－１～１－３にも示すように溶出成分（溶出した金属イオン）の影響を考慮した報告が多く、試験水中の金属イオンの測定や陽性対照試験（金属イオンによる影響試験）との比較等から、これらの生態影響はその溶出した金属イオンの影響であるとした複数の報告がある

（Adam *et al.*, 2014b; Angel *et al.*, 2013; Griffit *et al.*, 2008; Lee & An 2013; Pakrashi *et al.*, 2017 等）。

一方で、二酸化チタンや酸化セリウム等の影響濃度は数～数十 mg/L （別表１－４～１－６）の濃度範囲にあり、前述の銀や酸化亜鉛などと比較すると生態影響は弱い。

二酸化チタンに関しては、特徴として、甲殻類の急性遊泳阻害試験及び魚類の急性毒性試験で、紫外線照射時に影響が強くなるとした報告が複数あり、その影響因子の一つとして生物内の活性酸素種⁸（ROS）の発生状況を検討した報告もある（Kim *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2014 等）。ただし、本調査で確認した文献の範囲では環境水中でこのような紫外線が関与した影響を認めた報告は得られなかった。

光学材料等として研究開発が進められている量子ドットは（別表１－７）、現状ではそのコアやシェルにカドミウムを含む量子ドットが多く、その溶出したイオンの影響も考慮した報告が多い。現状の報告でも生態影響は比較的強い

⁸ ROS（Reactive oxygen species）：活性酸素種。過酸化水素のように酸化作用の高い化学物質の総称で、生物体内では免疫機能等に関与するが、過剰に存在すると DNA やたんぱく質、脂質等の種々の生体高分子と反応して障害を引き起こすとされている。

(数十 $\mu\text{g/L}$ の濃度) が、今後様々な種類・素材のコアやシェルの量子ドットが開発される可能性があるため、ここに示した結果よりもより強い影響を示す量子ドットが出現する可能性がある点には注意が必要である。

なお、金属系ナノマテリアルの水中での溶解性やナノマテリアルの凝集性については、表面の修飾物（クエン酸等）や形状等の影響を受けると考えられる。

例えば、溶出したイオンの影響が大きいと推測されている銀については、修飾物の種類の相違による生態毒性試験結果の比較報告が得られ（Angel *et al.*, 2013; Seitz *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2014 等）、Gondikas *et al.* (2012)はクエン酸とポリビニルピロリドンで修飾された銀粒子の表面積当たりの溶出速度が3倍ほど異なる（クエン酸修飾銀粒子： $6.3\sim 7.2\ \mu\text{mol/m}^2/\text{h}$ 、ポリビニルピロリドン修飾銀粒子： $2.4\sim 2.8\ \mu\text{mol/m}^2/\text{h}$ ）と報告しているが、いずれの報告も修飾物の厚み等の情報が不明瞭で、修飾物の影響についての統一的な理解には至っていない。

（２）炭素系ナノマテリアルの水生生物への影響

炭素系ナノマテリアルの水生生物への影響に係る情報を別表2に整理した。

多層カーボンナノチューブの生態影響については、銀や酸化亜鉛、銅等の金属系ナノマテリアルと比べると比較的弱く（数 mg/L の濃度）、単層カーボンナノチューブはさらに弱い傾向にある。

また、グラフェンについても、生態影響は比較的弱く（数 mg/L の濃度）、酸化グラフェン（酸素を含む官能基がいくつか結合したグラフェン）も同程度に弱い。

なお、カーボンナノチューブやグラフェンでは、その粒径や厚さによる生態影響の相違についての検討事例は、調査した範囲では確認できなかった。また、炭素系ナノマテリアルは複数の炭素がチューブ状あるいは板状に結合したナノマテリアルであるが、さらに様々な種類の官能基を結合することができる。水中での凝集性や生態影響は、その結合した修飾物の種類や量によって相違すると考えられるが、その様相についての詳細な報告は調査した範囲では確認できなかった。

（３）その他のナノマテリアルの水生生物への影響

シリコンゴム等に多用されている二酸化ケイ素の水生生物への影響に係る情報を別表3に整理した。二酸化ケイ素の生態影響は、前述の金属系、炭素系ナノマテリアルと比較してもかなり弱い（数十 mg/L の濃度以上）傾向にある。

2-3 ナノマテリアル特有の水生生物への影響について

ナノマテリアルは、非常に微小であることや水中での凝集性が高いことから、水生生物に対し特有の影響をもたらすことが考えられる。ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響について、これまでの報告からは以下の可能性が抽出された。

- (1) ナノマテリアルは、微小であるほど比表面積が大きくなるので、銀ナノマテリアルのようにイオン化して環境水中への溶出速度が高まる場合は、よりサイズが大きく比表面積が小さい粒子よりも、水生生物への影響が強い可能性がある。
- (2) ナノマテリアルは、非常に微小であるため、ナノ粒子として鰓や消化管から生物の内部組織や細胞に到達し、例えば金属系ナノマテリアルからイオン等の可溶成分がそこで溶出することで生物の内部組織や細胞が高濃度の可溶成分にばく露されたり、生物の内部組織や細胞の近傍で高濃度の活性酸素種（ROS）を発生させたりすることにより生物に影響を及ぼす可能性がある。
- (3) 水生生物の体表に単独または凝集したナノマテリアルの物理的な作用により、水生生物に影響を及ぼす可能性がある。また、ナノマテリアルが水生生物の消化管等で凝集・蓄積し影響を与える可能性がある。

これらの可能性について、本検討では以下のように考察した。

(1) については、大きさの異なる銀及び酸化銅粒子を用いた試験の結果で、ナノサイズの粒子の生態影響がより強いとした報告が得られている（表2-1参照）。この理由について、ナノサイズの粒子から溶出したイオンの影響が大きいとした複数の報告（2-2（1）項参照）も勘案すれば、粒子の大きさが小さいほど比表面積が大きくなり、その結果イオンの溶出速度が高くなり、生態毒性試験時の水中のイオン濃度が高くなるためと推測された。

粒子の大きさによる生態影響の相違について十分明確にはなっていないが、水溶解性が相対的に高い銀等の金属系ナノマテリアルについては、よりサイズが大きく比表面積が小さい粒子よりも、水生生物への影響が強い可能性があると考えられた。水溶解性が相対的に高いナノマテリアルの生態影響はナノマテリアルから溶出したイオンによるとすると、リスク評価を行う際にはナノマテリアル以外の多様な発生源から放出されるイオンの寄与も考慮する必要があると考えられる。

表 2-1 大きさの異なる粒子の生態毒性試験結果の事例

試験項目・試験生物等	試験した粒子の種類・大きさ等	影響濃度	出典
藻類 生長阻害 (72h-IC ₅₀) 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	Ag (クエン酸修飾) 粒径 14 nm (公称値)	3.0 µg/L	Angel <i>et al.</i> (2013)
	Ag (ポリビニルピロリドン修飾) 粒径 15 nm (公称値)	19.5 µg/L	
	Ag (修飾なし) 粒径 2,000~3,500 nm (公称値)	966 µg/L	
藻類 生長阻害 (72h-IC ₅₀) 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	CuO 粒径 30 nm (公称値)	710 µg/L	Aruoja <i>et al.</i> (2009)
	CuO 粒径 記載なし(バルク)	11,550 µg/L	
魚類 急性毒性 (120hpf-LC ₅₀) ゼブラフィッシュ胚 <i>Danio rerio</i>	Ag (マルトース修飾) 粒径 24~96 nm (公称値)	529~1,973 µg/L	Lacave <i>et al.</i> (2016)
	Ag (修飾なし) 粒径 記載なし (バルク)	>5,000 µg/L	

灰色の網掛けの欄：大きな粒子の情報

公称値：メーカーが製品規格として報告している値

(2) については、水中に放出されたナノマテリアルが粒子のまま水生生物の内部組織や細胞に到達していることを確認する必要がある。金属系ナノマテリアルをばく露させた甲殻類や魚類の組織内でナノマテリアルの成分（金属元素）が検出されたとする報告例は複数あった（Adam *et al.*, 2014a; Ates *et al.*, 2015; Brun *et al.*, 2014; Dalai *et al.*, 2014; López-Serrano *et al.*, 2014; McTeer *et al.*, 2014 等）ものの、いずれも組織内での成分の検出が粒子としてのものか組織外や消化管で溶出した成分が取り込まれて組織内で検出されたもののかの区別等が不明であり、信頼性に乏しかった。

したがって、可能性が完全に否定されるものではないが、室内試験で水中を介してばく露されたナノマテリアルが粒子の形状のまま水生生物の内部組織や細胞に到達したことを明確に確認できた報告例はなく、このようなメカニズムで生態影響が生じている明確な証拠は確認できなかったため、その効果の大きさについても確認できていない。

(3) については、室内試験において水生生物の表面に付着したナノマテリアルの影響と考えられた報告が得られている。

例えば、Perreault *et al.* (2012)は、マンノース修飾金ナノマテリアルが細胞壁のある藻類に対して強い生態影響を示すことを報告しており、その影響は細胞壁への付着による光合成阻害によるとしている。

ミジンコ類や魚類を用いた室内実験で、消化管内に凝集したナノマテリアルが蓄積されている状況の観察結果は、金属系ナノマテリアル、炭素系ナノマテリアル

ルのいずれについても報告がある（García-Cambero *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2012; Nasser *et al.*, 2016; Pakrashi *et al.*, 2017; Sohn *et al.*, 2015 等）。

ナノ粒子自体は選択的に摂餌される大きさではないが、水中で凝集して摂餌されやすい大きさになることも想定される。

ただしこれらはナノマテリアルよりも大きい粒子においても生じうる事象であり、ごく高濃度でのばく露があった場合にのみ起こりうる事象である。

2-4 まとめ

ナノマテリアルの水生生物に対する影響について得られている情報の概要は、以下のとおりである。

ナノマテリアルの環境水中での挙動について

- ナノマテリアルは水中で凝集しやすい性質を有するが、その凝集性は媒体のイオン強度、他のナノマテリアルや天然由来の有機物等の多種多様な凝集性成分の共存等で異なる。
- ナノマテリアルの環境水中の濃度に関しては、環境水中のナノサイズの粒子の濃度を実測及びモデルで推計し、表流水中に ng/L から数十 µg/L の濃度範囲で存在するとした報告があるが信頼性は高いとは言い難い。しかし、ナノマテリアルの用途や凝集性等の特性を踏まえると、ナノマテリアルは環境水中において高濃度とはなりにくいことが推測される。

ナノマテリアルの水生生物への影響について

- ナノマテリアルの水生生物（藻類、甲殻類、魚類）への影響の強さ等は、ナノマテリアルの種類によって以下のように整理できた。ただし、これらの結果は全て室内実験によるもので、実環境水中での影響として報告された結果ではない。
 - 金属系ナノマテリアルのうち、銀や酸化亜鉛、銅（酸化銅を含む）のナノマテリアルは 数～数十 µg/L の濃度範囲において生態影響がみられており、その生態影響は比較的強い傾向がみられた。これらのナノマテリアルでは、溶出した金属イオンの影響が大きいと考えられる。
 - 他方、二酸化チタンや二酸化セリウム等のナノマテリアルの生態影響は数 mg/L 以上の濃度でみられており、比較的弱かった。
 - カドミウムを含む量子ドットでは数十 µg/L の濃度で生態影響がみられており、生態影響は比較的強いと考えられた。ただし、コア・シェルの素材によって影響は異なると想定されるが、詳細は確認できていない。
 - 炭素系ナノマテリアル（カーボンナノチューブやグラフェン）やその他のナノマテリアル（二酸化ケイ素）の生態影響は数 mg/L 以上の濃度でみられ、生態影響は比較的弱いと考えられた。

- ナノマテリアルの環境水中での挙動と水生生物への影響に関する各種報告を踏まえると、ナノマテリアル特有の水生生物への影響については以下のように考えられた。
- ナノマテリアルは、微小であるほど比表面積が大きくなるので、銀ナノマテリアルのようにイオン化して環境水中への溶出速度が高まる場合は、よりサイズが大きく比表面積が小さい粒子よりも、水生生物への影響が強い可能性が考えられた。数種の金属系ナノマテリアル（特に銀ナノマテリアル）については、それより大きい粒子と比較して影響が強いとした報告が得られた。水溶解性が相対的に高いナノマテリアルの生態影響はナノマテリアルから溶出したイオンによるとすると、リスク評価を行う際にはナノマテリアル以外の多様な発生源から放出されるイオンの寄与も考慮する必要があると考えられる。
 - ナノマテリアルは、非常に微小であるため、ナノ粒子として鰓や消化管から生物の内部組織や細胞に到達し、例えば金属系ナノマテリアルからイオン等の可溶成分がそこで溶出することで生物の内部組織や細胞が高濃度の可溶成分にばく露されたり、生物の内部組織や細胞の近傍で高濃度の活性酸素種（ROS）を発生させたりすることにより生物に影響を及ぼす可能性があることが懸念される。しかし、室内試験で水中を介してばく露されたナノマテリアルが、粒子の形状のままで水生生物の組織内や細胞に到達することを明確に確認できた報告はなかった。
 - 水生生物の体表に単独または凝集したナノマテリアルの物理的な作用により、水生生物に影響を及ぼす可能性や、ナノマテリアルが水生生物の消化管等で凝集・蓄積して影響を与える可能性が考えられるが、環境水中ではナノマテリアルの濃度が相当に低いと想定されることから、環境水中で上記のような影響が生じる可能性は高くないと考えられた。

上記整理結果を踏まえると、ナノマテリアルの水生生物に対する影響についてはその特性から懸念されうる事項があり、またその環境リスクの的確な把握にはばく露に関する情報の充実が必要となるものの、ナノマテリアルの用途及び製造・使用の規模や水中における凝集性等の特性を考慮すれば、現状では環境水中のナノマテリアルの環境リスクが特段に高いとは想定されなかった。

ナノマテリアルの水生生物への影響に関しては未解明の部分があるため、次のような研究開発の動向や OECD 等関連機関の検討状況等を注視し、知見の把握に努めることが望まれる。

- ナノマテリアルの水環境中での濃度については、天然に存在するナノサイズの粒子との判別等の課題があり測定は困難であるが、モデルを用いた推計も含めた研究が進められている。ばく露評価、リスク評価のためには環境水中の濃度の把握が必要であり、その動向を把握する。
- ナノマテリアルの生態毒性試験の方法については、ナノマテリアルに特有の凝集性や沈降、粒子の溶解等の条件を反映した試験法に関する研究が進められており、新たな試験方法によりナノマテリアルのリスク評価が変わる可能性があるため、その動向を把握する。
- ナノマテリアルが環境水中の種々の有害物質のキャリアーとして働き水生生物に影響を及ぼす等の懸念もあるが未解明な点も多いため、その動向を注視する。
- 本中間とりまとめでは水生生物を対象とし、化学物質の生態毒性試験において一般的に対象とされる藻類、甲殻類、魚類への影響について情報を整理した。底生生物を含む他の生物への影響についても、知見を把握する。
- ナノマテリアルについては、様々な新しい製品の開発研究や新しい利用方法の検討が進められており、また、用途に応じて表面に異なる化学物質を結合（修飾）して親水性や光学特性を多様に変化させたナノマテリアルも開発されている。このようなナノマテリアルの凝集性等の挙動やそれに伴う生態影響は、これまでのナノマテリアルとは異なる可能性がある。新たな特性を有するナノマテリアルに対する対応の必要性を把握するため、ナノマテリアルの開発動向を注視する。
- ナノマテリアルの安全性評価においても、近年、リードアクロスや **New Approach Methodologies** と呼ばれている新たな評価手法の検討が行われている。これらの検討動向についても注視する。

別表：ナノマテリアルの水生生物への影響に関する報告値

1－3節に示したナノマテリアルについて、その水生生物への影響に係る情報の中から顕著な影響や特異な結果を示した報告について集約した。得られた報告の信頼性について検討を行ったが、一定の信頼性があるとされた科学文献は少数であったので、ナノマテリアルの生態影響の概要を把握するために信頼性が十分でないと考えられた科学文献（ナノマテリアルを対象とする試験特有の観点に一部欠ける科学文献）の情報も整理した（文献の収集・整理、信頼性の検討等の方法は別添を参照。）。OECDの試験法に準拠の場合にはその旨記載した。

別表1－1 金属系（銀 Ag）ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度、 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：ABC Nanotech 修飾：クエン酸 粒径：14 nm（公称値） 粒径の増大：あり Ag 溶出：あり	試験濃度：記載なし 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 3.0 µg-Ag/L	影響濃度： 72h-IC ₅₀ 1.1 µg-Ag/L	Angel <i>et al.</i> (2013)
甲殻類 急性遊泳阻害 ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	同上	試験濃度：記載なし 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 0.15 µg-Ag/L	影響濃度： 48h-EC ₅₀ 0.11 µg-Ag/L	同上
同上	入手先：Mercator 修飾：ポリビニルピロリドン 粒径：15 nm（公称値） 粒径の増大：あり Ag 溶出：あり	試験濃度：記載なし 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 2.0 µg-Ag/L	同上	同上
甲殻類 急性遊泳阻害 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：ABC Nanotech 修飾：クエン酸 粒径：11.27 nm（公称値） 粒径の増大：あり Ag 溶出：－	試験濃度：10.1、13.1、17.1、 22.3、29.0 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 13.8 µg-Ag/L	影響濃度： 48h-EC ₅₀ 2.1 µg-Ag/L	Park <i>et al.</i> (2014)

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度、 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
同上	入手先：独自に合成 修飾：クエン酸 粒径：56.0 nm (TEM) 粒径の増大：－ Ag 溶出：－	試験濃度：0.01～40.3 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 2.88 µg-Ag/L	－	Silva <i>et al.</i> (2014)
同上	入手先：独自に合成 修飾：ポリビニルピロリドン 粒径：72.0 nm (TEM) 粒径の増大：－ Ag 溶出：－	試験濃度：0.01～40.3 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 4.79 µg-Ag/L	－	同上
甲殻類 急性遊泳阻害 *OECD TG 202 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Ionic-Liquids- Technology 修飾：なし 粒径：140 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ag 溶出：あり	試験濃度：0.1～62.5 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 3.9 µg-Ag/L *pH6.5	影響濃度： 48h-EC ₅₀ 1.7 µg-Ag/L *pH6.5	Seitz <i>et al.</i> (2015)
同上	入手先：Sigma-Aldrich 修飾：クエン酸 粒径：20 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ag 溶出：あり	試験濃度：10.0～160.0 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 28.9 µg-Ag/L *pH6.5	同上	同上
同上	入手先：Sigma-Aldrich 修飾：クエン酸 粒径：60 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ag 溶出：あり	試験濃度：47.9～750.0 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 77.6 µg-Ag/L *pH6.5	同上	同上
同上	入手先：Sigma-Aldrich 修飾：クエン酸 粒径：100 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ag 溶出：あり	試験濃度：75.0～1200.0 µg-Ag/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 216.1 µg-Ag/L *pH6.5	同上	同上

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度、 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
甲殻類 繁殖毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Ted Pella 修飾：なし 粒径：20 nm (公称値) 粒径の増大：顕著でない Ag 溶出：－	試験濃度：0.5、5 µg-Ag/L 影響濃度： 7d-LOEC 5 µg-Ag/L (1+2 回目出産での産仔数。た だし、0.5、5 µg-Ag/L での死 亡率はそれぞれ 6%、23%)	影響濃度： 7d-LOEC 0.5 µg-Ag/L (死亡率)	Pakrashi <i>et al.</i> (2017)
魚類 急性毒性 メダカ <i>Oryzias latipes</i>	入手先：ABC Nanotech 修飾：クエン酸 粒径：11.27 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ag 溶出：－	試験濃度：20.6、41.3、82.5、 165.0、330.0、660.0 µg-Ag/L 影響濃度： 96h-LC ₅₀ 64.7 µg-Ag/L	影響濃度： 96h-LC ₅₀ 49.3 µg-Ag/L	Park <i>et al.</i> (2014)

Ag 溶出：ナノマテリアルからの溶出が確認された場合に「あり」と記載した。

別表 1－2 金属系（酸化亜鉛 ZnO）ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
藻類 生長阻害 *OECD TG 201 準拠 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：Sigma-Aldrich 修飾：なし 粒径：50～70 nm（公称値） 粒径の増大：－ Zn 溶出：－	試験濃度：記載なし 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 42 µg-Zn/L	影響濃度： 72h-IC ₅₀ 42 µg-Zn/L	Aruoja <i>et al.</i> (2009)
藻類 生長阻害 *OECD TG 201 準拠 緑藻類 <i>Scenedesmus obliquus</i>	入手先：PlasmaChem 修飾：なし 粒径：25 nm（公称値） 粒径の増大：あり Zn 溶出：－	試験濃度：記載なし 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 180 µg-Zn/L	影響濃度： 96h-IC ₅₀ 203 µg-Zn/L	Ye <i>et al.</i> (2017)
甲殻類 急性遊泳阻害 *OECD TG 202 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Sigma-Aldrich 修飾：なし 粒径：<100 nm（試験前） 粒径の増大：あり Zn 溶出：－	試験濃度：0.05～1000 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 31 µg/L（ZnO 換算と思われる）	－	Oleszczuk <i>et al.</i> (2015)
甲殻類 繁殖毒性 *OECD TG 211 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Micronisers 修飾：なし 粒径：20～40 nm（TEM） 粒径の増大：あり Zn 溶出：－	試験濃度：9、14、27、58、 131 µg-Zn/L 影響濃度： 21d-EC ₅₀ 112 µg-Zn/L *生存新生仔数の低値 *測定濃度換算	影響濃度： 21d-EC ₅₀ 82 µg-Zn/L *生存新生仔数の低値 *測定濃度換算	Adam <i>et al.</i> (2014b)
魚類 胚毒性 ゼブラフィッシュ <i>Danio rerio</i>	入手先：IoLiTec 形状：球状 修飾：なし 粒径：43 nm（公称値）、27 nm（TEM） 粒径の増大：あり Zn 溶出：あり	試験濃度：2、4、8、16、 32 mg-Zn/L 影響濃度： 96h-EC ₅₀ 1,800 µg-Zn/L *孵化阻害	－	Hua <i>et al.</i> (2014)

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
同上	入手先：IoLiTec 形状：針状 修飾：なし 粒径：150 nm (公称値)、 幅 32 nm 長 81 nm (TEM) 粒径の増大：あり Zn 溶出：あり	試験濃度：2、4、8、16、 32 mg-Zn/L 影響濃度： 96h-LC ₅₀ 1,200 µg-Zn/L *孵化阻害	—	同上

Zn 溶出：ナノマテリアルからの溶出が確認された場合に「あり」と記載した。

別表 1－3 金属系（銅 Cu または酸化銅 CuO）ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

分類	試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
銅 (Cu)	藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：Quantum Sphere 修飾：酸化物被覆 粒径：26.7 nm (SEM) 粒径の増大：あり Cu 溶出：あり	試験濃度：推計 IC ₅₀ の 0.6、0.36、1.67、2.78 倍 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 540 µg-Cu/L	－	Griffitt <i>et al.</i> (2008)
Cu	甲殻類 急性毒性 ミジンコ <i>Daphnia pulex</i>	同上	試験濃度：推計 LC ₅₀ の 0.6、0.36、1.67、2.78 倍 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 60 µg-Cu/L	影響濃度： 48h-LC ₅₀ 9 µg-Cu/L	同上
Cu	甲殻類 急性毒性 *OECD TG 202 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：IoLiTec 修飾：なし 粒径：25 nm (公称値) 粒径の増大：あり Cu 溶出：あり	試験濃度：記載なし 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 24～3,591 µg-Cu/L (pH、DOC、陽イオン、 安定・攪拌の条件により 異なる)	影響濃度： 48h-LC ₅₀ 16～970 µg-Cu/L (pH、DOC、陽イオン の条件により異なる)	Xiao <i>et al.</i> (2018)
Cu	魚類 急性毒性 ゼブラフィッシュ成魚 <i>Danio rerio</i>	入手先：Quantum Sphere 修飾：酸化物被覆 粒径：26.7 nm (SEM) 粒径の増大：あり Cu 溶出：あり	試験濃度：推計 LC ₅₀ の 0.6、0.36、1.67、2.78 倍 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 940 µg-Cu/L	影響濃度： 48h-LC ₅₀ 130 µg-Cu/L	Griffitt <i>et al.</i> (2008)
酸化銅 (CuO)	藻類 生長阻害 *OECD TG 201 準拠 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：Sigma-Aldrich 修飾：なし 粒径：30 nm (公称値) 粒径の増大：－ Cu 溶出：－	試験濃度：記載なし 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 710 µg-Cu/L	影響濃度： 72h-IC ₅₀ 20 µg-Cu/L	Aruoja <i>et al.</i> (2009)

分類	試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照イオン 影響濃度	出典
CuO	藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Scenedesmus obliquus</i>	入手先：PlasmaChem 修飾：なし 粒径：40 nm (公称値) 粒径の増大：あり Cu 溶出：－	試験濃度：記載なし 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 79 µg-Cu/L	影響濃度： 96h-IC ₅₀ 164 µg-Cu/L	Ye <i>et al.</i> (2017)
CuO	甲殻類 繁殖毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Sigma Aldrich 修飾：なし 粒径：～50 nm (公称値) 粒径の増大：あり Cu 溶出：なし	試験濃度： 70、150 µg-Cu/L 影響濃度： 14d-LOEC 150 µg-Cu/L (出産回数と体長。ただし、70、150 µg-Cu/L での死亡率がそれぞれ約70%、90%)	－	Wu <i>et al.</i> (2017)

Cu 溶出：ナノマテリアルからの溶出が確認された場合に「あり」と記載した。

別表 1－4 金属系（二酸化チタン TiO₂）ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	暗所、自然光照射等条件での ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	紫外線照射条件での ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	出典
藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：Evonik Degussa P25 結晶型：アナターゼ 72.6%、 ルチル 18.4%、アモルファ ス 9% 粒径：21 nm（公称値） 粒径の増大：あり	試験濃度：0.5、1、3、10 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 2.53 mg/L *可視光	試験濃度：0.5、1、3、10 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 3.0 mg/L	Lee & An (2013)
藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：Nanostructured and Amorphous Materials 結晶型：アナターゼ 100% 粒径：16.2 nm（BET） 粒径の増大：あり	試験濃度：0.2、2、10、50、 250 mg/L 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 8.7 mg/L *紫外線フィルターありの予備照 射	試験濃度：0.2、2、10、50、 250 mg/L 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 6.3 mg/L *紫外線フィルターなしの予備 照射	Fu <i>et al.</i> (2015)
甲殻類 急性毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Degussa/Evonik P25 結晶型：アナターゼ 86% 粒径：25.1 nm（TEM） 粒径の増大：あり	試験濃度：150、300、600、 900、1,200、1,500 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ >500 mg/L *実験室環境光	試験濃度：5、15、25、50、 75、100、250、500 µg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 0.0298 mg/L	Ma <i>et al.</i> (2012)
甲殻類 急性毒性 タマミジンコ <i>Moina macrocopa</i>	入手先：Evonik P25 結晶型：主にアナターゼ 粒径：72 nm（分級後 DLS） 粒径の増大：あり	試験濃度：0.1、0.3、1、3、10、 30 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 1.9 mg/L *蛍光灯	試験濃度：0.001、0.003、 0.01、0.03、0.1 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 0.0372 mg/L	Kim <i>et al.</i> (2014)
同上	入手先：Evonik P25 結晶型：主にアナターゼ 粒径：132 nm（分級後 DLS） 粒径の増大：あり	試験濃度：0.1、0.3、1、3、10、 30 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 2.8 mg/L *蛍光灯	試験濃度：0.001、0.003、 0.01、0.03、0.1 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 0.0033 mg/L	同上

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	暗所、自然光照射等条件での ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	紫外線照射条件での ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	出典
同上	入手先：Evonik P25 結晶型：主にアナターゼ 粒径：298 nm (分級後 DLS) 粒径の増大：あり	試験濃度：0.1、0.3、1、3、10、 30 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 3.6 mg/L *蛍光灯	試験濃度：0.001、0.003、 0.01、0.03、0.1 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 0.0071 mg/L	同上
甲殻類 急性毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Evonik Degussa P25 結晶型：主にアナターゼ 粒径：21 nm (公称値) 粒径の増大：あり	試験濃度：1、10、50、100、 167、200、400、500 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 118 mg/L *暗所	試験濃度：0.01、0.05、0.1、 0.25、0.5、1 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 0.06 mg/L	Li <i>et al.</i> (2014)
甲殻類 急性毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Sigma-Aldrich 結晶型：主にアナターゼ 粒径：～25 nm (公称値) 粒径の増大：あり	試験濃度：0.5、1、1.5、2 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ > 2.0 mg/L *蛍光灯	試験濃度：0.5、1、1.5、2 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 0.84 mg/L	Wormington <i>et al.</i> (2017)
甲殻類 繁殖毒性 *OECD TG 211 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Degussa P25 結晶型：アナターゼ 80%、ル チル 20% 粒径：21 nm (公称値) 粒径の増大：あり	試験濃度：0.1、0.5、1、5 mg/L 影響濃度： 21d-EC ₅₀ 0.46 mg/L *産仔数の低値 *光条件の特記なし 21d-LC ₅₀ : 2.62 mg/L *光条件の特記なし	—	Zhu <i>et al.</i> (2010)
魚類 急性毒性 メダカ <i>Oryzias latipes</i>	入手先：Degussa/Evonik P25 結晶型：アナターゼ 86% 粒径：25.1 nm (TEM) 粒径の増大：あり	試験濃度：150、300、425、 550、700 mg/L 影響濃度： 96h-LC ₅₀ 294 mg/L *実験室環境光	試験濃度：2、3、4、5、6、7 mg/L 影響濃度： 96h-LC ₅₀ 2.46 mg/L	Ma <i>et al.</i> (2012)
同上	入手先：Degussa P25 結晶型：主にアナターゼ 粒径：21 nm (公称値) 粒径の増大：あり	試験濃度：167、500 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ > 500 mg/L *暗所	試験濃度：2、5、8、10、 14、17、20 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 8.5 mg/L	Li <i>et al.</i> (2014)

別表 1－5 金属系（二酸化セリウム CeO₂）ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照（Ce イオン）の 影響濃度	出典
藻類 生長阻害 *OECD TG 201 準拠 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials 修飾：なし 粒径：12 nm (BET) 粒径の増大：あり Ce 溶出：不検出	試験濃度：～100 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 29.6 mg/L	影響濃度： 72h-IC ₅₀ 4.25 mg-Ce/L	Rodea-Palomares <i>et al.</i> (2011)
同上	入手先：Sigma Aldrich 修飾：なし 粒径：13 nm (BET) 粒径の増大：あり Ce 溶出：不検出	試験濃度：～100 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 9.7 mg/L	同上	同上
同上	入手先：Sigma Aldrich 修飾：なし 粒径：22 nm (BET) 粒径の増大：あり Ce 溶出：あり	試験濃度：～100 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 4.4 mg/L	同上	同上
同上	入手先：OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials 修飾：なし 粒径：28 nm (BET) 粒径の増大：あり Ce 溶出：不検出	試験濃度：～100 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 16.4 mg/L	同上	同上
甲殻類 急性毒性 ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	入手先：Skyspring Nanomaterials 修飾：なし 粒径：10～30 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ce 溶出：－	試験濃度：50、100、200、500、 1000 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ >1000 mg-CeO ₂ /L	－	Hu <i>et al.</i> (2012)
甲殻類 繁殖毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Sigma 修飾：なし 粒径：～25 nm (公称値) 粒径の増大：あり Ce 溶出：－	試験濃度：0.1、1、3、10 mg/L 影響濃度： 21d-LOEC 10 mg-CeO ₂ /L (ただし、総脱皮回数、体長の 減少、死亡率増加)	－	Gaiser <i>et al.</i> (2011)

Ce 溶出：ナノマテリアルからの溶出が確認された場合に「あり」と記載した。

別表 1－6 金属系（金 Au）ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照（Au イオン）の 影響濃度	出典
藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	入手先：独自に合成 修飾：マンノース 粒径：2 nm (TEM ただし修飾後の 粒径はナノ粒子の概念を超える 可能性に注意を要する) 粒径の増大：あり Au 溶出：－	試験濃度：6、12 µg/L 影響濃度： 48h-LOEC 0.006 mg/L *光合成系 II 光学的最大量子収 率、細胞数の低値	－	Perreault <i>et al.</i> (2012)
藻類 生長阻害 *OECD TG201 準拠 緑藻類 <i>Desmodesmus subspicatus</i>	入手先：Endor Nanotechnologies 修飾：なし 粒径：12.8 nm (TEM) 粒径の増大：あり Au 溶出：－	試験濃度：10 mg-Au/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ >10 mg-Au/L	影響濃度： 72h-IC ₅₀ 1.91 mg-Au/L	García- Cambero <i>et al.</i> (2013)
同上	入手先：Endor Nanotechnologies 修飾：ヒアルロン酸 粒径：12.8 nm (TEM) 粒径の増大：あり Au 溶出：－	試験濃度：10 mg-Au/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ >10 mg-Au/L	同上	同上
甲殻類 急性遊泳阻害 *OECD TG202 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Endor Nanotechnologies 修飾：なし 粒径：12.8 nm (TEM) 粒径の増大：あり Au 溶出：－	試験濃度：100 mg-Au/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ >100 mg-Au/L	影響濃度： 48h-EC ₅₀ 1.34 mg-Au/L	同上
同上	入手先：Endor Nanotechnologies 修飾：ヒアルロン酸 粒径：12.8 nm (TEM) 粒径の増大：あり Au 溶出：－	試験濃度：100 mg-Au/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ >100 mg-Au/L	同上	同上

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照 (Au イオン) の 影響濃度	出典
甲殻類 急性毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Nanopartz 形状：球状 修飾：なし 粒径：25 nm (TEM) 粒径の増大：－ Au 溶出：－	正荷電粒子 試験濃度：0.001～0.05 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ 0.00611 mg-Au/L 負荷電粒子 試験濃度：1～50 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ >50 mg/L	－	Nasser <i>et al.</i> (2016)
同上	入手先：Nanopartz 形状：ロッド状 修飾：なし 粒径：25 nm (TEM) 長さ：60 nm (TEM) 粒径の増大：－ Au 溶出：－	正荷電粒子 試験濃度：0.001～0.05 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ 0.018 mg-Au/L 負荷電粒子 試験濃度：1～50 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ >50 mg/L	－	同上
甲殻類 急性遊泳阻害 ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	入手先：独自に合成 形状：ロッド状 修飾：CTAB (hexadecyltrimethyl ammonium bromide) 粒径：5.18 nm (TEM) 長さ：41.76 nm (TEM) 粒径の増大：顕著でない Au 溶出：－	試験濃度：0.008、0.015、 0.030、0.060、0.120 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 0.030 mg/L	－	Souza <i>et al.</i> (2021)
甲殻類 繁殖毒性 ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	同上	試験濃度：0.0013、0.0025、 0.0050、0.0100、0.0200 mg/L 影響濃度： 7d-LOEC 0.010 mg-Au/L *総産仔数の低値	－	同上

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照 (Au イオン) の 影響濃度	出典
魚類 胚毒性 ゼブラフィッシュ <i>Danio rerio</i>	入手先：独自に合成 修飾：クエン酸 粒径：4.4 nm 粒径の増大：あり Au 溶出：不検出	試験濃度：0.1、1、10、50、 100 mg-Au/L 影響濃度： 120hpf-LC ₅₀ 24.655 mg-Au/L (添加剤単独でも同様の影響が 認められることに注意を要す る)	影響濃度： 120hpf-LC ₅₀ 4.619 mg-Au/L	Lacave <i>et al.</i> (2016)
同上	入手先：独自に合成 修飾：クエン酸 粒径：13.5 nm 粒径の増大：あり Au 溶出：不検出	試験濃度：0.1、1、10、50、 100 mg-Au/L 影響濃度： 120hpf-LC ₅₀ 24.61 mg-Au/L (添加剤単独でも同様の影響が 認められることに注意を要す る)	同上	同上
同上	入手先：独自に合成 修飾：クエン酸 粒径：40.4 nm 粒径の増大：あり Au 溶出：不検出	試験濃度：0.1、1、10、50、 100 mg-Au/L 影響濃度： 120hpf-LC ₅₀ 34.717 mg-Au/L (添加剤単独でも同様の影響が 認められることに注意を要す る)	同上	同上

Au 溶出：ナノマテリアルからの溶出が確認された場合に「あり」と記載した。

別表1－7 量子ドット系ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	陽性対照の影響濃度	出典
藻類 生長阻害 緑藻 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	入手先：American Dye Source コア：CdTe コーティング：チオグリコール酸 粒径：3.5～4.5 nm（公称値） 粒径の増大：あり	試験濃度：0.001、0.01、 0.1、1、10、100 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 5 mg/L	—	Wang <i>et al.</i> (2008)
甲殻類 急性毒性 汽水性アミ目の一種 <i>Americamysis bahia</i>	入手先：OceanNanoTech コア/シェル：CdSe/ZnS コーティング：オレイン酸/オクタデシルアミンの単層膜と両親媒性ポリマーの単層膜 粒径：3.6 nm (TEM)、17.2 nm (DLS) 粒径の増大：—	試験濃度：0.06～1.7 mg-Cd/L 影響濃度： 96h-LC ₅₀ 290 µg-Cd/L	影響濃度： 96h-LC ₅₀ 23 µg-Cd/L	Xiao <i>et al.</i> (2017)
魚類 胚毒性 ゼブラフィッシュ <i>Danio rerio</i>	入手先：Nanosquare コア：CdTe コーティング：チオグリコール酸 粒径：3.5 nm (TEM) 粒径の増大：—	試験濃度：1、25、50、100、 200、300、400 nM 影響濃度： 120 hpf-LC ₅₀ 0.0209 mg/L (原著記載 0.1859 µM-Cd) *6 hpf から開始	影響濃度： 120 hpf-LC ₅₀ 17.25 mg/L (原著記載 153.5 µM-Cd) *6 hpf から開始	Zhang <i>et al.</i> (2012)
魚類 胚毒性 ゼブラフィッシュ <i>Danio rerio</i>	入手先：独自に合成 コア/シェル：CdSe/ZnS コーティング：500-Da PEG-OCH ₃ (PEG: methoxy-polyethylene glycol) コア粒径：2.6 nm シェル厚：～1 nm 粒径の増大：あり	試験濃度：0.2～200 µM-Cd 影響濃度： 120 hpf-LC ₅₀ 4.7 mg-Cd/L (原著記載 42 µM-Cd) *4～6 hpf から開始	影響濃度： 120 hpf-LC ₅₀ 46.0 mg-Cd/L (原著記載 409 µM-Cd) *4～6 hpf から開始	King-Heiden <i>et al.</i> (2009) Wiecinski <i>et al.</i> (2013)

別表2 炭素系ナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

炭素系ナノマテリアル 分類	試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	出典
多層カーボンナノチューブ (MWCNT)	藻類 生長阻害 海産緑藻類 <i>Dunaliella tertiolecta</i>	入手先：Cheap Tubes 修飾：カルボキシル基 直径：20～30 nm（修飾前公称値） 長さ：50 μm（修飾前公称値） 不純物：Co 1%	試験濃度：0.1、0.5、1、2.5、 5、10 mg/L 影響濃度： 96h-LOEC 1 mg/L *生長の lag phase の増加	Wei <i>et al.</i> (2010)
MWCNT	甲殻類 急性毒性 ニセネコゼミジンコ <i>Ceriodaphnia dubia</i>	入手先：Cheaptubes 修飾：C8（アルキル基） 直径：10～30 nm（修飾処理前公称値） 長さ：10～30 μm（修飾処理前公称値） 不純物：－	試験濃度：記載なし 影響濃度： 96h-LC ₅₀ 5.0 mg/L	Kennedy <i>et al.</i> (2009)
MWCNT	甲殻類 繁殖毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：NanoAmor 修飾：なし 大きさ：－ 不純物：Ni 151 ppb	試験濃度：10、50 ppm 影響濃度： 21d-LOEC 10 mg/L *原著単位 ppm *F2 による産仔数	Arndt <i>et al.</i> (2014)
単層カーボンナノチューブ (SWCNT)	藻類 生長阻害 *OECD TG 201 準拠 緑藻類 <i>Raphidocelis subcapitata</i>	入手先：Hanwha Nanotech 修飾：なし 直径：1～1.2 nm（公称値） 長さ：～20 μm（公称値） 不純物：Co、Fe、Ni、Cu 等	試験濃度：12.00、16.80、 23.52、32.93、46.10 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 29.99 mg/L	Sohn <i>et al.</i> (2015)
SWCNT	藻類 生長阻害 *OECD TG 201 準拠 緑藻類 <i>Chlorella vulgaris</i>	同上	試験濃度：15.00、19.50、 25.35、32.96、42.84 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 30.96 mg/L	同上
SWCNT	藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Chlorella vulgaris</i>	入手先：Nanjing XFNANO Materials Tech 修飾：カルボキシル基 直径：1～2 nm（TEM） 長さ：0.5～3 μm（TEM） 不純物：－	試験濃度：0.01、0.1、1、 10 mg/L 影響濃度： 96h-LOEC 1 mg/L *ただし、細胞生存率	Hu <i>et al.</i> (2015)

炭素系ナノマテリアル 分類	試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	出典
SWCNT	甲殻類 急性毒性 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Carbon Nanotechnologies 修飾：lysophosphatidylcholine 直径：約 2 nm (TEM) 長さ：数 μm (TEM) 不純物：－	試験濃度：1～10 mg/L 影響濃度： 48h-LC ₅₀ 6.060 mg/L	Kim <i>et al.</i> (2010)
SWCNT	甲殻類 急性遊泳阻害 *OECD TG 202 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Hanwha Nanotech 修飾：なし 直径：1～1.2 nm (公称値) 長さ：～20 μm (公称値) 不純物：Co、Fe、Ni、Cu 等	試験濃度：3.13、6.25、12.50、 25.00、50.00、100.00 mg/L 影響濃度： 48h-EC ₅₀ >100 mg/L	Sohn <i>et al.</i> (2015)
SWCNT	魚類 急性毒性 *OECD TG 203 準拠 メダカ <i>Oryzias latipes</i>	同上	試験濃度：12.50、25.00、 50.00、100.00 mg/L 影響濃度： 96h-LC ₅₀ >100 mg/L	同上
グラフェン (GP)	藻類 生長阻害 海産緑藻類 <i>Dunaliella tertiolecta</i>	入手先：Graphene Laboratories 形状：ナノパウダー 厚さ：5～30 nm (公称値) 長さ：5～25 μm (公称値) 不純物：－	試験濃度：0.625～10 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 2.25 mg/L	Pretti <i>et al.</i> (2014)
GP	同上	入手先：Graphene Laboratories 形状：単層フレーク 厚さ：0.35 nm (公称値) 長さ：～550 nm (公称値) 不純物：－	試験濃度：0.625～10 mg/L 影響濃度： 72h-IC ₅₀ 1.14 mg/L	同上
GP	藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	入手先：Graphene Supermarket 形状：多層 厚さ：5.0 nm (原子間力顕微鏡法) 長さ：2.5 μm (TEM) 不純物：－	試験濃度：10～200 mg/L 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 62.2 mg/L	Zhao <i>et al.</i> (2017)

炭素系ナノマテリアル 分類	試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	出典
GP	甲殻類 急性遊泳阻害 *OECD TG 202 準拠 オオミジンコ <i>Daphnia magna</i>	入手先：Graphene Supermarket 形状：多層ナノパウダー 厚さ：12 nm (30～50 層) (公称値) 粒径：300 nm (Nanoparticle Tracking Analysis 極大値) 不純物：－	試験濃度：記載なし 影響濃度： 48h-EC ₅₀ 20 mg/L	Sanchís <i>et al.</i> (2016)
GP	甲殻類 急性毒性 甲殻類の一種 <i>Artemia salina</i>	入手先：Graphene Laboratories 形状：ナノパウダー 厚さ：5～30 nm (公称値) 長さ：5～25 µm (公称値) 不純物：－	試験濃度：0.625～10 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ >10 mg/L	Pretti <i>et al.</i> (2014)
GP	同上	入手先：Graphene Laboratories 形状：単層フレーク 厚さ：0.35 nm (公称値) 長さ：～550 nm (公称値) 不純物：－	試験濃度：0.625～10 mg/L 影響濃度： 24h-LC ₅₀ >10 mg/L	同上
酸化グラフェン(GO)	藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	入手先：独自に合成 形状：－ 厚さ：2.1 nm (原子間力顕微鏡法) 長さ：2 µm (TEM) 不純物：－	試験濃度：10～200 mg/L 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 37.3 mg/L	Zhao <i>et al.</i> (2017)
還元型酸化グラフェン (rGO)	同上	入手先：独自に合成 形状：－ 厚さ：1.5 nm (原子間力顕微鏡法) 長さ：1 µm (TEM) 不純物：－	試験濃度：10～200 mg/L 影響濃度： 96h-IC ₅₀ 34.0 mg/L	同上

別表3 その他（二酸化ケイ素 SiO₂）のナノマテリアルが水生生物に及ぼす影響濃度（設定濃度）

試験分類 試験生物	ナノマテリアルの性状	ナノマテリアルの試験濃度 影響濃度	出典
藻類 生長阻害 緑藻類 <i>Chlorella kessleri</i>	入手先：Shokubai Kasei Industrial 修飾：－ 粒径：5 nm（公称値） 粒径の増大：－	試験濃度：記載なし 影響濃度：96h-IC ₅₀ 0.8 weight / volume%	Fujiwara <i>et al.</i> (2008)
同上	入手先：Shokubai Kasei Industrial 修飾：－ 粒径：26 nm（公称値） 粒径の増大：－	試験濃度：記載なし 影響濃度：96h-IC ₅₀ 7.1 weight / volume%	同上
同上	入手先：Shokubai Kasei Industrial 修飾：－ 粒径：78 nm（公称値） 粒径の増大：－	試験濃度：記載なし 影響濃度：96h-IC ₅₀ 9.1 weight / volume%	同上
魚類 胚毒性 *OECD TG 210 準拠 ゼブラフィッシュ <i>Danio rerio</i>	入手先：独自に合成 修飾：シアニン蛍光色素 Cy5.5 粒径：～60 nm（SEM） 粒径の増大：－	試験濃度：0.0025、0.25、25 mg/L 影響濃度：96hpf-NOEC >25 mg/L *生存率、孵化率	Fent <i>et al.</i> (2010)

別添：本調査での科学文献の収集・整理方法の概要

1. 文献の検索及び抽出

文献検索（検索システム：PubMed、検索キーワード：主に nanomaterial* [“algae” + “crustacea” + “fish”]）で抽出した科学文献について、その題名や要旨等に基づき、生態影響に係る重要と考えられる報告（ナノマテリアルの種類や試験対象生物、評価項目が特殊ではない報告）及び生態影響の理解に有用と考えられる報告（生物の体内組織への移行や凝集性等の環境中挙動に係る報告）を抽出した。

2. 文献整理票の作成

文献整理票の作成に資すると判断された文献については、試験材料（ナノマテリアルの種類等）、試験方法（分散方法や大きさ、試験対象生物の種類、ばく露濃度、ばく露期間、換水率や給餌方法等）、試験結果（EC₅₀、LOEC、NOEC等）、重要な考察等の項目について整理した。

3. 文献の信頼性に関する検討

一般的な化学物質では、生態毒性試験の結果で濃度依存的な影響があるかを確認することを基本としており、ナノマテリアルに含まれる化学成分についても、濃度依存的な影響であることを確認した。それに加え物理的な影響（生物体を覆ってしまう、粒子が口に詰まって不可逆的に摂食障害を起こす）や物理化学的影響（pHの著しい低下、酸素濃度の低下、藻類培地成分の変化）等の影響を生態影響として取り上げた。

ナノマテリアルの水生生物毒性試験の実施や報告には諸課題（特に、ナノマテリアルのばく露中の凝集が避けられない特性。OECD GD 317（付録2）も参照。）が内在していることを踏まえ、以下の要領で科学文献の信頼性について検討を行い、信頼性評価の対象文献を抽出した。

（1）ナノマテリアルを対象とする試験特有の観点として、下記を確認した。

- － 試験に供したナノマテリアルの一次粒径等の物理的性状に関する記載があるか
- － 試験における実際の粒径及びその経時的変化に関する記載があるか
- － 48時間以上の試験において給餌を実施していない場合は、ナノマテリアルの摂食亢進が起きることが想定されるため除外した
- － 藻類試験では、光阻害の効果について言及のない試験は除外した
- － 影響濃度や有意差等について統計学的手法が不明確な試験は除外した（ただし、統計的な手法を用いていなくとも、認められた影響が顕著な場合は採用した）
- － 試験内容から、溶出成分の把握や陽性対照の設定等が適切に行われているか

- (2) 当該文献が採用した各試験法について、それぞれに定められている妥当性基準 (validity criteria) を満足しているかどうかを重視 (例えば、OECD TG では validity of the test への合致) した。
- (3) 生態影響に関して既存情報整理よりも影響が弱いとみなされた文献、環境中挙動等に関しては既存情報整理と類似した文献はその対象外とした。

4. 信頼性評価の実施結果

「3. 文献の信頼性に関する検討」の確認により一定の信頼性があるとされた科学文献については、委員による確認を実施した。

なお、一定の信頼性があるとされた科学文献は少数であったので、ナノマテリアルの生態影響の概要を把握するために信頼性に疑いのある科学文献 (ナノマテリアルを対象とする試験特有の観点に一部欠ける科学文献) の情報も採用した。

3. 参考文献

- Adam N, Leroux F, Knapen D, Bals S and Blust R (2014a) The uptake of ZnO and CuO nanoparticles in the water-flea *Daphnia magna* under acute exposure scenarios. *Environmental Pollution*, 194, 130-137.
- Adam N, Schmitt C, Galceran J, Companys E, Vakurov A, Wallace R, Knapen D and Blust R (2014b) The chronic toxicity of ZnO nanoparticles and ZnCl₂ to *Daphnia magna* and the use of different methods to assess nanoparticle aggregation and dissolution. *Nanotoxicology*, 8 (7), 709-717.
- Angel BM, Batley GE, Jarolimek CV and Rogers NJ (2013) The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. *Chemosphere*, 93 (2), 359-365.
- Arndt DA, Chen J, Moua M and Klaper RD (2014) Multigeneration impacts on *Daphnia magna* of carbon nanomaterials with differing core structures and functionalizations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33 (3), 541-547.
- Aruoja V, Dubourguier HC, Kasemets K and Kahru A (2009) Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the Total Environment*, 407 (4), 1461-1468.
- Ates M, Arslan Z, Demir V, Daniels J and Farah IO (2015) Accumulation and toxicity of CuO and ZnO nanoparticles through waterborne and dietary exposure of goldfish (*Carassius auratus*). *Environmental Toxicology*, 30 (1), 119-128.
- Brun NR, Lenz M, Wehrli B and Fent K (2014) Comparative effects of zinc oxide nanoparticles and dissolved zinc on zebrafish embryos and eleuthero-embryos: Importance of zinc ions. *Science of the Total Environment*, 476-477, 657-666.
- Chae SR, Xiao Y, Lin S, Noeiaghahi T, Kim JO and Wiesner MR (2012) Effects of humic acid and electrolytes on photocatalytic reactivity and transport of carbon nanoparticle aggregates in water. *Water Research*, 46 (13), 4053-4062.
- Dalai S, Iswarya V, Bhuvaneshwari M, Pakrashi S, Chandrasekaran N and Mukherjee A (2014) Different modes of TiO₂ uptake by *Ceriodaphnia dubia*: Relevance to toxicity and bioaccumulation. *Aquatic Toxicology*, 152, 139-146.
- Domingos RF, Tufenkji N and Wilkinson KI (2009) Aggregation of titanium dioxide nanoparticles: Role of a fulvic acid. *Environmental Science & Technology*, 43 (5), 1282-1286.
- Espinasse BP, Geitner NK, Schierz A, Therezien M, Richardson CJ, Lowry GV, Ferguson L and Wiesner MR (2018) Comparative persistence of engineered nanoparticles in a complex aquatic ecosystem. *Environmental Science & Technology*, 52 (7), 4072-4078.
- Fent K, Weisbrod CJ, Wirth-Heller A and Pielkes U (2010) Assessment of uptake and toxicity of fluorescent silica nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages. *Aquatic Toxicology*, 100 (2), 218-228.

- Fu L, Hamzeh M, Dodard S, Zhao YH and Sunahara GI (2015) Effects of TiO₂ nanoparticles on ROS production and growth inhibition using freshwater green algae pre-exposed to UV irradiation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39 (3), 1074-1080.
- Fujiwara K, Suematsu H, Kiyomiya E, Aoki M, Sato M and Moritoki N (2008) Size-dependent toxicity of silica nano-particles to *Chlorella kessleri*. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 43 (10), 1167-1173.
- Gaiser BK, Biswas A, Rosenkranz P, Jepson MA, Lead JR, Stone V, Tyler CR and Fernandes TF (2011) Effects of silver and cerium dioxide micro- and nano-sized particles on *Daphnia magna*. *Journal of Environmental Monitoring*, 13 (5), 1227-1235.
- García-Cambero JP, Núñez García M, López GD, Herranz AL, Cuevas L, Pérez-Pastrana E, Cuadal JS, Castelltort MR and Calvo AC (2013) Converging hazard assessment of gold nanoparticles to aquatic organisms. *Chemosphere*, 93 (6), 1194-1200.
- Gondikas AP, Morris A, Reinsch BC, Marinakos SM, Lowry GV and Hsu-Kim H (2012) Cysteine-induced modifications of zero-valent silver nanomaterials: Implications for particle surface chemistry, aggregation, dissolution, and silver speciation. *Environmental Science & Technology*, 46 (13), 7037-7045.
- Gottschalk F, Sun T and Nowack B (2013) Environmental concentrations of engineered nanomaterials: Review of modeling and analytical studies. *Environmental Pollution*, 181, 287-300.
- Griffitt RJ, Luo J, Gao J, Bonzongo JC and Barber DS (2008) Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (9), 1972-1978.
- Hu J, Wang D, Wang J and Wang J (2012) Toxicity of lead on *Ceriodaphnia dubia* in the presence of nano-CeO₂ and nano-TiO₂. *Chemosphere*, 89 (5), 536-541.
- Hu X, Ouyang S, Mu L, An J and Zhou Q (2015) Effects of graphene oxide and oxidized carbon nanotubes on the cellular division, microstructure, uptake, oxidative stress, and metabolic profiles. *Environmental Science & Technology*, 49 (18), 10825-10833.
- Hua J, Vijver MG, Richardson MK, Ahmad F and Peijnenburg WJ (2014) Particle-specific toxic effects of differently shaped zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryos (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33 (12), 2859-2868.
- Kennedy AJ, Gunter JC, Chappell MA, Goss JD, Hull MS, Kirgan RA and Steevens JA (2009) Influence of nanotube preparation in aquatic bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (9), 1930-1938.
- Kim KT, Klaine SJ, Lin S, Ke PC and Kim SD (2010) Acute toxicity of a mixture of copper and single-walled carbon nanotubes to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (1), 122-126.

- Kim KT, Jang MH, Kim JY, Xing B, Tanguay RL, Lee BG and Kim SD (2012) Embryonic toxicity changes of organic nanomaterials in the presence of natural organic matter. *Science of the Total Environment*, 426, 423-429.
- Kim J, Lee S, Kim CM, Seo J, Park Y, Kwon D, Lee SH, Yoon TH and Choi K (2014) Non-monotonic concentration-response relationship of TiO₂ nanoparticles in freshwater cladocerans under environmentally relevant UV-A light. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 101, 240-247.
- King-Heiden TC, Wicinski PN, Mangham AN, Metz KM, Nesbit D, Pedersen JA, Hamers RJ, Heideman W and Peterson RE (2009) Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo. *Environmental Science & Technology*, 43 (5), 1605-1611.
- Lacave JM, Retuerto A, Vicario-Parés U, Gilliland D, Oron M, Cajaraville MP and Orbea A (2016) Effects of metal-bearing nanoparticles (Ag, Au, CdS, ZnO, SiO₂) on developing zebrafish embryos. *Nanotechnology*, 27 (32), 325102.
- Lee WM and An YJ (2013) Effects of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles on green algae under visible, UVA, and UVB irradiations: No evidence of enhanced algal toxicity under UV pre-irradiation. *Chemosphere*, 91 (4), 536-544.
- Li S, Ma H, Wallis LK, Etterson MA, Riley B, Hoff DJ and Diamond SA (2016) Impact of natural organic matter on particle behavior and phototoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 542 (Part A), 324-333.
- Li S, Pan X, Wallis LK, Fan Z, Chen Z and Diamond SA (2014) Comparison of TiO₂ nanoparticle and graphene-TiO₂ nanoparticle composite phototoxicity to *Daphnia magna* and *Oryzias latipes*. *Chemosphere*, 112, 62-69.
- López-Serrano A, Muñoz-Olivas R, Sanz-Landaluze J, Olasagasti M, Rainieri S and Cámara C (2014) Comparison of bioconcentration of ionic silver and silver nanoparticles in zebrafish eleutheroembryos. *Environmental Pollution*, 191, 207-214.
- Lowry GV, Espinasse BP, Badireddy AR, Richardson CJ, Reinsch BC, Bryant LD, Bone AJ, Deonarine A, Chae S, Therezien M, Colman BP, Hsu-Kim H, Bernhardt ES, Matson CW and Wiesner MR (2012) Long-term transformation and fate of manufactured Ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland. *Environmental Science & Technology*, 46 (13), 7027-7036.
- Ma H, Brennan A and Diamond SA (2012) Phototoxicity of TiO₂ nanoparticles under solar radiation to two aquatic species: *Daphnia magna* and Japanese medaka. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (7), 1621-1629.
- McTeer J, Dean AP, White KN and Pittman JK (2014) Bioaccumulation of silver nanoparticles into *Daphnia magna* from a freshwater algal diet and the impact of phosphate availability. *Nanotoxicology*, 8 (3), 305-316.
- Nasser F, Davis A, Valsami-Jones E and Lynch I (2016) Shape and charge of gold nanomaterials influence survivorship, oxidative stress and moulting of *Daphnia magna*. *Nanomaterials*, 6 (12), 222.

- Oleszczuk P, Joško I and Skwarek E (2015) Surfactants decrease the toxicity of ZnO, TiO₂ and Ni nanoparticles to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 24 (9), 1923-1932.
- Pakrashi S, Tan C and Wang WX (2017) Bioaccumulation-based silver nanoparticle toxicity in *Daphnia magna* and maternal impacts. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36 (12), 3359-3366.
- Park JW, Oh JH, Kim WK and Lee SK (2014) Toxicity of citrate-coated silver nanoparticles differs according to method of suspension preparation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 93 (1), 53-59.
- Perreault F, Bogdan N, Morin M, Claverie J and Popovic R (2012) Interaction of gold nanoglycodendrimers with algal cells (*Chlamydomonas reinhardtii*) and their effect on physiological processes. *Nanotoxicology*, 6 (2), 109-120.
- Pretti C, Oliva M, Pietro RD, Monni G, Cevasco G, Chiellini F, Pomelli C and Chiappe C (2014) Ecotoxicity of pristine graphene to marine organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 101, 138-145.
- Rodea-Palomares I, Boltes K, Fernández-Piñas F, Leganés F, García-Calvo E, Santiago J and Rosal R (2011) Physicochemical characterization and ecotoxicological assessment of CeO₂ nanoparticles using two aquatic microorganisms. *Toxicological Sciences*, 119 (1), 135-145.
- Sanchís J, Olmos M, Vincent P, Farré M and Barceló D (2016) New insights on the influence of organic co-contaminants on the aquatic toxicology of carbon nanomaterials. *Environmental Science & Technology*, 50 (2), 961-969.
- Seitz F, Rosenfeldt RR, Storm K, Metreveli G, Schaumann GE, Schulz R and Bundschuh M (2015) Effects of silver nanoparticle properties, media pH and dissolved organic matter on toxicity to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111, 263-270.
- Silva T, Pokhrel LR, Dubey B, Tolaymat TM, Maier KJ and Liu X (2014) Particle size, surface charge and concentration dependent ecotoxicity of three organo-coated silver nanoparticles: Comparison between general linear model-predicted and observed toxicity. *Science of the Total Environment*, 468-469, 968-976.
- Sohn EK, Chung YS, Johari SA, Kim TG, Kim JK, Lee JH, Lee YH, Kang SW and Yu IJ (2015) Acute toxicity comparison of single-walled carbon nanotubes in various freshwater organisms. *BioMed Research International*, 2015, 323090.
- Souza JP, Mansano AS, Venturini FP, Marangoni VS, Lins PMP, Silva BPC, Dressler B and Zucolotto V (2021) Toxicity of gold nanorods on *Ceriodaphnia dubia* and *Danio rerio* after sub-lethal exposure and recovery. *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (20), 25316-25326.
- Wang J, Zhang X, Chen Y, Sommerfeld M and Hu Q (2008) Toxicity assessment of manufactured nanomaterials using the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Chemosphere*, 73 (7), 1121-1128.

- Wei L, Thakkar M, Chen Y, Ntim SA, Mitra S and Zhang X (2010) Cytotoxicity effects of water dispersible oxidized multiwalled carbon nanotubes on marine alga, *Dunaliella tertiolecta*. *Aquatic Toxicology*, 100 (2), 194-201.
- Wieczinski PN, Metz KM, King Heiden TC, Louis KM, Mangham AN, Hamers RJ, Heideman W, Peterson RE and Pedersen JA (2013) Toxicity of oxidatively degraded quantum dots to developing zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Science & Technology*, 47 (16), 9132-9139.
- Wormington AM, Coral J, Alloy MM, Delmarè CL, Mansfield CM, Klaine SJ, Bisesi JH and Roberts AP (2017) Effect of natural organic matter on the photo-induced toxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36 (6), 1661-1666.
- Wu F, Bortvedt A, Harper BJ, Crandon LE and Harper SL (2017) Uptake and toxicity of CuO nanoparticles to *Daphnia magna* varies between indirect dietary and direct waterborne exposures. *Aquatic Toxicology*, 190, 78-86.
- Xiao Y, Peijnenburg W, Chen G and Vijver MG (2018) Impact of water chemistry on the particle-specific toxicity of copper nanoparticles to *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 610-611, 1329-1335.
- Xiao Y, Ho KT, Burgess RM and Cashman M (2017) Aggregation, sedimentation, dissolution, and bioavailability of quantum dots in estuarine systems. *Environmental Science & Technology*, 51 (3), 1357-1363.
- Ye N, Wang Z, Fang H, Wang S and Zhang F (2017) Combined ecotoxicity of binary zinc oxide and copper oxide nanoparticles to *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 52 (6), 555-560.
- Zhang W, Lin K, Miao Y, Dong Q, Huang C, Wang H, Guo M and Cui X (2012) Toxicity assessment of zebrafish following exposure to CdTe QDs. *Journal of Hazardous Materials*, 213-214, 413-420.
- Zhao J, Cao X, Wang Z, Dai Y and Xing B (2017) Mechanistic understanding toward the toxicity of graphene-family materials to freshwater algae. *Water Research*, 111, 18-27.
- Zhu X, Chang Y and Chen Y (2010) Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 78 (3), 209-215.

付録 1 : 生態毒性や環境中挙動に関する ISO、OECD の主な関連文書一覧

OECD 試験ガイドライン

- Test No. 318: Dispersion Stability of Nanomaterials in Simulated Environmental Media (模擬環境媒体中におけるナノマテリアルの分散安定性)

OECD ガイダンス文書

- Series on Testing and Assessment No. 317 Guidance Document on Aquatic and Sediment Toxicological Testing of Nanomaterials (ナノマテリアルの水生及び底生生物毒性試験に関するガイダンス文書)
- Series on Testing and Assessment No. 318 Guidance Document for the Testing of Dissolution and Dispersion Stability of Nanomaterials and the Use of the Data for Further Environmental Testing and Assessment Strategies (ナノマテリアルの溶解・分散安定性試験と、さらなる環境試験・評価戦略へのデータ活用のためのガイダンス文書)

ISO 技術仕様書

- ISO/TS 20787:2017 Nanotechnologies – Aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater lakes using *Artemia sp.* nauplii (ナノテクノロジー：アルテミアのノープリウスを用いた塩水湖における工業ナノマテリアルの水生毒性の評価)
- ISO/TS 22082:2020 Nanotechnologies – Assessment of nanomaterial toxicity using dechorionated zebrafish embryo (ナノテクノロジー：コリオン除去ゼブラフィッシュ胚を用いたナノマテリアル毒性の評価)

ISO 標準報告書

- ISO/TR 21386:2019 Nanotechnologies – Considerations for the measurement of nano-objects and their aggregates and agglomerates (NOAA) in environmental matrices (ナノテクノロジー：環境マトリックスにおけるナノ物体並びにそれらのアグリゲート及びアグロメレート (NOAA) の測定に関する考察)

付録 2 : OECD GD317 「ナノマテリアルの水生及び底生生物毒性試験に関するガイダンス文書」 概要

「ナノマテリアルの水生及び底生生物毒性試験に関するガイダンス文書」

(Guidance document on aquatic and sediment toxicological testing of nanomaterials Series on Testing and Assessment No. 317) は、ナノマテリアルを対象にした水生生物または底生生物の OECD 生態毒性試験を実施する際の留意事項を提示した文書で、2021 年 8 月（改訂版は 2022 年 3 月）に公表された。

このガイダンス文書では、工業ナノマテリアルについて、基本的に一般的な化学物質を対象とした OECD の試験ガイドラインによる水生及び底生生物を対象とした生態毒性試験手法を用いることは可能であるが、ナノマテリアル特有の対応が必要な事項があるとしている。これは、ナノマテリアルの粒子としての特性及び動的に変化する特性によるものであり、一般的な化学物質を対象とした OECD の試験ガイドラインでは、試験分散液の一貫した調整と生態毒性試験の試験前及び試験中の十分なキャラクタリゼーション（特性の把握）に関するガイダンスが不足している。このため、本ガイダンスでは、OECD 試験ガイドラインに沿ったナノマテリアルの生態毒性試験を行うためには、既存知見の評価から始まる、様々なレベルでの開発作業へと続く段階的なアプローチが必要であるとしており、ナノマテリアルの特性に沿った試験懸濁液の作成や試験系の改変、試験懸濁液の安定性のモニタリング、用いた各種手法の報告等に関するガイダンスを提供している。

ガイダンス文書に示されている主な内容は以下のとおりである。

○ ナノマテリアルの分析及び測定技術

- 製造または入手時点での試験物質のキャラクタリゼーションで分析・測定すべき事項（元素組成及び濃度、粒子形状、粒子サイズ（一次粒子、凝集体（アグロメレートまたはアグリゲート）及びサイズ分布）、比表面積等）やその方法、分析・測定手法を明記することの重要性等
- 希釈前懸濁液及び試験懸濁液中の試験物質のキャラクタリゼーションで分析・測定すべき事項（重量濃度（粒子、溶解成分）、粒子と溶解成分の区別・分離方法、粒子サイズ（一次粒子、アグロメレート、サイズ分布）、電荷による分散安定性）やその方法等

○ 試験懸濁液の作成に関する推奨事項

- 試験物質に関する既存知見の収集（既存の試験法の適用性の確認のため等）
- 懸濁液の安定性の予備評価（任意ではあるが有用）
- ナノマテリアルの特性に合わせた適切な分散方法（希釈前及び試験懸濁液）の選び方と留意点
- ナノマテリアルの特性に合わせた試験懸濁液の作成方法と留意点等

- ナノマテリアルの特性に合わせた希釈前懸濁液や試験懸濁液の安定性のモニタリングの方法と頻度（試験懸濁液のばく露容器での安定性）等
- ナノマテリアルの底質への添加方法、均質化方法、保管の影響等
- 試験実施に関する留意事項
 - ナノマテリアルの分散性及び分散安定性に基づく試験ガイドラインの選択の考え方（水生生物と底生生物のどちらを対象とした試験か、急性試験か慢性試験か等）
 - 粒子の安定性に基づく試験手順の改変の必要性
 - （凝集等の理由から）水生生物を対象とした限度試験⁹は推奨されない
 - 試験手順及び試験系の改変方法（試験容器の形状及び素材、換水方法の選び方、給餌、光条件の留意事項、目的に沿った適切な対照実験の設定の検討等）
 - 各試験ガイドラインに特有な留意事項と改変案
 - 代替試験に関する現状と留意点
- データ分析及び報告（ナノマテリアルに特有な事項）
 - 試験報告書に記載すべき事項
 - ばく露ドシメトリーに関する報告事項の留意点（重量濃度、補足情報としての重量濃度以外の指標の情報（粒子数や表面積換算等）、ばく露—反応関係は濃度で表現（LC/EC₅₀、LC/EC₁₀、LOEC、NOEC 等）、ばく露の変動幅が初期値から±20%を超える場合のばく露—反応関係の計算方法）

⁹一般化学物質において、（水溶性の）被験物質を単一の高濃度（水中 100 mg/L、底質 1,000 mg/kg）でばく露し、被験物質の毒性について希釈濃度でのばく露を含む更なる試験が必要か判断するために実施する試験