

연구보고서

탄소나노물질의 독성정보 제공 체계 구축에 관한 연구

조완섭 · 유일재 · 전기수 · 이동근 · 전소연

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



제 출 문

산업안전보건연구원장 귀하
본 보고서를 “탄소나노물질의 독성정보 제공 체계
구축에 관한 연구”의 최종 연구결과 보고서로
제출합니다.

2018년 10월

연구기관: 동아대학교

연구기간: 2018. 4. 18. ~ 2018. 10.31.

연구책임자: 조완섭(동아대학교 의약생명공학과 교수)

요 약 문

1. 연구 제목: 탄소나노물질의 독성정보 제공 체계 구축에 관한 연구

2. 연구 필요성 및 목적

나노기술의 발전으로 다양한 종류의 나노물질이 합성 및 생산되고 있으나 나노물질에 대한 유해성 정보가 부족한 상황에서 일부 나노물질의 대량생산이 이루어지고 있다. 나노물질은 고유한 물리화학적 특성에 따라서 독성이 결정되거나 영향을 받는 것으로 보고되고 있기 때문에 모든 나노물질에 대한 개별적인 독성실험이 아니라 물리화학적 특성과 독성의 상관관계를 기반으로 한 모듈식 규제 방법이 현재로서는 가장 현실성있고 과학적인 방법으로 제안되고 있다. 나노물질의 분류에서 구성원소에 따른 분류를 할 때 탄소기반 나노물질은 유기 나노물질(organic nanomaterials)로서 금속기반의 무기 나노물질(inorganic nanomaterials)과 크게 구분할 수 있다. 탄소기반의 나노물질에는 카본블랙, 풀러렌, 그래핀, 나노다이아몬드, 탄소나노튜브, 탄소나노섬유로 구분할 수 있으며 특히 섬유상의 긴 종횡비를 가지는 탄소나노튜브와 탄소나노섬유는 석면과 같은 발암물질로 의심되고 있기 때문에 위해성평가의 우선순위가 매우 높은 물질 군에 해당된다. 본 연구는 탄소기반 나노물질에 대한 분류, 특성확인법, 특성과 독성의 상관관계 규명, 국내외 나노물질의 규제/비규제 현황 조사, 위해평가를 위한 방법 등을 포함하는 탄소기반 나노물질에 대한 과학적, 정책적 정보들을 제

공하고자 하였다.

3. 연구 내용 및 방법

1) 탄소나노물질의 분류 및 특성 확인

탄소로 구성된 나노물질을 문헌 조사를 통해서 카본블랙, 폴리렌, 그래핀, 나노다이아몬드, 탄소나노튜브, 탄소나노섬유로 구분하였으며 각 물질과 관련된 활용 범위 및 물리화학적 특성 분석 항목을 조사하였다. 특히 OECD 문건에서 나노물질의 분류체계에 관한 문건(예, No. 66 - Categorisation of manufactured nanomaterials)을 분석하여 합리적인 분류체계를 마련하였다. 탄소 나노물질의 물리화학적 특성 및 측정 방법에 대한 조사는 논문과 OECD 문건(예, No. 65 - Physical-chemical properties of nanomaterials: Evaluation of methods applied in the OECD-WPMN testing programme)을 조사하였다. 또한 나노물질의 흡입 발생 전과 발생 후에 측정되어야 하는 항목을 모두 조사하였으며, 이러한 특성분석 방법은 공동연구원인 전기수, 유일재 박사팀이 Leader로 활동하는 ISO 국제표준(ISO TR 23463 “Nanotechnologies-Characterization of carbon nanotube and carbon nanofibre aerosols to be used in inhalation toxicity tests”)과 연계하여 제시하였다.

2) 독성관련 주요 특성인자 발굴

탄소 나노물질의 독성과 관련이 있는 특성인자에 대한 정성적, 정량적 분석을 수행하였다. OECD 문건과 연구논문을 중심으로 각 나노물질의 독성시험자료를 흡입시험, 폐장내 투여 시험(intratracheal instillation, pharyngeal aspiration), 흉강내 투여 또는 복강내 투여 시험, in vitro 시험으로 구분하여 각 시험계에서 수행

된 독성 논문을 전수 조사하고 물리화학적 특성과 독성의 상관성을 제시한 논문을 확보하여 분석하였다.

3) 국내외 규제/비규제 현황 조사

나노물질에 대한 국내외 규제/비규제 현황을 조사하였다. 미국, 유럽, 기타 국가를 중심으로 각국의 규제 현황과 국제암연구소, OECD 등의 국제기구에서의 규제 현황을 조사하였다.

4) 국내 탄소나노물질 위해 평가 체계 제안

탄소나노물질에 대한 유해성·위해성 평가 도구의 제한점 및 조화 방안을 조사하였다. 또한 탄소나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성 분석을 바탕으로 우리나라의 탄소나노물질의 위해도 분류 및 관리 방법에 대한 제안을 수행하였다.

4. 연구 결과

1) 탄소나노물질의 분류 및 특성 확인

에어로졸 생성 이전에 측정되어야 하는 특성 항목으로 크기, 크기 분포, 모양, 뭉침/집합, 표면 면적, 표면전하, 결정 구조, 구성, 순도, 길이와 두께를 제안하였다. 에어로졸 생성 이후에 측정되어야 하는 특성 항목으로는 에어로졸 크기, 크기 분포, mass median aerodynamic diameter, 에어로졸의 뭉침/집합, 에어로졸 모양, 표면 화학, 농도(질량, 수, 표면 면적, 부피)를 제시하였다.

2) 독성관련 주요 특성인자 발굴

탄소나노물질 중에서 버키볼, 그래핀, 나노다이아몬드에 대한 독성 자료는 거의 없으며 물질들이 생체에 염증을 거의 유발하지 않는 비교적 안전한 물질로 판단된다. 카본블랙은 IARC에서 Group 2B

발암물질로 규정된 물질이나 카본블랙의 폐암 가능성은 카본블랙이 표면 활성이 높고 자극성이 높은 물질 때문이라기 보다는 고농도의 카본블랙에 장기간에 노출되는 환경(디젤 배기 가스 등)에 의한 것이며 역학적인 연구를 통해서 제안되고 있는 것이기 때문에 실제로 독성은 크지 않다. 반면에 카본나노튜브와 카본나노섬유는 고중형비와 생체 지속성(biopersistence)을 가지고 있기 때문에 석면과 유사한 발암물질로 의심되고 있으며 특히 Mitsui-7에 대해서는 IARC에서 2014년에 Group 2B 발암물질로 규정하였고 5년 이내에 다른 종류의 카본나노튜브 또는 섬유에 대해서 재평가를 수행하겠다고 발표하였다. 따라서 본 보고서에서는 섬유상 나노물질인 카본나노튜브와 카본나노섬유의 물리화학적 특성과 독성의 상관성에 대해서 중점적으로 분석하였다.

물리화학적 특성을 (1)크기와 모양, (2)구성과 순도, (3)표면활성과 작용기, (4)생체 지속성으로 분류하였다. 크기와 모양과 관련이 높은 세부 항목으로 두께, 길이, 강성(rigidity), 결함(defect)을 제시하였으며 두께가 두꺼울수록(대략 100 nm이하에서), 길이가 길수록(5 μ m 이상), 강성이 높을수록, 결함이 있을수록 독성이 커지는 것으로 제시되었다. 구성과 순도의 관점에서는 일반적으로 탄소나노물질의 순도가 높을 것으로 생각할 수 있으나 실제로는 50~99.9%까지 다양하며 합성과정에서 촉매로 사용하는 다양한 metal이 오염되며 대표적으로 Fe, Co, Ni, Mo 등이 높은 농도로 검출되는 것으로 보고되며 순도가 낮을수록 독성이 높아지는 것으로 제시되고 있다. 표면활성과 관련해서는 탄소나노튜브는 ROS를 생성하기도 하지만 ROS를 제거할 수도 있으며 순도가 낮고 결함이 많을수록 ROS 생성/제거의 특성이 높으며 표면활성이 높아지는 것으로 보고되어있다. 작용기는 COOH기를 적용한 물질은 독성이 감소되며 PEI를 적용하여 양전하를 가지는 물질은 독성이 증가하는 것으로 보고되었으며 명확한 패턴을 제시하기 위해서는 더 많은 연구가필요하다고 생각된다. 생체 지속성관점에서는 탄소나노

물질은 생체지속성이 매우 높은 물질이지만 나노튜브의 직경이 얇은 단일벽탄소나노튜브는 효소/비효소적 방법에 의해서 생체 내에서 변성/분해될 수 있다고 제시되고 있다. 즉 직경이 얇을수록 독성이 낮아질 수 있다고 볼 수 있다.

3) 국내외 규제/비규제 현황 조사

미국, 유럽 등의 선진국에서는 나노물질에 대한 규제를 강하게 하는 방향으로 정책을 수립하고 있으며 현재는 카본나노튜브 등의 대표적인 나노물질을 규제를 진행하고 있으나 향후 나노물질의 범위가 확대될 것은 확실하다. 나노물질의 규제는 물질 단계에서의 규제와 제품 단계에서의 규제가 모두 적용된다. 나노물질에 대한 규제는 개별 나노물질에 대한 규제가 아닌 그룹핑의 방법을 적용한 모듈식 규제 방식을 적용할 가능성이 매우 높기 때문에 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성 연구는 매우 필요하고 적절하다고 생각된다.

4) 국내 탄소나노물질 위해 평가 체계 제안

탄소나노물질에 대한 유해성·위해성 평가 도구의 제한점 및 조화 방안을 조사하였다. 또한 탄소나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성 분석을 바탕으로 우리나라의 탄소나노물질의 위해도 분류 및 관리 방법에 대한 제안을 수행하였다.

5. 활용방안 및 기대성과

1) 탄소나노튜브 유해성에 대한 체계적 정보 구축 및 전달 가능

탄소 기반 나노물질은 매우 다양하며 많은 용량이 생산되고 있다. 특히 우리나라는 탄소나노튜브에 대한 개발과 관련하여 많은 연구비를 투입하여 생산 기술 및 기반 시설이 갖추어져 있으며, 최근

에는 유럽이나 미국으로 수출을 하고 있을 정도로 많이 생산되고 있다. 그러나 기술적 발전에 비하여 탄소기반 나노물질에 관한 독성 정보와 위해평가 관련된 충분한 자료가 부족한 실정이다. 따라서 본 연구의 연구 결과는 탄소나노튜브의 유해성에 관한 체계적인 정보를 구축하는데 기여할 수 있으며 작업자 또는 소비자를 보호하는 과정에 도움이 될 것이다.

나. 사업장에 대한 재해 예방 지원 및 지도에 관한 정부의 책무 이행

산업안전보건연구원은 사업장의 재해 예방을 위한 지원 및 지도의 책무가 있다. 따라서 최근에 국내 작업장에서 생산이 급격하게 증가하고 있는 탄소나노튜브 등의 탄소 기반 나노물질에 관한 위해 정보를 확보함으로써 작업장의 재해 예방을 위한 지도 및 관리가 가능할 것이라고 판단된다.

6. 중심어:

탄소나노물질, 위험정보, 위해평가, 물리화학적 특성

7. 참고문헌 및 연락처

가. 참고문헌

“What is carbon black“. International carbon black Association. Retrieved 2009-04-14.

Ponnamma D, Sadasivuni KK, Grohens Y, Guo Q, Thomas S: Carbon nanotube based elastomer composites - an approach towards multifunctional materials. Journal of Materials Chemistry C 2014, 2:8446-8485.

Moon HK, Lee SH, Choi HC: In vivo near-infrared mediated tumor destruction by photothermal effect of carbon nanotubes. ACS nano 2009, 3(11):3707-3713.

Hammel, E; Tang, X; Trampert, M; Schmitt, T; Mauthner, K; Eder, A; Pötschke, P (2004). "Carbon nanofibers for composite applications". Carbon. 42 (5-6): 1153-8.

Kuempel, Eileen D.; Sorahan, Tom (2010). "Identification of Research Needs to Resolve the Carcinogenicity of High-priority IARC Carcinogens". Views and Expert Opinions of an IARC/NORA Expert Group Meeting, Lyon, France, 30 June - 2 July 2009. IARC Technical Publication No. 42. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 42: 61-72. Retrieved August 30, 2012.

Riediker, M., C. Ostiguy, J. Triolet, P. Troisfontaine, D. Vernez, G. Bourdel, N. Thieriet, and A. Cadène. 2012. Development of a Control Banding Tool for Nanomaterials. Journal of Nanomaterials 2012: 1-8.

Paik, S. Y., D. M. Zalk, and P. Swuste. 2008. Application of a Pilot Control Banding Tool for Risk Level Assessment and Control of Nanoparticle Exposures. The Annals of Occupational Hygiene 52(6): 419-428.

Hansen, B. G., A. G. van Haelst, K. van Leeuwen, and P. van der Zandt. 1999. Priority setting for existing chemicals: European Union risk ranking method. Environmental Toxicology and Chemistry 18(4): 772-779.

나. 연락처

연구책임자: 동아대학교 의약생명공학과 교수 조완섭
연구상대역: 산업안전보건연구원 산업화학연구실 유병욱
T: 042-869-0317 Email: blessyu@kosha.or.kr

차 례

I . 서론	24
1. 연구 필요성	24
2. 연구 목표	30
II . 연구 내용 및 방법	31
1. 연구 내용	31
2. 연구 방법	31
III . 연구 결과	35
1. 탄소나노물질의 분류체계	35
2. 탄소나노물질의 물리화학적 특성 및 측정 방법	39
3. 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성	61
4. 나노물질 국제 규제 현황 개요	125
5. 국외 나노 안전성 관련 규제 기관 및 역할	128
6. 나노 안전성 관련 국내 연구 및 규제 현황	136
7. 나노 안전성 관련 국외 연구 및 규제 현황	157
8. 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황	190
9. 나노물질 위해평가 도구 조사	205
10. 나노물질 위해평가 도구 제안	213
11. 탄소계 나노물질에 대한 GHS 분류	219

IV. 고찰 및 결론	233
-------------------	-----

V. 정책 제언	241
----------------	-----

참고문헌	243
------------	-----

Abstract	257
----------------	-----

표 차례

〈표 1〉 판상형 나노물질의 일차크기 분석 예시	42
〈표 2〉 판상형 나노물질의 분산크기 분석 예시	45
〈표 3〉 Hussain et al. 2016 CNT에서 DLS 적용 실험 예시	46
〈표 4〉 OPC, CPC DMAS를 이용한 직접측정방법	59
〈표 5〉 Gravimetric analysis, Elemental carbon (EC) analysis-Trace metal, analysis, TEM/SEM를 이용한 간접측정방법	60
〈표 6〉 IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT의 종류	63
〈표 7〉 IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT와 asbestos의 물리 화학적 특성의 비교	64
〈표 8〉 IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT의 직경과 독성의 상관관계에 대한 요약	66
〈표 9〉 IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT의 길이와 독성의 상관성 관련 논문 요약	71
〈표 10〉 Kolosnjaj-Tabi et al. (2010)에서 사용한 CNT 종류와 특성	76
〈표 11〉 CNT의 defects가 독성에 미치는 영향에 관한 논문	83
〈표 12〉 Fenoglio et al. (2008) and Muller et al.(2008)에서 제시한 CNT의 defects를 조절하는 실험과 독성에 미치는 영향 연구 요약	85
〈표 13〉 CNT의 surface modification이 독성에 미치는 영향 관련 문헌	89
〈표 14〉 Free radical 생성 측면에서 CNT와 석면섬유의 특성 비교(Fubini et al. 2011)	92
〈표 15〉 CNT의 ROS 생성과 관련된 논문 요약	96
〈표 16〉 CNT의 ROS 생성 능력 또는 antioxidant depletion과 관련된 문헌	107
〈표 17〉 Impurity 보고와 관련된 논문 조사 결과(ENV/JM/MONO(2016)62) (1)	116
〈표 18〉 Impurity 보고와 관련된 논문 조사 결과(ENV/JM/MONO (2016)62) (2)	117

〈표 19〉 CNT 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 물 분산액에서의 soluble metal 농도 분석 결과(unpublished data)	119
〈표 20〉 CNT의 impurity가 독성에 미치는 영향에 관한 문헌 및 결과 요약 ...	119
〈표 21〉 국내 나노 안전성 연구사업 계획과 수행 여부(나노융합산업연구 조합. 2017. 9)	150
〈표 22〉 EPA 나노물질 규제 관련법	159
〈표 23〉 CN T/CNF 노출 최소화를 위한 주체별 권고 사항	166
〈표 24〉 REACH 2018 로드맵 구성	170
〈표 25〉 주요 국가별 나노물질·제품 규제 현황	175
〈표 26〉 제조나노물질 폐기를 위한 연구 분야 및 접근 방법	180
〈표 27〉 호주 노동부/환경부에서의 나노물질의 규제동향	183
〈표 28〉 캐나다 환경부에서의 나노물질 규제동향	187
〈표 29〉 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황 표 (1) (Lynch, I. (2014))	194
〈표 30〉 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황 표 (2) (Lynch, I. (2014))	197
〈표 31〉 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황 표 (3) (Lynch, I. (2014))	201
〈표 32〉 탄소나노튜브의 위해평가 도구 적용(1)	217
〈표 33〉 탄소나노튜브의 위해평가 도구 적용(2)	218
〈표 34〉 플러렌의 물리화학적 특성	219
〈표 35〉 플러렌의 유전독성시험 결과	221
〈표 36〉 플러렌 연구자료의 신뢰성 분석	221
〈표 37〉 SWCNT의 물리화학적 특성(기술문서: No 50. ENV/JM/MONO(2015)13/Part1, Part2)	222
〈표 38〉 특정표적장기 독성 분류 기준	225
〈표 39〉 SWCNT의 위험성 분류	227
〈표 40〉 MWCNT의 물리화학적 특성 분석	228

그림 차례

〈그림 1〉 나노다이아몬드의 응용범위	25
〈그림 2〉 탄소나노튜브의 형태에 관한 모식도	26
〈그림 3〉 단일벽 탄소나노튜브를 이용한 광열치료 예시	27
〈그림 4〉 튜브형 탄소나노섬유와 판상형 탄소나노섬유	27
〈그림 5〉 연구 범위 및 연구 추진 체계	31
〈그림 6〉 탄소나노물질의 독성정보 결과 분류 체계	31
〈그림 7〉 탄소기반 나노물질의 분류에 관한 문헌	35
〈그림 8〉 탄소기반 나노물질의 분류체계	37
〈그림 9〉 판상형 나노물질의 일차크기 분석 예시(그라핀: a, b, c; carbon black: d)	41
〈그림 10〉 CNT의 TEM 사진 예시	43
〈그림 11〉 강성(rigidity) 측정 방법	47
〈그림 12〉 CNT와 CNF의 구조적 차이	62
〈그림 13〉 CNF의 종류	62
〈그림 14〉 CNT의 diameter와 rigidity의 상관성	68
〈그림 15〉 고종횡비 나노물질의 직경과 강성의 상관 관계	69
〈그림 16〉 MWCNT의 직경과 중피세포의 독성 및 발암성에 미치는 영향	70
〈그림 17〉 MWCNT의 길이와 독성의 상관관계	73
〈그림 18〉 MWCNT의 길이와 흉강 염증의 상관관계	74
〈그림 19〉 흉강 림프관으로 이동하는 MWCNT의 길이 기준	75
〈그림 20〉 Kolosnjaj-Tabi et al. (2010) 연구 결과.CNT 복강내 투여 후 간과 비장에서 육아종성 염증의 형성	77
〈그림 21〉 Manshian et al. (2013) 연구 결과. SWCNT의 길이가	

유전독성에 미치는 영향	78
〈그림 22〉 Manshian et al. (2013) 연구 결과. SWCNT의 길이가 유전독성에 미치는 영향	79
〈그림 23〉 Duke et al. (2017) 연구 결과. CNT의 강성이 높을수록 독성(염증)이 높아진다는 결과	80
〈그림 24〉 CNT의 강성과 흉강 염증 유발의 상관성에 관한 모식도 ...	81
〈그림 25〉 CNT의 bending ratio와 SBPL이 흉강 염증에 미치는 영향 연구	82
〈그림 26〉 Muller et al.(2009)에서 사용한 CNT의 특성	86
〈그림 27〉 Muller et al.(2009)에서 CNT 복강내 투여로 발생한 종양 ...	86
〈그림 28〉 Galano et al.(2010)에서 제시한 CNT의 defect 종류 ...	87
〈그림 29〉 Bottini et al. 2006에서 제시한 CNT 작용기가 독성에 미치는 영향 연구	93
〈그림 30〉 Pietroiusti et al. 2011에서 제시한 CNT 작용기에 따르는 embryotoxicity 비교 연구	94
〈그림 31〉 Cheng et al. 2008에서 제시한 SWCNT의 surface modification이 세포내 이동에 미치는 영향 연구	95
〈그림 32〉 CNT의 원소 구성과 impurity	114
〈그림 33〉 CNT의 impurity 측정을 위한 전략(출처: ENV/JM/MONO(2016))	115
〈그림 34〉 CNT 작업장에서 샘플링한 dust에서 검출된 5 종류의 금속 성분의 분포도 (출처: ENV/JM/MONO(2016))	118
〈그림 35〉 각기다른 제조회사에서 제조된 CNT의 잔여 금속물 성분과 양의 차이(Ge et al. 2012)	122
〈그림 36〉 CNT의 impurity 중에서 Fe 농도가 radical 생성이 밀접한 관련이 있다는 논문(Ge et al. 2012)	122

〈그림 37〉 CNT의 impurity가 독성에 미치는 영향에 관한 모식도(Ge et al. 2012)	124
〈그림 38〉 NanoREG의 추진체계 개요	133
〈그림 39〉 ISO/TC229 의 작업반 구성	135
〈그림 40〉 나노제품 안전성 기반구축 사업 개요	148
〈그림 41〉 나노물질 노출제어체계	165
〈그림 42〉 ACEnano에서 제시하는 coceptual toolbox	190
〈그림 43〉 eNANOMapper에서 목표하는 나노물질 설계 및 안전성 평가를 위한 데이터베이스 및 ontology framework 구축 모식도	191
〈그림 44〉 NanoDefine에서 제안된 나노물질 결정 체계도	192
〈그림 45〉 Smartnanotox 프로젝트의 목표 개요	193
〈그림 46〉 ANSES 방법에 따른 Hazard Banding 방법(Riediker et al. 2012)	206
〈그림 47〉 Groso's method에 의한 hazard banding(Groso et al, 2010)	207
〈그림 48〉 NANoREG 접근법의 phase 1 (Dekkers et al, 2016)	209
〈그림 49〉 NanoRiskCat의 인체 위해 영향에 관한 decision tree ...	210
〈그림 50〉 Stoffenmanager Nano의 위해평가 방법	212
〈그림 51〉 나노물질의 위해평가 도구제안	214
〈그림 52〉 탄소나노튜브의 위해평가 도구 적용(안)	215
〈그림 53〉 카본블랙, 플러렌, 나노다이아몬드의 물리화학적 지표인자의 독성관점에서의 중요도 분석	236
〈그림 54〉 그래핀의 물리화학적 지표인자의 독성관점에서의 중요도 분석 ..	237
〈그림 55〉 탄소나노튜브와 탄소나노섬유의 물리화학적 지표인자의 독성관점에서의 중요도 분석	237

용어 요약

AAS : Atomic Absorption Spectroscopy
AO : Adverse Outcome
BET : Brunauer-Emmett-Teller
BIAC : Business and Industry Advisory Committee
CASG : Capability Acquisition and Sustainment Group
CCM : Common Carbon Metric
CEPA : Canadian Environmental Protection Act
CLP : Classification, Labelling and Packaging
CMC : Chemistry, Manufacturing and Control
CMD : Count Median Diameter
CML : Count Median Length
CNF : Carbon Nanofiber
CNT : Carbon Nanotube
CPC : Condensation Particle Counter
CRM : Certified Reference Material
DB : Database
DLS : Dynamic Light Scattering
DMAS : Differential Mobility Analyzers
DSL : Domestic Substances List
DWCNT : Double-Walled Carbon Nanotubes
EC : Elemental Carbon
ECHA : European Chemicals Agency
EDX : Energy-Dispersive X-ray spectroscopy
EEB : European Environmental Bureau
EHS : Environment, Health and Safety
EPA : Environmental Protection Agency
EPR/ESR : Electron Paramagnetic Response/ Electron Spin

Response

FBS : Fetal Bovine Serum

FDA : Food and Drug Administration

FFDCA : Federal Food, Drug, and Cosmetic Act

FFG : Austrian Research Promotion Agency (english version)

FIFRA : Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act

FITC : Fluorescein isothiocyanate

FSANZ : Food Standard Australia New Zealand

GHS : Globally Harmonised System

GSD : Geometric Standard Deviation

GLP : Good Laboratory Practice

HTS : High Throughput Screening

IARC : International Agency for Research on Cancer

ICA : Industrial Chemicals (notification assessment) Act

ICP-MS : Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

ICP-OES : Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy

ICTA : International Center for Technology Assessment

IG/ID raman : Intensity of D-raman peak and G-raman peak

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques

IOS : International Organization for Standardization

IOS/DTR : International Organization for Standardization/Draft
Technical Report

IOS/TC : International Organization for Standardization/Technical
Committees

IOS/TIS : International Organization for Standardization/Treasury
Intelligence Solutions

IOS/TS : International Organization for Standardization/Technical
Specification

IUCLID : International Uniform Chemical Information Data

KC : Korea Certification

KE : Key Event

KISTEP : Korea Institute of S&T Evaluation and Planning

LARC : Long-Acting Reversible Contraception

LD50 : Lethal Dose 50

MIE : Molecular Initiating Event

MMAD : Mass Median Aerodynamic Diameter

MOU : Memorandum Of Understanding

MOUPI : Micro-Orifice Uniform-Deposit Impactor

MPPD model : Multiple-Path Particle Dosimetry model

MSC : Member State Committee

MSDS : Material Safety Data Sheet

MWCNT : Multi-Walled Carbon Nanotube

NBIT : Nano, Bio, Information Technology

NTA : Nanoparticle Tracking Analysis

MEPMs : Nanotechnology-Enabled Medical Products

NGO : Non-Governmental Organization

NICNAS : National Industrial Chemicals Notification and Assessment
Scheme

NIOSH : National Institute for Occupational Safety and Health

NMIA : National Measurement Institute, Australian Government

NMs : Nanomaterials

NNI : National Nanotechnology Initiative

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level

NSNR : New Substances Notification Regulations

NTA : Nanoparticle Tracking Analysis

OPC : Optical Particle Counter

OSHA : Occupational Safety and Health Administration

PDCA : Plan-Do-Check-Act

PEI : Polyetherimide

PMN : Pre Manufactured Notices

QSAR : Quantitative Structure Activity Relationship

REACH : Registration, Evaluation, Authorisation & Restriction of
Chemicals

REL : Recommend Exposure Limit

RES : Respiratory

RfD : Reference Dose

RoHS : Restriction of Hazardous Substances

ROS : Reactive Oxygen Species

SAXS : Small Angle X-ray Scattering

SBPL : Static Bending Persistence Length

SDoC : Supplier's Declaration of Conformity

SEM : Scanning Electron Microscopy

SEM-EDX : Scanning Electron Microscopy - Energy-Dispersive
X-ray spectroscopy

SIEF : Substance Information Exchange Forum

SMPS : Scanning Mobility Particle sizer Spectrometer

SNAC : Scaphoid Nonunion Advanced Collapse

SMUR : Significant New Use Rules

SOP : Standard Operating Procedure

SWCNT : Single-Walled Carbon Nanotubes

TEM : Transmission Electron Microscopy

TEM-EDX : Transmission Electron Microscopy - Energy-Dispersive
X-ray spectroscopy

TEOM : Tapered Element Oscillating Microbalance

TG : Test Guideline

TGA : Thermogravimetric analysis

TSCA : Toxic Substances Control Act

TUAC : Trade Union Advisory Committee

UNEP : United Nations Environment Programme

USD : United States Dollar

WG : Working Group

WP : Work Package

WPMN : Working Party on Manufactured Nanomaterials

WPRPW : Working Party on Responsible Business Conduct

XRD : X-Ray Diffraction

I. 서론

1. 연구 필요성

1) 탄소나노물질의 종류 및 기술적 응용 범위

탄소나노물질은 형태에 따라서 구형, 선형, 판상형으로 구분할 수 있으며 구형은 카본블랙, 버키볼, 나노다이아몬드 등이 있으며, 선형으로는 카본나노튜브(단일벽, 이중벽, 다중벽으로 구분)와 카본나노섬유[튜브형(tubular type), 판상형(platelet type)으로 구분]가 있고, 판상형으로는 그래핀(층판의 수로 구분 가능)이 있다.

(1) 카본블랙

카본블랙 나노입자는 탄소로 구성된 구형의 입자상 물질로서 산업적으로 타이어의 충진제나 색소로 활용되며, 디젤 배기 연소 가스의 입자상 물질의 주요 구성성분으로서, 디젤 배기 나노입자의 모델 물질로도 사용된다. 카본블랙의 전 세계 총 생산량은 2006년에 팔백일십만 톤(International carbon black Association, 2009)이었으며 2016년에는 일천삼백구십만 톤(약, 1백4십억 달러)이 소모된 것으로 추산되고 있다. 카본블랙 사용의 약 70%는 색소와 자동차 타이어 충진제로 활용되며 약 20%는 벨트, 호스, 고무제품 등에 활용된다.

(2) 버키볼

버키볼은 탄소 60개가 육각형 20개와 오각형 12개로 이루어진 축구공 모양의 나노물질로서 1985년 처음 합성이 시도되었다. 개발자인 크로토와 컬, 스몰리는 이러한 공로를 인정받아 1996년에 노벨 화학상을 수상하였

고, 개발 이후에 버키볼은 의약학 분야에서 심도있게 연구되고 있으며, 대표적으로 MRI와 X-ray 조영제로 활용하거나 광열치료(photodynamic therapy)에 활용하거나 약물 또는 유전자 전달체로 활용하는 것에 관한 연구가 진행되고 있다. 버키볼은 아직 대량생산은 진행되지 않고 있으며, 연구 수준에서 합성되며 주로 의약학 분야에서 연구되고 있다.

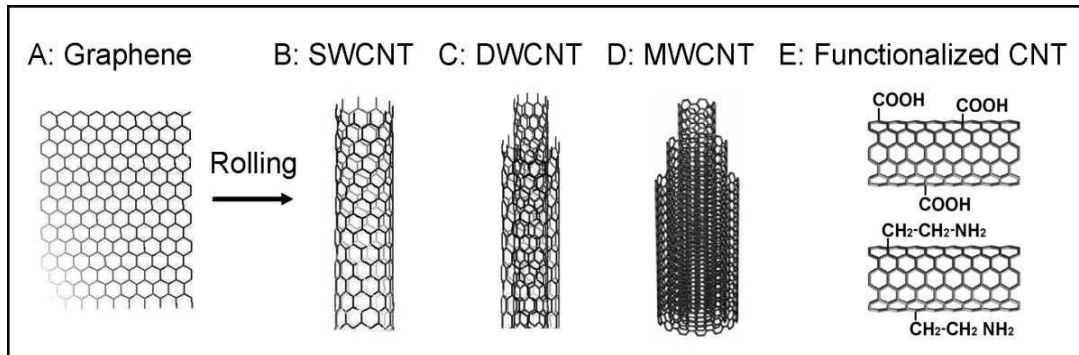
(3) 나노다이아몬드

나노다이아몬드는 수 나노미터에서 수십 나노미터 수준의 크기를 가지는 구형 나노입자로서 탄소로 구성되어 있다. 나노다이아몬드는 1963년에 구소련 과학자가 핵폭탄의 폭발에 의해서 생성됨을 최초로 발견하였으며, 현재까지도 화약의 폭발법이 주요 합성법으로 활용되고 있다. 안정성이나 경도 등을 이용하여 연마제 등으로 활용이 가능하지만 그 외에도 화장품에 이용하거나 전자제품 등에 응용을 시도하고 있다(그림 1). 나노다이아몬드의 생산량은 현재 집계될 정도로 많지는 않으나 응용에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.



[그림 1] 나노다이아몬드의 응용범위

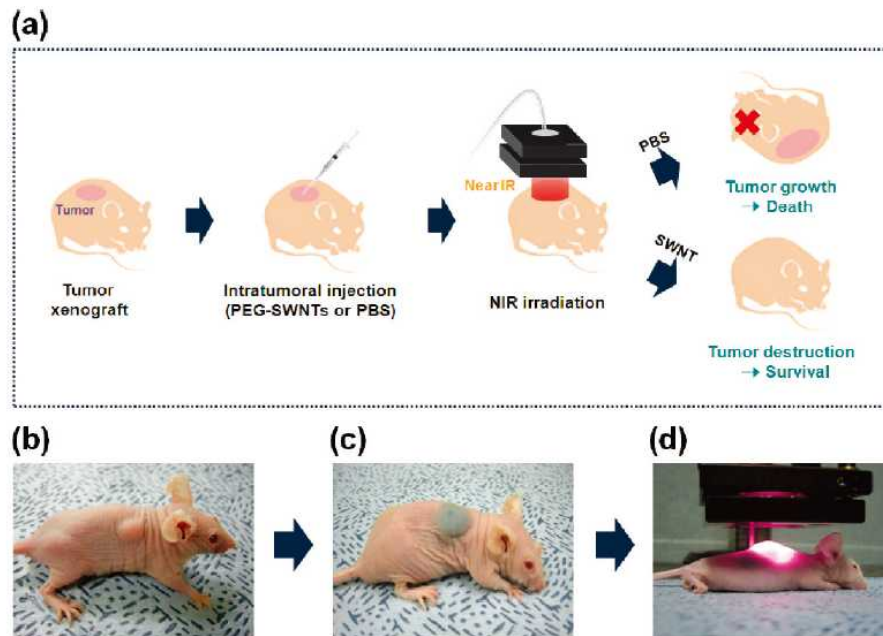
(4) 탄소나노튜브



[그림 2] 탄소나노튜브의 형태에 관한 모식도(Ponnamma, et al. 2014)

탄소나노튜브는 단일벽(SWCNT), 이중벽(DWCNT), 다중벽(MWCNT) 탄소나노튜브 등으로 구분할 수 있으며 탄소나노튜브는 공통적으로 튜브 형태의 긴 섬유 모양의 구조적 특성을 가지고 있다(그림 2). 탄소나노튜브는 전기적, 광학적 특성을 포함하는 우수한 물리화학적 특성으로 인해서 산업뿐만 아니라 바이오 분야까지 다양한 분야에 연구되고 있다(그림 3). 화학물질의 경우 동일한 CAS 번호를 가지는 물질은 모두 동일한 물질로 인정되지만 나노물질은 제조방법이나 형태에 따라서 서로 다른 특성을 보이기 때문에 CAS번호로 구분이 현재는 불가능 하다. 이러한 점이 나노물질의 독성에 영향을 주는 물리화학적 특성인자의 발굴과 이를 이용한 예측시스템의 개발에 관한 요구를 증가시키고 있다.

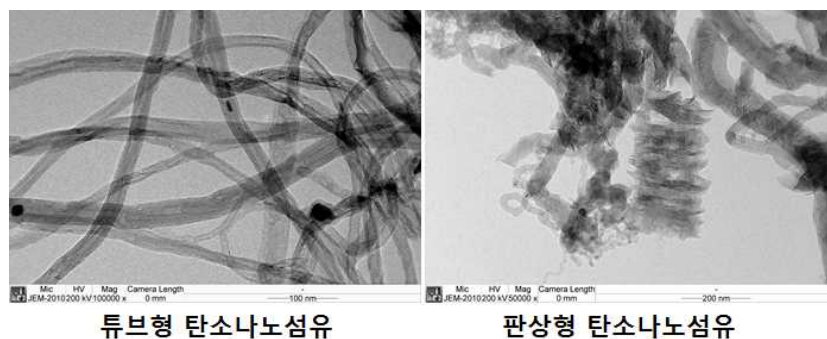
탄소나노튜브는 3D 프린팅, 접착제, 우주공학, 자동차, 코팅, 복합소재, 전자기기, 에너지 저장장치, 필터, 윤활제, 오일과 가스, 고무와 타이어, 센서, 스마트 의류소재 등 매우 다양한 활용성을 가지고 있으며, 2016년에 3.43 Billion USD, 2022년에 8.70 Billion USD의 시장이 예측되고 있다.



[그림 3] 단일벽 탄소나노튜브를 이용한 광열치료 예시(Monn HK, et al. 2009)

(5) 탄소나노섬유

탄소나노섬유는 튜브형 탄소나노섬유와 판상형 탄소나노섬유로 구분할 수 있다(그림 4). 탄소나노섬유는 우수한 열역학적 특성, 전기적 특성, 자기적 특성, 기계적 특성을 가지고 있으며, 복합물질에 첨가제로 활용되고 있다(Hammel, et al. 2004).



[그림 4] 튜브형 탄소나노섬유와 판상형 탄소나노섬유

2) 탄소나노물질의 안전성에 관한 우려

(1) 카본블랙

카본블랙은 국제암연구소(IARC)에서 폐암을 유발하는 것과 관련해서 인체 역학조사를 그 근거로 인체 발암의심물질(Group 2B)로 규정하였다. 동물실험에서는 랫드를 이용한 흡입시험과 기관지내 삽입법(intratracheal instillation)에서 카본블랙의 노출에 의해서 폐암의 증가가 관찰되었으나 마우스를 이용한 실험에서는 폐암의 증가가 관찰되지 않았다(Kuempel, et al. 2010).

(2) 버키볼

버키볼에 관한 안전성 자료는 부족하지만 전체적인 독성은 비교적 낮은 것으로 보고되고 있다. 개발되는 대부분의 버키볼은 주로 의약학 분야에 응용되고 있기 때문에 독성은 비교적 낮은 것으로 보고되고 있다.

(3) 나노다이아몬드

안전성에 관한 연구는 거의 없으며, 추가적인 연구가 필요하다.

(4) 탄소나노튜브

탄소나노튜브에 관한 안전성 우려는 탄소나노튜브가 석면과 유사한 물리화학적 특성(고종횡비, 높은 생체 지속성, 높은 강성 등)에 기반하고 있다. 탄소나노물질 중에서 가장 안전성에 대한 우려가 큰 물질이며 독성시험 또한 많이 수행되었기 때문에 본 보고서에서 정리하게 되는 핵심 물질이라고 판단된다.

(5) 탄소나노섬유

탄소나노섬유에 관한 안전성은 탄소나노튜브와 유사할 것으로 예측되나 관련 연구는 매우 부족한 실정이다. 국제암연구소에서는 탄소나노섬유

에 대한 안전성 평가를 탄소나노튜브와 같이 진행할 것으로 알려져 있다. 즉 고종횡비 나노물질에 대한 모듈식 규제(독성과 관련성이 있는 물리화학적 특성 지표의 발굴을 통한 고종횡비 나노물질 전체에 대한 규제)를 진행할 가능성이 매우 높다. 이러한 관점에서 본 연구과제에서 수행하고자 하는 나노물질의 특성-독성의 상관관계 분석과 위해평가 기술 개발은 매우 시의적절하고 필요하다고 판단된다.

3) 연구의 필요성

탄소나노물질은 화학성분, 모양, 크기, 표면 처리 등에 따라 유해성이 달라질 수 있으나 여러 물리화학적 특성 중 유해성과 관련이 있는 특성이 체계적으로 평가되어 정보 제공이 이루어지고 있지 않다. 이에 따라 국내·외 문헌조사, 국외의 탄소나노물질 관리현황, 유해성·위해성 평가 도구 및 관련 규제 등을 검토 및 조사하여 탄소나노물질의 독성정보의 체계적 정보 구축 및 관리가 필요하다(※ 관련근거: 「제2차 나노안전관리 종합계획 및 제4차 산재예방 5개년 계획」에 의거 추진). 이러한 정보 및 관리 체계 구축을 통해서 탄소나노물질에 대한 유해성 정보를 적절하게 평가하여 유해성이 우려되는 탄소나노물질이 생산되지 않도록 할 필요가 있다(※ 관련근거: 안전보건 혁신 종합계획-1. 안전보건 대응 능력 강화-〈4〉 선제적 안전보건 환경 변화 대응-② 새로운 재해발생요인 관리 강화(2-4-2-8)).

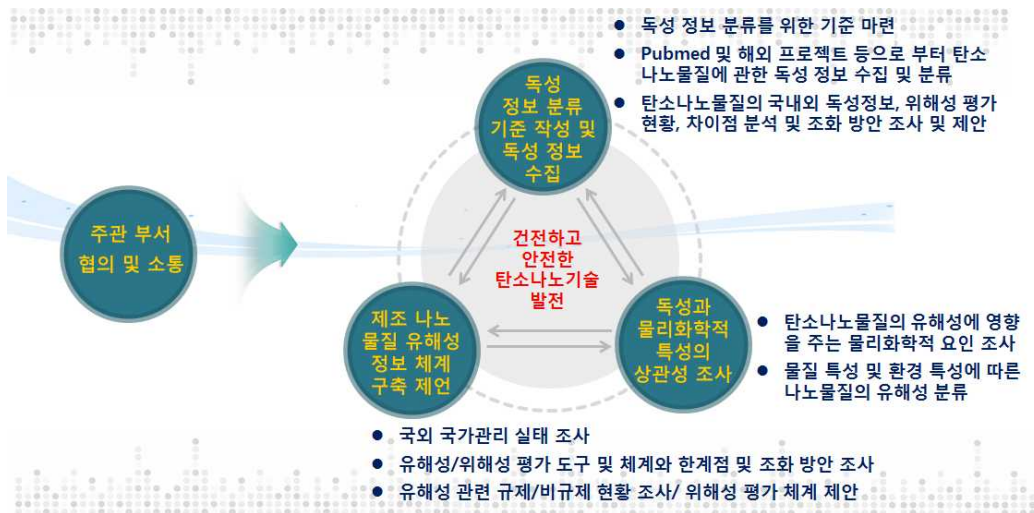
2. 연구 목표

- 탄소나노물질 유해성에 영향을 미치는 물리화학적 요인 조사
- 물질 특성 (물리·화학적 특성 등) 및 환경 특성(공기 중 노출 특성 등)에 따른 탄소나노물질 유해성 분류
- 탄소나노물질의 국내외 독성 정보, 위해성 평가 현황, 차이점 분석 및 이에 따른 조화 방안 조사 및 제안
- 국외 탄소나노물질 화학물질 국가관리 실태 조사
- 국외 탄소나노튜브 유해성·위해성 평가 도구 및 체계 조사
- 국외 탄소나노튜브 유해성·위해성 평가 도구의 제한점 및 조화 방안 조사
- 국외 탄소나노물질 유해성관련 규제/비규제 현황 조사
- 국내 탄소나노튜브 위해성 평가 체계 제안

II. 연구 내용 및 방법

1. 연구 내용

본 연구의 전체적인 연구내용의 범위는 다음 그림과 같다.



[그림 5] 연구 범위 및 연구 추진 체계

본 연구에서는 탄소나노물질에 대한 과학적인 위해평가를 수행하기 위해서 다음의 내용에 관해서 조사 연구를 수행하였다.

1) 탄소나노물질의 분류 체계 마련

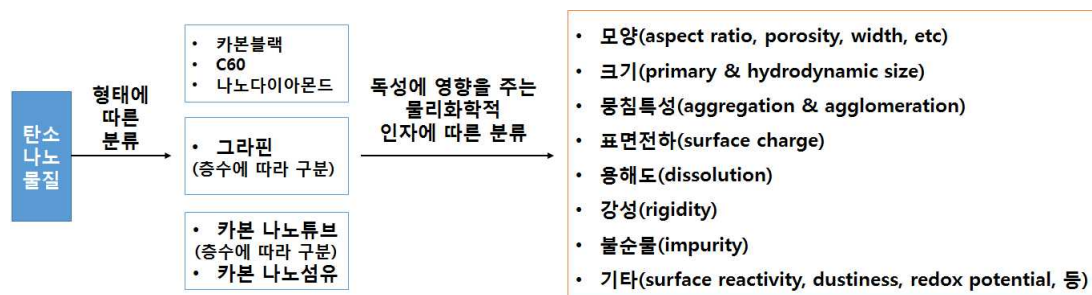
탄소나노물질을 물리화학적 특성(예, 모양, 크기 등)에 기반하여 분류하였다.

2) 탄소나노물질 물리화학적 특성 및 측정 방법에 관한 조사

탄소나노물질의 기본적인 특성분석 항목과 측정 방법에 대해서 조사하였다. OECD 문건을 중심으로 조사하고 논문, 보고서 등의 문헌 조사를 수행하였다.

3) 물리화학적 특성과 독성의 정성적/정량적 상관관계 조사 및 분석

OECD 문건과 Pubmed 등을 통한 문헌 조사를 수행하며 연구 데이터의 신뢰성을 위해서 SCI(E)급 논문을 위주로 분석하였다. 논문의 경우 탄소나노물질에 대한 독성시험 결과를 Pubmed를 통해서 전수 조사하였으며, 그 중에서 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성을 제시한 논문에 대해서 집중 분석을 수행하였다. 또한 모든 관련 논문은 내용을 1-2장으로 간략하게 요약 정리하여 별첨으로 제공하였다.



[그림 6] 탄소나노물질의 독성정보 결과 분류 체계

4) 탄소나노물질의 유해성/위해성 분류

물질 특성(물리·화학적 특성 등) 및 환경 특성(공기 중 노출특성 등)을 포함한 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성 분석 결과를 수행하였고, 이를 바탕으로 탄소나노물질의 유해성/위해성을 분류하였다(그림 6).

5) 탄소나노물질의 위해 평가에 관한 국내외 현황을 파악

탄소나노물질의 위해 평가에 관한 국내외 현황을 파악하였고 우리나라 현황에 맞는 조화 방안을 조사하고 제안하였다. 이를 위해서 국외 탄소나노물질 독성 정보 체계 관련 프로젝트 (e.g EU Horizontal 2020, 독일 NanoCare 4.0, 벨기에 To2DeNano 등)에 관한 정보를 수집하였고, 이러한 자료를 바탕으로 우리나라에서 필요한 연구의 제안 또는 국내의 탄소나노물질 위해평가에 적용 가능한 부분에 대한 제언을 하였다.

6) 국외 탄소나노물질의 국가관리 실태를 조사

국외 탄소나노물질의 국가관리 실태를 조사하였다. 미국, EU, 프랑스, 벨기에, 덴마크, 독일, 네덜란드, 노르웨이, 스위스, 뉴질랜드, 영국, 캐나다, 호주, 대만의 나노물질 규제 현황을 파악하였다.

7) 국외 탄소나노튜브 유해성·위해성 평가 도구 및 체계를 조사

국외 탄소나노튜브 유해성·위해성 평가 도구 및 체계를 조사하기 위해서 OECD의 나노안전관련 문건과 논문 조사, 그리고 선진국의 나노물질 유해성 평가 관련 프로젝트를 조사하여 탄소나노튜브의 유해성 및 위해성 평가의 위한 도구 및 체계를 조사하였다.

8) 국외 탄소나노튜브 유해성·위해성 평가 도구 제한점 및 조화 방안 조사

국외 탄소나노튜브 유해성·위해성 평가 도구의 제한점 및 조화 방안을 조사하였다. 분석된 탄소나노튜브에 관한 외국의 유해성 및 위해성 평가 도구에 대한 전문가 고찰을 통한 평가 도구의 장단점 및 한계점을 파악하고 국내 실정에 적용할 수 있는 방안을 마련하였다.

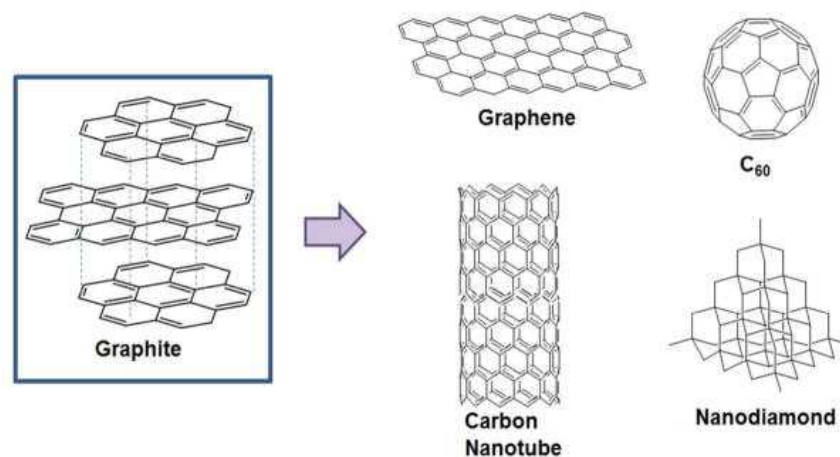
9) 국외 탄소나노물질 유해성관련 규제/비규제 현황을 조사하였다.

10) 국내 탄소나노물질 위해성 평가 체계 제안

우리나라의 탄소나노물질에 대한 위해성 평가 체계를 제안하였다.

Ⅲ. 연구 결과

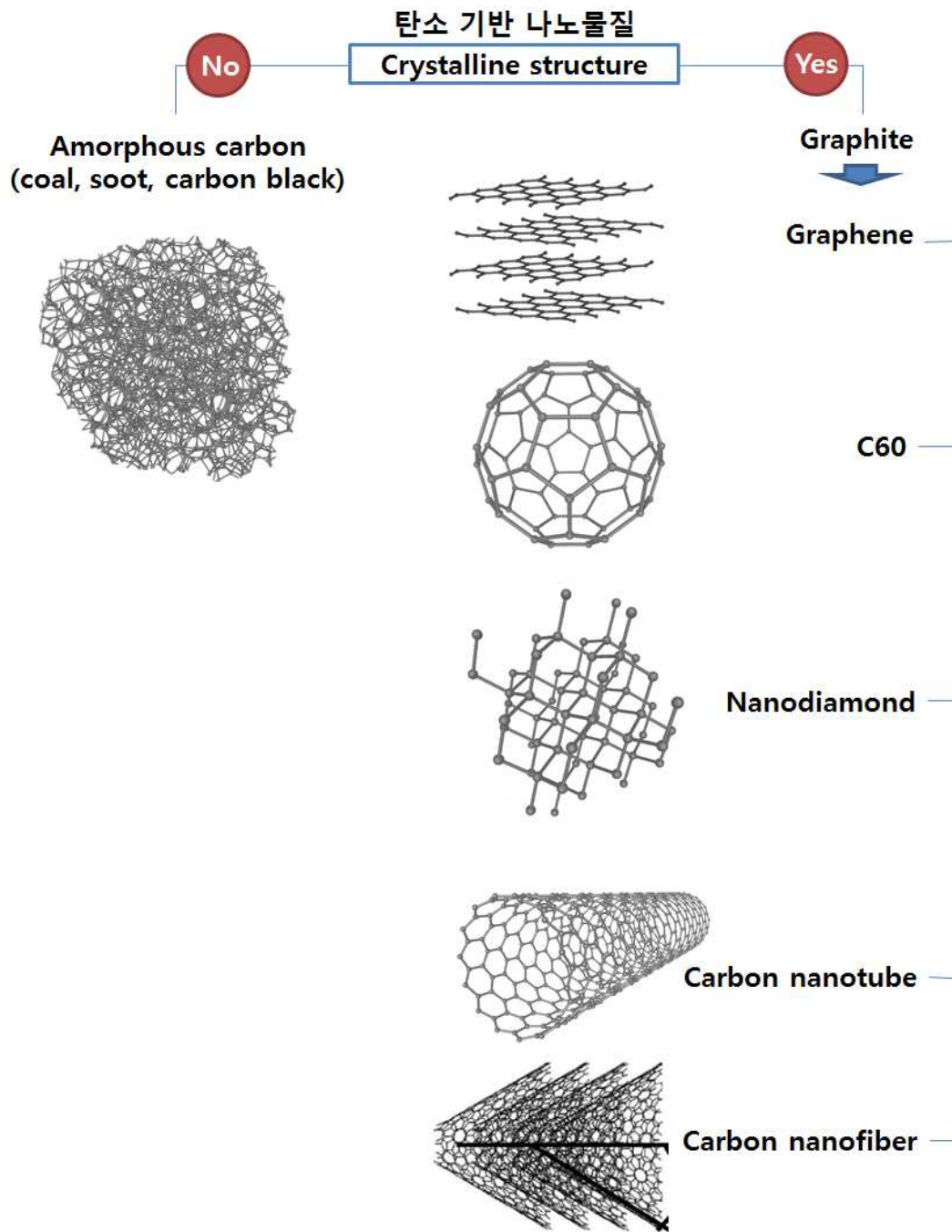
1. 탄소나노물질의 분류체계



[그림 7] 탄소기반 나노물질의 분류에 관한 문헌(Cha C, et al. 2013)

- 탄소나노물질은 카본블랙, 풀러렌, 나노다이아몬드, 그래핀, 탄소나노튜브, 탄소나노섬유로 분류할 수 있다(그림 7).
- Graphite는 가장 역사가 오래되고 널리 사용되는 자연계의 물질로서 전통적으로는 연필심에 사용되어오고 있으며 현재는 매우 다양한 합성 방법이 개발되어 다양한 종류의 응용이 가능하다. 대표적인 응용범위로는 금속합금, 배터리 전극, 윤활유 등에 사용된다. 합성 graphite의 소비에 대한 요구가 매우 높기 때문에 최근에 많은 양이 합성되어오고 있다.
- Graphite의 특이적인 물리화학적 특성은 sp^2 carbon의 hexagonal arrays의 층이 여러 층으로 이루어져 있기 때문이다.

- 나노기술의 발달로 인해서 graphite는 다양한 종류의 탄소기반 나노물질을 합성하는 starting material로 사용된다. 이러한 물질에는 단일벽 탄소나노튜브와 다중벽 탄소나노튜브, 그리고 풀러렌, 나노다이아몬드, 그래핀이 포함된다.
- Carbon black은 amorphous carbon에 해당하며 탄소나노물질 중에서 crystalline 구조를 가지고 있지 않는 물질을 의미한다. Coal, soot, carbon black은 amorphous carbon을 비공식적으로 의미하는 용어로 사용된다.
- 카본 기반 나노물질을 crystalline structure를 가지는지를 기준으로 carbon black은 결정형을 가지고 있지 않는 물질이며 crystalline structure를 가지고 있는 물질은 graphite를 기반으로 구성되어있다.
- Graphite를 기반으로 구성된 물질에는 여러층의 graphite 층으로 구성된 graphene이 있으며 C60이라는 구형의 buckyball이 있고, 다이아몬드 결정 구조를 가지면서 graphite 구조와 유사한 구조를 가지고 있는 nanodiamond, graphite가 말려서 튜브형태를 가지는 물질을 carbon nanotube, graphite가 고깔 모양 등의 구조를 가지고 있는 carbon nanofiber 등이 있다(그림 8).
- 지금까지 산업에서 주로 사용되고 작업자나 소비자에 노출될 가능성이 높은 탄소기반 나노물질로는 carbon black, graphene, carbon nanotube가 있으며 독성연구도 비교적 많이 진행되었다.
- 그러나 그 외의 다른 종류의 탄소기반 나노물질에 대해서는 실험실 수준에서 대부분 연구가 진행되고 있으며 독성연구도 매우 부족한 실정이다.
- 나노물질은 동일한 나노물질이라도 약간의 물리화학적 특성의 변화(예, 크기, 모양, 길이, 표면화학 등)에 의해서도 매우 다른 독성을 나타낼 수 있기 때문에 개별적인 나노물질에 대한 독성실험으로는 미래 나노물질에 대한 안전성을 담보할 수 없다.



[그림 8] 탄소기반 나노물질의 분류체계

- 따라서 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성 연구를 통한 나

노물질의 위해 인자로 작용할 수 있는 주요한 물리화학적 특성을 규명하고 이를 바탕으로 in silico 독성시험법의 개발을 통한 나노물질의 독성 예측 및 개발할 때부터 안전한 나노물질의 개발 (safety-by-design approach)을 할 수 있도록 연구를 하는 것이 가장 바람직한 방향이 될 수 있다.

2. 탄소나노물질의 물리화학적 특성 및 측정 방법

- 탄소나노물질의 물리화학적 특성 측정법과 관련해서 본 보고서에서는 2017년 산업안전보건연구원 보고서(연구책임자: 양성익)와 나노물질의 흡입독성시험에서 측정되는 항목을 검토하여 제시하였다.
- 또한 OECD에서 발간한 나노물질의 물리화학적 특성 및 측정 방법에 관한 문헌 자료를 조사하여 가장 합리적인 측정 항목을 도출하도록 하였다.

탄소나노물질에 대한 물리화학적 특성 분석과 관련된 OECD 문헌

1. Test No. 318: Dispersion Stability of Nanomaterials in Simulated Environmental Media
2. No. 82 - Strategies, Techniques and Sampling Protocols for Determining the Concentrations of Manufactured Nanomaterials in Air at the Workplace
3. No. 79 - Strategy for Using Metal Impurities as Carbon Nanotube Tracers
4. No. 65 - Physical-chemical properties of nanomaterials: Evaluation of methods applied in the OECD-WPMN testing programme
5. No. 63 - Physical-chemical parameters: measurements and methods relevant for the regulation of nanomaterials

- 나노물질의 물리화학적 특성분석은 크게 흡입시험 이전에 측정되어야 하는 특성분석 항목과 흡입시험 이후(또는 작업장 환경)에 측정되어야 하는 특성 분석 항목으로 구분할 수 있다.

1) 탄소나노물질의 흡입 발생 이전 측정하는 물리화학적 특성

- OECD에서는 다중벽탄소나노튜브, 은나노, 이산화규소, 이산화세륨, 산화아연, 이산화티타늄, 플러렌, 텐드리머, 금나노, 나노클레이를 대표 나노물질로 선정하고 나노물질이 특성분석 항목 14가지와 측정 방법에 관하여 제시하였다.
- 14가지로는 나노물질의 (1)화학조성, (2)응집/집적, (3)입자크기 및 분포, (4)결정상, (5)분진성, (6)입자 표면적, (7)수용해도/분산 가능성, (8)제타전위, (9)광촉매 활성, (10)다공성, (11)산화환원전위, (12)라디칼 형성 능력, (13)결정상 크기, (14)계면화학이 있다. 최근에는 물/옥탄올 분배 계수 및 부피 밀도에 대한 특성분석이 시험항목으로 추가되었으나 나노물질에 대한 적용 가능성 여부는 평가되지 않았다.
- 그러나 나노물질에 대한 위의 14가지의 평가항목을 모두 평가하는 것은 비효율적인 부분이 많고, 고종횡비 나노물질에서는 특별히 더 고려해야되는 사항들이 있다고 판단된다.
- 이러한 내용들을 기반으로 본 보고서에서는 나노물질을 흡입발생시키기 전에 또는 in vitro 실험이나 intratracheal instillation, pharyngeal aspiration, intraperitoneal injection 등의 나노물질을 흡입 발생하지 않는 실험에서 반드시 필요한 물리화학적 특성 항목을 제시하고자 하였다.
- 따라서 탄소기반 나노물질에서 발생 전에 측정하여야 하는 물리화학적 특성 분석 항목은 다음과 같다.
 1. 크기와 크기분포(일차크기 & 분산액에서의 크기)
 2. 모양[종횡비(aspect ratio)와 강성(rigidity) 포함]
 3. 응집/집적
 4. 표면 면적
 5. 표면전하
 6. 결정성 구조

7. 계면화학
8. 화학조성, 순도, 불순물(impurity)
9. 라디칼 생성 능력

(1) 크기와 크기분포(일차크기 & 분산액에서의 크기)

: 탄소나노물질의 크기에는 일차크기(물질 자체의 크기)와 분산액 등 동물이나 세포에 투여하는 상황에서 물질의 크기를 확인하는 과정이 필요하다.

가) 일차크기: 탄소나노물질의 일차크기는 TEM, SEM으로 확인한다. 관련 문헌은 ISO/TS 10797, 2012와 ISO/TS 10798, 2011이 있다. 일차크기에서 측정되어야하는 항목으로는 탄소나노물질의 분류에 따라서 조금씩 다르다(그림 9).



[그림 9] 판상형 나노물질의 일차크기 분석 예시(그라핀: a, b, c;

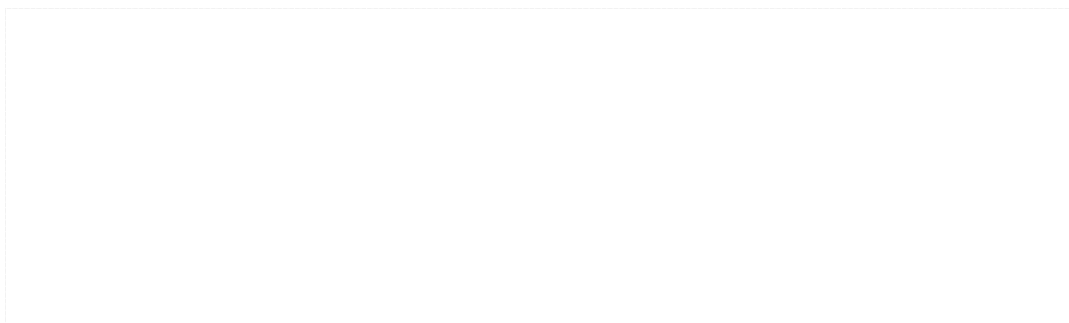
carbon black: d)(Roberts JR, et al. 2016)

- ① 구형의 carbon black, graphene, nanodiamond의 경우에는 직경 (diameter)을 측정하여야 한다.
- ② 판상형의 graphene의 경우에는 층의 수와 직경을 측정하여야 한다. 층수의 측정에는 XRD를 활용할 수 있다. 그러나 매우 얇은 그래핀의 특성 상 층 수를 정확하게 측정하는 것은 거의 불가능하다. 따라서 대부분의 연구에서는 층수의 범위를 제시하고 있다[표 1].



[표 1] 판상형 나노물질의 일차크기 분석 예시(그래핀의 층수를 범위로 제시함)(Schinwald A, et al. 2012)

- ③ 섬유상 탄소나노물질인 CNT와 CNF의 경우에는 직경과 길이를 측정하여야 한다. 그러나 길이가 길고 구불구불한 물질의 경우에는 물질의 길이를 측정하는 것이 어려우며, 이러한 경우에 길이에 대한 대략적인 정보(예, 몇 μm 이상)를 제공하는 것이 일반적이다. Schinwald A, et al. 2012; Donaldson K, et al. 2006; Poland CA, et al. 2008 논문과 IARC의 석면에 대한 aspect ratio 데이터를 바탕으로 aspect ratio 3:1 이상과 길이 $5\mu\text{m}$ 이상을 석면과 유사한 병리기전을 가지는 물질로 제시하고 있기 때문에 길이에 대한 대략적인 정보를 제공하더라도 이 물질이 이러한 두 가지 수치와 어떤 관계가 있는지에 대한 정보는 제공할 수 있어야 한다. 직경의 측정은 TEM이 SEM 보다 정확한 반면에 길의 측정은 SEM이 TEM보다 정확하다. 특히 긴 섬유상 나노물질의 경우 저배율의 SEM 측정을 통해서 한 가닥의 길이를 측정할 수 있으나 길이를 정확하게 측정하지 못하는 경우가 흔하다.



[그림 10] CNT의 TEM 사진 예시(Ema M, et al. 2016)

나) 분산액에서의 크기: 탄소나노물질을 in vitro 실험이나 흡입시험을 제외한 다양한 in vivo 시험을 수행할 때 나노물질은 생리식염수 기반의 물분산액 상태로 나노물질을 투여하게 된다. 탄소기반 나노물질은 소수성이 강하여 물 분산이 잘 되지 않는 경우

가 대부분이어서 다양한 분산제를 추가적으로 사용하는 경우가 대부분이다.

일반적으로 사용하는 분산제로는 detergent 계열 물질이나 폐장내 투여의 경우 surfactant 성분인 phospholipids 물질, 혈청(세포배양의 경우 FBS, 동물 실험의 경우 동일 동물 종의 열처리를 수행한 혈청), 또는 알부민 단백질을 이용한다. 분산제로 사용하는 것에서 중요하게 고려해야 되는 사항은 용매 대조군에서 염증이나 면역학적 반응을 유도하지 않아야 되고 나노물질의 물리화학적 특성의 변화를 최소화 하거나 실제 인체에 노출되는 과정에서 노출되는 성분들을 모사한 조건인지에 대해서 고려하여야 한다.

분산제를 사용하여 나노물질을 분산한 경우 분산제 자체가 물질 크기로 검출되는 경우가 발생할 수 있기 때문에 이에 대한 확인이 필요하며, 분산제 자체가 DLS에서 물질 크기로 검출되는 경우에는 분산제에 의한 간섭 현상을 배제할 수 있는 방법의 고려가 필요하다.

또한 분산액 상의 나노물질에 대한 안정성에 대해서도 고려하여야 한다. 즉 분산제를 이용하여 나노물질을 분산하였더라도 시간이 지남에 따라서 다양한 정도로 다시 뭉침이 발생하거나 물리화학적 특성이 변화될 수 있기 때문에 경시적으로 나노물질의 안정성에 대한 정보를 확보 및 제공하는 것이 바람직하다.

분산액에서의 나노물질의 크기 분석에는 물질의 모양에 따라서 구형, 판상형, 섬유상 물질로 구분하여 고려하여야 한다.

- ① 구형 나노물질: carbon black, buckyball, nanodiamond처럼 구형의 탄소나노물질은 dynamic light scattering(DLS)을 수행하는 것이 바람직하다.
- ② 판상형 나노물질: graphene과 같은 판상형 나노물질에 대한 분산 상태에서의 크기와 크기 분포를 측정하는 방법은 몇몇 논문에서 제시되고 있다. 은 광학현미경을 이용하여 분산 상태의 물질 크기와 크

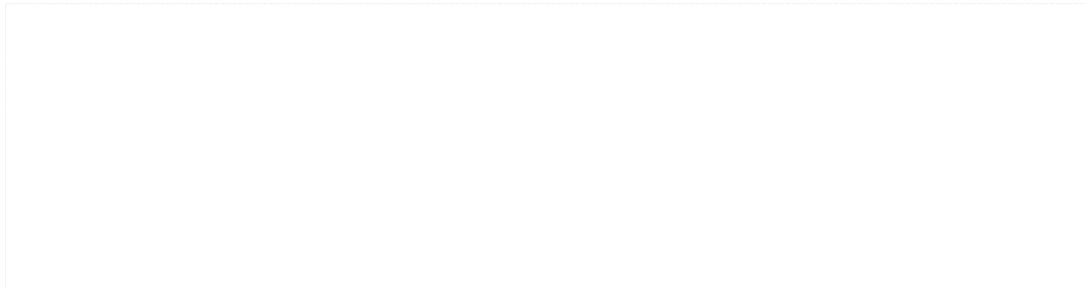
기 분포를 측정한다. Schinwald A, et al. 2012은 광학현미경을 이용하여 크기와 크기 분포를 측정하였다. 대략적인 방법으로는 나노물질 분산액을 만든 후 분산액과 glycerol을 1:1로 희석하여 유리슬라이드 위에 올리고 커버글라스를 덮으면 glycerol에 의해서 분산액의 움직임이 매우 제한되기 때문에 여러 컷의 사진(배율은 물질 크기에 따라서 조절함)을 찍은 뒤에 소프트웨어를 이용하여 물질의 크기 분포를 측정한다. graphene의 크기 분포는 영역별(예, 5 μm 이하, 5~10 μm , 10~15 μm , 15~20 μm 등)로 크기 분포에 대한 퍼센트를 제시한다(표 2).



[표 2] 판상형 나노물질의 분산크기 분석 예시(Schinwald A, et al. 2012)

- ③ 섬유상 나노물질: CNT나 CNF와 같은 섬유상 나노물질에 대해서 분산 상태에서의 크기와 크기분포를 측정하는 것이 매우 어렵고 정확성이 낮은 분야 중의 하나이다. DLS를 이용하여 측정하는 논문(예, Hussain et al. 2016)이 있을 수 있으나 DLS는 구형처럼 뭉쳐져 있는 섬유상 물질의 측정에는 활용될 수 있으나 개별 섬유상 물질로

분산된 탄소나노물질의 분산 크기를 측정하는 것은 적절하지 않다. 그 이유는 섬유상 물질은 어떤 위치로 DLS의 laser에 노출되느냐에 따라서 diffraction이 크게 달라질 수 있기 때문이며 데이터 값이 직경으로만 제시되기 때문에 구형의 물질로 기본적으로 인식한다. 그러나 이러한 경우에도 DLS를 사용한다면 분산을 하였을 때 전체적인 분산성의 개선 정도에 대한 정보는 제공할 수 있다(표 3)(Hussain et al. 2016).



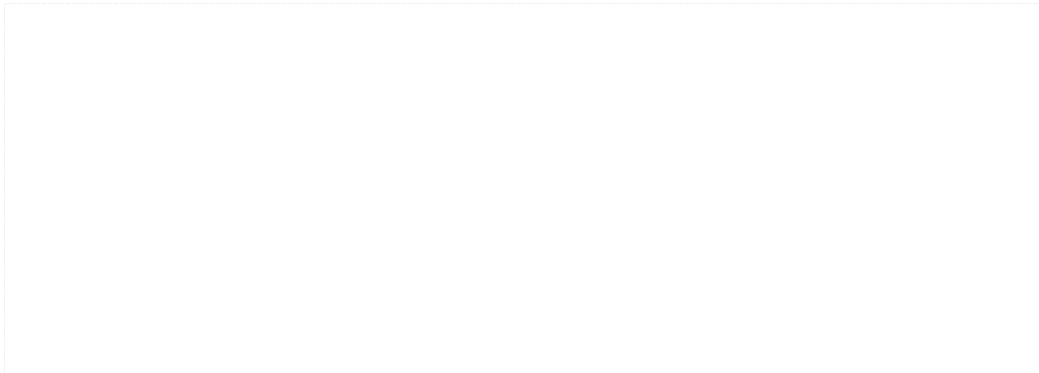
[표 3] Hussain et al. 2016 CNT에서 DLS 적용 실험 예시

일부 논문에서는 나노물질 분산액을 만든 후 분산액과 glycerol을 1:1로 희석하여 유리슬라이드 위에 올리고 커버글라스를 덮으면 glycerol에 의해서 분산액의 움직임이 매우 제한되기 때문에 여러 컷의 사진(배율은 물질 크기에 따라서 조절함)을 찍은 뒤에 소프트웨어를 이용하여 물질의 크기 분포를 측정하는 방법을 적용하기도 한다. 섬유상 물질의 크기 분포는 영역별(예, 5 μm 이하, 5~10 μm , 10~15 μm , 15~20 μm 등)로 크기 분포에 대한 퍼센트를 제시한다.

(2) 모양[종횡비(aspect ratio)와 강성(rigidity) 포함]

탄소나노물질의 모양과 강성의 측정을 위해서 TEM과 SEM을 이용할 수 있다. 모양과 강성의 측정 방법은 여러 가지 ISO 표준시험법에서 제시하고 있다(ISO/TS 10797, 2012; ISO/TS 10798, 2011; ISO/TS 11888,

2017). 강성의 측정은 ISO/TS 11888, 2017에서 제시하는 방법이 가장 적합하다고 판단된다. 간단히 요약하면 SEM을 저배율(전체 길이와 모양을 확인할 수 있는 정도)로 사진을 여러 컷을 찍고 전체 길이(L = length along the axis)와 양 끝단의 길이(R = end to end length)를 측정한다. 강성의 지표는 bending ratio(D_b)와 static bending persistence length($SBPL$)을 사용하며 $D_b = R_2/L_2$, 그리고 $SBPL = (D_b \times L)/2$ 로 계산한다(그림 11).



[그림 11] 강성(rigidity) 측정 방법

(3) 응집/집적(aggregation/agglomeration)

탄소나노물질의 응집/집적에 대한 측정 분석법에 대한 OECD 문건은 2016년에 발간된 ‘PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF NANOMATERIALS: EVALUATION OF METHODS APPLIED IN THE OECD-WPMN TESTING PROGRAMME’이 있다. 나노물질의 응집/집적을 직접적으로(directly) 평가하는 것은 매우 어렵다. 응집/집적을 평가하는 방법은 DLS, TEM, SEM이 있다. 나노물질은 일반적으로 응집/집적이 발생하기 때문에 분산제 등을 이용하여 분산성을 최대한 높이려는 노력을 한다. 따라서 나노물질을 동물이나 세포에 투여하기 전에 응집/집적의 특성이 낮아야, 즉 분산이 잘 되어야 조금 더 나노물질의 독성에

가까운 연구가 될 것이며, 응집/집적의 특성이 높은 분산액의 경우에는 나노물질 보다는 bulk의 독성과 유사하거나 나노물질의 독성을 확인하는데는 적절하지 않다.

ISO에서는 ISO/TC 24, ISO/DIS 12025, ISO 13322-1:2004 표준에서 나노입자의 응집/집적에 대한 특성 분석법을 제공하고 있다. 제안되고 있는 방법으로는 cryo-SEM, cryo-TEM의 이미지 분석, 다른 과장에서 angle 의존성 산란, static light scattering, small angle X-ray scattering, X-ray diffraction, small angle neutron scattering, rheology 방법, centrifugal liquid sedimentation 방법, 레이저 회절 방법, nanoparticle tracking analysis(NTA) 방법이 제안되었다.

나노입자의 응집/집적에 대한 특성은 분산 용액의 pH와 salt condition 등에 의해서 크게 영향을 받는 다는 것을 고려하여야 한다.

(4) 표면 면적

탄소나노물질의 표면 면적(specific surface area)를 측정하는 방법은 BET 방법을 주로 이용한다. BET를 이용한 측정법은 ISO 9277:2010에서 제시되고 있으며 탄소나노물질에 적용 가능하다.

OECD dossier 중에서 titanium dioxide와 silicon dioxide를 이용한 시험에서 Small Angle X-ray Scattering(SAXS)을 표면 면적 측정법으로 제시하였으나 BET 수치와의 연관성이 부족하였기 때문에 SAXS를 이용한 측정법은 추천되고 있지 않다.

(5) 표면 전하

탄소나노물질의 표면전하는 제타전위로 측정할 수 있다. 제타전위를 통해서 나노물질의 분산 또는 에멀전 상태에서의 안전성을 측정할 수 있으며 나노입자 표면을 연구하는데 도움이 된다. 제타 전위 측정법과 관련해서는 OECD 시험법 TG108과 TG112에서 제시하고 있다. ISO에서는 ISO

13099-1:2012 방법을 통해서 표면 전하를 측정하는 방법을 제시하고 있다. 일반적으로는 전기영동 광산란법을 이용하여 거대분자의 전기영동 이동도를 측정하는 방법을 사용한다.

나노입자의 제타 전위는 높거나 낮을수록 나노물질의 분산 안정성이 높아지는 것으로 알려져 있고 일반적으로 ± 30 mV를 넘어날 때 분산 안정성이 높다고 보고되고 있다. 반면에 제타 전위가 0 mV에 근접할수록 나노입자 간의 분산 반발력은 감소하고 van der Waals 인력에 의해서 입자의 응집이 발생하고 나노입자의 분산 안정성은 나빠진다.

제타 전위는 나노입자가 분산되는 용액의 pH, 이온 강도 등에 의해서 영향을 받으며 이러한 상황이 생체내에서 충분히 발생할 수 있기 때문에 생체내 환경에서의 나노입자의 표면 전하를 측정하는 다양한 연구들이 필요하다.

(6) 결정상 구조

탄소나노물질의 결정상은 나노물질의 결정을 구성하는 원자들의 배열된 구조를 위한 특정 공간 그룹으로 정의되며 결정상 분석을 위해서 X-ray diffraction(XRD), polarized light microscopy, electron diffraction 방법을 적용할 수 있다.

(7) 계면화학

탄소나노물질의 표면에 존재할 수 있는 다양한 작용기를 측정 및 분석하는 것을 의미한다. 나노물질 표면의 다양한 작용기는 물 분산에서 나노물질의 거동, 콜로이드 안정성, 나노물질의 분산성 등에 큰 영향을 미친다. OECD에서 수행한 독성시험 dossier 문건에서 나노물질의 계면 화학 측정을 위해서 XRD를 적용하였다. XRD는 물질의 결정상을 연구하는 일반적인 방법으로 통용되고 있으나 측정법에 관한 표준은 없기 때문에 문헌에서는 측정 방법에 관한 자세한 기술이 필요하다. ISO에서는 나노물

질의 화학조성 측정을 위해서 Auger electron spectroscopy, scanning auger electron microscopy, X-ray photoelectron spectroscopy, secondary ion mass spectrometry, 3D atom probe tomography, energy dispersive X-ray spectrometry, electron energy loss spectroscopy, low energy ion spectroscopy, raman spectroscopy 등의 사용을 제안하였다.

(8) 화학조성, 순도, 불순물

탄소나노물질의 탄소로만 구성되어있다고 쉽게 생각할 수 있으나 합성 과정에서 촉매 금속의 사용에 의해서 다양한 종류의 금속 성분이 매우 다양한 정도로 존재한다. 나노물질의 불순물의 존재는 라디칼 생성 능력을 포함한 다양한 나노물질의 물리화학적 특성에 영향을 줄 수 있기 때문에 적절한 분석이 요구되고 있다.

탄소나노물질에서는 나노물질의 화학조성을 측정하는 일반적인 방법으로 유도플라즈마 분광법(ICP-OES, ICP-MS)을 사용하고 있다. ICP 이외에도 TGA, TEM-EDX, SEM-EDX를 이용할 수 있다. 관련 ISO 표준 시험법은 ISO/TS 11308, 2011; ISO/TS 11251, 2010; ISO/TS 10798, 2011이 있다.

(9) 라디칼 생성 능력

라디칼 생성 능력에 관한 측정법은 논문 수준에서는 다양하게 제안되고 있다. OECD TG, ISO 시험법은 별도로 존재하지 않는다. 논문에서 측정되고 있는 방법으로는 DCFH-DA assay, electron paramagnetic resonance(EPR)/electron spin resonance(ESR)이다. EPR/ESR은 hydroxyl radical의 측정이 가능하다.

2) 탄소나노물질의 발생 이후(또는 작업장 환경) 측정하는 물리화학적 특성

(1) 개요

여러 작업장에 대한 조사 또는 노출평가 연구를 기반으로 판단하면 CNT 에어로졸은 분산형으로 존재(Han SG, et al. 2014)하거나 응집체로 존재(Lee JH, et al. 2010)할 수 있으며, 응집체의 경우에는 대부분의 작업 공간에서 관찰되고 있는 형태이다. 따라서 흡입독성 연구를 수행하기 전에 입자의 취급과 사용 과정에서 관찰되는 입자의 크기 분포를 대변할 수 있는 일관성 있는 측정이 되는지에 대하여 확인할 수 있어야 한다. 또한 OECD 시험법 가이드라인 412(아급성)와 413(아만성)과 같은 각 독성 시험법 가이드라인에서 제시하는 에어로졸 특성을 준수해야 한다.

(2) CNT, CNF의 물리화학적 특성

CNT 및 CNF 에어로졸의 물리화학적 특성은 나노물질의 합성 방법에 따라서 다를 수 있으며 나노물질의 표면처리 과정 등의 합성 이후의 다양한 과정에 의해서도 변화된다. 또한 에어로졸 생성 중에서 에어로졸 생성을 위한 분산 방법에 따라서 특성이 변화될 수 있다. 에어로졸 생성 방법 중에서 grinding, brushing, 그리고 atomizing은 CNT와 CNF의 구조를 손상시킬 수 있으므로 철저한 특성 확인이 필요하다.

(3) CNT, CNF 에어로졸의 크기 및 크기 분포

생성된 에어로졸의 입자 크기는 폐 내로 침착되는 입장의 양을 결정하기 때문에 CNF와 CNT의 입자크기에 관한 지식은 가장 적합한 시험법과 시작 조건을 선택하는데 매우 중요하게 작용한다. 안정적인 입자 크기 분포를 얻는 것은 흡입 연구의 성공에 매우 중요하며, 최근 개정된 OECD TG 412와 413의 규정과 같은 나노물질에 적용되는 흡입시험 가이드라인에서는 MMAD 2 μm 이하 및 GSD 1-3 미만의 최적의 범위를 규정하였다.

가) Mass median aerodynamic diameter

CNT와 CNF의 MMAD와 GSD는 흡입독성 연구에서 흔하게 측정되는 항목이다. MWCNT-7 노출 연구에서 CMD는 $0.42\ \mu\text{m}$ 로 GSD 1.69와 MMAD $1.5\ \mu\text{m}$ 를 보고하고 있다(Sargent LM, et al. 2014). 에어로졸화된 MWCNT(Helix Material Solutions)의 MMAD는 $164\sim 209\ \text{nm}$ 로서 GSD는 2 이하로 보고되었다(Rymn-Rasmussen JP, et al. 2009a). 같은 회사의 MWCNT를 대상으로 한 Ryman-Rasmussen 그룹의 또 다른 연구는 714 ± 328 의 MMAD과 GSD 2를 보고하였다(Rymn-Rasmussen JP, et al. 2009b). Graphistrength C100 MWCNT 90일 반복 흡입독성 시험에서 MMAD 및 GSD의 중위 값은 $1.62\ \mu\text{m}$, 4.67이었다(Pothmann D, et al. 2015). Baytube MWCNT 90일 반복 흡입독성시험에서 MMAD의 범위는 critical cascade impactor로 측정하였을 때 $2.74\sim 3.42\ \mu\text{m}$ 이었고 GSD는 $1.98\sim 2.14$ 이었다. 반면에 aerodynamic particle sizer로 측정하였을 때 MMAD $1.67\sim 2.19\ \mu\text{m}$, GSD $1.67\sim 1.76$ 이었다(Pauluhn J, et al. 2010). 다른 연구에서는 MWCNT(Shenzhen Nanotech Port Co) 에어로졸의 MMAD와 GSD의 범위는 $0.3\sim 1\ \text{mg}/\text{m}^3$ 의 경우 MMAD $0.7\sim 1\ \mu\text{m}$, GSD 2, 그리고 $5\ \text{mg}/\text{m}^3$ 의 경우 MMAD $1.8\ \mu\text{m}$, GSD 2.5 이었다(Mitchell LA, et al. 2010). 일반적으로 aggregation/agglomeration이 있는 CNT는 분산 CNT에 비교해서 더 큰 MMAD를 갖는 경향이 있다. 일부 연구에서는 MMAD와 GSD가 OECD 시험법 가이드라인에 의해 규정된 범위 내에 있음을 보여주었지만 일부 연구에서는 권장 범위를 벗어났으며 특히 GSD 3은 CNT와 CNF의 섬유질 특성 때문에 달성되지 못할 수도 있다. 이러한 경우 MMAD 및 GSD 범위를 달성하지 못하는 이유를 반드시 제시하여야 한다. 질량 및 크기 분포의 조건에서 노출 농도를 결정하기 위해 섬유 물질을 포함한 모든 재료에 Micro-orifice uniform-deposit impactors(MOUDI) 또는 cascade impactor를 사용할 수 있다(OECD 2017a, b). 또한 impactor에 의해서 결정된 CNF의 MMAD는 일정한 유량

공기 샘플러를 통해서 측정할 수 있다.

나) Count median diameter (CMD)

Thermodynamic equivalent diameter에 대한 정보가 CNT와 CNF의 MMAD와 GSD 정보와 더불어 요구된다. 에어로졸화 된 CNT, CNF의 CMD는 주로 DMAS나 OPS로 측정된다(Pauluhn J, et al. 2010, Ma-Hock L, et al. 2009). CNT의 이동성 직경(mobility diameter)은 때때로 분류기 내에서 arching 또는 corona 방전으로 인해서 DMAS 또는 SMPS를 사용하여 측정할 수 없을 수도 있다(Ku BK, et al. 2007).

다) Count median length(CML)

분산된 CNT의 경우 에어로졸화 된 CNT의 CML을 혼하게 측정한다. CNT 길이의 측정은 주로 TEM과 SEM에 의해서 수행된다(Kim JS, et al. 2012, 2014). 에어로졸화 된 CNT 또는 CNF에 대한 정보는 에어로졸화 된 CNT 또는 CNF의 가로, 세로, 길이의 비율을 결정하는데 활용된다. 잠재적인 건강 영향과 관련하여 종횡비는 중요할 수 있다. 예를 들어 일부 높은 종횡비의 나노섬유는 실험동물 연구에서 석면 모양의 반응을 일으킬 수 있는 가능성을 가지고 있는 것으로 제시된다(Poland, C.A, et al. 2008).

(4) CNT, CNF 에어로졸의 모양

개요

CNT와 CNF는 동일한 구성 원소를 가지고 있지만 제조 방법이나 제조 후 처리 과정 등에 의해서 다양한 모양을 가질 수 있다. 위에서 언급한 바와 같이 종횡비는 CNT와 CNF의 흡입독성에도 영향을 미칠 수 있으며, aggregation/agglomeration 상태 및 강성은 CNT의 흡입독성에도 영향을 미칠 수 있다.

가) 종횡비

종횡비(길이/지름 비율)는 실험동물 연구에서 CNT의 잠재적 독성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 에어로졸 생성 전 및 에어로졸 생성 후의 CNT의 종횡비는 서로 다른 값을 보일 수 있다. CVD로 제조한 MWCNT의 종횡비는 100보다 큰 반면 에어로졸화 된 MWCNT의 종횡비는 거의 60에 해당하였다. 높은 종횡비의 MWCNT는 만성 흡입 독성 연구에서 폐암을 유발하기도 하였다(Kasai T, et al. 2016).

나) CNT, CNF 에어로졸 상태에서의 aggregation/agglomeration

Aggregation은 서로를 응집하는 힘으로서 공유결합이나 복잡한 물리적인 응집으로부터 발생하는 강력한 힘이다. 일반적으로 강력한 에너지를 통해서 aggregation된 나노물질을 재 분산할 수 있다. 뭉친 나노물질을 "secondary particle"이라고 하며 원 물질을 "primary particle"이라고 한다. Agglomeration은 서로를 붙잡는 약한 힘이며 바데발스 결합이나 간단한 물리적 관계에 의해서 형성된다. agglomeration 상태는 주어진 특정 시간에 집적하는 것에 대한 설명이다. 그 이유는 agglomeration의 상태는 시간에 따라 달라지며 동적인 평형이 나타나고 primary particle이 뭉치는 수를 변화 시킬 수 있기 때문이다(ISO 13014). CNT 또는 CNF는 분산의 형태나 NOAA(nano objects, and their aggregated and agglomerates)의 형태로 노출 될 수 있다. CNT의 흡입 연구는 작업장에서 노출을 시뮬레이션하기 위해서 분산된 형태의 CNT 및 aggregation/agglomeration 형태로 노출될 수 있다. Aggregation/agglomeration 상태는 SEM 또는 TEM으로 분석할 수 있다. 지금까지의 연구에서 aggregation/agglomeration과 분산된 물질 사이의 흡입독성의 차이점과 유사점에 관한 사항은 아직 명확하게 보고되지 않았다. 다만 분산된 형태의 MWCNT-7는 만성 흡입 노출에서 수컷과 암컷 랫드에서 폐암을 유발한다고 보고되었다(Kasai T, et al. 2016).

다) 강성(rigidity)

CNT와 CNF는 단단하거나 유연할 수 있다. 석면과 같이 길고 단단한 CNT는 염증을 유발한 반면 형클어진 CNT는 훨씬 미약한 염증반응을 유발하였다(Poland, C.A. 2008). 실험동물을 이용한 injection 또는 instillation 연구에서는 긴(10 μ m 이상) 강성이 높은 CNT의 경우 대식세포에 대하여 불완전한 탐식을 통한 지속적 염증 반응을 초래하는 것으로 보고하였으며, 이러한 연구의 핵심은 긴 섬유상의 강성이 높은 나노물질은 대상 세포에 대해서 물리적 상호작용으로 병리학적 변화를 유발한다는 것이다. 흉강으로 투여한 CNT는 흉막의 림프관인 stomata (diameter, 3 - 10 μ m)를 통과하지 못하고 흉막의 자극과 지속적인 염증 반응을 유발할 수 있다(Murphy FA, et al. 2011). 가늘고 강성이 높은 MWCNT-7(Mitsui & Co., Ltd)는 사람 중피 세포에 직접 침투하여 5 μ g/cm²의 용량에서 ATP의 감소 및 세포 사멸을 유도하였다(Duke KS, et al. 2017). 이 연구에서, 강성이 높은 MWCNT와 뭉친 형태의 MWCNT에 대한 폐장내 투여 시험을 수행하였고, 그 결과, 강성이 높은 MWCNT 만이 투여 후 21일 후 호중구의 침윤과 육아종성 염증이 유발되는 만성 염증이 발현되었다. 이러한 연구들을 바탕으로 IARC는 MWCNT의 발암성 기준에 강성의 특성을 포함하여 2017년에 길고 단단한 MWCNT-7이 사람에게 발암성이 있는 것으로 분류하였다. 강성에 대한 측정은 ISO 1188(2017)에 따라서 측정 가능하다.

(5) 표면화학

개요

표면화학은 CNT의 독성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으나 표면처리를 하지 않은 CNT와 표면처리를 한 CNT에 대한 비교 흡입독성 연구는 아직 수행되지 않았다. CNT의 표면구조는 acid purification이나 가열, 기능기 적용 등의 과정에 의해서 손상될 수 있으며 이러한 변화는

CNT의 독성에 영향을 줄 수 있다. 또한 CNT의 에어로졸 생성 과정에서 미세화, 밀링, 연마, 분무와 관련된 과정들이 CNT의 표면 구조를 기계적으로 손상시킬 수 있다. CNT의 물리 화학적 특성은 합성 후 과정(예, purification) 및 외부 표면의 작용기 적용 등에 의해서 조절될 수 있다.

가) 불순물

앞의 절에서 설명된 바와 같이 CNT의 금속 불순물은 CNT의 독성에 영향을 줄 수 있지만 비교 연구는 수행되지 않았다.

나) 결정성

CNT 또는 CNF 에어로졸 생성 프로세스에는 CNT 또는 CNF를 생성하기 위한 강력한 기계적 또는 화학적 과정을 포함한다. CNT의 결정 구조는 XRD, Raman 또는 기타 해당 계측기로 평가할 수 있다. IG/ID 라만 분광비율은 CNT 검체의 순도에 대한 자세한 정보와 더불어 직경 분포, 전자구조 및 분자비대칭성, sp² 그래핀층의 결합에 대한 구조적 정보를 제공할 수 있다.

(6) 농도

개요

흡입독성 시험의 목적은 일정 기간 동안 흡입경로에 의한 화학적 독성을 확인하고 정량적 흡입 위험평가를 위한 신뢰성있는 데이터를 제공하는 것이다. 실험동물을 이용한 농도-반응 평가는 위험평가 과정의 하나이며 시험계에서 노출의 정도와 반응 사이의 관계를 평가하는 것이다. 비록 기존의 흡입독성 시험은 물질의 질량(mg/m³)에 근거하지만, 최근 개정된 OECD 흡입 시험 지침에서는 질량농도와 더불어 표면 면적 농도, 숫자 농도를 포함하도록 권고하였다. CNT의 경우 챔버내 CNT 농도의 범위는 목적인 농도 기준 대비 $\pm 20\%$ 이내의 농도 분포를 유지하는 것이 바람직하다.

가) 질량

CNT 에어로졸 농도는 mg/L 또는 mg/m³와 같은 시험물질과 관련된 질량 농도의 부피 당 질량을 사용해 표현해 왔다. CNT의 질량농도는 흡입 챔버 내 동물의 호흡구역에서의 필터 샘플링 후 일반적으로 비중계 필터 분석에 의해 샘플링된 CNT 농도를 사용한다(Delorme MPI, et al. 2012, Chen BT, et al. 2012). 대부분의 실험에서는 비중계 방법으로 CNT와 CNF 에어로졸 질량농도를 결정 및 제시하였다. CNT 에어로졸 농도는 노출 한계 값을 비교하기 위해 원소 탄소 농도로 표현할 수 있다. 예를 들어 CNTCNT에 대한 US NIOSH REL인 1µg/m³ 원소 탄소 농도는 NIOSH 방법 5040(NIOSH 2013)에 따른 8시간의 시간-가중-평균농도이다. 낮은 농도의 실시간 모니터링을 위해서는 TEOM(tapered element oscillating microbalance)을 사용할 수도 있다(Paulun J, et al. 2010).

나) 입자 수

나노물질에 대해 가장 적절한 농도 기준의 설정은 아직 확립되지 않았기 때문에 다양한 농도 설정 기준에 대한 평가를 수행하는 것이 필요하다. OPC나 CPC, SMPS 등 실시간 광산란 분광 광도계를 사용해 수 농도를 측정할 수 있다. 많은 CNT 및 CNF 연구에서 이러한 실시간 숫자 농도 모니터링을 보완적 농도 측정 장치로 사용하였다. 또한 이러한 기기는 흡입 챔버 내 수 농도 유지의 안정성을 모니터링 하는데 사용할 수 있다. 금나노 입자나 은나노 입자와 같은 구형의 나노입자는 질량 농도를 입자의 밀도와 크기로 환산할 수 있는 반면에 CNT와 CNF의 질량 농도는 이러한 방법으로 실시간 측정 모니터링을 할 수 없다. 따라서 그 대안으로, 필터에서 샘플링 된 에어로졸 형태의 CNT 또는 CNF는 TEM 또는 광학 현미경으로 계수될 수 있지만 일부 섬유상 물질의 뭉침 현상은 이러한 섬유의 수를 측정하는데 큰 한계점으로 작용한다.

다) 표면 면적

단위질량 당 상당히 큰 표면적을 가지는 나노물질들은 생물학적 상호작용의 가능성을 증가시킨다. 적절한 나노물질의 농도설정 기준이 아직 확립되지 않았기 때문에 여러 논문을 근거로 추가 농도설정 기준으로 표면 면적 농도의 사용이 제안되고 있다. 현재 나노물질의 표면적에 대한 실시간 측정은 불가능하기 때문에 BET 방법을 사용하여 CNT/CNF 분말 상태에서 표면 면적을 측정하게 된다. 일부 논문에서 aerosol diffusion charging을 실시간 표면 면적 측정 방법으로 제시하고 있다(Keller A, et al. 2001). 이 방법은 직경 100 nm 미만의 입자에 대해 에어로졸 표면적을 잘 측정하는 것으로 나타났다. 직경이 클수록 측정된 표면적은 에어로졸 표면적을 점차적으로 과소평가하게 된다. 특히 다공성 입자 구조물과 높은 뭉침 형태의 입자의 표면적은 일반적으로 측정되기 어렵다. 따라서 흡입 노출 연구 중 실시간 에어로졸의 표면 면적 측정이 바람직 하지만 현재 기술로는 다양한 불확실성이 존재하기 때문에 측정 수치의 해석에 주의가 필요하다.

(7) 샘플링 및 측정 법

개요

흡입챔버에서 CNT와 CNF 에어로졸의 특성을 파악하기 위해서는 적절한 에어로졸 샘플러와 입자크기 측정 장치의 선택과 사용이 중요하다. CNT와 CNF 에어로졸의 특성은 다른 입자에서는 경험하지 못하는 가장 어려운 물리적 측정 중 하나에 해당한다. 따라서 샘플링 및 측정 장치의 고유한 특징을 적절히 고려해야 한다. 나노입자 샘플링과 측정 장치에 사용되는 대부분의 기기는 CNT 및 CNF 샘플링과 측정에 사용할 수 있다. 그러나 CNT 및 CNF에만 적용할 수 있는 고유의 샘플링 및 측정 장치는 없으며 기존 장치를 변형하여 사용하고 있다. 농도 측정에서는 농도 설정 기준으로 제시 가능한 질량, 표면적, 숫자 농도 간의 다양한 의견이 있으며 논란이 되고 있다. 그러나 농도 설정 기준에서 어떤 것을 사용하든간에 흡입시험 연구와 평가에서 활용 가능한 최대한 많은 측정 자료를

제시하는 것이 필요하다.

가) 농도 측정을 위한 샘플링 방법

① 직접 측정법

흡입 챔버 내 CNT 에어로졸의 수 농도는 OPC, CPC, DMAS에 의해 직접 측정될 수 있다. 이러한 방법들은 수 농도에 관한 정보를 제공하지만, 다른 나노입자와 달리 이 기기로 측정한 CNT와 CNF의 수 농도는 실제적으로 수 농도의 농도 안정성에 대한 정보를 제공한다. CNT 또는 CNF 수 농도로부터 질량 농도의 환산은 불가능하다(표 4).

[표 4] OPC, CPC DMAS를 이용한 직접측정방법

측정법	원리	농도 기준과 범위	활용
OPC	레이저로 광산란 측정. 입자의 크기는 산란광의 강도로부터 얻어지며, 산란광의 개수로부터 입자 수를 얻는다.	수 농도; 0.3 - 10 μm	aggregated/agglomerated CNT 또는 CNF의 수 농도를 측정할 수 있다.
CPC	부탄올이나 물의 과포화 대기를 통과할 때 응결로 입자가 커지며 OPC로 측정할 수 있는 것 보다 작은 입자를 측정할 수 있다.	수 농도; 0.01-1 μm	소형 CNT 및 CNF의 수 농도를 계산 가능
DMAS	입자들은 수집 전기장 (collecting electrical field)의 강도 변화에 의해 크기별로 분류될 수 있다.	수 농도; 5 -300 nm	이동성 크기 정보를 사용하여 소형 CNT 및 CNF의 수 농도를 계산할 수 있음. 큰 입자에 적합하지 않음
TEOM	필터에 수집된 입자 질량에 따라 미세균형의 진동 주파수가 변경된다.	질량농도; 0-5 g/m^3	농도가 높으면 필터를 교체해야함

② 간접 측정법

대부분의 CNT 및 CNF 흡입 연구는 필터 샘플 방식 후 중량 분석으로 mg/m^3 단위로 질량 농도를 나타낸다. 또한 Quartz 필터 샘플링은 사이클론(cyclone)을 포함한 적절한 CNT 또는 CNF를 샘플링 한 후 원소 탄소의 양을 정량화하고 NIOSH REL을 비교하는 데에도 사용된다. CNT 또는 CNF 합성에 사용되는 추적 금속은 CNT 또는 CNF 에어로졸의 샘플링 후 ICP-MS 또는 AAS로 정량화할 수 있다(표 5).

[표 5] Gravimetric analysis, Elemental carbon (EC) analysis Trace metal, analysisTEM/SEM를 이용한 간접 측정방법

측정법	방법	측정
Gravimetric analysis	CNT와 CNF는 필터에 수집하고 저울로 무게를 잰다.	대부분의 연구에서 이 방법을 사용한다.
Elemental carbon (EC) analysis	Quartz 필터에 의해 수집되는 CNT와 CNF에서 elemental carbon의 양을 정량하는 방법이다.	CNT는 거의 100% elemental carbon으로 구성된 반면에 세포는 organic carbon으로 구성되어 구분이 가능하다.
Trace metal analysis	불순물로 촉매 금속을 함유한 CNT와 CNF에서 금속의 농도를 ICP-MS, AAS, 또는 EDX로 정량하는 방법을 적용한다.	촉매 금속의 함량이 알려져 있고 높은 경우에 활용 가능하다.
TEM/SEM	필터에서 샘플링된 섬유상 물질의 수를 전자현미경으로 측정한다.	입자의 적절한 밀도가 필요함.

3. 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성

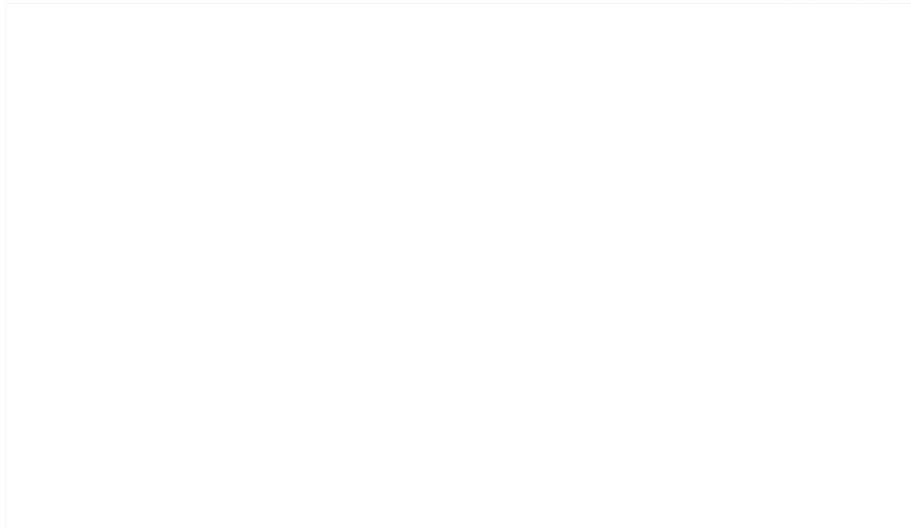
1) CNT, CNF에 대한 in vitro 시험 및 intratracheal instillation, pharyngeal aspiration 시험, intrapleural injection 실험의 결과에서 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성 분석

(1) 개요

- SWCNT와 MWCNT는 1991년에 최초로 보고(Iijima, 1991)된 이후에 다양한 종류의 CNT와 CNF가 개발되고 있다. 나노물질은 물리화학적 특성에 따라서 생물학적 반응이 다르게 나타나기 때문에 각각에 대한 안전성 정보가 필요하지만 모든 물질에 대한 동물실험 결과를 얻는 것은 불가능하기 때문에 독성 영향을 줄수 있는 물리화학적 특성에 대한 정성적/정량적 분석이 필요하다. 이러한 특성-독성의 상관성 분석을 바탕으로 나노물질에 대한 포괄적 규제나 안전성 평가에 활용하는 것이 가능하기 때문에 본 보고서에서는 탄소나노물질에 대한 현재까지의 연구결과 조사를 바탕으로 특성-독성의 상관성을 제시하고자 한다.
- 본 chapter에서는 CNT와 CNF에 대한 in vitro 연구 결과의 정리와 동물실험 중에서 intratracheal instillation과 pharyngeal aspiration 실험, intrapleural injection 실험에 대한 자료를 정리한다.

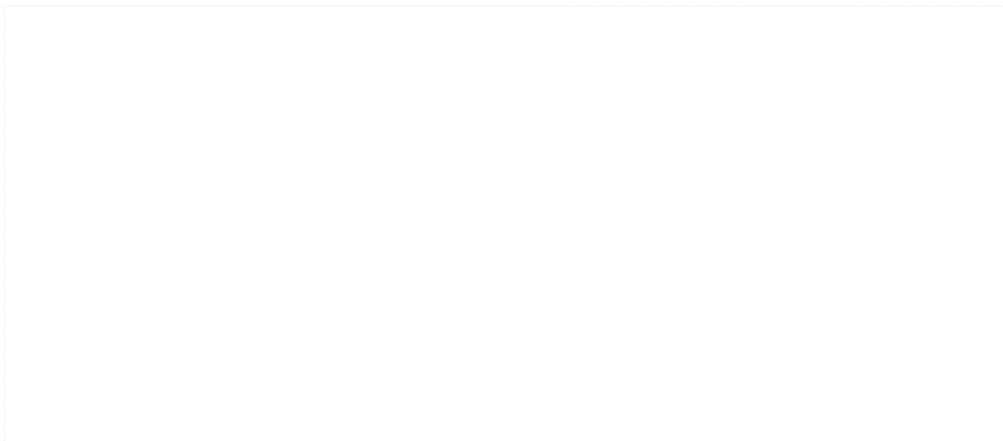
(2) 용의 정의

- CNT, CNF의 유사점과 차이점: IARC Monograph 111에 정의된 내용에 의하면 CNT는 속이 비어있는 코어를 가지고 있지만 CNF는 길이 방향으로 원뿔모양 또는 판상형의 다수의 층으로 구성되어 있는 차이점이 있다(그림 12).



[그림 12] CNT와 CNF의 구조적 차이(IARC Mongraph)

- CNF는 platelet-type, fishbone-type, ribbon-type 등이 있으며 전자현미경 사진은 아래 그림과 같다(그림 13).



[그림 13] CNF의 종류

- CNT(ISO. 2010): 탄소로 구성된 나노튜브. 일반적으로 graphene layer로 구성되어 있으며 단층벽 CNT(SWCNT)와 다층벽 CNT(MWCNT)로 구분한다. DWCNT(double-walled carbon

nanotube)는 MWCNT의 하나로 간주하고 있으며 물리화학적 특성은 SWCNT에 가깝다.

- CNF: 탄소로 구성된 나노섬유.
- Carbon nanohorn: 원뿔 모양의 층을 가진 짧고 불규칙한 형태의 CNT.

(3) CNT와 CNF의 종류

- IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 현재 까지 다양한 연구에서 사용되고 있는 CNT의 종류는 다음과 같다(표 6).

[표 6] IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT의 종류

Table 1.2 Characteristic size and specific surface areas (surface area per mass) of carbon nanotubes

Material	Particle size: diameter (nm) × length (μm)	Specific surface area (m ² /g)	Process	Reported purity (%)	Manufacturer	Reference
SWCNT	1-2 × 0.5-2	343	CVD	> 90 ^a	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Bello et al. (2009a)
SWCNT	1-2 × 5-30	510	CVD	> 99 ^a	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Bello et al. (2009a)
SWCNT	0.8-1.2 × 0.1-1	508	HiPCO	> 85-95 ^a	Carbon Nanotechnologies, Houston, TX, USA	Shvedova et al. (2008)
SWCNT	0.9-1.7 × < 1	731	NR	NR	Thomas Swan, Consett, United Kingdom	Jacobsen et al. (2008)
SWCNT	1-4 × 0.5-2	1040	HiPCO	> 85-95 ^a	Carbon Nanotechnologies, Houston, TX, USA	Witaszp et al. (2009)
SWCNT	12 × 0.32 (bundle in air)	1064	CVD	NR	National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan	Morimoto et al. (2012a)
SWCNT	1.3-3.5	1700	CVD	50 ^a	SES Research, Houston, TX, USA	Hamilton et al. (2007)
MWCNT	110-170 × 5-9	12.8	CVD	> 90 ^b	Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA	Park et al. (2009)
MWCNT (Mitsui-7)	49 × 3.9	26	CVD	99 ^a	Mitsui & Co., Ltd, Tokyo, Japan	Porter et al. (2010) , Mercer et al. (2011)
MWCNT	63 × 1.1 (in air)	69	CVD	NR	Nikkiso Co., Ltd, Tokyo, Japan	Morimoto et al. (2012b)
MWCNT	10-20 × 5-15	100	CVD	> 95 ^a	Shenzhen Nanotech, Port, Shenzhen, China	Mitchell et al. (2007)
MWCNT	11 × 1.1	130	CVD	75	SES Research, Houston, TX, USA	Hamilton et al. (2007)
MWCNT (NC 7000)	5-15 × 0.1-10	250-300	CVD	> 90 ^a	Nanocyl S.A., Sambreville, Belgium	Ma-Hock et al. (2009)
MWCNT (Baytubes)	10-15 × 0.2-1	257	CVD	> 95 ^a ; 1% cobalt	Bayer Material Science, Leverkusen, Germany	Ellinger-Ziegelbauer & Pauluhn (2009) , Pauluhn (2010a)
MWCNT	50 × 10	280	CVD	> 95 ^a	Shenzhen Nanotech, Port, Shenzhen, China	Li et al. (2007a)
MWCNT	20-40 × 0.5-5	300	CVD	80	Nanolab, Inc., USA	Sato et al. (2005)
MWCNT	20-40 × 5-30	380	CVD	> 99	Nanotech Port, Shenzhen, China	Ye et al. (2009)
MWCNT	10-20 × 0.5-2	140.6	CVD	> 96	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Hamilton et al. (2013a)
MWCNT	10-20 × 10-30	204.9	CVD	> 95	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Hamilton et al. (2013a)
MWCNT	30-50 × 0.5-2	217.3	CVD	> 98	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Hamilton et al. (2013a)

^a Purity reported in the producer's product catalogue

^b Carbon content, based on [Ono-Ogasawara & Myojo \(2013\)](#)

CNT, carbon nanotubes; CVD, chemical vapour deposition; HiPCO, high-pressure carbon monoxide process; MWCNT, multiwalled carbon nanotubes; NR, not reported; SWCNT, single-walled carbon nanotubes

Compiled by the Working Group

(4) 물리화학적 특성분석 항목 및 고려사항

- Aerosol 발생장치를 이용한 흡입시험과는 다르게 In vitro 시험과 동물에 투여하는 intratracheal instillation과 pharyngeal aspiration, intrapleural injection 시험은 생리식염수와 세포 배양 배지 등의 용매에 분산하여 실험을 진행한다.
- 이 경우에는 분산재를 흔하게 사용하며 다양한 용매 조건에서 나노물질의 분산 안정성과 기본적인 물리화학적 특성(크기, 모양, 표면 면적, 표면전하, 표면 특성 등)의 파악이 요구되고 있다.

(5) 물리화학적 특성과 독성의 관계에 관한 정성/정량적 분석

- 문헌 조사 및 선택 방법
 - 본 연구에서 탄소나노물질의 독성에 관한 논문은 수백편에 달하지만 본 보고서에서의 목표인 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관성을 연구한 논문을 핵심 논문으로 선정하여 정밀 분석하였으며, 그 외의 탄소나노물질에 대한 독성 연구 논문은 별첨 문서로 정리하였다.
- IARC Monograph 111에서 정리된 CNT와 asbestos의 물리화학적 특성의 비교는 아래 표와 같다(표 7).

[표 7] IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT와 asbestos의 물리화학적 특성의 비교

Feature	Carbon nanotubes	Asbestos	
		Amphibole	Chrysotile
Origin	Manufactured	Natural	Natural
Chemical composition	Carbon	Silicate framework including Mg^{2+} , $Fe^{2+/3+}$, Na^+ , and Ca^{2+} as structural or substitution unit	Silicate framework including Mg^{2+} , $Fe^{2+/3+}$, Na^+ , and Ca^{2+} as structural or substitution unit

Feature	Carbon nanotubes	Asbestos	
		Amphibole	Chrysotile
Structure	Single or multiple rolled graphene sheets	Octahedrally coordinated cation layers sandwiched between tetrahedral silicate layers	Multilayered brucite intercalated with rolled silicate sheets
Nature of the chemical bond	Fully covalent	Mixed, covalent-polar and ionic	Mixed, covalent-polar and ionic
Structural defects	Ring shapes other than hexagon, sp^3 hybridized carbon, dangling bonds at lattice defects, and end caps	Framework defects, absence or substitution of metal ions	Framework defects, absence or substitution of metal ions
Agglomeration	High	Naturally in bundles	Naturally in bundles
Durability in water	High	High in all media	High in neutral media, lower in acidic media
Hydrophilicity/hydrophobicity	Highly hydrophobic if not functionalized	highly hydrophilic	highly hydrophilic
Bio-availalbe metals	High variable (cobalt, nickel, iron - metallic or ionic)	Stoichiometric Fe^{2+} and Fe^{3+} ions in crystal structure	Stoichiometric Fe^{2+} ions
Surface charge (physiological pH)	Very low, negative if not functionalized	High, negative	High, positive
Free radicals	Scavenging of free radicals and reactive oxygen species	Generation of free radicals and reactive oxygen species	Generation of free radicals and reactive oxygen species

Feature	Carbon nanotubes	Asbestos	
		Amphibole	Chrysotile
Dissuolution/degradation	Enzymatic degradation in neutrophils (SWCNT) and degradation in phagolysosomal fluid (carboxylated SWCNT)	Selective leaching of iron ions only in the presence of strong chelators	Selective leaching of iron ions only in the presence of strong chelators

가) Size and shape

① Thickness

- CNT의 직경과 독성의 상관관계에 대한 논문은 총 4편으로 검색되었다(표 8).

[표 8] IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT의 직경과 독성의 상관관계에 대한 요약

Property	Type of CNT	End-points/models	Effects	References	Characteristics
Diameter	MWCNT	Cellular viability, phagocytosis, apoptosis/guinea-pig alveolar macrophages	Greater toxicity of thick CNT	Wan et al. (2009)	Length, 1-5 μ m; diameter: 10-20 nm, 40-60 nm, and 60-100 nm; purity: different nickel content
	MWCNT	Cytotoxicity, uptake/human mesothelial cells; inflammation,	Greater toxicity of 50-nm compared	Nagai et al. (2011)	Length, ~5 μ m; diameter: 15 nm (tangled), 50

Property	Type of CNT	End-points/ models	Eeffects	Refernces	Characteristics
		cellular viability, carcinogenicity/rats	with thicker and thin/tangled		nm, and 100-250 nm; purity:iron and copper (amounts not reported)
	MWCNT	Cytotoxicity, uptake, oxidative strss induction/murine alveolar macrophages; lung inflammation/rats	Greater toxicity of thin CNT	Eenoglio et al. (2012)	Length, < 5μm; diameter, 9.4 and 70 nm; purity: metal contanminants < 0.08%
	MWCNT /SWCNT	Cytotoxicity/human EAhy926, human A549, human HepG2, mouse DMBM-2, hAMSTER V79, and human TK-6 cells	Thin CNT more cytotoxi than thick CNT	Fröhlich et al. (2013)	Length, 0.5-2 μm; diameter of SWCNT 1-2 μm; diameter of MWCNT, <8, 20-30, and >50 nm; purity; SWCNT > 90% and MWCNT > 95%

- CNT의 두께는 그래핀 층의 개수와 관련이 높다. CNT의 두께는 매우 다양하며 SWCNT(Jorio A, et al. 2011)의 경우에 1-3 nm, MWCNT(Hou P-X, et al. 2003)의 경우에 10-200 nm의 두께를 보인다.

- 두께의 변화는 합성 과정에 의해서 결정되며, 그 중에서도 금속 촉매체의 역할이 중요하다.
- CNT의 두께가 rigidity와 관련이 있다는 몇 가지 보고가 있다. 즉 CNT의 두께가 두꺼울수록 CNT가 휘어지지 않는 특성인 rigidity가 높아진다고 보고하고 있다(그림 14).

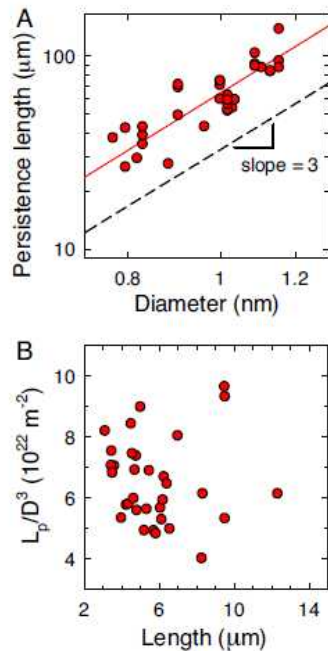


Fig. 3. Diameter dependence of persistence length. (A) Persistence length of 34 SWCNTs plotted as a function of their diameters. The black dotted line shows the prediction of the theoretical thin shell model, $\kappa = \pi C R^3$, using the ab initio calculated value of $C = 345 \text{ J/m}^2$. The red line shows the experimental best fit (slope = 3 ± 0.37 , $C = 678 \pm 22 \text{ J/m}^2$). (B) Persistence length of 34 SWCNTs normalized by the diameter cubed plotted vs. the length. The correlation coefficient in this plot is 0.022.

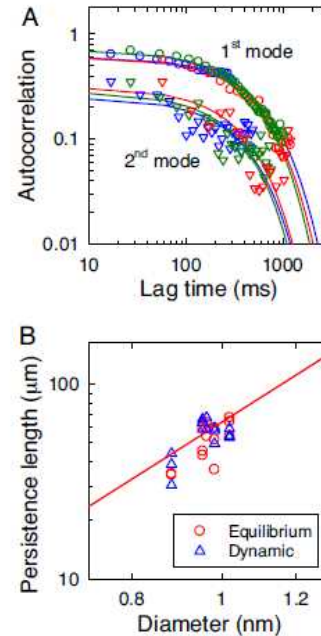
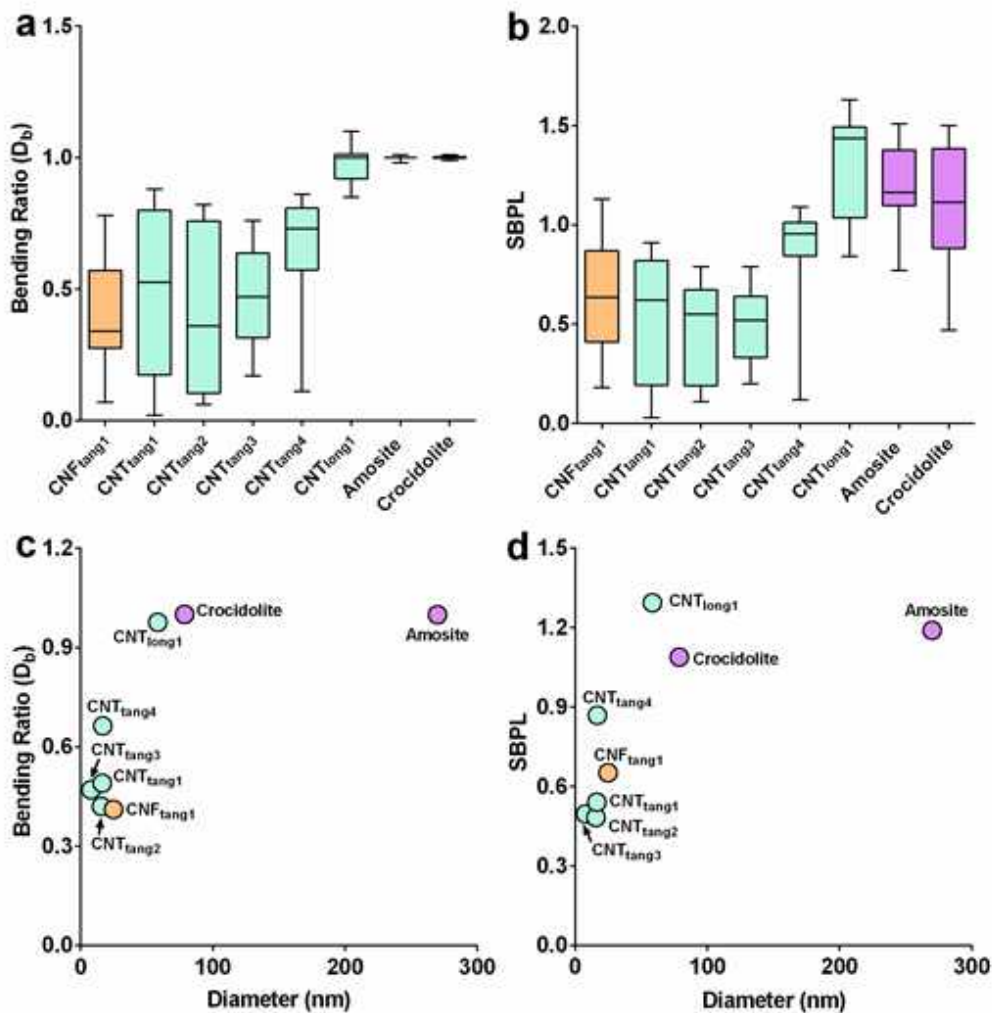


Fig. 4. SWCNT persistence lengths deduced from bending mode relaxation. (A) Shape autocorrelation data for the first bending mode (circles) and second bending mode (triangles) of a nanotube as calculated from image sequences with exposure times of 10, 20, and 50 ms (blue, green, and red, respectively). Solid lines of the same color show corresponding exponential decay best fits. The solution viscosity was increased by adding a sucrose/glucose mixture to slow the dynamics in this system. (B) Persistence length comparisons for five nanotubes as determined by using equilibrium bending analysis (red circles) and bending mode relaxation analysis (blue triangles) of the first bending mode for exposure times of 10, 20, and 50 ms. The red line shows the fit from Fig. 3A.

[그림 14] CNT의 diameter와 rigidity의 상관성(Fakhri N, et al 2009)

- 34종의 SWCNT를 이용한 연구에서 두께가 rigidity의 지표인 persistence length를 결정하는 주요한 인자라고 보고하였다(Fakhri N, et al 2009).
- 본 연구실에서는 MWCNT의 두께와 rigidity의 상관성을 분석하였다

(그림 15). Rigidity는 ISO 표준 시험법에 따라서 SEM을 이용하여 측정하였다. 실험결과 MWCNT의 두께가 증가할수록 rigidity가 증가한다는 것을 확인하였다(unpublished data)



[그림 15] 고충형비 나노물질의 직경과 강성의 상관 관계. (a) bending ratio (D_b)와 (b) static bending persistence length (SBPL)를 강성의 지표로 측정하였고 섬유 직경을 (c) D_b 또는 (d) SBPL에 대하여 상관성 분석을 수행하였다. Pearson's correlation coefficient: 0.6813 for diameter

vs. D_b and 0.6404 for diameter vs. SBPL.

- Fenoglio et al.(2012)은 유사한 길이(5 μ m)와 표면활성을 가지지만 직경이 크게 다른 (9.4 nm, 70 nm) 두가지 MWCNT의 독성을 비교한 결과 얇은 두께의 MWCNT가 두꺼운 것 보다 in vivo (랫드 폐장)와 in vitro(마우스 대식세포)에서 독성이 높다고 보고하였다.
- Nagai et al. (2011)은 MWCNT를 마우스 복강내 투여하는 in vivo 실험과 마우스 macrophage와 mesothelial cell을 이용한 in vitro 실험에서 MWCNT의 직경이 중피세포의 독성과 발암성에 영향을 줄 수 있다고 보고하였다(그림 16).

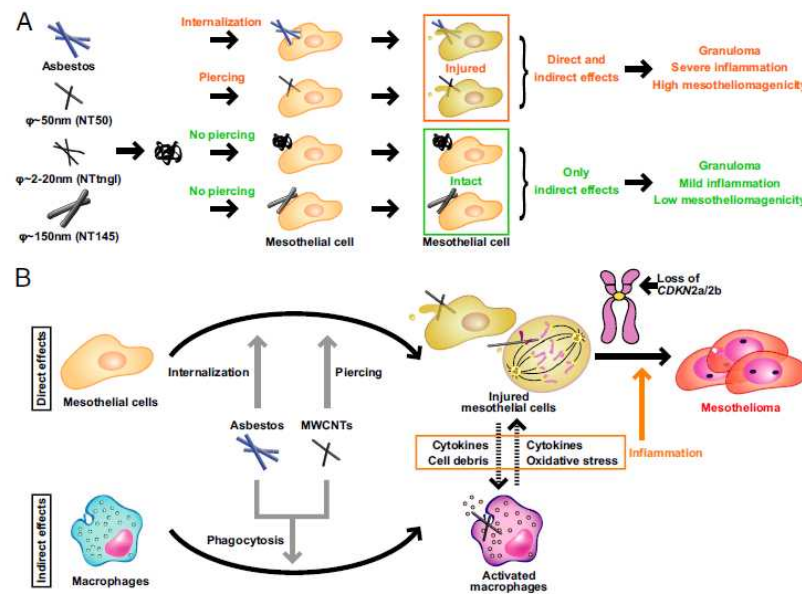


Fig. 8. Schematic of the effect of different MWCNTs on mesothelial cells. (A) The present study shows that asbestos and thin, dispersed MWCNTs with high crystallinity (diameter ~ 50 nm; e.g., NT50a) penetrate mesothelial cells and further induce cell injury. However, aggregative MWCNTs (diameter $\sim 2-20$ nm; e.g., NTngl) and thick MWCNTs (diameter ~ 150 nm; e.g., NT145) do not penetrate mesothelial cells, and thus there is no cell injury, which may explain the difference in the carcinogenicity between thin and thick MWCNTs. (B) Current schematic for mechanisms of mesotheliogenesis focused on mesothelial injury and macrophage activation. Interplay of these two factors may lead to persistent inflammation and subsequent mesotheliomagenesis.

[그림 16] MWCNT의 직경과 중피세포의 독성 및 발암성에 미치는 영향

- Frohlich et al. (2013)은 다양한 직경을 가지는 짧은 CNT에 대해서 carboxyl surface functionalization을 적용한 물질들의 독성을 비교하였다.
 - Phagocytic cell과 nonphagocytic cell을 이용하여 세포독성에 관한 비교를 수행하였으며 세포내 활성산소의 생성을 평가하기 위해서 intracellular GSH 수준을 평가하였다.
 - 실험 결과 직경이 8 nm 이하의 CNT는 20 nm 이상의 CNT 보다 세포독성이 더 높게 관찰되었다.
 - 또한 carboxylated CNT는 pristine CNT 보다 세포독성이 더 높게 관찰되었다.
 - NAC를 이용한 ROS 억제 실험에서는 pristine CNT 중에서 직경이 큰 물질에서 억제 효과가 가장 크게 나타났으며 작은 직경의 carboxylated CNT에서 효과가 가장 작게 나타났다.
 - 8 nm 이하의 직경을 가지는 CNT는 세포막에 손상을 주는 기전으로 독성을 주요 유발하지만 직경이 큰 CNT는 apoptosis를 유발한다고 보고하였다.

② Length

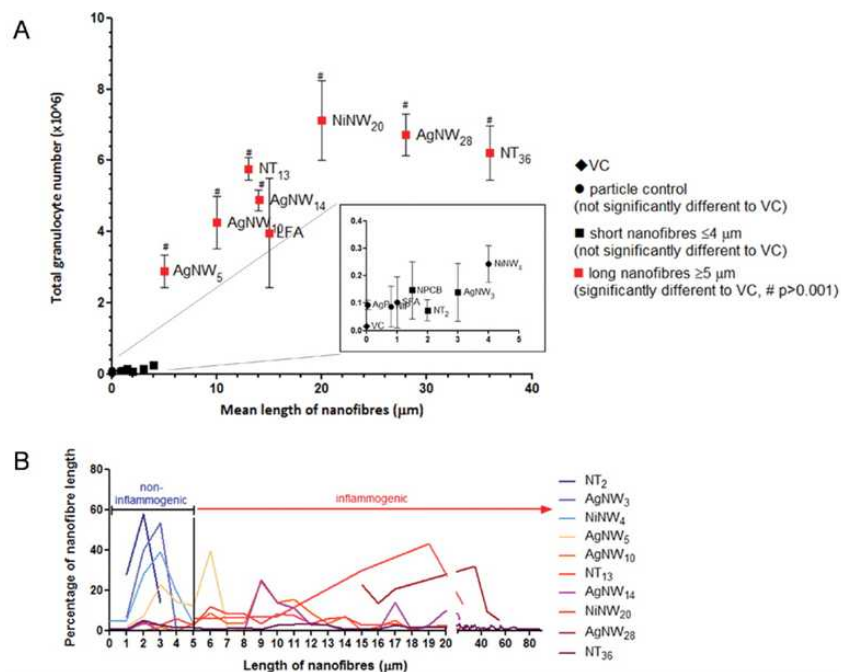
[표 9] IARC Monograph 111(2017 발간)에 제시된 CNT의 길이와 독성의 상관성 관련 논문 요약

Property	Type of CNT	End-points/models	Eeffects	Refernces	Characteristics
Length	MWCNT	Lung inflammation, granuloma formation/mice	Long CNT induced inflammat ory and	Poland et al. (2008)	Length, 1-5 μm and 5-20 μm (tangled), 13 μm, and 56 μm; diameter:

Property	Type of CNT	End-points/ models	Eeffects	Refernces	Characteristics
			granuloma tous response		15 nm, 10nm, 85nm, and 165 nm; purity: iron, copper, vanadium, nickel, zinc, and cobalt content
	MWCNT	Cytotoxicity, DNA damage/A549 cells; lung inflammation/mice	Long and thick CNT, but not short and thin CNT, caused DNA damage/inf lamination	Yamashita et al. (2010)	Length, 5-15 μm and 1-2 μm; diameter: 20-100 nm and < 10 nm
	SWCNT	Lung inflammation, granuloma formation/mice	CNT> 10 μm induced granuloma formation; CNT< 300 nm excreted from the body	Kolosnjaj- Tabi et al. (2010)	Length, > 1-2 μm and 20-80 nm; diameter, ~1 nm; purity: different iron contenet (1.5-25%)
	MWCNT	Pleural inflammation, cellular viability in the mesothelium/mice	Greater toxicity of longer CNT	Murphy et a. (2011)	Length: 0.5-2 μm(short), 5-20, and 1-5 μm (tangled), 13 and ≤ 56

Property	Type of CNT	End-points/ models	Effects	References	Characteristics
					μm (long); diameter; 20-30 nm, 15 nm, 40-50, and 20-100 nm

- CNT의 길이는 수 마이크로미터가 일반적이지만 경우에 따라서 수백 나노미터에서 수십 마이크로미터까지 있을 수 있다.
- CNT의 길이와 독성의 상관관계에서 정성/정량적 분석을 수행한 논문은 4편이 있었다(표 9).
-



From: The Threshold Length for Fiber-Induced Acute Pleural Inflammation: Shedding Light on the Early Events in Asbestos-Induced Mesothelioma
 Toxicol Sci. 2012;128(2):461-470. doi:10.1093/toxsci/kfs171
 Toxicol Sci | © The Author 2012. Published by Oxford University Press on behalf of the Society of Toxicology. All rights reserved.
 For permissions, please email: journals.permissions@oup.com

[그림 17] MWCNT의 길이와 독성의 상관관계

- Schinwald et al. (2012)은 마우스 흉강내 투여 모델을 이용하여 Silver nanowire가 흉강에서 급성 염증을 유발하는 threshold length가 4-5 μm 라고 보고하였다(그림 17).
- Murphy et al. (2011)은 흉강 염증 모델에서 흉강의 염증과 섬유화를 유발하는 길이는 10 μm 이상의 긴 CNT에 의해서 유발된다고 보고하였다(그림 18)

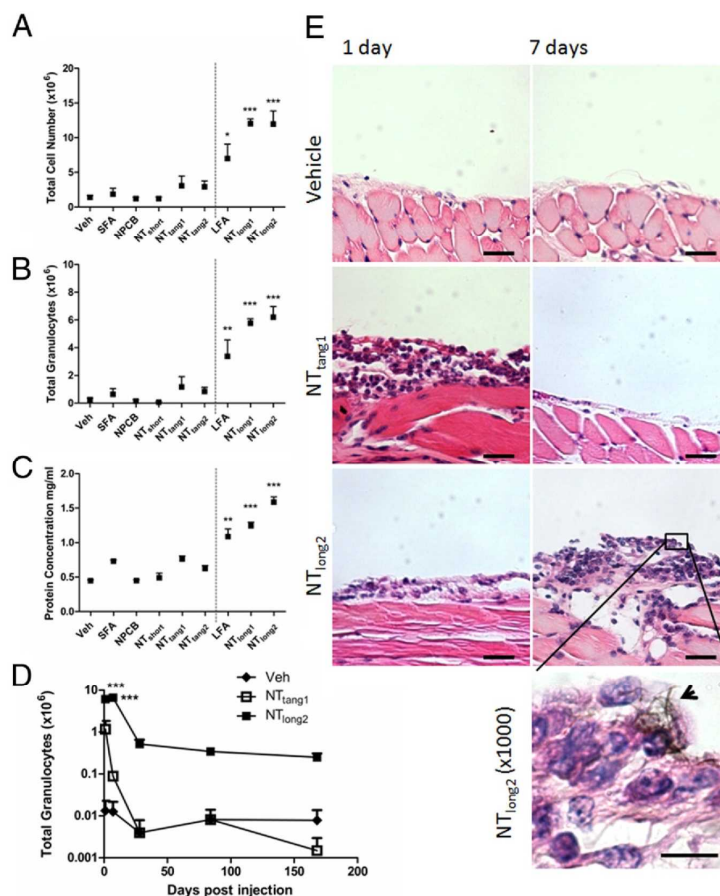


Figure 2. Acute inflammatory response to intrapleural injection of CNT. Total cell number (A), total granulocytes (B), and total protein (C) were measured in the lavage fluid of mice injected with 5 μg of CNT and controls at 24 hours after injection. Total granulocytes (D) were measured in lavage fluid of mice treated with either NT_{long1} or NT_{long2} up to 168 days (24 weeks) after injection. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ versus vehicle (Veh) control. Data represent mean $\pm$ SEM ($n = 5$ mice per treatment group). **E:** Histological examination of chest wall samples from mice injected with NT_{long1} and NT_{long2} at 1 and 7 days after injection. Aggregates of inflammatory cells are present in both NT_{long1} and NT_{long2} samples at 1 day but only in NT_{long2} samples at 7 days. The **arrowhead** indicates long CNT aggregates in $\times 100$ magnification of NT_{long2} (7-day sample). Scale bar = 20 μm . NPCB indicates nanoparticle carbon black.

[그림 18] MWCNT의 길이와 흉강 염증의 상관관계

- 짧은 길이의 CNT는 호흡기로부터 흉강 내로 진입하더라도 흉강의 림프관인 stomata를 통과하여 주변 림프절로 이동하여 clearance가 일어날 수 있다고 제안하였다.

- 반면에 길이가 긴 CNT는 흉강내로 진입 후 clearance가 일어나지 못하고 흉강 내에서 지속적인 자극을 유도한다고 제안하였다.
- 지속적인 자극을 유도하는 1차 세포는 대식세포이며 흉강 대식세포가 긴 길이의 CNT에 대해서 불완전 탐식(frustrated phagocytosis)을 유도하면서 다양한 염증성 사이토카인을 분비한다.
- 염증 사이토카인 중에서 CNT 또는 긴 섬유상 물질에 의한 불완전 탐식의 지표가 될 수 있는 것은 IL-1 β 이며, IL-1 β 는 inflammasome activation에 의해서 유발된다. 또한 IL-1 β 는 섬유화를 유발하는데 크게 기여한다.
- 2차적으로 흉강의 mesothelial cell의 자극이 발생하고 mesothelial cell의 증식이 유도되어 mesothelioma로 진행된다고 제안하였다(그림 19).

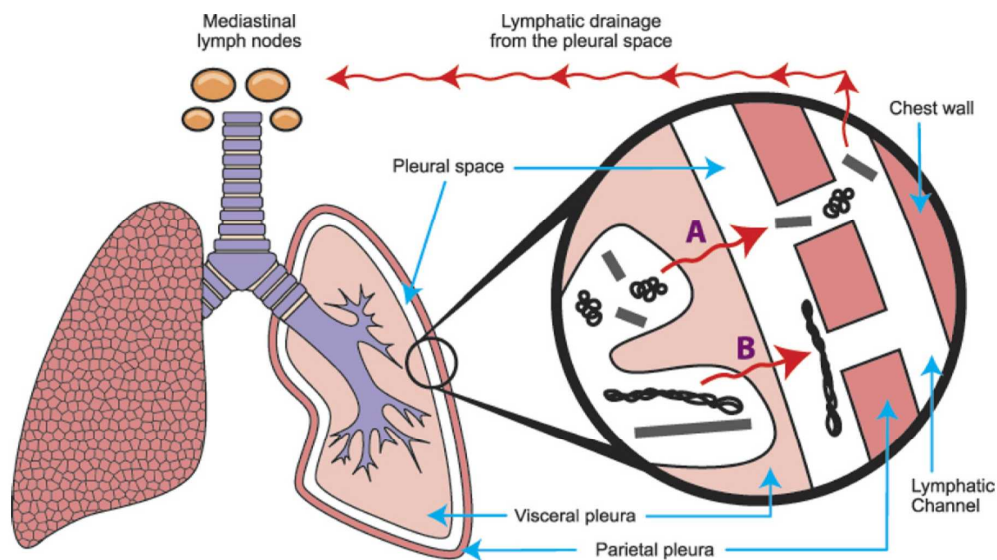


Figure 9. Diagrammatic representation of length-dependent clearance from the pleural space. **A:** Short fibers and small CNT tangles that deposit in alveoli that are situated subpleurally and migrate to the pleural space and exit in the flow of pleural fluid through the stomata, where they follow the lymphatic drainage to the mediastinal LNs. **B:** Long fibers and long CNTs also reach the pleural space from subpleural alveoli but they cannot negotiate the stomata and are retained, where they cause inflammation and potentially long-term disease.

[그림 19] 흉강 림프관으로 이동하는 MWCNT의 길이 기준

- Kolosnjaj-Tabi et al. (2010)는 SWCNT를 복강내 투여하였고

SWCNT의 길이와 복강 염증과 섬유화의 상관성을 보고하였다(표 10).

[표 10] Kolosnjaj–Tabi et al. (2010)에서 사용한 CNT 종류와 특성

TABLE 1. Characterization of the CNT Materials

	raw SWNTs ^a	purified SWNTs	US-tubes
source	Carbon Nanotechnologies, Inc.	prepared from the raw SWNTs by a non acidic treatment ²⁸	prepared from the raw SWNTs by fluorination and pyrolysis ⁹
diameter	ca. 1.0 nm	ca. 1.0 nm	ca. 1.0 nm
length	>1–2 μ m	ca. 1–2 μ m	ca. 20–80 nm
Fe content (from ICP-OES analysis)	ca. 25%	ca. < 4%	ca. < 1.5%
BET surface area (m ² /g) (correlation coefficient) ^b	ND	574 (0.999056) ^b	980 (0.998694) ^b
Langmuir surface area (m ² /g) (correlation coefficient)	ND	870 (0.998647) ^b	1478 (0.999072) ^b
carbon content (atomic %, $n = 3$) ^c	ND	97.85 $\pm$ 0.05 ^c	91.7 $\pm$ 0.7 ^c
oxygen content (atomic %, $n = 3$) ^c	ND	2.85 $\pm$ 0.05 ^c	8.3 $\pm$ 0.7 ^c

^aND = no data. ^bData were collected using an Autosorb-3B instruments, Quantachrome Instruments, at 77 K with nitrogen gas as adsorbate. ^cData from X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis. The oxygen spectrum of P-SWNTs is a single peak which falls within the region for the hydroxyl group (binding energy, 531–533 eV). The oxygen spectrum of US-tubes showed two peaks with one of them in the –OH (531–533 eV) region whereas the second peak has its maximum intensity (2415 au) at 530.46 eV which is around 1.5 eV lower than that of the –OH peak. The second peak can be attributed to –COOH groups, further corroborating the increased oxygen atomic % observed for the US-tubes.

- 복강내 투여(50 - 1000 mg/kg) 후 150일까지 경시적으로 관찰하였다.
- 모든 투여 농도에서 SWCNT는 복강에 섬유상 구조물 덩어리를 형성하였다.
- 섬유의 길이가 10 μ m 이상의 CNT에 의해서 비가역적인 육아종성 염증이 관찰되었다. 반면, 작은 길이의 CNT에 의해서는 육아종이 유발되지 않았으나 대식세포 등의 세포 내에 5개월 이상 잔류하는 것이 확인되었다.
- 300 nm 이하의 짧은 분산이 잘 되는 SWCNT의 경우에는 RES 장기를 빠져나와서 콩팥이나 담즙을 통해서 배설되었다.
- 결론적으로 염증과 섬유화를 유발하는 길이를 10 μ m 이상의 긴 SCNT에 의해서 유발된다고 보고하였다(그림 20).

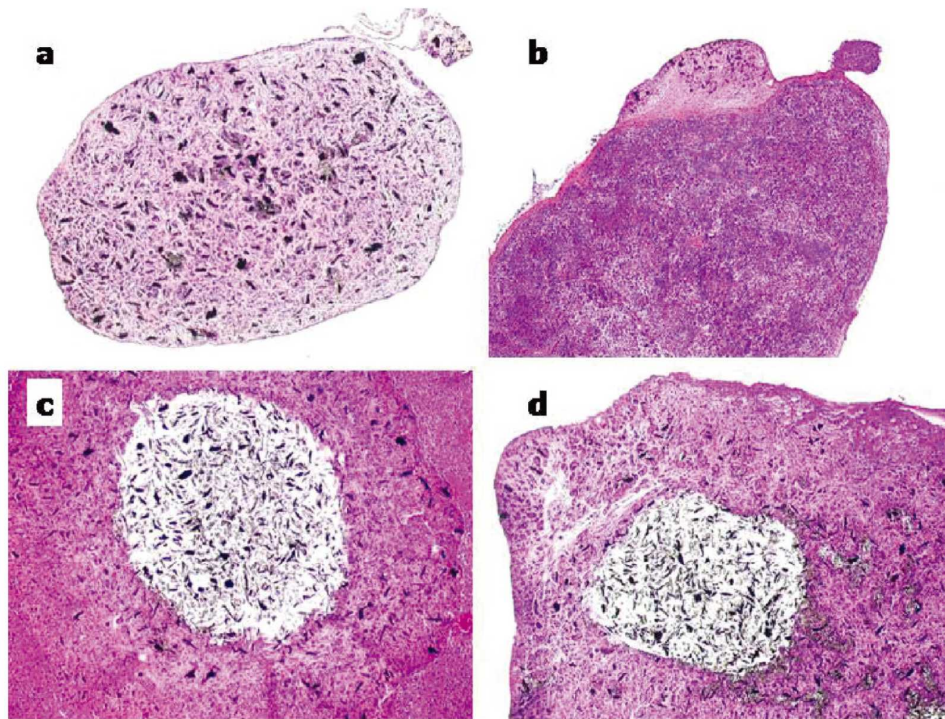


Figure 7. Light micrographs after hematoxylin-eosin staining of spleen and liver sections from treated-mice at D150 post-administration: (a) a representative granuloma sticking out from the liver surface of a SWNT-treated mouse; (b) a granuloma tightly bonded to the spleen surface of an US-tube treated mouse; (c) a well circumscribed granuloma inside a liver lobe from a SWNT-treated mouse; (d) a diffuse granuloma inside an hepatic lobe of an US-tube treated mouse. (magnification = 10×) (note the fiberlike structure of CNT aggregates).

[그림 20] Kolosnjaj-Tabi et al. (2010) 연구 결과. CNT 복강내 투여 후 간과 비장에서 육아종성 염증의 형성

- Manshian et al. (2013)는 SWCNT의 길이가 유전독성에 미치는 영향에 대해서 연구하였다(그림 21, 22).
 - BEAS-2B 세포와 MCL-5(lymphoblastoid cell) 세포에 대해서 SWCNT는 세포독성이 없는 농도(subcytotoxic dose)에서 유의적으로 증가된 염색체 손상을 보였으며 염색체 손상의 정도는 SWCNT의 길이와 매우 높은 상관관계를 보였다.
 - 즉, 소핵시험에서 소핵을 형성하는 정도의 순서는 SWCNT의 길이에 따라서 $400 - 800 \text{ nm} > 5 - 30 \text{ }\mu\text{m} > 1 - 3 \text{ }\mu\text{m}$ 로 나타났다.
 - 그러나 hrpt point mutation을 유발하는 물질은 $1 - 3 \text{ }\mu\text{m}$ 크기의 25

μg/mL 이상의 농도에서만 관찰되었다.

- 1 - 3 μm SWCNT에 의한 유전독성은 활성 산소와 관련이 매우 높다는 것을 세포내 활성산소 생성 기전으로 규명하였다.
- SWCNT에 의한 유전독성은 실험상황에 대한 2차적인 구조에 따라서 결정되며 활성산소 단독으로는 유전독성을 설명할 수 없다.

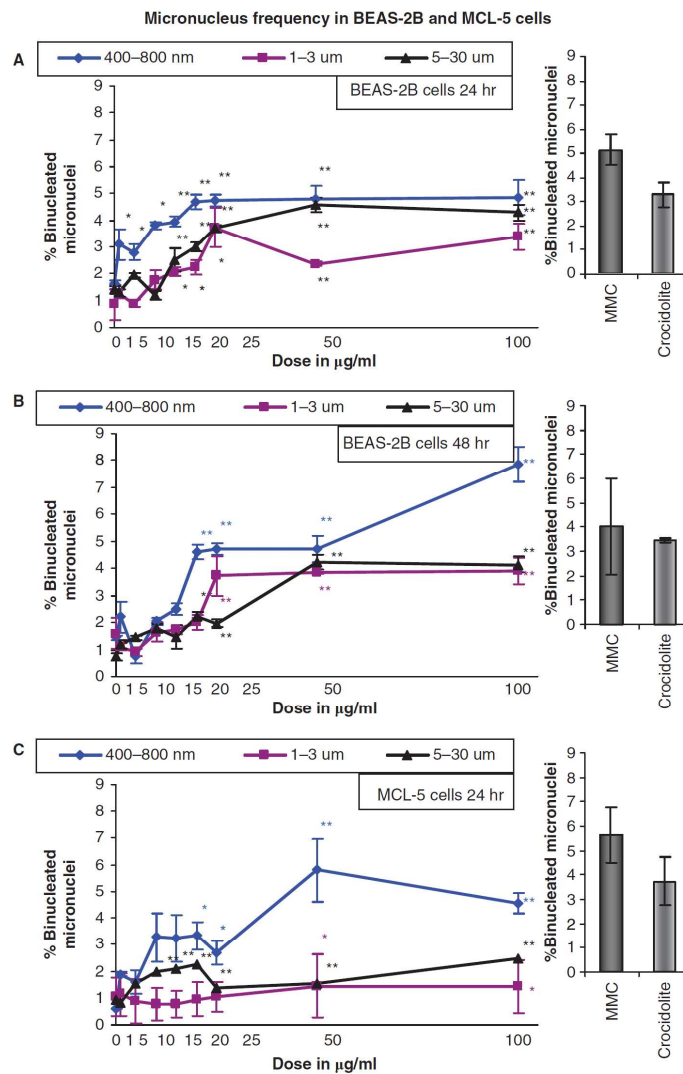


Figure 4. Cytochalasin block micronucleus (CBMN) assay results following exposure of cells in 2% serum containing culture medium to 400-800 nm, 1-3 μm and 5-30 μm single-walled carbon nanotube (SWCNT) for (A) 24 h in BEAS-2B cells, (B) 48 h in BEAS-2B cells, (C) 24 h in MCL-5 cells (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$) with corresponding mitomycin C (MMC) and crocidolite asbestos results. All results show that SWCNTs induce significant increase in Mn frequency in both cell lines, which are comparable with that seen in crocidolite exposures.

[그림 21] Manshian et al. (2013) 연구 결과. SWCNT의

길이가 유전독성에 미치는 영향

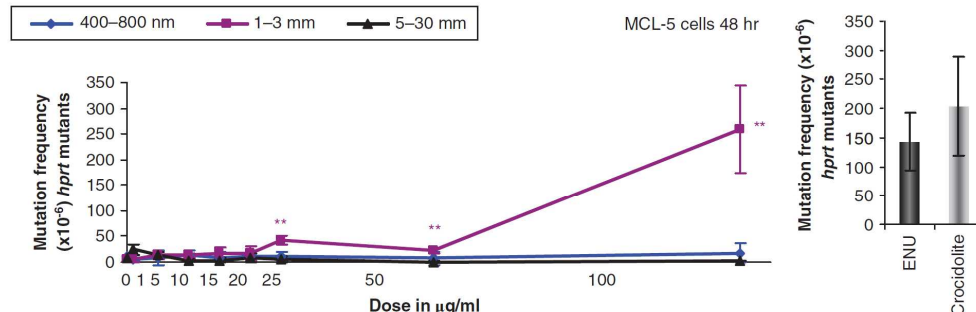


Figure 5. hprt mutation frequency induced in MCL-5 cells treated with 400-800 nm, 1-3 μ m and 5-30 μ m single-walled carbon nanotube (SWCNT) for 48 h. MF: the number of 6-thioguanine-resistant clones per 10^6 clone-forming cells. One-way ANOVA and Dunnett's *post hoc* tests at 95% confidence level were used for the statistical analysis of results from the hprt forward mutation assay and the oxidative stress-based analyses.

[그림 22] Manshian et al. (2013) 연구 결과. SWCNT의 길이가 유전독성에 미치는 영향

③ Rigidity

- Rigidity가 독성에 미치는 영향에 대해서는 아직 연구가 거의 진행되고 있지 않다. 최근에 발표된 2건의 논문이 rigidity와 CNT 독성의 상관성을 제시하고 있으며, 추가적인 연구가 필요한 분야이다.
- Nagai et al. (2011)은 MWCNT를 마우스 복강내 투여하는 in vivo 실험과 마우스 macrophage와 mesothelial cell을 이용한 in vitro 실험에서 MWCNT의 직경이 중피세포의 독성과 발암성에 영향을 줄 수 있다고 보고하였다.
 - 이 논문이 발표될 당시에는 CNT의 rigidity를 측정하는 방법에 대해서 ISO 표준이 없었다.
 - 따라서 Nagai 등은 CNT의 diameter와 전자현미경 사진을 통해서 rigidity를 정성적으로 제시하였으며, 결론적으로 rigid한 CNT의 독성이 더 높다고 발표하였다.
- Duke et al. (2017)은 wild type과 STAT1-deficient 마우스 모델을 이용하여 4 mg/kg 농도로 tangled MWCNT와 rigid MWCTN를 폐

장내로 투여하고 염증을 비교하였다(그림 23).

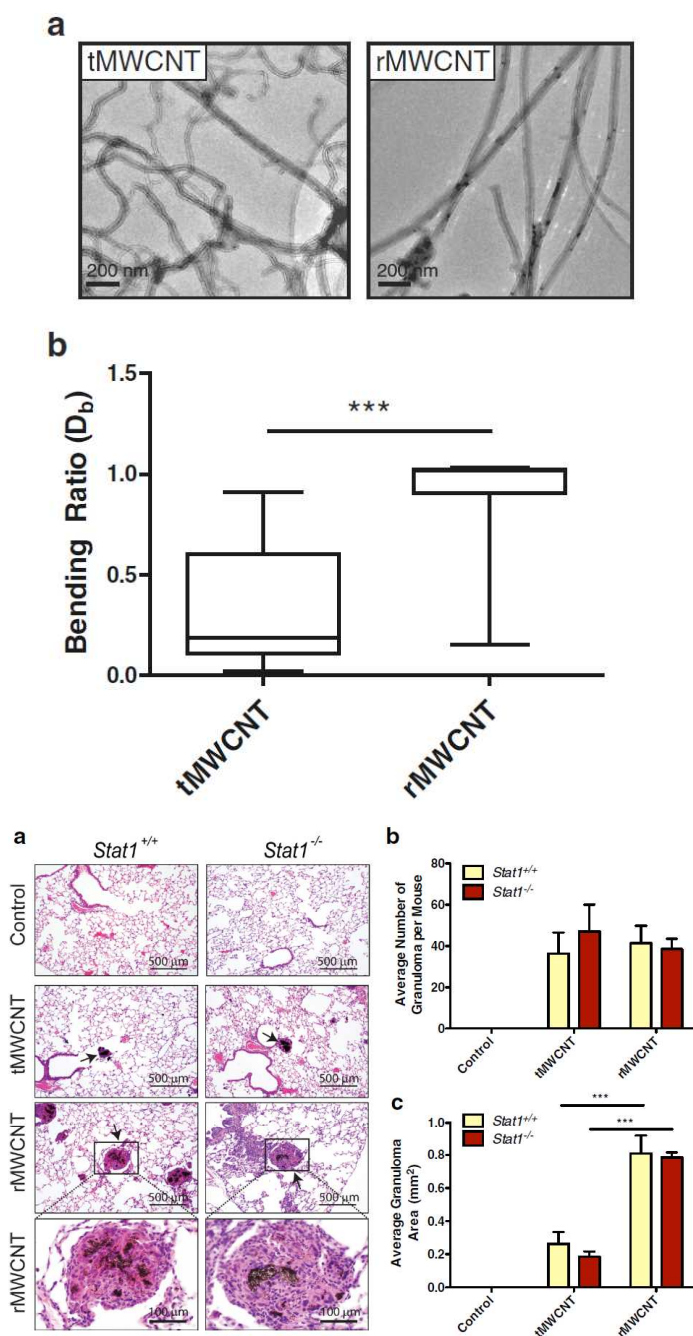
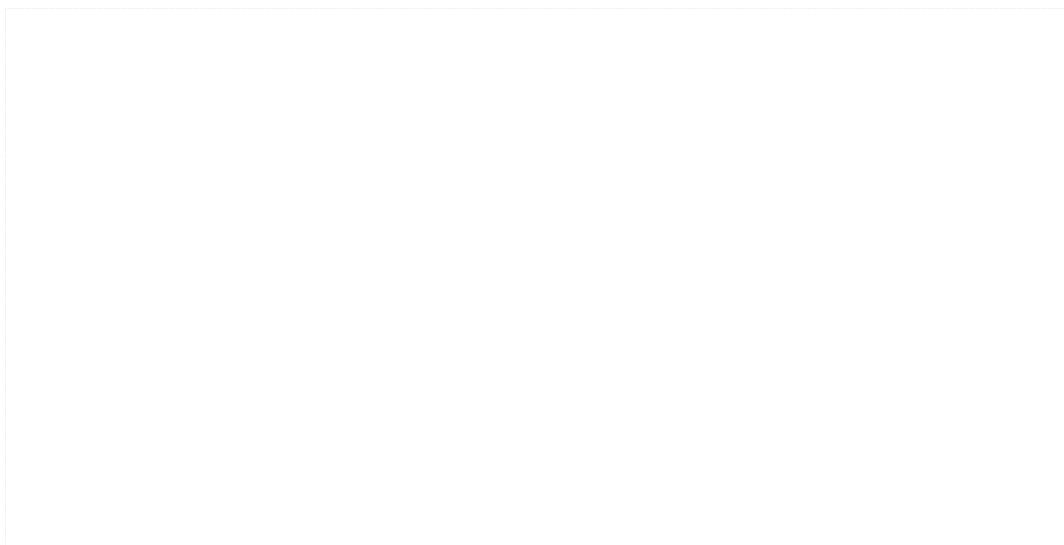


Fig. 3 Granuloma development at 21 days post-exposure to tMWCNTs or rMWCNTs. **a** Representative H&E photomicrographs of 21 day control, tMWCNT or rMWCNT-exposed mouse airways showing granulomas (arrows) taken at 200X magnification (scale bars equal 500 μm). Insets of rMWCNT granulomas (Scale bars equal 100 μm) taken at 400X magnification. **b** Average number of granulomas per 3 lung sections per mouse. **c** Average size of granulomas measured by quantitative morphometry as described in Methods. (***) $p < 0.001$ between tMWCNTs and rMWCNTs

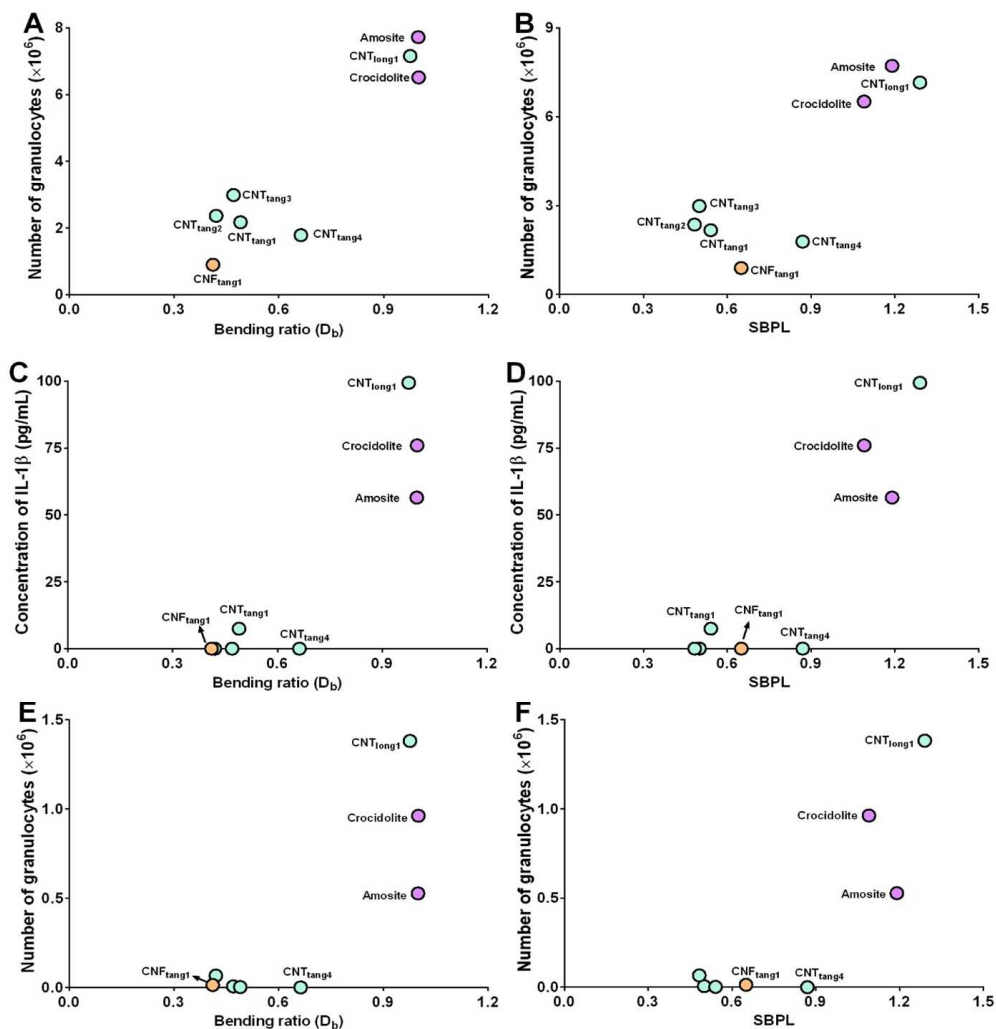
[그림 23] Duke et al. (2017) 연구 결과. CNT의 강성이 높을수록 독성(염증)이 높아진다는 결과

- 이 논문에서는 2011년에 제정되고 2017년에 개정된 rigidity의 ISO 표준 시험법(ISO/TS 11888:2011)에 따라서 rigidity를 측정하였다.
- 실험 결과 rigid한 CNT가 tangled CNT 보다 폐장내 육아종성 염증과 섬유화를 크게 유발하였다.
- 이 논문은 2종류의 MWCNT를 비교한 것이기 때문에 rigidity와 독성의 상관성에 관한 정량적인 분석이 필요하다.
- 본 연구실에서는 5종의 MWCNT와 1종의 CNF, 2종의 asbestos fiber를 이용하여 rigidity와 흉강 염종의 상관성을 규명하였다(그림 24).
- 마우스 흉강내 투여 모델을 이용하여 투여 후 24시간과 4주에 흉강 염종을 분석.
- 연구결과 rigidity가 증가할수록 염증이 증가하며 rigidity의 threshold value가 있음을 확인하였다(rigidity value for dictating asbestos-like pathogenicity is 0.97 for Db and 1.08 for SBPL)(그림 25).



[그림 24] CNT의 강성과 흉강 염증 유발의 상관성에 관한 모식도
(a) 강성의 역할을 규명하기 위한 실험 디자인. 8종의 고종횡비 나노물질을 ICR 마우스의 흉강내로 투여하고 염증 유발 능력과 강성

의 상관성을 규명하였다. 염증 유발 능력은 3단계로 구분하여 tier 1 (minimal-to-mild inflammation), tier 2 (moderate inflammation), tier 3 (severe inflammation)로 구분하였다. (b) 고충황비 나노물질로 실험동물 투여에 사용한 나노물질의 전자 현미경 사진



[그림 25] CNT의 bending ratio와 SBPL이 흉강 염증에 미치는 영향 연구. 상관관계 분석을 (A) bending ratio 또는 (B) SBPL과 투여 후 24시간째의 염증 반응 지표인 급성 호중구 수치에 대하여 수

행하였다. 동일한 시간대에서 (C) bending ratio 또는 (D) SBPL과 불완전 탄소 나노튜브에 의해서 생성되는 IL-1 β 의 상관성을 분석하였다. 투여 후 4주째의 염증과 관련해서는 (E) bending ratio 또는 (F) SBPL과 호중구의 수치에 대한 상관관계 분석을 수행하였다. 상관관계 분석은 Pearson's correlation을 수행하였으며 coefficient는 A에 대해서는 0.9296, B에 대해서는 0.8551, C에 대해서는 0.9113, D에 대해서는 0.8965, E에 대해서는 0.8514, F에 대해서는 0.8552로 매우 높은 상관성을 보였다.

④ Defects

- Defects가 독성에 미치는 영향에 대해서는 아직 연구가 거의 없는 실정이다. 현재까지 defects가 독성과 관련이 있는 정성/정량적 분석 논문은 3건이 있다(표 11).

[표 11] CNT의 defects가 독성에 미치는 영향에 관한 논문

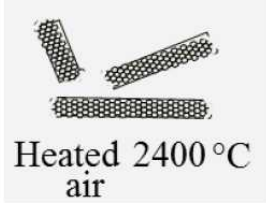
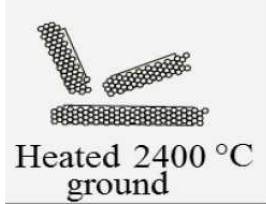
Property	Type of CNT	End-points/models	Effects	References	Characteristics
Defects	MWCNT	Genotoxicity/rat lung epithelial cells; lung inflammation, fibrosis/rats	Defects increased the inflammatory and genotoxic potential	Eenglio et al. (2008), Muller et al. (2008a)	Length, 0.7 μ m; diameter, 11 nm; purity: aluminium, cobalt, and iron < 0.08%
	MWCNT	Carcinogenicity/rats	Carcinogenicity not affected by defects	Muller et al. (2009)	Length, 0.7 μ m; diameter, 11 nm; purity: aluminium, cobalt, and iron < 0.08%

- CNT의 purification과 functionalization은 CNT의 defect를 유발할 수 있다.
- Purification과 functionalization에 사용하는 nitric acid는 SWCNT의 구조를 변화시켜서 amorphous carbon을 생성하거나 잔류 금속의 환원을 유발할 수 있다(Hu et al., 2003).
- 완전한 형태의 crystalline CNT는 sp² hybridized carbon의 hexagonal ring에 의해서 형성되지만 그래핀 층 들은 다양한 정도의 defect를 합성과정에서 보이게 됨.
- 현재 합성되는 CNT들은 완전한 형태와는 거리가 있으며 다양한 정도의 defect(non-hexagonal rings, atom vacancies, carbon with sp³ hybridization, incomplete bonding, oxygenated group)를 가짐.
- Muller et al.(2008)은 defect가 폐장 독성에 중요한 역할을 한다고 보고하였음.
 - MWCNT를 pristine (ground)에서 600도로 가열하여 oxygenated carbon과 oxygenated metal을 제거한 것, 그리고 2400도로 가열하여 defect를 제거하고 metal을 제거한 것, 2400도로 가열한 뒤에 다시 grinding하여 defect를 유도한 것을 이용하였음.
 - 실험 결과 폐 염증(rat instillation model)과 유전독성이 defect가 없는 (즉, 가열된 것) 군에서 감소되었으며 defect가 있는 것(즉, pristine 과 가열 후 defect을 유도한 것)에서 증가되었음(표 12).
- Muller et al.(2009)은 복강내 투여 모델에서 defect가 발암성에는 관여하지 않는다고 보고하였다(그림 26).
 - Defect가 있는 MWCNT와 없는 MWCNT를 랫드의 복강내로 투여하고 mesothelioma의 가능성을 비교 분석하였을 때 defect 여부와 관련없이 투여물질은 mesothelioma를 유발하지 않았다(투여 후 2년 관찰)(그림 27).
 - 이는 아마도 투여 물질이 1 μ m 이하의 짧은 길이와 약한 염증 유발,

ROS scavenging 때문일 것이라고 제안하였다.

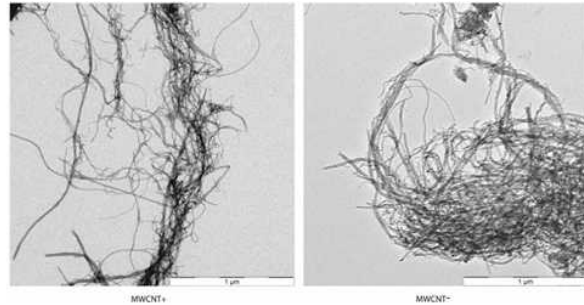
[표 12] Fenoglio et al. (2008) and Muller et al. (2008)에서 제시한 CNT의 defects를 조절하는 실험과 독성에 미치는 영향 연구 요약.

Table 4.4 Example of an experimental mechanistic approach to evaluate specific physico-chemical determinants of biological activity for ground multiwalled carbon nanotubes

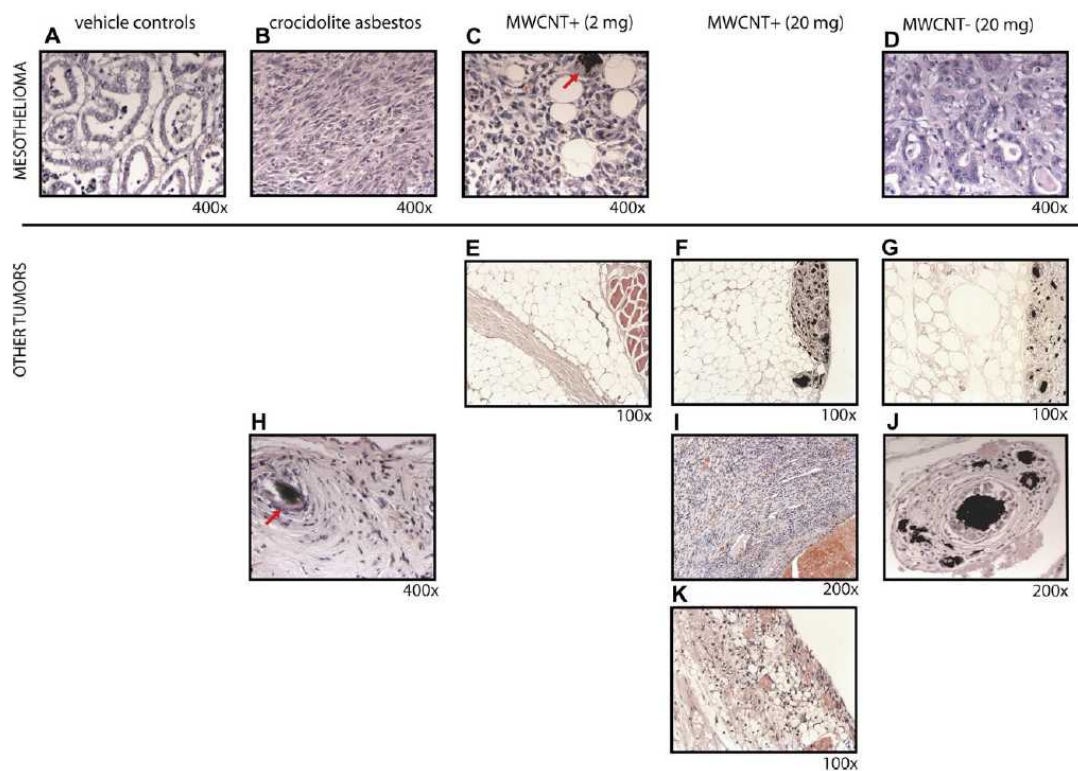
Multiwalled carbon nanotubes	Defects	Metals	Quenching activity	In-vivo respiratory toxicity		In-vitro genotoxicity
				Lung response	Cytokines	
 Ground	Yes	Yes (in oxidized form)	Positive	Positive	Positive	Positive
 600 °C vacuum	Yes (less)	Yes (in reduced form)	Positive	Reduced	Negative	Positive
 Heated 2400 °C air	No	No	Negative	Negative	Negative	Negative
 Heated 2400 °C ground	Yes	No	Positive	Positive	Negative	Positive

Created by the Working Group with data from [Fenoglio et al. \(2008\)](#) and [Muller et al. \(2008a\)](#)

Main Physico-chemical Characteristics of the Tested Materials			
	Crocidolite ^{b,c}	MWCNT+ ^d	MWCNT- ^d
Metal content (%) ^a	nd		
Al		1.97	0.37
Fe		0.49	<0.01
Co		0.48	<0.01
Specific surface area (m ² /g)	8	299	190
Extent of defects (<i>I_D/I_G</i>) ^f	nd	1.16	0.58
Reactive sites ^g , molar	nd	29.2	0.4
enthalpy of adsorption of H ₂ O ₂ (kJ/mmol)			
Diameter (nm)	330 (2.1) ^e	11.3 ± 3.9 ^h	11.3 ± 3.9
Length (μm)	2.5 (2.0)	About 0.7	About 0.7



[그림 26] Muller et al.(2009)에서 사용한 CNT의 특성



[그림 27] Muller et al.(2009)에서 CNT 복강내 투여로 발생한 종양

- Galano et al.(2010)은 SWCNT와 MWCNT에서 defect가 free radical의 quenching과 관련이 높다고 보고하였다. 그러나 아직까지 관련 연구는 극히 미비하며 많은 연구가 필요하다(그림 28).

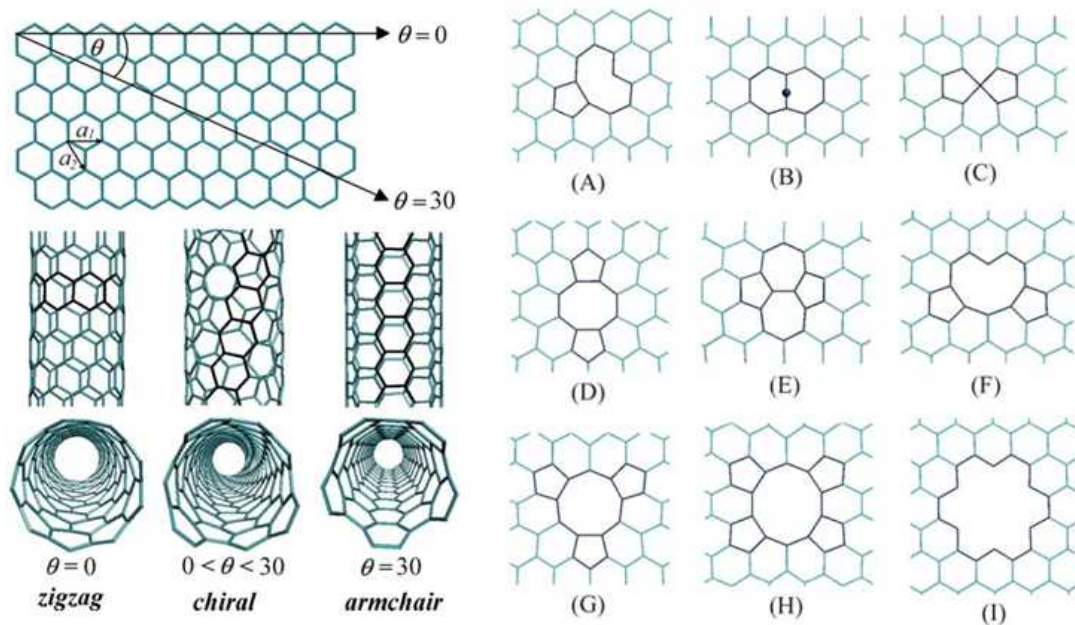


Fig. 5 Some examples of structural defects in the carbon lattice of SWCNTs.

[그림 28] Galano et al.(2010)에서 제시한 CNT의 defect 종류

나) Aggregation/Agglomeration

- 뭉침의 특성인 aggregation/agglomeration의 경우 나노물질의 다른 물리화학적 특성(예, 직경, 표면전하, defect 등)에 의해서 결정되는 요소이기 때문에 이 항목을 단독으로 독성과의 상관성을 제시하는 것은 적절하지 않다.

다) Surface area

- 표면면적은 나노물질에서 중요한 요인이지만 입자상 물질에서 주요 고려 대상이다. 입자상 물질은 입자의 표면면적이 세포와 접촉하는 농도가 될 수 있기 때문에 농도 기준을 표면면적 농도 기준으로 제시하는 등 중요성이 매우 높다. 그러나 섬유상 물질의 경우 표면면적은 섬유의 직경, 종횡비, 뭉침의 특성, defect 등의 다양한 요인에 의해서

결정되기 때문에 표면면적 자체를 독성과 관련된 물리화학적 특성인자로 고려하지는 않는다.

라) Surface charge

- 표면전하는 나노물질에서 독성과 관련성이 높은 중요한 물리화학적 특성인자이지만 주로 입자상물질에 대해서 주요 고려사항으로 제시되고 있다. 입자상 물질의 경우 세포에 완전탐식이 이루어지고 세포에 입자가 인지되는 확률이 음전하를 가지고 있는 세포막 성분과 잘 결합할 수 있는 양전하를 가진 입자상 물질일 때 증가하기 때문에 일반적으로 양전하를 가지는 나노입자가 음전하를 가지는 나노입자보다 더 높은 세포내 유입과 독성을 보인다고 보고되고 있다.
- 그러나 섬유상 물질의 경우 표면전하는 주요 독성 유발 인자에는 포함되지 않으며, 다만 표면전하가 높은 것이 낮은 물질에 비하여 독성이 조금 더 높다고는 보고되고 있으나 이러한 내용이 염증에 한정되는 것이며, 중피종이나 폐암과 같은 종양을 종말점으로 고려한 것은 아니다. 즉, 표면전하의 역할은 급성염증에서는 어느정도 영향을 줄 수 있으나 섬유상 탄소나노물질의 주요 독성 종말점에는 크게 영향을 주지 않는다.

마) Surface reactivity

- CNT의 surface reactivity는 일정한 방법으로 제시되고 있는 것이 아니라 제조 방법이나 기능성을 개선하기 위해서 다양한 표면처리가 이루어지기 때문에 다양성이 매우 높은 측정 항목이라고 생각된다.
- 다양한 항목 중에서 주로 문헌들에서 측정하는 surface reactivity로 제안되는 항목으로는 표면 작용기(surface functionalization), ROS 생성 능력, hydrophobicity/hydrophilicity 등이 있다.
- CNT의 surface modification과 ROS 생성 능력 등의 surface

reactivity가 독성에 미치는 영향에 대해서 다양한 연구가 진행되었으며 표면 작용기가 독성에 미치는 영향 분석의 요약은 IARC Monograph 111에 정리된 아래 표와 같다(표 13).

**[표 13] CNT의 surface modification이 독성에 미치는 영향
관련 문헌**

Property	Type of CNT	End-points/ models	Eeffects	Refernces	Characteristics
surface functionalities: oxidation /functionalization/ carboxylation	MWCNT	Cytotoxicity/human T-cells	Surface functionalities (oxidized) increased the toxicity	Bottini et atl. (2006)	Length, 1-5 μ m; diameter, 20-40 nm; purity: >95%
	MWCNT	Cytotoxicity, oxidative stress/human neuroblastoma cells	surface functionalities(oxidized) and impurities increased the toxicity	Vittorio et al. (2009)	Length, 0.5-2 μ m; diameter, > 35-40 nm and 20-40 nm; purity: 97-99%

Property	Type of CNT	End-points/ models	Effects	References	Characteristics
	SWCNT	Embryotoxicity/ mice, mouse embryonic stem cells, NH3T3 cells	surface functionalities (oxidized) increased the embryotox icity	Pietrojusti et al. (2011)	Length, 0.37-0.85 μ m; diameter, $\sim$ 2 nm; purity: calcium, chromium, iron, and cobalt < 4% (higher in pristine)
	MWCNT	Profibrogenic marker/BEAS-2 B cells, human monocyte leukaemia THP-1 cells; fibrosis.mice	Carboxyla tion of MWCNT decreased the fibrogenici ty	Wan et al. (2011d)	Length, 10-30 μ m; diameter, 20-30 nm; purity: $\approx$ 99%; nickel and iron not detected
	SWCNT/ MWCNT	Cytotoxicity/ma mmalian CHO cells, human HeLa cells	No cytotoxicity with F-SWCNT: DNA complexes	Pantarotto et al. (2004)	No characterization

Property	Type of CNT	End-points/ models	Effects	References	Characteristics
	SWCNT/ MWCNT	Cytotoxicity/human EAhy926, human A549, human HepG2, mouse DMBM-2, hamster V79, and human TK-6 cells	Carboxylated CNT more cytotoxic than pristine CNT	Fröhlich et al. (2013)	Length 0.5-2 μ m; diameter of SWCNT, 1-2 μ m; diameter of MWCNT, < 8, 20-30, and > 50 nm; purity:SWCNT > 90% and MWCNT > 95%
	SWCNT	Osteoblast proliferation/osteosarcoma rat ROS 17/2.8 cells	Cell growth depended on the type of functionalization	Zanello et al. (2006)	Length from nm to μ m; diameter, 1.5 nm
	MWCNT, raw and metal purified	Cell viability, inflammatory activation/freshly isolated alveolar macrophages from C57BL/6 mice	Carboxylation after surface oxidation reduced cytotoxicity and inflammatory activation	Hamilton et al. (2013b)	Dimensions not reported

Property	Type of CNT	End-points/models	Effects	References	Characteristics
	MWCNT	Inflammation, fibrosis in vivo, inflammasome activation/ C57BL/6 mice	Carboxylation after surface oxidation decreased inflammation, fibrosis, and inflammasome activation	Sager et al. (2014)	Dimensions not reported

- Fubini et al. (2011)은 asbestos에 비하여 CNT의 표면 활성(CNT quench radicals, hydrophobicity)의 차이들이 각각의 독성 기전에 의해서 독성을 유발할 수 있다고 제안하였다(표 14).

[표 14] Free radical 생성 측면에서 CNT와 석면섬유의 특성 비교(Fubini et al. 2011)

Table 1. Comparison of the chemical properties of carbon nanotubes and asbestos, which are, or may be, implied in their toxicity: the chemical nature of the two materials, at least in their 'native' form, are quite different.				
Chemical property	Carbon nanotubes	Asbestos		
		<i>Amphiboles</i>	<i>Chrysotile</i>	
Bioavailable metals	Highly variable (Co, Ni, Fe – metallic or ionic)	Stoichiometric Fe ²⁺ and Fe ³⁺ ions in crystal structure	Substitutional Fe ²⁺ ions	
Hydrophilicity hydrophobicity	Highly hydrophobic if not functionalized	Highly hydrophilic		
Surface charge (physiological pH)	Very low, negative if not functionalized	High, negative	High, positive	
Free radicals	Free radicals and ROS scavenging	Free radicals and ROS generation		
Dissolution/degradation	Enzymatic degradation in neutrophils (SWCNT) and degradation in phagolysosomal fluid (carboxylated SWCNT)	Selective leaching of iron ions only in presence of strong chelators		

ROS: Reactive oxygen species; SWCNT: Single-walled carbon nanotube.

- SWCNT와 MWCNT는 합성과정에서 금속을 촉매로 활용하기 때문에 금속이 최종 CNT에 잔류되어 있고, 금속에 의한 표면활성이 나타날 수 있다.
- CNT는 비교적 쉽게 산화되거나 작용기의 적용이 가능하기 때문에 표면의 특성이 매우 쉽게 변할 수 있고 생물학적 반응 또한 변화될 가능성이 매우 높다.
- 석면과 CNT의 물리적인 모양의 유사성에 의해서 세포와의 반응도 유사하지만 화학적 특성은 매우 다르다. 예를 들어 석면은 free radical을 생성하는 반면에 CNT는 free radical을 scavenging하며 석면은 친수성인 반면 CNT는 소수성이 높다.

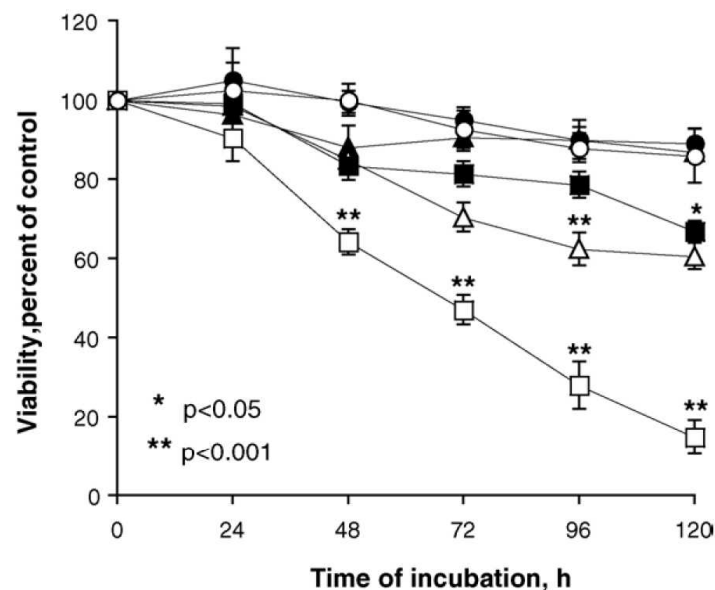
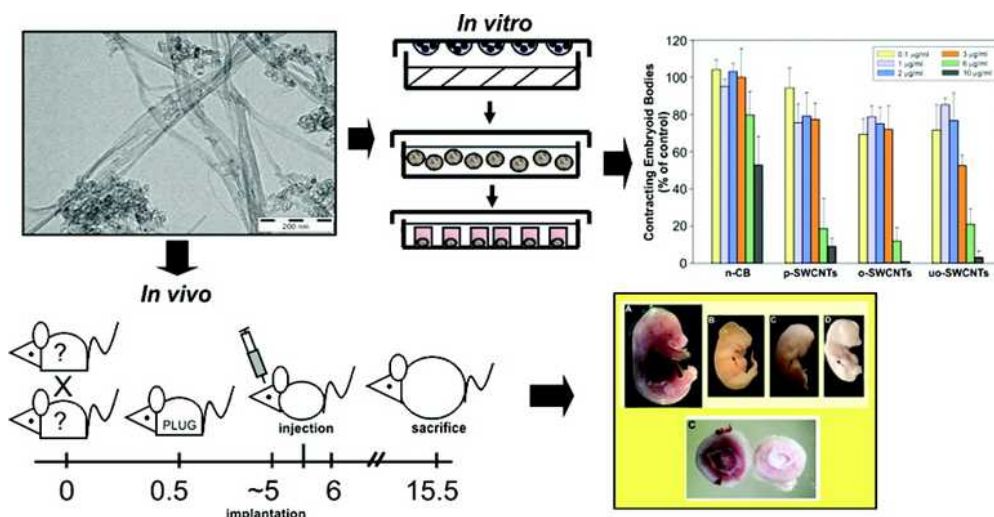


Fig. 2. Dose- and time-dependent reduction in human T-cell viability by CNTs. The graph shows the viability of Jurkat T-cells incubated with 1 ng/cell (closed symbols) or 10 ng/cell (open symbols) of CB (circles), pristine CNTs (triangles) or oxidized CNTs (squares) for the indicated periods of time. The values were calculated as percent of control (untreated cells) and represent the mean $\pm$ S.D. for six independent determinations. Statistical significance was calculated using ANOVA and is indicated with (*) for $p < 0.05$ and (**) for $p < 0.001$.

[그림 29] Bottini et al. 2006에서 제시한 CNT 작용기가 독성에 미치는 영향 연구

- 나노물질의 물리화학적 특성은 세포에 대한 반응을 조절한다고 일반적으로 인정되고 있으며 CNT의 oxygenated functionalities가 독성을 증가시킨다는 여러보고가 발표되었다.
- Bottini et al. (2006)은 CNT의 표면에 oxygenated functionalities를 부여한 경우에 세포독성 (Jurkat T cell)이 증가한다고 보고하였다 (Bottini M, et al. 2006)(그림 29).
- Vittorio et al. (2009)는 pristine MWCNT와 acid-treated MWCNT를 human neuroblastoma cell에 처리하여 세포독성을 비교하였을 때 acid-treated MWCNT가 유의성있는 세포독성의 증가가 관찰되었다고 보고하였다(Vittorio O, et al. 2009).
- Pietroiusti et al. (2011)은 pristine과 oxidized SWCNT를 마우스의 발생독성(embryotoxicity)에 미치는 영향을 연구하였으며, 실험 결과 oxidized SWCNT의 독성이 더 높다는 것을 보고하였다(Pietroiusti A, et al. 2011)(그림 30).



in: Antonio Pietroiusti; Micol Massimiani; Ivana Fenoglio; Massimiliano Colonna; Federica Valentini; Giuseppe Palleschi; Antonella Camaioni; Andrea Magrini; Gregorio Siracusa; Antonio Bergamaschi; Alessandro Sgambato; Luisa Campagnolo; ACS Nano 2011, 5, 4624-4633.

[그림 30] Pietroiusti et al. 2011에서 제시한 CNT 작용기에 따르는 embryotoxicity 비교 연구

- Cheng et al. (2008)은 purified PEGylated SWCNT를 HeLa 세포에 5일 연속 노출한 후에 세포내 이동에 관한 time-lapse 연구를 수행하였다(그림 31).
 - 실험 결과 FITC-PEG-SWCNT는 세포질, 미토콘드리아, 핵으로의 이동이 모두 관찰되었다.
 - 핵내로의 이동은 가역적(reversibly)이었으며 핵으로 이동에 의한 유전독성 및 세포주기에 영향은 관찰되지 않았다.
 - 이는 purification과 functionalization이 CNT의 생체적합성을 증가시킬 수 있음을 의미한다고 제안하였다.



[그림 31] Cheng et al. 2008에서 제시한 SWCNT의 surface modification이 세포내 이동에 미치는 영향 연구

- CNT의 ROS 생성 능력 또는 antioxidant depletion과 관련된 문헌들

이 다수 보고되었으며 in vitro 기반의 실험 결과의 요약은 IARC Monograph 111에 정리된 아래 표와 같다(표 15).

[표 15] CNT의 ROS 생성과 관련된 논문 요약

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human HaCaT keratinocytes	SWCNT ; 0.24 mg/mL (ESR assay), and 0.06, 0.12, and 0.24 µg/mL (oxidation assay) ; 2, 4, 6, 8, and 18 h	• Generation of HO• using ESR spin trapping technique; measurement of GSH, antioxidant levels and LPO products (TBARS) • GSH and antioxidant levels decreased versus control cells, and the accumulation of LPO products significantly increased	Shvedova et al. (2003)
Human BJ foreskin cells	SWCNT ; 6, 8, and 10 µg/mL ; 3 h	• Induction of ROS by SWCNT compared with control cells (dispersion medium) using DCF • Antioxidants (NAC and GSH) reduced ROS production by SWCNT (6 µg/mL)	Sarkar et al. (2007)
분화된 THP-1 세포 (Human macrophage-like cell)	SWCNT ; 0.05 µg/mL ; 24 h	• Molecular effects investigated using Affymetrix microarrays • Expression of SOD2 increased, but levels of catalase, GPx1, GR, GS, and NOX not modified	Chou et al. (2008)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human hepatoma HepG2 cells	SWCNT ; 1 µg/mL ; 48 h	- Protein expression profile using the iTRAQ-coupled 2D LC-MS/MS approach; protein ratios determined for treated and untreated control HepG2 cells - Differential expression of 37 proteins observed in treated cells, among which SOD2 was downregulated	Yuan et al. (2011)
Human colon adenocarcinoma Caco-2 cells	Carboxylic acid - functionalized SWCNT (F-SWCNT) ; 0, 5, 10, 50, 100, 500, and 1000 µg/mL ; 48 h	- Determination of ROS, LPO, and GSH levels, and SOD, GPx, GR, and catalase activities - Generation of ROS increased from 100 µg/mL and that of LPO from 50 µg/mL; catalase activity increased up to 500 µg/mL, but significantly decreased at 1000 µg/mL; SOD also enhanced (maximum up to 100 µg/mL); GPx activity enhanced at the highest concentrations and GR at 1000 µg/mL; level of GSH depleted (significant at 1000 µg/mL)	Pichard et al. (2012)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human bronchial epithelial BEAS-2B cells	Three samples of SWCNT (diameter, 1 - 2 nm; lengths, 400 - 800 nm, 1 - 3 μ m, or 5 - 30 μ m) ; 1 and 100 μ g/mL ; 24 or 48 h	- Investigation of intracellular production of ROS and gene expression profiling using a pathway-specific RT-PCR array of 84 oxidative stress and antioxidant defence pathway genes ROS detected in cells treated with the two shortest SWCNT samples; with the 1 - 3-μm sample, several genes strongly upregulated, including EPHX2; expression level of few genes modified by the other SWCNT samples, but 400 - 800-nm SWCNT produced a low level of upregulation of CCS, MT3, and NOS2 - All samples induced downregulation of GPx4, GPx7, and the peroxidase cytoglobin, and upregulation of NCF1	Manshi et al. (2013)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human colon carcinoma HT29 cell line	SWCNT ; nine concentrations from 0.01 ng to 0.2 μ g/mL ; 3 or 24h	- Determination of total GSH levels - The range of 0.0001 - 0.01 μg/mL increased intracellular total GSH levels in comparison with control cells (significant at 0.001 and 0.01 μg/mL) at 24 h	Pelka et al. (2013)
Rat lung epithelial cells	SWCNT ; 2.5, 5, and 10 μ g/mL ; up to 72 h	- Determination of ROS (using the DCF assay), GSH, SOD-1, and SOD-2 levels - ROS production was enhanced in a dose-dependent manner; GSH levels decreased in cells treated with 10 μg/mL for 6 h; SOD-1 and SOD-2 protein expression decreased after treatment for 24 h in comparison with control cells	Sharma et al. (2007)
Rat PC12 cells (adrenal gland pheochromocytoma)	SWCNT ; 5 - 600 μ g/mL ; 24 and 48 h	- Induction of mitochondrial membrane damage and the formation of increased levels of ROS and MDA - Decreased levels of GSH and decreased activities of SOD, GPx, and catalase were observed at cytotoxic concentrations in a concentration-dependent manner	Wang et al. (2011b)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Rat PC12 cells (adrenal gland pheochromocytoma)	SWCNT ; 50 µg/mL ; 24 and 48 h	• Determination of SOD, catalase, and GPx activities and of GSH content • ROS generation enhanced in comparison with control cells, but MDA levels not modified; activities of SOD, catalase, and GPx were decreased	Wang et al. (2012b)
RAW 264.7 macrophages	Unpurified (iron, 26.0 wt %) or purified (iron, 0.23 wt %) SWCNT; 0.12 - 0.5 mg/mL without or with zymosan (0.25 µg/mL) ; 1 - 2 h	• Determination of specific free radical intermediates by EPR spectroscopy • Neither purified nor unpurified SWCNT generated intracellular ROS • In the presence of zymosan, production of HO• more effective with unpurified than with purified SWCNT; LPO enhanced and GSH content decreased; both levels decreased by the addition of SWCNT in comparison with macrophages stimulated with zymosan only	Kagan et al. (2006)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Murine epidermal JB6 P+ cells	SWCNT ; 0.06, 0.12, and 0.24 mg/mL ; 24 h	A significant dose-dependent decrease in GSH observed after incubation of cells with partially purified SWCNT for 24 h; exposure to unpurified (iron, 30 wt%) SWCNT induced a greater reduction in GSH than exposure to partially purified (iron, 0.23 wt%) SWCNT	Murray et al. (2009)
Primary mouse embryo fibroblasts	SWCNT (or carbon black, silicon dioxide, and zinc oxide) ; 5, 10, 20, 50, and 100 µg/mL ; 24 h	- Measurement of intracellular ROS, GSH and MDA levels, and SOD activity - ROS production enhanced with all particles, in a dose-dependent manner up to 50 µg/mL; dose-dependent decrease in intracellular GSH level and SOD activity observed in comparison with control cells; with SWCNT, LPO was significantly enhanced only at 100 µg/mL	Yang et al. (2009)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human epidermal keratinocytes	MWCNT ; 0.4 mg/mL ; 24 and 48h	- Protein expression analysed by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry - Significant differential expression of 152 proteins, among which the expression of SOD2 was decreased by 1.4- and 1.9-fold at 24 and 48 h, respectively, in comparison with untreated cells	Witzmann & Monteiro-Riviere (2006)
Human embryonic kidney HEK 293 cell line	MWCNT produced by electric arc process using graphite as a source (MWCNT1) and chemical vapour deposition using methane as hydrocarbon (MWCNT2) ; 10 - 100 µg/mL ; for 48 h	- Measurement of cellular levels of reduced GSH and MDA content - The level of MDA increased and that of intracellular GSH decreased	Reddy et al. (2010b)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
분화된 THP-1 세포 (Human macrophage-like cell)	Three types of MWCNT: - NT1: long (50 μ m) straight (diameter, 2-100 nm) - NT2: aggregated relatively straight MWCNT (diameter, 150 nm) - NT3: aggregated entangled structure (individual diameter, approximately 20 nm) ; 62.5 μ g/mL; 4 h	- Determination of <i>GSTpi</i> and <i>HO-1</i> expression (RT-PCR), <i>HO-1</i> protein expression (ELISA), and GST activity <i>GSTpi</i> expression not modified after any treatment; <i>HO-1</i> expression enhanced by NT1 (significant) and NT2 (not significant), and reduced by NT3, 260-nm carbon black and LFA; <i>HO-1</i> protein and GST activity (no significant difference)	Brown et al. (2010)
Human umbilical vein endothelial cells	MWCNT ; 0, 5, and 20 μ g/mL ; 2 h	- Measurement of LPO and antioxidant levels: MDA, SOD and GPx; the antioxidant NAC was used to explore the involvement of ROS in cell injury - ROS levels significantly increased by 20 μg/mL MWCNT; SOD and GPx activities enhanced at the lowest doses, but reduced at 20 μg/mL; pretreatment with NAC reduced ROS in comparison with exposure to MWCNT only	Guo et al. (2011)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human embryonic kidney HEK 293 cell line	Four different MWCNT (size: 100 - 800, 200 - 500, 150 - 750, and 230 - 1700 nm, respectively) ; 3, 10, 30, 100, and 300 µg/mL ; 48 h	• Measurement of cellular levels of GSH (colorimetric assay) and LPO (MDA content) • Cytotoxicity and oxidative stress induced in a concentrationdependent manner; increased MDA content and decreased intracellular GSH levels observed with 30 and 100 µg/mL	Rama Narsimha Reddy et al. (2011)
Human lung adenocarcinoma epithelial A549 cells	MWCNT ; 0.5, 1, 5, 10, 50, and 100 µg/mL ; 6 - 72 h	• Measurement of cellular levels of GSH, LPO, and catalase activity • Significant ROS production at 10 and 50 µg/mL; enhancement of LPO significant at all MWCNT concentrations (for 24 h); significant decreases in intracellular GSH level and catalase activity at 50 µg/mL	Srivastava et al. (2011)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Human hepatoblastoma C3A cell line	Two types of MWCNT (NM 400, Nanocyl; diameter, 30 nm; length, 5 µm; and NM 402, Arkema Graphistrength C100; diameter, 30 nm; length, 20 µm) ; 0.5 - 256 µg/mL ; 2 - 24 h	- Determination of intracellular ROS level (using the DCF assay) and GSH (using OPT) - Generation of ROS with both MWCNT and a decrease in total GSH and GSH cell content at 24 h; pretreatment with an antioxidant (Trolox) prevented MWCNT-induced ROS production	Kermanizadeh et al. (2012)
Telomerase-immortalized human keratinocytes (N-hTERT)	MWCNT ; 100 µg/mL ; 30 min - 24 h	- Determination of intracellular ROS level and oxidative stress (using DCF oxidation), and reduced GSH - Increased DCF oxidation induced by MWCNT stirred or sonicated in water; in contrast, no effects seen with MWCNT sonicated in dispersive agents (HPC, Fagron or Pluronic F108); addition of the antioxidant Trolox prevented DCF oxidation; significant reduction in GSH level compared with controls	Vankoningsloo et al. (2012)

Cell type	나노물질; 투여; 기간	시험법/결과	참고문헌
Rat glioma C6 cell line	MWCNT1 (diameter, 10 - 20 nm; average length, 2 μ m) and MWCNT2 (diameter, 40 - 100 nm; average length, 10 μ m) ; 25 - 400 μ g/mL ; 24 h	• Determination of cytotoxicity, MDA levels and SOD activity • MWCNT1 more cytotoxic than MWCNT2; increased levels of oxidative stress observed; both CNT induced a significant increase in MDA level (at 100 μg/mL) compared with that in controls and lowered the activity of SOD	Han et al. (2012)

CCS, copper chaperone for superoxide dismutase; DCF, 2,7-dichlorofluorescein; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; EPHX2, epoxide hydrolase 2; ESR, electronic spin resonance; GPx, glutathione peroxidase; GR, glutathione reductase; GS, glutathione synthetase; GSH, reduced glutathione; GST, glutathione S-transferase; HO-1, haeme-oxygenase-1; HPC, hydroxypropylcellulose; iTRAQ-coupled 2D LC-MS/MS, iTRAQ-coupled two-dimensional liquid chromatography tandem mass spectrometry; LFA, long fibre amosite asbestos; LPO, lipid peroxidation; MDA, malondialdehyde; MT3, metallothionein 3; MWCNT, multiwalled carbon nanotubes; NAC, *N*-acetylcysteine; NOS2, nitric oxide synthase 2; NOX, NADPH-dependent oxidase; OPT, fluorescent substrate *o*-phthalaldehyde; ROS, reactive oxygen species; RT-PCR, real-time polymerase chain reaction; SOD, superoxide dismutase; SWCNT, single-walled carbon nanotubes; TBARS, thiobarbituric acid-reactive substance

- CNT의 ROS 생성 능력 또는 antioxidant depletion과 관련된 문헌들이 다수 보고되었으며 in vivo 기반의 실험 결과의 요약은 IARC Monograph 111에 정리된 아래 표와 같다(표 16).

[표 16] CNT의 ROS 생성 능력 또는 antioxidant depletion과 관련된 문헌

Species, strain (sex)	투여 경로; 농도; 기간	회복군	시험법/결과	참고문헌
Mouse, C57BL/6 fed vitamin E-sufficient or vitamin E-deficient diets (F)	Pharyngeal aspiration SWCNT ; single dose of 40 µg/mouse	28 days	• Measurement of lipid peroxidation products and GSH levels in lung homogenates • SWCNT produced antioxidant depletion; higher increase in lipid peroxidation products and greater decrease in GSH levels found in mice fed vitamin E-deficient diets	Shvedova et al. (2007)

Species, strain (sex)	투여 경로; 농도; 기간	회복군	시험법/결과	참고문 헌
Mouse, C57BL/6 (F)	Inhalation (in inhalation chambers) SWCNT ; 5 mg/m ³ ; 5 h/day, 4 days	1, 7 or 28 days	• Level of oxidative damage (lipid peroxidation measured as MDA and GSH levels) measured in lung homogenates • Significant accumulation of lipid peroxidation products compared with controls 7 and 28 days after exposure; GSH levels significantly depleted; total antioxidant capacity reduced 1 and 7 days after treatment, but returned to the control level by 28 days after exposure	Shvedo va et al. (2008)
Mouse, SKH-1 immune competent hairless (NR)	Dermal application of SWCNT ; 40, 80, or 160 µg/mouse ; once/day, 5 days	24 h	• Measurement of GSH levels in skin homogenates • Reduction of GSH levels in mice treated with the highest dose; no change with the other doses	Murray et al. (2009)

Species, strain (sex)	투여 경로; 농도; 기간	회복군	시험법/결과	참고문 헌
Mouse, BALB/c (M)	Inhalation (nose-only exposure) SWCNT ; 5 µg/g bw ; 20 min/day, 7 days	None	• Measurement of intracellular levels of MDA and ROS, and activities of SOD, catalase, and GPx in the lung; caspase-3 and -8 activities for apoptosis in lung homogenates; and MPO activity in BALF • ROS and MDA levels significantly higher in the lungs of SWCNT-exposed mice versus controls; reduced activities of SOD, catalase, and GPx; apoptosis induction; MPO activity higher in the BALF from SWCNT-exposed than control animals	Ravichan- dran et al. (2011)

Species, strain (sex)	투여 경로; 농도; 기간	회복군	시험법/결과	참고문 헌
Rat, Wistar albino (M)	Intratracheal instillation Two MWCNT samples ; single dose of 0.2, 1, or 5 mg/kg bw or quartz-crysta lline silica particles (positive control)	1, 7, 30, and 90 days	• Antioxidant capacity determined in blood samples: measurement of GSH, lipid peroxidation product (MDA), and SOD and catalase activities • Total antioxidant capacity assessed by the ability to scavenge the free radical, α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl • With both MWCNT and quartz: significant dose-dependent depletion of GSH levels and decrease in SOD activity; transient dose-dependent decrease in catalase activity; dose-dependent increase in amount of MDA 1 day after instillation, that decreased later; decreased total antioxidant capacity	Reddy et al. (2011)

Species, strain (sex)	투여 경로; 농도; 기간	회복군	시험법/결과	참고문 헌
Rat, Wistar (M)	Intraperitoneal injection M W C N T functionalized w i t h single-strand DNA ; single dose of 270 mg/L		- Levels of GSH measured in the plasma and liver after 1, 3, 6, 24, 48, or 144 h - Significant decrease in the levels of GSH in plasma at all time points after exposure, and in the liver after 3 and 24 h, but not at 48 or 144 h; GSH level returned to normal within 6 days; decreased activity of MnSOD (SOD2) in the liver at 1, 24, and 48 h, but not at 144 h	Clichici et al. (2012)

Species, strain (sex)	투여 경로; 농도; 기간	회복군	시험법/결과	참고문 헌
Mouse, BALB/c (M)	Inhalation (nose-only exposure) MWCNT ; 5 µg/g bw ; 20 min/day, 7 days	None	• Measurement of intracellular levels of MDA and ROS, and activities of SOD, catalase and GPx in the lung; caspase-3 and -8 activities for apoptosis in lung homogenates; and MPO activity in BALF • ROS and MDA levels significantly higher in lungs of MWCNT exposed mice; reduced activities of SOD, catalase, and GPx; apoptosis induction; MPO activity higher in the BALF from MWCNT-exposed mice	Ravichan- dran et al. (2011)
Mouse, pregnant heterozygous <i>p53</i> (<i>p53</i> ^{+/−})	Intravenous injection MWCNT ; 2 mg/kg bw on gestational days 10.5, 12.5, and 15.5		• Investigation of MEF • Treatment of dams with MWCNT and an antioxidant, <i>N</i>-acetylcysteine, abolished MWCNT-only induced DNA breakage observed in MEF	Huang et al. (2014)

BALF, bronchoalveolar lavage fluid; bw, body weight; GPx, glutathione

peroxidase; GSH, glutathione; MDA, malondialdehyde; MEF, mouse embryo fibroblasts; MnSOD, manganese superoxide dismutase; MPO, myeloperoxidase; MWCNT, multiwalled carbon nanotubes; NR, not reported; ROS, reactive oxygen species; SOD, superoxide dismutase; SWCNT, singlewalled carbon nanotubes

바) Crystalline structure

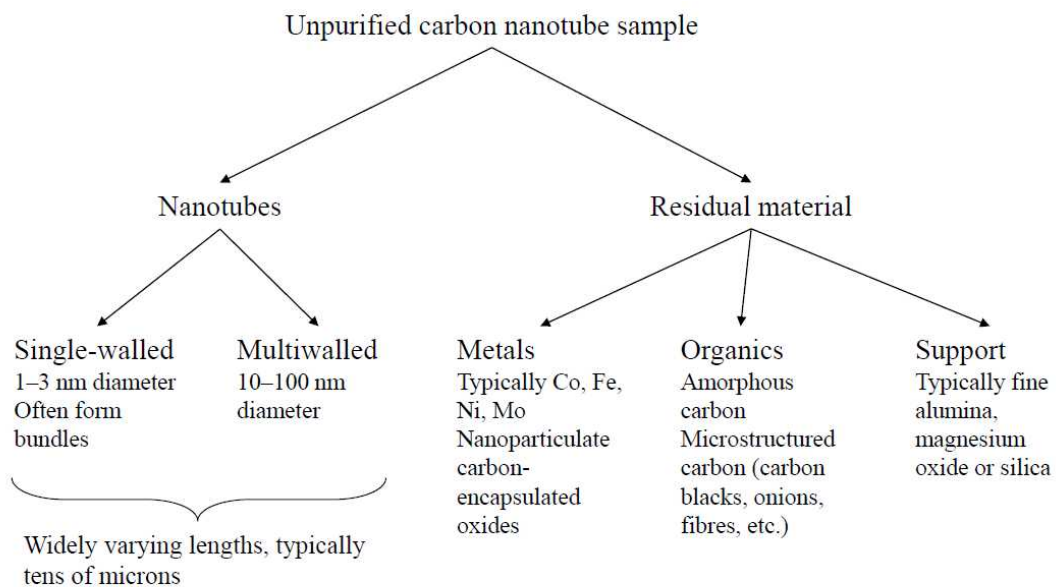
- 탄소 나노물질의 결정형은 독성에 일부 영향을 줄 수 있으나 주요 독성 유발 인자로는 고려되지 않는다. 다만, crystalline silica와 같이 결정형이 입자상 물질의 독성에서는 중요하게 고려될 수 있는데, 이 경우에도 결정형이 ROS 생성을 결정하는 주요 인자이기 때문이지 crystalline structure 자체가 어떠한 영향을 준다고 보기는 어렵다.
- Carbon black과 나노다이아몬드, 그래핀의 독성을 서로 비교 했을 때, 이 세 가지 나노물질은 염증 유발 능력이 매우 낮고 독성이 비교적 낮은 물질로 분류될 수 있다. 이 경우에 Carbon black은 amorphous carbon이지만 나노다이아몬드와 그래핀은 graphite 구조를 가지는 물질이다. 따라서 탄소나노물질에서 graphite 구조를 가지고 있는가의 여부는 독성과 크게 관련성이 없는 것으로 생각된다.

사) Composition, purity, and impurity

- CNT와 CNF의 경우에는 graphene이 튜브형태로 되어있는 공통적인 특성을 가지고 있으며 탄소로만 이루어져 있기 때문에 대부분의 제품에서 95% 이상의 purity를 가질 것으로 예상할 수 있으나 실제로는 50~99.9%까지 매우 다양한 정도가 보고되고 있으며, 차이를 유발하는 과정은 생산 후에 정제하는 과정을 거치는지에 의해서 결정된다. 따라서, CNT나 CNF를 합성하는 과정에서 다양한 화학물질을 사용하고 사용된 화학물질이 CNT나 CNF에 결합되어 있는 상태로 존재하기

때문에 impurity에 관한 우려가 제기되고 있다.

- 실제로 매우 다양한 금속 성분들이 CNT에서 검출되고 있으며, 그 중에서 soluble fraction(물 분산 후 나노물질이 제거된 상층액에서 원소 분석 수행)에서도 독성학적으로 유의미한 정도의 금속이 검출되고 있는 것이 보고되고 있다(그림 32).



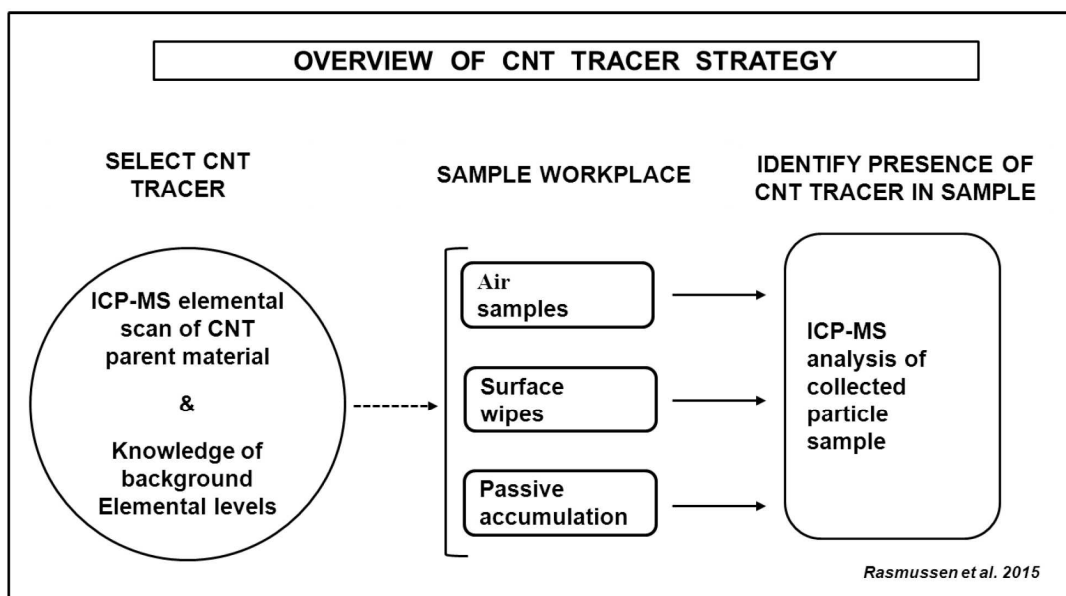
From [Donaldson et al. \(2006\)](#) by permission of Oxford University Press

[그림 32] CNT의 원소 구성과 impurity

- Elemental Composition: Pure CNT의 경우 hexagonal graphene sheets로 구성된 튜브 모양의 나노물질이기 때문에 반응성은 매우 낮은 것으로 보고되고 있다.
- CNT의 합성 과정에서 촉매 금속이 반드시 필요하기 때문에 CNT에는 실제로 다양한 금속이 잔류되어 있다. 이러한 잔류 문제는 SWCNT, MWCNT, CNF에서 모두 존재하며 등급이 낮은 물질일수록 잔류 금속의 농도가 높을 것으로 예상된다.
- 또한 SWCNT는 일반적으로 MWCNT에 비하여 높은 농도의 잔류 금

속 농도를 보인다(Kitiyanan B, et al. 2000).

- 잔류 물질은 금속류(예, iron, molybdenum)와 support substance(예, alumina, silica), 그리고 유기물질(예, Carbon black, carbon fibres)로 구분할 수 있다(Donaldson K, et al. 2006). 잔류 유기물질은 유기 물질과 다양한 종류의 카본 물질(bulk carbon)로 구분할 수 있다.
- Impurity에 대한 우려에 따라서 OECD에서는 CNT에서 metal impurity 측정 전략을 제시하였다(ENV/JM/MONO(2016)62). CNT 작업장에서 impurity 측정을 위한 전략은 아래 그림과 같다(그림 33)
- 다양한 문헌 조사를 통해서 보고된 CNT의 metal impurity의 연구결과는 다음 표와 같다. 일차적으로 생산되고 있는 CNT에 대한 원소분석을 수행하여 CNT에 잔류되어 있는 금속의 농도에 관한 정보를 확보하고, 작업장에서 다양한 샘플링을 수행하여 ICP-MS를 이용하여 원소 분석을 수행한다(표 17, 18).



[그림 33] CNT의 impurity 측정을 위한 전략(출처: ENV/JM/MONO(2016)62)

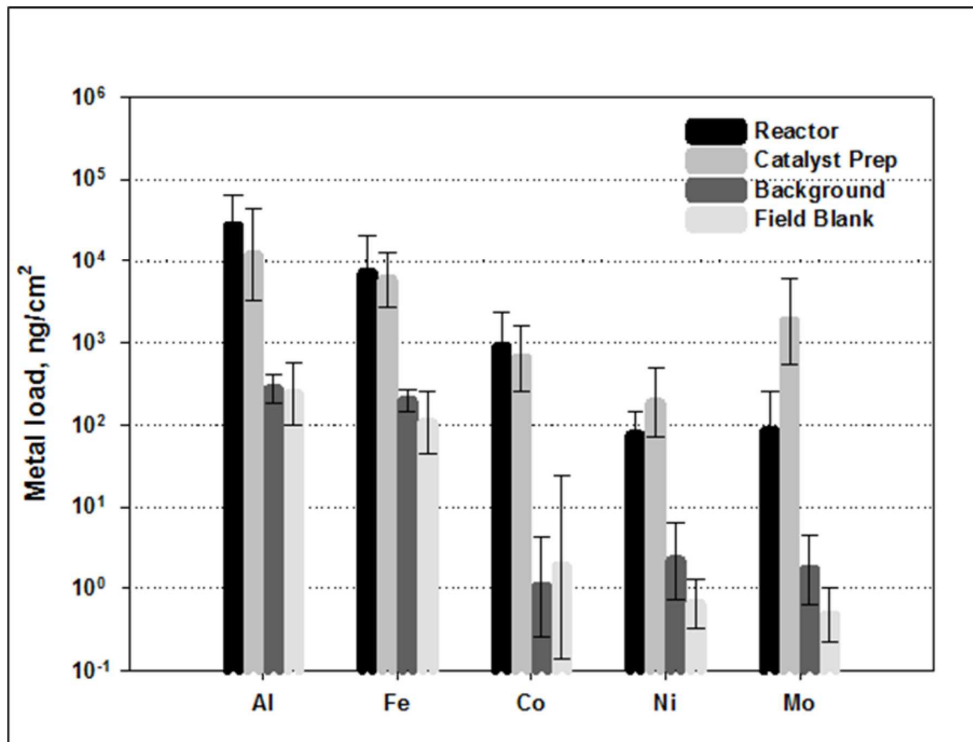
**[표 17] Impurity 보고와 관련된 논문 조사
결과(ENV/JM/MONO(2016)62) (1)**

REFERENCE	PURPOSE	TYPE OF SAMPLE	ANALYTICAL METHOD FOR METALS	COMMENTS	CNT IMPURITY
Maynard et al. 2004	Exposure monitoring at 4 CNT manufacturing facilities	Personal air samples using 25 mm mce filters; cotton glove samples	Nitric/perchloric acid extraction followed by ICP-AES (NIOSH 7300)	Fe and Ni used to estimate personal air CNT concentrations	Fe and Ni catalysts used as CNT index; Fe/Ni ratios
Baron et al. 2008	Characterization of CNT inhalation exposure for mouse experiments	MOUDI cascade impactor for collecting CNTs on MCE filters soaked with oleic acid	ICP-AES (NIOSH 7300)	CNT proxy provided size distribution information required to estimate mass dosage	Fe catalyst used as CNT proxy
Birch et al. 2011	Area and personal air monitoring in different areas of CNF manufacturing facility	Air sampled on quartz fibre and mixed cellulose ester	Nitric/perchloric acid extraction followed by ICP-AES (NIOSH 7300).	No correlation between Fe and EC concentrations due to non-CNF sources of Fe in the plant	Fe catalyst did not uniquely identify CNFs
R'mili et al. 2011	Characterization of particle releases during transfer of CNTs	CNT particles collected on grids	Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) in combination with SEM-EDX and TEM	Currently qualitative; method under development; Goal is to develop quantitative real-time elemental characterization method.	C, Al and Fe in released CNTs
Rasmussen et al. 2013	Characterization of aerosolized CNTs generated by mechanical agitation	Wet electrostatic precipitation	Ultrasonic nitric acid digestion followed by ICP-MS	Useful for monitoring transient changes in airborne CNT impurities	Ni and Y catalysts used as CNT indicator; Ni/Fe, Y/Al ratios

**[표 18] Impurity 보고와 관련된 논문 조사
결과(ENV/JM/MONO (2016)62) (2)**

REFERENCE	PURPOSE	TYPE OF SAMPLE	ANALYTICAL METHOD FOR METALS	COMMENTS	CNT IMPURITY
Reed et al. 2013	Detect CNTs released to solution from CNT/polymer nanocomposites	CNT/chitosan composite allowed to sit for 7 days in DI water	Dispersant added prior to detection using single particle-inductively coupled plasma-mass spectrometry (sp-ICPMS)	Currently qualitative/semi-quantitative due to instrumental limitations; method under development	Co and Y used as indicators of CNTs in solution at low ng/L concentrations
Neubauer et al. 2013	Detection of laboratory generated CNT	Air sampled on 25-mm quartz fibre filters	Development of next-generation <i>in situ</i> selective detection using IR sensor	Ni content must be known precisely; future development of method for other metals.	Ni catalyst in CNTs
Olson et al. 2014	Characterization of aerosolized CNTs in controlled environmental chamber	47 mm Teflon substrates from the PM2.5 cyclone sample	Water-soluble metals quantified by ICP-MS	CNTs have higher estimated Y contribution than Denver CO ambient air.	Y and other impurities (Ti, Fe, Cu, Zn, As, Cd, Pb and Ag)
Schrieve et al. 2014	To fingerprint CNT in sediment cores after a simulated spill into a wetland mesocosm.	Sediment cores were sliced and dried	Acid digestion of sediment; extracts analyzed by ICP-MS	Estimated CNT content using metal impurities agreed with near-infrared fluorescence spectroscopy	Co and Mo (CoMoCat) catalyst in CNTs; Co/Mo ratios
Rasmussen et al. 2015	Area monitoring of CNT releases in CNT manufacturing plant and downstream users laboratory	Surface wipe samples, air samples using quartz filters, and passive accumulation samples	Microwave/hot block or ultrasonic assisted acid digestion followed by ICP-MS	Correlation between metal impurities and CNTs in floor wipes; distinct Pb isotope signatures in CNTs in lab environment.	Co catalyst and Ni trace impurities in CNTs; stable Pb isotopes; Co/Fe ratios
Boonruksa et al. (2015)	Testing for released CNTs during injection molding/ recycling of CNT polypropylene composite	Emissions of < 250 µm CNT - pp captured on Teflon filter using Nano-ID sampler	Metals determined using Sector Field ICP-MS	Indirect confirmation of conclusion (from TEM and SEM) that no free CNTs were released	Mo, Al and Fe, plus signature trace impurities W, Sb, Sn, Mn and Co

- OECD 보고서(ENV/JM/MONO(2016)62)에서 제시한 CNT 작업장에서 실제로 샘플링한 dust에서 금속 성분의 분포를 조사한 결과 Al, Fe, Co, Ni, Mo 등의 다양한 금속이 다양한 과정에서 고농도로 검출되었다(그림 34).



Error bars show standard deviation about the mean of five wipe samples and three field blanks. From Rasmussen et al. (2015).

[그림 34] CNT 작업장에서 샘플링한 dust에서 검출된 5 종류의 금속 성분의 분포도(출처: ENV/JM/MONO(2016)62)

- 본 연구실에서 다양한 MWCNT에 대한 물분산 용액에서 soluble metal의 농도를 ICP-MS로 측정하였을때에도 매우 다양한 금속들이 다양한 농도로 검출되었으며, 이는 CNT의 독성에서 이러한 soluble metal이 독성에 기여할 수 있다는 것을 의미한다(표 19).

Metal concentration (ppb)																						
Materials	Al	As	B	Ba	Co	Cr	Cu	Fe	Ga	Li	Mn	Mo	Ni	Rb	Sb	Se	Sn	Sr	Ti	W	Zn	Total
CNT 1	2.3	5.8	14.5	0.1	5.5	0	0.1	0.4	0.1	0	0.1	35.9	0.2	0.4	0.6	0.1	0.1	1.1	0.7	0.6	8.5	77.1
CNT 2	9.1	7.9	15.6	0.1	6.1	0.1	0.4	1.6	0.1	0.2	0.2	35.9	0.2	0.4	0.5	0.1	0.1	1.1	0.6	0.3	9.2	89.8
CNT 3	14.7	7.37	18	0.2	2.5	0	0.2	0.5	0.1	0.2	0	0.2	0.4	0.5	1.7	0.3	0	1.8	0.9	0.2	9.6	59.17
CNT 4	14.7	7.5	13.9	0.2	5.3	0	0.1	0.7	0.1	0.1	0	0.2	0.1	0.4	0.5	0.1	0.1	1.1	0.7	0.2	10.8	56.8
Mitsui-7	4.4	3.3	19.3	0.3	0	0.1	0.2	1.7	0	0.3	0	0.1	0.2	0.4	0.5	0.3	0	1.4	0.8	0.1	11.1	44.5
Amosite	2.4	4.8	7.6	0.9	0	0	0.3	17	0	0	1.1	0.1	0.2	0.3	0.5	0	0	1.3	0.4	0.1	9.9	46.9
Crocidolite	4.1	4.8	7.2	0.5	0	0	0.4	7.7	0.1	0	11.9	00.1	0.3	1.8	0.4	0.1	0	2.1	0.3	0.1	12.7	54.6

[표 19] CNT 100 μ g/mL의 물 분산액에서의 soluble metal 농도 분석 결과(unpublished data)

- Impurity와 관련하여 독성학적으로 연관성을 연구한 논문은 소수에 불과하다. IARC Monograph 111에서 보고된 metal impurity와 독성의 상관성에 관한 요약은 아래 표와 같다(표 20).

[표 20] CNT의 impurity가 독성에 미치는 영향에 관한 문헌 및 결과 요약

Property	Type of CNT	End-points/models	Effects	Refernces	Characteristics
Metals from residual catalyst	SWCNT	Oxidatives tress/mouse RAW 264.7 macrophages	Iron increased oxidative stress	Kagan et al. (2006)	Diameter: 1-4 nm; purity: iron, 0.23-26%

Property	Type of CNT	End-points/ models	Effects	References	Characteristics
	SWCNT/ MWCNT	Cytotoxicity, release of inflammatory mediators, oxidative stress/rat NR 8383 cells, human A549 lung cells	Metals increased oxidative stress	Pulskamp et al. (2007)	Diameter: 1-2 nm, 10-20 nm, and 30-50 nm; purity: different content of cobalt, iron, nickel, copper, and molybdenum
	MWCNT	Genotoxicity/rat lung epithelial cells; lung inflammation, fibrosis/rats	Metals residues contribute d to an increased in toxicity	Muller et al. (2008a)	Length, 0.7 µm; diameter, 11 nm; purity: cobalt (~0.50%), and iron (0.48%)
	SWCNT	Oxidative stress, inflammation/Epi Derm FT engineered human skin; collagen accumulation/ mice	Metals residues contribute d to an increase in toxicity	Murray et al. (2009)	Iron, 30% and 0.23%

Property	Type of CNT	End-points/models	Effects	References	Characteristics
	MWCNT	Cell viability, inflammasome activation/freshly isolated alveolar macrophages from C57BL/6 mice	Slight reduction in cytotoxicity and inflammasome activation after purification	Hamilton et al. (2013b)	Dimensions not reported
Residual catalyst support/amorphous carbon	MWCNT	Cell viability, inflammasome activation/freshly isolated alveolar macrophages from C57BL/6 mice	Slight reduction in cytotoxicity and inflammasome activation after removal of amorphous carbon	Hamilton et al. (2013b)	Dimensions not reported

- 대표적인 연구결과로는 Ge 등(2012)이 발표한 논문이 있으며 요약하면 아래와 같다(그림 35).
 - 4종류의 CNT를 이용하여 metal impurity를 측정하였고 다양한 금속이 다양한 농도로 존재함을 확인하였다.
 - 4종류의 CNT에 대한 ROS 생성 능력을 ESR 방법을 적용하여 측정하였으며 그 결과 soluble metal 중에서 Fe의 농도가 ROS와 상관성이 매우 높게 관찰되었다($R^2=0.9877$). 이 논문의 결과는 금속 성분 중에서 Fe의 농도는 나노물질의 ROS 생성을 유도한다는 것을 의미한다(그림 36).

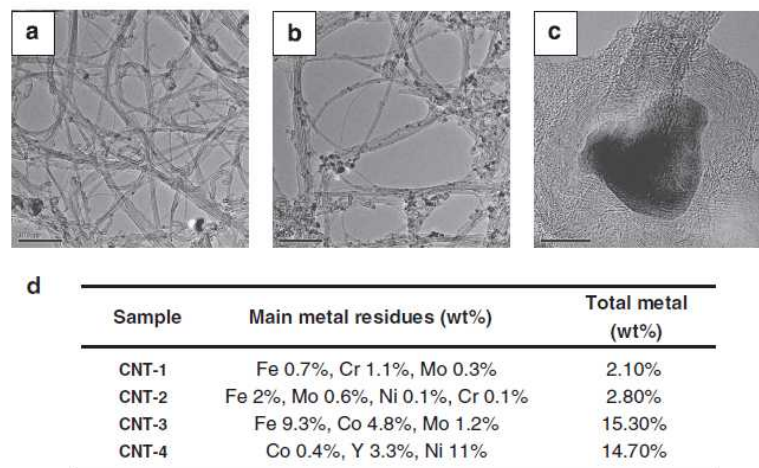


Figure 1 (a-c) High-resolution transmission electron microscopic images of carbon nanotube (CNT)-1 (a), CNT-3 (b) and metal residues in CNTs (c). (d) The content of main metal residues contained in CNTs determined using inductively coupled-plasma mass spectrometry (unit: $\mu\text{g g}^{-1}$).

[그림 35] 각기다른 제조회사에서 제조된 CNT의 잔여 금속물 성분과 양의 차이(Ge et al. 2012).

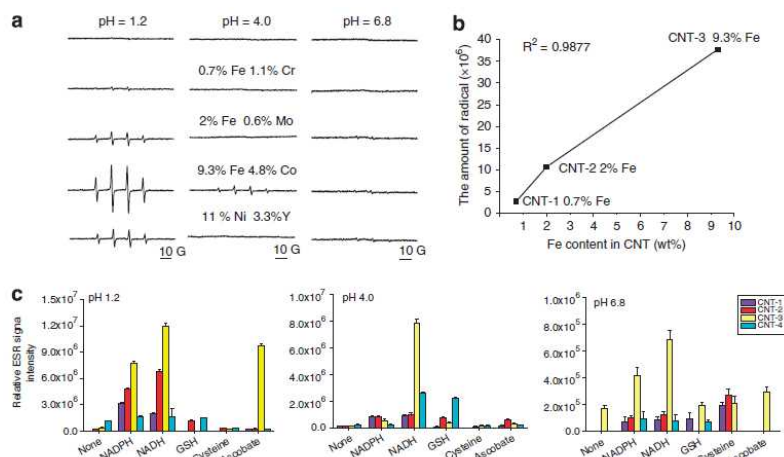


Figure 4 (a) Hydroxyl-radical formation from carbon nanotubes (CNTs) having different metal contents at different pHs. Samples contain 0.5 mg ml^{-1} of different single wall nanotubes, $0.1\text{ mM H}_2\text{O}_2$ and $50\text{ mM 5,5-dimethyl-pyrroline N-oxide (DMPO)}$. Electron spin resonance (ESR) spectra were recorded 1 min after sample mixing. (b) The correlation between the amount of radicals from nanotubes and Fe content in CNTs. (c) Hydroxyl-radical formation from nanotubes having different metal contents at different pHs. Samples contain 0.5 mg ml^{-1} of different single wall nanotubes, $0.1\text{ mM H}_2\text{O}_2$, 50 mM DMPO and 0.25 mM of various reducing agents. ESR spectra were recorded 1 min after sample mixing. The x axis represents different reducing agents, and the y axis represents the ESR signal intensity of the spin adduct (a.u.). GSH, reduced glutathione; NADH, reduced nicotinamide adenine dinucleotide; NADPH, reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

[그림 36] CNT의 impurity 중에서 Fe 농도가 radical 생성이 밀접한 관련이 있다는 논문(Ge et al. 2012).

- Fe의 농도가 ROS 생성과 관련이 있는 기전으로는 Fe가 Fenton

reaction에 관여하기 때문이라고 제안되었다(그림 37).

□ Impurity와 독성의 상관성에 관한 정성적/정량적 분석 결과 요약

- CNT의 제조과정에서 금속 성분의 catalyst를 사용하는 과정 때문에 금속이 CNT에 혼합되며 CNT의 순도를 높이기 위한 purification 과정을 통해서 CNT의 순도가 증가하게 된다.
- CNT의 순도는 50%~99.9%까지 매우 다양한 정도로 존재할 수 있으며 CNT에 부착된 금속이 물 기반의 용매에 매우 높은 농도로 용출되는 것이 보고되었으며, 용출되는 금속 또한 매우 다양하며 일반적으로 코발트, 철, 니켈, 몰리브덴 등이 검출되지만 CNT의 제조 방법에 따라서 성분의 차이는 매우 크다.
- CNT에서 용출되는 금속 중에서 철의 농도는 CNT의 ROS 생성 능력과 매우 높은 상관성을 보인다는 보고가 있으며 다른 금속의 독성학적 역할에 대해서는 아직 연구가 부족하다.
- 아직 연구가 되지 않은 부분 중에서 중요한 고려사항이라고 판단되는 부분은 CNT의 물 분산에서 용출되는 금속의 농도 보다는 산성 리소솜액에서 용출되는 금속의 농도의 농도가 훨씬 더 높고 종류도 다양할 것으로 생각되며 CNT의 대부분은 대식세포에 의해서 탐식되어 리소솜액과 만나기 때문에 이와 관련된 연구가 필요할 것이라고 판단된다.

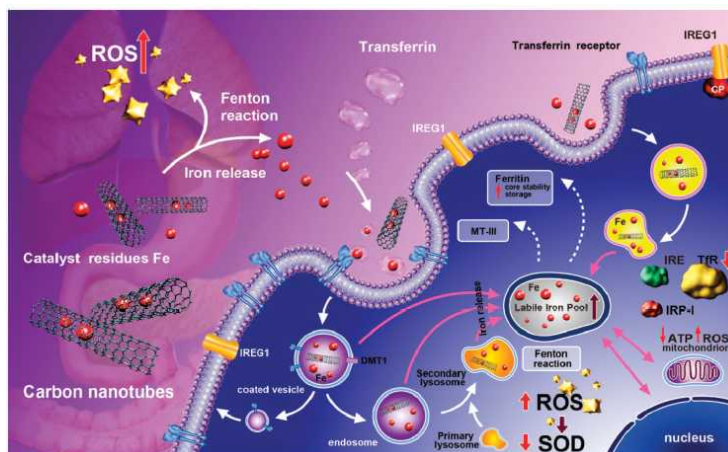


Figure 7 Transport pathway, cellular and molecular mechanisms of toxicity associated with cellular exposure to carbon nanotubes and leached metal. Intracellular iron uptake can occur by transferrin receptor (TfR) on cellular membranes (the reductase present in acidified endosomes converts Fe^{3+} to Fe^{2+} before transport into the cytosolic space by divalent metal transporter-1 (DMT-1)) or carbon nanotube endocytosis/phagocytosis followed by acid-enhanced Fe^{2+} release in endosome and lysosome. By increasing the intracellular iron, the level of labile iron pool (LIP) is upregulated. The resultant Fe^{2+} within the LIP (1) activates the regulatory iron regulatory protein/iron regulatory element (IRP/IRE) system; (2) is sequestered by chaperones or storage proteins, such as ferritin and metallothioneins (MTs); (3) reoxidizes into Fe^{3+} and effluxes out of the cell via CP (ceruloplasmin) and IREG1 (iron-regulated gene 1); or (4) participates in iron-catalyzed reactions to generate reactive species. SOD, superoxide dismutase.

[그림 37] CNT의 impurity가 독성에 미치는 영향에 관한 모식도(Ge et al. 2012).

4. 나노물질 국제 규제 현황 개요

1) 나노물질 규제 현황 개요

- 나노물질에 대한 안전성 우려: 나노물질은 기존의 화학물질과는 다른 새로운 물리화학적 특성을 가지고 있기 때문에 다양한 분야에서 개발하고 있는 나노물질에 대한 안전성 우려가 나노기술의 발전과 함께 대두되고 있다. 나노물질에 대한 안전성 문제는 환경, 보건, 안전(EHS, Environment, Health & Safety) 분야로 묶어서 이슈화 되고 있으며 선진국을 중심으로 주요 국가에서 나노물질을 잠재적 위해 물질로 간주하고 있으며 나노물질에 대한 규제 방안을 확보해 나가고 있는 상황이다.
- 나노물질에 대한 규제: 나노물질과 관련하여 원료물질, 중간소재, 최종 완제품에 대한 나노물질의 규제는 현실화되고 있으며, 기존의 화학물질보다 훨씬 더 까다로운 규제를 하려는 정책을 가지고 있다. 나노물질에 대한 규제의 유럽과 미국의 대표적인 법률로는 유럽연합에서 신화학물질관리제도(원료물질), RoHS(전기전자제품), 화장품법, 식품 및 사료법, 나노 폐기물 관리지침 등이 있으며 미국에서는 독성물질관리법(원료물질), 살충살균살서제법(살충제, 살균제, 살서제) 등이 있다.
- 규제의 목적: 표면적으로 나노물질에 대한 까다로운 규제는 나노물질로부터 환경을 보호하고 국민 보건을 유지 또는 향상시키며, 작업자나 소비자의 안전을 확보하는 것에 목적이 있다고 할 수 있다. 그러나 또 한편으로는 나노물질에 대한 규제를 강화함으로써 자국의 나노기술 산업을 보호하고 발전시키기 위한 목적으로도 사용되고 있다.

- **규제 사례:** 나노기술에 대한 기술 규제의 실제 사례는 2008년 삼성 전자에서 개발한 은나노세탁기를 살충제로 규정하면서 벌금 부과를 시작으로 유럽을 포함한 선진국으로 규제가 확산되고 있다.
- **국제적 규제:** 각국의 규제뿐만 아니라 국제적 규제도 진행되고 있다. 대표적인 예로 국제암연구소(IARC)에서는 2014년 9월 프랑스 리옹에서 화학물질 발암성 평가에서 탄소나노튜브의 발암성 평가 및 발암물질 분류 여부를 결정하였다. 탄소나노튜브는 다양한 종류가 있을 수 있고 같은 batch의 탄소나노튜브 물질 내에서도 물질 간의 물리화학적 특성이 균일하지 않은 특성이 있다. 이러한 물리화학적 특성의 차이는 전혀 다른 독성을 나타낼 수 있기 때문에 한 종류의 탄소나노튜브의 독성 연구 결과를 다른 종류에 적용하는 것은 불가능하다. 국제암연구소에서도 모든 종류의 탄소나노튜브에 대한 발암성 평가를 수행하지 못하였고, 다만 가장 연구가 많이 되었던 1종류의 탄소나노튜브인 Mitsui-7 물질에 대해서 Group 2B(발암 의심물질)로 설정하였고, 나머지 탄소나노튜브에 대해서는 Group 3(발암성을 평가할 수 없음)로 판정하였다. 그리고 향후 5년 이내에 다른 종류의 탄소나노튜브에 대해서 재평가를 공표하였고 그 주요한 방향성은 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관관계에 관한 데이터를 바탕으로 하는 모듈식 규제가 될 것이다. 국제암연구소에서는 탄소나노튜브를 시작으로 향후 지속적으로 다양한 나노물질에 대한 발암성을 평가할 계획이며, 발암물질 규정 유무에 따라서 각국의 규제 정책이 영향 받게 될 것이다.
- **대응 방안:** 나노물질에 대한 기술 규제는 나노기술을 차세대 성장동력산업으로 육성하고 있는 우리나라에게 치명적으로 작용할 수 있기 때문에 우리나라에서는 나노 안전성 분야에 대한 투자와 연구개발을 통해서 선진국 수준 이상의 규제과학을 발전시켜야한다. 이러한 발전을 통해서 우리나라의 나노 원료물질이나 중간재, 그리고 나노제

품이 외국에 수출되는데 문제가 없도록 유도하고 안전한 나노물질을 개발단계에서부터 가능하게 유도하여야 한다. 따라서 나노물질에 대한 안전성 평가가 나노기술 산업을 저해하는 것이 아니라 우리나라 나노기술 산업을 보호하고 발전시키는데 핵심적인 역할을 할 것이라는 생각을 가지는 것이 필요하다.

- **나노 안전성 평가 기술 국제 표준:** 나노물질의 물리화학적 특성 측정법과 독성시험법 등 안전성과 관련된 기술의 국제 표준 제정은 현재 ISO TC 229(나노기술)에서 주도적으로 진행되고 있으며 우리나라도 ISO에 적극적으로 참여하고 있다. 나노 안전성 평가 기술에 대한 국제 표준의 선점은 국내 나노제품의 수출에 기술적 규제로 작용할 가능성이 매우 높기 때문에 국제 표준에 대한 적극적인 참여와 정보의 확보는 매우 필요하다. 그 외에도 유럽연합에서는 나노물질의 규제를 위한 NanoREG 사업을 통해서 규제적 관점에서의 시험법에 대한 조화(harmonization) 방안을 마련하고 있다.
- **나노 안전성 평가 기술 국제 조화:** 나노물질의 안전성에 대한 우려와 안전성 평가법의 부재에 대한 우려에 따라서 OECD에서는 OECD에서는 제조나노물질작업반(WPMN)을 설치하였다. 제조나노물질작업반을 통해서 OECD는 나노물질의 측정법, 독성시험법, 위해평가법 등의 안전성 평가 기술에 대한 국제 조화를 추진하고 있다.

5. 국외 나노 안전성 관련 규제 기관 및 역할

1) 미국

미국의 나노물질 규제 기관으로는 환경청, 산업안전보건연구원, 식품의약품안전처 등이 있으며 그 중에서 환경청은 독성물질관리법을 통해서 산업용 원료 나노물질에 대한 관리를 수행하며 연방 살충살서 제법 등을 통해서 활성물질에 대한 규제 관리를 수행한다. 산업안전보건연구원에서는 작업자의 안전에 관한 규정을 마련하며 식품의약품안전처에서는 식의약품 원료로서의 나노물질의 안전성 평가에 관한 지침마련과 규제를 수행한다.

(1) 환경청(EPA, Environmental Protection Agency)

- **독성물질관리법:** 미국 환경청은 1976년에 독성물질관리법(TSCA : Toxic Substances Control Act)을 제정하여 화학물질에 대한 인체와 환경에 대한 유해성을 평가하여 제품을 등록 및 허가하고 있다. 독성물질관리법은 나노물질에 대해서도 화학물질의 하나로 간주하고 포괄적인 규제를 수행하고 있다. 그러나 최근 나노물질의 유해성에 관한 연구결과가 제시되면서 나노물질에 관한 엄격한 규제적 접근을 하고 있다. 탄소나노튜브에 대해서는 제조자에 대해서 제조전 사전 신고(PMN: Pre-Manufactured Notice)의무를 부여하고 있다.
- **제조전 사전 신고 의무:** 제조전 사전 신고 의무는 독성물질관리법 하에서 현재는 대상 나노물질이 기존의 화학물질과 구조나 조성이 같은 경우(예를 들어 bulk TiO_2 vs nano TiO_2) 동일한 물질로 취급하고 있기 때문에 나노물질의 물리화학적 특성(예, 크기, 모양, 표면 전하, 표면활성 등)은 고려하지 않고 있다.

- **중요 신규 사용 규칙:** 이미 화학물질을 허가 받은 기존물질이라고 하더라도 다른 용도로의 사용은 중요 신규 사용 규칙(SNUR: Significant New Use Rules)을 제출하여 허가 받아야 한다. 그러나 독성물질관리법에서 대상목록 물질 중 연간 10톤 미만을 생산, 수입하는 업체는 신고의무 제외 대상이기 때문에 현 제도상에서는 대부분의 나노물질이 배제될 가능성이 높다. 그러나 2013년에 환경청에서는 실리카(SiO_2), 산화알루미늄(Al_2O_3), 단일벽/다중벽 탄소나노튜브에 대해서 신고의무 제외 대상에서 예외로 분류하여 별도 관리를 수행하고 있다. 이 지침에 따르면 단일벽 탄소나노튜브(SWCNT)의 경우 제조 90일전 자료를 제출하여 허가를 얻은 후 제조 및 판매해야 하며, 다중벽 탄소나노튜브 (MWCNT)는 90일 흡입독성자료를 제출하도록 하여 독성에 관한 안전관리 의무가 추가 되었다.
- **연방살충살서제법:** 미국 연방살충살서제법(FIFRA : Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act)은 살충제와 살서제 등의 살생물제를 규제하는 법률로서 나노물질에 대해서도 환경에 노출시 살생물 효과가 있는 경우에는 규제를 적용하고 있다. 대표적인 예로 항균 물질로 다양한 소비재에 사용되고 있는 은나노물질에 대해서 환경청에서는 이것을 살충제로 분류하였고 은나노물질이 포함된 제품에 대해서는 등록절차를 따르도록 규정하였다.

(2) 산업안전보건연구원(NIOSH)

- **설립 배경 및 임무:** 미국의 산업안전보건연구원(NIOSH, , National Institute of Occupational Safety & Health)은 1970년 제정된 산업안전보건법(Occupational Safety & Health Act)에 따라서 설립되었고 주요임무로는 1) 작업장 내 물질 위해성 여부 결정, 2) 상해 질병 사망 등을 예방하기 위한 연구 수행, 3) 안전한 작업장 확보를 위한 지침 및 권고(안) 제시이다.

- **나노물질 관련 규제:** 산업안전보건연구원은 나노물질의 위해성에 대한 근로자 보호를 목적으로 연구를 수행하며 국가나노기술개발 전략(NNI : National Nanotechnology Initiative)의 환경 및 건강 영향 부문(Environmental and Health Implication)의 주관기관으로 활동하여 체내 나노입자의 독성 기전과 체내 거동에 대한 연구를 수행하고 근로자에 대한 잠재적 위해 예방을 위한 방안을 연구하고 있다.
- **나노기술연구센터:** 산업안전보건연구원은 나노기술과 관련된 연구를 총괄하고, 작업장 내 나노물질 취급에 대한 안전지침을 개발하기 위해 2004년 나노기술연구센터(Nanotechnology Research Center)를 설립하였다. 나노기술연구센터는 작업장 내 나노입자의 유해성 규명과 특성연구, 노출평가, 위험성 평가, 위험관리에 대한 연구 프로그램을 운영하고 있으며 최종적으로는 작업자에 대한 잠재적 건강 위험성을 규명하고 관련 권고(안)을 개발함으로써 작업자를 보호하는 것을 목표로 하고 있다.

(3) 식품의약품안전처(FDA, Food and Drug Administration)

- 미국 연방 식품 의약품 및 화장품 법: 연방 식품의약품 및 화장품법 (FFDCA : Federal Food, drug, and Cosmetic Act)에 따라서 식의약품 및 화장품 나노소재에 대한 안전성 평가를 수행하고 있다. 기본적인 방침은 개별 제품에 대한 안전성 검증을 case-by-case로 수행하는 것이며, 개발자가 안전성 자료를 제출하고 나노물질이 함유되었으나 안전성 평가가 실시되지 않았거나 평가가 불가능한 제품에 대해서는 시장 판매를 불허한다는 방침이다.

2) 유럽

(1) 유럽화학물질청(ECHA, European Chemicals Agency)

- **신화학물질관리제도:** 유럽 화학물질청은 신화학물질관리제도 (REACH : Registration, Evaluation, Authorization & Restriction of Chemicals)를 통해서 화학물질에 대한 기술적, 과학적, 행정적 측면에 대한 관리 및 업무를 수행한다. 신화학물질관리제도는 유럽 내 화학물질을 연간 1톤 이상 제조 및 수입하고자 하는 자에 대해 화학물질의 물리·화학적 특성 및 안전성 자료, 취급방법에 관한 정보를 제출하고 유럽 화학물질청에 등록하는 것을 의무화하고 있으며 나노물질도 여기에 포함되어 규제되고 있다. 이와 더불어 신화학물질관리제도와 관련된 유럽연합 회원국과 관련기관의 화학물질의 등록, 관리, 사용 제한 등에 대한 자문 등의 역할을 제공한다.

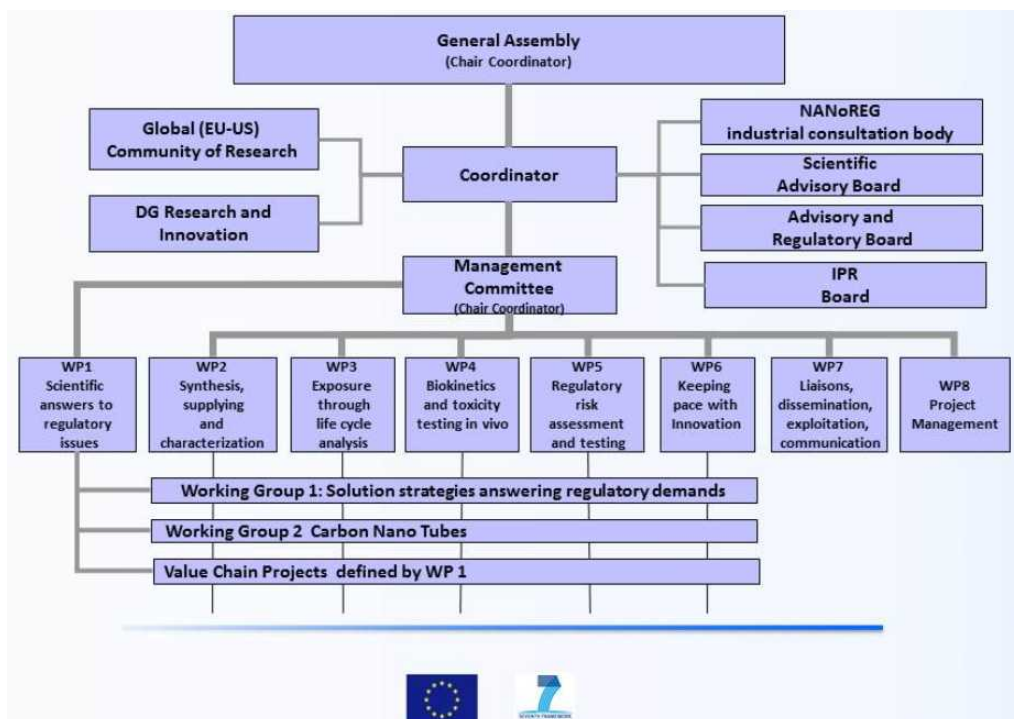
(2) 유럽연합 회원국 위원회(Member State Committee)

- **유럽연합 회원국 위원회:** 유럽화학물질청은 회원국 위원회(Member State Committee), 위해성평가 위원회(Risk Assessment Committee), 사회경제분석 위원회(Socio-Economic Analysis Committee), 살생물제 위원회(The Biocidal Products Committee)를 구성하고 있고 각 위원회에서는 전문 분야에 대한 의견 조율 및 합의 도출 등의 역할을 수행한다.
 - (1) 회원국 위원회: 유럽연합의 회원국에서 제기한 화학물질의 위험성에 대한 평가와 검증을 통해서 합의를 도출하며 회원국 중 고 위험 우려물질의 후보물질을 선정하고 의견을 조율하는 기능을 수행한다.
 - (2) 위해성평가 위원회: 신화학물질관리법의 규정 및 유럽의 분류 및 표시 규정(CLP)에 따르는 화학물질의 인체 건강 및 환경에 대한 위험성 검증 및 평가에 대한 의견을 제시한다.
 - (3) 사회경제분석 위원회: 신규 화학물질의 사용과 등록, 그리고 사용제한 조치에 대한 사회 경제적 파급효과를 분석한다.

(4) 살생물제 위원회: 유럽연합 회원국의 요청이 있을 경우에 인간과 동물의 건강 및 환경에 위험이 되는 살생물제 제품에 대한 허가, 갱신, 취소, 기술지도 등의 업무를 담당한다.

(3) NanoREG (Regulatory testing of Nanomaterials)

- **설립:** 유럽연합의 주요국과 미국은 나노안전 규제 지원을 위한 국제협력사업인 NanoREG을 2013년 3월부터 추진하였다. NanoREG은 제조나노물질 함유 소비자제품의 위해성을 저감을 위한 특성분석, 독성시험 및 노출 평가, 위해성평가 방법을 마련하는 것을 목적으로 한다.
- **추진체계:** NanoREG은 나노물질의 규제적 접근을 위한 종합적이고 포괄적인 시험법의 개발을 추진하고 있으며 세부적으로 8개의 추진체계(WP, Work Package)로 구성된다(그림 38).



- WP1: 제도 도입관련 과학적 근거 마련

- WP2: 나노물질 합성, 공급 및 물리화학적 특성 분석
- WP3: 나노물질 전주기 노출 영향 평가
- WP4: 나노물질의 생체 동태와 독성 평가
- WP5: 규제적 위해평가와 시험법 개발
- WP6: 지속적 혁신 유도
- WP7: 네트워크구축 및 소통
- WP8: 프로그램 관리

[그림 38] NanoREG의 추진체계 개요

3) 국제기구

(1) 경제협력개발기구(OECD, Organization for Economic Cooperation Development)

- 제조나노물질작업반 설치: 경제협력개발기구는 화학물질의 안전성과 관련하여 회원국 간의 안전성 평가 시험법의 조화를 위해서 시험법 가이드라인 등을 제정하여 독성시험을 중복으로 수행하거나 안전성이 국가 간 기술장벽으로 작용하는 것을 방지하고 있다. 나노물질의 인체 및 환경 위협 가능성이 대두됨에 따라서 경제협력개발기구에서는 나노물질의 안전성과 관련하여 2005년 화학물질 위원회와 화학물질/살충제/생명공학 작업반의 합동회의를 통해 보건 및 환경보호를 위한 제조나노물질의 잠재적 영향에 대해 논의하였다. 2006년 9월에는 화학물질 위원회 산하 제조나노물질작업반(Working Party on Manufactured Nanomaterials)을 조직하여 제조나노물질에 의한 유해영향을 평가하는 시험법 등을 개정하거나 기존 화학물질에 적용되고 있는 안전성평가 시험법을 준용할 수 있는지의 여부 등을 평가하고 있다.
- 제조나노물질작업반 목표: 제조나노물질작업반의 목표는 제조나노

물질에 대한 인체건강 및 환경영향 관점에서 유해성평가 및 위해성평가 분야에 대해서 긴밀하게 회원국의 전문가와 협력하고 있다. 제조나노물질작업반은 경제협력개발기구 회원국/비회원국/참관국의 정부출신 전문가와 유엔환경프로그램(UNEP, United Nations Environment Program), 국제표준화기구(ISO, International Organization for Standardization), 경제산업자문위원회(BIAC, Business and Industry Advisory Committee), 노동조합자문위원회(TUAC, Trade Union Advisory Committee), 환경 NGO 출신 초청 전문가 등 100명 이상으로 구성된다.

- 제조나노물질작업반 주요 영역: 제조나노물질작업반은 인체 건강 및 환경 안전성 확립을 위해서 8가지 주요 영역으로 세분하여 역량을 집중하고 있다. 8가지 분야로 1) 인체건강 및 환경 안전성 연구(EHS) 데이터베이스 개발, 2) 제조나노물질에 대한 EHS 연구 전략, 3) 대표 제조나노물질의 안전성시험, 4) 제조나노물질 및 시험 지침, 5) 자발적 분석 및 규제 프로그램 협력, 6) 위해성평가 협력, 7) 나노독성 대체 방법의 역할, 8) 노출측정 및 노출완화로 분류하고 있다.
- 제조나노물질작업반 활동 내용: 현재, 상업적으로 널리 이용되고 있는 은나노 등 13종의 대표 제조나노물질의 시험기준 및 시험방법을 결정하기 위한 나노물질 안전성 시험 지원 사업이 진행되고 있으며 우리나라는 은나노 물질에 대한 평가의 주무국으로, 다중벽 탄소나노튜브, 이산화티타늄, 실리카 나노입자에 대한 평가의 공동 참여국의 자격으로 활동하고 있다.

(2) 국제표준화기구(ISO, International Organization for Standardization)

- 국제표준화기구의 기능: 국제표준화기구는 국제적으로 통용되는 표

준을 개발, 보급함으로써 나라마다 다른 산업, 통상 표준의 문제의 해결에 기여하고 있다.

- **기술위원회:** 국제표준화기구는 전기, 전자 제품을 제외한 전 산업분야의 표준을 다루고 있으며 분과별로 구분할 수 있는 세부 기술위원회(TC, Technical Committee)를 운영하고 있으며 200개 이상의 기술위원회가 운영되고 있다.
- **나노기술 분야 기술위원회:** 나노기술에 대한 표준은 2005년 1월 영국 표준협회에서 나노기술 분야 신규 기술위원회 설립을 제안하여 TC229이 설립되었으며 2005년 11월 9일에 제1차 TC 229 총회가 개최되었다. TC229는 나노기술 분야의 표준과 관련하여 5개의 작업반(WG, Working Group)으로 구분하여 운영하고 있다(그림 39).

Reference	Title	Type
ISO/TC 229/CAG 1	Chairman Advisory Group	Working group
ISO/TC 229/JWG 1	Terminology and nomenclature	Working group
ISO/TC 229/JWG 2	Measurement and characterization	Working group
ISO/TC 229/TG 2	Consumer and societal dimensions of nanotechnologies	Working group
ISO/TC 229/TG 3	Nanotechnologies and sustainability	Working group
ISO/TC 229/WG 3	Health, Safety and Environmental Aspects of Nanotechnologies	Working group
ISO/TC 229/WG 4	Material specifications	Working group
ISO/TC 229/WG 5	Products and Applications	Working group

- ISO/TC 229/JWG 1: 나노물질 정의 및 용어 표준화 작업반
- ISO/TC 229/JWG 2: 나노물질 측정과 특성분석 표준화 작업반
- ISO/TC 229/WG 3: 나노기술과 지속가능성 분야 표준화 작업반(소비자, 근로자, 환경에 대한 나노물질의 독성 평가 기술, 노출평가, 위해관리 분야)
- ISO/TC 229/WG 4: 나노물질의 사양에 대한 표준화 작업반
- ISO/TC 229/WG 5: 나노제품과 응용에 관한 표준화 작업반

[그림 39] ISO/TC229 의 작업반 구성

6. 나노 안전성 관련 국내 연구 및 규제 현황

1) 국내 나노안전성 분야 정책 추진 현황

(1) 범부처

- **각 부처별 나노 안전관리 대책 수립:** 우리나라의 나노 안전관리 분야는 2000년대 후반부터 기초 조사·연구가 진행되었고, 나노물질, 나노제품 등 각 부처 별 소관사항에 따라서 나노 안전관리 대책을 수립 및 시행하고 있다.

- 환경부: 조사·연구사업 중심의 나노물질 안전관리 중기계획 수립 ('10.3)
- 산업부: 나노융합산업 촉진을 위한 나노제품 안전성 종합계획 수립('11.1)
- 식품의약품안전처: 나노 식·의약품 등 안전관리 기본계획 수립 ('11.7). 나노기술이 적용된 식품의 경우 「식품안전기본법」 제 21조(신종식품의 안전관리), 「식품위생법」 제4조(위해식품 등의 판매 등 금지) 제2호, 「식품위생법」 제15조(위해평가) 제1항 등의 조항에 근거하여 안전성 평가 권고

- **범부처 나노안전 종합계획:** 2011년 10월에 제1차 나노 안전관리 종합계획을 수립하였다.

(2) 주요 정책 이행 현황

- **산업통상자원부:** 2011년에 국내 나노소재 및 제품의 안전한 사용을 위한 안전성 평가방법 체계 확립 및 국제표준 인증체계 구축을 목표로 '나노융합산업 촉진을 위한 나노제품 안전성 종합계획'을 수립

하였다.

▪ 종합계획의 추진전략 및 추진현황

5대 추진전략	세부추진과제
1. 나노제품의 생산, 유통 등 소주기과정 관리기반 구축	☐ 나노소재 적용 제품 실태조사
	☐ 나노제품 인벤토리 구축
	☐ 나노소재·제품 추적관리 시스템 개발
	☐ 안전기준마련 및 KC인증 추진
	☐ PDCA 기법을 활용한 메뉴얼 개발
	☐ 자기적합성선언(SDoC) 유도
	☐ 위해상품판매차단시스템 적용
2. 나노제품 안전성 평가방법 개발 및 표준화	☐ 나노제품 안전성 평가·측정방법 개발을 위한 R&D 추진
	☐ 시험·분석·측정방법 및 장비·기기의 국제표준화
	☐ 해외 규제 동향 보고서 발간
	☐ 나노소재 물질정보DB(MSDS) 구축
	☐ 나노제품 설계 지침 등 DB 구축 및 표준화
3. 국제 표준에 따른 작업장 및 소비자 안전을 위한 인증 체계 구축	☐ 「나노 안전작업장 프레임」 개발
	☐ 나노소재 적용 제품의 품공법 적용 및 안전인증 추진
	☐ 나노제품안전성센터 구축
4. 안전한 나노제품 시장 활성화 정책 추진 (보급/확산)	☐ 민간 중심 나노제품 인증(품질인증) 마크 개발
	☐ 시장 감시활동 지원
	☐ 조달청 우선구매제도 시범 적용
5. 법·제도 운용 및 국제협력 체계 강화	☐ 「나노제품의 안전관리에 관한 지침」 제정 및 표준화(KS)
	☐ 「나노기술개발촉진법」 개정
	☐ 표준화 관련 국제활동 강화
	☐ 범부처 나노안전성 종합대책 마련

▪ 종합계획의 전략별 추진 계획

5대 추진전략	1단계 (2011-2013)	2단계 (2014-2017)	3단계 (2018-2020)
단계별 추진 기본방향	- DB 구축 활동 - 안전성 평가 기술개발 - 안전지침 등 가이드라인 제시	- 분석·측정방법 표준화 - 인증 기준 마련 - 인증을 위한 국제표준화	- 인증시스템 구축 - 나노제품 시장활성화 - 법·제도 정비
1. 나노제품의 생산, 유통 등 소주기과정 관리 기반 구축	- 나노소재 적용 제품 실태조사 - 나노물질 인벤토리 구축(現 환경부에서 구축 중)	- 나노제품 인벤토리 구축 - 나노소재·제품 등록 의무화 - 노출허용범위 등 안전기준마련 - SDoC을 위한 PDCA 기법 활용 메뉴얼 개발	- 나노소재·제품 추적관리 시스템 개발 - 품공법에 의한 KC 인증 - 자기적합성선언(SDoC) 유도 - 위해상품판매차단 시스템 적용
2. 나노제품 안전성 평가 방법 개발 및 표준화	- 나노제품 안전성 평가·측정방법 개발 및 표준화 - 시험·분석·측정방법 및 장비·기기의 국제표준화 - 해외 규제 동향 보고서 발간 - 나노소재 물질정보 DB (MSDS) 구축 - 나노제품 설계 지침 등 DB 구축 및 표준화	- 나노제품 안전성 평가·측정방법 개발 및 표준화(실리콘, 양자점, 폴리머까지 확대) - 물질정보 DB(MSDS)를 활용한 안전증명 자료 제공 - 파손 메카니즘, 제품설계 지침 등 구축된 DB의 기업 정보제공	

5대 추진전략	1단계 (2011-2013)	2단계 (2014-2017)	3단계 (2018-2020)
3. 국제 표준에 따른 작업장 및 소비자 안전 을 위한 인 증 체계 구 축	「나노안전작업장 프레임」 개발 - 작업장별 노출시나리오 작성 및 나노물질 노출량, 환경개선방안, 소비자노출평가방안 제시 - 나노제품안전성센터 구축	- 작업장 안전성 측정 표준방법과 리스크 관리 방법의 KS로 규정(공장인증에 활용) - 나노제품안전성센터 운영	- 작업장의 의무화된 노출기준치 등을 기술기준으로 제정 고시(고용부, 산업안전보건법) - 나노소재 적용 제품의 품공법 적용 및 안전인증 추진
4. 안전한 나노제품 시 장 활성화 정책 추진 (보급/확산)	민간 중심 나노제품 품질인증 마크 개발	- 민간 중심 나노제품 품질인증 마크 제 운영 - 조달청 우선구매제도 시범 적용	시장 감시활동 지원
5. 법·제도 운용 및 국 제협력 체계 강화	- 민간 중심의 「나노제품의 안전관리에 관한 지침」 제정 「나노제품의 안전관리에 관한 지침」의 표준(KS) 제정 「나노기술개발촉진법」 개정(교과부) - 표준화 관련 국제활동 강화 - 범부처 나노안전성 종합대책 마련	- 표준화 관련 우리 기술의 국제표준 반영 촉진 - 범부처 나노물질안전성정책협의회 참여·운영	- 품공법 개정(기표원) - 표준화 관련 국제표준 선점 - 범부처 나노물질안전성정책협의회 참여·운영

▪ 종합계획의 이행 여부(2018년 8월 현재)

① 나노제품의 생산, 유통 등 수주기 과정 관리기반 구축: 예산부족

및 관련 지원사업의 부재로 나노소재제품 추적관리 시스템 개발, 안전기준 마련 및 KC 인증 추진, PDCA 기업을 활용한 매뉴얼 개발, 위해상품 판매차단시스템 적용은 추진되지 않았다.

- ② 나노제품 안전성 평가방법 개발 및 표준화: “나노안전성 플랫폼 기술개발 과제”를 통해 안전성 향상을 위한 나노제품 설계기술을 개발
- ③ 국제 표준에 따른 작업장 및 소비자 안전을 위한 인증 체계 구축: 나노소재 적용 제품의 품공법 적용 및 안전인증, 나노제품안전성센터 구축은 예산 부족의 이유로 추진되지 않았다.
- ④ 안전한 나노제품 시장 활성화 정책 추진(보급/확산): 기업(시장)수요 및 예산부족으로 인한 민간 중심 나노제품 인증(품질인증) 마크 개발, 시장 감시활동 지원, 조달청 우선구매제도 시범 적용이 추진되지 않았다.
- ⑤ 법·제도 운용 및 국제협력 체계 강화: “나노제품의 안전관리에 관한 지침” 마련 및 국가표준(KS)의 제정은 2011년 5월에 수행되었고 “나노제품 안전성 기반구축 사업”을 통해 ISO TC229 나노기술위원회 등 국제 표준화 활동 지원 및 OECD WPMN 5개 나노물질(은나노, 금나노, TiO_2 , MWCNT, SiO_2)에 대한 안전성평가 지원과 OECD 노출평가 보고서 제출 및 OECD 나노물질안전성평가지침법 개정에 참여하고 있다. 그러나 「나노기술개발촉진법」 개정의 추진은 관계부처 합의 부족으로 실행되지 않았다.

- **5개 부처 합동:** 2011년 말에는 교육과학기술부 및 지식경제부, 환경부 등 5개 부처 합동으로 전주기 나노안전관리 기반 구축을 목표로 하는 ‘제1차 나노 안전관리 종합계획’을 발표하였다.

비전	나노 안전관리를 통한 국민건강·생태계 보호 및 산업 경쟁력 강화
목표	全주기(Life cycle) 나노안전관리 기반 구축('12~'16, 5년간)
중점 분야 및 세부 추진 과제	① 나노 측정·분석 및 부처 공동 DB 구축 - 국내 유통 현황조사 추진 및 인벤토리 구축·보완, 기초 특성 규명 및 측정기반 구축·보완, 나노물질 환경중 거동 조사 및 모니터링 체계 구축·보완 ② 나노 안전성평가 기반구축 - 독성 등 안전성평가 기초자료 생산·수집, 노출평가 기법 개발 및 평가 추진, 안전성평가 체계 구축 ③ 나노 안전관리 제도화 도입기반 마련 - 나노기술 연구윤리 지침 및 안전관리 방안 마련, 나노제품 안전관리 체계 마련, 나노물질 안전관리 지침 마련 및 제도화 도입 추진 ④ 전문인력 양성 및 파트너십 구축 - 안전관리 전문인력 양성, 국제협력 강화, 이해관계자간 협력 및 소통체계 구축

- 종합계획의 이행 여부(2018년 8월 현재): 법제도적 측면에서의 나노물질 안전관리 지침 마련, 안전관리 제도화 도입추진, 인증센터구축 등의 추진이 미흡하였다.

2) 국내 나노안전성 분야 연구 추진 현황

(1) 부처별 나노 안전성 분야 연구 추진 현황

가) 환경부:

- 화학물질 및 환경매체 나노물질 관리 기반 구축 사업: 화평법 및 화관법 등에 근거하여 나노물질 및 나노물질 함유 생활화학제품 등

의 안전관리 제도를 구축하기 위한 기술개발 사업을 중점적으로 추진하고 있다. 또한 나노물질의 관리를 위해서 수질·대기·토양·폐기물 등의 대매체 환경에서 위한 측정(모니터링) 가능한 기술을 개발하는 사업을 추진하고 있다.

- 화학물질 관리 체계 내 나노물질 관리제도 구축을 위한 사업: 나노물질 유통량 조사 사업을 위해서 나노물질의 종류에 따른 수입, 제조 등 유통량을 1~2년 주기로 조사하고 있다.
- 나노물질 등록제도 시행 기반 마련: 화평법에 따라서 나노물질 등록제도 시행 기반을 위한 작업을 2015년부터 수행하였다. 유럽연합 등 선진국에 대응하는 국내 나노물질 관리제도 기반을 구축하기 위해서 나노물질 등록 절차와 필수 시험 항목 등을 도출하였다.
- 나노제품 인벤토리 구축 및 함유 실태 조사: 2016년에는 나노물질 함유 생활화학제품에 대한 인벤토리를 구축하였다. 대상 제품으로는 화평법 관리대상 15종의 생활화학제품을 대상으로 하였으며 인벤토리 내 제품에 대한 함량분석, 나노물질 크기 분석 등을 통해서 나노물질의 함유 실태를 조사하였다.
- 유해성 자료 생산 및 DB 구축: 나노물질에 대한 유해성 자료 생산 및 DB 구축을 시행하였다. 구축된 DB는 나노안전성 정보시스템 (<http://nano.nier.go.kr>)을 통해 나노물질의 정보와 연구보고서 등의 정보를 공유하였다.
- 나노 안전관리 제도 기반 구축 및 등록 시범 사업: 2016년에는 화평법 상 1차 등록 대상 물질인 ZnO와 SiO₂에 대한 시험분석을 지원하고 있다. 시험분석 결과를 이용하여 기업의 나노물질에 대한 화평법 상 등록을 지원하였다. 이러한 시범사업을 통해서 나노물질 등록제도 시행에 필요한 제도적·기술적 보완사항을 도출하였다.
- 나노물질 안전관리 제도 시행을 위한 기술개발 사업: 나노물질 안전성 평가 관련 시험법 개발 등의 나노물질 평가 기반 구축 사업을

추진하였으며 나노물질 관련 표준시험법 마련과 NanoREG 국제 대응에 참여하였다. 나노물질의 측정, 독성시험법 등에 대한 표준시험법 자료를 수집하고 나노물질의 전주기 평가에 관한 지침서 발간과 물리화학특성 자료 생산을 수행하였다(39건). 또한 생활화학제품 내 나노물질 분석 표준 시험절차의 개발을 수행하여 총 15종 생활화학제품 내 금속 나노물질의 시험절차 및 분석법을 개발하였다.

- **나노제품 관리를 위한 위해성 평가 기반 구축:** 소비자 노출평가 기반 구축을 위해서 노출시나리오를 개발하고 노출평가 방법과 노출계수를 생산하는 연구를 수행하였다.
- **국제협력 강화 및 파트너십 구축:**
 - NanoREG: 환경부는 국제 협력 프로그램 개발에 적극 참여하고 있으며 한-유럽연합 나노안전성 국제협력사업(NanoREG)에 참여('14~'16)하였다. 또한 제조나노물질의 특성분석, 독성평가, 노출평가, 전주기평가 등 각 분야별 시험법 및 표준시험법과 가이드라인 마련 연구를 진행하였다.
 - OECD WPMN: OECD 화학물질위원회 산하 제조나노물질 작업반 주관으로 인체 및 환경에 대한 안전성 평가 프로그램에 참여하였다. 은나노물질은 주무국으로 참여하였고 이산화티타늄·이산화규소·다층벽탄소나노튜브에 대해서는 공동 주무국으로 참여하고 금나노에 대해서는 지원국으로 참여하였다.
- **자연환경 내 나노물질 모니터링 기반 구축:** 자연 환경 내 나노물질 거동 특성 평가를 위해서 수질, 토양, 폐수처리장 내 나노물질 거동 평가 기법의 개발과 적용을 수행하였다. 환경 내 나노물질 변환 특성 연구를 위해서 환경노출 시나리오를 기반으로 나노물질의 물리화학적 특성의 변화와 생태 독성에 미치는 영향을 연구하였다.
- **환경 내 나노물질 위해 예측 기술:** 나노물질의 환경 내 노출 및 위해성 예측기술을 개발하였다. 환경 내 나노물질 노출농도 예측

기술의 개발과 매체 순환과정에서 나노물질의 노출농도 예측 기술과 환경 유해성 예측 농도 산출법에 대한 연구개발을 수행하였다.

나) 과학기술정보통신부:

- 나노기술의 책임있고 지속가능한 발전을 위한 분석 연구: 나노기술의 발전과 나노안전관리의 유기적인 협력체계 구축을 위한 여러 가지 활동을 수행하였다. 나노기술 영향 평가를 KISTEP에서 수행하였으며 구체적으로 NBIT에 대한 기술영향 평가(2003년), 나노기술 일반에 대한 기술영향 평가(2005년), 나노 소재에 대한 기술영향 평가(2006년)를 수행하였다.

나노기술의 책임 있고 안전한 발전을 위한 윤리적·법적·사회적 장치들 개발에 관해서 나노기술의 책임있고 안전한 발전을 위한 연구윤리 지침 개발(2011), 나노 안전 관련 이해당사자 간 합의회의 등 사회적 거버넌스 체계 기반 구축(2008~2011), 나노윤리 연구를 위한 국제 워크숍 개최(2008~2011) 등을 추진하였다.

나노기술에 대한 대중의 이해를 증진시키기 위한 프로그램 개발 및 운영을 위해서 나노기술에 대한 대중의 인지도 조사, 일반인을 위한 나노스쿨 운영, 나노기술에 대한 이해 증진을 위한 웹사이트(“나노프렌즈”) 구축 등 대중과의 소통을 강화하였다.

- 나노안전관련 원천기술 개발 및 국제 대응: 한국표준연구원에 나노안전성기술지원센터를 설치하여 나노물질의 측정 및 분석 원천기술을 개발하고 표준화하는 역할을 수행하고 있으며 나노 표준물질을 개발 및 보급하여 나노안전관리 기술 기반을 구축하고 신뢰성을 확보하는 연구를 수행하고 있다('14~'24).
- 나노안전관련 기술 표준화 국제 대응: OECD WPMN, ISO, NanoREG 등 국제표준 관련 동향을 파악하는데 참여하고 국제 회의에서 수집한 정보를 국내에 보급하여 한국의 나노기술의 경쟁력

향상에 기여하고 있다.

다) 식품의약품안전처:

- **나노기술 적용 식품·의약품 안전성 평가 가이드라인 마련:** 식의약품 나노소재에 대한 안전성 평가 및 안전성 평가 기술 개발을 위해서 '12~'13년에 “나노안전성 평가기반 연구사업단”을 수행하였다. 나노기술 응용 식품에 대한 업계 자율 안전성 평가 가이드라인('12년)과 나노물질 함유 화장품 표시 등에 대한 가이드라인('12년)을 마련하여 나노물질, 나노기술응용식품 및 나노물질 함유 화장품에 대한 정의를 구체화하였으며 안전성 평가에 대한 업체 가이드라인을 제시하였다.
- **나노 의약품 품질관리 강화:** 나노기술 적용 의약품에 대한 자료집('13년)을 제작하여 화학, 제조 및 품질관리(CMC: Chemistry, manufacturing and Control)와 관련한 보고 서식을 마련하였다.
- **나노물질 위해 소통 강화:** 나노기술 응용 식품 안전관리 포럼('12년)과 “The International Harmonization for Nano-food on Processing, Application and Regulation 국제 심포지엄('13년)”을 개최하여 소비자 및 전문가 대상 나노 안전성 관련 정보 제공 및 전문가 토론을 진행하였다.
- **식품·식품용기 등의 나노물질 분석 시험법 개발:** 식품용 나노소재에 대한 물리화학적 특성분석 항목 발굴과 특성 분석법을 연구하고 표준제조공정 개발을 위한 연구를 수행하였다. 또한 나노기술 적용 제품 및 식품용 기구 또는 용기 포장 등에서의 나노물질을 실제로 검출하는 방법에 관한 시험법 개발 연구를 수행하였다.
- **의약품의 인체 위해성 평가기술 개발:** 의료용 나노물질(조영제, 항암제 등 포함)에 대한 특성분석 및 독성시험방법에 관한 연구를 수행하였다. 또한 이산화규소 및 산화아연에 대하여 인체 유해성 관

런 종합적 독성 평가 결과(경구, 경피, 면역, 유전 독성, 독성동태 등) 자료를 확보하였다.

의료용 나노물질의 위해평가 전략 마련 및 위해평가 필요 기술 개발을 위한 중장기 로드맵을 제시하였다.

- **식약품 관련 나노안전성 DB 구축:** 식약품 나노소재에 대한 GLP 독성시험을 수행하여 다수의 DB를 구축하였고 국내·외 식의약품 내 나노물질 노출평가를 위한 분류체계 마련 및 노출 인자, 노출량 시험법 등에 대한 DB를 구축하였으나, 지속적인 DB 생산과 update는 현재 진행하지 못하고 있다.

라) 고용노동부:

- **사업장 내 나노물질 안전취급 관련 사업 추진:** 나노물질에 관한 산업보건 정책을 마련하기 위한 기초자료 확보 및 사업장 노출 평가의 기술적 지원을 위한 연구에 초점을 두고 있다.

2014년에 실시한 작업환경실태조사 항목에 나노물질을 포함시켜, 국내 나노물질을 취급하는 사업장의 현황을 파악하였다. 대표적으로 작업장 나노물질 노출 프로토콜을 작성하여 나노물질 노출 데이터 베이스 확보를 위한 초석을 마련('13년)하였고 탄소나노튜브에 대해 노출 평가 방법 및 관리방안에 초점을 둔 연구를 수행('14년~'15년)하였으며 국내 최대의 흡입독성 시험 시설을 확보하여 나노물질에 대한 아만성 흡입 독성 연구를 수행('13년~)하고 있다.

마) 산업통상자원부

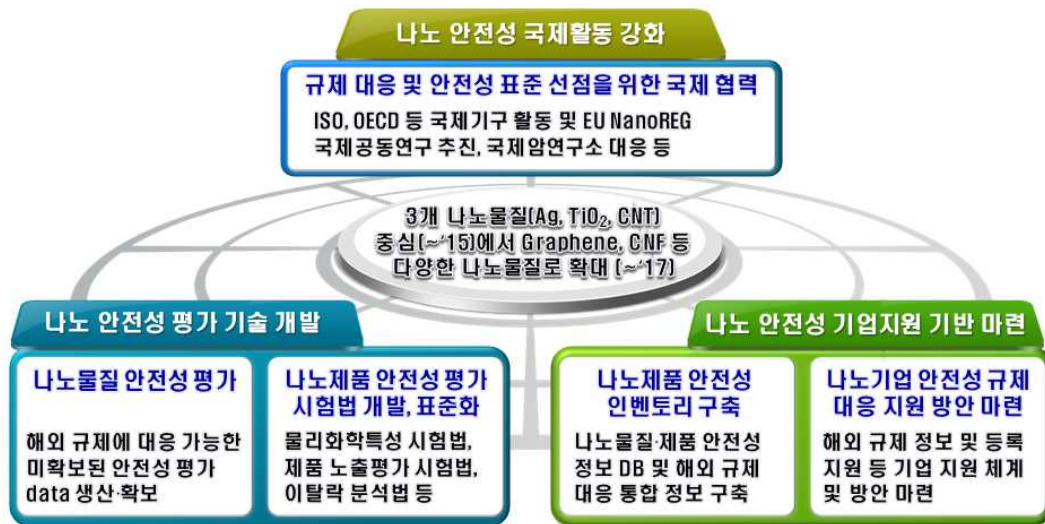
- **나노안전성 분야 주요 추진 사업:** 산업통상자원부는 2009년부터 나노 안전성 분야의 연구사업을 추진하였고 2011년 '나노융합산업 촉진을 위한 나노제품 안전성 종합계획' 수립에 기반하여 국내 나노물질·제품의 안전성 확보 및 사업화 지원을 추진하고 있다.

▪ 대표 추진 사업:

- (1) 나노제품 안전성 확보를 위한 플랫폼 기술개발('09.11~'14.10)
- (2) 나노제품 안전성 기반구축사업('12.6~'17.9)
- (3) 제품개발 단계에서 활용 가능한 “사용자 친화적 나노안전성 예측 시스템” 개발('12.12~'17.11)
- (4) 산업적 활용도가 높은 나노물질 흡입독성평가 장비개발('15.6~'19.5)

▪ 대표 성과:

- ① ‘나노제품 안전성 확보를 위한 플랫폼 기술개발’과제('09~'14)를 통해 국내 나노기업이 생산하는 나노물질·제품의 안전성 평가를 진행하였으며, 이를 통해 미국 EPA에 CNT 등록 시 요구하는 data 생산 기반 구축 등 기업 지원 및 국제 규제 대응에 대한 기반을 마련하였다. 또한 나노제품 및 작업장의 노출평가를 통한 리스크 관리 기술을 개발하고, 안전성 향상을 위한 나노제품 설계 기술을 개발 및 보급하였다.
- ② ‘나노제품 안전성 기반구축’사업('12~'17)을 추진하여 나노제품 안전성 센터 구축 운영 방안 마련 및 국제 규제 동향 연구, 그리고 실질적인 나노제품의 안전성 평가 체계 마련을 위한 기반 기술 개발을 추진하였다. 나노제품의 안전성 평가 체계 구축 및 규제 대응을 위해 나노 안전성 인벤토리 구축, 미확보된 나노제품의 독성평가 자료 생산, 나노제품 안전성 평가 시험법 개발 및 표준화를 추진하였다(그림 40).



[그림 40] 나노제품 안전성 기반구축 사업 개요

물리화학적 특성이 다른 탄소나노튜브(MWCNT), 은나노(Ag), 이산화티타늄(TiO₂) 적용 나노제품에 대한 안전성 평가를 통한 데이터 생산 및 제품별 안전성 판단 기준안을 마련하였으며, 안전성 평가 시험법을 개발하여 총 10개의 표준안을 마련하였고 ISO TC 229 국제 표준화를 4건 추진하고 있다.

나노제품에서의 나노물질 이탈락 평가를 통한 노출평가 결과를 나노물질 유해성 결과와 연계하여 MWCNT, Ag, TiO₂ 적용 나노제품에 대한 안전성 권고(안)을 제시하였다.

은나노 제품 3종(은나노 잉크, 향균스프레이, 향균 섬유제품) 및 TiO₂(인쇄전자, 프린터 토너), MWCNT(섬유제품) 적용 제품의 안전성 권고안을 마련하였다. 2단계 사업에서는 2개 나노물질(그래핀, 탄소나노섬유)을 추가하여 안전성 평가 및 시험법 개발, 안전성 권고(안)을 마련하였다.

- ③ “사용자 친화적 나노안전성 예측 시스템” 개발 과제('12~'17)를 통해서 제품개발 단계에서 활용 가능한 나노 안전성 예측 시스템을 개발하였다.

- ④ “산업적 활용도가 높은 나노물질 흡입독성평가 장비개발” 과제('15~'19)를 통해 나노물질 유해성 평가 장비 국산화 및 OECD 규정 선제 대응을 위한 나노입자 발생장치 및 나노물질 흡입독성평가 장비개발을 추진하고 있다.
- ⑤ 국내 나노소재·제품의 안전성 확보 및 국제 규제 대응을 위한 다양한 R&D사업 추진을 통해 기업 지원성과 도출하고 있다(표 21).

- ISO 10801(나노물질 흡입독성시험을 위한 금속나노물질의 증발/응축에 의한 발생방법)과 ISO 10808(나노물질 흡입독성시험을 위한 흡입챔버에서의 나노물질 특성화) 국제표준에 의해 개발된 나노물질 흡입독성 시스템을 프랑스 국립연구원(INERIS)에 수출 설치('13년)
- ‘나노제품 안전성 확보를 위한 플랫폼기술개발’과제를 통해 해외 요구 데이터를 국내에서 생산할 수 있는 기반을 마련함과 동시에, 안전성 평가 자료를 기업에 제공하여 국내 나노물질의 미국 EPA(환경보호청)등록, 수출 기반 마련에 기여('13년)
- OECD WPMN에 은나노, MWCNT, TiO₂ 등 국내 나노물질의 GLP(Good Laboratory Practice) 독성자료 제공에 따른 시험법 확립

[표 21] 국내 나노 안전성 연구사업 계획과 수행
여부(나노융합산업연구조합. 2017. 9)

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
1. 나노 측정· 분석 및 DB 구축	① 유통 현황 조사 및 인벤토리 구축·보완	나노 유통현황 조사 및 실태조사 추진	나노물질 유통량조사 체계 정립 및 유통현황 조사 실시('11~)	환경부	-
			나노소재별 제품 실태조사 실시('11~'13)	지경부, 식약청	△
		나노 DB 구축 및 정보제공	나노 안전관리 DB 구축 등 정보시스템 구축('12~)	교과부, 지경부, 환경부	○
			관계부처 분야별(나노물질·기술·제품) DB를 연계하여 대국민 정보 제공 및 정보 공동 활용('12~)	교과부, 지경부, 환경부	X
	② 측정기반 구축·보완	물리·화학적 특성 조사를 위한 기반 구축	나노물질의 물리·화학적 특성(표면적, 입자크기, 응집성, 용해도, 다공성, 분산도 등) 규명을 위한 물질별 표준분석방법 개발 및 지침서 마련('12~)	교과부, 지경부, 환경부, 식약청	△
			나노물질·제품전주기 물리·화학 적 성질 측정기법연구개발 추진 (‘12~’14)	교과부	-
		전주기 안전성 평가 방법 개발	- 나노물질 검출분석기기, 세포독성 측정기술 및 진단 키트 개발('11~13) - 생물학적 반응 측정 및 독성연구용 바이오마커 개발 추진('12~'14)	환경부, 교과부	-
			안전성평가의 신뢰성 제고를 위한 나노제품으로부터의 나노물질방출 측정기술 개발('12~'15)	지경부	○

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
			독성 실험결과와 신뢰성 제고를 위한 인증표준물질(CRM) 개발('12~)	교과부	-
			나노물질 변환(집적상태, 표면침착, 산화환원 등)과 생물학적 반응을 고출력, 대용량으로 측정 시험법 원천 기술 개발('12~'14)	교과부	-
			나노제품 내 나노물질의 특성 분석방법 개발('12~)	교과부	-
			나노제품에 함유된 나노물질 검출, 정량방법 개발('12~)	지경부	○
		나노제품에서 나노물질 검출 및 특성분석 방법 개발	안전성 향상을 위한 나노제품 설계기술 개발('12~)	지경부	○
			매체별 환경거동 연구('12~'13)	환경부	-
		③ 나노물질 환경 중 거동조사 및 나노물질 모니터링 체계 구축	폐기되는 나노물질의 안전성 확인을 위한 환경거동 연구('12~'13)	환경부	-
			매체별 모니터링을 위한 기법 개발('13~)	교과부, 환경부	-
		환경 및 사업장 모니터링	매체별 나노물질 모니터링 실시('12~)	환경부	-
			OECD WPMN 지원사업에 참여하는 5개 물질에 대한 독성 및 노출 자료 생산·제출('11~'13)	교과부, 지경부, 환경부, 식약청	○
2. 나노 안전성 평가기반 구축	① 안전성 평가 기초 자료 생산 및 수집	OECD 나노물질 안전성 자료 생산 및 제공	국내 나노물질·제품의 특성 및 독성 등을 고려한 우선순위목록 선정 및 독성자료 생산('12~'16)	지경부, 환경부, 식약청	○
			물질별(MWCNT, TiO ₂ , 은나노) 생태독성 시험방법 개발('09~)	지경부	○
		독성시험법 개발 연구	나노물질의 생태독성시험을 위한 원천기술개발('11~)	교과부	-

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
			- 생태 독성평가 및 생체 내·외 나노물질 분석기술 개발('11~)	식약청, 환경부	-
			- 나노 식품에 대한 이화학적 특성 시험법, 독성시험법 확립('12~)		
			- 먹이사슬, 매체별 생태독성 시험법 확립('12~)		
			- 독성 발현 메커니즘 원천연구 DB화를 통한 나노물질 독성 예측 원천기술 기반 확보('12~'14)	교과부	-
	독성 예측 기술 확보, 응용 및 확산체계 구축		나노물질 독성 메커니즘 연구를 통한 독성 예측기법 마련('12~)	환경부, 교과부	-
			연구결과 확산을 위한 중개연구 및 기획·정책 연구 추진('12)	교과부	-
			- 나노물질 인체 및 환경 노출경로와 노출량 평가 지침 개발('12~'15)	환경부, 식약청	-
	② 노출평가 기법 개발 및 평가	환경 및 제품에서 노출 평가 기술 개발	- 나노 제품의 인체노출 평가기반 마련('12~'13)		
			- 주요 나노물질에 대한 위해성평가 사례 연구, 노출대비 위해성·편익 분석 등 기술기반 마련('13)	환경부	-
			나노제품의 노출평가 추진: OECD WPMN 나노물질 노출평가사업(SG 8) 참여를 통해 3종 나노물질(은, MWCNT, TiO2)에 대한 제품 노출평가 실시		
			- 나노제품 표시 표준화 관련, 제품 노출평가 방안 마련('12~'15)	지경부	○

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
		작업장 노출평가	나노물질 취급 근로자 노출실태 조사('12~'13)	고용부	-
			작업장 나노물질 노출 평가시스템 정립('13~'15)	고용부	-
	③ 안전성 평가 체계 구축	안전성 평가 기반 마련	작업장 노출 등을 평가할 수 있는 장비 기기와 측정법 표준화('12~)	지경부	△
			나노제품 안전성평가 시스템 개발('12)	지경부	△
			나노소재·제품 안전 인증을 위한 나노제품 안전성 센터 구축·운영('12~)	지경부	X
		나노물질 안전성평가 및 위해 관리	나노물질의 특성, 독성자료 생산 및 축적된 자료를 토대로 노출평가 및 물질별 위해성평가('12~'16)	지경부, 환경부, 식약청	△
			나노제품의 노출평가를 통한 위해 관리 기술 개발('12)	지경부	△
		나노물질의 작업장 유해성 평가	나노물질 취급 근로자 유해성·위해성 평가 실시('12~'16)	고용부	△
3. 나노 안전관리 제도화 도입기반 마련	① 나노기술 연구윤리 지침 및 안전관리 방안 마련	안전관리전략 및 윤리규범 마련	주요국의 나노 EHS 분야 연구결과 수집·분석을 통한 대응사업 추진('12~)	교과부	-
			나노기술 연구 윤리 및 연구 안전지침 마련('12~)	교과부	-
		전문가 및 시민 참여 영향 평가	관련 기술 분야의 다양한 전문가 및 시민 참여 영향평가 실시('12)	교과부	-
		나노 안전 연구센터	정책 지원을 위한 '나노 안전 연구센터' 지정('13~)	교과부	-
		② 나노제품	나노제품의 전주기 안전성 확보를	지경부	△

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
	안전관리 체계 마련	전주기 안전관리	위해 기업별·매체별 PDCA기법을 활용한 매뉴얼을 개발 보급하여 자기적합성 선언(SDoC)을 유도('14~)		
		식·의약품 등 안전관리	식·의약품 안전관리 기본계획 수정·보완('12~'13)	식약청	△
			화장품 표시·광고 가이드라인 등 마련('11~'13)	식약청	△
			나노 식품 안전성평가를 위한 산업계 가이드라인을 자율평가 지침 형태로 마련·배포('12)	식약청	△
			나노 식품의 분류 체계 마련('12~'13)	식약청	△
		관계부처 나노정의 작업반 구성·운영	주요국, OECD 등의 나노 정의 검토·분석 및 나노 정의 가이드 라인 마련('12~'16)	관계부처 공동	X
			나노물질 안전성 센터 등 설치 추진('13)	식약청	X
	③ 나노물질 안전관리 지침 마련 및 제도화 도입 추진	나노물질 환경 및 작업장 안전관리 지침	나노물질 제조·이용·폐기를 지원하는 방안 마련('12~'13)	환경부, 지경부	X
		작업장 안전관리 방안 마련 및 노출기준 설정	나노물질 취급사업장 작업환경 실태조사('13~'14)	고용부	△
			나노물질 노출감소를 위한 표준 작업환경관리방안 마련('14~)	고용부	△
			작업장 노출기준 마련('15~)	고용부	△
		나노물질 안전관리 제도화 도입 추진	나노물질 안전관리 제도화도입 방안 연구('12~)	환경부, 고용부	△
			나노물질 유통량조사 제도화 및 인증표지 도입 추진('12~'16)	환경부	X

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
4. 전문인력 양성 및 파트너십 구축	① 안전관리 전문인력 양성	나노 안전성 정보생산을 위한 기반구축	독성자료 생산 기관 지원·육성('12~)	환경부, 식약청	X
			외국 전문가 초청 워크숍 개최, 외국 자료생산 기관과의 상호 인정(MOU)확대 등을 통한 전문성 증대('12~)	교과부	△
		정보생산을 위한 전문인력 양성	자료 생산 전문인력 양성 프로그램 운영: 생태독성 등 유해성 시험분야 전문가 양성사업에 나노분야를 포함하여 지속적으로 확대('12~'13)	환경부	△
			자료 생산 전문인력 양성 프로그램 운영: 물리·화학적 특성 분석, 노출평가 및 독성실험을 위한 전문인력 양성('12~)	지경부	X
		나노기술 EHS 분야 산·학 전문가 육성	나노 EHS분야 교육 과정 강화('12)	교과부	△
			나노 EHS 분야의 신진 연구자 지원사업 추진('12~)	교과부	△
	② 국제협력 강화	국제 협력 프로그램 개발 및 참여	UNEP ICCM 참석 대응, 국가 이행계획서 제출 및 국제 분담금 지속 납부('12~)	환경부	○
			OECD WPMN 참여 및 적극 대응('12~)	5개 부처 공동	○
			EU, 미국 등과 나노제품 정보교환 추진('12~'13)	식약청	△
		국제 시험방법 선점을 위한 국제 표준화	국내 시험방법의 국제 표준화 등 세계화 추진('12~'16)	5개 부처 공동	△
	③	부처간 협력	“나노물질 안전성 정책협의회”	5개 부처	○

대분류	중분류	소분류	세분류	관련부처	수행 여부
	이해관계 자간 협력 및 소통체계 구축	체계 강화	운영 활성화('12~'16)	공동	
			관계부처 공동 “나노 안전성 백서” 제작·발간('14)	교과부	△
		이해관계자 대상 인식 증진활동 추진	정기적 나노 국민인식도 조사 실시('11~'16)	교과부, 환경부, 식약청	△
			대국민 나노 인식증진을 위한 교육·홍보자료 발간 - 대국민 인식제고를 위한 교육·홍보자료 발간('11~'13) - 나노기술 안전성 관련 해외 규제동향 보고서 발간 추진('14)	관계부처 공동, 지경부	△
			나노소재 제품 기업에 대한 안전성 정보지원체계 마련('12~)	지경부	X
		신뢰성 강화를 위한 소통체계 구축('12~'16)	이해관계자 소통강화를 위한 포럼 구성·운영 - 나노 안전관리 등을 포럼 구성·운영('11~'13)	환경부, 식약청	

7. 나노 안전성 관련 국외 연구 및 규제 현황

1) 미국

(1) 국가나노기술전략

- 국가나노기술전략(NNI, '01~) 수립을 통해 환경·보건·안전(EHS) 문제에 대한 체계적인 대응방법 마련과 연구개발 예산 투자를 지속적으로 확대하고 있다.

EHS관련 예산은 전체 예산의 약 5.4%수준이며, 미국 환경보호청(EPA)은 18.1% 수준('11년 기준, 17억 6천만\$)이다.

'06년에는 5대 핵심 나노안전성 연구분야로 측정기반, 인체영향, 생태영향, 인체노출평가, 위해성평가·관리를 선정하였다.

(2) 환경보호청(EPA)

◎ 연구 현황

- 개요: EPA에서는 총 6종의 나노물질(은나노, 탄소나노튜브, 이산화세륨, 이산화티타늄, 철, 구리)에 대한 연구를 수행 중이다. 주요 연구 내용은 나노물질의 특성 분석을 위한 분석법 개발과 생물학적 독성평가와 생태계 노출 및 독성평가를 수행하였다. 나노물질의 물리·화학적 특성 평가를 통한 나노물질의 거동과 안전한 사용 방안에 관한 연구들로 구성되어있다.
- 나노물질 환경거동 연구: 나노물질의 환경 거동에 관한 연구를 위해서 환경중 나노물질의 분석법을 개발하는 연구를 수행 중이다. 인체 또는 생태계에 노출되는 지점에서 나노물질의 이동경로를 정량화하는 것은 환경 노출을 평가하기 위한 자동화 스크리닝 기술을 도입하였다. 이를 통해 토양/퇴적물에 나노물질이 고정되어 있는지,

어떻게 토양/퇴적물을 통하여 나노물질이 이동하는지 효율적으로 확인이 가능하게 되었다.

- 나노물질 분석의 정확도 향상을 위한 연구: 나노물질의 농도, 크기 분포를 측정하는 것은 환경거동을 연구하는데 있어 중요하며, 이러한 관점에서 환경보호청에서는 분석의 정확도 향상을 위한 사이즈 분리기술과 원소농도검출기를 결합한 기술을 개발하여 사용하고 있다. 개발된 분석 기술은 기존 기술로 불가능 했던 금속구성에 대한 정보 확보 가능하며 천연 광물 혹은 금속, 천연 유기 물질과 나노물질의 구별이 가능하게 되었다.
- 도시 고형 폐기물에 미치는 은나노 입자 영향 평가 연구: 은나노 입자 코팅 Polyvinylpyrrolidone(PVP-AgNPs)을 사용하여 퇴비처리를 위한 도시 고형 폐기물의 환경 영향 평가를 진행했다. 실험결과 은나노 입자가 노출된 미생물에서 1시간 이내에 활성화가 나타났으며, 저 농도의 입자에서도 동일한 활성화가 일어났다. 폐기물처리 시스템에 은나노 입자 농도를 통한 독성효과 규명을 위한 추가 연구를 진행 중이다.
- 나노물질의 생태계 및 야생동물 영향 평가: 나노물질이 생태계와 야생동물에 미치는 영향에 대한 연구를 수행하고 있다. 세부적으로는 생태계 영향 연구를 위한 나노물질의 토양 생태계, 수중 및 담수 내 분석 방법 연구를 수행 중이다.
- 나노물질 분류 효율성 향상을 위한 신규 분석기법 연구: 50개 이상의 나노물질 샘플을 고효율 스크리닝(HTS, High Throughput Screening) 및 제브라피쉬(Zebra Fish)를 이용한 독성평가를 수행하여 생태계에 대한 잠재적 영향 분석 방법을 개발하고 있으나 아직 정확성이 높지는 않다.
- 나노물질의 지속가능한 활용을 위한 연구: 환경청에서는 나노물질이 환경과 인간건강 영향을 미칠 수 있는 잠재적 부작용을 최소화

하며 효율적으로 사용될 수 있는 지속가능한 활용을 위한 방안에 대한 연구를 수행하고 있다.

- **친환경 나노물질 생산 공정 연구:** 나노물질을 생산하는 방법으로 유해성 화학물질을 대체하고 천연 물질을 이용한 합성 방법을 연구하고 있다. 이러한 연구는 나노입자의 안전성을 향상시킬 수 있는 방법으로 예상되고 있다.
- **정수 산업 목적 나노-캡슐막 개발 연구:** 식수의 부족 및 오염 극복을 위해 셀룰로오스와 같은 물 또는 용매 정화에 활용이 가능한 나노-캡슐막을 개발하고자 연구를 진행하고 있다.

◎ 규제 현황

- **개요:** 환경보호청은 나노안전 관련 규제를 신설하여 위험 가능성이 있는 나노물질에 대한 자료제출 의무를 강화하고 있다. 그 예로 독성물질관리법(TSCA), 살충살균살서제법(FIFRA) 등에서 일부 나노물질에 대해 제조·수입·가공 90일 전에 물질특성 및 독성 등의 자료제출과 사전신고를 의무화하며 신고목적 외에 사용하거나 대량으로 제조수입 시 신규사용규칙(SNUR)을 적용하여 추가 독성자료 제출을 요구하고 있다(표 22).

[표 22] EPA 나노물질 규제 관련법

관련 법	규제 범위	규제 강도
TSCA(독성물질관리법)	나노물질	EPA 유해성 입증 책임
FIFRA(살충살균살서제법)	나노 향균 제품	엄격함. 제조자 입증 책임
FFDCA(식품의약품화장품법)	농약오염 음식 및 사료	EPA 최대 허용 잔류 한계치 설정

- 다중벽탄소나노튜브 함유 Terephthalic acid, Ethyl Benzene 중합체의 중요 신규 용도 규칙 발표: 환경보호청은 2015년 2월2일 사전제조신고(PMN, Pre manufactured Notices) 대상 27개 물질에 대한 중요 신규용도 규칙(SNURs, Significant New Use Rules) 최종안을 발표하였다. 이 안에 따르면 SNUR 대상 물질을 제조, 수입 및 취급하고자 하는 자는 90일 이전에 환경보호청에 통보해야 한다. 이 규정은 2015년 4월 3일부터 효력이 발생하였다.
MWCNT를 함유한 테레프탈산 및 에틸벤젠 중합체 물질은 환경보호청이 발표한 독성물질관리법(TSCA, Toxic Substances Control Act) 제 5항의 동의명령(Consent Order) 대상이며, 동의명령은 다음과 같다.

- 물질의 다루는 사람은 불침투성 장갑 및 보호복(피부노출 가능성이 있는)과 NIOSH 인증 호흡용 보호구(흡입노출 가능성이 있는) 등의 개인보호장비를 착용해야 한다.
- 물질안전보건자료 및 사람의 건강 및 환경에 미칠 수 있는 위해성에 대한 주의사항 라벨 포함, 유해성 정보를 공개 및 전달할 수 있는 방안을 마련해야 한다.
- 사전제조신고 대상물질을 수증기, 미스트, 에어로졸 형태로 변형 및 응용하는 것을 금지한다.
- 동의명령 포함 대상의 나노물질을 신뢰할 수 있는 수준의 한계치 이상을 생산하기 전에 활용자의 신체 건강 데이터를 제출하여야 한다.
- 제조 및 공정 과정 중에서 유출되거나 미국 수중 내 유출되는 예측불가능하거나 목적성을 띄는 사전제조신고 대상 물질은 사용할 수 없다.

- 환경보호청의 은나노 활용 살충제에 대한 국제기술평가센터 (ICTA) 청원 대응: 국제기술평가센터는 은나노를 함유하거나 다른 형태로 은나노가 활용된 살충제의 사용의 규제 필요성을 피력한 청원서를 환경보호청에 제출했다. 이에 대해 2015년 3월 19일 환경보호청은 “기본적으로 FIFRA법상 은나노에 관한 규제가 이뤄지고 있어 환경보호청의 법적 위치를 변경할 수 없으며, 기존 환경보호청의 살충제 등록 및 정책 집행 등 에 관한 새로운 해석이 필요하다”고 답변하였다. 모든 은나노를 함유한 살충제는 강력히 규제해야한다는 ICTA의 주장은 받아들여지지 않았고 환경보호청은 FIFRA법상 농약의 목적으로 사용하는 은나노 제품과 기존 등록된 살충제 제품은 허용되어야 한다고 밝혔다. 나노기술이 적용된 농약의 경우에는 환경보호청에서 개별적인 법적 규제 기준을 적용할 것이며 규제를 위한 안전성 자료는 판매자 혹은 유통업자가 제공하는 정보를 기반으로 결정된다.
- 환경보호청의 은나노 함유 향균 농약제품 등록 승인: 2015년 5월 19일 환경보호청에서는 은나노를 함유한 향균 농약제품 (NSPW-L30SS 혹은 Nanosilva)에 대한 등록을 승인했다. 등록을 승인한 제품은 플라스틱 및 섬유의 냄새 및 박테리아, 진균, 곰팡이 등으로부터 보호하기 위한 비(非)식품 접촉 방부제 제품이며, 가정용품, 전자기기, 스포츠용품, 병원기기, 욕실기구 및 액세서리 등이 포함되었다. 환경보호청은 과학적 문헌, 은나노 활용 정보, 은나노 노출 데이터 등을 활용한 은나노 위해성 평가를 통해 이러한 결정을 내렸다. 이에 더해 플라스틱 및 섬유로부터 방출되는 은의 양은 극히 미량이며, 아이를 포함한 사람과 환경에 지나친 부작용을 유발하지 않고 다른 경쟁 제품에 비해 환경에 배출되는 은의 양이 극히 적어 오히려 이롭다는 데이터를 내놓았다.
- 그래핀 나노판(Graphene Nanoplatelets)의 중요신규용도규칙 발

표: 환경보호청은 2015년 6월 5일 사전제조신고 대상 1~10층 두께 및 2마이크론 미만의 외부 직경을 가진 그래핀 나노판 함유 22개 물질(PMN P-14-763)에 대한 중요신규용도규칙 최종안을 발표했다. 이 물질은 환경보호청이 발표한 독성물질관리법 제 5항의 동의 명령 대상이며, 입자크기분포, 물질 특성시험의 결과는 사전제조신고 대상물질을 고려하는데 사용되며 모든 화학물질 특성시험은 동의명령 기간 내에 제출되어야 한다. 특성 시험 결과에 따라 추가적인 독성시험이 요구될 수 있다. 이 규정은 2015년 8월 4일 효력이 발효되었다.

- **기능성 탄소나노튜브에 대한 중요 신규용도 규칙 발표:** 환경보호청은 2015년 6월 10일 사전제조신고 대상 기능성 탄소나노튜브 함유 30개 물질(PMN P-13-793)에 대한 중요신규용도규칙을 발의하였고 다음과 같은 상황에서 기능성 탄소나노튜브 활용을 통해 위험에 노출될 수 있음을 경고하였다.

- 피부노출 가능성이 있는 곳에서 불침투성 장갑 없이 물질을 사용
- 전자기기 박막으로 활용된 PMN 대상 물질의 제조
- 액상형태의 PMN 대상 물질 사용
- 사전 제조신고 대상물질을 수증기, 미스트, 에어로졸 형태로 변형 및 응용 금지
- PMN 대상물질의 지표수 누출

2016년 5월 16일, 환경보호청은 최종안을 통해 사전제조신고 대상 기능성 탄소나노튜브 함유 55개 물질에 대한 중요신규용도규칙을 발표했다. 이를 위한 사전제조신고 대상 물질의 인간 및 환경영향 특성연구를 위해 안전성 자료(어류 초기단계 독성시험, 물벼룩 만성독성시험, 조류독성시험, 90일 흡입독성시험, 2년 흡입생물시험법, 제타전위 측정)를 검토하였다. 중요신규용도규칙 대상 55개 화학물질에 대한 제조, 수입, 가공 및 취급을 하고자 하는 자는 90

일 이전에 EPA에 통보해야하며 이 규정은 2016. 7.15일 효력이 발효되었다.

- **산업폐수 내 제조나노물질의 지속적 검토:** 환경보호청은 2015년 8월 4일 산업폐수 속 제조나노물질의 위해성을 낮추기 위한 추가적 연구가 필요함을 발표하였다. 이는 산업폐수 속 함유되어있는 제조나노물질의 환경 거동 및 노출 연구가 진행되지 않아 폐수를 통한 인간과 환경 위해성이 명확히 규명되지 않았기 때문이다. 이에 산업폐수와 같은 복잡한 액상 속 나노물질의 검출 및 특성방법을 개발 중이며 아직까지 표준화된 수중 매질 내 나노물질의 정량, 샘플링, 검출 방식은 없다.

일부 연구결과들은 나노물질이 기존 활용되는 일반적 폐수 처리 기술로 제거가 가능함을 주장하고 있으나, EPA는 슬러지 속 잔존물 축적가능성 등을 비롯하여 검증이 완벽하지 않아 아래와 같은 추가적인 연구가 실시되어야 함을 제시하였다.

- 산업폐수 내 나노물질의 검출 및 특성 평가를 위한 표준 방법 및 샘플링 기술 개발
- 나노물질 형태·농도 계산을 통한 산업폐수 내 제조나노물질 독성 영향력, 잠재적 발생 가능성 평가
- 제조나노물질 제조 및 처리 공정 중 생산 및 폐기된 폐수의 양, 폐수 시설 사례연구
- 산업폐수 내 제조나노물질의 거동, 수송, 처리 등의 분석 및 특성 평가

(3) 국립산업안전보건연구원(NIOSH)

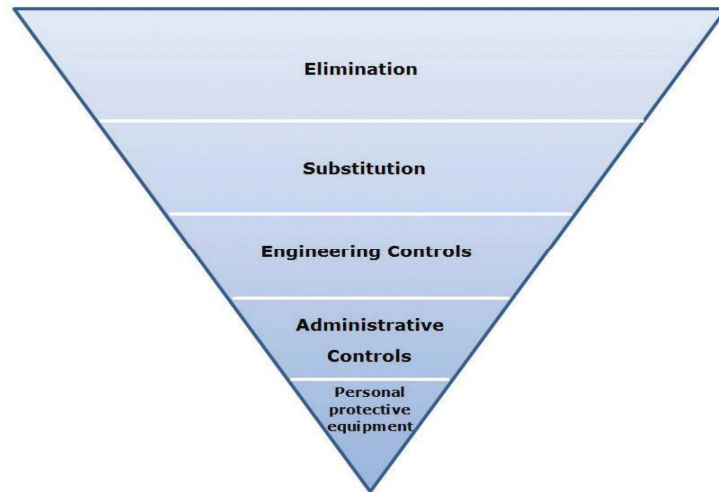
◎ 연구 현황

- **나노물질 제조 · 취급 근로자에 대한 노출 제어:** 최근 화장품, 식품 저장용기, 가전제품, 전자기기, 스포츠 제품 등 1000종류 이상의

나노물질을 함유하고 있는 제품이 소비재 시장에 출시되었다. 그로 인해 나노물질의 생산 공장이 증가하고 있으며 나노물질을 제조·취급하는 과정에서 근로자에게 발생 가능한 위험을 예방하여 안전하고 건강한 작업 환경 보장의 중요성이 대두되었다. 미국 산업안전보건연구원(NIOSH)은 나노물질 또는 나노 기술 활용 제품을 사용 또는 제조 과정에서 발생 가능한 노출의 제어 방안에 대한 연구를 진행하고 있다. 이에 작업장 설치에 있어서 나노기술 안전성에 대한 권고 사항을 작성하고 근로자 보호를 위한 연구 수행에 주도적 역할을 수행한다.

- 작업장에서의 나노물질 노출 경로 연구: 나노물질 노출평가는 나노 취급 작업장, 실험실에서 진행되었으며, 가장 큰 노출경로는 생산, 조작, 2차 가공 및 포장 등 공정이 이루어지는 동안 발생하였다. 또한 나노물질을 포함하는 기계 및 분말 가공, 혼합 및 조제, 공정 간 수송, 장비 청소 및 유지관리 등의 과정에서 나노물질의 노출이 발생할 수 있다.
- 근로자 보호를 위한 전략 수립 연구: NIOSH는 나노물질의 제조, 사용 및 처리과정에서 이루어지는 유해한 노출로부터 근로자를 보호하기 위한 연구를 수행하고 있다. 이 연구는 근로자의 노출가능성에 대한 신뢰성있는 정보를 제공하고 노출 제어 및 평가 지침 구축에 기반하여 근로자 및 사용자의 활용을 유도 할 수 있는 전략 수립을 최종적인 목표로 하고 있다. 이를 위해 기류 시각화, 추적 기체 시험법(tracer gas testing), 비디오 노출 모니터링과 같은 방법을 제시하여 제어 평가 방법과 노출가능성에 대한 점검, 조정에 대한 기초 정보를 제공하고 있다.
- 노출 제어 체계: 나노물질로부터 노출을 제어하기 위한 방법으로 5가지 전략이 제시되고 있다. 노출제어체계는 제거(Elimination), 대체(Substitution), 공학적 제어(Engineering Controls), 관리자 제어

(Administrative Controls), 개인보호장비(Personal Protective Equipment)로 이루어진다(그림 41).



[그림 41] 나노물질 노출제어체계

◎ 규제 동향

- 카본나노튜브와 카본나노섬유에 대한 권고노출기준 제시: NIOSH는 미국 내 CNT(carbon nanotube), CNF(carbon nanofiber) 사업장 및 근로자의 노출평가를 수행하기 위해서 미국 내 총 14개 지역을 방문하여 흡입가능 개인 호흡 영역(Inhalable Personal Breathing Zone) 시료¹⁾를 수집하였다. 총 207개 시료 중 72개는 개인 호흡 영역 시료, 102개는 지역시료(Local sample), 33개는 배경시료(Background sample)였다.

개인 호흡 영역시료 및 지역 시료는 NIOSH 5040 (Elemental carbon, 원소형 탄소 측정방법)을 이용하여 흡입성 및 호흡성 질량농도를 수집하였다. 그 결과, 대부분의 호흡 가능한 크기의 CNT, CNF 분진 노출

1) 개인 호흡 영역시료 (Personal Breathing Zone): 개인시료채취기를 이용하여 가스·증기·분진·흙(Fume)·미스트 등을 근로자의 호흡위치 (호흡기를 중심으로 반경 30cm 인 반구)에서 채취하는 것

은 NIOSH REL(Recommend Exposure Limit, 권고 노출기준)인 $1\mu\text{g}/\text{m}^3/\text{TWA3}$ (Time Weighted Average, 시간가중평균농도)보다 낮았다. 또한 NIOSH의 권고치는 폐 섬유증(Lung Fibrosis)을 예방하기 위한 최소 농도로서 CNT/CNF에 대한 노출을 최소화하기 위해 고용주 및 노동자에 대한 권고사항을 제시하였다(표 23).

[표 23] CNT/CNF 노출 최소화를 위한 주체별 권고 사항

주체	권고 사항
고용주	• CNT/CNF 위험성을 평가하는 최신 정보와 필요한 개선방법 사용 • 원료형태의 CNT/CNF 및 복합물질 노출 공정, 직무 특성 확인 • CNT/CNF에 노출이 최소화 되도록 공학적 개선책 마련 • 적절한 작업조건 유지를 위한 공학적 개선장치를 선정, 설치, 평가하는 절차와 기준 설정 및 근로자 대상 점검 교육 실시 • 정기적 노출감소대책 적용 및 $1\mu\text{g}/\text{m}^3$의 근로자 노출 가능성 평가 • 적절한 개인보호장비(작업복, 장갑, 호흡용장비) 선정 • 근로자 대상 노출 최소화 방안 교육 실시 • 샤워시설, 탈의실 등 개인위생시설을 제공하여 작업복 반출 방지 • 밝은 색 개인보호용구 및 설비로 오염시 즉각 인지 가능하도록 함 • CNT/CNF 누출, 작업표면 오염 시 세척 절차를 수립 및 이행 • 호흡 보호 장비 프로그램 시행: 의학적 감사, 작업자 훈련, 정기적 작업장 노출평가, 호흡 보호장비 선정 절차, 호흡 보호장비 유지, 검사, 세척, 보관에 대한 사항
작업자	• CNT/CNF 위험성, 노출로부터 보호방안에 대한 훈련 요구 • CNT/CNF의 공기 중 노출, 피부 노출 감소 대책, 작업방법 인지 및 실시 • 상황별 개인보호장비 활용 방법 인지 • CNT/CNF의 개별입자형태 (powder형태) 취급 지양 • CNT/CNF는 완전 밀폐용기를 사용 • 작업 완료시 HEPA 필터가 장착된 진공청소기나 습식 방법으로 작업장 세척실시(마른 비질, air gun 사용금지) • CNT/CNF 및 복합물질 취급장소에서 음식물 보관 및 취식 금지 • 퇴근 시 샤워, 오염되지 않은 옷으로 환복 하여 비의도적 오염 방지

- 나노기술함유 의약품의 제품 수명 주기별 위해성 관리 방안 제시: 나노기술 적용 의학 제품(NEMPs, Nanotechnology-Enabled Medical Products)는 영상, 진단 및 치료 등 21세기 의학에 새로운 가능성과 중대한 변화를 제공하고 있으며 2010년 NEMPs시장은 60조에 육박한다. 다른 약물, 의료장비들과 같이 NEMPs 또한 미국 식품의약안전처의 규제적 승인을 받아야 한다. 나노기술 적용 의학 제품의 효율뿐만 아니라 제조과정에 관여된 연구 실험실, 제약 제조 시설, 임상 조제약국, 의료용 폐기물 관리업체 등에서 근무하는 근로자들에 대한 관리가 필요하다. 이러한 작업자들은 아직 위해성이 검증되지 않은 물질에 노출될 가능성이 높으며 장기간 혹은 높은 농도의 노출이 일어날 수 있기 때문에 위해성이 높다. 이에 NEMPs의 직업적 건강 위해성 관리에 대한 로드맵을 설정하였다. 나노물질 노출 모니터링에 대한 많은 문헌이 소개되고 있지만 NEMPs의 모니터링 방안에 대한 방법이 제시된 문헌은 아직 없다. 가능성 있는 방법으로는 내부 노출 평가를 통한 부작용과 관련된 용량을 평가하는 것이다. 이를 위해서 소변, 머리카락, 날숨 채취와 같은 비 침습적 방법과 채혈, 조직채취와 같은 침습적 방법을 적용할 수 있다. 용량평가는 노출되는 나노물질의 용량과 대사되는 용량을 고려하여야 하며 부작용에 대한 생물학적 마커 등을 통해 평가된다. 현재 나노물질 노출에 대한 바이오마커는 현재 초기 개발 단계이다.
- 나노물질의 작업장 취급·노출 관리 강화를 위한 권고안 개발: NIOSH는 나노물질의 작업장 노출 제도화를 위한 지침들을 지속적으로 개발 및 공개하고 있다('13.04, '13.12). 나노물질관련 노출평가, 노출저감대책 수립, 보호구 연구를 수행 중이며, 연구원에서 제시하는 권고노출기준(Recommended Exposure Level)은 법적구속력은 없으나 산업안전보건청(OSHA)에서 나노물질의 허용 가능 노출

기준(Permissible exposure level)을 설정하는데 참고자료로 사용하고 있다. 2013년에는 CNT와 CNF에 대한 권고노출기준을 제시하였고 2011년에는 TiO₂ 초미세입자에 대해서 권고노출기준을 공표하였다.

2) 유럽연합

◎ 연구 현황

- 동일 화학물질 간 나노형태 유해성 정보 식별 연구: 화학물질은 각 물질마다 고유한 물리·화학적 특성이 있으며 나노크기의 물질은 기존 화학물질과는 전혀 다른 물리화학적 특성을 갖는다. 동일 화학물질 내 나노 형태의 유해성 식별에 대한 요구가 높아짐에 따라 2015년 유럽화학물질청, 네덜란드 산업안전보건연구원, 공동연구센터는 REACH 규제 하에 있는 동일물질의 서로 다른 형태의 나노물질의 유해성을 규명하기 위해서 나노형태 그룹화 방법을 7단계로 제시하였다.

[1단계] 화학물질의 나노형태 식별 및 특성 분류: 화학물질의 나노형태 식별 시 필수로 참고해야할 정보는 1)화학적 매개변수(구성성분, 불순물, 계면화학) 2)물리적 매개변수(크기, 형태, 표면적)로 구분한다.

[2단계] 나노형태 분류: 나노형태 분류 가설을 세울 때에는 나노형태의 유해성에 영향을 줄 수 있는 추가적인 매개변수를 고려하고 가설을 입증할 수 있어야 한다. 매개 변수는 1)물질의 거동특성(용해도, 소수성, 제타전위, 분산성, 분진) 2)반응성(생물학적 반응, 광화학적 반응성) 등이 있으며 가설을 입증할 수 있어야 한다.

[3단계] 각 그룹 내 나노형태 유해성 데이터 수집 및 데이터 연관성 및 신뢰성 평가: 나노형태 분류 기준 및 가설을 입증하기 위해서는 물리화학적 특성, 환경거동, 생태독성학적 효과 등 유해성 데이터를

수집하여야 하며, 수집된 유해성 데이터의 연관성은 실험물질, 실험 수단 및 실험조건의 특징에 대한 적절한 이해를 바탕으로 평가 되어야 한다.

[4단계] 이용가능한 데이터 매트릭스 구축: 가용 정보의 수집 및 평가가 이루어지면 그룹 요소 간 매트릭스를 구축해야 한다.

[5단계] 나노형태 그룹 간 적절성 평가 및 데이터 간극(Gap) 보완: Read-across 및 나노형태 분류는 수집된 매개변수에 관한 모든 관련 정보가 가설을 입증하고 각 종말점 마다 사전평가가 진행되어야 한다.

[6단계] 전체 그룹 내 데이터 간극을 보완하기 위한 추가 유해성 시험 수행: Read-across 및 나노형태 분류 기준에 대한 사전 평가 결과를 도출했으나 해당 그룹이 하나 이상의 종말점과 관련된 신뢰할 만한 정보가 확보되지 않았다면 추가 시험을 실시하거나 제안할 필요성이 있다.

[7단계] 확정된 그룹 분류 방식 문서화: 최종 확정된 그룹 분류 방식은 ECHA의 수집정보 입력프로그램인 IUCLID(International Uniform Chemical Information Data)에 문서화해야 한다.

- **REACH 2018 등록 대응 로드맵 제시 연구:** ECHA는 '18년 5월 31일에 마감될 연간 1톤 이상의 기존 화학물질등록은 등록자 유형 및 등록 건수 등에 있어 기존에 마감된 등록과 매우 다를 것으로 예상하여, 원활한 등록 지원을 위한 ECHA “REACH 2018 Roadmap”을 발표했다. 로드맵은 REACH 최종 등록 마감과 관련하여, 관련 기업들 특히 중소기업에 도움이 되고자 발표된 지침이다. 연간 1~100톤 사이 적은 양의 화학물질을 제조 및 수입하는 회사가 등록대상이며 이와 관련하여 화학물질을 처음으로 등록하는 중소기업의 등록량이 많을 것으로 기대하고 있다(표 24).

[표 24] REACH 2018 로드맵 구성

구분	주요 내용
1단계	- 기업들이 등록에 필요한 정보를 구비 할 수 있도록 ECHA 지원센터, 각 회원국의 지원센터 등의 협력을 통해 직·간접 지원 - 적합한 컨설턴트 선정을 위한 체크리스트 제공, 1:1 기업 맞춤형 세션 개설
2단계	- 공동등록자 탐색을 위한 지침서 마련 - ECHA 웹사이트를 통해 개별 물질 등록 진행 현황에 대한 정보 제공
3단계	- 등록을 위한 물질자료의 공유 목적으로 마련된 SIEF (Substance Information Exchange Forum, 물질정보교환포럼) 탐색 지원 - SIEF 간 자료 공유 및 비용 분담 협상, 분쟁 중재에 관한 지원
4단계	위해성평가 관련 가이드스 개정, 인간 건강 상관성 평가 프레임워크 원칙 발표
5단계	- 수집 정보 입력프로그램인 IUCLID6 (International Uniform Chemical Information Database)매뉴얼 제공 - 등록서류 준비에 관한 교육 지원
6단계	- REACH-IT를 통해 IUCLID에서 ECHA로 서류 전송 필요 - REACH-IT 준비, 제출에 관한 교육 지원
7단계	등록 서류 문제점이 포함된 평가보고서 발간

◎ 규제 동향 (표 25)

- **ECHA 회원국 위원회, 은나노 물질의 유해성 평가 결과 확정:** 유럽화학물질청의 회원국 위원회(MSC, Member State Committee)는 최근 은나노 물질에 대한 유해성 평가 초안을 마무리하였다. MSC의 평가 초안은 향후 유럽 화학물질관리제도(REACH) 등록에 앞서 ECHA의 최종 평가과정에 반영된다. 은나노 물질 평가 초안은 물벼룩, 녹조류, 미생물에 대한 은나노 물질 유해성 평가를 실시할 것을 권고하고 있다. 이는 은나노 물질의 수생태계 유독성 문제에 대한 MSC의 우려를 반영한 조치이다. 이번 은나노 물질 평가는 공동체연동실행계획(CoRAP, Community Rolling Action Plan)의 선정과정을 통해 이루어졌다.

- **EU 집행위원회, 나노물질 감시기관 설립 추진:** EU 집행위원회는 나노물질 정보관리계획으로 나노물질 감시기관(Nano Observatory) 설립을 추진하였다. 나노물질 감시기관은 나노기술 회사의 신규 나노물질 정보 차용보다 유럽연합이 현재 보유하고 있는 나노물질 정보를 수집하고 편집하는 데 초점을 두었다. 과거 EU 집행위원회는 나노물질 감시기관과 함께 나노물질 등록기관(Nano Register) 설립 또한 논의되었다. 그러나 나노물질 등록기관은 소비자와의 접근성 문제와 나노물질의 유해성 평가가 부적합한 것으로 판단되어 도입이 좌절되었다. 반면 나노물질 감시기관은 나노물질 내 유해물질 및 위험요소간의 연계과정을 통해 분명하고 이해하기 쉬운 나노물질 정보를 제공할 것으로 기대되고 있다.

나노물질 감시기관의 website는 <https://euon.echa.europa.eu/>이며 현재 홈페이지를 운영 중에 있다(홈페이지는 존재하며 운영 여부는 불확실함). 유럽 화학물질청은 나노물질 감시기관 설립 초기예산으로 2016년 80만 유로를 지급받게 되며 2019년 설립 완료일까지 매년 60만 유로의 예산 배정을 계획하였다.

한편 EU 집행위원회의 나노물질 감시기관 설립계획과 달리 여러 국가들은 나노물질 등록기관의 필요성은 꾸준히 제기하고 있다. 최근 프랑스, 벨기에, 덴마크 등 여러 국가들이 국가별 나노물질 등록기관을 설립한 가운데 유럽환경국(EEB, European Environmental Bureau) 측은 현재 나노물질 감시기관의 나노물질 정보수집력에 한계점이 있다고 주장하고 있다.

- **ECHA, REACH 등록 정보 추가 선정:** 유럽화학물질청은 화학물질 사전등록 및 본등록 프로그램인 IUCLID 6을 바탕으로 화학물질 등록 정보에 대한 추가 항목을 마련하였다. 화학물질관리제도(REACH)에 등록되는 화학물질 추가 등록 정보는 향후 ECHA 웹사이트를 통해 대중에 공개된다. 화학물질 추가 등록 정보에는 화

학물질에 대한 연구 결과, 화학물질 노출 예상 시나리오, 화학물질 정보의 추가 식별 자료 등이 있다.

화학물질에 대한 연구 결과는 제품 내 화학물질 농도 예상치가 실제 실험과정에도 안전한 수치로 유지되는 지를 입증하게 된다. 이 밖에도 화학물질의 안전한 용도 확인을 위해 화학물질 노출예상 시나리오 정보가 추가된다. 화학물질 노출 예상 시나리오 정보가 ECHA 웹사이트에 공개되는 만큼 화학물질정보를 제공하는 회사에는 민감하게 반응하게 될 것이다. 마지막으로 화학물질 정보의 추가 식별 자료는 등록자의 정보보호요청이 없을 시, ECHA 웹사이트에 공지된다. 화학물질 정보의 추가 식별 자료에는 화학물질 평가 개체, 화학물질 추가구성물질, 화학물질의 나노형질이 있으며 화학물질 등록 정보 감축에 대한 근거자료도 이번 추가 식별자료에 포함된다.

화학물질 추가 등록 정보 제출은 2018년 마감기간 이전에 마무리되어야 한다. ECHA는 기간 내 제출되지 않은 화학물질 추가 등록 정보를 자의적으로 재구성할 방침을 밝혔다.

- **EU 집행위원회, REACH 규정 내 나노물질 등록 반대:** 유럽연합(EU) 집행위원회는 최근 CASG(Competent Authorities Sub-Group) Nano 회의에서 화학물질관리제도(REACH)규정 내 나노물질 등록을 반대한다고 밝혔다. 나노물질의 REACH 규정 등록 문제는 EU 집행위원회의 반대로 수년간 해결되지 않았다. 2006년 EU 집행위원회는 REACH 규정에 나노물질을 등록하는 데 필요한 제출서류 항목을 제시하기로 하였으나 끝내 이를 지키지 못하였다. 이후 2010년, 2013년에도 나노물질에 대한 EU 위원회의 주요 지침 부재와 REACH 규정의 관련 내용이 갱신되지 않았다는 이유로 EU 집행위원회는 나노물질의 REACH 규정 등록을 철회하였다. EU 집행위원회 측은 REACH 규정의 부속문이 개정됨에 따라 나

노물질 등록이 곧 가능해질 것이라고 주장하고 있으나 나노물질의 유해성 분류문제가 과제로 대두되고 있으며 2008년 이전에 마련된 현 EU 기준은 나노물질에 적용하기에 한계점이 있다고 밝혔다.

EU 집행위원회는 REACH 규정 대신 공공 정보제공 사이트를 통해 나노물질 정보를 제공할 것을 제안했다. 향후 유럽화학물질청은 2015-2018 나노물질 연구계획의 일환으로 나노물질 공공 정보제공 사이트를 개발할 예정이며 이에 따라 ECHA와 EU 집행위원회는 4월 25일 공동 연구회를 개최하기로 결정하였다.

- 나노물질에 대한 신화학물질관리규정(REACH): 나노물질을 일반 화학물질과 같이 등록대상으로 관리 중이며, 안전성 자료 제출을 요구하고 있다. REACH 규정은 EU 내 연간 1톤 이상 제조·수입되는 모든 물질에 대해 제조·수입량과 위해성에 따라 등록, 평가, 허가 및 제한을 의무화하고 있다. REACH 규정하에서 탄소나노튜브는 탄소나 흑연과 같은 것으로 분류되어 2008년 이전에는 REACH의 등록 신고 면제대상이었으나 2008년 6월 EC와 회원국 사이의 논쟁적인 토론 후에 모든 형태의 탄소와 흑연이 면제대상에서 제외되었다. 나노물질의 물리-화학적 특징 및 인류 보건, 환경에 미치는 영향에 대한 정보의 부족은 나노기술을 이용한 제품화에 대한 우려를 제기하고 있기 때문에 나노물질의 안전성에 대한 정보 확보가 나노기술의 성공을 위해서는 반드시 필요한 상황이다.
- 유럽의회 환경위원회의 규제(Committee on Environment, Public Health and Food Safety): 유럽의회 환경위원회는 2종류의 나노물질(나노실버, 카본나노튜브)의 사용을 제한하는 RoHS 개정안을 채택('10.06)하였으나 유럽집행위원회에서 부결되었다. 그러나 향후 유해성 결과에 따라 재검토할 예정에 있다. 만일 이 법안이 통과된다면 나노물질을 함유한 전기전자제품은 전 생애 평가를 하여야 하며 소비자가 노출될 수 있는 제품에 표기하도록 하고 있다.

- 유럽위원회 과학위원회의 규제(the European Commission Scientific Committee on Consumer Products): 소비자 제품에 대한 유럽 과학위원회는 나노화장품에 대한 표시 및 통보에 관한 안전을 2009년 3월에 승인하였다. 이 법안에 따라서 나노물질을 함유한 화장품을 제조 수입하는 자는 물리화학적 데이터, 독성데이터, 통상의 노출상황에 대해 행정부에 통보하는 것과 제품에 나노 표시를 하는 것이 의무화 되었다.
- 나노제품의 전주기 위해성 평가: EU에서는 나노기술개발 시행계획을 통해 나노물질 인체/환경노출을 최소화할 수 있는 방안을 마련하고 나노 제품의 전주기(life cycle) 위해성 평가를 위한 지침 등의 표준 개발을 추진하고 있다. 이와 관련하여 14개 EU 회원국이 참여하여 총 92개 과제를 수행하고 있으며 총 예산액은 34.67억 €('07~'13)에 달한다.
- 국제협력사업 운영: EU와 주요국(미국, 유럽, 일본, 중국 등)이 협력하여 나노안전 규제를 위한 과학적 근거를 마련하는 국제협력사업(NanoREG 등)을 추진하고 있으며 우리나라도 참여하고 있다. NanoREG에는 EU, 미국 등 15개국 60개 기관이 참여하며 나노안전 규제(EU REACH 등) 지원을 위한 나노물질 특성시험법과 안전성 평가 방법 등의 과학적 기반을 공동으로 마련하는 것을 목표로 한다.
- 안전한 나노 생산 관련 프로젝트: 안전한 나노생산 프로젝트(Safe Nanomanufacturing)는 프랑스, 이탈리아, 영국 등을 중심으로 나노물질의 안전한 생산, 제조공정 최적화 및 합성과정의 모니터링에 관한 연구를 수행하기 위해서 조직되었다. 또한 EU는 12개 회원국 중심으로 전문가 네트워크를 구성하여 나노물질 위해성평가를 위한 Nano Impact Net을 추진하고 있다.

[표 25] 주요 국가별 나노물질·제품 규제 현황

국가	법령 및 지침	규제 대상	규제 내용
미국	독성물질관리법 (TSCA)	▪ 탄소나노튜브, 다층탄소나노튜브, 실리카, 알루미늄(4종)	▪ 규제대상 나노물질 제조 이전에 물질특성, 생산량, 용도 등 제출
	살충살균살서제법 (FIFRA)	▪ 항공 은나노 제품	▪ 항공기능 은나노 성분을 살균제로 분류하여 안전성 정보 제공 의무화
EU	신화학물질관리법 (REACH)	▪ 나노물질	▪ REACH 적용 대상으로 '13.5월 까지 안전성 정보 제출 요청
	화장품지침 (Cosmetics Directive)	▪ 나노물질 함유 화장품	▪ 물질정보, 유통량, 독성, 안전성 자료 제출 및 라벨링 의무화('13.7)
	살균제품법 (BPR)	▪ 나노물질 함유 살균제	▪ 등록·신고절차, 환경·건강위해성 자료 제출 등 의무화('13.9)
프랑스	그르넬법 (Le Grenelle Environment)	▪ 나노물질	▪ 나노물질 유통량 등 연차보고 의무화('13.1)
독일	제2차 나노기술 이행계획 2015	▪ 나노물질 함유 화장품	▪ 제품에 위해성정보를 표시하는 라벨링 의무화('13)
호주	산업용화학물질 평가법(ICA)	▪ 산업용 나노물질	▪ 산업용 나노물질 함유 제품에 대한 유통현황 정보 등 제출('11.1)
캐나다	환경보호법 (CEPA 1999)	▪ 다층 탄소나노튜브	▪ 나노제품 안전성정보 제출 권고('10)
뉴질랜드	화장품 기준	▪ 나노 함유 화장품	▪ 화장품 라벨링제도 시행 예정('15.7)

국가	법령 및 지침	규제 대상	규제 내용
대만	나노제품 인증제도	▪ 나노제품	▪ 자발적 나노제품 인증표시제 운영('03)

3) 국제기구

(1) 경제협력개발기구(OECD)

◎ 연구 현황

- 중간 변이 계수 활용 인간 건강 위해성 평가 연구: RfD 또는 NOAELs(No Observed Adverse Effect Level, 무영향관찰농도) 값과 같이 영향 가능성이 있는 노출한계값을 도출하기 위해서는 위험관리 측면에서 변이성, 불확실성이 입증된 적절한 평가요소가 필요하다. 이종 간 독성데이터의 외삽은 광범위한 데이터를 바탕으로 수행할 수 있으며 표준 평가 방법이 존재한다. 그러나 나노물질에 대한 정확한 노출한계값은 잠재적인 차이, 민감성의 차이, 분포 패턴의 차이, 배설의 차이, 작용 기전 및 용량-반응에 대한 고려가 필요하다. 나노물질에 대한 독성학적 반응의 불확실성 및 가변성이 종 내에서도 존재하지만 이에 관한 충분한 연구 결과는 아직 부족한 실정이다. 이에 낮은 유전적 변이성으로 인해 이종 간의 변이적 성질이 잘 일어나지 않는 척추동물을 이용한 연구 결과가 인체 위해 평가에 주로 활용된다.

인체 위해성에 대한 종 간의 외삽은 규제적 위해성평가를 위한 가용성 측면에서 중요성이 어느정도 인정되고 있으며 이러한 중요성에 따라서 OECD의 WPMN(제조나노물질작업반)은 나노물질의 위해성 평가 지침 개발을 위한 위해성 평가 운영그룹 및 규제프로그램 개발 프로젝트를 선정하였다.

- 반복투여독성연구에서의 종간(이종) 가변성 연구 결과: 이종을 대

상으로 한 반복투여독성연구 정보는 WPMN 문서와 논문을 활용하였다. 유사한 노출 조건 하에서 수행되었지만 다른 종에서 수행된 연구가 일반적으로 부족하기 때문에 종간 변이의 범위는 분석되지 않았다. 전반적으로, 이산화규소, 은, 다중벽 탄소나노튜브 및 이산화티타늄의 종간 가변성은 가정한 설정 값을 초과하였으며 종내(Interspecies) 가변성은 확인이 어려웠는데, 이는 실험에 사용한 나노물질이 서로 다르기 때문이었다. 대표적으로 이산화티타늄의 경구 투여 독성에서 종간 가변성이 기존 보고된 LOAEL값보다 160배의 차이가 발생하였다.

- **랫드와 사람 폐장내 나노물질의 침착 및 배설률 예측 연구 결과:**
은나노, 금, 이산화티타늄의 인간과 랫드 폐장내 침착 및 축적에 대한 모델링 및 종간 차이 예측을 위해 MPPD(version 2.1)가 분석을 위한 도구로 사용되었다. MPPD는 일반적으로 나노물질 노출에 대한 기관지 침착이 랫드보다 인간이 더 높은 값으로 예측된다. 은나노의 경우 하루 흡입 노출 후 일주일의 회복기 동안 폐장내 침착과 배설에 관한 연구를 수행하였을 때 은나노의 침착량은 정확히 예측되었지만 축적 및 청소율에 대해서는 정확한 예측이 어려웠다. 이러한 이유는 모델링으로 계산한 값과 실제 측정된 값 간의 차이가 국소적인 침착과 배설률의 차이 및 용해도의 차이의 결과 때문인 것으로 예측되었다. 따라서 기존의 MPPD 모델을 개선할 필요가 있다고 제안되었다.
- **인간과 실험동물 사이의 불확실성 계수 설정:** 나노물질의 인간건강 위해성 특성화를 위한 표준 평가 지수를 적용할 때에 종간 차이와 사람 간의 차이에 대해서 각각 10의 불확실성을 설정하지만 그 근거가 아직 완전하지 않은 실정이다. 특히 나노물질의 경우 기존 화학물질과는 다른 불확실성이 있을 수 있기 때문에 이에 대한 연구가 필요하다.

- **폐기물 처리공정에 대한 나노물질의 위해성 및 영향 연구:** 나노물질 함유 폐기물에 대한 위해성은 특별한 예방대책 없이 전통적인 폐기시스템으로 처분 및 관리되고 있으나 기존 폐기물 처리 시스템이 제조나노물질과 관련된 위해성을 효율적으로 저감시킬 것인가에 대해서는 확신할 수 없는 상황이다. 따라서 OECD는 재활용, 소각, 매립 및 폐기물처리의 4 가지 과정에 관련된 자료로부터 활용 가능한 증거 및 실험결과를 조사하고 있다.

최신 폐기물 처리 시설 내 폐기물 처리공정을 통해 제조나노물질을 유지하거나 제거하는 몇몇 사례가 있지만, 나노물질의 많은 양과 종류의 다양성, 폐기물 처리의 다양한 방법, 폐기물 구성에 대한 불확실성 때문에 더 많은 연구가 요구되고 있다. 폐기물 처리 시설로 유입되는 다양한 종류의 나노물질은 물질이 사용된 제품의 종류, 함유량 등에 대한 정보가 취약하지만 상대적으로 잘 규명되고 있는 편이다. 하지만 제조나노물질은 폐기물 복구 시설에서 재활용을 위한 도시폐기물로부터 수집되거나 도시 고형 폐기물 혹은 폐수(오수)슬러지의 형태로 처리장으로 유입된다. 또한 가정폐수, 상업용 및 산업용 오수 혹은 매립지의 유출을 통해 폐수처리시설로 유입될 수도 있다. 그러나 현재까지 각 폐수처리 공정으로 유입되는 제조나노물질의 종류와 양에 대한 정보가 매우 부족하다.

- **폐수처리공정 중 많은 양의 제조나노물질 방출:** 최신 폐수처리 공정을 통한 많은 양의 제조나노물질에 대한 포획(Captured), 전환(Diverted), 제거(Eliminated)가 이뤄지고 있지만 규명되지 않은 불확실한 부분이 있다. 폐수처리공정을 통해 다량의 제조나노물질을 유지 혹은 제거하는 과정에서 위험을 일으킬 수 있는 물질의 배출가능성이 존재한다.

폐수처리공장은 지표수에서 씻겨 잔여 제조나노물질의 형태로 남아있는 동안 고형슬러지 내 덩어리를 통해 약 80%가 유지, 변형 될

수 있다. 이와 비슷하게, 플루가스 처리시스템을 가지는 소각로는 비산재(fly ash), 바닥재(bottom ash)와 같은 잔여 고형물 내 나노물질을 유지 할 수 있다(예시: 배기가스필터). 하지만 이 결과는 각 폐기물 처리공정에 대한 일 부분의 제조나노물질을 대상으로 하였고 국한된 실험 모델에서 적용되었기 때문에 폐수처리 시설 내 제조나노물질의 움직임을 정확히 예측하기에는 한계점이 있다.

- **폐기물 공정 중 잔여 폐기물 처리에 대한 우려사항:** 최신 폐기물 처리공정을 통해 제조나노물질을 성공적으로 포획, 전환, 제거하고 있지만 잔여 폐기물 및 물질회복 등 후속 단계 등을 통해 환경에 유출되고 있다. 가장 우려되는 폐기물 처리는 농업용 폐수 슬러지의 활용이다. 토양 내 나노물질의 잠재적인 이동은 뿌리와 세균의 작용을 통해 지표수로 이동이 가능하다. 또한 소각로 내 비산재 및 바닥재 혹은 폐수처리공장 내 고형슬러지와 같은 잔여 폐기물의 매립과 제조나노물질로부터 오염된 재활용 공정으로부터 생산된 2차 물질의 오염에 대한 우려가 존재한다.
- **제조나노물질이 폐수처리공정에 미치는 부정적 효과:** 제조나노물질은 폐수처리공정에 부정적 영향을 미칠 수 있다. 기능성 나노물질의 표면은 폐수처리공장 내 나노물질의 이동을 더디게 만들며, 어떤 유기물은 매립 침출수 내 제조나노물질을 안정화시켜 침출 처리의 성능을 떨어뜨릴 수 있다. 또한 제조나노물질은 탈 질소공정, 혐기세균의 환경 내 유출로 인한 오염원 예방 및 과영양화 등의 폐수처리시설의 특정 공정을 방해하며, 이 거동을 통해 슬러지 내 독성을 감소시키기 위한 시설의 설비를 악화시킬 수 있다.
- **향후 연구 분야 및 가능한 접근방법:** OECD는 향후 제조나노물질의 폐기과정에 대한 중요성의 인식 및, 충분한 문헌검토를 통해 4가지 연구분야를 제시하였다(표 26).

[표 26] 제조나노물질 폐기를 위한 연구 분야 및 접근 방법

연구 분야	접근 방법
분석법 및 정량화	제조나노물질 검출 기법 개발
폐기물 처리 공정에 미치는 영향	- 공장 또는 파일릿공장 규모에서의 폐기물 처리 효율성 평가 - 폐기물 처리 공정 간 나노물질의 작용에 대한 연구 진행
잔여 제조나노물질의 잠재적 방출 영향	- 제조나노물질 함유 슬러지의 농업 활용에 따른 영향 조사 - 제조나노물질의 매립 효율성 조사 - 제조나노물질을 함유한 2차물질의 잠재적 위해성 조사
방출원 제어 기술	- 제조나노물질 제거 및 유지 가능 폐기물 처리 기술 개발 - 제조나노물질의 노출로부터 근로자 보호 기술 개발 - 폐기물 처리 기술 표준 효율성 평가 - 폐기물 처리 및 잔여 폐기물로부터 제조나노물질의 효율적 포획, 전환, 제거 방법

4) 기타 국가의 규제 동향

(1) 호주

- 호주는 나노물질에 대한 신규법안/규정/수정안/지침에 대한 초안, 기존 규제시스템 채택/적용과 관련된 권고, 정의, 토의를 포함한 인간 건강 및 환경안전 측면에서의 나노물질의 영향을 평가하고 있다.
- 호주 정부의 나노물질 규제는 기존 화학물질 규제의 틀에서 수행하고 있으며 이는 OECD 이사회의 권고사항과 일치한다. 국가산업 화학물질 신고 및 평가제도(NICNAS, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme)는 산업용 나노물질을 규제하기 위한 방법으로 일부 관리 조정을 통해 기존 산업용 화학물질에 적용이 가능하다.
- 호주 정부의 강력한 안전규제의 유지 및 산업용 화학물질의 규제부담을 완화하기 위해 평가 절차 간소화를 목표로 규제에 관한 연구가 진행되고 있으며 나노기술을 이용한 식품 및 식품포장의 규제에 대한 기존 제도의 검토의 일환으로 호주, 뉴질랜드 식품기준청(FSANZ, Food Standards Australia New Zealand)은 나노기술과 관련된 불용성 식품첨가제 및 식품포장의 사용 및 안전에 대한 과학적 평가를 수행하고 있다.
- FSANZ는 두 가지의 보고서를 의뢰하였는데 첫째, 나노기술을 이용한 식품첨가제 표준규약(Food Standards Code) 1.31에 제기된 나노 함유 음식물 섭취에 따른 공중보건 및 안전에 대한 위해성에 대한 합리적·과학적 증거와 관련된 가용 문헌의 검토, 둘째, 식품 내 나노물질의 이동으로 인한 식품포장 안전에 대한 잠재적 효과 연구가 있다. 이 보고서는 현재 최종안이 제출되어있는 상황이며, FSANZ의 나노기술 전략에 대한 정보를 제공 할 것이다. 또한 FSANZ는 나노기술을 이용한 식품 및 식품포장 사용의 기술적 지침서를 개발

중이며 활용 지침서에 대한 개정안은 지침서 출판에 맞춰 발간할 예정이다.

- 우수 실행 문서와 관련된 정보: 호주국립측정연구소(NMIA, The National Measurement Institute Australia)는 ISO/TC229 (국제표준화기구 나노기술위원회)참여를 통해 나노물질 문서표준화 개발을 하고 있다. 특히, NMIA는 ISO TC 229의 주요 WG(Working Group) 1(용어 및 명명법), WG 2(측정법 및 특성화) WG 3(나노기술의 보건, 안전, 환경)에 대한 활동을 지속적으로 수행하고 있다.
- NMIA는 나노물질의 일차적 크기와 크기 분포를 평가하기 위한 투과전자현미경(TEM)의 사용과 관련된 ISO/TC 229의 WG2에 참여하고 있다.
- 나노물질의 전주기 측면에서의 연구 및 전략: 호주 환경부는 2015년 9월 바이오고형물을 통해 변형된 토양에서의 플러렌(C60) 나노입자의 변형, 이동, 거동에 대한 연구프로젝트를 완료했다. 이 프로젝트는 플러렌의 분해, 변형, 분할 등에 대해 조사하였으며 농업용 부가물으로써 재사용되는 바이오고형물 내 나노입자 폐기물 처리를 통한 환경 내 유입을 평가하는데 활용 가능한 프로젝트이다. 이 연구는 방사선 표지물질(¹⁴C)을 통한 플러렌의 거동을 평가하였으며, 시험결과 바이오고형물 내 플러렌의 양은 미미하였고, 토양 내 보유하고 있는 플러렌의 변형은 극히 제한적이었으나 빛과 관련된 변형을 유발하는 epoxide와 oxide를 통해 플러렌은 변형이 일어날 수 있다고 제안되었다(표 27).

[표 27] 호주 노동부/환경부에서의 나노물질의 규제동향

제정기관		▪ 호주 노동부/환경부	
기관개요		▪ 호주에서는 나노물질을 10% 이상 함유한 제조 수입 화학물질 대해 Industrial Chemicals (Notification and Assessment) Act 1989 (NICNAS) 신고하도록 함	
규정 세부내용		▪ NICNAS는 산업화학물질 신고 및 평가법에 따라 ‘산업용 나노물질’의 신고 및 심사에 관한 행정 절차 도입(시행 2011.01) ▪ 나노 물질에 대한 규제의 목적과 새로운 산업 화학 물질인 나노형태(nanoforms)에 대한 정의를 발표 · 1) 나노 물질은 1-100nm 크기 범위의 특성 또는 구조를 가지도록 의도적으로 생산, 제조 및 가공된 물질 · 2) 위의 범주에 속하는 나노크기의 물질을 10% 이상 함유한 화학물질의 경우 이를 나노 물질로 간주 ▪ 나노 물질의 위험성을 관리할 수 있는 산업용 화학 물질에 대한 규제체계를 검토 중 ▪ 이 규정에 의해 나노물질의 크기분포자료와 물리화학적성상자료를 첨부하여 신고하여야 함 ▪ 나노물질을 GHS에 따라 분류 표시하여야 하며, MSDS를 작성하여 신고하여야 함	
적용품목		▪ 나노물질을 10% 이상 함유한 화학물질	
적용국가		▪ 호주	규제목적 ▪ 환경, 안전
시행일		▪ 2011. 1.	
규제작용사항 (애로사항)		▪ 신고 시 생산방법, 매체 확인, 매체 조건 (안정제 농도, 이온강도, 이온 조성 등) ▪ 물리화학적 성질 : 모양, 결정성 응집/집합 상태, 성분, 표면적, 표면전하, 표면화학 (코팅 및 표면조작) 데이터 첨부 ▪ 독성데이터는 Case-by-case 로 제출	
국내업체의 대응현황		▪ 나노물질의 물성측정에 대한 기술 보유	
대응방식		▪ 나노물질의 독성평가 기술 부족	
대응효과		▪ 후발 대응	
대응방안		▪ 주력(기존)시장 확대 및 신시장 창출	
대응방안	R&D	▪ 나노물질의 함유량을 수농도로 측정하는 방법 개발	
	비R&D	▪ 해당사항 없음	

(2) 오스트리아

- 오스트리아 나노기술 실행계획(Austrian Nanotechnology Action Plan)의 2012 실행보고서에 따라서 나노물질과 관련된 법안이 집행되고 있다. 2014년 오스트리아는 유럽의 파트너와 협력하여 REACH 규제 분야의 집행활동에 착수하였고 나노물질과 관련된 정보 및 제품에 대한 안전보건자료를 확인하는 작업을 수행하였다.
- 그러나 이 작업은 나노물질을 취급하는 많은 회사를 모두 규명하기에는 한계점이 존재하였고 안전보건자료를 통해 제품에 나노입자가 함유되어있음이 나타난 경우에도 나노물질의 존재 여부에 대한 정보를 확인하기는 어려웠다. 오스트리아는 9개 회원국과 더불어 나노물질 함유 화장품을 검토하기 위해 “prosafe joint action nanotechnology and cosmetic”에 참여하고 화장품 내 나노물질 함유 시험을 수행하였다. 이 프로젝트는 연방 보건부(Federal Ministry of Health)가 주관하였고 이산화티타늄, 이산화규소, 이산화알루미늄, 산화아연 함유 크림, 향수 및 혼합물을 대상으로 수행되었으며 그 결과는 2015년 2월 브뤼셀 워크숍에서 제시되었다.
- 오스트리아 나노기술 활용 계획의 또 다른 실행계획으로 국가 나노환경 안전 보건 프로그램(ESH programme, Environment, Safety, Health)이 설립되었다. EHS 프로그램은 농림 환경부 및 환경관리부, 연방 수송부, 혁신 기술부(Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management and Federal Ministry of Federal Ministry for Transport, Innovation and Technology)가 주관하며 R&D 진흥재단(FFG, Austrian Research Promotion Agency)이 관리하고 있다.

(3) 벨기에

- 나노물질에 대한 신규법안/규정/수정안/지침에 대한 초안, 기존 규

제시시스템 채택/적용과 관련된 권고, 정의, 토의를 포함한 인간 건강 및 환경안전 측면에서의 국가적 개발을 수행하고 있다.

- 2014년 9월 24일 벨기에 시장에서의 나노입자 물질생산에 대한 법령의 서명 및 공포가 이루어졌다. 이 법령의 대상 나노물질은 나노 크기의 입자를 함유하는 혼합물 혹은 완제품을 포함하며 기존에 생산된 나노물질은 2016년 1월 전까지 등록해야하며, 기존 혼합물은 2017년 1월까지 등록하도록 하고 있다.
- 나노물질 및 혼합물이 시장에 출시하기 위해서는 시판되기 이전에 반드시 등록이 필요하며 웹기반 등록 톨의 이용이 가능하도록 고안하였다.
- OECD WPMN에 참여하여 “폐기”를 포함한 나노물질의 전주기 평가를 수행하였고 이를 관련된 WPRPW(Working Party on Resource Productivity and waste, 자원생산성 및 폐기물 작업반)에서 수행한 연구 결과를 제공 하였다.
- 우수실행문서와 관련된 개발 정보: 벨기에는 FP7 연구 프로젝트 NanoREG 내 3가지 파트에 참여하였다. 나노물질의 특성연구 표준 운영절차(SOP) 개발과 규제적 위해성 평가 및 실험(안전성 평가 기술 개발), 먹이사슬 안전(Food Chain Safety) 및 환경법에 따른 국가 조정관(벨기에 연방보건식품안전환경국 참여)으로써 참여 하였다.
- 나노물질의 인간 건강 및 환경안전에 대한 평가를 위하여 나노물질 노출에 대한 나노 입자 aggregation / agglomeration 독성 영향 정의, 완제품에서의 나노물질의 노출, 나노 국제 유해성 평가, 브뤼셀 내 나노물질 및 인간 건강 영향을 연구하였다.

(4) 캐나다

- 나노물질에 대한 신규법안/규정/수정안/지침에 대한 초안, 기존 규제시스템 채택/적용과 관련된 권고, 정의, 토의를 포함한 인간 건강

및 환경안전 측면에서의 국가적 개발에 착수하였다.

- 2015년 5월 17일, 자국 물질 목록에 나노크기의 형태를 제기하기 위한 협의 문서가 의견 수렴 후 공표되고 나노크기를 상업적 용도로 고려하고 있는 206개 물질을 선정하고 형태를 규명하였다.
- 우수실행문서와 관련된 정보: 2014년 4월 시작된 캐나다 주관 ISO 표준 프로젝트, ISO/DTR 19716 나노기술-셀룰로스 나노크리스탈 특성연구에 대한 위원회 초안이 3개월의 ISO의 투표가 진행되었으며, 2015년 8월 31일 마감되었다.
- 나노물질의 전주기 측면에서의 연구정보 및 연구전략: 캐나다정부는 미국 정부관계 부처, 비정부기관 및 산업관계자와 더불어 산업용 소비자제품으로부터 나노물질 유출에 대한 검토 프로젝트를 진행하였다. 이 프로젝트는 나노물질을 함유하는 소비자제품에 대한 전주기적 관점의 나노물질의 노출을 측정할 수 있는 방법 또는 프로토콜을 개발하는 것이다.
- OECD 자원생산성 및 폐기물 작업반(WPRPW), 나노물질 함유 폐기물 전문가 그룹은 폐기물 처리 공정 간 나노물질의 거동에 대한 4개의 문서가 개발 되었다. 이 문서의 목적은 폐기 공정 및 규명되어있는 정보의 간극을 검토하기 위해 나노물질의 거동에 대한 기존 지식을 제공하는 것이다. 2013년 11월 12일~14일 개최된 WPRPW의 14차 미팅에서 4개의 문서 중 3개의 문서가 회원들로부터 검토되었고 캐나다의 문서는 2014년 12월 8~10일 개최된 WPRPW의 15차 미팅에서 제시, 검토되었다.

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • 캐나다: 매립지에서의 나노물질의 거동 • 스위스: 나노물질 함유 폐기물의 재활용 • 독일: 나노물질 함유 폐기물의 소각 • 프랑스: 폐수처리 내 나노물질 |
|--|

- 캐나다는 제조 수입 나노물질에 대해 미국 환경청(EPA) 독성물질관리법(TSCA)의 PMN 같이 신규화학물질로 취급하여 캐나다의 CEPA(Canadian Environmental Protection Act)에 의해 신고하도록 하고 신고 시 독성자료, 물성자료 및 입경자료 제출을 의무화하고 있다 (표 28).

[표 28] 캐나다 환경부에서의 나노물질 규제동향

제정기관	▪ 캐나다 환경부
기관개요	▪ 제조 수입 나노물질에 대해서는 캐나다 환경보호법 Canadian Environmental Protection Act, 1999 (CEPA 1999)에 의하여 캐나다의 CEPA (Canadian Environmental Protection Act)에 의해 신고하여야함
규정 세부내용	▪ 나노물질을 대상으로 한 특별한 규제나 법령 등의 개정이 보다 명확한 형태의 규제 요건으로 계획되고 있는 중임 ▪ 현재 나노물질에 대한 명확한 기준은 없으나 1 내지 100nm의 크기와 표면구조 및 특성을 갖는 물질이라고 포괄적 의미로 명시 ▪ 의약품, 생물의약품, 의료기기, 식품 및 포장재, 살충제, 화장품 등의 제조 시 포함되는 나노 물질을 포함 ▪ 나노물질을 ‘새로운 물질’로 간주하고 나노물질 제조업체는 신고규정 New Substances Notification Regulations (NSNR)에 따라 다음의 정보를 제출해야 함 · 1) 급성독성자료 (경구, 경피, 흡입) · 2) 피부자극성, 피부감작성 · 3) 반복투여독성시험 (경구, 흡입) · 4) in vitro 변이원성시험, in vitro 염색체 이상시험, in vivo 유전독성시험 · 5) 평균 입경 및 입경분포자료 · 6) 추가 자료로 물리화학적성상, 환경독성, 동물독성시험 · 7) Significant New Activity (SNAc) Notices를 위해서는 응축/집합체 상태, 모양, 표면적, 표면전하, 용해도, 유출성 자료

	필요 ▪ 캐나다 환경부는 나노물질 안전관리를 위해 다중벽 탄소나노튜브(MWCNT)에 대한 중요 신규활동 (SNAC, Significant New Activity Notice) 지침 적용을 고시('13.8) · SNAC 지침은 캐나다 국내화학물질목록(DSL, Domestic Substances List)에 등재되어 있지 않은 화학물질 조사 결과, 화학물질 사용이 유해물질을 배출할 것으로 예상되는 경우 화학물질이 포함된 제품정보를 사용 전 환경부에 제출하도록 요구하는 제도 ▪ MWCNT 제조 및 수입업체는 제품에 대한 상세설명, 독성효과, 안전라벨, 연간 예상 사용량 등을 취급일로부터 90일 전에 환경부에 제출해야 함 · SNAC 지침부속서의 MWCNT를 다음과 같이 정의함, · 90% 이상 원소탄소(Elemental Carbon)로 구성되고 · 튜브의 길이가 0.09 ~ 10μm 사이, 튜브의 지름이 5~25nm 사이임 ▪ 중요신규활동(SNAC) 지침에 따르면 다중벽 탄소나노튜브(MWCNT) 사용에 따른 사전 신고 대상은 아래와 같음. · 다음 제품의 경우, 연간 제조 및 수입되는 물질 총량이 100kg을 초과할 경우 적용 · 캐나다 소비자제품안전법(Canada Consumer Product Safety Act) 2조에 정의한 일반 소비재 품목(고체플라스틱 제품 제외) · 0~6세 이하 어린이를 대상으로 하는 제품에 사용되는 경우 · 또한, 연간 총 사용량이 1만 kg 이상 사용되는 경우에도 사전 신고 필요 · 연구개발을 위한 목적으로 사용되는 경우에는 사전 신고에서 제외		
적용품목	▪ 1~100nm 크기의 나노물질 / 다중벽 탄소나노튜브		
적용국가	▪ 캐나다	규제목적	▪ 환경, 안전
시행일	▪ 2007. 6 / 2013. 8		
규제작용사	▪ 나노물질을 신규화학물질로 간주하여 신고 시 독성자료, 물성자료		

항 (애로사항)		- 및 입경자료 제출 ▪ 중요 신규 사용 신고 시 나노물질의 물성 및 독성 추가자료 제출 ▪ 캐나다 환경부의 규제 강화로 탄소나노튜브 관련 국내 제조업체의 규제 내용 확인 및 대응방안 마련 필요 ▪ 다중벽 탄소나노물질의 독성자료 분석 및 이에 대한 비용 소요
국내업체의 대응현황		▪ 나노물질의 물성측정에 대한 기술 보유 ▪ 나노제품 안전성 평가체계 구축 사업이 완료 : 은(Ag), 티타늄옥사이드(TiO), 다중탄소나노튜브(MWCNT) ▪ 중소기업이 개발한 탄소나노튜브의 평가 기술의 국제표준화 추진
대응방식		▪ 후발 / 선발 대응
대응효과		▪ 주력(기존)시장 확대 및 신시장 창출
대 응 방 안	R&D	▪ 나노소재(제품)의 물리화학적 특성에 대한 표준화 기술 개발 ▪ 나노소재(제품)의 글로벌 기술규제 대응을 위한 안전성 기술 ▪ 나노소재(제품)의 종류 분석을 통한 표준화 기술 ▪ 나노물질 제조(수입)에 필요한 독성자료 생성
	비R&D	▪ CEPA 신고서 제출에 필요한 물리/화학/생물학적 데이터 생산기술 및 시험분석 / 재정지원 방안 마련

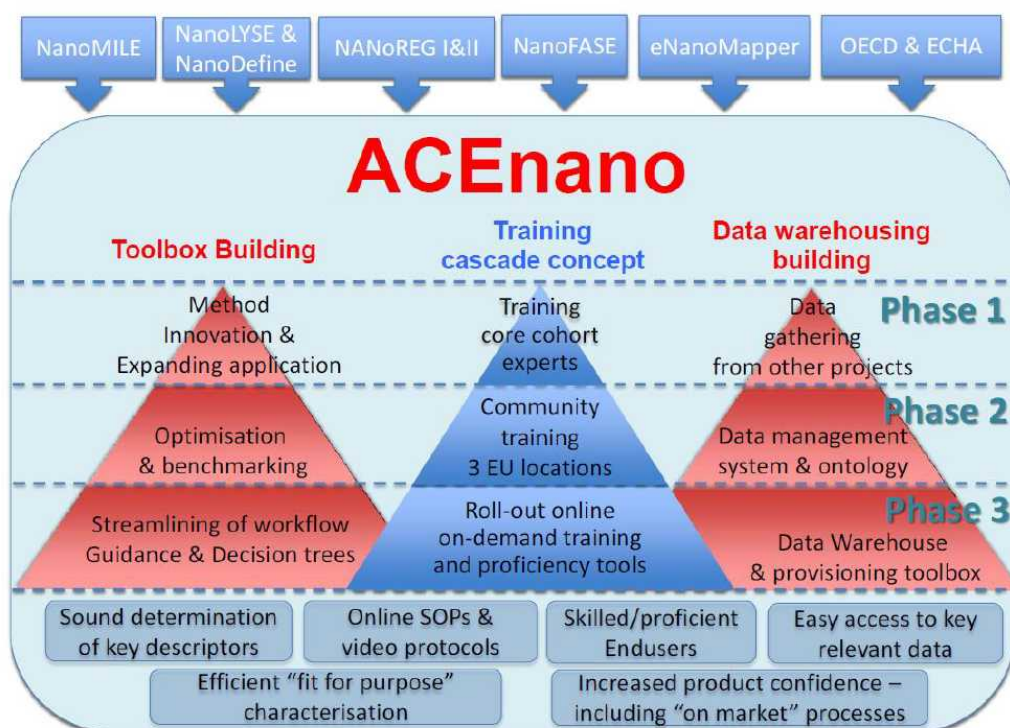
(5) 일본

- 일본은 자발적 정보수집 이니셔티브를 도입하여 산업계에 나노물질의 안전성 정보 및 관리활동에 관한 자료를 자발적으로 제출하여 줄 것을 요청하고 있으며, 각 부처별로 규제 마련을 계획 중으로 지속적인 모니터링과 대응을 하고 있다.

8. 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황(표 29 - 31).

1) ACEnano

- ACEnano 프로젝트는 2017년부터 2020년 동안 진행될 프로젝트 이다. 이 프로젝트는 연구 및 산업 분야 전문가 26명 과 함께 협력하여 나노물질의 복잡한 물리화학적 특성에 대하여 광범위하게 구현되고, 계층화 된 접근법을 개발함으로써, 나노물질의 위험평가에 대한 신뢰성, 정확성을 높이려고 한다(그림 42).

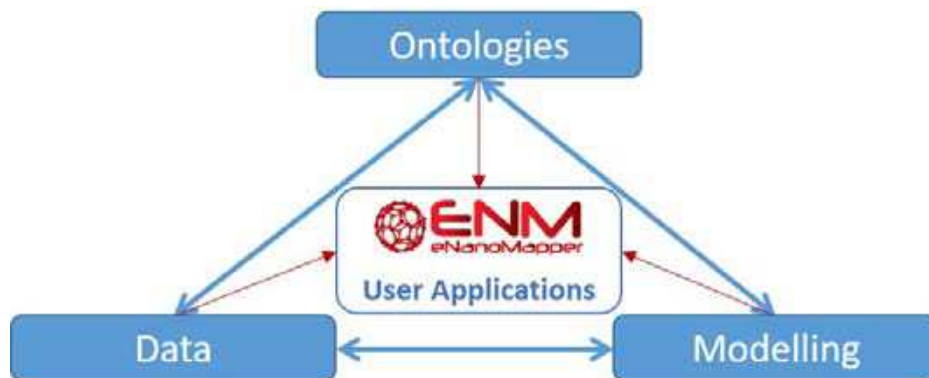


[그림 42] ACEnano에서 제시하는 conceptual toolbox

2) eNANOMapper

- eNANOMapper 프로젝트는 2014년부터 2017년 동안 진행된 프로젝트

트이다. 나노물질 독성 데이터에 관한 전산 framework 개발을 통해 나노물질 위험 평가를 보다 효과적이고 체계적인 접근방식으로 진행하기 위해서 이 프로젝트가 시작되었으며, 이를 달성하기 위해 eNANOMapper는 나노물질의 위험 평가에 적용 가능한 ontology, 데이터 인프라 모델링 도구를 개발을 목표로 추진되었다(그림 43).



[그림 43] eNANOMapper에서 목표하는 나노물질 설계 및 안전성 평가를 위한 데이터베이스 및 ontology framework 구축 모식도

3) NanoDefine

- NanoDefine 프로젝트는 2014년부터 2017년 동안 진행된 프로젝트이다. 유럽 집행위원회 (European Commission)는 최근에 알려지지 않은 물질이 '나노 물질'(2011 / 696 / EU)로 간주 될 수 있는지를 결정하기위한 기준으로 나노물질의 정의를 권고했으며 NanoDefine은 명시 적으로 이 문제를 다루고 나노 법안의 시행과 관련된 거버넌스 문제를 지원하기 위해서 나노관련 산업과 정부기관에 나노물질에 정확한 규정을 내릴 수 있는 틀을 제시함으로써 궁극적으로 나노물질 및 나노물질을 함유한 제품을 정의에 따라 분류할 수 있는 표준화된 검증 방법을 제안하였다(그림 44).



[그림 44] NanoDefine에서 제안된 나노물질 결정 체계도.

4) NanoREG2

- NanoDefine 프로젝트는 2015년부터 2019년 동안 진행될 프로젝트이다. 다양한 물리화학적 특성에 의해서 제조 나노물질에 관한 위해성 제시 또는 물질 그룹화를 위한 기준이 아직 정확히 성립되지 않은 현 상황에서 이를 해결하기 위한 건고한 규제방안을 제시하기 위한 나노물질의 그룹화 및 안전설계에 관한 접근방식 개발 및 구현을 위해 이 프로젝트는 시행되었다.

5) Pandora

- Pandora 프로젝트는 2016년부터 2020년 동안 진행될 프로젝트이다. 이 프로젝트는 나노물질에 의한 면역 체계의 반응에 대하여 초점을 맞추고 인체에 대한 위해성 뿐만 아니라 다양한 생명체에도 나노물질이 영향을 줄수 있음을 제시하기 위해서 식물 및 다양한 생물종을 이용한 나노물질에 의한 면역반응 및 이 반응에 의해 유도되는 과정에서 그들의 위험성을 확인할 수 있는 예측 마커들을 조사하고자 한다.

6) Smartnanotox

- Smartnanotox 프로젝트는 2016년부터 2020년 동안 진행될 프로젝트이다. 이 프로젝트는 나노물질에 의한 독성 반응의 분자 생물학적 매커니즘의 정보 수집을 통해서 AOP 분석을 통한 나노물질에 독성 반응에 예측 모델을 설정함으로써 나노독성을 예측을 할 수있는 스마트 스크리닝 접근법을 개발하고자 한다(그림 45).



[그림 45] Smartnanotox 프로젝트의 목표 개요

[표 29] 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황 표 (1) (Lynch, I. (2014))

Project Acronym	ACEnano	Calibrate	CERASAFE	EC ⁴ SafeNano	eNanoMapper	Fibralspec	FutureNanoNeeds	GuidNano	HISentS
Start year	2017	2016	2016	2016	2014	2014	2014	2013	2016
End year	2020	2019	2018	2019	2017	2017	2017	2016	2020
Charcterisation & measurment	×	×	×			×	×	×	×
Physico-chemical properties	×		×				×	×	×
Analysis of “next generation” nanomaterials (2nd, 3rd of 4 th generation)	×					×	×	×	
Exposure assessment for humans and the environment	×		×			×	×	×	×
Develop & validate expousre measurement and modelling methods	×		×			×	×	×	×
Human Exposure: Application of measurement and modelling methods			×			×	×	×	×
Environmental Exposure Assessment			×				×	×	

Project Acronym	A C E n a n o	C a l i b r a t e	C E R A S A F E	E C 4 S a f e N a n o	e N a n o M a p p e r	F I b r a l s p e c	F u t u r e N a n o N e e d s	G u i d N A n o	H I s e n t s
Interaction of NM with biological systems	×						×		×
Interaction with physiological mechanisms	×		×				×		×
Toxicokinetics									×
Inter- and intraspecies variability									
Predictive models									×
Long term monitoring and assessment									
Human Health						×			×
Develop & validate testing & assessment strategy									×
Apply testing and assessment strategy	×		×	×		×			×
Coexposures/Mixture toxicology							×		
Ecotoxicology							×	×	
Develop testing and assessment strategy							×	×	
Apply testing and assessment strategy				×				×	

Project Acronym	A C E n a n o	C a l i b r a t e	C E R A S A F E	E C 4 S a f e N a n o	e N a n o M a p p e r	F I b r a l s p e c	F u t u r e N a n o N e e d s	G u i d N a n o	H I s e n t s
Control measures at workplace		×	×	×		×			
Develop & validate methods to evaluate control measures at workplaces		×	×	×		×			
Apply methods to evaluate control measures at workplaces		×	×			×			
Control banding approach		×	×			×			
Preliminary handling guidelines		×		×		×			
Collect available and ongoing approaches		×	×	×		×			
Evaluation and further development		×		×		×	×		
Information transfer		×		×		×	×	×	×
Database generation	×	×	×	×	×		×	×	
Public dialogue		×	×	×		×		×	
Information to and training of workers, business and	×	×		×		×	×	×	
National and international collaboration		×	×	×		×			×

Project Acronym	A C E n a n o	C a l i b r a t e	C E R A S A F E	E C 4 S a f e N a n o	e N a n o M a p p e r	F i b r a l s p e c	F u t u r e N a n o N e e d s	G u i d N A n o	H I s e n t s
Development	×		×	×	×		×	×	×
Testing	×		×	×	×	×	×	×	×
Validation	×	×	×	×	×	×		×	×
Standardisation	×	×	×	×	×				
Assessment activities		×		×				×	

[표 30] 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황 표 (2) (Lynch, I. (2014))

Project Acronym	L o r c e n i s	M o d C O M P	N a n o D e f i n e	N a n o F A R M	N a n o F A T E	N a n o G e n T o o l s	N a n o M I L E	N a n o R E G	N a n o R E G 2
Start year	2016	2016	2013	2016	2010	2015	2013	2013	2015
End year	2020	2020	2017	2019	2014	2019	2017	2016	2019
Charcterisation & measurment	X		X	X	X	X			X
Physico-chemical properties	X		X	X	X	X	X	X	X

Project Acronym	L o r c e n i s	M o d C O M P	N a n o D e f i n e	N a n o F A R M	N a n o F A T E	N a n o G e n T o o l s	N a n o M I L E	N a n o R E G	N a n o R E G 2
Analysis of “next generation” nanomaterials (2nd, 3rd of 4 th generation)	X		X	X		X			X
Exposure assessment for humans and the environment	X	X		X	X	X			X
Develop & validate exposure measurement and modelling methods		X	X	X	X	X		X	X
Human Exposure: Application of measurement and modelling methods			X	X	X	X		X	X
Environmental Exposure Assessment	X	X		X	X			X	
Interaction of NM with biological systems			X	X	X	X			X
Interaction with physiological mechanisms				X	X	X		X	X
Toxicokinetics					X			X	
Inter- and intraspecies variability					X	X		X	
Predictive models					X	X		X	X
Long term monitoring and assessment				X	X			X	

Project Acronym	L o r c e n i s	M o d C O M P	N a n o D e f i n e	N a n o F A R M	N a n o F A T E	N a n o G e n T o o l s	N a n o M I L E	N a n o R E G	N a n o R E G 2
Human Health		X		X		X			X
Develop & validate testing & assessment strategy		X				X		X	
Apply testing and assessment strategy				X				X	X
Coexposures/Mixture toxicology				X					
Ecotoxicology				X	X	X	X		
Develop testing and assessment strategy				X	X	X	X	X	
Apply testing and assessment strategy				X	X		X	X	
Control measures at workplace		X							X
Develop & validate methods to evaluate control measures at workplaces		X						X	X
Apply methods to evaluate control measures at workplaces		X						X	X
Control banding approach		X							X
Preliminary handling guidelines		X				X			
Collect available and ongoing approaches		X						X	

Project Acronym	L o r c e n i s	M o d C O M P	N a n o D e f i n e	N a n o F A R M	N a n o F A T E	N a n o G e n T o o l s	N a n o M I L E	N a n o R E G	N a n o R E G 2
Evaluation and further development		X				X		X	
Information transfer	X	X	X	X	X	X			X
Database generation	X		X	X	X	X	X	X	X
Public dialogue	X	X	X	X	X				
Information to and training of workers, business and	X	X	X	X	X	X	X		
National and international collaboration	X	X	X	X	X	X			X
Development	X	X	X	X	X			X	X
Testing		X	X	X	X			X	X
Validation		X	X		X	X		X	X
Standardisation		X	X		X			X	X
Assessment activities	X	X		X	X	X		X	X

[표 31] 유럽연합의 나노안전성 프로그램 현황 표 (3) (Lynch, I. (2014))

Project Acronym	N a n o s o l u t i o n s	N a n o T o x C l a s s	N e c o m a d a	n p S C O P E	P a n d o r a	P r o S a f e	S K I N C A P S	S m a r t N a n o T o x	S U N
Start year	2013	2015	2017	2017	2016	2015	2015	2016	2013
End year	2017	2018	2019	2020	2020	2017	2019	2020	2016
Charcterisation & measurment	X		X	X			X		
Physico-chemical properties	X		X	X			X	X	X
Analysis of “next generation” nanomaterials (2nd, 3rd of 4 th generation)									X
Exposure assessment for humans and the environment									X
Develop & validate expousre measurement and modelling methods									X
Human Exposure: Application of measurement and modelling methods				X					X
Environmental Exposure Assessment			X						X
Interaction of NM with biological systems	X	X			X		X	X	

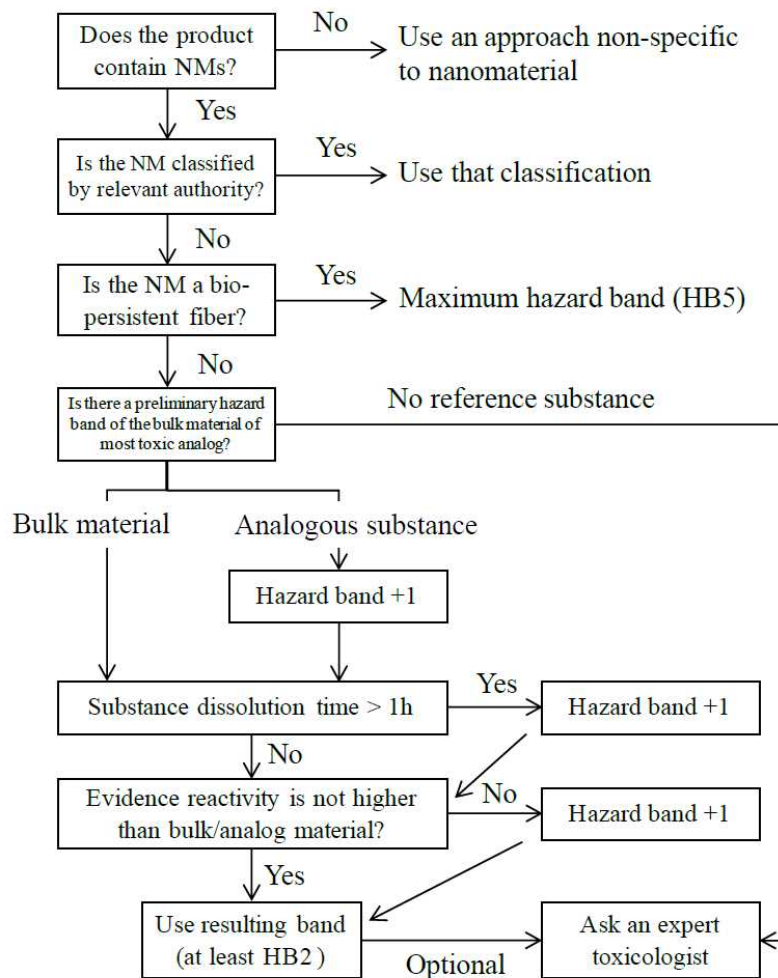
Project Acronym	N a n o s o l u t i o n s	N a n o T o x C l a s s	N e c o m a d a	n p S C O P E	P a n d o r a	P r o S a f e	S K I N C A P S	S m a r t N a n o T o x	S U N
Interaction with physiological mechanisms		X			X		X	X	
Toxicokinetics		X						X	
Inter- and intraspecies variability					X				
Predictive models	X	X			X			X	
Long term monitoring and assessment		X						X	
Human Health	X	X		X	X				
Develop & validate testing & assessment strategy	X	X		X	X			X	
Apply testing and assessment strategy	X	X		X	X				
Coexposures/Mixture toxicology					X				
Ecotoxicology	X			X	X				
Develop testing and assessment strategy	X			X	X				X
Apply testing and assessment strategy	X			X	X				X
Control measures at workplace			X						X

Project Acronym	N a n o s o l u t i o n s	N a n o T o x C l a s s	N e c o m a d a	n p S C O P E	P a n d o r a	P r o S a f e	S K H I N C A P S	S m a r t N a n o T o x	S U N
Develop & validate methods to evaluate control measures at workplaces	X								X
Apply methods to evaluate control measures at workplaces			X						
Control banding approach									
Preliminary handling guidelines	X		X	X					X
Collect available and ongoing approaches	X		X	X					X
Evaluation and further development	X		X	X					X
Information transfer	X	X				X	X		
Database generation	X						X	X	X
Public dialogue		X	X		X	X	X		
Information to and training of workers, business and		X	X			X			X
National and international collaboration	X		X		X	X			
Development	X	X			X			X	
Testing	X	X	X		X			X	
Validation	X	X	X		X	X			

Project Acronym	N a n o s o l u t i o n s	N a n o T o x C l a s s	N e c o m a d a	n p S C O P E	P a n d o r a	P r o S a f e	S K H I N C A P S	S m a r t N a n o T o x	S U N
Standardisation		X	X			X	X		
Assessment activities	X		X			X			

9. 나노물질 위해평가 도구 조사

- ANSES: 프랑스에서 개발한 control banding tool(Riediker et al. 2012)(그림 46).

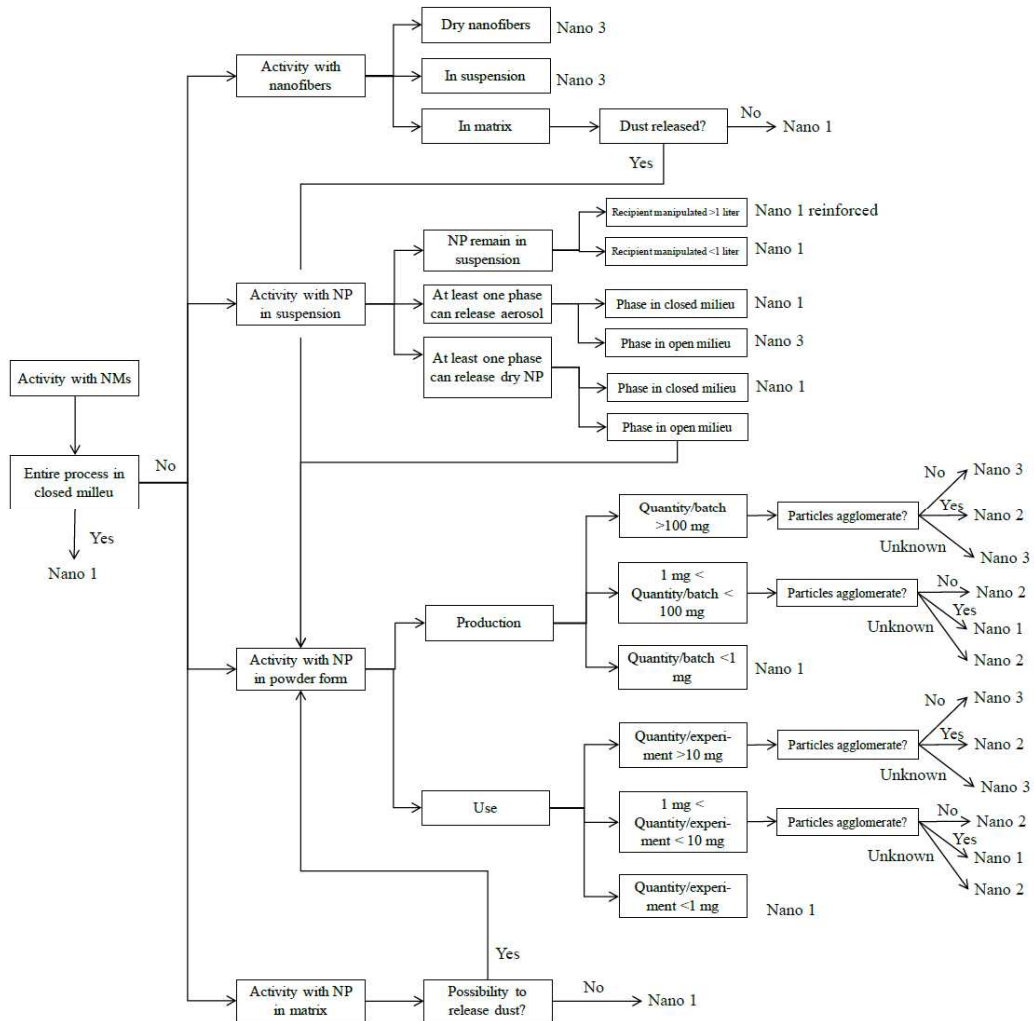


- HB1: very low, no significant risk to health
- HB2: Low, slightly toxic effects rarely requiring medical follow-up
- HB3: moderate to significant health effects requiring specific medical follow-up

- HB4: high, unknown health effects or serious hazard
- HB5: very high, severe hazard requiring a full hazard assessment by an expert

[그림 46] ANSES 방법에 따른 Harzard Banding 방법(Riediker et al. 2012)

- CB Nanotool 2.0: Paik et al.(2008)에 의해서 개발된 툴로서 risk level을 기준으로 분류하는 기법이며 4단계로 구분됨.
- Early warning signs: Foss Hansen et al.(2013)에 의해서 제안된 방법이며 인체건강과 환경 위해 영향을 기준으로 5단계의 warning signs으로 분류하는 방법임.
- Genaidy's method: Genaidy et al.(2009)에 의해서 제안된 방법이며 특히 탄소나노섬유 작업자의 위해를 예방하기 위한 위해평가 툴이며 위해성을 5가지로 분류하는 방법임.
- Groso's method: Groso et al.(2010)에 의해서 처음으로 제안된 방법이며 나노물질을 다루는 실험실 작업자에게 작업자 사용자 친화적인 위해평가 방법임. 나노물질 연구실을 3가지 카테고리로 분류하여 위해성을 구분하는 방법임(그림 47).



[그림 47] Grosos method에 의한 hazard banding(Groso et al., 2010)

- Guidance: Cornelissen et al.(2011)에 의해 작성된 Guidance working safely with nanomaterials and nanoproducts 보고서에서 제안된 방법임. 이 방법은 7단계의 과정을 통해서 작업자의 나노물질 위해를 예방하는 방법임.
- Hierarchical rank aggregation: Patel et al.(2013)에 의해서 제안된 방법으로서 나노물질의 위해성을 grouping하여 분류하는 방법임.

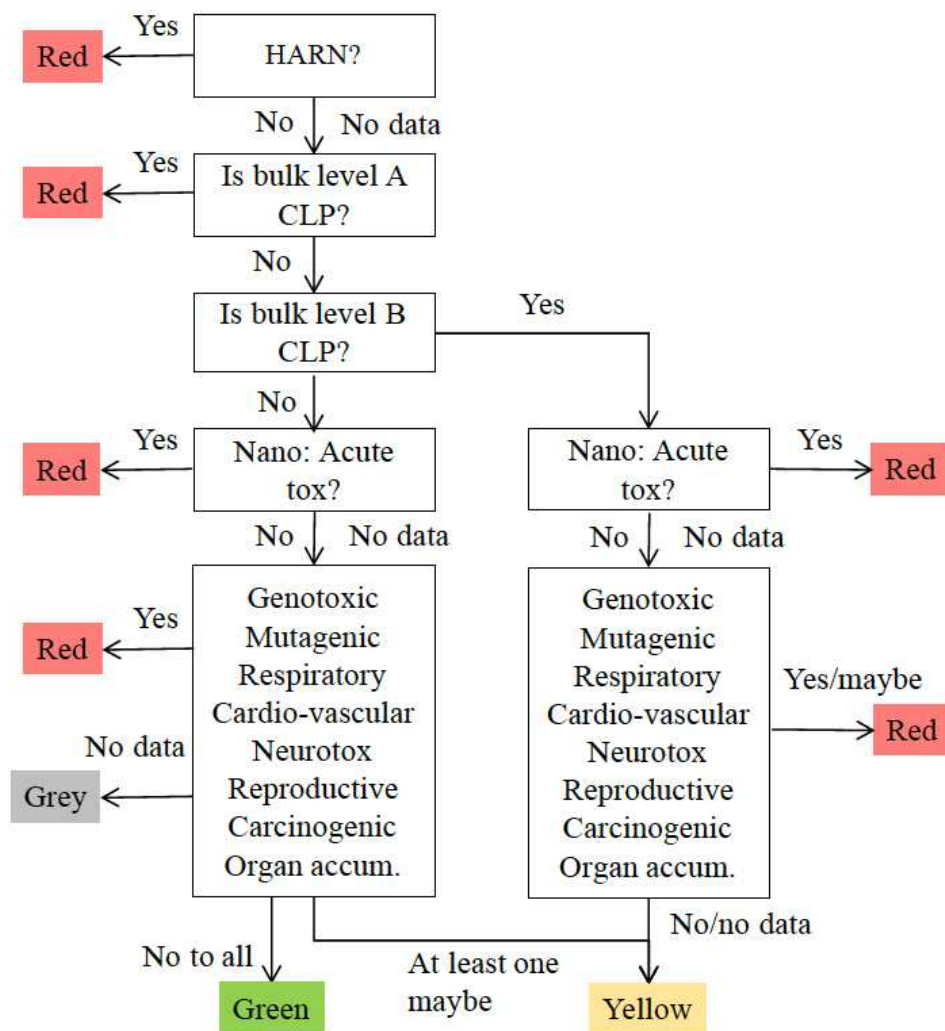
- LICARA nanoSCAN: van Harmelen et al. (2016)에 의해서 제안된 방법으로서 나노제품을 평가하는 것과 관련하여 소규모 또는 중급 규모의 회사에서 활용 가능한 방법임. 3가지로 나노물질의 위해성을 분류함.
- Nano-Evaluris: Bouillard and Vignes (2014)에 의해서 개발된 방법으로서 파우더 형태의 나노물질의 사용과 관련된 위해도를 평가하는 방법임.
- NanoHAZ: O'Brien and Cummins (2010)에 의해서 개발된 방법으로서 나노물질의 인체와 환경에 미치는 위해도를 기준으로 분류하는 방법임.
- NANoREG: Dekkers et al. (2016)에 의해서 제안된 나노물질 위해평가 방법으로서 유럽연합에 의해서 연구비 지원을 받음. Phase 1, 2, 3으로 구분함(그림 48).



[그림 48] NANoREG 접근법의 phase 1(Dekkers et al., 2016)

- NanoRiskCat: Foss Hansen et al. (2013)에 의해서 제안된 방법으로
서 기업과 규제기관에서 사용될 수 있는 나노물질을 포함하는 소비자
제품을 평가하는 방법임. Decision tree model을 제안하고 있으며 5가
지의 주요 평가 요인 중에서 3가지는 노출과 관련된 인자이며 2가지
는 영향에 관한 인자임(그림 49).

- ① Exposure to professional users
- ② exposure to consumers
- ③ exposure to the environment
- ④ hazard potential for humans
- ⑤ hazard potential for the environment

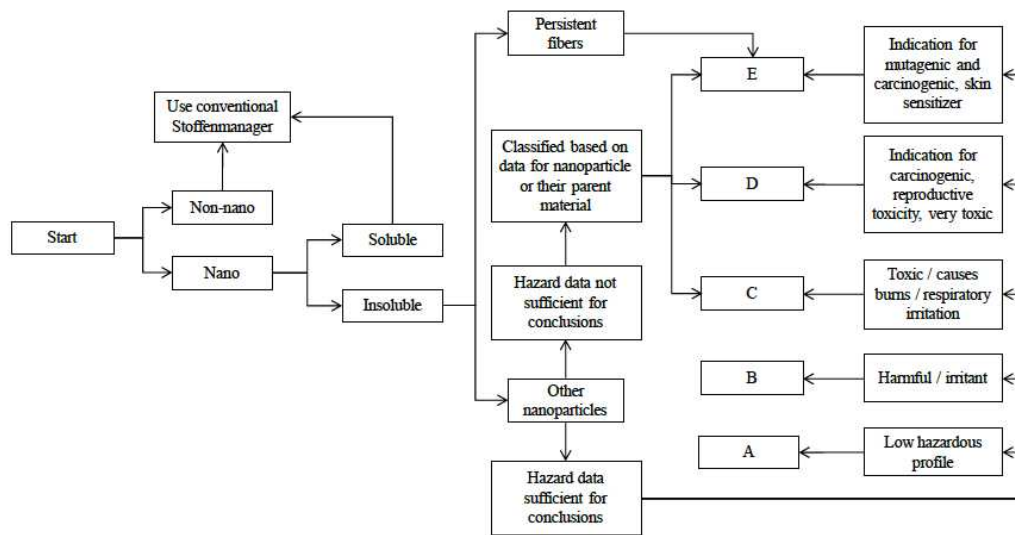


[그림 49] NanoRiskCat의 인체 위해 영향에 관한 decision tree

- NanoSafer: 덴마크에서 개발된 방법임. 그러나 아직 정확한 방법이

공개되어 있지 않음.

- Occupational Hazard Band for Nano: Gridelet et al. (2015)에 의해서 제안된 방법으로 작업장에서 나노물질의 위해도에 관한 그룹을 분류하는 방법임. 5가지로 위해도를 분류함.
- Precautionary Matrix: Höck et al. (2008)에 의해서 제안된 방법이며 나노물질을 합성하는 작업장에서 책임감있는 나노물질의 생산을 유도하는 전략임. 위해도가 낮은 나노물질과 위해성을 반드시 고려해야되는 나노물질로 분류하는 방법을 적용함.
- Relative Risk Analysis: Robichaud et al. (2005)에 의해서 제안된 방법으로 상대적 위해평가를 수행하는 방법임. 3가지의 위해성으로 분류하여 관리함.
- Risk Trigger Scores: Wardak et al. (2008)에 의해서 제안된 방법으로 나노물질 개발의 초기 단계에서 위해성을 평가하기 위한 방법임. 위해성이 고려되는 부분에 관한 계산을 수행하는 방법을 적용함.
- Stoffenmanager Nano: van Duuren-Stuurman et al. (2012)에 의해서 고안된 방법으로서 작업자의 건강과 안전을 증진하기 위한 나노물질의 위해성 기준의 분류 방법임(그림 50).
- TEARR: Grieger et al. (2015)가 고안한 방법으로서 제조나노물질의 인체 위해도에 대해서 정성적 분석과 정량적 분석을 수행하여 위해도 분류를 수행하는 방법임.
- WCD model: Sørensen et al. (2010)에 의해서 제안된 방법으로서 나노물질의 위해평가에서 최악의 시나리오를 설정하고 대비하는 것에 관한 방법임.



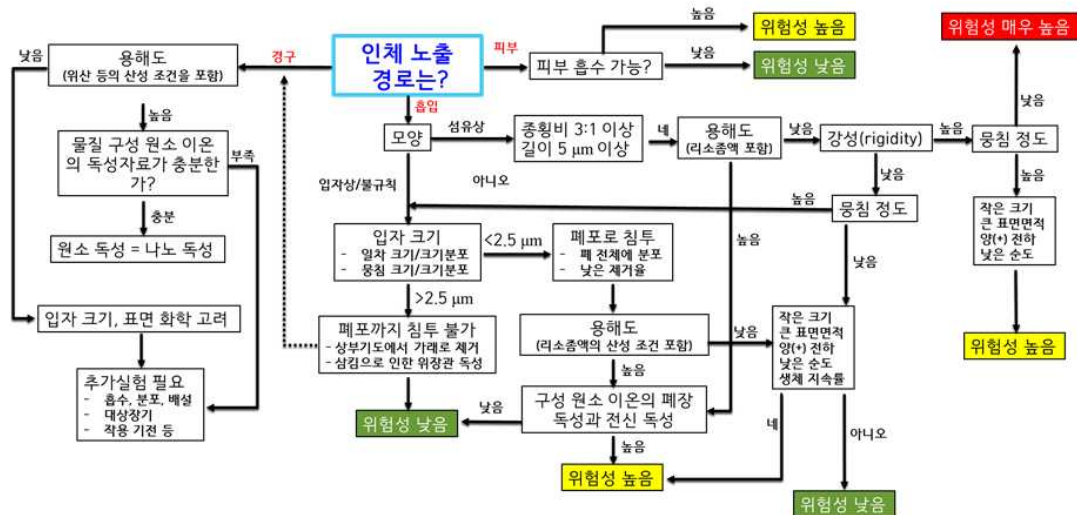
[그림 50] Stoffenmanager Nano의 위해평가 방법

10. 나노물질 위해평가 도구 제안

- 현재까지 약 20가지의 나노위해평가 도구가 개발되어있으나 각 도구들은 여러 가지 단점을 가지고 있다. ANSES의 control banding tool, Groso's method에 의한 hazard banding, NANoREG의 hazzarding banding 방법, NanoRiskCat의 decision tree 등은 공통적으로 매우 단순하여 위해평가 도구로 사용되기에는 부족하다고 판단된다. 예를들어 이 방법들은 공통적으로 나노물질이 섬유상 나노물질이면서 생체 지속성이 높은 물질이면 모두 최고의 위험성으로 분류하고 있으나 실제 섬유상 나노물질의 길이, 강성, 분산도 등 다양한 물리화학적 특성요인에 의해서 위험성 분류가 달라질 수 있기 때문에 기존의 위해성 평가 도구의 장점을 포함하는 적절한 도구의 개발 및 제안이 필요하다. 또한 NanoRiskCat 등에서 제안하는 방법은 독성정보를 기반으로 위험성을 분류하게 하고 있는데, 나노물질은 동일한 구성을 가지고 있더라도 물리화학적 특성의 차이에 의해서 독성이 전혀 다르게 나타날 수 있기 때문에 독성정보를 기준으로 분류하기에는 대표성을 가지는 분류가 되기 어렵다. 즉, CNT가 유전 독성이 있어서 RED로 분류가 되더라도 이것은 시험대상 물질 특이적인 반응일 수 있기 때문에 다른 CNT에는 적용하기 어렵다. 따라서 나노위해평가 도구의 방법은 물리화학적 특성과 독성의 정성, 정량적 분석을 바탕으로 나노물질의 특성을 기준으로 위해성을 분류하는 방법의 개발이 가장 적절하다. 이는 IARC가 진행하고 있는 나노물질 발암물질 분류나 각국이 나노물질 규제에서 적용하고자 하는 모듈식 규제와 일치하는 방법이며, 이러한 연구를 통해서 나노물질에 대해서 범용적으로 적용할 수 있는 위해평가 도구가 개발되어야 한다.

이러한 측면에서 본 보고서에서는 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관관계에 기반한 나노위해평가 도구를 제안하였다.

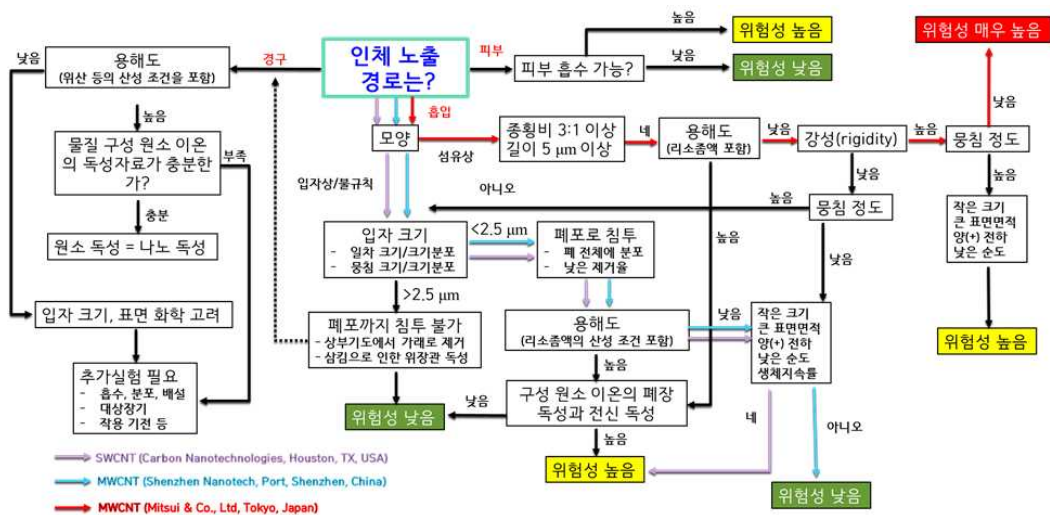
- 그림 51과 같이 탄소계 나노물질을 포함한 나노물질의 위해평가 도구(tool)를 제안하고자 함.



[그림 51] 나노물질의 위해평가 도구 제안

- 본 도구에서는 나노물질의 인체 노출 가능성 또는 노출량에 대한 부분은 제외하였고, 나노물질이 인체에 여러 경로 (경구, 흡입, 피부)로 노출되었을 때 어떠한 위해성이 있는가를 낮음, 높음, 매우 높음으로 분류하였음.
- 경구 노출 조건에서는 나노물질의 용해도(위산에서의 용해도와 장액에서의 용해도 측정)를 측정하여 이온의 형태로 체내로 흡수될 수 있는지에 관한 고려가 필요함. 용해도가 낮은 물질인 경우 장관 흡수에 영향을 줄 수 있는 물리화학적 특성으로 입자의 크기, 표면화학이 중요하게 고려하여야 함. 그러나 현재까지의 문헌에서 이러한 물리화학적 특성과 장관 흡수에 관한 명확한 상관관계에 대한 결과가 없기 때문에 물리화학적 특성의 영향에 대해서 추가 자료가 요구됨.

- 피부 노출 조건에서는 여러 문헌 등에서 나노입자의 정상 피부 조직에 대한 침투가 극히 제한된다고 보고되고 있기 때문에 피부 흡수의 가능 여부에 대한 평가를 통해서 위험성의 결정이 가능함.
 - 호흡기 노출의 경우 물질의 모양이 섬유상인지 아니면 입자상 또는 불규칙 모양인지로 구분하여 섬유상인 경우 종횡비와 길이가 각각 3:1 이상, 5 μm 이상인지를 기준으로 이상인 경우 나노물질의 용해도(리소좀액 조건에서의 용해도 평가 필요)와 강성, 뭉침 정도를 기준으로 용해도가 낮을수록, 강성이 높을수록, 뭉침정도가 낮을수록 위험성이 크다고 규정 가능함.
 - 나노물질이 입자상 또는 불규칙 모양인 경우 입자의 크기, 폐포로의 침투 가능성, 용해도, 구성 원소 이온의 독성, 나노물질의 표면화학 특성 등을 고려하여야 함.
- 그림 51에서 제안한 도구를 기존 문헌에서 연구되고 있는 탄소나노튜브에 적용하였을 때 분류되는 기준은 그림 52와 같음.



[그림 52] 탄소나노튜브의 위해평가 도구 적용(안)

- SWCNT(제조사: Carbon Nanotechnologies, Houston, TX, USA)의 경우
 뭉침의 특성이 강하여 입자상/불규칙의 모양을 가지고 있으며 분산된
 입자의 크기는 $2.5\ \mu\text{m}$ 이하이며 폐포로 침투율이 높고 용해도가 낮고,
 작은 크기를 가지고 있기 때문에 “위험성 높음”으로 분류 가능함.
- MWCNT(제조사: Shenzhen Nanotech, Port. Shenzhen, China)의 경
 우 뭉침의 특성이 강하여 입자상/불규칙의 모양을 가지고 있으며 분
 산된 입자의 크기는 $2.5\ \mu\text{m}$ 이하이며 폐포로의 침투율이 높고, 용해
 도가 낮고, 비교적 작은 표면면적에 의해서 “위험성 낮음”으로 분류
 가능함.
- MWCNT(제조사: Mitsui & Co., Ltd, Tokyo, Japan)의 경우 단일 섬
 유가닥으로 잘 분산되기 때문에 본래의 섬유상 구조를 유지하고 있
 으며 길이 $5\ \mu\text{m}$ 이상의 중횡비 3:1 이상이며 용해도가 낮고, 높은
 강성을 가지며, 뭉침의 정도가 낮기 때문에 “위험성 매우 높음”으로
 분류 가능함.
- 다른 종류의 SWCNT와 MWCNT에 대한 분류 기준은 표 32와 33으
 로 표기하였으며, 이 표를 그림 47에 적용하면 각 물질의 위험성을
 예측 가능함.

[표 32] 탄소나노튜브의 위해평가 도구 적용(1)

물질	SWCNTa)	SWCNTb)	SWCNTc)	MWCNTd)	MWCNTe)	MWCNTf)g)	MWCNTh)
제조사	Carbon Nanotechnologies, Houston, TX, USA	Thomas Swan, Consett, United Kingdom	National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan.	Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA	Mitsui & Co., Ltd, Tokyo, Japan	Shenzhen Nanotech, Port, Shenzhen, China	Bayer Material Science, Leverkusen, Germany
모양	입자상/불규칙	입자상/불규칙	입자상/불규칙	입자상/불규칙	섬유상	입자상/불규칙	입자상/불규칙
직경 (nm) x 길이 (μm)	0.8-1.2 x 0.1-1	0.9-1.7 x < 1	12 x 0.32 (공기중 분산시에서의 크기)	110 - 170 X 5-9	49 X 3.9	10 - 20 X 5 -15	10 - 15 X 0.2 - 1
입자크기 (몽침크기 /크기분포)	240 nm (aerosol)	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	개별 분산 되어짐	< 2 μm	2 - 3 μm
총형비 3:1 이상 길이 5 μm 이상	x	x	x	X (몽침)	●	X (몽침)	X (몽침)
폐포침투 (2.5 μm 이하)	●	●	●	●	●	●	●
용해도	낮음	낮음	낮음	낮음	낮음	낮음	낮음
강성	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	높음	측정되지 않음	측정되지 않음
몽침정도	높음	측정되지 않음	낮음	높음	낮음	높음	높음
표면면적 (m ² /g)	508	731	1064	12.8	26	100	257
전하	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음
순도 (%)	85 - 95 %	측정되지 않음	측정되지 않음	> 90	99	95	> 95
금속 불순물 (wt%)	Fe (17.7)	측정되지 않음	Fe(0.1), Ni(0.1)	측정되지 않음	Fe(0.32%)	Fe (0.5), Ni(0.5)	측정되지 않음
생체 지속률	측정되지 않음	측정되지 않음	낮음	높음	높음	측정되지 않음	높음
참고문헌	Shvedova A, et al. (2008)	Saber A. T. et al. (2013)	Morimoto Y, et al (2012)	Park E. J, et al. (2009)	Porter D.W, et al. (2010), Mercer R. R, et al. (2011)	Mitchell L. A, et al (2007)	Ellinger-Ziegelbauer (2009)

[표 33] 탄소나노튜브의 위해평가 도구 적용(2)

물질	MWCNT	MWCNT	MWCNT	MWCNT	MWCNT	MWCNT	MWCNT
제조사	Nanolab, Inc., USA	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Cheap Tubes Inc., Brattleborough, VT, USA	Nikisio Co., Ltd, Tokyo, Japan	Wako, Ltd, Japan	Showa-Denko, Japan
모양	입자상/불규칙	입자상/불규칙	입자상/불규칙	입자상/불규칙	섬유상	섬유상	섬유상
직경 (nm) x 길이 (μm)	20 -40 X 0.5 - 5	10 - 20 X 0.5 -2	10 - 20 X 10 - 30	30 - 50 X 0.5 - 2	59.2 X 5.48	70.9 X 7.31	177.4 X 4.5
입자크기 (응집크기 /크기분포)	측정되지 않음	568 ± 677 nm	396 ± 22 nm	810 ± 62 nm	개별 분산되어짐	개별 분산되어짐	개별 분산되어짐
중량비 3:1 이상 길이 5 μm 이상	X (응집)	X (응집)	X (응집)	X (응집)	●	●	●
폐포침투 (2.5 μm 이하)	●	●	●	●	확인되지 않음	확인되지 않음	확인되지 않음
용해도	낮음	낮음	낮음	낮음	낮음	낮음	낮음
강성	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음
응집정도	높음	높음	높음	높음	낮음	낮음	낮음
표면면적 (m ² /g)	300	140.6	204.9	217.3	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음
전하	측정되지 않음	-10.27 ± 0.39	-10.6 ± 0.4	-9.73 ± 1.26	측정되지 않음	측정되지 않음	측정되지 않음
순도 (%)	80	> 96	> 95	> 98	>98	측정되지 않음	측정되지 않음
금속불순물(wt%)	Fe(4.43)	Fe(0.85), Ni(1.19)	Ni(0.82)	Fe(0.51), Ni(0.47)	Fe(0.3)	Fe(5.91)	측정되지 않음
생체 지속률	높음	낮음	높음	높음	높음	높음	높음
참고문헌	Grubelk-Jaworska H, et al. (2006)	Hamilton R. F, et al. (2013)	Hamilton R. F, et al. (2013)	Hamilton R. F, et al. (2013)	Sakamoto Y, et al. (2018)	Sakamoto Y, et al. (2018)	Sakamoto Y, et al. (2018)

11. 탄소계 나노물질에 대한 GHS 분류

1) 서론

- 탄소계 나노물질에 대한 GHS 분류는 한국산업안전보건연구원에서 WHO 문서로 발간한 “Which hazard category should specific nanomaterials or groups of nanomaterials be assigned to and how?”(Lee N, et al. 2017)를 바탕으로 분석하였고, 최근의 연구결과를 추가하여 업데이트 하였다. 위험 분류(hazard categorization)의 방법은 여러 가지가 있을수 있으나 본 보고서에서는 나노물질에 대한 위험분류를 UN Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS, 6th edition, United Nations 2015)의 기준에 따라서 수행하였다.

2) 풀러렌(Fullerenes)

- 풀러렌은 OECD sponsorship program의 시험 대상 제조나노물질에 대한 reference 물질 또는 alternative reference 물질로 활용되었고 물리화학적 특성에 대한 평가 결과는 2015년에 기술문서(ENV/JM/MONO(2015)11/PART1과 ENV/JM/MONO(2015)11/PART2)로 발간되었다(<http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/fullerenes-c60-manufacturednanomaterial.htm>)(표 34).

[표 34] 풀러렌의 물리화학적 특성

나노물질	기술문서번호	제조사	특성
Fullerene C60	No 48. ENV/JM/MONO(2015)11/PART1, PART2	Nano purple (Frontier Carbon Corporation) C60 MER Corp.	Crystalline Black Primary particle size 20 nm - 30 nm Agglomerate/aggregate diameter > 500 nm Specific surface area 0.87 m ² /g Zeta potential ca 20 mV

- 급성독성: 실험동물을 이용한 플러렌의 급성 경구투여 독성과 급성 흡입독성 시험이 수행되었다. 급성 경구투여 독성은 TG474에 준하여 수행되었으며 최고 투여 농도에서 사망이 관찰되지 않아서 급성 독성위험은 없는 것으로 확인되었다.
- 피부 자극성시험과 안 자극성/부식성 시험: 플러렌에 대한 피부 자극성 시험과 안 자극성/부식성 시험을 TG404와 TG405에 따라서 수행하였고, 그 결과 피부와 눈에 자극성 또는 부식성이 없는 것으로 확인되었다. 따라서 플러렌은 피부 자극성과 안 자극성/부식성에 대한 위험 분류에 포함되지 않는다.
- 피부 감작성: 플러렌에 대한 피부 감작성시험을 TG406에 준하여 수행하였다. 플러렌은 약간 자극성 반응이 있었으나 미약한 수준이었다. 따라서 플러렌은 피부 감작성에 대한 위험 분류에 포함되지 않는다.
- 반복 경구투여 독성(28일): 플러렌에 대한 28일 반복 경구투여 독성시험을 TG407에 준하여 수행하였다. 플러렌을 투여한 수컷에서 알부민 농도의 감소와 암컷에서 총단백질 농도의 증가가 관찰되었으나 조직병리학적 변화는 동반하지 않았다. 플러렌에 대한 NOAEL은 1000 mg/kg bw/day로 판단되었고 경구투여 경로에서 특이적인 특정표적장기는 확인되지 않았다.
- 반복 흡입투여 독성(28일): 플러렌에 대한 28일 반복 흡입독성시험을 수행하였다. 0.12 mg/m²을 투여한 군의 폐장에서 미약한 염증 반응이 확인되었다.
- 유전독성: in vitro 유전독성을 TG471에 준하여 수행하였다. 세균 복귀돌연변이시험에서 대사적 활성이 있는 조건과 없는 조건 모두에서 유전독성은 음성이 확인되었다. 염색체 이상시험에서 음성이 확인되었다. in vivo 유전독성시험으로 포유류 적혈구 소핵시험을 TG474에 준하여 수행하였으며 음성이 확인되었다. in vivo comet assay를 수행하였으며 음성 반응을 확인하였다(표 35).

[표 35] 플러렌의 유전독성시험 결과

복귀돌연 변이시험	염색체 이상 시험	in vitro 소핵시험	in vitro comet assay	in vivo 소핵시험	DNA 손상 복구 시험, Mouse spot test
음성	음성	자료 없음	자료 없음	음성	음성

- 플러렌 GHS 분류에 사용된 데이터의 신뢰성: 플러렌의 GHS 분석에 사용된 데이터의 신뢰성은 표 36과 같다.

[표 36] 플러렌 연구자료의 신뢰성 분석

독성 시험	시험 건수	우수 품질 자료 수	보통 품질 자료 수	낮은 품질 자료수	결 과 의 신뢰성
급성 독성	1	1(위험분류 없음)	-	-	높음
피부 부식성/자극성	2	-	2(위험분류 없음)	-	보통
눈자극성/부식성	1	-	1(위험분류 없음)	-	보통
호흡 감작성, 피부 감작성	2	-	2(위험분류 없음)	-	보통
유전독성	4	-	4(위험분류 없음)	-	보통
발암성	-	-	-	-	-
생식독성	-	-	-	-	-
단회 노출에 의한 특정표적장기	-	-	-	-	-
반복 경구투여 독성시험의 특정표적장기	1	-	1(위험분류 없음)	-	보통
반복 흡입독성시험의 특정표적장기	1	-	1(위험분류 없음)	-	보통

- 플러렌의 위험 분류: 현재의 데이터 기반에서 위험분류는 표 36와 같으며, 아만성독성시험과 발암성시험 등의 자료가 부족하다.

3) 단일벽 탄소나노튜브(SWCNT)

- 물리화학적 특성: SWCNT는 OECD sponsorship program의 시험 대상 제조나노물질 중의 하나였으며 물리화학적 특성에 대한 기술문서가 발간되었다

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/single-walled-carbon-nanotubes-swcnts-manufacturednanomaterial.htm>(표 37)

[표 37] SWCNT의 물리화학적 특성(기술문서: No 50. ENV/JM/MONO(2015)13/Part1, Part2)

제조사	특성
Nikkiso	- Width = 43.6 nm (SD = 1.6) - Length = 0.69 μm (SD = 2.1)
Super growth C100	- Average diameter of tubes = 8.2 nm (SD = 1.7) - Average length of tubes = 0.23 μm (SD = 1.8), measured by TEM - Samples in testing solution: - Tube diameter: 12.0 ± 6.5 nm (mean $\pm$ standard deviation) - Length: 0.51 ± 1.6 μm, measured by AFM - Specific surface area: 1064 m²/g
CNI SWCNT	SWCNTs were from CNI by high-pressure catalytic CO conversion (HiPco method). SWCNTs were 1.0 ± 0.2 nm in diameter and several hundred nanometers to several micrometres long; mass mode aerodynamic diameter was 4.2 μm; diameters 1 - 4 nm length 0.5 - 1 μm; surface area: 1040 m²/g
Elicarb SWCNT	Primary particle size was 0.9 - 1.7 nm diameter and a fibre length < 1 μm (Thomas Swan and Co Ltd, Consett, UK)

제조사	특성
Arc method SWCNT	No information
NIST SWCNT	>50% single-walled; ~40% other nanotubes; outer diameter 1.1 nm (0.7 - 1.2 nm), length 0.5 - 100 μm; manufactured by chemical vapour deposition; diameters ranged from 0.8 to 2.0 nm
Heji SWCNT	Average outside diameter of 1.1 nm, an average length of 50 μm
COCC SWCNT	RNT (raw SWCNT, HiPco product of Rice); PNT (purified HiPco product of Rice); CNT (CarboLex's electric-arc product)
Cheap Tubes SWCNT	No information
CarboLex SWCNT	Diameters 12 nm and lengths ranging from tens of nanometers to several micrometres
Rice University SWCNT	No information
Dupont SWCNT	1.4 nm diameter; >1 μm length; agglomerated "ropes" of nanotubes of ~30 nm diameter; external diameters of less than 2 nm with lengths ranging from 0.5 to 40 microns
Helix SWCNT	No information
SWCNT AIST	- Synthesized by the National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan - Primary particle: maximum length, 1200 μm, diameter: 3.0 ± 1.1 nm - Fe, 145; Ni, 103; Cr, 34; Mn, 2; Al, 12 ppm; aggregates: length, 0.32 μm Width, 12.0 ± 6.5 nm
Shenzen Nanotech Port Co Ltd	SWCNT (4-15 μm, length; < 2 nm, diameter; 90% purity)

- 급성독성: 3종류의 SWCNT에 대한 급성 경구투여 독성시험과 급성 흡입독성시험이 수행되었다. 시험은 TG423에 따라서 수행되었으며 사망 동물은 관찰되지 않았다($\text{LD}_{50} > 50 \text{ mg/kg/bw}$)(Matsumoto M, et al.

2012). 최고 투여 농도는 질량대비 매우 높은 부피 때문에 수행하지 못하였다. 또 다른 급성 경구투여 독성시험은 in vivo 소핵시험과 같이 수행되었으며 TG474에 준하여 수행되었다. SWCNT를 1일 1회, 총 2일 동안 투여하였고 SWCNT는 20 mg/kg bw/day 농도에서 실험동물이 사망하지 않았고 LD50는 200 mg/kg bw로 판단되었다(Naya M, et al. 2011). 급성 흡입독성시험은 1건 수행되었다. C57BL/6 암컷 마우스를 대상으로 $5.52 \pm 1.37 \text{ mg/m}^3$ 의 농도로 4일 동안 노출(하루 5회 노출)하였을 때 사망은 관찰되지 않았으나 염증 유발, 산화스트레스, 콜라겐 침착과 섬유화, K-ras 유전자의 돌연변이가 유발되었으며 aspiration 경로의 투여 보다 더 효과적으로 유발되었다(Shvedova A. et al. 2008). SWCNT는 MWCNT 만큼 높은 농도의 발생이 어렵기 때문에 최고 투여 농도를 5 g/m^3 로 수행하였다. 따라서 SWCNT는 급성 독성의 위험이 없다.

- 피부 및 안구 자극시험/부식성 시험: TG404 기준으로 수행한 SWCNT의 피부 자극성 및 부식성시험에서 음성으로 확인되었다(Ema M, et al. 2011). 따라서 SWCNT는 위험 분류에 포함되지 않았다. 그러나 MWCNT의 경우 category 2의 눈자극성/부식성을 가지고 있기 때문에 비록 SWCNT의 시험에서 음성이 나왔다고 하더라도 주의가 필요하다.

- 피부감작성: SWCNT를 TG406과 429에 준하여 피부감작성시험을 수행하였으며, 시험 결과 감작성은 관찰되지 않았다(Ema M, et al. 2011).

- 반복노출에 대한 특정표적장기 독성: GLP 시설에서 TG407 기준에 따라서 SWCNT의 아급성독성시험을 수행하였다(Matsumoto M, et al. 2012). 시험 결과 체중, 임상증상, 혈청생화학 검사에서 이상이 관찰되지 않았고 NOAEL을 $12.5 \text{ mg/kg bw/day}$ 로 결정하였고 특정표적장기는 확인되지 않았다. SWCNT에 대한 아급성 흡입독성시험을 TG412에 준하여 수행하였다. SWCNT를 0.4 mg/m^3 의 농도까지 노출하였을 때 고농도 군에서 혈액 중 호중구수의 증가가 투여 후 3개월에 관찰되었다. 그러나 폐

장의 무게의 증가나 염증세포의 침윤, 그리고 HO-1 유전자의 발현의 증가는 관찰되지 않았다. NOAEC는 0.13 mg/m³로 제안되었으며 특정표적 장기독성 기준 category 1으로 분류되었다(분류 기준: 표 38).

[표 38] 특정표적장기 독성 분류 기준

노출경로	단위	기준값의 범위	
		구분 1	구분 2
흡입(흰쥐) 분진/미스트/흡	mg/L/4h	농도 ≤ 1.0	1.0 < 농도 ≤ 5.0

- 유전독성: SWCNT에 대한 유전독성시험의 요약은 표 39과 같다. SWCNT에 대한 in vitro 유전독성시험과 in vivo 유전독성시험이 수행되었다. 복귀돌연변이시험에서 SWCNT는 대사적 활성 유무에 관계없이 음성이었다(Naya M, et al. 2011, Kisin E. R, et al. 2007). In vitro 소핵시험에서는 SWCNT가 양성 반응을 보였다(Cveticanin J, et al. 2009, Lindberg H. K, et al. 2009). In vitro comet assay에서는 SWCNT의 종류마다 다른 결과(에 대해서 양성 반응과 음성 반응의 결과가 혼재하여 보고되고 있다. In vivo 소핵시험을 TG747에 준하여 수행하였고 음성으로 확인되었다(Naya M, et al. 2011). In vivo DNA damage and/or repair mouse spot test에서 양성이 확인되었다(Li Z et al. 2007, Jacobsen N. R, et al 2009). SWCNT의 유전독성 양성 반응은 기관지내 투여법에서 관찰되었으며 경구투여 경로에서는 음성이었다(Folkmann J. K, et al. 2009). 또한 in vitro 복귀돌연변이시험의 표준시험법에서는 음성의 결과가 나오는 경우에도 미토콘드리아 DNA 손상 시험에서는 양성 반응(Li Z et al. 2007)이 관찰되었고, K-ras 돌연변이의 증가(Shvedova, et al. 2008)와 유사분열의 방추체의 변성이 증가(Sargent L. M, et al.

2009)하여 관찰되는 것으로 판단하여 SWCNT의 유전독성에서는 category 2B로 판단된다.

- 생식발생독성: CD-1 마우스를 이용한 발생독성시험과 최기형성시험이 수행되었다. 투여는 혈관내 투여로 수행하였으며 고농도 투여군에서 태아의 형태적인 이상이 관찰되었고 태아의 변화가 없더라도 자궁의 이상을 보이는 경우가 관찰되었다. 다양한 정도의 태아의 형태적 이상이나 성장 지연이 관찰되었다. 비록 이 실험이 OECD 시험법 기준에 따라서 수행되지 않았고 노출경로가 흡입이나 경구가 아니기 때문에 생식발생독성에 대한 분류를 할 수는 없지만 인체에 유사한 위해성을 보일 가능성이 있음을 고려하여야 한다(Pietroiusti A, et al. 2011).

- 발암성: OECD 기술문서에는 발암성시험 자료는 없으나 2건의 학술 논문이 존재한다. Kobayashi et al., 2011은 SWCNT를 수컷 SD 랫드에게 단회투여로 기관지내 투여를 수행하였고 3개월까지 경시적으로 관찰하였다. 시험 결과 종양은 관찰되지 않았다. 또 다른 논문에서는 SWCNT를 경구투여로 1 mg/kg bw 농도까지 여러 농도로 단회 투여하고 투여 후 6개월까지 경시적으로 관찰하였으나 종양은 관찰되지 않았다. 또 다른 연구에서는 F344 랫드에게 SWCNT를 Kartai model을 적용하여 복강내 투여로 10 mg/rat의 농도로 단회 투여하였고 12개월간 관찰하였다. 실험 결과 중피종은 관찰되지 않았다(Varga C, et al. 2010). IARC는 Group 3(자료 부족으로 분류 불가)로 SWCNT에 대한 발암성을 분류하였다(IARC. 2011).

- 기타 독성시험: SWCNT에 대한 다양한 독성실험이 intratracheal instillation, pharygeal aspiration, intraperitoneal injection을 통해서 수행되었으며 일부 연구에서 의미있는 독성이 관찰되기도 하였으나 시험법 가이드라인에 적합하지 않고 투여 경로가 생리적인 경로가 아니기 때문에 이러한 자료를 바탕으로 GHS를 분류하기에는 한계가 있다.

[표 39] SWCNT의 위험성 분류

독성 시험	위험 분류	데이터의 신뢰성
급성독성	No hazard categorization (Oral) No hazard categorization (Inhalation)	높음 보통
피부 부식성/자극성	No hazard categorization	높음
눈손상/눈자극성	No hazard categorization	높음
호흡기 또는 피부 감작성	No hazard categorization	높음
생식세포 변이원성	Category 2B	낮음
발암성	자료 부족	-
생식독성	No hazard categorization(불확실)	낮음
단회투여에서 특정 표적장기 독성	자료 부족	-
반복투여에서 특정 표적장기 독성	Category 1 (inhalation)	낮음

- 위험 분류: SWCNT에 대한 intratracheal instillation과 pharyngeal aspiration 시험에서 반복투여 노출에서 특정표적장기 독성 기준이 category 1으로 분류되었으나 자료의 신뢰성이 낮다(노출경로와 가이드라인 미 준수, 그리고 실험 간의 결과에서 일관성 부족 측면)(표 39).

4) 다중벽 탄소나노튜브(MWCNT)

- 물리화학적 특성: MWCNT는 OECD sponsorship program의 시험 대상 제조나노물질로서 특성분석에 대한 기술문서가 발표되었다 (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/multi-walled-carbon-nanotubes-mwcnts-manufacturednanomaterial.htm>).
- 기술문서는 No.49 ENV/JM/MONO(2015)12/Part1, part2, Part3이며 표 40으로 정리하였다.

[표 40] MWCNT의 물리화학적 특성 분석

제조사	물리화학적 특성
Baytube	• 380-902 nm (D90 = 980-1820 nm) • In all cases length D90 was lower than 5 μm • Mass median diameter 400 μm • Specific surface area ca. 253 m^2/g
Arkema Graphistrength C100	• Mass median diameter 416.2 μm Agglomerate/aggregate • diameter 1.5 μm (GSD 1.67) Average internal diameter: 4.8 nm • Average external diameter: 11.7 nm • Average length: 1097 nm • Average number of walls: 10 • Specific surface area 212 m^2/g
Nanocyl NC 7000	• Mass median diameter 85 μm • Specific Surface Area ca. 230 m^2/g
Nikkiso MWCNT	• Diameter = 48 nm, (SD = 1.1) • Length = 0.94 μm (SD = 2.3) • Specific surface area ca. 69.4 m^2/g
Nikkiso MWCNT B	• No information
Hanhwa CM-100	• Length distribution was 543.3 $\pm$ 230 and 10451 $\pm$ 8421.6 nm • Diameter: 10 to 15 nm • Length: less than 20 μm • Specific surface area ca. 224.9 m^2/g
Mitsui MWCNT-7	• Diameter 70-170 nm, Length 1-19 μm, >5 μm: 27.5% • Specific surface area ca. 23 m^2/g
Mitsui MWCNT-7(no aggregation)	• Aggregated 5.29 μm, 49.95 nm. No aggregation. Same number of fibres as in the NT145 suspension
Mitsui MWCNT-7(high aggregation)	• 5.29 μm, 49.95 nm. High level of aggregation
Showa Denko(high aggregation)	• 60 μm, 52.40 nm. High level of aggregation
Showa Denko(low aggregation)	• 4.34 μm, 143.6 nm. Low level of aggregation
Showa Denko(tangled)	• 2 - 20 nm diameter, Tangle

- 급성 독성: 급성 경구투여, 경피독성, 흡입독성시험이 실험동물을 대상으로 수행되었다. 급성 경구투여 독성시험은 TG 420, 423, 474에 따라서 수행되었고 급성 경피독성시험은 TG402에 따라서, 그리고 흡입은 403에 따라서 수행되었다. 경구투여에서는 최대 투여 농도인 2000 mg/kg bw의 농도는 MWCNT의 질량대비 큰 부피 때문에 적용되지 못하였다. 급성 흡입독성시험에서 241 mg/m³(Baytube 물질에 대해서 발생 가능한 최대 농도)에서 폐사가 관찰되지 않았다. 따라서 MWCNT는 급성독성 위험이 없다.
 - 피부와 안점막 자극시험/부식성시험: TG404와 TG431에 따라서 MWCNT의 피부 자극성시험이 수행되었으며, 시험 결과 피부에 자극성 및 부식성이 관찰되지 않았다. 그러나 일부 MWCNT에 대해서는 안점막 자극성이 명확하게 관찰되었다. 따라서 MWCNT의 안점막 자극성은 category 2A(Arkema Graphistrength C100 제품)와 2B(Nikkiso MWCNT B제품)에 포함된다(Ema M, et al. 2011).
 - 피부감작성: MWCNT에 대한 피부 감작성시험이 TG406과 429에 따라서 수행되었으며 감작성은 없는 것으로 확인되었다.
 - 반복노출에 대한 특정표적장기 독성: MWCNT에 대하여 TG407, 420에 따라서 28일 반복 경구투여를 수행하였으며, 시험 결과 Nanocyl NC 7000 물질은 0.5 mg/kg bw/day 농도에서 독성이 관찰되지 않았고 Nikkiso MWCNT 물질은 50 mg/kg bw/day 농도에서 독성이 관찰되지 않았다 (Matsumoto M, et al. 2012). 따라서 경구투여 경로에서 반복 노출에 대한 특정장기 독성은 관찰되지 않았다.
- 흡입 투여 경로에 대해서는 MWCNT의 다양한 종류별로 독성시험이 수행되었다. Baytube MWCNT의 경우 아급성과 아만성 독성시험이 6 mg/m³ 농도까지 수행되었으며, 시험 결과 폐장의 다양한 손상 반응이 확인되었다. 대표적으로 6 mg/m³ 투여 군에서 육아종성 염증변화와 기관지-폐포 부위의 증식 소견이 시간 의존적으로 증가하여 관찰되었다.

NOAEL은 0.1 mg/m³이기 때문에 Baytube MWCNT는 category 1로 분류되었다.

Arkema Graphistrength C100 MWCNT의 경우 1.3 mg/m³의 농도로 5일 노출하고 28일 회복하는 시험을 수행하였을 때 MWCNT에 의해서 호중구 수의 증가, 총단백질 농도의 증가, 대식세포 침윤의 증가, 기관지와 기관지-폐포 연결부위의 세포의 비대 소견이 관찰되었다. 따라서 Arkema Graphistrength C100 MWCNT는 category 1로 분류되었다.

Nanocyl NC 7000 MWCNT는 2.5 mg/m³의 농도로 90일 동안 흡입노출되었으며 폐장 무게의 증가, 육아종성 염증의 증가를 포함한 조직병리학적 소견의 증가가 0.1 mg/m³ 농도에서도 관찰되었기 때문에 category 1로 분류되었다.

Nikkiso MWCNTsms 0.37 mg/m³의 농도로 90일 동안 노출되었으나 단일 농도로 수행되었기 때문에 category 분류는 현재 자료로는 불가능하였다.

Hanhwa CM-100 MWCNT는 5일 반복투여 독성시험, 28일 반복투여독성시험(90일 회복군 포함)이 수행되었다. 실험 결과 명확한 염증관련 지표인자의 증가나 조직병리학적 변화가 관찰되지 않았다. 그러나 Porter et al., 2012에 의한 연구결과에서는 10 mg/m³ 까지 다양한 농도로 노출된 Hanhwa CM-100 MWCNT이 폐장의 무게 증가, 염증 지표인자의 증가를 농도의존적으로 0.2 mg/m³에서부터 유발하였다. 따라서 여러 실험들을 종합할 때 Hanhwa CM-100 MWCNT는 category 1로 분류되었다.

- 유전독성: MWCNT에 대하여 유전독성시험이 매우 폭넓고 다양하게 수행되었다. MWCNT의 다양한 종류의 유전독성시험 결과는 물질마다 조금씩 다른 결과가 유발되었다. 전체적으로 평가하면 MWCNT 중에서 aggregation/agglomeration되어있는 물질(예, Baytube, Graphistrength)은 유전독성이 없었으나 강성이 높은 MWCNT(예, Nikkiso and MWCNT-7)은 in vitro 유전독성에서 양성 반응을 보였다. in vivo 소핵

시험에서는 유전독성이 없었으나 흡입시험에서 comet assay에서는 유전독성 양성이었다. 따라서 MWCNT는 잘 분산된 형태로 노출된다면 유전독성이 있는 것으로 판단되며 category 2 mutagen으로 확실하게 분류가 가능하다.

- 생식발생독성: TG414에 따라서 마우스(ICR)와 랫드(SD)에 대하여 생식발생독성시험이 수행되었다. Fujitani et al., 2012는 TG414에서 추천하는 투여 경로인 경구투여 경로가 아닌 복강내 투여와 기관지내 투여 방법으로 MWCNT를 투여하여 MWCNT가 발생독성이 있는 것으로 보고하였으나 투여 농도가 과도하게 높았고 투여 경로가 일반적 노출 경로가 아니기 때문에 결과의 관련성이 낮았다. 다른 연구에서는 경구투여 경로로 실험을 진행하였고 1000 mg/kg bw/day 농도까지 모체독성과 발생독성이 관찰되지 않았기 때문에 생식발생독성의 category에 분류되지 않는 것으로 판단된다.

- 발암성: IARC는 CNT에 대한 발암성을 평가하였고, 그 중에서 강성이 높은 MWCNT-7은 Group 2B 발암물질로 규정하였고 SWCNT와 그 외의 MWCNT는 자료가 부족하여 발암성을 분류할 수 없는 Group 3로 분류하였다(IARC, 2017).

- 기타 독성: MWCNT에 대한 흡입 이외의 다양한 투여 방법과 투여 경로에 대한 독성시험이 수행되었으나 OECD 시험법을 따르지 않았고 일반적인 노출 경로와는 거리가 멀기 때문에 이러한 자료들을 이용하여 GHS 분류를 하는 것은 불가능하였다.

- MWCNT의 category 분류: MWCNT에 대한 단회 노출이나 단회 비인두계 경로를 통한 투여에서 특정표적장기 독성은 급성, 아급성, 아만성 독성시험 자료를 기준으로 판단했을 때 유발되지 않을 것으로 판단된다. MWCNT는 안점막 자극성에서 category 2A로 분류되며 생식세포 돌연변이 유발에서 category 2B로 분류되며 반복노출에서 특정표적장기 독성은 폐장에 대해서 category 1으로 분류된다. 발암성에서 MWCNT-7은

category 2로 분류되며 IARC 기준으로는 group 2B이며 그 외의 MWCNT는 group 3로 분류된다. MWCNT의 발암성 분류에서 중요한 지표로는 물질의 중형비(5 μ m 이상), 강성(강성이 높을수록)이 제시되고 있기 때문에 MWCNT의 개별적인 특성에 따라서 발암성 분류가 달라지게 된다.

IV. 고찰 및 결론

1. 탄소나노물질의 분류 및 특성 확인

- 탄소나노물질은 카본블랙, 플러렌, 나노다이아몬드, 그래핀, 탄소나노튜브, 탄소나노섬유로 분류할 수 있다. Crystalline 구조를 가지고 있는지의 여부에 따라서 crystalline 구조가 없으면 amorphous carbon으로 분류하고 여기에는 coal, soot, carbon black이 포함된다. 반면에 crystalline 구조를 가지고 있으면 이것을 graphite라고 명명하며, graphite가 판상의 여러 층으로 구성된 것을 그래핀, 구형으로 된 탄소 60개의 물질을 버키볼 또는 C60, 다이아몬드 결정 구조를 가지고 있는 것을 나노다이아몬드, 원통형으로 말려져 있는 것을 카본나노튜브, 고깔모양 등의 층으로 전체 모양이 섬유모양을 가지고 있는 것을 카본나노섬유라고 한다.
- 탄소나노물질의 탄소는 유기탄소와의 구분이 어렵고 섬유상 물질이 많아서 다른 금속 나노입자에 비하여 특성분석이 어렵다. 흡입시험에서는 나노물질 aerosol을 생성하기 이전 단계에서 측정되어야 하는 나노물질의 물성분석 항목이 있으며, aerosol이 생성되었을 때 측정되어야 하는 나노물질의 물성분석 항목으로 구분할 수 있다. 탄소나노물질의 특성확인 방법은 본 연구팀에서 현재 ISO 표준으로 제안(제목: Nanotechnologies-Characterization of carbon nanotube and carbon nanofibre aerosols to be used in inhalation toxicity tests)하였고 NWIP를 통과하여 문건을 작성 중에 있다. 지금까지 정리된 탄소나노튜브와 탄소나노섬유의 물성분석 항목을 본 보고서에 첨부하였다.

2. 탄소나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관관계

- 나노물질은 물리화학적 특성에 따라서 생물학적 반응이 다르게 나타나기 때문에 각각에 대한 안전성 정보가 필요하지만 모든 물질에 대한 동물실험 결과를 얻는 것은 불가능하기 때문에 독성 영향을 줄 수 있는 물리화학적 특성에 대한 정성적/정량적 분석이 필요하다. 이러한 특성-독성의 상관성 분석을 바탕으로 나노물질에 대한 포괄적 규제나 안전성 평가에 활용하는 것이 가능하기 때문에 본 보고서에서는 탄소나노물질에 대한 현재까지의 연구결과 조사를 바탕으로 특성-독성의 상관성을 제시하였다.

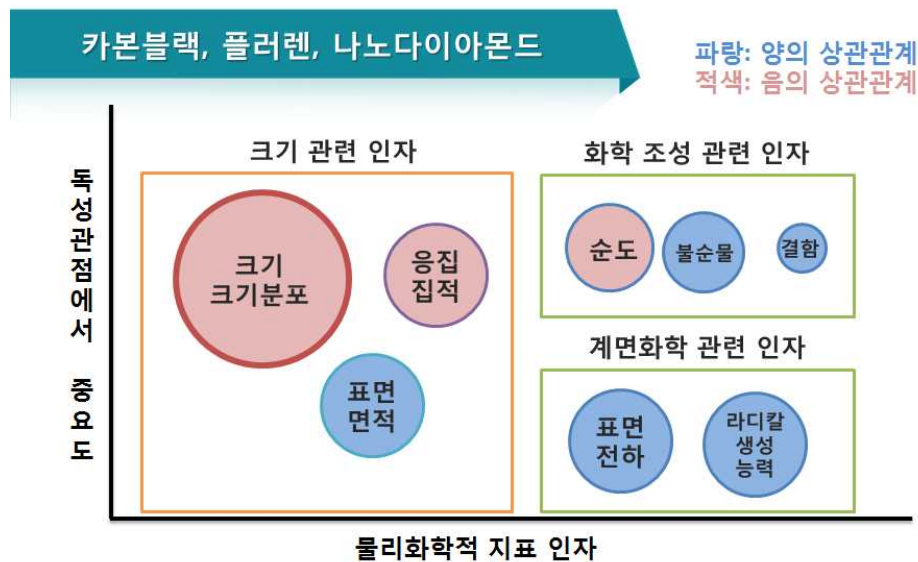
- 크기 및 모양: 크기 및 모양 항목에는 세부적으로 두께(또는 직경), 길이, 강성, defect를 제시할 수 있다. CNT의 두께는 그래핀 층의 개수와 관련이 높다. CNT의 두께는 매우 다양하며 SWCNT의 경우에 1-3 nm, MWCNT의 경우에 10-200 nm의 두께를 보인다. 두께의 변화는 합성 과정에 의해서 결정되며, 그 중에서도 금속 촉매제의 역할이 중요하다. 또한 CNT의 두께가 두꺼울수록 CNT가 휘어지지 않는 특성인 rigidity가 높아진다고 보고하고 있다. 섬유상 탄소나노물질의 경우 종횡비(3:1 이상), 길이(5 μm 이상), 강성(rigidity가 높을수록 독성이 높으나 정량적인 수치는 제공되지 않음), 뭉침의 특성(뭉침의 특성이 낮을수록)이 독성과 매우 밀접한 관련이 있다고 보고되어 있다. 다른 물리화학적 특성에 비하여 크기 및 모양에 의한 섬유상 탄소나노물질의 세포와의 물리적인 반응이 석면과의 유사성을 결정하는 주요 요소이기 때문에 상대적인 중요도가 매우 높은 특성 항목이라고 판단된다.

- Aggregation/agglomeration: 나노물질의 다른 물리화학적 특성(예, 직경, 표면전하, defect 등)에 의해서 결정되는 요소이기 때문에 이 항목을 단독으로 독성과의 상관성을 제시하는 것은 적절하지 않다.

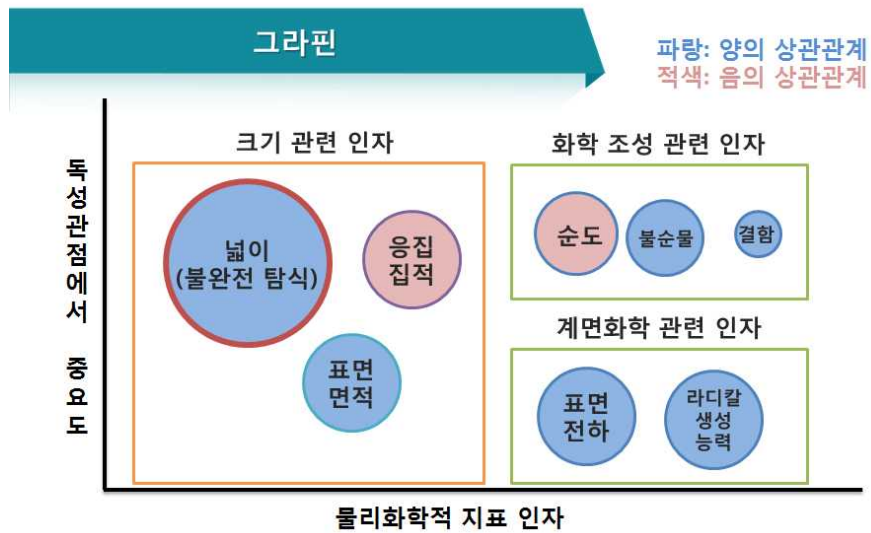
- Surface area: 표면면적은 나노물질에서 중요한 요인이지만 입자상 물질에서 주요 고려 대상이다. 입자상 물질은 입자의 표면면적이 세포와 접촉하는 농도가 될 수 있기 때문에 농도 기준을 표면면적 농도 기준으로 제시하는 등 중요성이 매우 높다. 그러나 섬유상 물질의 경우 표면면적은 섬유의 직경, 중횡비, 뭉침의 특성, defect 등의 다양한 요인에 의해서 결정되기 때문에 표면면적 자체를 독성과 관련된 물리화학적 특성인자로 고려하지는 않는다.
- Surface charge: 입자상 물질의 경우 세포에 완전탐식이 이루어지고 세포에 입자가 인지되는 확률이 음전하를 가지고 있는 세포막 성분과 잘 결합할 수 있는 양전하를 가진 입자상 물질일 때 증가하기 때문에 일반적으로 양전하를 가지는 나노입자가 음전하를 가지는 나노입자보다 더 높은 세포내 유입과 독성을 보인다고 보고되고 있다. 그러나 섬유상 물질의 경우 표면전하는 주요 독성 유발 인자에는 포함되지 않으며, 다만 표면전하가 높은 것이 낮은 물질에 비하여 독성이 조금 더 높다고는 보고되고 있으나 이러한 내용이 염증에 한정되는 것이며, 중피종이나 폐암과 같은 종양을 종말점으로 고려한 것은 아니다.
- Surface reactivity: surface reactivity로 제안되는 항목으로는 표면 작용기(surface functionalization), ROS 생성 능력, hydrophobicity/hydrophilicity 등이 있다. Surface reactivity의 다양한 항목들 모두 급성염증에는 영향을 일부 줄 수 있으나 만성 염증, 섬유화, 발암성을 유발하는 인자로는 고려되지 않는다.
- Crystalline structure: 탄소 나노물질의 결정형은 독성에 일부 영향을 줄 수 있으나 주요 독성 유발 인자로는 고려되지 않는다. 다만, crystalline silica과 같이 결정형이 입자상 물질의 독성에서는 중요하게 고려될 수 있는데, 이 경우에도 결정형이 ROS 생성을 결정하는 주요 인자이기 때문이지 crystalline structure 자체가 어떠한 영향을 준다고 보기는 어렵다.
- Composition, purity, impurity: 탄소 나노물질은 탄소로 구성되어 있으

며 대부분의 제품에서 95% 이상의 purity를 가질 것으로 예상할 수 있으나 실제로는 50~99.9%까지 매우 다양한 정도가 보고되고 있으며, 차이를 유발하는 과정은 생산 후에 정제하는 과정을 거치는지에 의해서 결정된다. 따라서, CNT나 CNF를 합성하는 과정에서 다양한 화학물질을 사용하고 사용된 화학물질이 CNT나 CNF에 결합되어 있는 상태로 존재하기 때문에 impurity에 관한 우려가 제기되고 있다. 대부분의 경우에는 impurity는 급성 염증에 영향을 주지만 발암성에는 영향을 주지 않을 것으로 판단된다. 다만 impurity 성분 중에서 금속 알러지 반응 등의 면역학적 반응이 유발될 수 있으나, 이에 대한 연구 자료는 부족한 실정이다.

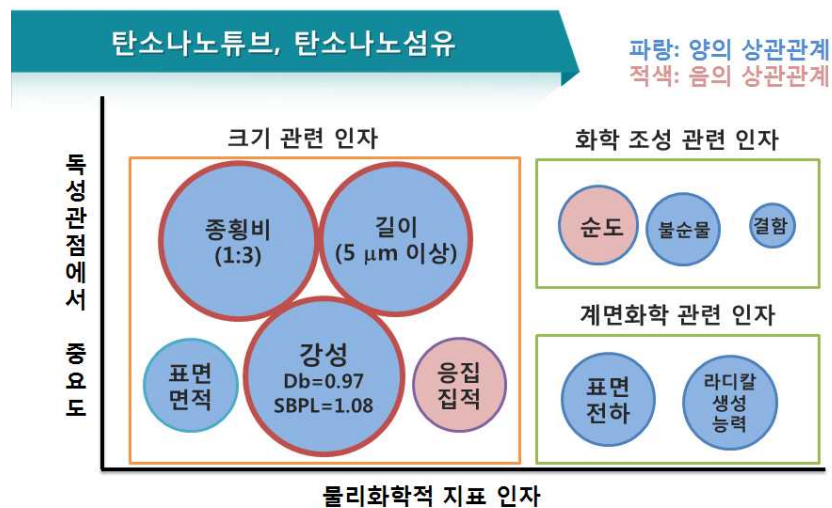
- 탄소나노물질의 물리화학적 특성인자가 독성에 미치는 영향에 대한 정량적인 분석을 수행하면 그림 53-55 와 같다.



[그림 53] 카본블랙, 플러렌, 나노다이아몬드의 물리화학적 지표인자의 독성관점에서의 중요도 분석



[그림 54] 그라핀의 물리화학적 지표인자의 독성관점에서의 중요도 분석



[그림 55] 탄소나노튜브와 탄소나노섬유의 물리화학적 지표인자의 독성관점에서의 중요도 분석

3. 나노물질의 규제 동향

- 나노물질은 기존의 화학물질과는 다른 새로운 물리화학적 특성을 가지고 있기 때문에 다양한 분야에서 개발하고 있는 나노물질에 대한 안전성 우려가 나노기술의 발전과 함께 대두되고 있다. 나노물질에 대한 안전성 문제는 환경, 보건, 안전(EHS, Environment, Health & Safety) 분야로 묶어서 이슈화 되고 있으며 선진국을 중심으로 주요 국가에서 나노물질을 잠재적 위해 물질로 간주하고 있으며 나노물질에 대한 규제 방안을 확보해 나가고 있는 상황이다.
- 나노물질과 관련하여 원료물질, 중간소재, 최종 완제품에 대한 나노물질의 규제는 현실화되고 있으며, 기존의 화학물질보다 훨씬 더 까다로운 규제를 하려는 정책을 가지고 있다. 나노물질에 대한 규제의 유럽과 미국의 대표적인 법률로는 유럽연합에서 신화학물질관리제도(원료물질), RoHS(전기전자제품), 화장품법, 식품 및 사료법, 나노 폐기물 관리지침 등이 있으며 미국에서는 독성물질관리법(원료물질), 살충살균살서제법(살충제, 살균제, 살서제) 등이 있다.
- 각국의 규제뿐만 아니라 국제적 규제도 진행되고 있다. 대표적인 예로 국제암연구소(IARC)에서는 2014년 9월 프랑스 리옹에서 화학물질 발암성 평가에서 탄소나노튜브의 발암성 평가 및 발암물질 분류 여부를 결정하였다. 탄소나노튜브는 다양한 종류가 있을 수 있고 같은 batch의 탄소나노튜브 물질 내에서도 물질 간의 물리화학적 특성이 균일하지 않은 특성이 있다. 이러한 물리화학적 특성의 차이는 전혀 다른 독성을 나타낼 수 있기 때문에 한 종류의 탄소나노튜브의 독성 연구 결과를 다른 종류에 적용하는 것은 불가능하다. 국제암연구소에서도 모든 종류의 탄소나노튜브에 대한 발암성 평가를 수행하지 못하였고, 다만 가장 연구가 많이 되었던 1종류의 탄소나노튜브인 Mitsui-7 물질에 대해서 Group 2B(발암 의

심물질)로 설정하였고, 나머지 탄소나노튜브에 대해서는 Group 3(발암성을 평가할 수 없음)로 판정하였다. 그리고 향후 5년 이내에 다른 종류의 탄소나노튜브에 대해서 재평가를 공표하였고 그 주요한 방향성은 나노물질의 물리화학적 특성과 독성의 상관관계에 관한 데이터를 바탕으로 하는 모듈식 규제가 될 것이다. 국제암연구소에서는 탄소나노튜브를 시작으로 향후 지속적으로 다양한 나노물질에 대한 발암성을 평가할 계획이며, 발암물질 규정 유무에 따라서 각국의 규제 정책이 영향 받게 될 것이다.

- **대응 방안:** 나노물질에 대한 기술 규제는 나노기술을 차세대 성장동력 산업으로 육성하고 있는 우리나라에게 치명적으로 작용할 수 있기 때문에 우리나라에서는 나노 안전성 분야에 대한 투자와 연구개발을 통해서 선진국 수준 이상의 규제과학을 발전시켜야한다. 이러한 발전을 통해서 우리나라의 나노 원료물질이나 중간재, 그리고 나노제품이 외국에 수출되는데 문제가 없도록 유도하고 안전한 나노물질을 개발단계에서부터 가능하게 유도하여야 한다. 따라서 나노물질에 대한 안전성 평가가 나노기술 산업을 저해하는 것이 아니라 우리나라 나노기술 산업을 보호하고 발전시키는데 핵심적인 역할을 할 것이라는 생각을 가지는 것이 필요하다.

4. 나노물질의 위해평가 도구 제안

- 나노물질의 위해평가 도구로 다양한 연구 결과들이 제시되고 있다. 대표적으로 ANSES 방법에 따르는 hazard banding 방법(나노물질의 위험도를 용해도 등의 물리화학적 특성으로 분류하는 전략), NANoREG 방법(나노물질의 위험도를 나노물질의 물리화학적 특성과 독성자료를 바탕으로 분류하는 방법), NanoRiskCat 방법(나노물질의 위험도를 급성독성, 유전독성, 발암성 등의 독성 결과를 기준으로 분류하는 방법)등이 있다.
- 본 연구에서는 이러한 방법들을 기반으로하여 나노물질이 다양

한 노출경로로 노출되었을 때 유발할 수 있는 위험성의 분류를 나노물질의 물리화학적 특성과 생체내 세포와의 반응(예, 리소좀액에서의 용해도, 폐로의 침투 가능성 등)을 기준으로 위해평가 도구를 제안하였다.

5. 탄소계 나노물질 GHS 분류

- 탄소나노물질에 대한 GHS 분류를 할 수 있는 독성자료는 현재로서는 많이 부족한 실정이다. 특히 탄소계 나노물질 중에서 카본나노튜브에 대해서 대부분의 연구자료가 집중되어 있고 다른 종류의 탄소계 나노물질에 대해서는 거의 자료가 없는 실정이다.

더불어 탄소나노튜브를 포함한 다양한 탄소계 나노물질에 대한 호흡기 독성시험 자료의 대부분은 폐장내로 직접 투입하는 instillation이나 aspiration 방법을 적용하였고 극 소수의 문헌이 흡입 독성 자료를 제공하고 있다. 이러한 관점에서 탄소나노튜브에 대한 많은 문헌이 존재하지만 GHS 분류에 필요한 신뢰성있는 연구결과는 소수에 해당되며, 탄소나노튜브에 대해서도 길이 또는 강성 등의 다양한 물리화학적 특성인자에 의해서 독성이 달라질 수 있기 때문에 탄소나노튜브에 대해 공통적으로 적용할 수 있는 GHS 분류체계를 마련하는 것은 어려움이 있다고 판단된다. 이러한 관점에서 본 보고서의 접근 방법인 물리화학적 특성과 독성의 상관관계를 바탕으로 하는 분류법을 적용하여 GHS 분류를 작성하는 것이 매우 필요할 것으로 생각된다.

흡입독성시험 이외의 자료로 이러한 특성인자를 GHS 분류에 적용하더라도 대표 물질에 대한 GLP 독성시험을 통한 신뢰성있는 자료의 제공은 과학적이고 합리적인 GHS 분류에 필수적인 작업이며, 우리나라 산업안전보건연구원이 지향해야 하는 연구 방향이라고 생각된다.

V. 정책 제언

본 과제는 나노물질 중에서 가장 위험도가 높고 생산량이 높아서 작업자에게 위해성이 높은 탄소계 나노물질의 분류, 특성확인, 특성과 독성의 상관성 분석, 나노물질의 규제 동향 분석, 나노물질의 위해평가 도구 제안, 탄소계 나노물질의 GHS 분류를 수행하는 연구이다.

본 연구를 통해서 탄소계 나노물질의 독성을 유발하는 물리화학적 특성 인자에 대한 정성적/정량적 자료를 제공하였으며, 이러한 자료는 나노물질의 위험성 확인과 위해성 평가에 매우 중요한 자료로 활용될 것이다. 그 대표적인 예시가 본 보고서에서 제시하는 나노물질의 위해평가 도구(안)로서 탄소나노물질의 독성에 관련된 핵심 인자에 대한 우선순위를 선정하여 제시하였다. 나노물질의 독성자료를 기준으로 물질의 독성을 제시하는 방법은 나노물질의 특성(약간의 물리화학적 특성의 변화에 의해서 독성이 다르게 나타날 수 있음) 때문에 적절한 방법이 아니라고 판단된다. 즉 어떤 나노물질이 어떤 독성을 유발하였다는 형식의 독성 자료가 아니라 어떤 물리화학적 특성을 가지고 있으면 어떤 독성이 유발될 수 있다는 방법의 접근이 필요하다.

나노물질의 규제는 아직 완벽하게 만들어지지 않았고 국내외적으로 더욱 엄격한 규제를 고려하고 있기 때문에 나노물질에 대한 규제 과학의 발전과 지원이 반드시 필요하며, 높은 수준의 규제 관련 학문이 있을 때 국제적 규제의 대응이 수월하고 개발단계에서부터 안전한 나노물질의 개발을 유도할 수 있으며, 작업자의 보호가 가능하기 때문에 국가적인 지원이 반드시 필요한 분야이다.

본 과제의 제목이 탄소나노물질의 독성정보 제공 체계 구축이지만 현재까지의 연구를 기반으로 과학적인 독성정보를 근로자 등에게 제공할 수 있는 체계인 MSDS나 위해평가 체계로 본 연구의 결과물을 제시하는 것은 불가능하였다. 그 주요한 이유는 나노물질에 대한 다양한 독성정보 자료가 부족하고 나노물질의 노출평가자료가 부족하여 나노물질에 대한 위

해평가가 어렵기 때문이다. 이러한 현황은 미국, 유럽 등의 선진국에서도 마찬가지로 고민하고 있는 상황이며 나노물질의 위해평가를 위한 노력은 10년 이상 연구비를 투자하여 연구하고 있다. 이러한 연구는 단 기간에 이루어질 수 없는 연구로서 정부 부처의 관심과 지속적인 연구비 투자가 필요한 분야이며, 이 분야의 과학적 수준은 결국 나노기술 산업에 대한 규제적 관점에서 장벽으로 작용할 것이기 때문에 나노물질의 위험성 확인과 노출평가자료 등의 나노물질의 위해평가에 필요한 다양한 연구가 요구된다.

참고문헌

나노제품 사업화 촉진 및 경쟁력 확보를 위한 나노제품 안전성 로드맵,
2017. 9. 나노융합산업연구조합

"What is carbon black". International carbon black Association.
Retrieved 2009-04-14.

Bottini M, Bruckner S, Nika K, Bottini N, Bellucci S, Magrini A, et al.
(2006). Multi-walled carbon nanotubes induce T lymphocyte
apoptosis. *Toxicol Lett*, 160(2):121 - 6. doi:10.1016/j.toxlet.2005.06.020
PMID:16125885

Bouillard, J. and A. Vignes. 2014. Nano-Evaluris: an inhalation and
explosion risk evaluation method for nanoparticle use. Part I:
description of the methodology. *Journal of Nanoparticle Research*
16(2): 1-29.

Cha C, Shin SR, Annabi N, Dokmeci MR, Khademhosseini A:
Carbon-Based Nanomaterials: Multi-Functional Materials for
Biomedical Engineering. *ACS nano* 2013, 7:2891-2897.

Chen BT, Schwegler-Berry D, McKinney W, Stone S, Cumpston JL,
Friend S, Porter DW, Castranova V, Frazer DG. (2012).Multi-walled
carbon nanotubes: sampling criteria and aerosol characterization,
Inhalation Toxicology, 24(12): 798 - 820.

Cheng J, Fernando KA, Veca LM, Sun YP, Lamond AI, Lam YW, et
al. (2008). Reversible accumulation of PEGylated single-walled carbon
nanotubes in the mammalian nucleus. *ACS Nano*, 2(10):2085 - 94.
doi:10.1021/nm800461u PMID:19206455

Cornelissen, R., F. Jongeneelen, P. van Broekhuizen, and F. van
Broekhuizen. 2011. *Guidance Working Safely with Nanomaterials and*

- nanoproducts – the Guide for Employers and Employees. Version 1.0. Amsterdam, the Netherlands: IVAM.
- Cveticanin, J., Joksic, G., Leskovac, A., Petrovic, S., Sobot, A. V., & Neskovic, O. (2009). Using carbon nanotubes to induce micronuclei and double strand breaks of the DNA in human cells. *Nanotechnology*, 21(1), 015102.
- Dekkers, S., A. G. Oomen, E. A. J. Bleeker, R. J. Vandebriel, C. Micheletti, J. Cabellos, G. Janer, N. Fuentes, S. Vázquez-Campos, T. Borges, M. J. Silva, A. Prina-Mello, D. Movia, F. Nessler, A. R. Ribeiro, P. E. Leite, M. Groenewold, F. R. Cassee, A. J. A. M. Sips, A. Dijkzeul, T. van Teunenbroek, and S. W. P. Wijnhoven. 2016. Towards a nanospecific approach for risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 80: 46–59.
- Delorme MP, Muro Y, Arai T, Banas DA, Frame SR, Reed KL, Warheit DB. (2012). Ninety-day inhalation toxicity study with a vapor grown carbon nanofiber in rats. *Toxicol Sci.* 128: 449–60.
- Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, Alexander A. 2006, Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicol Sci.* 92(1):5–22.
- Duke KS, Taylor-Just AJ, Ihrle MD, Shipkowski KA, Thompson EA, Dandley EC, Parsons GN, Bonner JC. (2017). STAT1-dependent and -independent pulmonary allergic and fibrogenic responses in mice after exposure to tangled versus rod-like multi-walled carbon nanotubes. *Part Fibre Toxicol.* 17;14(1):26.
- Ellinger-Ziegelbauer, H., & Pauluhn, J. (2009). Pulmonary toxicity of multi-walled carbon nanotubes (Baytubes®) relative to α -quartz following a single 6 h inhalation exposure of rats and a 3 months post-exposure period. *Toxicology*, 266(1–3), 16–29.

- Ema M, Matsuda A, Kobayashi N, Naya M, Nakanishi J. (2011). Evaluation of dermal and eye irritation and skin sensitization due to carbon nanotubes. *Regul Toxicol Pharmacol*. 61(3):276-81.
- Ema M, Hougaard KS, Kishimoto A, Honda K. 2016, Reproductive and developmental toxicity of carbon-based nanomaterials: A literature review. *Nanotoxicology*. 10(4):391-412.
- ENV/JM/MONO(2016)62, OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. No. 79. STRATEGY FOR USING METAL IMPURITIES AS CARBON NANOTUBES TRACERS
- Fakhri, N.; Tsyboulski, D. A.; Cognet, L.; Weisman, R. B.; Pasquali, M. Diameter-dependent bending dynamics of single-walled carbon nanotubes in liquids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009, 106, 14219-23.
- Fenoglio I, Aldieri E, Gazzano E, Cesano F, Colonna M, Scarano D, et al. (2012). Thickness of multiwalled carbon nanotubes affects their lung toxicity. *Chem Res Toxicol*, 25(1):74 - .82. doi:10.1021/tx200255h PMID:22128750
- Folkmann, J. K., Risom, L., Jacobsen, N. R., Wallin, H., Loft, S., & Moller, P. (2009). Oxidatively damaged DNA in rats exposed by oral gavage to C60 fullerenes and single-walled carbon nanotubes. *Environmental health perspectives*, 117(5), 703.
- Foss Hansen, S., K. N. Nielsen, N. Knudsen, K. D. Grieger, and A. Baun. 2013. Operationalization and application of "early warning signs" to screen nanomaterials for harmful properties. *Environmental Science: Processes & Impacts* 15(1): 190-203.
- Frohlich E, Meindl C, Hofler A, Leitingner G, Roblegg E (2013). Combination of small size and carboxyl functionalisation causes cytotoxicity of short carbon nanotubes. *Nanotoxicology*, 7(7):1211 - .24. doi:10.3109/17435 390.2012.729274 PMID:22963691

- Fubini B, Fenoglio I, Tomatis M, Turci F (2011). Effect of chemical composition and state of the surface on the toxic response to high aspect ratio nanomaterials. *Nanomedicine (Lond)*, 6(5):899 - 920. doi:10.2217/nnm.11.80 PMID:21793679
- Fujitani, T., Ohyama, K. I., Hirose, A., Nishimura, T., Nakae, D., & Ogata, A. (2012). Teratogenicity of multi-wall carbon nanotube (MWCNT) in ICR mice. *The Journal of toxicological sciences*, 37(1), 81 - 89.
- Galano A (2010). Carbon nanotubes: promising agents against free radicals. *Nanoscale*, 2(3):373 - 80.
- Genaidy, A., R. Sequeira, M. Rinder, and A. A-Rehim. 2009. Risk analysis and protection measures in a carbon nanofiber manufacturing enterprise: An exploratory investigation. *Science of The Total Environment* 407(22): 5825-5838.
- Gridelet, L., P. Delbecq, L. HervÉ, P. Boissolle, D. Fleury, S. Kowal, and G. Fayet. 2015. Proposal of a new risk assessment method for the handling of powders and nanomaterials. *Industrial Health* 53(1): 56-68.
- Grieger, K., J. Redmon, E. Money, M. Widder, W. van der Schalie, S. Beaulieu, and D. Womack. 2015. A relative ranking approach for nano-enabled applications to improve risk-based decision making: a case study of Army material. *Environment Systems and Decisions* 35(1): 42-53.
- Grosso, A., A. Petri-Fink, A. Magrez, M. Riediker, and T. Meyer. 2010. Management of nanomaterials safety in research environment. *Particle and Fibre Toxicology* 7(40): 1-8.
- Grubek-Jaworska, H., Nejman, P., Czumińska, K., Przybyłowski, et al. (2006). Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons. *Carbon*, 44(6), 1057-1063.

- Hamilton, R. F., Wu, Z., Mitra, S., Shaw, P. K., & Holian, A. (2013). Effect of MWCNT size, carboxylation, and purification on in vitro and in vivo toxicity, inflammation and lung pathology. *Particle and fibre toxicology*, 10(1), 57.
- Hammel, E; Tang, X; Trampert, M; Schmitt, T; Mauthner, K; Eder, A; Pötschke, P (2004). "Carbon nanofibers for composite applications". *Carbon*. 42 (5 - 6): 1153 - 8.
- Han SG, Lee JS, Ahn K, Kim YS, Kim JK, Lee JH, Shin JH, Jeon KS, Cho WS. (2014). Size-dependent clearance of gold nanoparticles from lungs of Sprague-Dawley rats after short-term inhalation exposure. *Arch Toxicol* DOI 10.1007
- Hansen, B. G., A. G. van Haelst, K. van Leeuwen, and P. van der Zandt. 1999. Priority setting for existing chemicals: European Union risk ranking method. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18(4): 772-779.
- Höck, J., H. Hofmann, H. Krug, C. Lorenz, L. Limbach, B. Nowack, M. Riediker, K. Schirmer, C. Som, W. Stark, C. Studer, N. von Götz, S. Wengert, and P. Wick. 2008. Guidelines on the Precautionary Matrix for Synthetic Nanomaterials. Version 1.1. Berne: Federal Office for Public Health and Federal Office for the Environment.
- Hou P-X, Xu S-T, Ying Z, Yang Q-H, Liu C, Cheng H-M (2003). Hydrogen adsorption/desorption behavior of multi-walled carbon nanotubes with different diameters. *Carbon*, 41(13):2471 - .6. doi:10.1016/S0008-6223(03)00271-9
- Hu H, Zhao B, Itkis ME, Haddon RC (2003). Nitric acid purification of single-walled carbon nanotubes *J Phys Chem B*, 107(50):13838 - .42.
- Hussain S, Ji Z, Taylor AJ, DeGraff LM, George M, Tucker CJ, Chang CH, Li R, Bonner JC, Garantziotis S. 2016, Multiwalled Carbon Nanotube Functionalization with High Molecular Weight Hyaluronan

- Significantly Reduces Pulmonary Injury. ACS Nano. 23;10(8):7675-88.
- IARC Monograph
- ISO (2010). ISO/TS 80004 - 3. Nanotechnologies - Vocabulary Part 3: Carbon nano-objects. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) monograph 111 (2017) Some nanomaterials and some fibres. Lyon:IARC
- Jacobsen, N. R., Moller, P., Jensen, K. A., Vogel, U., Ladefoged, O., Loft, S., et al. (2009). Lung inflammation and genotoxicity following pulmonary exposure to nanoparticles in ApoE^{-/-} mice. Particle and fibre toxicology, 6(1), 2.
- Jorio A, Saito R, Hafner JH, Lieber CM, Hunter M, McClure T, et al. (2001). Structural (n, m) determination of isolated single-wall carbon nanotubes by resonant Raman scattering. Phys Rev Lett, 86(6):1118 - 21. doi:10.1103/PhysRevLett.86.1118 PMID:11178024
- Kasai T, Umeda Y, Ohnishi M, Mine T, Kondo H, Takeuchi T, Matsumoto M, Fukushima S. 2016. Lung carcinogenicity of inhaled multi-walled carbon nanotube in rats. Part Fibre Toxicol. 13;13(1):53.
- Keller A, Fierz M, Siegmann K, Siegmann HC, Filippov A. 2001. A Surface Science with Nanosized Particles in Carrier Gas. J Vac SciTechnol A 19:1-8.
- Kim JS, Sung JH, Choi BG, Ryu HR, Song KS, Shin JH, Lee JS, Hwang JH, Lee JH, Lee GH, Jeon K, Ahn K, Yu IJ. (2014). In vivo genotoxicity evaluation of lung cells from Fischer 344 rats following 28 days of inhalation exposure to MWCNTs, plus 28 days and 90 days post-exposure, Inhalation Toxicology, 26(4): 222-34
- Kim JS, Sung JH, Song KS, Lee JH, Kim SM, Lee GH, Ahn KH, Lee JS, Shin JH, Park JD, Yu IJ. (2012). Persistent DNA Damage Measured by Comet Assay of Sprague Dawley Rat Lung Cells after

- Five Days of Inhalation Exposure and 1 Month Post-Exposure to Dispersed Multi-Wall Carbon Nanotubes (MWCNTs) Generated by New MWCNT Aerosol Generation System. *Toxicological sciences* 128(2), 439 - 448.
- Kisin, E. R., Murray, A. R., Keane, M. J., Shi, X. C., Schwegler-Berry, D., Gorelik, O., et al. (2007). Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 70(24), 2071 - 2079.
- Kitiyanan B, Alvarez WE, Harwell JH, Resasco DE (2000). Controlled production of single-wall carbon nanotubes by catalytic decomposition of CO on bimetallic Co-Mo catalysts. *Chem Phys Lett*, 317(3.5):497-503. doi:10.1016/S0009-2614(99)01379-2
- Kobayashi N, Naya M, Mizuno K, Yamamoto K, Ema M, Nakanishi J (2011). Pulmonary and systemic responses of highly pure and well-dispersed single-wall carbon nanotubes after intratracheal instillation in rats. *Inhal Toxicol*. 23(13):814 - 28.
- Kolosnjaj-Tabi J, Hartman KB, Boudjemaa S, Ananta JS, Morgant G, Szwarc H, et al. (2010). In vivo behavior of large doses of ultrashort and full-length singlewalled carbon nanotubes after oral and intraperitoneal administration to Swiss mice. *ACS Nano*, 4(3):1481 - 92. doi:10.1021/nn901573w PMID:20175510
- Ku BK, Maynard AD, Baron PA, Deye GJ. (2007). Observation and measurement of anomalous responses in a differential mobility analyzer caused by ultrafine fibrous carbon aerosols *J. Electrostatics* 65(8): 542-548.
- Kuempel, Eileen D.; Sorahan, Tom (2010). "Identification of Research Needs to Resolve the Carcinogenicity of High-priority IARC Carcinogens". Views and Expert Opinions of an IARC/NORA Expert Group Meeting, Lyon, France, 30 June - 2 July 2009. IARC

- Technical Publication No. 42. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 42: 61 - 72. Retrieved August 30, 2012.
- Lee JH, Lee SB, Bae GN, Jeon KS, Yoon JU, Ji JH, Sung JH, Lee BG, Lee JH, Yang JS, Kim HY, Kang CS, Yu IJ. 2010. Exposure assessment of carbon nanotube manufacturing workplaces, *Inhalation Toxicology* 22(5):369-81
- Lee N, Lim CH, Kim T, Son EK, Chung GS, Rho CJ, Lee SR, Yu IJ (2017). Which hazard category should specific nanomaterials or groups of nanomaterials be assigned to and how? World Health Organization.
- Li, Z., Hulderman, T., Salmen, R., Chapman, R., Leonard, S. S., Young, S. H., et al. (2007). Cardiovascular effects of pulmonary exposure to single-wall carbon nanotubes.
- Lindberg, H. K., Falck, G. C. M., Suhonen, S., Vippola, M., Vanhala, E., Catalan, J., et al. (2009). Genotoxicity of nanomaterials: DNA damage and micronuclei induced by carbon nanotubes and graphite nanofibres in human bronchial epithelial cells in vitro. *Toxicology letters*, 186(3), 166 - 173.
- Lynch, I. (2014). Compendium of projects in the European nanosafety cluster. European NanoSafety Cluster, 250.
- Ma-Hock L, Treumann S, Strauss V, Brill S, Luizi F, Mertler M, Wiench K, Gamer AO, van Ravenzwaay B, Landsiedel R. (2009). Inhalation toxicity of multiwall carbon nanotubes in rats exposed for 3 months, *Toxicol Sci* 112: 468 - 81.
- Manshian BB, Jenkins GJS, Williams PM, Wright C, Barron AR, Brown AP, et al. (2013). Single-walled carbon nanotubes: differential genotoxic potential associated with physico-chemical properties. *Nanotoxicology*, 7(2):144 - 56. doi:10.3109/17435390.2011.647928 PMID:22263934

- Matsumoto, M., Serizawa, H., Sunaga, M., Kato, H., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, et al. (2012). No toxicological effects on acute and repeated oral gavage doses of single-wall or multiwall carbon nanotube in rats. *The Journal of toxicological sciences*, 37(3), 463 - 474.
- Mercer, R. R., Hubbs, A. F., Scabilloni, J. F., Wang, L., Battelli, L. A., Friend, S., ... & Porter, D. W. (2011). Pulmonary fibrotic response to aspiration of multi-walled carbon nanotubes. *Particle and fibre toxicology*, 8(1), 21.
- Mitchell LA, Gao J, Wal RV, Gigliotti A, Burchiel SW, McDonald JD. 2010. Pulmonary and systemic immune response to inhaled multiwalled carbon nanotubes. *Toxicol Sci*. 100(1):203-14.
- Moon HK, Lee SH, Choi HC: In vivo near-infrared mediated tumor destruction by photothermal effect of carbon nanotubes. *ACS nano* 2009, 3(11):3707-3713.
- Morimoto, Y., Hirohashi, M., Kobayashi, N., Ogami, A., Horie, M., Oyabu, Lee, B. W. et al. (2012). Pulmonary toxicity of well-dispersed single-wall carbon nanotubes after inhalation. *Nanotoxicology*, 6(7), 766-775.
- Muller J, Delos M, Panin N, Rabolli V, Huaux F, Lison D (2009). Absence of carcinogenic response to multiwall carbon nanotubes in a 2-year bioassay in the peritoneal cavity of the rat. *Toxicol Sci*, 110(2):442 - 8.
- Murphy FA, Poland CA, Duffin R, Al-Jamal KT, Ali-Boucetta H, Nunes A, et al. (2011). Length dependent retention of carbon nanotubes in the pleural space of mice initiates sustained inflammation and progressive fibrosis on the parietal pleura. *Am J Pathol*, 178(6):2587 - 600. doi:10.1016/j.ajpath.2011.02.040 PMID:21641383
- Nagai H, Okazaki Y, Chew SH, Misawa N, Yamashita Y, Akatsuka S,

- et al. (2011). Diameter and rigidity of multiwalled carbon nanotubes are critical factors in mesothelial injury and carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108(49):E1330 - 8. doi:10.1073/pnas.1110013108 PMID:22084097
- Naya, M., Kobayashi, N., Mizuno, K., Matsumoto, K., Ema, M., & Nakanishi, J. (2011). Evaluation of the genotoxic potential of single-wall carbon nanotubes by using a battery of in vitro and in vivo genotoxicity assays. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 61(2), 192 - 198.
- O'Brien, N. J. and E. J. Cummins. 2010. Ranking initial environmental and human health risk resulting from environmentally relevant nanomaterials. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 45(8): 992-10
- Paik, S. Y., D. M. Zalk, and P. Swuste. 2008. Application of a Pilot Control Banding Tool for Risk Level Assessment and Control of Nanoparticle Exposures. *The Annals of Occupational Hygiene* 52(6): 419-428.
- Park, E. J., Cho, W. S., Jeong, J., Yi, J., Choi, K., & Park, K. (2009). Pro-inflammatory and potential allergic responses resulting from B cell activation in mice treated with multi-walled carbon nanotubes by intratracheal instillation. *Toxicology*, 259(3), 113-121.
- Patel, T., D. Telesca, R. Rallo, S. George, T. Xia, and A. Nel. 2013. Hierarchical Rank Aggregation with Applications to Nanotoxicology. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 18(2): 159-177.
- Pauluhn J. (2010). Subchronic 13-Week Inhalation Exposure of Rats to Multiwalled Carbon Nanotubes: Toxic Effects Are Determined by Density of Agglomerate Structures, Not Fibrillar Structures *Toxicol Sci.* 113 (1): 226-42.

- Pietroiusti A, Massimiani M, Fenoglio I, Colonna M, Valentini F, Palleschi G, et al. (2011). Low doses of pristine and oxidized single-wall carbon nanotubes affect mammalian embryonic development. *ACS Nano*, 5(6):4624 - 33. doi:10.1021/nn200372g PMID:21615177
- Pietroiusti, A., Massimiani, M., Fenoglio, I., Colonna, M., Valentini, F., Palleschi, G., et al. (2011). Low doses of pristine and oxidized single-wall carbon nanotubes affect mammalian embryonic development. *Acs Nano*, 5(6), 4624 - 4633.
- Poland CA, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace WA, Seaton A, Stone V, Brown S, Macnee W, Donaldson K. 2008, Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol*. 3(7):423-8.
- Ponnamma D, Sadasivuni KK, Grohens Y, Guo Q, Thomas S: Carbon nanotube based elastomer composites - an approach towards multifunctional materials. *Journal of Materials Chemistry C* 2014, 2:8446-8485.
- Porter, D. W., Hubbs, A. F., Chen, B. T., McKinney, W., Mercer, R. R., Wolfarth, M. G., et al. (2012). Acute pulmonary dose - responses to inhaled multi-walled carbon nanotubes. *Nanotoxicology*, 7(7), 1179 - 1194.
- Porter, D. W., Hubbs, A. F., Mercer, R. R., Wu, N., Wolfarth, M. G., Sriram, K., ... & Andrew, M. (2010). Mouse pulmonary dose-and time course-responses induced by exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Toxicology*, 269(2-3), 136-147.
- Pothmann D, Simar S, Schuler D, Dony E, Gaering S, Le Net JL, Okazaki Y, Chabagno JM, Bessibes C, Beausoleil J, Nessler F, Régnier JF. 2015. Lung inflammation and lack of genotoxicity in the comet and micronucleus assays of industrial multiwalled carbon

- nanotubes Graphistrength(©) C100 after a 90-day nose-only inhalation exposure of rats. *Part Fibre Toxicol.* 10;12:21.
- Riediker, M., C. Ostiguy, J. Triolet, P. Troisfontaine, D. Vernez, G. Bourdel, N. Thieriet, and A. Cadène. 2012. Development of a Control Banding Tool for Nanomaterials. *Journal of Nanomaterials* 2012: 1–8.
- Roberts JR, Mercer RR, Stefaniak AB, Seehra MS, Geddam UK, Chaudhuri IS, Kyrilidis A, Kodali VK, Sager T, Kenyon A, Bilgesu SA, Eye T, Scabilloni JF, Leonard SS, Fix NR, Schwegler-Berry D, Farris BY, Wolfarth MG, Porter DW, Castranova V, Erdely A. 2016, Evaluation of pulmonary and systemic toxicity following lung exposure to graphite nanoplates: a member of the graphene-based nanomaterial family. *Part Fibre Toxicol.* 21;13(1):34.
- Robichaud, C. O., D. Tanzil, U. Weilenmann, and M. R. Wiesner. 2005. Relative Risk Analysis of Several Manufactured Nanomaterials: An Insurance Industry Context. *Environmental Science & Technology* 39(22): 8985–8994.
- Ryman-Rasmussen JP, Cesta MF, Brody AR, Shipley-Phillips JK, Everitt JI, Tewksbury EW, Moss OR, Wong BA, Dodd DE, Andersen ME, Bonner JC. 2009(a). Inhaled carbon nanotubes reach the subpleural tissue in mice. *Nat Nanotechnol.* 4(11):747–51.
- Ryman-Rasmussen JP, Tewksbury EW, Moss OR, Cesta MF, Wong BA, Bonner JC. 2009(b). Inhaled multiwalled carbon nanotubes potentiate airway fibrosis in murine allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 40(3):349–58.
- Saber, A. T., Lamson, J. S., Jacobsen, N. R., Ravn-Haren, G., Hougaard, K. S., Nyendi, A. N. et al. (2013). Particle-induced pulmonary acute phase response correlates with neutrophil influx linking inhaled particles and cardiovascular risk. *PLoS One*, 8(7), e69020.

- Sargent LM, Porter DW, Staska LM, Hubbs AF, Lowry DT, Battelli L, Siegrist KJ, Kashon ML, Mercer RR, Bauer AK, Chen BT, Salisbury JL, Frazer D, McKinney W, Andrew M, Tsuruoka S, Endo M, Fluharty KL, Castranova V, Reynolds SH. 2014. Promotion of lung adenocarcinoma following inhalation exposure to multi-walled carbon nanotubes. Part Fibre Toxicol. 9;11:3.
- Sargent, L. M., Shvedova, A. A., Hubbs, A. F., Salisbury, J. L., Benkovic, S. A., Kashon, M. L., et al. (2009). Induction of aneuploidy by single walled carbon nanotubes. Environmental and molecular mutagenesis, 50(8), 708 - 717.
- Sakamoto, Y., Hojo, M., Kosugi, Y., Watanabe, K., Hirose, A., et al. (2018). Comparative study for carcinogenicity of 7 different multi-wall carbon nanotubes with different physicochemical characteristics by a single intraperitoneal injection in male Fischer 344 rats. The Journal of toxicological sciences, 43(10), 587-600.
- Schinwald A, Murphy FA, Jones A, MacNee W, Donaldson K. 2012, Graphene-based nanoplatelets: a new risk to the respiratory system as a consequence of their unusual aerodynamic properties. ACS Nano. 24;6(1):736-46.
- Schinwald A, Murphy FA, Prina-Mello A, Poland CA, Byrne F, Movia D, et al. (2012). The threshold length for fiber-induced acute pleural inflammation: shedding light on the early events in asbestos-induced mesoevents in asbestos-induced mesothelioma. Toxicol Sci, 128(2):461 - 70. doi:10.1093/toxsci/kfs171 PMID:22584686
- Shvedova, A. A., Kisin, E., Murray, A. R., Johnson, V. J., Gorelik, O., Arepalli, S., et al. (2008). Inhalation vs. aspiration of single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice: inflammation, fibrosis, oxidative stress, and mutagenesis. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 295(4), L552 - L565.

- Sørensen, P. B., F. Giralt, R. Rallo, G. Espinosa, B. Münier, S. Gyldenkærne, and M. Thomsen. 2010. Conscious worst case definition for risk assessment, part II: A methodological case study for pesticide risk assessment. *Science of The Total Environment* 408(18): 3860–3870.
- van Duuren-Stuurman, B., S. R. Vink, K. J. M. Verbist, H. G. A. Heussen, D. H. Brouwer, D. E. D. Kroese, M. F. J. Van Niftrik, E. Tielemans, and W. Fransman. 2012. Stoffenmanager Nano Version 1.0: A Web-Based Tool for Risk Prioritization of Airborne Manufactured Nano Objects. *Annals of Occupational Hygiene* 56(5): 525–541.
- van Harmelen, T., E. K. Zondervan-van den Beuken, D. H. Brouwer, E. Kuijpers, W. Fransman, H. B. Buist, T. N. Ligthart, I. Hincapié, R. Hischer, I. Linkov, B. Nowack, J. Studer, L. Hilty, and C. Som. 2016. LICARA nanoSCAN – A tool for the self-assessment of benefits and risks of nanoproducts. *Environment International* 91: 150–160.
- Varga C & Szendi K (2010). Carbon nanotubes induce granulomas but not mesotheliomas. *In Vivo*. 24(2):153 - 6.
- Vittorio O, Raffa V, Cuschieri A (2009). Influence of purity and surface oxidation on cytotoxicity of multiwalled carbon nanotubes with human neuroblastoma cells. *Nanomedicine*, 5(4):424 - 31. doi:10.1016/j.nano.2009.02.006 PMID:19341817
- Wardak, A., M. E. Gorman, N. Swami, and S. Deshpande. 2008. Identification of Risks in the Life Cycle of Nanotechnology-Based Products. *Journal of Industrial Ecology* 12(3): 435–448.

Abstract

Study on Providing the Toxicity Information about the Carbon Based Nanomaterials

Background: As nanotechnology develops, various types of nanomaterials are produced in a large scale but the risk information of nanomaterials is poorly characterized. Because the physicochemical properties of nanomaterials are highly correlated with the toxicity, the strategy of regulation of nanomaterials will be based on the module-type of regulation which is developed by read-across method rather than performing the toxicity study for each nanomaterial.

The nanomaterials can be divided by organic and inorganic nanomaterials. The carbon-based nanomaterials are classified into organic nanomaterials and can be sub-divided into carbon black, fullerene, graphene, nanodiamond, carbon nanotube, and carbon nanofibers. Especially fiber-type carbon nanomaterials have high aspect ratio and suspected to be a human carcinogen based on their asbestos-like structure. Therefore, fiber-type carbon nanomaterials are in high priority for risk assessment. In this study, we tried to provide up-to-date information about the classification, characterization, read-across study, national/international regulation status, and tools for risk assessment of carbon-based nanomaterials.

Methods: In this study, we classified carbon-based nanomaterials by literature review including research articles and OECD publications.

The method of characterization was evaluated in collaboration with the ISO project entitled “Nanotechnologies– Characterization of carbon nanotube and carbon nanofibre aerosols to be used in inhalation toxicity tests”. The project reader is Dr. Il Je Yu who is member of this study. The read-across study was performed by reviewing relevant research papers and OECD documents. The toxicity studies includes inhalation, instillation, and aspiration studies and in vitro studies. To evaluate the correlation between physicochemical properties and toxicity endpoints, the quantitative and qualitative correlations were performed. The national/international regulation trend of nanomaterials was summarized including USA, Europe, and other countries. In addition, nanomaterial regulation approaches of international organizations such as IARC and OECD are also summarized. The risk assessment tools for nanomaterials are also summarized and new up-to-date tools for risk assessment was proposed in this study.

Results: The characterization of carbon-based nanomaterials can be divided into before and after generation of aerosols. The physicochemical properties includes size, size distribution, shape, aggregation/agglomeration, surface area, surface charge, crystalline structure, composition, purity, length, and thickness. Among carbon-based nanomaterials, buckyball, graphene, and nanodiamond is relatively low-toxicity nanomaterials. Although the IARC classified carbon black as a Group 2B carcinogen, it is based on the epidemiological studies and particle overload rather than high surface reactivity and irritation property. In contrast, carbon nanotubes and carbon nanofibers are suspected as a carcinogen based on their

biopersistence and high aspect ratio. Especially Mitsui-7, one type of MWCNTs, is classified as Group 2B carcinogen and IARC announced that all types of CNTs will be reviewed again in 5 years. Thus, this report is focused on correlation between physicochemical properties and toxicity endpoints. The characteristic of MWNCTs includes (1) size and shape, (2) composition and purity, (3) surface reactivity and functionalization, (4)biopersistence. The size and shape includes width, length, rigidity, and defect and the higher toxic potential of CNTs is related with the thicker (less than 100 nm), longer (5 μ m), and rigidity. The purity of CNT ranged from 50~99.9% and various metals such as Fe, Co, Ni, and Mo are commonly detected. CNTs can generate and scavenge the ROS. These ROS generation/scavenging potentials are increased as purity is decreased. The functional group is also related with the surface charge of CNTs. CNTs are biopersistent but some CNTs especially thin SWCNTs can be biodegradable by enzymatic/non-enzymatic methods.

Developed countries such as USA and Europe are setting tighter policies for carbon based nanomaterials. The regulation of nanomaterials is applied for raw materials and final products applied nanotechnology. The regulation policies of nanomaterial are focused on the modular regulation by grouping and read-across rather than testing each NP toxicity.

Tools for risk assessment of nanomaterials are summarized and new up-to-date tool was proposed.

Expected outcomes and utilization: The result of this study can be used for developing infrastructure of providing safety information about the nanomaterial exposure. This study is also helpful for preventing

and minimizing the risk of nanomaterials exposure in occupational settings.

Keywords: carbon nanomaterial, hazard information, risk assessment, physicochemical property

〈〈연구진〉〉

연구기관: 동아대학교

연구책임자: 조완섭(동아대학교 의약생명공학과 교수)

공동연구원: 유일재(HCTm 소장)

공동연구원: 전기수(HCTm 차장)

연구보조원: 이동근(동아대학교 건강과학과 박사과정)

연구보조원: 전소연(동아대학교 건강과학과 석사과정)

〈〈연구기간〉〉

연구기간: 2018. 4. 18. ~ 2018. 10.31.

본 연구는 산업안전보건연구원의 2018년도 위탁연구 용역사업에 의한 것임

본 연구보고서의 내용은 연구책임자의 개인적 견해이며, 우리 연구원의 공식견해와 다를 수도 있음을 알려드립니다.

산업안전보건연구원장

탄소나노물질의 독성정보 제공 체계 구축에 관한 연구

(2018-연구원-847)

발 행 일	: 2018년 10월 31일
발 행 인	: 산업안전보건연구원장 김 장 호
연구책임자	: 동아대학교 교수 조완섭
발 행 처	: 안전보건공단 산업안전보건연구원
주 소	: (44429) 울산광역시 중구 종가로 400
전 화	: 042) 869-0311
F A X	: 042) 863-9001
Homepage	: http://oshri.kosha.or.kr
