



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران
۱۵۱۶۸
چاپ اول
۱۳۹۶

INSO
15168
1stEdition
2018

Identical with
ISO/TR 16196:
2016

فناوری نانو گردآوری و توصیف
روش‌های آماده‌سازی نمونه و روش‌های
تنظیم دُز برای نانومواد مهندسی شده و
ساخته شده

**Nanotechnologies — Compilation and
description of sample preparation and
dosing methods for engineered and
manufactured nanomaterials**

ICS: 07.030

استاندارد ملی ایران شماره ۱۵۱۶۸ (چاپ اول): سال ۱۳۹۶

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۳۹ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۱۰۳ و ۸۸۸۸۷۰۸۰

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۳۱۵۸۵-۱۶۳ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.gov.ir

وبگاه: <http://www.isiri.gov.ir>

Iranian National Standardization Organization (INSO)

No. 2592 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.gov.ir

Website: <http://www.isiri.gov.ir>

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

-
- 1- International Organization for Standardization
 - 2- International Electrotechnical Commission
 - 3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
 - 4- Contact point
 - 5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«گردآوری و توصیف روش‌های آماده‌سازی نمونه و روش‌های تنظیم دُز برای نانومواد مهندسی شده و ساخته‌شده»

رئیس:

قاضی خوانساری، محمود
(دکتری فارماکولوژی و توکسیکولوژی)

عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی
درمانی تهران

دبیر:

میر کاظمی، سید محمد
(دکتری مهندسی مواد)

عضو هیئت علمی دانشگاه علم و صنعت ایران

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اسلامی پور، الهه
(کارشناس ارشد زیست‌شناسی)

کارشناس کمیته استانداردسازی - ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

پوی پوی، حسن
(کارشناس ارشد شیمی)

دبیر کمیته فنی متناظر فناوری نانو

تاج آبادی، مریم
(دکتری بیومواد)

عضو هیئت علمی دانشگاه علم و صنعت ایران

دباغ کاشانی، فاطمه
(دکتری فیزیک)

عضو هیئت علمی دانشگاه علم و صنعت ایران

گل زردی، سمیرا
(کارشناسی ارشد نانومواد)

کارشناس کمیته استانداردسازی - ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

نجم‌الدین، نجمه
(دکتری مهندسی مواد)

عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات

ویراستار:

سیفی، مهوش
(کارشناسی ارشد مدیریت دولتی)

کارشناس استاندارد - نایب رییس کمیته فنی متناظر فناوری نانو

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
ح	مقدمه
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۱	۳ اصطلاحات و تعاریف
۴	۴ کوتاه‌نوشت‌ها
۵	۵ پیش‌زمینه
۵	۱-۵ بحث در مورد اهمیت آماده‌سازی نمونه و تنظیم دُز
۵	۲-۵ بحث در مورد موضوعات ویژه در هنگام انجام آزمون سم‌شناسی نانومواد ساخته‌شده
۵	۱-۲-۵ خواص فیزیکی
۶	۲-۲-۵ آماده‌سازی نمونه
۷	۳-۲-۵ تجویز دُزها
۷	۴-۲-۵ بحث در مورد ارتباط بین این استاندارد و استاندارد ISO/TR 13014
۷	۳-۵ بحث در مورد تنظیم دُز مرتبط برای غربالگری سم‌شناختی
۸	۴-۵ بحث در مورد ارتباط بین این استاندارد و استاندارد ISO/TR 16197
۸	۵-۵ مروری بر فعالیت‌های بین‌المللی و استانداردهای مرتبط دیگر
۸	۶ خواص فیزیکی شیمیایی
۸	۱-۶ اندازه ذره، شکل، توزیع اندازه و درجه کلوخگی
۸	۲-۶ توصیف شیمیایی - ترکیب‌بندی و شناسایی
۹	۳-۶ مساحت سطح ویژه
۹	۴-۶ شیمی سطح
۱۰	۵-۶ نقطه هم‌بار، پتانسیل زتا و ثابت هاماکر
۱۱	۶-۶ اثر شیمی آب بر روی خواص نانومواد و رفتار پراکنش
۱۲	۷-۶ آماده‌سازی پراکنه‌های مایع
۱۲	۸-۶ ساختار بلوری
۱۲	۹-۶ تنش فصل مشترک (میانا) یا انرژی سطحی
۱۳	۱۰-۶ حل‌پذیری
۱۳	۷ ملاحظات آماده‌سازی نمونه نانومواد در محیط مواجهه در مطالعات سمیت اقلیمی
۱۳	۱-۷ کلیات

صفحه	عنوان
۱۳	۱-۱-۷ مقدمه‌ای بر دانش موجود
۱۳	۲-۱-۷ رفتار زیست‌محیطی
۱۴	۳-۱-۷ دگرگونی و تخریب
۱۴	۴-۱-۷ تجمع‌زیستی
۱۵	۲-۷ کارایی روش آزمون و دُزسنجی
۱۵	۱-۲-۷ توزیع زیست‌محیطی
۱۶	۲-۲-۷ تخریب و دگرگونی
۱۶	۳-۲-۷ تجمع‌زیستی
	۸ روش‌هایی برای آماده‌سازی نانومواد برای مطالعه سم‌شناختی بر روی پستاندارن برای
۱۷	اطمینان از مقدار صحیح دُز
۱۷	۱-۸ موضوعات قابل توجه در آماده‌سازی پراکنه پایه
۱۷	۲-۸ اهمیت پایش پایداری پراکنه‌های آزمون حین آزمایشات
	۳-۸ ملاحظات خاص برای محلول نمک‌های کاراندام‌شناختی استفاده شده در مطالعات
۱۸	پستانداران
۱۸	۴-۸ راه‌های تحویل پراکنه‌های نانوماده و رفتار آن‌ها در مطالعات پستانداران
۱۸	۱-۴-۸ مواجهه مجرای تنفسی
۱۸	۲-۴-۸ مواجهه از راه دهان
۱۹	۳-۴-۸ مواجهه پوستی
۱۹	۴-۴-۸ راه‌های تزریق
۲۰	۹ روش‌های آماده‌سازی نمونه‌های نانومواد برای استفاده در کشت یاخته‌ای
۲۰	۱-۹ کشت‌های یاخته‌ای و پراکنش نانومواد در محیط کشت
۲۰	۱-۱-۹ کلیات
۲۰	۲-۱-۹ ملاحظات برای پراکنه نانومواد در محلول تنظیم دُز شده
۲۱	۳-۱-۹ ملاحظات سناریو مواجهه مرتبط
۲۲	۲-۹ کشت‌های یاخته‌ای
۲۳	کتاب‌نامه

پیش‌گفتار

استاندارد «گردآوری و توصیف روش‌های آماده‌سازی نمونه و روش‌های تنظیم دُز برای نانومواد مهندسی‌شده و ساخته‌شده» که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی/منطقه‌ای به عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی ایران شماره ۵ تهیه و تدوین شده، در شصت و چهارمین اجلاس کمیته ملی استاندارد فناوری نانو مورخ ۱۳۹۶/۱۲/۲۳ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوه نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهند شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط، مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

این استاندارد ملی بر مبنای پذیرش استاندارد بین‌المللی زیر به روش «معادل یکسان» تهیه و تدوین شده و شامل ترجمه تخصصی کامل متن آن به زبان فارسی می‌باشد و معادل یکسان استاندارد بین‌المللی مزبور است:

ISO/TR 16196: 2016, Nanotechnologies- Compilation and description of sample preparation and dosing methods for engineered and manufactured nanomaterials

مقدمه

در این استاندارد، رهنمودهایی برای آماده‌سازی نانومواد برای آزمون سم‌شناختی شامل سم‌شناختی زیستی و اقلیمی، ارائه شده‌است. هدف استاندارد حاضر آن است که به دانشمندان حوزه محیط زیست و سلامت و دانشمندان و کارشناسان سایر رشته‌های علمی کمک کند تا پیش از انجام آزمون‌های سم‌شناختی و حین انجام آن، موضوعات مربوط به نانومواد را درک، طرح‌ریزی، انتخاب و هدایت کنند. این موضوعات اثرات خواص ماده را بر روش‌های آماده‌سازی و بر محیط‌هایی که نمونه‌های نانومواد به آن اضافه می‌شوند، در بر می‌گیرند. عدم توجه به این اثرات به دلیل رابطه بین طبیعت نانوماده و پاسخ‌های سم‌شناختی مشاهده شده، ممکن است منجر به نتیجه‌گیری اشتباه شود. به ویژه، ترکیب‌بندی و دیگر مشخصه‌های محیط‌های آزمون می‌تواند بر دُزی که موجود زنده تحت آزمون در معرض آن قرار خواهد گرفت، تأثیر بگذارد. اطلاعات آماده‌سازی ماده آزمون در قدم نخست برای هر ارزیابی اقلیم‌شناسی و زیستی ضروری است. اطلاعاتی مانند این با سایر استانداردهای ایزو سازگار است. برای مثال، استاندارد ISO 10993-18 [1]، به‌طور ویژه، به ارزیابی مشخصه شیمیایی مواد مورد استفاده در وسایل پزشکی اشاره دارد، استاندارد ISO 1497 [2]، مشخص می‌کند که در تحلیل ریسک سم‌شناختی باید طبیعت شیمیایی مواد مورد توجه باشد، استاندارد ISO/ TR 13014 [3] موضوعات مربوط به خود مواد را اشاره دارد و استاندارد ISO/TS 19337 [55] نشان می‌دهد که باید مشخص شود اثرات سمیت مشاهده‌شده ناشی از نانواشیاء تحت آزمون است یا از سایر منابع کنترل‌ناپذیر نشات می‌گیرد. برخی از مثال‌ها از روش‌هایی ارائه شده‌اند که گویای شرایط آزمون برپایه شرایط محیطی مرتبط هستند.

این استاندارد از تعدادی اصطلاحات فنی استفاده نموده‌است که قبلاً در سایر استانداردها تعریف شده‌است. برخی از این اصطلاحات که در چندین استاندارد در حوزه‌های مختلف علم و فناوری تعریف شده‌است، به‌صورت بالقوه یا ظاهری توصیفات ناسازگاری را ایجاد نموده‌است. این استاندارد توصیفات جدید و معتبری برای این اصطلاحات که در اینجا استفاده شده‌است، ارائه نمی‌دهد. به جای آن، این بند توصیفات کوتاهی برای اصطلاحات استفاده می‌کند و هر جا که ممکن باشد، به استانداردهای موجود ارجاع داده شده است.

فناوری نانو- گردآوری و توصیف روش‌های آماده‌سازی نمونه و روش‌های تنظیم دُز برای نانومواد مهندسی شده و ساخته شده

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه رهنمودهایی راجع به آماده‌سازی نانومواد برای آزمون‌های سم‌شناختی اقلیمی و زیستی است. این استاندارد در مورد عوامل مربوط به آماده‌سازی نمونه و تعیین دُز رهنمودهایی ارائه می‌کند که ممکن است در آزمون سم‌شناختی (شامل سم‌شناختی اقلیمی) مواد نانومقیاس مهندسی و ساخته‌شده مفید باشند.

توصیفات عوامل مؤثر بر روش آماده‌سازی نمونه برای هر دو حالت برون‌تنی و درون‌تنی مواد نانومقیاس مهندسی و ساخته شده شامل ملاحظات از قبیل خصوصیات فیزیکی-شیمیایی، محیط، روش‌های مطالعه تغییر شکل و انباشت، اثرات سلامت و دُزسنجی می‌شود.

تمرکز این استاندارد بیشتر در مورد عواملی است که ممکن است منجر به نتایج نامرتب با ارزیابی‌های ایمنی شوند. در صورت لزوم، روش‌های مرجع به دلیل سودمندی کلی و کارایی بالقوه‌شان استفاده می‌شوند. عموماً بیشتر روش‌های توضیح داده شده برای همه نانومواد کارایی ندارند؛ ولی آن‌ها می‌توانند عوامل و محدودیت‌های رایج مهم برای انواع نانومواد را نمایش دهند.

۲ مراجع الزامی

هیچ مرجع الزامی برای این استاندارد وجود ندارد.

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌روند.

پایگاه‌های ISO و IEC داده‌های مربوط به اصطلاحات را که برای استانداردسازی استفاده می‌شود، نگهداری می‌کنند. آدرس‌های آن‌ها در زیر آمده است:

— IEC Electropedia ، موجود در <http://www.electropedia.org/>

— سامانه برخط ISO، موجود در <http://www.iso.org/obp>

۱-۳

ذره

particle

قطعه کوچکی از ماده با مرزهای فیزیکی معین است.

یادآوری ۱- مرز فیزیکی را می‌توان به عنوان سطح مشترک نیز توصیف کرد.

یادآوری ۲- ذره می‌تواند به عنوان یک واحد جابه‌جا شود.

یادآوری ۳- این تعریف کلی از ذره برای نانوشیاء (۲-۲) به کار گرفته می‌شود.

[منبع: زیربند ۱-۳ استاندارد ایران - ایزو شماره: ۲-۸۰۰۰۴]

۲-۳

ساختار

structure

آرایی که با چهار جنبه مختلف تعریف می‌شود (بلورینگی، ساختار بلوری، ساختار مولکولی و ریزساختار)

۱-۲-۳

بلورینگی

crystallinity

به وجود یا فقدان ساختار بلورین در آرایش اتم‌های سازنده ماده گفته می‌شود.

۲-۲-۳

ساختار بلوری

crystal structure

ساختار شبکه‌ای که با استفاده از پارامترهای شبکه^۱ و نوع شبکه در آن اتم‌های یک بلور منفرد آرایش یافته‌اند، مانند مکعب مراکز وجوه پر، شش‌وجهی فشرده، مکعب مرکز پر، مکعب .

۳-۲-۳

ساختار مولکولی

molecular structure

آرایش اتم‌های یک مولکول منفرد است.

۴-۲-۳

ریزساختار

Microstructure

1 - lattice parameter

آرایش بلورهای منفرد یا فازهای بی‌شکل در یک ماده چندفازی یا بس‌بلوری^۱ است.

۳-۳

اندازه‌ده

measurand

کمیتی است که باید اندازه‌گیری شود یا کمیتی که با اندازه‌گیری تعیین می‌شود.

یادآوری - تعیین یک اندازه‌ده نیاز به دانستن نوع کمیت، توصیف حالت پدیده، جسم یا ماده حامل کمیت، شامل هر جزء سازنده وابسته و ماهیت شیمیایی آن دارد. اندازه‌گیری، که شامل سامانه اندازه‌گیری و شرایطی است که تحت آن اندازه‌گیری صورت می‌گیرد، ممکن است موجب تغییر پدیده، جسم یا ماده شود به‌صورتی که ممکن است کمیت در حال اندازه‌گیری با آن کمیت سنجیدنی تعریف شده متفاوت شود.

[منبع: تغییر یافته — ISO/IEC Guide 99, 2007, 2.3]

۴-۳

نانوماده

nanomaterial

NM

ماده‌ای که هر بعد خارجی آن نانومقیاس است یا ساختار داخلی یا ساختار سطحی آن نانومقیاس است.

یادآوری ۱ - این اصطلاح عمومی شامل نانوشیء و ماده نانوساختار است.

یادآوری ۲ - نانوماده مهندسی‌شده، نانوماده ساخته‌شده و نانوماده تصادفی نیز مشاهده شوند.

[منبع: زیربند ۲-۴ استاندارد ملی ایران - ایزو شماره: ۱-۸۰۰۰۴]

۵-۳

نانوشیء

nano-object

هر قطعه مجزا از ماده با یک، دو و یا سه بعد خارجی در نانومقیاس است.

یادآوری - ابعاد خارجی دوم و سوم عمود بر بعد اول و همچنین عمود بر یکدیگر هستند.

[منبع: زیربند ۲-۲ استاندارد ایران - ایزو شماره: ۲-۸۰۰۰۴]

۶-۳

نانوذره

nanoparticle

NP

1 - Polycrystalline

نانوشیئی با تمام ابعاد خارجی در مقیاس نانو که در آن طول بلندترین و کوتاهترین محورهای نانوشیء به طور قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر تفاوت نداشته باشد.

یادآوری- چنانچه ابعاد به‌طور قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر تفاوت داشته باشند (معمولاً بیشتر از سه برابر)، ممکن است اصطلاحاتی مانند نانولیف یا نانوصفحه بر نانوذره ترجیح داده شود.

[منبع: زیربند ۴-۴ استاندارد ایران- ایزو شماره: ۲-۸۰۰۰۴]

۷-۳

نانومقیاس

nanoscale

گستره اندازه بین تقریباً ۱ nm تا ۱۰۰ nm است.

یادآوری- خواصی را که از اندازه‌های بزرگ‌تر، برون‌یابی نمی‌شوند، غالباً در این گستره اندازه نشان داده می‌شوند.

[منبع: زیربند ۲-۱ استاندارد ایران- ایزو شماره: ۲-۸۰۰۰۴]

۴ کوتاه‌نوشت‌ها

BET	Brunauer- Emmett- Teller isotherm	هم‌دما برون‌امت- تیلر (بت)
CNT	Carbon NanoTube	نانولوله کربن
DSL	Dynamic Light Scattering	پراکندگی نور پویا
ICP- MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy	طیف‌سنجی جرمی- پلاسمای جفت‌شده القائی
NOAA	Nano- Objectd, and their Aggregates and Agglomerates greater than 100 nm	نانوشی‌ها و انبوهه‌ها و کلوخه‌های آنها که بزرگ‌تر از ۱۰۰ nm است.
NOM	Natural Organic Material	ماده آلی طبیعی
TEM	Transmission Electron Microscopy	میکروسکوپ الکترونی عبوری

۵ پیش‌زمینه

۱-۵ بحث در مورد اهمیت آماده‌سازی نمونه و تنظیم دُز

نانومواد متنوع هستند؛ تلفیق بی‌شماری از ترکیب، اندازه و توزیع اندازه ذره، شیمی سطح و بسیاری از خواص کلیدی دیگر موجود هستند. با وجود این تنوع، نانومواد نمی‌توانند به‌عنوان یک طبقه منفرد ماده محسوب شوند. همانند سایر زمینه‌های سم‌شناسی، در ارزیابی اثرات زیست‌شناختی باید در نظر گرفته شود که

نمونه‌ها و دُزها چگونه آماده می‌شوند و دُزسنجی به‌گونه‌ای تضمین شود که اثرات مشاهده‌شده معنادار بوده و نتایج آزمون بتواند در یک راه واقع‌بینانه مانند ارزیابی‌های ایمنی مورد استفاده قرار گیرند.

آزمون‌های غربالگری برای ارزیابی‌های سریع استفاده می‌شوند که به‌طور معمول با توجه به زمان پاسخ سریع، هزینه، زیرساخت و محدودیت‌های زمانی، عامل‌هایی که بیش از همه مطالعات کامل در مورد حیوانات را محدود می‌کنند، براساس کشت یاخته یا دیگر فنون برون‌تنی انجام می‌گیرند. هدف از آزمون غربالگری، فراهم کردن یک نشان‌گر برای پیامدها و اثرات ناگوار بالقوه بر روی سلامتی انسان یا محیط زیست می‌باشد. اگر چه تعاریف زیادی برای آزمون غربالگری وجود دارد، برای اهداف این استاندارد، آزمون غربالگری به‌طور کلی به‌عنوان یک آزمون نسبتاً ساده و ارزان قیمت تعریف می‌شود که می‌تواند به آسانی انجام شود و نتایج سریعی را فراهم کند. توصیه می‌شود آزمون‌های غربالگری توافق بین سادگی، سرعت و کم هزینه بودن را منعکس کنند، در عین حالی که هنوز نتایج بامعنی مرتبط با شرایط ایمنی را فراهم می‌کنند، روش آماده‌سازی نمونه‌ها و دُزهای تجویز شده به‌طور ایده‌آل با شرایط مرتبط باشند. بنابراین نکات موردنظر در این استاندارد نیز در مورد آزمون‌های غربالگری استفاده می‌شود و همچنین در آزمون‌های چند مرحله‌ای مورد توجه قرار گیرد تا شرایط سازگار با هر مرحله از مراحل آزمون را تضمین نماید.

۵-۲ بحث در مورد موضوعات ویژه در هنگام انجام آزمون سم‌شناسی نانومواد ساخته‌شده

۵-۲-۱-۱ خواص فیزیکی

۵-۲-۱-۱-۱ کلیات

موضوعی که گاهی اوقات به عنوان «نانوسم‌شناسی» از آن یاد می‌شود، امور مشابه با موضوع گسترده‌تری از سم‌شناسی را با بررسی دقیق و بیشتر در نظر می‌گیرد که به عناصر بر اساس اندازه‌های خیلی کوچک می‌پردازد. این موضوعها شامل خواص فیزیکی که در زیر با جزئیات در زیربندهای ۵-۲-۱-۲ و ۵-۲-۱-۳ شرح داده شده‌اند، هستند ولی محدود به آن‌ها نمی‌شوند.

۵-۲-۱-۲ اندازه

ذرات ریزتر توانایی رسیدن به مکان‌هایی از هدف را دارند که ذرات بزرگ‌تر ندارند. علاوه بر آن، ذرات ریزتر مساحت‌های سطح بزرگ‌تری دارند که امکان واکنش‌پذیری شیمیایی آن‌ها را افزایش می‌دهد. به طور مثال ذرات استنشاقی (کوچکتر از ۱۰۰ nm) می‌توانند به ناحیه کیسه‌های هوایی^۱ ریه برسند.

۵-۲-۱-۳ توزیع اندازه

بیشتر نانوذرات اندازه واحدی ندارند، بنابراین یک توزیعی از اندازه‌ها وجود دارد. برای برخی مواد ممکن است کسرهایی از ذرات با اندازه نانو و ذرات بزرگ‌تر انبوهیده در یک ترکیب‌بندی یکسان وجود داشته باشند. در صورت امکان، سهم مشارکت سم‌شناختی هر کدام مشخص شود.

1 - Alveolar

۴-۱-۲-۵ انحلال

نانومواد دارای نسبت سطح به جرم بزرگ‌تری هستند، به طوری که نانومواد حل‌پذیر در مقایسه با ماده یکسان در شکل توده‌ای به سهولت در محلول‌ها حل می‌شوند. مثال‌هایی از این دست شامل سیلیس بی‌شکل، اکسید روی و نقره هستند. هنگامی که یک ماده حل‌پذیری بالایی دارد، باید سهم‌های نسبی اثرات سم‌شناختی ناشی از ذرات حل‌نشده در مقابل مواد حل‌شده در نظر گرفته شود. در برخی موارد که در آن انحلال کامل است، ممکن است اثرات مشاهده‌شده به علت کسر یونی‌شده/ محلول به جای نانوذرات باشد، حتی اگر ماده اولیه آزمایش یک نانوذره باشد.

۵-۱-۲-۵ دگرگونی^۱

از آن‌جا که نانو مواد در یک طبقه واحد از مواد قرار نمی‌گیرند، کاربردهای بی‌شماری برای آن‌ها تعریف می‌شود. برخی از این کاربردها ممکن است شامل دگرگونی‌های خواسته یا ناخواسته شوند. به عنوان یک مثال از دگرگونی خواسته، استفاده از نانومواد آلومینیم در کاربردهای مرتبط با انرژی می‌باشد که در آن حداقل برخی از آلومینیم‌ها به آلومینا تبدیل می‌شوند [4]. یک مثال از دگرگونی ناخواسته، رهایش نانولوله‌های کربنی از زمینه‌ها به محیط زیست است که آن‌ها در معرض فرآیندهای نورشیمیایی، اکسایش، دگرگونی زیستی و غیره قرار خواهند گرفت. اگر نانولوله‌های کربنی بخش‌هایی از زمینه‌های سوخته‌شده باشند، ممکن است در معرض فرآیند احتراق قرار بگیرند. در مورد هر کدام از دگرگونی‌ها مهم است در نظر گرفته شود که اگر تغییرات رخ دهد، باید نانومواد مورد آزمایش دوباره مشخصه‌یابی شوند.

۵-۲-۲ آماده‌سازی نمونه

مطالعات سم‌شناختی عموماً برای ارزیابی مخاطرات بالقوه مواد انجام می‌شود. برای آماده‌سازی نمونه، اطمینان حاصل شود که ماده آماده شده جهت انجام مطالعات سم‌شناختی به‌گونه‌ای آماده‌سازی شود که برای ارزیابی سم‌شناختی اعمالی، مناسب باشد. راهنمای منتشر شده توسط OECD^۲ «راهنمای آماده‌سازی نمونه و دُزسنجی برای آزمون ایمنی نانومواد ساخته‌شده» اطلاعات مهمی در مورد جنبه‌های ضروری که برای آماده‌سازی نمونه‌های نانومواد برای آزمون، استفاده از دُز و سنجش‌های دُز مرتبط باید در نظر گرفته شود، ارائه شده است [5]. مهم است که نانومواد به‌گونه‌ای آماده و مدیریت شوند که نمایانگر مواجهه بالقوه‌ای باشند، یعنی بتوانند به یک سناریوی مواجهه مرتبط شوند. به‌طور کلی در سنجش‌ها، تداخل‌های بالقوه باید در نظر گرفته شوند [6] [7] [8] [9].

۵-۲-۳ تجویز دُزها

بعد از آماده‌سازی نمونه، مهم است که مقدار دُز تجویز شده و دریافت شده کمی‌سازی و مشخصه‌یابی شود.

۴-۲-۵ بحث در مورد ارتباط بین این استاندارد و استاندارد ISO/TR 13014

1 - Transformation

2 - Organization for economic cooperation and development (OECD)

استاندارد ISO/TR 13014 راهنمای ضروری برای تمام محققانی است که تلاش می‌کنند رابطه بین مواجهه‌های نانوماده و پاسخ‌های زیستی مرتبط را ارزیابی کنند. هرچند تا زمان تدوین این استاندارد، شیوه‌های توصیف شده در استاندارد ISO/TR 13014 به‌طور گسترده مورد استفاده قرار نگرفته‌است. این امکان وجود ندارد که در متون، مراجع زیادی را پیدا کرد که مواد را همانند آنچه در استاندارد ISO/TR 13014 توصیف شده‌است، مشخص‌یابی کرده باشند. برای ارزیابی اینکه آیا مطالعاتی که در منابع موجود در این استاندارد ذکر شده، در نظر گرفته شود که از استاندارد ISO/TR 13014 به‌عنوان معیار استفاده می‌شود.

۵-۳ بحث در مورد تنظیم دُز مرتبط برای غربالگری سم‌شناختی

انسان‌ها و محیط ممکن است از طرق مختلفی مانند استنشاق، بلعیدن، پوستی برای انسان، یا محیط از طریق آب در مواجهه با نانومواد قرار گیرند. غلظت‌های مواجهه برای بعضی از این سناریوها را می‌توان تعیین کرد؛ به عنوان مثال نانومواد هواپُرد^۱ در محیط کار یا تعداد ذرات بر واحد جرم امولسیون‌های (نامیزه‌های) روغن در آب که بر روی پوست اعمال می‌شود. در حال حاضر، غلظت مواجهه نانومواد مهندسی شده و ساخته‌شده برای محیط، ناشناخته است. در حالی که اطمینان از این غلظت‌ها برای ارزیابی ریسک به‌صورت کمی مورد نیاز است، برای مشخصه‌یابی مخاطره با آزمون‌های سطح غربالگری معمولاً مورد نیاز نیست.

هرچند، پژوهشگر انجام‌دهنده آزمایش‌های غربالگری و ارزیابی‌کنندگان داده‌ها باید دقت کنند که ارتباط بین اثر و دُز بیش از حد تفسیر نشود. تا حد امکان پژوهشگران باید از سطوح دُزی استفاده کنند که غلظت‌های تخمینی را نزدیک به مقادیر دُز واقعی تقریب بزنند؛ بنابراین در مطالعات برون‌تنی کشت‌های یاخته‌ای از مجرای تنفسی باید از غلظت‌های مربوط به بار ریه مشاهده شده متعاقب استنشاق استفاده شود و یا در مطالعات برون‌تنی مربوط به کراتینوسیت‌ها باید از سطوح غلظت‌هایی که با دُز مصرفی روی پوست سازگار است استفاده شود. سطوح دُز دیگر را می‌توان برای نشان دادن پاسخ‌های وابسته به دُز، استفاده کرد. این سطوح دُز اضافی غالباً سطوحی اغراق‌آمیز از مقادیر واقعی مواجهه هستند، اما این سطوح به منظور تاکید بر سامانه مورد پژوهش به کار می‌روند. استفاده از مطالعات دُز تک سطحی توصیه نمی‌شود.

۵-۴ بحث در مورد ارتباط بین این استاندارد و استاندارد ISO/TR 16197

این استاندارد در هماهنگی با استاندارد خواهر ISO/TR 16197 تدوین یافته‌است. استاندارد ISO/TR 16197 در مورد روش‌های استفاده شده برای آماده‌سازی نمونه در محیط‌های مرتبط مختلف برای مطالعات سم‌شناختی بحث می‌کند. همچنین موضوعات مربوط به سنجش‌های دُز آزمون‌های سم‌شناختی با در نظر گرفتن راه‌های مختلف تجویز آن ارائه می‌شود. استاندارد ISO/TR 16197، این استاندارد را با حرکت از آماده‌سازی نمونه و دُزسنجی به بحث دقیق‌تر استفاده از روش‌های مختلف غربالگری

سم‌شناختی تکمیل می‌کند. هنگامی که از استاندارد ISO/TR 16197 استفاده می‌شود، مهم است که مطالب این استاندارد را هم در نظر گرفت، زیرا دشواری‌های موجود در آماده‌سازی نمونه و دُرسنجی اغلب به‌صورت یک گلوگاه در ارزیابی سم‌شناختی نانومواد هستند.

۵-۵ مروری بر فعالیت‌های بین‌المللی و استانداردهای مرتبط دیگر

کاربران/ خوانندگان این استاندارد همچنین به نکات مندرج در مدرک OECD «راهنمای آماده‌سازی نمونه و دُرسنجی برای آزمون ایمنی نانومواد ساخته شده» [5] نیز توجه کنند. این استاندارد چشم‌اندازی مبتنی بر مرور دقیق متون موجود در زمان نشر استاندارد را فراهم می‌کند که شامل موضوعات بالقوه‌ای است که باید به آن استناد شوند.

۶ خواص فیزیکی شیمیایی

۱-۶ اندازه ذره، شکل، توزیع اندازه و درجه کلوخگی

وقتی که ذره در محیط جدید قرار می‌گیرد، اندازه آن می‌تواند تغییر کند. برای مثال، برخی از ذرات ممکن است کلوخه‌های ناهمگون یا همگون تشکیل دهند یا برخی دیگر ممکن است کلوخه‌زدایی شوند. مطالعه‌ای با استفاده از نانو و میکرو گویچه‌های پلی استایرین عامل‌دار شده با کربوکسیل انجام شده تا اثر آن بر اندازه با استفاده از دافنیا^۱ به‌عنوان موجود زنده هدف سنجیده شود [10]. مشاهده شد که ذرات بزرگ‌تر به آسانی دریافت شده ولی به آسانی نیز زدوده می‌شوند.

۲-۶ توصیف شیمیایی - ترکیب‌بندی و شناسایی

ترکیب‌بندی شیمیایی نانوماده، که ممکن است به دلیل واکنش با محیط تغییر کند، اجزاء سازنده شیمیایی روی سطح را در نظر می‌گیرد. بنابراین نباید از این ترکیب‌بندی شیمیایی چشم‌پوشی کرد. همچنین، توصیف شیمیایی باید با دقت بسیار در نظر قرار گرفته شود تا قطعی شود که شیمی سطح و اصلاحات سطح در آن لحاظ شده‌است. ناخالصی‌ها نیز باید در نظر گرفته شوند. برای مثال، برخی از نانومواد پایه کربنی ممکن است حاوی هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای باشند که در حین ساخت نانومواد تولید شده‌است.

۳-۶ مساحت سطح ویژه

مساحت سطح مؤثر ذرات منفرد به دلیل افزودن گونه‌های سطح از محیط، انبوهش، کلوخگی یا دیگر عامل‌ها می‌تواند تغییر کند. مهم است که تشخیص داده شود که اغلب روش‌های اندازه‌گیری مساحت سطح تقریب‌هایی تحت شرایط ویژه هستند. این موضوع برای روش‌های جذب سطحی (برجذب) گازی معمول است که با روش‌های بر پایه مایع سازگار نیست. بخشی از تغییرات، ناشی از فرضیات هستند، اما در اغلب حالت‌ها به مقدار زیادی ناشی از اختلاف‌هایی در برهم‌کنش‌های سطح- محیط هستند. مساحت‌های سطح ویژه می‌توانند به جرم ماده یا به حجم ماده به‌نجار شوند.

1 - Daphnia

۴-۶ شیمی سطح

شیمی سطح، شیمی و ساختار شیمیایی خارجی‌ترین لایه‌های ذره را که در معرض محیط هستند، توصیف می‌کند. همچنین، شیمی سطح به نوع و چگالی ناحیه‌ای از گروه‌های سطحی واکنشی بالقوه یا مواضع جذب سطحی فعال باز می‌گردد. هنگامی که سطح برای تسهیل واکنش‌های شیمیایی و فیزیکی بعدی اصلاح می‌شود، اغلب گفته می‌شود که سطح عامل دار شده است.

در مورد شیمی سطح، معمولاً حداقل دو لایه مهم وجود دارد: (۱) خارجی‌ترین لایه شامل مولکول‌های جذب سطحی شده که اغلب قابل مبادله و پویا هستند، (۲) نماینده سطح زیرین ذره دست‌نخورده^۱ که اغلب قابل مبادله نیست ولی مسئول شرایط زیست محیطی، تأثیرگذار بر روی جذب سطحی و آرایش مولکول‌های جذب سطحی شده که جزئی از خارجی‌ترین لایه ذره هستند، است.

اثرات مشاهده شده می‌تواند تحت تأثیر بسیار زیاد شیمی سطح قرار گیرد و عملیات سطحی می‌تواند این اثرات را تغییر دهد. برای مثال، سطح واکنش‌پذیر می‌تواند غیرفعال شود و یک سطح غیرفعال می‌تواند بیشتر واکنش‌پذیر شود. ترکیب‌بندی سطوح عمل‌آوری شده باید به‌عنوان بخشی از ترکیب‌بندی شیمیایی ذره‌ها توصیف شود. مثال‌های بسیاری وجود دارند که ذرات را به‌صورتی که ترکیب‌بندی‌ای بر پایه هسته ذره دارند، توصیف نموده ولی عملیات شیمیایی را توضیح نداده‌اند. نکته قابل توجه این است که روش‌هایی که برای کاوش شیمی سطح به کار می‌روند گرایش به آن دارند که عمق‌های نمونه‌برداری سطحی مختلفی داشته باشند و بنابراین همیشه خارجی‌ترین لایه‌های اتمی را نشان نمی‌دهند. بسیاری از روش‌های حساس به سطح نیز روش‌های خلاء بسیار بالا هستند و بنابراین ممکن است توصیف مناسبی از سطحی که در معرض محیط‌های زیست‌محیطی^۲ مختلف قرار گرفته است، ارائه نکند.

مهم است که هم شیمی سطح ذره دست‌نخورده و هم شیمی سطح ذره حاصل از جذب سطحی زیست‌محیط‌ها توصیف شود. علی‌رغم آنکه خارجی‌ترین لایه تماس اولیه را با محیط خارجی دارد، نمی‌توان فرض کرد که سطح زیرین، یک عامل در برهم‌کنش با محیط خارجی نیست. برای مثال، محیط ممکن است حاوی اجزاء سازنده‌ای باشد که می‌تواند بر روی سطوح ذره جمع شود و هاله‌هایی جزئی یا کامل شکل دهد. حضور هاله ممکن است خواص سطح را به‌گونه‌ای تغییر دهد که بیشتر شبیه سطح هاله بوده و شباهت کمتری به سطح ذره اولیه داشته باشد. بسیاری از نویسندگان مثال‌هایی را ارائه کرده‌اند [11]، مانند تیتانیم دی‌اکسید در سیمان و نقره در غشاها. در مواردی که نانومواد در یک زمینه قرار داده شده و سپس خارج شده، سطح ذرات رها شده می‌تواند با محیط جدیدی که در معرض آن قرار می‌گیرد با فرآیندهایی همچون اکسایش - کاهش

1 -Pristine particle

2 - Environmental mediums

تغییر کند. ممکن است حالتی باشد که سطح هاله گذرا باشد که در آن اثرات مشاهده شده ناشی از ترکیب سطح هاله و سطح زیرین ذره است.

۵-۶ نقطه هم‌بار، پتانسیل زتا و ثابت هاماکر^۱

در بسیاری از موقعیت‌ها، پراکنش، کلوخگی و رسوب‌دهی نانومواد تحت تأثیر نیروهای واندروالس و الکترواستاتیک یون وابسته مرتبط قرار می‌گیرند. این نیروها همچنین جذب سطحی مولکول‌ها از محیط و صورت‌بندی جذب سطحی شده آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نقاط هم‌بار و پتانسیل زتا اندازه‌دهه‌هایی^۲ هستند که اطلاعاتی در مورد بار سطحی یا مُد و وسعت برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک یون در داخل یک محیط را فراهم می‌کنند، در حالی که ثابت هاماکر اطلاعاتی در مورد برهم‌کنش‌های واندروالس ارائه می‌کند.

پتانسیل زتای یک ذره، بار را بر پایه تحرک الکتریکی یک ذره در یک سیال محاسبه می‌کند و به‌عنوان نماینده چگالی بار سطحی استفاده می‌شود. پتانسیل زتا در صفحه برشی یا خارجی‌ترین لایه سیال که هنگام حرکت ذره در میدان الکتریکی همراه آن حرکت می‌کند، محاسبه می‌شود. تعدادی از نظریات مختلف پتانسیل زتا وجود دارد و هر کدام از آن‌ها فرضیات و محدودیت‌های مرتبط خود را دارند. هنگامی که پتانسیل زتا گزارش می‌شود، روش به‌کار برده شده، نظریه مرتبط، شرایط سیال (شامل قدرت یونی، یون‌زایی، pH) باید گزارش شود. زیرا عوامل متعددی، شامل جذب سطحی از محلول، می‌تواند بر روی مقادیر پتانسیل زتا تأثیر بگذارد. اغلب، تغییرات در پتانسیل زتا برای فهم رفتار ماده در محیط‌های پیچیده نسبت به مقدار پتانسیل زتا منفرد ارزشمندتر است [12].

برای مقایسه مواد مختلف، به‌طور معمول اندازه‌گیری پتانسیل زتای یک ماده در آب به‌صورت تابعی از pH با میزان محدود برقکاف^۳ (الکترولیت) تک ظرفیتی زمینه است. متغیرهای کلیدی شامل تعیین نقطه هم‌بار و مقادیر پتانسیل زتا پلاتو^۴ برای مواد مشخص است. نقطه هم‌بار یک نانو ماده pH ای است که در آن ماده پتانسیل زتای صفر دارد. این نقطه همچنین، نقطه بار صفر برای ذره است. هنگام مشخصه‌یابی یک نانوشیء، مجموعه‌ای از اندازه‌دهه‌های توصیه‌شده برای توصیف حالت «بار سطحی» باید تعیین شود. مواردی شامل: نقطه هم‌بار نانوشیء در الکترولیت تک ظرفیتی (در همان شرایط اولیه) و همچنین پتانسیل زتا در محیطی که در آن نانوشیء در مواجهه با آن قرار گرفته و pH یکسانی در آن سامانه دارد. اطلاعات بیشتر در مورد اندازه‌گیری‌های پتانسیل زتا و نقطه هم‌بار، محدودیت‌ها و سودمندی آنها در مرجع [13] قابل دسترسی است. ثابت هاماکر، مقیاسی از پذیرفتاری^۵ دی‌الکتریک ماده است و در رهیافت‌های پیوسته ماکروسکوپی تا برهم‌کنش‌های واندروالس اعمال می‌شود. اگرچه، به دلایل تاریخی، ثابت هاماکر به‌عنوان یک «ثابت» خوانده

1 - Hamaker
2 - Measurand
3 - Electrolyte
4 - Plateau zeta potential
5 - Suceptibility

می‌شود، این مهم است که بدانید که ثابت هاماکر مؤثر می‌تواند با فاصله جدایش ناشی از اثرات تاخیری تغییر کند.

برای محاسبه ثابت هاماکر یک سامانه، توصیه می‌شود ابتدا طیف‌های پذیرفتاری دی‌الکتریک جسم‌های برهم‌کنشی و محیط‌های حائل را استخراج کرده یا به دست آورد. جزئیات آنکه چگونه این پارامترها به دست می‌آیند در جای دیگری توضیح داده شده است [14] [15]. یک رویکرد ساده برای تخمین ثابت هاماکر یک سامانه استفاده از تقریب تابور- وینترتون^۱ است که فقط نیاز به ضریب شکست و ثابت دی‌الکتریک ذره‌های برهم‌کنشی، به طور جداگانه، دارد. به طور نمونه، پراکنش (دوقطبی القائی/ برهم‌کنش‌های دوقطبی القائی) غالب است و گستره جاذبه واندروالس در سامانه به آسانی می‌تواند با تفاوت‌ها در ضرایب شکست استنباط شود. ثابت هاماکر می‌تواند استخراج شود تا یک ماده منفرد در خلاء، یک ماده برهم‌کنش‌کننده در محیط، یا دو ماده مختلف برهم‌کنش‌کننده در محیط را توصیف کند. این مهم است که شکل ثابت هاماکر ذکر شده یا فهمیده شود. از آنجاکه نیروهای واندروالسی اغلب نیروهای جاذبه غالب در سامانه‌های کلئیدی هستند، ثابت هاماکر نشانه‌ای از قابلیت پراکنش نظری نسبی یک ماده مشخص در یک بستره^۲ را فراهم می‌کند. ثوابت هاماکر سامانه‌های ذرات اغلب و نه همیشه شبیه هم‌تاهای توده آن‌ها هستند. نیروی واندروالسی کل وابسته به ثابت هاماکر، هندسه و اندازه ذرات، حضور یا عدم حضور پوشش، لایه‌های گذار یا هاله است. محاسبه نیروهای برهم‌کنش واندروالس از ثوابت هاماکر مفصلاً در مرجع [14] توضیح داده شده است.

۶-۶ اثر شیمی آب بر خواص نانومواد و رفتار پراکنش

عواملی همچون pH، سختی، قدرت یونی، ماده آلی طبیعی^۳ (در مجموع به عنوان «شیمی آب» توصیف می‌شود)، می‌توانند بر روی خواص نانوماده تاثیر بگذارند. برای نانومواد که ممکن است در محیط آزاد شوند، کلوخگی می‌تواند به دلیل جذب سطحی NOM بر روی سطوح ذره تقویت شود [11]. از آنجاکه این جذب سطحی ممکن است اثر تعادلی باشد، اگر غلظت مواد شیمیایی آلاینده در محیط به روشی همچون رقیق کردن کاهش یابد، یا اگر آلاینده‌های رقابت‌کننده در غلظت بالاتر محیا شود، واجدبی NOM (یا دیگر گونه‌های جذب سطحی شده) می‌تواند اتفاق بیفتد.

۶-۷ آماده‌سازی پراکنه‌های مایع

حضور گونه‌هایی که پراکنش را تقویت می‌کنند نیز می‌تواند سایر خواص مانند شیمی سطح را تغییر دهد [1]. این گونه‌ها ممکن است به صورت طبیعی در محیط وجود داشته باشند و یا برای ارزیابی به محیط اضافه شوند، یا ممکن است به صورت جداگانه به ماده آزمون به عنوان بخشی از آماده‌سازی اضافه شوند.

پراکنش نانواشیاء در یک محیط، نه تنها وابسته به شیمی مواد موجود بوده، بلکه وابسته به مقدار نیروی برشی اعمالی روی نمونه است. در بسیاری از سناریوها، اغلب بازتولید انرژی برشی طبق یک قرارداد^۴

1 - Tabor- Winterton

5 - Matrix

3- Natural organic matter (NOM)

4 - Protocol

مشکل تر از بازتولید شیمی کاربردی است. در حال حاضر، قراردادهای جزئیات پراکنش برای نشانه‌دهی بهتر این متغیرهای ورودی انرژی توسعه یافته‌اند [16]. ذکر این نکته مهم است که میزان نظری و عملی انرژی پراکنش برای پراکنده نمودن یک نمونه وابسته به اندازه ذره است. در نانوآشیاء برای رسیدن به کوچک‌ترین اندازه با قابلیت پراکنش بدون شکست، نیاز به انرژی برشی چندین مرتبه بیشتر نسبت به مواد ماکروسکوپی، غیرمعمول نیست. این به دلیل پیوستگی‌های بسیار بیشتر نانوآشیاء است که باید شکسته شوند و همچنین اثر افزایش یافته نیروهای سطحی بر این پیوستگی‌ها است.

۶-۸ ساختار بلوری

برخی از نانومواد شکل‌های بلورین مختلفی دارند و در هر یک از این شکل‌ها می‌توانند تأثیرات متفاوتی داشته باشند. اگر ساختار بلوری مختلفی ممکن باشد، باید مشخص شود که کدام (کدام‌ها) موجود است (هستند). برای بسیاری از مواد، نقص‌های بلور^۱ و ناخالصی‌ها/ دوپنت‌ها^۲ به‌طور قابل توجهی رفتار نانومواد را تغییر می‌دهند. اندازه بلورک^۳ و کرنش سامان^۴ ظاهری از دیگر عوامل مهمی هستند که باید در نظر گرفته شوند. از آنجایی که تفکیک‌پذیری دستگاه، روش تحلیل و فرضیات به‌طور قابل ملاحظه‌ای روی خروجی‌ها تأثیر می‌گذارد، نیاز است که روش‌ها و فرضیاتی که برای به‌دست آوردن این مقادیر استفاده می‌شود، به دقت گزارش شود.

۶-۹ تنش فصل مشترک (میانا)^۵ یا انرژی سطحی

تفاوت بین انرژی‌های سطحی ماده آزمون و محیط‌هایی که این ماده به آن اضافه می‌شود روی ترشوندگی و در نتیجه قابلیت پراکنش یا جذب آن تأثیر می‌گذارد. برای به‌دست آوردن توزیع انرژی سطحی یا تنش سطحی بحرانی نانوآشیاء چندین روش وجود دارد که می‌توان از آنها استفاده کرد. به‌هرحال، هر روشی پیش‌بینی‌های احتیاطی خود را دارد. روش‌های معمول شامل جذب بخار، آزمایشات حرارت ناشی از میکروگرماسنجی غوطه‌وری، آزمایشات افزایش موینگی واشبرن^۶، تشکیل حبه به همراه اندازه‌گیری‌های زاویه تماسی مرسوم، آزمایش شناوری لایه، قسمت‌بندی مایع-مایع و آزمایش پتانسیل کلوخگی هستند. برای تعیین انرژی سطحی یا تنش سطحی بحرانی، پودر نانوماده تحت آزمون باید با چندین مایع با تنش سطحی مختلف و چندین مایع با قطبش‌های گوناگون و با سهم‌های ترشوندگی پراکنده‌شونده مختلف تحقیق شود. همانند تعیین انرژی سطحی برای فصول مشترک ماکروسکوپی، روش‌های مختلف و رویکردهای اندازه‌گیری اغلب با یکدیگر توافق ندارند.

1 - Crystal defects
 2- Dopants
 3 - Crystallite
 4 - Domain strain
 5 - Interfacial tension
 6 - Washburn

۱۰-۶ حل پذیری

طبق زیربند ۵-۲-۱-۴، گونه‌های حل شده (یا گونه‌های آزاد) ممکن است پروفایل سم‌شناختی به‌طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت از ذرات ریز، همانند آنچه در زیربند ۵-۲-۱-۳ نشان داده شده‌است، داشته باشد. علاوه بر آن، پروفایل انحلال وابسته به محیط‌ها و غلظت هستند و باید تحت شرایط مرتبط مشخص شوند. این موضوع مخصوصاً مربوط به برخی از نانومواد است که با عناصر سازنده دارویی فعال API^۱ ترکیب می‌شوند تا سمیت را کاهش دهند (با کاهش مواجهه با اندام‌ها و بافت سالم با API).

۷ ملاحظات آماده‌سازی نمونه نانومواد در محیط مواجهه در مطالعات سمیت اقلیمی

۱-۷ کلیات

۱-۱-۷ مقدمه‌ای بر دانش موجود

مطالعات سمیت اقلیمی به‌منظور ارزیابی اثرات بالقوه رهایش نانومواد در محیط انجام می‌شود. ارتباط بین این مطالعات با مواجهه زیست‌محیطی واقع‌گرایانه باید واضح بوده و این ارتباط تضمینی باشد. برای مثال، اگر یک مطالعه بکوشد تا مواجهه اکسید روی با اندازه ذره خاص را که در فرمول‌بندی ضدآفتاب استفاده شده و در آب سطحی رها شده و در مواجهه با ماهی قرار می‌گیرد، مدل‌سازی نماید، باید تضمین کند که اندازه ذره مورد استفاده در آزمون، نماینده نانوماده‌ای در محیط است و لزوماً اندازه ذره مورد استفاده در ضد آفتاب نیست، زیرا ممکن است اندازه ذره زمانی که به محیط زیست وارد می‌شود، تغییر کند. یک مثال برای نانوذرات آلومینیم که در میان زمینه‌های خاک و ماسه منتقل می‌شود، ارائه شده‌است [4]. ماتریس ارزیابی برای شبیه‌سازی یک خاک حقیقی طراحی شده‌است که در آن آلومینیم به دلیل مواجهه زیست‌محیطی حضور دارد. اندازه‌گیری‌های بیشتر برای شبیه‌سازی تغییرات بالقوه در بستره ناشی از افزودن آب‌های سطحی انجام شده است. برای برخی از آزمون‌های سمیت اقلیمی اطلاعات مندرج در زیربند ۸-۱ ممکن است مفید باشد.

۲-۱-۷ رفتار زیست‌محیطی

رفتار نانوذرات از محیطی که آن‌ها را احاطه کرده‌اند، تأثیر می‌پذیرد. برای مثال، CNT در آب خالص تأثیرات متفاوتی بر روی اندامگان‌های زنده در مقایسه با CNT در محیطی همچون آب حاوی NOM یا سرم دارد. مثال‌ها از قبیل: (۱) CNT‌های آزموده‌شده در آب رودخانه سوانی^۲ [17] و (۲) آلومینیم استفاده شده در یک مطالعه مدل از نانوذرات پراکنده شده در خاک که در آن از BET، TEM و DLS استفاده کرده‌اند، مواد نشان داده‌اند که شروع به انبوهیده شدن می‌کنند و در طول آزمون بیشتر کلوخه می‌شوند [4]. به دلیل پیچیدگی محیط زیست و دگرگونی‌های بالقوه، سامانه‌های آزمون اغلب نیاز دارند با استفاده از سامانه‌های مدل تنظیم شوند یا پیچیدگی‌ها را کاهش دهند تا موقعیت‌های خاص را شبیه‌سازی کنند و بتوانند به

1 - Active pharmaceutical ingredient (API)

2- Suwannee

سوالات موشکافانه پاسخ دهند. از آنجاکه بسیاری از سامانه‌ها بسیار حساس هستند و می‌توانند فقط مربوط به یک نانوماده باشند، شرایطی که برای پاسخ به یک سوال مناسب است، ممکن است به دلیل تغییرات در عواملی همچون pH، قدرت یونی، NOM، نور خورشید، جابه‌جایی تعادل و غیره برای پاسخ به سوال دیگر مناسب نباشند. برای مثال، نانونقره تعادلی بین شکل یونی و جامد دارد به‌گونه‌ای که اندازه‌گیری اندازه انجام‌شده در محیط‌های مایع نیاز به شرایطی دارد که به خوبی برای اندازه‌گیری تعریف شده باشد (جرم اولیه، دما، میزان مایع) و نتیجه ممکن است فقط برای آن شرایط معتبر باشد [18].

۳-۱-۷ دگرگونی و تخریب

برخی از نانومواد می‌توانند در مواجهه با بستر زیستی / زیست‌محیط تغییر کنند. به‌عنوان مثال، نانوآهن به سرعت اکسید شده و تبدیل به اکسیدهای آهن می‌شود و موادی مانند اکسید روی و نقره به مقدار کمی حل می‌شوند. در مثال نانونقره، مطالعه جدید [19] نشان داده‌است که ذرات نقره می‌تواند حل شود و پس از یک دوره زمان طولانی‌تر ذرات نانونقره تشکیل شود. گزارش‌های مکتوبی وجود دارند که نشان می‌دهند که نانونقره در نهایت ذرات نانوسولفید نقره را تشکیل می‌دهند [19]. در مطالعه آلومینیم، دگرگونی ماده آزمون منجر به افزایش مؤثر در اندازه ذرات ناشی از کلوخگی می‌شود و تحرک نانومواد را در محیط آزمون کاهش می‌دهد [4].

۴-۱-۷ تجمع زیستی^۱

تجمع‌زیستی به‌عنوان انباشت یک ماده، همچون ماده شیمیایی سمی در بافت‌های مختلف اندامگان زنده توصیف می‌شود. تجمع‌زیستی همچنین برای نانومواد ساخته‌شده و مهندسی‌شده باید مورد توجه قرار گیرد. برخی از نانومواد ممکن است به آسانی تخریب نشوند، برای مثال برخی اکسیدهای فلزی. سایر نانومواد پایدار نیستند، مانند سیلیس بی‌شکل، اکسید روی و نقره، که قابلیت حل‌پذیری محسوسی تحت بسیاری از شرایط زیست‌محیطی دارند و بنابراین تجمع‌زیستی ندارند.

۲-۷ کارایی روش آزمون و دُزسنجی

۱-۲-۷ توزیع زیست‌محیطی

۱-۱-۲-۷ کلیات

بیشتر نانومواد در مقادیر بسیار کم استفاده می‌شوند. آشکارسازی آن‌ها پس از آزادسازی در محیط زیست مشکل بوده و ممکن است نیازمند تجهیزات پیچیده و روش‌های آنالیز باشد. اگر عناصر این نانومواد به‌طور طبیعی در محیط حضور داشته باشند، تداخل ناشی از غلظت طبیعی پس‌زمینه باید مورد ارزیابی قرار گیرد.

۲-۱-۲-۷ روش‌ها

به دلیل غلظت کم و بسیاری از تداخل‌های بالقوه که در محیط برای نانومواد وجود دارد، راهبرد دقیقی برای تعیین بسیاری از نانومواد مورد نیاز است. در ارزیابی توزیع زیست‌محیطی که شامل انگشت‌نگاری ایزوتوپ‌ها می‌باشند، روش‌هایی می‌توانند مفید واقع شوند که نیازمند تجهیزات تخصصی است که به سادگی هم در دسترس نیست. در حالت ایده‌آل، روش انتخابی باید با دقت زیادی برای نانومواد موردنظر حتی در داخل زمینه‌های گزینش شده باشد. به‌عنوان یک مثال روش طیف‌سنجی جرمی است (به طور مثال ICP-MS) که توانایی تشخیص بسیاری از فلزات را با غلظت‌های خیلی کم دارد. در برخی موارد نیز ممکن است بتوان نمونه غلیظ‌تری تهیه کرد تا به غلظت رقیق زیست‌محیطی غلبه کند، اگرچه باید توجه داشت که فرآیند تغلیظ بر روی ویژگی‌های کلیدی نمونه تاثیر نداشته باشد [18]. آشکارسازی نانومواد پایه کربنی در زمینه‌های زیستی و زیست‌محیطی به دلیل کربن‌های دیگری که به‌صورت طبیعی در محیط حضور دارند، بسیار دشوار است اما در صورتی که مقادیر کمی از کاتالیزگرهای فلزی در غلظت یکنواخت وجود داشته باشند، در برخی موارد امکان آشکارسازی به‌صورت غیرمستقیم وجود خواهد داشت. چشم‌انداز خوبی از این موضوع را در مرجع [18] می‌توان یافت. هنگام تهیه نمونه‌های نانومواد به‌عنوان مواد آزمون در مواجهه با اندامگان زنده باید به موارد مشابه توجه کرد.

۳-۱-۲-۷ دُزبندی^۱ و آماده‌سازی نمونه برای مطالعات سرنوشت فیزیکی شیمیایی

عوامل زیادی باید در آماده‌سازی نمونه در نظر گرفته شود تا در نهایت مقدار مورد هدف تحویل داده شده^۲ نماینده ذرات در محیط باشد. روش‌هایی مانند سونیک کردن^۳ و عوامل پراکنده‌ساز برای پراکندگی یکنواخت نانوذرات در محیط‌ها مورد نیاز است بجز در مواردی که کلوخگی در ارزیابی نانوذرات موردنظر باشد. اگر عوامل پراکنده‌ساز مورد استفاده قرار بگیرند باید کنترل‌های خاص آنها نیز در مطالعات گنجانده شوند تا توانایی بالقوه این عوامل در ایجاد تاثیرات مشاهده شده مورد ارزیابی قرار گیرند. برای مثال، اگر نانوذره برای اثرات سم مورد بررسی قرار گیرد، عوامل پراکنده‌ساز نباید در اثرات سم نقشی داشته باشند.

برای مطالعه نانومواد در شکلی که بیشتر پراکنده شده بهتر است ترجیحاً مواد فقط از اجزاء سازنده زیست‌محیطی یا ترکیبات منطقی که بر روی سطح نانومواد قرار دارند، پراکنده شوند. در صورت امکان بهتر است مواد در محلول‌های ساده (مانند آب و تنظیم pH) با غلظت بالاتر پراکنده شوند سپس در داخل زمینه زیست‌محیطی وارد شوند تا بدون ایجاد تغییر شیمیایی، حلال مورد نظر به غلظت مطلوب برسد. اگر یک ماده پراکنده‌شده در یک زمینه با دُز مشخص وارد شده و کلوخه شود، سپس شرایط محلول آن زمینه زیست‌محیطی، کلوخگی را تسهیل می‌کند. محققان باید این موضوع را در نظر داشته باشند که نانومواد ممکن است عملاً در حالت پراکنده‌شده تحت شرایط زیست‌محیطی طراحی‌شده در دسترس نباشند.

1 - Dosage
2 - Deliver
3 - Sonication

۷-۲-۲ تخریب و دگرگونی

۷-۲-۲-۱ روش‌های تخریب

روش‌ها با توجه به مواد مورد مطالعه، تغییر خواهند کرد. باید در نظر داشت که شیمی هر نانوماده چگونه می‌تواند تخریب را تحت تاثیر قرار دهد. به‌طور مثال، مشخص است که آهن تحت شرایط خاصی به راحتی می‌تواند اکسایش یابد. اگر نانواهن مورد مطالعه قرار گیرد، اکسایش بالقوه آن به اکسیدهای آهن نیز باید مدنظر قرار گرفته و به آن ارجاع شود.

۷-۲-۲-۲ دُزبندی و آماده‌سازی نمونه برای مطالعات تخریب

نمونه‌ها باید به‌گونه‌ای آماده شوند که نماینده آن‌چه که در محیط ممکن است اتفاق بیفتد، باشند. این‌گونه آماده‌سازی نمونه شامل ارزیابی شکل نمونه ماده آزمون به هنگام ورود به محیط می‌باشد که ممکن است شکل آن متفاوت از شکل هنگام تولید و یا شکل هنگام استفاده آن باشد. یک موضوع معمول برای اکثر نانومواد گرایش آنها به انبوهه یا کلوخه شدن سریع است. اکثر دانشمندان از انرژی و عوامل پراکنده‌ساز استفاده می‌کنند تا تعلیقه‌های پایدار برای نانومواد ایجاد کنند، هرچند نمی‌توان تشخیص داد که این شرایط منجر به تولید شکلی از نانومواد می‌شود که تحت شرایط طبیعی زیست‌محیطی یافت نمی‌شوند یا تشخیص داد که برخی از عوامل پراکنده‌ساز در اثرات سم سهیم هستند یا خیر؟ هنگام استفاده از عوامل پراکنده‌ساز، لازم است تا اطمینان حاصل شود که آن‌ها بر نتایج ارزیابی اثرات زیستی نیز تاثیری نداشته باشند [20]. در مرجعی که اینجا به آن ارجاع داده شده است، کمینه تاثیر برای نانومواد پایه کربنی است که با عوامل فعال‌ساز^۱ سطحی غیریونی پراکنده شده‌اند با این وجود نتایج به موجود زنده هدف نیز وابسته هستند.

۷-۲-۳ تجمع‌زیستی

۷-۲-۳-۱ روش‌های غلظت‌زیستی و تجمع‌زیستی

روش‌هایی که مورد استفاده قرار می‌گیرند باید نماینده سناریوهای واقع‌گرایانه و روابط توصیف‌شده باشند. برای مثال اگر موجودات زنده بخشی از آزمون باشند، باید اطمینان حاصل شود که مسیر جذب مدل خوبی برای چگونگی اتفاق افتادن فرآیند جذب در محیط زیست است.

۷-۲-۳-۲ دُزبندی، مواجهه و آماده‌سازی نمونه برای مطالعات تجمع‌زیستی

غلظت‌های مورد استفاده باید مشابه با مواجهه‌های محیطی باشند. روش‌های مواجهه باید بازگوکننده سناریوهای واقع‌گرایانه باشند. آماده‌سازی نمونه‌ها به‌گونه‌ای باشد که منجر به دُز و مواجهه‌ای شود که مشخصه سناریو توصیف‌شده است. در مطالعه تیتانیم دی‌اکسید [21]، مجموعه‌ای از زمینه‌های آزمون‌های بر پایه آب تولید شده با استفاده از تغییر pH ها، الکترولیت‌ها و NOM در آب آزمون مصنوعی و یک

1 - Surfactant

مجموعه از آنها از منابع طبیعی و شهری است. جای تعجب ندارد که تغییرات محسوسی در قطر ذرات دیده خواهد شد و این امر می‌تواند بر تعیین تأثیرات وابسته به اندازه ذرات موثر باشد.

۸ روش‌هایی برای آماده‌سازی نانومواد برای مطالعه سم‌شناختی بر روی پستانداران برای اطمینان از مقدار صحیح دُز

۱-۸ موضوعات قابل توجه در آماده‌سازی پراکنه پایه^۱

برخی از دانشمندان باور دارند که برای پیش‌بینی بهتر تأثیر واکنش‌های شیمیایی (شامل نانومواد)، مطالعات درون‌تنی نسبت به مدل برون‌تنی که داده‌های بدست آمده از لحاظ زیستی به تأثیرات بالقوه در انسان نزدیک‌تر است، ارجحیت دارد. در این مطالعات، مواد و غلظت‌های واقع‌گرایانه باید به کار برده شود و ارتباط سطوح مواجهه تضمین شود. با استفاده از همان مثالی که در زیربند ۷-۱-۱ شرح داده شد، اگر در یک مطالعه تلاش می‌شود که مواجهه ذرات اکسید روی با اندازه ذرات خاصی که در کرم‌های ضد آفتاب استفاده می‌شود، مدل‌سازی شود، باید از این که اندازه ذرات مورد استفاده در آزمون معرف اندازه ذرات در «دنیای واقعی» پس از استفاده از ضدآفتاب است، اطمینان حاصل کرد. اندازه ذرات نانومواد قبل از اضافه کردن به کرم ضد آفتاب (یا حتی اندازه آن در ضد آفتاب) الزاماً با اندازه ذرات حین استفاده از کرم برابر نیست زیرا ممکن است موقع استفاده از کرم این اندازه‌ها دچار تغییر شوند. پراکنه باید مناسب‌ترین اندازه‌ها را شبیه‌سازی کند.

۲-۸ اهمیت پایش پایداری پراکنه‌های آزمون حین آزمایشات

به‌منظور حصول اطمینان بیشتر از تنظیم دُز یکنواخت، پراکنه‌ها باید بر اساس پایداریشان طی کل دوره تناوب تنظیم دُز مورد ارزیابی قرار گیرند. برخی نانومواد که در کل یک محیط به‌صورت کاملاً یکنواخت پراکنده می‌شوند ممکن است به‌صورت لایه‌ای از ذرات بالای آن محیط از هم جدا شده و دیگر پراکنده نشوند یا ذرات روی سطوحی مانند دیواره‌های ظرف به‌گونه‌ای بنشینند که دُز به‌صورت موثری به آن‌چه در نهایت حیوانات تحت آزمون در معرض آن قرار می‌گیرند، کاهش یابد. آنالیز میکروسکوپی الکترونی عبوری (TEM) بافت‌ها از حیوانات تحت آزمون می‌تواند اطلاعات مرتبطی از مواجهه داخلی با نانوذرات و کلوخگی آن‌ها در اندام‌های هدف را در اختیار قرار دهد.

۳-۸ ملاحظات خاص برای محلول نمک‌های کاراندام‌شناختی استفاده شده در مطالعات پستانداران

محلول نمک‌های کاراندام‌شناختی خواص متفاوتی نسبت به آب دارند و همچنین رفتار هر کدام از محلول نمک‌ها در کل نماینده پستانداران و یا پستانداران خاص هستند که البته نیاز است تا به آن رجوع شود. برای مثال نانوذرات اکسید فلزی در محلول نمکی بافر فسفات می‌تواند منجر به کم اثرپذیرسازی ناخواسته سطح با فسفات شود و یا در سایر مواد منجر به انحلال ذرات طی برهم‌کنش‌های هم‌آرا^۲ شود.

1 - Stock dispersion

2 - Coordination

۸-۴ راه‌های تحویل پراکنه‌های نانوماده و رفتار آن‌ها در مطالعات پستانداران

۸-۴-۱ مواجهه مجرای تنفسی

برای ارزیابی ریسک نانومواد استنشاقی، آزمون بر حسب استنشاق در جانوران جونده پرهزینه و از لحاظ فنی بسیار سخت است و نگرانی‌هایی در مورد سلامت جانوران بوجود می‌آورد. این روش را فقط زمانی که تمام روش‌های در دسترس برون تنی پاسخگو نباشند، به‌عنوان آخرین راه حل می‌توان مورد توجه قرار داد. مواجهه کل بدن طبیعی‌تر از مواجهه از طریق استنشاق، است [22]. هنگامی که مواجهه کل بدن استفاده می‌شود، تحویل نانومواد از راه‌های دیگر (از طریق دهان یا پوست) را نیز می‌توان مدنظر قرار داد. مواجهه فقط از طریق بینی نیازمند حیواناتی است که در داخل محفظه‌ها مهار^۱ شوند که منجر به ناتوانی در خوردن و نوشیدن در حین مواجهه، امکان برافروخته شدن آن‌ها و همچنین امکان خفه‌شدن حین اقدام به چرخش در لوله می‌شود. استرس تجربه‌شده توسط حیوان در این شرایط، گاهی موجب اختلال در نتایج می‌شود. جایی که مواجهه از طریق فرآیندهای تنفس معمولی انجام می‌شود، مشابه مواجهه با نانوذرات خشک است و روش آزمون باید تضمین کند که تغییرات اندازه ذرات همانند آن‌چه ذره ممکن است هنگام حرکت از محیط خشک به یک محیط مرطوب حین تنفس تجربه می‌کند، درنظر گرفته‌شده و به آن ارجاع شود. بسیاری از مواجهه‌های تنفسی در پستانداران نیز با تزریق انجام شده‌است که با استفاده از دُزهای بالای موضعی انجام شده و منجر به اضافه بار نانومواد نسبت به استنشاق می‌شود [23]. در چنین مطالعاتی، ارتباط مسیرهای مواجهه و غلظت‌ها باید درنظر گرفته‌شده و توصیف شود. همچنین در الگوی رسوب‌دهی نشان داده شده‌است که تزریق ذرات نسبت به روش استنشاق در ریه کمتر انباشت شده و تلاش برای جدا کردن نانومواد معلق در دستگاه ضروری است. هرچند، سیستم دفاعی ریه احتمالاً توسط افزودن ذرات معلق در مایع به سطح ریه، تحت‌تاثیر قرار می‌گیرد [24]. نرخ دُز و شکل (تعلیقه مرطوب به جای ابر خشک) نیز بسیار متفاوت از استنشاق است، بنابراین توصیه می‌شود در هنگام تفسیر داده‌های تولیدشده از مطالعات تزریق (داخل ریه) احتیاط شود.

۸-۴-۲ مواجهه از راه دهان

مواجهه از راه دهان به‌طور معمول برای درک پیامد بلع مستقیم نانومواد به‌عنوان بخشی از منبع غذایی یا به‌طور غیر مستقیم از پاکسازی ریوی و یا انتقال خارجی ساده از سطوح دهان به مسیر گوارش به کار می‌رود. هر یک از این سناریوها می‌توانند نانومواد را واقع‌گرایانه در حالت‌های بسیار متفاوتی از کلوخگی و غلظت موثر بازتاب دهند. حامل به‌کار گرفته شده به منظور تحویل نانومواد باید با دقت در نظر گرفته شود تا به‌صورت واقع‌بینانه سناریو مواجهه را نشان دهد و از برآورده شدن الزامات لازم و پاسخگویی به سوالات خاص اطمینان حاصل شود. توجه به این نکته حائز اهمیت است که هنگامی که ماده‌ای ذره‌ای ریز از طریق مجرای معده‌ای-روده‌ای انتقال می‌یابد، به علت محیط‌های مختلفی که با آنها مواجه می‌شود، احتمالاً تغییر می‌کند (مانند کلوخگی، انحلال و احتمالاً رسوب مجدد). توصیه می‌شود در تفسیر نتایج اطمینان حاصل

شود که این اثرات ناشی از نانوماده باشد و نه از شکل‌های یونی ماده. باید در نظر گرفته و اشاره شود که چگونه اندازه ذره تغییر می‌کند و به سناریوهای واقع‌گرایانه مرتبط می‌شود. استفاده از گاوژ^۱ به دلیل چسبیدن نانومواد به اطرافش می‌تواند منجر به تخمین کم‌تر شود. علاوه بر این، این روش مواجهه قابل‌مقایسه با هیچ‌یک از روش‌های قابل‌انتظار در مواجهه انسان نیست و می‌تواند با اثرات مضر مانند ریفلاکس همراه باشد که می‌تواند منجر به اثرات شدید تنفسی و مرگ و میر شود.

۳-۴-۸ مواجهه پوستی

مواجهه پوستی در موارد خاص کاربرد ویژه‌ای دارد، به‌عنوان مثال، زمانی که نانوذرات در زمینه‌های مایع پراکنده می‌شوند. روش‌ها باید به نحوه پراکنده شدن نانوذرات به‌صورت یکنواخت (اگر یکنواخت نباشد توضیحات بیشتر مورد نیاز است) اشاره کنند و این می‌تواند با مواجهه واقع‌گرایانه مرتبط باشد. در تحقیق بر روی اکسیدروی، محققان از پوست انسان برای آزمودن کرم ضدآفتاب تجاری به‌عنوان منبع نانوذرات استفاده کردند [25]. این رویکرد به‌طور واضح سعی در توسعه یک سناریو واقع‌گرایانه برای مواجهه انسان و نانومواد در کاربرد تجاری داشت.

۴-۴-۸ راه‌های تزریق

همانند سایر محیط‌های مایع، باید در نظر گرفته شود که چگونه ذرات می‌توانند از ذرات خشک به ذراتی که در محیط مایع هستند تغییر کنند. اگر از شیوه‌های پراکنده‌سازی استفاده می‌شود، باید به چگونگی ارتباط روش پراکنده‌سازی با سناریوی واقع‌گرایانه اشاره شود و اثرات زیست‌شناختی بالقوه از هر کدام از عوامل پراکنده‌سازی باید در نظر گرفته شده و ارجاع شود. توصیه می‌شود سناریوهای مواجهه توصیف شوند تا روشن شود که آیا زمینه مواجهه بالقوه در استفاده از یک نانوماده را نشان می‌دهد یا اینکه مواجهه یک مواجهه بیش از حد است که موجب یک پاسخ زیستی خواهد شد. تجویز با تزریق می‌تواند منجر به رسوب ذرات در محل تزریق شود و در نتیجه مقدار ظاهر شده ذر کمتر از ذر تزریقی می‌شود.

از آنجایی که تزریق هر ماده و به‌طور خاص مواد جامد به یک اندامگان زنده می‌تواند منجر به برهم‌کنش‌های قابل توجهی شود، پایه و اساس انجام چنین آزمایش‌هایی باید به خوبی تشریح شود. همچنین اینکه چگونه اثرات بالقوه کشنده کاهش می‌یابد و نحوه استفاده از نتایج باید به خوبی توصیف شوند.

۹ روش‌های آماده‌سازی نمونه‌های نانومواد برای استفاده در کشت یاخته‌ای

۱-۹ کشت‌های یاخته‌ای و پراکنش نانومواد در محیط کشت

۱-۱-۹ کلیات

مطالعات کشت یاخته‌ای مستلزم روش‌هایی برای پراکنش نانومواد است به‌گونه‌ای که یاخته‌ها به طور مساوی در مواجهه قرار گیرند. نانومواد نشان داده‌اند که در مایعات کاراندام‌شناختی کلوخه می‌شوند که منجر به رسوب نایکدست^۲ نانومواد می‌شوند که در یاخته انبوهیده شده‌اند. نانومواد از طریق ترکیب رسوب‌گذاری (به

1 - Gavage

2 - Uneven

عنوان مثال، رسوب به علت نیروی جاذبه در یک جسم با جرم) و نیروهای براونی (به عنوان مثال، رسوب به علت حرکت تصادفی براونی) [26] [27] بر روی یاخته‌ها ته‌نشین می‌شوند. نیروی رسوب‌گذاری، تابعی از اندازه کلوخه و چگالی است، در حالی که نیروی براونی فقط تابعی از اندازه کلوخه است [28] [29]. بنابراین رسوب نانومواد بستگی به اندازه، شکل، چگالی و کلوخگی آنها دارد و این خواص در تنظیم دُز در نظر گرفته شود [26].

علاوه بر خواص نانومواد، سازماندهی یاخته‌ها در کشت برون‌تنی مواجهه کل نانوماده را در بر می‌گیرد. به عنوان مثال، یک مطالعه اخیر در مقایسه با جهت‌گیری یاخته‌ای (به سمت بالا در مقابل آن در جهت عکس) در یک کشت برون‌تنی نشان می‌دهد که نانومواد روی یاخته به وسیله رسوب‌گذاری در موقعیت به سمت بالا و در نیروی براونی فقط در جهت عکس ته‌نشین می‌شوند [29]. قرار دادن نانومواد در انتهای چاهک‌های کشت یاخته ممکن است منجر به اثرات اضافه بار شود که می‌تواند به اشتباه به عنوان سمیت یاخته‌ای تعبیر شود [30]. بنابراین، اصلاح در الگوی دُزسنجی نمونه برای تولید رسوب نانومواد یکنواخت برای پیش‌بینی بهتر و همبستگی اصلاح چنده عملیاتی با پاسخ، ضروری است. این تغییرات در دُزسنجی عبارتند از: (۱) ملاحظات مربوط به پراکنش نانومواد در محلول تنظیم دُز، (۲) ملاحظات مساحت مواجهه در برنامه تنظیم دُز (ممکن است در برخی موارد از حجم بهتر باشد) و (۳) ملاحظات سناریوهای مواجهه مرتبط. تأثیر بالقوه اندوتوکسین‌ها (درون‌زهرابه‌ای)^۱ باید در نظر گرفته شود. جزئیات بیشتر در مورد نحوه انجام این کار در استاندارد ISO 29701 یافت می‌شود [31]. همچنین اثرات محیط‌های کشت، مانند منابع کنترل نشده ناخالصی‌ها، می‌تواند از اهمیت زیادی برخوردار باشد. یک رویکرد در مورد چگونگی انجام این کار در استاندارد ISO 19337 شرح داده شده است [6].

۹-۱-۲ ملاحظات برای پراکنه نانومواد در محلول تنظیم دُز شده

اگر نانوماده در آب قابلیت پراکنده شدن داشته باشد، کلوخگی با ساخت پراکنه پایه در آب خیلی خالص و سپس پراکنش حجم کوچکی از این مواد در داخل محیط کشت یاخته یا بافر دیگری، کاهش می‌یابد [32]. به عنوان راه حل جایگزین، اگر حجم‌های کوچک‌تری مورد استفاده قرار گیرد، نانوماده را می‌توان در داخل آب خالص تنظیم دُز کرد [5] [33]. در صورت نیاز، روش‌های دیگری نیز برای بهبود پراکنش نانوماده از جمله استفاده از پراکنده‌سازها، برای مثال پروتئین مانند آلبومین، استفاده از عوامل فعال‌ساز سطحی مانند چندجذبیده‌ها^۲، یا استفاده از حلال‌هایی مانند دی‌متیل سولفوکسید، می‌تواند استفاده شود. روش‌های فیزیکی و مکانیکی مانند سونیکیت کردن می‌تواند برای دست‌کاری قدرت یونی و pH محیط پراکنش استفاده شود [34]. روش‌های کنترلی مرتبط را نیز می‌توان بر این سنجش افزود تا اطمینان حاصل شود که پپتیدها یا لیگاندهای آلی اضافه شده بر آن که چگونگی فعل و انفعال نانوماده با سطح یا چسبندگی یاخته‌ها به سطح^۳ کشت تأثیری ندارد.

1 - Endotoxin
2 - Polysorbate
3 - Plate

سرمی که به محیط کشت افزوده می‌شود اغلب حاوی سرم آلبومین گاوی^۱ (BSA) است به‌عنوان پراکنده‌ساز مفید است. سرم BSA تعلیقه نانوماده را با تشکیل پوشش بر روی سطح آن پایدار می‌کند، که به‌عنوان کرونا شناخته شده و منجر به کاهش انبوهش می‌شود. استفاده از BSA به‌عنوان پراکنده‌ساز تأثیر کمی بر روی تعادل پروتئین در کشت یاخته‌ای دارد و به جلوگیری از پاسخ مثبت کاذب سمیت یاخته‌ای کمک خواهد کرد. این پاسخ، از کاهش تغذیه یاخته ناشی از جذب سطحی مواد مغذی از طریق محیط کشت بر روی سطوح نانوماده نشأت می‌گیرد [6] [35] [36] [37] [38]. به علاوه وجود سرم در پراکنده‌های نانوماده بیشتر مرتبط با شرایط کاراندام‌شناختی است و موجب بهبود جذب نانوذرات توسط یاخته‌های کبدی می‌شود [39]. از آن‌جا که سرم و BSA حاوی تعداد ناشناخته و متغیر اجزاء است، استفاده از BSA با خلوص بالا، یا محیطی که از لحاظ شیمیایی تعریف شده و از منابع غیر حیوانی ساخته شده‌است، را باید در نظر داشت [5] [33]. علاوه بر این، در نظر گرفتن ارتباط فرمولاسیون محیط کشت با زمینه و مواجهه مرتبط بسیار حائز اهمیت است.

۹-۱-۳ ملاحظات سناریو مواجهه مرتبط

در آزمون مواجهه انسان، نانومواد با تعدادی مولکول زیستی، که اغلب به کرونای پروتئینی یا کرونای زیستی منسوب هستند، پوشش داده می‌شود. طبیعت کرونا علاوه بر راه‌های مواجهه به ویژگی‌های سطحی نانوماده نیز وابسته است [40]. بنابراین توصیه می‌شود هر روش احتمالی مواجهه انسانی از پیش مورد آزمون سمیت نانویی قرار گیرد. به‌عنوان مثال، توصیه می‌شود پیش از مواجهه برون‌تنی یاخته‌های کبدی، نانوماده با مایع آستری ریه و سپس برای بازنمود تنفسی و گذار بعدی به کبد با پروتئین‌های سرم پوشش داده شود [41]. در مثال دیگری، نانومواد پیش از افزودن به یاخته‌های اپیدریال ریه، علاوه بر BSA و یا سرم، با چربی عامل فعال‌ساز سطحی که در مایع آستری ریه یافت می‌شود، دیپالمیتویل فسفیدیلکولین^۲ (DPPC)، پوشیده شوند [42]. با افزودن BSA و DPPC به محیط کشت، پراکنش ذرات بسیار ریز کربن سیاه بهبود یافته و پایدار می‌شود و در مقایسه با ذرات معلق در محلول‌های نمکی منجر به افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر می‌شود [43]. این روش از نظر کاراندام‌شناختی برای مطالعات مدل‌سازی ریه مرتبط‌تر است.

به‌علاوه، مواجهه پوستی نانومواد می‌تواند با پراکنده نمودن نانومواد در داخل مخلوطی از چربینه روغنی/ عرق آبی مدل‌سازی شود [44]. به دلیل آن‌که حالت کلوخگی در ارزیابی جذب پوستی درون‌تنی به آسانی مطالعه نمی‌شود، ترجیح داده می‌شود که از دستورالعمل OECD TG 428 استفاده شود [45] که مستلزم استفاده از نمونه‌های پوست انسان است [5] [33]. این روش، پیش‌تر در آزمون نانومواد برون‌تنی پوست انسان مورد استفاده قرار گرفته‌است [46] [47] [48] [49] [50] [51].

هر کدام از روش‌های پراکنش مورد استفاده گیرد، نیازمند برقراری تعادل بین «پراکنش خوب» تعلیقه نانو ماده و مواجهه مناسب انسان است. علاوه بر این، پایداری و تغییرات چرخه زندگی هر تعلیقه نانوماده در طی

1 - Bovine serum albumin (BSA)

2- Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC)

زمان باید با استفاده از روش‌هایی، همچون پراکندگی نور پویا، جزء جزء کردن^۱ شارش میدان، رسوب‌گذاری مرکزگریزی تفاضلی، میکروسکوپی نوری اصلاح‌شده و طیف‌سنجی فرابنفش - مرئی، تعیین شود.

۲-۹ کشت‌های یاخته‌ای

مطالعه سامانه‌های کشت فصل مشترک هوا- مایع (ALI)^۲ روش کاراندام‌شناختی مناسب‌تری را نسبت به کشت یاخته‌ای متداول برای مطالعه مدل‌سازی ریه فراهم می‌نماید [52] [53] [54]. سامانه‌های ALI مواجهه هواسل کشت‌های یاخته‌ای ریه را به کار می‌برد تا از برهم‌کنش‌های بین نانومواد و اجزاء سازنده محیط جلوگیری کند و تنظیم دُز واقع‌گرایانه‌تر و کنترل بهتری از کلوخگی ذره را ارائه نماید. در یک مطالعه، یک سامانه یکپارچه این توانایی را داشت که نانوذرات هوابرد را تولید و مستقیماً بر روی یاخته‌های تحت کشت در سامانه ALI رسوب‌نشانی کند که این تنظیم دُز کنترل‌شده و یکنواخت ذرات را با کارایی بالا فراهم می‌کند [55] [56]. در این مطالعه، مواجهه با نانوذرات مس موجب کاهش زیست‌پذیری یاخته‌ها شده، سطح لاکتات دهیدروژناز و اکسیژن‌های واکنشگر درون یاخته‌ای و اینترلوکین-۸ را بالا می‌برد که مشابه نتایجی است که در مطالعات استنشاق درون‌تنی به‌دست آمده‌است. در یک مطالعه دیگر، سمیت یاخته‌ای نانوذرات پلی‌استایرین عامل‌دار شده با آمین هنگام اعمال از طریق هواسل بر یاخته‌های کشت‌شده در سامانه ALI در مقایسه با روش تعلیق نانوذرات آزموده شده در کشت غوطه‌ور بسیار بالاتر است [57]. سمیت یاخته‌ای بالاتر در نانومواد هواسل‌شده بر اهمیت سامانه‌های مواجهه مرتبط تأکید دارد که پاسخ‌های درون‌تنی کشت یاخته‌ای را نشان می‌دهد.

1 - Fractionation

2- Air- liquid interface (ALI)

کتابنامه

- [1] ISO 10993-18, *Biological evaluation of medical devices — Part 18: Chemical characterization of materials*
- [2] ISO 14971, *Medical devices — Application of risk management to medical devices*
- [3] ISO/TR 13014, *Nanotechnologies — Guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment*
- [4] Darlington T.K. ‘Nanoparticle characteristics affecting environmental fate and transport through soil’. *Environ. Toxicol. Chem.* 2009, **28** pp. 1191–1199
- [5] OECD. 2012. ‘Guidance on Sample Preparation and Dosimetry for the Safety Testing of Manufactured Nanomaterials’. OECD ENV/JM/MONO(2012)40. OECD, Paris
- [6] ISO/TS 19337, *Nanotechnologies — Characteristics of working suspensions of nano-objects for in vitro assays to evaluate inherent nano-object toxicity*
- [7] Stone V., Johnston H., Schins R.P. Development of in vitro systems for nanotoxicology: methodological considerations. *Crit. Rev. Toxicol.* 2009, **39** (7) pp. 613–626
- [8] Petersen E.J. Identification and avoidance of potential artifacts and misinterpretations in nanomaterial ecotoxicity measurements. *Environ. Sci. Technol.* 2014, **48** (8) pp. 4226–4246
- [9] Worle-Knirsch J.M., Pulskamp K., Krug H.F. Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays. *Nano Lett.* 2006, **6** (6) pp. 1261–1268
- [10] Rosenkranz P. ‘A Comparison of Nanoparticle and Fine Particle Uptake by *Daphnia Magna*’. *Environ. Toxicol. Chem.* 2009, **28** pp. 2142–2149
- [11] Nowack B. ‘Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration in the environment’. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, **31** pp. 50–59
- [12] Sikora A systematic comparison of different techniques to determine the zeta potential of silica nanoparticles in biological medium. *Anal. Methods.* 2015, **7** p. 9835. DOI:10.1039/c5ay02014j
- [13] Delgado A.V., Gonzalez-Caballero F., Hunter R.J., Koopal L.K., Lyklema J. ‘Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena’. *Pure Appl. Chem.* 2005, **77** (10) pp. 1753–1805
- [14] Parsegian V.A. *Van der Waals Forces: A Handbook for Biologists, Chemists, Engineers, and Physicists*. Cambridge University Press, New York, 2006
- [15] Israelachvili J.N. *Intermolecular and Surface Forces*. Elsevier, New York, Third Edition, 2011
- [16] Taurozzi J.S., Hackley V.A., Wiesner M.R. 2011. ‘Ultrasonic dispersion of nanoparticles for environmental, health and safety assessment--issues and recommendations’. *Nanotoxicology*. Dec, 5(4): pp. 711–29
- [17] Schwyzer I. ‘Long-term colloidal stability of 10 carbon nanotube types in the absence/presence of humic acid and calcium’. *Environ. Pollut.* 2012, **169** pp. 64–73
- [18] von der Kammer F. ‘Analysis of Engineered Nanomaterials in complex matrices (Environment and Biota): General Considerations and Conceptual Case Studies’. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, **31** pp. 32–49
- [19] Akaighe N., MacCuspie R.I., Navarro D.A., Aga D.S., Banerjee S., Sohn M. Humic acid-induced silver nanoparticle formation under environmentally relevant conditions. *Environ. Sci. Technol.* 2011, **45** (9) pp. 3895–3901
- [20] Gao J. ‘Aqueous suspension methods of carbon-based nanomaterials and biological effects on model aquatic organisms’. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, **31** pp. 210–214
- [21] Battin T. ‘Nanostructured TiO₂: Transport Behavior and Effects on Aquatic Microbial

- Communities under Environmental Conditions'. *Environ. Sci. Technol.* 2011, **45** pp. 10045–10052
- [22] Wong B.A. 'Inhalation exposure systems: design, methods and operation'. *Toxicol. Pathol.* 2007, **35** (1) pp. 3–14
- [23] Krug H.F. Nanosafety Research: Are we on the Right Track? *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, **53** (46) pp. 12304–12319
- [24] Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR), *The Appropriateness of the Risk Assessment Methodology in Accordance with the Technical Guidance Documents for New and Existing Substances for Assessing the Risks of Nanomaterials.* 2007
- [25] Song Z. 'Characterization of optical properties of ZnO nanoparticles for quantitative imaging of transdermal transport'. *Biomed. Opt. Express.* 2011, **2** (12) pp. 3321–3333
- [26] Teeguarden J., & Hinderliter P. 'Particokinetics in vitro: dosimetry considerations for in vitro nanoparticle toxicity assessments'. *Toxicol. Sci.* 2007, **95** pp. 300–312
- [27] Hinderliter P., & Minard K. 'ISDD: A computational model of particle sedimentation, diffusion and target cell dosimetry for in vitro toxicity studies'. *Part. Fibre Toxicol.* 2010, **7** (1) p. 36
- [28] Mason M., & Weaver W. 'The Settling of Small Particles in a Fluid'. *Phys. Rev.* 1924, **23** pp. 412–426
- [29] Cho E.C., & Zhang Q. 'The effect of sedimentation and diffusion on cellular uptake of gold nanoparticles'. *Nat. Nanotechnol.* 2011, **6** (6) pp. 385–391
- [30] Wittmaack K. 'Excessive delivery of nanostructured matter to submersed cells caused by rapid gravitational settling'. *ACS Nano.* 2011, **5** (5) pp. 3766–3778
- [31] ISO 29701, *Nanotechnologies — Endotoxin test on nanomaterial samples for in vitro systems — Limulus amoebocyte lysate (LAL) test*
- [32] George S., & Pokhrel S. 'Use of a Rapid Cytotoxicity Screening Approach To Engineer a Safer Zinc Oxide Nanoparticle through Iron Doping'. *ACS Nano.* 2009, **4** (1) pp. 15–29
- [33] Fung V., & Barrett J. 'The carcinogenesis bioassay in perspective: application in identifying human cancer hazards'. *Environ. Health Perspect.* 1995, **103** pp. 680–683
- [34] Johnston H., & Pojana G. 'Engineered nanomaterial risk. Lessons learnt from completed nanotoxicology studies: potential solutions to current and future challenges'. *Crit. Rev. Toxicol.* 2013, **43** (1) pp. 1–20
- [35] Bihari P., & Vippola M. 'Optimized dispersion of nanoparticles for biological in vitro and in vivo studies'. *Part. Fibre Toxicol.* 2008, **5** p. 14
- [36] Casey A., & Herzog E. 'Single walled carbon nanotubes induce indirect cytotoxicity by medium depletion in A549 lung cells'. *Toxicol. Lett.* 2008, **179** (2) pp. 78–84
- [37] Poland C.A., & Duffin R. 'Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study'. *Nat. Nanotechnol.* 2008, **3** (7) pp. 423–428
- [38] Orts-Gil G., & Natte K. 'Characterisation of silica nanoparticles prior to in vitro studies: from primary particles to agglomerates'. *J. Nanopart. Res.* 2011, **13** (4) pp. 1593–1604
- [39] Johnston H.J., & Semmler-Behnke M. 'Evaluating the uptake and intracellular fate of polystyrene nanoparticles by primary and hepatocyte cell lines in vitro'. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010, **242** (1) pp. 66–78
- [40] Lundqvist M., & Stigler J. 'Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts'. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008, **105** (38) pp. 14265–14270

- [41] Johnston H., & Brown D. 'Investigating the relationship between nanomaterial hazard and physicochemical properties: Informing the exploitation of nanomaterials within therapeutic and diagnostic applications'. *J. Control. Release*. 2012, **164** (3) pp. 307–313
- [42] Herzog E., & Byrne H.J. 'SWCNT suppress inflammatory mediator responses in human lung epithelium in vitro'. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009, **234** (3) pp. 378–390
- [43] Foucaud L., & Wilson M .R. ' Measurement of reactive species production by nanoparticles prepared in biologically relevant media'. *Toxicol. Lett.* 2007, **174** (1–3) pp. 1–9
- [44] Larese F.F., & D'Agostin F. 'Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin'. *Toxicology*. 2009, **255** (1–2) pp. 33–37
- [45] OECD TG 428, *Skin Absorption: In vitro Method*
- [46] Wissing S.A., & Müller R.H. 'Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration'. *J. Control. Release*. 2002, **81** (3) pp. 225–233
- [47] Baroli B., & Ennas M.G. 'Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin'. *J. Invest. Dermatol.* 2007, **127** (7) pp. 1701–1712
- [48] Mavon A., & Miquel C. 'In vitro percutaneous absorption and in vivo stratum corneum distribution of an organic and a mineral sunscreen'. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2007, **20** (1) pp. 10–20
- [49] Larese F., D'Agostin F., Crosera M., Adami G., Renzi N., Bovenzi M. 'Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin'. *Toxicology*. 2009, **255** (1-2) pp. 33–37
- [50] Larese F., & Crosera M . ' Human skin penetration of gold nanoparticles t hrough intact and damaged skin'. *Nanotoxicology*. 2011, **5** (4) pp. 493–501
- [51] Larese F., & Crosera M. Human skin penetration of cobalt nanoparticles through intact and damaged skin. *Toxicol. In Vitro*. 2013, **27** (1) pp. 121–127
- [52] Savi M., & Kalberer M. 'A novel exposure system for the efficient and controlled deposition of aerosol particles onto cell cultures'. *Environ. Sci. Technol.* 2008, **42** (15) pp. 5667–5674
- [53] Paur H.-R., & Cassee F .R. ' In-vitro cell exposure studies for the assessment of nanoparticle toxicity in the lung – A dialog between aerosol science and biology'. *J. Aerosol Sci.* 2011, **42** (10) pp. 668–692
- [54] Aufderheide M.H.B., Möhle N., Hochrainer D. The CULTEX RFS: a comprehensive technical approach for the in vitro exposure of airway epithelial cells to the particulate matter at the airliquid interface. *Biomed Res Int*, 2013
- [55] Brandenberger C. 'Effects and uptake of gold nano particles deposited at the air-liquid interface of a human epithelial airway model'. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010, **242** pp. 56–65
- [56] Kim J.S., & Peters T.M. 'Validation of an in vitro exposure system for toxicity assessment of airdelivered nanomaterials'. *Toxicol. In Vitro*. 2013, **27** (1) pp. 164–173
- [57] Fröhlich E., & Bonstingl G . 'Comparison of two in vitro systems to assess cellular effects of nanoparticles-containing aerosols'. *Toxicol. In Vitro*. 2013, **27** (1) pp. 409–417
- [58] ISO/TS 80004-1, *Nanotechnologies — Vocabulary — Part 1: Core terms*
- [59] ISO/TS 80004-2, *Nanotechnologies — Vocabulary — Part 2: Nano-object*