



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۱۴۱۵۲

چاپ اول

ISIRI

14152

1st. Edition

فناوری نانو - تولید نانو ذرات فلزی برای
آزمون سمیت استنشاقی با استفاده از روش
تبخیر/تراکم

**Nanotechnologies-Generation of metal
nanoparticles for inhalation toxicity testing
using the evaporation/condensation method**

ICS:07.030

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی 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.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ مورخ ۹۰/۷/۲۴ جهت اجرا ابلاغ شده است. تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود 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، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود 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 می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذی صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شوند که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست-محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) و وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن ها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) و 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 of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد
"فناوری نانو-تولید نانو ذرات فلزی برای آزمون سمیت استنشاقی با استفاده از روش
تبخیر/تراکم"

رئیس:

قاضی خوانساری، محمود
(دکترای سم شناسی)

سمت و/یا نمایندگی

عضوهیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی
تهران و عضو کمیته فنی متناظر
فناوری نانو (ISIRI/TC229)

دبیر:

جعفری نژاد، سمیه
(کارشناس ارشد نانوتکنولوژی پزشکی)

کارشناس دانشگاه علوم پزشکی تهران

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اربابی، سپیده
(دکترای سم شناسی)

دبیر کمیته فناوری نانو وزارت بهداشت و
درمان و عضو واحد علوم دارویی دانشگاه
آزاد اسلامی

باکند، شهناز
(دکترای سم شناسی)

عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی
تهران

پوی پوی، حسن
(کارشناس ارشد شیمی)

کارشناس ستاد ویژه توسعه فناوری نانو
و عضو کمیته فنی متناظر فناوری نانو
(ISIRI/TC229)

سیفی، مهوش
(کارشناس ارشد مدیریت دولتی)

کارشناس استاندارد و نایب رئیس کمیته
فنی متناظر فناوری نانو (ISIRI/TC229)

کوهی، محمد کاظم
(دکترای سم شناسی)

عضو هیئت علمی دانشگاه تهران

مسئول آزمایشگاه بیولوژی مولکولی
عضو هیئت علمی پژوهشکده استاندارد

مختاری، فهیم دخت
(کارشناس ارشد ایمنولوژی)

کارشناس اندیشگاه نانوفناوری وزارت بهداشت
و درمان و آموزش پزشکی

موسوی، ربابه
(کارشناس ارشد شیمی)

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ب	آشنایی با مؤسسه استاندارد
ج	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
و	پیش گفتار
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصطلاحات و تعاریف
۵	۴ اصول آزمون
۶	۵ الزامات
۸	۶ ویژگی های عملکردی دستگاه تولیدکننده
۱۰	۷ ویژگی های تولید نانوذرات
۱۱	۸ ارزیابی نتایج
۱۱	۹ گزارش آزمون
۱۲	۱۰ پیوست الف (اطلاعاتی) مثالی از تولید نانوذرات نقره به روش تبخیر/تراکم
۲۶	۱۱ پیوست ب (کتابشناسی

پیش‌گفتار

استاندارد " فناوری نانو- تولید نانوذرات فلزی برای آزمون سمیت استنشاقی با استفاده از روش تبخیر/تراکم " که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط توسط ستاد توسعه فناوری نانو مستقر در دفتر همکاری‌های فناوری ریاست جمهوری تهیه و تدوین شده و در هشتصدوسی و ششمین اجلاس کمیته ملی استاندارد مورخ ۱۳۹۰/۹/۹ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک 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.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

ISO 10801: 2010, Nanotechnologies-Generation of metal nanoparticles for inhalation toxicity testing using the evaporation/condensation method

تعداد محصولات مصرفی مبتنی بر فناوری نانو که حاوی نانوذرات نقره، طلا، کربن، روی، دی‌اکسید تیتانیوم، و سیلیکا می‌باشد به سرعت در حال رشد است. به موازات گسترش کاربردهای این مواد، جمعیتی که در معرض این مواد قرار می‌گیرند نیز افزایش می‌یابد. به‌ویژه کارگرانی که در صنایع مرتبط با فناوری نانو فعالیت می‌کنند در معرض تماس نانوذرات قرار می‌گیرند. چنانچه نانوذرات از محصولات آزاد شوند، ممکن است که افراد جامعه نیز در معرض این ذرات قرار گیرند. آنچه در مورد سمیت نانوذرات شناخته شده است بسیار محدود اما در حال گسترش است. فرایندهای تولید نانوذرات شامل فاز گازی، فاز بخار، فرایندهای سایشی و کلوییدی می‌باشد. راه‌های بالقوه تماس با نانوذرات شامل: استنشاقی، پوستی و خوراکی است. استنشاقی ممکن است از نشتی مستقیم از فرایندهای فاز گازی و بخار رخ دهد. همچنین تماس با آلاینده‌های هوا برد محیط کار که ممکن است در طی تولید، بسته‌بندی، بازیافت و دفع مواد در فضای باز یا محل کار رخ دهد، می‌تواند برای سلامت عمومی و شغلی مشکل ساز باشد. تا کنون در مورد آزمون سمیت استنشاقی نانوذرات و نیز تولید نانوذرات هوا برد برای چنین آزمونی روش قابل قبولی وجود ندارد. عدم قابلیت پراکنده‌سازی نانوذرات قابل استنشاق از پودرها، مانعی در ارزیابی اثرات استنشاقی نانوذرات در سیستم تنفسی بوده است. اگرچه پراکنده‌سازی نانوذرات در هوا از پودرها امکان پذیر است اما اندازه ذرات تولید شده ممکن است در اثر چسبندگی و تجمع از ذرات دلخواه بزرگتر باشد. برای ارزیابی اثرات نانوذرات بر سلامتی از راه استنشاق، نانوذرات تولید شده باید به محیط حاوی حیوانات آزمایشگاهی برای آزمون سمیت استنشاقی کوتاه مدت و بلند مدت انتقال می‌یابند. روش تولید نانوذرات بر پایه تبخیر فلزات (در این استاندارد نقره) و به دنبال آن تراکم، قابلیت ایجاد توزیع ذرات با اندازه یکنواخت و پایدار را، جهت مطالعه سمیت استنشاقی کوتاه مدت و بلند مدت فراهم می‌کند. این استاندارد روش تولید نانوذرات نقره پایدار با اندازه ذرات تا 100 nm را ارائه می‌دهد. جزئیات روش در پیوست الف توضیح داده شده است. روش تولیدی که در این استاندارد ارائه شده است پایداری کافی برای مطالعه سمیت استنشاقی مداوم تا ۹۰ روز را داراست. نانوذرات تولید شده در سیستم‌های مختلف آزمایشگاهی، می‌توانند در مقیاس آزمایشگاه-روی-تراشه با قابلیت بالا^۱، بر پایه سلول انسانی و روش‌های متنوع و گسترده برون تن استفاده شوند، همچنین مطالعات حیوانی که در این زمان نیز قابل انجام می‌باشند استفاده شود که شامل (ولی نه محدود به) کل بدن، فقط سر^۲ و فقط بینی^۳ می‌باشد. این روش محدود به نانوذرات نقره نیست بلکه ممکن است برای فلزاتی با نقطه ذوب و سرعت تبخیر مشابه، مثل طلا نیز قابل استفاده باشد. هر چند این روش برای تولید نانوذرات همه فلزات قابل استفاده نیست.

-
- 1- Labs - On -a- Chip
 - 2- Head only
 - 3- Nose only

فناوری نانو- تولید نانوذرات فلزی برای آزمون سمیت استنشاقی با استفاده از روش تبخیر/ تراکم

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد تعیین الزامات و توصیه‌هایی برای تولید نانوذرات فلزی مناسب برای آزمون‌های سمیت استنشاقی با روش تبخیر/تراکم می‌باشد. این استاندارد برای فلزاتی مثل طلا و نقره کاربرد دارد که نانوذرات تولیدی به روش تبخیر/تراکم برای بررسی سمیت استنشاقی در نظر گرفته شده‌اند (طبق روشی که در پیوست الف مشخص شده است).

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن استاندارد به آن‌ها ارجاع شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند. در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است. استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۱-۲ استاندارد ملی ایران - ایزو شماره ۱۷۰۲۵:۱۳۸۶، الزامات عمومی برای احراز صلاحیت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون

2-2 ISO/TS 27687, Nanotechnology- Terminology and definitions for nano-objects- Nanoparticles, nanofiber and nanoplate

2-3 ISO 15900, Determination of particle size distribution-Differential electrical mobility analysis for aerosol particles

2-4 OECD¹ - Test Guideline (TG) 403, Acute Inhalation and calibration laboratories

2-5 OECD- Test Guideline 412 (TG) 412, Sub acute Inhalation Toxicity: 28-Day Study

2-6 OECD -Test Guideline 413 (TG) 413, Sub acute Inhalation Toxicity: 90-Day Study

1- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد علاوه بر اطلاعات و تعاریف تعیین شده در استانداردهای ISO 15900 و ISO 27687 تعاریف نیز کاربرد دارد.

۱-۳

سیستم آنالیز جنبش افتراقی^۱

سیستمی برای اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات آئروسول‌های کمتر از میکرومتر است که مشتمل بر یک غربالگر افتراقی تحرک الکتریکی، یکنواخت کننده بار ذره، فلومترها، آشکارساز ذره، لوله‌های رابط، رایانه و نرم‌افزار مناسب می‌باشد.

یادآوری - [ISO 15900:2009، تعریف ۲-۸]

۲-۳

غربالگر افتراقی جنبش الکتریکی^۲

غربالگری است که می‌تواند اندازه‌های ذرات را از یک توزیع ورودی اولیه انتخاب کرده و تنها ذرات با اندازه انتخابی را از خروجی عبور دهد.

یادآوری ۱ - غربالگر افتراقی تحرک الکتریکی، ذرات آئروسول را از طریق توازن نیروی الکتریکی وارد بر هر ذره در میدان الکتریکی با نیروی آئروپینامیکی کشش ذره دسته‌بندی می‌کند. ذرات دسته‌بندی شده اندازه‌های متفاوتی دارند که به علت تعداد بارهای الکتریکی و محدوده باریکی از جنبش الکتریکی که بوسیله شرایط کارکرد و ابعاد فیزیکی غربالگر افتراقی تحرک الکتریکی تعیین می‌شوند.

یادآوری ۲ - [ISO 15900:2009، تعریف ۲-۷]

۳-۳

شمارشگر تراکمی ذرات^۳

شمارشگر تراکمی ذرات ابزاری است برای شناسایی ذرات که می‌تواند برای محاسبه غلظت عددی ذرات با میزان جریان مشخص به شناساگر بکار رود.

یادآوری - ۱ محدوده ذراتی که آشکار می‌شود معمولاً کوچکتر از چند صد نانومتر و بزرگتر از چند نانومتر است. شمارشگر تراکمی ذرات یکی از آشکارسازهای ممکن برای بکارگیری با غربالگر افتراقی تحرک الکتریکی است.

یادآوری - ۲ در بعضی موارد شمارشگر تراکمی ذرات ممکن است شمارشگر تراکمی هسته نیز نامیده شود (CNC).

1- Differential mobility analyzing system(DMAS)
2- Differential electrical mobility classifier(DEMC)
3-Condensation particle counter(CPC)

یادآوری - ۳ این تعریف متفاوت با تعریفی است که در استاندارد ISO 15900 ذکر شده است.

۴-۳

محفظه تماس استنشاقی

سیستم تهیه شده برای تماس حیوانات آزمایشگاهی با مواد آزمون استنشاقی در مدت زمان و دوز از پیش تعیین شده با روش بینی یا کل بدن می‌باشد.

یادآوری ۱- عبارت فقط بینی مترادف با فقط سر و یا فقط پوزه است.

یادآوری ۲ - [OECD TG 403, OECD TG 412, OECD TG 413]

۵-۳

سیستم تولید نانوذرات تبخیر/ تراکم

ابزاری است برای تولید آئروسل نانوذرات، بوسیله روش تبخیر / تراکم که به سیستم محفظه استنشاقی یا سایر ابزارهای سمیت متصل شده است.

۶-۳

قطر متوسط هندسی^۱

اندازه‌گیری گرایش مرکزی توزیع اندازه ذرات با استفاده از لگاریتم قطرهای ذره برای سیستم آنالیز جنبش افتراقی با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:
(فرمول شماره ۱)

$$\ln(\text{GMD}) = \frac{\sum_{i=m}^n \Delta N_i \ln(d_i)}{N}$$

که در آن:

d_i قطر متوسط برای اندازه کانال دستگاه

N تراکم کل

ΔN_i تراکم در محدوده کانال

M اولین کانال

N آخرین کانال

1- Geometric mean diameter (GMD)

یادآوری- قطر متوسط هندسی معمولاً از روی شمارش‌های ذره محاسبه می‌شود که ممکن است بر اساس سطح یا حجم ذره با وزن مناسب باشد.

۷-۳

انحراف استاندارد هندسی^۱

اندازه‌گیری پهنا یا توزیع اندازه ذرات، که برای سیستم آنالیز جنبش افتراقی بوسیله فرمول زیر محاسبه می‌شود:

(فرمول شماره ۲)

$$\ln(\text{GSD}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=m}^n N_i [\ln d_i - \ln(\text{GMD})]^2}{N-1}}$$

۸-۳

شمارش قطر میانه^۲

قطر متوسط هندسی با شمارش قطر میانه برای شمارش ذرات با فرض داشتن توزیع نرمال لگاریتمی است.

یادآوری- شکل کلی رابطه که در ISO 276-5 شرح داده شده است به صورت زیر است:

(فرمول شماره ۳)

$$\text{CMD} = x_{50,r} = x_{50,p} e^{(r-p)s^2}$$

که در آن :

e مبنای لگاریتم طبیعی است.

p توزیع ابعادی (نوع کمیت) است که:

P 0 تعداد

P 1 طول

P 2 مساحت

P 3 حجم یا توده

r توزیع ابعادی است که

R 0 تعداد

r 1 طول

r 2 مساحت

1-Geometric standard deviation (GSD)

۲-Count median diameter (CMD)

3 r حجم یا توده
s انحراف استاندارد توزیع چگالی،
 $X_{50,r}$ اندازه میانه ذرات با توزیع تجمعی ابعادی

۴ اصول آزمون

۱-۴ روش تولید

نانوذرات هوابرد آزمون با حرارت دادن نقره جامد تا تبخیر نقره از پیش ماده نقره جامد تولید می‌شود. بخارات نقره بدست آمده، خنک شده و به هسته تبدیل و متراکم شده تا آئروسول نانوذرات تشکیل شود. یک روش تجربی در تولید نانوذرات نقره با روش تبخیر/تراکم در پیوست الف شرح داده شده است.

۲-۴ آماده سازی سیستم

۱-۲-۴ قبل از تداخل سیستم تولید کننده نانوذره با محفظه‌های تماسی، آنالیز اندازه نانو ذرات باید به منظور تعیین تراکم عددی و توزیع اندازه ذرات و نیز تعیین اندازه پایداری ذرات آئروسول تولیدی انجام شود. برای این فرایند، پارامترهای انتخابی در تولید آئروسول نانوذرات نقره شامل میزان جریان، دمای تبخیر، طول منطقه کوئنج ۱ و گرادیان‌های دمایی و غیره می‌باشد. در طی آزمایش تماس، آنالیزها باید به صورت مداوم و متناوب بسته به نوع روش آنالیز و به منظور اطمینان از پایداری توزیع اندازه ذره بدون ایجاد تداخل در تماس استنشاقی انجام شود.

یادآوری- سیستم تولید نانوذره نقره و سایر فلزات در استاندارد ISO 10808 شرح داده شده است.

۲-۲-۴ محفظه یا محفظه‌های استنشاقی و ابزارهای کمکی باید مطابق با راهنمای TG 403, OECD
OECD TG 412 و OECD TG 413 طراحی شود.

۳-۲-۴ محفظه‌های استنشاقی و ابزارهای کمکی باید برای مطالعات در زمینه تماس با نانوذرات آماده شوند.

یادآوری ۱- نانوذراتی که به صورت آئروسول درآمده‌اند ممکن است در اثر حرکات انتشار براونی و تغییر اندازه ذرات ناشی از خاصیت چسبندگی/تجمع روی دیوارها تجمع یابند. این روند نشست، به اندازه ذره، بار الکتروستاتیکی، غلظت عددی ذره و زمان ماندگاری وابسته است.

یادآوری ۲- ممکن است بر اساس هدف مطالعه، خنثی سازی بار مورد نیاز باشد. اگر توزیع بار، یک ویژگی مورد نیاز باشد باید در مطالعه، مشخص و تعیین شود.

یادآوری ۳- برای کاهش افت ناشی از نشست ذرات، باید از لوله‌هایی با حداقل طول و قطر و حتی الامکان متناسب با دستگاه و قطر لوله‌های آن استفاده شده و در نتیجه از افزایش و کاهش‌های ناگهانی پیشگیری شود.

۴-۲-۴ محفظه یا محفظه‌های استنشاقی و ابزارهای کمکی مانند پروب‌های نمونه برداری و لوله‌های چند شاخه باید مطابق با OECD TG 403, OECD TG 412, OECD TG 413 و راهنمای US EPA به منظور تعیین هر گونه سوگیری^۱ نمونه برداری مشخص شود.

یادآوری- لوله‌های چند شاخه مشتمل بر لوله‌های رابط و شیرهای سلنوییدی و/ یا سایر اجزاء، که برای فرستادن نمونه‌ها از هر محفظه استنشاقی به تجهیزات پایش آنلاین مورد نیاز می‌باشند ممکن است باعث افت شده و چنانچه افت‌ها به اندازه ذره بستگی داشته باشد، ممکن است موجب تغییر توزیع اندازه ذرات در پایین دست جریان شود.

۴-۲-۵ ابزارهای اندازه‌گیری بکار رفته باید در آزمون استنشاقی کالیبره شده و/یا بر اساس استاندارد ملی ایران- ایزو ISO 17025 آزمایش شود. سیستم آنالیز جنبش افتراقی معمولاً در کارخانه کالیبره می‌شود و باید طی یک گزارش مستند شود.

۵ الزامات

۱-۵ ظرفیت و کنترل

خروجی، قابل اطمینان بودن و کنترل ژنراتور باید برای مطالعه طراحی شده مناسب باشد از آن جمله:

الف- سرعت تبخیر فلزات ($\mu\text{g/h}$)

ب- سرعت جریان هوا (m^3/h)

پ- عمل مداوم ژنراتور در تبخیر فلز و سرعت‌های جریان در طول مطالعه، بررسی شود.

۲-۵ خواص نانوذرات

۱-۲-۵ قطر متوسط هندسی نانوذرات باید کمتر از 100nm باشد که این مقیاس بوسیله کنترل تبخیر فلز و سرعت‌های تراکم و زمان باقی ماندن در هر ناحیه راکتور انجام می‌شود. چنانچه علی‌رغم همه تلاش‌های انجام شده این الزامات برآورده نشود نیاز به نظر کارشناسی است.

۲-۲-۵ انحراف معیار استاندارد هندسی باید کمتر از ۲ باشد (همانطور که در OECD TG 403, OECD TG 412 و OECD TG 413 پیشنهاد شده است).

۳-۲-۵ خلوص ماده آزمون از جمله خلوص ذره و خلوص سطح ذره باید به گونه‌ای باشد که هدف مطالعه برآورده شود. ترجیحاً قبل از شروع مطالعه باید ویژگی‌های ماده آزمایش شامل خلوص آن (در صورت امکان عملی)، نام و میزان آلوده کننده‌ها و ناخالصی‌های ناشناخته مشخص شوند (OECD GD 39).

یادآوری - تعیین خلوص شیمیایی ممکن است نیازمند تعیین ویژگی شیمی سطح ذرات تولید شده علاوه بر خلوص شیمیایی کلی باشد.

۵-۳ اتمسفر محفظه تماس

۵-۳-۱ هوایی که به حیوانات مورد آزمایش می‌رسد باید قابل تنفس و دارای اکسیژن کافی به میزان حداقل ۱۹٪-۲۴٪ باشد این امر ممکن است با فراهم نمودن هوای رقیق مناسب به ژنراتور رخ دهد OECD, 403 (OECD TG 412, OECD TG 413, و راهنمای US EPA).

۵-۳-۲ توجه شود که آلودگی‌ها از طریق تبخیر ترکیبات فرار در بست‌ها، روان‌کننده‌ها، پرداخت‌کننده‌ها، درزگیرهای ژنراتور آئروسول تولید نشود. این عمل می‌تواند با انتخاب صحیح مواد مناسب و حرارت دهی مناسب سیستم رخ دهد.

۵-۳-۳ دمای هوایی که به محفظه آزمایش می‌رسد باید در محدوده مطالعات استنشاقی باشد (OECD TG 413, OECD TG 412, OECD TG 403 و راهنمای US EPA).

۵-۳-۴ هوای تامین شده در محفظه‌ها و ژنراتور باید عاری از روغن و دیگر ترکیبات فرار و سایر آلوده کننده‌ها بوده و برای حذف گرد و خاک، میکروارگانیسم‌ها و سایر آلودگی‌های ممکنه با HEPA ۱ صاف شود.

۵-۴ ایمنی کارکرد سیستم

۵-۴-۱ همه موارد ایمنی مورد نیاز باید مورد توجه قرار گیرد.

۵-۴-۲ از اتصال با سطوح داغ و رسانای الکتریکی مرتبط با گرم کننده الکتریکی با سایر اجزای دیگر باید جلوگیری شود.

۵-۴-۳ گاز خارج شده از سیستم به اتمسفر باید بوسیله فیلتر HEPA صاف شود.

۵-۴-۴ هیچگونه نشتی قابل اندازه‌گیری به اتمسفر از ژنراتور آئروسول نباید وجود داشته باشد.

۵-۴-۵ به منظور جلوگیری از تماس کارکنان در صورت وجود نشتی باید محفظه‌های تماس با در نظر گرفتن شرایط پیرامون در فشار منفی (۵ میلی متر آب) نگهداری شوند. این اختلاف فشار باید بصورت مداوم و در محدوده اخطار، پایش شود. رویکرد جایگزین نگهداری دستگاه در فشار مثبت نسبت به پیرامون بوده به نحوی که آئروسول‌ها یا آلاینده‌های هوابرد نتوانند وارد محفظه شوند. دستگاهی که فشار مثبت دارد به منظور به حداقل رساندن تماس کارکنان باید در یک محفظه ثانویه تهویه شده قرار گیرد.

برای تماس از طریق فقط بینی، این فشار مثبت باید کم و به اندازه‌ای باشد تا بتوان اطمینان داشت که حیوانات به طور مناسب در معرض قرار خواهند گرفت. با توجه به نشتی بالقوه حاصل از این فشار مثبت، آزمایشات از طریق فقط بینی، باید در محدوده داخل هود شیمیایی انجام شود (OECD GD 39).

یادآوری - کنترل متناوب نشتی باید انجام شود. مانند روش حباب صابون یا زمانی که خطر نشت نانومواد وجود دارد نصب آشکارسازهای نشتی دائمی ممکن است ضروری باشد. در سیستم فقط بینی، هوای آزمون می‌تواند از اطراف حیوان نشت کند. با بکار بردن یک سیستم مقاوم که لوله را غیرقابل نفوذ می‌نماید، می‌توان از نشتی‌ها جلوگیری کرد، حتی در شرایطی که وجود گرما و رطوبت در لوله مورد توجه باشد.

۶ ویژگی‌های عملکردی دستگاه تولیدکننده

۱-۶ الزامات جهت توزیع اندازه ذرات و غلظت جرمی

اندازه‌گیری توزیع اندازه ذره و غلظت جرمی کل در تعیین خصوصیات نانوذرات برای بررسی سمیت استنشاقی ضروری است. اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات به این علت ضروری است که اندازه ذره بر روی دوز و توزیع دوز اثر گذار است. غلظت جرمی یک پارامتر دوزیمتریک است که در آزمون‌های سمیت استنشاقی بکار می‌رود. برای ارزیابی مولد آئروسول نانوذرات بکار رفته در آزمون سمیت استنشاقی، این دو اندازه‌گیری همیشه باید انجام شود.

۲-۶ اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات

روش اندازه‌گیری شامل پایش تقریباً مداوم بر اساس سرعت اسکن طبقه‌بندی (توزیع اندازه) و تشخیص وسیله و به همراه یک زمان تفکیک مناسب برای تضمین پایداری ژنراتور نانوذرات از نظر توزیع اندازه ذره و تراکم آن می‌باشد. روش اندازه‌گیری مورد استفاده باید برای آئروسول‌های نانوذرات که بوسیله ژنراتور تولید می‌شوند، جامع باشد. صحت اندازه ذره و اندازه‌گیری‌های غلظت باید برای آزمون سمیت نانوذرات مناسب باشد و می‌تواند با روش‌هایی مثل کالیبراسیون در مقابل استانداردهای مرجع مناسب صحت‌گذاری شود. محدوده قطر ذره در اندازه‌گیری ساینز ذره باید به اندازه کافی وسیع باشد تا همه اطلاعات مربوطه ثبت شده و خطاها در تبدیل توزیع وزنی - عددی به توزیع وزنی - سطحی یا وزنی - حجمی به حداقل کاهش یابند.

یادآوری - برای اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات بر اساس تراکم عددی، سیستم آنالیز جنبش افتراقی تنها روش قابل دسترس است که الزاماتی را که در بالا اشاره شد در محدوده اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ nm برآورده می‌کند.

۱-۲-۶ نمونه‌گیری با سیستم آنالیز جنبش افتراقی

نانوذرات را باید بر اساس توصیه‌های تولیدکننده و یا براساس استاندارد ISO 15900 اندازه‌گیری کرد.

۶-۲-۲ نمونه گیری برای میکروسکوپ

فیلترهایی که بر روی آن نانوذرات نمونه برداری شده اند باید با کربن (برای کاهش شارژ الکتریکی در هنگام تجزیه) پوشش داده شده و بر روی یک شبکه میکروسکوپ الکترونی (با مش ۲۰۰) قرار گیرند و توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری^۱ (TEM) مشاهده شوند. قطر ذرات انتخاب شده به صورت تصادفی با بزرگنمایی ۱۰۰ هزار اندازه گیری شده و بوسیله EDEX^۲ با یک ولتاژ مناسب فزاینده آنالیز می شود. برای آنالیز و تعیین مورفولوژی نانوذرات، نمونه برداری و آنالیز را می توان بر اساس استاندارد ISO 10312 انجام داد.

یادآوری- ولتاژ فزاینده برای نانوذرات نقره در این مثال ۷۵ kv است.

۶-۳ اندازه گیری غلظت جرمی ذرات نمونه برداری شده به روش فیلتراسیون

برای اندازه گیری غلظت کل نانوذرات جمع آوری شده بر روی فیلتر از روش گراویمتری یا وزنی استفاده می شود که در این روش اتمسفر آزمون از ناحیه ای که حیوان تنفس می کند، نمونه برداری می شود. غلظت جرمی با تقسیم جرم نانوذرات جمع شده در فیلتر به حجم هوای عبور کرده از فیلتر محاسبه می شود.

یادآوری - روش های مبتنی بر آنالیز شیمیایی ذرات جمع آوری شده روی فیلتر مانند مانیتور تضعیف بتا (BAM)، میکروبالانس با المنت باریک شونده نوسانگر (TEOM)، میکروبالانس پیزوالکتریک، فیلتر وزنی و غیره ممکن است دارای الزامات لازم برای اندازه گیری تراکم جرمی نانوذرات باشند.

بدست آوردن جرم کافی ذرات بر روی فیلتر برای ایجاد داده در بالاتر از حدود تشخیص باید مورد توجه قرار گیرد. غلظت جرمی می تواند از اندازه گیری توزیع اندازه وزنی/ عددی با ایجاد فرضی درباره تراکم ذره مشتق شود، به ویژه برای ذرات کروی که ممکن است با تراکم مواد توده^۳ جور باشد. هرچند، چنانچه دانسیته ذرات نامناسب یا ناشناخته باشد ممکن است خطاهای معنی داری در غلظت جرمی محاسبه شده رخ دهد. بنابراین غلظت جرمی مشتق شده از داده توزیع اندازه وزنی/ عددی تنها زمانی پذیرفته خواهد شد که روش قابل قبول دیگری برای اندازه گیری موجود نباشد.

۶-۳-۱ نمونه برداری از فیلتر برای غلظت جرمی آئروسول

نانوذرات باید بوسیله پروبی بر روی یک فیلتر غشایی و با سرعت جریان مناسب نمونه برداری شوند. زمان های نمونه برداری بر اساس گرفتن نمونه های قابل سنجش با میکروبالانس انتخاب می شوند. غلظت واقعی معمولاً بصورت واحدهای جرمی در واحد حجم هوا بیان می شود ($mg/l, mg/m^3$).

1- Transmission Electron Microscope
2- Energy-Dispersive X-ray Spectrometry Analysis
3 - Bulk

۲-۳-۶ تناوب نمونه برداری

۱-۲-۳-۶ تناوب نمونه برداری بخش مهمی را در طرح مطالعه تشکیل می‌دهد. نمونه برداری باید به تعداد و دفعاتی باشد که نشان دهنده ثابت بودن توزیع اندازه نانوذرات و دوز عددی و جرمی آن باشد. غلظت در هر یک از نمونه های محفظه تماس نباید از میانگین غلظت نانوذرات در محفظه بیش از $\pm 20\%$ تجاوز نماید

۲-۲-۳-۶ ویژگی های جریان هوا مانند سرعت، دما و فشار باید دائما در روند تولید آئروسول نانوذرات نقره پایش شود.

۷ ویژگی های تولید نانوذرات

۱-۷ خلوص / ناخالصی شیمیایی

خلوص / ناخالصی شیمیایی برای دست یافتن به اهداف مطالعه باید مشخص شود .

۲-۷ محدوده اندازه

قطر متوسط هندسی نانوذرات باید کمتر از 100 nm بوده و (منطبق با OECD TG 403, OECD TG 413, OECD TG 412) در ناحیه تنفسی اندازه گیری شود.

۳-۷ غلظت عددی

میانگین غلظت عددی باید در واحد ذرات (cm^{-3}) و (منطبق با OECD TG 403, OECD TG 413, OECD TG 412) در ناحیه تنفسی اندازه گیری شود.

۴-۷ شکل نانوذرات

۱-۴-۷ نانوذرات اولیه باید تقریبا کروی باشند. شکل مطلوب نانوذرات اولیه بر مبنای هدف مطالعه است هرچند که ممکن است متفاوت باشند. شکل ذرات همانطور که بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۱ و یا سایر روش ها باید ثبت شود. میزان پراکندگی یا تجمع/تراکم باید به صورت کمی ارزیابی شده و در صورت امکان روش قابل دسترس بکار رود. ۲-۴-۷ بررسی ها باید بر روی بخشی از نانوذرات که تجمع نیافته اند انجام شود.

۵-۷ پایداری

نانوذرات باید بسته به هدف مطالعه به صورت پراکنده باقی بمانند و در شکل غیر تجمعی باشند. پایداری در شکل نانوذرات باید با TEM، SEM و یا سایر روش ها ثبت شود. درجه پراکندگی اشکال مجتمع و یا غیر مجتمع در صورت در دسترس بودن روش کار باید از نظر کمی بررسی شود.

۶-۷ مواجهه حیوان

۶-۷-۱ دستگاه تولیدکننده باید مطابق با الزامات مطالعات استنشاقی باشد.

۶-۷-۲ مدت استفاده برای مطالعه استنشاقی برای سیستم تولید باید مشخص شود.

۶-۷-۳ تبادل هوا برای مواجهه کل بدن در هر ساعت باید ۱۰ تا ۱۵ بار (جریان مداوم) باشد، اکسیژن کافی به میزان حداقل ۱۹٪ و شرایط یکسان در کل محفظه تماس وجود داشته باشد (OECD TG 403, OECD TG 412, OECD TG 413 ;US EPA Guideline). برای حیوانات مواجه شده با تجهیزات استنشاقی با فلوی عبوری (مثل فقط بینی) برای جریان پویا و پایدار هوا، تبادل مناسب هوا باید حداقل ۲ تا ۳ مرتبه در هر حجم تنفسی حیوانات مواجهه یافته باشد (حداقل ۰/۵ لیتر بر دقیقه در هر تماس برای موش‌ها).

هر ورودی تماس باید شرایط مواجهه یکسان، با غلظت اکسیژن حداقل ۱۹٪ را داشته باشد (به OECD GD 39 مراجعه کنید).

۶-۷-۴ میزان دوز جرمی و دوز نمونه صاف شده را با سیستم آنالیز جنبش افتراقی تخمین بزنید.

۸ ارزیابی نتایج

تولید برای استفاده در آزمون سمیت استنشاقی کوتاه مدت و بلند مدت باید کارکرد مداوم و پایدار داشته باشد. به منظور انطباق با راهنماهای جاری برای سمیت استنشاقی (OECD TG 403, OECD TG 412, OECD TG 413)، تولید باید در طول دوره مواجهه از نظر تعداد و قطر نانوذرات پایدار باشد (قطر متوسط هندسی و غلظت عددی). علاوه بر این توصیه می‌شود غلظت نانوذرات در محفظه مواجهه ۲۰٪ میانگین باقی بماند. نتایج آزمون باید با توجه به انطباق مطالعات و طرح‌های کیفی ارزیابی شود.

۹ گزارش آزمون

۹-۱ روش آزمون باید بر اساس این استاندارد ملی ایران باشد.

۹-۲ علاوه بر این گزارش آزمون شامل موارد ذیل خواهد بود:

الف- شناسایی کامل آزمون‌های نانومواد (کدهای سازنده ، شماره فرمولاسیون یا کاتالوگ، سری ساخت یا تاریخ و نام تجاری و ...)

ب- روش‌های اجرایی برای آماده سازی نمونه‌های آزمون

اندازه‌گیری کمی توزیع اندازه ذرات و تعداد بوسیله سیستم آنالیز جنبش افتراقی

پیوست الف

(اطلاعاتی)

مثالی از تولید نانوذرات نقره به روش تبخیر/ تراکم

الف-۱ کلیات

نانوذرات نقره اغلب بوسیله روش تبخیر/ تراکم سنتز می‌شوند که به طور طبیعی در کوره لوله‌ای در فشار اتمسفر انجام می‌گیرد. مواد اولیه در یک بشقابک در مرکز کوره به درون گاز حامل تبخیر شده و سپس در خروجی گاز کوره خنک شده و تشکیل نانوذرات می‌دهد. نانوذرات مواد مختلف مثل Ag, Au, Pbs و فولرین قبلا با روش تبخیر/ تراکم تولید شده‌اند. هرچند تولید نانوذرات با استفاده از کوره لوله‌ای معایب متعددی در زمینه کاربردهای دستگاه تولید کننده آئروسول دارد، زیرا کوره لوله‌ای فضای زیادی را اشغال کرده و انرژی زیادی صرف می‌کند و زمان زیادی را برای رسیدن به پایداری دمایی نیاز دارد. نمونه‌ای از این لوله‌ها بیش از ۳ کیلو وات انرژی و ۳۰ دقیقه یا بیشتر زمان برای رسیدن به پایداری دمایی نیاز دارد. آنچه بیشتر برای مطالعات سم شناسی استنشاقی اهمیت دارد افزایش دمای محیط اطراف مواد اولیه بوسیله کوره لوله‌ای است که می‌تواند بر روی غلظت نانوذرات اثر منفی گذاشته همان‌طور که می‌تواند دمای آئروسول را بطور غیر قابل قبولی برای آزمون بر روی حیوانات افزایش دهد. این پیوست رویکرد جدیدی را شرح می‌دهد که در آن مواد بر روی گرم‌کن الکتریکی کوچک سرامیکی مسطح گرم می‌شوند.

الف-۲ مکانیسم‌ها

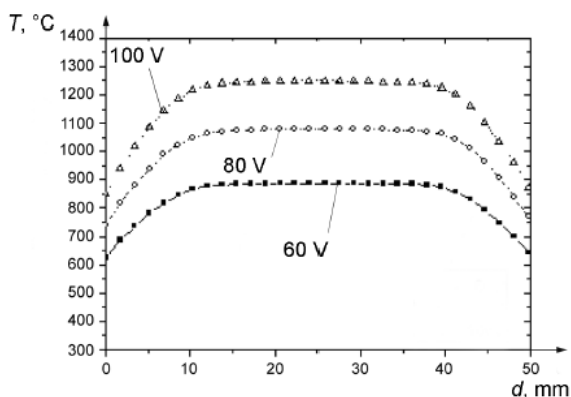
فلز اولیه بر روی گرم‌کن الکتریکی کوچک سرامیکی مسطح ($5\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 5\text{ mm}$) تبخیر شده و در یک بخار گازی حامل به نانوذرات تبدیل می‌شود. به دلیل سطح نسبتاً کوچک گرم‌کننده و زمان استقرار کوتاه که طی آن گاز حامل در تماس با گرم‌کن قرار می‌گیرد، آئروسول تولید شده با سرعتی بیشتر در کوره لوله‌ای خنک می‌شود. همان‌طور که ذرات در ناحیه‌ای کوچک نزدیک سطح گرم‌کننده جوانه می‌زنند و به سمت بیرون با گاز حامل جریان می‌یابند، تجمع ناشی از کوئچ و رقیق سازی در دمای پایین گاز حامل به سرعت کاهش می‌یابد. علاوه بر این نیروی ترموفورتیک، نیروی مثبت همنام و اختلاط انتشاری به تشکیل نانوذرات کروی کلوخه نشده کمک می‌کند.

الف-۳ ویژگی‌های دمایی گرم‌کن کوچک سرامیکی و محفظه تماس

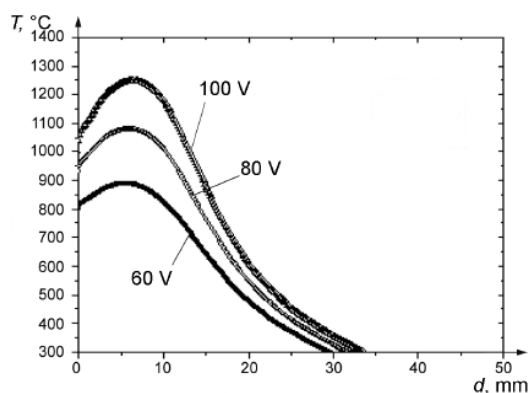
ویژگی‌های یک گرم‌کن با در نظر گرفتن دما، برای تولید نانوذرات مهم است. بویژه در روش تبخیر/ تراکم، دمای بالا، نزدیک نقطه ذوب ماده اولیه، مورد نیاز است. برای رسیدن نانوذرات سنتزی با ویژگی‌های پایدار، شرایط ترمودینامیکی پایدار در طی تولید نانوذرات مورد نیاز است. توزیع دمای سطح گرم‌کن در شکل الف-۱ نشان داده شده است، در ولتاژهای مختلف بکار رفته با استفاده از یک ترموکوپل و دماسنج فروسرخ اندازه‌گیری شده است.

مقایسه دماهای سطح گرم کن با قابلیت توزیع دماهای مختلف سطح ارزیابی می شود. قابلیت توزیع به طور فزاینده با دما تغییر می کند و در بازه 894°C تا 1417°C ، به میزان ۰/۹ است که بیانگر حداکثر درجه حرارت مورد نیاز می باشد (به شکل الف- مراجعه شود). با استفاده از این مقدار، توزیع دما در سطح گرم کن اندازه گیری می شود. سطح گرم کن سرامیکی برای آزمایش باید $3\text{ mm}\times 3\text{ mm}$ باشد. ویژگی های دمایی محفظه تماس پایش و ثبت می شود.

همانطور که در شکل الف -۳ نشان داده شده است، زمان برای رسیدن به حداکثر دمای مورد نظر حدود ۱۰ ثانیه می باشد. در مقایسه با روش کوره لوله ای، گرم کن کوچک به سرعت به وضعیت دمایی لازم برای تولید نانوذره می رسد. بعد از تقریباً ۱۰ ثانیه دمای سطحی گرم کن که مستقیماً بر روی سرعت تبخیر مواد اولیه اثر می گذارد، در سطح ثابتی باقی می ماند. از این رو، گرم کن سرامیکی با سطح سرامیکی کوچک برای تولید پایدار نانوذرات مناسب است.



ب- محور Y

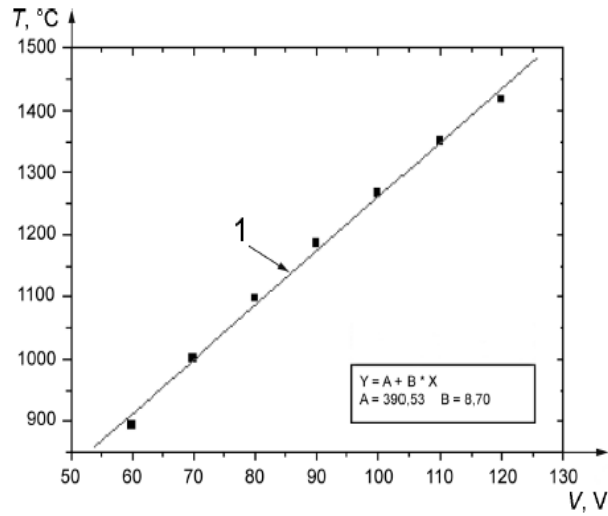


الف- محور X

راهنما :

D فاصله T دما

شکل الف - ۱: توزیع دما در محورهای X و Y برای سطح گرم کننده دستگاه گرم کن کوچک با بکارگیری ولتاژهای مختلف



راهنما:

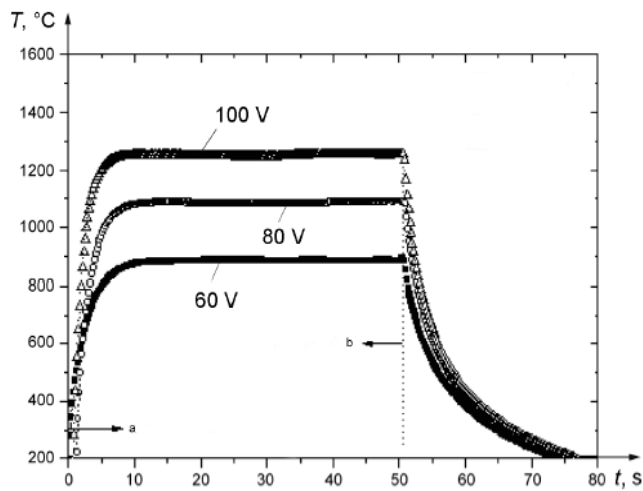
T دما

V ولتاژ بکار رفته

۱ ضریب خطی

شکل الف - ۲ حداکثر دما برای دستگاه گرم کن در ولتاژ بکار رفته

در ولتاژ بکار رفته دما تقریباً به صورت خطی افزایش می یابد.



راهنما:

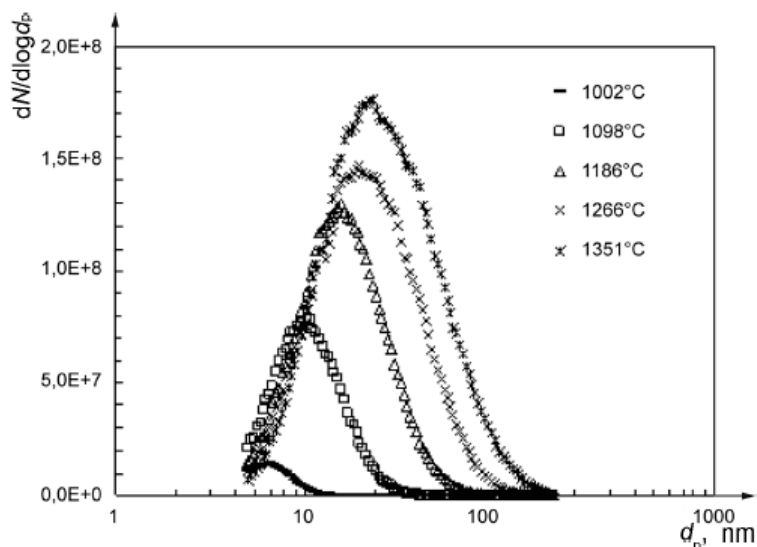
T دما

t زمان

a دستگاه روشن

b دستگاه خاموش

شکل الف - ۳: تغییرات دما بر حسب زمان در ولتاژهای مختلف بکار رفته



سرعت جریان گاز حامل به میزان ثابت ۴ لیتر بر دقیقه است.
 قطر صفحه ژنراتور ۳۴ میلی متر و جرم نقره بارگذاری شده اولیه ۱۴/۷۶ میلی گرم

راهنما:

$$dp^1 \text{ قطر حرکتی ذره}$$

$$dN/d\log dp \text{ ذرات در هر } cm^3$$

شکل الف - ۴: توزیع اندازه نانوذرات نقره تولید شده با استفاده از دماهای مختلف در سطح گرم کن

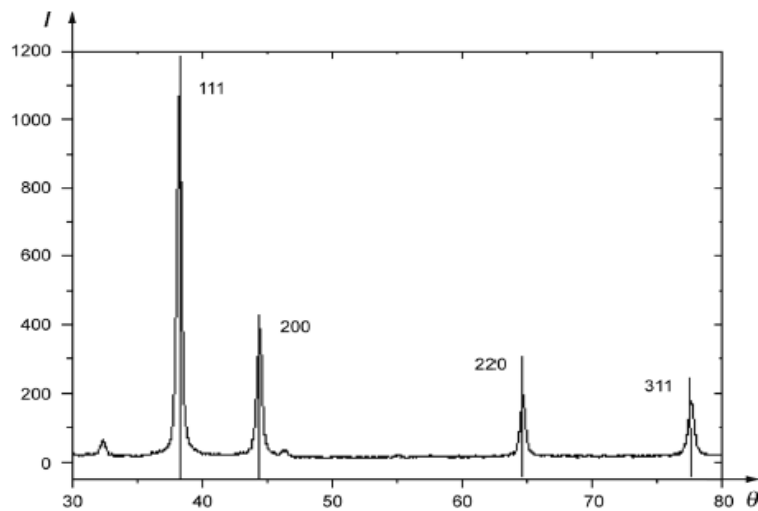
الف - ۴: آنالیز TEM و XRD نانوذرات نقره تحت گاز حامل هوا

همانطور که در شکل الف - ۴ شرح داده شده است، دمای گرم کن بر روی توزیع اندازه ذره اثر می گذارد. تصاویر TEM نانوذرات نقره ایجاد شده در دماهای مختلف گرم کن نشان می دهد نانوذرات کروی بوده و کلوخه نیستند. در مرحله ابتدایی تشکیل ذره، آن هایی که از طریق انعقاد رشد می کنند به ذرات کروی سینتر می شوند و این به خاطر دمای بالا در نزدیکی مواد اولیه است. به خاطر اینکه سیستم گرم کن سرامیکی الکتریکی دارای دمای بالایی در سطح می باشد، نانوذرات نقره تولید شده ممکن است به صورت کروی با روند یکسان رشد کنند. هر چند همانطور که ذرات در سطح گرم کن جوانه می زنند با گاز حامل هوا به بیرون جریان می یابند، انعقاد بین ذرات به سرعت در اثر رقیق سازی و فرایند کوئچ کاهش می یابد. علاوه بر این، نیروی ترموفورتیک نزدیک منبع و نیروی الکتریکی مثبت و اختلاط نفوذی^۲ بوسیله دمای موضعی بالا به تشکیل نانوذرات کلوخه نشده کمک می کند.

1- dp: Mobility diamete

۲- Diffusion mixing

در شکل الف-۵ نتایج پراش الکترونی اشعه X برای نانوذرات نقره با استفاده از پراش سنج اشعه X و اشعه $\text{CuK}\alpha$ نشان داده شده است. همانطور که پیک‌های ساختار کریستالی نشان می‌دهد، نانوذرات نقره تولید شده اکسید نشده‌اند، حتی وقتی هوا به عنوان گاز حامل، بکار رفته باشد. هرچند تشکیل نانوذرات اکسید نقره با استفاده از این روش، امکان پذیر است.



راهنما:

I شدت

θ زاویه تنا

شکل الف - ۵ : طیف XRD نانوذرات نقره

الف - ۵ ویژگی‌های پایداری به مدت طولانی برای مطالعات سمیت استنشاقی اجرایی کردن تجربی آزمایشات طولانی مدت، دو بخش مهم را شامل می‌شود

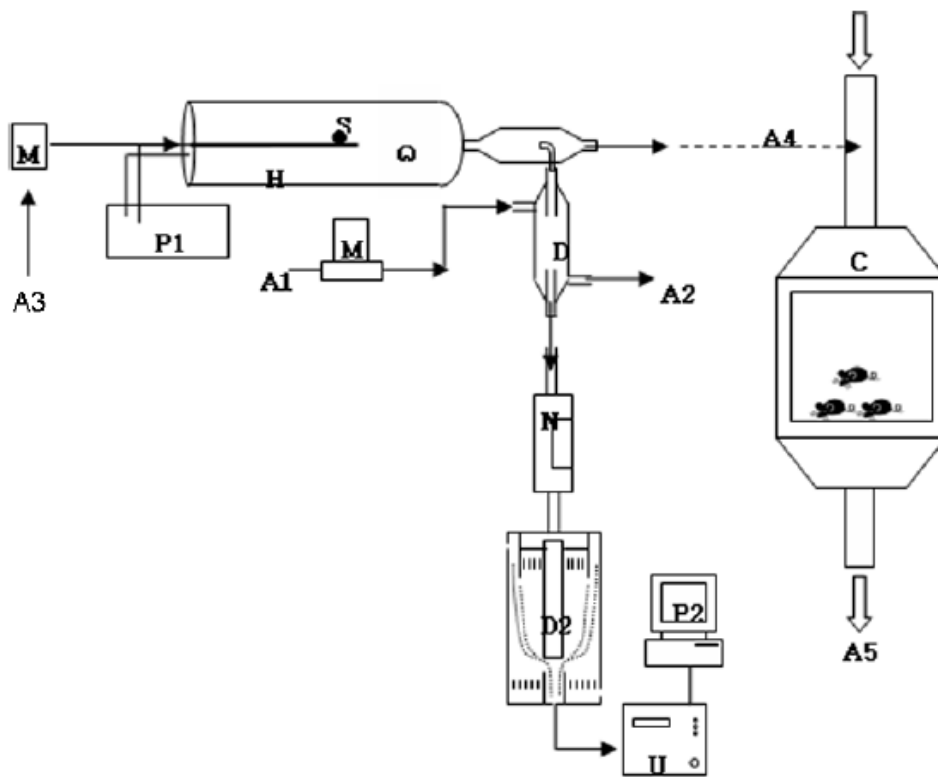
الف-۵-۱ تولید نانوذرات نقره بوسیله تولید آئروسول

الف-۵-۲ رقیق سازی و اندازه گیری (شکل الف-۶).

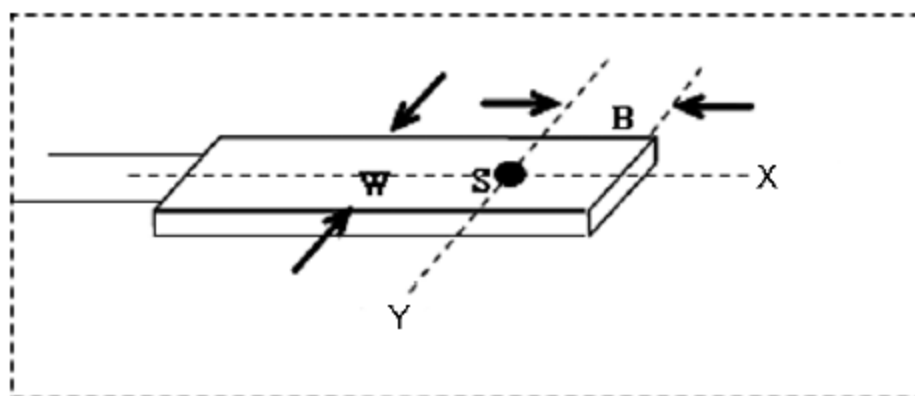
برای تولید آئروسول، یک گرم‌کن سرامیکی کوچک مسطح، به برق وصل می‌شود و در یک محفظه کوارتز جا می‌گیرد. این محفظه ۷۰ mm قطر و ۱۴۰ mm طول دارد. ابعاد المنت گرم‌کن ۱.۵×۵×۵۰ بوده و قادر به تحمل دمای سطحی تقریباً ۱۵۰۰°C با نواحی گرمایی موضعی ۱۰×۵۰ میلی متری باشد.

وقتی ولتاژ ۷۸۵ بکار رود، بالاترین دما در محل گرمایی موضعی (T_{max})، در حدود ۱۱۴۰°C است. مواد منبع نقره در بالاترین موقعیت دمایی قرار گرفته، هوای فیلتر شده خشک به عنوان گاز حامل بکار می‌رود. با جریان لامینار ۲۲ لیتر بر دقیقه (عدد رینولد در حدود ۴۲۰) و بکار بردن کنترل کننده جریان جرمی

¹(MFC) ، توزیع اندازه نانوذرات نقره با بکار بردن سیستم آنالیز جنبش افتراقی و شمارشگر تراکمی ذرات اندازه گیری شده است.



الف- آرایش اجزاء



ب: جزئیات گرم کن سرامیکی

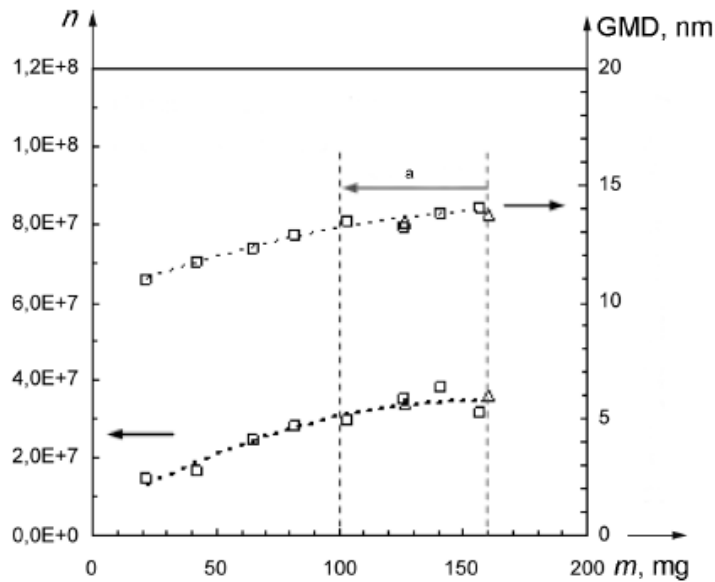
راهنما:

A3	هوای خشک شده فیلتر شده
A2	هوای اضافه
A1	هوای فیلتر شده با هپا به میزان ۲۰۰ لیتر بر دقیقه
A4	هوای حاوی نانوذره به میزان ۲۲ لیتر بر دقیقه
A5	هوای خروجی به میزان ۲۲۲ لیتر بر دقیقه
M	کنترل کننده جریان جرمی
P1	کلید برق
Q	لوله کوارتزی
H	گرم کن سرامیکی
S	منبع مواد
D	رقیق کننده
N	خنثی کننده (210Po)
D2	غربالگر جنبشی تحرک الکتریکی (DEMC)
U	شمارشگر تراکمی ذرات بسیار ریز (UCPC)
P2	کامپیوتر
C	محفظه تنفسی
W	عرض گرم کن ۵ میلی متر
B	فاصله مواد منبع تا لبه ۶٫۲ میلی متر

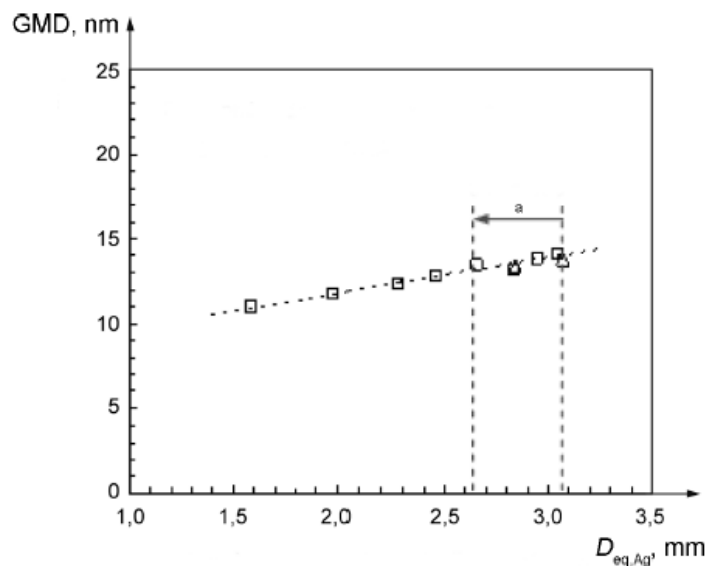
شکل الف - ۶: نمودار طرح کلی تنظیم دستگاه‌های آزمون

الف- ۶ تخمین توزیع اندازه به مدت طولانی بوسیله تغییر جرم بارگذاری شده نقره برای ارزیابی اثرات نانوذرات استنشاقی بر سلامت، ذرات نانو به محیط آزمایش حاوی حیوانات آزمایشگاهی رسانده می‌شود که این حیوانات بعداً برای بررسی اثر سمیت استنشاقی آزمایش می‌شوند. این آزمایشات برای کوتاه مدت و بلند مدت انجام شدند. روش تولید نانوذرات نقره یک توزیع قطر ذره ثابت و غلظت‌های عددی ثابتی را تهیه می‌کند که برای مطالعات سمیت استنشاقی در بلند مدت و کوتاه مدت مناسب است. شکل الف-۷ - الف توزیع اندازه نانوذرات نقره را که در آزمون پایداری اندازه‌گیری شده مطابق با داده‌های تغییرات ایجاد شده در توده نقره تبخیر شده را نشان می‌دهد. شکل الف-۷ - ب تغییرات تدریجی کاهش قطر متوسط هندسی به عنوان توده نقره تبخیر شده از ۱۶۰ میلی‌گرم به ۱۰۰ میلی‌گرم را نشان می‌دهد، این مقدار جرم محاسبه شده برای حجم‌های معادل با قطر به ترتیب ۳٫۰۸ میلی‌متر و ۲٫۶۳ میلی‌متر می‌باشد.

برای جرم نقره کمتر از ۱۰۰ میلی گرم ، قطر متوسط هندسی نسبتاً به سرعت کاهش می یابد همانطور که نقره بخار می شود. قطر و سطح تکه نقره لود شده بر روی قطر متوسط هندسی موثر است. اگر جرم لود شده اولیه ۱۶۰ میلی گرم باشد تولید نانوذرات نقره با اندازه ثابت امکان پذیر است تا وقتی که ۶۰ میلی گرم از جرم بارگذاری شده تبخیر شده و ۱۰۰ میلی گرم آن باقی می ماند.



الف- تغییرات غلظت عددی و قطر متوسط هندسی ذرات بر حسب جرم نقره در گرم کن



ب) تغییرات قطر متوسط هندسی بر حسب اندازه مواد منبع

قطر صفحه تولید کننده: ۷۰ میلی متر
راهنما:

n غلظت عددی، ذرات در هر cm^3

m جرم نقره بر روی سطح گرم کن

GMD قطر متوسط هندسی

$D_{\text{eq,Ag}}$ قطر معادل نقره

□ داده های تغییر جرم

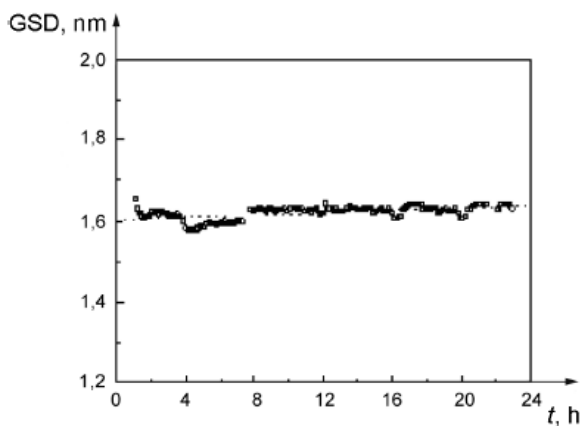
Δ داده های پایداری

a ۳۶ ساعت

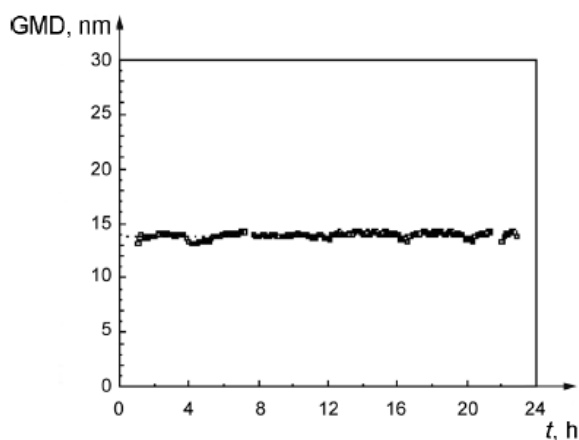
شکل الف - ۷: تغییرات غلظت عددی و قطر متوسط هندسی ذرات بر حسب جرم نقره و تغییرات قطر متوسط هندسی با قطر معادل نقره در گرم کن - مقایسه آزمون پایداری طولانی مدت ۲۴ ساعته و داده های پیش بینی شده از جرم اولیه با سرعت کاهش جرم در آزمون کوتاه مدت

الف - ۷ آزمون پایداری دراز مدت و توزیع نانوذرات

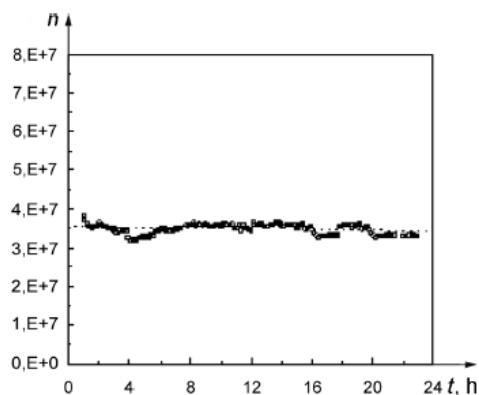
برای آزمایش دراز مدت ۱۶۰ میلی گرم از توده اولیه نقره انتخاب می شود. قطر نقره های کروی ۱۶۰ میلی گرمی در حدود ۳۱۰۸ میلی متر است. انحراف استاندارد هندسی و قطر متوسط هندسی نانوذرات تولید شده از این بارگذاری ۱۴ نانومتر و ۱٫۶ نانومتر هستند. غلظت عددی نهایی $10^7 \times 3,5$ است. شکل الف - ۹ توزیع اندازه نانوذرات نقره تا زمان بیش از ۲۴ ساعت برای تست سمیت استنشاقی بلند مدت را نشان می دهد (شکل الف - ۸ قسمت الف مشاهده شود). شکل الف - ۹ (الف، ب، پ) توزیع عددی، توزیع سطحی و توزیع جرمی را نشان می دهد. نرم افزار سیستم آنالیز جنبش افتراقی برای محاسبه سطح و جرم بر پایه قطر ذرات بر فرض اینکه نانوذرات کروی باشند را نشان می دهد. غلظت تقریبی سطح از توزیع اندازه عددی ذرات بدست آمده، همانطور که نانوذرات نقره تقریباً کروی و کت. خه نشده هستند. نقره حالت کروی خود را در طول مدت کار حفظ می کند و این به خاطر تنش سطحی نقره مایع است. ذرات نقره کروی جامد بر روی سطح گرم کن شکل می گیرند. وقتی که ولتاژ اولیه اعمال می شود، هر چند این شکل گاهی به خاطر کشش و جاذبه از حالت کروی خارج می شود، نقره توده ای شکل اندازه خود را طی ۲۴ ساعت حفظ می کند.



ب: انحراف استاندارد هندسی



الف: قطر هندسی ذرات



پ: غلظت عددی کل

راهنما:

جرم نقره بارگذاری شده اولیه ۱۶۰ میلی گرم

سرعت جریان هوا ۲۲ لیتر بر دقیقه

ولتاژ بکار رفته ۸۵ ولت

قطر محفظه مولد ۷۰ میلی متر

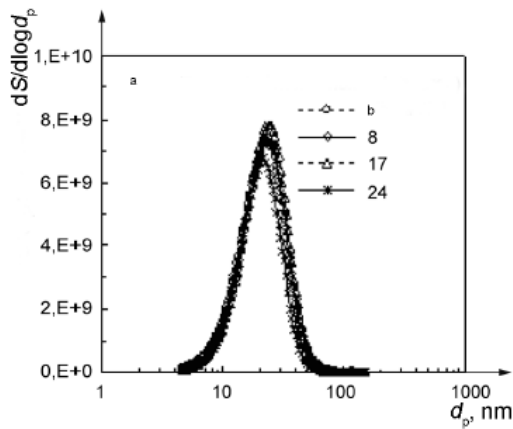
GMD قطر هندسی ذرات

GSD انحراف استاندارد هندسی

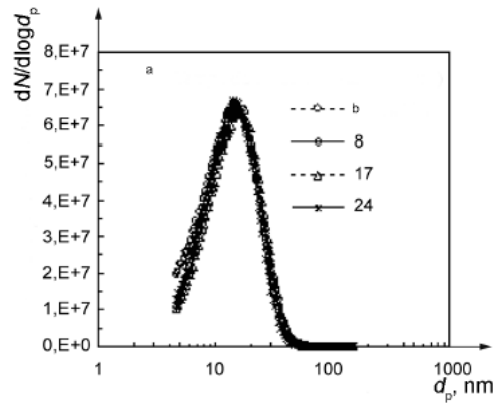
t زمان انجام کار

n غلظت عددی، ذرات در هر cm^3

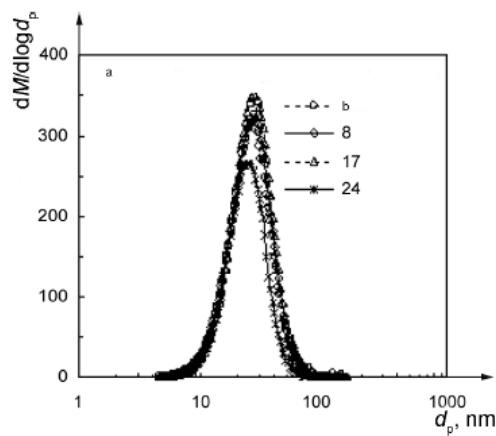
شکل الف - ۸ : تغییرات قطر هندسی ذرات (الف) ، انحراف استاندارد هندسی (ب) و غلظت عددی کل (پ) نانوذرات نقره بر حسب زمان برای آزمون پایداری طولانی مدت



ب: توزیع سطح ویژه



الف: توزیع عددی



ب: توزیع جرم

راهنما:

جرم نقره بارگذاری شده اولیه ۱۶۰ میلی گرم

قطر محفظه مولد ۷۰ میلی متر

$dN/dlogdp$ تعداد ذرات در هر cm^3

$dS/dlogdp$ cm^3 در هر cm^3 (حجم/سطح)

$dM/dlogdp$ میکروگرم در هر m^3

dp شعاع حرکتی

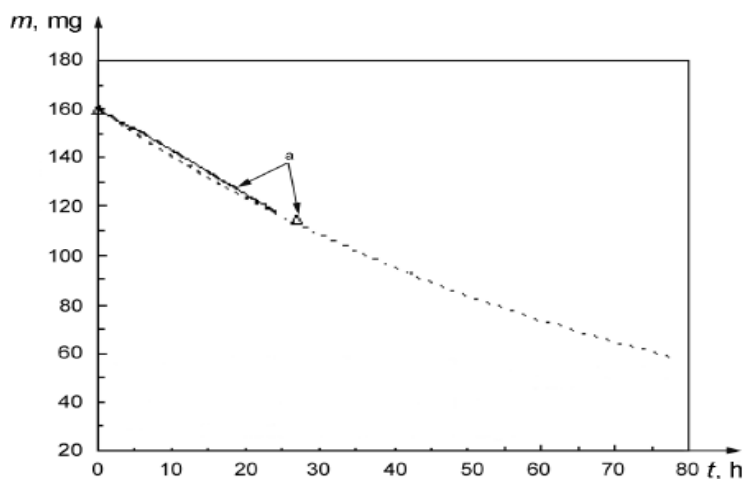
n غلظت عددی، تعداد ذرات در هر cm^3

a زمان انجام کار (ساعت)

b مرحله شروع

شکل الف - ۹: توزیع اندازه نانوذرات نقره بر حسب زمان برای آزمون سمیت استنشاقی بلند مدت

همانطور که در شکل الف-۱۰ مشاهده می شود ، جرم نقره در زمان انجام کار کاهش می یابد. جرم نقره بارگذاری شده اولیه ۱۶۰ میلی گرم است. جرم نقره بارگذاری شده با میکروبالانس بعد از ۲۴ ساعت کار مداوم اندازه گیری شده است. این داده های وزن سنجی، مشابه داده های جرمی محاسبه شده با سیستم آنالیز جنبش افتراقی بود که در پایش مداوم ۲۴ ساعته جمع آوری شده است. غلظت عددی که از داده های سیستم آنالیز جنبش افتراقی محاسبه شده است به غلظت جرمی برای مطالعات سمیت برگردانده شده است.



راهنما:

m جرم نقره بارگذاری شده

t زمان

— تخمین smps

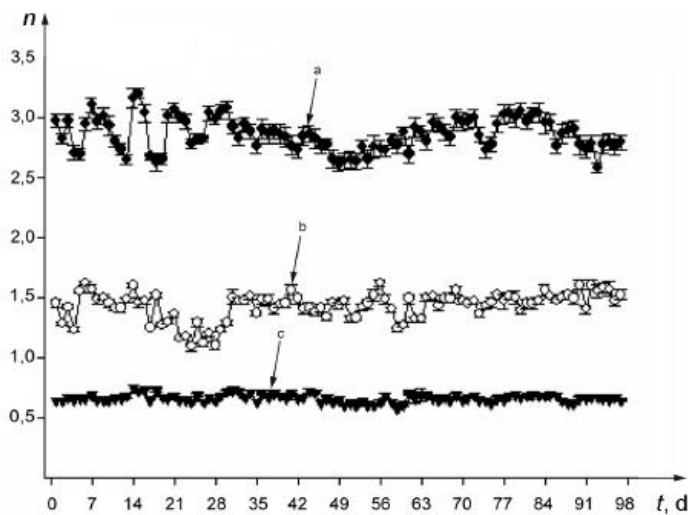
Δ اندازه گیری میکروبالانس

... تخمین تغییرات بارگذاری

a داده های پایداری

شکل الف - ۱۰: مقایسه بین داده های آزمون پایداری ۲۴ ساعته و داده های پیش بینی شده از سرعت کاهش جرم اولیه با استفاده از آزمون کوتاه مدت

الف- ۸ پایداری نانوذرات نقره تولید شده و غلظت نگهداری در طی ۹۰ روز مطالعه سمیت استنشاقی همان طور که در شکل الف- ۱۱ نشان داده شده است، غلظت نانوذرات نقره در طی ۹۰ روز مطالعه در زمینه سمیت استنشاقی ثابت نگه داشته شده است. دستگاه تولید کننده به اندازه کافی پایدار بوده و برای مطالعات مواجهه استنشاقی تحت حاد^۱ مناسب است.



راهنما:

n عدد (تعداد ذرات در هر $10^6 \times \text{cm}^3$)

t زمان

a بالا

b متوسط

c کم

شکل الف- ۱۱: نگهداری غلظت ها در طی ۹۰ روز تولید نانوذرات نقره و مواجهه استنشاقی

الف- ۹ تولید سایر نانوذرات فلزی(مانند طلا)

روشی که در این پیوست ارائه شد، محدود به نانوذرات نقره نیست و ممکن است برای طلا و سایر نانوذرات فلزی که نقطه ذوب و سرعت تبخیر مشابهی دارند نیز بکار رود. هر چند سرعت تبخیر طلا پایین بوده و تولید آن آسان نیست اما غلظت مفید نانوذرات طلا می تواند با این وسیله تولید شود.

پیوست ب
(کتابشناسی)

- [1] ISO 9276-1, *Representation of results of particle size analysis — Part 1: Graphical representation*
- [2] ISO 9276-5, *Representation of results of particle size analysis — Part 5: Methods of calculation relating to particle size analyses using logarithmic normal probability distribution*
- [3] ISO 10312, *Ambient air — Determination of asbestos fibres — Direct transfer transmission electron microscopy method*
- [4] ISO 10808, *Nanotechnologies — Characterization of nanoparticles in inhalation exposure chambers for inhalation toxicity testing*
- [5] ISO/TR 12885, *Nanotechnologies — Health and safety practices in occupational settings relevant to nanotechnologies*
- [6] ISO/TR 27628, *Workplace atmospherics — Ultrafine, nanoparticle and nano-structured aerosols — Inhalation exposure characterization and assessment*
- [7] AITKEN, R.J., CREELY, K.S. and TRAN, C.L. Nanoparticles: An occupational hygiene review, Research report 274, Health and Safety Executive (HSE), Norwich, UK (2004)
- [8] BAKAND, S., WINDER, C., KHAHIL, C. and HAYES, A. A novel in vitro technique for toxicity testing of selected volatile organic compounds. *J. Environ. Monit.*, **8**, pp.100-105 (2006)
- [9] BAKAND, S., WINDER, C., KHAHIL, C. and HAYES, A. An experimental in vitro model for dynamic direct exposure of human cells to airborne contaminants. *Toxicol. Letters*, **165**(1), pp. 1-10 (2006)
- [10] LESTARI, F., HAYES, A.J., GREEN, A.R. and MARKOVIC, B. In vitro cytotoxicity of selected chemicals produced during fire combustion using human cell lines. *Toxicol. In Vitro*, **19**, pp. 653-663 (2005)
- [11] GOLDBERG, A.M. and HARTUNG, T. Protecting more than animals. *Sci. Am.*, **294**, pp. 84-91 (2006)
- [12] HINDS, W.C., *Aerosol Technology*, Wiley-Interscience (1999)
- [13] JUNG, J.H., OH, H.C., HOH, H.S., JI, J.H. and KIM, S.S. Metal nanoparticle generation using a small ceramic heater with a local heating area. *Journal Aerosol Science*, **37**, pp. 1662-1670 (2006)
- [14] Ji, J.H., JUNG, J.H., YU, I.J. and KIM, S.S. Long-term stability characteristics of metal nanoparticle generator using a small ceramic heater for inhalation toxicity studies. *Inhalation Toxicology*, **19**, pp. 745-751 (2007)
- [15] Ji, J.H., JUNG, J.H., KIM, S.S., YOON, J.U., PARK, J.D., CHOI, B.S., CHUNG, Y.H., KWON, I.H., JEONG, J., HAN, B.S., SHIN, J.H., SUNG, J.H., SONG, K.S. and YU, I.J. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*, **19**(10), pp. 857-871 (2007)
- [16] JUNG, J.H., OH, H.C., Ji, J.H. and KIM, S.S. In-situ gold nanoparticle generation using a small-sized ceramic heater with a local heating area. *Materials Science Forum*, **544-545**, pp. 1001-1004 (2007)
- [17] Ji, J.H., BAE, G.N., YUN, S.W., JUNG, J.H., NOH, H.S. and KIM, S.S. Evaluation of silver nanoparticle generator using a small ceramic heater for inactivation of *S. epidermidis* bioaerosols. *Aerosol Science and Technology*, **41**(8), pp. 786-793 (2007)
- [18] KRUIS, F.E., FISSAN, H. and RELLINGHAUS, B. Sintering and evaporation characteristics of gas-phase synthesis of size-selected PbS nanoparticles. *Materials Science and Engineering B*, **69**, pp. 329-334 (2000)

- [19] KU, B.K. and DE LA MORA, J.F. Relation between Electrical Mobility, Mass, and Size for Nanodrops 1-6.5 nm in Diameter in Air. *Aerosol Science and Technology*, **43**(3), pp. 241-249 (2009)
- [20] KU, B.K. and MAYNARD, A.D. Comparing aerosol surface-area measurement of monodisperse ultrafine silver agglomerates using mobility analysis, transmission electron microscopy and diffusion charging. *J. Aerosol Sci.*, **36**, pp. 1108-1124 (2005)
- [21] MAGNUSSON, M.H., DEPERT, K., MALM, J.O., BOVIN, J.O. and SAMUELSON, L. Gold nanoparticles: production, reshaping, and thermal charging. *Journal of Nanoparticle Research*, **1**, pp. 243-251 (1999)
- [22] PEINEKEA, C., ATTOUI, M.B. and SCHMIDT-OTT, A. Using a glowing wire generator for production of charged uniformly sized nanoparticles at high concentrations. *Journal Aerosol Science*, **37**, pp. 1651-1661 (2006)
- [23] SCHEIBEL, H.G. and PORSTENDORFER, J. Generation of monodisperse Ag and NaCl aerosols with particle diameters between 2 and 300 nm. *Journal of Aerosol Science*, **14**, pp. 113-126 (1983)
- [24] SCHMIDT-OTT, A. New approaches to in situ characterization of ultrafine agglomerates. *Journal of Aerosol Science*, **19**, pp. 553-563 (1988)
- [25] SHIMEDA, M., SETO, T. and OKUYAMA, K. Size change of very fine silver agglomerates by sintering in a heated flow. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **27**, pp. 795-802 (1994)
- [26] SUNG, J.H., JI, J.H., YUN, J.U., KIM, D.S., SONG, M.Y., JEONG, J., HAN, B.S., HAN, J.H., CHUNG, Y.H., KIM, J., KIM, T.S., CHANGE, H.K., LEE, E.J., LEE, J.H. and YU, I.J. Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles. *Inhalation Toxicology*, **20**, pp. 567-574 (2008)
- [27] SUNG, J.H., JI, J.H., PARK, J.D., YOON, J.U., KIM, D.S., JEON, K.S., SONG, M.Y., JEONG, J., HAN, B.S., HAN, J.H., CHUNG, Y.H., CHANG, H.K., LEE, J.H., CHO, M.H., KELMAN, B.J. and YU, I.J. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicol. Sci.*, **108**(2), pp. 452-461 (2009)
- [28] SUNG, J.H., JI, J.H., PARK, J.D., YOON, J.U., KIM, D.S., JEON, K.S., SONG, M.Y., JEONG, J., HAN, B.S., HAN, J.H., CHUNG, Y.H., CHANG, H.K., LEE, J.H., CHO, M.H., KELMAN, B.J. and YU, I.J. Subchronic inhalation toxicity of gold nanoparticles. *Report submitted to National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration* (2008)
- [29] PHALEN, R.F. *Methods in Inhalation Toxicology*. CRC Press, Boca Raton, FL (1997)
- [30] OECD Guidance Document (GD) 39, *Acute Inhalation Toxicity Testing*
- [31] United States Environmental Protection Agency, Prevention, pesticides and toxic substances (7101), EPA 712-C-98-204, EPA Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.3465 (1998) 90-Day Inhalation Toxicity, US EPA