



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۱۹۱۵۶

چاپ اول

۱۳۹۸

INSO
19156
1st Edition
2019

Identical with
ISO 19057:
2017

فناوری نانو- استفاده و کاربرد آزمون‌های
برون تنی بدون سلولی و روش‌شناسی‌های
ارزیابی ماندگاری زیستی نانوماده

**Nanotechnologies- Use and application of
acellular in vitro tests and methodologies to
assess nanomaterial biodurability**

ICS:07.120

استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۱۵۶ (چاپ اول): سال ۱۳۹۸

سازمان ملی استاندارد ایران

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

صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران - ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۱۰۳ و ۸۸۸۸۷۰۸۰

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۸۱۱۴-۳۲۸۰۸ (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، به‌عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهاییکه مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به‌عنوان 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 به‌عنوان 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 به‌منظور 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

«فناوری نانو- استفاده و کاربرد آزمون‌های برون تنی بدون سلولی و روش‌شناسی‌های ارزیابی

ماندگاری زیستی نانوماده»

رئیس:

عضو هیئت علمی- پژوهشگاه استاندارد

فرجی، محمد
(دکتری شیمی تجزیه)

دبیر:

عضو هیئت علمی- پژوهشگاه استاندارد

عطار، فرنوش
(دکتری بیوشیمی)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

کارشناس- ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

احمدی، سارا
(دکتری مهندسی مواد)

عضو هیئت علمی- دانشگاه علوم پزشکی تهران

استاد، سید ناصر
(دکتری فارماکولوژی- سم شناسی)

کارشناس- ستاد ویژه توسعه فناوری نانو

اسلامی پور، الهه
(کارشناسی ارشد زیست شناسی)

کارشناس- گروه تولیدی پزشکی ورید

اکبرزاده شعریاف، سپیده
(کارشناسی شیمی)

عضو هیئت علمی- دانشکده شیمی دانشگاه خوارزمی

حاجی بیگی، محسن
(دکتری شیمی آلی)

عضو هیئت علمی- پژوهشگاه استاندارد

حیدرزاده، مرجان
(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

عضو هیئت علمی- پژوهشگاه استاندارد

زایرزاده، احسان
(دکتری سم شناسی)

نایب رئیس- کمیته فنی متناظر ستاد فناوری نانو

سیفی، مهوش
(کارشناسی ارشد مدیریت دولتی)

عضو هیئت علمی- پژوهشگاه استاندارد

شعبانیان، میثم
(دکتری شیمی آلی- پلیمر)

رئیس:

فلاحتی، مجتبی
(دکتری بیوفیزیک)

قاضی خوانساری، محمود
(دکتری سم شناسی)

میرزاجانی، فاطمه
(دکتری فیتوشیمی)

نوربحش، رویا
(کارشناسی ارشد سم شناسی)

ویراستار:

سیفی، مهوش
(کارشناسی ارشد مدیریت دولتی)

سمت و/یا محل اشتغال:

عضو هیئت علمی - دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران

عضو هیئت علمی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

عضو هیئت علمی - دانشگاه شهید بهشتی

رئیس آزمایشگاه مرجع گروه سم شناسی - پژوهشگاه استاندارد

نایب رئیس - کمیته فنی متناظر ستاد فناوری نانو

فهرست مندرجات

| صفحه | عنوان |
|------|---|
| ح | پیش‌گفتار |
| ۱ | ۱ هدف و دامنه کاربرد |
| ۱ | ۲ مراجع الزامی |
| ۱ | ۳ اصطلاحات و تعاریف |
| ۴ | ۴ نمادها و کوتاه‌نوشت‌ها |
| ۶ | ۵ پیشینه نیاز به ارزیابی ماندگاری زیستی ذرات |
| ۸ | ۶ اهداف و مقاصد |
| ۸ | ۷ رویکردهای ارزیابی ماندگاری زیستی ذره و فیبر معدنی با ابعاد میکرومتر |
| ۸ | ۷-۱ کلیات |
| ۹ | ۷-۲ انحلال نانومواد در مقابل پراکنش و تجزیه زیستی آن‌ها |
| ۱۰ | ۸ نیاز به ارزیابی ماندگاری زیستی نانوماده |
| ۱۰ | ۹ تأثیر انواع مختلف لیگاندها و پوشش‌ها بر قابلیت ماندگاری زیستی نانوماده |
| | ۱۰ مروری بر روش‌شناسی‌های ارزیابی ماندگاری زیستی ذرات و فیبرهای معدنی با ابعاد میکرومتر |
| ۱۲ | میکرومتر |
| ۱۲ | ۱۰-۱ کلیات |
| ۱۲ | ۱۰-۲ روش‌های برون‌تنی بدون سلولی |
| ۱۳ | ۱۰-۳ توصیف محیط‌های مختلف فیزیولوژیکی شبیه‌سازی شده |
| ۱۶ | ۱۰-۴ توصیف شرایط محیطی مختلف شبیه‌سازی شده |
| ۱۷ | ۱۰-۵ توصیف سیستم‌های آزمون مختلف برای ارزیابی انحلال ذرات و فیبرها |
| ۱۹ | ۱۰-۶ ارزیابی غلظت جسم حل شده پس از آزمایش انحلال |
| ۲۶ | ۱۱ محاسبه ماندگاری زیستی ذره معدنی با ابعاد میکرومتر |
| ۲۶ | ۱۱-۱ کلیات |
| ۲۶ | ۱۱-۲ کینتیک انحلال، سرعت انحلال و ثابت‌های سرعت انحلال |
| ۲۷ | ۱۱-۳ کینتیک انحلال و سرعت انحلال ذرات و فیبرهای بزرگ‌تر |
| ۲۸ | ۱۱-۴ کینتیک انحلال و سرعت انحلال نانوذرات |
| ۲۹ | ۱۱-۵ ارزیابی تخمین نیمه عمر ذرات و فیبرها |
| ۳۰ | ۱۱-۶ ارزیابی تخمین طول عمر ذرات و فیبرها |
| ۳۳ | ۱۱-۷ ارزیابی تخمین نیمه عمر و طول عمر |
| | ۱۲ مثال‌هایی از ارزیابی ماندگاری زیستی ذرات و فیبرهای معدنی با ابعاد میکرومتر با استفاده از سیستم‌های برون‌تنی بدون سلولی |
| ۳۴ | |

| صفحه | عنوان |
|------|---|
| ۳۴ | ۱۲-۱ فیبرهای شیشه و آزبست |
| ۳۴ | ۱۲-۲ سیلیسیم دی‌اکسید |
| ۳۴ | ۱۲-۳ تالک |
| ۳۵ | ۱۲-۴ تنگستن اکسید |
| ۳۵ | ۱۲-۵ بریلیم |
| | ۱۳ مثال‌هایی از ارزیابی ماندگاری زیستی نانومواد با استفاده از سیستم‌های برون‌تنی بدون سلولی |
| ۳۵ | ۱۳-۱ نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره و نانولوله‌های کربنی چنددیواره |
| ۳۶ | ۱۳-۲ نانوذرات نقره |
| ۳۷ | ۱۳-۳ تیتانیم دی‌اکسید |
| ۳۸ | ۱۳-۴ اکسید روی |
| ۳۸ | ۱۴ ماندگاری زیستی لیگاندها |
| ۳۸ | ۱۴-۱ کلیات |
| ۳۸ | ۱۴-۲ مثال‌هایی از لیگاندهای متصل شده به ذرات و ارزیابی ماندگاری زیستی آن‌ها |
| ۳۹ | ۱۴-۳ روش‌شناسی‌های ارزیابی ماندگاری زیستی لیگاندهای متصل شده |
| ۴۰ | ۱۵ ارتباط با اسناد بین‌المللی مرتبط |
| ۴۰ | ۱۵-۱ مایع عرق شبیه‌سازی شده |
| ۴۲ | ۱۵-۲ سیوم شبیه‌سازی شده |
| ۴۲ | ۱۵-۳ مایعات ریوی شبیه‌سازی شده |
| ۴۲ | ۱۵-۴ مایعات سیستم گوارشی شبیه‌سازی شده |
| ۴۲ | ۱۶ ارزیابی اعتبار سیستم‌های سنجش / آزمون |
| ۴۴ | ۱۷ ارتباط زیستی سنجش انحلال |
| ۴۴ | ۱۸ استفاده از آزمون‌های ماندگاری زیستی در ارزیابی ریسک و محدودیت‌های آن‌ها |
| ۴۶ | پیوست الف (آگاهی‌دهنده) جدول‌های اطلاعات مرتبط |

پیش‌گفتار

استاندارد «فناوری نانو- استفاده و کاربرد آزمون‌های برون‌تنی بدون سلولی و روش‌شناسی‌های ارزیابی ماندگاری زیستی نانوماده» که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی/منطقه‌ای به‌عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی ایران شماره ۵ تهیه و تدوین شده، در هشتادمین اجلاس کمیته ملی استاندارد فناوری نانو مورخ ۱۳۹۸/۰۸/۱۲ 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، به‌عنوان 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 19057: 2017, Nanotechnologies- Use and application of acellular in vitro tests and methodologies to assess nanomaterial biodurability

فناوری نانو- استفاده و کاربرد آزمون‌های برون‌تنی بدون سلولی و روش‌شناسی‌های ارزیابی ماندگاری زیستی نانوماده

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه آزمون‌های برون‌تنی^۱ بدون سلولی و روش‌شناسی‌های به‌کار رفته در ارزیابی ماندگاری زیستی نانومواد و لیگاندهای آن‌ها، همچنین نحوه استفاده و به‌کارگیری این آزمون‌ها و روش‌شناسی‌ها در محیط‌های زیستی و شرایط محیطی شبیه‌سازی شده می‌باشد.

این استاندارد بیشتر بر روش‌شناسی‌های برون‌تنی بدون سلولی که برای ارزیابی ماندگاری زیستی به‌کار می‌روند، تمرکز دارد و بنابراین، بررسی عمومی مرتبط با آزمون‌های ماندگاری زیستی برون‌تنی سلولی یا حیوانی را شامل نمی‌شود.

۲ مراجع الزامی

این استاندارد مراجع الزامی ندارد.

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات با تعاریف زیر به‌کار می‌رود^۲:

۱-۳

تجمع زیستی

bioaccumulation

فرآیند تجمع یک ماده در ارگانیسم‌ها یا قسمت‌هایی از آن است.

[منبع: زیربند ۳-۳، استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۵۴۴: سال ۱۳۹۴]

۲-۳

تجزیه زیستی

biodegradation

تجزیه به‌وسیله محیط زیستی.

1- *In vitro*

۲- اصطلاحات و تعاریف به‌کار رفته در استانداردهای ISO و IEC در وبگاه‌های www.iso.org/obp و www.electropedia.org/ قابل‌دسترس است.

یادآوری - تجزیه زیستی ممکن است به وسیله آزمون‌های برون‌تنی مدل‌سازی شود.

[منبع: زیربند ۳-۴، استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۵۴۴: سال ۱۳۹۴]

۳-۳

ماندگاری زیستی

biodurability

قابلیت مقاومت ماده در برابر انحلال (۳-۶) و شکنندگی مکانیکی از سازوکارهای پاک‌سازی شیمیایی و فیزیکی.

[منبع: زیربند ۳-۵، استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۵۴۴: سال ۱۳۹۴، تغییر یافته]

۴-۳

پایداری زیستی

biopersistence

توانایی مقاومت زیستی یک ماده در یک بافت علیرغم سازوکارهای حذف فیزیولوژیک بافتی و شرایط محیطی است.

[منبع: EN 18748:1999]

۵-۳

پراکنش

dispersion

سیستم چند فازی میکروسکوپی که در آن ناپیوستگی‌های هر حالت (جامد، مایع یا گاز: فاز دائمی) در یک فاز پیوسته از یک حالت یا اجزای متفاوت پراکنده می‌شوند.

[منبع: زیربند 16.5، استاندارد EN 26824:2013]

۶-۳

انحلال

dissolution

فرآیند به‌دست آوردن محلولی حاوی آنالیت مورد مطالعه است.

یادآوری - انحلال عمل حل شدن است و گونه‌های به‌دست آمده می‌توانند مولکولی یا یونی باشند.

[منبع: زیربند 3.4.10، استاندارد ISO 17733: 2015، تغییر یافته]

۷-۳

لیگاندها

ligands

اتم‌ها یا گروه‌های متصل به اتم مرکزی است.

[منبع: IUPAC Recommendations 1994]

۸-۳

نانوماده

nanomaterial

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

یادآوری ۱- این اصطلاح عمومی شامل نانوشی و ماده نانساختار است.

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

[منبع: زیربند ۲-۴، استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۱-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵]

۹-۳

نانوذره

nanoparticle

نانوشیئی است که در تمام سه بعد خارجی، نانومقیاس باشد.

یادآوری- اگر طول بلندترین محور نانوشی با طول کوچکترین محور آن تفاوت چشمگیری داشته باشد (معمولاً بیشتر از سه برابر)، می‌توان به جای عبارت نانوذره از عبارت نانوسیم^۱ یا نانوصفحه^۲ استفاده کرد.

[منبع: زیربند ۲-۳، استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۶-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۶]

۱۰-۳

مساحت سطح ویژه برای پودرها

specific surface area for powders

تقسیم مساحت سطح مطلق نمونه بر جرم آن است که در واحدهای m^2/g یا m^2/kg بیان می‌شود.

[منبع: زیربند 3.11، استاندارد ISO 9277: 2010، تغییر یافته]

1- Nanorod
2- Nanoplate

suspension

مخلوط ناهمگنی از مواد، شامل یک مایع و ماده جامدی که به خوبی در آن پراکنده شده باشد.

[منبع: زیربند ۲-۱۳، استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۶-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۶]

۴ نمادها و کوتاه‌نوشت‌ها

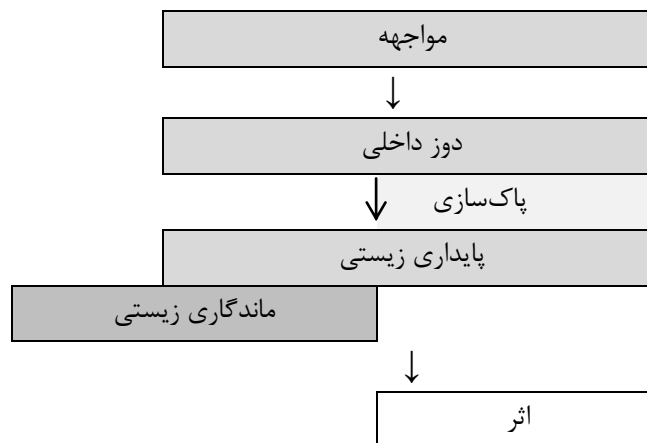
| | | |
|--|--|---|
| AAS | Atomic absorption spectroscopy | طیف‌سنجی جذب اتمی |
| AF4 | Asymmetrical flow field flow fractionation | جزء جزء کردن میدان جریان نامتقارن |
| AgNPs | Silver nanoparticles | نانوذرات نقره |
| ATR-FTIR | Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy | طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه- بازتاب کلی تضعیف شده |
| AuNPs | Gold nanoparticles | نانوذرات طلا |
| CdSe _{core} /ZnS _{shell} | Cadmium-selenium (core) and zinc sulfide (shell) | سلنیم کادمیم (هسته) و سولفید روی (پوسته) |
| CE | Capillary electrophoresis | الکتروفورز مویین |
| CFS | Continuous flow system | سیستم جریان پیوسته |
| CNTs | Carbon nanotubes | نانولوله‌های کربنی |
| CPE | Cloud-point extraction | استخراج نقطه ابری |
| CuONPs | Copper oxide nanoparticles | نانوذرات اکسید مس |
| Da | Dalton | دالتون |
| DMEM | Dulbecco's Modified Eagle's Medium | محیط کشت DMEM |
| DOM | Dissolved organic matter | ماده آلی حل شده |
| EPA | US. Environmental Protection Agency | سازمان حفاظت از محیط‌زیست ایالات متحده آمریکا |
| FFFF | Flow field flow fractionation | جزء جزء کردن میدان جریان |
| FTIR | Fourier transform infrared spectroscopy | طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه |
| GC-MS | Gas chromatography-mass spectrometry | کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی |
| GPC | Gel permeation chromatography | کروماتوگرافی ژل تراوایی |
| HPCIC | High-performance chelation ion chromatography | کروماتوگرافی یونی کی‌لیت با عملکرد بالا |
| HRP | Horseradish peroxidase | پراکسیداز HRP |
| ICP-MS | Inductively coupled plasma-mass spectrometry | پلاسمای جفت‌شده القایی- طیف‌سنجی جرمی |
| ICP-OES | Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry | پلاسمای جفت‌شده القایی- طیف‌سنجی نشر نوری |

| | | |
|----------------------|--|---|
| SNMS/TOF-SIMS | Secondary neutral mass spectrometry/time-of-flight secondary ion mass spectrometry | طیف‌سنجی جرمی خنثی ثانویه زمان پرواز/ طیف‌سنجی جرمی یون ثانویه |
| LC-MS | Liquid chromatography-mass spectrometry | کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنجی جرمی |
| LC-MS/MS | Liquid chromatography-mass spectroscopy-mass spectroscopy | کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنجی جرمی متوالی |
| MALDI-TOF-MS | Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry | واجذب/یونیزاسیون لیزری با ماتریس- طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز |
| m/z | Mass-to-charge ratios | نسبت جرم به بار |
| MWCNTs | Multi-wall carbon nanotubes | نانولوله‌های کربنی چنددیواره |
| NaCl | Sodium chloride | سدیم کلرید |
| NP | Nanoparticle | نانوذره |
| NIOSH | U.S. National Institute for Occupational Safety and Health | موسسه ملی ایمنی و بهداشت شغلی آمریکا |
| NSL | Nanosphere lithography | لیتوگرافی نانوکره |
| PAP | Pulmonary alveolar proteinosis | آلئولار پروتئینوزیس ریوی |
| PBPK | Physiologically-based pharmacokinetic | فارماکوکینتیک مبتنی بر فیزیولوژی |
| PSF | Phagolysosomal simulant fluid | مایع شبیه‌ساز فاگولیزوزومی |
| QDs | Quantum dots | نقاط کوانتومی |
| QQQ | Triple quadrupole | چهارقطبی سه‌گانه |
| QTOF | Quadrupole time-of-flight | چهار قطبی زمان پرواز |
| REACH | Registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals | ثبت، ارزیابی، مجوز و محدودیت مواد شیمیایی |
| RPMI | Roswell Park Memorial Institute | محیط کشت RPMI |
| SDS | Sodium dodecyl sulfate | سدیم دودسیل سولفات |
| SiO ₂ | Silicon dioxide | سیلیسیم دی‌اکسید |
| SLF | Simulated lung fluid | مایع ریه شبیه‌سازی شده |
| spICP-MS | Single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry | پلاسمای جفت‌شده القایی تک‌ذره‌ای- طیف‌سنجی جرمی |
| SPE | Solid-phase extraction | استخراج فاز جامد |
| SPF | Simulated physiological fluids | مایعات فیزیولوژیکی شبیه‌سازی شده |
| SPR | Surface Plasmon Resonance | تشدید پلاسمون سطحی |
| SS | Simulated saliva | بزاق شبیه‌سازی شده |
| SSW | Simulated sweat | مایع عرق شبیه‌سازی شده |
| SUF | Simulant ultrafiltrate fluid | مایع شبیه‌ساز اولترافیلتتر |
| SWCNTs | Single-wall carbon nanotubes | نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره |
| TBOs | Tungsten blue oxides | اکسید تنگستن آبی |
| TiO ₂ NPs | Titanium dioxide nanoparticles | نانوذرات تیتانیوم (تیتانیوم دی‌اکسید) |
| UV-Visspectroscopy | Ultraviolet-visible spectroscopy | طیف‌سنجی فرابنفش- مرئی |
| WO ₃ | Tungsten trioxide | تنگستن تری‌اکسید |
| ZnONPs | Zinc oxide nanoparticles | نانوذرات اکسید روی |

۵ پیشینه نیاز به ارزیابی ماندگاری زیستی ذرات

قابلیت یک ذره یا فیبر استنشاق شده برای ایجاد بیماری مزمن، به شدت به مدت زمان ماندگاری در محیط ریه ارتباط دارد. پایداری زیستی ذرات و فیبرها، به عنوان مواد مقاوم در برابر پاک سازی بدن از طریق مسیرهای فیزیکی و شیمیایی تعریف شده است. مقاومت به پاک سازی فیزیکی ممکن است نتیجه مقاومت به فاگوسیتوز توسط ماکروفاژهای آلوئولار باشد. مقاومت به پاک سازی از طریق مسیرهای شیمیایی و فیزیکی، به عبارت دیگر همان ماندگاری زیستی، ممکن است از طریق مقاومت در برابر انحلال شیمیایی حاصل شود. ذرات و فیبرها با قابلیت انحلال، ممکن است اجزایی را آزاد کنند که بتوانند در ایجاد اثرات نامطلوب بر سلامت، مؤثر باشند. مقاومت مشابه به انحلال شیمیایی و/یا تجزیه زیستی لیگاندهای متصل شده در شرایط محیطی نیز می تواند منجر به ایجاد نانومواد با ماندگاری زیستی شود.

تاریخچه تجربیات مرتبط با فیبرها و ذرات معدنی با ابعاد میکرومتر، مدل مفیدی را برای درک ارتباط بین مواجهه، دوز و اثر نانومواد در ریه انسان فراهم کرده است. مدت زمان ماندگاری فیبرها و ذرات معدنی در ریه نشان داده شده بستگی به پاک سازی مکانیکی و سرعت انحلال آنها دارد. سرعت انحلال عمدتاً به شیمی ذره و فیبر و خصوصیات مایع زیستی محیط بافتی/سلولی که در آن یافت می شوند، وابسته است.



شکل ۱- ارتباط بین مواجهه، دوز و اثر نانومواد [1]

شکل ۱، چارچوب کلی ارائه شده توسط اُبردُرسْتِر^۱ و همکاران [1] را برای ارزیابی اثرات جانبی بالقوه مواجهه با ذرات و فیبرها، نشان می دهد. با توجه به این چارچوب، پایداری زیستی ذرات و فیبرها به عنوان مهم ترین عامل مؤثر بر سلامت محسوب می شود.

دستگاه تنفسی می تواند به مناطق مختلفی شامل: نواحی بینی مژه دار و تراکئوبرونشیال^۲ (نایزه ها) و مناطق آلوئولاری بدون مژه تقسیم شود. ذراتی که در هر منطقه ته نشین می شوند با جمعیت های مختلف سلولی با

1- Oberdörster
2- Tracheobronchial

زمان‌های ماندگاری قابل توجه مختلف و/ یا مسیرهای مختلف پاک‌سازی، برهم‌کنش می‌کنند [2]. رفتار ذرات استنشاقی در دستگاه تنفسی و سرنوشت‌های بعدی آن‌ها، چه به صورت باقی‌مانده یا خروج از این مناطق مختلف عملکردی می‌تواند به ترکیب شیمیایی و رفتار فیزیکی ذرات هواسل^۱ بستگی داشته باشد.

اهمیت سلول‌های مژه‌دار در مسیر جریان هوا و ماکروفاژهای آلوئولار در پاک‌سازی ذرات با اندازه میکرومتر از سطح ریه مدت زمان طولانی است که شناخته شده است. با توجه به توانایی محدود ماکروفاژها در تشخیص نانومواد، ناکافی بودن این سازوکار پاک‌سازی کلیدی در بافت‌های محیطی ریه اثبات شده است [3][4]. هم‌زمان، با توجه به فرآیندهای اندوسیتوز و سازوکارهای انتقال بین سلولی توسط سایر سلول‌ها، جابه‌جایی نانومواد در اندام‌های خارج از ریه نیز قابل توجه می‌باشد. پایداری زیستی نانومواد از طریق مقاومت در برابر ماکروفاژهای آلوئولار و همچنین ماندگاری زیستی آن‌ها از طریق مقاومت در برابر خرد شدن^۲ و یا انحلال و نشت^۳ (لیچینگ)، می‌تواند منجر به تجمع زیستی آن‌ها شود. با توجه به توانایی جابه‌جایی، نانومواد ممکن است در اندام‌های هدف حیاتی تجمع و باقی بمانند و بنابراین اثرات نامطلوبی را بر سلامت بگذارند. بنابراین، جابه‌جایی (عدم استقرار)، تجمع و ماندگاری نانومواد، جنبه‌های مهمی هستند که باید در هنگام بررسی سمیت درازمدت آن‌ها مورد توجه قرار گیرند.

در حال حاضر، به خوبی پذیرفته شده که سمیت نانومواد بیشتر ممکن است به خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها از جمله اندازه، مساحت سطح و مشخصات سطح از جمله شیمی سطح مربوط باشد. در داخل سلول، این قبیل خصوصیات و دیگر مشخصات فیزیکوشیمیایی (اجزای سطحی، فعالیت سطحی) برهم‌کنش نانومواد را با فضاهای پیرامون زیستی مشخص خواهد کرد. این مسئله، به نوبه خود، پایداری و ماندگاری زیستی سطح و هسته نانومواد را نیز تعیین خواهد کرد. با توجه به حساسیت شدید بسیاری از خواص نانومواد به محیط اطراف خود، تغییرات زیستی مرتبط در خواص فیزیکوشیمیایی یک نانوماده، بین تجویز و باقی‌ماندن آن ممکن است بر پاسخ‌های مشاهده شده، تأثیر قابل توجهی بگذارد. به عنوان نتیجه، ماندگاری زیستی نانومواد در محیط‌های زیستی موضعی آن‌ها می‌تواند بر روی سمیت طولانی مدت آن‌ها تأثیر بگذارد.

اگرچه ماندگاری زیستی ذرات بزرگ‌تر معینی در شرایط مختلف محیطی نیز قابل تایید است، اهمیت چنین ماندگاری زیستی در اثرات درازمدت آن‌ها ممکن است در موجودات آبی صادق نباشد. این امر در مورد سیلیس بلوری (کوارتز و کریستوبالیت) این واقعیت را نشان داده که این‌ها به دلیل پتانسیل بسیار محدود خود در جذب از طریق آب‌شش یا روده ماهی در این قبیل ارگانیسم‌های زنده، تجمع نمی‌یابند [5][6]. این مسئله ممکن است برای برخی نانومواد صدق نکند؛ از جمله تجمع زیستی نانولوله‌های کربنی چنددیواره در بی‌مه‌ره آبی *Daphnia magna* [7]، نانوذرات طلا در صدف دوکفه‌ای دریایی *Scrobicularia plana* [8] و نانوذرات اکسید روی در *S. plana* و *Nereis diversicolor* [9]، نانوذرات اکسید مس در حلزون آب شیرین

1- Aerosol
2- Breakage
3- Leaching

[10][11]، نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید در *دافنی ماگنا* [12] و نانوذرات نقره در موجودات دارای ذخایر غذایی^۱ مانند کرم دریایی *Platynereis dumerilii* [13]، نشان داده شده است.

۶ اهداف و مقاصد

نانومواد متفاوتی با پایداری زیستی گزارش شده، چراکه در برابر خرد شدن یا انحلال و پاک‌سازی مقاوم بوده که این امر به نوبه خود می‌تواند منجر به تجمع زیستی و سپس جابه‌جایی و توزیع آن‌ها شود. بنابراین، ارزیابی این ویژگی نانومواد و تعیین نیمه عمر تخریب آن‌ها علاوه بر سایر خصوصیات آن‌ها، موضوع بسیار مهمی است. همچنین مطالعه تأثیر پوشش سطحی و گروه‌های عاملی بر ماندگاری زیستی در محیط‌های زیستی و محیط‌های پیرامون نانومواد از اهمیت زیادی برخوردار است.

اهداف و مقاصد عبارتند از:

- شناسایی آزمون‌های انجام شده و روش‌شناسی‌های اجرا شده در منابع علمی؛
- توصیف روش‌شناسی‌های شناخته‌شده در ارزیابی ماندگاری زیستی نانومواد مختلف در شرایط مختلف زیستی و محیطی.

هدف نهایی این است که با به‌کارگیری از روش‌شناسی‌های شناخته‌شده، امکان بررسی ماندگاری زیستی نانومواد و لیگاندهای سطحی آن‌ها میسر شود. این امر با ارزیابی اثرات بلند مدت آن‌ها مرتبط است.

۷ رویکردهای ارزیابی ماندگاری زیستی فیبر و ذره معدنی با ابعاد میکرومتر

۱-۷ کلیات

به نظر می‌رسد سمیت فیبرهای استنشاقی، به دوز، ماندگاری زیستی و ابعاد آن‌ها بستگی داشته باشد؛ به‌طوری‌که فیبرهای بلند و نازک به‌طور بالقوه سرطان‌زایی و پایداری زیستی بیشتری نسبت به انواع کوتاه و ضخیم دارند، چنانچه فیبرهایی که به‌سرعت در ریه انحلال می‌یابند، بعید است باعث تغییرات پاتولوژیک درازمدت شوند [14]. بنابراین مفهوم پایداری زیستی- مقاومت در برابر پاک‌سازی و انحلال شیمیایی- به‌عنوان یک مفهوم کلیدی در سمیت فیبرهای معدنی یا سنتزی پیشنهاد شده است.

نقش کلیدی انحلال در اثرات بالقوه سلامتی فیبرهای استنشاقی به خوبی شناخته شده است [15]. طی چند دهه گذشته، مقالات متعددی درباره ارتباط بین مشخصات فیزیکوشیمیایی مختلف از جمله: ترکیب شیمیایی، قطر فیبر زجاجیه مصنوعی^۲ و میزان انحلال آن در محلول نمکی فیزیولوژیکی به چاپ رسیده است [16][17][18].

1- Deposit feeder
2- Synthetic vitreous fibre

آزمایش‌های حیوانی درون‌تنی^۱ متعدد برای ارزیابی پاک‌سازی و ناپایداری شیمیایی از طریق حلالیت فیبرهای معدنی و سنتزی مختلف شرح داده شده‌است. به‌عنوان مثال، پاک‌سازی ذره به‌عنوان معیاری از پایداری فیزیکی - مقدار واقعی فیبر باقیمانده در بافت و حلالیت آن از طریق رهائش اجزای فلزی در حیوانات تحت آزمایش - مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفته است [19][20][21][22][23].

همچنین، سیستم‌های سلولی برون‌تنی به‌منظور مطالعه پایداری شیمیایی ذرات با استفاده از سلول‌های ماکروفاژ، اپی‌تلیال و مزوتلیال شرح داده شده‌است؛ به‌طوریکه تفاوت‌هایی در کارایی این قبیل سلول‌ها در تغییر ساختار شیمیایی فیبرهای بلعیده شده به درون سلول با تاکید بر تفاوت‌های بین شرایط فاگوسیتوز در این سلول‌ها نیز مشاهده شده‌است [24][25][26][27].

سیستم‌های برون‌تنی بدون سلولی، با الگوبرداری^۲ از شرایط فیزیولوژیکی به‌منظور مطالعه رهائش اجزای شیمیایی از فیبرها توسعه یافته‌اند. به‌نظر می‌رسد استفاده از محیط‌های زیستی شبیه‌سازی شده متفاوت و سنجش‌های انحلال شیمیایی بدون سلولی، اطلاعات ارزشمندی در مورد رفتار گرد و خاک استنشاق شده در محیط‌های زیستی ارائه دهد.

ترکیبی از آزمون‌های انحلال برون‌تنی، سنجش‌های مبتنی بر سلول (سیستم‌های تک‌کشتی و هم‌کشتی^۳)، روش‌های درون‌رایانه‌ای^۴ و اطلاعات به‌دست آمده از مطالعات درون‌تنی در دسترس، می‌تواند مقیاسی را برای پایداری زیستی فیبرها و ذرات معدنی فراهم کند. این استاندارد محدود به سیستم‌های برون‌تنی بدون سلولی و کاربرد آن‌ها در زمینه نانومواد است.

۷-۲ انحلال نانومواد در مقابل پراکنش و تجزیه زیستی آن‌ها

اصطلاحات انحلال و پراکنش متفاوت از هم تعریف شده‌اند [28]. در این استاندارد، انحلال به «فرآیند به‌دست آوردن محلولی حاوی آنالیت مورد نظر» اطلاق می‌شود. انحلال، عمل حل شدن است و گونه‌های حاصل از انحلال ممکن است مولکولی یا یونی باشد. از سوی دیگر، پراکنش به «سیستم چند فاز میکروسکوپی که در آن ناپیوستگی‌های هر حالت (جامد، مایع یا گاز: فاز دائمی) در یک فاز پیوسته از یک حالت یا اجزای متفاوت پراکنده می‌شوند»، اشاره دارد. با توجه به این تعاریف، انحلال نانومواد باعث رهائش یون‌ها در حلال اطراف خواهد شد، به‌طوریکه میزان انحلال بستگی به اندازه، شیمی، ترکیب حلال پیرامونی، پوشش سطحی و یا گروه‌های عاملی نانومواد دارد.

انحلال نانومواد خصوصیتی مهم به‌شمار می‌آید و اغلب مرحله‌ای اساسی در تعیین ایمنی آن‌ها است [29]. انحلال نانومواد فلزی و یا اکسید فلزی از قوانین ترمودینامیکی و کینتیکی تبعیت می‌کند به‌طوریکه در آن اندازه، شکل، پوشش سطحی، حالت تجمعی و شیمی محلول مانند pH، اجزای یونی و ماده آلی

1- *In vivo*

2- Mimicking

3- Mono- and co-culture systems

4- *In silico* methods

محلول (DOM)^۱ بر میزان انحلال آن‌ها تأثیر می‌گذارد. از آنجاییکه در حالت حل‌شده، سمیت می‌تواند اثرات سمی مختلفی نسبت به ذرات داشته باشد، ارزیابی کینتیک انحلال مهم است [30]. سپس، اندازه‌گیری انحلال و کینتیک انحلال به‌عنوان بخشی از حداقل الزامات مورد نیاز برای تعیین مشخصات نانومواد توصیه می‌شود.

از سوی دیگر، تجزیه زیستی نانومواد آلی و نانومواد بر پایه کربن از طریق کاتالیز آنزیمی و به‌دنبال آن خرد شدن کامل و از بین رفتن مشخصات نانومواد صورت می‌گیرد. به‌نظر می‌رسد تجزیه زیستی به نوع گروه‌های عاملی در سطح آن‌ها بستگی داشته باشد [31].

۸ نیاز به ارزیابی ماندگاری زیستی نانوماده

پایداری زیستی یکی از ویژگی‌هایی است که برای تعیین سمیت/بیماری‌زایی/سرطان‌زایی ذرات بسیار ریز و همچنین نانومواد در نظر گرفته می‌شود [32]. این مشخصات نیز به تغییر سرنوشت و توزیع زیستی آن‌ها می‌انجامد. با توجه به اندازه کوچک نانومواد، آن‌ها احتمالاً به آن‌سوی سد اپی‌تلیال، به‌درون فضای بین‌سلولی^۲، جایی که به دلیل مقاومت در برابر جذب فاگوسیتیک برای مدت طولانی تجمع می‌یابند، منتقل می‌شوند [33][34][35]. نانومواد که از ماندگاری زیستی برخوردار هستند، می‌توانند منجر به التهاب ریوی، فیبروز و سرطان شوند. برخی از نانومواد وارد شده در اینترستیتیوم ممکن است به‌داخل سیستم جریان خون منتقل شوند و برخی دیگر ممکن است باعث القای اختلال در اندام‌های خارج از ریه شوند. شواهد نشان می‌دهد که نانومواد در حین جابه‌جا شدن ترجیحاً در کبد و طحال قرار می‌گیرند [36]، در نتیجه ماندگاری آن‌ها طولانی بوده و در بعضی موارد سمیت کبدی قابل توجهی را منجر می‌شوند.

نانومواد با قابلیت ماندگاری زیستی، حالت ذره‌ای خود را حفظ می‌کنند که این امر ممکن است پتانسیل تجمع زیستی آن‌ها را افزایش دهد [37]. همچنین نشان داده شده که رهایش یون‌ها از نانومواد که محلول هستند به‌شدت با سمیت آن‌ها ارتباط دارد به‌طوری‌که پاسخ‌های سمیت حاد ناشی از یون‌های ره‌اشده از نانومواد با انحلال بالا [38]، نانومواد با انحلال کم و نانومواد غیرقابل تجزیه زیستی می‌تواند طیفی از اثرات طولانی مدت از جمله سرطان‌زایی را تحریک کنند [39]. نانومواد با حلالیت کم^۳ که از طریق عامل‌دار شدن سطحی یا پوشش سطحی حل می‌شوند، عوامل سطحی‌شان می‌توانند در زمان تماس با مایعات بدن تجزیه/حل شوند و سرانجام هسته با قابلیت ماندگاری زیستی آن‌ها ظاهر شود.

۹ تأثیر انواع مختلف لیگاندها و پوشش‌ها بر قابلیت ماندگاری زیستی نانوماده

اخیراً، اهمیت خواص سطحی فیبرها و ذرات معدنی با ابعاد میکرومتر به‌عنوان عاملی غیرمستقیم اما کلیدی در ظهور فعالیت بیماری‌زایی و همچنین قابلیت ماندگاری زیستی آن‌ها تحت شرایط انحلال برون‌تنی در

1- Dissolved organic matter (DOM)
2- Interstitium
3- Sparingly soluble nanomaterials

مایعات زیستی تأکید شده است. بنابراین، در مقاله منتشر شده توسط موسسه ملی ایمنی و بهداشت شغلی آمریکا (NIOSH)، سطوح فیبرها و ذرات معدنی عامل مهم کنترل کننده ماندگاری زیستی آن‌ها شناخته شده است، به طوریکه به عنوان یک جنبه مهم در سازوکارهای تحریک‌زایی یا پاسخ التهابی مداوم در ایجاد فیبروز یا تغییرات نئوپلاستیک در نظر گرفته می‌شود [40]. به عنوان مثال، می‌توان نشان داد که ترکیب سطحی و فعالیت‌های مربوط به سطح فیبرهای آزیست، از عوامل عمده بالقوه در القای بیماری هستند. مشاهدات مشابه به دست آمده از سیلیس بلوری نیز نشان داده که اصلاح سطح آن با استفاده از روش‌های شیمیایی، سمیت سلولی آن‌ها را تغییر می‌دهد [41][42][43].

دستکاری خواص سطحی نانومواد با استفاده از عامل دار کردن سطح از طریق تعدادی از گروه‌های مولکولی به دلایل متعدد از جمله: افزایش میزان پراکنش در آب در نانومواد که این توانایی را ندارند و نیز افزایش جذب داخل سلولی آن‌ها و به دنبال آن تجمع در لیزوزوم‌های سلولی، مورد بررسی قرار گرفته است. همانطور که قبلاً ذکر شد، شیمی سطح یکی از ویژگی‌های مهم نانوماده است که بر روی برهم‌کنش‌ها با مایعات زیستی تأثیر می‌گذارد. شیمی سطح نانومواد می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای پس از غوطه‌ور شدن در یک مایع زیستی به شدت تغییر یابد [44]. در حال حاضر، به خوبی شناخته شده است که اصلاح شیمی سطح نانوماده می‌تواند خواص و رفتارهای جدیدی را به وجود بیاورد. چنین تغییراتی نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد تا ماندگاری زیستی را تقویت و ریسک سلامتی را کاهش دهد. به عنوان مثال، تجمع نانوذرات اکسید آهن مغناطیسی پوشش داده شده با دکستران و همچنین نانولوله‌های کربنی تک دیواره در لیزوزوم‌های سلولی نشان داده شده است، به طوریکه آن‌ها می‌توانند توسط آنزیم‌های آر-گلوکوزیداز^۱ لیزوزومی، پراکسیداز HRP، میلوپرکسیداز و هم اکسیژناز-۱^۲، تخریب شوند. چنین تخریب آنزیمی ممکن است برای نانوذرات بی اثر مانند نانوذرات طلا اتفاق نیفتد، بنابراین هنگامیکه این نانوذرات داخل سلول می‌شوند برای مدت طولانی تری می‌توانند در سلول رسوب کنند [45]. مطالعات مشابه با نانولوله‌های کربنی نشان داده است که انواع کربوکسیله در مقایسه با سایر نانولوله‌های کربنی بیشتر مستعد تجزیه زیستی هستند [46].

از دست دادن لیگاندها از سطح نانوبلورهای نیمه‌هادی در مایعات گوارشی در pH پایین و به دنبال آن افزایش سمیت آن‌ها نیز گزارش شده است [47]. علاوه بر این، اثر مایع زیستی در نقاط کوانتومی پگی‌لیت شده^۳ نیز مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده است که سرنوشت نقاط کوانتومی CdSe_{core}/ZnS_{shell} پگی‌لیت شده به pH، طول زنجیره لیگاند و حضور پروتئین‌ها وابسته است که این عوامل در پی آن بر سمیت آن‌ها تأثیر می‌گذارد [48][49].

1- R-glucosidase
2- Heme oxygenase-1

۳- پگیلاسیون؛ عبارت است از فرآیند افزوده شدن پلی اتیلن گلیکول (PEG- Polyethylene glycol).

۱۰ مروری بر روش‌شناسی‌های ارزیابی ماندگاری زیستی فیبرها و ذرات معدنی با ابعاد میکرومتر

۱-۱۰ کلیات

تطبیق مطالعات مرسوم پیرامون میزان انحلال برای الگوبرداری از شرایط فیزیکی و شیمیایی موجود در بافت‌ها و اندام‌های زیستی به محققین اجازه می‌دهد تا از طریق محاسبه زمان ماندگاری بر اساس سازوکار انحلال شیمیایی، ماندگاری زیستی را تخمین بزنند. انحلال و خرد شدن ذره و فیبر در بدن، شاخص‌های مهمی برای پایداری زیستی آن‌ها می‌باشد. سازوکارهای فیزیکی و شیمیایی که ذرات و فیبرها ممکن است یون‌ها را از طریق انحلال و/یا تخریب در بافت‌ها و اندام‌های زیستی رها کنند، به‌طور گسترده در شرایط برون‌تنی با استفاده از «مایعات زیستی شبیه‌سازی‌شده» مورد مطالعه قرار گرفته است (به جدول‌های الف-۱ تا الف-۵ در پیوست الف مراجعه شود). اینگونه آزمون‌های برون‌تنی، اطلاعاتی را درباره ماندگاری زیستی ارائه می‌دهد که بر اثرات زیستی ذرات و فیبرها تأثیر می‌گذارد [50]. آزمون‌های انحلال در شرایط برون‌تنی نیز برای غربال‌گری ماندگاری زیستی نانومواد در شرایط محیطی (آب‌های تازه طبیعی، آب دریا و آب‌های ساحلی شبیه‌سازی‌شده) پیشنهاد شده‌است (به جدول الف-۸ در پیوست الف مراجعه شود) [51][52].

۱۰-۲ روش‌های برون‌تنی بدون سلولی

روش‌های برون‌تنی بدون سلولی شامل دو جزء، مایع زیستی شبیه‌سازی‌شده و سیستمی برای نگهداری و حفظ مواد مورد مطالعه است. در بخش اول، مایعات زیستی مختلف شبیه‌سازی‌شده، شرح داده شده‌است و در بخش بعدی مروری بر سیستم‌های آزمون قابل‌دسترس انجام می‌گیرد.

در طی چند دهه گذشته مقالات انتشار یافته متعدد از مایعات زیستی شبیه‌سازی شده مختلف استفاده کرده‌اند تا انحلال را به‌عنوان معیاری برای ماندگاری زیستی ذرات و فیبرها مورد ارزیابی قرار دهند. در مطالعات متعدد تلاش شده‌است تا ارتباطی بین مشخصات فیزیکوشیمیایی مانند ترکیب شیمیایی، چگالی و قطر فیبر زجاجیه مصنوعی و میزان انحلال آن‌ها در مایعات فیزیولوژیکی ایجاد کنند [15][53]. مطالعات متعدد انتشار یافته نیز تأثیر خواص مختلف مایعات زیستی را بر انحلال ذرات و فیبرها بررسی کرده‌اند. این خواص شامل pH ۷/۳ مایع خارج سلولی ریه، pH ۴/۵ مایع فاگولیزوزوم ماکروفاژ، حضور مواد فعال سطحی^۱ (به‌عنوان مثال مایع آستر ریه) و حضور برخی از ترکیبات زیستی، از جمله شلاته‌کننده‌های^۲ آلی مانند سیترات سدیم است که به‌طور انتخابی به یون‌های سطحی متصل می‌شوند (به جدول‌های الف-۱ تا الف-۵ در پیوست الف مراجعه شود).

1- Surfactants
2- Chelators

۱۰-۳ توصیف محیط‌های مختلف فیزیولوژیکی شبیه‌سازی شده

۱۰-۳-۱ کلیات

در این قسمت، مایعات زیستی شبیه‌سازی‌شده‌ای توصیف شده‌اند که برای الگوبرداری از ریه، دهان و همچنین مسیرهای مواجهه با پوست، در نظر گرفته شده‌اند. در ریه، به‌طور کلی، دو بخش اصلی وجود دارد که باید در نظر گرفت: مایع پوشش مسیر هوایی خارج سلولی با pH نزدیک به خنثی و مایع فاگولیزوزوم سلول‌های ماکروفاژ با pH اسیدی. در مسیر دهانی، ذرات به‌طور مختصر با بزاق و سپس با مایعات معده و بینابینی در تماس می‌باشند. برای توصیف مناسب رفتار انحلال مواد در بدن، ضروری است که شبیه‌ساز ترکیب بیوشیمیایی همان مایعات در اندام یا بافت مدل‌سازی‌شده را داشته باشد. متداول‌ترین شبیه‌ساز استفاده‌شده بر اساس ترکیب یونی، مایع خارج سلولی ریه است که توسط گامبل^۱ توصیف شده‌است [54] که pH نزدیک به خنثی (۷٫۲ تا ۷٫۴) دارد. مایع شبیه‌ساز گامبل، محلول رینگر، مایع شبیه‌ساز اولترافیلتر (SUF) یا مایع ریه شبیه‌سازی‌شده (SLF) نیز نامیده می‌شود [55][56]. بنابراین، اکثر آزمایش‌ها در pH فیزیولوژیکی (۷٫۳) و در دمای ۲۵°C یا ۳۷°C انجام می‌شود. با شواهدی مبنی بر اینکه انحلال ذرات نامحلول به‌طور عمده در فاگولیزوزوم‌ها رخ می‌دهد، محققان، pH شبیه‌ساز مایع خارج سلولی ریه را مطابق با فاگولیزوزوم، یعنی pH ۴٫۵ تا pH ۵ تنظیم کردند.

بنابراین، مایعات فیزیولوژیک شبیه‌سازی‌شده (SPF) که در زیر مورد بحث قرار می‌گیرند عبارتند از: (۱) شبیه‌ساز پوششی مسیر هوایی ریه، (۲) مایع شبیه‌ساز فاگولیزوزوم، (۳) بزاق شبیه‌سازی‌شده، (۴) مایعات دستگاه گوارش و همچنین (۵) مایع عرق که ترکیب هر کدام از این‌ها در پیوست الف ارائه شده‌است. برای دریافت اطلاعات بیشتر در مورد ترکیب مایعات زیستی مختلف و شبیه‌سازهای آن‌ها، به منبع [57] کتاب‌نامه مراجعه کنید.

در حالی که این SPFها به‌عنوان آنالوگ‌های مفید مایعات زیستی انسانی شناخته می‌شوند، همگی دارای محدودیت‌های اساسی هستند. در ابتدا، SPFها دارای ترکیبات معینی هستند و شرایط دینامیکی موجود در شرایط درون‌تنی را ندارند. به‌عنوان مثال، هیچکدام از این مایعات، آنزیم‌ها یا آبشارهای اکسیداتیوی که می‌توانند در اعمال خواص (ترکیب، pH) SPF یا ماندگاری زیستی نانومواد، مانند نانولوله‌های کربنی، مهم باشند را دارا نیستند [58]. علاوه بر این، به‌جز در موارد خاص ذکر شده، پروتئین‌ها از اکثر SPFها به دلایل آشکار حذف می‌شوند (به زیربند ۱۰-۵-۳ مراجعه شود)؛ اگرچه، در شرایط درون‌تنی، پروتئین‌ها ممکن است به‌عنوان مولکول‌های پیوندی مهم برای یون‌های حل‌شده عمل کنند و غلظت یون‌ها را در سطح نانوماده تحت تأثیر قرار دهند.

۱۰-۳-۲ مایعات شبیه‌سازی شده از مایع پوششی مسیر هوایی ریه

مواد هواسل که در ریه ذخیره می‌شوند، به سرعت پس از غوطه‌ور شدن در مایع خارج سلولی از بافت ریه دفع می‌شوند. ترکیب اصلی مایعات فیزیولوژیک که توسط گامبل در سال ۱۹۶۷ شرح داده شده [54]، به‌عنوان مبنایی برای برخی از آزمایش‌های منتج شده مربوط به مایع خارج سلولی انسان، از جمله حلال‌های آزمایشی مورد استفاده شولز^۱ و کنرادت^۲ [59] و کاناپیلی و همکاران^۳ [60]، به کار گرفته شده است.

محلول گامبل نوعی مایع شبیه‌سازی شده از مایع پوشش‌دهنده مسیر هوایی ریه است که مایعات مواد فعال سطحی آزاد شده از سلول‌های آلوئولار نوع II را الگوبرداری می‌کند. مایعی که فضای بین سلول‌های آلوئولار را پر می‌کند و کشش سطحی آب در ریه‌ها را کاهش می‌دهد، تبادل گاز را تسهیل می‌کند. مقایسه ترکیب این محلول با مایعات موجود در ریه‌های انسان، تشابه اجزای سازنده آن‌ها را نشان می‌دهد. محلول گامبل اصلی، ترکیبی از آب و نمک‌های معدنی شامل کلریدها، کربنات‌ها و فسفات‌ها است. اگرچه، بسیاری از محققان محلول فوق را از نظر پروتئین‌ها و سایر اجزای آلی، شلاته‌کننده‌ها و افزودنی‌ها اصلاح کرده‌اند [61] (به جدول الف-۱ در پیوست الف مراجعه شود).

۱۰-۳-۳ مایع فاگولیزوزوم ماکروفاژ ریه شبیه‌سازی شده

ذراتی که در ناحیه آلوئولار بدون مژه ریه قرار می‌گیرند، در ابتدا در مایع پوشش‌دهنده مسیر هوایی ریه‌ای غوطه‌ور شده، اما به سرعت توسط سلول‌های بیگانه‌خوار مانند ماکروفاژها، فاگوسیت می‌شوند. به محض ورود^۴ در سلول ماکروفاژ، وزیکول مملو از ذرات (لیزوزوم) با فاگوزوم برای تشکیل فاگولیزوزوم ترکیب می‌شوند که غنی از اکسیدکننده‌ها و دارای pH اسیدی است تا تجزیه مواد خارجی را تشدید کند.

ترکیب اولیه SPF ای که توسط گامبل در سال ۱۹۶۷ توصیف شده بود [54] به‌عنوان اساس مایع فاگولیزوزوم ماکروفاژ انسان (PSF) است. لاحق، زمانی اتفاق می‌افتد که نوتروفیل یا ماکروفاژ با ماده خارجی، از جمله نانومواد، مواجهه می‌شود و به دنبال آن تخریب یا تجزیه ماده خارجی در فاگولیزوزوم رخ می‌دهد. مایع داخل سلولی در ماکروفاژهای آلوئولار به‌طور قابل توجهی (pH تقریباً ۵ تا ۶) نسبت به مایع خارج سلولی (pH تقریباً ۷ تا ۷/۵) اسیدی‌تر است. برخی از ذرات که به‌طور قابل توجهی در مایع ریه خارج سلولی حل نمی‌شوند، در داخل فاگولیزوزوم‌های سلولی ماکروفاژهای آلوئولار تخریب می‌شوند [62][63][64][65][66][67][68][69] (به جدول الف-۲ در پیوست الف مراجعه شود).

1- Scholze
2- Conradt
3- Kanapilly *et al.*
4- Engulfment

۱۰-۳-۴ سیستم گوارشی (بزاغ، مایعات معده و روده)

۱۰-۳-۴-۱ کلیات

مایعات اصلی سیستم گوارش شامل: بزاغ، شیرۀ معده و روده است [57][70]. معده، شیرۀ معدی را تولید می‌کند درحالی‌که روده ترکیبی از صفرا مترشحه از کبد (آنزیم‌های گوارشی) و شیرۀ پانکراس را ترشح می‌کند. با توجه به توسعه نانومواد در سیستم دارورسانی کنترل‌شده^۱ یا در فرمولاسیون‌های پاک‌کننده دهانی، ارزیابی ماندگاری زیستی آن‌ها در این قبیل مایعات می‌تواند مهم باشد [71][72].

۱۰-۳-۴-۲ بزاغ شبیه‌سازی‌شده

شبیه‌سازی خواص بزاغ انسان به دلیل ویژگی‌های خاص خود، تقریباً غیرممکن است. بزاغ مخلوطی از مایعات است که توسط چندین غده بزاغی ترشح می‌شود و دارای ترکیبات متعددی است که بسته به زمان روز و رژیم غذایی، متفاوت است. pH بزاغ طبیعی سالم بین ۶٫۷ تا ۷٫۴ است که ممکن است در زمان مصرف شیرینی‌ها و کربوهیدرات‌ها تا ۵ pH کاهش یابد. بزاغ شبیه‌سازی‌شده برای کاربردهای مختلف توسعه یافته [73][74][75][76] (به جدول الف-۳ در پیوست الف مراجعه شود) و همچنین برای آزمون انحلال نانوذرات نیکل نیز مورد استفاده قرار گرفته است [77].

۱۰-۳-۴-۳ شیرۀ معده شبیه‌سازی‌شده

شرایط در محیط معده، مانند pH، غلظت آنزیم، میزان آب، دما، فشار، بار میکروبی و سرعت تخلیه در حالت‌های ناشتا و تغذیه دائماً در حال تغییر است [78][79]. سنجش‌های هضم برون‌تنی بدون سلولی با استفاده از مایعات شبیه‌سازی‌شده معده (به جدول الف-۳ در پیوست الف مراجعه شود) برای تعیین نحوه تأثیر شرایط معده انسان بر رفتار نانومواد، مورد استفاده قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، نانوذرات نقره در شیرۀ معده شبیه‌سازی‌شده به‌طور قابل توجهی انبوهه^۲ می‌شوند و یون نقره آزادشده از سطح آن‌ها مجدداً به‌صورت کلرید نقره روی این تجمعات رسوب می‌کند [80][81]. میزان انباشتگی برای نانوذرات نقره کوچکتر (۱۰ nm) در مقایسه با ذرات بزرگتر (۷۵nm) بیشتر بوده است. علاوه براین، یون نقره‌ای که از نانوذرات آزاد می‌شود، می‌تواند نانوذرات نقره جدیدی تولید کند که ممکن است به لحاظ اندازه و ریخت‌شناسی^۳ نسبت به نانوذراتی که سیستم ابتدا با آن مواجه می‌شود، متفاوت باشد [82][83]. pH پایین شیرۀ معده همچنین می‌تواند باعث تجزیه پوشش سطحی نانومواد شود، که در پی آن می‌تواند سمیت آن‌ها را نیز تغییر دهد [70][84]. این مطالعات، اهمیت استفاده از سیستم‌های بدون سلولی جدا شده مانند مایعات معده را برای درک رفتار نانومواد در این مایعات، نشان می‌دهد. علاوه بر شیرۀ معده شبیه‌سازی‌شده که نانومواد به‌صورت مجزا می‌توانند تنها در معرض آن قرار گیرند، سیستم‌هایی هستند که بخش‌هایی از سیستم گوارش را از دهان تا روده شبیه‌سازی می‌کنند تا امکان مواجهه پی‌درپی مواد آزمون را در بخش‌های مختلف فراهم سازند

1- Drug delivery
2- Aggregate
3- Morphology

[78][85]. این قبیل سیستم‌ها می‌توانند در مطالعه چگونگی تحت‌تأثیر قرار گرفتن نانومواد تحت شرایط مختلف که اساساً از یک بخش به بخش دیگر تغییر می‌کند، مفید باشد.

۱۰-۳-۴ شیرۀ روده شبیه‌سازی شده

شیرۀ روده شبیه‌سازی شده در زمان روزه‌داری و پس از تغذیه (به جدول الف-۴ در پیوست الف مراجعه شود) برای شبیه‌سازی سایر جنبه‌های مهم مایعات گوارشی، از جمله نمک‌های صفراوی و لسیتین معرفی شده است [71].

۱۰-۳-۵ مایع عرق شبیه‌سازی شده

سطح پوست با کمک حلالی که عمدتاً از عرق و سیبوم روغنی است، پوشیده شده است. عرق انسان شامل بیش از ۶۰ جزء متفاوت است و به دلیل این پیچیدگی، اغلب مایعات عرق شبیه‌سازی شده برای استفاده در آزمون‌های برون‌تنی، بسیار ساده شده‌اند. علاوه بر این، پراکندن اجزای سیبوم روغنی در مایع عرق پوست به منظور الگوبرداری از کمک حلال روی سطح پوست بسیار مشکل است. به همین ترتیب، اکثر محققان، ماندگاری زیستی را در مایع عرق شبیه‌سازی شده یا سیبوم شبیه‌سازی شده مطالعه می‌کنند. pH عرق انسان در نواحی مختلف آناتومی بدن متفاوت است که در طراحی مطالعات انحلال برون‌تنی اهمیت دارد. در بزرگسالان سالم، pH سطح پوست به‌طور کلی در محدوده ۴٫۲ تا ۶٫۱ است [86]. متداول‌ترین مایع عرق شبیه‌سازی شده، فرمولاسیون ساده‌ای دارد که توسط پدِرسِن و همکاران^۱ طراحی شده است [87]، اما اخیراً مایع عرقی، الگوبرداری شده که دارای ترکیباتی است که عیناً خصوصیات عرق انسان را دارا است [88]. سیبوم، حاوی چندین چربی و آنتی‌اکسیدان مانند ویتامین E است. فرمولاسیون‌های سیبوم شبیه‌سازی شده از یک جزء گرفته [89] تا انواع حاوی چربی‌های مختلف که نشان‌دهنده ترکیب سیبوم انسان است، متنوع است [90][91][92]. از سال ۱۹۴۰، حداقل ۷۶ فرمولاسیون مختلف مایع عرق، شبیه‌سازی شده و ۲۷ فرمولاسیون سیبوم شبیه‌سازی شده با روش‌های آزمون برون‌تنی مورد استفاده قرار گرفته است [93] (به جدول الف-۵ در پیوست الف مراجعه شود).

۱۰-۴ توصیف شرایط محیطی مختلف شبیه‌سازی شده

۱۰-۴-۱ کلیات

از محیط‌های مختلف زیستی مانند آب تازه طبیعی، آب دریا و آب‌های ساحلی^۲ شبیه‌سازی شده برای ارزیابی انحلال نانومواد نیز استفاده شده است [52][94].

1- Pedersen *et al.*
2- Estuarine waters

۱۰-۴-۲ آب‌های تازه طبیعی شبیه‌سازی شده

برای مطالعات انحلال نانومواد در آب‌های طبیعی شبیه‌سازی شده [52]، ترکیب توصیه شده توسط سازمان حفاظت از محیط‌زیست ایالات متحده آمریکا به کار گرفته شده است [51] (به جدول الف-۶ در پیوست الف مراجعه شود). آماده‌سازی چنین مایعات شبیه‌سازی شده‌ای از این آب‌های طبیعی با سختی‌های مختلف نیز توصیف شده است [95]. با استفاده از این قبیل محیط‌های شبیه‌سازی شده، انحلال نانوذرات اکسید روی در آب تازه (pH ۷٫۶) نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است [30].

۱۰-۴-۳ آب دریای شبیه‌سازی شده

برای مطالعات انحلال در آب دریای شبیه‌سازی شده [52]، ترکیب توصیه شده توسط EPA [51]، بر اساس محیط آب دریا مصنوعی GP2 [96] و همچنین سایر محققین [95] به کار گرفته شده است (به جدول الف-۷ در پیوست الف مراجعه شود). با استفاده از آب دریای شبیه‌سازی شده، کینتیک انحلال نانوذره اکسید روی بدون پوشش تجاری و پوشش داده شده با ماده آلی [97] و همچنین نانوذرات نقره [52] مورد بررسی قرار گرفته است.

۱۰-۴-۴ آب‌های ساحلی شبیه‌سازی شده

ماندگاری زیستی نانوذرات نقره ۲۰ نانومتری با پوشش سیترات نیز در آب‌های ساحلی شبیه‌سازی شده مورد بررسی قرار گرفته است (به جدول الف-۸ در پیوست الف مراجعه شود) به‌طوریکه پایداری و به‌همین ترتیب ماندگاری زیستی این نانوذرات در آب‌های تازه را می‌توان تأیید کرد. بنابراین، اهمیت درک پایداری کلوئیدی نانوذره نقره پخش شده، توانایی پیش‌بینی بهتر مقاومت آن‌ها در آب‌های محیطی و در پی آن سمیت آن‌ها را تأکید می‌کند [52].

۱۰-۵ توصیف سیستم‌های آزمون مختلف برای ارزیابی انحلال ذرات و فیبرها

۱۰-۵-۱ کلیات

ژئوشیمیست‌ها، روش شناسایی‌هایی را برای ارزیابی میزان انحلال مواد معدنی به‌عنوان مقیاسی از فرسایش در اثر هوا در محیط‌زیست توسعه داده‌اند. این روش‌شناسی‌ها بعدها برای توصیف ماندگاری زیستی فیبرها و ذرات معدنی مخاطره‌آمیز به‌روز شده‌اند. بنابراین، پیش‌بینی شده است که روش‌های انحلال برون‌تنی، روش‌شناسی ساده و کم‌هزینه‌ای را ارائه می‌دهد که توسط آن می‌توان میزان انحلال ذرات و فیبرها را تخمین زد. به‌همین ترتیب، این قبیل روش‌ها به‌عنوان روش‌شناسی غربال‌گری برای ماندگاری زیستی آن‌ها به کار رفته است. سیستم‌های اجرا شده عبارتند از: (۱) سیستم انحلال ایستا (استاتیک)، (۲) سیستم جریان موازی، (۳) سیستم بیج و فیلتر بیج، (۴) سیستم جریان از طریق انحلال و (۵) سیستم جریان پیوسته. شرح مدل‌سازی ریاضی به کار گرفته شده در ارزیابی انحلال نانومواد و اجرای برخی از این روش‌شناسی‌ها اخیراً ارائه شده است [98].

هر یک از این پنج سیستم آزمون دارای مزایا و معایب منحصر به فردی برای ارزیابی ماندگاری زیستی است. مباحث خاص مربوط به متناسب بودن هر روش برای ارزیابی ماندگاری زیستی نانوماده در بخش‌های بعدی مطرح می‌شود.

۱۰-۵-۲ سیستم انحلال استاتیک

در این سیستم [61]، نمونه‌های ذرات بین دو فیلتر غشایی با اندازه منافذی بین کمتر یا مساوی $0.1 \mu\text{m}$ تا $0.25 \mu\text{m}$ برای تشکیل ترکیبی ساندویچی محصور می‌شوند و سپس بین دو حلقه پلی‌پروپیلن مناسب محکم می‌شوند. هدف از حلقه‌ها تشکیل یک محفظه می‌باشد و آ-رینگ لاستیکی^۱ برای آب‌بندی محکم ذرات استفاده می‌شود تا از امکان عبور مواد جامد به مایع جلوگیری کند و آن چیزی که تعیین مقدار می‌شود، به صورت حل شده است. نگهدارنده نمونه سپس در یک ظرف آزمایشگاهی قرار داده می‌شود و حلال به اندازه کافی که سطح آن را بپوشاند به آن افزوده می‌شود و به این ترتیب نمونه‌ها در معرض حلال در هر دو طرف فیلترها قرار می‌گیرد. پس از یک فاصله زمانی انتخاب شده، حلال حذف می‌شود و غلظت در محلول تعیین می‌شود. حجم معادلی از حلال تازه به مجموعه فیلتر افزوده می‌شود و فرآیند تکرار می‌شود. این آزمون، که در میان روش‌ها از ساده‌ترین‌ها است، توسط محققین مختلف به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است [60]. سپس، میزان انحلال می‌تواند از طریق تغییرات در مقدار نمونه و یا بررسی تغییرات شیمیایی در مایع مورد آزمایش ارزیابی شود. محدودیت عمده این سیستم، احتمال فوق اشباع شدن مایع رویی (تعلیق) با یکی از گونه‌های حل شونده است و از این رو از انحلال بیشتر و همچنین ایجاد ماده حل شده روی سطوح ذرات مورد آزمایش به دنبال کاهش سرعت انحلال، جلوگیری می‌کند [99]. بدین ترتیب، استفاده از این روش ممکن است برای نانومواد کم محلول نسبت به نانومواد با محلولیت زیاد مانند اکسید روی مناسب‌تر باشد. با وجود این محدودیت‌ها، مطالعات انحلال برخی از نانومواد را می‌توان به وسیله سیستم انحلال استاتیک انجام داد [100][101].

۱۰-۵-۳ سیستم جریان پیوسته

با توجه به مشکلات بالقوه فوق اشباع که می‌تواند در آزمایش‌های استاتیک رخ دهد (به زیربند ۱۰-۵-۲ مراجعه شود)، دستورالعمل سیستم جریان پیوسته بهترین روش اندازه‌گیری ماندگاری زیستی در شرایط برون‌تنی است [102]. در این روش‌شناسی، با استفاده از پمپ پرستالتیک، مایعات شبیه‌سازی شده از یک مخزن بزرگ به محفظه حاوی نمونه ذره پمپ می‌شود. سپس میزان انحلال از طریق اندازه‌گیری غلظت‌های ماده حل شده در مایع، پس از عبور از محفظه ارزیابی می‌شود [99]. با استفاده از این سیستم، تعدادی از مطالعات انحلال برون‌تنی به منظور ارزیابی ماندگاری زیستی ذرات و فیبرهایی با ابعاد میکرومتر انجام شده است [103][104][105]. لازم به ذکر است در هنگام اجرای این سیستم، پروتئین‌های موجود در مایعات زیستی شبیه‌سازی شده ممکن است منافذ فیلترها را مسدود^۲ کنند که سبب قطع جریان نمونه‌ها می‌شوند

1- Rubber o-ring
2- Clog

[61]. علاوه بر این، روش CFS نیاز به حجم بیشتری از مایعات زیستی شبیه‌سازی شده دارد که ممکن است به علت ایجاد ضایعات به‌ویژه در هنگام ارزیابی نانومواد رادیواکتیو نشان‌دار شده، مسئله‌ساز شود.

۱۰-۵-۴ سیستم‌های بچ و فیلتر بچ

در این سیستم، نمونه ذرات به‌طور معمول در یک لوله سانتریفیوژ با حلال تحت شرایط دمایی کنترل شده به مدت فاصله زمانی انتخاب شده، تکان داده می‌شود. سپس مخلوط در فواصل زمانی مشخص سانتریفیوژ می‌شود و یک بخش (الیکوت)^۱ از محلول تعلیق جدا شده و سپس آنالیز می‌شود. حجم الیکوت باید با حلال تازه جایگزین شود تا رقیق‌سازی ثابت بماند. تماس مستقیم بین گردوغبار و حلال، اثرات احتمالی ماده زمینه ناشی از حضور فیلترهای غشایی را حذف می‌کند. در سیستم فیلتر بچ، روش مشابهی به‌کار برده می‌شود با این استثناء که محلول از طریق یک فیلتر غشایی فیلتر می‌شود، با این مزیت که انتقال ذره به داخل الیکوت اندازه‌گیری انجام نمی‌شود. محدودیت‌های این روش‌ها شامل احتمال انحلال در اثر تکان دادن و احتمال ادامه یافتن انحلال نانومواد محلول در حین سانتریفیوژ می‌باشد (به زیربند ۱۰-۶-۳-۲ مراجعه شود).

۱۰-۵-۵ سیستم فیلتراسیون جریان تانژانتی^۲

اخیراً، روش فیلتراسیون منحصربه‌فردی مبتنی بر انتشار به‌کار گرفته شده است که می‌تواند ذرات بزرگ را در مسیر جریان، پیوسته نگه دارد در حالی که اجازه عبور اجزاء کوچکتر از اندازه منافذ غشاء (یون‌ها) از طریق فیلترهای مولکولی به‌وسیله جداسازی انتشار جانبی را فراهم می‌کند. برای جدا کردن نانوذرات از یون‌های حلال، محلول از میان یک غشاء با اندازه منفذ ۱۰ kDa عبور می‌کند که قبل از فیلتراسیون با ایزوپروپانول ۷۰٪، برای ایجاد سطحی هیدروفیل بر روی غشاء شستشو داده می‌شود. پس از فیلتراسیون، غلظت یون‌ها با استفاده از ICP-MS اندازه‌گیری می‌شوند. گفته شده است که این سیستم نسبت به سیستم‌هایی که قبلاً شرح داده شده و از سانتریفیوژاسیون، فیلتراسیون یا دیالیز استفاده می‌کنند، مزیت‌هایی را دارا می‌باشد [83].

۱۰-۶ ارزیابی غلظت جسم حل شده پس از آزمایش انحلال

۱۰-۶-۱ کلیات

رایج‌ترین روش‌ها برای اندازه‌گیری غلظت یون‌های حاصل از انحلال نانومواد شامل ICP-OES، ICP-MS، AAS و Laser-SNMS/TOF-SIMS^۳ می‌باشد [106].

به‌طور کلی، این روش‌ها مقیاسی کمی از غلظت کل عناصر موجود در نمونه در محیط‌های فیزیولوژیک شبیه‌سازی شده را ارائه می‌کنند و نمی‌توانند عناصر را به حالت حل شده و یا به حالت ذره تشخیص دهند. از این‌رو بسته به سیستم آزمون مورد استفاده، قبل از تعیین مقدار فرم‌های حل شده ممکن است ضروری باشد

1- Aliquot

2- Tangential flow filtration system

3- Laser post-ionization secondary neutral mass spectrometry/time of-flight secondary ion mass spectrometry

که نمونه‌ها تحت فرآیند جداسازی (جزءب جزء کردن)^۱ قرار گیرند تا جداسازی آنالیت مورد مطالعه از نانوماده هدف و یون‌های دیگر عناصر انجام شود. انواع مختلفی از روش‌های جداسازی قابل دسترس وجود دارد و می‌توان آن‌ها را بر اساس اصول عملکرد (فیزیکی، مکانیکی یا شیمیایی) طبقه‌بندی کرد. این روش‌ها از نظر هزینه، پیچیدگی و کارایی متفاوت هستند. انتخاب روش جداسازی، جزء مهمی از هر طراحی مطالعه ماندگاری زیستی است زیرا بسته به یون‌ها یا مولکول‌های مورد مطالعه، ترکیب مایع فیزیولوژی شبیه‌سازی شده و فرآیند جداسازی، این مرحله می‌تواند منبعی از خطاهای بالقوه باشد.

۱۰-۶-۲ روش‌های مبتنی بر اصول فیزیکی

روش‌های مبتنی بر اصول فیزیکی شامل: FFFF [107][108] و کروماتوگرافی اندازه‌گزی^۲ [109][110] می‌باشد.

۱۰-۶-۱ روش جزء جزء کردن میدان جریان (FFFF)

اصطلاح عمومی FFFF، برای گروهی از روش‌هایی است که مشابه با کروماتوگرافی هستند و وابسته به زمان‌های شویش برای جداسازی نانومواد بر اساس اندازه آن‌ها است. بسته به سیستم، مواد را می‌توان با قدرت تفکیک بالا در طیف وسیعی از اندازه‌ها از ۱ nm تا ۱۰۰ μm جدا کرد [111][112]. دو نوع اصلی این روش: FFFF متقارن و AF4 نامتقارن است [111][113]. در FFFF، تعلیقه به کانال نواری شکل طولی که در یک سمت آن غشاء اولترافیلتراسیون^۳ وجود دارد، وارد می‌شود. با توجه به نسبت ابعاد بزرگ این محفظه، تعلیقه (مایع حامل)، جریان لایه‌ای سهمی‌گونی را به سمت خروجی محفظه ایجاد می‌کند. جریانی متقاطع به‌طور عمودی اعمال می‌شود تا ذرات به سمت غشاء هل داده شوند. همانطور که غلظت ذره در طول دیواره غشای محفظه زیاد می‌شود، ذرات دوباره به داخل جریان محفظه پخش می‌شوند و با خطوط جریان سهمی با توجه به اندازه هیدرودینامیکی خود هماهنگ می‌شوند (ذرات کوچک‌تر در انتهای سهمی قرار گرفته و از ذرات بزرگ‌تر در لبه‌های سهمی، نزدیک دیوار محفظه، جایی که سرعت بسیار کندتر است، سریع‌تر شسته می‌شوند). اصول عملکرد AF4 مشابه با FFFF است، اما در این روش، از کانال دوزنقه‌ای شکل استفاده شده‌است. در هر دو روش FFFF و AF4، نوع غشاء اولترافیلتراسیون و پتانسیل آن برای برهم‌کنش با ماده و/یا ذره حل‌شده در مایع فیزیولوژی یا شرایط محیطی شبیه‌سازی شده، نکته‌ای مهم است. منبع شماره [114] کتاب‌نامه، به‌طور سیستماتیک پارامترهای اصلی که مستقیماً بر جداسازی نانوذرات نقره با استفاده از AF4 تأثیر می‌گذارد را ارزیابی می‌کند و ضخامت فاصله‌انداز کانال، شرایط جریان، شوینده (pH، ترکیب، دما، گران‌روی)، مواد غشاء و خصوصیات نانومواد (شیمی سطح/ پوشش‌ها) را به‌عنوان عوامل مهم شناسایی می‌کند.

1- Fractionation
2- Size exclusion chromatography
3- Ultrafiltration membrane

۱۰-۶-۲ کروماتوگرافی (اندازه‌گزین، هیدرودینامیک)

کروماتوگرافی اندازه‌گزین با عملکرد بالا^۱ (HPSEC)، ابزاری قدرتمند برای بررسی اندازه و توزیع اندازه مواد پیچیده است [115][116].

۱۰-۶-۳ روش‌های مبتنی بر مفاهیم مکانیکی

روش‌های مبتنی بر مفاهیم مکانیکی شامل استفاده از غشاهای و همچنین سانتریفیوژاسیون می‌باشند.

۱۰-۶-۱ غشاهای

غشاهای متخلخل اغلب برای جداسازی و تغلیظ حالت‌های حل‌شده از مواد ذره‌ای و/یا سایر یون‌های حل‌شده، استفاده می‌شوند. دیالیز دونان^۲ (دیالیز نفوذی) روشی تبادل یونی است که بر اساس ایجاد تعادل الکتروشیمیایی و انتقال یون بین دو محلول جدا شده توسط غشاء انجام می‌شود. غشاء می‌تواند از نوع تبادل کاتیونی یا آنیونی باشد. در ابتدا، غلظت بالایی از یون مورد نظر نمونه در یک طرف غشاء وجود دارد و در محلول دریافتی که در طرف دیگر غشاء است، وجود ندارد. با گذشت زمان، یون‌های مورد نظر از میان غشاء به درون محلول دریافتی منتشر می‌شوند و به همان میزان یون‌های دیگر تا رسیدن به زمان تعادل، مبادله می‌شوند. سپس، غلظت یون‌های مورد نظر در محلول دریافتی تعیین مقدار می‌شود. دیالیز دونان [117]، برای جدا کردن طیف وسیعی از یون‌های فلزی از جمله طلا، پالادیوم، پلاتین و آهن استفاده شده است [118]. مزیت دیالیز دونان که براساس انتشار معکوس یا انتشار یون‌هایی با غلظت بیشتر از میان غشای تبادل یونی برای رسیدن به جداسازی است، ساده و مقرون به صرفه بودن آن است؛ با این وجود، ممکن است چند ساعت طول بکشد تا تعادل ایجاد شود و بسته به یون و غشاء، امکان جذب یون بر روی غشاء می‌تواند منجر به ایجاد خطای سیستماتیک در نتایج شود.

فیلتراسیون سانتریفیوژی روشی مبتنی بر غشاء است که می‌تواند برای جداسازی یون‌های حل‌شده از نانومواد ذره‌ای استفاده شود [46]. در این روش، نمونه آبی رقیق‌شده به لوله سانتریفیوژی که حاوی غشاء اولترافیلتراسیون است، اضافه و سانتریفیوژ (نوعاً در $4000 \times g$ یا $5000 \times g$) می‌شود. یون‌های حل‌شده از میان غشاء عبور می‌کنند و در اولترافیلتر تغلیظ می‌شوند و مواد ذره‌ای در غشاء باقی می‌مانند. به‌طور متداول غشاهای اولترافیلتراسیون با محدوده اسمی وزن مولکولی بین 3000 Da تا 10000 Da، برای جداسازی نانومواد استفاده می‌شوند. هیچ تبدیل مستقیمی از دالتون (اندازه مولکولی سه بعدی) به نانومتر وجود ندارد، هرچند این قبیل غشاهای متناسب با نانومواد با اندازه تقریبی بین 1 nm تا 3 nm هستند. فیلتراسیون سانتریفیوژی چندین مزیت دارد، از جمله: هزینه مفید و توانایی جداسازی نانومواد در تعلیق بدون نیاز به اولتراسانتریفیوژاسیون^۳. با این حال، بسته به نوع غشاء و امکان برهم‌کنش آن با یون‌های حل‌شده، عنصر مورد نظر می‌تواند جذب غشاء شده و باعث ایجاد خطای سیستماتیک در نتایج شود [114][119].

1- High-performance size exclusion chromatography (HPSEC)
2- Donnan dialysis
3- Ultracentrifugation

۱۰-۶-۳-۲ اولتراسانتریفیوژن گسیون

از اولتراسانتریفیوژن گسیون می‌توان برای جداسازی شکل‌های حل‌شده حاصل از نانومواد ذره‌ای، استفاده کرد. این روش از نیروی سانتریفیوژ برای انتقال نانومواد از میان تعلیقه آبی به ته لوله سانتریفیوژ استفاده می‌کند. نتیجه نهایی، رسوبی از نانومواد جامد و تعلیقه مایع است که حاوی یون‌های حل‌شده است. سرعت نهایی ته‌نشینی (V_{TC})، با واحد cms^{-1} ، برای ذره‌ای که تحت نیروی سانتریفیوژ قرار گرفته با فرمول (۱) بیان می‌شود:

(۱)

$$V_{TC} = \frac{Cc\rho_p d^2 a_c}{18\eta}$$

که در آن:

Cc ضریب تصحیح کانینگهام^۱ یا ضریب تصحیح لغزشی^۲؛

ρ_p چگالی ذره؛

d قطر ذره؛

a_c شتاب سانتریفیوژی بر ذره؛

18 عدد ثابت؛

η گرانروی مایع.

زمان سانتریفیوژن گسیون برای حرکت نانوماده در مسافت در نظر گرفته شده می‌تواند از نسبت فاصله لازم برای حرکت دادن ذره و V_{TC} محاسبه شود [120]. از فرمول ۱، واضح است که دلیل اندازه کوچک نانوماده، نیروهای سانتریفیوژی بسیار بالا و زمان‌های طولانی برای جداسازی آن‌ها مورد نیاز است [119][121][122]. به همین ترتیب، اولتراسانتریفیوژن تنها برای جداسازی نانومواد با حلالیت کم مناسب است و برای نانومواد بسیار محلول که حل شدن آن‌ها در حین فرآیند جداسازی نیز می‌تواند ادامه پیدا کند، کاربرد ندارد.

۱۰-۶-۴ روش‌های مبتنی بر اصول شیمیایی

تا به امروز، روش‌های گوناگون مانند استخراج مایع-مایع، استخراج جامد-مایع، استخراج نقطه ابری و ذرات مغناطیسی پوشش داده شده برای استخراج و غلظت نانوذرات توسعه داده شده‌است.

۱۰-۶-۴-۱ استخراج مایع-مایع

استخراج مایع-مایع روشی بسیار رایج است که توسط آن ترکیب از یک حلال به حلال دیگر منتقل می‌شود درحالی‌که این حلال‌ها امتزاج‌ناپذیر هستند. با استفاده از این روش، نانومواد مختلف با اصلاح مواد فعال سطحی و به‌دنبال آن تغییر سطوح خود از آب‌دوستی به آب‌گریزی، از محلول‌های آبی به حلال‌های آلی استخراج شده‌اند [123][124][125][126][127][128].

1- Cunningham correction factor
2- Slip correction factor

۱۰-۶-۴-۲ استخراج فاز جامد

استخراج فاز جامد روشی مفید برای جدا کردن آنالیت مورد نظر از تداخلات ماتریکس (ماده زمینه) است. این روش دارای مزایای دیگری نیز است به طوری که توانایی پیش تغلیظ در آن وجود دارد، شیمی محلول را تغییر نمی‌دهد و همچنین نیاز به مرحله اضافی حذف نانومواد غیرمحلول قبل از آنالیز به وسیله اولترافیلتراسیون و یا سانتریفیوژ را ندارد [129][130]. در این روش، آنالیت حل شده مورد نظر، به طور برگشت پذیر بر روی بستر جذب کننده فاز جامد انتخابی (استخراج فاز جامد) یا بر روی بستر پوشش داده شده با یک جذب کننده انتخابی (میکرواستخراج فاز جامد) متصل و باقی می‌ماند. جذب کننده می‌تواند در یک کارتریج پر شده و از روی آن تعلیقه عبور کند، پروبی مانند فیبر به داخل تعلیقه وارد شده یا حتی نانوماده‌ای مانند گرافن [131] و یا نانوذرات مغناطیسی عامل دار شده می‌توانند مستقیماً در تعلیقه، قرار گیرند [130][131][132]. هنگامیکه یون‌ها جذب می‌شوند، با استفاده از مایعی مناسب از بستر فاز جامد شویش می‌شوند و توسط روش‌هایی مانند GC-MS، LC-MS، HPCIC، ICP-MS و غیره، آنالیز می‌شوند.

۱۰-۶-۴-۳ استخراج نقطه ابری

برای جداسازی و تغلیظ در چندین مطالعه نانومواد مختلف از جمله نقره [134][135] و طلا، تیتانیوم دی‌اکسید، اکسید آهن، فولرن C_{60} ، SWCNTs و نقاط کوانتومی $CdSe_{core}/ZnS_{shell}$ از CPE، استفاده شده است [136]. به طور خلاصه، این روش شامل مخلوط کردن نمونه آبی با مواد شیمیایی و مواد فعال سطحی مناسب، انکوباسیون برای تسریع جداسازی فاز و سانتریفیوژ است. نتیجه، ایجاد نمونه‌ای دو فازی است با یک فاز غنی از مواد فعال سطحی که حاوی نانومواد مورد نظر در ته لوله سانتریفیوژ است و یک فاز آبی که حاوی یون‌های مورد نظر در تعلیقه است. نشان داده شده که CPE، روشی قوی برای نانومواد نقره با انواع پوشش‌های سطحی مختلف و طیف وسیعی از آب‌های حاوی اجزای آلی و معدنی [134] و چندین فلز، اکسیدهای فلزی و مواد بر پایه کربن [136] است، به طوری که برای مطالعات ماندگاری زیستی در مایعات محیطی و فیزیولوژیکی شبیه‌سازی شده نیز روشی مفید است.

۱۰-۶-۴-۴ ذرات مغناطیسی پوشش داده شده

این روش شامل استفاده از نانوذرات اکسید آهن مغناطیسی پوشش داده شده با دوپامین یا گلوپتامین به منظور دریافت^۱ انتخابی و اتصال به نقره موجود در ذرات است [137]. به طور خلاصه، نانوذرات اکسید آهن پوشش داده شده با نمونه آبی که حاوی نانومواد نقره است، مخلوط، تکان داده شده و به منظور تسهیل جذب نقره به نانوذرات مغناطیسی، انکوبه می‌شود. تعلیقه از میان محفظه‌ای که دارای ورودی و خروجی است عبور داده می‌شود و میدان مغناطیسی برای حذف و دریافت نانوذرات اکسید آهن که به نانومواد نقره متصل شده است، اعمال می‌شود. شوینده محفظه فقط حاوی یون‌های نقره می‌باشد. کارایی این روش بیش از ۹۹٪ گزارش شده است.

۱۰-۶-۵ طیف‌سنجی مرئی - فرابنفش

با توجه به مشکلات مربوط به سیستم‌های مرسوم جداسازی [غشاءها، اولتراسانتریفیگاسیون و الکتروفورز مویین]، استفاده از طیف‌سنجی مرئی - فرابنفش برای نانومواد حاوی تشدید پلاسمون سطحی (SPR) در آب‌های محیطی و محیط‌های کشت با غلظت‌های کم نمک، توصیه شده‌است [138]. اگرچه، محلول‌هایی با غلظت‌های بالایی از کلریدها باعث جذب کلرید نقره بر روی سطوح نانوذرات نقره می‌شوند [139]. از آنجاییکه نمک‌های نقره، SPR را نشان نمی‌دهند، طیف‌سنجی مرئی - فرابنفش ممکن است توانایی محدودی برای تشخیص نانوذرات نقره در این نوع محلول‌ها داشته باشد [140].

۱۰-۶-۶ مدل‌های ریاضی تک بعدی

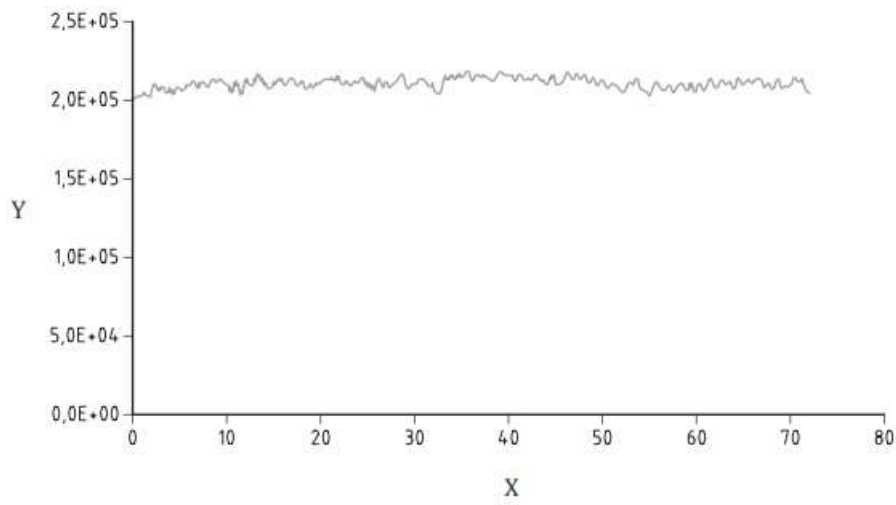
اخیراً، مدل ریاضی تک بعدی توسعه داده شده که برای توصیف انتقال نانوذرات نقره پایدار شده با سیترات به‌همراه یون‌های نقره حل‌شده، در محیط‌های متخلخل به‌کار گرفته شده‌است [141].

۱۰-۶-۷ پلاسمای جفت‌شده‌ی القایی تک‌ذره‌ای - طیف‌سنجی جرمی (spICP-MS)

هنگام آنالیز نمونه‌های حل‌شده با ICP-MS، سیگنال حالت پایدار^۱ از اندازه‌گیری عنصر حل‌شده حاصل می‌شود. با استفاده از spICP-MS، عناصر و ذرات حل‌شده اندازه‌گیری می‌شوند. این امر به این دلیل است که در ابتدا، هنگامیکه هواسل‌ها وارد پلازما می‌شوند تا حلال‌زدایی و یونیزه شوند، یون‌های حاصل از آنها در چهار قطبی قرار گرفته و با توجه به نسبت‌های جرم به بار (m/z) دسته‌بندی می‌شوند. چهار قطبی، زمان خاصی (زمان انتظار)^۲ را برای هر m/z صرف می‌کند و قبل از رفتن به m/z بعدی، وارد زمان پایداری^۳ (زمان مستقر شدن)^۴ می‌شود. در طول زمان پایداری الکترونیک ممکن است برای یون‌های حل‌شده که سیگنال مداومی را تولید می‌کنند، مقدار قابل توجهی از سیگنال اندازه‌گیری نشود که اهمیت چندانی ندارد؛ البته این امر می‌تواند برای ذرات معلق مهم باشد. بنابراین، با افزایش سرعت جمع‌آوری داده‌های گذرا با حذف زمان پایداری بین اندازه‌گیری‌ها به‌منظور جمع‌آوری داده‌های پیوسته بدون زمان پایداری، باید اطمینان حاصل شود که هر ذره وارد شده به پلازما با امکان اندازه‌گیری چند نقطه به ازای تک ذره شمارش می‌شود و در نتیجه احتمال عدم شمارش و اندازه‌گیری دقیق سایز نانوذرات از بین می‌رود (شکل‌های ۲ و ۳).

با استفاده از این فناوری، انحلال نانوذره می‌تواند در درجه اول با کاهش قطر ذره در مقیاس انحلال در طول زمان اندازه‌گیری شود و همچنین به‌وسیله اندازه‌گیری مستقیم Ag^+ آزادشده نیز به‌دست آید [142][143][144][145][146][147].

1- Steady-state signal
2- Dwell time
3- Stabilization time
4- Settling time

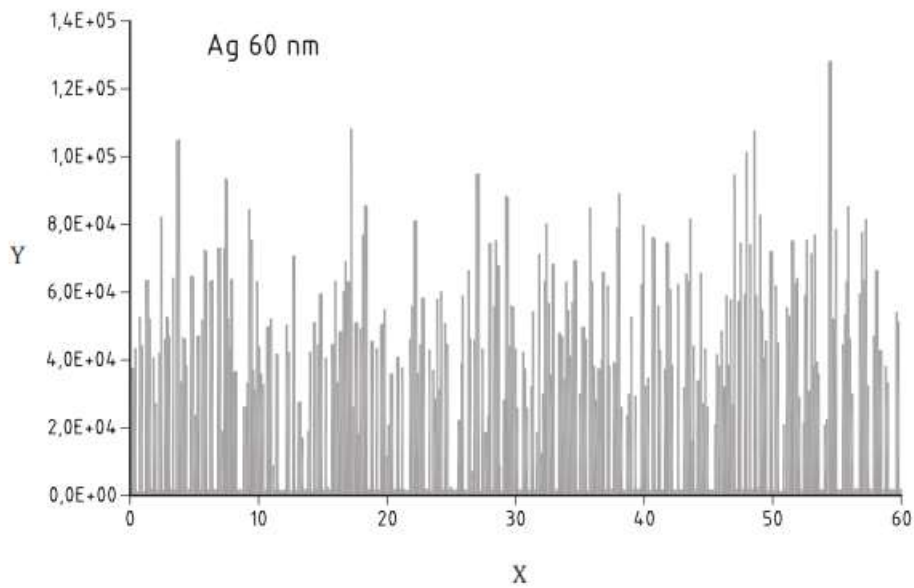


راهنما:

X زمان/دقیقه

Y شدت/ cps

شکل ۲- سیگنال حالت پایدار از آنالیت حل شده (>1 hour)



راهنما:

X زمان/دقیقه

Y شدت/ cps

شکل ۳- سیگنال حالت پایدار از آنالیت حل شده (۱ دقیقه، هر پیک نمایانگر یک ذره است)

۱۱ محاسبه ماندگاری زیستی ذره معدنی با ابعاد میکرومتر

۱-۱۱ کلیات

ماندگاری زیستی ذرات و فیبرها از طریق تعیین زمان نیمه عمر و طول عمر آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد. شناسایی کینتیک انحلال و به‌دنبال آن محاسبه سرعت انحلال و ثابت‌های سرعت انحلال، به‌نوبه خود پارامترهای لازم برای محاسبه ماندگاری زیستی ذره است.

۱۱-۲ کینتیک انحلال، سرعت انحلال و ثابت‌های سرعت انحلال

مطالعات کینتیکی انحلال به‌منظور تعیین سرعت انحلال و ثابت‌های سرعت انحلال ذرات و فیبرها انجام شده‌است. نشان داده شده که ذرات بزرگ‌تر یون‌هایی را با کینتیک درجه صفر آزاد می‌کنند. به‌طور کلی، برای یک واکنش درجه صفر، سرعت واکنش به‌صورت فرمول (۲) تعریف می‌شود:

$$\text{Rate} = -\frac{\Delta[M]}{\Delta t} = -\frac{dM}{dt} = k[M]^0 \quad (2)$$

که در آن:

ΔM تغییر جرم واکنش‌دهنده در فاصله زمانی Δt ؛

M^0 غلظت واکنش‌دهنده؛

t زمان واکنش است و سرعت واکنش برابر با ثابت سرعت، k ، بنابراین، مستقل از جرم اصلی واکنش‌دهنده است.

همچنین نشان داده شده‌است که انحلال یون‌ها با بیشتر نانوذرات، از کینتیک درجه اول پیروی می‌کنند. برای کینتیک درجه اول، سرعت واکنش به‌صورت فرمول (۳) تعریف می‌شود:

$$\text{Rate} = -\frac{\Delta[M]}{\Delta t} = \frac{dM}{dt} \quad (3)$$

اما سرعت واکنش به‌صورت زیر (فرمول ۴) بیان می‌شود:

$$-\frac{dM}{dt} = k_{\text{diss}}[M] \quad (4)$$

که در آن سرعت واکنش مجدداً وابسته به ثابت سرعت k_{diss} و همچنین وابسته به M ، جرم واکنش‌دهنده می‌باشد [به فرمول (۴) مراجعه شود].

۱۱-۳ کینتیک انحلال و سرعت انحلال ذرات و فیبرهای بزرگ‌تر

انحلال ذرات در ابتدا توسط مرسر^۱ شرح داده شد [148]. کینتیک انحلال، سرعت و ثابت‌های سرعت، سپس با جزئیات در شرایط برون‌تنی مورد مطالعه قرار گرفت. برای ذرات و فیبرهای بزرگ‌تر که در آن سرعت انحلال گفته می‌شود از واکنش درجه صفر پیروی می‌کند، سرعت انحلال نشان داده شده که مستقل از جرم است، اما تابعی از ثابت سرعت انحلال و مساحت سطح آن، A می‌باشد. همچنین گفته می‌شود سرعت انحلال وابسته به حلال، انتشار اتم‌ها یا مولکول‌ها از میان لایه راکد^۲ حلال اطراف ذره یا انتشار به سطح جزء بسیار محلول یک ذره چند جزئی است [149][150].

بنابراین، سرعت انحلال جامد با درجه واکنش صفر می‌تواند به صورت فرمول (۵) بیان شود:

(۵)

$$\frac{dM}{dt} = -Ak_{diss}$$

که در آن:

A مساحت سطح ذره و k_{diss} ثابت سرعت انحلال است.

با این وجود، اصل اساسی برای انحلال ذره [61]، که در ابتدا توسط مرسر شرح داده شد [148]، این است که سرعت انحلال جامد، تابعی از مساحت سطح ویژه آن، S است. سپس، با جایگزینی مساحت سطح با مساحت سطح ویژه ذره، S ، سرعت انحلال به صورت فرمول (۶) بیان می‌شود:

(۶)

$$\frac{d\frac{M}{M_0}}{dt} = -k_{diss}S(t)$$

که در آن:

M/M_0 جرم حل نشده نرمال شده؛

k_{diss} ثابت سرعت انحلال (جرم/سطح/زمان)؛

S مساحت سطح ویژه (مساحت سطح/جرم)؛

t زمان.

در ابتدا گفته می‌شود، S تابعی از توزیع اندازه ذره و فاکتور شکل ذره [148] است، اما با پیشرفت انحلال تغییر می‌کند، به طوری که S تابعی از زمان، $S(t)$ است.

انحلال فیبرها، مشابه با انحلال میکروذرات بر پایه سیلیس، توسط مساحت سطح نرمال شده قانون سرعت انحلال کینتیک درجه صفر شرح داده شده است که در آن انحلال به طور معمول با استفاده از پارامتر k_{diss} اندازه‌گیری می‌شود و با واحد $\text{ng/cm}^2/\text{h}$ بیان می‌شود. به طور کلی فرض می‌شود که سرعت جرم از

1- Mercer
2- Stagnant layer

دست‌رفته از فیبرها (M) متناسب با سطح آن‌ها (A) و مستقل از زمان (t) است [99]. با این حال در رابطه با فیبرها، با فرض فیبرهای استوانه‌ای شکل با قطر یکنواخت و انحلال هماهنگ از یک جرم اولیه، M_0 ، و قطر اولیه، d_0 ، مساحت سطح نرمال شده قانون سرعت انحلال کینتیک درجه صفر به صورت فرمول (۷) بیان می‌شود:

(۷)

$$1 - \left(\frac{M}{M_0}\right)^{1/2} = \frac{2k_{\text{diss}}t}{d_0\rho}$$

که در آن:

ρ چگالی اولیه فیبر است.

این دو فرمول را می‌توان به یک فرمول که با قطر فیبر (d)، زمان (t)، قطر اولیه فیبر (d_0)، چگالی فیبر (ρ)، و ثابت سرعت انحلال (k_{diss})، ارتباط دارد، بیان کرد (فرمول ۸) [15]:

(۸)

$$d(t) = d_0 - \frac{2k_{\text{diss}}t}{\rho}$$

که در آن:

k_{diss} با واحد جرم/سطح/زمان (mass/area/time)؛

d قطر فیبر در زمان t ؛

d_0 با واحد طول مانند cm؛

ρ با واحد g/cm^3 .

۱۱-۴ کینتیک انحلال و سرعت انحلال نانوذرات

انحلال اکثر نانوذرات نشان داده شده که از کینتیک درجه اول تبعیت می‌کند [92][151] و بنابراین سرعت انحلال نه تنها به ثابت سرعت انحلال (k_{diss}) و مساحت سطح ویژه آن‌ها (S)، بلکه به جرم نیز بستگی دارد. بنابراین این رابطه به صورت فرمول (۹) بیان می‌شود:

(۹)

$$\frac{dM}{dt} = -k_{\text{diss}}M$$

همچنین گفته شده است که سرعت انحلال ذرات کوچک‌تر متناسب با مساحت سطح آن‌ها است، اما انحلال ذرات کوچک باید بر اساس معادله نویز-ویتنی^۱ سریعتر باشد [به فرمول (۱۰) مراجعه شود].

1- Noyes-Whitney equation

(۱۰)

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DA}{h}(c_s - c)$$

که در آن:

$\frac{dm}{dt}$ سرعت انحلال؛

D ضریب انتشار؛

A مساحت سطح؛

h ضخامت لایه انتشار؛

c_s غلظت حالت اشباع؛

c غلظت بالک^۱.

۱۱-۵ ارزیابی تخمین نیمه عمر ذرات و فیبرها

برای فرآیندهای درجه صفر، نیمه عمر ذرات یا فیبرها را می‌توان با فرمول (۱۱) محاسبه کرد:

(۱۱)

$$t_{1/2} = \frac{[\text{reactant}]_0}{2k_{\text{diss}}}$$

که در آن:

$[\text{reactant}]_0$ غلظت اولیه ماده؛

k_{diss} ثابت سرعت انحلال؛

$t_{1/2}$ نیمه عمر.

برای واکنش درجه صفر، نیمه عمر با کاهش غلظت اولیه کاهش می‌یابد. بنابراین، نیمه عمر برای موادی که با کینتیک درجه صفر حل می‌شوند، بسیار مفید نیست.

بدین ترتیب فرمول (۱۲) برای تعیین نیمه عمر فیبرها با کینتیک درجه صفر استفاده می‌شود:

(۱۲)

$$1 - \left(\frac{M}{M_0}\right)^{1/2} = \frac{2k_{\text{diss}}t}{D_0\rho}$$

که در آن با رسم نمودار $1 - (M/M_0)^{1/2}$ در مقابل مدلینگ رگرسیون حداقل مربعات غیرخطی زمان، نیمه عمر $t_{1/2}$ و ثابت سرعت انحلال، k به دست می‌آید [92].

برای کینتیک‌های درجه اول، ثابت‌های سرعت و نیمه عمرها نشان‌دهنده فرآیند مشابه هستند و با یکدیگر رابطه معکوس دارند که به صورت فرمول (۱۳) بیان می‌شود:

(۱۳)

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_{\text{diss}}}$$

که در آن:

$t_{1/2}$ نیمه عمر / طول عمر (با واحد زمان)؛

k_{diss} (نرمال نشده) ثابت سرعت انحلال (واحدهای زمان^{-۱}).

۱۱-۶ ارزیابی تخمین طول عمر ذرات و فیبرها

۱۱-۶-۱ کلیات

برای انحلال ذرات و فیبرهایی که از کینتیک درجه صفر تبعیت می‌کنند، از دو مدل مختلف برای تعیین طول عمر آن‌ها استفاده می‌شود.

۱۱-۶-۲ نظریه کوچک شدن ذره کروی^۱

طول عمر ذرات با استفاده از مدل هندسی «کوچک شدن ذره کروی» تخمین زده می‌شود که در آن زمان برای حل شدن ذره کروی توسط قطر ذره تعریف می‌شود [153].

با استفاده از قانون سرعت درجه صفر که می‌تواند به صورت تعداد ذرات (n) به جای جرم (M) بیان شود، [فرمول (۱۴)] و با در نظر گرفتن مساحت سطح ذره کروی به صورت $4\pi r^2$ و با توجه به حجم ذره کروی به صورت $V = \frac{4\pi r^3}{3}$ ، بنابراین A در فرمول (۱۴) می‌تواند به صورت فرمول (۱۵) بیان شود و سپس می‌تواند به صورت فرمول (۱۶) بازآرایی شود:

(۱۴)

$$\frac{dn}{dt} = -Ak_{\text{diss}}$$

(۱۵)

$$A = Vb^{2/3}$$

(۱۶)

$$\frac{4\pi r}{3} = b\left(\frac{4\pi r^3}{3}\right)^{2/3}$$

مقدار b نیز می‌تواند برابر با ۴٫۸۴ شود.

ماده با حجم (V) به صورت فرمول (۱۷) تعریف می‌شود:

(۱۷)

$$V = nV_m$$

که در آن، V_m حجم مولار ماده و n تعداد مول است [به فرمول (۱۸) مراجعه شود].

(۱۸)

$$A = bn^{2/3}V_m^{2/3}$$

مقدار A به دست آمده از بالا، سپس در قانون سرعت درجه صفر جایگزین می شود. بنابراین، فرمول به صورت فرمول (۱۹) بیان می شود:

(۱۹)

$$\frac{dn}{dt} = -bV_m^{2/3}k_{diss}n^{2/3}$$

با مشتق گیری بعدی، فرمول به صورت فرمول (۲۰) بیان می شود:

(۲۰)

$$\Delta t = \frac{r}{V_m k_{diss}}$$

با جایگزینی r با $d/2$ فرمول (۲۱)، به دست می آید:

(۲۱)

$$t = \frac{d}{2k_{diss}V_m}$$

که در آن:

t زمان (ثانیه)؛

d قطر ذره (m)؛

V_m حجم مولی (m^3/mol)؛

k_{diss} ثابت سرعت (mol/surface area/time).

۱۱-۶-۳ نظریه کوچک شدن فیبر^۱

با استفاده از همان قانون سرعت درجه صفر که می تواند به صورت تعداد ذرات (n) به جای جرم (M) بیان شود [به فرمول (۲۲) مراجعه شود]، اما با فرض شکل استوانه ای برای فیبرها، سطح جانبی (A) استوانه توسط $A = 2\pi rl$ و حجم آن توسط $V = \pi r^2 l$ بیان می شود که r شعاع استوانه و l طول آن است که با توجه به نسبت (z) استوانه به صورت $z = r/l$ ، بنابراین $r = l/z$ تعریف می شود.

(۲۲)

$$\frac{dn}{dt} = -Ak_{diss}$$

با فرض فیبرهای استوانه‌ای شکل و تأثیر انحلال تنها بر قطر فیبر (نه طول آن)، این مدل را می‌توان به صورت زیر نشان داد [به فرمول (۲۳) مراجعه شود]:

(۲۳)

$$d_t = d_0 - \frac{2k_{diss}t}{\rho}$$

سطح جانبی (A) سپس به صورت $A = 2\pi l^2 z$ و $V = \frac{\pi r^3}{z}$ خواهد بود.

رابطه کلی بین مساحت سطح جامد و حجم آن بنابراین به صورت فرمول (۲۴) بیان می‌شود:

(۲۴)

$$A = Vb^{2/3}$$

به طوری که مقدار b برابر با فرمول (۲۵) است:

(۲۵)

$$b = 2 \frac{\pi^{1/3}}{z^{1/3}}$$

بار دیگر حجم ماده V را می‌توان به صورت فرمول (۲۶) تعریف کرد:

(۲۶)

$$V = nV_m$$

که در آن، n تعداد مول‌های ماده در استوانه و V حجم مولی است. بنابراین، A در فرمول (۲۴) می‌تواند به صورت فرمول (۲۷) بیان شود:

(۲۷)

$$A = \frac{2\pi^{1/3}V_m^{2/3}n^{2/3}}{z^{1/3}}$$

وقتی مقدار A در قانون درجه صفر جایگزین شود، فرمول می‌تواند به صورت فرمول (۲۸) بیان شود:

(۲۸)

$$\frac{dn}{dt} = - \frac{2\pi^{1/3}V_m^{2/3}k_{diss}n^{2/3}}{z^{1/3}}$$

با ادغام و بازآرایی بعدی، فرمول به صورت فرمول (۲۹) بیان می‌شود:

(۲۹)

$$t = - \frac{3n^{1/3} z^{1/3}}{2\pi^{1/3} V_m^{2/3} k_{diss}}$$

و با جایگزینی n و z با تعاریف پیشین، فرمول سپس به صورت فرمول (۳۰) نمایش داده می شود که زمان انحلال فیبر با شعاع r را ارائه می دهد.

(۳۰)

$$t = \frac{3r}{2V_m k_{diss}}$$

با تعریف ابعاد فیبر به صورت $r = \frac{d}{2}$ ، فرمول (۳۰) می تواند با توجه به قطر فیبر به صورت فرمول (۳۱) بیان شود:

(۳۱)

$$t = \frac{3d}{4V_m k_{diss}}$$

۷-۱۱ ارزیابی تخمین نیمه عمر و طول عمر

با استفاده از این دو مدل، تخمین طول عمر برای تعداد ذرات و فیبرها می تواند با استفاده از فرمول (۲۱) برای ذرات و فرمول (۳۱) برای فیبرها مطابق با جدول ۱ محاسبه شود [157][158][50][68][153][154][155][156].

جدول ۱- نیمه عمر (محاسبه شده از k_{diss}) نانوذرات با کینتیک درجه صفر و طول عمر (تخمین زده شده از مدل کوچک شدن ذره کروی / فیبر) نانوذرات، میکروذرات و فیبرها با کینتیک درجه صفر

| طول عمر | نیمه عمر | k_{diss} | ذرات معدنی / فیبرها |
|--------------------------------|------------------------------|--|--|
| ذرات و فیبرهای بزرگتر | | | |
| - | (1 ± 4) روز | $2.5 \pm 0.3 \times 10^{-5} \text{ g}^a$ $\text{tungsten/cm}^2/\text{day}^{[68]}$ | WO_3 ، به صورت ذرات انبوهه با سایز $36/2 \mu\text{m}$ در مایع پوششی اپیتلیال مسیر هوایی مصنوعی (pH ۷٫۴) |
| - | 11 روز ^b | $0.9 \times 10^{-5} \text{ g}$ $\text{tungsten/cm}^2/\text{day}^{[68]}$ | WO_3 ، به صورت ذره مجزا با سایز $36/2 \mu\text{m}$ در مایع پوششی اپیتلیال مسیر هوایی مصنوعی (pH ۷٫۴) |
| - | 2549 ± 9893 ^b | $9.8 \pm 2.9 \times 10^{-9} \text{ g}$ $\text{tungsten/cm}^2/\text{day}^{[68]}$ | WO_3 ، به صورت ذرات انبوهه با سایز $36/2 \mu\text{m}$ در مایع فاگولیزوزوم ماکروفاژ آلوئولار مصنوعی ریه (pH ۴٫۵) |
| ۸ سال | - | $1.4 \times 10^{-11} \text{ mol}$ $\text{Si/m}^2/\text{s}^{b[50]}$ | تالک، به صورت ذره ۱ میکرونی |
| ۹ ماه تا ۱۹ ماه، بر حسب قطر | - | $5.9 \times 10^{-10} \text{ mol}$ $\text{Si/m}^2/\text{s}^{b[153]}$ | کریزوتیل (Chrysotile)، فیبرهای $1 \mu\text{m}$ ، pH ۲ الی ۶ در 37°C |
| ۴٫۸ سال | - | $7.6 \times 10^{-11} \text{ mol}$ $\text{Si/m}^2/\text{s}^{b[50]}$ | اولیوین (Olivine)، یک ذره ۱ میکرونی |

| طول عمر | نیمه عمر | k_{diss} | ذرات معدنی / فیبرها |
|---|-------------------------------------|--|--|
| ۵۰۰۰ سال | - | $1.4 \times 10^{-13} \text{ mol Si/m}^2/\text{s}^{b[50]}$ | کوارتز، یک ذره ۱ میکرونی |
| نانوذرات | | | |
| ۲ سال ^[98] | - | $2.57 \times 10^{-12} \text{ mol Si/m}^2/\text{s}^{[159]}$ | نانوذرات سیلیس بی شکل |
| - | ۱،۳ روز (۳۱،۴ ساعت) ^[98] | $0.53/\text{day}^{c[46]}$ | نقره پایدار شده با سیترات ۴،۸ nm در آب دیونیزه و ۰،۲ mg/L کل نقره |
| - | ۳۰ روز (۷۲۳ ساعت) ^[98] | $0.023/\text{day}^{c[46]}$ | نقره پایدار شده با سیترات ۴،۸ nm در آب دیونیزه و ۲ mg/L کل نقره |
| - | ۲۱ ساعت ^[98] | $3.3 \times 10^{-2} /\text{h}^{c[160]}$ | TiO ₂ صنعتی با قطر بین ۱ nm تا ۲۴،۴ nm در محلول‌های آبی NaCl در دماهای ۲۵°C و ۳۷°C و pH بین ۳،۰ و ۳،۳ |
| <p>^a ثابت سرعت درجه صفر نرمال شده.</p> <p>^b مستخرج از مدل کوچک شدن ذره کروی.</p> <p>^c ثابت سرعت درجه اول نرمال نشده.</p> | | | |

۱۲ مثال‌هایی از ارزیابی ماندگاری زیستی فیبرها و ذرات معدنی با ابعاد میکرومتر با استفاده از سیستم‌های برون‌تنی بدون سلولی

۱-۱۲ فیبرهای شیشه و آزبست

ثابت‌های سرعت انحلال فیبرهای شیشه در محلول گامبل، مشاهده شده که از $1 \text{ ng/cm}^2/\text{h}$ تا $50,000 \text{ ng/cm}^2/\text{h}$ متغیر است به‌طوری‌که نشان داده شده شرایط آزمایش بر انحلال تأثیر می‌گذارد [16]. مطالعات مشابه انحلال برای فیبرهای آزبست و سایر فیبرهای سیلیسی نیز انجام شده‌است [59].

۲-۱۲ سیلیسیم دی‌اکسید

حلالیت SiO₂ کریستالی با ابعاد $5 \mu\text{m}$ تا $10 \mu\text{m}$ به‌صورت تابعی از pH مایع، اندازه ذره و غلظت SiO₂ در محلول گامبل، بررسی شده‌است. نتایج نشان داده که حلالیت SiO₂ به‌طور معنی‌داری با افزایش pH، ذره‌ای با اندازه کوچک‌تر و جرم افزایش می‌یابد به‌طوری‌که مشخص شده کوچک بودن اندازه ذره، مهم‌ترین متغیر برای حلالیت سیلیس در شرایط آزمایش است [161].

۳-۱۲ تالک

ثابت‌های سرعت نمونه‌ای از پودر تالک مشخصه‌یابی شده، ماده معدنی سیلیکات منیزیم آب‌دار با ترکیب شیمیایی $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ ، در حلال‌هایی شبیه‌سازی شده از مایعات موجود در ریه انسان، اندازه‌گیری شده‌است. با استفاده از مدل کوچک شدن ذره کروی، مشخص شده که ثابت سرعت انحلال در دمای

۳۷°C، با اندازه‌گیری سرعت انتشار سیلیس در واحد مساحت سطح تالک در سیستم رآکتور جریان مخلوط^۱، $10^{-11} \times (1/0 \pm) 1/4$ molSi/m²/s است. مشخص شده‌است که سرعت انحلال تالک بیشتر از کوارتز، اما آهسته‌تر از کریزوتیل و اولیوین است [158].

۴-۱۲ اکسید تنگستن

انحلال تنگستن تری‌اکسید (WO₃) و اکسیدهای آبی تنگستن (TBOs)، حاوی ذرات ریز اکسید تنگستن فیبری شکل با اندازه قابل تنفس یا قابل ورود به قفسه سینه با استفاده از مسیرهوایی مصنوعی SUF و ماکروفاژ PSF مورد بررسی قرار گرفت. سرعت‌های انحلال ترکیبات تنگستن در PSF نسبت به SUF، یک تا چهار مرتبه کاهش یافته بود. در SUF، فیبر حاوی WO_{2.66} و WO_{2.51} آهسته‌تر از فلز تنگستن یا WO₃ حل شده بود. در PSF، هر سه فیبر حاوی TBOs، آهسته‌تر از فلز تنگستن حل شده بود. از اطلاعات سم‌شناسی ریوی موجود چنین نتیجه‌گیری می‌شود که ترکیبات تنگستن نشان‌دهنده پتانسیل تحریک ریوی و احتمالاً فیبروز ریوی را دارا می‌باشند [68].

۵-۱۲ بریلیم

سرعت‌های انحلال نمونه‌های مشخصه‌یابی شده از فرآیند نشر گرد و خاک و پودرهای فرآورده نهایی صنعتی از معدن کاری بریلیم [162][163] و تولید اولیه و تجهیزات ماشین کاری سرامیک [164][165][166][167]، در دمای ۳۷°C اندازه‌گیری شده‌است. با استفاده از روش انحلال استاتیک، مشاهده شد که سرعت‌های انحلال بریلیم به‌طور گسترده‌ای بین 10^{-5} تا 10^{-1} g/cm²/d، بسته به فرم شیمیایی مواد (فلز، اکسید، هیدروکسید، آلیاژ، نمک، سیلیکات) و pH مایع ربه شبیه‌سازی شده، متفاوت است. در متغیرهای مسیرهوایی ربه شبیه‌سازی شده (محلول گامیل، pH ۷/۴)، سرعت انتشار بریلیم به ازای واحد مساحت سطح ماده به‌طور معمول کمتر از سرعت انتشار در مایع فاگولیزومی شبیه‌سازی شده (pH ۴/۵)، برای همان ماده بود. رهایش بریلیم از ذرات شیمیایی چند جزئی مانند مواد معدنی سیلیکات و گرد و غبار حاصل از معدن، تحت تأثیر هم‌انحلالی^۲ سیلیس و آلومینیم است [162][163].

۱۳ مثال‌هایی از ارزیابی ماندگاری زیستی نانومواد با استفاده از سیستم‌های برون‌تنی بدون سلولی

۱-۱۳ نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره و نانولوله‌های کربنی چنددیواره

تجزیه زیستی نانولوله‌های کربن اولین بار زمانی که نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره، آلاینده‌های فلزی را به‌وسیله تیمار اسیدی اکسیداتیو پاک‌سازی می‌کردند، همچنین القای ایجاد گروه‌های کربوکسیلیک اسید پس از ۱۲ هفته انکوباسیون با پراکسیداز HRP و پراکسید هیدروژن و به‌دنبال آن تخریب تدریجی نانولوله‌های کربنی

1- Mixed-flow reactor system
2- Co-dissolution

تک‌دیواره، نیز نشان داده شد. پیشنهاد شده بود که این فرآیند می‌تواند به تجزیه زیستی نانولوله کربنی تک‌دیواره کمک کند و بر ماندگاری زیستی آن‌ها در محیط زیست و احتمال بیماری‌زایی آن‌ها تأثیر بگذارد [31]. بعدها، با استفاده از مایع شبیه‌ساز فاگولیزوزوم در شرایط برون‌تنی، کاهش طول در نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره عامل‌دار شده با گروه‌های اسید کربوکسیلیک در طول یک دوره ۹۰ روزه نشان داده شد و اکسیداسیون کربوکسیلیک به صورت جایگاه‌های فعال مشخص شد منجر به تخریب نانولوله‌های کربنی می‌شود که این امر باعث تخریب بیشتر اکسیداتیو توسط مایعات شبیه‌ساز می‌شود [168] و بدین ترتیب یافته‌های قبلی آلن و همکاران^۱ را تأیید می‌نمود [31]. تجزیه زیستی مشابه نانولوله کربنی تک‌دیواره در مایع فاگولیزوزوم حاوی آنزیم‌های اکسیداتیو سلول‌های التهابی نیز توسط دو پژوهشگر قبلی نشان داده شده است [169]، به طوری که نتیجه‌گیری می‌شود، میزانی که نانولوله‌های کربنی تجزیه زیستی می‌شوند، می‌تواند تعیین کننده اصلی اندازه و شدت پاسخ‌های التهابی مرتبط در افراد در معرض باشد. جدیدترین مطالعه در مورد ماندگاری زیستی نانولوله‌های کربنی در طی ۲۴ هفته انکوباسیون نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره و سایر فیبرهای انجام شده است که بار دیگر اهمیت تأثیر خواص فیزیکی و شیمیایی بر قابلیت تجزیه زیستی آن‌ها را تأیید می‌کند [170]. انکوباسیون نانولوله‌های کربنی چنددیواره در بخش‌های مختلف گوارشی مشابه حاوی HRP و پراکسید هیدروژن، تجزیه نانولوله‌های کربنی چنددیواره خالص شده، اکسید شده و نیتروژن‌دار شده با سازوکار تجزیه لایه‌به‌لایه را نشان داده است [171].

۱۳-۲ نانوذرات نقره

با استفاده از سیستم انحلال استاتیک و به دنبال آن اولترافیلتراسیون، سرعت انحلال نانوذرات نقره پایدار شده با سیترات (۱۳۳ nm) در آب دیونیزه بررسی شده است. ثابت سرعت درجه اول (k) $0.0734/h$ ، یون‌های نقره‌ای که از 0.05 mg/L کل نانوذرات نقره آزاد شد، در مدت زمان ۶ ساعت در دمای 22°C محاسبه شده است [172]. سیستم استاتیک مشابه و به دنبال آن اولترافیلتراسیون، انحلال نانوذره 4.8 nm توانست مقدار ثابت انحلال (k) $10^{16} \text{ ug/d/m}^2 \times 7.6$ و زمان انحلال بین ۶ روز تا ۱۲۵ روز، بسته به غلظت اولیه نانوذرات نقره، و یا حضور یا عدم حضور اکسیژن، pH و اسید هیومیک یا اسید فولویک محیط انحلال را نشان دهد [46]. با استفاده از لیتوگرافی نانوگره (NSL) برای ساخت آرایه‌های یک شکل از نانوذرات نقره پایدار شده بر روی بسترهای شیشه، انحلال نانوذره نقره در بافر فسفات اشباع شده با هوا (7.0 pH ، 25°C)، تحت غلظت‌های متفاوت سدیم کلرید، مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده می‌شود که سرعت‌های انحلال بطور خطی از 0.4 nm/d تا 2.2 nm/d در محدوده غلظت‌های NaCl آزمون شده از 10 mM تا 550 mM متفاوت است و بنابراین نتیجه‌گیری شده است که حضور NaCl می‌تواند نقش مهمی در سرنوشت نانوذره نقره در آب‌های نمکی و محیط‌های زیستی داشته باشد [139].

انحلال نانوذرات نقره در شیره معده شبیه‌سازی شده نیز مورد بررسی قرار گرفته است [80][81][82][83]. با اینکه این قبیل مطالعات انتشار یافته و دیگر مطالعات، انحلال یون‌های نقره از نانوذرات نقره را مورد بررسی

1- Allen *et al.*

قرار داده‌اند، هیچ تلاشی برای محاسبه ثابت‌های سرعت انحلال یا ارزیابی از بین رفتن طول عمر نانوذرات نقره مورد بررسی، انجام نشده است [80][83][173][174].

عوامل متعددی وجود دارد که بر انحلال نانوذرات نقره با استفاده از محیط‌های زیستی مختلف تأثیر می‌گذارند. اینها شامل pH، اکسیژن محلول [46][80]، قدرت یونی یا سختی مایع انحلال، قرار گرفتن در معرض نور خورشید [175][176] و حضور لیگاندهایی که کمپلکس‌های قوی با نقره ایجاد می‌کنند، می‌باشد به‌طوری‌که تشکیل این کمپلکس‌ها با یون‌های نقره از لحاظ ترمودینامیکی بسیار مطلوب است [177][178]. عامل پوشاننده ممکن است از انحلال Ag^+ جلوگیری کند [178] یا اینکه ممکن است مشابه با مطالعات خان و همکاران^۱ [179]، از انحلال جلوگیری نکند، به‌طوری‌که نانوذرات نقره پوشش داده‌شده با سیترات همچنان یون‌های Ag^+ را آزاد می‌کنند. این امر می‌تواند بر اساس این واقعیت تفسیر شود که در محلول‌هایی با قدرت یونی بالا، پوشش‌ها می‌توانند ناپایدار و حل شوند و نانوذرات را بدون محافظ باقی می‌گذارند [180]. پوشش‌ها ممکن است از انحلال جلوگیری نکنند، اما کینتیک انحلال را می‌توانند تحت تأثیر قرار دهند [173].

با استفاده از روش‌شناسی جدید spICP-MS، می‌توان انحلال نانوذرات نقره را در غلظت‌های مرتبط با محیط‌زیست مورد بررسی قرار داد و به‌صورت کمی سرعت‌های انحلال حاصله را در انواع مختلفی از محیط‌های آبی ارزیابی کرد به‌طوری‌که در این محیط‌ها انحلال اساساً به‌عنوان کاهش قطر ذره در طول زمان با اندازه‌گیری مستقیم هم‌زمان یون‌های نقره آزادشده (aq)، اندازه‌گیری می‌شود [142][143][144][145][146][147]. بار دیگر، هیچ کینتیک انحلال یا سرعت انحلالی گزارش نشده است.

۱۳-۳ تیتانیم دی‌اکسید

تیتانیم دی‌اکسید به‌صورت بی‌شکل و سه فرم کریستالی، یعنی آناتاز^۲، روتیل^۳ و بروکیت^۴ وجود دارد که هر کدام از آن‌ها دارای خواص فیزیکی و واکنش‌پذیری فتوشیمیایی مختلف هستند. با استفاده از سیستم انحلال استاتیک و به‌دنبال آن سانتریفیوژاسیون، انحلال نانوذرات TiO_2 (۶۰٪ آناتاز بلورین و ۴۰٪ فاز بی‌شکل) در محدوده pHهای مختلف و همچنین در حضور سدیم کلرید در طول مدت ۳،۰۰۰ ساعت مورد بررسی قرار گرفته است. اگرچه ثابت‌های تعادلی ترمودینامیکی ارائه شده، هیچ ثابت سرعت انحلال یا از بین رفتن طول عمر مورد بررسی قرار نگرفته است [160][181]. مطالعه انحلال مشابهی نیز توسط دیگر محققان بدون تلاش برای تعیین کینتیک انحلال، ثابت‌های سرعت انحلال یا نیمه عمر نانوذرات مورد مطالعه، انجام شده است [182].

اخیراً اختلاف در ثابت‌های سرعت انحلال، طول عمر و انحلال استاتیک (حلالیت) در pH شیره معده (۱٫۵) و در pH خنثی ریه برای نانو-آناتاز و نانو-روتیل و آنالوگ‌های انبوه آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است [183].

1- Khan *et al.*
2- Anatase
3- Rutile
4- Brookite

۱۳-۴ اکسید روی

با استفاده از سیستم انحلال استاتیک و به دنبال آن فیلتراسیون، انحلال نانوذرات اکسید روی در آب خالص و همچنین در محیط نسبتاً شبیه‌ساز آب سخت و همچنین در دو محیط کشت؛ DMEM و RPMI-1640 مورد مطالعه قرار گرفته است. بار دیگر، هیچ ثابت سرعت انحلالی محاسبه نشده [145]، اما اهمیت اندازه، pH، قدرت یونی و جذب اسید هیومیک در این انحلال تایید شده است [101][184].

اخیراً اختلاف در ثابت‌های سرعت انحلال، طول عمر و انحلال استاتیک (حلالیت) در pH شیرۀ معده (۱/۵) برای نانوذره اکسید روی و آنالوگ‌های توده آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است [183].

۱۴ ماندگاری زیستی لیگاندها

۱-۱۴ کلیات

لیگاندها در فرآیند انحلال نقشی دوگانه، به عنوان نقش محافظتی و در نتیجه کاهش انحلال یا افزایش انحلال از طریق فرآیند تقویت لیگاند، ایفا می‌کنند.

عامل دار کردن نانوذرات و فیبرها با لیگاندهایی که دارای گروه‌های عاملی مختلف هستند، یا از طریق عامل دار کردن درجا^۱ به واسطه معرفی این گروه‌ها در طول سنتز نانوذرات و یا از طریق عامل دار کردن پس از سنتز به وسیله متصل کردن برخی گروه‌های آلی بر روی نانوذرات از پیش ساخته شده، به دست می‌آید. هنگامی که این‌ها به درون سلول وارد می‌شوند، تجزیه‌پذیری زیستی مواد پوششی یا لیگاندها با گروه‌های عاملی (عامل‌زدایی زیستی)^۲ ممکن است، رخ دهد. طیف گسترده‌ای از نانومواد که به منظور عامل دار شدن سطحی، مهندسی می‌شوند و همچنین نانومواد که بدون منظور خاصی تحت پوشش سطحی قرار می‌گیرند، محافظت می‌شوند، اما انحلال نانومواد را بسته به قدرت اتصال لیگاند، ترکیب، چگالی و نیز میزان ماندگاری زیستی آن‌ها در محیط‌های زیستی، تقویت می‌کنند. از این رو، باید بین ماندگاری زیستی هسته نانوذرات و نانوذرات دارای لیگاند/ مواد پوششی، تمایز ایجاد شود.

۱۴-۲ مثال‌هایی از لیگاندهای متصل شده به ذرات و ارزیابی ماندگاری زیستی آن‌ها

مثالی از برداشتن گروه عاملی از طریق آنزیمی/ رادیکالی می‌تواند نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره پگی‌لیت شده و تزریق شده به صورت داخل وریدی در کبد موش در طول زمان باشد. به طوریکه تجزیه زیستی لیگاندهای وابسته به اندام، تأیید شده است، همچنانکه نشان داده شده نانولوله‌های کربنی تک‌دیواره-پگی‌لیت شده به طور آهسته در کبد گروه‌های عاملی خود را از دست داده، درحالی که در برابر تغییر شکل زیستی در طحال در طول مدت بیش از هشت هفته بسیار پایدار هستند [185].

1- In situ

2- Biodefuntionalization

برداشته شدن گروه عاملی از نانومواد را نیز می‌توان در شرایط برون‌تنی نشان داد. به‌عنوان مثال مشاهده شده که لیگاندهای تیولات از نانوبلورهای کالکوژنید کادمیم^۱ در pHهای پایین جدا می‌شوند [47] که این امر منجر به نگرانی تخریب آن‌ها در pH پایین شیره معده نیز شد. سپس نشان داده شد که pH پایین شیره معده می‌تواند در حقیقت منجر به تخریب پوشش سطحی نقاط کوانتومی پگی‌لیت شده [70][84]، همچنین پوشش پروتئینی^۲ غیره‌د فمند بر روی نانومواد شود [186]. از سوی دیگر، افزایش pH و همچنین حضور لیگاندها مانند اسیدهای هیومیک و فولویک [46] یا سدیم دودسیل سولفات (SDS) و توئین^۳ می‌تواند انحلال نانوذرات نقره [100] را در آب‌های طبیعی مهار کند. تجزیه مشابهی از لیگاندها و سایر مواد پوششی و به‌همین ترتیب تغییر زیستی نانومواد با نمونه‌های محیطی نیز مشاهده شده است. به‌عنوان مثال، هضم پوشش لیزوفسفاتیدیل کولین بر روی نانولوله کربنی تک‌دیواره توسط دافنی ماگنا، شواهدی از تغییر زیستی نانوماده‌ای بر پایه کربن توسط یک ارگانسیم آبی شده است [187].

۱۴-۳ روش‌شناسی‌های ارزیابی ماندگاری زیستی لیگاندهای متصل شده

۱۴-۳-۱ کلیات

GPC، MALDI-TOF-MS و طیف‌سنجی ATR-FTIR به‌طور معمول برای ارزیابی لیگاندهای سطحی متصل به نانومواد استفاده می‌شود و LC-MS/MS برای مشخصه‌سازی پروتئین‌هایی که در سطح نانومواد جذب شده‌اند، مفید است.

۱۴-۳-۲ کروماتوگرافی ژل تراوایی

GPC، نوعی کروماتوگرافی مایع است که در آن هر دو فاز ساکن (جامد) و فاز متحرک (مایع) استفاده می‌شود. با استفاده از GPC، امکان ارزیابی تجزیه زیستی پلی‌اتیلن‌گلیکول، پلی‌پیتیدها و پلی (۲-اکسازولین)ها که به‌عنوان لیگاند برای نانو ذرات مورد استفاده قرار می‌گیرند، وجود دارد [188].

۱۴-۳-۳ واجذب/یونیزاسیون لیزری با ماتریس - طیف‌سنجی جرمی (MALDI-MS)

یک روش عمومی برای آنالیز ماکرومولکول‌ها با منشاء زیستی، MALDI-TOF-MS است، به‌طوری‌که اصول کلی آن شامل تبخیر سریع نمونه تثبیت شده در بافت جذب‌کننده UV و به‌دنبال آن آنالیز طیف جرمی زمان پرواز می‌باشد [189]. با استفاده از این روش پیشرفته [190][191]، پایداری تک‌لایه‌ها بر روی نقاط کوانتومی در سلول‌های زنده [192] و همچنین نانوذرات طلا [193] مورد بررسی قرار گرفته است. به‌طوری‌که پیشنهاد شده حضور بیوتیول‌های درون سلولی مانند گلوکوتایون یا سیستئین، تک‌لایه‌های روی این نانوذرات را تخریب می‌کند و بنابراین پایداری کلوتیدی و عملکرد آن‌ها را به‌شدت تغییر می‌دهد.

1- Cadmium chalcogenide nanocrystals
2- Corona
3- Tween

۴-۳-۱۴ طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه- بازتاب کلی تضعیف شده (ATR-FTIR)

به‌طور معمول برای ارزیابی لیگاندهای سطحی متصل به نانوذرات از ATR-FTIR، استفاده می‌شود [194][195][196]. این روش‌شناسی همچنین می‌تواند برای ارزیابی تغییرات و به‌همین ترتیب ماندگاری زیستی آن‌ها در شرایط برون‌تنی در شرایط مختلف زیستی و محیطی اجرا شود.

۵-۳-۱۴ کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنجی جرمی متوالی (LC-MS/MS)

یک روش آنالیز قدرتمند، روش LC-MS/MS، است که توانایی تفکیک کروماتوگرافی مایع را با شناسایی اختصاصی طیف‌سنجی جرمی ترکیب می‌کند، به‌طوری‌که ویژگی‌های مولکولی آنالیت‌ها مستقیماً به‌صورت جرم مولکولی و الگوهای شکست مولکولی در روش طیف‌سنجی جرمی شناسایی می‌شوند. طیف‌سنجی جرمی مستقیماً جرم را تعیین نمی‌کند، اما جرم یک مولکول را با اندازه‌گیری نسبت m/z یون آن، مشخص می‌کند. MS/MS، ترکیبی از دو آنالایزر جرمی است که در یکی از ابزارهای طیف‌سنج جرمی، ابتدا یون پیش‌رو فیلتر و سپس قطعه قطعه می‌شود و در دستگاه دوم یون‌های تولید شده از قطعه قطعه شدن و به‌طور معمول با استفاده از چهارقطبی سه‌گانه (QQQ) یا چهار قطبی زمان پرواز (QTOF)، فیلتر می‌شود. با استفاده از این روش، بررسی لیگاندهای مبتنی بر پروتئین در اطراف پلی‌استایرن سولفون^۱ و سیلیس [197] و همچنین نانوذرات طلا [198] امکان‌پذیر است.

۱۵ ارتباط با اسناد بین‌المللی مرتبط

۱-۱۵ مایع عرق شبیه‌سازی شده

- ASTM D2322: 2005, Standard test method for resistance of shoe upper leather to artificial perspiration
- ASTM D7019: 2005, Standard performance specification for brassiere, slip, lingerie and underwear fabrics
- ASTM D7020: 2005, Standard performance specification for woven blouse, dress, dress shirt sport shirt fabrics
- ASTM D7021: 2005, Standard performance specification for bathrobe, dressing gown, negligee, nightgown, and pajama fabrics
- ASTM D7268: 2006, Standard performance specification for seamless knit garments including intimates and swimwear
- ASTM D3730: 2010, Standard guide for testing high-performance interior architectural wall coatings
- ASTM F619: 2003, Standard practice for extraction of medical plastics
- AATCC Test Method 15: 2002, Colorfastness to perspiration
- AATCC Test Method 125: 2004, Colorfastness to perspiration and light

1- Sulfonated polystyrene

— استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۶: سال ۱۳۹۲ نساجی- آزمون‌های ثبات رنگ- ثبات رنگ در برابر عرق بدن، با استفاده از استاندارد ISO 105-E04: 2013 تدوین شده است.

— ISO 3160-2: 2015, Watch-cases and accessories- Gold alloy coverings- Part 2: Determination of fineness, thickness, corrosion resistance and adhesion

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۰۴۶-۲: سال ۱۳۹۳ قاب‌های ساعت طلا و لوازم جانبی- پوشش‌های آلیاژ طلا- قسمت ۲: تعیین عیار، ضخامت و مقاومت در برابر خوردگی و چسبندگی، با استفاده از استاندارد ISO 3160-2: 2003 تدوین شده است.

— استاندارد ملی ایران شماره ۲۰۱۳۲: سال ۱۳۹۴ لاستیک‌ها- مواد لاستیکی- مقاومت شیمیایی، با استفاده از استاندارد ISO/TR 7620: 2005 تدوین شده است.

— ISO 9022-12: 1994, Optics and optical instruments- Environmental test methods- Part 12: Contamination

— ISO 11640: 1993, Leather- Tests for colour fastness- Colour fastness to cycles of to-and-fro rubbing

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۸۳: سال ۱۳۹۴ چرم- ثبات رنگ چرم در برابر مالش رفت و برگشتی- روش آزمون، با استفاده از استاندارد ISO 11640: 2012 تدوین شده است.

— ISO 11641: 1993, Leather- Tests for colour fastness- Colour fastness to perspiration

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۸۲: سال ۱۳۹۲ چرم- آزمون‌های ثبات رنگ- ثبات رنگ در برابر عرق بدن، با استفاده از استاندارد ISO 11641: 2012 تدوین شده است.

— ISO 12870: 2004, Ophthalmic optics- Spectacle frames- Requirements and test methods

— ISO 17700: 2004, Footwear- Test methods for uppers, linings and insoles- Colour fastness to rubbing

استاندارد ملی ایران شماره ۹۶۲۱: سال ۱۳۸۶ پایپوش- مقاومت عرق بدن کفی، استر و کلیچه- روش آزمون، با استفاده از استاندارد ISO 22652: 2002 تدوین شده است.

— ISO/TS 24348: 2007, Ophthalmic optics- Spectacle frames- Method for the simulation of wear and detection of nickel release from metal and combination spectacle frames (This standard has been revised by ISO/TS 24348:2014)

— استاندارد ملی ایران شماره ۷۸۰: سال ۱۳۵۲ آزمون ثبات رنگ وسایل و اسباب‌بازی کودکان در مقابل بزاق دهان و عرق بدن، با استفاده از استاندارد DIN 53160: 1974 تدوین شده است.

— EN 1811: 2011+A1: 2015, Reference test method for release of nickel from all post assemblies which are inserted into pierced parts of the human body and articles intended to come into direct and prolonged contact with the skin

— EN 12801: 2000, Footwear- Test methods for insoles, lining and insoles. Perspiration resistance

— EN 13516: 2001, Footwear- Test methods for uppers, linings and insoles- Colour fastness to rubbing

- EN 16128: 2011, Reference test method for release of nickel from those parts of spectacle frames and sunglasses intended to come into close and prolonged contact with the skin
- Oeko-Tex® Standard 200, 3
- Oeko-Tex® Standard 200, 10

۲-۱۵ سبوم شبیه‌سازی شده

- استاندارد ملی ایران شماره ۹۹۴۵: سال ۱۳۸۶ پاک‌کننده‌ها- راهنمای اندازه‌گیری خواص ممانعت از نشست چرک پودرهای شوینده لباس، با استفاده از استاندارد ASTM D4008: 1995 تدوین شده است.
- ASTM D4265: 1998, Standard guide for evaluating stain removal performance in home laundering
- ASTM D5343: 2006, Standard guide for evaluating cleaning performance of ceramic tile cleaners
- یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۵۸۰۲: سال ۱۳۹۳ ارزیابی عملکرد پاک‌کنندگی پاک‌کننده‌های کاشی سرامیکی- آیین کار، با استفاده از استاندارد ASTM D5343: 2012 تدوین شده است.

۱۵-۳ مایعات ریوی شبیه‌سازی شده

در رابطه با مایعات ریوی شبیه‌سازی شده تا به حال استاندارد ملی و بین‌المللی تدوین نشده است.

۱۵-۴ مایعات سیستم گوارشی شبیه‌سازی شده

- ASTM D5517-03 A, Standard test method for determining extractability of metals from art materials
- BS EN 71-9: 2005+A1:2007, Safety of toys- Organic chemical compounds. Requirements
- BS EN 15517: 2008, Foodstuffs- Determination of trace elements. Determination of inorganic arsenic in seaweed by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) after acid extraction
- DIN 53160-1: 2010, Determination of the colourfastness of articles for common use- Part1: Test with artificial saliva
- BS EN 12868: 1999, Child use and care articles- Methods for determining the release of N- nitrosamines and N-nitrosatable substances from elastomer or rubber teats and soothers
- یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۰۳۳: سال ۱۳۹۷ لاستیک- روش اندازه‌گیری N-نیتروز آمین‌های آزاد شده و ترکیبات قابل تبدیل به آن‌ها از سر شیشه‌ها و پستانک‌های لاستیک یا الاستومری BS EN 12868:2017 تدوین شده است.

۱۶ ارزیابی آزمون اعتبار^۱ سنجی / سیستم‌های آزمون

سیستم‌های آزمون انحلال برون‌تنی بدون سلولی، به‌طور گسترده‌ای به مدت بیش از ۴۰ سال استفاده شده‌است. در طی آن زمان، چندین محقق، نتایج حاصل از سیستم‌های آزمون انحلال مختلف را با داده‌های درون‌تنی مقایسه کرده‌اند. با توجه به مقالات مرتبط با مطالعات بسیار پیرامون آزمون‌ها، داده‌های بسیار قابل‌توجهی برای ذرات و فیبرها با ابعاد میکرومتر وجود دارد. یکی از اولین مطالعات توسط کاناپیلی و همکارانش^۲ انجام شده‌است [60]؛ به‌طوریکه انحلال ذرات نشاندار رادیواکتیو را در سیستم‌های آزمون برون‌تنی بدون سلولی در مایع پوشش‌دهنده مسیر هوایی اپیتلیال مصنوعی ارزیابی کرده‌اند و نتایج حاصله را با مطالعات درون‌تنی با استفاده از سگ‌های بیگل^۳، مقایسه کرده‌اند. محققین تطابق خوبی را بین نتایج درون‌تنی و برون‌تنی برای اگزالات زیرکونیوم و ذرات رس متصل‌شده به استرانسیم-۹۰ (^{90}Sr) گزارش کرده‌اند. به‌عنوان مثال، با استفاده از ذرات رس متصل‌شده به ^{90}Sr ، ثابت‌های سرعت انحلال شیمیایی محاسبه‌شده برای سیستم‌های آزمون بدون سلولی، $3.1 \times 10^{-1} \text{ g/cm}^2/\text{d}$ (سیستم استاتیک) و $3.4 \times 10^{-1} \text{ g/cm}^2/\text{d}$ (سیستم جریان پیوسته) گزارش شده که در تطابق با مقدار $3.4 \times 10^{-1} \text{ g/cm}^2/\text{d}$ تعیین‌شده در شرایط درون‌تنی بود. در یکی دیگر از مطالعات ریه [199]، بین سرعت‌های انحلال تترافلورید اورانیم مشاهده شده در سیستم استاتیک با محلول گامبل حاوی یون سوپراکسید در مقایسه با داده‌های درون‌تنی حاصل از استنشاق توسط موش‌ها و انسان‌ها، تطابق خوبی گزارش شده‌است. در مطالعه‌ای مربوط به مواجهه‌های پوستی [200]، محققین انحلال کبالت را از دیسک‌های «فلزات سخت» کاربرد تنگستن با استفاده از محیط مایع عرق مصنوعی (pH ۶/۵) در داوطلبان حساس به تکه‌های کبالت آزمون‌شده با دیسک‌های مشابه ارزیابی کردند. تمام دیسک‌ها، کبالت را در محیط مایع عرق مصنوعی آزاد کردند و تمامی دیسک‌ها واکنش‌های مثبت پوستی را ایجاد کردند. محققین نتیجه گرفتند که غلظت کبالت آزادشده از دیسک‌ها در محیط عرق مصنوعی به اندازه کافی بالا است تا باعث بروز درماتیت تماس آلرژیک در بیماران حساس به کبالت شود.

در رابطه با مواد نانومقیاس، در یک سری از مطالعات مستقل با استفاده از ذرات اکسید بریلیم بسیار ریز (۲۰۰ nm) مشابه، ثابت‌های سرعت انحلال شیمیایی در سیستم آزمون انحلال استاتیک با PSF مصنوعی (pH ۴/۵) [67]، انحلال فاگولیزوزوم برون‌تنی توسط سلول‌های ماکروفاژ-مونوسیت موش صحرایی J774A.1 [201] و در شرایط درون‌تنی با استفاده از سگ‌های بیگل [202] تعیین شده‌است. ثابت سرعت انحلال شیمیایی محاسبه شده در PSF ($1.2 \times 10^{-1} \text{ g/cm}^2/\text{d}$) با ضریب دو از ثابت سرعت تعیین‌شده در شرایط برون‌تنی در رده سلولی J774A.1 ($2.3 \times 10^{-1} \text{ g/cm}^2/\text{d}$) بود و تطابق خوبی را با ثابت سرعت تعیین‌شده در شرایط درون‌تنی ($0.7 \times 10^{-1} \text{ g/cm}^2/\text{d}$) نشان داد. اخیراً [203]، جونگ و همکاران^۴، انحلال نانوذرات اکسید ایندیم و نانوذرات اکسید مس در مایع لیزوزومی مصنوعی (pH ۵/۵)، به مدت یک و ۲۸ روز و

1- Validity
2- Kanapilly *et al.*
3- Beagle dogs
4- Jeong *et al.*

اندازه‌گیری سمیت ذرات در شرایط درون‌تنی را با استفاده از موش‌های صحرایی طی یک مطالعه چند روزه تا ۲۸ روز بعد از مواجهه، مورد ارزیابی قرار داده‌اند. انحلال نانوذرات اکسید مس با بیش از ۹۷٪ حل شدن در روز اول و ۳٪ انحلال باقیمانده پس از روز اول، بسیار سریع بود. دنبال کردن داده‌های انحلال حاصله با داده‌های درون‌تنی نانوذرات اکسید مس، التهاب شدید نوتروفیلی را در روز اول نشان داد، اما علائم کاملاً در روز چهاردهم از بین رفت و هیچ آلوئولار پروتئینوزیس ریوی (PAP) در روز بیست و هشتم مشاهده نشد. بر خلاف این، انحلال نانوذرات اکسید ایندیم کندتر و پیش رونده با ۰/۶٪ ایندیم حل شده در مایع لیزوزومی مصنوعی در روز اول و ۵/۵٪ در روز بیست و هشتم بود. این داده‌های انحلال با نتایج مشاهده‌شده در شرایط درون‌تنی مغایرتی نداشت؛ به‌طوری‌که التهاب نوتروفیلی ضعیف پیش رونده‌ای از روز اول تا روز بیست و هشتم و PAP شدیدی را در روز بیست و هشتم نشان داد.

درحالی‌که مطالعات ذکر شده، سیستم‌های آزمون انحلال برون‌تنی بدون سلولی را به معنای دقیق اعتباردهی نمی‌کنند، آن‌ها پیشنهاد می‌کنند که این آزمون‌ها جایگاه اولیه‌ای برای تولید اطلاعات مرتبط زیستی هستند که به ارزیابی ریسک نانومواد کمک خواهد کرد.

همانطور که توسط میسرا و همکاران^۱ بیان شده است [29]، مسیر پیش‌رو برای اندازه‌گیری انحلال نانوذرات باید شامل موارد زیر باشد: (۱) تدوین دستورالعمل (های) استاندارد برای اندازه‌گیری انحلال نانوذراتی که به مشکلات فنی جداسازی نانوذرات از گونه‌های یونی می‌پردازد، (۲) درک بهتر از نقش پیچیده خواص فیزیکی و شیمیایی در انحلال و (۳) بررسی برهم‌کنش نانوذرات با محیط‌های مواجهه و تأثیر آن‌ها بر انحلال.

۱۷ ارتباط زیستی سنجش انحلال

گفته شده است که انحلال ممکن است برای برخی از نانومواد، در میان مراحل اساسی در تعیین سرنوشت، در محیط زیست و درون بدن باشد و انحلال در طول زمان می‌تواند به‌طور قابل توجهی باعث افزایش پاک‌سازی نانومواد شود [204]. مشاهدات شباهت‌های قابل انطباق ذرات با انحلال شیمیایی در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی پیشنهاد می‌کند که مستعد بودن آن‌ها برای انحلال در شرایط برون‌تنی ممکن است پیش‌بینی مفیدی برای ماندگاری زیستی آن‌ها در شرایط درون‌تنی باشد [99].

از نظریه‌های زیستی، شواهد نشان می‌دهد که ذرات فیبری بسیار محلول در مطالعات حیوانی، پتانسیل فیبروتیک و سرطان‌زایی ندارند. بنابراین، پیشنهاد شده که مطالعات انحلال برون‌تنی، یک جایگزین سریع و بیشتر کنترل‌شده‌ای را نسبت به آزمون مرسوم سمیت طولانی مدت در حیوانات ارائه می‌دهد و می‌تواند اطلاعات مفیدی را در صورت انجام آزمایش‌های همراه با مطالعات درون‌تنی (اگر شرایط مواجهه و عامل آزمون مشابه باشد) فراهم کند. اگرچه عدم اطمینانی در مورد فرآیندهای فیزیولوژیکی خاصی که در ریه رخ می‌دهد، وجود دارد، نتایج حاصل از سنجش‌های برون‌تنی می‌توانند برخی از دیدگاه‌های واکنش‌های شیمیایی که بر انحلال ذرات و فیبرها تأثیر می‌گذارند، ارائه دهند. به‌همین ترتیب، مطالعات انحلال برون‌تنی

1- Misra et al.

و درون‌تنی بر روی ذرات برای ارزیابی ماندگاری زیستی آن‌ها و به‌همین ترتیب به‌عنوان یک اقدام برای پیش‌بینی اثرات مزمن بالقوه آن‌ها کاربرد دارد [204].

۱۸ استفاده از آزمون‌های ماندگاری زیستی در ارزیابی ریسک و محدودیت‌های آن‌ها

تلفیقی از آزمون‌های مورد استفاده و روش‌شناسی‌هایی که در مطالعات منتشرشده برای تعیین انحلال و تجزیه زیستی نانومواد به‌عنوان شاخص‌های ماندگاری زیستی شرح داده شده‌اند، سهم مهمی را در نیاز به ارزیابی سریع مخاطره نانومواد دارند و توانایی سیستم‌های سنجش برون‌تنی را در شناسایی عوارض جانبی بالقوه نانومواد افزایش می‌دهند [29]. از مطالعات ذرات با مقیاس میکرومتر معلوم است که انحلال مواد، عاملی مهم در مدل‌سازی توکسیکوکینتیک یا فارماکوکینتیک مبتنی بر فیزیولوژی (PBPK)، برای تخمین دوز بافت هدف مرتبط با یک پاسخ نامطلوب می‌باشد. در مطالعات شروترو و همکاران^۱ [205][206] و تیلور و همکاران^۲ [207]، انحلال ذرات با مقیاس میکرومتر جزئی از کینتیک‌های پاک‌سازی و تخمین دوز برای تجمع منگنز در مغز بود؛ به‌طوریکه برای تفسیر داده‌ها از حیوان برای ارزیابی ریسک سلامتی سمیت عصبی انسان، حیاتی است. با توجه به ارزیابی ریسک نانومواد در انسان، انحلال و ماندگاری زیستی به‌عنوان اجزای مهم ارزیابی‌ها [208][209] شناخته می‌شوند و نقش مهمی را در توسعه محدودیت‌های مواجهه مواد مانند نانوذرات نقره (NIOSH، داده‌های منتشر نشده) و در تلاش‌ها برای ایمنی به‌واسطه طراحی (پیش‌گیری از طریق طراحی) ایفا می‌کنند [210]. ارزیابی‌های خطر اکولوژیکی (محیط غیرکاری انسان، حیوانات و محیط‌زیست) نانومواد نیز از داده‌های انحلال استفاده می‌کنند. در مطالعات نانومواد اکسید سربیم که به‌عنوان یک افزودنی سوخت استفاده می‌شود [211]، گزارش شده که انحلال سربیم خاکستر در آب نرم شبیه‌سازی‌شده، در مقایسه با شکل کاتالیست، صد برابر بیشتر است. سربیم آزادشده کمتر از مقدار انتظاری بود که ریسکی برای موجودات آبی باشد و پیش‌بینی شده که با خاک در محیط زیست واکنش می‌دهد که در نتیجه ریسک توکسیکولوژیکی را در موجودات خاک کاهش می‌دهد.

1- Schroeter *et al.*
2- Taylor *et al.*

پیوست الف

(آگاهی دهنده)

جدول های اطلاعات مرتبط

جدول الف-۱ ترکیب مایع خارج سلولی ربه شبیه سازی شده در مطالعات مختلف [59][158][212][213]

| غلظت (mg/L) | | | | جزء |
|---|--|--|------------|--|
| منبع [59] | منبع [158] | منبع [212] | منبع [213] | |
| ۲۱۲ | ۲۱۲ | ۲۱۲ | ۲۱۲ | MgCl ₂ .6H ₂ O |
| ۶۴۱۵ | ۶۴۰۰ | ۶۴۱۵ | ۶۴۱۵ | NaCl |
| ۳۱۸ (CaCl ₂ to 4H ₂ O) | ۲۵۵ | ۱۹۳ (CaCl ₂) | ۲۵۵ | CaCl ₂ .2H ₂ O |
| ۱۷۹ Na ₂ SO ₄ .10H ₂ O | ۱۷۹ Na ₂ SO ₄ .10H ₂ O | ۷۹ | ۷۹ | Na ₂ SO ₄ |
| ۱۴۸ | ۱۴۸ | ۳۵۸ Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O | ۱۴۸ | Na ₂ HPO ₄ |
| ۲۷۰۳ | ۲۷۰۰ | ۲۷۰۳ | ۲۷۰۳ | NaHCO ₃ |
| ۱۸۰ C ₄ H ₈ Na ₂ O ₈ (دی هیدرات) | ۱۸۰ C ₄ H ₈ Na ₂ O ₈ (دی هیدرات) | ۱۸۰ C ₄ H ₈ Na ₂ O ₈ (دی هیدرات) | ۱۹۹ | C ₄ H ₄ Na ₂ O ₆ (بدون آب) (سدیم تارتارات) |
| ۱۸۶ HOC(COONa)(CH ₂ COONa) ₂ .5H ₂ O تری سدیم سیترات پنتاهیدرات | ۱۵۳ | ۱۵۳ | ۱۸۰ | HOC(COONa)(CH ₂ COONa) ₂ .2H ₂ O تری سدیم سیترات دی هیدرات |
| ۱۷۵ | ۲۹۰ (۶۰٪ W/W) | ۱۷۵ | ۱۷۵ | C ₃ H ₅ NaO ₃ سدیم لاکتات |
| ۱۷۲ | ۱۷۲ | ۱۷۲ | ۱۷۲ | C ₃ H ₃ NaO ₃ سدیم پیروات |
| ۱۱۸ | ۱۱۸ | ۱۱۸ | ۱۱۸ | NH ₂ CHCOOH ₂ گلايسين |
| ۱ ml/l | | ۱ ml/l | | CH ₂ O (فرمالدئید) به منظور جلوگیری از رشد جلبک ها یا باکتری ها افزوده می شود |
| | ۴۴۵ | | | اوالبومین (در صورت استفاده) |

جدول الف-۲ ترکیبات مایع شبیه‌ساز فاگولیزوزوم (PSF)[67][69][168]

| غلظت (mg/L) | جزء |
|---------------------|--|
| منابع [67][69][168] | غلظت |
| ۱۴۲ | Na ₂ HPO ₄ (سدیم فسفات دی‌بازیک بدون آب) |
| ۶۶۵۰ | NaCl (سدیم کلرید) |
| ۷۱ | Na ₂ SO ₄ (سدیم سولفات بدون آب) |
| ۲۹ | CaCl ₂ .2H ₂ O (کلسیم کلرید دی‌هیدرات) |
| ۴۵۰ | NH ₂ CHCOOH ₂ (گلایسین) |
| ۴۰۸۴/۶ | C ₈ H ₅ O ₄ K (پتاسیم هیدروژن فتالات) |

جدول الف-۳ ترکیبات بزاق شبیه‌سازی شده (SS) [57]

| SS 5 (g/L) | SS 4 (g/L) | SS 3 (g/L) | SS 2 (g/L) | SS 1 (g/L) | ترکیب |
|------------|------------|--|---|---|--|
| | ۰/۱۴۹ | - | ۰/۷۲۰ | ۰/۷۲۰ | KCl (پتاسیم کلرید) |
| | - | ۰/۲۲۸ | ۰/۲۲۰ | ۰/۲۲۰ | CaCl ₂ .2H ₂ O (کلسیم کلرید دی‌هیدرات) |
| ۸/۰۰ | ۰/۱۱۷ | ۱/۰۱۷ | ۰/۶۰۰ | ۰/۶۰۰ | NaCl (سدیم کلرید) |
| ۰/۱۹ | - | - | ۰/۶۸۰ | ۰/۶۸۰ | KH ₂ PO ₄ (پتاسیم فسفات مونوبازیک) |
| ۲/۳۸ | - | ۰/۲۰۴ (Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O) | ۰/۸۶۶ (Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O) | ۰/۸۶۶ (Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O) | Na ₂ HPO ₄ (سدیم فسفات دی‌بازیک) |
| | - | - | ۱/۵۰۰ | ۱/۵۰۰ | KHCO ₃ (پتاسیم بیکربنات) |
| | - | - | ۰/۰۶۰ | ۰/۰۶۰ | KSCN (پتاسیم تیوسیانات) |
| | - | - | ۰/۰۳۰ | ۰/۰۳۰ | C ₆ H ₈ O ₇ (اسید سیتریک) |
| | - | ۰/۰۶۱ | - | - | MgCl ₂ .6H ₂ O (منیزیم کلرید هگزا‌هیدرات) |
| | - | ۰/۶۰۳ | - | - | K ₂ CO ₃ .2H ₂ O (پتاسیم کربنات همی‌هیدرات) |
| | - | ۰/۲۷۳ | - | - | NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O (سدیم فسفات مونوبازیک مونوهیدرات) |
| | ۲۱۰۰ | - | - | - | NaHCO ₃ (سدیم بیکربنات) |
| | - | ۱۰۰۰ | - | - | موسین تحت فکی |
| | ۲۰۰۰ | ۲۰۰۰ | - | - | آلفا-آمیلاز |
| | ۱۰۰۰ | - | - | - | موسین معده |
| ۶/۸ | - | - | ۷/۴ | ۶/۵ | pH |

جدول الف-۴ ترکیبات مایعات سیستم گوارشی شبیه‌سازی شده [70]

| غلظت (g/L) مایع روده | غلظت (g/L) شیرۀ معده | جزء |
|----------------------|-------------------------|--|
| | ۰٫۰۵ M (۲٫۹۲۲ g/L) | NaCl (سدیم کلرید) |
| ۰٫۰۰۴ M (۰٫۲۹۸ g/L) | ۰٫۰۹۴ M (۷٫۰۰۷۸۲۲۲ g/L) | KCl (پتاسیم کلرید) |
| | ۰٫۰۰۱۴ M (۰٫۲۴۳۸۸ g/L) | K ₂ HPO ₄ (پتاسیم هیدروژن فسفات) |
| ۰٫۰۰۴۵ M (۰٫۴۹۹ g/L) | ۰٫۲۲۰ | CaCl ₂ (کلسیم کلرید) |
| ۰٫۰۰۲ M (۰٫۱۹۰ g/L) | ۰٫۶۰۰ | MgCl ₂ (منیزیم کلرید) |
| ۰٫۰۰۵ M (۰٫۳۰۰ g/L) | ۰٫۶۸۰ | NH ₂ CONH ₂ (اوره) |
| | ۱ mg/ml | پپسین |
| - | ۳ mg/ml | موسین |
| ۹ mg/ml | | نمک‌های صفراوی |
| ۹ mg/ml | | پانکراتین |
| ۰٫۰۰۰۲۲ M | ۰٫۰۰۰۲۲ M | O ₂ (اکسیژن) |
| + ۰٫۶۹ V | + ۱٫۰۲ V | E _H (پتانسیل الکتروود هیدروژن) |
| منابع [5] و [7] | منبع [2] | pH |

جدول الف-۵ ترکیبات مایع عرق شبیه‌سازی شده (SSW) [57]

| SSW(240) ^a | SSW(120) ^a | SSW(60) ^a | SSW(3) ^a | نمک |
|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|--|
| ۵٫۴۹ | ۵٫۴۹ | ۵٫۴۹ | ۲٫۹۲ | NaCl (سدیم کلرید) |
| ۱۳٫۲۸ | ۶٫۶۴ | ۳٫۳۲ | ۰٫۱۶۶ | CaCl ₂ (کلسیم کلرید) |
| ۰٫۲۴ | ۰٫۲۴ | ۰٫۲۴ | ۰٫۱۲ | MgSO ₄ (منیزیم سولفات) |
| ۱٫۳۶ | ۱٫۳۶ | ۱٫۳۶ | ۱٫۰۲ | KH ₂ PO ₄ (پتاسیم فسفات مونوبازیک) |
| ۴٫۵ | ۴٫۵ | ۴٫۵ | ۵٫۴ | pH |

^a اعداد در پرانتز، میلی اکی والان‌های یون‌های کلسیم را نشان می‌دهد.

جدول الف-۶ ترکیبات آب شیرین شبیه‌سازی شده: تهیه آب شیرین مصنوعی با استفاده از واکنشگرهایی با درجه مواد شیمیایی [51][214]^a

| کیفیت آب نهایی تقریبی | | | واکنشگر افزوده شده (mg/L) ^b | | | | نوع آب |
|-----------------------|-------------------|-----------------|--|-------------------|--------------------------------------|--------------------|------------|
| قلیایی ^d | سختی ^d | pH ^c | KCl | MgSO ₄ | CaSO ₄ ·2H ₂ O | NaHCO ₃ | |
| ۱۰ تا ۱۳ | ۱۰ تا ۱۳ | ۶٫۴ تا ۶٫۸ | ۰٫۵ | ۷٫۵ | ۷٫۵ | ۱۲٫۰ | بسیار نرم |
| ۳۰ تا ۳۵ | ۴۰ تا ۴۸ | ۷٫۲ تا ۷٫۶ | ۲٫۰ | ۳۰٫۰ | ۳۰٫۰ | ۴۸٫۰ | نرم |
| ۶۰ تا ۷۰ | ۸۰ تا ۱۰۰ | ۷٫۴ تا ۷٫۸ | ۴٫۰ | ۶۰٫۰ | ۶۰٫۰ | ۹۶٫۰ | نسبتاً سخت |
| ۱۱۰ تا ۱۲۰ | ۱۶۰ تا ۱۸۰ | ۷٫۶ تا ۸٫۰ | ۸٫۰ | ۱۲۰٫۰ | ۱۲۰٫۰ | ۱۹۲٫۰ | سخت |
| ۲۲۵ تا ۲۴۵ | ۲۸۰ تا ۳۲۰ | ۸٫۰ تا ۸٫۴ | ۱۶٫۰ | ۲۴۰٫۰ | ۲۴۰٫۰ | ۳۸۴٫۰ | بسیار سخت |

^a برگرفته از بخشی از مطالعات مارکینگ و داوسون¹ (۱۹۷۳)[213].

^b واکنشگرها با درجه مواد شیمیایی را به آب دیونیزه اضافه کنید.

^c pH متعادل تقریبی پس از ۲۴ ساعت هوادهی.

^d به صورت mg CaCO₃/L بیان شده.

جدول الف-۷ ترکیبات آب شور شبیه‌سازی شده GP2^a [51][96]

| مقدار (g) لازم برای ۲۰ L | غلظت (g/L) | ترکیب |
|--------------------------|------------|---|
| ۴۲۰٫۶ | ۲۱٫۰۳ | NaCl (سدیم کلرید) |
| ۷۰٫۴ | ۳٫۵۲ | Na ₂ SO ₄ (سدیم سولفات، بدون آب) |
| ۱۲٫۲ | ۰٫۶۱ | KCl (پتاسیم کلرید) |
| ۱٫۷۶ | ۰٫۰۸۸ | KBr (پتاسیم برمید) |
| ۰٫۶۸ | ۰٫۰۳۴ | Na ₂ B ₄ O ₇ ·10 H ₂ O (بوراکس) |
| ۱۹۰٫۰ | ۹٫۵۰ | MgCl ₂ ·6H ₂ O (منیزیم کلرید هگزا هیدرات) |
| ۲۶٫۴ | ۱٫۳۲ | CaCl ₂ ·2H ₂ O (کلسیم کلرید دی هیدرات) |
| ۰٫۴۰۰ | ۰٫۰۲ | SrCl ₂ ·6H ₂ O (استرانسیم کلرید هگزا هیدرات) |
| ۳٫۴۰ | ۰٫۱۷ | NaHCO ₃ (سدیم بیکربنات) |

^a GP به معنای عمومی است.

جدول الف-۸ ترکیب آب ساحلی شبیه‌سازی شده [216]

| غلظت (µg/L) | عنصر |
|-------------|-------------|
| ۰٫۱۳۹ | Cr (کرومیم) |
| ۱۳٫۱ | Mn (منگنز) |
| ۲٫۰۸ | Fe (آهن) |
| ۰٫۰۴۶ | Co (کوبالت) |
| ۰٫۷۴۳ | Ni (نیکل) |
| ۱٫۷۶ | Cu (مس) |
| ۰٫۸۶ | Zn (روی) |
| ۰٫۷۶۵ | As (آرسنیک) |
| ۰٫۰۱۸ | Cd (کادمیم) |
| ۰٫۰۲۸ | Pb (جیوه) |

کتابنامه

- [1] Oberdorster G.F.J. Correlation between particle size, *in vivo* particle persistence, and lung injury. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** pp. 173–179.
- [2] Lippmann M., Yeates D.B., Albert R.E. Deposition, retention, and clearance of inhaled particles. *Br. J. Ind. Med.* 1980, **37** pp. 337–362.
- [3] Brown DM, Kinloch JA, Bangert U, Windle AHM. WD, Walker GS, Scotchford CA., Donaldson K & Stone V. An *in vitro* study of the potential of carbon nanotubes and nanofibers to induce inflammatory mediators and frustrated phagocytosis. *Carbon.* 2007, **45** pp. 1743–1756.
- [4] Geiser M., Casaulta M., Kupferschmid B., Schulz H., Semmler-Behnke M., Kreyling W. The role of macrophages in the clearance of inhaled ultrafine titanium dioxide particles. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008, **38** pp. 371–376.
- [5] Canada (2000) Canadian Environmental Protection Act, 1999: Persistence and Bioaccumulation Regulations, P.C. 2000-348, 23 March, 2000, SOR/2000-107, Canada.
- [6] Canada (2013) Environment Health Canada Screening Assessment for the Challenge CAS RN 14808-60-7, 14464-46-1 In *Toxicol Lett.*
- [7] Chappell M.A., George A.J., Dontsova K.M., Porter B.E., Price C.L., Zhou P. Surfactive stabilization of multi-walled carbon nanotube dispersions with dissolved humic substances. *Environ. Pollut.* 2009, **157** pp. 1081–1087.
- [8] Pan J.F., Buffet P.E., Poirier L., Amiard-Triquet C., Gilliland D., Joubert Y. Size dependent bioaccumulation and ecotoxicity of gold nanoparticles in an endobenthic invertebrate: the Tellinid clam *Scrobicularia plana*. *Environ. Pollut.* 2012, **168** pp. 37–43.
- [9] Buffet P.E., Amiard-Triquet C., Dybowska A., Risso-de Faverney C., Guibbolini M., Valsami-Jones E. Fate of isotopically labeled zinc oxide nanoparticles in sediment and effects on two endobenthic species, the clam *Scrobicularia plana* and the ragworm *Hediste diversicolor*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012, **84** pp. 191–198.
- [10] Croteau M.N., Misra S.K., Luoma S.N., Valsami-Jones E. Bioaccumulation and toxicity of CuO nanoparticles by a freshwater invertebrate after waterborne and dietborne exposures. *Environ. Sci. Technol.* 2014, **48** pp. 10929–10937.
- [11] Ramskov T., Selck H., Banta G., Misra S.K., Berhanu D., Valsami-Jones E. Bioaccumulation and effects of different-shaped copper oxide nanoparticles in the deposit-feeding snail *Potamopyrgus antipodarum*. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014, **33** pp. 1976–1987.
- [12] Zhu X.S., Chang Y., Chen Y.S. Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere.* 2010, **78** pp. 209–215.
- [13] Garcia-Alonso J., Rodriguez-Sanchez N., Misra S.K., Valsami-Jones E., Croteau M.N., Luoma S.N. Toxicity and accumulation of silver nanoparticles during development of the marine polychaete *Platynereis dumerilii*. *Sci. Total Environ.* 2014, **476-477** pp. 688–695.
- [14] Davis J.M. The role of clearance and dissolution in determining the durability or biopersistence of mineral fibers. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** (Suppl 5) pp. 113–117.

- [15] Maxim L.D., Hadley J.G., Potter R.M., Niebo R. The role of fiber durability/biopersistence of silica-based synthetic vitreous fibers and their influence on toxicology. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2006, **46** pp. 42–62.
- [16] Mattson S.M. Glass fiber dissolution in simulated lung fluid and measures needed to improve consistency and correspondence to *in vivo* dissolution. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** pp. 87–90.
- [17] Potter R.M. Method for determination of *in-vitro* fiber dissolution rate by direct optical measurement of diameter decrease. *Glastechnische Berichte Glass Science and Technology.* 2000, **73** pp. 46–55.
- [18] Sebastian K, Fellman J, Potter R, Bauer J, Searl A, de Meringo A, Maquin B, de Reydellet A, Jubb G, Moore M, Preininger R, Zoitos BP.B, Steenberg T, Madsen AL & Guldborg M. EURIMA test guideline: *In vitro* acellular dissolution of man-made vitreous silicate fibres. *Glass Science Technology.* 2002, **75** pp. 263–270.
- [19] Holmes A., & Morgan A. Leaching of constituents of chrysotile asbestos *in vivo*. *Nature.* 1967, **215** pp. 441–442.
- [20] Langer A.M., Rubin I.B., Selikoff I.J., Pooley F.D. Chemical characterization of uncoated asbestos fibers from the lungs of asbestos workers by electron microprobe analysis. *J. Histochem. Cytochem.* 1972, **20** pp. 735–740.
- [21] Jaurand M.C., Bignon J., Sebastien P., Goni J. Leaching of chrysotile asbestos in human lungs. Correlation with *in vitro* studies using rabbit alveolar macrophages. *Environ. Res.* 1977, **14** pp. 245–254.
- [22] Morgan A., Holmes A., Davison W. Clearance of sized glass fibres from the rat lung and their solubility *in vivo*. *Ann. Occup. Hyg.* 1982, **25** pp. 317–331.
- [23] Bernstein D., Castranova V., Donaldson K., Fubini B., Hadley J., Hesterberg T. Testing of fibrous particles: short-term assays and strategies. *Inhal. Toxicol.* 2005, **17** pp. 497–537.
- [24] Jaurand M.C., Gaudichet A., Halpern S., Bignon J. *In vitro* biodegradation of chrysotile fibres by alveolar macrophages and mesothelial cells in culture: comparison with a pH effect. *Br. J. Ind. Med.* 1984, **41** pp. 389–395.
- [25] Jaurand M.C. *In vitro* assessment of biopersistence using mammalian cell systems. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** pp. 55–59.
- [26] Johnson N.F. Phagosomal pH and glass fiber dissolution in cultured nasal epithelial cells and alveolar macrophages: a preliminary study. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** pp. 97–102.
- [27] Nguea H.D., de Reydellet A., Le Faou A., Zaiou M., Rihn B. Macrophage culture as a suitable paradigm for evaluation of synthetic vitreous fibers. *Crit. Rev. Toxicol.* 2008, **38** pp. 675–695.
- [28] Malkiewicz K, Pettitt M, Dawson KA, Toikka A, Hansson SO, Hukkinen J, Lynch I, Lead JR (2011) Nanomaterials in REACH- evaluation of applicability of existing procedures for chemical safety assessment to nanomaterials. 15 August.
- [29] Misra S.K., Dybowska A., Berhanu D., Luoma S.N., Valsami-Jones E. The complexity of nanoparticle dissolution and its importance in nanotoxicological studies. *Sci. Total Environ.* 2012, **438** pp. 225–232.

- [30] Franklin N.M., Rogers N.J., Apte S.C., Batley G.E., Gadd G.E., Casey P.S. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 2007, **41** pp. 8484–8490.
- [31] Allen B.L., Kichambare P.D., Gou P., Vlasova I.I., Kapralov A.A., Konduru N. Biodegradation of single-walled carbon nanotubes through enzymatic catalysis. *Nano Lett.* 2008, **8** pp. 3899–3903.
- [32] Oberdrster G., Oberdrster E., Oberdrster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ. Health Perspect.* 2005, **113** pp. 823–839.
- [33] Zhu M.T., Feng W.Y., Wang Y., Wang B., Wang M., Ouyang H. Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment. *Toxicol. Sci.* 2009, **107** pp. 342–351.
- [34] Geiser M. Update on macrophage clearance of inhaled micro- and nanoparticles. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 2010, **23** pp. 207–217.
- [35] He X., Zhang H., Ma Y., Bai W., Zhang Z., Lu K. Lung deposition and extra pulmonary translocation of nano-ceria after intratracheal instillation. *Nanotechnology.* 2010, **21** p. 285103.
- [36] Petros R.A., & DeSimone J.M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2010, **9** pp. 615–627.
- [37] Ates M., Demir V., Adiguzel R., Arslan Z. Bioaccumulation, Sub-acute Toxicity, and Tissue Distribution of Engineered Titanium Dioxide (TiO) Nanoparticles in Goldfish. *J. Nanomater.* 2013, p. 2013.
- [38] Brunner T.J., Wick P., Manser P., Spohn P., Grass R.N., Limbach L.K. *In vitro* cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 2006, **40** pp. 4374–4381.
- [39] Oberdrster G. Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal. Toxicol.* 2002, **14** pp. 29–56.
- [40] NIOSH. *Current Intelligence Bulletin 62: Asbestos fibres and other elongate mineral particles: State of the science and roadmap for research.* Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention National Institute for Occupational Safety and Health, 2011.
- [41] Light W.G., & Wei E.T. (1977a) Surface charge and asbestos toxicity. *Nature* **265**, pp. 537-539.
- [42] Light W.G., & Wei E.T. (1977b) Surface charge and asbestos toxicity. *Environ Re* **13**, pp. 135-145.
- [43] Vallyathan V., Hanon N., Booth J., Schwegler D., Sepulveda M. 1985) Cytotoxicity of native and surface-modified asbestos. In: Beck EG, Bignon J, eds. *In vitro* effects of mineral dusts. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag. NATO ASI Series, Vol. G3, pp. 159–165.
- [44] Monopoli M.P., Pitek A.S., Lynch I., Dawson K.A. Formation and characterization of the nanoparticle-protein corona. *Methods Mol. Biol.* 2013, **1025** pp. 137–155.

- [45] Sadauskas E., Danscher G., Stoltenberg M., Vogel U., Larsen A., Wallin H. Protracted elimination of gold nanoparticles from mouse liver. *Nanomedicine (Lond.)*. 2009, **5** pp. 162–169.
- [46] Liu J., & Hurt R.H. Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids. *Environ. Sci. Technol.* 2010, **44** pp. 2169–2175.
- [47] Aldana J., Lavelle N., Wang Y., Peng X. Size-dependent dissociation pH of thiolate ligands from cadmium chalcogenide nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127** pp. 2496–2504.
- [48] King-Heiden T.C., Wiecinski P.N., Mangham A.N., Metz K.M., Nesbit D., Pedersen J.A. Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo. *Environ. Sci. Technol.* 2009, **43** pp. 1605–1611.
- [49] Wiecinski P.N. 2012) Toxicity of intact and weathered nanomaterials to zebrafish. A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy (Molecular and Environmental Toxicology) at the University of Wisconsin-Madison.
- [50] Jurinski J.B. 1998) Geochemical Investigations of respirable particulate matter. Dissertation submitted to the in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Geological Sciences. June 10., Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University.
- [51] EPA (2002) 821/R-02-012: Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms.
- [52] Chinnapongse S.L., MacCuspie R.I., Hackley V.A. Persistence of singly dispersed silver nanoparticles in natural freshwaters, synthetic seawater, and simulated estuarine waters. *Sci. Total Environ.* 2011, **409** pp. 2443–2450.
- [53] Christensen V.R., Jensen S.L., Guldberg M., Kamstrup O. Effect of chemical composition of man-made vitreous fibers on the rate of dissolution *in vitro* at different pHs. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** pp. 83–86.
- [54] Gamble J.L. *Chemical Anatomy, Physiology and Pathology of Extracellular Fluid*. Harvard University Press, Cambridge, MA, 1967.
- [55] Moss O.R. Simulants of lung interstitial fluid. *Health Phys.* 1979, **36** pp. 447–448.
- [56] Dennis N.A., Blauer H.M., Kent J.E. Dissolution fractions and half-times of single source yellowcake in simulated lung fluids. *Health Phys.* 1982, **42** pp. 469–477.
- [57] Marques M.R.C., Loebenberg R., Almukainzi M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. *Dissolut. Technol.* 2011, (August) pp. 15–28.
- [58] Kagan V.E., Kapralov A.A., St Croix C.M., Watkins S.C., Kisin E.R., Kotchey G.P. Lung macrophages “digest” carbon nanotubes using a superoxide/peroxynitrite oxidative pathway. *ACS Nano*. 2014, **8** pp. 5610–5621.
- [59] Scholze H., & Conradt R. An *in vitro* study of the chemical durability of siliceous fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 1987, **31** pp. 683–692.
- [60] Kanapilly G.M., Raabe O.G., Goh C.H., Chimenti R.A. Measurement of *in vitro* dissolution of aerosol particles for comparison to *in vivo* dissolution in the lower respiratory tract after inhalation. *Health Phys.* 1973, **24** pp. 497–507.

- [61] Ansoborlo E., Henge-Napoli M.H., Chazel V., Gibert R., Guilmette R.A. Review and critical analysis of available *in vitro* dissolution tests. *Health Phys.* 1999, **77** pp. 638–645.
- [62] Nyberg K., Johansson A., Camner P. Intraphagosomal pH in alveolar macrophages studied with fluorescein-labeled amorphous silica particles. *Exp. Lung Res.* 1989a, **15** pp. 49–62.
- [63] Nyberg K., Johansson U., Rundquist I., Camner P. Estimation of pH in individual alveolar macrophage phagolysosomes. *Exp. Lung Res.* 1989b, **15** pp. 499–510.
- [64] Kreyling W.G. Intracellular particle dissolution in alveolar macrophages. *Environ. Health Perspect.* 1992, **97** pp. 121–126.
- [65] Nyberg K., Johansson U., Johansson A., Camner P. Phagolysosomal pH in alveolar macrophages. *Environ. Health Perspect.* 1992, **97** pp. 149–152.
- [66] Lundborg M., Johard U., Johansson A., Eklund A., Falk R., Kreyling W. Phagolysosomal morphology and dissolution of cobalt oxide particles by human and rabbit alveolar macrophages. *Exp. Lung Res.* 1995, **21** pp. 51–66.
- [67] Stefaniak A.B., Guilmette R.A., Day G.A., Hoover M.D., Breyse P.N., Scripsick R.C. Characterization of phagolysosomal simulant fluid for study of beryllium aerosol particle dissolution. *Toxicol. In Vitro.* 2005, **19** pp. 123–134.
- [68] Stefaniak A.B. Persistence of tungsten oxide particle/fiber mixtures in artificial human lung fluids. *Part. Fibre Toxicol.* 2010, **7** p. 38.
- [69] Russier J., Menard-Moyon C., Venturelli E., Gravel E., Marcolongo G., Meneghetti M. Oxidative biodegradation of single- and multi-walled carbon nanotubes. *Nanoscale.* 2011, **3** pp. 893–896.
- [70] Wicinski P.N., Metz K.M., Mangham A.N., Jacobson K.H., Hamers R.J., Pedersen J.A. Gastrointestinal biodurability of engineered nanomaterials: Development of *in vitro* assay. *Nanotoxicology.* 2009, **3** pp. 202–214.
- [71] Kalantzi L., Goumas K., Kalioras V., Abrahamsson B., Dressman J.B., Reppas C. Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharm. Res.* 2006, **23** pp. 165–176.
- [72] Hetrick E.M., Shin J.H., Paul H.S., Schoenfisch M.H. Anti-biofilm efficacy of nitric oxidereleasing silica nanoparticles. *Biomaterials.* 2009, **30** pp. 2782–2789.
- [73] Smith G., Smith A.J., Shaw L., Shaw M.J. Artificial saliva substitutes and mineral dissolution. *J.Oral Rehabil.* 2001, **28** pp. 728–731.
- [74] Duff G.S., & Castillo E.Q. Development of an Artificial Saliva Solution for Studying the Corrosion Behavior of Dental Alloys. *Corrosion.* 2004, **60** pp. 594–602.
- [75] Gohel M.C., Parikh R.K., Aghara P.Y., Nagori S.A., Delvadia R.R., Dabhi M.R. Application of simplex lattice design and desirability function for the formulation development of mouth dissolving film of salbutamol sulphate. *Curr. Drug Deliv.* 2009, **6** pp. 486–494.
- [76] Kartal A., Marvola J., Matheka J., Peltoniemi M., Siven M. Computational prediction of local drug effect on carcinogenic acetaldehyde in the mouth based on *in vitro/in vivo* results of freely soluble L-cysteine. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2010, **36** pp. 715–723.
- [77] Abzhanova D., Godymchuk A.Y., Gusev A.A., Kuznetsov D.V. Solubility of nickel nanoparticles in simulated body fluids. *Adv. Mat. Res.* 2014, **880** pp. 248–252.

- [78] Minekus M, Smeets-Peeters M, Bernalier A, Marol-Bonnin S, Havenaar R, Marteau P, Alric M, Fonty G Huis in't Veld JH. A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1999, **53** pp. 108–114.
- [79] Stefaniak A.B., Virji M.A., Harvey C.J., Sbarra D.C., Day G.A., Hoover M.D. Influence of artificial gastric juice composition on bioaccessibility of cobalt- and tungsten-containing powders. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2010b, **213** pp. 107–115.
- [80] Rogers K.R., Bradham K., Tolaymat T., Thomas D.J., Hartmann T., Ma L. Alterations in physical state of silver nanoparticles exposed to synthetic human stomach fluid. *Sci. Total Environ.* 2012, **420** pp. 334–339.
- [81] Mwilu S.K., El Badawy A.M., Bradham K., Nelson C., Thomas D., Scheckel K.G. Changes in silver nanoparticles exposed to human synthetic stomach fluid: effects of particle size and surface chemistry. *Sci. Total Environ.* 2013, **447** pp. 90–98.
- [82] Pal T., Sau T.K., Jana N.R. Reversible Formation and Dissolution of Silver Nanoparticles in Aqueous Surfactant Media. *Langmuir.* 1997, **13** pp. 1481–1485.
- [83] Maurer E.I., Sharma M., Schlager J.J., Hussain S.M. Systematic analysis of silver nanoparticle ionic dissolution by tangential flow filtration: toxicological implications. *Nanotoxicology.* 2014, **8** pp. 718–727.
- [84] Wang L., Nagesha D.K., Selvarasah S., Dokmeci M.R., Carrier R.L. Toxicity of CdSe Nanoparticles in Caco-2 Cell Cultures. *J. Nanobiotechnology.* 2008, **6** p. 11.
- [85] Blanquet S., Zeijdner E., Beyssac E., Meunier J.P., Denis S., Havenaar R. A dynamic artificial gastrointestinal system for studying the behavior of orally administered drug dosage forms under various physiological conditions. *Pharm. Res.* 2004, **21** pp. 585–591.
- [86] Agache P. In: *Measuring the Skin: Non-Invasive Investigations, Physiology, Normal Constants.* (Agache P., & Humbert P. eds.). Springer-Verlag, Germany, 2004, pp. 21–31.
- [87] Pedersen N.B., Fregert S., Brodelius P., Gruvberger B. Release of nickel from silver coins. *Acta Derm. Venereol.* 1974, **54** pp. 231–234.
- [88] Harvey C.J., LeBouf R.F., Stefaniak A.B. Formulation and stability of a novel artificial human sweat under conditions of storage and use. *Toxicol. In Vitro.* 2010, **24** pp. 1790–1796.
- [89] Sartorelli P., Cenni A., Matteucci G., Montomoli L., Novelli M.T., Palmi S. Dermal exposure assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons: *in vitro* percutaneous penetration from lubricating oil. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 1999, **72** pp. 528–532.
- [90] Motwani M.R., Rhein L.D., Zatz J.L. Differential scanning calorimetry studies of sebum models. *J. Cosmet. Sci.* 2001, **52** pp. 211–224.
- [91] Wertz P.W. Human synthetic sebum formulation and stability under conditions of use and storage. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2009, **31** pp. 21–25.
- [92] Stefaniak A.B., Harvey C.J., Virji M.A., Day G.A. Dissolution of cemented carbide powders in artificial sweat: implications for cobalt sensitization and contact dermatitis. *J. Environ. Monit.* 2010a, **12** pp. 1815–1822.

- [93] Stefaniak A.B. Dissolution of Materials in Contact with Skin Film Liquids. In: *Handbook of Cosmetic Sciences and Technology*, (Barel A.O., Paye M., Maibach H.I. eds.). CRC Press, Abingdon, UK, Fourth Edition, 2014, pp. 189–224.
- [94] Piccapietra F., Sigg L., Behra R. Colloidal stability of carbonate-coated silver nanoparticles in synthetic and natural freshwater. *Environ. Sci. Technol.* 2012, **46** pp. 818–825.
- [95] Smith E.J., Davison W., Hamilton-Taylor J. Methods for preparing synthetic freshwaters. *Water Res.* 2002, **36** pp. 1286–1296.
- [96] Spotte S., Adams G., Bubucis P.M. GP2 medium is an artificial seawater for culture or maintenance of marine organisms. *Zoo Biol.* 1984, **3** pp. 229–240.
- [97] Gelabert A, Sivry Y, Ferrari R, Akrouf A, Cordier L, Nowak S, Menguy NF.BM. Uncoated and coated ZnO nanoparticle life cycle in synthetic seawater. *Environ. Toxicol. Chem.* 2014, **33** pp. 341–349.
- [98] Utembe W., Potgieter K., Stefaniak A.B., Gulumian M. Dissolution and biodurability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials. *Part. Fibre Toxicol.* 2015, **12** p. 11.
- [99] Searl A., & Buchanan D. (2000) Measurement of the durability of manmade vitreous fibres. Historical Research Report TM/00/03, IOM.
- [100] Li X., Lenhart J.J., Walker H.W. Aggregation kinetics and dissolution of coated silver nanoparticles. *Langmuir.* 2012, **28** pp. 1095–1104.
- [101] Mudunkotuwa I.A., Rupasinghe T., Wu C.M., Grassian V.H. Dissolution of ZnO nanoparticles at circumneutral pH: a study of size effects in the presence and absence of citric acid. *Langmuir.* 2012, **28** pp. 396–403.
- [102] Sebastien K., de Meringo A., Rouyer E., Christensen V.R., Guldberg M., Mattson S.M. 1994) *In vitro* acellular tests. Summary report of the second workshop of the International Cooperative Research Programme on Assessment of MMMFs Toxicity. Paris.
- [103] Klingholz R., & Steinkopf B. 1984) *The reactions of MMMF in physiological model fluid and in water*. In: Proceedings of Biological Effects of Man-made Mineral Fibres, Vol 2. Proceedings of a WHO/IARC conference held 20-22 April 1982, in Copenhagen. Copenhagen: World Health Organization, pp. 60-86.
- [104] Leineweber J.P. Solubility of fibres *in vitro* and *in vivo*. In: *Biological Effects of Manmade Mineral Fibres*. World Health Organization, Copenhagen, **Vol. 2**, 1984, pp. 87–101.
- [105] Searl A., Buchanan D., Cullen R.T., Jones A.D., Miller B.G., Soutar C.A. Biopersistence and durability of nine mineral fibre types in rat lungs over 12 months. *Ann. Occup. Hyg.* 1999, **43** pp. 143–153.
- [106] Haase A., Arlinghaus H.F., Tentschert J., Jungnickel H., Graf P., Mantion A. Application of laser postionization secondary neutral mass spectrometry/time-of-flight secondary ion mass spectrometry in nanotoxicology: visualization of nanosilver in human macrophages and cellular responses. *ACS Nano.* 2011, **5** pp. 3059–3068.
- [107] Hagedorfer H., Kaegi R., Traber J., Mertens S.F., Scherrers R., Ludwig C. Application of an asymmetric flow field flow fractionation multi-detector approach for metallic engineered nanoparticle characterization—prospects and limitations demonstrated on Au nanoparticles. *Anal. Chim. Acta.* 2011, **706** pp. 367–378.

- [108] Romer I., White T.A., Baalousha M., Chipman K., Viant M.R., Lead J.R. Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests. *J. Chromatogr. A*. 2011, **1218** pp. 4226–4233.
- [109] Wei G.-T., Liu F.-K., Wang C.R.C. Shape Separation of Nanometer Gold Particles by Size Exclusion Chromatography. *Anal. Chem.* 1999, **71** pp. 2085–2091.
- [110] Mayo J.T., Lee S.S., Yavuz C.T., Yu W.W., Prakash A., Falkner J.C. A multiplexed separation of iron oxide nanocrystals using variable magnetic fields. *Nanoscale*. 2011, **3** pp. 4560–4563.
- [111] Messaud F.A., Sanderson R.D., Runyon J.R., Williams S.K.R., Otte T., Pasch H. An overview on field-flow fractionation techniques and their applications in the separation and characterization of polymers. *Prog. Polym. Sci.* 2009, **34** pp. 351–368.
- [112] Lenshof A., & Laurell T. Continuous separation of cells and particles in microfluidic systems. *Chem. Soc. Rev.* 2010, **39** pp. 203–1217.
- [113] Engel A., Ploger M., Mulac D., Langer K. Asymmetric flow field-flow fractionation (AF4) for the quantification of nanoparticle release from tablets during dissolution testing. *Int. J. Pharm.* 2014, **461** pp. 137–144.
- [114] Geiss O., Cascio C., Gilliland D., Franchini F., Barrero-Moreno J. Size and mass determination of silver nanoparticles in an aqueous matrix using asymmetric flow field flow fractionation coupled to inductively coupled plasma-mass spectrometer and ultraviolet-visible detectors. *J. Chromatogr. A*. 2013, **1321** pp. 100–108.
- [115] Krueger K.M., Al-Somali A.M., Falkner J.C., Colvin V.L. Characterization of nanocrystalline CdSe by size exclusion chromatography. *Anal. Chem.* 2005, **77** pp. 3511–3515.
- [116] Chekli L., Phuntsho S., Roy M., Shon H.K. Characterisation of Fe-oxide nanoparticles coated with humic acid and Suwannee River natural organic matter. *Sci. Total Environ.* 2013, **461-462** pp. 19–27.
- [117] Wallace R.M. Concentration and separation of ions by Donnan membrane equilibrium. *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 1967, **6** pp. 423–431.
- [118] Pyrzynska K. Atomic absorption spectrophotometric determination of gold with preconcentration by Donnan dialysis. *Talanta*. 1994, **41** pp. 381–386.
- [119] Kennedy A.J., Hull M.S., Bednar A.J., Goss J.D., Gunter J.C., Bouldin J.L. Fractionating nanosilver: importance for determining toxicity to aquatic test organisms. *Environ. Sci. Technol.* 2010, **44** pp. 9571–9577.
- [120] Hinds W.C. *Aerosol technology: Properties, behaviour, and measurement of airborne particles*. John Wiley & Sons, Inc, New York, Second Edition, 1999, pp. 49.
- [121] Levard C., Reinsch B.C., Michel F.M., Oumahi C., Lowry G.V., Brown G.E. Sulfidation processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: impact on dissolution rate. *Environ. Sci. Technol.* 2011, **45** pp. 5260–5266.
- [122] Xu M., Li J., Hanagata N., Su H., Chen H., Fujita D. Challenge to assess the toxic contribution of metal cation released from nanomaterials for nanotoxicology—the case of ZnO nanoparticles. *Nanoscale*. 2013, **5** pp. 4763–4769.
- [123] Chen S., Yao H., Kimura K. Reversible Transference of Au Nanoparticles across the Water and Toluene Interface: A Langmuir Type Adsorption Mechanism. *Langmuir*. 2001, **17** pp. 733–739.

- [124] Yang J., Lee J.Y., Too H.-P. A general phase transfer protocol for synthesizing alkylamine stabilized nanoparticles of noble metals. *Anal. Chim. Acta.* 2007, **588** pp. 34–41.
- [125] Ciesa F., & Plech A. Gold nanoparticle membranes as large-area surface monolayers. *J. Colloid Interface Sci.* 2010, **346** pp. 1–7.
- [126] Hollamby M.J., Eastoe J., Chemelli A., Glatter O., Rogers S., Heenan R.K. Separation and purification of nanoparticles in a single step. *Langmuir.* 2010, **26** pp. 6989–6994.
- [127] Baik H.J., Hong S., Park S. Surface plasmon modes of gold nanospheres, nanorods, and nanoplates in an organic solvent: phase-transfer from aqueous to organic media. *J. Colloid Interface Sci.* 2011, **358** pp. 317–322.
- [128] Yang J., Lee J.Y., Ying J.Y. Phase transfer and its applications in nanotechnology. *Chem. Soc. Rev.* 2011, **40** pp. 1672–1696.
- [129] Omanovic-Miklicanin E., Valzacchi S., Simoneau C., Gilliland D., Rossi F. Solid phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry method optimization for characterization of surface adsorption forces of nanoparticles. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014, **406** pp. 6629–6636.
- [130] Wei Z., Sandron S., Townsend A.T., Nesterenko P.N., Paull B. Determination of trace labile copper in environmental waters by magnetic nanoparticle solid phase extraction and highperformance chelation ion chromatography. *Talanta.* 2015, **135** pp. 155–162.
- [131] Wan Ibrahim W.A., Nodeh H.R., Aboul-Enein H.Y., Sanagi M.M. Magnetic solid-phase extraction based on modified ferum oxides for enrichment, preconcentration, and isolation of pesticides and selected pollutants. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2015, **45** pp. 270–287.
- [132] Karimi M.A., Hatefi-Mehrjardi A., Mohammadi S.Z., Mohadesi A., Mazloun-Ardakani M., Kabir A.A. Solid phase extraction of trace amounts of silver (I) using dithizone-immobilized alumina-coated magnetite nanoparticles prior to determination by flame atomic absorption spectrometry. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2012, **92** pp. 1325–1340.
- [133] Azizi P., Golshekan M., Shariati S., Rahchamani J. Solid phase extraction of Cu^{2+} , Ni^{2+} , and Co^{2+} ions by a new magnetic nano-composite: excellent reactivity combined with facile extraction and determination. *Environ. Monit. Assess.* 2015, **187** p. 185.
- [134] Chao J.B., Liu J.F., Yu S.J., Feng Y.D., Tan Z.Q., Liu R. Speciation analysis of silver nanoparticles and silver ions in antibacterial products and environmental waters via cloud point extraction based separation. *Anal. Chem.* 2011, **83** pp. 6875–6882.
- [135] Hartmann G., Baumgartner T., Schuster M. Influence of particle coating and matrix constituents on the cloud point extraction efficiency of silver nanoparticles (Ag-NPs) and application for monitoring the formation of Ag-NPs from Ag. *Anal. Chem.* 2014, **86** pp. 790–796.
- [136] Liu J.F., Liu R., Yin Y.G., Jiang G.B. Triton X-114 based cloud point extraction: a thermo reversible approach for separation/concentration and dispersion of nanomaterials in the aqueous phase. *Chem. Commun. (Camb.).* 2009, pp. 1514–1516.
- [137] Mwilu S.K., Siska E., Baig R.B., Varma R.S., Heithmar E., Rogers K.R. Separation and measurement of silver nanoparticles and silver ions using magnetic particles. *Sci. Total Environ.* 2014, **472** pp. 316–323.

- [138] Zook J.M., Long S.E., Cleveland D., Geronimo C.L., MacCuspie R.I. Measuring silver nanoparticle dissolution in complex biological and environmental matrices using UV-visible absorbance. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011, **401** pp. 1993–2002.
- [139] Kent R.D., & Vikesland P.J. Controlled evaluation of silver nanoparticle dissolution using atomic force microscopy. *Environ. Sci. Technol.* 2012, **46** pp. 6977–6984.
- [140] Tulve N.S., Stefaniak A.B., Vance M.E., Rogers K., Mwilu S., LeBouf R.F. Characterization of silver nanoparticles in selected consumer products and its relevance for predicting children’s potential exposures. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2015, **218** pp. 345–357.
- [141] Taghavy A., Mittelman A., Wang Y., Pennell K.D., Abriola L.M. Mathematical modeling of the transport and dissolution of citrate-stabilized silver nanoparticles in porous media. *Environ. Sci. Technol.* 2013, **47** pp. 8499–8507.
- [142] Laborda F., Jiménez-Lamana J., Boleaa E., Castillo J.R. Selective identification, characterization and determination of dissolved silver(I) and silver nanoparticles based on single particle detection by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 2011, **26** pp. 1362–1371.
- [143] Mitrano D.M., Barber A., Bednar A., Westerhoff P., Higgins C.P., Ranville J.F. Silver nanoparticle characterization using single particle ICP-MS (SP-ICP-MS) and asymmetrical flow field flow fractionation ICP-MS (AF4-ICP-MS). *J. Anal. At. Spectrom.* 2012a, **27** pp. 1131–1142.
- [144] Mitrano D.M., Leshner E.K., Bednar A., Monserud J., Higgins C.P., Ranville J.F. Detecting nanoparticulate silver using single-particle inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012b, **31** pp. 115–121.
- [145] Reed R.B., Ladner D.A., Higgins C.P., Westerhoff P., Ranville J.F. Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, **31** pp. 93–99.
- [146] Bednar A.J., Poda A.R., Mitrano D.M., Kennedy A.J., Gray E.P., Ranville J.F. Comparison of on-line detectors for field flow fractionation analysis of nanomaterials. *Talanta.* 2013, **104** pp. 140–148.
- [147] Mitrano D.M., Ranville J.F., Bednar A.J., Kazor K., Heringd A.S., Higgins C.P. Tracking dissolution of silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations in laboratory, natural, and processed waters using single particle ICP-MS (spICP-MS). *Environ. Sci. Nano.* 2014, **1** pp. 248–259.
- [148] Mercer T.T. On the role of particle size in the dissolution of lung burdens. *Health Phys.* 1967, **13** pp. 1211–1221.
- [149] Moss O.R., & Kanapilly G.M. 1980) *Dissolution of inhaled aerosols. In: Generation of Aerosols and Facilities for Exposure Experiments* (K. Willeke, Ed.), Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, MI Publishers, pp. 105-124.
- [150] Potter R.M., & Mattson S.M. Glass fiber dissolution in a physiological saline solution. *Glustech. Ber.* 1991, **64** pp. 16–28.
- [151] Gerischer H., & Sorg N. Chemical dissolution of zinc oxide crystals in aqueous electrolytes - An analysis of the kinetics. *Electrochim. Acta.* 1992, **37** pp. 827–835.
- [152] Newell C.J., Rifai H.S., Wilson J.T., Connor J.A., Aziz J.A., Suarez M.P. *Calculation and use of first-order rate constants for monitored natural attenuation studies.* United

- States Environmental Protection Agency, National Risk Management Research Laboratory, 2002.
- [153] Hume L.A. *The dissolution rate of chrysotile*. Virginia Polytechnic Institute and State University, 1991.
- [154] Robie R.A., Hemmingway B.S., Fisher J.R. *Thermodynamic properties of minerals and related substances at 298.15 K and 1 bar pressure and at higher temperatures*. Vol. 1452, 1979.
- [155] Rimstidt J.D., & Barnes H.L. The kinetics of silica-water reactions. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1980, **44** pp. 1683–1699.
- [156] Icenhower J., & Dove P. The dissolution kinetics of amorphous silica into sodium chloride solutions: Effects of temperature and ionic strength. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2000, **64** pp. 4193–4203.
- [157] Rosso J.J., & Rimstidt J.D. A high resolution study of forsterite dissolution rates. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 2000, **64** pp. 797–811.
- [158] Jurinski J.B., & Rimstidt J.D. Biodurability of talc. *Am. Mineral*. 2001, **86** pp. 392–399.
- [159] Roelofs F., & Vogelsberger W. Dissolution kinetics of synthetic amorphous silica in biological-like media and its theoretical description. *J. Phys. Chem. B*. 2004, **108** pp. 11308–11316.
- [160] Schmidt J., & Vogelsberger W. Aqueous Long-Term Solubility of Titania Nanoparticles and Titanium (IV) Hydrolysis in a Sodium Chloride System Studied by Adsorptive Stripping Voltammetry. *J. Solution Chem*. 2009, **38** pp. 1267–1282.
- [161] Larson R.R., Story S.G., Hegmann K.T. Assessing the Solubility of Silicon Dioxide Particles Using Simulated Lung Fluid. *Open Toxic J*. 2010, **4** pp. 51–55.
- [162] Huang W., Fernandez D., Rudd A., Johnson W.P., Deubner D., Sabey P. Dissolution and nanoparticle generation behavior of Be-associated materials in synthetic lung fluid using inductively coupled plasma-mass spectroscopy and flow field-flow fractionation. *J. Chromatogr. A*. 2011, **1218** pp. 4149–4159.
- [163] Duling M.G., Stefaniak A.B., Lawrence R.B., Chipera S.J., Virji M.A. Release of beryllium from mineral ores in artificial lung and skin surface fluids. *Environ. Geochem. Health*. 2012, **34** pp. 313–322.
- [164] Finch G.L., Mewhinney J.A., Eidson A.F., Hoover M.D., Rothenberg S.J. *In vitro* dissolution characteristics of beryllium oxide and beryllium metal aerosols. *J. Aerosol Sci*. 1988, **19** pp. 333–342.
- [165] Stefaniak A.B., Day G.A., Hoover M.D., Breyse P.N., Scripsick R.C. Differences in dissolution behavior in a phagolysosomal simulant fluid for single-constituent and multi-constituent materials associated with beryllium sensitization and chronic beryllium disease. *Toxicol. In Vitro*. 2006, **20** pp. 82–95.
- [166] Stefaniak A.B., Virji M.A., Day G.A. Dissolution of beryllium in artificial lung alveolar macrophage phagolysosomal fluid. *Chemosphere*. 2011, **83** pp. 1181–1187.
- [167] Stefaniak A.B., Virji M.A., Day G.A. Release of beryllium into artificial air way epithelial lining fluid. *Arch. Environ. Occup. Health*. 2012, **67** pp. 219–228.
- [168] Liu X., Hurt R.H., Kane A.B. Biodurability of Single-Walled Carbon Nanotubes Depends on Surface Functionalization. *Carbon N Y*. 2010, **48** pp. 1961–1969.

- [169] Kagan V. E., Konduru N.V., Feng W., Allen B.L., Conroy J., Volkov Y. Carbon nanotubes degraded by neutrophil myeloperoxidase induce less pulmonary inflammation. *Nat. Nanotechnol.* 2010, **5** pp. 354–359.
- [170] Osmond-McLeod M.J., Poland C.A., Murphy F., Waddington L., Morris H., Hawkins S.C. Durability and inflammogenic impact of carbon nanotubes compared with asbestos fibres. *Part. Fibre Toxicol.* 2011, **8** p. 15.
- [171] Zhao Y., Allen B.L., Star A. Enzymatic degradation of multiwalled carbon nanotubes. *J. Phys.Chem. A.* 2011, **115** pp. 9536–9544.
- [172] Lee Y.J., Kim J., Oh J., Bae S., Lee S., Hong I.S. Ion-release kinetics and ecotoxicity effects of silver nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, **31** pp. 155–159.
- [173] Ma R., Levard C., Marinakos S.M., Cheng Y., Liu J., Michel F.M. Size-Controlled Dissolution of Organic-Coated Silver Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* 2012, **46** pp. 752–759.
- [174] Levard C., Mitra S., Yang T., Jew A.D., Badireddy A.R., Lowry G.V. Effect of Chloride on the Dissolution Rate of Silver Nanoparticles and Toxicity to *E. coli*. *Environ. Sci. Technol.* 2013, **47** pp. 5738–5745.
- [175] Gorham J.M., MacCuspie R.I., Klein K.L., Fairbrother D.H., Holbrook R.D. UV-induced photochemical transformations of citrate-capped silver nanoparticle suspensions. *J. Nanopart. Res.* 2012, **14** pp. 1–16.
- [176] Yin Y., Liu J., Jiang G. Sunlight-induced reduction of ionic Ag and Au to metallic nanoparticles by dissolved organic matter. *ACS Nano.* 2012, **6** pp. 7910–7919.
- [177] Behra R., Sigg L., Clift M.J., Herzog F., Minghetti M., Johnston B. Bioavailability of silver nanoparticles and ions: from a chemical and biochemical perspective. *J. R. Soc. Interface.* 2013, **10** p. 20130396.
- [178] Lee J.H., Kim Y.S., Song K.S., Ryu H.R., Sung J.H., Park J.D. Biopersistence of silver nanoparticles in tissues from Sprague-Dawley rats. *Part. Fibre Toxicol.* 2013, **10** p. 36.
- [179] Khan F.R., Misra S.K., Garcia-Alonso J., Smith B.D., Strekopytov S., Rainbow P.S. Bioaccumulation dynamics and modeling in an estuarine invertebrate following aqueous exposure to nanosized and dissolved silver. *Environ. Sci. Technol.* 2012, **46** pp. 7621–7628.
- [180] Stebounova L.V., Guio E., Grassian V.H. Silver nanoparticles in simulated biological media: a study of aggregation, sedimentation, and dissolution. *J. Nanopart. Res.* 2011, **13** pp. 233–244.
- [181] Schmidt J., & Vogelsberger W. Dissolution Kinetics of Titanium Dioxide Nanoparticles: The Observation of an Unusual Kinetic Size Effect. *J. Phys. Chem. B.* 2006, **110** pp. 3955–3963.
- [182] Hedberg Y., Hedberg J., Wallinder I.O. Particle Characteristics and Metal Release from Natural Rutile (TiO₂) and Zircon Particles in Synthetic Body Fluids. *J Biomaterials Nanobio.* 2012, **3** pp. 37–49.
- [183] Avramescu M.L., Rasmussen P.E., Chenier M., Gardner H.D. Influence of pH, particle size and crystal form on dissolution behaviour of engineered nanomaterials. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2016, pp. 1–12.

- [184] Bian S.W., Mudunkotuwa I.A., Rupasinghe T., Grassian V.H. Aggregation and dissolution of 4 nm ZnO nanoparticles in aqueous environments: influence of pH, ionic strength, size, and adsorption of humic acid. *Langmuir*. 2011, **27** pp. 6059–6068.
- [185] Yang S.-T., Wang H., Meziani M.J., Liu Y., Wang X., Sun Y.-P. Biodefunctionalization of Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes in Mice. *Biomacromolecules*. 2009, **10** pp. 2009–2012.
- [186] Chanana M., Gil P.R., Correa-Duarte M.A., Liz-Marzan L.M., Parak W.J. Physicochemical Properties of Protein-Coated Gold Nanoparticles in Biological Fluids and Cells before and after Proteolytic Digestion. *J. Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, **52** pp. 4179–4183.
- [187] Roberts A.P., Mount A.S., Seda B., Souther J., Qiao R., Lin S. *In vivo* Biomodification of Lipid Coated Carbon Nanotubes by *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.* 2007, **41** pp. 3025–3029.
- [188] Ulbricht J., Jordan R., Luxenhofer R. On the biodegradability of polyethylene glycol, polypeptoids and poly(2-oxazoline)s. *Biomaterials*. 2014, **35** pp. 4848–4861.
- [189] Marvin L.F., Roberts M.A., Fay L.B. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical chemistry. *Clin. Chim. Acta*. 2003, **337** pp. 11–21.
- [190] Yan B., Jeong Y., Mercante L.A., Tonga G.Y., Kim C., Zhu Z.J. Characterization of surface ligands on functionalized magnetic nanoparticles using laser desorption/ionization mass spectrometry (LDI-MS). *Nanoscale*. 2013a, **5** pp. 5063–5066.
- [191] Yan B., Kim S.T., Kim C.S., Saha K., Moyano D.F., Xing Y. Multiplexed imaging of nanoparticles in tissues using laser desorption/ionization mass spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.* 2013b, **135** pp. 12564–12567.
- [192] Zhu Z.J., Yeh Y.C., Tang R., Yan B., Tamayo J., Vachet R.W. Stability of quantum dots in live cells. *Nat. Chem.* 2011, **3** pp. 963–968.
- [193] Zhu Z.J., Tang R., Yeh Y.C., Miranda O.R., Rotello V.M., Vachet R.W. Determination of the intracellular stability of gold nanoparticle monolayers using mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2012, **84** pp. 4321–4326.
- [194] Harder P., Grunze M., Dahint R., Whitesides G.M., Laibinis P.E. Molecular conformation in oligo(ethylene glycol)-terminated self-assembled monolayers on gold and silver surfaces determines their ability to resist protein adsorption. *J. Phys. Chem. B*. 1998, **102** pp. 426–436.
- [195] Valiokas R., Svedhem S., Svensson S.C.T., Liedberg B. Selfassembled, monolayers of oligo(ethylene glycol)-terminated and amide group containing alkane thiolates on gold. *Langmuir*. 1999, **15** pp. 3390–3394.
- [196] Valiokas R., Svedhem S., Ostblom M., Svensson S.C.T., Liedberg B. Influence of specific intermolecular interactions on the self-assembly and phase behavior of oligo(ethylene glycol)-terminated alkanethiolates on gold. *J. Phys. Chem. B*. 2001, **105** pp. 5459–5469.
- [197] Monopoli M.P., Walczyk D., Campbell A., Elia G., Lynch I., Bombelli F.B. Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to *in vitro* and *in vivo* biological impacts of nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, **133** pp. 2525–2534.

- [198] Mahmoudi M., Lohse S.E., Murphy C.J., Fathizadeh A., Montazeri A., Suslick K.S. Variation of protein corona composition of gold nanoparticles following plasmonic heating. *Nano Lett.* 2014, **14** pp. 6–12.
- [199] Ansoborlo E., Chalabreysse J., Escallon S., Henge-Napoli M.H. *In vitro* solubility of uranium tetrafluoride with oxidizing medium compared with *in vivo* solubility in rats. *Int. J. Radiat. Biol.* 1990, **58** pp. 681–689.
- [200] Julander A., Hindsen M., Skare L., Liden C. Cobalt-containing alloys and their ability to release cobalt and cause dermatitis. *Contact Dermat.* 2009, **60** pp. 165–170.
- [201] Day G.A., Hoover M.D., Stefaniak A.B., Dickerson R.M., Peterson E.J., Esmen N.A. Bioavailability of beryllium oxide particles: an *in vitro* study in the murine J774A.1 macrophage cell line model. *Exp. Lung Res.* 2005, **31** pp. 341–360.
- [202] Finch G.L., Mewhinney J.A., Hoover M.D., Eidson A.F., Haley P.J., Bice D.E. Clearance, translocation, and excretion of beryllium following acute inhalation of beryllium oxide by beagle dogs. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1990, **15** pp. 231–241.
- [203] Jeong J., Kim J., Seok S.H., Cho W.S. Indium oxide (InO) nanoparticles induce progressive lung injury distinct from lung injuries by copper oxide (CuO) and nickel oxide (NiO) nanoparticles. *Arch. Toxicol.* 2015.
- [204] Borm P., Klaessig F.C., Landry T.D., Moudgil B., Pauluhn J., Thomas K. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicol. Sci.* 2006, **90** pp. 23–32.
- [205] Schroeter J.D., Nong A., Yoon M., Taylor M.D., Dorman D.C., Andersen M.E. Analysis of manganese tracer kinetics and target tissue dosimetry in monkeys and humans with multiroute physiologically-based pharmacokinetic models. *Toxicol. Sci.* 2011, **120** pp. 481–498.
- [206] Schroeter J.D., Dorman D.C., Yoon M., Nong A., Taylor M.D., Andersen M.E. Application of a multi-route physiologically-based pharmacokinetic model for manganese to evaluate dosedependent neurological effects in monkeys. *Toxicol. Sci.* 2012, **129** pp. 432–446.
- [207] Taylor M.D., Clewell H.J., Andersen M.E., Schroeter J.D., Yoon M., Keene A.M. Update on a Pharmacokinetic-Centric Alternative Tier II Program for MMT-Part II: Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling and Manganese Risk Assessment. *J. Toxicol.* 2012, **2012** p. 791431.
- [208] Canady R.A. The uncertainty of nanotoxicology: report of a Society for Risk Analysis Work shop. *Risk Anal.* 2010, **30** pp. 1663–1670.
- [209] Som C., Berges M., Chaudhry Q., Dusinska M., Fernandes T.F., Olsen S.I. The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts. *Toxicology.* 2010, **269** pp. 160–169.
- [210] Donaldson K., Murphy F., Schinwald A., Duffin R., Poland C.A. Identifying the pulmonary hazard of high aspect ratio nanoparticles to enable their safety-by-design. *Nanomedicine (Lond.)*. 2011, **6** pp. 143–156.
- [211] Batley G.E., Halliburton B., Kirby J.K., Doolette C.L., Navarro D., McLaughlin M.J. Characterization and ecological risk assessment of nanoparticulate CeO₂ as a diesel fuel catalyst. *Environ. Toxicol. Chem.* 2013, **32** pp. 1896–1905.

- [212] Thelohan S., & de Meringo A. *In vitro* dynamic solubility test: influence of various parameters. *Environ. Health Perspect.* 1994, **102** pp. 91–96.
- [213] Takaya M., Shinohara Y., Serita F., Ono-Ogasawara M., Otaki N., Toya T. Dissolution of functional materials and rare earth oxides into pseudo alveolar fluid. *Ind. Health.* 2006, **44** pp. 639–644.
- [214] EPA. 1993) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, fourth edition. edit: Cornilius L. Weber. EPA/600/4-90/027F. Section 7: Dilution Water, page 30.
- [215] Marking L.L., & Dawson V.K. *Toxicity of quinaldine sulfate to fish. Invest. Fish Contr.* US Fish and Wildlife Service, Department of the Interior, Washington, D.C., 1973.
- [216] IOC. *Standard and Reference Materials for Marine Science. Intergovernmental Oceanographic Commission. Manuals and Guides.* UNESCO, 1990.
- [217] ISO/TS 27687: 2008, *Nanotechnologies— Terminology and definitions for nano-objects —Nanoparticle, nanofibre and nanoplate.*