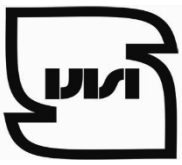
INSO
6302
1st Edition
2020
Identical with ISO/TS 20660: 2019

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران
Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران
۶۳۰۲
چاپ اول
۱۳۹۹

فناوری نانو- نانوذرات نقره ضدباکتریایی-تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری

Nanotechnologies — Antibacterial silver nanoparticles — Determination of characteristics and measurement methods

ICS: 07.120

استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۶۳۰۲ (چاپ اول): سال ۱۳۹۹

سازمان ملی استاندارد ایران

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

صندوق‌پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.gov.ir

وبگاه: http://www.isiri.gov.ir

Iranian National Standardization Organization (INSO)

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

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

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

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

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.gov.ir

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

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک مادهٔ ۷ قانون تقویت و توسعه نظام استاندارد، ابلاغ شده در دی ماه ۱۳۹۶، وظیفهٔ تعیین، تدوین ، به روز رسانی و نشر استانداردهای ملی را بر 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 منصفانهٔ 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 پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیته ملی طرح، بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ 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)[1]، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ 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، گواهینامهٔ 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 of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
4- Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«فناوری نانو- نانوذرات نقره ضدباکتریایی- تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری»

رئیس:	**سمت و/یا محل اشتغال:**
میرزاجانی، فاطمه (دکتری فیتوشیمی)	عضو هیئت علمی- دانشگاه شهید بهشتی
دبیر:	
میرکاظمی، سیّد محمّد (دکتری مهندسی مواد و متالورژی)	عضو هیئت علمی- دانشگاه علم و صنعت ایران
اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
اسلامی پور، الهه (کارشناس ارشد زیست شناسی)	کارشناس- کارگروه استاندارد و ایمنی ستاد فناوری نانو
تاج‌آبادی، مریم (دکتری مهندسی پزشکی- بیومواد)	عضو هیئت علمی- دانشگاه علم و صنعت ایران
دباغ کاشانی، فاطمه (دکتری فیزیک)	عضو هیئت علمی- دانشگاه علم و صنعت ایران
سیفی، مهوش (کارشناسی ارشد مدیریت دولتی)	نایب رئیس- کمیته فنی متناظر فناوری نانو ISIR/TC 229
مختاری، فهمیدخت (کارشناسی ارشد ایمونولوژی)	عضو هیئت علمی- پژوهشگاه استاندارد
نجم‌الدین، نجمه (دکتری مهندسی مواد)	عضو هیئت علمی- دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات
ویراستار:	
سیفی، مهوش (کارشناسی ارشد مدیریت دولتی)	نایب رئیس- کمیته فنی متناظر فناوری نانو ISIR/TC 229

فهرست مندرجات

عنوان **صفحه**

پیش‌گفتار و
مقدمه ز
۱ هدف و دامنه کاربرد ۱
۲ مراجع الزامی ۱
۳ اصطلاحات و تعاریف ۱
۴ نمادها و کوته‌نوشت‌ها ۴
۵ مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری ۴
۵-۱ کلیات ۴
۵-۲ اندازه میانگین و توزیع اندازه ذرات اولیه ۶
۵-۳ پتانسیل زتا ۶
۵-۴ مساحت سطح ویژه ۷
۵-۵ مقدار نقره کل ۷
۵-۶ اندازه هیدرودینامیک ۷
۵-۷ غلظت عددی نانوذره نقره ۸
۶ نمونه‌برداری ۸
۷ گزارش آزمون ۸
پیوست الف (آگاهی‌دهنده) روش‌های اندازه‌گیری نانوذرات نقره ضدباکتریایی ۹
پیوست ب (آگاهی‌دهنده) رابطه بین مشخصات نانوذره نقره و عملکرد ضدباکتریایی ۱۲
پیوست پ (آگاهی‌دهنده) آزمون عملکرد ضد باکتریایی ۱۶
کتاب‌نامه ۱۷

پیش‌گفتار

استاندارد «فناوری نانو- نانوذرات نقره ضدباکتریایی- تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری» که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی/ منطقه‌ای به عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تهیه و تدوین شده، در نود و دومین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد فناوری نانو مورخ ۱۳۹۹/۹/۱۹ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک مادهٔ ۷ قانون تقویت و توسعه نظام استاندارد، ابلاغ شده در دی ماه ۱۳۹۶، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوهٔ نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم وخدمات، 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/TS 20660: 2019, Nanotechnologies- Antibacterial silver nanoparticles- Specification of characteristics and measurement methods

مقدمه

نانوذرات نقره به‌دلیل خواص ضدباکتریایی آن‌ها به یکی از پرکاربردترین نانومواد در محصولات مصرفی تبدیل شده‌اند. کاربرد نانوذرات نقره در محصولات مصرفی به‌طور فزاینده‌ای پذیرفته شده‌است تا رشد ریزاندامگان‌ها[1] را روی سطوح یا درون محصولات کنترل کند. هنگامی‌که نانوذرات با ریزاندامگان‌ها برهمکنش می‌کنند، یون‌های نقره رها می‌شوند، و این یون‌ها ممکن است با راه‌های مختلف روی ریزاندامگان‌ها تأثیر گذاشته و به آن‌ها آسیب برسانند. هرچند، سازوکارهای اثر باکتری‌کشی به‌خوبی شناخته شده نیست [1][2]، چندین سازوکار محتمل در متون علمی پیشنهاد شده‌است: ۱) یون‌های نقره با الکتریسیته (بار) مثبت رهایش‌یافته از نانوذرات نقره قادر هستند که به‌سرعت به گروه‌های سولفیدریل روی سطح باکتری بپیوندند، که منجر به تغییر ساختارهای باکتری و آسیب رساندن به آن‌ها می‌شود، ۲) جذب یون‌های نقره یا نانوذرات کوچک باعث اختلال در تولید آدنوزین تری فسفات و همانندسازی DNA می‌شود، و ۳) یون‌ها و نانوذرات نقره گونه‌های اکسیژن فعال[3] تولید می‌کند که منجر به تخریب اکسایشی می‌شود [2]- [4]. شواهد علمی دیگری از عملکرد ضدباکتریایی نانوذرات نقره در پیوست **ب** فهرست شده‌است. خواص ضدباکتریایی نانوذرات نقره مرتبط با مشخصات فیزیکوشیمیایی آن‌ها است.

اگرچه محصولات ضدباکتریایی که از نانوذرات نقره استفاده می‌کنند به‌طور وسیعی در بازار توزیع شده‌اند، اغلب این محصولات بدون فراهم آوردن اطلاعات فیزیکوشیمیایی و مشخصات ضدباکتریایی متناظر نانوذرات فروخته می‌شوند. در حال حاضر، اغلب سازندگان مشخصات را برپایه کاربردهای موردنظر محصول خود ارائه می‌دهند.

این استاندارد رهنمودی برای تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری توصیه‌شده فراهم می‌کند که مرجع آن سایر استانداردهای نانوذرات نقره در شکل پودر و کلوئید برای کاربردهای ضدباکتریایی در فناوری نانو است. در این استاندارد روش‌های اندازه‌گیری اصلی در دسترسِ صنعت برای تعیین پارامترهای مشخص‌شده، در ویژگی‌ها توصیه شده‌است. این استاندارد روش‌های اندازه‌گیری انتخاب‌شده را که در حال حاضر به‌طور معمول استفاده می‌شود، ا مرور کرده و بنابراین نیاز به روزآمد کردن منظم دارد.

1- Microorganism

۲- اعداد داخل قلاب به شماره مرجع ذکرشده در کتاب‌نامه اشاره دارد.

3- Reactive Oxygen Species

فناوری نانو- نانوذرات نقره ضدباکتریایی- تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری

۱ هدف و دامنهٔ کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه رهنمودی برای تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری مرتبط برای نانوذرات نقره در شکل‌های پودری و کلوئیدی است که برای کاربردهای ضدباکتریایی در فناوری نانو درنظر گرفته شده‌است.

این استاندارد قصد دارد به تولیدکنندگان در فراهم آوردن مشخصات فیزیکوشیمیایی نانوذرات نقره‌ای که اثر ضدباکتریایی برای خریدار دارند، کمک کند.

این استاندارد ملاحظات ویژه موضوعات سلامت و ایمنی حین ساخت یا استفاده را پوشش نمی‌دهد.

۲ مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به صورت الزامی به آن‌ها ارجاع داده شده‌است. بدین ترتیب آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند.

درصورتی‌که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده‌باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام‌آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده‌است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی برای این استاندارد الزام‌آور است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

۲-۱ استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۱- ۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵- فناوری نانو- واژه‌نامه- قسمت ۱: اصطلاحات اصلی

۲-۲ استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۲- ۸۰۰۰۴ : سال ۱۳۹۵- فناوری نانو- واژه‌نامه- قسمت ۲: نانواشیاء

2-3 ISO 26824, Particle characterization of particulate systems- Vacabulary

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد علاوه بر اصطلاحات و تعاریف ارائه‌شده در استانداردهای ملی ایران- ایزو شماره ۱-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵ ، ۲-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵و استاندارد ISO 26824، اصطلاحات و تعاریف زیر نیز به‌کار می‌رود[۱]:

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

۳-۱

نانوذره نقره

silver nanoparticle

نانوذره متشکل از نقره با همه سه بعد خارجی در نانومقیاس است.

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

۳-۲

ذره اولیه

primary particle

ذره اصلی منشاء از *کلوخه‌ها* (۳-۴) یا *انبوهه‌ها* (۳-۵) یا مخلوطی از هر دو است.

یادآوری ۱- ذرات سازنده کلوخه‌ها یا انبوهه‌ها در برخی از موارد واقعی ممکن است *ذرات اولیه* (۳-۲) باشد ولی در بیشتر موارد اجزای سازنده انبوهه‌ها است.

یادآوری ۲- کلوخه‌ها و انبوهه‌ها، ذرات ثانویه نیز نامیده می‌شوند.

[منبع: زیربند ۳-۲، استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۲-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵]

۳-۳

نانومقیاس

nanoscale

گستره اندازه بین تقریباً ۱ nm تا ۱۰۰ nm است.

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

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

۳-۴

کلوخه

agglomerate

مجموعه‌ای از ذرات که به شکلی ضعیف یا نسبتاً قوی به یکدیگر متصل شده‌اند، به‌طوری‌که مساحت سطح خارجی حاصل از آن‌ها مشابه مجموع مساحت سطوح تک‌تک اجزای تشکیل‌دهنده باشد.

یادآوری ۱- نیروهایی که کلوخه را نزدیک به یکدیگر نگه‌می‌دارد، نیروهای ضعیفی هستند، مثلاً نیروهای وان‌دروالس یا درهم‌تافتگی فیزیکی ساده.

یادآوری ۲- کلوخه‌ها به‌عنوان ذرات ثانویه نیز درنظر گرفته می‌شوند و ذرات اصلی منشاء، *ذرات اولیه* (۳-۲) نامیده می‌شوند.

[منبع: زیربند ۳-۴، استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۲-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵]

۳-۵

انبوهه

aggregate

ذره متشکل از ذراتی با پیوندهای قوی یا جوش‌خورده که مساحت سطح خارجی حاصل از آن‌ها به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کمتر از مجموع مساحت سطوح تک‌تک اجزای تشکیل‌دهنده باشد.

یادآوری ۱- نیروهایی که انبوهه را کنار یکدیگر نگه‌می‌دارد، نیروهای قوی هستند، مثلاً پیوندهای کووالانسی یا یونی و یا نتیجه جوش خوردن و گره خوردگی فیزیکی پیچیده یا درغیراین‌صورت، ذرات به‌هم چسبیده قبلی.

یادآوری ۲- انبوهه‌ها به‌عنوان ذرات ثانویه نیز درنظر گرفته می‌شوند و ذرات اصلی منشاء، *ذرات اولیه* (۳-۲) نامیده می‌شوند.

[منبع: زیربند ۳-۵، استاندارد ملی ایران- ایزو شماره ۲-۸۰۰۰۴: سال ۱۳۹۵]

۳-۶

فعالیت ضدباکتریایی

antibacterial activity

خاصیت مواد یا پدیده‌هایی که باکتری را می‌کشد (باکتری‌کش[1]) یا رشد باکتری را مهار می‌کند (باکتری‌ایستا[2]).

1- Bactericidal
2- Bacteriostatic

۴ نمادها و کوته‌نوشت‌ها

کوته‌نوشت	اصطلاح	معادل فارسی
AAS	Atomic Absorption Spectrometry	طیف‌سنجی جذب اتمی
AgNP	Silver Nano-Particle	نانوذره نقره
BET	Brunauer- Emmett- Teller	برونر- اِمِت- تِلِر
DLS	Dynamic Light Scattering	پراکندگی نور پویا
ELS	Electrophoretic Light Scattering	پراکندگی نور الکتروکوچی
ICP- MS	Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry	پلاسمای جفت‌شده القائی- طیف‌سنجی جرمی
ICP- OES	Inductively Coupled Plasma- Optical Emission Spectrometry	پلاسمای جفت‌شده القائی- طیف‌سنجی نشرنوری
NP	Nano-Particle	نانوذره
PTA	Particle Tracking Analysis	آنالیز ردگیری ذره
SAXS	Small angle X- ray Scattering	پراکندگی پرتو ایکس زاویه کوچک
SEM	Scanning Electron Microscopy	میکروسکوپی الکترونی روبشی
spICP-MS	Single Particle Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry	پلاسمای جفت‌شده القائی تک‌ذره- طیف‌سنجی جرمی
TEM	Transmission Electron Microscopy	میکروسکوپی الکترونی عبوری

۵ مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری

۵-۱ کلیات

تعیین مشخصات و روش‌های اندازه‌گیری برای نانوذرات نقره ضدباکتریایی به دو دسته تفکیک می‌شوند: آن‌هایی‌که اساسی هستند در جدول ۱ و آنهایی‌که آزمون‌های افزوده[1] هستند در جدول ۲ فهرست شده‌اند. یک تولیدکننده نانوذرات نقره ضدباکتریایی باید مشخصات جدول ۱ را اندازه‌گیری کرده و همچنین توصیه می‌شود، مشخصات جدول ۲ را نیز اندازه‌گیری و نتایج را به خریداران نانوذرات نقره گزارش کند. در جداول ۱ و ۲، رهنمودهایی برای روش‌های اندازه‌گیری به‌عنوان اطلاعات، فهرست شده‌است. استانداردهای ISO فهرست‌شده، به‌صورت عام تدوین شده‌اند و با پیشرفت فناوری، روش‌های اندازه‌گیری می‌توانند به آن‌ها اضافه

1- Additional

شوند. پذیرش استاندارد مرتبط، با توافق بین خریدار و تولیدکننده نانوذرات انجام می‌شود. نتایج اندازه‌گیری مشخصات باید بر حسب یکاهای فهرست‌شده در جداول ۱ و ۲ باشد. برای شرح روش‌های اندازه‌گیری مشخصات مجزا که در جداول ۱ و ۲ فهرست شده‌است، به پیوست آگاهی‌دهنده **الف** مراجعه شود. برای توضیح روابط بین مشخصات نانوذره و عملکرد ضدباکتریایی، به پیوست آگاهی‌دهنده **ب** مراجعه شود. برای توضیح آزمون عملکرد ضدباکتریایی نانودرات نقره، به پیوست **پ** مراجعه شود.

خواص ماده یا ذاتی است یا به‌وسیله روش اندازه‌گیری تعریف می‌شود. مقادیر خواص تعریف‌شده برپایه یک روش را نمی‌توان به‌طور مستقیم با آن‌هایی که با استفاده از روش متفاوت دیگری به‌دست آمده‌اند، مقایسه کرد. علاوه برآن، ممکن است روش‌هایی که برای ارزیابی خواص ذاتی به‌کار می‌روند، سوگیری‌شده و منجر به نتایج متفاوت برای خاصیت یکسانی شوند که با روش‌های دیگر ارزیابی می‌شود. در نتیجه، نتایج یک روش اندازه‌گیری ممکن است به‌طور مستقیم قابل‌مقایسه با نتایج حاصل از روش اندازه‌گیری دوم نباشد.

جدول ۱- مشخصات اساسی موردنظر در اندازه‌گیری نانوذرات

مشخصات	یکاها	روش اندازه‌گیری *	شکل کاربردی	استانداردهای مرتبط
۱- اندازه میانگین و توزیع ذره اولیه	M	SEM	پودر یا کلوئیدی	ISO 16700
		TEM	پودر[الف] یا کلوئیدی	ISO 10797
۲- پتانسیل زتا	V	ELS	کلوئیدی	ISO 13099-2
۳- مساحت سطح ویژه	$\frac{m^2}{kg}$	BET	پودری	ISO 9277 ISO 18757
۴- مقدار نقره کل	$\frac{kg}{kg}$ یا $\frac{mol}{mol}$	ICP- MS	پودر[الف] یا کلوئیدی	ISO 17294-1 ISO 17294-2
		ICP- OES	پودر[الف] یا کلوئیدی	ISO 11885

[الف] شکل پودری برای اندازه‌گیری باید در حلّال پراکنده شود. شکل کلوئیدی می‌تواند به‌طور مستقیم اندازه‌گیری شود.

*__یادآوری__- در خصوص اندازه‌گیری میانگین و توزیع اندازه متناسب با اندازه ذرات، هر یک از روش‌های SEM و TEM بر اساس استانداردهای مرتبط می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

جدول ۲- مشخصات افزوده موردنظر در اندازه‌گیری نانوذرات

مشخصات	یکاها	روش‌های اندازه‌گیری *	شکل کاربردی	استانداردها و مدارک
۱- اندازه هیدرودینامیکی	m	DLS	کلوئیدی	ISO 22412
		PTA	کلوئیدی	ISO 19430
۲- غلظت عددی نانوذرات نقره	kg^{-1}	spICP-MS	پودر[الف] یا کلوئیدی	ISO/ TS 19590
		SAXS	پودر[الف] یا کلوئیدی	پاووف[1] و همکاران [17]

[الف] شکل پودری برای اندازه‌گیری باید در حلّال پراکنده شود. شکل کلوئیدی می‌تواند به‌طور مستقیم اندازه‌گیری شود.

* **یادآوری**- در خصوص اندازه‌گیری اندازه هیدرودینامیکی و غلظت عددی نانوذرات نقره متناسب با نمونه آزمون، هر یک از روش‌های ذکرشده در جدول بر اساس استانداردهای مرتبط می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

[1] Pauw et. al.

۵-۲ اندازه میانگین و توزیع اندازه ذرات اولیه

برای اندازه‌گیری اندازه میانگین ذره اولیه باید از روش‌های SEM و TEM استفاده شود. مراجع ISO 16700 و ISO 10797 ممکن است در مورد اندازه‌گیری اندازه میانگین نانوذره اولیه مفید باشند. ذرات اولیه با پردازش تصویر، شناسایی می‌شوند. اندازه آن‌ها ممکن است به‌صورت قطر کروی معادل یا به‌عنوان یک یا ترکیبی از قطرهای فِرِت نانوذرات در تصاویر SEM و TEM برآورد شود. اندازه ذره اولیه میانگین و انحراف استاندارد آن باید از توزیع قطرهای انتخابی حاصل روی نمونه محاسبه شود.

۵-۳ پتانسیل زتا

بار سطحی یک نانوماده یکی از عوامل کلیدی تعیین پایداری آن در تعلیقه است و خود تابعی از pH و قدرت یونی محلول نانوذره نقره است [18] [19]. بسته به قدرت یونی محلول، برای محاسبه پتانسیل زتا، نیاز است اندازه‌گیری‌های چندگانه انجام شود. نمونه‌های ایده‌آل برای آنالیز پتانسیل زتا، نمونه‌هایی هستند که تک‌پراکنه[1] در اندازه، دارای غلظت به اندازه کافی بالا برای پراکندگی به‌طور مؤثر، دارای غلظت نمک پایین ($\frac{ms}{cm}$ ۱>) و معلق‌شده در محیط‌های آزاد ذره‌ای هستند. بارسطحی باید با استفاده از روش الکتروکوچی اندازه‌گیری شود و مقدار pH باید همراه بارسطحی گزارش شود. رهنمود در مورد این روش را می‌توان در استاندارد ISO 13099-2 یافت.

1- Monodisperese

۵-۴ مساحت سطح ویژه

مساحت سطح باید با روش جذب سطحی گاز اندازه‌گیری شود. یک روش بر پایه مدل توسعه‌یافته توسط برونر، اِمِت و تِلِر (BET) اجازه می‌دهد که مساحت سطح یک پودر به‌وسیله اندازه‌گیری میزان گاز جذب‌شده روی سطح اندازه‌گیری شود. آنالیز BET یک روش استاندارد برای تعیین مساحت سطح از هم‌دماهای جذب سطحی نیتروژن است و در اصل از جذب سطحی چند لایه گاز روی سطوح صاف ناشی شده‌است. استاندارد ISO 9277 برای اندازه‌گیری مساحت سطح ویژه به‌کار می‌رود [12]. این استاندارد روش‌های اجرایی را برای مساحت‌های سطح داخلی و خارجی ویژه کل (nm ۲< قطر) جامدات متخلخل یا پراکنده (در محیط مایع) با اندازه‌گیری میزان گاز جذب سطحی‌شده به‌طور فیزیکی، طبق روش BET، تعیین می‌کند. استاندارد ISO 18757 برخی از اطلاعات با جزئیات مفید را در مورد مواد ویژه فراهم می‌کند. دستگاه‌های اندازه‌گیری برای روش BET به‌طور تجاری در دسترس است، توصیه می‌شود قابلیت ردیابی اندازه‌شناختی حفظ شود. مواد مرجع برای کاربرد روش BET برای نانوذرات در شکل پودر در دسترس هستند.

۵-۵ مقدار نقره کل

مقدار نقره کل به‌صورت نسبت جرم مقدار نقره کل به جرم محصول نانوذره نقره تعریف می‌شود. به‌عنوان روش‌های استاندارد در آنالیز عنصری، ICP-MS، ICP-OES یا AAS برای اندازه‌گیری غلظت کل نقره ذره‌ای و محلول استفاده شده‌است. روش‌های ICP-MS، ICP-OES و AAS توانمندی‌های کمّی متعلق به یونیزاسیون با درجه بالا برای اغلب عناصر را عرضه می‌کنند. رهنمود در مورد روش‌های مرتبط را می‌توان در استانداردهای ISO 17297-1، ISO 17297-2، ISO 11885 و ISO 26845 یافت. میزان و نوع اسید مورداستفاده برای تجزیه نانوذرات نقره و شرایط هضم ریزموج می‌تواند درصورت لزوم تغییر کند.

۵-۶ اندازه هیدرودینامیکی

برخلاف نانوذرات در شکل پودری، اندازه هیدرودینامیکی، مشخصه‌ای است که برای تعیین اندازه ذره نانوذرات در محلول آبی استفاده می‌شود. اندازه هیدرودینامیکی به‌طور کلی بزرگ‌تر از قطر هسته است، زیرا قطر هیدرودینامیکی ذرات شامل لایه آبدار، پوسته بسپاری[1] یا دیگر پایدارسازهای محتمل است. به‌طور معمول نتیجه برای اندازه هیدرودینامیکی بزرگ‌تر از نتیجه اندازه تعیین‌شده به‌وسیله TEM با یک متوازن‌سازی تابع عامل سرپوشانی[2] است. اندازه هیدرودینامیکی ذرات باید با استفاده از DLS یا PTA اندازه‌گیری شود. روش DLS نتیجه قابل‌اطمینان با تکپار[3] جزء سازنده برای یک نمونه کلوخه‌نشده را ارائه خواهد داد. رهنمود در مورد این روش را می‌توان در استانداردهای ISO 22412 و ISO 19430 یافت.

1- Polymer
2- Capping agent
3- Monomer

۷-۵ غلظت عددی نانوذره نقره

روش spICP-MS روشی است که قادر به تولید توزیع اندازه ذره تعداد-پایه از نانوذرات و کمّی‌سازی کسر محلول تعلیقه نانوذره نقره است. رهنمود در مورد این روش را می‌توان در استاندارد ISO/TS 19590 یافت. روش SAXS نیز برای اندازه‌گیری غلظت عددی نانوذره نقره به‌کار می‌رود.

۶ نمونه‌برداری

نمونه‌ای که اندازه‌گیری می‌شود باید به‌گونه‌ای انتخاب شود که نماینده جامعه[1] والد[2] نانوذرات در شکل پودری یا تعلیقه‌شده باشد. توصیه می‌شود نمونه‌برداری و پراکنش در مایعات پودرها به ترتیب طبق استانداردهای ISO 14488 و ISO 14887 انجام شود.

از آنجاکه بسیاری از نانواشیاء واکنشگر هستند، خواص شیمیایی و فیزیکی می‌تواند تحت‌تاثیر نقطه نمونه‌برداری[3] و محیط انبارش قرار گیرد. در نتیجه، توصیه می‌شود برای سازگاری نتایج، تولیدکننده و کاربر نهایی روی نقطه نمونه‌برداری و انبارش نمونه‌ها توافق کنند.

۷ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید حداقل حاوی اطلاعات زیر باشد:

الف- همه جزئیاتی که به‌طور معمول برای شناسایی محصول آزموده‌شده ضروری است (نام محصول، نام شیمیایی)؛

ب- ارجاع به این استاندارد؛

پ- شرح نمونه؛

ت- رابطه بین نمونه مورداندازه‌گیری و محصول موردآزمون که مشخصات به آن اختصاص داده شده‌است؛

ث- تاریخ آزمون، نام آزمایشگاه آزمونگر و بیانیه سامانه کیفیت آزمایشگاه آزمونگر؛

ج- نتایج اندازه‌گیری برای مشخصات، همراه با نام و روش‌های اندازه‌گیری آن‌ها مطابق جدول۱، درصورتی‌که آزمون‌های جدول ۲ قابل اجراء باشد، مطابق جدول ۲؛

چ- هر اطلاعات خاصی که پشتیبانی‌کننده قابلیت اطمینان نتایج اندازه‌گیری باشد.

نتایج هر آزمون عملکرد ضدباکتریایی با روش اجرایی آزمون مستندشده، اگر در دسترس باشد، گزارش شود.

1- Population
2- Parent
3- Sampling point

پیوست الف

(آگاهی‌دهنده)

روش‌های اندازه‌گیری برای نانوذرات نقره ضدباکتریایی

جدول الف-۱ روش‌های اندازه‌گیری برای مشخصات اساسی را ارائه می‌دهد.

جدول الف-۱- روش‌های اندازه‌گیری برای مشخصات اساسی

	مشخصات	روش	رهنمود
۱-۱	اندازه میانگین ذره اولیه و توزیع اندازه	TEM	میکروسکوپی الکترونی عبوری (TEM) یک روش میکروسکوپی است که در آن باریکه الکترون‌ها از میان آزمونه عبور می‌کند تا تصویری تشکیل دهد. آزمونه اغلب بخش بسیار باریک با ضخامت کمتر از ۱۰۰ nm یا یک تعلیقه روی توری است. هنگامی‌که باریکه از میان آزمونه عبور می‌کند، یک تصویر از برهم‌کنش الکترون‌ها با نمونه شکل می‌گیرد. سپس، تصویر بزرگنمایی شده و روی افزاره تصویربرداری، مانند یک پرده فلورسنت، یک لایه از فیلم عکاسی یا یک حسگر، مانند افزاره جفت‌شده بار (CCD)[۱]، کانونی می‌شود. روش TEM جفت‌شده با EDS به‌طور گسترده برای آنالیز عنصری و آنالیز شیمیایی استفاده می‌شود. راهنماهایی برای کاربرد روش و فرایند آماده‌سازی نمونه را می‌توان در استاندارد ISO/ TS 10797 یافت. [منبع: استاندارد ISO/ TS 12805، تغییریافته][۲]
		SEM	میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نوعی میکروسکوپ الکترونی است که تصاویری را از یک نمونه به‌وسیله روبش یک سطح با یک باریکه متمرکزشده از الکترون‌ها تولید می‌کند. الکترون‌ها با اتم‌ها در نمونه برهم‌کنش کرده و سیگنال‌های گوناگون تولید می‌کنند که حاوی اطلاعات در مورد توپوگرافی یا ترکیب‌بندی سطح است. باریکه الکترونی در یک الگوی روبش شطرنجی روبش می‌کند و موقعیت باریکه با سیگنال‌های آشکارشده ترکیب می‌شود تا تصویر تولید شود. SEM می‌تواند به تفکیک‌پذیری بهتر از ۱ نانومتر دست یابد. آزمونه‌ها می‌توانند در خلاء بالا در SEM معمول یا در خلاء پایین یا شرایط مرطوب در فشارهای قابل‌تغییر یا SEM محیطی و در یک بازه وسیع از زمزایشی[۳] یا دماهای افزایش‌یافته با دستگاه‌های تخصصی، مشاهده شوند. راهنماهایی برای کاربرد روش و فرایند آماده‌سازی نمونه را می‌توان در استانداردهای ISO 16700 و ISO 10798 یافت. [منبع: استاندارد ISO 16700، تغییریافته]

جدول الف- ۱- (ادامه)

	مشخصات	روش	رهنمود
۲-۱	پتانسیل زتا	ELS	پتانسیل زتا، پتانسیل ایستابرقی در صفحه لغزش (که ناحیه‌ای را علامت‌گذاری می‌کند، جایی‌که در آن مولکول‌های مایع احاطه‌کننده ذره ابتدا شروع به حرکت نسبت به سطح می‌کنند) نسبت به پتانسیل در محلول توده (کل) است. استاندارد ISO 13099-2 روش‌های اندازه‌گیری تحرک الکتروکوچی را با استفاده از وسایل نوری و برای محاسبه پتانسیل زتا فراهم می‌کند. [منبع: استاندارد ISO/ TS 12805، تغییریافته]
۳-۱	مساحت سطح ویژه	آنالیز BET	یک روش بر پایه مدل توسعه‌یافته توسط برونر، اِمِت و تِلِر که اجازه می‌دهد مساحت سطح پودرها به‌وسیله میزان گاز جذب‌شده روی سطح تخمین زده شود. عموماً، نیتروژن یا دی‌اکسیدکربن استفاده می‌شود، ولی گازهایی مانند کریپتون یا آرگون می‌توانند برای مواد با مساحت سطح کم به‌دلیل حساسیت آن‌ها (افزایش جرم بر سطح واحد) استفاده شوند. مساحت سطح ویژه نسبت مساحت سطح به جرم است. رهنمود این روش را می‌توان در استانداردهای ISO 9277 و ISO 18757 یافت. [منبع: استاندارد ISO/ TS 12805، تغییریافته]
۴-۱	مقدار نقره کل	ICP-MS	روش ICP-MS از منبع پلاسمای جفت‌شده القائی برای یونیزه کردن مواد نمونه به‌منظور آنالیز به‌وسیله طیف‌سنج جرمی، استفاده می‌کند. روش ICP-MS تعیین کمّی و درست ناخالصی‌های عنصری با استفاده از ICP- MS را فراهم می‌کند. رهنمود روش‌های طیف‌سنجی فراصوت در استانداردهای ISO 17294-1 و ISO 17294-2 در دسترس است.
		ICP- OES	روش ICP-OES روش آنالیزی است که برای آشکارسازی فلزات با مقدار کم[۴] استفاده می‌شود. این روش از انواع طیف‌سنجی نشری است که از پلاسمای جفت‌شده القائی برای تولید اتم‌ها و یون‌های برانگیخته استفاده می‌کند که تابش الکترومغناطیسی در مشخصه طول‌موج‌های یک عنصر خاص را نشر دهد. این یک روش شعله‌ای با دمای شعله در بازه ۶۰۰۰ K تا ۱۰۰۰۰ K است. شدت این نشر نشانگر غلظت عنصر در نمونه است. رهنمود ICP-MS در استاندارد ISO 11885 در دسترس است.
		AAS	فلزات در محلول می‌تواند به آسانی به‌وسیله طیف‌نورسنجی جذب اتمی شعله (دمشی مستقیم) تعیین شود. رهنمود این روش را می‌توان در استاندارد ISO 26845 یافت.

[1] Charged Coupled Device

[۲] **استاندارد ملی ایران شماره ۱۶۴۶۴: سال ۱۳۹۲، فناوری نانو- ویژگی‌های مواد- راهکاری برای تعیین ویژگی‌های نانواشیاء، با استفاده از استاندارد** ISO /TS 12805: 2011 تدوین شده‌است.

[3] Cryogenic

[4] Trace

جدول الف-۲- روش‌های اندازه‌گیری برای مشخصات افزوده

	مشخصات	روش	رهنمود
۱-۲	اندازه هیدرودینامیکی	DLS	در این روش قطر هیدرودینامیکی از حرکت براونی ذرات اندازه‌گیری می‌شود. این روش وابسته به ماده آزمون، برای اندازه‌گیری قطرهای ذرات بزرگ‌تر از nm ۳ کاربردی است. راهنماهای کاربرد این روش را می‌توان در استاندارد ISO 22412 یافت. [منبع: استاندارد ISO/ TS 12805، تغییریافته]
		PTA	روش PTA بر پایه اندازه‌گیری حرکت پخشی ذرات در تعلیقه به‌وسیله روشنایی لیزر، تصویربرداری نور پراکنده‌شده، شناسایی و مکان‌یابی ذره، و ردگیری ذره مجزا است. قطر هیدرودینامیکی ذرات مجزا، قَطرک‌ها[1] یا حباب‌ها به‌وسیله معادله استوکس- انیشتین[2] به پارامترهای حرکت براونی مرتبط می‌شود. راهنمای کاربرد روش را می‌توان در استاندارد ISO 19430 یافت. [منبع: استاندارد ISO 19430]
۲-۲	غلظت عددی نانوذره نقره	spICP-MS	روش spICP-MS روشی است که قادر به آشکارسازی نانوذرات تک در غلظت‌های خیلی کم است. روش spICP-MS اندازه نانوذات در تعلیقه‌های آبی را تعیین می‌کند. غلظت‌های عددی ذره که در تعلیقه‌های آبی می‌تواند تعیین شود، در بازه ۱۰۶ ذره بر لیتر تا ۱۰۹ ذره بر لیتر است که متناظر با غلظت‌های جرم در بازه تقریباً ۱ نانوگرم بر لیتر تا ۱۰۰۰ نانوگرم بر لیتر است. تعداد دقیق به نوع طیف‌سنجی جرمی استفاده‌شده و نوع نانوذره‌ای که آنالیز می‌شود، وابسته است. علاوه بر غلظت‌های ذره، غلظت‌های یونی در تعلیقه را نیز می‌توان تعیین کرد. راهنمای کاربرد روش را می‌توان در استاندارد ISO 19590 یافت. [منبع: استاندارد ISO 19590، تغییریافته]
		SAXS	روش SAXS روشی است که قادر است توزیع‌های اندازه نانوذره، تفکیک اندازه و شکل نانوذره تک‌پراکنه را تعیین کند، غلظت عددی نانوذره نقره می‌تواند به‌وسیله SAXS تعیین شود.

[1] Deroplets

[2] Stokes- Einstein equation

پیوست ب

(آگاهی‌دهنده)

رابطه بین مشخصات نانوذره نقره و عملکرد ضدباکتریایی

ب- ۱ کلیات

نانوذرات نقره، برای خواص جالب خود به‌خوبی شناخته شده‌اند و با توجه به خاصیت ضدباکتریایی آن‌ها به یکی از نانومواد استفاده‌شده به‌طور وسیع در محصولات مصرفی برای کنترل رشد ریزاندامگان‌ها روی سطوح یا داخل محصولات تبدیل شده‌است [22]. این ذرات در فروکافت[1]، فوتونیک، کاربردهای پزشکی یا حتی انبارش و تبدیل انرژی به‌کار می‌روند [1]. استفاده موفق و ساخت نانوذرات نقره با عملکردهای بهبودیافته دنیایی از امکانات را به روی صنایع و تلاش‌های علمی گوناگون می‌گشاید. در سال‌های اخیر، نانوذرات نقره و دیگر نانوذرات فلزی، با توجه به اندازه، شکل، ترکیب‌بندی، بلورینگی، خواص فیزیکوشیمیایی وابسته ساختاری، به‌طور وسیعی بررسی شده‌اند [1]. این استاندارد توصیه‌هایی در مورد مشخصات اساسی و افزوده نانوذرات نقره ضدباکتریایی که شامل مشخصات ماده است، فراهم می‌کند. شواهد علمی زمینه‌ساز انتخاب مشخصات یادشده در بالا، در این بخش ارائه می‌شوند.

ب-۲ توزیع اندازه و اندازه میانگین ذره اولیه و مساحت سطح ویژه

به‌طورکلی، اندازه، عامل مهمی است که اثرات زیستی نانوذرات، همچون جذب یاخته‌ای، فعّال‌سازی یاخته‌ای و توزیع میان‌یاخته‌ای را تعیین می‌کند [13]- [28]. نتایج ضدباکتریایی نانوذره نقره کروی با اندازه ۷ nm، ۲۹ nm و ۸۹ nm توسط مارتینز[2]- کاستانون[3] و همکاران، مشاهده شد [29]. نویسنده دریافت که اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره با افزایش اندازه ذره، کاهش می‌یابد. اثر اندازه نانوذره نقره بر فعّالیّت ضدباکتریایی نشان داده شده‌است که شامل افزایش واکنش‌پذیری با کاهش اندازه ذرات و افزایش نسبت مساحت سطح به حجم است [30]- [33]. همچنین کوشش‌های قابل‌تحسینی انجام شده‌است تا این خاصیت را با استفاده از میکروسکوپی الکترونی‌ای کاوش کند که برهم‌کنش وابسته به اندازه نانوذرات نقره با باکتری را آشکار کرده‌است. خایداروف[4] و همکاران، بهبود کارایی ضدباکتریایی را با نانوذرات نقره کوچک‌تر مربوط به سطح تماس بزرگ‌تر گزارش دادند [34] [35]. منتیرو[5]- ریویر[6] و همکاران، گزارش دادند که کلوخگی افزایش‌یافته نانوذرات نقره پوشش داده‌شده با کربن، می‌تواند در کاهش کارایی ضدباکتریایی آن‌ها در مقایسه با نانوذرات نقره شستشوشده نیز مشارکت کند.

1- Catalysis
2- Martinez
3- Castanon
4- Khaydarov
5- Monteiro
6- Riviere

ب-۳ پتانسیل زتا

یک روش مستقیم تعیین بار سطحی، از طریق پتانسیل زتا است. مقدار پتانسیل زتا می‌تواند به‌وسیله شرایط اندازه‌گیری مانند دما، سطح pH، غلظت نمونه و گرانروی تحت‌تأثیر قرار گیرد. باداوی[1] و همکاران ابراز داشتند که تفاوت در پتانسیل زتای اندازه‌گیری‌شده به‌صورت تابعی از pH برای نانوذرات نقره مختلف، اهمیت عوامل سرپوشانی را هنگام ارزشیابی خواص باردار نمودن سطحی نانوذرات، توضیح می‌دهد [37]. کاهش در بزرگی پتانسیل زتا برای نانوذرات نقره بدون پوشش با کاهش pH، محتمل‌ترین نتیجه کاهش غلظت OH^- است و لزوماً نتیجه پروتون‌دارشدن سطح نانوذره نیست. اتم‌های نقره در سطح نانوذره به‌طور هم‌مرتبه غیراشباع است [38]، به‌گونه‌ای که مولکول‌های هسته‌دوست (OH^- و H_2O) می‌توانند یک جفت الکترون را به آن‌ها اهدا کنند. بنابراین، هنگامی‌که سطح pH از ۲ به ۱۰ افزایش می‌یابد، غلظت OH^- افزایش می‌یابد، بنابراین به OH^- اجازه می‌دهد که به‌صورت مؤثرتری برای مواضع سطحی رقابت کند. این موضوع یک بار سطحی منفی در محیط زیست‌های pH قلیایی تولید می‌کند.

نوع سازوکارهای پایدارسازی، یک اثر عمیق روی پتانسیل انبوهش نانوذرات نقره دارد. عامل‌های سرپوشانی، مواد شیمیایی هستند که در سنتز نانوذرات نقره استفاده می‌شوند تا از انبوهش آن‌ها از طریق دافعه ایستابرقی[2]، دافعه ریختاری[3] یا هر دو جلوگیری کند. در مورد نانوذره نقره رایج‌ترین عامل‌های سرپوشانی سیترات و پلی‌وینیل‌پیرولیدون[4] هستند [39]. هرچند سازوکارهای گروه‌های عاملی دخیل در پایدارسازی کلوئیدی بین عوامل سرپوشانی، تفاوت قائل می‌شوند. این عوامل سرپوشانی ممکن است منجر به تغییر اندازه ذره و پایداری شوند. عوامل سرپوشانی مانند مایعات یونی که به‌طور معمول مورداستفاده قرار می‌گیرند تا بارهای سطحی نانوذرات را تغییر دهند، می‌توانند روی فعالیت زیستی نانوذرات نقره نیز تأثیر بگذارند [40]- [42]. غلامی[5] و همکاران، چانگ[6] و همکاران و سالویونی[7] و همکاران، گزارش داده‌اند که نانوذرات نقره نقره با سطوح باردارشده مثبت و منفی در غلظت‌های خیلی کم باکتری را می‌کشند [43]- [45]. هر دو دیواره یاخته باکتریایی (گرم منفی و گرم مثبت) بار منفی خالص دارند. در باکتری‌های گرم مثبت، بار منفی از طریق اتصال اسیدهای تیکوئیک[8] به پایه پپتیدوگلیکان[9] (دیواره یاخته باکتریایی) یا غشاء زیرین پلاسما ایجاد می‌شود. این اسیدهای تیکوئیک، به‌دلیل حضور فسفات‌های داخل ساختار آن‌ها، آنیونی هستند. باکتری‌های گرم منفی یک پوشش بیرونی متشکل از فسفولیپیدها[10] و لیپوپلی‌ساکاریدها[11] دارند. این لیپوپلی‌ساکاریدها یک بار منفی قوی روی سطوح یاخته‌های باکتری‌های گرم منفی ایجاد می‌کنند [46].

1- Badawy
2- Electrostatic
3- Steric
4- Polyvinylpyrrolidone
5- Gholami
6- Chang
7- Salvioni
8- Teichoic
9- Peptidoglycan
10- Phospholipid
11- Lipopolysaccharide

به‌تازگی، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره باردارشده منفی یا مثبت گوناگون به‌طور وسیع ارزشیابی شده‌است [47] و نتایج نشانگر آن است که نانوذرات نقره باردار مثبت فعالیت باکتری‌کشی بالاتری نسبت به نانوذرات نقره باردار منفی یا خنثی در برابر همه ریزاندامگان‌های آزموده‌شده، دارند [48] [49]. این پدیده، اغلب نتیجه برهم‌کنش ایستابرقی معمول بین بارهای مثبت و منفی است که اثر ضدباکتریایی را شتاب می‌بخشد.

ب- ۴ مقدار نقره کل و غلظت عددی نانوذره نقره

این موضوع به‌خوبی شناخته شده‌است که نرخ انحلال نقره، همچون شکل‌گیری کلرید نقره حل‌ناپذیر خواص ضدمیکربی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین، نیاز است که اندازه‌گیری‌های میزان محلول در برابر نقره ذره‌ای، به کاربر نهایی گزارش شود. روشی که قادر به تمایز قائل‌شدن بین محلول نقره و نقره ذره‌ای باشد، روش spICP-MS است. از روش‌های ICP-MS، OES و AAS می‌توان برای کمّی‌سازی میزان کل نقره در یک نمونه استفاده کرد.

سوتریو[1] و همکارانش استدلال کردند که ذرات نقره، یون‌های نقره را سریع‌تر رها کرده و منجر به سمّیت بالاتر حاصل از غلظت نقره کل با تأثیر بالاتر می‌شوند [50]. آنها مشاهده کردند که یون‌های نقره در غلظت نقره بین ppm ۱ تا ppm ۳۰، بسته به مقدار و اندازه نقره در نانوذره نقره، اثر ضدباکتریایی دارند. هنگامی‌که نانوذرات نقره با ریزاندامگان‌ها برهم‌کنش می‌کنند، یون‌های نقره رها می‌شوند و این یون‌ها می‌توانند ریزاندامگان‌ها را از راه‌های گوناگون تحت‌تأثیر قرار دهند یا به آن‌ها آسیب برسانند [1]. احتمال دارد یون‌های نقره رهاشده به‌وسیله نانوذرات نقره با کلرید برهم‌کنش کنند. کلرید اغلب در محیط رشد باکتریایی حضور داشته و تمایل قوی برای اکسید کردن نقره دارد [51]. غلظت‌های بالای یون‌های کلرید در محیط‌های مورداستفاده به‌طور معمول، می‌تواند سبب رسوب یون‌های نقره به‌صورت کلرید نقره شود، بنابراین مانع[2] مداخله نقره محلول در اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره می‌شود. در یک سامانه زیستی، سازوکار اثر ضدباکتریایی به‌خوبی درک نشده‌است. هرچند، در مراجع علمی چندین سازوکار محتمل پیشنهاد شده‌است: ۱) یون‌های نقره با الکتریسیته (بار) مثبت رهاشده از نانوذرات نقره قادر هستند که به‌سرعت به گروه‌های سولفیدریل روی سطح باکتری پیوند بخورند که منجر به تغییر ساختارهای باکتری و آسیب رساندن به آن‌ها می‌شود، ۲) جذب یون‌های نقره یا نانوذرات کوچک تولید آدنوزین تری- فسفات (ATP)[3] و همانندسازی دی‌اکسی‌ریبونوکلئیک اسید (DNA)[4] را مختل می‌کند و ۳) نانوذرات و یون‌های نقره گونه‌های اکسیژن فعّال فعّال (ROS) را تولید می‌کنند که منتج به مجموعه‌ای از آسیب‌های اکسایشی شده و به همین ترتیب ادامه می‌یابند [2]- [4].

1- Sotiriou
2- Masking
3- Adenosine tri-phosphate
4- Deoxyribonucleic acid

ب- ۵ اندازه هیدرودینامیکی

روش DLS چند زاویه‌ای، روش اندازه‌گیری برای مشخصه‌یابی شعاع‌های هیدرودینامیکی ذرات و همچنین انبوهش و برهم‌کنش‌های ذره-ذره است. این یون‌ها و دیگر مولکول‌های مرتبط سبب می‌شوند که ذره در دستگاه در مقایسه با TEM بزرگ‌تر به نظر برسد. بنابراین، قطر هیدرودینامیکی همیشه بزرگ‌تر از اندازه تخمین زده‌شده به‌وسیله TEM است. با این حال، مطالعات بسیاری بر اهمیت قطر هیدرودینامیکی برای درک و بهینه‌سازی اندازه‌های نانوذرات و عملکرد آن‌ها در سنجش‌های زیستی تأکید کرده‌اند.

پیوست پ

(آگاهی‌دهنده)

آزمون عملکرد ضدباکتریایی

ممکن است برای تعیین فعّالیّت ضدباکتریایی فرمول‌بندی‌های[1] نانوذرات نقره، از رهیافت‌های گوناگونی استفاده شود. به‌ویژه، در صورت مناسب‌بودن، به الزاماتی که در دارونامه ملی ارائه یا توسط نهادهای ذی‌صلاح قانونی تعیین شده، ارجاع و از آن‌ها پیروی شود. به‌ویژه، توصیه می‌شود در جایی که در نهایت ممکن است ماده در آنجا فروخته شود، قوانین حاکم درنظر گرفته شود.

عملکرد ضدباکتریایی نانوذرات نقره استانداردسازی نشده‌است. علاوه بر آن، آزمون‌های عملکرد در هدف و دامنه کاربرد این استاندارد نیست. آزمون‌های عملکرد ضدباکتریایی مرتبط، شامل استاندارد ISO/ TS 16550 و استانداردهای عملکرد برای آزمون دیسک[2] ضدمیکروبی و حساسیت[3] رقیق‌سازی: M2-A9 از موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی[4] است [53].

1- Formulations
2- Disk
3- Susceptibility
4- Clinical and laboratory standards institute

کتاب‌نامه:

[1] Helmlinger J., Sengstock C., Gross-Heitfeld C., Mayer C., Schildhauer T. A., Köller M., Epple M. (2016). Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects. RSC Advances, **6**(22), 18490-18501

[2] Raza M. A., Kanwal Z., Rauf A., Sabri A. N., Riaz S., Naseem S. (2016). Size-and Shape-Dependent Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles Synthesized by Wet Chemical Routes. Nanomaterials, **6**(4), 74

[3] Jalalia S. A. H., & Allafchianb A. R. (2016) Assessment of antibacterial properties of novel silver nanocomposite, Journal of theTaiwanInstitute of Chemical Engineers, 59, 506–513

[4] Pandey J. K., Swarnkar R. K., Soumya K. K., Dwivedi P., Singh M. K., Sundaram S., Gopal R. (2014). Silver nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation: as a potent antibacterial agent for human enteropathogenic gram-positive and gram-negative bacterial strains. Applied biochemistry and biotechnology, **174**(3), 1021-1031

[5] ISO 16700, Microbeam analysis — Scanning electron microscopy — Guidelines for calibrating image magnification

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۱۴۱: سال ۱۳۹۵، تجزیه میکروپرتویی- میکروسکوپ الکترونی روبشی- راهنما برای کالیبراسیون بزرگ‌نمایی تصویر، با استفاده از استاندارد ISO 16700: 2016 تدوین شده‌است

[6] ISO/TS 10797, Nanotechnologies — Characterization of single-wall carbon nanotubes using transmission electron microscopy

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۰۸۵: سال ۱۳۹۳، فناوری نانو- تعیین مشخصات نانولوله‌های کربنی تک‌جداره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، با استفاده از استاندارد ISO/ TS 10797: 2012 تدوین شده‌است

[7] ISO 13099-2, Colloidal systems — Methods for zeta-potential determination — Part 2: Optical methods

[8] ISO 9277, Determination of the specific surface area of solids by gas adsorption — BET method

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۴۵۲۵: سال ۱۳۹۱، تعیین مساحت سطح ویژه جامدات توسط جذب سطحی گاز- روش BET، با استفاده از استاندارد ISO 9277: 2010 تدوین شده‌است

[9] ISO 18757, Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) — Determination of specific surface area of ceramic powders by gas adsorption using the BET method

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۶۵۸: سال ۱۳۸۸، سرامیک‌های ظریف (سرامیک‌های پیشرفته، سرامیک‌های صنعتی پیشرفته)- مساحت سطح ویژه پودرهای سرامیکی به‌وسیله جذب گاز با استفاده از روش BET- روش آزمون، با استفاده از استاندارد ISO 18757: 2003 تدوین شده‌است

[10] ISO 17294-1, Water quality — Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) — Part 1: General guidelines

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۴۹۴۵: سال ۱۳۹۲، کیفیت آب- کاربرد طیف‌سنجی جرمی پلاسمای جفت‌شده القائی- قسمت ۱: راهنمایی‌های کلی، با استفاده از استاندارد ISO 17294-1: 2004 تدوین شده‌است

[11] ISO 17294-2, Water quality — Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) — Part 2: Determination of selected elements including uranium isotopes

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۴۹۴۵: سال ۱۳۹۲، کیفیت آب- کاربرد طیف‌سنج جرمی پلاسمای جفت‌شده القائی (ICP-MS)- قسمت ۲: تعیین ۶۲ عنصر، با استفاده از استاندارد ISO 17294-2: 2003 تدوین شده‌است

[12] ISO 11885, Water quality — Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۴۸: سال ۱۳۸۷، کیفیت آب- اندازه‌گیری عناصر انتخاب‌شده به روش اسپکترومتری نشر نوری با پلاسمای جفت‌شده القائی، با استفاده از استاندارد ISO 11885: 2007 تدوین شده‌است.

[13] ISO 26845, Chemical analysis of refractories — General requirements for wet chemical analysis, atomic absorption spectrometry (AAS) and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) methods

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۵۹۵۴: سال ۱۳۹۷، تجزیه شیمیایی دیرگدازها- الزامات عمومی برای روش‌های تجزیه شیمیایی تر، طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS) و طیف‌سنجی نشر اتمی پلاسمای جفت‌شده القائی (ICP- AES)، با استفاده از استاندارد ISO 26845: 2008 تدوین شده‌است

[14] ISO 22412, Particle size analysis — Dynamic light scattering (DLS)

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۶۲۴۷: سال ۱۳۹۶، آنالیز اندازه ذره- پراکندگی نور دینامیک (DLS)، با استفاده از استاندارد ISO 22412: 2017 تدوین شده‌است

[15] ISO 19430, Particle size analysis — Particle tracking analysis (PTA) method

[16] ISO/TS 19590, Nanotechnologies — Size distribution and concentration of inorganic nanoparticles in aqueous media via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۲۲۳۲۶: سال ۱۳۹۶، فناوری نانو- توزیع اندازه و غلظت نانوذرات معدنی در محیط آبی با استفاده از طیف‌سنجی جرمی پلاسمای جفت‌شده القائی تک ذره، با استفاده از استاندارد ISO 19590:2017 تدوین شده‌است

[17] Pauw R., Ka¨stner C., Thu¨nemann A. (2017) Nanoparticle size distrquantification: results of a small-angle X-ray scattering inter-laboratory cibution omparison. Journal of applied crystallography, **50**: 1280-1288

[18] Palmer Richard E. (2015) Characterization of Nanomaterials in Complex Environmental and Biological Media, **Volume 8**, 1st Edition

[19] Haider M., & Mehdi M. S. (2014) Study of morphology and Zeta Potential analyzer for the Silver Nanoparticles. International Journal of Scientific & Engineering Research, **5**(7):381-387

[20] ISO 14488, Particulate materials — Sampling and sample splitting for the determination of particulate properties

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۹۲۲: سال ۱۳۸۸، مواد ذره‌ای- نمونه‌برداری و تقسیم نمونه برای تعیین خواص، با استفاده از استاندارد ISO 14488: 2007 تدوین شده‌است

[21] ISO 14887, Sample preparation — Dispersing procedures for powders in liquids

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۱۰۰: سال ۱۳۸۶، آماده‌سازی نمونه- روش‌های پراکنده کردن پودرها در مایعات، با استفاده از استاندارد ISO 14887: 2000 تدوین شده‌است

[22] Zhang X., Liu Z., Shen W., Gurunathan S. (2016) Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches, Intnational Journal of Molecular Science, **17**(9): 1534

[23] Harush-Frenkel O., Debotton N., Benita S., Altschuler Y. (2007) Targeting of nanoparticles to the clathrin-mediated endocytic pathway, Biochemical and Biophysical Research Communications, **353**, 26–32

[24] Cha K., Hong H. W., Choi Y. G., Lee M. J., Park J. H., Chae H. L., Ryu G., Myung H. (2008) Comparison of acute responses of mice livers to short-term exposure to nano-sized or micro-sized silver particles, Biotechnology Letters, **30**, 1893–1899

[25] Chung Y. C., Chen I. H., Chen C. J. (2008) The surface modification of silver nanoparticles by phosphoryl disulfides for improved biocompatibility and intracellular uptake. Biomaterials, **29**, 1807–1816

[26] Kastl L., Sasse D., Wulf V., Hartmann R., Mircheski J., Ranke C., Carregal-Romero S., Mart'ınez-L'opez J. A., Fern'andez-Chac'on R., Parak W. J., Elsasser H. P., Rivera-Gil P. (2013) Multiple Internalization Pathways of Polyelectrolyte Multilayer Capsules into Mammalian Cells, ACS Nano, **7**, 6605–6618

[27] Shang L., Nienhaus K., Jiang X., Yang L., Landfester K., Mail¨ander V., Simmet T., Nienhaus G. U. (2014) Nanoparticle interactions with live cells: Quantitative fluorescence microscopy of nanoparticle size effects, Beilstein Journal of Nanotechnology, **5**, 2388–2397

[28] Kuhn D. A., Vanhecke D., Michen B., Blank F., Gehr P., Petri-Fink A., Rothen-Rutishauser B. (2014) Different endocytotic uptake mechanisms for nanoparticles in epithelial cells and macrophages, Beilstein Journal of Nanotechnology, **5**, 1625–1636

[29] Martinez-Castanon G. A., Nino-Martinez N., Martinez-Gutierrez F., Martinez-Mendoza J. R., Ruiz J. (2008) Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes, Journal of Nanoparticle Research, **10**, 1343–1348

[30] Morones J. R., Elechiguerra J. L., Camacho A., Holt K., Kouri J. B., Ramírez J. T., Yacaman M.J. (2005) The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology, **16**:2346–2353

[31] Lok C. N., Ho C.M., Chen R., He Q. Y., Yu W. Y., Sun H., Tam P. K., Chiu J.F., Chen C.M. (2006) Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. Journel of Proteomemcis Research, **5**:916–924

[32] Panacek A., Kvítek L., Prucek R., Kolar M., Vecerova R., Pizúrova N., Sharma V. K., Nevecna T., Zboril R. (2006) Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antimicrobial activity. Journal of Physical Chemistry B, **110**:16248–16253

[33] Dror-Ehre A., Mamane H., Belenkova T., Markovich G., Adin A. (2009) Silver nanoparticle-E. coli colloidal interaction in water and effect on E. coli survival. Journal of Colloid and Interface Science, **339**:521–526

[34] Khaydarov R. R., Khaydarov R. A., Estrin Y., Evgrafova S., Scheper T., Endres C., Cho S. Y., Linkov I., Steevens J. (2009) Nanomaterials: Risk and Benefits, Springer, Netherlands, 287–299

[35] Pal S., Tak Y. K., Song J. M. (2007) Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium Escherichia coli. Appled and Environmental Microbiology, **73**:1712–1720

[36] Monteiro-Riviere N. A., Oldenburg S. J., Inman A. O. (2010) Interactions of aluminum nanoparticles with human epidermal keratinocytes. Journal of Applied Toxicology, **30**:276–285

[37] El Badawy A. M., Luxton T. P., Silva R. G., Scheckel K. G., Suidan M. T., Tolaymat T. M. (2010) Impact of Environmental Conditions (pH, Ionic Strength, and Electrolyte Type) on the Surface Charge and Aggregation of Silver Nanoparticles Suspensions. Environmental science and technology, **44**, 4, 1260-1266

[38] Mulvaney P., Linnert T., Henglein A. (1991) Surface chemistry of colloidal silver in aqueous solution: observations on chemisorption and reactivity. Journal of physical chemistry, **95**, 7843–7846

[39] Tan S., Erol M., Attygalle A., Du H., Sukhishvili S. (2007) Synthesis of Positively Charged Silver Nanoparticles via photoreduction of AgNO3 in branched polyethyleneimine/HEPES solutions. Langmuir, **23**, 9836–9843

[40] Tanner E. E., Batchelor-McAuley C., Compton R.G. (2016) Nanoparticle capping agent controlled electron-transfer dynamics in ionic liquids. Chemistry: A European Journal, **22**:5976-81

[41] Abbaszadegan A., Nabavizadeh M., Gholami A., Aleyasin Z., Dorostkar S., Saliminasab M. (2015) Positively charged imidazolium-based ionic liquid-protected silver nanoparticles: A promising disinfectant in root canal treatment. International Endodontic Journal, **48**:790-800

[42] Ebrahiminezhad A., Bagheri M., Taghizadeh S., Berenjian A., Ghasemi Y. (2016) Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using microalgal secretory carbohydrates as a novel anticancer and antimicrobial. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology,7

[43] Gholami A., Ghoshoon M. B., Ghafari P., Ghasemi Y. (2017) The effect of different positively charged silver nanoparticles against bacteria, fungi and mammalian cell line. Trends in pharmaceutical science, 3(2): 135-142

[44] Chang T. Y., Chen C. C., Cheng K. M., Chin C. Y., Chen Y. H., Chen X. A., Sun J. R., Young J. J., Chiueh T. S. (2017) Trimethyl chitosan-capped silver nanoparticles with positive surface charge: Their catalytic activity and antibacterial spectrum including multidrug-resistant strains of Acinetobacter baumannii. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **155**: 61–70

[45] Salvioni L., Galbiati E., Collico V., Alessio G., Avvakumova S., Corsi F., Tortora P., Prosperi D., Colombo M. (2017) Negatively charged silver nanoparticles with potent antibacterial activity and reduced toxicity for pharmaceutical preparations. International Journal of Nanomedicine, **12**: 2517–2530

[46] Silhavy T. J., Kahne D., Walker S. (2010) The bacterial cell envelope, Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, **2** a000414

[47] Gottenbos B., Grijpma D. W., van der Mei H.C., Feijen J., Busscher H.J. (2001) Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering gram-positiveand gram-negative bacteria, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **48**: 7–13

[48] Lee K.J., Browning L.M., Nallathamby P.D., Xu X.H.N. (2013) Study of charge-dependent transport and toxicity of peptide-functionalized silvernanoparticles using zebrafish embryos and single nanoparticle plasmonicspectroscopy, Chemical Research in Toxicology, **26**: 904–917

[49] Abbaszadegan A., Ghahramani Y., Gholami A., Hemmateenejad B., Dorostkar S., Nabavizadeh M., Sharghi H. 2015) The effect of charge at the surface ofsilver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive andgram-negative bacteria: a preliminary study, Journal of Nanomaterials, **205**:720654

[50] Sotiriou G. A., & Pratsinis S. E. 2011) Engineering nanosilver as an antibacterial, biosensor and bioimaging material, Current Opinion in Chemical Engineering, **1**, 3–10

[51] Choi O., Deng K. K., Kim N. J., Ross L., Surampalli R. Y., Hu Z. 2008) The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth, Water research, **42**(12), 3066-3074

[52] ISO/TS 16550, Nanotechnologies — Determination of silver nanoparticles potency by release of muramic acid from Staphylococcus aureus

یادآوری- استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۵۸۳: سال ۱۳۹۴، فناوری نانو- ارزیابی کمّی فعالیت نانوذرات از طریق آزادسازی مورامیک اسید از استافیلوکوکوس اورئوس، با استفاده از استاندارد ISO/ TS 16550: 2014 تدوین شده‌است

[53] Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test: M2-A9 Vol.26 No.1, Clinical and laboratory standards insititute