



Entwicklung und Validierung eines Nanopartikelgenerators zur Durchführung von Humanstudien mit Zinkoxid

Christian Monsé, Christian Monz, Dirk Dahmann, Christof Asbach, Burkhard Stahlmecke, Norbert Lichtenstein, Karl-Ernst Buchwald, Rolf Merget, Jürgen Bünger, Thomas Brüning

Wegen der nur eingeschränkten Übertragbarkeit von Tierstudien auf den Menschen gibt es einen steigenden Bedarf an sicher durchzuführenden Humanstudien mit luftgetragenen Partikeln, um bei gesundheitsbasierten Schutzmaßnahmen und der Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerte beizutragen. Dabei stehen Effekte im Bereich der Lungen und des Herz-Kreislaufsystems, die durch die Wirkungen von Nanopartikeln hervorgerufen werden, im Vordergrund. Voraussetzung für die Interpretation dieser Parameter ist eine qualitätsgesicherte Expositionsgenerierung und -überwachung. Da entsprechende Geräte für die standardisierte Expositionsgenerierung von Nanopartikelatmosphären bislang nicht auf dem Markt sind, war eine notwendige Vorarbeit für derartige Forschungen am IPA die Entwicklung eines geeigneten Systems für Ganzkörper-Inhalationsstudien. Am IPA wurde dazu auf die bereits bekannte Technik der flammengestützten Pyrolyse von Metallsalzlösungen zurückgegriffen und ein eigenes Komplettsystem entwickelt.

Zur qualitätsgesicherten Durchführung von inhalativen Humanstudien für den Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz wurde am IPA ein Flammgenerator zur Synthese von Nanopartikeln entwickelt und validiert. Die Wahl der zu untersuchenden Substanz fiel auf Zinkoxid, weil hier Unklarheiten über die Dosis-Wirkungsbeziehung adverser Effekte durch nanoskalige Expositionen bestehen, beispielsweise beim Schweißen verzinkter Stahlbleche oder Feuerverzinkung.

Die Pyrolyse wässriger Zinkformiat-Lösungen ergab Zinkoxid-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 60 nm mit monomodaler Partikelgrößenverteilung. Die Pyrolyse zeigte eine sehr gute Langzeitstabilität und eine nahezu 100-prozentige Effizienz. Die Zielkonzentration von 2,0 mg/m³ Zinkoxid im ExpoLab konnte stabil über mehrere Stunden erreicht werden, wobei eine gute Homogenität erreicht wurde. Die morphologischen Untersuchungen zeigten die

Bildung von Aggregaten und Agglomeraten, wie sie für Hochtemperaturprozesse typisch sind.

Die Experimente bestätigen, dass eine konstante Exposition mit Zinkoxid-Partikeln gewährleistet werden kann. Die ermittelten Konzentrationen an Spurengasen sollten die medizinischen Effektparameter nicht beeinflussen.

Marktübliche Funkengeneratoren nicht geeignet

Im Jahr 2010 wurde das ExpoLab am IPA fertiggestellt, das zunächst auf Studien mit gasförmigen Stoffen fokussiert war, wie Kohlenstoffdioxid, Ozon oder Ethylacetat. Der Expositionsraum hat ein Volumen von ca. 30 m³, bietet Platz für vier Probanden und wird mit einem zwölffachen Luftwechsel betrieben. Bei der Durchführung von Partikelstudien müssen ähnliche Bedingungen eingehalten werden, was bedeutet, dass der Partikelgenerator bei einer Ziel-

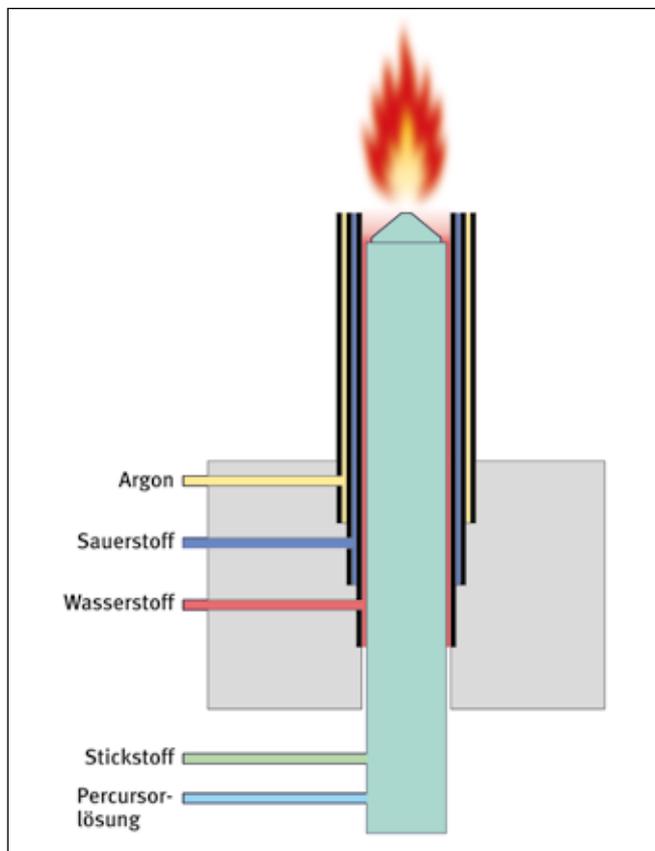


Abb. 1: Schematische Darstellung des Brennerkopfes

konzentration von 2 mg/m^3 Zinkoxid eine Partikelmasse von knapp einem Gramm pro Stunde erzeugen muss. Dies gelingt nicht mit käuflich erwerblichen Funkengeneratoren, da die erzeugten Partikelmassen zu niedrig sind. Zusätzlich muss gewährleistet werden, dass die Synthese langzeitstabil, reproduzierbar und frei von störenden Begleitstoffen ist. Die erarbeitete Lösung dieser Problemzonen wird nachfolgend dargestellt.

Kernelement des Flammengenerators ist der Brennerkopf, der aus drei ineinander gesteckten Edelstahlröhren besteht. Im Inneren befindet sich eine Zweistoffdüse, deren Ausgang bündig mit den Röhren abschließt (Abbildung 1). Die Düse erzeugt einen feinen Nebel aus der wässrigen Metallsalzlösung, der direkt in den Flammenkegel geleitet wird. Dort wird er durch die hohen Temperaturen pyrolysiert, und die gewünschten Nanopartikel werden freigesetzt. Durch geeignete Wahl der verschiedenen Rohrdurchmesser wurden drei Ringspalte geschaffen. Durch den inneren Spalt gelangt Wasserstoff, im mittleren wird Sauerstoff eingeleitet, während der äußere Ringspalt für Argon als Schutzgas vorgesehen ist. Diese Art der Abschirmung des Flammenkegels gegenüber Raumluft minimiert die Emission von Stickoxiden. Alle Betriebsgase werden beim Einleiten in die Ringspalte in Rotation versetzt, was zur Stabilisierung des Flammenkegels und damit zu reproduzierbaren Pyrolyseergebnissen führt. Das zweckmäßigste Zerstäubermedium für die wässrigen Precursorlösungen ist Stickstoff.

Flammengenerator als tragbare Komplettseinheit

Die Metallsalzlösung, in diesem Fall Zinkforminat, wird mit Hilfe einer Dosierpumpe in die Düse eingebracht. Die Gasströme werden durch computergesteuerte Massenflussregler eingestellt. Die Brenngase werden per Brennersteuerung elektrisch gezündet und permanent mit einer UV-Kamera überwacht. Wird eine Störung erkannt, schaltet die Steuerung alle Gase automatisch und ausfallsicher ab. Eine zusätzlich installierte Flammensperre in der Wasserstoffzufuhr verhindert ein Zurückschlagen gefährlicher Brenngase. Alle Komponenten sind in einem 19-Zoll-Tischgehäuse untergebracht, so dass der Flammengenerator als Komplettseinheit leicht umgesetzt werden kann und nicht ortsgebunden ist.

Eine Validierung des Systems wurde durch zwei verschiedene Ansätze erreicht. Die Charakterisierung der generierten Zinkoxid-Partikel wurde am NanoTestcenter des Instituts für Gefahrstoffforschung (IGF) in Dortmund durchgeführt, an dem bereits verschiedene Studien zur Vergleichbarkeit von Partikelmesssystemen erfolgreich durchgeführt wurden. Der Teststand bestand aus einer 20 Meter langen und im Durchmesser 0,5 Meter messenden Stahlröhre. An einem Ende wurde der Flammengenerator aufgebaut. Das andere Ende mündete in einer Messkammer, in der ein Partikelmessgerät (SMPS, Model 3080; CPC, Model 3010, TSI Inc., USA) untergebracht war. Ein Ventilator saugte die Verdünnungsluft durch die Stahlröhre und die Messkammer mit einstellbaren Luftgeschwindigkeiten. Dort wurden Partikelgrößenverteilungen, zeitliche Dosierkonstanz und die Morphologie der Zinkoxid-Partikel unter verschiedenen experimentellen Bedingungen bestimmt. In einem zweiten Ansatz wurde das Verhalten der Partikel im ExpoLab des IPA im Hinblick auf homogene Verteilung, erreichbare Höhe und zeitlicher Dosierkonstanz der luftgetragenen Masse, der Bildung möglicher Spurengase und die elementare Zusammensetzung der Partikel untersucht.

Optimierung des Pyrolyseprozesses

Bei den Untersuchungen im NanoTestcenter des IGF wurden verschiedene experimentelle Bedingungen variiert, um den Pyrolyseprozess zu optimieren und nachzuvollziehen. Die Optimierung des Pyrolyseprozesses umfasste die Untersuchungen verschiedener Einstellbedingungen der Brenngase, des Schutzgases, des Zerstäuberdruckes, der Precursorlösungen, sowie den Einfluss verschiedener Salzkonzentrationen und Flussgeschwindigkeiten. Der zugrunde liegende Pyrolyseprozess ergab, dass im Flammenkegel zunächst sehr kleine Primärpartikel freigesetzt werden, die rund zehn Nanometer groß waren und kugelförmig aussahen. Durch physikalische Prozesse entstanden Aggregate und Agglomerate, die je nach Verweildauer der Primärpartikel (gleichbedeutend mit dem eingestellten Volumenstrom der Anlage) unterschiedlich groß aufwuchsen und monomodal waren. Während des Aufwachsens nahm die Partikelanzahl ab (Abbildung 2). Gesammelte und vom Institut für Energie- und Umwelttechnik (IUTA e.V.) in Duisburg angefertigte elektronenmikroskopische Aufnahmen der Agglomerate zeigten ein voluminöses, schneeflockenartiges Aussehen. Wird der Volumenstrom sehr hoch eingestellt, war die Primärpartikelverdün-

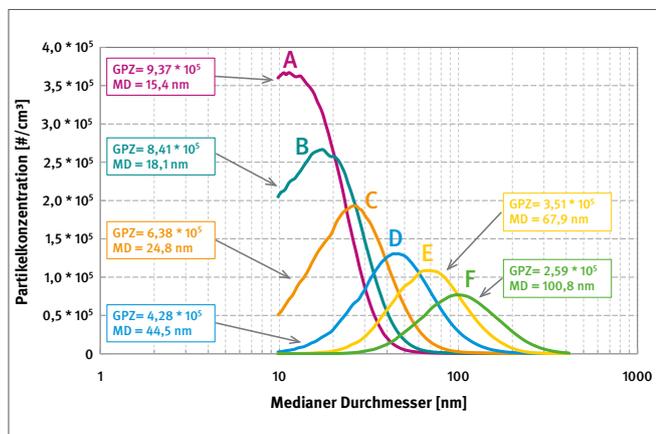


Abb. 2: Abhängigkeit der Partikelgröße vom Volumenstrom. Von A bis F wurde der Volumenstrom verkleinert.

nung derart stark und die Verweildauer sehr gering, so dass keine Aggregate und Agglomerate entstehen konnten.

Nach der erfolgreichen Durchführung der Untersuchungen im NanoTestcenter des IGF wurde der Flammgenerator in das Lüftungssystem des Expositionslabor (ExpoLab) im IPA integriert. Hierzu musste zusätzlich ein Kühlregister eingebaut werden, um die Abwärme der Wasserstoffflamme abzufangen. Negative Einflüsse des Kühlregisters, etwa starke Beeinflussung der Partikelgröße oder starkes Abscheideverhalten der generierten Partikel, konnten zuvor durch entsprechende Vorversuche am IGF ausgeschlossen werden. Durch die exakte Kenntnis des eingestellten Volumenstroms ließ sich die benötigte Zinkforminat-Menge vorausberechnen, um eine luftgetragene Masse von 2 mg/m^3 Zinkoxid zu dosieren. Messungen mit einem Schwebstaubmessgerät (TEOM, Rupprecht und Patashnik, Modell 1400a) konnte die nahezu 100-prozentige Pyrolyseeffizienz bestätigen. Weitere Untersuchungen wie Elementaranalytik und Infrarot-Spektroskopie zeigten ebenfalls die hohe Effizienz des Prozesses. Der kontinuierliche Luftaustausch (ca. zwölfmal pro Stunde) und die reproduzierbare Synthesemethode von Zinkoxid ergaben eine sehr gute Langzeitstabilität im Hinblick auf die luftgetragene Masse.

Obwohl im ExpoLab durch die kontinuierliche Be- und Entlüftung die Masse sehr homogen verteilt werden konnte, fluktuieren die medianen Durchmesser der Zinkoxid-Partikel relativ stark in Abhängigkeit der gewählten Standorte der Partikelgrößenbestimmungen im Labor. Erst mit dem Einsatz eines zusätzlichen Ventilatorsystems im ExpoLab reduzierte sich die Fluktuation auf ein Minimum und ergab nun einen medianen Durchmesser von 60 nm. Im Labor existierten demnach verschiedene Zonen mit unterschiedlichen Luftgeschwindigkeiten. Dementsprechend variierte die Aufenthaltsdauer der Partikel, so dass sich unterschiedlich große Agglomerate bildeten. Durch den Einsatz des Ventilatorsystems wurde die Luftgeschwindigkeit an jeder Stelle im Labor vereinheitlicht und damit auch die Vereinheitlichung der Partikeldurchmesser erreicht.

Generieren von weiteren Nanomaterialien

Umfangreiche Untersuchungen in Zusammenarbeit mit dem Institut für Arbeitsschutz (IFA) in Sankt Augustin im Hinblick auf die Bildung möglicher Spurengase ergaben den Nachweis von Stickstoffmonoxid, -dioxid, Essigsäure und Ameisensäure, deren Konzentrationen aber jeweils weit unter den in der MAK-Liste geführten Grenzwerten lagen. Die theoretisch mögliche Bildung von Ozon, Wasserstoffperoxid, Kohlenstoffmonoxid und weiteren flüchtigen organischen Verbindungen konnte nicht nachgewiesen werden. Werden dem Flammgenerator andere Metallsalzlösungen zugeführt, können andere Nanomaterialien generiert werden. Weitere Versuche ergaben, dass Titandioxid-, Eisenoxid-, Natriumchlorid- und Palladiumnanopartikel ebenfalls darstellbar sind.

Der entwickelte Nanopartikelgenerator stellt somit eine hervorragende Basis für die Untersuchung von gesundheitlichen Effekten dar, die durch Zinkoxid-Partikelexpositionen ausgelöst werden können.

Damit ist im ExpoLab eine Basis für Partikeluntersuchungen gelegt, was die Möglichkeit eröffnet, nicht nur Studien mit anderen Partikelexpositionen, sondern auch mit Koexpositionen gasförmiger und partikulärer Stoffen durchzuführen.

Die Autoren:

Prof. Dr. Thomas Brüning, Prof. Dr. Jürgen Bünger
Prof. Dr. Rolf Merget, Dr. Christian Monsé

IPA

Karl-Ernst Buchwald, Dr. Norbert Lichtenstein
IFA

Dr. Dirk Dahmann, Christian Monz
IGF

Dr. Christof Asbach,
Dr. Burkhard Stahlmecke

Institut für Energie- und Umwelttechnik (IUTA)

Beitrag als PDF



Literatur

Weiterführende Literatur finden Sie im Originalmanuskript. Bei Interesse lassen wir Ihnen gerne zusätzliche Informationen zukommen.

Christian Monsé, Christian Monz, Dirk Dahmann, Christof Asbach, Burkhard Stahlmecke, Norbert Lichtenstein, Karl-Ernst Buchwald, Rolf Merget, Jürgen Bünger, Thomas Brüning. Development and evaluation of a nanoparticle generator for human inhalation studies with airborne zinc oxide. 2014. Aerosol Sci. Technol. DOI 10.1080/02786826.2014.883064