



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
ENERGETICKÝ ÚSTAV

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
ENERGY INSTITUTE

DEPOZICE PRACHOVÝCH ČÁSTIC Z OVZDUŠÍ

DEPOSITION OF ENVIRONMENTAL DUST PARTICLES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. MILOSLAV BĚLKA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. JAN JEDELSKÝ, Ph.D.

BRNO 2012

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Energetický ústav

Akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

student(ka): Bc. Miloslav Bělka

který/která studuje v **magisterském navazujícím studijním programu**

obor: **Technika prostředí (2301T024)**

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

Depozice prachových částic z ovzduší

v anglickém jazyce:

Deposition of environmental dust particles

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Prachové částice v ovzduší představují trvalý problém a zdravotní rizika jak v běžném životě, tak v některých profesích. Jejich vdechování a další transport do plic závisí na velikosti částic i dalších aspektech. Práce je věnována experimentálnímu studiu usazování částic v modelu dýchacího traktu.

Cíle diplomové práce:

Popis používaných metod měření depozice částic se zaměřením na částice mikronové velikosti. Rozbor zvolené metody a její aplikace. Příprava a realizace experimentu s usazováním částic v zadaném modelu, zpracování naměřených dat, vyhodnocení depoziční frakce, účinnosti. Analýza výsledků podle zvolených parametrů. Grafická/tabulková prezentace výsledků.

Seznam odborné literatury:

- [1] Hinds, William C. (1999). Aerosol Technology: Properties, Behavior, And Measurement Of Airborne Particles, Wiley-interscience, , 504 p.
- [2] Baron, Paul A.; Willeke, Klaus (2001). Aerosol Measurement - Principles, Techniques, and Applications (2nd Edition). John Wiley & Sons.
- [3] články z vědeckých časopisů

Vedoucí diplomové práce: Ing. Jan Jedelský, Ph.D.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2011/2012.

V Brně, dne 20.5.2011

L.S.

doc. Ing. Zdeněk Skála, CSc.
Ředitel ústavu

prof. RNDr. Miroslav Doupovec, CSc., dr. h. c.
Děkan fakulty

Abstrakt

Těžiště práce je ve vyhodnocení depozice vláknových aerosolů v dýchacím traktu člověka. Vlákna mají schopnost pronikat hlouběji do plic a způsobovat vážné zdravotní problémy. Součástí práce je i rozdělení aerosolů, základy anatomie plic a rešerše metod pro měření depozice se zaměřením na částice mikronové velikosti. Dále byl proveden experiment s usazováním vláknitého aerosolu v silikonovém modelu plic a vyhodnocení depoziční frakce a účinnosti. K vyhodnocení depozice byla použita nová metoda, která pracuje na principu zpracování obrazů z fázově-kontrastní mikroskopie. Výsledky nové metody byly porovnány s manuální metodou postupující podle metodiky NIOSH 7400.

Klíčová slova

aerosol, depozice, plíce, vlákna, depoziční frakce, depoziční účinnost, zpracování obrazu, fázově-kontrastní mikroskopie

Abstract

This work is aimed at deposition of fibers, which are able to penetrate deeper in the human respiratory airways and cause health hazards. Opening chapters are dedicated to classification of aerosols, human lung anatomy basics and methods for measurement of micrometer-sized aerosols. An experiment was carried out to investigate the deposition of fibers. Fibers were delivered into the silicon cast of the human airways and data of deposition fraction and efficiency were acquired. A new method was established to acquire the data. This method works on a principle of image analysis. Results of the new method were compared with a standard method, which follows a methodology NIOSH 7400.

Key words

aerosol, deposition, human lungs, fibers, deposition fraction and efficiency, image analysis, phase-contrast microscopy

Bibliografická citace:

BĚLKA, M. *Depozice prachových částic z ovzduší*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2012. 64 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Jan Jedelský, Ph.D..

Prohlášení

„Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma Depozice vzduchu z ovzduší jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této diplomové práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: **24. května 2011**

.....

Poděkování

Děkuji za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé diplomové práce vedoucím diplomové práce Ing. Janu Jedelskému, Ph.D. a Ing. Františku Lízalovi.

V Brně dne 24. května 2012

.....
podpis autora

Obsah

1	Úvod.....	10
2	Aerosol.....	11
3	Fyziologie plic	14
4	Depozice částic	16
5	Metody měření aerosolů	18
5.1	Gravimetrická metoda	18
5.2	Mikroskopické metody	18
5.3	Chemické metody	20
6	Praktická část	25
6.1	Příprava vzorků.....	25
6.2	Automatizace manuální analýzy.....	26
6.2.1	Manuální analýza	27
6.2.2	Automatická analýza	31
6.3	Vyhodnocení experimentu.....	40
6.4	Výsledky.....	48
7	Závěr.....	51
8	Seznam zdrojů.....	52
9	Seznam použitých značek a symbolů.....	54
10	Přílohy	56

1 Úvod

Kvalita vzduchu je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících pohodu prostředí. Kvalita vzduchu však není důležitá jen pro dobrý subjektivní pocit člověka, ale také ze zdravotního hlediska. Jedním z důvodů neustále se zvyšujícího počtu plicních onemocnění může být právě vdechování aerosolů a pobyt člověka ve znečištěném prostředí. Ke zlepšení léčby těchto onemocnění je nutné pochopení transportu částic do plic a jejich následné uložení. Nedostatek informací je hlavně v oblasti šíření vláknitých aerosolů v plicích. Ty mají schopnost pronikat hlouběji do plic a zvyšovat riziko rakoviny plic atd. Dříve byla tato rizika přisuzována hlavně azbestovým materiálům, jejichž používání je v dnešní době regulováno zákonem. Nejnovější studie však ukazují, že podobně nebezpečné jako azbest mohou být i uměle vyráběná vlákna jako třeba vlákna skelná, uhlíková aj. Poznatky ohledně šíření aerosolů v dýchacím traktu se dají dále uplatnit také v oblasti inhalační léčby, která se jeví jako velice perspektivní. Léčba onemocnění vdechováním terapeutických aerosolů nezatěžuje trávicí systém jako běžné léky a oproti podávání léků formou injekcí je příjemnější. Navíc plocha plicních sklípků, na kterých dochází ke kontaktu vdechovaného aerosolu s krevním oběhem, je obrovská, a tudíž náběh léku je velmi rychlý. Oblast inhalační léčby je však neustále ve vývoji a její vrchol se teprve očekává.

2 Aerosoly

Aerosol je heterogenní směs kapalných nebo pevných částic v plynném médiu (v našem případě vzduchu), v němž jsou schopny se vznášet dostatečně dlouho vzhledem k době sledování, např. kouř vznikající při spalování nebo prach. Termín aerosol vznikl jako ekvivalent k termínu hydrosol, který odkazuje na heterogenní směs částic v kapalině. Aerosol je 2-složková směs, jejíž vlastnosti z velké části závisí na velikosti částic a jejich koncentraci v plynu. Na těchto parametrech závisí také stabilita dané směsi. Částice hrají stěžejní roli v tom, jak se bude výsledný aerosol chovat. Studium aerosolů se tedy zabývá jednotlivými částicemi. Řeší se, jaké síly na ně působí, jaký je jejich pohyb a interakce s plynným médiem, ve kterém jsou obsaženy.

Aerosoly mohou být rozděleny podle fyzikálních vlastností částic a podle zdroje těchto částic. Toto rozdělení se nemusí striktně dodržovat, ale všeobecně se používá. [Baron and Willeke (2005)], [Hinds (1999)]

Bioaerosol má biologický původ. Může obsahovat viry, pily, bakterie, plísňové spory a jiné.

Oblak je aerosol s vysokou hustotou částic, který má viditelné hranice. Aerosol se dá považovat za oblak, jestliže je jeho hustota o 1 % větší než hustota čistého plynu.

Prach obsahuje pevné částice, které vznikly erozí nebo mechanickým rozrušováním původního materiálu. Obvykle se skládá s částic o nepravidelném tvaru a větších než 0,5 μm .

Mlha je kapalným aerosol, který vznikl kondenzací přesycených par.

Kouř [Fume] obsahuje pevné částice, které se vytvořily kondenzací plynných produktů spalování nebo jiných vysokoteplotních procesů. Částice často tvoří řetězce a aglomeráty.

Opar je aerosol snižující viditelnost.

Kouř [Smoke] je aerosol s pevnými nebo kapalnými částicemi, které vznikly při nedokonalém spalování nebo kondenzaci přesycených par. Tyto částice mají velikost menší než 1 μm .

Smog značí aerosol obsahující pevné nebo kapalně částice, jež jsou produkty fotochemických reakcí UV záření s uhlovodíky a oxidy dusíku. Termín smog je kombinací slov „smoke“ a „fog“ a často se používá pro označení všech znečišťujících látek včetně plynných složek.

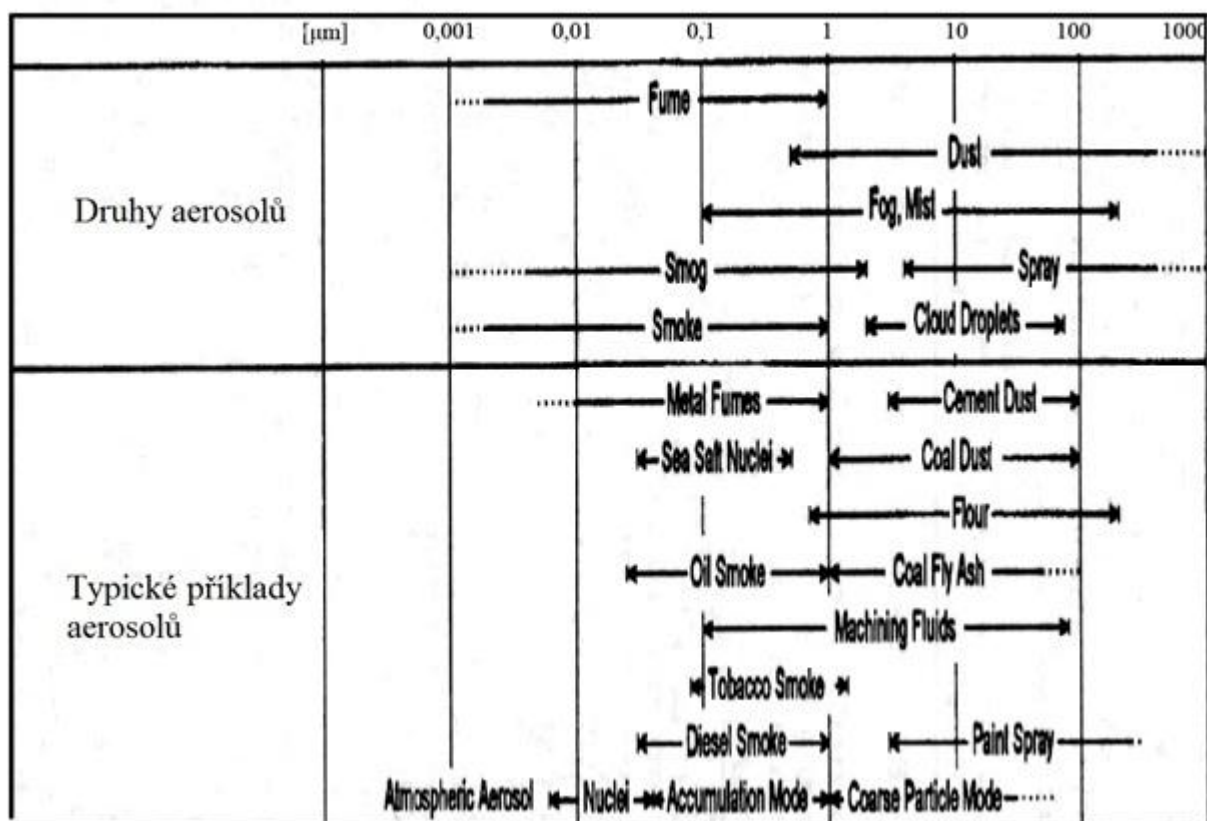
Sprej je aerosol vzniklý mechanickým nebo elektrostatickým rozpadem kapaliny.

Podle velikosti částic v plynném médiu se můžou aerosoly dělit na monodisperzní a polydisperzní. **Monodisperzní** aerosol obsahuje částice o stejné velikosti. Takové aerosoly se objevují pouze v laboratořích a slouží např. k pochopení vlivu různých velikostí částic na chování aerosolu. Přirozeně se vyskytující aerosoly jsou **polydisperzní**.

Dle vzniku se aerosoly mohou rozdělit na primární a sekundární. **Primární** aerosol je ten, jehož částice vznikají přímo ve zdroji a uvolňují se do vzduchu. Částice **sekundárního** aerosolu vznikají ve vzduchu chemickou reakcí plynných složek.

Velikost částic je nejdůležitější parametr, který ovlivňuje chování částic aerosolu. Částice různých velikostí se mohou nejen odlišně chovat, ale mohou se řídit různými fyzikálními zákony. Například menší částice se řídí při transportu Brownovým pohybem, zatímco větší

jsou ovlivňovány především setrvačnými a gravitačními silami. Obecně se velikost částic pohybuje v rozmezí od 0,001 do 1000 μm . Některé příklady jsou uvedeny na obrázku 1. V této tabulce je velikost vztahována k průměru částic.



Obrázek 1 Rozdělení aerosolů podle velikosti [Hinds (1999)]

Kapalné částice jsou ve většině případů sférické a jejich velikost vyjadřuje poloměr, respektive průměr. Naproti tomu pevné částice mají složitější tvar a jejich velikost nelze jednoduše definovat. Z tohoto důvodu se zavádí ekvivalentní průměr. Ekvivalentní průměr je průměr kulové částice, která má stejnou hodnotu fyzikální vlastnosti jako sledovaná částice.

Důležité ekvivalentní průměry:

Aerodynamický ekvivalentní průměr [d_a] je průměr kulové částice o hustotě 1000 kg/m^3 , která se usazuje stejně rychle jako sledovaná částice

Ekvivalentní průměr **pohyblivosti** [d_b] je průměr kulové částice, která má stejnou pohyblivost jako sledovaná částice

Hmotnostní ekvivalentní průměr je průměr kulové částice, která má stejnou hmotnost jako příslušná částice

Objemový ekvivalentní průměr [d_{ve}] je průměr kulové částice, která má stejný objem jako sledovaná částice.

Při studiu aerosolů a jejich usazování se často využívají ještě další veličiny, např.:

Stokesův průměr je průměr kulové částice stejné hustoty a rychlosti usazování jako sledovaná částice.

Stokesovo číslo je poměr brzdné dráhy k charakteristickému rozměru překážky.

Tvarový faktor je poměr odporové síly působící na sledovanou částici k odporové síle působící na kulovou částici o stejném objemu a stejné rychlosti.

Většina částic ve volné přírodě tedy není kulového, ale složitějšího tvaru. Podle [Reist (1993)] se dle tvaru dají částice aerosolů rozdělit do 3 skupin:

Izometrické částice, pro které platí, že mají ve všech třech osách přibližně stejnou velikost. Patří sem kulové, polyhedrální a jim podobné částice. O chování těchto částic se toho ví nejvíc, ale v praxi se takové částice zpravidla nevyskytují. Ačkoliv dají se vytvořit laboratorně.

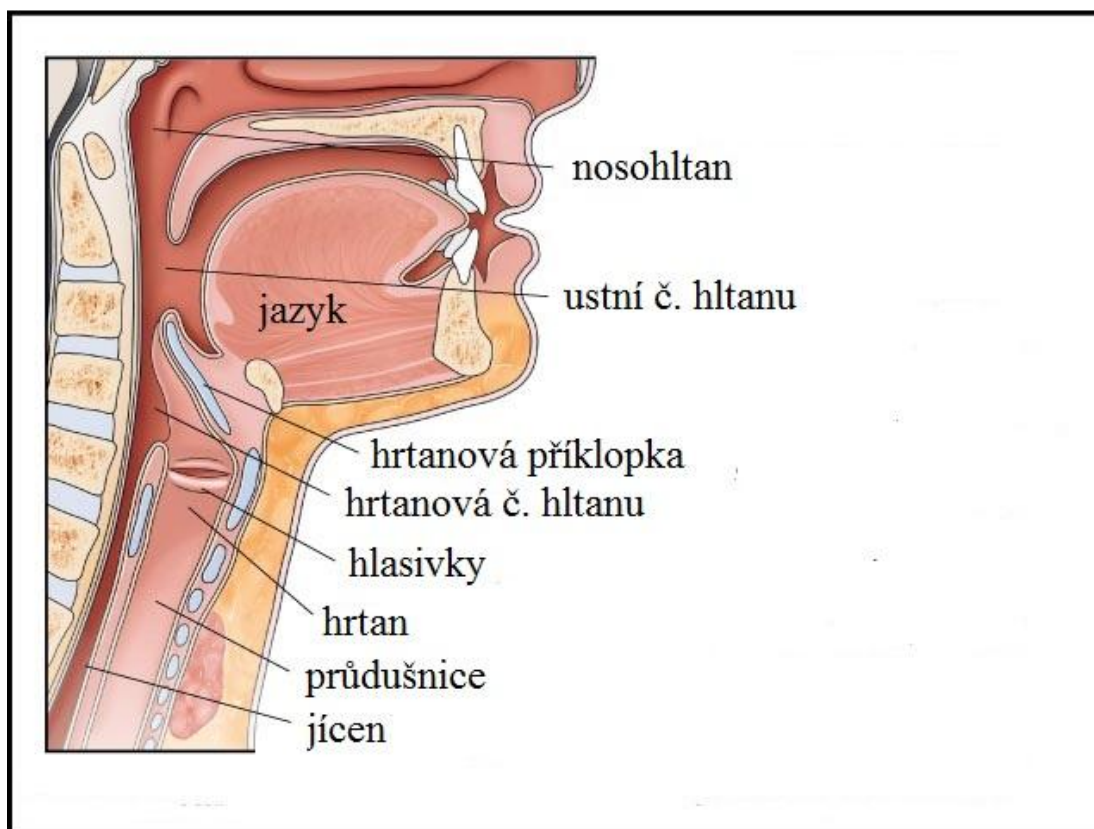
Destičkovité částice jsou takové, které mají velkou délku a šířku, ale rozměr ve třetí ose (tloušťka) je malý. Sem patří částice tvarově podobné listům, diskům aj. O chování těchto částic ve vzduchu se toho zatím moc neví.

Vláknité částice jsou třetí skupinou. Jsou dlouhé, ale jejich šířka i tloušťka je malá. Řadí se sem částice tvarově podobné hranolům, jehlám a vlákna samotná. V praxi jde o asbestová vlákna, minerální vlákna atd.

3 Fyziologie plic

Šíření aerosolu a jeho usazování v dýchacím traktu člověka je na jedné straně ovlivňováno vlastnostmi aerosolu, na druhé straně také závisí na anatomii a fyziologii dýchacího traktu samotného. Pro pochopení principů je tedy nutné mít alespoň základní znalosti z této oblasti.

Primární funkcí dýchací soustavy je přísun kyslíku do těla a odvod oxidu uhličitého. Mezi další funkce patří obrana před cizorodými látkami a organismy, které mohou ve vzduchu vstupovat do těla aj. Dýchací cesty se dělí na horní (obrázek 2) a dolní. Z hlediska funkce se

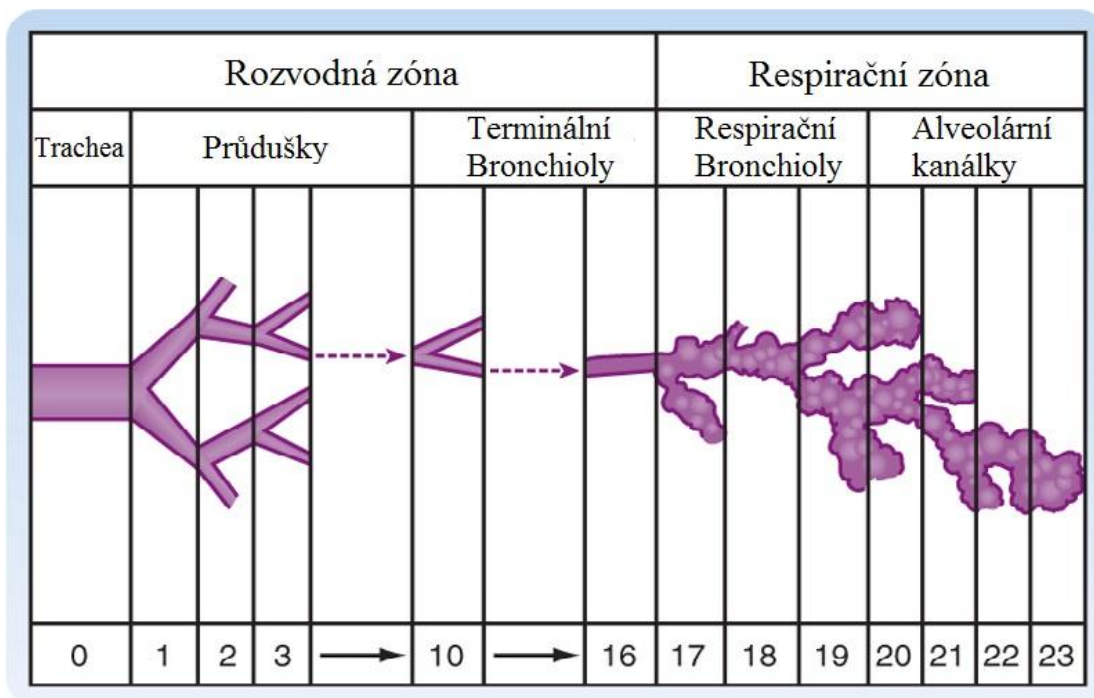


Obrázek 2 Horní cesty dýchací [Clarke (c 2012)]

rozdělují na respirační a rozvodnou zónu. V respirační zóně dochází k výměně plynů mezi vzduchem a krví. Rozvodná zóna slouží k transportu vzduchu do respirační oblasti. Další funkcí rozvodné zóny je ohřev vzduchu na tělesnou teplotu, jeho zvlhčení a filtrace nežádoucích částic.

Vzduch vstupuje do těla ústní nebo nosní dutinou (cavum oris, cavum nasi). V nosní dutině probíhá prvotní filtrace vzduchu. Částice se zachytávají buď na nosních chloupkách (částice větší 10 μm) nebo v hlenu, který pokrývá stěny nosní dutiny. Hlen s částicemi je pomocí pohybu řasinkových buněk pozvolna odváděn do hltanu (pharynx), kde je polykán. Z nosní dutiny vzduch proudí do hltanu, který se dle funkce rozlišuje na nosohltan (nasopharynx), ústní (oropharynx) a hrtanovou část (laryngopharynx). Zde je místo, kterým rozdělujeme dýchací cesty na horní a dolní. První částí dolních cest je hrtan (larynx). Jeho funkcí je tvorba hlasu, transport vzduchu a zamezení přístupu potravy do plic. K tomu účelu slouží hrtanová příklopka (epiglottis), která se uzavírá během polykání. Z hrtanu pokračuje vzduch do průdušnice (trachea), která se dále dělí na dvě průdušky pro levou a pravou plíci (primární bronchy). Oblast rozdělení se nazývá bifurkace a vrcholek mezi dceřinými větvemi carina. Pravá průduška je širší a má menší odklon od průdušnice, takže je zde větší průtok a většina vzduchu s částicemi se bude pohybovat do pravé plíce. Pravá plíce je obecně větší, což je

způsobeno polohou srdce. Hlavní průdušky se dále větví na průdušky pro jednotlivé laloky (sekundární bronchy) a ty se pak člení na segmentární průdušky (terciální). Jednotlivých členění (generací) je asi 23 [Weibel (1963)], přičemž průdušnice se bere jako nultá generace.



Obrázek 3 Rozdělení dýchacích cest podle Weibela [Berne et al. (2008)]

S každou další generací se zmenšuje průměr průdušek. Pokud je průměr menší než 1 mm, nazývají se průdušinky (bronchioly). Nejmenší průdušinky se označují jako konečné (terminální), jejich průměr je menší než 0,5 mm a oddělují respirační a rozvodnou zónu dýchacího systému. Stěny trubic v respirační zóně (průdušnice až terminální bronchioly) jsou pokryty epitelem s řasinkami, kde se tvoří hlen, na němž se zachycují částice. Tento hlen, stejně jako v nosní dutině, je pohybem řasinek přesunován zpět směrem k hltanu, kde je spolykán. Vrstva epitelu se postupně zmenšuje, v nejmenších průdušinkách se nevyskytuje ani hlen, ani řasinky. Respirační zóna začíná respiračními bronchioly, ve kterých jsou již dutiny (plicní sklípky=alveoly) pro výměnu plynů. Respirační bronchioly se větví do alveolárních kanálků, které ústí do alveolárních váčků. Alveolární váčky jsou poslední, 23. generací, a jsou posety plicními sklípků. Počet sklípků v plicích je okolo 300 milionů a jejich celková plocha je asi 80 m². Po jejich stěnách se pohybují imunitní buňky (makrofágy), které požírají cizorodé částice, které se neusadily v předchozích částech plic. Makrofágy naplněné částicemi se pohybují po stěnách plic vzhůru a poté jsou unášeny řasinkami spolu s hlenem do hltanu.

Na plicní tkáň naléhá membrána, která se nazývá poplicnice. Hrudní dutinu vystýlá jiná membrána, pohrudnice. Mezi těmito membránami je tzv. pleurální dutina, která je vyplněna tenkou vrstvou pohrudniční tekutiny za účelem snížení tření mezi plicemi a hrudní stěnou. Spodní plocha plic dosedá na horní plochu bránice. Při nádechu jsou plíce pomocí svalů (bránice a mezižeberní svaly) roztaženy, vznikne v nich podtlak a dovnitř proudí vzduch. Výdech je pasivním procesem. Svaly se uvolní a ochabnou, což má za následek pokles objemu hrudníku i plic, v nichž vzroste tlak a vzduch proudí ven. [Marieb and Mallatt (2005)], [Finlay (2001)], [Berne (2004)]

4 Depozice částic

Při pobytu člověka nejen ve znečištěném prostředí, ale v dnešní době téměř na jakémkoliv místě může dojít ke vdechnutí různorodých částic spolu se vzduchem. Kdyby na částice nepůsobily žádné vnější síly a částice by byly unášeny pouze proudem vzduchu, nedocházelo by při průchodu dýchacím traktem k téměř žádnému jejich úbytku a dorazily by až do plicních sklípků. Na částice však působí mechanické nebo elektrické síly a tím mění jejich trajektorie od proudnic plynných molekul. Při změně směru částic tak může dojít k jejich kontaktu se stěnami plic a následnému zachycení částice. Míra usazování částic v dýchacím traktu může být ovlivněna více faktory:

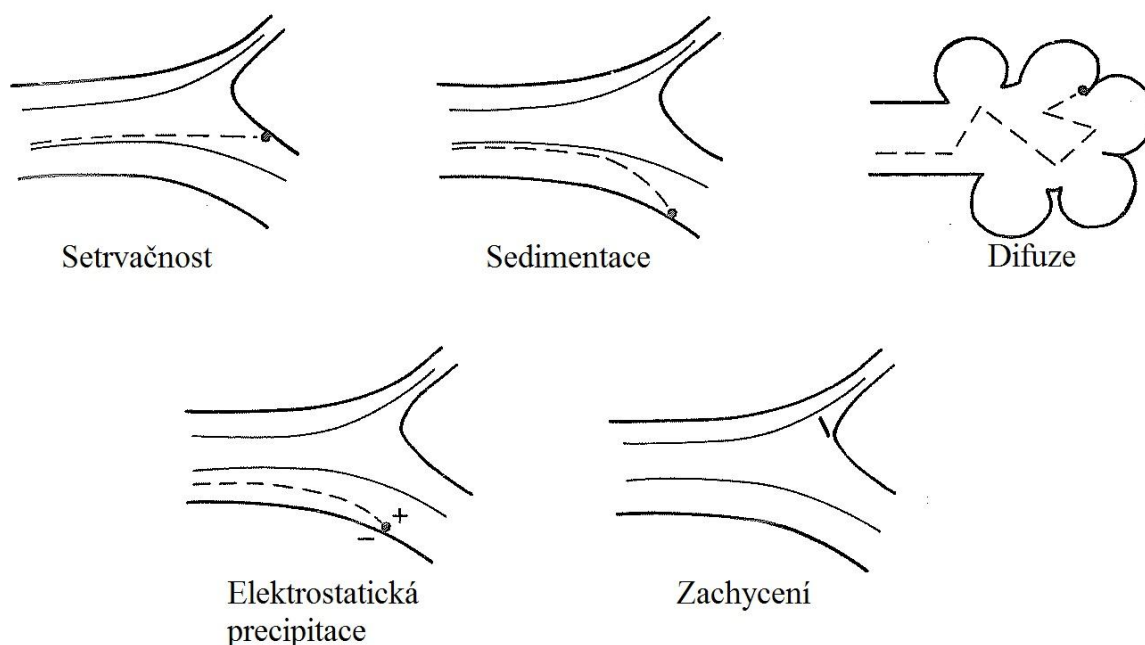
fyzikální a chemické vlastnosti částic

dýchací režim a morfologie plic

způsob dýchání (nosem, nebo ústy)

Rozložení částic ve vzduchu (na začátku nebo na konci vdechnutí, aj.)

S ohledem na působení sil na částice aerosolu se rozeznává 5 depozičních mechanismů (obrázek 4). Dominantními mechanismy jsou difuze, sedimentace a setrvačnost (tabulka 1). Ve speciálních případech může jít o elektrostatickou precipitaci a zachycení.



Obrázek 4 *Depoziční mechanismy* [Murray et al. (2001)]

Difuze převládá u částic menších než $0,5 \mu\text{m}$. Jedná se o princip Brownova pohybu, kdy se částice srážejí s molekulami plynu a dochází k náhodné změně jejich polohy. Vliv tohoto mechanismu roste se snižující se rychlostí dýchání a klesající velikostí částic, avšak nemění se v závislosti na hustotě. Dle [Murray, Nadel, Mason and Boushey (2001)] se částice o průměru $0,1 \mu\text{m}$, respektive $0,01 \mu\text{m}$ Brownovým pohybem přemístí za 1 sekundu o $29 \mu\text{m}$, respektive $260 \mu\text{m}$. Pro porovnání, geometrický průměr alveolů je 200 až $300 \mu\text{m}$. Z tohoto lze odvodit, proč je usazování v alveolární části plic u miniaturních částic dominantní.

S rostoucí velikostí částic se snižuje účinek difuze a na částice začíná mít vliv gravitace a setrvačnost. Mechanismus, kdy se částice pod vlivem gravitační síly usazují na stěnách plic, je nazýván **sedimentace**. Míra sedimentace je nepřímo úměrná rychlosti, přímo úměrná velikosti částic a jejich hustotě. Projevuje se především v bronchiolích a alveolární oblasti.

Setrvačnost se projevuje především v horních částech plic. Hmotnější částice nedokážou sledovat rychle se měnící směr a rychlost proudění a pod účinkem setrvačných sil dochází k jejich depozici především v oblastech větvení. Účinek tohoto mechanismu roste s rychlostí částic, jejich velikostí a hustotou.

Tabulka 1 *Shrnutí depozičních mechanismů*

Mechanismus	Velikost částic	Hustota částic	Dechová frekvence	Hloubka nádechu
Difuze	Nepřímo úměrné	Nezávisí	Roste při nižších frekvencích	Nezávisí
Sedimentace	Přímo úměrné	Přímo úměrné	Roste při nižších frekvencích	Nezávisí
setrvačnost	Přímo úměrné	Přímo úměrné	Nezávisí	Roste s rychlostí

Elektrostatická precipitace se projevuje u nabitých částic aerosolů. Mezi částicí a stěnou plic vznikne opačný náboj a částice je přitažena ke stěně. Tento mechanismus má vliv na částice o menším průměru než 4 μm , u větších částic je zanedbatelný.

Mechanismus **zachycení** je závislý na geometrickém tvaru částic a vyskytuje se především u vláken. Částice se při pohybu plicními kanálky dostane příliš blízko ke stěně a zachytí se na ní.

Více o depozičních mechanismech v [Bisgaard et al. (2002)], [Hickey (2004)], [Murray, Nadel, Mason and Boushey (2001)]

5 Metody měření aerosolů

Měření depozice aerosolů v plicích může být prováděno 3 způsoby [Lízal (2010a)]:

- in vivo (měření na lidských dobrovolnících)
- in vitro (měření v uměle vyrobených modelech)
- in silico (počítačové modelování)

Jelikož měření in vivo je z velké části legislativně omezeno a pro realistické počítačové modelování zatím není dostatečný výkon ve výpočetní technice, zůstává stále nejčastější metodou měření v modelech plic. Jejich výhodou je nízká cena oproti in vivo měření a dobrá opakovatelnost. Při měření aerosolů v plicích se používá stejných principů jako při běžném měření aerosolů.

Jednou z nejčastějších metod přípravy vzorků pro měření aerosolů je filtrace. Při filtraci se oddělují částice aerosolu od plynné fáze, aby mohly být později podrobeny bližšímu zkoumání pomocí analytických metod (gravimetrické, mikroskopické, chemické aj.). V závislosti na zvolené analytické metodě, zkoumaných částicích aerosolu atd. se používají různé filtry, např. membránové. Více se tímto problémem zabývá [Baron and Willeke (2005)].

5.1 Gravimetrická metoda

Gravimetrická metoda funguje na principu vzrůstu hmotnosti filtru poté, co se na něm zachytí částice aerosolu. Požadují se filtry s vysokou účinností a také, aby se jejich hmotnost neměnila se změnou teploty nebo vlhkosti. Na tyto změny jsou méně citlivé teflonové membránové filtry, naopak nedoporučuje se použití membránových filtrů z esterů celulózy. Větší přesnosti měření se dá také dosáhnout, pokud vážení filtrů před a po usazení částic aerosolu probíhá za konstantní teploty a vlhkosti. Dalším problémem u gravimetrické metody bývá vznik elektrostatického náboje, který může mít za následek chyby v usazování částic na filtru a během vážení. Gravimetrická metoda je jednoduchá kvantitativní metoda, pomocí které se dá zjistit koncentrace či množství aerosolu. Neudává však žádné informace o druhu či složení aerosolu. [Chow and Watson (1999)], [Baron and Willeke (2005)]

5.2 Mikroskopické metody

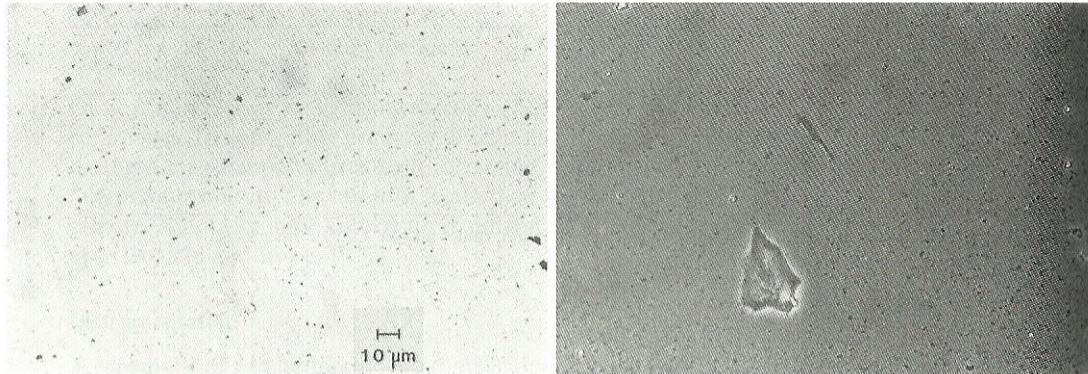
U mikroskopických metod je vzorek usazený na filtru ostřelován proudem částic, což mohou být fotony, elektrony, protony, neutrony nebo ionty. Vzniklé záření po srážce proudu částic se vzorkem je detekováno a pomocí něho se vytvoří obraz vzorku. [Baron and Willeke (2005)], [Baron (2001)]

a) Optická mikroskopie (Light microscopy=LM)

Je jednou z nejzákladnějších mikroanalytických metod. Ze zdroje světla mikroskopu vychází světelný paprsek, který interaguje se vzorkem (může dojít k lomu, rozptylu, difrakci, odrazu aj.). Rozptýlené světlo prochází systémem čoček objektivu, kde dochází k prvnímu zvětšení. Světlo pokračuje přes systém čoček okuláru, kde se dále zvětšuje a výsledný obraz je přinášěn k oku pozorovatele nebo do kamery. Výsledné zvětšení dostaneme vynásobením zvětšení objektivu a okuláru, maximem je zvětšení 1000x.

K pozorování částic mikroskopem je důležitý kontrast mezi pozadím a objektem a také aby objekt alespoň částečně pohlcoval světlo. Pokud kontrast není dostatečný, dá se zvýšit např. využitím **fázového kontrastu** (obrázek 5). Toho se využívá např. u transparentních objektů, které nejsou pouhým okem v mikroskopu viditelné. Při průchodu světla transparentním objektem dojde kvůli rozdílnému indexu lomu objektu a prostředí

k posunu světelné fáze. Tu však lidské oko není schopno zaznamenat. Podstata zařízení pracujícího s fázovým kontrastem (phase contrast microscopy=PCM) spočívá v tom, že mění fázové rozdíly na změny intenzity světla, které už člověk vidí. Objekty s větším indexem lomu se jeví světlejší vůči pozadí (negativní fázový kontrast), respektive tmavší vůči pozadí (pozitivní fázový kontrast). Fázového kontrastu se dosáhne přidáním speciální clony do kondenzoru a fázové destičky do objektivu mikroskopu. Více o fázovém kontrastu v [Ústav experimentální biologie].



Obrázek 5 *Použití fázového kontrastu u transparentních částic*
[Baron and Willeke (2005)]

Optická mikroskopie je nedestruktivní metodou a její použití je poměrně jednoduché. Na druhou stranu výsledný popis částic není příliš detailní. Z pozorování se dají zjistit optické vlastnosti částic (velikost, tvar, barva atd.), ale nedá se určit materiál nebo složení. Na základě zkušenosti obsluhy může být druh částic aerosolu odhadnut. Minimální velikost částic rozlišitelných optickou mikroskopií je 5 až 10 μm . Fázově-kontrastní mikroskopie bývá často využívána k analýze vláken., přičemž detekovaná vlákna musí mít tloušťku minimálně 0,25 μm .

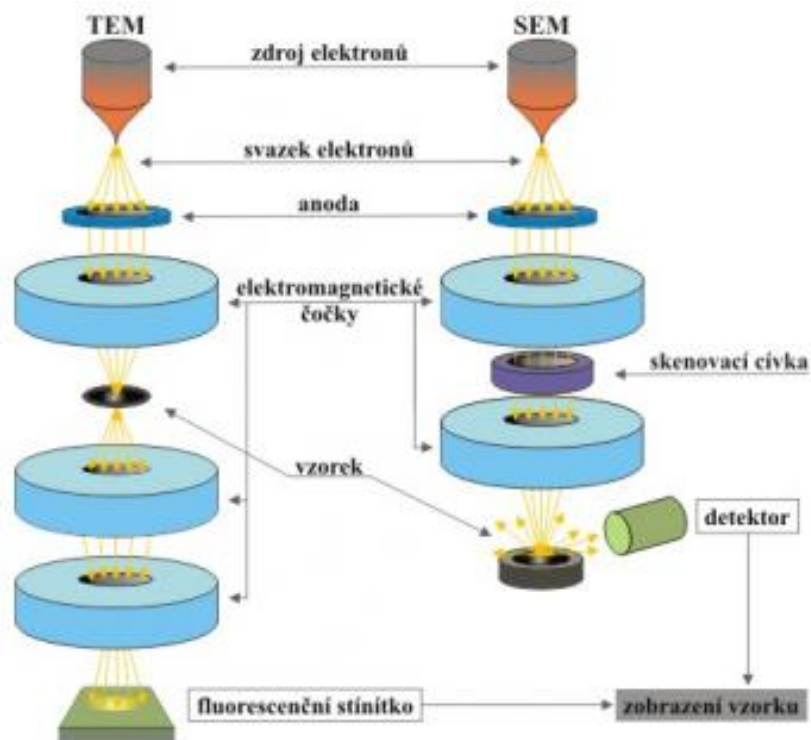
Vzorky s částicemi se připravují podle toho, jestli mikroskop detekuje rozptýlené světlo procházející skrz vzorek nebo odražené světlo. U rozptýleného světla se částice usazují na testovacím sklíčku. U odraženého světla se částice aerosolu mohou zachytit na filtrech. Popřípadě jde filtry různými metodami zprůhlednit nebo rozpustit a sledovat částice aerosolu pomocí rozptýleného světla. Na základě množství částic ve vzorku se potom dá určit koncentrace částic v aerosolu.

b) elektronová mikroskopie

Je podobná optické mikroskopii, ale namísto světla využívá svazek elektronů. Vlnová délka elektronového záření je totiž kratší než u světla, a tudíž se dosahuje vyšší rozlišovací schopnosti. Zdrojem elektronů může být např. žhavené wolframové vlákno. Elektrony uniklé ze zdroje jsou urychlovány elektrickým polem a pomocí elektromagnetických čoček usměrňovány ke vzorku, kde dochází ke srážce. Po interakci elektronů se vzorkem vzniká mnoho signálů (odražené elektrony, prošlé elektrony, rentgenové záření aj.), které se dají detekovat a získat z nich informace o vzorku. Svazek elektronů i vzorek jsou umístěny ve vakuu, aby nedocházelo k reakcím mezi elektrony a vzduchem a tím zkreslení výsledků. Obecně lze elektronové mikroskopy (obrázek 6) rozdělit do 2 kategorií, transmisní elektronové mikroskopy (TEM) a skenovací (řádovací) elektronové mikroskopy (SEM).

TEM detekuje elektrony, které prochází vzorkem, a využívá se k zobrazení vnitřní struktury. K tomu, aby elektrony vzorkem prošly, je nutné vysoké urychlovací napětí 100-

400 keV a také malá tloušťka vzorku (maximálně 0,5 μm). Využití TEM je tedy vhodné u částic s průměrem menším než 0,5 μm . Dokáže zobrazovat vzorek se zvětšením 1000x až 10^6 x a výstupem je záznam vzorku na fotografickém materiálu nebo zachycený CCD kamerou. Nevýhodou této metody jsou vysoké požadavky na obsluhu, náročná příprava vzorků a reprodukce výsledků.



Obrázek 6 Elektronové mikroskopy [Jager and Gartnerova (2008)]

SEM detekuje odražené nebo sekundární elektrony a využívá se k zobrazování povrchů vzorků. Urychlovací napětí elektronů se pohybuje od 1 do 30 keV. Elektronový paprsek se pohybuje po povrchu vzorku, jehož plocha je rozdělena do neviditelného rastru. Povrch vzorku je tak postupně skenován a zobrazován na monitoru. Dosažitelné zvětšení je od 10x do 10^5 x. Vzorky pro SEM by měly být stálé i ve vakuu a nemělo by na nich docházet k nabíjení vlivem dopadajících elektronů. K zamezení růstu náboje na povrchu se zvyšuje povrchová vodivost např. pokrytím povrchu tenkou vrstvou zlata, platiny aj.

Pro komplexnější analýzu vzorků se dají u elektronových mikroskopů využít různá přídavná zařízení využívající principů elektronové difrakce, energické disperzní spektrometrie (EDS) nebo spektroskopie energetické ztráty elektronů (EELS). Elektronová difrakce se dá využít u TEM. Sleduje se ohyb dráhy elektronů, které prolétají vzorkem a podle této změny dráhy se dá určit strukturní mřížka vzorku. Energetická disperzní spektrometrie se používá u SEM i TEM a měří rentgenové záření. Při dopadu elektronů na vzorek je předávána atomům vzorku energie, která je pak odevzdána ve formě záření. Podle energie tohoto záření se dá zjistit prvková skladba vzorku v daném místě.

5.3 Chemické metody

Chemické metody se nejčastěji využívají k měření koncentrací nebo k zjištění chemického složení atmosférických aerosolů. [Baron and Willeke (2005)]

a) iontová chromatografie

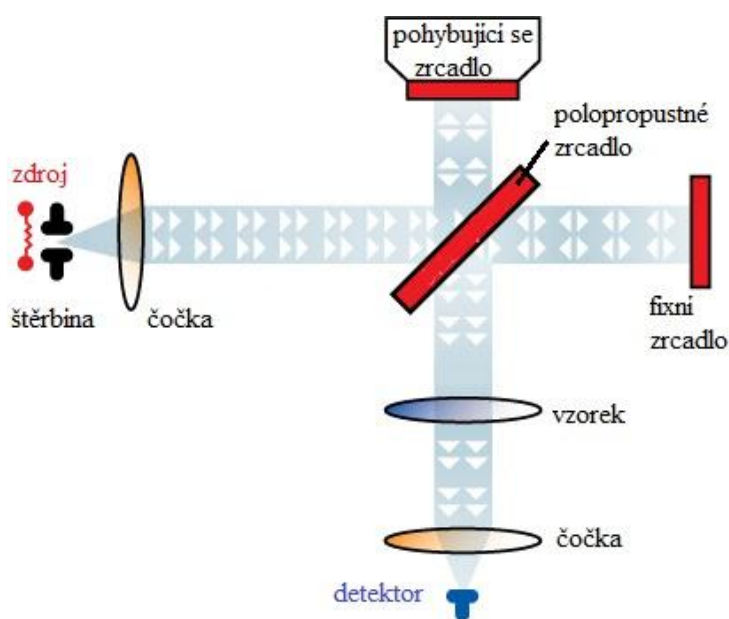
Je kvantitativní metoda, pomocí které se určují koncentrace aniontů a kationtů ve vodném roztoku. Filtr s usazeným aerosolem se nejprve umístí do ultrazvukové čističky, kde dojde k uvolnění částic do vodného roztoku. Je vhodné používat hydrofilní filtry, hydrofobní filtry se před extrakcí musí ošetřit etanolem. Vodný roztok (analyt) se poté umístí do chromatografu. Ionťová chromatografie pracuje na principu ionťové interakce mezi ionty analytu a ionty stacionární fáze. Stacionární fáze (ionťový měnič) nese ionty opačného znaménka, než jsou ionty analytu. Každý ion je vazbou připojen na protiion, který je vyměňován s ionty v analytu. Do vodného roztoku se ještě přidává eluční činidlo, které je schopno konkurovat iontům vázaným na ionťovém měnič. Při analýze aniontů se používá hydroxid sodný, při analýze kationtů např. kyselina chlorovodíková. K výsledné detekci iontů nově navázaných na ionťový měnič se využívá detektorů, nejčastěji vodivostních. Pro zvýšení vodivosti analyzovaných iontů může být použit supresor. Tato metoda se často používá k určení koncentrací např. Cl^- , F^- , K^+ , NH_4^+ atd. [Klouta (2003)], [Baldrianová and Barath (2011)]

b) Kolorimetrie

Kolorimetrie je optická kvantitativní metoda, která určuje koncentraci konkrétní látky v roztoku na základě světelné pohltivosti. Před použitím této metody je opět nutné extrahovat částice z filtru do vodného roztoku. Výsledná koncentrace látky se zjišťuje porovnáváním množství pohlceného světla roztokem o neznámé koncentraci s množstvím pohlceného světla roztokem o známé koncentraci. Tato metoda se používá pro určení koncentrací např. SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^- atd.

c) Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

FTIR (obrázek 7) je nedestruktivní metoda, která umožňuje určit molekulární složení vzorku. Tato metoda funguje na principu měření pohlcovaného infračerveného záření sledovaným vzorkem. Infračervené záření prochází vzorkem, následně Michelsonovým interferometrem a dopadá na detektor. Výsledný interferogram je pomocí Fourierovy transformace převeden na energetický signál. Podle chybějících energií absorbovaných fotonů lze zjistit složení vzorku. Bohužel nelze přímo určit množství daných prvků ve vzorku.



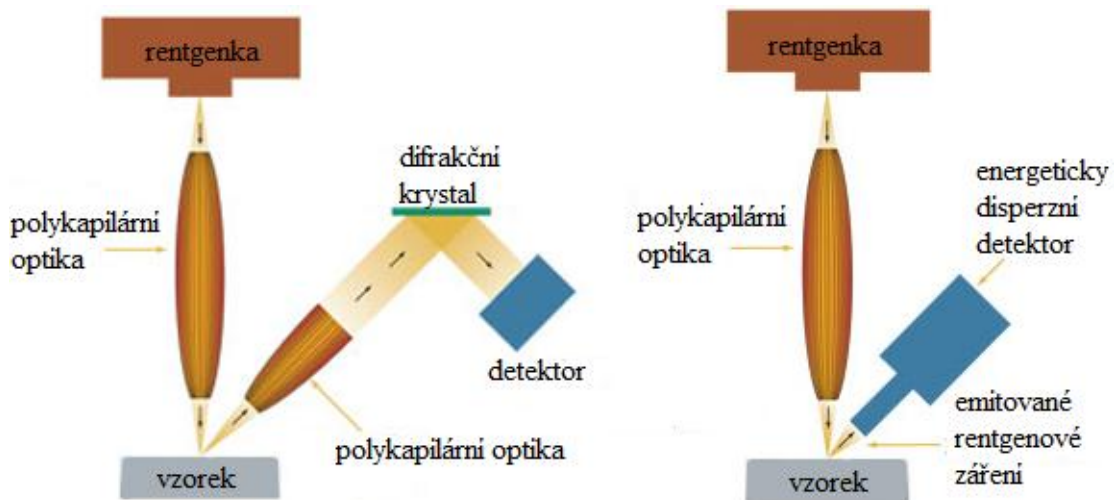
Obrázek 7 Metoda FTIR [MEMC (c 2011)]

d) Rentgenfluorescenční spektrometrie (XRF)

XRF je častá, nedestruktivní, kvantitativní metoda pro analýzu aerosolů uchycených na filtrech. Většinou se využívá teflonových membránových filtrů, protože jsou relativně tenké a je požadováno, aby se částice usazovaly na povrchu filtru spíše než uvnitř jeho struktury. U této metody se dá zjistit i složení vzorku, pokud se porovná výsledné rentgenové spektrum se spektrem známých prvků. Tato metoda dokáže rozpoznat asi 45 prvků periodické tabulky s atomovými čísly mezi sodíkem a uranem. Prvky s nižším atomovým číslem mají nízký fluorescenční výtěžek, a tudíž jejich rozpoznání není možné. Vzorek je při XRF analýze ozařován rentgenovým zářením, přičemž atomy vzorku přechází do excitovaných stavů. Při návratu do původních stavů atomy emitují charakteristické záření, které je detekováno. Rentgenofluorescenční spektrometry (obrázek 8) lze obecně dělit na vlnově disperzní (WDXRF) a energeticky disperzní (EDXRF).

U vlnově disperzních spektrometrů je záření emitované vzorkem monochromatizováno difrakčním krystalem do různých směrů v závislosti na vlnové délce. Umístěním detektoru do konkrétního místa lze měřit intenzitu záření o konkrétní vlnové délce neboli konkrétního prvku. Výhodou vlnově disperzních spektrometrů je dobrá rozlišitelnost jednotlivých prvků. Nevýhodou je nízká citlivost, což se dá částečně vylepšit buzením rentgenovým zářením o vysoké energii. Záření o vysoké energii však může při dopadu vzorek zahřívát a odstranit některé prvky.

U energeticky disperzních spektrometrů dopadá na detektor záření od všech prvků současně. K rozlišení mezi jednotlivými prvky se využívá proporcionálních vlastností detektoru. Výhodou je vysoká citlivost, jednoduchá konstrukce a krátká doba potřebná pro analýzu. Nevýhodou je nižší rozlišitelnost jednotlivých prvků.



Obrázek 8 *Vlnově a energeticky disperzní spektrometr* [XOS 2007]

Dále se rentgenfluorescenční spektrometry rozdělují podle způsobu ozařování vzorku, buď na přímé, nebo nepřímé. U přímé metody je buzené rentgenové záření ze zdroje přenášeno přímo na vzorek. U nepřímé metody rentgenové záření nejdříve dopadá na objekt, který je excitován. Při návratu do původního stavu vyzařuje rovnoměrné nízkoenergetické záření, které teprve ozařuje vzorek. Výhoda nepřímé metody je vyšší citlivost a nižší zahřívání vzorku. [Černohorský and Pouzar]

e) Protonová mikrosonda (PIXE)

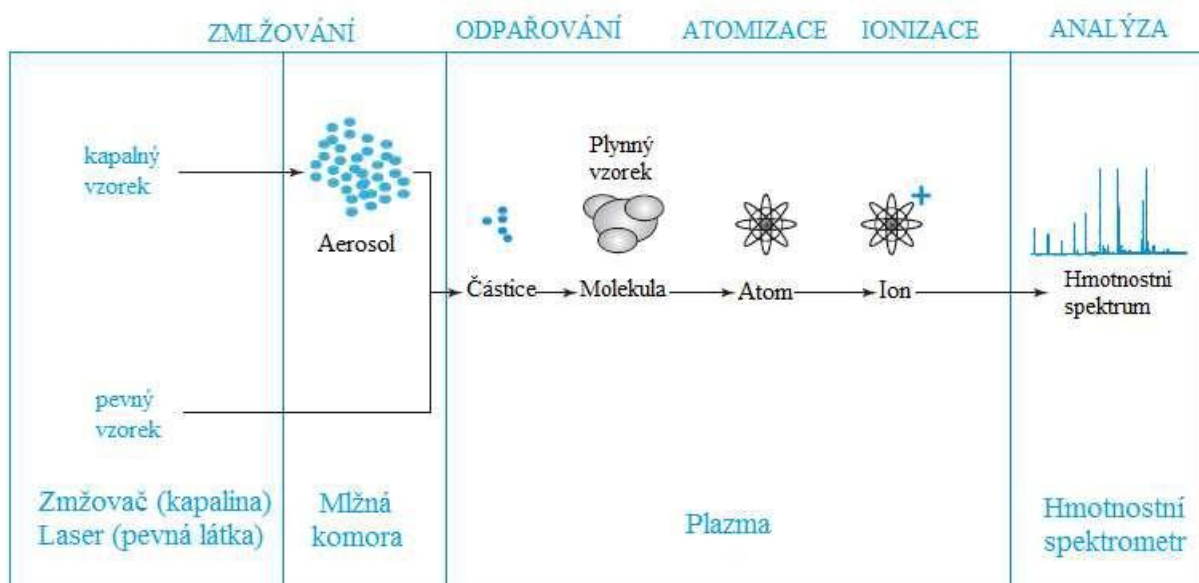
Je obdobou metody XRF, ale místo rentgenového záření se k excitaci vzorku používá svazek vysokoenergetických protonů o energie 1-3 MeV. Základem zařízení je urychlovač iontů např. van de Graffův a používá se energeticky disperzní detektor. Z výsledného rentgenového spektra lze zjistit složení vzorku. Výhodou metody je vysoká citlivost a možnost pracovat i s malými vzorky (průměr vzorku 2-3 mm). Nevýhodou je vysoká energie proudu protonů, které mohou při delší době ozařování poškodit filtr. Obecně se jedná o nedestruktivní, kvantitativní a kvalitativní metodu. [Král]

f) Instrumentální neutronová aktivační analýza (INAA)

Jedná se o nedestruktivní, kvantitativní a kvalitativní analýzu pro většinu prvků periodické tabulky (kromě prvků s nízkým protonovým číslem). Přesto, že je vysoce citlivá a má dobrou rozlišitelnost, není moc využívána. Důvody jsou vysoká cena a také potřebný přístup ke zdroji termálních neutronů, které se běžně používají v jaderném reaktoru. Metoda INAA pracuje na principu ozařování vzorku termálními neutrony. Při reakci neutronů se vzorkem může dojít ke vzniku radioaktivního izotopu. Při rozkladu izotopů je emitováno charakteristické γ -záření, které je měřeno. Množství záření je úměrné množství prvku ve vzorku. Přestože se jedná o nedestruktivní metodu, ozařováním termálními elektrony se vzorek stává radioaktivním. Poločasy rozpadu některých izotopů mohou být i několik let, a tudíž analýza vzorku jinou metodou je prakticky nemožná.

g) Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

ICP-MS (obrázek 9) je v dnešní době hodně rozšířená kvalitativní i kvantitativní destruktivní analýza. Umožňuje stanovit množství a druh prvků jak v kapalných, tak i pevných vzorcích. Vzorek, zpravidla v kapalné podobě, je rozprášen do mlžné komory, odkud pokračuje do hořáku s plazmatem argonu. Zde je atomizován a ionizován. Vzniklé ionty dále postupují do vakuového prostoru s iontovou optikou, kvadrupólovým hmotnostním filtrem a elektronásobičovým detektorem. Ionty jsou v kvadrupólovém filtru rozděleny podle poměru m/z (hmotnost k protonovému číslu). Na základě změny napětí na elektrodách kvadrupólu prochází k detektoru jen ionty o určitém poměru m/z a vyvolávají na něm signál, jenž je zesílen a následně změřen. Takto se dají měřit různé nuklidy o relativní atomové hmotnosti od 3 do 256. Jedná se o rychlou metodu, která má vysokou citlivost a dokáže rozlišit velké množství prvků. Nevýhodou této metody mohou být vysoké náklady na pořízení a provoz.



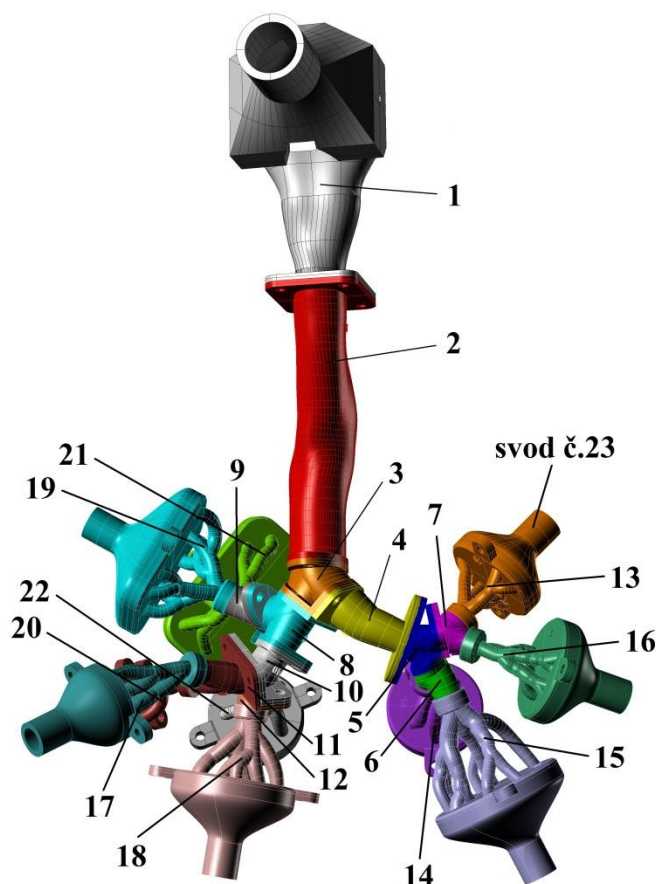
Obrázek 9 Schéma postupu ICP-MS [Thomas (2008)]

6 Praktická část

Úkolem praktické části bylo vyhodnotit měření, které vzniklo na Clarkson university. Byla tam provedena aplikace skleněných vláken do modelu plic. Jelikož jsou skleněná vlákna transparentní, byla zvolena metoda fázově kontrastní mikroskopie. Cílem této práce bylo jednak vyhodnocení depoziční frakce a depoziční účinnosti vláknitého aerosolu v modelu dýchacího traktu, ale také vytvoření automatizovaného postupu vyhodnocení obrazů z fázově-kontrastní mikroskopie.

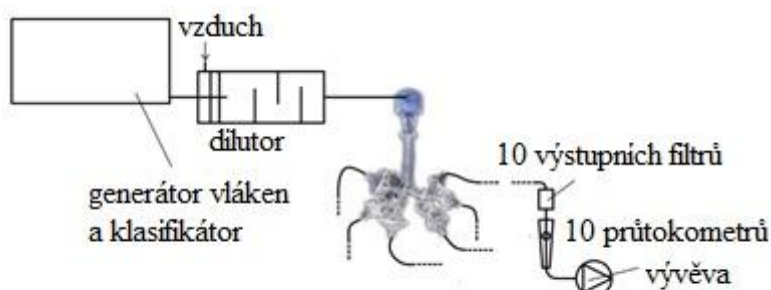
6.1 Příprava vzorků

Vzorky vznikly na Clarkson university ve městě Potsdam, New York. Byla měřena depozice vláknitého aerosolu při průchodu modelem plic (obrázek 10). Model plic obsahoval ústní dutinu a dýchací cesty až do 7. generace větvení. Samotný model má 32 segmentů, přičemž části 1 až 22 představují dýchací cesty a segmenty 23 až 32 představují svody k výstupním větvím s filtry. Svod č. 23 byl umístěn za segmentem 13, svod č. 24 byl umístěn za segmentem 14 atd. Vláknitý aerosol vznikl smícháním skleněných vláken JM 100/475 a skleněných zrněk (Ballotini impact beads, Potters Industries, Sample#: 229-562) v hmotnostním poměru 1:199. Směs bylo poté nutné prosít, aby se dosáhlo homogenity. Směs vláken byla vložena do zásobníku. Součástí měřicí tratě (obrázek 11) byly dále: podavač vláken, disperzer vláken, neutralizátor elektrického náboje, zařízení na úpravu vlhkosti vzduchu, klasifikátor vláken, dilutor (pro míšení vzduchu a vláken), model plic, 10 výstupních filtrů, 10 průtokoměrů, vývěva.



Obrázek 10 Model plic

Pro experiment bylo nastaveno napětí na klasifikátoru 4 kV, průtok generátorem 1 l/min a celkový objemový průtok modelem 30 l/min. Nastavení napětí se může pohybovat v rozmezí 2 až 6 kV, čímž se mění délka generovaných vláken. S rostoucí hodnotou napětí se délka vláken zkracuje, např. při hodnotě napětí 2 kV je délka vláken 30 μm . Průtok generátorem je obecně možné nastavit od 0,5 do 1,5 l/min, což ovlivňuje monodisperzitu vláken. Se stoupajícím průtokem se monodisperzita snižuje.



Obrázek 11 Zjednodušené schéma měřicí tratě [Lízal (2012)]

Po kontrole nastavení byl spuštěn generátor a započal experiment. Vlákná proudila modelem plic, kde docházelo u některých vláken k usazení. Vlákná, která se v modelu neusadila, pokračovala do výstupních větví a zde se usadila na membránových filtrech (membránový celulózný filtr AAWP02500). Po 30 minutách byl experiment přerušen a bylo nutné filtry ve výstupních větvích překontrolovat. Pokud bylo na filtrech dosaženo určité hustoty usazených vláken, filtry se vyměnily (po každé půl hodině došlo k výměně). Při výměně byl každý filtr vyjmut z plastového držáku, umístěn na podložní sklíčko a byl vytvořen vzorek pro mikroskopování pomocí přístroje Quickfix (acetone vaporizer), což je „generátor acetonových par“. Páry acetonu zprůhlednily celulózný filtr s vlákny a přichytily ho k podložnímu sklíčku. Takto vyrobený vzorek byl očíslován (podle svodu, za kterým byl umístěn), vložen do schránky na vzorky a později mohl být prohlédnut mikroskopem s fázovým kontrastem. Do plastového držáku byl poté umístěn nový filtr a tytéž úkony byly provedeny u všech zbylých výstupních filtrů. Po výměně filtrů bylo překontrolováno nastavení průtoků a experiment pokračoval dalších 30 min, během nichž se mohly prohlédnout vytvořené vzorky. Celková doba experimentu byla 4 hodiny, čili došlo k 8 výměnám filtrů. Po ukončení experimentu bylo ještě nutné vytvořit vzorky ze samotných částí modelu, kde se po celou dobu experimentu usazovala vlákna. Každá část, počínaje ústní dutinou s číslem 1, byla ponořena do kádinky s izopropanolem a takto vložena na 1 min do ultrazvukové čistíčky. Působením vibrací se vlákna uvolnila z modelu do roztoku isopropanolu. Segment modelu byl poté z kádinky vytáhnout a isopropanol s vlákny byl profiltrován skrz filtr (stejný typ jako výstupní filtry). Filtr byl umístěn na podložní sklíčko, vysušen v exsikátoru a upraven v přístroji Quickfix. Takto vytvořený vzorek byl uložen do schránky se vzorky a předešlé operace byly zopakovány pro ostatní segmenty modelu.

Výstupem experimentu tedy bylo 80 filtrů z pozic ve výstupních větvích (očíslovány od f23 po f32), 22 filtrů z částí segmentu představujících dýchací cesty (očíslovány od 1 po 22) a 10 filtrů ze svodů (očíslovány od 23 po 32).

Více podrobností o průběhu experimentu lze nalézt v [Lízal (2010b)].

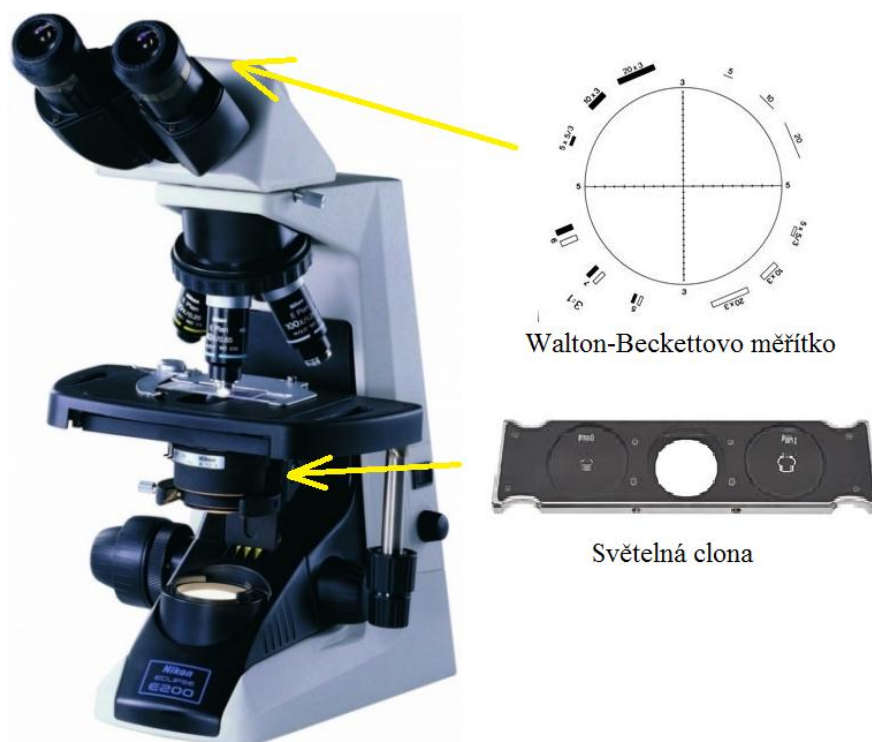
6.2 Automatizace manuální analýzy

Obecně se při určování depozice vláken vychází z metodik NIOSH 7400 nebo WHO 1997, které určují pravidla pro vyhodnocení filtrů s azbestovými a jinými vlákny metodou fázově-

kontrastní mikroskopie. Zjednodušeně se jedná o umístění filtrů pod mikroskop a ruční sčítání jednotlivých vláken, což je značně zdlouhavá a rutinní práce. Proto bylo snahou zautomatizování této metody za pomoci kamery a softwaru, který by vyhodnocoval snímky vláken a dokázal určit jejich počet. Pro určení přesnosti výsledků vyhodnocených softwarem bylo náhodně vybráno 10 vzorků, které se nejdříve prošly manuálně podle výše zmíněných metodik.

6.2.1 Manuální analýza

Při **manuální analýze** (počítání) byl použit (obrázek 12) mikroskop Nikon Eclipse E200 s Walton-Beckettovým měřítkem (typ G22), objektivem pro fázový kontrast a světelnou clonou.



Obrázek 12 Mikroskop a další komponenty

Podle metodiky WHO 1997 se postupovalo v následujících krocích [W.H.O. (1997)]:

- Vzorek byl umístěn na stolek mikroskopu a byla zaostřena vlákna při použití objektivu se zvětšením 10x a světelnou clonou v pozici Ph1. Byla provedena kontrola filtru (rozložení vláken po ploše filtru, přítomnost nečistot aj.).
- Po ukončení kontroly byl vybrán objektiv se zvětšením 40x a světelná clona byla nastavena do pozice Ph2. Byla náhodně vybrána oblast na filtru tak, aby neležela 4 mm od okraje filtru a aby na ní nebylo příliš mnoho nečistot. Vlákna byla zaostřena a spočítána. Vlákna byla počítána na ploše o průměru 300 μm , kterou vytyčovalo Walton-Beckettovo měřítko (obrázek 12).
- Pro počítání vláken udávala metodika určitá pravidla:
 - počítané vlákno musí být delší než 5 μm , šířka nesmí přesáhnout 3 μm a poměr délky k šířce musí být větší než 3:1
 - vlákno, které leží na okraji počítané oblasti a v oblasti má pouze 1 konec, se počítá jako 0,5 vlákna
 - vlákno, které leží na okraji počítané oblasti, ale oba jeho konce leží mimo oblast, se nepočítá

- vlákno, jehož oba konce zasahují do oblasti, se počítá jako 1 vlákno
- shluk vláken se počítá jako jedno vlákno, pokud se jednotlivá vlákna nedají rozlišit
- a další
- Po spočítání vláken byla vybrána jiná oblast a postup se opakoval. Takto se pokračovalo do dosažení počtu 100 prozkoumaných oblastí nebo 100 spočítaných vláken. Minimálně však muselo být prozkoumáno 20 oblastí.
- Výsledný počet vláken na filtru byl určen z rovnice 1

$$F = \frac{A \cdot N}{a \cdot n} \quad (1)$$

kde A...celková účinná plocha filtru

N...celkový počet spočítaných vláken v prozkoumaných oblastech

a...plocha analyzované oblasti vymezená Walton-Beckettovým měřítkem

n...počet prozkoumaných oblastí

Účinná plocha filtru se nerovná celkové ploše filtru, protože komponenty plastového držáku, ve kterém je filtr během experimentu uložený, tuto plochu zmenšují. Proto byl proveden experiment s tmavým prachem. Do držáku filtru byl umístěn nový filtr a držák byl pomocí plastové hadičky připojen k vývěvě. Přes filtr byl profiltrován tmavý prach a poté byly změřeny posuvným měřítkem 3 průměry zasažené oblasti filtru. Průměr účinné plochy filtru byl spočítán jako aritmetický průměr těchto 3 geometrických průměrů a celková účinná plocha (A) byl vypočítána podle rovnice pro výpočet obsahu kruhu. Z této rovnice byla spočítána rovněž plocha analyzované oblasti (a), přičemž průměr této oblasti byl 300 μm.

Tabulka 2 *Plochy pro výpočet celkového počtu vláken*

	Průměry [mm]	Obsahy ploch [mm ²]
Celková účinná plocha (A)	21,67	368,88
Plocha počítané oblasti (a)	0,3	0,07

Výsledky manuálního počítání u 10 vybraných vzorků jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3 *Výsledky manuální analýzy u 10 zkušebních vzorků*

č. vzorku\ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	38,5	52	12	74	37,5	27,5	96	20,5	81	16,5
2	41	57	10	70,5	42	18,5	72	31,5	62	8
3	36	38	16,5	64	33,5	19	73,5	21	30	12
4	24	27,5	12	75	32,5	10	19	9,5	32,5	11
5	25,5	18,5	7,5	62,5	34	19,5	15,5	15	26	18
6	23,5	27,5	11	58,5	14	13,5	14,5	17	53,5	19,5
7	16,5	14	9	57	50,5	28,5	21,5	15,5	61,5	20,5
8	27	35,5	9	51,5	40,5	15,5	39,5	22	39	21,5
9	40	28	6,5	40,5	66,5	15	40	16,5	46,5	11,5

10	18	45,5	8	19,5	24	14,5	50,5	16,5	27,5	9,5
11	24	18	5	47	45,5	18	62	3	40	19
12	30,5	27,5	5	38,5	37,5	24,5	42,5	18	34,5	18
13	30	37,5	4,5	57,5	35,5	25,5	23	11,5	36	12
14	23,5	33	7,5	69	26,5	26	20,5	17,5	23,5	20,5
15	21	62,5	4	82,5	37	25	47,5	16,5	64	18
16	23,5	63,5	5	64,5	37,5	21	77,5	32	36	13,5
17	18,5	44	8,5	63	37	21,5	46,5	27	26	13
18	27	33	9	69	40	12,5	29,5	17,5	29,5	12
19	18,5	19	10	104	29	16,5	40,5	16,5	52	14
20	17	36,5	5,5	78,5	35	19,5	43	23,5	55	19,5
N	523,5	718	165,5	1246,5	735,5	391,5	874,5	368	856	307,5
Počet vláken na filtru (F)	144665	198414	45734	344461	203250	108188	241661	101694	236549	84975

Pro přesnost měření spočítali vlákna na vzorcích nezávisle na sobě ještě další 2 laboranti. Jejich zdrojová data se nachází v příloze č. 1. Výsledné počty vláken u všech laborantů jsou v tabulce 4.

Tabulka 4 *Výsledné počty vláken u 3 laborantů*

č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
laborant 1	144665	198414	45735	344461	203250	108188	241662	101694	236549	84975
laborant 2	137481	182248	42971	310333	190815	96996	227568	86910	185841	70053
laborant 3	176859	158621	34957	220107	155996	85943	223561	71711	226463	61348
průměrné hodnoty	153002	179761	41221	291634	183353	97042	230931	86772	216284	72125

Aritmetický průměr mezi laboranty byl považován za předpokládanou správnou hodnotu a z rovnice 2 byla spočtena absolutní chyba pro každého laboranta (tabulka 5)

$$\varepsilon = y - y^* \quad (2)$$

kde y ...naměřená hodnota (průměrný počet vláken pro jednotlivé laboranty)

y^* ...předpokládaná správná hodnota

Tabulka 5 *Absolutní chyby laborantů*

č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
laborant 1	8336	18653	4514	52828	19897	11146	10731	14923	20265	12850
laborant 2	15521	2487	1750	18699	7461	46	3362	138	30444	2073
laborant 3	23858	21140	6264	71527	27358	11100	7369	15061	10179	10777

Relativní chyby byly vypočteny podle rovnice 3 a jsou uvedeny v tabulce 6.

$$\mu = \frac{\varepsilon}{y^*} \quad (3)$$

Tabulka 6 *Relativní chyby laborantů v procentech*

č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
laborant 1	5,4	10,4	10,9	18,1	10,9	11,5	4,6	17,2	9,4	17,8
laborant 2	10,1	1,4	4,2	6,4	4,1	0,0	1,5	0,2	14,1	2,9
laborant 3	15,6	11,8	15,2	24,5	14,9	11,4	3,2	17,4	4,7	14,9

Relativní chyby se v průměru pohybují okolo 10 % a kromě zkušebního filtru č. 4 nepřesahují 20 %.

Z rovnice 4 byly vypočteny směrodatné odchylky hodnot počtů vláken pro jednotlivé zkušební filtry. Dále byly vypočteny variační koeficienty podle rovnice 5. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce 7.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_1^3 (y_i - \bar{y})^2}{n \cdot (n - 1)}} \quad \text{pro } n = 3 \quad (4)$$

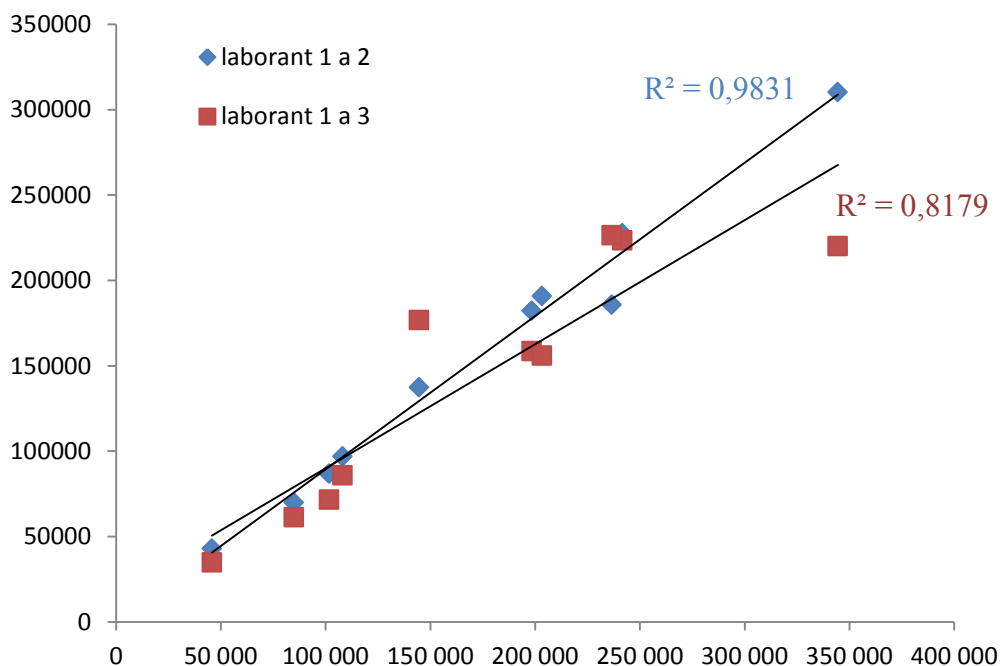
$$v = \frac{s}{\bar{y}} \quad (5)$$

Tabulka 7

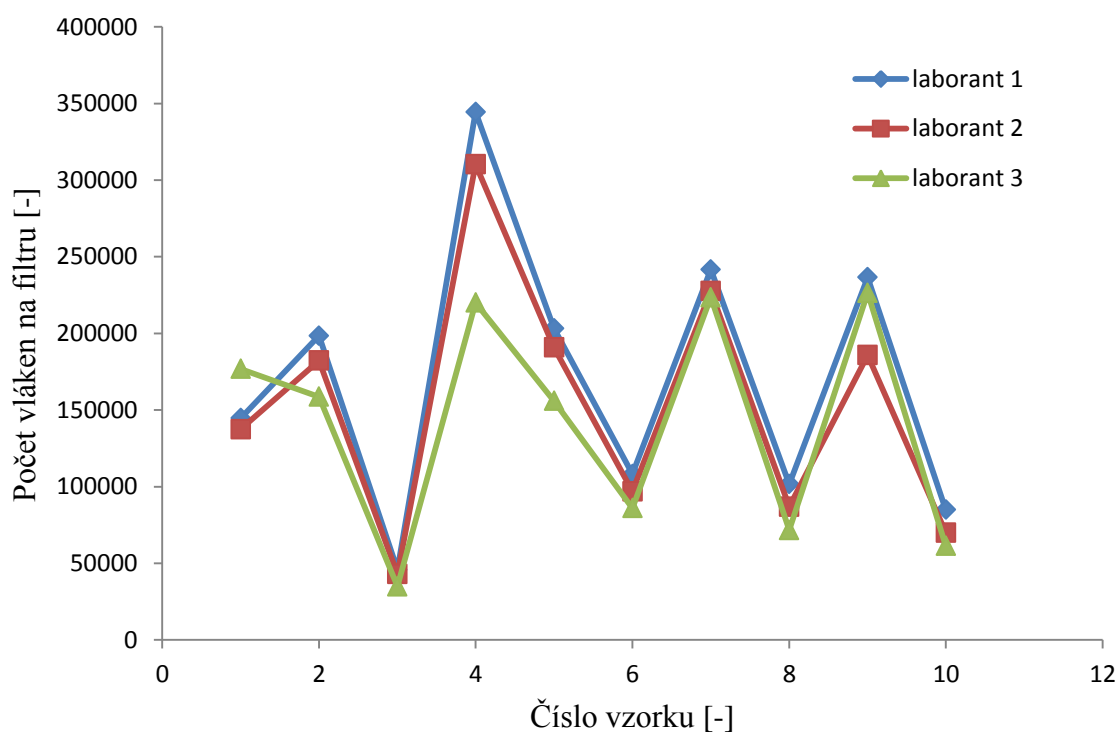
č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
směrodatná odchylka	17123	16340	4571	52461	20000	9082	7763	12241	21917	9757
variační koeficient	0,11	0,09	0,11	0,18	0,11	0,09	0,03	0,14	0,10	0,14

Variační koeficient se pohybuje okolo 10 %, což značí nízkou variabilitu souboru dat. Při malé variabilitě souboru lze považovat aritmetický průměr za typickou hodnotu datového souboru, a tudíž aritmetické průměry počtů vláken na zkušebních filtrech mezi laboranty budou dále považovány za referenční hodnoty. Na obrázku 13 je vynesena závislost hodnot laboranta 1 na hodnotách laboranta 2 a 3. Korelační koeficient mezi laboranty 1 a 2 má hodnotu 0,98, což značí téměř lineární závislost a tedy, že počty vláken mezi těmito 2 laboranty spolu dobře souhlasily. Korelační koeficient mezi laborantem 1 a 3 je 0,81, v případě odstranění hodnot pro vzorek č. 4 dosahuje hodnoty okolo 0,9. To je o něco horší než v předcházejícím případě, ale stále se závislost blíží lineární závislosti.

Na obrázku 14 jsou vidět výsledné počty vláken u jednotlivých laborantů. Přestože se jedná o diskrétní hodnoty, byl použit graf spojnicový, aby se zdůraznily trendy jednotlivých laborantů. Odchylky mezi výsledky jednotlivých laborantů jsou s největší pravděpodobností dány metodikou. Ta přesně neudává, jak vybírat místa na filtru, na kterých se počítají vlákna. To se projevilo např. u vzorku č. 4, kde je rozložení vláken na ploše filtru silně nehomogenní, a tudíž výběr míst byl důležitým faktorem ovlivňujícím výsledný počet vláken.



Obrázek 13 Koefficient korelace



Obrázek 14 Výsledné počty vláken laborantů

6.2.2 Automatická analýza

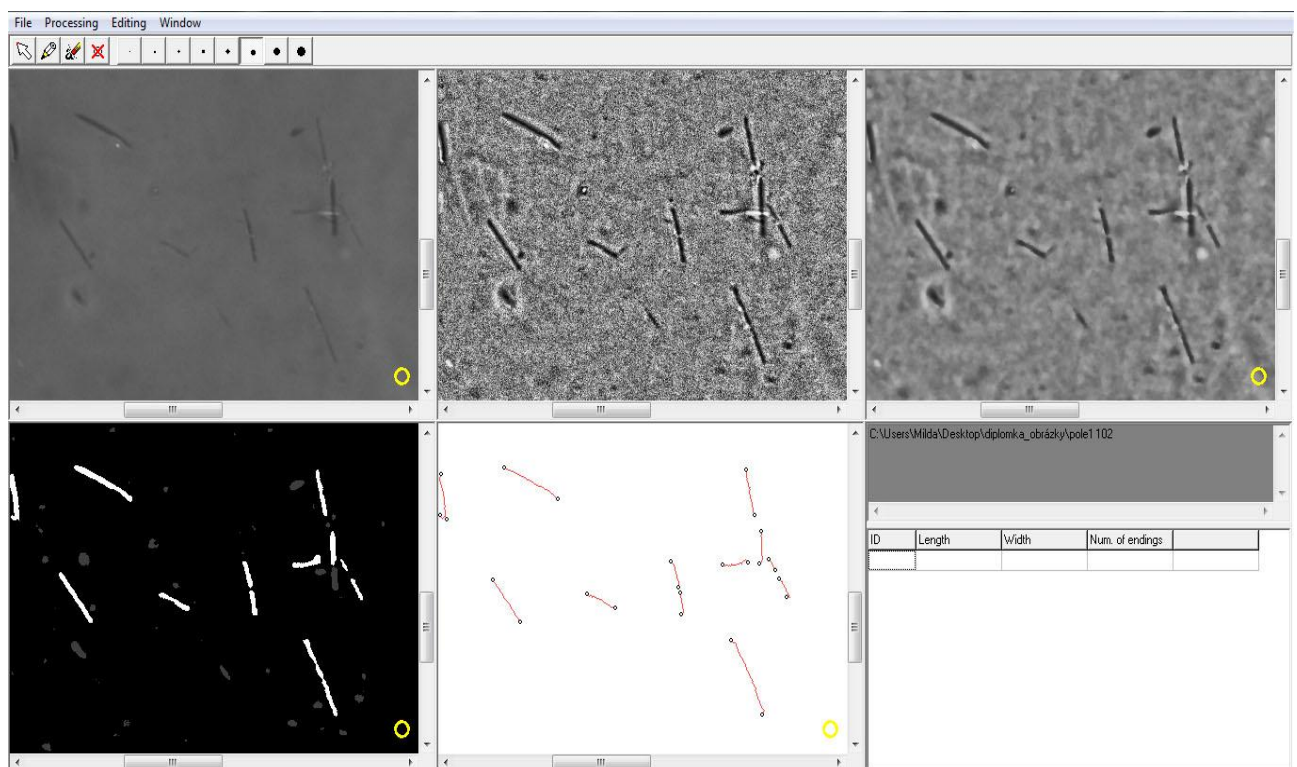
Při **automatické analýze** byla k mikroskopu připojena kamera Atik 314E. Součástí kamery byly optické filtry, konkrétně UV-IR a green filtr. Pro snímkování byl vybrán UV-IR filtr, protože tolik nesnižoval jas a na snímcích byl nižší šum. Pro pořizování snímků byl použit

software Artemis/ATK capture a následná analýza vláken proběhla v programu Threads Analyzer. Použit byl notebook dell.

Threads Analyzer je program pro zpracování snímků s vlákny, který vznikl ve spolupráci s matematickým ústavem na FSI. Konkrétně se na vzniku programu podíleli Ing. Pavel Štarha, Ph.D. a Ing. Hana Druckmüllerová. Po spuštění programu se otevře základní uživatelské prostředí (obrázek 15), které bylo, stejně jako celý program, vytvořeno v angličtině. V horní části je menu s roletami a funkce pro manuální úpravu snímků. Ve zbylé části je pracovní plocha, která je rozdělena do 6 dlaždic. V nich je zobrazena část snímku, na které lze sledovat průběh zpracování.

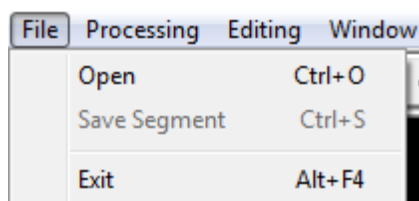
Zpracování na jednotlivých dlaždicích:

- zdrojový snímek pořízený programem Artemis Capture
- provede se homogenizace pozadí a následně metoda „Adaptive Contrast Control“, která zvýrazní veškeré objekty (bohužel i šum)
- pomocí matematických funkcí se sníží šum snímku (konkrétně rotační „Gaussian kernel“)
- proběhne segmentace metodou prahování a provede se eliminace nežádoucích artefaktů (na základě velikosti a tvaru)
- rozliší se vlákna na základě délky a tvaru (obdoba metodiky WHO 1997)
- program spočítá vlákna a jejich výsledný počet vypíše (v budoucnu by mohl program měřit i délku a tloušťku vláken)



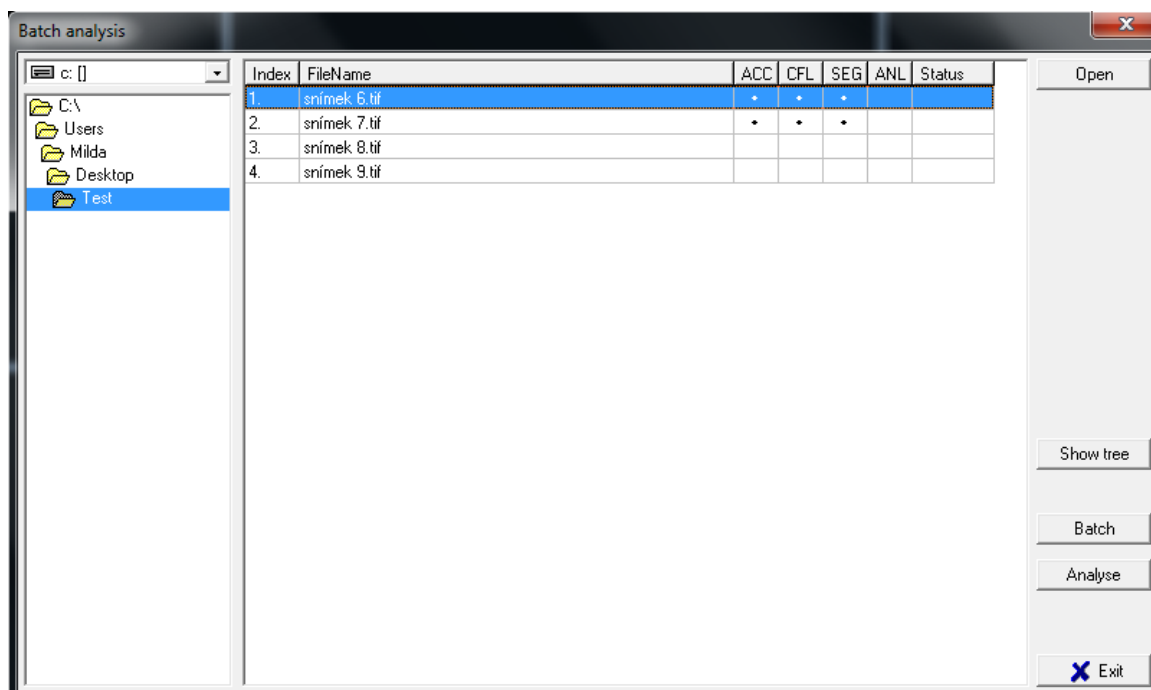
Obrázek 15 Threads Analyzer

V horní části okna se nachází 4 rolety s funkcemi programu Threads Analyzer. První z nich je roleta File. V roletě File (obrázek 16) jsou základní funkce programu. Příkaz Open otevírá nové snímky, Save ukládá analyzované snímky a příkazem Exit se zavírá program Threads Analyzer. Po kliknutí na příkaz Open se otevře rozšířená nabídka pro otevírání souborů Batch Analysis (obrázek 17). V levé části se nachází strom složek a podsložek na vybraném disku.



Obrázek 16 *Roleta File*

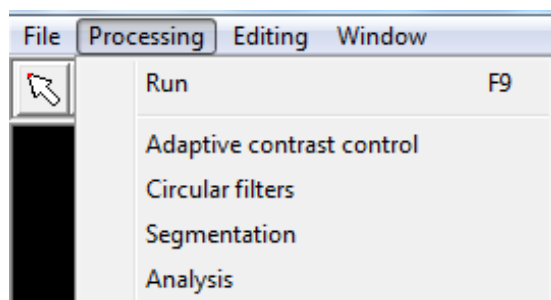
Ve střední části okna se nachází snímky uložené v aktuálně vybrané složce. Program u každého snímku vypisuje stav zpracování formou černých puntíků u jednotlivých kroků. Tyto kroky jsou analogií dlaždicím v základním uživatelském prostředí programu. ACC značí proběhlou homogenizaci pozadí a metodu „Adaptive Control Contrast“. CFL značí matematické funkce omezující šum. SEG je krok s metodou prahování a ANL označuje výslednou analýzu snímku a sečtená vlákna. Toto je řešeno tak, že program ukládá každý krok do samostatného grafického souboru. V případě potřeby je tedy možná kontrola jednotlivých kroků nebo lze smazat soubor s daným krokem a provést ho v programu znovu. V pravé části okna je několik příkazů. Příkaz Open slouží k otevření vybraného snímku. Příkaz Show tree zobrazí všechny snímky ve zvolené složce a všech jejich podsložkách, což usnadňuje orientaci při větším objemu dat. Pomocí příkazů Batch a Analyse se dá provést prvotní analýza snímků. Jelikož program dokáže otevřít v daný moment pouze jeden snímek, bylo by pracné analyzovat tímto způsobem velké množství dat. V okně Batch analysis je možné označit více snímků a příkazem Batch u nich provést některé kroky analýzy, a to ACC, CFL a SEG. Tyto kroky jsou časově nejnáročnější. Poté se dají otevřít individuální snímky a provést další zpracování, popřípadě sečtení vláken. Pokud by i toto bylo příliš časově náročné a nebyla potřeba kontrolovat jednotlivé snímky, příkazem Analyse se dají provést kroky včetně spočtení vláken a výsledné počty zobrazit.



Obrázek 17 *Batch Analysis*

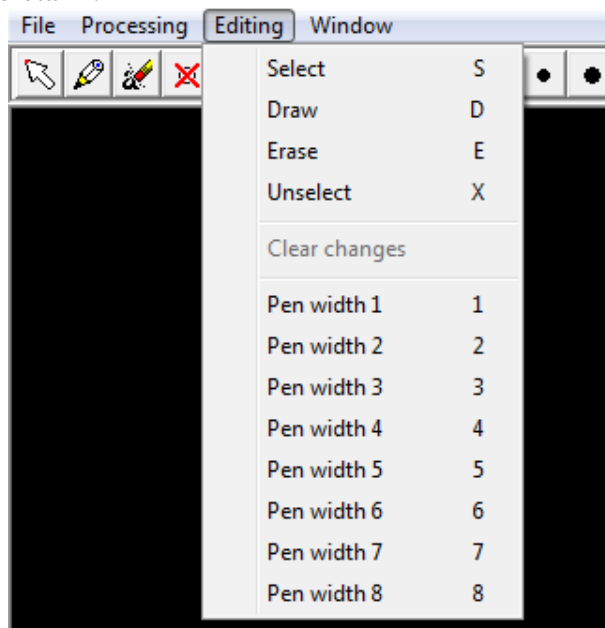
Roleta Processing (obrázek 18) obsahuje funkce pro zpracování jednotlivých snímků. Příkazem Run se provedou všechny kroky až po spočítání vláken. Příkazy Adaptive contrast

control, Circular filters, Segmentation a Analysis slouží k provedení jednotlivých kroků zpracování. Jejich význam byl zmiňován výše.



Obrázek 18 *Roleta Processing*

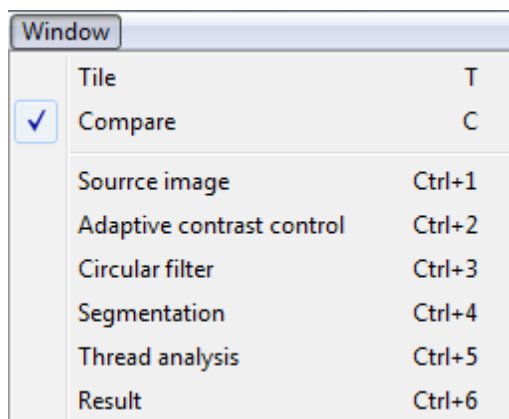
Další roletou je roleta Editing (obrázek 19). V této roletě jsou funkce, které umožňují dodatečnou úpravu analyzovaných snímků a tím změnu výsledného počtu vláken. Tyto funkce je možné použít jedině na snímku po provedeném kroku SEG. Úprava snímku je nejjednodušší, protože snímek je černobílý. Příkazem Select se vybírají objekty, u kterých program při jednotlivých krocích analýzy usoudil, že se nejedná o vlákna a nezapočítal je do výsledného počtu. Naopak příkazem Draw lze dokreslit vlákna, která program nerozpoznal, např. z důvodu malého kontrastu. Tloušťka čáry pro příkaz Draw se dá změnit ve spodní části rolety Editing příkazy Pen width 1 až 8. Příkazy Erase a Unselect jsou si hodně podobné. Jde o funkce, které odstraňují špatně vyhodnocené objekty, které nejsou vlákna. Rozdíl je v tom, že příkaz Unselect se dá podržením levého tlačítka na myši vybrat více objektů, které nemají být započítány do výsledného počtu vláken. Příkaz Erase funguje spíše jako guma, jejíž tloušťka se opět mění příkazy Pen width 1 až 8. Příkazem Clear changes se veškeré změny odstraní a snímek se vrátí do stavu, v jakém byl vyhodnocen programem. Po provedení úprav lze v roletě Processing použít funkci Analyse a program vypíše novou hodnotu počtu vláken. Ikony funkcí z rolety Editing jsou pro snadnější přístup k nalezení v liště pod roletami.



Obrázek 19 *Roleta Editing*

Poslední roletou je roleta Window (obrázek 20). Zde jsou příkazy pro změny rozvržení pracovní plochy v základním uživatelském prostředí. Příkaz Tile rozdělí pracovní plochu na 2

poloviny. V levé části lze vidět danou část snímku po provedené segmentaci (krok SEG) a v pravé části lze vidět tutéž část snímku, kde je provedena homogenizace pozadí a ACC. V tomto rozvržení jsou nejčastěji prováděny úpravy snímků, protože pravý snímek s hotovým krokem ACC má dobrý kontrast objektů a pozadí a usnadňuje identifikaci vláken a artefaktů. Další příkazy v roletě Window slouží k zobrazení snímků jednotlivých kroků analýzy.

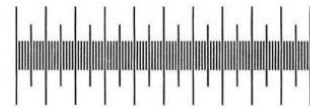


Obrázek 20 *Roleta Window*

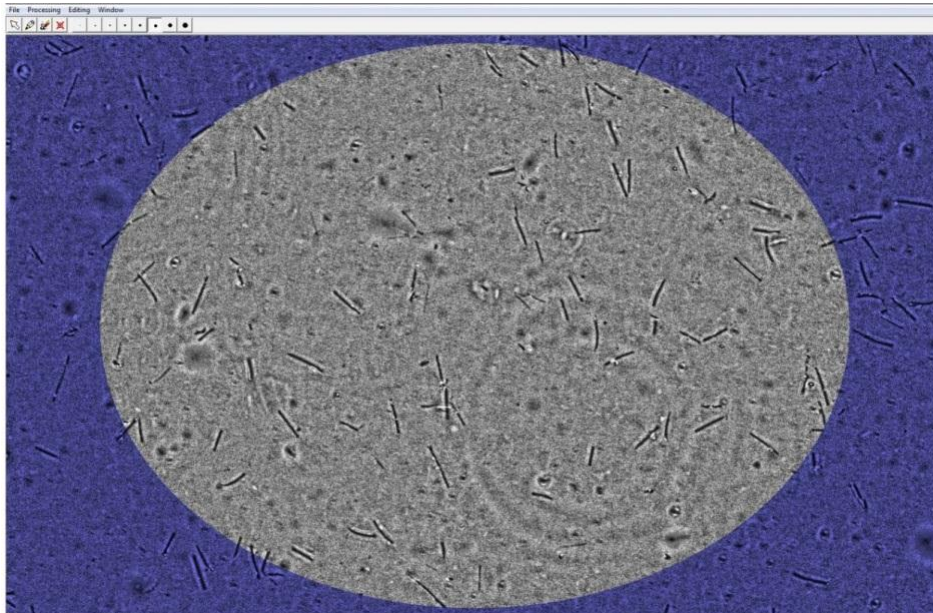
Postup při automatické analýze opět vycházel z metodiky WHO 1997, ale v některých případech byly provedeny drobné úpravy:

- Vzorek byl umístěn na pracovní stůlek, byl zvolen objektiv se zvětšením 10x a světelná clona byla nastavena do pozice Ph1. Kamera byla pomocí USB konektoru připojena k notebooku a spustil se program Artemis Capture.
- Vlákna se zaostřila a byl nastaven expoziční čas tak, aby byla správná expozice snímku. Pro většinu pořizovaných snímků bylo vhodné nastavit expoziční čas na 0,1 s. Pokud snímek neobsahoval větší nečistoty nebo jiné artefakty, snímek byl uložen, nejlépe v nějakém nekomprimovaném formátu např. soubor TIF.
- Po vytvoření snímku byla vybrána na filtru jiná oblast a zopakovaly se kroky z minulého bodu.
- Takto byly pořizeny snímky z 16 oblastí a analyzovaly se v programu Threads analyzer, jehož výstupem byl počet vláken v dané oblasti.
- Počty vláken byly dosazeny do rovnice 1 a vypočítal se výsledný počet vláken na filtru.

Před dosazením počtů vláken do rovnice 1 bylo nutné zjistit plochu analyzované oblasti (a), kterou v tomto případě tvořila plocha filtru nasnímaná kamerou. K tomuto účelu posloužilo objektivové měřítko (obrázek 21), což je stupnice vyleptaná na podložní sklíčku, v našem případě odstupňovaná po 0,01 mm. Objektivové měřítko bylo umístěno na stůlek mikroskopu, v programu Artemis Capture byla zaostřena stupnice a byly pořizeny snímky objektivového měřítka pro horizontální i vertikální osu. Ze známého rozlišení snímků byla poté spočítána celková plocha oblasti, která je kamerou vyfocena. V metodice WHO 1997 se vlákna počítala jen na určité oblasti kruhového tvaru vymezené Walton-Beckettovým měřítkem. Proto byla v programu Threads Analyzer vytvořena elipsa, která omezovala plochu, na které byla vlákna počítána (obrázek 22). Plocha této elipsy je 0,167 mm².



Obrázek 21 *Objektivové měřítko*



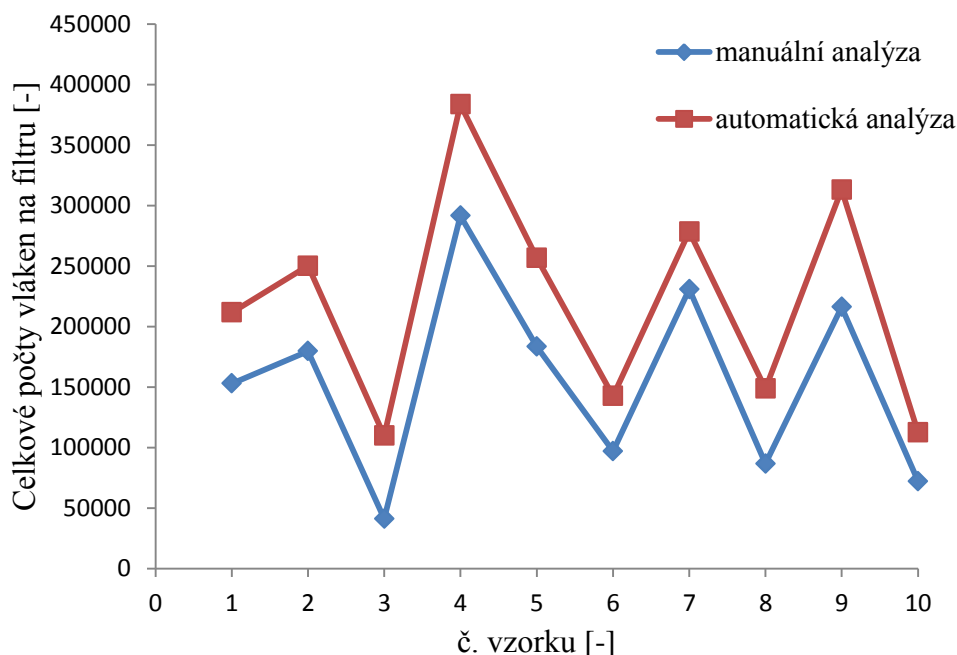
Obrázek 22 *Počítaná oblast v programu Threads Analyzer*

Výsledné počty vláken na 10 zkušebních filtrech jsou uvedeny v tabulce 8 a na obrázku 23 jde vidět porovnání mezi hodnotami manuálního počítání vláken a hodnotami automatické analýzy. V tabulce 9 jsou uvedeny hodnoty relativní chyby (rovnice 3) automatické analýzy v porovnání s průměrnými hodnotami manuální analýzy.

Tabulka 8 *Výsledky prvotní automatické analýzy pro 10 zkušebních vzorků*

Filtry/ oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	108,5	167	53,5	212	102	81	271,5	56	151,5	51,5
2	83,5	108,5	53	57	79,5	64	83,5	52	140	52
3	86,5	94	45	297	73	52,5	93,5	63,5	125,5	37
4	74	131,5	42,5	262,5	147	75,5	108	67,5	96,5	41,5
5	136,5	157,5	45	362	156,5	84,5	225,5	107	189,5	55,5
6	80	99,5	50	188,5	99	63	71,5	74,5	114	60
7	92,5	71	37	46,5	154	70	64	66	170	42
8	77	117	33,5	118	88,5	45	70,5	45	101	62
9	71,5	99,5	54	80	66	53	108	30,5	107	60
10	71,5	77	43	96,5	74,5	78	81	56,5	148,5	49,5
11	91	37,5	67	80	166	31	73,5	63	105,5	47,5
12	125	139,5	44,5	295	149,5	79	117	51,5	122,5	55
13	51	65,5	41,5	73	73	27,5	223,5	78	96,5	10

14	106	149,5	46	310,5	132,5	54,5	71,5	56	116	38,5
15	155,5	135	62	71	120,5	49	130,5	99,5	272	62
16	49,5	75,5	39,5	96	88	76,5	127,5	59	103	51,5
N	1459,5	1725	757	2645,5	1769,5	984	1920,5	1025,5	2159	775,5
F	211701	250213	109803	383732	256667	142730	278570	148749	313165	112487



Obrázek 23 Porovnání výsledků mezi manuální a automatickou analýzou

Tabulka 9 Relativní chyba prvotní automatické analýzy v procentech

č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	průměr
relativní chyba	38,4	39,2	166,4	31,6	40,0	47,1	20,6	71,4	44,8	56,0	55,5

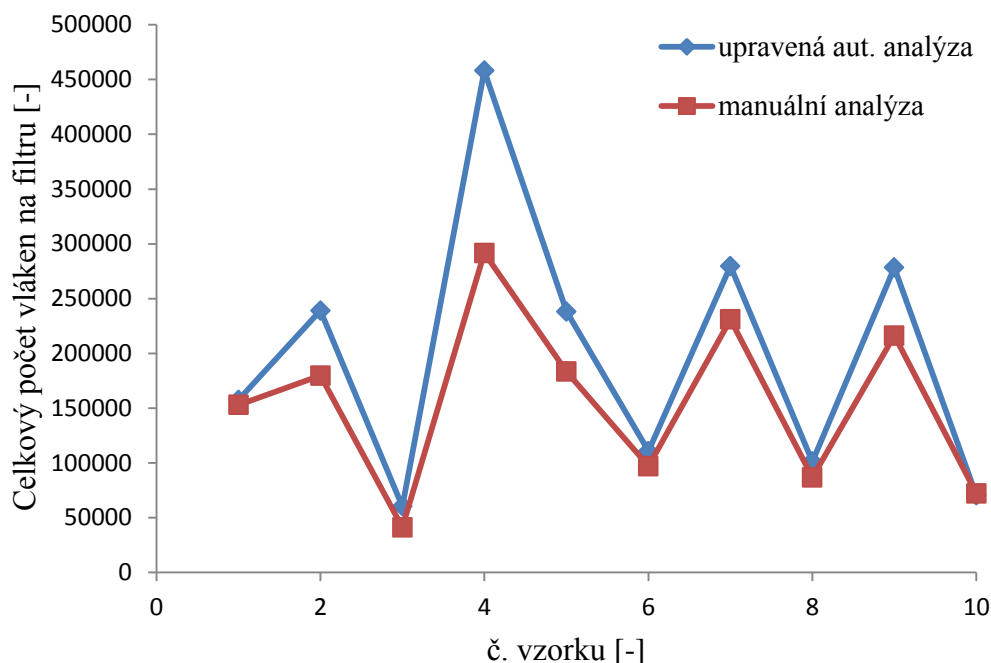
Trendy ve výsledných počtech jsou stejné, ale absolutní počty vláken u automatické analýzy jsou vyšší. Relativní chyba je přes 55 %, přičemž maximální relativní chyba u vzorku č. 3 dosahuje 166 %. Jedním z důvodů nepřesných hodnot výsledných počtů vláken byly chyby v rozpoznání vláken programem Threads Analyzer. Nejčastější chybou bylo rozdělení jednoho vlákna na více vláken nebo započítávání artefaktů do počtu vláken. Z toho lze usuzovat, že výsledné počty automatickou analýzou byly nadhodnocené. Z tohoto důvodu bylo nutné projít každý snímek a pomocí editovacích funkcí v programu odebrat „falešná“ vlákna, spojit rozdělená vlákna atd. Tyto úkony provedli nezávisle na sobě 3 laboranti a výsledné počty vláken po úpravách jsou v tabulce 10. Zdrojové data pro konkrétní oblasti na filtrech se nachází v příloze č. 1.

Tabulka 10 Upravené výsledky automatické analýzy

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
laborant 1	158396	213297	53596	359146	227948	100230	244701	100303	268997	67014
laborant 2	153870	249488	62198	507562	242757	109543	296136	96546	282211	69624

laborant 3	160368	254361	64983	507562	243686	122307	297993	106758	283604	74498
průměrné hodnoty	157545	239049	60259	458090	238130	110693	279610	101202	278271	70379

Na obrázku 23 je vidět porovnání s referenčními hodnotami manuálního počítání.

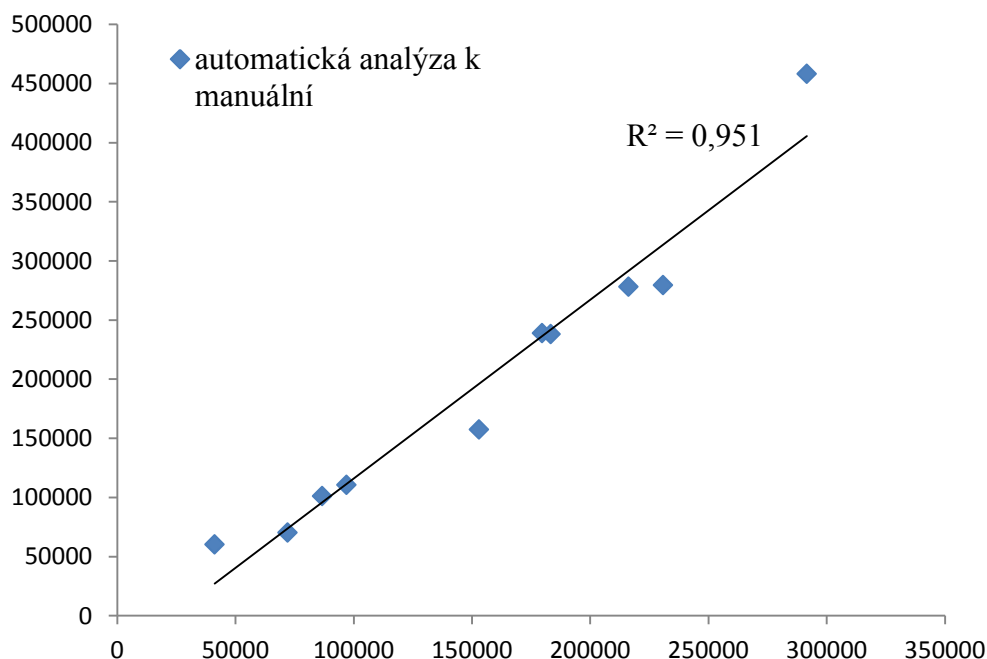


Obrázek 24 Upravené výsledky automatické analýzy

Tabulka 11 Relativní chyby upravené automatické analýzy v procentech

č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	průměr
relativní chyba	3,0	33,0	46,2	57,1	29,9	14,1	21,1	16,6	28,7	2,4	25,2

Upravené výsledky počtů vláken na filtrech byly přesnější, relativní chyba klesla průměrně na 25 %. Na obrázku 25 je vidět závislost dat upravené automatické analýzy a manuálního počítání. Korelační koeficient je 0,95, tedy veličiny spolu korelují, neboli existuje mezi nimi lineární závislost.



Obrázek 25 Korelační koeficient

Bylo tedy dosaženo podobnosti výsledků automatické analýzy s manuální analýzou. Výsledky byly ale stále vyšší než výsledky manuální analýzy. Proto byly zavedeny korekce na snížení počtu vláken tak, aby odpovídaly počtům manuální analýzy. Toho se dosáhlo porovnáním průměrných hodnot počtu vláken u manuální a automatické analýzy (rovnice 6).

$$k = \frac{B}{C} = \frac{155213}{199323} = 0,78 \quad (6)$$

kde k...korekční faktor

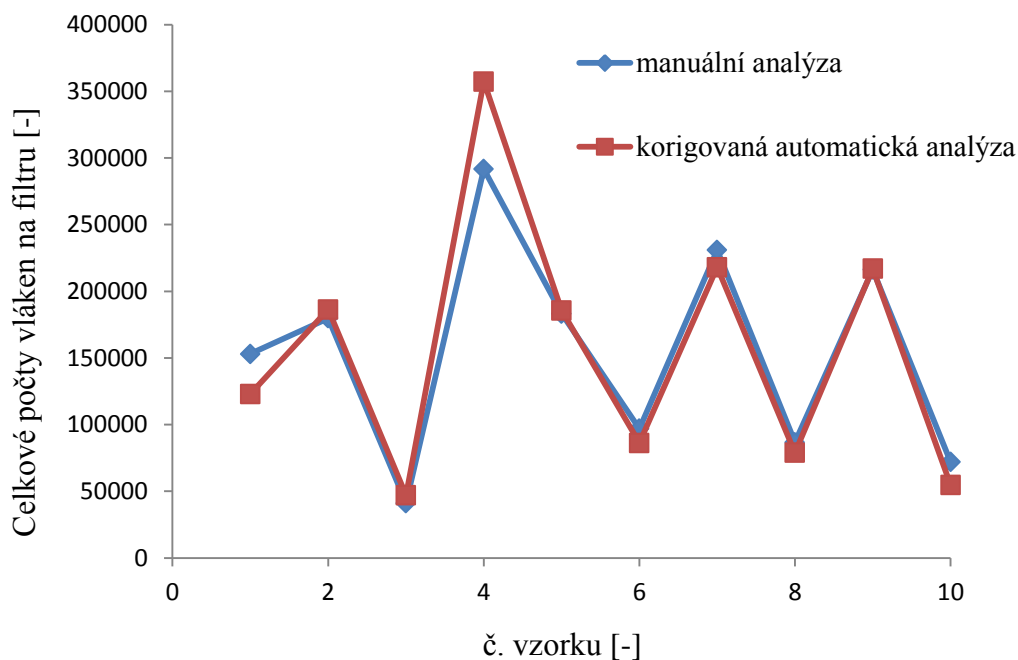
B...průměrný počet vláken na filtru při manuálním počítání

C...průměrný počet vláken na filtru po úpravách automatické analýzy

V tabulce 12 a na obrázku 26 jsou vidět výsledné počty vláken automatické analýzy.

Tabulka 12 Korigované výsledné počty vláken automatické analýzy

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
manuální analýza	153002	179761	41221	291634	183353	97042	230931	86772	216284	72125
automatická analýza po korekci	122885	186458	47002	357310	185742	86341	218096	78938	217051	54895



Obrázek 26 Porovnání výsledků

Tabulka 13 Relativní chyba korigovaných výsledků automatické analýzy v procentech

č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	průměr
relativní chyba	19,8	3,6	13,8	22,3	1,1	11,2	5,7	9,2	0,2	24,0	11,1

Výsledné počty vláken korigované automatické analýzy poměrně dobře odpovídají referenčním hodnotám manuálního počítání. Relativní chyba u jednotlivých výsledků se pohybuje v průměru okolo 11 %, což je shodné s relativní chybou spočítanou pro jednotlivé laboranty u manuální analýzy. Metodika opět neudává pravidlo pro výběr nasímaných oblastí, na kterých se vyhodnocují vlákna, takže relativní chyba okolo 10 % je přijatelná.

Snímky vláken tedy byly analyzovány programem Threads Analyzer. Každý vyhodnocený snímek byl překontrolován a případné chyby v rozpoznání vláken byly opraveny pomocí editovacích funkcí. Hodnoty vláken byly dosazeny do rovnice 1 a byly spočítány počty vláken na filtrech. Ty byly vynásobeny korekčním faktorem a dosáhlo se konečných počtů vláken na filtrech pro automatickou analýzu.

6.3 Vyhodnocení experimentu

Cílem experimentu v Clarkson University bylo vyhodnocení depoziční účinnosti a depoziční frakce vláknitého aerosolu na modelu plic. Jinými slovy bylo nutné zjistit jak velká část z celkového množství vláken, které vznikaly v generátoru, se usadila v modelu plic (na segmentech 1 až 22) a konkrétně v kterých segmentech. K tomu se musely určit celkové počty vláken na filtrech ze segmentů modelu plic, ze svodů a také z filtrů ve výstupních větvích.

Nejdříve proběhla analýza 80 výstupních filtrů. K jejich vyhodnocení byl použit program Threads Analyzer způsobem, který byl popsán v předchozí kapitole. U každého filtru bylo uděláno 16 snímků. Ty byly analyzovány programem a poté byl každý snímek zkontrolován a případné chyby byly opraveny pomocí editovacích funkcí. Jelikož by analýza všech filtrů byla

časově zdlouhavá, byly vyhodnoceny jen některé filtry a počet vláken na ostatních filtrech byl statisticky dopočítán.

Počty vláken u analyzovaných filtrů jsou v tabulce 14. Byly vyhodnoceny filtry ve 4 časových intervalech a filtr 25 ve všech časových intervalech. Filtr 25 byl zvolen proto, že se na něm ukládalo dostatečné množství vláken. Při volbě filtru s nižším počtem vláken by mohlo dojít ke zkreslení výsledků. Zdrojová data k jednotlivým filtrům jsou v příloze č. 1.

Tabulka 14 *Počty vláken na vybraných filtrech*

časový interval [min]	0-30	30-60	60-90	90-120	120-150	150-180	180-210	210-240
F23	112124		120102		125469		20307	
F24	105742		127355		105162		29300	
F25	371403	294163	303882	199300	305840	345366	85725	138741
F26	155205		124816		142585		36045	
F27	324624		319402		283285		76224	
F28	414773		424564		486288		151361	
F29	351459		324987		379816		99215	
F30	190742		173191		204014		52436	
F31	272043		246152		288797		78835	
F32	235490		216126		250663		71293	
Počet vláken pro daný časový interval	2533606	-	2380577	-	2571918	-	700741,3	-

Vědělo se, že počet vláken proudících z generátoru s klasifikátorem kolisal v čase, proto celkový počet vláken v jednotlivých časových intervalech nebyl stejný. Předpokládalo se ale, že kolísání počtu vláken se projevilo ve všech výstupních větvích stejně a současně, a tudíž poměry počtů vláken mezi jednotlivými výstupními filtry měly být stejné. Počty vláken na neprozkoumaných filtrech se vypočetly ze závislosti v rovnici 3, kdy např. poměr počtu vláken na filtru 23 k počtu vláken na filtru 25 v časovém intervalu 0-30 (vyhodnocený časový interval) se rovná poměru počtu vláken na filtru 23 k počtu vláken na filtru 25 v intervalu 30-60 (nevyhodnocený časový interval). Pro zpřesnění byly počty vláken na levé straně rovnice zprůměrovány pro všechny vyhodnocené časové intervaly. Počty vláken na filtrech z výstupních větví jsou uvedeny v tabulce 15.

$$\frac{\frac{F_{i,0-30} + F_{i,60-90} + F_{i,120-150} + F_{i,180-210}}{4}}{\frac{F_{25,0-30} + F_{25,60-90} + F_{25,120-150} + F_{25,180-210}}{4}} = \frac{F_{ij}}{F_{25j}} \quad (7)$$

kde i ...číslo filtru (23,24,26,27,28,29,30,31,32)

j ...časový interval (30-60,90-120,150-180,210-240)

Tabulka 15 *Počty vláken na filtrech z výstupních větví*

časový interval [min]	0-30	30-60	60-90	90-120	120-150	150-180	180-210	210-240
F23	112124	98419	120102	66680	125469	115550	20307	46419
F24	105742	101538	127355	68794	105162	119212	29300	47890
F25	371403	294163	303882	199300	305840	345366	85725	138741

F26	155205	125866	124816	85276	142585	147775	36045	59364
F27	324624	274606	319402	186050	283285	322405	76224	129517
F28	414773	426348	424564	288857	486288	500559	151361	201086
F29	351459	322129	324987	218247	379816	378200	99215	151931
F30	190742	172443	173191	116833	204014	202459	52436	81332
F31	272043	248554	246152	168399	288797	291818	78835	117230
F32	235490	218520	216126	148051	250663	256556	71293	103064

Pro získání finálních korigovaných hodnot bylo nutné vynásobit počty vláken korekčním faktorem, kde $k=0,78$ (rovnice 6). Konečné počty vláken jsou uvedeny v tabulce 16.

Tabulka 16 *Konečné počty vláken na filtrech z výstupních větví*

časový interval [min]	0-30	30-60	60-90	90-120	120-150	150-180	180-210	210-240
F23	87457	76767	93680	52011	97866	90129	15840	36207
F24	82479	79200	99337	53659	82026	92985	22854	37354
F25	289694	229447	237028	155454	238555	269386	66866	108218
F26	121060	98176	97357	66515	111216	115264	28115	46304
F27	253207	214193	249134	145119	220962	251476	59455	101023
F28	323523	332551	331160	225308	379305	390436	118061	156847
F29	274138	251261	253490	170233	296256	294996	77388	118506
F30	148779	134506	135089	91130	159131	157918	40900	63439
F31	212194	193872	191998	131351	225261	227618	61491	91439
F32	183682	170446	168578	115479	195517	200114	55608	80390

Jako další krok se měla spočítat vlákna na filtrech ze segmentů modelu a svodů. Program Threads Analyzer ale nedokázal vlákna na těchto filtrech rozlišit. Mohlo to být způsobeno průběhem vakuové filtrace a následným zvrásněním filtru na podložním sklíčku nebo např. usazením mastnoty. Bylo tudíž nutné přistoupit k manuální analýze a vlákna na těchto filtrech spočítat ručně podle pravidel pro manuální počítání. Počty vláken ze segmentů jsou uvedeny v tabulce 11 a zdrojová data jsou uvedena v příloze č. 1.

Tabulka 17 *Počty vláken usazených v segmentech modelu*

číslo segmentu	počet vláken	číslo segmentu	počet vláken	číslo segmentu	počet vláken	číslo segmentu	počet vláken
1	7028	9	9673	17	4217	25	82162
2	3142	10	4465	18	3307	26	45887
3	2728	11	21186	19	22013	27	2315
4	3307	12	12815	20	22985	28	23315
5	8371	13	5374	21	15089	29	3638
6	4878	14	2150	22	14882	30	128048
7	4051	15	17363	23	1654	31	9343
8	1736	16	17776	24	9198	32	15916

Pro určení depoziční frakce a depoziční účinnosti bylo nutné sečíst vlákna, která se neusadila v částech modelu, které představovaly dýchací cesty. Mezi tyto vlákna patřila vlákna, která se usadila během celého experimentu na výstupních filtrech a svodech (tabulka 12).

Tabulka 18 Počty vláken, které se usadily ve výstupních větvích

segment	počet vláken na výstupních filtrech (0-210 min)	vlákna z výplachů svodů	celkem
23	549956	1654	551610
24	549895	9198	559093
25	1594649	82162	1676810
26	684007	45887	729894
27	1494569	2315	1496884
28	2257192	23315	2280507
29	1736267	3638	1739905
30	930892	128048	1058940
31	1335224	9343	1344567
32	1169815	15916	1185731

Po zjištění počtů vláken na všech filtrech se mohlo přistoupit k výpočtu depoziční frakce a depoziční účinnosti.

Depoziční frakce je poměr množství zachyceného aerosolu v uvažovaném segmentu plic k celkovému množství aerosolu vstupujícímu do plic. Předpokládalo se, že filtry ve výstupních větvích zachytí veškerý aerosol, který prošel modelem plic. Tudíž celkové množství aerosolu vstupujícího do plic se rovnalo aerosolu usazenému ve všech částech měřicí tratě (model plic, svody a výstupní filtry) a dostalo se z rovnice 8. Depoziční frakce se poté určila z rovnice 9. Výsledné depoziční frakce jsou v tabulce 19.

$$F_c = \sum_{i=1}^{22} F_i + \sum_{j=23}^{32} F_j \quad (8)$$

kde F_c ...celkové množství aerosolu vstupujícího do modelu plic

F_i ...vlákna usazená v segmentech plic

F_j ...vlákna usazená za segmenty plic (svody a výstupní filtry)

$$DF = \frac{F_i}{F_c} \quad (9)$$

Tabulka 19 Depoziční frakce

číslo segmentu	depoziční frakce [%]	číslo segmentu	depoziční frakce [%]	číslo segmentu	depoziční frakce [%]
1	0,055	9	0,075	17	0,033
2	0,024	10	0,035	18	0,026
3	0,021	11	0,165	19	0,172
4	0,026	12	0,100	20	0,179
5	0,065	13	0,042	21	0,118
6	0,038	14	0,017	22	0,116
7	0,032	15	0,135		
8	0,014	16	0,139		

Depoziční účinnost je poměr množství zachyceného aerosolu v uvažovaném segmentu plic k množství aerosolu vstupujícího do tohoto segmentu. Pro ilustraci byly uvedeny rovnice pro výpočet depoziční účinnosti některých segmentů modelů. Analogicky se pak dají určit rovnice pro výpočet depoziční účinnosti ostatních částí. Pro segment č. 1 (ústní dutina) byla depoziční účinnost vypočítána z rovnice 10. Jde o množství usazeného aerosolu v tomto segmentu k množství aerosolu vstupujícího do tohoto segmentu neboli veškerého aerosolu vstupujícího do modelu plic.

$$DE_1 = \frac{F_1}{F_c} \quad (10)$$

Rovnice 11 udává depoziční účinnost pro segment č. 2 (průdušnice). Aerosol vstupující do tohoto segmentu byl veškerý aerosol vstupující do plic mimo ten, který se usadil v segmentu č. 1.

$$DE_2 = \frac{F_2}{F_c - F_1} \quad (11)$$

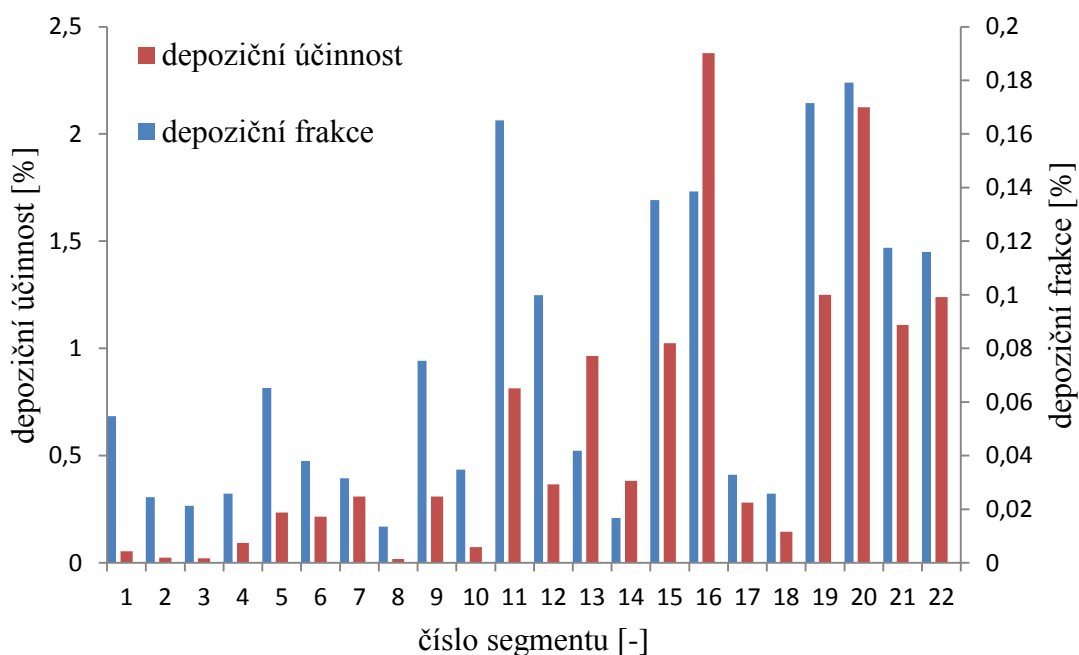
Rovnice 12 určuje depoziční účinnost pro segment č. 13. Aerosol vstupující do tohoto segmentu (obrázek 10 *Model plic*) je ten, který se usadil v tomto segmentu a aerosol, který se usadil v navazující výstupní větvi čili větvi č. 23 (svod a výstupní filtry č. 23).

$$DE_{13} = \frac{F_{13}}{F_{13} + F_{23}} \quad (12)$$

Výsledné depoziční účinnosti se nachází v tabulce 20. Depoziční frakce i depoziční účinnost byly dále vyneseny do grafu na obrázku 27.

Tabulka 20 *Depoziční účinnost*

číslo segmentu	depoziční účinnost (%)	číslo segmentu	depoziční účinnost (%)	číslo segmentu	depoziční účinnost (%)
1	0,055	9	0,309	17	0,281
2	0,024	10	0,073	18	0,145
3	0,021	11	0,814	19	1,249
4	0,092	12	0,366	20	2,124
5	0,234	13	0,965	21	1,110
6	0,216	14	0,383	22	1,240
7	0,310	15	1,025		
8	0,019	16	2,378		



Obrázek 27 Výsledky depozice pro model plic

Pro vyhodnocení depozice byly dále spočítány aerodynamický ekvivalentní průměr a Stokesovo číslo, které jsou důležitými faktory ovlivňujícími depozici. Vzorec pro výpočet aerodynamického ekvivalentního průměru existuje v mnoha podobách. V tomto případě byl použit vzorec v rovnici 13.

$$d_a = d_{ve} \cdot \sqrt{\frac{\rho_p}{\rho_0 \cdot \chi_r}} \quad (13)$$

kde

d_{ve} ...objemový ekvivalentní průměr

ρ_p ...hustota částice

χ_r ...dynamický tvarový faktor pro náhodně orientovaná vlákna

ρ_0 ...hustota vody ($\rho_0= 1000 \text{ kg/m}^3$)

Experiment probíhal se skleněnými vlákny, jejichž vlastnosti jsou zapsány v tabulce 21.

Tabulka 21 Vlastnosti vláken

průměr vlákna d [μm]	délka vlákna l [μm]	hustota částice ρ_p [kg/m^3]	Poměr délky a šířky vlákna β [-]
1	10	2560	10

Vzorec pro objemový ekvivalentní průměr má obecně podobu rovnice 14. Pro zjednodušení byla uvažována vlákna válcovitého tvaru, takže objem částice byl nahrazen objemem válce.

$$d_{ve} = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi} \cdot V_p} = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi} \cdot \frac{\pi \cdot d^2 \cdot l}{4}} = \sqrt[3]{\frac{3}{2} \cdot d^2 \cdot l} = \sqrt[3]{\frac{3}{2} \cdot 1^2 \cdot 10} \quad (14)$$

$$= 2,47 \mu m$$

kde V_p ...objem částice
 d ...průměr vlákna
 l ...délka vlákna

U tvarového faktoru záleží na tom, jestli jsou pohybující se vlákna natočena paralelně (rovnice 15) se směrem proudu nebo kolmo na směr proudu (rovnice 16). Pokud není jasně dána orientace vláken v proudu, používá se tvarový faktor pro náhodně orientovaná vlákna (rovnice 17).

$$\chi_{\parallel} = \frac{\frac{4 \cdot (\beta^2 - 1)}{3 \cdot \sqrt[3]{\beta}}}{\left\{ \frac{2 \cdot \beta^2 - 1}{\sqrt{\beta^2 - 1}} \ln(\beta + \sqrt{\beta^2 - 1}) - \beta \right\}} \quad (15)$$

$$= \frac{\frac{4 \cdot (10^2 - 1)}{3 \cdot \sqrt[3]{10}}}{\left\{ \frac{2 \cdot 10^2 - 1}{\sqrt{10^2 - 1}} \ln(10 + \sqrt{10^2 - 1}) - 10 \right\}} = 1,23$$

$$\chi_{\perp} = \frac{\frac{8 \cdot (\beta^2 - 1)}{3 \cdot \sqrt[3]{10}}}{\left\{ \frac{2 \cdot \beta^2 - 3}{\sqrt{\beta^2 - 1}} \ln(\beta + \sqrt{\beta^2 - 1}) + \beta \right\}} \quad (16)$$

$$= \frac{\frac{8 \cdot (10^2 - 1)}{3 \cdot \sqrt[3]{10}}}{\left\{ \frac{2 \cdot 10^2 - 3}{\sqrt{10^2 - 1}} \ln(10 + \sqrt{10^2 - 1}) + 10 \right\}} = 1,77$$

$$\chi_r = \frac{1}{\frac{1}{3 \cdot \chi_{\parallel}} + \frac{2}{3 \cdot \chi_{\perp}}} = \frac{1}{\frac{1}{3 \cdot 1,23} + \frac{2}{3 \cdot 1,77}} = 1,54 \quad (17)$$

Dosazením výsledků z rovnic 14 a 17 do rovnice 13 byl vypočten výsledný aerodynamický ekvivalentní průměr pro vlákna.

$$d_a = d_{ve} \cdot \sqrt{\frac{\rho_p}{\rho_0 \cdot \chi_r}} = 2,47 \cdot \sqrt{\frac{2560}{1000 \cdot 1,54}} = 3,18 \mu m$$

Stokesovo číslo bylo spočítáno z rovnice 18.

$$Stk = \rho_0 \cdot d_a^2 \cdot \frac{U}{18 \cdot \eta \cdot d_0} \quad (18)$$

kde U ...rychlost částice

η ...dynamická viskozita vzduchu ($\eta = 1,51 \cdot 10^{-5}$ kg/(m.s))

d_0 ...průměr kanálu

Rychlosti částic byly určeny z objemových průtoků. Při experimentu byly za výstupními větvemi měřeny objemové průtoky plovákovými průtokoměry (tabulka 22).

Tabulka 22 *Objemové průtoky ve výstupních větvích*

č. výstupní větve	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
objemové průtoky (l/min)	1,4	1,7	4	2	3,6	4,7	3,8	3,1	3,1	3

Jelikož byly známy objemové průtoky ve výstupních větvích a vstupní objemový průtok, daly se dopočítat (obrázek 10) objemové průtoky v jednotlivých segmentech modelu plic. Dále byl znám průměr kanálku na vstupu každého segmentu. Z objemových průtoků segmenty a jejich vstupních průměrů se daly dopočítat průměrné rychlosti proudu neboli průměrné rychlosti částic (tabulka 23).

Tabulka 23 *Průměrné rychlosti částic v jednotlivých segmentech*

č. segmentu [-]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
průtoky segmenty [l/min]	30,05	30,05	30,05	8,95	8,95	5,65	3,30	21,10	6,85	14,25	6,65
průměry segmentů d_0 [cm]	2	1,78	1,47	1,21	0,7	0,55	0,6	1,21	0,78	0,85	0,65
rychlosti U [m/s]	1,59	2,01	2,95	1,30	3,88	3,96	1,95	3,06	2,39	4,19	3,34
č. segmentu [-]	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
průtoky segmenty [l/min]	7,6	1,35	1,65	4	1,95	3,55	4,65	3,8	3,1	3,05	2,95
průměry segmentů d_0 [cm]	0,7	0,5	0,4	0,65	0,33	0,4	0,61	0,55	0,38	0,32	0,37
Rychlosti U [m/s]	3,29	1,15	2,19	2,01	3,80	4,71	2,65	2,67	4,56	6,32	4,57

Stokesova čísla jsou výsledkem dosazení do rovnice 18 a výsledné hodnoty pro příslušné segmenty jsou uvedeny v tabulce 24.

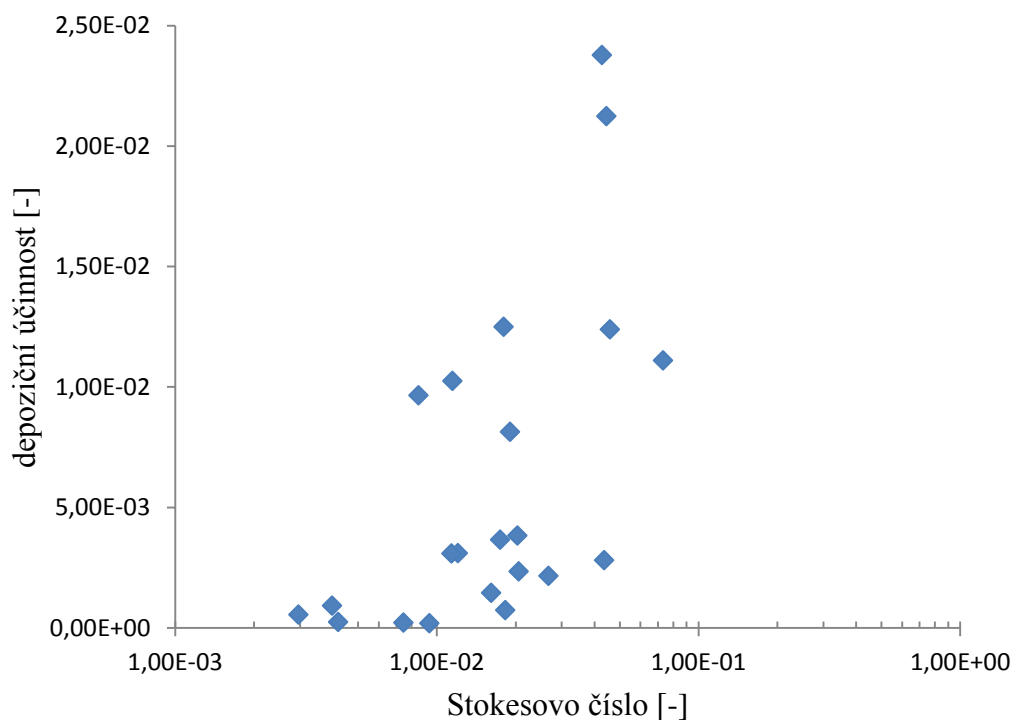
Tabulka 24 *Stokesova čísla*

č. segmentu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Stokesovo číslo [-]	2,96 E-03	4,20 E-03	7,45 E-03	3,98 E-03	2,06 E-02	2,68 E-02	1,20 E-02	9,38 E-03	1,14 E-02	1,83 E-02	1,91 E-02
č. segmentu	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Stokesovo číslo [-]	1,75 E-02	8,51 E-03	2,03 E-02	1,15 E-02	4,28 E-02	4,37 E-02	1,61 E-02	1,80 E-02	4,45 E-02	7,33 E-02	4,59 E-02

6.4 Výsledky

Při analýze depoziční frakce a účinnosti se přihlíželo k závěrům Su a Chenga, kteří sledovali depozici uhlíkových, titanových a skleněných vláken v modelu plic od ústní dutiny až po čtvrtou generaci větvení. Více o jejich experimentech v [Su and Cheng (2006)] a [Su and Cheng (2009)]. Su a Cheng uvedli několik faktů. Vlákna se obecně dokáží natočit paralelně ke směru proudění, a tudíž dobře sledovat změny směru proudu při průchodu plicemi. Při depozici částic v modelu plic existují místa, kde se částice častěji usazují, takovým místům se říká „ohniska“. U vláken s velkou hybností (uhlíková) může jít v horních cestách dýchacích např. o nosohltan, kde částice po vstupu ústní dutinou musí změnit směr o 90° z horizontálního směru do vertikálního. V dolních cestách dýchacích to můžou být cariny (vrcholky větvení). U vláken s malou hybností (skleněná aj.) však žádná významná ohniska nalezena nebyla a většina vláken dokázala proniknout modelem plic bez usazení. Hlavním mechanismem ovlivňujícím depozici je v horních částech plic setrvačnost, která závisí na Stokesově čísle neboli na rychlosti částic a jejich rozměrech, u vláken jde o aerodynamický ekvivalentní průměr. V dolních cestách dýchacích začíná vzrůstat vliv zachycení, kdy se delší vlákno zachytí jedním svým koncem o stěnu v oblasti větvení.

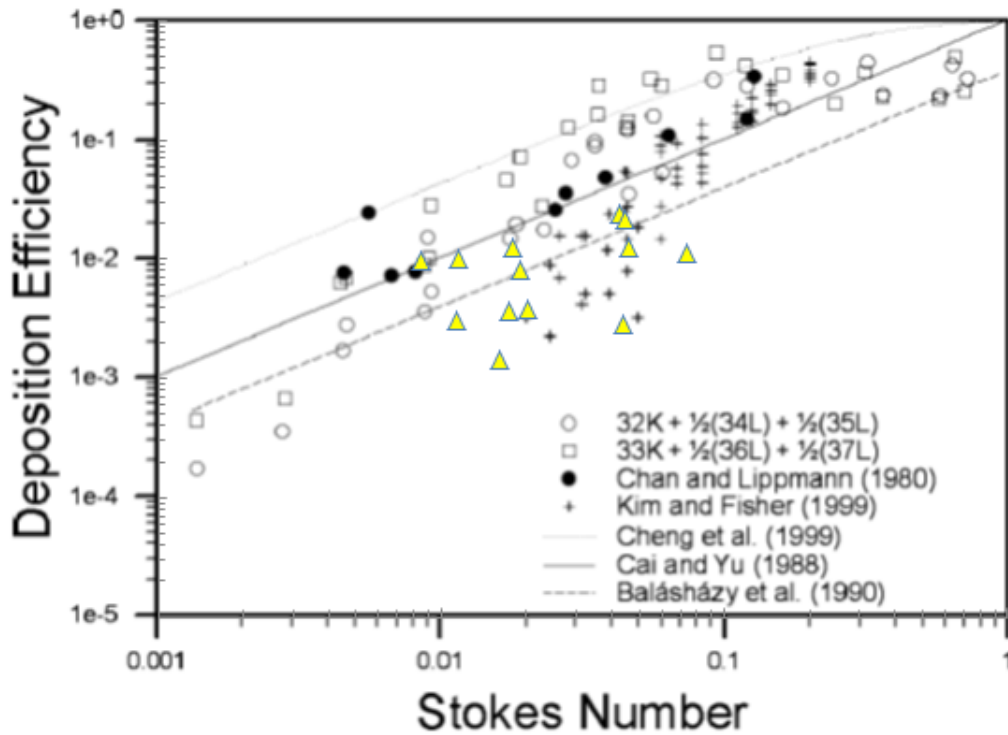
Schopnost vláken sledovat směry proudu a také nízké depoziční účinnosti pro skleněná vlákna se potvrdily i ve výsledcích, kdy přes 95 % vláken prošlo modelem plic a usadilo se až ve výstupních větvích. Tento fakt jen potvrzují nízká Stokesova čísla, která byla ve všech případech menší než 0,1. Mírně zvýšená depoziční frakce byla naměřena v ústní dutině a hltanu. Naopak je minimální depoziční frakce v segmentu číslo 3, což je oblast první bifurkace. V pokročilejších generacích depoziční frakce roste, což je dáno rostoucím Stokesovým číslem. Výjimkou jsou segmenty s číslem 17 a 18. Primárním mechanismem pro vlákna s nízkou hybností je zachycení, aby však došlo k výraznější depozici, musel by model obsahovat další generace větvení, aby se průměry kanálů blížily rozměrům vláken alespoň řádově. V tomto případě jsou rozměry kanálů minimálně několik mm, zatímco rozměry vláken pouze několik μm . Experiment dokazuje, že skleněná vlákna mohou lehce pronikat do hlubších oblastí dýchacích cest, kde roste riziko vzniku plicních onemocnění. Obrázek 28 ukazuje závislost depoziční účinnosti na Stokesově čísle. Depoziční účinnost by měla růst s rostoucím Stokesovým číslem, což se dá potvrdit.



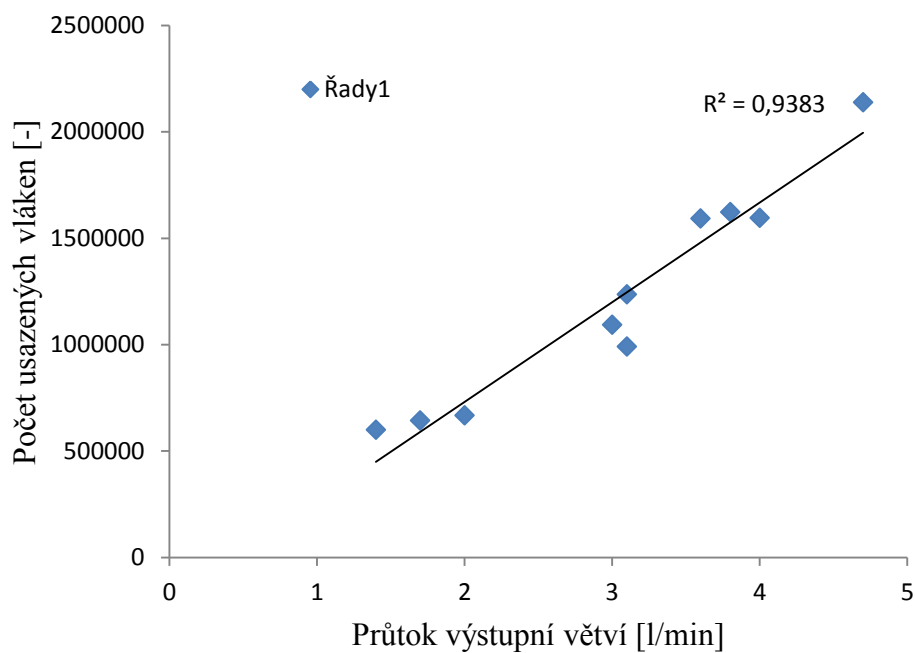
Obrázek 28 *Závislost depoziční účinnosti a Stokesova čísla*

Výsledky experimentu se dále porovnávaly s výsledky, kterých dosáhli Zhou a Cheng. Více v [Zhou and Cheng (2005)]. Ti testovali depozici sférických částic na modelu plic od ústní dutiny až po čtvrtou generaci větvení. V grafech jsou dále vidět výsledky Chana a Lipmanna, Schlesingera a kol., Kima a Fischera. Křivkami jsou zde vyneseny teoretické modely pro depozici sférických částic. Na obrázku 29 je zobrazena depozice ve čtvrté generaci větvení. Výsledky současného experimentu jsou v upravených grafech vyznačeny plným žlutým trojúhelníčkem. Depozice vláken je oproti sférickým částicím spíše nižší, což se dalo očekávat vzhledem k vlastnostem vláken. Výsledky depozice ve čtvrtých generacích větvení navazují na výsledky Kima a Fischera. Ti sice použili sférické částice, ale depozici měřili na idealizovaném symetrickém skleněném modelu plic, který měl hladké stěny, takže se u něj předpokládá také nižší depozice oproti měření na realistickém modelu.

Na obrázku 30 lze vidět závislost počtu usazených vláken ve výstupních větvích na objemovém průtoku větvemi. Výsledné hodnoty mohou být proloženy lineární spojnicí trendu se součinitelem spolehlivosti $R=0.9383$, což znamená, že jednotlivé veličiny spolu korelují. Samotná existence nějaké závislosti značí fakt, že model byl dobře utěsněn. Kdyby se v některém místě modelu přisával okolní vzduch, výsledné počty vláken v dané výstupní větvi by byly extrémně nízké, což se nestalo.



Obrázek 29 Depozice pro čtvrtou generaci větvení [Zhou and Cheng (2005)]
 Graf byl modifikován a byla přidána data současného experimentu-žluté trojúhelníky



Obrázek 30 Závislost počtu částic na průtoku ve výstupních větvích

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo určit depoziční frakci a depoziční účinnost vláknitého aerosolu při pohybu modelem plic. K vyhodnocování depozice byla vyvinuta a odzkoušena nová metoda, která pracuje na principu vyhodnocování snímků z fázově-kontrastní mikroskopie.

Testovaným aerosolem transportovaným do plicního modelu byla skleněná vlákna. Byl použit silikonový model, který obsahoval dýchací cesty od ústní dutiny až po 7. generaci větvení. Potvrdilo se, že vlákna dokážou dobře následovat změny proudu a proniknout hlouběji do dýchacího traktu, kde potom roste riziko vzniku plicních onemocnění. Přes 95 % vláken prošlo modelem plic, aniž by se usadilo. Dalším důvodem malé depozice byly nízké hodnoty Stokesova čísla, které je jedním z hlavních faktorů ovlivňující depozici setrvačností, což je primární depoziční mechanismus v horních částech plic. S rostoucím Stokesovým číslem se míra depozice vláken zvětšovala, avšak pro model po 7. generaci větvení nedosáhla výraznějších hodnot.

Odzkoušena byla nová metoda pro vyhodnocování filtrů s vlákny fázově-kontrastní mikroskopií. Nyní se filtry s vlákny vyhodnocují manuálně podle metodiky NIOSH 7400, což je značně zdlouhavá a rutinní práce. Byla tedy snaha o zautomatizování metody na principu vyhodnocování snímků vláken pořízených kamerou a tím zrychlení a zjednodušení postupu. Stejně jako u jiných pokusů o počítačové vyhodnocování obrazů vláken, i u této metody se objevil problém u identifikace vláken, které mohou mít nejrůznější tvary, usazovat se v shlucích atd. Pro dosažení přesnějších výsledků bylo nutné každý analyzovaný snímek kontrolovat a případně opravit chybné identifikace vláken. Pro kontrolu byly filtry s vlákny vyhodnoceny i metodou manuální analýzy a byla zjištěna poměrně dobrá shoda. Nová automatizovaná metoda tedy přináší výsledky, ale časově výhodnější zatím není. Nicméně v oblasti počítačového zpracování obrazu se dají očekávat pokroky, zatímco manuální metoda se už nemá kam dále vyvíjet.

8 Seznam zdrojů

W.H.O., *Determination of airborne fibre number concentrations : a recommended method, by phase-contrast optical microscopy (membrane filter method)*. Edition ed. Geneva: 1997. ISBN 9241544961.

BALDRIANOVÁ, L. AND BARATH, P. Iontová chromatografie na profesionální úrovni. *Chemagazin* [Type of Work]. 2011.

BARON, P.A. Measurement of airborne particles-review. *Industrial Health* [Type of Work]. 2001.

BARON, P.A. AND WILLEKE, K. *Aerosol measurement : principles, techniques, and applications*. Edition ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2005. ISBN 9780471784920

BERNE, R.M. *Physiology*. Edition ed. St. Louis: Mosby, 2004. x, 1014 s. p. ISBN 0-323-03390-3 (hardcover).

BERNE, R.M., LEVY, M.N., KOEPPEN, B.M. AND STANTON, B.A. *Berne & Levy physiology*. Edition ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier, 2008. ISBN 9780323045827 (cased) : 145.99

BISGAARD, H., O'CALLAGHAN, C. AND SMALDONE, G.C. *Drug delivery to the lung*. Edition ed. New York: Dekker, 2002. ISBN 0824705416.

CHOW, J.C. AND WATSON, J.G. Guideline on speciated particulate monitoring. In., 1999.

CLARKE, N. Horní cesty dýchací. c 2012. Available from Internet:<<http://nathanclarkecommunication.wikispaces.com/Structure+of+the+human+larynx>>.

FINLAY, W.H. *The mechanics of inhaled pharmaceutical aerosols : an introduction*. Edition ed. San Diego, Calif. ; London: Academic Press, 2001. ISBN 0122569717 : No price.

HICKEY, A.J. *Pharmaceutical inhalation aerosol technology*. Edition ed. New York: Marcel Dekker, 2004. ISBN 0824742532.

HINDS, W.C. *Aerosol technology : properties, behavior, and measurement of airborne particles*. Edition ed. New York ; Chichester: Wiley, 1999. ISBN 0471194107.

JAGER, A. AND GARTNEROVA, V. Elektronovým mikroskopem do nitra materiálů aneb jak vypadá jejich struktura. *Fyzikální ústav, Akademie věd ČR* [Type of Work]. 2008. Available from Internet:<<http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>>.

KLOUDA, P. Morední analytické metody. In. Ostrava, 2003.

KRÁL, J. PIXE. *Katedra fyzikální elektroniky ČVUT* [Type of Work]. Available from Internet:<<http://www.fjfi.cvut.cz/kjch/materialy/RCHP/PIXE.PDF>>.

LÍZAL, F. Experimentální výzkum transportu a depozice aerosolů v dýchacím traktu člověka. In *Pojednání ke státní doktorské zkoušce*. FSI VUT, 2010a.

LÍZAL, F. Zpráva ze služební cesty na Clarkson university. In. FSI, VUT, 2010b.

LÍZAL, F. Measurement of fiber deposition in a human lung model by phase contrast microscopy with automated image analysis. In J. ELCNER, M. BĚLKA, J. JEDELSKÝ, P. HOPKE, M. JÍCHA, P. ŠTARHA AND H. DRUCKMÜLLEROVÁ. 31. Setkání kateder mechaniky tekutin a termomechaniky, 2012.

MARIEB, E.N. AND MALLATT, J. *Anatomie lidského těla*. Edition ed. Brno: CP Books, 2005. xvi, 863 s. p. ISBN 80-251-0066-9 (váz.).

MEMC. Metrology. c 2011. Available from Internet:<<http://www.memc.com/index.php?view=Metrology>>.

MURRAY, J.F., NADEL, J.A., MASON, R.J. AND BOUSHEY, H.A. Textbook of respiratory medicine [electronic resource]. In. [United States ; Great Britain]: Saunders, 2001.

REIST, P.C. *Aerosol science and technology*. Edition ed. New York ; London: McGraw-Hill, 1993. ISBN 0070518823 : 150.00.

SU, W.-C. AND CHENG, Y.S. Deposition of fiber in a human airway replica. *Journal of Aerosol Science*, 2006, vol. 37, no. 11, p. 1429-1441.

SU, W.-C. AND CHENG, Y.S. Deposition of man-made fibers in human respiratory airway casts. *Journal of Aerosol Science*, 2009, vol. 40, no. 3, p. 270-284.

THOMAS, R. Practical guide to ICP-MS, a tutorial for beginners. In., 2008.

WEIBEL, E.R. *Morphometry of the human lung*. Edition ed. Berlin: [s.n.], 1963.

XOS. X-ray fluorescence (XRF). 2007. Available from Internet:<<http://www.xos.com/techniques/xrf/wavelength-dispersive-x-ray-fluorescence-xrf/>>.

ZHOU, Y. AND CHENG, Y. Partical deposition in a cast of human tracheobronchial airways. In *Aerosol science and technology*. 2005, vol. 39, p. 492-500.

ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BIOLOGIE, M. Fázový kontrast. Available from Internet: <http://www.sci.muni.cz/kfar/html/fazovy_kontrast.pdf>.

ČERNOHORSKÝ, T. AND POUZAR, M. Úvod do XRF spektrometrie. Available from Internet:<http://www.rmi.cz/editor/image/analytika/pdf_cz_17.pdf>.

9 Seznam použitých značek a symbolů

<i>Značka</i>	<i>Název</i>	<i>Jednotka</i>
a	plocha analyzované oblasti	mm ²
A	celková účinná plocha filtru	mm ²
B	průměrný počet vláken na filtru při manuálním počítání	-
C	průměrný počet vláken na filtru při upravené automatické analýze	-
d	průměr vlákna	μm
d _a	aerodynamický ekvivalentní průměr	m
d _b	ekvivalentní průměr pohyblivosti	m
d _{ve}	objemový ekvivalentní průměr	μm
d ₀	průměr kanálu	m
DE	depoziční účinnost	-
DF	depoziční frakce	-
F	celkový počet vláken na filtru	-
k	korekční faktor	-
l	délka vlákna	μm
n	počet prozkoumaných oblastí	-
N	celkový počet vláken v prozkoumaných oblastech na filtru	-
s	směrodatná odchylka	-
Stk	Stokesovo číslo	-
U	rychlost částice	m/s
v	variační koeficient	-
V _p	objem částice	μm ³
y	naměřená hodnota	-
y*	pravděpodobná správná hodnota	-

<i>Řecké písmeno</i>	<i>Název</i>	<i>Jednotka</i>
β	poměr délky a šířky vlákna	-
ε	absolutní chyba	-
η	dynamická viskozita vzduchu	Pa.s
μ	relativní chyba	-
ρ_0	hustota vody	kg/m ³
ρ_p	hustota částice	kg/m ³
χ_r	dynamický tvarový faktor pro náhodně orientovaná vlákna	-
χ_{\perp}	tvarový faktor pro vlákna orientovaná kolmo na směr proudu	-
χ_{\parallel}	tvarový faktor pro vlákna orientovaná paralelně na směr proudu	-

10 Přílohy

Přílohy č. 1

Tabulka 1 *Data manuálního počítání u laboranta 2*

č. vzorku/ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	42	58,5	8	36,5	13,5	19,5	29,5	12,5	16,5	7,5
2	37	57	11,5	35	33,5	0	40	15,5	15	9,5
3	19,5	50,5	5	43	30	9,5	26,5	10	27,5	18
4	30	52,5	6	32,5	32	5	21	0	23	9
5	14	17	1	31	25,5	21	22	10	37	13
6	22	8	0	38,5	21,5	11,5	33	11,5	32,5	17
7	27,5	18,5	8	23	27,5	19	32,5	10,5	65	3
8	37	30,5	9	41,5	43	14,5	35,5	27,5	37,5	5
9	16	17,5	18	49,5	60	12	28,5	21	23	5
10	12	65	8	170	62,5	16	40	19,5	18	13,5
11	20	36,5	10,5	72	21	26	85,5	17	23,5	16
12	29,5	41,5	1	43	40,5	22	57	10	60,5	17,5
13	58,5	25,5	10	103	52	26,5	37,5	12	42	9
14	6,5	49,5	11	58,5	34,5	16	29	33	26,5	21
15	13,5	52,5	7,5	46	36,5	19	13,5	34	27,5	16,5
16	32	14	5	47,5	21	47	25	14	35,5	24,5
17	25	4	4	115,5	24	26	161,5	20	62,5	14
18	21	16	11	52	49	14,5	60	20,5	34,5	13
19	18	11	8	60,5	32	14	20,5	13,5	40	15,5
20	16,5	34	13	24,5	31	12	25,5	2,5	25	6
N	497,5	659,5	155,5	1123	690,5	351	823,5	314,5	672,5	253,5
F	137481	182248	42971	310333	190815	96996	227568	86910	185841	70053

Tabulka 2 *Data manuálního počítání u laboranta 3*

č. vzorku/ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	28	35	10	52	32	18	101	15	67	13
2	20	23	3	33	29	13	37	19	17	11
3	28	44	8	54	22	11	27	15	21	7
4	19	33	3	10	13	12	23	6	22	16

5	40	12	4	37	17	23	22	14	39	16
6	32	32	6	9	27	16	34	21	57	4
7	43	30	1	39	35	10	88	15	53	16
8	41	33	8	58	38	7	26	6	25	12
9	19	48	14	33	21	28	49	8	28	15
10	35	45	9	28	15	5	17	16	12	18
11	48	42	9	28	38	14	23	15	28	18
12	23	18	6	19	50	10	20	13	41	0
13	20	16	5	56	50	19	30	12	58	10
14	31	15	11	56	25	8	36	16	30	16
15	45	23	8	65	22	19	52	5	83	4
16	44	10	5	33	17	25	43	16	32	10
17	47	9	3	63	15	18	118	11	38	7
18	36	12	6	70	12	24	17	14	104	14
19	18	47	8	26	67	11	22	13	41	7
20	29	53	5	34	23	26	28	14	29	14
N	640	574	126,5	796,5	564,5	311	809	259,5	819,5	222
F	176859	158621	34957	220107	155996	85943	223561	71711	226463	61348

Tabulka 3 *Upravená data u automatické analýzy-laborant 1*

č. vzorku\ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	75,5	145	27,5	191	91	55	265,5	46	138,5	31
2	53,5	82,5	30	46	68	40,5	78	35,5	129	28
3	66	79	21,5	286	66	40,5	83,5	22	101,5	25
4	53	100	24,5	255	132	49,5	94	54,5	80,5	24,5
5	111,5	151	35,5	359	142	63,5	216,5	76	161,5	40
6	54,5	93,5	15	187,5	81	53	62	57,5	80	38
7	72,5	56,5	20	32	141,5	54	53	48	156	36,5
8	58	98	20,5	101	78,5	27	55	38	80	34
9	44,5	81,5	17	79	63	20,5	75,5	13,5	86	26
10	43,5	61	22	83,5	63,5	46,5	67,5	38,5	137	5
11	52	32,5	10	77	151	18	55,5	16	83,5	18,5
12	107,5	117	25,5	276	135,5	60	104,5	33,5	109,5	40
13	32	49	18,5	66,5	64	15,5	196	47,5	78,5	27
14	93	139,5	22	296,5	118,5	42	56,5	44	91	35,5

15	139,5	122	38,5	53	105	43	122,5	79,5	262	30
16	35,5	62,5	21,5	87	71	62,5	101,5	41,5	80	23
N	1092	1470,5	369,5	2476	1571,5	691	1687	691,5	1854,5	462
F	158396	213297	53596	359146	227948	100230	244701	100303	268997	67014

Tabulka 4 *Upravená data u automatické analýzy-laborant 2*

č. vzorku/ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	86,5	155,5	29	210	90	58	270,5	47	141,5	34
2	61,5	99,5	33,5	46	69,5	45,5	81,5	38,5	139	31
3	74,5	86	20,5	295	69	34	90,5	20,5	107,5	26
4	57,5	115,5	25,5	257,5	143	51,5	100	50,5	88,5	24,5
5	51,5	81	25,5	285	151,5	47	95,5	51,5	131,5	34,5
N	331,5	537,5	134	1093,5	523	236	638	208	608	150
F	153870	249488	62198	507562	242757	109543	296136	96546	282211	69624

Tabulka 5 *Upravená data u automatické analýzy-laborant 3*

č. vzorku/ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	91,5	163	32	207	98	62	271,5	48	141,5	35
2	65,5	97,5	32,5	49	68,5	46,5	80,5	38,5	137	38
3	81	87	24,5	294	67	41,5	89,5	22,5	108,5	27
4	56	120,5	23,5	262,5	141	61,5	102	64,5	88,5	26,5
5	51,5	80	27,5	281	150,5	52	98,5	56,5	135,5	34
N	345,5	548	140	1093,5	525	263,5	642	230	611	160,5
F	160368	254361	64983	507562	243686	122307	297993	106758	283604	74498

Tabulka 6 *Data automatické analýzy pro výstupní filtry v intervalu 0-30 min*

č. filtru/ č. oblasti	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	86	39	140	116	115,5	334,5	180	93	89	173,5
2	51	52	139,5	59,5	123,5	249,5	325	101	173,5	145,5
3	38	39	156	51,5	128	124	157,5	60	49	77
4	43,5	24	192	57	66,5	88,5	107,5	85	77,5	71
5	42,5	49	206	70	167	270,5	96	85,5	126	30

6	51	46	232,5	42	129	111	112	52	68	63,5
7	32,5	31	66,5	56,5	148,5	61,5	52,5	55	58,5	58
8	38,5	43,5	98	58	97,5	148	72,5	65	75	150,5
9	38,5	74	280	65,5	113,5	345,5	245,5	90,5	210,5	93
10	52	62,5	165,5	67,5	138	127,5	80	92,5	111	131
11	39,5	46	122	52	124	247	62,5	71,5	237,5	43,5
12	60	45,5	159	52,5	106	118,5	263	106	111	182
13	74,5	50,5	248,5	88,5	84,5	243,5	158	101,5	165	123,5
14	11,5	48	137,5	59	280	90	263,5	86,5	93,5	110
15	49,5	44,5	91,5	81,5	122,5	141,5	153,5	63	79,5	62,5
16	64,5	34,5	126	93	294	158,5	94	107	151	109
N	773	729	2560,5	1070	2238	2859,5	2423	1315	1875,5	1623,5
F	112124	105742	371403	155205	324624	414773	351459	190742	272043	235490

Tabulka 7 *Data automatické analýzy pro výstupní filtry v intervalu 60-90 min*

č. filtru/ č. oblasti	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	68,5	69,5	123	100	142,5	264,5	225,5	88	124,5	142
2	50	61	100,5	84,5	109,5	227	145,5	116,5	194	55,5
3	47	54,5	89,5	55,5	57,5	113	87	67	45,5	127,5
4	50,5	45	106	72	76	129,5	81	66,5	55	74,5
5	43,5	73,5	155	84	175	278	143,5	85	171,5	76
6	33	42,5	91	50,5	118,5	103	75,5	64	93	69,5
7	44,5	29	88,5	21	98,5	75	88,5	73,5	60,5	58
8	34	34,5	103	31,5	90	214	129	50	61,5	48
9	81,5	53,5	154	60	173,5	276	138	45,5	243	69,5
10	30,5	64,5	93,5	45	89,5	148	68	114,5	76	98
11	70,5	47,5	168	28,5	109	130	73,5	63,5	57,5	29
12	49,5	24	116	23	271	100	64,5	81	103,5	82,5
13	74,5	87,5	147	84,5	268,5	252	305,5	89	149	146,5
14	57	38,5	180,5	51	180,5	198,5	149	56	117,5	152,5
15	50	61	201,5	28,5	139,5	163	126,5	34,5	75,5	96
16	43,5	92	178	41	103	255,5	340	99,5	69,5	165
N	828	878	2095	860,5	2202	2927	2240,5	1194	1697	1490
F	120102	127355	303882	124816	319402	424564	324987	173191	246152	216126

Tabulka 8 *Data automatické analýzy pro výstupní filtry v intervalu 120-150 min*

č. filtru/ č. oblasti	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	75	39	160,5	62,5	203	361	180	113,5	159	123,5
2	64	50	140	78,5	87	302	165	100	174,5	182,5
3	49,5	39	189,5	50,5	62	145,5	183,5	65	63,5	116,5
4	41,5	42,5	168	50	89,5	109	124	51	94,5	92,5
5	57,5	49	135	68,5	169	226,5	112,5	119	319	68,5
6	49	32	93	81,5	73	158,5	58	66,5	120	61,5
7	37,5	32,5	122	62	80,5	140,5	98	74,5	80,5	65,6
8	44,5	53,5	58,5	58,5	103,5	66,5	92	52	69,5	46
9	81,5	71	122	63,5	247	342,5	264	115,5	135,5	118,5
10	50,5	44,5	133,5	42,5	95,5	226,5	102	83,5	103,5	76
11	52,5	36,5	88	50	123,5	312	406,5	72,5	85,5	118,5
12	68	62	151,5	80	188	186,5	89	138	112,5	114,5
13	67	51	173	84	172		366,5	114,5	182,5	145
14	25	43,5	58,5	27,5	74	295,5	103	54,5	107	163
15	51	33,5	122	51	111,5	167,5	191,5	108	109	103,5
16	51	45,5	193,5	72,5	74	103	83	78,5	75	132,5
N	865	725	2108,5	983	1953	3143	2618,5	1406,5	1991	1728,1
F	125469	105162	305840	142585	283285	486288	379816	204014	288797	250663

Tabulka 9 *Data automatické analýzy pro výstupní filtry v intervalu 180-210 min*

č. filtru/ č. oblasti	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	9,5	13	43,5	25	39,5	120	110	33	33	36,5
2	13	8	47	21,5	35	72,5	43	23	35,5	31
3	3	10	25	8,5	19	35,5	36,5	13	17	27
4	3,5	9,5	12	12	25,5	35	36	13	20,5	18
5	15,5	20	52,5	22	14,5	134,5	29	35	59,5	33,5
6	9	12,5	37,5	11,5	26,5	61,5	47,5	28	31,5	50
7	4	3,50	15	17,5	19,5	27	17	10,5	23	67
8	3,5	11	27	13	55,5	8,5	36	10	29,5	20,5
9	11	25	63,5	21	32	90,5	45,5	22,5	34	25

10	8,5	17	39,5	10	44,5	126	92	53	59,5	15
11	7	4	34,5	22,5	10,5	47	14	26	17,5	31
12	14,5	10,5	58,5	15,5	42,5	44,5	26	18	22	31
13	14,5	20,5	53,5	12,5	54,5	88	60,5	45	38,5	20,5
14	5	13,50	22	15,5	36	53	25	9	66	29
15	11,5	10	26,5	13	32	54,5	43	12	23,5	37
16	7	14	33,5	7,5	38,5	45,5	23	10,5	33	19,5
N	140	202	591	248,5	525,5	1043,5	684	361,5	543,5	491,5
F	20307	29300	85725	36045	76224	151361	99215	52436	78835	71293

Tabulka 10 *Data automatické analýzy pro výstupní filtr 25 v různých intervalech*

č. filtru (čas. interval)/ č. oblasti	25 (30-60)	25 (90-120)	25 (150-180)	25 (210-240)
1	99,5	103,5	182	83,5
2	131	139,5	142	79,5
3	76	83,5	101	44
4	90,5	66,5	119,5	38,5
5	204	122	173	87
6	118	84,5	200	36
7	132	45	179,5	35
8	94,5	37,5	84	28
9	172,5	118	227	58,5
10	151	80,5	127	93,5
11	120	59,5	269	58,5
12	134	142,5	186,5	73,5
13	121,5	106,5	78	80,5
14	135,5	51,5	108,5	24
15	128,5	70,5	99	46,5
16	119,5	63	105	90
N	2028	1374	2381	956,5
F	294163	199300	345366	138741

Tabulka 11 *Data manuálního počítání vláken ze segmentů modelu plic č. 1 až 10*

č. segmentu/ č. oblasti	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

1	1,5	1	0	0,5	2,5	1	1	0	4	1
2	1	1	0	1	4	1	3	1,5	2	0
3	2	1,5	1,5	1	3	1	0	0	3,5	2
4	0	0	0	0	2	1	1	0	2	1,5
5	1	0	2	0	3	1,5	0	1	3	1
6	3	1	4	1	1,5	2	3	2	2	1
7	5,5	2	0	1	1	0	1	1	2	2
8	1	2	0	2	2	1	0	0	3	3
9	3,5	0,5	0	1	4,5	3	1	2	4,5	0
10	3	0	1	1	2,5	0	2	0	2	2
11	2	0,5	2	1	1	3	2	0	2,5	1
12	0	3	0	3	2	3	1	1	2	2
13	2	0,5	0	2	4	1	0	0	0	3,5
14	2	1	0	0	1	0,5	1	0	4	2
15	3	0	1	0	3	2,5	1	1	4	1
16	3	1	0,5	1	3,5	1	0,5	0	2	0
17	1	2	1	1		2	3	0	6	1
18	3	1	1,5	1,5		1	1	1	1	2
19	2	1	0	0		2	1	0	6	0
20	3	0	2	2		2	2	0	3	1
počet vláken (N)	42,5	19	16,5	20	40,5	29,5	24,5	10,5	58,5	27
počet oblastí (n)	20	20	20	20	16	20	20	20	20	20
vlákna na filtru (F)	7028	3142	2728	3307	8371	4878	4051	1736	9673	4465

Tabulka 12 *Data manuálního počítání vláken ze segmentů modelu plic č. 11 až 21*

č. segmentu/ č. oblasti	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	12,5	5,5	1	0	7,5	2,5	0	1,5	6	7,5	7,5
2	6,5	7,5	3	0,5	5	4	1	1	3,5	6,5	5
3	4	1	3	1	5,5	3	1	2	8	5,5	4,5
4	6	6,5	4	1	6	6	2	0,5	5	7	3
5	8,5	5	2	1	6	8	0	3	7	12	3,5
6	6	4,5	1	0	6	4	1	0	6,5	4	2
7	7	3	0	1	5	6,5	0	0	6,5	11	2,5
8	7,5	5	3	1,5	3	8	2	0	5	8,5	4
9	4,5	0	3	0	7,5	3	2	0	7,5	3,5	1,5

10	8	4,5	1	0	3,5	5	2	1	9	4	6
11	5	2	3	0	5,5	2,5	1	1,5	5,5		3
12	7	4	1,5	2	2	6	2	1,5	7		9
13	7	4	3	2	6	7	1	1	7,5		5
14	5	2	0	0	8	7	1	2	4		8
15	5	3,5	1	0	3	5,5	1	1	9,5		4,5
16	3	4	1,5	1	4,5	8	2	1	9		4
17			0,5	1			1,5	0			
18			1	0			2	1			
19			0	1			1	0			
20			0	0			2	2			
N	102,5	62	32,5	13	84	86	25,5	20	106,5	69,5	73
n	16	16	20	20	16	16	20	20	16	10	16
F	21186	12815	5374	2150	17363	17776	4217	3307	22013	22985	15089

Tabulka 13 *Data manuálního počítání vláken ze segmentů modelu plic č. 22 až 32*

č. segmentu/ č. oblasti	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1	3,5	1	2	24	8	0	7,5	0	39,5	0,5	4
2	3	0	3,5	28	14	0	6,5	4	42,5	3	4,5
3	3	0	6	22,5	15	0	9,5	1	38	0	4
4	4	1	3	20,5	12,5	1	9,5	1	33	3	5
5	4	0	2	26,5	7	1	9	2	34	3	3,5
6	2,5	0	2,5	29	16	1	6,5	0	38,5	2	6,5
7	7	0	5	26	20	1	7	1	38	4	6
8	5,5	2	1	26,5	11,5	0	9	2	34	5	4,5
9	3	0	0	29	12	0	10	1	36,5	4	3,5
10	5	0	3	22	12,5	2	4	2	31,5	3	5
11	6,5	2	2	26	13	2	10	0	53	2,5	5
12	6	0	3	21	11	3	6,5	1	46	3,5	7
13	5,5	1	2,5	19,5	20	0	5,5	1	36	2	4
14	3	2	1,5	29	16	0	2	1	42	0	5
15	6,5	0	3	21	14	0,5	8	0	38	4	5,5
16	4	1	4,5	27	19,5	0	10	2	39	5	4
17		0				0	4,5	1		2	
18		0				1,5	5	1		2	

19		0				1	8,5	1		1,5	
20		0				0	2,5	0		6,5	
N	72	10	44,5	397,5	222	14	141	22	619,5	56,5	77
n	16	20	16	16	16	20	20	20	16	20	16
F	14882	1654	9198	82162	45887	2315	23315	3638	128048	9343	15916