

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

Problematika výzkumu azbestových vláken metodami SEM/EDX a FTIR

Diplomová práce

Jméno: Bc. Pavla Hrušková

Studijní program: N 1407 Chemie

Studijní obor: Učitelství biologie pro střední školy (P-NBISSK)
Učitelství chemie pro střední školy (P-NCHSSK)

Vedoucí práce: Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D.

Odborný konzultant: Ing. Petr Homola
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem
Pracoviště Hradec Králové

Oponent: prof. Ing. Karel Kolář, CSc.

Hradec Králové

duben 2015

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Zadání diplomové práce

Autor: Bc. Pavla Hrušková

Studijní program: N 1407 Chemie

Studijní obor: Učitelství biologie pro střední školy (P-NBISSK)
Učitelství chemie pro střední školy (P-NCHSSK)

Název závěrečné práce:

Problematika výzkumu azbestových vláken metodami SEM/EDX a FTIR

Název závěrečné práce AJ:

The issue of research asbestos fibers by SEM/EDX and FTIR methods

Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Azbest je přítomný v řadě stavebních materiálů, které se používaly v minulém století, především díky jeho vysoké odolnosti vůči vysokým teplotám. Bylo však prokázáno, že se jedná o nebezpečnou karcinogenní látku. Hlavním cílem práce bude studium azbestových vláken SEM/EDX metodou – skenovací elektronovou mikroskopií a metodou FTIR – infračervenou spektroskopií. Práce bude doplněna o fotografie mikrostruktury azbestových vláken. Dalším cílem práce bude shromáždění literární rešerše o nebezpečnosti azbestových vláken, formách výskytu, toxikologii a zdravotních důsledcích pro lidský organismus. Literární rešerše bude zaměřena také na vědecké poznatky z oblasti využití elektronové mikroskopie. Klíčová slova: azbestová vlákna, toxikologie azbestu, skenovací elektronová mikroskopie, infračervená spektroskopie.

Garantující pracoviště: Katedra biologie, Přírodovědecká fakulta

Vedoucí práce: Ing. Vladimír Dvořák, Ph.D.

Konzultant: Ing. Petr Homola

Oponent: prof. Ing. Karel Kolář, CSc.

Datum zadání závěrečné práce: 20. 11. 2013

Datum odevzdání závěrečné práce:

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, z kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala konzultantovi Ing. Petru Homolovi ze Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracoviště Hradec Králové za pomoc a cenné rady při zpracovávání diplomové práce a za poskytnutí technického zázemí, bez něhož by nebylo možné práci realizovat. Můj dík patří také vedoucímu práce Ing. Vladimíru Dvořákovi, Ph.D. za pomoc a podporu při vzniku této práce.

Anotace

HRUŠKOVÁ P. *Problematika výzkumu azbestových vláken metodami SEM/EDX a FTIR*. Hradec Králové, 2015. Diplomová práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce Vladimír Dvořák. 98 s.

Azbest je přítomný v řadě stavebních materiálů, které se používaly v minulém století, především díky jeho vysoké odolnosti vůči vysokým teplotám. Bylo však prokázáno, že se jedná o nebezpečnou karcinogenní látku. Cílem práce je shromáždění literární rešerše o nebezpečnosti azbestových vláken, formách výskytu, toxikologii a zdravotních důsledcích pro lidský organismus. Teoretická část práce se dále zabývá různými metodami studia azbestových vláken. Praktická část je zaměřena především na metodu SEM/EDX – skenovací elektronovou mikroskopii a FTIR – infračervenou spektroskopii. Práce je doplněna o fotografie potřebného přístrojového vybavení a mikrostruktury azbestových vláken.

Klíčová slova: azbestová vlákna, toxikologie azbestu, skenovací elektronová mikroskopie, infračervená spektroskopie

Annotation

HRUŠKOVÁ P. *The issue of research asbestos fibers by SEM/EDX and FTIR methods.* Hradec Králové, 2015. Diploma thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové, Thesis Supervisor Vladimír Dvořák. 98 p.

Asbestos is present in many building materials that were used in the last century, mainly due to its high resistance against high temperatures. However, it was shown that it is a dangerous carcinogen. The objective of this thesis is gathering of literary research on hazards of asbestos fibers, forms of occurrence, toxicology and health effects on the human body. The theoretical part of the thesis is also discusses various methods of studying asbestos fibers. The practical part is focuses on SEM / EDX – scanning electron microscopy and FTIR – infrared spectroscopy. The thesis is supply by photographs of necessary instrumentation and microstructure of asbestos fibers.

Keywords: asbestos fibers, asbestos toxicology, scanning electron microscopy, infrared spectroscopy

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
2.1	Problematika azbestu	10
2.1.1	Základní charakteristika	10
2.1.2	Formy azbestu.....	11
2.1.3	Vlastnosti azbestu.....	14
2.1.4	Využití azbestu.....	15
2.1.5	Účinky azbestu na lidské zdraví	18
2.1.5.1	Azbestóza	19
2.1.5.2	Pleurální hyalinóza.....	20
2.1.5.3	Benigní pleurální výpotek	21
2.1.5.4	Bronchogenní karcinom plic	21
2.1.5.5	Maligní mezoteliom pleury a peritonea	22
2.1.6	Azbest a životní prostředí.....	23
2.1.7	Náhled do české legislativy v souvislosti s azbestem	24
2.1.8	Sanace azbestu	24
2.1.8.1	Základní principy správného postupu sanace.....	25
2.1.8.2	Demontáže a sanace materiálů obsahujících azbest	26
2.1.8.3	Ochranné pomůcky	26
2.1.8.4	Vstup do pracovní oblasti, výstup z pracovní oblasti	27
2.1.8.5	Materiálová propust'.....	28
2.1.8.6	Odpady.....	29
2.1.9	Výskyt azbestu ve školách	30
2.2	Analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken	32
2.2.1	Metody optické mikroskopie.....	32
2.2.1.1	Polarizační optická mikroskopie (PLM).....	32
2.2.1.2	Optická mikroskopie s fázovým kontrastem (PCM).....	33
2.2.2	Metody elektronové mikroskopie	33
2.2.2.1	Historie elektronového mikroskopu	34
2.2.2.2	Transmisní elektronová mikroskopie.....	35
2.2.2.3	Rastrovací elektronová mikroskopie	36
2.2.2.4	Zvětšení elektronového mikroskopu	38

2. 2. 2. 5	Elektronový mikroskop.....	38
2. 2. 2. 6	Příprava preparátů pro TEM.....	44
2. 2. 2. 7	Příprava preparátů pro SEM	48
2. 2. 2. 8	Detekce rentgenového záření	49
2. 2. 3	Infračervená spektroskopie.....	50
2. 2. 3. 1	Infračervené spektrometry	51
2. 2. 4	Jiné méně používané metody	56
2. 2. 4. 1	Diferenční termická analýza (DTA)	56
2. 2. 4. 2	Rentgenová difrakční analýza (RTG)	57
2. 2. 4. 3	Ramanova spektrometrie (RAMAN).....	58
2. 2. 4. 4	Identifikace látek v blízké infračervené oblasti spektra (NIR) ...	58
3	METODIKA A VÝSLEDKY	60
3. 1	IR/FTIR.....	60
3. 2	SEM/EDX.....	64
3. 3	PLM/PCM.....	69
3. 4	Kvalitativní a kvantitativní analýza azbestových vláken	72
3. 4. 1	Kvalita výsledků stanovení azbestových vláken.....	72
3. 4. 2	Kvantifikace azbestu.....	72
4	DISKUZE	74
5	ZÁVĚR.....	81
6	LITERATURA	83
7	PŘÍLOHA.....	94
7.1	Seznam použitých zkratk	94
7. 2	Seznam obrázků a jejich zdrojů	96
7. 3	Seznam tabulek	97
7. 4	Seznam fotodokumentace	97

1 ÚVOD

Azbest byl v minulém století používán především díky jeho vysoké odolnosti vůči vysokým teplotám, prokázal dobré technické vlastnosti a trvanlivost, je tedy i v dnešní době přítomen v řadě stavebních materiálů. Od doby, kdy bylo dokázáno, že se jedná o nebezpečnou karcinogenní látku, se s tímto tématem můžeme setkat poměrně často, a to především vzhledem k jeho toxikologii a zdravotních důsledcích pro lidský organismus.

Práce se zabývá problematikou azbestu od forem výskytu, vlastností a využití, přes toxikologii a s ní související legislativu a sanaci. Tato část práce navazuje na další oddíl, kterým jsou analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken. V této kapitole je stručně zmíněno více metod, pomocí nichž lze azbest stanovit. Hlavním cílem práce však bylo studium azbestových vláken metodou SEM/EDX – skenovací elektronovou mikroskopií s energiově disperzním analyzátozem a metodou FTIR – infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací.

Téma elektronové mikroskopie je rovněž zpracováno rozsáhle – od stručné historie, přes rozdělení mikroskopu podle principu zobrazení vzorku a popisu jeho jednotlivých částí. Zmíněna je také detekce rentgenového záření, která doplňuje SEM analýzu. Nebyla opomenuta ani příprava preparátů, která je pro elektronovou mikroskopii specifická.

Infračervená spektroskopie je sepsána stručněji, avšak je zde výstižně zpracováno vše podstatné – princip metody, rozdělení spektrometrů, přístrojové vybavení a samozřejmě metoda FTIR včetně rozdělení technik a přípravy vzorků.

Další kapitola je zaměřena na praktické odzkoušení nejdůležitějších analytických metod, které tak doplní teoretický literární přehled. Jedná se o zmiňovanou metodu FTIR, SEM/EDX a okrajově také PLM – polarizační optická mikroskopie a PCM – optická mikroskopie s fázovým kontrastem, které se rovněž hojně využívají, pomocí nichž se provádí početní stanovení koncentrace vláken v ovzduší. Práce bude doplněna o fotografie mikrostruktury azbestových vláken a fotografie příslušného přístrojového vybavení včetně dalšího příslušenství, které se používá v laboratořích na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

Azbest byl znám již po staletí, jak svědčí historicky doložená skutečnost, že Karel Veliký v 8. století vlastnil nehořlavou košili (Červenka *et al.*, 2006).

Používání azbestu se rozšířilo v druhé polovině 19. století, kdy se azbestová vlákna začala používat jako surovina nebo příměs výrobků z různých oborů průmyslu. Azbest výrobkům zajišťoval především nehořlavost, odolnost vůči působení kyselin, elektrickou nevodivost, pevnost a ohebnost. Největší rozmach využívání azbestu v průmyslové výrobě proběhl v letech 1975 až 1990. V tomto období se v naší republice ročně spotřebovalo až 50 000 tun azbestu. Na našem území se těžil chryzotil (Dobšiná na Slovensku), zbytek spotřeby se dovážel především z Ruska, Kanady, Jižní Afriky a Kypru (Janeček, 2012).

2.1 Problematika azbestu

Azbest je společný název pro skupinu silikátových minerálů, které jsou rozděleny na serpentiny a amfiboly, na základě jejich struktury a chemického složení (Yao *et al.*, 2010; Gunter *et al.*, 2007).

Definice azbestu podle ISO: „Azbest je společný výraz používaný pro specifické serpentinové a amfibolové minerály, které vykrytalizovaly do azbestového vzhledu, což způsobuje, že se oddělují do dlouhých, tenkých a pevných vláken, jsou-li tyto minerály drceny nebo zpracovávány.“

2.1.1 Základní charakteristika

Azbest je označení přirozeně vzniklých vláknitých křemičitanových minerálů, které se na základě struktury rozdělují do dvou skupin – serpentiny a amfiboly. Jednotlivé minerály mají odlišné vlastnosti. Nejpoužívanějším azbestovým minerálem je chryzotil, který patří do **serpentinové skupiny**. Chryzotilová vlákna jsou zvlněná, ohebná a mají tendence tvořit shluky. Zbývajících pět minerálů (krokydolit, antofylit, tremolit, aktinolit a amozit) patří mezi **amfiboly**. Tato vlákna jsou hladká se špičatými konci, snadno se dostávají do plic. Azbestové minerály se ze 40 – 60 % skládají z křemíku, zbylou část tvoří oxidy železa, hořčíku a ostatních kovů (Červenka *et al.*, 2006).

Azbestová vlákna jsou vhodná jako tepelně izolační materiály – jsou odolná vůči vysokým teplotám, jsou chemicky rezistentní a elektricky nevodivá, proto byla používána často v různých odvětvích průmyslu i jako stavební materiály

v budovách. Tato vlákna mají tendenci vytvářet vláknitý prach ve vzduchu a ulpívat na oděvech. Jsou ve vzduchu polétavá a snadno vdechnutelná (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

Společnou vlastností všech azbestů je vláknitá struktura. Délka jejich vlákna mnohonásobně převyšuje jejich průměr. Podle mezinárodních konvencí se za vlákno považuje pevná částice, jejíž poměr délky ku průměru je větší než 3 : 1 (Lajčíková *et* Hornychová, 2010). Za nejvíce nebezpečná pro zdraví se pak považují tzv. **respirabilní vlákna** delší než 5 μm o průměru menším než 3 μm (Zaremba *et al.*, 2010).

Zeidler–Erdely *et al.* (2006) ukázal, že vlákna 20 μm dlouhá jsou zcela pohlcena lidskými alveolami. To znamená, že kritická délka uvedená ve studiích toxicity vláken je 20 μm (Bernstein, 2007). Delší vlákna zůstávají v plicích a jsou odstraněna pouze v případě, že se rozpustí nebo rozpadnou. Příčné zlomení nakonec redukuje dlouhá vlákna na krátká, podstatně se tak snižuje obsah nebezpečných vláken v plicích. Zdá se, že kratší vlákna mají nižší bioperzistenci (setrvávají kratší dobu v organismu – v plicích) a tím jsou i méně toxická (Brown *et* Harrison, 2012).

V roce 2003 zajišťovaly cca 95 % produkce azbestu Brazílie, Kanada, Čína, Kazachstán, Rusko a Zimbabwe (Vašák, 2007).

2. 1. 2 Formy azbestu

Existují minerály, které se vyskytují jak v azbestové formě – jsou vláknité, tak v neazbestové formě – nejsou vláknité (Červenka *et al.*, 2006). Pět ze šesti komerčních azbestových minerálů patří do minerální skupiny amfibolů (Papíke *et* Ross, 1970). V současné době, více než 95 % produkce azbestu zahrnuje použití bílého azbestu (chryzotil). Z dovezeného surového chryzotilu bylo zjištěno, že obsahuje nečistoty, což vedlo k identifikaci dalších typů azbestu (Kakooei *et* Marioryad, 2010; Panahi *et al.*, 2010).

Hlavními formami azbestu podle Výboru vrchních inspektorů práce (2007) jsou:

- chryzotil (bílý azbest)
- krokydolit (modrý azbest)
- amozit (hnědý azbest)
- tremolit
- aktinolit
- antofylit

Serpentiny (hadce) jsou křemičitany hořčíku, popřípadě hliníku či dalších prvků, s OH skupinou. Jsou velmi blízce příbuzné s jílovými minerály (v užším slova smyslu), se slídkami, chlority či mastkem. Vznikají hydrotermální přeměnou peridotitů neboli olivínovců. Serpentin tvoří v hadcích celistvé nebo vláknité neprůhledné, černé, zelené, žlutozelené, šedé až bílé agregáty.

Minerál serpentin tvoří tři mírně odlišné formy, jednou formou je **chryzotil**. Obvykle se vyskytuje v podobě vláknitých až plstnatých agregátů, tzv. chryzotilových azbestů (Velebil, 2008). Již staří Řekové a Římané obdivovali jeho jemná vlákna, protože se neměnila ani v nejprudším žáru – taje teprve při teplotě 1550 °C (Jihočeský mineralogický klub, 2006). Chryzotil má krystalickou strukturu složenou ze dvou vrstev. Jednotlivé vrstvy jsou tvořeny z SiO₂ a jsou tetraedricky svázány dohromady hydroxyly (OH) a z vrstvy oktoedrické s ionty hořčíku. Vlákna chryzotilu (Obr. 1) jsou tenká trubičkovitá, dutá, měkká a ohebná. Kratší vlákna mohou být poměrně křehká a obecně jsou silnější. Svazky vláken chryzotilu se obvykle rozpadají na jednotlivá tenká vlákna (Červenka *et al.*, 2006). Další dvě formy jsou antigorit a lizardit, které jsou vzhledem k menšímu výskytu v přírodě nevýznamné.



Obr. 1: Vlákna chryzotilu

Foresti *et al.* (2003) uvádí, že morfoloická, strukturální a kompoziční heterogenita přírodních vláken chryzotilu je překážkou pro přípravu kvantových vodičů.

Amfiboly jsou rozsáhlá a svým proměnlivým chemismem a vzhledem rozmanitá skupina minerálů. Vedle křemene, živců, pyroxenů a slídk jde o nejrozšířenější horninotvorné minerály především vyvřelých, ale i přeměněných hornin. Jedná

se o křemičitany (silikáty) hořčíku, železa, vápníku, sodíku, někdy i hliníku a titanu. Jednotlivé prvky se ve struktuře amfibolu vzájemně zastupují. Mezi nejdůležitější a nejrozšířenější amfiboly patří například antofylit, tremolit, aktinolit a další (Velebil, 2008).

Amfiboly lze nalézt v přírodě v kompaktní hmotě jednotlivě nebo integrovaně, obvykle se skládají z velmi tenkých monokrystalů zvaných fibrily (Dana *et Ford*, 1932). Amfiboly se od sebe navzájem liší množstvím sodíku, vápníku, hořčíku a železa, které obsahují. Serpentinové a amfibolové minerály mohou mít vláknité nebo nevláknité konstrukce (Virta, 2001).

Krokydolit má krystalový systém monoklinický. Vyskytuje se v metamorfovaných rudách železa a může se najít též v ruce. Fe^{2+} může být v krystalové mřížce částečně substituováno Mg^{2+} . Vlákna nejsou obecně tak tenká a křehká jako u chryzotilu – přesto mohou být ohnuta pod úhlem větším než 90° , než prasknou. Krátká vlákna jsou rovná.

Amozit tvoří dlouhá a tenká vlákna (svazky vláken), která jsou křehká a často se ohýbají v širokých klenbách. Vlákna se na svých koncích normálně netřepí, ale mají je spíše ploché nebo podobné čepeli nože. Krystalický systém je též monoklinický.

Tremolit má krystalovou strukturu monoklinickou a bývá označován jako Ca-Mg amfibol. Vyskytuje se jako kontaminant ostatních azbestových ložisek, především u chryzotilu a také ve slídě (Červenka *et al.*, 2006). Tvoří dlouze sloupcovité až jehlicovité krystaly a jejich rovnoběžně vláknité či zrnité agregáty (Velebil, 2008). Má nejdelší vlákna, a to až 15 cm dlouhá, a tvoří prizmatické nebo vláknité agregáty.

Aktinolit má krystalovou strukturu také monoklinickou a bývá označován též jako Ca-Mg amfibol. Odlišuje se od tremolitu pouze vyšší náhradou atomů hořčíku atomy železa v krystalové mřížce. Má i velmi podobné vlastnosti jako tremolit (Červenka *et al.*, 2006). Tvoří dlouze sloupcovité a jehlicovité krystaly a jejich stébelnaté, paprscité i zrnité agregáty (Velebil, 2008). Má dlouhá tenká vlákna i dlouhé prizmatické krystaly. Vyskytuje se jako kontaminující prvek především v amozitových ložiscích.

Antofylit má krystalový systém ortorombický a je relativně vzácný – vyskytuje se např. jako příměs ve slídě. Vlákna mají tvar čepeli nože a jsou velmi tenká. Vlákna z jednoho zdroje mají téměř shodné velikosti (Červenka *et al.*, 2006). Tvoří sloupcovité až jehlicovité krystaly a jejich paprscité a rovnoběžně vláknité agregáty (Velebil, 2008).

Nejčastěji komerčně využívané jsou první tři z uvedených druhů azbestu. Přestože jsou označovány barvami, pouze podle barvy je nelze spolehlivě identifikovat, nezbytný je laboratorní rozbor (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

Chrysotil má různé mineralogické vlastnosti a je méně bioperzistentní než amfibolové minerály – bylo zjištěno, že je méně škodlivý než amfibolový azbest (Bernstein *et al.*, 2005).

2. 1. 3 Vlastnosti azbestu

Azbestová vlákna jsou v podstatě chemicky inertní, nebo téměř inertní. Nedají se odpařit, rozpustit, spálit, vydrží působení většiny chemikálií. Amfibolová vlákna jsou odolnější vůči kyselinám a všechny druhy azbestu jsou odolné i vůči působení alkálií (Chissick, 1985; WHO, 1998).

Azbestové vlákno má vysokou pevnost v tahu podél své osy. Má vysoký elektrický odpor a dobré zvukově izolační vlastnosti (Crane, 1997).

Pro použití azbestů jsou důležité údaje o teplotní stabilitě vláken – teploty, při kterých se vlákna rozkládají a teplota tavení zbytkových materiálů. Teploty rozkladu se pohybují od 400 °C do 1040 °C a teploty tavení zbytkového materiálu jsou vyšší než 1200 °C.

Chrysotil začíná při zahřívání na teploty nad 600 °C ztrácet molekuly vody z krystalické mřížky a vlákna ztrácejí svoji ohebnost. Při teplotách okolo 800 °C je podstata vláken narušena a probíhá rekrytalizace chrysotilu na nevláknitý fosterit a křemen (Červenka *et al.*, 2006).

Pokud jde o chemické složení, v přirozeném chrysotilu se mohou objevit různé kationty, např. hliníku, železa (Fe^{2+} a Fe^{3+}), niklu a chromu (Deer *et al.*, 2009). Přítomnost těchto cizích kationtů, dokonce i v omezeném množství, by mohla hrát důležitou úlohu v patologických účincích. Zejména železo je v tomto případě považováno za toxické (Bergamini *et al.*, 2007; Bernstein *et al.*, 2005; Gazzano *et al.*, 2005 & 2007). Nicméně, někteří výzkumníci mají pochybnosti o významu tohoto kovu s ohledem na nebezpečí vláken (Van Oss *et al.*, 1999), ale ve skutečnosti je škodlivost železa stále předmětem debaty (Srivastava *et al.*, 2010).

2. 1. 4 Využití azbestu

Azbest se široce uplatňoval v mnoha oblastech použití jako zpevňující složka nebo jako tepelná, elektrická či zvuková izolace. Používal se ve třecích výrobcích, v plochém těsnění, uzávěrech či lepidlech. Díky své chemické odolnosti se používal v některých procesech, jako je filtrace či elektrolyza. Azbest se uplatňoval v obchodních, průmyslových i obytných budovách, jak je též vidět v tabulce č. 1. Jako izolační materiál se nachází také v železničních vagónech, na lodích a v jiných dopravních prostředcích, včetně letadel a některých vojenských vozidel (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

V minulosti byl azbest použit přibližně v 3000 různých komerčních produktech (Harris *et al.*, 2003). Azbest sám o sobě není nebezpečný, nebezpečným se stává, když se materiál opotřebí (stárnutí, poškození) nebo mechanickými procesy (řezání, vrtání, broušení, spřádání, drcení), což může vést k uvolnění azbestových vláken (Vrečko *et al.*).

Různé materiály se podstatně liší, pokud jde o míru drolivosti a snadnost, s jakou se z nich mohou uvolňovat vlákna. Některé z materiálů obsahujících azbest (živičné směsi a pryžové nebo polymerové podlahové materiály) jsou hořlavé. Tyto hořlavé materiály se nesmějí likvidovat spalováním, protože tím by se uvolnila azbestová vlákna.

Tabulka č. 1 obsahuje příklady použití některých materiálů obsahujících azbest v domácích spotřebičích a průmyslových zařízeních.

Tabulka č. 1: Příklady materiálů a výrobků obsahujících azbest

Materiál obsahující azbest	Domácí spotřebiče
Tepelná izolace a třecí výrobky, azbestový papír, formy/šablony na tvarování (konstrukčních) prvků, brzdové destičky, těsnění a uzávěry z lisovaných vláken, pogumované/polymerové těsnění a uzávěry	vysoušeče vlasů, teplovzdušné a sálavé elektrické konvektory, opékače topinek, pračky, bubnové sušičky, odstředivé ždímačky, myčky nádobí, chladničky a mrazničky
Izolační desky, žáruvzdorný cement, uzávěry z lisovaných vláken, pogumované/polymerové uzávěry	vaříče, krby
Tuhá lepenka varné podložky	varné podložky
Papír, tuhá lepenka, azbestocement	stojany na žehličky
Azbestové textilie	kuchyňské rukavice (chňapky), ohnivzdorné potahy

Tabulka č. 1: Příklady materiálů a výrobků obsahujících azbest

Vláknité panely, případně s potahem sítí z drátů nebo skleněných vláken	katalytické plynové ohřivače
Papír, látky a izolační desky s hliníkovou podložkou	horkovzdušná plynová topná tělesa
Azbestová sádra	kotle / potrubní rozvody
Izolační bloky, izolační desky, papír, fíbrové podložky z lisovaných vláken, podložky spojené pryží / polymerem	elektrická horkovzdušná akumulací topná tělesa
Fíbrové podložky	radiátory
	Jiná zařízení
Třecí výrobky	brzdové destičky, destičky spojek v nákladních vozech, osobních automobilech a jiných vozidlech

Výrobky obsahující azbest byly vyráběny různými výrobci a na trh uváděny pod různými obchodními názvy (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

Jedná se např. o Limpet (nástrík azbestu), Eternit (azbestocementové desky), Bios (obvodové pláště budov), Chanos (konstrukční systémy s využitím azbestocementových desek) a mnoho dalších (Červenka *et al.*, 2006).

Od 30. let minulého století se běžně používala střešní krytina pod obchodním názvem Eternit. V roce 1900 si nechává rodák z Těšetic Ludwig Hatschek patentovat právě objevenou směs azbesto–cementu, další patent na krytinu z azbesto–cementu získává v roce 1901. Výrobek získává název Eternit (Eternitas – na věčnost). Na obr. 2 jsou vyobrazeny tyto krytinové desky – jsou buď vlnité, nebo čtvercové (Václavík, 2011). Obsahují od 8 do 12 % azbestu. Je to jeden z nejpoužívanějších azbestocementových materiálů. Neodbornou likvidaci této střešní krytiny považujeme za mimořádně nebezpečnou (Červenka *et al.*, 2006).



Obr. 2: Střecha z vlnitého Eternitu a deskového Eternitu z produkce hradecké firmy Eternitas akciové továrny dehtových výrobků a krycích hmot v Hradci Králové (kolem roku 1920)

Je nebezpečné neodborně odstranit azbestovou krytinu střechy, protože se azbest může rozšířit do okolí. Můžeme tak ohrozit naše zdraví, ale i zdraví sousedů, kteří nás mohou žalovat. Ani použití vysavače nám nezaručí dokonalý úklid, neboť vlákna vysavač pouze rozvíří (Mach, 2007).

Marioryad *et al.* (2011) uvádí, že Írán dováží téměř 55 000 tun azbestu ročně, a azbestocementové továrny jej zpracují téměř 94 %. Studie je zaměřena na koncentraci azbestových vláken při výrobě potrubí. Kakooei *et al.* (2007, 2009) píše, že azbest byl značně používán v průmyslových materiálech, jako jsou například azbestocementové desky, trubky, automobilové brzdy a spojky, vinyl-azbestové podlahy, větrací šachty, tepelné a elektrické izolační materiály.

Byly zkoumány tři druhy materiálů – brzdy, vrstva linolea (vinyl-azbest) a azbesto-cementová střešní krytina. Tyto tři materiály obsahující azbest, především chryzotil, byly analyzovány pomocí SEM, XRD a DTA jak při pokojové tak vysoké teplotě (1100 °C). Výsledky ukazují, že přítomnost uhličitanu vápenatého brání rozkladným reakcím azbestu. Když se uhličitan vápenatý odstraní promytím kyselinou chlorovodíkovou, rozklad azbestových vláken probíhá podle očekávaných účinků. Znalost vlivu těchto látek by mohla být užitečná pro účely inertizace (netečnost) materiálů obsahujících azbest, jsou-li ve směsi s vápnem nebo vápencem před tepelnou inertizací (Belardi *et Piga*, 2013).

2. 1. 5 Účinky azbestu na lidské zdraví

Všechna azbestová vlákna, jak již bylo prokázáno v 30. letech 20. století, jsou kancerogenní, a to bez ohledu na jejich mineralogickou povahu (Červenka *et al.*, 2006). Azbest je nebezpečný, je-li rozptýlen ve vzduchu ve formě velmi malých vláken, která jsou pouhým okem neviditelná (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

Azbestový prach působí negativně zejména na orgány dýchacích cest. Při inhalaci mohou azbestové respirabilní vláknité částice pronikat hluboko do plicních sklípků (alveol), kde působí dráždivou místní reakci. Riziko onemocnění i progresu trvá i po ukončení expozice azbestovým prachem, kdy se i po řadě let mohou projevit nemoci způsobené azbestovými respirabilními vlákny (Skácel *et al.*, 2012). Expozice azbestu je spojena s výskytem azbestózy, mezoteliomu, rakoviny plic a dalších maligních nádorů a pleurálních onemocnění (Goodman *et al.*, 1999; Manning *et al.*, 2002; Greillier *et al.*, 2008; Mensi *et al.*, 2011). Z tohoto důvodu jsou všechny druhy azbestu podle WHO řazeny do I. skupiny karcinogenních látek a podmínky ochrany zdraví při práci s ním jsou stanoveny zákonnými předpisy (Skácel *et al.*, 2012).

Tato onemocnění se nerozvíjejí okamžitě po vdechnutí azbestových vláken, může trvat i 20 nebo více let, než se objeví symptomy. Obecně platí, stejně jako u kouření cigaret – čím více azbestových vláken člověk vdechuje, tím větší hrozí riziko vývinu nemocí souvisejících s azbestem. Nejzávažnější zdravotní problémy v souvislosti s azbestem se vyskytly u některých pracovníků, kteří pracovali v odvětvích, jako je např. stavba lodí, kde byly vystaveny velmi vysoké koncentraci azbestu ve vzduchu (Environmental Protection Agency, 2003).

Objevují se také domněnky, že expozice azbestu může způsobit rakovinu hrtanu nebo gastrointestinálního traktu. Existuje podezření, že požití azbestu (např. ve znečištěné pitné vodě) je příčinou rakoviny gastrointestinálního traktu, přičemž přinejmenším jedna studie ukázala na zvýšené riziko vyplývající z příjmu neobvykle vysokých koncentrací azbestu v pitné vodě (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007). Azbest není ve vodě rozpustný, ale může se do ní dostat v důsledku eroze z přírodních nalezišť, z úložišť azbestového odpadu, z trubek, jimiž v cementárnách proudí pitná voda, nebo z filtrování přes filtry obsahující azbest (Agency For Toxic Substances And Disease Registry, 2001).

Tvar částic, rozpustnost, a délka expozice jsou tři nejdůležitější faktory, které determinují poškození plic. Mnoho výzkumníků věří, že amfibolové částice azbestu představují vyšší riziko než chrysotilové částice, protože jsou méně rozpustné a tužší než chrysotil, a po proniknutí do plicní tkáně zde zůstávají déle (Virta, 2001). Menší částice mají vyšší toxicitu než větší částice stejného složení a krystalické

struktury, a které vytvářejí trvale vyšší zánětlivé reakce v plicích (Oberdörster, 1994).

První informace o škodlivém účinku inhalace azbestového prachu se objevily na konci devatenáctého a začátkem dvacátého století. První popis plicní fibrózy způsobené vdechováním azbestového prachu pochází od Dr. Murraye z roku 1899. V roce 1927 Cooke tuto fibrózu, analogicky k silikóze, označil jako azbestózu.

Není bez zajímavosti, že první zmínka o nepříznivém účinku azbestu na lidské zdraví v našich zemích pochází z roku 1897. Popisuje dechové obtíže a kašel u zaměstnanců přádelen bavlny a azbestových vláken v Tachově v Čechách. Ve čtyřicátých letech byl ustanoven vztah mezi expozicí azbestového prachu a vazivových ztluštěnin pohrudnice. Ve třicátých letech se objevily zprávy o výskytu bronchiálního karcinomu ve spojení s azbestózou, avšak epidemiologický průkaz o příčinné souvislosti byl podán až v letech 1950 – 1955. Důkaz o vztahu maligního mezoteliomu k expozici azbestu byl podán v roce 1960 Wagnerem a kolektivem (Červenka *et al.*, 2006).

Nedávné studie s expozicí azbestu ukázaly zvýšené riziko vzniku autoimunitních onemocnění, jako jsou: systémový lupus erythematosus, sklerodermie, revmatoidní artritida (Noonan *et al.*, 2006; Pfau *et al.*, 2005). Tyto choroby postihují pojivové tkáně, kůže a orgány (Buzea *et al.*, 2007).

Nemoci způsobené azbestem lze rozdělit podle (Červenka *et al.*, 2006) na:

- 1) nenádorová onemocnění
 - a) azbestóza
 - b) pleurální hyalinóza
 - c) benigní pleurální výpotek
- 2) nádorová onemocnění
 - a) bronchogenní karcinom plic
 - b) maligní mezoteliom pleury a peritonea

Přes obecně rozšířený omyl, azbest nezpůsobuje bolesti hlavy, bolesti svalů nebo jiné okamžité příznaky (Diamond Environmental Services, Inc., 2008).

Některé kovy (nikl, kobalt, chrom a mangan), které jsou obsaženy v chryzotilu, mají výrazné účinky na lidské zdraví a pohodu (Shi *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2010).

2. 1. 5. 1 Azbestóza

Azbestóza je chronické plicní onemocnění, vyznačující se zjizvením plicní tkáně, což vede k dlouhodobým dýchacím komplikacím (Selby, 2014). Experimentálně bylo

prokázáno, že výrazný fibrogenní účinek mají vlákna delší než 5 ale spíše 8 μm , s průměrem pod 3 μm (Červenka *et al.*, 2006).

Vlákna azbestu se po vdechnutí zachytí v plicní tkáni. Tělo se snaží tato vlákna vyloučit tím, že produkuje sekrety s nižším pH (kyselé prostředí). Vzhledem k chemické odolnosti vlákna, které se poškodí jen málo, může dojít ke zjizvení okolní tkáně. Časem toto zjizvení může být tak silné, že plíce nemohou fungovat. Období latence (čas rozvinutí nemoci) se pohybuje často mezi 25 – 40 lety (Diamond Environmental Services, Inc., 2008).

Průtok krve do plic se také může snížit, a to způsobí zvětšení srdce. Lidé s azbestózou mohou mít také dušnost, často doprovázenou kašlem. Jedná se o závažné onemocnění, které může nakonec vést k invaliditě nebo smrti u lidí vystavených vysokému množství azbestu po dlouhou dobu (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001).

Na nemoc není lék. Mezi příznaky nemoci patří obtížné dýchání během rutinních úkolů a cvičení, bolesti na hrudi a kašel. Lékaři v některých případech provádějí i chirurgický zákrok. Prognóza je často pozitivní. Vzhledem k tomu, že azbestóza není forma rakoviny plic, lidé mohou s touto nemocí žít mnoho let, dokonce desetiletí. Nicméně, zdravotní stav se v průběhu času zhorší, pacienti budou s věkem vyžadovat zvýšenou péči (Selby, 2014).

2. 1. 5. 2 Pleurální hyalinóza

Vznik pleurální hyalinózy se vysvětluje jako přímá lokální reakce na přítomnost azbestových vláken v pleurální dutině, kam jsou transportována z alveol lymfatickou cestou. Vlákna zraňují povrch pleury, vyvolávají zánětlivou a hemorhagickou reakci, která finálně vede k organizování pleurálního plátu. Při vzniku hyalinózy se nejčastěji uplatňují vlákna amfibolová a krátká vlákna chryzotilová (Červenka *et al.*, 2006). Jedná se o vazivové změny na pohrudnici (bláně, která obklopuje plíce). Často je náhodným nálezem na RTG plic a obvykle nevede ke zhoršení kvality života. Pokud je spojená s postižením plicních funkcí, lze ji ohlásit jako nemoc z povolání.

Nejčastějším výsledkem působení azbestu na pohrudnici je tvorba ztlustělých vláknitých oblastí tzv. plátů. Lokalizované pleurální pláty nejsou významný zdravotní problém, ale mohou být spojeny s poruchou funkce dýchání (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001).

2. 1. 5. 3 Benigní pleurální výpotek

Vznik se vysvětluje podobně jako u pleurálních hyalinóz zánětlivou a hemorhagickou reakcí na přítomnost azbestových vláken v pleurální dutině. Výpotek zpravidla nepřesáhne 500 ml a obvykle se spontánně vstřebá. Pokud je množství exsudátu větší, nemocní si ztěžují na dechové obtíže, kašel a bolesti na hrudníku pleurálního charakteru (Červenka *et al.*, 2006).

Při diagnostice nemocných s pleurálním výpotkem nejasné etiologie využíváme tradičních i novějších postupů. Pro zlepšení komunikace mezi lékaři různých specializací je třeba znát charakteristiky nejčastějších typů výpotků (Marel *et Fila*, 2011). V řadě případů se onemocnění opakuje a každé další onemocnění zvyšuje riziko vzniku difúzního pleurálního ztlustění (Červenka *et al.*, 2006).

Dle rozsahu zastínění hemotoraxu mluvíme o výpotcích malých (< 25 %), středních (25 – 50 %) a velkých (> 50 %). V těchto případech je třeba doplnit vyšetření hrudníku sonograficky (US) či počítačovou tomografií (CT). US hrudníku zachytí výpotek o rozsahu 50 – 100 ml tekutiny, CT již 20 – 50 ml. U malých výpotků a opouzdřených kolekcí tekutiny je žádoucí provést US vyšetření hrudníku k označení nejvhodnějšího místa hrudní punkce (Fila, 2007).

2. 1. 5. 4 Bronchogenní karcinom plic

Kouření cigaret může mít vyšší vliv na rakovinu plic způsobenou azbestem asi o 50 % (Diamond Environmental Services, Inc., 2008). Červenka *et al.* (2006) uvádí, že silný kuřák pracující v riziku azbestu má dokonce 50 – 90 x vyšší pravděpodobnost, že onemocní karcinomem plic než neexponovaný nekuřák.

Vzhledem k velkému počtu proměnných, je obtížné udělat spolehlivé předpoklady o rozsahu rizik rakoviny v souvislosti s azbestem. EPA – Agentura pro ochranu životního prostředí vypočetla, že celoživotní expozice azbestového prachu obsahující vlákna > 5 µm na ml vzduchu by mohlo mít za následek 2 – 4 nadbytečná úmrtí na rakovinu na 100 000 lidí. Dále Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) zjistila, že azbest je karcinogenní pro člověka – skupina 1. Tyto závěry jsou založeny především na důkazech, že azbest způsobuje rakovinu plic a mezoteliom (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001).

Klinický obraz a prognóza onemocnění se neliší od jiných bronchogenních karcinomů. Nemocní mívají zvýšenou teplotu, kašel, hemoptýzu, bolesti na hrudi, nechutenství, váhový úbytek a další příznaky v závislosti na propagaci tumoru (Červenka *et al.*, 2006).

Malobuněčné karcinomy (cca 1/5 všech) patří z hlediska své biologie k nejzhoubnějším, v naprosté většině již v době stanovení diagnózy nejsou indikovány k chirurgické léčbě. Těžiště terapie je v chemoterapii, která je u ještě lokalizovaných forem kombinována s radioterapií, při dosažení remise choroby se provádí také profylaktické ozáření mozku. Léčba je založena na kombinaci vepesid-cisplatina (chemoterapie).

Všichni nemocní jsou po skončení onkologické terapie doživotně dispenzarizováni na pracovištích oboru transpiračních a respiračních nemocí i na pracovištích oboru klinické onkologie a radioterapie, kde léčbu absolvovali (Pešek *et al.*, 2002).

2. 1. 5. 5 Maligní mezoteliom pleury a peritonea

Mezoteliom je nádorové onemocnění vycházející z mezotelových buněk serózních blan, které postihuje pleuru, peritoneum, perikard, tunicu vaginalis testis a ovariální epitel. V pleurální dutině vzniká kolem 75 – 80 % všech případů mezoteliomu, což z něho činí nejčastější primární nádor pleury. Jedná se o vysoce agresivní nádor se špatnou prognózou a rezistencí na radioterapii i chemoterapii (Cibičková, 2012).

Celosvětově se uvádí, že počet onemocnění maligním mezoteliomem narůstá. Na rozdíl od bronchogenního karcinomu současné kouření nemá vliv na onemocnění (Červenka *et al.*, 2006).

Karcinom plic je obvykle smrtelný, zatímco mezoteliom je téměř vždy smrtelný – často během několika měsíců od diagnózy. Někteří vědci se domnívají, že včasná identifikace a intervence mezoteliomu může zvýšit přežití (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001).

Příznaky mezoteliomu jsou tak mírné, že jen málo lidí si jich všimne, nebo je rozpoznají až v pozdějších stádiích rakoviny. Únava a mírná bolest se mohou vynořit v časných stádiích. Symptomy pozdní fáze jsou více nápadné a často vedou k návštěvě lékaře. Tyto pozdní příznaky mohou zahrnovat dušnost, chronické bolesti u nádorů, hubnutí, nahromadění tekutiny nebo střevní obstrukce. Efektivní terapie a některé procedury mohou zmírnit symptomy (Selby, 2014).

Maligní mezoteliom pleury je nádor se špatnou prognózou, rezistentní k léčbě. V léčbě lze užít všechny dostupné modalities, tj. chirurgické postupy, radioterapii a chemoterapii, z novějších potom imunoterapii, genovou terapii, hypertermii a fotodynamickou terapii. U polymorbidních pacientů (trpících větším počtem chorob) a v pokročilých stádiích onemocnění pak přichází v úvahu podpůrná léčba (Palatka, 2006).

I když v naší republice v posledních letech přešly všechny továrny, které dříve zpracovávaly azbest, na bezazbestovou výrobu a příslušnými předpisy byl prakticky zakázán dovoz a prodej výrobků obsahujících azbest, obyvatelé ČR se budou ještě dlouho setkávat s azbestem v životním prostředí (Červenka *et al.*, 2006).

2. 1. 6 Azbest a životní prostředí

Z obavy o životní prostředí musí být sledovány znečišťující látky, aby bylo možné získat spolehlivé informace o kvalitě ovzduší. Takové informace jsou nezbytnou součástí jakékoliv oblasti managementu životního prostředí, ať už pro soukromý nebo veřejný sektor. Příkladem monitorování jsou těkavé organické látky jako je benzen a vinylchlorid, polyjaderné uhlovodíky, dioxiny, furany, anorganické látky, arsen, kadmium, olovo, rtuť, nikl a další těžké kovy a také azbest (Pollution Prevention and Abatement Handbook, 1998). Vlákna odolávají přirozeným rozkladným procesům, proto je řadíme mezi látky perzistentní – trvalé (Červenka *et al.*, 2006).

Azbestová vlákna se v ovzduší šíří na velké vzdálenosti, z ovzduší je odstraňuje jen déšť a sníh. Vlákna ale zůstávají na zemi a na budovách, odkud se mohou po čase dále šířit. Podstatně větší nebezpečí je při práci, zejména ve stavebnictví, při bourání a rekonstrukčních pracích (Lajčíková *et Hornychová*, 2010).

Azbestová vlákna se nevypařují do ovzduší ani nejsou rozpustná ve vodě. Části vláken se však mohou do vzduchu či vody dostat z chátrajících přírodních úložišť a při používání uměle vyrobených azbestových výrobků. Malá vlákna a částičky obsahující tato vlákna pak mohou ve vzduchu přetrvat rozptýlené po dlouhou dobu a mohou se přemísťovat na dlouhé vzdálenosti pomocí větru nebo vodních proudů, než se usadí. Větší vlákna a částice mají tendenci usazovat se rychleji. Azbestová vlákna nemají schopnost pohybovat se v půdě. V životním prostředí se nerozpadají na další složky. Mohou proto v prostředí přetrvat po celá desetiletí i déle. Vlákna se také mohou usazovat v tělech zvířat (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001).

Kontaminace azbestovými vlákny byla mnohem vyšší v povrchové vodě než ve studniční v oblasti výskytu azbestového minerálu. Vzorky krokydolitů byly odebrány z různých míst v oblasti Dayao v Číně v roce 2011. Z výsledků studie plyne, že do budoucna by mělo být věnováno více pozornosti výzkumu znečištění pitné vody azbestovými vlákny (Binggan *et al.*, 2013).

2. 1. 7 Náhled do české legislativy v souvislosti s azbestem

V současné době je výroba a používání azbestu omezena, resp. zakázána. Právním předpisem řešícím používání azbestu je **vyhláška č. 221/2004 Sb.**, která stanovuje seznamy nebezpečných chemických látek a nebezpečných chemických přípravků, jejichž uvádění na trh je zakázáno nebo jejichž uvádění na trh, do oběhu nebo používání je omezeno (Červenka *et al.*, 2006).

Nakládání s azbestem respektive i s odpady, které obsahují azbest, se zabývá také **zákon č. 258/2000 Sb.**, o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů v posledním znění (Jaszay, 2012).

Podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění biologických expozičních testů a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli řeší **vyhláška č. 432/2003 Sb.**

Limitní hodnoty azbestu pro prostředí pobytových místností jsou dány **vyhláškou č. 6/2003 Sb.**, kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb (Červenka *et al.*, 2006).

Problematika azbestového odpadu je dále popsána v **zákonu č. 185/2001 Sb.**, o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění **zákona č. 188/2004 Sb.**, **zákona č. 7/2005 Sb.** a **zákona č. 106/2005 Sb.** (Jaszay, 2012).

Katalog odpadů, Seznam nebezpečných odpadů a seznamy odpadů a států pro účely vývozu, dovozu a tranzitu odpadů a postup při udělování souhlasu k vývozu, dovozu a tranzitu odpadů řeší **vyhláška č. 381/2001 Sb.**

Dále je řada právních předpisů upravující místní, republikovou i mezistátní přepravu nebezpečných odpadů, dále předpisy, které vyhlásují „Plán odpadového hospodářství“ v jednotlivých krajích a další předpisy týkající se oborů, které mohou přijít do styku s azbestem. Jejich seznam je uveden ve zmiňované publikaci (Červenka *et al.*, 2006).

2. 1. 8 Sanace azbestu

Jakýkoliv odpad, který obsahuje azbest, je řazen mezi nebezpečné odpady. Je proto nezbytné, aby manipulací s těmito materiály byla pověřena firma, která má oprávnění k nakládání s nebezpečnými odpady. Firma odborně odstraní azbestocementové desky tak, aby azbestový prach neunikal do ovzduší

(tj. za současného odsávání vzduchu a kontinuálního měření obsahu azbestu v ovzduší), naloží ho do těsných kontejnerů a zlikviduje na skládce (Chalupská, 2005).

V České republice již existují akreditované firmy, které se zabývají komplexní sanací objektů. Stejně tak již pracují státem akreditované laboratoře, které provádějí komplexní stanovení koncentrace azbestových vláken ve vnitřním i venkovním ovzduší (Lebedová, 2000).

2. 1. 8. 1 Základní principy správného postupu sanace

Nejčastěji používaným postupem bývá celkové odstranění materiálů obsahujících azbestová vlákna. Ve výjimečných případech bývají tyto materiály ve stavbách ponechány a ošetřeny vhodnými přípravky, aby nedocházelo k uvolňování vláken do okolního prostředí (Červenka *et al.*, 2006).

Jestliže je azbestový materiál ve stavbě včas detekován, mělo by logicky následovat nejprve stanovení podmínek či postupu prací s těmito materiály ve vztahu k plánovaným pracím. Zároveň by pak měly být tyto práce provedeny společností, která má s těmito pracemi dostatečné zkušenosti. Tady nastává první kámen úrazu. V České republice může s azbestem nakládat každý, kdo má živnost „nakládání s nebezpečnými odpady“. To, co je běžně k vidění například v Německu, vzbuzuje v českých městech a vesnicích pozdvižení a mnohdy je označováno za cirkus (Balvín, 2014).

V Německu platí pokyny, podle nichž je třeba (pokud možno) odstranit veškerý azbest. Naproti tomu podle pokynů vydaných ve Spojeném království mohou být materiály obsahující azbest, které jsou v dobrém stavu, ponechány na místě. Každý z obou alternativních přístupů má své výhody. Odstranění je přímé řešení, ale proces odstraňování může vést k určité okamžité expozici, které by se jinak bylo možné vyhnout. Ponechání materiálů obsahujících azbest (v dobrém stavu) na místě je bezpečný postup za předpokladu, že se pomocí účinného sledování a řízení zajistí, aby byly veškeré budoucí renovační práce doprovázeny nezbytnými preventivními opatřeními ve vztahu k tomuto azbestu (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

Po vypracování detailního postupu sanace dochází k vytvoření kontrolovaného pásma, které bude vymezeno buď jako vzduchotěsně uzavřený prostor, nebo jako ohraničený prostor s omezeným pohybem osob (Červenka *et al.*, 2006). Uzavřený prostor může být postaven s využitím stávající konstrukce budovy nebo může jít o zcela volně stojící dočasnou konstrukci. Stávající povrchy, které nejsou hladké a nepropustné, musejí být zakryty trvanlivým polyetylenem (o tloušťce 250 μm), který se po skončení prací likviduje jako odpad kontaminovaný azbestem. Ve Francii

se doporučuje použití dvou vrstev polyetylenu. Uzavřený prostor musí být co nejvíce vzduchotěsný, aby se zabránilo úniku v případě selhání podtlakové jednotky (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

Pracovní oblast musí být prachotěsně oddělena od okolního prostředí vytvořením přepážek tzv. kontrolovaného pásma. Přepažení musí být stabilní a musí odolávat sací síle podtlaku a dalším nárokům. Pracovní oblast by měla být co nejmenší.

2. 1. 8. 2 Demontáže a sanace materiálů obsahujících azbest

V České republice neexistuje předpis, který by podrobně stanovil, jak postupovat při demontáži či sanaci azbestových materiálů. Některá firma však používá německou normu TRGS 519, jiné firmy své vlastní postupy, které se více či méně přibližují postupům známým ze zemí EU (Červenka *et al.*, 2006).

Například při demontáži střešních krytin, by mělo být dodržováno zejména:

- důsledné oddělení pracovního prostoru prací s azbestem od okolního prostředí například výstražnou páskou
- zřízení dekontaminačních prostředků pro pracovníky
- použití stabilizačních prostředků před vlastní demontáží
- postupná demontáž krytiny s ohledem na co nejmenší mechanické namáhání
- okamžitá stabilizace a balení krytiny do neprodyšných zřetelně označených obalových prostředků
- vyčištění prostoru pod původní krytinou a případná stabilizace nosných konstrukcí stabilizačním prostředkem (Balvín, 2014)

K čištění vzduchu slouží speciální vzduchotechnická zařízení – odsavače, které mají dokonalou účinnost filtračního materiálu, jde o tzv. HEPA filtry (Červenka *et al.*, 2006).

2. 1. 8. 3 Ochranné pomůcky

Vstup do uzavřeného prostoru má být povolen pouze oprávněným pracovníkům, kteří na sobě mají osobní ochranné prostředky a vhodné prostředky na ochranu dýchacích orgánů. Musejí být také rozmístěny výstražné tabule/značky upozorňující na riziko expozice azbestu, na omezený přístup a na povinnost používat ochranné prostředky. Tyto tabule by měly být v souladu s vnitrostátními předpisy (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).

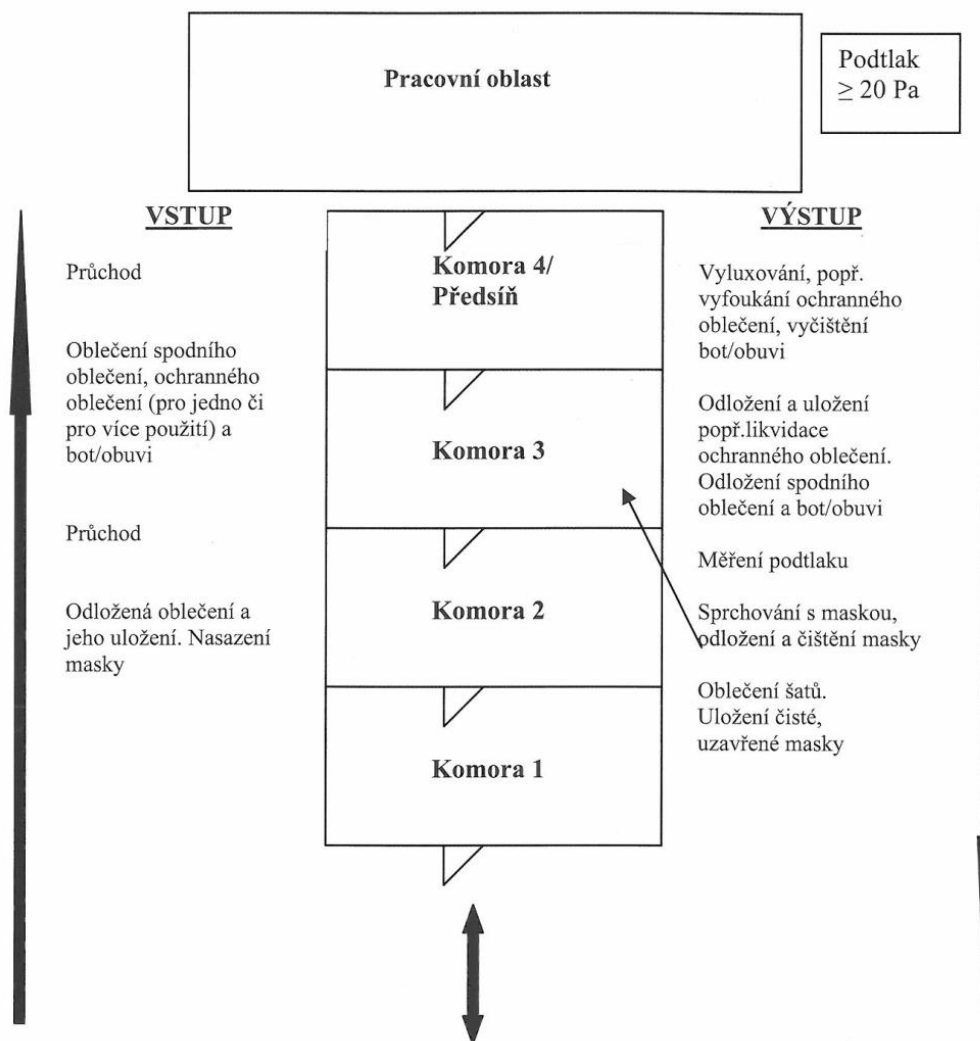
Základní ochrannou pomůckou je neprodyšný oděv, návleky na obuv, rukavice, přilba a ochrany dýchacího ústrojí. Typ dýchací masky je možné volit podle předpokládané expozice, ale nejčastěji používaným typem je polomaska osazená filtrem P3. Tyto pomůcky mohou být buď jednorázové, nebo na dlouhodobější použití.

2. 1. 8. 4 Vstup do pracovní oblasti, výstup z pracovní oblasti

Do pracovní oblasti se může vstoupit pouze přes dostatečně dimenzované dekontaminační zařízení – osobní propust' (Obr. 3). Transport materiálu přes osobní propust' není přípustný (Červenka *et al.*, 2006).

Dekontaminační jednotky jsou často mobilní, a proto se mnohdy jedná o prostorově úsporná zařízení. Z hlediska motivace k jejich řádnému používání je ovšem důležité, aby v nich byl dostatek místa, odpovídající počtu pracovníků, a aby měly adekvátní vybavení, například lavice (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007). Zpravidla se předpokládá vícekomorový systém obsahující tři komory předsíní nebo čtyři komory i stavebnicového systému. Podlahy a stěny musí být z pevného, lehkého a omyvatelného materiálu a dveře samozavíratelné (Červenka *et al.*, 2006).

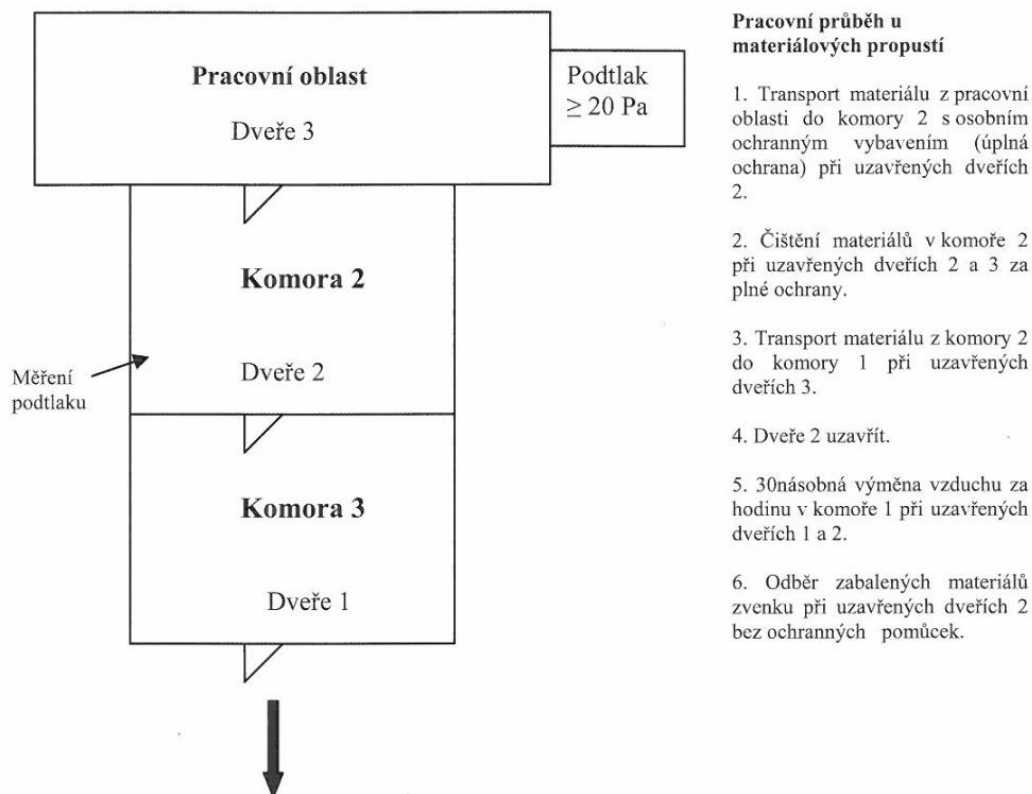
Dekontaminační jednotka je v podstatě „čistá převlékárna“ (často nazývaná „čistá část“) spojená se „špinavou převlékárnou“ („špinavou částí“). Princip jejího fungování spočívá v tom, že si pracovníci svléknou civilní oděv v čisté části a nasadí si čisté respirátory a obléknou čisté pracovní kombinézy před tím, než projdou sprchovým oddělením do špinavé části. „Špinavá část“ by měla být pokud možno přímo propojena přechodovými komorami s uzavřeným prostorem pro odstraňování azbestu (Výbor vrchních inspektorů práce, 2007).



Obr. 3: Osobní propust' (schématický náčrtek)

2. 1. 8. 5 Materiálová propust'

Veškerý demontovaný materiál s obsahem azbestu se v uzavřených vacích nebo nádobách musí transportovat přes materiálovou propust' (Obr. 4). Vaky musí být označené nálepkou, že se jedná o azbestový odpad.



Obr. 4: Materiálová propust' (schématický náčrtek)

2. 1. 8. 6 Odpady

Odpady, které obsahují azbest, se musí shromažďovat, uschovávat a likvidovat ve vhodných, bezpečně uzavíratelných nádobách tak, aby nebyly nebezpečné lidem a životnímu prostředí. Azbestové prachy, například z filtračních zařízení nebo vysavačů, se musí před předáváním zpevnit speciálním pojivem. Dopravu mohou provádět pouze společnosti, mající v této činnosti příslušná oprávnění. Nádoby nesmí být před uložením na skládku poškozeny (Červenka *et al.*, 2006).

V Polsku proběhla studie materiálů obsahujících azbest, které jsou uloženy na speciální skládky. To však není konečným řešením problému s azbestem, protože vláknitá struktura azbestu je stále zachována. Proto jsou zkoumány metody recyklace. Je třeba nalézt takovou, která bude schopna zničit nebezpečnou vláknitou strukturu azbestu. Jednou z těchto metod může být teplotní rozklad, kde se uvolní voda z azbestových materiálů v průběhu zahřívání. To vede ke změnám ve struktuře krystalu a ke vzniku nových minerálních fází (Kusiorowski *et al.*, 2013).

Tepelné zpracování je jedna z metod, kterou lze recyklovat azbestová vlákna, protože způsobuje ztrátu jejich nebezpečných vlastností. Tyto změněné materiály mohou být použity jako jedna ze surovin pro další výrobu – např. v keramickém průmyslu (Kusiorowski *et al.*, 2012).

V rámci vládního programu určeného na odstraňování azbestu bylo provedeno v letech 2004 – 2010 měření koncentrace azbestových vláken ve všech provinciích Polska. Ze studie vyplynula nízká úroveň znečištění životního prostředí azbestem v Polsku.

Parlamentní akt z roku 2010 umožňuje nový způsob odstranění azbesto-cementových výrobků z prostředí drcením na částice 5 mm v mobilním kontejneru, kde jsou pak vystaveny mikrovlnnému ošetření. Tento bezprecedentní způsob zacházení s materiály obsahujícími azbest, který je v rozporu s vědeckými poznatky, může nakonec na základě doporučení vládního projektu o eliminaci azbestu v Polsku, přispět ke zvýšení znečištění životního prostředí azbestem (Szeszenia-Dąbrowska *et al.*, 2012).

2. 1. 9 Výskyt azbestu ve školách

Orientační průzkum výskytu azbestu ve školách byl proveden v Praze a v části Středočeského kraje. V Praze 1 až 10 bylo zjištěno, že 7 % budov obsahuje azbest, ve Středočeském kraji 11 % budov (Červenka *et al.*, 2006).

Podle odhadů přijde měření v jedné škole podle její velikosti na 100 až 150 tisíc korun. Mezi pět ohrožených středních škol, jejichž zřizovatelem je kraj, patří odborné učiliště v Nymburku, gymnázium ve Vlašimi, odborná škola v Kolíně, průmyslová škola v Mělníku a sportovní gymnázium v Kladně (Rokosová, 2011).

O zvýšené koncentraci škodlivého azbestu ve třech školách v Českých Budějovicích informovali krajsí hygienici v protokolu už na začátku října roku 2011. Magistrát ale školy uzavřel až o dva měsíce později (Březina, 2011). Informace z konce listopadu zněly následovně: „Sanace prostor rozlehlých budov může trvat i měsíce, přesný termín si však zatím nikdo netroufá odhadnout (Mlsová, 2011).“ V prosinci roku 2011 vyšel článek, že komplex školních budov na sídlišti Máj v Českých Budějovicích možná zůstane zavřený až do konce školního roku (Petříková *et Kándlová*, 2011).

Na konci ledna roku 2012 začalo čištění budějovických škol. Vlastní sanace spočívá v odstranění prachu s azbestovými vlákny. „Musíme vzduch důkladně vyprat. Nasadíme proto filtrační jednotky, které nasávají vzduch, filtrují jej a cirkulaci i se vzduchem z venku dochází k čištění“, uvedl Jaszay.

V další fázi přijdou na řadu pracovníci, kteří kompresory zvirí veškerý prach, a ten se zachytí na odsávacích. Poté se znovu vše vysaje přístroji s hepafiltrací. Následně začnou pracovat lidé s hadry napuštěnými impregnací a celý prostor se vyčistí od zbytkových azbestových vláken. Posledním krokem je penetrace rizikových míst.

Školní pomůcky, které nejsou vyrobené ze svého materiálu, projdou také dekontaminací. Čisticí práce vyjdou na více než 15 milionů korun (Falout, 2012).

Děti ze základní školy v Hovorčovické ulici v Praze 8 měly v září roku 2011 prodloužené prázdniny – důvodem byla zpožděná likvidace azbestových panelů, které se dříve používaly ve stavbách (Kolářová, 2011).

Problém s azbestem se objevil i v jiné školní budově v Hovorčovické ulici v Praze 8. V říjnu roku 2011 ředitelka soukromého rusko-českého gymnázia Naděžda Svatoňová prostory, ve kterých byly nadlimitní hodnoty azbestových vláken, nechtěla opustit (Kolářová, 2011).

Díky těmto případům inspektoři obeslali školy s dotazníkem, v němž zjišťovali, zda konstrukce školních budov obsahují v obvodovém plášti tzv. boletické panely. Právě z nich se při rekonstrukci může uvolnit škodlivý azbest. Podle výsledků šetření jsou kdysi velmi populární boletické panely nejméně ve 293 základních a středních školách. Rekonstrukce probíhaly na 264 z nich (Werner, 2011).

Azbest také objevili technici při kontrolním měření ve dvou příbramských školách. Příčinou zvýšených hodnot mohla být výměna oken a zateplení (Eichler, 2012). Na zateplené školy se zaměřili i odborníci v Přerově. Na území Olomouckého kraje padlo podezření na Střední odbornou školu a učiliště Jeseník (Helcl, 2011).

Hygienici v mateřské škole v Dubé na Českolipsku v roce 2011 naměřili několikanásobné překročení limitu azbestu. Budova ale není postavena z tzv. boletických panelů, jedná se o dřevostavbu. Specialista na problematiku azbestu Petr Balvín nabídl jedno z možných vysvětlení: „Stačí, aby si nějaký soused seškrabával v okolí z eternitové střechy mech a foukal ten správný vítr.“ (Šebelka, 2011).

Potíže s azbestem mohou mít daleko větší rozměry. V Česku jsou nejen školy, ale i tisíce nemocnic či administrativních budov postavených v 70. a 80. letech z tzv. boletického panelu (Viktora, 2011).

Azbest trápí také školy v Británii, objeven byl v 75 % státních škol. Z britských statistik vyplývá, že v posledních 10 letech zemřelo ve školách ve Velké Británii více než 140 učitelů na rakovinu, která přímo souvisí s vdechováním azbestového prachu (Kocourek, 2012).

2.2 Analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken

Pro stanovení a identifikaci azbestových vláken ve stavebních a izolačních materiálech byly vypracovány a validovány následující postupy:

- polarizační optická mikroskopie (PLM) s použitím imerzní kapaliny s indexem lomu mezi 5,6 a 6,3 podle druhu azbestových vláken
- infračervená spektrofotometrie s technikou KBr tablet nebo ATR
- rentgenová prášková difrakce
- rastrovací elektronová mikroskopie s energiově disperzním analyzátozem (SEM/EDX)
- transmisní elektronová mikroskopie s energiově disperzním analyzátozem (TEM/EDX)

Všechny tyto metody jsou běžné analytické postupy.

Pro stanovení početní koncentrace a hmotnostní koncentrace azbestových vláken ve vzduchu se užívá:

- optická mikroskopie s fázovým kontrastem (PCM)
- rastrovací elektronová mikroskopie (SEM)
- transmisní elektronová mikroskopie (TEM)

2.2.1 Metody optické mikroskopie

Eminger (2011) uvádí, že po zprůhlednění membránového nitrocelulóзовého filtru se vzorek podrobí mikroskopování s využitím fázového kontrastu.

2.2.1.1 Polarizační optická mikroskopie (PLM)

Při polarizační optické mikroskopii v procházejícím světle se využívá lineárně polarizovaného světla. Toto světlo kmitá v jedné rovině a při průchodu dvojlomnými látkami se rozkládá na základě dvojlomu na dvě složky lišící se rovinou kmitu. Polarizační zařízení má dvě části se stejnou fyzikální funkcí: polarizátor a analyzátor. Mikroskopy obsahují polarizační filtry – světlo prošlé těmito filtry je polarizováno (Hejtmánek, 2001). Používá se k identifikaci azbestových vláken na základě jejich rozdílného indexu lomu, a tím i zbarvení v imerzním prostředí s aplikací polarizovaného světla.

2. 2. 1. 2 **Optická mikroskopie s fázovým kontrastem (PCM)**

Fázový kontrast zvyšuje kontrast v nebarvených buňkách amplifikací různé hustoty vzorku, je zvláště výhodný pro sledování živých nepigmentovaných buněk (Campbell *et* Reece, 2008).

Zařízení se skládá z fázových objektivů, fázových kondenzorů a pomocného mikroskopu. Dodává se obvykle jako doplněk normálního světelného mikroskopu. Fázové kontrastní mikroskopie se užívá pro pozorování nezbarvených objektů, dále struktur v živých buňkách – jádro, jadérko, chromozomy a vakuoly (Hejtmánek, 2001).

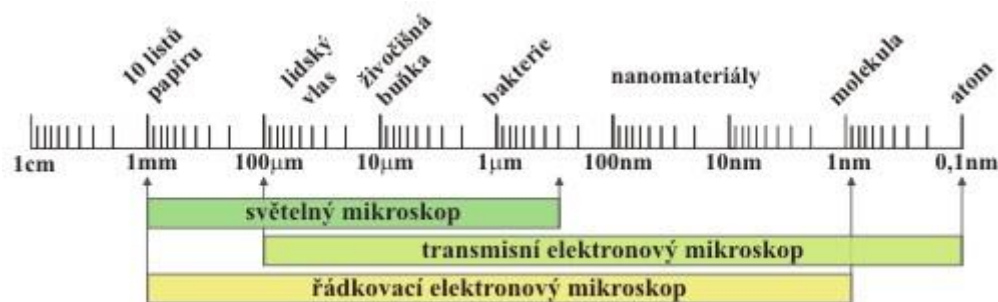
2. 2. 2 **Metody elektronové mikroskopie**

Elektronová mikroskopie je metoda umožňující studium mikrostruktury zkoumaných objektů. Mikrostruktura je studována ve vakuu pomocí elektronového svazku, který vzniká emisí elektronů z katody, jež jsou dále urychlovány k anodě (Bílý, 2007). Vzorek i svazek elektronů musí být umístěn ve vakuu, aby nedocházelo k interakcím elektronů s atmosférou, která ovlivňuje dráhu letících elektronů (Jäger *et* Gärtnerová, 2008 – 2014).

Rotačně symetrické elektrické pole a magnetické pole mohou vytvořit geometricky věrný obraz zobrazovaného předmětu. V elektronové optice se takováto pole označují jako čočky. Podobně jako u skleněných čoček, můžeme i u elektronových čoček určit jejich ohniskovou vzdálenost a polohu hlavních rovin. U elektronových mikroskopů se v současné době používá pouze magnetických čoček, tvořených magnetickým polem (Dolníček, 2005).

Jednou z hlavních charakteristik mikroskopů je **mezní rozlišovací schopnost**, jež je úměrná vlnové délce použitého záření (Jäger *et* Gärtnerová, 2008 – 2014). Rozlišovací schopnost optické soustavy je nejmenší vzdálenost dvou bodů v obraze vhodného objektu, které můžeme rozeznat jako oddělené (Bílý, 2007). Elektronové záření s podstatně kratší vlnovou délkou ($\sim 0,01 - 0,001$ nm), než má viditelné světlo (400 – 700 nm), umožňuje dosáhnout mnohem vyššího rozlišení. Typická velikost objektů, které lze pomocí elektronových mikroskopů sledovat je znázorněna na obr. 5 (Jäger *et* Gärtnerová, 2008 – 2014).

Elektronové mikroskopy dělíme do dvou základních kategorií, které se liší principem zobrazení vzorku. První kategorii tvoří skenovací elektronové mikroskopy – SEM, druhou transmisní elektronové mikroskopy – TEM (Horký, 2012).



Obr. 5: Typická velikost objektů pozorovatelných elektronovým mikroskopem

2. 2. 2. 1 Historie elektronového mikroskopu

První konstrukci elektronového mikroskopu nutně předcházela řada dílčích objevů, jejichž závěry byly využity při sestavení tohoto přístroje. První důležitý krok učinil anglický fyzik **J. J. Thompson**, který v r. 1897 prokázal, že katodové paprsky jsou proudem rychle letících záporně elektricky nabitých částic, které byly později nazvány elektrony (Kubínek *et* Půlkrábek, 2007).

Dalším krokem vedoucím k použití elektronů k zobrazení mikrosvěta byl poznatek, který v roce 1925 publikoval **Luis de Broglie**, že rychle letící částice mají nejen korpuskulární, ale i vlnový charakter jako např. viditelné světlo. Toto potvrdili nezávisle na sobě v roce 1927 **Davisson s Germerem** a **Thompson s Reidem** elektronovou difrakcí, která jasně demonstrovala vlnovou povahu elektronů (Nebesářová, 2001).

Především díky těmto pokusům se zrodila v r. 1928 na Vysoké škole technické v Berlíně myšlenka o možnosti zkonstruovat transmisní elektronový mikroskop. O dva roky později byl také na téže škole v kolektivu, který vedli **Max Knoll** a **Ernst Ruska**, zkonstruován první transmisní elektronový mikroskop. A již v roce 1932 se objevily první fotografie, které byly tímto přístrojem pořízeny – v roce 1936 získal Ruska za tento objev Nobelovu cenu.

Rastrovací elektronový mikroskop jako první sestrojil (v roce 1942) tým vedený americkým vědcem **Vladimírem Zworikynem**. Jeho komerční výroba byla ovšem započata až v r. 1965 (Kubínek *et* Půlkrábek, 2007).

Elektronová mikroskopie představuje důležitý metodický postup, který umožnil poznat a popsat submikroskopickou strukturu buněk a tkání a dospět až na hranici rozpoznání morfologických vztahů na molekulární úrovni (Čech *et* Horký, 2005).

2. 2. 2. 2 Transmisní elektronová mikroskopie

Transmisní (prosvětlovací) **elektronový mikroskop - TEM** (Obr. 6) předmět zobrazuje prostřednictvím svazku elektronů, které jím procházejí (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007).

Transmisní elektronový mikroskop je možné popsat jako složité technické zařízení, které umožňuje pozorování preparátů do tloušťky 100 nm při vysokém zvětšení a s velkou rozlišovací schopností. Vzhledem k příbuznosti paprskových diagramů lze jej považovat za analogii světelného mikroskopu v procházejícím světle. Oba přístroje mají společnou i řadu součástí - zdroje světla nebo elektronů, čočky skleněné nebo elektromagnetické a v obou se preparát umísťuje na mechanický stolek. TEM potřebuje ke své činnosti i mnoho dalších systémů, které u světelného mikroskopu nejsou, např. vysokonapěťové zdroje, elektroniku k řízení mikroskopu a výkonný vakuový systém pro vyčerpání jeho vnitřních prostor mikroskopu alespoň v délce 3 m (Nebesářová, 2001).

Buněční biologové používají TEM především pro studium vnitřní ultrastruktury buněk. TEM zaměřuje elektronový paprsek tenkým řezem vzorku, jedná se o podobný princip jako u světelného mikroskopu, kdy se světlo přenáší přes sklíčko. Avšak TEM místo skleněných čoček využívá k zaměření elektronů elektromagnet a obraz se vytváří díky ohybu proudu elektronů. Obraz je v konečné fázi soustředován na obrazovku, na stínítko, nebo na fotografický film. Ke zvětšení kontrastu obrazu jsou velmi tenké řezy konzervovaných buněk barveny atomy těžkých kovů, které se vážají na určité buněčné struktury (Campbell *et* Reece, 2008).



Obr. 6: Transmisní elektronový mikroskop

2. 2. 2. 3 *Rastrovací elektronová mikroskopie*

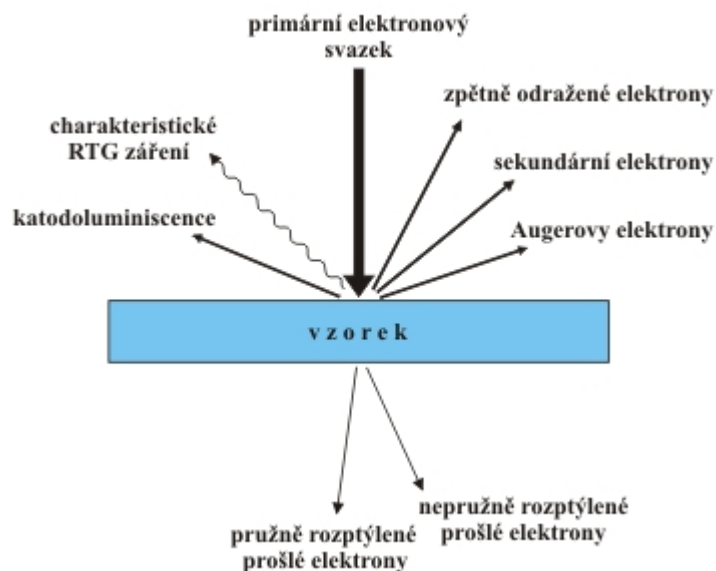
Rastrovací (skenovací) elektronový mikroskop – SEM (Obr. 7) se používá především k zobrazení povrchu předmětu (Kubínek *et* Půlkrábek, 2007).

Skenovací elektronový mikroskop je přístroj určený k pozorování povrchů nejrůznějších objektů. Je ho možné do jisté míry považovat za analogii světelného mikroskopu v dopadajícím světle, na rozdíl od něho je výsledný obraz tvořen pomocí sekundárního signálu – odražených nebo sekundárních elektronů. Velkou předností SEM v porovnání se světelným mikroskopem je jeho velká hloubka ostrosti, v důsledku které lze z dvojrozměrných fotografií ze SEM nalézt jistý trojrozměrný aspekt. Další předností těchto mikroskopů je, že v komoře preparátů vzniká při interakci urychlených elektronů s hmotou vzorku kromě výše zmíněných signálů ještě řada dalších, např. RTG záření, Augerovy elektrony, katodoluminiscence, které nesou mnoho dalších informací o vzorku (Obr. 8). Při jejich detekci je možné určit např. prvkové složení preparátu v dané oblasti a při porovnání s vhodným standardem určit i kvantitativní zastoupení jednotlivých prvků (Nebesářová, 2001).



Obr. 7: Rastrovací elektronový mikroskop

Elektronový paprsek u SEM sleduje povrch vzorku, který je zpravidla potažen tenkým filmem zlata. Paprsek vysílá elektrony na povrch vzorku a tyto sekundární elektrony jsou pak sbírány a soustřeďovány na obrazovku. Výsledkem je topografický obraz vzorku. SEM má větší hloubku pole, výsledkem je pak obraz, který vypadá jako trojrozměrný (Campbell *et* Reece, 2008).



Obr. 8: Při dopadu elektronů na vzorek dochází k vzájemné interakci a vzniká množství různých signálů, které nesou informaci o pozorovaném vzorku

2. 2. 2. 4 Zvětšení elektronového mikroskopu

Zvětšení elektronového mikroskopu je udáváno jako tzv. **užitečné zvětšení**, které vychází z poměru rozlišovací schopnosti oka δ_0 a maximální rozlišovací schopnosti mikroskopu δ_m .

$$Z = \frac{\delta_0}{\delta_m}$$

Rozlišovací schopnost oka se udává jako úhel, u zdravého člověka je to jedna minuta. Dohodou byla stanovena konvenční rozlišovací schopnost oka $\delta_0 = 0,25$ mm, která odpovídá rozestupu mezi dvěma body, pozorovanými ze vzdálenosti 25 cm (Bílý, 2007).

Maximální zvětšení užívané v elektronovém mikroskopu je 10^6 , což odpovídá velikosti užitečného zvětšení TEM (Kubínek *et* Půlkrábek, 2007).

2. 2. 2. 5 Elektronový mikroskop

Každá optická soustava elektronového mikroskopu je složena ze dvou základních částí, které lze dále rozdělit na jednotlivé části. Základní optické části elektronového mikroskopu jsou uvedeny v tabulce č. 2 (Bílý, 2007).

Tabulka č. 2: Základní optické části elektronového mikroskopu

ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP	
TEM	SEM
1. Osvětlovací systém – elektronová tryska – kondenzor	
2. Zobrazovací systém	
– objektiv	– vychylovací cívký
– projektiv	– objektiv
– stínítko	– detektor
– kamera	– obrazovka

2. 2. 2. 5. 1 Vakuový systém

Vnitřní prostor mikroskopu, ve kterém se pohybují elektrony, musí být evakuovaný. Důvodem je snaha zabránit náhodným srážkám urychlených primárních elektronů s molekulami vzduchu, které by vedly ke změnám jejich energie a směru pohybu. Na dosažení pracovního vakua minimálně 10^{-3} Pa musí být mikroskop vybaven

dostatečně výkonnými vývěvami. Kvalitu vakua sleduje několik měrek a celý proces čerpání vzduchu je řízen automaticky (Nebesářová, 2001).

Prostor elektronové trysky vyžaduje nejvyšší stupeň vakua až 10^{-7} Pa (přibližně stejný tlak je v kosmickém prostoru) a je ho dosahováno iontovými vývěvami. I přes vysoký stupeň vakua dochází ke kontaminaci vnitřku tubusu zbytky vodních par a molekulami uhlovodíků, které se tam mohou dostat z odparů oleje vývěv nebo těsnících tuků. To vše ovlivňuje kvalitu obrazu. Proto se používá speciální antikontaminační komůrka, která je chlazená kapalným dusíkem z Dewarovy nádoby umístěné vně tubusu. Tím se snižuje tenze vodních a uhlovodíkových par, které potom kondenzují na komůrce (Vůjtek *et al.*, 2012).

2. 2. 2. 5. 2 Elektromagnetická čočka

Působení magnetického pole na tvar trajektorie letícího elektronu lze využít k sestrojení tzv. elektromagnetické čočky, která by fungovala přibližně stejně jako skleněná čočka v případě světla. Nejjednodušší elektromagnetickou čočkou je solenoid. Solenoid je cívka s velkým počtem závitů, jejichž průměr je mnohem menší než délka cívky. Uvnitř solenoidu vzniká homogenní magnetické pole a v okolí solenoidu nehomogenní magnetické pole (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007).

Trajektorie elektronu, který vletne do magnetického pole elektromagnetické čočky, má tvar prostorové spirály. Trajektorie všech elektronů, které procházejí stejným bodem na ose čočky, jsou magnetickým polem čočky ovlivněny tak, že se za čočkou opět protínají ve stejném bodě na ose čočky (Kubínek *et al.*, 2011).

Magnetické pole uvnitř reálné elektromagnetické čočky není přesně homogenní. To vede k mnoha vadám, které jsou svou podstatou totožné s vadami optických čoček. Tyto vady negativně ovlivňují obraz vytvořený čočkou, především jeho kontrast, hloubku ostroty a rozlišovací mez (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007).

2. 2. 2. 5. 3 Osvětlovací systém

Osvětlovací systém je v principu podobný pro TEM i pro SEM, avšak v TEM je kladen větší požadavek na možnost zajištění regulace proudu elektronového svazku. SEM klade větší požadavek na dosažení maximální hustoty elektronového proudu do minimální plochy objektu (Bílý, 2007).

Zdroj elektronů v elektronovém mikroskopu nazýváme elektronová tryska (popř. elektronové dělo). Elektrony jsou emitovány z katody, kterou zpravidla

prochází elektrický proud. Tím dochází k jejímu zahřátí a následně termoemisi elektronů z jejího povrchu.

Každý elektron je v atomu vázán jistou výstupní energií E_v . Abychom tento elektron z vazby uvolnili, musíme mu dodat energii, která je větší než E_v . To lze zrealizovat mnoha různými postupy. V elektronové mikroskopii našly své uplatnění především tyto:

- a) termoemise
 - b) sekundární emise
 - c) autoemise
- (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007)

a) termoemise

Emisi elektronů zajišťuje nejčastěji katoda z tenkého wolframového drátku ve tvaru písmene V, přímo žhavená na teplotu kolem 2800 K (Karlík, 2005). Tento postup je nejužívanější (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007).

b) sekundární emise

Studené kovové vlákno (katodu) bombardujeme urychlenými ionty, které nárazem uvolňují elektrony z povrchu katody. Tento postup se aplikoval u prvních typů TEM, ale dnes se již prakticky nevyužívá (Kubínek *et al.*, 2011).

c) autoemise

Proti studenému kovovému vláknu odleptanému do hrotu se umístí elektroda s vysokým kladným napětím (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007). Emise elektronů je dosahována velmi vysokým gradientem elektrického pole (Karlík, 2005).

Elektronový svazek vycházející z katody je ovlivněn elektrostatickým polem, kondenzor soustřeďuje elektrony do křižště (Bílý, 2007). Elektrostatická optika elektronové trysky zde promítá obraz emisního hrotu vlákna do prostoru blízko kruhového otvoru v anodě (Nebesářová, 2001).

2. 2. 2. 5. 4 Zobrazovací systém TEM

Osvětlovací systém má za úkol osvětlit preparát požadovaným průměrem svazku s požadovanou úhlovou aperturou a proudovou hustotou. Zobrazovací soustava vytváří zvětšený obraz elektronového svazku prošlého preparátem, který nese informaci o jeho vnitřní struktuře (Bílý, 2007).

Mezi základní části zobrazovacího systému TEM patří:

- objektiv
- projektiv
- stínítko
- kamera

Objektiv

Objektiv má nejkratší ohniskovou vzdálenost a je rovněž „nejvýkonnější“ čočkou mikroskopu (Kubínek *et al.*, 2011). Je tedy nejdůležitější částí zobrazovací soustavy TEM, na jeho vlastnostech závisí dosažitelná rozlišovací schopnost (Bílý, 2007). Objektiv je určen k tvorbě obrazu a má faktor zvětšení zhruba 100 (Kubínek *et al.*, 2011).

Změnou průměru objektivové clony se dá zmenšit poškození preparátu elektronovým svazkem, ale za cenu snížení jasu snímaného obrazu, průměr clon se pohybuje v desítkách mikrometrů. Objektivová clona také plní funkci pohlcování elektronů odkloněných interakcemi v preparátu, clonou pronikají pouze elektrony odchýlené po určitý úhel (Bílý, 2007).

Projektiv

Projektiv odpovídá okuláru světelného mikroskopu (Kubínek *et Půlkrábek*, 2007). Objektiv je zpravidla tvořen jednou elektromagnetickou čočkou, zatímco projektiv tvoří až čtyři elektromagnetické čočky. Úkolem projektivu je „promítnout“ obraz na stínítko. Součástí zobrazovací soustavy TEM je i systém clonek, které omezují průměr zobrazujícího svazku elektronů (Kubínek *et al.*, 2011).

Stínítko

Svazek urychlených elektronů, který nese informaci o zobrazovaném předmětu, nelze přímo vidět okem, jako je to možné ve světelném mikroskopu. Abychom viděli obraz vytvořený elektronovým mikroskopem, je nutné převést tyto informace do viditelné podoby. K pozorování obrazu se používá stínítko pokryté luminoforem (nejčastěji ZnS), které bývá umístěno na dně tubusu TEM.

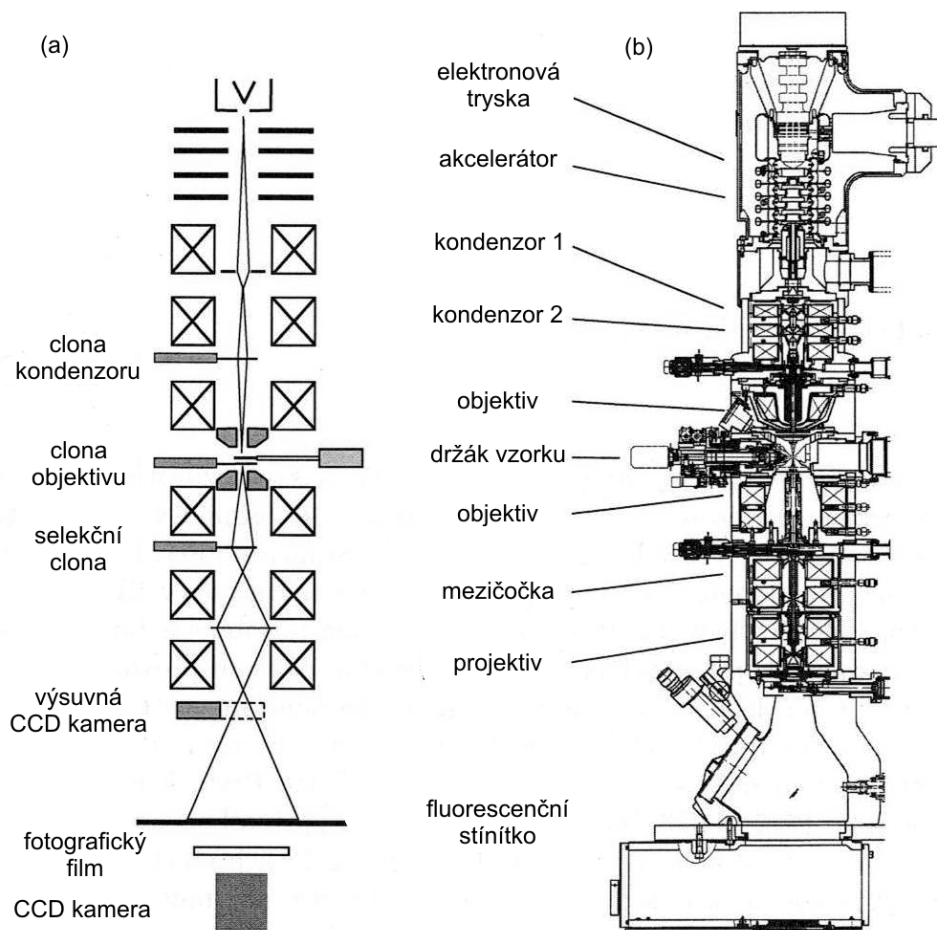
Luminofor je látka, která je schopna, v závislosti na energii a množství dopadajících elektronů, emitovat světlo různé intenzity o přibližně stejné vlnové délce. V případě ZnS má vlnová délka vznikajícího světla velikost okolo 550 nm. Na stínítku potom vzniká obraz z odstínů zelené barvy, který je již možné pozorovat okem (Kubínek *et al.*, 2011).

Hlavní stínítko je umístěno kolmo k primárnímu svazku elektronů, vedle toho je mikroskop vybaven malým stínítkem, které je vůči primárnímu svazku umístěno pod určitým úhlem, aby bylo možno jej pozorovat binokulárem a docílit většího zvětšení (Bílý, 2007).

Kamera

V praxi se v současnosti obraz zaznamenává v digitální podobě pomocí speciálních kamer (Kubínek *et al.*, 2011), dále se využívá fotografický záznam. Snímání obrazu fotografickou cestou je postupně vytlačováno CCD kamerami (Charge Coupled Device), přesto je nadále používáno, protože dosahuje nejvyšší rozlišovací schopnosti. Citlivost fotografování stoupá se vzrůstajícím urychlovacím napětím, až do hodnoty kdy elektrony pronikají celou vrstvou. CCD kamera se umísťuje v elektronovém mikroskopu buďto místo zásobníků na filmy nebo do prostoru nad stínítko (Bílý, 2007).

Schéma a řez transmisním elektronovým mikroskopem je zobrazen na obr. 9 – obdélníky s křížky představují vychylovací cívky elektronové optiky.



Obr. 9: Schéma a řez transmisním elektronovým mikroskopem

2. 2. 2. 5. 5 Zobrazovací systém SEM

Osvětlovací systém má za úkol soustředit urychlené elektrony do minimálního průměru křížiče. Zobrazovací systém formuje svazek s požadovanými parametry

(úhlová apertura, průměr křížště, proudová hustota) a zajišťuje osvětlení povrchu preparátu rastrovacím způsobem (Bílý, 2007).

Zatímco v TEM můžeme dosáhnout jen pseudo-3D efektu při pozorování tenkých řezů, charakteristickým obrazem v SEM je 3D obraz s vysokou hloubkou ostrosti. Obraz v SEM vzniká bod po bodu, řádek po řádku skenováním povrchu vzorku.

Rozsah zvětšení používaných v SEM se pohybuje v rozmezí od 5 až po 600 000. Maximální hodnota zvětšení SEM je současně rovna velikosti jeho užitečného zvětšení (Kubínek *et al.*, 2011).

Mezi základní části zobrazovacího systému SEM patří:

- vychylovací cívky
- objektiv
- detektor
- obrazovka

Vychylovací cívky

Svazek primárních elektronů je vychylován ve dvou na sebe kolmých osách. Pro vychylování primárního svazku elektronů se používá pro každý směr dvojice cívek, tím se snižují optické vady zobrazení. Skenování po povrchu preparátu se děje po řádcích. Signál vychylovací cívky také synchronizuje tvorbu obrazu v zobrazovací jednotce – obrazovka, monitor (Bílý, 2007).

Objektiv

Hlavním úkolem soustavy elektromagnetických čoček v SEM je co nejvíce zmenšit průměr svazku elektronů, které dopadají na povrch preparátu. Soustava čoček je obvykle tvořena jednou nebo dvěma kondenzorovými čočkami a objektivovou čočkou s proměnnou zmenšovací výkonností. Pomocí malých změn proudu v objektivu se zaostřuje obraz (Nebesářová, 2001).

Objektiv je nejdůležitější částí zobrazovací soustavy SEM, na jeho vlastnostech závisí dosažitelná rozlišovací schopnost. Omezení rozlišovací schopnosti je dáno především velikostí sférické vady, která určuje minimální průměr křížště (Bílý, 2007).

Detektor

V blízkosti preparátu jsou umístěny detektory jednotlivých signálů: např. sekundárních a odražených elektronů. Už první pohled na skenovací elektronový mikroskop odhalí výrazné rozdíly v konstrukci přístroje ve srovnání s transmisním elektronovým mikroskopem. Nápadná je především rozdílná délka tubusu, který je poloviční. Je to dáno tím, že u skenovacího elektronového mikroskopu se detekují signály, které primární svazek elektronů uvolnil nad povrchem

preparátu, a není třeba soustavy čoček, které u TEM tvoří zobrazovací systém ve spodní části tubusu. Místo toho je SEM vybaven detektory sekundárních a odražených elektronů a elektronikou na zesílení a zpracování signálu a tvorbu obrazu (Nebesářová, 2001).

Obrazovka

Obrazový signál je podobný televiznímu signálu, avšak liší se počtem obrazových řádků, čemuž je přizpůsobena obrazovka elektronového mikroskopu. Proud z detektorů je zesílen a modulován na obrazový signál v podobě jasové složky signálu. Digitální signál vzniká vzorkováním analogového obrazového signálu (Bílý, 2007).

2. 2. 2. 6 Příprava preparátů pro TEM

Hlavním cílem přípravy vzorku jak pro TEM, tak i pro SEM, je získat reprodukovatelným způsobem přesnou morfologickou informaci o preparátu a maximálním způsobem potlačit jakékoli artefakty v jeho objemu (Kubínek *et al.*, 2011).

Artefakty jsou cizorodé struktury, které zkreslují mikroskopický obraz a nepatří do něj. Jedná se o různé nečistoty, krystalky barviva, vlákna vaty, prstové otisky, poškození vyvolaná preparací tkáně a buněk (prasklá buňka apod.). Při použití aperturní clony uvidíme více artefaktů (Hejtmánek, 2001).

Vzorky pro transmisní elektronovou mikroskopii nesmí obsahovat vodu, protože v mikroskopu jsou vystaveny vysokému vakuu a z mokrých preparátů by se voda bouřlivě uvolňovala. To by vedlo jednak k jejich degradaci a za druhé i ztěžovalo práci urychleným elektronům, které by se srážkami s molekulami vody brzdily. Proto je nutné biologický materiál, který obsahuje vysoké procento vody, před pozorováním v mikroskopu upravit tak, aby žádnou vodu neobsahoval. Druhou podmínkou, která vyplývá z nízké penetrační schopnosti elektronů, je, že tloušťka preparátu nesmí překročit 100 nm. Silnějšími preparáty elektrony neprojdou (Nebesářová, 2001).

2. 2. 2. 6. 1 Chemickou cestou

Fixace

Prvním krokem přípravy preparátů pro TEM je fixace. Jejím cílem je zachovat buněčnou ultrastrukturu s minimem změn oproti nativnímu stavu, zabránit degradačním procesům a stabilizovat vzorek pro další kroky přípravy. Je důležité si uvědomit, že zatím neexistuje univerzální fixační postup, který by byl vhodný

pro všechny typy tkání a buněk. Stanovení vhodného postupu je třeba pro každý vzorek hledat experimentálně, přičemž na začátku je možné vycházet ze všeobecně platných zásad (Kubínek *et al.*, 2011).

Chemická fixace je založena na reakci některých chemických činidel se složkami biologických objektů, které vedou k jejich stabilizaci a imobilizaci bez větších ultrastrukturálních změn. Chemická fixační činidla se dělí do dvou skupin: **Koagulótor** – denaturují proteiny a způsobují jejich precipitaci. Jelikož při tomto typu fixace nevznikají žádné vazby mezi různými molekulami, označuje se také jako neaditivní. Mezi tato fixační činidla patří metanol, etanol, kyselina chlorovodíková. **Nekoagulótor** – při tomto typu fixace dochází k přeměně cytoplasmy v gel transparentní pro elektrony v důsledku vytvoření sítě vazeb mezi různými molekulovými komponenty. Často se označuje také jako aditivní fixace a nejlépe zachovává buněčnou ultrastrukturu z hlediska elektronové mikroskopie. Příkladem tohoto typu fixačních činidel jsou glutaraldehyd, oxid osmičelý, manganistan draselný (Nebesářová, 2001).

Dehydratace

Po fixaci následuje dehydratace, neboli odvodnění. Ta spočívá v tom, že je vzorek postupně vkládán do roztoků s rostoucím podílem dehydratačního činidla do té doby, než je jím všechna voda v systému nahrazena (Šafářová, 2008).

Po fixaci a promytí preparátu následuje jeho zalití do vhodné pryskyřice. Bohužel, většina zalévacích médií používaná pro přípravu vzorků pro TEM není mísitelná s vodou, a proto je nutné po fixaci nahradit volnou vodu ve vzorku kapalinou, která je mísitelná jak s vodou, tak se zalévacím médiem. K tomuto účelu slouží dehydratace. Nejčastěji se jako dehydratační činidla používají etanol a aceton (Nebesářová, 2001).

Zalévání

Nyní již přichází na řadu zalévání do bločků. Jeho účelem je dát zpracovávanému vzorku takové vlastnosti, aby ho bylo možno krájet na ultratenké řezy tloušťky do 100 nm. K zalévání se používají pryskyřice, na které je kladeno velké množství požadavků – např. měly by být stabilní ve vakuu a při ozáření primárními elektrony, vzniklé bločky by měly mít přiměřenou tvrdost, aby se daly dobře krájet atd. (Šafářová, 2008).

Příprava ultratenkých řezů

Závěrečnou fází přípravy biologických vzorků je krájení ultratenkých řezů. K tomuto účelu se používá zařízení zvané ultramikrotom – obr. 10 (Šafářová, 2008).

Ultramikrotomy se používají pro získání přesných ultratenkých řezů biologických i průmyslových vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii. K řezání

se používají skleněné nebo diamantové nože, k nimž se objekt postupně přibližuje pomocí tepelného prodlužování kovové tyče nebo náročným mechanickým zařízením (Kleinová *et Svora*, 2011 – 2014).



Obr. 10: Ultramikrotom

K řezání ultratenkých řezů se používají dva typy nožů, a to skleněné a diamantové. Zatímco skleněné nože jsou levné, je možné je po použití vyhodit, diamantové nože jsou drahé, jejich cena závisí na délce řezné hrany a při jejich poškození je nutné je znovu za poměrně vysokou cenu přebrousit. Diamantový nůž poskytuje výrazně kvalitnější ultratenké řezy. Jeho cena odráží skutečnost, že diamant je nejtvrďší přírodní materiál, jehož opracování není snadné. Proto se většinou bločky "předřezají" na skleněném noži a diamantový nůž se použije až na ultratenké řezání (Šafářová, 2008).

Kvalita ultratenkého řezu závisí na kvalitě nože, především jeho ostrosti, dobře připraveném bločku, který umožňuje pravidelné řezání a na kvalitě ultramikrotomu, zejména s ohledem na tlumení vibrací atd. (Kubínek *et al.*, 2011).

2. 2. 2. 6. 2 Fyzikálními metodami

Kryometody

Mrazící metody v současnosti zažívají obrovský rozvoj v biologické elektronové mikroskopii (Nebesářová, 2001). Elektronová kryomikroskopie je zatím jediná metoda elektronové mikroskopie, která dokáže zobrazit biologický preparát v jeho nativním (přirozeném) stavu (Bednár *et al.*, 2004). Dalším důvodem rozvoje

je skutečnost, že se řada přístrojů stala komerčně dostupných, které spolehlivě a reprodukovatelně umožňují biologické objekty zmrazovat, krájet, sušit apod. (Nebesářová, 2001).

Mrazová fixace využívá toho, že většina živých organismů obsahuje více než 70 % vody nerovnoměrně rozdělené do membránami ohraničených oblastí. Při zmrazování však musíme respektovat fyzikální jevy. Kryofixace má však oproti chemické fixaci řadu výhod. Buňky mohou být pozorovány v mikroskopu v jejich přirozeném extra a intracelulárním prostředí, a to i v případě ultratenkých řezů. Při kryofixaci nedochází k denaturaci enzymů a antigenů. Buňky jsou při kryofixaci imobilizovány ve zlomku vteřiny, ale pouze pokud máme vhodná chladicí média (Kubínek *et al.*, 2011).

Mikrovlny

Při přípravě biologických vzorků pro TEM a SEM se mikrovlnná trouba používá k urychlení a zkvalitnění všech kroků přípravy. Obecně při ozáření připravovaného vzorku mikrovlnami dojde ke vzrůstu jeho teploty a ke zlepšení penetrace roztoku, ve kterém je vzorek umístěn, do jeho vnitřku. V současné době lze v literatuře najít velké množství postupů, zabývajících se časem ozařování pro jednotlivé typy vzorků, teplotou a složením fixačních roztoků, velikostí vzorků atd. (Nebesářová, 2001).

2. 2. 2. 6. 3 Další metody

Repliky

Zejména u kovů, které není možné připravit v podobě tenkého řezu, bylo nutné najít způsob, jak zajistit otisk povrchu. Metody vytváření replik se dnes používá zejména v kombinaci s metodami mrazového leptání (Kubínek *et al.*).

Otisky se dělí na jednostupňové a dvoustupňové, pozitivní a negativní. **Jednostupňový pozitivní** otisk se utvoří tak, že objekt se ve vakuu nejprve šikmo nastínuje kovem a pak se na něj kolmo napaří silnější krycí vrstva uhlíku. Replika se potom splaví nebo sejme pomocí plastické hmoty (Nebesářová, 2001).

Jednostupňový negativní otisk se připraví tak, že se na objekt kolmo napaří ve vakuu vrstva uhlíku a stínuje se až sejmutá replika.

Dvoustupňový negativní otisk vznikne, pokud se na objekt nanese dostatečné množství výše zmíněných roztoků kolodia nebo formvaru a po zaschnutí se první stupeň repliky sejme pomocí samolepicí pásky.

U **pozitivního dvoustupňového** otisku se po sejmutí repliky nejprve otisková strana postínuje kovem a pak se na ni napaří vrstva uhlíku. Ve všech případech tloušťka repliky nesmí přesáhnout 20 nm (Kubínek *et al.*, 2011).

2. 2. 2. 7 Příprava preparátů pro SEM

Příprava preparátů pro SEM se také provádí pomocí **chemických** a **mrazových metod**. Pro SEM je však typické pokovení preparátu (Nebesářová, 2001).

Pokovení preparátu

V posledních padesáti letech se SEM stala běžným nástrojem pro pozorování povrchu vodivých vzorků nebo vzorků, které jsou potažené vodivou vrstvou (Reimer, 1998).

Provádí se kvůli zvýšení povrchové vodivosti preparátu. Vysušené biologické objekty jsou téměř elektricky a tepelně nevodivé. Při jejich prohlížení v SEM dochází k nabíjení rastrovaného povrchu primárními elektrony, které se projevuje deformacemi a ztrátou ostrosti obrazu. K eliminaci nabíjecích jevů se proto preparát pokrývá vrstvičkou kovu o tloušťce cca 10-20 nm, která má za úkol odvést negativní náboj, zvýšit produkci sekundárních elektronů a minimalizovat poškození preparátu teplem uvolněným brzdícími se primárními elektrony. Nejčastěji se používá zlato, platina nebo slitina platiny a paládia. Výběr kovu se odvíjí od požadované granularity vrstvy kovu (Nebesářová, 2001).

Pokovování se provádí třemi způsoby:

- 1) vakuovým napařováním
- 2) iontovým naprašováním
- 3) impregnací

Vakuové napařování probíhá tak, že se ve vysokém vakuu elektricky zahřeje kov na teplotu, při které se z jeho povrchu odpařují molekuly. Ty pak při dopadu na chladnější preparát kondenzují. Napařování se musí provádět na rotačním stolku, aby vzniklá vrstva byla co nejrovnoměrnější.

Iontové naprašování se provádí za pomoci iontů vzniklých při ionizaci plynu. Elektrony jsou přitahovány ke katodě, kde se sráží s podarovaným kovem, ze kterého vyráží jeho částice, ty se pak opět sráží s ionty kovu a vznikne tak mrak, který dokonale obalí požadovaný vzorek. Tloušťka kovu by měla být dostatečně tlustá na to, aby odvedla negativní náboj, neměla by však zakrývat povrchové struktury (Židek, 2011).

Impregnace je vytvoření nánosu kovu na povrchu preparátu chemickou cestou a využívá se jí v případech, kdy není k dispozici speciální aparatura nebo je preparát zčásti vodivý. Nejznámější postupy jsou založeny na reakci osmia a kyseliny tanové, označují se zkratkou TAO, nebo schopnosti thiokarbohydrazidu vázat osmium, zkratka pro tuto metodu je OTO (Nebesářová, 2001).

Čas a teplota pro počáteční stabilizaci a postup OTO se může měnit v závislosti na porézności a velikosti vzorku. Sekvence thiokarbohydrazidu–osmia může být několikrát opakován, aby se zvýšilo množství těžkého kovu na vzorku (Echlin, 2009).

2. 2. 2. 8 Detekce rentgenového záření

Pro získání charakteristického spektra a následné vyhodnocení charakteristického RTG záření, je důležitá rychlá a přesná detekce RTG záření vystupujícího ze vzorku. Elektronový mikroskop (SEM nebo TEM) může být vybaven analyzátozem, který provádí rozklad RTG záření podle energie (Energy Dispersive Spectrometer – **EDS**) nebo podle vlnové délky (Wavelength Dispersive Spectrometer – **WDS**).

Vedle pojmu EDS „Energy Dispersive Spectrometer“ se můžeme setkat také s **EDX**, což je označení pro „Energy Dispersive X-Ray Analysis“. Existují dva přístupy jak provést EDX mikroanalýzu. **Kvalitativní EDX mikroanalýza**, kterou můžeme detekovat prvky v určité oblasti vzorku. Rozsah detekce prvků závisí na citlivosti konkrétního detektoru, na protonovém čísle studovaného vzorku a na délce expozičního času při načítání EDX spektra. **Kvantitativní EDX mikroanalýza** vychází z porovnání spekter. Srovnávají se intenzity čar RTG záření měřených prvků ve studovaném vzorku s intenzitami odpovídajících čar produkovaných z určitého standardu (Kubínek *et al.*, 2011).

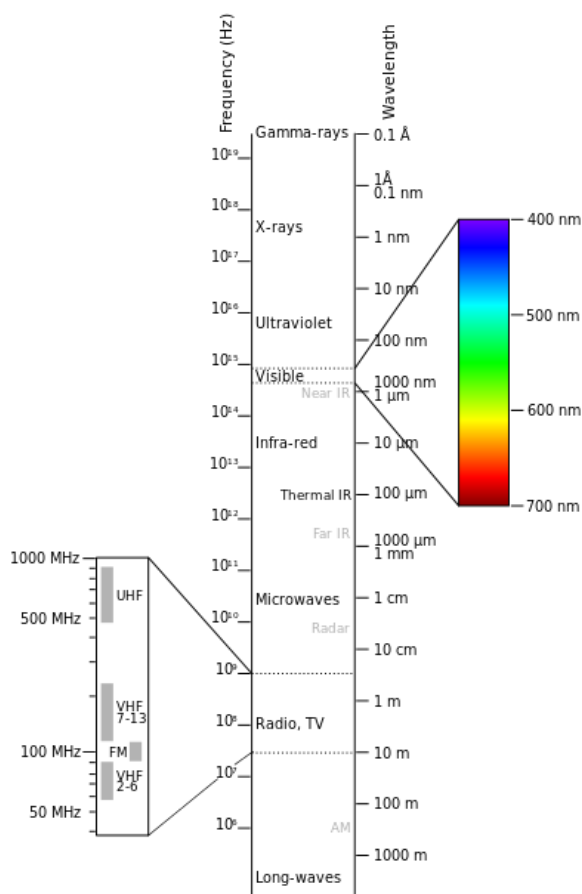
Skenovací elektronová mikroskopie s energeticky disperzní rentgenovou analýzou (SEM/EDX) je nejznámější a nejvíce používanou analytickou technikou zkoumající povrch. Snímky mají vysoké rozlišení a vynikající hloubkou ostrosti. Obraz povrchu vzorku může být tedy konstruován na základě měření intenzity sekundárních elektronů v závislosti na poloze skenování primárního elektronového svazku. SEM doprovázená rentgenovou analýzou je považována za relativně rychlý, levný a v podstatě nedestruktivní přístup k povrchové analýze (The University of Western Ontario, 2014).

WDS detekce charakteristického rentgenového záření vede k získání mnohem přesnějšího spektra energií a tím k přesnějšímu stanovení chemického složení analyzovaných mikroobjemů (Kubínek *et al.*, 2011).

2. 2. 3 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie (IR) je analytická technika určená především pro identifikaci a strukturní charakterizaci organických sloučenin a také pro stanovení anorganických látek. Tato technika měří pohlcení infračerveného záření o různé vlnové délce analyzovaným materiálem (Laboratoř molekulové spektroskopie, 2003). Jedná se o nedestruktivní analytickou metodu (Novotná *et al.*, 2011). Interakce nanostruktur s elektromagnetickými vlnami nedávno získala větší pozornost, a to jak z důvodu principiálních, tak technologických (Balan *et al.*, 2002).

Infrazáření, nebo také infračervené záření je z čistě fyzikálního hlediska elektromagnetické vlnění (Obr. 11), jehož vlnová délka je větší, než vlnová délka viditelného světla a kratší než vlnová délka mikrovln. Jeho vlnová délka je mezi 760 nm a 1 mm. Infračervené záření je především přirozenou součástí slunečního záření. Umožňuje přenos tepelné energie na různé povrchy bez zahřátí okolního vzduchu (Fúsek, 2012).



Obr. 11: Spektrum elektromagnetického vlnění

Výstup z přístroje se označuje jako spektrum. Infračervené spektrum lze rozdělit do tří hlavních oblastí – vzdálenou ($< 400 \text{ cm}^{-1}$), střední ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) a blízkou

(13 000 – 4000 cm^{-1}) infračervenou oblast. Nejpoužívanější je střední oblast (Stuart, 2004).

Principem metody je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem, při níž dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Analytickým výstupem je infračervené spektrum, které je grafickým zobrazením funkční závislosti energie, většinou vyjádřené v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorpance (A) na vlnové délce dopadajícího záření (Laboratoř molekulové spektroskopie, 2003). Fyzikální stav a molekulární, chemické a fyzikální prostředí mají velký vliv na infračervené spektrum (Coates, 2000).

2. 2. 3. 1 Infračervené spektrometry

Měření infračervených spekter se podle Novotné *et al.* (2011) provádí na infračervených spektrometrech, které můžeme rozdělit do tří základních skupin:

- a) disperzní IČ spektrometry
- b) nedisperzní IČ spektrometry
- c) IČ spektrometry s Fourierovou transformací

Disperzní IČ spektrometr (hranolový, mřížkový a jejich kombinace)

Zdrojem záření je nejčastěji keramická tyčinka (globar), na jejímž povrchu nebo uvnitř je navinut odporový drát žhavený na teplotu 1000 až 1400 °C. Toto rozžhavené těleso je imitací černého tělesa a emituje záření v oblasti infračerveného spektra. Záření prochází vzorkem, který je umístěn pro infračervené záření v transparentní kyvetě (halogenidy kovů, především alkalických: NaCl, KBr, atd.). Za kyvetou se paprsek přivádí na vstupní štěrbinu monochromátoru (Kania, 2007). Dále je postupně paprsek rotací difrakční mřížky přiveden na detektor záření o vybraných vlnočtech. Použití disperzních spektrometrů je na ústupu, protože je časově náročné (Novotná *et al.*, 2011).

Nedisperzní IČ spektrometr

Má v podstatě stejnou konstrukci jako disperzní typ, ale neobsahuje žádný disperzní prvek. Monochromaticnost je zajištěna již samotnou povahou zdrojů infračerveného záření. Jako zdroje záření se používají vysoce monochromatické lasery, ať již plynové nebo v posledních letech čím dál častěji používané pevnolátkové lasery – laserové diody (Kania, 2007).

IČ spektrometry s Fourierovou transformací

Zdrojem záření v interferometrických spektrometrech je stejně jako v disperzním přístroji keramická tyčinka, která při zahřátí emituje spojitě IČ záření, které

pak dopadá pod úhlem 45° na dělič paprsků (beamspliter), který propustí jen požadovanou část spektra, např. střední IČ (Novotná *et al.*, 2011).

2. 2. 3. 1. 1 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

Při infračervené spektrometrii s Fourierovou transformací (FTIR) se interferometricky získaný signál převede matematickou operací – Fourierovou transformací – na infračervené spektrum. Základem FTIR spektrometru je např. Michelsonův interferometr (Němec, 2008). Ten se skládá ze tří komponentů – pohyblivého se zrcadla, pevného zrcadla a děliče. Obě zrcadla jsou k sobě navzájem kolmá (Sherman Hsu, 1997). Princip interferometru spočívá v tom, že záření ze zdroje přichází na polopropustný dělič paprsků, který jednu polovinu paprsků propustí k pohyblivému zrcadlu, druhá se odráží směrem k pevnému zrcadlu.

Ve FTIR analýze se infračervené spektrum vzorku provádí průchodem paprsku infračerveného světla skrz vzorek nebo odráží od povrchu vzorku. Infračervené světlo je absorbováno v určitých frekvencích, které představují vibrace vazeb nebo skupin v molekule (The University of Western Ontario, 2014).

FTIR je preferovanou metodou infračervené spektroskopie a může poskytnout následující informace:

- identifikace neznámé látky
- určení kvality vzorku
- určení množství složek ve směsi
(Thermo Nicolet Corporation, 2001)

FTIR spektrometry mají celou řadu výhod, jako je vysoká světelnost, velká rozlišovací schopnost, vlnočtová správnost získaného spektra, velká rychlost záznamu a možnost měřit v širokém vlnočtovém rozsahu. Pro zlepšení poměru signálu k šumu se ve FTIR spektrometrech spektra akumulují vícenásobným záznamem. Takto získané kvalitní záznamy (v digitální formě) lze dále zpracovávat, vyhodnocovat a interpretovat s použitím výpočetní techniky (Němec, 2008).

Jednotlivé vzorky prachu byly analyzovány prostřednictvím FTIR, které byly získány z různých míst Tamilnadu v Indii. Ve vzorcích byla prokázána přítomnost azbestu a několika dalších minerálů. Expozice průmyslového prachu s přítomností azbestu může během těhotenství mít vliv na rychlost růstu plodu (Senthil Kumar *et Rajkumar*, 2014).

2. 2. 3. 1. 2 Příkladové vybavení

Základní pořadí instrumentů při procesu analýzy vzorku je následující (Obr. 12):

1) Zdroj

Infračervená energie je vyzařována ze zářícího zdroje černého tělesa. Tento paprsek prochází otvorem, který kontroluje množství energie prezentované na vzorku.

2) Interferometr

Paprsek vstupuje do interferometru, kde dochází ke "spektrálnímu kódování". Výsledný signál, který opouští interferometr, se nazývá interferogram.

3) Vzorek

Paprsek vstupuje do vzorku, kde se přenáší nebo odráží z povrchu vzorku, v závislosti na typu analýzy, která byla provedena (Thermo Nicolet Corporation, 2001). Paprsek prochází vzorkem a frekvence, které nebyly absorbovány, jsou přivedeny na detektor (Němec, 2008).

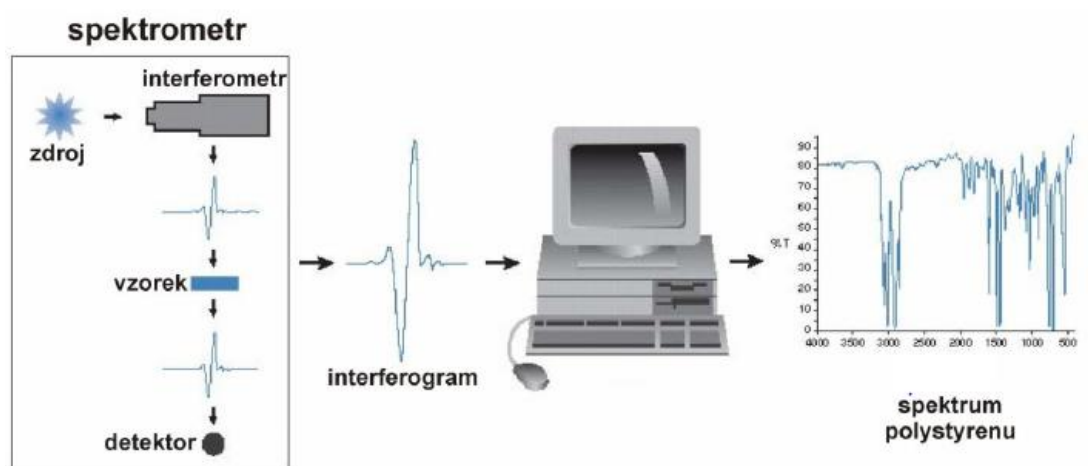
4) Detektor

Paprsek nakonec přechází do detektoru pro konečné měření. Používané detektory jsou speciálně navrženy tak, aby měřily signál, interferogram.

5) Počítač

Měřený signál je digitalizován a poslán do počítače, kde probíhá Fourierova transformace. Konečné infračervené spektrum je pak prezentováno uživateli (Thermo Nicolet Corporation, 2001).

Počítač tvoří důležitou součást moderních infračervených přístrojů a provádí řadu funkcí. Slouží např. k nastavení snímání rychlostí, skenování limit, spouští a zastavuje skenování. Se spektry je možné manipulovat pomocí počítače, např. přidáním či odečtením spektra nebo rozšíření oblasti spektra zájmu. Komplexní analýzy mohou být automaticky prováděny po řadě předem naprogramovaných příkazů. Počítač je také používán pro vykreslování spektra (Stuart, 2004).



Obr. 12: Základní pořadí instrumentů při procesu analýzy vzorku

2. 2. 3. 1. 3 Výběr techniky a příprava vzorku pro FTIR měření

Techniky lze rozdělit na transmisní a reflexní (odrazné).

1) Transmisní techniky

Nejpoužívanější technikou pro získání infračerveného spektra neznámé látky je transmittanční měření (záření přímo prochází vzorkem), velkou výhodou je možnost měření vzorků ve všech skupenstvích (Novotná *et al.*, 2011). K měření používáme většinou kyvety, zhotovené z vhodného optického materiálu, který je propustný pro infračervené záření. Nejčastěji to bývají NaCl nebo KBr, které jsou propustné v poměrně široké oblasti infračerveného spektra. Nevýhodou je však jejich rozpustnost ve vodě, v alkoholech, kyselinách a dalších polárních látkách. Proto byly pro takové případy vyvinuty jiné materiály. Je to např. ZnSe nebo KRS-5 (směsný krystal jodidu a bromidu thallného), které jsou vůči těmto prostředím odolné. Nevýhodou KRS-5 je však toxicita a poměrně vysoký index lomu.

Plynné vzorky

Vzhledem k malé hustotě molekul měříme plyny v poměrně velkých vrstvách. Nejčastěji k tomu používáme kyvety o tloušťce 10 cm. Kyvetu tvoří skleněný váleček, na jehož obou koncích jsou upevněna okénka z materiálu propouštějícího záření. Váleček je opatřen plnicími otvory s kohouty, přizpůsobenými tak, aby se kyveta mohla dobře evakuovat a plyn nasávat pod tlakem (Němec, 2008).

Kapalné vzorky

Nejjednodušší cesta je měření vzorku v kyvetě o určité tloušťce mající okénka KBr nebo NaCl (Laboratoř molekulové spektroskopie, 2003). V případě měření infračervených spekter roztoků nesmíme zapomínat na volbu vhodného rozpouštědla. Každé rozpouštědlo má totiž v určitých oblastech své vlastní

absorpční pásy. Při vyšší absorpci záření rozpouštědlem dopadá na detektor tak málo energie, že přístroj již nezaznamenává správné spektrum.

Pevné vzorky

Přímé transmisní techniky

Přímé měření spekter na průchod je nejideálnější metodou získání kvalitních absorpčních spekter samotných materiálů s minimálním vlivem přípravy vzorků na kvalitu spektra. Tento způsob lze však prakticky aplikovat jen na samonosné filmy polymerů (Němec, 2008).

Technika lisování tablet

Pevné vzorky bývají mlety v malém vibračním mlýnku s KBr. Tento výsledný homogenní prášek je potom slisován do tenké tablety, která je dále analyzována (Laboratoř molekulové spektroskopie, 2003). Místo KBr se využívá i CsI. Tato tenká tableta má tloušťku 0,005 – 0,5 mm (Novotná *et al.*, 2011).

Technika suspenzí

Měřená pevná látka se suspenduje v silně viskózní suspendující látce a měří se IČ spektrum kapilární vrstvy získané suspenze mezi okénky z vhodného optického materiálu. Jako suspendující látky se běžně používá parafinový olej – tzv. Nujol (Němec, 2008), nebo Fluorolube – fluorovaný uhlovodík (Novotná *et al.*, 2011).

Nujol je minerální olej, destiluje se z ropy. Je směsí alkanů, které mají střední molekulovou hmotnost (vyšší než petrolej, nižší než parafín). Suspenze v Nujolu, je hustá suspenze pevné látky s olejem (Weaver, 2014).

2) Reflexní (odrazné) techniky

Touto technikou můžeme měřit vzorky v pevném nebo kapalném skupenství (Novotná *et al.*, 2011). Odrazných technik je v IČ spektroskopii celá řada, jejich výběr se řídí tím, o jaký vzorek jde.

Metoda zrcadlového odrazu (Spekulární reflaktance)

Jde o moderní nedestruktivní reflexní metodu, jejíž podstatou je zrcadlový odraz na povrchu vzorku (úhel dopadu je roven úhlu odrazu). Množství odraženého světla závisí na úhlu dopadu, indexu lomu vzorku, kvalitě povrchu a absorpčních vlastnostech vzorku. Z hlediska způsobu interakce záření s povrchem vzorku můžeme rozlišit dvě základní techniky měření (Němec, 2008).

Metoda difúzní reflexe - DRIFTS (DRIFT)

Pro vzorky s nerovným a nepravidelným povrchem nebo práškové látky je výhodné použití difúzní reflaktance, která je známa jako DRIFT (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy). Oproti spekulární reflaktanci je měřena difúzně

rozptýlená složka záření. Jestliže je analyzovaná látka nerozpustná v běžně používaných rozpouštědlech a není z ní možno připravit tenkou folii nebo práškový vzorek, je k dispozici zajímavá DRIFT technika, která spočívá v adjustaci vzorku na papírový kotouček obsahující na povrchu práškový karbid křemíku. Vzorek je jednoduše „nabroušen“ na brusnou vrstvu a výsledná vrstva je měřena pomocí DRIFT techniky. Infračervené spektrum SiC je možno digitálně odečíst (Laboratoř molekulové spektroskopie, 2003).

DRIFT je rychlá a nedestruktivní metoda, protože vzorek může být analyzován přímo, nebo v jeho práškové formě. Kromě toho, DRIFT je vhodnější pro analýzu silně absorpčních materiálů, jejichž hlavní charakteristikou jsou velmi nízké signály a klesající základní linie při transmisní analýze (Accardo *et al.*, 2014).

Metoda zeslabené totální reflexe – ATR

Technika zeslabeného úplného odrazu – ATR (Attenuated Total Reflection) je založena na principu jednoduchého či vícenásobného úplného odrazu záření na fázovém rozhraní měřeného vzorku a měřicího krystalu s dostatečně vysokým indexem. Krystal je většinou planární, ve tvaru lichoběžníkového hranolu, převážně umístěný v horizontálním uspořádání. Na něj se nanáší vzorek. Svazek paprsků je přiveden do krystalu soustavou zrcadel tak, aby úhel dopadu na fázové rozhraní vyhověl podmínce úplného (totálního) odrazu. Měřený vzorek musí být v dokonalém kontaktu s ATR krystalem kvůli dostatečnému průniku záření ve formě evanescentní vlny do vzorku.

ATR je účinnou a rychlou technikou měření IČ spekter, která oproti transmisnímu měření v kyvetě vyžaduje minimální přípravu vzorku pro analýzu. Tato analýza je pak dostatečně rychlá a může být automatizována (Kania, 2007).

FTIR–ATR analýza umožnila upozornit na změnu chrysotilové struktury a morfologie v substituci železa za hořčík nebo křemík a zdůraznila tak její klíčovou roli ve studování struktury a morfologie (Lesci *et al.*, 2014).

2. 2. 4 Jiné méně používané metody

Mezi další metody, které se používají při výzkumu azbestu, patří např. diferenční termická analýza, rentgenová difrakční analýza, Ramanova spektrometrie a další.

2. 2. 4. 1 Diferenční termická analýza (DTA)

Diferenční termická analýza je jednou z nejstarších termických metod (Seilerová *et al.*, 2012). Jedná se o dynamickou tepelně analytickou metodu, při níž se sledují

teplotní efekty zkoumaného vzorku spojené s jeho fyzikálními nebo chemickými změnami při jeho plynulém lineárním ohřevu nebo ochlazování. Touto metodou se měří teplotní rozdíly mezi zkoumaným a srovnávacím (indiferentním) vzorkem, vznikající při jejich současném ohřevu, který je lineární funkcí času (Vaníček, 2006).

Výsledkem DTA analýzy je křivka znázorňující závislost rozdílu teplot mezi měřeným a referenčním vzorkem v jednotkách elektrického napětí tj. v μV na teplotě popř. na čase.

Význam DTA spočívá v identifikaci dějů spojených s výměnou tepla mezi vzorkem a okolím. Používá se pro kvalitativní (identifikace děje) i kvantitativní hodnocení (odečtení velikosti příslušných změn). Z hlediska kvalitativní analýzy lze z tvaru a poloh píků určit přítomnost a charakter děje (exotermní, endotermní) a příslušné teplotní intervaly, počáteční a konečnou teplotu, vratnost dějů. Díky katalogům termoanalytických křivek lze identifikovat řadu minerálů, rud, hornin a jejich případné příměsi (Kloužková *et al.*, 2012).

2. 2. 4. 2 *Rentgenová difrakční analýza (RTG)*

Rentgenová difrakční analýza (RTG nebo XRD) je základní metodou k určování struktury pevných látek, každá krystalická látka má jedinečný difraktogram, podle kterého jsme schopni ji identifikovat. Tato metoda je založená na interakci rentgenového záření s elektrony atomů spočívající v pružném (bezfotonovém) rozptylu. Díky pravidelnému periodickému uspořádání atomů v krystalické fázi dochází po rozptylu a následné interferenci rentgenového záření ke vzniku difrakčních maxim, jejichž poloha, intenzita a tvar závisí na druhu atomů a dokonalosti jejich uspořádání v 3D prostoru. Studium tohoto difrakčního obrazce pak umožňuje zpětně studovat krystalické složení vzorku a jeho mikrostrukturu (Másilko, 2011).

Současná RTG strukturní analýza představuje důležitou analytickou techniku pro stanovení molekulové a krystalové struktury látek. Pokud je k dispozici monokrystal (u malých i velkých molekul), pak se s velkou pravděpodobností podaří zjistit jeho strukturu (Kratochvíl *et al.*, 2008).

RTG difrakce je v řadě průmyslových výrob součástí provozních testů. Klíčovou roli má např. u výrobců léčiv, kdy chemicky totožné molekuly mohou vytvářet různé konformace a různé typy struktury, ale ne všechny tyto struktury vykazují požadovanou farmakologickou aktivitu (Čapková, 2011).

2. 2. 4. 3 Ramanova spektrometrie (RAMAN)

Ramanova spektrometrie se zabývá rozptýleným světlem, které vznikne po ozáření analyzované látky intenzivním monochromatickým světlem. Tímto zdrojem bývá zpravidla laser. V Ramanově spektrometrii se jedná o nepružný rozptyl světla. Po interakci záření se vzorkem se molekuly vzorku rozkmitají a zaujmou jiný vibrační a rotační stav. Tato změna však nastane jiným mechanismem než v případě infračervené spektrometrie, v níž dojde k tomuto stavu přímo absorpcí záření. V Ramanově spektrometrii si jev lze představit také tak, že došlo k nepružné srážce fotonu s molekulou, při které si foton ponechal část energie molekuly. Polarizovatelnost molekuly je tedy podmínkou pro aktivity vibrace v Ramanově spektrometrii (Klouda, 2003).

Ramanova spektra se nejčastěji měří se vzorky umístěnými v uzavřené vzorkové komoře. Vzorky můžeme měřit pomocí nejrůznějších nástavců v různých držácích vzorků (mikrotablety, skleněné vzorkovnice). Takto se dají měřit jak vzorky kapalného, plynného, či pevného skupenství (Dominiková, 2014).

Jedná se o metodu vhodnou pro identifikaci látek, při určování jejich složení a struktury. Své uplatnění nachází od mineralogie a geochemie, přes chemický a farmaceutický průmysl až po biologii a lékařství (Dendisová *et al.*, 2013).

2. 2. 4. 4 Identifikace látek v blízké infračervené oblasti spektra (NIR)

Azbestový analyzátor microPHAZIR (Obr. 13) je ruční přístroj, který měří v blízké infračervené oblasti (NIR). Je určen pro rychlou orientační identifikaci materiálů obsahujících azbest. Přesnou analýzu je možné provést přímo na místě během několika sekund, jedná se o nedestruktivní metodu (MicroPHAZIR Asbestos Analyzer, 2011). Další využití je např. ve farmacii, při orientačním zjištění je možné analyzovat látky přes sklo.



Obr. 13: Ruční analyzátor azbestu microPHAZIR

3 METODIKA A VÝSLEDKY

Tato kapitola je zaměřena na praktické odzkoušení dvou nejdůležitějších analytických metod, které se využívají pro stanovení azbestových vláken ve stavebních a izolačních materiálech. Jedná se o infračervenou spektroskopii s Fourierovou transformací (FTIR) a skenovací elektronovou mikroskopií s energiově disperzním analyzátozem (SEM/EDX). Okrajově též bude zmíněna metoda polarizační optické mikroskopie (PLM) a optická mikroskopie s fázovým kontrastem (PCM), pomocí které se provádí početní stanovení koncentrace vláken v ovzduší.

Bylo využito následujících přístrojů

- Skenovací elektronový mikroskop:
TESCAN Vega 3 s mikroanalyzátozem EDX (TESCAN a.s., ČR)

- Infračervený spektrofotometr:
FTIR TENZOR 27 s modulem Single ATR Miracle s diamantovým krystalem (BRUKER GmbH, D; PIKE Inc., USA)

- Optický mikroskop:
JENAPOL s PLM/PCM se CCD kamerou MOTIC 5.0 (Carl Zeiss Jena, D)

Všechny metody jsou doloženy fotografiemi přístrojového vybavení a dalšího příslušenství v jednotlivých podkapitolách.

Při kvalitativní analýze se zjišťuje přítomnost a identifikace azbestových vláken, využívá se výše zmiňovaných metod (FTIR, SEM/EDX, PLM/ PCM a dalších). V případě kvantitativní analýzy je zjišťována hmotnostní koncentrace nebo početní koncentrace azbestových vláken a je třeba se řídit podle dvou základních předpisů – BIA 7487 a ISO 22262-2.

3.1 IR/FTIR

Metoda IR/FTIR je založena na snímání infračervených spekter výše uvedených látek v celé střední oblasti infračerveného spektra – od 400 do 4000 cm^{-1} . Vzorky pro IR/FTIR mohou být pevné, kapalné i plynné. Nevýhodou IR/FTIR je, že nerozlišuje respirabilní a nerespirabilní vlákna.

Techniky pro IR/FTIR analýzu jsou transmisní a reflexní. Mezi nejběžnější transmisní techniky patří aplikace roztoku do kyvety (kapalný vzorek) nebo technika lisování tablet (pevný vzorek). Nejpoužívanější reflexní technikou

je metoda ATR (metoda zeslabené totální reflexe). Existují i další techniky, např. DRIFT (Metoda difúzní reflexe), ale ta se na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové používá pouze pro farmaceutické analýzy (zkouška totožnosti látek).

Nejběžnější technikou, která se na tomto pracovišti využívá, je lisování tablet. Vzorek (zkoumaný materiál) se po úpravě (drcení, mletí, separace azbestových shluků vláken) a tabletaci ve směsi s KBr proměří metodou IR/FTIR. Zpracování vzorku musí být prováděno takovým způsobem, aby nemohlo dojít ke kontaminaci okolního prostředí. Laboratorní nádobí užívané při analýze musí být řádně umyto a vysušeno v horkovzdušném sterilizátoru.

Následně bude sepsáno, jaký byl postup přípravy vzorku pro IR/FTIR analýzu, tabletaci a měření.

Příprava vzorku

Nejprve bylo provedeno drcení v achátové třecí misce (Foto 1), v tomto případě byl použit prášek KBr a vlákna azbestu. Lze též provést mletí i ve vibračním mlýnku, v tomto případě PERKIN-ELMER VIBRATING MILL. Pro kvantitativní analýzu je nutné přesné vážení podílu rozemletého vzorku na analytických vahách.



Foto 1: Drcení vzorku v achátové třecí misce s práškem KBr

Následně byla směs vzorku a opticky inertního materiálu (KBr) připravena na **tabletaci** (Foto 2).



Foto 2: Příprava na tabletaci vzorku v opticky inertním materiálu (KBr)

Tabletace byla provedena v tabletovací matici (štančně) hydraulickým lisem CARVER LABORATORY PRESS (Foto 3) po dobu 10 minut.



Foto 3: Hydraulický lis

Měřicí prostor FTIR s jednotkou Single ATR Miracle (Foto 4).



Foto 4: Měřicí prostor FTIR

Měření infračervených spekter

Nejprve se proměří pozadí (background). Použije se okénko optického materiálu, čistá tableta z optického materiálu, nujol (Fluorolube) nebo vzduch podle charakteru vzorku. Poté se připravený vzorek se umístí do měřicího prostoru přístroje. Scanuje se infračervené spektrum v celé oblasti od 400 do 4000 cm^{-1} .

Identifikace – vizuální posouzení FTIR spektra

Provádí se z důvodů optimalizace parametrů měření, za účelem vyloučení spektrálních interferenčních efektů a k prvnímu přiblížení v kvalitativní analýze (stanovení základních funkčních skupin, korekce základní linie, zjištění obsahu vody a jiných interferujících příměsí (CO_2)). K tomuto postupu se využívá tzv. korelačních tabulek infračervených spekter, softwarové podpory korekce baseline, separace a vyloučení pásu vody a oxidu uhličitého.

Základním prostředkem je softwarová podpora, která zajišťuje statistickými metodami výběr nejvíce pravděpodobného dvojníka ke spektru měřené látky a to na základě průběhu celého spektra, na základě tabulky vibračních pásů – peak table. Podmínkou je přítomnost knihoven infračervených spekter (ČIA, 2014a).

Na snímku 5 je zobrazeno FTIR spektrum vláken chryzotilu, které byly obsaženy v asfaltové lepence.

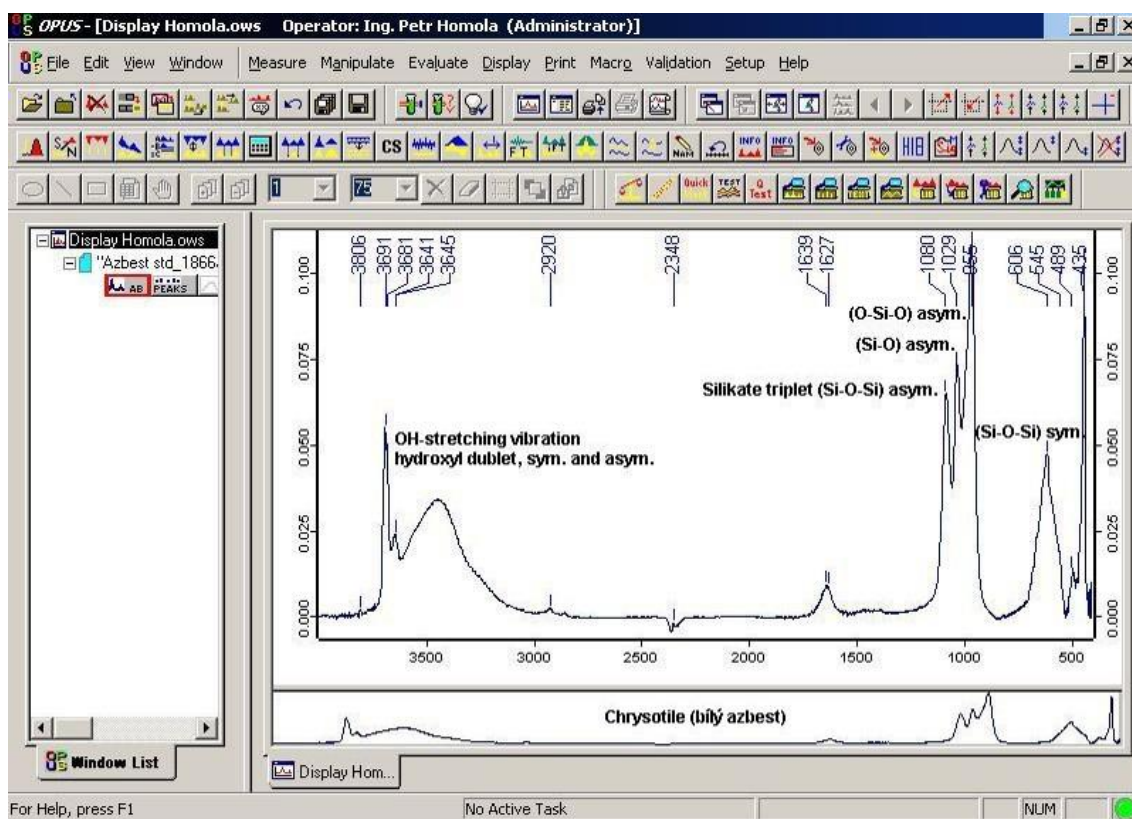


Foto 5: FTIR spektrum chryzotilu

3.2 SEM/EDX

SEM – skenovací elektronový mikroskop (Foto 6) je přístroj určený k pozorování povrchů nejrůznějších objektů. Je ho možné do jisté míry považovat za analogii světelného mikroskopu v dopadajícím světle, na rozdíl od něho je výsledný obraz tvořen pomocí odražených nebo sekundárně odražených elektronů.

Nebesářová (2001) uvádí, že výhodou těchto mikroskopů je, že v komoře preparátů vzniká při interakci urychlených elektronů s hmotou vzorku kromě výše zmíněných signálů ještě řada dalších, např. RTG záření. Při jejich detekci je možné určit např. prvkové složení preparátu v dané oblasti a při porovnání s vhodným standardem určit i kvantitativní zastoupení jednotlivých prvků.

Počítání a určování azbestových vláken se na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové provádí metodou SEM/EDX (skenovací elektronovou mikroskopií s energiově disperzní RTG analýzou).



Foto 6: Skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 s mikroanalyzátozem EDX

Zmíněné detektory (odražených elektronů, sekundárně odražených elektronů a RTG záření) jsou zobrazeny na snímku 7.

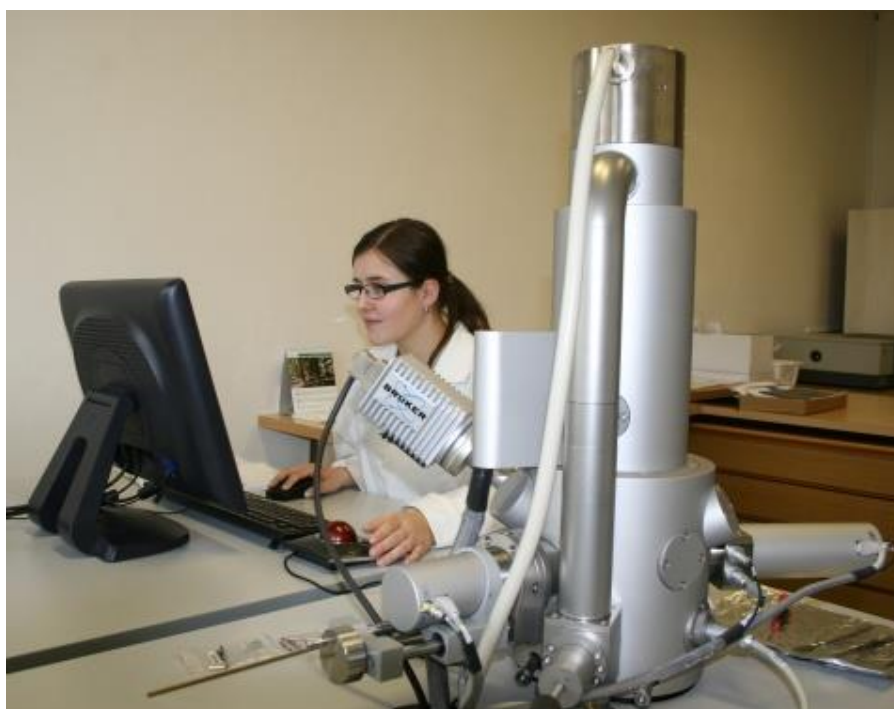


Foto 7: Detektor odražených elektronů, sekundárně odražených elektronů a RTG záření

Při odběru vzorku jsou vláknité částice ze vzduchu zachycené na jádrovém porézním filtru s napařeným zlatým povlakem nebo bez zlatého povrchu. Zaplněný filtr se zkoumá přímo v skenovacím elektronovém mikroskopu. Na náhodně vybraných, na filtru rozložených dílčích plochách jsou vlákna podle stanovených pravidel počítání vláken měřena, počítána a klasifikována podle druhu vláken. Klasifikace se provádí na základě rentgenových spekter vláken získaných pomocí energetické disperzní rentgenové analýzy. Koncentrace počtu vláken ve vzduchu se určuje z výsledku počítání vláken, vyhodnocené plochy filtru a z objemu vzorku vzduchu nasátého touto plochou.

Příprava vzorků

Zpracování vzorku filtru v kyslíkovém plazmatu je metodickým krokem, který kladně ovlivňuje viditelnost vláken. Pokovování se provádí v inertní atmosféře argonu pomocí napařovacího zařízení (Foto 8), ve kterém je umístěna folie s Au/Pd. Tento systém je rovněž evakuovaný, stejně jako v případě elektronového mikroskopu.



Foto 8: Napařovací zařízení Au/Pd

Vzorek (filtr s azbestovými vlákny) se přenesse na uhlíkovou nálepku, provede se pokovení Au/Pd, a poté je umístěn do komory elektronového mikroskopu. K manipulaci využijeme pinzety apod. (Foto 9).

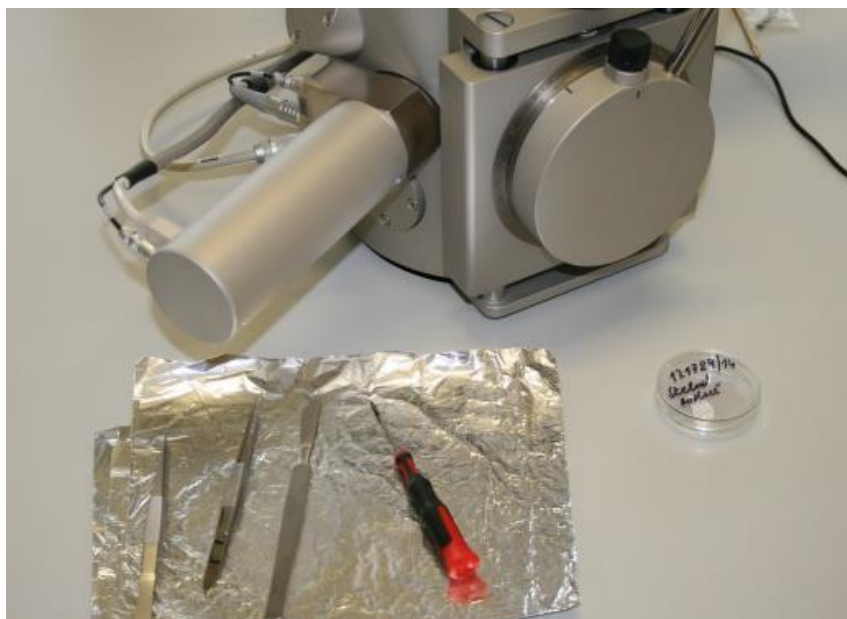


Foto 9: Nářadí potřebné k manipulaci filtru s azbestovými vlákny

Elektronový mikroskop je ovládán softwarově. I po ukončení práce na počítači však zůstává prostor mikroskopu evakuovaný, aby nedošlo ke znečištění komory prachem (ČIA, 2014b). Na snímku 10 je pomocí SEM zachyceno chryzotilové vlákno mezi vlákny skelnými, které pocházejí z asfaltové lepenky.

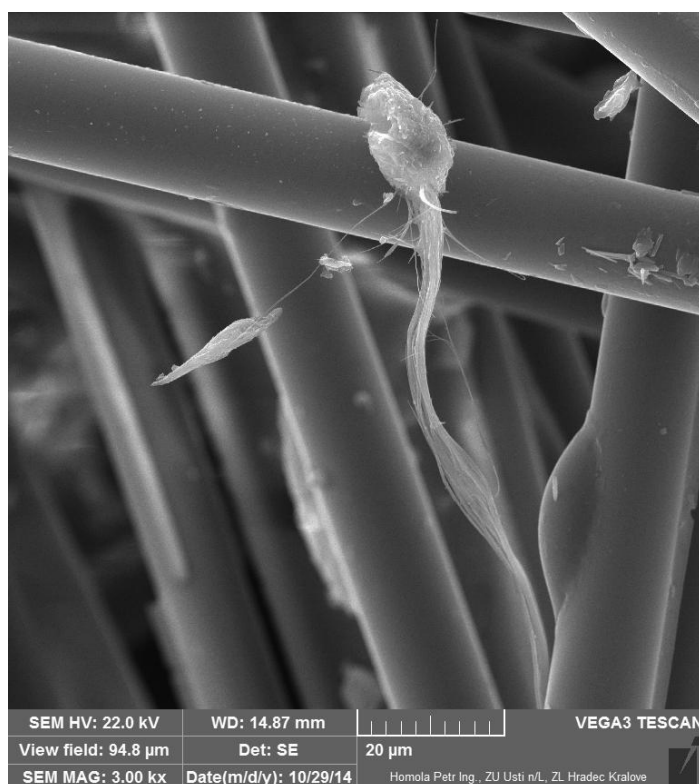


Foto 10: Chryzotil na skupině skelných vláken z asfaltové lepenky

Na dalším snímku (Foto 11) můžeme vidět vlákna aktinolitu pomocí SEM s EDX analýzou.

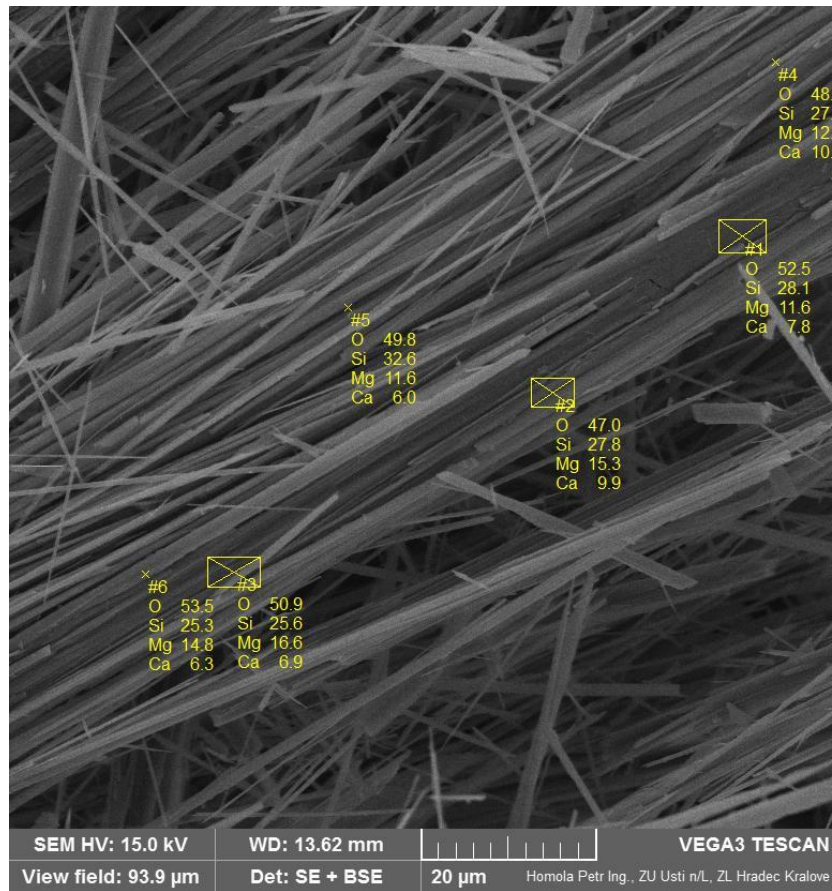


Foto 11: SEM/EDX analýza aktinolitu

Vlákno je dlouhá přímá částice o délce $L > 5 \mu\text{m}$, tloušťce $D < 3 \mu\text{m}$ a poměru délka : tloušťka ($L : D > 3 : 1$). Na snímku 12 můžeme vidět a porovnat délku, tloušťku a poměr délky a tloušťky u skelných vláken.

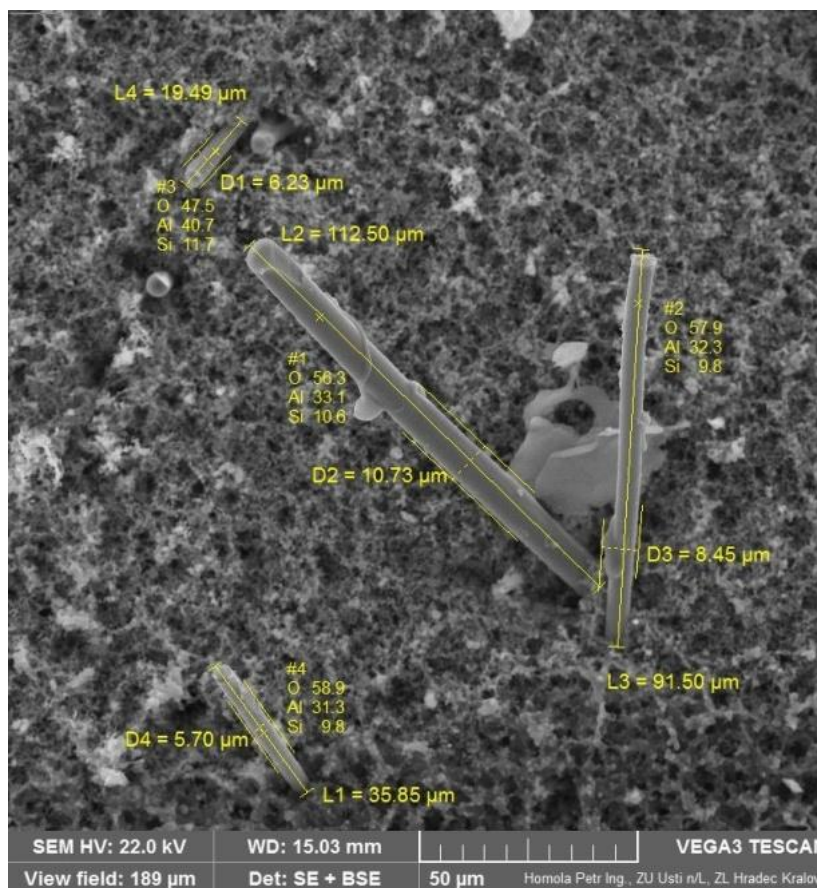


Foto 12: Délka a tloušťka skelných vláken v SEM

3.3 PLM/PCM

U PLM polarizované světlo kmitá v jedné rovině a při průchodu dvojlomnými látkami se rozkládá na základě dvojlomu na dvě složky lišící se rovinou kmitu. Mikroskopy obsahují polarizační filtry – světlo prošlé těmito filtry je polarizováno (Hejtmánek, 2001).

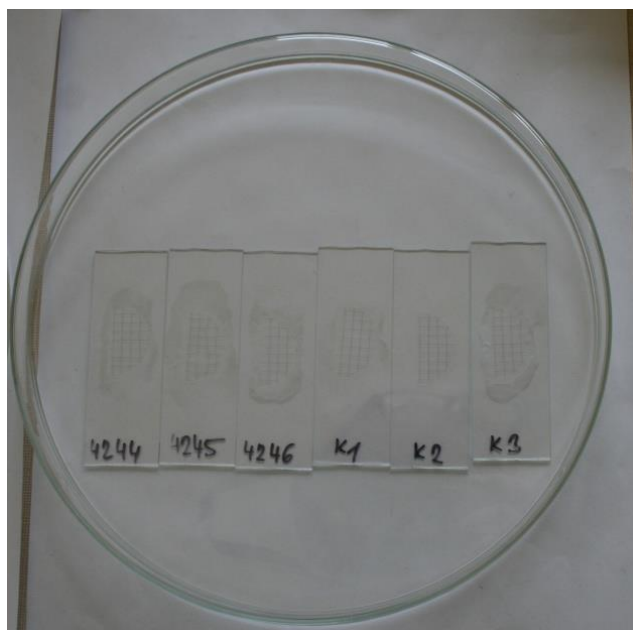
PCM zvyšuje kontrast v nebarvených buňkách a je též výhodná pro sledování živých nepigmentovaných buněk (Campbell *et* Reece, 2008).

Světelný mikroskop je doplněn několika filtry, pomocí kterých lze pozorovat azbestová vlákna příslušnou metodou (PLM, PCM). Na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové mají k dispozici optický mikroskop JENAPOL s PLM/PCM se CCD kamerou (Foto 13).



**Foto 13: Optický mikroskop JENAPOL
s PLM/PCM se CCD kamerou**

Eminger (2011) uvádí, že po zprůhlednění membránového nitrocelulóзовého filtru se vzorek podrobí mikroskopování s využitím fázového kontrastu. Několik zprůhledněných membránových filtrů je zachyceno na snímku 14.



**Foto 14: Zprůhledněné membránové filtry
na podložních sklíčkách**

Na snímku 15 můžeme vidět vlákna chryzotilu metodou PCM.

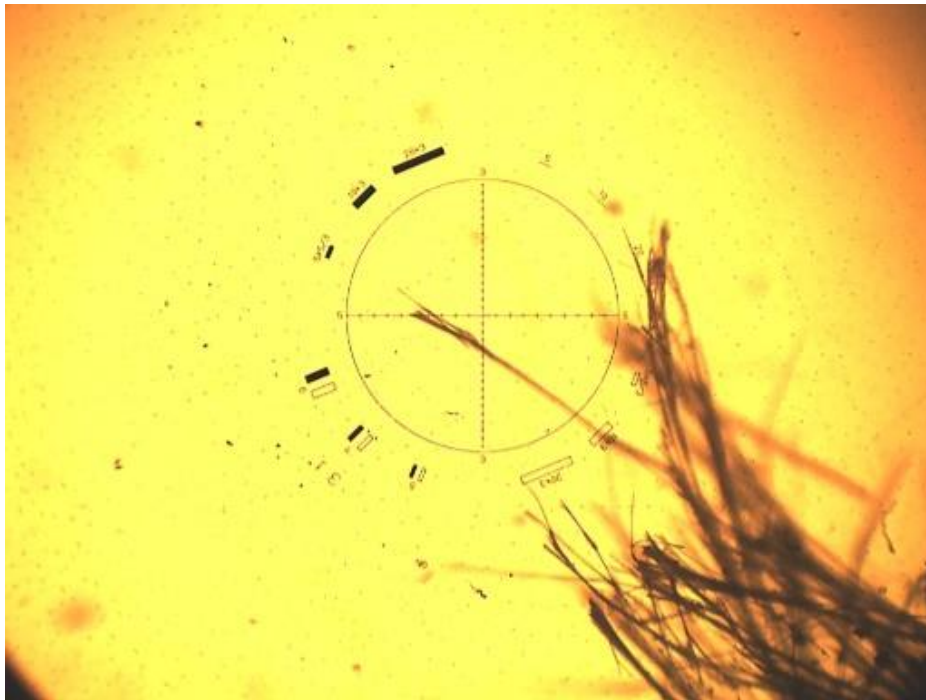


Foto 15: Chryzotilová vlákna (PCM), zvětšení 100x

Další snímek (Foto 16) zachycuje vlákna chryzotilu metodou PLM při horním osvit.



Foto 16: Chryzotilová vlákna (PLM), zvětšení 500x, horní osvit

3. 4 Kvalitativní a kvantitativní analýza azbestových vláken

Při kvalitativní analýze se zjišťuje přítomnost a identifikace azbestových vláken, v případě kvantitativní analýzy je zjišťována hmotnostní koncentrace nebo početní koncentrace azbestových vláken.

3. 4. 1 Kvalita výsledků stanovení azbestových vláken

Laboratoř musí mít kvalitní instrumentální vybavení a musí dodržovat validované standardní operační postupy – SOP. Při kvalitativním stanovení azbestových vláken se využívá kombinace více metod a technik, tj. především SEM, FTIR, PCM, PLM, RAMAN, TEM atd. Standardní operační postup (SOP) je zpracovaný na základě předpisů a norem – ISO 14966, VDI 3492, VDI 3861, NIOSH 7400, NIOSH 7402, OSHA ID 191, ČSN EN ISO 16000-7 atd.

3. 4. 2 Kvantifikace azbestu

Při kvantifikaci azbestu se zjišťuje hmotnostní koncentrace vláken. Kvantita může být vyjádřena dvěma základními způsoby:

- 1) **Kvantita vyjádřená jako počet vláknitých částic** (definovaných jako respirabilní nebo nerespirabilní vlákna) v objemové jednotce vzdušiny tj. resp. vl./cm³, resp. vl./m³ nebo v plošných jednotkách při odsání jako počet vl./cm² nebo ve vodě jako vl./dm³ resp. vl./l.
- 2) **Kvantita vyjádřená jako % hmotnostní nebo mg-g/kg** v nějakém materiálu (např. vláknito-cementová deska, trubka, hornina) nebo prachu (sedimentovaný prach, práškové materiály všeobecně).

a) Chryzotil a amfibolické azbesty podle BIA 7487

Vychází se z německého předpisu. Využívá se specifické hmotnosti a znalosti rozměrů jednotlivých vláken. Na základě těchto údajů se počítá objem spočítaných a měřených vláken daného druhu a následně pak přepočet pomocí známé měrné hmotnosti příslušného druhu vlákna azbestu. Do výpočtu vstupují i tzv. formfaktory, charakterizující prostorové vlastnosti vláken.

Měrná hmotnost (hustota) podle BIA 7487 odpovídá následujícím hodnotám:

- chryzotil = 2,6 g/cm³
- amfiboly = 3,0 g/cm³

P3		fx																			
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S			
1																					
2		Bearbeiter/in: Homola Petr				Proben-Kennz.: Eternit				Interne Nr.: 25643/2012				Auswertedatum:							
3																					
4		Chemische Zusammensetzung der Partikel																			
5																					
6		Element		Masse-%		Peakh.		Integr. Intensität		Chrysotil		ja		Anthophyllit		nein		Tremolit		nein	
7		Na		0.5						Kriterium:		erfüllt?		Kriterium:		erfüllt?		Kriterium:		erfüllt?	
8		Mg		24						Si deutlich		(17 - 26.5 ja)		Si deutlich		(23 - 32) nein		Si deutlich		(23 - 31.5) nein	
9		Al		2						Mg deutlich		(24 - 33.5 ja)		Mg deutlich		(10 - 25) nein		Mg deutlich		(11.5 - 15) nein	
10		Si		20						Fe möglich		(< 6) ja		Fe schwach-deutl.		(3 - 17) nein		Ca deutlich		(5 - 13) nein	
11		S		0.1						Al möglich		(< 3.5) ja		Al möglich		(< 3.5) ja		Al möglich		(< 3.5) ja	
12		K		0.5						Ca möglich		(< 3.5) ja		Ca möglich		(< 3.5) ja		Fe möglich		(< 6) ja	
13		Ca		2						Na schwach mög		(< 1.5) ja		Na schwach mögl.		(< 1.5) ja		Na schwach mögl		(< 2) ja	
14		Mn		0.5						K schwach mögl.		(< 1) ja		K schwach mögl.		(< 1.5) ja		K schwach mögl.		(< 1.5) ja	
15		Fe		2						Mn schwach mög		(< 1) ja		Mn schwach mögl		(< 1.5) ja		Mn schwach mögl		(< 1) ja	
16		Ti		1						Ti schwach mögl		(< 1.5) ja		Ti schwach mögl.		(< 1.5) ja		Ti schwach mögl.		(< 1.5) ja	
17		Oxid								S in Spuren		(< 1) ja		S in Spuren		(< 1) ja		S in Spuren		(< 1) ja	
18										Si / Mg		(< 1) ja		Si / Mg		(> 1) nein		Si / Mg		(> 1) nein	
19		Na ₂ O						Gerästeparameter		Si / Fe		(> 4) ja		Si / Al		(> 8) ja		Si / Ca		(> 2.4) ja	
20		MgO						Fenster: Be		Si / Al		(> 5) ja		fehlendes Kriterium:				Si / Al		(> 5) ja	
21		Al ₂ O ₃						Detektor: SDD		fehlendes Kriterium:				(Si/Mg) Chrysotil, Antigorit, Olivin				fehlendes Kriterium:			
22		SiO ₂						Raumwinkel [s] 0		Antigorit				(Mg) Klinopyroxene, Fe-Hypersthen				(Si/Mg) Chrysotil, Olivin, Mg-Chlor.			
23		SO ₄ ²⁻						Spannung [kV] 15		-				Tschermakit, Fe-Chlorite, Epi./Zoi.				(Mg) Hornblendene (außer bas Hbl.)			
24		K ₂ O						Partikel		-				-				Augit, Pigeonitaug., Fe-Hypersth.			
25		CaO						Länge [µm]: 20		-				-				-			
26		MnO						Durchm. [µm]: 0.2		-				-				-			
27		FeO						Formfaktor: 0.7854		-				-				-			
28		Fe ₂ O ₃						L / D: 100.0		-				-				-			
29		TiO ₂						Volumen [µm ³]: 0.6		-				-				-			
30		(TiO ₂ + Ti ₂ O ₃ / 0.9)						Dichte [g/cm ³]: 2.5		-				-				-			
31								Masse [pg]: 1.5708		-				-				-			
32								Faser gemäß WHO-Definition		-				-				-			
33								Partikel gemäß Konventionen identifiziert als:		-				-				-			
34								Chrysotil		-				-				-			
35								Standardisierte Analysenwerte		-				-				-			
36								Verhältnisse der Elementgehalte:		-				-				-			
37								Si/Mg: 0.83		Mögliche Minerale		(Bewertung: Anzahl nicht übereinstimmender Elementgehalte)		Zusätzliche Toleranz der Elementgehalte in % relativ: 5		Treffertoleranz berechnen j		Trefferto			
38		Na		0.52				Si/Al: 10.00		Olivin		4		Pigeonit (Fe)		3		Pennin		4	
39		Mg		25.10				Si/Al: 10.00		Olivin (Fe)		5		Enstatit		3		Klinochlor		4	
40		Al		2.09				Si/Al: 10.00		Diopsid		3		Bronzit		5		Grochaut		5	
41		Si		20.92				Si/Al: 10.00		Diop. Augit		4		Hypersthen		5		Diabantit		6	
42		S		0.10				Mg/Fe: 12.00		Diop. Augit (Al)		4		Fe-Hypersthen		4		Pyknochlorit		6	
43		K		0.52				Soll auf 100 normiert werden? (j/n) j		Ägirinaugit		5		Pargasit		5		Rhipidolith		6	
44		Ca		2.09				Summe der Oxidgehalte bzw. Peakhöhen, -intens. vor Normierung: 95.62		Augit		3		Hastingsit		5		Brunsviglit		6	
45		Mn		0.52				(Fe als FeO berechnet)		Augit (Al)		4		Basalt. Hornbl.		5		Aphrosiderit		6	
46		Fe		2.09						Pigeonitaugit		3		Kaersutit		6		Talk		5	
47		Ti		1.05						Pigeonitaugit (Fe)		4		Tschermakit		4		Muskovit		5	
48										Pigeonit		3		Tschermakit (Fe)		4		Phlogopit		4	
49										Kontrollvergleich		Chrysotil		x		Tremolit		3		3	
50										mit den Asbestmineralen		Anthophyllit		3		Aktinolith		3		3	

Foto 17: Ukázka zpracování dat z EDX analýzy

Aplikační program v Excelu porovnává data z EDX s daty 50-ti minerálů silikátového typu, identifikuje typ azbestu. Vypočítá váhové množství měřeného vlákna na základě jeho typu a znalosti rozměrů (Foto 17).

b) Chrysotil a amfibolické azbesty podle ISO 22262-2

Vychází se z mezinárodního standardu, který je nadřazen německému předpisu BIA 7487. Hodnoty měrné hmotnosti se podle BIA 7487 a ISO 22262-2 mírně liší. Liší se i zmiňované formfaktory (ČIA, 2014c).

Měrná hmotnost (hustota) podle ISO 22262-2 odpovídá následujícím hodnotám:

- chrysotil = 2,55 g/cm³
- amozit = 3,43 g/cm³
- krokydolit = 3,37 g/cm³
- aktinolit = 3,10 g/cm³
- tremolit = 3,00 g/cm³
- antofylit = 3,00 g/cm³

4 DISKUZE

Práce je zaměřena na problematiku azbestu a analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken. Významnou publikací v této práci je Červenka *et al.* (2006), která se celá zabývá problematikou azbestu z více směrů. Uvádí např., že existují minerály, které se vyskytují v azbestové formě – jsou vláknité a v neazbestové formě – nejsou vláknité.

Od doby, kdy bylo dokázáno, že se jedná o karcinogen, je možné narazit na problematiku azbestu poměrně často. Skácel *et al.* (2012) uvádí, že všechny druhy azbestu jsou podle WHO řazeny do I. skupiny karcinogenních látek a podmínky ochrany zdraví při práci s ním jsou stanoveny zákonnými předpisy. První informace o škodlivém účinku inhalace azbestového prachu se objevily na konci devatenáctého a začátkem dvacátého století. První popis plicní fibrózy způsobené vdechováním azbestového prachu pochází od Dr. Murraye z roku 1899. V roce 1927 Cooke tuto fibrózu, analogicky k silikóze, označil jako azbestózu (Červenka *et al.*, 2006). Expozice azbestu je spojena s výskytem azbestózy, mezoteliomu, rakoviny plic a dalších maligních nádorů a pleurálních onemocnění (Goodman *et al.*, 1999; Manning *et al.*, 2002; Greillier *et al.*, 2008; Mensi *et al.*, 2011).

Hlavními formami azbestu podle Výboru vrchních inspektorů práce (2007) jsou chryzotil (bílý azbest), krokydolit (modrý azbest), amozit (hnědý azbest), tremolit, aktinolit a antofylit. Azbestová vlákna jsou v podstatě chemicky inertní, nebo téměř inertní. Nedají se odpařit, rozpustit, spálit, vydrží působení většiny chemikálií (Chissick, 1985; WHO 1998). Pokud jde o chemické složení, v přirozeném chryzotilu se mohou objevit různé kationty, např. hliníku, železa (Fe^{2+} a Fe^{3+}), niklu a chromu (Deer *et al.*, 2009). Přítomnost těchto cizích kationtů, dokonce i v omezeném rozsahu, by mohla hrát důležitou úlohu v patologických účincích. Zejména železo je v tomto případě považováno za toxické (Bergamini *et al.*, 2007; Bernstein *et al.*, 2005; Gazzano *et al.*, 2005 & 2007).

V současné době je výroba a používání azbestu omezena, resp. zakázána. Právním předpisem řešícím používání azbestu je vyhláška č. 221/2004 Sb., která stanovuje seznamy nebezpečných chemických látek a nebezpečných chemických přípravků, jejichž uvádění na trh je zakázáno nebo jejichž uvádění na trh, do oběhu nebo používání je omezeno (Červenka *et al.*, 2006).

Lebedová (2000) uvádí, že v České republice již existují akreditované firmy, které se zabývají komplexní sanací objektů. Stejně tak již pracují státem akreditované laboratoře, které provádějí komplexní stanovení koncentrace azbestových vláken

ve vnitřním i venkovním ovzduší. Příkladem akreditované laboratoře je právě Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Pracoviště Hradec Králové.

Mezi analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken patří především metoda FTIR – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací, dále SEM/EDX – skenovací elektronová mikroskopie s energiově disperzním analyzátozem, PLM/PCM – polarizační optická mikroskopie/optická mikroskopie s fázovým kontrastem a další.

Metoda IR/FTIR je založena na snímání infračervených spekter výše uvedených látek v celé střední oblasti infračerveného spektra – od 400 do 4000 cm^{-1} . Vzorky pro IR/FTIR mohou být pevné, kapalné i plynné. Nevýhodou IR/FTIR je, že nerozlišuje respirabilní a nerespirabilní vlákna. Jedná se o nedestruktivní metodu.

Techniky pro IR/FTIR analýzu jsou transmisní a reflexní. Mezi nejběžnější transmisní techniky patří aplikace roztoku do kyvety (kapalný vzorek) nebo technika lisování tablet (pevný vzorek). K měření plynných vzorků se též nejčastěji používají kyvety. Nejpoužívanější reflexní technikou je metoda ATR (metoda zeslabené totální reflexe). Technika je založena na principu jednoduchého či vícenásobného úplného odrazu záření na fázovém rozhraní měřeného vzorku a měřicího krystalu. Na tento krystal se umístí vzorek. Svazek paprsků je přiveden do krystalu soustavou zrcadel tak, aby úhel dopadu na fázové rozhraní vyhověl podmínce úplného (totálního) odrazu. Existují i další techniky, např. DRIFT (Metoda difúzní reflexe), ale ta se na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové používá pouze pro farmaceutické analýzy – zkouška totožnosti látek.

Nejběžnější technikou, která se na tomto pracovišti využívá, je lisování tablet. Vzorek se po úpravě (drcení, mletí, separace azbestových shluků vláken) a tabletaci ve směsi s KBr (Foto 18) proměří metodou IR/FTIR. Zpracování vzorku musí být prováděno takovým způsobem, aby nemohlo dojít ke kontaminaci okolního prostředí. Laboratorní nádobí užívané při analýze musí být řádně umyto a vysušeno v horkovzdušném sterilizátoru.



Foto 18: Hydraulický lis

Nejprve se proměří pozadí (background). Použije se okénko optického materiálu, čistá tableta z optického materiálu, nujol (Fluorolube) nebo vzduch podle charakteru vzorku. Poté se připravený vzorek umístí do měřícího prostoru přístroje FTIR s jednotkou Single ATR Miracle (Foto 19). Scanuje se infračervené spektrum v celé oblasti od 400 do 4000 cm^{-1} .

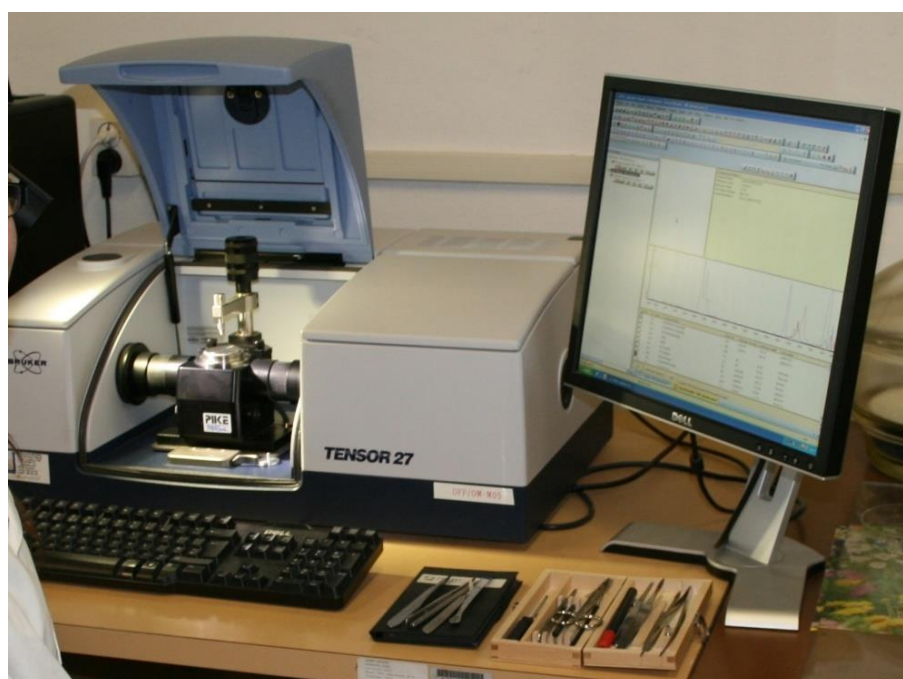


Foto 19: FTIR s jednotkou Single ATR Miracle

Následně se provádí identifikace pomocí tzv. korelačních tabulek infračervených spekter, softwarové podpory korekce baseline, separace a vyloučení pásu vody a oxidu uhličitého. Provádí se výběr nejvíce pravděpodobného dvojníka ke spektru měřené látky a to na základě průběhu celého spektra, na základě tabulky vibračních pásů – peak table. Příklad FTIR spektra vidíme na snímku 20. Jedná se o vlákna krokydolitů.

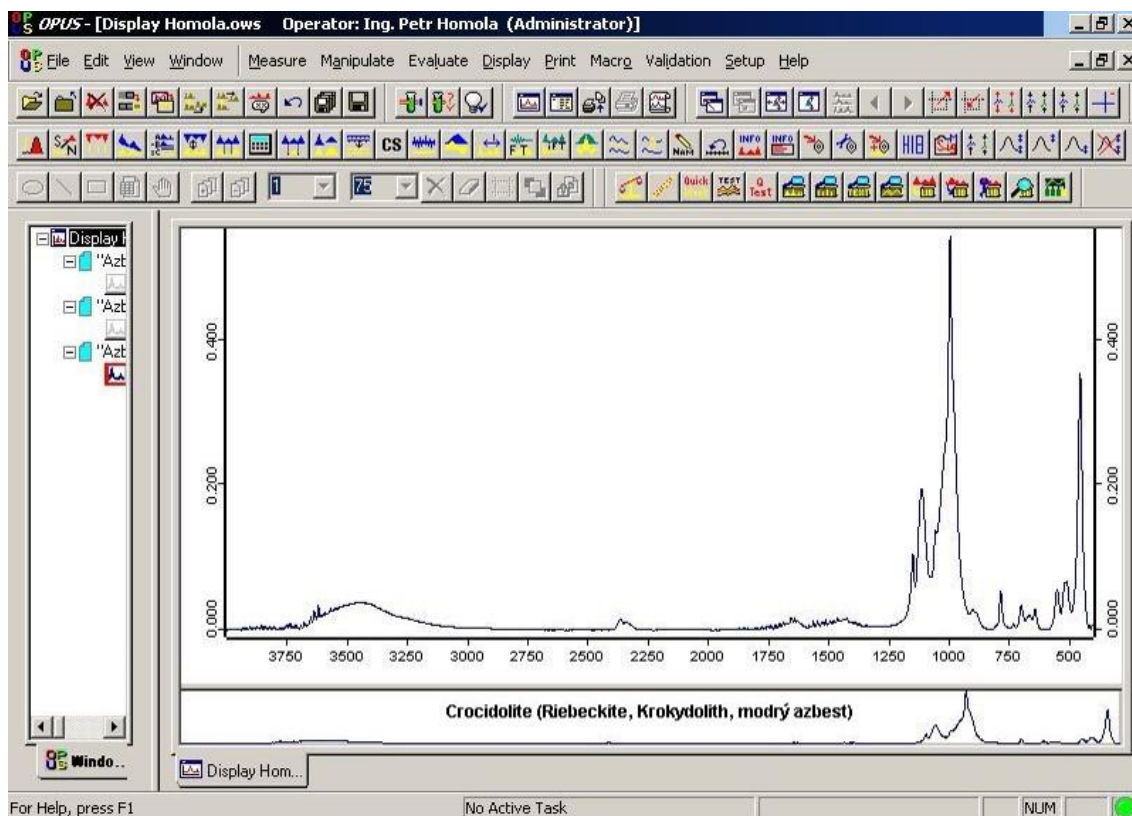


Foto 20: FTIR spektrum krokydolitů

Bílý (2007) uvádí, že elektronová mikroskopie je metoda umožňující studium mikrostruktury zkoumaných objektů. Mikrostruktura je studována ve vakuu pomocí elektronového svazku, který vzniká emisí elektronů z katody, jež jsou dále urychlovány k anodě. Jäger *et* Gärtnerová (2008 – 2014) doplňuje, že vzorek i svazek elektronů musí být umístěn ve vakuu, aby nedocházelo k interakcím elektronů s atmosférou, která ovlivňuje dráhu letících elektronů.

Elektronové mikroskopy dělíme do dvou základních kategorií, které se liší principem zobrazení vzorku. TEM – transmisní elektronový mikroskop předmět zobrazuje prostřednictvím svazku elektronů, které jím procházejí. SEM – skenovací elektronový mikroskop (Foto 21) je přístroj určený k pozorování povrchů nejrůznějších objektů. Je ho možné do jisté míry považovat za analogii světelného mikroskopu v dopadajícím světle, na rozdíl od něho je výsledný obraz tvořen pomocí odražených nebo sekundárně odražených elektronů.



Foto 21: Skenovací elektronový mikroskop TESCAN Vega 3 s mikroanalýzátorem EDX

Příprava preparátů je závislá na typu elektronového mikroskopu. Nebesářová (2001) uvádí, že vzorky pro TEM nesmí obsahovat vodu a tloušťka preparátu nesmí překročit 100 nm. Silnějšími preparáty elektrony neprojdou. Pro SEM je však typické pokovení preparátu v případě, že vzorek již není vodivý.

Pokovování se provádí třemi způsoby: vakuovým napařováním, iontovým napařováním a impregnací. Vakuové napařování se provádí pomocí napařovacího zařízení a probíhá tak, že se ve vysokém vakuu elektricky zahřeje kov na teplotu, při které se z jeho povrchu odpařují molekuly. Ty pak při dopadu na chladnější preparát kondenzují. Iontové napařování se provádí za pomoci iontů vzniklých při ionizaci plynu. Elektrony jsou přitahovány ke katodě, kde se sráží s podarovaným kovem, ze kterého vyráží jeho částice, ty se pak opět sráží s ionty kovu a vznikne tak mrak, který dokonale obalí požadovaný vzorek (Židek, 2011). Impregnace je vytvoření nánosu kovu na povrchu preparátu chemickou cestou a využívá se jí v případech, kdy není k dispozici speciální aparatura nebo je preparát zčásti vodivý (Nebesářová, 2001).

Pokovování se provádí v inertní atmosféře argonu pomocí napařovacího zařízení (Foto 22), ve kterém je umístěna folie s Au/Pd. Tento systém je rovněž evakuovaný, stejně jako v případě elektronového mikroskopu.



Foto 22: Napařovací zařízení Au/Pd, tlaková láhev s argonem

Pro TEM existuje větší škála možných příprav. Mezi chemické metody patří po sobě jdoucí následující kroky: fixace, dehydratace, zalévání do bločků a příprava ultratenkých řezů. Kubínek *et al.* (2011) uvádí, že prvním krokem přípravy preparátů pro TEM je fixace. Jejím cílem je zachovat buněčnou ultrastrukturu s minimem změn oproti nativnímu stavu, zabránit degradačním procesům a stabilizovat vzorek pro další kroky přípravy. Šafářová (2008) popisuje následující kroky. Po fixaci následuje dehydratace, neboli odvodnění. Ta spočívá v tom, že je vzorek postupně vkládán do roztoků s rostoucím podílem dehydratačního činidla do té doby, než je jím všechna voda v systému nahrazena. Dále přichází na řadu zalévání do bločků. Jeho účelem je dát zpracovávanému vzorku takové vlastnosti, aby ho bylo možno krájet na ultratenké řezy tloušťky do 100 nm. Závěrečnou fází přípravy biologických vzorků je krájení ultratenkých řezů. K tomuto účelu se používá zařízení zvané ultramikrotom.

Mezi fyzikální metody se řadí mrazící metody (kryofixace) a mikrovlny. Buňky jsou při kryofixaci imobilizovány ve zlomku vteřiny, ale pouze pokud máme vhodná chladicí média (Kubínek *et al.*, 2011). V případě mikrovln se využívá mikrovlnné trouby k urychlení a zkvalitnění všech kroků přípravy (Nebesářová, 2001).

Počítání a určování azbestových vláken se na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové provádí metodou SEM/EDX. SEM/EDX je nejznámější a nejvíce používanou analytickou technikou zkoumající povrch. Snímky mají vysoké rozlišení a vynikající hloubkou ostrosti. Obraz povrchu vzorku může být tedy konstruován na základě měření intenzity sekundárních elektronů

v závislosti na poloze skenování primárního elektronového svazku (The University of Western Ontario, 2014). Snímek 23 zobrazuje SEM/EDX analýzu azbestových vláken na skupině skelných vláken z asfaltové lepenky.

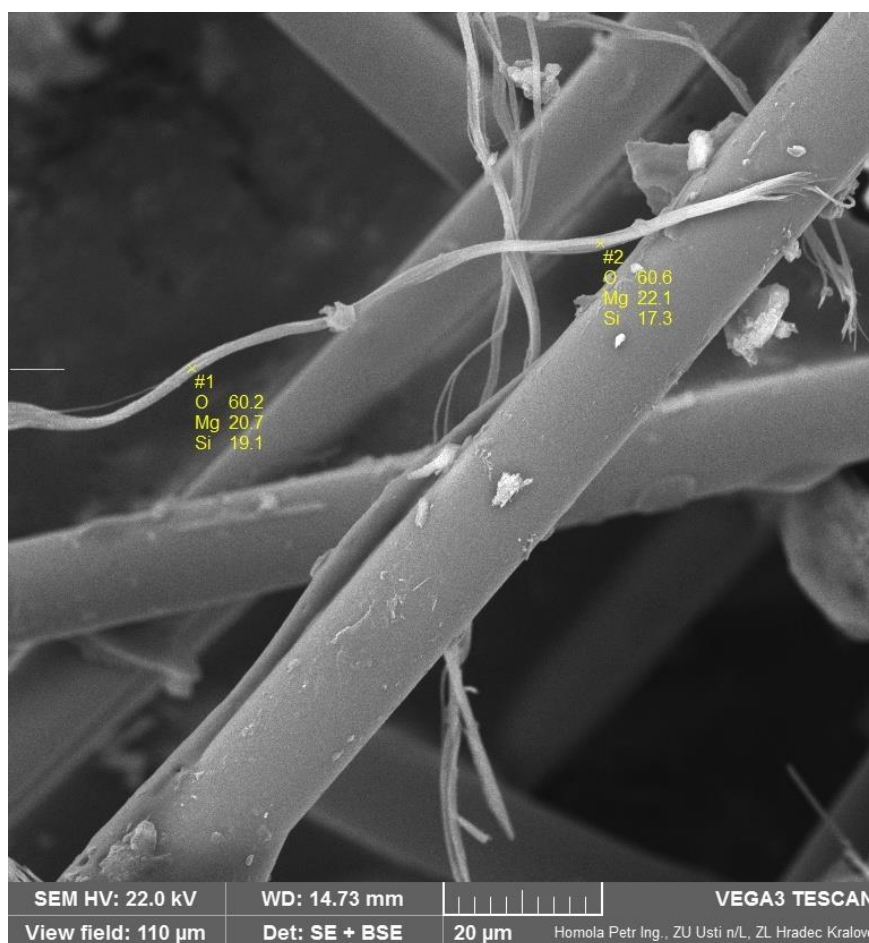


Foto 23: SEM/EDX analýza azbestových vláken

Jak uvádí Hejtmánek (2001), při PLM v procházejícím světle se využívá lineárně polarizovaného světla. Toto světlo kmitá v jedné rovině a při průchodu dvojlomnými látkami se rozkládá na základě dvojlomu na dvě složky lišící se rovinou kmitu. PCM se užívá pro pozorování nezbarvených objektů a dalších struktur. Světelný mikroskop je doplněn několika filtry, pomocí kterých lze pozorovat azbestová vlákna příslušnou metodou (PLM, PCM).

Při kvalitativní analýze se zjišťuje přítomnost a identifikace azbestových vláken. Využívá se kombinace více metod a technik, tj. především SEM, FTIR, PCM, PLM a další. Při kvantitativní analýze je zjišťována hmotnostní koncentrace nebo početní koncentrace azbestových vláken. V případě kvantitativního stanovení existují dvě normy – BIA 7487 a ISO 22262-2. Hodnoty měrné hmotnosti se podle těchto dvou předpisů mírně liší. ISO 22262-2 je považován za mezinárodní standard a je tedy nadřazen německému předpisu BIA 7487.

5 ZÁVĚR

Cílem práce bylo studium azbestových vláken metodou SEM/EDX – skenovací elektronovou mikroskopií s energiově disperzním analyzátozem a metodou FTIR – infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací. Vypracování této práce pro mě bylo zajímavou a obohacující zkušeností. Byla mi k dispozici veškerá dostupná literatura k tématu, moderní přístrojové vybavení a laboratoře na Zdravotním ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Pracovišti Hradec Králové.

Literární přehled byl zaměřen na dvě části – problematiku azbestu a analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken. První část charakterizuje azbest z více směrů. Jsou zde zpracovány formy azbestu s krátkým popisem každého. Důležité bylo zmínit také vlastnosti azbestu, ze kterých vyplynulo široké uplatnění v mnoha oblastech. Poté, co však byla objevena toxicita azbestu a zní plynoucí zdravotní důsledky pro organismus, byly všechny druhy azbestu podle WHO zařazeny do I. skupiny karcinogenních látek a podmínky ochrany zdraví při práci s ním jsou stanoveny zákonnými předpisy. A nechybí zde ani informace o sanaci.

Druhá část literárního přehledu byla zaměřena na analytické metody a postupy stanovení azbestových vláken. Zde figuruje především elektronová mikroskopie – SEM i TEM, základní optické části obou typů elektronových mikroskopů a způsoby přípravy preparátů. Nechybí ani část o detekci rentgenového záření. Další kapitola byla věnována infračervené spektroskopii – přístrojovému vybavení, FTIR a výběru techniky pro FTIR. Stručně je také rozepsána PLM – polarizační optická mikroskopie, PCM – optická mikroskopie s fázovým kontrastem, DTA – diferenční termická analýza, RTG – rentgenová difrakční analýza a Ramanova spektrometrie. O tyto zmiňované metody by bylo možné práci dále rozšířit.

Další kapitola byla zaměřena na praktické odzkoušení metod, které se využívají pro stanovení azbestových vláken ve stavebních a izolačních materiálech. Jedná se o IR/FTIR, SEM/EDX a okrajově též PLM/PCM, pomocí které se provádí početní stanovení koncentrace vláken v ovzduší. Všechny metody byly doplněny o fotografie přístrojového vybavení a další pomůcky nezbytné např. k přípravě preparátů atd. V případě IR/FTIR bylo navíc přidáno spektrum chryzotilu, u SEM/EDX byla práce doplněna o fotografie mikrostruktury azbestových vláken včetně přesného stanovení chemického složení. Dále byl stručně popsán způsob, jakým se v praxi provádí kvalitativní a kvantitativní analýza azbestových vláken. Při kvalitativní analýze se zjišťuje přítomnost a identifikace azbestových vláken, v případě kvantitativní analýzy je zjišťována hmotnostní koncentrace nebo početní koncentrace azbestových vláken.

Identifikace a rozpoznávání jednotlivých druhů azbestu se již nezdá závažným problémem, i když jsou vlákna pokryta interferujícími látkami (cement, asfalt, tmely, apod.). Zde známe cesty a postupy (FTIR, SEM/EDX, TEM/EDX) jak docílíme velmi dobrých a správných výsledků.

Komplikovanější je pak vyjádření kvantitativní – koncentrační úrovně jednotlivých druhů azbestu v ovzduší a vodě. Zde pak musíme přijmout uzanční pravidla platící při odběru vzorků, přípravě preparátu a konečně metodě počítání jednotlivých vláken na membránových filtrech a vyjadřování výsledků analýz. I zde je však dostatek normovaných validovaných postupů včetně mezinárodních porovnávacích zkoušek, abychom dostali správné a hlavně přesné výsledky.

Velmi neschůdná je ale cesta kvantitativního stanovení druhů azbestu v materiálech (prach, drť, materiály – pevné matrice). Náročnost těchto metod vedoucí přes komplikovanou přípravu vzorků k analýze, počítání jednotlivých vláken typů azbestu a určení jejich rozměrů (délka a šířka), následné propočítání přes měrné hmotnosti jednotlivých typů azbestu, je zřejmá. Dva základní předpisy (BIA 7487 a norma ISO 22262-2) nedávají jednoznačné a shodné stanovisko v této problematice, ale otevírají cestu k řešení.

Problémem se stávají druhy azbestu tzv. environmentálního znečištění – přírodního bez významného zásahu člověka, nebo vyplývající z činnosti člověka při získávání hornin a minerálů (přírodní – erozivní účinky na horniny, minerály, obnažená ložiska hornin, doly a lomy na kámen). Kromě uvedeného azbestu se pak pochopitelně podílejí na znečištění ovzduší i prachy a vláknité struktury jiných hornin a minerálů (wollastonit, sádrovec apod.), o jejichž účincích na organismus a zdraví člověka se můžeme jenom domnívat.

Mikrosvět částic a vláken, nanočástic a nanovláken, je velice složitý a s dnešními mělkými znalostmi o jejich vlivu na zdraví člověka je nanejvýš vhodné se této problematice věnovat s patřičným respektem. S vývojem instrumentální techniky (nové typy SEM, TEM, AFM – mikroskopie atomárních sil) a IT, se nám dostává nástrojů, jak do tohoto světa snáze proniknout.

6 LITERATURA

ACCARDO G., CIOFFI R., COLANGELO F., D'ANGELO R., STEFANO L., PAGLIETTI F., 2014, *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy for the Determination of Asbestos Species in Bulk Building Materials*. *Materials*, 7:457–470.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. *Asbestos*. Division of Toxicology ToxFAQs. 2001, 1332-21-4.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. *Toxicological profile for asbestos*. Atlanta, Georgia: Division of Toxicology, 2001.

BALAN E., MAURI F., LEMAIRE C., BROUDER CH., GUYOT F., SAITTA A. M., DEVOUARD B. *Multiple plasmon resonances in naturally-occurring multiwall nanotubes: infrared spectra of chrysotile asbestos*. The American Physical Society. 2002, č. 89.

BALVÍN P. *Detekce a sanace azbestu ve stavebních konstrukcích*. In: *Střechy, fasády, izolace* [online]. 2014 [cit. 2014-08-30]. Dostupné z: <http://www.strechy-fasady-izolace.cz/temata/slovo odbornika/detekce-a-sanace-azbestu-ve-stavebnich-konstrukcich>

BEDNÁR J., STANĚK D., MALÍNSKÝ J., KOBERNA K., RAŠKA I. *Dnešní mikroskopie v biomedicíně*. *Vesmír*. 2004, č. 83.

BELARDI G., PIGA L., 2013, *Influence of calcium carbonate on the decomposition of asbestos contained in end-of-life products*. *Thermochimica Acta*, 573:220–228.

BERGAMINI C., FATO R., BIAGINI G., PUGNALONI A., GIANTOMASSI F., FORESTI E., LESCI I., ROVERI N., LENA Z. G., 2007, *Mitochondrial changes induced by natural and synthetic asbestos fibers: studies on isolated mitochondria*. *Cell Mol Biol*, 52:905–913.

BERNSTEIN D. M., 2007, *Synthetic vitreous fibers a review of toxicology, epidemiology and regulations*. *Crit. Rev. Toxicol.*, 37:839–886.

BERNSTEIN D., CASTRANOVA V., DONALDSON K., FUBINI B., HADLEY J., HESTERBERG T., KANE A., LAI D., MCCONNELL E. E., MUHLE H., OBERDORSTER G., OLIN S., WARHEIT D. B., 2005, *Testing of fibrous particles: short-term assays and strategies*. *Inhal Toxicol*, 17:497–537.

BÍLÝ T. *Fyzikální principy transmisní a skenovací elektronové mikroskopie*. České Budějovice, 2007. Bakalářská práce na Pedagogické fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. 79 s.

BINGGAN W., BINGXIONG Y., JIANGPING Y., XIANJIE J., BIAO Z., XIUWU Z., RONGAN L., TINGRONG D., LINSHENG Y., 2013, *Concentrations of asbestos fibers and metals in drinking water caused by natural crocidolite asbestos in the soil from a rural area.* Environ Monit Assess, 185:3013–3022.

BROWN R. C., HARRISON P. T. C., 2012, *Alkaline earth silicate wools – a new generation of high-temperature insulation.* Regul. Toxicol. Pharmacol., 64:296–304.

BŘEZINA D. *O azbestu ve školách věděli budějovičtí radní už před dvěma měsíci.* iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

BUZEA C., BLANDINO I. I. P., ROBBIE K. *Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity.* Biointerphases. 2007, č. 4, MR17 - MR172.

CAMPBELL N. A., REECE J. B. *Biologie.* Brno: Computer Press, 2008, 1332 s. ISBN 80-251-1178-4.

CIBIČKOVÁ L. *Akutní perikarditida při maligním mezoteliomu pleury.* Interní Med. 2012, 14 (3): 122 – 124.

COATES J. *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach.* Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000.

CRANE, D. T. *Asbestos in air.* Occupational Safety & Health Administration. 1997, 22 s.

ČAPKOVÁ P. *RTG difrakce v materiálovém výzkumu.* Ústí nad Labem: Přírodovědecká fakulta Univerzity J. E. Purkyně, 2011, 33 s.

ČECH S., HORKÝ D. *Přehled obecné histologie.* 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2005, 140 s. ISBN 80-210-3854-3.

ČERVENKA V., BALVÍN P., DÍTĚ P., DOLEŽALOVÁ Z., DLOUHÁ B., FRÝDL J., CHMALAŘ I., JOHN Z., KOZÁKOVÁ P., KURFÜRST J., LEBEDOVÁ J., MACH K., ROHON P., SLAVÍKOVÁ G., SLUKA A., STÁRKA L., STÁRKOVÁ B. *Azbest a jeho nebezpečnost: Vybrané kapitoly ze základní problematiky azbestu.* Praha: Skanska CZ, 2006, 202 s.

ČIA. *SOP 405.01: Kvalitativní stanovení a semikvantitativní prvková analýza organických a anorganických látek včetně azbestu. SEM – Elektronová mikroskopie s EDX analyzátozem.* Ústí nad Labem: Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Centrum hygienických laboratoří, 2014c.

ČIA. *SOP 358: Identifikace (kvalitativní stanovení) organických a anorganických látek včetně azbestu infračervenou spektrometrií.* Ústí nad Labem: Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Centrum hygienických laboratoří, 2014a.

ČIA. SOP 405: Stanovení početní koncentrace minerálních vláken včetně azbestu v ovzduší, světelná mikroskopie. Ústí nad Labem: Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Centrum hygienických laboratoří, 2014b.

DANA E. S., FORD W. E. *A Textbook of Mineralogy*. J. Wiley and Sons., New York, 1932.

DEER W. A., HOWIE R. A., ZUSSMAN J., 2009, *Rock forming minerals, layered silicates excluding micas and clay minerals*. In: 3B, Geological society edn., London, p 314.

DENDISOVÁ M., ŽVÁTORA P., MATĚJKA P. *Ramanova spektrometrie*. VŠCHT Praha [online]. 2013 [cit. 2015-02-08]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/RAMAN.pdf>

DIAMOND ENVIRONMENTAL SERVICES, INC. *Asbestos: Most Frequently Asked Questions* [online]. 2008 [cit. 2014-08-29]. Dostupné z: http://diamondenviro.com/ESW/Files/Diamond_Environmental_FAQs.pdf

DOLNÍČEK Z. *Laboratorní metody výzkumu*. Olomouc: Katedra geologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, 2005.

DOMINIKOVÁ Š. *Stanovení methanolu v lihovinách metodami molekulové spektrometrie*. Hradec Králové, 2014. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 34 s.

ECHLIN P. *Handbook of Sample Preparation for Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Cambridge: Springer Science + Business Media, 2009. ISBN 978-0-387-85730-5.

EICHLER P. *Ve dvou školách v Příbrami zjištěn škodlivý azbest, na týden je zavřou*. iDNES.cz. 2012, 2/4/12.

EMINGER S. *Azbest - situace ve zkratce*. EnviWeb [online]. 2011 [cit. 2015-01-30]. Dostupné z: <http://www.enviweb.cz/clanek/bozp/88621/azbest-situace-ve-zkratce>

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *The ABCs of asbestos in schools*. Office of Pollution Prevention and Toxics. 2003, EPA-745-K93-017.

FALOUT J. *Začalo čištění budějovických škol od azbestu*. Novinky.cz. 2012, 2/4/12.

FILA L. *Pleurální výpotky*. *Interní Med.* 2007, 9 (11): 490 – 494.

FORESTI E., GAZZANO M., GUALTIERI A. F., LESCI I. G., LUNELLI B., PECCHINI G., RENNA E., ROVERI N., 2003, *Determination of low levels of free fibres of chrysotile in contaminated soils by X-ray diffraction and FTIR spectroscopy*, *Anal. Bioanal. Chem.*, 376:653–658.

FÚSEK T. *Co je Infrazáření?* InfraCzech s.r.o. [online]. 2012 [cit. 2014-09-01]. Dostupné z: <http://www.infraczech.cz/clanky/vse-o-infravytapeni/35/co-je-infrazareni.html>

GAZZANO E., FORESTI E., LESCI I. G., TOMATIS M., RIGANTI C., FUBINI B., ROVERI N., GHIGO D., 2005, *Different cellular responses evoked by natural and stoichiometric synthetic chrysotile asbestos*. Toxicol Appl Pharmacol, 206(3):356–364.

GAZZANO E., TURCI F., FORESTI E., PUTZU M. G., ALDIERI E., SILVAGNO F., LESCI I. G., TOMATIS M., RIGANTI C., ROMANO C., FUBINI B., ROVERI N., GHIGO D., 2007, *Iron-loaded synthetic chrysotile: a new model solid for studying the role of iron in asbestos toxicity*. Chem Res Toxicol, 20(3):380–387.

GOODMAN M., MORGAN R. W., RAY R., MALLOY C. D., ZHAO K., 1999, *Cancer in asbestos-exposed occupational cohorts: a meta-analysis*. Cancer Causes & Control, 10:453–465.

GREILLIER L., ASTOUL P., 2008, *Mesothelioma and asbestosrelated pleural diseases*. Respiration, 76:1–15.

GUNTER M. E., BELLUSO E., MOTTANA A., 2007, *Amphiboles: Environmental and health concerns*. Rev. Mineral. Geochem., 67:453–516.

HARRIS L., KAHWA I., 2003, *Asbestos: old foe in 21st century developing countries*. Sci Total Environ., 307:1–9.

HEJTMÁNEK M. *Úvod do světelné mikroskopie*. 5. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2001, 65 s. ISBN 80-244-0333-1.

HELCL R. *Města hledají v budovách škol azbest, jen v Olomouci jich prověří osm*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

HORKÝ M. *Transmisní elektronová mikroskopie kapalin*. In: Aldebaran Bulletin [online]. 2012 [cit. 2014-08-31]. ISSN 1214-1674. Dostupné z: http://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_32_mic.php

CHALUPSKÁ H. *Azbesty*. Veronica - časopis pro ochranu přírody a krajiny. Brno: ZO ČSOP Veronica, 2005, č. 3. ISSN 1213-0699.

CHISSICK S. S. *Asbestos*. In: GERHARTZ W., YAMAMOTO Y. S., CAMPBELL F. T. *et al.*, Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Weinheim, 1985, 151-167.

JÄGER A., GÄRTNEROVÁ V. *Elektronovým mikroskopem do nitra materiálů aneb jak vypadá jejich struktura*. In: Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i [online]. 2008 - 2014 [cit. 2014-08-31]. Dostupné z: <http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>

JANEČEK E. *Azbest ve stavbách*. DEKTIME: Časopis společnosti DEK pro projektanty a architektky. Praha: DEK a. s., 2012, č. 2.

JASZAY R. *Azbest - limity a legislativa*. TREPART s. r. o.: Specialista na výstavbu a demolice [online]. 2012 [cit. 2014-08-30]. Dostupné z: <http://www.trepart.cz/azbest-limity-a-legislativa>

JIHOČESKÝ MINERALOGICKÝ KLUB. *Chryzotil*. Jihočeský mineralogický klub [online]. 2006 [cit. 2014-08-28]. Dostupné z: <http://www.minerally.org/minerally/?podle=systemu&clanek=501>

KAKOOEI H., SAMETI M., KAKOOEI A. A., 2007. *Asbestos exposure during routine brake lining manufacture*, Ind. Health, 45:787–792.

KAKOOEI H., YUNESIAN M., MARIORYAD H., AZAM K., 2009, *Assessment of airborne asbestos fiber concentrations in urban area of Tehran, Iran*, Air Qualifications Atm. Health, 2:39–45.

KAKOOEI H., MARIORYAD H., 2010. *Evaluation of exposure to the airborne asbestos in an automobile brake and clutch manufacturing industry in Iran*, Regul. Toxicol. Pharmacol., 56(2):143–147.

KANIA P. *Infračervená spektrometrie*. Ústav analytické chemie VŠCHT Praha: Laboratoř analytické chemie I. 2007.

KARLÍK M. *Transmisní elektronová mikroskopie: pohled do nitra materiálů*. Čs. čas. fyz. 2005, č. 55, 457- 464.

KLEINOVÁ E., SVORA P. *Power Tome Ultramicrotome RMC*. Centrum instrumentálních technik: laboratoř elektronové mikroskopie [online]. Ústav anorganické chemie AV ČR, v.v.i, 2011 - 2014 [cit. 2014-08-31]. Dostupné z: <http://cit.iic.cas.cz/index.php/em-pvz-ultramikrotom>

KLOUDA P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.

KLOUŽKOVÁ A., ZEMENOVÁ P., KLOUŽEK J., PABST W. *Termická analýza: Zřízení laboratoře pro praktickou výuku termické analýzy se zaměřením na anorganické nekovové materiály*. VŠCHT Praha, 2012, 66 s.

KOCOUREK M. *Azbest trápí také školy v Británii, objeven byl v 75 procentech státních škol*. Český rozhlas. 2012, 2/4/12.

KOLÁŘOVÁ K. *Hygiena zavřela kvůli azbestu gymnázium. Ředitelka odejít odmítá*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

KOLÁŘOVÁ K. *Pražská ZŠ Hovorčovická je zavřená. Firma nestihla zlikvidovat azbest.* iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

KRATOCHVÍL B., HUŠÁK M., BRYNDA J., SEDLÁČEK J. *Co nabízí současná RTG strukturní analýza?* Chem. Listy. 2008, č. 102, 889–901.

KUBÍNEK R., PŮLKRÁBEK J. *Moderní mikroskopické techniky.* Katedra experimentální fyziky Přírodovědné fakulty Univerzity Palackého: Kvalitativní rozvoj učitelství fyziky [online]. 2007 [cit. 2014-08-31]. Dostupné z: <http://exfyz.upol.cz/didaktika/oprlz/mmm.pdf>

KUBÍNEK R., ŠAFÁŘOVÁ K., VŮJTEK M. *Elektronová mikroskopie.* 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011, 50 s. ISBN 978-80-244-2739-3.

KUSIOROWSKI R., ZAREMBA T., PIOTROWSKI J., GERLE A., 2013, *Thermal decomposition of asbestos-containing materials.* J Therm Anal Calorim, 113:179–188.

KUSIOROWSKI R., ZAREMBA T., PIOTROWSKI J., ADAMEK J., 2012, *Thermal decomposition of different types of asbestos.* J Therm Anal Calorim, 109:693–704.

LABORATOŘ MOLEKULOVÉ SPEKTROSKOPIE. *Infračervená spektroskopie.* VŠCHT Praha [online]. 2003 [cit. 2014-09-01]. Dostupné z: <http://lms.vscht.cz/Zverze/Infrared.htm#V%C3%BDb%C4%9Br>

LAJČÍKOVÁ A., HORNYCHOVÁ M. *Azbest v ovzduší a legislativní zajištění ochrany zdraví.* Hygiena. 2010, 55 (3): 96 - 101.

LEBEDOVÁ, J. *Azbest a zdraví.* Praha: Fortuna, 2000, 24 s. Toxikology. ISBN 80-7071-159-0.

LESCI I. G., BALDUCCI G., PIERINI F., SOAVI F., ROVERI N., 2014, *Surface features and thermal stability of mesoporous Fe doped geoinspired synthetic chrysotile nanotubes,* Microporous and Mesoporous Materials, 197:8–16.

MACH M. *Azbest – chraňte dělníka, ochráníte i sebe.* Ekolist: zprávy o přírodě, životním prostředí a ekologii [online]. 2007 [cit. 2015-01-30]. Dostupné z: <http://ekolist.cz/cz/zelena-domacnost/rady-a-navody/azbest-chranite-delnika-ochranite-i-sebe>

MANNING C. B., VALLYATHAN V., MOSSMAN B. T., 2002, *Diseases caused by asbestos: mechanisms of injury and disease development.* International Immunopharmacology, 2:191–200.

MAREL M., FILA L. *Novinky v péči o nemocné s pleurálními výpotky.* Postgraduální medicína [online]. 2011, č. 6 [cit. 2014-08-29]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/>

clanek/postgradualni-medicina/novinky-v-peci-o-nemocne-s-pleuralnimi-vypotky-460140

MARIORYAD H., KAKOOEI H., SHAHTAHERI S. J., YUNESIAN M., AZAM K., 2011, *Assessment of airborne asbestos exposure at an asbestos cement sheet and pipe factory in Iran*, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 60:200–205.

MÁSILKO J. *Rentgenová difrakční analýza na práškových vzorcích*. ChemPoint: Vědci pro průmysl a praxi [online]. 2011 [cit. 2015-02-08]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/rentgenova-difrakcni-analyza-na-praskovych-vzorcich>

MENSI C., GIACOMINI S., SIENO C., CONSONNI D., RIBOLDI L., 2011, *Pericardial mesothelioma and asbestos exposure*. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214:276–279.

MicroPHAZIR Asbestos Analyzer. *Handheld Asbestos Analyzer* [online]. 2011 [cit. 2015-03-28]. Dostupné z: <http://www.thermofisher.co.nz/Uploads/file/Environmental-Industrial/Environmental-Monitoring-Safety/Industrial-Hygiene-Instruments/MicroPhazir-Asbestos-Analyser-TFS.pdf>

MLSOVÁ L. *Rozvoz žáků z budějovické školy zamořené azbestem zajistí město*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

NEBESÁŘOVÁ J. *Elektronová mikroskopie pro biology*. Laboratory of Electron Microscopy [online]. 2001 [cit. 2014-08-31]. Dostupné z: <http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/1.0.html>

NĚMEC I. *Instrumentace infračervené spektroskopie: Techniky měření infračervených spekter*. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze. 2008.

NOONAN C. W., PFAU J. C., LARSON T. C., SPENCE M. R. *Nested case-control study of autoimmune disease in an asbestos-exposed population* *Envir. Health Persp.* 2006, 114: 1243–1247.

NOVOTNÁ R., ŠILHA T., TRÁVNÍČEK Z. *Spektrální metody studia chemických látek*. Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci. 2011.

OBERDÖRSTER G., FERIN J., LEHNERT B. E. *Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury* *Environ. Health Persp.* 1994, 102 Suppl 5: 173-179.

PALATKA K. *Maligní mezoteliom*. Postgraduální medicína [online]. 2006, č. 6 [cit. 2014-08-30]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/maligni-mezoteliom-280962>

PANAHI D., KAKOOEI H., MARIORYAD H., MEHRDAD R., GOLHOSSEINI M., 2011, *Evaluation of exposure to the airborne asbestos in an asbestos cement sheet manufacturing industry in Iran*, Environ. Monit. Assess., 178(1–4):449–54.

PAPIKE J. J., ROSS M. *American Mineralogist*. 1970, č. 55, 1945 - 1972.

PEŠEK M., ZATLOUKAL P., PETRUŽELKA L. *Bronchogenní karcinom*. Doporučené postupy pro praktické lékaře: Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně. 2002, Reg. č. o/036/023.

PETŘÍKOVÁ P., KÁNDLOVÁ L. *Školy v Budějovicích zamořené azbestem zůstanou zavřené ještě měsíce*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

PFAU J. C., SENTISSI J. J., WELLER G., PUTNAM E. A. *Assessment of Autoimmune Responses Associated with Asbestos Exposure in Libby, Montana, USA* Environ. Health Persp. 2005, 113 25–30.

POLLUTION PREVENTION AND ABATEMENT HANDBOOK. *Monitoring*. World Bank Group. 1998.

REIMER L. *Scanning electron microscopy*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1998, č. 10, 316 - 320.

ROKOSOVÁ A. *Středočeský kraj otestuje přítomnost azbestu ve školách i nemocnicích*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

SEILEROVÁ L., BRUSOVÁ H., KRATOCHVÍL B., KREJČÍK L. *Využití metod termické analýzy ve výzkumu a vývoji léčiv*. Chem. Listy. 2012, č. 106, 890-895.

SELBY K. *Asbestosis*. Asbestos.com [online]. 2014 [cit. 2014-09-30]. Dostupné z: <http://www.asbestos.com/asbestosis/>

SELBY K. *Mesothelioma*. Asbestos.com [online]. 2014 [cit. 2014-09-30]. Dostupné z: <http://www.asbestos.com/mesothelioma/>

SENTHIL KUMAR R., RAJKUMAR P., 2014, *Characterization of minerals in air dust particles in the state of Tamilnadu, India through FTIR, XRD and SEM analyses*, Infrared Physics & Technology, 67:30–41.

SHERMAN HSU C. P. *Infrared Spectroscopy*. In: Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. 1997, č. 15, 247 - 283.

SHI G., CHEN Z., XU S., ZHANG J., WANG L., BI C., 2008, *Potentially toxic metal contamination of urban soils and roadside dust in Shanghai, China*. Environmental Pollution, 156:251–260.

SKÁCEL F., GUSCHLOVÁ Z., TEKÁČ V. *Azbestová a minerální vlákna ve vnitřním ovzduší*. Chem. Listy. 2012, č. 106, 961 - 970.

SRIVASTAVA R. K., LOHANI M., PANT A. B., RAHMAN Q., 2010, *Cytogenotoxicity of amphibole asbestos fibres in cultured human lung epithelial cell line: role of surface iron*. Toxicol Ind Health, 26:575–582.

STUART B. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd, 2004.

SZESZENIA-DĄBROWSKA N., SOBALA W., ŚWIĄTKOWSKA B., STROSZEJN-MROWCA G., WILCZYŃSKA U., 2012, *Environmental asbestos pollution – situation in Poland*, International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health, 25(1):3–13.

ŠAFÁŘOVÁ K. *Transmisní elektronová mikroskopie*. Laboratoř mikroskopie atomárních sil. 2008.

ŠEBELKA J. *Školka v Dubé není z boletických panelů, přesto ji azbest zamořil také*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.

THE UNIVERSITY OD WESTERN ONTARIO. *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*. Surface Science Western [online]. 2014 [cit. 2014-08-31]. Dostupné z: <http://www.surfacesciencwestern.com/analytical-services/fourier-transform-infrared-ftir-spectroscopy/>

THE UNIVERSITY OD WESTERN ONTARIO. *Scanning Electron Microscopy coupled with Energy Dispersive X-ray (SEM/EDX) Spectroscopy*. Surface Science Western [online]. 2014 [cit. 2014-08-31]. Dostupné z: <http://www.surface-sciencewestern.com/analytical-services/scanning-electron-microscopy-coupled-with-energy-dispersive-x-ray-semedx-spectroscopy/>

THERMO NICOLET CORPORATION. *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*. [online]. 2001 [cit. 2014-09-01]. Dostupné z: <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf>

VÁCLAVÍK J. *S Eternitem na věčnost I*. Spolek přátel Častolovic [online]. 2011 [cit. 2015-01-30]. Dostupné z: <http://www.e-castolovice.cz/zajimavosti/253/eternit1.html>

VAN OSS C. J., NAIM J.O., COSTANZO P. M., GIESE R. F. JR., WU W., SORLING A. F., 1999, *Impact of different asbestos species and other mineral particles on pulmonary pathogenesis*. Clays Clay Miner, 47:697–707.

VANÍČEK J. *Metody termické analýzy*. Katedra textilních materiálů, TÚ Liberec, 2006.

- VAŠÁK R. *Problematika azbestu a jeho vliv na životní prostředí*. Zlín, 2007. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 55 s.
- VELEBIL D. *Amfiboly*. Geologie, mineralogie, historie dolování [online]. 2008 [cit. 2014-08-28]. Dostupné z: <http://www.velebil.net/minerality/amfiboly>
- VELEBIL D. *Serpentiny*. Geologie, mineralogie, historie dolování [online]. 2008 [cit. 2014-08-28]. Dostupné z: <http://www.velebil.net/minerality/serpentiny>
- VIKTORA A. *Azbestová hrozba visí nad tisíci školami i nemocnicemi*. iDNES.cz. 2011, 2/4/12.
- VIRTA R. L. *Some facts about asbestos*. The U.S. Geological Survey (USGS). 2001, č. 12.
- VREČKO P., SRNA M., TERŽAN M. *Varno delo z azbestom: Azbestna vlakna!*. Mengeš: STILGRAF, 2002. ISBN 961-6471-00-7.
- VŮJTEK M., KUBÍNEK R., MAŠLÁŇ M. *Nanoskopie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2012, 122 s. ISBN 978-80-244-3102-4.
- VÝBOR VRCHNÍCH INSPEKTORŮ PRÁCE. *Praktická příručka o osvědčených postupech pro prevenci a minimalizaci rizik azbestu při práci (potenciálně) zahrnující kontakt s azbestem: pro zaměstnavatele, zaměstnance a inspektory práce: příručka osvědčených postupů*. 1. vyd. Praha: Státní zdravotní ústav, 2007, 143 s. ISBN 978-80-7071-282-5.
- VYHLÁŠKA č. 381/2001 Sb.: Vyhláška Ministerstva životního prostředí, kterou se stanoví Katalog odpadů, Seznam nebezpečných odpadů a seznamy odpadů a států pro účely vývozu, dovozu a tranzitu odpadů a postup při udělování souhlasu k vývozu, dovozu a tranzitu odpadů (Katalog odpadů). In: *Sbírka zákonů*. Ministerstvo životního prostředí, 2001.
- VYHLÁŠKA č. 432/2003 Sb.: Vyhláška, kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění biologických expozičních testů a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli. In: *Sbírka zákonů*. Ministerstvo práce a sociálních věcí, 2003.
- WEAVER S. L. *Infrared Spectroscopy*. Xavier University of Louisiana [online]. 2014 [cit. 2014-09-01]. Dostupné z: http://www.xula.edu/chemistry/crs-orgleclab/Organic_Lab_1_2230L_Web_Files/08_IR%20notes.pdf
- WEI B., YANG L., 2010, *A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China*. Microchemical Journal, 94:99–107.

WHO. *Chrysotile asbestos: Environmental health criteria 203*. Geneva, Switzerland, 1998, World Health Organization.

YAO S., DELLAVENTURA G., PETIBOIS C., 2010, *Analytical characterization of cell-asbestos fiber interactions in lung pathogenesis*. *Anal. Bioanaly. Chem.*, 397:2079–2089.

ZAREMBA T., KRZAKAŁA A., PIOTROWSKI J., GARCZORZ D., 2010, *Study on the thermal decomposition of chrysotile asbestos*. *J Therm Anal Calorim*, 101:479–85.

ZEIDLER–ERDELY P. C., WILLIAM J. C., AMEREDES B. T., CLARK M. P., DEYE G. J., BARON P., JONES W., BLAKE T., CASTRANOVA V., 2006, *In vitro cytotoxicity of Manville Code 100 glass fibers: effect of fiber length on human alveolar macrophages*. *Particle Fibre Toxicol.*, 3:5.

ŽIDEK O. *Elektronová mikroskopie na biologických vzorcích*. Brno, 2011. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity v Brně. 46 s.

7 PŘÍLOHA

7.1 Seznam použitých zkratek

μm – mikrometr, délková jednotka, 10^{-6} m

μV – mikrovolt, jednotka elektrického napětí, 10^{-6} V

AFM (Atomic Force Microscopy) – mikroskopie atomárních sil

ATR (Attenuated Total Reflection) – zeslabená totální reflexe infračervené spektroskopie

Au/Pd – zlato a palladium, chemická značka

Ca-Mg amfibol – vápenato-hořečnatý amfibol

CCD (Charge Coupled Device) – elektronická součástka používaná pro snímání obrazové informace

CsI – jodid cesný, chemická značka

DRIFTS nebo **DRIFT** (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy) – difúzně-reflexní infračervená spektroskopie

DTA – diferenční termická analýza

EDS (Energy Dispersive Spectrometer) – provádí rozklad RTG záření podle energie

EDX (Energy Dispersive X-Ray Analysis) – analytická technika používaná pro analýzu vzorku

EPA (The Environmental Protection Agency) – Agentura pro ochranu životního prostředí

Fe²⁺ – železnatý kation

Fe³⁺ – železitý kation

FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) – infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací, experimentální spektroskopická technika

IARC (International Agency for Research on Cancer) – Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny

IČ – infračervený

IR (Infrared) – infračervený

IT (Information Technology) – informační technologie

KBr – bromid draselný, chemická značka

KRS-5 – směsný krystal jodidu a bromidu thallného

Mg²⁺ – hořečnatý kation

mm – milimetr, délková jednotka, 10⁻³ m

NaCl – chlorid sodný, chemická značka

NIR (Near-infrared) – blízká infračervená oblast elektromagnetického spektra

nm – nanometr – délková jednotka, 10⁻⁹ m

PCM (Phase Contrast Microscopy) – optická mikroskopie s fázovým kontrastem

PLM (Polarized Light Microscopy) – polarizační optická mikroskopie

RTG – rentgenové záření, forma elektromagnetického záření, rentgenová difrakční analýza

SEM (Scanning Electron Microscope) – skenovací elektronová mikroskop

SEM/EDX – skenovací elektronová mikroskopie s energiově disperzním analyzátozem

SiC – karbid křemíku, chemická značka

SOP – Standardní operační postup

TAO (OTO) – reakce osmia a kyseliny tanové nebo thiokarbohydrazidu

TEM (Transmission Electron Microscope) – transmisní elektronová mikroskop

TEM/EDX – transmisní elektronová mikroskopie s energiově disperzním analyzátozem

WDS (Wavelength Dispersive Spectrometer) – provádí rozklad RTG záření podle vlnové délky

WHO (World Health Organization) – Světová zdravotnická organizace

XRD (X-ray diffraction) – rentgenová difrakční analýza

ZnS – sulfid zinečnatý, chemická značka

ZnSe – selenid zinečnatý

7.2 Seznam obrázků a jejich zdrojů

Obr. 1: Vlákna chryzotilu (cit. 30. 6. 2014). Dostupné z

<http://www.sutre.wbl.sk/moja-zbierka.html?flash=ne&fotka=93>

Obr. 2: Střecha z vlnitého Eternitu a deskového Eternitu z produkce hradecké firmy Eternitas akciové továrny dehtových výrobků a krycích hmot v Hradci Králové /kolem roku 1920/ (cit. 18. 7. 2014). Dostupné z

http://cs.wikipedia.org/wiki/Eternit#mediaviewer/Soubor:Wellasbestdach-233-3354_IMG.JPG; foto Ing. Petr Homola, 21. 10. 2013

Obr. 3: Osobní propust' (schématický náčrtek), převzato z Červenka *et al.*, 2006.

Obr. 4: Materiálová propust' (schématický náčrtek), převzato z Červenka *et al.*, 2006.

Obr. 5: Typická velikost objektů pozorovatelných elektronovým mikroskopem (cit. 2. 8. 2014). Dostupné z <http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>

Obr. 6: Transmisní elektronový mikroskop (cit. 4. 8. 2014). Dostupné z

<http://www.phy.cuhk.edu.hk/centrallaboratory/TecnaiF20/TecnaiF20c.jpg>

Obr. 7: Rastrovací elektronový mikroskop, foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015

Obr. 8: Při dopadu elektronů na vzorek dochází k vzájemné interakci a vzniká množství různých signálů, které nesou informaci o pozorovaném vzorku

(cit. 5. 8. 2014). Dostupné z: <http://www.fzu.cz/popularizace/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>

Obr. 9: Schéma a řez transmisním elektronovým mikroskopem (cit. 6. 8. 2014).

Dostupné z http://www.aldebaran.cz/bulletin/2012_32_mic.php

Obr. 10: Ultramikrotom (cit. 6. 8. 2014). Dostupné z

<http://www.sciencefoto.de/detail.php?id=214510&rubrik=Technik&lang=de&q=&qrubrik=>

Obr. 11: Spektrum elektromagnetického vlnění (cit. 11. 8. 2014). Dostupné z

<http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Electromagnetic-Spectrum.svg>

Obr. 12: Základní pořadí instrumentů při procesu analýzy vzorku, převzato z Novotná *et al.*, 2011.

Obr. 13: Ruční analyzátor azbestu microPHAZIR (cit. 28. 3. 2015). Dostupné z

http://www.envirotech-online.com/assets/file_store/pr_files/16478/images/thumbnails/800w-microphazir_as_-_wall.jpg

7.3 Seznam tabulek

Tabulka č. 1: Příklady materiálů a výrobků obsahujících azbest

Tabulka č. 2: Základní optické části elektronového mikroskopu

7.4 Seznam fotodokumentace

Foto 1: Drcení vzorku v achátové třecí misce s práškem KBr

(foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 2: Příprava na tabletaci vzorku v opticky inertním materiálu – KBr

(foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 3: Hydraulický lis (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 4: Měřicí prostor FTIR (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 5: FTIR spektrum chryzotilu (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 6: Skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 SEM/EDX

(foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 7: Detektor odražených elektronů, sekundárně odražených elektronů a RTG záření (foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 8: Napařovací zařízení Au/Pd (foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 9: Nádční potřebné k manipulaci filtru s azbestovými vlákny

(foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 10: Chryzotil na skupině skelných vláken z asfaltové lepenky

(foto Ing. Petr Homola, 29. 10. 2014)

Foto 11: SEM/EDX analýza aktinolitu (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 12: Délka a tloušťka skelných vláken v SEM

(foto Ing. Petr Homola, 31. 10. 2014)

Foto 13: Optický mikroskop JENAPOL se PLM/PCM se CCD kamerou

(foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 14: Zprůhledněné membránové filtry na podložních sklíčkách

(foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 15: Chryzotilová vlákna (PCM), zvětšení 100x

(foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 16: Chryzotilová vlákna (PLM), zvětšení 500x, horní osvit
(foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 17: Ukázka zpracování dat z EDX analýzy (foto Ing. Petr Homola, 30. 11. 2014)

Foto 18: Hydraulický lis (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 19: FTIR s jednotkou Single ATR Miracle (foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 20: FTIR spektrum aktinolitu (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)

Foto 21: Skenovací elektronový mikroskop Tescan Vega 3 SEM/EDX
(foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 22: Napařovací zařízení Au/Pd, tlaková láhev s argonem
(foto Ing. Petr Homola, 15. 1. 2015)

Foto 23: SEM/EDX analýza azbestových vláken (foto Ing. Petr Homola, 2. 9. 2014)