

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

CENTRUM MATERIÁLOVÉHO VÝZKUMU

FACULTY OF CHEMISTRY

MATERIALS RESEARCH CENTRE

# VYUŽITÍ FLUORESCENČNÍCH TECHNIK VE STUDIU DEPOZICE AEROSOLŮ

USE OF FLUORESCENT TECHNIQUES IN STUDY OF AEROSOL DEPOSITION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. JOSEF LIPPAY

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. FILIP MRAVEC, Ph.D.

BRNO 2013



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	<b>FCH-DIP0764/2012</b>	Akademický rok: <b>2012/2013</b>
Ústav:	Centrum materiálového výzkumu	
Student(ka):	<b>Bc. Josef Lippay</b>	
Studijní program:	Spotřební chemie (N2806)	
Studijní obor:	Spotřební chemie (2806T002)	
Vedoucí práce	<b>Ing. Filip Mravec, Ph.D.</b>	
Konzultanti:	Ing. Tereza Halasová	

### Název diplomové práce:

Využití fluorescenčních technik ve studiu depozice aerosolů

### Zadání diplomové práce:

1. Shromáždit literární poznatky o látkách a systémech využívaných při studiu depozic aerosolů.
2. Ověřit standardně využívaná stanovení částic aerosolu.
3. Navrhnout a realizovat experimenty na modelovém zařízení pro studium depozice částic v dýchacím systému.
4. Na základě výsledků zhodnotit využívané metody stanovení, případně navrhnout jejich modifikaci.

### Termín odevzdání diplomové práce: 3.5.2013

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

-----  
Bc. Josef Lippay  
Student(ka)

-----  
Ing. Filip Mravec, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2013

-----  
prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Pro využití fluorescenční spektroskopie jako metody detekce aerosolových částic v modelu plic, bylo navrženo několik experimentů. Jedním z experimentů bylo použití luminiscenčních vlastností DEHS (bis(2-ethylhexyl)dekandioát), pro výpočet depozice aerosolu. Výstupem tohoto experimentu bylo potvrzení existence klastrů způsobujících luminiscenci DEHS. Tato luminiscence však není dostatečně závislá na koncentraci a není tedy vhodná pro výpočty depozic aerosolu. Další navrženým experimentem bylo použití DEHS-fluoresceinových částic generovaných pomocí kondenzačního generátoru monodisperzního aerosolu (CMAG), kde pro extrakci fluoresceinu byl nahrazen isopropylalkohol za vodu. Tímto bylo dosaženo odstranění negativního vlivu DEHS, vlivem jeho hydrofobního chování, čímž došlo k zpřesnění výsledků depozic. Jako poslední navržený experiment byla generace částic fluoresceinu sodného pomocí práškového rozprašovače (SSPD). Depozice tímto způsobem vyústila v nižší depoziční účinnost způsobenou polydisperzitou částic. Výsledky pak poskytly i obrazový záznam o ohniscích depozice. Výsledky práce jsou poznatky o využití fluorescenční spektroskopie pro studii depozice aerosolu a možnostech generace fluorescenčních částic. Získané poznatky slouží k rozšíření současných znalostí o možnostech detekce aerosolu v modelu plic a mohou sloužit pro validaci numerických simulací.

## **ABSTRACT**

Several experiments were designed for utilization of fluorescence spectroscopy as a method of aerosol particle detection in a model of lungs. One of the experiments was to arranged use luminescent properties of DEHS (bis(2-ethylhexyl)decandioate) for calculating aerosol deposition. The outcome of this experiment was confirmation of clusters existence, which causes luminescence of DEHS. But the luminescence is not enough dependent on concentration and as such is not suitable for calculation of aerosol deposition. As the next experiment DEHS-fluorescein particles were generated by condensation monodisperse aerosol generator (CMAG), where water was used instead of isopropyl alcohol as a solvent. By this alteration the negative influence of DEHS was eliminated, which caused results refinements of aerosol deposition. Generation of fluorescein sodium salt particles by small-scale powder disperser (SSPD) was designed as a last experiment. The lower deposition efficiency measured by this method was caused by particles polydispersion. Photo records were used for documentation of Hot-spots. Outcomes of this study are new knowledge of fluorescence spectroscopy utilization for study of aerosol deposition and possibilities of fluorescent aerosol particles generation. Acquired data can serve for knowledge extension of possible detection methods for aerosol particles in the model of lung and can serve for validation of numerical simulations.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Aerosol, depozice aerosolu, model plic, bis(2-ethylhexyl)dekandioát, dioktyl sebakát, DEHS, fluorescence, fluorescein, klastr

## **KEYWORDS**

Aerosol, aerosol deposition, model of lungs, bis(2-ethylhexyl) decanedioate, dioctyl sebacate, DEHS, fluorescence, fluorescein, cluster

LIPPAY, J. Využití fluorescenčních technik ve studiu depozice aerosolů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 71 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Filip Mravec, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### *Poděkování:*

*Rád bych poděkoval svému vedoucímu Ing. Filipovi Mravcovi, Ph.D. a konzultantce Ing. Tereze Halasové za jejich cenné rady, pomoc, neutuchající podporu a trpělivost při řešení tématu diplomové práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Františku Lízalovi, Ph.D. z Ústavu termomechaniky a techniky prostředí FSI VUT za spolupráci a rady při měření depozice aerosolu a také Ing. Janu Jedelskému, Ph.D. z Ústavu termomechaniky a techniky prostředí FSI VUT za poskytnutí možnosti řešení diplomové práce v rámci projektu GAP105/11/1339. V neposlední řadě také děkuji své rodině za podporu při studiu.*

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>9</b>
2.1	DEHS .....	9
2.1.1	Poznatky z bakalářské práce .....	9
2.2	Molekulární absorpční spektrofotometrie v UV/VIS oblasti.....	12
2.2.1	Transmitance .....	12
2.2.2	Absorbance.....	12
2.2.3	Lamber – Beerův zákon .....	12
2.2.4	Absorpční spektrum v UV/VIS .....	13
2.3	Luminiscenční spektrometrie.....	13
2.3.1	Princip fluorescence .....	13
2.3.2	Emisní a excitační spektrum fluorescence .....	15
2.3.3	Hlavní pravidla fluorescence.....	16
2.3.4	Zhášení .....	16
2.3.5	Excimery .....	16
2.3.6	Instrumentace .....	17
2.4	Dynamický rozptyl světla .....	18
2.4.1	Princip DLS .....	18
2.4.2	Měření velikosti částic na DLS .....	19
2.5	Aerosoly.....	20
2.5.1	Velikost částic .....	20
2.5.2	Generace aerosolových částic .....	21
2.5.3	Měření velikosti částic .....	22
2.6	Současný stav řešené problematiky .....	24
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>31</b>
3.1	Použité chemikálie.....	31
3.2	DEHS .....	31
3.2.1	Charakterizace DEHS v různých prostředích.....	31
3.2.2	Hustota, viskozita a index lomu DEHS.....	31
3.2.3	Dynamický rozptyl světla.....	31
3.2.4	Časově rozlišená fluorescence DEHS .....	32
3.2.5	Koncentrační řada DEHS .....	32
3.3	Depozice .....	32
3.3.1	DEHS-fluoresceinové částice.....	34
3.3.2	Kalibrační řada .....	34
3.3.3	APS DEHS-fluoresceinových částic .....	34
3.3.4	Značené částice .....	34
3.3.5	Nahrazení částic .....	35
3.3.6	Fluoresceinové částice.....	35
3.4	Metody měření.....	35

3.4.1	Fluorescence.....	35
3.4.2	Časově rozlišená fluorescence .....	36
3.4.3	UV/VIS spektrometrie.....	36
3.4.4	Hustota .....	37
3.4.5	Viskozita.....	38
3.4.6	Index lomu.....	38
3.4.7	Dynamický rozptyl světla.....	38
3.4.8	APS.....	39
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>40</b>
4.1	DEHS .....	40
4.1.1	Charakterizace DEHS v různých prostředích.....	40
4.1.2	Hustota, viskozita a index lomu DEHS.....	40
4.1.3	Dynamický rozptyl světla.....	40
4.1.4	Časově rozlišená fluorescence DEHS .....	42
4.1.5	Koncentrační řada DEHS .....	45
4.2	Depozice .....	47
4.2.1	DEHS-fluoresceinové částice.....	47
4.2.2	APS DEHS-fluoresceinových částic .....	49
4.2.3	Značené částice .....	49
4.2.4	Nahrazení částic .....	51
4.2.5	Fluoresceinové částice.....	53
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....</b>	<b>62</b>
7.1	Seznam zkratk .....	62
7.2	Seznam symbolů .....	62
<b>8</b>	<b>Seznam příloh .....</b>	<b>64</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>65</b>

# 1 ÚVOD

Tato práce vznikla na základě projektu GAP105/11/1339 Oscilační a ustálené turbulentní a laminární proudění s porézními částicemi v mnohačetných větveních řešeného na Fakultě strojního inženýrství VUT, jehož zadavatelem je GAČR. Cílem tohoto projektu je studium transportu a usazování aerosolových částic v lidském dýchacím ústrojí, kde jako model částic byl použit bis(2-ethylhexyl)dekandioát (dále jen jako DEHS) napařený na jádro NaCl a dále i pevné porézní částice s různým typem povrchu. Látka DEHS se pak v praxi používá k vytváření aerosolových částic díky tomu, že je bezbarvá, bez zápachu, dají se z ní vytvářet poměrně stabilní aerosoly s definovatelnými rozměry a má relativně dlouhou dobu života aerosolových kapiček (i za vyšších teplot) [1],[2]. Důvodem ke zkoumání je najít nejvhodnější tvar a velikost částic pro inhalační podání, což by mohlo napomoci při léčbě nemocí spojených s dýchacím ústrojím nebo případně pomoci ve výzkumu ochrany před toxickými účinky škodlivých částic. Práce pak navazuje na Bakalářskou práci [3], kde byla řešena vlastní fluorescence DEHS a to zejména ve směru využití fluorescenční spektroskopie pro vyhodnocení depozice aerosolu v realistickém modelu plic, za použití vlastní aerosol-tvorné látky DEHS.

Pro detekci a výpočty depozic aerosolových částic pak může být použito několik metod jako je magnetická rezonance (MRI), kondenzační čítač částic (CPC), výpočetní tomografie (CT), pozitronová emisní tomografie (PET) a v neposlední řadě i fluorescenční spektroskopie. Fluorescenční spektroskopie pak poskytuje určitou možnost jak nejen snížit náklady při vlastním měření oproti náročnějším metodám jako je MRI nebo PET, ale i rychlejší vyhodnocení, snazší manipulaci a větší flexibilitu. Z tohoto důvodu je cílem práce zhodnocení použitelnosti fluorescenční spektroskopie jako metody získání dat pro výpočty depozic částic aerosolu v modelu plic 7. generace větvení.

Během práce jsou také použity dvě různé metody generování částic a to pro kapalně aerosolové částice a pevné aerosolové částice, vzhledem k faktu že oba druhy lze nalézt v okolním ovzduší.

Výzkum aerosolů je pak důležitý z důvodu výzkumu doručení léčiv pro léčbu nemocí dýchacího ústrojí, nebo vhodnějšího podání lékové formy pacientovi. Vzhledem k negativním vlivům některých aerosolových částic je pak důležitý výzkum depozice aerosolu, také při řešení ochrany před škodlivými vlivy těchto částic, což může zkvalitnit práci v některých oborech.

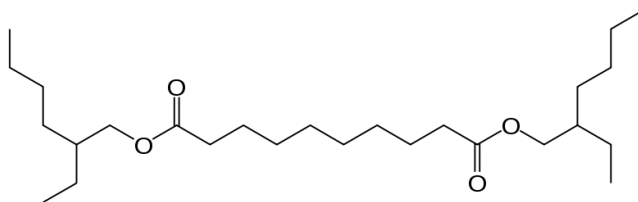


## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 DEHS

Bis(2-ethylhexyl)dekandioát je diester kyseliny dekandiové (sebakové) a 2-ethylhexanolu, jeho strukturní schéma lze vidět na **Obrázek 1**. Nejčastěji je vyráběn esterifikací 2-ethylhexynolu a kyseliny sebakové v poměru 1:1,6 a za přítomnosti kyseliny sírové, která pak zaujímá 0,25 % z celkové hmotnosti 2-ethylhexynolu a kyseliny sebakové pro esterifikaci do prvního stupně. Druhý stupeň esterifikace je pak náročnější a vyžaduje teplotu v rozmezí 130 – 140 °C. Poté následuje dehydratace za 0,093 MPa vakua. Surový ester je dále neutralizován 3 – 5% roztokem sody, promýván při 70 – 80 °C a následně je odstraněn alkohol za 0,096 – 0,097 MPa vakua. Posledním krokem je přečištění za pomoci vakuové destilace [1][4].

DEHS je pak používán v široké škále aplikací jako: mrazu odolný změkčovač pro PVC kabely, změkčovač pro polymery, mrazu odolný film, aditivum, atd. Jeho hlavní použití ve vědecké oblasti je pak pro vytváření aerosolových částic. Výhodou těchto částic je, že se z nich dají utvářet aerosolové částice o definovatelných vlastnostech, jsou poměrně časově i teplotně stabilní. DEHS je bezbarvý, bez zápachu, nerozpustný ve vodě, nehygroskopický a je netoxický [1,2,8].



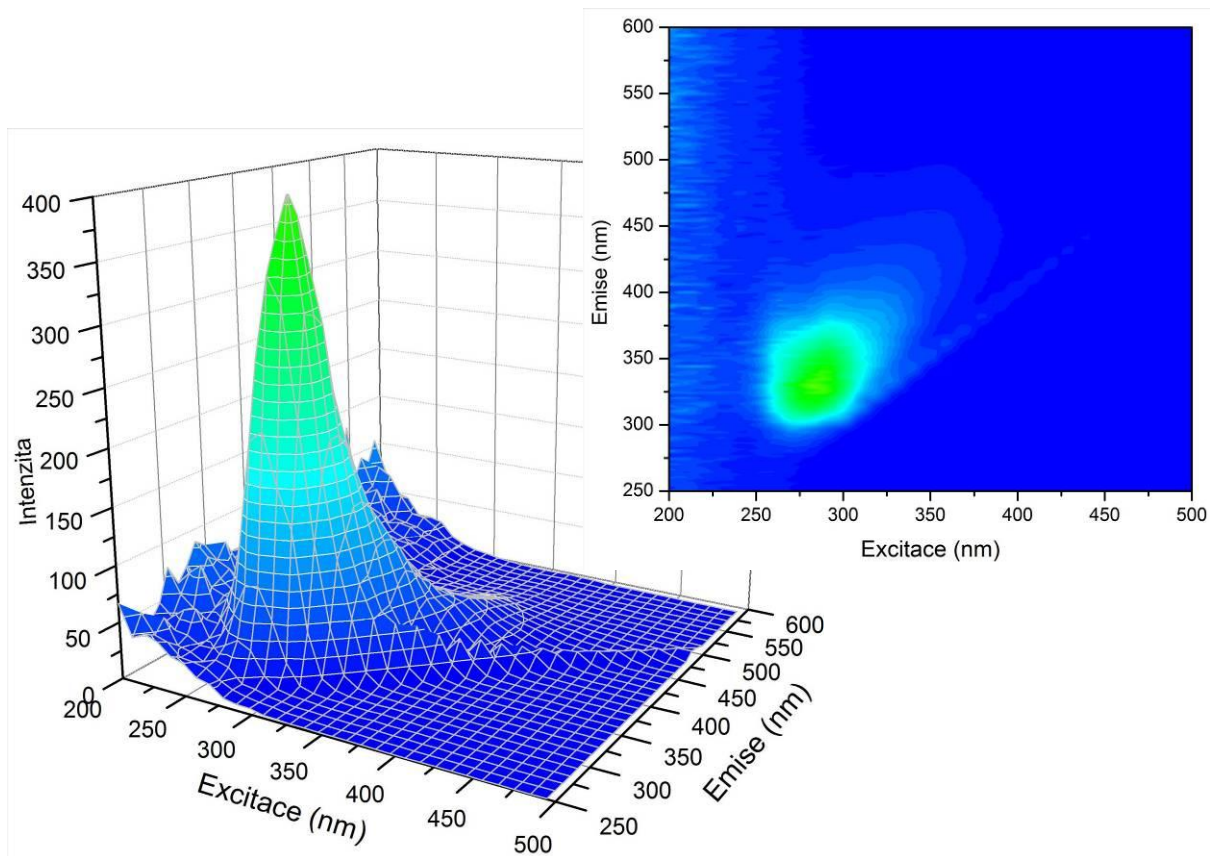
**Obrázek 1:** Struktura DEHS

#### 2.1.1 Poznátky z bakalářské práce

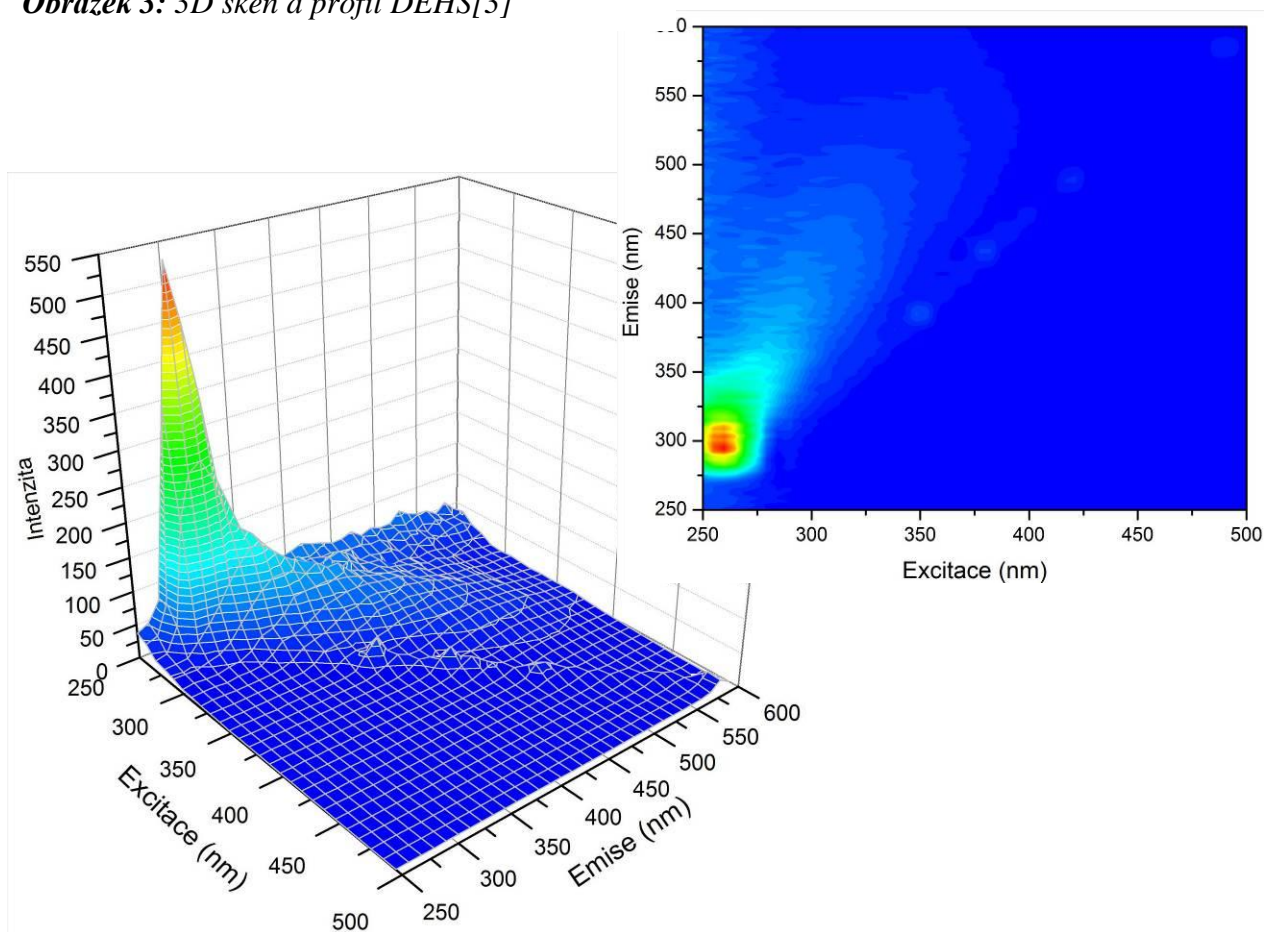
Během bakalářské práce [3], zabývající se luminiscenčními vlastnostmi DEHS, bylo zjištěno několik poznatků, které jsou významné z hlediska řešení problematiky využití luminiscence látky DEHS pro možné vyhodnocení depozice aerosolu.

Jedním z prvních poznatků je pak fakt, že byla zjištěna vlastní luminiscence látky DEHS, která je přinejmenším nepravděpodobná při pohledu na strukturu látky. Pro vyloučení kontaminace DEHS byla použita IČ spektroskopie s metodou ATR a získaná spektra se nelišila od spektra náležící DEHS pořízené firmou Sigma-Aldrich, která je dodavatelem DEHS. Stále je tu ale také možnost, že metoda ATR není nejvhodnější metodou pro málo koncentrovaný vzorek, v tomto případě kontaminaci.

Dalším poznatkem je pak rozdílné chování v prostředí obsahující hydroxylové skupiny jako je izopropylalkohol, ethanol a methanol, kde dochází k posunu k nižším vlnovým délkám, což lze vidět při srovnání **Obrázek 3** a **Obrázek 2**.

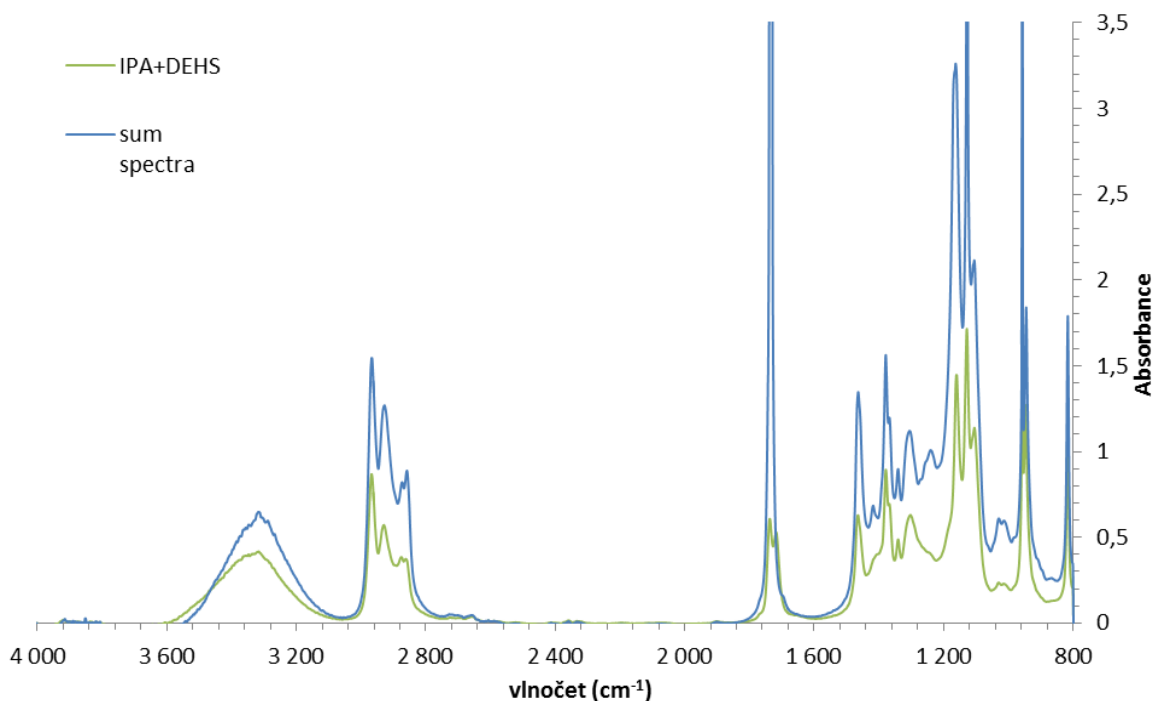


**Obrázek 3:** 3D sken a profil DEHS[3]



**Obrázek 2:** 3D sken a profil DEHS v IPA[3]

Tento fakt poukazuje na interakci mezi DEHS a hydroxylovou skupinou, která pak vede ke zvýšení intenzity fluorescence oproti čistému DEHS, čímž by bylo možné detekovat i nízké depozice aerosolu při použití vlastní luminiscence DEHS. Tuto interakci lze také vidět při porovnání IČ spektra sumárního se spektrem DEHS v IPA vlnočet  $1750\text{ cm}^{-1}$ , na **Obrázek 4**.



**Obrázek 4:** IČ spektrum pro DEHS v IPA a jejich sumu spekter [3]

Další spektra byla naměřena v prostředích chloroformu, xylenu a cyklohexanu, kde naopak došlo k poklesu intenzity luminiscence.

Při používání DEHS v generátoru aerosolových částic dochází postupně k jeho „degradaci“ neboli spíše změně. Tento fakt se projevuje změnou z bezbarvé kapaliny na lehce žlutohnědou, a také posunem k vyšším vlnovým délkám. Změna zabarvení pak byla zpozorována v práci **Stephen M. Bowes III a David L. Swift** [2], avšak důvod této změny nebyl dále zkoumán.

Z pozorování změny DEHS při použití v generátoru se pak nabízí otázka časové stability a i ta byla předmětem zkoumání bakalářské práce. Časová degradace byla pozorována po dobu dvou měsíců, kdy byly vzorky uchovávány při laboratorní teplotě  $25^{\circ}\text{C}$  a při teplotě  $4^{\circ}\text{C}$ . Během této doby nebyly pozorovány významné změny ve spektrech, tedy lze uvažovat, že změna je vyvolaná opakovaným vystavováním DEHS vysoké teplotě během generace aerosolu.

## 2.2 Molekulární absorpční spektrofotometrie v UV/VIS oblasti

Metoda molekulové absorpční spektrometrie v UV/VIS oblasti je založena na měření absorpce elektromagnetického záření, ke které dochází při interakci fotonů specifické vlnové délky s elektronovým obalem měřené molekuly. Při této interakci dochází k energetickým změnám v elektronových orbitalech a dochází tak k přechodu elektronu do excitovaného stavu. V určité oblasti molekuly jsou lokalizovány elektronové přechody v průběhu absorpce elektromagnetického záření, tato oblast se nazývá chromofor. Chromoforem může být například komplex nebo seskupení atomů v organické molekule, nebo i hydratovaný kation

### 2.2.1 Transmittance

Transmittance,  $T$ , je relativní poměr části prošlého záření ku dopadajícímu, často se vyjadřuje v procentech:

$$T = \frac{I}{I_0} \text{ nebo } T = \frac{I}{I_0} \cdot 100(\%), \quad (1)$$

kde  $I_0$  je dopadající zářivý tok a  $I$  je prošlý zářivý tok.

### 2.2.2 Absorbance

Absorbance je záporný dekadický logaritmus transmittance:

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}. \quad (2)$$

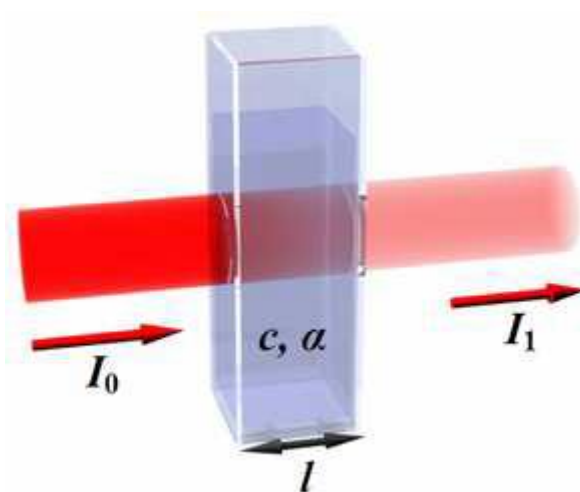
Pokud je absorpce záření nulová, pak transmittance je jednotková (100%).

### 2.2.3 Lambert – Beerův zákon

Lambert – Beerův zákon udává vztah mezi intenzitou dopadajícího a prošlého záření, délkou absorbující vrstvy a koncentrací měřeného vzorku viz **Obrázek 5**. Absorbanci lze definovat jako:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c, \quad (3)$$

kde  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient (konstanta je charakteristická pro danou látku za daných podmínek při specifické vlnové délce),  $l$  je tloušťka absorbující vrstvy (například tloušťka květy) a  $c$  je koncentrace měřeného vzorku. Absorbance je bezrozměrná veličina a je přímo úměrná koncentraci a tloušťce absorbující vrstvy.

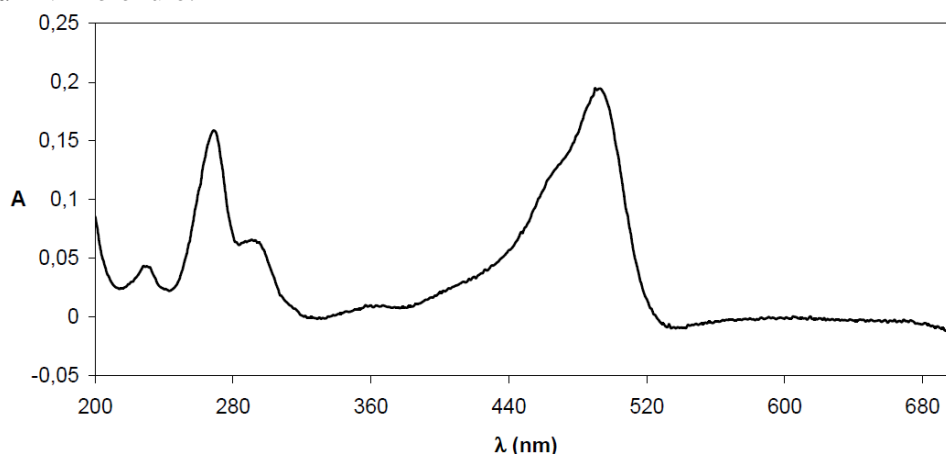


**Obrázek 5:** Absorpce světelného paprsku procházejícího kyvetou, kde  $I_0$  je dopadající zářivý tok,  $I_1$  je prošlý zářivý tok,  $c$  je koncentrace měřeného vzorku,  $l$  je optická dráha (šířka kyvety) a  $a$  je absorpční koeficient [5]

Lambert - Beerův zákon platí pouze pro zředěné roztoky za použité monochromatického záření, a to v homogenních i heterogenních systémech. V homogenních i v některých heterogenních systémech je závislost absorbance na koncentraci vzorku lineární, ale v některých heterogenních systémech (zejména v koloidních roztocích) dochází k odchýlkám od lineárního průběhu závislosti absorbance na koncentraci vzorku vlivem difúzního rozptylu záření.

## 2.2.4 Absorpční spektrum v UV/VIS

Absorpční spektrum (křivka) představuje závislost absorbovaného elektromagnetického záření na vlnové délce, vlnočtu nebo kmitočtu. Nejobvyklejší je pak křivka závislosti absorbované složky elektromagnetického záření na vlnové délce **Obrázek 6**. Oblasti extrémů na křivce mají obvykle Gaussovský (symetrický) průběh a odpovídají typickým elektronovým přechodům v molekule.



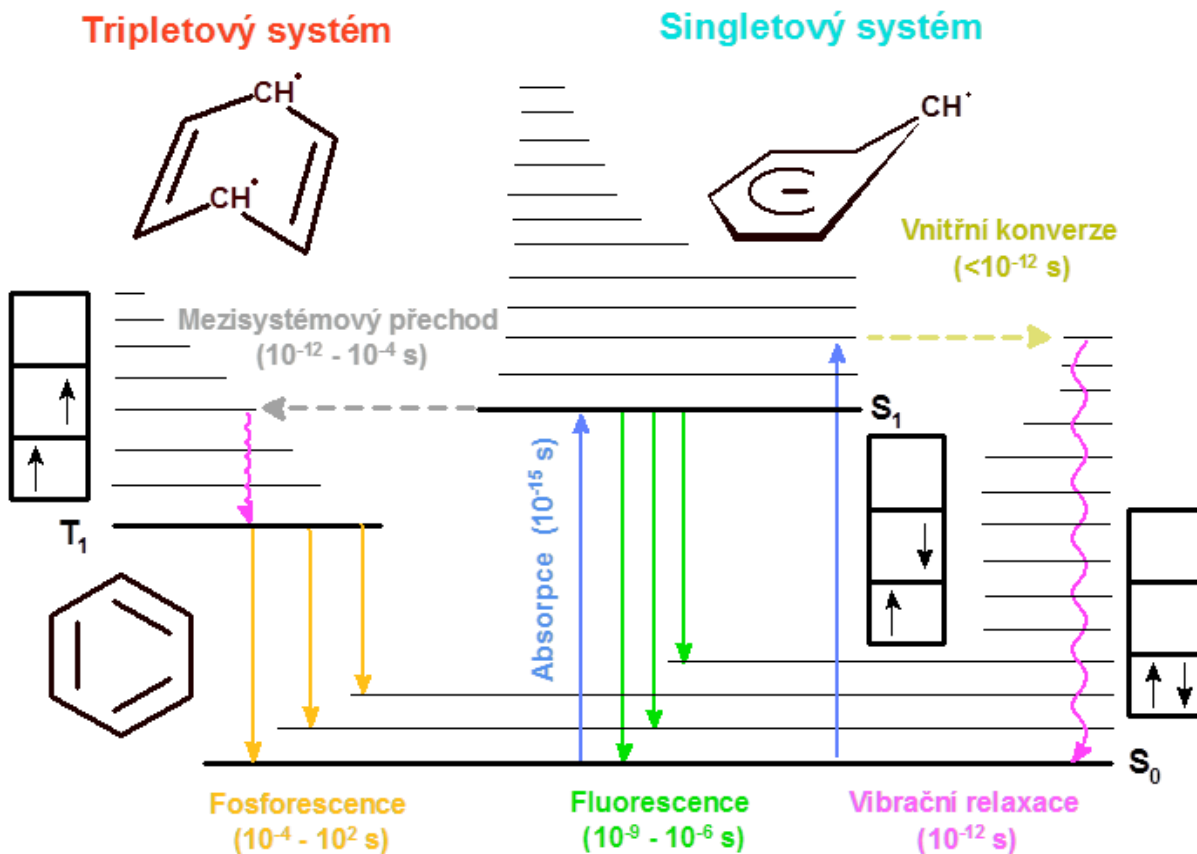
**Obrázek 6:** Absorpční spektrum v UV/VIS

Vyšší počet extrémů v absorpčním spektru je důkazem většího počtu elektronových přechodů v absorbující molekule, existence více strukturních forem téže látky nebo většího počtu různých absorbujících látek v roztoku za daných podmínek. Na absorpční spektrum mají vliv různé faktory. Tyto faktory mohou být, zvýšení teploty, které posouvá  $\lambda_{\max}$  blíže k červené oblasti viditelného spektra, vliv vysoké koncentrace inertních solí, což vede k deformaci spekter, vliv tenzidů, vliv rozpouštědla a instrumentální vlivy.

## 2.3 Luminiscenční spektrometrie

### 2.3.1 Princip fluorescence

Pokud organická molekula nacházející se v základním stavu ( $S_0$ ) absorbuje elektromagnetické záření, dojde k excitaci elektronu. Elektron pak přechází z orbitalu o nižší energii do nejbližšího neobsazeného orbitalu o vyšší energii. Při excitaci elektronu pak může dojít k vytvoření jednoho ze dvou elektronově rozdílných stavů. V prvním případě dochází ke vzniku singletového stavu ( $S_1$ ), kde jsou spiny obou elektronů antiparalelní. Vytvoření singletového stavu přímou excitací je z kvantově-mechanického hlediska



nejpravděpodobnější. V druhém případě dojde ke vzniku tripletového stavu ( $T_1$ ) a spiny obou elektronů jsou orientovány paralelně.

**Obrázek 7:** Jablonskiho diagram

Excitovaná molekula se může zbavit přebytečné energie různými deaktivacími procesy a to buď zářivými, nebo nezářivými. V Jablonskiho diagramu **Obrázek 7** jsou znázorněny jednotlivé elektronové a vibrační (vibračně-elektronové) stavy a zároveň nejdůležitější aktivační i deaktivacími procesy. V diagramu jsou aktivační a zářivé procesy označeny rovnými čarami a nezářivé procesy jsou znázorněny vlnovkami.

Nezářivé procesy jsou uskutečňovány mezi vibračně-rotacími hladinami různých elektronových stavů, při nichž se nemění celková energie systému, nedochází tedy k emisi elektromagnetického záření, ale ke zvýšení tepelné energie systému.

Nejdůležitějšími deaktivacími procesy jsou procesy zářivé, při kterých dochází k emisi elektromagnetického záření, což tedy znamená vyzáření světelného kvanta. Tyto procesy jsou obecně nazývány luminiscence. Luminiscence se pak formálně rozděluje do dvou kategorií v závislosti na charakteru excitovaného stavu, tyto kategorie jsou: fosforescence a fluorescence. Fosforescence je kvantově-mechanicky „zakázaná“ luminiscence, a jedná se o přechod z energeticky vyššího stavu  $T_1$  do energeticky nižšího stavu  $S_0$ . Fluorescence je obvykle vyzářena následkem spinově dovoleného přechodu obvykle z rovnovážné hladiny stavu  $S_1$  do některé vibrační hladiny základního stavu  $S_0$ .

Dalšími procesy, které konkurují fluorescenci, jsou například: mezisystémový přechod, vnitřní konverze, nezářivé procesy (které mohou být následovány fluorescencí), intramolekulární přenos náboje a konformační změny. Interakce s jinými molekulami v excitovaném stavu mohou také konkurovat fluorescenci. Příkladem takových interakcí mohou být přesuny elektronu a protonu, přenos energie, tvorba excimeru nebo exciplexu.

Tyto deexcitační procesy mohou konkurovat fluorescenční emisi v případě, že probíhají v časovém měřítku, které je srovnatelné s dobou, během níž se molekuly vyskytují v excitovaném stavu.

Fluorescence je z kvantově-mechanického hlediska nejpravděpodobnějším deexcitačním procesem. Fluorescenci lze pozorovat po celou dobu buzení, ale po ukončení buzení prakticky ihned zmizí **doba života** ( $\tau_0$ ). Fluorescence je průměrný čas mezi excitací a návratem do základního stavu a je tedy jednou z nejdůležitějších vlastností fluoroforů. Doba života je pak vyjádřena vztahem:

$$\tau_0 = \frac{1}{\sum_i k_i}, \quad (4)$$

kde  $k_i$  je rychlostní konstanta vyjadřující deaktivaci procesy.

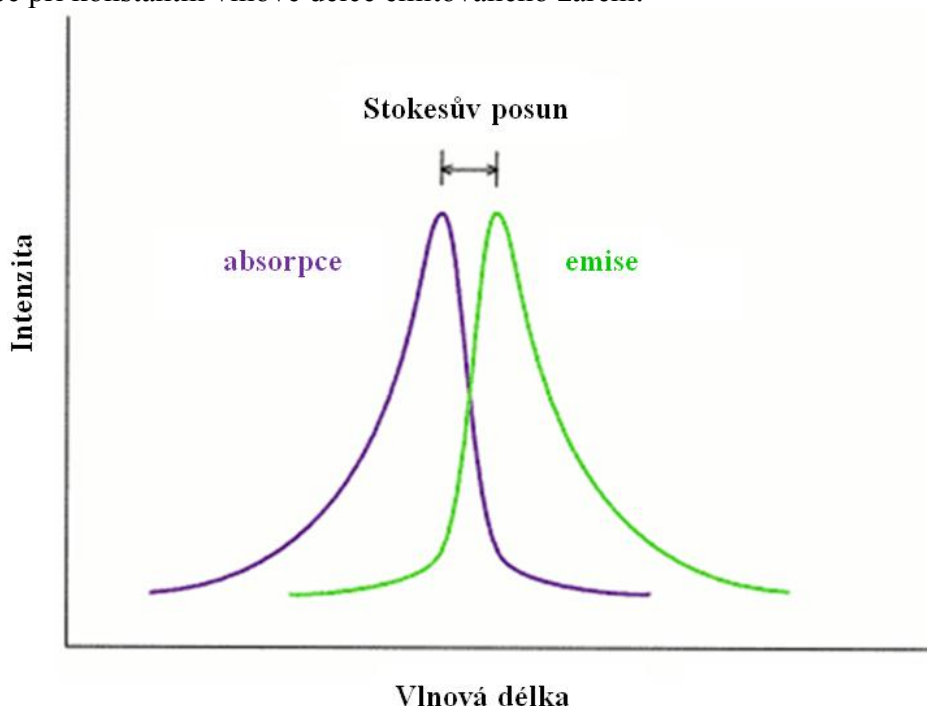
Druhým nejdůležitějším faktorem fluoroforů je **kvantový výtěžek** fluorescence. Ten je definován jako podíl intenzity fluorescence  $I_F$  a intenzity absorbovaného světla  $I_A$ .

$$\Phi_F = \frac{I_F}{I_A} = \frac{k_f}{\sum_i k_i}, \quad (5)$$

kde  $k_f$  značí rychlostní konstantu fluorescence. [9,10,11]

### 2.3.2 Emisní a excitační spektrum fluorescence

Emisní spektrum vyjadřuje závislost intenzity fluorescence na vlnové délce při konstantní vlnové délce budícího záření. Excitační spektrum vyjadřuje závislost intenzity fluorescence na vlnové délce při konstantní vlnové délce emitovaného záření.



**Obrázek 8:** Příklad Stokesova posunu

Tvar emisního spektra je charakteristický pro dané sloučeniny a často bývá zrcadlovým obrazem spektra absorpčního. To je způsobeno tím, že absorpce i emise z odpovídajících si

vibračních hladin mají stejnou relativní pravděpodobnost. Rozdíl mezi energií maxima prvního absorpčního pásu a maxima emisního spektra se nazývá **Stokesův posun** *Obrázek 8*. Tento důležitý parametr může poskytnout informace o excitovaném stavu. Například, když je dipólový moment fluoreskující molekuly vyšší než v základním stavu, Stokesův posun zvyšuje polaritu rozpouštědla. S důsledky tohoto jevu se musí počítat při odhadu polarity fluorescenčních sond [6][7][8].

### 2.3.3 Hlavní pravidla fluorescence

Fluorescence se řídí několika pravidly. Prvním z nich je **Stokesův posun**, který říká, že vlnová délka emise fluorescence při fotoluminiscenci je vždy větší nebo rovna vlnové délce excitačního záření ( $\lambda_{em} \leq \lambda_{ex}$ ). V praxi to tedy znamená, že dochází ke ztrátě energie excitačního záření, což má za následek snížení energie emitovaného záření, tedy zvýšení jeho vlnové délky.

Druhým pravidlem je **Kashovo pravidlo**, podle něhož dochází před emisí fluorescenčního kvanta k relaxaci vibrační energie a vnitřní konverzi, takže nastává fluorescenční přechod z nejnižší vibrační hladiny prvního excitovaného stavu  $S_1$ . Důvodem je, že energetický rozdíl mezi vyššími excitovanými stavy a stavem  $S_1$  je malý, nezářivé přeměny z těchto stavů do základního stavu probíhají velmi rychle.

Třetím principem je **Vavilův zákon**, který tvrdí, že kvantový výtěžek a doba života excitovaného stavu složitých molekul v roztoku nezávisí na vlnové délce budícího záření. Z toho vyplývá obecná vlastnost fluorescence a to, že emisní spektra jsou nezávislá na vlnové délce excitace [6][7][8].

### 2.3.4 Zhášení

Kromě unimolekulárních deaktivčních procesů, jako jsou emise nebo nezářivá deaktivace, existují také neméně důležité bimolekulární zhášecí procesy, které zahrnují přenos energie z jedné molekuly na druhou. Takovýto proces se obecně označuje jako zhášení. Zhášení je však velmi široký termín, který zahrnuje procesy odehrávající se různými mechanismy, jejich základní princip lze vystihnout následujícím schématem:



kde  $M^*$  vyjadřuje excitovaný stav molekuly,  $M$  základní stav molekuly a  $Q$  je zhášeč. Pokud je  $Q$  stejná molekula jako  $M$ , proces se nazývá samozhášení.

Hlavní fotofyzikální procesy, které jsou zodpovědné za zhášení fluorescence, jsou kolize s atomem těžkého kovu, přenos elektronu, protonu nebo energie, a také tvorba excimeru nebo exciplexu [6][7][8].

### 2.3.5 Excimery

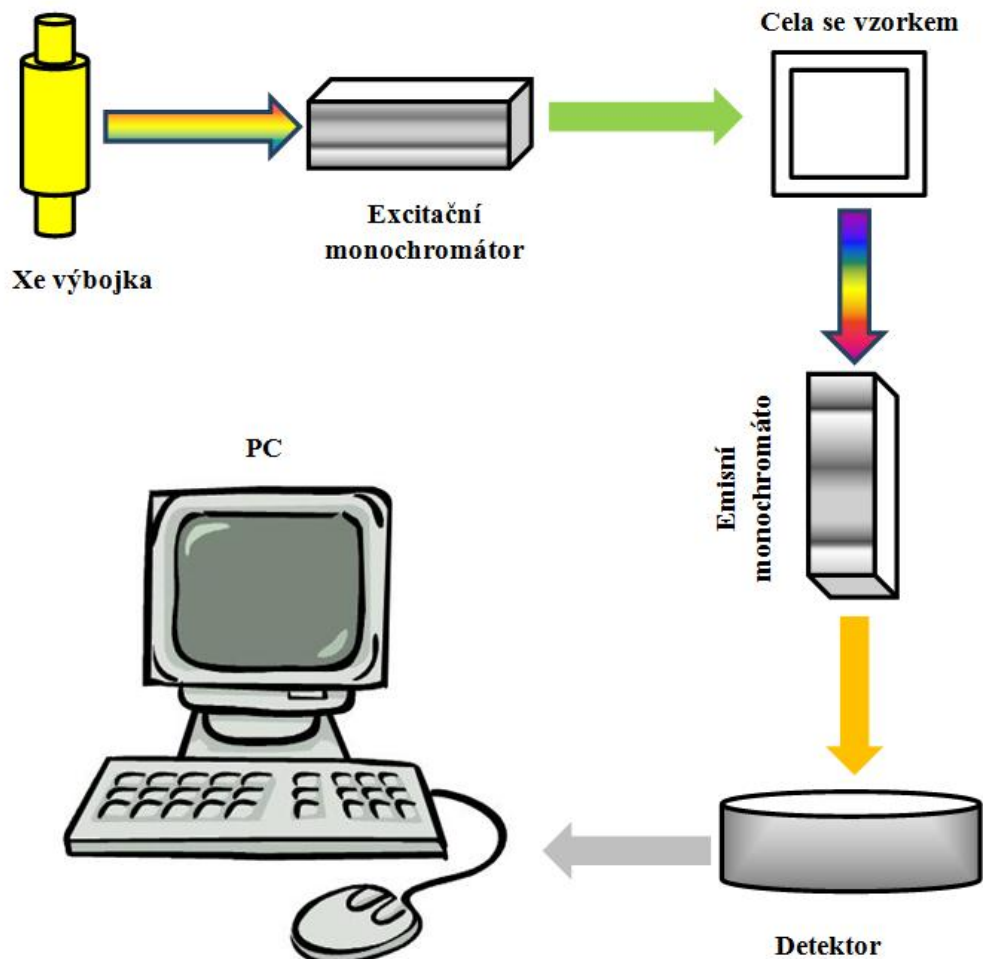
V mnoha případech dochází k tomu, že zvýšení koncentrace látky je doprovázeno snížením kvantového výtěžku fluorescence. Je to způsobeno tím, že dochází k vytvoření stechiometrických komplexů molekul, z nichž jedna je v základním a druhá v excitovaném stavu. Tento komplex je nazýván excitovaný dimer tzv. excimer. V takovémto případě plní funkci zhášeče  $Q$  samotná molekula fluoreskující látky  $M$ , a tudíž se jedná o samozhášení. Excimer je v emisním spektru charakterizován vlastním emisním pásem, který se objevuje při vyšších vlnových délkách než pás monomeru a postrádá jakoukoliv vibrační strukturu, jelikož slabé vazebné energie komplexu dovolují rozdílnou orientaci i konformaci molekul. Jedná se tedy o bimolekulární zhášecí proces, protože k poklesu fluorescence monomeru dochází za nárůstu fluorescence excimeru [6][7][8].



### 2.3.6 Instrumentace

Na **Obrázek 9** lze vidět schéma znázorňující hlavní komponenty spektrofluorimetru. Zařízení tohoto typu mají několik hlavních součástí. První z těchto součástí je zdroj světla, kterým je většinou xenonová výbojka. Xenonové výbojky mají široké použití díky tomu, že dosahují vysoké intenzity záření při širokém rozsahu vlnových délek začínajících již při 250 nm. Záření vycházející z výbojky pak prochází další součástí přístroje a to excitačním monochromátorem, který vymezuje konkrétní vlnovou délku excitačního záření, která poté dopadá na vzorek. Vzorek je pak nejčastěji umístěn v držáku kyvety, která se v přístroji nachází na rohu pravého úhlu, který svírají oba monochromátory. Záření emitované vzorkem není monochromatické a proto je jako třetí součástí emisní monochromátor, který vymezuje vlnovou délku záření, které následně dopadá na detektor, jenž je tedy poslední hlavní součástí. Výstupem měření je pak fluorescenční spektrum a to buď emisní, excitační, případně synchronní.

V ideálním případě by měly mít hlavní součásti spektrofluorimetru následující vlastnosti: lampa by měla vyzařovat konstantní počet fotonů při všech vlnových délkách, fotony by měli procházet monochromátory při všech vlnových délkách bez ztráty energie a detektor by měl detekovat fotony všech vlnových délek se stejnou účinností.



**Obrázek 9:** Schéma spektrofluorimetru

## 2.4 Dynamický rozptyl světla

Metoda dynamického rozptylu světla (dále jen jako DLS), nazývaná také jako fotonová korelační spektroskopie je široce používaná metoda sloužící ke stanovení velikosti koloidních částic. Výsledné hodnoty velikostí částic jsou pak málo rozdílné od hodnot získaných z měření na elektronovém mikroskopu. Nesrovnalosti ve výsledných velikostech částic jsou potom přisuzovány např. rozdílu v hydrodynamickém poloměru, jenž je ovlivněn solvatačním obalem, naadsorbovanou vrstvou na částicích a skutečným poloměrem. Pokud se jedná o polydisperzní systém, pak musíme vzít do úvahy i pohyb částic rozdílných velikostí, výsledkem je pak složitější průběh korelační funkce.

Průměrná velikost koloidních částic získaná touto metodou je vážena podle páté mocniny (tzv. Z-average), tudíž dojde k nadhodnocení velkých částic a to i do takové míry, že dojde ke ztrátě malých částic ve vysoké intenzitě rozptýleného záření od velkých částic.

### 2.4.1 Princip DLS

Principem metody dynamického rozptylu světla je měření fluktuací intenzity rozptýleného záření molekulami nebo částicemi, v čase. Při rozptylu světla na molekule dojde k rozptýlení části dopadajícího záření. Pokud by se jednalo o stacionární molekulu, množství rozptýleného záření by pak bylo konstantní, ale vzhledem k faktu, že všechny molekuly v roztocích difundují Brownovým pohybem vzhledem k detektoru, dochází ke vzniku interferencí (pozitivních i negativních), které způsobí změnu intenzity.

Se vzrůstající rychlostí difuze molekul roste i rychleji změna v intenzitě rozptýleného záření. Rychlost změn je pak tedy závislá na rychlosti pohybu molekuly. Difúze může být ovlivněna těmito faktory:

- Teplota – se vzrůstající teplotou roste i pohyb molekul.
- Viskozita rozpouštědla – se vzrůstající viskozitou klesá pohyb molekul.
- Velikost molekul – se vzrůstající velikostí klesá pohyb molekul.

Pokud je teplota konstantní a známe-li rozpouštědlo, změna intenzity rozptýleného záření je přímo úměrná k velikosti molekuly. Tato velikost molekuly se nazývá hydrodynamický poloměr  $R_h$ . Hydrodynamický poloměr, je poloměr koule, jejíž hydrodynamické chování je za dané teploty v daném rozpouštědle stejné jako chování pozorované molekuly.

Fluktuace intenzity rozptýleného záření je závislá na velikosti molekuly. Její okamžitou hodnotu v čase  $t$  pro monodisperzní systém popisuje tzv. autokorelační funkce  $g(t)$ , která je definována následujícím vztahem:

$$g(t) = \exp\left(\frac{-t}{t_c}\right), \quad (7)$$

kde  $t_c$  je relaxační čas. Relaxační čas je charakterizován, jako doba potřebná k návratu fluktuace k průměrné hodnotě rozptýleného záření. Pomocí hodnoty relaxačního času lze vypočítat difúzní koeficient  $D$  rozptylujících molekul dle vzorce:

$$t_c = \frac{1}{Dq^2}, \quad (8)$$

kde  $q$  je rozptylový vektor, jenž je funkcí vlnové délky dopadajícího záření, indexu lomu disperzního média  $n$  a úhlu  $\theta$ , pod kterým je intenzita rozptýleného záření měřena:

$$q = \left(\frac{4\pi n}{\lambda}\right) \sin \frac{\theta}{2}. \quad (9)$$

Difúzní koeficient lze převést na velikost částic pomocí Stokesovy-Einsteinovy rovnice:

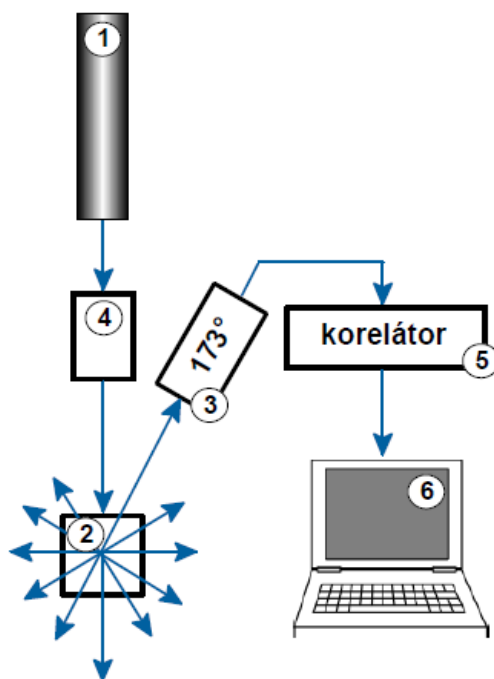
$$R_h = \frac{kT}{6\pi\eta D}, \quad (10)$$

kde  $D$  je translační difúzní koeficient,  $k$  je Boltzmannova konstanta,  $T$  je termodynamická teplota a  $\eta$  je viskozita disperzního prostředí [9][10][11].

#### 2.4.2 Měření velikosti částic na DLS

Měření velikosti částic na DLS vyžaduje také měření Brownova pohybu, které je uvedeno do vztahu s velikostí částic. Brownovým pohybem dochází k tomu, že malé částice se pohybují rychleji a velké částice naopak pomaleji. Měření vlastního Brownova pohybu se provádí ozářením částic laserem a analýzou fluktuací intenzity v rozptýleném světle. Výsledkem měření je pak dle softwarového nastavení např. distribuce velikosti částic podle intenzity. Intenzita je pak udávána v procentech a vyjadřuje, jaká část intenzity dopadajícího záření je rozptýlována.

Typická instrumentace pro DLS systém se skládá ze šesti hlavních součástí, viz **Obrázek 10**. Jako zdroj záření pro rozptyl se používá laser (1), ten dopadá na vzorek uvnitř cely (2). Většina paprsků laseru projde skrz vzorek, ale malá část je rozptýlena do prostoru. Detektor (3) se používá pro měření intenzity rozptýleného záření, v našem případě je detektor nastaven na detekci zpětného rozptylu a je tedy umístěn do polohy v úhlu  $173^\circ$ .



**Obrázek 10:** Schéma zařízení Zetasizer Nano pro měření velikosti částic [12]

Detektor je poté schopen měřit intenzitu rozptýleného záření v určitém rozsahu, pokud by byla intenzita příliš vysoká, mohlo by dojít k jeho přetížení. Z tohoto důvodu je další součástí zeslabovač (attenuator) (4), který snižuje intenzitu laseru a tím tedy i intenzitu rozptylu. Signál z detektoru následně prochází do korelátoru (5), který srovnává intenzitu rozptylu v několika po sobě jdoucích časových intervalech, aby vyhodnotil, s jakou rychlostí se mění

intenzita rozptylu. Poslední součástí je pak počítač (6), ve kterém jsou pomocí softwaru analyzována data [12].

## 2.5 Aerosoly

Kolem nás se nachází různé mikroskopické částice: prach, uvolněné částice půdy, kouř z automobilů, fotochemicky zformované částice, částice solí u oceánů a atmosférické mraky kapiček vody nebo ledu. Tyto částice se velmi liší nejen v jejich vlivu na okolí (viditelnost, klima apod.), ale i vlivu na naše zdraví.

Nejčastěji je aerosol popisován v jeho nejjednodušší formě a to jako pevné nebo kapalné částice rozptýlené ve vzduchu. Jedná se tedy o dvousložkový systém sestávající z částic a plynu, ve kterém jsou rozptýleny. Takovýto aerosol má mnoho forem jako je: prach, kouř, mlha, opar, mraky a smog. Slovo aerosol pak bylo zavedeno jako analog v roce 1920 k termínu hydrosol, stabilní kapalná suspenze pevných částic. Vzhledem k faktu, že aerosoly lze definovat dle jejich formy a vzniku a není tedy striktní vědecká klasifikace, můžeme tedy klasifikovat aerosoly následujícím způsobem [13]:

**Aerosol**, suspenze pevných nebo kapalných částic v plynu. Aerosoly jsou obvykle stabilní alespoň několik sekund a v některých případech si mohou udržet formu i několik let. Termín aerosol pak zahrnuje jak částice, tak i plyn, kterým je obvykle vzduch. Velikost částice je v rozsahu 0,002–100  $\mu\text{m}$  a více.

**Bioaerosol**, aerosol biologického původu. Bioaerosoly zahrnují viry, některé organismy jako jsou bakterie a houby, a produkty organismů jako jsou výtrusy a pyl.

**Mrak**, viditelný aerosol s definovanými rozměry.

**Prach**, pevné částice zformované mechanickým rozpadem mateřského materiálu, jako je drcení nebo obroušování. Velikost částic je v rozsahu od 0,01–100  $\mu\text{m}$  a je velmi nepravidelné.

**Dým**, pevné částice zformované kondenzací par plynných produktů spalování. Velikost částic je většinou menší než 0,05  $\mu\text{m}$  a i takto velké částice jsou vzniklé klastrováním.

**Opar**, atmosférický aerosol ovlivňující viditelnost.

**Mlha**, aerosol kapalných částic formovaný kondenzací nebo atomizací. Částice jsou sférické a velikostní rozsah je od 0,01–200  $\mu\text{m}$ .

**Smog**, aerosol vzniklý v atmosféře fotochemickou reakcí slunečního záření, uhlovodíků a oxidů dusíku. Velikost částic je obvykle menší než 1 nebo 2  $\mu\text{m}$ .

**Kouř**, viditelný aerosol vzniklý nedokonalým spalováním. Částice mohou být kapalné nebo pevné, velikost je obvykle menší než 1  $\mu\text{m}$  a částice mohou aglomerovat podobně jako částice dýmu.

**Sprej**, kapičky aerosolu zformované mechanickým rozpadem kapaliny. Velikost částic je větší než několik mikrometrů.

### 2.5.1 Velikost částic

V předešlé části jsme mohli vidět, že existuje mnoho druhů aerosolů různých původů, vlastností a velikostí. Velikost částic je velmi důležitým parametrem pro charakterizaci chování aerosolů, vzhledem k faktu, že mnoho vlastností je právě ovlivněno velikostí částic např. optická hustota. Měřítkem ve velikostech částice je mikrometr ( $\mu\text{m}$ ) nebo starší mikron ( $\mu$ ), což je  $10^{-6}$  m,  $10^{-3}$  mm, ten už ale není akceptovaný jako SI jednotka. Jako velikost částice je většinou uváděn její průměr.

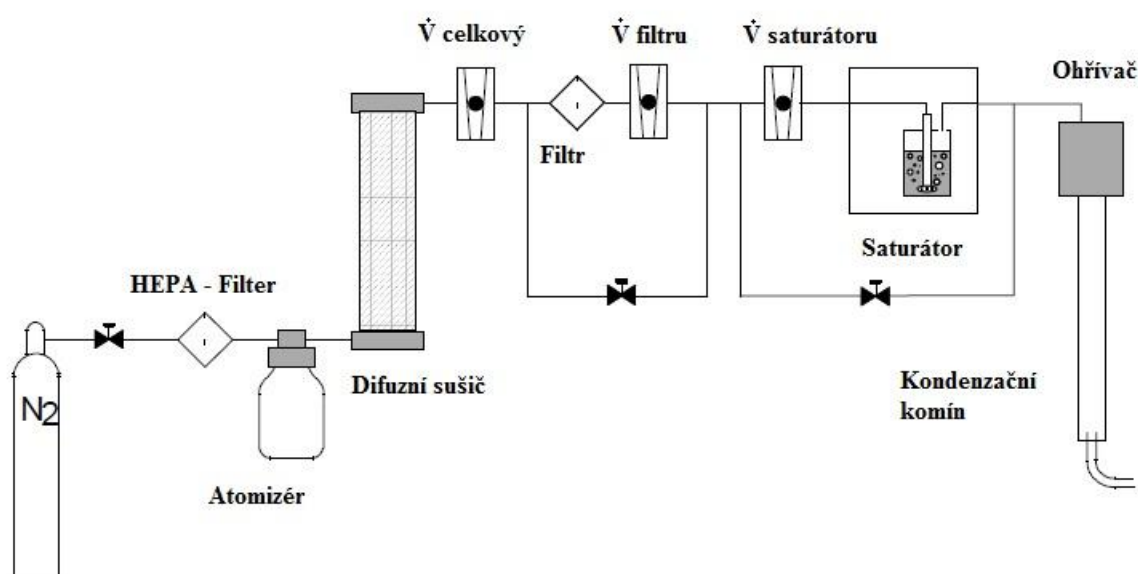
Dále se můžeme setkat s pojmem velmi jemné částice (ultrafine particles), které mají velikost kolem 100 nm (0,001–0,1  $\mu\text{m}$ ) a mají některé vlastnosti molekul. Pro částice menší jak 50 nm se používá označení nanočástice. Částice větší jak 10  $\mu\text{m}$  mají pouze limitovanou

stabilitu v atmosféře, ale i přes tento fakt hrají důležitou roli, jako zdroj částic, jimiž je člověk vystaven při práci, vzhledem k jeho blízkosti ke zdroji částic. Největší aerosolové částice jsou viditelná zrna, která mají vlastnosti popsatelné Newtonskou fyzikou. Z těchto důvodů je důležité pro výpočty depozic znát velikost částic, která bude v případě této práce ovlivněna způsobem generace částic a jejich zdrojovým materiálem [13].

## 2.5.2 Generace aerosolových částic

Z dostupných informací tedy vidíme, že generované částice mohou být kapalné i pevné. Pro jejich generaci se však užívá různých metod a v této sekci si uvedeme dvě metody, které byly níže použity pro generaci fluorescenčních částic.

Generace **kapalných** částic byla provedena pomocí kondenzačního generátoru monodisperzního aerosolu (CMAG 3475 TSI, dále jako CMAG), jehož schéma lze vidět na **Obrázek 11**.



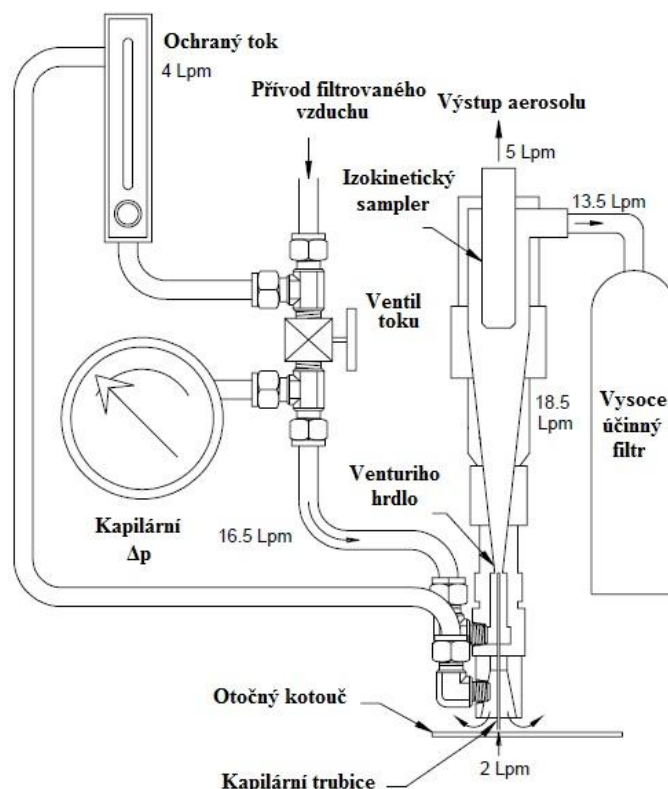
**Obrázek 11:** Blokové schéma generátoru aerosolových částic (CMAG)[14]

Vlastní generace aerosolu začíná vložením zásobního roztoku do atomizéru, odkud je následně roztok rozprašován pomocí trysky pro vytvoření kapiček o velikosti 1–3  $\mu\text{m}$ . Ty jsou poté vysušeny v difuzním sušiči a dojde k vytvoření krystalických jader o velikosti 10–100 nm, velikost závisí na koncentraci použitého roztoku. Takto vytvořená jádra prochází přes filtrační oblast, kde může být koncentrace jader snížena před jejich použitím jako kondenzačních jader. Výsledná koncentrace částic je pak přibližně stejná, jako koncentrace jader a může být tedy upravena pomocí toku přes filtr v rámci mezí heterogenního kondenzačního procesu. Po průchodu jader filtrem vstupují do saturátoru a jsou zde probublávány přes aerosol-tvorný materiál, v našem případě se jedná o DEHS, při konstantní teplotě. Koncentrace par v bublinách je úměrná nastavenému tlaku a teplotě. Velikost aerosolových částic je pak odvislá od koncentrace par na jednotlivé jádro. Před vlastním vznikem aerosolových částic však prochází směs par a jader do ohřivače aby bylo docíleno, že nedojde ke kondenzaci mimo kondenzační komín. Po vstupu směsi do kondenzačního komínu dojde k ochlazení směsi v laminárním proudění čímž je dosaženo přesycení, které způsobí kondenzaci par na jádrech. Je doporučeno nechat generátor v provozu po určitou dobu a

zkontrolovat velikost vzniklých částic pro možné upravení nastavení. Tímto způsobem je možné generovat částice přibližně o velikostech 0,1–8  $\mu\text{m}$  [14].

Aerosoly však nejsou pouze složené z kapalných částic a lze tedy generovat i pevné aerosolové částice a to pomocí práškového rozprašovače (small-scale powder disperser SSPD 3433 TSI, dále jen SSPD). Celý proces generace pevných částic aerosolu v SSPD začíná nanesením práškové formy částic, které chceme rozprašit. Tyto částice pak musí být jemně nanoseny na kotouč z brusného papíru v co nejrovnoměrnější vrstvě pro stejnoměrnou generaci částic. Prášek je pak za provozu odsán pomocí kapilární trubice, jejíž dolní konec je umístěn těsně nad povrchem kotouče a horní konec je napojen na venturiho trubici. Vzrůstem rychlosti toku vzduchu skrz venturiho trubici dojde k vytvoření nízkého tlaku a následného nasátí částic. Ve venturiho trubici dochází k deaglomeraci částic proudem vzduchu procházejícím přes venturiho trubici díky smykovým silám. Smykové síly jsou vytvořeny mezi rychle proudícím vzduchem a pomalu proudícím tokem částic z kapilární trubice. Tento proud také slouží jako ochranný proud (sheath flow) kolem proudu částic a tím dochází k menším ztrátám částic, které by se mohly usadit na stěny.

Výsledkem generace jsou zředěné deaglomerované aerosolové částice. Z metody generace lze vidět, že velikost jader nezávisí na vlastnostech generátoru ale vlastnostech použitého výchozího materiálu, generátor pak zvládne generaci částic v rozsahu průměrů 0,5–30  $\mu\text{m}$  [15]. I v tomto případě je vhodné zkontrolovat velikost částice pomocí APS.



**Obrázek 12:** Schéma vnitřního uspořádání generátoru aerosolových částic SSPD [15], kde  $\text{Lpm}$  je  $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$

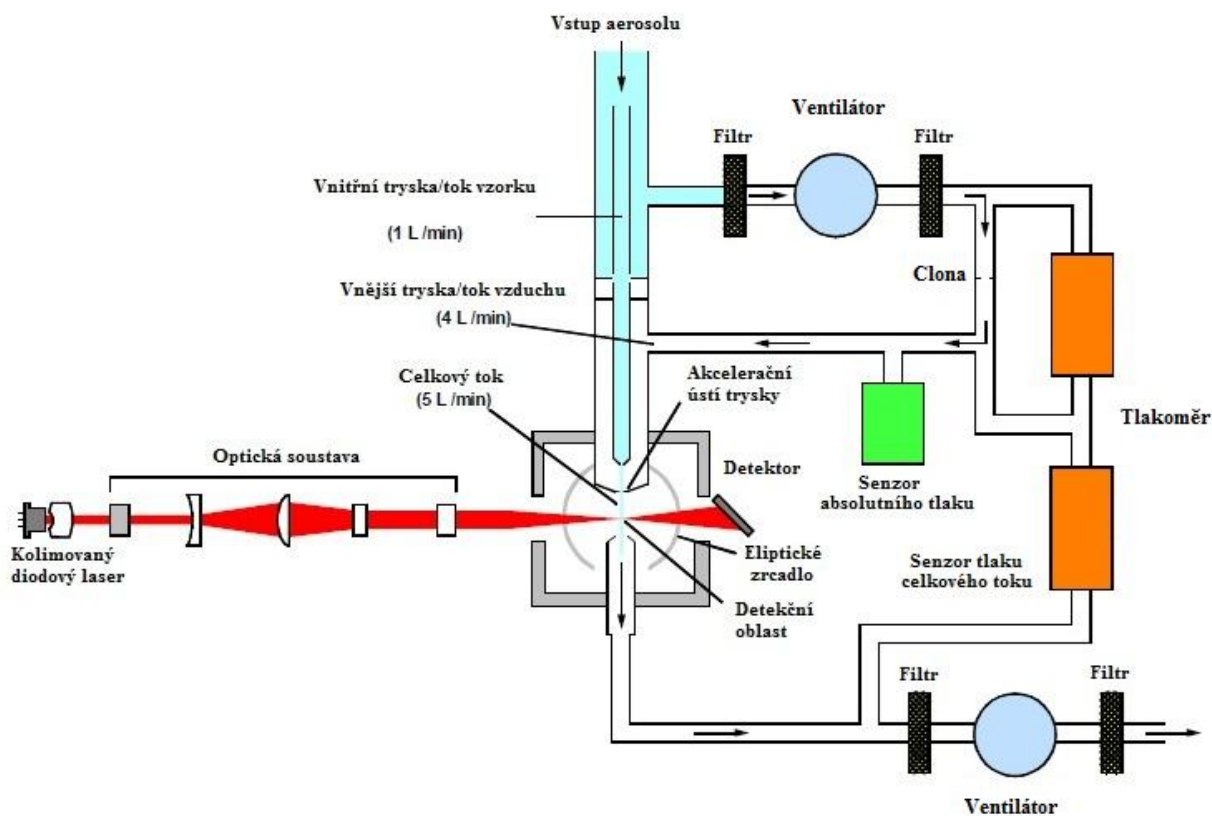
### 2.5.3 Měření velikosti částic

Jak bylo výše uvedeno pro výpočty depozice, je důležité znát velikost částic. Vzhledem k dostupným metodám byl použit aerodynamický spektrometr částic (APS 3321 TSI dále

uváděn jako APS). Výstupní hodnotou APS je pak aerodynamický průměr, jedná se o průměr, který by měla ekvivalentní sférická částice s hustotou  $1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$  ( $1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) a stejné usazovací rychlosti jako měřená částice [13].

Měření na APS je založená na měření doby letu částice (time of flight) pomocí akcelerace aerosolových částic, které je provedeno akcelerací toku částic přes trysku. Zrychlení částice je nepřímo úměrné její velikosti, větší částice mají větší setrvačnost a proto dosahují nižšího zrychlení. Při průchodu částice tryskou je zaznamenán čas průchodu mezi dvěma laserovými paprsky a je převeden na aerodynamický průměr dle kalibrační křivky. Použité lasery se pomocí optické soustavy překrývají a dochází tak ke vzniku jednoho kontinuálního signálu při průchodu částice paprskem. Takto vzniklý signál pak má dvě maxima, částice s jedním maximem (phantom particles) nebo více než dvěma maximy (koncidenční chyba, coincidence error) nejsou počítány do výpočtů distribuce velikostí částic.

Výsledkem je velmi přesná početní distribuce, která je téměř neovlivněna pozadím a šumem pro výpočet hmotnostní distribuce. Zároveň je prováděno měření rozptýleného záření na částicích pro doplňující informace o koncidenzi. Při měření je nasávaný aerosol rozdělen na vzorek (sample flow) a ochranný tok vzduchu bránící usazení částic (sheath flow), z něhož jsou pomocí filtrů odstraněny částice. Sheath flow procházející filtry je měřen pomocí clony, kde se využívá známé závislosti tlakové ztráty při průchodu clonou na průtoku, měří se tedy tlaková ztráta na cloně, která je přepočtena na průtok. Pomocí sheath flow jsou částice umístěny ve středu proudového toku vzniklého průchodem přes trysku. Poté jsou měřeny rychlosti částic v detekční oblasti, kde jsou detekovány pomocí polarizovaných laserů, jeden horizontálně a druhý vertikálně polarizovaný, a detektoru. Schéma APS je vyobrazeno na **Obrázek 13**. Výstupem je pak početní nebo hmotnostní rozložení velikostí částic [16].



**Obrázek 13:** Schéma aerodynamického spektrometru částic (APS 3321 TSI)[16]

## 2.6 Současný stav řešené problematiky

Výzkum léků a nosičových systémů se vyvíjel několika fázemi a to od botanické fáze na počátcích lidské civilizace, přes syntetickou chemii v polovině 20 století až po moderní éru biotechnologií v 21. století [17]. Velký důraz je kladen zejména na cílené nosiče léčiv a na vymezení jejich nejdůležitějších vlastností jako jsou biokompatibilita, biodegradabilita, schopnost interagovat na specificky cíleném místě. Další sledovanou vlastností při vývoji léčiv je to, aby během degradace léčiva nevnikaly toxické látky pro organismus, které by naopak mohly případný stav zhoršit, nebo by mohlo dojít k jejich ukládání [18].

Jednou z možných cest jak dopravit léčiva do lidského organismu je oronasální podání. Tato léčiva pak mají formu aerosolu, který proniká do dýchacích cest. Dnes se můžeme běžně setkat s použitím inhalace bronchodilatačních látek při astmatu, nebo antibiotik pro léčbu lokálních infekcí dýchacích cest. Podání léku aerosolovou formou je zajímavé i z pohledu vstřebání dané látky, pokud by pronikl aerosol až k alveolárnímu epitelu, jenž poskytuje velkou plochu a je silně prokrvený, došlo by k okamžitému vstřebání účinné látky. Při některých lokálních onemocněních plic je pak důležité dopravit účinnou látku právě na postižené místo, a tedy dosáhnou cílené dodávky léčiva (*targeted drug delivery*). Dosažení cíleného podání léčiva má pak za následek snížení nákladů při použití drahých léčiv a nižší zátěže pro organismus, vzhledem k snížení vysoké dávky léčiva. Z tohoto důvodu je výzkum transportu a depozice aerosolu předmětem zájmu již mnoho let [17][18].

Jednou z mnohých aerosol-tvárných látek je DEHS, který se používá při vývoji cílených léčiv pro dýchací cesty jako modelový aerosol. Je tak tomu díky faktu, že není toxický a dokáže vytvářet unimolekulární vrstvu, což je velmi příznivé pro experimentální stanovení depozice aerosolových částic [1][2][14]. A tudíž byly nashromážděny poznatky, které jsou v následujících odstavcích.

**Stephen M. Bowes III a David L. Swift** [2] se zabývali usazováním částic v orálním dýchacím ústrojí během oronasálního dýchání. DEHS v tomto případě byl použit jako obal pro fluorescenční jádro, kterým byl uranin (fluorescein sodný). Tato kombinace sloužila jako náhrada za použití radioaktivních látek. Vytvořený aerosol pak byl dobrovolníky přímo vdechován přes náustek a následně vydechován za simulace těžkého a lehkého cvičení. Aerosol pak byl zachycen na filtru a byla stanovena míra depozice částic. Jedním ze stěžejních výsledků bylo stanovení míry ztráty aerosolu v ústní dutině. Výsledkem bylo, že k většímu usazování částic dochází se zvětšením velikosti částic. Ke snížení depozice při těžkém cvičení oproti lehčímu dochází díky tomu, že organismus potřebuje více kyslíku a tudíž jsou otevírána ústa pro lepší nasávání vzduchu.

**K. D. Horton a spol.** [19] zkoumali nově představený kondenzační typ aerosolového generátoru MAGE (monodisperze aerosol generator), jehož výrobcem je Lavoro e Ambiente srl. Princip tohoto generátoru je založen na evaporaci DEHS a jeho kondenzaci na jádrech fluorescenční látky (zvolená látka však nemusí být fluorescenčního charakteru). MAGE jim tedy dovoľoval velmi rychle vytvořit monodisperzní aerosol o velikostech částic kolem 0,1  $\mu\text{m}$  a větších než 2  $\mu\text{m}$ , aerosoly těchto parametrů nejsou snadno reprodukovatelné jinými metodami. A dále došli k závěru, že tento typ generátoru aerosolových částic je též vhodný pro aerosolové částice, které jsou tvořeny sodnou solí fluoresceinu, neboli uraninem (jádro) a DEHS (obal) díky vzniku dostatečně detekovatelné fluorescence jádra.

**B. Grgic a spol.** [20] studovali usazování aerosolových částic DEHS a jejich proudění v replice idealizovaných úst a krku. Studie byla prováděna pro oblast úst a krku hlavně



z důvodu, že většina léků podávaných pro léčbu dýchacího ústrojí prochází přes ústa a krk nikoliv nos. Umělý model pak byl zvolen kvůli nákladnosti, komplexnosti experimentů prováděných in vivo vykazujících velmi rozdílná data u různých subjektů. Tento model zachovával geometrii úst a krku. Princip generace aerosolu byl stejný jako u MAGE. Výsledkem jejich práce bylo zjištění, že rychlost proudění i velikost částic značně ovlivňují depozici částic. K depozici částic pak docházelo v laryngální oblasti a v horních průdušnicích. Dále bylo zjištěno, že sevření nosohltanu a hlasivek je klíčový faktor, který ovlivňuje následné proudění, a tedy i depozici.

**P. Mikuška a Z. Večeřa** [21] zkoumali nový typ aerosolového kolektoru pro kontinuální odběr vzorků atmosférických částic, tedy kolektor používající dvě protiproudé trysky a kapalinu ke kontinuální analýze aerosolových částic (ACTJU), DEHS byl pak použit jako modelový aerosol. Měření depozice a chemického složení aerosolu v atmosféře je obvykle prováděno sběrem aerosolu na filtrech či tělech s následnou analýzou získaných částic. Tento postup sice zaznamenává data v průběhu času, ale dochází také ke vzniku nepřesností. Částice nasbírané na filtrech se totiž mohou vypařit během sběru, nebo může dojít k absorpci plynů. Filtry se dále musí promývat a časem dochází také k akumulaci vodou nerozpustných látek popřípadě i k desintegraci filtrů samotných. Desintegrace filtrů by pak mohla způsobit zachytávání vláken z filtrů v přístrojích.

ACTJU používá membránové pumpy k nasávání vzduchu do kolektoru z nerezové oceli. V tomto kolektoru je nasátý vzduch veden přes Venturiho trysky do kolizní komory. Uvnitř Venturiho trysek je kapilára z nerezové oceli vedoucí kapalinu (deionizovanou vodu). V kolizní komoře pak srážkou kapiček kapaliny a aerosolu dojde k zachycení aerosolu a tato směs je dále vedena do cyklony, ve které dojde k oddělení vzduchu a kapaliny. Výsledkem potom je, že ACJU je velmi vhodný aparát pro analýzu aerosolových částic při kontinuálním nastavením díky tomu, že má vysokou účinnost sběru částic, malý mrtvý objem a jednoduchou údržbu.

**Kerstin Lahnstein a spol.** [22] studovali plicní absorpci aerosolu fluorescenčních sond, jako modelu léčiva v izolovaných plicích králíka. Jako hlavní model léčiva byl použit 5(6)-carboxyfluorescein (CF). Depozice aerosolu DEHS pak závisela na proudění aerosolových částic, velikosti částic a frekvenci dýchání. Plicní absorpce byla ovlivňována různými fyzikálně-chemickými a biologickými faktory, včetně velikosti molekul, pH roztoku léčiva a lipofily. CF tedy byla experimentálně vyhodnocena, jako nejlepší model léčiv díky rychlé, vysoké a reprodukovatelné absorpci, stabilní koncentraci v perfúzátu, která je nezávislá na tlaku v plicích, cévním prosakování či edému.

**František Lízal a spol.** [23] se zaměřují na výzkum přepravy a depozice aerosolu v modelu do 7 generace větvení dýchacích cest člověka. Pro výzkum byly použity dva modely. První z tenkovrstvého průhledného silikonu umožňující měření rychlosti a velikosti částic za pomoci fázově dopplerovského anemometru (PDA). Druhý model je pak určen pro měření depozice částic **Obrázek 14**. Výsledky PDA měření jsou ty, že intenzita fluktuací rychlosti je vyšší při výdechu vzhledem k směšování proudění vzduchu z dceřiných větví, a dále bylo také prokázáno, že rychlostní profily jsou velmi závislé na geometrii ale méně závislé na režimu dýchání.



**Obrázek 14:** Model plic do 7 generace větvení[23]

Ke stanovení depozice byl použit zprvu DEHS (obal) a fluorescein (jádro) a poté bylo použito NaCl místo fluoresceinu. Depozice aerosolu byla měřena pro různé velikosti částic a pro různé průtoky. Stanovení bylo provedeno pomocí luminiscenční spektrofotometrie. K vysoké depozici částic pak došlo u částí 13 až 22, což mohlo být také způsobeno tím, že plocha těchto částí je větší a poslední části také obsahují více bifurkací. Dalším důvodem může být, že jsou zmíněné části vyrobeny z jiného materiálu než zbytek modelu, aby se předešlo této možnosti při dalších experimentech, byl vyroben celý model ze stejného materiálu.

Abychom mohli vyhodnotit depozici aerosolových částic, je nutné nalézt metodu, která nám dovolí detekovat částice a kvantifikovat jejich koncentraci. Jedním z možných postupů je použití koncentračního čítače částic (CPC), nebo znalosti poměru prošlého aerosolu přes blank a model.

**Kuo-Hsi Cheng, a spol** [24] studovali depozici velmi jemných částic (0,004–0,15  $\mu\text{m}$ ). Částice 0,004–0,02  $\mu\text{m}$  byly generovány ze stříbrné vlny (Sigma-Aldrich) pomocí kondenzační metody a částice o velikosti 0,15  $\mu\text{m}$  byly z polystyren-latexových částic (Duke Scientific), které byly generovány Retec X-70 nebulizérem. Koncentrace aerosolu před a po

experimentu byla měřena pomocí kondenzačního čítače částic (CPC 3040 TSI). Exponováni byli dobrovolníci, představující průměrnou populaci a záznam z usazených částic byl pořízen pomocí magnetické rezonance (MRI) a akustické rhinometrie (AR). Výsledné depozice pro částice menší jak  $0,15 \mu\text{m}$  se velmi lišily a to až o 60 %, částice o velikosti  $0,15 \mu\text{m}$  pak měli odchylky pod 10 %. Z výsledných dat pak byly sestaveny matematické modely pro nádech a výdech. Studie tedy poskytuje nejen matematický model ale i informaci o rozdílech subjektů, které by měli být zahrnuty při přípravě léčiv.

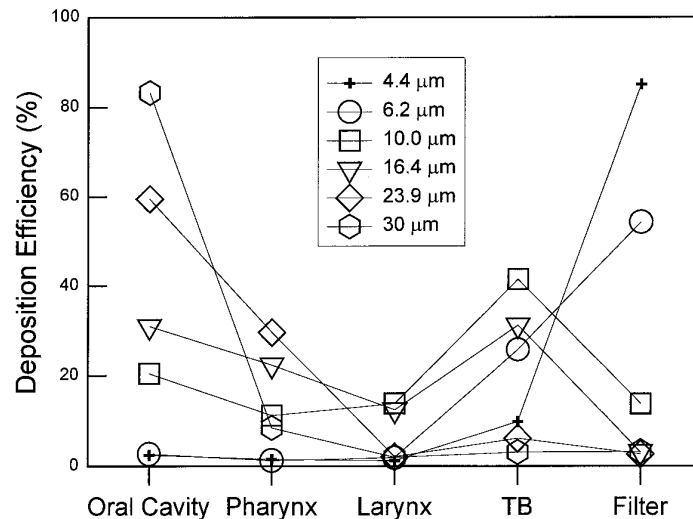
**J. Storey-Bishoff a spol.** [25] zkoumali depozici mikročástic v nosních dýchacích cestách nemluvňat. Nejprve byly provedeny tomografické skeny (CT) nemluvňat, z jejich dat byly vyhotoveny repliky. Model byl poté vyroben z akrylového plastu pomocí 3-D tiskárny (Invision SR 3-D printer from 3D Systems, Rock Hill, SC). Pro depozici byly použity částice o průměrech  $0,8\text{--}5,3 \mu\text{m}$  a byly generovány ze slunečnicového oleje pomocí kolizního nebulizéru (BGI, Inc. Waltham, MA), použitý průtok byl  $30 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ . Pomocí elektronického nízkotlakového impaktoru (Dekati Ltd., Tampere, Finland) byla získána průměrná koncentrace částic. Po zpracování dat bylo zjištěno, že i přes podobnou geometrii nosních cest jsou individuální detaily dostatečně účinné na to, aby se výsledné depozice znatelně lišily. Výsledná matematická rovnice popisující depozici byla více závislá na objemu cest než na jejich povrchu. Během práce byl vytvořen model nosních cest nemluvňat, který je možné použít pro studii depozic aerosolů.

Dalším postupem je využití fluorescenční spektroskopie, pro měření intenzity luminiscence aerosolových částic. V následujících článcích byly použity hotové fluorescenční částice pro experimentální určení depozice, a spojení těchto výsledků s matematickými modely.

**Yung-Sung Cheng a spol.** [26] se zaměřily na studii depozice aerosolů v lidském dýchacím ústrojí. Cílem bylo zkoumat vliv velikosti částic a rychlosti dýchání na depozici částic. Během této studie byl vytvořen model plic, který obsahoval reálnou ústní dutinu vytvořenou z dentálního otisku dobrovolníka. Celkový model se skládal z ústní dutiny, oropharynx (ústní část hltanu), hrtanu, průdušnice a tří generací větvení průdušek. Model byl vytvořen z Dow-E silikonové pryže, jež byla ošetřena elektricky vodivou složkou pryže (KE-4576 GemTech), pro minimalizaci elektrostatické depozice. Pro měření průtoku byl použit termoanemometr se žhaveným vláknem. Následně byla provedena depozice modelu fluorescenčně značenými částicemi  $0,93\text{--}30 \mu\text{m}$  (Polysciences, Interfacial Dynamics a Duke scientific), částice pod  $5 \mu\text{m}$  byly generovány pomocí SSPD (3433 TSI) a částice nad  $5 \mu\text{m}$  byly generovány pomocí Respiraguard II (Marquest Medical Products). Po depozici modelu byly modely nařezány na části a částice byly extrahovány acetonem a následně byla změřena intenzita fluorescence na fluorescenčním spektrometru (Hitachi, Danbury, CT). Po vyhodnocení dat byla nalezena rovnice popisující depoziční mechanismus:

$$\eta = 1 - \exp(-2,24aStk), \quad (11)$$

kde  $a = 6,66 \pm 0,418$ . Výsledky depozic lze vidět na **Obrázek 15**.



**Obrázek 15:** Depoziční frakce v různých částech modelu [27], kde deposition efficiency je depoziční účinnost, oral cavity je ústní dutina, pharynx je hltan, larynx je hrtan, TB jsou průdušnice a filter jsou filtry

Tímto byl získán model plic, který může být použit pro výzkum depozice aerosolů, farmaceutický výzkum a výzkum pracovních rizik. Model pak reprezentuje částečně otevřená ústa, do kterých lze zasunout trubici o průměru 1,5–2 cm.

**Zhou Y. a spol** [27] studovali vliv velikosti částic a rychlost dýchání na depozici částic v dýchacích cestách. Jejich model zahrnoval ústní dutinu, hrtan, průdušnici a tři generace větvení průdušek. Model byl vyroben z Dow-E silikonové pryže, částice 0,93–30 μm pak byly fluorescenčně značeny (Polysciences, Interfacial Dynamics a Duke scientific). Výsledky jejich studia ukázaly, že depozice se zvyšovala se zvyšujícím se průtokem a velikostí částic. Data byla také ve shodě s již předešlými výsledky Balashazy [28][29].

**Zhou Y. a spol** [30] studovali depozici částic v tracheobronchiálních dýchacích cestách, za účelem výzkumu, pro inhalační podání léčiv a zamezení rizika inhalace škodlivých látek. Při výzkumu depozice byl použit model plic, který byl vyvinut již během jejich práce [27]. Nově je pak segment rozdělen do více oblastí (36) pro zpřesnění lokálních depozic částic. Použité částice byly fluorescenčně značeny a byly v rozmezí velikostí 0,93–30 μm (Polysciences, Interfacial Dynamics a Duke scientific). Částice pak byly vyhodnoceny stejným způsobem, jako je popsáno v článku [27]. Depozice v tracheální části pak byla závislá na toku, který byl turbulentní. Depozice v horní bronchiální části byly nejvyšší na bifurkacích a shodovali se s výsledky od Chan and Lippmann [31]. Na základě empirických dat byl vytvořen matematický model pro další studie depozice aerosolů.

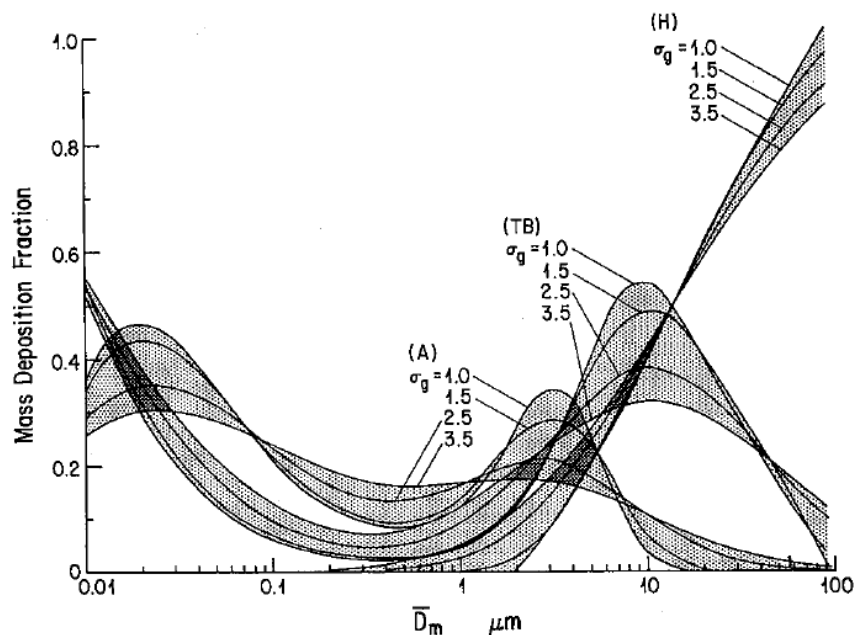
Čistě matematický přístup pro hodnocení chování a depozice aerosolových částic v dýchacím ústrojí byl použit v následující práci

**Zhang Z. a spol** [32] se zaměřili na vývoj a studii modelu od úst po tracheu pro porozumění filtračního efektu v hltanu a hrtanu, pomocí matematických programů. Jejich model obsahoval měkké patro, silný ohyb a hladkou trubkovou stěnu vedoucí k průdušnici a byl ověřen pomocí experimentálních údajů. Zkoumány byly rychlostní rozložení, distribuce částic, trajektorie částic a jejich depozice. Pomocí matematického programu, ve kterém byly zahrnuty složky rychlosti, tlaku a turbulence, které byly umístěny na těžištích kontrolních objemů, byly vyřešeny proudové rovnice. Pomocí stejného programu byly vyřešeny i

transportní rovnice. Při pozorování rychlostního rozložení v modelu bylo zjištěno, že v napojení hrtanu na průdušnici (štěrbina mezi hlasivkami) dochází k velkému nárůstu rychlosti. Po průchodu štěrbinou mezi hlasivkami, také dochází k velké změně v distribuci částic vlivem vysoké turbulence. Při pozorování trajektorie a depozice částic pak bylo zjištěno, že částice uvolněné kolem horní nebo dolní části vstupní roviny se snadněji usazují na zakřiveném ústním povrchu dýchacích cest. Výsledky simulací pak ukazují na to, že proudění částic je laminárně- přechodně-turbulentní.

Zkoumané aerosoly, však byly monodisperzního charakteru. Aerosolové částice v našem okolí jsou ale polydisperzního charakteru a jejich chování se může lišit od striktně monodisperzních částice. Této problematice se věnují následující odstavce.

**C.K. Diu a spol** [33] zkoumali polydisperzní aerosol vzhledem k faktu, že kolem nás se nenachází monodisperzní částice, ale jedná se o polydisperzní částice a z tohoto hlediska je dobré studovat jejich depozici. U málo koncentrovaných aerosolů lze počítat depozici jako součet depozic jednotlivých velikostních frakcí o různých koncentracích. Díky tomuto faktu byl upraven stávající matematický model pro depozici monodisperzních aerosolů. Během práce bylo zjištěno, že pro částice velikostí 0,04–2,0  $\mu\text{m}$  dochází ke zvýšení depoziční účinnosti, díky vlivu Brownova pohybu a turbulence, setrvačnosti a gravitační sedimentaci (average mobility effect). Avšak pokud je velikost částic menší než 0,04  $\mu\text{m}$ , nebo vyšší než 2,0  $\mu\text{m}$  dochází k reverzní situaci a celková depoziční účinnost se snižuje vlivem nižších depozičních účinností jednotlivých frakcí (deposition limitation effect). Pro částice větší než 6  $\mu\text{m}$  pak dochází ke snížení depoziční frakce také díky sekvenčnímu filtračnímu efektu (sequential filtration effect), tato fakta byla také potvrzena během práce C. S. Kim[34]. Vliv polydisperuity na depoziční frakci při dýchání ústy lze vidět na **Obrázek 16**. Rozdíly mezi depozicí monodisperzních a polydisperzních aerosolů jsou také více závislé na hmotnostním mediánu průměru (MMD).



**Obrázek 16:** Regionální hmotnostní depoziční frakce pro dýchání ústy[33], kde mass deposition fraction je hmotnostní depoziční frakce a  $D_m$  je průměr částic

**J. A. Rosati a spol** [35] se zabývali výzkumem depozice polydisperzních aerosolů. Během této práce byl vyvinut inhalační systém pro měření depozice polydisperzních částic. Polydisperzní aerosol měl rozložení velikostí částic 0,015–15,4  $\mu\text{m}$ , veškerá měření částic proběhla na aerodynamickém spektrometru částic (APS 3310 TSI) s elektrostatickým klasifikátorem (model 3071 TSI) a kondenzačním čítačem částic (CPC 3022 TSI). Data depozic byla také porovnána mezi monodisperzními částicemi a úzkému oddílu z polydisperzních částic o průměru 3  $\mu\text{m}$  a geometrickou standardní odchylkou 2,0. Srovnání proběhlo při nízkých a vysokých depozičních úrovních. Výsledná data měli velmi malé odchylky a což je způsobeno vybráním pouze malého oddílu polydisperzního aerosolu.

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Použité chemikálie

DEHS (bis(2-ethylhexyl)dekandioát)	Fluka GmbH, CAS: 122-62-3, čistota 97 %, šarže 0001392821
Isopropylalkohol (IPA)	Lachner s.r.o., CAS: 67-63-0, čistota 99,9 %, šarže 30703
Chlorid sodný (NaCl)	Penta, CAS: 7674-15-5, Čistota 99,9%, šarže 1611281111
Fluorescein sodný	Sigma-Aldrich, CAS: 518-52-8, Čistota 99,9%. Šarže 0001440598
Kumarin 6	Sigma-Aldrich, CAS: 38215-36-0, Čistota 98%, šarže 442631-16
Dihydrát riboflavinu 5-monofosfátu sodného	Sigma-Aldrich, CAS: 6184-17-4, Čistota 95%, šarže 118k1140
Silikonový olej	Dow Corning, CAS: 63148-62-9, Čistota 99%, šarže 0005978136
Fluorescenčně značené částice 3 μm	Duke Scientific, ozn. Green-fluorescing polymer microspheres, šarže 33625
Fluorescenčně značené částice 1 μm	Duke Scientific, ozn. FluoroMAX, šarže 35413
Fluorescenčně značené částice 7 μm	Duke Scientific, ozn. Red-fluorescing polymer microspheres, šarže 34204

### 3.2 DEHS

#### 3.2.1 Charakterizace DEHS v různých prostředích

Jedná se o doplnění chování DEHS v různých prostředích, která nebyla uskutečněna během bakalářské práce [3]. Pro každý roztok bylo ve vialkách rozpuštěno 0,1 ml DEHS v 4,9 ml příslušného prostředí. Takto byla připravena sada pro DEHS v H<sub>2</sub>O, DMSO, NaOH a ve vodných roztocích močoviny. Zvolená koncentrace NaOH byla 0,1 mol l<sup>-1</sup>. Koncentrace močoviny pak byla v rozmezí 1–10 mol l<sup>-1</sup> s krokem 1 mol l<sup>-1</sup>. Veškeré vzorky byly míchány po dobu 24 h. Následně byla detekována luminiscence na luminiscenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon.

#### 3.2.2 Hustota, viskozita a index lomu DEHS

Vzorky degradovaného a nedegradovaného DEHS byly proměřeny při laboratorní teplotě 25 °C na hustoměru Anton Paar DMA 4500 Density meter, kuličkovém viskozimetru Anton Paar Amwn a refraktometru.

#### 3.2.3 Dynamický rozptyl světla

Měření proběhlo na přístroji DLS Zetasizer Nano společnosti Malvern Instruments při laboratorní teplotě 25 °C. Pro DEHS a jeho roztoky v IPA o koncentracích: 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-7</sup>, a 10<sup>-9</sup>. Jako disperzní prostředí byl nastaven IPA a jako disperzní částice byl nastaven DEHS. Za pomoci této techniky byla zjištěna polydisperzita roztoku a rozmezí velikostí částic. Údaje o viskozitě a indexu lomu byly získány v rámci řešení části 3.2.2.

### 3.2.4 Časově rozlišená fluorescence DEHS

Pomocí časově rozlišeného fluorescenčního spektrometru Fluorocube HORIBA Jobin Yvon byl zhotoven záznam vyhasínání fluorescence pro nedegradovaný a degradovaný DEHS a jeho roztoky v IPA o koncentracích: 1,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$  a  $10^{-9}$  g·l<sup>-1</sup>. Nastavení pro roztoky bylo dle kapitoly 3.4.2 následující: časový rozsah TAC 50 μs, frekvence vyslaných pulzů 25 KHz, a α byla udržována pod 2 % kvůli intenzitě dopadajícího emisního záření. Nastavení pro DEHS s filtrem i bez filtru bylo následující: časový rozsah TAC 100 ns, frekvence vyslaných pulzů 1 MHz, Coaxial delay 95 ns, Synchronous delay 15 ns, a α byla udržována pod 2 %. Cut-off filtr byl zvolen žlutý 400 nm.

### 3.2.5 Koncentrační řada DEHS

Byly vytvořeny kalibrační řady pro zjištění koncentrace usazených částic v modelu plic. Tyto kalibrační řady byly vytvořeny v širokém řádovém rozpětí a mají sloužit jako orientační řady, s jejichž pomocí by šlo dále přesněji určit koncentraci částic po depozici. Pro zhotovení kalibrační řady byl připraven zásobní roztok DEHS v IPA o koncentraci 1 g·l<sup>-1</sup> a objemu 100 ml, zásobní roztok byl míchán 48 h. Dále byly připraveny ředěním vzorky v koncentračním rozmezí 1 až  $10^{-10}$  g·l<sup>-1</sup> a byly míchány po dobu 24 h. Koncentrační řady byly několikrát opakovány pro upřesnění. Následně byly provedeny emisní skeny na fluorescenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon s nastavením: emisní sken v rozmezí 300-600 nm, bandpass 5 nm a emisní a excitační polarizátory byly nastaveny tak, aby svíraly úhel 90°.

## 3.3 Depozice

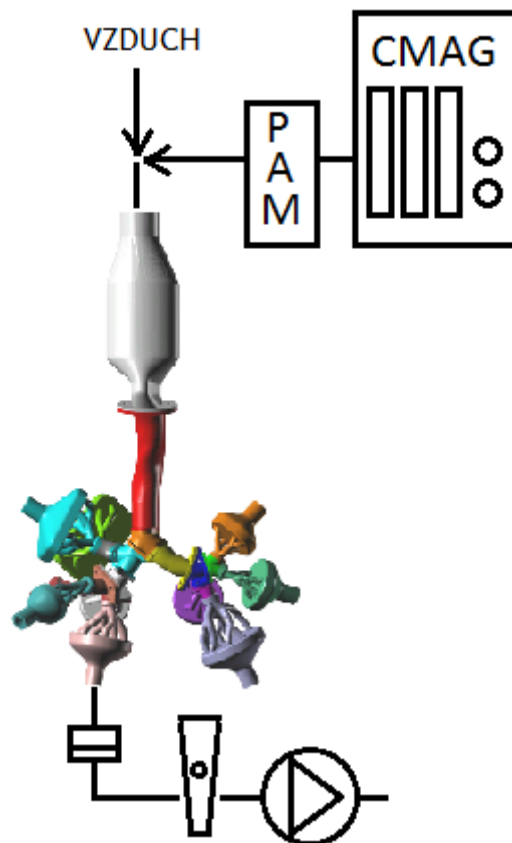
Depozice aerosolových částic probíhala na Fakultě strojního inženýrství VUT v Brně a to na realistickém modelu plic, který byl vyvinut v rámci výzkumu transportu a depozice aerosolových částic. Vlastní realistický model plic se skládá z 32 částí modelu samotného a 13 filtračních držáků s filtry. Na **Obrázek 17** lze vidět realistický model použitý během této práce, čísla 1 až 22 jsou označeny příslušné části modelu.

Pro generaci aerosolových jader pomocí CMAG bylo použito následující zapojení, které je schematicky znázorněno na **Obrázek 18**. Generátor byl připojen k procesnímu monitoru aerosolu (PAM 3375 TSI), pro on-line kontrolu koncentrace a velikostí částic. V případě zapojení SSPD jako generátoru aerosolových částic nebyl připojen SSPD k PAM, vzhledem k způsobu generace. PAM byl poté připojen k směšovači aerosolu a vzduchu, díky nutnosti přísávání vzduchu pro dosažení průtoku 30 l·min<sup>-1</sup>. Na směšovač byl dále napojen model, ke kterému byly připojeny filtry na segmentech 13–22. Jako poslední byla k filtrům napojena olejová rotační vývěva. Sestavení experimentálního zapojení bylo v souladu s **F. Lízal** [40].





*Obrázek 17: Realistický model s označením segmentů [36]*



*Obrázek 18: Schématické zapojení pro generaci aerosolu[40]*

### 3.3.1 DEHS-fluoresceinové částice

Nejprve byl připraven zásobní roztok fluoresceinu sodného o koncentraci  $0,3 \text{ g l}^{-1}$  fluoresceinu sodného a koncentraci  $0,02 \text{ g l}^{-1}$  NaCl dle článku P. Mikušky [21]. Z připraveného zásobního roztoku pak bylo odebráno cca  $60 \text{ cm}^{-3}$  do atomizéru, který byl následně uzavřen a do saturátoru bylo dodáno příslušné množství DEHS.

Dále byl připojen model plic k aerosolovému generátoru CMAG. Na generátoru byl nastaven průtok dusíku na  $5 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ , saturační tok na  $4,5 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ , teplota saturátoru byla nastavena na  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  a teplota ohříváče (reheater) byla nastavena na  $230 \text{ }^\circ\text{C}$ . Následně byla zapnuta vývěva s nastaveným průtokem  $30 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$  a PAM pro provozní kontrolu velikosti částic. Doba depozice modelu byla 10 min. Experiment byl opakován třikrát pro výpočet možných odchylek. Sestavu model-generátor lze vidět na **Obrázek 44** v příloze.

Po skončení experimentu byl po vypnutí vývěvy a generátoru odpojen model plic. Deponovaný model byl rozložen na části a ty byly následně sonifikovány po dobu 15 min v příslušném množství  $\text{H}_2\text{O}$ , čímž byl extrahován fluorescein. Stejným způsobem byla provedena extrakce u filtrů. Po získání roztoků byl odebrán vzorek pro každou část modelu i filtrů pro změření luminiscence na fluorescenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon.

### 3.3.2 Kalibrační řada

Byla připravena kalibrační řada fluoresceinu sodného pro vyhodnocení depozice aerosolu v modelu plic. Pro zhotovení kalibrační řady byly vytvořeny zásobní roztoky fluoresceinu sodného o koncentracích  $1 \cdot 10^{-1} \text{ g l}^{-1}$ ,  $1 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$ ,  $1 \cdot 10^{-5} \text{ g l}^{-1}$  a  $1 \cdot 10^{-7} \text{ g l}^{-1}$ , následně byla ředěním zásobních roztoků připravena kalibrační řada v rozmezí  $5 \cdot 10^{-3}$  až  $1 \cdot 10^{-9} \text{ g l}^{-1}$ . Kalibrační řada byla třikrát opakována pro upřesnění možných odchylek. Měření byla prováděna na fluorescenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon.

### 3.3.3 APS DEHS-fluoresceinových částic

Velikost a rozložení aerosolových částic vytvořených pomocí generátoru CMAG bylo proměřeno na aerodynamickém spektrometru částic APS. Po experimentu byl pořízen záznam početního a hmotnostního rozložení částic.

### 3.3.4 Značené částice

Značené částice od firmy Duke scientific by mohli být použity pro generaci aerosolu pomocí SSPD, avšak prvním krokem je potvrzení excitačních a emisních maxim pro dodané částice o velikostech 1,3 a  $7 \text{ } \mu\text{m}$ , vzhledem k faktu, že výrobce neudává použité fluorescenční barvivo. Částice byly rozpuštěny v acetonu pro extrakci fluorescenčního barviva a pro aceton nejsou uvedena excitační ani emisní maxima.

1 a  $3 \text{ } \mu\text{m}$  částice byly dodány ve formě suspenze a  $7 \text{ } \mu\text{m}$  částice byly ve formě jemného prášku. Pro charakterizaci luminiscenčních vlastností částic bylo odebráno:  $10 \text{ } \mu\text{l}$   $1 \text{ } \mu\text{m}$  částic,  $5 \text{ } \mu\text{l}$   $3 \text{ } \mu\text{m}$  částic a  $10 \text{ } \mu\text{g}$   $7 \text{ } \mu\text{m}$  částic, které pak byly rozpuštěny v  $5 \text{ ml}$  acetonu. Zhotovené vzorky byly míchány po dobu 2 h. Charakterizace luminiscenčních vlastností byla provedena na fluorescenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon.

Po charakterizaci částic byl proveden experiment s  $7 \text{ } \mu\text{m}$  částicemi, které byly generovány pomocí SSPD. Generované částice pak byly analyzovány pomocí aerodynamického spektrometru částic APS.

### 3.3.5 Nahrazení částic

Při řešení části 3.3.4 došlo ke komplikacím, které jsou popsány v sekci 4.2.3. Možnému řešení se pak věnuje tato sekce, ve které jsou použity dostupná fluorescenční barviva jako zdroj aerosolových částic pro generaci částic za použití SSPD. Fluorescenční barviva byla postupně umístěna na brusný kotouč, který byl zasunut do SSPD. Následně byl otevřen přívod vzduchu a nastavena regulace tlaku na 20 psi (138 kPa), dále byl nastaven průtok (sheath flow) na  $4 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$  a kapilární  $\Delta p$  na 162, jedná se o optimální nastavení pro SSPD.

Pro vybrání fluorescenčního barviva s vhodnou distribucí byla proměřena velikostní a hmotnostní rozložení aerosolových částic fluoresceinu, kumarinu 6 a dihydrátu riboflavinu 5-monofosfátu sodného vytvořených pomocí generátoru SSPD na aerodynamickém spektrometru částic APS.

### 3.3.6 Fluoresceinové částice

Byl vybrán fluorescein jako zdroj aerosolových částic pro depozici za použití SSPD, tento fakt je diskutován v sekci 4.2.4. Fluorescein byl nanesen v rovnoměrné vrstvě na brusný kotouč kolem středové části, tak aby dostatečně pokryl povrch kotouče. Následně byl kotouč umístěn do SSPD, a byl připojen model plic, který byl vnitřně povrstven silikonovým olejem pro uchycení částic. Po otevření přívodu vzduchu byla nastavena regulace tlaku na 20 psi (138 kPa), průtok (sheath flow) byl nastaven na  $4 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$  a kapilární  $\Delta p$  na 162. Pro rovnoměrnost odsávání fluoresceinu bylo spuštěno otáčení kotouče. Následně byla zapnuta vývěva s nastaveným průtokem  $30 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$ . Doba depozice modelu byla 30 min. Celý experiment byl proveden třikrát pro výpočet možných odchylek.

Po ukončení experimentu byla vypnuta vývěva a generátor, po jejichž vypnutí byl odpojen model plic. Po depozici byl pořízen obrazový záznam o tzv. hot-spotech. Deponovaný model byl rozložen na části a ty byly následně sonifikovány po dobu 15 min v příslušném množství  $\text{H}_2\text{O}$ , čímž byl extrahován fluorescein. Stejným způsobem byla provedena extrakce u filtrů. Po získání roztoků byl odebrán vzorek pro každou část modelu i filtrů pro změření luminiscence na fluorescenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon.

## 3.4 Metody měření

### 3.4.1 Fluorescence

Ve všech případech měření byly vialky uzavřeny a ponechány protřepávat do příslušné doby. Po uplynutí příslušné doby byly sejmuty vialky z třepačky a bylo provedeno jejich měření na luminiscenčním spektrometru Fluorolog HORIBA Jobin Yvon. Měření bylo vždy prováděno při laboratorní teplotě  $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Stálá teplota byla udržována v místnosti pomocí klimatizace. Některá měření byla prováděna se zapojením polarizátoru pro omezení vlivu lampy. Detailní nastavení jsou popsána u daných měření.

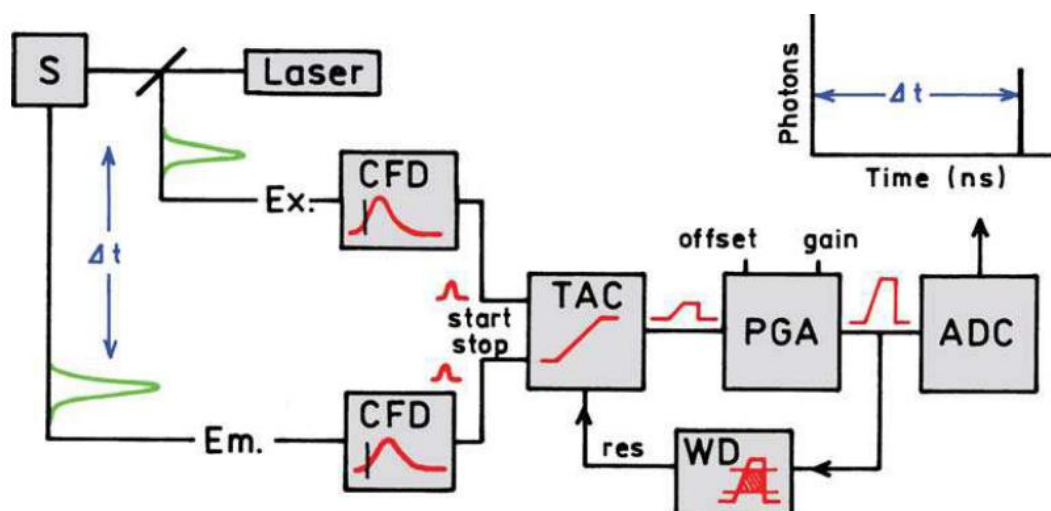
Pro všechna měření byla provedena korekce na UV/VIS spektrometru. Korekce emisních spekter se pak provádí z důvodu vnitřního filtračního efektu, který způsobuje snížení intenzity pozorované fluorescence oproti skutečné intenzitě. Vzhledem k faktu, že tento efekt může zkreslit výsledné údaje, je třeba provést korekci dle následujícího vztahu:

$$F_{cor} = F_{obs} \cdot 10^{0,5(A_{ex} + A_{em})}, \quad (12)$$

kde  $F_{cor}$  je korigovaná intenzita fluorescence,  $F_{obs}$  pozorovaná intenzita fluorescence,  $A_{ex}$  je absorbance při excitační vlnové délce a  $A_{em}$  je absorbance při emisní vlnové délce.

### 3.4.2 Časově rozlišená fluorescence

Při měření časově rozlišené fluorescence dochází k vyslání laserového pulzu, kterým je excitován vzorek a zároveň je vyslán signál do excitačního constant function diskriminátoru (CFD), který zaznamenává čas dopadu excitačního pulzu. Signál následně prochází do time-to-amplitude convertoru (TAC), jenž generuje napětí lineárně rostoucí s časem. V emisním kanálu je pozorován foton, který přijde do emisního CFD, kde se zaznamená čas příchodu fotonu a signál je poslán do TAC, kde dojde k zastavení zvyšování napětí. Na TAC se tímto získá napětí úměrné časovému rozdílu mezi excitačním pulzem a příchodem emitovaného fotonu. Celý proces je opakován neustále dokola a jednotlivé časy jsou zaznamenány do histogramu do skončení měření. Dále může být použit programable gain amplifier (PGA), pro zesílení signálu. Zesílený signál je poté konvertován na numerickou hodnotu pomocí analog-to-digital konvertoru (ADC). Schéma zapojení lze vidět na **Obrázek 19**. Měření byla prováděna na Fluorocube HORIBA Jobin Yvon. Specifická nastavení jsou uvedena u daných měření.



**Obrázek 19:** Schéma pro časově rozlišenou fluorescenci[7]

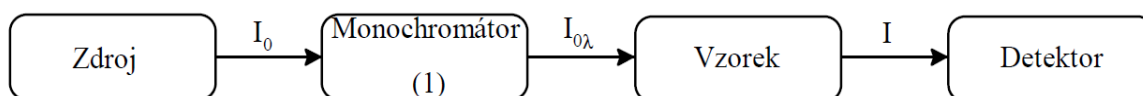
Vyhodnocení dat proběhlo pomocí programu DAS6 Fluorescence Decay Analysis Software od společnosti HORIBA Scientific. Pro analýzu doby života mohou být data proložena 1 až 5 exponenciálními funkcemi, pro které platí obecný vztah:

$$F(t) = A + B_i \exp\left(-\frac{t}{T_i}\right), \quad (13)$$

kde  $t$  představuje čas,  $A$  je fitovací parametr,  $B$  představuje předexponenciální funkci, jenž je spojena s množstvím emitující látky ve vzorku a  $T$  je doba života [37].

### 3.4.3 UV/VIS spektrometrie

UV/VIS spektrometrie slouží pro měření absorpce záření v UV a VIS oblasti světelného spektra. Záznamem z těchto měření jsou pak absorpční spektra příslušných vzorků. Spektrometr se skládá ze zdroje záření, monochromátoru, který zajišťuje monochromaticnost záření (záření o určité vlnové délce), cely pro kyvetu se vzorkem a detektoru. Pomocí detektoru pak dochází k získání záznamu absorpčního spektra vzorku. Typické zapojení jedno-paprskového UV/VIS spektrometru lze vidět na **Obrázek 20**. UV/VIS spektra pak byla použita pro korekci emisních spekter



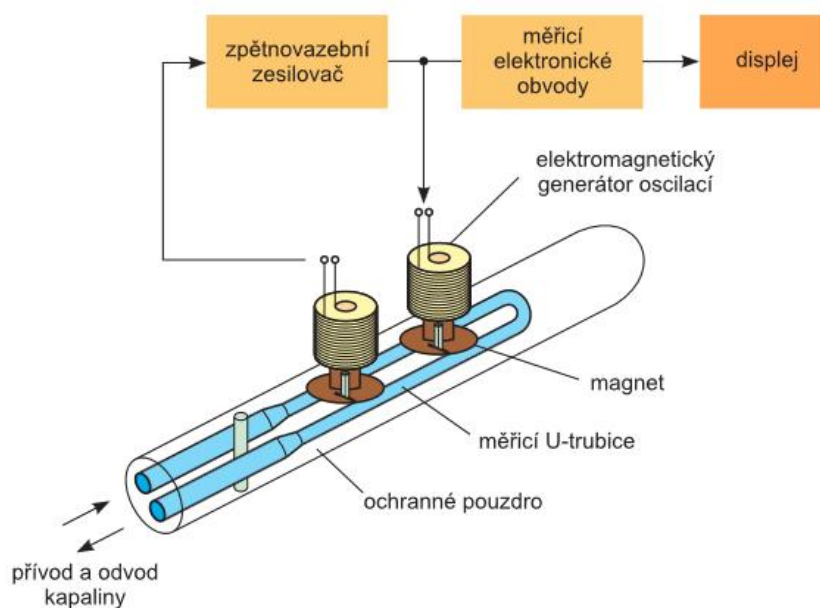
**Obrázek 20:** Schéma UV/VIS spektrometru

### 3.4.4 Hustota

Měření hustoty bylo provedeno na hustoměru Anton Paar DMA 4500 Density meter, jedná se o hustoměr s oscilační U-trubicí, jenž je schopen měřit s vysokou přesností v širokém rozsahu viskozit a teplot. Jedná se o měření rezonanční frekvence  $f$ , pro kterou platí:

$$f = \frac{1}{2\pi} \cdot \left( \frac{k}{m + \rho V} \right), \quad (14)$$

kde  $m$  je hmotnost rezonátoru,  $k$  je součinitel tuhosti materiálu pružiny,  $\rho$  je hustota vzorku a  $V$  je objem vzorku. Vzhledem k neměnnému objemu rezonátoru lze vidět, že rezonanční frekvence je funkcí hustoty. Uspořádání vibračního snímače hustoty s kmitající U-trubicí je schematicky znázorněno na **Obrázek 21**. Trubka s měřenou látkou, která je nejčastěji rozkmitávána elektromagneticky, tvoří rezonanční soustavu elektromechanického oscilátoru, jejíž rezonanční frekvence je ovlivněna hustotou měřené látky.



**Obrázek 21:** Schéma U-trubicového oscilačního hustoměru [38]

Teplota a rezonanční frekvence jsou kontrolovány přes kontrolní jednotku, která je dále převádí do digitální formy. Referenční oscilátor pak zajišťuje stabilitu měření. Teplota je pak měřena pomocí platinových termočlánků [38].

### 3.4.5 Viskozita

Měření viskozity proběhlo na viskozimetru Anton Paar AMWn.

Höpplerův neboli pádový viskozimetr se skládá z trubice o poloměru  $R$  odkloněné o 5 až 10° od svislé polohy, která je naplněna roztokem vzorku, a kuličky o poloměru  $r$ , která klesá roztokem. Po krátké době zrychlení kuličky se její rychlost ustálí. Tento stav značí rovnováhu mezi třecí a gravitační silou. Měří se čas  $t$  pádu kuličky v trubici ve vzdálenosti  $l$  mezi dvěma označenými body. Výpočet viskozity je založen na Stokesově zákonu:

$$F_o = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot v, \quad (15)$$

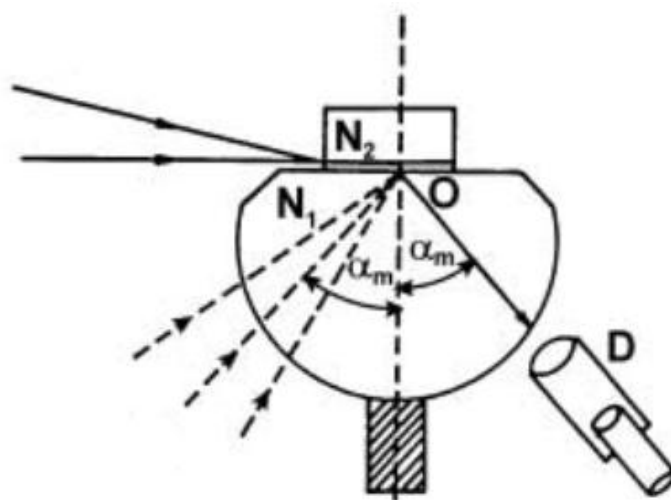
a dá se vypočítat podle vzorce:

$$\eta = \frac{2 \cdot g \cdot r^2 \cdot \Delta\rho \cdot t}{9 \cdot l}, \quad (16)$$

kde  $g$  je gravitační konstanta,  $r$  poloměr kuličky,  $\Delta\rho$  rozdíl hustot kapalin,  $t$  čas pádu kuličky a  $l$  délka dráhy, kterou kulička urazila v době měření. Mezi tzv. pádové viskozimetry se řadí viskozimetr Stokesův či Höpplerův [40]

### 3.4.6 Index lomu

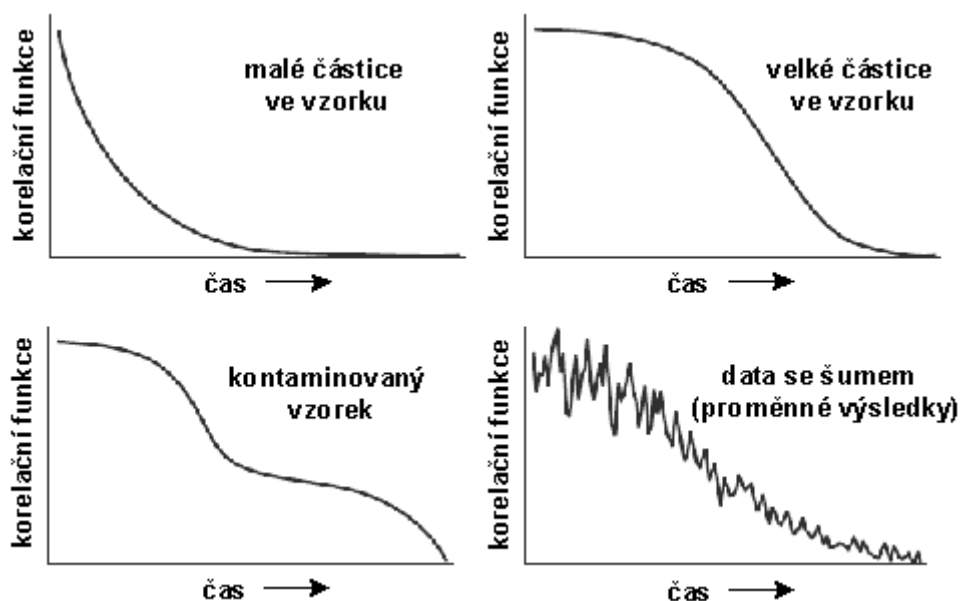
Měření indexu lomu proběhlo na Abbeově polokulovém refraktometru s procházejícím světlem. Měřicí soustava tohoto přístroje je tvořena skleněnou polokoulí ze silně lámavého skla, umístěnou svou rovnou, po okrajích zabroušenou plochou vzhůru. Polokoule je uložena na podstavci otočném kolem svislé osy o nastavitelný úhel. Proti oblé ploše polokoule je umístěn dalekohled  $D$  otočný kolem vodorovné osy procházející středem polokoule  $O$ . Dalekohled je spojen s děleným kruhem, na kterém noniem odečítáme přesně úhel otočení dalekohledu. Nastavením nitkového kříže dalekohledu na rozhraní lze na děleném kruhu odečíst mezní úhel  $\alpha_m$  určující relativní index lomu mezi vzorkem a skleněnou polokoulí refraktometru [39].



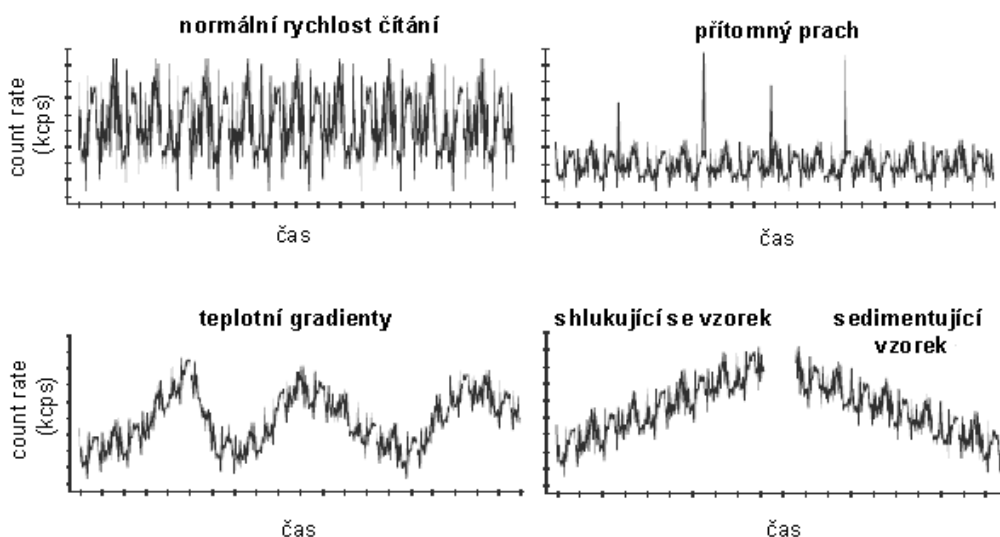
**Obrázek 22:** Schéma Abbeova polokulového refraktometru

### 3.4.7 Dynamický rozptyl světla

Měření pro DLS byla provedena na Zetasizer Nano od Malvern Instruments. U všech vzorků byla měřena distribuce částic v systému. Při měření distribuce byl sledován tvar korelační funkce a počet detekovaných fotonů za sekundu (count rate). Tyto parametry vypovídají o kvalitě vzorku a detekovatelnosti částic. Reprezentativní průběhy lze vidět na **Obrázek 23** a **Obrázek 24**.



**Obrázek 23:** Korelační funkce v závislosti na stavu vzorku[12]



**Obrázek 24:** Count rate v závislosti na stavu vzorku[12]

### 3.4.8 APS

Měření velikostí částic proběhla na aerodynamickém spektrometru částic model 3321 firmy TSI. U všech měřených vzorků byla měřena početní distribuce částic v závislosti na aerodynamickém průměru. U vzorků z CMAG a fluoresceinu sodného SSPD byl proveden i přepočítání na hmotnostní distribuci. Veškeré vzorky byly měřeny při laboratorní teplotě a se zapnutou pumpou pro dávkování aerosolu. Data byla vyhodnocena pomocí softwaru z PC připojeného k APS pro kolekci dat.

Výsledný údaj velikostí částice je medián průměru vážený počtem částic (CMD) pro početní rozložení a medián průměru vážený hmotností částic (MMD) pro hmotnostní rozložení. Četnost částic je pak vypočítána dle distribuční funkce rozdělení četností, jejíž forma je v zápisu pro řádový rozsah:

$$dN = n(\ln d_p) d \ln d_p, \quad (17)$$

kde  $dN$  je počet částic v intervalu od  $d_p$  do  $d_p+dd_p$  a  $d_p$  je průměr částice[16].

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 DEHS

#### 4.1.1 Charakterizace DEHS v různých prostředích

DEHS se rozpustil pouze v DMSO. V ostatních prostředích pak není DEHS rozpustný a vykazuje tedy hydrofobní chování. Díky nerozpuštění DEHS v NaOH a koncentrační řadě močoviny pak nelze s jistotou určit, zda dochází k interakci klastrů a hydroxylových skupin pomocí vodíkové vazby a tím k zvýšení výtěžku fluorescence při interakci IPA a DEHS, nebo stabilizaci klastrů samotných také pomocí vodíkových vazeb.

#### 4.1.2 Hustota, viskozita a index lomu DEHS

Výsledná data z měření hustoty, viskozity indexu lomu pro nedegradovaný a degradovaný DEHS lze vidět v tabulce **Tabulka 1**. Zajímavým faktem je, že degradovaný DEHS má lehce vyšší viskozitu oproti nedegradovanému DEHS. Za předpokladu, že by docházelo k degradaci, ve smyslu rozkladu DEHS, by pak měla být viskozita nižší, čímž lze vidět, že pravděpodobně dochází ke změně ve struktuře DEHS nikoliv k rozkladu. Výsledná data byla použita jako vstupní hodnoty pro měření na DLS

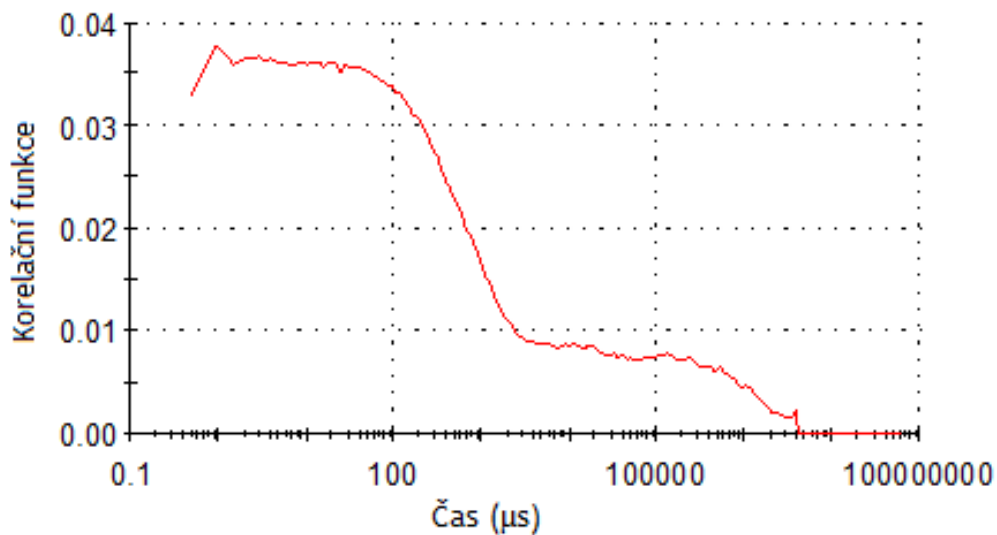
**Tabulka 1:** Souhrnná tabulka dat viskozity, hustoty a indexu lomu pro DEHS

	nedegradovaný DEHS	degradovaný DEHS
Hustota	0,9142 g·cm <sup>-3</sup>	0,9144 g·cm <sup>-3</sup>
Viskozita	18,7124 mPa·s	19,1517 mPa·s
Index lomu	1,448	1,448

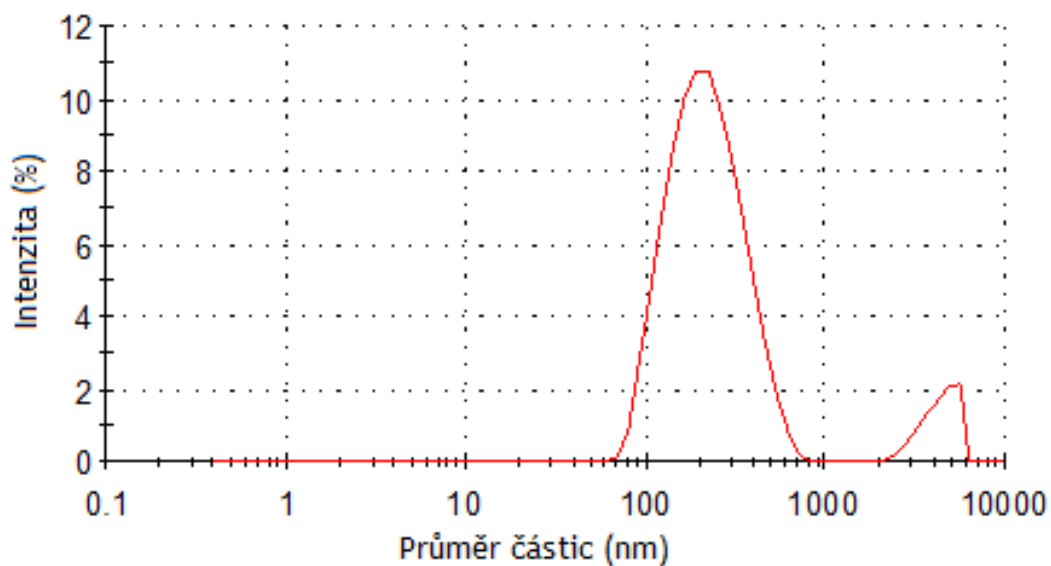
#### 4.1.3 Dynamický rozptyl světla

V grafech na **Obrázek 26** a **Obrázek 28** jsou znázorněny intenzitní distribuce velikostí částic v systému, který obsahuje DEHS o koncentraci 10<sup>-9</sup> g·l<sup>-1</sup> v prostředí IPA. Z grafů korelačních funkcí **Obrázek 25** a **Obrázek 27** je pak patrné, že jejich průběh je více než neideální a to i po filtraci, která by odstranila možné znečištění, což poukazuje na nemožnost správné interpretace dat získaných pomocí dynamického rozptylu světla. Z grafů distribuce velikostí částic lze také vidět, že došlo k razantní změně poměru částic po filtraci, kde nefiltrovaný vzorek vykazoval větší počet částic v širokém rozmezí 100–1000 nm a menší počet částic nad 1000 nm, a po filtraci byl detekován menší podíl částic 100–1000 nm a větší podíl pro částice nad 1000 nm. Pokud bychom mohli označit výsledné údaje za relevantní, pak pro vzorek po filtraci platí, že polydisperzita byla stanovena na 0,904 a rozmezí velikostí částic kolem 110 nm a nad 1000 nm.

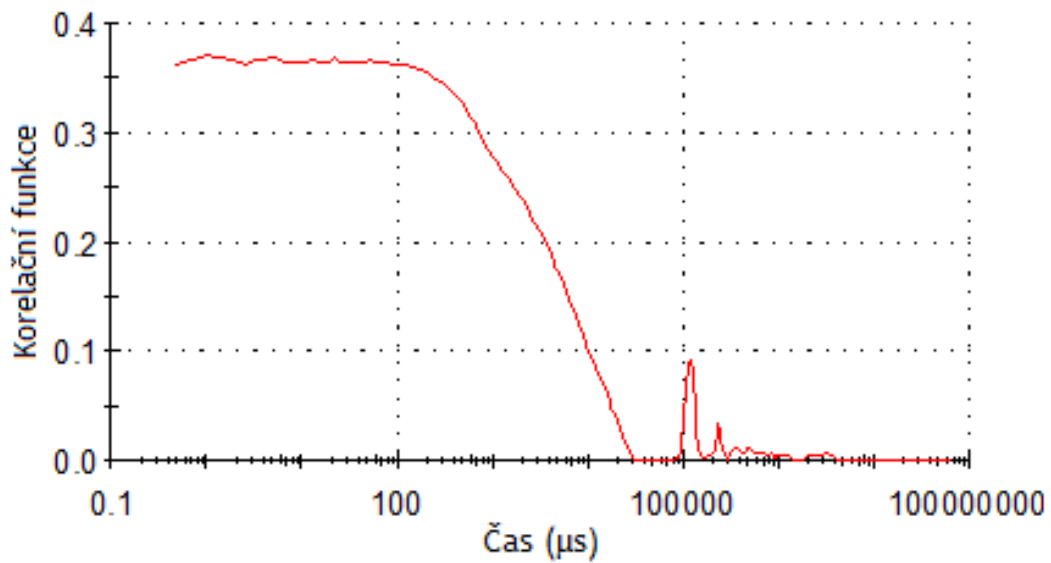




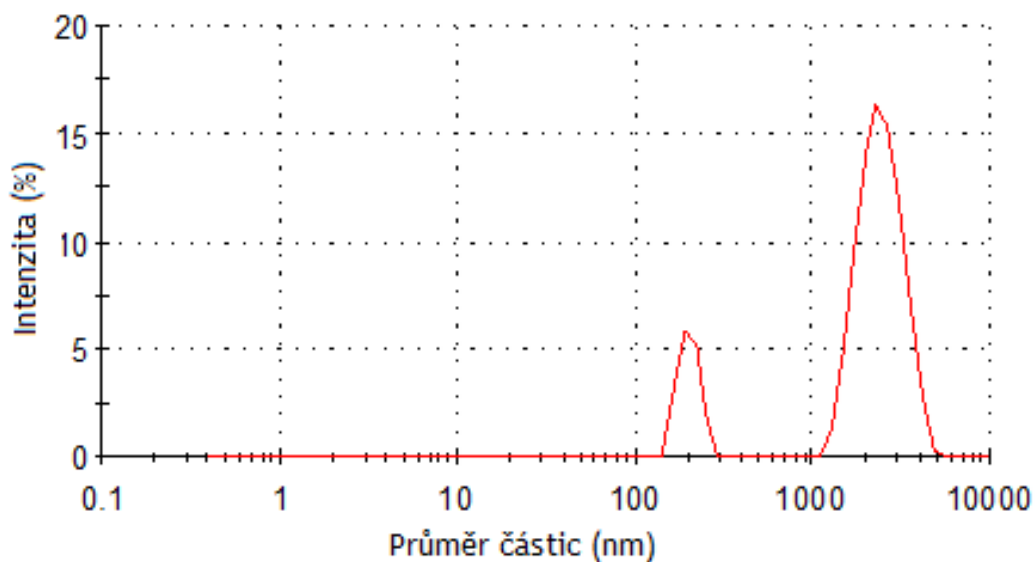
**Obrázek 25:** Záznam korelační funkce v čase pro DEHS v IPA o  $c = 10^{-9} \text{ g l}^{-1}$



**Obrázek 26:** Distribuce velikosti částic v závislosti na rozptýleném světle pro DEHS v IPA o  $c = 10^{-9} \text{ g l}^{-1}$



**Obrázek 27:** Záznam korelační funkce v čase pro filtrovaný DEHS v IPA o  $c = 10^{-9} \text{ g l}^{-1}$



**Obrázek 28:** Distribuce velikosti částic v závislosti na rozptýleném světle pro filtrovaný DEHS v IPA o  $c = 10^{-9} \text{ g l}^{-1}$

#### 4.1.4 Časově rozlišená fluorescence DEHS

Z výsledných dat záznamu vyhasínání fluorescence pro roztoky DEHS v IPA o koncentračním rozmezí  $1-10^{-9} \text{ g l}^{-1}$ , které je možno vidět v souhrnné tabulce dat **Tabulka 2**, je patrné, že existují dvě doby života fluorescence a to  $2 \cdot 10^{-7} \text{ s}$  a  $6 \cdot 10^{-7} \text{ s}$ . Z Hodnot B1 a B2 pak lze vyčíst jejich relativní zastoupení, kde době života vyhasínající fluorescence  $2 \cdot 10^{-7}$  připadá 11 % ze záznamu a času  $6 \cdot 10^{-7}$  připadá 89 %. Pokud vezmeme v potaz údaje z DLS, pak tyto časy mohou připadnout dvou velikostním oddílům (110 nm a 1000 nm), které by pak náležely vzniklým klastrům DEHS v IPA.

**Tabulka 2: Záznam z Fluorocube pro roztoky DEHS v IPA**

	$1 \text{ g}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3} \text{ g}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-5} \text{ g}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-7} \text{ g}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-9} \text{ g}^{-1}$
T1	$1.7338 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$2.0641 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$1.8750 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$1.8592 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$1.6484 \cdot 10^{-7} \text{ s}$
T2	$6.0297 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$6.0681 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$5.7989 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$5.9108 \cdot 10^{-7} \text{ s}$	$5.7408 \cdot 10^{-7} \text{ s}$
B1	0.3594 [11.09 Rel.Ampl]	0.3724 [13.24 Rel.Ampl]	0.3816 [6.87 Rel.Ampl]	0.3606 [12.05 Rel.Ampl]	0.3698 [11.18 Rel.Ampl]
B2	0.8287 [88.91 Rel.Ampl]	0.8299 [86.76 Rel.Ampl]	0.8810 [93.13 Rel.Ampl]	0.8279 [87.95 Rel.Ampl]	0.8434 [88.82 Rel.Ampl]
CHISQ	1.1105	0.7782	1.1572	0.9605	1.1686

Souhrnná data ze záznamů vyhasínání luminiscence pro nedegradovaný a degradovaný DEHS lze nalézt v tabulkách **Tabulka 3** a **Tabulka 5**. Pro nedegradovaný a degradovaný DEHS byl také pořízen záznam vyhasínání luminiscence s použitím Cut-off filtru 400 nm **Tabulka 4** a **Tabulka 6**. Při porovnání časů pro nedegradovaný a degradovaný DEHS, lze vidět, že data jsou přibližně shodná pro excitaci 280 a 300 nm laserem. Tento fakt je zřejmě způsoben nepříliš velkou rozdílností ve spektrech degradovaného a nedegradovaného DEHS naměřených během bakalářské práce [3]. Při vzrůstajících vlnových délkách excitace však dochází k posunu k vyšším vlnovým délkám pro degradovaný DEHS, což může mít za výsledek rozdílnost v záznamech vyhasínání fluorescence.

V záznamech vyhasínání fluorescence, lze také najít doby života, které připadají spíše fosforescenci, případně zpožděnou fluorescenci, kterou by zapříčinily klastry DEHS (v tabulkách jsou označeny červeným písmem). Tyto doby se pak vyskytují více u degradovaného DEHS, u nedegradovaného byla zjištěna pouze jedna doba života v řádech  $10^{-4} \text{ s}$  a je tedy možné, že se jedná o odchylku. S použitím Cut-off filtru pak byly nalezeny další doby života v řádu  $10^{-4} \text{ s}$  pro degradovaný DEHS.

Vzhledem k získání různých dob života luminiscence, lze tvrdit, že existence klastrů DEHS je možná a způsobuje fluorescenci, která je přístrojově měřitelná.

**Tabulka 3: Záznam z Fluorocube pro nedegradovaný DEHS**

	exc 280	exc 300	exc 330	exc 360
T1	$1.4874 \cdot 10^{-9} \text{ s}$	$3.0372 \cdot 10^{-9} \text{ s}$	$2.8178 \cdot 10^{-9} \text{ s}$	$5.4917 \cdot 10^{-10} \text{ s}$
T2	$5.2146 \cdot 10^{-9} \text{ s}$	$6.4800 \cdot 10^{-10} \text{ s}$	$5.5654 \cdot 10^{-10} \text{ s}$	$2.7094 \cdot 10^{-9} \text{ s}$
T3	$2.4260 \cdot 10^{-8} \text{ s}$	$1.1803 \cdot 10^{-8} \text{ s}$	$9.8464 \cdot 10^{-9} \text{ s}$	$2.0795 \cdot 10^{-4} \text{ s}$
T4	$2.0615 \cdot 10^{-10} \text{ s}$			$7.9955 \cdot 10^{-9} \text{ s}$
B1	$9.2477 \cdot 10^{-2}$ [30.13 Rel.Ampl]	$6.8632 \cdot 10^{-2}$ [52.12 Rel.Ampl]	$7.1993 \cdot 10^{-2}$ [55.52 Rel.Ampl]	0.1192 [0.56 Rel.Ampl]
B2	$3.6846 \cdot 10^{-2}$ [42.08 Rel.Ampl]	0.1618 [26.22 Rel.Ampl]	0.1588 [24.19 Rel.Ampl]	$7.9351 \cdot 10^{-2}$ [1.84 Rel.Ampl]
B3	$3.1887 \cdot 10^{-3}$ [16.94 Rel.Ampl]	$7.3381 \cdot 10^{-3}$ [21.66 Rel.Ampl]	$7.5289 \cdot 10^{-3}$ [20.29 Rel.Ampl]	$5.4248 \cdot 10^{-5}$ [96.49 Rel.Ampl]
B4	0.2402 [10.85 Rel.Ampl]			$1.6242 \cdot 10^{-2}$ [1.11 Rel.Ampl]
CHISQ	0.9575	1.2460	1.5825	1.1036

**Tabulka 4:** Záznam z Fluorocube s filtrem pro nedegradovaný DEHS

	exc 280	exc 300	exc 330	exc 360
T1	$4.5512 \cdot 10^{-9}$ s	$3.1781 \cdot 10^{-9}$ s	$2.7387 \cdot 10^{-9}$ s	$1.4700 \cdot 10^{-10}$ s
T2	$9.3899 \cdot 10^{-10}$ s	$6.6395 \cdot 10^{-10}$ s	$6.0789 \cdot 10^{-10}$ s	$1.3255 \cdot 10^{-9}$ s
T3	$2.2015 \cdot 10^{-8}$ s	$1.1031 \cdot 10^{-8}$ s	$9.2032 \cdot 10^{-9}$ s	$1.1840 \cdot 10^{-8}$ s
T4				$4.1510 \cdot 10^{-9}$ s
B1	$5.8136 \cdot 10^{-2}$ [52.25 Rel.Ampl]	$6.9370 \cdot 10^{-2}$ [50.86 Rel.Ampl]	0.0719 [52.96 Rel.Ampl]	0.2585 [9.11 Rel.Ampl]
B2	0.1210 [22.45 Rel.Ampl]	0.1508 [23.11 Rel.Ampl]	0.1472 [24.07 Rel.Ampl]	0.0851 [27.04 Rel.Ampl]
B3	$5.8205 \cdot 10^{-3}$ [25.30 Rel.Ampl]	$1.0228 \cdot 10^{-2}$ [26.03 Rel.Ampl]	$9.2827 \cdot 10^{-3}$ [22.98 Rel.Ampl]	$4.9674 \cdot 10^{-3}$ [14.10 Rel.Ampl]
B4				$4.9976 \cdot 10^{-2}$ [49.74 Rel.Ampl]
CHISQ	1.5146	1.3860	1.3699	1.2095

**Tabulka 5:** Záznam z Fluorocube degradovaný DEHS

	exc 280	exc 300	exc 330	exc 360
T1	$2.1430 \cdot 10^{-9}$ s	$3.5722 \cdot 10^{-9}$ s	$4.4176 \cdot 10^{-10}$ s	$6.1036 \cdot 10^{-10}$ s
T2	$6.2860 \cdot 10^{-9}$ s	$8.2888 \cdot 10^{-10}$ s	$2.4524 \cdot 10^{-9}$ s	$2.8295 \cdot 10^{-9}$ s
T3	$2.0749 \cdot 10^{-8}$ s	$1.3015 \cdot 10^{-8}$ s	$5.0675 \cdot 10^{-4}$ s	$6.9421 \cdot 10^{-4}$ s
T4	$3.3722 \cdot 10^{-10}$ s		$8.4877 \cdot 10^{-9}$ s	$8.4697 \cdot 10^{-9}$ s
B1	$6.9496 \cdot 10^{-2}$ [24.25 Rel.Ampl]	$7.0455 \cdot 10^{-2}$ [52.14 Rel.Ampl]	0.1418 [0.14 Rel.Ampl]	0.1054294 [0.09 Rel.Ampl]
B2	$4.8302 \cdot 10^{-2}$ [49.44 Rel.Ampl]	0.12524 [21.51 Rel.Ampl]	$8.8068 \cdot 10^{-2}$ [0.47 Rel.Ampl]	$8.126109 \cdot 10^{-2}$ [0.33 Rel.Ampl]
B3	$6.2335 \cdot 10^{-3}$ [21.06 Rel.Ampl]	$9.7748 \cdot 10^{-3}$ [26.36 Rel.Ampl]	$8.944110^{-5}$ [99.10 Rel.Ampl]	$9.94651110^{-5}$ [99.37 Rel.Ampl]
B4	$9.5422 \cdot 10^{-2}$ [5.24 Rel.Ampl]		$1.5477 \cdot 10^{-2}$ [0.29 Rel.Ampl]	$1.718937 \cdot 10^{-2}$ [0.21 Rel.Ampl]
CHISQ	0.9704	1.3393	1.0988	1.0174

**Tabulka 6:** Záznam z Fluorohub s filtrem pro degradovaný DEHS

	exc 280	exc 300	exc 330	exc 360
T1	$6.8695 \cdot 10^{-10}$ s	$4.8151 \cdot 10^{-10}$ s	$3.2641 \cdot 10^{-9}$ s	$6.1507 \cdot 10^{-10}$ s
T2	$3.6199 \cdot 10^{-9}$ s	$2.8014 \cdot 10^{-9}$ s	$7.6576 \cdot 10^{-10}$ s	$2.8754 \cdot 10^{-9}$ s
T3	$1.1439 \cdot 10^{-8}$ s	$1.0784 \cdot 10^{-4}$ s	$1.1293 \cdot 10^{-8}$ s	$3.8043 \cdot 10^{-4}$ s
T4	$9.6099 \cdot 10^{-4}$ s	$9.3382 \cdot 10^{-9}$ s		$8.7294 \cdot 10^{-9}$ s
B1	0.08426 [0.00 Rel.Ampl]	0.1306 [0.26 Rel.Ampl]	$7.0386 \cdot 10^{-2}$ [54.87 Rel.Ampl]	0.10312 [0.18 Rel.Ampl]
B2	$7.7358 \cdot 10^{-2}$ [0.00 Rel.Ampl]	$8.4777 \cdot 10^{-2}$ [0.99 Rel.Ampl]	0.1261 [23.07 Rel.Ampl]	$8.2506 \cdot 10^{-2}$ [0.66 Rel.Ampl]
B3	$2.2489 \cdot 10^{-2}$ [0.00 Rel.Ampl]	$2.16810^{-4}$ [97.87 Rel.Ampl]	$8.1778 \cdot 10^{-3}$ [22.06 Rel.Ampl]	$9.325810^{-5}$ [98.77 Rel.Ampl]
B4	$3.020010^{-4}$ [100.00 Rel.Ampl]	$2.2203 \cdot 10^{-2}$ [0.87 Rel.Ampl]		$1.6107 \cdot 10^{-2}$ [0.39 Rel.Ampl]
CHISQ	1.0305	1.0350	1.1121	1.1436

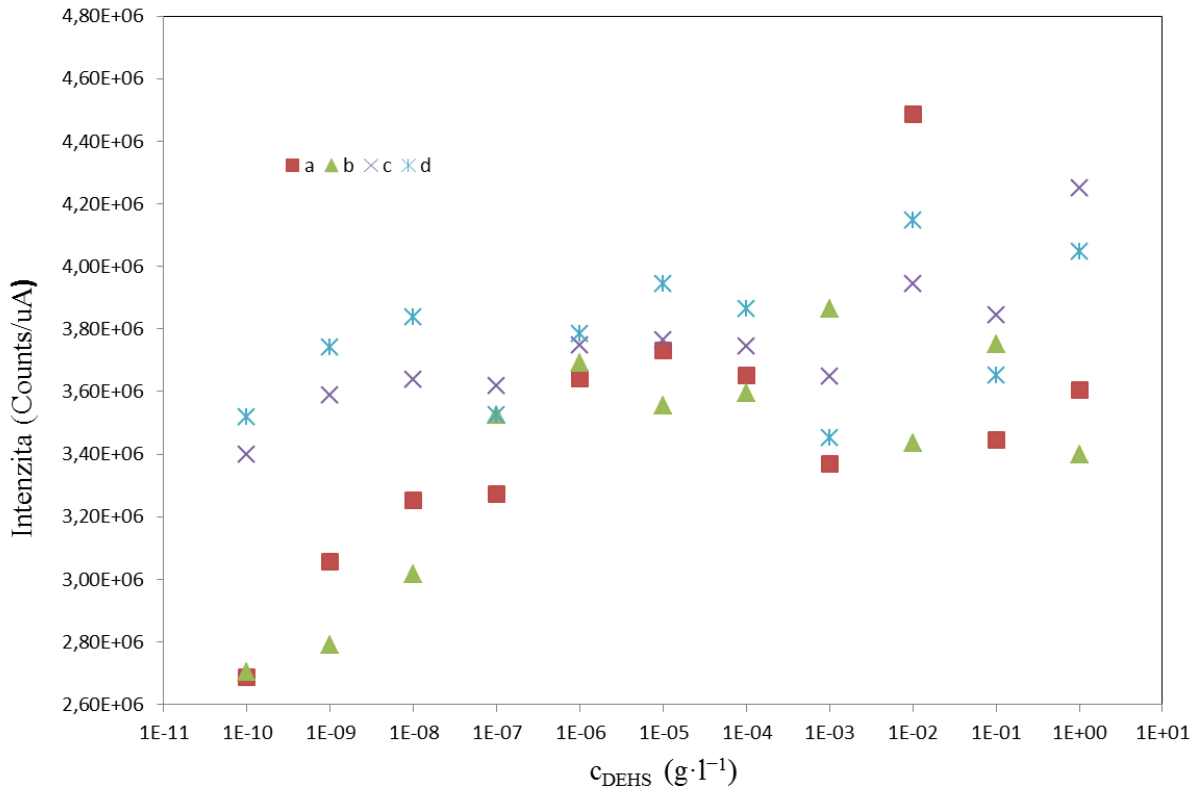
#### 4.1.5 Koncentrační řada DEHS

Na **Obrázek 29:** Průběh kalibračních řad A-D lze vidět průběh jednotlivých orientačních koncentračních řad a jejich vysokou nekonzistenci. Průměrná data, lze vidět na **Obrázek 30**, pak vykazují jen velmi malou závislost koncentrace na intenzitě fluorescence. Odchyšky výsledné řady jsou příliš velké pro možnou interpretaci depozičních dat za použití pouze luminiscenčních vlastností DEHS. Také je možné vidět jen velmi malý pokles intenzity oproti zředění o několik řádů, kde bychom čekali prudší pokles v celé koncentrační křivce.

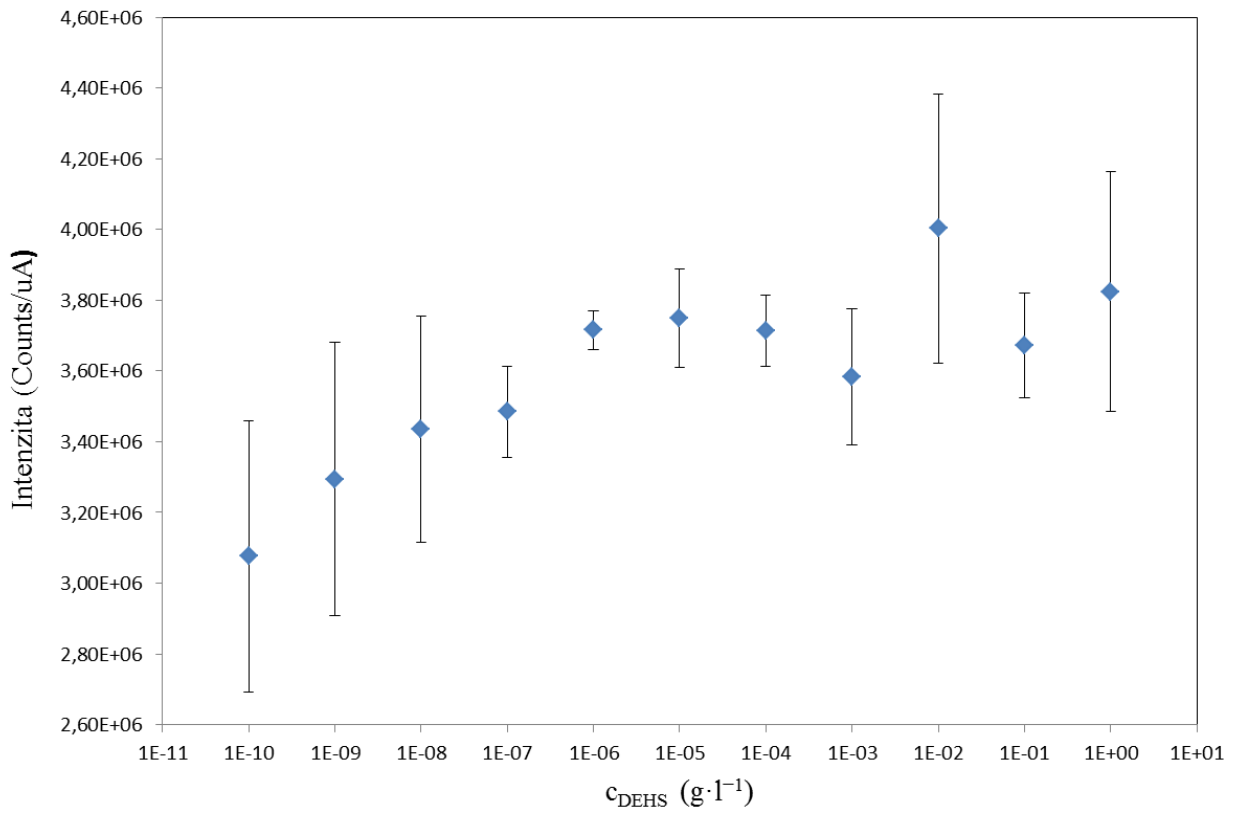
Díky poznatkům získaným během této části diplomové práce pak lze konstatovat, že DEHS a jeho fluorescenci nelze využít pro měření depozice aerosolů díky vysoké nekonzistentnosti získaných dat. Tento fakt je také podpořený článkem F. Lízala, který je uveden v příloze. V uvedeném článku jsou i vyhodnocené data depozičních hustot, získané pomocí měření intenzit fluorescence DEHS pro jednotlivé segmenty, data jsou uvedena v grafu **Fig. 7**. Tyto data pak nejsou v souladu s naměřenými daty depozic publikovanými dříve [27].

Vzhledem k hydrofobnímu chování DEHS ve vodném prostředí však lze navrhnout úpravu extrakce aerosolových částic, kde DEHS tvoří aerosol a fluorescein tvoří fluorescenční jádro. Stávající metoda využívala IPA jako rozpouštědlo, které efektivně rozpouští DEHS a extrahuje fluorescein do IPA. Tato metoda je však zatížena chybou, která je způsobena fluorescencí DEHS, ať již se jedná o jeho znečištění nebo vlastní fluorescenci. Úprava pak spočívá v náhradě H<sub>2</sub>O za IPA, jako rozpouštědla, kde díky hydrofobnímu chování DEHS nedojde k jeho rozpuštění a vlivu nechtěné fluorescence. Tímto způsobem dojde k extrakci fluoresceinu sodného do H<sub>2</sub>O a jsme pak schopni přesněji určit depozici aerosolu generovaného pomocí CMAG.

Další možností pro zjištění depozice aerosolu je pak využití hotových fluorescenčních částic, popřípadě fluorescenčního prášku a jejich aplikování do modelu pomocí generátoru pevných aerosolových částic SSPD, této možnosti se pak věnuje část **4.2.3–4.2.5**.



**Obrázek 29:** Průběh kalibračních řad A-D



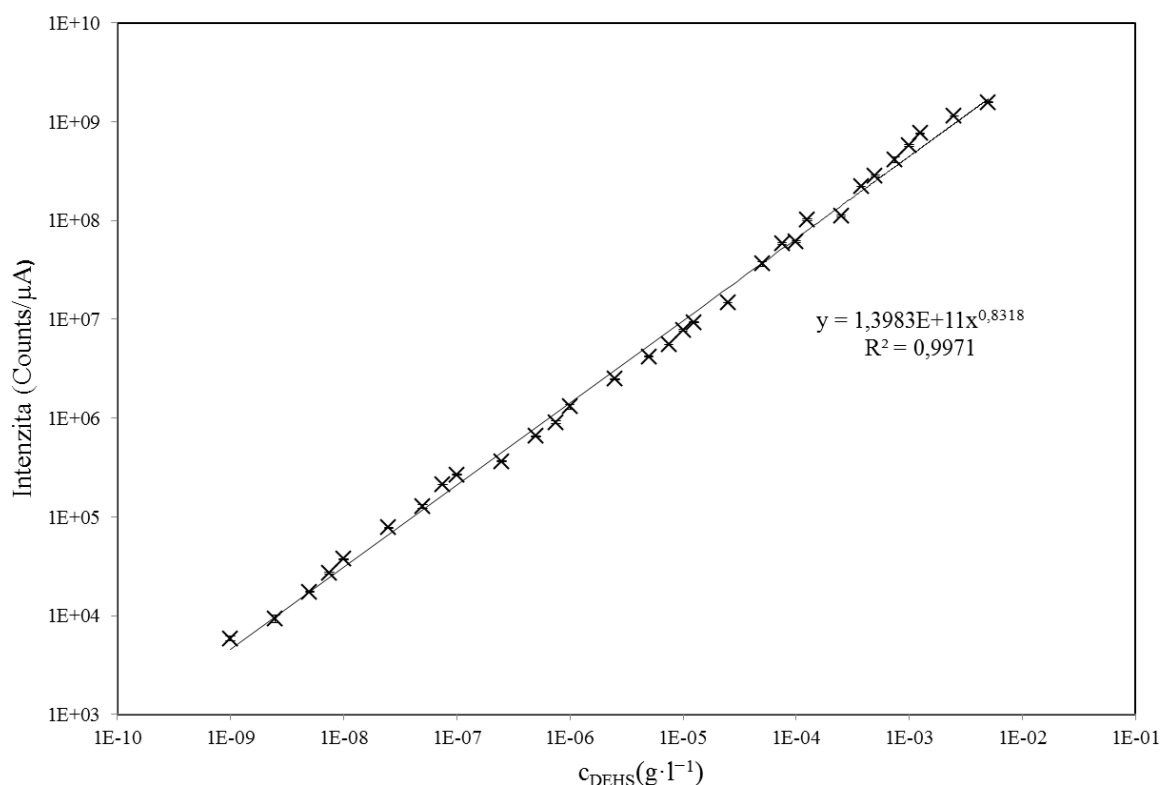
**Obrázek 30:** Průměr kalibračních řad A-D s odchylkami

## 4.2 Depozice

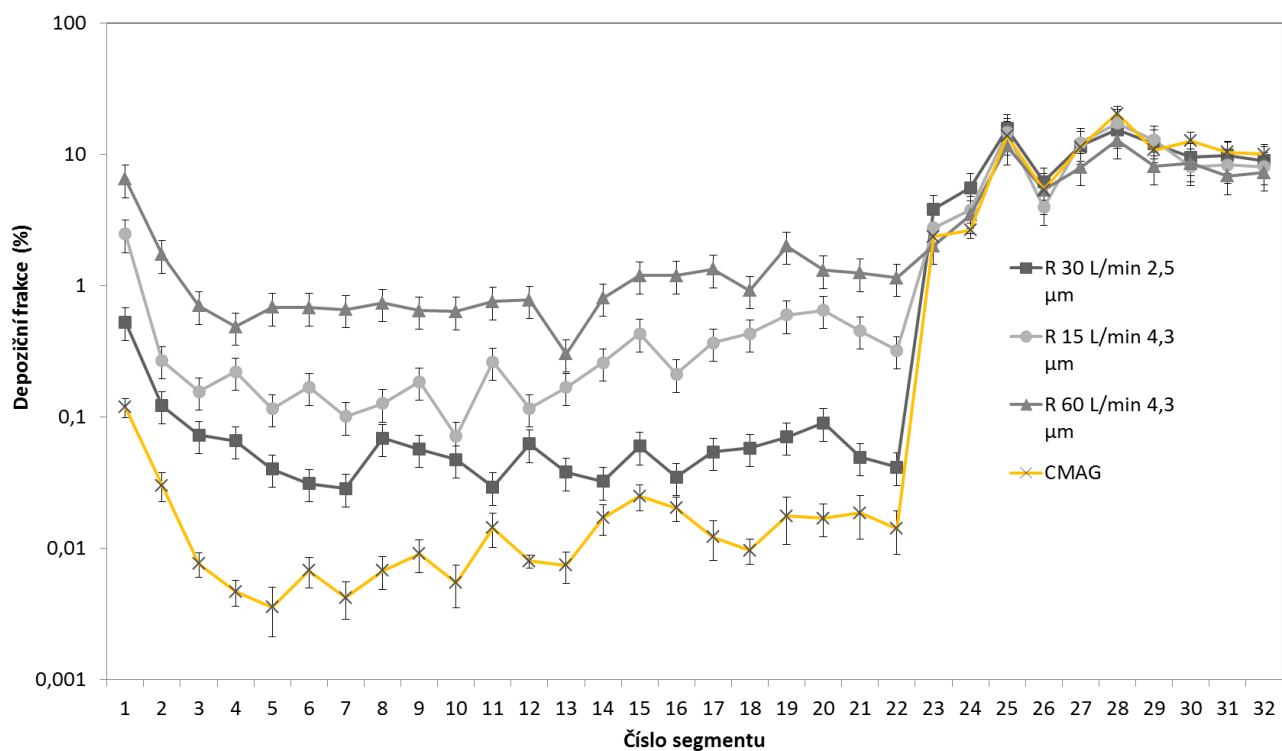
### 4.2.1 DEHS-fluoresceinové částice

Na **Obrázek 31** lze vidět intenzitu fluorescence v závislosti na koncentraci fluoresceinu sodného, která byla použita pro výpočet depozice aerosolu generovaného pomocí CMAG. Vzhledem k velmi nízkým hodnotám odchylek, jsou chybové úsečky téměř nepozorovatelné. Kalibrační řada pak byla proložena mocninnou funkcí, jejíž tvar lze vidět na **Obrázek 31**. Pomocí této rovnice byly vypočteny příslušné depoziční frakce **Obrázek 32** a depoziční účinnosti **Obrázek 33** pro depozici DEHS-fluoresceinových částic. Tato data byla vložena do grafů depozičních hustot od F. Lízala [36] pro porovnání dat získaných z depozice DEHS-NaF radioaktivních částic. Depozice radioaktivních částic byla vyhodnocena pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) viz [36].

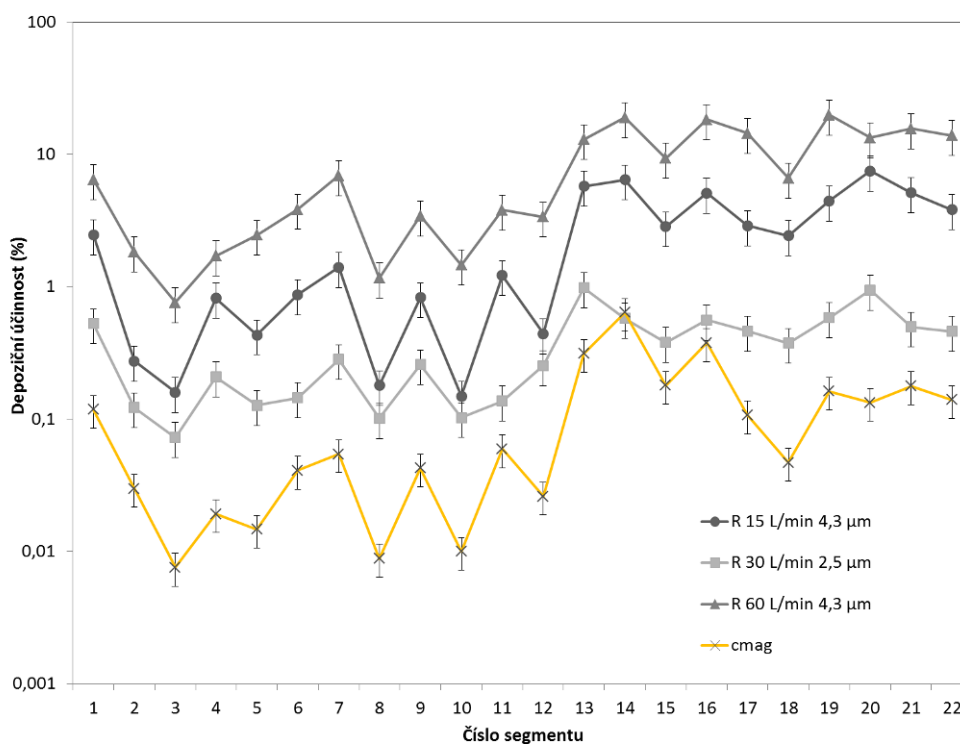
Z výsledných závislostí lze vidět podobný průběh pro DEHS-fluoresceinové částice, jako vykazují data pořízená pomocí PET. Nižší depoziční frakce a účinnost je způsobena vlivem velikosti částic, jedná se o částice o velikosti 1,44  $\mu\text{m}$  se standardní geometrickou odchylkou 1,66, histogram velikostního rozložení částic lze vidět na **Obrázek 34**. Díky velikosti pronikají částice hlouběji do segmentů modelu plic a neusazují se ve velké míře na segmentech, ale jsou téměř všechny zachyceny na filtrech. Depozice těchto částic je řízena mechanismem difuze a setrvačnosti [36], jenž je ovlivněn turbulencí, a filtračním efektem [30]–[34].



**Obrázek 31:** Závislost intenzity fluorescence na koncentraci fluoresceinu sodného s proložením mocninnou funkcí



Obrázek 32: Depoziční frakce v závislosti na segmentu pro CMAG

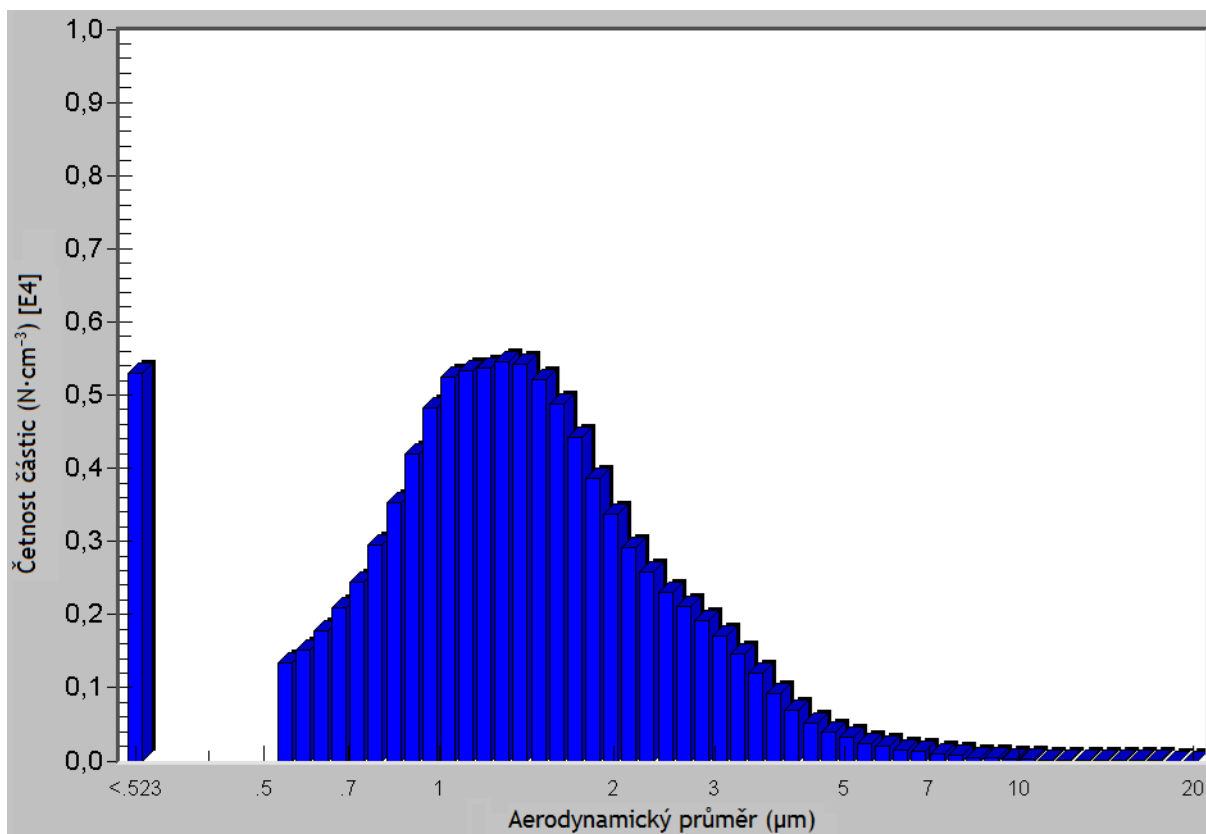


Obrázek 33: Depoziční účinnost v závislosti na segmentu pro CMAG



#### 4.2.2 APS DEHS-fluoresceinových částic

Pomocí APS byla stanovena početní velikost (CMD) DEHS-fluoresceinových částic na  $1,44 \mu\text{m}$  se standardní geometrickou odchylkou ( $\sigma_G$ ) 1,66 dle početního rozložení, které lze vidět na **Obrázek 34**. Zároveň byla stanovena i velikost částic dle hmotnostního rozložení na  $3,95 \mu\text{m}$  (MMD) se standardní geometrickou odchylkou 1,85. Intenzita naměřené luminiscence, však bude souviset s početní distribucí vzhledem ke způsobu generace aerosolových částic z CMAG, hmotnostní distribuce pak poukazuje na jistou polydisperznost aerosolu, která mohla být způsobena ucpáním filtrů v generátoru během generace částic.



**Obrázek 34:** Histogram početního rozložení DEHS-fluoresceinových částic

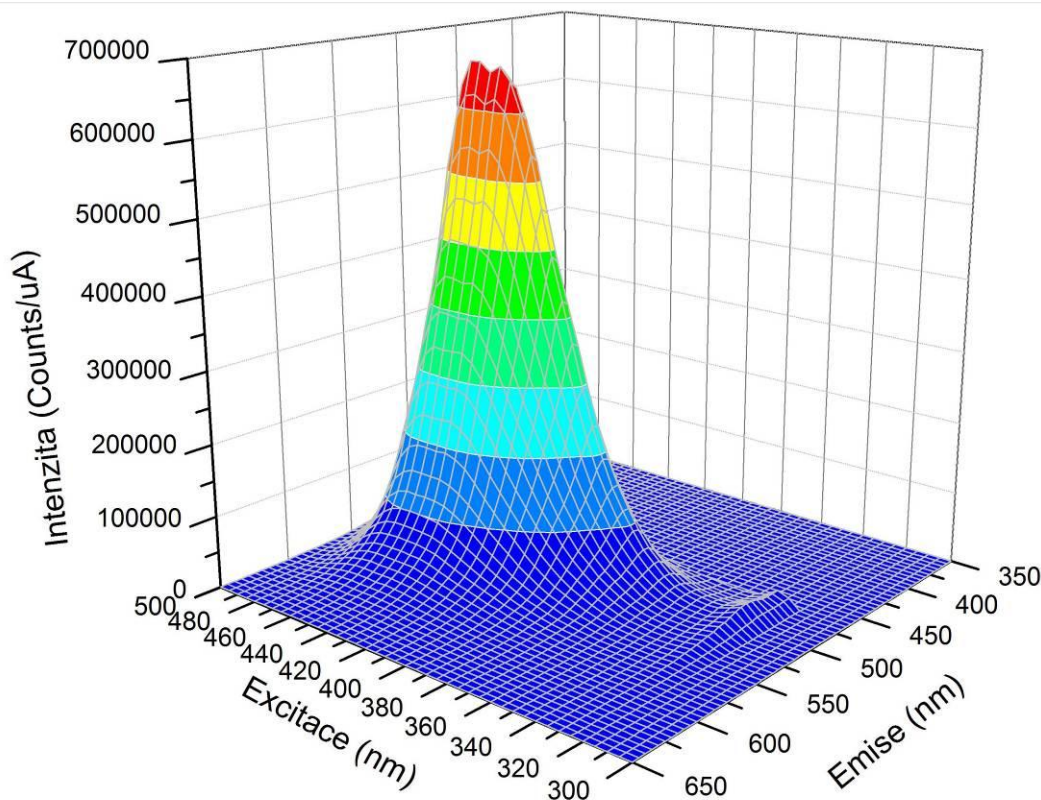
#### 4.2.3 Značené částice

Pro depozici modelu byly zvoleny polystyrenové částice od firmy Duke scientific o rozměrech  $1,3$  a  $7 \mu\text{m}$ . Tyto částice mají však nevýhodu, vzhledem k faktu, že výrobce nedodává údaj o použitém fluorescenčním barvivu. Udána je pouze excitační a emisní vlnová délka maxim pro použití částic ve vodném prostředí, ale pro určení depozice by bylo nutné částice rozpustit v acetonu. Vzhledem k těmto faktům byl přeměřen údaj o excitaci a emisi ve vodném prostředí a navíc byl doplněn o excitaci a emisi v acetonu. Výsledné excitační a emisní délky pro vodné prostředí se mírně lišily, což je pravděpodobně způsobeno rozdílnou instrumentací. Souhrnné údaje pro emisní a excitační maxima fluorescenčního barviva  $3 \mu\text{m}$  částic jsou uvedeny v **Tabulka 7**. Na **Obrázek 35** pak lze vidět polohu excitačního a emisního maxima a celkový průběh 3-D skenu.

**Tabulka 7:** Tabulka souhrnných údajů pro částice 3 μm

Data od výrobce Duke scientific

Rozměr: 3,0 μm	ND: 1,59 (25 °C)	ρ: 1,05 g·cm <sup>-3</sup>
Excitace: 468 nm	Emise voda: 508 nm	Emise aceton: neudána
Experimentálně zjištěná data		
Excitace: 440-460 nm	Emise voda: 488 nm	Emise aceton: 500 nm



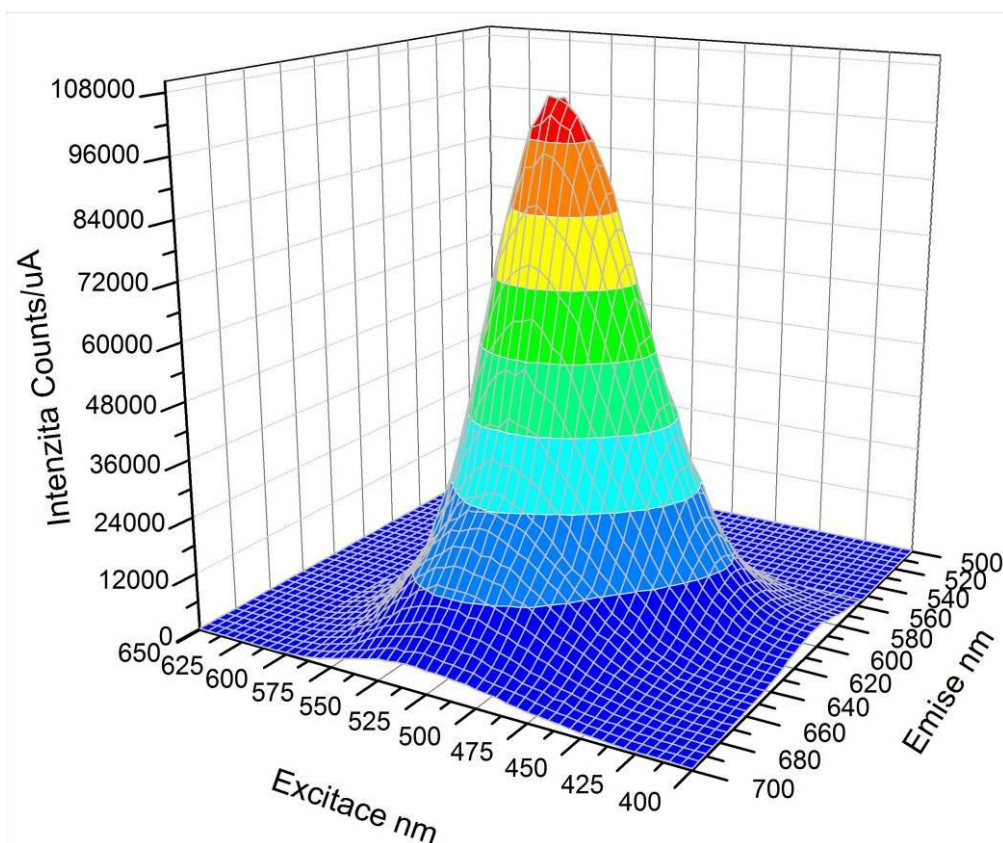
**Obrázek 35:** 3-D sken fluorescenčního barviva 3 μm částic

Tabulku souhrnných údajů pro fluorescenční barvivo 1 μm a 7 μm částic najdeme na **Tabulka 8** a příslušný 3-D sken na **Obrázek 36**. Dalším rozdílem oproti dodaným údajům byl fakt, že spektra ve vodném prostředí vykazovala deformace vzniklé pohybem fluorescenčních částic, což je také jedním z důvodů, proč by po depozici byly částice rozpuštěny v acetonu. Rozpuštěním částic by se dosáhlo eliminace pohybu částic, prodifundování barviva do celého objemu vzorku a také by bylo možné řídit koncentraci vzorku (odpařením/ředěním).

**Tabulka 8:** Tabulka souhrnných údajů pro částice 1 μm a 7 μm

Data od výrobce Duke scientific

Rozměr: 1,0 μm, 7,0 μm	ND: 1,59 (25 °C)	ρ: 1,05 g·cm <sup>-3</sup>
Excitace: 542 nm	Emise voda: 612 nm	Emise aceton: neudána
Experimentálně zjištěná data		
Excitace: 530 nm	Emise voda: 566 nm	Emise aceton: 604 nm

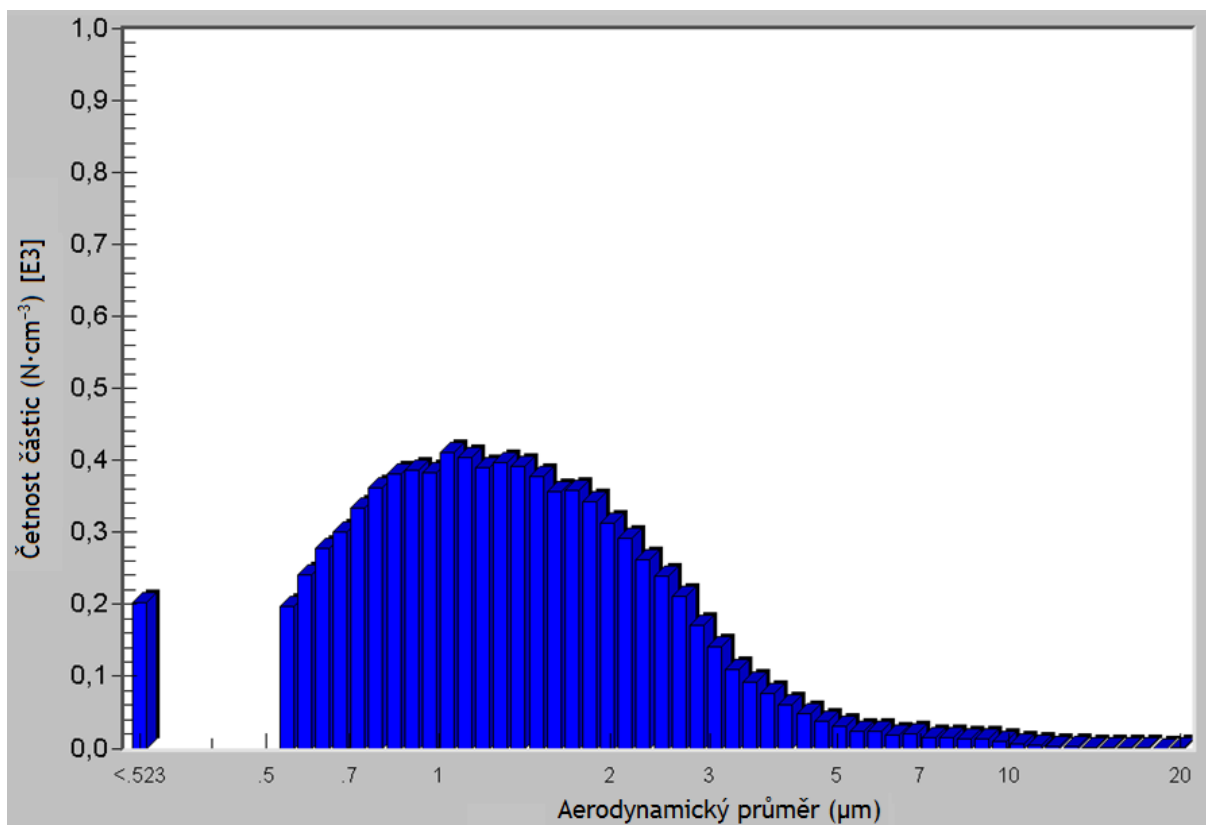


**Obrázek 36:** 3-D sken fluorescenčního barviva 1 μm a 7 μm částic

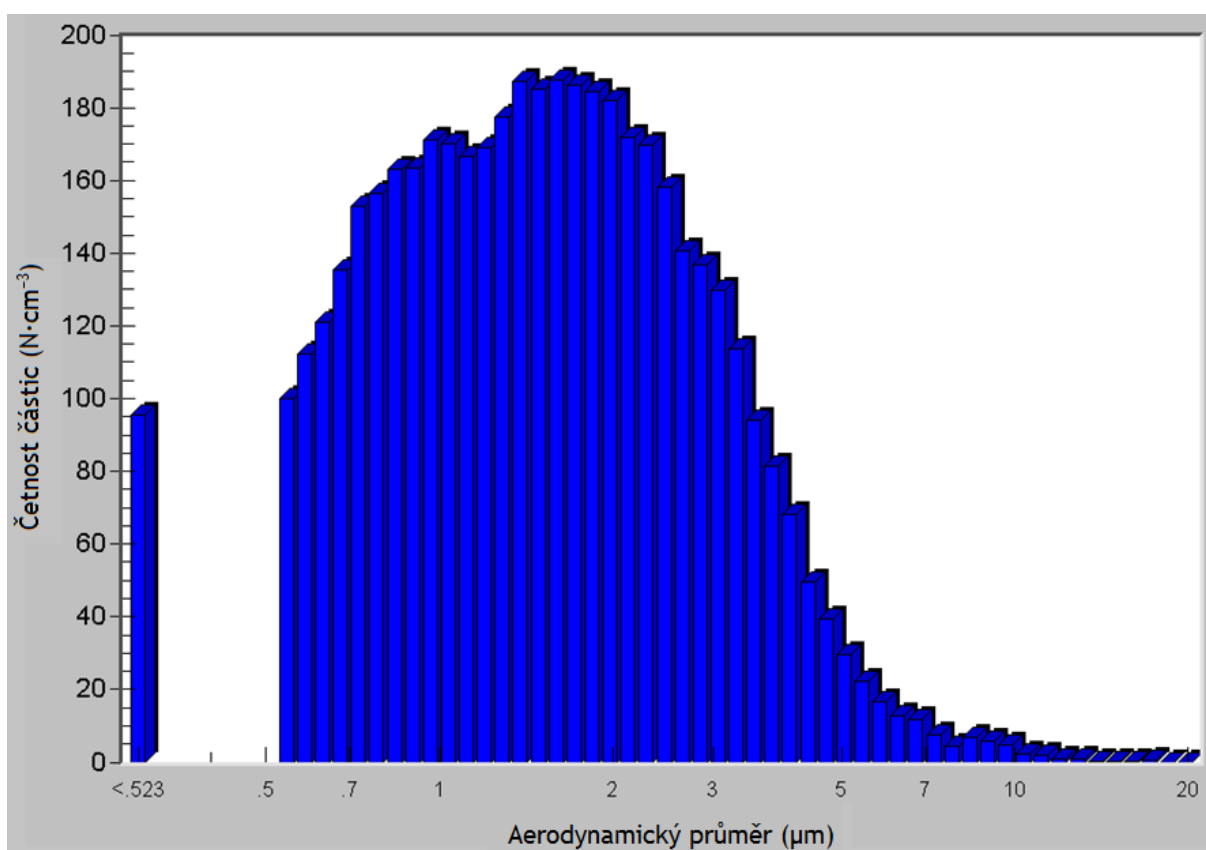
Po spektrální charakterizaci bylo přikročeno ke zkoušce generace částic pomocí SSPD. Vzhledem k malé velikosti a koncentraci částic (proud částic nelze pozorovat) byl použit APS pro detekci částic a jejich koncentraci. Při generaci však bylo zjištěno, že nelze generovat tyto částice ve stávající instrumentaci SSPD. Jednou z příčin by mohly být elektrostatické síly, které by držely částice pohromadě (dochází k nalepování částic na kovové povrchy) a možná vyšší přilnavost k povrchu kotouče. Vzhledem k faktu, že nelze nasávat částice do generátoru a časové náročnosti vlastního experimentu bylo přikročeno k nahrazení fluorescenčních částic za generovatelný materiál. Dalším způsobem jak obejít tento problém, by mohla být generace částic ze suspenze pomocí medicinského nebulizéru, nebo použití jiného kotouče pro nanesení částic.

#### 4.2.4 Nahrazení částic

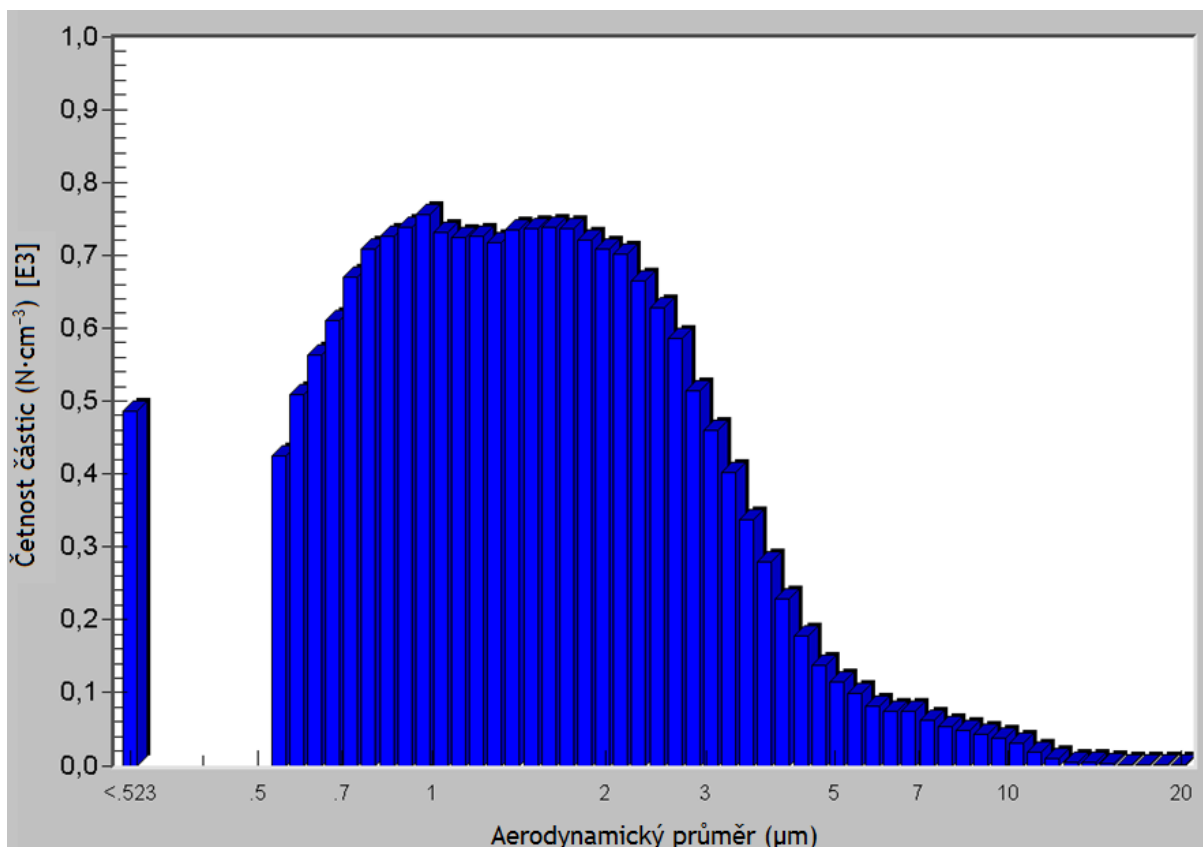
Vzhledem k nemožnosti použít hotové fluorescenční částice, bylo rozhodnuto použít dostupné fluorescenční barvivo jako zdroj aerosolových částic generovaných z SSPD. Nejlépe by generované částice měly mít podobný průběh histogramu jako částice generované z CMAG a měly by vykazovat co nejmenší polydisperzitu. Z tohoto důvodu byly vygenerovány částice fluoresceinu, kumarinu 6 a dihydrátu riboflavinu 5-monofosfátu sodného a poté byly proměřeny jejich početní distribuce pomocí APS. Příslušné histogramy lze vidět na **Obrázek 37**, **Obrázek 38** a **Obrázek 39**, po srovnání s histogramem DEHS-fluoresceinových částic, lze vidět, že nejpodobnější průběh histogramu a nižší polydisperzitu vykazují částice fluoresceinu sodného. Početní velikost částic (CMD) fluoresceinového prášku byla stanovena na 1,29 μm s  $\sigma_G$  1,76, kumarinového prášku na 1,86 μm a  $\sigma_G$  2,54 a riboflavinového prášku na 1,8 μm a  $\sigma_G$  3,24. Pro další experimenty byl použit fluorescein sodný jako výchozí materiál.



**Obrázek 37:** Histogram početního rozložení fluoresceinových částic



**Obrázek 38:** Histogram početního rozložení riboflavinových částic

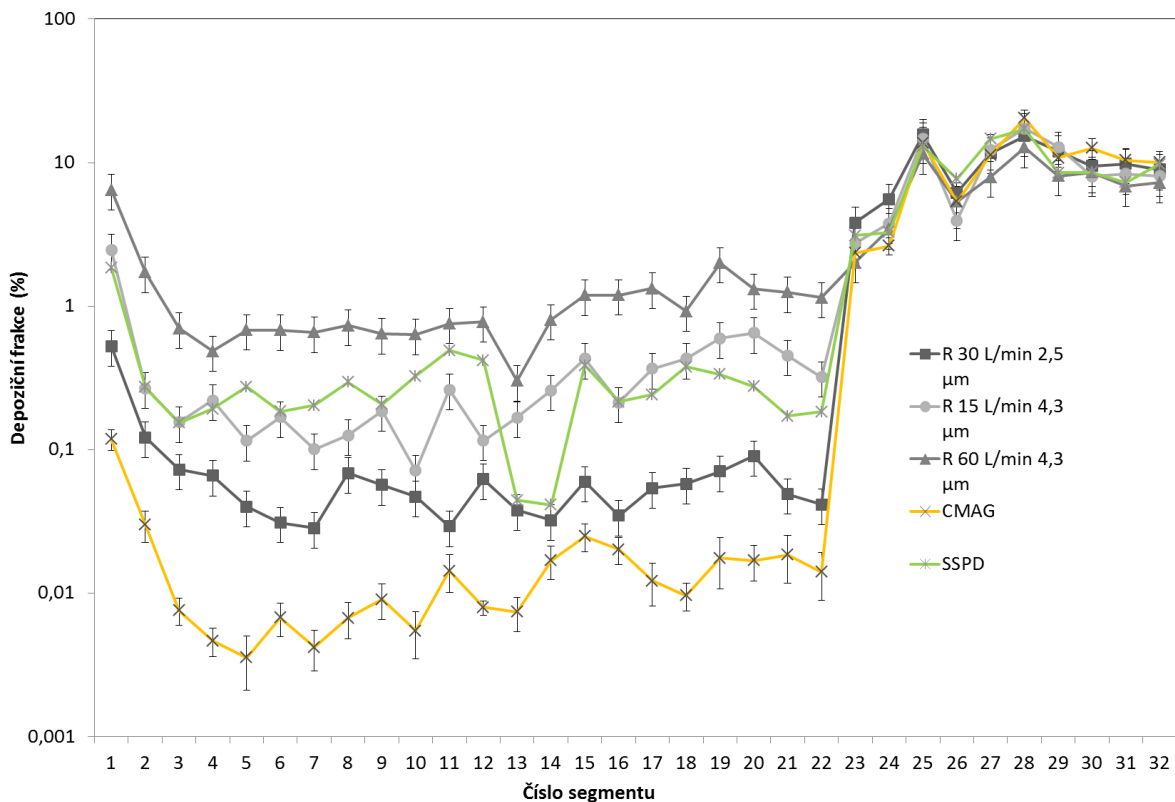


**Obrázek 39:** Histogram početního rozložení kumarinových částic

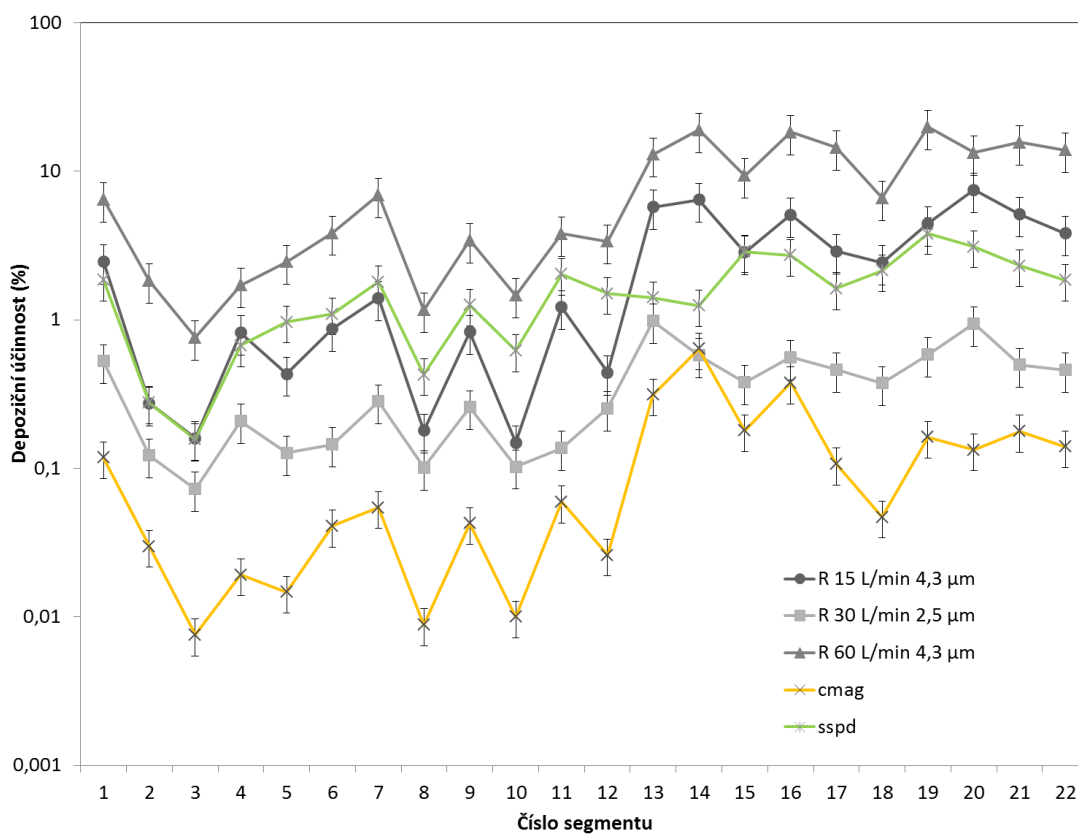
#### 4.2.5 Fluoresceinové částice

Z vyhotovených vzorků a rovnice kalibrační křivky byly vypočteny jednotlivé depoziční frakce a depoziční účinnost, které lze vidět na **Obrázek 40** a **Obrázek 41**. Při interpretaci dat pak také nesmíme zapomenout na fakt, že se jedná o čistý fluorescein sodný a na rozdíl od aerosolových částic z CMAG, kde intenzita fluorescence souvisí s počtem jader, což je dáno metodou přípravy [14], u fluoresceinových částic bude záviset intenzita naměřené fluorescence na hmotnostním rozložení částic, těžší částice budou mít vyšší intenzitu fluorescence, avšak výsledná intenzita bude ovlivněna i lehčími částicemi. Z tohoto důvodu byla změřena i hmotnostní distribuce částic a MMAD byl stanoven na  $6,37 \mu\text{m}$  s  $\sigma_g$  1,97.

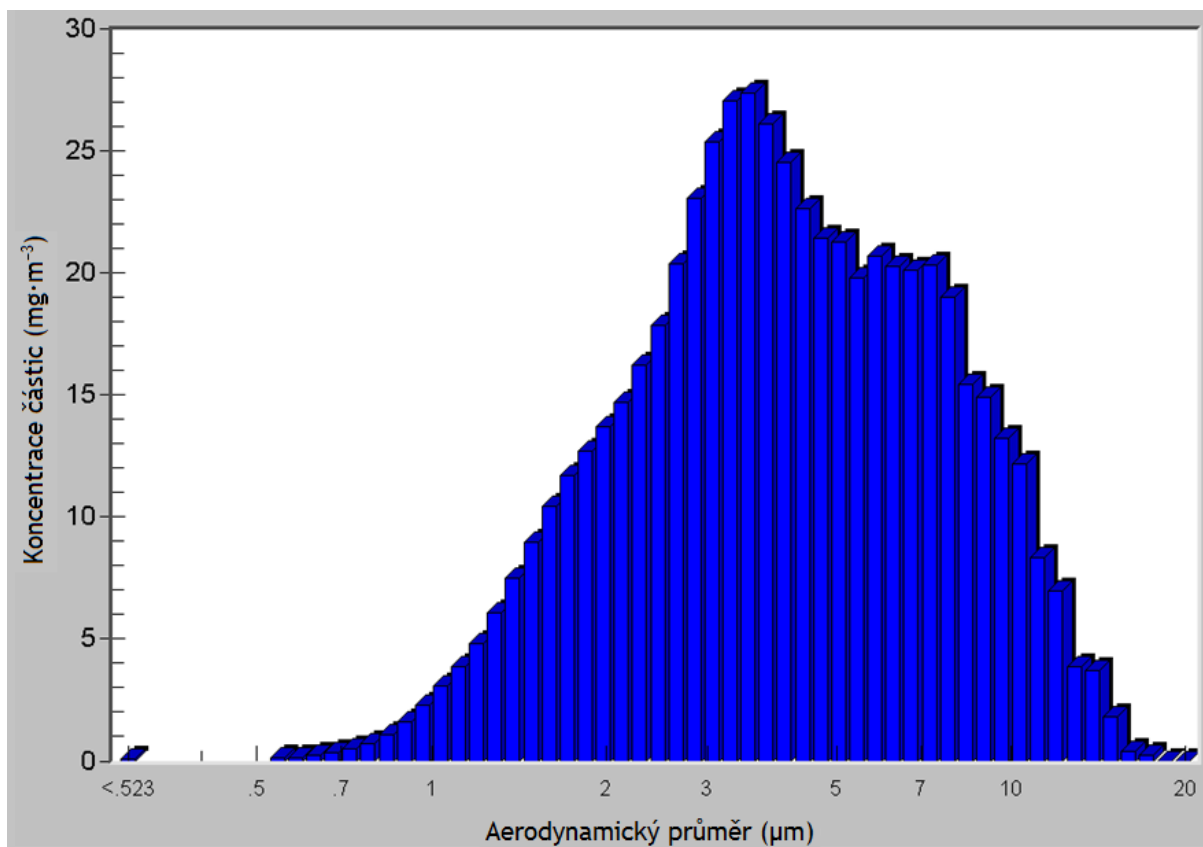
Při pohledu na histogram hmotnostního zastoupení **Obrázek 42**, lze vidět, že generované aerosolové částice fluoresceinu sodného byly polydisperzní, což může ovlivnit výsledné depoziční údaje. Data pak byla vložena do společného grafu, abychom mohli vidět porovnání jak s výsledky z PET tak i z CMAG. Z porovnání lze vidět vyšší depoziční účinnost oproti CMAG, tento fakt je způsoben velikostí částic, kde větší částice se usadí v horních částech dýchacích cest. Průběh závislosti depoziční má podobný trend jako PET i CMAG, vzhledem k velikosti částic. Propad v závislosti u segmentů 13 a 14 je způsoben nejnižším průtokem a v tomto případě je mnohem markantnější. Depozice na filtrech jsou pak v obou případech (SSPD i CMAG) velmi podobné a souhlasí s naměřenými daty z PET. Při depozici fluoresceinových částic také došlo k usazení částic na bifurkacích, čímž vznikly lokální depoziční ohniska (Hot-spot), ty je možno shlédnout na **Obrázek 45**, **Obrázek 46** a **Obrázek 47**. Jejich vznik je zapříčiněn mechanismem setrvačnosti.



Obrázek 40: Depoziční frakce v závislosti na segmentu pro CMAG a SSPD

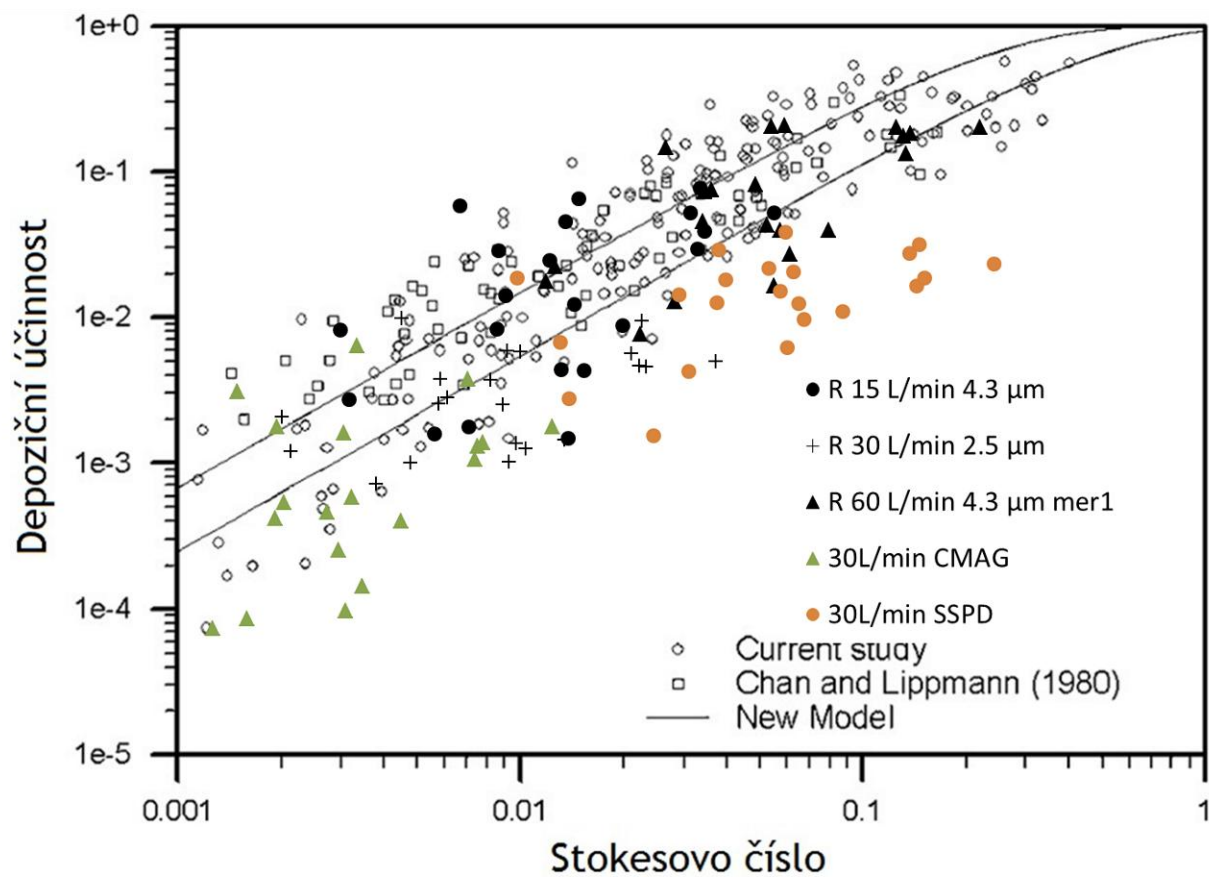


Obrázek 41: Depoziční účinnost v závislosti na segmentu pro CMAG



**Obrázek 42:** Histogram hmotnostního rozložení fluoresceinových částic

Pro jednoznačné porovnání dat, byl použit graf závislosti deponiční účinnosti na Stokesově čísle **Obrázek 43**, ve kterém jsou porovnány výsledky DEHS-fluoresceinových částic (CMAG) a fluoresceinových částic (SSPD) s dříve publikovanými výsledky. Zhou a Cheng [30] prováděli měření na realistickém modelu, který obsahoval 4. generaci větvení a měl tedy menší rozsah oproti modelu se 7. generacemi větvení použitým při disertační práci F. Lízala [36] a této práci. Výsledky jsou však v dobré shodě s dostupnými údaji. Rozptyl z částic DEHS-fluorescein (CMAG) je také podobný s výsledky z PET, což může být dáno metodou přípravy částic, v obou případech byl použit stejný generátor monodisperzních aerosolových částic (CMAG). Fluoresceinové částice pak vykazují nižší deponiční účinnost, tento fakt je pravděpodobně způsoben polydisperzitou částic. Vliv polydisperzity na depozici částic byl popsán literatuře od autorů C. K. Diu [33] a C. S. Kim [34]. Se zvyšující se polydisperzitou aerosolu klesá deponiční frakce pro částice s aerodynamickým průměrem nad  $2,0\ \mu\text{m}$  a pod  $0,04\ \mu\text{m}$ , tento pokles je pak velmi výrazný pro částice nad  $6,0\ \mu\text{m}$ , což je případ částic fluoresceinu sodného generovaných z SSPD.



**Obrázek 43:** Porovnání s výsledky publikovaných v literatuře (prázdné značky) [30] a výsledky z PET (černé plné značky) [36]



## 5 ZÁVĚR

Cílem práce byla rešerše, návržení a vyhodnocení experimentů depozice aerosolu za použití fluorescenční spektroskopie. Hlavním tématem práce byla použitelnost fluorescenční spektroskopie pro studium depozice aerosolu, což by zjednodušilo vyhodnocování dat depozice, nebo snížilo náklady spojené s metodami pro vyhodnocení (PET).

Nejprve bylo pokračováno ve studii luminiscenčních vlastností DEHS a jejich použitelnosti pro vyhodnocení depozice, práce tedy navazuje na vlastní bakalářskou práci [3]. Během práce byly získány informace více či méně relevantní o existenci klastrů, které by mohly způsobovat luminiscenci. Nejlépe dokumentují tento jev záznamy z vyhasínání luminiscence, kde bylo možné zjistit dvě doby života a to  $2 \cdot 10^{-7}$  s a  $6 \cdot 10^{-7}$  s. Tyto časy pak mohou připadnout dvěma velikostním oddílům (110 nm a 1000 nm) zjištěným pomocí DLS. Vlastní luminiscenční vlastnosti jsou ale velmi málo závislé na koncentraci vzorku, zde znovu mohou mít vliv klastry DEHS. Tento fakt způsobuje nepoužitelnost vlastní luminiscence DEHS pro vyhodnocení depozice, což je také podpořeno článkem F. Lízala [40]. Vlastní fluorescence DEHS však není stále uspokojivě vysvětlena a mohla by být dalším zájmem výzkumu vzhledem ke struktuře DEHS, jež neobsahuje chromofory.

Z výše popsaných důvodů byla navržena změna stávající metody pro extrakci fluoresceinu sodného z aerosolových částic, kde byl nahrazen IPA za vodné prostředí, což má za následek rozpuštění fluoresceinu sodného ve vodě a eliminaci negativního vlivu luminiscence DEHS vzhledem k jeho hydrofobní povaze. Tímto způsobem byly získány údaje o depozici DEHS-fluoresceinových částic v modelu plic generovaných z CMAG. Výsledky depozice pak byly ve shodě s výsledky získanými pomocí PET, jež byly pořízeny a vyhodnoceny, během disertační práce F. Lízala [36].

Dalším možným způsobem generace bylo použití práškového rozprašovače (SSPD). Pro tuto metodu měli být použity hotové fluorescenční částice, u kterých však nebyly dostatečné údaje pro možné vyhodnocení. Z tohoto důvodu byly zhotoveny 3-D záznamy emisně-excitačních spekter a byly přeměřeny a doplněny uvedené údaje o luminiscenci. Údaje byly hlavně doplněny o excitační a emisní maxima v acetonu, vzhledem k nevhodnosti použití částic ve vodném prostředí a lepší možnosti kontroly vzorku v acetonu. Díky komplikacím popsaným výše však nebylo možné uskutečnit experimenty s použitím zmíněných fluorescenčních částic. Tyto částice by však mohly být generovány ze suspenze za použití medicínského nebulizéru a sušícího komínu, nebo úpravy kotouče, která by pomohla k nasátí částic do SSPD. Vzhledem k časové náročnosti však nebyly tyto možnosti prozkoumány.

Vzhledem k nemožnosti použití hotových fluorescenčních částic bylo přikročeno k navrhnutí změny v použitém materiálu pro generaci částic. Bylo tedy navrženo použít fluorescenční barviva pro generaci aerosolových částic. Použitelná fluorescenční barviva byla klasifikována pomocí APS. Výsledkem klasifikace byla volba nejvhodnější látky, která by měla mít podobnou distribuci částic jako aerosolové částice z CMAG. Jako látka pro experimenty s SSPD byl vybrán fluorescein sodný. Po překonání prvotních překážek byla provedena depozice modelu plic fluoresceinovými částicemi, která byla následně vyhodnocena a porovnána s předešlými výsledky.

Pro porovnání metod byl zvolen graf závislosti depoziční účinnosti na Stokesově čísle ve kterém byly kromě experimentálně získaných dat během této práce i výsledky dříve publikované. Výsledky depozice u CMAG i SSPD byly ve shodě se získanými údaji autorů Zhou a Cheng [30] a F. Lízal [36], vzhledem k použitému modelu a metodám generace a

detekce částic. Rozptyl u částic generovaných pomocí CMAG byl ve shodě s výsledky PET, a je tedy dán metodou generace částic. Výsledky depozic SSPD byly ovlivněny polydisperzitou, která měla negativní vliv na depoziční účinnost. Tato vlastnost polydisperzních aerosolových částic byla dokumentována v člancích autorů C. K. Dju [33] a C. S. Kim [34].

Byla tedy úspěšně navržena, provedena a vyhodnocena experimentální depozice částic v modelu plic za použití generátorů částic CMAG a SSPD a fluorescenční spektroskopie. Lze tedy tvrdit, že fluorescenční spektroskopie je použitelná metoda pro detekci a vyhodnocení depozice částic usazených v modelu plic a podává výsledky, které jsou ve shodě s předchozími měřeními depozice aerosolových částic.

Závěrem lze tedy konstatovat, že cíle práce byly splněny. Vlastní práce poskytuje pohled na spojení fluorescence a aerosolu. Chování aerosolu a metody detekce částic pak budou rozvíjeným tématem i v dalších letech, ať se bude jednat o bioaerosol, nanočástice či jejich spojení.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1]. BINGHAM, Eula; COHRSSSEN, Barbara; POWELL, Charles H. *Patty's Toxicology : Volume 7*. 5. [s.l.]: John Wiley & Sons, 2001. 9008 s. Dostupné z WWW: <[http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?\\_EXT\\_KNOVEL\\_DISPLAY\\_boo kid=706&VerticalID=0](http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_boo kid=706&VerticalID=0)>. ISBN 978-0-471-31943-6.
- [2]. BOWES III, Stephen M; SWIFT, David L. Deposition of Inhaled Particles in the Oral Airway During Oronasal Breathing. *Aerosol Science and Technology* [online]. 01.01.1989, 11, 2, [cit. 2011-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all?content=10.1080/02786828908959308>>.
- [3]. LIPPAY, J. *Využití fluorescenční spektroskopie ve studiu látek tvořících aerosol*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 40 s.
- [4]. *Guidchem Chemical Network* [online]. 1.0. Suzhou Industrial Park : Guidechem, 2010, 08.04.2011 [cit. 2011-04-10]. Dioctyl Sebacate. Dostupné z WWW: <<http://www.guidechem.com/com-guide20459/pro-show946765.html>>.
- [5]. Beer-Lambert law In Wikipedia : the free encyclopedia [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, , 25.2.2010 [cit. 2010-03-06]. Dostupné z WWW: [http://en.wikipedia.org/wiki/Beer-Lambert\\_law](http://en.wikipedia.org/wiki/Beer-Lambert_law)
- [6]. VALEUR, Bernard. *Molecular Fluorescence : Principles and Applications*. Wiley-VCH Verlag GmbH : [s.n.], 2001. 387 s. ISBN 3-527-29919-X.
- [7]. LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3rd ed. University of Maryland School of Medicine : Springer Science+Business Media, 2006. 954 s. ISBN 0-387-31278-1.
- [8]. Klán, K. P.: *Organická fotochemie*. 1. vyd. Brno: *Masarykova univerzita*, 2001. ISBN 80-2102526-3
- [9]. JACKSON, Kevin. Dynamický rozptyl světla – Co, jak a proč?. *CHEMagazín*. 2007, XVII, c. 1.
- [10]. PABST, W. a E. GREGOROVÁ. *Charakterizace částic a částicových soustav*. VŠCHTPraha, 2007.
- [11]. ŠENKERÍKOVÁ, Jana. *Charakterizace emulzí fotonovou korelační spektroskopií*. Zlín, 2010. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíne, Fakulta technologická, Ústav technologie tuku, tenzidu a kosmetiky. Vedoucí práce Ing. Vera Kašpárková, Csc.
- [12]. MALVERN INSTRUMENTS LTD. *Zetasizer Nano: Příručka pro uživatele*. Worcestershire, United Kingdom, 2007.
- [13]. HINDS, Wiliam C. *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. United States of Anerica: John Wiley & Sons, 1999. Second edition. ISBN 0-471-19410-7.
- [14]. TSI. Model 3475 Condensation monodisperse aerosol generator. Manual. In. TSI incorporated, Shoreview, USA, 2004.
- [15]. TSI. Model 3433 Small-scale powder disperser. Manual. In. TSI incorporated, Shoreview, USA, 2004.
- [16]. TSI. Model 3321 Aerodynamic particle sizer spectrometer. Manual. In. TSI incorporated, Shoreview, USA, 2004.

- [17]. PETRAK, Karel. Essential properties of drug-targeting delivery systems. *Drug Discovery Today* [online]. 09.2005, 10, 23-24, [cit. 2011-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T64-4HVW0C3-R/2/04537247fe21ada5a653f94c178bad35>>. ISSN 1359-6446.
- [18]. PILLAI, Omathanu; DHANIKULA, Anand Babu; PANCHAGNULA, Ramesh. Drug delivery: next term an odyssey of 100 years. *Current Opinion in Chemical Biology* [online]. 01.08.2001, 5, 4, [cit. 2011-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6VVRX-43J029Y-J/2/31e76254d0e114e6702dfcd96fbd4f32>>. ISSN 1367-5931.
- [19]. HORTON, K. D.; MILLER, R. D.; MITCHELL, J. P. Charakterization of a condensation-type monodisperse aerosol generator (MAGE). *Aerosol Science and Technology*. 09.11.1990, 22, 3, s. 347-363.
- [20]. GRGIC, B.; FINLAY, W.H.; HEENAN, A.F. Regional aerosol deposition next term and flow measurements in an idealized mouth and throat. *Journal of Aerosol Science* [online]. 01 2004, 35, 1, [cit. 2011-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6V6B-49N0D9Y-1/2/0b51c8b7e351f7628824d38747a93a78>>. ISSN 0021-85.
- [21]. MIKUŠKA, Pavel; VEČEŘA, Zbyněk. Aerosol Counterflow Two-Jets Unit for Continuous Measurement of the Soluble Fraction of Atmospheric Aerosols. *Analytical Chemistry*. 01.09.2005, 77, 17, s. 5534-5541. Dostupný také z WWW: <<http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ac050343l>>. DOI 10.1021/ac050343l.
- [22]. LAHNSTEIN, Kerstin, et al. Pulmonary absorption of aerosolized fluorescent markers in the isolated rabbit lung. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 03.03.2008, 351, 1-2, [cit. 2011-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T7W-4PSC258-3/2/764e255b601594b55a27de2641364366>>.
- [23]. LÍZAL, F.; ELCNER, J.; JEDELSKÝ, J.; JÍCHA, M. EXPERIMENTAL STUDY OF AEROSOL DEPOSITION IN A REALISTIC LUNG MODEL. *Transaction of the VŠB-Technical university of Ostrava, Mechanical series*, 2011, roč. LVI, č. 3/ 2010, s. 109-114. ISSN: 1210- 0471.
- [24]. Kuo-Hsi Cheng, Yung-Sung Cheng, Hsu-Chi Yeh, Raymond A. Guilmette, Steven Q. Simpson, Yi-Hsin Yang, David L. Swift, In vivo measurements of nasal airway dimensions and ultrafine aerosol deposition in the human nasal and oral airways, *Journal of Aerosol Science*, Volume 27, Issue 5, July 1996, Pages 785-801, ISSN 0021-8502, 10.1016/0021-8502(96)00029-8.
- [25]. STOREY-BISHOFF, J., M. NOGA A W. H. FINLAY Deposition of micrometer-sized aerosol particles in infant nasal airway replicas. *Journal of Aerosol Science*, Dec 2008, 39(12), 1055-1065.
- [26]. Cheng, Yung-Sung, Zhou, Yue and Chen, Bean T. (1999) 'Particle Deposition in a Cast of Human Oral Airways', *Aerosol Science and Technology*, 31:4, 286 - 300
- [27]. ZHOU, Y. A Y. S. CHENG Particle deposition in first three generations of a human lung cast. *Journal of Aerosol Science*, 2000, 31, Supplement 1(0), 140-141.

- [28]. BALASHAZY, I., W. HOFMANN A T. B. MARTONEN Inspiratory particle deposition in airway bifurcation models. *Journal of Aerosol Science*, 1991, 22(1), 15-30.
- [29]. BALÁSHÁZY, I. A W. HOFMANN Particle deposition in airway bifurcations–II. Expiratory flow. *Journal of Aerosol Science*, 1993, 24(6), 773-786.
- [30]. ZHOU, Y. A Y. S. CHENG Particle deposition in a cast of human tracheobronchial airways. *Aerosol Science and Technology*, Jun 2005, 39(6), 492-500
- [31]. CHAN, T. L. A M. LIPPMANN Experimental measurements and empirical modeling of the regional deposition of inhaled particles in humans. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 1980, 41(6), 399-408.
- [32]. ZHANG, Z., C. KLEINSTREUER A C. S. KIM Micro-particle transport and deposition in a human oral airway model. *Journal of Aerosol Science*, Dec 2002, 33(12), 1635-1652.
- [33]. C.K. DIU & C.P. YU (1983): Respiratory Tract Deposition of Polydisperse Aerosols in Humans, *American Industrial Hygiene Association Journal*, 44:1, 62-65
- [34]. Kim, C.S. 2000, "Methods of calculating lung delivery and deposition of aerosol particles", *Respiratory care*, vol. 45, no. 6, pp. 695-711
- [35]. Jacky A Rosati, James S Brown, Thomas M Peters, David Leith, Chong S Kim, A polydisperse aerosol inhalation system designed for human studies, *Journal of Aerosol Science*, Volume 33, Issue 10, October 2002, Pages 1433-1446, ISSN 0021-8502, 10.1016/S0021-8502(02)00087-3.
- [36]. LÍZAL, F. Experimentální výzkum transportu a depozice aerosolů v dýchacím traktu člověka. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2012. 137 s. Vedoucí dizertační práce prof. Ing. Miroslav Jícha, CSc.
- [37]. HORIBA JOBIN YVON. DAS6 Fluorescence decay analysis software: User guide
- [38]. KADLEC, Karel. Snímače a měřicí technika: Provozní snímače hustoty kapalin. *AUTOMA: časopis pro automatizační techniku*. 2011, roč. 17, č. 1, s. 44-48. ISSN 1210-9592. Dostupné z: <http://www.odbornecasopisy.cz/res/pdf/42735.pdf>.
- [39]. Novák, J. P.: Fyzikální chemie II.1. vyd. Praha: VŠCHT, 2001, 316 s
- [40]. LÍZAL, F.; JEDELSKÝ, J.; LIPPAY, J.; HALASOVÁ, T.; MRAVEC, F.; JÍCHA, M. Aerosol Transport in a Model of Human Lungs. In *Experimental Fluid Mechanics 2011 Conference Proceedings Volume 1*. Liberec, Czech Republic: Technical University of Liberec, 2011. s. 281-288. ISBN: 978-80-7372-784- 0.

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

### 7.1 Seznam zkratek

<b>zkratka</b>	<b>význam</b>
DEHS	bis(2-ethylhexyl)dekandioát
IPA	isopropylalkohol
NaCl	chlorid sodný
NaF	fluorid sodný
IČ	infračervená spektroskopie
DLS	dynamický rozptyl světla
CMAG	kondenzační generátor monodisperzního aerosolu
SSPD	práškový rozprašovač (small-scale powder disperser)
APS	aerodynamický spektrometr částic
CMD	početní medián průměru částic
MMD	hmotnostní medián průměru částic
CF	5(6)-carboxyfluorescein
PET	pozitronová emisní tomografie
MRI	magnetická rezonance
CT	výpočetní tomografie
PDA	doplerovský anemometr
AR	akustická rinometrie
CPC	kondenzační čítač částic
H <sub>2</sub> O	voda
UV/VIS	ultrafialové / viditelné spektrum
TAC	time-to-amplitude convertor
CFD	constant function diskriminátor
ADC	analog-to-digital konvertor
PGA	programable gain amplifier

### 7.2 Seznam symbolů

<b>symbol</b>	<b>význam</b>
$I_A$	intenzita absorbovaného světla
$I_F$	intenzita fluorescence
$k_i$	rychlostní konstanta reprezentující deaktivční procesy
$k_r$	rychlostní konstanta fluorescence
$M$	základní stav molekuly
$M^*$	excitovaný stav molekuly
$Q$	zhášec
$S_0$	základní stav molekuly
$S_1$	první excitovaný singletový stav molekuly
$T_1$	první excitovaný tripletový stav molekuly
$\lambda_{em}$	vlnová délka luminiscenční emise
$\lambda_{ex}$	vlnová délka excitovaného záření
$\tau_0$	doba života fluorescence
$\Phi_F$	kvantový výtěžek fluorescence
$g(t)$	autokorelační funkce

$t_c$	relaxační čas
$D$	difuzní koeficient
$q$	rozptylový vektor
$n$	index lomu
$\theta$	úhel lomu
$R_h$	hydrodynamický poloměr
$k$	Boltzmanova konstanta
$T$	Termodynamická teplota
$\eta$	viskozita
$Stk$	Stokesovo číslo
$F_{cor}$	korigovaná intenzita fluorescence
$F_{obs}$	pozorovaná intenzita fluorescence
$A_{ex}$	absorbance při excitační vlnové délce
$A_{em}$	absorbance při emisní vlnové délce
$t$	čas
$A$	fitovací parametr
$B$	předexponenciální funkce
$T$	doba života
$f$	frekvence
$m$	hmotnost rezonátoru
$V$	objem
$\rho$	hustota
$k$	součinitel tuhosti materiálu
$v$	rychlost
$g$	gravitační konstanta
$r$	poloměr kuličky
$\Delta\rho$	rozdíl hustot kapalin
$l$	dráha
$dN$	počet částic

## **8 Seznam příloh**

9.1 Článek F. Lízal.....	65
9.2 Doplnující informace .....	73



## 9 Přílohy

### 9.1 Článek F. Lízal

#### AEROSOL TRANSPORT IN A MODEL OF HUMAN LUNGS

Frantisek LIZAL<sup>1</sup>, Jan JEDELSKY, Josef LIPPAY<sup>2</sup>, Tereza HALASOVA, Filip MRAVEC,  
Miroslav JICHA

**Abstract:** *Complex flow structures emerging in human lungs significantly affect deposition of inhaled particles. Therefore flow measurements alongside with deposition measurements have to be performed on the same model geometry. Amount of deposited aerosol particles in different regions of lungs could be measured by several methods. Gamma detection of radioactive tagged particles is subjected to strict regulations and is expensive; gravimetry and fluorometry are thus preferred in current studies.*

*Novel methodology for fluorometric measurement of aerosol transport in models of human lungs was developed. Some previously published experiments were performed using condensation of di(2-ethylhexyl) sebacate (DEHS) vapours on fluorescein nuclei. Their authors assumed that fluorescein is necessary for generation of fluorescent particles and they neglected possible fluorescence of DEHS itself. Our analysis of DEHS characteristics indicated that DEHS fluorescence could be detected apart in sufficient rate to evaluate aerosol deposition. Consequently experiments in standard setup of condensation monodisperse aerosol generator with sodium chloride nuclei instead of fluorescein were performed. Results demonstrating applicability and limitations of DEHS particles for fluorometric deposition measurements are presented and discussed.*

#### INTRODUCTION

Treatment of different lung diseases requires targeted delivery of medication to specific regions within human lungs [1]. Cancer develops usually in upper respiratory airways [2, 3], whereas asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) or cystic fibrosis (CF) requires targeting of aerosolized medication to lower respiratory airways [4-6]. There is also a great potential for delivery of systemic medication directly to the blood circulation across alveoli [7].

Fate of inhaled particles depends on many factors such as shape and density of particles, airway dimensions and their constrictions caused by lung diseases, chemical properties of particles and mucus, method of inhalation and others. Many different methods are available to study absorption and deposition of particles [8]. Our work was focused on investigation of aerosol deposition in human lungs. Experiments were performed on the same geometry as phase Doppler anemometry measurements of particles velocity [9] and numerical simulations of flow and deposition [10].

---

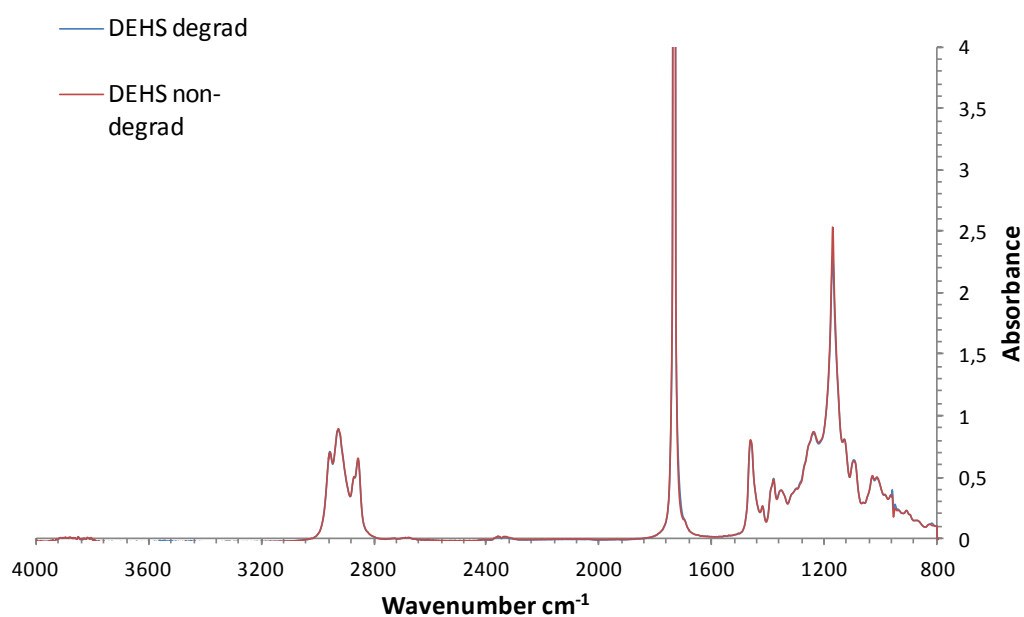
<sup>1</sup> Frantisek Lizal, Jan Jedelsky, Miroslav Jicha, Brno University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, Technicka 2, 616 69 Brno, Czech Republic, ylizal00@stud.fme.vutbr.cz

<sup>2</sup> Josef Lippay, Tereza Halasova, Filip Mravec, Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Purkynova 118, 612 00 Brno, Czech Republic, xchhalasova@fch.vutbr.cz

Deposition of aerosol could be measured by radiolabelling of particles with consequent measurement of radioactivity in particular regions of lungs. This method can be used for both, in vivo and in vitro experiments. However using radioactive material is subjected to strict regulations and also financial expenses are higher compared to other methods. Therefore we decided to use fluorometry to measure regional deposition in a model of human lungs.

## METHODOLOGY

Fluorometry is based on measurement of fluorescence intensity in samples created by rinsing of particular segments of the model containing deposited luminiscent aerosol. Formerly published experiments were performed using di(2-ethylhexyl) sebacate (DEHS) particles with fluorescein sodium salt (uranin) cores as fluorescent tracer [11, 12]. Our preliminary experiments indicated that there is a possibility to detect the fluorescence of DEHS itself and therefore standard setup of aerosol generator with sodium chloride cores could be used, which is effortless and cleaner. To confirm applicability of DEHS fluorescence for evaluation of aerosol deposition, we have performed a set of tests which are presented herein.



**Fig. 1 Infrared spectrum of distilled and degraded DEHS [13]**

The first question that arises is what causes the fluorescence of DEHS. Fluorescence is an emission of light caused by relaxation of an orbital electron to a ground state after excitation to a higher quantum state by light at smaller wavelength. Regrettably DEHS is not a typical fluorophore and there is no obvious reason for its fluorescence, neither a note in the literature. Therefore we had to exclude a possibility of occurrence of fluorescent impurities.

DEHS was distilled in low pressure atmosphere to remove possible impurities and put to test on infrared spectroscopy at Nicolet Impact 400 with ATR crystal. The infrared spectrum of a sample is recorded by passing a beam of infrared light through the sample. When the frequency of the IR light is the same as the vibrational frequency of a bond, absorption occurs. Examination of the transmitted light reveals how much energy was absorbed at each wavelength. From this, a transmittance or absorbance spectrum can be

produced, showing at which IR wavelengths the sample absorbs. Analysis of these absorption characteristics reveals details about the molecular structure of the sample [14]. IR spectrometry is an instrument for highly sensitive detection of different chemical elements and is often used in forensic science. We can expect that IR spectrometry will easily detect possible impurities in DEHS. However **Fig. 1** illustrates that IR spectrum of distilled and original DEHS does not differ; therefore we can assume that there are no significant organic impurities present in the samples.

It follows from our experience that DEHS changes its colour from almost transparent with a tinge of yellow to yellow color during experiments due to heating in aerosol generator. There is obviously some kind of degradation which should be recorded by fluorometry or possibly by infrared spectroscopy. Regrettably infrared spectroscopy gave the same spectra for degraded and non-degraded DEHS, therefore these two DEHS types can not be distinguished by this method. 3D fluorescent spectrometry was used for verification of the supposition that there are two types of DEHS: non-degraded and degraded. Excitation scans were performed for wavelengths 250 nm to 500 nm with 5 nm step and emission scans were performed for wavelengths 250 nm 600 nm with 10 nm step. Resulting scans are presented in

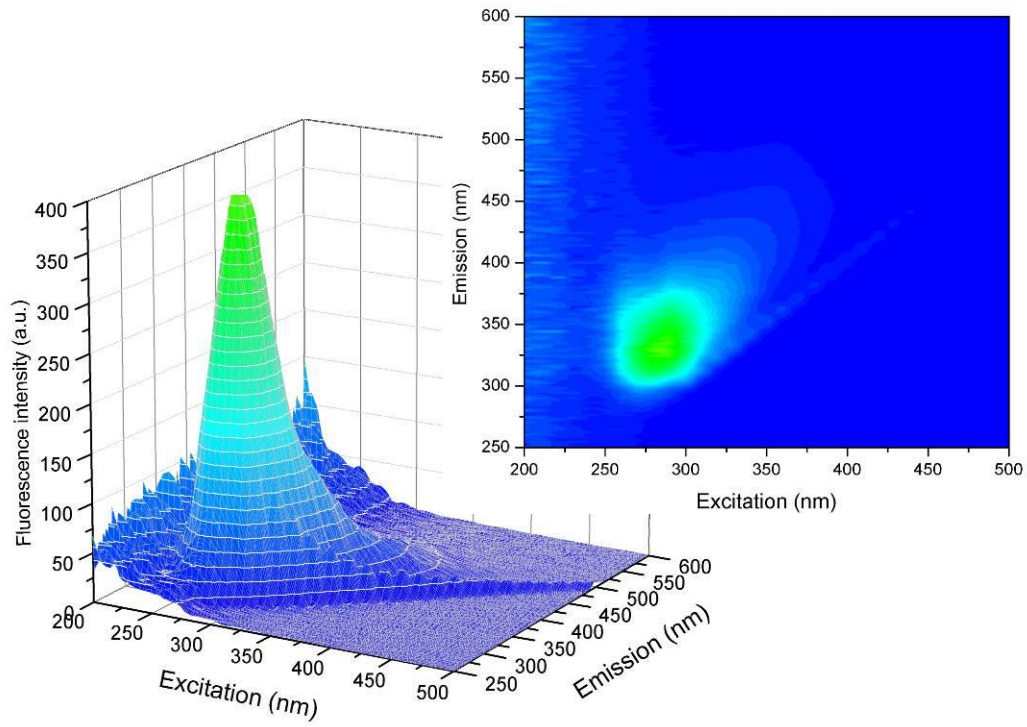
**Fig. 2** and  
**Fig. 3.**

The methodology of aerosol deposition measurement requires usage of suitable solvent to dissolve DEHS deposited on each segment. Seven solvents were tested: isopropanol, ethanol, methanol, dimethyl sulfoxide (DMSO), cyclohexane, xylene and chloroform.

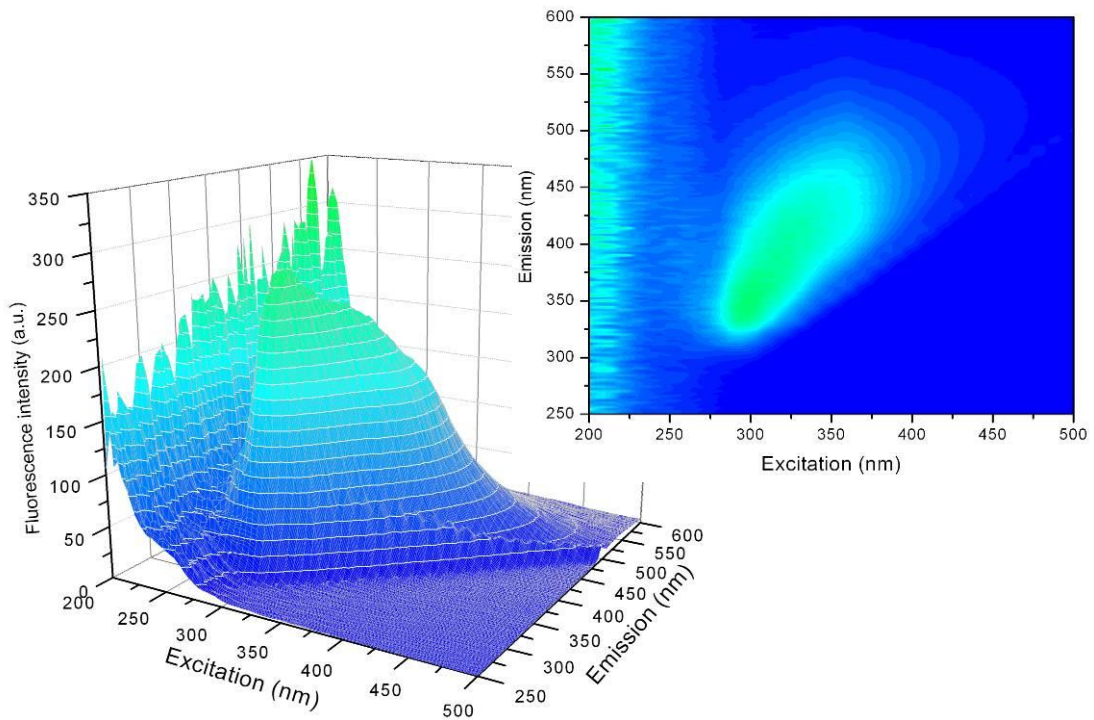
Fluorescence characteristics of DEHS in different solvents was investigated by fluorescence spectroscopy on AMINCO Bowman Series 2 spectrometer. Samples were created by dissolving of 0.5 ml of DEHS in 4.5 ml of solvent and mixed for 24 hours. The samples were 3D scanned afterwards.

The best yield was achieved with isopropanol, the worst in xylene (see **Fig. 4** and **Fig. 5**). Isopropanol therefore appears as the best solvent for DEHS.

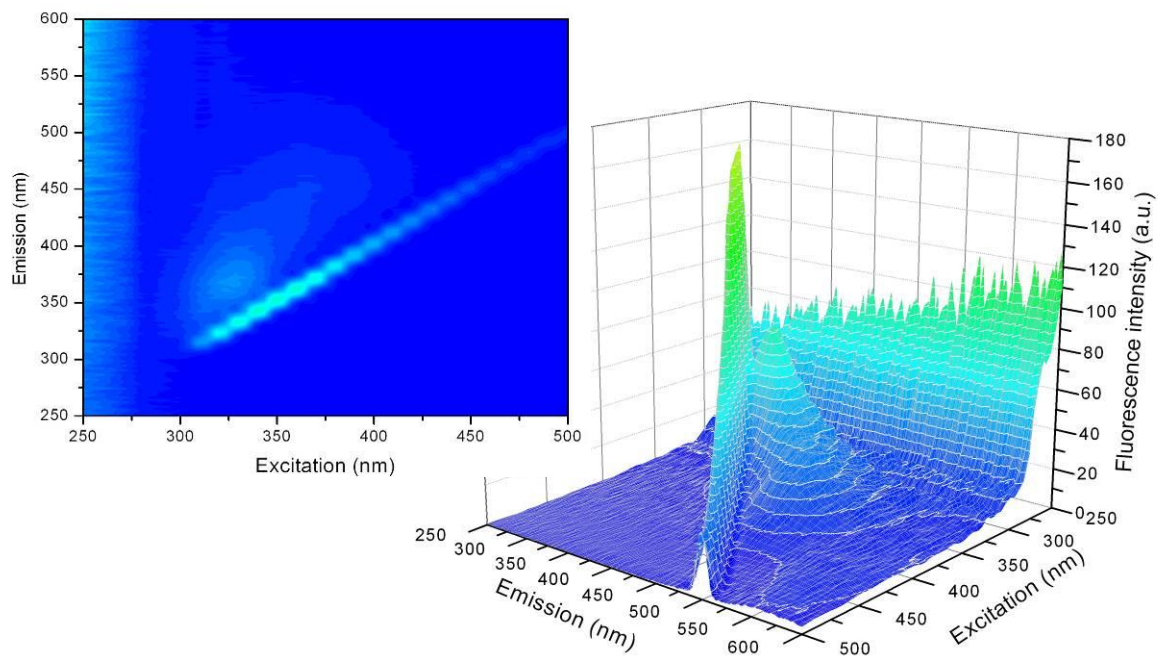
As these tests confirmed detectability of DEHS-isopropanol solution fluorescence, we decided to perform deposition experiments with DEHS aerosol in standard setup of aerosol generator with sodium chloride nuclei.



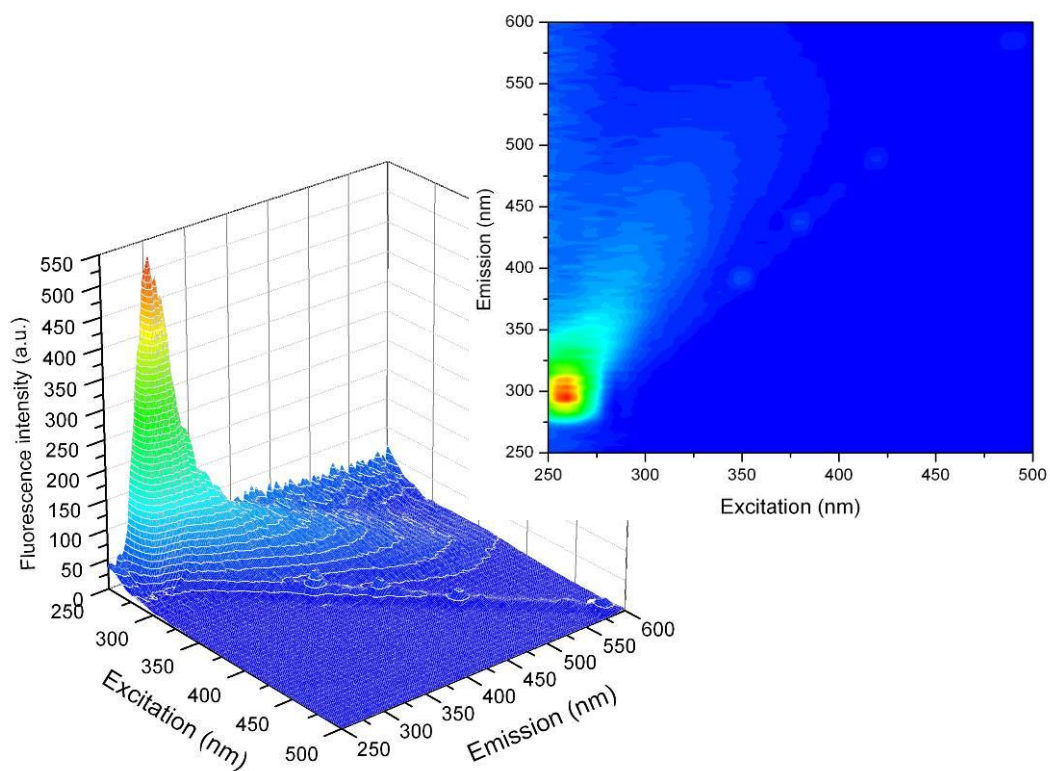
**Fig. 2 Fluorescence spectrum of non-degraded DEHS [13]**



**Fig. 3 Fluorescence spectrum of degraded DEHS [13]**



**Fig. 4 Fluorescence spectrum of DEHS in xylene [13]**



**Fig. 5 Fluorescence spectrum of DEHS in isopropanol [13]**

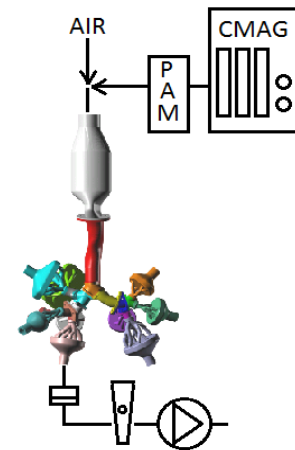
## RESULTS

Experiments were performed on a test rig consisting of aerosol generator, aerosol monitor, air-aerosol mixer, segmented model of human lungs [15], ten filters at ten output branches of the model, adjustable flowmeters and a vacuum pump (see Fig. 6).

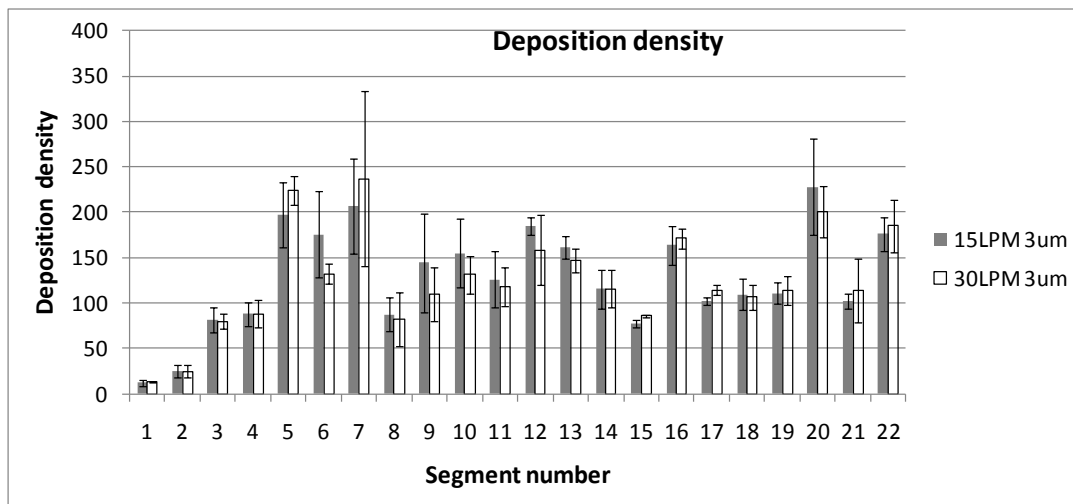
Aerosol generator was set to produce 3  $\mu\text{m}$  monodisperse particles with concentration  $1.10^5 \text{ P/cm}^3$ . Flowrates were set individually on each flowmeter to fit the same flow conditions that were used for Phase Doppler Anemometry measurements. Total flowrate through the model was set to 15 LPM (resting conditions) and 30 LPM (deep breath). Experiments were performed in inhalation regime.

The model was dismounted to segments after the experiment and each segment was sonicated in isopropanol to dissolve the deposited DEHS aerosol. Samples created by sonication were analyzed on AMINCO Bowman Series 2 spectrometer and resulting fluorescence intensity for each segment was recorded. We assumed that the fluorescence intensity is directly proportional to the amount of deposited aerosol. The ratio of the segment fluorescence intensity and the sum of intensities of all segments was divided by inner surface area of the segment which equals to aerosol deposition density in the segment. The resulting deposition densities for all segments are presented in **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**

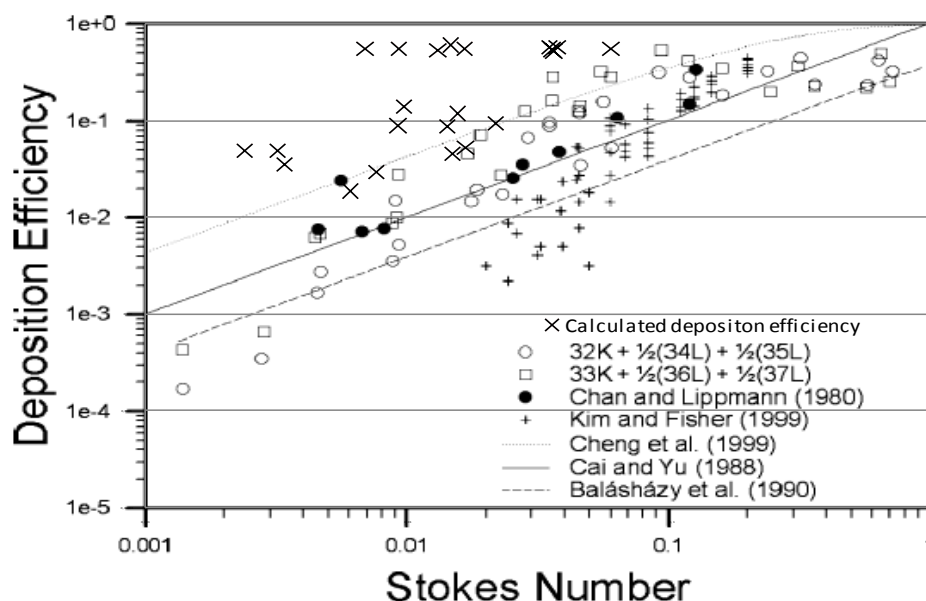
However the results did not match published data acquired using different methods (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**).



**Fig. 6** Scheme of the test rig



**Fig. 7** Deposition density results acquired using DEHS fluorescence



**Fig. 8 Comparison with published data (modified from [16])**

## DISCUSSION

The reason of the difference in our and published data is probably caused by diverse measuring methods, as the lung models are similar. In our case we did the assumption that the fluorescence intensity is directly proportional to the amount of deposited aerosol, which might be wrong. This was confirmed by present calibration experiments, which demonstrated that there is a very low increase in fluorescence intensity with increasing concentration of DEHS, which leads to inaccurate results in our range of concentrations. Increasing of concentration range is impossible in our case, therefore new suitable fluorescent tracer should be used. Essential characteristic of the new tracer is high resistance to heat, as we need to produce monodisperse particles by condensation in the generator at high temperature.

## SUMMARY

Preliminary experiments confirmed detectability of DEHS by fluorescence spectroscopy. Infrared spectrometry excluded the possibility that the fluorescence is caused by organic impurities in DEHS batch, but the real cause of DEHS fluorescence remains unclear. Isopropanol appears as the most suitable solvent according to 3D fluorescence scan analysis. Aerosol deposition measurement performed using DEHS fluorescence analysis showed considerably different results than expected. The reason is probably very low increase of DEHS fluorescence with increasing concentration. For future measurements of aerosol deposition is therefore necessary to use different fluorescent tracer, however our analysis of DEHS characteristics might be useful in other applications where larger concentration ranges occur.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors gratefully acknowledge a financial support from the project GA P105/11/1339 funded by the Czech Science Foundation, projects ME 09030 of the program KONTAKT, the project OC10052, COST Action Particles No. MP0806 funded by

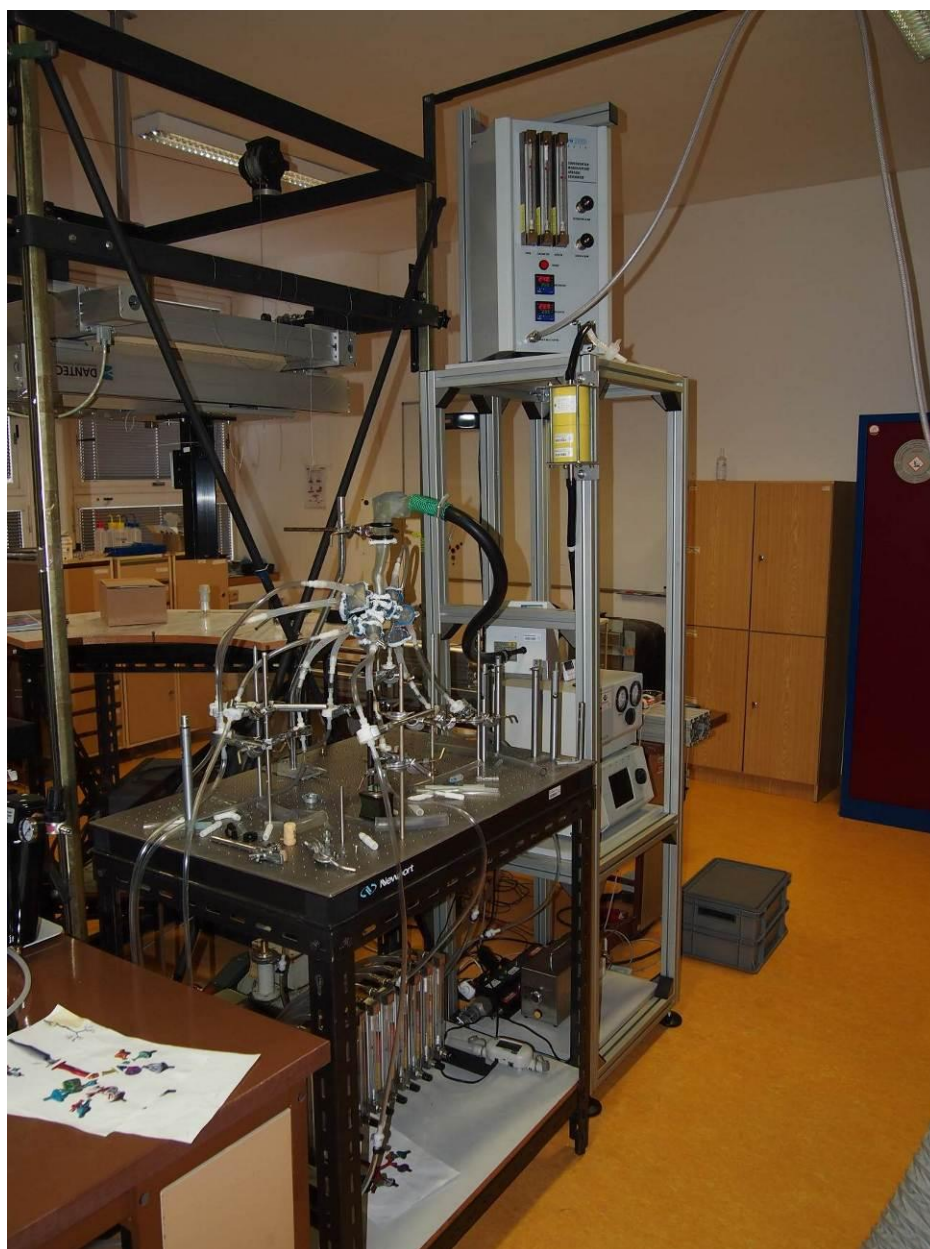
the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and the project of the Brno University of Technology FSI-S-11-6. This work was supported by the project "Centre for Materials Research at FCH BUT" No. CZ.1.05/2.1.00/01.0012 from ERDF.

## REFERENCES

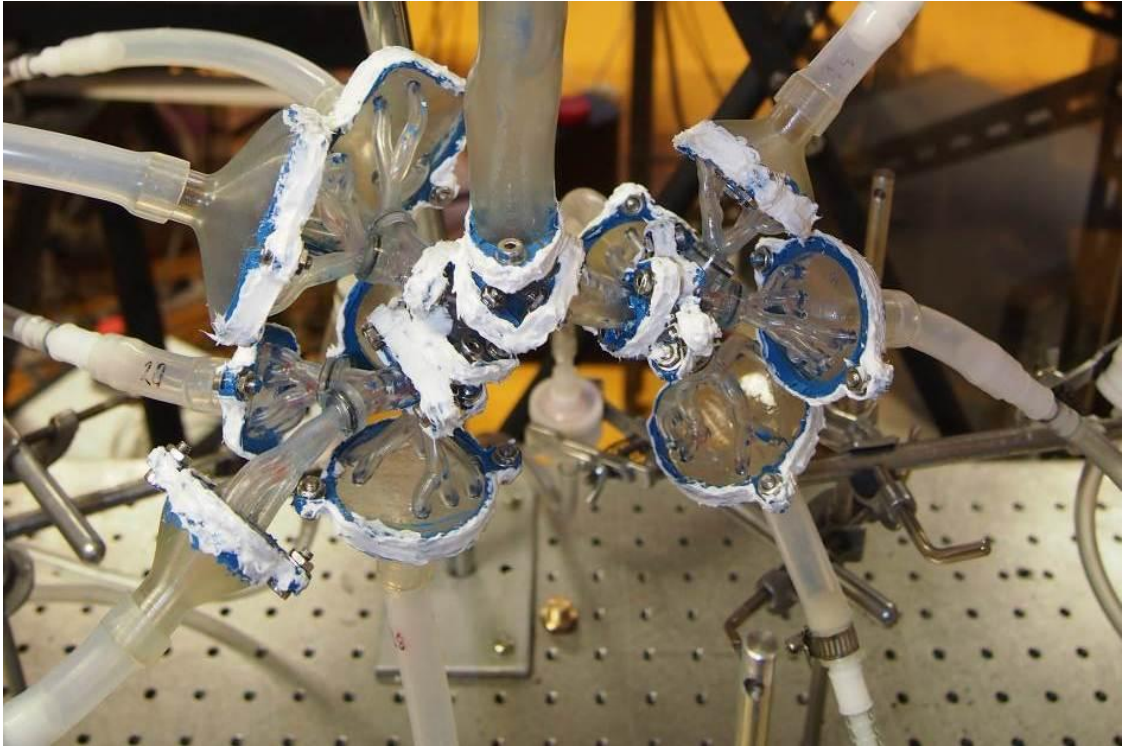
- Kleinstreuer C., Zhang Z., Li Z., Roberts W.L., Rojas C.: A new methodology for targeting drug-aerosols in the human respiratory system. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 51, 5578-5589, 2008.
- Ally J., Martin B., Behrad Khamesee M., Roa W., Amirfazli A.: Magnetic targeting of aerosol particles for cancer therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293, 442-449, 2005.
- Martin A.R., Finlay W.H.: Enhanced deposition of high aspect ratio aerosols in small airway bifurcations using magnetic field alignment. *Journal of Aerosol Science*, 39, 679-690, 2008.
- Dalby R., Suman J.: Inhalation therapy: technological milestones in asthma treatment. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 779-791, 2003.
- Hanania N.A., Ambrosino N., Calverley P., Cazzola M., Donner C.F., Make B.: Treatments for COPD. *Respiratory Medicine*, 99, S28-S40, 2005.
- Hannemann L.A.: What is new in asthma: New dry powder inhalers. *Journal of Pediatric Health Care*, 13, 159-165, 2004.
- Newhouse M.T.: Tennis anyone? The lungs as a new court for systemic therapy. *Canadian Medical Association Journal*, 161, 1287-1288, 1999.
- Jaafar-Maalej C., Andrieu V., Elaissari A., Fessi H.: Assessment methods of inhaled aerosols: technical aspects and applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6, 941-959, 2009.
- Jedelsky J., Lizal F., Jicha M.: Power spectral density of velocity fluctuations estimated from phase doppler data. *Experimental Fluid Mechanics 2011*. Jicin, Czech republic, 2011, In print.
- Elcner J., Lizal F., Jedelsky J., Jicha M.: Numerical simulation of air flow in a model of lungs with mouth cavity. *Experimental fluid mechanics 2011*. Jicin, Czech republic, Technical University of Liberec, 2011, In print.
- Bowes S.M., Swift D.L.: Deposition of inhaled particles in the oral airway during oronasal breathing. *Aerosol Science and Technology*, 11, 157-167, 1989.
- Horton K.D., Miller R.D., Mitchell J.P.: Characterization of a condensation-type monodisperse aerosol generator (MAGE). *Journal of Aerosol Science*, 22, 347-363, 1991.
- Lippay J.: Fluorescence spectroscopy in study of aerosol-forming substances. Bachelor's thesis, Brno. Faculty of Chemistry Brno University of Technology, 2011, p. 40.
- Stuart B.H., George B., McIntyre P.: *Modern infrared spectroscopy*. New York, John Wiley & Sons, 1996.
- Lizal F., Elcner J., Hopke P.K., Jedelsky J., Jicha M.: Development of a realistic human airway model. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 2011, In review.
- Zhou Y., Cheng Y.S.: Particle deposition in a cast of human tracheobronchial airways. *Aerosol Science and Technology*, 39, 492-500, 2005.



## 9.2 Doplňující informace



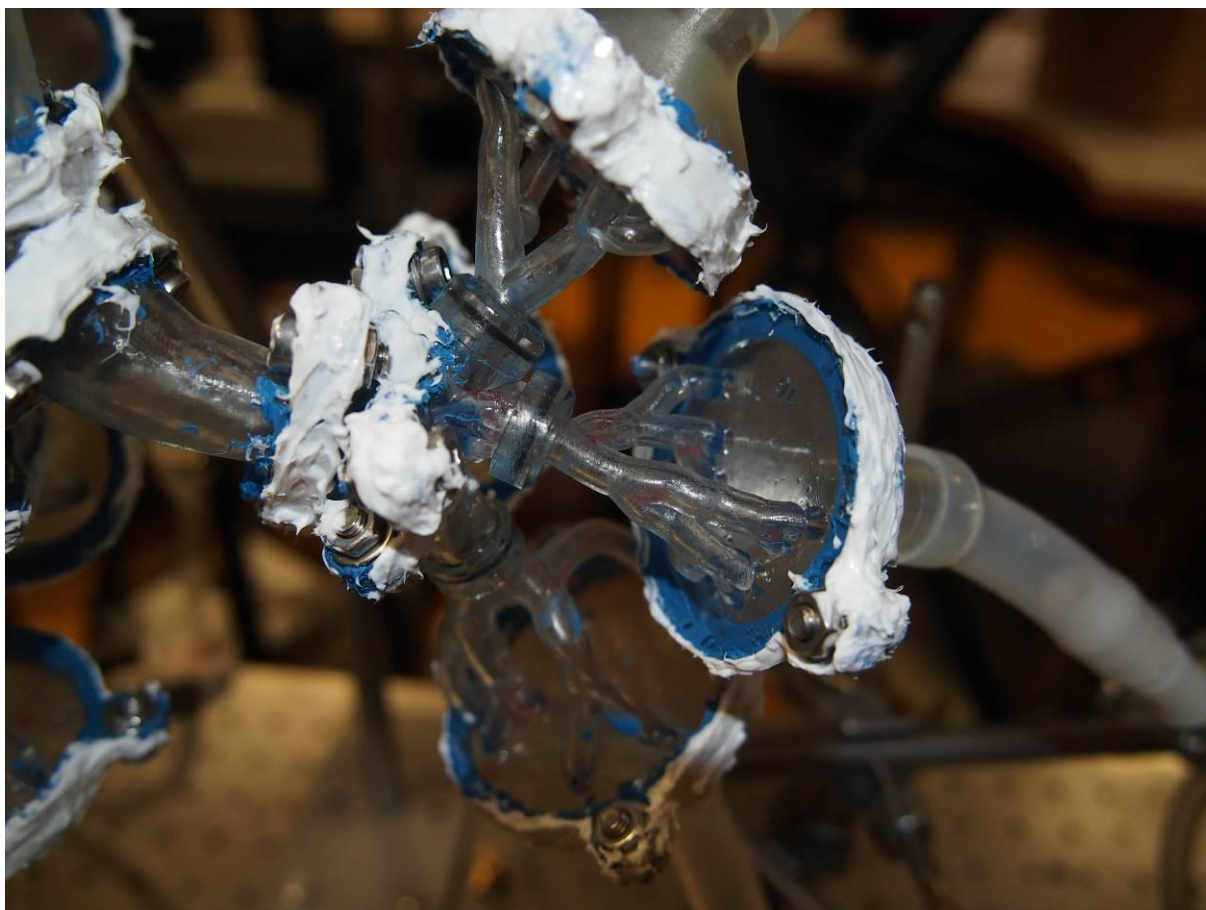
*Obrázek 44: Laboratorní zapojení pro generaci aerosolu z CMAG*



*Obrázek 45: Zobrazení Hot-spotů v modelu plic*



*Obrázek 46: Detailnější zobrazení Hot-spotů v levém větvení modelu plic*



*Obrázek 47: Detailnější zobrazení Hot-spotů v pravém větvení modelu plic*