

OPTIKAI MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA DISZPERZ RENDSZEREK VIZSGÁLATÁRA

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

NAGY ATTILA TIBOR

WIGNER FIZIKAI KUTATÓKÖZPONT

BUDAPEST

2023

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|----|
| Rövidítések jegyzéke..... | 4 |
| Jelölések jegyzéke | 5 |
| 1. Bevezetés | 6 |
| 2. Az aeroszolak optikai tulajdonságainak vizsgálatai..... | 9 |
| 2.1. Tudományos előzmények | 9 |
| 2.2. Célkitűzések..... | 13 |
| 2.3. Alkalmazott eszközök és módszerek | 14 |
| 2.3.1. Optikai részecskeszámlálók..... | 14 |
| 2.3.2. A részecskék optikai tulajdonságainak mérésére fejlesztett műszer..... | 16 |
| 2.4. Eredmények | 22 |
| 2.4.1. A mérési módszer laboratóriumi tesztelése | 22 |
| 2.4.2. A városi aeroszol abszorpciós tulajdonságainak vizsgálata..... | 25 |
| 2.5. Összegzés..... | 32 |
| 3. Optikai módszerek az aeroszolak egészségügyi hatásainak vizsgálatára..... | 33 |
| 3.1. Tudományos előzmények | 33 |
| 3.2. Célkitűzések..... | 38 |
| 3.3. Alkalmazott eszközök és módszerek | 39 |
| 3.3.1. Optikai módszerek az aeroszolak tulajdonságainak vizsgálatára | 39 |
| 3.3.2. A vizsgálatokhoz felépített mérési elrendezések | 43 |
| 3.3.3. Modellszámítások | 45 |
| 3.4. Eredmények | 48 |
| 3.4.1. A kórokozók terjedésének vizsgálata kórházi környezetben | 48 |
| 3.4.2. Aeroszolgyógyszerek vizsgálata optikai módszerekkel..... | 57 |
| 3.5. Összegzés..... | 64 |
| 4. Intenzív lézertény-fém kölcsönhatás során felszabaduló aeroszol tulajdonságai | 66 |
| 4.1. Tudományos előzmények | 66 |
| 4.2. Célkitűzések..... | 68 |
| 4.3. Alkalmazott eszközök és módszerek | 69 |
| 4.3.1. A 3D fémnyomtató | 69 |
| 4.3.2. A mérések leírása | 71 |
| 4.3.3. Modellszámítások | 73 |
| 4.4. Eredmények | 75 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 4.4.1. | A részecskék koncentrációja és méreteloszlása | 75 |
| 4.4.2. | A részecskék morfológiája és elemi összetétele | 82 |
| 4.4.3. | Az egészségügyi hatások és a folyamatra gyakorolt hatások elemzése..... | 86 |
| 4.5. | Összegzés | 88 |
| 5. | Molekuláris rendszerek fluoreszcenciamikroszkópos vizsgálata | 89 |
| 5.1. | Tudományos előzmények | 89 |
| 5.1.1. | A molekuláris rendszerben végbemenő diffúzió | 90 |
| 5.1.2. | A fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia..... | 90 |
| 5.1.3. | A fluoreszcenciamikroszkópos vizsgálatok mérési térfogata | 93 |
| 5.1.4. | A modellválasztás jelentősége az illesztések és a kiértékelés során..... | 101 |
| 5.2. | Célkitűzések | 103 |
| 5.3. | Alkalmazott eszközök és módszerek | 103 |
| 5.3.1. | Az autokorrelációs függvény meghatározása tetszőleges térbeli profil esetén. | 103 |
| 5.3.2. | A vizsgálatokhoz használt fluoreszcenciamikroszkóp és minta | 103 |
| 5.3.3. | A fluoreszcenciakorrelációs mérések leírása | 106 |
| 5.4. | Eredmények | 106 |
| 5.4.1. | A mérési térfogat és a korrelációs görbék változása..... | 106 |
| 5.4.2. | Új adatkiértékelési modell | 109 |
| 5.4.3. | Az új adatkiértékelési modell alkalmazásai | 111 |
| 5.5. | Összegzés | 116 |
| | Tézisek | 117 |
| | A tézisek alapjául szolgáló közlemények..... | 121 |
| | A dolgozat témájához kapcsolódó további közleményeim | 123 |
| | Köszönetnyilvánítás | 124 |
| | Felhasznált irodalom | 125 |

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

| | |
|-------|--|
| APS | Aerodynamic Particle Sizer – Aerodinamikai részecskeméret-mérő |
| CPC | Condensation Particle Counter – Kondenzációs részecskeszámláló |
| DWOPS | Dual Wavelength Optical Particle Spectrometer – Két hullámhosszú optikai részecskespektrométer |
| DMA | Differential Mobility Analyser – Differenciális mobilitásanalizátor |
| SMPS | Scanning Mobility Particle Sizer – Pásztázó mobilitási részecskeméret-mérő |
| IPCC | Intergovernmental Panel on Climate Change – Éghajlatváltozási Kormányközi Testület |
| LAS | Laser Aerosol Spectrometer – Lézeres aeroszol-spektrométer |
| VOAG | Vibrating Orifice Aerosol Generator – Rezgőfűvőkás aeroszol-generátor |
| OPC | Optical Particle Counter – Optikai részecskeszámláló |
| DEHS | Diethylhexyl Sebacate – Dietilhexil-szebacát |
| LDA | Laser Doppler Anemometer – Lézeres Doppler-sebességmérő |
| FFT | Fast Fourier Transform – Gyors Fourier-transzformáció |
| COPD | Chronic Obstructive Pulmonary Disease – Krónikus obstruktív tüdőbetegség |
| DPI | Dry Powder Inhaler – Szárazpor-inhalátor |
| MDI | Metered Dose Inhaler – Kimért dózisú inhalátor |
| pMDI | Pressurized Metered Dose Inhaler – Túlnyomásos kimért dózisú inhalátor |
| MMAD | Mass Median Aerodynamic Diameter – Tömegszerinti medián aerodinamikai átmérő |
| CFD | Computational Fluid Dynamics – Numerikus áramlástan |
| CT | Computed Tomography – Komputertomográfia |
| PET | Positron Emission Tomography – Pozitronemissziós tomográfia |
| ACI | Andersen Cascade Impactor – Andersen kaszkádingpaktor |
| NGI | Next Generation Impactor – Új generációs impaktor |
| PLA | Polylactic acid – Politejsav |
| ABS | Acrylonitrile butadiene styrene – Akrilnitril-butadién-sztirol |
| PC | Polycarbonate – Polikarbonát |
| AM | Additive Manufacturing – Additív gyártás |
| DED | Directed Energy Deposition – Irányított energiadepozíció |
| TXRF | Total Reflection X-ray Fluorescence – Teljes visszaverődéses röntgenfluoreszcencia |
| μXRF | Microscopic X-ray Fluorescence – Mikroszkópos röntgenfluoreszcencia |
| XANES | X-ray Absorption Near-Edge Structure – Röntgenabszorpciós élközei struktúra |
| SEM | Scanning Electron Microscope – Pásztázó elektronmikroszkóp |
| EDS | Energy Dispersive Spectroscopy – Energiadiszerzív spektroszkópia |
| 3DG | 3D Gauss – 3 dimenziós Gauss profil |
| GL | Gaussian-Lorentzian – Gauss-Lorentz profil |
| FCS | Fluorescence Correlation Spectroscopy – Fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia |

JELÖLÉSEK JEGYZÉKE

| | |
|------------------|--|
| D_p | részecskeméret – átmérő |
| $\overline{D_p}$ | átlagos részecskeméret |
| D_a, D_m | aerodinamikai és mobilitási méret |
| SD | szórás – standard deviation |
| m_p | részecske tömege |
| m | komplex törésmutató – $m = n + k \cdot i$ valós és képzetes részek |
| λ | hullámhossz |
| Q | szórási vagy abszorpciós keresztmetszet |
| α_v | térfogati szórási vagy abszorpciós hatásfok |
| x_p | méreteparaméter |
| N, C | darabszám szerinti koncentráció |
| M | tömegkoncentráció |
| D | diffúziós együttható |
| k | Boltzmann állandó |
| η | viszkozitás |
| ρ | sűrűség |
| ρ_{eff} | effektív sűrűség |
| τ_{sed} | részecske gravitációs kiülepedési ideje |
| τ_{ev} | részecske elpárolgásához szükséges idő |
| g | nehézségi gyorsulás |
| RH | relatív páratartalom |
| D_{ev} | párolgás utáni egyensúlyi részecskeméret |
| K | koagulációs együttható |
| C_c | Cunningham csúszási korrekciós tényező |
| λ_f | átlagos szabad úthossz |
| G | korrelációs függvény |
| F | fluoreszcenciaintenzitás |
| W | a fluoreszcenciagerjesztési profilt leíró függvény |
| γ | γ -faktor |
| ψ | molekuláris fényesség |
| Γ | spontán relaxációs ráta |
| w | fotonabszorpciós és stimulált emissziós ráta |
| ω_0 | nyalábnyak mérete |
| σ | fotonabszorpciós keresztmetszet |
| R_{sat} | relatív szaturációs intenzitás |

1. BEVEZETÉS

Diszperz rendszerek életünk számos területén jelen vannak, tulajdonságaik meghatározzák mindennapjainkat és életminőségünket. Diszperz rendszert alkot például a levegő és a levegőben eloszlott kis részecskék, amely így a napsugárzást is befolyásoló felhőkön, ködön, szmogon és a füstön keresztül is hatással van mindennapjainkra. A levegőben lebegő kis részecskék egészségkárosító, toxikus és karcinogén hatása sok esetben ismert, azonban például az aeroszolgyógyszerek esetében a hatás az előzővel éppen ellentétes, céljuk a légúti betegségek kezelése. A COVID-19 pandémia is rávilágított arra, hogy az aeroszol részecskék fontos szerepet játszanak különböző, a légutakból kiinduló betegségek terjedésében is. Az élőlényekben is számos helyen találkozhatunk diszperz rendszerrel, pl. a különböző sejtnedvek és a vér is ide sorolhatók. Disszertációm diszperz rendszerek vizsgálati módszereiről ad egy áttekintést, ahol a fókuszban az életminőségünket, egészségi állapotunkat befolyásoló tulajdonságaik meghatározására szolgáló optikai módszerek állnak.

Definíció szerint a diszperz rendszerek többkomponensű anyagi rendszerek, a diszperziós közeg és a benne finoman eloszlott folyékony vagy szilárd részecskék rendszerét értjük alatta. Ebből adódik, hogy tulajdonságai sok tekintetben különböznek az összetevőinek tulajdonságaitól. A korábbi példákban is látható, hogy a finoman eloszlott anyag mérete igen széles skálán mozog. A légkör optikai tulajdonságait meghatározó aeroszol részecskék tipikus mérete a mikrométeres és a szubmikrométeres tartományba esik. Ez a mérettartomány jellemző az aeroszolgyógyszerekre is, míg az ipari eljárások által kibocsátott részecskék sok esetben a nanométeres tartományban vannak. A biológiai rendszerekben a vizsgálat tárgyai tipikusan a nanométeres vagy szubnanométeres molekulák, ahol a megfigyelésükre alkalmazott mérési térfogat összemérhető a mikronos aeroszol részecskék méretével.

A fény-anyag kölcsönhatások során fellépő jelenségek számos lehetőséget kínálnak az optikai mérés technika számára a különféle anyagok, köztük a diszperz rendszerek kémiai, biológiai és fizikai tulajdonságainak, és ezek változásainak vizsgálatára. Egy elektromágneses hullám – foton változatlanul áthaladhat, visszaverődhet (reflexió), rugalmasan vagy rugalmatlanul szóródhat, illetve elnyelődhet az anyaggal létrejövő kölcsönhatás során. Visszaverődés két különböző optikai tulajdonságú közeg határfelületén jön létre. Ilyenkor a fény hullámhossza (a fotonok energiája) nem változik meg, és a visszavert nyaláb irányát a határfelület geometriája határozza meg. Rugalmas szórás esetén szintén nem változik meg a fény hullámhossza, azonban a kilépő elektromágneses sugárzás térbeli eloszlása már nem csak a határfelületről, hanem az anyagi minőségtől is függ. Rugalmatlan fényszórás esetében az előbbieken kívül már a kilépő fotonok energiája, vagyis a szórt fény spektruma is megváltozik a kölcsönhatás során. Ezek alapján is látható, hogy a fenti jelenségek mindegyike függ a vizsgált anyag, illetve az elektromágneses sugárzást továbbító közeg jellemzőitől is.

A fenti jelenségek nagy része alkalmas diszperz rendszerek tulajdonságainak tanulmányozására is. A rugalmas fényszórást széleskörűen alkalmazzák aeroszol részecskék vizsgálatára, általa meghatározható például a részecskék mérete, méreteloszlása, koncentrációja, alakja, sűrűsége, vagy akár az optikai tulajdonságai is. A rugalmatlan fényszórás felhasználható például a részecskék sebességének meghatározására, és bizonyos vegyületek azonosítására is. A fluoreszcencia segítségével meghatározható például a szubnanométeres molekulák diffúziós

tulajdonsága, ezáltal pedig alkalmas biológiai molekulák dinamikájának, a köztük végbemenő kölcsönhatások és kémiai átalakulások vizsgálatára.

Kutatómunkám során optikai módszerek új típusú alkalmazásaival a diszperz rendszerek életminőségünket, egészségi állapotunkat befolyásoló tulajdonságainak vizsgálatát tűztem ki célul. Ennek eléréséhez a fenti fizikai jelenségeken alapuló optikai mérési módszerek fejlesztésével is foglalkoztam. Célom az optikai mérés technika olyan irányú fejlesztése volt, mellyel új paramétereket határozhatunk meg, és sokkal pontosabbá, gyorsabbá tehetők a mérések. Dolgozatomban négy olyan területet érintek, ahol fontos szerepet játszanak a diszperz rendszerek, és a mikrométeres részecskéktől kiindulva a nanorészecskéken keresztül eljutok a szubnanométeres molekuláig. Ez a négy terület a következőképpen foglalható össze:

- A légköri aeroszolok szerteágazó hatást fejtenek ki, amely nemcsak a klímaváltozást, a biológiát és az orvostudományt érinti, de befolyásolja a légiközlekedést, a meteorológiai viszonyokat és ezen keresztül a mezőgazdaságot is. Az antropogén eredetű aeroszolok között is kiemelt szerepe van az égéstermékekből származó széntartalmú aeroszoloknak, mivel ezek a nagyobb optikai abszorpciójuk miatt jobban befolyásolják a napsugárzás elnyelődését és szóródását, gyakran alkotnak karcinogén vegyületeket (pl. policiklusos aromás szénhidrogének – PAH-ok), méreteloszlásuk széles skálán mozog, és az egészségkárosító hatásuk is számottevő (pl. dízelmotorok által kibocsátott részecskék). Ezeknek az aeroszoloknak a tanulmányozására több optikai módszer létezik, melyek bizonyos előnyökkel és hátrányokkal rendelkeznek, így egy adott feladatra szelektíven alkalmazhatók. Disszertációmban, többek között, bemutatok egy olyan új mérési módszeren alapuló fejlesztést, amellyel valós időben lehet meghatározni a részecskék méretét és optikai tulajdonságait (komplex törésmutató). Laboratóriumi kísérletekkel igazoltam a módszer működőképességét, majd városi aeroszol abszorpciós tulajdonságainak tanulmányozásán keresztül mutatom be valós környezetben a mért adatok relevanciáját.

- Az aeroszolok környezetünkre és az éghajlatra gyakorolt hatása mellett egyre nagyobb figyelmet kap az egészségünket befolyásoló hatásuk is. A COVID-19 világvárvány ráirányította a figyelmet az aeroszol részecskék szerepére egyes betegségek terjedésében, hiszen fontos szerepet játszanak például a légúti fertőzéseket okozó kórokozók levegőben történő továbbításában. Különösen fontos ez a téma a kórházi fertőzések visszaszorításában, mert ezek a fertőzések jelentős halálozási kockázattal járnak. A légúti fertőzések kialakulásának, és az aeroszolok toxikus, karcinogén, vagy éppen gyógyító hatásának vizsgálatára alkalmazott *in vivo* vizsgálatok mellett kiemelkedő jelentőséggel bírnak a részecskék légúti transzportjának és kiülepedési tulajdonságainak megismerését célzó *in silico* számítógépes és *in vitro* kísérleti lehetőségei. Kutatómunkám során az aeroszolok terjedésének, légúti transzportjának és kiülepedésének *in vitro* kísérleti vizsgálati megoldásain dolgoztam. Kórházi környezetben vizsgáltam a részecskék keletkezésének és terjedésének mechanizmusait és dinamikáját. Mérési módszereket dolgoztam ki, melyeket a numerikus modellekkel kapott eredmények kísérleti ellenőrzésére, és a légúti kiülepedést számszerűsítő számolások peremfeltételeinek meghatározására alkalmaztam.

- Az aeroszolok egészségünkre gyakorolt hatásaihoz is kapcsolódó másik terület a lézeres fémmegmunkálás közben képződő részecskék vizsgálatai. A fém nanorészecskék számos ipari

folyamat velejárói, kezdve a kohászattal, a vas és fémiparral, egészen a hegesztés vagy forrasztás során keletkező füstökig. Fém nanorészecskék legtöbbször ott jelennek meg, ahol a fémet olvadt állapotban találjuk. Az ipari folyamatok során keletkező fém vagy fémtartalmú részecskék munkaegészségügyi vonzata sok esetben ismert már, éppen ezért szükséges az új eljárások során keletkező részecskék vizsgálata is. A doktori munkám alapjául szolgáló kutatásaim során lézeres additív gyártási folyamat közben keletkező aeroszol tanulmányozásával is foglalkoztam. Kimutattam, hogy jelentős mennyiségű fém nanorészecske keletkezik a munkadarabok olvasztásos technikával történő építése közben, melyek mérete jellemzően a néhány nanométeres tartománytól indul. Idővel a részecskék nagyobb agglomerátumokká állnak össze, masszív finom és ultrafinom részecskefrakciót eredményezve a környezeti levegőben.

- A fluoreszcencián alapuló korrelációs spektroszkópia napjainkban széleskörűen elterjedt, igen érzékeny eszköz biológiai molekulák (molekuláris diszperz rendszerek) dinamikájának, a köztük végbemenő kölcsönhatások és kémiai átalakulásuk vizsgálatára. Hatékonyan alkalmazták például gyógyszermolekulák nyomon követésére a vérben, vagy a SARS-COV-2 vírus tüskefehérjéjének és a tüdőben lévő ACE2 receptorok kölcsönhatásának vizsgálatára is. Bár a módszert a mérés technikában rutinszerűen használták, azonban az alkalmazott modellek jelentős egyszerűsítéseket tartalmaznak, nem veszik figyelembe a fotofizikai folyamatok, elsősorban a szaturáció által indukált mérési térfogat változást, mely jelentősen befolyásolhatja a mért eredményeket. Disszertációmban a fluoreszcenciagerjesztés kétállapotú modelljéből kiindulva levezetem, hogy hogyan változtatja meg a gerjesztési szaturáció a mérési térfogat geometriáját, és ez hogyan befolyásolja a fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia módszerével mért eredményeket egy- és kétfotonos gerjesztés esetén. Bevezetek egy egyszerű adatfeldolgozási modellt a szaturáció jelenségének kvantitatív figyelembevételére különböző gerjesztési szintek esetén, valamint bemutatom ennek alkalmazási lehetőségét a fluoreszcencia-fluktuációs spektroszkópia területén.

Az említett technikák előnye, hogy kontaktusmentesen elvégezhetők, és nem perturbálják a mérendő közeget. A mérések során a fény paramétereinek változásán keresztül tanulmányozzuk a vizsgált jelenséget és határozzuk meg annak jellemzőit, így a fény, mint a mérés eszköze és tárgya hordozza a számunkra hasznos információt. A számos előnnyel rendelkező, általam kifejlesztett mérési módszerek és műszerek különböző területeken való alkalmazásai lehetőséget adtak a jelenségek újfajta tanulmányozására, új összefüggések feltárására, új eredmények megismerésére.

Dolgozatomban a fenti négy területen mutatom be eredményeimet. Bár mindegyik témakör diszperz rendszerekről és azok tanulmányozásáról szól, önálló egységként is megállják a helyüket. Mindegyikhez külön irodalmi áttekintés tartozik, valamint a célkitűzések és az eredmények is eszerint vannak tagolva. A dolgozatban a közvetlenül általam végzett kutatómunkával kapcsolatban – melyhez saját eredményeim kapcsolódnak – egyes szám első személyű megfogalmazást használok, más esetben pedig többes szám első személyes formát. A téziseket alátámasztó közlemények olyan eredményeket is tartalmaznak, melyekben a hozzájárulásom nem volt meghatározó. Az érthetőség és a teljesség kedvéért ezekre is utalok a dolgozatban, de nem fogalmazok meg tézispontokat velük kapcsolatban.

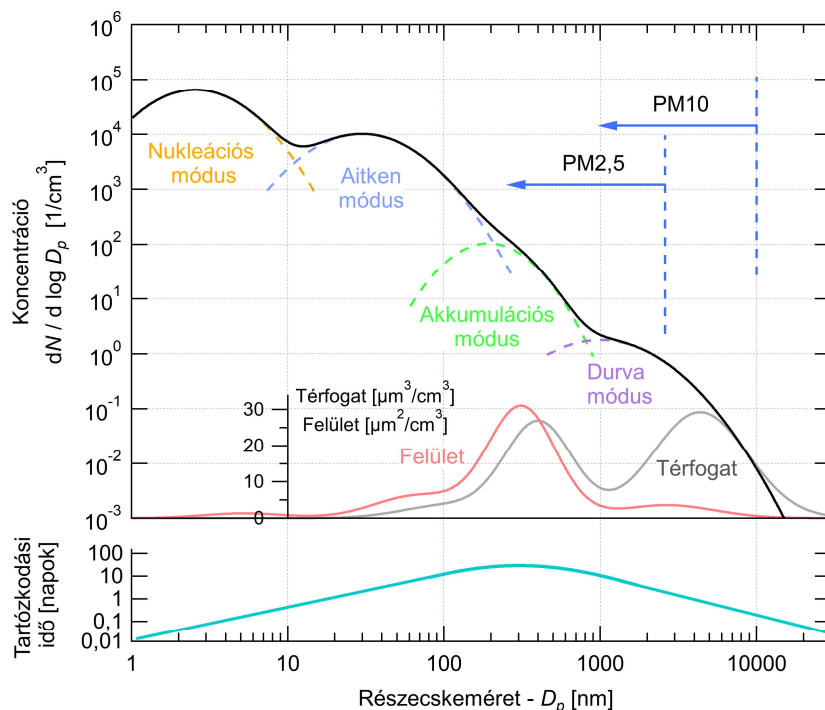
2. AZ AEROSZOLOK OPTIKAI TULAJDONSÁGAINAK VIZSGÁLATAI

Környezetünkben szinte mindenhol jelen vannak a különböző forrásokból származó, szilárd vagy folyadék halmazállapotú kis részecskék (aeroszol részecskék). Az aeroszolok (definíció szerint a részecskék és az azokat tartalmazó közeg diszperz rendszerét értjük ez alatt) meghatározó szerepet játszanak a légköri folyamatokban, különböző ipari alkalmazások során, valamint a környezetre és az egészségre gyakorolt hatásuk tanulmányozása is egyre inkább a kutatások fókuszába kerül. Bár a területre koncentrált kutatások volumene folyamatosan növekszik, az aeroszolok számos tulajdonságának alapvető megértésében mutatkozó nehézségek és hiányosságok korlátozzák a monitorozásukra, jellemzésükre és kontrollálásukra vonatkozó erőfeszítéseket. Különösen igaz ez az optikai tulajdonságaikat vizsgáló valós idejű módszerekre. Ebben a fejezetben az aeroszolok optikai tulajdonságainak meghatározását célzó kutatásaimról lesz szó, bemutatom az általam fejlesztett mérési elrendezést, és annak alkalmazásait városi aeroszol abszorpciós tulajdonságainak vizsgálatára.

2.1. Tudományos előzmények

Légköri aeroszolok

A légkörben előforduló aeroszol részecskék mérete jellemzően a nanométeres tartománytól néhányszor tíz mikrométerig terjed. A légköri aeroszolat először Whitby osztályozta keletkezési mechanizmusuk és méretük szerint [1], aki több alapvető frakciót különböztetett meg (2.1. ábra).



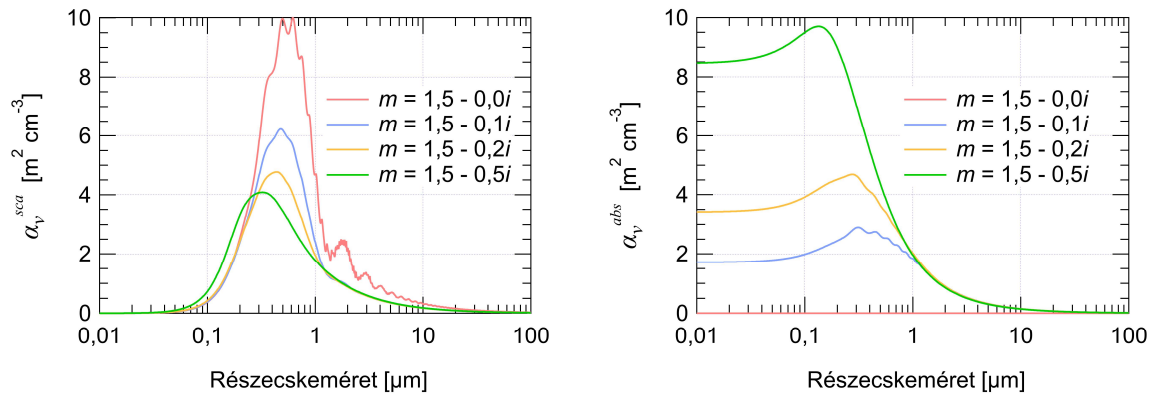
2.1. ábra A légköri aeroszolok többmódusú modell méreteloszlását mutatja be az ábra. A darabszám szerinti méreteloszlás mellett a felületi és a térfogati méreteloszlás is szerepel az ábrán, melyeket gömb alakú részecskéket feltételezve számoltam ki. Az alsó grafikon mutatja az aeroszol részecskék tipikus tartózkodási idejét a légkörben. [2], [3]

A légköri aeroszolok tanulmányozására irányuló mérések összetettsége és a sok nagyságrendet átfogó mérettartomány miatt gyakorlatilag nem lehet az egész tartományra vonatkozó, egy mérési módszeren alapuló vizsgálati eljárást kidolgozni. Az aeroszolokkal foglalkozó tudományos közösségekben sokáig tartotta magát az a Wilson által 1977-ben megfogalmazott nézet, mely szerint a méretre vonatkozó dekádonként egy műszer szükséges a mérésekhez [4]. A vizsgálati módszerek és az elérhető műszerek gyors fejlődése következtében azonban ez az állítás mára túlhaladottá vált. Például, a mobilitás meghatározásán alapuló méreteloszlás-mérő rendszerek tipikusan 2 nagyságrend átfogására képesek: 5–500 nm vagy 10–1000 nm, hasonlóan az optikai részecskeszámlálókhoz: 0,25–32 μm (Grimm 11-D) vagy 0,5–20 μm (TSI APS 3321), de elérhető olyan mérőműszer is ahol 3 nagyságrend az átfogási tartomány [5].

Az atmoszférikus élettartamot tekintve a légköri aeroszol legstabilabb és optikailag legmeghatározóbb (a legnagyobb szórási keresztmetszettel rendelkező) frakciója az ún. akkumulációs módus, vagyis a finomrészecske frakció (2.1. ábra), amely körülbelül 100 nm-től 2500 nm-ig terjed. A finom frakció optikai relevanciája jól személtethető a szórási és az abszorpciós keresztmetszetekből ($Q(m, D_p, \lambda)$ [6]) meghatározható α_v térfogati hatásokok ábrázolásával a méret függvényében (2.2. ábra):

$$\alpha_v = \frac{3}{2D_p} Q(m, D_p, \lambda), \quad (2.1)$$

ahol D_p a részecskeméret (átmérő); m a komplex törésmutató és λ a beeső fény hullámhossza. A térfogati szórási hatások az egységnyi térfogatra vetített szórási koefficiens értéke [m^2/cm^3] egységben [7]. A sűrűség ismeretében a tömegre vonatkozó hatások is hasonló módon meghatározhatók.



2.2. ábra A térfogati szórási hatások α_v^{sca} és a térfogati abszorpciós hatások α_v^{abs} homogén gömb alakú részecskékre, 550 nm hullámhosszú megvilágító fény esetén.

Fényszórás – az aeroszolok optikai vizsgálatai

Az aeroszolok fizikai tulajdonságainak valós idejű vizsgálatára alkalmazott módszer a fényszórás jelenségét felhasználó optikai részecskespektrometria. Az aeroszolok mérés technikájával foglalkozó angolnyelvű szakirodalom alapján részecskespektrometria alatt a részecskekoncentráció egy adott fizikai paramétertől való függésének vizsgálatát értem. A részecskespektrométereket (vagy részecskeszámlálókat) széleskörben alkalmazzák aeroszol

részecskék mérésére és analizálására, környezetvédelmi monitorozásra, bioaeroszolk vizsgálatára vagy laboratóriumi kísérletek során kutatási célokra [8]–[16].

Az optikai részecskeszámlálók és spektrométerek az egyedi részecskékről szórt fény alapján vizsgálják azokat, mialatt áthaladnak a megvilágított mérési térfogaton. A részecskékről szórt fény intenzitása a méretükkel van kapcsolatban. A részecskeméret meghatározásához az elméleti kalibrációs görbéket a Mie-elmélet alapján számolják ki, gömb alakú részecskéket feltételezve. A gömbalakra vonatkozó feltételezés persze nem minden esetben helytálló, azonban kísérleti adatok alapján kijelenthető, hogy a légköri részecskék túlnyomó része gömb, vagy ahhoz közeli alakú, legalábbis a szubmikrométeres mérettartományban [14].

Ideális esetben a részecskékről szórt fény intenzitása, az anyagi minőségtől függetlenül, monoton függvénye a részecskék méretének. A valós helyzet ezzel szemben az, hogy ezen a módszeren alapuló berendezések által adott térszögekben mért intenzitások nem feltétlenül monoton függvényei a részecskeméretnek [17], [18]. A szórt fény intenzitásának detektálását nagymértékben befolyásolják a méréséhez használt integrálási térszög, a részecskék optikai tulajdonsága, mérete és alakja, valamint az esetlegesen fellépő interferenciajelenségek is. Ezek miatt a módszer legnagyobb hátránya, hogy a méretmeghatározás pontosságát jelentősen befolyásolja a mérendő és a kalibráláshoz használt részecskék törésmutatójának eltérése [19]–[22].

Az egyedi részecskespektrometria mellett több módszert is alkalmaztak az utóbbi évtizedekben a részecskék törésmutatójának és méretének egyidejű mérésére [23]–[26]. Ezekkel a szintén fényszóráson alapuló módszerekkel nagy pontosságú méréseket lehetett végezni például egyhelyben lebegtetett megvilágított részecskéken. Nyilvánvaló, hogy ezek a módszerek nem alkalmasak a légköri aeroszolk méreteloszlásának és optikai tulajdonságainak rutinszerű mérésére.

A megvilágító fényforrás és az alkalmazott szórási geometria függvényében sokféle optikai részecskeszámláló született már. Azok a műszerek, amelyekben előreszórási geometriát valósítottak meg, kevésbé érzékenyek a törésmutató valós részének változására, közel monoton méretfüggést mutatnak abszorbeáló részecskékre, viszont a 0,7–3 μm -es tartományban nagy mérési hibát produkálnak nem abszorbeáló részecskékre [22], [21]. A szélesszögű szórási geometriát megvalósító műszerek viszonylag monoton válaszfüggvénnyel rendelkeznek nem elnyelő részecskékre, viszont a szubmikrométeres tartományban jelentős mérési hibával határozzák meg az abszorbeáló részecskék méretét [27], [28], [21]. Több kezdeményezés történt abban az irányban is, amikor egyszerre több szórási térszögből detektált jelből határozzák meg a részecskék tulajdonságait [29]. További munkákban, összetettebb optikai elrendezéssel, más mérési módszerekkel ötvözve határozták meg a részecskék méretét, törésmutatójának valós részét és alakját [30]–[34]. Többszörös szórási geometriát valósítottak meg abban a folyadék állapotú aeroszolk részecskék vizsgálatára fejlesztett berendezésben is, amellyel 350 nm-es részecskemérettől indulva három nagyságrenden át határozták meg a részecskék tulajdonságait [5].

2002-ben javasoltunk egy új elrendezést, melyben két különböző hullámhosszú lézer fényforrással világítjuk meg az érzékelő térfogatot, és mindkét hullámhosszra detektáljuk az előre- és a hátraszórást is [35]. A négy mért adatból pedig egy előre elkészített táblázat

segítségével négydimenziós kereséssel határozzuk meg a részecskék méretét és komplex törésmutatóját. A PhD dolgozatomban a Mie-elméleten alapuló modellszámításokkal meghatároztam az alkalmazandó levilágítási és detektálási geometriát, kidolgoztam az adatkiértékelési eljárást és számítógépes szimulációkkal vizsgáltam az elérhető pontosságot és a különböző mérési hibák, zajok hatását [36].

Fényelnyelés

Napjainkban is számos kutatás irányul az aeroszokok légkörre gyakorolt közvetlen és közvetett hatásainak vizsgálatára. A jelentős egyszerűsítéseket tartalmazó modellek pontosabbá tételéhez sok új és megbízható adatra van szükség. Egyes prognózisok szerint az üvegházhatású gázoknak nagy szerepe van a globális éghajlatváltozásban, melyet jól lehet modellezni. A Föld klímarendszerének megértésében a legnagyobb bizonytalanságot az aeroszokok és a napsugárzás légköri kölcsönhatását leíró modellek jelentik [37], amelyek különösen elnyelő részecskék esetén válnak bonyolulttá. Egyes kutatások szerint a légkörben előforduló széntartalmú aeroszokok [38] abszorpciójuk révén akár a CO₂-ra vonatkozó érték 50%-ával is hozzájárulhatnak a sugárzási kényszerhez (egy légköri komponens adott koncentrációjú jelenlétének változása mellett mennyivel változik a felszínközeli légréteg energiaháztartása [W/m²]) [39]. A különböző égési folyamatok során, például fosszilis tüzelőanyagok és biomassza elégetésekor, széntartalmú részecskék keletkeznek és kerülnek a légkörbe, melyek morfológiája és összetétele igen változatos lehet. Az égéstermékek kémiai összetételét meg lehet határozni például Raman spektroszkópia, elektrondiszperzív spektroszkópia, vagy üreglecsengési (cavity ring-down) spektroszkópia segítségével [40], [41], azonban ezek a módszerek nem alkalmasak a részecskék abszorpciós tulajdonságainak meghatározására a terepen, rutinszerűen végzett mérések során.

Az aeroszol részecskék egyes optikai tulajdonságainak meghatározására számos mérési módszert és műszert fejlesztettek már ki [42]–[44], azonban a részecskék abszorpciós tulajdonságainak kvantitatív meghatározása, a széntartalmú részecskék kimutatása még mindig kihívás. Számos hátránya és hibája ismert az abszorpciós tulajdonságok mérésére széleskörűen alkalmazott módszereknek. Ilyen módszer például a megvilágító intenzitás csökkenésének vizsgálata egy szűrőpapírra kiülepedő mintán keresztül, vagy a mintavétel utáni utófeldolgozáson alapuló technikák [45]–[47]. Az abszorpciós képesség meghatározásakor az alkalmazott módszertől és a korrekciós eljárásoktól függően akár kétszeres hibafaktorial is számolhatunk a fenti eljárások során [38].

A levegőben lebegő kis részecskék abszorpcióját elvileg meg lehet határozni a különbségi módszerrel is, az extinkció és a szórás különbségeként, melyeket párhuzamosan mérünk egy extinkciós cella és egy nefelométer segítségével. Ez a módszer hasznos tud lenni abszorpciós mérések validálásakor, azonban jelentős hibát eredményezhet magas extinkciós és szórási koefficiens értékek mellett [48].

A megvilágító intenzitás csillapításának mérésén alapuló műszer az aethalométer, mely a nyaláb intenzitásának változását méri, miután az áthalad egy szűrőpapíron és a rajta kiülepedő aeroszolmintán. A modern műszerek több hullámhosszon mérik a fényelnyelést, az ultrabolyától a közeli infravörösig. Az optikai jel változását egy algoritmus alakítja

tömegkoncentrációvá csatornánként. Amennyiben az aeroszol csak nagyon kisméretű, tisztán fekete részecskéket tartalmazna, akkor minden csatorna ugyanazt az eredményt adná a tömegre. Az ettől eltérő esetekben az intenzitáscsökkenés hullámhosszfüggő lesz, ami a következő jelenségekkel írható le: a nagyobb méretű részecskék tömegegységenként több fényt nyelnek el a vörös, és kevesebbet a kék hullámhosszokon; az aromás szerves összetevők több fényt nyelnek el a kék és ultraibolya hullámhosszokon; a színes ásványi porok egyes csatornában növelik meg az abszorpciót; ezen kívül az abszorpcióban jelentkeznek még egyéb, az aeroszol összetételével összefüggő hatások. A fenti jelenségekkel és az abszorbancia törvénytől való adateltérésekkel kapcsolatos vita még nem zárult le a tudományos közösségekben, azonban az adatok bizonyos betekintést nyújtanak az aeroszokok optikai tulajdonságainak megértésébe [49].

Az aeroszokok abszorpciójának vizsgálatára alkalmazott fotoakusztikus módszer azon az elgondoláson alapul, hogy a modulált fény elnyelésével létrehozott hanghullám amplitúdójából meghatározható a fényelnyelés [50]. Ennek a technikának az az előnye, hogy nem érzékeny a fényszórásra, és lineáris választ ad az aeroszokok abszorpcióképességének függvényében [51], [52]. Korlátozott érzékenysége miatt ez a technika azonban csak meglehetősen szennyezett levegőre alkalmazható [53]–[55], ahol az abszorbeáló komponens környezeti koncentrációja $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ nagyságrendű [56].

A széntartalmú részecskék változatossága és változékonysága kihatással van azok optikai tulajdonságaira is, ami különösen nehézé teszi annak közvetlen meghatározását [57]. Hasonlóan a részecskék méretének méréséhez (fizikai-, optikai-, aerodinamikai-, mobilitási méret), az optikai tulajdonság vizsgálatakor is az alkalmazott módszer határozza meg, hogy milyen optikai tulajdonságot kapunk meg. Jelenleg nincs olyan elfogadott szabvány, vagy referencia anyag az elérhető mérőműszerek kalibrációjához, amely egységesítené a széntartalmú részecskék különböző tulajdonságainak mérését [58], [59].

2.2. Célkitűzések

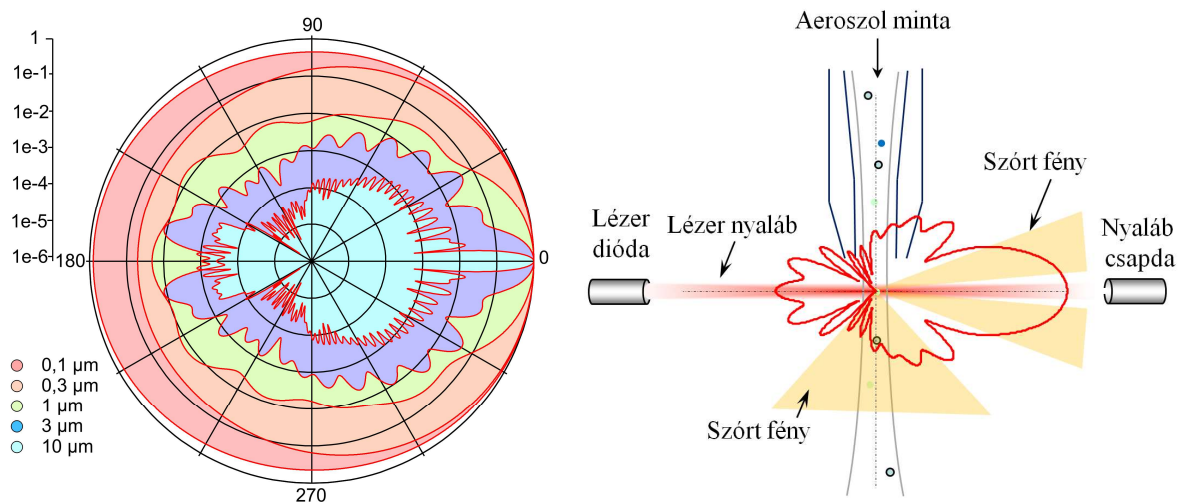
Laboratóriumi kísérleti berendezést hoztam létre az aeroszol részecskék méreteloszlásának és komplex törésmutatójának egyidejű, gyors mérésére, majd a tapasztalatok alapján megépítettem a valós környezetben történő méréseket is lehetővé tevő hordozható műszert. A fentiekhez kapcsolódóan és a 2.1 fejezetben megfogalmazottak alapján a következő kutatási célokat határoztam meg.

- Laboratóriumi kísérletekkel terveztem vizsgálni a módszer működőképességét. Különböző fajta aeroszol-generátorral előállított ismert méretű és törésmutatójú, gömb alakú részecskékkel terveztem tesztelni a mérési módszer hatékonyságát a részecskék méretének és komplex törésmutatójának meghatározására.
- Valós környezetben végzett mérések során terveztem bizonyítani a módszer működőképességét a mért adatok referencia műszerekkel mért adatsorokkal és irodalmi adatokkal történő összehasonlításával. Ebben a témakörben a kutatásaim elsősorban az aeroszokok abszorpció tulajdonságainak vizsgálatára irányultak.
- Elemzem a mért eredményeket a meteorológiai viszonyok függvényében.

2.3. Alkalmazott eszközök és módszerek

2.3.1. Optikai részecskeszámlálók

Az optikai részecskespektrometriában az aeroszolok vizsgálatára alkalmazott optikai részecskeszámlálók a fényszórást felhasználva határozzák meg a részecskék méretét. Amikor egy részecske áthalad a fókuszált lézernyalábbal megvilágított érzékelő térfogaton, akkor különböző geometriák szerint detektálják a felvillanó szórt fényt és egy kalibrációs görbe segítségével határozzák meg a méretüket, méreteloszlásukat és az átáramlott levegő mennyiségének ismeretében a koncentrációjukat (2.3. ábra). A gravimetrikus módszerekkel szemben az optikai módszerek azonnali eredményt adnak, nincs szükség laboratóriumi mintakezelésre és mérlegelésre, és mintavételi idejük akár a másodperces tartományba is csökkenthető. Az optikai módszerek eredményét kevésbé befolyásolják a környezeti viszonyok, pl. a páratartalom és a hőmérséklet. A rövid mintavételi idő pedig lehetővé teszi gyors folyamatok vizsgálatát is, pl. a repülőgépek felszállásakor fellépő gyors koncentráció változások megfigyelését is.



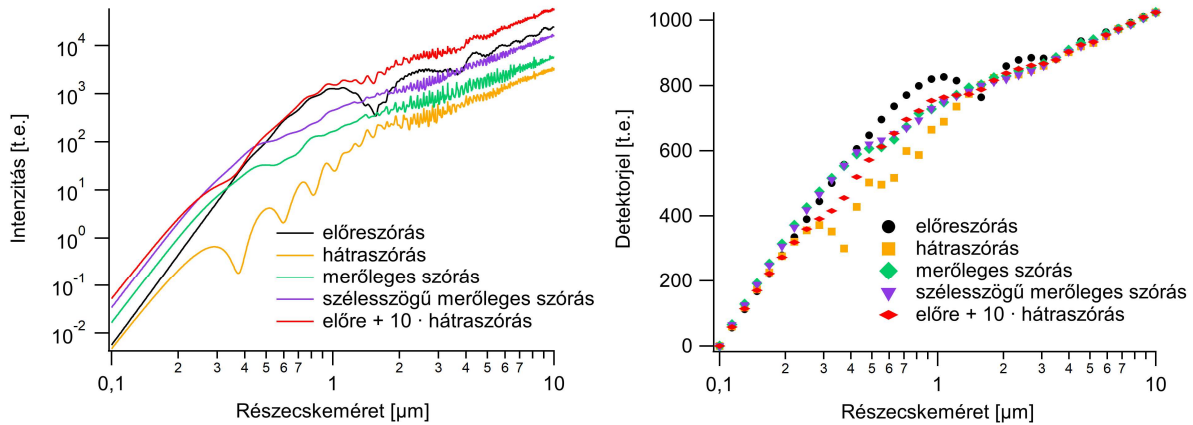
2.3. ábra A szórási indikatrix különböző méretű, $m = 1,5 - 0 \cdot i$ törésmutatójú részecskékre és 660 nm hullámhosszú megvilágításra (balra). Az indikatrixok az előreszórásra vannak normálva. A jobboldali ábra az optikai részecskeszámlálók mérési elvét mutatja be.

Az optikai részecskeszámlálók modellezésére, a részecskék fényszórásának leírására leggyakrabban a Mie-elméletet használják [6]. Egy konkrét megvalósítás esetén a detektor választ – lineárisan polarizált lézertérrel megvilágított részecskéről egy adott θ, ϕ térszögbe szórt fényre – a következő integrál adja meg:

$$R = \frac{\lambda^2}{4\pi^2} \int_{\phi} \int_{\theta} [I_1(x, m, \theta, \phi) + I_2(x, m, \theta, \phi)] G(\theta, \phi) d\theta d\phi, \quad (2.2)$$

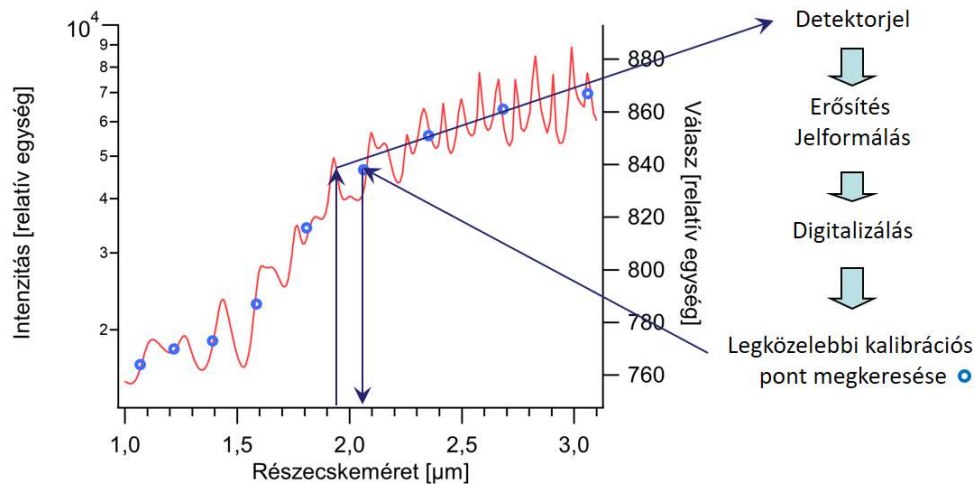
ahol I_1 és I_2 a szórt fény intenzitása a bejövő fény polarizációjával párhuzamos és arra merőleges polarizációs síkokban, és $G(\theta, \phi)$ az adott optikai elrendezéstől függő geometriai faktor.

A (2.2) egyenlettel meghatározható a kalibráció alapjául szolgáló méret-intenzitás összefüggés (2.4. ábra). A 2.1 fejezetben leírtaknak megfelelően, a különböző szórési geometriákon alapuló berendezések különböző tulajdonságú részecskék mérésére alkalmasak. Az optikai részecskeszámlálók adatkiértékelési sémáját a 2.5. ábra mutatja.



2.4. ábra A szórt intenzitás méretfüggése különböző detektálási geometriák esetén (balra), és a normált detektorjel diszkrét pontokban 10 bites felbontással (jobbra).

Látható, hogy a kalibrációs pontok megfelelő megválasztásával kvázi monoton összefüggés kapható a detektorjel és a részecskeméret között, azonban sok esetben a valós görbe alapján a részecske nem a megfelelő csatornába kerül besorolásra, ami mérési hibához vezet, és például az eloszlás kiszélesedését eredményezi.



2.5. ábra Az optikai részecskeszámlálók adatkiértékelési algoritmus. A mérési térfogaton áthaladó részecskéről a detektor érzékeli a szórt fényt, azt átalakítja elektromos impulzussá, melyet a jelfeldolgozó elektronika fogad. Ezután a szoftver a kapott digitális jelet összehasonlítja a kalibrációs görbével és visszaadja a részecske méretét. Az ábrán a piros vonal az elméleti görbét, a kék körök pedig a kalibrációs pontokat jelölik.

A mérésekhez használt optikai részecskeszámláló

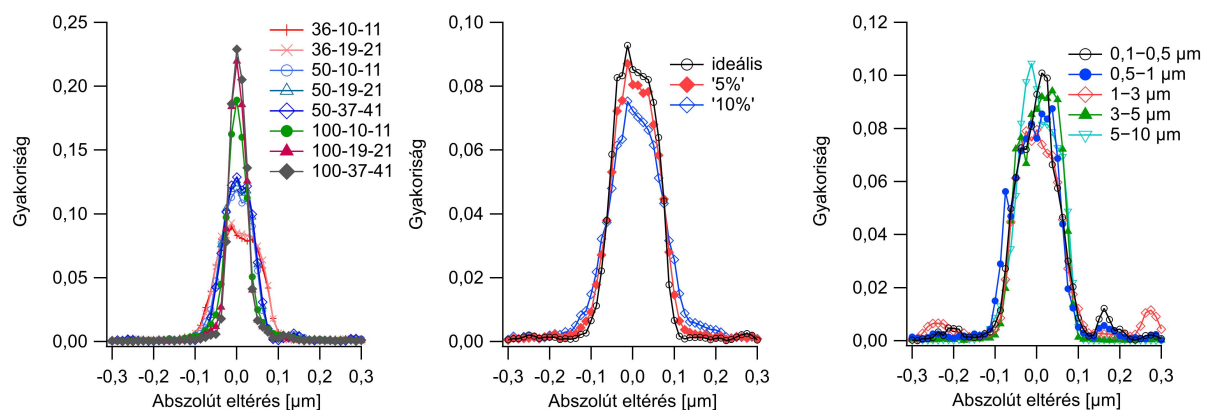
A mérésekhez – és a következő fejezetben bemutatott vizsgálatokhoz is – egy kereskedelmi forgalomban kapható GRIMM 1.109 típusú lézeres optikai részecskeszámlálót használtunk,

amely 31 méretcsatornában méri a részecskék koncentrációját 0,25 mikrométertől 32 mikrométerig. Az 5%-on belüli koincidencia hibával detektálható maximális koncentráció $2 \cdot 10^6$ részecske/liter ($10^5 \mu\text{g}/\text{m}^3$). A mintavételezési térfogatárama 1,2 liter/perc, a minimális mérési ciklusidő 6 másodperc. A műszerben 655 nm hullámhosszú lézerdióda világítja meg a mérési térfogaton áthaladó részecskéket, melyet 0,5 és 30 mW teljesítmény váltakozásával modulál a rendszer a széles mérettartomány átfogása érdekében. Az OPC merőleges detektálási geometriát valósít meg a szórt fény intenzitásának mérésére. A 3 mm átmérőjű detektorfelület 18° -os térszögből és a szemközti oldalról egy parabola tükör segítségével 120° -os szórási térszögből gyűjti a merőleges irányba szórt fényt. [60], [61]

2.3.2. A részecskék optikai tulajdonságainak mérésére fejlesztett műszer

A 2.3.1. alfejezetben bemutatott módszer hátránya egyrészt az, hogy a válaszfüggvény (jelamplitúdó vs. részecskeméret) nem monoton, valamint a szórás nagymértékben függ a komplex törésmutatótól (lásd a 2.1 fejezetet). Adott hullámhosszú megvilágítás esetén, egy gömb alakú részecskéről egy bizonyos térszög alatt szórt fényt három paraméter határoz meg: a részecske mérete, valamint a törésmutatójának valós és képzetes része. Az optikai részecskeszámlálókban alkalmazott levilágító és detektáló geometriák esetén a szórásból kizárólag a részecskeméret határozható meg, az is korlátozottan. Ezekre a problémákra válaszul dolgoztam ki azt a levilágítási és detektálási geometriát, amelyet a később kifejlesztett berendezésben alkalmaztam.

A mérési módszer kifejlesztése során egy korábbi, előre- és hátraszórást mérő berendezés alapján született alapötletet dolgoztam ki. Meghatároztam a levilágítási és mérési geometriát, és kidolgoztam az adatkiértékelési módszert a méret és a komplex törésmutató meghatározására. Az ötlet alapján két különböző hullámhosszú lézer fényforrással világítjuk meg az érzékelő térfogatot, és mindkét hullámhosszra detektáljuk az előre- és a hátraszórást is.



2.6. ábra A mérési módszer Monte-Carlo szimulációjával kapott, a méretmeghatározás abszolút hibájának gyakoriság eloszlása ideális esetben különböző méretű kiértékelő táblák esetén (balra), egy adott kiértékelő táblázat esetén különböző mértékű detektálási zajt figyelembe véve (középen), és különböző mérettartományokban (jobbra).

A négy mért adatból pedig egy előre elkészített táblázat segítségével négydimenziós kereséssel határozzuk meg a részecskék méretét és komplex törésmutatóját. A PhD dolgozatomban a Mie-elméleten alapuló modellszámításokkal meghatároztam az alkalmazandó levilágítási és

detektálási geometriát, kidolgoztam az adatkiértékelési eljárást és számítógépes szimulációkkal vizsgáltam az elérhető pontosságot és a különböző mérési hibák, zajok hatását (2.6. ábra) [36].

A szórási geometria optimalizálása

A szórási geometria optimalizálásához a Lin Ma által leírt módszert követtük [62], [63]. Elemeztük a fázisfüggvények (szórásintenzitás-függvények vagy sajátfüggvények) kölcsönös függését 91 diszkrét, 0 és 180 fok közötti szögben, 0,1 és 10 μm közötti részecskeméretekre.

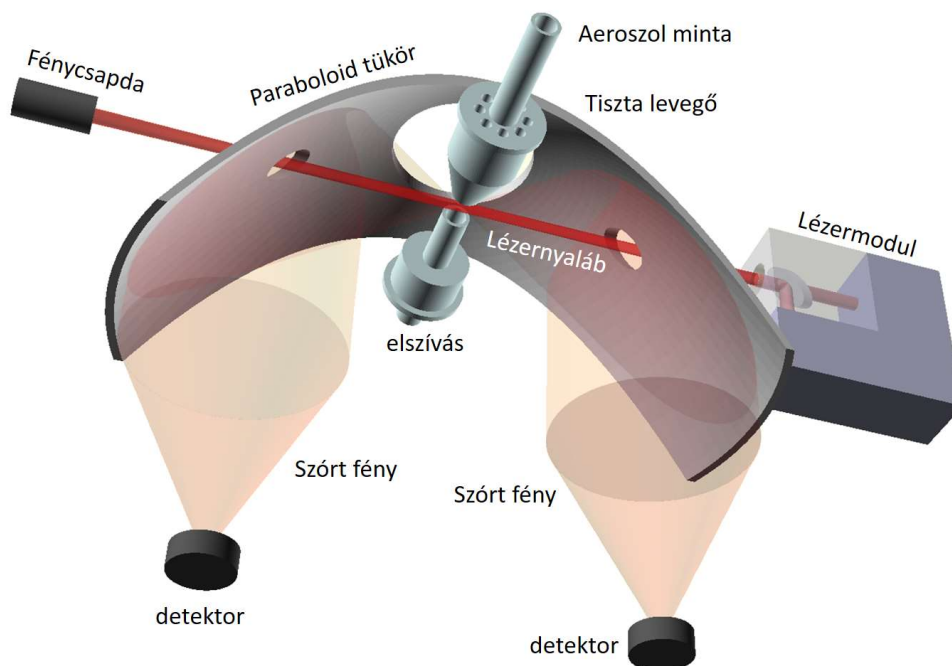
Külön megvizsgáltuk az összefüggéseket a három, laboratóriumi tesztek során használt anyagra: polisztirol latexre, dietilhexil-szebacátra (DEHS) és fekete tusra. A latex részecskék esetében a leginkább független három detektálási szög 10°, 14° és 150° adódott. Az általunk megvalósított elrendezésben a detektorok 20 fokos térszögben gyűjtik a szórt fényt, így a megadott értékek itt olyan detektor pozícióra utalnak, mely az intervallum közepén helyezkedik el és $\pm 10^\circ$ -os tartományt fed le. A DEHS-részecskék esetében a három leginkább független szög 10°, 14° és 134°. Az abszorbeáló tusrészecskék esetében pedig a legfüggetlenebb szögek az előre szórási szögek - a legfüggetlenebb három szög 10°, 14° és 16°. Általánosságban levonható az a következtetés hogy a nem elnyelő részecskék (a törésmutató kis képzetes részével rendelkező részecskék) esetében az előre- és a hátraszórási szögek megfelelő kombinációt alkotnak. Ez megerősíti az általunk megvalósított konfiguráció helyességét. Erősen abszorbeáló részecskék esetén azonban az előreszórási szögek tűnnek függetlennek.

Laboratóriumi kísérleti berendezés

Ezt követően megépítettük a fenti módszert megvalósító laboratóriumi berendezést. A laboratóriumi berendezés első változatában (2.8. ábra) egy 532 nm-es Nd:YAG frekvencia kétszerezett diódapumpált szilárdtestlézert és egy 685 nm hullámhosszú diódalézerrel használtunk megvilágító forrásként. Detektorként nagyérzékenységű, 50 MHz sáv szélességű, Si alapú lavinadiódákat használtunk a lineáris tartományban. A detektorok elektronikájába be volt építve egy néhány milliszekundumos időkarakterisztikájú alapvonalkorrekció, amely kompenzálta a kamrában jelenlévő szórt háttérfényt, valamint állítható erősítéssel is rendelkeztek a különböző átfogási tartomány beállításához.

A Mie-elmélet alapján meghatározott szórási geometria az előreszórás tekintetében a 10°–30°, míg a hátra szórás tekintetében a 150°–170° térszögeket fedte le. Ezeken a hullámhosszokon és szórási térszögeken a kapott jelek a leginkább függetlenek egymástól [62], ami lehetővé teszi az adatkiértékelést.

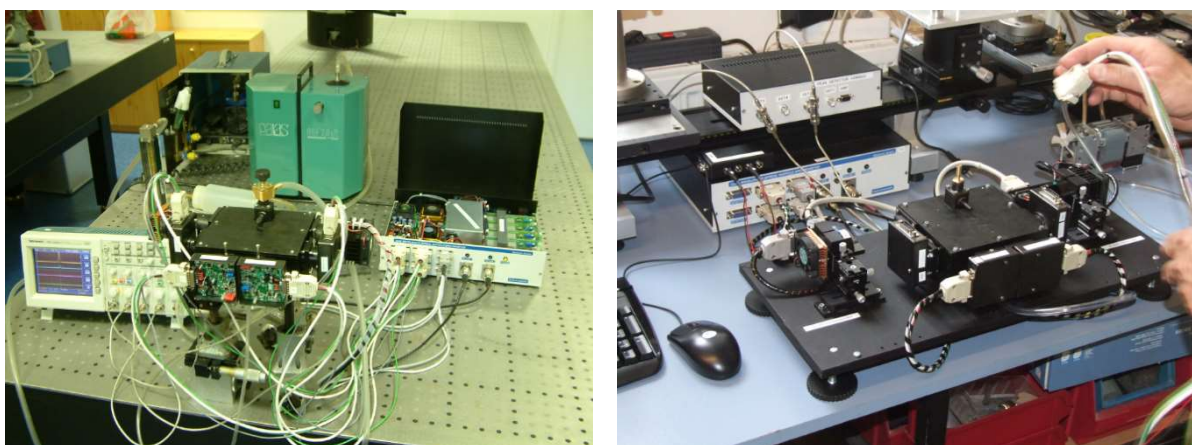
A két hullámhosszú megvilágítás miatt a részecskékről szóródó fényt hullámhosszfüggő nyalábosztókkal irányítottuk a különböző detektorok felé. Az előre és a hátra szórt fényt egy paraboloid tükörrel gyűjtöttük össze, melynek fókuszában volt a megvilágított mérési térfogat (2.7. ábra). Miután azt tapasztaltuk, hogy a dikroikus nyalábosztó karakterisztikája miatt, a két hullámhossz nem különül el élesen (kb. 10%-os áthallás volt), a két nyalábot térben eltoltuk egymáshoz képest, ami időben szeparálta a két különböző hullámhosszú jelet. Az alkalmazott optikai elrendezésben ez nem változtatta meg érdemben a szórási geometriákat, és a szórt fényt fókuszoltja is mindkét hullámhossz esetén a detektor érzékelő felületére esett.



2.7. ábra A terepi méréseken alkalmazott aeroszol mérő berendezés optikai elrendezésének és mintalégáramának vázlatja. A két megvilágító nyaláb térbeli szétválasztása után már nem volt szükség a dikroikus nyalábosztókra, és a négy detektor helyett elegendő volt kettő alkalmazása. Mivel a két nyaláb közötti távolság 0,1–0,2 mm, ez nem látszódik az ábrán.

A továbbiakban a 4 detektoros elrendezés alatt 4 virtuális detektorral szerelt rendszert értek. A részecskék a két lézernyalábon áthaladva generálják a 2 időben eltoló jel-párt, így határozva meg a virtuális detektropárokat.

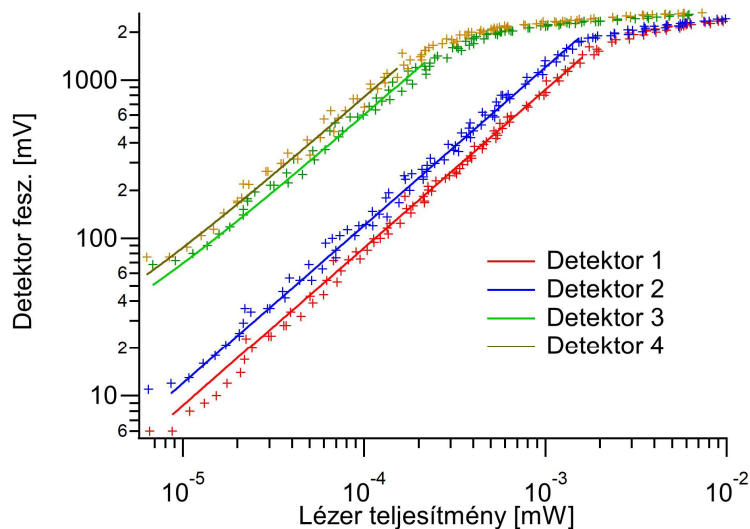
A mintalégáramot egy konfokális fűvókán keresztül vezették a mérőkamrába, amelyben a belső fűvókába kerülő mintalevegő aerodinamikusan fókuszálódik az azt körülvevő külső fűvóka tiszta levegőjének hatására.



2.8. ábra A kéthullámhosszú aeroszolmérő berendezés első laboratóriumi példánya (baloldalon) és egy továbbfejlesztett változat a jelfeldolgozó elektronikával (jobbaldalon).

A mintalégáramot, valamint az optikai elemeket és a mérőkamra belsejét védő tiszta légáramot egy membránpumpa biztosította. A mintalégáram 1 liter/percre, a tiszta légáram 4 liter/percre

volt beállítva. A mérőkamra hermetikusan lett kialakítva, azért, hogy a fűvókán keresztül a részecskék pontosan a lézernyalábon repüljenek keresztül. A nyaláb inhomogenitásának csökkentésére azt az áramlásra merőleges síkban enyhén széthúztuk egy hengerlencsével. A kilépési ponton 0,5 mm belső átmérőjű fűvóka aerodinamikai fókuszálással juttatta a részecskéket pontosan a mérési térfogatba. A tisztalégáramot egy 0,2 μm pórusméretű, nagy keresztmetszetű és nagy hatásfokú szűrőn keresztül biztosítottuk, mely saját méréseink szerint a 10 nm-es részecskéket is 99%-ban kiszűri.



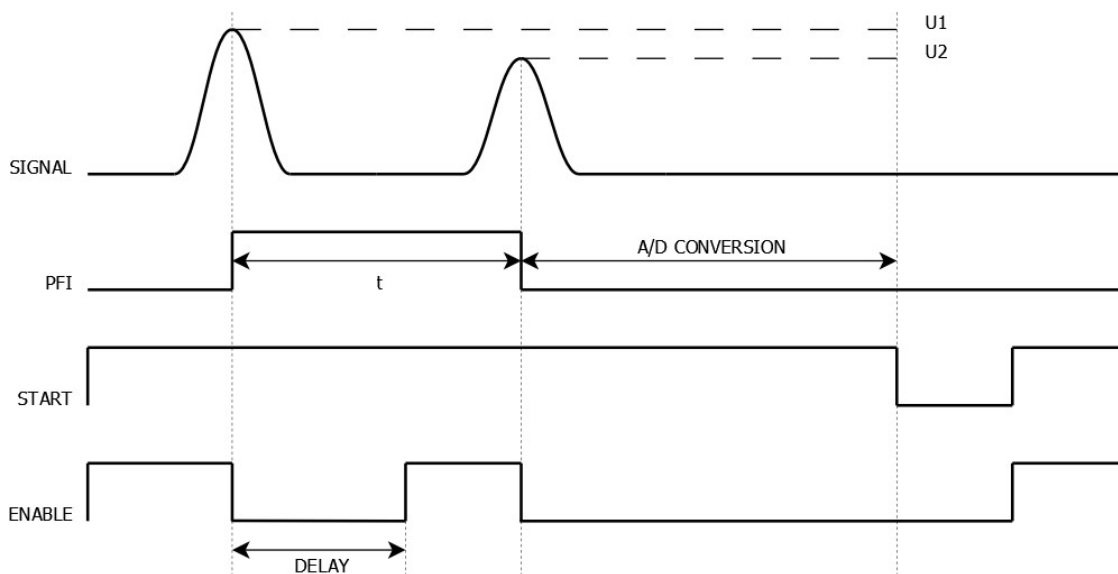
2.9. ábra A mért detektorjel a megvilágító fény teljesítményének függvényében logaritmikus erősítést alkalmazva. A 3. és 4. detektorok kaptak még egy tízszeres erősítést is, így kompenzálva a hátraszórás/előreszórás viszonyát. Megfigyelhető, hogy kb. 1,5 V-ig az összefüggés közel lineáris, utána kezd csak megváltozni.

Jelfeldolgozás

A detektorjeleket (2.9. ábra) erősítés után egy 4-csatornás csúcsetektor egységbe vezettük, melynek kimenetét egy 500 kHz-es sebességű, 8 csatornával rendelkező, 16 bites felbontású A/D kártyára továbbítottuk. A csúcsetektor egység időzítését az A/D kártyán lévő 80 MHz-es, 32 bites számlálókkal, és digitális csatornákkal végeztem. Az időzítéseket a 2.10. ábra szemlélteti. Tipikus beállítások mellett a két nyaláb térbeli szeparációja 120–200 μm volt, ami 1,5–2,5 μs időkülönbséget jelentett a két jel között. A két nyaláb félértékszélessége 80 μm körül volt, ami a jellemző áramlási sebességnél 1 μs -os jeleket eredményezett.

A fenti időzítési séma és az alkalmazott A/D konverterkártya tulajdonságainak következménye, hogy egy részecske detektálásának és jelfeldolgozásának ideje $\sim 20 \mu\text{s}$, ami lekorlátozza a mérhető maximális koncentrációt 50 000 részecske/s-ra. A valóságban ez a szám alacsonyabb, mert a részecskék nem egyenletesen, hanem véletlenszerűen jönnek egymás után. Amennyiben feltételezzük, hogy az időegységenként mintavételezett részecskék száma Poisson-eloszlást mutat, akkor a mérési térfogatban a részecskék követési ideje exponenciális eloszlást követ. Ez alapján az átlagos koncentráció 2565 részecske/s 95%-os konfidenciával, vagyis ha a részecskék 2565 Hz-es rátával érkeznek, akkor 95%-on belül nem lesz egyszerre két részecske a 20 μs által definiált mérési időszámban.

Egy liter/perces mintalégárammal számolva ez $\sim 154\,000$ részecske/liter átlagkoncentrációt eredményez. Figyelembe véve a berendezés mérési tartományát ($0,6\text{--}5\ \mu\text{m}$), ez a koncentráció bőven felette van a tipikus légköri/városi koncentrációknak. A fentiekén kívül egyéb szűrési eljárásokat is implementáltunk a jelfeldolgozó elektronikába. A mintalégáram változása esetén (eltömődés, nyomásváltozás, stb.) megváltozik a részecskék két nyalábon történő átrepülésének ideje, amit folyamatosan monitorozunk.



2.10. ábra A jelfeldolgozó elektronika időzítése. A SIGNAL vonal jelöli a detektorjelet erősítés után. A PFI vonal a csúcsetektorok által meghatározott két pozíciót (időpillanatot), míg U1 és U2 a két amplitúdót jelöli, melyeket az A/D konverter alakít digitális jellé. A START vonal egy részecskéhez tartozó jel-párt és az A/D konverzióhoz szükséges időt jelöli ki. Az ENABLE vonal pedig az egyes csúcsetektorokat engedélyezi a koincidenziák elkerülésének érdekében. A DELAY adja meg, hogy mikor indulhat a második csúcsetektor.

Előfordulhat, hogy kisebb részecskékről csak az egyik hullámhosszon detektálunk értékelhető jelet. Ezeket az eseményeket külön kezeljük. Ehhez hasonlóan kezeljük azokat az eseményeket is, amikor a magas koncentráció miatt egyszerre több részecske is jelen van a mérési térfogatban, ami hosszan elnyújtott jelet eredményez. Ily módon a jelalak elemzésével kiszűrhetjük azokat az eseményeket, amelyek hibás eredményhez vezetnek.

Szoftver

A berendezéshez kifejlesztettem egy mérésvezérlő, adatgyűjtő és feldolgozó szoftvert (2.13. ábra), amely valós időben jeleníti meg a mért adatokat, a méreteloszlást és a komplex törésmutatót. A méréskiértékelési algoritmust és a szoftvert több irányban is fejlesztettem. Egyrészt a mérési tapasztalatok alapján folyamatosan optimalizáltam a korábban kidolgozott méréskiértékelő algoritmust a mérhető mérettartomány kiszélesítése és a felbontás növelése érdekében. A berendezés alsó mérési határának csökkentése érdekében a négy detektor jelet eltérő súlyozással vettem figyelembe abban az esetben, ha a részecskékről a hátra szórás annyira kis jelet adott, amelyet már az adott detektor nem tudott érzékelni. Ekkor az előreszórásokat nagyobb súllyal vettem figyelembe, így tudtunk lemenni $0,6$ mikronról $0,35$ mikronos méretig.

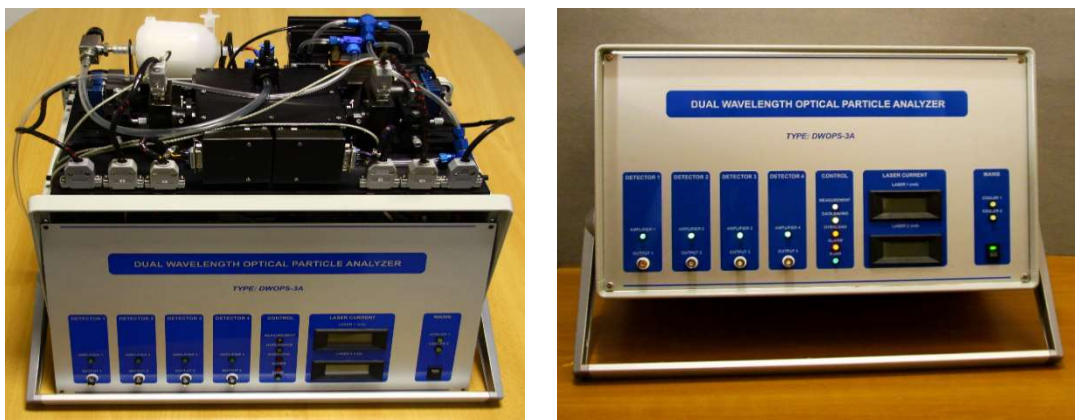
Ekkor azonban elvesztettük a törésmutató meghatározásának lehetőségét, a berendezés optikai részecskeszámláló (OPC) üzemmódban működött ebben a tartományban. Hasonló eljárást követtem a felső mérési határ kiterjesztésére, ekkor a hátraszórásokat vettem figyelembe nagyobb súllyal. Erre is érvényes az előbbi kitétel. A kiterjesztett tartományokban csökkent a mért paraméterek száma, ami a meghatározandó méret és komplex törésmutató pontosságának romlásához vezetett. Emiatt ezt az opciót általában nem használtam.

A szoftverfejlesztés másik iránya a hosszabb mérési kampányokban történő folyamatos felügyelet nélküli adatgyűjtésre irányult. A mérésvezérlő szoftvert olyan módon alakítottam át, hogy az adatok rögzítése mellett csak néhány információt írjon ki a képernyőre, amelyből megállapítható, hogy megfelelően működik-e a berendezés. A tárolt adatokat azután utólagosan dolgozzuk fel, amelyhez paramétereztető, automatikus feldolgozó eljárásokat írtam. Az adatfeldolgozás a fentiekben háttérfolyamatként is működhetett, melyhez megvalósítottam a feldolgozott adatok adatgyűjtőhöz való továbbítását is, akár vezeték nélküli kapcsolaton keresztül is. Ez utóbbi fejlesztések már a berendezés hordozható, terepi mérésekre is alkalmas verziójához készültek.

A fenti eljárások nagymértékben csökkentették a hibás események regisztrálását, és megnövelték a mért adatok megbízhatóságát és pontosságát.

Hordozható berendezés terepi mérésekhez

A kísérleti berendezés megépítése után, miután laboratóriumi mérések során meggyőződtem a működésének helyességéről, megépítettük annak hordozható, terepi mérésekre is alkalmas változatát. Az optomechanikai rész, a pumpa, a jelfeldolgozó elektronika mind bekerült egy műszerdobozba (2.11. ábra), melyhez egy laptopot csatlakoztattunk. A tapasztalatok alapján lecseréltük a két megvilágító lézerforrást egy 660 nm hullámhosszú piros, és egy 808 nm hullámhosszú infravörös lézerdiódára. Mindkettő lineárisan polarizált (10:1) félvezető lézer volt ~100 mW teljesítménnyel. Bár a berendezés mérési tartománya még elég limitált volt (0,6–5 μm), így is alkalmas volt a benne megvalósított mérési módszer hatékonyságának igazolására. A berendezés jelenlegi korlátai nem elvi jellegűek, hanem az aktuálisan alkalmazott lézer, detektor és optika által szabott határok.



2.11. ábra A berendezés optomechanikai egysége végső összeszerelés előtt (balra) valamint a kifejlesztett kísérleti berendezés (jobbra).

Meg kell említeni, hogy bár a törésmutató általánosságban hullámhosszfüggő, azonban az általunk használt két hullámhossz olyan közel van egymáshoz, ami nem eredményez számottevő különbséget.

A mérési módszer és a jelfeldolgozási séma kidolgozása mellett a berendezés vezérlő, adatgyűjtő és adatfeldolgozó szoftverének kifejlesztése, annak behangolása, beüzemelése, kalibrálása és tesztelése, valamint alkalmazásai is a saját eredményeim közé tartoznak.

2.4. Eredmények

2.4.1. A mérési módszer laboratóriumi tesztelése

A berendezés kalibrálása

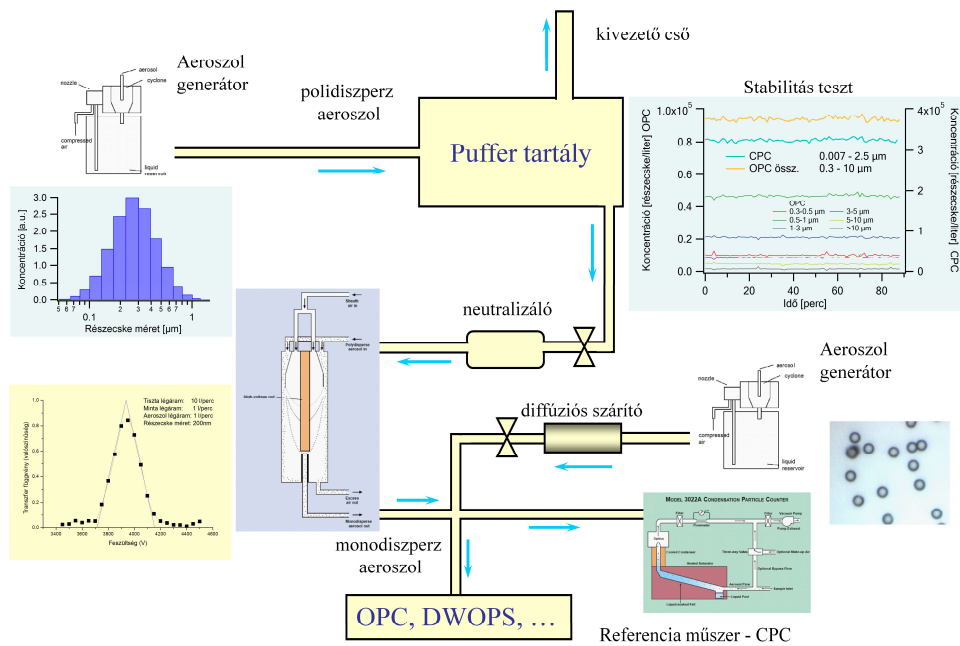
A berendezés kalibrálásához és a tesztekhez pneumatikus porlasztási elven működő aeroszol-generátorokkal állítottam elő a tesztrészecskéket. A tesztekhez monodiszperz polisztirol latex (PSL), paraffinolaj, dietilhexil-szebacát (DEHS), és fekete tus részecskéket generáltam. Mindegyik anyagra igaz, hogy a kapott részecskék gömb alakúak, és ismert a komplex törésmutatójuk is (2.1. táblázat). A PSL részecskék vizes szuszpenzió formájában érkeztek és onnan hígítottuk tovább a megfelelő koncentrációra ultratiszta vízzel. A paraffinolajat közvetlenül porlasztottuk, míg a DEHS olajból és izopropil alkoholból 0,5%-os oldatot készítettünk a porlasztás előtt. Az abszorbeáló fekete tust 50%-ban hígítottuk ultratiszta vízzel.

2.1. táblázat A laboratóriumi mérésekhez felhasznált anyagok és komplex törésmutatójuk

| Anyag | komplex törésmutató |
|---|-----------------------|
| Dietilhexil-szebacát (DEHS) | $1,45 + 0,0 \cdot i$ |
| Fekete tus (Staedtler Mars Ink No. 745) | $1,70 + 0,32 \cdot i$ |
| Polisztirol latex (PSL) | $1,59 + 0,0 \cdot i$ |
| Paraffin olaj | $1,48 + 0,0 \cdot i$ |

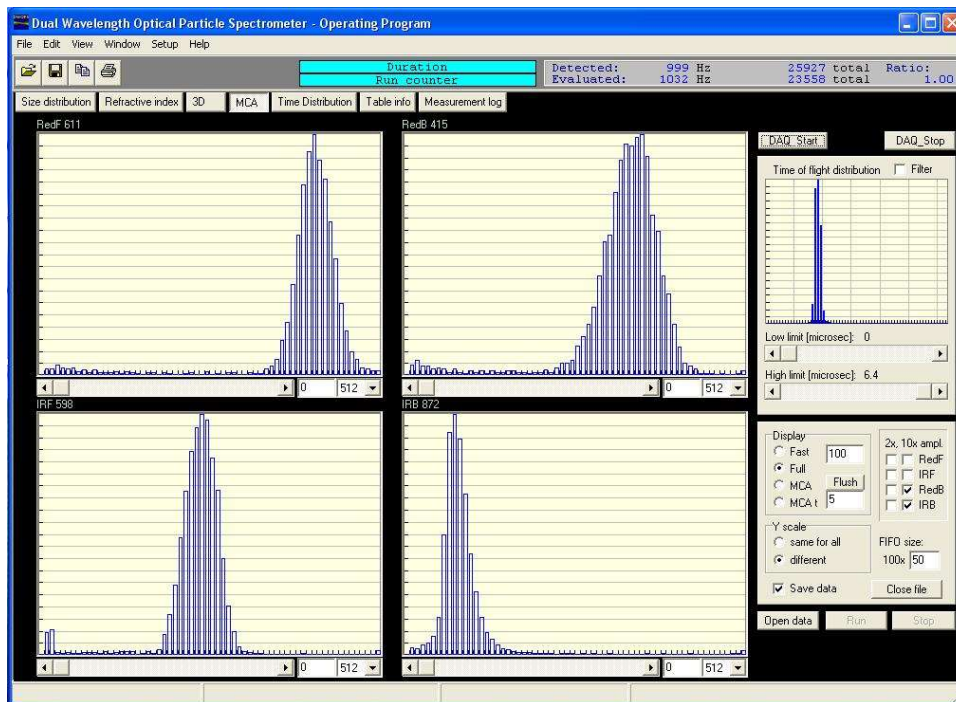
Mivel a PSL részecskék eleve monodiszperz méreteloszlással érkeztek, porlasztás után egy diffúziós szárítón keresztül kerültek a berendezésünkbe és egy referenciaberendezésbe. A többi anyag porlasztás után polidiszperz részecskéket eredményez, ezért egy differenciális mobilitásanalizátorral (DMA) választottam ki egy monodiszperz frakciót, melynek méretét változtatni lehetett 10 és 950 nm között. A DMA előtt egy ionizáló forrás biztosította a részecskéken az egyensúlyi töltéeloszlást. A részecskék a DMA-ban a tiszta légáram, és a két elektróda közötti feszültségkülönbség hatására létrejövő elektrosztatikus tér által meghatározott trajektóriát követik. A trajektória függ a részecskék mobilitásától (e/m), vagyis a rajtuk lévő töltéstől és a méretüktől is [64]. A laboratóriumi mérési összeállítást mutatja be a 2.12. ábra.

A kalibráláshoz először meghatároztam mind a négy detektorra a szórt intenzitással kapcsolatot teremtő skálázási faktorokat. Az optikai részecskeszámlálók kalibrálásához leggyakrabban monodiszperz PSL részecskéket használnak, mert jól definiált tulajdonságokkal (kis szórási eloszlás, pontos méret, ismert törésmutató és sűrűség) rendelkeznek. Mivel a detektorok válasza 1,5 V-ig lineárisnak tekinthető a szórt intenzitás függvényében, ezért elegendő két megfelelő méretet kiválasztani a skálázási faktorok megállapításához.



2.12. ábra A tesztekhez és a kalibráláshoz használt laboratórumi összeállítás.

Az első tesztek során a detektorok lineáris tartományában vizsgáldtunk, később figyelembe vettük az ettől eltérő válaszfüggvényeket is. A tesztekhez 0,7 és 2 mikrométeres méretű PSL részecskéket választottunk, mert mindkettő mérhető jelet szolgáltatott mind a négy térszögre és a detektorjelek a lineáris tartományban maradtak. A négy szórási térszög alatt mért intenzitáseloszlások maximumainak meghatározásával kaptuk meg a skálázási faktorokat (2.13. ábra).

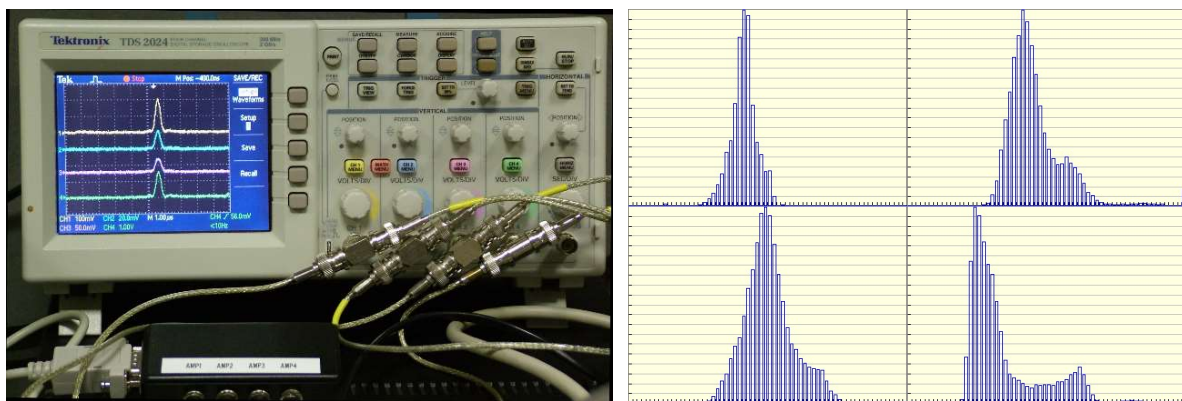


2.13. ábra A berendezés szoftverével a behangolás és kalibrálás során 2 μm -es PSL részecskékről kapott intenzitáseloszlási görbék a négy szórási térszögre.

A berendezés behangolásánál, a jelek oszcilloszkópon történő megfigyelése mellett, az ábrán mutatott görbék nyomon követésével lehetett optimalizálni a lézer és a detektorok beállításait. Az intenzitáseloszlás görbék kiszélesedése akkor jelentkezett, amikor nem volt megfelelően behangolva a rendszer, amit okozhatott a részecskeáramlás és a lézer pozíciójának eltérése, de a detektorok beállítása, és a kamrában esetleg jelenlévő szórt háttérfény is befolyásolta. A detektorok beállítását az intenzitás-hisztogramokon megjelenő csúcsok alakjának és pozíciójának változásai is segítik a finomhangolás során.

Laboratóriumi tesztmérések

A kalibrálás pontosságát másfajta részecskékkel is ellenőriztem. Paraffinolaj részecskéket generáltam pneumatikus porlasztással, melyből a DMA-val választottam ki monodiszperz frakciókat. Nyolc méretre teszteltem a berendezést 400 és 950 nm között (2.15. ábra). Egy ilyen tesztet mutat a 2.14. ábra, ahol az oszcilloszkópon látható a négy detektorjel, valamint a jelamplitúdó eloszlások a négy szórási térszögben.

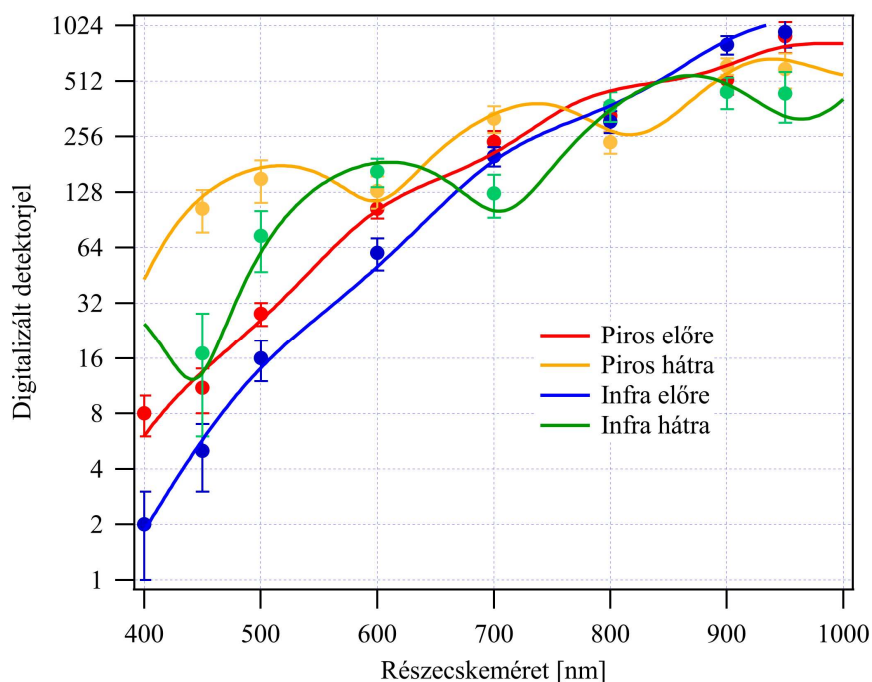


2.14. ábra A kalibrálás során kapott jelek a 4 detektoron, amelyek a két különböző hullámhosszú lézerből származó előre- és hátraszórást mérnek minden a mintavételező térfogaton áthaladó részecskén (baloldal), valamint az ezeknek megfelelő, a jelfeldolgozó elektronikával felvett jelamplitúdó eloszlások 950 nm-es paraffinolaj részecskékre (jobboldal).

A szórt intenzitáseloszlásokat összevettem a kalibráció során meghatározott skálázási faktorokkal súlyozott elméleti szórási görbékkel (2.15. ábra). Látható, hogy az átlagértékek jó egyezést mutatnak az elméleti értékekkel. Az ábrán látható hibásávokat az intenzitáseloszlás görbékre a csúcsoknál illesztett Gauss eloszlások félértékszélesége adja meg.

A korábban ismertetett adatkiértékelő algoritmussal meghatároztam a részecskék méretét és a törésmutatójuk valós és képzetes részét. A fejezetben ismertetett méréseket megismételtük a Bécsi Egyetem Aeroszolkutató laboratóriumában is, ahol a közös mérések során a paraffinolaj helyett DEHS-t használtunk teszt részecskéknek. A kapott eredmények egy releváns szeletét a 2.2. táblázat mutatja be.

Ezek alapján, a laboratóriumi mérések azt mutatják, hogy legalábbis gömb alakú részecskékre a rendszer hozta a papírformát, és a törésmutatótól függetlenül 10%-on belül képes volt meghatározni a részecskék méretét, és 15%-on belül a törésmutató valós és képzetes részét is. A laboratóriumi tesztek után következtek a terepi mérések, ahol elsősorban a részecskék abszorpciós tulajdonságaira koncentráltunk, amit a törésmutató képzetes része határoz meg.



2.15. ábra A berendezés válaszfüggvényének ellenőrzése csatornánként paraffinolaj részecskével. A folytonos vonalak a szórt fény Mie-elmélet alapján számolt intenzitását mutatják, a körjelölők pedig a mért értékeket, melyeket 10 bites felbontással digitalizáltam.

2.2. táblázat A laboratóriumi mérések során a D_p méretre és az $m = n + k \cdot i$ komplex törésmutatóra kapott tipikus eredmények. A D_{DMA} méret a DMA-n beállított méretet jelenti.

| Anyag | D_{DMA} [μm] | D_p [μm] | n | k |
|--------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|
| DEHS | 0,589 | $0,588 \pm 0,01$ | $1,55 \pm 0,20$ | $0,02 \pm 0,04$ |
| DEHS | 0,633 | $0,643 \pm 0,04$ | $1,45 \pm 0,09$ | $0,02 \pm 0,03$ |
| DEHS | 0,73 | $0,731 \pm 0,09$ | $1,46 \pm 0,02$ | $0 \pm 0,04$ |
| DEHS | 0,846 | $0,834 \pm 0,03$ | $1,46 \pm 0,02$ | $0 \pm 0,04$ |
| PSL | 1,0 | $0,949 \pm 0,01$ | $1,60 \pm 0,02$ | $0 \pm 0,04$ |
| Fekete tus | 0,75 | $0,728 \pm 0,09$ | $1,62 \pm 0,08$ | $0,34 \pm 0,10$ |
| Fekete tus | 0,845 | $0,811 \pm 0,08$ | $1,61 \pm 0,02$ | $0,32 \pm 0,20$ |
| Paraffinolaj | 0,6 | $0,58 \pm 0,03$ | $1,46 \pm 0,04$ | $0 \pm 0,03$ |
| Paraffinolaj | 0,8 | $0,81 \pm 0,07$ | $1,48 \pm 0,08$ | $0 \pm 0,04$ |
| Paraffinolaj | 0,95 | $0,92 \pm 0,05$ | $1,49 \pm 0,03$ | $0 \pm 0,02$ |

2.4.2. A városi aeroszol abszorpciós tulajdonságainak vizsgálata

Az aeroszol analízator hordozható változatának első terepi bevetése során a Szegedi Tudományegyetem Fotoakusztikus Kutatócsoportjával közösen légköri aeroszolok abszorpciós tulajdonságait és méreteloszlását vizsgáltuk városi környezetben. Az általunk fejlesztett berendezés mellett egy optikai részecskeszámláló, egy fotoakusztikus spektrométer, és egy aethalóméter is szerepelt a mérési kampányban. Az aeroszol részecskéket a környezetvédelmi monitorozásukra vonatkozó szabványok szerinti mérettartományokban vizsgáltuk az erre vonatkozó mintavételezési feltételek mellett.

Az aeroszol analízátor mérési eredményeit (a méretet és koncentrációt illetően) összehasonlítottuk a kereskedelmi forgalomban kapható optikai részecskeszámláló (Grimm 1.109) adataival, és nagyon jó egyezést tapasztaltunk a két műszer által átfogott mérettartományok metszetében (0,6–5 μm). A fotoakusztikus spektrométerrel és az aethalométerrel mért és az általunk meghatározott adatok összevetése meggyőzően igazolta az aeroszol analízátor képességét a komplex törésmutató képzetes részének meghatározására a részecskeméret függvényében. Megjegyezzük, hogy az aeroszol részecskék abszorpciós tulajdonságainak (törésmutatójuk képzetes részének) mérése segíthet a különböző forrásokból származó frakciók részarányának meghatározásában (pl. égéstermékek, por, stb.).

A mérések leírása

A mérőműszereket egy klímakontrollált mobil mérőállomásban helyeztük el. A mintavételezés egy központilag kialakított mintavevőn keresztül történt, amely kb. 3,5 m magasságban volt a furgon tetején. A bemenet és a műszerek között a mintavételi csövek a lehető legrövidebbek voltak vertikális kialakításban.

A méréseket két helyszínen végeztük Budapesten 2010 márciusában. Az egyik helyszín az Országos Meteorológiai Szolgálat Gilice téri telephelye volt (2.16. ábra), a másik pedig az ELTE Astoriánál lévő kampuszán a Trefort-kertben.

A mérések során rögzítettük a következő meteorológiai paramétereket is: szélirány, hőmérséklet és relatív páratartalom. A napi átlaghőmérséklet -4 és +4 $^{\circ}\text{C}$ között változott. A Gilice téri állomás két forgalmas főútvonal között helyezkedik el, néhány száz méteres távolságra azoktól. A Trefort-kert Budapest belvárosában található egy nagy forgalmú utca mellett.

A mérésekhez használt műszerek különböző mintavételi idővel dolgoztak. A továbbiakban a mért adatsorokból képzett egy órás átlagokat mutatom be. A berendezés által átfogott mérettartományt a környezetvédelmi monitorozásra vonatkozó szabványok szerinti mérettartományokra osztottam a vizsgálatok során: < 1 μm , 1–2,5 μm és 2,5–10 μm . Mivel az aeroszol analízátor csak 5 μm -ig mér, értelemszerűen a legfelső tartomány 2,5–5 μm .

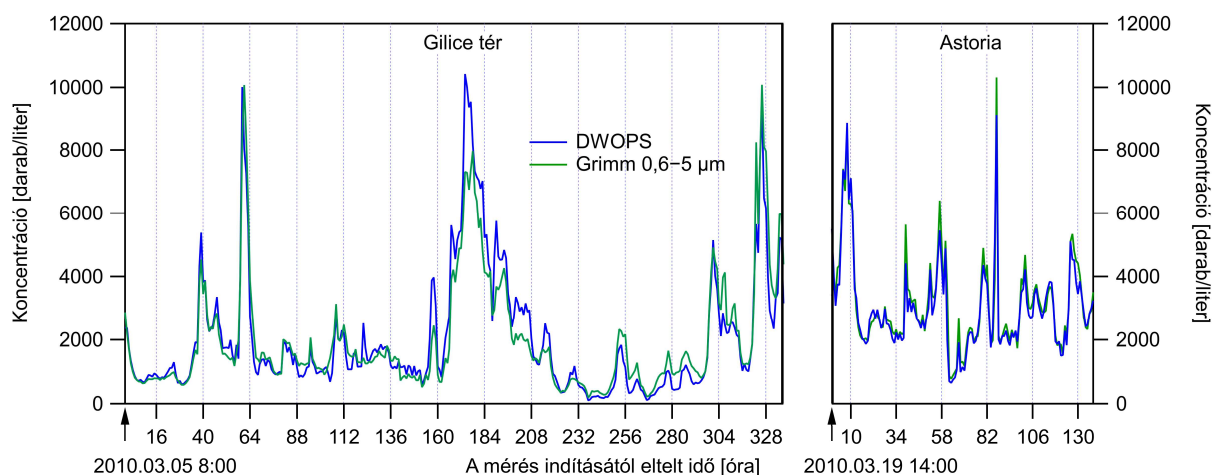


2.16. ábra A baloldali kép jobb oldalán látható a klímakontrollált mobil mérőállomás az Országos Meteorológiai Szolgálat Gilice téri telephelyén, valamint a beépített műszereink a jobboldali képen.

Bár vizsgálataink során az aeroszol részecskék abszorpciós tulajdonságaira összpontosítottunk, megjegyezzük, hogy a mérések során a törésmutató valós részére 1,5–1,8 közötti értékek adódtak.

Eredmények és diszkussziójuk

A mérési kampányok lebonyolítása során az egyik feladat a berendezések által mért adatok megbízhatóságának igazolása, és a különböző módszerekkel és műszerekkel mért eredmények összehasonlítása. A mérési kampányokban különböző detektálási geometriát megvalósító optikai részecskeszámlálókkal vettünk részt, mindegyik eltérő mérettartományban és eltérő felbontással működött. A nagyobb mérettartománnyal a Grimm 1.109 optikai részecskeszámláló berendezés rendelkezett (0,25–32 μm), amelyben szélesszögű merőleges szórás geometriát valósítottak meg. Az általam kifejlesztett DWOPS-ban előre- és hátraszórás geometriában is gyűjtjük a szórt fényt és a 0,6–5 μm -es tartományban érzékeljük a részecskéket. Ezek alapján a mért koncentrációk összehasonlításánál a Grimm 1.109 berendezést vettük alapul és csak a másik berendezéssel átfedő méret csatornáiban számoltuk a koncentrációkat. A 2.17. ábra mutatja a két műszer által mért koncentrációkat a Gilice téren és az Astoriánál végzett mérések során. Látható, hogy a két berendezés által mért adatok jól együtt futnak, kisebb eltérésektől eltekintve gyakorlatilag egyformán teljesített a két műszer. Az ábrákon több napon átívelő mérési adatok vannak feltüntetve, ahol a kezdő időpontok a grafikonok bal alsó sarkában vannak megadva. A vízszintes tengelyen a mérés elindításától eltelt idő van megadva órában, a függőleges vonalak minden nap a 0:00 órát jelölik.



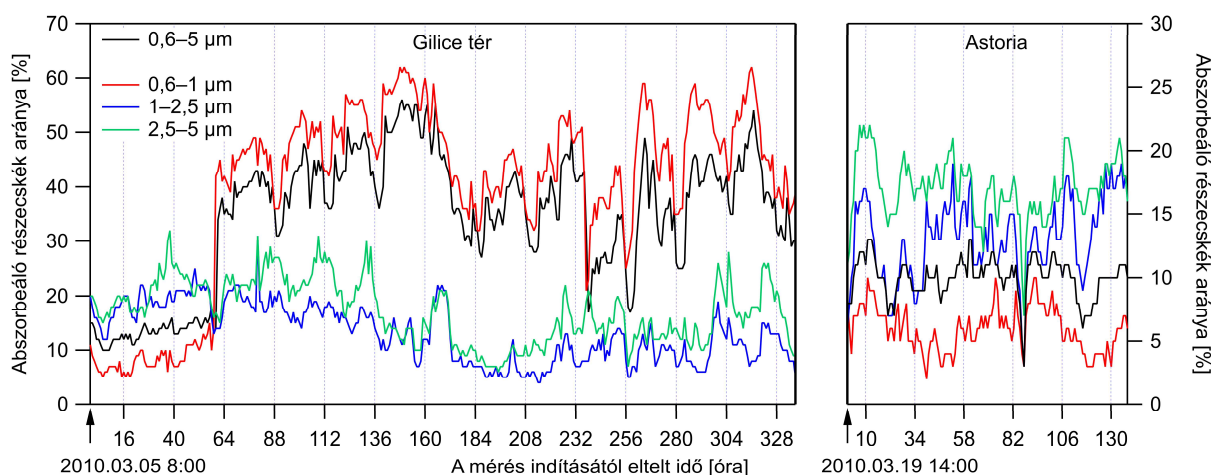
2.17. ábra Az aeroszol analizátor által és a Grimm 1.109 műszer által (a DWOPS által is detektálható méretű (0,6–5 μm) részecskékre leszűkített tartományban) mért koncentrációk időbeli változása a Gilice téren egy 15 napos mérési kampány, és az Astoriánál (Múzeum körút, Trefort-kert, ELTE) egy 6 napos méréssorozat alatt.

A két mérési kampány alatt a DWOPS és a Grimm műszerek által mért átlagkoncentrációk 2026 és 1997 részecske/liter voltak, a köztük lévő átlagos abszolút eltérés pedig 378 részecske/liter volt. A két adatsor között erős és szignifikáns korrelációt találtunk (Pearson korrelációs együttható: $r = 0,95$, $p < 0,05$).

Ezek alapján megállapítható, hogy az általunk fejlesztett aeroszol analizátor által mért darabszám koncentráció jó egyezést mutatott az optikai részecskeszámláló átfedő mérettartományában mért adatsorokkal a mérési kampányok alatt.

Abszorbeáló frakciók

Az aeroszol analizátor által a Gilice téren és az Astoriánál mért komplex törésmutató adatokból kiszámoltam az abszorbeáló frakciók arányát a teljes koncentrációhoz viszonyítva, különböző mérettartományokra (2.18. ábra). A továbbiakban abszorbeáló részecskének azokat nevezem, amelyek törésmutatójának képzetes része nagyobb, mint 0,1. Az ábrákon szerepel a berendezés által mért teljes mérettartományra (0,6–5 μm) számolt arány (fekete vonal), valamint az 1 mikrométernél kisebb (piros vonal), az 1–2,5 μm -es (kék vonal) és a 2,5 mikrométernél nagyobb részecskékre vonatkozó arány is (zöld vonal). Minden egyes arány az adott mérettartományra vonatkozik, vagyis például az 1 mikrométernél kisebb részecskék esetén az 1 mikrométernél kisebb abszorbeáló részecskék számát hasonlítjuk össze az 1 mikrométernél kisebb összes részecskeszámmal.

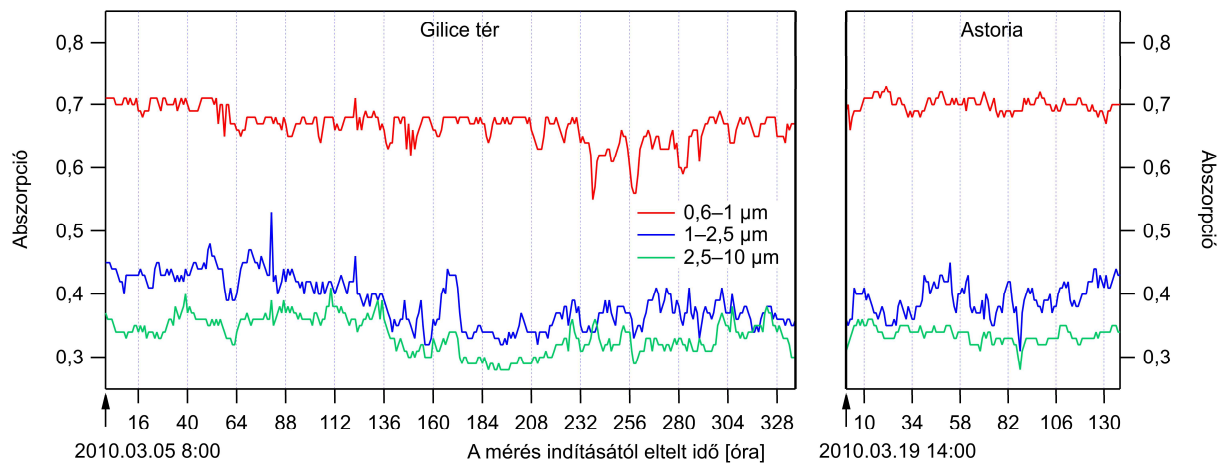


2.18. ábra Az abszorbeáló részecskék aránya a Gilice téren és az Astoriánál végzett mérések során. A teljes mérettartományra (0,6–5 μm) számolt arányt mutatja a fekete görbe, az 1 mikrométernél kisebb részecskékre vonatkozó arányt a piros görbe, a 1–2,5 μm tartományra vonatkozó arányt a kék görbe, és a 2,5 μm fölötti tartományra vonatkozó arányt a zöld görbe.

Az ábrákon megfigyelhető a részecskék optikai tulajdonságainak eltérő időbeli változása a különböző mérettartományokban, ami egyéb információkkal együtt alapját képezheti a források szerinti szelekciónak.

Az átlagos abszorpció

A mért adatokból meghatároztam az abszorbeáló frakcióra a komplex törésmutató képzetes részének átlagát az idő függvényében. Ezeket az adatokat mutatja be a 2.19. ábra a Gilice téren és az Astoriánál végzett mérésekre. Az adatokat a korábban említett három méretfrakcióban ábrázoltam. A továbbiakban a részecskék abszorpcióján a törésmutató képzetes részét értem. Az adatok alapján egyértelműen megállapítható, hogy a szubmikrométeres frakcióban jelentős mennyiségű, erősen elnyelő részecske van jelen 0,7-es átlagos abszorpcióval, ami széntartalmú részecskék jelenlétére utal.



2.19. ábra Az abszorbeáló részecskék (komplex törésmutató képzetes része $> 0,1$) abszorpciójának időbeli változása különböző mérettartományokban (a komplex törésmutató képzetes részének 1 órás átlagaiból képezve).

Figyelembe véve, hogy téli fűtési időszakban, forgalmas útvonalak közelében történtek a mintavételek ez nem meglepő eredmény. A részecskeméret növekedésével csökken az átlagos abszorpció is, ami arra enged következtetni, hogy, míg a kisméretű részecskék esetén az aeroszol külső keveredése (különböző abszorpciójú részecskék elegye), addig a nagyobb részecskék esetén a belső keveredés (kondenzáció vagy koaguláció útján keletkező, abszorbeáló részt is tartalmazó részecskék) dominál [65].

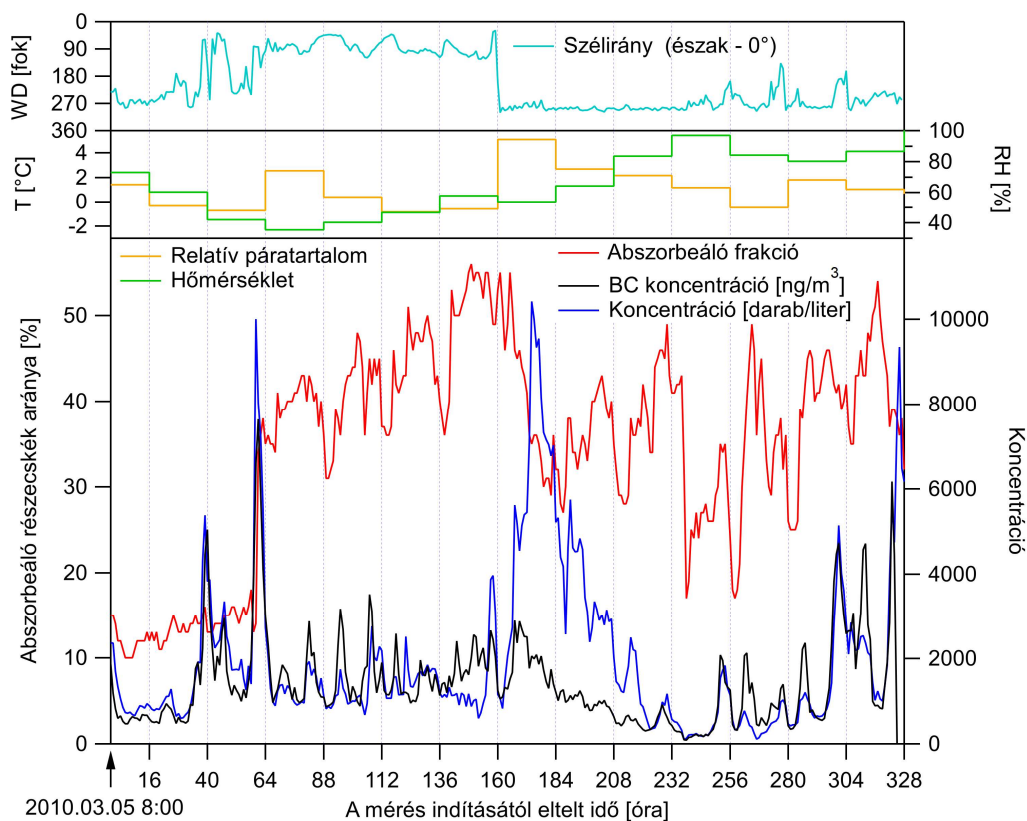
Összehasonlító elemzések

Az aeroszol analizátorral mért koncentráció és abszorbeáló frakció részarányának adatsorait, valamint az aethalométerrel mért korom koncentráció időbeli változásait a 2.20. ábra mutatja be. Az ábrán egyidejűleg a hőmérséklettel és a relatív páratartalommal, a szélirányt is ábrázoltam. Ezek a mérési eredmények azt mutatják, hogy az első 5 nap során a DWOPS által mért aeroszol koncentráció és az aethalométerrel mért korom koncentráció között erős korreláció van, a 6. napon, amikor a szélirány megváltozott, ez a tendencia is megváltozott. Később, a 9. nap után ismét megfigyelhető volt.

A DWOPS által mért abszorbeáló frakció változásainak az összehasonlítása a teljes aeroszol koncentrációval és a széntartalmú részecskék koncentrációjával azt mutatják, hogy az abszorbeáló frakció nem csak koromból áll. Itt a szélirány változása megváltoztatta az abszorbeáló frakció részarányát, ami arra mutat, hogy megváltozott az aeroszolfrakciók összetétele – a szél más fajta részecskéket hozott.

A 40., 60., és 175. óráknál a részecskeszámokban megfigyelhető csúcsok szoros összefüggésben vannak az időjárási viszonyok gyors változásaival. Nem csak a szélirány változott meg, hanem az utóbbi két esetben a relatív páratartalom is.

Az abszorbeáló frakciók különböző trendeket követtek a két helyszínen. Az 1 mikrométer fölötti mérettartományokban mindkét helyszínen 10–20% között ingadozott az elnyelő részecskék részaránya. A szubmikrométeres mérettartományban viszont, az első 60 órát leszámítva, magasabb az abszorbeáló részecskék részaránya a Gilice téren, mint az Astoriánál.



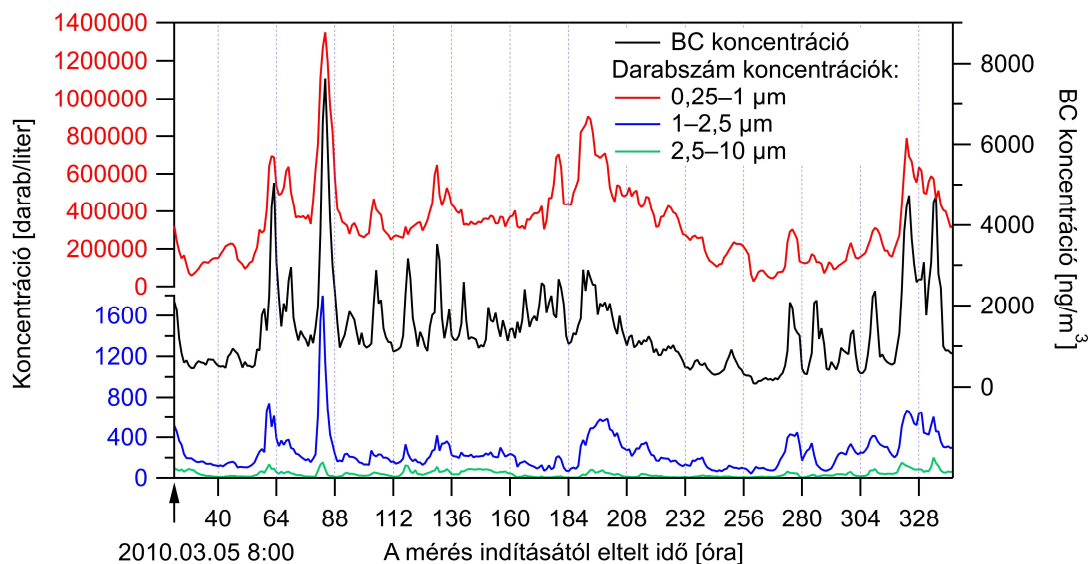
2.20. ábra A DWOPS által mért aeroszol koncentráció, az aethalométerrel mért szén koncentráció és a DWOPS által mért abszorbeáló frakció részarányának változása a Gilice téri mérések során. A jobboldali y tengelyen a mértékegység darab/liter a darabszám és ng/m³ a BC tömegkoncentráció esetén.

Az első 60 órában hasonló értékeket és arányokat láthatunk a két helyszínen mért adatsorokban. Ennek a jelenségnek a magyarázatát a következőkben kereshetjük. A levegőben jelenlévő aeroszolok folyamatosan változnak. A keletkezésük után koaguláció, aggregáció, kondenzáció útján változhat a méretük és összetételük, amit aeroszol öregedésnek is neveznek a szakirodalomban. A közlekedés által generált abszorbeáló részecskék eredeti mérete jóval a műszerek detektálási határa alatt van (pl. a dízelmotorok által kibocsátott koromrészecskék tipikus mérete 80–100 nm). Egy idő után azonban a korábban említett folyamatok hatására növekedésnek indulnak, és felnőnek a detektálható mérettartományba.

Az optikai részecskeszámláló és az aeroszol analizátor mellett egy 7 hullámhosszon mérő aethalométerrel és egy 4 hullámhosszon mérő fotoakusztikus spektrométerrel [56] mértük a széntartalmú részecskék (korom, BC – black carbon – feketeszén) tömeg-koncentrációját [38]. Mivel az aethalométerrel mért koncentrációk jó egyezést mutattak a fotoakusztikus spektrométer által mért adatokkal [56], ezért a továbbiakban csak az előbbi eredményeit mutatom be. A 950 nm-es hullámhosszon mért adatok jól jellemzik az abszorbeáló részecskék tömegkoncentrációját. Munkám során az elnyelő részecskék arányainak, koncentrációinak változásával foglalkoztam, az általunk mért abszorpciós tulajdonságokkal való összehasonlítás volt a célom. Emiatt nem vettem figyelembe az aethalométereknél az abszolút koncentráció meghatározásakor általánosan alkalmazott korrekciókat, amelyek ráadásul az általunk mért viszonylag alacsony koncentrációk mellett nem is voltak relevánsak [66].

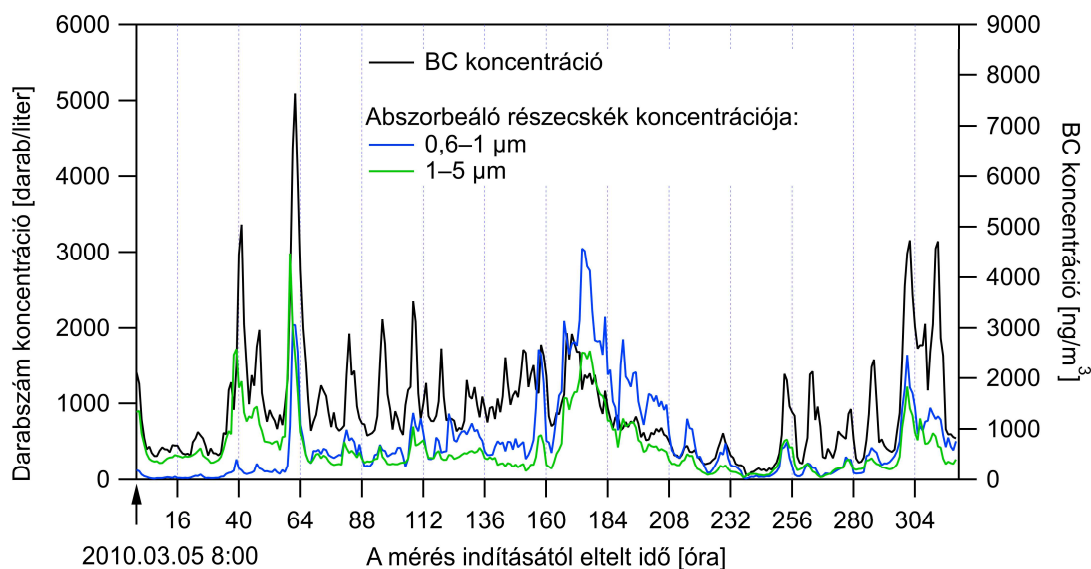
Az aethalométerrel mért tömegkoncentráció 2000 ng/m^3 körül ingadozott és jelentős kiugrásokot mutatott a szélirányváltásokhoz kapcsolhatóan (2.20. ábra).

Az optikai részecskeszámláló által mért koncentráció adatsorokat is felbontottam a korábban említett 3 mérettartományra ($0,25\text{--}1$, $1\text{--}2,5$ és $2,5\text{--}10 \text{ }\mu\text{m}$). Megjegyzendő, hogy ezek a méretek itt optikai méretek, és a felosztást befolyásolja a részecskék törésmutatója.



2.21. ábra Az aethalométer által mért tömegkoncentrációk és az optikai részecskeszámláló által a különböző mérettartományokban mért darabszámkoncentrációk összehasonlítása.

Mindazonáltal megfigyelhető, hogy az aethalométerrel mért koncentráció adatsorok jól korrelálnak az optikai részecskeszámláló által mért adatsorokkal (2.21. ábra). Különösen a szubmikrométeres tartományban találtunk erős korrelációt ($r = 0,74$, $p < 0,05$), ami arra enged következtetni, hogy ebben a mérettartományban jelentős mennyiségű abszorbeáló anyag van.



2.22. ábra Az abszorbeáló részecskék koncentrációja különböző mérettartományokban és a BC koncentráció Gilice téren végzett mérések során.

Az egy mikron fölötti tartományban közepesen erős korrelációt találtam ($r_{1-2,5 \mu\text{m}} = 0,63$ és $r_{2,5-10 \mu\text{m}} = 0,53$, $p < 0,05$).

A BC koncentráció adatsorait összehasonlítottam az aeroszol analizátorral meghatározott abszorbeáló részecske koncentrációval is (2.22. ábra). Bár a teljes adatsorra közepesen erős korrelációt tapasztaltunk ($r = 0,53$, $p < 0,05$), voltak időszakok, például az első 136 óra, amikor a két adatsor között erős korreláció állt fenn ($r = 0,83$, $p < 0,05$).

A bemutatott Pearson korrelációs együttható értékek mindegyike szignifikáns $p < 0,05$ szinten.

A szélirány változásainak hatása nyomon követhető az összes mért adatsoron. A BC koncentrációk jól korrelálnak a darabszámkoncentrációkkal. A koromrészecskék (BC) aeroszol analizátor által meghatározott abszorpciója, vagyis a törésmutatójuk képzetes része, összhangban van az irodalomban található értékekkel $m \approx 2 - 0,8 \cdot i$ [67].

2.5. Összegzés

A korábban általam kidolgozott, az aeroszol részecskék méretét és komplex törésmutatóját egyidejűleg meghatározó mérési módszer alapján megépítettünk egy laboratóriumi kísérleti berendezést, majd ez alapján egy hordozható, valós környezetben végzett mérésekre is alkalmas berendezést.

A laboratóriumban mesterségesen előállított, jól definiált tulajdonságú részecskékkel végzett kísérletekkel igazoltam, hogy a javasolt módszer a várakozásoknak megfelelően működik, és 10%-os hibahatáron belül képes meghatározni a tesztrészecskék méretét, és 15%-on belül a komplex törésmutatójának valós és képzetes részét.

Mérési kampányokban vizsgáltam az aeroszol részecskék abszorpció tulajdonságait városi környezetben különböző helyszíneken. A mérések során a bemutatott aeroszol analizáló berendezéssel a méreteloszlások és koncentrációk mellett meghatároztam az abszorbeáló részecskék részarányát és átlagos abszorpcióját a környezeti monitorozásnál szabványos mérettartományokban. Hasonló módon meghatároztam az abszorbeáló részecskék darabszám koncentrációjának időbeli változásait is. A méreteloszlásra és a darabszám koncentrációra kapott eredményeket összehasonlítottam a referencia műszernek használt optikai részecskeszámláló adataival és jó egyezést kaptam az átfedő mérettartományban. Az abszorpcióra vonatkozó eredményeket összehasonlítottam az irodalomból vett, valamint a fotoakusztikus spektrométerrel és az aethalométerrel mért adatokkal, ahol szintén elfogadható egyezést tapasztaltam. A mért adatokat elemeztem az időjárási viszonyok függvényében. Megállapítottam, hogy a részecskék méreteloszlása, koncentrációja és optikai tulajdonságai nem csak a hőmérséklettől és a páratartalomtól függenek, hanem a szélirány is jelentősen befolyásolja azokat. Ennek oka az volt, hogy különböző területek felől hozta a szél a részecskéket, úgymint kertvárosi környezet, forgalmas útvonal, belvárosi régió.

A kapott eredmények alapján igazoltam a mérési módszer működőképességét és pontosságát laboratóriumi és terepi körülmények között is.

3. OPTIKAI MÓDSZEREK AZ AEROSZOLOK EGÉSZSÉGÜGYI HATÁSAINAK VIZSGÁLATÁRA

Az aeroszokok nem csak az éghajlat és az időjárás alakulásában játszanak kiemelkedő szerepet. Jelentős hatásuk van az egészségünkre is, hiszen diszperziós közegük az élethez elengedhetetlen levegő. A levegőben eloszlott részecskék – melyek hosszabb-rövidebb időn keresztül ott is maradnak – hordozzák azokat az összetevőket, amelyeknek pozitív (gyógyszerek) vagy negatív (kórokozók, toxikus, karcinogén, radioaktív vagy más káros anyagok) hatása van az egészségi állapotunkra. Belélegzésük után az aeroszol részecskék terjedését és kiülepedését a légutak geometriája és felületi tulajdonságai határozzák meg, de befolyásolja a részecskék mérete, alakja és sűrűsége által meghatározott aerodinamikai jellemzői és a légutakban áramló levegő tulajdonságai is. Csoportunkban a 2010-es években indult egy együttműködés az MTA KFKI Atomenergia Kutatóintézet (jelenleg Energiatudományi Kutatóközpont – EK) numerikus tudómodelleket fejlesztő kutatócsoportjával, mely a mikronos és szubmikronos részecskék légúti kiülepedésének lézeres optikai módszerekkel történő vizsgálatára irányult. Az együttműködés keretében végzett munka célja a számítógépes szimulációs eredmények kísérleti ellenőrzése, valamint a számolásokhoz szükséges bemeneti adatok meghatározása volt. Az intézetben vezetéssel létrejött egy kísérleti háttér, melyet felhasználva, tüdőgyógyászokkal (Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikája, Törökbálinti Tüdőgyógyintézet) összefogva tanulmányoztuk az aeroszol részecskék terjedését a levegőben és a légutakban, valamint meghatároztuk kiülepedési tulajdonságaikat. Vizsgálataim tárgya a légutakban keletkező – potenciális kórokozó hordozóként jelenlévő – beltéri aeroszoktól a légúti betegségek kezelésére használt inhalációs gyógyszerkészítményekig terjedt. A vizsgálatokhoz meglévő és újonnan fejlesztett optikai mérési módszereket alkalmaztam. A fentiekből is látható, hogy az aeroszokok egészségügyi hatásait nem orvosi vagy biológiai szempontból vizsgálom, hanem a kapcsolódó fizikai folyamatokon keresztül értékelem.

3.1. Tudományos előzmények

Beltéri aeroszokok, kórokozók terjedése

Beltéri aeroszolnak a zárt térben (pl. lakás, iroda, munkahelyi környezet, ipari csarnok, kórterem) előforduló aeroszolt nevezzük. A beltéri aeroszoloknak számos forrása lehet, melyek közül több az emberi tevékenységhez köthető (pl. főzés, takarítás), de az ipari folyamatok során is keletkeznek részecskék (pl. 3D nyomtatás, fémmegmunkálás). Beltéri aeroszol a légzőrendszerben keletkező és onnan a környezetbe kijutó, potenciálisan kórokozókat tartalmazó aeroszol is, amely különösen fontos kockázati tényező kórházi környezetben, ahol az amúgy is legyengült immunrendszerű betegekre nézve végzetes lehet egy újabb fertőzés.

A beltéri aeroszol és a vírusok cseppfertőzéses légúti átviteli kockázatát 4 tényező befolyásolja: az aeroszol részecskék vagy cseppek tulajdonságai; a beltéri légáramlás; vírusspecifikus tényezők; és gazdaspecifikus tényezők.

A beltéri aeroszokok tulajdonságait számos kutatás vizsgálta. Egészségügyi szempontból a levegőben lebegő részecskék legfontosabb tulajdonságai a mérete, összetétele, koncentrációja,

sűrűsége, valamint az aerodinamikai és morfológiai tulajdonságai. Ezek adott egyén légzésmintázatára együttesen határozzák meg, hogy egy részecske a légzőrendszer mely részében ülepedik ki, és ott milyen hatást fejt ki.

Az új típusú koronavírus (SARS-CoV-2) okozta járványhoz kapcsolódó kutatások megállapították, hogy a fertőzés fő módja a vírusrészecskéket hordozó légzőszervi folyadékokkal való érintkezés [68]. Kimutatták, hogy a SARS-CoV-2 átadása fertőzött személlyel való szoros érintkezés útján, a levegőben terjedő részecskék révén történhet [68], [69]. Korábbi adatok alapján is ismert, hogy fertőzött személyek légzéssel, beszéddel, tüsszentéssel, köhögéssel, valamint orvosi beavatkozásokkal különböző méretű, légúti folyadékokból álló részecskéket bocsátanak ki, amelyek életképes kórokozók fertőző dózisát hordozzák [68], [69]. Míg a nagyobb cseppek gyorsan kiülepednek a levegőből, a kisebb cseppek és az aeroszol részecskék hosszabb ideig a levegőben maradnak [68], [69]. A betegség a fertőzőképes vírust tartalmazó, különböző méretű, levegőben szálló részecskék belégzésével terjed [68], [69]. A vírust hordozó részecskék a szabad nyálkahártyákra (pl. az orrban, szájban, szemben, tüdőben) kiülepedve továbbítják a fertőzést. A fertőzés egy másik fontos módja a kilélegzett légzőrendszeri folyadékokkal szennyezett felületek érintése után a szennyezett kezekkel a nyálkahártyák érintése is [68], [69]. A jelenlegi kutatási projektek e folyamatok számos aspektusára összpontosítanak, a levegőben terjedő részecskék kialakulásának és kiülepedésének fizikai megértésétől kezdve a méretüket és koncentrációjukat befolyásoló tényezők azonosításáig. Eddig több olyan fiziológiai és környezeti tényezőt azonosítottak, amelyek valószínűleg befolyásolják a SARS-CoV-2 légúti terjedését. A zsúfoltság és a közös helyiségek megosztása hatására a nem megfelelő szellőzéssel vagy levegőkezeléssel rendelkező helyiségekben megnőhet a levegőben szálló részecskék koncentrációja, és így ezen tényezők növelik a SARS-CoV-2 átvitelének kockázatát [70]. A SARS-CoV-2 légúti átvitelének kockázatát meghatározó egyéb kritikus tényezők közé tartozik a forrástól való távolság, a fertőzött személy fokozott kilégzése (pl. fizikai megerőltetés, éneklés során), a levegő áramlási tulajdonságai és az expozíció hossza [68]. A levegőben terjedő részecskék mozgását és méretét befolyásoló dinamikus folyamatok vizsgálata, valamint a részecskék jelenlétének és mozgásának megfigyelése és nyomon követése különösen fontos zárt terekben, például kórtermekben vagy kezelőkben.

A fentiek mentén részletezem a következőkben az aeroszol részecskéket létrehozó mechanizmusokat, az aeroszol részecskék és a cseppek ismert tulajdonságait, a beltéri légáramlás hatásait, valamint a légúti kiülepedés folyamatait. Ezeket kombinálva a megfertőződés folyamatával, egyszerű, ugyanakkor hatékony intézkedéseket lehet kidolgozni a kórokozót tartalmazó aeroszol részecskék beltéri koncentrációjának csökkentésére, és a vírust tartalmazó részecskék belélegzésének elkerülésére.

Aeroszol részecskék keletkezése a légzőrendszerben

Hosszú út vezetett el addig a felismerésig, hogy egyes betegségekkel, közvetlen érintkezés nélkül, a levegőben terjedő kórokozók útján is megfertőződhetnek emberek. Kimutatták, hogy a légutak különböző régióiban a tüsszentés, köhögés, nevetés, beszéd, éneklés, vagy akár a nyugodt légzés során is keletkeznek olyan részecskék, amelyek kilégzés után akár hosszabb ideig is képesek a levegőben maradni [69]. Ezeknek a részecskéknek a mérete igen széles skálán

változik. Kezdetben úgy gondolták, hogy főleg egy mikrométernél nagyobb részecskék keletkeznek és jutnak ki a légzőrendszerből [71], [72]. Később, a mérés technika fejlődésével, optikai módszerekkel megállapították, hogy valójában a részecskék túlnyomó része, azaz a részecskeszám 80-90%-a a szubmikrométeres tartományba esik [73]. A légzőrendszerből származó kilélegzett részecskék méreteloszlásában négy módot különböztettek meg, melyeket a légutak különböző részeiben végbemenő folyamatokkal hoztak összefüggésbe [74]–[76]. A tüdő legmélyebb régióiban, ahol a gázcsere is zajlik, a légutak kinyílásakor 0,1–0,8 μm -es részecskék keletkeznek az alveolusokat lezáró bronchiális filmréteg felszakadásával. A hörgőkben 1,5–1,8 μm -es részecskék keletkeznek ugyancsak a bronchiális filmréteg felszakadásakor, melyet az itt fellépő turbulens áramlások idéznek elő. A hangszálak hullámzó, rezgő mozgásának hatására a gégeben lévő nyákréteg felszakadása 3,5–5 μm -es részecskéket eredményez. A legnagyobb, 10–100 μm -es vagy még nagyobb részecskék, illetve cseppek a szájüregben keletkeznek köhögés vagy a tüszentés során. Míg a kisebb részecskék gyakorlatilag minden tevékenység során létrejönnek (pl. normál légzés, beszéd, stb.), addig a nagyobbak csak az erőteljesebb köhögés vagy tüszentés esetén fordulnak elő.

A légzőrendszerből kikerülő részecskék ki vannak téve a tüdőtől alapvetően különböző környezet hatásának. Míg a tüdőben a relatív páratartalom közel 100%-os és a hőmérséklet 30–35 °C körül van, addig egy átlagos szobában vagy kórteremben a páratartalom lényegesen alacsonyabb, ideális esetben 50% körül, de gyakran ez alatt van, és a hőmérséklet is alacsonyabb, 20–25 °C körül alakul. Ebből adódóan a légzőrendszerből kikerülő, nagyrészt vízből álló részecskék párolgásnak indulnak. A tiszta víz párolgási sebessége alapján feltételezhetjük, hogy a kilélegzett részecskék és cseppek gyorsan párolognak, és mivel nem csak vízből állnak, hanem különböző sókat és fehérjét is tartalmazó nyálka, nyál és víz keverékéből, nagyon gyorsan, kevesebb mint 1 másodperc alatt elérnek egy a környezeti paraméterektől is függő egyensúlyi méretet [74].

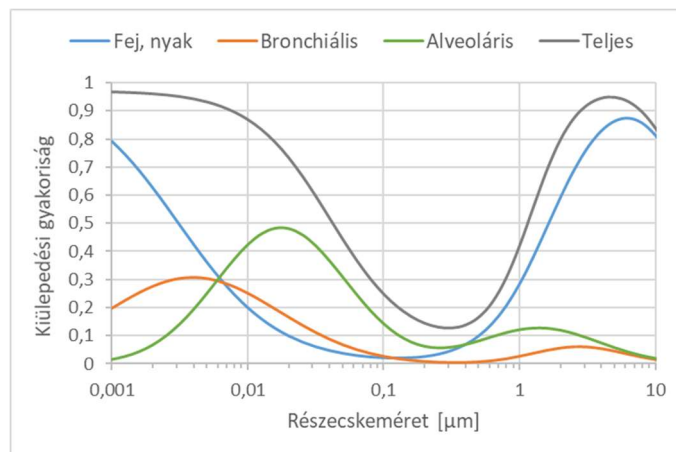
Amennyiben a tüdő megfertőződött valamilyen vírussal vagy baktériummal, a légutakból kijutó részecskék tartalmazhatják ezeket a kórokozókat, melyek így a légutakból származó nem volatilis közegben hosszabb ideig, akár órákon keresztül életképesek maradnak és képesek megfertőzni a részecskéket belélegző embereket [77]–[79].

A részecskék útja a tüdőben

Az mellkason belüli légutak első közelítésben egy elágazó csövekből álló fa, ahol bár a kettéágazó csövek egyenként szűkebbek az anyacsőnél, de összkeresztmetszetük nagyobb az anyaágénál, ezért a levegő egyre lassabban áramlik a mélyebb régiókban. A légzőrendszerbe belélegzett részecskék egészségügyi hatásait elsősorban a térbeli kiülepedésük határozza meg, melyet a légutak geometriája és a légzés karakterisztikája mellett jelentősen befolyásol a méreteloszlásuk és fizikai tulajdonságaik. A részecskék lehetnek szilárdak, folyékonyak vagy folyadékkal bevont szilárd maggal rendelkeznek, és mindemellett kémiai összetételük is igen komplex képet mutat. A belélegzett részecskék mintegy 40%-a a légutak különböző régióiban kiülepedik. A légutakba kerülő nagyobb, néhány mikrométer átmérőjű részecskék tehetlenségi impakció vagy szedimentáció útján ülepednek ki, elsősorban a légutak felső részén, míg az ultrafinom részecskék ($< 0,1 \mu\text{m}$), amelyeknek nagyon kicsi a tömegük és a

tehetetlenségük, eljutnak a tüdő mélyebb régióiba és többnyire diffúzió útján ülepednek ki a légutak alsó részén található kis átmérőjű csövekben és az alveolusokban (3.1. ábra).

Három fő kutatási módszer létezik az aeroszol részecskék emberi légutakban történő transzportjának és kiülepedésének tanulmányozására: *in vivo*, *in vitro* és *in silico*.



3.1. ábra Az aeroszol részecskék ICRP modell alapján meghatározott kiülepedési gyakorisága a légutak különböző régióiban a méret függvényében, nyugalmi légzés vagy könnyű fizikai munka esetére. [80], [81]

Az *in vivo* módszereket főként a krónikus légúti betegségek terápiájában széles körben alkalmazott túlnyomásos és szárazpor-inhalátorokból származó aeroszolgyógyszerek hatékonyságának meghatározására használják. Ezeket a módszereket mind a gyártók, mind az ezen eszközökért felelős szabályozó szervezetek [82]–[84] széles körben elfogadják. Az *in vivo* mérések azonban emberi közreműködést igényelnek, ami a komplex és drága mérés technika (szcintigráfia, ritkábban PET vagy PET-CT) alkalmazása mellett etikai kérdéseket is felvet, és a szükséges műszerek sok esetben nem biztosítják a megfelelő felbontást.

A fenti problémákra hatékony megoldást jelent az *in silico* módszer, amelyben a részecskék emberi légutakban történő transzportját és kiülepedését számítógépes szimulációkkal és numerikus modellekkel tanulmányozzák. A részecskék mozgását és kiülepedését komplex geometriában leíró egyenletek megoldása azonban még mindig kihívást jelent. A szimulációkhoz két fő kiülepedési modellt dolgoztak ki, az analitikus (sztochasztikus) modellt [85] és a numerikus (számítási áramlástani (CFD) alapú) modellt [86]. Míg az analitikus modell a részecskék pályáját és kiülepedését erősen leegyszerűsített légúti geometriában írja le képletek segítségével, addig a CFD lehetővé teszi a részecskék pályájának numerikus algoritmusokkal történő kiszámítását akár valósághű 3D légúti geometriában is, például valódi emberi légutakon rögzített komputertomográfias (CT) adatokból. Előnyei mellett az utóbbi modell meglehetősen érzékeny a kezdeti és a peremfeltételekre. A nagyobb problémát itt a kislégúti rekonstrukció jelenti, amihez nem elég jó a CT felbontása, ráadásul nagyon sok van belőle, és még mindig limitált a számítási kapacitás is. Ezek miatt a CFD modellek csak a felső és a centrális légutakban mutatnak jó korrelációt az *in vivo* mérésekkel. Ezzel szemben az analitikus modellel a kiülepedési hatékonyság az egész tüdőre kiszámítható.

Az *in silico* módszerek hatékony alkalmazásához kísérleti validációra van szükség, amelyet *in vivo* vagy *in vitro* mérésekkel lehet elvégezni. Az *in vitro* kísérletek nem vetnek fel etikai kérdéseket, de a mérések komplex kísérleti elrendezéseket igényelnek. A reális mérésekhez reális légúti modelleket kell készíteni [87], áramlási paramétereket és kiülepedési hatékonyságot kell mérni ezekben a modellekben, valós áramlási mintákat kell biztosítani egy légzési hullámforma generátorral, valós körülményeket (hőmérséklet, páratartalom stb.) kell teremteni a mérések során, és valódi vagy teszt részecskéket kell használni a mérésekhez. Ezenkívül egy számítási módszer validálásához szükséges, hogy a szimulációkat és a méréseket ugyanazon a geometrián alapuló, digitális és valós formában elkészített modellen végezzék el [88], mivel csak ez vezethet összehasonlítható eredményekhez.

Az emberi légúti modellekben a részecskék mozgására és kiülepedésére vonatkozó számítógépes szimulációk kísérleti validálására különböző megközelítésekről számoltak be. Az első *in vitro* áramlásméréseket forróhuzalos anemométerrel végezték, ahol az axiális sebességek mellett a másodlagos mozgásokat is meghatározták idealizált légúti öntvényekben [89]–[91]. Bár az áramlás összetettsége, beleértve az örvények kialakulását is, ezzel a technikával megfigyelhető és számszerűsíthető, a forróhuzalos anemometria egy invazív szondát vezet be, amely megzavarja az áramlást. Különböző nem invazív optikai mérési technikák állnak rendelkezésre az áramlás jellemzésére a többszörösen elágazó, összetett légúti geometriában, azonban ezekhez átlátszó modellre van szükség, korlátozott felületi szabálytalanságokkal [92]. A részecskék képalkotáson alapuló sebességmérését oszcilláló áramlások vizsgálatára használták a tüdő három egymást követő generációs elágazásainak szilikonmodelljén belül, valamint az alveoláris légutak méretarányos modelljén belül az áramlási mező és a részecsketrajektóriák CFD-számításainak ellenőrzésére [93]. Más szerzők lézeres Doppler sebességmérést alkalmaztak a turbulens részecsketranszport jellemzőinek meghatározására emberi légutakban, egyenletes és ciklikus áramlás esetén [94]. Vannak bizonyos kísérletek *in vitro* áramlásmérések elvégzésére CT-alapú légúti modellekben, amelyek gyors prototípus-technikával készültek, például gammakamera, mágneses rezonancia képalkotás [95], vagy a mágneses rezonancián alapuló fáziskontrasztos módszer felhasználásával és az aeroszol hordozó közeghez (levegő) hiperpolarizált ^3He gáz hozzáadásával [88]. Ezek a módszerek azonban meglehetősen költségesek, ezért ritkán alkalmazzák őket *in vitro* vizsgálatokhoz.

Aeroszolgyógyszerek vizsgálatai

A megfelelő inhalációs gyógyszerbevitelt az adott gyógyszer fizikai és kémiai tulajdonságai, a hatóanyag receptorkötő képessége és a receptorokkal nagy számban ellátott légúti területre történő bejuttatás befolyásolják. A gyógyszerkészítmények fejlesztésének egyik iránya az alkalmazott eszközök és azok használatának vizsgálatain és fejlesztésén keresztül történik. A készítmény tulajdonságai mellett maga az inhalációs eszköz határozza meg a beletöltött gyógyszer diszperzióját, és a légutak geometriája, valamint a belégzési mód is befolyásolják a tüdőben a kiülepedést.

A legelterjedtebb inhalációs eszközök alapvetően két csoportba sorolhatók. Az első csoportba tartoznak a szárazpor-inhalátorok, melyek által porlasztott részecskék mérete, pontosabban a tömeg szerinti átlagos aerodinamikai mérete (MMAD), jellemzően a 3–5 mikrométeres

tartományba esik. A másik csoportba a spray típusú inhalátor készülékek tartoznak, melyek által emittált részecskék tömegszerinti medián aerodinamikai átmérője a 0,8–5 mikrométeres tartományba esik. Az inhalációs készítmények és az inhalátor készülékek fejlesztése töretlenül folytatódik, hiszen mindkét fajta esetében lehet javítani a hatékonyságot, ami a szükséges dózis csökkenése mellett magával vonja a mellékhatásokat okozó felsőlégúti kiülepedés mérséklését is. A szárazpor-inhalátorok hatásosságát leginkább befolyásoló tényező a készülék nem megfelelő megszívásából ered, míg az aeroszol spray inhalátorok esetében a belégzés és az elsütés szinkronizálásának hiánya ronthatja a határfokot. Mindkét probléma a célterületre jutó dózis csökkenését okozza.

Az újfajta gyógyszerhatóanyagok fejlesztésénél az egyik irány a szemcseméret lecsökkentése a nanométeres tartományba. Az aeroszolgyógyszerek esetében nanorészecskének az egy mikronnál kisebb részecskéket tekintik. A kisebb méret és ezáltal a nagyobb fajlagos felület fokozza a rosszul vízoldható gyógyszerhatóanyagok oldódási sebességét, és ezáltal a gyógyszer részecskék egyrészt könnyebben bejutnak a sejtekbe, másrészt pedig fokozódik a sejten belüli transzport is [96]. Egy másik előnye ennek a mérettartománynak, hogy megfelelő vivőanyag-hatóanyag kombináció esetén csökken a felső légúti kiülepedés és így a hatóanyag nagyobb hányada jut le az alveoláris területre, ami számos gyógyszer célterülete [97], [98].

3.2. Célkitűzések

A fejezet címével összhangban munkám során arra kerestem a választ, hogy mennyiben alkalmazhatók optikai mérési módszerek az aeroszokok egészségügyi hatásainak meghatározására. Vizsgálataim két témakör köré csoportosulnak, melyek nem teljesen függetlenek egymástól. Mindkettőben optikai módszereket használok a vizsgálatokhoz. Ezek a témakörök a következők.

Az első témában vizsgálataim egyik célja annak meghatározása volt, hogy az egészségügyi dolgozók napi tevékenysége hogyan befolyásolja a levegőben lévő részecskék koncentrációját és méreteloszlását egy kórteremben, ahol egy COVID-19-es idős beteget ápolnak. Ezen ismeretek vezethetnek el az egyes tevékenységekhez kapcsolódó kockázatok felméréséhez. Emellett vizsgáltam egyes egészségügyi tevékenységekkel kapcsolatos részecske kibocsátást is. A COVID-19 világjárvány alatt a közismerten aeroszol képződéssel járó, a tüdőgyógyászati diagnosztikában kiemelt jelentőséggel bíró légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatokat és kezeléseket korlátozták. A célunk itt annak eldöntése volt, hogy a megfertőződés kockázata indokolja-e ezen vizsgálatok mellőzését. A méréseket mindkét esetben valós körülmények között, az egészségügyi személyzet tevékenységét nem befolyásolva terveztük elvégezni.

A második témához kapcsolódóan a céloom olyan optikai mérési módszerek fejlesztése és új típusú alkalmazása volt, amelyek lehetővé teszik az aeroszokok légúti transzportjának és kiülepedésének vizsgálatát, ezáltal az aeroszolgyógyszerek bevitelének optimalizálását és a mellékhatások csökkentését. Ezekhez kapcsolódóan a következő konkrét célokat fogalmaztam meg: új gyógyszerhatóanyagok jellemzése valós légúti körülmények között, valós légzési mintázat esetén; kísérleti úton meghatározni szárazpor-inhalátor készülékből porlasztott gyógyszer részecskék méreteloszlását a belégzési paraméterek (maximális légáram, belégzés hossza, belélegzett térfogat) függvényében.

3.3. Alkalmazott eszközök és módszerek

A kísérleti vizsgálatokhoz felépítettem a szükséges mérési elrendezéseket, és kidolgoztam azokat az eljárásokat, módszereket, melyek lehetővé teszik az elméleti és kísérleti eredmények feldolgozását, értelmezését, összevetését, illetve további kutatásokban való alkalmazását. A kiépített laboratóriumi háttér részét képezi egy kutatási célokra kifejlesztett légzésszimulátor, amely képes tetszőleges légzési mintákat lekövetni, így összehasonlíthatóvá teszi például az egészséges és a légúti betegségben szenvedő emberek légzésfunkcióinak eltérése miatt az inhalált gyógyszerek kiülepedésében bekövetkező változásokat is. Valós, orvosi képalkotó eszközökkel nyert felvételekből kiinduló légúti geometriai modelleket hoztunk létre 3D nyomtatással. A realisztikus tüdőmodellel végzett kísérletek egyrészt validálják a számítógépes szimulációkat, másrészt input adatokat szolgáltatnak azokhoz a szimulációkhoz, melyek a kísérletekkel már nem vizsgálható légúti tartományokra vonatkoznak, valamint közvetlenül vizsgálhatók olyan paraméterek hatásai is, amelyek még nincsenek beépítve a numerikus modellekbe. Az aeroszol részecskék fizikai tulajdonságainak meghatározására, áramlásának térbeli és időbeli vizsgálatára és a légúti kiülepedés feltérképezésére lézeres optikai mérés-technikai módszereket alkalmaztam.

3.3.1. Optikai módszerek az aeroszolok tulajdonságainak vizsgálatára

Az aeroszol részecskék optikai vizsgálatára számos módszer áll rendelkezésre. A rugalmas fényszórás (Rayleigh-szórás, Mie-szórás) lehetővé teszi a részecskék számának meghatározását egy adott térfogatban, és megfelelő detektálási geometria esetén a méretük mérését is. Ezekből az adatokból közvetlenül meghatározható a darabszám koncentrációjuk és a méreteloszlásuk. Az alakjukra és a sűrűségükre vonatkozó feltételezésekkel kiszámolható a felületük, vagy a tömegük, és így a tömegszerinti méreteloszlásuk is.

A 2.3.1 fejezetben bemutatott optikai részecskeszámlálók a részecskék méretét a róluk szórt fény intenzitása alapján határozzák meg, így ezek az optikai méretüket mérik. A gyorsuló áramlásba juttatott részecskék két lézernyaláb közötti repülési idejét mérő műszerek (aerodinamikai részecskeméret-mérő – APS) az aerodinamikai méretet mérik, mely egy olyan egységnyi sűrűségű gömb alakú részecske átmérője, melynek ülepedési sebessége a levegőben megegyezik a vizsgált részecske ülepedési sebességével. Az aerodinamikai méret határozza meg a részecskék mozgását a légutakban áramló levegőben, és így befolyásolja a kiülepedésüket is a légutak falán.

A részecskék aerodinamikai méretét olyan műszerrel is mérhetjük, melyben a levegő áramlását fizikai határfelületekkel módosítjuk, ezáltal a különböző aerodinamikai mérettel rendelkező részecskék különböző pálya mentén mozognak, ami lehetővé teszi a méret szerinti elkülönítésüket. Ilyen berendezések például a kaszkádimpaktorok, melyekkel közvetlenül mérhető a részecskék tömeg szerinti méreteloszlása.

A gyógyszeriparban a kaszkádimpaktorokat használták, és használják manapság is, az aeroszolgógyszerek légúti kiülepedési tulajdonságainak vizsgálatára. A széleskörűen alkalmazott gyakorlat szerint nagy teljesítményű folyadékromatográfia (HPLC) segítségével határozzák meg az impaktortálcákon kiülepedett gyógyszer hatóanyag mennyiségét. Mivel a módszerhez megfelelő laboratóriumi háttér szükséges, és 5–10 adag gyógyszer kell az eloszlás

meghatározásához, kifejlesztettünk egy optikai képfeldolgozáson alapuló kiértékelési módszert, mely már egy adag gyógyszer mennyiségből képes meghatározni a kiülepedés eloszlást a tálcákon. Irodalmi adatok alapján az eredményeink jó egyezést mutattak a HPLC-vel történő mérések eredményeivel [99], [100].

Áramló közegben a részecskék sebességét lézer Doppler sebességmérővel mértük. Ebben a berendezésben két koherens lézernyaláb keresztezésében kialakul egy interferencia csíkrendszer, melyen a részecskék áthaladva periodikusan szórják a fényt, lekövetve a csíkrendszer intenzitáseloszlását. Az interferencia csíkrendszer paramétereiből (csíktávolság, melyet a hullámhossz és a keresztezési szög határoz meg) és a mért jel frekvenciájából meghatározható a részecske lézersugarakra merőleges sebességkomponense.

A részecskék méreteloszlásának és koncentrációjának mérésére alkalmazott műszerek

OPC – A mérésekhez egy GRIMM 1.109 típusú lézeres optikai részecskeszámlálót használtunk (lásd a 2.3.1 fejezet). Gyárilag ezt az OPC-t polisztirol latex részecskékkel kalibrálják, melyek optikai tulajdonságai eltérnek a kilélegzett részecskékétől. Ezért, amennyiben a légzőrendszerből kilépő részecskéket vizsgáljuk, az adatokat korrigálni kell. Ezen részecskék pontos összetétele számos tényezőtől függ, de általában szerves és szervetlen oldott anyagok híg izotóniás vizes oldatokként tekinthetünk rá, melynek optikai tulajdonságai közel állnak a vízéhez [101]. Ezt felhasználva az OPC mérési geometriájának ismeretében a mérettartományok határait korrigálni tudjuk a Mie-elmélet alapján. Számolásaim szerint a légutakból származó részecskék esetében a mérethatárok feljebb tolódnak: az alsó mérethatár 0,25 μm -ről 0,31 μm -re módosul, az 1 μm -es tartományhatár már 1,44 μm -re változik, míg a 2 μm -es tartományhatár már közel 3 μm -re tolódik ki.

SMPS – A GRIMM Aerosoltechnik által gyártott SMPS+C 5416 típusú berendezés egy differenciális mobilitásanalizátorból (DMA) és egy kondenzációs részecskeszámlálóból (CPC) áll, és 10 nanométeres mérettől méri a részecskék koncentrációját 1094 nm-ig 128 logaritmikusan ekvidisztáns méretcsatornában. A mérettartományokat a DMA választja ki, miközben pásztázzuk a belső térerőt, a kiválasztott mérettartományban a koncentrációt pedig a CPC határozza meg. A maximális mérhető koncentráció 10^7 részecske/ cm^3 . A minta légáram 0,3 liter/perc, a tiszta levegő térfogatárama pedig 3 liter/perc.

APS – A TSI által gyártott APS 3321 berendezés a 0,37–20 μm -es tartományban detektálja a részecskékről szórt fényt, és a 0,5–20 μm -es tartományban méri a részecskék aerodinamikai méretét, koncentrációját és méreteloszlását 51 csatornában. A duplanyalábos megvilágító optikai elrendezés 10^3 részecske/ cm^3 koncentrációig biztosít megbízható, alacsony koincidenziájú méréseket. A részecskék aerodinamikai méretét repülési idő mérésével határozza meg, amelyet nem befolyásolnak a részecskék optikai tulajdonságai. A berendezésben a mintalégáram 1 liter/perc, míg a tisztalégáram 4 liter/perc. A légutakban keletkező részecskéknek nemcsak az optikai tulajdonságaik hanem a sűrűségük is eltér a PSL részecskékétől, melyet figyelembe kell venni az eredmények értékelésénél. Irodalmi adatok alapján ez a sűrűség 1,7 g/cm^3 [102], szemben a PSL 1,05 g/cm^3 -es sűrűségével.

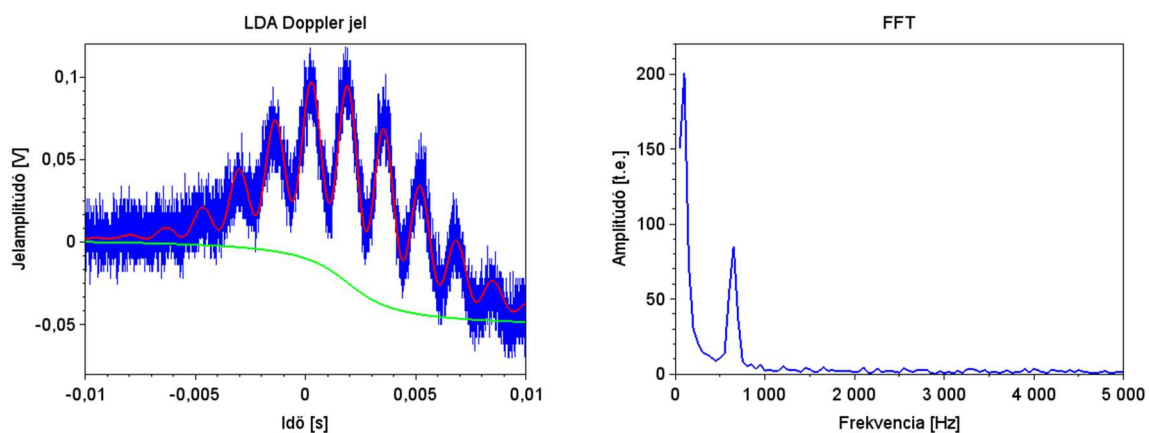
Mindhárom bemutatott berendezés szoftvere képes kiszámolni a mért adatokból a tömegkoncentrációkat is, így a darabszám szerinti méreteloszlás mellett meghatározható a

tömeg szerinti méreteloszlás görbéje is. A darabszám-tömeg átszámolásakor feltételezik, hogy a részecskék gömb alakúak, valamint a felhasználó részéről szükség van az átlagsűrűség egy becsült értékének megadására is.

Lézeres Doppler sebességmérő (LDA) – Az áramlási terek feltérképezéséhez egy a csoportunkban fejlesztett lézeres Doppler sebességmérőt használtam [99], [103]. A mérőfej fejlesztése során fontos szempont volt a kompakt kialakítás és a méréseknek megfelelő munkatávolság alkalmazása. A megcélzott néhány mikrométeres vagy mikron alatti méretű részecskék detektálásához a csíktávolságot 5–10 μm -re terveztük, amelyet 532 nm-es DPSS lézer alkalmazásával és 40 mm-es munkatávolsággal valósítottunk meg. Az alkalmazott 40 mm átmérőjű aszférikus lencse kellően nagy apertúrát biztosított a részecskékről visszaszórt fény detektálására.

A szórt jel detektálására a 2.3.2 fejezetben leírt lavina-fotodiódát használtuk, amely kellően érzékeny és gyors (50 MHz sávszélesség) volt az időbeli Doppler-jelek rögzítéséhez. A detektor érzékelő felülete 0,8 mm átmérőjű, amely egy 100 μm átmérőjű lyukkal (pinhole) együtt térbeli szűrést valósít meg a mérési térfogat pontos meghatározásához. A térbeli szűrés és az alkalmazott alapvonal-korrekciónak segít csökkenteni a különböző felületekről visszavert és szórt fény hatásait. A detektor vezérlőelektronikája állítható logaritmikus erősítést tartalmaz, amely a lézer intenzitásának szabályozásával együtt lehetővé teszi a detektáló rendszer beállítását a modulációs mélység és a jel-zaj arány maximalizálása érdekében.

A mérési adatgyűjtést egy National Instruments gyártmányú kétcsatornás, 8 bites felbontású A/D konverterekkel ellátott adatgyűjtő kártyával oldottuk meg, amely 100 MHz mintavételezési sebességre képes. A maximális mérhető sebesség ebben a beállításban több mint 100 m/s, míg az alsó mérési határ akár a néhány mm/s-os tartományig is lenyúlik. Az adatgyűjtéshez és az adatok kiértékeléséhez egy Labview szoftvert fejlesztettem. A detektorról beérkező jelet az adatgyűjtő kártya digitalizálja, továbbítja a számítógépnek, ahol a szoftver elvégzi az értékelhető jelek kiválogatását, a zajszűrést és a megfelelő műveletek elvégzése után megadja az egyedi részecskék sebességét. Végül a szoftver az eredmények statisztikai feldolgozása után megadja a mért sebességek átlagát és szórását.



3.2. ábra Üvegfalon keresztül rögzített Doppler jel egy 2 μm -es részecskéről (balra) és az ebből számolt FFT függvény (jobbra). A baloldali ábrán a Doppler jel mellett feltüntettük az illesztett elméleti görbét (piros görbe) és az alapvonal-korrekciónak alkalmazott modell függvényt (zöld).

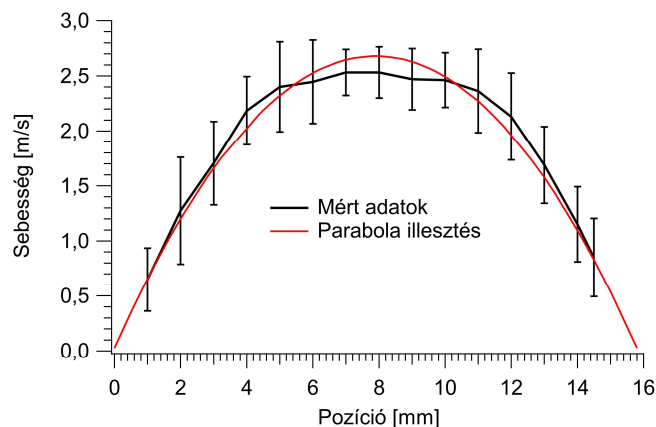
A 3.2. ábra egy tipikus Doppler jelet mutat, melyet a fentebb ismertetett LDA-val mértem egy kis átmérőjű (0,5 mm) üvegcsőben 2 μm-es PSL részecskéket használva. Látható, hogy a detektált jel viszonylag zajos, azonban az interferenciacsík-rendszer időbeli vetülete jól kivehető a görbén, mely a részecske mérési térfogaton történő áthaladása közben keletkezett. A mért adatsor gyors Fourier transzformáltja megadja a szórt jel frekvenciáját, miközben a részecske áthalad a mérési térfogaton. Ebből a frekvenciából a részecske sebessége meghatározható. A berendezéssel mérhető Doppler jelet az alábbi formalizmussal írhatjuk le:

$$\begin{aligned}
 y_1 &= c_1 \exp\left(-c_2 (t-t_0)^2\right) \left(c_3 + \cos(c_4 2\pi (t-t_0))\right) \\
 y_2 &= \Delta y (\text{arc cot}(c_5 (t-t_0)) - \pi) / \pi \\
 y &= y_1 + y_2
 \end{aligned}
 \tag{3.1}$$

ahol az y detektorjel két tagból tevődik össze: y_1 a Doppler jel, mely egy Gauss burkolójú koszinusz függvénnyel írható le, y_2 pedig a detektor alapvonal korrekcióját leíró függvény. Míg a c_1 szorzót alapvetően a részecske mérete és a mérési térfogaton a tengelyhez viszonyított pozíciója, addig a c_2 és c_4 szorzók értékét a részecske sebessége és az interferencia csíkrendszer határozza meg. A c_3 tag a jel láthatóságát (modulációs mélységét) írja le, mely a részecskeméret függvénye. A Δy az alapvonal korrekció mértékét, a c_5 szorzó pedig az időállandóját írja le. Az alapvonal korrekció mértéke arányos az időablakon belüli átlagos detektorjellel. Az alapvonal időállandóját az elektronika határozza meg és az értéke néhány milliszekundum. Amennyiben a Doppler jel lefutása ennél lényegesen rövidebb, a Δy nullához közelít.

A fenti formalizmussal végzett mérési kiértékelés lehetővé teszi, hogy a széleskörűen elterjedt spray inhalátorok mellett a lassú kibocsátásúakat is vizsgálni tudjuk.

Egy 15,8 mm belső átmérőjű üvegcsőben mért sebességprofil mutatja a 3.3. ábra. Az LDA-fejet a cső tengelyére közel merőlegesen állítottuk be, és a méréseket egy a középpont mellett elhaladó vonal mentén végeztük. A keresztmetszet minden egyes mérési pontján a sebességet 100 részecske sebességének átlagaként határoztuk meg, a szórást pedig hibaszávok formájában jelöltük.



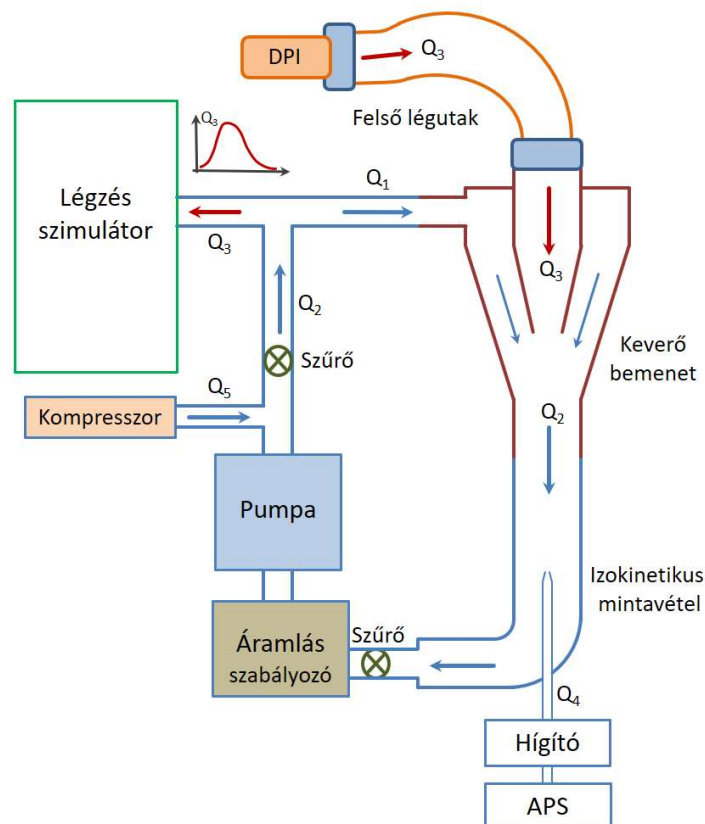
3.3. ábra Egy egyenes üveg csőben mért sebességprofil (fekete vonal), ahol a hibajelölők a mért értékek szórását mutatják. A piros vonal az átlagértékekre illesztett parabolát mutatja.

A kapott sebességprofil jól közelíthető egy parabolával, mely a lamináris csőáramlás jellemzője, és az attól való eltérés pedig azt mutatja, hogy még nem alakult ki teljesen a csőáramlás, ahogy az a geometriai elrendezés alapján várható is.

3.3.2. A vizsgálatokhoz felépített mérési elrendezések

A méreteloszlás meghatározása aerodinamikai részecskeszámlálással

A szárazpor-inhalátorokból (DPI – dry powder inhaler) kibocsátott részecskék méreteloszlásának meghatározására használt mérési elrendezés egy pulmonológiai hullámforma-generátorból, egy mesterséges nyálkával bevont felső légúti modellből, egy vákuumszivattyúból, a hozzá tartozó áramlásszabályozóból, egy aerodinamikai részecskemérőből (APS), valamint egy hígító egységből állt (3.4. ábra). A rendszerben a kék nyilak mentén a szivattyú és az áramlásszabályozó segítségével állandó Q_2 légáramot állítottam be. A kompresszor kompenzálja a részecskeszámláló által felvett Q_4 légáramot és az esetleges veszteségeket. A kompresszor által létrehozandó Q_5 térfogatáramot a keverőegység felső bemenetén mért légáramlás mérésével határoztam meg. A mérések során a légzésszimulátor állította elő a Q_3 áramlási profilt, amely a keverőbemeneten keresztül aktiválta a DPI-egységet (piros nyilak). A keverőbemenet biztosítja a két áramlás közötti kapcsolatot, így a belégzési ciklus során a részecskék a felső légúti modellen keresztül kerülnek át a készülékből a főáramba.



3.4. ábra Az általam felépített mérési elrendezés vázlatos elrendezése és összetevői: DPI, felső légúti modell, APS részecskeszámláló, vákuumszivattyú áramlásszabályozóval, keverő bemenet, légzésszimulátor és hígító.

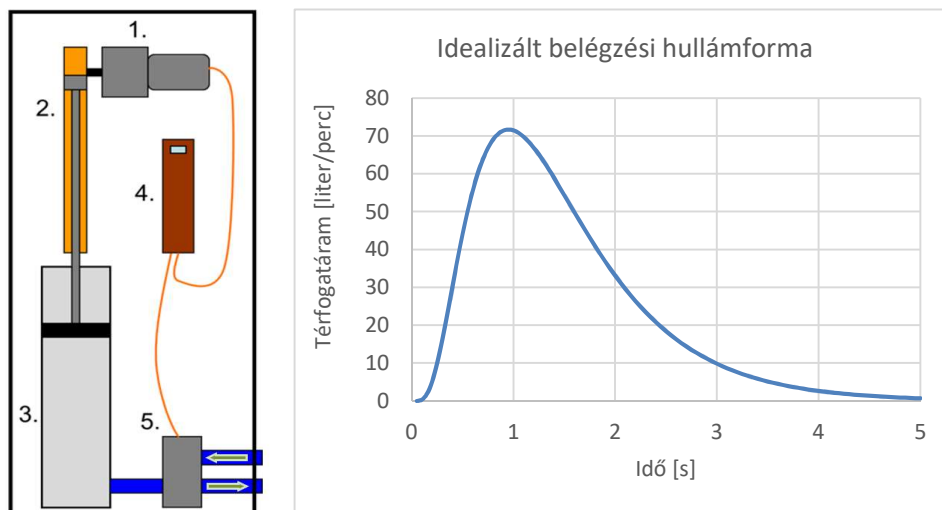
Az APS a főáramból egy izokinetikus szondával vesz mintát a részecskékből a mért méreteloszlás torzulásának elkerülése érdekében. A mintát az APS előtt szükség esetén egy ejektor típusú hígítóval hígíthatjuk. A mérési elrendezésben nem csak a szárazpor-inhalátorok, hanem a kimért dózisu aeroszol spray inhalátorok is vizsgálhatók egy pneumatikus elsütő billentyűt használva az adagoláshoz.

A hígító berendezés

Mivel a DPI-ből felszabaduló részecskekoncentráció magasabb lehet, mint az APS műszer felső koncentrációhatára, a minta hígítására egy ejektoros hígítót [104] használtam. Ez a kaszkádhígító a felhasználó által választható ~tízszeres vagy ~százszoros hígítási arányt biztosít. A hígítás a minta levegő és a tiszta levegő turbulens keveredésével jön létre. Mivel a keveredés során a minta hőmérséklete, páratartalma és nyomása nem változik, a kondenzáció és a párolgás nem befolyásolja a részecskék méretét. A hígítási arány a hígító tiszta levegő légáramának változtatásával állítható be (5–15 liter/perc között), és a tényleges értéket mindig a kísérletek előtti mérésekkel határoztuk meg.

A légzésszimulátor

Légzésszimulátorként egy a csoportunkban kifejlesztett pulmonológiai hullámforma-generátort használtam (3.5. ábra) [99], [103], amely egy PLC vezérelt szervomotorral hajtott dugattyút használ a belégzési és kilégzési légáramok létrehozásához. A belégzési térfogat 0,1 cm³ és 6800 cm³ között változtatható. A belégzési profil időfelbontása 20, 50 és 100 ms-ra állítható. Programozható pneumatikus szelepek gondoskodnak a be- és a kilégzésnek megfelelő áramlási utak kiválasztásáról. A 3.5. ábra egy tipikus belégzési hullámformát mutat, melyet irodalmi adatok [105], [106] alapján határoztam meg.



3.5. ábra A pulmonológiai hullámforma-generátor (légzésszimulátor) sematikus rajza (balra) és a mérésekhez használt idealizált belégzési hullámforma (jobbra). A pulmonológiai hullámforma-generátor a következő részekeségekből áll: 1. szervomotor; 2. bordásszíz; 3. dugattyú; 4. PLC; 5. szelepek.

3.3.3. Modellszámítások

A légzőrendszerből kilépő részecskék viselkedését leíró modell

A kórokozók levegőben történő terjedésének megértéséhez alapvető a légzőrendszerből kilépő részecskék tulajdonságainak és viselkedésének leírása. Ezek a részecskék a légzőrendszerben lévő folyadékokból keletkeznek, így az abban oldott nem illékony összetevőkön kívül hordozói lehetnek a légutakban elszaporodott kórokozóknak is. A légzőrendszert elhagyva a részecskék további útját a gravitáció és a párolgás is befolyásolja. A légutakat elhagyó részecskék egy darabig még a velük együtt kiáramló párás és meleg levegőben utaznak, mely folyamatosan veszi fel a környezeti levegő hőmérsékletét és páratartalmát, ami befolyásolja azt is, hogy milyen messzire jutnak el. A részecskék méretének változását és gravitációs ülepedését a következő fizikai hatások befolyásolják: a párolgási sebesség a cseppek felületén, a relatív páratartalom, a koncentráció- és az áramlási-határrejtegek, a cseppek párolgás miatti lehülése, és a vízgőznyomás csökkenése a nem illékony oldott anyagok jelenlétéből adódóan. A továbbiakban a részecskeméret változására és a kiülepedési időre felírt analitikus kifejezések figyelembe veszik a fenti hatásokat.

Amennyiben a párolgás hatását nem vesszük figyelembe, a részecskék vertikális eloszlását a diffúziós egyenlet írja le az időben [107]:

$$\frac{d}{dt} N(z,t) = D \frac{d^2}{dz^2} N(z,t) + v \frac{d}{dz} N(z,t), \quad (3.2)$$

ahol $N(z,t)$ a pillanatnyi koncentráció z magasságban, $D = kT / (3\pi\eta D_p)$ a diffúziós együttható, és $v = Dmg/kT$ a Stokes törvény által leírt egyensúlyi sebesség, melyekben k a Boltzmann együttható, T a hőmérséklet, η a levegő viszkozitása, D_p a részecske mérete (átmérője), g a nehézségi gyorsulás, és $m = D_p^3 \pi\rho/6$ a részecske tömege, ahol ρ a sűrűség. A (3.2) egyenlet megoldásával felírható az az átlagos idő, amely alatt a részecskék z_0 magasságból a földre érnek [107]:

$$\tau_{sed} = \frac{kTz_0}{Dmg} = \varphi \frac{z_0}{D_p^2}, \quad (3.3)$$

ahol $\varphi = 18\eta/\rho g = 3,4 \cdot 10^{-8} \text{ m} \cdot \text{s}$ 25 °C-on. Ezek alapján egy 10 µm-es részecske 11 perc alatt éri el a padlót 2 m magasságból indulva, ha a párolgás hatását nem vesszük figyelembe.

A párolgás hatására a részecskék mérete csökken, így növekszik a szedimentációhoz szükséges idő. A hőmérséklet és a relatív páratartalom hirtelen lecsökkenése után a légutakból kilépő, tisztán vízből álló részecskék teljesen elpárolognának, azonban a cseppekben lévő egyéb anyagoknak köszönhetően, egy idő után egy egyensúlyi méretnél megáll a párolgás miatti térfogatvesztés. A vizet és egyéb nem illékony oldott anyagokat tartalmazó cseppek egyensúlyi méretének eléréséhez szükséges idő a következő képlettel becsülhető meg a 140 nm – 120 µm mérettartományban [107], [108]:

$$\tau_{ev} = \frac{D_0^2}{\theta(1-RH)} \left[1 - \frac{D_{ev}^2}{D_0^2} \right], \text{ ahol } D_{ev} = D_0 \left(\frac{\phi_0}{1-RH} \right)^{1/3}. \quad (3.4)$$

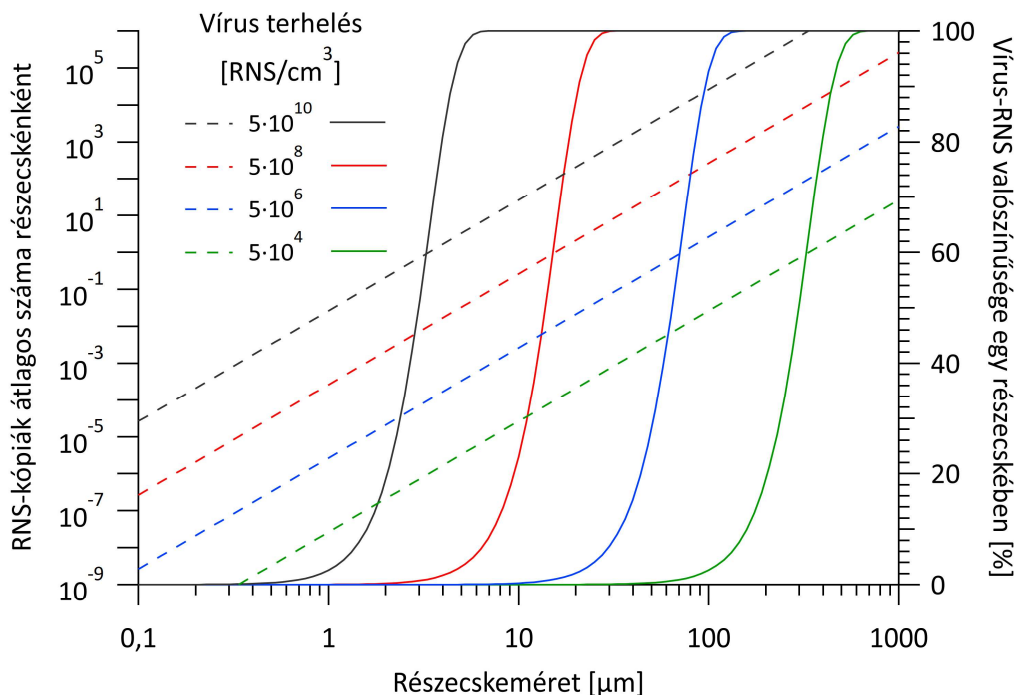
A fenti egyenletben D_0 a részecske kezdeti mérete, $\theta = 1,68 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ konstans [107], RH a relatív páratartalom, D_{ev} a párolgás utáni egyensúlyi részecskeméret, és ϕ_0 a részecskében az oldott anyagok kezdeti térfogataránya.

Ezek alapján egy 10 μm -es részecske 50%-os relatív páratartalom mellett 0,12 másodperc alatt teljesen elpárologna, amennyiben csak vízből állna, így 2 m magasságból indulva nem érné el a padlót. Amennyiben a légszűrőrendszerből kilépő részecskében az oldott anyagok kezdeti térfogataránya 1%, akkor 0,11 másodperc kell ahhoz, hogy elérje a 2,71 μm -es egyensúlyi méretét, és 2 m magasságból indulva 154 perc alatt éri el a padlót.

A vírusterhelés meghatározására alkalmazott modell

Vizsgálataink során a vírus kimutatását nem végeztük el, ezért a továbbiakban csak elméleti becslést végeztem a kibocsátott génmásolatok számáról. Mivel az életképes vírusok száma két-három nagyságrenddel alacsonyabb, mint a detektálható vírus örökítőanyagok (RNS) összlétszáma [109], „génmásolatokat” illetve „RNS-kópiát” használok „vírusok” helyett.

A részecskékben lévő génmásolatok mennyiségét egy egyszerű modell segítségével becsülhetjük meg [110]. Feltételezzük, hogy a génmásolatok eloszlása homogén a kiinduló nyálkamintában, és számuk a részecske térfogatával arányos.



3.6. ábra A vírus RNS-kópiáinak átlagos száma egy részecskében (bal tengely, szaggatott vonalak) és annak valószínűsége, hogy egy részecske legalább egy RNS-kópiát tartalmaz (jobb tengely, folytonos vonalak) a részecskeméret függvényében a légutak nyálkahártyáján lévő különböző kezdeti vírusterhelések (RNS-kópia/ cm^3 -ben) esetén.

Ebben az esetben Poisson-eloszlást feltételezve kiszámítható annak a valószínűsége, hogy egy részecske legalább egy vírus RNS-kópiát tartalmaz:

$$p = 1 - e^{-CD_p^3\pi/6}, \quad (3.5)$$

ahol C a vírus RNS-kópia koncentráció a nyálkában, és D_p a részecskeméret.

A 3.6. ábra az RNS-kópiák átlagos számát mutatja részecskénként, valamint annak a valószínűségét, hogy egy részecske tartalmaz legalább egy vírus RNS-kópiát, a részecskeméret függvényében. Látható, hogy az RNS-kópiák átlagos száma egy részecskében 10^{-4} alatt marad a $10 \mu\text{m}$ -nél kisebb részecskék esetében, ha a kiinduló mintában a vírusterhelés $5 \cdot 10^4$ RNS-kópia cm^3 -enként. Ha azonban a vírusterhelés magas, például $5 \cdot 10^{10}$ RNS-kópia/ cm^3 , akkor annak a valószínűsége, hogy egy részecske RNS-kópiát tartalmaz, $0,8 \mu\text{m}$ -nél 1,3%, és majdnem 100%-ra emelkedik $8 \mu\text{m}$ -nél, ahol a részecskékben lévő RNS-kópiák átlagos száma már több mint egy. A fenti számítások a légzőrendszerből közvetlenül kilépő részecskékre vonatkoznak, így amennyiben a megfertőződés kockázatát vizsgáljuk, akkor figyelembe kell venni a párolgás és a gravitációs ülepedés hatását is.

A kibocsátott részecskék mennyiségének meghatározására alkalmazott modell

Sok esetben nem tudunk közvetlenül a forrásnál méréseket végezni, mégis szükség lehet a kilélegzett részecskék mennyiségének becslésére a vírusterhelés és a kapcsolódó kockázatok felméréséhez. Azonban az irodalomban leírt "közel mező – távol mező" részecsketranszport elméletet alkalmazva [111], [112] meghatározható egy fertőzött beteg által kibocsátott részecskék mennyisége, a vizsgált személy szájától adott közeli és távolabbi pozíciókban mért koncentráció változásokból. A kibocsátott részecskék időtől függő tömegkoncentrációját a közeli és távoli mező koncentrációinak összegeként fejezzük ki, amelyet a tömegegyensúlyi egyenletek megoldásával kaphatunk meg

$$M = M_{NF} + M_{FF}, \quad (3.6)$$

ahol

$$M_{NF} = \frac{g_p}{\beta} \left(1 - e^{-\beta t/V_{NF}}\right) \quad \text{és} \quad M_{FF} = \frac{g_p}{q + \frac{V_{FF} \ln(2)}{t_{1/2}}} \left(1 - e^{-\left(\frac{q}{V_{FF}} + \frac{\ln(2)}{t_{1/2}}\right)t}\right). \quad (3.7)$$

A (3.7) egyenletekben g_p a beteg által kibocsátott részecskék keletkezési sebessége (tömeg/idő), β a közeli és távoli zónák közötti áramlási sebesség (térfogat/idő), t a részecskék kilégzésétől számított idő, V_{NF} a közeli zóna térfogata, V_{FF} a vizsgáló helyiség térfogata, q a légcseres sebessége a helyiségben, $t_{1/2}$ a vírus biológiai felezési ideje a részecskékben. A zónák közötti áramlási sebességet (térfogat/idő) a $\beta = 0,5 \cdot S \cdot u_{avg}$ képlettel becsülhetjük meg, ahol S a közeli zóna felülete, u_{avg} pedig a légáramlás átlagos sebessége a helyiségben.

3.4. Eredmények

3.4.1. A kórokozók terjedésének vizsgálata kórházi környezetben

A kórházi környezetben végzett vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján, illetve a Törökbálinti Tüdőgyógyintézetben végeztük a COVID-19 pandémia első hulláma alatt. A kórokozók levegőben történő terjedésének vizsgálatához optikai részecskeszámlálókval mértük az aeroszol részecskék koncentrációjának és méreteloszlásának változását különböző orvosi és ápolói tevékenységek függvényében. A vizsgálatokat úgy terveztük meg, hogy ne zavarjuk a betegeket és a kórházi dolgozókat, és valós körülmények között végezzük a méréseket. Kutatásaink során két területen vizsgáltuk a kórokozók terjedését és a hozzájuk köthető kockázatokat. Az első esetben egy kórteremben, egy teljes ellátást igénylő beteg ápolása közben vizsgáltuk a részecskéképződést és az ehhez kapcsolódó kockázatokat. A második esetben légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok közben végeztünk méréseket.

A mérések leírása

A kórokozók levegőben történő terjedésére vonatkozó vizsgálataink a COVID-19 világjárvány első hullámában (2020. március - június) történtek. A kórtermi méréseket a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinikáján végeztük egy idősek otthonából felvett PCR-pozitív beteggel. A légzésfunkciós vizsgálatok részecske kibocsátását meghatározó méréseket a Klinika Légzésfunkciós Laboratóriumában végeztük 25 fős mintán, az ott található teljes-test pletizmográfias kabinban. A bronchoszkópos vizsgálatokhoz kapcsolódó részecskéképződést pedig a Törökbálinti Tüdőgyógyintézet Bronchológia Laboratóriumában vizsgáltuk 5 fős mintán. A mérésekhez használt OPC-k önállóan is működtethető, kisméretű ($24 \cdot 13 \cdot 7 \text{ cm}^3$) és csendes eszközök, így alkalmasak arra, hogy a méréseket kórházi környezetben hosszabb ideig végezzék a beteg és az egészségügyi személyzet zavarása nélkül. A mérésekhez az OPC gyártója által biztosított radiális szimmetrikus mintavevőfejet használtuk. A különböző célkitűzések miatt a két területen végzett vizsgálatokhoz különböző mérési elrendezéseket valósítottunk meg, és az adatok kiértékelésére is különböző módszereket kellett alkalmazni.

A kórtermi mérések célja az volt, hogy meghatározzuk azokat az orvosi és ápolási tevékenységeket, amelyek a legnagyobb koncentráció növekményt generálják, így ezen tevékenységek optimalizálásával, átszervezésével csökkenthető a kórházi személyzet vírusnak való kitettsége. A méréseknél a beteg egy háromágyas betegszobában volt elhelyezve, és nem tudta elhagyni az ágyat, teljes orvosi és ápolói támogatásra volt szüksége. A mérések alatt a szobában csak egy beteg volt elhelyezve. A két OPC-t a szomszédos ágyra tettük, egyiket feje a másikat láb-pozícióban. A mérésekhez egyperces átlagolást állítottunk be. Az aktuális előírásoknak megfelelően a kórteremben sem szellőztető, sem légkondicionáló berendezés nem működött. Míg a betegen nem volt maszk, az egészségügyi dolgozók állandóan megfelelő egyéni védőfelszerelést viseltek, mind a saját egészségük védelme, mind pedig az általuk kibocsátott részecskék kiszűrésének érdekében. A klinika munkatársai a mérések alatt a helyiségben végzett valamennyi tevékenységet feljegyezték: a tevékenységek típusát, a személyzet számát, valamint a helyiségben töltött időt. A tevékenységeknek megfelelő eseményeket három kategóriába soroltuk: A) orvos és/vagy nővér látogatása orvosi diagnosztikai vizsgálatok vagy terápia (pl. gyógyszer beadása, infúzió bekötése) céljából; B)

ápolás (pl. etetés, személyi higiénia, ágyazás, teljes betegellátás); C) a beteg tevékenysége. Míg az A és B eseményeket az egészségügyi személyzet naplózta, addig a C eseményeket az adatok utólagos feldolgozása során adtam hozzá.

A COVID-19 járvány alatt kiemelt kockázatúnak minősítették az olyan, a tüdő állapotát feltérképező vizsgálatokat, melyek közismerten részecske kibocsátással járnak. Ilyenek például a légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok, melyek ugyanakkor kiemelt jelentőséggel bírnak a megfelelő terápia kiválasztásánál. A légzésfunkciós és a bronchológiai laboratóriumokban végzett mérések célja a betegek részecske kibocsátásának kvantitatív meghatározása volt, ami lehetőséget ad a vírusterhelés becslésére és a vonatkozó kockázatok felmérésére. A mérések valós környezetben, betegek vizsgálata közben történtek. A vizsgálatok etikai jóváhagyás alapján készültek (SE RKEB 212/2020 sz. és TB_COVID19_202101), a résztvevő betegek önkéntesek voltak, és írásbeli beleegyezésüket adták. A légzésfunkciós és bronchológiai laboratóriumokban légkondicionáló berendezés nem működött, viszont szellőztetőberendezés üzemelt a vizsgálatok alatt, amely kb. 6 szoros légcserét biztosított a két helyiségben óránként. Az egészségügyi személyzet és a megfigyelők a mérések teljes időtartama alatt FFP2 maszkot viseltek, a betegek pedig kizárólag a vizsgálatok ideje alatt vették le azt.

A légzésfunkciós laboratóriumban összesen 25 beteg vizsgálata közben történtek mérések. A vizsgálatok ideje alatt a laboratórium ajtaja zárva volt, az ablakok pedig félig nyitva. A pletizmográfias kabin ajtaja két vizsgálat között nyitva volt, és a mérések során a mérés típusától függően zárva vagy nyitva tartották. A betegek vizsgálatát a kabinon kívül álló technológus végezte, miközben a betegek a kabinban ültek. Két megfigyelő volt még a laboratóriumban, akik dokumentálták a vonatkozó eseményeket. Mivel a vizsgálat célja a valós élethelyzet megfigyelése volt, nem mindig volt elegendő idő arra, hogy a vizsgálatok között a részecskekoncentráció viszonylag állandó háttérszintet érjen el. Ezért két azonos típusú optikai részecskeszámlálót használtunk párhuzamosan. Az egyik készülék (OPC-A) a háttér részecskekoncentráció változását, a másik (OPC-B) pedig a beteg közelében lévő aeroszoloikat mérte. A műszerek 6 másodperces időfelbontással rögzítették az adatokat. Az OPC-A a kabin belsejében, a forrástól a lehető legtávolabb, azaz a páciens szájától kb. 140 cm távolságra volt elhelyezve, a páciens magasságától függően. Korábbi tanulmányok [113] alapján nem volt várható, hogy a részecskekoncentráció a betegtől 140 cm-re szignifikánsan változik, ezért az OPC-A szolgáltatta a kabinban az alapkonzentrációt. Az OPC-B a kabinon belül lett elhelyezve, amikor a beteg a kabinban volt (a beteg szájától kb. 30 cm-re), és a laboratóriumban, de a kabinon kívül volt, amikor a kabin üres volt (két mérés között).

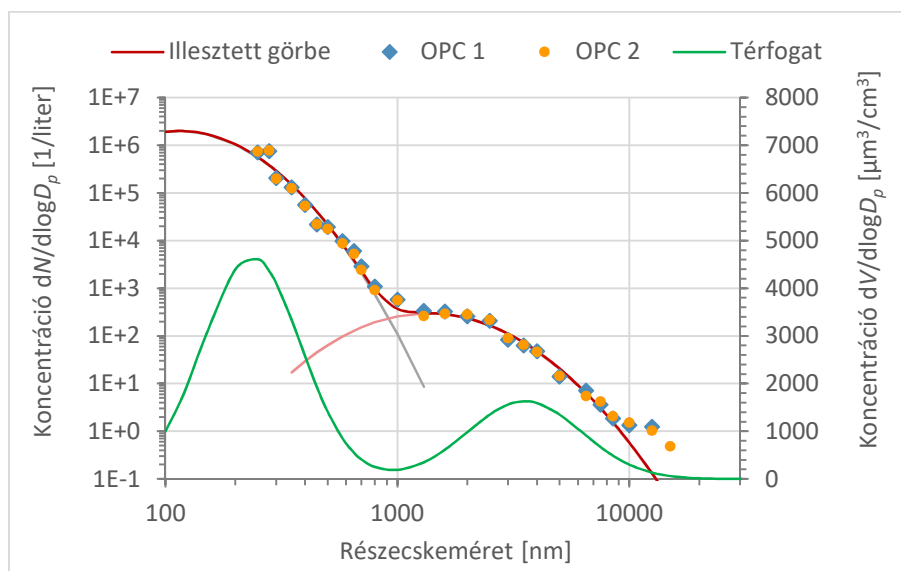
A bronchológiai laboratóriumban összesen 5 beteg vizsgálata közben történtek mérések. A laboratórium ablakai és ajtaja zárva voltak a vizsgálatok ideje alatt. Egyszerre egy beteg tartózkodott a szobában, valamint két fő személyzet és két vizsgáló orvos, akik a mérőműszereket is működtették és a releváns mozzanatokot dokumentálták. A mérésekhez egy OPC-t használtunk, melyet egyperces átlagolásra állítottunk be, és a fekvő beteg fejének magasságában, attól kb. 60 cm-re helyeztünk el. Mivel a célunk a bronchoszkópos vizsgálat során a beteg által kibocsátott részecskék számának meghatározása volt, ezért az aeroszol koncentrációt nem a korábban felvett háttérhez, hanem a vizsgálatok közötti aeroszol koncentrációhoz hasonlítottuk.

Mindhárom esetben megismételtük a méréseket ugyanabban az üres és zárt helyiségben egy másik időpontban, hogy felmérjük a háttér részecskekonzentrációkat, és megerősítsük a stabil értékeket emberi tevékenység nélkül. A háttérmérések eredményei alapján kijelenthető, hogy az aeroszol részecskekonzentráció és méreteloszlás nem változott emberi tevékenység hiányában.

A kórtermi mérések eredményei

A következőkben két 24 órás mérés eredményeit mutatom be. Az 1. mérés 2020. május 9-én, a 2. mérés 13-án történt. Az 1. méréshez egy OPC-t a 2. méréshez két egyforma OPC-t használtunk. Az eredményeket nem feltétlenül időrendben mutatom be, és az adatok feldolgozásának módját is csak az egyik esetre ismertetem, azonban a következtetések mindkét napra érvényesek lesznek.

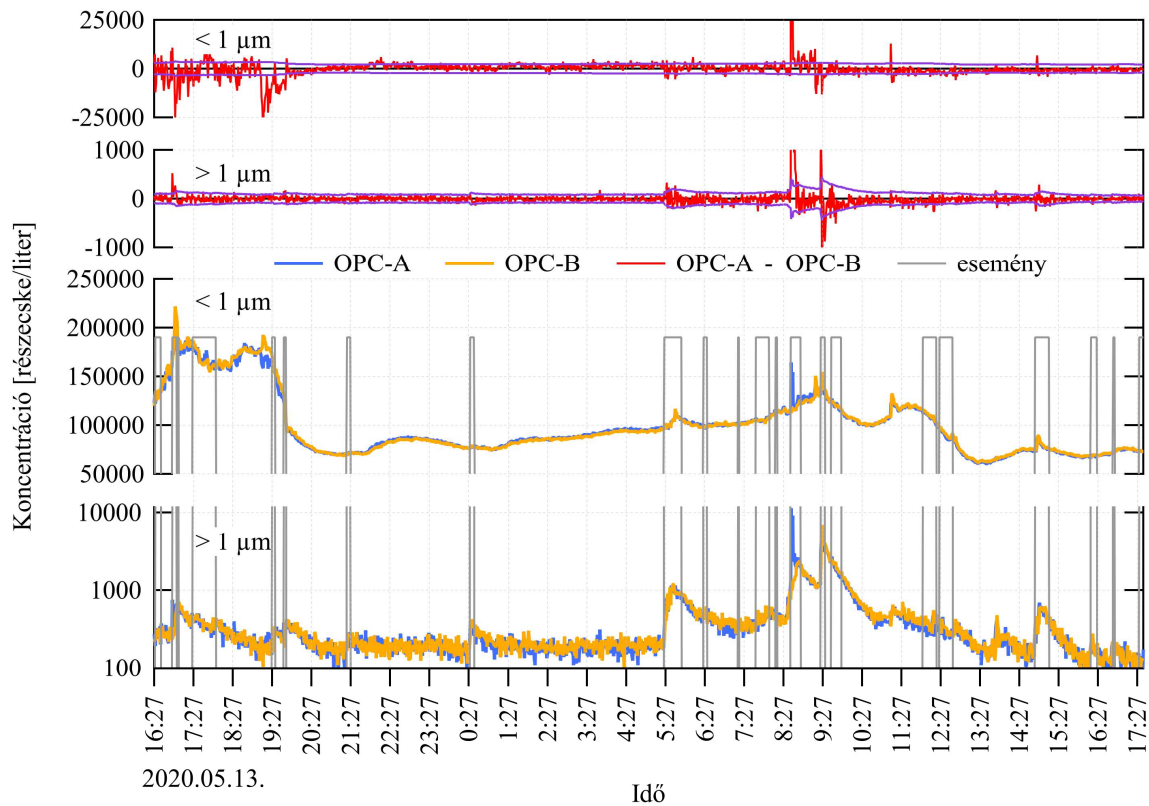
A kórteremben mért méreteloszlások kétmódusú log-normális eloszlással modellezhetők, amire a 3.7. ábra mutat egy tipikus példát. Az eloszlás két módusa szerint a műszer mérettartománya 1 μm -nél két részre osztható.



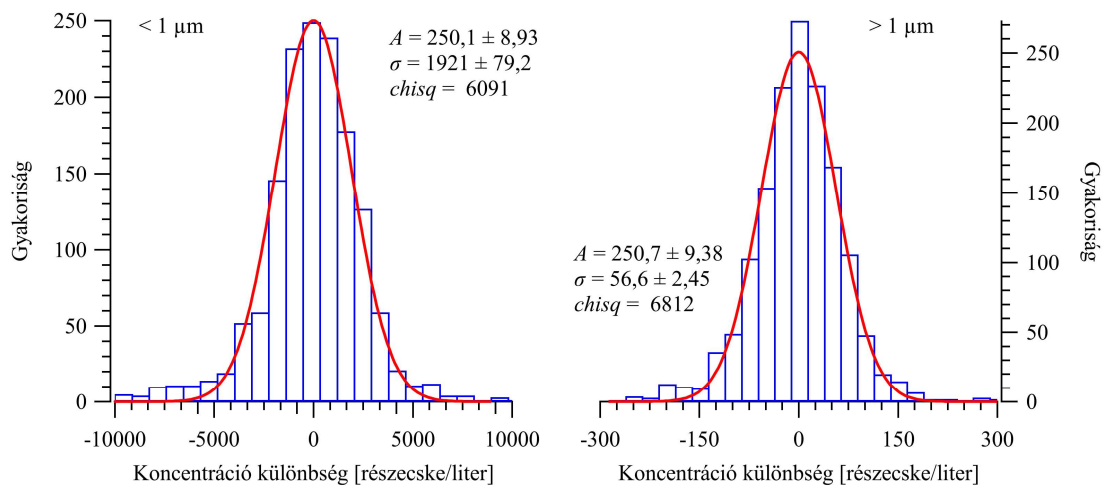
3.7. ábra A kórteremben mért méreteloszlások tartományokra bontása. A narancs és kék jelölők a mért adatokat, a piros görbe a mért adatokra illesztett kétmódusú log-normál eloszlást, a zöld görbe pedig az ebből számolt térfogat eloszlást mutatja.

Mint azt a továbbiakban is látni fogjuk, az így definiált két tartományban a részecskék tulajdonságai és keletkezési mechanizmusai jelentősen eltérnek egymástól. A különböző tevékenységek következtében a két módus maximuma változik, ami azonban nem befolyásolja jelentősen a fenti 1 μm -es határméretet. Ezért a továbbiakban ebben a bontásban vizsgálom a méreteloszlások és koncentrációk változásait. Mint az ábrán is megfigyelhető, megjelenik egy harmadik módus is 10 μm felett, azonban ezen részecskék tulajdonságai igen hasonlóak voltak a közvetlenül alatta lévő frakcióval, így nem választottam szét ezek vizsgálatát, egyben kezeltem az 1 μm feletti frakciót. Bár a nagyobb mérettartományban levő részecskék száma mindig alacsonyabb volt, mint a szubmikronos részecskék száma, azonban a térfogatra, illetve a tömegre ez már nem minden esetben teljesült. A 3.8. ábra és a 3.10. ábra mutatja a

szubmikronos és a mikron fölötti mérettartományok koncentrációjának időfüggését a valós kórtermi környezetben. A lassabban változó alpvonalból kiemelkedő koncentrációsúcsok megfeleltethetők a kórházi személyzet és a betegek által végzett tevékenységeknek.



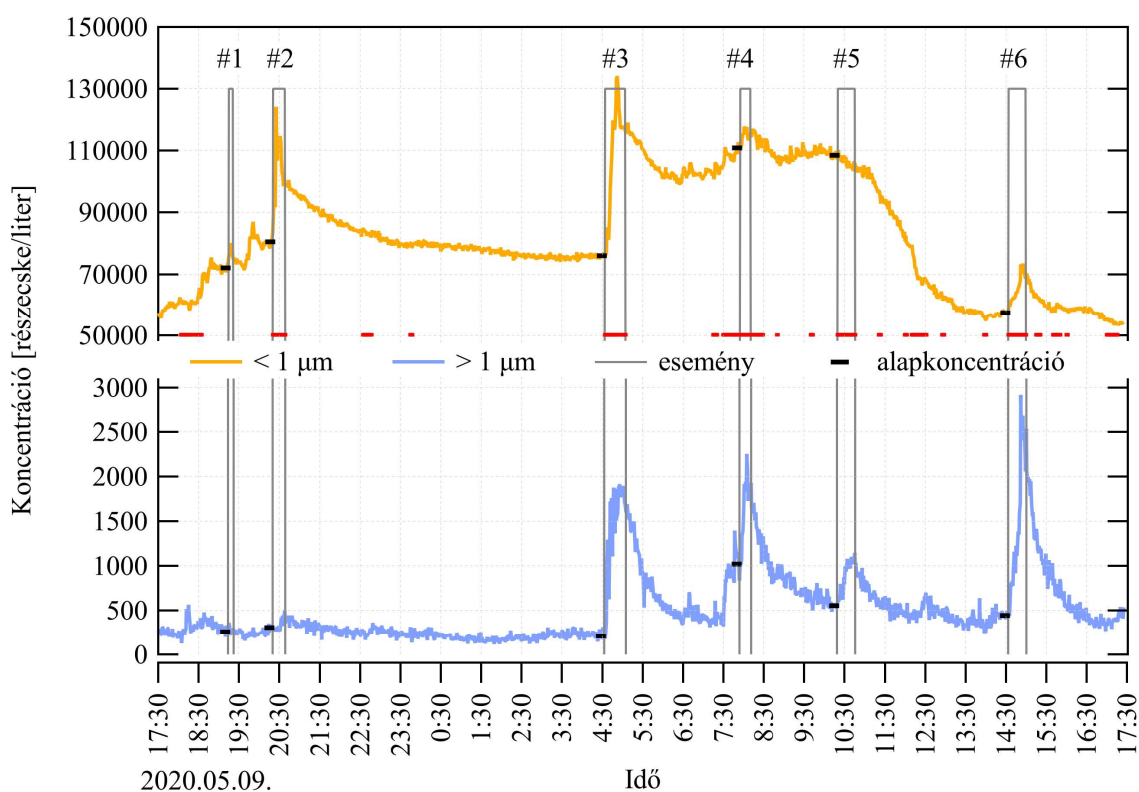
3.8. ábra A két OPC-vel mért koncentráció időbeli változása (kék és narancs vonalak) 1 perces felbontással, az $1 \mu\text{m}$ alatti és feletti mérettartományokban. A piros görbék mutatják a két műszer által mért koncentrációk különbségét a két mérettartományban, a lila vonalak pedig a $\pm 3\sigma$ tartományt jelölik. A szürke téglalapok az eseményeket jelölik, szélességükkel mutatva a tevékenység hosszát.



3.9. ábra A 2. mérés során a két mérettartományban a két OPC által mért koncentrációk különbségének gyakorisági hisztogramjai, valamint az ezekre a legkisebb négyzetek módszerével illesztett Gauss görbék.

A 2. mérés során a két egyforma OPC-vel mért adatok alapján megállapítható, hogy a két különböző pozícióban mért koncentrációk között nem volt jelentős különbség, néhány esettől eltekintve az adatok a statisztikai hibahatáron belül megegyeztek (3.8. ábra és 3.9. ábra). A statisztikai hiba meghatározásához feltételeztem, hogy a két műszer által mintavételezett térfogatokban detektált részecskék számának különbsége normális eloszlást követ (3.9. ábra). A mért adatok alapján a szubmikronos tartományban a különbség értékek 93,9%-a, a mikron fölötti mérettartományban a különbségek 95,3%-a esett a $\pm 3\sigma$ intervallumba. Amennyiben az idősorokból kiválasztunk egy tartományt, ahol nem volt semmiféle tevékenység (pl. 1:27 és 4:27 között) akkor a két műszer által mért koncentrációkülönbségek mind a $\pm 3\sigma$ intervallumba esnek, ami megfelel a normális eloszlás hipotézisnek. A teljes időtartamra vonatkozó alacsonyabb értékeket a tevékenységekhez köthető lokális perturbációk okozzák. A két műszer adatai közötti különbség elsősorban a B típusú (pl. ágyazás, takarítás), és néha a C típusú tevékenységek (pl. beteg mozgása) hatására növekszik meg (3.8. ábra).

Az egyes tevékenységek részecskekoncentrációra gyakorolt hatásának a bemutatására az 1. mérés adatait veszem alapul (3.10. ábra). Látható, hogy a kórházi szobában a teljes aeroszol részecskekoncentráció egy nap alatt 55 000 és 135 000 részecske/liter között változott. Összesen harmincegy eseményt jegyeztünk fel a 24 órás időszak alatt, amelyek közül kiválasztottunk hatot, amelyek reprezentálják az összes kategóriát – A) orvos és/vagy nővér látogatása; B) ápolás; C) a beteg tevékenysége –, és jól meghatározott csúcsoknak felelnek meg a koncentrációs trendek grafikonján (3.10. ábra).



3.10. ábra A mért számkoncentrációk idősorai két mérettartományban, 1 μm alatt (narancssárga görbe) és 1 μm felett (kék görbe), egyperces időbeli felbontással. A piros vonalak a 31 naplózott eseményt, a szürke téglalapok pedig a hat kiválasztott eseményt mutatják, szélességükkel jelezve azok időtartamát. A fekete vonalak az események előtti alapkonzentrációt jelölik.

A kórházi helyiségben zajló tevékenységek többsége eltérő mértékben járul hozzá a két módushoz. A takarítás, az ágyazás vagy az egészségügyi dolgozók egyéb jelentős mozgása nagyobb mértékben járul hozzá az egy mikrométernél nagyobb méretű részecskék számának növekedéséhez.

Az ábrán az is megfigyelhető, hogy a szubmikronos és a mikron feletti mérettartományok maximuma nem mindig fedi egymást. A 2., 3. és 4. események esetében a szubmikronos csúcs az esemény időtartamának első vagy középső részében következik be, míg a mikronos tartományban a maximum (ahol van) az esemény időtartamának végére esik, amit a légáramlás dinamikájának tulajdonítunk. Amint a tevékenység véget ért, a mikronos mérettartományban a koncentráció csökkenni kezdett. A 6. eseménynél mindkét maximum az időszak vége felé következett be, azonban 3–4 perces különbség így is volt köztük. Az 1. esemény esetében az 1 mikron feletti, az 5. esemény esetében pedig az 1 mikron alatti koncentráció nem emelkedett az adott tevékenységekhez kapcsolódóan, ami a részecskék eloszlásában a konkrét tevékenységekhez kapcsolódó különbségekből adódhat.

A 4. tevékenység látszólag sokkal lassabb részecskekoncentráció-csökkenéshez vezet, mint a többi. Ez azzal magyarázható, hogy röviddel a tevékenység után más tevékenységek is voltak, amelyek nem jelennek meg az ábrán, de szintén befolyásolták a részecskeszámot.

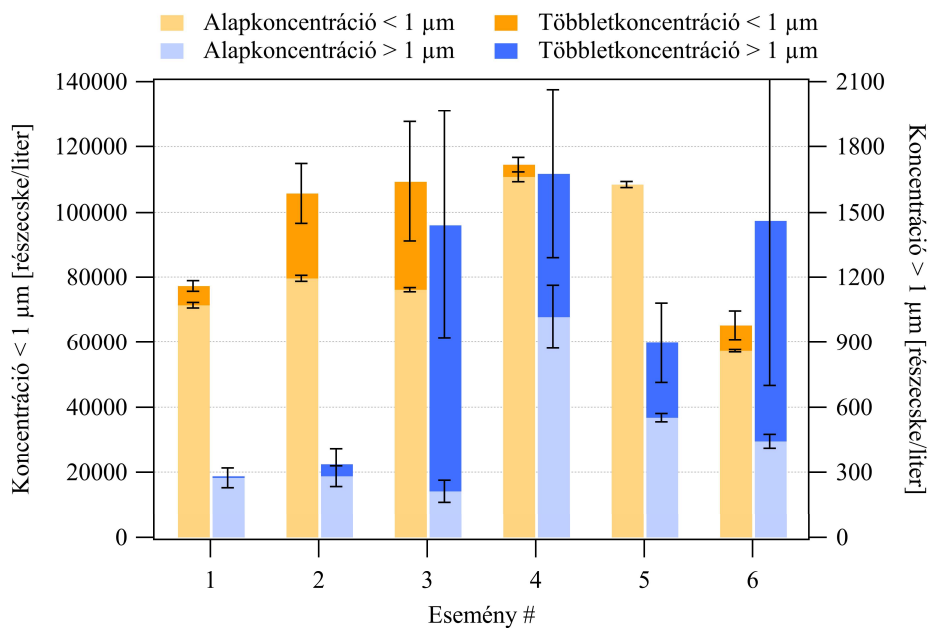
3.1. táblázat A kiválasztott események leírása a mért alapkonzentrációkkal és a tevékenységek által generált többletkonzentrációkkal (átlagos részecskeszám/liter). A kategóriák jelentése: A) orvos és/vagy nővér látogatása; B) ápolás; C) a beteg tevékenysége.

| Esemény | Kategória | Személyek száma | Időtartam [perc] | Alap < 1 µm | Többlet < 1 µm | Alap > 1 µm | Többlet > 1 µm |
|---------|-----------|-----------------|------------------|-------------|----------------|-------------|----------------|
| 1. | C | 0 | 6 | 71 457 | 5 843 | 274 | 0 |
| 2. | A | 1 | 16 | 79 665 | 26 136 | 281 | 55 |
| 3. | B | 2 | 30 | 76 204 | 33 142 | 213 | 1 229 |
| 4. | A | 2 | 15 | 110 835 | 3 682 | 1 018 | 658 |
| 5. | A | 3 | 28 | 108 454 | 0 | 552 | 346 |
| 6. | A és B | 3 | 25 | 57 295 | 7 997 | 444 | 1 019 |

Általánosságban elmondható, hogy minél nagyobb a mintavételezett részecskék száma egy adott tevékenység során, annál hosszabb ideig tart a részecskekoncentráció csökkenése a tevékenység előtti szintre. A 3.1. táblázat mutatja a tevékenységek hozzájárulását az alapkonzentrációhoz a hat kiválasztott eseményhez kapcsolódóan, valamint azok kategóriáját, időtartamát és a szobában tartózkodó egészségügyi dolgozók számát.

A 3.11. ábra a tevékenységek hozzájárulásait mutatja a két mérettartományban a megfelelő alapkonzentrációk tetején. Látható, hogy a különböző tevékenységek a két kiválasztott mérettartományban az alapértékhez hozzáadott növekmény különböző mintázatát eredményezik. Az 1. és 2. esemény esetében a mikronos tartományban nem jelent meg számottevő mennyiségű részecske, míg a 3., 4., 5. és 6. esemény esetében jelentős mértékben növekedett a koncentráció. A 4., 5. és 6. eseményeknél a mikronos többletkonzentráció összemérhető, vagy nagyobb, mint az alapérték, míg a szubmikronos tartományban viszonylag kicsi a többlet. A 3. esemény esetében mindkét mérettartományban jelentős koncentrációnövekedés tapasztalható. Amint eredményeink mutatják, a részecskeszám jelentős

mértékben függ a tevékenység típusától. Az orvosi diagnosztikai vizsgálatokhoz és az ápoláshoz kapcsolódó orvos- és/vagy nővérlátogatásokhoz kapcsolódó tevékenységek a legfontosabb események közé tartoznak, amelyek a szubmikronos részecskék számának növekedését okozzák. Ugyanígy a teljes betegellátással kapcsolatos tevékenységek, de különösen az ágyazás, jelentősen hozzájárultak a nagyobb részecskék koncentrációjának emelkedéséhez a levegőben. Az ábrán feltüntettem a szórás értékeket is \pm hibasávok formájában.



3.11. ábra Az egyes események során mért átlagkoncentrációk a két mérettartományban. Az alapkoncentrációk az eseményeket megelőző öt percben mért átlagkoncentrációnak felelnek meg. A többletkoncentrációkat úgy számoltam ki, hogy az alapkoncentrációkat kivontam az események során mért átlagkoncentrációkból.

A nagyobb szórásértékek egyértelműen a kiugró csúcsoknak köszönhetők. A tevékenység típusa mellett a részecskekoncentráció függhet az azt végző személyzet létszámától és annak időtartamától is. Elemzésem azt mutatta, hogy a szubmikronos részecskék számának növekedése a különböző beteg- és egészségügyi dolgozói tevékenységek (az összes megfigyelt tevékenység, nem csak a hat kiválasztott) eredményeként nem korrelált a kórházi szobában tartózkodó személyzet létszámával, és csak gyenge és nem szignifikáns ($p > 0,05$) korrelációt mutatott a tevékenység időtartamával. Ezzel szemben a nagyobb részecskék ($> 1 \mu\text{m}$) számának növekedése közepesen erősen korrelált a kórteremben lévő egészségügyi személyzet számával ($r = 0,66$, $p < 0,05$), valamint erős és szignifikáns korrelációt találtunk a tevékenység időtartamával ($r = 0,82$, $p < 0,05$).

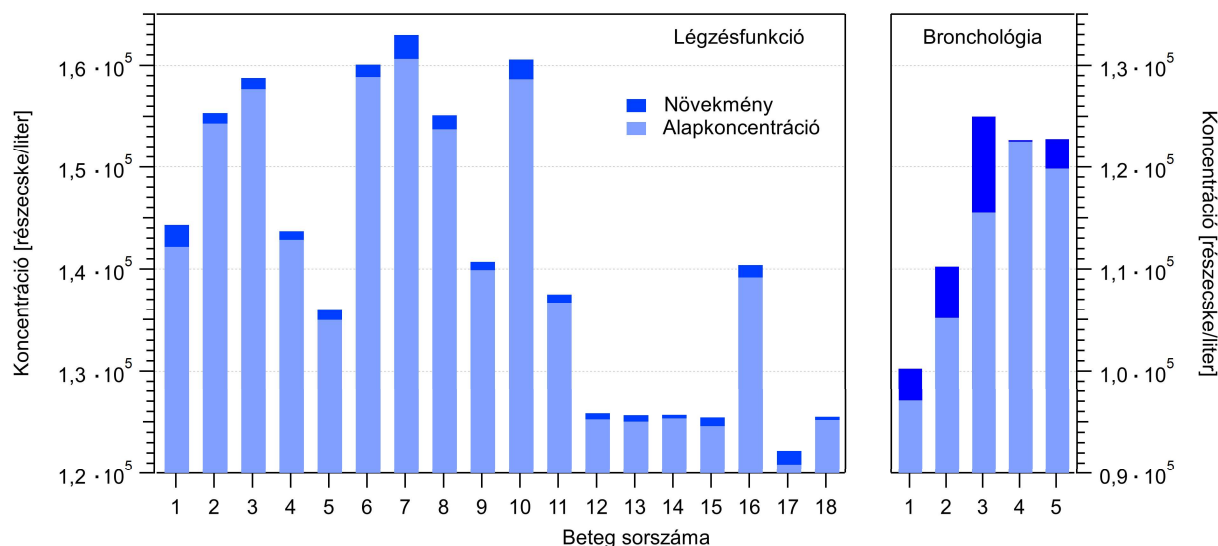
Természetesen, az így meghatározott többlet nem csak a beteg által kibocsátott részecskéknek tulajdonítható, hanem például az ágyneműn, a ruházaton, vagy egyéb tárgyakon kiülepedett részecskék reszuszpenziója is hozzájárul ehhez. Mivel a beteg nem tudott felkelni az ágyból, így folyamatos részecskeforrásként tekinthetünk rá. Az általa kibocsátott részecskék a szoba levegőjében szabadon terjedtek és hordozóként továbbították a vírust is, amely így a részecskékkel együtt a különböző felületeken, ágyneműn ki tudott ülepedni. Irodalmi adatok

alapján ismert, hogy a SARS-CoV-2 vírus több órán keresztül életképes maradhat a részecskékben és akár napokig a különböző felületeken is [77], így a reszuszpenzióval újra megnövekedhet a fertőzőképes vírus koncentrációja a levegőben. Továbbá, a belélegzett részecskéknek csak egy része ülepedik ki a légutakban, így amennyiben a beteg környezetében megemelkedik a részecske koncentráció, akkor a kilélegzett részecskék száma is megnő, ami szintén növelheti a levegőben a fertőzőképes vírus koncentrációját.

A légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok során végzett mérések

A légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok során végzett mérések jellegükben eltértek a kórtermi mérésektől. Míg a kórteremben folyamatosan monitoroztuk a részecskekoncentráció változásait, és a beteg valamint a kórházi személyzet tevékenységéhez kapcsolódtak vizsgálatunk, addig a jelenlegi méréseink a tüdő állapotát felmérő vizsgálatokra koncentráltak, és a céljuk a beteg által kibocsátott részecskék számának és méreteloszlásának meghatározása volt. A bronchoszkópos vizsgálatok során egy, a légzésfunkciós laborban végzett mérésekhez pedig két egyforma OPC állt rendelkezésünkre. Emiatt a korábban leírtaknak megfelelően (lásd *A mérések leírása* részt) az adatok feldolgozása is részben különböző, de az alapelvek hasonlóak voltak a két esetben. A méréseket 2020. április 28-án végeztük a bronchológia laborban és 2020. július 28-án a légzésfunkciós laborban. A helyiségekben a vizsgálatok alatt a hőmérséklet 23 °C, a relatív páratartalom 38% körül volt.

Egy légzésfunkciós vizsgálat átlagosan 2,5 percig, a bronchoszkópos vizsgálat pedig átlagosan 10 percig tartott. Mint korábban láttuk, a bronchológián végzett mérések esetében az alapkonzentrációt a vizsgálatok között mért, a légzésfunkciós laborban végzett mérések esetében pedig a másik OPC által mért adatok szolgáltatták.



3.12. ábra A légzésfunkciós (baloldali grafikon) és bronchoszkópos (jobboldali grafikon) vizsgálatok közben végzett mérések eredménye. Az alapkonzentrációt a légzésfunkció esetén a távolabbi OPC-vel mértük, a bronchológián pedig a vizsgálatok közötti időszakok adataiból határoztuk meg. Megjegyzem, hogy bár egyforma tartományt fog át az y tengely a két oldalon, de a különböző helyszíneken mért különböző héttérkoncentrációknak megfelelően más alapról indulnak.

A vizsgálatok alatt az alapkonzentrációhoz képest határoztam meg a többletet. Ezt a részecskemennyiséget rendeltem hozzá az adott tevékenységhez. A beteg és a kórházi személyzet tevékenysége is generálhat új részecskéket, ezért ezzel a módszerrel felülről becsüljük a beteg által kilélegzett részecskék számát. Az így kapott eredményeket a 3.12. ábra foglalja össze. Az alapkonzentráció és a vizsgálatok alatt mért koncentráció idősorokat kétmintás t-próbával hasonlítottam össze.

Megállapítottam, hogy a légzésfunkciós laborban a 25 vizsgált betegből 18 esetében, a bronchológia laborban pedig az 5 vizsgált betegből 4 esetében növekedett szignifikánsan a koncentráció. A többi esetben a koncentrációváltozás nem volt szignifikáns az alapkonzentrációhoz képest. A betegek által kilélegzett vírusrészecskék darabszámából származtatott térfogati eloszlás segítségével becsülhetjük meg. Mivel a műszerek nem közvetlenül a beteg szájánál mérték a koncentrációt, ezért a korábban bemutatott „közel mező – távol mező” részecsketranszport elméletet alkalmaztuk a beteg által kibocsátott részecskék térfogati eloszlásának meghatározására (3.3.3. fejezet). A számolások során figyelembe vettük a gravitációs ülepedés és a párolgás hatását a részecskék méretére és koncentrációjára. A (3.7) egyenletben a gömb alakú közeli zóna sugara 0,6 m, az átlagos légáramlási sebesség a helyiségben 0,1 m/s. A távoli zóna szerepét a laboratórium tölti be, q a helyiség szellőzési sebessége ($\sim 5,9$ m³/perc a légzésfunkciós laborban és ~ 13 m³/perc a bronchológia laborban), $t_{1/2} = 66$ perc pedig a vírus biológiai felezési idejét jelöli az aeroszol részecskékben [77]. A közeli mező komponens esetében a vírus inaktiválásából eredő veszteséget elhanyagoltuk, mivel az sokkal kisebb, mint a zónák közötti légcseré miatti veszteség. A kilélegzett részecskék közeli és távoli térbeli légcseré miatti veszteségein kívül a gravitációs ülepedés miatt is kisebb lehet a detektált részecsketömeg. Egy 32 μm átmérőjű részecske (ami a mintavételezett részecskék felső mérethatára volt) 20 másodperc alatt, egy 10 μm -es részecske 200 másodperc alatt eshet ki a közeli mező zónájából (3.3.3. fejezet). Mivel a kilélegzett vírusok száma számos tényezőtől függ, összehasonlító becslést végeztünk, összevetve a vizsgálatok következtében kibocsátott vírusok számát azokkal, amelyeket ugyanaz a személy ugyanabban a környezetben, de normálisan lélegezve vagy beszélve bocsátana ki.

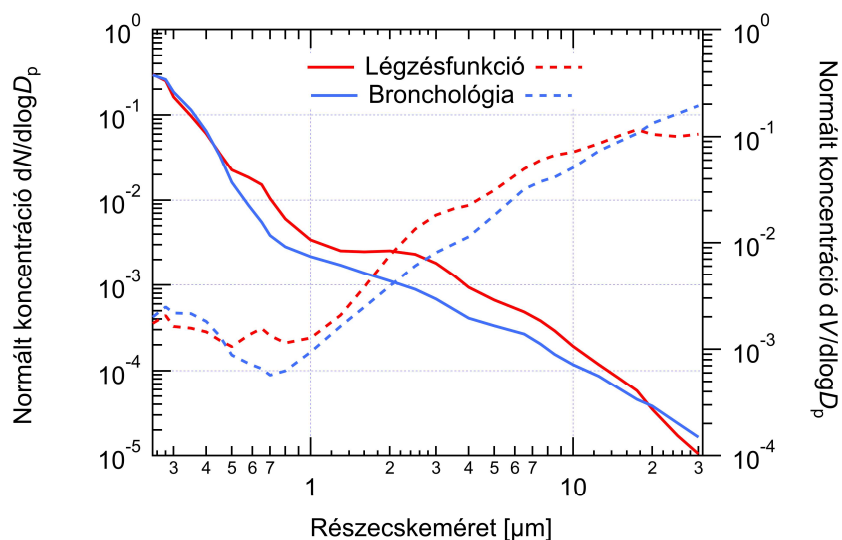
A légzésfunkciós vizsgálat és a bronchoszkópos mérések során egy fertőzött beteg által kibocsátott gének számának értékeléséhez a kibocsátott részecsketömeget a beteg szájánál kellett értékelni, kiindulva az alany szájától 30 illetve 60 cm-re kapott adatokból, figyelembe véve a cseppek párolgását is. Mivel a vírusterhelésre vonatkozó adatok a kibocsátott tömegre vonatkozóan állnak rendelkezésre, a mintavételezett tömeget a párolgás figyelembevételével kibocsátott tömeggé alakítottuk.

A légzésfunkciós vizsgálatok során az átlagos koncentráció-növekedés 1910 ± 1018 részecske/liter (átlag \pm szórás) volt. A betegség típusa és a mért részecskékonzentráció-emelkedés között nem volt kimutatható statisztikailag releváns összefüggés. A koncentráció-növekedés általában magasabb volt a hosszabb vizsgálatok esetében, de a korreláció gyenge volt ($r = 0,34$). Ezen túlmenően, ennél a mintanagyságnál a vizsgálatok nem eredményeztek szignifikánsan eltérő részecskékonzentráció-növekedést.

A bronchoszkópos vizsgálatok során az átlagos részecskeszám-növekedés 5171 ± 3038 részecske/liter (átlag \pm szórás) volt, melynek átlagosan 97,6%-a esett egy mikrométer alá. Bár

a vizsgált mintaszám alacsony volt, megállapítható, hogy nagy az egyének közötti variancia, mely valószínűleg a beavatkozás jellegére, időtartamára és a vizsgált beteg állapotára vezethető vissza.

A 3.13. ábra mutatja a részecsketöbblet méreteloszlását. Mindkét vizsgálati módra megállapítható, hogy az újonnan megjelent részecskék túlnyomó része (> 97%) a szubmikronos tartományba esik, és bár a növekmények nem számítanak magas koncentrációnak, mégis összemérhetők a normál lélegzés vagy beszéd során a légzőrendszerből kilépő részecskék koncentrációjával.



3.13. ábra A légzésfunkciós (piros görbe) és a bronchoszkópos (kék göb) vizsgálatok során keletkező részecskék normált méreteloszlása. Szaggatott vonalakkal jelöltem a mért adatokból (folytonos vonalak) számolt térfogati eloszlásokat, gömb alakú részecskéket feltételezve.

Ezek alapján megállapítható, hogy a vizsgálatok során a betegek által kibocsátott részecskék koncentrációja és méreteloszlása hasonló a beszéd vagy egyéb hasonló tevékenység során a levegőbe jutó részecskék koncentrációjához és méreteloszlásához, így nem jelent nagyobb vírusterhelést a vizsgálatot végző orvosok és asszisztensek számára. Ezek a vizsgálatok tehát a normál védekezési protokollok betartása mellett elvégezhetők, mellőzésük nem indokolt.

3.4.2. Aeroszolgyógyszerek vizsgálata optikai módszerekkel

A következőkben két olyan témát mutatok be, melyekben optikai módszerekkel vizsgáltam az aeroszolgyógyszerek légúti kiülepedését meghatározó méreteloszlását különböző gyakorlati paraméterek függvényében. Az elsőnek bemutatott kísérletsorozatban a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Karának Gyógyszertechnológiai és Gyógyszerfelügyeleti Intézetében folyó fejlesztésekhez kapcsolódva aerodinamikai és optikai módszerekkel jellemeztem légúti körülmények között az általuk előállított mikro- és nanorészecskékből álló gyógyszer-hatóanyagokat [114], [115]. A második kísérletsorozatban egy szárazpor-inhalátort vizsgáltam különböző paraméterű belégzési hullámformákkal a felső légutak hatását is figyelembe véve [116].

Új gyógyszerhatóanyagok vizsgálata

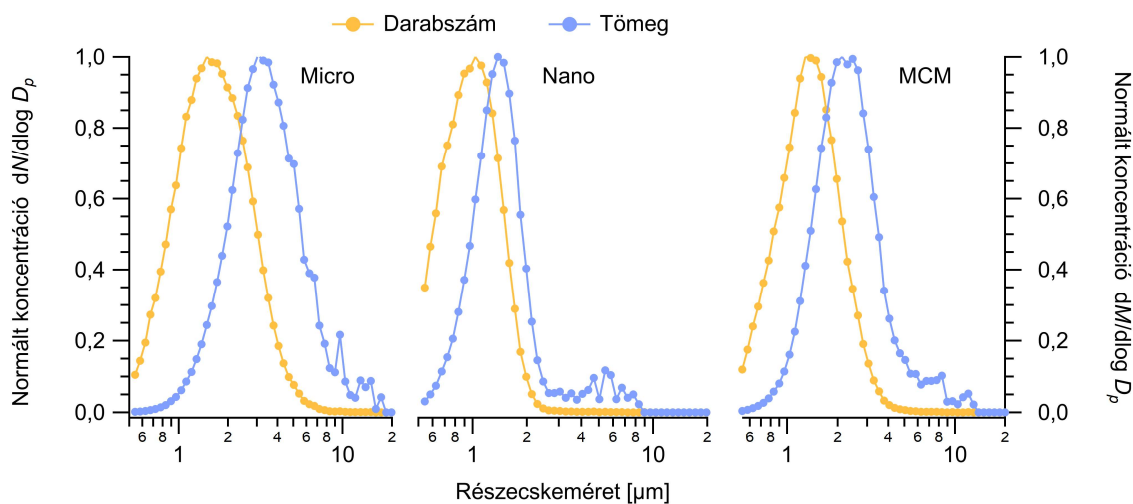
A különböző légzőszervi betegségek hatékony helyi kezeléséhez leggyakrabban aeroszolgyógyszer-készítményeket használnak. A nanoméretű hatóanyagok alkalmazása a nagyobb fajlagos felület miatt nagyobb biológiai hasznosulást eredményez. Az extra finom szárazpor-gyógyszerek eléri a kisebb légutakat, tovább javítva a terápiás hatékonyságot. Ezen a ponton meg kell jegyezni, hogy a gyógyszerész tudomány az egy mikrométer alatti részecskéket már nanorészecskéknek tekinti, két mikrométer alatt beszélnek extra finom méretű részecskékről és 5 mikrométer alatt finom mérettartományról. Kétféle hatóanyag-kombináció fejlesztéséhez kapcsolódóan végeztem vizsgálatokat.

Az első esetben a kiválasztott hatóanyag a gyulladáscsökkentő hatása miatt gyakran alkalmazott, rosszul vízoldható meloxicám volt. A fejlesztés során a cél a részecskeméret csökkentése volt nedves őrléssel egészen a nano-tartományba, és extra finom inhalálható részecskék előállítása porlasztva szárítással. A fejlesztés során a hatóanyag átmérőjét sikerült lecsökkenteni 138 nm-re, a száraz részecskék mérete 1,1 és 1,5 μm között volt, és a diszpergált átmérő 500 és 800 nm közé esett. A segédanyagoknak (poli-vinil-alkohol, leucin) köszönhetően a porlasztva szárított részecskék közel gömb alakúak voltak és a hatóanyag részben amorf lett. A megnövelt felületnek köszönhetően a meloxicám oldhatósága, valamint a felszabaduló és a diffundált meloxicám mennyisége megnövekedett a mesterséges tüdőközegben. Az *in vitro* aerodinamikai mérések azt mutatták, hogy a leucin-tartalmú készítmények kiemelkedő finom részecskefrakció (FPF) kiülepedést mutattak, 1,3 μm tömegszerinti medián aerodinamikai átmérővel (MMAD). [114]

A második esetben a kiválasztott hatóanyag a tuberkulózis kezelésére szolgáló antibakteriális hatású isoniazid volt. A fejlesztés célja a hatóanyagok az alveolusokba, a kórokozókat tartalmazó makrofágokba történő célzott bejuttatása volt. Ezt egyrészt a porlasztott méret csökkentésével értük el, amivel sikerült a célterületen kívüli kiülepedést is alacsony szinten tartani, másrészt pedig a megfelelő segédanyagok kiválasztásával, melyek receptorai a célterületen találhatóak. A segédanyagok (mannozilált kitozán és hialuronsav) hozzáadása után fagyasztva szárítással nanorészecskékből álló szárazport kaptunk (MCM), melyet felületi morfológia, *in vitro* pulmonális kiülepedési profil és citotoxicitás szempontjából értékeltünk. Az MCM nanorészecskék átlagos mérete 303 ± 16 nm volt, mely megfelelt a célkitűzéseknek. A morfológiai vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a részecskék közel gömb alakúak és sima felületűek voltak. [115]

A fenti fejlesztésekhez kapcsolódva vizsgálataim célja az újonnan előállított gyógyszerhatóanyagok légúti kiülepedési tulajdonságainak meghatározása volt valós körülmények között: valós légzési hullámformát és a felsőlégutak hatását is figyelembe vevő geometriát alkalmazva. A mérésekhez a 3.4. ábra szerinti összeállítást használtam. Az Egyetemről kapott kapszulákba töltött gyógyszermintákat egy Breezhaler szárazpor-inhalátor készülékkel porlasztottam a mérőrendszerbe. A mérésekhez a légzésszimulátorba programozott belégzési hullámformát irodalmi adatok [105], [106] alapján határoztam meg (3.5. ábra). Az áramlásszabályozóval 90 liter/perc áramlási sebességet állítottam be a főkörben, melyet a mérések során rendszeresen ellenőriztem egy termikus tömegárammérővel (TSI 4043). A belégzési profil hosszához igazodva az APS mintavételi idejét 5 másodpercre állítottam, szünet

nélküli üzemidővel. A kísérletek előtt ellenőriztem az APS kalibrációját polisztirol latex részecskékkel, és megmértem a rendszerre jellemző háttérkoncentrációt is, mely 2–3 nagyságrenddel alacsonyabb volt, mint a gyógyszerek esetében mért koncentrációk. Ezek után végeztem a méréseket az Egyetemtől kapott, kapszulákba töltött mintákkal.



3.14. ábra A háromféle aeroszolgyógyszer tipikus mért darabszám szerinti méreteloszlása, és az ebből számolt tömeg szerinti méreteloszlása.

A mérésekhez az APS mérési ciklusának elejét a belégzési hullámforma elejéhez igazítottam. A vizsgált gyógyszerek tipikus méreteloszlását a 3.14. ábra mutatja. A Micro és a Nano elnevezésű görbék a meloxicám tartalmú gyulladáscsökkentő, míg az MCM a TBC kezelésére fejlesztett szárazpor méreteloszlását mutatja. A narancs görbék mutatják a normált darabszámkoncentrációkat a méret függvényében, míg a kék görbék az ebből számolt normált tömeg szerinti méreteloszlásokat. A nagyobb méretek felé megfigyelhető a tömegeloszlás görbe magasabb zajszintje, ami a kis darabszámra vezethető vissza ebben a tartományban. Az adatok statisztikai feldolgozása után kapott eredményeket a 3.2. táblázat tartalmazza. A táblázatokban feltüntetett értékek a mintánként elvégzett 4 mérés átlagát és szórását adják meg $\overline{D_p} \pm SD$ formában. Mindegyik esetre igaz, hogy a medián és a mértani közép értékek közel azonosak, ami a lognormális eloszlás jellemzője.

A meloxicám tartalmú Micro és Nano porokra összehasonlítottam a kapott eredményeket az Andersen féle kaszkádimpaktorral (ACI) végzett vizsgálatok eredményeivel, mely a hatóanyag eloszlását adja meg a méret függvényében (3.15. ábra). Ehhez az APS méretcsatornáit az Andersen kaszkádimpaktor méretcsatornáinak megfelelően csoportosítottam. Az Andersen impaktor egyes fokozatainak szeparációs (cut-off) méretei 60 liter/perc térfogatáram mellett 8,06, 4,46, 2,82, 1,66, 0,94, 0,55 és 0,34 μm , 0-tól növekvő fokozatszám mellett. Az egyes fokozatokra jellemző szeparációs méret azt az aerodinamikai méretet jelöli, amely felett a részecskék legalább fele nekiütközik a felfogó lemezeknek és odatapad. Az ennél kisebb részecskék tovább haladnak az áramlással.

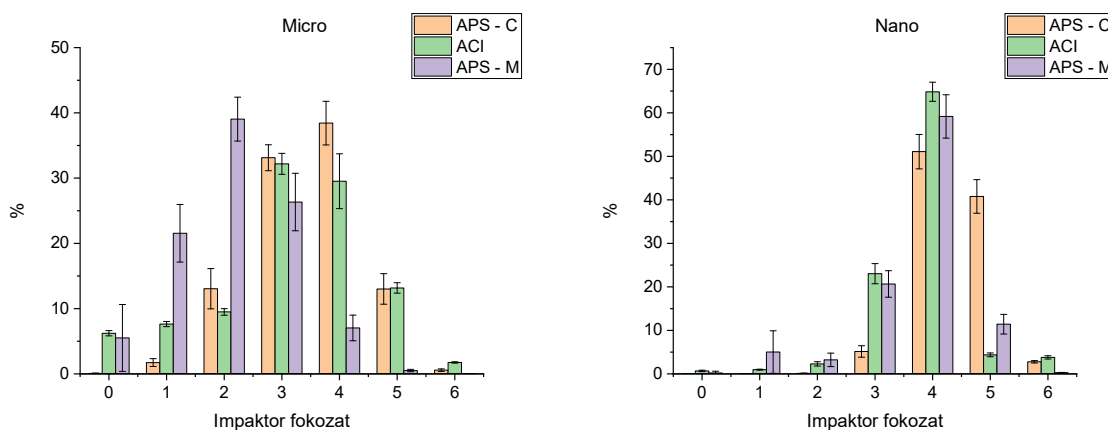
A 3.15. ábra is jól szemlélteti, hogy míg az ACI adatai a Micro por esetében az APS-C adatokkal korrelálnak jól ($r = 0,96$, $p < 0,05$) addig a Nano por esetében az APS-M adatokkal mutatnak erős korrelációt ($r = 0,98$, $p < 0,05$). Ez a következőkre vezethető vissza: Az impaktoros mérés

során a tálcákra kiülepedett hatóanyag mennyiségét mérjük egy UV-VIS spektrométerrel. A Micro és a Nano porok között az a különbség, hogy míg az elsőben nincs leucin kötőanyag, addig a második a meloxikámmal azonos mennyiségű leucint tartalmaz. A leucin egy aminosav, amely fokozza a porlasztva szárított porok diszpergálhatóságát. Ez elősegíti a részecskeméret csökkentését, és egyben homogenizálja is mintát.

3.2. táblázat Az újonnan fejlesztett aeroszolgyógyszerek méreteloszlásának statisztikai jellemzői. A darabszám szerinti eloszlás adatok mellett feltüntettem a darabszámból származtatott felület és tömeg szerinti adatokat is, gömb alakú részecskéket feltételezve.

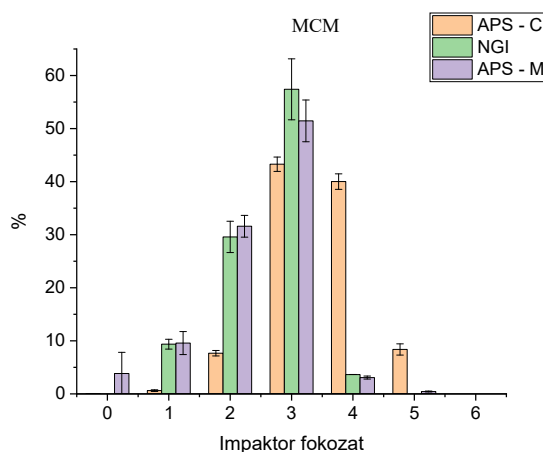
| | | darabszám | felület | tömeg |
|------------------------|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Micro [MX LEU0] | Medián [μm] | $1,62 \pm 0,104$ | $2,66 \pm 0,210$ | $3,34 \pm 0,263$ |
| | Átlag [μm] | $1,84 \pm 0,119$ | $3,00 \pm 0,230$ | $3,92 \pm 0,299$ |
| | Mértani közép [μm] | $1,63 \pm 0,096$ | $2,64 \pm 0,202$ | $3,41 \pm 0,267$ |
| | Módusz [μm] | $1,52 \pm 0,143$ | $2,80 \pm 0,246$ | $3,18 \pm 0,377$ |
| | Geom. szórás | $1,63 \pm 0,022$ | $1,65 \pm 0,013$ | $1,68 \pm 0,032$ |
| Nano [MX LEU1] | Medián [μm] | $0,99 \pm 0,038$ | $1,24 \pm 0,044$ | $1,36 \pm 0,042$ |
| | Átlag [μm] | $1,04 \pm 0,035$ | $1,27 \pm 0,041$ | $1,39 \pm 0,038$ |
| | Mértani közép [μm] | $0,99 \pm 0,030$ | $1,21 \pm 0,039$ | $1,33 \pm 0,041$ |
| | Módusz [μm] | $1,04 \pm 0,059$ | $1,29 \pm 0,073$ | $1,44 \pm 0,466$ |
| | Geom. szórás | $1,38 \pm 0,010$ | $1,37 \pm 0,017$ | $1,36 \pm 0,026$ |
| MCM | Medián [μm] | $1,36 \pm 0,017$ | $1,89 \pm 0,031$ | $2,29 \pm 0,093$ |
| | Átlag [μm] | $1,47 \pm 0,024$ | $2,14 \pm 0,090$ | $2,88 \pm 0,254$ |
| | Mértani közép [μm] | $1,35 \pm 0,022$ | $1,92 \pm 0,048$ | $2,42 \pm 0,149$ |
| | Módusz [μm] | $1,36 \pm 0,095$ | $1,81 \pm 0,060$ | $2,38 \pm 0,165$ |
| | Geom. szórás | $1,50 \pm 0,008$ | $1,56 \pm 0,039$ | $1,71 \pm 0,077$ |

Valószínűleg ez az oka annak, hogy a hatóanyag (meloxikám) mennyisége a leucin nélküli Micro porban a részecskeszámmal, míg a leucint tartalmazó Nano porban a részecskék tömegével (térfogatával) lesz arányos.



3.15. ábra A meloxikám tartalmú készítmények hatóanyag eloszlásának összehasonlítása az APS által mért méreteloszlásokkal. Az APS-C a darabszám szerinti, az APS-M a térfogat (tömeg) szerinti eloszlást adja meg az ACI fokozatainak megfelelő mérettartományokban.

Hasonló módon hasonlítottam össze a kapott eredményeket az isoniazid hatóanyag tartalmú antibakteriális porra is (3.16. ábra). Ebben az esetben a készítményt az intézet aeroszolkutató laboratóriumában rendelkezésre álló NGI impaktorról vizsgáltam, ahol az adatkiértékelést a korábban a csoportunkban kifejlesztett, optikai képalkotáson alapuló módszerrel végeztem [99]. Az NGI egyes fokozatainak szeparációs (cut-off) méretei az alkalmazott 90 liter/perc térfogatáram mellett 6,48, 3,61, 2,3, 1,37, 0,76, 0,43 és 0,26 μm , 0-tól növekvő fokozatszám mellett.



3.16. ábra Az isoniazid tartalmú készítmények NGI impaktorról mért eloszlásának összehasonlítása az APS által mért méreteloszlásokkal. Az APS-C a darabszám szerinti, az APS-M a térfogat (tömeg) szerinti eloszlást adja meg az NGI fokozatainak megfelelő mérettartományokban.

Az NGI impaktorról mért részecskemennyiségek az egyes fokozatokon, melyeket a lefedettségen alapuló optikai mikroszkópos módszerrel határoztam meg, és az APS által mért, az impaktor fokozatainak megfelelő méretcsatornába átszámolt tömegkoncentrációk között erős korrelációt figyeltem meg ($r = 0,98$, $p < 0,05$). Ez a fajta mérési módszer nem teszi lehetővé a hatóanyag eloszlásának meghatározását, ahhoz további vizsgálatok szükségesek.

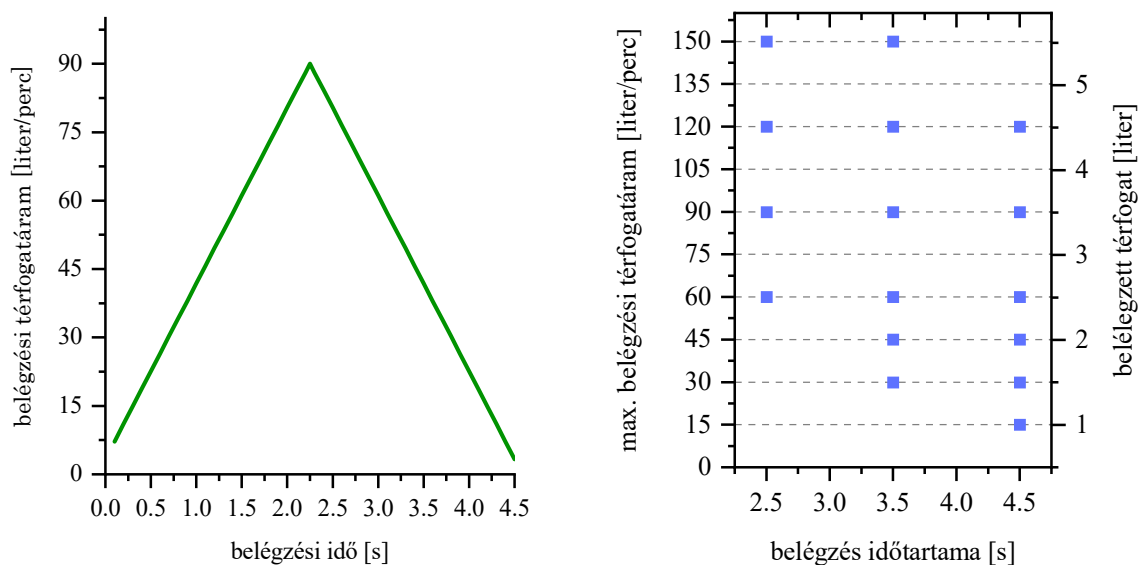
Ezek alapján kijelenthető, hogy az optikai módszerrel mért eloszlások összhangban vannak a gyógyszeriparban szabványosított impaktoros mérések eredményeivel. Mindkét esetben megállapítható, hogy a porok alkalmasak arra, hogy lejussanak a célterületre, a tüdő mélyebb tartományába, és ezáltal képesek az ott jelenlévő gyulladások és fertőzések helyi kezelésére.

Szárazpor-inhalátor által kibocsátott részecskék jellemzőinek vizsgálata

A második kísérletsorozatban a Symbicort® Turbuhaler® inhalátort vizsgáltam szintén a 3.4. ábra szerinti mérési elrendezésben, különböző paraméterű belégzési hullámformákkal, a felső légutak hatását is figyelembe véve. A méréseket először a felső légutak nélkül végeztük el 16 szimmetrikus háromszög alakú inhalációs hullámformával (3.17. ábra). A belégzési hullámformák főbb meghatározó paraméterei a belégzés időtartama, a maximális belégzési légáram és a belélegzett térfogat. Ezen paraméterek meghatározásához 25 önkéntessel végeztünk méréseket egy spirométerrel, mellyel meghatároztuk a belégzési hullámformájukat a Turbuhaler eszközön keresztül. Ezek alapján a belégzési időtartamra 2,5, 3,5 és 4,5

másodperces értékeket, a maximális belégzési térfogatáramra 15, 30, 45, 60, 90, 120 és 150 liter/perc értékeket és a belélegzett térfogatra 1, 1,5, 2, 2,5, 3,5, 4,5 és 5,5 litert állítottunk be (3.17. ábra). Mivel a maximális légáram és a belélegzett térfogat között erős korreláció állt fenn ($r = 0,76$, $p < 0,05$), ezért ezeket együtt kezeltük. Ezeket a hullámformákat 100 ms időfelbontással programoztuk be a hullámforma generátorba. Az áramlásszabályozót az inhalációs profil maximumától függően 90, 120 vagy 150 liter/perc értékre állítottuk be. A mérés megkezdésekor 1 adagot engedünk ki az inhalátorból, és az aeroszol részecskék méreteloszlását az APS 10 s mintavételi idővel rögzítette.

A következő lépésben megismételtük a fenti mérésorozatot, most már a felső légúti modellel a rendszerben. A mérésekhez egy az irodalomban leírt, 3D nyomtatással előállított felső légúti geometriát [117] használtunk, hogy megvizsgáljuk, hogyan befolyásolja az a különböző belégzési formák esetén a részecskék méreteloszlását. A felső légúti modell belső felületét glicerinnel vontuk be, amely mesterséges nyálkahártyaként [118] megakadályozta a részecskék leválását vagy visszapattanását a modell faláról. A mérést minden egyes inhalációs hullámforma esetében legalább háromszor megismételtük.

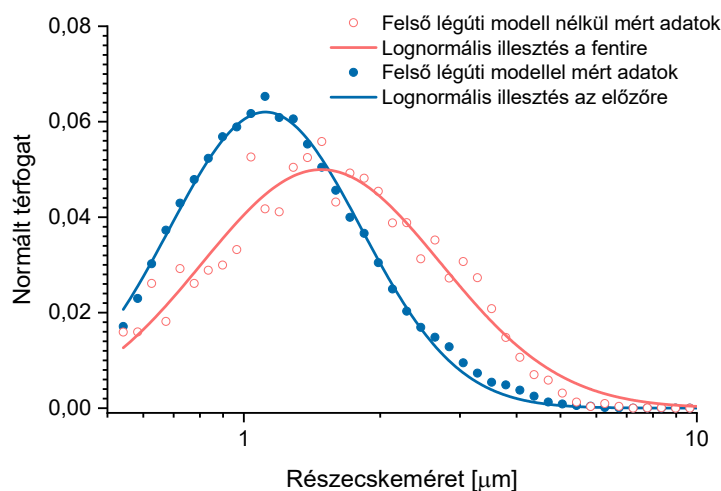


3.17. ábra A mérésekhez létrehozott tipikus háromszög alakú szimmetrikus belégzési hullámforma (balra) és a légzésszimulátorba beprogramozott 16 hullámforma paraméter mátrixa (jobbra).

A 3.18. ábra mutatja a fent leírt mérések tipikus eredményeit. Az APS által mért adatokból kiszámoltuk a térfogat szerinti méreteloszlást, feltételezve, hogy a részecskék gömb alakúak és egységnyi sűrűségűek. Mivel vizsgálataink során a részecskék számszerinti méreteloszlását erősen változónak találtuk, ezért a normált térfogatot használjuk a továbbiakban a jellemzésükre. Az adatok kiértékelése azt mutatta, hogy az alkalmazott felső légúti modell hatására a méreteloszlás a kisebb méretek felé tolódott el és keskenyebbé vált.

A 3.19. ábra a fenti mérésekkel kapott MMAD értékeket mutatja a felső légúti modell nélkül és azon keresztül. Az ábrán megfigyelhető általános trend szerint a maximális térfogatáram, és ezzel együtt a belélegzett térfogat növekedésével az MMAD csökken. A belégzési idővel nem

figyelhető meg egyértelmű összefüggés, összhangban azzal, hogy a 25 fős mintán mért belégzési idő és a maximális légáram között sem találtunk korrelációt ($r = 0,08$, $p < 0,05$). A felső légúti modellben az áramlás nagyobb térfogatáramok esetén (60 liter/perc fölött) turbulensé kezd válni [117], aminek hatását az MMAD adatok is mutatják, különösen a 150 liter/perc maximális térfogatáramnál. A felső légúti modell hatására bekövetkező MMAD csökkenés növekvő tendenciát mutat a maximális térfogatáram növekedésével (a 150 liter/perc maximális térfogatáram kivételével), ami egybeesik azzal, hogy nagyobb légáramlás esetén a nagyobb részecskék nagyobb eséllyel ülepednek ki a modell falán.

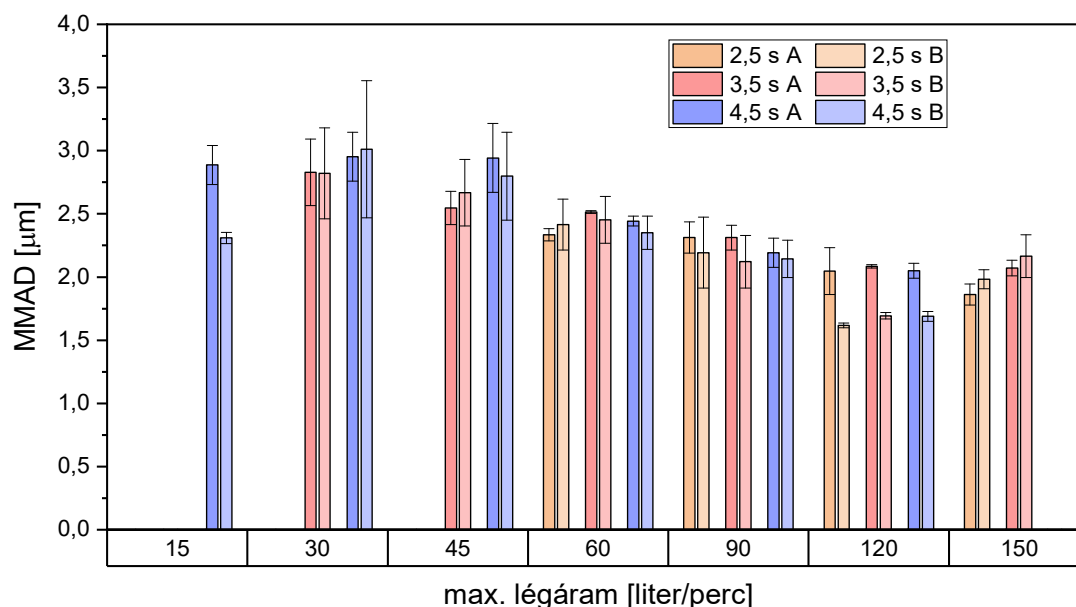


3.18. ábra A Symbicort® Turbuhaler® gyógyszer részecskék méreteloszlásainak normált térfogata: a felső légút nélkül (piros jelölök és vonal) és a felső légúti modellen keresztül (kék jelölök és vonal) az 1. hullámforma esetén, ahol a belégzés időtartama 4,5 s, a maximális térfogatáram 15 liter/perc, és a belélegzett térfogat 1 liter. Az MMAD értéke 2,8-ról 2,3 µm-re változott a felső légúti modell hatására.

A 16 vizsgált belégzési hullámformára a legmagasabb MMAD 2,95 µm, a legalacsonyabb pedig 1,86 µm volt a felső légúti modell nélkül, ahol a szórás (SD) 0,01 és 0,27 között változott. A behelyezett felső légúttal a legmagasabb mért MMAD 3,01 µm és a legalacsonyabb 1,61 µm volt, míg a szórás 0,02 és 0,54 között változott. Az így meghatározott MMAD értékek jó egyezést mutatnak a nagy teljesítményű folyadékkromatográfias módszerrel mért értékekkel a különböző inhalációs hullámformák esetében [119].

Ezek az eredmények a bemenő adatai a numerikus számításoknak, melyekkel meghatározható a légutak különböző régióiban kiülepedett gyógyszer mennyiség a különböző légzési hullámformák esetén, ami nagyban segíti a kezelőorvost a várható terápiás hatás felmérésében. Megállapítottuk, hogy a minimálisan szükséges inhalációs áramlás ehhez az inhalátorhoz 30 és 40 liter/perc között van, mivel ez alatt a tüdőben kiülepedett dózis 38% alatt marad. 60 liter/perces maximális térfogatáram felett a tüdődepozíció 50% fölé emelkedik, ami alátámaszthatja a megfelelő terápiát. Méréseink azt mutatták, hogy az inhaláció hossza csak kis mértékben befolyásolja a kiülepedett dózist, a maximális légáram és a belélegzett térfogat sokkal fontosabb tényezők. A számítások alapján bemutattuk a Symbicort® Turbuhaler® tüdőbeli kiülepedésének térképét e két paraméter függvényében, amely hasznos eszköz lehet az

orvosok számára a megfelelő inhalációs gyógyszer kiválasztásában, a beteg megfelelő inhalációs paramétereinek ismeretében. [116]



3.19. ábra A 16 beprogramozott hullámformával mért MMAD értékek a felső légúti modell nélkül (A) és azon keresztül (B).

3.5. Összegzés

Dolgozatomban két témakörben vizsgáltam az aeroszolok egészségügyi hatásait. Az első témakör a kórokozók levegőben történő terjedésének vizsgálataival foglalkozik, járványidőszakban tanulmányoztam a potenciálisan fertőzésveszélyt jelentő részecskeképződést kórházi környezetben. Optikai mérési módszerekkel meghatároztam az egészségügyi dolgozók napi tevékenysége során a levegőbe jutó részecskék koncentrációját és méreteloszlását egy kórteremben, ahol egy COVID-19-es idős beteget ápolnak, és a légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok közben. A méréseket mindkét esetben valós körülmények között, az egészségügyi személyzet tevékenységét legkevésbé befolyásolva végeztük el.

A kórteremben végzett mérések után, az adatok statisztikai feldolgozásával megállapítottam, hogy a szubmikronos részecskék növekedése a különböző beteg- és egészségügyi dolgozói tevékenységek eredményeként nem korrelált a kórházi szobában tartózkodó személyzet létszámával, és csak gyenge és nem szignifikáns ($p > 0,05$) korrelációt mutatott a tevékenység időtartamával. Ezzel szemben a nagyobb részecskék ($> 1 \mu\text{m}$) számának növekedése közepesen erősen korrelált a kórteremben lévő egészségügyi személyzet számával ($r = 0,66$, $p < 0,05$), valamint erős és szignifikáns korrelációt találtam a tevékenység időtartamával ($r = 0,82$, $p < 0,05$).

A COVID-19 világvilágjárvány alatt a közismerten aeroszol képződéssel járó, a tüdőgyógyászati diagnosztikában kiemelt jelentőséggel bíró légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatokat és kezeléseket korlátozták. Vizsgálataim alapján megállapítottam, hogy ezen tevékenységek során

nem kerül lényegesen több részecske a levegőbe, mint normál légzés vagy beszéd során. Ezek alapján, a megfertőződés kockázata nem indokolja ezen vizsgálatok mellőzését, azok a megfelelő biztonsági protokollok betartása mellett elvégezhetők.

A második témakörhöz kapcsolódóan bemutattam egy olyan, optikai mérési módszereket alkalmazó mérési összeállítást, mellyel új gyógyszerhatóanyagok légúti kiülepedési tulajdonságait vizsgáltam valós légzési mintázat esetén, valamint kísérleti úton meghatároztam egy szárazpor-inhalátor készülékből porlasztott gyógyszer részecskék méreteloszlását a belégzési paraméterek (maximális légáram, belégzés hossza, belélegzett térfogat) függvényében.

4. INTENZÍV LÉZERFÉNY-FÉM KÖLCSÖNHATÁS SORÁN FELSZABADULÓ AEROSZOL TULAJDONSÁGAI

Az additív gyártástechnológia (AM – Additive Manufacturing), azon belül is a 3D fémnyomtatás napjaink egyik legdinamikusabban fejlődő ipari technológiája. Számtalan változat látott már napvilágot a különböző alkalmazási területeken. A legelterjedtebb fémpor alapú AM technikák a porágyalapú olvasztás, és az irányított energiadepozíciós technika.

A porágyalapú olvasztás estében a fémport vékony rétegenként terítik le, és minden rétegben az energianyaláb (pl. lézer vagy elektronsugár) szelektíven megolvasztja a fémport vagy aktiválja a belekevert kötőanyagot. Egy másik technika a tintasugaras nyomtatókhöz hasonlóan működik. Egy speciális nyomtatófej rakja le az anyagot vagy felváltva az alapanyagot és a kötőanyagot, így hozva létre rétegenként a kívánt objektumot. Az irányított energiadepozíciós technika – más néven lézeres felrakóhegesztés – esetében a fémpor egy fűvőkán keresztül jut a kívánt helyre, ahol a lézer már lokálisan megolvasztotta az alapanyagot. A becsapódó fémszemcsék megolvadnak és beépülnek az alap hordozóba, így hoznak létre egy új felületet vagy akár tetszőleges alakzatokat rétegenként egy alkatrészen.

Az additív gyártástechnológia számos előnnyel rendelkezik a hagyományosnak mondható, anyagleválasztáson alapuló technológiákkal szemben. Kétségtelen előnye, hogy tetszőleges alakú, akár üreges tárgyakat is létre lehet hozni vele, és a felhasznált anyag is lényegesen kevesebb lehet, hiszen nincs szükség anyagleválasztásra, csak ott, ahol a felületi minőséget javítani kell. A 3D fémnyomtatás technológia árnyoldala, hogy nem lehet vele közvetlenül olyan felületi minőséget elérni, mint például egy CNC, maró, esztergáló vagy csiszoló géppel.

Számos ipari technológia nyilvánvaló munkaegészségügyi vonzata a keletkező gázok és füstök elvezetése, szűrése. Míg azonban sok esetben a füst keletkezése egyértelmű, hiszen látható (pl. hegesztés, kohászat, öntöde, stb.), addig például az irányított energiadepozíciós technológia esetében többnyire nem jön létre látható füst, viszont annál több, az emberi szem számára láthatatlan, nanoméretű fémrészecske keletkezik az alkatrészek gyártása során. A lézerfény-fém kölcsönhatás során újonnan formálódó fém nanorészecskék és a környező levegő (és egyéb gázok, pl. argon) alkotta diszperz rendszerek vizsgálatához kapcsolódó kutatásaimat mutatom be a következő oldalakon.

4.1. Tudományos előzmények

Az elmúlt két évtizedben nagyszámú kutatás irányult a lézeres additív technológiával felépített munkadarabok mechanikai, fizikai és kémiai tulajdonságainak feltérképezésére, és az egyes tulajdonságok javítására szolgáló technológiai paraméterek meghatározására [120]–[124]. Ezekben elsősorban a legyártott munkadarabok mikro- és makroszerkezeti tulajdonságait, porozitását, tömörségét, felületi tulajdonságait (keménység, hullámosság, érdesség, stb.) és a maradó feszültséget vizsgálták.

A fentiek mellett kevés figyelmet kapott eddig a folyamatok során felszabaduló finom és ultrafinom aeroszol, mely a fémek megolvasztása során keletkezik. A viszonylag kisszámú

megjelent publikációban elsősorban munkaegészségügyi oldalról foglalkoztak a témával. Ezzel szemben sok tanulmány született a különböző műanyagokat (PLA, ABS, PC, stb.) használó asztali 3D nyomtatók részecske kibocsátásáról [125]–[127], ami nem meglepő, figyelembe véve ezek széleskörű irodai vagy hobbi célú felhasználását. Míg azonban a hőre lágyuló műanyagból építő 3D nyomtatók esetében a nanorészecskék formájában felszabaduló szerves komponensek jelentik a fő problémát, addig a 3D fémnyomtatók esetében a fém nanorészecskék hordozzák a nagyobb egészségügyi kockázatot.

A (nehéz)fémiparban dolgozó munkások és hegesztők esetében több kutatócsoport vizsgálta a munkafolyamatok során keletkező, a légzőrendszerbe jutó fémrészecskék egészségügyi hatásait, és összefüggést találtak az expozíció és a kialakult betegségek gyakorisága között [128]–[130]. A 3D fémnyomtatáshoz hasonló hegesztési folyamatok során is vizsgálták a részecskeképződést, és meghatározták a füstfelhő kémiai összetételét is [131]–[133]. Ezekben az ipari technológiai folyamatokban (és még sok más területen) a részecskeképződés mindenhol a magas hőmérsékletű olvadt állapotú fémekhez köthető.

Mára már nyilvánvalóvá vált, hogy a lézeres 3D fémnyomtató berendezések működése során is keletkeznek potenciálisan veszélyes fém nanorészecskék, amelyek tüdő- vagy szív- és érrendszeri betegségeket is okozhatnak [134], [135]. Például az irányított energiadepozíciós eljárások során olyan részecskék szabadulnak fel, amelyek a légutakat irritáló anyagokat (króm, molibdén), a központi idegrendszer számára toxikus anyagokat (mangán) és rákkeltő anyagokat (nikkel) tartalmaznak. Egy kutatásban additív gyártástechnológiát üzemeltető vállalatoknál vizsgálták az ott dolgozók kitettségét a technológiából származó különböző anyagoknak. Személyi és stacionárius mintavevőkkel gyűjtött minták por, vas, mangán, króm, kobalt és nikkel tartalmát mérték [136]. Ez a vizsgálat kimutatta, hogy a munkahelyi levegőben mért elemkoncentráció – különösen a Ni esetében – magasabb volt a berendezések tisztítása során, mint a gyártási folyamat alatt, ami a berendezésekben alkalmazott hatékony elszívó rendszereknek köszönhető. A tisztítás során tapasztalt magasabb expozíciót más kutatók is megerősítették [137]. Azt is kimutatták, hogy az additív gyártási környezetben a nanoméretű részecskék viszonylag nagy számban voltak jelen a levegőben [135], [137]. Egy friss (2020-as) tanulmány szerzői három különböző additív gyártási technológia (porágyalapú lézeres olvasztás, irányított energiadepozíciós és lézerplattírozás (bevonatképzés)) alkalmazása során felszabaduló részecskék tulajdonságait tanulmányozták [138]. A gázáramlás és a hőmérsékleteloszlás numerikus modellezésén keresztül vizsgálták a részecskék keletkezésének és növekedésének mechanizmusait. Transzmissziós és pásztázó elektronmikroszkópiát használtak az elsődleges részecskék elemösszetételének, oxidációs állapotának és méreteloszlásának jellemzésére. Megállapították, hogy a gyártás során a levegőből összegyűjtött aeroszol összetett fraktálszerű geometriájú aggregátumokból/agglomerátumokból áll, és az újonnan keletkezett elsődleges részecskék mérete jellemzően a 4–16 nm-es tartományba esik. Az elsődleges részecskék gömb alakúak, és a felhasznált fémpor fő ötvöző elemeinek oxidjaiból állnak. A nagyobb primer részecskéknek (> 30 nm) csak a felülete oxidált, a belsejük tiszta fém. Ezek az eredmények összhangban vannak a hegesztés során keletkező részecskékre vonatkozó irodalmi adatokkal [131]–[133].

Az ipari folyamatok során keletkező fémrészecskék kémiai összetételéhez kapcsolódó egészségügyi kockázatokat tovább fokozza, hogy az ultrafinom tartományban a belélegzett

aeroszol részecskék tüdőben kiülepedő frakciója meredeken nő a méret csökkenésével (3.1. ábra). Számítógépes szimulációk segítségével megállapították, hogy a 10 nm körüli méretű részecskék jelentős hányada kiülepedik az alveolusokban, ahol a gázcsere történik a tüdőben [81]. Ráadásul a kisebb részecskék könnyen átjutnak az alveolusok vékony falán, így bekerülnek a véráramba, és átjutnak a vér-agy gáton is, melyek további egészségügyi kockázatokat jelentenek.

Az ultrafinom részecskék belégzése során fellépő lehetséges egészségkárosító hatások értékeléséhez elengedhetetlen a részecskék releváns fizikai és kémiai jellemzőinek ismerete, mint például az elsődleges részecskeméret eloszlása, agglomerációs/aggregációs állapota, alakja és kémiai összetétele [139], [140].

A részecske kibocsátás az egészségügyi problémák mellett az építési folyamatokat is befolyásolhatja 3D fémnyomtatás közben. A kibocsátott részecskék jelentős mennyiségű energiát nyelnek el és szórnak ki [132], [141]–[143], és torzíthatják a paraméterek nyomon követését célzó on-line optikai mérések eredményeit is [144]–[146]. Az energiaforrás teljesítménystabilitása fontos tényező az additív gyártási folyamatokban. A mintadarab felületére jutó és a folyamatban effektíven résztvevő lézerteljesítményt jelentősen befolyásolja a felületről történő visszaverődés, és a poráram fényvisszaverése, elnyelése [147]. A mintára eső teljesítmény stabilitását a keletkező ultrafinom részecskék is befolyásolják. A fejezetben leírt vizsgálatainkban is kimutattuk, hogy az olvadékszóna fölött jelentős számban keletkeznek új részecskék. Mivel ezeknek a nanoméretű fémrészecskéknek jelentős a fényelnyelése és szórása az alkalmazott hullámhosszokon, ez befolyásolja a sugár fókuszálásának minőségét és a felületre érkező lézersugárzás időbeli teljesítménystabilitását. Nagy teljesítményű szállézeres hegesztés esetén kimutatták, hogy a sugárnyaláb csillapításának ingadozása 10%-nál is nagyobb lehet, amikor a sugár az olvadékmedence felett keletkező aeroszolfelhőn halad keresztül, ami negatívan befolyásolja az építési folyamat minőségét [142]. A porágyas AM technológiával előállított Zn alapú biológiailag lebomló implantátumok gyártása során is kiemelkedő fontosságú a kapott minta porozitása, amit nagyban meghatároz az alkalmazott lézer teljesítménysűrűsége a felületen. A felületre jutó teljesítménysűrűséget viszont jelentősen csökkentheti a Zn megolvasztásakor keletkező aeroszolfelhő, ami a nyomtatott implantátum minőségének romlásához vezet [148]–[150].

4.2. Célkitűzések

Az ipari termelésre alkalmas additív gyártástechnológiát megvalósító gépek potenciálisan veszélyes nanorészecskéket bocsáthatnak ki, amelyek a gépek üzemeltetői és kezelői számára foglalkozás-egészségügyi problémákat vethetnek fel. Ezen kívül, ezek a részecskék befolyásolhatják a lézer hatékonyságát is működés közben.

Munkám célja az irányított energiadepozíciós technikán alapuló, por alapú 3D fémnyomtatás közben az intenzív lézerteljesítmény-fém kölcsönhatás során levegőbe jutó aeroszol részecskék fizikai és kémiai tulajdonságainak meghatározása, mennyiségi és minőségi analízise. Ezek alapján a felszabaduló részecskék folyamatra gyakorolt hatásának vizsgálata mellett célt az egészségügyi hatások feltérképezése is, amihez meghatároztam a részecskék méreteloszlását, morfológiáját, elemi összetételét és oxidációs állapotát.

4.3. Alkalmazott eszközök és módszerek

A részecskeképződést egy nyitott munkaterű 3D fémnyomtató berendezéssel tanulmányoztam, amely az irányított energiadepozíciós technikát valósította meg. Alapanyagként különböző fémötvözeteket használtam por formájában: nikkal alapú Inconel 625 és 718 porokat, acél alapú H13 és 15-5PH porokat, valamint Ti6Al4V titán ötvözet fémport. Az újonnan képződött aeroszol részecskék számát és méreteloszlását pásztázó mobilitási méretmérő (SMPS), valamint aerodinamikai méretmérő (APS) részecskeszámlálók segítségével határoztam meg. A részecskék számának változásait egy egyszerű, a koagulációt, a depozíciót és az effektív sűrűség méretfüggését figyelembe vevő modellel írtam le. Ezekkel egyidejűleg méretfrakcionált aeroszolmintákat gyűjtöttünk kaszkádingpaktorról szilícium és szén hordozókra. A részecskék morfológiáját és elemi összetételét pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) és energiadiszipatív spektroszkópiával (EDS) vizsgáltuk. Az aeroszol részecskékben lévő kiválasztott fémek oxidációs állapotát roncsolásmentesen, röntgenabszorpciós élközeli struktúra módszerrel (XANES) vizsgáltuk. A következőkben részletesebben ismertetem a fentieket.

4.3.1. A 3D fémnyomtató

Az alkalmazott berendezés

A vizsgálatokhoz az OR Laser által gyártott LRS EVO-Diodeline 450 alapú, nyitott munkaterű additív gyártógépet [94] használtam (4.1. ábra). A berendezés részegységei egy 1070 nm-es infravörös sugárzást kibocsátó szállézer, egy porfúvó fej, amely a védőgázt és a fémport juttatja a munkadarabhoz, egy négytengelyes motoros asztal, amely a munkadarabot előre programozott pályák mentén mozgatja, egy poradagoló és a számítógéphez csatlakoztatott vezérlőegység.

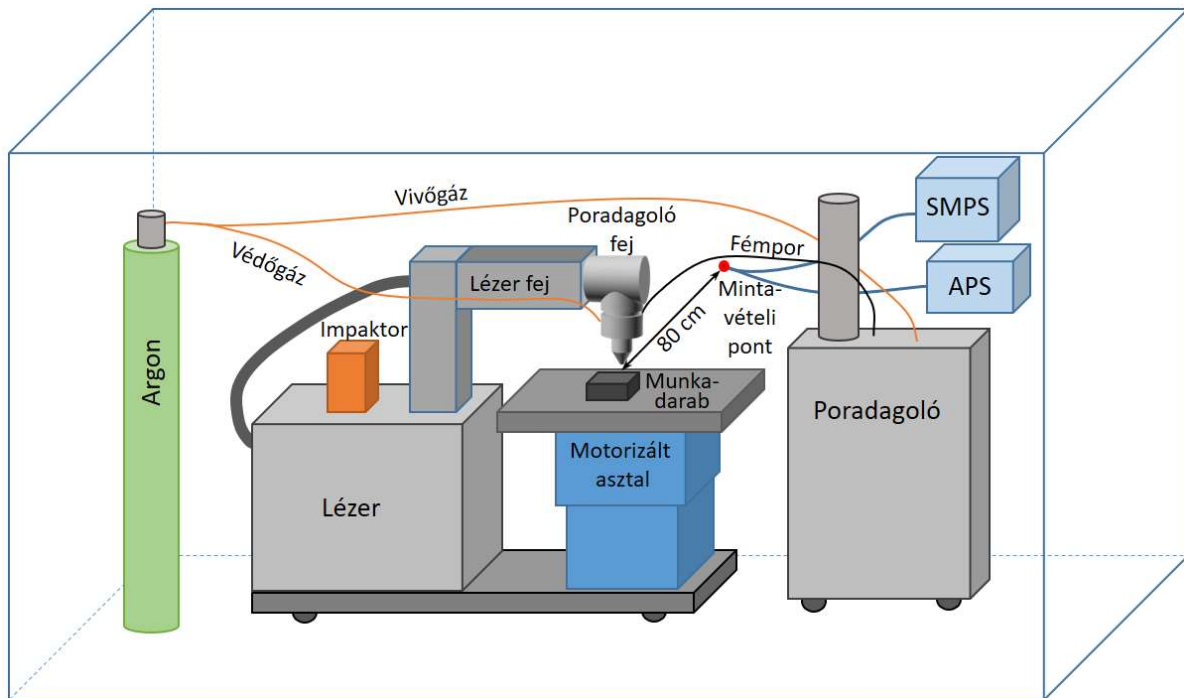
A lézerforrás egy egymódusú, véletlenszerűen polarizált, diódával pumpált Ytterbium YLM szállézer (IPG) 450 W maximális átlagos kimenő teljesítménnyel. A lézer teljesítménye a munkadarab felületén 10% és 100% között szabályozható. Bár a szállézer impulzus üzemmódban is működhet, kísérleteinkben csak folyamatos üzemmódban használtuk. A lézernyaláb átmérője a fókusz síkban akár 50 μm is lehet, azonban egy motoros nyalábtágítóval és az alkalmazott 200 mm fókusztávolságú lencsével a minta felületén 0,48 és 3 mm között állítható foltméret érhető el. A beállításokhoz egy kis teljesítményű, látható tartományban sugárzó diódalézer jelöli ki az infravörös lézer pozícióját.

A fémport egy porfúvó fej továbbítja és fókuszálja a mintadarabra. Az OR Laser által a Fraunhofer Intézzel közösen kifejlesztett és gyártott porfúvó fej a lézersugárral koaxiális elrendezést valósít meg, és rögzített függőleges helyzetben van felszerelve. Ebbe kerül bevezetésre a védőgáz is a fókuszáló lencsét védő üveglap után.

A fémport egy GTV PF2/1 LC tárcsás poradagoló (3,5 · 0,3 mm²-es horonnyal) juttatja el a porfúvó fejbe 4.6 tisztaságú Ar vivőgázzal. A kísérletek során a poradagoló által szállított fémport névleges tömegáramlási sebessége 5,3 g/perc volt. A vivőgáz áramlási sebessége 3,8 liter/perc, az argon védőgáz áramlási sebessége pedig 10 liter/perc volt (légköri nyomáson és szobahőmérsékleten). A mintaépítéshez használt hordozó alaplemez 10 mm vastagságú,

100·100 mm² felületű, hengerelt 304L rozsdamentes acéllemez volt. A munkadarabot a hordozóval együtt az előre beprogramozott pálya mentén mozgatta a rendszer a porfűvóka alatt egy 3D-s motoros asztal segítségével, 10 mm/s pásztázási sebességgel.

A készüléket egy mikroszámítógép vezérli, amely figyeli és kontrollálja a lézerfunkciókat, a motoros asztal mozgását és a poradagolót. A próbadarabokat leíró fájlokat a berendezéshez szállított ORLAS SUITE alkalmazással konvertáltuk a gép által feldolgozott G-kóddá, mely már tartalmazta a lézer vezérlését és paramétereit is.



4.1. ábra A 3D fémnyomtatóval végzett mérésekhez használt elrendezés sematikus ábrája.

A felhasznált fémporok

A vizsgálatokhoz nikkel alapú Inconel 625 és 718 porokat, vas alapú H13 és 15-5PH porokat, valamint Ti6Al4V titán-alumínium ötvözet fémport használtunk. Ezeket a fémeket széleskörűen alkalmazzák a repülőgépiparban, a petrokémiai és a nukleáris iparban, ahol kiemelkedő korrózió- és hőállóságra van szükség. Közös jellemzőjük a nagy szakítószilárdság, keménység és korrózióállóság magas hőmérsékleteken is, ezenkívül kiválóan alkalmazhatók hegesztéshez. A fenti fémporokat gáz-porlasztásos eljárással állítják elő, és különböző mérettartományban hozzák őket forgalomba. Az általunk vizsgált porok részecskéinek az átmérője 45 és 90 µm közé esik, amit a 3D fémnyomtató által megvalósított technológia határozott meg. A fenti fémek főbb jellemzőit a 4.1. táblázat tartalmazza.

4.1. táblázat A vizsgálatokhoz használt fémötvözetek főbb jellemzői.

| | TLS 625 | MA 718 | MA H13 | MA 15-5PH | TLS Ti6Al4V |
|------------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|-------------|
| sűrűség [g/cm ³] | 8,44 | 8,17 | 7,8 | 7,8 | 4,5 |
| olvadáspont [°C] | 1290–1350 | 1370–1430 | 1427 | 1404–1440 | 1660 |
| keménység [HV] | 380 ± 45 | 298 ± 10 | 664 ± 27 | 328 ± 10 | 393 ± 10 |

4.3.2. A mérések leírása

A kísérleteket egy 4 m belmagasságú 26 m³-es zárt helyiségben végeztük, ahol a mérések közben nem működött elszívó berendezés (4.1. ábra). Az additív gyártóberendezéssel 15·15·5 mm³ (szélesség · hosszúság · magasság) méretű téglatesteket építettünk 304L rozsdamentes acélból készült alaplemezre. Az aeroszol vizsgálatokat a standard mintaépítés közben végeztük. Egy minta nettó gyártási ideje 15–25 perc volt. A felszabadult részecskék főleg Brown-diffúzióval terjedtek a helyiségben, csak a lézergép ventilátorai okozhattak légáramlást, de azok a munkadarabok építésére használt léptetőmotoros asztal alatt helyezkedtek el. További lokális perturbáló hatása lehetett az építés során a lézerinterakció helyén fellépő magas hőmérsékletnek, valamint a védő és vivő Ar gázáramnak is.

A felszabaduló aeroszol részecskék számszerinti koncentrációját és méreteloszlását optikai és elektrosztatikus elven működő részecskeszámláló műszerekkel mértük. A berendezések mintavételi pontja 15 cm-re volt a szoba falától, és 80 cm-re az aeroszolforrástól. A mintavételi csövek hossza ~70 cm volt az OPC és az APS műszerek esetén, és ~90 cm az SMPS esetén (a töltéskondicionáló egység miatt volt szükség a hosszabb mintavételi csőre).



4.2. ábra A 3D fémnyomtatóval előállított mintadarabok.

Az OPC és az APS berendezésekhez 4 mm belső átmérőjű Festo mintavételi csöveket, az SMPS-hez pedig 6 mm belső átmérőjű karbonimpregnált szilikon vezető mintavételi csövet használtunk az elektrosztatikus mérési elv miatt. Figyelembe véve a berendezések mintalégáramát és a mintavételi csövek hosszát és belső méretét, meghatároztam, hogy mennyi időt töltöttek a részecskék a mintavételi csövekben. Ennek értéke az OPC esetében 0,44 s, az APS esetében 0,52 s, az SMPS esetében pedig 5 s volt. Az OPC és az APS berendezések

mintavételi idejét 1 perces átlagolásra állítottam be, az SMPS pedig 4 perces ciklusokkal dolgozott.

Az építési folyamat során 20·20 mm²-es Si-lapokra és ragasztós szénszubsztrátokra méretfracionált aeroszolmintákat is gyűjtöttünk egy 9 fokozatú May-típusú kaszkádimpaktossal 10 és 40 perces mintavételi idővel további morfológiai és kémiai elemzés céljából.

Továbbá teflon membránszűrőket (47 mm átmérőjű és 1 µm pórusméretű) használtunk az összes lebegő részecske mintavételezésére, hogy meghatározzuk azok elemi összetételét és a kiválasztott fémek oxidációs állapotát. Két mintát vettünk 40 és 90 perces mintavételi idővel és 16,7 liter/perc áramlási sebességgel.

A részecskék méreteloszlásának és koncentrációjának mérésére alkalmazott műszerek

A részecskék méreteloszlásának és koncentrációjának mérésére a 3.3.1 részfejezetben bemutatott SMPS, APS és OPC műszereket használtam. A méretfracionált aeroszolmintavételt egy 9 fokozatúra bővített May-típusú kaszkádimpaktossal [151] végeztük, így a finom méretfrakció mellett lehetőség nyílt az ultrafinom tartományban is vizsgálni a részecskék morfológiáját és kémiai összetételét. A kaszkádimpaktorok az aeroszol részecskéket a légáram sebességének fokozatos növelésével a tehetetlenségük alapján választják szét. A légáramot követni nem tudó részecskék kitapadnak a gyűjtőlemezekre. Az impaktor 1–9 fokozatainak aerodinamikai vágási átmérője 16,7 liter/perc áramlási sebesség mellett 17,9, 8,9, 4,5, 2,25, 1,13, 0,57, 0,29, 0,18 és 0,07 µm. A mintákat 20·20 mm²-es Si-lapokra, illetve ragasztós szénhordozókra gyűjtöttük. A laboratóriumban az AM-folyamat során mért magas koncentrációk miatt a mintavételi idő rövid volt, 10 perc a Si hordozók, és 40 perc a szén hordozók esetében.

Az aeroszolak világában ugyanahhoz a részecskéhez többféle méret is hozzárendelhető. A részecskék geometriai méretét optikai vagy elektronmikroszkóppal lehet megmérni. Az optikai részecskeszámlálók az aeroszol szemcsék optikai méretét mérik, amely a részecske fizikai mérete mellett függ az optikai tulajdonságaitól és alakjától is. Az SMPS a részecskék elektromobilitási méretét határozza meg, amely a fizikai méret mellett függ a részecskék sűrűségétől és elektromos töltöttségétől is. A részecskék áramlási tulajdonságait az APS és a kaszkádimpaktor által mért aerodinamikai méretük határozza meg. A kaszkádimpaktor a részecskéket az aerodinamikai átmérőjük alapján választja el, amely a részecskék alakja és sűrűsége alapján eltérhet az elektromobilitási, vagy az optikai átmérőjétől [152].

Az elemösszetétel vizsgálatokhoz használt röntgenspektroszkópai módszerek

Az impaktossal gyűjtött minták elemösszetételének vizsgálatát pásztázó elektronmikroszkóppal és energiadiszipatív spektroszkópai módszerrel (SEM-EDS) végeztük.

SEM/EDS – Az impaktorlemezekon lévő méretfracionált mintákat pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) elemeztük a részecskék morfológiájának és összetételének meghatározása érdekében. Ehhez a vizsgálatokhoz egy Tescan MIRA3 pásztázó elektronmikroszkópot használtunk. A részecskék elemi összetételét egy EDAX energiadiszipatív spektrométerrel (EDS) elemeztük, az adatfeldolgozáshoz pedig az APEX™

EDS Software-t használtuk. A részecskék morfológiájának tanulmányozásához szekunder elektronképeket rögzítettünk. Az EDS-elemzés megbízhatónak bizonyult 20 kV-os gyorsítófeszültség alkalmazásával.

4.3.3. Modellszámítások

A koncentráció időbeli változásának modellezése

Az intenzív lézerfény-fém kölcsönhatás során magas hőmérsékleten képződött aeroszol részecskék számának és koncentrációjának időbeli változását egy zárt térben több tényező is befolyásolja. A koagulációs folyamatok során az egymással ütköző részecskék összetapadva nagyobb méretű részecskéket formálnak, így egy adott térrészben az ottlévő részecskék számának négyzetével lesz arányos az összetapadási vagy koagulációs ráta. Ez a folyamat a kiinduló kis méretű részecskék számának csökkenéséhez, míg a képződő nagyobb méretű részecskék számának növekedéséhez vezet. A koaguláció így összességében a teljes darabszám csökkenését idézi elő, azonban az össztömeg nem változik ebben a folyamatban. Továbbá egy zárt térben nem elhanyagolható mértékű veszteségeket okoz a falra és egyéb tárgyakra történő kiülepedés és a részecskék aerodinamikai méretétől függő gravitációs kiülepedés sem. Ezen effektusok az adott térrészben jelenlévő részecskék számával vagy tömegével arányos hatást fejtenek ki, és ezek csökkenéséhez vezetnek. A fentieket összegezve, monodiszperz részecskék koncentrációjának és tömegkoncentrációjának időbeli változását a következő anyagmérleg egyenletekkel írhatjuk le [153]–[155]:

$$\frac{dN}{dt} = -KN^2 - \kappa N - \mu, \quad \frac{dM}{dt} = -\kappa M - \mu, \quad (4.1)$$

ahol N a darabszám koncentráció, M a tömegkoncentráció, K a koagulációs együttható, κ a kiülepedési együttható, és μ az egyéb, az aktuális koncentrációtól független források és nyelők együttes hatását leíró tag. A továbbiakban egyszerűsítésként feltételeztem, hogy κ és μ nem függenek a részecskemérettől.

A koagulációs együttható adott D_p átmérőjű részecskére felírható a diffúziós együttható segítségével [154]:

$$K = 8\pi D_p D = \frac{8kTC_c}{3\eta}, \quad (4.2)$$

ahol k a Boltzmann állandó, T a hőmérséklet, C_c a Cunningham korrekciós együttható és η a viszkozitás. Tíz nanométeres részecskékre a diffúziós együttható értéke $D = 5,24 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$, a koagulációs együttható értéke pedig $K = 67 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^3/\text{s}$.

Mint az a (4.2) egyenletből is látható, ebben a mérettartományban a koagulációs együttható méretfüggő, hiszen a C_c Cunningham korrekciós együttható is méretfüggő (a részecskeméret összemérhető a λ átlagos szabad úthosszal, melynek értéke normál légköri nyomáson és 20 °C hőmérsékleten 65,3 nm):

$$C_c = 1 + \frac{\lambda}{D_p} \left[2,514 + 0,8 \cdot \exp\left(-0,55 \frac{D_p}{\lambda}\right) \right]. \quad (4.3)$$

Amennyiben a koagulációs együtthatót konstansnak tételezzük fel, és eltekintünk a koncentrációtól független források és nyelők hatásától ($\mu = 0$), akkor a koncentráció időbeli változását a koaguláció és a kiüledési veszteségek hatására az alábbi egyenletek adják meg:

$$N(t) = \frac{N_0}{(1 + N_0 K / \kappa) e^{\kappa t} - N_0 K / \kappa}, \quad M(t) = M_0 e^{-\kappa t}. \quad (4.4)$$

Lognormál eloszlású kezdeti részecske populációra a koagulációs együttható a következő alakban írható fel [154]:

$$K' = \frac{4kT}{3\eta} \left[1 + \exp(\ln^2 \sigma_g) + \frac{2C_c \lambda}{D_g} \exp\left(\frac{1}{2} \ln^2 \sigma_g\right) + \frac{2C_c \lambda}{D_g} \exp\left(\frac{5}{2} \ln^2 \sigma_g\right) \right], \quad (4.5)$$

ahol D_g a részecskék méretének mértani közepe, és σ_g a geometriai szórás. Az így kapott értéket behelyettesítve a (4.4) egyenletbe megkaphatjuk a koncentráció időbeli változását lognormál eloszlású polidiszperz részecskehalmazra.

A méreteloszlás leírása

Az aeroszol részecskék méreteloszlása a legtöbb esetben a log-normális eloszlást követi, ami igaz az általunk rögzített eloszlásokra is. Az eloszlások jellemzésére sokféle statisztikai mutató használható, melyek közül a mértani szórás azt írja le, hogy mennyire szóródnak azok a számok, amelyeknek az átlaga a mértani közép. Ez egy multiplikatív, dimenziótlan tényező, ellentétben a bemeneti értékekkel azonos dimenzióval rendelkező szórással (SD - standard deviation). A mértani középpértéket a tipikus érték leírására, a geometriai szórást pedig a log-normális szórás mérésére használják. A mértani közép és a geometriai szórás a következő alakban írható fel:

$$D_g = \sqrt[n]{\prod_i D_i^{dN_i}} = \exp\left(\frac{1}{n} \sum_i dN_i \ln D_i\right), \quad \sigma_g = \exp\left(\sqrt{\frac{1}{n} \sum_i dN_i (\ln D_i - \ln D_g)^2}\right), \quad (4.6)$$

ahol $n = \sum_i dN_i$. Log-normális eloszlás esetén a mértani közép megegyezik a mediánnal.

Egy log-normális eloszlású sokaságból vett adatminta mértani közepe (geometriai átlaga) és geometriai szórása felhasználható a konfidenciaintervallumok határainak meghatározására is.

Az effektív sűrűség

Az intenzív lézerefény-fém kölcsönhatás során képződő részecskék morfológiájában bekövetkező változások vagy vizualizációs módszerekkel (pl. SEM), vagy a levegőben lévő részecskék mért tulajdonságainak megfelelő értelmezésével azonosíthatók. Mind az aerodinamikai, mind a mobilitási méretek a részecskék komplex morfológiájától függő egyenértékű méretek. A két méret az effektív sűrűség (ρ_{eff}) segítségével kapcsolható össze, ami egy olyan gömb alakú részecske sűrűsége, amelynek aerodinamikai és mobilitási átmérője megegyezik az agglomerált részecskéével [156], [157]:

$$D_a^2 C_c(D_a) \rho_0 = D_m^2 C_c(D_m) \rho_{eff}(D_m), \quad (4.7)$$

ahol ρ_0 az egységnyi sűrűség (1 g/cm³), valamint $C_c(D_a)$ és $C_c(D_m)$ a Cunningham korrekciós tényezők. Ezek alapján az effektív sűrűség a részecskeméret függvényében a következőképpen írható fel [158]:

$$\rho_{eff}(D_m) = \rho_{eff,ref} \cdot \left(\frac{D_m}{D_{m,ref}} \right)^{DF-3}, \quad (4.8)$$

ahol DF a részecskék fraktáldimenzióját jelöli és az aggregátumok tömörségét jellemzi. A *ref* index az újonnan képződő elsődleges részecskékre utal. Minél nagyobb a DF értéke, annál tömörebb a részecske szerkezet és fordítva. A fraktáldimenzió értéke nem lehet nagyobb, mint három, amikor a részecskék tökéletes gömbök. Ekkor az effektív sűrűség megegyezik a tömbi anyag sűrűségével.

4.4. Eredmények

4.4.1. A részecskék koncentrációja és méreteloszlása

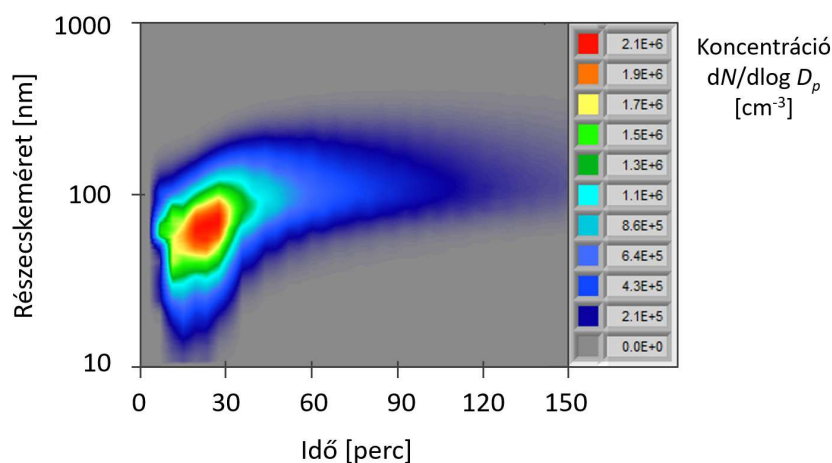
A 3D fémmnyomatás során keletkező aeroszol részecskék koncentrációját és méreteloszlását egy SMPS részecske számlálóval mértem. A vizsgált additív gyártási folyamatban az intenzív lézertény-fém kölcsönhatás során a fémes részek elpárologtatott atomjai összekeverednek a környezeti gázzal, és ennek a keveréknek az ezt követő tágulása lehűléséhez és túltelítettségéhez vezet. Ennek eredményeként magképződés révén új részecskék keletkeznek, és a kondenzált fázisú klaszterek további növekedésnek indulnak. Az olvadékhő közvetlen környezetéből (~15 mm-re a lézerinterakció helyétől) történt mintavételezés során a részecskekoncentráció meghaladta a CPC által mérhető maximális koncentrációt (10⁷ cm⁻³). A mért adatok időbeli dinamikáját tanulmányozva megállapítható, hogy az építési folyamat közben intenzív új részecske képződés zajlik, a lézerinterakció környezetében > 10⁷ cm⁻³, az attól távolabb levő (~80 cm) mintavételi pontban 10⁵ cm⁻³ koncentrációban jelennek meg 10 nm körüli méretű részecskék, melyek az építési folyamat leállása után már nem kimutathatók. Megjelennek viszont nagyobb klaszterek, amelyek a kezdeti részecskékből koagulációval, aggregációval, illetve agglomerációval keletkeznek. A részecskék méreteloszlása az olvadékhő közelében nem feltétlenül azonos a mintavételi pontban, a forrástól 80 cm-es távolságban mért méreteloszlással.

A következő oldalakon bemutatott adatok többsége a MetcoAdd 718G ötvözet porra vonatkozik, azonban hasonló eredmények születtek a többi fajta fémporra is, melyeket statisztikai feldolgozással összegezve mutatok be.

A MetcoAdd 718G nikkel ötvözetrel végzett kísérletek eredményei

A 4.2. ábra alsó sorában bemutatott mintadarabok építése során az SMPS által mért koncentráció tipikus méretfüggését és időbeli változását mutatja a 4.3. ábra. Megfigyelhető, hogy a keletkező részecskék méreteloszlása változik az idő múlásával. A helyiségben a mérések előtt mért háttérkoncentráció ~3 nagyságrenddel kisebb volt, mint az építési folyamat során keletkező részecskék koncentrációja. Megfigyelhető az is, hogy a légköri nukleációs eseményektől eltérően nem a folyamat során keletkező elsődleges részecskék koncentrációja a

legnagyobb egy adott időpontban a mintakészítés közben, hanem 50–60 nm körül van a méreteloszlás módusza. Ez annak tulajdonítható, hogy a mintavételi pont távolabb volt az aeroszol képződés helyétől, így mire elérnek odáig a részecskék, már átalakuláson mennek keresztül. Ezt megerősíti a korábban említett, a lézerinterakció közvetlen közeléből történt mérés eredménye is.

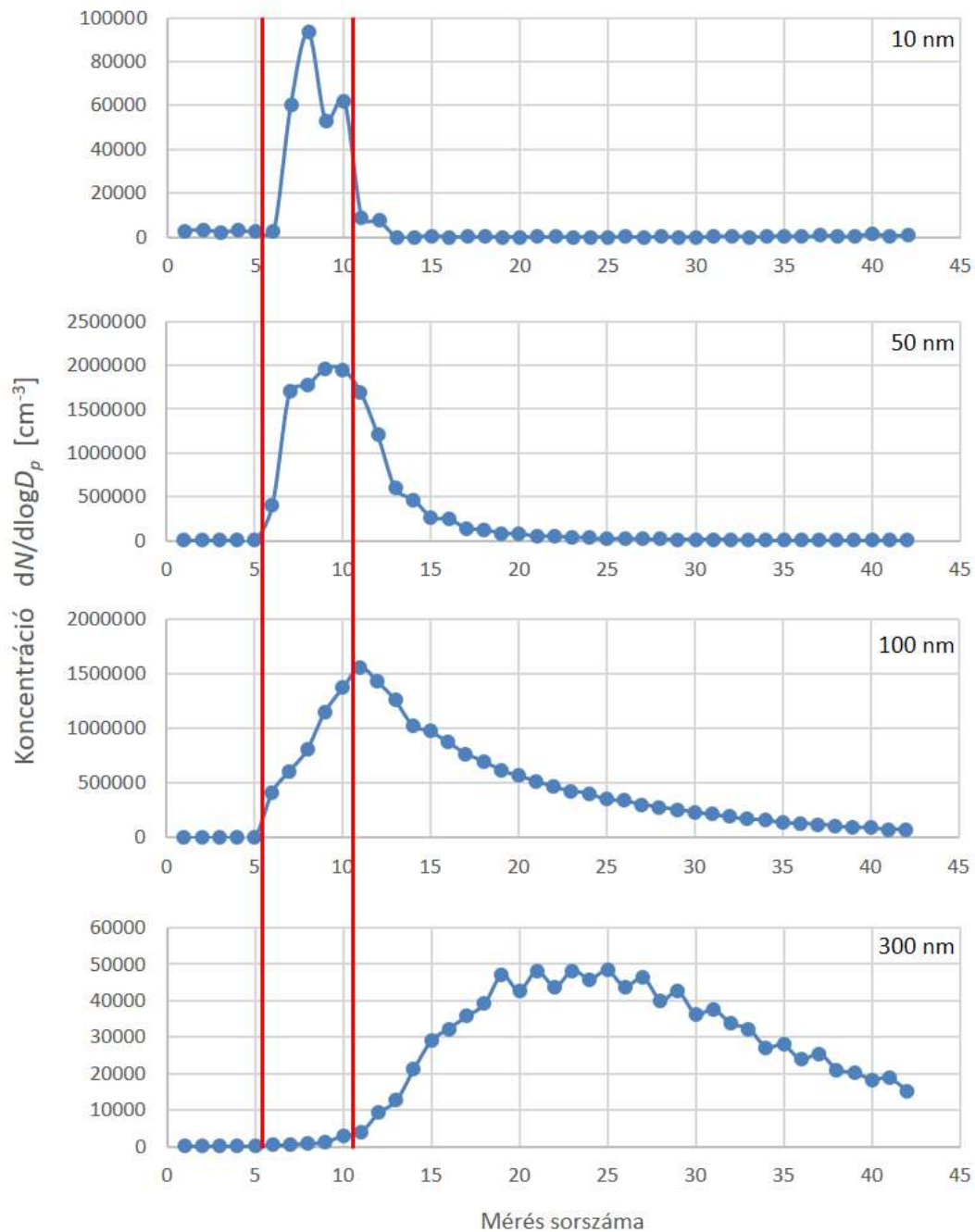


4.3. ábra A mintadarabok építése során az SMPS által mért koncentráció változása az eltelt idő és a részecskeméret függvényében. A koncentrációt a színek jelzik cm⁻³ egységben.

A 4.3. ábra különböző metszeteinek vizsgálatával részletesebben tanulmányoztam a méreteloszlás és a koncentráció változásait. Az építés alatt a koncentráció folyamatosan emelkedett, majd amikor a művelet befejeződött, csökkenésnek indult, és fokozatosan csengett le (4.5. ábra), miközben a méreteloszlás is változott. Az SMPS egyes méretcsatornáinak tanulmányozásával megfigyelhető a különböző méretfrakciók eltérő viselkedése (4.4. ábra). Látható, hogy a legkisebb, 10 nm körüli méretű részecskék gyakorlatilag csak az építési folyamat közben vannak jelen, míg 300 nm-es részecskék a folyamat befejezése előtt nem sokkal kezdenek összeállni.

Ezeknek a folyamatoknak a leírására egy egyszerű modellt alkalmaztam, amely figyelembe veszi a zárt térben végbemenő termikus koagulációt, valamint a részecskék kiüledését a különböző felületekre. A (4.4) egyenletbe behelyettesítve a koagulációs együtthatóra felírt (4.5) formulát, valamint az olvadékhő fölért mért 10^7 részecske/cm³ kezdeti koncentrációt, az adódik, hogy a kezdeti koncentráció 10 másodperc alatt a tized részére csökken, figyelembe véve a keletkező elsődleges részecskék egy 1,2-es geometriai szórású 10 nm-es átlagméretű eloszlását. A mintavételi ponton az építési folyamat leállásakor mérhető $6 \cdot 10^4$ részecske/cm³ kezdeti koncentráció 1/5-ére csökkent az SMPS egy mérési ciklusának megfelelő 4 perc alatt. Ez összhangban van a 4.4. ábra 10 nm-es méretcsatornát bemutató görbéjével.

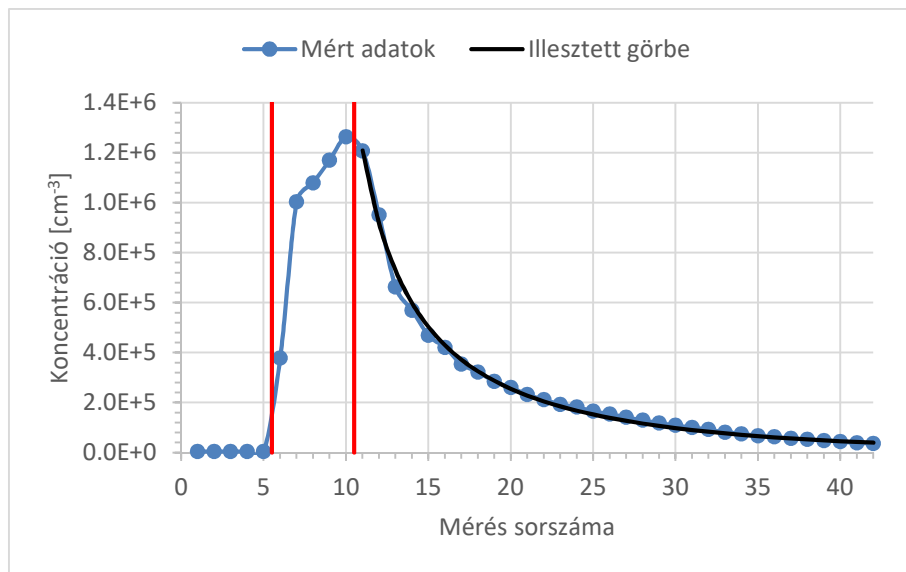
Amennyiben a kiinduló részecske populációnak az építési folyamat befejezésekor az SMPS által mért méreteloszlást és koncentrációt vesszük $N_0 = 1,21 \cdot 10^6$ cm⁻³; $D_g = 65$ nm; $\sigma_g = 1,6$, a (4.4) egyenletek segítségével felrajzolhatjuk a koncentráció időbeli csökkenésének várható görbéjét, melyet a mért adatokkal együtt a 4.5. ábra mutat be. A K koagulációs és a κ depozíciós rátákat a mért adatokra történt illesztéssel határoztam meg a következők szerint.



4.4. ábra Az SMPS által mért koncentráció időbeli változása egyes méretcsatornáknál.

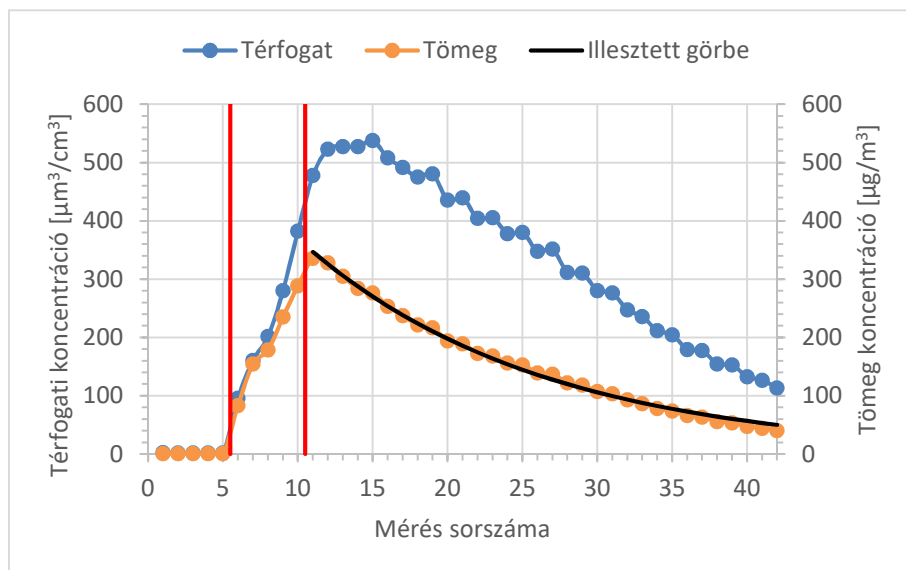
Mivel a zárt szobában a részecskék összömege nem függ a koagulációs folyamatoktól, csak a depozíciós rátától, ezért a κ értékét a tömegkoncentráció időbeli változásából határoztam meg az építés utáni szakaszra vonatkozó exponenciális illesztéssel. Ehhez először meghatároztam az SMPS által mért darabszám koncentrációkból minden egyes méretcsatornában a részecskék térfogatát, feltételezve, hogy azok gömb alakúak. Ezután a térfogati eloszlást felhasználva kiszámoltam az egyes méretcsatornáknál a tömegkoncentrációt a (4.8) egyenlet által leírt méretfüggő effektív sűrűség értékekkel (4.6. ábra), az illesztések eredményeként kapott $DF = 2$ fraktáldimenziót használva [159]. A számolások során $\rho_{eff,ref} = 8 \text{ g/cm}^3$ és $D_{eff,ref} = 10 \text{ nm}$ kezdeti értékeket használtam. A depozíciós együtthatóra ezek alapján $\kappa = 1,26 \cdot 10^{-4} \text{ 1/s}$

adódott, mely mind a darabszámra mind a tömegre vonatkozóan leírja a depozíciós veszteségeket. Ezt az értéket felhasználva a (4.4) egyenlet alapján végzett illesztéssel (4.5. ábra) a koagulációs együtthatóra $K = 8,5 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^3/\text{s}$ adódott.



4.5. ábra A koncentráció időbeli változása az építési folyamat alatt és a befejezése után a magára hagyott zárt helyiségben. A fekete vonal a (4.4) egyenlettel illesztett görbét mutatja, a kék jelölők pedig a mért adatokat.

Látható, hogy bár az alkalmazott modell jelentős egyszerűsítéseket tartalmaz, a segítségével reális fizikai paraméterekkel jó közelítéssel leírható a koncentráció időbeli változása a magára hagyott rendszerben. Mivel a koagulációs és depozíciós folyamatok hatására a méreteloszlás változik időben, az átlagméret növekszik, ezért a modell az effektív sűrűség méretfüggésén keresztül figyelembe veszi az átlagos sűrűség időbeli változását is.

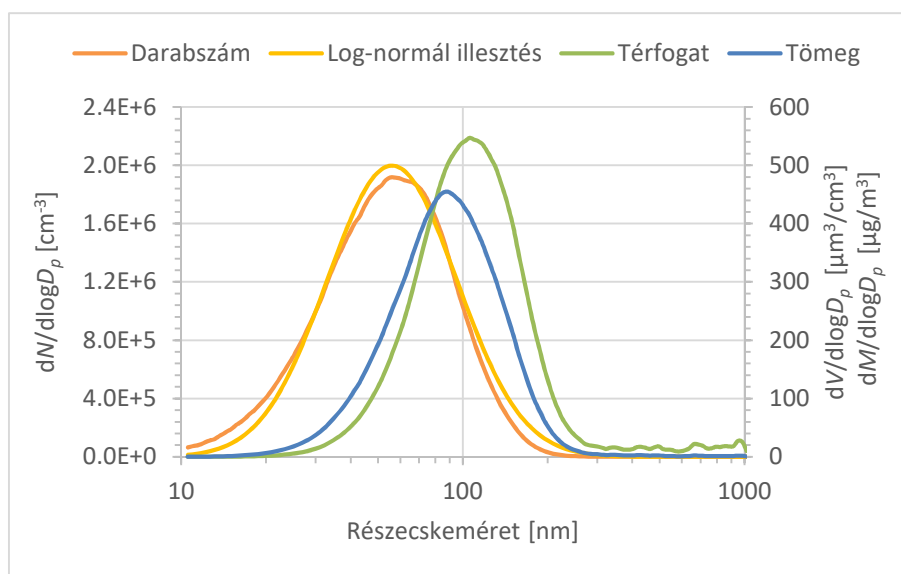


4.6. ábra A darabszám koncentrációból számolt térfogati koncentráció (kék jelölők), a mérettől függő effektív sűrűséggel számolt tömegkoncentráció (narancs jelölők) időbeli változása, és a lecsengési szakaszra illesztett elméleti görbe ((4.4) egyenlet – fekete vonal).

Az alkalmazott modellbe integrálható egy elszívó, és/vagy egy szűrőberendezés hatása is, amely így már alkalmas azok paramétereinek (légcseré sebessége, elszívás légárama, szűrési hatásfok stb.) becslésére különböző követelmények mellett. A modell ilyen kiterjesztésével azonban már numerikus módszerekkel kell megoldani az anyagmérleg egyenleteket.

Az új részecskék méreteloszlásának változása

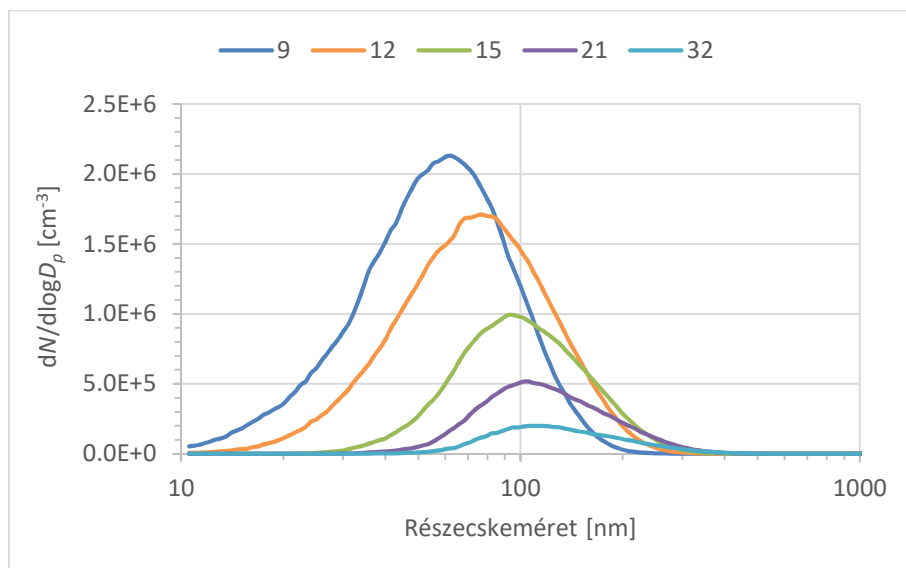
A helyiségben a fémnyomtatás előtt stabil részecskesokaság volt jelen. Mind a koncentráció, mind pedig a statisztikai mutatók (4.9. ábra) egy átlagérték körül ingadoztak kis szórással. Az építés megkezdésekor megjelenő nagyszámú részecske hatására a koncentráció többszörösére emelkedett, és az eloszlások statisztikai mutatói is megváltoztak.



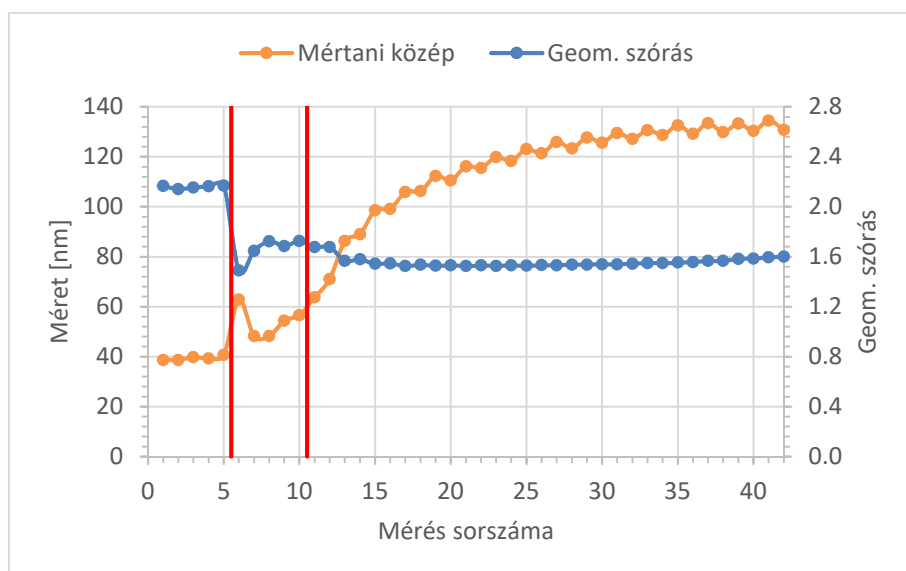
4.7. ábra Az Inconel 718 ötvözetből készült mintadarab építése alatt az SMPS által mért méreteloszlás a vizsgálatok előtt mért háttérrel korrigálva (narancs görbe), valamint az erre illesztett log-normál eloszlású görbe (világos narancs). A zöld görbe a darabszámból számolt térfogat szerinti eloszlást mutatja gömb alakú részecskéket feltételezve, míg a kék görbe a térfogati eloszlásból az effektív sűrűséggel számolt tömeg szerinti eloszlást mutatja.

A 4.3. ábra különböző vertikális metszetei adják meg az adott időpontban a mért méreteloszlást. A magas hőmérsékleten gőzfázisú magképződéssel keletkező, majd koagulációs folyamatokkal növekvő részecskék méreteloszlása tipikusan a log-normál eloszlást követi. Ez figyelhető meg a 3D fémnyomtatás során keletkező részecskék esetében is. Egy ilyen eloszlást mutat a 4.7. ábra, melyet a MetcoAdd 718 fémporral történő építés közben mértem. Látható, hogy a mért méreteloszlás jó közelítéssel illeszthető egy log-normál görbével, a szisztematikus eltérés pedig az átlagolási idő (a mintadarab építési ideje – 20 perc) alatt végbemenő változások következménye.

A méreteloszlás időbeli változása nyomon követhető a 4.8. ábra segítségével. Megfigyelhető, hogy míg az eloszlás jellege nem változik, a maximum helye eltolódik a nagyobb méretek felé, a koncentráció viszont csökken. Ez összhangban van a korábban leírtakkal. A 4.9. ábra mutatja a részecskesokaság mértani közepének (mediánjának) és a geometriai szórásának változását az időben. Ez utóbbi gyakorlatilag egy konstans értéket vesz fel az építés vége után.



4.8. ábra A méreteloszlás változása az idő függvényében. A görbékhez megadott számok a mérési ciklus sorszámát jelölik a korábbi ábrákkal összhangban. A 9-es mérés még az építés közben történt, a továbbiak pedig már utána.

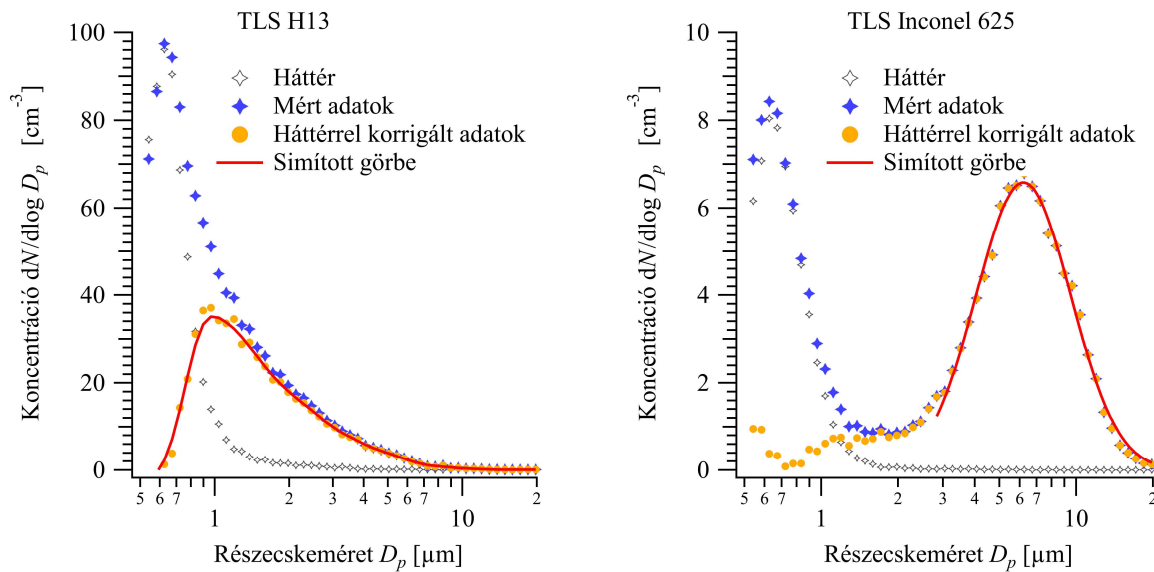


4.9. ábra A mérések során az adatok egyes statisztikai mutatóinak (mértani közép és geometriai szórás) változása. Az első 5 mérési ciklus a háttérmérés, az építés a 6. ciklus közben indult el (egy mérési ciklus 4 percig tart). Az építés megkezdésekor lejátszódó tranziens jelenségek hatása látható a 6. mérési ciklus kiugró adataiban. Az építés a 10. mérési ciklus közben állt le.

A méreteloszlás a mikronos tartományban

Az SMPS-sel végzett mérések mellett az aerodinamikai méretet mérő részecskeszámlálóval is felvettük a méreteloszlást 0,5 és 20 μm között 52 csatornában. Az ebben a tartományban kapott méreteloszlások nagyobb változatosságot mutattak, mint a szubmikronos méret tartományban. A 4.10. ábra két jelentősen eltérő eloszlást be. A TLS H13 fémpor használata során kirajzolódik egy módus 1 μm körül, melyet log-normál eloszlással közelítve egy újabb módus követ 2–3 μm

körül. Ezzel szemben, a TLS 625 por esetén 6 μm -nél rajzolódik ki egy markáns módus, melyet az előbbihez hasonló paraméterekkel rendelkező, de kisebb intenzitású csúcs előz meg.



4.10. ábra Az aerodinamikai méretet mérő részecskeszámlálóval felvett méreteloszlás kétféle fémporra. A kék csillag jelölővel jelzett mért adatokat korrigáltam a mérések előtt a szobában rögzített háttérrel (szürke jelölők).

Mivel a mért részecskék sűrűsége jóval nagyobb, mint 1 g/cm^3 , az APS által meghatározott mérethől kiindulva a valós aerodinamikai átmérő meghatározására elvégeztem a Stokes korrekciót, mely figyelembe veszi, hogy a műszerben a mérés nem stacionárius állapotban történik, hanem egy kb. 150 m/s-os áramlásban. Esetünkben az APS a kiindulási porok részecskemaradványait képes detektálni, míg az újonnan képződött részecskék aggregátumai a kimutatási határ alatt vannak. A szatellit részecskék SEM-felvételei alapján azok többnyire gömb alakúak. Mivel, mint a SEM-EDS mérésekből kiderült, összetételük nagyon hasonló a kiindulási anyagéhoz, így ésszerűnek tűnik a kiindulási anyaggal megegyező sűrűségük ($7,8 \text{ g/cm}^3$) feltételezése. A Stokes korrekció nélkül ezekkel a feltételezésekkel az APS enyhén, kevesebb mint 15%-kal túlméretezné ezeket a részecskéket.

A hatféle fémporral kapott eredmények összefoglalása

A fentiekhez hasonló eredményeket kaptam a többi fémporral történő mintakészítés közben is. Az összehasonlíthatóság kedvéért a mintakészítés első 4–5 mérési ciklusát átlagoltam, ami 16–20 perces időtartamot fed le. Ez az időtartam megfelel a korábban már említett $15 \cdot 15 \cdot 5 \text{ mm}^3$ -es kockák építési idejének. Ahol egymás után több ilyen téglatestet, vagy nagyobb objektumot nyomtattam, ott is az első 4–5 SMPS mérési ciklust átlagoltam. A 4.2. táblázat mutatja be az így meghatározott átlagkoncentrációkat és a méreteloszások statisztikai mutatóit több mintatest építésére vonatkozóan. A hibahatárok a különböző téglatestek építése során mért átlagok szórását mutatják. A táblázat adataiból megállapítható, hogy a különböző fémporok használatakor mért átlagkoncentráció egy 20%-os sávon belül mozgott, míg egyfajta fémpor használatakor 5% és 15% között volt a szórása.

4.2. táblázat A hatféle fémpor használata során a próbatestek építése közben mért átlagkoncentrációk és a felvett méreteloszlások statisztikai mutatói.

| | MA 718 | TLS 625 | MA H13 | TLS H13 | MA 15-5PH | TLS Ti6Al4V |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| Koncentráció · 10 ⁵ [cm ⁻³] | 9,85 ±1,66 | 8,15 ±0,71 | 9,83 ±0,76 | 9,72 ±0,56 | 8,63 ±0,46 | 8,79 ±0,67 |
| Átlag [µm] | 54,7 ±3,77 | 74,6 ±3,96 | 76,7 ±0,64 | 78,4 ±12,4 | 61,1 ±4,67 | 76,8 ±12,9 |
| Medián [µm] | 48,3 ±3,96 | 65,8 ±3,30 | 65,0 ±1,08 | 61,5 ±4,00 | 46,4 ±0,65 | 52,2 ±1,86 |
| Módusz [µm] | 54,6 ±6,01 | 73,1 ±4,67 | 66,4 ±3,9 | 64,6 ±2,18 | 46,4 ±6,04 | 51,1 ±5,93 |
| Mértani közép [µm] | 47,6 ±3,57 | 64,5 ±3,30 | 65,1 ±1,48 | 63,5 ±6,45 | 48,1 ±1,57 | 56,4 ±4,40 |
| Geom. szórás | 1,72 ±0,02 | 1,74 ±0,04 | 1,77 ±0,05 | 1,87 ±0,13 | 1,93 ±0,14 | 2,1 ±0,25 |

A méreteloszlásra vonatkozóan megállapíthatjuk, hogy a medián vagy mértani közép értékek 46,4 és 65,8 µm között változtak a különböző fémporokra, és egy fémponon belül a szórás 8% alatt maradt minden esetben. A kialakult eloszlások geometriai szórása pedig 1,72 és 2,1 között változott 10%-on belüli szórással. Ezek alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy a vizsgált fémporokkal történő nyomtatás során keletkező ultrafinom részecskesokaság az eltérő anyagi minőség mellett egymáshoz igen hasonló méreteloszlással rendelkezik, ami meghatározza az alkalmazott levegőszűrési módokat.

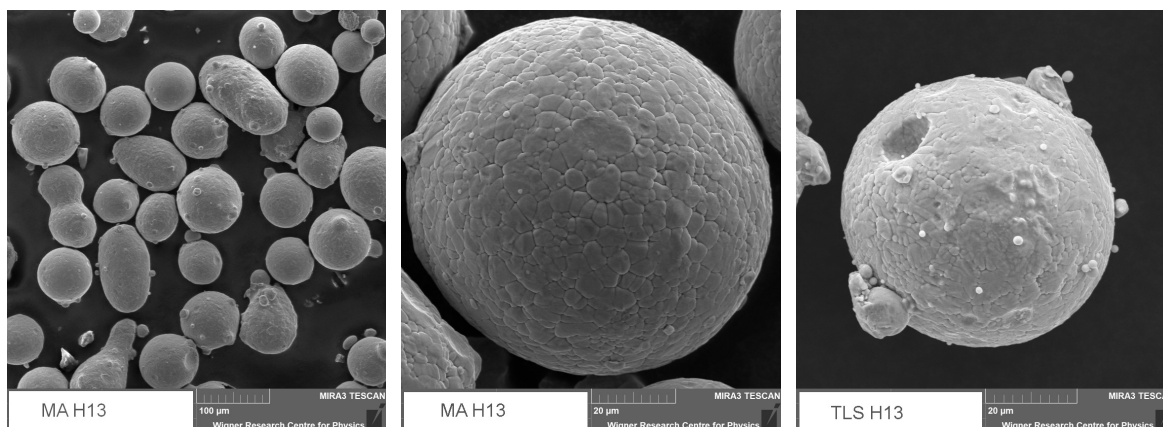
Az APS-sel végzett mérések esetén is a korábban leírtakhoz hasonló eredményeket kaptunk a többi fémporral is: a MA H13 por esetén a kapott eloszlás legtöbbször hasonlított a TLS H13 használatakor kapott eloszlásra, de jelen volt egy erőteljesebb módus 1 µm alatt, és előfordult, hogy megjelent 3 µm-nél is egy markánsabb módus, amely egyértelmű csúcsként jelent meg az eloszlásban; a MA 718 por esetén csak a 3 µm-es módus jelent meg, az is relatíve kis intenzitással; a MA 15-5PH por esetén kapott eloszlás nagyon hasonlított a TLS H13 porral kapott eloszláshoz, erősebb 3 µm-es módussal; a TLS Ti6Al4V porral kapott eloszlás gyakorlatilag a TLS H13 eloszlását követte. Bár ezekben a módusokban nagyságrendekkel kevesebb részecske volt jelen, a részecskék összterfogata vagy össztömege összemérhető volt az ultrafinom tartományban lévő módushoz tartozó részecskék térfogatával és tömegével.

A következőkben megvizsgálom a 3D fémnyomtatáshoz használt fémporok és az építés közben mintavételezett részecskék morfológiai tulajdonságait és elemösszetételét.

4.4.2. A részecskék morfológiája és elemi összetétele

A 3D fémnyomtatáshoz használt részecskék morfológiájának vizsgálata

A 3D fémnyomtatáshoz használt fémporok szemcseméretének és morfológiájának vizsgálatához pásztázó elektronmikroszkóppal készítettünk képeket, melyekre a 4.11. ábra mutat néhány példát. A részecskéket ragasztós szénszalagon helyeztük a SEM készülékbe, és különböző nagyítások mellett vizsgáltuk őket. Az így megállapított részecskeméretetek mindegyik fémpor esetén benne voltak a specifikációban rögzített 45–90 (105) µm-es mérettartományban. A részecskék alapvetően gömb alakúak voltak, de előfordultak elnyújtott ellipszoid vagy hengeres, és néha szabálytalanabb formák is.



4.11. ábra A 3D fémnyomtatáshoz használt H13 fémporokról készített elektronmikroszkópos felvételek különböző nagyítás mellett.

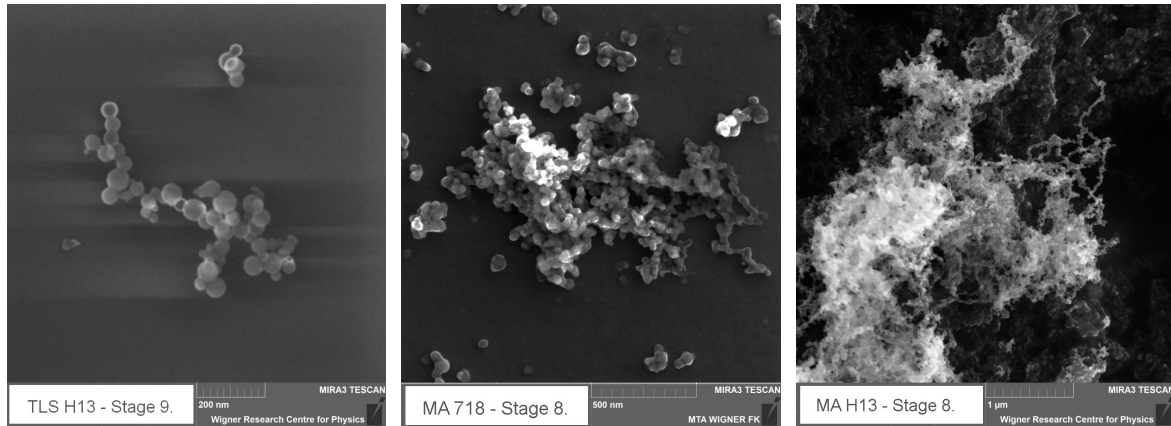
Az irreguláris részecskék mellett gömb alakú részecskéken is megfigyelhetők szabálytalan héjszerű rétegek vagy egyéb hozzátapadt részek, melyek valószínűleg a gázporlasztásos gyártási folyamat során jöttek létre [160], [161].

A felvételek alapján a részecskék túlnyomó többsége tömör volt, csak elvétve fordult elő üreges képződmény. Az EDS elemanalízis során megállapítottuk, hogy azonos fémponon belül a különböző morfológiájú szemcsék összetétele között nincs különbség. Viszont ezek a szabálytalanabb formák befolyásolják a részecskék áramlási tulajdonságait, ezáltal csökkentik a beépülés hatékonyságát, növelik az anyagvesztést, valamint hatással vannak az épített minta tömörségére és porozitására is [162]–[166].

Egyes fémporokat vizsgálva megfigyeltük, hogy a 45–90 μm-es részecskék mellett kisebb méretű másodlagos részecskék is jelen voltak a felvételeken. A TLS 625 por esetében a nagyobb részecskékhez lazán kötődő vagy különálló néhány mikrométer méretű részecskéket figyelhetünk meg. A TLS H13-as por esetében pedig a nagyobb részecskékhez jobban kötődő részben beágyazott részecskék láthatók a felvételeken. Ezek a másodlagos részecskék megfigyelhetők az impaktorlemezokről készült elektronmikroszkópos felvételeken is, melyekre mintakészítés közben gyűjtöttünk méretfrakcionált aeroszol mintát a fémnyomtatás környezetéből. Az EDS elemanalízis kimutatta, hogy ezeknek a másodlagos ún. szatellit részecskéknek az elem összetétele nagyon hasonló volt az eredeti fémporok összetételével.

A 3D fémnyomtatás során keletkező részecskék morfológiájának vizsgálata

A fémnyomtatás közben keletkező részecskéket szilícium és szén hordozókra gyűjtöttük egy kilencfokozatú kaszkádimpaktorral. A hordozókról készült tipikus SEM felvételeket mutatja a 4.12. ábra. A felvételeken megfigyelhetők 10–20 nm körüli méretű egyedi részecskék, valamint ezekből összeállt aggregátumok/agglomerátumok is. Az egyedi részecskék mérete jóval az impaktor alsó mérethatára (70 nm) alatt van, azok valószínűleg a felfogólemezsre ütközéskor váltak le a nagyobb agglomerátumokról. Az impaktor magasabb fokozatszámához tartozó felfogólemezszen a kisebb méretű részecskék szálas szerkezetű, felhőszerű képződménnyé álltak össze, így a begyűjtött részecskék morfológiája és mérete nehezen rekonstruálható.

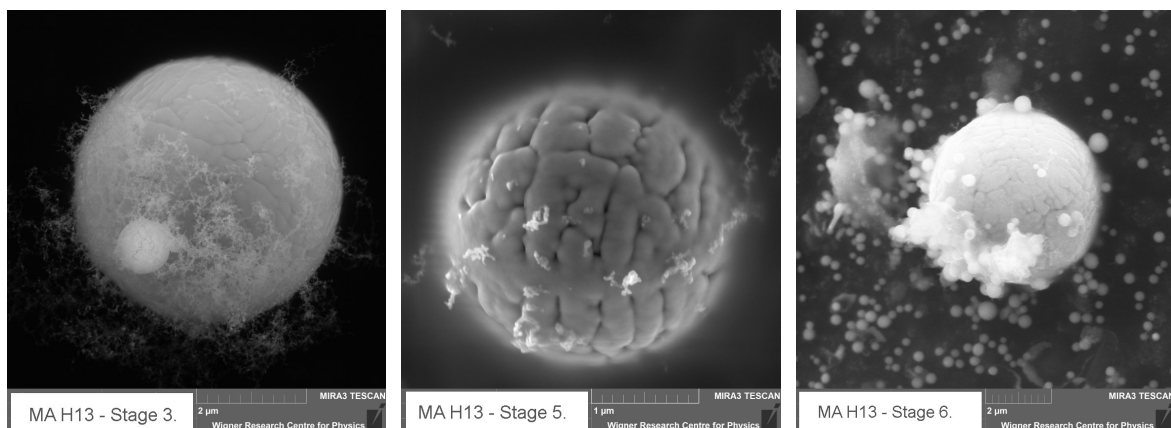


4.12. ábra A 3D fémnyomatás közben keletkező részecskékről készített elektronmikroszkópos felvételek.

Az impaktorlemezek központi sávjától távolabbi részecskékről készült felvételek viszont alátámasztják azt a megfigyelést, hogy a képződött részecskék viszonylag laza szerkezetű agglomerátumokká állnak össze, amit jól jellemez a fraktáldimenzióra adott $DF = 2$ -es becslés. Az alacsonyabb fokozatszámú lemezekről készült felvételek alapján a meghatározható részecskeméreték összhangban voltak a fokozatok névleges mérettartományával, figyelembe véve az agglomerátumok/aggregátumok effektív sűrűségének méretfüggését. Az alacsonyabb nagyítású felvételeken megfigyelhető volt, hogy a legkisebb méretű részecskékből volt a legtöbb, ami összhangban van az SMPS által mért méreteloszlással.

Szatellit részecskék

A felfogólemezekon megfigyelhetők még a korábban már említett, a méreteloszlásokban is megjelenő másodlagos részecskék is (4.13. ábra). Ezek összetétele többnyire megegyezik az eredeti por összetételével, ami megerősíti azt a feltételezést, hogy nem újonnan létrejött részecskékről van szó, hanem az eredeti porokban megfigyelt részecskék ezek, melyek vagy a poradagolóban, vagy pedig a lézertérrel történő interakció során váltak le az elsődleges fémötvözet részecskékről.



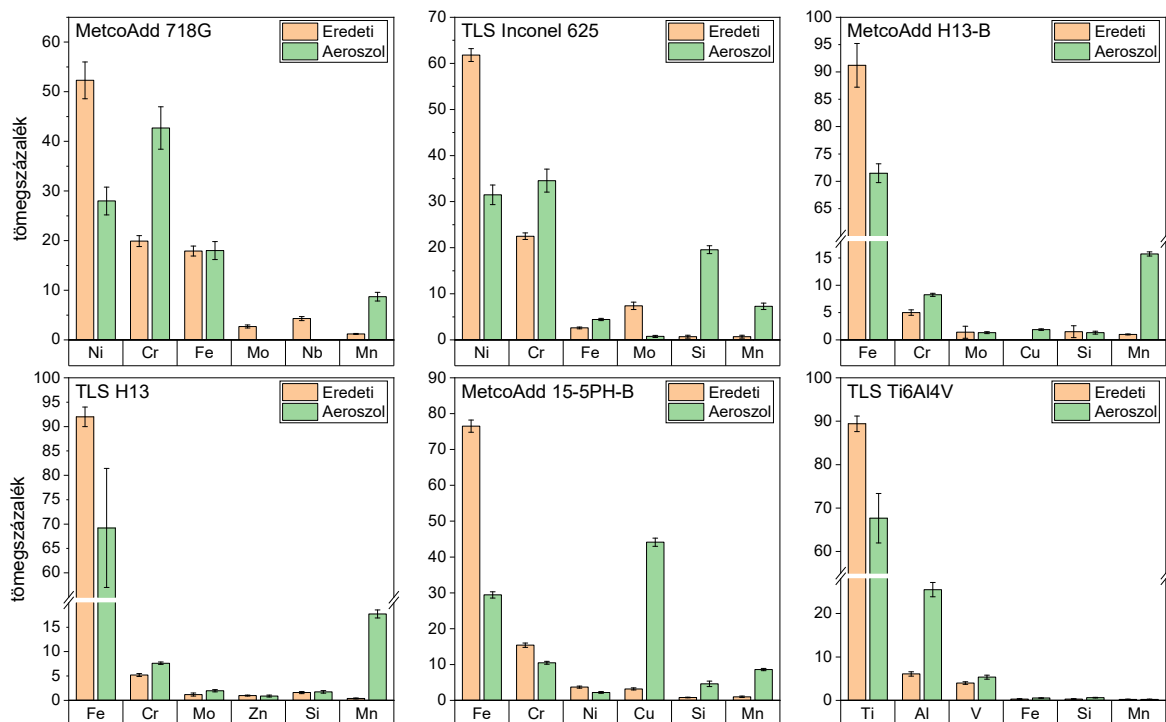
4.13. ábra A 3D fémnyomatás közben az impaktorlemezre kiülepedett szatellit részecskékről készített elektronmikroszkópos felvételek.

Ezek a felvételeken megfigyelhető egy további részecsketípus is (4.13. ábra jobboldali kép), melyek mérete a 100–300 nm-es tartományba esik, és tömör gömbalak jellemzi őket. Ezek a részecskék valószínűleg akkor keletkeznek, amikor a nagyobb részecskék megolvadnak a lézersugáron áthaladva, vagy amikor becsapódnak a megolvadt fémbe és a kifröccsenő fém megszilárdul. A nanorészecskékből álló laza szerkezetű agglomerátumok ezeken a felvételeken is megfigyelhetők.

Az eredeti fémpor és az új részecskék elemi összetétele

Az elemanalízis célja az eredeti és az újonnan keletkező részecskék elemi összetételének meghatározása volt. Az eredeti fémporok és az impaktorlemezeken összegyűjtött részecskék elemi összetételét SEM/EDS technikával határoztuk meg.

Az eredeti fémporok esetében a kimutatott elemi összetétel jól egyezik a gyártó által megadott névleges adatokkal. Mivel az impaktorról gyűjtött minták esetében a részecskék túlnyomó része a legkisebb mérettartományt gyűjtő, legmagasabb számú impaktorfokozatra került, ezért ennek a tartománynak az adatait hasonlítom össze a kiinduló értékekkel. Ezeket az eredményeket foglalja össze a 4.14. ábra. Látható, hogy az újonnan keletkező részecskék összetétele eltér a kiinduló anyag elemi összetételétől. Bizonyos elemek feldúsulnak az aeroszol mintákban, míg a többi komponens részaránya csökken. A különböző fémek aeroszolban való feldúsulásának lehetséges magyarázata a kiindulási porhoz képest az elemek eltérő gőznyomása nyomán kialakuló illékonyágbeli különbségekre vezethető vissza.



4.14. ábra Az eredeti fémporok és a 3D fémnyomtatás közben képződő aeroszol részecskék elemösszetételének összehasonlítása. (Az ábrákon csak a jelentősebb összetevőket tüntettem fel.)

Például a MA 718 nikkel alapú szuperötvözet esetében, a fémnyomtatásra jellemző magas (> 1200 °C) hőmérsékleten, a króm gőznyomása egy nagyságrenddel, a mangáné pedig öt

nagyságrenddel nagyobb, mint a nikkelé. Ahogy az intenzív lézersugár megolvasztja a munkadarabot és a fémrészecskéket először a Mn, majd a Cr és végül a Ni párolog el. Ennek megfelelően az újonnan keletkezett ultrafinom részecskék nagyobb koncentrációban tartalmazznak Mn-t és Cr-t, mint az eredeti ötvözet [167].

A teljes és a méret szerint fracionált aeroszolmintákban a kiválasztott fémek oxidációs állapotának meghatározását az Elettra szinkrotron sugárzási létesítményben (Trieszt, Olaszország) végeztük röntgenabszorpciós élközeli struktúra (XANES) spektrumok analizálásával. A XANES-eredmények azt mutatták, hogy az ultrafinom aeroszolfrakcióban a Mn dúsult fel leginkább, és egyben a legjobban oxidálódott is. A Cr is jelentősen oxidálódott, de a különösen rákkeltő hatású Cr^{6+} jelenlétét ki lehetett zárni. A fémek sorrendje a formális oxidációs szám alapján a következő volt: $\text{Mn} > \text{Cr} > \text{Fe} > \text{Ni}$, és ez a sorrend az említett fémek illékonyága szempontjából is releváns. [167]

Az ultrafinom aeroszolfrakcióban a feldúsulás tendenciája megegyezik az oxidációéval. Minél illékonyabb egy komponens, annál jobban feldúsul a képződött aeroszolfrakcióban. Ugyanakkor az illékonyág miatt annál nagyobb a porlasztási aránya, ami hatékony reaktivitást biztosít a környező gázokkal. Az oxidáció a hatékony porlasztásnak köszönhető, ami az illékonyág következménye. Ez közvetett bizonyíték arra, hogy a kis részecskék nem a nagy részecskékből származó felesleges anyag egyszerű eltávolításával alakulnak ki, hanem egy párolgás-csapadék képződési mechanizmus révén. [167]

Ezek alapján tehát a 4.14. ábra egyik tanulsága, hogy az építési folyamat során keletkező új részecskék elemösszetételében megváltozik a komponensek aránya az eredeti poréhoz képest, amit figyelembe kell venni az egészségügyi hatások elemzésénél is.

4.4.3. Az egészségügyi hatások és a folyamatra gyakorolt hatások elemzése

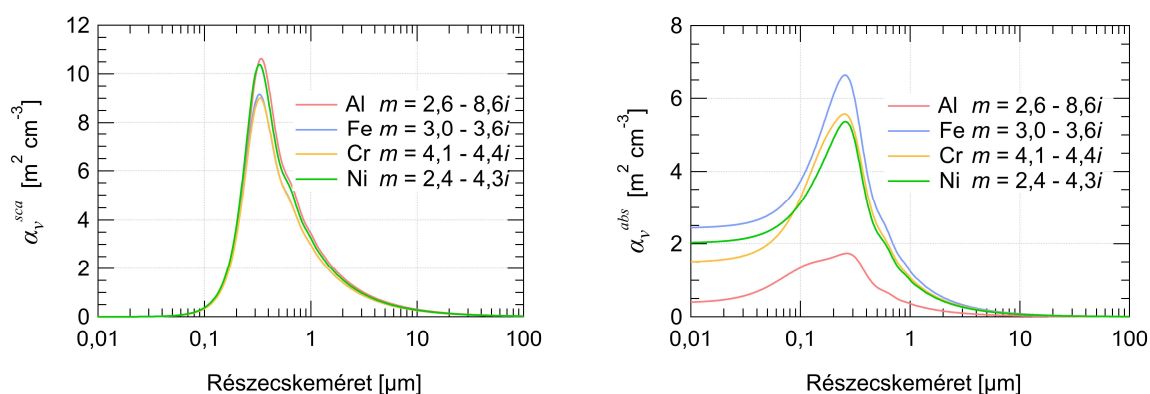
Egészségügyi hatások

Az egészségügyi hatások elemzését a MetcoAdd 718G nikkell ötvözetre végeztük el. Erre az ötvözetre a felszabaduló aeroszol részecskék kémiai összetételét jelentős mennyiségű Fe, Cr, Mn és Ni jellemzi, ahol a Ni, Cr és Mn toxikus fémek [168]–[170]. Az ultrafinom fénoxid-részecskék fontos jellemzője a Mn-dúsulás, amely nagy mennyiségükkel együtt a csökkenő részecskeméret függvényében növeli a toxikus potenciáljukat. A mért Mn-koncentráció értéke 26 és $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ között volt, ami eléri az Európai Közösségben a belélegezhető frakcióra vonatkozó foglalkozás-egészségügyi határértéket ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$) erre az elemre [171]. Néhány országban, például Németországban még ennél is szigorúbb határértéket alkalmaznak erre a frakcióra, nevezetesen $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ -t. Ez a fém károsíthatja a központi idegrendszert, és neuropszichiátriai zavarokat okozhat [168]. Több tanulmány [172], [173] szerint a Ni fém formában nem tekinthető potenciálisan rákkeltő komponensnek. Mivel a Ni 96%-a fémes formában volt megtalálható, így a súlyos egészségügyi hatásai kizárhatók. Néhány európai ország rendelkezik a Ni foglalkozási expozíciós határértékeire vonatkozó szabályozással, de nincs egységes szabályozás. Néhány országban például a belélegezhető frakcióra vonatkozó jelenlegi határérték $30 \mu\text{g}/\text{m}^3$, amelyet a kibocsátott aeroszolban mért Ni-koncentrációk meghaladnak.

A mintákban nem mutattunk ki Cr^{6+} -t, amely ennek a fémnek a legmérgezőbb és rákkeltőbb formája. A teljes Cr-koncentráció 134 és 179 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ között változott. Az erre az összetevőre vonatkozó foglalkozás-egészségügyi határérték 2 mg/m^3 8 órára a belélegezhető frakcióban [174]. Bár a mért koncentráció egy nagyságrenddel alacsonyabb a határértéknél, figyelembe kell venni, hogy a kibocsátott részecskék túlnyomó többsége a belélegezhető frakcióban volt, amelyre a határértékek általában szigorúbbak, ha rendelkezésre állnak. A Ni koncentrációja meghaladta, míg a Cr és Mn koncentrációja a jelenleg érvényes határértékek közelében vagy azok alatt volt; ezért a gép kezelőinek erősen ajánlott a megfelelő védőfelszerelés viselése és az elszívó berendezés használata. Az Európai Közösség számára új ajánlások születtek a belélegezhető aeroszolfrakcióban lévő potenciálisan toxikus fémvegyületekre vonatkozó foglalkozás-egészségügyi határértékek csökkentésére vagy meghatározására [175].

Az építési folyamatra gyakorolt hatások

Az energiaforrás teljesítménystabilitása fontos tényező az additív gyártási folyamatokban. A fém megolvasztására jutó lézerteljesítményt az alkalmazott lézerforrás teljesítménye és nyalábformálása mellett jelentősen befolyásolják a felületről történő visszaverődések, valamint a poráramban haladó szemcsékről történő visszaverődés, szórás és elnyelés is [147]. Ezek mellett a teljesítmény stabilitását a keletkező ultrafinom részecskék is befolyásolják [142]. Vizsgálataim során az új részecskék mérete többnyire 100 nm alatt, a részecskeképződés közelében mért koncentrációja pedig 10^7 részecske/ cm^3 fölött volt. Mivel ezek a nanoméretű fémrészecskék elnyelhetik vagy szórhatják a lézersugárzást, ez befolyásolja a sugárfókuszálás minőségét és a felületre érkező lézersugárzás időbeli teljesítménystabilitását. A 2.1 fejezetben leírtakhoz hasonlóan jellemezhető a részecskék szórása és elnyelése a térfogati szórási és abszorpciós hatásfokokkal. A 3D fémnyomatóban használt 1070 nm-es hullámhosszra kiszámoltam a fenti két térfogati hatásfok mennyiségét a részecskeméret függvényében különböző fémekre (4.15. ábra), melyekre vonatkozóan a törésmutatót irodalmi adatokból becsültem meg [176].



4.15. ábra A (2.1) képlettel számolt szórási és abszorpciós térfogati hatásfokok a méret függvényében néhány kiválasztott fém részecskére, melyek törésmutatóját irodalmi adatok alapján becsültem meg [176].

A fenti ábrán is látható, hogy ezen a hullámhosszon a 0,2–2 μm -es részecskék a legaktívabbak a fényszórás tekintetében. Az abszorpcióra vonatkozóan viszont az egész szubmikronos tartomány aktív egy kiemelkedő csúccsal 0,1 és 1 μm között. A 4.7. ábra alapján éppen ez a

tartomány tartalmazza a legnagyobb térfogatot a részecskék tekintetében, ami megerősíti, hogy mind a fényszórásnak, mind pedig az elnyelésnek nem elhanyagolható a szerepe az építés minőségét befolyásoló tényezők között.

4.5. Összegzés

A 3D fémnyomtatás közben fellépő intenzív lézerfény-fém kölcsönhatás során gőzfázisú magképződéssel aeroszol részecskék keletkeznek. Mintakészítés közben meghatároztam a nyomtatás során felszabaduló részecskék méreteloszlását, szám- és tömeg-koncentrációját kétféle méreteloszlásmérő műszerrel. Ezek mellett kaszkádimpaktorról mintát gyűjtöttünk a keletkezett aeroszorból, és analizáltuk a részecskék morfológiai tulajdonságait, valamint energiadiszperzív spektroszkópiai módszerekkel meghatároztuk a részecskék elemi összetételét különböző méretfrakcióban.

Az SMPS-sel végzett mérések azt mutatták, hogy a részecskék többsége az ultrafinom tartományba esett (100 nm alatti mérettel). Megállapítottam, hogy a nyomtatás közben kialakult részecskesokaság koncentrációja és jellemző statisztikai mutatói egy viszonylag szűk sávban mozognak, kevéssé függenek a felhasznált fém por anyagi minőségétől.

Egy egyszerű, a termikus koaguláció és a kiülepedés hatását magában foglaló analitikai modellel leírtam a koncentráció időbeli változását az építések után.

Megállapítottam, hogy az újonnan keletkezett ultrafinom aeroszol részecskék mellett sok esetben kimutatható egy a finom vagy a mikronos tartományba eső aeroszol módus is. Ezek a részecskék vagy közvetlenül az olvadt fémből keletkeztek, vagy már eleve jelen voltak a fém porban, és vagy a poradagolóban, vagy pedig a lézerinterakció során váltak le a hordozó porszemcsékről. Bár ezen részecskék koncentrációja lényegesen kisebb a keletkező ultrafinom részecskék koncentrációjánál, azzal összehasonlítható tömeget képviselnek, ezért ezeket is figyelembe kell venni az egészségügyi hatások vizsgálatánál, és az építési folyamatra gyakorolt hatásuk sem elhanyagolható.

A morfológiai vizsgálatok megerősítették, hogy az újonnan keletkezett részecskék 10 nm körüli méretű, gömb alakú elsődleges részecskékből összeállt aggregátumok illetve agglomerátumok, melyek koaguláció útján növekednek az idővel. Az aeroszol minták tartalmaztak nagyobb méretű (0,2–10 μm) gömb alakú részecskéket is melyek összetétele jó közelítéssel megegyezett a kiinduló por összetételével.

Megállapítottuk, hogy a keletkezett részecskék elemösszetétele megváltozott a kiindulási anyagéhoz képest. Minél illékonyabb egy komponens, annál jobban feldúsul a képződött aeroszolban. Például a nikkellel alapú ötvözetek esetében az aeroszolban mért Ni-Cr arány megfordult az eredeti fém porhoz képest, és bár a Mn mennyisége az eredeti kiindulási porban a kimutatási határérték körül vagy az alatt volt, a lézerrel történő interakció során jelentős mennyiség szabadult fel.

Az újonnan képződött nanoméretű fémrészecskék potenciálisan mérgező és/vagy rákkeltő hatásúak, ami felveti a megfelelő elszívó eszközök és egyéni védőfelszerelések alkalmazásának szükségességét.

5. MOLEKULÁRIS RENDSZEREK FLUORESZCENCIAMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA

Az előző fejezetekben olyan diszperz rendszereket vizsgáltam, ahol a diszperziós közeg a levegő volt, a benne eloszlott részecskék mérete pedig a nanométerestől a néhányszor tíz mikrométeres tartományig terjedt. A fényszórás jelensége kézenfekvő módszereket kínált tanulmányozásukra, tulajdonságaik kvantitatív és kvalitatív meghatározására.

Ebben a fejezetben olyan diszperz rendszereket vizsgállok, ahol a folyadék közegben diszpergált részecskéket molekulák alkotják, melyek mérete a szubnanométeres tartományba esik. Az ezekhez a vizsgálatokhoz használt mikroszkópos rendszerek esetén a mérési térfogat mérete összemérhető a mikrométeres aeroszol részecskék méretével. A fluoreszcencia jelensége számos mérési módszer alapjául szolgál a molekuláris diszperz rendszerek vizsgálatai során.

5.1. Tudományos előzmények

A fluoreszcencia a fény-anyag kölcsönhatás egy formája, ahol egy kristály vagy molekula és egy foton kölcsönhatása során a foton átadja energiáját a molekulának vagy kristálynak, így az gerjesztett állapotba kerül, majd egy karakterisztikus idő elteltével, különböző állapotokon átmenve, egy új foton kibocsátva relaxálódik. Az újonnan keletkező foton tulajdonságai (energiája, iránya stb.) eltérnek a beeső fotonétól, melyeket egyrésztől a gerjesztő foton, másrésztől a gerjesztett molekula tulajdonságai határoznak meg. Ily módon a fluoreszcencia alkalmas molekuláris rendszerek vizsgálatára, mert jelentős információt hordoz a molekula tulajdonságairól, kölcsönhatásairól, környezetével való kapcsolatáról.

A fluoreszcenciamikroszkóp egy olyan berendezés, amely a vizsgált mintának a megvilágító fény által indukált emisszióját képezi le, így szelektíven láthatóvá teszi annak fluoreszcens részét. A technikát széles körben használják biológiai minták, élő sejtek megfigyelésére, a bennük zajló folyamatok nagy térbeli és időbeli felbontású vizsgálatára. Segítségével meghatározható a megvilágított térrészben lévő fluoreszcens molekulák száma, illetve annak változása a Brown-mozgás, fotofizikai folyamatok vagy kémiai átalakulások hatására. Ezek vizsgálatára számos, a fluoreszcenciaintenzitás fluktuációjának statisztikai feldolgozásán alapuló technikát dolgoztak ki, mint például a fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia, vagy a fotoneloszlás hisztogramok és az intenzitásfluktuációk vizsgálatán alapuló eljárások. A mért adatok értelmezéséhez, feldolgozásához szükséges a fluktuációkat létrehozó fizikai folyamatok ismerete, valamint elengedhetetlen az optikailag meghatározott mérési térfogat alakjának és méretének pontos meghatározása is. A mérési térfogat leírására leggyakrabban a 3 dimenziós Gauss (3DG) vagy a Gauss-Lorentz (GL) profilt alkalmazzák. Bár sok esetben kielégítő eredmény kapható ezek alkalmazásával, azonban nem veszik figyelembe, hogy a mérési térfogatot jelentősen módosíthatják a fluoreszcenciagerjesztés fotofizikai tulajdonságai. Például, a gerjesztési szaturáció hatására nagyobb és laposabb lesz a mérési térfogat térbeli profilja, a sugárzásmentes átmenetek (pl. foto-elhalványulás) során csökken a fluoreszkáló molekulák száma, stb.

5.1.1. A molekuláris rendszerben végbemenő diffúzió

Egy diszperz molekuláris rendszerben a térbeli koncentrációkülönbségek transzport folyamatokat indukálnak a koncentrációgradiensek mentén, a magasabb koncentrációjú helyekről az alacsonyabb koncentrációjú helyek felé. Vizsgálataink során a továbbiakban csak a molekulák mikroszkopikus mozgásával foglalkozunk, és feltételezzük, hogy a rendszer vagy makroszkopikus részei nincsenek mozgásban (nem lép fel konvekció, keveredés, áramlások stb.). Amennyiben a lokális koncentráció időbeli változása pusztán a molekulák diffúziójával van összefüggésben, az felírható a diffúziós egyenlet segítségével:

$$\frac{\partial}{\partial t} \delta C(\mathbf{r}, t) = D \nabla^2 \delta C(\mathbf{r}, t), \quad (5.1)$$

ahol $\delta C(\mathbf{r}, t)$ a koncentrációfluktuáció adott helyen, és D a diffúziós együttható. A fluoreszcenciamikroszkópokkal elérhető kis térfogatokra (femtoliteres nagyságrend) a diffúziós egyenlet megoldása az alábbi alakban írható fel:

$$\delta C(\mathbf{r}, t) = \frac{\langle C \rangle}{(4\pi Dt)^{3/2}} e^{-\frac{|\mathbf{r}|^2}{4Dt}}, \quad (5.2)$$

ahol $\langle C \rangle$ az átlagkoncentráció. A D diffúziós együtthatót folyadékokban a Stokes-Einstein egyenlet adja meg gömb alakú részecskékre:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R}, \quad (5.3)$$

ahol k a Boltzmann állandó, T az abszolút hőmérséklet, η az oldat dinamikus viszkozitása, R a részecske sugara. Fluoreszcens molekulák diffúziós tulajdonságainak vizsgálatára alkalmas például a fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia. Segítségével nyomon követhetők kémiai átalakulások, sejtbiológiai folyamatok, stb.

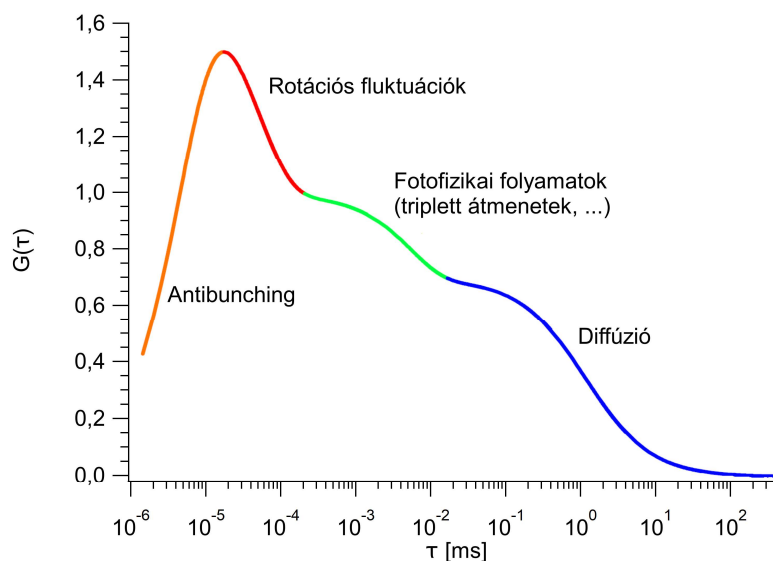
5.1.2. A fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópia

A fluoreszcenciamikroszkópos rendszerekben alkalmazott korrelációs technika, már néhány évtizede rutinszerűen alkalmazott érzékeny eszköz molekuláris folyamatok tanulmányozására [177]–[184]. A méréseket konfokális vagy kétfotonmikroszkópos elrendezéssel végzik, ahol a mérési térfogatot az alkalmazott optika határozza meg [185]–[188]. A nagy nagyítású (50–100 szoros) és nagy numerikus apertúrájú (> 1) objektívekkel elért mérési térfogat mérete a femtoliteres, egydimenziós mérete pedig a mikrométeres tartományba esik. Ezen térfogatban a kibocsátott átlagos fluoreszcencia mellett a vizsgálat tárgya a különböző diffúziós, kémiai és fotofizikai folyamatok által keltett fluoreszcenciafluktuációk. A fluoreszcenciaintenzitás-fluktuációkból meghatározható például a lokális koncentráció, mobilitási paraméterek (diffúziós állandó) vagy a molekulákon belüli és molekulák közti kölcsönhatások karakterisztikus időállandói molekuláris koncentrációk mellett.

A mért fluoreszcenciafluktuáció adatokból a diffúziós együttható vagy a koncentráció meghatározásához szükség van az ezeket meghatározó fizikai folyamatok, valamint a mérési térfogat méretének és alakjának pontos leírására. Fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópiái

vizsgálatokkor a mérési térfogat leírására leggyakrabban használt modell a 3 dimenziós Gauss profilt (3DG) alkalmazza, mind egy-, mind kétfotonos mérések esetén. Habár ez nem a legpontosabb modell az érzékelő térfogat leírására, sok esetben megfelelő eredményt szolgáltat a mérések kiértékelése során [186], [189]. Nagyobb megvilágító intenzitások esetén azonban a különböző fotofizikai folyamatok már jelentős szerepet játszanak az érzékelő térfogat méretének és alakjának alakításában, így az egyszerűbb mérési térfogatok (3DG, GL) alkalmazó modellek már nem adnak kielégítő eredményt. Például, a gerjesztési szaturáció jelensége jelentősen megváltoztatja a mérési térfogat méretét és alakját. Ez a jelenség a fókuszált levilágító lézereket és nagy numerikus apertúrájú objektíveket használó mikroszkópos berendezések esetén már viszonylag kis gerjesztő teljesítmények mellett is fellép. A szaturáció hatására különböző fluoreszcens molekulák esetén eltérő mértékben módosul az érzékelő térfogat, mert a szaturáció foka nem csak a gerjesztő intenzitástól, hanem az adott molekula abszorpciós keresztmetszetétől és a fluoreszcencia-élettartamtól is függ.

Amennyiben a gerjesztési szaturáció hatását nem vesszük figyelembe az adatok kiértékelésénél, szisztematikus hibát követhetünk el, ami nem csak limitálja a módszer alkalmazhatóságát, de meghamisíthatja a mérések eredményeit is. Ennek kiküszöbölésére bemutatunk egy kvantitatív modellt, amely figyelembe veszi a szaturáció által módosított mérési térfogat hatását a kapott eredményekre.



5.1. ábra A korrelációs görbét meghatározó folyamatok [190].

A korrelációs függvényt különböző időskálán különböző folyamatok határozzák meg (5.1. ábra) [190]. A fluoreszcenciakorrelációs technikával monitorozható leggyorsabb folyamat a fluoreszcencia jelensége maga. A korrelációs görbe adott τ késleltetési időhöz tartozó értéke annak az eseménynek a valószínűségével arányos, hogy az adott τ időpillanatban fotonemisszió történik, feltéve, hogy a $\tau = 0$ időpillanatban fotonkibocsátás történt. Fotonabszorpció után a molekula egy rá jellemző ideig (fluoreszcencia-élettartam) gerjesztett állapotban marad, ami alatt nem nyel el és nem bocsát ki fotont. Az ezen időintervallumban detektált fotonokat nem ez a molekula bocsátja ki, így ezen események függetlennek tekinthetők, nem korrelálnak, tehát a korrelációs görbe értéke nullához tart. Ez az antibunching-nak is nevezett jelenség a

fluoreszcencia-élettartam körüli időintervallumban határozza meg a görbe felfutását (10^{-9} – 10^{-8} s).

A korrelációs görbe következő szakaszát a polarizációfüggő rotációs Brown-diffúzió határozza meg, mely a molekulák fotonabszorpciós és fotonemissziós képességének polarizáció függésének következménye (10^{-8} – 10^{-7} s).

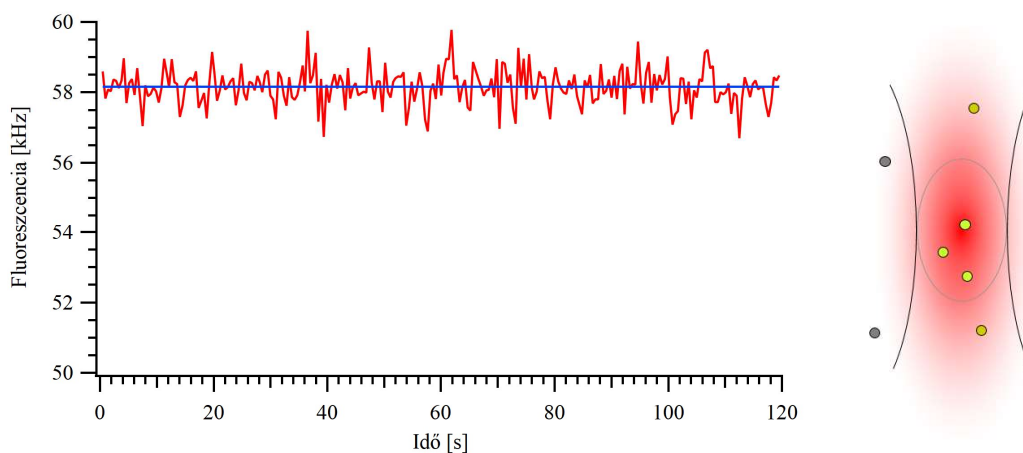
A korrelációs görbe 10^{-7} – 10^{-5} s közötti szakaszát különböző fotofizikai folyamatok határozzák meg, például a szingulett és triplett állapotok közötti átmenetek, melyek következményeként a molekula végképp elveszítheti fluoreszcens tulajdonságát (photobleaching – fotoelhalványulás), vagy csak időlegesen (a fenti időskálához képest hosszú ideig) kerül olyan állapotba, ahol nem bocsát ki fotont (photoblinking – fotovillódzás).

A fenti folyamatokhoz tartozó szakaszok nem különülnek el élesen egy-egy határvonal mentén, azok egymáshoz képest eltolódhatnak, és átfedés is van a különböző intervallumok között.

Tisztán diffúziós folyamatokra a fluoreszcenciaintenzitás időbeli fluktuációja a következő alakban írható fel:

$$\delta F(t) = F(t) - \langle F \rangle = \psi \int \hat{W}(\mathbf{r}) \delta C(\mathbf{r}, t) d\mathbf{r}, \quad (5.4)$$

ahol $\psi = \kappa W(0)$ a megvilágítás paramétereitől függő molekuláris fényesség, vagyis a megvilágító lézernyaláb tengelyén a fókusz síkban lévő molekulák által kibocsátott fluoreszcenciafotonok átlagos száma molekulánként és másodpercenként. A κ faktor tartalmazza a molekula fluoreszcenciagerjesztésének kvantum hatásfokát, valamint a rendszer detektálási hatásfokát.



5.2. ábra Mért fluoreszcenciafluktuációk

Az 5.2. ábra egy kétfotonmikroszkóppal mért intenzitásgörbét mutat az idő függvényében, egy másodperces átlagolással. A fluoreszcenciajel ingadozását a mérési térfogatban mozgó, illetve azt elhagyó vagy oda belépő molekulák számának változása okozza. Az első ránézésre zajnak tűnő görbe fontos információkat hordoz, melyeket a korrelációs függvény kiszámolásával nyerhetünk ki. Az intenzitásfluktuációkból meghatározott korrelációs függvény a következő alakban írható fel:

$$G(\tau) = \frac{\langle \delta F(t) \delta F(t+\tau) \rangle}{\langle F(t) \rangle^2}, \quad (5.5)$$

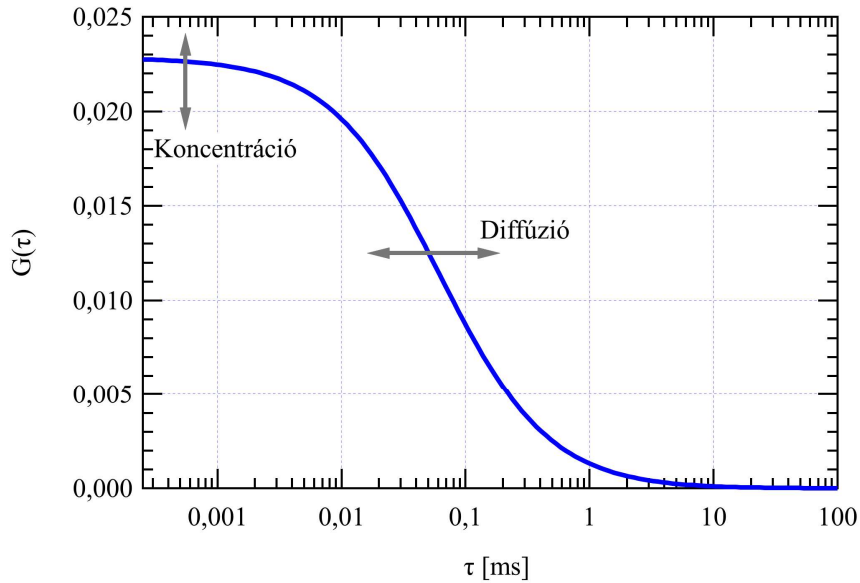
ahol τ a késleltetési idő, az átlagolás pedig t szerint történik. Tiszta diffúziót és 3DG érzékelő térfogatot feltételezve az (5.5) összefüggés a következő alakban írható fel egy- és kétfotonos gerjesztés esetén:

$$G_D(\tau) = \frac{1}{N} \frac{1}{(1 + aD\tau/\omega_0^2)(1 + aD\tau/z_0^2)^{1/2}}, \quad (5.6)$$

ahol N az effektív mérési térfogatban lévő molekulák száma, $a=4$ egyfotonos és $a=8$ kétfotonos gerjesztés esetén, ω_0 a nyálábnyak radiális, z_0 pedig az axiális $1/e^2$ mérete, amennyiben a 3DG érzékelő térfogatot a következő alakban írjuk fel:

$$\hat{W}_{3DG}(\rho, z) = e^{-\frac{2\rho^2}{\omega_0^2}} e^{-\frac{2z^2}{z_0^2}}. \quad (5.7)$$

Az (5.6) korrelációs görbe alakját a levilágító nyáláb által kijelölt térrész méretei, valamint a molekuláris rendszerre jellemző koncentráció és diffúziós adatok határozzák meg az 5.3. ábra által bemutatott módon.



5.3. ábra A korrelációs görbe tipikus alakja: a görbe $G(0)$ amplitúdóját a mérési térfogatban lévő fluoreszkáló molekulák száma, a görbe lecsengését pedig a részecskék diffúziós sebessége határozza meg.

5.1.3. A fluoreszcenciamikroszkópos vizsgálatok mérési térfogata

A gerjesztési szaturáció által vezérelt jelenségek megértéséhez, magyarázatához először tisztázzuk a mérési térfogat fogalmát. Az adott mérési elrendezésben a teljes mért fluoreszcenciajel meghatározása úgy történik, hogy a minta minden pontjából összegezzük az onnan származó jelet, ami a következő módon írható le:

$$F(t) = \kappa \int \langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle C(\mathbf{r}, t) d\mathbf{r}. \quad (5.8)$$

A fenti integrál az egész térre vonatkozik, ami azt jelenti, hogy a mérési térfogat végtelen, nincsenek fizikai határai, gyakorlatilag csak a mintatartó szab neki korlátot. Ez felveti a kérdést, hogy melyik mennyiség írja le megfelelően a fluoreszcencia érzékelő térfogatot. Valójában nincs kifejezett mérési térfogat, mert nincs olyan fizikai határ, ami kijelölné, hogy egy adott fluoreszcens molekula a mérési térfogatban vagy azon kívül van. Emiatt a mérési térfogatot az optikailag meghatározott molekuláris gerjesztési profil segítségével definiálhatjuk. Amennyiben $W(\mathbf{r})$ nem függ az időtől, pl. folytonos gerjesztés esetén, úgy $\langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle = \hat{W}(\mathbf{r})$.

Az így meghatározott térfogatjellegű mennyiség annak a térrésznek a méretét írja le, amelyben a fluoreszcens jel nagyrésze generálódik. Ezt úgy kaphatjuk meg, ha az (5.8) teljes fluoreszcenciajelet elosztjuk a fókuszált lézernyaláb középpontjában lévő molekulák által kibocsátott egységnyi térfogatra vonatkozó fluoreszcenciajellel. Más szavakkal, a mérési térfogatot a fluoreszcens fotongenerálás valószínűség-függvényének integrálja írja le, normálva a foton keltés valószínűségével a gerjesztő nyaláb közepén:

$$V = \int \langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle d\mathbf{r}, \quad (5.9)$$

ahol $\langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle = \langle W(\mathbf{r})\Omega(\mathbf{r}) \rangle / \langle W(0) \rangle$ a normált fluoreszcenciagerjesztési valószínűség, amely leírja a mérési térfogat alakját. Konfokális mikroszkóp esetén $\Omega(\mathbf{r})$ az alkalmazott apertúrával korlátozott térbeli detektálási határfokot írja le. Kétfoton mikroszkópok esetében $\Omega(\mathbf{r})$ egy konstans függvény, értéke mindenhol egy. A mérési térfogat ilyen megfogalmazása egy valószínűségi definíció, és azt is magában hordozza, hogy az a tartomány a mintában, amely meghatározó mértékben járul hozzá a mért fluoreszcenciajelhez nagyobb, mint amit az (5.9) egyenlet leír. Azonban, a térfogatnak a fenti valószínűségi megfogalmazása teszi lehetővé, hogy leírjuk a mérési térfogat méretét és alakját a magasabb gerjesztési intenzitáson fellépő hatások esetén is. Ugyanez teszi szükségessé egy újabb, az érzékelő térfogatot leíró mennyiség bevezetését is. Ez a mennyiség jellemzi a térfogaton belül lévő molekulákból származó fluoreszcens jel egyenletességét és a térfogat határának effektív meredekségét:

$$\gamma = \frac{\int \langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle^2 d\mathbf{r}}{\int \langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle d\mathbf{r}}. \quad (5.10)$$

Fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópiai alkalmazásokkor ezt a mennyiséget γ -faktornak is szokták nevezni [178], [191], és gyakran használják a mérési térfogat jellemzésére az (5.9) definícióval együtt. A kétfoton és a konfokális mikroszkópokra jellemző optikailag meghatározott mérési térfogatok esetén a γ -faktor értéke mindig kisebb, mint 1. Az egységnyi értéket ($\gamma = 1$) akkor veszi fel, amikor jól meghatározott, fizikailag körülhatárolt térfogattal van dolgunk, és a fluoreszcens jel erősségének eloszlása egyenletes a térfogaton belül.

A mérési térfogat fenti definíciója alapján bevezetjük a molekuláris fényesség fogalmát is: $\psi = \kappa \Gamma W(0)$, amely megadja a térfogat közepén lévő molekulákból detektált átlagos

fotonrátát. A molekuláris fényesség fontos paraméter, amikor például megbecsüljük a jel/zaj viszonyt fluktuációs spektroszkópai méréseknél, vagy molekulák kölcsönhatásának tanulmányozásakor [192], [193]. A térfogat és molekuláris fényesség fenti definíciójával az átlagos mért fluoreszcenciajel a következő alakra egyszerűsödik:

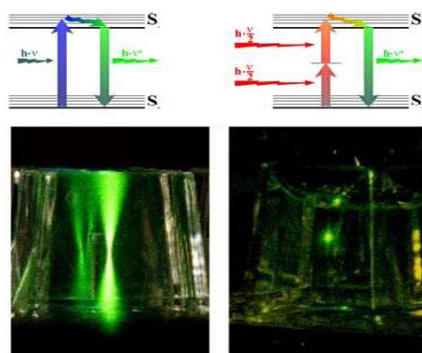
$$\langle F \rangle = \psi \langle C \rangle V. \quad (5.11)$$

A mérési térfogatban jelenlévő molekulák száma felírható a koncentráció és az effektív térfogat szorzataként: $N = \langle C \rangle V / \gamma$. A fentebb bevezetett térfogatjellegű mennyiségeket felhasználva a korrelációs függvényt leíró (5.6) egyenlet a következő alakra egyszerűsödik:

$$G(\tau) = \frac{\gamma}{\langle C \rangle V} A(\tau), \quad (5.12)$$

ahol $A(\tau)$ írja le a görbe időbeli relaxációját.

A fenti definíciók szerinti mérési térfogat konkrét alakjának meghatározásához meg kell adnunk a normált fluoreszcenciagerjesztési rátát a tér minden pontjában, melyet a molekulák kétállapotú modelljéből kiindulva vezetünk le. A továbbiakban egy- és kétfotonos gerjesztés esetére vizsgálom a szaturáció hatását az érzékelő térfogatra és a γ -faktorra. Az egyfotonos gerjesztést alkalmazó konfokális mikroszkópok esetén a molekulák a megvilágító nyaláb mentén végig kibocsátanak fotonokat, és a mérési térfogatot a detektor előtt alkalmazott apertúra jelöli ki. Kétfotonmikroszkópok esetén nincs szükség az apertúrára, mert gerjesztés eleve az intenzitás négyzetével arányos valószínűséggel következik be, ami lekorlátozza a mérési térfogatot. A kétféle gerjesztés közötti különbséget szemlélteti az 5.4. ábra is.



5.4. ábra Egyfotonos és kétfotonos gerjesztés esetén megfigyelhető fluoreszcencia [190].

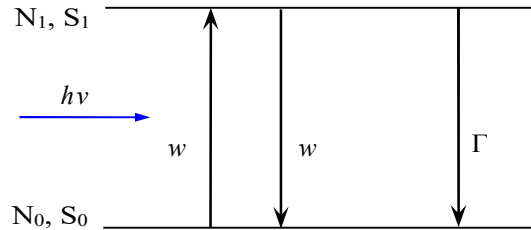
A mérési térfogat alakjának meghatározása

A mérési térfogat alakjának felírásához és a gerjesztési szaturáció miatt bekövetkező változásainak vizsgálatához a fluoreszcens molekulát egy kétállapotú rendszerrel (5.5. ábra) modellezhetjük. Bár ez egy jelentősen leegyszerűsített modell, mégis elegendő a mérési térfogat alakjának vizsgálatához. A molekula az S_0 alapállapotból $h\nu$ energiájú foton vagy fotonpár elnyelésekor S_1 gerjesztett állapotba kerül. Az N_0 és N_1 az alap és a gerjesztett állapotú frakciót jelölik, más szóval annak a valószínűségét fejezik ki, hogy a molekula alap illetve gerjesztett állapotban van egy adott helyen és időpontban.

A gerjesztés dinamikáját a $\Delta N = N_0 - N_1$ -re vonatkozó differenciálegyenlettel írhatjuk le:

$$\frac{d\Delta N(\mathbf{r},t)}{dt} + (2w(\mathbf{r},t) + \Gamma)\Delta N(\mathbf{r},t) = \Gamma, \quad (5.13)$$

ahol $N_0 + N_1 = 1$, Γ pedig a gerjesztett állapot spontán relaxációs rátája, amely fordítottan arányos a fluoreszcencia-élettartammal.



5.5. ábra A kétállapotú molekula egyszerűsített Jablonski diagramja, ahol w a lokális abszorpciós és stimulált emissziós rátát, a Γ pedig a gerjesztett állapot spontán relaxációs rátáját jelöli. A $h\nu$ az elnyelt egy, vagy az egyszerre elnyelt két foton energiája.

Egyfotonos gerjesztés

Az egyfotonos gerjesztést alkalmazó konfokális mikroszkópok lézer forrása általában folytonos üzemmódú lézer. Folytonos gerjesztés esetén a megvilágított molekulák által kibocsátott fluoreszcenciajel egyensúlyi állapotban lineárisan arányos a gerjesztett állapotú frakcióval. Erre az esetre az (5.13) egyenlet megoldása a következő alakban írható fel [194], [195]:

$$W(\mathbf{r}) \sim N_1(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \frac{2w(\mathbf{r})}{2w(\mathbf{r}) + \Gamma}. \quad (5.14)$$

A térfogatban lévő molekulákra a fotonabszorpciós ráta arányos a σ_1 egyfoton-abszorpciós keresztmetszettel, valamint a molekula helyén a gerjesztő intenzitással, és a következő alakban írható fel: $w(\mathbf{r}) = \sigma_1 I_0 S(\mathbf{r})$. Itt I_0 a gerjesztő lézer intenzitásának térbeli maximumát jelöli, az $S(\mathbf{r})$ eloszlásfüggvény pedig a fókuszált lézernyaláb térbeli intenzitás elosztását írja le. Gauss nyaláb esetén az előbbi felírható a következő alakban:

$$I_0 = 2 \langle P \rangle / h\nu\pi\omega_0^2, \quad (5.15)$$

ahol $\langle P \rangle$ az átlagteljesítmény a mintán, ω_0 pedig a nyalábnyak mérete.

Amennyiben a fotonabszorpció gyakorisága lényegesen kisebb, mint a spontán relaxáció gyakorisága ($w(\mathbf{r}) \ll \Gamma$), akkor (5.14) leegyszerűsödik $W(\mathbf{r}) = w(\mathbf{r})/\Gamma$ alakra. Ebben az esetben a molekuláris fényesség $\psi = \kappa\sigma_1 I_0$ alakban írható fel, és a teljes és az egy molekulából származó fluoreszcenciajel is lineárisan arányos a gerjesztő lézer intenzitásával. Ebben a közelítésben a térfogatra vonatkozó integrálás leegyszerűsödik a normált lézerintenzitás profil és a detektálási hatásfok szorzatának integrálására. Megfelelő optikai konfiguráció [13] esetén ez közelíthető egy 3D Gauss eloszlással (5.7), és a térfogat valamint a γ -faktor felírható a következő egyszerű formában:

$$V_{3\text{DG}} = (\pi/2)^{3/2} \omega_0^2 z_0, \quad \gamma_{3\text{DG}} = 1/2\sqrt{2}. \quad (5.16)$$

Amikor a fotonabszorpció gyakorisága már összemérhető a spontán relaxáció gyakoriságával, a fentebb említett lineáris összefüggés megváltozik, és a fluoreszcencia-élettartammal összefüggő spontán relaxáció, valamint a stimulált emisszió együtt limitálja a fluoreszcenciagerjesztés mértékét. Ekkor (5.14) felírható a következő alakban:

$$N_1(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \frac{R_{\text{sat}} S(\mathbf{r})}{R_{\text{sat}} S(\mathbf{r}) + 1}, \quad (5.17)$$

ahol bevezettük az R_{sat} és I_{sat} szaturációs intenzitás mennyiségeket:

$$R_{\text{sat}} = I_0 \frac{2\sigma_1}{\Gamma} = \frac{I_0}{I_{\text{sat}}}, \quad I_{\text{sat}} = \frac{\Gamma}{2\sigma_1}. \quad (5.18)$$

A szaturációs intenzitás azt a gerjesztő intenzitást jelenti, amely a szaturációtól mentes lineáris összefüggés esetén a megvilágított molekulák felét gerjesztett állapotba hozná. Az R_{sat} viszonyszám az ehhez viszonyított relatív intenzitást, a szaturáció mértékét jelöli. Mint látható, a szaturációs intenzitás a molekulára jellemző fluoreszcencia-élettartam és fotonabszorpció keresztmetszet függvénye.

Kétfotonos gerjesztés

A kétfotonmikroszkópokban alkalmazott impulzusüzemű lézerek esetén (5.13) megoldása a következő alakban írható fel:

$$W(\mathbf{r}) \sim N_2(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \left(1 - e^{-2 \int w(\mathbf{r}, t) dt} \right), \quad (5.19)$$

ahol feltételeztük, hogy egy lézerpulzus hossza (α) lényegesen kisebb, mint a fluoreszcencia-élettartam, és egy impulzus alatt egy molekula legfeljebb egyszer gerjesztődik. Ez a feltétel általában teljesül a kétfoton mikroszkópokban alkalmazott gerjesztő forrásokra, például az 5.3.2 fejezetben leírt rendszerben egy $f_p = 80$ MHz ismétlési frekvenciájú, ~ 100 fs impulzushosszú lézert alkalmaztunk a mérésekhez. A molekulák fluoreszcencia-élettartama tipikusan a nanoszekundumos tartománytól indul, ami egy nagyságrenddel nagyobb, mint a gerjesztő lézer impulzushossza.

A térfogatban lévő molekulákra a fotonabszorpció ráta arányos a σ_2 kétfoton-abszorpció keresztmetszettel, valamint a molekula helyén a gerjesztő intenzitás négyzetével (a kétfoton-abszorpció miatt), és a következő alakban írható fel: $w(\mathbf{r}, t) = \sigma_2 I_0^2(t) S^2(\mathbf{r})/2$. Itt $I_0(t)$ a gerjesztő lézer intenzitásának térbeli maximumát jelöli egy adott időpillanatban, az $S(\mathbf{r})$ eloszlásfüggvény pedig a fókuszált lézernyaláb térbeli intenzitás-elosztását írja le. A fluoreszcencia spektroszkópiai alkalmazások során általában a gerjesztő lézer impulzushosszánál lényegesen hosszabb ideig zajlik egy mérés, így célszerűbb a gerjesztési ráta időbeli átlagával számolni. Ezt úgy határozhatjuk meg, ha integráljuk egy impulzusra a fotonabszorpció rátát és megszorozzuk az f_p ismétlési frekvenciával: $\langle w(\mathbf{r}) \rangle = f_p \int w(\mathbf{r}, t) dt$,

ahol a $\langle \rangle$ zárójel az időbeli átlagot jelöli. Ezek alapján a gerjesztett állapotú frakció az alábbi alakban írható fel:

$$N_1(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \left(1 - e^{-R_{\text{sat}}^2 S^2(\mathbf{r})} \right), \quad (5.20)$$

ahol bevezettük az R_{sat} és I_{sat} szaturációs intenzitás mennyiségeket:

$$R_{\text{sat}} = I_0 \sqrt{\alpha \sigma_2} = \frac{I_0}{I_{\text{sat}}}, \quad I_{\text{sat}} = \frac{1}{\sqrt{\alpha \sigma_2}}. \quad (5.21)$$

A szaturációs intenzitás itt azt a gerjesztő intenzitást jelenti, amely a szaturáció által nem befolyásolt négyzetes összefüggés esetén a megvilágított molekulák felét gerjesztett állapotba hozná. Kétfotonos gerjesztés esetén a szaturációs intenzitás a megvilágításra jellemző lézer impulzushossz és a molekulára jellemző kétfoton-abszorpciós keresztmetszet függvénye. A szaturációs intenzitás (5.21) meghatározásakor négyzög impulzusalakot tételeztünk fel. Valós lézerimpulzusokra, pl. Gauss időbeli alakra, a szaturációs intenzitásra kapott (5.21) összefüggés kétfoton-abszorpciós keresztmetszettől és az impulzushossztól való függése nem változik, csupán egy konstans szorzó jön hozzá, melynek értéke 1 körül van.

Amennyiben a gerjesztő intenzitás lényegesen kisebb, mint a szaturációs intenzitás, az (5.20) egyenletben az exponenciális tag sorfejtésével előáll a molekuláris fényességre a jól ismert intenzitás-négyzetes összefüggés, azaz a teljes és az egy molekulából származó fluoreszcenciajel is arányos a gerjesztő lézer intenzitásának négyzetével.

Ebben a közelítésben a térfogatra vonatkozó integrálás leegyszerűsödik a normált lézerintenzitás profil és a detektálási határfok szorzatának integrálására. Kétfotonmikroszkópok esetén az érzékelő térfogat leírására alacsony intenzitások esetén a leggyakrabban használt profil a Gauss-Lorentz profil,

$$\hat{W}_{\text{GL}}(\rho, z) = \frac{\omega_0^2}{\omega^2(z)} e^{-\frac{2-\rho^2}{\omega^2(z)}}, \quad \omega^2(z) = \omega_0^2 \left[1 + \left(\frac{z}{z_R} \right)^2 \right], \quad (5.22)$$

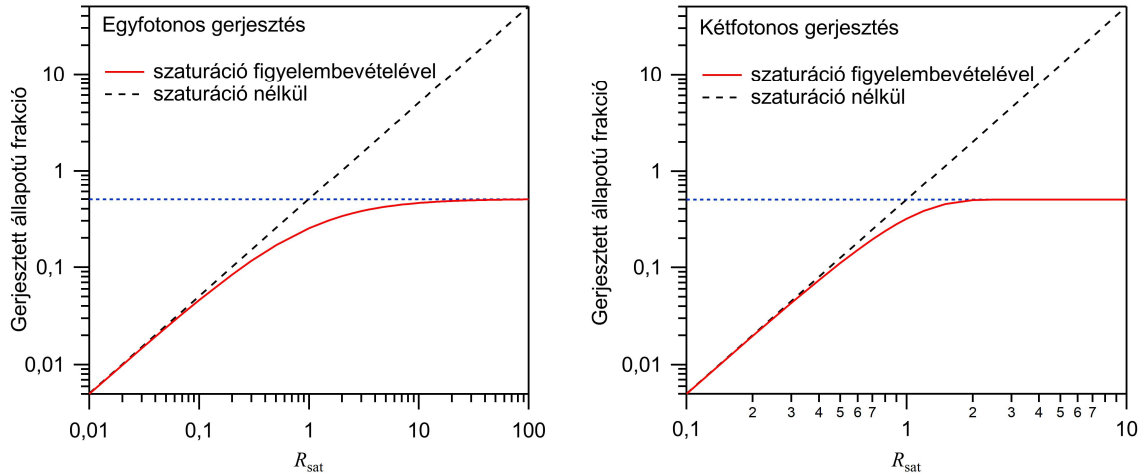
ahol $z_R = \pi \omega_0^2 / \lambda$ a Rayleigh távolság. A térfogat valamint a γ -faktor ez alapján felírható a következő formában:

$$V_{\text{GL}} = \pi^2 \omega_0^2 z_R / 4, \quad \gamma_{\text{GL}} = 3/16. \quad (5.23)$$

A gerjesztett állapotú frakció változása a szaturáció hatására

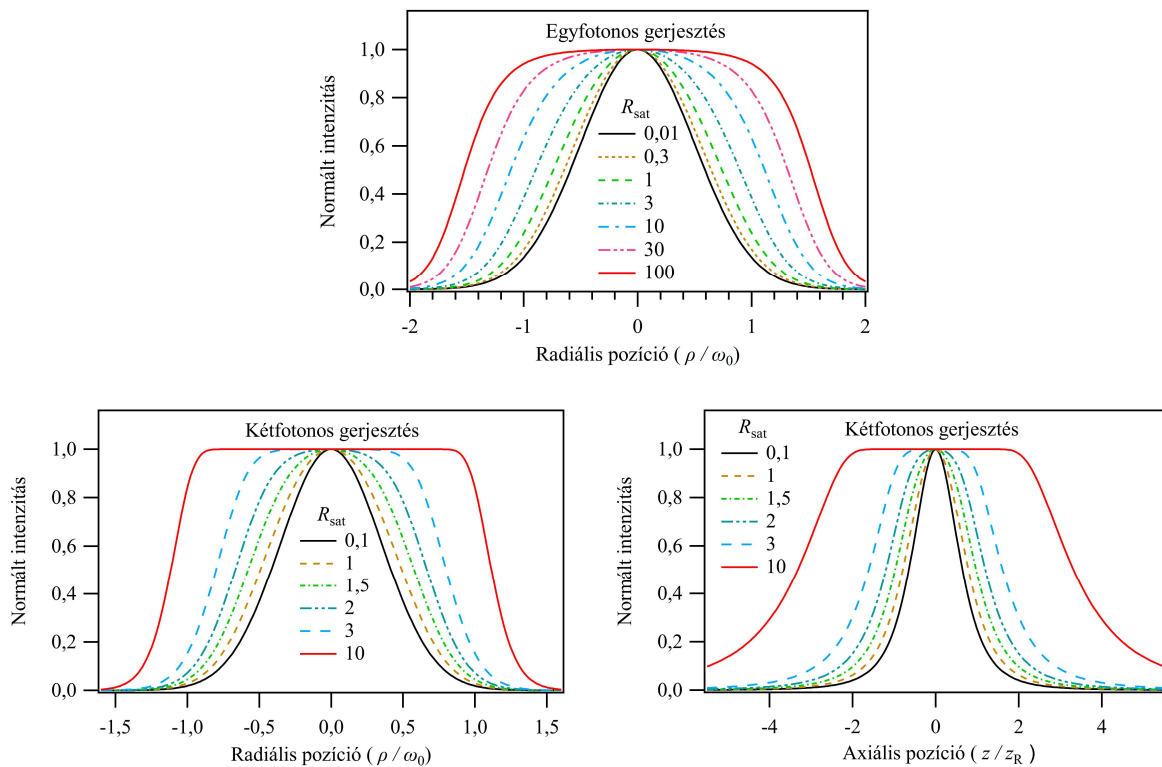
A 5.6. ábra szemlélteti a gerjesztési szaturáció hatását a gerjesztett állapotú frakcióra a nyaláb közepén. Jól látható, hogy a görbe mind egyfoton, mind kétfoton gerjesztés esetén aszimptotikusan közelít a 0,5-ös értékhez növekvő gerjesztő intenzitások esetén. Ez a jelenség a lokális intenzitás függvényében a nyaláb különböző részein különböző mértékben lép fel. A lokális gerjesztett állapotú frakcióra vonatkozó (5.17) és (5.20) egyenletekből a mérési térfogat alakja a következőképpen írható fel egy- és kétfotonos gerjesztés esetén:

$$\hat{W}(\mathbf{r}) = \frac{(1 + R_{\text{sat}}) S(\mathbf{r})}{1 + R_{\text{sat}} S(\mathbf{r})}, \quad \langle \hat{W}(\mathbf{r}) \rangle = \frac{1 - e^{-R_{\text{sat}}^2 S^2(\mathbf{r})}}{1 - e^{-R_{\text{sat}}^2}}. \quad (5.24)$$

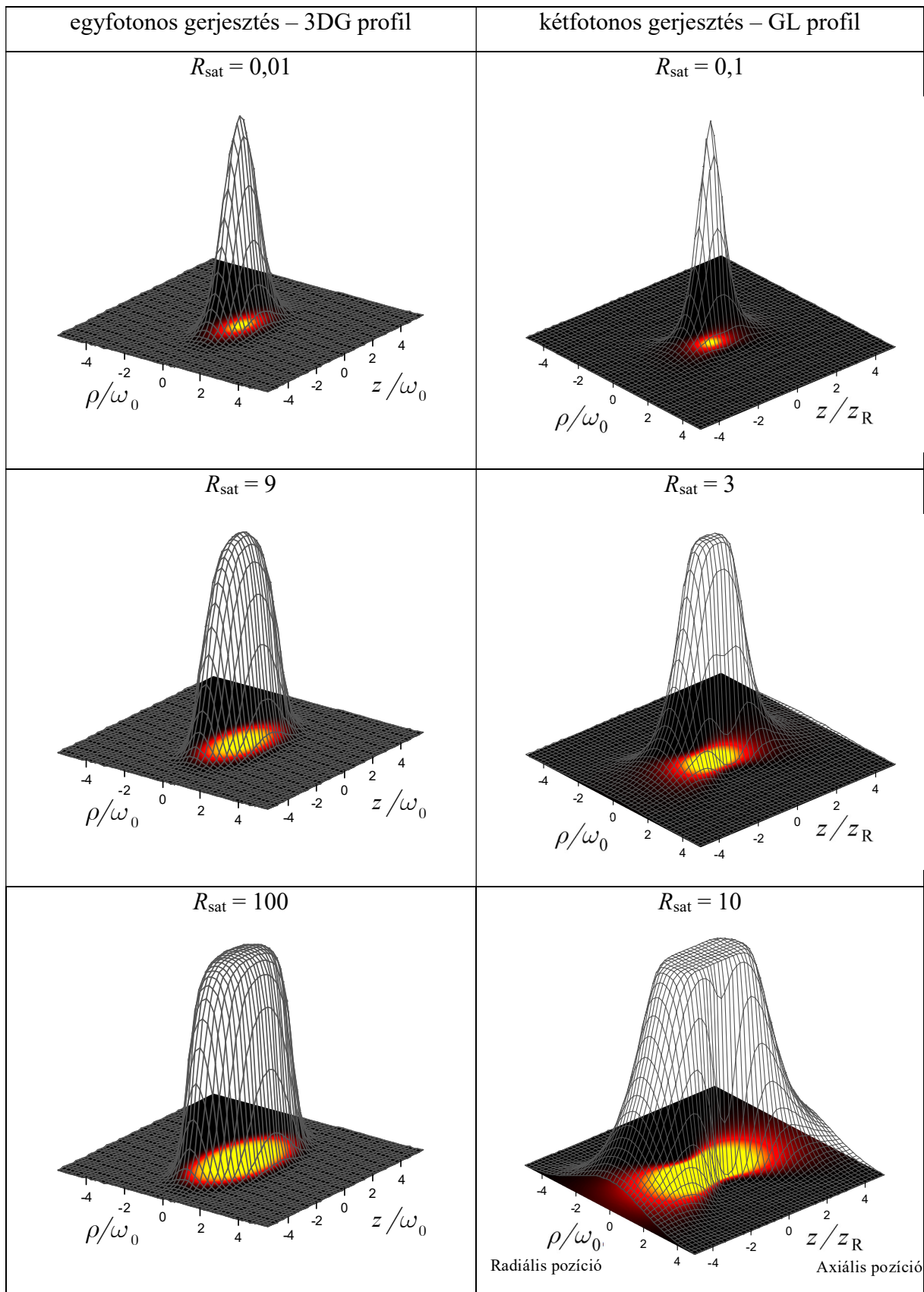


5.6. ábra A gerjesztett állapotú frakció a nyaláb közepén a relatív szaturációs intenzitás függvényében (piros vonal). A szaggatott fekete vonal a szaturáció nélküli esetet mutatja. Az egyfotonos gerjesztésre jellemző lineáris és a kétfotonos gerjesztésre jellemző négyzetes összefüggés szemléltetése miatt ábrázoltam a görbéket eltérő x -skálán (a jobboldali ábrán az R_{sat}^2 fedi le a baloldali ábrán alkalmazott R_{sat} tartományt), ami így azonos skálához vezetett az y tengelyen.

A gerjesztő lézer térbeli $S(\mathbf{r})$ profiljának helyére beillesztve a 3DG eloszlást egyfotonos, és a GL eloszlást kétfotonos gerjesztés esetén a szaturáció által módosított mérési térfogatok 2D profilját mutatja az 5.7. ábra és 3D alakját az 5.8. ábra.



5.7. ábra A mérési térfogat alakjának változása a szaturáció fokának függvényében



5.8. ábra A mérési térfogat alakjának változása a szaturáció fokának függvényében egy- és kétfotonos gerjesztés esetén.

5.1.4. A modellválasztás jelentősége az illesztések és a kiértékelés során

A következőkben egy példán keresztül mutatom be a gerjesztési szaturáció hatását a mérési térfogatra. Ugyanazon a mintán, két különböző gerjesztési intenzitás mellett vettem fel korrelációs görbéket (lásd a mérési elrendezést és a mintaelőkészítést bemutató 5.3.2 fejezetet – kétfotonos gerjesztés, keresztkorrelációs görbék), majd különböző modellek alapján végeztem illesztéseket. Az első, viszonylag alacsony intenzitás mellett felvett görbe esetén $P = 5$ mW volt a lézer teljesítmény a mintán, ahol a gerjesztési szaturáció hatása még elhanyagolható. A második esetben 35 mW átlagos lézer teljesítmény esett a mintára. Szembeötlő, hogy a korrelációs görbe $G(0)$ amplitúdója számottevően lecsökkent, a diffúziós idő ($\tau_D = \omega_0^2/8D$ az az idő, amennyit egy molekula átlagosan a mérési térfogatban tölt, mielőtt diffúzióval távozik belőle) pedig kisebb mértékben növekedett. Három modellt alkalmaztam a korrelációs görbe változásainak leírására a magasabb gerjesztő intenzitás esetére és összehasonlítottam az illesztésekkel kapott eredményeket. Az első modellben csak a diffúziót vettem figyelembe, ami megegyezett az alacsony intenzitás esetére alkalmazott illesztéssel (5.6). A második modellben figyelembe vettem a foto-elhalványodás (photobleaching) jelenségét is a következő módon:

$$G(\tau) = G_D(\tau) G_B(\tau), \quad G_B(\tau) = \frac{1 - B + B e^{-k_B \tau}}{1 - B}, \quad (5.25)$$

ahol k_B a foto-elhalványodás teljesítményfüggő konverziós sebessége, B pedig a molekulák átlagos elhalványult frakciója az érzékelő térfogatban.

A harmadik modellben pedig kétkomponensű rendszert feltételeztem (különböző diffúziós sebességgel):

$$G_D(\tau) = \sum_n F_n^2 G_{Dn}(\tau) / \sum_n F_n^2. \quad (5.26)$$

Az illesztések eredményeit az 5.1. táblázat és az 5.9. ábra mutatja be.

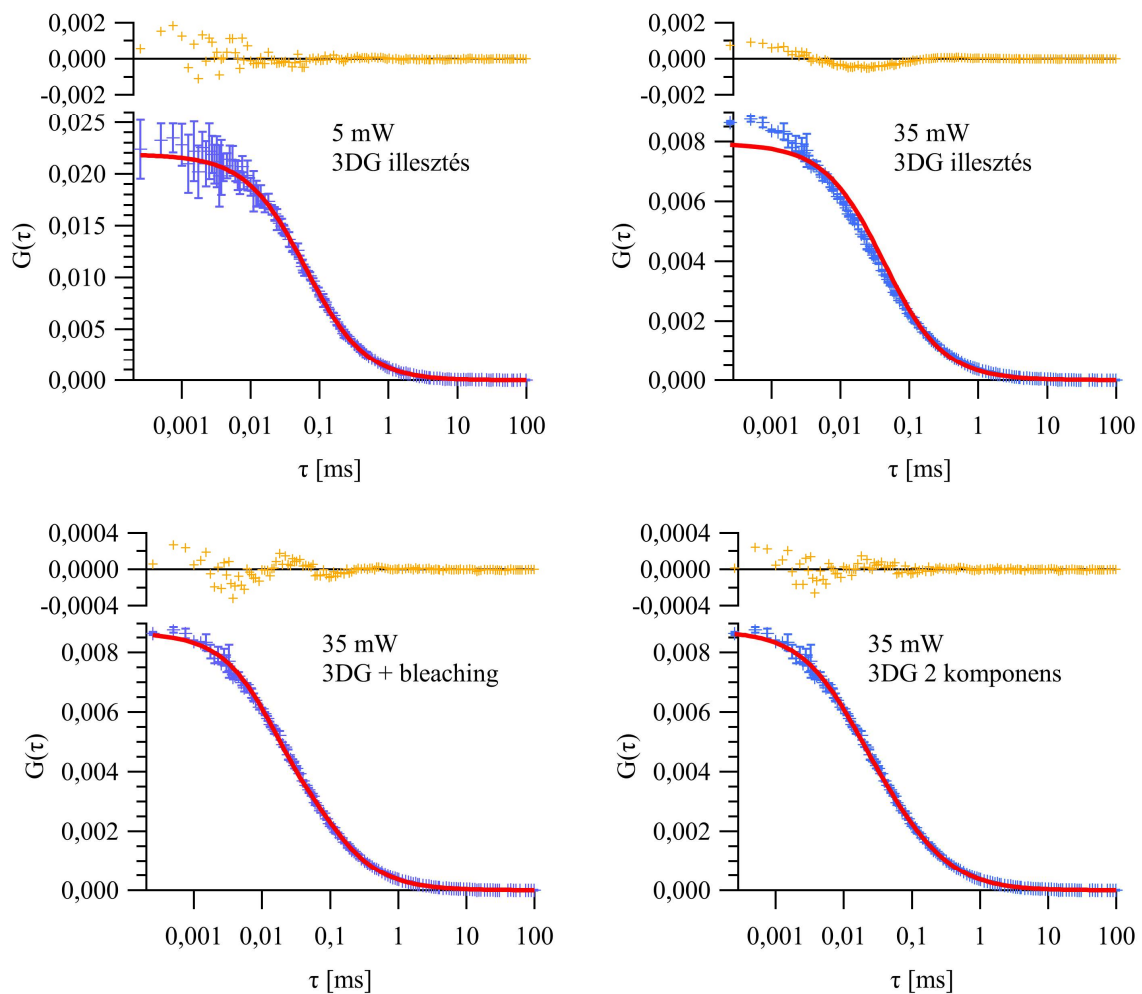
5.1. táblázat Különböző modellekkel végzett illesztések eredményei.

| | 3DG | 3DG | 3DG + fotoelhalv. | 3DG 2 komponens |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| P [mW] | 5 | 35 | 35 | 35 |
| C [db/ μm^3] | $36,35 \pm 4,54$ | $8,47 \pm 6,07$ | $34,36 \pm 9,15$ | $67,5 \pm 8$ |
| D [cm^2/s] | $3 \cdot 10^{-6}$ | $3 \cdot 10^{-6}$ | $3 \cdot 10^{-6}$ | $3 \cdot 10^{-6}$ |
| ω_0 [μm] | $0,39 \pm 0,005$ | $0,32 \pm 0,0005$ | $0,404 \pm 0,002$ | $0,186 \pm 0,003$ |
| z_0/ω_0 | $8,09 \pm 0,94$ | $229,8 \pm 165$ | $39,471 \pm 10,7$ | $20,836 \pm 2,66$ |
| B [%] | | | $10,28 \pm 0,34$ | |
| k_B [Hz] | | | $79,9 \pm 2,1$ | |
| C_2 [db/ μm^3] | | | | $11,98 \pm 3,32$ |
| D_2 [cm^2/s] | | | | $0,038 \pm 0,0007$ |
| χ^2 | 44,26 | 4690 | 606,5 | 441,7 |

A táblázat adatai alapján megfigyelhető, hogy a magasabb gerjesztő intenzitás esetén a 3DG modell egy jelentősen elnyújtott mérési térfogatot állapított meg lényegesen kisebb koncentrációval, és az illesztés minőségét jelző χ^2 paraméter kb. százszor nagyobb értéket

mutatott, mint az alacsonyabb intenzitás esetén. Bár a megállapított koncentráció közel volt az eredetihez a foto-elhalványulás figyelembevételével (3DG + fotoelhalv.), azonban itt is a z tengely mentén torzult mérési térfogatot kaptunk. A kétkomponensű rendszert feltételező modell jelentősen nagyobb koncentrációt eredményezett, és a mérési térfogat mind axiális, mind radiális irányban torzult. Ugyanakkor a magasabb gerjesztőintenzitás esetén az ezzel a modellel meghatározott görbe illeszkedett legjobban a mért adatokra, bár még mindig tízszer nagyobb a χ^2 paraméter értéke, mint az alacsonyabb intenzitás esetén.

Következésképpen megállapítható, hogy magasabb gerjesztő intenzitás esetén a szaturációt figyelembe nem vevő modellekkel végzett illesztések olyan eredményeket adnak, amelyek fizikailag nem magyarázhatók az adott modellek keretein belül.



5.9. ábra Különböző modellek alkalmazása a mért adatokra. A garfikonokon a kék jelölők mutatják a mért adatok átlagát hibasávokkal. Az átlagokat és a szórás értékeket 5 egymás utáni mérés adataiból képeztük. A piros görbe mutatja az illesztés eredményét, a narancs jelölők pedig a mért átlagok eltérését az illesztett görbétől.

5.2. Célkitűzések

A 5.1 fejezetben megfogalmazottak alapján kutatómunkám célja egy olyan mérési protokoll kidolgozása volt, amely valós fizikai modellek alapján veszi figyelembe a gerjesztési szaturáció hatását, és a mindennapi labormunka során is rutinszerűen alkalmazható. Az ehhez kapcsolódó konkrét célkitűzéseim:

- A mérési térfogat és a korrelációs függvény változásainak meghatározása magasabb gerjesztési szinteken, ahol a gerjesztési szaturáció hatása már nem elhanyagolható, egy- és kétfotonos gerjesztés esetére is.
- Olyan mérési eljárás és adatkiértékelési módszer kidolgozása, amely figyelembe veszi a gerjesztési szaturáció hatását, és fizikailag reális paramétereket határoz meg fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópiai mérések során, mind konfokális, mind kétfotonmikroszkópok esetén.
- Mérésekkel igazolni az előző pontban megfogalmazott módszer működőképességét és hatékonyságát mind konfokális, mind kétfotonmikroszkópokkal végzett kísérletek során.

5.3. Alkalmazott eszközök és módszerek

5.3.1. Az autokorrelációs függvény meghatározása tetszőleges térbeli profil esetén

Az (5.5) összefüggéssel leírt autokorrelációs görbe tisztán diffúziós folyamatok esetén egy dupla integrállal számolható ki:

$$G_D(\tau) = \frac{\iint \langle \hat{W}(\mathbf{r}_1) \rangle \delta C(\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2, \tau) \langle \hat{W}(\mathbf{r}_2) \rangle d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2}{(\langle C \rangle V_{\text{sat}})^2}. \quad (5.27)$$

Ez az integrál csak speciális esetekben írható fel analitikusan, például a korábban már említett 3DG vagy GL alakú érzékelő térfogat esetén. A fenti dupla integrál közvetlen numerikus meghatározása 6 dimenziós integrálást jelent a 3 dimenziós térben, ami meglehetősen számításgényes feladat. Ha azonban figyelembe vesszük, hogy a dupla integrálból a belső egy konvolúció, melyre $\text{FFT}(\delta C_{ijk}(\tau) * \hat{W}'_{ijk}) = \text{FFT}(\delta C_{ijk}(\tau)) \text{FFT}(\hat{W}'_{ijk})$, akkor egy tagonkénti szorzással és összegzéssel kapjuk meg a korrelációs függvényt:

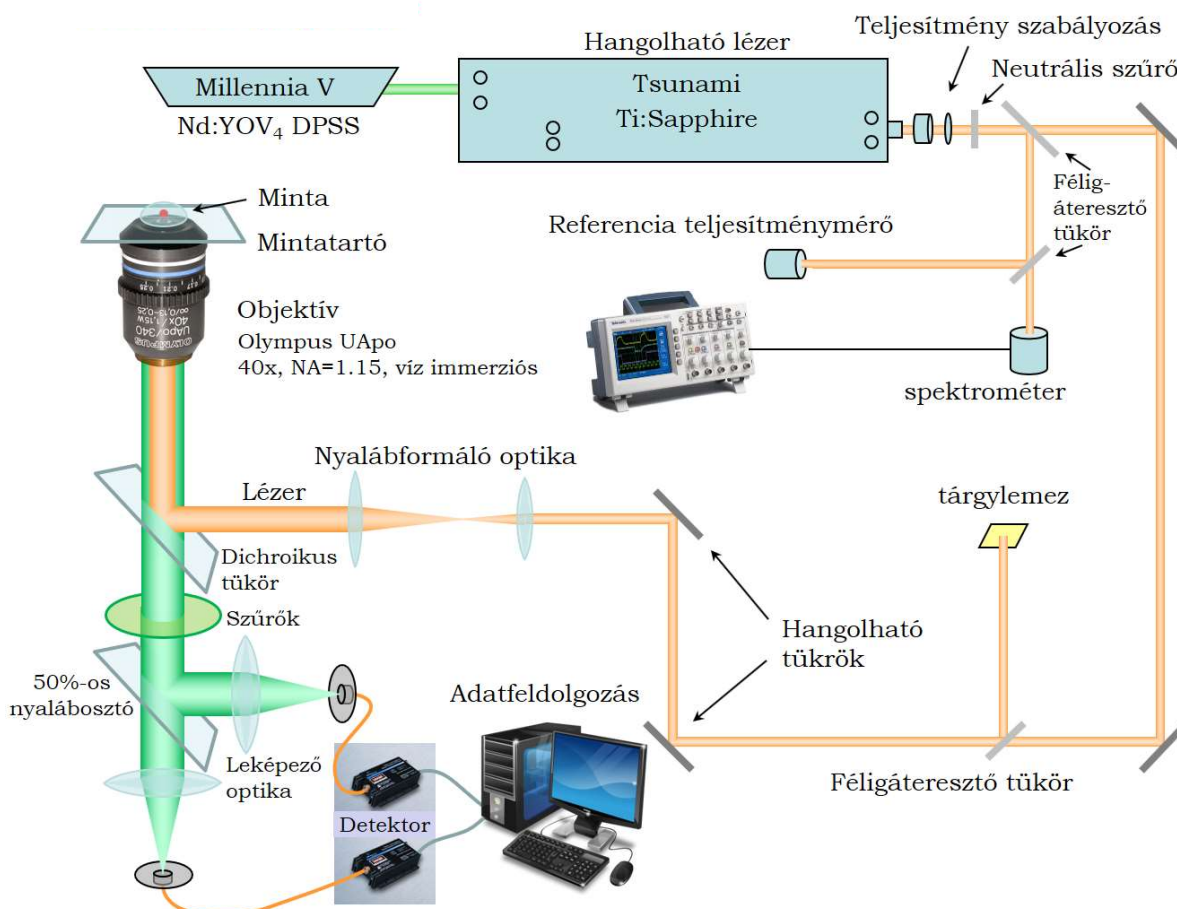
$$G_T(\tau) = \sum_{i,j,k} \hat{W}_{ijk} A_{ijk}(\tau), \text{ ahol } A_{ijk}(\tau) = \text{FFT}^{-1} \left[\text{FFT}(\delta C_{ijk}(\tau)) \text{FFT}(\hat{W}'_{ijk}) \right] \quad [189].$$

Az i, j, k indexek a numerikus számolások során a tér véges elemű diszkrét felosztása után kapott térbeli pozíciókra utalnak.

5.3.2. A vizsgálatokhoz használt fluoreszcenciamikroszkóp és minta

Kétfotonos gerjesztés esetén a vizsgálatokhoz használt mérési elrendezést az 5.10. ábra mutatja. A méréseket egy invertált kétfotonmikroszkóppal végeztük, melynek gerjesztő forrása egy folytonos üzemmódú 5 W-os Nd:YOV₄ szilárdtest lézerral pumpált, hangolható, módusszinkronizált Titán-zafir lézer volt. A 780 nm hullámhosszú gerjesztő nyalábot ötszörös

tágítás után egy $40\times$ nagyítású, 1.15 NA-val rendelkező vízimmerziós objektívvel fókuszáltuk le a mintába. Ugyanezzel az objektívvel gyűjtöttük a megvilágított mérési térfogatból a minta által emittált fényt is. A gerjesztő és az emittált fotonokat egy dikroikus nyalábosztó segítségével választottuk szét, és a további szűrés céljából egy aluláteresztő szűrőt használtunk. A minta fluoreszcenciaemisszióját 50-50%-os nyalábosztóval $100\ \mu\text{m}$ magátmérőjű, többmódusú optikai szálon keresztül két lavina fotodiódára továbbítottuk. Az alkalmazott fotonszámoló fotodióda érzékeny a nagyobb intenzitásokra, a fellépő nemlineáris jelenségek mellett akár maradandóan is károsodhat. Ezért magasabb gerjesztő intenzitások esetén, amikor a fluoreszcenciajel meghaladta az 1 MHz-et, neutrális szűrőt helyeztünk a szálbecsatorlók elé. A fotonszámoló detektormodulok kimeneti TTL jelét egy korrelátor egységbe továbbítottuk, amely meghatározta az auto- és kereszt-korrelációs függvényeket.



5.10. ábra A mérési elrendezés a kétfoton-abszorpciós vizsgálatokhoz.

A lavina detektorokra jellemző utóimpulzusok, valamint a holtidő hatásának kiküszöbölésére kereszt-korrelációs függvényeket határoztunk meg, két detektorral mérve a fluoreszcenciaintenzitás-fluktuációkat a fenti elrendezésben.

Mérések előtt a gerjesztő nyaláb horizontális pozícióját a hangolható tükrökkel állítottuk be, az ábrán szereplő tárgylemez pedig a fókuszpont vertikális beállítására szolgált. A tárgylemez segítségével megkerestük a mintatartó és a minta határfelületét (az onnan visszaverődő alakzat jelent meg a tárgylemezen), és ehhez képest $100\text{--}200\ \mu\text{m}$ -rel feljebb állítottuk a fókuszpontot, így biztosan a minta belsejéből érkező fluoreszcenciajelet detektáltuk. Mérések előtt a

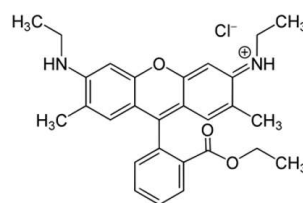
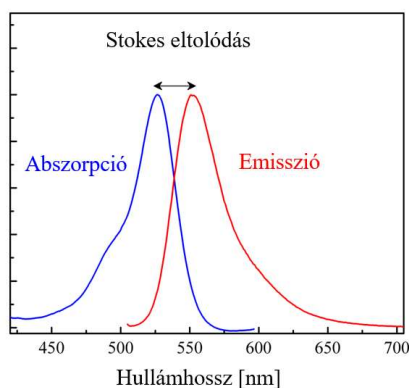
szálbecsatolók segítségével maximalizáltuk a detektorok által mért fluoreszcenciajeleket. A mintára eső gerjesztő teljesítményt egy $\lambda/2$ -es lemezt egy lineáris polarizátor előtt forgatva szabályoztuk. Egy referencia teljesítménymérő segítségével határoztuk meg a mintán a teljesítményt, figyelembe véve a lézerforrás és a minta közötti úton az összes optikai elem a veszteséget. Minden mérést többször megismételtünk, majd átlagot képeztünk. A mérések hibáit az irodalomban [196] leírt módon határoztuk meg.

Az egyfotonos gerjesztés esetén megvalósítandó konfokális rendszerhez a fenti elrendezést módosítottam (5.10. ábra). Kikerült a rendszerből a femtoszekundumos lézer, és térbeli szűrés után közvetlenül a pumpáló lézer 532 nm-es hullámhosszú sugarát használtam a mérésekhez. A mintára eső teljesítmény szabályozását és annak mérését a kétfotonos elrendezéshez hasonlóan oldottam meg. A konfokális elrendezéshez a detektor előtti pinhole szerepét egy 10 μm magátmérőjű, egymódusú optikai szál töltötte be, mely továbbította a fotonokat a fotonszámláló modulhoz. Az előző elrendezéshez hasonlóan a szálbecsatoló előtt itt is egy megfelelően kiválasztott szűrő gondoskodott a nemkívánatos hullámhosszak távoltartásáról.

A mérések kiértékeléséhez, az illesztésekhez a Wavemetrics Inc. Igor Pro szoftvercsomagját használtam. Az illesztésekhez a 3DG és a GL modellekhez tartozó egy- és kétfotonos gerjesztésre meghatározott (5.12) formulát programoztam be. A diffúziós együttható értékét ismert konstansnak tartva az illesztésekkel meghatározott paraméterek az érzékelő térfogat méretei és a koncentráció.

A vizsgálatokhoz használt minta

A vizsgálatokhoz Rodamin 6G (5.11. ábra) fluoreszcens festéket használtam, melyet ultratiszta, 18.2 M Ω /cm rezisztivitású, rendkívül alacsony szervesanyagtartalmú vízben oldottam fel. A koncentrációt abszorpcióméréssel, és a hígítások pontos nyomon követésével határoztam meg. A mintákból 0,2 μm -es szűrővel távolítottam el a nagyobb törmelékeket és szennyeződések. A mérésekhez a végső koncentrációig tovább hígított és tisztított mintát műanyag mintatartókba helyeztem és fedőlemezzel takartam le. A mintatartót és a fedőlemezt is kazein bevonattal láttam el, hogy csökkentsem a molekulák kitapadását a falakra. A Rodamin 6G abszorpciós maximuma 525 nm egyfoton abszorpció és 750 nm kétfoton-abszorpció esetén, emissziós maximuma 550 nm körül van [197]. Vízben oldva a diffúziós állandója $D = 3 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$.



Képlet: $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}$

Moláris tömeg: 479,02 g/mol

Sűrűség: 1,26 g/cm³

5.11. ábra A Rodamin 6G molekula jellemzői.

5.3.3. A fluoreszcenciakorrelációs mérések leírása

Rutin mérések során a rendszert először kalibrálják egy ismert tulajdonságú molekulát tartalmazó oldattal. Erre alkalmas például a mintaelőkészítés fejezetben leírt Rodamin 6G. A mikroszkóp beállítása után felvett autokorrelációs görbére végzett illesztés során a diffúziós együtthatót rögzítve az ismert értékre meghatározhatjuk a koncentrációt és az érzékelő térfogat méreteit, például a 3DG modellt alkalmazva. Az adatokat összevetve korábbi mérések eredményeivel, és a koncentráció abszorpció útján meghatározott értékével információt kaphatunk a beállítások minőségéről. Miután meghatároztuk a mérési térfogat méreteit, a további mérések során felvett korrelációs görbékre végzett illesztéseknél már ezeket rögzíthetjük le, és így a koncentráció mellett meghatározható a diffúziós együttható. A mérések során a beállításokat több tényező összehangolásával kell meghatározni. Egyrészt figyelembe kell venni a különböző intenzitásfüggő fotofizikai folyamatok hatását. Például magasabb intenzitásokon számottevő mértékben csökken a fluoreszkáló molekulák száma a mérési térfogatban a fotoelhalványulás, fotovillódzás vagy tripllett átmenetek következtében, de a gerjesztési szaturáció által módosított mérési térfogat növekedése látszólagos koncentráció növekedést okoz. Ez arra ösztönzi a felhasználót, hogy minél alacsonyabb gerjesztő intenzitással dolgozzon, ami azonban negatív hatással van a jel/zaj viszonyra. Alacsonyabb jel/zaj értékek mellett hosszabb ideig tartó mérésekre van szükség, azonban ekkor nem vizsgálhatók a rövidebb idő alatt lezajló folyamatok. Összegzésképpen, sok esetben szükség van arra, hogy magasabb gerjesztő intenzitással végezzünk méréseket, amihez viszont elengedhetetlen a megfelelő modellek alkalmazása a folyamatok korrekt leírására.

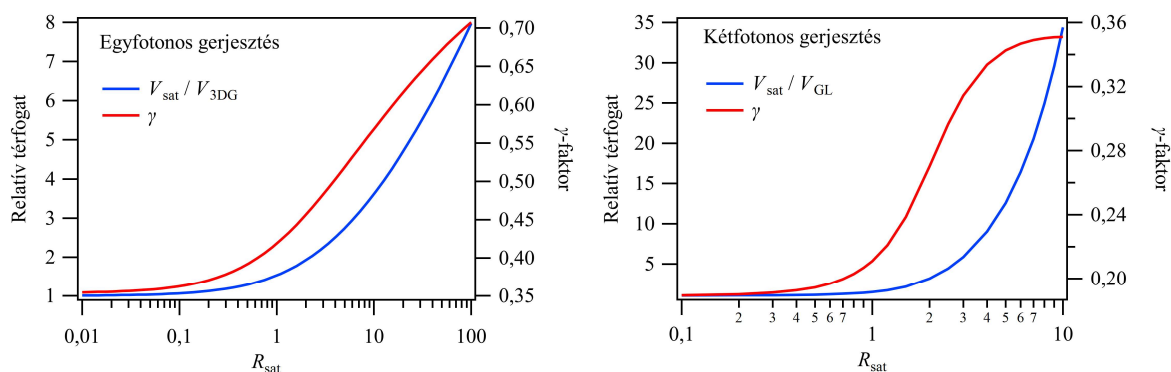
A fotoelhalványulás, fotovillódzás vagy tripllett átmenetek hatását általában egy egyszerű korrekciós tényezőt alkalmazásával veszik figyelembe a görbe illesztések során. A gerjesztési szaturáció hatása miatt szükséges korrekció elvégzése azonban még nem épült be ennyire általánosan.

5.4. Eredmények

5.4.1. A mérési térfogat és a korrelációs görbék változása

A mérési térfogat

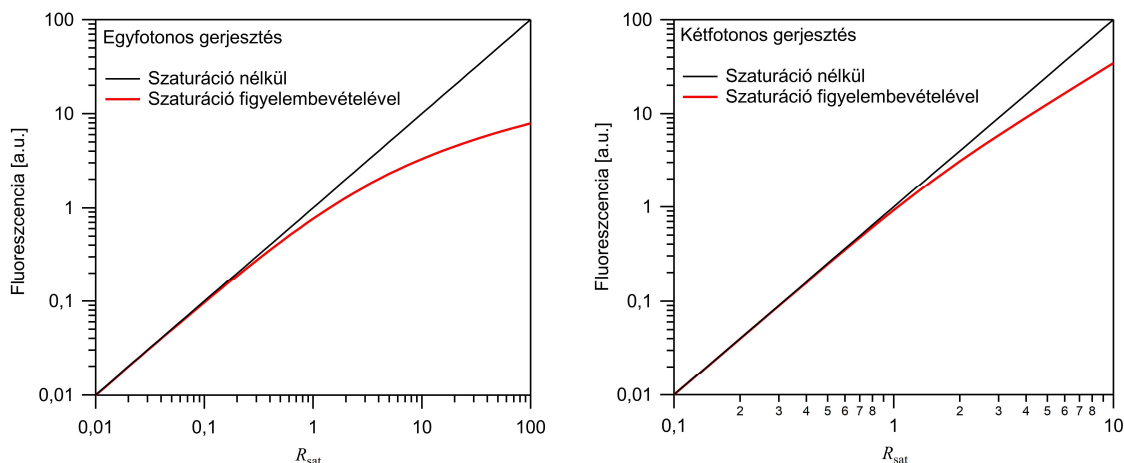
A mérési térfogat (5.24) alakját felhasználva megvizsgáltam, hogy hogyan változik a térfogat és a γ -faktor az alacsony gerjesztési szinteken felírt térfogathoz képest (5.12. ábra). A térfogatra felírt összefüggések térbeli integrálja nem fejezhető ki egyszerű analitikus formában, így azokat numerikus módszerekkel határoztam meg. A számolások elvégzéséhez a Scilab szoftvercsomagot használtam. Megfigyelhető, hogy a térfogat már a szaturációs intenzitás alatt elkezd növekedni, egyre nagyobb változásokat előidézve magasabb gerjesztési szinteken. Ennek az az oka, hogy a mérési térfogat nem egy éles határokkal rendelkező térrész, hanem a fluoreszcenciagerjesztésen alapuló valószínűségi függvény írja le. Egy- és kétfotonos gerjesztés esetén a mérési térfogat különböző dinamikával változik. A szaturációs intenzitást elérve a térfogatnövekedés másfélszeres egyfotonos gerjesztés és 1,45-szörös kétfotonos gerjesztés esetén.



5.12. ábra A mérési térfogat és a γ -faktor változása az alacsony gerjesztési szinten felírt, a szaturáció által még nem módosított térfogathoz képest egy- és kétfotonos gerjesztés esetén.

A fluoreszcenciaintenzitás

A gerjesztett mintáról mért fluoreszcenciaintenzitás ((5.8) és (5.11)) a molekuláris fényesség és a térfogat fenti változásából adódóan növekszik a gerjesztő intenzitás függvényében (5.13. ábra). Megfigyelhető, hogy alacsony gerjesztési szinteken a görbe követi a jólismert lineáris (egyfotonos) és négyzetes (kétfotonos) összefüggéseket. Magasabb gerjesztési szinteknél a szaturáció hatására a fluoreszcenciaintenzitás eltér ettől, de a térfogat fentebb leírt változásai miatt továbbra is növekvő tendenciát mutat.



5.13. ábra A minta által kibocsátott fluoreszcencia a relatív gerjesztő intenzitás függvényében egy- és kétfotonos gerjesztés esetén.

A mérési térfogat szaturáció indukált változásainak jellemzése után rátérünk annak leírására, hogy a gerjesztési szaturáció milyen hatással van a fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópai mérések során felvett korrelációs görbékre.

Korrelációs görbék

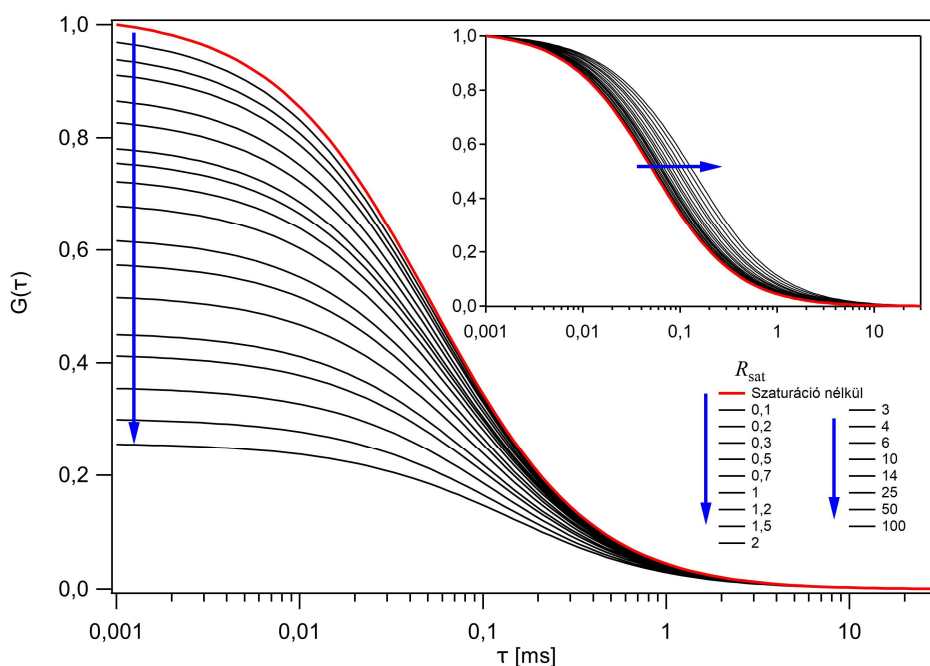
A fenti gondolatmenet alapján felépített numerikus eljárással különböző szaturációs szinteken meghatároztam a korrelációs görbéket a (5.24) formulákkal leírt mérési térfogatokra egy- és kétfoton-abszorpció esetén. Mivel a mérési térfogat általában elnyújtott alakú, így annak diszkrét felosztásához különböző n számú cellát alkalmaztam a radiális és az axiális

irányokban. Rodamin 6G-vel végzett korábbi mérési eredményeink alapján az 5.5.2. táblázat tartalmazza a számolásoknál alkalmazott bemenő paramétereket:

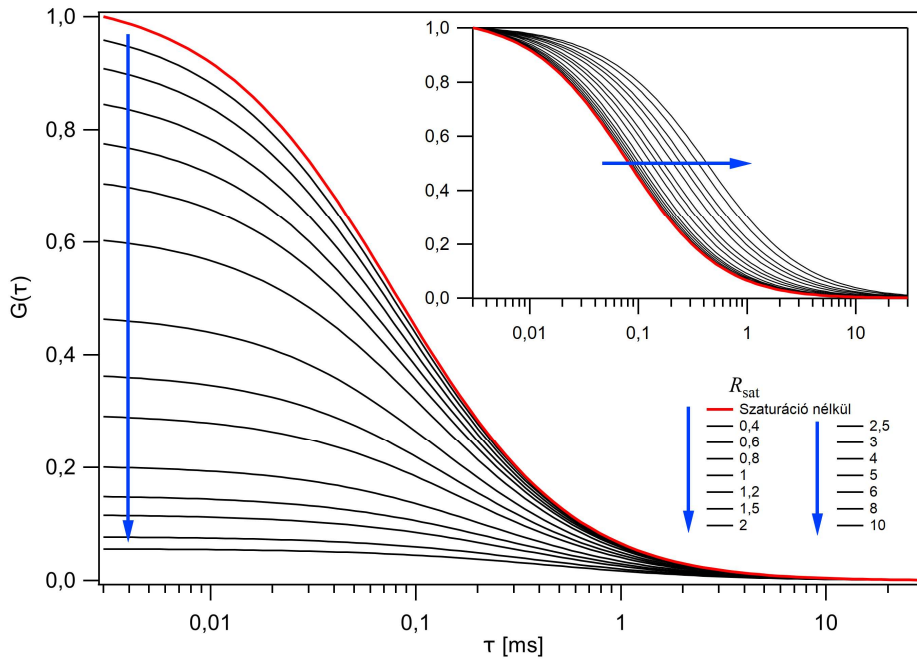
5.5.2. táblázat A korrelációs görbéket előállító numerikus számolások bemenő paraméterei.

| | 3DG | GL |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
| C [$\text{db}/\mu\text{m}^3$] | 10 | 10 |
| D [cm^2/s] | $3 \cdot 10^{-6}$ | $3 \cdot 10^{-6}$ |
| w_0 [μm] | 0,3 | 0,4 |
| z_0/w_0 | 8 | 8 |
| n x,y | 64 | 64 |
| n z | 512 | 512 |

A kapott eredményeket egyfotonos gerjesztés esetén az 5.14. ábra, és kétfotonos gerjesztés esetén az 5.15. ábra mutatja be. Alacsony gerjesztő intenzitás esetén (a szaturációs intenzitás 10%-a alatt) a korrelációs görbe gyakorlatilag megegyezik a 3DG (egyfotonos gerjesztés) és a GL (kétfotonos gerjesztés) térfogatokkal felírt korrelációs görbékkel. Az intenzitást növelve a korrelációs görbe $G(0)$ amplitúdója monoton csökken, ami a mérési térfogatban lévő fluoreszkáló molekulák számának növekedésére utal. Ezt a számbeli növekedést azonban nem a koncentráció, hanem a mérési térfogat változása okozza. Az ábrákon az is megfigyelhető, hogy az intenzitás növelésével a korrelációs görbék időbeli lecsengése is megváltozik, jobbra tolódnak el a görbék, ami a diffúziós idő növekedésére utal. Ez összhangban van a mérési térfogat változására kapott eredményekkel. Az intenzitás növelésével a szaturáció által gerjesztett egyre nagyobb térfogattól egyre hosszabb időre van szüksége a molekuláknak a kidiffundáláshoz.



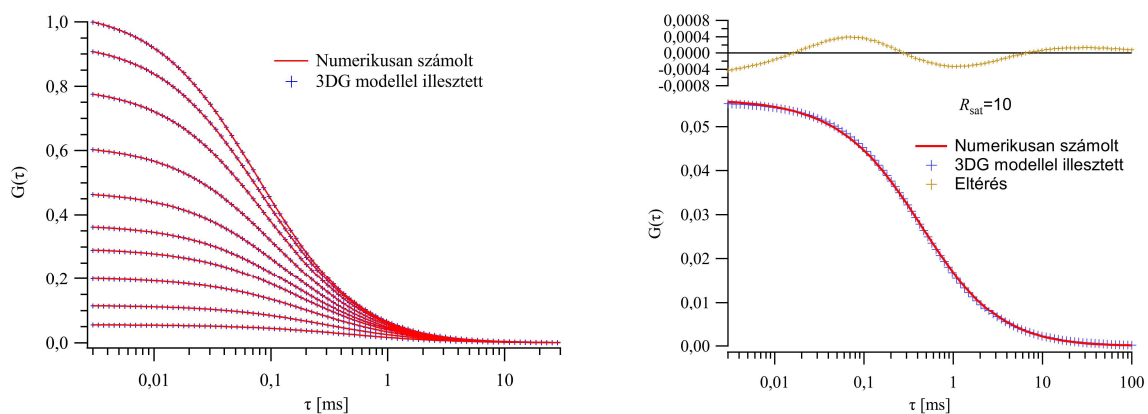
5.14. ábra Numerikusan számolt korrelációs függvények egyfotonos gerjesztés esetén 3DG megvilágítási profilra.



5.15. ábra Numerikusan számolt korelációs függvények kétfotonos gerjesztés esetén GL megvilágítási profilra.

5.4.2. Új adatkiértékelési modell

Bár az 5.3.1 fejezetben vázolt eljárás lényegesen lerövidíti a korelációs görbék numerikus meghatározásának idejét tetszőleges alakú mérési térfogat esetén, rutinszerű alkalmazásra még mindig nagyon számításigényes és lassú. Azonban az 5.1.4 fejezetben bemutatott példa is jól szemlélteti, hogy a szaturációs küszöbnél magasabb gerjesztő intenzitás mellett felvett görbékre is jó közelítéssel lehet 3DG mérési térfogatra számolt korelációs görbét illeszteni. Az illesztés során kapott térfogat, koncentráció és diffúziós állandó azonban nem a valós fizikai paramétereket adták vissza.



5.16. ábra A bal oldali ábra mutatja a numerikusan számolt korelációs görbét kétfotonos gerjesztésre különböző gerjesztési intenzitások mellett ($R_{\text{sat}} = 0, 1-10$), és az azokra illesztett 3DG modellen alapuló görbét. A jobb oldali ábrán $R_{\text{sat}} = 10$ esetén látható a numerikusan meghatározott és a 3DG modellel számolt korelációs görbe, felül pedig a kettő különbsége szerepel, mely szemlélteti a két görbe szisztematikus eltérését magasabb intenzitásokon.

Az 5.16. ábra mutatja be a gerjesztő intenzitás függvényében kiszámolt szaturáció által módosított korrelációs görbéket és az azokra illesztett 3DG modellel számolt korrelációs görbéket. Látható, hogy magasabb gerjesztési intenzitások esetén is, egy kis szisztematikus eltéréstől eltekintve, viszonylag jó illesztés érhető el. Így ezzel a modellel lekövethető a korrelációs görbe $G(0)$ értékének és a diffúziós időnek a szaturáció általi változása.

A numerikusan kiszámolt korrelációs görbékre történt illesztésekkel meghatároztam a görbék amplitúdójának és a mérési térfogat radiális és axiális méreteinek skálázását a szaturációs szint függvényében. A $\chi_{\gamma/V}$, χ_{ω} , és χ_z skálázási paraméterek így meghatározott értékeit az 5.3. táblázat foglalja össze egyfotonos gerjesztésre, melyekkel (5.6) a következő formában írható fel 3DG modell esetén:

$$G_D(\tau) = \frac{\chi_{\gamma/V} \gamma_{3DG}}{\langle C \rangle V_{3DG}} \frac{1}{(1 + 4D\tau/\chi_{\omega}\omega_0^2)(1 + 4D\tau/\chi_z z_0^2)^{1/2}}. \quad (5.28)$$

5.3. táblázat A korrelációs függvény skálázási paraméterei egyfotonos gerjesztés esetén.

| R_{sat} | 0,01 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,5 | 0,7 | 1 | 3 | 4 | 7 | 10 | 20 | 50 | 100 |
|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| $\chi_{\gamma/V}$ | 1 | 0,96 | 0,93 | 0,91 | 0,86 | 0,82 | 0,78 | 0,61 | 0,54 | 0,49 | 0,44 | 0,37 | 0,29 | 0,25 |
| χ_{ω} | 1 | 1,03 | 1,06 | 1,08 | 1,12 | 1,16 | 1,22 | 1,45 | 1,59 | 1,69 | 1,8 | 2,04 | 2,36 | 2,62 |

Egyfotonos gerjesztés esetén a mérési térfogat axiális és radiális méretének a skálázása megegyezik, azaz $\chi_z = \chi_{\omega}$. Kétfotonos gerjesztéskor a radiális profil Gauss, míg az axiális profil Lorentz görbe (5.22), így a két meghatározó méret eltérő módon skálázódik. A $\chi_{\gamma/V}$, χ_{ω} , és χ_z skálázási paraméterek értékeit az 5.4. táblázat foglalja össze kétfotonos gerjesztésre, melyekkel (5.6) a következő formában írható fel 3DG modell esetén:

$$G_D(\tau) = \frac{\chi_{\gamma/V} \gamma_{GL}}{\langle C \rangle V_{GL}} \frac{1}{(1 + 8D\tau/\chi_{\omega}\omega_0^2)(1 + 8D\tau/\chi_z z_0^2)^{1/2}}, \quad (5.29)$$

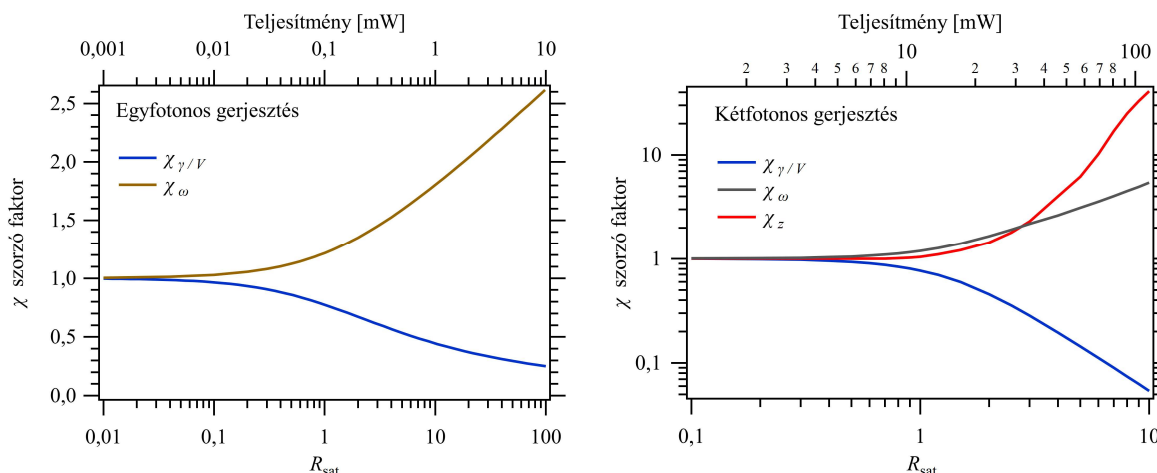
ahol a $z_0 = 3,2 z_R$ axiális méret kezdeti értéke a Rayleigh távolság és egy alacsony szaturációs szinten végzett illesztéssel kapott konstans szorzata.

5.4. táblázat A korrelációs függvény skálázási paraméterei kétfotonos gerjesztés esetén.

| R_{sat} | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,5 | 0,7 | 1 | 1,5 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 8 | 10 |
|-------------------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| $\chi_{\gamma/V}$ | 1 | 0,99 | 0,97 | 0,93 | 0,87 | 0,76 | 0,59 | 0,45 | 0,28 | 0,19 | 0,14 | 0,11 | 0,07 | 0,05 |
| χ_{ω} | 1 | 1,01 | 1,02 | 1,05 | 1,1 | 1,19 | 1,40 | 1,65 | 2,18 | 2,63 | 3,12 | 3,57 | 4,50 | 5,43 |
| χ_z | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,04 | 1,21 | 1,44 | 2,3 | 4 | 6,2 | 10,2 | 25 | 41 |

Megjegyzendő, hogy bár az (5.29) összefüggés korrelációs időtől függő tagja a 3DG modellen alapul, addig az amplitúdó meghatározásánál a GL modell térfogat és gamma faktora szerepel.

A fenti skálázási paramétereket mutatja az 5.17. ábra a gerjesztési szint függvényében. Az ábrákon megfigyelhető, hogy a skálázási paraméterek viszonylag sima függvények, így a köztes pontok kis hibával meghatározhatók lineáris interpolációval.



5.17. ábra A skálázási paraméterek a relatív gerjesztési intenzitás függvényében.

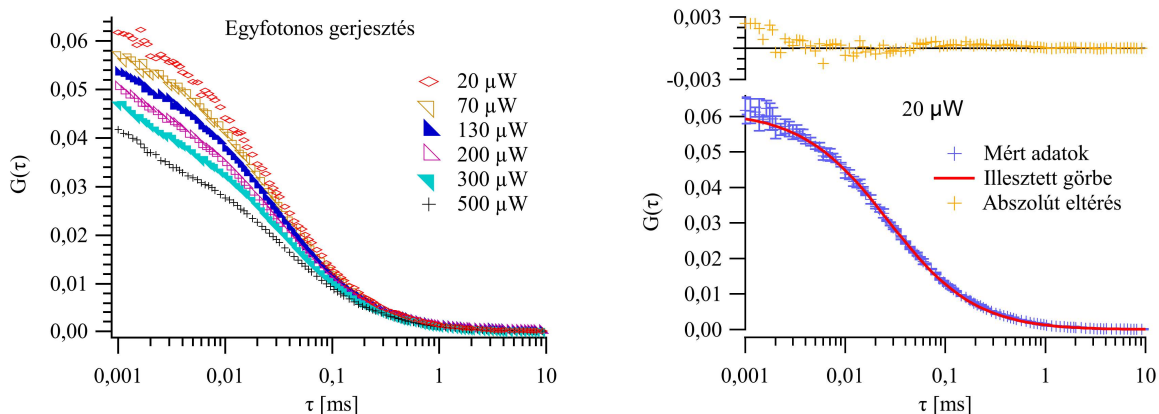
A fenti eredmények alapján a fluoreszcenciakorrelációs spektroszkópiában alkalmazott mikroszkópos berendezés kalibrálását egy mérésorozattal lehet elvégezni, ahol a lézerteljesítmény függvényében felvesszünk több korrelációs görbét, és azokra globális illesztéssel a skálázási faktorokat implementálva határozzuk meg a mérési térfogat, a koncentráció és a szaturációs küszöbintenzitás értékét. Az együttes illesztés globális változói: a diffúziós állandó, a koncentráció, a megvilágító nyaláb radiális és axiális méretei és a szaturációs teljesítmény. Az illesztés során az egyes görbékhez tartozó lokális változók: a teljesítmény, és a sötét frakció paraméterei.

5.4.3. Az új adatkiértékelési modell alkalmazásai

Egyfotonos gerjesztés – konfokális mikroszkóppal végzett mérések

Az 5.3.2 fejezetben bemutatott konfokális mikroszkóppal és Rodamin-6G fluoreszcens molekulákkal végzett kísérletek során felvettem egy sorozat autokorrelációs görbét a megvilágító lézer teljesítményét 16 lépésben változtatva 10 és 500 μW között. A mért görbék közül 6-ot mutat be az 5.18. ábra. Megfigyelhető, hogy növekvő gerjesztő teljesítmény mellett a korrelációs görbék amplitúdója csökken, ami összhangban van a korábbi megállapításaimmal a szaturáció hatásával kapcsolatban. A görbék időbeli lecsengési alakja arra enged következtetni, hogy a szaturáció mellett egyéb fotofizikai folyamatok is fellépnek.

Minden mérési pontban 5 mérés eredményét átlagoltam, és utána az átlag görbékkel számoltam tovább. Egy mérés idejét a lézerteljesítmény és a fluoreszcenciaintenzitás alapján határoztam meg. Kisebb teljesítményeken 1 percig mértem, míg nagyobb teljesítmények esetén elegendő volt 10–20 másodperc is a megfelelő jel/zaj viszony eléréséhez. Az átlagok mellett meghatároztam a szórás is, amelyet az 5.18. ábra korrelációs görbéjén a hibaszávok jelölnek. Az illesztés során a szórás értékeket súly-faktornak használtam. Az illesztés minőségére vonatkozóan a χ^2 paraméter mellett az abszolút eltérés eloszlása a görbe mentén is fontos információ.



5.18. ábra Egyfotonos gerjesztéssel mért autokorrelációs görbék különböző lézerteljesítmények mellett (balra) és egy tipikus illesztés eredménye a 20 μW -os teljesítmény mellett felvett görbére (jobbra).

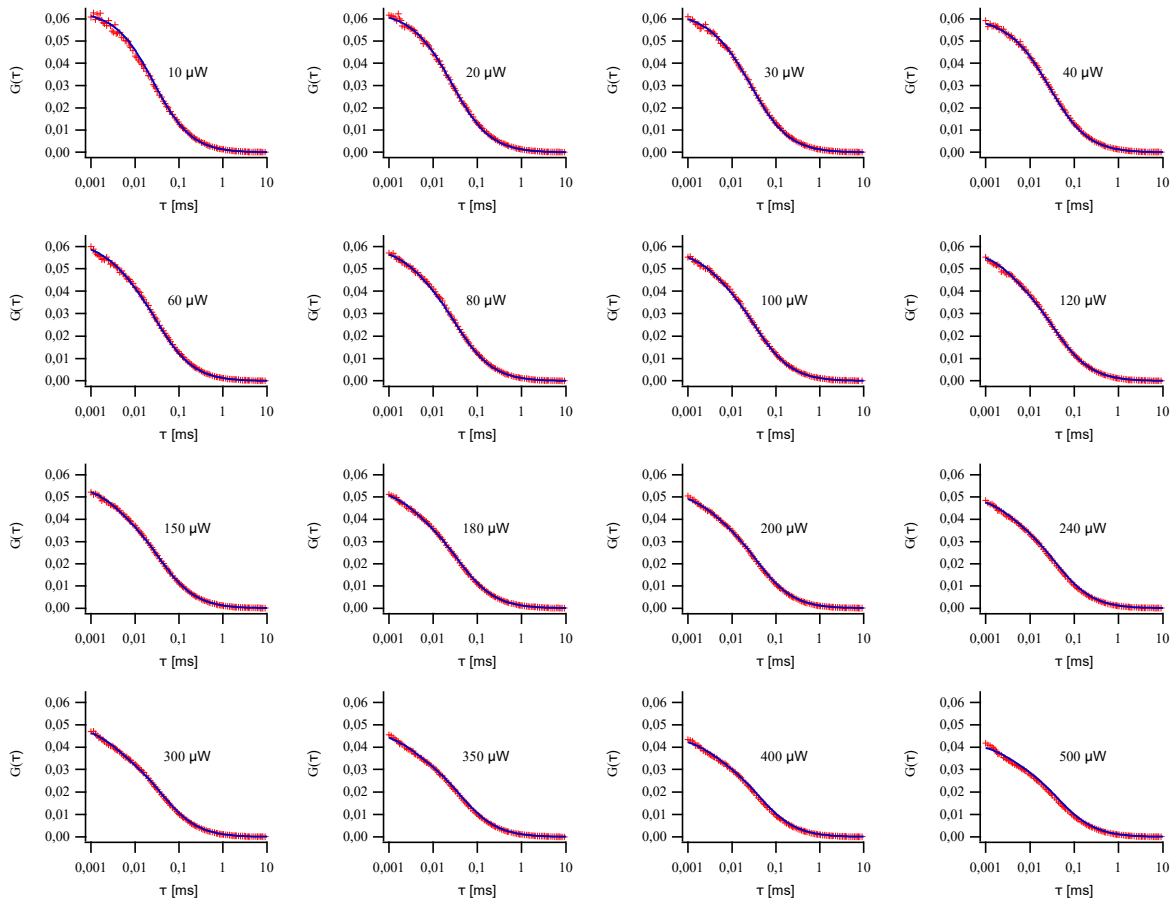
A mért görbesorozatra alkalmaztam az 5.4.2 fejezetben leírt adatkiértékelési modellt. A globális illesztés eredményét mutatja az 5.19. ábra mind a 16 lézerteljesítménnyel felvett görbére. Magasabb intenzitásokon végzett mérések során nem tekinthetünk el a sugárzásmentes relaxáció (triplett átmenetek, fotoelhalványulás) hatásától, melyet az (5.25) összefüggéshez hasonló módon vettem figyelembe az illesztéseknél [198]–[200]:

$$G(\tau) = G_D(\tau) G_T(\tau), \quad G_T(\tau) = \frac{1 - T + T e^{-\tau/\tau_T}}{1 - T}, \quad (5.30)$$

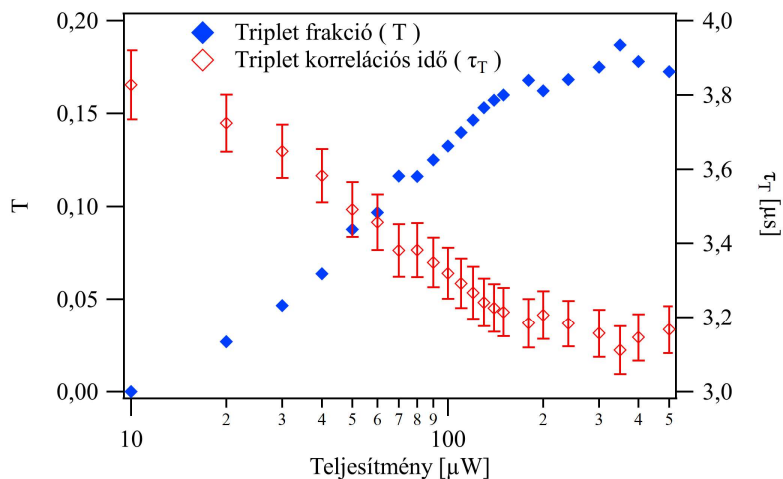
ahol T a triplett frakció, τ_T a triplett konverzió korrelációs időállandója. A triplett állapotú frakció és a triplett korrelációs idő nem független paraméterek, kapcsolatukat a következő módon fejezhetjük ki: $T = 1 - k\tau_T$, ahol k illesztési paraméter. Ez a kapcsolat leírja, hogy nagyobb triplett konverziós sebesség nagyobb triplett frakciót eredményez, és stabilabb illesztést is eredményez.

A globális illesztés során rögzített paraméter volt a diffúziós állandó ($D = 3 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$) és a lézerteljesítmények, míg szabad paraméterek voltak az átlagos koncentráció, a nyalábnyak méretei, a szaturációs teljesítmény, a k triplett konverziós faktor és lokális paraméterként az intenzitásfüggő triplett időállandók. Az 5.19. ábra mutatja a globális illesztés eredményét, ahol megfigyelhető, hogy a teljes átfogott teljesítménytartományban az eredményül kapott függvények jól illeszkednek a mért görbékre, mind a korrelációs függvény amplitúdóját, mind pedig az időbeli lecsengését tekintve.

Az illesztés eredményeként kapott szabad paraméterek a következőképpen alakultak: az átlagos koncentráció értékére 65 nM adódott, a nyalábnyakra pedig 0,17 μm . A vizsgált Rodamin-6G molekula fluoreszcencia-élettartama 3,5 ns, abszorpciós keresztmetszete $5 \cdot 10^{-16} \text{ cm}^2$ 532 nm-es gerjesztő hullámhosszra [201], [202], amiből (5.15) és (5.18) alapján a szaturációs teljesítmény 50 μW . A globális illesztéssel a szaturációs teljesítmény értékére 60 μW adódott, ami közel esik az adott rendszerre vonatkozó 50 μW -os becsléshez.



5.19. ábra A globális illesztés eredménye különböző lézerteljesítmények mellett egyfotonos gerjesztéssel felvett korrelációs görbékre.



5.20. ábra A globális illesztéssel kapott triplet korrelációs idő és a triplet frakció a lézerteljesítmény függvényében.

A globális illesztéssel kapott triplett korrelációs idő és a triplett frakció értékeit mutatja az 5.20. ábra. Megfigyelhető, hogy a triplett frakció a teljesítmény növelésével növekszik, míg a triplett konverziós időállandó csökken. Az (5.30) összefüggésben a triplett frakciót konstansnak feltételezik a mérési térfogat minden pontjában, ami nyilvánvalóan nem egy minden

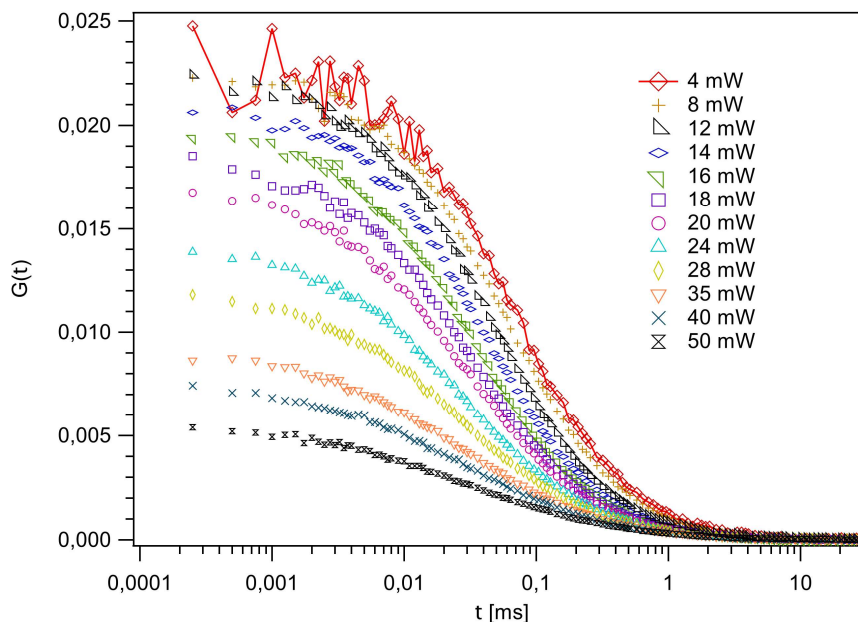
szempontból korrekt modell. Ez viszont magyarázatot adhat arra, hogy miért laposodik el a tripllett korrelációs idő és így a tripllett frakció görbéje is magasabb lézerteljesítményeknél.

Figyelembe véve, hogy az általánosan alkalmazott illesztési procedúrához képest csak egy plusz szabad paramétert vezetünk be az általunk javasolt modellben, a szaturációs intenzitást, az illesztéssel kapott értékek figyelemreméltóan pontosak és a paraméterek a valós fizikai folyamatokat tükrözik.

Kétfotonos gerjesztés – kétfotonmikroszkóppal végzett mérések

Az 5.3.2 fejezetben bemutatott kétfotonmikroszkóppal és Rodamin-6G fluoreszcens molekulákkal végzett kísérletek során felvettem egy sorozat autokorrelációs görbét a megvilágító lézer teljesítményét 15 lépésben változtatva 3 és 50 mW között. A mért görbék egy részét mutatja be az 5.21. ábra. Az előzőhöz hasonlóan itt is megfigyelhető, hogy növekvő gerjesztő teljesítmény mellett a korrelációs görbék amplitúdója csökken, ami összhangban van a korábbi megállapításommal a szaturáció hatásával kapcsolatban. A görbék időbeli lecsengési alakja arra enged következtetni, hogy a szaturáció mellett egyéb fotofizikai folyamatok is fellépnek.

A méréseket az 5.3.3 fejezetben leírt protokoll szerint végeztem. A mért görbesorozatra alkalmaztam az 5.4.2 fejezetben leírt adatkiértékelési modellt. A globális illesztés eredményét mutatja az 5.22. ábra mind a 15 lézerteljesítménnyel felvett görbére. A kiértékelés során a sugárzásmentes relaxáció (tripllett átmenetek, fotoelhalványulás) hatását az (5.25) összefüggésben leírt módon vettem figyelembe.

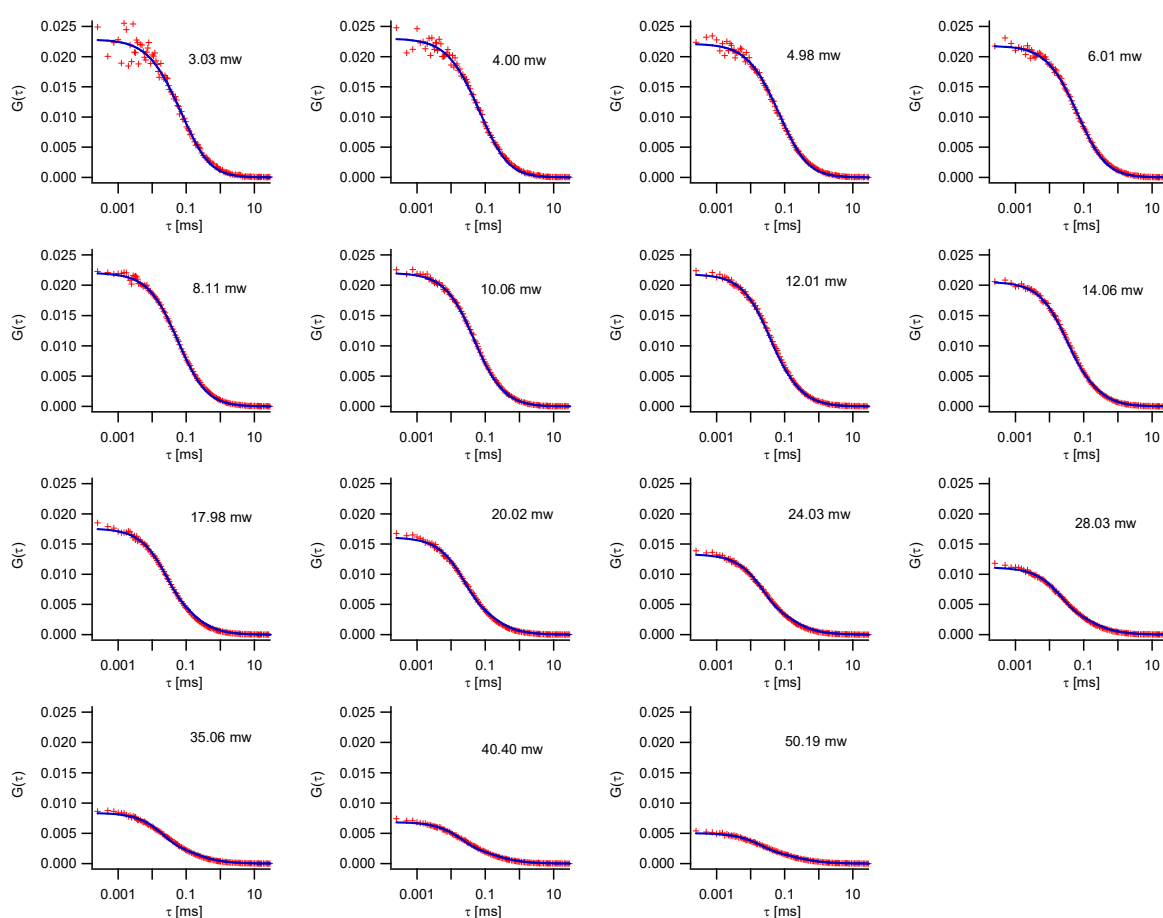


5.21. ábra Kétfotonos gerjesztéssel mért keresztkorrelációs görbék különböző lézerteljesítmények mellett.

A globális illesztés során rögzített paraméter volt a diffúziós állandó ($D = 3 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$) és a lézerteljesítmények, míg szabad paraméterek voltak az átlagos koncentráció, a nyalábnyak méretei, a szaturációs teljesítmény, és lokális paraméterekként az intenzitásfüggő elsötétült

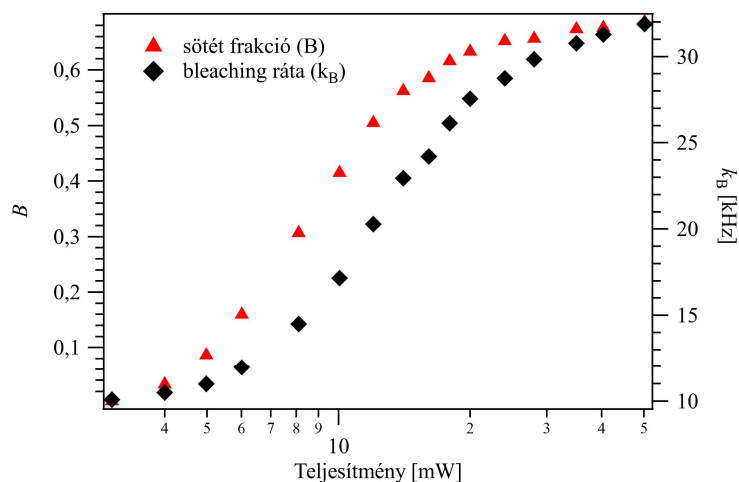
frakció és konverziós rátája. Megfigyelhető, hogy a teljes átfogott teljesítménytartományban a globális illesztéssel kapott görbék jól illeszkednek a mért görbékre, mind a korrelációs függvény amplitúdóját, mind pedig az időbeli lecsengését tekintve (5.22. ábra).

Az illesztés eredményeként kapott szabad paraméterek a következőképpen alakultak: az átlagos koncentráció értékére 76 nM adódott, a nyalábnyakra pedig 0,38 μm . A vizsgált Rodamin-6G molekula fluoreszcencia-élettartama 3,5 ns, kétfoton-abszorpciós keresztmetszete $2 \cdot 10^{-48} \text{ cm}^4$ 780 nm-es gerjesztő hullámhosszra [202]–[204], amiből a szaturációs teljesítményre 10–15 mW közötti becslést lehet adni. A globális illesztéssel a szaturációs teljesítmény értékére 7 mW adódott, ami 30–50%-al kisebb, mint a fenti becslés. Az eltérés több feltételezhető okra vezethető vissza. Az egyik lehetséges magyarázat, hogy a 3DG modellel végzett illesztéssel meghatározott nyalábnyak mérete nagyobb a valós méretnél, de amint azt korábban láttuk, a lézerpulzus alakja is jelentősen befolyásolhatja az eredményt.



5.22. ábra A globális illesztés eredménye különböző lézerteljesítmények mellett kétfotonos gerjesztéssel felvett korrelációs görbékre.

Az illesztéseknél megfigyelhető tendencia, hogy magas gerjesztési szinteken szisztematikus eltérés látszik a mért és az illesztett görbék között. Ennek oka egyrészt abban keresendő, hogy a korrelációs görbe pontos alakja magasabb gerjesztési szinteken kezd jobban eltérni a 3DG modellben megadott görbétől. Másrészt viszont, az 5.1.4 fejezetben leírtak szerint a fotoelhalványulás figyelembe vételére bevezetett modell jelentős egyszerűsítésekkel számol, ami szintén magyarázhatja ezeket az eltéréseket.



5.23. ábra A globális illesztéssel kapott sötét frakció és konverziós rátája a lézerteljesítmény függvényében.

A globális illesztéssel kapott elsötétedett frakció és konverziós rátájának értékeit mutatja az 5.23. ábra. Megfigyelhető, hogy az elsötétedett frakció és konverziós rátája a teljesítmény növelésével növekszik. Az (5.25) összefüggésben a sötét frakciót konstansnak feltételezik a mérési térfogat minden pontjában, ami nyilvánvalóan nem egy minden szempontból korrekt modell, és magyarázatot adhat arra, hogy miért laposodik el a két görbe magasabb lézerteljesítményeknél.

Figyelembe véve, hogy az általánosan alkalmazott illesztési procedúrához képest csak egy plusz szabad paramétert vezetünk be az általunk javasolt modellben, a szaturációs intenzitást, az illesztéssel kapott értékek figyelemreméltóan pontosak és a paraméterek a valós fizikai folyamatokat tükrözik.

5.5. Összegzés

Fluoreszcens molekulák kétállapotú modelljéből kiindulva meghatároztam az érzékelő térfogat alakjának és méretének változását magasabb gerjesztési szinteken, mind egy-, mind kétfotonos gerjesztés esetére. Numerikus számításokkal meghatároztam a térfogat fenti változásának hatását a fluoreszcenciafluktuációs spektroszkópiai mérések során felvett korrelációs görbékre.

Meghatároztam a korrelációs függvény amplitúdójának és relaxációjának skálázási paramétereit, ami alapján új mérési, adatkiértékelési és kalibrációs eljárást dolgoztam ki. Az új modell figyelembe veszi a gerjesztési szaturáció hatását is a mért korrelációs függvény alapján számolt paraméterekre. Az ily módon felépített modell szerint a magasabb gerjesztési szinteken kapott eredmények a valós fizikai folyamatokat tükrözik.

A fenti eljárást konfokális és kétfotonmikroszkóppal végzett kísérletekkel teszteltem Rodamin 6G fluoreszcens festékkel felvett korrelációs görbékre.

TÉZISEK

1. A korábban általam kidolgozott – az aeroszol részecskék méretét és komplex törésmutatóját egyidejűleg meghatározó – új módszerrel vizsgáltam Budapest belvárosában és kertvárosi részén az aeroszol részecskék koncentrációjának időbeli és térbeli változásait, méreteloszlását és abszorpciós tulajdonságait a környezeti monitorozásnál szabványos mérettartományokban. A méréseket különböző meteorológiai körülmények között végeztem el, és elemeztem az aeroszolak különböző frakcióinak változásait. [T1, T2, T3, T4]
 - 1.1. Laboratóriumban mesterségesen előállított, jól definiált tulajdonságú részecskékkel végzett kísérletekkel igazoltam, hogy az általam kidolgozott új módszer a modellszámításoknak megfelelően működik, és 10%-os hibahatáron belül képes meghatározni a tesztrészecskék méretét, és 15%-on belül a komplex törésmutatójának valós és képzetes részét.
 - 1.2. Terepi mérések során a méreteloszlásra és a számszerinti koncentrációra kapott eredmények jó egyezést mutattak a kalibrált, referenciaműszernek használt optikai részecskeszámláló adataival az átfedő mérettartományban (0,6–5 μm , $r = 0,95$, $p < 0,05$). A szubmikrométeres tartományban erős korrelációt tapasztaltam az optikai részecskeszámláló és az aethalométer koncentrációadatai között ($r = 0,74$, $p < 0,05$), ami arra enged következtetni, hogy ebben a mérettartományban jelentős mennyiségű abszorbeáló anyag van, amelynek nagy része égéstermékekből származik.
 - 1.3. A mérések során az abszorpcióra kapott eredményekre vonatkozóan jó egyezést tapasztaltam az irodalomból vett, valamint a fotoakusztikus spektrométerrel és az aethalométerrel mért adatokkal. Voltak időszakok, amikor az aethalométer fekete korom koncentrációs adatsorai erős korrelációt mutattak az aeroszolanalizátorral meghatározott abszorbeáló részecskék koncentrációval ($r = 0,83$, $p < 0,05$), míg a teljes adatsorra közepesen erős korrelációt tapasztaltam ($r = 0,53$, $p < 0,05$). Megállapítottam, hogy a részecskék méreteloszlása, koncentrációja és optikai tulajdonságai a hőmérséklet és a páratartalom mellett függenek az aktuális széliránytól is, amit visszavezettem a különböző jellegű területeken (kertvárosi környezet, forgalmas útvonal, belvárosi régió) jelenlévő eltérő források hatására. Az aeroszolanalizátor által meghatározott átlagos abszorpció (a törésmutató képzetes része) 0,7 körül ingadozott, ami jó egyezést mutat a 0,8-as irodalmi értékkel.
 - 1.4. Az általam kifejlesztett módszer alapján megépített berendezés több aeroszolvérő műszer kiváltására alkalmas (optikai részecskeszámláló, aethalométer, kaszkádingaktor, nefelométer), mivel rövid mintavételezési idővel méri egyidejűleg az aeroszol részecskék négy független paraméterét, így azok a méret és az optikai tulajdonságok függvényében is vizsgálhatók. A kifejlesztett új módszer és berendezés alkalmas a különböző aeroszolfrakciók eredetének és forrásainak a vizsgálatára is.
2. Egészségügyi intézményekben végzett mérésorozatok során optikai mérési módszerekkel meghatároztam az ott dolgozók napi tevékenysége közben a levegőbe jutó részecskék

koncentrációját és méreteloszlását. Egy COVID osztályon található kórteremben és orvosi vizsgáló helyiségekben –légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok közben – mért adatok elemzésekor az aeroszolkoncentráció változása és a vírusok terjedése közötti összefüggéseket mutattam ki, és a mérési eredményeket felhasználva matematikai módszerekkel vizsgáltam a megfertőződés kockázatát a különböző orvosi beavatkozások és ápolási tevékenységek során. [T5, T6, T7, T8]

- 2.1. A kórteremben végzett mérések alapján megállapítottam, hogy a szubmikronos részecskék számának növekedése a különböző beteg- és egészségügyi dolgozói tevékenységek eredményeként nem korrelált a kórteremben tartózkodó személyzet létszámával, és csak gyenge és nem szignifikáns ($p > 0,05$) korrelációt mutatott a tevékenység időtartamával. Ezzel szemben a nagyobb részecskék ($> 1 \mu\text{m}$) számának növekedése közepesen erősen korrelált a kórteremben levők számával ($r = 0,66$, $p < 0,05$) és erősen korrelált a tevékenység időtartamával ($r = 0,82$, $p < 0,05$).
 - 2.2. A tüdőgyógyászati diagnosztikában kiemelt jelentőséggel bíró légzésfunkciós és bronchoszkópos vizsgálatok és kezelések alatt végzett mérések alapján megállapítottam, hogy e tevékenységek során a levegőbe kerülő részecskék literenkénti száma nagyságrendileg hasonló a normál légzés vagy beszéd során kibocsátott részecskekoncentrációhoz. Megállapítottam továbbá, hogy a méreteloszlásuk is hasonlóan alakult, és a részecskék több mint 97%-a szubmikrométeres méretű. Megfigyeltem azt is, hogy a részecske kibocsátás jelentős egyéni varianciát mutat, és nem, vagy csak gyengén függ a vizsgálat típusától. Ezek alapján megállapítottam, hogy a megfertőződés kockázata nem indokolja e vizsgálatok mellőzését, azok a megfelelő biztonsági protokollok betartása mellett elvégezhetők.
3. Felépítettem egy optikai mérési módszereket alkalmazó új laboratóriumi kísérleti berendezést, melyet sikeresen alkalmaztam aeroszolgyógyszerek áramlási és kiülepedési tulajdonságainak meghatározására. Ezek a vizsgálatok lehetővé teszik a kiülepedés helyének és dózisének meghatározását, segítenek az aeroszolgyógyszerek releváns paramétereinek optimalizálásában, és a személyre szabott gyógyszeres terápia során az egyén légzési paramétereinek leginkább megfelelő készítmény kiválasztásában. [T9, T10, T11, T12]
 - 3.1. Új gyógyszerhatóanyagok vizsgálata során mértem azok légúti kiülepedési tulajdonságokat meghatározó méreteloszlását valós légzési mintázatok esetén, és megállapítottam, hogy a tömeg szerinti medián aerodinamikai átmérőjük (MMAD) és diszperziós tulajdonságuk (MMAD = 1,3–2,3 μm , geometriai szórás 1,4–1,7) alapján alkalmasak a célterületre, a tüdő mélyebb régióiban található alveolusokba történő hatékony eljuttatásra. Az általam meghatározott MMAD értékek és a méreteloszlások jó egyezést mutattak a gyógyszeriparban szabványos impaktoros mérések eredményeivel. A módszer hatékonyan alkalmazható az aeroszolgyógyszerek méreteloszlásának optimalizálása, valamint a tüdőben kiülepedő dózisok kontrollálása során, és a hagyományos eljárásokkal szemben számos előnnyel rendelkezik.

- 3.2. Kísérleti úton meghatároztam a Symbicort® Turbuhaler® szárazpor-gyógyszer részecskéinek méreteloszlását a belégzési paraméterek (maximális légáram, belégzés hossza, belélegzett térfogat) függvényében. Megállapítottam, hogy az MMAD $\sim 3 \mu\text{m}$ és $1,6 \mu\text{m}$ között változik, és a maximális belégzési légáram és a belélegzett levegőmennyiség növekedésével csökken. Az MMAD értéke egy idealizált felső légúti modell után mérve $\sim 10\%$ -kal csökkent. Megállapítottam, hogy a belégzés hossza csak kis mértékben befolyásolja az MMAD értékét, a meghatározó faktorok a maximális belégzési légáram és a belélegzett levegőmennyiség, melyek között erős korrelációt tapasztaltam.
4. 3D additív technológiát alkalmazó fémnyomtatás közben végzett mérésekkel megállapítottam, hogy az intenzív lézerfény-fém kölcsönhatás során gőzfázisú magképződéssel aeroszol részecskék keletkeznek. A fémnyomtatás alatt és után optikai mérési módszerekkel (pásztázó mobilitási méretmérő és aerodinamikai méretmérő műszerekkel) széles mérettartományban mértem a koncentráció és a méreteloszlás időbeli és térbeli változásait, valamint kaszkádimpaktorral gyűjtöttem mintát morfológiai és elemösszetétel vizsgálatokhoz. [T13, T14]
- 4.1. Pásztázó mobilitási részecskeméret-mérő berendezéssel végzett mérések alapján megállapítottam, hogy az újonnan képződő részecskék többsége az ultrafinom tartományban van (100 nm alatti mérettel), és a részecskesokaság koncentrációja és jellemző statisztikai mutatói egy viszonylag szűk sávban mozognak, kevéssé függenek a felhasznált fémpor anyagi minőségétől. A termikus koagulációt és a részecskék határfelületekre történő gravitációs és diffúziós kiülepedését figyelembe vevő analitikai modellt alkalmazva leírtam a koncentráció időbeli változását a 3D fémnyomtatás közben és az után. Az alkalmazott modell jó egyezést mutatott a kísérleti úton kapott eredményekkel. A pásztázó elektronmikroszkópos felvételek alapján végzett morfológiai vizsgálatok megerősítették, hogy az újonnan keletkezett részecskék 10 nm körüli méretű, gömb alakú elsődleges részecskékből összeállt aggregátumok illetve agglomerátumok.
- 4.2. Aerodinamikai részecskeszámlálóval végzett mérésekkel megállapítottam, hogy az újonnan keletkezett ultrafinom méretű aeroszol részecskék mellett sok esetben kimutatható egy a finom vagy a mikronos tartományba eső aeroszolváltozat is. Ezen változat részecskéi vagy közvetlenül az olvadt fémből keletkeztek, vagy már eleve jelen voltak a fémporban, és vagy a poradagolóban, vagy pedig a lézerfényvel való interakció során váltak le a hordozó porszemcsékről. Ezeknek a részecskéknél a koncentrációja lényegesen kisebb a keletkező ultrafinom részecskék számszerű koncentrációjánál, azonban azzal összehasonlítható tömeget képviselnek. A fentieket a pásztázó elektronmikroszkópos felvételek alapján végzett morfológiai vizsgálatok is megerősítették, melyek szerint az aeroszol minták tartalmaztak nagyobb méretű (0,2–10 μm) gömb alakú részecskéket is, melyek összetétele jó közelítéssel megegyezett a kiinduló por összetételével.
- 4.3. Pásztázó elektronmikroszkóppal és energiadiszipatív spektroszkópiával végzett vizsgálatok alapján megállapítottam, hogy a keletkezett 10 nm körüli részecskék és az

ezekből képződő aggregátumok/agglomerátumok elemösszetétele megváltozott a kiindulási anyagéhoz képest. A nikkal alapú ötvözetek esetében az aeroszolban mért nikkal-króm arány megfordult az eredeti fémporhoz képest, és bár a mangán mennyisége az eredeti kiindulási porban a kimutatási határérték körül vagy az alatt volt, a lézerrel való interakció során jelentős mennyiség szabadult fel.

5. Egy- és kétfotonmikroszkópos elrendezéssel vizsgáltam a gerjesztési szaturáció hatását a mérési térfogat méretére és alakjára, valamint a magasabb gerjesztési szinteken fellépő változások hatását a korrelációs görbékre és az azokból számolható paraméterekre. A gerjesztés során fellépő fotofizikai folyamatok modellezésével kvantitatív módon meghatároztam a mérési térfogat változásait, és ez alapján kidolgoztam egy eljárást, mellyel magasabb gerjesztési szinteken is a valós fizikai folyamatoknak megfelelő, pontosabb eredmények kaphatók. [T15, T16]
- 5.1. Fluoreszcens molekulák kétállapotú modelljéből kiindulva meghatároztam az érzékelési térfogat alakjának és méretének változását magasabb gerjesztési szinteken, mind egy-, mind kétfotonos gerjesztés esetére. Megállapítottam, hogy a mérési térfogat a szaturációs intenzitás környékén növekvő gerjesztési intenzitás mellett emelkedni kezd, míg a fluoreszcencia intenzitása csökken a szaturáció hatását figyelembe nem vevő modellhez képest. Numerikus számításokkal meghatároztam a térfogat fenti változásának hatását a fluoreszcenciafluktuációs spektroszkópiai mérések során felvett korrelációs görbékre, és megállapítottam, hogy a korrelációs görbék amplitúdója csökken, míg relaxációs ideje nő a gerjesztő intenzitás növelésével.
- 5.2. Meghatároztam a korrelációs függvény amplitúdójának és relaxációjának skálázási paramétereit, ami alapján új mérési, adatkiértékelési és kalibrációs eljárást dolgoztam ki. Az új modell, a szaturációs intenzitás bevezetésével figyelembe veszi a gerjesztési szaturáció hatását is a mért korrelációs függvény alapján számolt paraméterekre.
- 5.3. Rodamin 6G fluoreszcens festékkel, konfokális és kétfotonmikroszkóppal végzett kísérletekkel megmutattam, hogy a fenti modellel kapott eredmények a gerjesztési intenzitásnál magasabb intenzitásokon is a valós fizikai folyamatokat tükrözik, vagyis a gerjesztett molekulák száma és diffúziós állandójuk nem függ a gerjesztési intenzitástól.

A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

- T1. **A. Nagy**, W. Szymanski, P. Gál, A. Golczewski, and A. Czitrovsky, “Numerical and experimental study of the performance of the dual wavelength optical particle spectrometer (DWOPS),” *JOURNAL OF AEROSOL SCIENCE*, vol. 38, pp. 467–478, 2007.
- T2. W. Szymanski, A. Golczewski, **A. Nagy**, P. Gál, and A. Czitrovsky, “An innovative approach to optical measurement of atmospheric aerosols - Determination of the size and complex refractive index of single aerosol particles,” in *Advanced Environmental Monitoring*, 2007, pp. 167–178.
- T3. W. Szymanski, **A. Nagy**, and A. Czitrovsky, “Optical particle spectrometry - problems and prospects,” *JOURNAL OF QUANTITATIVE SPECTROSCOPY & RADIATIVE TRANSFER*, vol. 110, no. 11, pp. 918–929, 2009.
- T4. **A. Nagy**, A. Czitrovsky, A. Kerekes, M. Veres, and W. Szymanski, “Real-time determination of absorptivity of ambient particles in urban aerosol in Budapest, Hungary,” *AEROSOL AND AIR QUALITY RESEARCH*, vol. 16, no. 1, pp. 1–10, 2016.
- T5. Madas, B.G. ; Fűri, P. ; Farkas, Á. ; Nagy, A. ; Czitrovsky, A. ; Balásházy, I. ; Schay, G.G. ; Horváth, A. Deposition distribution of the new coronavirus (SARS-CoV-2) in the human airways upon exposure to cough-generated droplets and aerosol particles. *SCIENTIFIC REPORTS* 10 : 1 Paper: 22430 , 8 p. 2020.
- T6. **Nagy, A.** ; Horváth, A. ; Farkas, Á. ; Fűri, P. ; Erdélyi, T. ; Madas, B.G. ; Czitrovsky, A.; Merkely, B. ; Szabó, A. ; Ungvári, Z. et al., Modeling of nursing care-associated airborne transmission of SARS-CoV-2 in a real-world hospital setting, *GEROSCIENCE* 44 : 2 pp. 585-595. , 11 p. (2022)
- T7. Tomisa, G. ; Horváth, A. ; Farkas, Á. ✉ ; **Nagy, A.** ; Kis, E. ; Tamási, L., Real-life measurement of size-fractionated aerosol concentration in a plethysmography box during the COVID-19 pandemic and estimation of the associated viral load, *JOURNAL OF HOSPITAL INFECTION* 118 pp. 7-14. , 8 p. (2021)
- T8. Farkas, Á ; Horváth, A ; Dulka, E ; Putz, Zs ; **Nagy, A** ; Gálffy, G, A bronchoszkópos vizsgálat, mint aeroszol generáló tevékenység és a hozzá kapcsolódó koronavírus terhelés kockázata, *MEDICINA THORACALIS (BUDAPEST)* 75 : 1 pp. 3-10. , 8 p. (2022)
- T9. A. Kerekes, **A. Nagy**, M. Veres, I. Rigó, Á. Farkas, and A. Czitrovsky, “In vitro and in silico (IVIS) flow characterization in an idealized human airway geometry using laser Doppler anemometry and computational fluid dynamics techniques,” *MEASUREMENT*, vol. 90, pp. 144–150, 2016.
- T10. Party, P.; Kókai, D.; Burián, K.; **Nagy, A.**; Hopp, B.; Ambrus, R., Development of extra-fine particles containing nanosized meloxicam for deep pulmonary delivery: in vitro aerodynamic and cell line measurements, *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES* 176 Paper: 106247 , 13 p. (2022)

- T11. Mukhtar, M.; Csaba, N.; Robla, S.; Varela-Calviño, R.; **Nagy, A.**; Burian, K.; Kókai, D.; Ambrus, R., Dry Powder Comprised of Isoniazid-Loaded Nanoparticles of Hyaluronic Acid in Conjugation with Mannose-Anchored Chitosan for Macrophage-Targeted Pulmonary Administration in Tuberculosis, PHARMACEUTICS 14 : 8 Paper: 1543 , 19 p. (2022)
- T12. Sz. Kugler, **A. Nagy**, A. Kerekes, M. Veres, I. Rigó, and A. Czitrovsky, “Determination of emitted particle characteristics and upper airway deposition of Symbicort® Turbuhaler® dry powder inhaler,” JOURNAL OF DRUG DELIVERY SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 54, 2019.
- T13. Kugler, Sz. ; **Nagy, A.** ; Osán, J. ; Péter, L. ; Groma, V. ; Pollastri, S. ; Czitrovsky, A. Characterization of the ultrafine and fine particles formed during laser cladding with the Inconel 718 metal powder by means of X-ray spectroscopic techniques, SPECTROCHIMICA ACTA PART B-ATOMIC SPECTROSCOPY 177 Paper: 106110, 11 p. 2021.
- T14. Peter, L.; Osán, J.; Kugler, Sz.; Groma, V.; Pollastri, S.; **Nagy, A.**, Comprehensive Analysis of Two H13-Type Starting Materials Used for Laser Cladding and Aerosol Particles Formed in This Process, MATERIALS 15 : 20 Paper: 7367 , 24 p. (2022)
- T15. **A. Nagy**, J. Wu, and K. Berland, “Observation volumes and gamma factors in two-photon fluorescence fluctuation spectroscopy” BIOPHYSICAL JOURNAL, vol. 89, pp. 2077–2090, 2005.
- T16. **A. Nagy**, J. Wu, and K. Berland, “Characterizing observation volumes and the role of excitation saturation in one-photon fluorescence fluctuation spectroscopy” JOURNAL OF BIOMEDICAL OPTICS, vol. 10, p. 44015, 2005.

A DOLGOZAT TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEIM

- S1. Szymanski, W ; **Nagy, A** ; Czitrovsky, A ; Jani, P, A new method for the simultaneous measurement of aerosol particle size, complex refractive index and particle density, MEASUREMENT SCIENCE & TECHNOLOGY 13 pp. 303-308. , 6 p. (2002)
- S2. Jani, P ; Koniorczyk, M ; **Nagy, A** ; Lipp, Z ; Bartal, B ; László, A ; Czitrovsky, A, Probability distribution of scattered intensities, JOURNAL OF AEROSOL SCIENCE 33: 5 pp. 697-704. , 8 p. (2002)
- S3. L. Wind, L. Hofer, **A. Nagy**, P. Winkler, A. Vrtala, and W. Szymansky, “Light scattering from droplets with inclusions and the impact on optical measurements of aerosols,” JOURNAL OF AEROSOL SCIENCE, vol. 35, pp. 1173–1188, 2004.
- S4. Hozer, Z ; Maroti, L ; Windberg, P ; Matus, L ; Nagy, I ; Gyenes, G ; Horvath, M ; Pinter, A ; Balasko, M ; Czitrovsky, A ; **Nagy A** et al., Behavior of VVER fuel rods tested under severe accident conditions in the CODEX facility, NUCLEAR TECHNOLOGY 154 : 3 pp. 302-317. , 16 p. (2006)
- S5. Gelencsér, A ; Kováts, N ; Turóczy, B ; Rostási, A ; Hoffer, A ; Imre, K ; Nyirő-Kósa, I ; Csákberényi-Malasics, D ; Toth, A ; Czitrovsky, A ; **Nagy A** et al., The red mud accident in Ajka (Hungary): characterization and potential health effects of fugitive dust, ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY 45 : 4 pp. 1608-1615. , 8 p. (2011)
- S6. A. Kerekes, M. Veres, L. Himics, S. Tóth, A. Czitrovsky, D. Oszetzky, A. Horváth, S. Kugler, M. Koós, and **A. Nagy**, “Determination of the deposited amount of inhalation drugs in realistic human airways by Raman and infrared spectroscopy,” MEASUREMENT, vol. 104, pp. 237–242, 2017.
- S7. Á. Farkas, A. Horváth, A. Kerekes, **A. Nagy**, S. Kugler, L. Tamási, and G. Tomisa, “Effect of delayed pMDI actuation on the lung deposition of a fixed-dose combination aerosol drug,” INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, vol. 547, no. 1–2, pp. 480–488, 2018.
- S8. Á. Farkas, A. Szipőcs, A. Horváth, I. Horváth, G. Gálffy, J. Varga, K. Galambos, Sz. Kugler, **A. Nagy**, and Z. Szalai, “Establishment of relationships between native and inhalation device specific spirometric parameters as a step towards patient tailored inhalation device selection,” RESPIRATORY MEDICINE, vol. 154, pp. 133–140, 2019.
- S9. Hoffer, A. ; Tóth, Á. ; Jancsek-Turóczy, B. ; Machon, A. ; Meiramova, A. ; **Nagy, A.** ; Marmureanu, L. ; Gelencsér, A., Potential new tracers and their mass fraction in the emitted PM10 from the burning of household waste in stoves, ATMOSPHERIC CHEMISTRY AND PHYSICS 21 : 23 pp. 17855-17864. , 10 p. (2021)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni hálámat és köszönetet mondani mindazoknak, akik hozzájárultak kutatómunkám eredményeihez és a dolgozat elkészüléséhez.

Köszönöm doktori témavezetőm, Czitrovszky Aladár töretlen támogatását, tanácsait, útmutatásait és bátorítását, melyek nélkül nem készült volna el a doktori dolgozat. A velem folytatott szakmai és baráti diskussziók mindig segítettek túllendülni a nehézségeken és jelentős mértékben hozzájárultak a dolgozatban bemutatott eredmények megszületéséhez.

Szeretnék köszönetet mondani a Szilárdtestfizikai Kutatóintézet és jogutódai, az MTA Szilárdtestfizikai és Optikai Kutatóintézet, az MTA Wigner Fizikai Kutatóközpont, majd Wigner Fizikai Kutatóközpont vezetőinek, Kroó Norbertnek, Kollár Jánosnak, Buka Ágnesnek, Lévai Péter Józsefnek és Domokos Péternek, valamint az intézet és a kutatóközpont vezetőségének, hogy biztosították a kutatómunkámhoz szükséges feltételeket.

Köszönöm közvetlen munkatársaimnak, a Wigner FK Lézeralkalmazások és Optikai Méréstechnika Kutatócsoport tagjainak, Kugler Szilviának, Kerekes Attilának, Oszetzky Dánielnek, Gál Péternek, valamint a Nanoszerkezetek és Alkalmazott Spektroszkópia Kutatócsoport tagjainak, Veres Miklósnak, Rigó Istvánnak, Himics Lászlónak, Nagyné Szokol Ágnesnek, Váczi Tamásnak és Schlosser Péternek, továbbá Péter Lászlónak és Jani Péternek a munkámhoz nyújtott támogatását.

Köszönetem szeretném kifejezni azon hazai és külföldi kutatóknak, akik a közös munka során segítettek kutatásaimat: Farkas Árpád, Osán János, Groma Veronika, Müller Veronika, Horváth Alpár, Ambrus Rita, Ajtai Tibor, Bodnár Károly, Kreis István, Wladyslaw Szymanski és Bernadett Weinzierl (University of Vienna, Ausztria), Keith Berland (Emory University, USA) és mások.

A dolgozatban bemutatott eredmények az Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság, az Oktatási Minisztérium, a Magyar Gazdaságfejlesztési Központ, a Kutatási Technológiai és Innovációs Alap, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal, és a TÉT Alapítvány támogatásával születtek.

A legnagyobb köszönet azonban a családomat – feleségemet, gyermekeimet, szüleimet és testvéreimet – illeti, akik fogyni nem akaró türelemmel támogattak és bíztattak munkám és a dolgozat megírása során.

FELHASZNÁLT IRODALOM

- [1] K. T. Whitby, R. B. Husar, and B. Y. H. Liu, “The aerosol size distribution of Los Angeles smog,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 39, no. 1, pp. 177–204, 1972, doi: 10.1016/0021-9797(72)90153-1.
- [2] A. Petzold and B. Kärcher, “Aerosols in the Atmosphere,” 2012, pp. 37–53.
- [3] R. Jaenicke, “Atmospheric aerosols and global climate,” *Journal of Aerosol Science*, vol. 11, no. 5–6. Pergamon, pp. 577–588, Jan. 01, 1980, doi: 10.1016/0021-8502(80)90131-7.
- [4] W. E. Wilson *et al.*, “General Motors Sulfate Dispersion Experiment: Summary of EPA Measurements,” *J. Air Pollut. Control Assoc.*, vol. 27, no. 1, pp. 46–51, 1977, doi: 10.1080/00022470.1977.10470391.
- [5] D. Baumgardner, H. Jonsson, W. Dawson, D. O’Connor, and R. Newton, “The cloud, aerosol and precipitation spectrometer: A new instrument for cloud investigations,” *Atmos. Res.*, vol. 59–60, pp. 251–264, 2001, doi: 10.1016/S0169-8095(01)00119-3.
- [6] C. F. Bohren and D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley-Interscience, New York, 1983.
- [7] O. Boucher, “Physical, Chemical and Optical Aerosol Properties,” in *Atmospheric Aerosols*, Springer Netherlands, 2015, pp. 25–49.
- [8] W. Brown, *Light Scattering*. Oxford: Clarendon Press.
- [9] J. Burnett, “Particle counting practices for yield improvement,” *Microcontamination*, vol. 4, no. 3, p. 20, 1986.
- [10] H. Chang, K. Okuyama, and W. W. Szymanski, “Experimental evaluation of the optical properties of porous silica/carbon composite particles,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 37, no. 9, pp. 735–751, Sep. 2003, doi: 10.1080/02786820300916.
- [11] A. Czitrovsky and P. Jani, “New design for a light-scattering airborne particle counter and its applications,” *Opt. Eng.*, vol. 32, no. 10, p. 2557, 1993, doi: 10.1117/12.145394.
- [12] R. Jaenicke and T. Hanusch, “Simulation of the optical particle counter forward scattering spectrometer probe 100 (FSSP-100),” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 18, no. 4, pp. 309–322, 1993, doi: 10.1080/02786829308959607.
- [13] M. Kerker, “Light scattering instrumentation for aerosol studies: An historical overview,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 27, no. 4, pp. 522–540, Jan. 1997, doi: 10.1080/02786829708965492.
- [14] P. H. McMurry, X. Zhang, and C. Te Lee, “Issues in aerosol measurement for optics assessments,” *J. Geophys. Res. Atmos.*, vol. 101, no. 14, pp. 19189–19197, Aug. 1996, doi: 10.1029/95jd02342.
- [15] X. Renliang, *Particle Characterization: Light Scattering Methods*. Dordrecht: Kluwer, 2000.
- [16] W. W. Szymanski and B. Y. H. Liu, “On the Sizing Accuracy of Laser Optical Particle Counters,” *Part. Part. Syst. Charact.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–7, 1986, doi: 10.1002/ppsc.19860030102.
- [17] J. C. Barnard and L. C. Harrison, “Monotonic responses from monochromatic optical

- particle counters,” *Appl. Opt.*, vol. 27, no. 3, p. 584, Feb. 1988, doi: 10.1364/ao.27.000584.
- [18] Y. Liu and P. H. Daum, “The effect of refractive index on size distributions and light scattering coefficients derived from optical particle counters,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 31, no. 8, pp. 945–957, 2000, doi: 10.1016/S0021-8502(99)00573-X.
- [19] D. D. Cooke and M. Kerker, “Response Calculations for Light-Scattering Aerosol Particle Counters,” *Appl. Opt.*, vol. 14, no. 3, p. 734, Mar. 1975, doi: 10.1364/ao.14.000734.
- [20] S. V. Hering and P. H. McMurry, “Optical counter response to monodisperse atmospheric aerosols,” *Atmos. Environ. Part A, Gen. Top.*, vol. 25, no. 2, pp. 463–468, Jan. 1991, doi: 10.1016/0960-1686(91)90317-Z.
- [21] B. Y. H. Liu, W. W. Szymanski, and D. Y. H. Pui, “RESPONSE OF A LASER OPTICAL PARTICLE COUNTER TO TRANSPARENT AND LIGHT-ABSORBING PARTICLES.,” *ASHRAE Trans.*, vol. 92, no. pt 1A, pp. 518–538, Dec. 1986, Accessed: Mar. 08, 2021. [Online]. Available: <https://experts.umn.edu/en/publications/response-of-a-laser-optical-particle-counter-to-transparent-and-l>.
- [22] R. G. Pinnick, J. D. Pendleton, and G. Videen, “Response characteristics of the Particle Measuring Systems active scattering aerosol spectrometer probes,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 33, no. 4, pp. 334–352, 2000, doi: 10.1080/02786820050121530.
- [23] E. J. Davis and P. Ravindran, “Single particle light scattering measurements using the electrodynamic balance,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 1, no. 3, pp. 337–350, Jul. 1982, doi: 10.1080/02786828208958599.
- [24] E. J. Davis and A. K. Ray, “Single aerosol particle size and mass measurements using an electrodynamic balance,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 75, no. 2, pp. 566–576, 1980, doi: 10.1016/0021-9797(80)90478-6.
- [25] A. K. Ray, A. Souyri, E. J. Davis, and T. M. Allen, “Precision of light scattering techniques for measuring optical parameters of microspheres,” *Appl. Opt.*, vol. 30, no. 27, p. 3974, Sep. 1991, doi: 10.1364/ao.30.003974.
- [26] T. M. Allen, M. F. Buehler, and E. J. Davis, “Radiometric effects on absorbing microspheres,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 142, no. 2, pp. 343–356, Mar. 1991, doi: 10.1016/0021-9797(91)90065-G.
- [27] D. M. Garvey and R. G. Pinnick, “Response characteristics of the particle measuring systems active scattering aerosol spectrometer probe (ASASP-X),” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 2, no. 4, pp. 477–488, 1983, doi: 10.1080/02786828308958651.
- [28] W. C. Hinds and G. Kraske, “Performance of PMS model LAS-X optical particle counter,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 17, no. 1, pp. 67–72, 1986, doi: 10.1016/0021-8502(86)90007-8.
- [29] P. J. Wyatt, “Submicrometer particle sizing by multiangle light scattering following fractionation,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 197, no. 1, pp. 9–20, Jan. 1998, doi: 10.1006/jcis.1997.5215.
- [30] B. A. Sachweh, W. D. Dick, and P. H. McMurry, “Distinguishing between spherical and nonspherical particles by measuring the variability in azimuthal light scattering,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 23, no. 3, pp. 373–391, 1995, doi: 10.1080/02786829508965321.
- [31] W. D. Dick, B. A. Sachweh, and P. H. McMurry, “Distinction of coal dust particles from

- liquid droplets by variations in azimuthal light scattering,” *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, vol. 11, no. 7, p. 637, 1996, doi: 10.1080/1047322X.1996.10389952.
- [32] W. D. Dick, P. Saxena, and P. H. McMurry, “Estimation of water uptake by organic compounds in submicron aerosols measured during the Southeastern Aerosol and Visibility Study,” *J. Geophys. Res. Atmos.*, vol. 105, no. D1, pp. 1471–1479, Jan. 2000, doi: 10.1029/1999JD901001.
- [33] W. D. Dick, P. J. Ziemann, P. F. Huang, and P. H. McMurry, “Optical shape fraction measurements of submicrometre laboratory and atmospheric aerosols,” *Meas. Sci. Technol.*, vol. 9, no. 2, pp. 183–196, 1998, doi: 10.1088/0957-0233/9/2/006.
- [34] W. D. Dick, P. J. Ziemann, and P. H. McMurry, “Multiangle Light-Scattering Measurements of Refractive Index of Submicron Atmospheric Particles,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 41, no. 5, pp. 549–569, Apr. 2007, doi: 10.1080/02786820701272012.
- [35] W. W. Szymanski, A. Nagy, A. Czitrovszky, and P. Jani, “A new method for the simultaneous measurement of aerosol particle size, complex refractive index and particle density,” *Meas. Sci. Technol.*, vol. 13, no. 3, pp. 303–307, 2002, doi: 10.1088/0957-0233/13/3/311.
- [36] A. Nagy, “Optikai elven működő aeroszol részecskeszámlálók és alkalmazásuk,” Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budapest, 2002. Accessed: Mar. 08, 2021. [Online]. Available: <https://repozitorium.omikk.bme.hu/handle/10890/143>.
- [37] J. Michel Flores *et al.*, “Absorbing aerosols at high relative humidity: Linking hygroscopic growth to optical properties,” *Atmos. Chem. Phys.*, vol. 12, no. 12, pp. 5511–5521, 2012, doi: 10.5194/acp-12-5511-2012.
- [38] M. O. Andreae and A. Gelencsér, “Black carbon or brown carbon? the nature of light-absorbing carbonaceous aerosols,” *Atmos. Chem. Phys.*, vol. 6, no. 10, pp. 3131–3148, 2006, doi: 10.5194/acp-6-3131-2006.
- [39] V. Ramanathan and G. Carmichael, “Global and regional climate changes due to black carbon,” *Nature Geoscience*, vol. 1, no. 4. Nature Publishing Group, pp. 221–227, Apr. 23, 2008, doi: 10.1038/ngeo156.
- [40] B. J. Mason *et al.*, “Comparison of the accuracy of aerosol refractive index measurements from single particle and ensemble techniques,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 116, no. 33, pp. 8547–8556, Aug. 2012, doi: 10.1021/jp3049668.
- [41] V. Bulatov, M. Fisher, and I. Schechter, “Aerosol analysis by cavity-ring-down laser spectroscopy,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 466, no. 1, pp. 1–9, Aug. 2002, doi: 10.1016/S0003-2670(02)00516-0.
- [42] F. Zhao, Z. Gong, H. Hu, M. Tanaka, and T. Hayasaka, “Simultaneous determination of the aerosol complex index of refraction and size distribution from scattering measurements of polarized light,” *Appl. Opt.*, vol. 36, no. 30, p. 7992, Oct. 1997, doi: 10.1364/ao.36.007992.
- [43] C. Spindler, A. A. Riziq, and Y. Rudich, “Retrieval of Aerosol Complex Refractive Index by Combining Cavity Ring Down Aerosol Spectrometer Measurements with Full Size Distribution Information,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 41, no. 11, pp. 1011–1017, Oct. 2007, doi: 10.1080/02786820701682087.
- [44] H. Moosmüller, R. K. Chakrabarty, and W. P. Arnott, “Aerosol light absorption and its measurement: A review,” *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, vol. 110, no. 11, pp. 844–878, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.jqsrt.2009.02.035.

- [45] R. Subramanian, C. A. Roden, P. Boparai, and T. C. Bond, “Yellow Beads and Missing Particles: Trouble Ahead for Filter-Based Absorption Measurements,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 41, no. 6, pp. 630–637, May 2007, doi: 10.1080/02786820701344589.
- [46] A. Petzold and M. Schönlinner, “Multi-angle absorption photometry - A new method for the measurement of aerosol light absorption and atmospheric black carbon,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 35, no. 4, pp. 421–441, 2004, doi: 10.1016/j.jaerosci.2003.09.005.
- [47] J. G. Watson, J. C. Chow, and L.-W. A. Chen, “Summary of Organic and Elemental Carbon/Black Carbon Analysis Methods and Intercomparisons,” *Aerosol Air Qual. Res.*, vol. 5, no. 1, pp. 65–102, 2005, doi: 10.4209/aaqr.2005.06.0006.
- [48] M. Schnaiter *et al.*, “Measurement of wavelength-resolved light absorption by aerosols utilizing a UV-VIS extinction cell,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 39, no. 3, pp. 249–260, Mar. 2005, doi: 10.1080/027868290925958.
- [49] J. Sandradewi *et al.*, “Using aerosol light absorption measurements for the quantitative determination of wood burning and traffic emission contribution to particulate matter,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 42, no. 9, pp. 3316–3323, May 2008, doi: 10.1021/es702253m.
- [50] A. Rosencwaig, *Photoacoustics and photoacoustic spectroscopy*. New York, Wiley, 1980.
- [51] W. P. Arnott, H. Moosmüller, C. F. Rogers, T. Jin, and R. Bruch, “Photoacoustic spectrometer for measuring light absorption by aerosol: Instrument description,” *Atmos. Environ.*, vol. 33, no. 17, pp. 2845–2852, Aug. 1999, doi: 10.1016/S1352-2310(98)00361-6.
- [52] L. Krämer, Z. Bozoki, and R. Niessner, “Characterisation of a mobile photoacoustic sensor for atmospheric black carbon monitoring,” The Japan Society for Analytical Chemistry, 2002. doi: 10.14891/ANALSCISP.17ICPP.0.S563.0.
- [53] D. A. Lack, E. R. Lovejoy, T. Baynard, A. Pettersson, and A. R. Ravishankara, “Aerosol Absorption Measurement using Photoacoustic Spectroscopy: Sensitivity, Calibration, and Uncertainty Developments,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 40, no. 9, pp. 697–708, Aug. 2006, doi: 10.1080/02786820600803917.
- [54] Z. Bozóki, A. Pogány, and G. Szabó, “Photoacoustic instruments for practical applications: Present, potentials, and future challenges,” *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 46, no. 1, pp. 1–37, Jan. 2011, doi: 10.1080/05704928.2010.520178.
- [55] T. Ajtai *et al.*, “A novel multi-wavelength photoacoustic spectrometer for the measurement of the UV-vis-NIR spectral absorption coefficient of atmospheric aerosols,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 41, no. 11, pp. 1020–1029, 2010, doi: 10.1016/j.jaerosci.2010.07.008.
- [56] T. Ajtai *et al.*, “Inter-comparison of optical absorption coefficients of atmospheric aerosols determined by a multi-wavelength photoacoustic spectrometer and an Aethalometer under sub-urban wintry conditions,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 42, no. 12, pp. 859–866, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.jaerosci.2011.07.008.
- [57] J. Lee, “Comparison of light absorption properties for various absorbing particles,” *Air Qual. Atmos. Heal.*, vol. 7, no. 2, pp. 165–172, Nov. 2014, doi: 10.1007/s11869-013-0227-6.
- [58] D. Baumgardner *et al.*, “Soot reference materials for instrument calibration and intercomparisons: A workshop summary with recommendations,” *Atmos. Meas. Tech.*,

vol. 5, no. 8, pp. 1869–1887, 2012, doi: 10.5194/amt-5-1869-2012.

- [59] M. Gysel, M. Laborde, J. S. Olfert, R. Subramanian, and A. J. Gröhn, “Effective density of Aquadag and fullerene soot black carbon reference materials used for SP2 calibration,” *Atmos. Meas. Tech.*, vol. 4, no. 12, pp. 2851–2858, 2011, doi: 10.5194/amt-4-2851-2011.
- [60] M. Heim, B. J. Mullins, H. Umhauer, and G. Kasper, “Performance evaluation of three optical particle counters with an efficient ‘multimodal’ calibration method,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 39, no. 12, pp. 1019–1031, 2008, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2008.07.006.
- [61] J. Burkart, G. Steiner, G. Reischl, H. Moshhammer, M. Neuberger, and R. Hitzenberger, “Characterizing the performance of two optical particle counters (Grimm OPC1.108 and OPC1.109) under urban aerosol conditions,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 41, no. 10, pp. 953–962, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.jaerosci.2010.07.007.
- [62] L. Ma, “Measurement of aerosol size distribution function using Mie scattering—Mathematical considerations,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 38, no. 11, pp. 1150–1162, Nov. 2007, doi: 10.1016/j.jaerosci.2007.08.003.
- [63] W. Cai and L. Ma, “Information content of scattering measurements and characterization of spheroids,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 39, no. 12, pp. 1032–1039, Dec. 2008, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2008.07.005.
- [64] B. Y. H. Liu and D. Y. H. Pui, “On the performance of the electrical aerosol analyzer,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 6, no. 3–4, 1975, doi: 10.1016/0021-8502(75)90093-2.
- [65] C. Levoni, M. Cervino, R. Guzzi, and F. Torricella, “Atmospheric aerosol optical properties: a database of radiative characteristics for different components and classes,” *Appl. Opt.*, vol. 36, no. 30, p. 8031, Oct. 1997, doi: 10.1364/ao.36.008031.
- [66] E. Weingartner, H. Saathoff, M. Schnaiter, N. Streit, B. Bitnar, and U. Baltensperger, “Absorption of light by soot particles: Determination of the absorption coefficient by means of aethalometers,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 34, no. 10, pp. 1445–1463, Oct. 2003, doi: 10.1016/S0021-8502(03)00359-8.
- [67] T. C. Bond and R. W. Bergstrom, “Light Absorption by Carbonaceous Particles: An Investigative Review,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 40, no. 1, pp. 27–67, Jan. 2006, doi: 10.1080/02786820500421521.
- [68] “Scientific Brief: SARS-CoV-2 Transmission | CDC.” <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/sars-cov-2-transmission.html> (accessed Jul. 29, 2022).
- [69] G. für A. e.V., “Position paper of the Gesellschaft für Aerosolforschung on understanding the role of aerosol particles in SARS-CoV-2 infection,” 2020, doi: 10.5281/ZENODO.4350494.
- [70] J. Johnstone *et al.*, “Immunosenescence in the nursing home elderly,” *BMC Geriatr.*, vol. 14, no. 1, pp. 1–9, Apr. 2014, doi: 10.1186/1471-2318-14-50/TABLES/3.
- [71] M. W. Jennison, “Atomizing of mouth and nose secretions into the air as revealed by high speed photography,” *Aerobiology*, vol. 17, pp. 106–128, 1942.
- [72] J. P. Duguid, “The Numbers and the Sites of Origin of the Droplets Expelled During Expiratory Activities,” *Edinb. Med. J.*, vol. LII, no. II, pp. 385–401, 1945.
- [73] R. S. Papineni and F. S. Rosenthal, “The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy human subjects,” vol. 10, no. 2, pp. 105–116, 1997, doi:

10.1089/JAM.1997.10.105.

- [74] L. Morawska *et al.*, “Size distribution and sites of origin of droplets expelled from the human respiratory tract during expiratory activities,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 40, no. 3, pp. 256–269, Mar. 2009, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2008.11.002.
- [75] G. R. Johnson *et al.*, “Modality of human expired aerosol size distributions,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 42, no. 12, pp. 839–851, Dec. 2011, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2011.07.009.
- [76] B. Bake, P. Larsson, G. Ljungkvist, E. Ljungström, and A. C. Olin, “Exhaled particles and small airways,” *Respir. Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–14, Jan. 2019, doi: 10.1186/S12931-019-0970-9/FIGURES/5.
- [77] N. van Doremalen *et al.*, “Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 382, no. 16, pp. 1564–1567, Apr. 2020, doi: 10.1056/NEJMC2004973/SUPPL_FILE/NEJMC2004973_DISCLOSURES.PDF.
- [78] A. C. Fears *et al.*, “Persistence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Aerosol Suspensions - Volume 26, Number 9—September 2020 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC,” *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 26, no. 9, Sep. 2020, doi: 10.3201/EID2609.201806.
- [79] S. J. Smither, L. S. Eastaugh, J. S. Findlay, and M. S. Lever, “Experimental aerosol survival of SARS-CoV-2 in artificial saliva and tissue culture media at medium and high humidity,” *Emerg. Microbes Infect.*, vol. 9, no. 1, pp. 1415–1417, Jan. 2020, doi: 10.1080/22221751.2020.1777906/SUPPL_FILE/TEMI_A_1777906_SM1286.DOCX.
- [80] ICRP Publication 66., *Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection, Ann. ICRP 24*. Pergamon Press, 1994.
- [81] M. Hussain, P. Madl, and A. Khan, “Lung deposition predictions of airborne particles and the emergence of contemporary diseases Part-I,” *Health (Irvine. Calif.)*, vol. 2, no. 2, pp. 51–59, 2011.
- [82] S. Newman, A. Salmon, R. Nave, A. D.-R. medicine, and undefined 2006, “High lung deposition of 99mTc-labeled ciclesonide administered via HFA-MDI to patients with asthma,” *Elsevier*, Accessed: Jul. 29, 2022. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0954611105004051>.
- [83] J. S. Fleming and J. H. Conway, “Three-Dimensional Imaging of Aerosol Deposition,” <http://www.liebertpub.com/jam>, vol. 14, no. 2, pp. 147–153, Jul. 2004, doi: 10.1089/08942680152484081.
- [84] P. R. Phipps, I. Gonda, D. L. Bailey, P. Borham, G. Bautovich, and S. D. Anderson, “Comparisons of Planar and Tomographic Gamma Scintigraphy to Measure the Penetration Index of Inhaled Aerosols,” <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.6.1516>, vol. 139, no. 6, pp. 1516–1523, Dec. 2012, doi: 10.1164/AJRCCM/139.6.1516.
- [85] I. Balashazy, B. Alfoldy, A. Molnar, W. Hofmann, I. Szoke, and E. Kis, “Aerosol Drug Delivery Optimization by Computational Methods for the Characterization of Total and Regional Deposition of Therapeutic Aerosols in the Respiratory System,” *Curr. Comput. Aided-Drug Des.*, vol. 3, no. 1, pp. 13–32, Mar. 2007, doi: 10.2174/157340907780058727.
- [86] B. Ma and K. R. Lutchen, “CFD simulation of aerosol deposition in an anatomically based human large-medium airway model,” *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 37, no. 2, pp. 271–285, Feb. 2009, doi: 10.1007/S10439-008-9620-Y.

- [87] B. S. Cohen, "Particle deposition in human and canine tracheobronchial casts: a determinant of radon dose to the critical cells of the respiratory tract.," *Health Phys.*, vol. 70, no. 5, pp. 695–705, May 1996, doi: 10.1097/00004032-199605000-00011.
- [88] L. De Rochefort *et al.*, "In vitro validation of computational fluid dynamic simulation in human proximal airways with hyperpolarized ³He magnetic resonance phase-contrast velocimetry," *J. Appl. Physiol.*, vol. 102, no. 5, pp. 2012–2023, May 2007, doi: 10.1152/JAPPLPHYSIOL.01610.2005/ASSET/IMAGES/LARGE/ZDG0050772550009.JPEG.
- [89] D. E. Olson, M. F. Sudlow, K. Horsfield, and G. F. Filley, "Convective Patterns of Flow During Inspiration," *Arch. Intern. Med.*, vol. 131, no. 1, pp. 51–57, Jan. 1973, doi: 10.1001/ARCHINTE.1973.00320070047005.
- [90] H. K. Chang and O. A. El Masry, "A model study of flow dynamics in human central airways. Part I: Axial velocity profiles," *Respir. Physiol.*, vol. 49, no. 1, pp. 75–95, Jul. 1982, doi: 10.1016/0034-5687(82)90104-9.
- [91] D. Isabey and H. K. Chang, "A model study of flow dynamics in human central airways. Part II: Secondary flow velocities," *Respir. Physiol.*, vol. 49, no. 1, pp. 97–113, Jul. 1982, doi: 10.1016/0034-5687(82)90105-0.
- [92] D. De Zélicourt, K. Pekkan, H. Kitajima, D. Frakes, and A. P. Yoganathan, "Single-Step Stereolithography of Complex Anatomical Models for Optical Flow Measurements," *J. Biomech. Eng.*, vol. 127, no. 1, pp. 204–207, Feb. 2005, doi: 10.1115/1.1835367.
- [93] B. Ma, V. Ruwet, P. Corieri, R. Theunissen, M. Riethmuller, and C. Darquenne, "CFD simulation and experimental validation of fluid flow and particle transport in a model of alveolated airways," *J. Aerosol Sci.*, vol. 40, no. 5, pp. 403–414, May 2009, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2009.01.002.
- [94] J. Jedelsky, F. Lizal, and M. Jicha, "Characteristics of turbulent particle transport in human airways under steady and cyclic flows," *Int. J. Heat Fluid Flow*, vol. 35, pp. 84–92, Jun. 2012, doi: 10.1016/J.IJHEATFLUIDFLOW.2012.01.003.
- [95] R. B. Thompson and W. H. Finlay, "Using MRI to Measure Aerosol Deposition," <https://home.liebertpub.com/jamp>, vol. 25, no. 2, pp. 55–62, Mar. 2012, doi: 10.1089/JAMP.2011.0897.
- [96] P. Muralidharan, M. Malapit, E. Mallory, D. Hayes, and H. M. Mansour, "Inhalable nanoparticulate powders for respiratory delivery," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 11, no. 5, pp. 1189–1199, Jul. 2015, doi: 10.1016/J.NANO.2015.01.007.
- [97] A. J. Thorley and T. D. Tetley, "New perspectives in nanomedicine," *Pharmacol. Ther.*, vol. 140, no. 2, pp. 176–185, Nov. 2013, doi: 10.1016/J.PHARMTHERA.2013.06.008.
- [98] S. C. Das, P. Khadka, R. Shah, S. McGill, and H. D. C. Smyth, "Nanomedicine in pulmonary delivery," *Theory Appl. Nonparenteral Nanomedicines*, pp. 319–354, Jan. 2021, doi: 10.1016/B978-0-12-820466-5.00014-4.
- [99] A. Kerekes, "DEVELOPMENT AND APPLICATION OF OPTICAL MEASUREMENT METHODS FOR THE INVESTIGATION OF THE DEPOSITION OF AEROSOLS IN HUMAN AIRWAYS," 2016.
- [100] S. Stolte, "Aerodynamische und physiko-chemische Eigenschaften der Aerosolpartikel aus lösungsbasierten Dosieraerosolen. Dissertation zur erlangung des doktorgrades der Mthematisch-Nturwissenschaftlichen fakultat der Christian-Albrechts- Universität zu Kiel, 2012." Accessed: Dec. 06, 2022. [Online]. Available: <https://macau.uni->

kiel.de/receive/diss_mods_00010355.

- [101] H. Holmgren, E. Ljungström, A. C. Almstrand, B. Bake, and A. C. Olin, “Size distribution of exhaled particles in the range from 0.01 to 2.0 μm ,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 41, no. 5, pp. 439–446, May 2010, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2010.02.011.
- [102] M. Nicas, W. W. Nazaroff, and A. Hubbard, “Toward Understanding the Risk of Secondary Airborne Infection: Emission of Respirable Pathogens,” *J. Occup. Environ. Hyg.*, vol. 2, no. 3, p. 143, Mar. 2005, doi: 10.1080/15459620590918466.
- [103] A. Kerekes, A. Nagy, M. Veres, I. Rigó, Á. Farkas, and A. Czitrovsky, “In vitro and in silico (IVIS) flow characterization in an idealized human airway geometry using laser Doppler anemometry and computational fluid dynamics techniques,” *Measurement*, vol. 90, pp. 144–150, Aug. 2016, doi: 10.1016/J.MEASUREMENT.2016.04.063.
- [104] J. Lyyrönen, J. Jokiniemi, E. I. Kauppinen, U. Backman, and H. Vesala, “Comparison of Different Dilution Methods for Measuring Diesel Particle Emissions,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 38, no. 1, pp. 12–23, 2004, doi: 10.1080/02786820490247579.
- [105] M. Abadelah, H. Chrystyn, and H. Larhrib, “Use of inspiratory profiles from patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) to investigate drug delivery uniformity and aerodynamic dose emission of indacaterol from a capsule based dry powder inhaler,” *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 134, pp. 138–144, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.ejps.2019.04.018.
- [106] Á. Farkas *et al.*, “Establishment of relationships between native and inhalation device specific spirometric parameters as a step towards patient tailored inhalation device selection,” *Respir. Med.*, vol. 154, pp. 133–140, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.RMED.2019.06.021.
- [107] R. R. Netz, “Mechanisms of Airborne Infection via Evaporating and Sedimenting Droplets Produced by Speaking,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 124, no. 33, pp. 7093–7101, Aug. 2020, doi: 10.1021/ACS.JPCB.0C05229/ASSET/IMAGES/LARGE/JP0C05229_0001.JPEG.
- [108] E. P. Vejerano and L. C. Marr, “Physico-chemical characteristics of evaporating respiratory fluid droplets,” *J. R. Soc. Interface*, vol. 15, no. 139, 2018, doi: 10.1098/RSIF.2017.0939.
- [109] M. Cevik, M. Tate, O. Lloyd, A. E. Maraolo, J. Schafers, and A. Ho, “SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis,” *The Lancet Microbe*, vol. 2, no. 1, pp. e13–e22, Jan. 2021, doi: 10.1016/S2666-5247(20)30172-5.
- [110] B. G. Madas *et al.*, “Deposition distribution of the new coronavirus (SARS-CoV-2) in the human airways upon exposure to cough-generated droplets and aerosol particles,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–8, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-79985-6.
- [111] M. Nicas, “The near field/far field model with constant application of chemical mass and exponentially decreasing emission of the mass applied,” *J. Occup. Environ. Hyg.*, vol. 13, no. 7, pp. 519–528, Jul. 2016, doi: 10.1080/15459624.2016.1148268.
- [112] C. Keil and Y. Zhao, “Interzonal airflow rates for use in near-field far-field workplace concentration modeling,” <http://dx.doi.org/10.1080/15459624.2017.1334903>, vol. 14, no. 10, pp. 793–800, Oct. 2017, doi: 10.1080/15459624.2017.1334903.
- [113] N. J. Greening, P. Larsson, E. Ljungström, S. Siddiqui, and A. C. Olin, “Small droplet emission in exhaled breath during different breathing manoeuvres: Implications for

- clinical lung function testing during COVID-19,” *Allergy*, vol. 76, no. 3, pp. 915–917, Mar. 2021, doi: 10.1111/ALL.14596.
- [114] P. Party, D. Kókai, K. Burián, A. Nagy, B. Hopp, and R. Ambrus, “Development of extra-fine particles containing nanosized meloxicam for deep pulmonary delivery: In vitro aerodynamic and cell line measurements,” *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 176, p. 106247, Sep. 2022, doi: 10.1016/J.EJPS.2022.106247.
- [115] M. Mukhtar *et al.*, “Dry Powder Comprised of Isoniazid-Loaded Nanoparticles of Hyaluronic Acid in Conjugation with Mannose-Anchored Chitosan for Macrophage-Targeted Pulmonary Administration in Tuberculosis,” *Pharm. 2022, Vol. 14, Page 1543*, vol. 14, no. 8, p. 1543, Jul. 2022, doi: 10.3390/PHARMACEUTICS14081543.
- [116] S. Kugler, A. Nagy, A. Kerekes, M. Veres, I. Rigó, and A. Czitrovsky, “Determination of emitted particle characteristics and upper airway deposition of Symbicort® Turbuhaler® dry powder inhaler,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 54, p. 101229, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.JDDST.2019.101229.
- [117] C. Kleinstreuer and Z. Zhang, “Laminar-to-turbulent fluid-particle flows in a human airway model,” *Int. J. Multiph. Flow*, vol. 29, no. 2, pp. 271–289, Feb. 2003, doi: 10.1016/S0301-9322(02)00131-3.
- [118] R. Delvadia, M. Hindle, P. Worth Longest, and P. R. Byron, “In vitro tests for aerosol deposition II: IVIVCs for different dry powder inhalers in normal adults,” *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.*, vol. 26, no. 3, pp. 138–144, Jun. 2013, doi: 10.1089/JAMP.2012.0975.
- [119] G. Bagherisadeghi, E. H. Larhrib, and H. Chrystyn, “Real life dose emission characterization using COPD patient inhalation profiles when they inhaled using a fixed dose combination (FDC) of the medium strength Symbicort® Turbuhaler®,” *Int. J. Pharm.*, vol. 522, no. 1–2, pp. 137–146, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2017.02.057.
- [120] H. Fayazfar *et al.*, “A critical review of powder-based additive manufacturing of ferrous alloys: Process parameters, microstructure and mechanical properties,” *Mater. Des.*, vol. 144, pp. 98–128, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.matdes.2018.02.018.
- [121] S. M. Thompson, Z. S. Aspin, N. Shamsaei, A. Elwany, and L. Bian, “Additive manufacturing of heat exchangers: A case study on a multi-layered Ti-6Al-4V oscillating heat pipe,” *Addit. Manuf.*, vol. 8, pp. 163–174, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.addma.2015.09.003.
- [122] T. DebRoy *et al.*, “Additive manufacturing of metallic components – Process, structure and properties,” *Progress in Materials Science*, vol. 92. Elsevier Ltd, pp. 112–224, Mar. 01, 2018, doi: 10.1016/j.pmatsci.2017.10.001.
- [123] D. Herzog, V. Seyda, E. Wycisk, and C. Emmelmann, “Additive manufacturing of metals,” *Acta Mater.*, vol. 117, pp. 371–392, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.actamat.2016.07.019.
- [124] B. Bax, R. Rajput, R. Kellet, and M. Reisacher, “Systematic evaluation of process parameter maps for laser cladding and directed energy deposition,” *Addit. Manuf.*, vol. 21, pp. 487–494, May 2018, doi: 10.1016/j.addma.2018.04.002.
- [125] B. Stephens, P. Azimi, Z. El Orch, and T. Ramos, “Ultrafine particle emissions from desktop 3D printers,” *Atmos. Environ.*, vol. 79, pp. 334–339, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.atmosenv.2013.06.050.

- [126] D. Rejeski, F. Zhao, and Y. Huang, “Research needs and recommendations on environmental implications of additive manufacturing,” *Additive Manufacturing*, vol. 19. Elsevier B.V., pp. 21–28, Jan. 01, 2018, doi: 10.1016/j.addma.2017.10.019.
- [127] S. J. Park *et al.*, “3D printing of bio-based polycarbonate and its potential applications in ecofriendly indoor manufacturing,” *Addit. Manuf.*, vol. 31, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.addma.2019.100974.
- [128] S. W. Christensen, J. P. Bonde, and Ø. Omland, “A prospective study of decline in lung function in relation to welding emissions,” *J. Occup. Med. Toxicol.*, vol. 3, no. 1, 2008, doi: 10.1186/1745-6673-3-6.
- [129] M. El-Zein, J. L. Malo, C. Infante-Rivard, and D. Gautrin, “Prevalence and association of welding related systemic and respiratory symptoms in welders,” *Occup. Environ. Med.*, vol. 60, no. 9, pp. 655–661, Sep. 2003, doi: 10.1136/oem.60.9.655.
- [130] P. Rehfisch *et al.*, “Lung function and respiratory symptoms in hard metal workers exposed to cobalt,” *J. Occup. Environ. Med.*, vol. 54, no. 4, pp. 409–413, Apr. 2012, doi: 10.1097/JOM.0b013e31824d2d7e.
- [131] N. T. Jenkins and T. W. Eagar, “Chemical Analysis of Welding Fume Particles,” *Weld. J.*, vol. 84, no. 6, pp. 87–93, 2005.
- [132] T. Scholz, K. Dickmann, A. Ostendorf, H. Uphoff, and M. Michalewicz, “Effect of process parameters on the formation of laser-induced nanoparticles during material processing with continuous solid-state lasers,” *J. Laser Appl.*, vol. 27, no. 3, p. 032001, Aug. 2015, doi: 10.2351/1.4916081.
- [133] B. Berlinger *et al.*, “Physicochemical characterisation of different welding aerosols,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 399, no. 5, pp. 1773–1780, Feb. 2011, doi: 10.1007/s00216-010-4185-7.
- [134] P. Andujar *et al.*, “Role of metal oxide nanoparticles in histopathological changes observed in the lung of welders,” *Part. Fibre Toxicol.*, vol. 11, no. 1, May 2014, doi: 10.1186/1743-8977-11-23.
- [135] S. A. Ljunggren *et al.*, “Biomonitoring of Metal Exposure During Additive Manufacturing (3D Printing),” *Saf. Health Work*, vol. 10, no. 4, pp. 518–526, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.shaw.2019.07.006.
- [136] R. Beisser, “Inhalative exposition gegenüber Metallen bei additiven Verfahren (3D-Druck),” *Gefahrstoffe Reinhalt. Luft.*, vol. 77, pp. 487–496, 2017.
- [137] P. Graff, B. Ståhlbom, E. Nordenberg, A. Graichen, P. Johansson, and H. Karlsson, “Evaluating Measuring Techniques for Occupational Exposure during Additive Manufacturing of Metals: A Pilot Study,” *J. Ind. Ecol.*, vol. 21, pp. S120–S129, Nov. 2017, doi: 10.1111/jiec.12498.
- [138] A. Noskov, T. K. Ervik, I. Tsivilskiy, A. Gilmutdinov, and Y. Thomassen, “Characterization of ultrafine particles emitted during laser-based additive manufacturing of metal parts,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–13, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-78073-z.
- [139] G. Oberdörster *et al.*, “Particle and Fibre Toxicology Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy,” 2005, doi: 10.1186/1743-8977-2-8.
- [140] G. Oberdörster *et al.*, “Principles for characterizing the potential human health effects

- from exposure to nanomaterials: Elements of a screening strategy,” *Particle and Fibre Toxicology*, vol. 2, no. 1. BioMed Central, pp. 1–35, Oct. 06, 2005, doi: 10.1186/1743-8977-2-8.
- [141] Y. Kawahito, N. Matsumoto, M. Mizutani, and S. Katayama, “Characterisation of plasma induced during high power fibre laser welding of stainless steel,” *Sci. Technol. Weld. Join.*, vol. 13, no. 8, pp. 744–748, Nov. 2008, doi: 10.1179/136217108X329313.
- [142] P. Y. Y. Shcheglov, S. A. A. Uspenskiy, A. V. V. Gumenyuk, V. N. N. Petrovskiy, M. Rethmeier, and V. M. M. Yermachenko, “Plume attenuation of laser radiation during high power fiber laser welding,” *Laser Phys. Lett.*, vol. 8, no. 6, Jun. 2011, Accessed: Jun. 01, 2021. [Online]. Available: <https://iopscience.iop.org/article/10.1002/lapl.201110010>.
- [143] J. Zou, W. Yang, S. Wu, Y. He, and R. Xiao, “Effect of plume on weld penetration during high-power fiber laser welding,” *J. Laser Appl.*, vol. 28, no. 2, p. 022003, May 2016, doi: 10.2351/1.4940148.
- [144] D. You, X. Gao, and S. Katayama, “Monitoring of high-power laser welding using high-speed photographing and image processing,” *Mech. Syst. Signal Process.*, vol. 49, no. 1–2, pp. 39–52, Dec. 2014, doi: 10.1016/j.ymssp.2013.10.024.
- [145] S. K. Everton, M. Hirsch, P. I. Stavroulakis, R. K. Leach, and A. T. Clare, “Review of in-situ process monitoring and in-situ metrology for metal additive manufacturing,” *Materials and Design*, vol. 95. Elsevier Ltd, pp. 431–445, Apr. 05, 2016, doi: 10.1016/j.matdes.2016.01.099.
- [146] U. A. Taparli, L. Jacobsen, A. Griesche, K. Michalik, D. Mory, and T. Kannengiesser, “In situ laser-induced breakdown spectroscopy measurements of chemical compositions in stainless steels during tungsten inert gas welding,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 139, pp. 50–56, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.sab.2017.11.012.
- [147] F. Lia, J. Park, J. Tressler, and R. Martukanitz, “Partitioning of laser energy during directed energy deposition,” *Addit. Manuf.*, vol. 18, pp. 31–39, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.addma.2017.08.012.
- [148] M. Montani, A. G. Demir, E. Mostaed, M. Vedani, and B. Previtali, “Processability of pure Zn and pure Fe by SLM for biodegradable metallic implant manufacturing,” *Rapid Prototyp. J.*, vol. 23, no. 3, pp. 514–523, 2017, doi: 10.1108/RPJ-08-2015-0100.
- [149] A. G. Demir, L. Monguzzi, and B. Previtali, “Selective laser melting of pure Zn with high density for biodegradable implant manufacturing,” *Addit. Manuf.*, vol. 15, pp. 20–28, May 2017, doi: 10.1016/j.addma.2017.03.004.
- [150] M. Grasso, A. G. Demir, B. Previtali, and B. M. Colosimo, “In situ monitoring of selective laser melting of zinc powder via infrared imaging of the process plume,” *Robot. Comput. Integr. Manuf.*, vol. 49, pp. 229–239, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.rcim.2017.07.001.
- [151] K. R. May, “An ‘ultimate’ cascade impactor for aerosol assessment,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 6, no. 6, 1975, doi: 10.1016/0021-8502(75)90057-9.
- [152] P. F. DeCarlo, J. G. Slowik, D. R. Worsnop, P. Davidovits, and J. L. Jimenez, “Particle morphology and density characterization by combined mobility and aerodynamic diameter measurements. Part 1: Theory,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 38, no. 12, pp. 1185–1205, Dec. 2004, doi: 10.1080/027868290903907.
- [153] M. Smoluchowski, “Mathematical theory of the kinetics of the coagulation of colloidal

- solutions.,” *Zeitschrift für Phys. Chemie*, vol. 19, pp. 129–135, 1917.
- [154] P. C. Reist, *Introduction to aerosol science*. Macmillan Pub. Co., 1984.
- [155] W. C. Hinds, *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. John Wiley & Sons, New York, 1999.
- [156] W. P. Kelly and P. H. McMurry, “Measurement of particle density by inertial classification of differential mobility analyzer-generated monodisperse aerosols,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 17, no. 3, pp. 199–212, 1992, doi: 10.1080/02786829208959571.
- [157] T. Tzamkiozis, L. Ntziachristos, A. Mamakos, G. Fontaras, and Z. Samaras, “Aerodynamic and Mobility Size Distribution Measurements to Reveal Biodiesel Effects on Diesel Exhaust Aerosol,” <http://dx.doi.org/10.1080/02786826.2010.550961>, vol. 45, no. 5, pp. 587–595, May 2011, doi: 10.1080/02786826.2010.550961.
- [158] M. M. Maricq and N. Xu, “The effective density and fractal dimension of soot particles from premixed flames and motor vehicle exhaust,” *J. Aerosol Sci.*, vol. 35, no. 10, pp. 1251–1274, Oct. 2004, doi: 10.1016/J.JAEROSCI.2004.05.002.
- [159] A. Virtanen, J. Ristimäki, and J. Keskinen, “Method for measuring effective density and fractal dimension of aerosol agglomerates,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 38, no. 5, pp. 437–446, May 2004, doi: 10.1080/02786820490445155.
- [160] I. E. Anderson, E. M. H. White, and R. Dehoff, “Feedstock powder processing research needs for additive manufacturing development,” *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, vol. 22, no. 1, pp. 8–15, Feb. 2018, doi: 10.1016/J.COSSMS.2018.01.002.
- [161] J. Whiting and J. Fox, “Characterization of Feedstock in the Powder Bed Fusion Process: Sources of Variation in Particle Size Distribution and the Factors that Influence them,” *Proceedings of the Solid Freeform Fabrication Symposium*, 2016. <https://www.nist.gov/publications/characterization-feedstock-powder-bed-fusion-process-sources-variation-particle-size> (accessed Mar. 04, 2022).
- [162] S. E. Brika, M. Letenneur, C. A. Dion, and V. Brailovski, “Influence of particle morphology and size distribution on the powder flowability and laser powder bed fusion manufacturability of Ti-6Al-4V alloy,” *Addit. Manuf.*, vol. 31, p. 100929, Jan. 2020, doi: 10.1016/J.ADDMA.2019.100929.
- [163] A. Strondl, O. Lyckfeldt, H. Brodin, and U. Ackelid, “Characterization and Control of Powder Properties for Additive Manufacturing,” *JOM*, vol. 67, no. 3, pp. 549–554, Mar. 2015, doi: 10.1007/S11837-015-1304-0.
- [164] A. B. Spierings, N. Herres, and G. Levy, “Influence of the particle size distribution on surface quality and mechanical properties in AM steel parts,” *Rapid Prototyp. J.*, vol. 17, no. 3, pp. 195–202, 2011, doi: 10.1108/13552541111124770.
- [165] J. A. Slotwinski, E. J. Garboczi, P. E. Stutzman, C. F. Ferraris, S. S. Watson, and M. A. Peltz, “Characterization of metal powders used for additive manufacturing,” *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, vol. 119, pp. 460–493, 2014, doi: 10.6028/JRES.119.018.
- [166] J. Clayton and R. Deffley, “Optimising metal powders for additive manufacturing,” *Met. Powder Rep.*, vol. 69, no. 5, pp. 14–17, Sep. 2014, doi: 10.1016/S0026-0657(14)70223-1.
- [167] S. Kugler *et al.*, “Characterization of the ultrafine and fine particles formed during laser cladding with the Inconel 718 metal powder by means of X-ray spectroscopic

- techniques,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 177, p. 106110, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.sab.2021.106110.
- [168] J. M. Antonini, A. B. Santamaria, N. T. Jenkins, E. Albin, and R. Lucchini, “Fate of manganese associated with the inhalation of welding fumes: Potential neurological effects,” *NeuroToxicology*, vol. 27, no. 3. Elsevier, pp. 304–310, May 2006, doi: 10.1016/j.neuro.2005.09.001.
- [169] C. Richardson-Boedler, “Metal passivity as mechanism of metal carcinogenesis: Chromium, nickel, iron, copper, cobalt, platinum, molybdenum,” *Toxicological and Environmental Chemistry*, vol. 89, no. 1. Taylor & Francis Group, pp. 15–70, Jan. 01, 2007, doi: 10.1080/02772240601008513.
- [170] K. Salnikow and A. Zhitkovich, “Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: Nickel, arsenic, and chromium,” *Chemical Research in Toxicology*, vol. 21, no. 1. American Chemical Society, pp. 28–44, Jan. 2008, doi: 10.1021/tx700198a.
- [171] European Commission, “2017/164 of 31 January 2017 establishing a fourth list of indicative occupational exposure limit values pursuant to Council Directive 98/24/EC, and amending Commission Directives 91/322/EEC, 2000/39/EC and 2009/161/EU,” 2017.
- [172] Committee for Risk Assessment (RAC), “Opinion on scientific evaluation of occupational exposure limits for Nickel and its compounds,” 2018.
- [173] D. J. Sivulka, “Assessment of respiratory carcinogenicity associated with exposure to metallic nickel: A review,” *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 43, no. 2, pp. 117–133, 2005, doi: 10.1016/j.yrtph.2005.06.014.
- [174] “COMMISSION DIRECTIVE 2006/15/EC of 7 February 2006 establishing a second list of indicative occupational exposure limit values in implementation of Council Directive 98/24/EC and amending Directives 91/322/EEC and 2000/39/EC,” 2006.
- [175] “Opinion on an EU Binding Occupational Exposure Limit Values (BOELs) for Nickel compounds within the scope of the Carcinogens and Mutagens Directive 2004/37/EC,” 2019.
- [176] S. H. Yoo, S. K. Chae, and B. Y. H. Liu, “Influence of particle refractive index on the lower detection limit of light scattering aerosol counters,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 25, no. 1, pp. 1–10, Jan. 1996, doi: 10.1080/02786829608965374.
- [177] D. Magde, E. Elson, and W. W. Webb, “Thermodynamic fluctuations in a reacting system measurement by fluorescence correlation spectroscopy,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 29, no. 11, pp. 705–708, 1972, doi: 10.1103/PhysRevLett.29.705.
- [178] E. L. Elson and D. Magde, “Fluorescence correlation spectroscopy. I. Conceptual basis and theory,” *Biopolymers*, vol. 13, no. 1, pp. 1–27, 1974, doi: 10.1002/bip.1974.360130102.
- [179] P. Schwille, “Fluorescence correlation spectroscopy and its potential for intracellular applications,” *Cell Biochem. Biophys.*, vol. 34, no. 3, pp. 383–408, 2001, doi: 10.1385/CBB:34:3:383.
- [180] P. Schwille, J. Korch, and W. W. Webb, “Fluorescence correlation spectroscopy with single-molecule sensitivity on cell and model membranes,” *Cytometry*, vol. 36, no. 3, pp. 176–182, Jul. 1999, doi: 10.1002/(SICI)1097-0320(19990701)36:3<176::AID-CYTO5>3.0.CO;2-F.

- [181] Y. Chen, J. D. Müller, P. T. C. So, and E. Gratton, “The photon counting histogram in fluorescence fluctuation spectroscopy,” *Biophys. J.*, vol. 77, no. 1, pp. 553–567, 1999, doi: 10.1016/S0006-3495(99)76912-2.
- [182] Y. Chen, J. D. Müller, K. M. Berland, and E. Gratton, “Fluorescence fluctuation spectroscopy,” *Methods A Companion to Methods Enzymol.*, vol. 19, no. 2, pp. 234–252, 1999, doi: 10.1006/meth.1999.0854.
- [183] S. T. Hess, S. Huang, A. A. Heikal, and W. W. Webb, “Biological and chemical applications of fluorescence correlation spectroscopy: A review,” *Biochemistry*, vol. 41, no. 3, pp. 697–705, Jan. 22, 2002, doi: 10.1021/bi0118512.
- [184] P. Kask, K. Palo, D. Ullmann, and K. Gall, “Fluorescence-intensity distribution analysis and its application in biomolecular detection technology,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 96, no. 24, pp. 13756–13761, Nov. 1999, doi: 10.1073/pnas.96.24.13756.
- [185] H. Qian and E. L. Elson, “Analysis of confocal laser-microscope optics for 3-D fluorescence correlation spectroscopy,” *Appl. Opt.*, vol. 30, no. 10, p. 1185, Apr. 1991, doi: 10.1364/ao.30.001185.
- [186] P. Schwille, U. Haupts, S. Maiti, and W. W. Webb, “Molecular dynamics in living cells observed by fluorescence correlation spectroscopy with one- and two-photon excitation,” *Biophys. J.*, vol. 77, no. 4, pp. 2251–2265, 1999, doi: 10.1016/S0006-3495(99)77065-7.
- [187] K. M. Berland, P. T. So, and E. Gratton, “Two-photon fluorescence correlation spectroscopy: method and application to the intracellular environment,” *Biophys. J.*, vol. 68, no. 2, pp. 694–701, 1995, doi: 10.1016/S0006-3495(95)80230-4.
- [188] N. L. Thompson, A. M. Lieto, and N. W. Allen, “Recent advances in fluorescence correlation spectroscopy,” *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 12, no. 5. Elsevier Ltd, pp. 634–641, Oct. 01, 2002, doi: 10.1016/S0959-440X(02)00368-8.
- [189] S. T. Hess and W. W. Webb, “Focal volume optics and experimental artifacts in confocal fluorescence correlation spectroscopy,” *Biophys. J.*, vol. 83, no. 4, pp. 2300–2317, Oct. 2002, doi: 10.1016/S0006-3495(02)73990-8.
- [190] P. Schwille and E. Haustein, “Petra Schwille and Elke Haustein Fluorescence Correlation Spectroscopy 1 Fluorescence Correlation Spectroscopy An Introduction to its Concepts and Applications.”
- [191] N. L. Thompson, “Fluorescence Correlation Spectroscopy,” in *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, Boston: Kluwer Academic Publishers, 2002, pp. 337–378.
- [192] D. E. Koppel, “Statistical accuracy in fluorescence correlation spectroscopy,” *Phys. Rev. A*, vol. 10, no. 6, pp. 1938–1945, 1974, doi: 10.1103/PhysRevA.10.1938.
- [193] Y. Chen, J. D. Müller, Q. Ruan, and E. Gratton, “Molecular brightness characterization of EGFP in vivo by fluorescence fluctuation spectroscopy,” *Biophys. J.*, vol. 82, no. 1, pp. 133–144, 2002, doi: 10.1016/S0006-3495(02)75380-0.
- [194] A. E. Siegman, *Lasers*. University Science Books, Mill Valley, CA., 1986.
- [195] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, 2006.
- [196] T. Wohland, R. Rigler, and H. Vogel, “The standard deviation in fluorescence correlation spectroscopy,” *Biophys. J.*, vol. 80, no. 6, pp. 2987–2999, 2001, doi: 10.1016/S0006-3495(01)76264-9.

- [197] R. A. Nyman, "Absorption and Fluorescence spectra of Rhodamine 6G," Apr. 2017, doi: 10.5281/ZENODO.569817.
- [198] J. Widengren, R. Rigler, and Ü. Mets, "Triplet-state monitoring by fluorescence correlation spectroscopy," *J. Fluoresc.*, vol. 4, no. 3, pp. 255–258, Sep. 1994, doi: 10.1007/BF01878460.
- [199] J. Widengren, Ü. Mets, and R. Rigler, "Fluorescence correlation spectroscopy of triplet states in solution: A theoretical and experimental study," *J. Phys. Chem.*, vol. 99, no. 36, pp. 13368–13379, 1995, doi: 10.1021/j100036a009.
- [200] P. S. Dittrich and P. Schwille, "Photobleaching and stabilization of fluorophores used for single-molecule analysis with one- and two-photon excitation," *Appl. Phys. B Lasers Opt.*, vol. 73, no. 8, pp. 829–837, Dec. 2001, doi: 10.1007/s003400100737.
- [201] I. Gregor, M. Heupel, and E. Thiel, "Precise fluorescence measurement for determination of photophysical properties of dyes," *Chem. Phys.*, vol. 272, no. 2–3, pp. 185–197, Oct. 2001, doi: 10.1016/S0301-0104(01)00457-8.
- [202] C. Eggeling, A. Volkmer, and C. A. M. Seidel, "Molecular Photobleaching Kinetics of Rhodamine 6G by One- and Two-Photon Induced Confocal Fluorescence Microscopy," *ChemPhysChem*, vol. 6, no. 5, pp. 791–804, May 2005, doi: 10.1002/cphc.200400509.
- [203] C. Xu and W. W. Webb, "Measurement of two-photon excitation cross sections of molecular fluorophores with data from 690 to 1050 nm," *J. Opt. Soc. Am. B*, vol. 13, no. 3, p. 481, Mar. 1996, doi: 10.1364/josab.13.000481.
- [204] A. Fischer, C. Cremer, and E. H. K. Stelzer, "Fluorescence of coumarins and xanthenes after two-photon absorption with a pulsed titanium–sapphire laser," *Appl. Opt.*, vol. 34, no. 12, p. 1989, Apr. 1995, doi: 10.1364/ao.34.001989.