



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STAVEBNÍ

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

ÚSTAV TECHNOLOGIE STAVEBNÍCH HMOT A DÍLCŮ

INSTITUTE OF TECHNOLOGY OF BUILDING MATERIALS AND COMPONENTS

STUDIUM AFINITY LEPIDEL DO BUNĚČNÉ STĚNY DŘEVA NA SUBMIKROSTRUKTURNÍ ÚROVNI

STUDY OF THE ADHESIVE AFFINITY INTO THE WOOD CELL WALL AT THE SUB-MICROSTRUCTURAL LEVEL

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Ondřej Mitrenga

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JAN VANĚREK, Ph.D.

BRNO 2019



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA STAVEBNÍ

Studijní program	N3607 Stavební inženýrství
Typ studijního programu	Navazující magisterský studijní program s prezenční formou studia
Studijní obor	3607T020 Stavebně materiálové inženýrství
Pracoviště	Ústav technologie stavebních hmot a dílců

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Student	Bc. Ondřej Mitrenga
Název	Studium afinity lepidel do buněčné stěny dřeva na submikrostrukturní úrovni
Vedoucí práce	doc. Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.
Datum zadání	31. 3. 2018
Datum odevzdání	11. 1. 2019

V Brně dne 31. 3. 2018

prof. Ing. Rostislav Drochytka, CSc., MBA
Vedoucí ústavu

prof. Ing. Miroslav Bajer, CSc.
Děkan Fakulty stavební VUT

PODKLADY A LITERATURA

M. D. Fayer, Ultrafast Infrared and Raman Spectroscopy (Practical Spectroscopy), Marcel Dekker, New York, 2001

T. D. W. Claridge, High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, Pergamon Press, New York, 1999.

W. M. Groenewoud, Characterisation of Polymers by Thermal Analysis, Elsevier, Amsterdam, 2001.

J. Brandrup, E. H. Immergut, E. A. Grulke, A. Abe, and D. Bloch, eds., Polymer Handbook, 4th ed., John Wiley & Sons, New York, 1999.

Mittal, K. L., Pizzi, A. (eds) Handbook of Adhesive Technology, Marcel Dekker, New York, 2003, ISBN 0-8247-0986-1

ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ

Na trvanlivost lepených dřevěných prvků má dominantní vliv typ lepidla a zejména vytvoření řádné vazby dvoufázového kompozitu lepidlo/dřevo na submikrostrukturní úrovni. Důležitější roli hraje průnik lepidla do struktury buněčné stěny (interpenetrating network) než do lumenu buňky. Průnik do buněčné stěny je ovlivněn jednak parametry lepidla (lze zmínit zejména molekulovou hmotnost či viskozitu), rovněž chemickou afinitou lepidla ke sloučeninám dřeva a nadmolekulovou strukturou adheziva. Z hlediska struktury dřeva hraje důležitou roli velikost mezifibrilárních prostor ve stěně. Mezi běžné metody, kterými lze specifikovat vlastnosti a strukturu lepidel, se využívá soubor fyzikálně analytických metod, mezi které lze zařadit GPC, FTIR či Ramanovu spektroskopii, NMR, DSC, DTA ad. Pro dosažení submikroskopické struktury dřeva na buněčné úrovni se běžně využívají zobrazovací metody (TEM, REM) případně metody využívající rentgenové záření.

V rámci práce bude rešerší vědeckých prací ověřena možnost využití výše uvedených technik i s ohledem na případnou detekci lepidel v buněčné struktuře dřeva. Následně budou případné vhodné metody i experimentálně využity. V rámci experimentu budou použita běžná konstrukční lepidla používaná pro dřevěné konstrukční prvky (PUR, PRF, MUF a EPI), navíc i epoxidová lepidla. Jako adherend bude použito smrkové dřevo, které je nejběžnější dřevinou pro lepený dřevěný sortiment.

Hlavním cílem diplomové práce je tedy:

1. provedení souboru fyzikálně analytických metod deklarující parametry všech zvolených lepidel (PUR, EPI, PRF, MUF a epoxidů);
2. návrh metodiky detekce lepidel v buněčné stěně vhodnými analytickými metodami a následné ověření přítomnosti lepidel ve struktuře buněčné stěny dřeva;
3. vyhodnocení závislostí mezi parametry lepidel (molekulová hmotnost, viskozita) a průnikem adheziva do buněčné stěny.

STRUKTURA DIPLOMOVÉ PRÁCE

VŠKP vypracujte a rozčleňte podle dále uvedené struktury:

1. Textová část VŠKP zpracovaná podle Směrnice rektora "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchování vysokoškolských kvalifikačních prací" a Směrnice děkana "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchování vysokoškolských kvalifikačních prací na FAST VUT" (povinná součást VŠKP).
2. Přílohy textové části VŠKP zpracované podle Směrnice rektora "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchování vysokoškolských kvalifikačních prací" a Směrnice děkana "Úprava, odevzdávání, zveřejňování a uchování vysokoškolských kvalifikačních prací na FAST VUT" (nepovinná součást VŠKP v případě, že přílohy nejsou součástí textové části VŠKP, ale textovou část doplňují).

doc. Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.

Vedoucí diplomové práce

ABSTRAKT

Tato práce je zaměřena na studium afinity lepidel na strukturu buněčné stěny dřeva na submikroskopické úrovni. Zabývá se rešeršním zpracováním vědeckých prací zaměřených na problematiku průniku pryskyřic a polymerů do buněčné stěny dřeva. Obsahuje popis principů, na kterých jsou používané metody založeny, a shrnutí výsledků, jichž bylo v této problematice dosaženo. V rámci experimentu bylo použito několik metod zaměřených na výzkum případného průniku vybraných lepidel do struktury buněčné stěny. Jde o fluorescenční mikroskopii, konfokální mikroskopii, skenovací elektronovou mikroskopii (SEM) a transmisní elektronovou mikroskopii (TEM).

KLÍČOVÁ SLOVA

Buněčná stěna dřeva, penetrace, pryskyřice, viskozita, molekulová hmotnost

ABSTRACT

This thesis focuses on the problematic of adhesive affinity into wood cell wall at the sub-microstructural level. The main subject of this thesis is research work of scholarly articles focused on the penetration of resins and polymers into the cell wall of the wood. It contains a description of the principles on which the used methods are based, and a summary of the results achieved. In the experiment, several methods were used to investigate the possible penetration of selected adhesives into the structure of the cell wall. These are fluorescence microscopy, confocal microscopy, scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM).

KEYWORDS

The wood cell wall, penetration, resin, viscosity, molecular weight

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

Bc. Ondřej Mitrenga *Studium afinity lepidel do buněčné stěny dřeva na submikrostrukturní úrovni*. Brno, 2019. 113 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav technologie stavebních hmot a dílců. Vedoucí práce doc. Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ O PŮVODNOSTI ZÁVĚREČNÉ PRÁCE

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem *Studium afinity lepidel do buněčné stěny dřeva na submikrostrukturní úrovni* zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 11. 1. 2019

Bc. Ondřej Mitrenga
autor práce

PODĚKOVÁNÍ

Za odborné vedení, rady, pomoc, trpělivost a poskytnutí potřebných materiálů pro vypracování této diplomové práce tímto děkuji zejména vedoucímu mé diplomové práce, doc. Ing. Janu Vaněrkovi, Ph.D.; dále bych poděkoval i zaměstnancům vědeckovýzkumného centra Admas při Fakultě stavební VUT v Brně a také PharmDr. Josefu Maškovi, Ph.D. a MVDr. Pavlovi Kulichovi, Ph.D. z VUVeL v Brně.

V neposlední řadě bych poděkoval své rodině za podporu ve studiu.

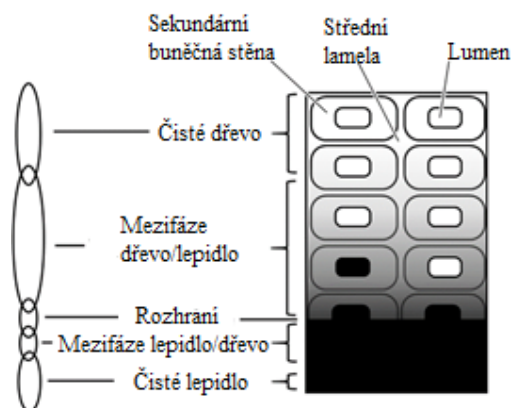
Obsah

1. Úvod.....	1
2. Makroskopická struktura dřeva.....	3
3. Mikroskopická struktura dřeva	7
3.1. Mikroskopická struktura jehličnanů	7
3.2. Mikroskopická struktura listnáčů	9
4. Sub-mikroskopická struktura dřeva	11
4.1. Buněčné stěny dřeva.....	12
4.2. Chemismus složek tvořících buněčné stěny dřeva	16
5. Průnik lepidel do struktury buněčné stěny dřeva.....	18
5.1. Metody zobrazovací	19
5.2. Metody fyzikálně chemické.....	42
5.3. Metody fyzikálně mechanické.....	46
6. Cíl práce	53
7. Metodika práce.....	54
7.1. Specifikace použitých materiálů.....	54
7.2. Specifikace použitých metod.....	57
8. Výsledky a vyhodnocení.....	66
8.1. Fluorescenční mikroskopie.....	66
8.2. Konfokální mikroskopie	73
8.3. TEM analýza.....	81
8.4. SEM a EDX analýza.....	85
9. Diskuze	89
9.1. Fluorescenční mikroskopie a konfokální mikroskopie.....	89
9.2. TEM analýza.....	90
9.3. SEM a EDX analýza.....	90
10. Závěr	93
Citovaná literatura.....	96

1. Úvod

Dřevo je anizotropní, porézní materiál tvořený především podélnými cévicemi u jehličnanů a cévních elementů a podélných vláken u listnáčů. Lumeny těchto prvků jsou dostatečně velké k tomu, aby poskytly dobrý průtok pro kapalnou fázi aplikovaných pryskyřic. Tečky propojující jednotlivé elementy většinou také poskytují cestu, kterou může pryskyřice do struktury dřeva protéct. Nicméně okluze nacházející se v tečkách a lumenech, nebo frakce pryskyřice, jež má vysokou molekulovou hmotnost, mohou tok pryskyřice ovlivnit. Tento shluk pryskyřice a dřeva je nazýván mezifázová oblast. Dvě látky, každá se svým rozhraním, a mezifáze mezi látkami tvoří lepenou spáru. Geometrie lepené spáry se liší vzhledem k mnoha faktorům, jako jsou například anatomie dřeva, jeho propustnost, porozita, dále pak viskozita pryskyřice, povrchová energie, tlak vyvinutý na substrát aj. Má se za to, že geometrie lepené spáry ovlivňuje její trvanlivost. Zatížené lepené spoje musí přenášet napětí z jedné části materiálu do druhé skrze lepenou spáru. Strukturální složení mezifáze, její objem a tvar, vysoce ovlivňuje velikost a koncentraci napětí a v konečném důsledku má významný dopad na trvanlivost lepené spáry. Lepidla hrají nezbytnou roli ve výrobě mnohých dřevěných výrobků, jako jsou překližky, OSB desky aj. Nicméně vývoj nových, nebo vylepšování starých, lepidel je podmíněn nedostatkem znalostí v oblasti mechanického chování, pevnosti a trvanlivosti v interfaci lepidlo-dřevo. Lepidla určená k lepení dřeva jsou v současné době vyvíjeny na základě experimentálních poznatků, jež jsou upřednostňovány před poznatky teoretickými. Lepidla jsou často podmíněna splněním podmínek zahrnutých v technických normách nebo standardizovaných zkouškách (ASTM D905 a D2559 [1]), jež jsou navrženy tak, aby výsledný produkt vykazoval dostatečnou "performance". Vývoj zahrnující lepené dřevěné materiály je neefektivní z důvodu nutnosti provádění nových zkoušek, aby mohly být upraveny jedny z mnoha vlastností, jež zahrnují tučty proměnných spojených s lepidlem, lepeným dřevem, procesy při lepení [2], [3]. To vše může výrazně ovlivnit výsledné vlastnosti lepené spáry. Zlepšené modely schopné předvídat kvalitu lepených spár s měnícími se procesy, by měly akcelarovat snahu k vývoji nových a inovovaných lepidel [4]. Komplexnost interakcí fází lepidlo-dřevo velmi sťažují studium lepené spáry. Přestože jsou vlastnosti vazby otázkou spíše kontinua nežli diskretních vazeb, analogie vazeb tzv. „Marra“ řetězcem pomáhá vědcům tím, že rozděluje vazby na jednotlivé komponenty k individuálnímu studiu. Při pohledu od středu vazby směrem do dřevěného substrátu se spoj skládá z určitého objemu lepidla (čisté lepidlo neovlivněné dřevěným substrátem), mezifáze lepidlo-dřevo (lepidlo ovlivněné přítomností dřevěného substrátu), rozhraní (hranice mezi dřevem a lepidlem), mezifáze dřevo-lepidlo (dřevo

modifikované lepidlem nebo při přípravě povrchu) a čistého dřeva (nemodifikovaného dřeva) [5] (viz. obr. č. 1).



Obrázek 1: Analogie vazeb Marra řetězců, převzato z [5].

Obecně platí, že se lepidlo na dřevo považuje za uspokojivé, jestliže lepená spára přenáší dostatečné zatížení mezi dřevěnými substráty a pokud dojde k porušení, dojde k němu v dřevu. Pevnost vazby a míru porušení dřeva (tzv. *wood failure*) určují standardizované zkoušky k tomu uzpůsobené (mezinárodní instituce pro standardizaci ASTM – „*American Society for Testing and Materials*“) [1]. K dnešnímu dni chybí dostatek znalostí, proč některá lepidla fungují lépe než jiná. Přestože jsou k dispozici lepidla určená k lepení dřeva do exteriéru a poskytují vynikající trvanlivost vazby [6], [7], [8], mechanismy, kterými jsou tato lepidla vázána na dřevo, nejsou dobře známy [4]. Všechny potenciální adhezní mechanismy jsou ovlivněny penetrací lepidla do struktury dřeva. Koncept mechanického provázání je závislý na průniku lepidla za povrchovou vrstvou dřeva. Kromě toho kombinovaná adhezní síla způsobená kovalentními vazbami a sekundárními chemickými vazbami přímo souvisí s velikostí kontaktního povrchu mezi lepidlem a buněčnou stěnou dřeva. Větší tok lepidla podél lumenu znamená větší potenciál pro tvorbu více chemických vazeb. *Pizzi* ve své studii v roce 1994 došel k závěru, že sekundární chemické vazby jsou dominantním mechanismem při lepení dřeva [9]. Analogie vazeb Marra řetězců může být rozšířena o vlivu penetrace lepidla do buněčných stěn dřeva. Vzájemně spjatá síť molekul lepidla a polymerů buněčných stěn dřeva představuje další mechanismus adheze. Navíc prosycení buněčných stěn lepidlem modifikují jejich vlastnosti. Buněčná stěna dřeva může nabobtnat nebo mohou být komponenty buněčné stěny chemicky modifikovány. Mimo lepený sortiment, kde tyto modifikace mohou znamenat zlepšení trvanlivosti lepené spáry, je prosycování buněčných stěn dřeva polymerem výhodné například při zlepšování vlastností dřeva, jako takového, ve smyslu zlepšení odolnosti proti působící vlhkosti nebo proti napadení dřeva houbami a jinými škůdci.

2. Makroskopická struktura dřeva

Jehličnany a listnáče se liší buněčnou strukturou. Jehličnany mají jednodušší stavbu než listnáče vzhledem k tomu, že jsou tvořeny pouze dvěma typy buněk. Listnáče jsou strukturálně komplexnější, protože jsou tvořeny větším počtem základních buněk a mají mnohem vyšší stupeň variability jednotlivých buněk. Největším rozdílem ve stavbě jehličnanů a listnáčů je ten, že listnáče obsahují buňky, jež se nazývají cévní elementy, zatímco jehličnany nikoli. Významná buněčná podobnost mezi dřevinami je přítomnost buněk, jež po vyvinutí odumřou, dokonce i v jádru stromu. Buňky, jež jsou po vyvinutí stále živé, se nazývají parenchymatické buňky a vyskytují se u obou dřevin. [10]

Jádrové a bělové dřevo

Jak u listnáčů, tak u jehličnanů, je dřevo v kmene většinou rozděleno na dvě zóny, z nichž každá hraje důležitou a rozdílnou roli. Aktivní, vodivá, část kmene, ve které jsou stále živé a metabolicky aktivní parenchymatické buňky se nazývá bělové dřevo. Volnější, více uplatňovaná definice spočívá v tom, že bělové dřevo je pás světleji zbarveného dřeva, jež přiléhá ke kůře stromu. Jádrové dřevo je tmavě zbarvené dřevo vyskytující se uprostřed kmene. V rostoucím stromu je bělové dřevo zodpovědné nejen za vedení mízy, ale také ukládání a syntézu biochemických produktů. Velmi důležitou funkcí je dlouhodobé ukládání produktů vzniklých fotosyntézou. Mezi tyto produkty se řadí škrob a lipidy. Zrna škrobu jsou ukládána v parenchymatických buňkách a jsou viditelná mikroskopem. [10]

Živé buňky bělového dřeva také přispívají k formaci jádrového dřeva. Biochemické produkty jsou syntetizovány a přenášeny živými buňkami. Z toho důvodu jsou živé buňky na hranici mezi bělovým a jádrovým dřevem zodpovědné za formaci a uložení biochemických látek jádrového dřeva, což je důležitý krok vedoucí k formaci jádrového dřeva [11]. Funkce jádrového dřeva v otázce skladování biochemických produktů je závislá na druhu stromu. V minulosti bylo jádrové dřevo považováno za místo, kde dochází k odbourávání škodlivých vedlejších produktů buněčného metabolismu, tzv. sekundárních metabolitů. To vedlo ke koncepci, že je jádrové dřevo jakousi skládkou chemikálií, jež by v menší nebo větší míře poškodily živé buňky, pokud by nebyly uloženy na bezpečném místě. Dnes už však víme, že tyto extrakty (pryskyřičné látky, trísloviny a barviva) jsou běžnou součástí stromu chránící jeho dřevo. Extrakty jsou produkovány parenchymatickými buňkami na hranici bělového a jádrového dřeva a jsou do sousedních buněk přenášeny skrz tečky (dvojtečky). Tímto způsobem mohou extrakty obsahovat i mrtvé buňky, ačkoli samotné nejsou schopny syntetizovat nebo akumulovat takové sloučeniny. Extrakty poskytují například přirozenou ochranu proti hnilobě způsobenou houbami. Například v případě

týku („*Tectona grandis*“), jež se vyznačuje dobrou stabilitou a odolností vůči vodě, jsou tyto vlastnosti z velké části ovlivněny vosky a oleji, jež jsou formovány a vyskytují se v jádrovém dřevě. Mnoho stromů, jež jsou typické a ceněné díky své barvě (mahagon, african blackwood, brazilian rosewood) vděčí svému zabarvení různému typu a množství extraktů v jádrovém dřevě. [10]

Axiální a radiální systémy

Buňky tvořící dřevo jsou zpravidla mnohonásobně delší než širší a jsou orientovány do dvou specifických systémů buněk, a to axiálního a radiálního. Buňky axiálního systému mají své delší osy paralelní k ose stromu. Buňky radiálního systému jsou situovány kolmo k ose stromu směrem od středu stromu k jeho kůře. Axiální systém stromu je zodpovědný za vedení vody, a také za poskytování mechanické stability stromu. Radiální systém poskytuje transport biochemických produktů v radiálním směru a v mnoha případech zastává velkou část skladovací funkce ve dřevě. Oba systémy se kříží a propojují a jejich přítomnost definuje charakteristiky stromu jako pletiva. [10]

Roviny zobrazované ve dřevě

Ačkoli může být dřevo nařezáno v jakémkoli směru, uspořádání a vzájemné propojení mezi axiálním a radiálním systémem vedlo k vydefinování tří hlavních perspektiv, které při zobrazení poskytnou o dřevě nejvíce informací. Hlavními perspektivami jsou myšleny příčný, radiální a tangenciální řez. Radiální a tangenciální řez jsou řezy podélné, protože probíhají rovnoběžně s axiálním systémem. Příčný řez je ten, který je na kmene vidět po skácení stromu. Poskytuje informace o vlastnostech, které se mění směrem od středu kmene ke kůře. Neposkytuje informace o změnách vlastností v paralelním směru k ose stromu. Radiální řez je veden směrem od dřevě ke kůře stromu a je rovnoběžný s axiálním systémem, takže poskytuje informace o podélných změnách v kmene a o změnách ve dřevě podél radiálního systému, směrem od dřevě ke kmene stromu. Tangenciální řez je prováděn v pravém úhlu k radiálnímu řezu. Geometricky jde o rovnoběžnou rovinu s jakoukoli tečnou čarou, která se dotýká kmene a probíhá po celé délce kmene. Jeden způsob, kterým může být tangenciální rovina odhalena, je odloupení kůry od kmene. Exponovaná plocha je plochou tangenciální. Tangenciální řez neposkytuje žádné informace o dřevě v radiálním směru, zato o něm poskytuje informace ve směru tangenciálním. Všechny tři řezy jsou určeny vzhledem ke struktuře a uspořádání buněk ve dřevě. [10]

Svazkové (fascikulární) kambium

Buňky axiálního a radiálního systému jsou vytvářeny částí stromu známou jako kambium. Kambium je tenká vrstva buněk, jež se nachází mezi kůrou stromu a jeho dřevem. Směrem do

středu stromu kambium produkuje derivací mnoha buněk dřevo (xylém) a směrem od středu kruhu kambium produkuje lýko (floém) [12]. Vzhledem k tomu, že kambium způsobuje přírůstky dřeva a lýka, obvod stromu se zvětšuje a tím se zvětšuje také celková plocha kambia, což je dosaženo diferenciací buněk. Axiální a radiální systém jsou tvořeny svazkovým kambiem pomocí dvou-komponentních buněk: fusiformních iniciál a paprskových iniciál. Fusiformní iniciály jsou specifické svým podlouhlým, štíhlým tvarem, vytvářejí buňky axiálního systému, zatímco paprskové iniciály vytváří buňky radiálního systému. Z toho důvodu existuje kontinuální návaznost mezi nově vytvořeným dřevem, svazkovým kambiem a lýkem. Ve většině případů je radiální systém dřeva kontinuální do lýka skrze kambium. Tímto způsobem zůstává xylém, pletivo vodící vodu, propojeno s lýkem, pletivem vodivým produkty fotosyntézy. Jsou to vzájemně závislá pletiva, a to z toho důvodu, že živé buňky dřeva potřebují produkty fotosyntézy pro respiraci a růst buněk a lýko potřebuje vodu, aby tyto potřebné produkty rozpustilo a transportovalo. Kambium tedy poskytuje jak růst pletivových systémů, a také je propojuje tak, aby mohly v rostoucím stromu správně fungovat. [10]

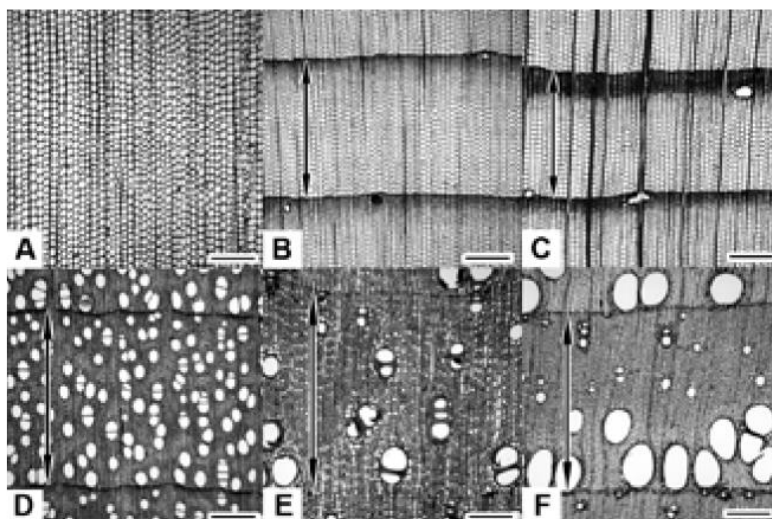
Dřevo je produkováno svazkovým kambiem postupně po jednotlivých vrstvách buněk, ale obecně je známo, že v mnoha dřevinách jsou produkovány velké skupiny buněk více nebo méně společně v čase, a tyto skupiny buněk působí společně, aby sloužily stromu. Svazky buněk produkováných společně v úzkém časovém intervalu jsou známy jako letokruhy. Vzhledem k vegetačnímu období rozeznáváme dva typy buněk. Prvním typem se vyvíjí na počátku přírůstku dřeva a jde o buňky jarního dřeva, které se vyznačují tenkými stěnami a velkým lumenem. Naproti tomu buňky letního dřeva, jež je produkováno v pozdějším vegetačním období, má stěny tlusté a lumeny úzké. [10]

Vzhledem k tomu je hustota jarního dřeva menší než hustota dřeva letního, a zajišťuje tak dobré vedení vody [13]. V důsledku zesílení stěn je letní dřevo základním stavebním prvkem stromu zajišťující jeho stabilitu. Poměr mezi letním a jarním dřevem je v rámci každoročního přírůstku závislý na klimatických podmínkách a podmínkách růstu. To znamená, že se rok od roku liší a ovlivňuje mechanické vlastnosti dřeva. Dřeviny vykazují tři základní struktury v rámci letokruhů. První struktura je bez výrazné změny buněčného vzoru přes letokruh, další vykazuje postupné snižování průměru vodivých prvků od jarního po letní dřevo a poslední vykazuje výraznou změnu vnitřního průměru vodivých elementů v prstenci letokruhu. Tyto struktury se objevují jak u jehličnanů, tak u listnáčů, avšak u obou se liší kvůli výrazným anatomickým rozdílům mezi těmito dvěma druhy. [10] [14]

Jehličnany (neporézní dřeviny bez cév) mohou vykazovat jakýkoliv z těchto tří základních vzorů. Některé jehličnany, jako například cedr (*Thuja plicata*), smrk (*Picea*) a jedle (*Abies*), mají

letokruhy, jež vykazují postupný přechod od tenkostěnných buněk jarního dřeva po tlustostěnné buňky letního dřeva. Jiné dřeviny vykazují prudký přechod mezi buňkami jarního a letního dřeva, mezi takové dřeviny patří například borovice (*Pinus*), modřín (*Larix*), jedle Douglaska (*Pseudotsuga menziesii*) a sekvoj (*Sequoia sempervirens*). Vzhledem k tomu, že většina jehličnanů pochází ze severních mírných oblastí, jsou letokruhy jasně zřetelné. Pouze v některých druzích, jako je například blahočet (*Araucaria*), není viditelný žádný přechod v rámci letokruhu. [10]

Listnáče (porézní dřeviny, s cévami) vykazují dvě hlavní struktury letokruhů a jednu formu, která je něco mezi dvěma hlavními vzory. V roztroušeně pórovité struktuře se jednotlivé cévy zpravidla neliší ve velikosti nebo distribuci od jarního k letnímu dřevu, nebo je změna ve velikosti a distribuci postupná a nemůže být přesně určeno rozhraní mezi jarním a letním dřevem. Typickými zastupiteli dřevin s roztroušeně pórovitou strukturou jsou javor (*Acer*), bříza (*Betula*), topol (*Populus*) a liliovník tulipánokvětý (*Liriodendron tulipifera*). Tato struktura kontrastuje s kruhovitě pórovitou strukturou dřeva, kde je přechod mezi jarním a letním dřevem náhlý, přičemž průměry cév se podstatně zužují (často o řád, několikanásobně). Tato změna velikosti cév je doprovázena také změnou vzoru distribuce cév. To vytváří kruhový vzor velkých cév jarního dřeva v prostřední části letokruhu a poté hustší, vláknitější tkáň letního dřeva. Mezi dřeviny s touto strukturou patří například dub červený (*Quercus rubra*), jasan americký (*Fraxinus americana*), ořechovec vejčitý (*Carya ovata*) a břestovec (*Celtis occidentalis*). Občas velikost cév a jejich distribuce spadá někde mezi předešlé dvě definice a tento stav se nazývá polo-kruhovitě pórovitou strukturou. [10]



Obrázek 2: Příčné řezy dřevinami zobrazující různé typy letokruhů, převzato z [10]

A) Jehličnan bez viditelného přechodu v rámci letokruhu, B) Jehličnan s postupným přechodem mezi jarním a letním dřevem, C) Jehličnan s náhlým přechodem mezi jarním a letním dřevem, D) Listnáč s roztroušeně pórovitou strukturou dřeva, E) Listnáč s polo-kruhovitě pórovitou strukturou dřeva, F) Listnáč s kruhovitě pórovitou strukturou dřeva.

3. Mikroskopická struktura dřeva

Co se evoluce týče, listnaté dřeviny jsou mnohem mladší nežli dřeviny jehličnaté. Zatímco jehličnany vykazují jednoduchou, pravidelnou stavbu, buněčná struktura listnáčů je složitější. Axiální systém jehličnanů se skládá většinou z axiálních tracheid a radiálním systémem jsou paprsky, které se skládají z parenchymatických buněk. Listnáče jsou evolučně mladšími dřevinami a vykazují rozmanitější strukturu. Na rozdíl od jehličnanů obsahují cévní elementy různých velikostí, tvarů a uspořádání jednotlivých buněk. [10] [14]

3.1. Mikroskopická struktura jehličnanů

3.1.1. Tracheidy

Tracheidy, nebo též cévice, tvoří dřevní hmotu, jako takovou. Slouží k transportu vody a minerálních látek. Přibližně 90 % buněk v jehličnatých dřevinách jsou tracheidy, jež jsou orientovány paralelně s osou kmene stromu. Umožňují tak vertikální transport vody a současně slouží jako primární stavební prvek dřevní hmoty. Jde o dlouhé buňky, které jsou často více než 100krát delší (1-10 mm) než je jejich šířka. Na příčném řezu se většinou jeví jako čtvercové nebo lehce obdélníkové buňky. V rámci letokruhu jsou v jarním dřevě zpravidla tenkostěnné a v dřevě letním je stěna zesílená. Tracheidy se se sousedními buňkami překrývají o 20 až 30 % jejich délky. Na zkosených koncích buněk jsou soustředěny tečky a dvojtečky jimiž prochází voda mezi jednotlivými tracheidami. [10] [14]

3.1.2. Axiální parenchymatické buňky a komplexy pryskyřičných kanálků

Další buňky, které se v jehličnanech mohou vyskytnout, jsou axiální parenchymatické buňky. Svou velikostí a tvarem jsou podobné parenchymatickým buňkám tvořící paprsky, avšak jsou orientovány vertikálně, naskládány jedna na druhou a vytváří tak jakýsi pramen. V příčném řezu často vypadají jako axiální tracheidy, ale mohou od nich být rozlišeny, obsahují-li tmavě zabarvené organické substance v lumenech buněk. V radiálním nebo tangenciálním řezu se jeví jako dlouhé prameny buněk obsahující látky tmavé barvy. Axiální parenchym je nejčastější například u jalovce, avšak zpravidla netvoří ani 1 % objemu dřeva. Obecně tento parenchym chybí u borovice, smrku, modřínu aj. [10]

U druhů jako jsou borovice, smrk, jedle, jsou struktury běžně nazývané jako pryskyřičné kanálky, jež jsou orientovány axiálně a radiálně. Tyto struktury jsou dutinky nebo prázdná místa ve dřevě a nejsou buňkami. Speciální parenchymatické buňky s funkcí tvorby pryskyřice obklopují tyto pryskyřičné kanálky. Co se pryskyřičných kanálků a všech parenchymatických buněk k nim přiřazených týče, je na místě pojem axiální nebo radiální komplex pryskyřičných kanálků [15]. U borovic je komplex pryskyřičných kanálků v příčném řezu většinou okem viditelný, ale například u smrku nebo modřínu je mnohem menší a k jeho rozpoznání je zapotřebí optických čoček. Radiální komplexy pryskyřičných kanálků jsou vestavěny do speciálních paprsků, nazývané fusiformní paprsky. Takové paprsky jsou většinou vyšší a širší než běžné paprsky. Komplexy pryskyřičných kanálků u mnoha druhů jehličnatých dřevin chybí, ale některé druhy mají schopnost tvorby velkých tangenciálních seskupení tzv. traumatických pryskyřičných kanálků v reakci na podstatné poškození dřeva. [10]

3.1.3. Parenchymatické buňky skládající paprsky

Dalším druhem buněk jsou parenchymatické buňky tvořící paprsky. Paprsky jsou stěží viditelné a jeví se jako tmavé linie. Parenchymatické buňky paprsků zaujímají tvar podobný hranolům nebo cihlám. Jsou přibližně 15 μm vysoké, 10 μm široké a 150–250 μm dlouhé a vyskytují se v radiálním nebo tangenciálním směru. Takto seskládané buňky vytváří paprsky, jejichž primární funkcí syntéza, ukládání a následný transport biochemických látek a v menší míře i vody. V radiálním řezu paprsky vypadají jako cihlové stěny a parenchymatické buňky paprsků jsou občas zaplněny substancemi tmavé barvy. V tangenciálním řezu pak paprsky tvoří stoh parenchymatických buněk naskládaných jedna na druhé. [10] [14]

V místech, kde se parenchymatické buňky paprsků protínají s axiálními tracheidami se vytváří specializované tečky, jež spojují axiální a radiální systém. Oblast kontaktu mezi stěnami tracheid a stěnami paprsků parenchymatických buněk je nazývána křížovým polem. Typ, tvar,

velikost a počet teček v křížovém poli je v rámci jednotlivých druhů dřevin konzistentní a může být zásadním pro identifikaci dřeva. Druhy dřevin, které mají komplexy pryskyřičných kanálků mají také speciální tracheidy, jež se objevují na okrajích paprsků. Tyto paprskovité tracheidy mají dvojtečky stejně jako axiální tracheidy, ale jsou mnohem kratší a užší. [14]

3.2. Mikroskopická struktura listnáčů

Struktura dřeva listnatých dřevin je mnohem více rozmanitá nežli struktura jehličnatých dřevin. Axiální systém je složen z vláknitých elementů různých druhů, cévních elementů různých velikostí a uspořádání a axiálního parenchymu různých vzorů a četností. Stejně jako u jehličnanů tvoří radiální systém paprsky vytvořené z paprskových parenchymatických buněk, avšak vykazují větší rozmanitost ve velikostech a tvarech jednotlivých buněk. [10]

3.2.1. Cévy (tracheje)

Cévní elementy jsou specializované na vedení vody v dřevěch listnáčů. Jsou naskládány na sebe a vytváří tak jednotlivé cévy. V místě styku dvou cév se nachází viditelné perforace, nazývají perforačními pláty, jež mají vodivou funkci. Na příčném řezu se cévy jeví jako velké otvory a často jsou označovány za póry. Průměr cév může být malý (<30 μm), ale běžně se průměr pohybuje v rozmezí 50–200 μm. Délka cév spadá do rozmezí 100–1200 μm, jsou tedy mnohem kratší nežli tracheidy. Cévy mohou být uspořádány do různých vzorů. Dle toho se rozlišují dřeviny s kruhovitě pórovitou stavbou (např. dub, jasan), s polokruhovitě pórovitou stavbou (např. třešeň, švestka) a s roztroušeně pórovitou stavbou dřeva (např. buk, olše, hrušeň). [14]

V místech, kde jsou cévy v tangenciálním směru ve vzájemném kontaktu, jsou vytvořeny tečky. Tyto tečky dosahují v průměru 2–16 μm a na stěnách cév jsou uspořádány třemi základními způsoby. Nejrozšířenější uspořádání je střídavé, kde jsou tečky vycentrovány o polovinu průměru tečky z jedné řady do druhé. V opačném uspořádání se tečky nachází v souborech a jejich otvory jsou uspořádány vertikálně a horizontálně. V dalším žebříkovitém uspořádání je šířka teček větší než jejich výška. U některých druhů lze pozorovat také kombinaci těchto uspořádání. Tam, kde cévní prvky přicházejí do kontaktu s buňkami paprsků, se často vytvářejí tzv. poloviční dvojtečky. Tyto dvojtečky mohou být stejně velké jako tečky mezi cévami, nebo mnohem větší. [14]

U listnáčů je velikost cév často funkcí vodního potenciálu. Velké cévy brzy formují embolie v souvislosti s poklesem vodního potenciálu v průběhu vegetačního období, a tudíž roste potřeba tvorby menších cév. Tam, kde je vodní potenciál malý, mají všechny stromy menší průměr vodivých elementů. [10]

3.2.2. Libriformní vlákna

Vlákna mají v dřevě listnáčů téměř výhradně mechanickou funkci. Jsou kratší nežli cévice jehličnanů (0,2–1,2 mm), v průměru o polovinu užší, zato jsou obvykle 2x až 10x delší než cévy. Tloušťka buněčné stěny je udávajícím faktorem, od kterého se odvíjí jak hustota dřeviny, tak schopnost zajišťovat mechanickou stabilitu dřeva listnáčů. Tečky mezi vlákny jsou obecně nenápadné a mohou být jednoduché nebo dvojité. V některých dřevinách, jako například v dubu, se nachází vaskulární nebo vazicentrické cévice, a to v těsné blízkosti cév, pokud je přímo neobklopují. Tyto speciální vláknité elementy mají v listnáčích dvojtečky, jsou tenkostěnné a mnohem kratší nežli jiná vlákna. Nesmí být zaměněna za cévice vyskytující se v jehličnanech, které jsou mnohem delší nežli vlákna listnatých dřevin. [10] [14]

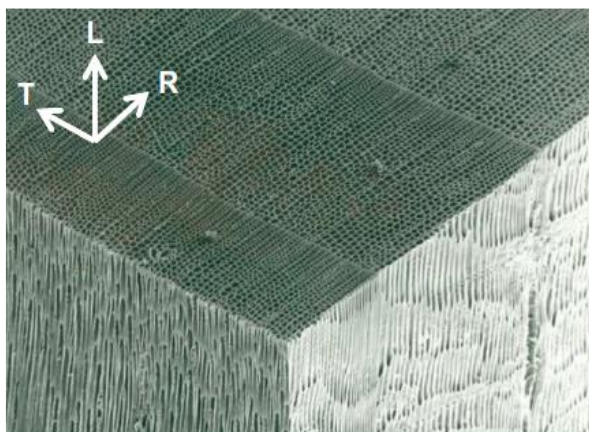
3.2.3. Axiální parenchym

Axiální parenchym v jehličnanech chybí, vyskytuje se pouze výjimečně ve formě rozptýlených buněk, avšak pro listnáče je typická široká rozmanitost „vzorů“ axiálního parenchymu. Buňky axiálního parenchymu jehličnanů a listnáčů mají zhruba stejnou velikost, tvar a také fungují obdobným způsobem. Rozdíl přichází v četnosti a specifických vzorech u listnatých dřevin, u nichž existují dva základní typy axiálního parenchymu. Paratracheální parenchym, jež je asociován s cévami a apotracheální parenchym, jež s cévami asociován není. Paratracheální parenchym se dále dělí na vazicentrický (obklopující cévy), aliformní (rovnoměrný – obklopující cévy s křídlovitými rozšířeními) a konfluentní (několik spojovacích můstků paratracheálního parenchymu, jež občas vytvářejí vazby). Apotracheální parenchym se dělí na difúzní (rozptýlený), difúzní v agregátu (krátké spoje) a spojený, ať už na začátku nebo konci letokruhu (okrajový) nebo v rámci letokruhu. Každý druh má svůj zvláštní vzorec axiálního parenchymu, který je víceméně konzistentní a je důležitý v identifikaci dřevin. [10] [14]

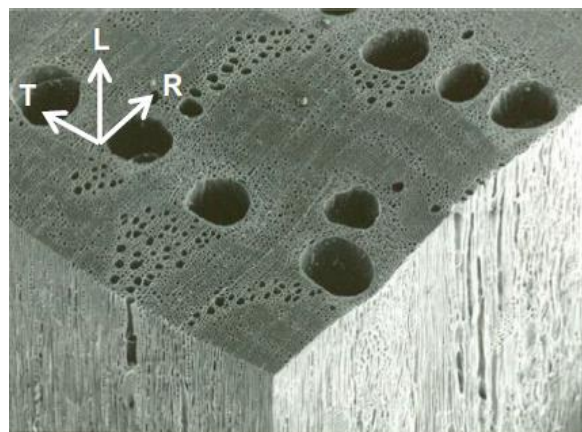
3.2.4. Paprsky

Paprsky v listnáčích jsou strukturálně mnohem rozmanitější nežli ty v jehličnanech. V určitých druzích jsou buňky paprsků řazeny výhradně do jedné řady a podobají se paprskům jehličnanů. U listnáčů má však většina dřevin paprsky o šířce více než jedné buňky. Například dub a javor mají paprsky dvojité, řazené do jedné řady a více než osm buněk široké. U dubu mohou být i několik centimetrů vysoké. U většiny druhů jsou paprsky široké jednu až pět buněk a dosahují výšky <1 mm. Paprsky u listnatých dřevin se skládají z parenchymatických buněk umístěných jak horizontálně, tak vertikálně. Horizontálně uložené buňky paprsků jsou podobné tvarem a velikostí parenchymatickým buňkám paprsků jehličnanů. Svislé buňky jsou obecně

kratší a občas zaujímají téměř čtvercový tvar. Paprsky, jež obsahují pouze jeden typ buněk, většinou horizontálně orientované buňky, se nazývají homocelulární paprsky. Paprsky obsahující jak horizontálně, tak svisle orientované buňky se nazývají heterocelulární paprsky. Počet řad svisle orientovaných buněk, pokud jsou přítomny, se liší od jedné do mnoha a může být určující při identifikaci dřeva. [10] [14]



Obrázek 3: SEM obrázek struktury jehličnanu (borovice), převzato z [14].



Obrázek 4: SEM obrázek struktury listnáče (dub), převzato z [14].

4. Sub-mikroskopická struktura dřeva

Živá buňka stromu se skládá ze dvou primárních domén: protoplastu a buněčné stěny. Protoplast je součtem živého obsahu, jež je ohraničen membránou buňky. Buněčná stěna je neživá, z velké části sacharidová matrice extrudovaná protoplastem na vnější stranu membrány buňky. Buněčná stěna chrání protoplast před osmotickou lýzou (buňka přijímá vodu v důsledku rozdílné koncentrace uvnitř a vně buňky, to vede k rozkladu, či destrukci buněk v důsledku rozpadu jejich vnější membrány [16] [17]) a často poskytuje mechanickou podporu stromu [18] [19] [20].

Pro buňky ve dřevě je však situace lehce komplikovanější nežli tento zjednodušený případ. V mnoha případech je konečná funkce buňky přenesena výhradně na její buněčnou stěnu. To znamená, že mnoho zralých buněk dřeva nejenže nevyžadují přítomnost protoplastu, naopak jej musí úplně odstranit k dosažení plné funkční zralosti. Z toho důvodu vznikla běžná konvence, že se na buněčnou stěnu dřeva bez protoplastu odkazuje jako na buňku, ačkoli je to z biologického hlediska nesprávné označení. V případě zralé buňky ve dřevě je otevřená část buňky, kde se předtím vyskytoval protoplast, známá jako lumen. Tudíž se téměř ve všech buňkách dřeva vyskytují dva hlavní aspekty, a to buněčná stěna a lumen. Lumen je kritickou součástí mnoha buněk v kontextu množství volného prostoru pro vedení vody nebo v kontextu poměru mezi šířkou lumenu a tloušťkou buněčné stěny. Protože je lumen pouze volným

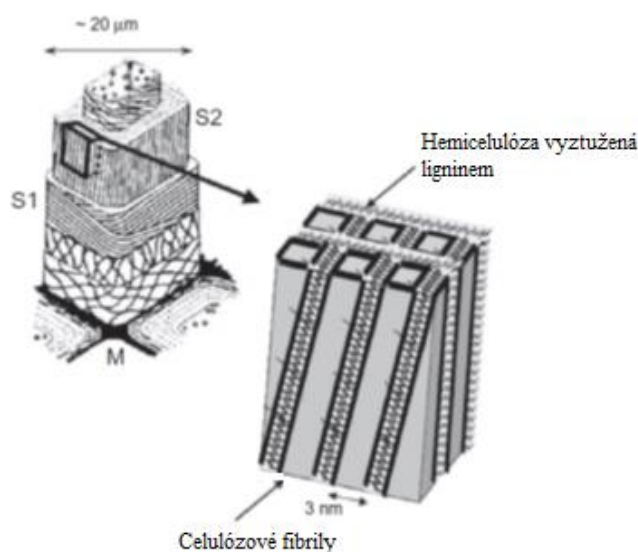
prostorem uvnitř buňky, je dřevo hmotou obsahující pouze dvě základní domény, a to vzduchové mezery a buněčné stěny. [10] [14]

4.1. Buněčné stěny dřeva

Buněčné stěny dodávají dřevu většinu jeho vlastností, vykazují velmi pravidelnou strukturu, a to jak mezi různými druhy buněk, tak mezi různými druhy stromů, a navíc i při porovnání buněčných stěn jehličnanů a listnáčů. Buněčná stěna sestává z tří hlavních oblastí: střední lamely, primární stěny a sekundární stěny. V každé z této sekcí obsahuje buněčná stěna tři komponenty: celulózové mikro-fibrily (s charakteristickým uložením a uspořádáním), hemicelulózy a matrici nebo jakýsi povlakový materiál, jímž jsou běžně pektiny u primárních stěn a lignin u sekundárních stěn [21]. Obecně lze celulózu označit jako molekulu s dlouhým řetězcem s vysokou pevností v tahu. Celulóza je nejtěžší v přírodě se vyskytující molekula s hodnotou pevnosti cca 138 GPa, která byla stanovena výpočtem [22]. Dlouhé řetězce celulózy jsou spojovány do mnohem delších, silnějších makromolekul, jež vypadají jako vlákna a tvoří mikro-fibrily. Lignin je křehký matricový materiál. Hemicelulózy jsou menší, rozvětvené molekuly, které pomáhají propojit lignin a celulózu v jednotný celek ve všech vrstvách buněčné stěny. Aby buněčné stěny tvořily jednotný celek a umožňovaly pohyb biochemických produktů a vody, musí být vzájemně propojeny a spjaty. Tato přilnavost je zajišťována střední lamelou (ML – z *angl. middle lamella*), vrstvou buněčné stěny, která se nachází mezi dvěma individuálními buňkami. Střední lamela je tvořena hlavně ligninem (jednotkami amorfního oxyfenyl propanu). Vedle ligninu se ve střední lamelě vyskytují mimo jiné také pektiny (polysacharidy) [23]. Další vrstvou, jež pouze ohraničuje střední lamelu, je primární stěna (P). Primární stěna je charakteristická velkou variabilitou v uspořádání celulózových mikro-fibril, jejichž úhel se vzhledem k ose buňky pohybuje v rozmezí 0°–90°. U buněk dřeva je tato vrstva velmi tenká a téměř nerozlišitelná od střední lamely. Proto se používá termín složená střední lamela, jež není nic jiného než střední lamela a k ní přilehlé dvě primární stěny jednotlivých buněk. Další částí buněčné stěny je sekundární stěna, jež sestává ze tří vrstev. [14]

Jak protoplast vytváří buněčné stěny, postupně snižuje objem lumenu a první vytvořenou vrstvou sekundární stěny je vrstva S1. Ta je přilehlá složené střední lamelě, nebo přesněji vzato primární stěně. Jde o tenkou vrstvu charakteristickou velkým mikro-fibrilárním úhlem, to znamená, že mikro-fibrily svírají s osou buňky úhel 50°–70°, jsou tedy uloženy spirálovitě. Další vytvořená vrstva hraje pravděpodobně nejdůležitější roli ve výsledných vlastnostech buňky, a tím i nejvíce určuje vlastnosti dřeva na makroskopické úrovni [21]. Touto vrstvou je vrstva S2, jež je přilehlá vrstvě S1. Je to nejširší vrstva buněčné stěny, a tím nejvíce přispívá k výsledným

vlastnostem buněčné stěny. Je charakteristická nižším obsahem ligninu a malým mikro-fibrilárním úhlem (5° – 30°). Přílehlou vrstvou k vrstvě S2 je vrstva S3. Vrstva S3 je relativně tenká, s mikro-fibrilárním úhlem podobným vrstvě S1 ($>70^{\circ}$) a nejnižším procentuálním zastoupením ligninu ze všech vrstev sekundární stěny. Nízká koncentrace ligninu ve vrstvě S3 je dána potřebou přilnavosti mezi molekulami vody a buněčnou stěnou při procesu transpirace (vedení vody). Jelikož je lignin hydrofobní makromolekula, musí být jeho koncentrace ve vrstvě S3 nízká. Některé buňky zahrnují vnitřní spirálovitá zesílení v rámci buněčné dutiny, jež chrání tenkou buněčnou stěnu před jejím zhroucením při procesu transpirace, kdy dochází k vysoké sorpci vody. [14]



Obrázek 5: Struktura buněčné stěny a uložení celulózových fibril vrstvy S2, převzato z [14].

Tloušťky jednotlivých vrstev je běžně $0,1$ – $0,3$ μm pro vrstvu S1, 1 – 5 μm pro vrstvu S2 a $0,1$ μm pro vrstvu S3 a primární vrstvu [24]. Zobrazením ultra-tenkého řezu nařezaného ultramikrotomem za použití diamantového nože pomocí světelné mikroskopie lze rozlišit střední lamelu (ML), primární stěnu a sekundární stěnu. Rozlišení však není natolik vysoké, aby byly viditelné vrstvy sekundární stěny [14]. Při použití transmisní elektronové mikroskopie (TEM) jsou rozlišitelné dvě vrstvy S2 sekundární stěny ve dvojité buněčné stěně, ale není možné identifikovat celulózový obsah, který se chová jako vláknité vyztužení v matrici hemicelulózy a ligninu [25].

4.1.1. Mikro-fibrilární úhel

Mikro-fibrily, jež obsahují shluky dobře propojené celulózy s průměrem 5 – 60 nm [26] a délkou 1 – 3 μm [27], určují mechanické vlastnosti dřeva [28]. Mechanická pevnost je spjata s tloušťkou vrstvy S2, kde celulózové fibrily (znázorněné na obrázku č.5) jsou umístěny

v pravotočivé spirále okolo osy tracheidy v úhlu pohybujícím se v rozmezí 5° a 30° [29] v matici hemicelulózy, ligninu a pektinů.

Spirála mikro-fibril svírající úhel s osou buňky, je nazýván mikro-fibrilárním úhlem (MFA – z *angl. microfibril angle*). Nízká hodnota MFA vede k vysokému elastickému modulu [30] [31]. Vrstvy S1 a S3 jsou mnohem tenčí než vrstva S2, ale hrají zásadní roli pro buňku proti laterální deformaci a poskytují dřevu horizontální pevnost [32]. Výsledkem tohoto uspořádání je buněčná stěna dřeva jakýmsi vícevrstevným spirálovým kompozitem [24]. Proměřením mikro-fibrilárních úhlů ve vrstvách S2 se ukázal klesající trend ve směru od středu stromu k jeho kůře. Studie z poloviny minulého století prokázaly variabilitu MFA mezi jednotlivými letokruhy borovice [33], v různých výškách stromu [34], a také v rámci letokruhů [35]. Na vnitřní straně lumenu se může objevit spirálové zesílení, které pak komplikuje měření mikro-fibrilárního úhlu [36]. Měření MFA vrstvy S2 umožňuje uvažovat na korelaci mezi MFA a mechanickými vlastnostmi dřeva, zejména modulu pružnosti a modulu elasticity [14].

Vzhledem k velikosti mikro-fibril, jež se pohybuje na nano-škále, je nelze zkoumat světelnou mikroskopií [37]. Existuje však mnoho jiných metod, které jsou pro toto téma vyhovující [38]. Mezi nejrozšířenější metody pak patří zejména polarizační světelná mikroskopie, srážení jódu pod světelným mikroskopem, X-ray difrakce a infračervená spektroskopie. Výsledky obdržené těmito metodami se často liší, i když jsou prováděny na jednom dodaném vzorku dřeva, a většina z uvedených metod neposkytují dostatečné zvětšení potřebné k přesnému určení hodnot MFA [39]. Již více než 80 let je vyvíjena metoda obarvování vzorků jódem, která je postupně adaptována a vylepšována, zejména výzkumníky *Balley a Vestal* [40] a v posledních 30 letech výzkumníky *Senft a Bendtsen* [41] a *Donaldson a Frankland* [37]. Na konci 20. století byla velice oblíbená metoda difrakce rentgenovým paprskem díky malému času potřebnému k přípravě vzorků, v porovnání s předešlými metodami. Hlavními nevýhodami této metody jsou zejména cena vybavení a odrazy z konfliktních rovin překrývající zaostřované pole zobrazení [42]. V dnešní době stojí za zmínku difrakční rentgenový systém *SilviScan3*, jež je metoda vhodná k měření hodnot MFA [43]. Jde o rychlou, nedestruktivní metodu zkoumající dřevěný vzorek kombinující optické zobrazování, rentgenovou densitometrii a rentgenovou difraktometrii. V souvislosti s měřením MFA tato metoda poskytuje důkladný přehled o vlastnostech vzorku dřeva měřením jeho objemové hmotnosti a velikostí jak tracheid, tak letokruhů. [43]

4.1.2. Tečky

V buněčných stěnách se běžně vyskytují ztenčeniny, tečky, nebo dvůrkaté ztenčeniny, dvojtečky. Jsou to modifikace v buněčných stěnách dřeva, jež umožňují komunikaci a transport

živin mezi jednotlivými buňkami. Jde o ztenčené oblasti buněčné stěny mezi dvěma sousedícími buňkami. V procesu transpirace jsou tečky pro dřevinu nezbytné, aby došlo k průchodu vody z buňky do buňky od země až po korunu stromu. Tečky jsou tvořeny ze tří částí: membránou, clonou a dvůrkem (komorou). Membrána tečky je tenký porézní zbytek primární stěny, jde tedy o sacharidovou membránu. Clona tečky je otvor vedoucí do rozšířené části tečky, jež je jakýmsi dvůrkem, malou komorou tečky. Typ, počet a velikost teček je charakteristický pro určité dřeviny a může přímo ovlivňovat to, jak se dřevo chová v odlišných situacích (například při nanášení povrchových povlaků nebo lepidla) [44] [45]. Mezi různými typy buněk se objevují předvídatelné typy teček. V buněčné stěně dvou sousedních buněk se tvoří tečky odděleně v jednotlivých stěnách, ale koordinovaně ve stejném místě tak, že je tečka jedné stěny vycentrovaná s tečkou druhé stěny. Vzniká tak koordinovaná dvojice teček, dvojtečka. Pokud nenastane koordinace a tečka je vytvořena pouze v jedné ze dvou buněk, jde o tzv. „slepou“ tečku, takové tečky jsou však v buňkách dřeva ojedinělé. Z typu vytvořených teček lze bez jakýchkoli dalších informací určit, o jakou zkoumanou buňku se jedná. Znalost teček také umožňuje predikovat chování buňky ve smyslu proudění tekutin. Tečky se vyskytují ve třech variantách: tečky (jednoduché), dvojtečky (dvůrkaté) a poloviční dvojtečky. [18] [19]

Dvojtečky se též nazývají dvůrkaté ztenčeniny, protože sekundární stěna překrývá dvůrek (komoru) tečky, a clona tečky je buď výrazně menší, nebo odlišně tvarovaná, nebo obojí, než je její komora. Část buněčné stěny, jež překrývá dvůrek tečky vytváří jakousi obrubu. Z pohledu skrze tečku tato tečka díky obrubě vypadá zjednodušeně jako kroužek. Při pohledu v řezu pak často dvojtečka vypadá jako pár zrcadlově překlopených písmen V s otevřenými konci proti sobě. Struktura a funkce dvojteček je považována za vhodnou pro bezpečné a účinné vedení mízy. Každá dvojtečka obsahuje celulóзовou membránu, která se chová jako jakýsi ventil kontrolující průchod vlhkosti v závislosti na vnitřním tlaku (Choat a kol. 2008). Když je tento tlak ovlivněn, například poškozením dřeva, dvojtečka se uzavře a nadále nezajišťuje obousměrný průchod vlhkosti. Stav dvojtečky (ať už je otevřená nebo uzavřená) hraje velký význam v oblasti údržby dřeva, může tedy ovlivnit finální povrchové úpravy dřeva a přilnavost lepidla. Jednoduché tečky postrádají jakýkoliv náznak překryvu sekundární stěnou. Zakončení buněčné stěny je rovné a tečky mají v obou sousedních buňkách stejnou velikost a tvar. Jednoduché tečky jsou typické mezi parenchymatickými buňkami a v pohledu skrze tečku se jeví jen jako světlé oblasti v buněčných stěnách. Poloviční dvojtečky se vyskytují mezi vodivými buňkami a parenchymatickými buňkami. V takovém případě obě buňky vytváří ten typ tečky, který je pro buňku typický (vodivá buňka tvoří dvojtečku a parenchymatická buňka tvoří jednoduchou tečku). Tím vznikne tečka, jejíž jedna polovina je jednoduchá a druhá dvojitá. [10]

4.2. Chemismus složek tvořících buněčné stěny dřeva

Dinwoodle [46] hmotnostně sumarizoval chemickou kompozici dřeva jehličnatých a listnatých stromů. Obsah celulózy, jež představuje krystalickou, makromolekulární, mikrofibrilární část primární a sekundární buněčné stěny a tvoří 42 ± 2 hm. % jehličnanů a 45 ± 2 hm. % listnáčů. Obsah hemicelulózy jehličnanů (27 ± 2 hm. %) a listnáčů (30 ± 5 hm. %) má menší molekulovou hmotnost a je polo-krystalickou matricovou složkou buněčné stěny dřeva. Obsah amorfního ligninu je druhou hlavní složkou matrice, jež obklopuje mikro-fibrily, a v jehličnanech představuje 28 ± 3 hm. % a v listnáčích 20 ± 4 hm. %. Autor uvádí, že zbylé chemické složky jsou rozpustné extrakční látky, jež nepřispívají ke kompozitní struktuře buněčné stěny dřeva. [46]

4.2.1. Celulóza

Celulóza je nerozvětvený lineární polysacharid s opakující se molekulární jednotkou, jež obsahuje dvě cyklické jednotky D-glukopyranózy spojené β -1 \rightarrow 4 glykosidickými vazbami [47], které umožňují řetězcům molekul se zakřivit a rotovat. V celulózových řetězcích obsažených ve dřevě je přibližně 10 000 jednotek glukopyranózy [48].

Během formace buněčné stěny dřeva se živá buňka diferencuje do tracheárních buněk (tracheid) pomocí sekundárního tloustnutí [49]. Primární buněčná stěna živé buňky je lemována plasma-membránou a buňka obsahuje mikro-trubičky, které jsou seřazeny do stejného směru jako celulóza v primární buněčné stěně [50]. Biosyntéza celulózy dřeva je iniciována pomocí enzymů celulózasyntázy vázaných na plazmatickou membránu buňky a tyto komplexy mohou být znázorněny jako růžice s průměrem 25-35 nm [51]. *Vincent* [52] a *Doblin a kol.* [53] popisují proces, kterým se růžice enzymů vyvíjí kolem membrány buňky a ukládají jakési stezky celulózových mikro-fibril o průměru 5 nm obsahujících přibližně 40 molekul celulózy, jež se agregují na mikro-fibrily o průměru asi 20 nm. Předpokládá se, že mikro-fibrily jsou obklopeny hemicelulózou, což jim umožňuje seřadit se stejným způsobem jako nematické kapalně krystalové [54]. Uspořádání mikrotubulů pravděpodobně určuje délku mikrofibril a uspořádání mikrofibril může být ovlivněno podněty vnějšího prostředí [55]. *Emons a Mulder* [56] uvádí alternativní model ukládání mikrofibril. Tito autoři předpokládají, že mikrofibrily jsou odvíjeny z primární stěny a vyrovnávány kortikálními mikrotubuly analogicky s tvorbou tekutých krystalů. Proto mohou být axiální, příčné, zkřížené, šroubovicové a náhodné struktury ukládány vlivem enzymů celulózasyntázy v membráně buněk. Běžný modul pružnosti dřeva jehličnanu se pohybuje okolo 10 GPa, nicméně předpokládaný modul pružnosti buněčné stěny dřeva, jež je kompozit celulózových mikrofibril v matrici ligninu a hemicelulózy, je mnohem vyšší a celulóza

extrahovaná z vlákna dřeva má velký potenciál stát se efektivním vyztužením kompozitních polymerů. [14]

4.2.2. Hemicelulóza

Hemicelulóza je po celulóze druhým nejrozšířenějším polysacharidem v přírodě [57]. Hlavní řetězec sestává z jednotek d-xylopyranózy [58], které jsou spojeny β -1,4 vazbami, a tak formují lineární rozvětvené, například xylany [14]. V sekundárních buněčných stěnách dřeva tvoří matici ve spojení s mikrofibrilami celulózy a lignin křížuje obojí jak celulózu, tak hemicelulózu. Timell [59] předpokládá, že hemicelulóza, jež je vždy spojená s ligninem, je jakýmsi můstkem rozhraní celulózy a ligninem.

4.2.3. Lignin

Lignin v buněčné stěně dřeva chrání polysacharidy celulózy a hemicelulózy před napadením enzymy a mikro-biotickými škůdci. Vyznačuje se 3D strukturou polymeru sestávající z jednotek oxyfenolpropanu, který je polymerizován z cinnamylalkoholů. Monomery ligninu mohou reagovat s polymery ligninu a tím buď prodloužit hlavní řetězce, nebo vytvořit křížové vazby. Ačkoli má buněčná stěna vysokou schopnost pojmout vodu, do určité části je tato schopnost limitována právě ligninem z toho důvodu, že se řadí mezi hydrofobní molekuly. Největší koncentrace ligninu je ve střední lamelle. [14]

5. Průnik lepidel do struktury buněčné stěny dřeva

Mnoho výzkumných pracovníků se celosvětově snaží vyvinout nové technologie modifikací dřeva, které by zlepšily některé jeho vlastnosti. K urychlení vývoje nových lepidel určených k lepení dřevěných konstrukčních prvků, a dřeva jako takového pro specifické produkty, je zapotřebí znát optimální penetraci lepidla do dřeva. Penetrace zahrnuje mimo tokové mechanismy, tzn. tok lepidla do lumenů buněk, také infiltraci do polymerních komponentů buněčné stěny dřeva. [60]

Jedna ze slibných technik zahrnuje použití syntetických pryskyřic, mezi které patří: N-methylol pryskyřice, fenol-, močovino-, melamin-formaldehydové pryskyřice. Impregnace dřeva ve vodě rozpustnou nízkomolekulární fenol-formaldehydovou pryskyřicí je zkoumána již od roku 1930. Hlavními důvody výzkumu bylo zvýšení stability dřeva a komerčně vyráběných kompozitních materiálů a zlepšení odolnosti proti UV záření a biologickým vlivům. U fenol-formaldehydové pryskyřice bylo prokázáno, že má schopnost penetrovat a nabobtnávat buněčnou stěnu [61] [62]. Má se za to, že právě penetrace buněčné stěny má za následek vyšší odolnost vůči smršťování dřeva a zvýšenou odolnost vůči bílé a hnědé hnilobě způsobené houbami [63]. Předpokládá se, že přítomnost lepidla v buněčné stěně dřeva také zvyšuje kvalitu lepené spáry, co se trvanlivosti a pevnosti týče. Efektivita modifikací jako takových je závislá na průniku fenol-formaldehydové pryskyřice do buněčné stěny dřeva [64] [65].

V procesu impregnace se pryskyřice s různou průměrnou molekulovou hmotností dostává do pórového systému (lumenů různých typů vláken – cév, paprsků, libriformních vláken atd.). Z lumenů buněk pak oligomery difundují do buněčné stěny dřeva. Prázdné mezi-mikro-prostory a mikro-trhlínky v buněčné stěně jsou vyplňovány pryskyřicí, jež způsobuje permanentní zvětšení objemu buněčné stěny (bobtnání). Jakmile se dřevo nachází v nabobtnalém stavu, maximální velikost mikro-pórů v buněčné stěně se pohybuje v rozmezí 0,5–4,0 nm [66]. Z toho vyplývá, že hloubková penetrace buněčné stěny pryskyřicí je ovlivněna velikostí jejich oligomerů [67]. Molekulová hmotnost (respektive velikost molekul) pryskyřice je klíčová při penetraci do buněčné stěny dřeva [64] [68] [69]. Výzkumníci jako jsou *Smith* [68], *Imamura* [69] a *Furuno* [65] zjistili, že pryskyřice situovaná v buněčné stěně dřeva pozmění vlastnosti dřeva ve větší míře než pryskyřice nacházející se v lumenu buňky. Všeobecně se má za to, že nízkomolekulární pryskyřice prosycuje buněčnou stěnu dřeva a přispívá tak k lepším vlastnostem (prostorová stabilita dřeva), zatímco pryskyřice s vysokou molekulární hmotností pouze vyplní lumen a hraje tak velmi malou roli v prostorové stabilitě dřeva [70] [71] [72] [73].

Existuje několik studií, které prokazují přítomnost fenol-formaldehydové pryskyřice v buněčné stěně dřeva [65] [74] [75].

5.1. Metody zobrazovací

Optická mikroskopie je v souvislosti se zkoumáním interfáze lepidlo/dřevo hojně používána. Je však třeba zmínit, že je tato metoda zaměřena zejména na hloubku penetrace lepidla do dřeva a jeho distribuci ve struktuře dřeva. K tomu je tato metoda více než vhodná, vzhledem k velikosti zobrazované oblasti a vzhledem k faktu, že pro měření hloubky penetrace není zapotřebí velkého přiblížení a rozlišení výsledného obrazu. Zobrazovací metody jsou tedy vhodné ke zkoumání lepené spáry a dřeva na úrovni milimetrů. Ke zkoumání průniku lepidla do buněčné stěny dřeva jsou optické mikroskopy většinou limitovány přibližovací schopností, kdy lze dosáhnout maximálního zvětšení 1000×. Dalším limitujícím faktorem může být fakt, že používané pryskyřice (například MUF) jsou pro vytvrzení neprůhledné a zkoumání světelnou mikroskopií je tímto faktorem ztěženo [76]. Avšak s postupujícími výsledky v oblasti technologií dnes existují metody, jež dosahují přijatelného přiblížení nebo diferenciaci buněčných stěn a lepidla, že i za pomoci nich lze usuzovat na průnik lepidla do buněčné stěny dřeva. Vedle fluorescenční mikroskopie, která je poněkud limitována případnou nerovností připraveného vzorku a tím způsobených rušivých vlivů způsobených nezaostřenými rovinami preparátu, lze vyzdvihnout hlavně konfokální mikroskopii. Výhodou konfokálního mikroskopu je eliminace vycházejících z preparátu nad a pod zaostřenou rovinou. Tím je zajištěna eliminace zkreslení výsledného obrazu, čehož u fluorescenčního mikroskopu nelze dosáhnout. Mikroskopické metody postrádají možnost kvantitativního měření a postupy zahrnující přípravu vzorků často způsobují zavádějící pozorování. Nicméně poskytují přímé pozorování impregnovaných chemikálií nebo pryskyřic ve struktuře dřeva, naznačují cesty toku lepidla do struktury dřeva, distribuci pryskyřice a často poskytují vodítka k porozumění interakce mezi strukturou dřeva a pryskyřicí [77].

5.1.1. Metoda mikroskopie ve světlém poli

Mikroskopie ve světlém poli (v procházejícím světle) umožňuje zkoumání lepené spáry a jejího nejbližšího okolí. Mimo tloušťky spáry lze tedy určit, kde v lumenech se lepidlo nachází a lze posoudit integritu buněčné struktury dřeva [78]. *Kutscha a Caster* [79] demonstrovali účinnost optické mikroskopie ve studiu spáry lepené fenol-rezorcín formaldehydovým lepidlem. [3]

Princip

Světlo prochází pozorovaným objektem a soustava dvou čoček vytváří skutečný, převrácený a zvětšený obraz, jež je pozorován přes okulár. Při této metodě, jak již z názvu vyplývá, je pozadí světlé a pozorovaný preparát tmavý.

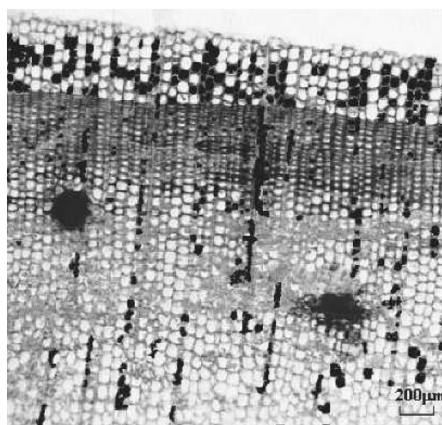
Stav poznání využití světelné mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

Mitsuhiro Morita a *Isao Sakata* [80] použili světelnou mikroskopii k určení distribuce nízkomolekulárního polyethyleniminu (PEI) ve struktuře dřeva. Obarvení pryskyřice bylo provedeno pomocí adsorpce červeného barviva Amido Naphthol Red G (angl. *acid red dye*) a adsorpce iontů mědi (Cu^{2+}), tzv. chelátování, na PEI, jenž byl obsažený ve dřevě. Množství adsorbovaného barviva nebo iontů mědi lineárně rostl s rostoucím množstvím PEI ve dřevě. Obarvené kompozity byly zkoumány světelným mikroskopem pod monochromatickým světlem, které odpovídalo absorpčním maximům (560 nm pro „*acid red*“ a 640 nm pro chelát mědi). Mikroskopické obrazy byly fotograficky snímány a negativ byl podroben denzitometrické analýze. Při množství polymeru PEI v kompozitu pod 4 % bylo okolo 70 % polymeru distribuováno v oblasti střední lamely a zbývajících 30 % bylo obsaženo v sekundární buněčné stěně. S rostoucím obsahem PEI v kompozitu rostla i koncentrace polymeru v sekundární buněčné stěně. Při 27% obsahu PEI ve dřevě bylo okolo 80 % polymeru situováno v oblasti sekundární buněčné stěny. Při provádění studie nebyly zjištěny výrazné rozdíly mezi zjištěným množstvím polymeru pomocí barviva Amido Naphthol Red G nebo chelátováním ionty (Cu^{2+}). Doplnkově byla provedena lineární analýza intenzity charakteristických rentgenových paprsků uranu, ze které byly zajištěny výsledky distribuce PEI ve dřevě velice blízké výsledkům světelné mikroskopie. Výzkumníci došli k závěru, že **zjištění distribuce PEI ve dřevě světelnou mikroskopií** barvením pomocí „*acid red*“ nebo chelátováním **je jednoduchá a spolehlivá metoda, avšak tato metoda není dostačující pro určení přítomnosti pryskyřice v buněčné stěně dřeva.** [80]

Výzkumníci *Hui Wan* a *Moon G. Kim* [77] provedli studii, kde bylo dřevo borovice impregnováno dvěma fenol-formaldehydovými pryskyřicemi s rozdílnými, přesto nízkými molekulovými hmotnostmi, a zkoumáno několika mikroskopickými metodami. Vedle konfokální mikroskopie, skenovací elektronové mikroskopie (SEM), transmisní elektronové mikroskopie (TEM) a energeticky disperzní rentgenové spektroskopie (EDS) byla také za účelem lepšího porozumění při stabilizaci dřeva nízkomolekulárními fenol-formaldehydovými pryskyřicemi provedena světelná mikroskopie. Pryskyřice PF1 (MW 310) a PF3 (MW 451) byly použity v tomto výzkumu. Impregnace pryskyřic do dřeva proběhla ve válci, v němž bylo

vytvořeno vakuum, po dobu 15 minut, a poté byl vyvinut tlak (690 až 828 kPa) po dobu 30 minut. Vzorky takto impregnovaného dřeva byly vytvrzeny při teplotě 180 °C po dobu 20 minut bez komprese. [77]

Pro mikroskopii procházejícím světlem byly rotačním mikrotomem připravené preparáty tloušťky 20–40 µm opatřeny safraninem a uloženy na podložní sklíčko mikroskopu. Použitý mikroskop byl Olympus Vanox. Světelná mikroskopie preparátu impregnovaného PF3 vyobrazila usazeniny pryskyřice, jež odhalují, že pryskyřice do struktury dřeva teče převážně skrze cévy [77]. Další závěry však autoři vyvozují z výsledků dosažených pozorováním ostatními typy mikroskopů (konfokální, SEM a TEM). V této provedené studii **nelze na průnik pryskyřice do buněčné stěny dřeva usuzovat z výsledků světelné mikroskopie**, díky ní lze pouze usuzovat na distribuci pryskyřice ve struktuře dřeva.

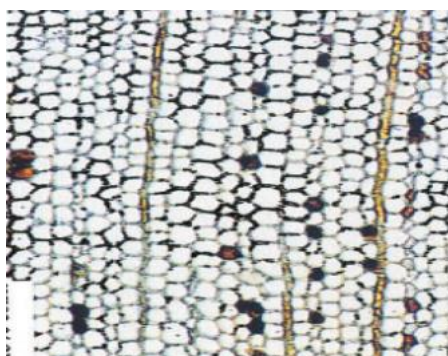


Obrázek 6: PF pryskyřice ve struktuře smrkového dřeva na příčném řezu, převzato z [77].

Furuno a kol. [65] aplikovali fenol-formaldehydové pryskyřice, v nichž byl zakomponován brom, s nízkou molekulovou hmotností na japonský cedr a pryskyřice byly vytvrzeny teplem. V celku tedy byly použity tři brom-fenol-formaldehydové pryskyřice s molekulovými hmotnostmi 290, 470 a 820. Penetrace těchto pryskyřic do buněčné stěny dřeva byla zkoumána jak světelnou mikroskopií, tak skenovací elektronovou mikroskopií (SEM) a rentgenovou mikroanalýzou (EPMA z angl. *electron probe X-ray microanalysis*). [65]

Na příčném řezu vzorku opatřeného nízkomolekulární bromfenol-formaldehydovou pryskyřicí (290) nebyla světelnou mikroskopií patrná žádná přítomnost pryskyřice v lumenech buněk. Se zvyšující se koncentrací pryskyřice byl v pouze malém množství lumenů viditelný obsah fenolické pryskyřice. Stejných výsledků bylo dosaženo také pro pryskyřici s molekulovou hmotností 470. U pryskyřice s molekulovou hmotností 820 se pak mnoho fragmentů této pryskyřice vyskytovaly v lumenech buněk. Autoři v této studii **nemohli pomocí světelné mikroskopie prokázat průnik pryskyřice do buněčné stěny dřeva**. Až po provedení SEM

a EPMA analýzy bylo patrné, že nízkomolekulární pryskyřice (290 a 470) byly zcela obsaženy v buněčných stěnách dřeva. Zatímco vysokomolekulární pryskyřice byla ve stěnách určitým obsahem také, je tento obsah přisuzován nízkomolekulárním frakcím této pryskyřice. [65]



Obrázek 7: Brom-fenol formaldehydová pryskyřice ve struktuře cedru, převzato z [65].

5.1.2. Ultrafialová mikroskopie

Přestože je UV mikroskopie zařazena mezi metody zobrazovací, efekt určení přítomnosti pryskyřice v buněčné stěně dřeva závisí na zjištění absorpčních spekter jednotlivých domén, jež se ve struktuře dřeva nachází.

Princip

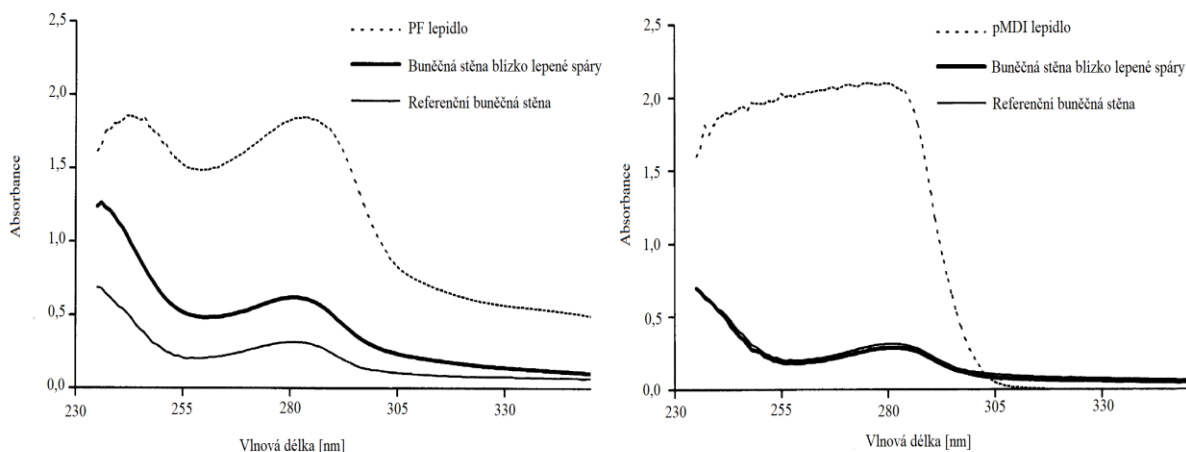
UV mikroskopie je metoda pro semikvantitativní stanovení látek nacházejících se v buněčné stěně dřeva a absorbujících UV záření. Byla vyvinuta pro stanovení obsahu a distribuce ligninu a byla úspěšně aplikována na identifikaci pryskyřic v buněčných stěnách dřeva. Jak již název vypovídá, v této metodě se využívá UV záření jako světelného zdroje. Jelikož má UV záření kratší vlnové délky než viditelné světlo, je zapotřebí provádět záznam výsledného obrazu fotograficky nebo pomocí digitálních kamer. Výstupem této mikroskopie nejsou obrazové záznamy, avšak absorpční spektra jednotlivých domén, které se mohou ve struktuře mohou vyskytnout (pryskyřice v buněčné stěně, buněčná stěna dřeva neovlivněná pryskyřicí a buněčná stěna dřeva, která může být ovlivněna přítomností difundované pryskyřice). [81]

Stav poznání využití ultrafialové mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

Wolfgang Gindl, Thomas Schörberl a George Jeronimidis [81] ve své studii ověřují roli, kterou hraje difúze pryskyřice do buněčné stěny dřeva zkoumáním mechanických vlastností mezifází smrkového dřeva a lepidla s použitím fenol-formaldehydového (PF) a pMDI (*polymeric methylene di-phenyl-di-isocyanate*) lepidla. V této studii byly využity metody UV mikroskopie a nanoindentace. Po provedení zkoušky UV mikroskopie byly ze vzorků pomocí ultramikrotomu nařezány příčné řezy tloušťky 1 μm . Preparáty byly umístěny na křemenná

podložní sklíčka a byl použit mikro-spektrofotometrický mikroskop Zeiss MPM800 bez nabarvení vzorků. Mikroskop byl osazen UV-Vis zdrojem a detektorem, jenž umožňuje určit absorpční spektra v rozmezí vlnových délek 235–720 nm. Měření byla provedena v místě vytvrzeného lepidla, buněčné stěně nacházející se u lepené spáry a jako reference bylo měření provedeno na dřevě, jež nebylo opatřeno lepidlem. [81]

UV-absorbanční spektra vykazují jednoznačné rozdíly mezi referenční buněčnou stěnou a buněčnými stěnami, jež byly v kontaktu s lepidly. Obě lepidla vykazala silnou UV absorbanci. Absorbance buněčných stěn nacházejících se blízko lepené fenol-formaldehydové spáry, a také absorbance buněčných stěn, jež byly ve vzdálenosti 400 μm od lepené spáry, byly dvojnásobné od absorbance referenční buněčné stěny. Tato **neobvykle velká absorbance je způsobena přítomností složek PF lepidla v buněčné stěně**. Na rozdíl od PF lepidla, absorpční spektra buněčných stěn přilehlých lepidlu pMDI nevykazala žádné rozdíly od absorpčního spektra referenční buněčné stěny. To indikuje, že žádná část pMDI lepidla nepronikla do buněčné stěny dřeva. [81]

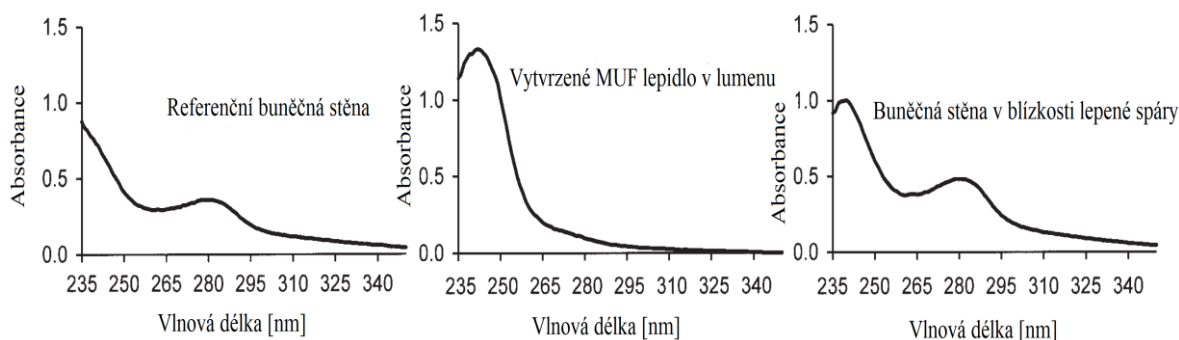


Obrázek 8: UV absorpční spektra jednotlivých fází vzorků zalepených PF lepidlem (vlevo) a pMDI lepidlem (vpravo), převzato z [81].

Wolfgang Gindl, Eugenia Dessipri a Rupert Wimmer [82] se vzhledem k množství studií využívajících UV-mikroskopii pro určení ligninu v buněčné stěně ([83] [84] [85]) rozhodli determinovat difúzi melamin-močovino-formaldehydové (MUF) pryskyřice do buněčné stěny smrku. Vzhledem k faktu, že má melaminová pryskyřice vysokou absorbanci v ultrafialovém spektru díky své triazinové struktuře [86], měla by být UV mikroskopie k řešení tohoto problému vhodná. Malé vzorky slepenců byly zafixovány ve *Spurr* pryskyřici a poté z nich byly nařezány velmi tenké příčné řezy (1 μm) pomocí ultramikrotomu s diamantovým nožem. Takto připravené preparáty byly uloženy na křemenná podložní sklíčka mikroskopu a následovalo jejich zakápnutí deionizovanou vodou. Na připravených preparátech pak byly pořízeny UV-absorpční spektra ve

třech různých místech pomocí fotometrického mikroskopu MPM800 (*Carl Zeiss*). Nejprve byla absorpce změřena pro stěnu S2 přibližně 0,5 mm od lepené spáry. Tyto tracheidy měly prázdné kavity buněk, a proto se předpokládá, že nebyly ovlivněny použitou pryskyřicí. Dále byla absorpce změřena pro čistou MUF pryskyřici v lumenu buňky, jež byl v těsné blízkosti s lepenou spárou. Nakonec byla změřena absorpce buněčné stěny S2 přilehlé k tracheidám, jež byly zcela vyplněny pryskyřicí. Absorpční spektra byla změřena na vlnových délkách od 235 nm po 350 nm. Pro každé ze tří míst bylo změřeno 50 absorpčních spekter, jež byly zprůměrovány. [82]

Výsledkem studie je, že v každém ze tří měřených míst spektra vykazala rozdílné hodnoty. V prvním místě, buněčné stěně neovlivněné MUF pryskyřicí, bylo naměřeno absorpční maximum při 280 nm. V druhém místě, vytvrzené MUF pryskyřici v lumenu buňky, bylo naměřeno absorpční maximum 242 nm. V třetím místě, buněčné stěně ovlivněnou MUF pryskyřicí, byla vykreslena dvě absorpční maxima, a to při 241 nm a 280 nm. Vzhledem k tomu, že absorbance směsi dvou substancí je součet individuálních absorbancí, **získané výsledky prokazují, že MUF pryskyřice, respektive její frakce, difundovala do buněčné stěny dřeva.** Dále bylo ve studii určena koncentrace pryskyřice obsažené v buněčné stěně dřeva pomocí přepočtu. [82]



Obrázek 9: UV absorpční spektrum referenční buněčné stěny (vlevo), MUF lepidla (uprostřed) a buněčné stěny ovlivněné přítomností MUF lepidla, převzato z [82].

5.1.3. Fluorescenční mikroskopie

Fluorescenční mikroskopie je ve smyslu výzkumu lepené spáry a jejího okolí ostatním optickým metodám nadřazená v aplikacích, při kterých se vyskytuje slabý mezifázový barevný kontrast. Dobrého barevného kontrastu mezi fázemi je docíleno barvením vzorků, ať už k podpoření fluorescence, nebo k jejímu potlačení.

Princip

Fluorescence byla objevena v polovině devatenáctého století. Britský vědec *Sir George G. Stokes* poprvé poznamenal, že kazivec (CaF_2) vykazuje fluorescenci při osvětlování ultrafialovým světlem. *Stokes* zjistil, že fluorescenční světlo má delší vlnové délky než excitační světlo, fenomén, který se stal známým jako *Stokesův princip*. Fluorescenční mikroskopie je vynikající metodou pro studium materiálu, který může být připraven k fluorescenci buď v jeho přirozeném stavu (nazývaný primární nebo autofluorescenční), nebo po přidání chemikálií schopných fluorescence (známá jako sekundární fluorescence). Základní funkce fluorescenčního mikroskopu je ozařovat vzorek specifickým světlem dané vlnové délky a poté oddělit mnohem slabší emitovanou fluorescenci od excitovaného světla. Ve správně nastaveném mikroskopu by mělo k detektoru doputovat pouze emitovaná fluorescence tak, aby výsledné fluorescenční struktury měly vysoký kontrast oproti velmi tmavému nebo černému pozadí. Meze detekce jsou řízeny mírou tmavosti podkladu a tím, že excitační světlo je obvykle několik set krát, nebo až milionkrát jasnější, než je emitovaná fluorescence. [87]

Fluorescenční mikroskop obsahuje světelný zdroj (xenonové výbojky, rtuťové výbojky, halogenové žárovky) emitující intenzivní záření v ultrafialové a viditelné oblasti. Dále obsahuje speciální filtrovou kostku. Jde o soustavu filtrů, mezi které patří excitační filtr, dichroické (dichromatické) zrcadlo a bariérový filtr. Excitační filtr slouží k propouštění světla potřebného k excitaci fluorochromu (ostatní světlo je pohlceno). Světlo prošlé excitačním filtrem dopadá na dichromatické zrcadlo, jehož funkcí je oddělení excitačního a emitovaného světla. Princip je založen na tom, že světlo o kratší vlnové délce odráží, avšak světlo s delší vlnovou délkou jím prochází. Poslední, bariérový, filtr propouští jen emitované světlo, tím je dosaženo tmavého pozadí, jež zvýrazní fluorescenční obraz. [87]

Fluorescenční mikroskopie je rozšířeným nástrojem pro výzkum penetrace lepidla do dřeva. Avšak je třeba zmínit, že vzhledem k maximálnímu zvětšení dostupných používaných mikroskopů je tato metoda omezena na tzv. „*gross penetration*“. Jinými slovy je metoda limitována svým rozlišením pouze na distribuci lepidla okolo lepené spáry, a pomocí ní nelze přímo potvrdit nebo vyvrátit přítomnost lepidla v buněčné stěně dřeva.

Stav poznání využití fluorescenční mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

Adamopoulos a kol. [88] lepidli dřevo buku modifikované fenol-formaldehydovou pryskyřicí pomocí fenol-rezorcín formaldehydového (PRF) lepidla a pomocí polyvinyl acetátu (PVAc). Distribuci PVAc lepidla ve struktuře dřeva byla zkoumána pomocí fluorescenčního mikroskopu Eclipse 50i s osazenou kamerou Sight DS-5M-L1. Distribuce PRF pak byla zobrazována stejným mikroskopem, avšak konvenční světelnou mikroskopií. Vzorky byly nařezány na tloušťku 20-30 μm a v případě PRF vloženy na sklíčko mikroskopu bez barvení. Preparáty zalepené PVAc lepidlem byly opatřeny zakápnutím 0,5% roztokem Safraninu O. Z výsledků studie vyplývá, že penetrace lepidla do struktury dřeva byla řízena tokem skrze cévy a bylo patrné jak úplné, tak částečné vyplnění lumenů buněk. Výsledky studie neprokázaly žádný důkaz toku lepidla skrze paprsky, zatímco penetrace lepidla do axiálního parenchymu byla limitována na velmi omezený počet buněk (1-3). Hloubka penetrace PVAc lepidla v do cév byla určena na přibližně 200 μm od lepené spáry a hloubka penetrace PRF lepidla byla určena přibližně na 220 μm . **Průnik pryskyřice do buněčné stěny však z důvodu nízké úrovně rozlišení pozorován.** [88]

Chandler, Brandon a Frihart [89] zkoumali průnik lepidla do struktury topolu. Bylo použito dřevo, jež bylo před nalepením vystaveno působení acetanhydridu jako referenční byly také zalepeny vzorky nemodifikovaného dřeva. V této studii byla použita 4 různá lepidla, rezorcín formaldehyd (RF), melamin-formaldehydové (MF), epoxid tvrzený polyamidem a emulsní polymer tvrzený izokyanáty (EPI). Preparáty byly na mikroskopii nařezány mikrotomem v tloušťce 25-30 μm . Tenké sekce byly sušeny po dobu 30 minut při teplotě 65 °C. Po vysušení byly preparáty vystaveny 0,5% roztoku Safraninu O po dobu max. 5 minut. Preparáty poté byly umístěny na podložní sklo mikroskopu, kde byly zakápnuty glycerinem. Zobrazování bylo provedeno s použitím epi-fluorescence (Zeiss AxioskopTM) a 100 W rtuťové výbojky. Sada optických filtrů obsahovala 365 nm excitační filtr, 395 nm dichromatické zrcátko a 420 nm emisní filtr. Digitální snímky byly pořízeny videokamerou DageTM MTI CCD-72. [89]

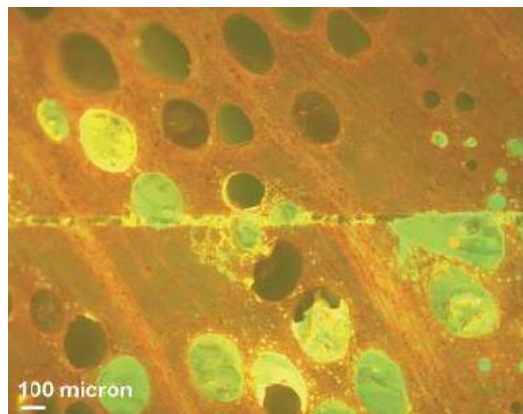
Epoxidová pryskyřice prokázala silnou fluorescenci, jež výrazně pomohla zkoumání penetrace do obou použitých typů dřeva (acetylované a nemodifikované). Bylo zjištěno, že epoxidová pryskyřice pronikla jak do cév, tak do mnoha menších lumenů buněk přilehlých lepené spáře. Dobrá penetrace epoxidu do struktury dřeva platila jak pro acetylované, tak nemodifikované dřevo. Lepidlo EPI také proniklo do lumenů buněk, avšak v porovnání s epoxidovou lepenou spárou byla hloubka penetrace zřetelně menší. Obě lepené spáry vykazaly mechanické vazby mezi lepidlem a strukturou dřeva. Vzhledem k menší hloubce penetrace EPI lepidla bylo očekáváno, že tato lepená spára bude slabší nežli spára epoxidová. Navzdory tomuto

předpokladu EPI lepidlo vykazalo velmi příznivé výsledky jak v suchém, tak v navlhším stavu (pevnost a „*wood failure*“). Epoxidová lepená spára dosáhla dobrých výsledků v suchém stavu, avšak vlivem vlhkosti byla výrazně oslabena. Proto se korelace mezi hloubkou penetrace a pevností lepené spáry jeví jako neprůkazná. Při snímání vzorků zalepených MF pryskyřicí bylo obtížné zaměřit se na lepenou spáru. Tu výzkumníci byli schopni identifikovat, až když narazili na rozhraní dvou lepených kusů dřev rozpoznatelných rozdílným uspořádáním paprsků dřeva. Neschopnost narazit na lepenou spáru vedlo k předpokladu, že došlo k tzv. „*over-penetration*“. Zbarvení dřeva nezpůsobilo zvýraznění lepidla, a tak bylo obtížné posoudit stupeň průniku lepidla do struktury dřeva. Naproti tomu RF lepená spára byla dobře viditelná pro svou tloušťku a tmavé zbarvení. RF lepidlo proniklo do 2, maximálně 3, buněk od lepené spáry. Tato studie prokázala, že je fluorescenční metoda vhodná ke zkoumání interakce lepených spár a struktury dřeva **na úrovni mikrometrů, ale nebylo možné určit přítomnost lepidel v buněčné stěně dřeva.** [89]

Furuno a kol. [90] použili rtuťovou výbojku a UV excitační filtr (přibližně 410 nm) k výzkumu lepených spár fenol-formaldehydové pryskyřice (PF) a dřevotřískových desek. Preparáty byly nabarveny 0,2% vodným roztokem akridinové žluti, jež byla absorbována dřevem a ne PF pryskyřicí, čímž byla podpořena fluorescence dřeva. *Brady a Kamke* [91] použili obdobnou proceduru k zobrazení PF lepených spár v jedli a osice. Nicméně preparáty byly opatřeny 0,2% vodným roztokem akridinové červeně a zobrazovány epi-osvětlením s 410 nm excitačním filtrem a 510 nm emisním filtrem. *Johnson a Kamke* [92] potlačili fluorescenci dřeva (topolu) na tenkých řezech s PF pryskyřicí použitím 0,5% vodného roztoku toluidinové modři O. Preparáty byly zkoumány epi-osvětlením při použití rtuťové výbojky s 365 nm excitačním filtrem a 420 nm emisním filtrem. *Sernek a kol.* [93] zkoumali pronikání močovino-formaldehydové (UF) pryskyřice do buku. Preparáty byly nařezány na tloušťku 60 μm a byly opatřeny 0,5% roztokem sulfaflavinovým roztokem, což předcházelo namočení preparátů do 0,5% vodného roztoku safraninu O. Preparáty byly zkoumány za použití rtuťové výbojky, 365 nm excitačním filtrem a 420 nm emisním filtrem. Touto procedurou bylo dosaženo zářivé fluorescence UF, přičemž detaily struktury dřeva byly stále viditelné. *Kamke* [94] zaznamenal výborný kontrast lepidla MDI a topolu a dubu použitím epi-fluorescence. Preparáty byly nabarveny 0,5% vodným roztokem safraninu O a zobrazeny s použitím 365 nm excitačního filtru a 420 nm emisního filtru (obr. č. 11). [3]



Obrázek 10: Detail PVAc lepidla v cévě dubového dřeva s emisí fluorochromu Safraninu O, převzato z [94].



Obrázek 11: Detail epoxidového lepidla ve struktuře dubového dřeva s emisí fluorochromu Safraninu O, převzato z [94].

Metoda fluorescenční mikroskopie byla v průběhu let demonstrována jako vyhovující nástroj k poskytování dobrých barevných kontrastů mezi různými lepidly a dřevem, jak je zobrazeno na obrázcích č.10 a č.11 [3]. Závěrem je třeba zmínit, že **fluorescenční mikroskopie je vhodná na zobrazení distribuce lepidla ve struktuře dřeva a na případné určení hloubky penetrace, tzv. „gross penetration“**. Pro zjištění přítomnosti lepidla v buněčné stěně dřeva je však doporučeno použít preciznější metody s vyšší rozlišovací schopností.

5.1.4. Konfokální mikroskopie

Princip

Moderní konfokální mikroskopy lze považovat za zcela integrované elektronické systémy, které tvoří jeden nebo více elektronických detektorů, počítač (pro zobrazení obrazu, zpracování, výstup) a několik laserových systémů kombinovaných se zařízeními pro konfiguraci vlnových délek a sestavou pro skenování paprsku. Tyto mikroskopy se nyní používají k výzkumu molekul, buněk a živých tkání, které ještě před několika lety nebyly možné. Mezi výhody konfokální mikroskopie patří možnost kontrolovat hloubku ostroty, nebo možnost eliminovat/redukovat získávání dat pozadí, která vedou k degradaci výsledného obrazu. Zlepšení výsledné kvality obrazu je dosaženo použitím prostorových filtračních technik, jež eliminují světlo pocházející z mimo-ohniskových oblastí nebo jiných rovin zkoumaného vzorku. Problém nastává u vzorků obvykle tlustších než 2 μm , kdy takto tlusté vzorky vykazují vysoký stupeň fluorescenční emise a většina jemných detailů je rozostřena. Ačkoli rozlišení konfokální mikroskopie převyšuje rozlišení konvenčních technik, je stále podstatně menší nežli rozlišení transmisního elektronového mikroskopu. [95]

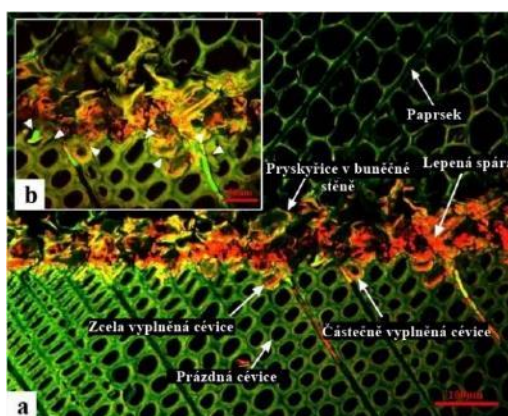
Koherentní světlo emitované laserovým systémem (excitačním zdrojem) prochází štěrbinovou clonou, jež je umístěna v konjugované (konfokální) rovině se zaměřovacím bodem na vzorku, a prochází excitačním filtrem. Dopadá na dichromatické zrcadlo, jenž ho skrz objektiv

odrazí na zkoumaný vzorek. Laser se odráží pomocí dichromatického zrcadla a skenuje vzorek v definované ohniskové rovině. Sekundární fluorescence vyzařovaná z bodů na vzorku (ve stejné ohniskové rovině) prochází zpět přes dichromatické zrcadlo a je zaměřena jako konfokální bod na štěrbinovou clonu detektoru nacházející se před detektorem (fotonásobičová trubice). Významné množství fluorescenční emise vycházející z bodů nad a pod ohniskovou rovinou není se štěrbinou konfokální a pouze její malá část projde štěrbinovou clonou, nacházející se za fluorescenčním (bariérovým) filtrem. Tento bariérový filtr slouží k vyloučení fluorescenčních signálů prvků mimo ohnisko, které jsou na clonu díky filtru promítány jako „vzduchové disky“ s mnohem větším průměrem. Tak je docíleno toho, že většina nežádaného světla neprojde clonou a není fotonásobičem zaznamenána, nepřispívá tak k výslednému obrazu. Při laserové skenovací konfokální mikroskopii se obraz vzorku generuje skenováním definované oblasti zaostřeným paprskem v rastrovém vzoru řízeném dvěma vysokorychlostními oscilujícími zrcadly, jež jsou poháněny galvanometrickými motory. [95]

Stav poznání využití konfokální mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

Ve studii o mikrostrukturální a mechanické charakterizaci dřeva při pronikání močovinoformaldehydové (UF) pryskyřice výzkumníků *Lizhe Qin, Lanying Lin, Feng Fu* [96] byl, mimo metody fluorescenční mikroskopie a nanoindentace, použit invertovaný konfokální mikroskop ve fluorescenčním režimu při excitačních vlnových délkách od 405 do 488 nm, emisních vlnových délkách od 401 do 485 nm a 493 do 598 nm. Pro detekci lepidla v pletivu dřeva kryptomerie japonské (jehličnan) byly vyrobeny malé vzorky dřeva s lepenou spárou o velikosti 7×7×20 mm, jež byly prosyceny vodou po 3 dny a poté namočeny roztokem glycerinu a 95% alkoholu míseném v poměru 1:1 po 2 dny. Poté byly nařezány příčné řezy o tloušťce 25 μm za pomoci mikrotomu. Každý řez byl prosycen 0,5% roztokem toluidinové modři pro potlačení auto-fluorescence dřeva, a také k vytvoření fluorescence u neabsorpčního lepidla. Po 12 hodinovém sycení barvivem byly vzorky promyty destilovanou vodou a dehydrovány umístováním vzorků do alkoholu s různou, postupně se zvyšující, koncentrací (30%, 50%, 70%). Následně byly vzorky fixovány mezi sklíčka mikroskopu zakápnutím kapkou roztoku glycerinu a vody, míchaném v poměru 1:1. Po určení distribuce lepidla ve struktuře dřeva fluorescenční mikroskopii bylo použitím CLSM (z angl. *confocal laser scanning microscopy*) ověřeno pronikání UF do buněčné stěny dřeva (viz. obr. č. 12). **Výsledky ukázaly ostrý kontrast mezi lepidlem a strukturou buněčné stěny. Bylo prokázáno, že lepidlo difundovalo do buněčné stěny povrchového pletiva, jež bylo přímo v kontaktu s UF.** Pro ověření těchto výsledků bylo provedeno ověření mikro-mechanických vlastností referenční buněčné stěny a buněčné stěny v blízkosti lepené spáry pomocí nanoindentace. [96]

Výsledky ukázaly, že MUF prošla od 1,5 do 3,5 tracheid jarního dřeva (s průměrnou hloubkou penetrace $88,95 \pm 27,49 \mu\text{m}$) nebo od 0,5 do 4,0 tracheid letního dřeva (s průměrnou hloubkou penetrace $36,39 \pm 15,14 \mu\text{m}$). Distribuce průniku lepidla do pletiva dřeva byla jasně viditelná díky vysokému prostorovému rozlišení. Bylo zjištěno, že lepidlo difundovalo do buněčné stěny povrchového pletiva vystaveného UF. **To vyplývá ze změny barvy, která je zeleno-žlutá a barevně se liší od čisté UF a referenčních buněčných stěn.** Výsledky této studie potvrzují, že UF proniklo do buněčné stěny dřeva, jak bylo demonstrováno v jiných studiích. [96] [97]



Obrázek 12: Detail UF lepené spáry dřeva jehličnanu zobrazující jednotlivé aspekty lepené spáry, převzato z [96].

Xing a kol. [98] se ve své studii zabývali vztahem mezi viskozitou močovinoformaldehydové pryskyřice a hloubkou průniku do struktury dřevěných vláken. Experimentální část sestávala z přípravy pryskyřice a byla odebrána v časech, kdy viskozita dosáhla určitých hodnot (80 mPa·s, 140 mPa·s, 200 mPa·s, 250 mPa·s a 340 mPa·s). Odebrané vzorky byly ihned po odebrání vloženy do lednice, kde byly uloženy do doby, než byly použity. Vlákna byla lepidlem opatřena vždy zakápnutím jednotlivých vláken malou kapkou pryskyřice. Všechna vlákna byla vložena do 0,01% roztoku toluidinové modři O na dobu 48 hodin a poté byly několikrát propláchnuty destilovanou vodou, než byly uloženy na podložní skličko. Všechny snímky byly pořízeny na konfokálním mikroskopu Leica TCS SP2. Fluorescenční signál byl snímán na vlnové délce v rozmezí 538–654 nm. Naproti očekáváním, pryskyřice přednostně difundovala směrem do lumenu, namísto snahy rozprostřít se po povrchu stěny vlákna. Znamená to tedy, že prošla skrze P, S₁, S₂, S₃, T a W vrstvy buněčné stěny. To může být způsobeno porézní strukturou stěny vláken. Stěny vláken obsahují mnoho teček a mikropórů, které pryskyřici umožňují lehce pronikat z povrchu vlákna do lumenu. Co se vlivu viskozity na hloubku průniku týče, po 30 minutách dosahovala pryskyřice téměř totožných výsledků pro všechny hodnoty viskozity, mimo hodnotu 340 mPa·s, kdy pryskyřice s touto viskozitou dosahovala nepatrně

nižších hodnot. Avšak po 60 minutách byl i tento rozdíl nepatrný. Výsledky této studie indikují, že použití CLSM v kombinaci s barvením toluidinovou modří O je k lepšímu porozumění penetrace UF pryskyřice do dřevěných vláken vhodná. [98]

5.1.5. AFM

Princip

AFM spadá do mikroskopie SPM – mikroskopie skenovací/rastrovací sondou. AFM poskytuje 3D profil povrchu v měřítku nano-škály měřením sil mezi ostrou sondou (<10 nm) a povrchem na velmi krátké vzdálenosti (0,2 – 10 nm). Sonda je umístěna na pružném rameni, jakési páce. Hrot AFM se jemně dotýká povrchu a zaznamenává malou sílu mezi sondou a povrchem. Odchylka hrotu je měřena odrazem laserového paprsku, jež je promítán na zadní část ramene. Odražený paprsek je zaznamenáván citlivým fotodiodovým detektorem, jenž zaznamenává přesnou polohu ramena v průběhu skenování vzorku. Z naměřených odchylek ramene se pak vytváří podrobná mapa povrchu vzorku. [99]

Použití AFM, jež bylo vyvíjeno pro zkoumání vzorků na škále nanometrů, může být nevhodné při použití na dřevěných vzorcích, protože povrch dřeva je drsný a změny na něm jsou v rámci mikrometrické škály. [2]

Stav poznání využití konfokální mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

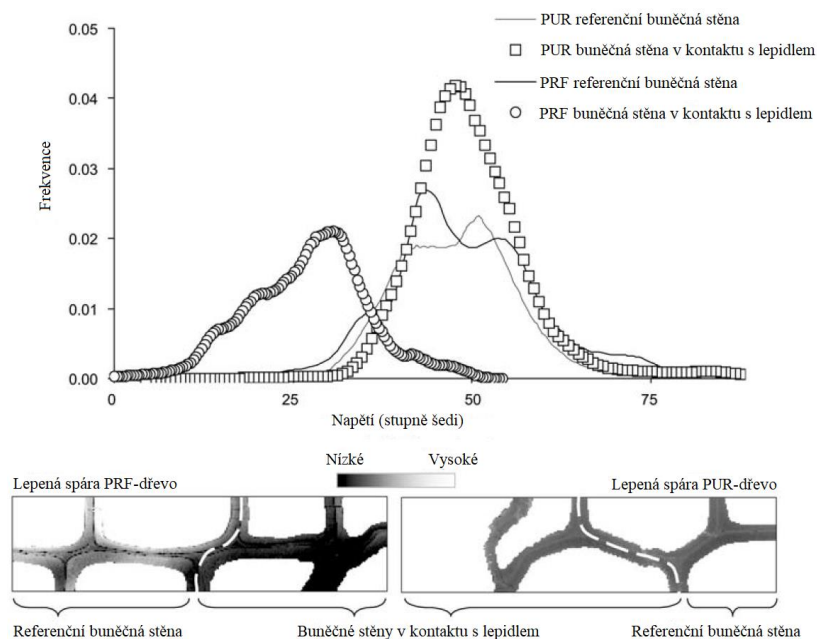
Ve studii o průniku lepidla do buněčné stěny dřeva autoři *Konnerth, J. a kol.* [100] uvádí nový typ aplikace AFM mikroskopie. Použitý mikroskop (PSIA XE-100, *PSIA Corp.*) byl totiž vybaven nástavcem, který umožnil skenování vzorků při termickém zatěžování, tzv. SThM nástavec (z angl. *scanning thermal microscopy*). Jde o termo hlavici a nanočláňkovou termickou sondu. Měření byla prováděna ve dvou režimech:

- a) TCM – teplotně kontrastní mikroskopie (z angl. *thermal contrast microscopy*), měřící teplotní změny na povrchu vzorku
- b) CCM – vodivostně kontrastní mikroskopie (z angl. *conductivity contrast microscopy*), měřící vodivost povrchu vzorku při zachování konstantní teploty sondy.

V obou režimech je tepelná sonda použita současně jako tepelný snímač a jako hrot AFM s poloměrem hrotu přibližně 100 nm. V režimu TCM vede změna teploty vodiče sondy ke změně jejího odporu a toto měření umožňuje měřit odpor, který souvisí s teplotou ve vzorku. V režimu CCM se na špičku sondy aplikuje energie k udržení nastavené teploty, která je vyšší než teplota povrchu vzorku. Energie potřebná k udržení nastavené teploty představuje lokální tepelnou vodivost. Při změně vodivosti vzorku se změní tok tepla ze sondy na povrch. Změna toku tepla způsobí také změnu teploty sondy. [100]

Autoři použili smrkové dřevo a dva typy lepidel, a to fenol-rezorcín formaldehyd (PRF) a polyuretan (PUR). Vzorky byly po zalepení nařezány na malé bloky ($2 \times 2 \times 0,5$ mm), jež byly vysušeny a zafixovány do nízkoviskózních pryskyřic SPURR a AGAR (náhrada SPURR epoxidu). Poté byly nařezány příčné řezy pomocí ultramikrotomu vybaveného diamantovým nožem. Pro SThM snímání byla zvolena oblast zájmu přibližně 80×20 μm , jež pokrývá hlavní část mezifázové vazby, tj. buněčné stěny v kontaktu s lepenou spárou a buněčné stěny bez přímého kontaktu s lepenou spárou. V režimu CCM se lumény buněk vykreslily tmavě, což znamená nízkou tepelnou vodivost, zatímco lepidlo se zdá být výrazně jasnější díky vyšší tepelné vodivosti bez ohledu na typ lepidla. V režimu CCM byly sledovány změny napětí v průběhu skenování vzorku. Vzhledem k lepšímu kontrastu mezi oběma režimy autoři usuzovali všechny závěry na analýzu v režimu TCM. V tomto režimu byly vyhodnocovány rozložení různých stupňů šedi v průřezu buněčné stěny. Aby bylo možné pouhým okem usuzovat na výsledky měření, byly obrazy buněčných stěn v režimu TCM digitálně upraveny, byl mírně zesílen jejich kontrast. Dále byla provedena kvantitativní analýza úrovní šedi provedená metodou XE (software pro zpracování obrazu PSIA Corp.). Napětí pro buněčné stěny bez kontaktu s oběma lepenými spárami jsou zhruba stejné. Při kontaktu s PUR lepidlem nebyla pozorovatelná žádná významná změna napětí, což potvrdilo optický dojem úrovní šedi (obdobné stupně šedi jako referenční buněčné stěny). Naproti tomu buněčné stěny, které byly v kontaktu s PRF, vykazaly odlišný rozsah napětí, což svědčilo o odlišných tepelných vlastnostech na rozdíl od referenčních buněčných stěn bez kontaktu s lepenou spárou. **Autoři usuzovali na různé tepelné chování buněčných stěn v kontaktu s PRF vzhledem k difúzi kapalných nízkoviskózních složek lepidla do buněčné stěny před jeho vytvrzením, což nebylo předpokládáno u lepidla PUR.**

[100]



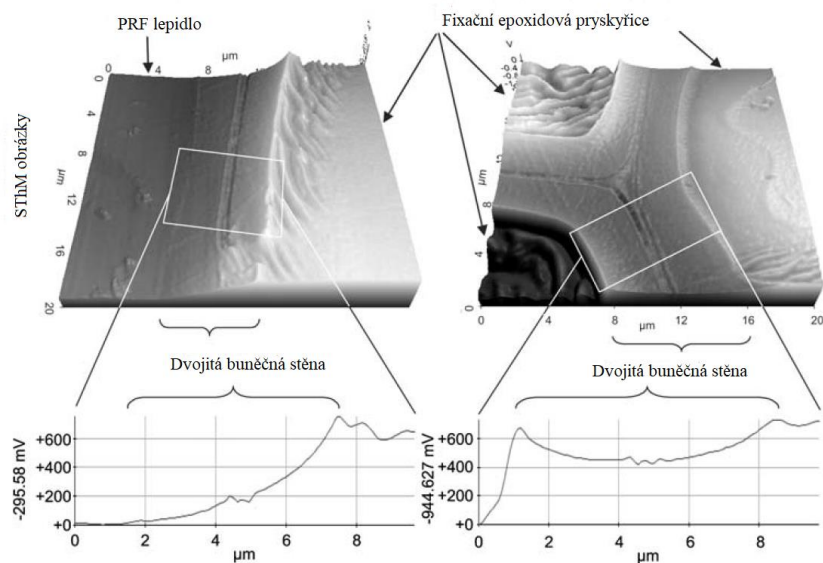
Obrázek 13: TCM obrázky napětí PRF a PUR lepených vzorků (dole) a distribuční křivky napětí (stupňů šedi) v buněčných stěnách (nahore), převzato z [100].

Zatímco oblast pod distribučními křivkami závisí výhradně na velikosti vyhodnocované oblasti, poloha na ose x indikuje charakteristické napětí.

Buněčné stěny, jež nebyly v kontaktu s lepenou spárou, vykazaly velmi homogenní rozdělení signálu napětí. Mírné změny v napětí byly viditelné pouze v oblasti střední lamely, tyto odchylky byly pravděpodobně způsobeny odlišností v chemické skladbě (vyšší obsah ligninu). Výsledky z měření v oblasti buněčné stěny, která byla v kontaktu s PUR lepidlem, nevykázaly žádný zjevný gradient úrovně šedi skrze její tloušťku (viz. obr. č. 13). Naopak tomu bylo u buněčných stěn v kontaktu s PRF. Zde byla jasně viditelná změna úrovně šedi skrze buněčnou stěnu. V souladu s naměřeným nízkým napětím v PRF, tak i buněčná stěna v kontaktu s PRF vykazovala nízké napětí. Části buněčné stěny s nejnižším naměřeným napětím se jevily také jako nejtmaší místa v rámci buněčné stěny a odpovídaly maximálnímu průniku složek PRF. V referenčních buněčných stěnách není patrný žádný gradient napětí. Změna napětí napříč buněčnou stěnou dřeva byla symetrická a odpovídala vrstvené struktuře dvojité buněčné stěny spojené střední lamelou. Naproti tomu byl pro buněčnou stěnu v kontaktu s PRF jasně patrný gradient od nízkého po vysoké napětí, který je považován za důkaz pro proniknutí PRF do buněčné stěny dřeva. [100]

V této studii byl ověřován gradient tepelných vlastností napříč buněčných stěn v kontaktu s lepidly PUR a PRF. **Zatímco u lepidla PRF byly potvrzené odlišné termické vlastnosti napříč buněčnou stěnou, což odpovídá závěru, že určitá část PRF do buněčné stěny difundovala, buněčné stěny v kontaktu s PUR nevykázaly žádné změny v chování od**

referenčních buněčných stěn, předpokládá se, že žádná část PUR lepidla nepronikla do struktury buněčné stěny dřeva. [100]



Obrázek 14: SThM obrázky napětí ($20 \times 20 \mu\text{m}$) buněčných stěn s a bez kontaktu s PRF lepidlem zafixovaných do epoxidové pryskyřice, převzato z [100]. Nalevo buněčná stěna v kontaktu s PRF lepidlem na jedné straně. Napravo buněčná stěna bez kontaktu s lepidlem. Korespondující křivky gradientu napětí v průřezu buněčné stěny indikují průnik PRF do buněčné stěny.

Následující dvě kapitoly se zabývají elektronovými mikroskopiemi, které poskytují vysokou úroveň zvětšení a hloubku pole než optické mikroskopie. Velká hloubka zobrazovacího pole je požadována pro zobrazení povrchů lepených spár. Nicméně na obrazech z obou mikroskopií, jak skenovací, tak transmisní, je velmi obtížné rozeznat lepidlo a dřevo, avšak změna textury většinou napomáhá identifikaci. Kvantitativní měření průniku lepidla je naneštěstí obtížné nebo častěji nedosažitelné. Průnik do buněčné stěny dřeva sice není pomocí skenovací nebo transmisní elektronové mikroskopie detekovatelný, ale v kombinaci s energeticky disperzní rentgenovou spektroskopií (EDXS) může elektronová mikroskopie poskytnout kvantitativní prvkovou koncentraci v buněčné stěně dřeva. [3]

5.1.6. Skenovací elektronová mikroskopie SEM + EDX

Princip

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM z angl. *scanning electron microscopy*) využívá zaměřeného paprsku elektronů s vysokou energií ke vytvoření škály signálů na povrchu pevných vzorků. Signály, které se odvozují od interakcí mezi elektrony a povrchem, odhalují informace o vzorku, jako například morfologii povrchu (texturu), chemické složení vzorku, krystalickou strukturu a orientaci složek tvořící zkoumaný vzorek. Moderní skenovací elektronové mikroskopy poskytují rozlišení 1–20 nm. Preparáty vložené do elektronového mikroskopu nesmí

obsahovat žádné nežádoucí částice (prach), musí být vysušený a musí být stabilní ve vakuu a při ozáření elektrony. Aby při snímání nedocházelo k nabíjení, a tím i porušení vzorku, je na vzorek nanesená tenká vrstva kovu (Au, Pt, Pd). [101]

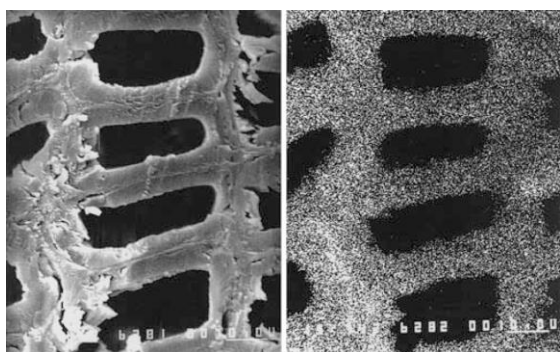
Pomocí SEM analýzy není možné dobře rozlišit buněčnou stěnu, do které nepronikla pryskyřice, od té, která byla pryskyřicí prosycena. Aby bylo možné jednoznačně potvrdit přítomnost pryskyřice v buněčné stěně dřeva, je třeba pryskyřici „obohatit“ o látku, která je dobře rozlišitelná od buněčné stěny dřeva.

Stav poznání využití skenovací elektronové mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

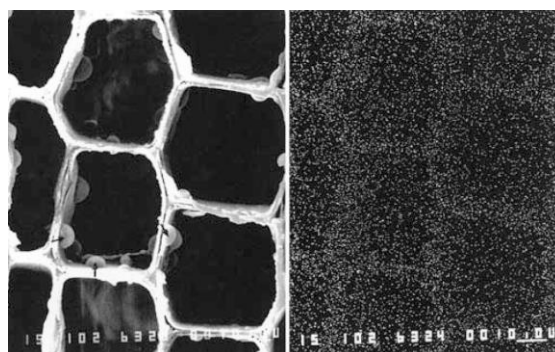
Již v roce 1971 byla použita metoda SEM v kombinaci s EDX prvkovou analýzou výzkumníky *Smith a Côté* [74], jež jednoznačně prokázala penetraci fenol-formaldehydové pryskyřice do buněčné stěny dřeva jedle a borovice. Vzorky byly slepeny PF pryskyřicí, ve které byl chemický vázaný brom. Ze zalepených vzorků byly náhodně vybrány sekce lepených spár. Sekce pak byly zafixovány v metyl-metakrylátu a z nich byly nařezány preparáty pomocí ultramikrotomu. Preparáty byly zkoumány skenovacím elektronovým mikroskopem v transmisním režimu. Přestože byly preparáty nevodivé, nedocházelo k vytváření statického náboje, čímž byla eliminována nutnost pokovení povrchu. **Oba druhy dřeva vykázaly koncentrační gradient pryskyřice napříč buněčnou stěnou v mezifázi lepidlo/dřevo. Maximální koncentrace pryskyřice se vyskytla v sekundární stěně blízko lumenu, který byl vyplněný pryskyřicí.** Značně menší množství pryskyřice bylo zjištěno v každém dalším místě zkoumání směrem ke střední lamelle, kde se dle výsledků nenacházel žádný obsah pryskyřice. Autoři uvádí, že buněčné stěny jarního dřeva byly mnohem více prosyceny nežli buněčné stěny letního dřeva. Maximální koncentrace pryskyřice, jež se nacházela v buněčné stěně dřeva byla menší než 10 %. [74]

Jak již bylo zmíněno v kapitole světelné mikroskopie, v roce 2004 výzkumní pracovníci *Furuno a kol.* [65] prokázali přítomnost fenolické pryskyřice pomocí světelného mikroskopu, SEM a EPMA (z angl. *electron probe x-ray microanalysis*) v buněčné stěně dřeva cedru. V této studii byly použity pryskyřice 3 různých molekulárních hmotností (290, 470 a 820). Stejně jako *Smith a Côté* [74] byl do pryskyřice zakomponován brom. Ačkoli je v této studii uvedena SEM analýza, pomocí ní bylo pouze zkoumán povrch lumenu na podélném řezu pro potvrzení přítomnosti pryskyřice ve vzorku. Až po provedení EPMA analýzy byla prokázána přítomnost nízkomolekulární (290) pryskyřice v buněčných stěnách. **Přítomnost pryskyřice v buněčné stěně je evidentní z brominové rentgenové mapy, která dokazuje, že se pryskyřice nachází i v tlustých stěnách letního dřeva.** Se stejným závěrem byla provedena analýza pryskyřice

s molekulovou hmotností 470. U pryskyřice s molekulovou hmotností 820 bylo pozorováno, že její větší část se nachází především v lumenech buněk, avšak díky EPMA analýze byla prokázána přítomnost určité části pryskyřice, avšak znatelně menší nežli u předešlých dvou pryskyřic. Závěrem studie autoři uvádějí, že nízkomolekulární pryskyřice (290) snadno pronikla do buněčných stěn dřeva a hrála velmi důležitou roli při stabilizaci dřeva a odolnosti proti houbám. Pryskyřice se střední molekulovou hmotností (470) také pronikla do buněčné stěny, avšak ne v takovém množství jako pryskyřice nízkomolekulární. Frakce pryskyřice s vyšší molekulovou hmotností se nacházely na povrchu lumenu buňky a tato pryskyřice se jen slabě podílela na stabilizaci dřeva. Velká část pryskyřice s vysokou molekulární hmotností (820) se nacházela v lumenech buňky a pouze její malá část (s nízkou molekulovou hmotností) se nacházela v buněčných stěnách. Tato pryskyřice přispěla velmi málo, téměř vůbec, ke stabilizaci dřeva a odolnosti proti hnilobě. [65]

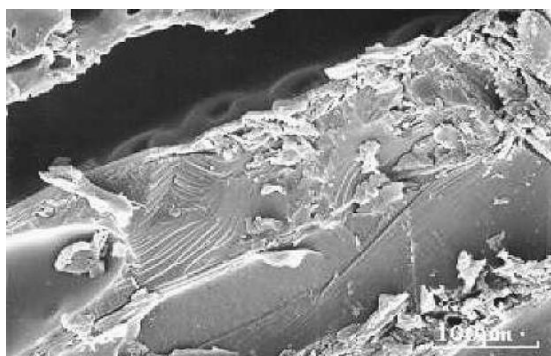


Obrázek 15: EPMA snímky (vlevo) a rentgenová Br mapa (vpravo) struktury dřeva s použitím pryskyřice s molekulovou hmotností 290, převzato z [65].

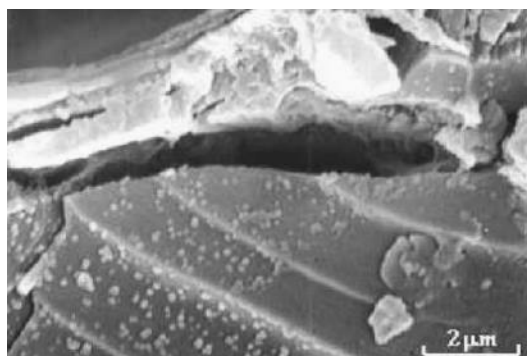


Obrázek 16: EPMA snímek (vlevo) a rentgenová Br mapa (vpravo) struktury dřeva s použitím pryskyřice s molekulovou hmotností 470, převzato z [65].

Výzkumníci *Wan a Kim* [77] použili skenovací elektronovou mikroskopii ve studii o distribuci nízkomolekulární fenol-formaldehydové pryskyřici v impregnovaném smrkovém dřevě, která byla zmíněna také ve kapitole světelné mikroskopie. Vzorky pro SEM analýzu byly vysušeny při 105 °C po dobu 24 hodin, a poté byly pokryty zlatem a paladiem. Samotná analýza pak byla provedena na Cambridge S-360 skenovacím elektronovém mikroskopu. Výsledné obrazové záznamy této analýzy ukázaly jak těsné spojení PF pryskyřice s buněčnou stěnou, tak i mezery v některých místech mezi PF a buněčnou stěnou. Mezery byly s největší pravděpodobností způsobeny smrštěním pryskyřice při jejím tvrdnutí, ale autoři také nevyloučili, že by vzniklé mezery mohly být způsobeny poškozením při přípravě vzorku. Tyto fotky ukázaly, že distribuce PF pryskyřice ve smrku se značně liší. Avšak **co se průniku pryskyřice do buněčné stěny týče, nebylo možné z těchto snímků usuzovat na průnik pryskyřice do struktury buněčné stěny.** Jediná průkazná analýza této studie, co se distribuce PF pryskyřice v buněčné stěně týče, je TEM analýza, která bude popsána v následující kapitole. [77]



Obrázek 17: SEM snímek PF pryskyřice v lumenu buňky, převzato z [77].

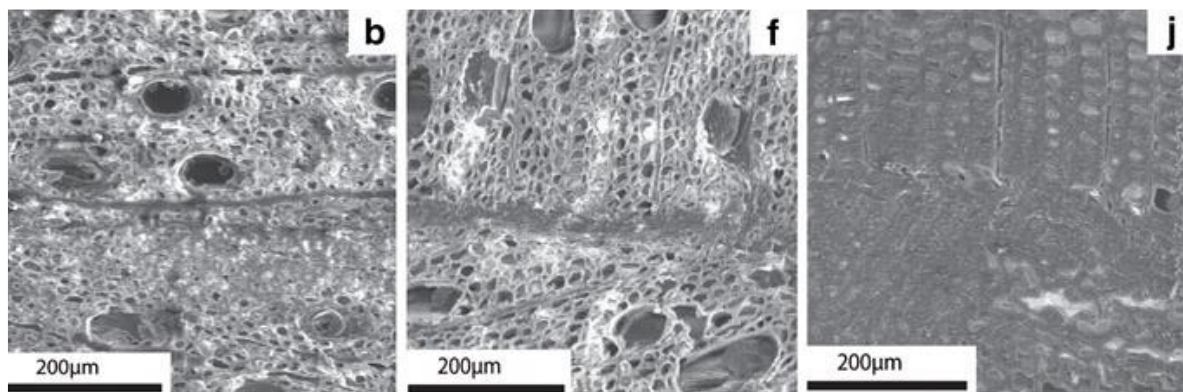


Obrázek 18: SEM snímek PF pryskyřice a buněčné stěny dřeva, převzato z [77].

Huseyin Yorur [102] ve své studii zkoumá faktory ovlivňující schopnost adheze dřeva jedle, ořechu a topolu pomocí SEM a EDX analýzy (z angl. *energy-dispersive X-ray spectroscopy*). Použitá lepidla byla polyvinylacetát (PVAc) s předepsanou viskozitou 14 000 mPa·s a polyuretan (PUR) s předepsanou viskozitou 6 000 mPa·s. Ultrastrukturní pozorování byla provedena při 15Kv za použití Hitachi 4500 skenovacího elektronového mikroskopu (*Zeiss*). EDX je nedestruktivní rentgenová metoda používaná k identifikaci prvkového složení materiálů, byla použita na analýzu míst určených z SEM analýzy. Zkoumané vzorky byly velikosti 20×10×10 mm. Vzhledem k tomu, že cílem studie nebylo zjišťování hloubky penetrace, nebo penetrace pryskyřice do buněčné stěny dřeva, **výstupem SEM analýzy bylo pouhé zobrazení smáčecího úhlu obou lepidel bez možnosti určit, zdali došlo k prosycení buněčné stěny či nikoli.** [102] Neschopnost rozlišit, zdali se pryskyřice nacházela v buněčné stěně dřeva, byla s největší pravděpodobností způsobena absencí látky, jež by byla navázána na pryskyřici a byla by jasně identifikovatelná a rozlišitelná od buněčné stěny dřeva.

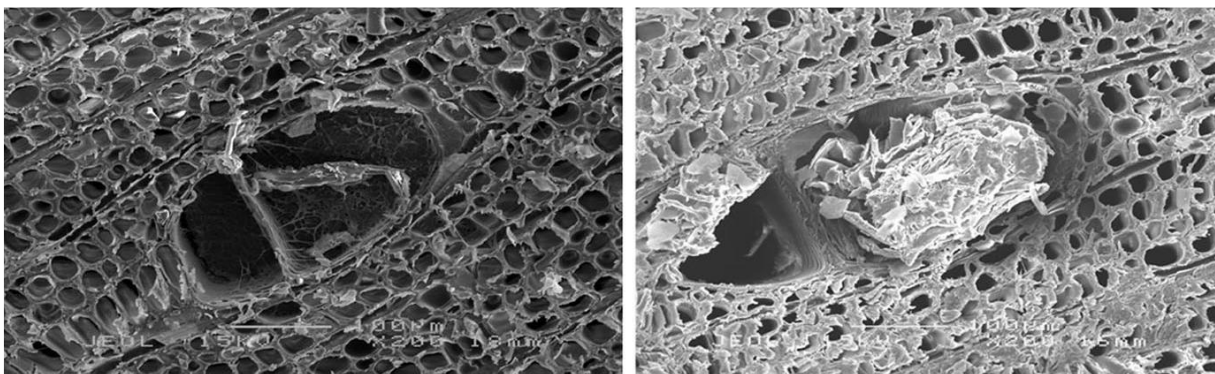
Modzel, Kamke a De Carlo [103] provedli studii srovnávací analýzy lepené spáry použitím pěti různých metod, a to fluorescenční mikroskopii, SEM, BSE (z angl. *backscatter electron imaging*), WDS (z angl. *wavelength dispersive spectroscopy*) a XMT (z angl. *X-ray microtomography*). Každá z metod poskytla vizuální náhled stejného místa lepené spáry. Autoři se však primárně zaměřili na XMT analýzu. Byla použita fenol-formaldehydová pryskyřice, avšak při její formulaci bylo namísto NaOH použit RbOH, a to z důvodu větší atomové hmotnosti rubidia (85,5) vzhledem k sodíku (23,0). Tato větší atomová hmotnost měla vést ke zvýraznění kontrastu lepené spáry při XMT analýze. Molekulová hmotnost vytvořené pryskyřice byla 1987 a celkový obsah rubidia v pryskyřici byl 14,4 hm. %. Vzorky byly zalepeny a vytvrzení bylo provedeno při zvýšené teplotě (190 °C) a tlaku (1,03 MPa pro douglasku a dub, 0,5 MPa pro topol). Vzorky pro SEM analýzu byly pokryty 20 nm tlustou vrstvou uhlíku. Snímky poskytly rozlišení 1,024×768 s 256 stupni šedi při akceleračním napětí 15 keV. Na všech

vytvořených snímcích bylo pro autory obtížné rozlišit dřevo od lepené spáry (viz. obr. č. 19). Všechny snímky byly ovlivněny nedokonalým povrchem vzorku, jež byl vytvářen mikrotomem. **V této studii nebyl SEM, jež byl vybaven elektronovou mikrosondou Cameca SX100, optimální pro využití při posuzování průniku lepidla do struktury dřeva.** Jakékoliv závěry na penetraci lepidla do struktury dřeva byly odvozovány z ostatních provedených technik. [103]



Obrázek 19: SEM snímky dubu (b), topolu (f) a jedle (j), převzato z [103].

Leemon a kol. [104] vypracovali studii o vlivu směsi fenolické pryskyřice a nanočástic montmorillonitu na impregnované dřevo. Cílem této práce bylo zakomponování nanočástic do nízkomolekulární fenol-formaldehydové pryskyřice (PF), která by mohla omezit používání vysoce koncentrovaných fenol-formaldehydových pryskyřic a tím snížit formaldehydovou emisi bez nepříznivého ovlivnění ostatních vlastností. Nanočástice byly v množství 0,5 – 1,5 hm. % k PF rozptýleny v pryskyřici použitím ultrazvuku. Jako referenční vzorky byly vyrobeny vzorky bez použití nanočástic montmorillonitu. Vzorky dřeva byly umístěny do impregnačního aparátu a proběhla vakuace komory. Po 15 minutách byla pryskyřice s nanočásticemi jílu přivedena do komory a vzorky byly tomuto roztoku vystaveny po dobu 60 minut při tlaku 689 kPa. Impregnované vzorky byly povrchově osušeny a vloženy na 6 hodin do sušárny s teplotou 60 °C a poté proběhlo vytvrzení pryskyřice při 150 °C s cirkulací vzduchu v průběhu 30 minut. Z takto připravených vzorků byly nařezány preparáty tloušťky 5 mm, proběhlo jejich pokovení zlatem a byly zobrazovány skenovacím elektronovým mikroskopem JEOL JSM 5900 při akceleračním napětí 15 kV. Autoři uvádí, že dle snímků SEM analýzy je patrné, že čistá pryskyřice pronikla do buněčné stěny dřeva. To platí také pro směs PF a nanočástic jílu, ačkoliv u této směsi byla nalezena určitá část pryskyřice v lumenu. Z toho **autoři studie usoudili, že došlo k úplnému prosycení buněčné stěny** a nadbytek pryskyřice, jenž se do buněčné stěny nedostal, zůstal v lumenech. **V této studii bylo potvrzeno, že SEM analýza je vhodná k usuzování na průniku pryskyřice do buněčné stěny dřeva.** [104]



Obrázek 20: SEM snímky struktury dřeva nasycené 20 % nízkomolekulární PF pryskyřice (vlevo) a směsí 20 % nízkomolekulární PF pryskyřice a 1,5 % nanočástic jílu (vpravo), převzato z [104].

5.1.7. Transmisní elektronová mikroskopie

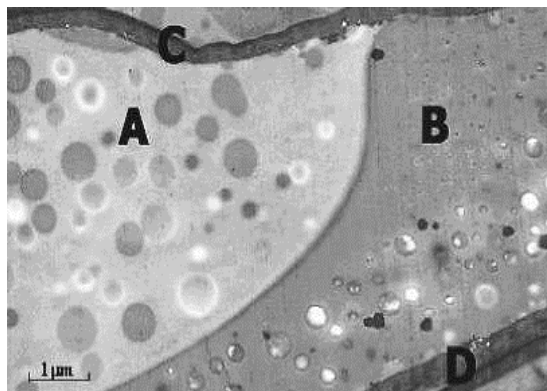
Princip

TEM (z angl. *transmission electron microscopy*) byl původně vyvíjen pro výzkum virů, avšak v dnešní době je hojně využíván i při jiných aplikacích, zejména v oblasti materiálového výzkumu. TEM je obdobou světelného mikroskopu, avšak namísto světelného zdroje je využíváno elektronové dělo, namísto skleněných čoček obsahuje čočky elektromagnetické a místo okuláru se používá fluorescenční stínítko. Dráha elektronů (od děla po fluorescenční stínítko) musí být ve vakuu z důvodu pohlcení elektronu vzduchem, ale také proto, že molekuly ve vzduchu by způsobily kontaminaci vzorku a tubusu. Elektronový mikroskop sestává ze čtyř hlavních částí, tubusu s elektronovou optikou, vakuového systému, elektroniky nezbytné pro napájení čoček k zaostřování a vychylování elektronového paprsku a zdroj vysokého napětí pro zdroj elektronů, a softwaru. [105]

Stav poznání využití transmisní elektronové mikroskopie pro ultrastrukturu dřeva

Wan a Kim [77] ve své studii z roku 2006, kdy zkoumali distribuci dvou fenol-formaldehydových pryskyřic s molekulovými hmotnostmi 310 a 451, použili mimo jiné metody také TEM analýzu. Na tuto analýzu byly vzorky podrobeny sérií procedur fixace, proplachování, dehydratace a zalití do pryskyřice. Poté byly povrchy vzorků určené k pozorování seříznuty pomocí diamantového nože. Pro TEM analýzu byl použit transmisní elektronový mikroskop JEOL 100-CXII. Na pořizovaných snímcích se vytvrzená pryskyřice jeví jako černé tečky. Na snímku č.21 je mezi černými „ložisky“ pryskyřice v lumenu (A) a těmi umístěných v buněčné stěně (B) pouze buněčná stěna. To indikuje, že pryskyřice do buněčné stěny neprotekla skrze vrstvu W buněčné stěny (na povrchu lumenu), ale do buněčné stěny protekla skrze střední lamelu, což naznačuje vyšší propustnost střední lamely. Tento snímek také ukazuje, že po impregnaci a vytvrzení pryskyřice, pryskyřice obsažená v buněčných stěnách polymerizuje

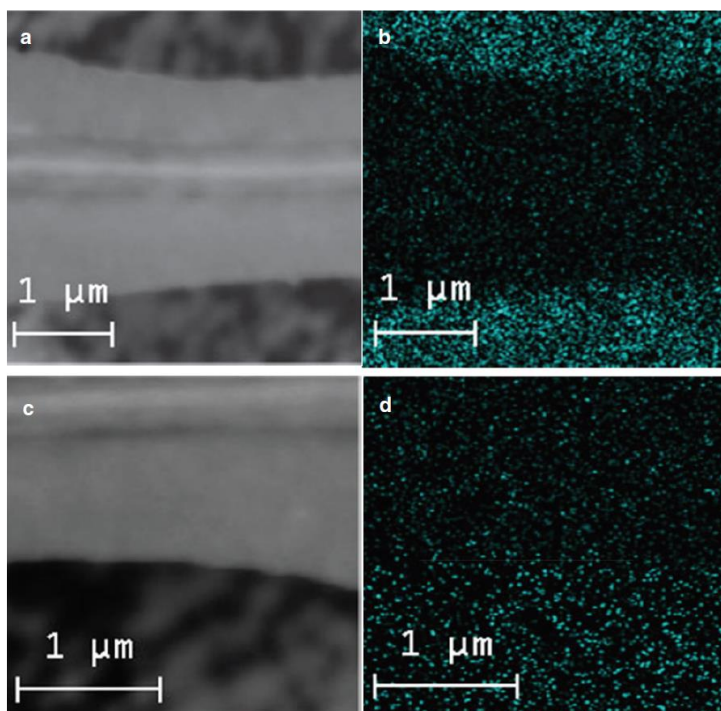
odlišně od pryskyřice obsažené v lumenech. Na tento fakt autoři usuzují z rozdílné velikosti „ložisek“ pryskyřice. [77]



Obrázek 21: TEM snímek PF pryskyřice v buněčné stěně dřeva, A=lumen, B=buněčná stěna, převzato z [77].

Singh a kol. [106] využili kombinaci nástrojů TEM a EDXS (z angl. *energy-dispersive X-ray spectroscopy*), aby prokázali, že je tato metoda vhodná ke zjištění průniku močovinoformaldehydové (UF) pryskyřice do buněčné stěny dřeva borovice. Kvantitativní posouzení UF pryskyřice v buněčné stěně dřeva bylo realizováno na ultratenkých řezech detekováním elementárního dusíku (N) pomocí TEM-EDXS. Autoři použili UF pryskyřici s viskozitou 195 mPa·s, která byla speciálně připravena pro tuto studii. Po zalepení dřeva byly vzorky nařezány do trojúhelníkového tvaru a z nich byly nařezány tenké sekce pomocí rotačního mikrotomu (90 μm) bez předchozího změkčení (z důvodu citlivosti UF na vlhkost). Tyto preparáty byly vloženy do směsi 100% acetonu a *Spurr* pryskyřice k prosycení preparátů pryskyřicí. Postupným zvyšováním koncentrace pryskyřice byly nakonec vzorky infiltrovány čistou pryskyřicí a ta byla polymerizována při 65 °C po dobu 24 h. Z takto připravených vzorků byly nařezány sekce 80-90 nm tlusté na ultramikrotomu vybaveném diamantovým nožem. Preparáty byly na 7 minut vystaveny působení 2% vodnému roztoku uranyl acetátu. Toto barvení bylo nutné, aby bylo možné určit, kde přesně se pryskyřice nachází. K TEM analýze byl použit H-7100 Hitachi mikroskop (75 kV) s X Max detektorem. TEM-EDXS analýza ukázala, že nejvyšší obsah dusíku je v lumenu vyplněném UF pryskyřicí. S postupným přechodem z lumenu do buněčné stěny dřeva obsah dusíku rapidně klesl v mezifázi lumen-vrstva S3 a poté se obsah dusíku stabilizoval po celém průřezu buněčné stěny. EDXS mapování odpovídá TEM obrázkům a ilustruje distribuci dusíku v buněčné stěně v oboustranném kontaktu s pryskyřicí nacházející se v lumenu (obr. č. 22b), a v kontaktu s pryskyřicí pouze na jedné straně (obr. č. 22d). Také na obr. č. 22d je viditelný vysoký obsah dusíku v lumenu a podstatně nižší koncentrace dusíku v buněčné stěně. Nicméně je dusík homogenně distribuován skrze celou buněčnou stěnu. **Tyto**

výsledky jasně indikují, že UF pryskyřice nejenže vyplnila lumeny buněk, ale také pronikla do buněčných stěn dřeva. Kvantitativní měření prokázala, že buněčné stěny obsahují dusík pouze tam, kde je lumen vyplněn UF pryskyřicí. Buněčné stěny obklopené prázdnými lumeny nevykázaly žádný obsah dusíku. Snímky prokázaly, že koncentrace dusíku v buněčné stěně, jež se nachází mezi vyplněnými lumeny, je mnohem větší nežli koncentrace dusíku v buněčné stěně, která je v kontaktu s pouze jedním vyplněným lumenem. Z toho vyplývá, že pryskyřice pronikla nejprve do lumenů buněk, a z nich pak prosytila buněčné stěny dřeva. Pořízené snímky napovídají tomu, že pryskyřice pronikla do všech částí buněčné stěny, včetně střední lamely. [106]



Obrázek 22: TEM snímky a příslušné EDXS mapy distribuce N napříč dvojitou buněčnou stěnou, převzato z [106].

Lumeny buněk vyplněny UF z obou stran (a, b), a lumen buňky vyplněn pouze z jedné strany (c, d). Množství světlých teček (b, d), které indikují N, je mnohem větší v lumenech než v buněčných stěnách.

5.2. Metody fyzikálně chemické

5.2.1. Nukleární magnetická rezonanční spektroskopie NMR

Princip

Nukleární magnetická rezonance patří mezi spektroskopické metody, která má dalekosáhlé možnosti v rámci aplikace skrze vědní obory a průmysl. NMR využívá velkého magnetu ke zkoumání vnitřních spinových vlastností atomových jader. Stejně jako všechny spektroskopie, tak i NMR používá elektromagnetického záření (radiofrekvenční vlny) k vyvolání přechodů mezi hladinami energie (rezonance). Většina aplikací slouží pro stanovení struktury molekul. NMR byla objevena v roce 1946 výzkumníky *Purcell, Pound a Torrey* z Harvardu a výzkumníky *Bloch, Hansen a Packard* ze Stanfordu. Ti zjistili, že magnetická jádra (např. ^1H a ^{31}P) jsou schopny absorpce vysokofrekvenčních energií, jakmile jsou umístěny v magnetickém poli se specifickou intenzitou pro každé jádro. Po absorpci začnou jádra rezonovat a různé atomy uvnitř molekuly rezonují na různých frekvencích. Toto pozorování umožnilo detailní analýzu struktury molekuly. Aby NMR experiment fungoval, musí dojít k otočení spinu mezi energetickými hladinami. Energetický rozdíl mezi těmito dvěma stavy odpovídá energii elektromagnetického záření, která způsobuje, že jádra mění své energetické hladiny. Potřebné elektromagnetické záření je v řádů stovek MHz a dokonce i GHz. Podstata NMR je založena na konceptu jaderného stínění, které umožňuje strukturální stanovení molekul. Každý atom je obklopen elektrony, které obíhají jádro. Nabitě částice pohybující se ve smyčce vytvářejí slabé vnitřní magnetické pole, které určitým způsobem ovlivňuje jádro a způsobují tzv. stínění. Tento efekt většinou oslabí působení vnějšího magnetického pole. Stínění umožňuje určení chemicky nerovnoměrného prostředí pomocí Fourierovy transformace NMR signálu. Výsledkem je spektrum sestávající ze souboru píků, v nichž každý vrchol odpovídá odlišnému chemickému prostředí. Oblast pod vrcholem je přímo úměrná počtu jader v chemickém prostředí. Jakmile dojde k excitaci jader do energeticky vyšších hladin, nastává proces relaxace. To znamená, že se excitovaná jádra vrací do svých termodynamicky stabilních stavů. Energie absorbovaná při přechodu z nižší energetické hladiny do vyšší energetické hladiny se uvolní, jakmile jádra přejdou zpět z vyšší energetické hladiny do hladiny energeticky nižší. Relaxace může být poměrně složitý proces založený na různých časových rozdílech relaxace. Dva nejčastější typy relaxace jsou spin-mřížková relaxace (podélná relaxační doba T_1) a relaxace spin-spin (příčná relaxační doba T_2). Vývoj CP (z angl. *cross-polarization*) a MAS (z angl. *magic angle spinning*) nukleární magnetické rezonance umožnil dosáhnout vysokého rozlišení. S tímto rozlišením metoda

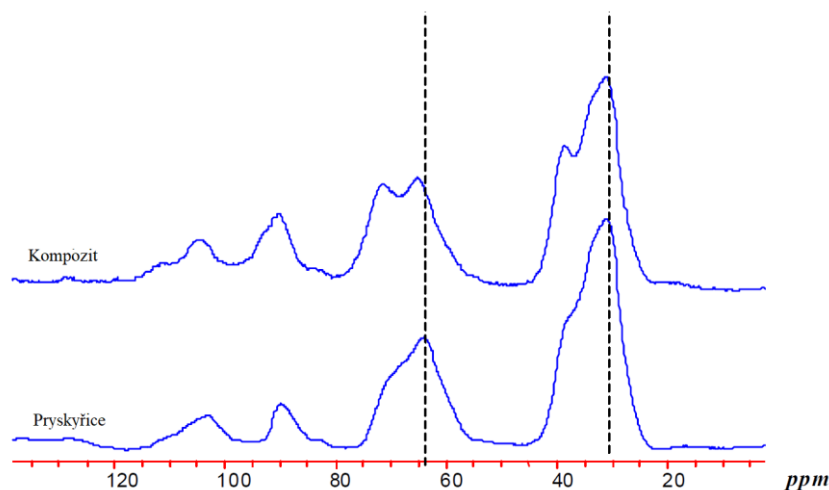
CP/MAS NMR poskytuje možnost zkoumání molekulární dynamiky pevných polymerů. [107]
[108]

Stav poznání využití nukleární magnetické rezonance pro ultrastrukturu dřeva

Laborie [108] ve své studii použila k výzkumu interakcí mezi fenol-formaldehydovou (PF) pryskyřicí a dřevem smrku nebo topolu metody NMR a DMA (dynamická mechanická analýza). Byly použity PF pryskyřice s nízkou molekulovou hmotností (270 g/mol) a vysokou molekulovou hmotností (2840 g/mol), jimiž byla dřeva impregnována, respektive malé plátky dřeva (3,5×0,85×10 mm), které s pryskyřicí tvořily kompozit. Pomocí děrovače byly připraveny malé vzorky, jež byly přes noc vysušeny ve vakuové sušárně a uloženy do exsikatoru, před zkoušením jejich vlhkost nepřesahovala 0,5 %. Pomocí CP/MAS NMR byl zkoumán vliv nízkomolekulární a vysokomolekulární PF pryskyřice na spin-mřížkový relaxační čas $T_{1\rho}$ a čas křížové polarizace T_{CH} . Experiment byl prováděn použitím Bruker MSL-300 MHz spektrometru, který byl vybaven 7 mm MAS.07.D8 sondou. Frekvence spektrometru byla nastavena na 75.47 MHz pro ^{13}C jádra a frekvence omezující spin protonového kanálu byl přibližně 56 kHz. [108]

Protože žádná z pryskyřic výrazně neovlivnila T_{CH} , autorka z tohoto jevu vyvozuje, že pryskyřice do dřeva nepronikají na škále ångström penetrace. CP/MAS NMR relaxační měření ^{13}C indikovala, že nízkomolekulární PF významně zvýšila relaxační čas $^{\text{H}}T_{1\rho}$ polymerů dřeva, z čeho autorka usuzuje, že **polymery dřeva byly pryskyřicí ovlivněny na škále nano-penetrace**. Ačkoli statisticky nevýrazně, PF s vysokou molekulární hmotností systematicky snižovala relaxační čas $^{\text{H}}T_{1\rho}$ polymerů dřeva. Tento opačný trend napovídá, že zatímco jedna pryskyřice má tendenci zvyšovat pohyby ve dřevě, druhá má tendenci tyto pohyby blokovat. Bylo zjištěno, že nízkomolekulární PF narušuje spinové vazby typické pro dřevo, zatímco PF s vysokou molekulovou hmotností ponechala spinové vazby mezi komponenty dřeva neporušené. Navíc byl relaxační čas $^{\text{H}}T_{1\rho}$ nízkomolekulární PF v mezích relaxace dřeva, což napovídá interakci s polymery dřeva v rámci nano-škály. Naproti tomu $^{\text{H}}T_{1\rho}$ vysokomolekulární PF je menší než $T_{1\rho}$ polymerů dřeva, z čehož nevyplývá žádná spinová vazba mezi pryskyřicí a komponenty dřeva, tím pádem dochází na nano-škále k separaci fází. **Tato pozorování napovídají, že nízkomolekulární PF s dřevem interaguje více nežli PF vysokomolekulární**. Vzhledem k tomu, že vysokomolekulární PF má širokou distribuci molekulové hmotnosti, a dominují jí frakce s vysokou molekulovou hmotností, pryskyřice z velké části nepronikla do struktury dřeva. Nicméně malá část pryskyřice je tvořena molekulami s nízkou molekulovou hmotností, jež jsou schopny pronikat do dřeva v rámci nano-škály. **Při vytvrzování pryskyřice**

pak došlo k zesíťování vysokomolekulárních částí pryskyřice, a malá (nízkomolekulární) část obsažená ve struktuře dřeva zůstala nevytvrzena. Pro kompozit s nízkomolekulární PF platí, že větší obsah pronikl do struktury dřeva, a došlo k zesíťování i proniklé části pryskyřice, byla tedy provázána s polymery dřeva. [108]



Obrázek 23: ¹³C CP/MAS NMR spektrum čisté ¹³C PF pryskyřice a kompozit ¹³C PF a topolu, převzato z [108].

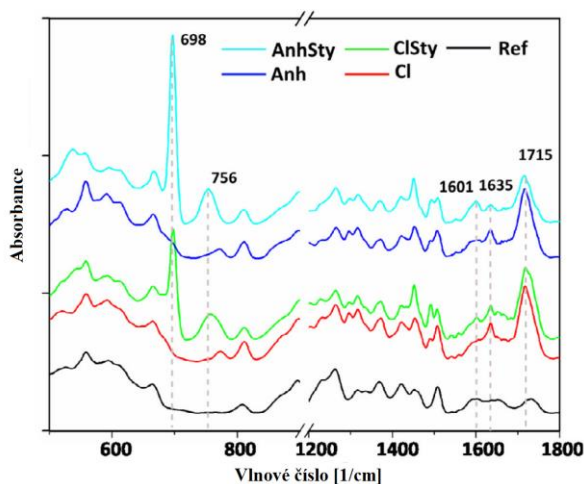
5.2.2. Infračervená spektroskopie FTIR

Princip

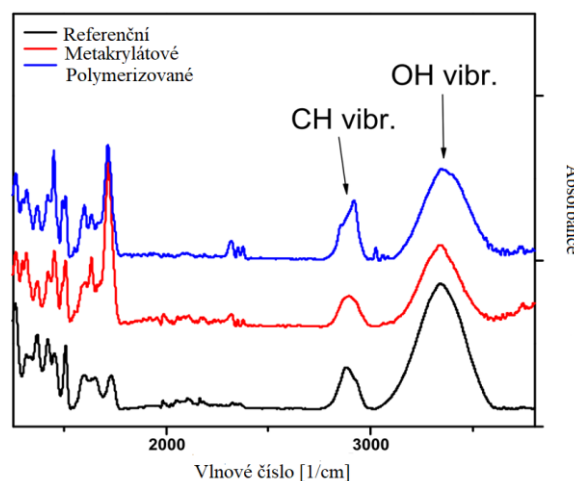
FTIR (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací) patří mezi analytické metody určené k identifikaci a charakteristiku struktury organických sloučenin a pro stanovování anorganických látek. Princip metody je závislý na pohlcování infračerveného záření různé vlnové délky při průchodu zkoumaným materiálem. Při absorpci infračerveného záření materiálem dochází ke změně rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Výstupem měření je infračervené spektrum, které je grafickým znázorněním funkční závislosti energie vyjádřenou v procentech transmitance T, nebo v jednotkách absorbance A na vlnové délce dopadajícího záření. FTIR spektrometry jsou infračervené spektrometry s Fourierovou transformací. Jde o matematickou metodu transformace, která je potřeba k získání klasického spektrálního záznamu. Přístroje pracují na principu interferenci spektra, které na rozdíl od disperzních přístrojů měří interferogram modulového svazku záření po přechodu vzorkem. Při měření dopadá na detektor vždy celý svazek záření, což umožňuje experimenty, při kterých dochází k velkým energetickým ztrátám, jak tomu je například u silně absorbujícího materiálu nebo u měření s nastavbi pro analýzu pevných nebo kapalných vzorků v odraženém světle – reflektanční infračervená spektroskopie.

Stav poznání využití FTIR pro ultrastrukturu dřeva

Keplinger a kol. [109] ve své práci demonstrovali metodu, jak na buněčné stěny dřeva navázat metakrylové skupiny pomocí dvou různých chemických cest. Metakrylové skupiny použili jako „kotevní“ body pro roubování různých polymerů do struktury dřeva. V případě „methacryloyl chloride“ se polymer nacházel na rozhraní mezi lumenem buňky a buněčnou stěnou a 2-3 μm v buněčné stěně, zatímco v případě anhydridu kyseliny metakrylové se polymer nacházel zejména uvnitř buněčné stěny. FTIR analýza byla použita pro analýzu buněčných stěn modifikovaného smrkového dřeva. Autoři nejprve připravili malé kostky dřeva, ze kterých se vyčlenily referenční vzorky (Ref), kontrolní vzorky ošetřené pyridinem (Con), vzorky modifikované „methacryloyl chloride“ (Cl), anhydridem kyseliny metakrylové (Anh) a vzorky modifikované metakryláty a impregnovány styrenem, který byl následně polymerizován (ClSty a AnhSty). Pro obdržení spekter pomocí FTIR byly vzorky v práškovém stavu analyzovány na přístroji Bruker ALPHA FT-IR vybaveném ATR modulem. Spektra byla vyhlazena v softwaru OPUS a vykreslena v OriginPro 8.1. Za účelem vyhodnocení reaktivity metakrylových skupin navázaných na dřevo byla FTIR spektroskopie použita pro sledování protažení vibračního kmitání ze zabudované metakrylové dvojitě vazby. Protože pík odpovídající dvojitě metakrylové vazbě není překryt, lze zobrazit úspěšné roubování polymeru na strukturu dřeva. Na obr. č. 24 jsou zobrazena spektra modifikovaného (metakrylového a polymerizovaného) a nemodifikovaného dřeva. Infračervené vazby při 1715 cm^{-1} a 1635 cm^{-1} v metakrylátovaných vzorcích jsou přisuzovány karbonylovým a alkenovým vibracím. Po polymerizaci polystyrenu ve vzorcích, jsou jasně viditelné píky polystyrenu (698 cm^{-1} a 756 cm^{-1} , jež jsou přiřazeny C-H vazbám aromatického kruhu a 1601 cm^{-1} , uvolnění aromatického kruhu). Mimo jiné je viditelný pokles intenzity dvojitě vazby, což reflektuje **úspěšné roubování polymeru na strukturu dřeva**. Nicméně byla dvojitě metakrylová vazba stále viditelná, což indikuje, že některé dvojitě vazby byly pro monomery styrenu nedosažitelné v omezeném prostoru buněčné stěny dřeva. Pokles vibračního signálu OH způsobený roubováním metakrylových skupin a změna CH signálu vzhledem k začlenění polystyrenu do buněčné stěny dřeva je zobrazen na obr. č. 25 [109]



Obrázek 24: Infračervená spektra referenčních, metakrylátových a polymerizovaných vzorků, převzato z [109].



Obrázek 25: FTIR spektrum metakrylátového, polymerizovaného a referenčního vzorku, převzato z [109].

5.3. Metody fyzikálně mechanické

5.3.1. Nanoindentace

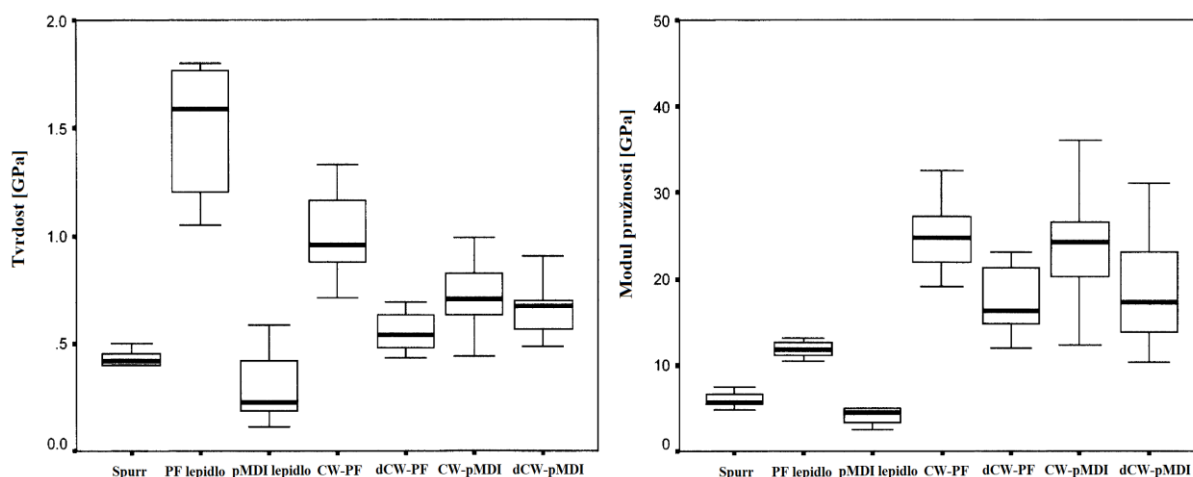
Princip

Nanoindentace (NI) je důležitá a rozšířená metoda k experimentálnímu určení mechanických vlastností používaná ve studii nanomateriálů a nanotechnologií. V porovnání s ostatními metodami, které se používají k experimentálnímu určení mechanických vlastností, nanoindentace vyžaduje poměrně snadné nastavení a snadnou přípravu vzorku. Kromě toho nanoindentace zanechává pouze malý otisk, může tak být považována za nedestruktivní metodu. Nejběžnější užití nanoindentace je k měření tvrdosti a modulu pružnosti, ale byl zaznamenán značný pokrok i při měření jiných mechanických parametrů, včetně tzv. „creep“ parametrů dotvarování materiálu a reziduálních napětí. Mechanické vlastnosti se z nanoindentacních zkoušek odvozují z měření posunu zatížení indenteru a hloubky, do které indenter pronikne. Konvenční zkoušení tvrdosti obsahuje měření vytvořeného otisku ve vzorku jako funkce zatížení indenteru. To umožňuje měření kontaktní plochy pro dané zatížení indenteru. Při měření se sleduje hloubka průniku do zkoušeného vzorku při daném zatížení vyvozeném na hrot. Známa geometrie hrotu umožňuje určení kontaktní plochy otisku, který je ve vzorku vytvořen. Při provádění zkoušky se zaznamenává síla a hloubka průniku, protože zatížení je aplikováno od nuly do maxima a poté zpět z maximální síly na nulu. Tím je získána zatěžovací křivka, ze které může být odečítán její sklon pro výpočet modulu pružnosti, je z ní patrné chování zkoušeného materiálu. Existuje široké množství indenterů, nejčastější je však pyramidový s trojúhelníkovou podstavou, tzv. Berkovich. Podle použitého indenteru se pak liší vzorce, kterými se přepočítávají

získaná data k určení mechanických vlastností. V nanoindentačních zkouškách je často vyvozováno zatížení v řádech mikronů, proto je velmi obtížné dosáhnout přímého měření pomocí optické mikroskopie, často se tak využívá například mikroskopie atomárních sil AFM, SEM apod. [110]

Stav poznání využití nanoindentace pro ultrastrukturu dřeva

Gindl a kol. [81] pomocí nanoindentace zjišťovali, zda fenol-formaldehydová (PF) pryskyřice nebo pMDI lepidlo ovlivní mechanické vlastnosti buněčných stěn dřeva smrku, které jsou v těsné blízkosti lepené spáry. Vzorky byly zalepeny a ponechány k vytvrzení při teplotě 30 °C a tlaku 0,1 MPa přes noc. Pro zkoušku nanoindentace byly nařezány malé vzorky, jež byly zafixovány epoxidovou pryskyřicí. K zarovnání povrchů zafixovaných vzorků byly odřezány malé sekce pomocí ultramikrotomu Reichert, který byl vybavený diamantovým nožem. Takto připravené vzorky byly nalepeny na kovové disky a postupně zkoumány na AFM mikroskopu Dimension DI-3100 s přidavným snímačem síly Hysitron. Byl použit pyramidový indentační hrot typu Berkovich s maximální silou P_{max} 150 μ N. Indentace byla provedena v místě lepené spáry, a také v místě fixační epoxidové pryskyřice. Buněčné stěny dřeva byly zkoušeny jak v těsné blízkosti lepené spáry, tak v pokročilé vzdálenosti od lepené spáry (až do 400 μ m). Při nastavení přístroje byly zářezky indenteru natolik malé, aby výsledky nebyly ovlivněny lumenem vyplněným pryskyřicí nebo lepidlem. Z provedených zkoušek vyplývá, že pMDI je mnohem méně tvrdé a tuhé než PF.



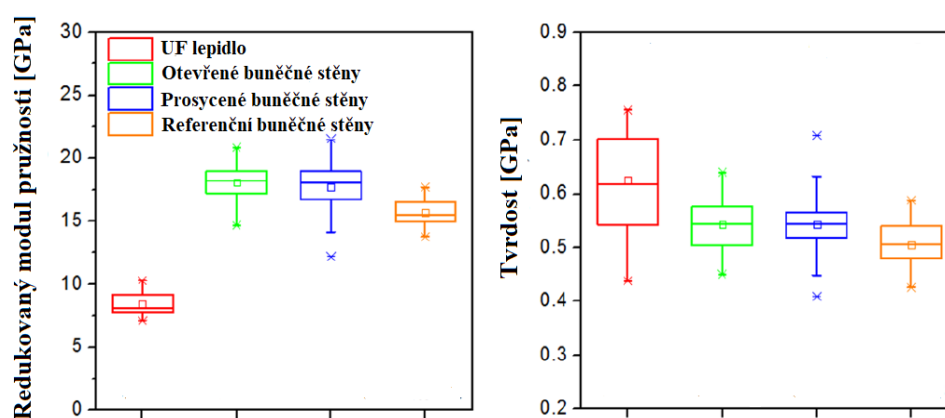
Obrázek 26: Mechanické vlastnosti jednotlivých fází, převzato z [81].

Spurr=fixační epoxidová pryskyřice, CW-PF=nepoškozené buněčné stěny blízko PF lep. sp., dCW-PF=poškozené buněčné stěny blízko PF lep. sp., CW-pMDI=nepoškozené bun. stěny blízko pMDI lep. sp., dCW-pMDI=poškozené bun. stěny blízko pMDI lep. sp..

Výsledky ukazují, že PF lepidlo dosahuje větších tvrdostí než buněčné stěny dřeva, avšak modul pružnosti je nepatrně menší. Naproti tomu lepidlo pMDI dosahuje vzhledem k hodnotám buněčných stěn dřeva menších hodnot, a to jak u modulu pružnosti, tak u tvrdosti. Jak potvrdila zkouška UV absorbance, **PF lepidlo bylo přítomno v buněčných stěnách dřeva, což ovlivnilo zejména tvrdost buněčných stěn, které byly s lepidlem v kontaktu.** Buněčné stěny, které byly v kontaktu s pMDI lepidlem nevykázaly žádné odchylky od hodnot zjištěných na referenčních buněčných stěnách. [81]

Qin a kol. [96] ve své studii charakterizovali pronikání modifikované močovino-formaldehydové pryskyřice do dřeva. Tzv. „gross“ penetrace byla zkoumána fluorescenční mikroskopií. Následně byla zkoumána distribuce pryskyřice v buněčné stěně dřeva pomocí konfokální laserové skenovací mikroskopie. Pro potvrzení těchto výsledků bylo provedeno zjištění mikro-mechanických vlastností buněčných stěn modifikovaných pryskyřicí a referenčních buněčných stěn, jež nebyly v kontaktu s lepenou spárou, pomocí nanoindentace. V této studii byla použita melamin-močovino-formaldehydová (MUF) pryskyřice s viskozitou 2640 mPa·s. Vzorky dřeva kryptomerie japonské byly zalepeny a pro vytvrzení byly vystaveny teplotě 100 °C při tlaku 0,7 MPa. Po vytvrzení byly vzorky uloženy do prostředí 20 °C s relativní vlhkostí vzduchu 65 %. Z takto připravených vzorků byly nařezány malé bloky 7×7×20 mm. Poté byl povrch vzorků zarovnan na ultramikrotomu Leica EM UC7 vybaveného skleněným nožem, a pak byly povrchy pro dosažení naprosto hladké roviny seřezány nožem diamantovým. Před samotnou NI analýzou byly vzorky kondicionovány v komoře přístroje po dobu 24 hodin. Nanoindentační zkouška byla provedena na přístroji Hysitron TI 950 TriboIndenter, který byl vybaven třístranným pyramidovým indentačním hrotem (typ Berkovich) s poloměrem přibližně 100 nm. Experiment byl prováděn s řízeným zatěžovacím cyklem, jenž obsahoval tři kroky, a to samotné zatěžování (maximální síla 200 μN dosažena v 5 s), ponechání hrotu ve vzorku (2 s) a odebrání indentačního hrotu (5 s). Pro přesné určení zkoušených oblastí byl vzorek zobrazen pomocí mikroskopie skenující sondou SPM (z angl. *scanning probe microscopy*). Z vytvořených křivek pak byly vypočteny hodnoty modulů pružnosti a tvrdosti. Indentace byly provedeny na vytvrzené MUF pryskyřici v lepené spáře, na buněčných stěnách dřeva v kontaktu s MUF pryskyřicí, a jako poslední byla určena oblast referenčních buněčných stěn dřeva ve vzdálenosti alespoň 150 μm od lepené spáry, kde nebyl očekáván žádný průnik MUF do struktury stěny dřeva. Pro každou zkoušenou oblast byly zvoleny alespoň 4 pozice zkoušení. Mezery mezi jednotlivými zarážkami hrotu byly alespoň 20 až 30× větší než maximální hloubka indentace. Výsledky ukázaly, že MUF pryskyřice má nižší modul pružnosti (8,43 GPa) a větší tvrdost (0,63 GPa) v porovnání s buněčnou stěnou dřeva s modulem pružnosti 15,71 GPa a tvrdostí 0,51

GPa. Buněčné stěny dřeva v těsném kontaktu s lepenou spárou vykázaly hodnoty modulu pružnosti okolo 17,68 GPa a tvrdost 0,54 GPa. Podobné výsledky byly dosaženy také s exponovanými buněčnými stěnami dřeva, jež byly poškozeny a otevřeny vlivem přípravy povrchu před lepením, nebo v průběhu samotného lepení. Otevřené buněčné stěny vykázaly hodnoty modulu pružnosti 18,10 GPa a hodnoty tvrdosti 0,54 GPa. To může být dle autorů interpretováno jako **ovlivnění vlastností buněčných stěn vlivem přítomnosti MUF pryskyřice**, ale tento rozdíl hodnot mohl být způsoben vyšší hustotou buněčných stěn poblíž lepené spáry vlivem lisování za horka. **Závěrem studie poukazuje na to, že MUF pryskyřice se svými pevnými a křehkými charakteristikami může vyztužit buněčné stěny dřeva, které byly mechanicky poškozeny.** [96]



Obrázek 27: Mechanické vlastnosti UF lepidla a buněčných stěn s a bez kontaktu s UF, převzato z [96].

Konnerth [111] provedl experiment, kdy pomocí nanoindentace zmapoval lepenou spáru smrkového dřeva lepeného fenol-rezorcín formaldehydovým lepidlem (PRF, Aerodux 185 s tvrdidlem HR150, Friebe, Mannheim, Německo). Vzorky velikosti 100×100×15 mm byly zalepeny a ponechány k vytvrzení při 20 °C a relativní vlhkosti vzduchu 65 %, vzorky byly v tomto prostředí ponechány po 3 týdny. Z takto připravených vzorků byly nařezány malé sekce velikosti 2×2×0,5 mm tak, aby přes celý vzorek probíhala lepená spára. Malé sekce byly přes noc uloženy do sušárny s teplotou 60 °C, a poté byly zafixovány epoxidovou pryskyřicí. Na těchto vzorcích byly zkoušené povrchy zarovnaný jejich postupným seřezáním tenkých sekcí (<100 nm) pomocí mikrotomu Leica Ultracut-R vybaveného diamantovým nožem Diatome Histo. Vzorky se zarovnanými povrchy byly nalepeny na kovové disky pomocí epoxidové pryskyřice. Všechny nanoindentační experimenty byly provedeny na přístroji Hysitron TriboIndenter (Hysitron Inc. Minneapolis, USA) vybaveným třístranným diamantovým indentačním hrotem (typ Berkovich). Dva paralelní vzorky byly zkoumány prováděním zářezů v předem definované mřížce s 1 zářezkou na 1 μm v tangenciálním směru (souběžně s lepenou

spárou) a 1 zarážkou na 2 μm v radiálním směru (kolmo na lepenou spáru). Rozměr mřížky byl 17 μm na 90 μm , tím pádem bylo na jednom vzorku provedeno 1620 zarážek indenteru. Mřížka byla na vzorku situovaná tak, aby pokryla jak lepenou spáru, tak buněčné stěny dřeva v bezprostřední blízkosti lepené spáry. Experiment byl prováděn v režimu řízeného zatížení s prvotní silou 1 μN a zatěžováním ve třech krocích: aplikace zatížení v 1 s, zatěžování 10 s a odstranění indenteru 1 s. Pík řízeného postupného zatěžování byl v 50 μN . [111]

Vzhledem k umístění mřížky na vzorku byla většina zarážek provedena do epoxidové pryskyřice, v níž byl vzorek zafixován. Dále pak nebyly všechny zarážky do buněčné stěny provedeny v dostatečné vzdálenosti od epoxidové pryskyřice nebo od střední lamely. Tudíž byly hodnoty z těchto měření vyřazeny z dalšího vyhodnocování, protože by hodnoty určené pro buněčnou stěnu mohly být ovlivněny fixační pryskyřicí. Oblasti buněčné stěny, fixační pryskyřice a lepidla jsou jasně rozpoznatelné díky svým odlišným modulům pružnosti. Buněčná stěna prokázala největší modul pružnosti s hodnotami od 12 do 24 GPa, vytvrzené PRF lepidlo pak vykázalo modul pružnosti okolo 7 GPa a modul pružnosti epoxidové pryskyřice byl 4 GPa. Průměrné hodnoty modulů pružnosti buněčných stěn obklopených PRF lepidlem jsou v této studii lehce vyšší než hodnoty modulů pružnosti buněčných stěn více vzdálených od lepené spáry. Dále pak byla z měření odvozována také tvrdost jednotlivých fází. Fixační epoxidová pryskyřice vykázala hodnotu tvrdosti okolo 0,2 GPa. Hodnoty tvrdosti buněčných stěn dřeva, které nebyly v kontaktu s lepidlem, a hodnoty tvrdosti lepidla se pohybovaly okolo 0,4 GPa, zatímco hodnoty tvrdosti buněčné stěny dřeva se pohybovaly okolo hodnoty 0,48 GPa. **Tato zvýšená tvrdost buněčné stěny dřeva v kontaktu s PRF lepidlem naznačuje určitý stupeň prosycení buněčných stěn lepidlem.** [111]

Gindl a Gupta [112] určovali Youngův modul pružnosti a tvrdost smrkového dřeva modifikovaného melaminem pomocí nanoindentace. Autoři práce přichystali sekce dřeva tloušťky 200 μm použitím mikrotomu s ocelovým nožem. Rovina, která byla seřezávána, byla paralelní s podélnou osou vláken a paprsků dřeva. Jedna sada vzorků byla ponořena do 25% vodného roztoku Hilamin M562 melamin-formaldehydové (MF) pryskyřice na 20 hodin a druhá, kontrolní, sada byla ponechána v destilované vodě. Poté byly obě sady vzorků vysušeny v sušárně s nastavenou teplotou 103 °C. Při této teplotě došlo k vytvrzení MF pryskyřice bez přidání katalyzátoru. Autoři v práci nejprve provedli UV absorbanční k ověření přítomnosti MF pryskyřice v buněčné stěně, jež byla UV absorbanční prokázána, a poté na vzorcích zjišťovali hodnoty tvrdosti a modulu pružnosti. Vzorky dřeva bylo před nařezáním potřeba zafixovat v epoxidové pryskyřici. Ze zafixovaných vzorků pak nařezali tenké sekce (1 μm) pomocí ultramikrotomu Reichert Ultracut-R vybaveného diamantovým nožem Diatome Histo.

Indentační zkouška byla provedena na Dimension DI-3100 mikroskopu, jež byl osazen přídatným snímačem síly Hysitron pro nanoindentaci. Zafixované vzorky byly nalepeny na kovový disk. Indentace byla provedena v oblasti přechodu mezi jarním a letním dřevem v rámci jednoho letokruhu. Experiment byl proveden s řízeným režimem zatěžování s použitím pyramidového indentačního hrotu (typ Berkovich) s píkem použité síly 500 μm při rychlosti zatěžování $100 \mu\text{N}\cdot\text{s}^{-1}$. Zarážky indentačního hrotu byly provedeny také ve fixační epoxidové pryskyřici. Youngův modul pružnosti epoxidové pryskyřice byl $3,1\pm 0,09$ GPa a tvrdost byla $0,1\pm 0,005$ GPa. Průměr Youngova modulu pružnosti nemodifikovaných buněčných stěn dřeva byl 16,1 GPa a průměr jejich tvrdostí byl 0,24 GPa. **Buněčné stěny dřeva modifikované MF pryskyřicí vykazaly větší hodnoty modulu pružnosti a tvrdosti**, a to 21,4 GPa pro modul pružnosti a 0,52 GPa pro tvrdost. To odpovídá **33% nárůstu Youngova modulu pružnosti a 115% nárůstu tvrdosti modifikovaného dřeva**. [112]

5.3.2. Dynamická mechanická analýza DMA

Princip

DMA je jedna z nejčastějších metod používaných ke zjištění viskoelastických vlastností a jejich závislosti na čase a teplotě. Jakmile je materiál podroben napětí, reaguje na tento tlak v důsledku zachování rovnováhy poměrným přetvořením. Dynamická mechanická analýza je běžná metoda, která charakterizuje materiálové vlastnosti na základě dynamických vlastností. Při DMA analýze je na látku vyvozeno cyklické zatěžování s malou úhlovou frekvencí a současně je měřeno přetvoření. Z naměřených hodnot napětí a deformací vyneseny jako funkce teploty nebo času se vypočítávají vlastnosti jako jsou elasticita nebo viskozita. DMA se používá pro měření různých typů polymerních materiálů s možností měření v různých deformačních režimech. Jsou zde napětí, komprese, ohýbání pomocí dvou konzol, třibodové ohýbací a smykové režimy. Nejvhodnější typ by měl být zvolen na tvaru vzorku, modulu a účelu měření. Pomocí měření teplotní disperze lze analyzovat teplotu skelného přechodu. Při současném měření teplotní disperze a frekvenční disperze lze pozorovat relaxační jevy, jako jsou skelný přechod a relaxace postranního řetězce. Takto lze získat informace o molekulární struktuře a molekulárním pohybu polymerů. [108]

Stav poznání využití dynamické mechanické analýzy pro ultrastrukturu dřeva

Laborie [108] ve své práci mimo NMR použila DMA k posouzení vlivu PF pryskyřic s dvěma různými molekulovými hmotnostmi (270 a 2840 g/mol) na viskoelastické vlastnosti dřeva. Přesněji byla studie zaměřena na monitorování vlivu PF pryskyřic na teplotu skelného přechodu ligninu. Vliv pryskyřice na viskoelastické vlastnosti dřeva by měl poskytnout určitý

vhled na morfologii interfáze dřeva a polymeru na škále mikronů a nanometrů. Plátky dřeva topolu o rozměrech 3,5×0,85×10 mm byly impregnovány dvěma PF pryskyřicemi a vzorky pak byly vystaveny teplotě 110 °C. Po vytvrzení PF pryskyřice byly vzorky nasyceny etylen glykolem a po celou dobu měření byly v etylen glykolu ponořeny. Viskoelastické měření proběhlo na přístroji Perkin Elmer DMA 7e. Pro každý vzorek byly podmínky DMA určeny z sobě jdoucích dynamických zátěžových snímání při 20 °C a také 120 °C. Z těchto dynamických zátěžových snímání byla určena úroveň deformace, jež byla v lineární viskoelastické oblasti, pro obě teploty. Poté byla provedena teplotní snímání při předem určené úrovni deformace se statickým zatížením 120 % dynamického zatížení. Teplotní snímání byly provedena při fixní frekvenci od 20 °C do 125 °C s gradientem teploty 2 °C/min. [108]

Výsledky studie ukázaly, že nízkomolekulární PF pryskyřice nijak neovlivnila teplotu skelného přechodu. Analýza ukázala, že nízkomolekulární PF zvyšuje teplotní závislost relaxace nad skelným přechodem, a autorka tak **usuzuje na větší mezimolekulární provázání dřeva a pryskyřice na nanometrické úrovni**. Vysokomolekulární PF pryskyřice rapidně snížila teplotu skelného přechodu vzorku. Vzhledem ke snížení teploty autorka má za to, že určitá frakce vysokomolekulární PF interaguje s polymery dřeva. Autorka předpokládá, že **malá nízkomolekulární část pryskyřice s velkou molekulovou hmotností proniká mezi polymery dřeva** na nanometrické škále. Nicméně, vzhledem k velké disperzi pryskyřice mezi polymery dřeva se má za to, že pryskyřice ve struktuře dřeva zůstala nevytvrzená nebo nahradila některý polymer dřeva, takže se chová jako vnější nebo vnitřní plastifikátor. **V obou systémech se však usuzuje na proniknutí určitého množství pryskyřice do buněčné stěny dřeva**, přestože oba systémy vykazaly opačné trendy. [108]

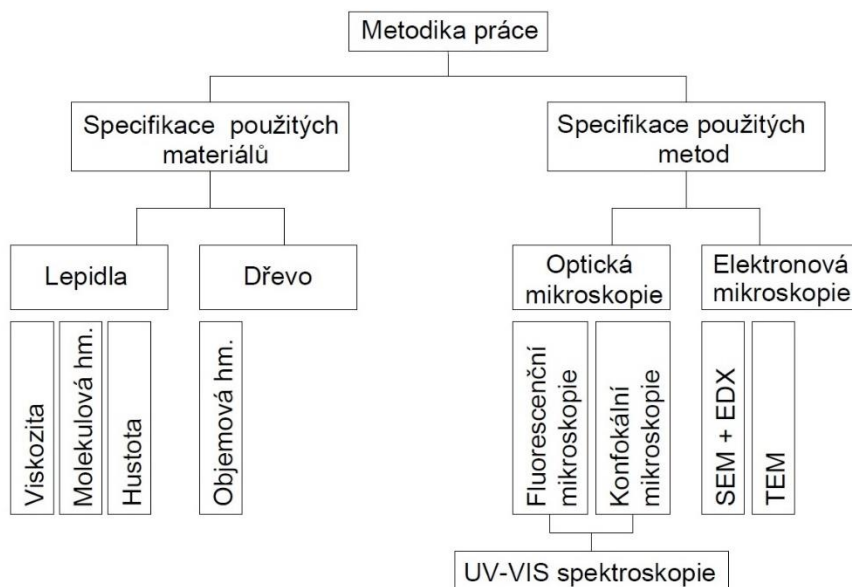
6. Cíl práce

Teoretická část práce se zabývá popisem struktury dřeva a zejména rešeršním zpracováním vědeckých prací zaměřených na problematiku průniku pryskyřic a polymerů do struktury dřeva, respektive prokázáním průniku do buněčné stěny dřeva. Při tomto rešeršním zpracování byly zjednodušeně popsány principy a výsledky aplikací těchto metod. Rešeršní práce je zpracována tak, aby zahrnuje nejen optická pozorování, ale také posouzení fyzikálně chemických a fyzikálně mechanických vlastností struktur dřeva s prokázaným prosycením buněčné stěny.

Cílem práce je vybrat vhodnou a dostupnou metody, kterými by bylo možné identifikovat průnik různých druhů lepidel do buněčné stěny. Tyto metody poté aplikovat na lepené dřevěné prvky a **experimentálně ověřit** jejich vypovídací schopnost průniku lepidel do struktury buněčné stěny.

Pro tyto účely je v experimentální části přistoupeno k ověření vybraných vlastností lepidel určených pro nosné dřevěné konstrukce, které ovlivňují tokové vlastnosti a jejich schopnost průniku do struktury dřeva. Z hlediska průniku lepidel se práce zaměřuje na využití fluorescenční mikroskopie a konfokální mikroskopie s využitím emisního záření dvou zvolených fluorochromů s různou vlnovou délkou jejich emitovaného záření. Dále jsou v práci použity metody elektronové mikroskopie s případným využitím prvkové analýzy, která v případě plnění lepidel záměrně přidanými prvky umožňuje identifikaci těchto prvků a s tím i současně ověřit průnik lepidel do struktury dřeva.

7. Metodika práce



Zjednodušené schéma postupu řešení experimentálních prací

7.1. Specifikace použitých materiálů

7.1.1. Lepidla

Pro účely experimentu byla vybrána lepidla, která jsou normativně určena pro lepení nosných dřevěných konstrukcí (vyjma epoxidového lepidla). Jedná se o lepidla:

- melamin-formaldehydové lepidlo (MUF 1247+tvrdildo) fy. Akzo Nobel;
- fenol-rezorcín formaldehydové lepidlo (PRF 1711+tvrdildo) fy. Akzo Nobel;
- polyuretanové (KESTOPUR 1030) fy. Kilito;
- epoxidové lepidlo (EPOLAM 2017) fy. Axson.

Dle EN 301 se jedná o lepidla typu I (vyjma epoxidových lepidel), tj. lepidla pro využití v třídě 1 (20 °C a relativní vlhkost vzduchu přesahující 65 % pouze pár týdnů v roce), v třídě 2 (20 °C a relativní vlhkost vzduchu přesahující 85 % pár týdnů v roce) a v třídě 3 (klimatické podmínky vedoucí k vyšší vlhkosti než u třídy prostředí 2). Vybraná lepidla MUF a PRF lze z normativního hlediska zařadit do skupiny lepidel pod označením fenolických a aminových, na které se vztahuje ČSN EN 301:2014. Lepidlo KESTOPUR 1030 se řadí mezi jednosložková polyuretanová lepidla, zkušební metody a požadavky na ně jsou specifikovány normou ČSN EN 15425:2017.

Viskozita

Viskozita se stanovuje normativním postupem dle ČSN 12092 pomocí rotačního viskozimetru (otáčení vřetena ve tvaru válce nebo kotouče konstantní rychlostí v lepidle). Faktory, jež závisí na rychlosti otáčení a na parametrech vřetene se promítnou do měření torzního odporu a výsledkem tohoto měření je stanovení viskozitního koeficientu. Naměřená viskozita závisí na smykové rychlosti.

Viskozita bývá vyhodnocena pro teplotu zkušební vzorku 25 °C (temperování kelímku ve vnější nádobě s předepsanou teplotou). Hodnota viskozity se provede odečtem po ustálení této hodnoty v průběhu měření, za viskozitu se uvažuje hodnota mezi dvěma měřeními neměnicí se mezi sebou o 3 % (zdánlivá viskozita dle Brookfielda LVT). Podrobná specifikace zkoušky se nachází v dokumentech ISO 2555 a v ISO 3219.

Molekulová hmotnost

Distribuci molárních hmotností lze stanovit metodou gelové permeační chromatografie, a to buď pomocí kalibrace kolon polystyrenovými standardy, kdy jsou výsledkem relativní hodnoty, nebo detekcí více úhlovým rozptylem světla (*MALS z angl. multiangle light scattering analysis*), kdy jsou výsledkem absolutní hodnoty. Měření gelové permeační chromatografie se nejčastěji provádí v tetrahydrofuranu, v němž je většina pryskyřic rozpustná. Avšak jedná-li se o nízkomolekulární pryskyřice, obsahující pouze nejnižší oligomery, není metoda MALS vhodná. U nízkomolekulárních pryskyřic lze též použít kapalinovou chromatografii (*HPLC z angl. high performance liquid chromatography*) s UV detekcí, kdy je výsledkem procentuální zastoupení jednotlivých oligomerů. Tato metoda také poskytuje informace o obsahu vedlejších produktů. Hmotnostní spektroskopie je schopná stanovit molární hmotnost nejnižších oligomerů, nicméně informace o jejich zastoupení je limitována klesající schopností ionizovat s rostoucí molární hmotností.

Hustota

Hustota lepidel se stanovuje dle normy ČSN EN 542 Lepidla – Stanovení hustoty, při teplotě 23 °C jako poměr hmotnosti daného objemu lepidla ke hmotnosti stejného objemu referenční kapaliny o známé hustotě, násobený její hustotou. Zkouška je založena na pyknometrickém vážení.

Experimentální stanovení torzních momentů

Bylo provedeno stanovení torzních momentů jednotlivých lepidel, jež opisuje viskozitní vlastnosti jednotlivých lepidel. Torzní moment vyjadřuje míru odporu tyče otáčející se kolem své osy, pro tyto účely byl použit viskozimetr Viskomat NT, jenž se používá pro určení zpracovatelnosti jemnozrnných stavebních materiálů. Rychlost otáčení lopatek byla zvolena hodnotou 100 ot/min (1,67 Hz). U dvousložkových lepidel byly stanovovány torzní momenty celé směsi. Doba měření byla určena na pouhou 1 minutu, aby nedošlo k zanesení a poškození součástí přístroje (zejména u PUR lepidla). Krátká doba měření také zajišťovala neovlivnění hodnot torzních momentů. Výsledkem měření byly hodnoty v [N·mm], průměrné hodnoty měření jsou zaznamenány v tabulce č. 1.

Shrnutí parametrů lepidel

Vybrané parametry konkrétních lepidel uvedených v technických listech jejich výrobci a experimentálně stanovené hodnoty torzních momentů jsou uvedeny v následující tabulce č. 1.

Tabulka 1: Specifikace parametrů lepidel:

	Epoxidové lepidlo		MUF lepidlo		PRF lepidlo		PUR lepidlo
Vlastnosti	EPOLAM 2017	Tvrdidlo 2017	1247	Tvrdidlo 2526	1711	Tvrdidlo 2520	Kestopur 1030
Viskozita [mPa·s]	550	20	15000	2200	3000-8000	5000-13000	5000
Hustota [g·cm ⁻³]	1,17	0,96	1,25	1,10	1,15	1,20	1,20
Cena [Kč/kg]	350	530	70	100	170	105	280
Molekulová hmotnost	≤700		–		–		–
Torzní moment [N·mm]	6,3		92,9		106,5		87,8

7.1.2. Dřevěný adherend

Vybrané dřevo pro výrobu vzorků této diplomové práce je dřevo smrkové (*Picea* spp.). Tento druh dřeva byl vybrán z důvodu jeho široké uplatnitelnosti v České republice pro výrobu nosných konstrukčních prvků, i přes jeho špatnou možnost impregnace a jeho relativně malou odolnost a trvanlivost proti biotickým škůdcům. Naproti tomu se toto dřevo dobře suší a opracovává. Jedná se o ekonomicky výhodnou dřevinu, kdy z časového hlediska vyrostе za

relativně krátkou dobu kvalitní dřeva. Hustota smrkového dřeva byla experimentálně určena při 20 °C a 65% relativní vlhkosti vzduchu stanovena na 465 kg·m⁻³.

7.2. Specifikace použitých metod

Za účelem zjištění distribuce lepidel do struktury buněčné stěny byly vybrány metody běžně se využívající ke zkoumání interfáze dřevo/lepidlo. Všechny z těchto metod byly v dřívějších studiích prokázány za velmi užitečné nástroje k výzkumu penetrace lepidel do struktury dřeva. Z oboru optické mikroskopie byly vybrány fluorescenční a konfokální mikroskopie, zatímco z oboru elektronové mikroskopie byly vybrány mikroskopie transmisní (TEM) a skenovací (SEM), jež byla provedena v kombinaci s prvkovou analýzou (EDX).

Z důvodu použití fluorochromu Rhodaminu B (fluorescenční a konfokální mikroskopie) a elementárního jódu (SEM-EDX) v práškovém stavu, bylo zapotřebí je zakomponovat do lepidel pomocí vhodného rozpouštědla. Vzhledem k nevhodnosti použití vody v kombinaci se zvolenými lepidly, byla na základě tabulky Hansen parametrů vybrána rozpouštědla N,N-dimethylformamid (DMF), metylalkohol a chloroform. Tabulka Hansen parametrů obsahuje parametry pro rozpouštědla, parametry pro polymery (průmyslově vyráběné produkty), a přehled odolnosti. Odolnost je zde označena číslem od 1 do 6, kdy 1 znamená, že je polymer v daném rozpouštědle rozpustný a 6 znamená, že polymer v daném rozpouštědle rozpustit nelze (viz obr. č. 28). Protože v tabulce Hansen parametrů není obsažen polyuretan, bylo pro toto lepidlo, na základě rešerše, použito rozpouštědlo DMF a chloroform.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
1 Methanol.....	5	6	4	5	4	5	6	1	3	1	6	6	2	1	4
2 Ethanol 96%.....	4	6	4	6	4	1	6	1	1	6	6	6	1	1	5
3 Ethanol 99.9%.....	5	6	3	5	1	1	6	4	1	3	6	6	1	1	5
4 n-Propanol.....	5	6	3	5	1	1	6	4	1	6	6	6	1	1	2
5 n-Butanol.....	5	6	3	5	1	1	6	5	1	6	6	6	1	1	1
6 Pentanol-1.....	4	6	5	3	1	1	6	2	1	6	6	6	1	1	1
7 2-Ethyl butanol.....	3	2	5	1	1	1	6	5	1	6	6	6	1	6	1
8 2-Ethyl hexanol.....	4	2	5	1	1	1	6	5	1	6	6	6	1	6	1
9 Methyl isobutyl carbinol....	4	5	5	1	1	1	6	5	1	6	6	6	1	6	1
10 Propylene glycol.....	6	6	5	6	4	6	6	6	1	6	6	6	6	1	6
11 Ethylene glycol.....	6	6	6	4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	1	6
33A Tetrahydrofuran.....	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
45 Dimethyl formamide.....	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
49 Chloroform.....	1	1	1	1	1	1	1	1	1	6	1	3	1	6	1

C = epoxidová pryskyřice

I = MUF pryskyřice

N = PRF pryskyřice

Obrázek 28: Výňatek z tabulky Hansen parametrů rozpustnosti, převzato z [113].

7.2.1. Fluorescenční a konfokální mikroskopie

Fluorescenční mikroskopie byla prováděna ve výzkumném centru AdMaS, jež je součástí Fakulty stavební Vysokého učení technického v Brně. Použitý mikroskop byl přístroj firmy Leica DM4000 M LED osazený 5 megapixelovou digitální kamerou Leica DFC450 C. Tento mikroskop umožňuje pozorování jak v odraženém, tak i prošlém světle. Přístroj umožňuje fluorescenční pozorování, při excitaci UV, modrým a zeleným světlem. Součástí mikroskopu je ovládací software s modulem pro analýzu obrazu. [114]

Pro konfokální mikroskopii byly použity vzorky, jež byly zobrazovány fluorescenční mikroskopii. Byl použit konfokální mikroskop Leica SP8, který se nachází na VÚVeL v Brně, pod vedením PharmDr. Josefa Maška, Ph.D. Byl použit imerzní objektiv se zvětšením 20×, kterým bylo zaměřeno na oblast zájmu a dalšího přiblížení bylo dosaženo digitálně.

Zalepení slepenců dřeva

Pro fluorescenční a konfokální mikroskopii bylo zapotřebí vzorky zalepit lepidly s dispergovanými fluorochromy Safranin O a Rhodamin B. Z experimentálních důvodů byly fluorochromy vneseny nejprve do epoxidové pryskyřice EPOLAM 2017 v koncentracích 0,5 hm. %, 2,5 hm. % a 5 hm. %. Fluorochromy byly rozmíchány v rozpouštědle DMF v 25% koncentraci, poté byl tento roztok vmísen do pryskyřice. Následně byly směsi vloženy do vakuové sušárny z důvodu zajištění vytěknání rozpouštědla. Vzorky byly v sušárně ponechány 12 hod při teplotě 25°C a tlaku 20kPa, poté došlo k přidání tvrdidla v poměru 100:30 (epoxid:tvrdidlo) a zalepení vzorků vysušeného smrkového dřeva 200×100 mm tloušťky 20 mm

s plošným nánosem 250 g/m^2 . Přestože byly fluorochromy do lepidel přidávány formou roztoku, zvyšující se obsah fluorochromu vykázal **zvýšení** výsledné **viskozity** směsi (platí zejména pro obsah fluorochromu 5 hm. %). Po nanesení lepidla byly slepence zalisovány tlakem 0,8 MPa po dobu 12 hodin pro vytvrzení lepidla při laboratorní teplotě. Byla prověřena emise lepidel záření na fluorescenčním mikroskopu s různou koncentrací fluorochromů v epoxidovém lepidle (EPOLAM 2017). S ohledem na zpracovatelnost směsi byla poté pro ostatní lepidla zvolena koncentrace fluorochromů 2,5 hm. %.

Vzhledem k tomu, že polyuretanové lepidlo KESTOPUR 1030 je jednosložkové polyuretanové lepidlo, nebylo možné ponechat rozpouštědlo z lepidla vytékat ve vakuové sušárně 25°C při tlaku 20kPa. Směsi lepidla a rozpouštědla se zanesenými fluorochromy (2,5 hm. %) proto byly ihned oboustranně nanесeny na dřevo a zalisovány tlakem 0,8 MPa po dobu 24 hod. Protože by DMF mohlo výrazně ovlivnit molekulovou hmotnost lepidla nebo viskozitu, a tím ovlivnit chování lepidla, byly navíc vyrobeny vzorky s použitím chloroformu vzhledem k jeho lepší vypařovací schopnosti (těkavosti). Přesto bylo pro polyuretanové lepidlo použito obou rozpouštědel (DMF, chloroform). Pro lepidla PRF 1711 a MUF 1247 bylo stejně jako pro ostatní lepidla použito rozpouštědlo DMF. Fluorochromy byly přes tento roztok vneseny do lepidel opět v množství 2,5 hm. %, a tyto směsi byly 12 hodin vloženy do vakuové sušárny při teplotě 25°C při tlaku 20kPa. Druhý den následovalo přidání tvrdidel, pro PRF bylo přidáno tvrdidlo v poměru 100:15 a pro MUF v poměru 100:20 (lepidlo:tvrdidlo) dle doporučení výrobců lepidel. Tyto směsi byly oboustranně nanесeny na dřevo (250 g/m^2) a zalepeny stejným způsobem jako předešlé slepence.

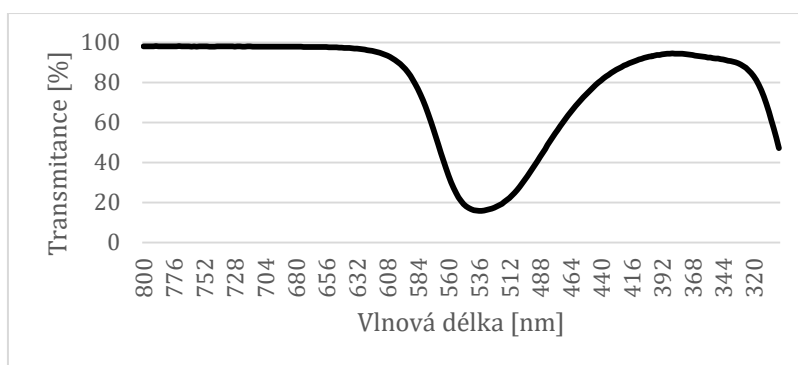
Příprava mikroskopických preparátů

Vzorky byly ze zalepených slepenců nařezány tak, aby dosahovaly na příčném řezu rozměrů přibližně $5 \times 5 \text{ mm}$ a aby celým vzorkem procházela lepená spára. Takto přichystané vzorky byly vloženy do Petriho misek, kde došlo k jejich změkčení před nařezáním mikrotomem. Změkčení bylo provedeno zalitím vzorků směsí acetonu a glycerinu v poměru 1:3. V tomto roztoku byly vzorky ponechány po 24 hodin. Jakmile byly vzorky změkčené, došlo k jejich nařezání na rotačním mikrotomu (Reichert) s ocelovým břitem. Na rotačním mikrotomu byl nastaven posun mechanismu na $10 \mu\text{m}$. Vzorek se postupně strhával v tenkých řezech na ostří mikrotomu, odkud byly vzorky pinzetou odebírány a umístovány na podložní sklíčko mikroskopu. Takto připravené vzorky byly zakápnuty vodou a překryty krycím sklíčkem. Po tomto postupu bylo možné přejít k zobrazování lepených spár. Postup byl pro všechny preparáty

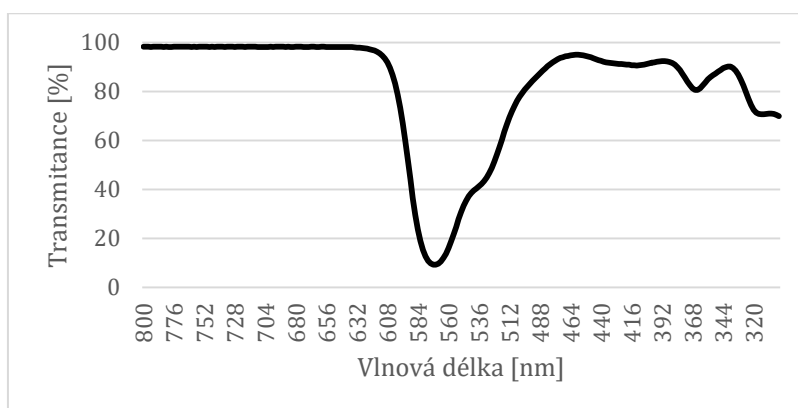
několikrát opakován, dokud nebylo dosaženo stržení ucházejícího vzorku, který byl pro další vyhodnocování vypovídající.

UV/VIS spektroskopie

Spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti patří mezi analytické metody, jež se řadí mezi elektromagnetické spektroskopické metody. Principem této analýzy je absorpce elektromagnetického záření molekulami vzorku v intervalu 200–800 nm. Byly analyzovány vodné roztoky obou fluorochromů, které byly postupně do přístroje umisťovány v kyvetě. Z výsledků měření je absorpční maximum fluorochromu Rhodamin B je v okolí 572 nm ($T = 9,25\%$) a absorpční maximum fluorochromu Safranin O je v okolí 536 nm ($T = 15,84\%$). S ohledem na tyto výsledky byly snímány všechny zalepené vzorky při obdobných vlnových délkách excitovaného záření, a to v okolí hodnot absorpčních maxim vodných roztoků fluorochromů.



Graf 1: Absorpční spektrum vodného roztoku Safraninu O s absorpčním maximem okolo 536 nm.



Graf 2: Absorpční spektrum vodného roztoku Rhodaminu B s absorpčním maximem okolo 572 nm.

7.2.2. TEM analýza

Vzhledem k tomu, že buněčná stěna dřeva a použitá lepidla vykazují stejné hodnoty útlumu záření, je jejich diferenciaci v buněčné stěně dřeva nemožná. Proto bylo pro TEM analýzu zapotřebí přidat do lepidel částice, a to buď částice s vyšší atomovou hmotností, jež by mohly pomoci k jejich detekci v buněčné stěně dřeva; nebo částice umožňující zobrazení jejich morfologie. Toho bylo dosaženo přidáním nanočástic vápence CaCO_3 , jejichž případná distribuce ve struktuře buněčné stěny může přiblížit migraci lepidla ve struktuře dřeva. Bylo použito nanoplnivo CaCO_3 (NPCC-201 fy. Nanomaterials Technology Pte Ltd., Singapore). TEM analýza byla provedena pod vedením MVDr. Pavla Kulicha, Ph.D. na výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně.

Zalepení slepenců dřeva

Dispergace nanočástic CaCO_3 byla provedena ultrazvukem pomocí přístroje Bandelin Sonopuls HD 3200 s připojenou sondou KE 76 s nastavením amplitudy 40 %. Nanočástice byly přidávány v množství 4 hm. % v podobě prášku přímo do lepidla. Teplota epoxidových a MUF a PRF lepidel byla udržována na hodnotě 60 °C. Dispergace nanočástic byla prováděna v 6 cyklech složených z 30 s ultrazvukového působení a 30 s chlazení sondy, kdy byly vzorky umístěny zpět na plotnu k temperování na příslušnou teplotu. Po ukončení cyklů dispergování nanočástic do dvousložkových lepidel došlo k jejich rozmíchání s příslušnými tvrdidly. Co se PUR lepidla týče, dispergace proběhla stejným způsobem jako u předešlých lepidel, pouze bez jeho temperování na 60 °C.



Obrázek 29: Bandelin Sonopuls HD 3200 s připojenou sondou.

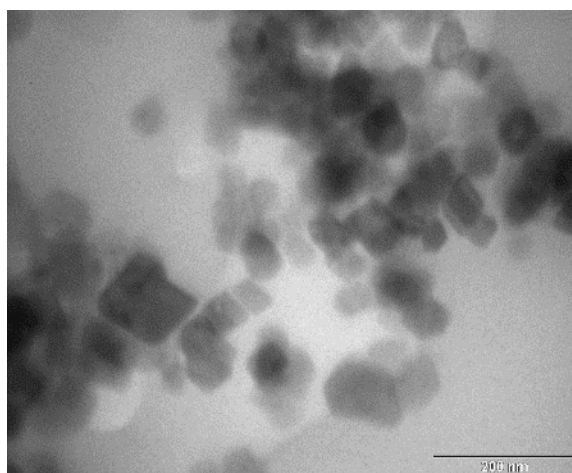
Příprava vzorků na transmisní elektronovou mikroskopii

Ze zalepených vzorků s přidavkem nanočástic CaCO_3 byly vyrobeny vzorky pro TEM analýzu. Vzorky byly nařezány skalpelem s průřezem přibližně 1×1 mm a délkou 5 mm tak, aby

celým vzorkem procházela lepená spára. Preparáty byly ze vzorků nařezány pomocí ultramikrotomu s použitím skleněného nože. Nejprve byly preparáty nařezány po jejich zmrazení v tekutém dusíku. To však způsobilo trhání struktury dřeva při provádění řezů. Z důvodu zkvalitnění úpravy vzorků bylo zapotřebí jejich zafixování do nízkoviskozní pryskyřice. Bylo tedy provedeno zalití do *SPURR* pryskyřice následujícím způsobem. Nejprve byly malé vzorky vloženy do silikonových nosičů, do nichž byl v poměru 1:1 přidán roztok 96% acetonu a epoxidové pryskyřice *SPURR*. Po 24 hodinách byla přidána pryskyřice tak, aby byl poměr roztoku aceton:epoxid 1:2. Následovalo ponechání vzorků v laboratorních podmínkách k vytěkání acetonu. Poté byly jednotlivé komory s vloženými vzorky dřeva zality epoxidovou pryskyřicí *SPURR* po okraj a nosiče byly vystaveny teplotě 60 °C, k vytvrzení pryskyřice. Po vytvrzení pryskyřice byly zalité vzorky připraveny pro jejich nařezání na ultramikrotomu, odkud preparáty padaly do destilované vody. Poté byly preparáty vytaženy a umístěny na sítko určené pro TEM analýzu.



Obrázek 30: Vzorky dřeva zalité do pyramidální tvaru ve *SPURR* pryskyřici pro následnou úpravu.



Obrázek 31: TEM snímek nanočástic CaCO₃, foto P.Kulich, VRI Brno.

7.2.3. SEM a EDX analýza

Na základě provedené rešerše byl pro SEM a EDX analýzu zvolen postup zakomponování elementárního jódu a nanočástic CaCO₃ do matrice lepidla. Ačkoli pomocí skenovací elektronové mikroskopie nelze usuzovat na přítomnost lepidla v buněčné stěně dřeva, přidáním vhodné látky lze EDX prvkovou analýzou zobrazit distribuci lepidla ve struktuře dřeva. Výstupem je snímek prvkového zastoupení, která zobrazí distribuci záměrně přidané látky v průřezu struktury dřeva. SEM a EDX analýza byla provedena na elektronovém mikroskopu nacházejícím se ve výzkumném centru AdMaS v Brně.

A) NanoCaCO₃

Nejprve bylo zapotřebí experimentálně zjistit množství nanočástic, jež jsou pomocí SEM/EDX prvkové analýzy detekovatelné. Z toho důvodu byly nanočástice CaCO₃ byly nejprve vmíšeny do epoxidové pryskyřice, s postupným přidáváním 5, 10, 20, 30 a 40 hm. % zmíněných nanočástic. Nanočástice byly dispergovány pomocí přístroje Bandelin Sonopuls HD 3200 po 6 cyklech sestávajících z 30 s dispergování a 30 s temperování na 60 °C. Ačkoli zvýšený přídavek nanoCaCO₃ eliminoval šum, který byl při snímání zaznamenáván, všechna množství nad 10 hm. % (včetně) výrazně ovlivnila viskozitu směsi, a tím byly značně ovlivněny tokové vlastnosti lepidla. Tímto výrazným negativním ovlivněním vlastností pryskyřice byla také výrazně ovlivněna schopnost pryskyřice proniknout do struktury dřeva. Ze snímku dispergovaných nanočástic CaCO₃ pořízených pomocí SEM a EDX analýzy je patrné jejich shlukování (viz. obr. č. 32). Dále byly stejným způsobem připraveny směsi s nanoCaCO₃ pro lepení slepenců smrkového dřeva.

B) Jód

Na začátku bylo přistoupeno k vmísení jódu do epoxidové pryskyřice. Jód byl do všech lepidel přidáván v koncentraci 4 % z hmotnosti lepidla. Pro zakomponování jódu do matrice pryskyřic bylo zapotřebí použít vhodné rozpouštědlo, jež bylo vybráno na základě tabulky Hansen parametrů. Pro epoxidové, MUF a PUR lepidlo bylo použito rozpouštědlo chloroform a pro PRF byl použit metylalkohol. Byla zvolena 25% koncentrace roztoku rozpouštědla a přidaného jódu. Tento roztok pak byl vmísen do příslušného množství lepidla. Na 10 gramů lepidla to tedy znamená 0,4 g elementárního jódu smíchaného s 1,2 g chloroformu (respektive metanolu). Ve výše zmíněných rozpouštědlech však nedošlo k úplnému rozpuštění elementárního jódu, nejspíše vlivem malé intenzity míchání a rychlému těkání chloroformu, což mohlo být příčinou sedimentace jódu u všech použitých lepidel.

Vzhledem k sedimentaci u výše uvedených rozpouštědel byl postup opakován pro epoxidové a PUR lepidlo s tím rozdílem, že bylo použito rozpouštědlo N,N-dimethylformamid (DMF). Pro obě lepidla bylo opět vmíšeno 0,4 g do 1,2 g DMF. V tomto rozpouštědle byla rozpustnost jódu znatelně lepší, všechny přidané částice jódu se dokonale rozpustily. Následovalo vmísení roztoku do lepidel. U dvousložkové epoxidové pryskyřice došlo k přidání tvrdidla bez ponechání vytékání rozpouštědla a v dalším případě byla směs s rozpouštědlem ponechána po 2 hodiny v laboratorních podmínkách k částečnému vytékání rozpouštědla (poté bylo přidáno tvrdidlo).

Při snímání takto zalepených vzorků však vyšlo najevo, že zmíněné **4 hm. % jódu** v lepidle **byly nedostatečné**, a nebylo možné provést prokazatelnou EDX prvkovou analýzu. Vzhledem k nízké koncentraci jódu přístroj zaznamenával vysokou úroveň šumu skrze celý vzorek. Z analýzy tak nebylo možné prokazatelně rozlišit, zdali se jedná o signál, jež by potvrdil přítomnost jódu, nebo pouze o šum měření.

Vzhledem k těmto výsledkům následovala příprava epoxidového lepidla s použitím přidávaného jódu v 10 hm. % a 30 hm. %. Aby bylo dosaženo 25% koncentrace roztoku jódu a rozpouštědla, bylo by zapotřebí použít vysokého množství DMF. To vedlo k experimentálnímu určení minimálního množství rozpouštědla DMF potřebného k rozpuštění daného množství jódu. Takto byla na rozdíl od 25% koncentrace zvolena cca 70 % jódu v DMF rozpouštědle, aby bylo umožněno vytékání složky rozpouštědla v lepidle.

Bylo ověřeno, že kvantitativní vyhodnocení EDX analýzou koresponduje s hodnotami přidaného I₂ do epoxidového lepidla, výsledky analýz jsou uvedeny v tabulce č. 2 a 3, ačkoli ve vzorku se zamýšleným přídatkem 30 % I₂ se ve skutečnosti nachází 22,63 % I₂.

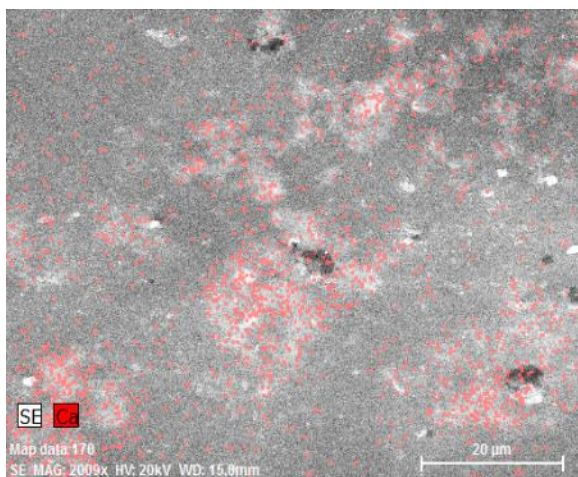
Tabulka 2: Kvantitativní vyhodnocení EDX analýzy vzorku s přídatkem 10 % I₂:

Spectrum	C	O	Cl	Au	I
Objects 40	70,7	16,6	1,5	1,9	9,2
Objects 41	70,3	15,9	1,3	1,7	10,6
Objects 42	70,3	16,0	1,4	1,5	10,7
Objects 43	70,1	16,5	1,5	1,8	10,1
Střední hodnota:	70,4	16,3	1,4	1,7	10,1

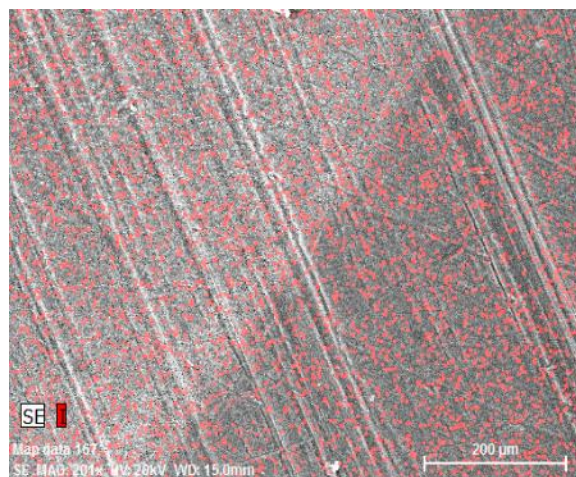
Tabulka 3: Kvantitativní vyhodnocení EDX analýzy vzorku s přídatkem 30 % I₂:

Spectrum	C	O	Cl	Au	I
Objects 40	60,3	14,4	0,9	1,5	22,9
Objects 41	61,2	14,6	1,1	1,7	21,4
Objects 42	59,6	14,7	0,9	1,8	23,1
Objects 43	59,8	14,4	1,1	1,6	23,1
Střední hodnota:	60,2	14,5	1,0	1,6	22,6

Všechny směsi s 4 hm. %, 10 hm. % a 30 hm. % podílem jódu v epoxidovém lepidle byly naneseny na smrkové i na bukové dřevo a následně byly zalisovány. U těchto vzorků pak byla prováděna EDX analýza. Z hlediska rozložení elementárního jódu v lepidle, jenž byl do lepidla vmísen ve formě roztoku, bylo plošnou analýzou zjištěno, že jód nevykazuje znaky aglomerace (viz. obr. č. 33), na rozdíl od disperzní směsi CaCO₃ a epoxidové pryskyřice.



Obrázek 32: Kombinace SEM a EDX snímku epoxidové pryskyřice s přídavkem 5 % CaCO₃, foto J. Klíma.



Obrázek 33: Kombinace SEM a EDX snímku epoxidové pryskyřice s přídavkem 10 % I₂, foto J. Klíma.

8. Výsledky a vyhodnocení

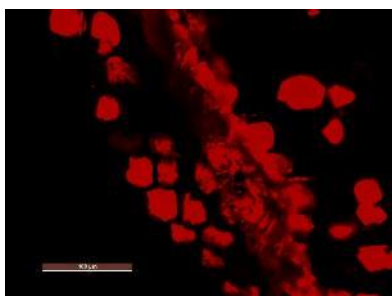
8.1. Fluorescenční mikroskopie

Pro tuto mikroskopickou analýzu byly připraveny vzorky obsahující mezifázové rozhraní lepidlo/dřevo na příčné ploše slepence dřeva, kdy za lepidla byla vybrána lepidla epoxidová (EPOLAM 2017), melamin močovino formaldehydové (MUF 1247), fenol rezorcín formaldehydové (PRF 1711) a lepidlo polyuretanové (KESTOPUR 1030). Fluorochromy byly do lepidel zaneseny přes rozpouštědlo DMF a u polyuretanového lepidla byl navíc jako rozpouštědlo použit chloroform. Všechny vzorky byly jednotně vystaveny zvětšení 100×, 200× a 500× při použití emisního filtru 520 nm. Veškeré zobrazování bylo zaměřeno na oblast lepené spáry a její nejbližší okolí.

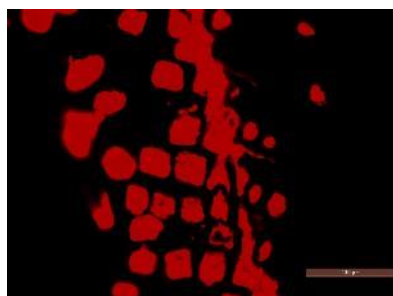
8.1.1. Epoxidové lepidlo

S ohledem na určení potřebné koncentrace fluorochromu v lepidlech byly prováděny různé stupně koncentrace fluorochromů v epoxidovém lepidle. Vzorky byly zalepeny v koncentracích 0,5 hm. %, 2,5 hm. % a 5 hm. % z hmotnosti lepidla.

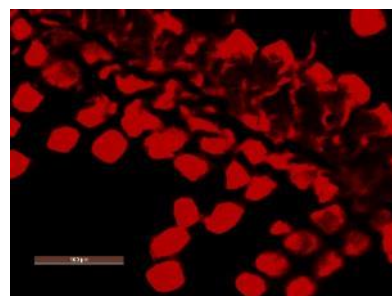
Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 0,5 %, 2,5 % a 5,0 % v lepidle



Obrázek 34: Epoxid Rhodamin B 0,5 %, zvětšení 200×.



Obrázek 35: Epoxid Rhodamin B 2,5 %, zvětšení 200×.

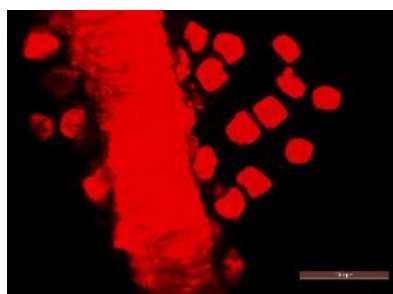


Obrázek 36: Epoxid Rhodamin B, 5 %, zvětšení 200×.

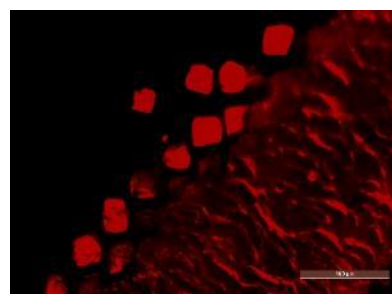
Fluorochrom Safranin O – koncentrace 0,5 %, 2,5 % a 5,0 % v lepidle



Obrázek 37: Epoxid Safranin O 0,5 %, zvětšení 200×.



Obrázek 38: Epoxid Safranin O 2,5 %, zvětšení 200×.



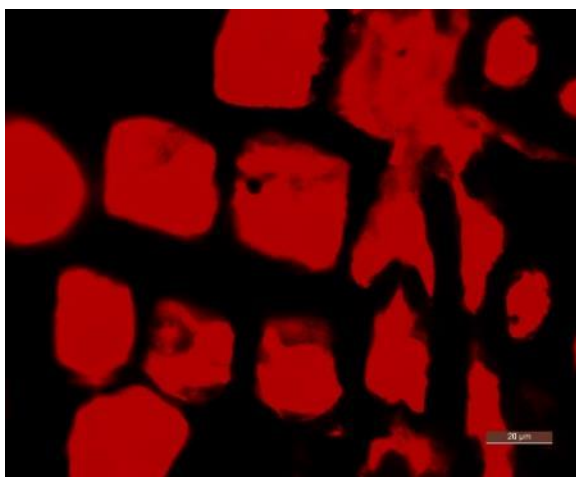
Obrázek 39: Epoxid Safranin O 5 %, zvětšení 200×.

Jak je patrné, rostoucí koncentrace fluorochromu nevykázala zásadní změny, které by ovlivnily pozorování distribuce pryskyřice ve struktuře dřeva a její případný výskyt v buněčné

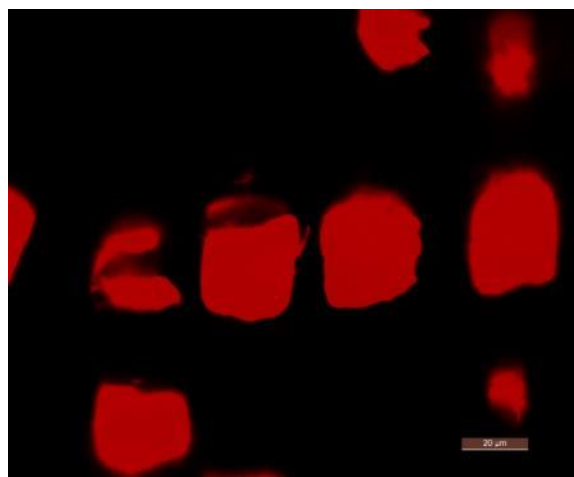
stěně dřeva. Z toho důvodu byla vybrána koncentrace 2,5 hm. %, jež byla použita i pro zalepení vzorků ostatními lepidly.

Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 2,5 % v lepidle

Epoxidová pryskyřice obarvená Rhodaminem B byla prokazatelně pouze v lumenech buněk (viz. obrázky č. 40 a 41). Lumeny buněk obsahující pryskyřici byly od sebe děleny **neprosycenými buněčnými stěnami**, na což můžeme usuzovat z rovných a přímých linií pryskyřice, které přesně kopírovaly tvar lumenů buněk bez sebemenšího proniknutí do buněčné stěny dřeva (mimo mikroprasklinu na obr. č. 41).



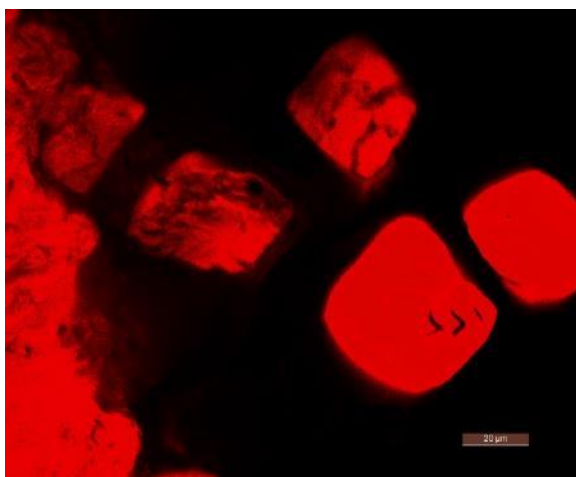
Obrázek 40: Epoxid Rhodamin 2,5 %, zvětšeno 500×.



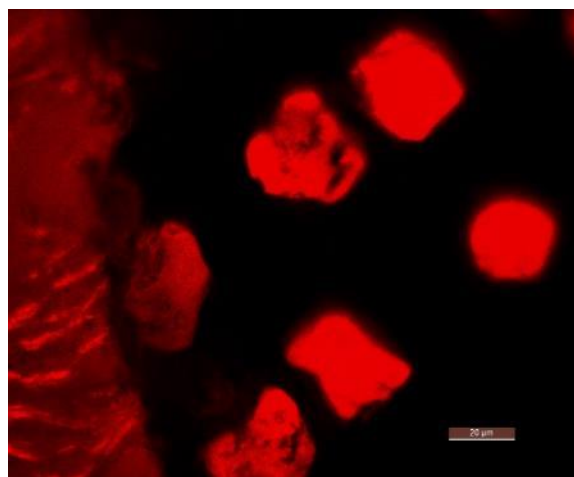
Obrázek 41: Epoxid Rhodamin 2,5 %, zvětšeno 500×.

Fluorochrom Safranin O – koncentrace 2,5 % v lepidle

U vzorků obarvených Safraninem O byly výsledky totožné (viz. obr. č. 42 a 43). Pryskyřice pronikla do struktury dřeva a vyplnila lumeny buněk sousedících s lepenou spárkou, avšak **nebyl potvrzen průnik lepidla do buněčné stěny dřeva**.



Obrázek 42: Epoxid Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.



Obrázek 43: Epoxid Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.

Je třeba zmínit, že preparáty pro zkoumání epoxidového lepidla byly kvalitní a vykazovaly mnohem menší tendence k rozostření obrazu, na rozdíl od preparátů s ostatními lepidly. Nehledě

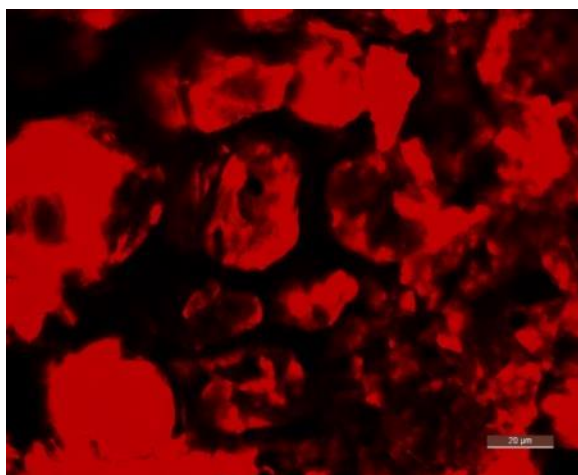
na typ fluorochromu, epoxid dle snímků vyplnil pouze lumeny buněk, aniž by byla jednoznačně prokázána jeho přítomnost v buněčné stěně. Na to můžeme usuzovat z rovných linií, jež kopírují tvar jednotlivých lumenů buněk a mezi jednotlivými lumeny se nachází sytě černé buněčné stěny dřeva.

8.1.2. Polyuretanové lepidlo

Vzhledem k tomu, že použité polyuretanové lepidlo KESTOPUR 1030 je jednosložkové lepidlo a tuhne a tvrdne vlivem vzdušné vlhkosti, nebylo možné před zalepením ponechat vytékat DMF rozpouštědlo, které bylo použito pro zanesení fluorochromů do lepidel. To mohlo způsobit změny vlastností lepidla (zejména viskozitu a tokové vlastnosti), a ovlivnit tak průnik do struktury dřeva. Z toho důvodu byly navíc vyrobeny vzorky s použitím chloroformu jako rozpouštědla, které se vyznačuje lepší odpařovací schopností.

Fluorochrom Rhodamin B, rozpouštědlo DMF – koncentrace 2,5 % v lepidle

Ze vzorků zalepených PUR lepidlem s použitím DMF rozpouštědla nebylo možné připravit kvalitní preparáty, kde by bylo možno přesně stanovit distribuci pryskyřice ve struktuře dřeva. Bylo těžko zaostřit místo, kde by se dalo odvozovat, zdali lepidlo proniklo do struktury buněčné stěny. Přesto se na preparátech nacházelo několik míst, které jasně prokazují, že **PUR lepidlo** s fluorochromem Rhodamin B **prosytilo lumeny buněk** v těsném okolí lepené spáry (1-2 buňky) a **žádná část nepronikla do struktury buněčné stěny** (viz. obr. č. 44 a 45).



Obrázek 44: PUR Rhodamin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.



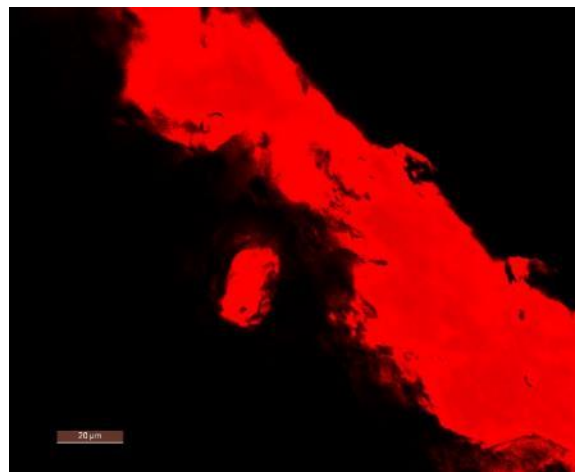
Obrázek 45: PUR Rhodamin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.

Fluorochrom Safranin O, rozpouštědlo DMF – koncentrace 2,5 % v lepidle

U slepenců v kombinaci PUR lepidla s DMF a fluorochromem Safranin O nebylo možné zajistit pevnou lepenou spáru a soudržný mikrotomický preparát a tím pádem nebylo možné zobrazit řádně strukturu dřeva vedle lepené spáry. Ze všech vyrobených preparátů bylo možné nalézt pouze pár lumenů buněk (obr. č. 46 a 47), které byly vyplněny lepidlem, a taková místa ukazovala na to, že **PUR lepidlo nijak neovlivňuje buněčnou stěnu dřeva.**



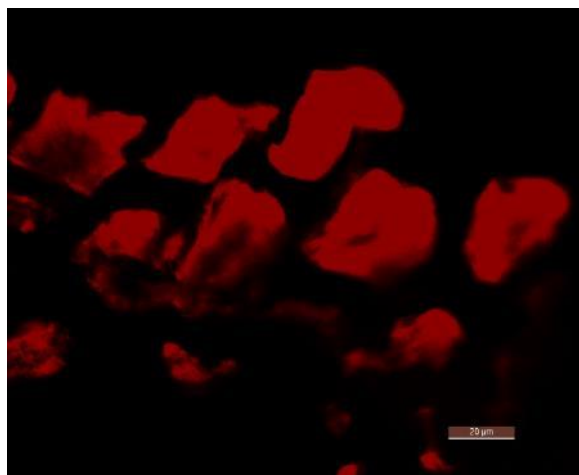
Obrázek 46: PUR Safranin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.



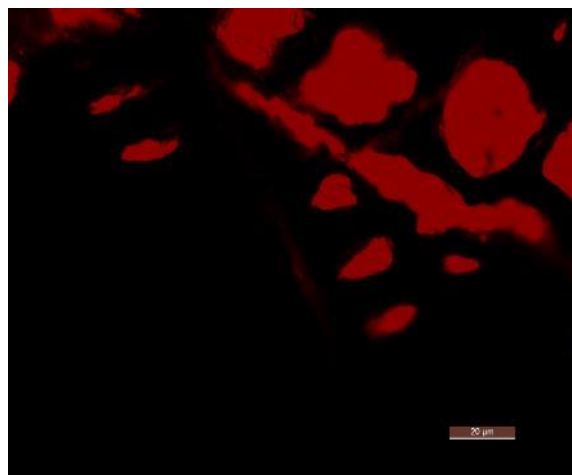
Obrázek 47: PUR Safranin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.

Fluorochrom Rhodamin B, rozpouštědlo chloroform – koncentrace 2,5 % v lepidle

V případě PUR lepidla s použitím chloroformu a Rhodaminu B vykazala lepená spára soudržnost při řezání mikrotomem a nedošlo k oddělení struktury dřeva. Mikroskopicky byla patrná distribuce lepidla ve struktuře dřeva v okolí lepené spáry. **Lepidlo prokazatelně vyplnilo lumeny buněk, aniž by jakkoli zasahovala do struktury buněčné stěny** (viz. obr. č. 48 a 49).



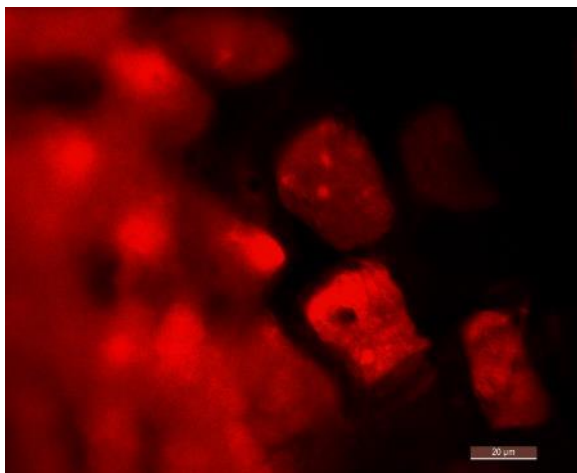
Obrázek 48: PUR Rhodamin 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.



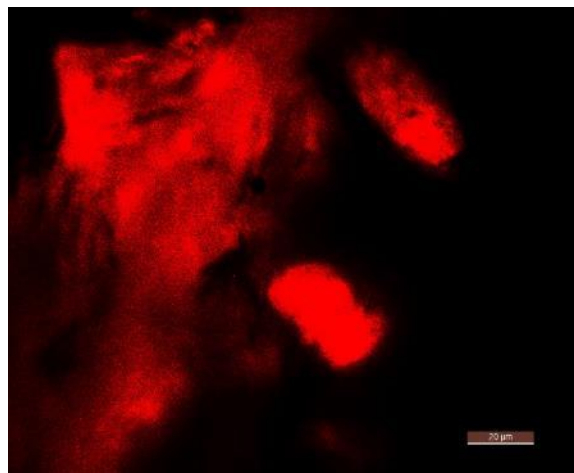
Obrázek 49: PUR Rhodamin 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.

Fluorochrom Safranin O, rozpouštědlo chloroform – koncentrace 2,5 % v lepidle

U preparátů zalepených s použitím chloroformu a Safraninu O se lepená spára na jedné straně odtrhla od struktury dřeva, čímž se výrazně omezila možnost prozkoumat distribuci lepené spáry ve dřevě. Přesto preparát obsahoval několik málo míst, kde byly jasně vyplněny lumény buněk **bez jakéhokoli viditelného ovlivnění struktury buněčné stěny** (viz. obr. č. 50 a 51).



Obrázek 50: PUR Safranin O 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.



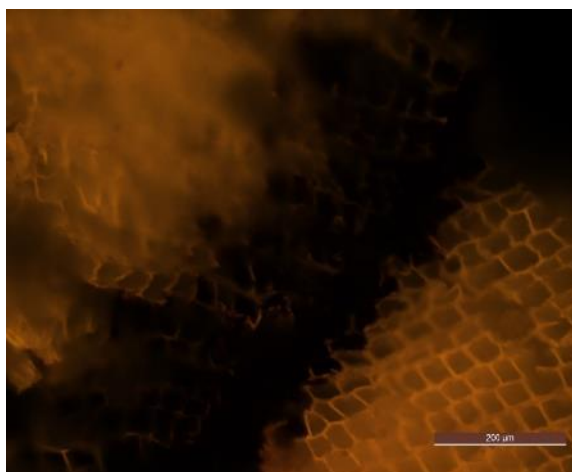
Obrázek 51: PUR Safranin O 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.

8.1.3. Fenol-rezorcín-formaldehydové lepidlo

Do lepidla PRF byly fluorochromy zaneseny přes rozpouštědlo DMF opět v koncentraci 2,5 hm. % ze směsi lepidla. Při přípravě preparátů se struktura dřeva odtrhávala od lepené spáry. Zatímco **Safranin O** v lepidle **emitoval** dostatečné záření, **Rhodamin B** byl v lepidle pomocí fluorescenční mikroskopie **nedetekovatelný** z důvodu zhášení záření lepidlem.

Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 2,5 % v lepidle

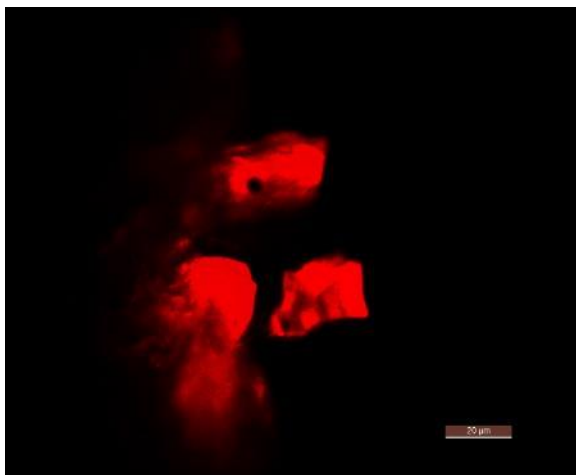
PRF lepidlo mělo tendenci zhášet emisní záření Rhodaminu B tak, že při pořizování snímků bylo zapotřebí nastavit snímání tak, aby struktura dřeva vykazala sekundární fluorescenci, avšak ani **z takto pořízených snímků nelze přesně posoudit distribuci lepidla ve struktuře dřeva**. Vzhledem ke zhášení záření emitovaného Rhodaminem B nebylo možné vytvořit detailní snímky (při zvětšení 500×).



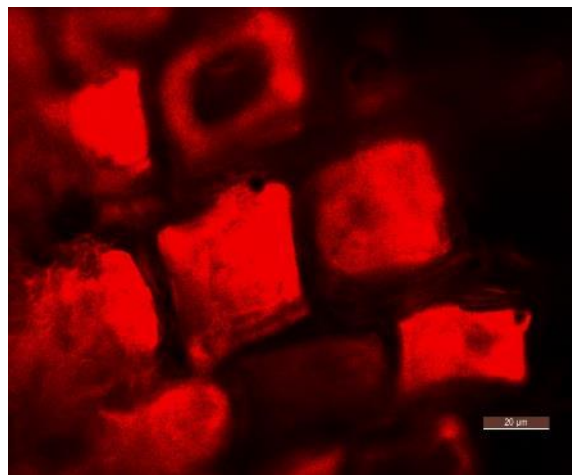
Obrázek 52: PRF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, zvětšeno 200×.

Fluorochrom Safranin O – koncentrace 2,5 % v lepidle

Na rozdíl od vzorků obarvených Rhodaminem B, vzorky obarvené Safraninem O nevykázaly zhášení záření emitovaného fluorochromem. Díky tomu bylo možno vytvořit takové podmínky snímání, že záření emitované strukturou dřeva bylo naprosto potlačeno a bylo možné pozorovat pouze pryskyřici ve struktuře dřeva. Z obrázku č. 53 je patrné, že pryskyřice opět kopíruje tvar lumenů buněk, nicméně na některých mikrosnímcích vykazují **buněčné stěny** znaky případné emise fluorochromu, tzn. **možného prosycení** (viz obr. č. 54).



Obrázek 53: PRF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.

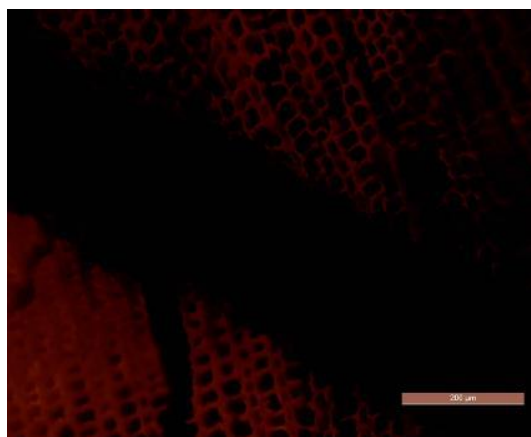


Obrázek 54: PRF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.

8.1.4. Melamin-močovino-formaldehydové lepidlo

Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 2,5 % v lepidle

Preparáty připravované ze vzorků zalepených MUF lepidlem vykázaly u Rhodaminu B stejnou tendenci zhášení, jako tomu bylo u PRF lepidla. Přestože je **MUF** na rozdíl od PRF lepidla bílé, **způsobilo zhášení záření emitovaného Rhodaminem B**. Z toho důvodu byl pořízen pouze snímek při zvětšení 100×, který zobrazuje nízkou sekundární fluorescenci celulózy (viz. obr. č. 55). Na větší rozlišení se optickou mikroskopií v režimu fluorescence nedal pořídit žádný vypovídající snímek. Na tomto snímku lze vidět slabě se vykreslující strukturu dřeva a MUF lepidlo je, stejně jako vzduch obsažený v lumenech buněk, vykreslen černě.



Obrázek 55: MUF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, zvětšeno 100×.

Fluorochrom Safranin O – koncentrace 2,5 % v lepidle

Safranin O opět vykázal dostatečné emitující záření i v MUF lepidle a snímání obrazu mohlo být nastaveno tak, aby nebyla zachytávána žádná informace sekundární fluorescence struktury dřeva a byla zobrazena pouze obarvená pryskyřice (viz. obr. č. 56 a 57). Z těchto snímků je patrné, že **pryskyřice pouze vyplnila lumeny buněk a žádná její frakce nepronikla do struktury buněčné stěny**.



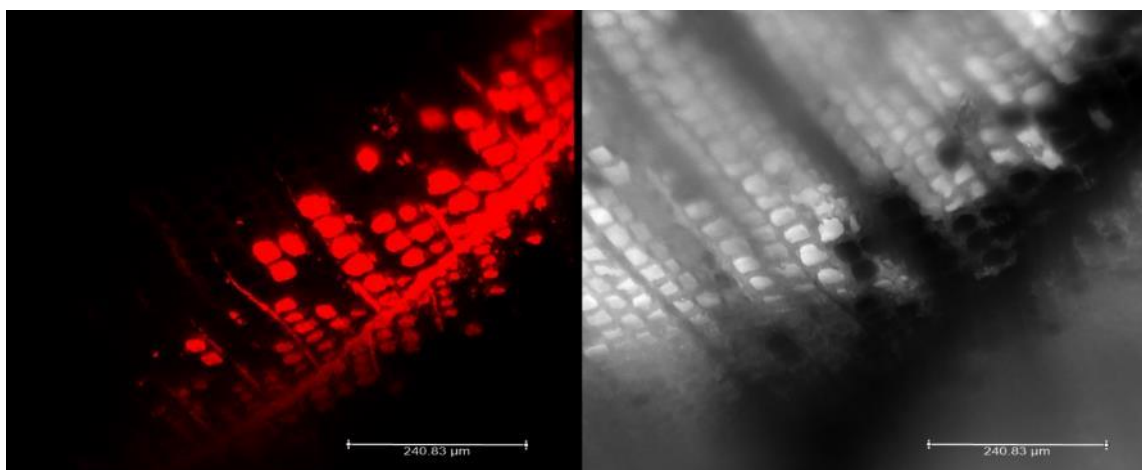
Obrázek 56: MUF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.



Obrázek 57: MUF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.

8.2. Konfokální mikroskopie

Konfokální mikroskopie byla provedena na inverzním konfokálním mikroskopu Leica SP8, který se nachází na VÚVeL v Brně, pod vedením PharmDr. Josefa Maška, Ph.D. Byl použit objektiv se zvětšením 20×, přiblížení míst zájmu pak bylo provedeno digitálně. Vzhledem k digitálnímu přiblížování nelze přesně určit, kolikrát je daný obraz zvětšen. Vzhledem k nastavení přístroje byla přiřazena emisnímu záření fluorochromu Safranin O zelená barva. U konfokální mikroskopie bylo také využito fluorescenčního záření, na které bylo toto pozorování zaměřeno. Výhoda konfokálního mikroskopu spočívala v tom, že namísto klasické výbojky byl k emitujícímu záření použit laser (možnost nastavení rozpětí vlnových délek). Hlavní výhoda konfokálního mikroskopu však spočívala v ostrosti a hloubce zobrazení, kdy pomocí konfokálního mikroskopu byly postupně sesbírány informace z jednotlivých rovin do hloubky 10 μm , které byly poskládány do výsledného snímku. Spolu s pozorováním fluorescenčního záření byl vzorek simultánně snímán v procházejícím světle (viz. obr. č. 58).

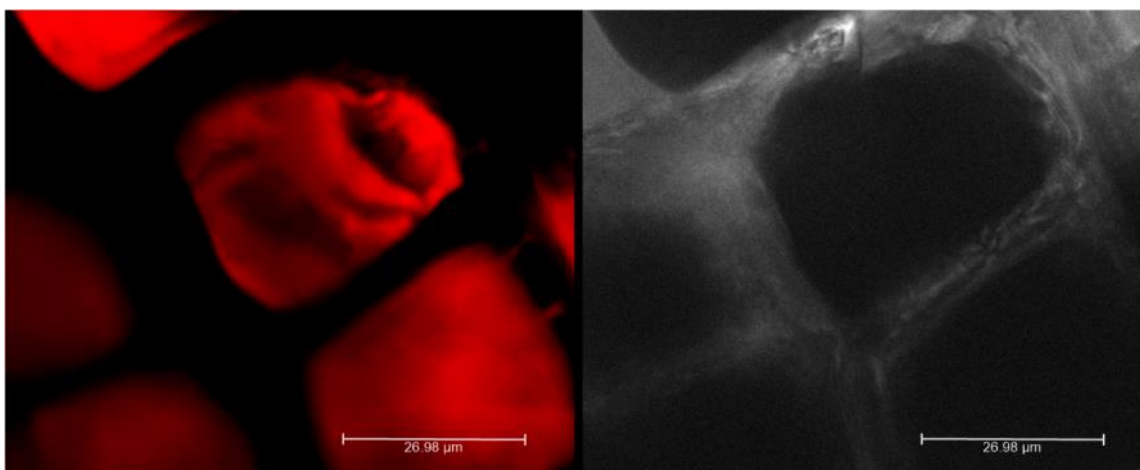


Obrázek 58: Struktura smrkového dřeva v okolí lepené spáry, použito epoxidové lepidlo, vlevo fluorescenční signál fluorochromu Rhodamin B (2,5 %), vpravo vzorek zobrazen v procházejícím světle, foto J. Mašek, VRI Brno.

8.2.1. Epoxidové lepidlo

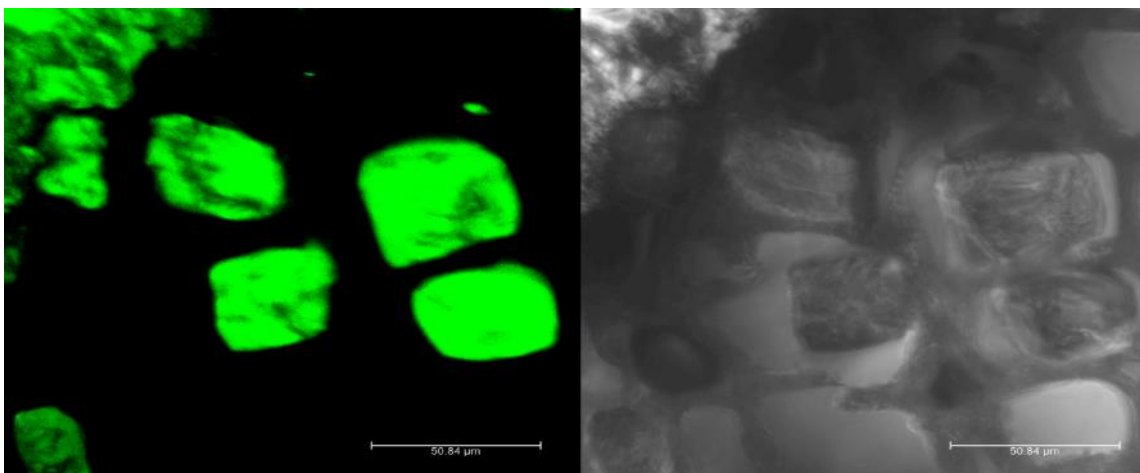
Přes zvýšenou ostrost konfokální mikroskopie a lepšímu detailnímu zobrazení jednotlivých preparátů se výsledky shodovaly s výsledky fluorescenční mikroskopie. Pryskyřice kopíruje lumeny buněk a **buněčné stěny jsou sytě černé, což znamená, že lepidlo neproniklo do její struktury.**

Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 2,5 % v lepidle



Obrázek 59: Epoxidové lepidlo, Rhodamin 2,5 %, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo vzorek zobrazen v procházejícím světle, foto J. Mašek, VRI Brno.

Fluorochrom Safranin O – koncentrace 2,5 % v lepidle



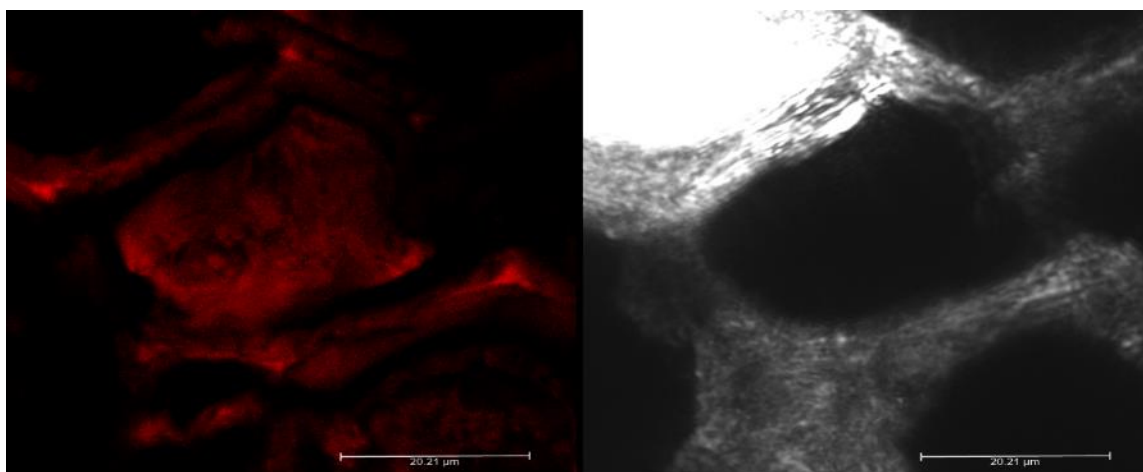
Obrázek 60: Epoxidové lepidlo, Safranin 2,5 %, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo vzorek zobrazen v procházejícím světle, foto J. Mašek, VRI Brno.

Na obrázku č. 60 lze při zobrazení v procházejícím světle vidět odtrženou strukturu dřeva od epoxidové pryskyřice, jež vyplnila lumen buňky. Vzhledem k tomu, že pryskyřice odtržená od buněčných stěn dřeva má hladké hrany kopírující lumen buňky a veškerá struktura dřeva se od ní hladce odtrhla, lze s jistotou potvrdit, že se epoxid nachází pouze v lumenech buněk.

8.2.2. Polyuretanové lepidlo

Fluorochrom Rhodamin B, rozpouštědlo DMF – koncentrace 2,5 % v lepidle

Preparáty připravené ze vzorků zalepených PUR lepidlem obarveném Rhodaminem B v DMF rozpouštědle vykázaly na konfokální mikroskopii odlišnou distribuci na mikrosnímčích než u fluorescenční mikroskopie. Zatímco fluorescenční mikroskopie prokázala pouze vyplnění lumenů a naprosté ztmavení buněčné stěny dřeva, **na konfokální mikroskopii vykázaly fluorescenci i buněčné stěny dřeva** (viz. obr. č. 61). Může se jednat o autofluorescenci dřeva nebo o případný průnik do struktury buněčné stěny dřeva .

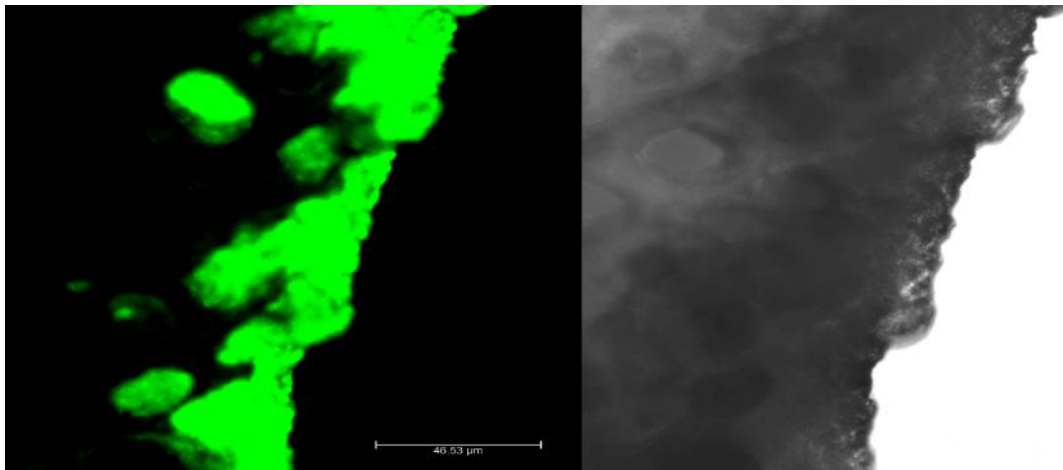


Obrázek 61: PUR lepidlo, Rhodamin 2,5 %, DMF, vlevo fluorescenční záření fluorochromu a buněčné stěny, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.

Na obrázku č. 63 vlevo je detailněji zobrazena fluorescence jak fluorochromu v lumenu buňky, tak fluorescence buněčné stěny dřeva. Dle obrázku fluorescenci vykazuje především oblast střední lamely, a tato oblast je od fluorescence pocházející z lumenu buňky oddělena tmavou částí buněčné stěny dřeva. Z přidaného snímku v procházejícím světle (obr. č. 61 vpravo) jsou buněčné stěny prosvíceny a znatelně světlejší než PUR lepidlo. Tyto fakty indikují, že **vyobrazená fluorescence buněčné stěny je nejspíše autofluorescencí struktury dřeva nebo o průnik do těchto struktur stěny**. Průnik může být způsoben i ovlivněním viskozity a tokových vlastností PUR lepidla z důvodu použití DMF.

Fluorochrom Safranin O, rozpouštědlo DMF – koncentrace 2,5 % v lepidle

Preparáty obarvené Safraninem O s použitím rozpouštědla DMF **vykázaly stejné výsledky**, které byly zjištěny pomocí fluorescenční mikroskopie, a to **neprosycení buněčných stěn**.

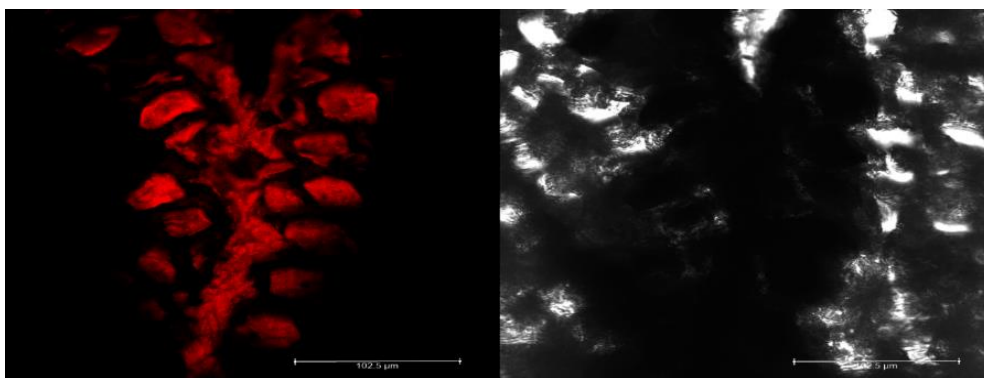


Obrázek 62: PUR lepidlo, Safranin O 2,5 %, DMF, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.

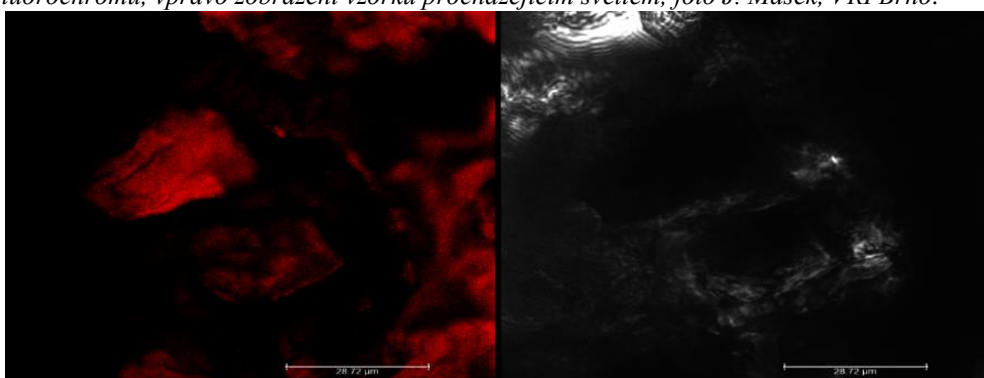
Protože při použití fluorochromu Safraninu O a rozpouštědla DMF buněčné stěny dřeva nevykázaly žádnou emisi fluorescenčního záření, má se za to, že fluorescence buněčných stěn v případě barvení Rhodaminem B za použití DMF byla způsobena nastavením přístroje při snímání těchto vzorků, šlo tedy o autofluorescenci struktury dřeva, nikoliv ovlivněním vlastností lepidla do takové míry, aby proniklo do struktury buněčné stěny dřeva.

Fluorochrom Rhodamin B, rozpouštědlo chloroform – koncentrace 2,5 % v lepidle

Stejně jako u snímků pořízených konfokální mikroskopií vzorků s Rhodaminem B a DMF, vykázaly i snímky se stejným fluorochromem s použitím chloroformu jistou míru emise buněčné stěny dřeva (viz. obr. č. 63). Detailnější snímek (obr. č. 64) pak prokazuje závěry vyvozené z fluorescenční mikroskopie, že **PUR lepidlo vyplní lumeny buněk bez ovlivnění struktury buněčné stěny**.



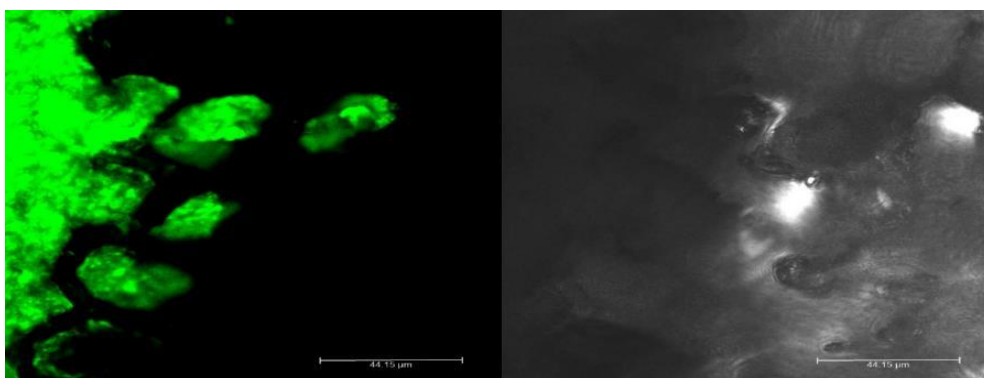
Obrázek 63: PUR lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, chloroform, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.



Obrázek 64: PUR lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, chloroform, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.

Fluorochrom Safranin O, rozpouštědlo chloroform – koncentrace 2,5 % v lepidle

Snímky z konfokální mikroskopie vzorku zalepeného PUR lepidlem s použitím Safraninu O a chloroformu také **potvrdily výsledky fluorescenční mikroskopie** o vyplnění lumenů buněk lepidlem a neprosycení přilehlých buněčných stěn.

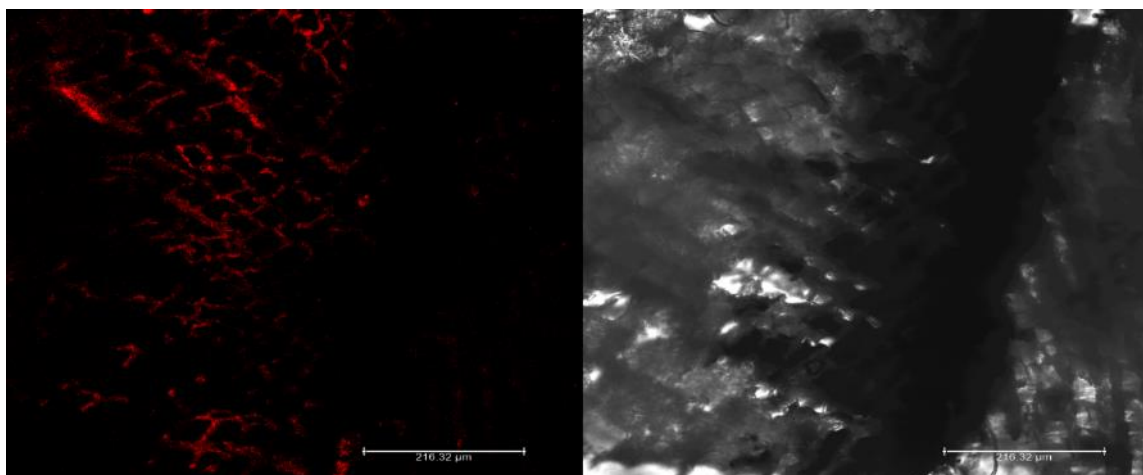


Obrázek 65: PUR lepidlo, Safranin O 2,5 %, chloroform, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.

8.2.3. Fenol-rezorcín-formaldehydové lepidlo

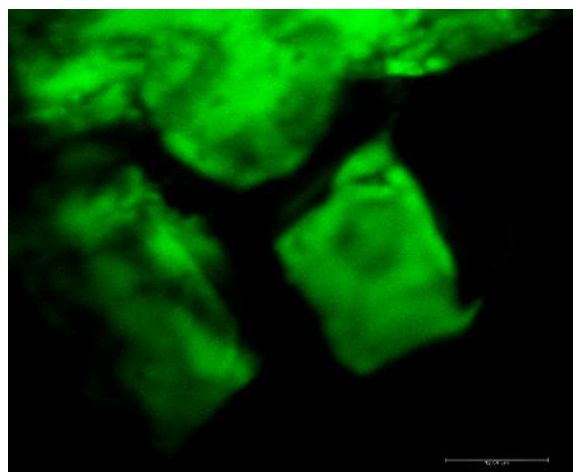
Snímky konfokální mikroskopie potvrdily, že PRF lepidlo vykazovalo zhášení emisního záření Rhodaminu B v lepidle. **Jediné fluorescence**, které u těchto vzorků bylo dosaženo, byla **autofluorescence struktury dřeva**. Preparát obsahující PRF lepidlo s fluorochromem Safranin O prokazuje vyhotoven v dostatečné kvalitě, vzhledem ke snímání bylo posouzeno pouze část spáry, které vykazovalo znaky prosycení pouze lumenu buněk.

Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 2,5 % v lepidle



Obrázek 66: PRF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, vlevo autofluorescence dřeva, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, autor snímku foto J. Mašek, VRI Brno.

Fluorochrom Safranin O – koncentrace 2,5 % v lepidle



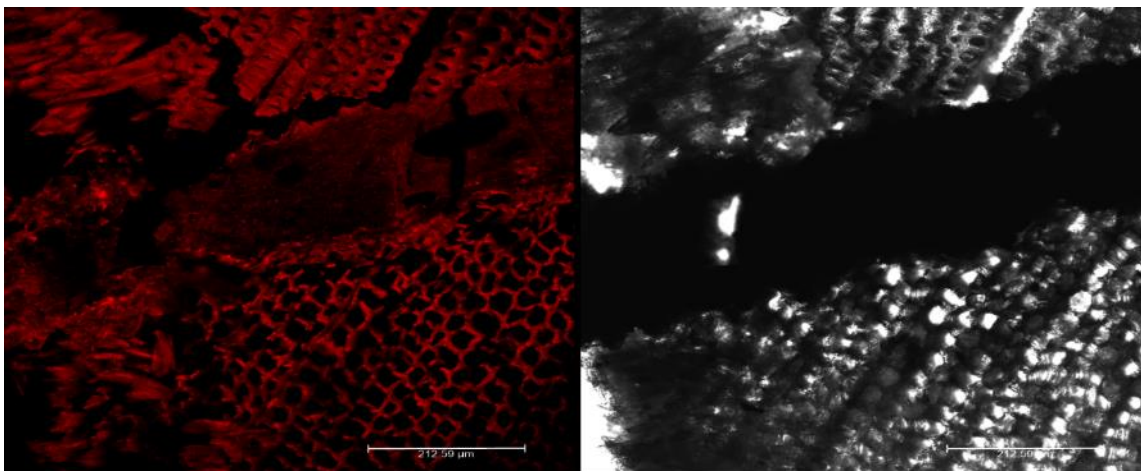
Obrázek 67: PRF lepidlo, Safranin O 2,5 %, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.

8.2.4. Melamin-močovino-formaldehydové lepidlo

Konfokální mikroskopie potvrdila tendenci MUF lepidla zhaset emisní záření fluorochromu Rhodaminu B. Ze snímků vzorků zalepených s použitím Safraninu O bylo

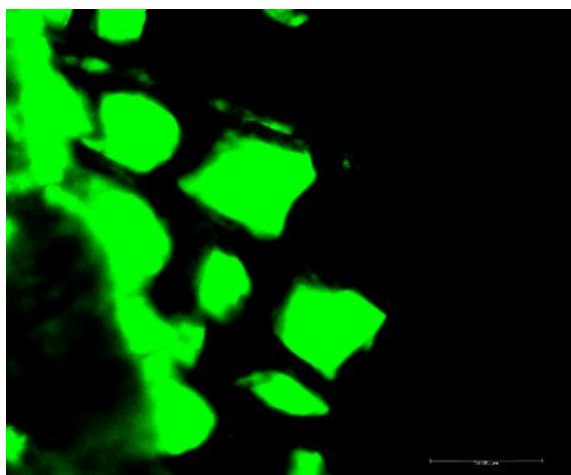
potvrzeno, že MUF lepidlo, stejně jako ostatní lepidla, pouze prosytilo lumény buněk bez proniknutí do buněčné stěny dřeva.

Fluorochrom Rhodamin B – koncentrace 2,5 % v lepidle



Obrázek 68: MUF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, vlevo autofluorescence dřeva, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.

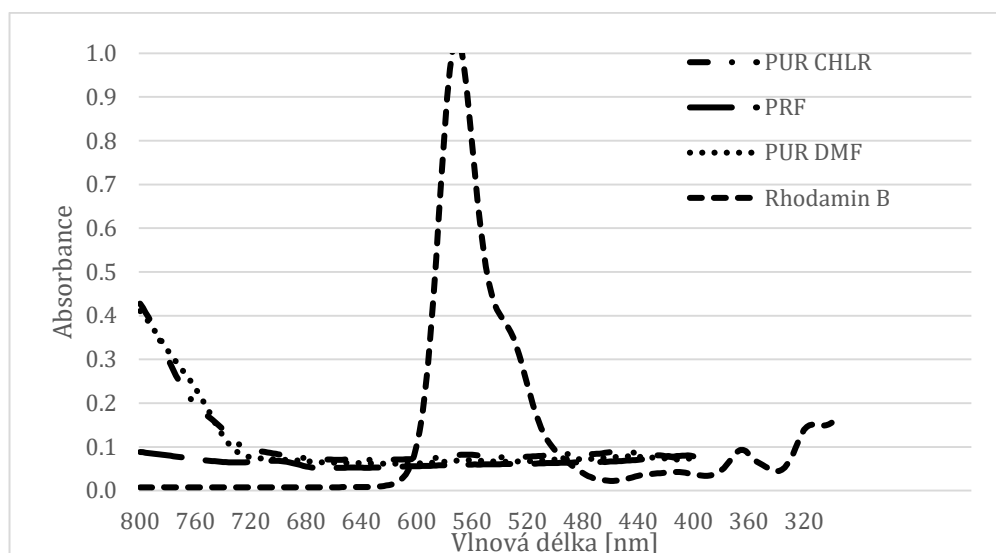
Fluorochrom Safranin O – koncentrace 2,5 % v lepidle



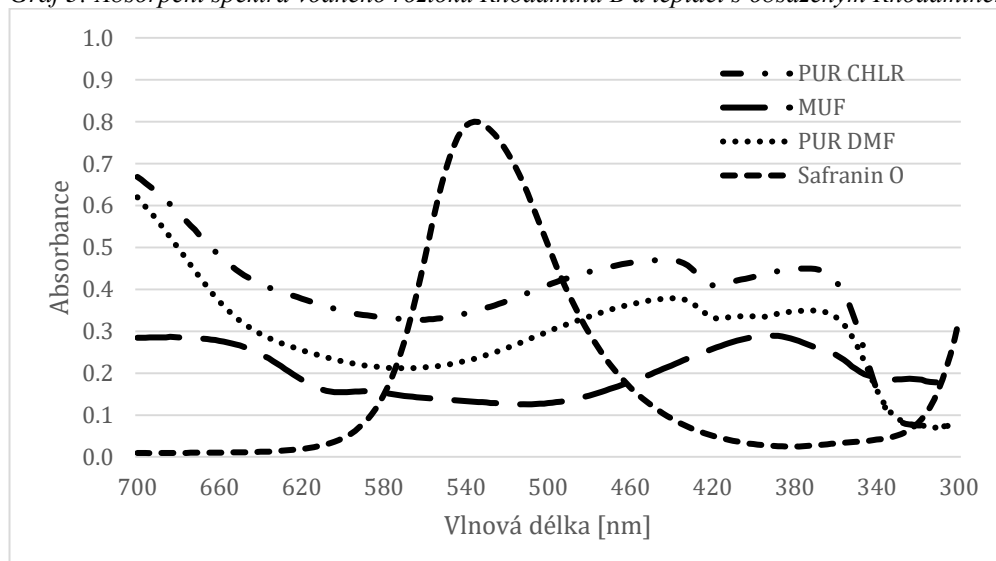
Obrázek 69: MUF lepidlo, Safranin O 2,5 %, fluorescenční záření fluorochromu ve struktuře dřeva, foto J. Mašek, VRI Brno.

UV-VIS Spektroskopie

Pro ověření vlnové délky, na kterých použité fluorochromy emitují záření, byly zkoumány jak vzorky fluorochromu, tak i vzorky lepidel s koncentrací fluorochromu 2,5 hm. %, které byly měřeny pomocí intenzity odraženého záření. Některé vzorky byly ovlivněny fluorochromem a nebylo je možné umístit do přístroje (MUF/Rh, PRF/Sfr, Epoxid/Sfr). Absorpční spektra vzorků lepidel s obsahem fluorochromů jsou znázorněna na následujících grafech, u kterých je patrné, že lepidla PRF a MUF vykazují v UV-VIS spektru minimální pohltivost (absorbanci). Tento jev byl prokázán i na výše provedené fluorescenci, kdy u těchto dvou typů lepidel na aminové bázi nebylo v rozmezí excitovaného světla na přístroji Leica DM4000 M LED vhodný typ filtru pro vyšší vlnové délky. Zejména PRF lepidlo s fluorochromy vykazovaly velmi nízkou hodnotu absorbance v řádech 10%.



Graf 3: Absorpční spektra vodného roztoku Rhodaminu B a lepidel s obsaženým Rhodaminem B.



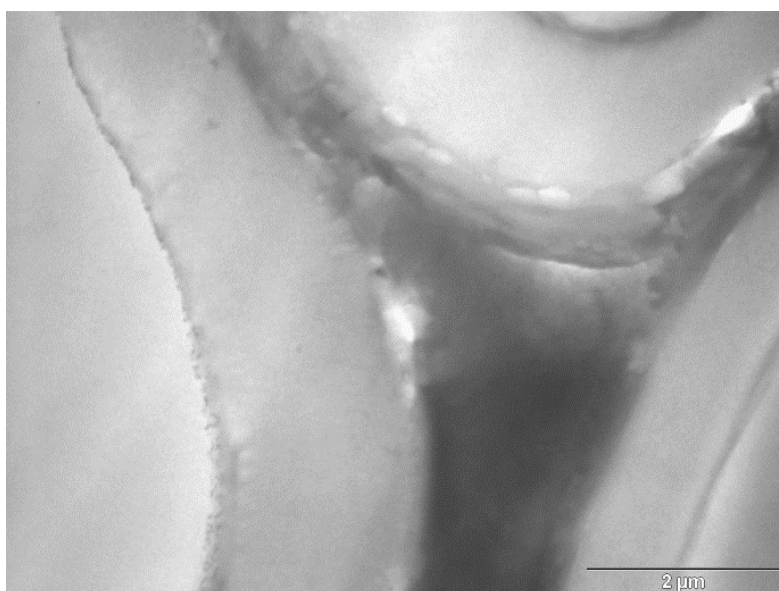
Graf 4: Absorpční spektra vodného roztoku Safraninu O a lepidel s obsaženým Safraninem O.

8.3. TEM analýza

Kvalita výsledných snímků TEM analýzy velmi závisí na přípravě preparátů, které se po vložení na sítko mikroskopu snímají. Nejprve byly snímky snímány po seřezání na ultramikrotomu po zmrazení povrchu dřeva tekutým dusíkem. To vedlo k trhání většiny preparátů, což se odrazilo na kvalitě získaných snímků. Proto bylo přistoupeno na zafixování vzorků do *SPURR* pryskyřice a přípravě ultra-mikrotomických řezů pro následnou TEM analýzu. Vybrané snímky pro jednotlivá lepidla pak odhalily distribuci rozmíšených nanočástic CaCO_3 .

8.3.1. Epoxidové lepidlo

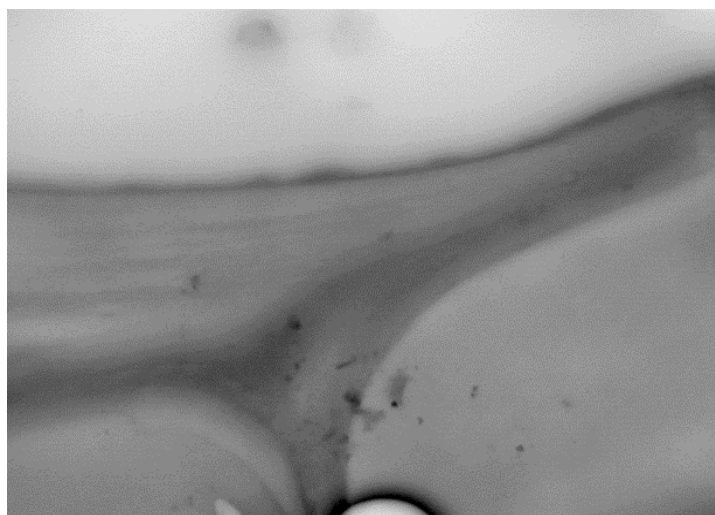
Na TEM snímku epoxidového lepidla je patrné, že dispergované **nanočástice CaCO_3 byly při migraci lepidla strukturou dřeva zachyceny na rozhraní lumenu buňky a buněčné stěny dřeva**. Toto je v kombinaci s výsledky z fluorescenční a konfokální mikroskopie jasný důkaz toho, že EPOLAM 2017, ani žádná jeho frakce, **neproniká do buněčné stěny dřeva**.



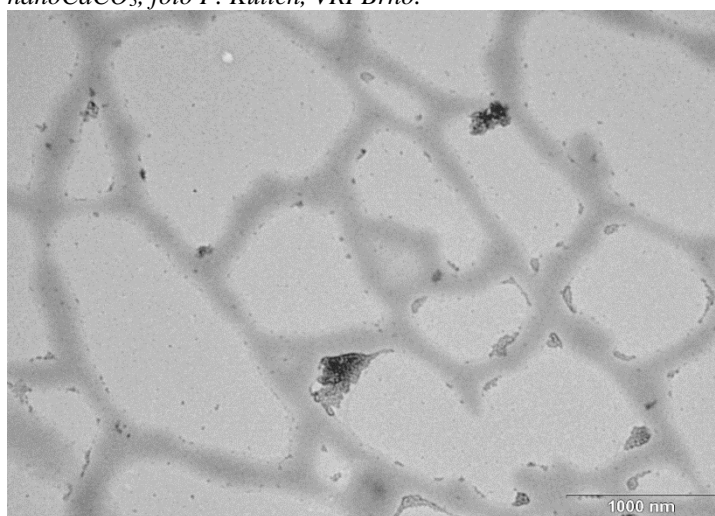
Obrázek 70: TEM snímek epoxidového lepidla s 4 % nanočástic CaCO_3 , foto P. Kulich, VRI Brno.

8.3.2. Polyuretanové lepidlo

Navzdory závěrům usuzovaných z fluorescenční a konfokální mikroskopie, TEM snímky polyuretanového lepidla s dispergovanými nanočásticemi vykazují znaky, že nanočástice CaCO_3 se nacházejí ve struktuře buněčné stěny. Z toho můžeme usuzovat **na částečné difundování PUR lepidla do buněčné stěny dřeva**. Zatímco na obr. č. 72 je patrné, že nanočástice kopírují některé lumény buněk, lze na tomto snímku nalézt několik míst, ve kterých se nachází buněčná stěna s obsahem dispergovaných nanočástic. Z obr. č. 71 lze také usuzovat na proniknutí PUR lepidla do buněčné stěny. Na tomto snímku je viditelný obsah nanočástic v buněčné stěně dřeva v místě křížení buněčných stěn. V takových místech je pouze málo pravděpodobné, že by se zde nacházela tečka, kterou by lepidlo do buněčné stěny proniklo, můžeme tedy usuzovat na difundování PUR lepidla skrze strukturu buněčné stěny.



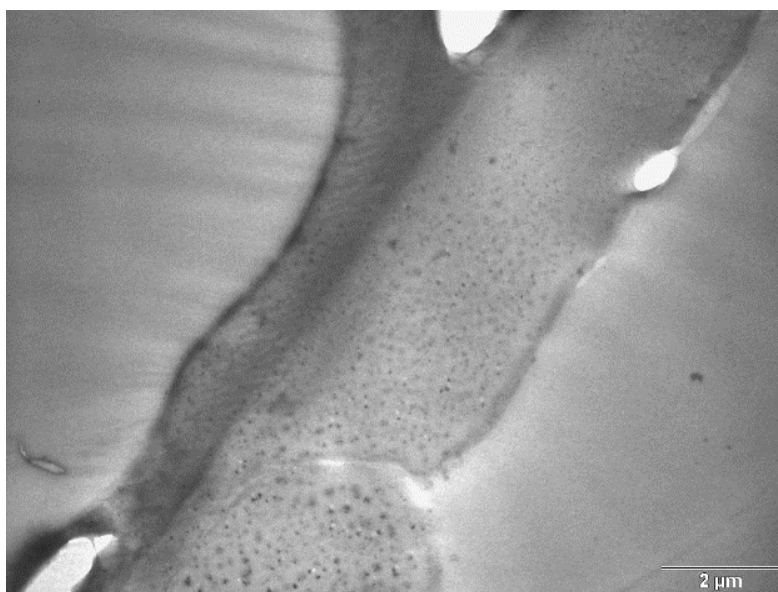
Obrázek 71: TEM snímek vzorku s PUR lepidlem a 4 % nano CaCO_3 , foto P. Kulich, VRI Brno.



Obrázek 72: TEM snímek zobrazující distribuci nanočástic CaCO_3 nesených PRF lepidlem (4 % přídavek v lepidle), foto P. Kulich, VRI Brno

8.3.3. Fenol-rezorcín-formaldehydové lepidlo

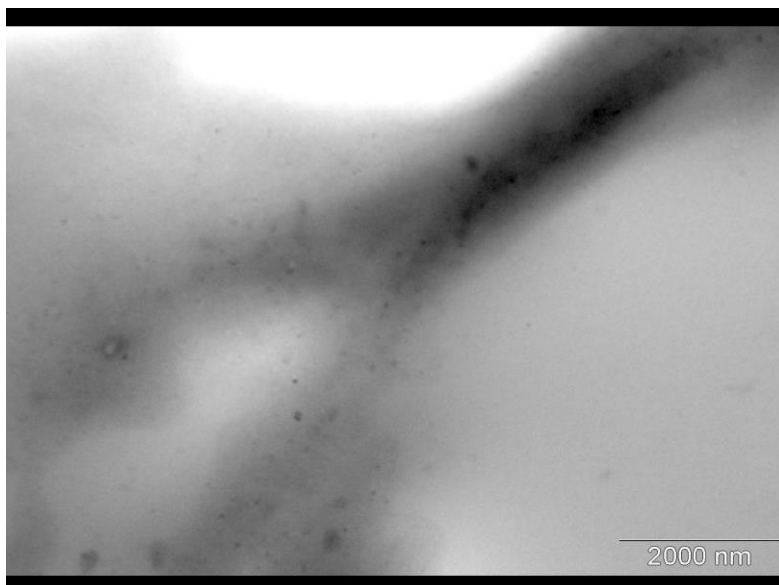
Navzdory výsledkům měření torzních momentů, kde PRF lepidlo dosahovalo nejvyšších hodnot, z čehož lze usuzovat také na největší viskozitu z použitých lepidel, je z TEM snímku zcela očividné, že **PRF prosytilo buněčnou stěnu dřeva**. PRF nejenže proniklo do sekundární buněčné stěny, ale prosytilo i oblast střední lamely, na což můžeme usuzovat z distribuce nanočástic CaCO_3 , jež jsou rovnoměrně rozprostřeny skrze celý průřez buněčné stěny dřeva. Je však zajímavé, že zatímco buněčná stěna jasně obsahuje dispergované nanočástice, jejich množství v pryskyřici, která se nachází v lumenech buněk, je značně omezená.



Obrázek 73: TEM snímek buněčné stěny s obsahem nanočástic rozmíslených v PRF lepidle, foto P. Kulich, VRI Brno.

8.3.4. Melamin-močovino-formaldehydové lepidlo

TEM snímky MUF lepidla s dispergovanými nanočásticemi ukazují na to, že jsou nanočástice přítomny ve struktuře buněčné stěny dřeva. To ukazuje na **difundování frakce MUF lepidla do buněčné stěny dřeva**, stejně jako u PRF lepidla. To potvrzuje schopnost MUF pryskyřice pronikat do struktury buněčné stěny dřeva, která byla prokázána v jiných studiích.

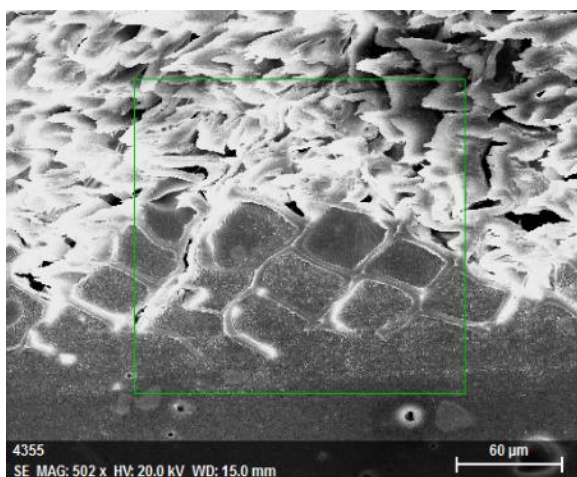


Obrázek 74: TEM snímek prosvícené buněčné stěny 4 % nanočástic CaCO_3 v MUF lepidle, foto P. Kulich, VRI Brno.

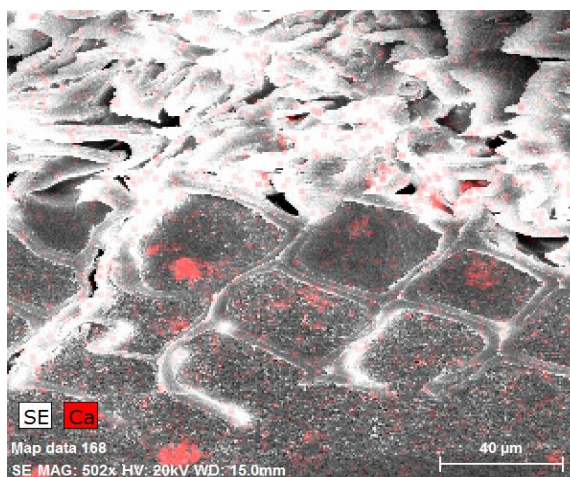
8.4. SEM a EDX analýza

A) NanoCaCO₃

Vzhledem k negativnímu ovlivnění vlastností pryskyřice se zvyšujícím se přidavkem nanočástic byl pomocí SEM a EDX analýzy snímán pouze vzorek s přidavkem 5 hm. %. Pro účely diplomové práce byl vyhodnocován vzorek zalepený epoxidovou pryskyřicí. Vzorek dřeva byl zarovnán skleněným nožem pomocí ultramikrotomu. Namísto zafixování do pryskyřice byl vzorek seřezáván po zmrazení povrchu dřeva tekutým dusíkem. Vzorek obsahoval oblast struktury dřeva (viz. obr. č. 75), kde se nacházela také pryskyřice s dispergovanými částicemi. Na této oblasti byla provedena EDX analýza, která ukázala, že se v jednotlivých lumenech buněk nachází shluky částic CaCO₃. Signál zachycující tyto částice byl pozorován v celém průřezu, avšak ne všechny signály musí jednoznačně náležet nanočásticím CaCO₃, do jisté míry jde o tzv. šum. Že se jedná o nanoCaCO₃ jde s jistotou říci pouze v místech shluků v lumenech buněk (viz. červené tečky na obr. č. 76).



Obrázek 75: SEM snímek zkoumané oblasti na smrkovém dřevě s přidávanými nanočásticemi CaCO₃, zvětšení 500×, foto J. Klíma.

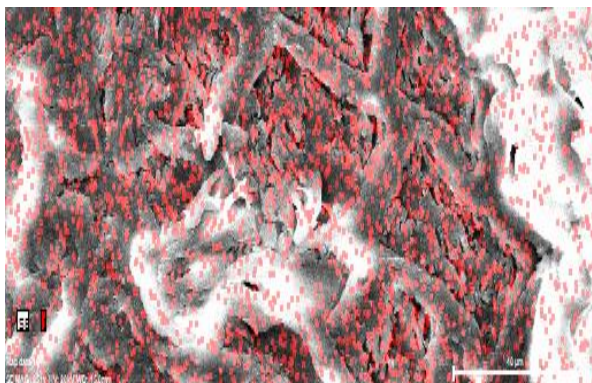


Obrázek 76: Kombinace SEM snímku a EDX prvkové analýzy oblasti zájmu, zvětšení 500 ×, foto J. Klíma.

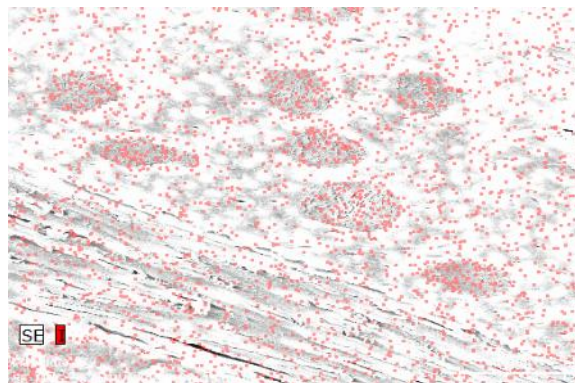
Pozorované shluky nanočástic ukazují jednak na jejich nedostatečnou dispergaci v průběhu přípravy směsi. Z toho důvodu nelze usuzovat, zda epoxidová pronikla do buněčné stěny, či nikoliv. Vzhledem ke značnému sběru informací, které jednoznačně nepřipadají nanočásticím CaCO₃ usuzujeme, že 5% přidavek nanočástic do lepidla je pro úspěšnou SEM/EDX analýzu **nedostatečný**. Avšak rostoucí koncentrace nanočástic velmi negativně ovlivňuje zejména viskozitu pryskyřice, což může mít za následek ovlivnění pronikání pryskyřice do struktury dřeva. S největší pravděpodobností není postup zvyšování koncentrace nanočástic CaCO₃ pro tuto metodu vhodný.

B) Jód

Pomocí SEM a EDX analýzy byly nejprve vyhodnocovány vzorky smrku a buku zalepené epoxidovou pryskyřicí s 4% koncentrací I₂. Vzorky byly zarovnaný na ultramikrotomu po zmrazení povrchu dřeva tekutým dusíkem. Na vzorcích byla patrná místa, kde byla jasně definovaná struktura dřeva s obsahem pryskyřice. Snímání těchto vzorků prokázalo, že signál je rovnoměrně rozprostřen skrze celý snímek a z toho lze vyvodit závěr, že 4% koncentrace I₂ v lepidle je nedostatečná.



Obrázek 77: Kombinace SEM a EDX snímku vzorku smrkového dřeva s přidavkem 4 % I₂ do epoxidové pryskyřice, zvětšení 850×, foto J. Klíma.

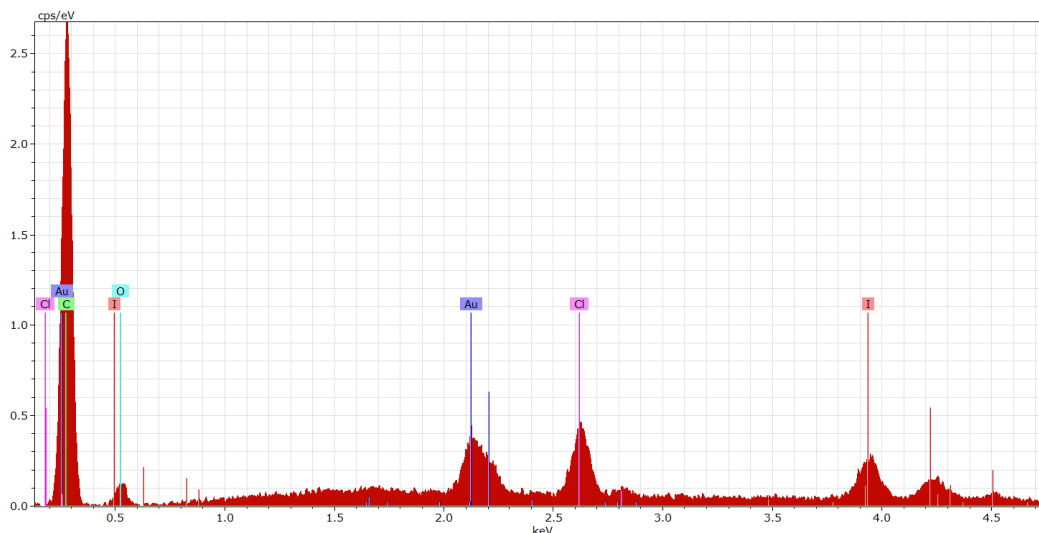


Obrázek 78: Kombinace SEM a EDX snímku vzorku bukového dřeva s přidavkem 4 % I₂ do epoxidové pryskyřice, zvětšení 500×, foto J. Klíma.

V cévě buku, kde se jednoznačně nacházela pryskyřice s obsaženým jódem, byla provedena bodová prvková analýza, která se nachází v tabulce č. 4. Spektrogram vytvořený při snímání je pak na obr. č. 79.

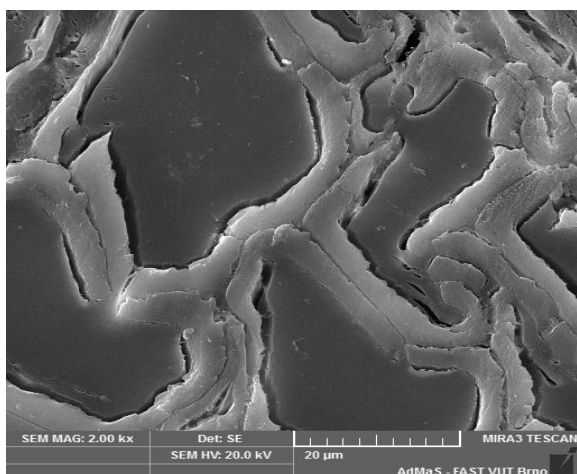
Tabulka 4: Prvková analýza pryskyřice v cévě buku potvrzující přítomnost jódu v ní:

Spectrum	C	O	Cl	Au	I
Objects 43	65,3	29,4	0,2	3,8	3,8

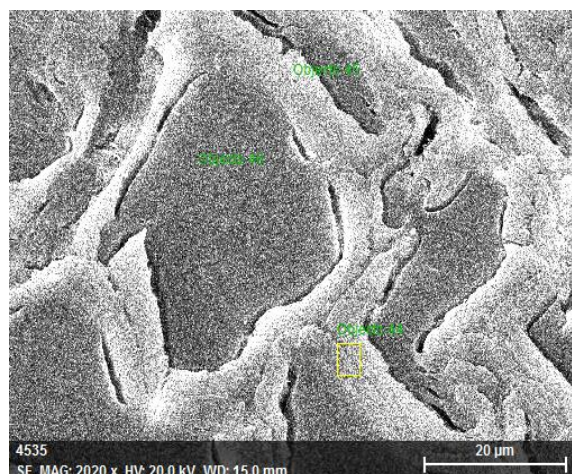


Obrázek 79: Spektrogram zobrazující píky jednotlivých prvků obsažených v epoxidové pryskyřici s 4% přídavkem I_2 .

Při snímání vzorků smrku zalepených pryskyřicí s 4% obsahem I_2 bylo provedeno plošné mapování prvků skrze celý zobrazovaný průřez. Při analýze vzorku zalepeného s 10 % I_2 však bylo přistoupeno ke skenování jednotlivých oblastí, a to buněčné stěny dřeva v kontaktu s epoxidovou pryskyřicí (2 místa) a oblasti epoxidové pryskyřice nacházející se v lumenu smrkového dřeva. Analyzovaná místa se nacházela blízko lepené spáry.



Obrázek 80: SEM snímek zkoumané oblasti s epoxidovou pryskyřicí s 10% obsahem I_2 , zvětšení 2000×, foto J. Klíma.

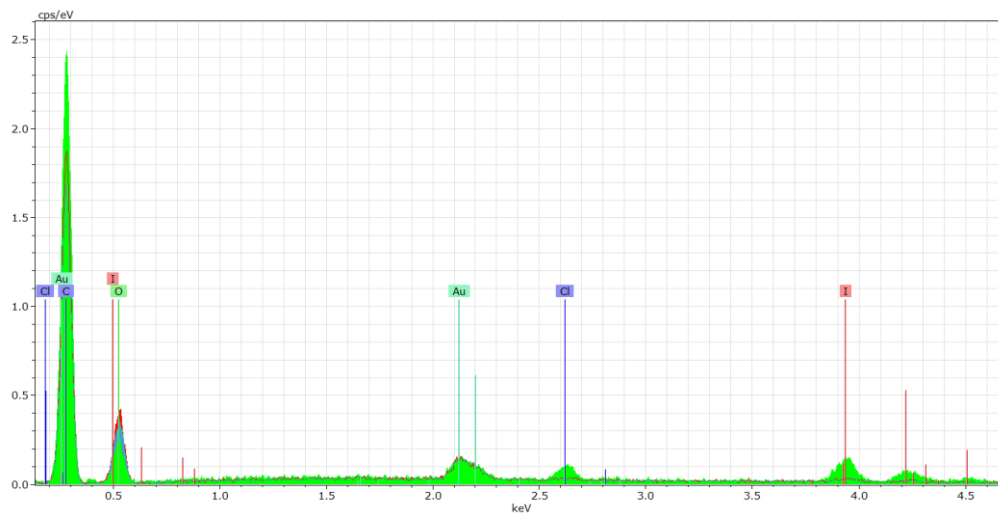


Obrázek 81: SEM snímek se zkoumanými místy zájmu, přiblížení 2000×, foto J. Klíma.

Ve vzorku zalepeném epoxidovou pryskyřicí s 10 % přidaného I₂ byly postupně provedeny prvkové analýzy pro buněčnou stěnu („Objects 44 a 45“) a poté pro epoxidovou pryskyřici nacházející se v lumenu smrkového dřeva („Objects 46“). Výsledky této analýzy jsou uvedeny v následující tabulce č. 5. Bylo potvrzeno, že v pryskyřici nacházející se uprostřed lumenu buňky bylo obsaženo 9,7 % I₂. V oblastech buněčných stěn bylo zjištěno zastoupení jódu hodnotou cca 1,4 %, avšak toto procentuální zastoupení je natolik malé a ovlivněné chybou, že nelze jednoznačně potvrdit I₂ v buněčné stěně dřeva. Z toho lze usuzovat, že epoxidová pryskyřice neproniká do buněčné stěny dřeva. Spektrogram jednotlivých prvků z provedených měření jsou zobrazena na obr. č. 82.

Tabulka 5: Procentuální zastoupení jednotlivých prvků analyzovaných oblastí:

Spectrum	C	O	Cl	Au	I
Objects 44 (stěna)	65,3	29,4	0,2	3,8	1,3
Objects 45 (stěna)	64,8	30,3	0,2	3,2	1,5
Objects 46 (pryskyřice)	71,1	15,2	1,1	2,9	9,7



Obrázek 82: Spektrogram zobrazující píky jednotlivých prvků obsažených v epoxidové pryskyřici s 10% přídavkem I₂.

9. Diskuze

Z rešeršního zpracování dané problematiky jasně vyplývá, že vlastnosti lepidel ovlivňují jejich schopnost průniku do struktury dřeva. Zatímco tzv. „*gross penetration*“ ovlivňuje zejména viskozita, na tom, aby pryskyřice pronikla do buněčné stěny dřeva má veliký vliv distribuce molekulových hmotností pryskyřice. Nesmíme však zapomínat na to, že mimo vlastností použitých lepidel a pryskyřic má na jejich průnik do struktury veliký vliv také struktura a stavba dřeva. Má se za to, že dřevo smrku jde nesnadno prosytit pryskyřicí, nejspíše pro jeho uniformní složení struktury buněčné stěny a migraci zajištěnou pomocí dvojteček. Vliv pronikání pryskyřice do struktury dřeva má také například povrchové napětí, obsah vlhkosti, povrchová úprava dřeva, jeho stáří apod. Je prokázáno, že zvýšený počet dvojteček, jimiž lepidlo putuje z lumenu do lumenu, může způsobit, že se právě skrze tyto tečky lepidlo naváže do buněčné stěny dřeva.

9.1. Fluorescenční mikroskopie a konfokální mikroskopie

Fluorescenční mikroskopie je bezpochyby metoda, která je vhodná pro zkoumání distribuce pryskyřice ve struktuře dřeva. V této práci byly použity dva fluorochromy, Safranin O a Rhodamin B, které se osvědčily při zkoumání zejména **epoxidové pryskyřice**. Ta vykázala dobré výsledky, co se přípravy preparátů týče, po změkčení se při řezání netrhala od struktury dřeva a oba fluorochromy v ní obsažené **vykázaly dostatečnou emisi záření**. Avšak co se ostatních použitých lepidel týče (MUF, PRF, PUR) je třeba zmínit, že Rhodamin B byl do jisté míry PUR lepidlem zhasen a co se týče MUF a PRF lepidel, tyto vykázaly rovněž nižší emisi záření. Dle provedené UV-VIS spektroskopie fluorochrom Rhodamin B ve zmíněných lepidlech vykázal absorpční maximum při vyšších vlnových délkách, čehož s ohledem na vybavení nemohlo být při fluorescenci dosaženo. Safranin O prokázal, že je vhodný při použití pro všechna zmiňovaná lepidla. Nicméně žádné z lepidel opatřené těmito fluorochromy **nevykázaly dostatečnou emisi záření** ve struktuře buněčné stěny dřeva. Na jednu stranu z toho lze usuzovat, že žádné z uvedených lepidel do buněčné struktury neproniklo navzdory tomu, že mnoho studií, a také závěry z TEM analýzy této diplomové práce, prokázalo pronikání určitých frakcí PRF a MUF lepidel do buněčné stěny dřeva. Na druhou stranu je třeba brát v potaz například rozlišovací schopnost optické fluorescenční mikroskopie.

Vzhledem ke slabé rozlišovací schopnosti se nabízí alternativa použít namísto fluorescenční mikroskopie mikroskopii konfokální. Ta se vyznačuje zejména lepší rozlišovací schopností, ale také omezením sběru informací z rovin, které leží nad a pod oblastí zájmu. V této

práci konfokální mikroskopie v podstatě potvrdila závěry uvedené s ohledem na fluorescenční mikroskopii. Snímky z konfokální mikroskopie potvrdily zhášení emisního záření Rhodaminu B obsaženého v PRF a MUF lepidle. Naproti tomu Safranin O opět potvrdil určitou míru pohltivosti záření a tím pádem určité znaky fluorescence se všemi uvedenými lepidly. Je však třeba zmínit, že na rozdíl od fluorescenční mikroskopie, kde bylo žádoucí potlačit emisi záření struktury dřeva, se tento krok u konfokální mikroskopie může jevit jako chybný. Bylo by velmi vhodné v dalších krocích provést rovněž i opatření struktury dřeva látkou, která by podpořila fluorescenci polymerů dřeva. Pak by konfokální mikroskopii bylo umožněno detekovat oba dva typy emitovaného záření různých fluorochromů a rozlišit lepidlo od struktury dřeva.

9.2. TEM analýza

TEM snímky vzorků zalepených epoxidovým lepidlem potvrdily závěry vyvozené z fluorescenční a konfokální mikroskopie, že toto lepidlo neprosycuje buněčnou stěnu. Pro polyuretanové a aminová lepidla (PRF a MUF) byla zobrazena distribuce nanočástic CaCO_3 v buněčné stěně dřeva. Z toho lze usuzovat, že 4% přídavek nanočástic do lepidel neovlivní vlastnosti lepidel natolik, aby lepidla nebyla schopna se alespoň částečně provázat se strukturou buněčné stěny dřeva. Transmisní elektronová mikroskopie je tedy při studiu problematiky průniku lepidel do buněčné stěny dřeva velmi vhodným nástrojem, která může při správné přípravě snímaných preparátů potvrdit/vyloučit interakci lepidel s buněčnou stěnou.

9.3. SEM a EDX analýza

SEM a EDX analýza je osvědčená metoda, která je při studiu problematiky prosycování buněčných stěn hojně využívána. Její nevýhodou je však adekvátní zakomponování látky s vyšší atomovou hmotností do struktury lepidla. V mnoha studiích byl do struktury lepidla zakomponován bróm, avšak již při výrobě zkoumané pryskyřice. Tím je omezeno zkoumání komerčně vyráběných produktů, které z jejich formulace neobsahují žádné látky, které by prokázaly případný průnik do buněčné stěny dřeva. V této studii byly zkoumány vzorky s přídavkem nanočástic CaCO_3 ve formě prášku a přídavkem I_2 ve formě roztoku do epoxidové pryskyřice. Tato metoda se pro účely nepřímé identifikace pryskyřice v buněčné stěně dřeva jeví **jako nadějná**. Zdá se, že přídavek jak nanočástic CaCO_3 , tak I_2 do 10 hm. % neovlivňuje viskozitu lepidel natolik, aby byl ovlivněn průnik do struktury dřeva. Tento relativně nízký přídavek látek do lepidel je na hraně detekovatelnosti EDX prvkové analýzy, nicméně pomocí jódu v 10% koncentraci **byla prokázána** interakce epoxidového lepidla s buněčnou stěnou tak, že do stěny epoxidové lepidlo neproniká.

Větší koncentrace přidávaných látek se nedoporučuje s ohledem na změnu viskozity lepidel, ačkoli by větší koncentrace nanoCaCO₃ a I₂ v lepidle znamenala prokazatelnější výsledky EDX prvkové analýzy. Vyšší koncentrací je ovlivněna zpracovatelnost a tedy i schopnost lepidel proniknout do buněčné stěny dřeva.

Celkové shrnutí:

Z výše uvedeného vyplývá, že i při použití různých metod při zkoumání vybraných pryskyřic může být dosaženo rozdílných výsledků. Právě výběr vhodné metody je pro úspěšné studium problematiky pronikání pryskyřic do buněčné stěny dřeva kritický. Některé z metod (například FTIR, NMR, DMA) je velmi zatěžko použít, a ani ověřené zobrazovací metody nejsou pro toto studium vypovídající, při nejlepším z nich lze na prosycení buněčných stěn pouze usuzovat. Z hlediska parametrů lepidel lze připočítat vyšší váhu nadmolekulové struktury a molekulové hmotnosti nad technologickými parametry (viskozita, smáčení). Pouze nízkoviskózní pryskyřice (UF, PF) se vyznačují natolik malými molekulami, že tyto molekuly difundují celým průřezem buněčné stěny a zcela ji prosycují. Takové molekuly pronikají do struktury buněčné stěny mezi jednotlivými mikrofibrilami, a mohou reagovat s polymery obsaženými ve dřevě. Velké molekuly lepidel se zpravidla zachytávají na rozhraní lumenu a buněčné stěny dřeva, která se chová jako síto, jež velké molekuly nepropustí dále do struktury stěny. Mohou však nastat případy, že i u vysokomolekulární pryskyřice (např. vysokomolekulární PRF s širokou distribucí molekulových hmotností) se její nízkoviskózní frakce naváže do buněčné stěny dřeva, kde může zůstat ve své původní, nevytvrzené, podobě, anebo se navázat a reagovat s polymery obsaženými ve dřevě. V dnešní době existuje mnoho studií, které potvrzují, že prosycení buněčných stěn nízkoviskózními pryskyřicemi a jejich následné vytvrzení zlepšuje vlastnosti dřeva, především co se odolnosti proti biotickým škůdcům, hnilobě způsobené houbami a působení vlhkosti týče. Jde však o specifické odvětví modifikace dřeva a nemá nic společného s lepením prvků, jako takovým. Ačkoli se všeobecně uvažuje na to, že při proniknutí lepidla do buněčné stěny dřeva může být lepená spára kvalitnější, pevnější a vykazovat větší trvanlivost, vzhledem k destruktivním charakterům metod používaných pro určení přítomnosti lepidla v buněčné stěně dřeva existuje velmi málo studií, jež by tuto tezi potvrdily. Nevýhodou většiny metod, kterými lze usuzovat na případný průnik lepidla do buněčné stěny dřeva, je příprava takových vzorků, které následně nelze otestovat na pevnost lepeného spoje, případně jejich trvanlivost v různých prostředích. V takových případech je možno použít například zkoušku nanoindentace, kterou lze v místě případného průniku lepidla do buněčné struktury dřeva experimentálně ověřit modul pružnosti a lokální tvrdost.

Nanoindentace je navíc v hrubém měřítku neinvazivní metoda, která zanechává ve vzorku zarážky maximálně v řádech mikrometrů, a tak neovlivní další chování vzorku při jiných zkouškách (pevnost v tahu, trvanlivost apod.). Zůstává zde však omezení, a to potřeby mikroskopie (většinou AFM), která potvrdí, že je nanoindentace prováděna přesně v místě buněčné stěny dřeva, a s tím je analogicky spojena i příprava preparátu vhodného ke zkoumání pod mikroskopem. Do dnešního dne není přesně známo, jak některá lepidla ve dřevě fungují, jaká je hlavní podstata jejich adheze a dobré trvanlivosti. Je to právě chybějící znalost těchto mechanismů, která by mohla leccos napovědět o pronikání lepidla do buněčné stěny dřeva, aniž by vzorky musely být speciálně připraveny k provedení vhodných metod potvrzující pronikání pryskyřice do buněčné stěny dřeva. Většina lepidel obsahuje frakce jak s nízkou molekulovou hmotností, které jsou vhodné především z důvodu zpracovatelnosti a tokových vlastností, tak frakce s velkou molekulovou hmotností, které jsou v lepidle obsaženy za účelem zvýšení výsledné pevnosti vytvrzeného polymeru. Tato rozmanitost frakcí různých molekulových hmotností pak může vyústit v to, že se na jednom lepeném vzorku mohou nacházet neprosycené buněčné stěny, a zároveň i části buněčných stěn, jež jednoznačně obsahují určitou část nanoseného lepidla. Avšak i v tomto případě zde vyvstává otázka, zda je toto alespoň částečné prosycení ovlivněno molekulovou hmotností a viskozitou lepidla, nebo bylo prosycení umožněno lokální změnou struktury dřeva. Většina zobrazovacích metod, jež jsou pro výzkum distribuce ve struktuře dřeva vhodné, jsou založeny na záměrném přidání „cizí“ látky (např. fluorochromu nebo látky s vyšší atomovou hmotností), kterou lze pomocí vhodných zobrazovacích nebo analytických metod jasně diferenciovat od buněčné stěny dřeva. Je zapotřebí brát v úvahu navázání těchto cizích látek do lepidla, aby byly nesený pryskyřicí a nedocházelo k jejich aglomeraci. V některých studiích byla cizí látka do pryskyřice zakomponována při procesu výroby dané pryskyřice, avšak při tomto procesu vzniká ta nevýhoda, že nelze testovat průmyslově vyráběné pryskyřice, jejíž vlastnosti pro analýzu nemohou být upraveny jinak než dodatečným zakomponováním cizí látky. Dodatečné přidávání cizích látek do struktury pryskyřice však s sebou nese ovlivnění (většinou negativní) vlastností definovaných technickým listem (viskozity). Kdyby i po tomto negativním ovlivnění vlastností bylo prokázáno pronikání do buněčných stěn dřeva, nehledě na lokální změny struktury dřeva, celým průřezem, dalo by se tak usuzovat na stejné chování i při použití nemodifikované pryskyřice. Avšak vzhledem k množství proměnných, které při pronikání pryskyřice do struktury buněčné stěny dřeva vstupují, je dosažení takových výsledků téměř nereálné.

10. Závěr

Hlavní náplní diplomové práce bylo vybrat a také aplikovat vhodné a dostupné metody pro identifikaci případného průniku vybraných druhů lepidel (epoxidové EPOLAM 2017, MUF 1247, PRF 1711, a polyuretanové KESTOPUR 1030) do buněčné stěny dřeva. Byly posouzeny některé vlastnosti vybraných lepidel a z výsledků práce lze usuzovat, že podstatný vliv na pronikání lepidel do struktury buněčné stěny lze připočíst především distribuci molekulových hmotností jednotlivých pryskyřic. S ohledem na výsledky měření hodnot torzních momentů a výsledků provedených analýz nelze usuzovat na vliv velikosti těchto hodnot na průnik lepidel do struktury dřeva.

Podstatná část práce byla zaměřena jednak na rešeršní zpracování publikací zabývajících se problematikou pronikání a prosycování buněčných stěn dřeva pryskyřicemi a dále na praktickou aplikaci vybraných metod. Pro účely práce byly vybrány metody zobrazovací využívající jevu fluorescence záměrně přidaných fluorochromů do lepidel, resp. detekcí záměrně přidaných prvků do lepidel prvkovou analýzu (EDX) a ověřením výskytu prvků detekcí morfologie jejich tvaru (TEM analýza).

Pro fluorescenci byly vybrány fluorochromy Safranin O, již ve formě roztoku, a Rhodamin B, který byl v práškovém stavu. V rámci ověření emise záření použitých fluorochromů byla provedena UV-VIS spektroskopie, jejímž výsledkem byla stanovena absorpční maxima vodných roztoků použitých fluorochromů (572 nm pro Rhodamin B a 536 nm pro Safranin O). Pro stanovení vhodné koncentrace fluorochromu v lepidle byly ověřovány vzorky epoxidu s koncentracemi 0,5 hm %, 2,5 hm. % a 5 hm % obou druhů flouorchromů. Toto ověření vedlo k určení jednotné koncentrace 2,5 hm. %, která byla následně použita pro všechna ostatní lepidla a oba použité fluorochromy. UV-VIS spektroskopie byla provedena i pro směsi lepidel s obsaženými fluorochromy.

Epoxidová pryskyřice při snímání na fluorescenční mikroskopii vykazala prosycení lumenů v okolí lepené spáry a **nebylo potvrzeno její pronikání do buněčné stěny dřeva. U všech zbylých použitých lepidel byl efekt fluorescence nižší, což bylo potvrzeno i dosaženými hodnotami absorbancí těchto směsí pomocí UV-VIS spektroskopie.** Zejména fluorochrom Rhodamin B obsažený ve fenolických lepidlech (PRF, MUF) nevykázal na fluorescenční mikroskopii při použitých vlnových délkách excitovaného záření výrazný efekt emitovaného záření. Pro tyto lepidla mikrosnímky fluorescence mají nižší vypovídací schopnost a nelze jednoznačně určit případnou afinitu a průnik lepidel do buněčné stěny dřeva.

Na konfokální mikroskopii byly snímány mikroskopické preparáty připravované pro mikroskopii fluorescenční. Nehledě na větší rozlišovací schopnost, **žádný ze zkoumaných vzorků nevykázal podstatnou emisi záření fluorochromu v buněčné stěně dřeva**, všechna lepidla pouze vyplnila lumény buněk. Konfokální mikroskopii byla také potvrzena absence emise záření na použité vlnové délce excitovaného záření při snímání vzorků MUF a PRF s Rhodaminem B.

Pro TEM analýzu byly do lepidel rozmíseny 4 hm. % nanočástic CaCO_3 , která svou distribucí mohou napovědět o migraci lepidel ve struktuře dřeva. Nanočástice dispergované v epoxidovém lepidle se nacházely na rozhraní lumenu buňky a buněčné stěny dřeva. To jasně indikuje, že **žádná frakce epoxidového lepidla neproniká do buněčné stěny dřeva**. U ostatních lepidel (PRF, MUF, PUR) TEM analýza prokázala výskyt morfologie nanočástic v buněčné stěně. U **PUR** lepidla se mnoho dispergovaných částic nacházelo na hraně lumenu buňky, **avšak byla prokázána jejich přítomnost i ve struktuře buněčné stěny**. To může znamenat, že PUR lepidlo difunduje do struktury buněčné stěny, nebo lze usuzovat také na lokální změnu struktury dřeva, která by navázání se PUR do buněčné stěny dřeva umožnilo. TEM snímky **PRF lepidla** prokázaly **úplné prosycení buněčné stěny dřeva**, vzhledem k přítomnosti nanočástic i v oblasti střední lamely. Stejně výsledky byly dosaženy také u MUF lepidla, které **vykázalo prosycení sekundární buněčné stěny**.

Prováděná SEM a EDX analýza prokázala svou vhodnost k určení přítomnosti a distribuce záměrně přidaných látek, zejména jódu. V této diplomové práci bylo pro tuto metodu použito epoxidové lepidlo s rozmísenými nanočásticemi CaCO_3 v množství 5 hm. % a elementárního jódu, který byl do epoxidové pryskyřice zakomponován v roztoku jódu v DMF rozpouštědle. U vzorku s 5 % CaCO_3 se **neprokázalo proniknutí epoxidové pryskyřice do buněčné stěny dřeva**, snímky z této analýzy navíc prokázaly shluky nanočástic v lumenech buněk. Pro jednoznačné přiřazení veškerého signálu nanočásticím by bylo zapotřebí přidat do lepidel v mnohem větším množství nanočástic, což by však výrazně ovlivnilo zejména viskozitu lepidel, a takové ovlivnění by mělo negativní dopad na schopnost pryskyřice. Dále byly zkoumány vzorky slepenců dřeva lepených epoxidovým lepidlem obsahující jód v **koncentraci 4 %, 10 hm. % a 30 hm. %**. Po zobrazení těchto vzorků pomocí SEM a EDX analýzy bylo patrné, že 10 hm. % koncentrace jódu nevykázala výrazné ovlivnění viskozity lepidla a jód byl detekován pouze v lumenu buňky, nikoliv v buněčné stěně. Tyto závěry **jsou v souladu s výsledky fluorescenční mikroskopie a TEM analýzy pro epoxidové lepidlo**, že epoxid neproniká do struktury buněčné stěny dřeva.

NÁVRH NA NAVAZUJÍCÍ EXPERIMENTY:

Další výzkum by měl být zaměřen na výzkum pomocí konfokální mikroskopie, jež je vzhledem k relativně snadné přípravě vzorků velice vhodným nástrojem. V tomto případě je třeba zamyslet se nejen nad přidáním fluorochromu do zkoumané pryskyřice, ale také nad opatřením struktury dřeva jiným typem fluorochromu, jež by podpořil autofluorescenci buněčné stěny dřeva. Poté by bylo možné usuzovat na prosycení buněčné stěny vlivem změny barvy při případném prosycení struktury buněčné stěny. Nesmí být opomínána ani TEM mikroskopie se zaměřením na kvalitnější přípravu vzorku. Ačkoli je příprava slepenců relativně snadná, následná příprava mikroskopických preparátů je kritická. V případě SEM a EDX analýzy pokračovat ve využití jódu pro zbylé typy lepidel, čímž by mohla být i u těchto lepidel zjištěna případná distribuce lepidla do buněčné stěny dřeva.

Citovaná literatura

1. **ASTM, International.** *ASTM adhesives standards*. Conshohocken : ASTM International, 2007. vol 1506.
2. **Frihart, C. R.** *Wood adhesion and adhesives*. Madison : CRC Press, 2005. stránky 215-278. Sv. Handbook of wood chemistry and wood composites.
3. **Kamke, F. A., Lee, J. N.** Adhesive penetration in wood – a review. *Wood and fiber science*. 2007, vol 39: stránky 205–220.
4. **Frihart, C. R., Jakes, J. E., Hunt, C. G.** X-ray methods to observe and quantify adhesive penetration into wood. *Journal of Materials Science*. 2018, vol 54: 705–718.
5. **Marra, A. A.** *Technology of Wood Bonding: Principles in Practice*. New York : Springer, 1992.
6. **Frihart, C. R.** Adhesive groups and how they relate to the durability of bonded wood. *Journal of Adhesion Science and Technology*. 2009, vol 23: stránky 611–627.
7. **Nearn, W.** Wood-adhesive interface relations. *Off Dig Fed Soc Technol*. 1965, vol 37: stránky 720–733.
8. —. Application of the ultrastructure concept in industrial product research. *Off Dig Fed Soc Technol*. 1974, vol 6: stránky 285–293.
9. **Pizzi, A.** *Advanced wood adhesives technology*. New York : Marcel Dekker, Inc., 1994. ISBN 9780824792664.
10. **Ross, R. J.** *Wood handbook: wood as an engineering material*. Madison, WI : Forest Products Laboratory, 2013. ISBN-13: 978-1484859704.
11. **Hillis, W. E.** Formation of robinetin crystals in vessels of *Intsia* species. *IAWA Journal*. 1996, vol 17: stránky 405-419.
12. **Larson, P. R.** *The Vascular Cambium – Development and Structure*. New York : Springer Science & Business Media, 2012. ISBN 978-3-642-78466-8.
13. **Desch, H. E., Dinwoodie, J. M.** *Timber structure, properties, conversion and use*. Londýn : UK: Macmillan Press, 1996. ISBN: 9780333609057.
14. **Ansell, M. P.** Wood microstructure – A cellular composite. *Wood Composites*. Cambridge : Woodhead Publishing, 2015.
15. **Wiedenhoeft, A. C., Miller, R. B.** Brief comments on the nomenclature of softwood axial resin canals and their associated cells. *IAWA Journal*. 2002, vol 23: stránky 299-303.
16. **Bruce, D. M.** Mathematical modelling of the cellular mechanics of plants. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B*. 2003, vol 358, stránky 1437-1444.
17. **Bruce, A.** *Základy buněčné biologie - Úvod do molekulární biologie buňky*. 2. vyd. Ústí nad Labem : Espero, c1998. ISBN: 80-902906-2-0.
18. **Essau, K.** *Anatomy of the seed plants*. New York : John Wiley and Sons, 1977. ISBN-13: 978-0471245209.
19. **Raven, P. , Evert, R.** *Biology of plants*. 6. vyd. New York : W.H. Freeman & Company, 1999. ISBN-13: 978-1572590410.
20. **Dickinson, W.** *Intergative plant anatomy*. New York : Academic Press, 2000. ISBN-13: 978-0122151705.

21. **Panshin, A.J., deZeeuw, C.** *Textbook of wood technology*. 4. vyd. New York : McGraw-Hill, 1980. ISBN-13: 978-0070484405.
22. **Nishino, T., Takano, K.** Elastic modulus of the crystalline regions of cellulose polymorphs. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 1995, vol 33: stránky 1647-1651.
23. **Whiting, P., Goring, D.A.I.** Chemical characterization of tissue fractions from the middle lamella and secondary wall of black spruce tracheids. *Wood Sci. Technol.* 1982, vol 16: stránky 261-267.
24. **Mark, R. E.** *Cell Wall Mechanics of Tracheids*. New Haven a Londýn : Yale University Press, 1967. ISBN-13: 978-0685456828.
25. **Lacrosse, V.I.M.F.** *Microfibril angle and the mechanical properties of douglas-fir wood, Final Year Project Report*. University of Bath : Department of Mechanical Engineering, 2010.
26. **Donaldson, L.** Cellulose microfibril aggregates and their size variation with cell wall type. *Wood Sci. Technol.* 2007, vol 41: stránky 443-460.
27. **Abe, K., Yano, H.** Comparison of the characteristics of cellulose microfibril aggregates of wood, rice straw and potato tuber. *Cellulose*. 2009, vol 16: stránky 1017-1023.
28. **Plomion, C., Leprovost, G.** Wood formation in trees. *Am. Soc. Plant Biol.* 2001, vol 127: stránky 1513-1523.
29. **Donaldson, L., Xu, P.** Microfibril orientation across the secondary cell wall of Radiata pine tracheids. *Trees Struct. Funct.* 2005, vol 19: stránky 644-653.
30. **Cave, I.D.** The anisotropic elasticity of the plant cell wall. *Wood Sci. Technol.* 1968, vol 2: stránky 268-278.
31. **Cave, I.D., Walker, J.C.F.** Stiffness of wood in fast growing plantation softwoods: the influence of microfibril angle. *Forest Prod. J.* 1994, vol 44: stránky 43-48.
32. **Booker, R.E., Sell, J.** The nanostructure of the cell wall of softwoods and its functions in a living tree. *Holzforschung*. 1998, vol 56: stránky 1-8.
33. **Phillips, E.W.J.** The inclination of fibrils in the cell wall and its relation to the compression of timber. *Empire For. J.* 1941, vol 20: stránky 74-78.
34. **Pillow, M.Y., Terrell, B.Z., Hiller, C.H.** *Patterns of variation in fibril angles in loblolly pine*. Madison : Forest Products Laboratory, 1953.
35. **Donaldson, L.A.** Within-and between-tree variation in microfibril angle in Pinus radiata. *New Zeal. J. For. Sci.* 1992, vol 22: stránky 77-86.
36. **Wang, H.H., Drummond, J.G., Reath, S.M.** An improved fibril angle measurement method for wood fibers. *Wood Sci. Technol.* 2001, vol 34: stránky 493-503.
37. **Donaldson, L., Frankland, A.** Ultrastructure of iodine treated wood. *Holzforschung*. 2004, vol 58: stránky 219-225.
38. **Donaldson, L.** Microfibril angle: measurement, variation and relationships – a review. *IAWA J.* 2008, vol 29: stránky 345-386.
39. **Ansell, M.P., Mwankambo, L.Y.** The structure of cotton and other plant fibers. [autor knihy] S.J., Hearle, J.W.S., Jaffe, M. Eichorn. *Handbook of Textile Fibre Structure, Natural, Regenerated, Inorganic and Specialist Fibers*. Cambridge : Woodhead Publishing Series in Textiles, 2009.

40. **Balley, I.W., Vestal, M.R.** The significance of certain wood-destroying fungi in the study of the enzymatic hydrolysis of cellulose. *J. Arnold. Arbor.* 1937, vol 18: stránky 196-205.
41. **Senft, J.F., Bendsten, B.A.** Juvenile wood: processing and structural products considerations. *Symposium on Utilization of the Changing Wood Resource of the Southern U.S.* 1984.
42. **Cave, I., Robinson, W.** Measuring microfibril angle distribution in the cell wall by means of X-ray diffraction. *Proc. IAWA/IUFRO.* 1998.
43. **CSIROPedia, 2018.** SilviScan™ rapid wood analysis. *CSIROPedia.* [Online] [Citace: 18. Prosinec 2018.] <http://csiropedia.csiro.au/SilviScan-rapid-wood-analysis/>.
44. **DeMeijer, M., Thurich, K., Militz, H.** Comparative study on penetration characteristics of modern wood coatings. *Wood Science and Technology.* 1998, vol 32: stránky 347-365.
45. **Rijkaert, V., Stevens, M., de Meijer, M., Militz, H.** Quantitative assessment of the penetration of water-borne and solvent-borne wood coatings in Scots pine sapwood. *Holz als Roh-und Werkstoff.* 2001, vol 59: stránky 278-287.
46. **Dinwoodle, J.M.** *Timber: Its Nature and Behaviour.* Londýn : E&FN Spon, 2000. ISBN-13: 978-0419255505.
47. **Marchessault, R.H., Sundararajan, P.R.** Cellulose. [autor knihy] O.G. Aspinall. *The Polysaccharides.* Toronto : Elsevier Inc., 1983.
48. **Sjoström, E.** *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications.* New York : Gulf Professional Publishing, 1981. ISBN 9780126474817.
49. **Ansell, M.P., Mwaikambo, L.Y.** The structure of cotton and other plant fibres. [autor knihy] S.K., Hearle, J.W.S., Kikutani, T. Eichhorn. *Handbook of textile fibre structure.* Cambridge : Elsevier, 2009.
50. **Ledbetter, M.C., Porter, K.R.** A "microtubule" in plant cell fine structure. *Journal of Cell Biology.* 1963, vol. 19, stránky 239-250.
51. **Lerouxel, O., Cavaller, D.M., Liepman, H.A.** Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides – a complex process. *Current Opinion in Plant Biology.* 2006, vol. 9, stránky 621-630.
52. **Vincent, J.F.V.** From cellulose to cell. *Journal of Experimental Biology.* 1999, vol. 202, stránky: 3263-3268.
53. **Doblin, M.S., Kurek, I., Jacob-Wilk, D.** Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes. *Plant and Cell Physiology.* 2002, vol. 43, stránky: 1407-1420.
54. **Neville, A.C.** *Biology of Fibrous Composites: Development Beyond the Cell Membrane.* Cambridge : Cambridge University Press, 1993. ISBN 9780521410519.
55. **Wasteneys, G.O.** Progress in understanding the role of microtubules in plant cells. *Current Opinion in Plant Biology.* 2004, vol. 7, stránky: 651-660.
56. **Emons, A.M.C., Mulder, B.M.** How the deposition of cellulose microfibrils builds cell wall architecture. *Trends in Plant Science.* 2000, vol. 5, stránky: 35-40.
57. **Saha, B.C.** Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 2003, vol. 30, stránky: 279-291.
58. **Sun, R.C., Fang, J.M., Tomkinson, J.** Fractional isolation, physico-chemical characterisation and homogenous esterification of hemicelluloses from fast-growing poplar wood. *Carbohydrate Polymers.* 2001, vol. 44, stránky: 29-39.

59. **Timell, T.E.** Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. *Wood Science and Technology*. 1967, vol. 1, stránky: 45-70.
60. **Jakes, J.E., Frihart, C.R., Hunt, C.G.** X-ray methods to observe and quantify adhesive penetration into wood. *Journal of Material Science*. 2018, vol. 54, stránky 705-718.
61. **Stamm, A.J., Seborg, R.M.** *Resin-treated, laminated, compressed wood*. Madison : Forest research laboratory, 1941.
62. **Rowell, R.M., Banks, W.B.** Water repellency and dimensional stability of wood. *USDA General Technical Report FPL*. 1985, 50: stránky 1-24.
63. **Ryu, J.Y., Takahashi, M., Imamura, Y., Sato, T.** Biological resistance of phenol-resin treated wood. *Mokuzai Gakkaishi*. 1991, vol 37: stránky 852-858.
64. **Ryu, J.Y., Imamura, Y., Takahashi, M., Kajita, H.** Effects of molecular weight and some other properties of resins on the biological resistance of phenolic resin treated wood. *Mokuzai Gakkaishi*. 1993, vol 39: stránky 486-492.
65. **Furuno, T., Imamura, Y., Kajita, H.** The modification of wood by treatment with low molecular weight phenol-formaldehyde resin: a properties enhancement with neutralized phenolic-resin and resin penetration into wood cell walls. *Wood Science and Technology*. 2004, vol 34: stránky 349-361.
66. **Hill, C.** *Wood Modification: Chemical, Thermal and Other processes*. Bangor : John Wiley & Sons, Ltd, 2006. ISBN: 0-470-02172-1.
67. **Biziks, V., Bicke, S., Militz, H.** Penetration of phenol formaldehyde (PF) resin into beech wood studied by light microscopy. *The international research group on wood protection*. 2015.
68. **Smith, W.B., Côté, W.A., Siau, J.F., Vasishth, R.C.** Interactions between water-borne polymer systems and the wood cell wall. *Journal of Coatings and Technology*. 1985, vol 57: stránky 27-35.
69. **Imamura, Y., Kajita, H., Higuchi, N.** Modification of wood by treatment with low molecular phenol-formaldehyde resin. Influence of neutral and alkaline resins. *Abstracts of the 48th Annual Meeting of Japan Wood Research society*. 1998.
70. **Furuno, T., Goto, T.** Structure of the interface between wood and synthetic polymer (XI). The role of polymer in the cell wall on the dimensional stability of wood-polymer composite (WPC). *Mokuzai Gakkaishi*. 1978, vol 24: stránky 287-293.
71. —. Structure of the interface between wood and synthetic polymer (XII). Distribution of styrene polymer in the cell wall of wood-polymer composite (WPC) and dimensional stability. *Mokuzai Gakkaishi*. 1979, vol 25: stránky 488-495.
72. **Imamura, H., Okamoto, H., Goto, T., Yasue, Y.** Chemistry for wood utilization. *Kyoritsu-Shuppan*. 1983, stránky 261-262.
73. **Kajita, H., Imamura, Y.** Improvement of physical and biological properties of particleboards by impregnation with phenolic resin. *Wood Science and Technology*. 1991, vol 26: stránky 63-70.
74. **Smith, L.A., Côté, W.A.** Studies of penetration of phenol-formaldehyde resin into wood cell walls with the SEM and energy-dispersive X-ray analyzer. *Wood and Fiber*. 1971, vol 3: stránky 56-57.
75. —. Resin penetration into wood cell walls. *J Paint Technol*. 1972, vol 44: stránky 71.

76. **Loxton, C., Thumm, A., Grigsby, W.J., Adams, T.A., Ede, R.M.** Resin distribution in medium density fiberboard. Quantification of UF resin distribution on blowline – and dry-blended MDF fiber and panels. *Wood Science and Technology*. 2003, vol 35: stránky 370-380.
77. **Wan, H., Kim, M.G.** Distribution of phenol-formaldehyde resin in impregnated southern pine and effects on stabilization. *Wood Science and Technology*. 2008, vol 40: stránky 181-189.
78. **Hare, D.A., Kutscha, N.P.** Microscopy of eastern spruce plywood gluelines. *Wood Sci.* 1974, vol 6: stránky 294-304.
79. **Kutscha, N.P., Caster, R.W.,** Factors affecting the bond quality of hem-fir finger joints. *Forest Prod. J.* 1987, vol 37: stránky 43-48.
80. **Morita, M., Sakata, I.** Polymer distribution in the cell wall of a wood-polyethylenimine composite. *Wood Science and Technology*. 1991, vol 25: stránky 215-224.
81. **Gindl, W., Schöbert, T., Jeronimidis, G.** The interphase in phenol-formaldehyde and polymeric methylene di-phenyl-di-isocyanate glue lines in wood. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 2004, vol 24: stránky 535.
82. **Gindl, W., Dessipri, E., Wimmer, R.** Using UV-Microscopy to Study Diffusion of Melamine-Urea-Formaldehyde Resin in Cell Walls of Spruce Wood. *Holzforschung*. 2002, vol 56: stránky 103-107.
83. **Fergus, B.J., Procter, A.R., Scott, J.A.N., Goring, D.A.I.** The distribution of lignin in sprucewood as determined by ultraviolet microscopy. *Wood Sci. Technol.* 1969, vol 3: stránky 117-138.
84. **Scott, J.A.N., Procter, A.R., Fergus, B.J., Goring, D.A.I.** The application of ultraviolet microscopy to the distribution of lignin in wood. Description and validity of the technique. *Wood Sci. Technol.* 1969, vol 3: stránky 73-92.
85. **Fukuzawa, K., Imagawa, H.** Quantitative analysis of lignin using an UV microscopic image analyser. Variation within one growth increment. *Wood Sci. Technol.* 1981, vol 15: stránky 45-55.
86. **Nowak-Ossorio, M., Braun, D.** Bestimmung stickstoffhaltiger Bindemittelkomponenten in Holzspanplatten. *Holz Roh- Werkstoff*. 1982, vol 40: stránky 255-259.
87. **Spring, K.R., Davidson, M.W.** Introduction to Fluorescence Microscopy. *MiscroscopyU*. [Online] [Citace: 19. 10 2018.] <https://www.microscopyu.com/techniques/fluorescence/introduction-to-fluorescence-microscopy>.
88. **Adamopoulos, S., Bastani, A., Holger, M.** Adhesive bonding of beech wood modified with a phenol formaldehyde compound. *Eur. J. Wood Prod.* 2012, vol 70: stránky 897-901.
89. **Chandler, G.J., Brandon, L.R., Frihart, R.C.** *Examination of adhesive penetration in modified wood using fluorescence microscopy*. Columbus : ASCSpring, 2005.
90. **Furuno, T., Saiki, H.** Comparative observation with fluorescence and scanning electron microscopy of cell walls adhering to the glue on fractured surfaces of wood-glue joints. *Mokuzai Gakkaishi*. 1988, vol 34: stránky 409-416.
91. **Brady, D.E., Kamke, F.A.** Effect of hot-pressing parameters on resin penetration. *Forest Prod. J.* 1988, vol 38: stránky 63-68.
92. **Johnson, S.E., Kamke, F.A.** Quantitative analysis of gross adhesive penetration in wood using fluorescence microscopy. *J. Adhesion*. 1992, vol 40: stránky 47-61.

93. **Sernek, M., Resnik, J., Kamke, F.A.** Penetration of liquid urea-formaldehyde adhesive into beech wood. *Wood Fiber Sci.* 1999, vol 31: stránky 41-48.
94. **Kamke, F.A.** Adhesive penetration. In Wood Adhesion. *Wood Adhesion Problem Solving-The Isocyanate Dimension*. Blacksburg : Wood-Based Composites Center, 2004.
95. **Fellers, J.T., Davidson, M.W.** Introduction to confocal microscopy. *Microscopy resource center*. [Online] 2012. [Citace: 10. 15 2018.] <http://olympus.magnet.fsu.edu/primer/techniques/confocal/confocalintro.html>.
96. **Qin, L., Lin, L., Fu, F.** Microstructural and Micromechanical Characterization of Modified Urea-Formaldehyde Resin Penetration into Wood. *BioResources*. 2016, vol 11: stránky 182-194.
97. **Stöckel, F., Konnerth, J., Moser, J., Kantner, W., Gindl, W.** Micromechanical properties of the interphase in pMDI and UF bond lines. *Wood Science and Technology*. 2012, vol 46: stránky 611-620.
98. **Xing, C., Riedl, B., Cloutier, A., Shaler, S.M.** Characterization of urea-formaldehyde resin penetration into medium density fiberboard fibers. *Wood Science and Technology*. 2005, vol 39: stránky 374-384.
99. **Wilson, R.A, Heather, A.B.** *Basis Theory of Atomic Force Microscopy*. Highland Heights : Department of Chemistry, Northern Kentucky University, 2006.
100. **Konnerth, J., Harper, D.P., Rials, T.** Adhesive penetration of wood cell walls investigated by scanning thermal microscopy (SThM). *Holzforschung*. 2008, vol. 62: stránky 91-96.
101. **Scanning electron microscopy.** *nanoScience Instruments*. [Online] [Citace: 18. 12 2018.]
102. **Yorur, H.** Investigation of factors influencing on wood adhesion capability. *Journal of Forestry*. 2018, vol. 18: stránky 99-107.
103. **Modzel, G., Kamke, F.A, De Carlo, F.** Comparative analysis of a wood: adhesive bondline. *Wood Science and Technology*. 2011, vol. 45: stránky 147-158.
104. **Leemon, N.F., Ashaari, Z., Uyup, M.K.A., Bakar, E.S.** Characterisation of phenolic resin and nanoclay admixture and its effect on impreg wood. *Wood Science and Technology*. 2015, vol. 49: stránky 1209-1224.
105. **Laboratoř mikroskopie atomárních sil.** Doplňkové texty různého založení. *Laboratoř mikroskopie atomárních sil*. [Online] [Citace: 15. 12 2018.] <http://atmilab.upol.cz/texty/TEM-teorie.pdf>.
106. **Singh, A.P., Nuryawan, A., Park, B.D., Lee, K.H.** Urea-formaldehyde resin penetration into Pinus radiata tracheid walls assessed by TEM-EDXS. *Holzforschung*. 2014, vol. 69: stránky 303-306.
107. **Kaseman, Derrick.** NMR: Theory. *Chemistry LibreTexts Library*. [Online] 31. květen 2017. [Citace: 28. 12 2018.] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Spectroscopy/Magnetic_Resonance_Spectroscopies/Nuclear_Magnetic_Resonance/NMR%3A_Theory](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Magnetic_Resonance_Spectroscopies/Nuclear_Magnetic_Resonance/NMR%3A_Theory).
108. **Laborie, M. P. G.** *Investigation of the wood/phenol-formaldehyde adhesive interphase morphology*. Blacksburg : Wood Science and Forest Products, 2002.
109. **Keplinger, T., Cabane, E., Chanana, M., Hass, P.** A versatile strategy for grafting polymers to wood cell walls. *Acta Biomaterialia*. 2015, vol. 11, stránky: 256-263.

110. Feng, Z.Q., He, Q.C., Zeng, Q., Joli, P. Theory of Nanoindentation. [autor knihy] K. Sattler. *Handbook of Nanophysics*. New York : CRC Press, 2010.
111. Konnerth, J. Nanoindentation mapping of a wood-adhesive bond. *Applied Physics A*. 2007, vol. 88: stránky 371-375.
112. Gindl, W., Gupta, H.S. Cell-wall hardness and Young's modulus of melamine-modified spruce wood by nano-indentation. *Composites: Part A*. 2002, vol. 33: stránky 1141-1145.
113. Hansen, C.M. *The three dimensional solubility parameter and solvent diffusion coefficient*. Copenhagen : Danish Technical Press, 1967.
114. AdMaS. Centrum AdMaS: Katalog přístrojů. *Centrum AdMaS*. [Online] [Citace: 1. 12 2018.] https://admas.eu/wp-content/uploads/sites/14/2018/11/KATALOG-P%C5%98%C3%84DSTROJ%C5%AE_WEB.pdf.

Seznam použitých obrázků

Obrázek 1: Analogie vazeb Marra řetězců, převzato z [5].	2
Obrázek 2: Příčné řezy dřevinami zobrazující různé typy letokruhů, převzato z [10]	7
Obrázek 3: SEM obrázek struktury jehličnanu (borovice), převzato z [14].	11
Obrázek 4: SEM obrázek struktury listnáče (dub), převzato z [14].	11
Obrázek 5: Struktura buněčné stěny a uložení celulózových fibril vrstvy S2, převzato z [14].	13
Obrázek 6: PF pryskyřice ve struktuře smrkového dřeva na příčném řezu, převzato z [77].	21
Obrázek 7: Brom-fenol formaldehydová pryskyřice ve struktuře cedru, převzato z [65].	22
Obrázek 8: UV absorpční spektra jednotlivých fází vzorků zalepených PF lepidlem (vlevo) a pMDI lepidlem (vpravo), převzato z [81].	23
Obrázek 9: UV absorpční spektrum referenční buněčné stěny (vlevo), MUF lepidla (uprostřed) a buněčné stěny ovlivněné přítomností MUF lepidla, převzato z [82].	24
Obrázek 10: Detail PVAc lepidla v cévě dubového dřeva s emisí fluorochromu Safraninu O, převzato z [94].	28
Obrázek 11: Detail epoxidového lepidla ve struktuře dubového dřeva s emisí fluorochromu Safraninu O, převzato z [94].	28
Obrázek 12: Detail UF lepené spáry dřeva jehličnanu zobrazující jednotlivé aspekty lepené spáry, převzato z [96].	30
Obrázek 13: TCM obrázky napětí PRF a PUR lepených vzorků (dole) a distribuční křivky napětí (stupňů šedi) v buněčných stěnách (nahore), převzato z [100].	33
Obrázek 14: SThM obrázky napětí (20×20 μm) buněčných stěn s a bez kontaktu s PRF lepidlem zafixovaných do epoxidové pryskyřice, převzato z [100].	34
Obrázek 15: EPMA snímky (vlevo) a rentgenová Br mapa (vpravo) struktury dřeva s použitím pryskyřice s molekulovou hmotností 290, převzato z [65].	36
Obrázek 16: EPMA snímek (vlevo) a rentgenová Br mapa (vpravo) struktury dřeva s použitím pryskyřice s molekulovou hmotností 470, převzato z [65].	36
Obrázek 17: SEM snímek PF pryskyřice v lumenu buňky, převzato z [77].	37
Obrázek 18: SEM snímek PF pryskyřice a buněčné stěny dřeva, převzato z [77].	37
Obrázek 19: SEM snímky dubu (b), topolu (f) a jedle (j), převzato z [103].	38
Obrázek 20: SEM snímky struktury dřeva nasycené 20 % nízkomolekulární PF pryskyřice (vlevo) a směsí 20 % nízkomolekulární PF pryskyřice a 1,5 % nanočástic jílu (vpravo), převzato z [104].	39
Obrázek 21: TEM snímek PF pryskyřice v buněčné stěně dřeva, A=lumen, B=buněčná stěna, převzato z [77].	40
Obrázek 22: TEM snímky a příslušné EDXS mapy distribuce N napříč dvojitou buněčnou stěnou, převzato z [106].	41
Obrázek 23: ¹³ C CP/MAS NMR spektrum čisté ¹³ C PF pryskyřice a kompozit ¹³ C PF a topolu, převzato z [108].	44
Obrázek 24: Infračervená spektra referenčních, metakrylátových a polymerizovaných vzorků, převzato z [109].	46

Obrázek 25: FTIR spektrum metakrylátového, polymerizovaného a referenčního vzorku, převzato z [109].	46
Obrázek 26: Mechanické vlastnosti jednotlivých fází, převzato z [81].	47
Obrázek 27: Mechanické vlastnosti UF lepidla a buněčných stěn s a bez kontaktu s UF, převzato z [96].	49
Obrázek 28: Výňatek z tabulky Hansen parametrů rozpustnosti, převzato z [113].	58
Obrázek 29: Bandelin Sonopuls HD 3200 s připojenou sondou.	61
Obrázek 30: Vzorky dřeva zalité SPURR pryskyřicí.	62
Obrázek 31: TEM snímek nanočástic CaCO ₃ , foto P.Kulich, VRI Brno.	62
Obrázek 32: Kombinace SEM a EDX snímku epoxidové pryskyřice s přídavkem 5 % CaCO ₃ , foto J. Klíma.	65
Obrázek 33: Kombinace SEM a EDX snímku epoxidové pryskyřice s přídavkem 10 % I ₂ , foto J. Klíma.	65
Obrázek 34: Epoxid Rhodamin B 0,5 %, zvětšení 200×.	66
Obrázek 35: Epoxid Rhodamin B 2,5 %, zvětšení 200×.	66
Obrázek 36: Epoxid Rhodamin B, 5 %, zvětšení 200×.	66
Obrázek 37: Epoxid Safranin O 0,5 %, zvětšení 200×.	66
Obrázek 38: Epoxid Safranin O 2,5 %, zvětšení 200×.	66
Obrázek 39: Epoxid Safranin O 5 %, zvětšení 200×.	66
Obrázek 40: Epoxid Rhodamin 2,5 %, zvětšeno 500×.	67
Obrázek 41: Epoxid Rhodamin 2,5 %, zvětšeno 500×.	67
Obrázek 42: Epoxid Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.	67
Obrázek 43: Epoxid Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.	67
Obrázek 44: PUR Rhodamin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.	68
Obrázek 45: PUR Rhodamin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500 ×.	68
Obrázek 46: PUR Safranin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.	69
Obrázek 47: PUR Safranin 2,5 %, DMF, zvětšeno 500×.	69
Obrázek 48: PUR Rhodamin 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.	69
Obrázek 49: PUR Rhodamin 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.	69
Obrázek 50: PUR Safranin O 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.	70
Obrázek 51: PUR Safranin O 2,5 %, chloroform, zvětšeno 500×.	70
Obrázek 52: PRF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, zvětšeno 200×.	71
Obrázek 53: PRF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.	71
Obrázek 54: PRF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.	71
Obrázek 55: MUF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, zvětšeno 100×.	72
Obrázek 56: MUF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.	72
Obrázek 57: MUF lepidlo, Safranin O 2,5 %, zvětšeno 500×.	72
Obrázek 58: Struktura smrkového dřeva v okolí lepené spáry, použito epoxidové lepidlo, vlevo fluorescenční signál fluorochromu Rhodamin B (2,5 %), vpravo vzorek zobrazen v procházejícím světle, foto J. Mašek, VRI Brno.	73
Obrázek 59: Epoxidové lepidlo, Rhodamin 2,5 %, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo vzorek zobrazen v procházejícím světle, foto J. Mašek, VRI Brno.	74
Obrázek 60: Epoxidové lepidlo, Safranin 2,5 %, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo vzorek zobrazen v procházejícím světle, foto J. Mašek, VRI Brno.	74
Obrázek 61: PUR lepidlo, Rhodamin 2,5 %, DMF, vlevo fluorescenční záření fluorochromu a buněčné stěny, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	75
Obrázek 62: PUR lepidlo, Safranin O 2,5 %, DMF, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	76
Obrázek 63: PUR lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, chloroform, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	77
Obrázek 64: PUR lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, chloroform, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	77
Obrázek 65: PUR lepidlo, Safranin O 2,5 %, chloroform, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	77
Obrázek 66: PRF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, vlevo autofluorescence dřeva, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, autor snímku foto J. Mašek, VRI Brno.	78
Obrázek 67: PRF lepidlo, Safranin O 2,5 %, vlevo fluorescenční záření fluorochromu, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	78
Obrázek 68: MUF lepidlo, Rhodamin B 2,5 %, vlevo autofluorescence dřeva, vpravo zobrazení vzorku procházejícím světlem, foto J. Mašek, VRI Brno.	79

Obrázek 69: MUF lepidlo, Safranin O 2,5 %, fluorescenční záření fluorochromu ve struktuře dřeva, foto J. Mašek, VRI Brno.	79
Obrázek 70: TEM snímek epoxidového lepidla s 4 % nanočástic CaCO_3 , foto P. Kulich, VRI Brno.	81
Obrázek 71: TEM snímek vzorku s PUR lepidlem a 4 % nanoCaCO_3 , foto P. Kulich, VRI Brno.	82
Obrázek 72: TEM snímek zobrazující distribuci nanočástic CaCO_3 nesených PRF lepidlem (4 % přídavek v lepidle), foto P. Kulich, VRI Brno	82
Obrázek 73: TEM snímek buněčné stěny s obsahem nanočástic rozmísených v PRF lepidle, foto P. Kulich, VRI Brno.	83
Obrázek 74: TEM snímek prosycené buněčné stěny 4 % nanočástic CaCO_3 v MUF lepidle, foto P. Kulich, VRI Brno.	84
Obrázek 75: SEM snímek zkoumané oblasti na smrkovém dřevě s přidanými nanočásticemi CaCO_3 , zvětšení 500×, foto J. Klíma.	85
Obrázek 76: Kombinace SEM snímku a EDX prvkové analýzy oblasti zájmu, zvětšení 500 ×, foto J. Klíma.	85
Obrázek 77: Kombinace SEM a EDX snímku vzorku smrkového dřeva s přídavkem 4 % I_2 do epoxidové pryskyřice, zvětšení 850×, foto J. Klíma.	86
Obrázek 78: Kombinace SEM a EDX snímku vzorku bukového dřeva s přídavkem 4 % I_2 do epoxidové pryskyřice, zvětšení 500×, foto J. Klíma.	86
Obrázek 79: Spektrogram zobrazující píky jednotlivých prvků obsažených v epoxidové pryskyřici s 4% přídavkem I_2 .	87
Obrázek 80: SEM snímek zkoumané oblasti s epoxidovou pryskyřicí s 10% obsahem I_2 , zvětšení 2000×, foto J. Klíma.	87
Obrázek 81: SEM snímek se zkoumanými místy zájmu, přiblížení 2000×, foto J. Klíma.	87
Obrázek 82: Spektrogram zobrazující píky jednotlivých prvků obsažených v epoxidové pryskyřici s 10% přídavkem I_2 .	88

Seznam použitých tabulek

Tabulka 1: Specifikace parametrů lepidel	56
Tabulka 2: Kvantitativní vyhodnocení EDX analýzy vzorku s přídavkem 10 % I_2	64
Tabulka 3: Kvantitativní vyhodnocení EDX analýzy vzorku s přídavkem 30 % I_2	64
Tabulka 4: Prvková analýza pryskyřice v cévě buku potvrzující přítomnost jódu v ní	86
Tabulka 5: Procentuální zastoupení jednotlivých prvků analyzovaných oblastí	88

Seznam použitých grafů

Graf 1: Absorpční spektrum vodného roztoku Safraninu O	60
Graf 2: Absorpční spektrum vodného roztoku Rhodaminu B	60
Graf 3: Absorpční spektra vodného roztoku Rhodaminu B a lepidel s obsaženým Rhodaminem B	80
Graf 4: Absorpční spektra vodného roztoku Safraninu O a lepidel s obsaženým Safraninem O	80

Seznam použitých zkratk

ML	Střední lamela	PRF	Fenol rezorcín formaldehyd
P	Primární stěna	PUR	Polyuretan
S	Sekundární stěna	PEI	Polyethylenimin
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie	EDS	„ <i>Energy dispersive x-ray spectroscopy</i> “
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie	MW	Molekulová hmotnost
MFA	Mikrofibrilární úhel	PF	Fenol formaldehyd
UV	Ultrafialový	EPMA	„ <i>Electron probe X-ray microanalysis</i> “
MUF	Melamin močovino formaldehyd	pMDI	dimetylen difenyl diisokyanát
PVAc	Polyvinylacetát	XMT	„ <i>X-ray microtomography</i> “
RF	Rezorcín formaldehyd	NMR	Nukleární magnetická rezonance
EPI	Emulsní polymer tvrzený izokyanáty	CP	„ <i>Cross-polarization</i> “
CLSM	Konfokální laserová skenovací mikroskopie	MAS	„ <i>Magic angle spinning</i> “
AFM	„ <i>Atomic force microscopy</i> “	FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
TCM	„ <i>Thermal contrast microscopy</i> “	NI	Nanoindentace
CCM	„ <i>Conductivity contrast microscopy</i> “	SPM	„ <i>Scanning probe microscopy</i> “
SThM	„ <i>Scanning thermal microscopy</i> “	DMA	Dynamická mechanická analýza
EDXS	„ <i>Energy dispersive x-ray spectroscopy</i> “	MALS	„ <i>Multiangle light scattering analysis</i> “
EDX	„ <i>Energy dispersive x-ray spectroscopy</i> “	HPLC	„ <i>High performance liquid chromatography</i> “
BSE	„ <i>Backscatter electron imaging</i> “	DMF	N,N-dimetylformamid
WDS	„ <i>Wavelength disperzive spectroscopy</i> “	UV-VIS	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie