



**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

**ANALÝZA METOD PRO HODNOCENÍ  
SUBMIKROSTRUKTURY BUNĚČNÉ STĚNY DŘEVA**

METHOD'S ANALYSIS OF SUBMICROSCOPY STRUCTURE OF WOOD CELL WALL DETERMINATION

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

DIPLOMA THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Radomír Martinek**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**doc. Ing. JAN VANĚREK, Ph.D.**

**BRNO 2018**



## VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA STAVEBNÍ

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

### ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

<b>Student</b>	Bc. Radomír Martinek
<b>Název</b>	Analýza metod pro hodnocení submikrostruktury buněčné stěny dřeva
<b>Vedoucí práce</b>	doc. Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.
<b>Datum zadání</b>	31. 3. 2017
<b>Datum odevzdání</b>	12. 1. 2018

V Brně dne 31. 3. 2017

---

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

---

prof. Ing. Rostislav Drochytka, CSc., MBA  
Děkan Fakulty stavební VUT

## PODKLADY A LITERATURA

Abraham, Y. Elbaum, R. Quantification of microfibril angle in secondary cell walls at subcellular resolution by means of polarized light microscopy. *New Phytologist*. 2013, 197: 1012-1019

W.C. Oliver, G.M. Pharr: J. Mater. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*. 1992, 7(06), 1564-1583

Abe, K. & H. Yamamoto. Mechanical interaction between cellulose microfibril and matrix substance in wood cell wall determined by X-ray diffraction. *Wood Science*. 2006, Sv. 51: 334–338

Cave, I.D. & W. Robinson. Measuring microfibril angle distribution in the cell wall by means of X-ray diffraction. In: B.G. Butterfield (ed.), *Microfibril angle in wood*: 94–107. University of Canterbury, Christchurch, New Zealand. 1998.

Schimleck, L.R., R. Evans, & J. Ilic. Application of near infrared spectroscopy to a diverse range of species demonstrating wide density and stiffness variation. *IAWA*. 2001, Sv. 22 (4), 415-429.

Evans, R. A variance approach to the X-ray diffractometric estimation of microfibril angle in wood. *Appita Journal* . 1999, Sv. 52: 283–294.

## ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ

Vlastnosti dřeva jsou podmíněny rozdílnou stavbou na různých úrovních jeho struktury. Stávající poznatky prokazují, že ultrastrukturní měřítko hraje klíčovou roli pro mechanické vlastnosti. Pro mechanické parametry se uvažuje s modelem tuhých vyztužujících vláken celulózy a neúnosné matrice stěny z ligninu a hemicelulóz. S rozvojem zobrazovacích metod je důležité zjistit bližší mechanismus chování buněčné stěny na ultrastrukturní úrovni při různých napjatostních stavech dřeva. K identifikaci této ultrastruktury buněčné stěny lze dospět mnoha metodami, jedna z prvních metod identifikující strukturu celulózy byla zobrazovací metoda využívající polarizace v rámci světelné mikroskopie, mezi další pokročilejší metody lze zmínit metody využívající krystalickou stavbu celulózy (rentgenová difrakce SAXS) nebo infračervená spektroskopie.

V rámci diplomové práce budou v teoretické části podrobně popsány způsoby, kterými lze kvalitativně stanovit krystalickou část celulózy, příp. kterými lze stanovit úhel sklonu jednotlivých mikrofibril. V experimentální části bude přistoupeno k ověření stavby smrkového dřeva na ultrastrukturním měřítku na výsledné mechanické parametry, bude zejména uvažováno s tuhostním parametrem. Na jednotlivých makroskopicky zřejmých letokruzích bude provedena nanoindentace (vtlačování indentoru do jarní a letní části letokruhu) pro stanovení tuhosti dřeva. Stanovení MFA (úhlu mikrofibril) bude pro jednotlivé letokruhy vzorků provedeno metodami s využitím polarizovaného světla a metodou využívající rentgenovou difrakci. Z dosažených výsledků bude vyhodnocena případná závislost mezi tuhostí dřeva a hodnotami MFA tracheid jarního a letního dřeva. Bude rovněž posouzena vypovídající schopnost použitých metod pro určení hodnot MFA celulózy. Doplnkově bude ultrastruktura dřeva či typy porušení buněčné stěny doplněna mikroskopickou analýzou (SEM, TEM).

## 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).

## **ABSTRAKT**

Obsah této práce je věnován zkoumání vlivu struktury dřeva na mikroskopické a submikroskopické úrovni na mechanické vlastnosti. Buněčná stěna dřeva se skládá z několika vrstev, přičemž dominantní je vrstva S2, která zaujímá až 80 % celkové tloušťky buněčné stěny. Jedinečnou vlastností této vrstvy je, že v ní obsažené celulózové mikrofibrily jsou vyrovnány a šroubovitě ovinuty kolem osy buňky. Odklon těchto mikrofibril je nazýván úhel mikrofibril (MFA) a je klíčovou vlastností, která ovlivňuje mechanické vlastnosti dřeva a jeho sesychání. V teoretické části práce jsou důkladně popsány metody, pomocí kterých se odklon mikrofibril měří. Dále je podrobně rozebrán způsob měření tuhostních parametrů buněčné stěny nazvaný nanoindentace. V praktické části práce je přistoupeno k měření úhlu mikrofibril pomocí polarizace, stanovení mechanických vlastností dřeva na makroskopickém a submikroskopickém měřítku pomocí nanoindentace.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Buněčná stěna, úhel mikrofibril, polarizační mikroskopie, nanoindentace.

## **ABSTRACT**

The content of this study is focused on the influence of the structure of wood at microscopic and submicroscopic level on its mechanical properties. The wood cell wall consists of several layers, the dominant layer being layer S2, which occupies up to 80 % of the total thickness of the wood cell wall. Unique feature of this layer is that cellulose microfibrils placed in this layer are highly aligned and spirally wound around the cell axis. The inclination of these microfibrils is called microfibril angle (MFA) and is the key feature that affects mechanical properties of wood and its shrinkage. In theoretical part of this thesis methods for measuring microfibril angle are described. A method for measuring mechanical properties of the wood cell wall called nanoindentation is discussed in detail. In the practical part of this thesis, microfibril angle is measured by means of polarized light microscopy and mechanical properties of wood cell wall is determined by means of nanoindentation.

## **KEYWORDS**

Wood cell wall, microfibril angle, polarized light microscopy, nanoindentation.

## **BIBLIOGRAFICKÁ CITACE VŠKP**

Bc. Radomír Martinek *Analýza metod pro hodnocení submikrostruktury buněčné stěny dřeva*. Brno, 2017. 82 stran. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav technologie stavebních hmot a dílců. Vedoucí práce doc. Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 11. 1. 2018

---

Bc. Radomír Martinek  
autor práce

## **Poděkování**

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu práce, panu doc. Ing. Janu Vaněrkovi, Ph.D., za odborné vedení, připomínky, rady a ochotnou spolupráci při vzniku této diplomové práce.

Dále bych chtěl poděkovat paní doc. RNDr. Vilmě Buršíkové, Ph.D. a panu MVDr. Pavlovi Kulichovi za ochotnou spolupráci při měření praktické části práce.

## OBSAH:

1. Úvod .....	11
2. Struktura dřeva .....	12
2.1. Mikroskopická struktura .....	12
2.2. Sub-mikroskopická struktura .....	17
2.3. Krystalická celulóza.....	19
2.4. Úhel mikrofibril (MFA).....	21
2.5. Variace odklonu mikrofibril .....	22
2.6. Měření úhlu mikrofibril od axiální osy buňky .....	22
3. Tuhostní parametry dřeva.....	23
4. Metody měření úhlu mikrofibril .....	25
4.1. Polarizace.....	25
4.1.1. Princip polarizační mikroskopie.....	26
4.2. Rentgenová difrakce .....	27
4.2.1. Základní teorie .....	27
4.2.2. Difrakce vláken.....	29
4.2.3. Zkoumání struktury dřeva pomocí rentgenové difrakce.....	29
4.2.4. Stanovení velikosti krystalitů .....	31
4.3. Small Angle X-Ray Scattering - SAXS .....	31
4.4. Infračervená spektroskopie .....	31
4.5. Přímé zobrazení úhlu mikrofibril pomocí světelné mikroskopie.....	32
5. Nanoindentace .....	33
5.1. Měření tvrdosti a modulu pružnosti.....	35
5.2. Mechanické vlastnosti zjištěné nanoindentací v závislosti na MFA .....	37
5. Cíl práce.....	40
6. Metodika práce .....	41
6.1. Modul pružnosti ve směru vláken.....	41
6.1.1. Příprava vzorku .....	41
6.1.2. Přístroje a okrajové podmínky.....	41
6.1.3. Postup měření .....	41
6.2. Polarizační mikroskopie .....	42
6.2.1. Příprava vzorku .....	42
6.2.2. Přístroje a okrajové podmínky.....	42



6.2.3.	Postup měření .....	42
6.3.	Stanovení tvrdosti a modulu pružnosti pomocí nanoindentace .....	43
6.3.1.	Příprava vzorku .....	43
6.3.2.	Přístroje, okrajové podmínky a postup měření .....	47
6.4.	Stanovení tloušťky buněčné stěny dřeva .....	48
6.4.1.	Příprava vzorku .....	48
6.4.2.	Přístroj a postup měření .....	48
6.5.	Mikroskopická analýza stavby dřeva.....	48
6.5.1.	Příprava vzorku .....	49
6.5.2.	Přístroje a okrajové podmínky.....	49
6.5.3.	Postup měření .....	49
7.	Výsledky zkoušek.....	50
7.1.	Modul pružnosti ve směru vláken.....	50
7.2.	Polarizační mikroskopie .....	50
7.3.	Nanoindentace .....	52
7.3.1.	Bez úpravy vzorku.....	52
7.3.2.	Úprava vzorku brusivem .....	52
7.3.3.	Uložení vzorku ve SPURR epoxidu .....	52
7.3.4.	Úprava vzorku dusíkem.....	53
7.4.	Stanovení tloušťky buněčné stěny .....	53
7.5.	Mikroskopická analýza buněčné struktury .....	54
8.	Shrnutí a diskuze výsledků.....	55
8.1.	Vliv makroskopické stavby na tuhost dřeva .....	55
8.1.1.	Vliv podílu letního dřeva.....	55
8.2.	Vliv mikroskopické stavby na tuhost dřeva.....	56
8.2.1.	Vliv podílu letního dřeva bez lumenů .....	56
8.3.	Vliv submikroskopické stavby na tuhost dřeva .....	57
8.3.1.	Vliv odklonu fibril celulózy od axiální osy .....	57
8.4.	Tuhost buněčné stěny stanovená pomocí nanoindentace.....	60
8.4.1.	Vliv předúpravy povrchu dřeva na redukovaný modul .....	60
8.4.2.	Vliv odklonu mikro fibril na hodnoty redukované tuhosti .....	64
9.	Závěr.....	68
10.	Bibliografie.....	71

SEZNAM GRAFŮ .....	78
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	79
SEZNAM TABULEK .....	82

## 1. Úvod

Dřevo je dobře známý biologický materiál, který je vysoce porézní, lehký, ale zároveň silný, tuhý a houževnatý, což je kombinace, která se jen zřídka vyskytuje u uměle vytvořených materiálů. Díky svým vlastnostem se využívá už od pradávna, a i dnes má stále velmi důležitou roli. Jedno ze základních použití dřeva je v nosných systémech např. domů, mostů, lodí a také letadel. Kombinace vysoké porozity dřeva a jeho výjimečných mechanických vlastností má základ v dobrém konstrukčním rozvržení. Materiál, ze kterého se skládá buněčná stěna dřeva, funguje jako kompozit, kde celulózové mikrofibrily fungují jako tuhá vlákna a molekuly hemicelulózy a ligninu fungují jako měkká matrice. Specifickou vlastností hlavní z vrstev buněčné stěny je, že celulózová vlákna jsou v této vrstvě vysoce vyrovnána a spirálovitě vinuta kolem osy buňky. Tato vrstva, sekundární vrstva S2, je dominantní z hlediska tloušťky, zabírá až 80 % celkové tloušťky buněčné stěny, proto jsou její vlastnosti z hlediska chování celé buňky klíčové. Úhel, který svírají mikrofibrily s axiální osou buňky je nazýván úhel mikrofibril. Bylo zjištěno, že mechanické vlastnosti, stejně tak jako sesychání, velmi úzce souvisí s velikostí tohoto úhlu.

Tyto poznání jsou důvodem, proč se v předložené diplomové práci zabírám analýzou submikroskopické struktury dřeva a ověřením vlivu submikroskopické stavby na vybrané mechanické parametry. Problematika zkoumání buněčné stěny dřeva je rozvíjejícím se odvětvím díky rozvoji nových zobrazovacích technik umožňujících analýzu na tomto submikroskopickém rozhraní.

## 2. Struktura dřeva

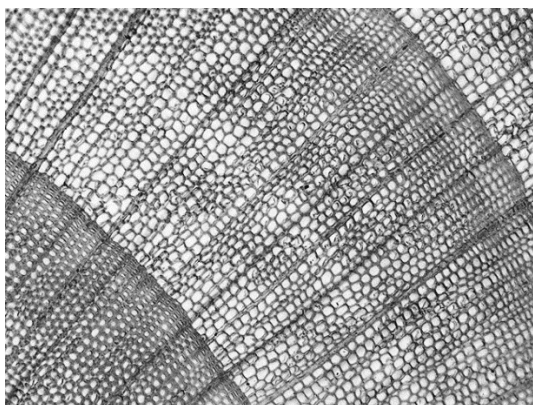
### 2.1. Mikroskopická struktura

Mikrostrukturní složení dřevin je rozdílné u dřevin jehličnatých a dřevin listnatých.

U jehličnanů tvoří mikrostrukturu:

- podélná vlákna
- pryskyřičné kanálky
- dřeňové paprsky
- dvojtečky.

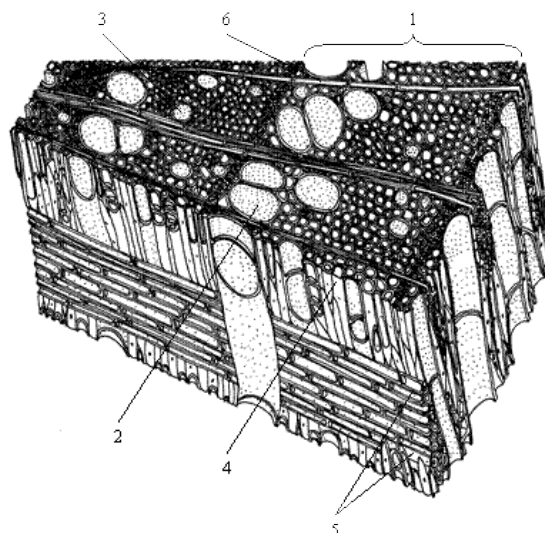
U jarního dřeva můžeme pozorovat tenčí buněčnou stěnu oproti buněčné stěně letního dřeva. Také průměr buněk se liší, u jarního dřeva je kvůli dostatečnému množství vody průměr buněk poměrně větší než u letního dřeva (Obr. 1). Přechod mezi letním a jarním dřevem může být náhlý nebo pozvolný.



**Obrázek 1.** Náhlý přechod jarního a letního dřeva u douglasky tisolisté. (Foto Aleš Soukup)

Listnaté dřeviny mají na rozdíl od jehličnanů složitější stavbu (Obr. 2). Nachází se u nich více druhů buněk.

- tracheje (cévy)
- tracheidy (cévice)
- libriformní buňky (dřevní vlákna)
- parenchymatické buňky.

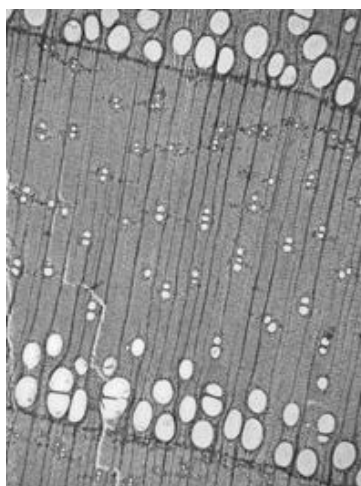


**Obrázek 2** Znárodnění stavby listnatého dřeva (Požgaj, Chovanec a kol., 1997): 1 – letokruh, 2 – jarní céva, 3 – letní céva, 4 – lifbriformní vlákno, 5 – dřeňový paprsek, 6 – podélný parenchym

Dřevo listnatých dřevin se dělí do těchto kategorií:

**a. s kruhovitě pórovitou stavbou**

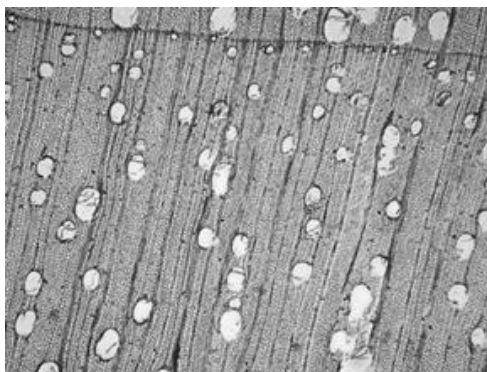
Tyto dřeviny mají zřetelné hranice mezi letokruhy, převažuje u nich zastoupení letního dřeva a přechod mezi jarním a letním dřevem je zřetelně odlišený. Jarní dřevo obsahuje široké jarní cévy – makropóry, v letním dřevě jsou obsaženy úzké letní cévy – mikropóry (Obr. 3). Typické dřeviny s kruhovitě pórovitou stavbou jsou kaštanovník, akát, jilm, dub, morušovník.



**Obrázek 3.** Kruhovitě pórovitá struktura jasanového dřeva. (Zvětšení 40×)

### **b. s polokruhovitě pórovitou stavbou**

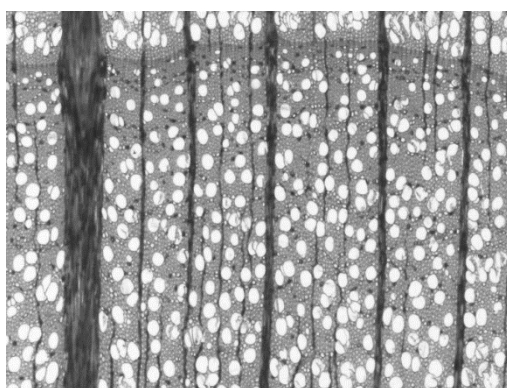
U těchto dřevin lze pozorovat zřetelný přechod mezi letokruhy. Makropóry jsou rozptýleny v celém letokruhu a rozměry makropórů se zmenšují od jarního dřeva směrem k letnímu (Obr. 4). Toto uspořádání je typické pro dřeviny jako jsou ořešák, třešeň nebo švestka.



**Obrázek 4.** Polokruhovitě pórovitá struktura dřeva ořešáku. (Zvětšení 40×)

### **c. s roztroušeně pórovitou stavbou**

Dřeviny s roztroušeně pórovitou stavbou mají méně zřetelné až nezřetelné hranice mezi jednotlivými letokruhy. U letokruhů navíc není rozlišeno jarní a letní dřevo. Mikropóry jsou rovnoměrně rozptýleny napříč celým letokruhem (Obr. 5). Dřeva s roztroušeně pórovitou stavbou jsou např. buk, habr, platan, olše, javor, lípa, bříza, topol, vrba, hrušeň, jabloň nebo jírovec.



**Obrázek 5.** Roztroušeně pórovitá struktura bukového dřeva. (Zvětšení 40×)

**Tabulka 1.** Procentuální zastoupení elementů ve dřevě jehličnanů.

Dřevní elementy	Průměrný objem v %
Tracheidy	91,0
Dřeňové paprsky	7,0
Parenchym	1,5
Pryskyřičné kanálky	0,4

**Tabulka 2.** Procentuální zastoupení elementů u listnatých dřevin.

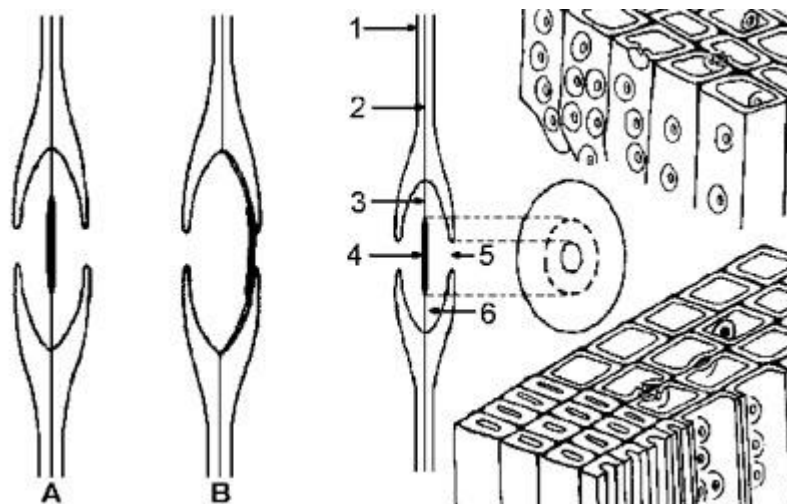
Dřevní elementy	Průměrný objem v %
Tracheje a tracheidy	20,0
Dřevní vlákna	49,0
Dřeňové paprsky	18,0
Dřevní parenchym	13,0

Parenchymatické buňky – jsou obvykle tenkostěnné, tvaru hranolovitého. Obsahují hodně cytoplasmu a různých rezervních látek (škrob, oleje, tříslo, krystaly šťavelanu vápenatého, u jehličnanů pryskyřice). V živém dřevě tedy zprostředkují látkovou výměnu a jsou reservoárem zásobních látek. V odumřelém dřevě přestává parenchym fungovat a ukládají se v něm látky, jež jádru často dodávají charakteristické vlastnosti. Stěny parenchymatických buněk jsou opatřeny hojnými tečkami. Jsou to ve skutečnosti nezesílená místa v buněčné stěně [1].

Sklerenchymatické buňky – (libriformní dřevní vlákna) jsou tlustostěnné, protáhlé buňky šídlovitého tvaru. Tyto buňky brzo odumírají. Lumeny jsou vyplněny vzduchem nebo vodou. Stěny bývají hustě posety malými tečkami nebo ve výjimečných případech dvojtečkami. Ve dřevě listnáčů tvoří pevně spojené vláknité pruhy, které dodávají dřevu pevnosti. Ve dřevě jehličnatých stromů chybí [1].

Cévy – jsou vodivými prvky, což určuje také jejich protáhlý tvar. Jsou odumřelé a vodí ve dřevě vodní roztoky živin a někdy i vzduch. Staré, nefungující cévy v jádrovém dřevě bývají často vyplněny útvary, jež nazýváme thyly. Jsou to vakovité vychlípeniny, vnikající do cév z parenchymatických buněk, které cévy obklopují. Thyly jsou často naplněny škrobem a nabývají tak funkce zásobního pletiva. Cévy mohou mít různý tvar a podle toho rozeznáváme dva typy [1]:

- Tracheje – cévy pravé, jsou buňky na obou koncích otevřené, spojující se v dlouhé trubice. Vznikají z buněk původně uzavřených, u kterých se později přehrádky úplně nebo částečně rozpustí. Otvory takto vzniklé v příčných přehrádkách nazýváme perforací. Ta je buď jednoduchá, jde-li o úplné rozpuštění přehrádky, nebo hromadná, rozpustila-li se jen část přehrádky. Rozvádění živin se děje prolínáním buněčnou stěnou, napomáhají tečky a dvojtečky ve stěnách trachejí (Obr. 6). Jsou to místa, kde nenastalo druhotné tloušťnutí buněčné blány. Tečky jsou prosté ztenčeniny různého tvaru, obvykle kulatého nebo eliptického, někdy úzce protáhlého. Dvojtečky mají složitější stavbu a mohou regulovat průchod živin. Ve dřevě listnáčů jsou tracheje vždy vyvinuty, chybějí však úplně v druhotném dřevě jehličnatých [1].
- Tracheidy – jsou na rozdíl od trachejí vždy uzavřené a nemají mezi sebou přímé spojení. Jinak svou stavbou souhlasí s trachejemi. Mají zdřevnatělé stěny a dvojtečkami rozvádějí vodní toky živin. Ve dřevě jehličnatých, kde jsou kromě parenchymu jedinou složkou stavby dřeva, přejímají funkci mechanického pletiva, tj. dodávají dřevu pevnosti. Podle délky pak rozeznáváme krátké tracheidy, které odpovídají trachejím, nemají však příčné přehrádky nijak porušeny a rozpuštěny, a vláknité tracheidy, což jsou protáhlé, šídlovité buňky, připomínající libriform [1].



**Obrázek 6.** (A) Schematické znázornění dvojtečky. (B) Aspirovaná dvojtečka. 1 – stěna tracheidy (sekundární stěna) 2 – střední lamela (primární stěna), 3 margo, 4 – torus, 5 – porus, 6 – dvůrek (Petty, 1970)

Dřeňové paprsky – jsou důležitým znakem při mikroskopickém i makroskopickém určování dřeva. Probíhají od středu k obvodu a jejich funkcí je rozvádět živiny v kmeni radiálním směrem. Skládají se vždy z parenchymatických buněk obdélníkového průřezu, jež tvoří

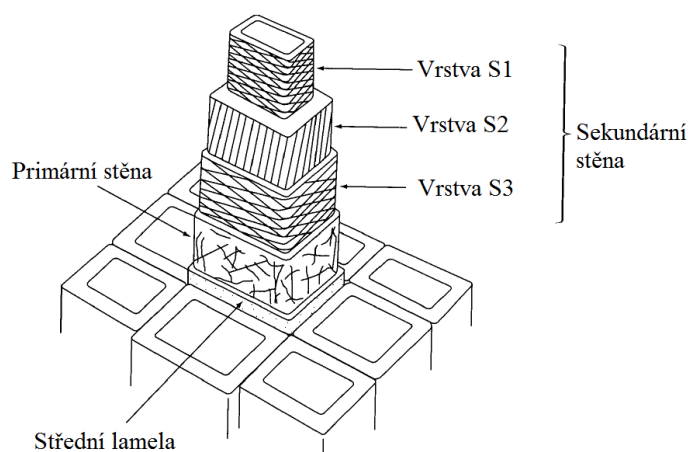


souvislé řady. Jsou buď homogenní, jestliže jsou ve všech vrstvách paprsku složeny z buněk stejně vysokých a uložených osou ve směru paprsku, nebo heterogenní, jsou-li některé vrstvy paprsku složeny z buněk, majících osu rovnoběžnou s osou kmene. U jehličnatých stromů jsou tyto řady parenchymatických buněk kryty jednou nebo více rovnoběžnými řadami tracheid, jež pak nazýváme příčnými tracheidami [1].

Pryskyřičné kanálky – Jsou to mezibuněčné prostory vyplněné pryskyřicí. Jsou obklopeny skupinou parenchymatických buněk a dále uvnitř vrstvou tenkostěnných buněk, z nichž se vylučuje pryskyřice. Pryskyřičné kanálky jsou běžným jevem u mnohých jehličnatých dřevin (smrk, borovice, modřín), u našich listnatých stromů chybí [1].

## 2.2. Sub-mikroskopická struktura

Stěny buněk dřeva se skládají z primární a sekundární vrstvy. Sekundární stěna je tvořena třemi vrstvami, S1, S2 a S3. Vrstva S1 leží nejbliže střední lamely, zatímco vrstva S3 leží nejbliže lumenu buňky (Obr. 7). Dominantní je vrstva S2, která zaujímá až 80 % celkové tloušťky buněčné stěny. Jednotlivé vrstvy mohou být odlišeny díky různé orientaci mikrofibril v každé vrstvě. U vrstev S1 a S3 je obecně vysoký úhel odklonu od axiální osy buňky, a to v rozmezí 50 – 80°, zatímco u vrstvy S2 je úhel obecně nižší v rozmezí 0 – 50°.



**Obrázek 7.** Grafické znázornění jednotlivých vrstev buněčné stěny. Dále můžeme vidět orientaci mikrofibril jednotlivých vrstev typické tracheidy.

Jak je znázorněno na obrázku 7, materiál buněčné stěny dřeva je kompozit, kombinující tuhé a měkké polymerní komponenty. Studie ukázaly, že se buněčná stěna dřeva skládá z několika vrstev. Je to jakýsi vláknitý kompozit skládající se z tuhých celulózových vláken uložených v měkké matrici z hemicelulózy a ligninu [2]. Celulóza má modul pružnosti

v podélném směru ve vlhkém prostředí až 134 GPa, zatímco polymerní matrice jako hemicelulóza nebo lignin mají modul pružnosti mnohem nižší, hemicelulóza kolem 40 MPa a lignin 2 GPa [3]. Celulózová vlákna mají průměr 2,5-5 nm a délku několik  $\mu\text{m}$ . Zatímco průměr fibril může být měřen s relativně velkou přesností pomocí např. rentgenové analýzy (SAXS) nebo transmisní elektronové mikroskopie (TEM) [4], délka fibril je neznámá, protože nejsme schopni tento parametr experimentálně změřit. Jedním z možných přístupů je výpočet délky fibril ze stupně polymerace. Tento stupeň znázorňuje, kolik je jednotek  $\beta$ -D-glukózy spojeno dohromady glykosidickými vazbami v lineárním polymerním řetězci. V závislosti na druhu rostliny bylo zjištěno rozmezí 7 000 až 15 000 jednotek [5]. Čtrnáct tisíc jednotek odpovídá délce celulózového vlákna cca 7  $\mu\text{m}$  [6].

Další charakteristikou celulózových vláken je jejich para-krystalická povaha. Znamená to, že se skládají jak z krystalických, tak z nekrystalických částí. Možné uspořádání těchto částí může být buď amorfni skořápka obklopující krystalické jádro, střídání krystalických a amorfni částí podél osy fibrily nebo kombinace obou [7]. Jednotky amorfni celulózy jsou velmi podobné vysoce uspořádaným hemicelulózám, které obsahují buď žádné nebo krátké vedlejší řetězce, což pravděpodobně vede k postupnému nanosturkturálnímu přechodu mezi jednotlivými fázemi [6].

Primární a sekundární buněčné stěny se poměrně velmi liší složením jejich maticí. To reflektuje jejich rozdílné funkce a zároveň zdůrazňuje jejich zásadní význam pro mechanické vlastnosti buněčných vláknitých kompozitů. Primární stěny mají hlavně usnadnit růst buněk, čehož je dosaženo maticí složenou z hemicelulózy, pektinu, strukturálních proteinů a aromatických látek. Sekundární buněčná stěna zajišťuje stabilitu rostliny, která je podpořena tužší maticí složenou z hemicelulózy a ligninu.

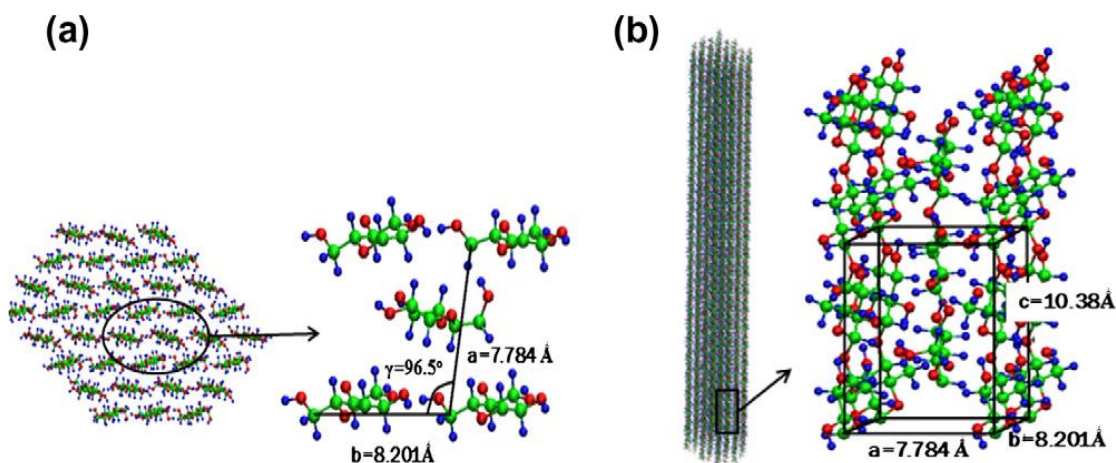
Hemicelulózy, nacházející se v různých formách v různých buněčných stěnách, jsou heteropolymery sestávající z velkého množství neutrálních cukrů (např. glukóza, manóza, galaktóza, xylóza, fukóza, arabinóza) a mohou obsahovat uronové kyseliny. Molekuly hemicelulózy mají typicky hlavní řetězec obklopený bočními řetězci. Pektiny se nacházejí hlavně v primárních buněčných stěnách a ve střední lamelle, která spojuje jednotlivé buňky dohromady. Jsou to vysoce heterogenní kyselé polysacharidy [6]. Páteř vedlejších řetězců molekul může být složena buď z jedné polysacharidové jednotky (např. homogalakturonanu) nebo z opakujících se stavebních bloků skládajících se z disacharidů. Lignin se typicky nachází v sekundární buněčné stěně, ale také primární stěny

se lignifikují, jakmile buňka dosáhne své velikosti a tvaru a buněčný růst se ukončí. Lignin polymerizuje uvnitř buněčné stěny ze tří různých fenylypropanových jednotek, plnící dutiny v základním seskupení buněčné stěny z celulózy, hemicelulózy a pektinů. V sekundární buněčné stěně funguje lignin jako další ztuzující prvek, který hlavně snižuje riziko zlomení buněčné stěny při tlakovém namáhání.

Vedle individuálních vlastností makromolekul buněčné stěny, jejich interakce a vazby mezi nimi mají zásadní význam pro chování celé buněčné stěny. Nejrozšířenější typ vazby mezi makromolekulami v buněčné stěně je vodíková vazba. Jedná se o výhradní typ vazby nacházející se mezi povrchem celulózových vláken a okolní polymerní maticí (hemicelulózou). Velké množství vodíkových vazeb je ideální pro vytvoření těsného, ale flexibilního spojení mezi makromolekulami, protože vazby lze díky jejich nízké pevnosti snadno otevřít a reformovat. Vodíková vazba je také nejrozšířenějším typem mezi makromolekulami matrice, ale byly zde pozorovány také kovalentní vazby. Ty byly zaznamenány mezi pektinem a hemicelulózami [8] a také mezi hemicelulózami a ligninem [9].

### 2.3. Krystalická celulóza

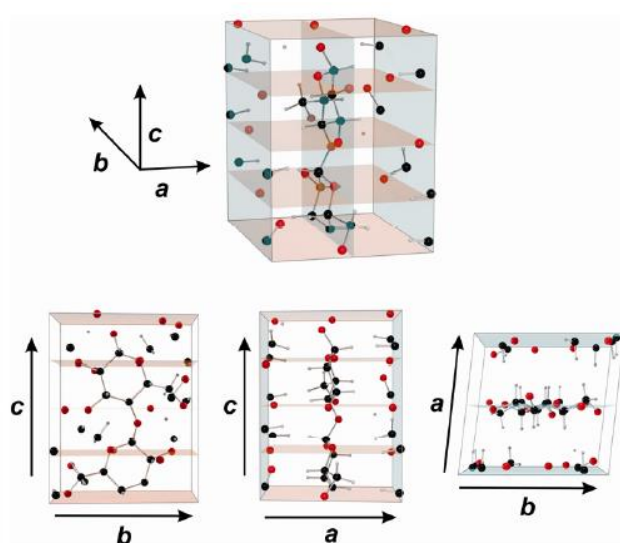
Je známo, že krystalická celulóza v sekundární vrstvě buněčné stěny tracheid smrku (*Picea abies*) je monoklinického typu  $I_{\beta}$ . Podle nedávné studie [10] jsou mřížkové konstanty následující:  $a = 7,784 \text{ \AA}$ ,  $b = 8,201 \text{ \AA}$ ,  $c = 10,380 \text{ \AA}$  a  $\gamma = 96,5$  stupňů (Obr. 8).



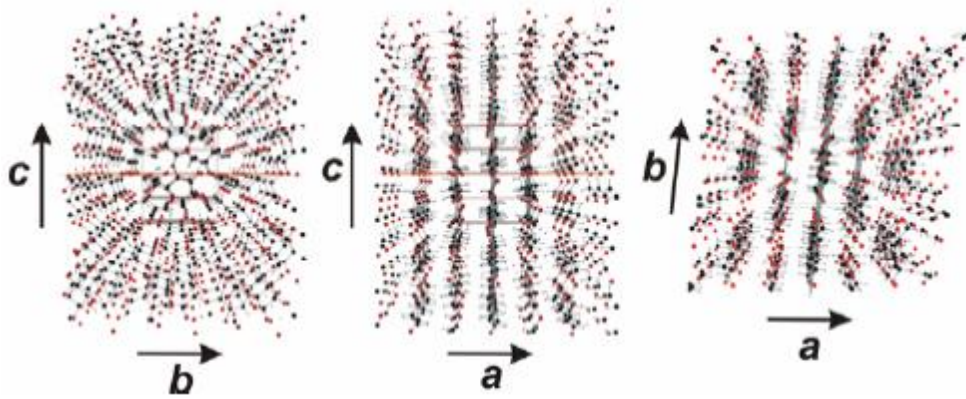
**Obrázek 8.** (a) Pohled na krystalickou strukturu celulózy podél osy  $c$ . (b) Šikmý pohled na krystalickou strukturu celulózy [11].

Celulózové řetězce probíhají ve směru krystalografické osy  $c$ , zatímco O-H $\cdots$ H vodíkově vázané vrstvy celulózových řetězců jsou umístěny rovnoběžně s rovinou  $bc$ . Dále jsou vrstvy uloženy ve směru osy  $a$  slabými van der Waalsovými silami a slabými C-H $\cdots$ O vodíkovými vazbami. Stavební buňka dle Nishiyama [10] je ukázána na Obr. 9. Kromě pozic jednotlivých atomů jsou také zobrazeny mřížkové roviny (200) a (004).

Celkové rozměry krystalických oblastí v celulózových mikrofibrilách jsou malé a krystaly jsou krátké ve srovnání s délkou mikrofibril. Na základě studií na vzorcích o objemu několika  $\text{mm}^3$ , délka je okolo 200–300 Å, zatímco šířka je kolem 30 Å [12]. Struktura malého krystalu celulózy je znázorněna na Obr. 10 [13].



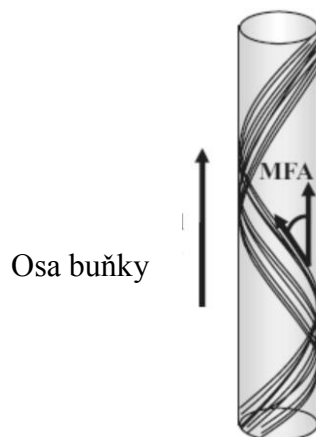
**Obrázek 9.** Struktura smrku ztepilého – jednotková buňka krystalické celulózy I $\beta$ , založená na krystalografických datech Nishiyamy [10]. Mřížkové roviny (200) a (004) jsou zobrazeny světle modrou a světle červenou. Červené koule představují atomy kyslíku, černé koule atomy uhlíku a šedé koule atomy vodíku. Nahoře je zobrazen 3D pohled na jednotkovou buňku. Dole jsou pak zobrazeny projekce jednotkové buňky ve směru krystalografických os  $a$  (vlevo),  $b$  (uprostřed) a  $c$  (vpravo). [13]



**Obrázek 10.** Krystal celulózy o velikosti  $3 \times 3 \times 3$  jednotkové buňky znázorněný ve směru krystalografické osy  $a$  (vlevo),  $b$  (uprostřed) a  $c$  (vpravo). Jednotková buňka je zobrazena ve středu krystalu. Rozměry ve směru os  $a$  a  $b$  jsou přibližně o jednotkovou buňku menší, než byly pozorovány u smrku. Ve směru osy  $c$  jsou skutečné krystaly mnohem delší. [13]

#### 2.4. Úhel mikrofibril (MFA)

Jednou z nejvíce vyšetřovaných hodnot při zkoumání vlastností přírodních vláknitých celulózových materiálů je orientace celulózových mikrofibril. Směr uložení elementárních celulózových fibril posilujících buněčnou stěnu dřeva byl v posledních letech předmětem zkoumání. Zvláštní pozornost byla věnována sklonu mikrofibril vzhledem k podélné ose buňky nazývaná úhel mikrofibril (MFA) (Obr. 11). Bylo zjištěno, že MFA ovlivňuje mechanické vlastnosti dřeva [14] a také proces sesychání dřeva [15]. Úhel mikrofibril byl také vyšetřován ve vztahu s tuhostí a pevností v tahu vláken a papíru [16]. MFA se liší strom od stromu, od dřevě ke kůře a také po výšce stromu. Také se různí podle rychlosti růstu stromu. Mnoho metod, jako polarizační metoda, fluorescenční nebo elektronová mikroskopie a jódové barvení, které se používají pro stanovení úhlu mikrofibril, jsou časově velmi náročné, protože extrémní variabilita biologického materiálu vyžaduje, aby pro vypovídající výsledky měření bylo naměřeno velké množství jednotlivých vláken. Samotná příprava vzorků je tedy poměrně zdlouhavá. Naproti tomu rentgenová difrakce může poskytnout difrakční obraz několika stovek elementů v jediném zobrazení, při krátké přípravě vzorků a relativně krátkém čase měření. Hlavní nevýhodou této metody je ale interpretace difrakčních diagramů ve vztahu k orientaci mikrofibril.



**Obrázek 11.** Celulózové mikrofibryly v buněčné stěně dřeva. [13]

## 2.5. Variace odklonu mikro fibril

U jehličnatých stromů bylo zjištěno, že nejvyšší hodnoty MFA bývají u dřeně, a to v patě stromu. Směrem ke kůře se hodnoty MFA snižují. Odklon mikro fibril se také snižuje od kořene směrem ke koruně stromu, svého minima dosahuje ve výšce cca 7 metrů. Dále je více méně konstantní, opět se ale zvyšuje ke konci kmene. U listnatých stromů je tomu podobně. Nejnižší hodnoty MFA bývají cca v polovině výšky stromu, naopak vysoké hodnoty jsou v patě a koruně stromu. I tady je patrný směr snižování MFA od dřeně ke kůře [17].

U tlakového dřeva byly zjištěny průměrné vyšší hodnoty MFA než u dřeva nezatiženého napětím. Naopak u protilehlého tahového dřeva jsou průměrné hodnoty MFA nižší [18].

Variace mezi stromy je nejvíce patrná v juvenilním dřevě. U jehličnatých dřevin dochází k postupnému snižování MFA s věkem stromu, kdy v 15 letech stromu dochází ke snížení MFA na porovnatelně nízké hodnoty [19].

## 2.6. Měření úhlu mikro fibril od axiální osy buňky

V podstatě existují tři metody, kterými lze úhel mikro fibril (MFA) v buněčné stěně měřit. Jsou to rentgenová difrakce (XRD) [20] [21], polarizační metoda [22] [23] [24] [25] a přímé nebo nepřímé pozorování [26] [27].

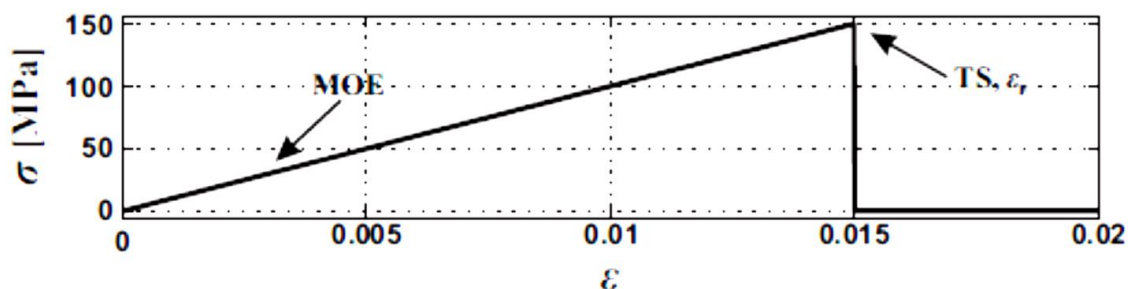
Metoda XRD je nejrychlejší a nejmodernější metoda pro měření úhlu mikro fibril. Tato metoda umožňuje měření mnoha vzorků v krátkém časovém intervalu, nicméně interpretace naměřených výsledků vyžaduje značné odborné znalosti. Rentgenová difrakce poskytuje nepřímé zobrazení úhlu mikro fibril, ze kterého lze určit přibližný sklon mikro fibril.

Metoda polarizovaného světla je při měření úhlu mikrofibril velmi časově náročná. Tato mikroskopická metoda umožňuje měření úhlu mikrofibril na části buněčné stěny mezi zkříženými poláry. Při rotaci vzorku intenzita transmisního světla klesne na nulu právě tehdy, pokud jsou mikrofibrily rovnoběžné s jedním z polárů. Tento postup nicméně nelze použít pro neupravené buněčné vlákno, protože protilehlá strana spirálovitě vinuté buněčné stěny by do měření vnášela chybu [25]. Tento problém může být překonán pozorováním extinkce polarizovaného světla skrze jednu buněčnou stěnu prostřednictvím dvojtečky v buněčné stěně. Tato polarizační metoda předpokládá, že extinkce nastane, pokud jsou mikrofibrily ve vrstvě S2 rovnoběžné s polarizátorem. Striktně pravda by to byla pouze tehdy, pokud by tloušťka obou vrstev S1 a S3 byla nulová. V předchozích pracích se ale předpokládalo, že tloušťka vrstev S1 a S3 je dostatečně malá, tím pádem má při měření úhlu mikrofibril vrstvy S2 zanedbatelný vliv [28].

Přímé a nepřímé pozorování zahrnuje Cockrellovu metodu [26], která je postavená na měření orientace otvorů dvojteček v tracheidách letního dřeva. Natočení těchto dvojteček odpovídá úhlu mikrofibril vrstvy S2 buněčné stěny. Technika Senfta a Bendstena [27] zahrnuje vnikání do buněčné stěny. Roztok jodidu draselného vnikne do buněčné stěny, kde dojde k jeho krystalizaci. Tyto krystaly se vyrovnají ve směru mikrofibril a umožní tak pozorování směru mikrofibril pod mikroskopem. Touto technikou je možné měřit všechny tři vrstvy buněčné stěny dřeva, a to pouhým zaostřováním mikroskopu v požadované hloubce ostrosti.

### 3. Tuhostní parametry dřeva

Pro určení základních parametrů dřeva jsou většinou preferovány namáhání tahové ve směru vláken. Uvažujme vzorek, jehož původní délka je  $d_0$ . V případě izotropního materiálu vyvozuje síla během tahového namáhání napětí  $\sigma = F/A$ , kde  $A$  je plocha průřezu kolmá na směr působení síly. Napětí je závislé na poměrném délkovém prodloužení vzorku, které se popisuje jako  $\varepsilon = \Delta d/d_0$ , kde  $\Delta d$  je délková změna vzorku. Nejjednodušší přístup k tahovému chování je lineární pružnost. V takovém případě je napětí a přetvoření vzorku vyjádřeno rovnicí  $\sigma = E \cdot \varepsilon$ , kde  $E$  je modul pružnosti (MOE). Pokud vyjádříme napětí jako funkci přetvoření (Obr. 12), může být modul pružnosti vyjádřen jako směrnice této křivky [13].



**Obrázek 12.** Schematická křivka závislosti napětí na deformaci lineárně elastického materiálu. Pevnost v tahu (TS) je rovna 150 MPa, prodloužení při porušení je rovno 0,015 a modul pružnosti je roven 10 GPa. [13]

V materiálu, který vykazuje lineárně elastické chování, je deformace vratná, dokud nedojde k dostatečně vysokému napětí a následnému porušení. Toto napětí odpovídá pevnosti materiálu v tahu a odpovídající deformace může být označena jako přetvoření při porušení (Obr. 12). Složitější formy mechanického chování zahrnují plasticitu, kde dochází k nevratným deformacím materiálu, a viskoelasticitu, kde kromě lineárně elastického chování existuje časová závislost mezi namáháním a deformací [13].

Smrk ztepilý (*Picea abies*) má nejvyšší pevnost ve směru rovnoběžném s podélnou osou buněk. Na základě zkoušek na vzorcích o délkách několika desítek cm a průřezu několika  $\text{cm}^2$ , modul pružnosti v podélném směru je průměrně 11-14 GPa a pevnost v tahu je průměrně kolem 90 MPa [29]. Podle Hanhijärvi [30] je modul pružnosti v tangenciálním směru 140-200 MPa, v radiálním směru 300-500 MPa, stanoveno při vlhkosti 12 % a vysokorychlostním sušení při 95 °C. V rámci jednoho letokruhu je tkáň letního dřeva pevnější a tužší než tkáň dřeva jarního při tahovém namáhání v podélném směru buněk. Výzkum Sinna [31] ukázal hodnoty modulu pružnosti v podélném směru letního dřeva 14 GPa a pevnost v tahu 126 MPa, zatímco jarní dřevo vykazovalo modul pružnosti v podélném směru 7 GPa a pevnost v tahu 61 MPa. V této studii byly jako vzorky použity plátky dřeva o délce 50 mm v podélném směru a řezu 0,2 x 9,0 mm [13].

Z jednotlivých polymerních složek je krystalická celulóza zdaleka nejsilnější a nejužší. Podél celulózových řetězců (krystalografická osa  $c$ ) je modul pružnosti kolem 137-168 GPa [32]. Ve směru krystalografických os  $a$  a  $b$  je modul pružnosti méně než 10% než podél osy  $c$ . Podle Marka [33] je teoretická pevnost krystalické celulózy kolem 2 GPa ve směru podél řetězců, zatímco maximální pevnost ve smyku je kolem 32 MPa. Tuhost amorfnní celulózy je kolem 10 GPa [13].



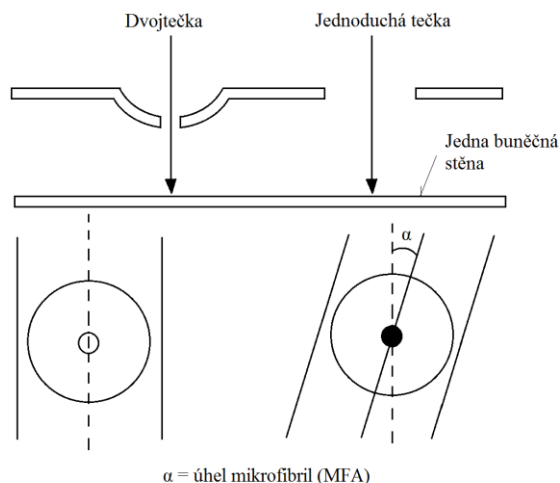
Existuje několik předpokladů a modelů o tuhosti a anizotropii hemicelulózy a ligninu ve dřevě, avšak poměrně málo reálných měření. To je způsobeno obtížemi při hledání suroviny s vysokým obsahem hemicelulózy nebo ligninu, nebo také v přípravě vzorků, které obsahují jen lignin nebo hemicelulózu v přirozeném stavu. Podle Cousinse [34] [35] je modul pružnosti hemicelulózy kolem 7-8 GPa a ligninu kolem 3 GPa při 12% vlhkosti. Tyto hodnoty byly získány z extrahovaných izotropních vzorků.

## **4. Metody měření úhlu mikrofibril**

### **4.1. Polarizace**

Existuje několik variant přístupů k metodě polarizovaného světla. Manwillerova metoda [23] z roku 1966 používá Sénarmontův kompenzátor k měření birefringence na příčných řezech vláken dřeva. Ačkoli je tato metoda zdlouhavá, výhodou této metody je možnost měření úhlu mikrofibril v každé vrstvě buněčné stěny. Metoda Page [24] zahrnuje impregnaci vláken rtuť a následného měření odrazivosti. Rtuť v tomto případě působí jako zrcadlo, takže je měřena jen jedna buněčná stěna dřeva. Metoda Leneyho [25] přistupuje k problému měření jedné buněčné stěny tak, že je buněčné vlákno podélně rozříznuto napůl. Tím pádem je možné měřit extinkci polarizovaného světla pouze jedné buněčné stěny. Tuto techniku nelze uplatnit pro průmyslové buničiny, kvůli její zvláštní přípravě vzorku. Dále je nutno poznamenat, že kvůli rozřezání vláken napůl mohou být vlastnosti těchto buněk rozdílné od buněk, které jsou neporušené [36]. Všechny tyto metody zahrnují chybu v měření v podobě zanedbání vrstev S1 a S3.

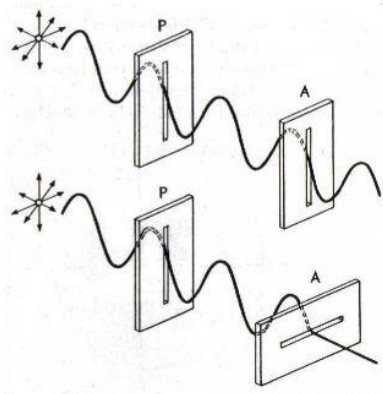
Metoda popsaná Donaldsonem [36] spočívá v použití dvojteček v buněčné stěně dřeva. Tyto dvojtečky se nacházejí ve velkém množství na povrchu buněčných stěn. Odstraněním membrány dvojtečky macerací vznikne otvor, kterým může procházet polarizované světlo, a tím pádem dochází k měření pouze jedné buněčné stěny (Obr. 13).



**Obrázek 13.** Obrázek ilustrující techniku použitou k měření úhlu mikro fibril, kdy se na jedinou buněčnou stěnu díváme skrz dvojtečku nebo jednoduchou tečku [36].

#### 4.1.1. Princip polarizační mikroskopie

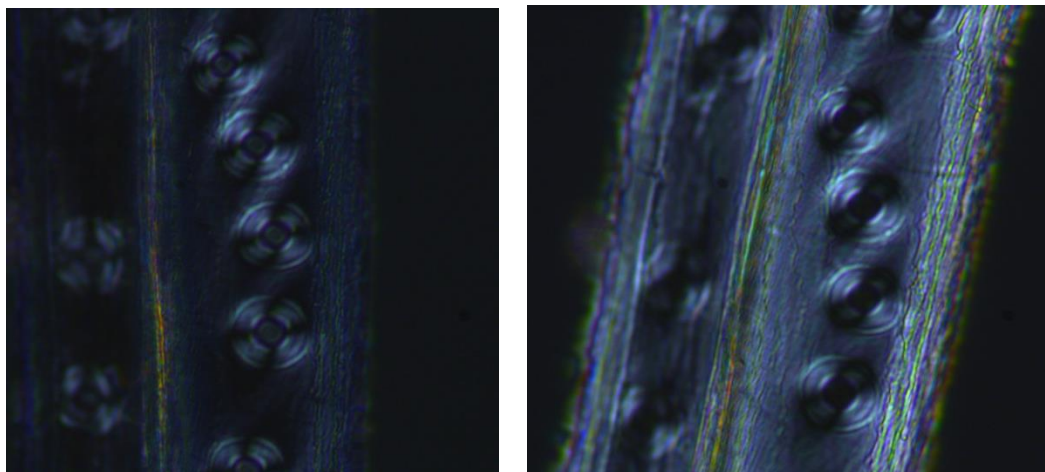
Celulózová buněčná stěna patří mezi dvojlomné látky. Tyto látky díky své struktuře mění rovinu kmitu procházejícího světla. Pokud se na tyto látky díváme mezi zkříženými polarizačními filtry (Obr. 14.), jeví se tyto látky jako světlé na tmavém pozadí. Při otáčení vzorku na podložce mikroskopu o  $360^\circ$  dochází k rozsvícení a pohasnutí vzorku, podle toho, jaký úhel svírá rovina kmitu paprsků vystupujících ze vzorku s analyzátozem.



**Obrázek 14.** Na obrázku je znázorněno nastavení polarizátoru (P) a analyzátozu (A) při vzájemné rovnoběžné poloze (nahore) a při vzájemném kolmém umístění (dole). Pokud se mezi zkřížené polarizační filtry neumístí žádná dvojlomná látka, analyzátoz nepropouští světlo a zorné pole je tedy černé.

Při měření MFA pozorujeme procházející polarizované světlo skrze dvojtečku umístěnou v buněčné stěně. Při umístění tracheidy do svislé polohy je otvor dvojtečky

zobrazen světlou barvou. Otáčením tracheidy hledáme místo, kdy dojde k úplnému pohasnutí otvoru dvojtečky. V této poloze prochází polarizované světlo buněčnou stěnou beze změny, nedochází k jeho potočení od polarizátoru, a tím pádem analyzátor žádné světlo nepropustí (Obr. 15.)



**Obrázek 15.** (Vlevo) Tracheida zobrazená polarizačním mikroskopem v tmavém poli (při zkřížených filtrech). (Vpravo) Při potočení dochází k extinkci světla v otvorech dvojteček v buněčné stěně. Tento úhel od svislé osy přibližně odpovídá MFA vrstvy S2. (zobrazená oblast 80  $\mu\text{m}$ )

## 4.2. Rentgenová difrakce

### 4.2.1. Základní teorie

Rentgenové paprsky byly poprvé objeveny W. C. Röntgenem v roce 1895. Až do roku 1910 byly rentgenové paprsky převážně používány pro zobrazování. V letech 1912 a 1913 byl objeven nový fenomén, a to interakce mezi pevným materiálem a rentgenovými paprsky. Tento jev byl popsán Friedrichem, Knippingem a Lauem v Německu [37] [38], a W. L. Braggem a W. H. Braggem v Anglii [39]. Rentgenová difrakce (XRD) se brzy stala jednou z metod pro zkoumání struktury krystalických materiálů. Základní rovnice, která se vztahuje k úhlu rozptylu ( $2\theta$ ), vlnové délce ( $\lambda$ ) a vzdálenosti difrakčních rovin materiálu ( $d_{hkl}$ ) byla popsána W. L. Braggem, a je tudíž známá jako Braggova rovnice:

$$2d_{hkl} \sin(\theta) = \lambda \quad (1)$$

Úhel rozptylu je často nahrazen veličinou nezávislou na vlnové délce – velikostí rozptylujícího vektoru  $q$ . Přepočítání mezi těmito dvěma veličinami je daný:

$$q = \frac{4\pi\sin(\theta)}{\lambda} \quad (2)$$

Mezirovinná vzdálenost  $d_{hkl}$  odrazu  $hkl$  souvisí s velikostí rozptylujícího vektoru  $q_{hkl}$ :

$$q_{hkl} = \frac{2\pi}{d_{hkl}} \quad (3)$$

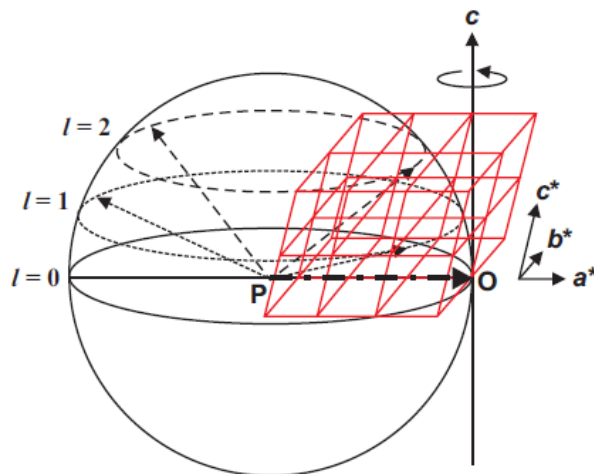
Výskyt difrakčního maxima může být vizualizován pomocí reciproční mřížky a Ewaldovy sféry reflexe [40]. Reciproční mřížka je definována základními vektory:

$$a^* = 2\pi \frac{b \cdot c}{V} \quad (4)$$

$$b^* = 2\pi \frac{c \cdot a}{V} \quad (5)$$

$$c^* = 2\pi \frac{a \cdot b}{V} \quad (6)$$

Kde  $a, b, c$  jsou vektory popisující jednotkovou buňku v reálném prostoru a  $V$  je objem jednotkové buňky. Ewaldova koule reflexe je nakreslena takovým způsobem, že poloměr koule je  $\lambda^{-1}$  a dopadající rentgenový paprsek je představován vektorem, který je směřovaný od středu koule k původu reciproční mřížky, která leží na povrchu Ewaldovy koule (Obr. 16). Braggova rovnice je pro danou mřížkovou rovinu splněna, pokud je reciproční mřížkový bod  $hkl$  mřížkové roviny také na povrchu koule [13].



**Obrázek 16.** Schematické znázornění vytvoření vrstevnicových linií. Červený rovnoběžnostěn je součástí reciproční mřížky, Ewaldova koule reflexe je zobrazena černou barvou se třemi čarami zobrazující roviny. Střed koule je označen P a počátek reciproční mřížky je označen O. Dopadající rentgenový paprsek je označen tlustou šipkou, difrakční rentgenové paprsky jsou

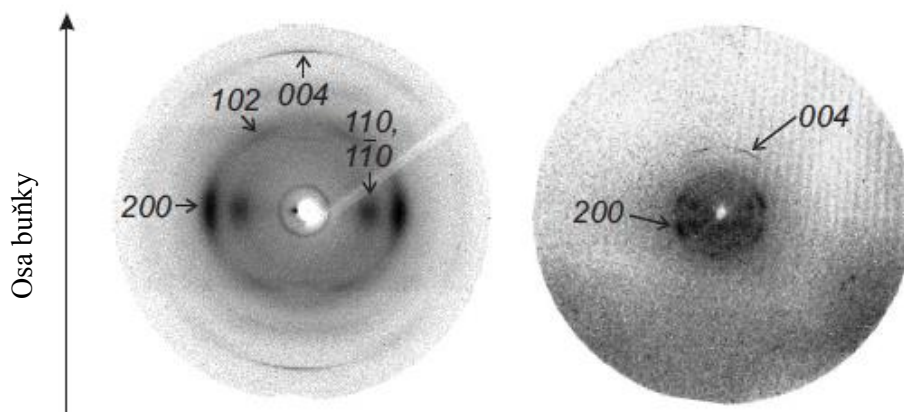
označeny tenkými šipkami. Krystalografická osa  $c$  a osy reciproční mřížky jsou označeny plnými čarami. [13]

#### 4.2.2. Difrakce vláken

Mnoho krystalických polymerů vykazuje růstový obraz, kde převládá orientace jedné krystalografické osy, a to i přes polykrystalickou povahu materiálu. V takovém případě lze o materiálu konstatovat, že má vláknitou strukturu. Obecně lze říci, že se difrakční obraz materiálu s vláknitou strukturou liší od difrakčního obrazu jednotlivých krystalů nebo prášků zobrazením charakteristických vrstevních čar podél osy textury. Tvorba těchto vrstevních čar může být pochopena na základě konstrukce Ewaldovy koule s rotačním krystalem (Obr. 16) [40]. V důsledku tvoří rentgenové paprsky kužely, které kopírují Ewaldovu kouli jako kruhy. Difrakční podmínka je splněna, pokud se kruhy shodují s recipročními mřížkovými body [13].

#### 4.2.3. Zkoumání struktury dřeva pomocí rentgenové difrakce

Difrakční obraz vzorku dřeva vykazuje vláknitou texturu v podélném směru buňky. Pro zjednodušení se obvykle předpokládá, že jsou celulózové mikrofibrily navinuty kolem buněčného lumenu v soustředných šroubovicích a orientace buněčné osy je v celém vzorku konstantní. Tím se sníží počet zkoumaných úhlů na jediný, který prezentuje stupeň šroubovice – úhel mikrofibril (MFA). Na difrakčním obrazu celé tracheidy nebo makroskopického vzorku lze pozorovat vinutí mikrofibril kolem lumenu, což je zobrazeno jako zkřížené uspořádání difrakčního maxima (Obr. 17). Křížové uspořádání se snižuje na jednoduchý difrakční obraz jednoho vlákna, pokud je zkoumána pouze jedna buněčná stěna [13].



**Obrázek 17.** 2D difrakční obraz jarního dřeva smrku ztepilého (*picea abies*). Vlevo je makroskopický vzorek vyzrálého dřeva (22. letokruh), vpravo pak dvojitá buněčná stěna jarního

dřeva (6. letokruh). Vyznačeny jsou některé z nejvíce viditelných difrakčních rovin. Přibližný směr podélné osy buňky je označen šipkou. Křížové uspořádání difrakčních maxim je možné pozorovat na dvojité buněčné stěně (vpravo), zejména v rovině 200. [13]

V průběhu let řešila řada výzkumných pracovníků problém určení orientace celulóзовých mikrofibril v rostlinných buňkách pomocí rentgenové difrakce. Jeden z prvních pokusů byl proveden Sponslere [41], který dospěl k závěru, že jsou mikrofibrily navzájem rovnoběžné ve vláknech ramie (*Boehmeria nivea*). Nicméně nebyla zaznamenána orientace mikrofibril vzhledem k podélné ose buňky. Ve 30. letech 20. století se Pienkowski [42], Schmidt [43] a Stillwell [44] snažili charakterizovat orientaci celulóзовých mikrofibril ve dřevě a zjistili, že fibrily nejsou rovnoběžné s osou buněk. První pokusy o měření úhlu mikrofibril v jednotlivých buňkách provedl Preston (1934) [22], který zaznamenal XRD obrazy z izolovaných tracheid sekvoje a jedle umístěných mezi dvěma sklíčky. Na základě těchto měření uvedl Preston, že celá buněčná stěna je ovinuta mikrofibrily s jediným MFA. Později bylo na základě studií u vzorků o velikosti několika milimetrů z několika druhů stromů zjištěno, že orientace mikrofibril ve dřevě není jednotná [45] [46]. To bylo v souladu s Ritterovým pozorováním pomocí optického mikroskopu na chemicky ošetřených dřevěných vláknech [47] [13].

V 60. letech minulého století navrhli Kantola se Seitsonenem [48] metodu k určení tvaru průřezu a průměrného úhlu mikrofibril pomocí kolmé transmisní geometrie a roviny 200, a to záznamem difrakčních obrazů při různých potočeních kolem osy  $\varphi$  s ohledem na dopadající rentgenový paprsek. Cave a Meylan představili metodu pro stanovení průměrného úhlu mikrofibril pomocí roviny 200 krystalické celulózy s použitím kolmé transmisní geometrie [20] [49]. Tato metoda však poskytla pouze průměrný úhel mikrofibril a v případě buněk s kruhovým průřezem bylo pro analýzu nutné znát tvar distribuce MFA již dříve. V 70. letech Lofty a spol. [50] publikovali metodu, pomocí které byl průměrný úhel mikrofibril vypočítán z intenzity roviny 004, který byl měřen pomocí symetrické transmisní geometrie. Stejnou geometrii použil Noah, který určil MFA s použitím rovin 200 a 110 s dodatečným předpokladem, že buňky byly ve tvaru válce [51] [13].

Metoda pro stanovení MFA s použitím symetrické transmisní geometrie a obou rovin 200 a 004 byla představena Paakariem a Serimaou [52]. Navrhli schéma, kde bylo MFA modelováno jako součet Gaussových funkcí a poté přizpůsobeno naměřené intenzitě. Evans [53] publikoval metodu pro zjištění průměrného MFA z měření za použití kolmé transmisní

geometrie pomocí variability intenzity roviny 200. Výhodou této metody je, že není citlivá na tvar průřezu buněk.

#### 4.2.4. Stanovení velikosti krystalitů

Intenzita difrakčního odrazu jako funkce úhlu  $2\theta$  poskytuje informace o velikosti krystalitů. Závislost velikosti krystalitů na pološírce difrakčního maxima uvádí Scherrerova rovnice:

$$D_{hkl} = \frac{K\lambda}{\sqrt{\Delta_{2\theta hkl}^2 - \Delta_{inst}^2} \cos \theta} \quad (7)$$

Kde  $D_{hkl}$  mezivětrinná vzdálenost rovin  $hkl$ ,  $K$  je konstanta,  $\lambda$  je vlnová délka rentgenového záření,  $\Delta_{2\theta hkl}$  je plná šířka v polovině maxima odrazu jako funkce úhlu rozptylu  $2\theta$ ,  $\Delta_{inst}$  je instrumentální rozšíření a  $\theta$  je polovina úhlu rozptylu. V průběhu času byly navrženy různé hodnoty konstanty  $K$  pro různé tvary krystalů a výpočtové metody šířky odrazů [13].

#### 4.3. Small Angle X-Ray Scattering - SAXS

Pro stanovení úhlu mikrofibril byla také použita metoda SAXS (small angle x-ray scattering) [54]. Výhodou metody SAXS oproti rentgenové difrakci je fakt, že není důležité znát předpokládanou orientaci os krystalů celulózy vzhledem k ose fibrily.

Při použití této metody se lze téměř úplně vyhnout složité přípravě vzorku. Metoda XRD byla detailně popsána Cavem [14]. Při užití této metody se předpokládá, že neexistuje žádná upřednostňovaná orientace os krystalů celulózy kolem osy mikrofibrily, což také znamená, že mezi krystalografickými rovinami a buněčnou stěnou není žádná definovaná orientace. Metoda SAXS se tomuto předpokladu vyhýbá tím, že je citlivá na kontrast hustoty mezi celulózou a okolní maticí z hemicelulózy a ligninu [4]. Použití prostorového detektoru navíc umožňuje měření úplných tří dimenzionálních SAXS obrazců při otáčení vzorku jen kolem jeho jedné osy [55].

#### 4.4. Infračervená spektroskopie

Blízká oblast infračervené spektroskopie (NIR) nabízí rychlou metodu pro odhad úhlu mikrofibril a odhad tuhosti pomocí SilviScanu ( $E_{L(SS)}$ ). Úspěch těchto metod je spojen s hustotou suchého vzorku dřeva, protože hustota se ve dřevě mění současně s MFA a také s tuhostí. Význam variability hustoty byl zkoumán na vzorcích borovice montereyské,

u které se vytvářely kalibrační vztahy mezi hustotou, MFA a  $E_{L(SS)}$ . Schimleck a spol. zjistili, že korelace mezi těmito třemi proměnnými byla nízká, pokud byla variabilita hustoty malá. Při hustotě dřeva větší než  $500 \text{ kg/m}^3$  byly dosaženy vynikající kalibrace mezi hustotou, MFA a  $E_{L(SS)}$ , což dokazuje, že metoda NIR může být velmi přínosná při predikci MFA a tuhosti [56].

#### **4.5. Přímé zobrazení úhlu mikrofibril pomocí světelné mikroskopie**

Poměrně rychlou a spolehlivou metodu zobrazení náklonu mikrofibril v buněčné stěně dřeva rozvinuli Senf a Bendsten [27] jako modifikaci metody Baileyho, který tuto metodu poprvé uvedl roku 1937. Vysušené vzorky jsou ošetřeny jodidem draselným a kyselinou dusičnou, aby se v buněčných stěnách vytvořily krystaly jódu. Tyto krystaly jsou vyrovnány s převládajícím úhlem mikrofibril v buněčné stěně a mohou být snadno zobrazeny a měřeny.

Z vysušeného vzorku dřeva se na mikrotomu uřízne asi  $15 \mu\text{m}$  tlustý plátek a uloží se do 50% alkoholu. Pro dehydrování se vzorek umístí do čistého alkoholu po dobu 5 minut. Poté se řezy umístí do 2% roztoku jodidu draselného na 2-10 sekund. Řez se umístí na sklíčko a přebytečný roztok se vysuší papírovým ubrouskem. Následně se jemně přidá jedna nebo dvě kapky 60% kyseliny dusičné a řez se přikryje krycím sklíčkem. Úhel mikrofibril je pod optickým mikroskopem ihned viditelný jak podlouhlé, tmavé krystaly jodu vyplňují praskliny v buněčné stěně způsobené vysoušením v rovnoběžných liniích. Pozorným ostřením mikroskopu je viditelná orientace mikrofibril ve vrstvách S2 buněčných stěn jednotlivých buněk. Hloubkou ostření lze pozorovat změnu úhlu mikrofibril přes tloušťku buněčné stěny. Touto metodou lze tedy navíc pozorovat orientaci mikrofibril i ve vrstvách S1 a S3 [27].

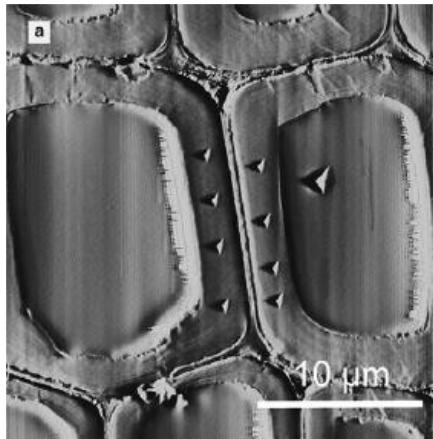
Zkoumané řezy mohou také obsahovat množství náhodně orientovaných krystalů. Tyto náhodně orientované krystaly ale mohou být od krystalů uložených v buněčné stěně odlišeny, a to díky jejich neparalelnímu uspořádání a také díky překrývání krystalů a stěn mezi jednotlivými buňkami. Řez vzorku je použitelný několik hodin. Příliš dlouhá doba ponoření v roztoku jodidu draselného způsobí velmi tmavě hnědé zbarvení celého vzorku. Krátká doba ponoření zajistí světlejší vzorek, na kterém jsou krystaly jódu dobře pozorovatelné.



## 5. Nanoindentace

Nanoindentace je dnes již běžně používaná metoda pro stanovení mechanických vlastností materiálů na submikroskopickém měřítku. Na začátku 20. století byly první měření provedeny Brinellem, který k měření plastických vlastností používal jako indentory kuličky z ložisek. Brinellův test byl po jeho zveřejnění poměrně rychle přijat jako průmyslová testovací metoda a započal tak vývoj dalších makro a mikroindentačních testů [57] [58]. Během posledních dvou desetiletí byly tyto indentační testy rozvinuty až do měřítka nanometrů. Toho bylo dosaženo především díky rozvoji přístrojů schopných zaznamenat kontinuální měření zatížení a posun po dobu indentace [59] [60]. V nedávno vyvinutých systémech bylo dosaženo přesného měření u zatížení okolo jednoho nanonewtonu a hloubky indentace 0,1 nm. Velmi důležitým poznatkem pak bylo už v 70. letech zjištění, že modul pružnosti lze potenciálně měřit z indentační křivky odtěžování [61], což vedlo k dalšímu rozvoji indentačních metod.

V posledních letech bylo věnováno hodně pozornosti studování mechanických vlastností materiálů na submikroskopickém měřítku, protože tyto vlastnosti se odvíjí od jejich velikosti [57] [62]. Tyto studie byly částečně motivovány vývojem nanokompozitů a aplikací nanofilmů pro miniaturizaci elektronických komponentů, částečně taky kvůli nově dostupným metodám zjišťování mechanických vlastností na takto malém měřítku [57] [59] [60]. Nanoindentor se postupně stává velmi důležitým nástrojem pro snímání mechanických vlastností materiálů. Data zaznamenaná při odtěžování obsahují velké množství informací, ze kterých lze stanovit například tvrdost nebo modul pružnosti, aniž by bylo třeba zobrazení samotné indentace [59]. Nanoindentor byl také použit k odhadnutí lomové houževnatosti ultratenkých filmů [63], kterou nelze měřit obvyklým indentačním testem [64]. Mikroskopie atomárních sil (AFM) je ideální pro zobrazení indentovaných míst v měřítku nanometrů, díky čemuž můžeme získat důležité informace o deformacích při nanoindentaci (Obr. 18) [62].



**Obrázek 18.** Obrázek z AFM mikroskopu po nanoindentaci buněčné stěny smrkového dřeva. Trojúhelníkové obrazce v buněčné stěně jsou stopy po vtisku hrotu indentoru. [65]

Pro svoji vysokou tvrdost a modul pružnosti je diamant jeden z nejčastěji používaných materiálů indentorů. Díky těmto vlastnostem snižuje vliv samotného indentoru na naměřené hodnoty [57]. Pro stanovování materiálových vlastností jako je tvrdost nebo modul pružnosti na co nejmenším možném měřítku, je nejvíce preferován Berkovichův trojúhelníkový pyramidový indentor oproti čtyřbokému indentoru Vickerse nebo Knoopu, protože u tříboké pyramidy se lépe ostří její hrany [57] [60]. Další třístranný pyramidální indentor, krychelnorohový indentor, může vytlačit více než trojnásobek objemu Berkovichova indentoru při stejném zatížení, čímž vytváří mnohem větší napětí a deformace v okolí kontaktu a snižuje práh prasknutí [64]. To dělá z tohoto indentoru ideální nástroj na stanovování lomových houževnatostí v relativně malých měřících [63]. Kulový indentor iniciuje elastický kontakt a pak způsobuje elasticko-plastický kontakt při vyšších zatíženích. Tento indentor je tedy vhodný k vyšetřování tvrzení a vytvrzování. Nicméně je velmi obtížné získat tvar přesné koule o průměru menším než 100 μm z diamantu. Tato skutečnost omezuje použití tohoto tvaru v nanoindentaci metodě [60].

Nedávno vyvinutá technika kontinuálního měření tuhosti (CMS) [59] [66] nabízí významné zlepšení v nanoindentacním testování. CMS je dosaženo zavedením malého, sinusoidně se měnícího signálu přidaného ke střídavému signálu, který zajišťuje pohyb indentoru. Data jsou získána z reakcí systému, které jsou zesíleny na specifickém frekvenčním zesilovači. Díky tomu je možné měření kontaktní tuhosti v libovolném bodě zatěžovací křivky, a nejen z odtěžovací křivky, jako se to dělá u běžné indentační metody. Technika CMS tak poskytuje údaje o mechanických vlastnostech v průběhu měření jednoho vzorku, bez potřeby samostatných odtěžovacích cyklů, čímž je dosaženo velké časové

úspory na rozdíl od konvenčních indentačních metod, které počítají tuhostní parametry z odtěžovací křivky. Měření může probíhat při velmi malých penetracích indentoru. To dělá z této metody velmi dobrý nástroj pro stanovování mechanických vlastností filmů o tloušťkách nanometrů. Kromě toho je tato metoda díky rychlému měření vhodná ke zjišťování vlastností polymerních materiálů. V neuspořádaných materiálech, jako jsou tříděné materiály nebo vícevrstvé materiály, se s hloubkou indentace mění jejich mechanické vlastnosti. Kontinuální měření mechanických vlastností těchto materiálů je tedy v tomto případě neocenitelné [64].

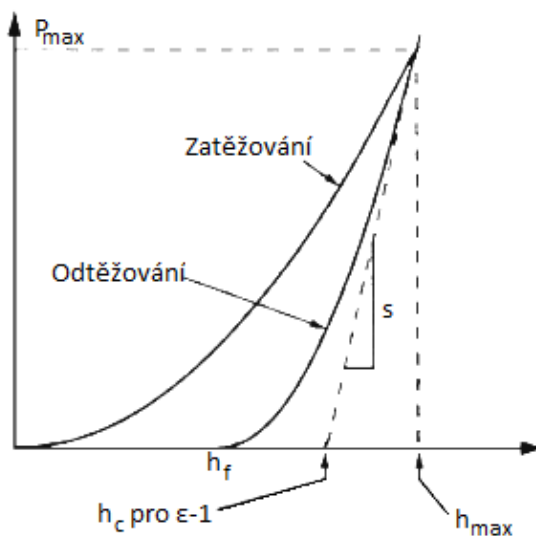
Nanoindentace je velmi vhodná metoda pro stanovování lokálních mechanických vlastností buněčných stěn dřeva. V případě Berkovichova indentoru je jeho průměr kolem 100 nm a hloubka penetrace může být až do 2  $\mu\text{m}$ . Tato velikost je v souladu s tloušťkou buněčné stěny dřeva, která u smrku (*Picea abies*) dosahuje 5–10  $\mu\text{m}$ . Tím pádem je možné mechanické vlastnosti buněčné stěny dřeva touto metodou měřit. Konkrétně test detekuje mechanické vlastnosti buněčné stěny vrstvy S2, která zaujímá asi 80 % celkové tloušťky buněčné stěny a je tedy hlavním nositelem mechanických vlastností buněčné stěny. Indentor je zatlačován do povrchu vzorku. Z tohoto důvodu je pro měření nezbytné, aby plocha vzorku byla velmi rovná. Typická hloubka indentace dřeva je 50-150 nm.

Na dřevě byla nanoindentace poprvé použita v roce 1997 Wimmerem a spol. [67]. Od té doby bylo provedeno mnoho výzkumů za účelem rozvoje této techniky a lepšímu porozumění jejich výsledků. Výsledkem měření je tzv. indentační modul neboli redukovaný modul pružnosti, který je získaný ze vztahu použité síly a hloubky indentace. Vztah redukovaného modulu a modulu pružnosti pro buněčnou stěnu materiálu byl původně odvozený pro izotropní materiály Oliverem a Pharem [59]. Jelikož je dřevo anizotropní materiál, redukovaný modul pružnosti závisí na tuhosti ve všech anatomických směrech testované buněčné stěny, protože indentor způsobuje trojrozměrné namáhání vzorku [68]. Použitím klasické Oliverovy a Pharovy teorie s konickým indentorem [59], přesných absolutních hodnot modulu pružnosti buněčné stěny dřeva [69] nebo celulózových vláken [70] nelze dosáhnout. Nicméně se ukázalo, že nanoindentace na dřevě je velmi dobře použitelná metoda při různých srovnávacích studiích.

### **5.1. Měření tvrdosti a modulu pružnosti**

Mezi dvě nejvíce zjišťované mechanické vlastnosti stanovované indentací patří tvrdost (H) a modul pružnosti (E). Jak je indentor vtlačován do vzorku nastává jak elastická, tak

plastická deformace. Během vysouvání indentoru se vrací pouze elastická deformace, což usnadňuje použití elastického výpočtu při modelování kontaktního procesu [57] [59]. Na obr. 19 můžeme vidět typickou křivku zatěžování a odtěžování a elasticko-plastickou deformaci u vzorku během indentace. Hodnota  $H_{max}$  na obr. 19 představuje posun indentoru při maximálním zatížení  $P_{max}$ .  $H_c$  je kontaktní hloubka, která je definována jako hloubka indentoru ve vzorku při zatížení.  $H_f$  je konečná hloubka indentoru po odtížení.  $S$  je kontaktní tuhost vyvozená při odtěžování vzorku.



**Obrázek 19.** Klasická zatěžovací a odtěžovací křivka při nanoindentaci.

Tvrdość zjištěná nanoindentací je definována jako poměr zatížení při indentaci k hodnotě kontaktní vtačené plochy indentoru. Z křivky odtížení může být stanovena tvrdość materiálu jako:

$$H = \frac{P_{max}}{A} \quad (8)$$

kde  $A$  je plocha vtačená indentorem (Obr. 20).

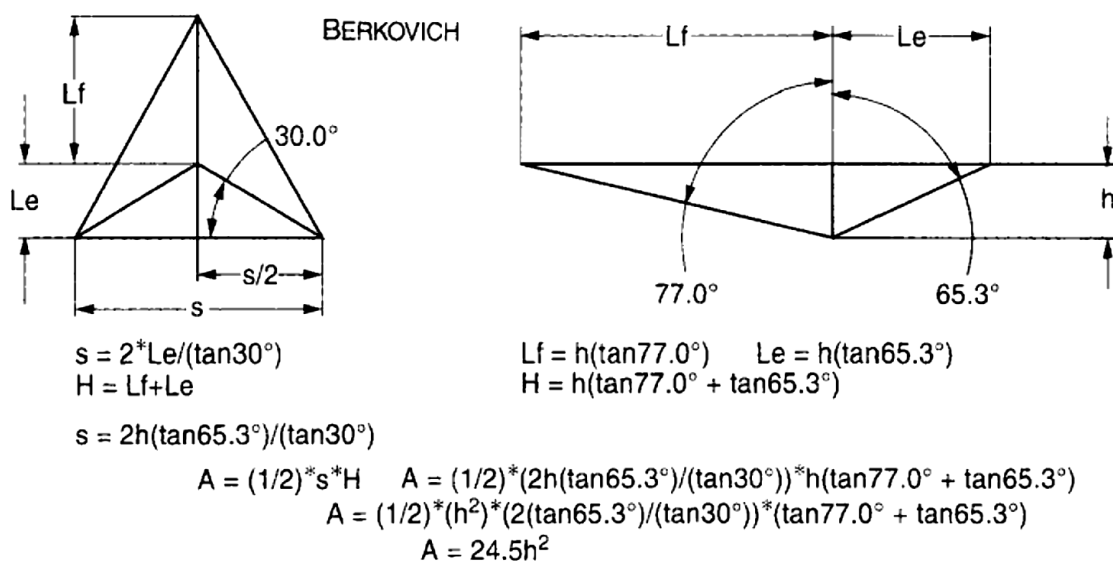
Modul pružnosti zkoušeného vzorku může být odvozen z počáteční tuhosti při odtěžování, a to ze sklonu křivky při počátku odtěžování. Na základě vztahů odvozených Sheddonem [71] může být kontaktní tuhost, kontaktní oblast a modul pružnosti odvozen následujícím způsobem:

$$S = 2\beta \sqrt{\frac{A}{\pi}} E_r \quad (9)$$

kde  $\beta$  je konstanta, která závisí na tvaru indentoru ( $\beta = 1,034$  pro Berkovichův indentor) [59] a  $E_r$  je redukovaný modul pružnosti, který zohledňuje fakt, že elastická deformace vzniká jak ve vzorku, tak v indentoru.  $E_r$  lze vyjádřit jako:

$$E_r = \frac{1-\nu^2}{E} - \frac{1-\nu_i^2}{E_i} \quad (10)$$

kde  $E$  a  $\nu$  jsou modul pružnosti a Poissonův poměr vzorku a  $E_i$  a  $\nu_i$  jsou modul pružnosti a Poissonův poměr indentoru. Pro diamantový indentor jsou  $E_i = 1141$  GPa a  $\nu_i = 0,07$  [59].

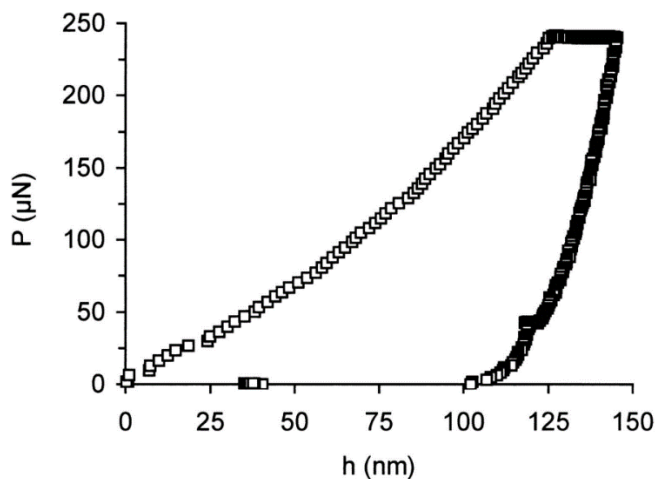


**Obrázek 20.** Geometrie Berkovichova indentačního hrotu, který byl použit v praktické části diplomové práce. [72]

## 5.2. Mechanické vlastnosti zjištěné nanoindentací v závislosti na MFA

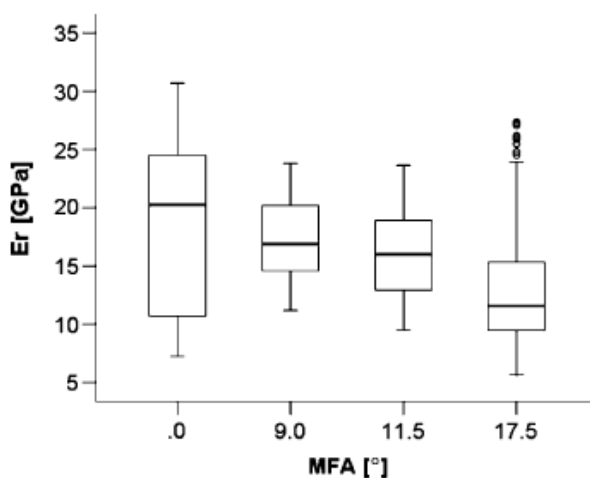
Pokud se podíváme na výzkumy provedené v oblasti zjišťování mechanických vlastností dřeva pomocí nanoindentace, nalezneme několik prací, které nám mohou pomoci při určování závislosti tvrdosti a modulu pružnosti ve směru vláken smrkového dřeva na jeho mikrostrukturu. Hlavními zkoumanými parametry jsou modul pružnosti ve směru vláken a tvrdost. Při zjišťování MFA bývá přistoupeno k polarizační mikroskopii nebo rentgenové difrakci či SAXS. Pro porovnání a ověření správnosti naměřených hodnot je vhodné ukázat výsledky práce W. Gindla a spol. [65] a J. Konnertha a spol. [68]. V obou pracích bylo zkoumáno smrkové dřevo. Vzorky dřeva byly pak pro zjištění mechanických vlastností pomocí nanoindentace uloženy ve SPURR epoxidové pryskyřici.

Na obr. 21 je zobrazena klasická zatěžovací křivka při indentování dřeva. Rychlost zatěžování byla  $100 \mu\text{N/s}$  do maximálního zatížení  $250 \mu\text{N}$ , následovala 15 s výdrž a poté došlo k odtížení. Důležitou charakteristikou křivky je, že začátek křivky vychází přímo z nuly. Pokud není indentované místo v dobrém kontaktu s hrotem, dochází k posunu celé indentační křivky po ose  $x$ .



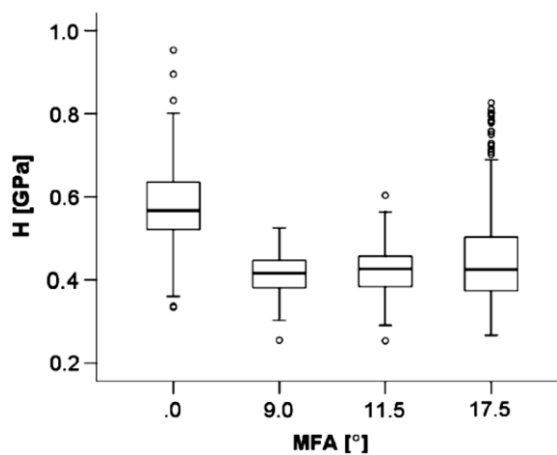
**Obrázek 21.** Klasická zatěžovací křivka při nanoindentaci. Hloubka vtisku indentoru ( $h$ ) je závislá na indentační síle ( $P$ ). [65]

Můžeme pozorovat poměrně velký rozptyl naměřených hodnot redukovaného modulu pružnosti u jednotlivých buněčných stěn s různými úhly mikrofibril (Obr. 22). Průměrná hodnota redukovaného modulu pružnosti nicméně ukazuje závislost na MFA. Se zvyšujícím se úhlem mikrofibril v buněčné stěně dřeva dochází k poklesu tuhosti buněčné stěny. Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti se pohybují v rozmezí 6 – 30 GPa.



**Obrázek 22.** Redukovaný modul pružnosti ( $E_r$ ) v závislosti na úhlu mikrofibril ( $MFA$ ). [68]

Menší rozptyl naměřených hodnot můžeme pozorovat u tvrdosti buněčné stěny. Nejvyšší tvrdost byla naměřena u téměř nulového úhlu odklonu mikro fibril, naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u odklonu mikro fibril 9 °. Z grafu je patrné (Obr. 23) že nebyla nalezena závislost mezi MFA a tvrdostí buněčné stěny dřeva. Hodnoty tvrdosti se pohybují v rozmezí 0,3 – 0,8 GPa.



**Obrázek 23.** Závislost tvrdosti ( $H$ ) na úhlu mikro fibril ( $MFA$ ). [68]

## 5. Cíl práce

Hlavním bodem praktické části této práce je stanovení tuhostních charakteristik jak na makroskopické, tak na mikroskopické a submikroskopické úrovni dřeva. Vědecké studie ukázaly, že tyto proměnné jsou významně ovlivněny sub-mikroskopickou stavbou dřeva, konkrétně odklonem mikro fibril v sekundární vrstvě S2 buněčné stěny dřeva. Z tohoto důvodu je v praktické části práce přistoupeno k měření odklonu mikro fibril v buněčné stěně. Dalším významným faktorem ovlivňujícím mechanické vlastnosti dřeva je tloušťka buněčné stěny jarního a letního dřeva, což je v praktické části rovněž posuzováno.

Cílem práce je zvolení optimálních metod pro přesný popis stavby buněčných stěn a provést analýzy, kterými by bylo možné blíže určit závislosti mezi odklonem mikro fibril MFA a tuhostními parametry, jako jsou modul pružnosti ve směru vláken a tuhost nebo tvrdost samotné buněčné stěny. Přednostně je pro stanovování mechanických vlastností buněčné stěny navrženo využití nanoindentace. U této metody byly dosaženy poměrně velké rozptyly dosažených hodnot při různých úpravách zkušebních vzorků. Dílčím cílem je tedy i ověřit vypovídající schopnost této metody a stanovit vliv úpravy vzorku na výsledné naměřené hodnoty. Dalším cílem je zjistit, který parametr dřeva na mikroskopické nebo submikroskopické úrovni má dominantní vliv na mechanické vlastnosti smrkového dřeva a ověřit, jak těsné jsou závislosti mezi jednotlivými strukturními parametry a mechanickými vlastnostmi dřeva.



## 6. Metodika práce

### 6.1. Modul pružnosti ve směru vláken

#### 6.1.1. Příprava vzorku

Vzorky dřeva byly odebrány ze smrku ztepilého (*Picea abies*) a to z 5 různých stromů, pro zajištění dostatečné variability. Zkušební vzorky byly hranoly o velikosti základny 30×30 mm s podélným rozměrem 180 mm. Byly vybrány vzorky s makroskopicky nezřetelnými vadami (např. suky). Celkem na 5 vzorcích byl stanoven modul pružnosti ve směru vláken.

Pro bližší určení fyzikálních parametrů vzorků byla u všech vzorků stanovena hustota a obsah vlhkosti. Hodnoty byly zjištěny na vzorcích kondiciovaných ve standardním prostředí s teplotou (20±2) °C a (65±5) % relativní vlhkosti. Stanovené hodnoty jsou zobrazeny v tabulce č. 3.

**Tabulka 3.** Stanovená hustota a obsah vlhkosti vzorků smrkového dřeva.

Vzorek	Hustota [kg/m <sup>3</sup> ]	Obsah vlhkosti [%]
1	530	10,0
2	500	10,1
3	400	10,6
4	410	10,6
5	480	10,4

#### 6.1.2. Přístroje a okrajové podmínky

Pro stanovení modulu pružnosti byl použit zkušební elektromechanický lis TIRA Test 280 S s maximálním zatížením 50 kN. Pro stanovení deformací na vzorcích byly použity napěťové snímače 2×DD1 od firmy Hottinger Baldwin Messtechnik GmbH. Snímač byl umístěn na protilehlých stranách vzorku, oblast deformací byla měřena na vzdálenosti 120 mm.

#### 6.1.3. Postup měření

Stanovení modulu pružnosti ve směru vláken (*Modulus Of Elasticity MOE*) bylo provedeno dle ČSN EN 408+A1:2012.

## **6.2. Polarizační mikroskopie**

### **6.2.1. Příprava vzorku**

Pro stanovení úhlu mikrofibril ve smrkovém dřevě byly použity vzorky o velikosti 30×30 mm v tangenciálním a radiálním směru a 10 mm ve směru podélném. Tyto vzorky byly umístěny na 30 minut do vroucí vody, aby bylo dosaženo změknutí dřeva pro následné řezání. Po vyjmutí z vody byly vzorky osušeny a poté byly diamantovým nožem podélně rozděleny na jednotlivé letokruhy. Každý letokruh byl pak podélně rozříznut na letní a jarní dřevo. Takto nachystané vzorky byly následně macerovány.

Macerační roztok se skládá z peroxidu vodíku a kyseliny octové v poměru 1:1. Roztok se vzorky je následně zahříván po dobu 12 hodin na teplotu 60 °C. Tímto způsobem dochází k delignifikaci vzorku, takže lze dosáhnout separace jednotlivých buněčných vláken. Dále je macerace nutná k odstranění membrány dvojtečky v buněčné stěně.

Po 12 hodinách macerace jsou vlákna umístěna do destilované vody, aby došlo k promytí maceračního roztoku z vláken. Promyté vlákno se pipetou umístí na podložní sklíčko a přebytečná destilovaná voda je ze sklíčka pipetou odsáta. Podle předchozí zkušenosti nepřikrýváme tracheidu krycím sklíčkem, ale necháme ji obnaženou. Sklíčko se vzorkem umístíme do polarizačního mikroskopu a následuje měření.

### **6.2.2. Přístroje a okrajové podmínky**

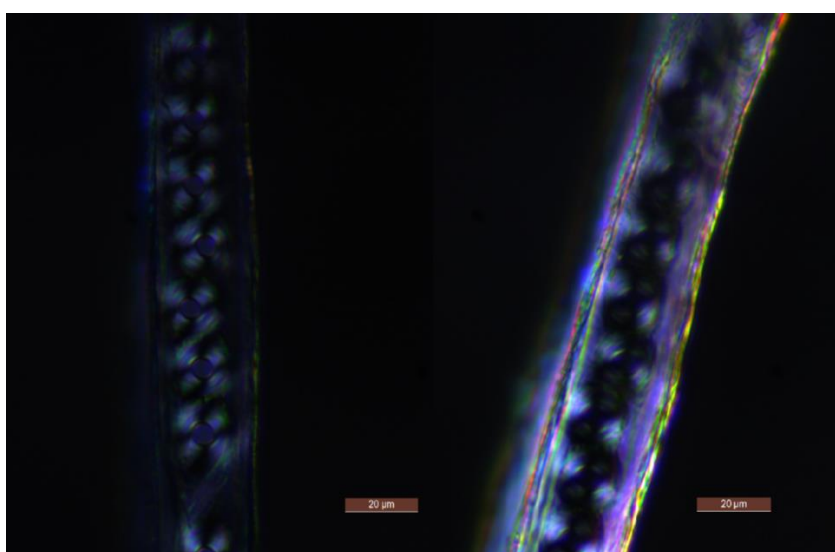
K měření byl použit optický mikroskop Leica MD 4000 M (Admas, Brno), který je vybaven polarizačními filtry. Metoda zvolená k měření úhlu mikrofibril byla popsána Donaldsonem [36].

### **6.2.3. Postup měření**

Podložní sklíčko se vzorkem je umístěno do polarizačního mikroskopu. Při procházejícím světle je stanovena pozice tracheidy a jsou identifikovány dvojtečky v buněčné stěně. Následně nastavíme polarizační filtry do zkřížené polohy, pozorování provádíme v tzv. tmavém poli. Díky dvojlomnosti buněčné stěny dřeva se jeví tracheida jako světlá oproti tmavému pozadí. Dále tracheidu pootočíme do svislé polohy, což je výchozí poloha pro měření. Otáčením podložky mikroskopu sledujeme barevnou změnu otvoru dvojtečky v buněčné stěně (Obr. 24). Ze světlé se otvor zbarví do černé. Při tomto natočení dochází k maximálnímu útlumu světla, tzv. extinkci (MEP), při které je polarizované světlo

buněčnou stěnou „nepootočeno“, tím pádem prochází beze změny a při zkřížených polárech se jeví jako tmavé. Na stupnici odečteme pootočení podložky od výchozí pozice a zaznameníme úhel MEP. Tento úhel přibližně odpovídá úhlu mikrofibril buněčné vrstvy S2. Vrstvy S1 a S2 mohou být při měření zanedbány, protože je jejich tloušťka relativně velmi malá.

MFA bylo stanoveno na 5 vzorcích smrkového dřeva, pro které byl stanoven modul pružnosti ve směru vláken. Na každém z těchto vzorků byl stanoven úhel mikrofibril na 5 letokruzích jak jarního, tak letního dřeva. Výsledná hodnota byla stanovena jako průměrná hodnota z měření na 5 tracheidách.



**Obrázek 24.** Tracheida pozorovaná v tmavém poli polarizačního mikroskopu. V buněčné stěně jsou umístěny dvojtečky, jejich otvor je světlý. Při pootočení o úhel odpovídající MFA dojde k útlumu světla procházejícího otvorem dvojtečky (MEP).

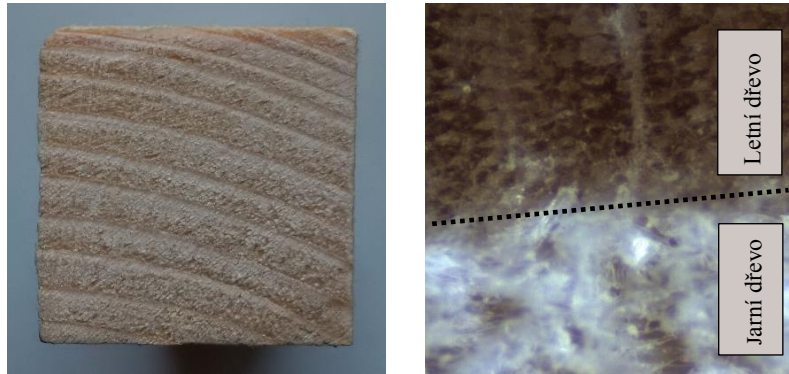
### **6.3. Stanovení tvrdosti a modulu pružnosti pomocí nanoindentace**

#### **6.3.1. Příprava vzorku**

Vzorky byly odebrány ze smrkového dřeva (*Picea abies*). Tyto vzorky byly rovněž použity pro stanovení statického modulu pružnosti ve směru vláken a pro stanovení úhlu mikrofibril (MFA). Kvůli velikosti indentoru v řádu stovek nanometrů je nezbytné, aby indentovaná plocha byla velmi rovná. Příprava takového vzorku je technicky poměrně náročná. V této práci byl zhodnocen vliv úpravy vzorku na výsledné měření.

### a) Vzorek bez úpravy

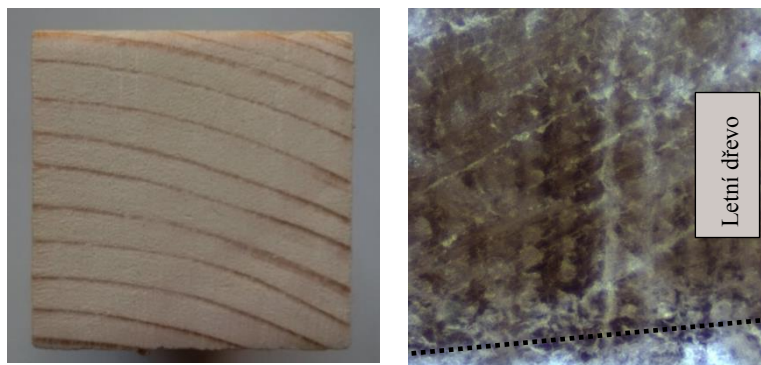
První vzorek o velikosti 30×30×5 mm ve směru radiálním, tangenciálním a podélném, byl odebrán ze vzorku pro zkoušku na stanovení modulu pružnosti. Povrch vzorku vykazuje drsnost odpovídající seřiznutí na okružní pile (Obr. 25).



**Obrázek 25.** (Vlevo) Vzorek bez úpravy (makro). (Vpravo) Detail letokruhu vzorku bez úpravy, v jarní části letokruhu je patrné rozvláknění struktury buněčných elementů (zvětšení 100×)

### b) Úprava brusivem

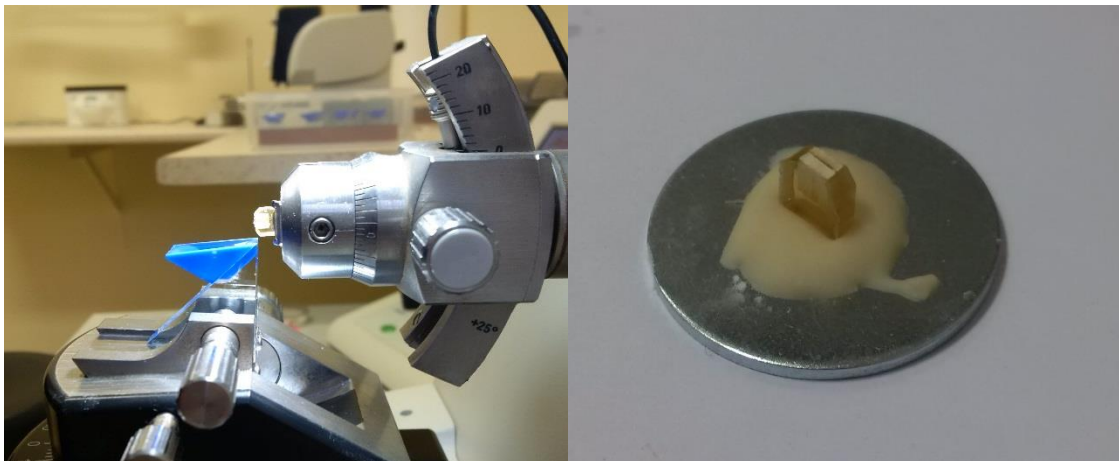
Další způsob úpravy povrchu vzorku stejné velikosti byl proveden tím způsobem, že čelní (axiální) plocha vzorku byla přebroušena brusným papírem o zrnitosti P120 a následně P240 (Obr. 26). Vzorek byl pak dále očištěn tlakovým vzduchem, aby došlo k odstranění brusných zrn a nečistot z jeho povrchu. Takto připravené vzorky byly umístěny po dobu 24 hodin do místnosti s nanoindentačním zařízením pro ustálení jejich vlhkosti a teploty.



**Obrázek 26.** (Vlevo) Vzorek upraven brusným papírem (makro). (Vpravo) Detail letního dřeva vzorku upraveného brusným papírem, na povrchu jsou patrné rýhy po brusném papíru (zvětšení 100×)

### c) Stabilizace vzorku epoxidem

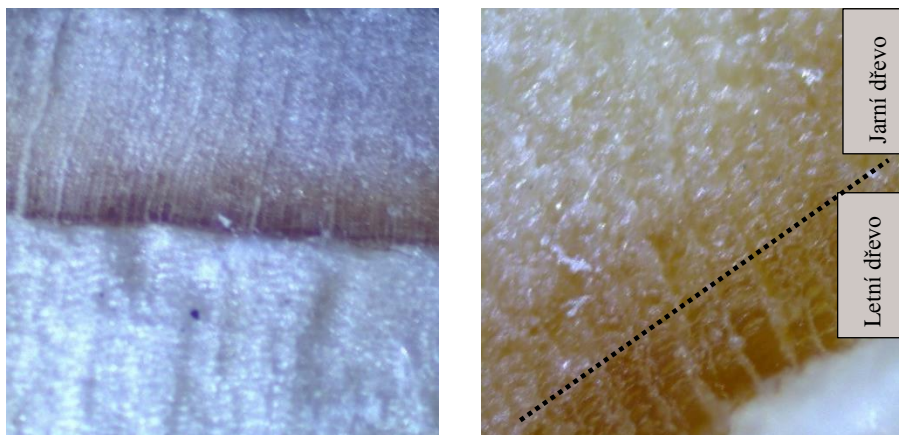
Vzorek o velikosti 2×4×5 mm v radiálním, tangenciálním a podélném byl ponořen do SPURR epoxidové pryskyřice [73] k prosycení vzorku. Tato pryskyřice se běžně používá jako fixační médium pro biologické vzorky při elektronové mikroskopii. Pryskyřice byla smíchána pomocí elektromagnetické míchačky, aby bylo dosaženo co nejmenšího provzdušnění pryskyřice. Nejprve se vzorek nechal impregnovat v připravené pryskyřici po dobu 72 hodin za běžných laboratorních podmínek. Následně byl nasycený dřevěný vzorek přemístěn do silikonové formy, ve které byl zafixován stejnou epoxidovou pryskyřicí. Takto připravené vzorky byly umístěny do vakuové sušárny na 70 °C po dobu 12 hodin při působení vakua, kde došlo k vytvrzení epoxidové pryskyřice. Vzorek uložený ve vytvrzené pryskyřici byl následně upraven bruskou, která odstranila přebytečnou pryskyřici nad buněčným povrchem vzorku. Pomocí skleněného nože ultramikrotomu (Leica EM UC 7) pak bylo docíleno hladkého povrchového řezu na příčné ploše vzorku (Obr. 27).



**Obrázek 27.** (Vlevo) Detailní záběr ultramikrotomu (Leica EM UC 7) se vzorkem zalitým ve SPURR epoxidu. (Vpravo) Vzorek na ocelové podložce připravený k měření na nanoindentačním zařízení.

Výhodou tohoto zařízení je, že nedojde k porušení struktury buněčné stavby dřeva. Pryskyřice navíc zajistí, že během nanoindentace nedojde k „vybočení“ buněčné stěny, resp. že tyto elementy vykazují vyšší tuhost. Vzorky uložené v pryskyřici byly poté nalepeny na ocelovou podložku pomocí rychletvrdnoucího lepidla (methylmetacrylát MMA). Takto připravený vzorek je možné magneticky uchytit na podložku uvnitř

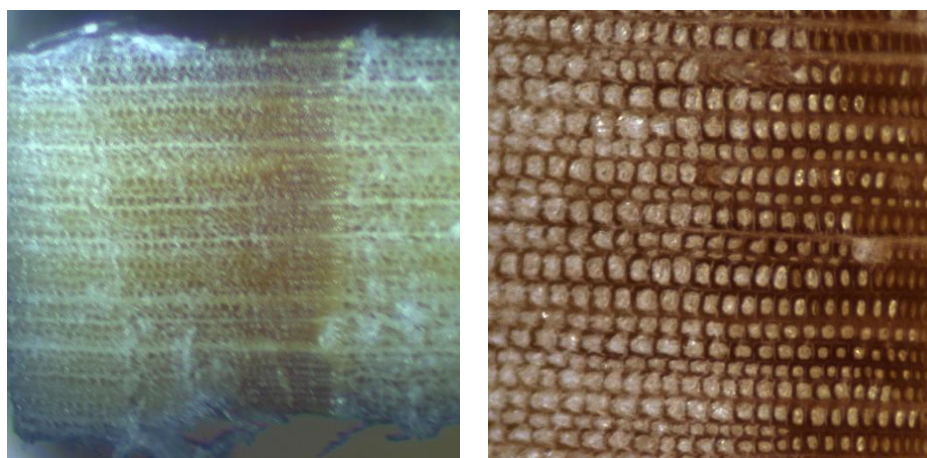
komory nanoindentačního zařízení. Povrch vzorku zalitého v epoxidové pryskyřici je zobrazen na obr. 28.



**Obrázek 28** (Vlevo) Vzorek uložen ve Spurr epoxidu a zaříznut mikrotomem (zvětšení 25×). (Vpravo) Detail letokruhu vzorku uloženého ve Spurr epoxidu a zaříznutého mikrotomem (zvětšení 100×)

#### d) Úprava vzorku dusíkem

K této úpravě vzorku bylo přistoupeno kvůli možnému vlivu epoxidové pryskyřice na výsledné hodnoty měření (eliminace SPURR pryskyřice na hodnoty). Vzorek o velikosti 2×2×5 mm v radiálním, tangenciálním a podélném směru byl umístěn na dobu cca 30 sekund do tekutého dusíku. Ihned po vyjmutí byla axiální plocha vzorku zaříznuta skleněným nožem ultramikrotomu (Leica EM UC 7). Díky zchlazení vzorku nedochází k jeho deformaci při řezání. Vzorek byl následně fixován na ocelovou podložku stejným způsobem jako při úpravě SPURR pryskyřicí.



**Obrázek 29** (Vlevo) Vzorek ošetřen dusíkem a zaříznut mikrotomem (zvětšení 25×). (Vpravo) Detail letního dřeva vzorku ošetřeného dusíkem a zaříznutého mikrotomem (zvětšení 100×)

### 6.3.2. Přístroje, okrajové podmínky a postup měření

Měření proběhlo na přístroji Hysitron TI 950 TriboIndenter (Ceitec, Brno), který je vybaven diamantovým indentačním hrotem ve tvaru trojúhelníkové pyramidy (Berkovichův typ).

Zkušební vzorky byly umístěny do nanoindentačního zařízení a integrovaným stereomikroskopem byla vybrána oblast indentace. Následně byl proveden tzv. *scanning* povrchu. Jde o aplikaci malé síly (2  $\mu\text{N}$ ) indentoru na zvolenou oblast. Indentor při této síle provádí *screening* malé oblasti se záznamem odporu povrchu, čímž lze identifikovat místa s rozdílnou nerovnoměrností povrchu (rozdílný odpor vzorku na hrot). Na naskenovaném obrazu jsou následně vybrána místa pro indentaci (Obr. 30). Vpichy indentoru byly směřovány do středu buněčné stěny, aby bylo možné správně předpokládat, že byla zkoumána jen vrstva S2.

Rychlost zatěžování byla zvolena 100  $\mu\text{N/s}$  do maximální síly 150  $\mu\text{N}$ . Následovala 15 s výdrž a poté stejnou rychlostí 100  $\mu\text{N/s}$  došlo k odtižení. Po ukončení indentování byl proveden opět *scanning* indentované oblasti (Obr. 30), a to kvůli ověření, zdali hrot indentoru vnikl do buněčné stěny. Údaje zaznamenané při odtěžování indentoru následně sloužily pro výpočet tvrdosti  $H$  a redukovaného modulu pružnosti  $E_r$  vzorku dle:

$$H = \frac{P_{max}}{A} \quad (11)$$

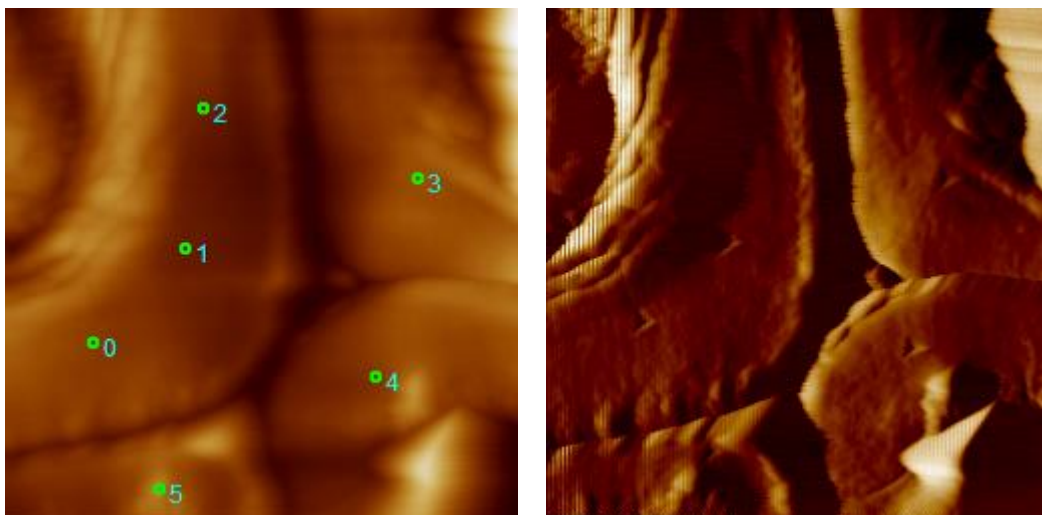
kde  $A$  je plocha vtlačena indentorem a dále:

$$E_r = \frac{1}{2} \sqrt{\pi} \frac{S}{\sqrt{A}} \quad (12)$$

Kde  $S$  je počáteční sklon odtěžovací křivky. Redukovaný modul pružnosti je dále vyjádřen jako:

$$E_r = \frac{1-v^2}{E} - \frac{1-v_i^2}{E_i} \quad (13)$$

kde  $E$  a  $v$  jsou modul pružnosti a Poissonův poměr vzorku a  $E_i$  a  $v_i$  jsou modul pružnosti a Poissonův poměr indentoru. Pro použitý diamantový indentor jsou  $E_i = 1141 \text{ GPa}$  a  $v_i = 0,07$ .



**Obrázek 30.** (Vlevo) Fotka naskenované oblasti před indentací. Čísly jsou vyznačená vybraná místa pro indentování. (Vpravo) Fotka naskenované oblasti po indentaci. V místech indentace jsou patrné otisky hrotu indenteru. (Velikost skenované oblasti je 20  $\mu\text{m}$ )

## 6.4. Stanovení tloušťky buněčné stěny dřeva

### 6.4.1. Příprava vzorku

Vzorek o velikosti 30×30×5 mm ve směru radiálním, tangenciálním a podélném byl odebrán ze vzorku pro zkoušku na stanovení modulu pružnosti. Povrch vzorku byl upraven brusným papírem, aby byl povrch vzorku hladký a dobře pozorovatelný ve stereomikroskopu.

### 6.4.2. Přístroj a postup měření

Měření tloušťky buněčné stěny a celkového podílu letního dřeva bylo uskutečněno na mikroskopu Leica MD 4000 M. Byl pořízen digitalizovaný obraz kamerou příčného řezu a pomocí příslušného softwaru proběhlo manuální měření tloušťky buněčných stěn na tomto obraze. Měření proběhlo po celém řezu vzorku ve směru kolmém na letokruhy.

## 6.5. Mikroskopická analýza stavby dřeva

Vzorky dřeva byly analyzovány optickým stereomikroskopem kvůli zjištění možné přítomnosti reakčního dřeva. Reakční dřevo je výsledkem namáhání dřeviny vlivem působícího nerovnoměrného zatížení na strukturu dřeva (např. nerovnoměrná hmotnost koruny, převažující jednostranné povětrnostní podmínky) a bývá často doprovázeno i excentricitou dřeně. U jehličnanů se tlakové dřevo vytváří na závětrné straně kmene stromů,



nebo na spodní straně větve, která je tlakově namáhána. Tlakové dřevo se někdy nazývá též křemenným dřevem.

Z makroskopického hlediska lze tlakové dřevo rozpoznat dle širších letokruhů s výrazně vyšším podílem letního dřeva. Z mikroskopického hlediska se tlakové dřevo vyznačuje výrazně silnější buněčnou stěnou, tracheidy jsou okrouhlého tvaru a dvojtečky zůstávají často otevřené. Z hlediska submikrostruktury dochází ke změnám v sekundární vrstvě buněčné stěny. Mikrofibrily v této vrstvě vykazují vyšší MFA (až 45°) a sekundární stěna je oproti normálnímu dřevu silnější. Tlakové dřevo má vyšší hustotu, tlakovou pevnost a vyšší podíl ligninu. [74]

#### **6.5.1. Příprava vzorku**

Mikroskopická analýza proběhla na vzorcích o velikosti 5×5×5 mm.

#### **6.5.2. Přístroje a okrajové podmínky**

Pro posouzení mikroskopické stavby dřeva byl použit optický mikroskop Leica MD 4000 M (Admas, Brno).

#### **6.5.3. Postup měření**

Z odebraných fotek příčných řezů bylo na základě tloušťky a tvaru tracheid vyhodnocováno, zdali je přítomno reakční (tlakové) dřevo.

## 7. Výsledky zkoušek

### 7.1. Modul pružnosti ve směru vláken

Na 5 vzorcích byl stanoven modul pružnosti ve směru vláken. Naměřené hodnoty jsou zaznamenány v tabulce č. 4.

**Tabulka 4.** Naměřené hodnoty modulu pružnosti ve směru vláken dle ČSN EN 408.

Vzorek	Modul pružnosti [MPa]
1	11040
2	16710
3	12610
4	9110
5	14120

### 7.2. Polarizační mikroskopie

Hodnoty průměrných MFA jsou zaznamenány v tabulkách č. 5 – č. 9. Pro každý vzorek bylo vybráno 5 letokruhů tak, aby byl pokryt celý průřez vzorku. U každého letokruhu bylo MFA stanoveno u 5 tracheid jarního i letního dřeva. Hodnoty v tabulce jsou průměrné hodnoty z těchto dílčích měření. Označení letokruhů je bráno od dřeně směrem ke kůře, nicméně přímo nesouvisí s letokruhy stromu.

**Tabulka 5.** Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 1.

Letokruh	MFA [°]			
	Jarní dřevo	Směrodatná odchylka	Letní dřevo	Směrodatná odchylka
1.	17,8	2,4	20,3	3,0
4.	16,0	3,2	18,3	3,5
7.	17,2	3,9	21,0	4,0
10.	21,2	3,3	21,7	4,0
13.	18,8	3,2	19,3	2,1

**Tabulka 6.** Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 2.

Letokruh	MFA [°]			
	Jarní dřevo	Směrodatná odchylka	Letní dřevo	Směrodatná odchylka
1.	10,2	2,8	12,0	2,9
5.	8,0	1,6	12,3	1,2
9.	9,3	2,7	9,0	1,4
13.	9,4	1,9	7,8	1,5
17.	12,0	0,8	12,0	2,9

**Tabulka 7.** Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 3.

Letokruh	MFA [°]			
	Jarní dřevo	Směrodatná odchylka	Letní dřevo	Směrodatná odchylka
1.	11,2	2,2	13,4	1,9
3.	11,8	3,0	13,0	1,4
5.	12,8	3,1	14,3	1,0
7.	9,5	1,3	14,5	1,9
9.	10,8	1,7	10,8	2,1

**Tabulka 8.** Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 4.

Letokruh	MFA [°]			
	Jarní dřevo	Směrodatná odchylka	Letní dřevo	Směrodatná odchylka
1.	22,7	3,2	25,7	5,1
2.	30,8	4,3	24,0	1,0
3.	24,0	5,0	23,0	3,6
4.	24,0	1,4	24,7	3,1
5.	24,5	2,9	29,0	2,0

**Tabulka 9.** Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 5.

Letokruh	MFA [°]			
	Jarní dřevo	Směrodatná odchylka	Letní dřevo	Směrodatná odchylka
1.	11,0	1,4	9,5	1,9
4.	12,3	2,1	10,8	1,0
7.	14,8	2,1	9,7	1,5
10.	11,0	1,4	12,3	2,2
13.	11,8	1,0	12,8	2,1

### 7.3. Nanoindentace

#### 7.3.1. Bez úpravy vzorku

V tabulce č. 10 jsou zaznamenány hodnoty, které byly naměřeny nanoindentační metodou na vzorku č. 3, a to u prvního letokruhu letního dřeva (1L). Tento vzorek byl měřen bez předchozí úpravy. Hodnoty v tabulce jsou průměrné hodnoty z 5 měření.

**Tabulka 10.** Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti  $E_r$  a tvrdosti u vzorku bez úpravy.

Vzorek	$E_r$ [MPa]	Směrodatná odchylka	H [MPa]	Směrodatná odchylka
3 – 1L	4150	1380	100	60

#### 7.3.2. Úprava vzorku brusivem

Data v tabulce č. 11 zobrazují redukovaný modul pružnosti a tvrdost na vzorku č. 3, který byl před měřením upraven brusným papírem. Na tomto vzoru bylo provedeno 5 měření.

**Tabulka 11.** Naměřené hodnoty  $E_r$  a tvrdosti u vzorku upraveného brusivem.

Vzorek	$E_r$ [MPa]	Směrodatná odchylka	H [MPa]	Směrodatná odchylka
3 – 1L	4270	1930	380	140

#### 7.3.3. Uložení vzorku ve SPURR epoxidu

Data v tabulce č. 12 ukazují hodnoty redukovaného modulu a tvrdosti na vzorku č. 3. Tento vzorek byl uložen ve SPURR epoxidové pryskyřici. Pro zjištění mechanických vlastností SPURR epoxidové pryskyřice bylo přistoupeno i k nanoindentaci samotné pryskyřice. Hodnoty jejího redukovaného modulu a její tvrdosti jsou taktéž v tabulce č. 12.

**Tabulka 12.** Naměřené hodnoty  $E_r$  a tvrdosti u vzorku uloženého ve SPURR epoxidu a u samotné SPURR epoxidové pryskyřice.

Vzorek	$E_r$ [MPa]	Směrodatná odchylka	H [MPa]	Směrodatná odchylka
3 – 1L	8480	1580	170	60
SPURR epoxid	2580	100	90	10

### 7.3.4. Úprava vzorku dusíkem

V tabulce č. 13 jsou tuhostní charakteristiky naměřené nanoindentací na vzorku č. 3. Měření bylo provedeno u 5 letokruhů letního dřeva po celém průřezu vzorku. Na každém letokruhu pak bylo provedeno šest měření indentací, průměrné hodnoty z těchto dílčích měření jsou uvedeny v tabulce č. 13.

**Tabulka 13.** Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti ( $E_r$ ) a tvrdosti (H) u vzorku č. 3 ošetřeného dusíkem.

Vzorek	Letokruh	$E_r$ [MPa]	Směrodatná odchylka	H [MPa]	Směrodatná odchylka
3	1L	6080	940	240	20
	3L	6120	1450	310	50
	5L	5440	340	190	20
	7L	5880	780	380	30
	9L	10450	1450	440	30

Hodnoty redukovaných modulů a tvrdosti buněčné stěny vzorku č. 4 jsou zaznamenány v tabulce č. 14. Na každém zkoumaném letokruhu bylo provedeno šest měření indentací letního dřeva, v tabulce č. 14 jsou jejich průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

**Tabulka 14.** Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti ( $E_r$ ) a tvrdosti (H) u vzorku č. 4 ošetřeného dusíkem.

Vzorek	Letokruh	$E_r$ [MPa]	Směrodatná odchylka	H [MPa]	Směrodatná odchylka
4	1L	6940	870	290	30
	2L	6710	920	240	20
	3L	7590	1340	360	30
	4L	7280	1110	210	50
	5L	5030	960	220	30

### 7.4. Stanovení tloušťky buněčné stěny

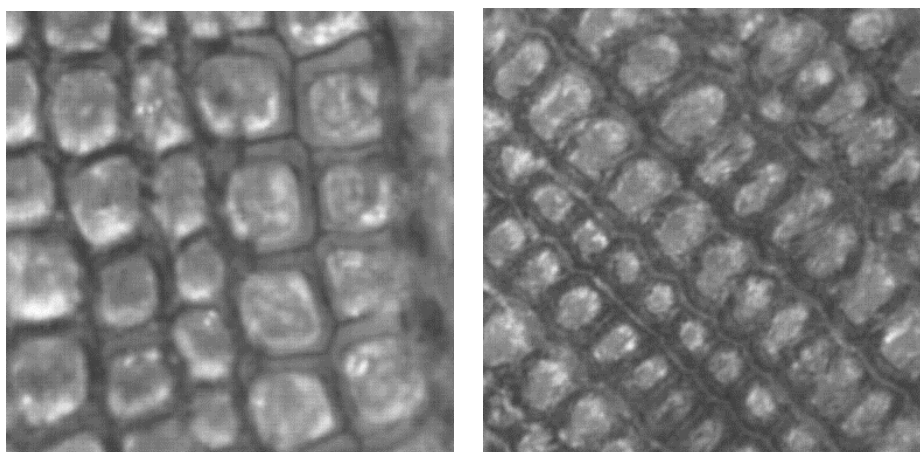
Na 5 vzorcích byla stanovena tloušťka buněčné stěny jak u jarního, tak u letního dřeva. Data jsou zaznamenána v tabulce č. 15. Tloušťka jarního a letního dřeva se stanovovala na příčném řezu kolmo k letokruhům.

**Tabulka 15.** Naměřené hodnoty podílů jarního a letního dřeva ve vzorku.

Vzorek	Letokruh [ $\mu\text{m}$ ]					
	Jarní dřevo			Letní dřevo		
	Celková tloušťka	Podíl buněčné stěny [%]	Tloušťka buněčné stěny	Celková tloušťka	Podíl buněčné stěny [%]	Tloušťka buněčné stěny
1	32280	19,0	6133	7350	40,3	2962
2	29380	16,4	4818	7910	55,3	4374
3	28200	19,1	5386	4190	40,1	1680
4	31640	22,8	7213	3620	42,0	1520
5	26190	20,4	5342	5940	50,3	2987

### 7.5. Mikroskopická analýza buněčné struktury

Z důvodu možné přítomnosti tlakového dřeva ve vzorcích bylo přistoupeno k mikroskopické analýze stavby dřeva. Hlavními znaky tlakového dřeva jsou jeho tmavá barva, způsobená vysokým obsahem ligninu, tracheidy okrouhlého tvaru a výrazně silnější buněčná stěna. Pro znázornění byly vybrány dva mikrofotografické snímky příčného řezu vzorků (Obr. 31). Na obrázcích je patrné jarní a letní část letokruhu dřeva. Z těchto snímků je patrné, že dřevo nebylo vystaveno jednostrannému napětí, které zapříčiňuje vznik tlakového dřeva. Proto u všech zkoumaných vzorků nebylo prokázáno, že by se jednalo o reakční dřevo.



**Obrázek 31.** (Vlevo) Jarní dřevo 5. letokruhu u vzorku č. 3. (Zvětšení 150 $\times$ ). (Vpravo) Letní dřevo stejného vzorku (Zvětšení 150 $\times$ ).

## 8. Shrnutí a diskuze výsledků

Principem všech měření bylo primárně zjistit či kvantifikovat vliv makroskopických a mikroskopických znaků na tuhostní parametry smrkového dřeva.

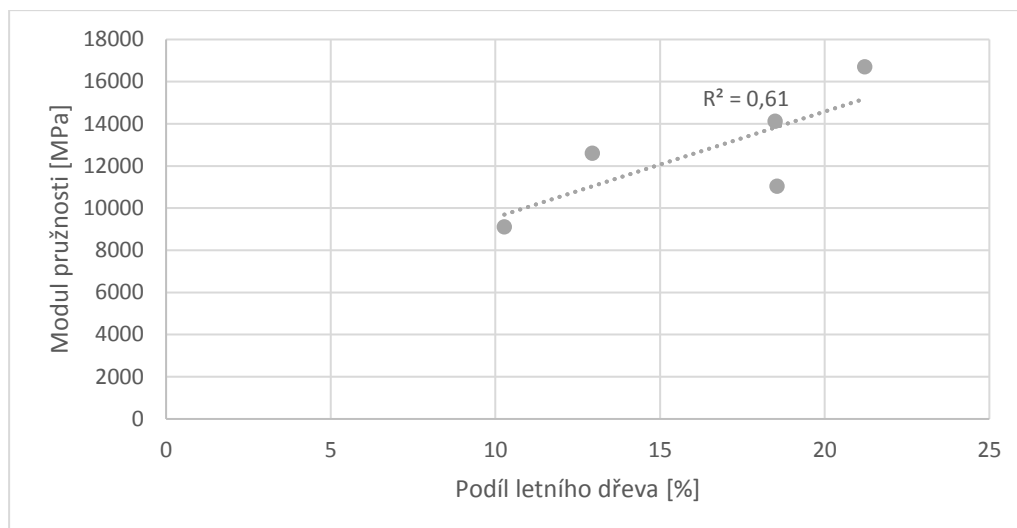
### 8.1. Vliv makroskopické stavby na tuhost dřeva

#### 8.1.1. Vliv podílu letního dřeva

Radiální přírůst dřeva ve vegetačním období se nazývá letokruh. Na příčném řezu se jeví jako koncentricky a cylindricky uspořádané kružnice. V našich klimatických podmínkách trvá vegetační období 1 rok. Světlá část letokruhu vytvořená na začátku vegetačního období se označuje jako jarní dřevo a tmavší část letokruhu vytvořená v průběhu vegetačního období se nazývá letní dřevo. U jehličnatých stromů je přechod mezi jarním a letním dřevem velmi výrazný. Podíl jarního dřeva je výrazně vyšší než dřeva letního. Jarní dřevo má primárně funkci vodivou, zatímco letní dřevo zajišťuje pevnost a tuhost. Je také výrazně tvrdší než jarní dřevo a má 2-3× větší hustotu. Podélná vlákna (tracheidy) jarního dřeva mají tenkou buněčnou stěnu a velký průměr buněk. U letního dřeva mají tracheidy tlustou buněčnou stěnu a menší průměr buněk. V praktické části diplomové práce bylo z těchto důvodů přistoupeno k měření tloušťky jarního a letního dřeva. Naměřené hodnoty tlouštěk letokruhů jsou zaznamenány v tabulce č. 16. V grafu č. 1 je zobrazen vliv podílu letního dřeva na celkovou tuhost.

**Tabulka 16.** Celková tloušťka letokruhů na vzorcích a podíl letního dřeva.

Vzorek	Celková tloušťka [ $\mu\text{m}$ ]	Letní dřevo [ $\mu\text{m}$ ]	Podíl letního dřeva [%]	Modul pružnosti [MPa]
1	39630	7350	18,6	11040
2	27290	7910	21,2	16710
3	32390	4190	12,9	12610
4	35260	3620	10,3	9110
5	32130	5940	18,5	14120



**Graf 1.** Modul pružnosti vzorku v závislosti na podílu letního dřeva.

Z grafu je patrné, že se zvyšujícím se podílem letního dřeva ve vzorku roste i jeho tuhost. Hodnota spolehlivost  $R^2 = 0,61$  nicméně neukazuje těsnou závislost. Je nutné si ale uvědomit, že při měření tloušťky jarního a letního dřeva byla z makroskopického hlediska započítána jak buněčná stěna, tak i lumeny. Ty jsou v jarním dřevě daleko větší, tudíž je podíl letního dřeva ve vzorku výrazně menší. Pokud chceme určit skutečný vliv letního dřeva na tuhost, je nezbytné stanovení tloušťky buněčné stěny.

## 8.2. Vliv mikroskopické stavby na tuhost dřeva

### 8.2.1. Vliv podílu letního dřeva bez lumenů

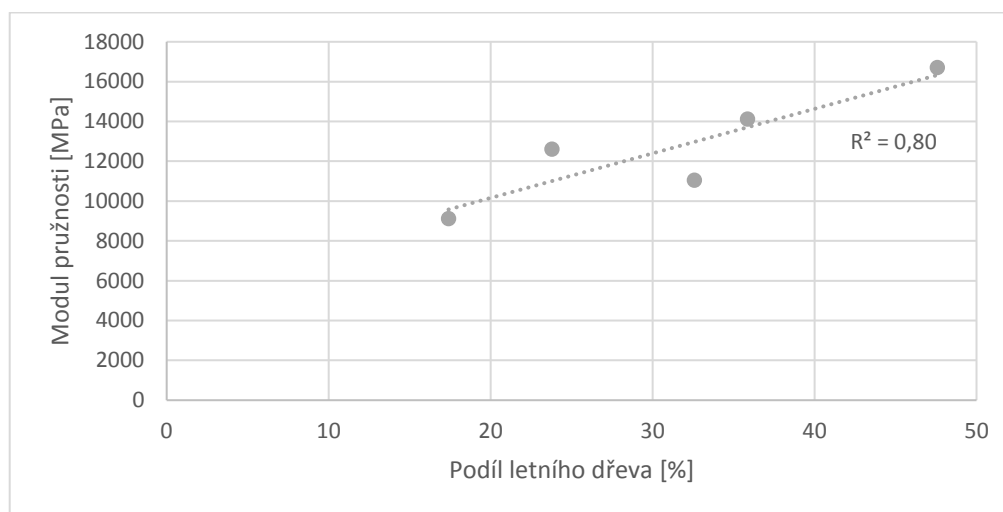
Pokud se při měření tloušťky letního dřeva odečte velikost lumenu, výsledná hodnota deklaruje parametr tloušťky buněčné stěny letního dřeva. Celková tloušťka letokruhu uvedená tedy v tabulce značí tloušťku jarního a letního dřeva bez lumenů. Jak můžeme vidět v tabulce č. 17, podíl letního dřeva se výrazně zvýšil, u vzorku č. 2 dosahuje hodnoty téměř 50 %.

**Tabulka 17.** Podíl tloušťky buněčné stěny letního dřeva.

Vzorek	Celková tloušťka [ $\mu\text{m}$ ]	Letní dřevo [ $\mu\text{m}$ ]	Podíl letního dřeva [%]
1	9095	2962	32,6
2	9192	4374	47,6
3	7066	1680	23,8
4	8733	1520	17,4
5	8329	2987	35,9



Pokud porovnáme celkovou tuhost vzorku s podílem tloušťky buněčné stěny letního dřeva (graf č. 2) bez započtení lumenů, dostaneme výrazně těsnější závislost s koeficientem spolehlivosti  $R^2 = 0,80$ . Se zvyšujícím se podílem letního dřeva tuhost dřeva roste.



**Graf 2.** Závislost podílu letního dřeva (bez lumenu) na modulu pružnosti ve směru vláken.

Pokud tedy chceme posuzovat vliv letního dřeva na tuhost dřeviny, vykazuje mikroskopické hodnocení bez započtení lumenů buněk významně vyšší přesnost. S těmito hodnotami jsme schopni poměrně přesně odhadnout, jakých parametrů tuhostí bude smrkové dřevo dosahovat.

Pro doplnění popisu stavby dřeva bylo přistoupeno k mikroskopickému analyzování vzorků z hlediska možné přítomnosti tlakového dřeva. Na příčných řezech jednotlivých vzorků se přítomnost tlakového dřeva nepotvrdila. Tlakové dřevo je charakteristické tmavou barvou, která je způsobena vysokým množstvím ligninu. Dalším znakem je okrouhlý tvar tracheid, jejichž stěny jsou výrazně tlustější než u dřeva běžného.

### 8.3. Vliv submikroskopické stavby na tuhost dřeva

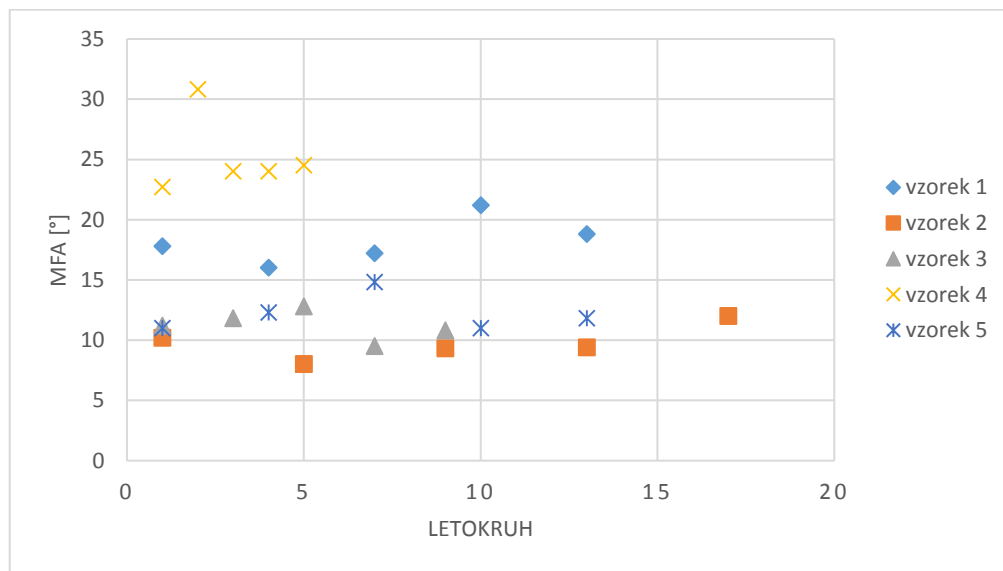
#### 8.3.1. Vliv odklonu fibril celulózy od axiální osy

Rozhodujícím faktorem ovlivňujícím tuhost a sesychání dřeva je odklon celulózových fibril (MFA) ve vrstvě S2 buněčné stěny od podélné osy buňky. MFA není v rámci jedné rostliny/dřeviny konstantní, naopak je tato vlastnost velmi proměnná, a to v závislosti na umístění v rámci celé rostliny/dřeviny. Nejvyšší hodnoty MFA se nacházejí v patě stromu. Po výšce kmene se pak úhel mikro fibril snižuje, kdy od cca 7 metrů bývá konstantní. Ke konci kmene se ale opět zvyšuje. Úhel mikro fibril není konstantní ani po průřezu kmene.

Nejvyšší hodnoty se nacházejí u středu kmene a směrem ke kůře se snižují. Mezi jednotlivými stromy jsou odchylky v MFA nejvíce patrné u juvenilního dřeva. Po 15 letech růstu ale u jehličnatých dřevin dochází ke snížení hodnot MFA na porovnatelně nízké hodnoty.

MFA celulóзовých vláken má velký vliv na mechanické vlastnosti buněčné stěny. Jeho regulování umožňuje rostlině modifikovat mechanické vlastnosti tkáně podle potřeby. Úhel odklonu mikrofibril je také ovlivněn napětím vyvolaným různým směrem růstu, a to zejména u reakčního dřeva. Tlakové dřevo má obecně vysoké MFA, a proto může lépe odolat tlakovému napětí. Tahové dřevo má naopak obecně nízké MFA, tím pádem může lépe odolávat tahovému napětí.

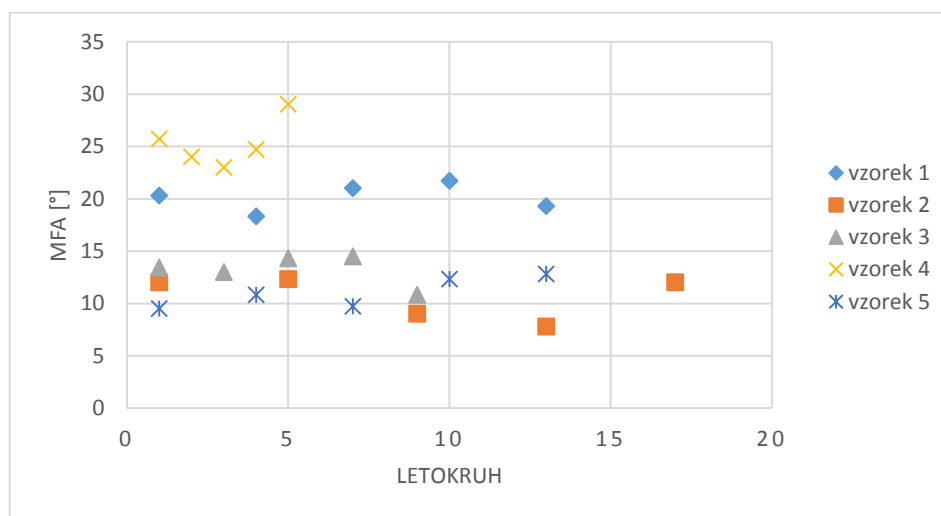
Z naměřených výsledků lze usoudit, že variabilita hodnot MFA je napříč každým zkoušeným vzorkem poměrně vysoká. To je možné pozorovat i na relativně velké směrodatné odchylce u téměř všech jednotlivých letokruhů. V grafu č. 3 můžeme vidět distribuci průměrných hodnot MFA jarního dřeva u 5 letokruhů každého zkoušeného vzorku. Očekávané snižování MFA od dřene směrem ke kůře zde není patrné. Je to pravděpodobně způsobeno velikostí zkoumaných vzorků.



**Graf 3.** Distribuce MFA jarního dřeva u testovaných vzorků.

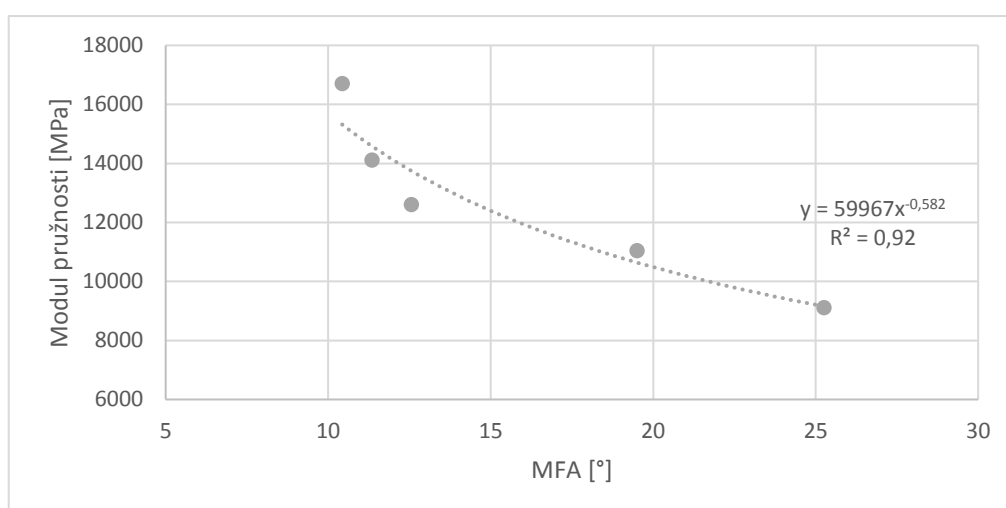
Průměrné hodnoty MFA u letního dřeva jednotlivých vzorků jsou zobrazeny v grafu č. 4. Lze prohlásit, že neexistuje žádná významná statistická závislost mezi MFA jarního dřeva a MFA dřeva letního. Nicméně je nutné připustit, že nebyl zkoumán věk jednotlivých stromů, ze kterých byly vzorky odebrány. Nebylo také jednoznačně určeno, jestli se jedná

o dřevo vyvrálé nebo juvenilní. Z vědeckých rešerší vyplývá, že se MFA snižuje od středu kmene směrem ke kůře. Na letním dřevě vzorků to ale také nebylo potvrzeno, což je patrně způsobeno nedostatečnou velikostí vzorku.



**Graf 4.** Distribuce MFA letního dřeva u testovaných vzorků.

Klíčová role orientace mikro fibril v buněčné stěně vrstvy S2 je naprosto zřetelná, pokud do grafu promítneme závislost MFA na tuhostní parametry buněčných tkání nebo vláken. V této práci bylo provedeno stanovení modulu pružnosti ve směru vláken (při tlakovém namáhání) u vzorků o velikosti 30×30 mm a s podélným rozměrem 180 mm. Naměřená data v závislosti na váženém průměru MFA z jarního a letního dřeva jsou vyobrazena v grafu č. 5.



**Graf 5.** Závislost mezi modulem pružnosti ve směru vláken a váženým průměrem MFA u jednotlivých vzorků, který byl spočítán pomocí poměru letního a jarního dřeva.

U buněčných stěn s orientací mikrofibril ve vrstvě S2 téměř rovnoběžnou s osou buňky (MFA = 10,4°) byl zjištěn nejvyšší modul pružnosti ( $E = 16700$  MPa), zatímco se zvyšujícím se odklonem mikrofibril modul pružnosti ve směru vláken klesal. Nejnižší hodnota modulu pružnosti ( $E = 9110$  MPa) byla naměřena u vzorku s nejvyšším odklonem mikrofibril (MFA = 25,3°). Byla zjištěna silná závislost MFA na modulu pružnosti dřeva s koeficientem spolehlivosti  $R^2 = 0,92$ . Tato korelace umožňuje rostlinám upravovat svoje mechanické vlastnosti pomocí změny dispozice MFA v jejich tkáních. Juvenilní dřevo má například vysoké MFA, které činí dřevo i kmen pružnější. Vyvrálé dřevo má naopak nízké MFA, což vede k vysoké tuhosti a nízkému riziku jeho zlomení.

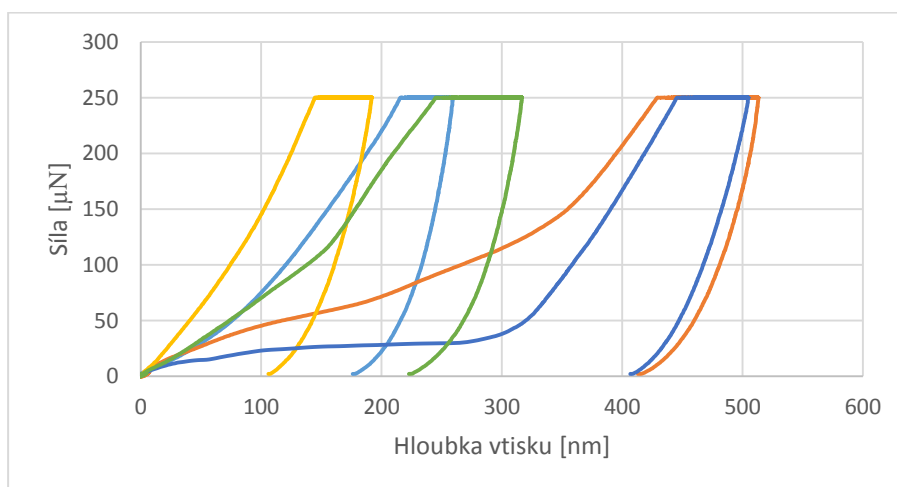
#### 8.4. Tuhost buněčné stěny stanovená pomocí nanoindentace

Pro tyto účely je uvažováno s redukovaným modulem  $E_r$ , který je pomocí příslušného softwaru stanoven z počátečního odklonu odtěžovací křivky při nanoindentacím zatěžování. Redukovaný modul je zohledňuje reakci indentačního hrotu s indentovaným materiálem. V měkkých materiálech (např. dřevo) je ale rozdíl mezi  $E_r$  a  $E$  zanedbatelně malý, takže u naměřených dat nebyla provedena žádná korekce.

##### 8.4.1. Vliv předúpravy povrchu dřeva na redukovaný modul

V této práci bylo přistoupeno ke stanovení optimálního přístupu měření tuhosti a tvrdosti pomocí nanoindentace, a to ve vztahu k povrchu vzorku.

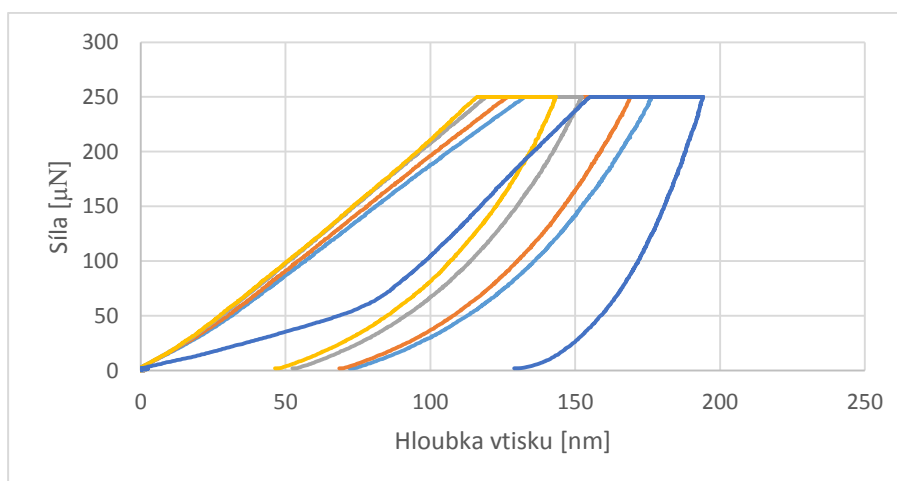
Opracování kotoučovou pilou – jako první zkušební postup byl zvolen vzorek s hrubostí povrchu odpovídajícímu seříznutí kotoučovou pilou. Vzorek vykazoval již makroskopicky nerovný povrch. Při měření byly zaznamenány velké rozdíly naměřených hodnot, což lze pozorovat v grafu č. 6. Pro měření byla použita maximální zatěžovací síla 250  $\mu\text{N}$ .



**Graf 6.** Zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku bez úpravy.

Směrodatná odchylka stanovená jak u redukovaného modulu pružnosti, tak u tvrdosti naznačuje, že naměřená data mají velký rozptyl. Povrch vzorku byl kotoučovou pilou rozvlákněn, což vedlo k neshodnému výběru indentovaného místa. Indentační hrot sklouzával po povrchu a docházelo k posunu křivek po ose x (Graf 6). Hrubost tohoto povrchu byla tedy příliš vysoká. Hloubka vtisku se výrazně liší u všech provedených měření na tomto vzorku. Průměrný redukovaný modul pružnosti byl 4150 MPa a průměrná tvrdost byla 100 MPa.

Opracování brusivem – Jako další způsob úpravy povrchu vzorku pro nanoindentaci bylo zvoleno broušení povrchu vzorku brusivem. Touto metodou bylo dosaženo zdánlivě velmi rovného a hladkého povrchu. Zatěžovací křivky z nanoindentacího měření jsou vyobrazeny v grafu č. 7.



**Graf 7.** Zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku upraveného brusivem.

Data zaznamenaná při měření na vzorku upraveném brusivem vykazovala vyšší hodnoty tuhosti ( $E_r = 4270$  MPa) a tvrdosti ( $H = 380$  MPa), přesto bylo ale dosaženo velkých směrodatných odchylek. Jak lze vidět na zatěžovacích křivkách v grafu č. 7, hloubka indentace je při maximální síle velmi variabilní. Při zkoumání povrchu vzorku stereomikroskopem bylo zjištěno, že jsou na povrchu vzorku rýhy způsobené brusivem. Hrot indentoru je dostatečně malý, aby bylo měření takovými rýhami ovlivněno. Vysoká směrodatná odchylka naznačuje, že úprava povrchu brusivem není pro tento účel měření dostatečná.

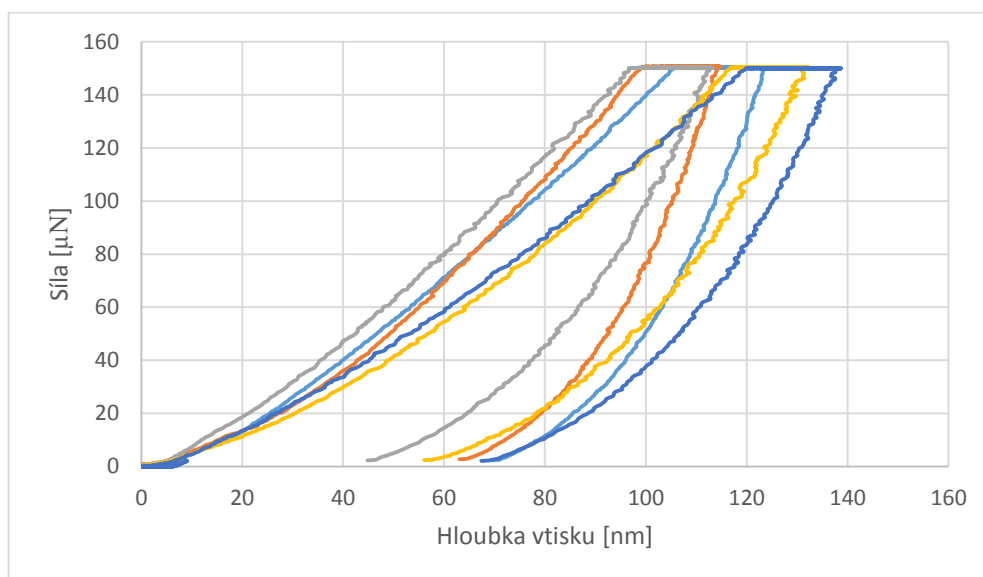
Zalítí epoxidem – Další metodou úpravy povrchu bylo uložení vzorku dřeva do epoxidové pryskyřice SPURR a následného seříznutí na ultramikrotomu. Tato metoda úpravy vzorku je nejpoužívanější metodou při stanovování mechanických vlastností pomocí

nanoindentace. Při použití nízko viskózní epoxidové pryskyřice dochází k penetrování buněčných lumenů a do jisté míry i buněčné stěny. Měření může být tedy ovlivněno dvěma směry. Jako první se jeví působení pryskyřice v lumenu jako stabilizátoru proti vybočení buněčné stěny při indentování. Pokud je lumen zaplněn pryskyřicí, prvek vykáže vyšší tuhost kvůli spolupůsobení buněčné stěny a pryskyřice. Další ovlivnění může nastat při stanovení tvrdosti a tuhosti buněčné stěny. Pokud vykazuje stabilizační pryskyřice dostatečně nízkou viskozitu, nemůžeme vyloučit impregnaci samotné buněčné stěny. Ta spolu s impregnační pryskyřicí může vykazovat vyšší hodnoty tvrdosti než bez použití stabilizačního média. Z naměřených výsledků vyplývá, že tuhost buněčné stěny oproti neupraveným vzorkům vzrostla ( $E_r = 8480 \text{ MPa}$ ). Tento nárůst může být způsoben anizotropií dřeva, ale může to být také důsledek spolupůsobení ukládací pryskyřice s buněčnou stěnou. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno ke stanovení mechanických vlastností na samotné epoxidové pryskyřici SPURR, aby byl zjištěn vliv ukládacího média na výsledné hodnoty mechanických vlastností dřeva.

Redukovaný modul pružnosti ukládacího média byl stanoven na 2580 MPa. Z důvodu zvýšení hodnoty redukovaného modulu buněčné stěny u vzorku uloženého v epoxidové pryskyřici lze předpokládat, že toto zvýšení tuhosti bylo právě vlivem spolupůsobení ukládacího média a buněčné stěny. Tvrdost zjištěná nanoindentací byla v porovnání s předchozími úpravami nižší ( $H = 170 \text{ MPa}$ ). Z toho vyplývá, že použitá epoxidová pryskyřice pravděpodobně vnikala pouze do buněčných lumenů, a ne do buněčné stěny. Tvrdost použité epoxidové pryskyřice zjištěná nanoindentací byla 90 MPa.

Předúprava kapalným dusíkem – Poslední metodou úpravy vzorku pro nanoindentaci bylo zvoleno ošetření vzorku dřeva dusíkem. Vzorek dřeva byl nejprve umístěn do tekutého dusíku po dobu cca 30 s a poté byl bezprostředně seříznut pomocí ultramikrotomu. Díky hlubokému zamražení buněčné stěny zůstává povrch zaříznutého vzorku velmi rovný. K této metodě bylo přistoupeno z důvodu požadavku na co nejpřesnější hodnoty mechanických vlastností buněčné stěny, které nebudou ovlivněny spolupůsobením s ukládacím médiem (epoxidovou pryskyřicí), jako je tomu téměř u všech dostupných výzkumů v literatuře. Protože bylo ověřeno, že je povrch dostatečně rovný pro provedení nanoindentačního měření, bylo přistoupeno k aplikaci této metody úpravy vzorku pro stanovení mechanických vlastností u všech následujících měření. V grafu č. 8 jsou zaznamenány zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku č. 3 prvního letokruhu letního dřeva. Maximální zatěžovací síla byla zvolena 150  $\mu\text{N}$ . Tato síla je dostatečně vysoká pro stanovení požadovaných

mechanických vlastností, zároveň ale není příliš vysoká, aby způsobila vybočení buněčné stěny při zatěžování. Průměrná hodnota redukovaného modulu pružnosti byla stanovena na 6080 MPA a průměrná tuhost 240 MPA.

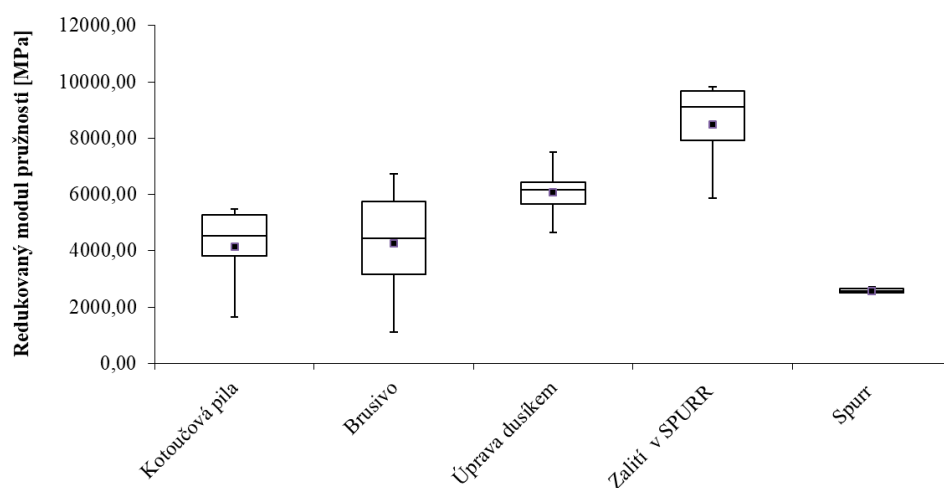


**Graf 8.** Zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku č. 3 ošetřeného dusíkem.

Graf č. 8 zobrazuje klasické zatěžovací křivky při nanoindentacním měření. Všechny křivky mají velmi podobný tvar a správnost naměřených hodnot lze odvodit i od nízkých směrodatných odchylek. Proto byla tato metoda úpravy vzorku vyhodnocena jako nejvhodnější při stanovení mechanických vlastností buněčné stěny dřeva.

### **Shrnutí vlivu předúpravy**

V grafu č. 9 můžeme vidět srovnání hodnot redukovaných modulů pružnosti buněčné stěny stanovených nanoindentacní metodou u vzorků s různými úpravami povrchu. Tato měření proběhla na jediném letokruhu letního dřeva (první letokruh vzorku č. 3). V grafu lze pozorovat velký rozptyl naměřených hodnot u neupraveného vzorku i u vzorku upraveného brusivem. Vzorek uložený v epoxidu vykázal vyšší tuhost buněčné stěny, což je pravděpodobně způsobeno spolupůsobením buněčné stěny a fixačního média v buněčném lumenu. Průměrná tuhost buněčné stěny u vzorku upraveného dusíkem odpovídala průměrné tuhosti vzorku upraveného brusivem, ale při měření bylo dosaženo mnohem menšího rozptylu naměřených hodnot. Z tohoto důvodu byl tento postup úpravy vzorku vyhodnocen jako nejoptimálnější pro stanovování mechanických vlastností buněčné stěny pomocí nanoindentace.



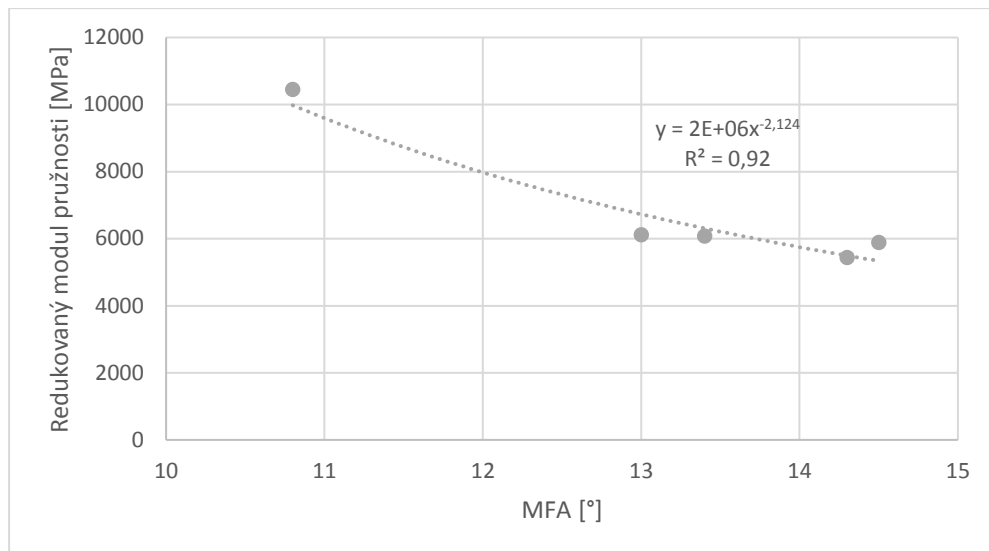
**Graf 9.** Srovnání hodnot redukovaných modulů pružnosti u různých přístupů úprav vzorku pro vybraný stejný letokruh dřeviny. V grafu je rovněž zobrazen zjištěný redukovaný modul Spurr epoxidové pryskyřice.

#### 8.4.2. Vliv odklonu mikrofibril na hodnoty redukované tuhosti

Protože byla zjištěna poměrně velká variabilita MFA u všech vzorků, bylo přistoupeno ke zjištění tvrdosti a redukovaného modulu pružnosti po průřezu vzorku č. 3 a vzorku č. 4.

Měření byla provedena na buněčné stěně letního dřeva, protože letní dřevo je hlavním nositelem pevností. Na vzorku č. 3 bylo provedeno měření na 5 letokruzích letního dřeva. Na každém z těchto letokruhů bylo provedeno 6 indentací buněčné stěny. Hodnoty redukovaného modulu pružnosti  $E_r$  byly v rozmezí 5 440 – 10 450 MPa. Variabilita této vlastnosti je u jednoho vzorku vysoká. Pokud položíme redukovaný modul pružnosti do závislosti na úhlu mikrofibril jednotlivých letokruhů letního dřeva, dostaneme závislost zobrazenou v grafu č. 10.

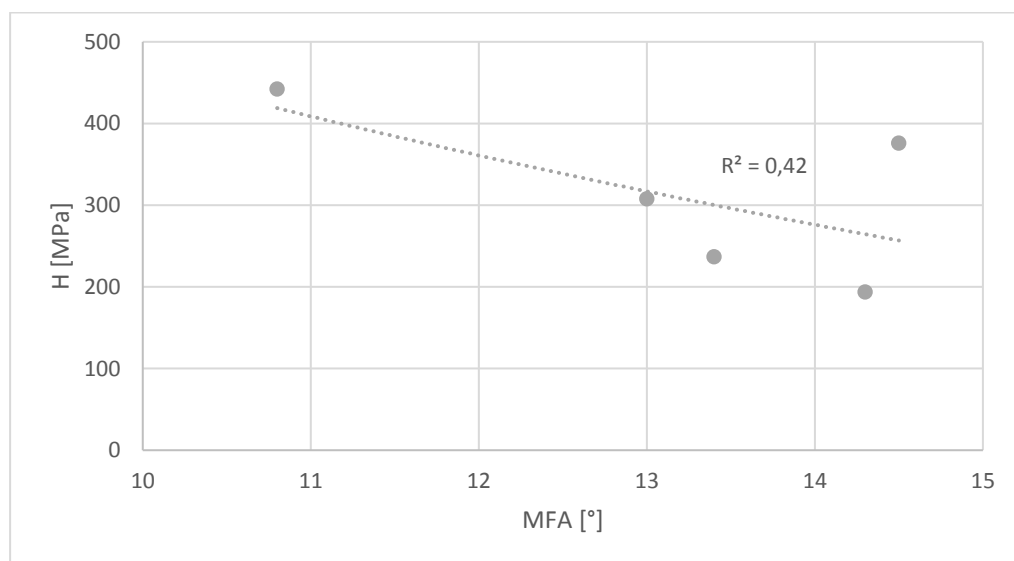




**Graf 10.** Závislost redukovaného modulu pružnosti  $E_r$  na MFA letního dřeva vzorku č. 3.

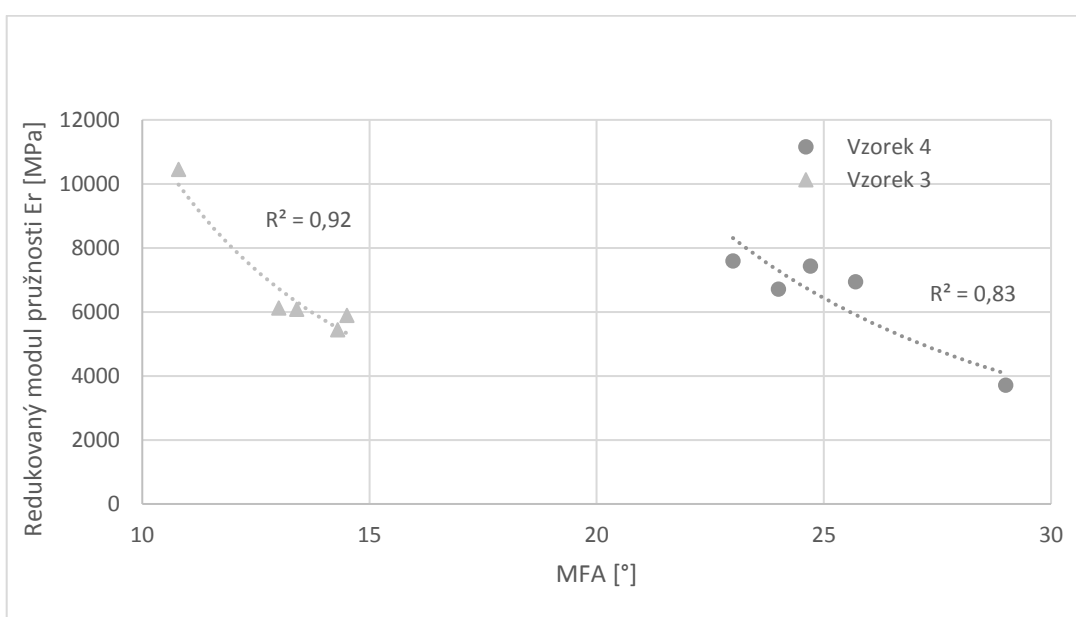
U nejnižší hodnoty MFA byl stanoven nejvyšší redukovaný modul pružnosti, který se zvětšujícím se MFA klesal. Po proložení bodů exponenciální křivkou dostáváme závislost s významnou statistickou hodnotou ( $R^2 = 0,92$ ).

Při stanovení tvrdosti buněčné stěny byly naměřeny hodnoty od 190 MPa do 440 MPa, což také ukazuje na velkou variabilitu v rámci jednoho stromu. V grafu č. 11 je zobrazena závislost odklonu mikrofibрил na tuhost stanovenou nanoindentací. Podobně jako v jiných studiích bylo zjištěno, že tvrdost je v podstatě nezávislá na uspořádání MFA v buněčné stěně.



**Graf 11.** Závislost tvrdosti  $H$  na MFA letního dřeva vzorku č. 3.

V grafu č. 12 jsou zobrazeny hodnoty redukovaného modulu pružnosti buněčné stěny vzorku č. 4 v závislosti k průměrnému MFA. U tohoto vzorku byla dosažena závislost s koeficientem spolehlivosti  $R^2 = 0,83$ . Pro srovnání je v grafu zobrazena také závislost mezi stejnými proměnnými u vzorku č. 3. Jak lze vidět v grafu č. 12, u jednotlivých vzorků je klesající trend tuhostí s rostoucím MFA. U srovnatelných tuhostí buněčných stěn dvou vzorků byly ale naměřeny rozdílné úhly odklonů mikrofibril v buněčné stěně. Z tohoto zjištění vyplývá, že nelze přesně stanovit tuhost buněčné stěny dle zjištěného úhlu mikrofibril napříč různými vzorky. Ačkoli se jedná v obou případech o smrkové dřevo, rozdílné chemické složení významně ovlivňuje jeho tuhostní parametry.



**Graf 12.** Závislost redukovaného modulu pružnosti  $E_r$  (zjištěn nanoindentací) na průměrný MFA pro vzorek č. 3 a vzorek č. 4.

Pokud se podíváme na mechanické parametry zjištěné nanoindentací na smrkovém dřevě v práci J. Konnertha a spol. [68], vidíme průměrný redukovaný modul pružnosti  $E_r = 16\,500$  MPA při  $MFA = 11,5^\circ$ . Tyto hodnoty jsou významně vyšší než stanovené hodnoty v této práci ( $E_r = 10\,800$  MPA při  $MFA = 10,8^\circ$ ). To může být způsobeno právě použitím fixačního média (epoxidové pryskyřice) při stabilizaci vzorku, která slouží jako ztužující materiál dřevní buňky. Dále je ale třeba brát v úvahu, že dřevo je anizotropní materiál. Rozsah těchto neshod je tedy závislý na stupni anizotropie dřeva. Hodnoty stanovené nanoindentací jsou také závislé na úhlu, který svírá indentor s axiální osou zkoušené tracheidy [69] a je významný především u nízkých MFA, čím větší je úhel odklonu mikrofibril tím je tento vliv méně patrný. Úhel mezi bokem Berkovichova trojúhelníkového

pyramidálního indentoru a jeho osou, tj. směrem zatěžování, je přibližně  $65^\circ$ . V buněčné stěně o velikosti  $MFA = 0^\circ$  (mikrofibrily jsou rovnoběžně s osou tracheidy) je úhel mezi všemi třemi plochami trojúhelníkového indentoru a osou tracheidy přibližně  $25^\circ$ . Jinými slovy je buněčná stěna zatížena pod úhlem  $25^\circ$  k její podélné ose. Tudíž v místě deformovaném indentorem je výsledné napětí řízeno jak modulem pružnosti v podélném směru, tak daleko nižším modulem pružnosti v příčném směru, což vede ke snížení výsledných hodnot redukovaného modulu. Navíc není jasné, jakým způsobem se celulózové mikrofibrily deformují během indentace a do jaké míry mění tato deformace jejich tuhost. Při  $MFA > 0^\circ$  nejsou úhly mezi osou tracheidy a stěnami trojúhelníkového indentoru stejné a se zvyšujícím se MFA se mění.

## 9. Závěr

Hlavním cílem této práce bylo stanovení a ověření závislostí mezi stavbou dřeva na mikroskopické a submikroskopické úrovni a mechanickými vlastnostmi dřeva a samotné buněčné stěny. Dalším z cílů práce bylo stanovení vlivu úpravy vzorku na výsledném měření tuhostních charakteristik buněčné stěny pomocí nanoindentace. Z vědeckých rešerší vyplývá, že jeden z klíčových faktorů ovlivňujících mechanické vlastnosti dřeva je odklon mikrofibril v buněčné stěně vrstvy S2. Proto byla tato práce především zaměřena na stanovení vlastností této vrstvy. Vrstva S2 zaujímá až 80 % celkové tloušťky buněčné stěny, z čehož lze usoudit, že má majoritní vliv na chování celé buněčné stěny, potažmo buňky.

V teoretické části byla popsána stavba dřevin od mikroskopického do submikroskopického měřítko. Z vědeckých rešerší byly důkladně popsány metody, které se zabývají měřením odklonu mikrofibril ve vrstvě S2 buněčné stěny dřeva. Jedna z těchto metod, polarizační mikroskopie, byla použita při stanovování MFA tracheid u zkoušeného smrkového dřeva v praktické části práce. Na základě rešerší byla pro stanovení mechanických vlastností buněčné stěny dřeva vybrána metoda nanoindentace.

V praktické části práce bylo přistoupeno ke stanovení modulu pružnosti ve směru vláken na smrkovém dřevě. Tyto tuhostní parametry byly následně porovnávány s makroskopickými, mikroskopickými a submikroskopickými znaky dřeva. Jako první bylo přistoupeno k makroskopickému popsání vybraných vzorků smrkového dřeva. Tuhost jednotlivých vzorků lze odhadnout již z počtu a tloušťky letokruhů na jednotlivých vzorcích. Nejvyšší tuhost vykázal vzorek č. 2, který měl největší počet letokruhů, naopak nejnižší tuhost vykázal vzorek s nejmenším počtem letokruhů. Koeficient závislosti  $R^2 = 0,61$  ukazuje nepříliš těsnou závislost mezi podílem letního dřeva a modulem pružnosti ve směru vláken, nicméně tyto makroskopické znaky jsou první nápovědou při odhadování mechanických vlastností smrkového dřeva.

Při zkoumání mikrostruktury byl stanoven vliv podílu tloušťky buněčné stěny letního dřeva na modul pružnosti ve směru vláken s koeficientem závislosti  $R^2 = 0,80$ . Z toho lze usoudit, že větší vliv na tuhost vzorku má samotná buněčná stěna letního dřeva.

Zdaleka nejtěsnější závislosti ( $R^2 = 0,92$ ) bylo dosaženo mezi modulem pružnosti ve směru vláken a odklonem mikrofibril ve vrstvě S2 buněčné stěny při submikroskopické analýze. Tato submikroskopická strukturní charakteristika vzorku je klíčová při stanovování

mechanických vlastností smrkového dřeva. Pomocí polarizace bylo stanoveno MFA u letního a jarního dřeva pěti letokruhů u 5 rozdílných vzorků smrkového dřeva. Hodnoty MFA byly velmi variabilní, jak napříč jedním vzorkem, tak mezi jednotlivými vzorky vzájemně. Se zvyšujícím se odklonem mikrofibril od podélné osy buňky dochází ke snižování tuhosti celého prvku. Při zvýšení MFA o  $16^\circ$  bylo zjištěno snížení modulu pružnosti ve směru vláken o 45 %.

Při stanovování mechanických vlastností buněčné stěny byla v praktické části použita metoda nanoindentace. Tato metoda je velmi vhodná pro stanovování tuhosti a tvrdosti materiálů na submikroskopické úrovni. Ovlivňujícím faktorem při aplikaci této metody je povrch zkoušeného vzorku. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno ke stanovení vlivu úpravy povrchu vzorku na naměřená data. Za optimální úpravu vzorku byla zvolena metoda ošetření vzorku dusíkem a jeho následné seříznutí ultramikrotomem. Na rozdíl od vědeckých prací zabývajících se nanoindentací nebylo přistoupeno k použití fixačního média (epoxidové pryskyřice). Naměřené hodnoty tuhosti a tvrdosti tedy nemohou být ovlivněny spolupůsobením dřeva a epoxidové pryskyřice v buněčných lumenech. Tato skutečnost měření redukovaného modulu pružnosti dřeva bez použití fixačního média vedla k snížení hodnot modulu pružnosti (o 39 %) než v případě použití fixačního média. Tato skutečnost je důležitá, neboť většina vědeckých prací stanovuje tuto hodnotu redukovaného modulu pružnosti buněčné stěny při fixaci epoxidovým fixačním prostředkem, který má vliv na výsledné hodnoty.

Na vzorcích dřeva byl stanoven redukovaný modul pružnosti a tvrdost buněčné stěny. Měřeno bylo pouze letní dřevo, neboť je známo jako hlavní nositel pevností dřeva. U vzorků č. 3 a č. 4 byly stanoveny tuhostní charakteristiky buněčné stěny letního dřeva u pěti letokruhů. Bylo zjištěno, že tvrdost buněčné stěny je na odklonu mikrofibril prakticky nezávislá. Při porovnání MFA jednotlivých letokruhů letního dřeva vzorku č. 3 pozorujeme silnou závislost ( $R^2 = 0,92$ ) na redukovaném modulu buněčné stěny. Vysokou závislost ( $R^2 = 0,83$ ) mezi stejnými parametry vykázal také vzorek č. 4. Přestože jsou oba dva vzorky smrkového dřeva, vykazují při odlišných MFA srovnatelné hodnoty redukovaných modulů pružnosti. Tyto rozdíly mohou být způsobeny odlišným chemickým složením, které může tuhost buněčné stěny ovlivnit. Je ale třeba brát v úvahu, že dřevo je anizotropní materiál. Při indentaci působí hrot indentoru napětí nejen ve směru podélném, ale také ve směru příčném. Výsledný modul pružnosti v podélném směru je tedy ovlivněn daleko nižším modulem pružnosti v příčném směru.

Další výzkum by mohl směřovat k definování, jakým způsobem se celulózové mikrofibrily deformují během indentace a do jaké míry mění tato deformace jejich tuhost. Rovněž by bylo vhodné provést kompletní měření tuhosti na všech letokruzích zkoušených vzorků a ověřit případnou závislost váženého průměru redukovaného modulu pružnosti (dle podílu dílčích letokruhů) na hodnotě statického modulu pružnosti dřeva.

## 10. Bibliografie

1. **Jaroslav Lexa, Vladimír Nečesaný, Jiří Paclt, Mária Tesařová.** *Mechanické a fyzikálne vlastnosti dreva.* Bratislava : ROH, 1952.
2. **Sell, R. E. Booker J.** The nanostructure of the cell wall of softwoods and its functions in a living tree. *Holz als Roh- und Werkstoff.* 1998, stránky 56:1-8.
3. **L., Salmén.** Micromechanics of the wood cell wall: a tool for a better understanding of its structure. *International conference of the European Society for wood mechanics.* 2001, stránky 385–398.
4. **Jakob HF, Fengel D, Tschegg SE, Fratzl P.** The Elementary Cellulose Fibril in Picea abies: Comparison of Transmission Electron Microscopy, Small-Angle X-ray Scattering, and Wide-Angle X-ray Scattering Results. *Macromolecules.* 1995, stránky 28:8782–8787.
5. **spol., Somerville C a.** Toward a systems approach to understanding plant cell walls. *Science.* 2004, stránky 306:2206–2211.
6. **Dunlop, Ingo Burgert and John W.C.** Micromechanics of Cell Walls. *Mechanical Integration of Plant Cells and Plants.* 2011, stránky DOI 10.1007/978-3-642-19091-9\_2.
7. **Salmen L, Bergstrom E.** Cellulose structural arrangement in relation to spectral changes in tensile loading FTIR. *Cellulose.* 2009, stránky 16:975–982.
8. **Thompson JE, Fry SC.** Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells. *Planta.* 2000, stránky 211:275–286.
9. **Westbye P, Kohnke T, Glasser W, Gatenholm P.** The influence of lignin on the self-assembly behaviour of xylan rich fractions from birch (*Betula pendula*). *Cellulose.* 2007, stránky 14: 603–613.
10. **Nishiyama, Yoshiharu, Langan, Paul a Chanzy, Henri.** Crystal Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose I $\beta$  from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction. *Journal of the American Chemical Society.* 2002, 124, 9074-9082.
11. **Qian Deng, Shi Li, Youping Chen.** Mechanical properties and failure mechanism of wood cell wall layers. *Computational Materials Science.* 2012, stránky 62:221–226.
12. **Andersson S, Serimaa R, Saranpää P.** Crystallinity of wood and the size of cellulose crystallites in Norway spruce. *Journal of Wood Science.* 2003, 49, 531-537.
13. **Peura, Marko.** Studies on the cell wall structure and on the mechanical properties of Norway spruce. *ACADEMIC DISSERTATION.* Helsinki : University of Helsinki, 2007.
14. **Cave, I. D.** Theory of X-ray measurement of microfibril angle in wood. Part 1. The condition for reflection X-ray diffraction by materials with fibre type symmetry. *Wood Science and Technology.* 1997, stránky 31 (3): 143-152.

15. **Meylan, B. A.** The influence of microfibril angle on the longitudinal shrinkage-moisture content relationship. *Wood Science and Technology*. 1972, 6: 293-301.
16. **Cave, I.D.** Modeling the Structure of the Softwood Cell Wall for Computation of Mechanical Properties. *Wood Science and Technology*. 1976, 10:19-28.
17. **Preston, R.D.** The fine structure of the walls of the conifer tracheids. *Biochim. et Biophys. Acta.* . 1948, Sv. Sv. III, 2: 370–383.
18. **Harris, J.M.** Shrinkage and density of radiata pine compression wood in relation to its anatomy and mode of formation. . *New Zealand Journal Forest Service.* . 1977, 7: 91–106.
19. **A., Donaldson L.** Within- and between-tree variation in microfibril angle in *Pinus radiata.* . *New Zealand Journal of Forestry Science.* . 1992, Sv. 22: 77–86.
20. **Cave, I. D.** Theory of X-ray measurement of microfibril angle in wood. *Wood Science and Technology*. 1966, stránky 31: 143–152.
21. **Boyd, J. D.** Interpretation of X-ray diffractograms of wood for assessments of microfibril angles in fibre cell walls. *Wood Science and Technology*. 1977, stránky 11: 93–114.
22. **D., PRESTON R.** Organisation of the cell wall of the conifer tracheid. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 1934, stránky 224: 131-174.
23. **Manwiller, Floyd G.** Senarmont compensation for determining fibril angles of cell wall layers. *Forest Products Journal*. 1966, stránky 16(10): 26-30.
24. **Page, D. H.** A method for determining the fibrillar angle in wood tracheids. *Journal of Microscopy*. 1969, stránky 90(2): 137-143.
25. **Leney, Lawrence.** A technique for measuring fibril angle using polarized light. *Wood and Fiber Science* . 1981, stránky 13(1): 13-16.
26. **Cockrell, Robert A.** A comparison of latewood pits, fibril orientation and shrinkage of normal and compression wood of giant sequoia. *Wood Science and Technology*. 1973, stránky 8: 197–206.
27. **John F. Senft, B. Alan Bendtsen.** Measuring Microfibrillar Angles Using Light Microscopy. *Wood and Fiber Science*. 1985, stránky 17(4): 564-567.
28. **F. El-Hosseiny, D. H. Page.** The Measurement of Fibril Angle of Wood Fibers Using Polarized Light. *Wood and Fiber Science*. 1973, stránky 5(3): 208-213.
29. **Verkasalo, E. a Leban, J.** MOE and MOR in static bending of small clear specimens of Scots pine, Norway spruce and European fir from Finland and France and their prediction for the comparison of wood quality. *Paperi ja Puu – Paper and Timber*. 2002, 84, 332-340.



30. **Hanhijärvi, A.** Deformation properties of Finnish spruce and pine wood in tangential and radial directions in association to high temperature drying. Part I. . *Holz als Roh- und Werkstoff*. 1998, 56, 373-380.
31. **Sinn G, Reiterer A, Stanzl-Tschegg SE, Tschegg EK.** Determination of strains of single wood samples using videoextensometry. *Holz als Roh- und Werkstoff*. 2001, 59, 177-182.
32. **Sakurada I, Nukushina Y, Ito T.** Experimental determination of the elastic modulus of crystalline regions in oriented polymers. *Journal of Polymer Science*. 1962, 57, 651-660.
33. **Mark, RE.** Cell Wall Mechanics of Tracheids. *Yale University Press*. 1967, 310.
34. **Cousins, WJ.** Elastic-modulus of lignin as related to moisture-content. *Wood Science and Technology*. 1976, 10: 9-17.
35. **Cousins, W.J.** Youngs modulus of hemicellulose as related to moisture-content. *Wood Science and Technology*. 1978, 12: 161-167.
36. **Donaldson, L. A.** The use of pit apertures as windows to measure microfibril angle in chemical pulp fibers. *Wood and Fiber Science* . 1991.
37. **Friedrich W, Knipping P, Laue M.** Interferenzerscheinungen bei Röntgenstrahlen. *Annalen der Physik*. 1913, 41, 971-1002.
38. **Laue M, Tank F.** Die Gestalt der Interferenzpunkte bei den Röntgenstrahlinterferenzen. *Annalen der Physik*. 1913, 41, 1003-1011.
39. **WL, Bragg.** The diffraction of short electromagnetic waves by a crystal. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*. 1912, 17, 43-57.
40. **RW, James.** The Crystalline State, Vol. II. The Optical Principles of the diffraction of xrays. *G. Bell and Sons Ltd*. 1962, 664 p.
41. **Sponsler, O. L.** X-ray methods used in determining structure of cellulose fibers: organomolecular investigations. *Industrial and Engineering Chemistry*. 1928, 20: 1060-1062.
42. **S, Pienkowski.** Über die Strukturen von Zellulosefasern des Holzes. *Zeitschrift für Physik*. 1930, 63: 610-615.
43. **B, Schmidt.** Über die Kristallstruktur des Holzes. *Zeitschrift für Physik*. 1931, 71: 696-702.
44. **CW, Stillwell.** An x-ray study of variations in the structure of wood fiber walls. *Physics*. 1933, 4: 167-171.
45. **WA, Sisson.** X-ray studies of crystallite orientation in cellulose fibers: natural fibers. *Industrial and Engineering Chemistry*. 1935, 27: 51-56.

46. **Bailey IW, Berkeley EE.** The significance of x-ray in studying the orientation of cellulose in the secondary wall of tracheids. *American Journal of Botany*. 1942, 29: 231-241.
47. **Ritter, G. J.** Composition and structure of the cell wall of wood. *Industrial and Engineering Chemistry*. 1928, 20: 941-945.
48. **Kantola M, Seitsonen S.** X-ray orientation investigations on Finnish conifers. *Annales Academiae Scientiarum Fennicae*. 1961, A VI 80.
49. **BA, Meylan.** Measurement of microfibril angle by x-ray diffraction. *Forest Products Journal*. 1967, 17: 51-58.
50. **Lotfy M, El-Osta M, Kellogg RM, Foschi RO, Butters RG.** A direct x-ray technique for measuring microfibril angle. *Wood and Fiber*. 1973, 5: 118-128.
51. **Prud'homme RE, Noah J.** Determination of fibril angle distribution in wood fibers: a comparison between the x-ray diffraction and the polarized microscope methods. *Wood and Fiber*. 1975, 6: 282-289.
52. **Paakkari T, Serimaa R.** A study of the structure of wood cells by x-ray diffraction. *Wood Science and Technology*. 1984, 18: 79-85.
53. **Evans, R.** A variance approach to the x-ray diffractometric estimation of microfibril angle in wood. *Appita Journal*. 1999, 52: 283-289, 294.
54. **Kantola, M. & H. Kähkönen.** Small-angle X-ray investigation of the orientation of crystallites in Finnish coniferous and deciduous wood fibres. *Ann. Acad. Scient. Fenn.* 1963, A VI 137.
55. **A. Reiterer, H. F. Jakob, S. E. Stanzl-Tschegg, P. Fratzl.** Spiral angle of elementary cellulose fibrils in cell walls of *Picea abies* determined by small-angle X-ray scattering. *Wood Science and Technolog.* 1998, 32: 335-34.
56. **Schimleck, Laurence R.** Estimation of Microfibril Angle and Stiffness by Near Infrared Spectroscopy Using Sample Sets Having Limited Wood Density Variation. *IAWA Journal*. 2005, 26 (2): 175–187.
57. **Bharat, BHUSHAN.** *Handbook of micro/nanotribology*. místo neznámé : 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. ISBN 0849384028.
58. **D, Tabor.** Indentation hardness: fifty years on a personal. *Philosophical Magazine A*. 1996, Sv. 4:1207–21.
59. **Oliver WC, Pharr GM.** An improved technique for determining hardness and elastic-modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Materials Research*. 1992, Sv. 7:1564– 83.

60. **GM, Pharr**. Measurement of mechanical properties by ultra-low load indentation. *Mater Science and Engineering*. 1998, Sv. 253:151– 9.
61. **Bulychev SI, Alekhin VP, Shorshorov MKh, Shnyrev GD**. Determining Young's modulus from the indenter penetration diagram. *Zavod Lab*. 1975, Sv. 41:1137– 40.
62. **Bhushan B, Kulkarni AV, Bonin W, Wyrobek JT**. Nanoindentation and picoindentation measurements using a capacitive transducer system in atomic force microscopy. *Philosophical Magazine A*. 1996, Sv. 74:1117– 28.
63. **Li X, Diao D, Bhushan B**. Fracture mechanisms of thin amorphous carbon films in nanoindentation. *Acta Materialia*. 1998, Sv. 45:4453–61.
64. **Xiaodong Li, Bharat Bhushan**. A review of nanoindentation continuous stiffness measurement technique and its applications. *Materials Characterization*. 2001, Sv. 48:11 - 36.
65. **W. Gindl, H.S. Gupta, T. Schöberl, H.C. Lichtenegger, P. Fratzl**. Mechanical properties of spruce wood cell walls by nanoindentation. *Applied Physics A*. 2004, 79: 2069-2073.
66. **Pethica JB, Oliver WC**. Mechanical Properties of Nanometre Volumes of Material: use of the Elastic Response of Small Area Indentations. *Materials Research Society*. 1989, 130, p. 13–23.
67. **Wimmer R, Lucas BN, Tsui TY, Oliver WC**. Longitudinal hardness and Young's modulus of spruce tracheid secondary walls using nanoindentation technique. *Wood Science and Technology*. 1997, stránky 31(2):131–41.
68. **Konnerth J, Gierlinger N, Keckes J, Gindl W**. Actual versus apparent within cell wall variability of nanoindentation results from wood cell walls related to cellulose microfibril angle. *Journal of Materials Science*. 2009, stránky 44(16):4399–406.
69. **Gindl W, Schoberl T**. The significance of the elastic modulus of wood cell walls obtained from nanoindentation measurements. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. 2004, str. 35:1345.
70. **Gindl W, Reifferscheid M, Adusumalli RB, Weber H, Roder T, Sixta H, Schoberl T**. Anisotropy of the modulus of elasticity in regenerated cellulose fibres related to molecular orientation. *Polymer*. 2008, str. 49:792.
71. **Sneddon, Ian N**. The relation between load and penetration in the axisymmetric boussinesq problem for a punch of arbitrary profile. *International Journal of Engineering Science*. 1965, stránky 3:47– 56.
72. **R. Wimmer, B. N. Lucas, T. Y. Tsui, W. C. Oliver**. Longitudinal hardness and Young's modulus of spruce tracheid secondary walls using nanoindentation technique. *Wood Science and Technolog*. 1997, 31: 131-141.

73. **R.Spurr, Arthur.** A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*. 1969, 26:31-43.
74. **FENGEL, Dietrich a Gerd WEGENER.** *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. München : Verlag Kessel, 2003. ISBN 3935638396.
75. **Konnerth, J, a další.** Adhesive penetration of wood cell walls investigated by scanning thermal microscopy (SThM). *HOLZFORSCHUNG*. 2008, stránky 62(1): 91-98.
76. **Jakes JE, Frihart CR, Beecher JF, Moon RJ, Stone DS.** Experimental method to account for structural compliance in nanoindentation measurements. *Journal of materials research*. 2008, stránky 23:1113-1127.

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

S1, S2, S3	sekundární vrstvy buněčné stěny
MFA	úhel mikrofibril
NIR	blízká oblast infračervené spektroskopie
MEP	poloha maximálního útlumu (extinkce) světla
$R^2$	koeficient spolehlivosti
MOE	modul pružnosti
$E_r$	regulovaný modul pružnosti
SAXS	small angle x-ray scattering
H	tvrdost zjištěná nanoindentací

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1. Modul pružnosti vzorku v závislosti na podílu letního dřeva. ....	56
Graf 2. Závislost podílu letního dřeva (bez lumenu) na modulu pružnosti ve směru vláken. .....	57
Graf 3. Distribuce MFA jarního dřeva u testovaných vzorků.....	58
Graf 4. Distribuce MFA letního dřeva u testovaných vzorků.....	59
Graf 5. Závislost mezi modulem pružnosti ve směru vláken a váženým průměrem MFA u jednotlivých vzorků, který byl spočítán pomocí poměru letního a jarního dřeva. ....	59
Graf 6. Zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku bez úpravy.....	60
Graf 7. Zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku upraveného brusivem.....	61
Graf 8. Zatěžovací křivky při nanoindentaci vzorku č. 3 ošetřeného dusíkem.....	63
Graf 9. Srovnání hodnot redukovaných modulů pružnosti u různých přístupů úprav vzorku. V grafu je rovněž zobrazen zjištěný redukovaný modul Spurr epoxidové pryskyřice. ....	64
Graf 10. Závislost redukovaného modulu pružnosti $E_r$ na MFA letního dřeva vzorku č. 3. .....	65
Graf 11. Závislost tvrdosti H na MFA letního dřeva vzorku č. 3.....	65
Graf 12. Závislost redukovaného modulu pružnosti $E_r$ (zjištěn nanoindentací) na průměrný MFA. ....	66

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Náhlý přechod jarního a letního dřeva u douglasky tisolisté. (Foto Aleš Soukup)	12
Obrázek 2. Znázornění stavby listnatého dřeva (Požgaj, Chovanec a kol., 1997): 1 – letokruh, 2 – jarní céva, 3 – letní céva, 4 – liřbriformní vlákno, 5 – dřeňový paprsek, 6 – podélný parenchym	13
Obrázek 3. Kruhovitě pórovitá struktura jasanového dřeva. (Zvětšení 40×)	13
Obrázek 4. Polokruhovitě pórovitá struktura dřeva ořešáku. (Zvětšení 40×)	14
Obrázek 5. Roztroušená pórovitá struktura bukového dřeva. (Zvětšení 40×)	14
Obrázek 6. (A) Schematické znázornění dvojtečky. (B) Aspirovaná dvojtečka. 1 – stěna tracheidy (sekundární stěna) 2 – střední lamela (primární stěna), 3 margo, 4 – torus, 5 – porus, 6 – dvůrek (Petty, 1970)	16
Obrázek 7. Grafické znázornění jednotlivých vrstev buněčné stěny. Dále můžeme vidět orientaci mikrofibril jednotlivých vrstev typické tracheidy.	19
Obrázek 8. (a) Pohled na krystalickou strukturu celulózy podél osy $c$ . (b) Šikmý pohled na krystalickou strukturu celulózy [11].	19
Obrázek 9. Struktura smrku ztepilého – jednotková buňka krystalické celulózy I $\beta$ , založená na krystalografických datech Nishiyamy [10]. Mřížkové roviny (200) a (004) jsou zobrazeny světle modrou a světle červenou. Červené koule představují atomy kyslíku, černé koule atomy uhlíku a šedé koule atomy vodíku. Nahoře je zobrazen 3D pohled na jednotkovou buňku. Dole jsou pak zobrazeny projekce jednotkové buňky ve směru krystalografických os $a$ (vlevo), $b$ (uprostřed) a $c$ (vpravo). [13]	20
Obrázek 10. Krystal celulózy o velikosti 3*3*3 jednotkové buňky znázorněný ve směru krystalografické osy $a$ (vlevo), $b$ (uprostřed) a $c$ (vpravo). Jednotková buňka je zobrazena ve středu krystalu. Rozměry ve směru os $a$ a $b$ jsou přibližně o jednotkovou buňku menší, než byly pozorovány u smrku. Ve směru osy $c$ jsou skutečné krystaly mnohem delší. [13]	21
Obrázek 11. Celulózové mikrofibrily v buněčné stěně dřeva. [13]	22
Obrázek 12. Schematická křivka závislosti napětí na deformaci lineárně elastického materiálu. Pevnost v tahu (TS) je rovna 150 MPa, prodloužení při porušení je rovno 0,015 a modul pružnosti je roven 10 GPa. [13]	24
Obrázek 13. Obrázek ilustrující techniku použitou k měření úhlu mikrofibril, kdy se na jedinou buněčnou stěnu díváme skrz dvojtečku nebo jednoduchou tečku [36].	26
Obrázek 14. Na obrázku je znázorněno nastavení polarizátoru (P) a analyzátoru (A) při vzájemné rovnoběžné poloze (nahore) a při vzájemném kolmém umístění (dole). Pokud se	

mezi zkřížené polarizační filtry neumístí žádná dvojlomná látka, analyzátor nepropouští světlo a zorné pole je tedy černé.....	26
Obrázek 15. (Vlevo) Tracheida zobrazená polarizačním mikroskopem v tmavém poli (při zkřížených filtrech). (Vpravo) Při pootočení dochází k extinkci světla v otvorech dvojteček v buněčné stěně. Tento úhel od svislé osy přibližně odpovídá MFA vrstvy S2. (zobrazená oblast 80 $\mu\text{m}$ ).....	27
Obrázek 16. Schematické znázornění vytvoření vrstevnicových linií. Červený rovnoběžnostěn je součástí reciproční mřížky, Ewaldova koule reflexe je zobrazena černou barvou se třemi čarami zobrazující roviny. Střed koule je označen P a počátek reciproční mřížky je označen O. Dopadající rentgenový paprsek je označen tlustou šipkou, difrakční rentgenové paprsky jsou označeny tenkými šipkami. Krystalografická osa c a osy reciproční mřížky jsou označeny plnými čarami. [13].....	28
Obrázek 17. 2D difrakční obraz jarního dřeva smrku ztepilého ( <i>picea abies</i> ). Vlevo je makroskopický vzorek vyzrálého dřeva (22. letokruh), vpravo pak dvojitá buněčná stěna jarního dřeva (6. letokruh). Vyznačeny jsou některé z nejvíce viditelných difrakčních rovin. Přibližný směr podélné osy buňky je označen šipkou. Křížové uspořádání difrakčních maxim je možné pozorovat na dvojitě buněčné stěně (vpravo), zejména v rovině 200. [13].....	29
Obrázek 18. Obrázek z AFM mikroskopu po nanoindentaci buněčné stěny smrkového dřeva. Trojúhelníkové obrazce v buněčné stěně jsou stopy po vtisku hrotu indentoru. [65].....	34
Obrázek 19. Klasická zatěžovací a odtěžovací křivka při nanoindentaci.....	36
Obrázek 20. Geometrie Berkovichova indentačního hrotu, který byl použit v praktické části diplomové práce. [72].....	37
Obrázek 21. Klasická zatěžovací křivka při nanoindentaci. Hloubka vtisku indentoru ( $h$ ) je závislá na indentační síle ( $P$ ). [65].....	38
Obrázek 22. Redukovaný modul pružnosti ( $E_r$ ) v závislosti na úhlu mikrofibril ( $MFA$ ). [68].....	39
Obrázek 23. Závislost tvrdosti ( $H$ ) na úhlu mikrofibril ( $MFA$ ). [68].....	39
Obrázek 24. Tracheida pozorovaná v tmavém poli polarizačního mikroskopu. V buněčné stěně jsou umístěny dvojtečky, jejich otvor je světlý. Při pootočení o úhel odpovídající MFA dojde k útlumu světla procházejícího otvorem dvojtečky (MEP).....	43
Obrázek 25. (Vlevo) Vzorek bez úpravy (makro). (Vpravo) Detail letokruhu vzorku bez úpravy, v jarní části letokruhu je patrné rozvláknění struktury buněčných elementů (zvětšení 100 $\times$ ).....	44
Obrázek 26. (Vlevo) Vzorek upraven brusným papírem (makro). (Vpravo) Detail letního dřeva vzorku upraveného brusným papírem, na povrchu jsou patrné rýhy po brusném papíru (zvětšení 100 $\times$ ).....	44



Obrázek 27. (Vlevo) Detailní záběr ultramikrotomu (Leica EM UC 7) se vzorkem zalitým ve SPURR epoxidu. (Vpravo) Vzorek na ocelové podložce připravený k měření na nanoindentačním zařízení. ....	45
Obrázek 28 (Vlevo) Vzorek uložen ve Spurr epoxidu a zaříznut mikrotomem (zvětšení 25×). (Vpravo) Detail letního dřeva vzorku uloženého ve Spurr epoxidu a zaříznutého mikrotomem (zvětšení 100×).....	46
Obrázek 29 (Vlevo)Vzorek ošetřen dusíkem a zaříznut mikrotomem (zvětšení 25×). (Vpravo) Detail letního dřeva vzorku ošetřeného dusíkem a zaříznutého mikrotomem (zvětšení 100×).....	46
Obrázek 30. (Vlevo) Fotka naskenované oblasti před indentací. Čísla jsou vyznačená vybraná místa pro indentování. (Vpravo) Fotka naskenované oblasti po indentaci. V místech indentace jsou patrné otisky hrotu indentoru. (Velikost skenované oblasti je 20 μm).....	48
Obrázek 31. (Vlevo) Jarní dřevo 5. letokruhu u vzorku č. 3. (Zvětšení 150×). (Vpravo) Letní dřevo stejného vzorku (Zvětšení 150×). ....	54

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Procentuální zastoupení elementů ve dřevě jehličnanů.....	15
Tabulka 2. Procentuální zastoupení elementů u listnatých dřevin.....	15
Tabulka 3. Stanovená hustota a obsah vlhkosti vzorků smrkového dřeva.....	41
Tabulka 4. Naměřené hodnoty modulu pružnosti ve směru vláken dle ČSN EN 408.....	50
Tabulka 5. Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 1.....	50
Tabulka 6. Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 2.....	51
Tabulka 7. Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 3.....	51
Tabulka 8. Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 4.....	51
Tabulka 9. Naměřené hodnoty MFA u vzorku č. 5.....	51
Tabulka 10. Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti $E_r$ a tvrdosti u vzorku bez úpravy.....	52
Tabulka 11. Naměřené hodnoty $E_r$ a tvrdosti u vzorku upraveného brusivem.....	52
Tabulka 12. Naměřené hodnoty $E_r$ a tvrdosti u vzorku uloženého ve SPURR epoxidu a u samotné SPURR epoxidové pryskyřice.....	52
Tabulka 13. Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti ( $E_r$ ) a tvrdosti (H) u vzorku č. 3 ošetřeného dusíkem.....	53
Tabulka 14. Naměřené hodnoty redukovaného modulu pružnosti ( $E_r$ ) a tvrdosti (H) u vzorku č. 4 ošetřeného dusíkem.....	53
Tabulka 15. Naměřené hodnoty podílů jarního a letního dřeva ve vzorku.....	54
Tabulka 16. Celková tloušťka letokruhů na vzorcích a podíl letního dřeva. ....	55
Tabulka 17. Podíl tloušťky buněčné stěny letního dřeva. ....	56