



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

STUDIUM KRYSTALICKÉ STRUKTURY POLYHYDROXYBUTYRÁTU A NUKLEAČNÍ AKTIVITY VYBRANÝCH TYPŮ ADITIV

STUDY OF CRYSTALLINE STRUCTURE OF POLYHYDROXYBUTYRATE AND
NUCLEATING ACTIVITY OF SELECTED ADDITIVES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTOR

Ing. Zbyněk Sedláček

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Radka Bálková, Ph.D.

BRNO 2016

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá studiem krystalické struktury polyhydroxybutyrátu obsahujícího různé typy aditiv, které byly vybrány za účelem posouzení jejich nukleační aktivity, a které byly do matrice zahrnuty. Jedná se o boronitrid (BN), sacharin, hydroxyapatit, plastifikátor Tegmer a tři druhy mastku. Krystalická struktura byla analyzována metodou diferenční kompenzační kalorimetrie a rentgenové difrakční analýzy, nadmolekulární struktura byla pozorována metodou optické mikroskopie (polarizační a konfokální laserová). Nukleační aktivita aditiv byla vyhodnocena z izotermické a neizotermické krystalizace provedené na kalorimetru a na vyhřívaném stolku optického mikroskopu. Přidaná aditiva nemají vliv na krystalografickou strukturu, ale ovlivňují počet a velikost vzniklých sférolitů včetně defektnosti krystalických domén, což se v konečném důsledku projeví na výsledných mechanických vlastnostech. Jako nukleační činidlo působí BN a mastek, ostatní aditiva nukleaci při nízkých a vysokých teplotách chlazení (v_c) inhibují, při středních rychlostech se výrazně neprojevují. Nukleační aktivita není vyhodnocena číselně, protože pokles teploty krystalizace reference s v_c není lineární. Výsledky nepřímých metod jsou podloženy obrazovou analýzou krystalické struktury, což je velkým přínosem pro porozumění krystalického chování PHB.

KLÍČOVÁ SLOVA

PHB, mastek, sacharin, hydroxyapatit, nukleační aktivita, izotermická a neizotermická krystalizace, diferenční kompenzační kalorimetrie, polarizační optická mikroskopie

ABSTRACT

This diploma thesis deals with study of crystalline structure of polyhydroxybutyrate (PHB), which contains different types of additives for studying of their nucleation activity and which were prepared by mixing. It is about boronitrid (BN), sacharin, hydroxapatit, plasticizer Tegmer and three types of talc. Crystal structure was analysed by differential scanning calorimetry and x-ray diffraction, supramolecular structure was observed by optical microscopy (polarized and confocal laser scanning). Nucleating activity was evaluated by isothermal and non-isothermal crystallization made on calorimeter and heated table of optical microscope. There is no influence of additives on crystallographic structure, but additives affect number and size of spherulites including crystal domains defects, which can have impact on final mechanical properties. BN and talcs react as nucleating agents, other additives during low and high cooling speeds (v_c) inhibit nucleation and in middle cooling speeds are without effect. Nucleating activity is not evaluated numerically, because decrease of crystallization temperature together with v_c is not linear. Results of direct methods are based on picture analysis, which is great benefit for understanding of crystal behaviour of PHB.

KEY WORDS

PHB, talc, nucleating activity, isothermal and non-isothermal crystallization, differential scanning calorimetry, polarization optical microscopy

SEDLÁČEK, Z. *Studium krystalické struktury polyhydroxybutyrátu a nukleární aktivity vybraných typů aditiv*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 58 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Radka Bálková, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

Podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych upřímně poděkoval vedoucí diplomové práce Ing. Radce Bálkové, Ph.D za ochotu, pozitivní přístup, odborné vedení, vstřícnost a užitečné rady během měření a konzultací.

Práce byla podporována grantem 2B08070 Ministerstva školství, tělovýchovy a mládeže ČR.

OBSAH

1. Úvod	9
2. Teoretická část	11
2.1. Bioplasty	11
2.2. Polyhydroxyalkonáty	12
2.3. Polyhydroxybutyrát	13
2.3.1. Nadmolekulární struktura PHB	15
2.4. Krystalizace polymerů	17
2.5. Nukleační činidla a jejich vliv na nadmolekulární strukturu	18
2.6. Metody charakterizace krystalické struktury polymerů	19
2.6.1. Přímé pozorovací metody	20
2.6.2. Nepřímé pozorovací metody	21
3. Cíl Práce	25
4. Experimentální část	26
4.1. Materiál	26
4.2. Příprava vzorků pro analýzu	27
4.3. Metody analýzy PHB	27
4.3.1. Diferenční kompenzační kalorimetrie	27
4.3.2. Termogravimetrická analýza	28
4.3.3. Rentgenová difrakce	28
4.3.4. Polarizační optická mikroskopie	28
4.3.5. Konfokální laserová rastrovací mikroskopie	29
5. Výsledky a Diskuze	30
5.1. Charakterizace nadmolekulární struktury vzorků PHB	30
5.1.1. Diferenční kompenzační kalorimetrie	30
5.1.2. Termogravimetrická analýza	33
5.1.3. Rentgenová difrakční analýza	33
5.1.4. Konfokální laserová rastrovací mikroskopie	36
5.2. Nukleační aktivita aditiv	38
5.2.1. Polarizační optická mikroskopie	38
5.2.2. Neizotermická krystalizace na kalorimetru	46
5.3. Izotermická krystalizace na optickém mikroskopu	51
6. Závěr	55
7. Literatura	56

1. ÚVOD

Vzhledem k rostoucím obavám veřejnosti z dopadů používání plastů (skládání, spalování, rezidua v potravním řetězci), legislativním úpravám a nestabilním cenám ropy jsou aktuální směry vývoje materiálů zaměřeny především na materiály maximálně šetrné k životnímu prostředí. Nové trendy se snaží hledat alternativy pro současné plasty za využití biotechnologických aplikací, kde nové materiály jsou syntetizovány pomocí mikroorganismů. Jako substráty slouží odpadní produkty nebo obnovitelné zdroje, které nahrazují ropu. Bioplasty splňují veškeré předpoklady nových trendů a postupnou optimalizací jejich přípravy se stávají konkurenceschopnými [3,5].

Polyhydroxybutyrát (PHB) je krystalický polyester patřící do skupiny polyhydroxyalkonátů (PHA) který se těší v posledních 30 letech poměrně velkému zájmu řady firem a institucí zabývajících se vývojem biologicky rozložitelných polymerů. Tento bioplast syntetizovaný pomocí mikroorganismů, jehož vlastnosti jsou v mnoha směrech srovnatelné s velkoobjemově vyráběnými polyolefiny, nabízí široké možnosti uplatnění, protože poskytuje řadu benefitů, kterým nemohou konvenční plasty konkurovat. Jeho širší přijetí je zatím limitováno vysokými náklady na výrobu, nižší teplotní stabilitou a vysokou křehkostí. Náklady jsou pro uplatnění PHB v praxi rozhodujícím faktorem. Snahou je, aby veškeré výrobní kroky, počínaje cenou vstupní suroviny přes rychlost růstu biomasy, izolační techniky polymeru a jeho finální zpracování včetně úpravy vlastností, byly maximálně efektivní. S cílem snížit náklady se vyvíjí nové bakteriální kmeny schopné vysoké produkce, hledají se co nejlevnější substráty pro růst mikroorganismů a nastavují se optimální podmínky růstu a technologie [2].

Vlastnosti polymerních materiálů se při zpracování, všeobecně, často vylepšují podle požadavků finální aplikace. Jedním z velmi důležitých faktorů pro správné nastavení podmínek zpracování je pochopení a popis nadmolekulární struktury polymeru, která se projevuje na finálních vlastnostech. Na základě její znalosti můžeme předpovědět a řídit výsledné chování polymeru. PHB krystalizuje ze vzniku velkých sférolitů tvořící hrubozrnou krystalickou strukturu s pravidelným výskytem kruhových prasklin, která je příčinou jeho vysoké křehkosti. Účinnou metodou pro snížení křehkosti PHB je přidavek nukleačních činidel, která způsobují vznik velkého množství zárodků, snižují krystalický podíl a zvyšují houževnatost materiálu. Z hlediska výsledné ceny polymeru se často jedná o technicky a finančně nenáročnou modifikaci v oblasti zpracování plastů poměrně široce využívanou. Důležitou podmínkou dobré funkce nukleačního činidla je jeho nerozpustnost v základní matici polymeru a teplotní stálost za podmínek zpracování. Účinnost nukleačních činidel je měřena pomocí jejich aktivity v matici, anebo hodnocena metodami strukturní analýzy [1].

Předložená diplomová práce je příspěvkem k celé řadě prací zabývajících se analýzou a popisem krystalické struktury PHB, které bylo modifikované přidavkem různých typů aditiv. V této práci se jedná o boronitrid (BN), sacharin, hydroxyapatit, plastifikátor Tegmer a tři druhy mastku. Aditiva byla vybrána na základě literární rešerše s cílem ověřit jejich nukleační aktivitu a celkový vliv na krystalickou strukturu u nenukleovaného a tepelně nijak neupraveného práškového PHB, který pochází z mikrobiologických zdrojů a do něhož jsou aditiva zapracována na laboratorním hnětáku. Zvolený postup zpracování, v odborné literatuře zcela ojedinělý, měl za cíl připravit polymer za podmínek, které více odpovídají průmyslové praxi a vyhnout se optimalizovaným podmínkám přípravy (krystalizace z roztoku), které jsou z pohledu konvenční technologie neperspektivní. Jako reference slouží nenukleované PHB

zpracované stejným způsobem. Z vybraných aditiv se jako cenově dostupná jeví mastky a hydroxyapatit, z pohledu životního prostředí je zajímavým aditivem sacharin a z pohledu výrobního plastifikátor Tegmer [8].

Pro charakterizaci krystalické struktury připravených vzorků byla zvolena metoda diferenční kompenzační kalorimetrie a rentgenové difrakce. Jedná se o metody nepřímé strukturní analýzy, které krystalickou strukturu popisují na základě teploty tání, teploty krystalizace, krystalického podílu, velikosti krystalitů a krystalografické struktury. Nepřímé metody byly doplněné přímým pozorováním povrchu vzorků PHB podrobených chemickému degradativnímu leptu směsí KOH a ethanolu na konfokálním laserovém rastrovacím mikroskopu, který umožňuje sledovat odkrytou krystalickou strukturu vzorku ve trojrozměrné dispozici. Leptány byly vzorky původní i po DSC analýze s cílem srovnat strukturu. Koncentrace leptací směsi a doba leptání byla v průběhu práce optimalizována, složení však zůstalo stejné.

Pro určení nukleační aktivity aditiv byla zvolena konvenčně zavedená metoda neizotermické krystalizace prováděná na kalorimetru při čtyřech rychlostech chlazení (2,5; 5,10 a 20 °C) a in-situ pozorovaný průběh neizotermické krystalizace provedený za stejných podmínek na vyhřívaném stolku pod optickým polarizačním mikroskopem (POM). Cílem bylo proces krystalizace taveniny zviditelnit a doplnit tak výsledky metody nepřímé. Stanovení nukleační aktivity, která ve své podstatě odráží rychlost nukleace, bylo doplněno měřením rychlosti růstu základních krystalických útvarů PHB, sférolitů, za izotermických podmínek pod POM. Pro určení skutečného množství aditiv přítomných ve vzorcích byla vybrána metoda termogravimetrie. Experimentální částí práce předchází uvedení do problematiky bioplastů, základní informace o skupině polyhydroxyalkanoátů s důrazem na PHB a metody charakterizace nadmolekulární struktury polymerů [26,30].

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Bioplasty

Bioplasty jsou materiály, které se vyrábí z obnovitelných zdrojů energie a z odpadních zdrojů různých průmyslových provozů. Vyráběny jsou tradičními technologiemi nebo moderními metodami s využitím činnosti mikroorganismů [3, 14].

Mezi vlastnosti, které je odlišují od konvenční plastů patří biodegradabilita, možnost kompostování a rozmanitost jejich zdrojů pro výrobu. Biodegradabilita se odlišuje od degradace tím, že materiál je přeměněn na oxid uhličitý, vodu a biomasu pomocí mikroorganismů. U homopolymerů musí být minimálně 60 % uhlíku, který je součástí řetězců makromolekul přeměněno na oxid uhličitý. U kopolymerů musí konverze dosáhnout 90%. Biodegradace musí proběhnout do 180 dní stejnou rychlostí jako u přírodních materiálů ve všech aerobních a anaerobních prostředích (půda, moře, oceány, kompost) bez vzniku toxických reziduí a fragmentů. Naproti tomu kompostovatelné produkty jsou vyráběny ze sloučenin, které se rozkládají ve velmi krátké periodě (8 týdnů) a degradační rychlost je podobná rychlosti rozkladu papíru. Uvolněný oxid uhličitý je pak součástí uhlíkového cyklu, kde je absorbován rostlinami, které ho využijí pro růst vegetace a jeho uhlíková bilance je nulová. U plastů vyrobených z ropy dochází k uvolnění uhlíků přímo do atmosféry, protože se jedná o uhlík, který byl po miliony let uložen a není již součástí uhlíkového cyklu [5, 17].

Mezi obnovitelné zdroje pro výrobu bioplastů řadíme kukuřici, sóju, brambory a další zemědělské plodiny. Velká výhoda obnovitelných zdrojů je v jejich dostupnosti v porovnání s dostupností ložisek ropy, které se nacházejí jen v některých oblastech světa. Odpadní zdroje jsou především meziprodukty z potravinářských nebo zemědělských výrob např. použité fritovací oleje, syrovátka, celulóza, škrob, odřezky ze zpracování a jiné [7, 17].

Pro zefektivnění mikrobiologické výroby dochází k předúpravě vstupních surovin, jejíž cílem je rozložit základní řetězce na stavební jednotky, které mohou mikroorganismy začít okamžitě zpracovávat. Mezi tyto operace řadíme např. drcení, mletí, sušení, hydrolýzu atd.

O komercializaci bioplastů a jejich použití v nejrozličnějších výrobcích a obalech je velký zájem, neboť výrobci plastů hledají nové materiály šetrnější k životnímu prostředí jako náhrady za současné syntetické plasty. Vzniká tak nový trh, kde výrobci mohou nabídnout zákazníkům nové výhody v oblasti aplikací bioplastů, které u konvenčních plastů zatím nebyly možné s ohledem na jejich stabilitu [7, 10].

Mezi hlavní představitele, které jsou dostupné na komerčním trhu řadíme: Polylaktidy (PLA), škroby (čistý termoplastický škrob; TPS), polyhydroxyalkonáty (PHAs), poly(trimethylen tereftalát) (PTT), ligno-celulóзовé bioplasty z kukuřice a sojových proteinů, biouretany (BUR) a nanobiomateriály [2]. Světový trh s bioplasty roste každým rokem o 20–25 %. Odhaduje se, že v roce 2020 dosáhne podíl bioplastů 25–35 % z celkového trhu s plasty. V roce 2015 dosáhla roční poptávka po biodegradovatelných plastech 1,1 miliónu tun [7].

Bioplasty mají potenciál snížit spotřebu fosilních paliv, dopady na životní prostředí (snížení neodbouratelného plastového odpadu) a omezit pronikání reziduí plastů do potravního řetězce živočichů. Na druhou stranu vyžadují dostatek půdy pro pěstování vstupních surovin, které budou soutěžit s rostoucí poptávkou po potravinách v důsledku rostoucí lidské populace [3, 14].

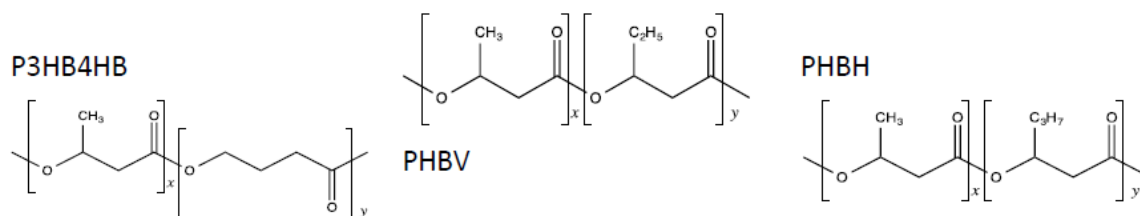
2.2. Polyhydroxyalkonáty

PHA jsou skupinou polyesterů (R)-3-hydroxyalkanové kyseliny, které jsou produkovány mikroorganismy za podmínek snížené dostupnosti potřebných živin a přebytku uhlíku. Mezi základní atributy PHA řadíme biologický původ, bioresorbci, biodegradabilitu za univerzálních podmínek (aerobní, anaerobní, voda), nerozpustnost ve vodě, biokompabilitu, netoxičnost, piezoelektrické, termoplastické a elastické vlastnosti. V porovnání s ostatními biopolymery mají vysokou teplotní odolnost, dobře odolávají hydrolýze, flexibilitu zajišťuje dobrý poměr mezi tuhostí a houževnatostí, mohou být kombinovány s polyolefiny a jsou CO₂ neutrální [20].

V buňkách jsou PHA uloženy ve formě inkluzí o rozměrech 0,2–0,5 μm, které jsou součástí cytoplasmu buněk a jako hlavní zdroj energie jim slouží uhlík. Polymer se nachází uprostřed inkluze, jejíž povrch je tvořen tenkou vrstvou fosfolipidů s proteiny.

PHA byly zkoumány již ve 20 letech minulého století. Jako první byl objeven poly(R)-3-hydroxybutyrát (PHB) v roce 1926 Lemoignem z bakterie *Bacillus megaterium* [21].

Na konci padesátých let byly sloučeniny podobné PHB intenzivně zkoumány a bylo dokázáno, že PHB tvoří polymer, který je ukládán v buňkách bakterií jako rezervní zdroj uhlíků a energie. Funkce tohoto rezervního polymeru je analogická jako funkce škrobu a glykogenu u rostlin a živočichů. V roce 1974, Wallen a Rohwedder identifikovali 3-hydroxyvalerát (3HV) a 3-hydroxyhexanoát (3HHx) v různém zastoupení rezervního polymeru. Další objevy potvrdily přítomnost více typů monomerních jednotek s dominantním zastoupením PHB a 3HV. Identifikace základních hydroxyalkonátových jednotek (HA) měla hlavní dopad na výzkum a komerční zájem o bakteriální polymery. Vlastnosti homopolymerů mohly být upraveny přidávkou dalších typů HA na požadované vlastnosti podle finální aplikace polymeru [18].



Obr. 1 Schéma strukturních vzorců kopolymerů PHA [22]

V závislosti na použitých zdrojích uhlíku a biochemických cestách můžeme syntetizovat různé typy PHA. Podle počtu uhlíků v monomeru dělíme PHA na SLC (short-chain-length) s krátkým řetězcem 3–5 atomů uhlíků a MCL (medium-chain-length) se středním řetězcem 6–14 atomů uhlíku [22].

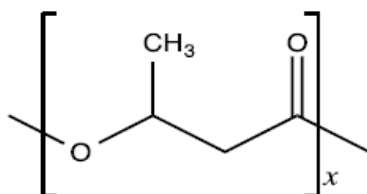
PHA byly nalezeny ve více než 75 druzích prokaryot a archejí. Jejich syntéza je spuštěna ze nepříznivých růstových podmínek [2]. Prekurzory mikrobiální fermentace za vzniku polyesteru jsou sacharidy nebo lipidy, syntéza polyesteru je řízena PHA syntetázou, která je stereospecifická, proto jsou všechny monomerní jednotky v R-konformaci. Lineární polyester obsahuje 10³–10⁴ monomerních podjednotek a v každé z většiny základních jednotek je na třetím uhlíku navázána alkylová skupina s délkou v rozmezí 1–14 uhlíků [23].

V souvislosti s bioplasty jsou brány v úvahu dvě formy PHA. První je lineární, vysokomolekulární polyester o molekulové hmotnosti 60000 Daltonů, nacházející se v Gram pozitivních a Gram negativních bakteriích, kde slouží jako zásobárna energie. Druhou formou je nejjednodušší typ PHA polyhydroxybutyrát (PHB) o nízké molekulární hmotnosti (15 000 Daltonů). Tato forma se vyskytuje v mnoha prokaryotách a díky své univerzálnosti, která je srovnatelná s konvenčními plasty se jeví jako potenciální náhrada. Tento nízkomolekulární polymer je nezásobní formou PHA a slouží jako podpůrná součást vápníkových kanálů, transportu DNA nebo ochrany makromolekul v buňce. Izolovaná látka se chová podobně jako termoplast a může být tavena například pro extruzi podobně jako klasické plasty.

Diverzita PHA neroste pouze ze základní strukturou, ale také se schopností tvořit heteropolymery. Kratší řetězce PHA polymerů s alkylovou skupinou s méně než 5 uhlíky jsou křehké a tvrdé bioplasty. Středně dlouhé PHA polymery s 6–14 atomy uhlíku na alkylové skupině jsou semikrystalickými termoplastickými elastomery a mají lepkavé vlastnosti. Na přípravu heteropolymerů se používají intermediáty, které mohou být přímo míchány s petrochemickými plasty. Do PHA se také přidávají aditiva ve formě odbouratelných plastifikátorů, jako glyceroltriacetát nebo diethyl sukcinát, ke zlepšení vlastností a dosažení biodegradovatelných vlastností [2].

2.3. Polyhydroxybutyrát

PHB je v přírodě velmi rozšířeným a nejvíce studovaným polyhydroxyalkonátem. Mezi PHA se jedná o strukturně nejjednodušší sloučeninu. Základní strukturní vzorec PHB viz obr. 2 obsahuje 4 uhlíky. Na uhlíku 3 je navázána hydroxylová funkční skupina, která společně s karboxylovou skupinou dalšího monomeru reaguje za vzniku esterové vazby.



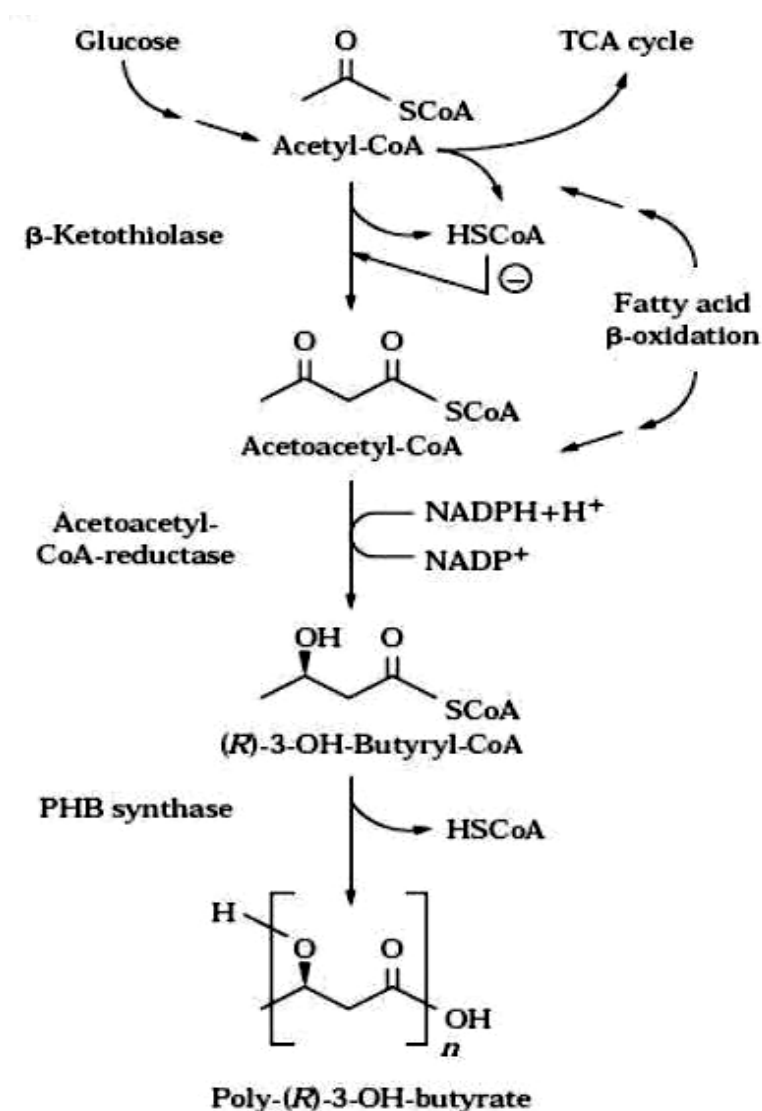
Obr. 2 Schéma strukturního vzorce PHB [22]

Vysokomolekulární PHB je lineární isotaktický polyester s R-konfigurací [18]. Molekulární hmotnost PHB je v rozmezí $1 \cdot 10^4$ – $3 \cdot 10^6$ g/mol s indexem polydisperzity 2. Izolovaný PHB dosahuje krystalinity 55 až 88 %, zatímco v přirozené formě uvnitř inkluzí je polymer amorfni. Teplota tání (T_m) polymeru se pohybuje kolem 180°C a teplota skleného přechodu (T_g) kolem 4°C. Hustoty krystalické a amorfni fáze jsou 1,26 a 1,18 g/cm³. Mechanické vlastnosti, jako Youngův modul pružnosti (E ; 3,5 GPa) a pevnost v tahu (σ_m , 43 MPa), jsou podobné isotaktickému polypropylen (iPP). Tažnost (A) je v porovnání s iPP (400 %) výrazně nižší (5 %), proto se PHB chová jako tužší a křehčí materiál. Základní fyzikálně-mechanické vlastnosti PHB jsou spolu s nízkohustotním polyetylenem (LDPE) a kopolymerem PHB a 3HV (PHB-20 mol% 3HV) uvedeny v tabulce 1 [1, 38, 12].

Tabulka 1 Základní fyzikální a mechanické parametry P(3HB) [18]

Polymer	T _m (°C)	T _g (°C)	E (GPa)	σ _m (MPa)	A (%)
P(3HB)	180	4	3,5	40	5
P(3HB-20 mol% 3HV)	145	-1	0,8	20	50
PP	176	-10	1,7	38	400
LDPE	130	-30	0,2	10	620

Biosyntéza PHB je velmi dobře prostudována, jako modelový příklad se nejčastěji používá mechanismus bakterie *Ralstonia eutropha*. Metabolická cesta pro syntézu PHB souvisí se zdrojem uhlíku. Jednoduché sacharidy jsou zpracovány glykolýzou na acetyl-CoA, mastné kyseliny β – oxidací na acetyl-CoA nebo acetoacetyl-CoA. Další typy sacharidů slouží jako zdroje pro syntézu mastných kyselin, které jsou dále odbourávány β – oxidací na acetyl-CoA. Ten se používá jako substrát pro syntézu PHB, kde pomocí enzymu β -ketothiolázy a redukčních faktorů přechází na (R)-3-hydroxybutyryl-CoA. Nakonec je PHB syntetizován polymerací molekul (R)-3-hydroxybutyryl-CoA pomocí PHA syntetázy [18].

**Obr. 3** Schéma syntézy PHB [37]

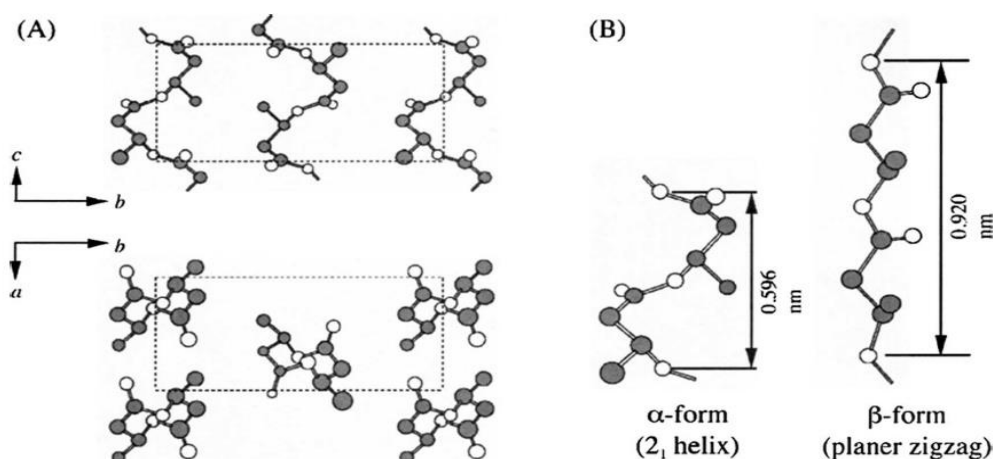
Výrobou PHB se dnes zabývá mnoho firem, ty však přinášejí na trh polymery, které nejsou jednoduše zaměnitelné, protože nemají shodné vlastnosti, buď z důvodů použití odlišných vstupních surovin a nebo nejrůznějších druhů mikroorganismů pro jeho syntézu. Tento polymer však nabízí benefity, kterým nemohou konvenční plasty konkurovat: nulové emise, univerzální biodegradabilní charakteristiky, výborné fyzikálně-chemické vlastnosti, bioresorbci, tepelnou rezistenci, dobrou odolnost proti hydrolýze, mechanické vlastnosti. Výzvami však zůstávají omezené možnosti zpracování (nad 160 °C dochází ke štěpení řetězce), pomalá krystalizace z taveniny a vysoká cena. Potencionální uplatnění PHB je však poměrně široké: obalový průmysl, fólie (zemědělství), stolní nádoby, osobní péče (mikročástice v zubních pastách, tampóny), pojiva, lepidla, zdravotní péče (scaffoldy), vlákna, elektronika, spotřební zboží delší životnosti, nátěry, domácí potřeby atd. [22].

2.3.1. Nadmolekulární struktura PHB

Nadmolekulární struktura studuje prostorové uspořádání makromolekul a zahrnuje termíny jako krystalinita, tvar krystalitů, jejich velikost, orientaci apod. Její podoba je však ovlivněna uspořádáním na nižších úrovních na molekulární a chemické. PHB řadíme mezi semikrystalické polymery, pro které je charakteristické uspořádání do pravidelných krystalických struktur a amorfních oblastí v meziprostorech. Podmínkou pro vznik struktury jsou lineární řetězce bez dlouhých postraních větví a objemných bočních skupin. Lineární PHB tuto podmínku splňuje. Semikrystalické polymery se však mohou vyskytovat i v amorfním stavu ve formě statistického klubka při rychlém podchlazení taveniny. Řetězce semikrystalických polymerů mohou být uspořádány do tvaru vlákna, lamel nebo skládány do struktur shis-kebab a sférolitů [25].

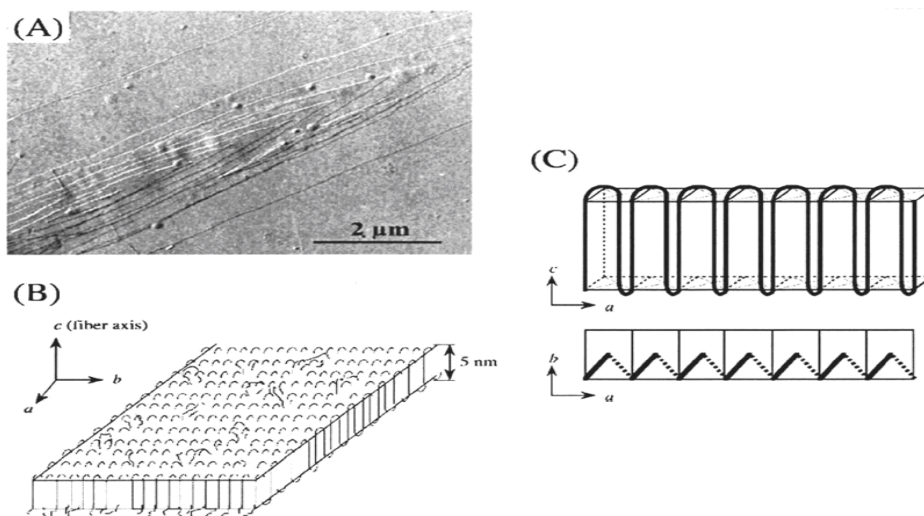
Základní buňka P(3HB) je orthotrombická s rozměry ve směrech $a = 0,576 \text{ nm}$, $b = 1,320 \text{ nm}$, $c = 0,596 \text{ nm}$ a prostorovou grupou $P2_12_12_1$. Součástí základní buňky jsou 2 antiparalelní řetězce. Molekula je v konformaci levotočivé šroubovice 2- helix. Pokud je PHB připraven krystalizací z roztoku tvoří lamelární krystalickou strukturu, v případě krystalizace z taveniny tvoří sférolity [26].

Morfologie spolu s krystalickou strukturou byla zkoumána pomocí mikroskopických metod u polymerů PHB připravených rozpuštěním v organický rozpouštědlech a jejich zpětnou krystalizací z roztoku. Za uvedených podmínek PHB tvoří krystaly ve tvaru lamel s rozměry 0,3–2 μm v příčném a 5–10 μm v podélném směru. Tloušťka jednotlivých krystalů se pohybuje v rozmezí 4–10 nm a závisí na molekulární hmotnosti, rozpouštědlu a krystalizační teplotě [4, 11]. Lamela vzniká při paralelním uspořádání, kdy se dlouhé řetězce po určité délce ohýbají [26].



Obr. 4 Schéma struktury bakteriálního PHB a) Projekce krystalové struktury PHB v ab a bc rovině, b) Molekulární konformace dvou typů krystalických forem: 2 – helix konformace (α -forma) a planární zigzag konformace (β -forma) [4]

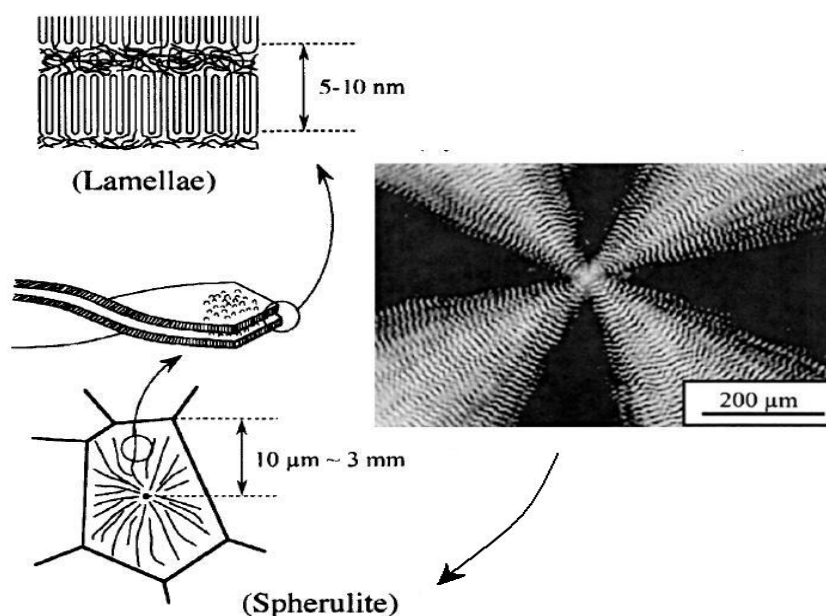
Na základě elektronové difrakce jednotlivých krystalů PHB bylo zjištěno, že řetězce polymeru se skládají kolmo na lamelární základ krystalu a v podélném směru osy a . Ukázalo se, že jednotlivé krystaly PHB jsou rozděleny do malých krystalových fragmentů v důsledku příčného protažení na podélný směr růstu. V případě protažení v podélném směru růstu, se objevují na této ose pravidelné praskliny [4].



Obr. 5 Schéma monokrystalů bakteriálního PHB a) Transmisní elektronový mikrograf monokrystalu PHB připraveného z roztoku, b) Ilustrace skládání řetězce lamelárních krystalů PHB, c) Schéma po sobě jdoucích řetězců PHB v monokrystalu [4]

PHB při krystalizaci z taveniny tvoří sférolity. Tloušťka sférolitů se pohybuje v rozmezí 5–10 nm v závislosti na krystalizační teplotě. Jednotlivé lamely rostou ze středu, tedy ze zárodku sférolitu [24]. V tavenině se řetězce vyskytují ve formě klubek a nejsou zde vhodné podmínky pro vznik rovinných lamel. V důsledku kroucení lamelárních krystalů PHB dochází ke vzniku typické pruhované textury. Pravidelnost pruhované textury je závislá na krystalizační teplotě a molekulární hmotnosti. Na obr. 6 je zobrazen sférolit PHB, pro který je typický Maltézský kříž, který je důsledkem optické anizotropie a faktu, že sférolit je

dvojlomný materiál [4].



Obr. 6 Schéma zobrazení růstu sférolitu PHB od počáteční lamely [4]

Nukleační hustota PHB v porovnání s běžnými polymery je velmi nízká. Tento fakt vede u PHB k růstu extrémně velkých sférolitů. Velikost sférolitů vzniklých z čisté taveniny může být od několika mikrometrů až po milimetry v závislosti na molekulární hmotnosti a krystalizační teplotě. U PHB sférolitů pozorujeme dva druhy trhlin radiální a kruhové. Radiální trhliny vznikají při krystalizaci za pokojové teploty. Kruhové trhliny se objevují pokud PHB krystalizuje za vyšších teplot a poté je chlazen na pokojovou teplotu. Vznik trhlin je způsoben z důvodu rozdílných radiálních a kruhových koeficientů teplotní roztažnosti sférolitu. Pokud je například radiální koeficient teplotní roztažnosti vyšší než kruhový, v radiální směru působí velké tahové napětí. Napětí je uvolněno vznikem trhliny [15].

Obecně, PHB krystalizuje v orthotrombické základní buňce ve 2-helix konformaci. X-Ray diagramy orientovaných filmů a vláken však potvrzují dva typy molekulární konformace 2-helix konformaci (α -forma) a planární zigzag konformaci (p-forma). P-forma byla potvrzena u jednoose orientovaných filmů ve volných řetězcích amorfni oblasti vyskytující se mezi lamelárními krystaly α -formy. Během X-Ray analýzy při teplotě 160 °C reflexe p-formy zmizela. To je důkazem nižší stability p-formy v porovnání s α -formou a také důvodem smrštění a reorganizaci řetězců polymeru při žhání za teploty 160 °C [4].

2.4. Krystalizace polymerů

Při krystalizaci se polymer skládá do uspořádaných útvarů. Nejčastějším krystalickým útvarem jsou sférolity vznikající při krystalizaci z taveniny. Sférolity vznikají ze zárodků (monokrystalů), jejichž struktura, počet a rychlost vzniku řídí nadmolekulární strukturu a tím i vlastnosti polymeru. Klíčovými parametry procesu jsou teplota krystalizace a rychlost chlazení [27].

Krystalizaci dělíme na izotermní a neizotermní. Zárodky vzniklé za izotermních podmínek rostou ve všech směrech rovnoměrně a mají srovnatelné rozměry ve všech směrech. Vzniká tak radiální kulový sférolit, při jehož růstu dochází k větvení nebo ohybu lamel pod úhlem

charakteristickým pro každý polymer. Při krystalizační teplotě blízké teplotě tání dochází k pomalému růstu malého množství sférolitů dosahujících velkých rozměrů.

Zárodky vzniklé za neizotermických podmínek preferují růst lamel ve směru jeho délky, větví se a vytváří snopec, který se rozšiřuje až dojde k jeho uzavření. Vzniká sférolit s chomáčkovitou strukturou nazývanou dendritický sférolit nebo dendrit.

Izotermní krystalizace rozlišuje 2 typy mechanismů nukleace: termální a atermální. Při termální nukleaci (homogenní) po dosažení teploty krystalizace dojde k vytvoření určitého počtu zárodků, který však není konečný a s časem dál náhodně roste. Atermální nukleace (heterogenní) probíhá za vzniku konkrétního počtu zárodků, který se dál s časem nemění. Krystalizační teplota určuje dobu, za kterou zárodky vzniknou a také jejich koncentraci. Stejně působí na zárodky přítomnost nukleačních činidel.

Za izotermních podmínek roste poloměr sférolitu s časem lineárně. Závislost rychlosti růstu sférolitu na teplotě popisuje tzv. zvonová křivka, jejíž maximum leží uprostřed mezi teplotou skelného přechodu (T_g) a rovnovážnou teplotou tání (T_m). Růst sférolitu je iniciován dvěma mechanismy podchlazením a difúzí krystalizujícího materiálu k povrchu sférolitu. Vznik sférolitů může nastat jak na heterogenních zárodcích (částice plniva, vlákna, nukleační činidla, ale také nečistoty, které nejsou v polymeru žádoucí), tak na zárodcích homogenních (samotný polymer).

Kinetika krystalizace se běžně vyhodnocuje buď z nárůstu krystalického podílu v průběhu krystalizace nebo z měření průměru rostoucích sférolitů. V prvním případě se proces růstu studuje pomocí diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC), v druhém případě in-situ zaznamenáváním růstu pod optickým mikroskopem (POM) [26].

Při krystalizaci PHB dochází ke vzniku velkých sférolitů, které rostou velmi pomalou krystalizační rychlostí. Vykrytalizovaný PHB tak má vysokou krystalinitu, nízkou houževnatost a pevnost. Celý krystalizační cyklus PHB je z pohledu průmyslové technologie neefektivní a pomalý. Významný je také vliv postkrystalizace, během které vznikají na povrchu materiálu nepravidelné trhliny, které ještě snižují houževnatost a zvyšují křehkost. Středem zájmu výzkumných skupin je úprava uvedených vlastností, která vede přes modifikaci chemické, molekulární a nadmolekulární struktury. Způsoby, kterými lze dosáhnout požadovaných vlastností v závislosti na finální aplikaci jsou např: kopolymerace s houževnatými polymery, míchání s termoplastickými polymery, přidáním aditiv nebo nukleačních činidel, temperance, žíhání a jiné [6, 9, 13, 18].

2.5. Nukleační činidla a jejich vliv na nadmolekulární strukturu

Přidáním heterogenních nukleačních činidel je možné snížit velikost sférolitů a tím modifikovat mechanické vlastnosti polymerů. Výsledná velikost sférolitu je daná vzájemnou vzdáleností zárodků a ta je daná koncentrací zárodků a poměrem rychlosti nukleace a růstu. Je-li nukleace pomalá vzhledem k růstu, vzniká malé množství velkých sférolitů, naproti tomu rychlá nukleace vede ke vzniku velkého množství malých a nevyvinutých sférolitů [27]. Dobře fungující nukleační činidlo by mělo být s hostitelským polymerem dobře mísitelné, nerozpustné, schopné snižovat mezipovrchovou volnou nukleační energii, vytvářet stabilní disperzi a mít správnou velikost částic s podobnou krystalickou strukturou jako polymer. Povrch nukleačních činidel hraje důležitou roli v ovlivnění průběhu krystalizace hostitelských polymerů. Efekt nukleačních činidel se obvykle posuzuje změnou počáteční teploty krystalizace, poločasu krystalizace, nukleační hustotou, velikostí krystalů, optickou průhledností a mechanickými vlastnostmi [1]. Správná distribuce nukleačních činidel ve

vzorku ovlivňuje pravidelnost struktury napříč vzorkem. Nerovnoměrné zapracování nukleárních činidel má za následek, že se v oblastech bez jejich přítomnosti vyskytuje výchozí struktura materiálu a v oblastech jejich výskytu nukleovaná struktura. Může tak docházet ke nárůstu křehkosti a prnutí v materiálu [31].

Nukleční činidla jsou malé krystalické částice s vyšším bodem tání než polymer, které jsou dispergovány v tavenině polymeru a zůstávají v pevném skupenství při krystalizační teplotě [25]. Většinou se jedná o organické nebo anorganické látky např: boronitrid, mastek, křída, jíl, slída, uhličitán vápenatý,terbium, oxid lanthanu, hydroxyapatit, zinek fenylfosfonát monohydrát, grafitové nanodestičky, sacharin, nanokrystalická celulóza, chlorid amonný, soli karboxylových kyselin s kovy ze skupiny 1 a 11 periodické soustavy prvků, lignin, α -cyklodextrin, cyklodextrin-komplex, organofosforečnany, thymin, melamin, kyselina kyanurová, kyselina orotová, heteroaromatické sloučeniny obsahující dusík (pyridin, pyrimidin,pyrazin, pyridazin, triazin, nebo imidazol), poly (vinyl alkohol) atd. Většina z uvedených činidel je používána v průmyslu a byla v minulosti úspěšně odzkoušena pro modifikaci různých typů polymerů [1].

2.6. Metody charakterizace krystalické struktury polymerů

Studiem charakterizace krystalické struktury polymerů se zabývá morfologie a typografie. Morfologie zkoumá nadmolekulární struktury polymerů, orientační efekty, rozložení fází ve vícesložkových vícefázových polymerních materiálech a mechanismy vzniku těchto materiálů. V oblasti materiálních věd má dva základní proudy, analytický a syntetický. Analytický proud hodnotí vzorky s novou strukturou případně neobvyklými vlastnostmi, proud syntetický objasňuje neznámé strukturní efekty, vytváří modely a formuluje hypotézy, které by objasnily chování polymerů na mikroskopické nebo submikroskopické úrovni. Topografie se zaměřuje na celkovým vzhled povrchu a povrchových útvarů včetně jeho nerovností.

Pro strukturní analýzu polymerů, existují metody které dělíme na přímé a nepřímé. Pomocí přímých metody pozorujeme atomovou a nadmolekulární strukturu, popřípadě určujeme elektronovou a molekulovou strukturu. Nepřímé metody slouží ke studiu semikrystalické struktury polymerů, popisu vlastností a k jejich identifikaci.

Mezi přímé metody umožňující pozorování struktury atomové až nadmolekulární řadíme: Mikroskopii atomárních sil (AFM, Atomic Force Microscopy), Rastrovací tunelovací mikroskopii (STM, Scanning Tunneling Microscopy), Transmisní elektronovou mikroskopii (TEM, Transmission Electron Microscopy), Rastrovací elektronovou mikroskopii (SEM, Scanning Electron Microscopy), Konfokální laserovou rastrovací mikroskopii (CLSM, Confocal Laser Scanning Microscopy), Optickou (světelná) mikroskopii (OM, Optical Microscopy).

Mezi přímé metody určující elektronovou a molekulovou strukturu patří: Elektronová spinová (paramagnetická) rezonance (ESR, Electron Spin Resonance; EPR, Electron Paramagnetic Resonance), Cyklická voltamperie, Elektronová absorpční spektroskopie (EAS, Electron Absorption Spectroscopy), Infračervená spektroskopie (IR, Infrared Spectroscopy)

Nepřímé metody zahrnují: Rentgenovou strukturní analýzu (XRD, X-Ray Diffraction) Širokoúhlový rozptyl roentgenova záření (WAXS, Wide-Angle X-Ray Scattering), Maloúhlový rozptyl roentgenova záření (SAXS, Small-Angle X-Ray Scattering), Ultramaloúhlový rozptyl roentgenova záření (USAXS, Ultra Small-Angle X-Ray Scattering), Diferenční kompenzační kalorimetrii (DSC, Dynamic Scanning Calorimetry), Maloúhlový

rozptyl světla (SALS, Small-Angle Light Scattering), Dynamicko-mechanicko termickou analýzu (DMTA, Dynamic Mechanical Thermal Analysis) [29].

2.6.1. Přímé pozorovací metody

Pro přímé pozorování sférolitů a nadmolekulární struktury polymerů se nejčastěji používá polarizační optická mikroskopie (POM). Pozorujeme povrch vzorku nebo jeho průřez. Další metodou v současné době velmi užívanou je konfokální laserová rastrovací mikroskopie (CLSM) [26].

Polarizační optická mikroskopie

Optická mikroskopie je nejjednodušší pro pozorování mikrosvěta. Přístrojem pro pozorování je optický mikroskop, který se skládá z části mechanické (podstavec, stojan s revolverem), osvětlovací (zdroj světla, kondenzor, clona) a optické (objektiv, okulár). K pozorování se využívá viditelné světlo a soustava čoček vestavěná do mikroskopu. Světlo vycházející ze zdroje se na vzorku láme, odráží nebo rozptyluje a vstupuje do objektivu, kde se vytvoří skutečný převrácený zvětšený obraz vzorku. Obraz se promítá mezi ohnisko okuláru a okulár, kde pozorujeme zdánlivý zvětšený obraz okulárem. Metoda umožňuje sledovat objekty do 1000 násobného zvětšení. Světelné mikroskopy jsou v současné době vybavené různými filtry, zařízeními pro kontrast fází, zpožďovacími destičkami, ohříváním nebo chlazeným stolcem, kamerou, fotoaparátem atd., umožňující dokonalé zobrazení sledovaného vzorku za definovaných podmínek. Důležitým prvkem mikroskopu je polarizátor, který vytváří ze svazku viditelného světla světlo lineárně polarizované. Zkřížené polarizátory nám umožňují při pozorování sférolitů zobrazit jejich typické Maltézské kříže [28].

Konfokální laserová rastrovací mikroskopie

Konfokální laserová rastrovací mikroskopie (CLSM) používá k pozorování povrchu objektů optické soustavy čoček a bodového rastru laserového monochromatického paprsku. Díky bodovému rastrování a konfokálnímu principu je dosaženo 3D zobrazení povrchu. Laser řádkuje nejčastěji v ose X-Y, u jednoduchých typů v ose X. Konfokální optika představuje systém, kde je v místě, které je opticky sdružené s polohou zaostření (konfokální rovina) umístěna clona se šterbinou, která odstraňuje světlo přicházející z míst mimo polohu zaostření. Díky tomu se část, kde bylo světlo na vzorku odstraněno, zcela zatemní a prostorový vzorek je možné rozdělit na optické řezy, tedy snímat roviny zaostřených bodů v optické ose. Softwarovým složením optických řezů pak vznikají výškové obrazy. Naproti tomu v běžném optickém mikroskopu se světlo přicházející z jiných částí než z roviny zaostření překrývá se světlem tvořícím obraz a celý obraz se tím rozmazává. Kontrast je tvořen světlem odraženým popřípadě rozptýleným – mód zobrazení reflexní nebo zpracováním emitovaného světla, kde dochází k fluorescenci – obraz je tvořen ve fluorescenčním módu. K rastrování se používá paprsek o jedné vlnové délce viditelného světla. Mikroskopy pro materiálové vědy využívají reflexní mód pro 2D a 3D rekonstrukci povrchů pevných materiálů jako jsou polymery, keramika, dřevo, povrchové vrstvy a jiné.

U fluorescenčního módu probíhá buď jednofotonová nebo dvoufotonová fluorescence. Jednofotonová fluorescence je buzená kontinuálním plynovým laserem (Ar), který produkuje rovnoměrný proud fotonů. K excitaci dochází zhruba každou sekundu. Hloubka vzorku, ze kterého je možné získat signál je cca 100 μm .

Dvoufotonová fluorescence je buzená pevným pulzním laserem (safír – titan), který produkuje fotony v intervalech 10 ns. Vlnová délka je laseru je vyšší, energie je tedy nižší a tím je také

nižší hloubka interakce maximum 400 nm, proto musí dojít k opětovnému buzení dalším fotonem.

Mikroskopy s fluorescenčním módem nacházejí uplatnění v biologických vědách a medicínských aplikacích. Výhodou techniky je vysoký kontrast a velký rozsah zvětšení bez nutnosti speciální úpravy vzorku [26].

2.6.2. Nepřímé pozorovací metody

U nepřímých pozorovacích metod určujeme krystalografickou strukturu a stanovujeme důležité parametry materiálu vedoucí k jeho identifikaci. Pomocí metod jako širokoúhlový rozptyl roentgenova záření (WAXS), maloúhlový rozptyl roentgenova záření (SAXS) studujeme krystalografickou strukturu. Pro stanovení teplotních charakteristik materiálu používáme diferenční kompenzační kalorimetrii (DSC). Teplotní charakteristiky společně s mechanickým namáháním kombinuje dynamicko-mechanická termická analýza (DMTA) [29].

Diferenční kompenzační kalorimetrie

Kalorimetrie se zabývá měřením tepla, které systém za konstantního tlaku absorbuje nebo uvolní jako důsledek fyzikální, chemické anebo biologické přeměny materiálu při ohřevu nebo chlazení. Entalpické změny jsou endotermní nebo exotermní. Exotermním dějem (teplo se uvolňuje) je např. krystalizace, vytvrzování a rozklad, endotermním dějem (teplo je absorbováno) je např. tání, vypařování a skelný přechod.

Pro charakterizaci polymerů se používá diferenční kompenzační kalorimetrie, což je termo-analytická metoda, která měří změnu tepelné energie (ΔH) vzorku a referenční látky na základě rozdílů příkonů potřebných na jejich ohřev v závislosti na teplotě a času. Zařízení na měření tepelné energie se nazývá kalorimetr. Měření látek se provádí pod inertní atmosférou při konstantní rychlosti ohřevu nebo chlazení [29].

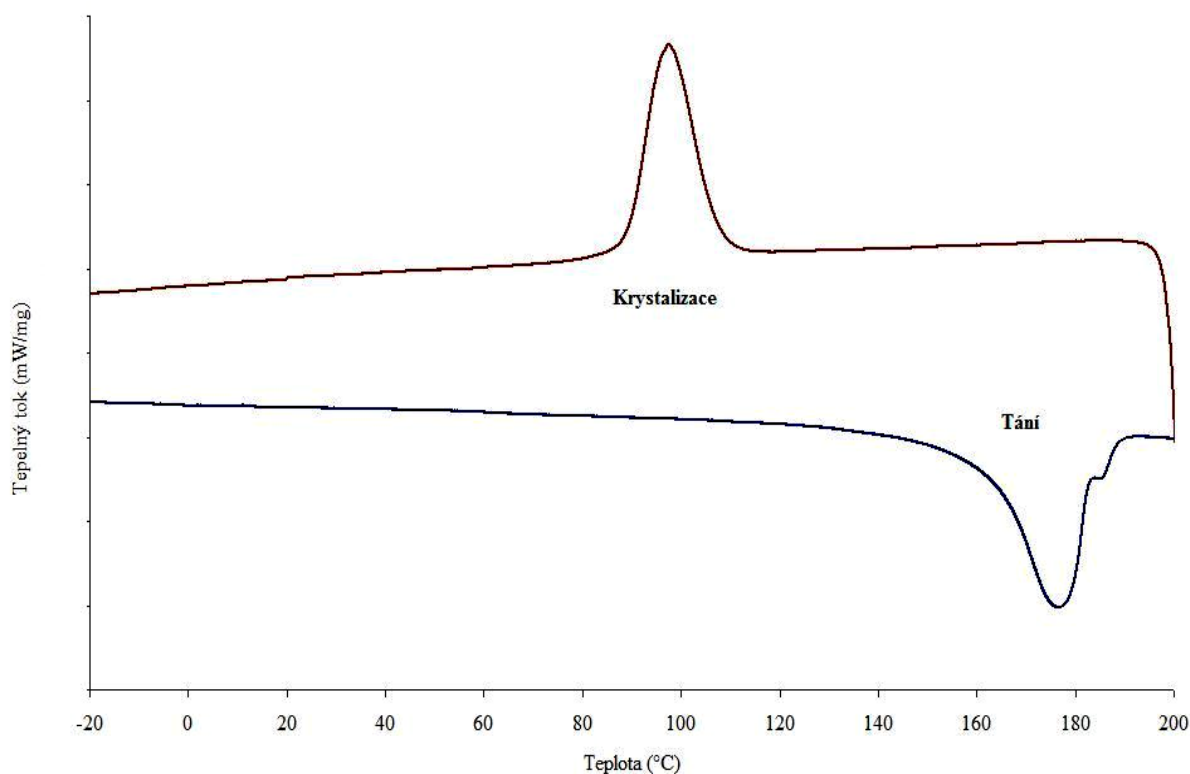
Existují dva typy kalorimetrů:

- kalorimetr s kompenzací výkonu (měří přímo tepelný tok)
- kalorimetr s tepelným tokem (měří teplotu vzorku a referenčního materiálu)



Obr. 7 Schéma kalorimetru s kompenzací výkonu a kalorimetru s tepelným tokem [30]

Výstupem měření je křivka závislosti tepelného toku na teplotě nebo času, popisující odchylky tepelného toku během měření. Pokud nedochází k entalpické změně je rozdíl tepelných toků vzorku a reference nulový, což se projeví základní čarou. Pokud k entalpické přeměně dochází, projeví se jako odchylka od základní čáry viz obr. 8 [30].



Obr. 8 Schéma DSC křivky; exo děje nahoru

Pro přesné stanovení veličin je nutné rozlišit mezi prvním a druhým ohřevem. První ohřev vzorku je spojen s vratnými a nevratnými změnami a vypovídá o termické a mechanické historii vzorku; druhý ohřev je spojen pouze s vratnými ději a slouží pouze pro určení charakteristických vlastností zkoumaného materiálu

Metoda se využívá pro stanovení základních teplotních charakteristik plastů: teploty skelného přechodu (T_g), teploty tání (T_m), teploty krystalizace (T_c), měrné tepelné kapacity (Q), stupně krystalinity (W) atd. [29, 30].

Teplotně modulovaná diferenční kompenzační kalorimetrie

V porovnání ze standardní DSC, umožňuje rozložení signálu celkového tepelného toku na termodynamickou (reverzibilní signál) a kinetickou složku (nereverzibilní signál). Pro TMDSC je charakteristické skládání nelineárních sinusových modelací teploty na rozdíl od tradiční lineární rychlosti ohřevu. Výstupem je celkový tepelný tok a jeho reverzibilní a nereverzibilní složky. Reverzibilní část signálu odpovídá změně tepelné kapacity, teplotě skelného přechodu, teplotě tání. Nereverzibilní část signálu odpovídá síťování, rozkladu, vypařování, studené krystalizaci [29].

TMDSC nabízí vyšší citlivost, možnost měřit tepelnou kapacitu a tepelný tok v průběhu stejného experimentu, měření tepelné kapacity za izotermických podmínek, což u DSC není možné, měření separace entalpické relaxace. Výhodou metody je možnost použít vzorek v jakékoliv fyzikální formě (pevná, kapalná nebo gel) [33].

Rentgenová difrakce (XRD)

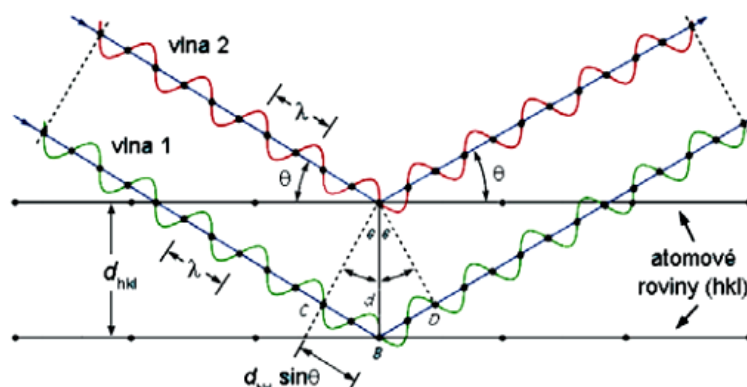
Rentgenová difrakční analýza slouží k určování krystalické struktury pevných látek [29]. Látky obsahující krystalickou fázi vykazují pravidelné periodické uspořádání, které nazýváme

krystalická struktura. Řešení ideální krystalové struktury znamená určení a upřesnění souřadnic a parametrů teplotního pohybu všech atomů v elementární buňce [19].

Principem metody je interakce dopadajícího RTG paprsku s krystalovou strukturou látky. Paprsek se pružně rozptyluje na elektronech měřeného krystalu a vzniká tak sekundární neboli difraktované záření. Většina rozptýlených paprsků je ztracena v důsledku destruktivní interference. Difrakci pozorujeme pokud se odražené paprsky od různých atomových rovin setkají v jedné fázi (rozdíl drah je roven dvojnásobku vlnové délky), poté dochází ke konstruktivní interferenci (zesílení). Uvedenou podmínku popisuje Braggova rovnice:

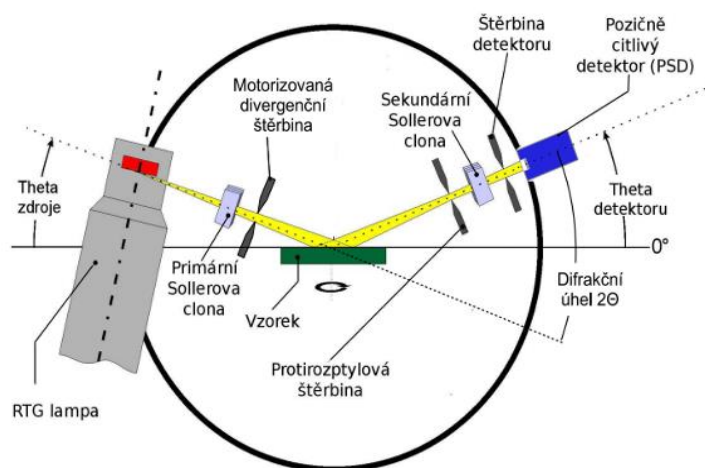
$$2d \cdot \sin\theta = n\lambda, \quad (1)$$

kde λ – vlnová délka rtg. záření, θ – úhel dopadu, d – vzdálenost atomových rovin v krystalové mřížce



Obr. 9 Schéma principu Braggovy podmínky [35]

Základní složky rentgenového difraktometru jsou: zdroj monochromatického rtg. záření (RTG lampa); detektor rtg záření nacházející se na obvodu kružnice se středem v analyzovaném vzorku; divergentní štěrby, umístěné mezi zdrojem a vzorkem a divergentní štěrby umístěné mezi vzorkem a detektorem, které omezují rozptýlené záření, snižují šum pozadí; Sollerovi clony; goniometr, který mechanicky spojuje detektor a držák vzorku a otáčí detektorem o úhel 2θ a vzorkem o úhel θ [36].



Obr. 10 Schéma uspořádání RTG difraktoru [35]

Výstupem měření je difraktogram, v němž poloha, intenzita a tvar maxim odpovídají druhu atomu a úrovni jeho uspořádání v prostoru.

Metoda poskytuje dostatek kvalitativních informací o měřeném vzorku (tvar krystalové mřížky, vzdálenost atomových rovin, Millerovy indexy, informace o prostorové grupě a jiné). Pro měření se používají vzorky v práškové a kompaktní formě. Při přípravě vzorku je nutné zajistit absolutní rovinu k dokonalé difrakci záření. Metoda nachází využití především ve strukturní analýze, fázové analýze, ve studiu tenkých vrstev a nanomateriálů [34].

Termogravimetrická analýza

Termogravimetrická analýza (TGA) je metoda na určení termické stability materiálu a stanovení frakcí těkavých podílů na základě sledování úbytku hmotnosti vzorku při jeho ohřevu. V závislosti na teplotě a času je sledován úbytek hmotnosti vzorku. Ke ztrátě hmotnosti může docházet při rozkladu, vypařování, redukci, sublimaci, dehydrataci, magnetické nebo elektrické transformaci. K nárůstu hmotnosti dochází při oxidaci a absorpci. Měření se provádí v zařízení zvaném termogravimetr nebo termováhy v inertní (argon, dusík, helium) nebo oxidační (kyslík, vzduch) atmosféře. Pevný vzorek nebo ve formě gelu je umístěn na nosič, který se nazývá pánvička.

Výstupem měření je TGA křivka závislosti změny hmotnosti na teplotě nebo času. Grafická závislost může být vícestupňová s málo ostrými přechody mezi jednotlivými stupni; k jejich rozlišení slouží derivovaná křivka. Důležitými body křivky je inflexní bod odpovídající nejrychlejšímu úbytku hmotnosti.

V oblasti plastů lze TGA uplatnit pro studium rozkladných procesů a jejich rychlosti, stanovení obsahu plniva, teploty a času potřebného pro vysušení, stanovení obsahu vody a nízkomolekulárních látek. Metoda TGA se uplatňuje při analýze polymerů, polovodičů, lepidel, barev, keramiky, jílu půd, potravin a farmaceutik.

Stanovení obsahu nukleárních činidel ve vzorku slouží k ověření jejich navážky a rovnoměrného zapracování do polymeru během hnětení [29, 32].

3. CÍL PRÁCE

Určit, odkrýt a zhodnotit krystalickou strukturu polyhydroxybutyrátu v závislosti na typu a množství aditiv metodou rentgenové difrakce, diferenční kompenzační kalorimetrie a vybraných mikroskopických metod.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Materiál

Polyhydroxybutyrát (PHB) z mikrobiologických zdrojů s obchodním názvem Biomer od firmy Biomer byl dodán ve formě nenukleovaného a tepelně nezpracovaného prášku, který byl před zpracováním sušen po dobu 2 h při teplotě 80 °C.

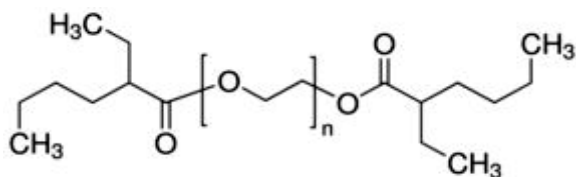
Aditiva vybraná pro studium nukleační aktivity jsou uvedena v tabulce 2. Aditiva byla do vysušeného PHB přimíchána v množství 1 % spolu se stabilizátorem Irganox B225 v množství 0,4 %. Připravený polymer byl zpracován hnětením na jednotce Brabender při teplotě 190 °C po dobu 7 min a otáčkách 45/min. Výsledný polymer byl tvrdý s lesklým povrchem světle hnědé barvy, jejíž odstín se měnil dle typu zapracovaného aditiva (obr. 11). Analyzován byl metodou DSC, TGA a XRD. Nadmolekulární struktura byla pozorována optickou mikroskopií (POM, CLSM).



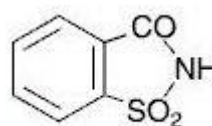
Obr. 11 Snímek PHB vzorků: vlevo 134, uprostřed 139 a vpravo 141

Tabulka 2 Označení vzorků PHB a základní charakteristika aditiv

Označení vzorku PHB	Aditivum	Dodavatel	Střední velikost částic [μm]	Sumární/strukturní vzorec
134	Boronitrid (BN)	Sigma Aldrich		BN
135	Sacharin	Sigma Aldrich		Viz obr. 13
136	Hydroxyapatit	Riedel		$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$
137	Mastek Luzenac A3		1,2	$\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
138	Mastek KT-1	Koltex	4,7	
139	Mastek HTP-1	Koltex	1,9	
140	Tegmer			Viz obr. 12
141 (reference)	není			Viz obr. 2



Obr. 12 Strukturní vzorec Tegmer (n = 4)



Obr. 13 Strukturní vzorec sacharin

4.2. Příprava vzorků pro analýzu

Ze zahřetených vzorků PHB bylo pro analýzu DSC a TGA odřezáno potřebné množství vzorků. Pro metodu rentgenové difrakce a pro pozorování nadmolekulární struktury před a po chemickém degradativním leptu na POM a CLSM byly připraveny tenké řezy o tloušťce 500–1000 μm . Leptání bylo provedeno ve směsi etanolu a hydroxidu draselného (KOH), jejíž složení bylo optimalizováno. Připraveny a odzkoušeny byly čtyři leptací směsi o složení uvedeném v tabulce 3 [16]. Kromě původních vzorků byly ve směsi 2 a 4 odleptány také vybrané vzorky po DSC analýze (136, 140 a 141) s cílem srovnat nadmolekulární strukturu.

Tabulka 3 Leptací směsi, jejich složení a doba leptání

Leptací Směs	Ethanol (ml)	KOH (mg)	Doba leptání (h)
1	30	1	0,5
2	30	2	1
3	30	5	1
4	30	20	1,5

Postup leptání:

- Povrch vzorků byl před vložením do leptací směsi připraven v Erlenmayerově baňce se zábrusem o objemu 100 ml očištěn acetonem
- Vzorky byly v leptací směsi ponechány po dobu 0,5 až 1,5 h
- Po vyjmutí ze směsi byly vzorky opláchnuty destilovanou vodou a acetonem za účelem odstranit odleptaný materiál z povrchu
- Vzorky byly usušeny a následně byla pozorována jejich nadmolekulární struktura

4.3. Metody analýzy PHB

4.3.1. Diferenční kompenzační kalorimetrie

Kalorimetrická měření (DSC) byla provedena na kalorimetru DSC 204F1, NETZSCH v inertní atmosféře dusíku (40 ml/min). Všechny vzorky PHB o hmotnosti 6,5–7,8 mg byly zalisovány do hliníkových pánviček víčkem nahoru. Pro základní charakterizaci krystalické struktury byly vzorky vystaveny dvěma stejným cyklům ohřevu a chlazení za následujících podmínek: ohřev z teploty $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ na $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ s výdrží 10 min a chlazení s rychlostí $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$. Pro studium nukleační aktivity byly vzorky vystaveny jednomu cyklu ohřevu a chlazení za podmínek: ohřev z teploty $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ na $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ s výdrží 10 min a rozdílnou teplotou chlazení (2,5, 5, 10 a $20\text{ }^{\circ}\text{C/min}$). Pro výpočet krystalického podílu bylo pro PHB počítáno s hodnotou rovnovážného tepla tání 146 J/g [39].

Nukleační aktivita (φ) byla vyhodnocena ze vztahu 2

$$\varphi = \frac{B}{B^*}, \quad (2)$$

kde parametr B náleží čisté matici a B^* polymeru s nukleačním činidlem. Parametr B je roven směrnicí křivky závislosti logaritmu rychlosti chlazení (v_c) na převrácené hodnotě druhé mocniny podchlazení (ΔT), které je dáno rozdílem rovnovážné teploty tání PHB (T_m^0) a teploty krystalizace (T_p), jak to vyjadřuje rovnice 3. Hodnota T_m^0 byla $197\text{ }^{\circ}\text{C}$ [39].

$$\Delta T = T_m - T_p, \quad (3)$$

4.3.2. Termogravimetrická analýza

Obsah aditiv byl ve zkoumaných vzorcích stanoven na termogravimetru Discovery, TA Instruments. Průtok dusíkové atmosféry byl nastaven na 25 ml/min a ohřev probíhal rychlostí 20 °C/min na teplotu 500 °C. Měření bylo provedeno na platinových pánvičkách.

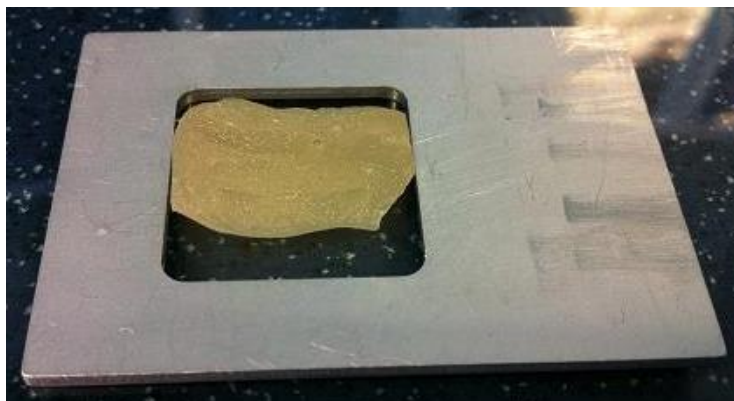
4.3.3. Rentgenová difrakce

Rentgenová difrakce (XRD) byla provedena na difraktometru MiniFlex 600, Rigaku. Pro měření bylo použito Cu K α záření buzené při napětí 40 kV a proudu 15 mA, divergenční clona 0,625 ° a Ni filtr o tloušťce 0,015 mm. Difrakce byla detekována v rozsahu 2–60° 2 θ úhlovou rychlostí 0,2 °/min a krokem 0,005 °. Tenké řezy vzorků byly uchycené na hranách výřezu (2×2 cm) hliníkového nosiče (obr. 14) pomocí oboustranné lepicí pásky, prášková aditiva byla upěchována v nosiči z PMMA (plocha 2×2 cm a tloušťka 0,2 mm) a do roviny zarovnán pomocí skleněné destičky.

Tenké řezy vzorků byly proměřeny v podélném a příčném směru řezu z důvodu stanovení přednostní orientace krystalických oblastí. Velikost krystalických domén byla vyhodnocena z nejintenzivnější difrakční linie (13,4 ° 2 θ) ze Sherrerovi rovnice:

$$D = \frac{0,9\lambda}{B\cos\theta_B}, \quad (4)$$

kde D je velikost krystalitu, λ je vlnová délka použitého záření (pro Cu rentgenku je to 0,15406 nm), B je šířka v polovině výšky difrakční linie a θ_B je difrakční úhel.



Obr. 14 Snímek tenkého řezu vzorku 136 upevněné v hliníkové destičce

4.3.4. Polarizační optická mikroskopie

Růst sférolitů z taveniny byl u všech PHB materiálů sledován pod optickým polarizačním mikroskopem BX50, Olympus na vyhřívaném stolku LINKAM LTS 350. Vzorek o velikosti asi 1×1 mm, připravený uříznutím pomocí skalpelu, byl položený na podložní sklíčko Marienfeld o velikosti 75×25×1 mm a vložen do vyhřívaného stolku. V něm byl vzorek přikrytý krycím sklíčkem, zaostřen objektivem a po uzavření stolku zahříván až na taveninu ohřevem na teplotu 200 °C rychlostí 20 °C/min. Tavenina vzorku byla po dosažení 200 °C převedena na tenký film po otevření stolku přitisknutím krycího sklíčka pomocí pinzety. Po uzavření stolku byl vzorek při teplotě 200 °C ponechán 4 min a poté byl sledován vznik nadmolekulární struktury při (i) rychlostech chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min a (ii) za různých izotermických podmínek krystalizace (tabulka 4) po ochlazení taveniny rychlostí 20 °C/min. Hodnota T_c POM byla stanovena na základě T_c určené z charakterizačních měření na DSC pro

rychlost chlazení 10 °C/min a přičtením 20 °C k této teplotě. Teplota izotermické krystalizace nemohla být pro všechny vzorky polymerů stejná, protože ji značně ovlivňovala přidaná aditiva (některé vzorky by krystalizovaly buď příliš rychle nebo velmi pomalu). Ze vzorků PHB obsahujících mastek byla izotermická krystalizace provedená pouze z vzorku 139, protože výsledky DSC a XRD analýzy byly u vzorků 137, 138 a 139 velmi podobné.

Pro sledování růstu nadmolekulární struktury vzorků byl použit objektiv s dlouhou pracovní vzdáleností a zvětšením 50krát. Růst byl zaznamenáván fotoaparátem Camedia C5060, Olympus v časovém intervalu snímkování 10 s. Po spojení okolních sférolitů do jednoho celku byl proces krystalizace ukončen. Nadmolekulární struktura byla dále sledována pomocí objektivu se zvětšením 4krát, za použití zpoždovací sádrovcové destičky TP530 a filtru LBD. Destička společně s filtrem zvýrazňuje strukturní detaily krystalické fáze a typ sférolitu. U izotermické krystalizace byla po určení velikosti povrchu sférolitů stanovena rychlost růstu sférolitů.

Tabulka 4 Teplota izotermické krystalizace vzorků PHB

Vzorek	134	135	136	139	140	141
$T_{c\text{POM}}$ (°C)	136	115	120	135	125	125

4.3.5. Konfokální laserová rastrovací mikroskopie

Morfologie povrchu PHB vzorků (tenké řezy neleptané, leptané a vzorky po kalorimetrickém měření) byla pozorována na mikroskopu LEXT OLS 3000, Olympus (vlnová délka laseru $408 \pm \text{nm}$, objektivy se zvětšením 5×; 10×; 20×; 50×; 100×).

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1. Charakterizace nadmolekulární struktury vzorků PHB

5.1.1. Diferenční kompenzační kalorimetrie

Endotermické křivky prvního a druhého ohřevu vzorků PHB jsou uvedeny na obr. 15 a 16, exotermické křivky prvního a druhého chlazení jsou uvedeny na obr. 17 a 18. Charakteristická data z analýzy jsou shrnuta v tabulce 5.

Všechny vzorky při prvním tání vykázaly slabý skelný přechod a kromě vzorků 134 a 138 dvoupík tání. Teplota skelného přechodu byla (T_{g1}) 12 °C pro referenci a mírně nižší pro ostatní vzorky. Přesnost stanovení T_{g1} byla ovlivněna velmi slabou odezvou přechodu. Teplota tání prvního píku (T_{m1}) se u všech vzorků pohybovala kolem hodnoty 176±4 °C, u druhého píku kolem 185 °C. Plocha druhého píku tání byla malá u reference a vzorků 137 a 139. Druhý pík může být důsledkem rekrystalizace během ohřevu nebo podává informaci o přítomnosti dvou velikostí krystalických oblastí. Vzhledem k tomu, že malý pík je přítomný u reference, stejně velký je u vzorků obsahujících mastek a mizí v přítomnosti BN, je existence většího píku důsledkem přidavku sacharinu, hydroxyapatitu a Tegmeru. Krystalický podíl (X_{c1}) se pohyboval kolem 70 %, přičemž nejvyšší vykázal vzorek s přidavkem hydroxyapatitu a plastifikátoru Tegmeru.

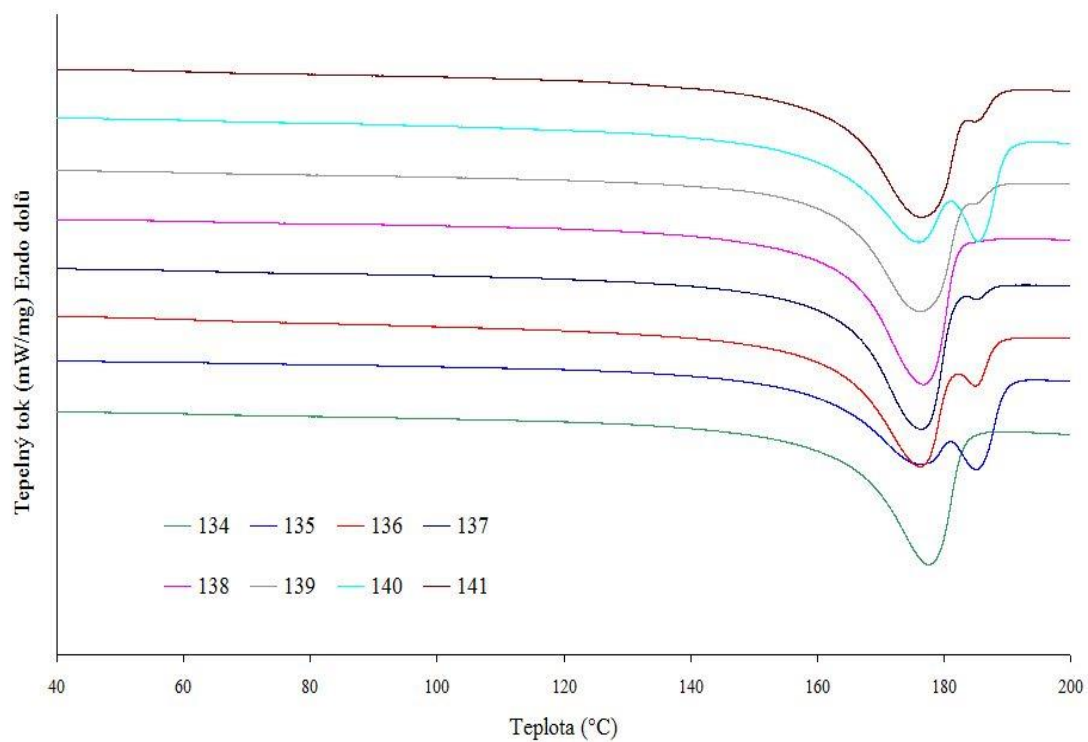
Teplota krystalizace (T_{c1}) se pohybovala v rozmezí 100–121 °C. Vyšší teplota krystalizace v porovnání s referencí byla zaznamenána u vzorků 134, 137, 138 a 139, z čehož lze soudit, že BN a mastek působí jako nukleační činidla.

Změna struktury po prvním ohřevu a chlazení se projevila pouze náznakem skelného přechodu, který nemohl být vyhodnocený a jedním píkem tání s teplotou (T_{c2}) kolem 174±3 °C. Krystalinita (X_{c2}) vzorků se zvýšila asi o 5 %. Méně strmý náběh krystalizace při druhém chlazení, snížení teploty krystalizace (T_{c2}) a rozšíření píků u vzorků 135, 136, 140 a reference svědčí o pomalejší krystalizaci a vzniku méně dokonalých krystalitů s širší distribucí jejich velikostí. Důvodem může být degradace činidel anebo PHB. U vzorků, 134, 137, 138 a 139, kde BN a mastek působí jako nukleační činidla, zůstaly hodnoty T_{c2} stejné jako v případě prvního chlazení.

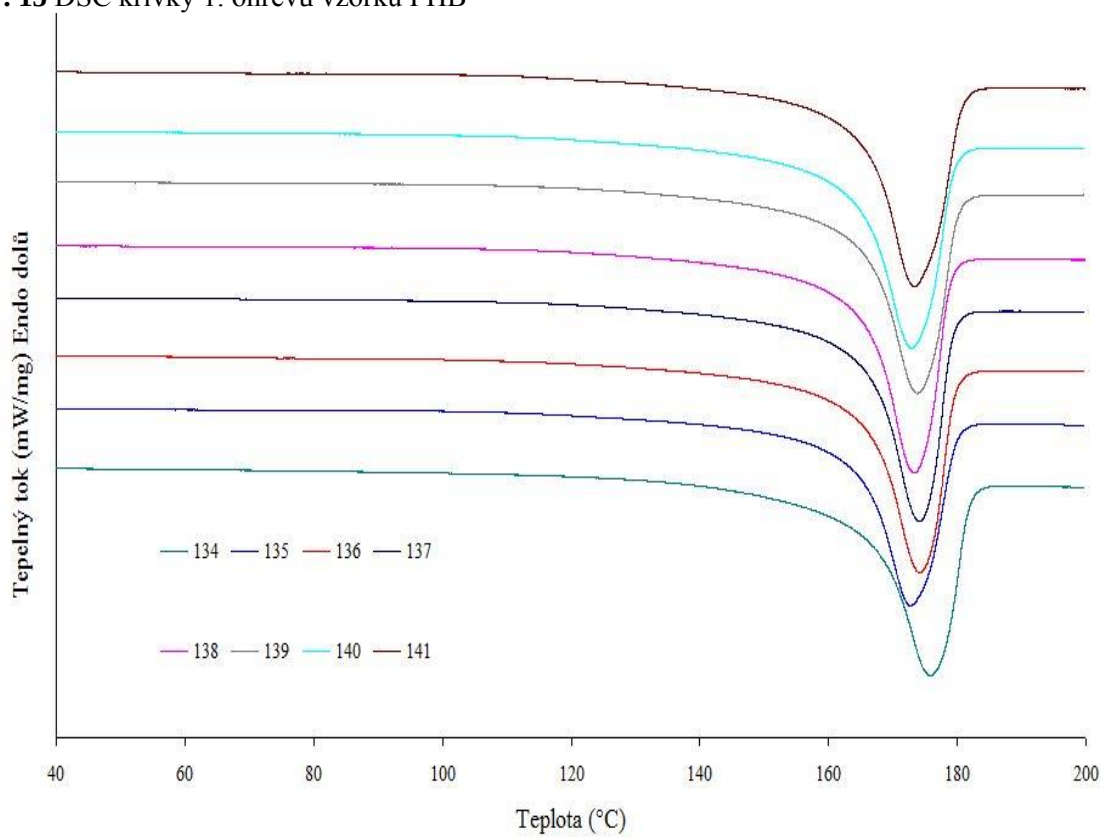
Rozdíly v hodnotách teploty tání a teploty krystalizace byly u obou ohřevů v rámci rozptylu měření, proto pravděpodobně nedošlo k degradaci vzorku.

Tabulka 5 Charakteristická DSC data prvního a druhého ohřevu vzorků PHB

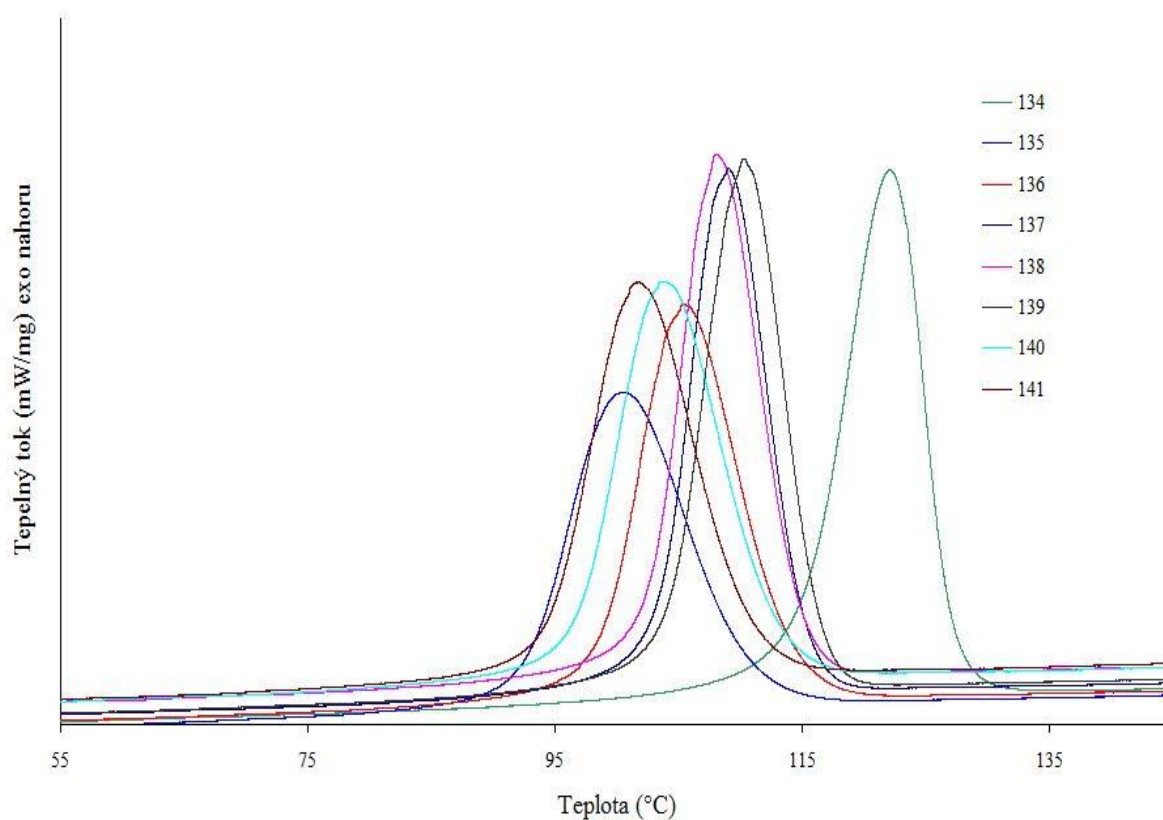
PHB-CE	134	135	136	137	138	139	140	141
T_{g1} [°C]	9 ± 8,2	10 ± 12,3	10 ± 9,4	-6 ± 6,4	10 ± 5,3	10 ± 4,9	10 ± 14,1	12 ± 8,1
T_{m1} [°C]	178 ± 0,1	176 ± 4,6	176 ± 3,91	177 ± 1,1	177 ± 0,1	177 ± 0,7	177 ± 0,5	176 ± 0,6
		185 ± 0,3	185 ± 0,2	186 ± 0,2		185 ± 0,1	186 ± 0,5	185 ± 0,3
T_{c1} [°C]	121 ± 0,9	100 ± 0,6	105 ± 1,5	109 ± 1,2	107 ± 1,25	110 ± 1,2	103 ± 0,7	100 ± 3
X_{c1} [%]	69	67	76	72	69	75	76	75
T_{m2} [°C]	176 ± 0,6	173 ± 0,2	174 ± 0,3	174 ± 2,6	174 ± 2,5	174 ± 2,7	173 ± 0,4	174 ± 3,1
T_{c2} [°C]	121 ± 0,4	93 ± 2	100 ± 2,2	108 ± 2,3	107 ± 2,4	109 ± 2,2	96 ± 0,4	97 ± 0,4
X_{c2} [%]	77	68	70	72	75	73	76	76



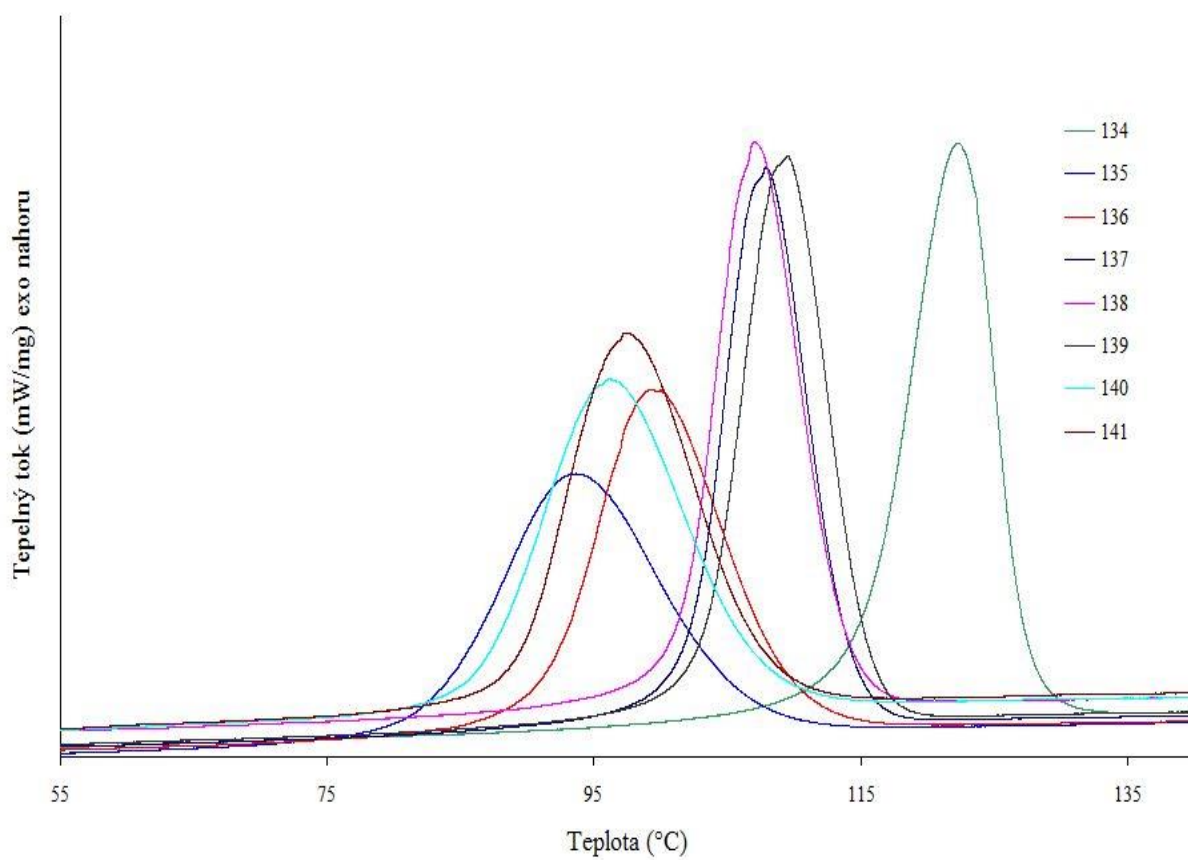
Obr. 15 DSC křivky 1. ohřevu vzorků PHB



Obr. 16 DSC křivky 2. ohřevu vzorků PHB



Obr. 17 DSC křivky 1. chlazení vzorků PHB



Obr. 18 DSC křivky 2. chlazení vzorků PHB

5.1.2. Termogravimetrická analýza

Termogravimetrický záznam vykázal u všech vzorků jedno-stupňový rozklad s teplotou nejrychlejšího úbytku hmotnosti (T_i) kolem 305 °C, z čehož lze konstatovat, že přítomnost nukleačních činidel rozkladný proces PHB neovlivnila. Protože se referenční vzorek rozložil beze zbytku, lze nerozložený zbytek po TGA analýze u anorganických činidel připsat jejich skutečnému obsahu. Z tabulky 6 je tak zřejmé, že se pohyboval v rozmezí 1,2–1,4 %. Sacharin a Tegmer se během ohřevu částečně rozložily a nerozložený podíl lze připsat obsahu popela.

Tabulka 6 Teplota nejrychlejšího úbytku a nerozložený podíl vzorků PHB

Vzorky	T_i [°C]	Nerozložený zbytek [hm. %]
134	306,4 ± 1,4	1,177 ± 0,1
135	304,0 ± 0,4	0,386 ± 0,0
136	303,7 ± 0,9	1,380 ± 0,0
137	305,3 ± 0,4	1,422 ± 0,3
138	306,9 ± 0,4	1,365 ± 0,3
139	307,0 ± 1,2	1,185 ± 0,0
140	304,7 ± 0,6	0,211 ± 0,0
141	307,6 ± 0,4	0,015 ± 0,1

5.1.3. Rentgenová difrakční analýza

Difraktogramy tenkých řezů měřených v podélném a příčném směru jsou uvedené na obr. 19 a 20.

Z celkového pohledu lze strukturu PHB vzorků hodnotit jako vysoce uspořádanou, protože většina difrakčních linií měla poměrně malou pološířku difrakční linie a díky malému množství amorfni fáze je i pozadí difraktogramů v oblasti 10–30° 2 θ zvednuté pouze málo. Porovnání difraktogramů reference s literaturou potvrdilo, že PHB vykazuje ortorombickou strukturu a nukleační činidla ji nezměnila. V oblastech nižších difrakčních úhlů (do 30° 2 θ) byly detekovány úzké linie s vysokou intenzitou, v oblastech nad 30° 2 θ pak linie širší s nižší intenzitou. Polohy hlavních difrakčních linií (2 θ) jsou pro vzorek reference spolu s mezirovinnou vzdáleností (d) uvedené v tabulce 8.

V podélném směru měření byly pozorovány rozdíly mezi vzorky v intenzitách difrakčních linií a mírných posuvech jejich poloh. K těm docházelo hlavně u vyšších difrakčních úhlů pravděpodobně vlivem přítomnosti nukleačních činidel. Nejvyšší intenzitu vykazovaly vzorky 135, 136 a 140. Intenzity nižší než reference vykazovaly vzorky 134, 137, 138 a 139, což naznačuje přítomnosti více defektních krystalitů. U vzorků obsahujících mastek byl průběh všech difraktogramů velmi podobný. Nejnižší intenzitu s většími šířkami difrakčních linií, které poukazují na širokou distribuci krystalických domén, vykázal vzorek s boronitridem, který funguje jako dobré nukleační činidlo. Posun poloh některých difrakčních linií poukazuje na rozdíl mezirovinných vzdáleností, tedy jinak velké základní stavební jednotky ortorombické struktury.

V příčném směru byly pozorovány podobné difference jako ve směru podélném spolu s mírným rozptylem poloh difrakčních linií. To je pravděpodobně způsobeno mírným rozdílem v orientaci krystalických domén v obou směrech, přednostní orientaci však lze díky stejnému počtu a pozici difrakčních linií vyloučit.

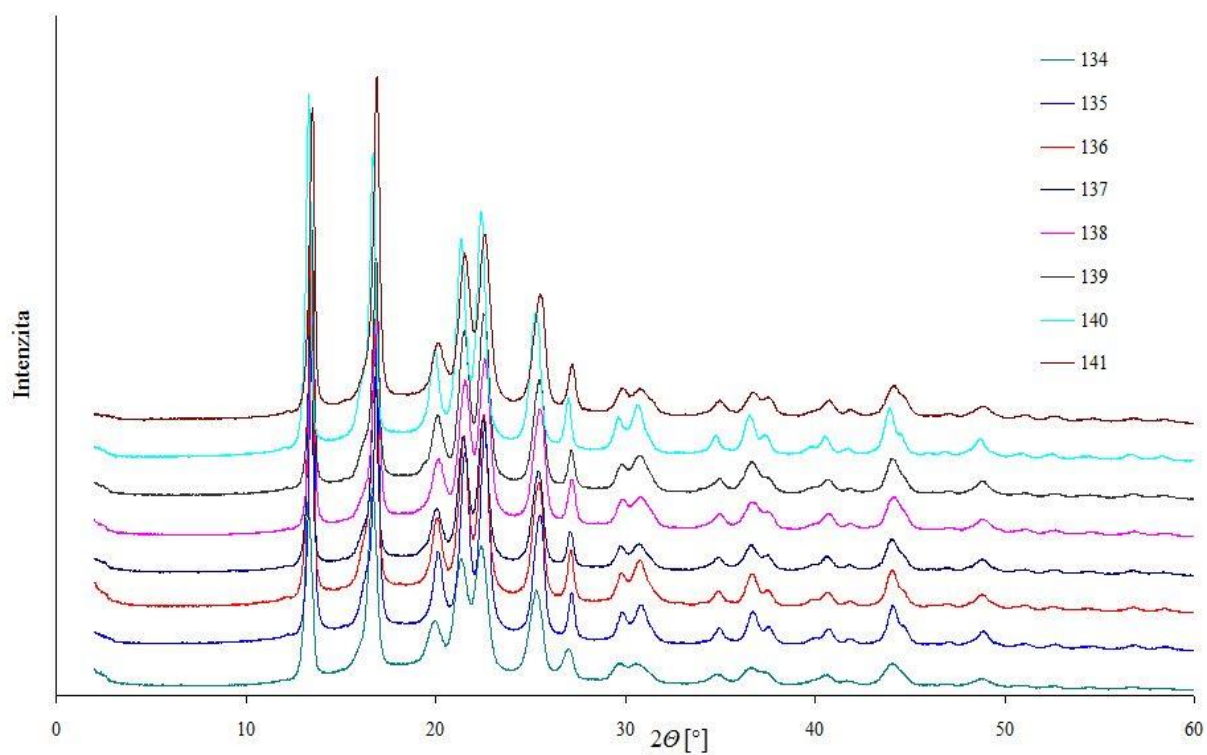
Šířka poloviny výšky nejintenzivnější difrakční linie v pozici $13,4^\circ 2\theta$ byla použita pro výpočet velikosti krystalu (D) dle Sherrerovi rovnice. Hodnoty D jsou spolu s hodnotami d uvedené v tabulce 7. Mezirovinná vzdálenost byla v podélném směru měření ve srovnání s referencí větší pouze u vzorku 134 a v příčném směru menší pouze u vzorku 138. Velikost krystalitů byla u všech vzorků kolem 50 nm. V podélném směru byl rozptyl hodnot ± 5 nm kromě vzorku 134, který byl nižší o 15 nm. V příčném směru byl rozměr krystalitů, ve srovnání s podélným směrem, nižší u vzorků 137, 140 a reference a vyšší u vzorku 134. Rozdíl svědčí o pravděpodobných defektech mezi které jistě patří kruhové praskliny a přednostní orientace kolem nukleačních činitelů.

Tabulka 7 Velikost krystalů D vzorků PHB z difrakční linie $13,4^\circ 2\theta$ včetně mezirovinné vzdálenosti d a poloviny šířky píku B v podélném a příčném směru měření

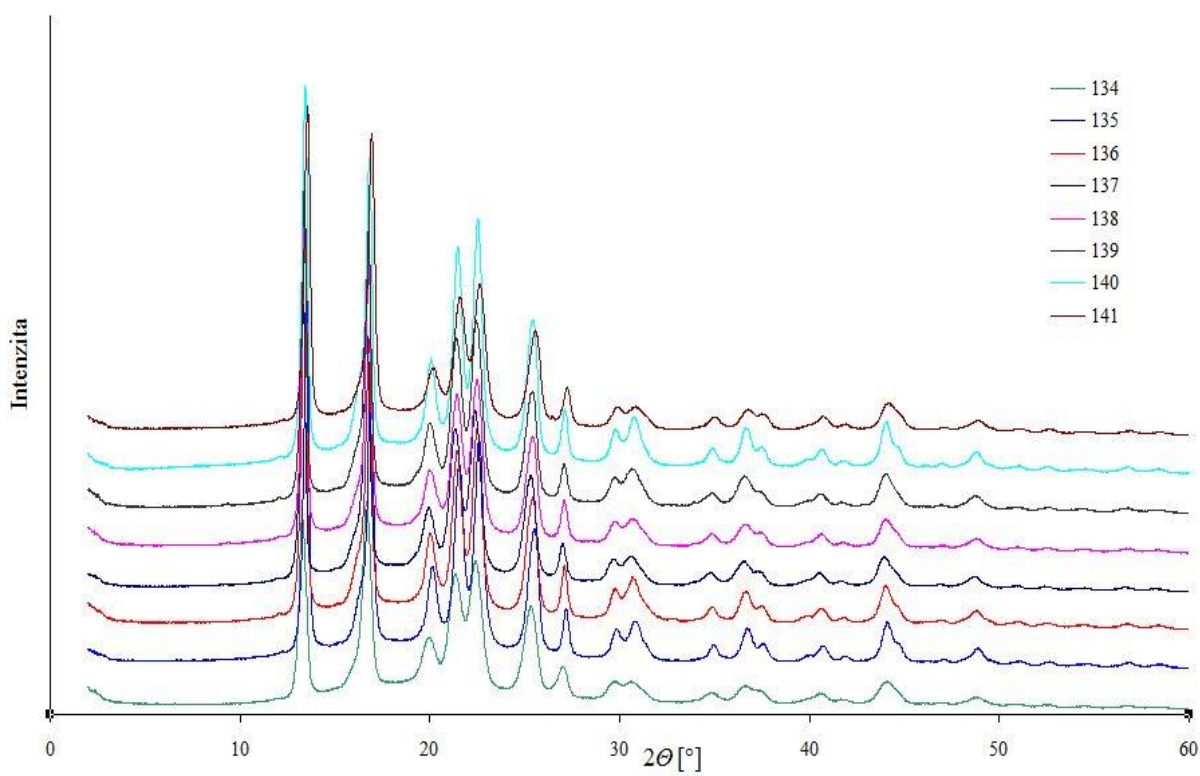
Vzorek	Podélný směr			Příčný směr		
	$2\theta [^\circ]$	d [nm]	D (nm)	$2\theta [^\circ]$	d [nm]	D (nm)
134	13,29	6,65	34,98	13,41	6,60	49,50
135	13,52	6,54	53,80	13,53	6,55	53,03
136	13,46	6,58	50,58	13,43	6,59	50,18
137	13,42	6,59	53,78	13,33	6,64	49,93
138	13,53	6,54	45,88	13,41	5,28	43,73
139	13,51	6,55	52,24	13,40	6,60	52,71
140	13,34	6,63	53,23	13,44	6,58	48,10
141	13,53	6,54	49,38	13,57	6,52	44,57

Tabulka 8 Polohy hlavních difrakčních linií 2θ pro vzorek reference spolu s mezirovinnou vzdáleností (d)

$2\theta [^\circ]$	6,6	13,4	16,8	20,0	21,4	22,5	25,4	27,1	29,7	30,6	31,3
d [nm]	13,3	6,6	5,3	4,4	4,1	4,0	3,5	3,3	3,0	2,9	2,9
$2\theta [^\circ]$	34,8	36,6	37,4	40,7	41,7	44,0	46,9	48,7	51,0	56,7	58,3
d [nm]	2,6	2,5	2,4	2,2	2,2	2,1	1,9	1,9	1,8	1,6	1,6



Obr. 19 Difraktogram tenkých řezů PHB vzorků pro podélný směr měření



Obr. 20 Difraktogram tenkých řezů PHB vzorků pro příčný směr měření

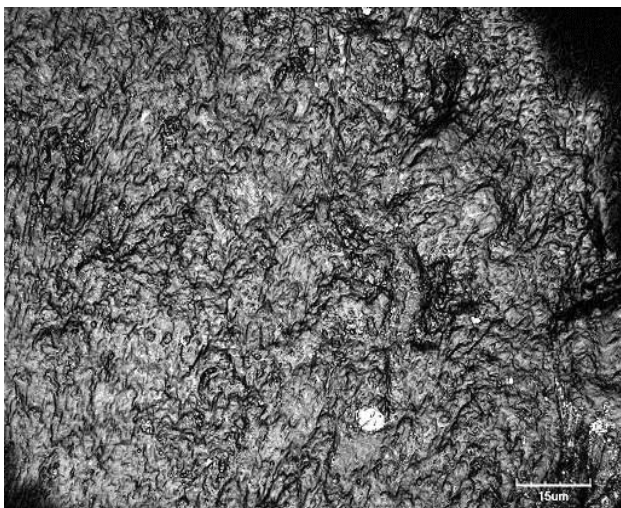
5.1.4. Konfokální laserová rastrovací mikroskopie

Souhrn výsledků leptání povrchu vzorků PHB je po pozorování na konfokálním laserovém rastrovacím mikroskopu uveden v tabulce 9. Vzorky leptané směsí 1 byly vyhodnoceny jako nevyleptané, protože rozdíl mezi leptaným a neleptaným povrchem byl minimální viz obr. 21 a 22. Optimalizace leptací směsi zvýšením koncentrace KOH a prodloužením doby leptání dalo stejný výsledek. U tenkých řezů vybraných vzorků vystavených leptací směsí 4 došlo v porovnání s neleptaným povrchem k částečnému naleptání, ale velmi malému, takže vzorky byly vyhodnocené jako viz. 29 a 30.

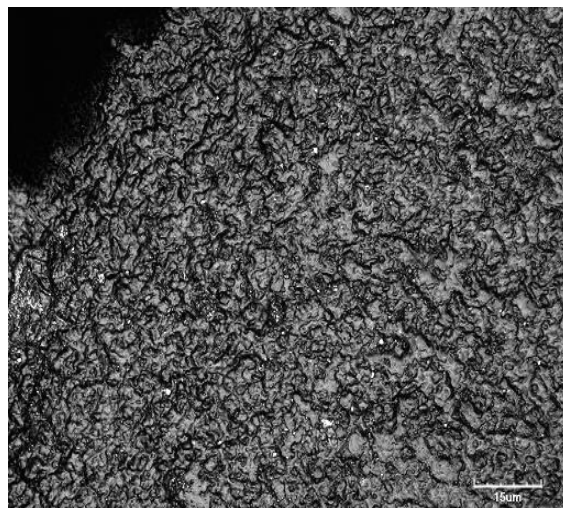
U vzorků po DSC analýze leptaných směsí 2 byla odkryta nadmolekulární struktura a byly pozorovány sférolity s kruhovými prasklinami, které jsou pro PHB charakteristické. Snímky sférolitické struktury vzorků 136 a 140 po DSC jsou uvedené na obr. 25 a 26, detaily struktury jsou zobrazené na obr. 27 a 28. Zřetelné jsou praskliny a prstence vzniklé ohybem lamelárních krystalů rostoucích v radiálním směru. Velikost pozorovaných sférolitů odkazuje u vzorku 140 na nižší a u vzorku 136 na žádnou nukleační aktivitu činidla Tegmer a hydroxyapatit. Pozorovaná struktura, ale nepřísluší původnímu vzorku. Ta byla roztavena během prvního ohřevu a nově vytvořená struktura vzniklá za řízených podmínek DSC analýzy.

Tabulka 9 Zhodnocení účinnosti leptacích směsí

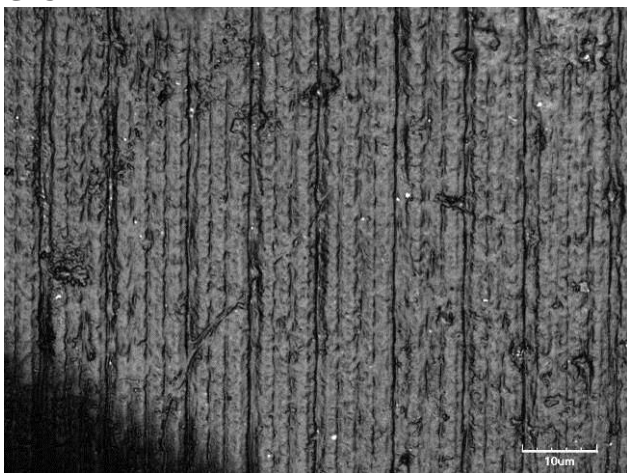
Vzorek	Leptací směs / doba leptání (h)			
	1 / 0,5	2 / 1	3 / 1	4 / 1,5
136	Neodleptáno			
137				
139				
140	Neodleptáno	Neodleptáno	Neodleptáno	
141	Neodleptáno	Neodleptáno	Neodleptáno	
136 poDSC)	Odleptáno			Odleptáno
140 po DSC)	Odleptáno			Odleptáno
141 po DSC)	Odleptáno			Odleptáno
139 tTenký řez				Neodleptáno
140 tTenký řez				Neodleptáno
141 tenký řez				Neodleptáno



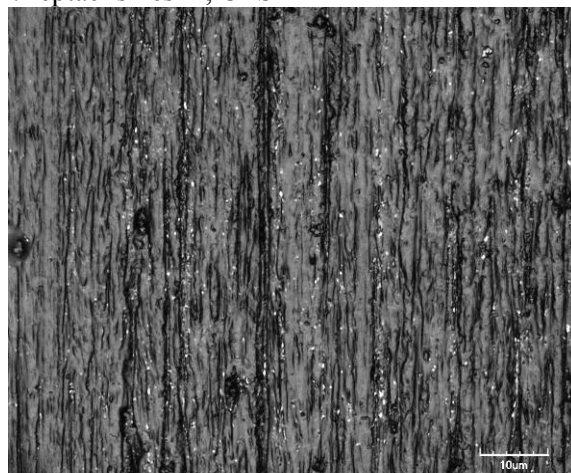
Obr. 21 Snímek povrchu vzorku 137 neleptaný, CLSM



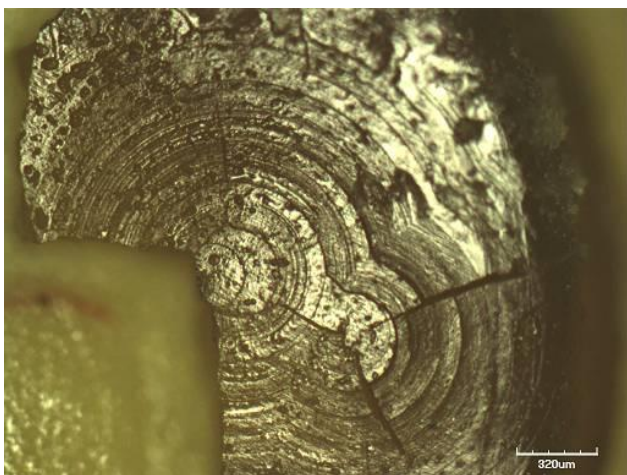
Obr. 22 Snímek povrchu vzorku 137 po 30 v leptací směsi 1, CLSM



Obr. 23 Snímek povrchu vzorku 141 neleptaný



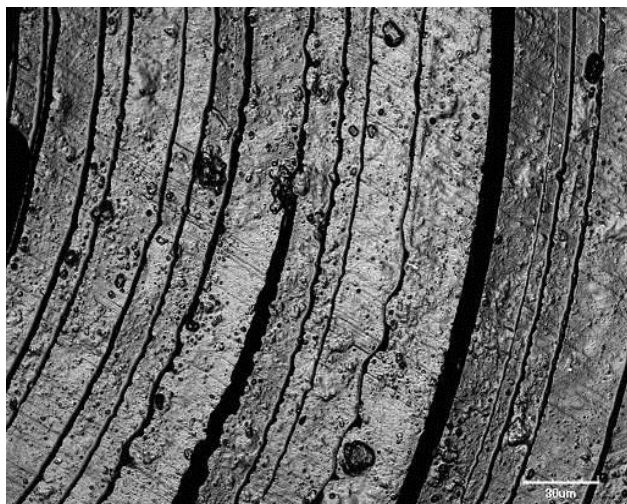
Obr. 24 Snímek povrchu vzorku 141 po 30 min v leptací směsi 3, CLSM



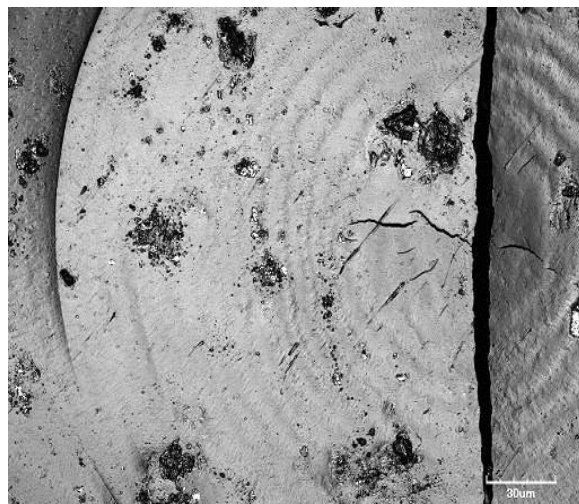
Obr. 25 Snímek povrchu vzorku 136 po DSC a 60 min v leptací směsi 2, CLSM



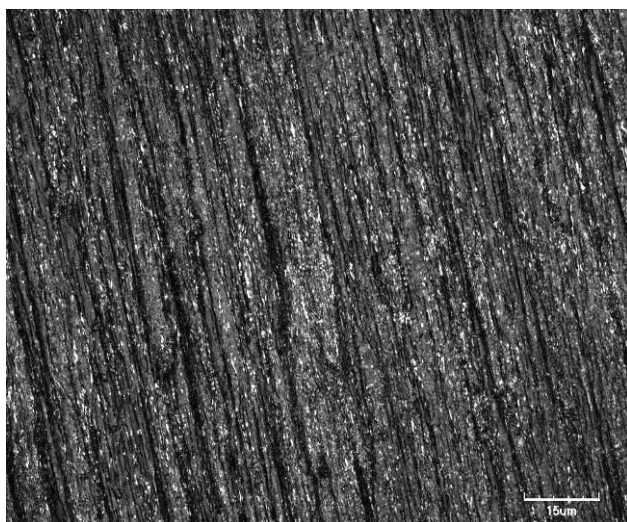
Obr. 26 Snímek povrchu vzorku 140 po DSC a 60 min v leptací směsi 2, CLSM



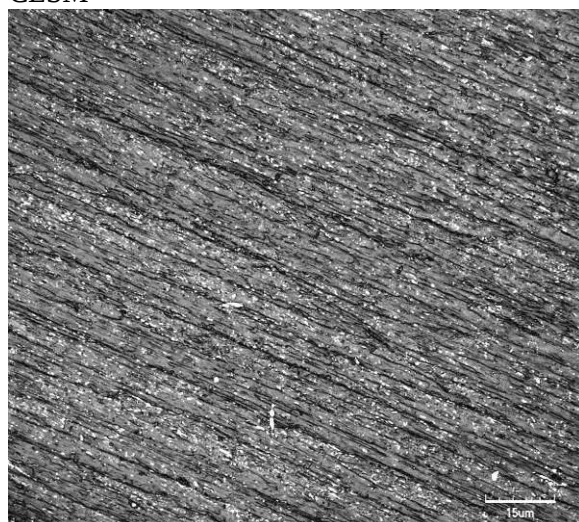
Obr. 27 Snímek části sférolitu vzorku 136 po DSC a 60 min v leptací směsi 2, CLSM



Obr. 28 Snímek části prstencového sférolitu vzorku 140 po DSC a 60 min v leptací směsi 2, CLSM



Obr. 29 Snímek povrchu tenkého řezu vzorku 141 po 60 min v leptací směsi 4



Obr. 30 Snímek povrchu tenkého řezu reference, po 60 min v leptací směsi 4

5.2. Nukleační aktivita aditiv

5.2.1. Polarizační optická mikroskopie

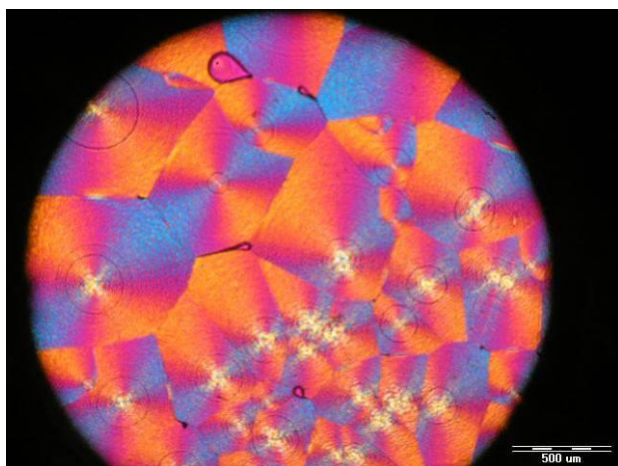
Nadmolekulární struktura vzorku reference je po neizotermické krystalizaci z taveniny zobrazena na obr. 31–36. Jedná se o sférolitickou strukturu a je zřejmé, že klesající rychlost krystalizace vedla ke snížení počtu a zvětšení velikosti sférolitů, protože měly více prostoru a času k růstu. Ve sférolitech jsou zřetelné kruhové trhliny, které vznikají během růstu a pro PHB jsou charakteristické. Hrubozrnná struktura, tedy malý počet velkých sférolitů o průměrné velikosti 300–600 μm viz obr. 31, vznikla při $T_{c\text{POM}}$ 2,5 °C/min zatímco značně jemnější struktura (průměrná velikost sférolitů 100–150 μm, obr. 34 při 20 °C/min. Velikost sférolitů byla při $T_{c\text{POM}}$ 5 a 10 °C/min přibližně stejná a pohybovala se v rozmezí 250–400 μm, viz obr. 32 a 33. Sférolity rostly od počátku všemi směry a po spojení vytvořily viditelné hranice. Sférolity vykazují při zobrazení pod zkříženými polarizátory a sádrovcovou destičkou pravidelné rozložení modrých a žlutých oblastí ze strukturou Maltézského kříže. Pozice modré a žluté barvy je ve kvadrantu I a III, což znamená, že dvojlom má pozitivní

charakter. Stejný charakter sférolitické struktury vykazaly i všechny ostatní vzorky PHB stejně tak jako trend vlivu $T_{c\text{POM}}$ kromě vzorku 136, který při $T_{c\text{POM}}$ 20 °C/min vykázal podobný počet sférolitů, které vznikly při $T_{c\text{POM}}$ 5 °C/min. Lišila se pouze četnost a velikost vzniklých sférolitů.

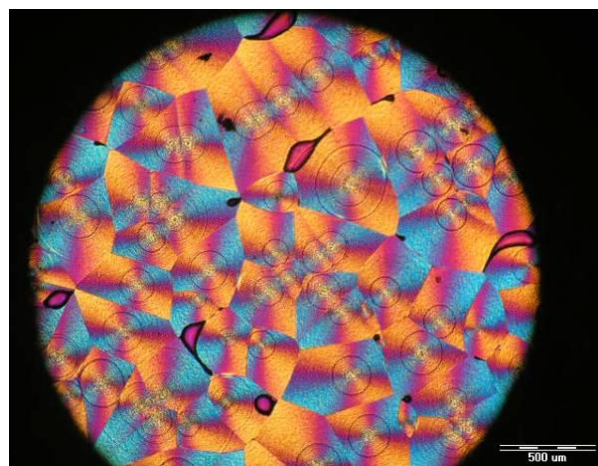
Vzorek PHB obsahující boronitrid vykázal velmi jemnozrnnou strukturu pro všechny rychlosti chlazení, kde nebylo možné rozeznat jednotlivé sférolity obr. 37–42. Boronitrid se projevil jako typické nukleační činidlo.

Vznik sférolitické struktury byl v závislosti na $T_{c\text{POM}}$ u vzorku 135 obsahující sacharin podobný referenci obr. 43–48. Sacharin se jako nukleační činidlo neprojevil. Jako typické nukleační činidlo se neprojevil ani hydroxyapatit (obr. 49–54) ani Tegmer (obr. 61–66), byť u vzorku 140 vzniklo při $T_{c\text{POM}}$ 5 a 10 °C/min ve srovnání s referencí větší množství sférolitů, s velikostí 200–400 μm.

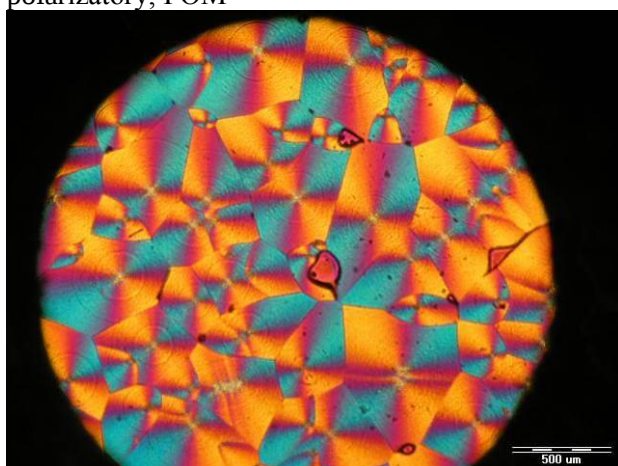
Mastek HTP-1 se jako nukleační činidlo projevil. Byl pozorován vznik jemnozrnné struktury s malými sférolity o velikosti 50–100 μm viz obr. 55–60, která se s klesající teplotou chlazení neměnila. Struktura Maltézského kříže byla méně výrazná a méně bylo také kruhových trhlin, které pokud už vznikly, nebyly tak „ostré“ (obr. 55) jako u ostatních vzorků kromě vzorku 134. Vzniklé sférolity byly velmi těsně uspořádány a vykazovali prstencovou strukturu, která vzniká v důsledku kroucení lamelárních krystalů při radiálním růstu. Četnost vzniklých prstenců se zvyšovala s klesající rychlostí chlazení. V porovnání s BN projevil mastek HTP-1 nižší nukleační aktivitu.



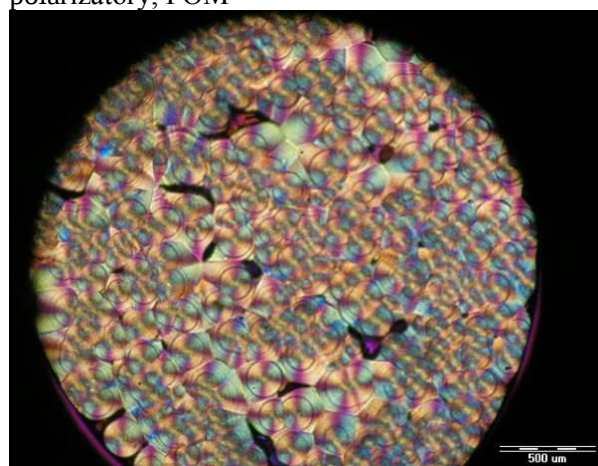
Obr. 31 Snímek sférolitu vzorek 141 po chlazení rychlostí 2,5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



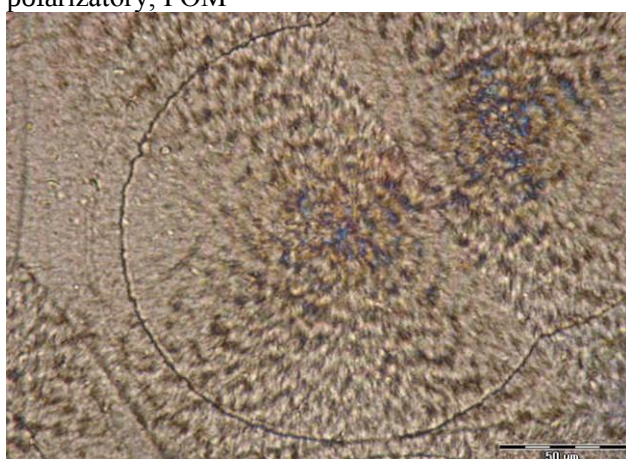
Obr. 32 Snímek sférolitu vzorek 141 po chlazení rychlostí 5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



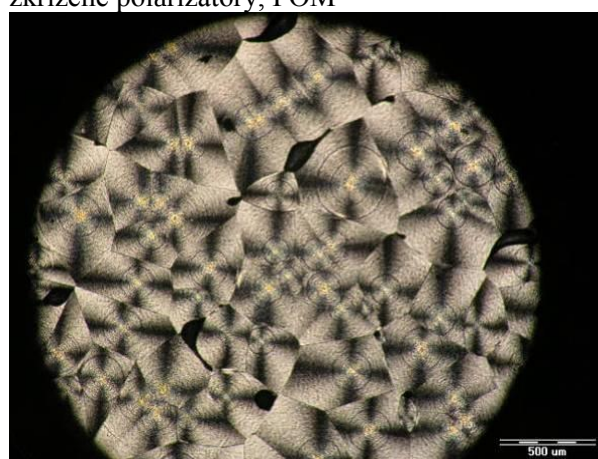
Obr. 33 Snímek sférolitu vzorek 141 po chlazení rychlostí 10 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



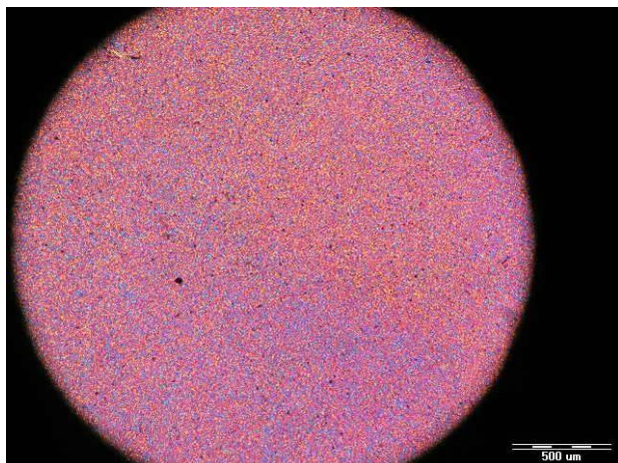
Obr. 34 Snímek sférolitu vzorek 141 po chlazení rychlostí 20 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



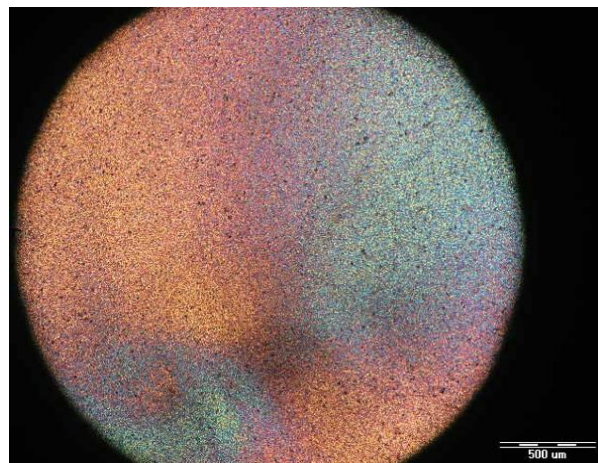
Obr. 35 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 141, rychlost chlazení 10 °C/min, zkřížené polarizátory, POM



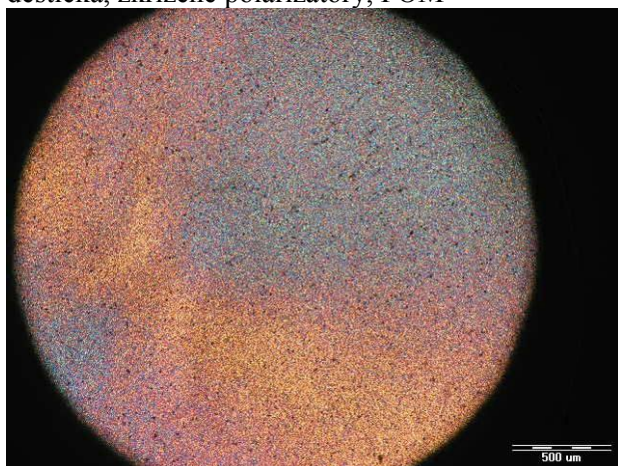
Obr. 36 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 141 po chlazení rychlostí 5 °C/min zkřížené polarizátory, POM



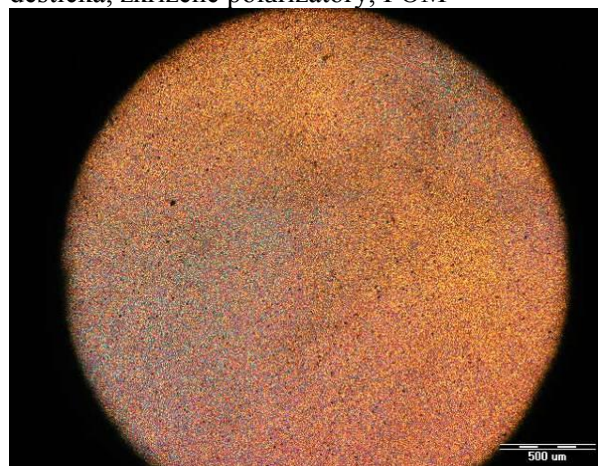
Obr. 37 Snímek nadmolekulární struktury, vzorku 134, po chlazení rychlostí 2,5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



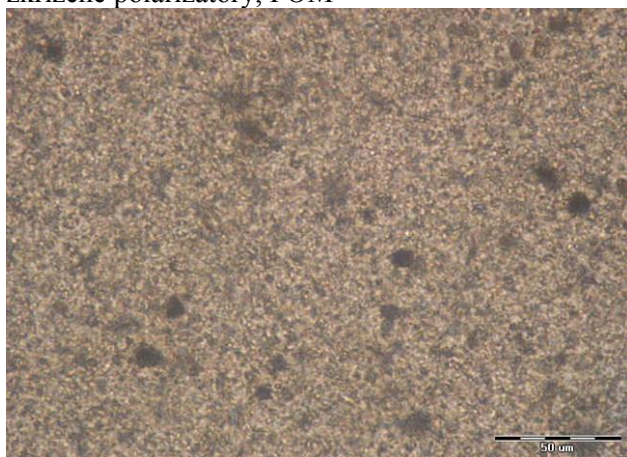
Obr. 38 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134 po chlazení rychlostí 5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 39 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134 po chlazení rychlostí 10 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



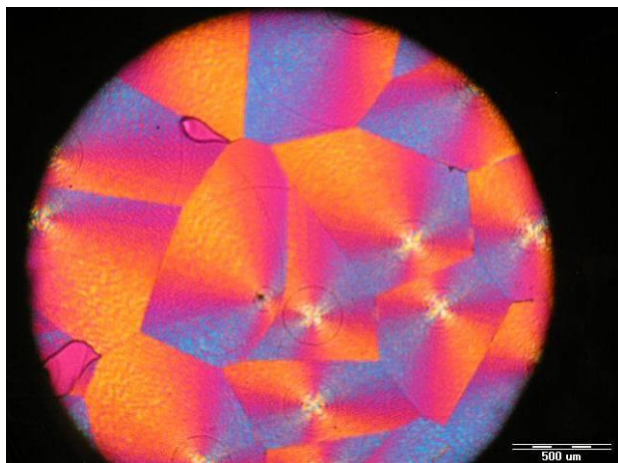
Obr. 40 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134 po chlazení rychlostí 20 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



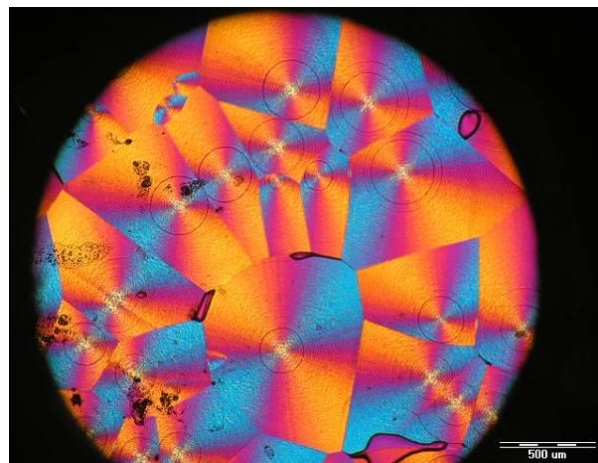
Obr. 41 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134, rychlost chlazení 10 °C/min, zkřížené polarizátory, POM



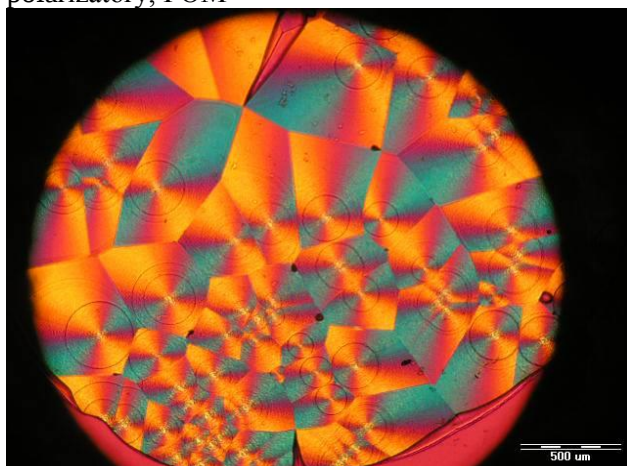
Obr. 42 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134 po chlazení rychlostí 5 °C/min zkřížené polarizátory, POM



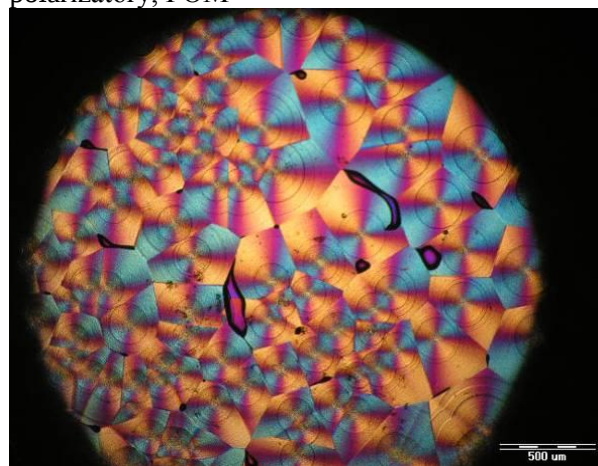
Obr. 43 Snímek sférolitu vzorek 135 po chlazení rychlostí 2,5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



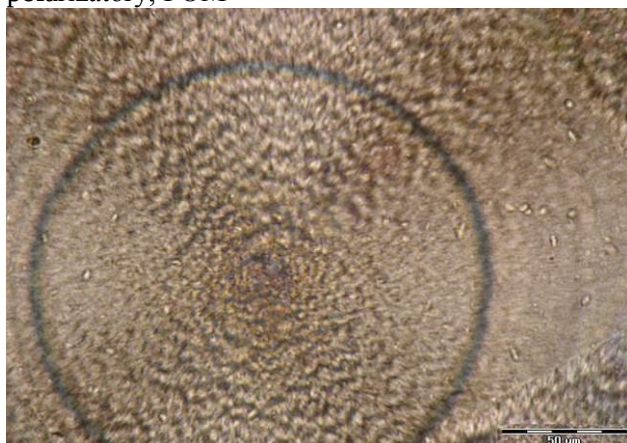
Obr. 44 Snímek sférolitu vzorek 135 po chlazení rychlostí 5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



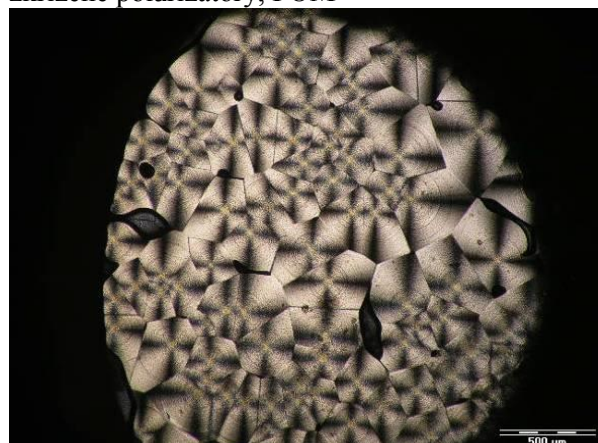
Obr. 45 Snímek sférolitu vzorek 135 po chlazení rychlostí 10 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



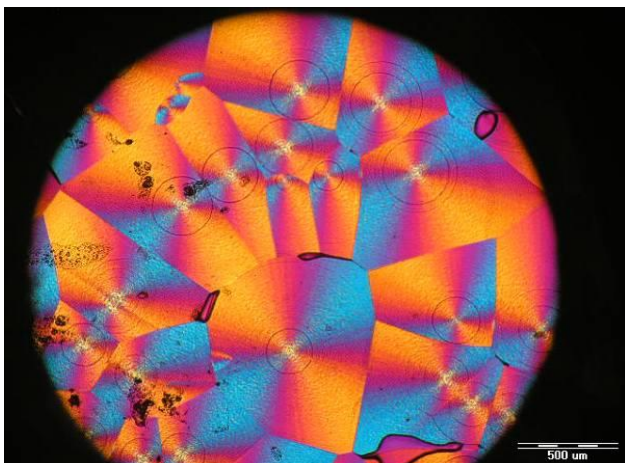
Obr. 46 Snímek sférolitu vzorek 135 po chlazení rychlostí 20 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



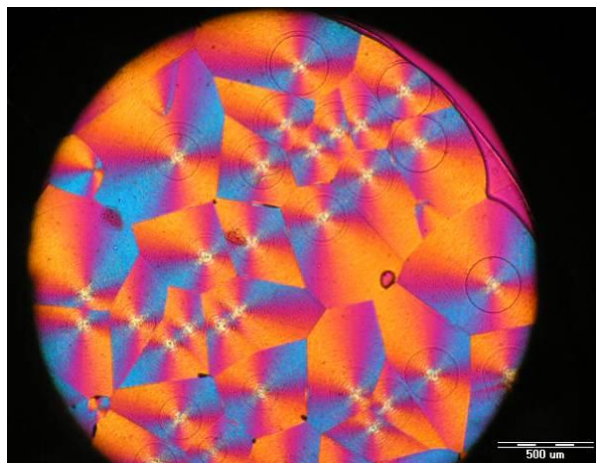
Obr. 47 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 135, rychlost chlazení 10 °C/min, zkřížené polarizátory, POM



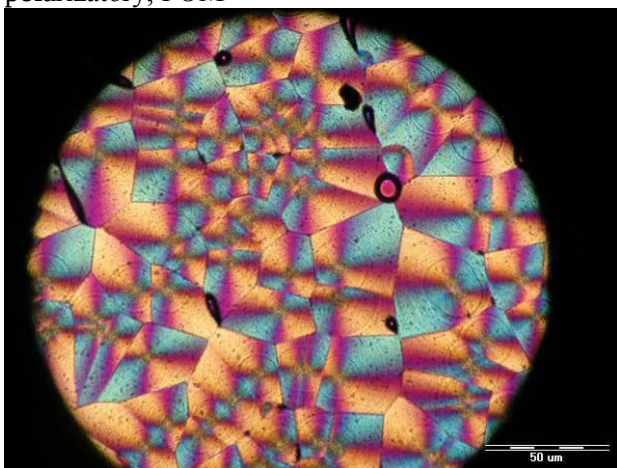
Obr. 48 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 135 po chlazení rychlostí 20 °C/min zkřížené polarizátory, POM



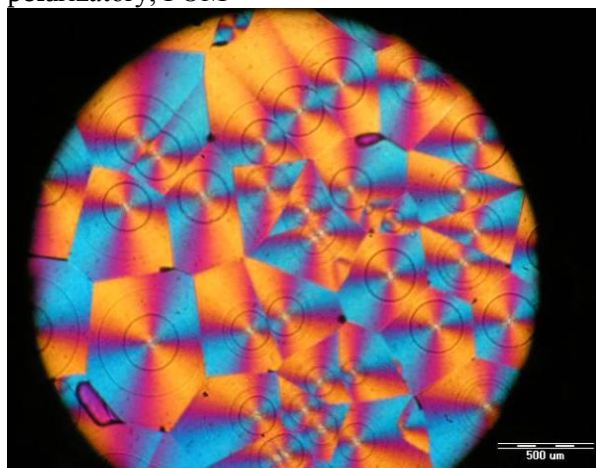
Obr. 49 Snímek sférolitu vzorek 136 po chlazení rychlostí 2,5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



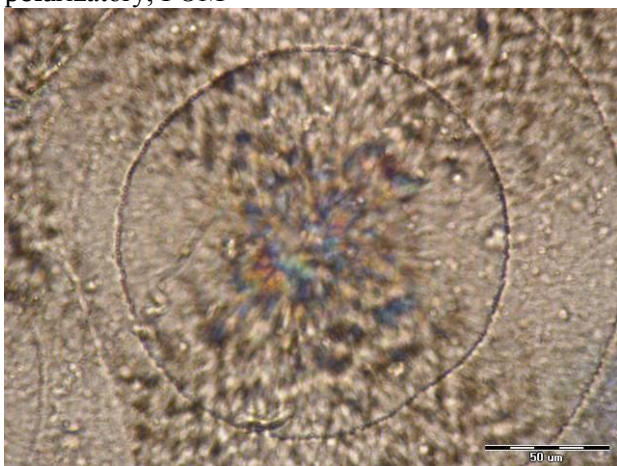
Obr. 50 Snímek sférolitu vzorek 136 po chlazení rychlostí 5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 51 Snímek sférolitu vzorek 136 po chlazení rychlostí 10 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



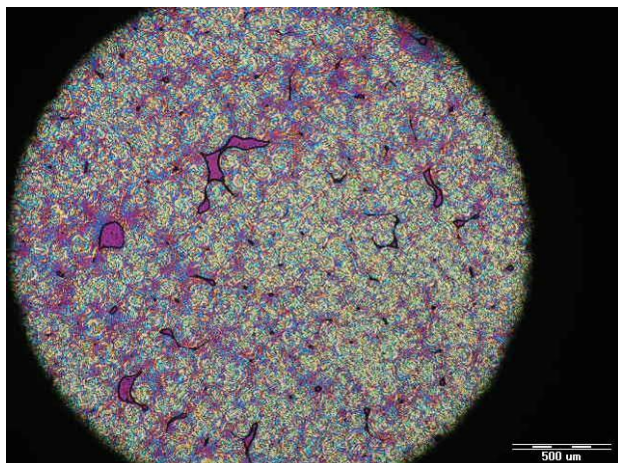
Obr. 52 Snímek sférolitu vzorek 136 po chlazení rychlostí 20 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



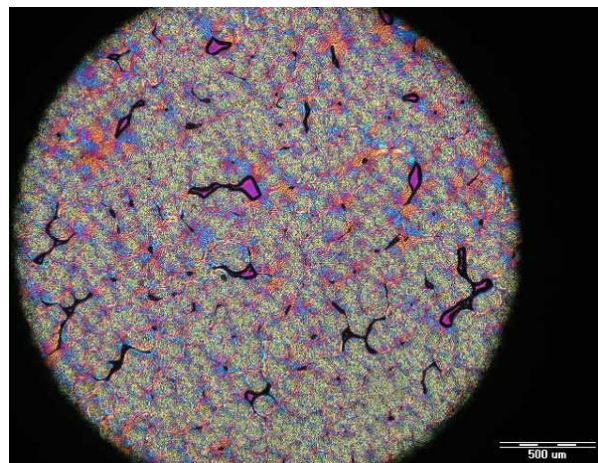
Obr. 53 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 136, rychlost chlazení 10 °C/min, zkřížené polarizátory, POM



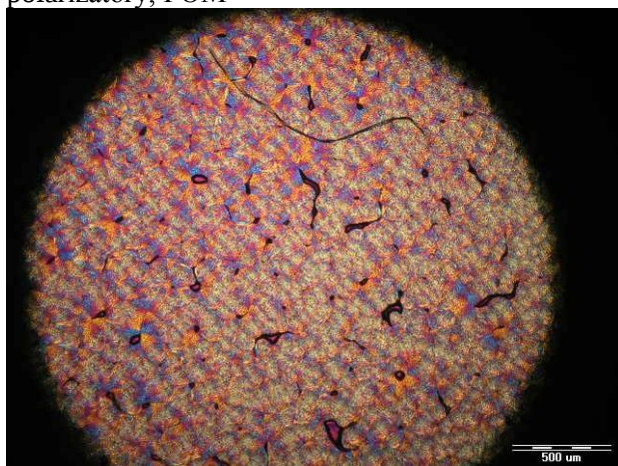
Obr. 54 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 136 po chlazení rychlostí 10 °C/min zkřížené polarizátory, POM



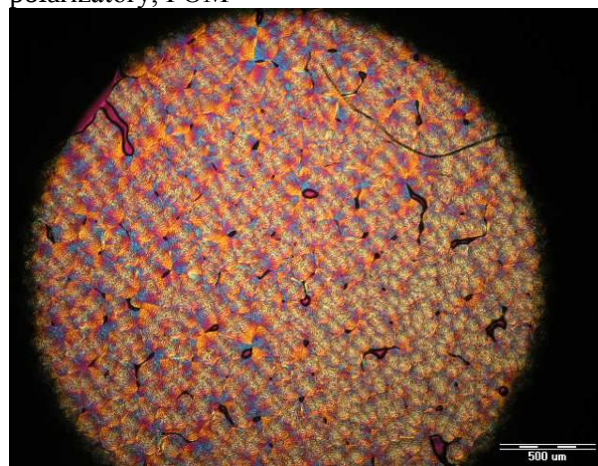
Obr. 55 Snímek sférolitu vzorek 139 po chlazení rychlostí 2,5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



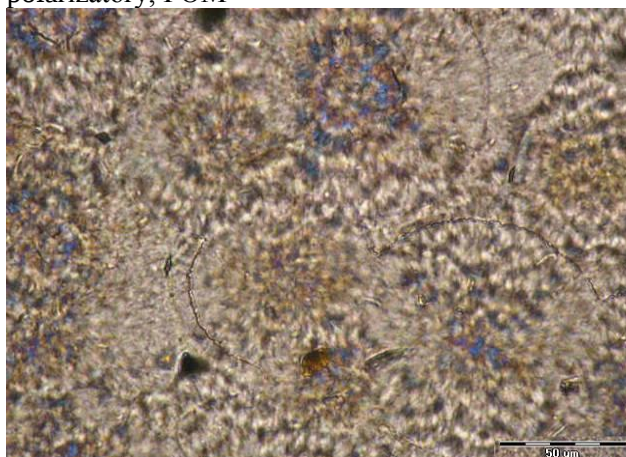
Obr. 56 Snímek sférolitu vzorek 139 po chlazení rychlostí 5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



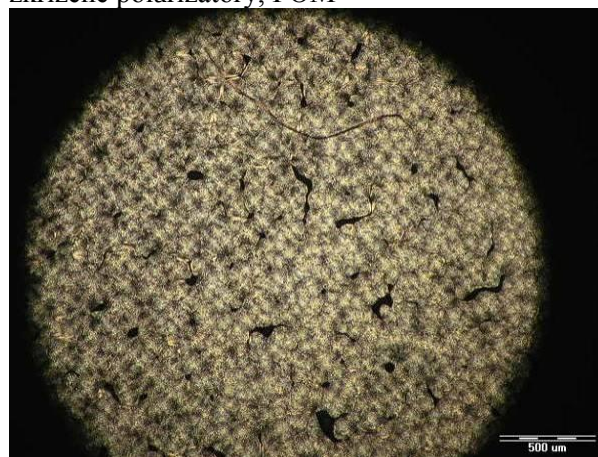
Obr. 57 Snímek sférolitu vzorek 139 po chlazení rychlostí 10 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



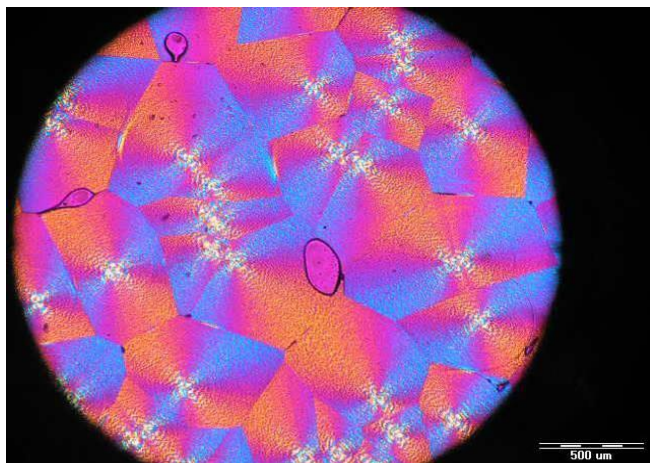
Obr. 58 Snímek sférolitu vzorek 139 po chlazení rychlostí 20 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



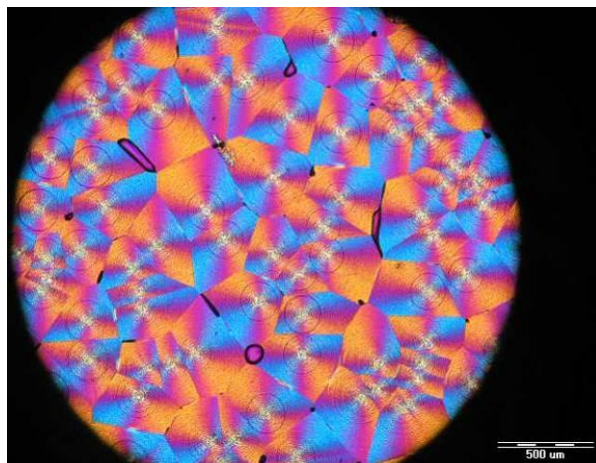
Obr. 59 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 139, rychlost chlazení 10 °C/min, zkřížené polarizátory, POM



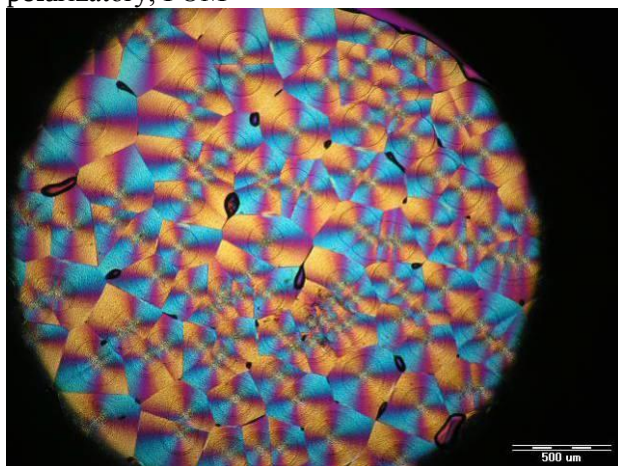
Obr. 60 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 139 po chlazení rychlostí 10 °C/min zkřížené polarizátory, POM



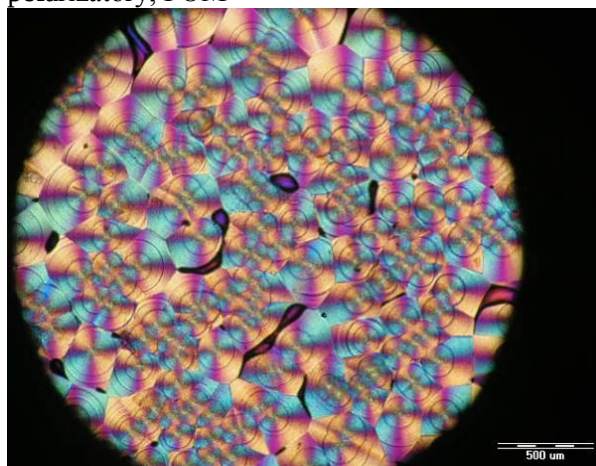
Obr. 61 Snímek sférolitu vzorek 140 po chlazení rychlostí 2,5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 62 Snímek sférolitu vzorek 140 po chlazení rychlostí 5 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



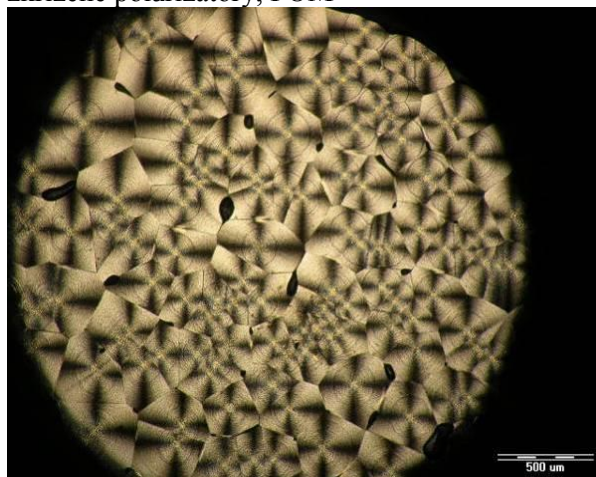
Obr. 63 Snímek sférolitu vzorek 140 po chlazení rychlostí 10 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 64 Snímek sférolitu vzorek 140 po chlazení rychlostí 20 °C/min, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 65 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 140, rychlost chlazení 10 °C/min, zkřížené polarizátory, POM,



Obr. 66 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 140 po chlazení rychlostí 10 °C/min zkřížené polarizátory, POM

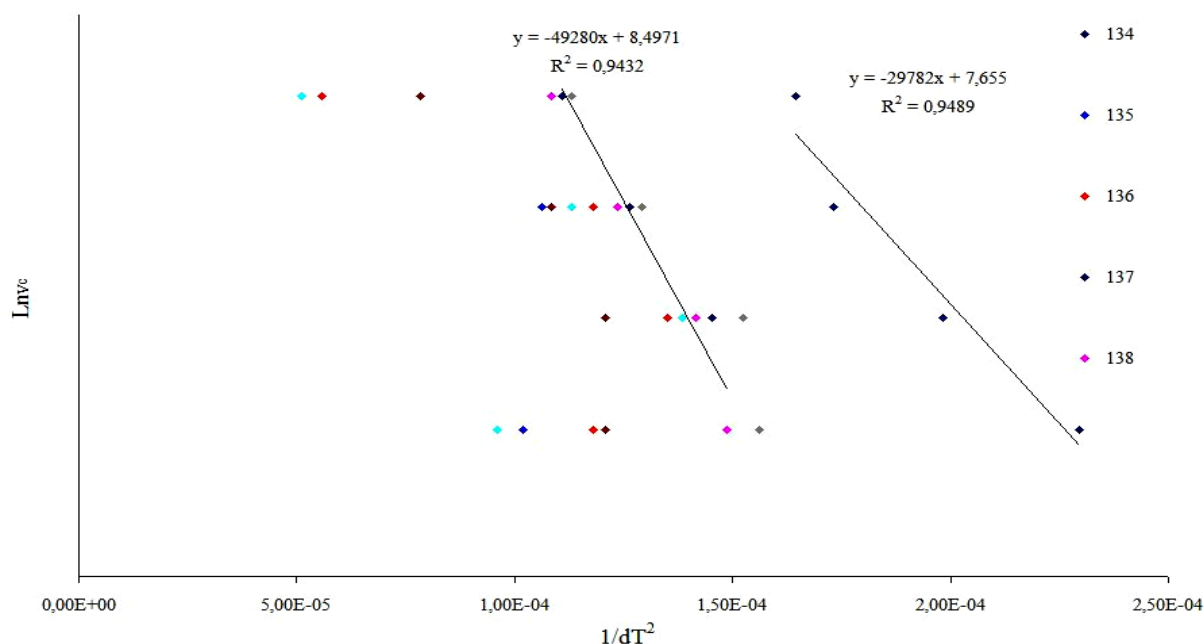
5.2.2. Neizotermická krystalizace na kalorimetru

Kalorimetrické křivky neizotermické krystalizace jsou pro všechny vzorky uvedené na obr. 68–75. Krystalizační teploty jsou pro všechny vzorky shrnuté v tabulce 10 a závislost logaritmu rychlosti chlazení (v_c) na podchlazení ($1/\Delta T^2$) jsou uvedené na obr. 67. Už tvar kalorimetrických křivek naznačuje, že proces krystalizace se s v_c nemění lineárně (jak teplo tak teplota krystalizace) a to ani u reference, což je základní fakt toho, že nukleační aktivitu činidel dle teorie Hofman-Week [39] nelze vyhodnotit. Lineární závislosti v_c na $1/\Delta T^2$ se nejvíce blíží data vzorků PHB s BN a mastky (obr. 67), které jako nukleační činidlo působí, jak prokázalo mikroskopické pozorování nadmolekulární struktury vzniklé při neizotermické krystalizaci za stejných podmínek, ale srovnání dat s referencí vede k hodnotám nukleační aktivity větší jak 1, a naopak, u činidel, která jsou nukleačně neaktivní by výpočet poskytl hodnotu nukleační aktivity kolem 0,5 a nižší, což je zcela nesmyslné.

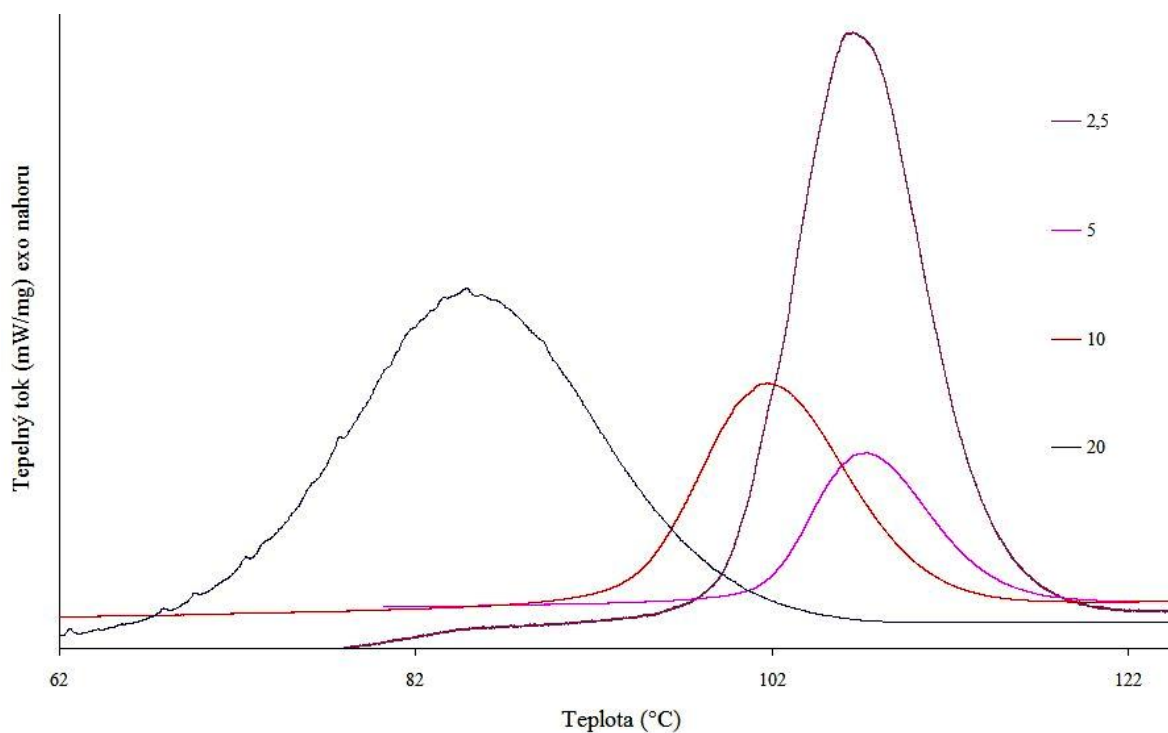
Teplota krystalizace je u vzorků obsahujících BN a mastky pro všechny v_c vyšší, u vzorků s činidly nukleačně neaktivními nižší nebo stejná. Výrazně nižší je T_c pro v_c 2,5 °C, kdy se hydroxyapatit, sacharin a Tegmer chovají jako nukleační inhibitory, protože pro zahájení nukleace a růstu je potřeba velkého podchlazení. Rozdíl se vzhledem k referenci smazává pro v_c 5 a 10 °C/min a nižší je opět pro v_c 20 °C/min.

Tabulka 10 Teplota krystalizace vzorků PHB při neizotermické krystalizaci provedené na kalorimetru při rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min

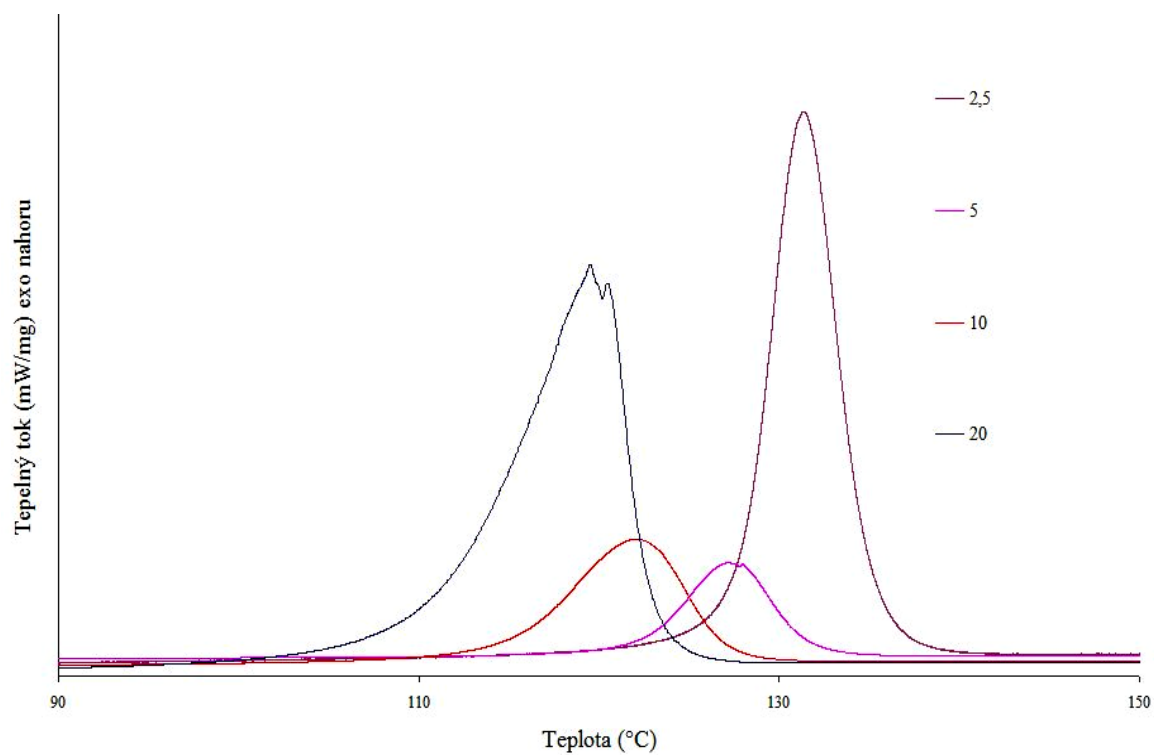
v_c [°C/min]	134	135	136	137	138	139	140	141
	T_c [°C]							
2,5	131	98	105	115	115	117	95	106
5	126	106	111	114	113	116	112	106
10	121	100	105	108	107	109	103	101
20	119	63	63	102	101	103	57	84



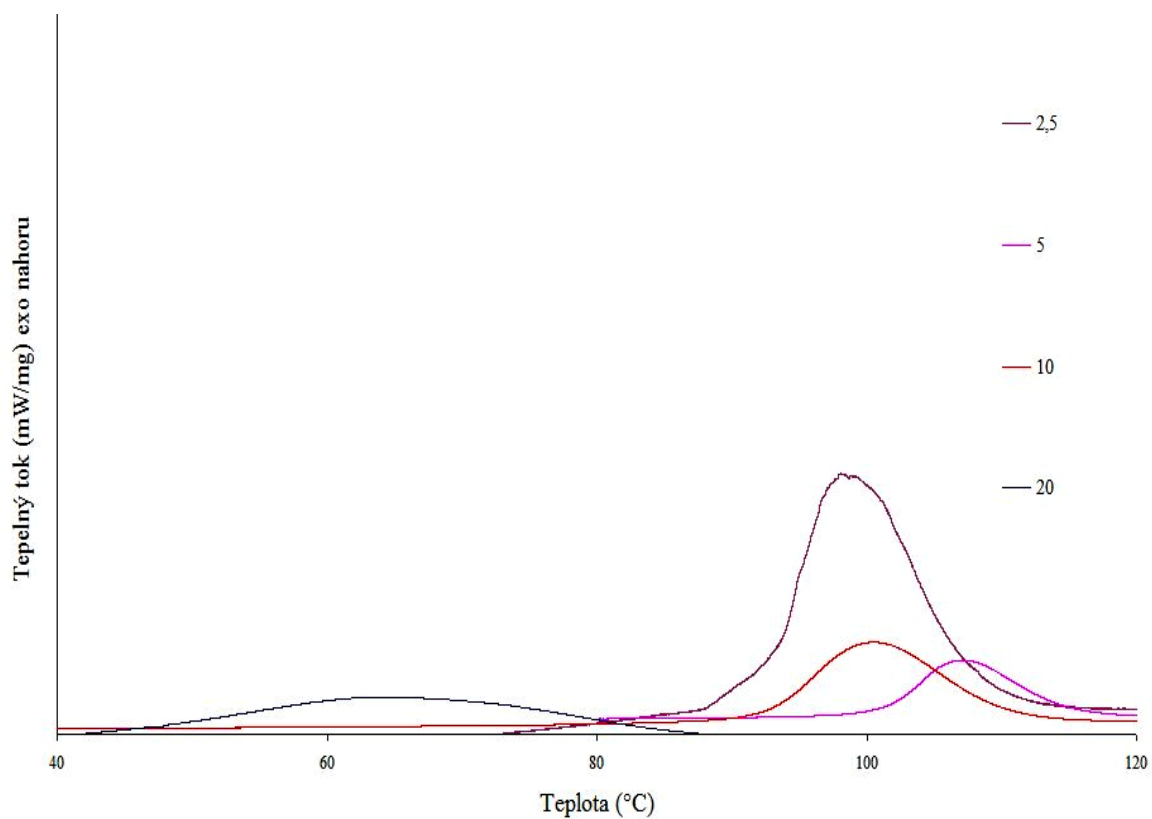
Obr. 67 Závislost logaritmu v_c na $1/\Delta T^2$ ze spojnicí trendu u vzorku 134 a 137



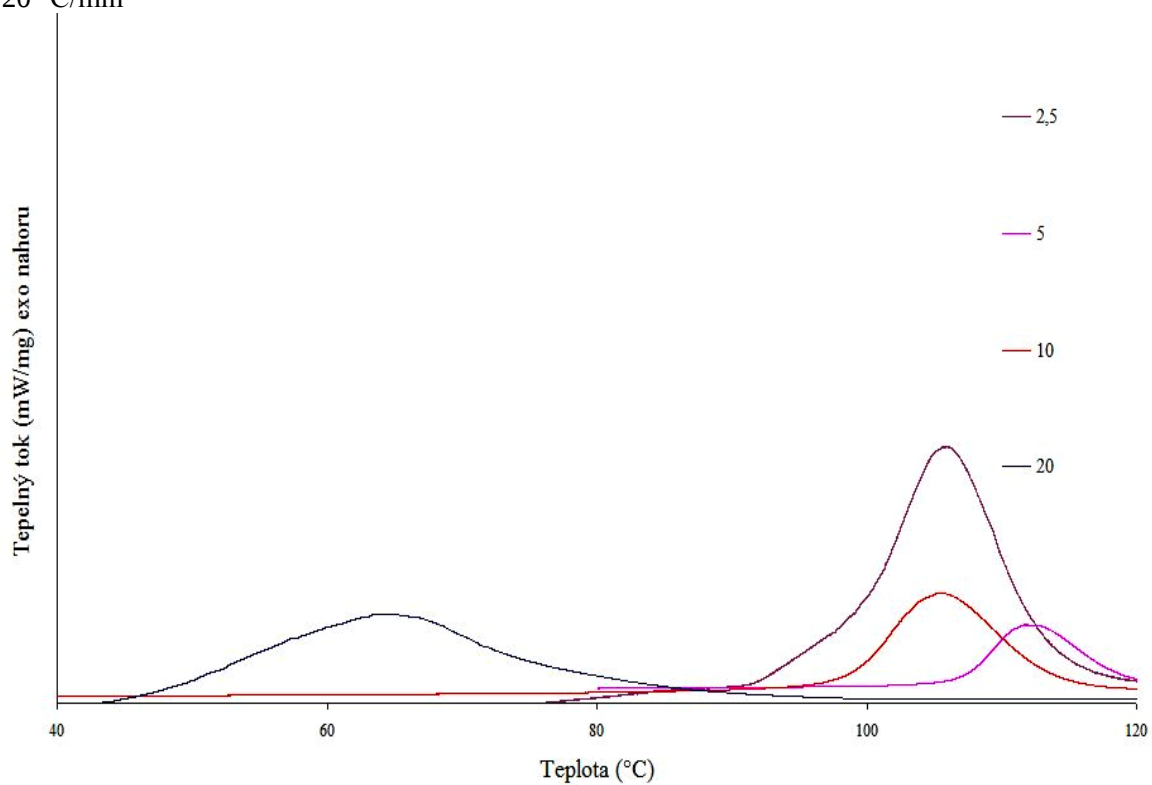
Obr. 68 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku reference pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



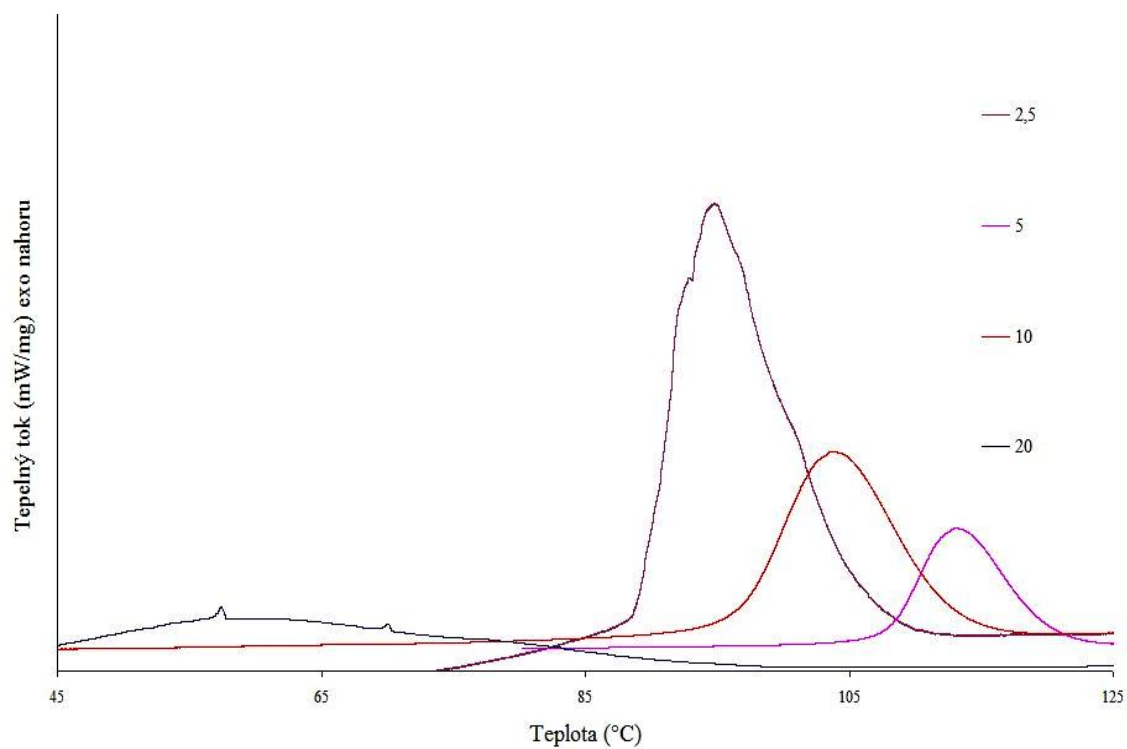
Obr. 69 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 134 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



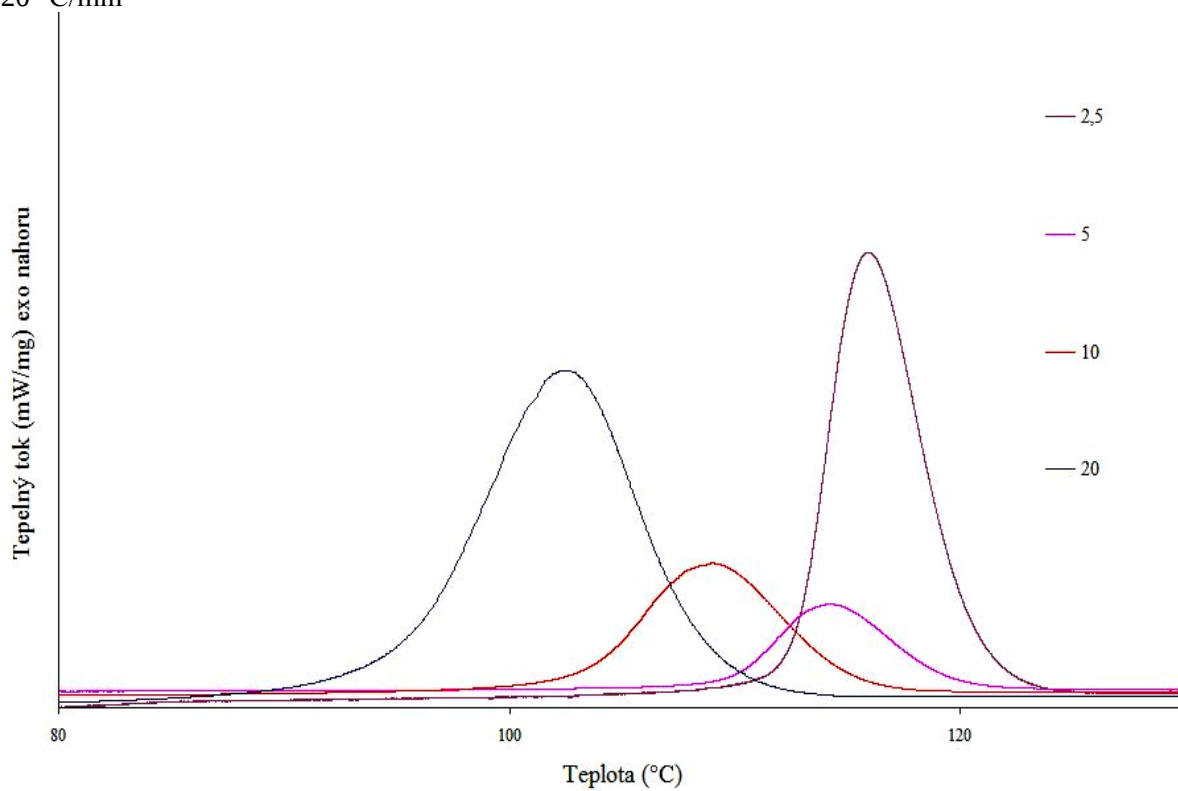
Obr. 70 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 135 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



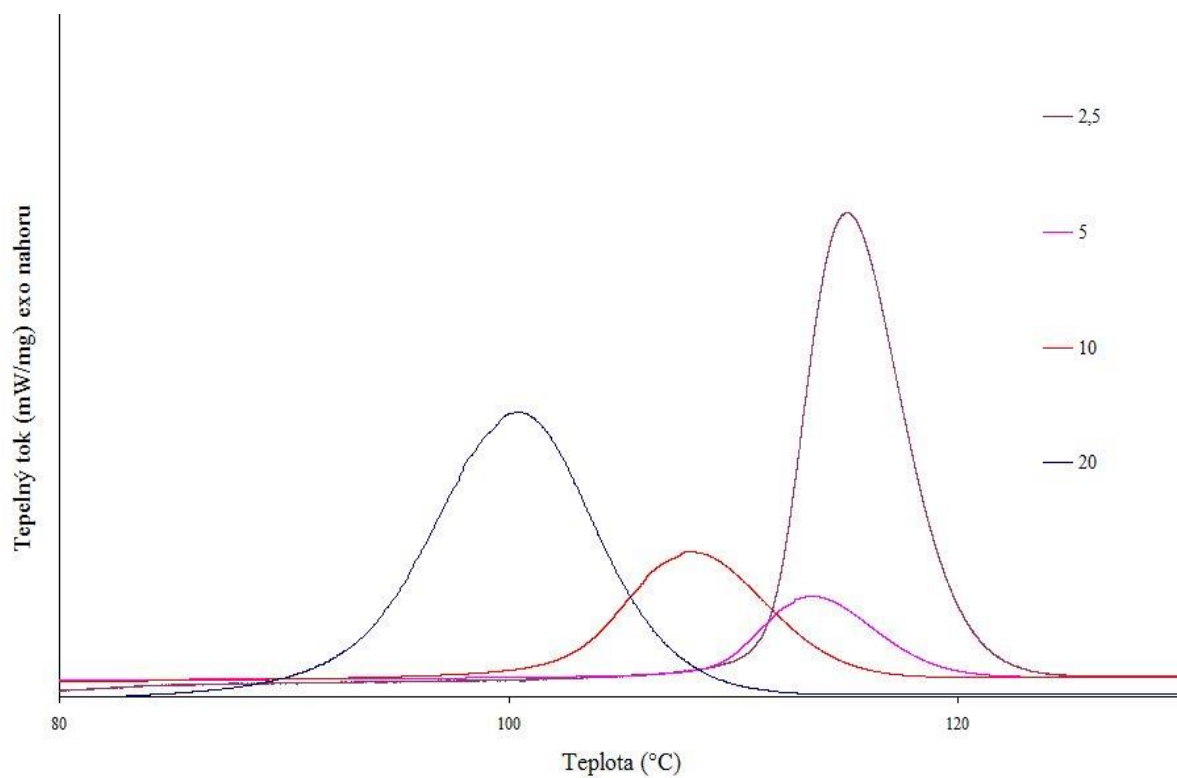
Obr. 71 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 136 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



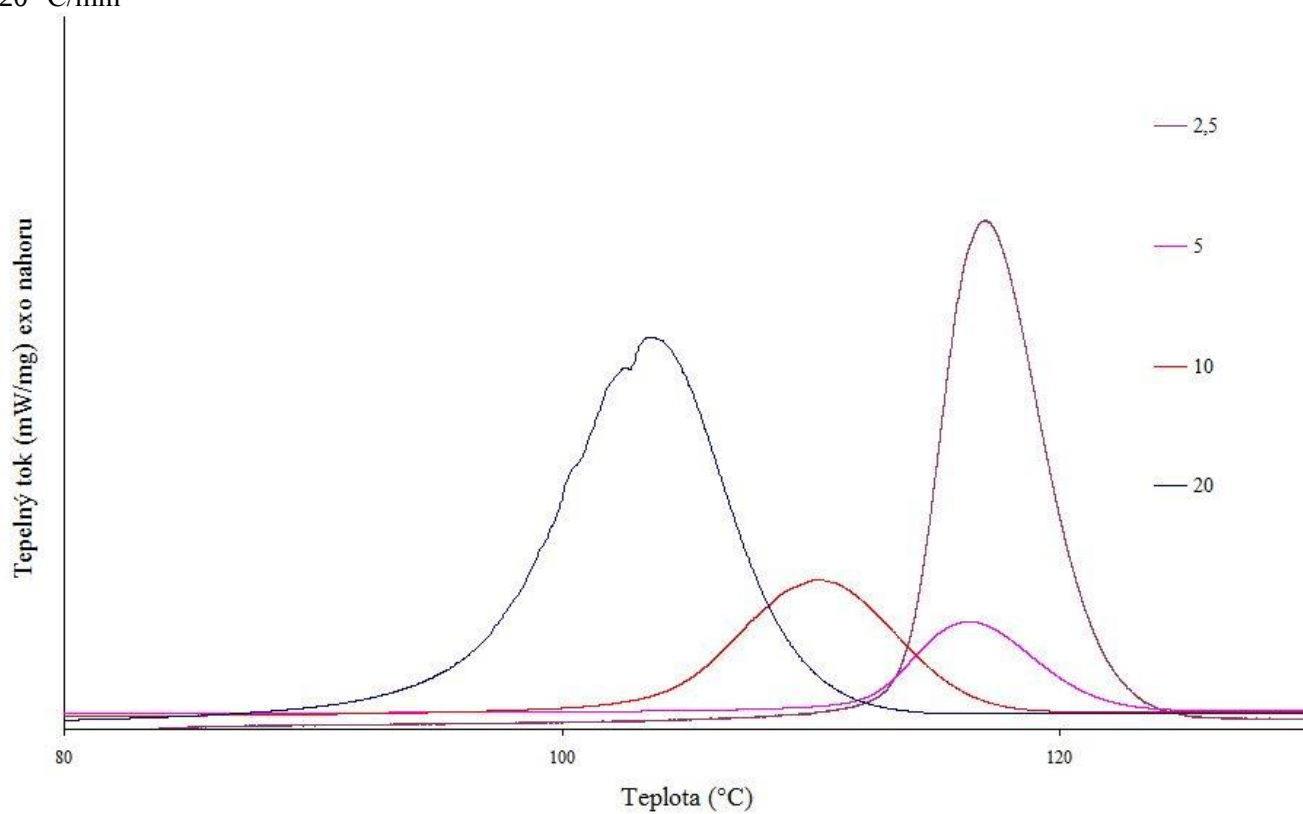
Obr. 72 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 140 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



Obr. 73 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 137 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



Obr. 74 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 138 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min



Obr. 75 Exotermické křivky neizotermické krystalizace vzorku 139 pro rychlosti chlazení 2,5; 5; 10 a 20 °C/min

5.3. Izotermická krystalizace na optickém mikroskopu

Rychlost růstu sférolitů vyhodnocená z pozorování krystalizace za izotermických podmínek na POM je uvedena v tabulce 11, křivky závislosti změny průměru sférolitů na čase na obr. 76. Data chybí pro vzorek 134, protože při krystalizaci vzniklo velké množství zárodků a vznik sférolitů nebyl zachycen, jak o tom svědčí snímek nadmolekulární struktury na obr. 86.

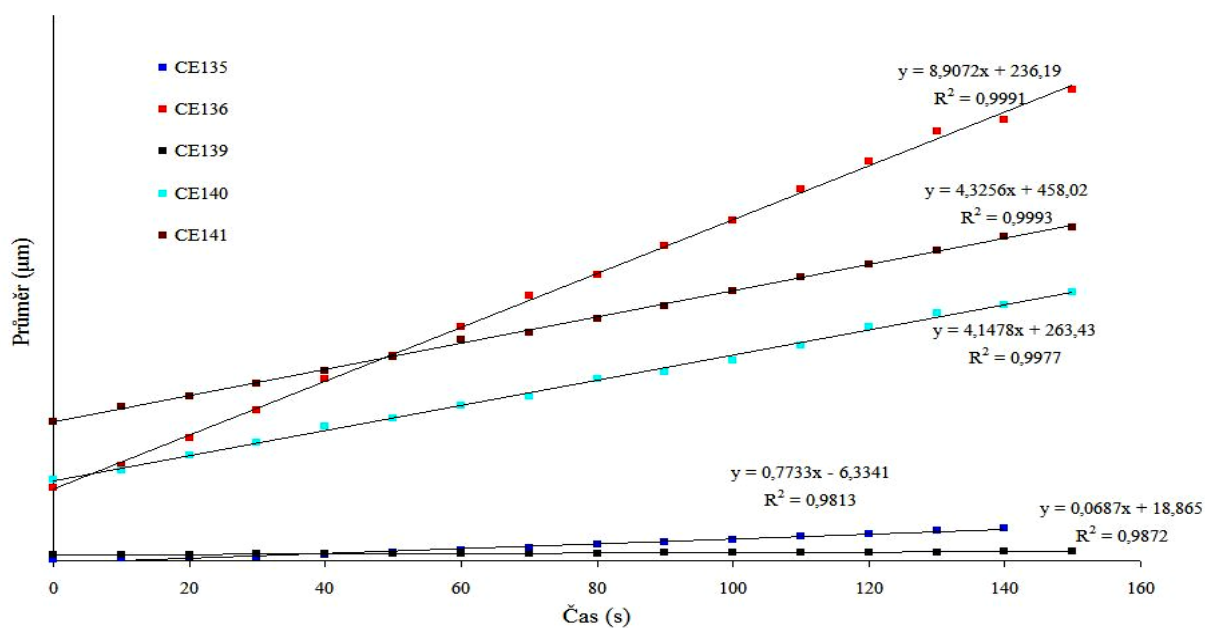
Za izotermických podmínek byl u všech vzorků kromě vzorku 134 pozorován radiální růst sférolitů viz obr. 77–82. U vzorků 134 a 139 byla pozorována homogenní struktura, vzniklé krystalické útvary měly přibližně stejnou velikost, naopak u vzorků 135, 136, 140 a reference byla pozorována heterogenní struktura s užší či širší distribucí sférolitů. Malý počet sférolitů s velkými rozměry vznikl u vzorků 135 a 136 (obr. 84 a 85), větší množství sférolitů u vzorku 140 a reference, kde byla pozorována také širší distribuce velikosti sférolitů (obr. 87 a 88), a největší množství malých sférolitů u vzorku 139 (obr. 86). Jemnozrná struktura vznikla u vzorku 134 (obr. 83). Zárodky u všech vzorků kromě těch s BN a mastky vznikaly a rostly s časem náhodně, nukleace byla termická, u vzorků s BN a mastky byla atermická.

Rozdíl v rychlosti krystalizace je kromě číselné hodnoty uvedené v tabulce 11 obrazově zachycený na obr. 78–82, kde je zachycena vznikající krystalická struktura po 630 s od začátku izotermické krystalizace. U vzorku 134 je proces krystalizace po 3,5 min již u konce. Podle těchto snímků by měla být největší v_c u vzorku 135 a 136, ovšem toto platí pouze pro vzorek 136, který za daných podmínek vykázal nejvyšší v_c . U vzorku 135, kde je na snímku zachycená kruhová trhlina, se projevil efekt termické nukleace. U zbylých vzorků data korelují s nárůstem průměru sférolitů v čase. Nejnižší v_c vykázal vzorek obsahující mastek, který sice působí jako nukleační činidlo, čímž zvyšuje rychlost nukleace, ale jeho rovnoměrné rozložení však brání procesu uspořádávání.

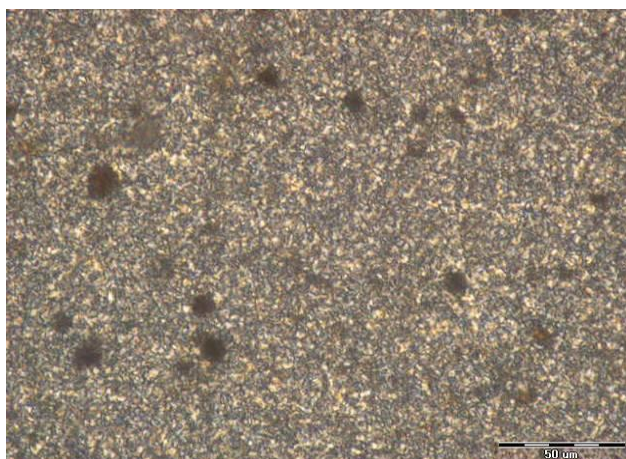
U vzorků s funkčními nukleačními činidly nebyl pozorován vznik kruhových trhlin, jejichž přítomnost je do velké míry příčinou křehkost PHB. Další příčinou křehkosti jsou velké sférolity. Největší množství kruhových trhlin vykázal vzorek 140 a reference, velké sférolity vzorek 135 a 136.

Tabulka 11 Rychlost izotermické krystalizace sférolitů vzorků PHB

Vzorky PHB	135	136	139	140	141
Teplota krystalizace [°C]	115	120	135	125	125
Rychlost krystalizace [$\mu\text{m}/\text{min}$]	4,6	53,4	0,4	24,8	25,8



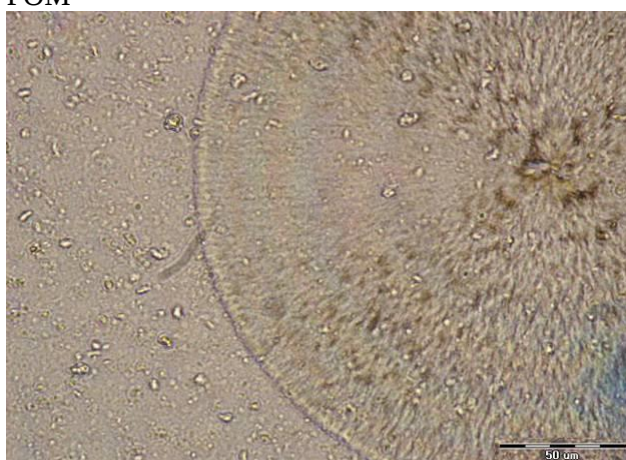
Obr. 76 Závislost průměru sférolitu na čase při izotermické krystalizace vzorků PHB



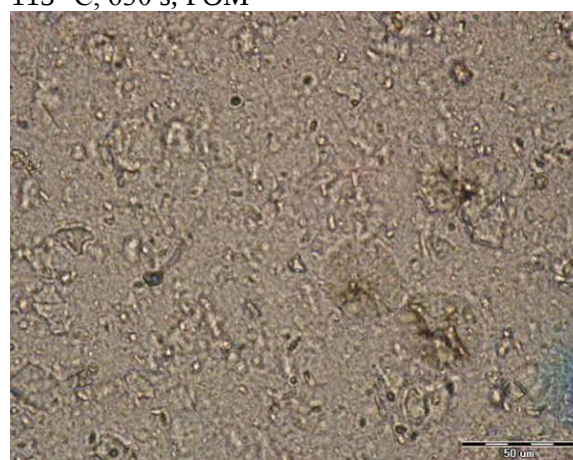
Obr. 77 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134, izotermická krystalizace při 135 °C, 630 s, POM



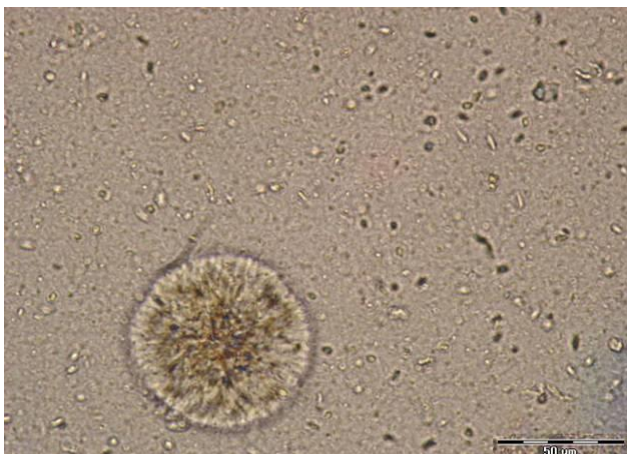
Obr. 78 Snímek rostoucího sférolitu s kruhovou trhlinou vzorku 135, izotermická krystalizace při 115 °C, 630 s, POM



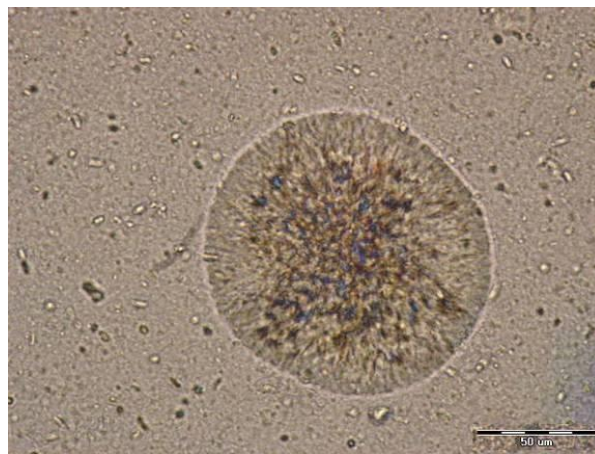
Obr. 79 Snímek rostoucího sférolitu vzorku 136, izotermická krystalizace při 120 °C, 630 s, POM



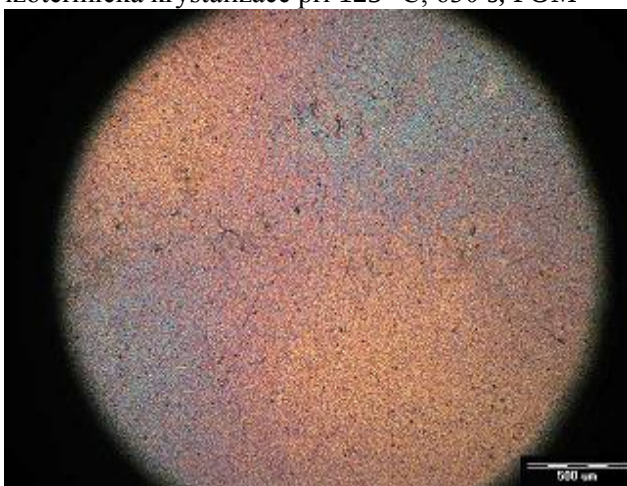
Obr. 80 Snímek rostoucího sférolitu vzorku 139, izotermická krystalizace při 135 °C, 630 s, POM



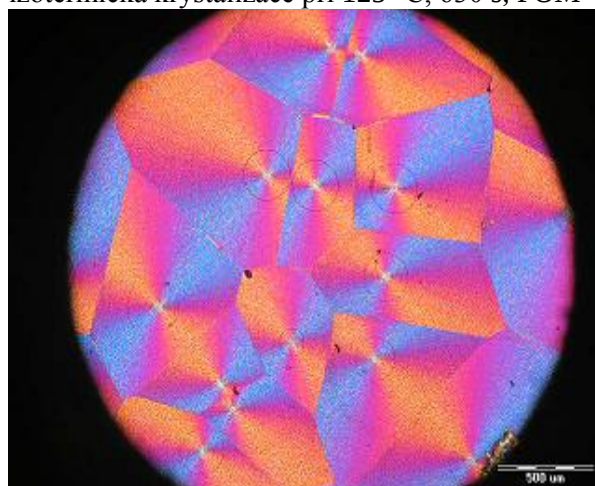
Obr. 81 Snímek rostoucího sférolitu vzorku 140, izotermická krystalizace při 125 °C, 630 s, POM



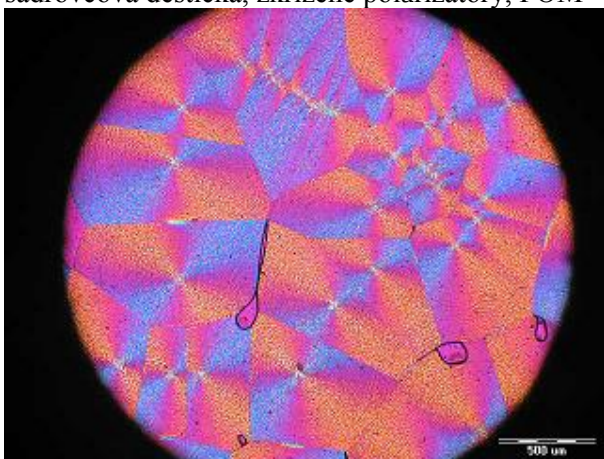
Obr. 82 Snímek rostoucího sférolitu vzorku 141 izotermická krystalizace při 125 °C, 630 s, POM



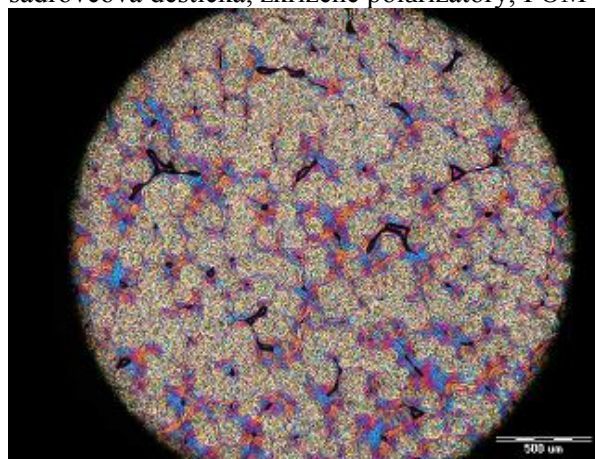
Obr. 83 Snímek nadmolekulární struktury vzorku 134 po izotermické krystalizaci, při teplotě 135 °C, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



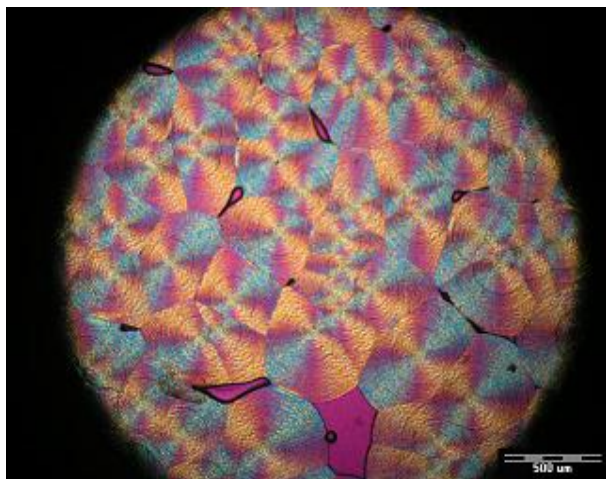
Obr. 84 Snímek sférolitů vzorku 135 po izotermické krystalizaci, při teplotě 115 °C, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



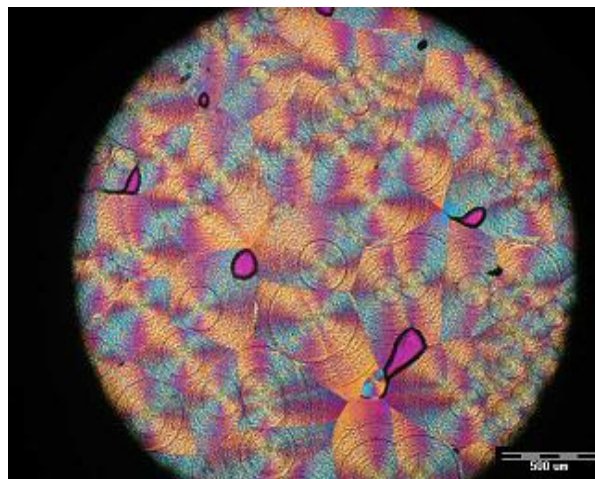
Obr. 85 Snímek sférolitů vzorku 136 po izotermické krystalizaci, při teplotě 120 °C, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 86 Snímek sférolitů vzorku 139 po izotermické krystalizaci, při teplotě 135 °C, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 87 Snímek sférolitů vzorku 140 po izotermické krystalizaci, při teplotě 125 °C, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM



Obr. 88 Snímek sférolitů vzorku 141 po izotermické krystalizaci, při teplotě 125 °C, sádrovcová destička, zkřížené polarizátory, POM

6. ZÁVĚR

Každé z vybraných aditiv (boronotrid, sacharin, hydroxyapatit, plastifikátor Tegmer a tři typy mastků) ovlivnilo krystalickou strukturu nenukleovaného a tepelně nezpracovaného PHB specifickým způsobem. Nadmolekulární strukturu původních vzorků se chemickým degradativním leptem nepodařilo odkrýt, za podmínek izotermické a neizotermické řízené krystalizace vznikla struktura sférolitická.

Jako nukleační činidlo působil boronitrid (BN) a mastky, ostatní aditiva v závislosti na rychlosti chlazení její proces inhibovala (2,5 a 20 °C/min) nebo výrazně neovlivnila. Nukleační účinnost byla vyšší pro BN, protože vznikla jemnozrnná struktura bez pozorovatelných sférolitů. Proces nukleace byl velmi rychlý, růst krystalických útvarů nebyl zaznamenán. V případě mastku byla rychlost nukleace také vysoká, ale pozorovaný růst sférolitů byl v porovnání s ostatními činidly za izotermických podmínek nejpomalejší. Sférolity rostly nejrychleji v přítomnosti hydroxyapatitu (rychlost byla asi 130krát vyšší než u mastku). Nukleační aktivita nebyla vyhodnocena číselně, protože závislost teploty krystalizace (T_c) na rychlosti chlazení (v_c) nebyla lineární. Důvodem bylo to, že počet sférolitů s rostoucí v_c nenarůstal lineárně (pro rychlosti 5 a 10 °C/min byl podobný). Nelineární trend, způsobený rozdílným počtem sférolitů, vykazala aditiva bez nukleační aktivity. Například, počet sférolitů u PHB obsahujícího hydroxyapatit byl při v_c 20 °C/min menší než při 10 °C/min a srovnatelný při 5 °C/min. Přítomnost aktivních nukleačních činidel potlačila výskyt kruhových trhlin ve sférolitech.

Teplota tání (T_m) PHB nebyla ani jedním z aditiv ovlivněna, v přítomnosti nukleačně neaktivních aditiv však navíc vznikla krystalická doména s T_m asi 8 °C vyšší, která je důsledkem výskytu krystalitů s tlustšími/většími lamelárními útvary nebo vznikem rekystalizace během ohřevu. Krystalický podíl byl vzhledem k referenci (nenukleovaný PHB) nižší u vzorku s BN, sacharinu a jednoho typu mastku, u dalších aditiv se neměnil. Po roztavení a zchlazení došlo ke změně krystalické struktury – druhý pík tání se neobjevil ani u jednoho vzorku, krystalický podíl se zvýšil u vzorku s BN, hydroxyapatitem a jedním typem mastku.

Krystalografická struktura PHB nebyla žádným z aditiv změněna, stejně tak jako velikost krystalických domén (rozptyl v rámci 5 nm). Na základně vyšší intenzity hlavních difrakčních linií u vzorků s aditivy nukleačně neaktivními lze usuzovat na pravidelnější uspořádání krystalitů – menší obsah defektů. Přednostní orientace krystalických oblastí nebyla pro podélný a příčný směr řezu tenkých vzorků prokázána.

Skutečný obsah anorganických aditiv, stanovený termogravimetricky, nepřesáhl 1,4 %. Obsah sacharinu a plastifikátoru Tegmer nemohl být určený, protože se při analýze obě aditiva rozložila.

Na základě dosažených a prezentovaných výsledků lze konstatovat, že každé z testovaných aditiv ovlivnilo specifickým způsobem krystalovou strukturu PHB a ač v rozporu s literaturou, pouze BN a mastky působily ve studovaném typu PHB jako nukleační činidla. Hlavní přínos práce je v popisu krystalické struktury systému zpracovaného hnětením a doložením nepřímých metod analýzy struktury, snímky procesu krystalizace studované za stejných podmínek.

7. LITERATURA

- [1] HONG, Shinn-Gwo a Shih-Che HUANG. Crystallization properties of polyhydroxybutyrate with modified silicas. *Journal of Polymer Research*. 2015, 22(4), DOI: 10.1007/s10965-015-0706-6. ISSN 1022-9760.
- [2] BERNARD, Matthew. Industrial Potential of Polyhydroxyalkanoate Bioplastic: A Brief Review. *University of Saskatchewan Undergraduate Research Journal*. 2014, 1(1), 1–14.
- [3] EZGI BEZIRHAN ARIKAN a HAVVA DUYGU OZSOY. *A Review: Investigation of Bioplastics*. DOI: 10.17265/1934-7359/2015.02.007. ISBN 10.17265/1934-7359/2015.02.007. Dostupné také z WWW:< <http://www.davidpublisher.org/index.php/Home/Article/index?id=116.html>>
- [4] KUMAR SUDESH, Hideki Abe a Abe HIDEKI. *Practical guide to microbial polyhydroxyalkanoates*. 1. publ. Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, UK: ISmithers, 2010. ISBN 978-161-5834-518.
- [5] NACEUR BELGACEM, Mohamed a Alessandro GANDINI. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. 1. Amsterdam: Elsevier, 2011. ISBN 9780080560519.
- [6] WADHWA, Sham K., Tasneem Gul KAZI, Mustafa TUZEN, Hassan Imran AFRIDI, Naeemullah BRAHMAN a Kapil Dev BRAHMAN. Application of Polyhydroxybutyrate-b-polyethyleneglycol (a block co-polymer) for Solid Phase Extraction of Lead and Copper in Different Food Samples. *Pak. J. Anal. Environ. Chem.* 2014, 15(No. 1), 66 – 73. ISSN 1996-918X.
- [7] EZGI BEZIRHAN ARIKAN a HAVVA DUYGU OZSOY. A Review: Investigation of Bioplastics. *Journal of Civil Engineering and Architecture*. 2015, (9), 188-192. DOI: 10.17265/1934-7359/2015.02.007. ISBN 10.17265/1934-7359/2015.02.007. Dostupné také z WWW:< <http://www.davidpublisher.org/index.php/Home/Article/index?id=116.html>>
- [8] PRITCHARD, Geoffrey. *Plastics additives*. 1. Verlag: Springer Science & Business Media, 1998. ISBN 978-1-59124- 134-8
- [9] BARKER, P.A., P.J. BARHAM a J. MARTINEZ-SALAZAR. Effect of crystallization temperature on the cocrystallization of hydroxybutyrate/ hydroxyvalerate copolymers. *Polymer*. Elsevier Science, 1997, Vol.38(No.4), 913-919. ISSN 032-386.
- [10] ILES, Alastair a Abigail N. MARTIN. Expanding bioplastics production: sustainable business innovation in the chemical industry. *Journal of Cleaner Production*. 2013, (45), 38-49. DOI: 10.1016/j.jclepro.2012.05.008. ISBN 10.1016/j.jclepro.2012.05.008. Dostupné také z WWW:< <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652612002314>>
- [11] OLKHOV, A. A. a A. L. IORDANSKII. Influence of solvent parameters on structure of polyhydroxybutyrate films. *International Conference on Times of Polymers and Composites*. 2012, 2012(1459), 306-308. DOI: 10.1063/1.4738478. ISBN 10.1063/1.4738478. Dostupné také z WWW:< <http://scitation.aip.org/content/aip/proceeding/aipcp/10.1063/1.4738478>>
- [12] KANN, Y., M. SHURGALIN a R.K. KRISHNASWAMY. FTIR spectroscopy for analysis of crystallinity of poly(3-hydroxybutyrate-co-4 -hydroxybutyrate) polymers and its utilization in evaluation of aging, orientation and composition. *Polymer Testing*. 2014, 40, 218-224. DOI: 10.1016/jj.polymertesting.2014.09.009. Dostupné také z WWW:

- < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142941814002116>>
- [13] HONG, Shinn-Gwo a Shih-Che HUANG. Crystallization properties of polyhydroxybutyrate with modified silicas. *Journal of Polymer Research*. 2015, 22(4), -. DOI: 10.1007/s10965-015-0706-6. ISSN 1022-9760. Dostupné také z WWW:< <http://link.springer.com/10.1007/s10965-015-0706-6>>
- [14] SOMLEVA, Maria N., Oliver P. PEOPLES a Kristi D. SNELL. PHA Bioplastics, Biochemicals, and Energy from Crops. *Plant Biotechnology Journal*. 2013, (11), 233-252. DOI: 10.1111/pbi.12039. ISBN 10.1111/pbi.12039. Dostupné také z WWW:< <http://doi.wiley.com/10.1111/pbi.12039>>
- [15] SEOANE, Irene T., Liliana B. MANFREDI a Viviana P. CYRAS. *Properties and Processing Relationship of Polyhydroxybutyrate and Cellulose Biocomposites*. 2015, 2015, 805-813. DOI: 10.1016/j.mspro.2015.04.139. ISBN 10.1016/j.mspro.2015.04.139. Dostupné také z WWW:< <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211812815001406>>
- [16] SLEPIČKOVÁ KASÁLKOVÁ, N., P. SLEPIČKA, P. SAJDL a V. ŠVORČÍK. Surface changes of biopolymers PHB and PLLA induced by Ar plasma treatment and wet etching. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 2014, (332), 63-67. DOI: 10.1016/j.nimb.2014.02.031. ISBN 10.1016/j.nimb.2014.02.031. Dostupné také z WWW:< <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168583X14002882>>
- [17] ÁLVAREZ-CHÁVEZ, Clara Rosalía, Sally EDWARDS, Rafael MOURE-ERASO a Kenneth GEISER. Sustainability of bio-based plastics: general comparative analysis and recommendations for improvement. *Journal of Cleaner Production*. 2012, (23), 47-56. DOI: 10.1016/j.jclepro.2011.10.003. ISBN 10.1016/j.jclepro.2011.10.003. Dostupné také z WWW:< <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095965261100374X>>
- [18] SUDESH, K, H ABE a Y DOI. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Progress in polymer science*. 2000, (25), 1503-1555.
- [19] KRATOCHVÍL, BOHUMIL, MICHAL HUŠÁK, JIŘÍ BRYNDA a JURAJ SEDLÁČEK. Co nabízí současná RTG Strukturní analýza?. *Chemické Listy* 2008, (102), 889-901.
- [20] ANDERSON, A a E DAWES. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiological Reviews*. 1990, 54(4), 450-472. ISSN 0146-0749.
- [21] LEMOIGNE, M. Produits de déshydratation et de polymerisation de l'acide β - oxybutyrique. *Bulletin de la Societe de Chimie Biologique*. 1926, (8), 770-782. ISSN 0037-904.
- [22] RAVENTSTIJN, J. Eindhoven University [online]. 2014 [cit. 2014]. PHA Is it here to stay?. Dostupné z WWW:< <http://www.kcpk.nl/algemeen/bijeenkomsten/presentaties/20140508-jan-ravenstijn-pha-is-it-here-to-stay>>
- [23] BARHAM, P a A KELLER. The relationship between microstructure and mode of fracture in polyhydroxybutyrate. *Journal of Polymer Science Part B*. 2010, 24(1), 69-77. ISSN 0887-6266.
- [24] WOODWARD, E. *Understanding Polymer Morphology*. Hanser Gardner Publications, 1995. 130 s. ISBN 1-56990-141-4.
- [25] EHRENSTEIN, G. *Polymeric Materials: Structure - Properties - Application*. 1. Munich: Hanser, 2001. ISBN 3-446-21461-5.

- [26] LEDNICKÝ, F. *Mikroskopie a morfologie polymerů. Díl 1.* 1. Liberec:Technická univerzita, 2009, 71 s. ISBN 978-80-7372-486-3
- [27] LEDNICKÝ, F. *Mikroskopie a morfologie polymerů Díl 2.* 1. Liberec:Technická univerzita, 2009, 97 s. ISBN 978-80-7372-487
- [28] SAWYER, Linda C, David T GRUBB a Gregory Frederick MEYERS. *Polymer microscopy*. 3rd ed. /. New York: Springer, 2008. ISBN 03-877-2627-6
- [29] BÁLKOVÁ, R. Další mikroskopické metody. Brno, 2009/2010. 6 s. Výukové materiály.Vysoké učení technické v Brně. Dostupné z WWW:< <http://www.vutbr.cz/elearning>>
- [30] EHRENSTEIN, G.W., RIEDEL, G., a TRAWIEL, P.,. *Thermal analysis of plastics : theory and practice*. 1. Munchen: Hanser Gardner Publications, 2004. ISBN 1-56990-362
- [31] EHRENSTEIN, Gottfried. *Polymeric materials: structure, properties, applications*. 1. Munich: Carl Hanser Verlag, 2001, 277 s. ISBN 34-462-1461-5.
- [32] GRELLMANN, Wolfgang. *Polymer testing*. 1. Cincinnati, Ohio: Hanser Gardner Publications, 2007. ISBN 15-699- 0410-3.
- [33] PRŮŠOVÁ, A. VUT Brno [online]. 2011 [cit. 2011]. Teplotně modulovaná diferenční kompenzační kalorimetrie (TMDSC). Dostupné z WWW:< <http://www.chempoint.cz/teplotne-modulovana-diferencni-kompenzacni-kalorimetrie-tmdsc> >
- [34] MÁŠILKO, J. VUT Brno [online]. 2011 [cit. 2011]. Rentgenová difrakční analýza na práškových vzorcích. Dostupné z WWW:< <http://www.chempoint.cz/rentgenova-difrakcni-analyza-na-praskovych-vzorcich> >
- [35] CAHA, O. Masarykova univerzita v Brně [online]. 2015 [cit. 2015]. Praktikum z pevných látek (1B) Dostupné z WWW:< <http://physics.muni.cz/~caha/F6390-PraktikumFPL-Navody-2015.pdf> >
- [36] ČÁSLAVSKÝ, J. VUT Brno [online]. 2015 [cit. 2015]. Instrumentální a spektrální analýza Dostupné z WWW:< https://moodle.vutbr.cz/pluginfile.php/192798/mod_resource/content/1/ISA_XRF.pdf>
- [37] BRAUNEGG, G., R. BONA and M. KOLLER. Sustainable Polymer Production. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 2004, vol. 43, pp. 1779-1793. ISSN 0360-2559
- [38] GOGOTOVA, I. N., V. A. GERASINB, Ya. V. KNYAZEVB, E. M. ANTIPOVB a S. Kh. BARAZOVC. Composite Biodegradable Materials Based on Polyhydroxyalkanoate. *Applied Biochemistry and Microbiology*. Pleiades Publishing, 2010, 46(No. 6), 607–613. ISSN 0003-6838.
- [39] GHAFAR, A. M., Martin Luther University Halle-Wittenberg [online]. 2002 [cit. 2016]. Crystalization kinetics of PHB blends and its Blends, Dostupné také z WWW:< <http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/02/02H017/>>