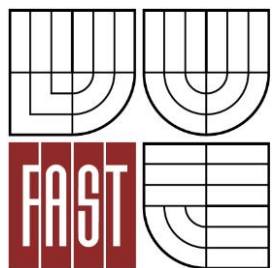




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STAVEBNÍ

ÚSTAV TECHNOLOGIE STAVEBNÍCH HMOT A
DÍLCŮ

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

INSTITUTE OF TECHNOLOGY OF BUILDING MATERIALS AND

COMPONENTS

VYUŽITÍ MIKROSKOPICKÉ ANALÝZY PRO HODNOCENÍ LEPENÝCH DŘEVĚNÝCH MATERIÁLŮ

UTILIZATION OF MICROSCOPIC ANALYSIS FOR EVALUATION OF GLUED WOOD

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

VÍT KUČERA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. JAN VANĚREK, Ph.D.

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA STAVEBNÍ

Studijní program	B3607 Stavební inženýrství
Typ studijního programu	Bakalářský studijní program s prezenční formou studia
Studijní obor	3607R020 Stavebně materiálové inženýrství
Pracoviště	Ústav technologie stavebních hmot a dílců

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student	Vít Kučera
Název	Využití mikroskopické analýzy pro hodnocení lepených dřevěných materiálů
Vedoucí bakalářské práce	Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.
Datum zadání bakalářské práce	30. 11. 2014
Datum odevzdání bakalářské práce	29. 5. 2015

V Brně dne 30. 11. 2014

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

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

Podklady a literatura

Hejtmánek, M. Úvod do světelné mikroskopie. Skripta UP Olomouc, 2001
Knoz, J., Opravilová, V. Základy mikroskopické techniky. Skripta MU Brno, 1992
Kúš, P. a kol. Moderná mikroskopia a digitálne spracovanie obrazu. Skripta, Bratislava, 2008, ISBN: 978-80-89186-37-2
Matis, D. a kol. (2001): Mikroskopická technika. Faunima, Bratislava.
Ruzin, S.E. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University, 1999

Zásady pro vypracování

Kvalita dřevěného lepeného spoje závisí na několika faktorech, z nichž nejdůležitějšími jsou okamžité fyzikálně-mechanické vlastnosti adherendu a předpokládané parametry lepidla po vytvrzení. Interakce obou látek zejména při extrémních okolních podmínkách pak sehrává důležitou úlohu při přenášení napětí v lepené spáře, u dřevěných adherendů vyvolaných zejména v důsledku objemových změn způsobených změnou jeho vlhkosti. Hledisko hloubky proniku lepidla do struktury dřeva pak má dominantní význam, neboť mechanická vazba hraje v případě lepeného dřeva dominantní úlohu celkové pevnosti spoje. S ohledem na tuto skutečnost je cílem bakalářské práce vytvořit metodický postup pro mikroskopické stanovení hloubky proniku různých typů lepidel pro dřevěné materiály.

Bakalářská práce bude rozdělena do dvou částí:

1. První část bakalářské práce bude obsahovat principy a druhy světelné mikroskopie, způsoby přípravy vzorků. S ohledem na výběr fluorescence bude popis soustředěn na popis této mikroskopické techniky. Součástí této části bude rovněž podrobný popis zařízení, jež jsou užívány k odběru a přípravě vzorků i k vlastnímu stanovení hloubky proniku lepidla do struktury adherend.
2. Druhá část bakalářské práce bude zaměřena na konkrétní postupy měření hloubky proniku pro jednotlivé typy lepidel. U každého typu lepidla bude rozvedena metodika zahrnující výběr vhodného fluorochromu (barviva) a excitačního filtru odpovídajícího tomuto fluorochromu rozmezím vlnových délek. Každý postup bude odzkoušen na komerčním typu polymerního lepidla a výsledek bude doložen i obrazovým záznamem.

Struktura bakalářské/diplomové práce

VŠKP vypracujte a rozčleňte podle dále uvedené struktury:

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

.....

Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.
Vedoucí bakalářské práce

Abstrakt

Tato práce řeší problematiku lepených dřevěných spojů z hlediska použitých druhů lepidel. Budeme určovat hloubku proniku těchto adheziv do struktury dřevěného adherendu. Za tímto účelem využijeme postupů optické mikroskopie a jejího speciálního druhu a to fluorescenční mikroskopie.

Klíčová slova

Penetrace, lepidlo, dřevěný materiál, mikroskopie, fluorescence.

Abstract

This paper addresses the issue of glued wood joints in terms of the types of adhesives. We will determine the depth of the penetration of adhesives into the structure of the wood adherend . For this purpose we use methods of optical microscopy and its special kind and fluorescence microscopy .

Keywords

Penetration, adhesive, wood material, microscopy, fluorescence.

Bibliografická citace VŠKP

Vít Kučera *Využití mikroskopické analýzy pro hodnocení lepených dřevěných materiálů*.
Brno, 2015. 60, Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav
technologie stavebních hmot a dílců. Vedoucí práce Ing. Jan Vaněrek, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracoval (a) samostatně a že jsem uvedl (a) všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 29. 5. 2015

.....
podpis autora

Vít Kučera

PODĚKOVÁNÍ:

Tímto bych zde chtěl poděkovat vedoucímu bakalářské práce panu Ing. Janu Vaněrkovi, Ph.D. za jeho rady a hlavně čas, který mi věnoval při řešení dané problematiky. Dále bych chtěl poděkovat své rodině a přítelkyni, která mě během studia neustále podporovala.

OBSAH:

1.	ÚVOD	13
2.	PODSTATA LEPENÍ	13
2.1.	ADHEZE.....	15
2.2.	KOHEZE.....	16
2.3.	SMÁČIVOST	16
2.4.	PEVNOST SPOJE	18
3.	ROZDĚLENÍ LEPIDEL PODLE DRUHU FÁZE	18
3.1.	LEPIDLA KAPALNÁ.....	18
3.2.	LEPIDLA PEVNÁ.....	19
3.3.	TYPY LEPIDEL PRO LEPENÍ DŘEVĚNÝCH PRVKŮ	19
3.3.1.	<i>Disperzní lepidla</i>	19
3.3.2.	<i>Rozpouštědlová a kontaktní lepidla.....</i>	20
3.3.3.	<i>Kyanoakrylátová lepidla</i>	20
3.3.4.	<i>Jednosložková lepidla.....</i>	20
3.3.5.	<i>Tavná lepidla</i>	21
3.3.6.	<i>Reaktivní lepidla</i>	21
4.	TRVANLIVOST LEPIDEL.....	24
4.1.	ZKOUŠKY ŽIVOTNOSTI.....	25
4.1.1	<i>Laboratorní podmínky stárnutí lepidla.....</i>	25
4.1.2	<i>Zkoušky pro zjištění krátkodobé životnosti lepených prvků</i>	26
4.1.3	<i>Zkoušky pro zjištění dlouhodobé životnosti lepených prvků</i>	29
4.1.4	<i>Odolnost proti hygrotermální zátěži vybraných druhů lepidel.....</i>	30
5.	SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE	31

5.1	SVĚTELNÝ MIKROSKOP A JEHO STAVBA.....	32
5.2	VZÁJEMNÝ VZTAH MEZI POZOROVANÝM OBJEKTEM A JEHO OBRAZEM.....	33
5.3	OHYB A INTERFERENCE SVĚTLA.....	34
6.	FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE	34
6.1.	PODSTATA FLUORESCENČNÍHO ZÁŘENÍ.....	34
6.1.1.	VÝHODY FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE:	35
6.1.2.	NEVÝHODY FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE:	35
6.2.	DRUHY FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE.....	36
6.2.1.	TRANSMISNÍ FLUORESCENČNÍ MIKROSKOP	36
6.2.2.	EPI-FLUORESCENČNÍ MIKROSKOP	36
6.3.	STAVBA FLUORESCENČNÍHO MIKROSKOPU	37
6.3.1.	EXCITAČNÍ A BARIÉROVÝ FILTR.....	38
6.4.	POSTUP PŘÍPRAVY VZORKŮ PRO FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPII.....	38
6.4.1.	PŘÍMÁ FLUORESCENCE	38
6.4.2.	IMUNOFLUORESCENCE	39
6.4.3.	BLIŽŠÍ CHARAKTERISTIKA FLUORESCENČNÍCH BARVIV A JEJICH ROZDĚLENÍ 39	
6.1.	KONFOKÁLNÍ MIKROSKOP	41
7.	Cíl práce	44
8.	Metodika práce	45
8.1.	VOLBA DŘEVINY	45
8.2.	TYP EPOXIDOVÉHO LEPIDLA.....	45
8.2.1.	Úprava epoxidu fluorochromem.....	46
8.2.2.	Příprava vzorků lepením	46
8.2.3.	Odebrání mikrotomických řezů	47
8.2.4.	Mikroskopická technika.....	47
8.3.	MIKROSKOPICKÉ STANOVENÍ HLOUBKY PRONIKU LEPIDLA	47
9.	Výsledky práce.....	48

9.1.	HLOUBKA PRONIKU LEPIDLA U SMRKOVÉHO DŘEVA.....	48
9.2.	HLOUBKA PRONIKU LEPIDLA U BUKOVÉHO DŘEVA.....	50
9.3.	SHRNUTÍ A DISKUZE	52
10.	Závěr:.....	57
11.	LITERATURA:.....	59
12.	Seznam použitých zkratek:	60

TEORETICKÁ ČÁST

1. ÚVOD

V současné době se rozvíjí odvětví lepení nosných prvků z důvodu dosažení lepších charakteristických vlastností při zachování stejného průřezu a z tohoto důvodu je nutné přistupovat k analýze lepených spojů – je vhodné najít nástroje, jak zjistit kvalitu lepeného spoje. Lepené spoje nalézají široké uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích. Běžně se pro zjištění kvality lepeného spoje používají testy trvanlivosti založené na změně pevnosti při cyklickém hygrotermálním namáhání. Z podstaty spoje hraje u dřevěných adherendů významnou roli mechanická vazba (*intermechanical locking*) více než vazba chemická, zajištěna zejména (vodíkovými můstky, nebo van der Waalsovými silami). Z toho důvodu je nutné ověřit hloubku penetrace lepidla do struktury. Ta je odlišná v závislosti na druhu dřeviny, vlhkosti lepeného adherendu, buněčné struktury či nehomogenity povrchu dřeva. Hloubka proniku adheziva má velký vliv na únosnost a soudržnost lepeného prvku. Princip a nalezení mikroskopické analýzy pro zjištění hloubky proniku lepidla poté vede k tomu, že můžeme predikovat pevnost lepeného spoje. Musíme také dbát na správný výběr adheziva pro daný lepený materiál a způsobu jeho aplikace na povrch prvku.

Prvotní zmínky o lepení dřeva pochází z Babylonu, kde se našly lepidivé živice. Další artefakty lepeného dřeva byly nalezeny v hrobce faraona Thutmose III., zhruba v období 1500 let př. Kristem. Pro lepení dřeva v současnosti se používají zejména močovinoformaldehydová lepidla, která řadíme mezi lepidla disperzní [1]. Jejich výhodou je výborná spojitelnost neboli kompatibilita s dřevním materiálem. Lepených spojů s výhodou využíváme při výrobě lepených dřevěných konstrukcí jako je kupříkladu lamelové dřevo. Dosahujeme přitom i velkých rozponů a díky tomu nacházejí uplatnění především pro výstavbu mostních a halových konstrukcí. K vytvoření požadovaného tvaru nám slouží lamely, které jsou zhotoveny z „nekonečných fošen“, které na sebe plynule navazují za pomoci tzv. zubovitého spoje. Tyto konstrukce jsou pak tvarově velice variabilní a hodnotné i z estetického hlediska. Nabízí se též možnost vytvářet staticky výhodné tvary nosníků bez oslabení spojovacími prostředky.

2. PODSTATA LEPENÍ

Ke spojování dřevěných prvků užíváme dvou způsobů jejich spojení a to mechanického a chemického. Dle charakteru působení a druhu spojovacího prostředku rozlišujeme spoje:

- poddajné (tesařské spoje, spoje s mechanickými spojovacími prostředky),
- nepoddajné neboli tuhé (lepené spoje).

Nelze předpokládat, že mechanické spojovací prostředky a lepené spoje spolu spolupůsobí, jelikož mají velice rozdílnou poddajnost (pružnost, ohebnost). **Mechanické spojovací prostředky** rozlišujeme dále podle přenosu sil na:

- spojovací prostředky kolíkového typu,
- spojovací prostředky povrchového typu.

Mezi spojovací prostředky kolíkového typu patří hřebíky, sponky, svorníky, kolíky a vruty. Při přenosu sil jsou ve většině případů ohýbány a zatlačovány do dřeva. Mezi spojovací prostředky povrchového typu řadíme hmoždíky a desky s prolisovanými trny. Jsou do dřevěných konstrukčních prvků vkládány či zalisovány a k přenosu sil dochází na povrchu konstrukčních prvků [1].

Tuhé (lepené) spoje - tyto spoje nám umožňují dosáhnout tvarů a vlastností, kterých nejsme schopni běžnými způsoby spojování docílit. Je však nutné si uvědomit, že neexistuje univerzální lepidlo, čili každý materiál má své specifické nároky a požadavky na vlastnosti lepidla jako takového. Přednosti lepení spočívají v tom, že nám dovoluje spojovat stejné nebo různé materiály bez ohledu na jejich tloušťku, aplikací lepidla není narušena celistvost spojovaných dílců, je možné připravit spoje vodotěsné i plynotěsné, lepený spoj tlumí vibrace v konstrukci a zvyšuje tuhost a vzpěrnou pevnost prvku, lze dosáhnout vysoké pevnosti spojů a to zejména při namáhání ve smyku a rázové pevnosti, atd. Nevýhodami lepených spojů jsou vysoké nároky na čistotu povrchu lepených materiálů, konstrukčně použitelné spoje nejsou rozebíratelné, je omezena životnost reaktivních lepících směsí, maximální pevnosti spoje je dosaženo až s určitým odstupem času, je omezena odolnost vůči zvýšeným teplotám, náročnější technologie provedení, atp. [2]

Jsou známy tři vztahy lepidla k lepenému materiálu a to:

- 1) složení lepidla je odlišné od složení lepených dílců - *běžný adhezivní vztah*
- 2) lepidlo a jedna z lepených ploch mají shodné chemické složení - *jednostranná autoadheze*
- 3) lepidlo a oba lepené materiály mají shodné chemické složení – *úplná neboli oboustranná autoadheze* [2]

Lepení jako takové nám umožňuje spojení dvou tuhých materiálů, které se mohou lišit svým charakterem i složením. K jejich vytvoření je většinou zapotřebí více látek, které se pak následně míchají ve výslednou směs. Ty se pak dají různě upravovat, aby bylo dosaženo požadovaných vlastností pro daný materiál. Jedná se o velice složité polymerní systémy a dělí se podle celé řady hledisek a kritérií. Lepidlo charakterizuje jeho adhezni základ, jinými slovy řečeno nosič. Ten nám určuje pevnost a schopnost spoje odolávat nepříznivým vlivům. Vlastnosti lepidel se mohou dále upravovat látkami, které se nazývají modifikátory. Mezi tyto patří například různá ředidla a plniva [3].

Pevnost slepeného spoje je odvislá od čtyř kritérií a to od:

- přilnavosti lepidla k lepenému povrchu (adheze),
- soudržnosti hmoty lepidla vyjádřené vnitřní pevností lepidla (koheze),
- smáčivosti lepeného povrchu kapalným lepidlem,
- pevnosti (soudržnost) lepeného materiálu (koheze adherendu) [4].

2.1. ADHEZE

Adheze jiným slovem přilnavost je schopnost materiálu (především dvou rozdílných materiálů) spolu přilnout. Po fyzikální stránce je to schopnost přenosu tečných sil ve styku dvou povrchů bez zřetelného pohybu. Adheze je taktéž definovatelná chemicky jako síla přilnavosti, mezimolekulární přitažlivé chemické a fyzikální síly na styčných plochách v nerovnostech a pórech materiálů (van der Waalsova síla). Van der Waalsovy síly jsou velmi slabé fyzikální přitažlivé síly, které působí mezi nepolárními molekulami a jsou důsledkem vzniku okamžitého elektrického dipólu [4].

Mezi lepidlem a lepeným povrchem se vytvářejí dva druhy vazeb:

- **mechanická vazba**
- **chemická vazba**

Mechanická vazba se uplatňuje jen u členitých nebo porézních povrchů. Kapalně lepidlo zatéká při lepení do pórů a dutin a po jeho zatuhnutí se vytvoří jakýsi pevný zámek mezi hmotou lepidla a povrchem lepeného materiálu. Mechanická vazba je velmi důležitá při lepení materiálů, jako jsou dřevo, papír, keramika nebo pěnové plasty. Při lepení leštěných hladkých ploch je mechanická vazba zanedbatelná.

Chemická (specifická) vazba se uplatňuje u porézních i zcela hladkých povrchů. Tato teorie je založena na působení slabých van der Waalsových elektrických přitažlivých sil mezi molekulami lepidla a lepeného materiálu, ale zejména na přímém chemickém působení lepidla na lepený povrch. Proto se dobře lepí materiály, které mají reaktivní povrch, nebo povrch chemicky upravený tak, aby mohla proběhnout chemická reakce mezi lepidlem a povrchem za vzniku kovalentní vazby. Velmi dobře se lepí oxidované povrchy (kovy, oxidované plasty), povrchy přírodních polymerů (dřevo, papír, celulóza) s volnými chemickými skupinami oxy, hydroxy-, karbonyl-, karboxymethyl-, amino(-O, -OH, -CO, -COCH₃, -NH₂) a jinými. Správně zvolené lepidlo musí obsahovat volné skupiny, schopné reakce s povrchem lepeného materiálu. Jako vysoce reaktivní skupiny se u lepidel vyskytují například skupiny epoxy-, hydroxy-, karboxy-(kyseliny), isokyanáto-a další.

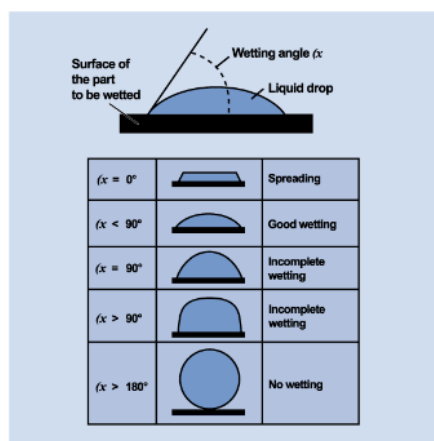
2.2. KOHEZE

Tato vlastnost nám udává, jakou pevností lepidlo disponuje. Pokud dojde k porušení lepeného spoje ve vrstvě lepidla, znamená to, že pevnost lepeného materiálu i adheze jsou vyšší než koheze. Koheze závisí na charakteru použitého lepidla. Dvousložkové epoxidy mají vysokou kohezi a naopak měkké akryláty pro výrobu samolepících etiket mají kohezi nízkou. Dalším faktorem je tepelné namáhání lepeného spoje, většina jednosložkových lepidel jsou termoplasty, čili měknou při zvyšování teploty [4].

2.3. SMÁČIVOST

Tato charakteristika je velice podstatná z hlediska lepení materiálů kapalnými lepidly. Lepidlo musí být rovnoměrně rozprostřeno po celém povrchu lepeného materiálu, aby došlo ke vzniku adhezni vazby. V opačném případě ke vzniku této vazby nedojde. Smáčivost je spojena s **polaritou lepeného povrchu** a s **povrchovým napětím** lepidla. Viz. Obr. č. 1

Protože lepidla obsahují spoustu reakce schopných chemických skupin, jsou molekuly lepidla jednostranně elektricky orientovány, neboli jsou polární a dobře smáčí polární povrchy. Polárními povrchy jsou dřevo, papír, mírně povrchově oxidované kovy, přírodní textilie, ale například i sklo a další. Naopak nepolární povrchy jsou mnohé plasty, vosk a syntetické textilie. Polárními látkami jsou například voda, fenol, etanol, manganistan, železo, PVC, atd. Nepolárními látkami jsou například polyethylen (PE), polypropylen (PP), silikon nebo teflon [2].



Picture 4 – Contact angle can range from 0° to 180° ($\theta \geq 0^\circ$)

Obr. č. 1: Smáčivost lepidel [17]

Polarita povrchu látek je příčinou vzniku takzvané povrchové energie, která se vyjadřuje veličinou povrchové napětí (N/m). Velikost napětí lze vysvětlit tím, že na úrovni vnitřní struktury kapaliny jsou molekuly kapaliny přitahovány přitažlivými silami. Jestliže se molekuly nachází uvnitř kapaliny, je silové působení okolních molekul v rovnováze (obr. 2). To ovšem neplatí o molekulách, které se nachází v blízkosti povrchu kapaliny (obr. 2). Výslednice těchto vzájemně se ovlivňujících a přitahujících molekul vykazuje směr dovnitř kapaliny v kolmém směru k volnému povrchu kapaliny ($\vec{F}$).

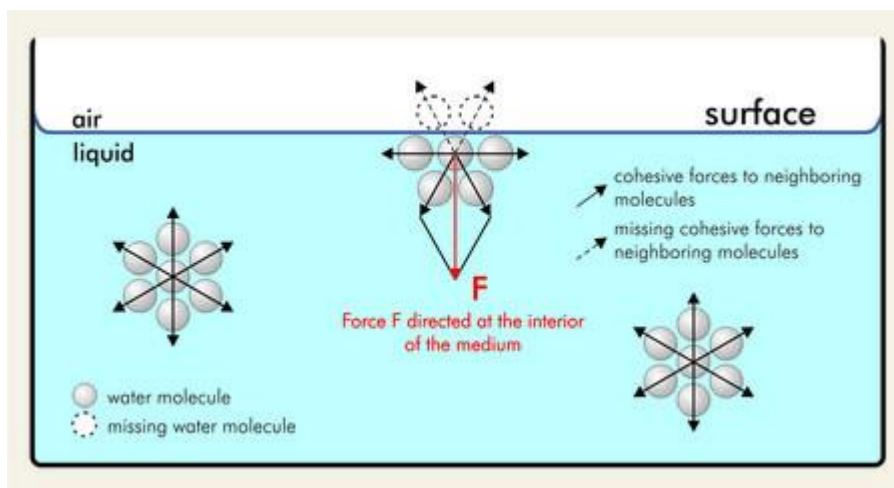
Díky přitažlivým silám mezi molekulami kapaliny vzniká na jejím povrchu *velmi tenká vrstva*, která má tloušťku zhruba 10^{-7} m s odlišnými vlastnostmi oproti vnitřní vrstvě kapaliny. Síly působící v povrchu kapaliny umožňují vznik *tlakové síly*, která ovlivňuje vrstvy pod ní. Z toho vyplývá, že při přechodu částice z vnitřku kapaliny do její povrchové vrstvy musí být tato síla $\vec{F}$ překonána. Poté je povrchové napětí definováno jako velikost síly (N.m) nutné k expanzi na povrch kapaliny (m^2). Z toho vyplývá vzorec pro vyjádření tohoto napětí: [9].

$$\sigma = \frac{F}{S} [N.m/m^2] \quad (1)$$

kde F velikost povrchové síly

S povrch kapaliny.

Voda vykazuje při 20°C hodnotu povrchového napětí $72,75 \text{ Nm/m}$.



Obr. č. 2: *Vzájemné působení sil na molekulu dané kapaliny [15]*

2.4. PEVNOST SPOJE

Z hlediska pevnosti lepeného spoje je důležité, aby fungovala adheze lepidla k lepenému materiálu a soudržnost filmu lepidla po ztuhnutí a vytvrzení. Pro vznik soudržného spoje je nezbytné, aby lepidlo smáčelo stykové plochy, dále musí dojít k vytvoření podmínek pro vznik stejnoměrného filmu lepidla ve spoji. Nakonec dojde ke ztuhnutí filmu ve spoji a ten pak váže povrchy obou dílů [4].

3. ROZDĚLENÍ LEPIDEL PODLE DRUHU FÁZE

3.1. LEPIDLA KAPALNÁ

Lepidla s kapalnou fází lze rozdělit na lepidla:

- dvousložková reaktivní* (vytvřují se chemickou reakcí dvou složek), patří sem epoxidy, polyuretany, fenolformaldehydová, močovinoformaldehydová, atd.
- jednosložková reaktivní* (vytvřují se vulkanizací vzdušnou vlhkostí), patří sem polyuretany, kyanoakryláty, silikony.
- rozpouštědlová* (vytvřují se odpařením rozpouštědel), patří sem kaučuková, polyuretanová, nitrocelulózová, atd.
- vodná roztoková* (vytvřují se odpařením vody), patří sem škrobová, dextrinová, kaseinová, deriváty celulózy, atd.
- vodná disperzní* (vytvřují se odpařením vody a spojením jednotlivých částí polymeru do souvislého filmu) [4].

3.2. LEPIDLA PEVNÁ

Lepidla s pevnou fází lze rozdělit na lepidla:

- a) *tavná* (vytvrzují se ochlazením, lepení jsou schopna po roztavení)
- b) *redispergovatelné prášky* (po rozmíchání ve vodě vznikne disperze, která se vytvrzuje odpařením vody a spojením částí polymerů do jednoho celku souvislého filmu) [4].

U pevných lepidel před jejich použitím musí dojít k převedení na kapalinu, aby došlo ke smáčení povrchu lepených spojů a povrchů.

3.3. TYPY LEPIDEL PRO LEPENÍ DŘEVĚNÝCH PRVKŮ

Lepidla volíme podle několika kritérií jejich použití a to zejména podle:

- chemického druhu lepených materiálů (lepidlo k lepení dřeva nemusí nutně lepit například ocel),
- fyzikálních vlastností lepených materiálů (materiály tuhé, měkké, pružné, savé, nesavé, atd.),
- kvality spoje (spoje tvrdé, pružné, vodovzdorné, odolné teplotě, snadno rozlepitelné, atd.),
- technologie nanášení (nanášení válcem, štětcem, tryskou, rychlé nebo pomalé lepení).

3.3.1. Disperzní lepidla

Tyto lepidla jsou systémem dvou nebo více fází, jejichž částice jedné nebo více makromolekulárních látek jsou rozptýleny, což znamená dispergovány v disperzním prostředí jako je například voda. Disperze makromolekulárních látek se připravuje polymerací nebo kopolymerací monomerů v disperzním prostředí, takto vzniklá disperze vykazuje velkou molekulovou hmotnost. Tímto způsobem jsou vyrobeny vodné disperze polyvinylacetátu a jeho kopolymerů, esterů kyseliny akrylové, styrenbutadienové kopolymerní disperze, atd. Protiklad výše uvedenému postupu představuje dodatečná dispergace pevných látek formou jejich vysokoprocentního roztoku. Do této skupiny řadíme kupříkladu vodné disperze polyesterových, alkydových, epoxidových a dalších pryskyřic.

Mezi nejrozšířenější lepidla patří polyvinylacetátové disperze homopolymerní či kopolymerní tzn. na bázi vinylacetátu a esteru kyseliny akrylové. Předností těchto lepidel je například to, že při poměrně vysokém obsahu sušiny okolo 50-60% zůstávají nízkoviskózními látkami. Neobsahují příliš mnoho organických rozpouštědel, a tudíž při práci s nimi odpadá riziko

fyziologických účinků a požáru. Jejich zpracování probíhá bez tvrdících přísad. Film disperzních lepidel tuhne za pomoci vsakování vody do lepených ploch a jejím postupným odpařením. Z tohoto důvodu je nutné, aby jeden z lepených materiálů byl porézni a propustný pro plyny.

K přípravě tohoto druhu lepidel se používá disperzí, které mají polymerační stupeň v rozmezí 1000 až 2000. Velikost částecek polymeru se pohybuje mezi 0,1 až 5 μ m [2].

3.3.2. Rozpouštědlová a kontaktní lepidla

Některé z termoplastických polymerů, kopolymerů a derivátů celulózy lze rozpustit v organických rozpouštědlech. Dají vzniknout viskózním roztokům, které mají dobrou adhezi k mnoha materiálům. Lepidla ve formě roztoku se dále upravují přísadami (změkčovadly, plnivy, pryskyřicemi, atd.) nebo můžeme vzájemně kombinovat s roztoky polymerů a kopolymerů. Ke vzniku spoje dojde vsáknutím a následným odpařením rozpouštědla. Kvůli viskozitě, která nám zaručí dobrou roztékavost, mohou mít tato lepidla jen nízký obsah sušiny a dochází tak po vysušení k vytvoření tenkého filmu [1].

3.3.3. Kyanoakrylátová lepidla

Jedná se o jednosložková lepidla. Jejich účinnou látkou jsou alkylalfa kyanoakryláty a to v monomerní podobě. Tyto lepidla jsou vysoce reaktivní. Ve spoji tento druh lepidel tuhne polymerací. Aktivace tuhnutí je spojena se vzdušnou vlhkostí prostředí a dochází k ní během několika sekund či minut podle typu lepidla, spojovaného materiálu a teploty. Lepidlo má elastický a houževnatý film, který se vyznačuje širokou adhezní účinností. Mezi jeho přednost lze zařadit i nepatrné smrštění. Změny vlastností těchto lepidel jsou určeny složením jejich monomerů či různými přísadami. Vyšší viskozity lze dosáhnout kupříkladu předběžnou polymerací monomerů či rozpuštěním jednoho i více polymerů v monomerním alkyl kyanoakrylátu. Přídavkem změkčovadel dosahujeme vyšší plastičnosti lepeného spoje. Reaktivnost monomerů jako základních částí může být usměrněna inhibitory. Plnivem u těchto lepidel je oxid křemičitý v koloidní formě. Jejich určení zahrnuje zvláště náročné aplikace [2].

3.3.4. Jednosložková lepidla

Tato skupina lepidel slouží k výrobě dřevěných aglomerovaných materiálů, minerálních plstí, izolačních rohoží, atd. Po vytvrzení mají dobré mechanické vlastnosti, jsou odolná vůči vodě, rozpouštědlům, biologické korozi a povětrnostním vlivům. Patří sem například

fenolformaldehdydová jednosložková lepidla. Skládají se z fenolformaldehdydových rezolů, které se vyrábí z fenolu, kresolů, xylenů či jejich směsí a formaldehydu v alkalickém prostředí. Při výrobě se používá jako katalyzátoru kondenzační reakce hydroxidu sodného nebo barnatého. Vzájemnou reakcí fenolu s formaldehydem v alkalickém prostředí dojde ke vzniku fenolalkoholů a těchto pak následně pryskyřičné produkty. Pro výrobu těchto lepidel užíváme syntetického fenolu. Vyznačují se červenohnědou až tmavohnědou barvou a silným zápachem. K jejich vytvrzení dochází při teplotách mezi 135 až 160°C. Pružnost těchto lepidel se dá zlepšit například modifikačními přísadami [2].

3.3.5. Tavná lepidla

Tyto lepidla se liší především technologií výroby a také svým složením. Při běžných teplotách mají tyto pevné látky termoplastický charakter. Jejich zpracování spočívá v tom, že se na krátký čas zahřejí na teplotu, při které se roztaví, zkapalní, čímž se stanou lepivými. Při ochlazování a tuhnutí lepidla ve spoji nesmí dojít k vytvoření vnitřního pnutí a spoj nesmí vykazovat studený tok. Po tomto úkonu má spoj zůstat několik sekund pod tlakem, aby bylo zajištěno dostatečné ztuhnutí a byla dosažena jeho počáteční pevnost. Správné funkce tavného lepidla se může dosáhnout jeho nízkou viskozitou a za tímto účelem se používají filmotvorné polymery a kopolymery, které mají nízkou molekulovou hmotnost [2].

3.3.6. Reaktivní lepidla

Epoxidová

Tyto lepidla jsou vhodná pro lepení široké škály materiálů. Patří sem epoxidové pryskyřice. Nedají se jimi lepit termoplasty jako je například organické sklo, polypropylen, polyetylen, atd. Vznikají reakcí vícemocných fenolů (bifenol A-DGEBA) s epichlorhydrinem. Mezi používané vícemocné fenoly patří dian neboli 2,2-bis[4-hydroxyfenyl]propan. Vlastnosti těchto lepidel se mohou dále upravovat dalšími látkami, mezi které patří změkčovadla či reaktivní rozpouštědla. V nevytvrzeném stavu jde o látky v kapalném nebo pevném stavu. Toto nám umožňuje rozpustit lepidla v ketonech, esterech, aromatických uhlovodících a ve vyšších alkoholech. Dalším zpracováním je smíchání s tvrdidly za normální nebo zvýšené teploty do 200°C. Jako tvrdidla slouží polyamidy, amidy dimerů mastných kyselin, aminy atd. Výhodnou vlastností těchto lepidel je jejich variabilnost a různorodá použitelnost. Při lepení dřeva se dosahuje dobrých výsledků při odolnosti proti povětrnostním vlivům a stárnutí. Aplikaci je lépe provádět na řezané nehoblované plochy [2] [10].

Polyuretanová dvousložková

Vznikají adiční polymerací polyisokyanátů s vícemocnými alkoholy či polyesterovými pryskyřicemi, které obsahují hydroxylové skupiny. Mezi jejich přednosti patří dobrá mechanická pevnost spojů, pružnost, odolnost proti dynamickému namáhání a také proti povětrnostním vlivům. Reakce probíhá mezi základními složkami, jakými jsou například polyestery nebo jiné polyhydroxy sloučeniny s polyisokyanáty. Spoj je po vytvrzení netavitelný a nerozpustný. Vlastnosti spoje lze ovlivnit poměrem obou složek. Po nižším přídavku polyisokyanátů je výsledný produkt měkčí, oproti tomu vyšší obsah vede k produktům tužšího charakteru. Tato skutečnost umožňuje vytvoření vyšší adheze lepidla k povrchu respektive jeho přilnavosti [2].

Fenolformaldehydová

Dvousložková fenolformaldehydová lepidla se vytváří pomocí dvou skupin fenolformaldehydových rezolů. Do první skupiny řadíme roztoky reaktivních rezolů v reaktivních rozpouštědlech (acetonu, ethylalkoholu), které je možno tvrditelně silným okyselením dostat na hodnotu pH nižší než 1. Ve druhé skupině máme vodné roztoky fenolformaldehydových rezolů, u kterých přídavkem paraformaldehydu či resorcinu snížíme teplotu vytvrzení za horka na 110°C i 90°C. Fenolformaldehydová lepidla jsou tvrditelná i za normální teploty. Jejich výroba spočívá v kondenzaci fenolu s formaldehydem v alkalickém prostředí. Poté, co kondenzace skončí, dochází k oddestilování vody a pak se rozpustí pryskyřice v acetonu nebo ethylalkoholu. Používanými tvrdidly jsou roztoky silných kyselin, například kyseliny para-toluensulfonové, fenolsulfonové, atd. [2].

Resorcinoformaldehydová

Tyto lepidla lze tvrdit za normální teploty. Z důvodu vysoké reaktivnosti resorcinu s formaldehydem se mohou připravovat předem daným způsobem. Buď se připraví základní pryskyřice v neutrálním prostředí za molárního poměru resorcinolu a formaldehydu 1:0,5. Po přídavku dalšího formaldehydu ve formě vodného roztoku nebo práškového paraformaldehydu je tato pryskyřice tvrditelná za normální teploty. Druhým způsobem je příprava pryskyřice v konečném molárním poměru obou složek v kyselém prostředí. Jelikož je resorcinol drahá surovina, vyrábíme tímto způsobem levnější směsná fenol-resorcinol-formaldehydová lepidla. Spoje vyráběné z těchto lepidel jsou odolné a tvrdé. Vykazují značnou odolnost proti teplotě. Odolávají též běžným rozpouštědlům, kyselinám, slabým

alkáliím a velice dobře povětrnostním vlivům. Předností těchto lepidel je to, že nepůsobí chemicky na okolí spoje. Dřevo při spojování těmito lepidly může mít vlhkost okolo 20%. Vyrábějí se s jejich pomocí dřevěné nosné konstrukce a provádí se s nimi montážní lepení dřevěných stavebních dílců [2].

Močovinoformaldehydová

Tyto lepidla našly své uplatnění při výrobě překližek, pazdeřových a dřevotřískových desek. Dále je můžeme využít při dýhování a montážním lepení. Mezi jejich výhodné vlastnosti patří použitelnost ve formě vodných roztoků, také bezbarvost a možnost vytvrzení v širokém teplotním rozmezí od 15 do 150°C. Močovina a formaldehyd reagují buď v neutrálním, slabě kyselém či slabě alkalickém prostředí v molárním poměru 1:1. Vznikne monomethylolmočovina. Při molárním poměru 1:2 už vzniká dimethylolmočovina. Při přípravě těchto lepidel se uplatňují dva postupy. Oba mají shodný molární poměr výchozích látek od 1:1,5 do 1:2,3. První postup spočívá v tom, že se roztok močoviny a formaldehydu nechá zreagovat ve slabě alkalickém prostředí za teploty 50 až 100°C. Tímto dojde ke vzniku většinou dimethylolmočoviny. Dle druhého postupu se do vroucího formaldehydu o hodnotě pH 4-5 přidává postupně vodný roztok močoviny a poté je vedena kondenzace do požadovaného stupně [2].

Melaminformaldehydová

Tato lepidla se vyrábějí reakcí melaminu a formaldehydu za molárního poměru 1:3 při teplotě 80°C o hodnotě pH 8. Proběhne reakce základních složek melaminu a formaldehydu a dojde ke vzniku adiční sloučeniny, která obsahuje methylolové skupiny. Další reakcí za zvýšené teploty se vytvoří pryskyřičné produkty. Tyto lepidla jsou v podstatě vodné roztoky melaminformaldehydových pryskyřic s 50 procentním hmotnostním obsahem sušiny. Produkty, které nebyly stabilizovány, mají krátkou životnost asi okolo 14 dní. Z tohoto důvodu se dodávají buď v prášku, v podobě tekutých stabilizovaných melaminových či směsných melaminmočovinových předkondenzátů a zřídka jako lepicí folie na papírovém nosiči. Stabilnějších roztoků těchto pryskyřic dosáhneme s vyšším kondenzačním stupněm, avšak za snížení jejich rozpustnosti ve vodě. Můžeme použít i způsob modifikace močoviny nebo částečně etherifikací. Vytvrzení se děje bez přídavku tvrdidel při teplotě od 125 do 145°C. Plnivy ovlivňujeme viskozitu lepidel. Slouží k výrobě speciálních překližek a třískových desek. Odolávají studené i vroucí vodě [2].

4. TRVANLIVOST LEPIDEL

Trvanlivost ve vztahu k lepeným spojům může být definována jako odolnost vůči působícím silám a musí dojít ke splnění požadavků, které umožní jejich funkčnost. Vzhledem k tomu, že dřevěné komponenty jsou v konstrukcích zabudovány po řadu let, slouží pro odhad dlouhodobé výkonnosti spojů *zrychlené laboratorní zkoušky*. Některé studie byly realizovány způsobem zkoušek v terénu, za účelem snazšího pochopení trvanlivosti lepidel v přirozeném prostředí. S lepidly, která v současné době používáme, máme dobré zkušenosti, čili jsme schopni odhadnout, jak by se měly případně chovat. Bylo vyvinuto několik metod zrychleného testování trvanlivosti, které nám poskytují zhruba stejné výsledky. Klíčovým faktorem je skutečnost, že režim selhání musí být totožný jak u zrychleného testování trvanlivosti, tak i uvažované trvanlivosti dlouhodobé. K tomuto nám slouží zrychlená zkouška stárnutí. Zrychlených testů není možno použít v případě, kdy k selhání lepidel dochází odlišnými způsoby.

Nejčastějším problémem trvanlivosti lepeného dřeva je fakt, že lepidlo není schopné přenést napětí vzniklé objemovými změnami, mezi které patří *bobtnání, sesychání a především změny spojené s měnícím se obsahem vlhkosti*. Většina dřevěných výrobků je vystavena vlhkostním změnám, které se stupňují při delším časovém vystavení dřeva podmínkám s jejím zvýšeným obsahem. Bobtnání se posuzuje na základě makroskopických změn, ale je nutné brát v úvahu i mikroskopické měřítko na úrovni buněk dřeva. Dostupné údaje ukazují, že bobtnání buněk způsobuje spíše než smrštění průměru lumenu zesílení buněčných stěn. Prostřednictvím hran buněčných stěn tedy dochází k silovému působení na lepidlo. Kupříkladu fenol-resorcino formaldehydové lepidlo bylo trvanlivější ve vlhkých podmínkách, kdy rozměrové změny dřeva nebyly tak patrné jako při procesu smáčení. Otázkou je i to, zda jsou odolná lepidla schopna vydržet vlhkostní změny, stabilizovat buněčné stěny a z toho vyplývající dosažení menší náchylnosti k bobtnání a sesychání. Lepidla by měla být schopna také lépe rozdělovat mezifázové napětí. Pokud pochopíme výše uvedené skutečnosti, pomůže nám to vytvořit odolnější lepidlo. Dalším faktorem vstupujícím do naší problematiky je ten, že zrychlené zkoušky mají za následek rychlé smáčení a sušení dřeva. Tyto změny mohou dosáhnout takové rychlosti, kdy při vysokém napětí, které je uměle vyvozeno tlakovým namáháním, není dřevní struktura schopna zareagovat, a tudíž nelze pozorovat změny, které by nám mohly pomoci k pochopení chování lepidel při dlouhodobém zatížení.

Lepidla na dřevo by měla projít více zkouškami dlouhodobé trvanlivosti. Pro konstrukční lepení dřeva musí lepidla odolávat tečení (krípu) při zatížení. Vzhledem k tomu, že hlavní

polymerní řetězec má rigidní neboli tuhou povahu a je zesíťován, tento problém není tak znatelný [5].

4.1. ZKOUŠKY ŽIVOTNOSTI

Od lepidel očekáváme, že při spojení dvou materiálů jsou schopny přenášet zatížení z adherendu do dalších částí konstrukce v prostředí, ve kterém působí, po celou dobu životnosti lepeného spoje. Účelem těchto zkoušek je tedy zaručení toho, aby u lepeného spoje nedošlo k jeho porušení. Pro tyto zkoušky jsou k dispozici různé metody, z nichž jsou používány zejména zkoušky na montážních lepených spojkách. Tyto zkušební metody nám umožňují pochopit, jak se lepené spoje chovají při daném zatížení (např. smykovém, tahovém, atp.), kdy jsou vystaveny po určitou dobu předem definovaným **vlhkostním a teplotním podmínkám**.

Ve většině případů mají tyto zkušební metody krátkodobý charakter. Zakládají se na chemických, mechanických a laboratorních testech lepidel, které jsou po strukturní stránce tvořeny polymery a jejich vzájemnými vazbami. Střednědobé testování výrobků, které se provádí v reálných podmínkách, nám poté může posloužit k tomu, abychom byli schopni srovnat krátkodobé laboratorní výsledky testů s tím, jak se bude lepený spoj či konstrukční prvek chovat při dlouhodobém zatížení a tím pádem odhadneme jeho životnost. Prováděny jsou i dlouhodobé testy lepených spojků, kdy jsou lepené spoje exponovány ve skutečném prostředí, ale jejich výsledky jsou omezeny horizontem 10 až 30 let. Z tohoto vyplývá, že se na krátkodobé zkoušky životnosti nemůžeme zcela spolehnout. Jako lepší se jeví porozumění vztahu mezi chemickou strukturou a s ní spojenou mechanickou odolností spojků [6].

4.1.1 Laboratorní podmínky stárnutí lepidla

Účelem je popsání laboratorních podmínek stárnutí, za nichž mohou být lepené spoje vystaveny různým vnějším vlivům a to povětrnostním nebo chemickým, aby byly zjištěny účinky na požadované vlastnosti.

Dosažené výsledky však nelze využít přímo pro stanovení životnosti lepeného spoje, jelikož neexistuje přímá souvislost mezi výsledky zkoušky a chováním lepeného spoje po dobu jeho užívání.

Parametry a podmínky stárnutí lepidel jsou specifikovány v ČSN EN ISO 9142. Obvykle se jedná o následující expozice či jejich vzájemné kombinace:

- teplota v rozmezí od -40° do $+175^{\circ}\text{C}$,
- doba expozice hodiny 1-96, týdny 1 až 52,
- relativní vlhkosti 15, 25 ± 5 , 50 ± 5 , 65 ± 5 , 90 až 100%,
- vlhkostní expozice (deionizovaná, destilovaná voda).

4.1.2 Zkoušky pro zjištění krátkodobé životnosti lepených prvků

Z hlediska *krátkodobé životnosti* se mechanické vlastnosti dřeva, lepidel a produktů z nich vytvořených liší v závislosti na konkrétních podmínkách, jakým jsou během svého působení vystaveny. Tyto specifické hodnoty mají se vzrůstající vlhkostí a teplotou klesající tendenci. Lepidla kategorie termosetů se vyznačují tím, že jejich užité vlastnosti se vlivem změn vlhkosti a teploty mění pomaleji než u dřeva, které těmito prostředky lepíme. Mezi tento druh lepidel řadíme lepidla na bázi formaldehydu. U termoplastů, mezi které patří lepidla kaseinová, polyvinylacetátová, atd., podléhají užité vlastnosti vlivem vlhkosti a teploty rychlejším změnám než dřevo. Tyto lepidla jsou zkoušena v suchém prostředí, dále za sucha po namočení ve vodě a po dlouhodobějším vystavení v prostředí s vysokou vlhkostí. U některých výrobků požadujeme odolnost vůči vyšším teplotám, použitých například při stavbě střech. Lepidla pro konstrukční výrobky, jako jsou laminované nosníky či překližky, vyžadují vysokou míru shody pro minimální pevnost, kdy dojde k porušení dřeva po několika zatěžovacích zkouškách s měnícím se obsahem vlhkosti. Lepené spoje u lamelových nosníků musí být schopny přenést teplotní a vlhkostní změny jen s nízkou úrovní delaminace [5].

Typy zkoušek pro zjišťování životnosti lepidel

Chování lepeného montážního spoje při mechanickém namáhání nám popisuje napětí, které vyvolá určitou odezvu od zatížení v tomto spoji. Při zkouškách těchto materiálů by měla být zaručena jistá míra opakovatelnosti, která nám umožní vzájemné srovnání dosažených dat a naměřených údajů.

Mezi běžně používané 4 základní druhy namáhání patří:

- Smykové* – síly působí rovnoběžně s lepenou spárou,
- Tahové* – síly působí kolmo k lepené spáře,
- Odolnost proti odštěpení* – vyplývající z oddělování vrstev podél lepené spáry např. v důsledku klínování.
- Delaminace* – vyplývající z působení sil v lepené spáře, které mají snahu oddělit pružnou část od části tuhé

Zkoušky, jako je rázová houževnatost, únavová pevnost a tečení jsou ovlivněny rychlostí a dobou výdrže při daném namáhání. Oproti pevnosti ve smyku a tahu jsou zkoušky rázové houževnatosti mnohem rychlejší. Únavová pevnost je v podstatě ztráta pevnosti při opakovaném zatěžování a odráží spíše zhoršení mechanických vazeb než vlivy okolního prostředí. Ohybová zkouška spočívá v působení ohybové síly na prostém nosníku ve středu jeho rozpětí, kolmo k ploše lepeného spoje. U laminovaného nosníku směřuje velká část smykových sil do lepené spáry mezi dané lamináty [5].

Použití lepidel je většinou realizováno při spojení dvou různých materiálů. Z tohoto důvodu je životnost lepidel podmíněna ztrátou viskoelastických vnějších a vnitřních sil. Síly, které jsou shromažďovány a které vyvozuje lepená soustava, musí být použitým produktem bezpečně přeneseny. Účinky vnitřních sil často nejsou brány v úvahu, ale míra jejich důležitosti může hrát ve dřevě významnou roli. Nejlepší životnosti docílíme u těch spojů, které dosahují pevnosti větší než je pevnost samotného dřeva.

Pro většinu lepidel je nutné, aby povrchy, které mají jejich prostřednictvím být lepeny, byly čisté a kvalitní. Záleží také na mechanických vlastnostech lepeného materiálu například na pevnostních vazbách dřeva. Poměrně obtížná je distribuce kapky lepidla na nepravidelném povrchu či plochách dřevěných vláken. Stejný problém nastává u třísek, z nichž se vyrábí dřevovláknité desky.

Mnoho lepidel vytváří silné vazby se dřevem v suchých podmínkách, ale s rizikem, že dřevo je v tomto případě slabším článkem, tudíž bude podrobena porušení jako první. Naopak při podmínkách s vyšší vlhkostí bude k porušení docházet spíše na rozhraní mezi dřevem a lepidlem než jednotlivě v těchto komponentech. Epoxidová lepidla vykazují vysoké procento selhání při spojení dřeva v suchém stavu, naopak nízký stupeň porušení, kdy je dřevo vlhčí. Nedávné studie ukázali, že článkem, který se jeví jako slabý, je právě epoxid. Ten je sice dostatečně pevný, ale křehký. Z tohoto důvodu je zapotřebí zlepšení jeho vlastností nebo jít cestou pochopení napětí na mezifázovém rozhraní mezi lepidlem a dřevem. Pokud je totiž pevnost lepidla a mezifáze lepidlo-dřevo silnější než pevnost dřeva, dojde k porušení dřeva jako prvního z materiálů. Důležité je znát pevnost dané dřeviny a její hustotu [5].

Blíže budou specifikovány pouze nejčastěji používané zkoušky, které jsou normativně ukotveny.

A. Smyková pevnost ve směru vláken

Mezi nejpoužívanější zkoušky pro stanovení pevnosti lepeného spoje patří *pevnost ve smyku ve směru rovnoběžně s vlákny* (EN 14080, EN 302-1). Jelikož většina lepidel na dřevo má v tomto směru vyšší pevnost než dřevo samotné, nemusí dojít k potenciálnímu využití pevnosti lepidla. Tato skutečnost platí zejména u dřeva se střední a nižší objemovou hmotností. Od lepených konstrukčních soustav se očekává, že překročí pevnost dřeva. Lepidla, která svojí pevností nedosahovala parametrů dřeva, nejsou pro konstrukční návrh používána, neboť nebyly vyvinuty metody, díky nimž by bylo možné ověřit jejich mechanické vlastnosti, určitým konsenzem je metoda ASTM D5574-97. Základním kritériem životnosti dřeva je překročení jeho pevnosti. Za tímto účelem se procentuálně vyjádří množství dřeva, které ve spoji selhalo a vztáhne na celkovou plochu lepeného spoje. Tento ukazatel pevnosti spoje je velmi důležitý a často má daleko více vypovídající schopnost nežli smyková pevnost spoje. Jedná se *kohezní poškození dřeva* (*wood failure*). Je-li dřevo porušeno pouze povrchově s tím, že dřevní vlákna jsou spojena s vrstvou filmu lepidla, pak pevnost a trvanlivost lepeného spoje bude kvůli chybějící vzájemné vazbě nedostatečná. V prostředí se zvýšenou mírou vlhkosti, jak je známo, dochází k většímu výskytu poruch dřeva a s tím je spojen úbytek pevnostních parametrů materiálu. Pokud by při laboratorních zkouškách byly vzorky během cyklického zatěžování střídavě sušeny, pak by pravděpodobnost selhání vazeb byla o to větší. Pokud chceme zjistit životnost odolných typů lepidel, zvolíme postup, při kterém je spoj nasycen vodou, a provedeme standardní smykovou zkoušku. Selhání dřeva je za platné měřítko pevnosti spoje považováno pouze u spojů provedených z masivního řeziva. Vysoká pevnost ve smyku a charakteristická hodnota kohezního poškození dřeva však nejsou dostatečnými ukazateli trvanlivosti strukturální vazby spoje.

D. Delaminace

Zkouška delaminace nám umožňuje zjistit odolnost lepených spojů vůči objemovým změnám jako je např. bobtnání, sesychání v prostředí se zvýšenou vlhkostí a teplotou. Při této zkoušce dojde ke vzájemnému oddělení jednotlivých laminátů z důvodu selhání použitého lepidla a to buď přímo v lepidle nebo na rozhraní mezi lepidlem a adherendem. Delaminace nastává

tehdy, pokud lepidlo dosahuje větší pevnosti než samotný adherend. Pokud adherend delaminaci odolává, pak k porušení spoje dojde v lepené spáře, ale ne ve vrstvě lepidla.

Mnoho lepidel, které vykazují větší hodnoty pevností než samotné dřevo, způsobují delaminaci v adherendu. Tento problém se dá snížit za pomoci hydroxymethyl resorcinového nátěru. Samotná zkouška delaminace zahrnuje vsáknutí vody do vzorku v prostředí vakua, následuje sušení a nakonec po určitou dobu vzorek povaříme. Ve dřevě probíhají rozměrové změny a následné deformace, které způsobí selhání v lepené spáře vlivem působení vnitřních sil a je velmi obtížné tyto síly nějakým způsobem kvantifikovat. Nutno podotknout, že při téhle zkoušce vlivem rychlého provedení může dojít k objemovým změnám a následnému porušení dřeva, které má charakter „zlomení“, ke kterým by za normálních podmínek postupného dotvarování dřeva přirozeným úbytkem vlhkosti dojít nemohlo. Změny vyvolané kolísáním vlhkosti mohou způsobit napětí, které je kombinací tahových a smykových sil působících na hrany spoje [5]. Pro testování vrstveného dřeva se používají zkoušky *cyklické delaminace* (např. EN 14080, EN 302-2), která je charakterizována procentuálním vyjádřením adhezního selhání (delaminace) posuzovaných lepených spár. Riziko delaminace se pohybuje okolo 5% u lepených spojů jehličnatých dřevin a 8 % u lepených spojů dřevin listnatých. Z těchto hodnot pak usuzujeme na vzájemné spolupůsobení dřeva, lepeného spoje a jejich chování během doby, po kterou budou vystaveny danému zatížení.

4.1.3 Zkoušky pro zjištěné dlouhodobé životnosti lepených prvků

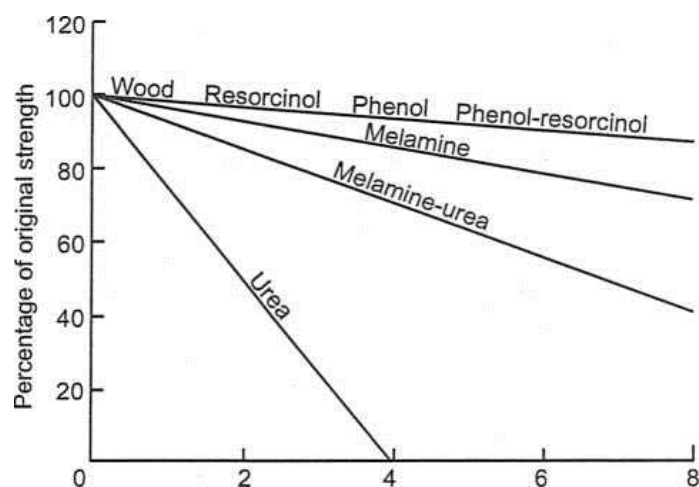
Z dlouhodobějšího hlediska se kvalita dřeva, lepidel a lepených spojů zhoršuje z toho důvodu, že jsou vystaveny klimatickým vlivům. Jak již bylo zmíněno, jde především o zvýšený obsah vlhkosti, kolísání teplot a v neposlední řadě může jít o koncentrace různých chemických látek či výskyt mikroorganismů. *Dlouhodobá životnost* je pak výsledkem naměřených mechanických vlastností výrobku, které mají klesající tendenci ve shodě s dobou, po kterou je spoj exponován v daném prostředí. Za trvanlivý výrobek lze označit ten, který během svého působení nevykazuje ztrátu svých užitných vlastností.

U mnoha lepidel a výrobků z nich je doloženo, že dokáží velice dobře odolávat různým nepříznivým vlivům. Tím snazší je pak posouzení, jak se budou tyto výrobky chovat z hlediska dlouhodobé životnosti. Pokud je lepený spoj proveden kvalitně, jsou některá z lepidel schopna zachovat jejich pevnostní charakteristiky prakticky po celou dobu jejich užívání. Podmínkou je obsah vlhkosti nepřesahující hodnotu okolo 15%. Nicméně některá

z lepidel špatně snášejí vystavení teplotám vyšším než je 38°C a to buď cyklickému či kontinuálnímu. Nižší teploty jak z jednotlivých výzkumů vyplývá, nemají na lepené spoje větší vliv [5].

4.1.4 *Odolnost proti hygrotermální zátěži vybraných druhů lepidel*

Mezi odolné typy adheziv patří lepidla na bázi formaldehydu v kombinaci s fenolem. Jsou vhodná pro výrobky, u kterých předpokládáme jejich vystavení nepříznivým klimatickým vlivům. O něco menší odolnost vykazovala melamin a močovino-formaldehydová lepidla. Tyto lepidla jsou náchylnější k poškození vlivem teploty a vlhkosti. Viz obr.č.3



Obr. č. 4: Míra zhoršení pevnosti lepeného spoje v závislosti na čase[5]

Výrobky spojené lepidly na bázi polyvinylacetátu a bílkovin (kaseinová) proti dlouhodobějšímu působení vody nejsou odolné. Špatně snáší i střídání obsahu vlhkosti a to zejména ve spojení se dřevem s vyšší hustotou. Použití je můžeme ve vnitřním prostředí, kde musí být správně aplikována.

Některé druhy izokyanátových, epoxidových a polyuretanových lepidel jsou dostatečně odolné i při použití ve vnějším prostředí. Tato odolnost je ovšem podmíněna expoziční dobou lepeného spoje.

Mezi nejodolnější stavební lepidla patří polyuretanová, která jsou po chemické stránce ošetřena, aby si zachovala svoji pružnost.

U nových druhů lepidel (jakých) není stanoveno, jak se budou chovat z hlediska dlouhodobé životnosti a tudíž u nich provádíme jen odhad tohoto parametru pomocí zrychlených

laboratorních zkoušek. Lepidla jsou vystavena prostředí se zvýšeným obsahem vlhkosti, zatěžovacím zkouškám či vyšším teplotám, které probíhají povětšinou cyklicky. Nicméně se na tyto zjištěné skutečnosti nemůžeme zcela spolehnout [5].

5. SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE

Tento druh mikroskopie je používán jako základní metoda pro pozorování ve všech biologických oborech, jejichž předmětem je buňka a to z toho důvodu, že je schopná rozlišit velikost buněk a organel. Zobrazení se děje za pomoci světelných paprsků na rozdíl od mikroskopie elektronové, u které využíváme proudu elektronů. Dle osvětlení pozorovaného objektu dělíme mikroskopii na:

1. *Mikroskopii v procházejícím světle* např. mikroskopie ve světlém poli, mikroskopie v temném poli, fázově kontrastní mikroskopie, interferenční mikroskopie, polarizační a fluorescenční mikroskopie.
2. *Mikroskopii v dopadajícím světle*, kdy světlo dopadá na povrch objektu shora. Dělení je obdobné jako u 1.

Dle osvětlení okolí objektu dělíme mikroskopii na:

1. *Mikroskopii ve světlém poli*. Patří mezi nejpoužívanější metody. Objekt, který je zobrazován, má tmavý obrys, a je ve světlém zorném poli.

U této metody je veškeré nerozptýlené (nedifragované) světlo soustředěno do objektivu. Je možno ji použít i pro nepřehledné objekty. K rozlišení jednotlivých detailů, hran a ploch pozorovaného objektu je zapotřebí jeho kontrastu, kterého dosáhneme díky různé amplitudové propustnosti již zmíněných detailů zkoumaného předmětu. Pomoci nám mohou i rozdílné barevné odstíny daného objektu. Problém nastává, pokud chceme předmět pozorovat podrobně včetně jeho nejjemnějších detailů. Příliš mnoho světla totiž není pro lidské oko příjemné a může působit velice rušivě. Následkem pak je i nesprávné vyhodnocení a špatný závěr pokusu [20].

2. *Mikroskopii v temném poli*, kdy objekt je v temném (černém) poli.

Tato metoda využívá průchod světelných paprsků, které jsou difúzně odražené od objektu. Při pozorování v tmavém poli daný objekt osvětluje šikmými paprsky na rozdíl od světlého pole. To zapříčiní, že přímo vedené či zrcadlově odražené světelné paprsky nevniknou přímo do objektivu mikroskopu. Při pozorování drobných detailů a struktury předmětu se světelné

paprsky lámou a dojde k jejich rozptýlení a část se dostane do zorného pole objektivu mikroskopu. Detaily a jemná struktura pozorovaného objektu poté září na tmavém poli. Intenzivnější rozptyl odraženého světla a lepší viditelnost způsobí, že je možno pozorovat na tmavém poli veškeré detaily předmětu. U této metody je zapotřebí použití kondenzoru, který má numerickou aperturu větší nebo shodnou s numerickou aperturou mikroskopu. Apertura vyjadřuje velikost otvoru optické soustavy. Předmět je pozorován při jednostranném nebo kruhovém osvětlení [20].



Obr. č. 5: Průchod světelných paprsků přes transparentní objekt u metody světlého pole a metody tmavého pole [20]

5.1 Světelný mikroskop a jeho stavba

Díly plnící mechanickou funkci: stativ, noha stativu, šroub pro hrubé a jemné zaostřování jinak řečeno makro a mikrošroub, stolek mikroskopu, vodič preparátu, měnič objektivů (revolverový), kondenzorová a filtrová objímka.

Díly plnící optickou funkci: objektivy, okuláry, kondenzor obsahující aperturní irisovou clonu. Starší typy mikroskopů mají zrcátko s jednou stranou rovnou a jednou vydutou.

Díly plnící funkci osvětlení: lampa v noze stativu mající kolektorovou čočku, která je fixně seřizena (osvětlovač), kolektor soustřeďující světlo do kondenzoru.

Clony: aperturní irisová clona je umístěna pod kondenzorem u většiny typů mikroskopů. Polní clonu mají mikroskopy a vestavěným osvětlovačem.

Obraz, který můžeme pomocí objektivu mikroskopu pozorovat je skutečný, zvětšený a převrácený obraz objektu v přední ohniskové rovině okuláru. Pozorujeme jej okulárem jako lupou. Výsledný obraz, který se k nám dostává je tudíž neskutečný, převrácený a ještě více zvětšený [7].

5.2 *Vzájemný vztah mezi pozorovaným objektem a jeho obrazem*

Kupříkladu při pozorování buňky vidíme její obraz. Tuto skutečnost můžeme demonstrovat v následujícím sledu:

- Objekt v preparátu (buňka)=objektivní skutečnost
- Obraz objektu vytvořený objektivem mikroskopu=její první obraz
- Obraz předchozího obrazu zvětšený okulárem=její druhý obraz
- Obraz zachycený na sítnici oka či fotografické vrstvě=její třetí obraz
- Vjem objektu (buňky)=její čtvrtý obraz

Obraz, který máme možnost mikroskopem pozorovat, vytvořila tedy optická soustava použitého přístroje. Od toho se odvíjí informace o objektu a závisí tudíž na vlastnostech dané optické soustavy a také na individuálních schopnostech pozorovatele. Tyto okolnosti vedou ke zjištění, že každý mikroskopický obraz jím pozorovaný je vlastně abstraktní skutečností svého druhu.

Jednotlivé složky optické soustavy můžeme vzájemně zaměňovat, čímž se zdokonalují schopnosti pozorovatele postupným získáním zkušeností. O objektu tedy máme dostačující informaci. Tuto informaci bychom měli být schopni několikrát napodobit a zajistit tak při dostupné přístrojové technologii určení skutečných znaků objektu našeho pozorování.

U mikroskopu hraje důležitou roli to, jak je schopný vizualizovat informaci o daném drobnohledném předmětu. Z tohoto pohledu od něj očekáváme určité schopnosti, mezi které patří *rozlišovací, zvětšovací a zobrazovací schopnost*.

To k čemu musí dojít je rozlišení pozorovaného předmětu od okolí, aby se zamezilo jeho splynutí s ním. Následné zvětšení nám musí umožnit viditelnost předmětu naším zrakem. Těmito dvěma schopnostmi jsme schopni předmět zobrazit.

Zobrazení mikroskopu probíhá ve dvou stupních:

1. Obraz předmětu je tvořen objektivem v jeho horní ohniskové rovině.
2. Následně je obraz zvětšován okulárem.

Schopnost rozlišení mikroskopu je dána jeho *číselnou aperturou* A , která má velice důležitý význam hned z několika hledisek:

- Určuje rozlišovací schopnost a hranice potřebného zvětšení.

- Má vliv na světelnost obrazu mikroskopu.
- Ovlivňuje hloubku ostrosti [6].

5.3 *Ohyb a interference světla*

Jelikož má světlo vlnovou povahu, tak není v mikroskopu obrazem předmětového bodu bod, ale rozptylový či ohybový kroužek. Ten utvoří okolo něj něco jako obal, jehož světelnost k okrajům klesá. Tento jev je výsledkem ohybu a interference světelných paprsků. Používají se při pozorování silně zvětšujícími objektivy. Pokud dojde k situaci, kdy jsou dva objekty těsně vedle sebe a jejich rozptylové kroužky se z části překrývají, nebudou rozlišeny a budou zobrazeny jako jeden objekt.

Kupříkladu biologický objekt v preparátu se skládá z velkého množství drobných struktur, ve kterých je procházející světlo ohýbáno a dochází k jeho interferenci. Tento fakt je rozhodující pro rozlišovací schopnost objektivu a obrysovou ostrost (kontrast) obrazu [6].

6. **FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE**

6.1. *Podstata fluorescenčního záření*

Luminiscence je samovolné záření obvykle pevných nebo kapalných látek, které vzniká jako přebytek záření tělesa nad úrovní jeho tepelného záření dané spektrální oblasti při dané teplotě, přitom toto záření má danou dobu dozívání tedy trvá i po skončení budícího účinku. To znamená, že světelné záření vyzařované tělesem není spojeno pouze s jeho teplotou (Wienův posunovací zákon) ale i s jiným dějem, tzv. luminiscencí. K luminiscenci dochází:

- a) při chemické reakci (enzym luciferáza oxiduje luciferin u světlušky), potom hovoříme o *chemiluminiscenci*.
- b) po ozáření, poté se jedná o *fluorescenci* nebo *fosforescenci*.

Fluorescence – název odvozen podle minerálu fluoritu neboli kazivce (CaF_2), u kterého byl tento jev poprvé pozorován. U anorganických sloučenin je fluorescence pozorována zřídka (například u soli vzácných zemin, sloučenin uranylu apod.). Častěji se vyskytuje u organických látek, z nichž nejčastěji využívanými jsou sloučeniny obsahující aromatické cykly [14].

Záření, které luminiscenci vyvolává, se nazývá **excitační**, záření vysílané látkou se nazývá **emisní**. K vyvolání excitačního záření se nejvíce používá modré a ultrafialové záření ze rtuťových vysokotlakých výbojek. Zatímco u fluorescence trvá vyzařování emisního světla

krátkou dobu a po zhasnutí excitačního záření téměř okamžitě emise zhasíná (asi za 100 pikosekund, $100 \times 10^{-12}\text{s}$), u fosforescence může k emisi docházet i dlouhou dobu po zhasnutí excitačního záření. Látka schopná fluorescence se nazývá *fluorochrom*. Fyzikální podstata fluorescence a fosforescence spočívá ve vlastnostech elektronového obalu atomů v molekulách fluorochromu. Elektrony těchto látek jsou schopny absorbovat foton excitačního světla, čímž se zvýší jejich energie. Část této nově nabyté energie však elektron po chvíli vyžáří jako foton s nižší energií a tedy delší vlnovou délkou. Protože došlo ke ztrátě energie, je vlnová délka emisního světla vždy delší než vlnová délka světla excitačního (Stokesovo pravidlo). Jelikož vlnová délka udává barvu světla, pozorujeme u emitovaného světla posun k červené části spektra [12].

U daného vzorku může docházet k jevu tzv. zhášení fluorescence, který způsobuje snížení intenzity fluorescence daného vzorku. Ve své podstatě je to bimolekulární proces, jež zapříčiní pokles kvantového výtěžku fluorescence. Ta následně slábne, ale spektrum emisních vlnových délek je i nadále zachováno. Známe celou řadu látek, které mohou fungovat jako zhášecí fluorescence. Jedním z nejznámějších zhášeců je molekulární kyslík. Ten dokáže zhasit většinu fluoroforů. Před pozorováním je tedy nutné, aby rozpuštěný kyslík byl předtím, než dojde k samotnému pokusu, odstraněn. Dalšími účinnými zhášecí jsou aromatické a alifatické aminy. Zhášení způsobují také těžké atomy, kam řadíme například halogenidy jodid a bromid. Patrně odlišný je princip zhášení u látek, které obsahují chlor [8]. Lze zmínit i proces samozhášení, kdy se jedná o zhášení fluoroforu jím samotným, k čemuž dochází při vysokých koncentracích fluoroforu nebo při vysoké hustotě značení [11].

6.1.1. Výhody fluorescenční mikroskopie:

Možnost snadno a velmi pěkně zviditelnit a následně studovat látky a struktury organismů, které jsou jinak nedetekovatelné nebo jen velmi nesnadno viditelné a které jsou v buňkách obsaženy jen v minimálních množstvích. Teoreticky tak lze vizualizovat kterýkoli genový produkt na buněčné úrovni [11].

6.1.2. Nevýhody fluorescenční mikroskopie:

Fotobleaching (*photobleaching*, zhášení) je jev, kdy fluorofory jsou účinkem intenzivního světla rozkládány a trvale ztrácejí schopnost emitovat záření, nevratné strukturní změny fluoroforů vedou k úplnému trvalému vyblednutí vzorků. Části vzorku nad a pod zaostřenou

rovinou mikroskopu jsou také excitovány a světlo pocházející z těchto oblastí přispívá k rozostření obrazu [11].

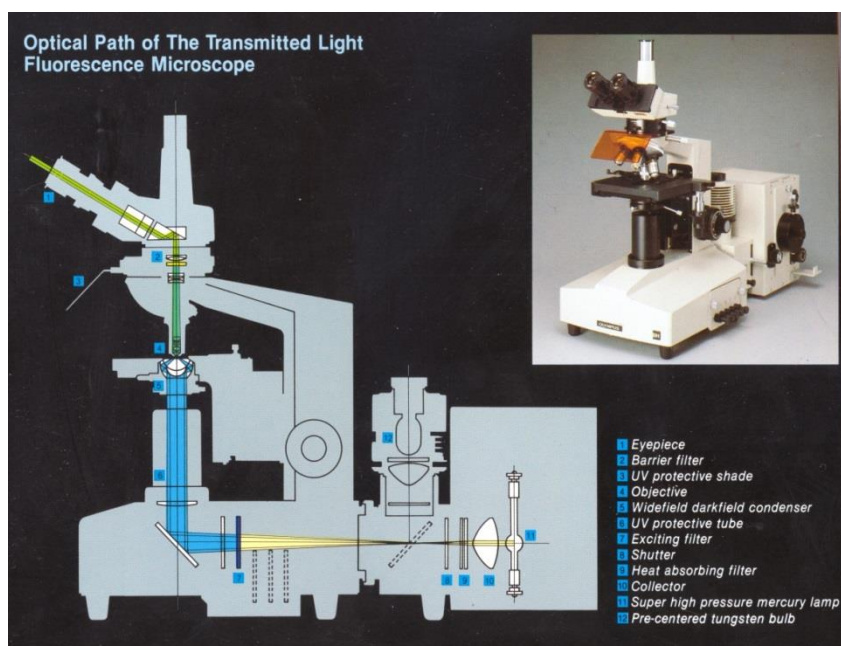
6.2. Druhy fluorescenční mikroskopie

Podle konstrukce se fluorescenční mikroskopy rozdělují na dvě základní skupiny:

- a) **Transmisní fluorescenční mikroskop** (*Transmission light fluorescence microscope*)
- b) **EPI-fluorescenční mikroskop** (*Reflected light fluorescence microscope*)

6.2.1. Transmisní fluorescenční mikroskop

U tohoto typu mikroskopu prochází světlo excitačním filtrem a na preparát přichází zespodu jako u klasického světelného mikroskopu. Pro osvětlení preparátu se však nepoužívá klasický kondenzor, ale kondenzor zástinový, který odráží světlo tak, že dopadá na preparát z boku. Procházející excitační světlo tak letí mimo objektiv a do objektivu se dostane emitovaná fluorescence [7]. Schéma tohoto přístroje se nachází na obrázku č. 6.



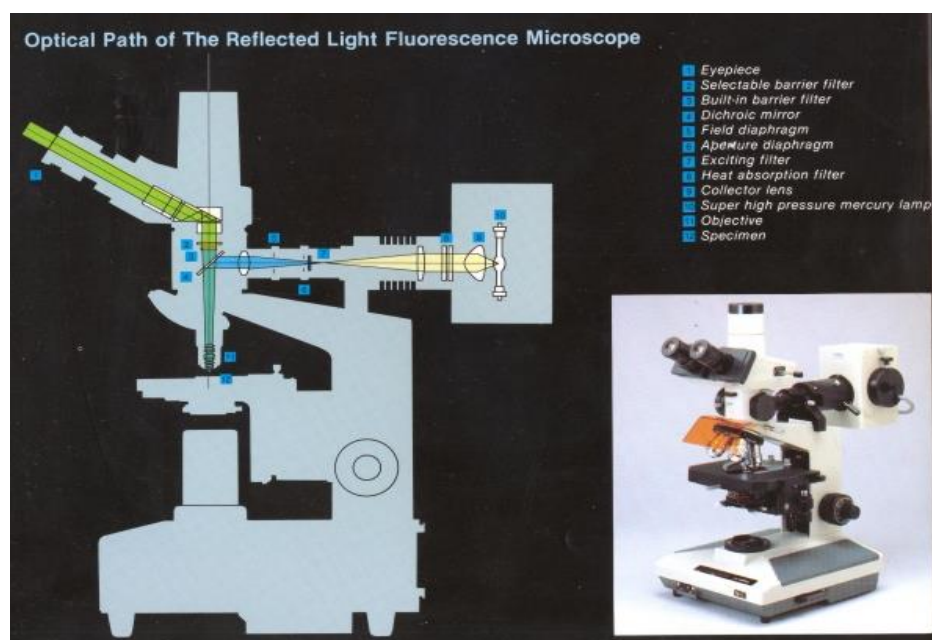
Obr. č. 6: Transmisní fluorescenční mikroskop

- 1) okuláry 2) bariérový filtr 3) stínítko-ochrana před UV zářením 4) objektiv 5) zástinový kondenzor
- 6) optická dráha tubusu 7) excitační filtr 8) clonka 9) filtr pro absorpci tepla 10) kolektor
- 11) vysokotlaká rtuťová výbojka 12) vycentrovaná wolframová žárovka

6.2.2. EPI-fluorescenční mikroskop

Excitační světlo prochází přes klasický kondenzor objektivem, dopadá na preparát shora a emisní světlo se vrací zpět do objektivu. Je zde použito zvláštního typu zrcadla, které odráží

excitační světlo do objektivu a propouští emisní světlo do okuláru, nazývá se dichroické zrcadlo a propouští či odráží světlo v závislosti na jeho vlnové délce. Dichroické zrcadlo nahradilo původně používané polopropustné zrcadlo, které polovinu světla propouští a polovinu odráží, bez ohledu na vlnovou délku a způsobuje tak velké ztráty světla. Používá se vždy takový typ zrcadla, který maximum excitačního světla odráží a maximum emisního světla propouští. Vhodná kombinace dichroického zrcadla, excitačního a emisního filtru pro použitý druh fluorochromu se do epifluorescenčního mikroskopu vkládá pohromadě jako tzv. kostka, jejíž dvě stěny jsou tvořeny filtry a úhlopříčka dichroickým zrcadlem. Kostky jsou umístěny na výměníku a je možné je vyměňovat podle potřeby. Schéma Epi-fluorescenčního mikroskopu se nachází na obr. č. 7. [11].



Obr. č.7: Epi-fluorescenční mikroskop

- 1) okuláry 2) selektivní bariérový filtr 3) zabudovaný bariérový filtr 4) dichroické zrcadlo
- 5) polní clonka 6) aperturní clonka 7) excitační filtr 8) filtr absorbující světlo
- 9) kolektorové čočky 10) vysokotlaká rtuťová výbojka
- 11) objektivy 12) vzorek

6.3. Stavba fluorescenčního mikroskopu

Jako zdroje světla se u fluorescenčního mikroskopu užívá vysokotlaké rtuťové výbojky nebo kombinace xenon-rtuťové. Křemenná trubice v sobě ukrývá malé množství rtuti a inertního plynu. V intervalu 356–546 nm vydá největší množství energie. Výkon výbojek bývá různý,

používají se výbojky s výkonem 50, 100 a 200 W. Excitační záření projde nejdříve excitačním filtrem. Tento filtr dovolí prostupu světla jen o výše zmíněné vlnové délce. Zabraňuje prostupu světla o vlnových délkách záření emitovaného (fluorescenčního), to by vyvolalo nežádoucí barevné pozadí. Dále světlo dopadá na dichroické zrcadlo, nastavené v úhlu 45°.

6.3.1. Excitační a bariérový filtr

Abychom mohli dobře pozorovat emisní záření, jehož intenzita je vždy mnohem nižší než intenzita excitačního záření, používáme dvojici filtrů. Excitační filtr propouští z barevného spektra pouze část potřebnou pro excitaci fluorescence a zabraňuje průchodu světla o stejné či podobné vlnové délce jako světlo emisní, které by vytvářelo pozadí. Bariérový filtr propouští pouze emisní část spektra a zabraňuje průchodu excitačnímu světlu. Excitační světlo se od emisního sice liší barvou, ale je mnohem intenzivnější, takže by v něm emisní světlo nebylo lidským okem rozlišitelné [12].

6.4. Postup přípravy vzorků pro fluorescenční mikroskopii

Fluorescenční metody se používají především, pokud potřebujeme zviditelnit určité látky a struktury v buňce. Při pracovním postupu zbarvíme některé struktury v objektu fluoreskujícím barvivem již zmiňovaným fluorochromem. Objekt je pak ozářen světlem o určité vlnové délce, které propouští excitační neboli budící filtr a fluorescence je následně vyvolána použitým barvivem. Pozorování objektu probíhá okulárem přes bariérový filtr, který pohltí světlo procházející budícím filtrem a propustí světlo, které vzniklo fluorescencí. Výsledkem je to, že v temném zorném poli se vyzáří struktury s navázaným fluorochromem.

Silnější fluorescenci dosáhneme zářením dopadajícím na objekt, nežli procházejícím objektem. Její intenzita se zvětšuje s kvadrátem číselné apertury objektivu. Je nutné požívat podložních a krycích skel, uzavíracího média imerzního oleje bez primární fluorescence, tzn., že v použitém excitačním záření nefluoreskují.

6.4.1. Přímá fluorescence

Některé fluorochromy (DAPI, ethidium bromid, Hoechst, propidium jodid) se sami o sobě vážají na určité molekuly (např. na DNA) a můžeme je tedy použít na zviditelnění těchto molekul.

6.4.2. Imunofluorescence

Protože máme k dispozici celé barevné spektrum fluorochromů, můžeme zviditelnit více různých struktur v téže buňce a sledovat tak jejich vzájemnou lokalizaci [12]. Pro většinu struktur v buňce nelze najít vhodný fluorochrom, který by se specificky vázal pouze na vybraný typ buňky. V takovém případě existují postupy pro vytvoření protilátky, která se specificky váže na téměř jakýkoli druh molekuly. Máme-li takovouto protilátku, můžeme na ni kovalentně navázat fluorochrom a vyrobit tak fluoreskující molekulu specificky rozeznávající to, co potřebujeme. V tomto případě hovoříme o přímé imunofluorescenci. S ohledem na složitost přípravy protilátky lze využívat tzv. nepřímou imunofluorescenci. U této metody se nejdříve připraví specifická primární protilátka (biologicky, v určitém zvířecím druhu), která se naváže na molekulu nebo strukturu, kterou chceme lokalizovat. Nevýhodou nepřímé fluorescence oproti přímé fluorescenci je nižší specifita.

6.4.3. Bližší charakteristika fluorescenčních barviv a jejich rozdělení

Řadíme sem zejména fluorescenční sondy, které jsou hlavní součástí fluorescenční spektroskopie. Nástroje potřebné k rozlišení vlnových délek, nám pomáhají určit spektrální vlastnosti fluoroforů. Fluorescenční sondy musí vykazovat citlivost na pH, aby mohli být použity k jeho měření. Dále by měli mít dostatečnou délku buzení světla a emisní vlnové délky [8].

Dělení fluoroforů je následující:

- vnitřní (vlastní, intrinsic)
- vnější (nevlastní, extrinsic)

A. Vnitřní fluorofory

Tyto barviva se vyskytují volně v přírodě. Patří sem aromatické aminokyseliny, NADH, flaviny, pyridinové deriváty a chlorofyl. Protein vnitřní fluorescence pochází od aromatických aminokyselin tryptofanu, tyrosinu a fenylalaninu, jejichž absorpční i emisní pás se nachází v UV oblasti spektra v rozmezí 240 až 300 nm. V proteinech, které jsou v přirozeném stavu, se emise tyrosinu často rozloží, což se dá vysvětlit jeho interakcí s peptidovým řetězcem nebo přenosem energie na tryptofan. Denaturace proteinu, má často za následek zvýšenou emisi tyrosinu. Stejně jako u fenolu, tak i kyselinová disociační konstanta tyrosinu při excitaci dramaticky klesá a může v tomto stavu dojít k ionizaci. Emise z fenylalaninu byla pozorována pouze tehdy, když vzorek proteinu postrádal tyrosin a zbytky tryptofanu.

Emise tryptofanu je velmi citlivá ve svém přirozeném prostředí a její využití spočívá v tom, že nám podává zprávu, jaké prostorové uspořádání atomů v molekule sloučenin obsažený protein zaujímá. Posuny emisního spektra proteinů jsou způsobeny některými jevy a to například vázáním ligandů, seskupením protein-protein či rozkladem proteinu samotného. Emise maxima proteinů jsou odražena průměrnou expozicí zbytků tryptofanu ve vodě. Životnost tohoto fluorescenčního cyklu zbytků tryptofanu se pohybuje v rozmezí od 1 do 6 nanosekund. Fluorescence tryptofanu je zhasena jodidem, akrylamidem a okolními disulfidovými skupinami [8].

B. Vnější fluorofory

Tento druh fluoroforů je přidán do vzorku za účelem vyvolání fluorescence či změny spektrálních vlastností vzorků, která by bez těchto látek nebyla možná. Jejich použití je běžnější než u vnitřních fluoroforů. Radíme sem příměsová barviva jako Dansyl, fluorescein, rhodamin a další. Velmi často dochází k problému, že molekuly, které jsou studiem našeho zájmu, nemají schopnost fluorescence, či jejich schopnost autofluorescence nepostačuje. Kupříkladu DNA a lipidy jsou zcela zbaveny vlastní fluorescence. V takových případech je vhodné získat fluorescenci za pomoci molekul, které nesou označení *vnější sondy*. U proteinů je žádoucí označení chloroformem s delšími excitačními a emisními vlnovými délkami než u aromatických aminokyselin. Poté je možné tento protein sledovat mezi jinými takto neoznačenými proteiny. Během poslední dekády se počet fluoroforů velmi zvýšil. Dalším typem vnějších fluoroforů jsou *fluorescenční značky*. Dělení je možné také vyjádřit dle kvantového výtěžku fluorescence. Tato skupina zahrnuje látky, kde tento výtěžek závisí na bezprostředním okolí fluoroforu [8].

C. Fluorescenční značky

Nejčastěji se používají k fluorescenčnímu značení proteinů, ke kterým se váží kovalentní vazbou. V některých aplikacích je také využívána vazba biotin-avidin, kdy je studovaná molekula (receptor, polynukleotid, polysacharid atd.) označena biotinem a poté je detekována fluorescenčně značeným avidinem.

Nejznámějšími fluorescenčními značkami jsou FITC a TRITC. FITC je barvivo a absorpčním maximem při 495 nm, maximální fluorescenci při vlnové délce 519 nm (zelený fluorofor) a molekulovou hmotností 389 g/mol. Citlivost je značně ovlivněna hodnotou pH a dochází ke snadné fotodestrukci. Proto byly připraveny difluoroderiváty, které jsou stabilnější vůči

světelnému záření a navíc mají nižší disociační konstantu pK_a , což přispívá ke snížení závislosti citlivosti fluorescence na pH.

Nová skupina fluorescenčních značek je označována BODIPY, které obsahují atomy bóru. Mají vysoký kvantový výtěžek fluorescence a poměrně široké emisní spektrum nejsou závislé na polaritě a prostředí pH [14].

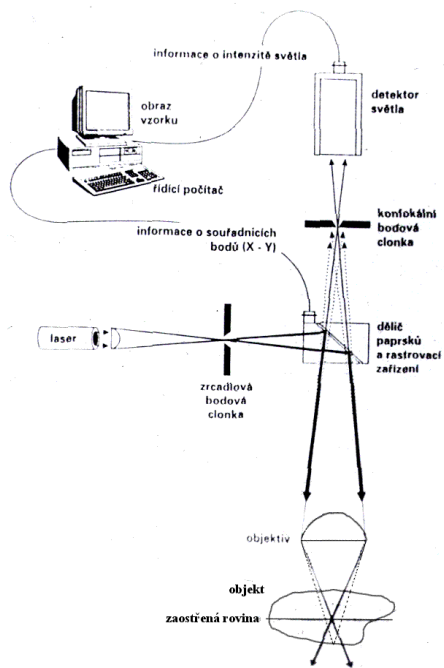
D. Fluorescenční sondy

Jsou vnější fluorofory, které se váží ke struktuře nekovalentní vazbou a často při tom mění své fluorescenční vlastnosti. Používají se ke studiu změn konformace bílkovin, tloušťky membrán, membránového potenciálu apod. Pro FISH jsou nejdůležitější sondy pro nukleové kyseliny. K identifikaci a vizualizaci chromozomů se používá akridinová oranž, ethidium bromid, DAPI [14].

6.1. KONFOKÁLNÍ MIKROSKOP

Konfokální mikroskop obr. č. 8 umožňuje odstranit z obrazu objektu šum, který vytváří světlo nebo fluorescence emitovaná z těch rovin vzorku, na které není zaostřena optika. Zdrojem světla je zpravidla laser, světlo prochází úzkou štěrbinou a je zaostřeno do jednoho bodu vzorku. Světlo emitované z tohoto bodu je pak snímáno detektorem. Aby dopadlo na detektor, musí opět projít úzkou štěrbinou, která leží v místě, kam objektiv zaměřuje světlo ze zaostřeného bodu objektu. Světlo emitované z osvětlených, ale nezaostřených bodů je fokusováno mimo štěrbinu a do detektoru nedopadá. Signál z detektoru je odeslán do počítače, který zároveň dostává informaci o souřadnicích snímaného bodu. Tímto způsobem je bod po bodu proskenován celý objekt v různých optických rovinách. Toto skenování je automatizováno a ovládáno řídicím počítačem. Z nashromážděných informací počítač sestaví celkový obraz. Nevýhodou konfokálního mikroskopu je především jeho cena, která se pohybuje v řádech milionů korun. Přesto se stává v poslední době stále běžnější součástí vybavení bohatších laboratoří a výzkumných ústavů.

Optické filtry používané ve fluorescenční mikroskopii jsou náročné na spektrální a fyzikální vlastnosti. Požadavky na výkon se výrazně liší v závislosti na konkrétním typu mikroskopu a jeho konkrétní aplikaci. Přestože se systém mikroskopu sestává z relativně malých součástí tak výhody, které skýtá optimální navržení filtrů je velice důležité, takže je užitečné mít pracovní znalosti o principech optické filtrace, která platí pro fluorescenční mikroskopii [12].



Obr. č. 8: Konfokální mikroskop [12]

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je zvolení optimální metodiky pro detekci hloubky proniku komerčně používaných lepidel do struktury dřevěného adherendu. Za tímto účelem bude použit speciální druh mikroskopie a to fluorescenční.

Budeme se snažit nalézt vhodné barvivo, které nám umožní detekci daných adheziv. Zjistíme hloubku proniku epoxidového lepidla a porovnáme ji s dosaženými údaji z obdobných experimentů. Porovnáme hloubku penetrace mezi jehličnatým a listnatým dřevem, která se liší svojí makroskopickou a mikroskopickou stavbou. Také zhodnotíme vliv úrovně viskozity, která je pro lepidlo velice důležitá a určuje jeho pozdější vlastnosti.

8. Metodika práce

8.1. Volba dřeviny

Pro náš experiment bylo vybráno dřevo smrku (*Picea abies*). Je jedním z nejrozšířenějších stavebních dřevěných materiálů ve stavební praxi, a také nejpoužívanější stavební dřevo pro jeho dobrou dostupnost a také dobré pevnostní charakteristiky. Dřevo je lehké s hustotou okolo 460 kg/m^3 . Vcelku rychle a dobře schne s malým rizikem deformací. Vyznačuje se nízkou tuhostí a rázovou houževnatostí. Dále střední pevností v ohybu a tlaku a má malé sklony k ohýbání. Vykazuje minimální tvarové změny při jeho zpracování. Snadno se opracovává a to jak ručně tak i strojně. Smrkové dřevo je bělové a z tohoto důvodu je náchylné na napadení červotočem. Špatně se impregnuje. Z mikroskopického hlediska jsou pryskyřičné kanálky viditelné převážně na podélných řezech. Je rovnoláknité a má jemnou strukturu.

Druhým dřevem, které bylo pro experiment vybráno, byl dřevo bukové (*Fagus sylvatica* L.). Je to bezjádrová dřevina, ale dochází u ní k tvorbě nepravého jádra. Jeho hustota se pohybuje okolo 720 kg/m^3 . Z makroskopického hlediska můžeme zmínit nezřetelné cévy a těžko zřetelné letokruhy. Po mikroskopické stránce je buk roztroušeně pórovitá dřevina. Řadíme je ke středně těžkým a tvrdým dřevinám. Z hlediska trvanlivosti je buk středně trvanlivý. Je náchylný k hnilobě. Tato dřevina je zpracovávána zejména pro nábytkářský průmysl. Dalším použitím může být jako lepené dřevo a také podlahy. Jeho sušení je pomalejší a dřevo praská a dosti sesychá. Je nutné volit delší dobu a vhodné podmínky sušení.

8.2. Typ epoxidového lepidla

Pro účely experimentu bylo vybráno lepidlo epoxidové, která není běžně používáno pro lepení nosných dřevěných prvků. Přesto výzkum těchto lepidel v oblasti využití pro lepení nosných prvků je velmi důležitý. Lepidla vykazují různou hodnotu viskozity, každé lepidlo je charakterizováno epoxidovým hmotnostního ekvivalentu. Bylo vybráno dvousložkové lepidlo CHS-EPOXY 531 společnosti Spolchemie a.s., jehož specifikace je uvedena v Tab. č.1.

Tab. č. 1: Parametry epoxidového lepidla

Systém dvousložkového lepidla	Druh epoxidového lepidla/tvrdidla	Viskozita při 25 °C	Epoxidový hmotnostní ekvivalent	Hustota při 23 °C	Epoxidový index	Mísicí poměr
	-	mPa.s	g/mol	g/cm ³	mol/kg	hm.
Lepidlo CHS 531 + tvrdidlo TELALIT 0492	CHS-EPOXY 531	1500-2300	175-182	-	5,5-5,7	100:27
	TELALIT 0492	15-30	-	0,93-0,96	-	

Jedná se o nízkomolekulární epoxidovou pryskyřici na bázi Bisfenolu A, která je modifikovaná reaktivním rozpouštědlem. Při použití ve stavebnictví je navržena s odpovídajícím tvrdidlem jako dvousložkový epoxidový systém pro zpracování za normální či zvýšené teploty. Kombinuje se jako pojivo s vhodným tvrdidlem. Po samotném vytvrzení se doporučuje dotvrzení za zvýšené teploty pro dosažení maximálních konečných vlastností. U většiny epoxidových systémů se doba dotvrzení pohybuje cca 24 hodin při pokojové teplotě 20°C. Zásadním faktorem je vyhnutí se tepelnému šoku po dotvrzení při ochlazení na teplotu pokojovou. Mísicí poměr mezi epoxidovou složkou a tvrdidlem se pohybuje od 100:12 do 100:34 dle použitého tvrdidla.

8.2.1. Úprava epoxidu fluorochromem

Byl zvolen fluorochrom Rhodamine B (fluorescence na vlnové délce 500nm), jiným názvem Tetraethylrhodamin, po chemické stránce $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$. V prvním kroku bylo rozmícháno 0,75 g Rhodaminu B v 7,5 ml metanolu. Míchání muselo proběhnout důkladně z důvodu nutnosti dosažení kompletní hydratace barviva. Potom bylo provedeno smíchání 5 g epoxidové pryskyřice s připraveným hydrátem za důkladného promíchání směsi. Přebytný metanol byl ze směsi odstraněn ve vakuové sušárně. Poté se smíchalo 1,35 g tvrdidla s epoxidovou pryskyřicí s hydrátem Rhodaminu B.

8.2.2. Příprava vzorků lepením

Výsledná epoxidová směs s fluorochromem byla použita pro lepení smrkového a bukového dřeva. Jednotný nános byl realizován štětcem a ocelovou špachtlí, nános epoxidu byl proveden o plošném nánosu 300 g/m² oboustranně na obě plochy dřeva. Následně byla lepená sestava vylisována 24 hod 0,8 MPa a vytvrzena.

8.2.3. Odebrání mikrotomických řezů

Z připravené vylisované a vytvrzené sestavy byly nařezány vzorky o rozměrech zhruba 10/10/5 mm a následně namočený do horké vody. Z nich byly pak následně na rotačním mikrotomu odebrány tenké řezy. Tyto řezy o tloušťce cca 40-60 mikrometrů musely procházet zřetelně přes lepenou spáru. Na podkladním mikroskopickém skle byl preparát opatřen glycerinem a bylo přistoupeno k mikroskopické analýze.

8.2.4. Mikroskopická technika

Univerzální mikroskop Leica DM4000 M LED. Mikroskop umožňuje pozorování jak v odraženém, tak i proslém světle. Polarizace v proslém světle umožňuje studium mineralogického složení tenkých výbrusů např. omítek, betonů a jiných stavebních materiálů. V odraženém světle je pak možné pozorování ve světlém i tmavém poli a rovněž přístroj umožňuje fluorescenční pozorování při excitaci UV, modrým a zeleným světlem. Součástí mikroskopu je ovládací software s modulem pro analýzu obrazu a zařízení pro přípravu leštěných nábrusů a výbrusů.



Obr. č. 9: *Soustava optického mikroskopu Leica, Výzkumné středisko Admas [19]*

8.3. Mikroskopické stanovení hloubky proniku lepidla

Tenké mikrotomické řezy zhotovené ze zkušebních trámečků byly na podkladním sklíčku položeny pod objektiv fluorescenčního mikroskopu a osvětleny budícím excitačním zářením.

Za pomoci soustavy filtrů bylo zjištěno, na jakém z nich se použité barvivo nejostřeji probarvilo. To nám pomohlo určit hloubku proniku lepidla. Výsledné hodnoty se udávaly v mikrometrech čili 10^{-6}m . Měření se provedlo přes celou lepenou spáru v délkových intervalech zhruba 0,3 mm. Následně jsme softwarově změřili 10 hodnot hloubky proniku lepidla do struktury dřevěného adherendu.

9. Výsledky práce

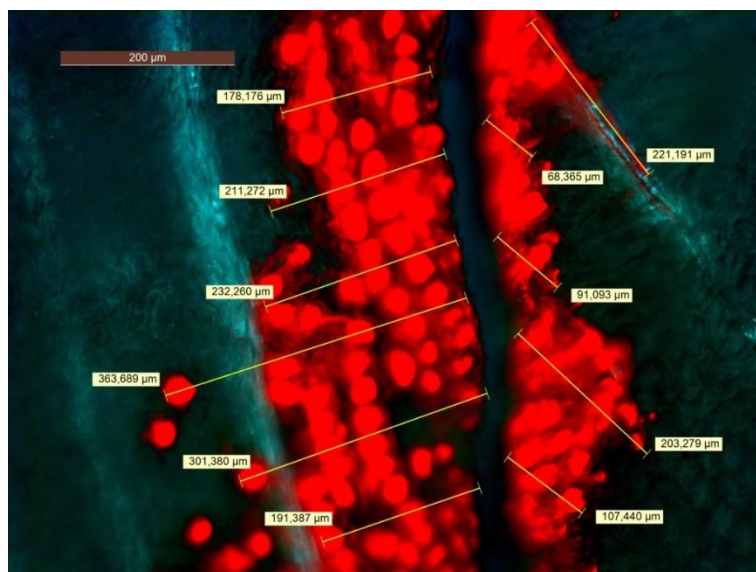
9.1. Hloubka proniku lepidla u smrkového dřeva

A. Tangenciální pronik adheziva

Pro smrkové dřevo byly naměřeny v tangenciálním směru hodnoty hloubky proniku adheziva, které jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tab. č. 2: Hodnoty proniku lepidla do struktury smrkového dřeva v tangenciálním směru

Č. Měření	Hloubka proniku (μm)				
	spára 1	spára 2	spára 3	spára 4	spára 5
1	183,9	125,6	97,3	191,4	151,6
2	160,7	94,7	179,1	227,3	167,0
3	101,5	73,7	118,1	232,3	169,5
4	126,7	120,5	209,1	211,3	139,0
5	97,3	91,9	144,0	178,2	105,5
6	119,0	147,0	148,5	106,1	185,5
7	107,3	227,4	131,7	68,4	119,6
8	137,5	208,5	124,2	91,1	108,8
9	139,4	121,1	212,5	203,3	172,4
10	260,1	180,9	212,8	107,4	165,3
Průměr	143,3	139,1	157,7	161,7	148,4
Max	260,1	227,4	212,8	232,3	185,5
Min	97,3	73,7	97,3	68,4	105,5
Sm.odch.	46,5	48,7	40,5	58,6	27,1
Pr.odch.	34,9	41,5	36,5	54,7	24,2



Obr. č. 10: *Tangenciální pronik adheziva do smrkového dřeva*

B. Radiální pronik adheziva

Pro smrkové dřevo byly naměřeny v radiálním směru hodnoty hloubky proniku adheziva, které jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tab. č. 3: *Hodnoty proniku lepidla do struktury smrkového dřeva v radiálním směru*

Č. Měření	Hloubka proniku (μm)				
	spára 1	spára 2	spára 3	spára 4	spára 5
1	103,7	200,6	173,5	98,2	207,5
2	173,4	169,4	269,8	64,6	183,7
3	215,9	241,5	113,9	292,6	203,8
4	231,2	74,1	251,7	187,8	79,9
5	210,8	206,1	87,9	275,4	139,0
6	69,8	121,2	226,2	193,9	197,3
7	108,5	219,3	121,6	282,2	149,8
8	84,0	93,9	250,3	73,0	91,3
9	175,2	234,6	187,0	130,8	112,7
10	113,2	91,5	80,6	130,0	114,5
Průměr	148,6	165,2	176,3	172,9	148,0
Max	231,2	241,5	269,8	292,6	207,5
Min	69,8	74,1	80,6	64,6	79,9
Sm.odch.	56,4	61,0	68,1	82,7	45,4
Pr.odch.	52,7	56,0	60,7	73,5	40,5



Obr. č. 11: Radiální pronik adheziva do smrkového dřeva

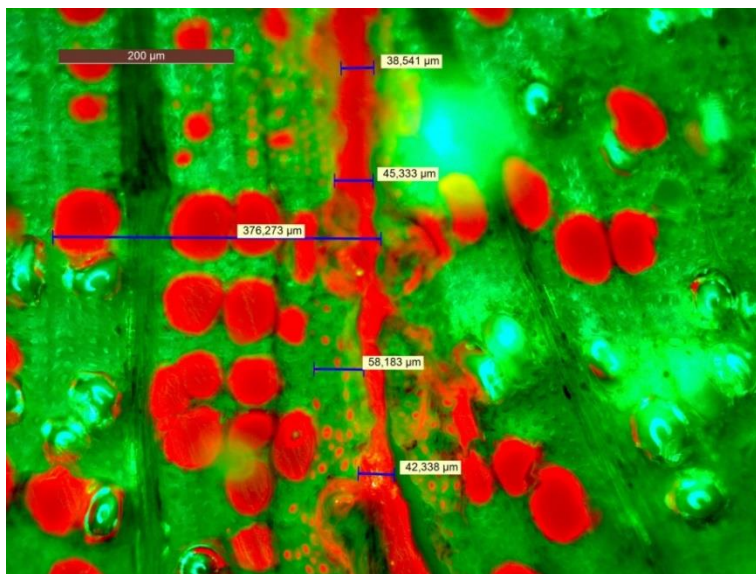
9.2. Hloubka proniku lepidla u bukového dřeva

A. Tangenciální pronik adheziva

Pro bukové dřevo byly naměřeny v tangenciálním směru hodnoty hloubky proniku adheziva, které jsou uvedeny v tabulce č. 4.

Tab. č. 4: Hodnoty proniku lepidla do struktury bukového dřeva v tangenciálním směru

Č. Měření	Hloubka proniku (µm)				
	spára 1	spára 2	spára 3	spára 4	spára 5
1	54,5	58,2	25,8	46,8	59,4
2	75,8	75,8	42,3	103,0	65,3
3	60,6	35,5	48,5	22,1	302,9
4	78,8	188,9	58,2	125,5	60,6
5	542,4	39,5	213,6	70,3	68,2
6	142,4	591,6	349,0	227,7	64,6
7	53,0	28,7	27,3	73,6	52,1
8	29,4	63,6	45,3	108,0	100,8
9	96,4	18,2	21,2	48,4	115,0
10	45,5	90,9	38,5	70,3	71,8
Průměr	117,9	119,1	87,0	89,6	96,1
Max	542,4	591,6	349,0	227,7	302,9
Min	29,4	18,2	21,2	22,1	52,1
Sm.odch.	144,6	164,1	102,3	54,7	71,4
Pr.odch.	89,8	108,5	77,7	41,2	46,1



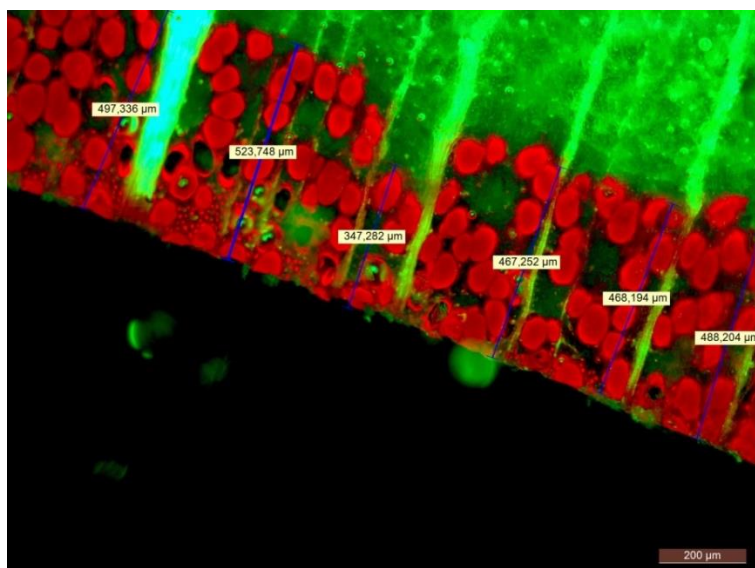
Obr. č. 12: *Tangenciální pronik adheziva do bukového dřeva*

B. Radiální pronik adheziva

Pro bukové dřevo byly naměřeny v radiálním směru hodnoty hloubky proniku adheziva, které jsou uvedeny v tabulce č. 5.

Tab. č. 5: *Hodnoty proniku lepidla do struktury bukového dřeva v radiálním směru*

Č. Měření	Hloubka proniku (µm)				
	spára 1	spára 2	spára 3	spára 4	spára 5
1	460,6	535,7	224,2	497,3	463,5
2	557,6	333,3	473,9	413,3	625,1
3	448,5	511,9	524,3	523,7	358,3
4	642,4	464,3	461,8	352,1	472,5
5	472,7	559,5	621,8	347,3	215,5
6	684,8	656,8	660,3	299,4	558,5
7	575,8	619,0	544,8	467,3	457,7
8	569,7	488,1	363,6	468,2	449,6
9	478,8	440,5	399,4	564,8	369,1
10	212,1	476,2	405,5	488,2	591,5
Průměr	510,3	508,5	468,0	442,2	456,1
Max	684,8	656,8	660,3	564,8	625,1
Min	212,1	333,3	224,2	299,4	215,5
Sm.odch.	124,7	87,4	121,9	81,5	115,2
Pr.odch.	95,8	68,1	97,1	71,3	86,4



Obr. č. 13: *Radiální pronik adheziva do bukového dřeva*

9.3. Shrnutí a diskuze

Pro přehlednost jsou v následující tabulce č. 6. uvedeny průměrné hodnoty proniku lepidla pro radiální a tangenciální směr dané dřeviny. Tyto hodnoty jsou průměrem z celkem pěti spár, kde pro každou z nich bylo provedeno 10 měření.

Tab. č. 6: *Porovnání průměrné hodnoty proniku adheziva u obou dřevin*

	Hloubka proniku [µm]			
	Průměr	Max	Min	směr.odchylka
Smrk radiálně	162,2	292,6	64,6	65,0
Smrk tangenciálně	150,1	260,1	68,4	46,3
Buk radiálně	477,0	684,8	212,1	111,2
Buk tangenciálně	101,9	591,6	18,2	116,1

V následující části bude provedeno porovnání metodiky našeho zkoumaného epoxidového lepidla s dalšími dvěma druhy adheziv, které se běžně používají pro lepení dřevěných prvků a materiálů na bázi dřeva. Účelem je zjistit, k jakému proniku epoxidového lepidla dochází u dřeviny smrku či buku, a porovnat dosažené hodnoty s hodnotami proniku do struktury dřevěného adherendu u ostatních, komerčně využívaných lepidel.

A) Hledisko typu lepidla

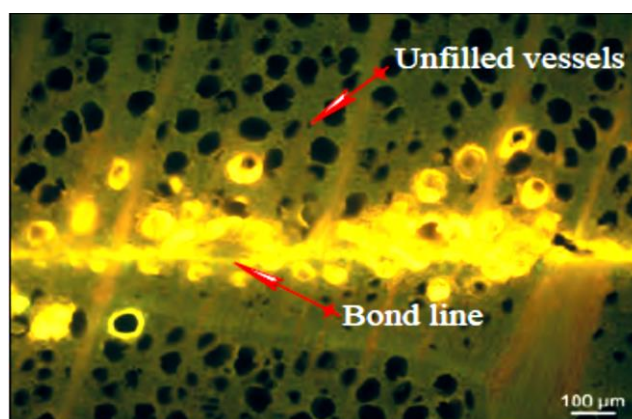
Močovinoformaldehydové lepidlo

V experimentu [18] bylo použito tangenciálně řezané bukové dřevo (*Fagus moesiaca*). Jednalo se o radiální pronik adheziva. Obsah vlhkosti ve dřevě činil 10 %. Lepidlo bylo probarveno fluorochromem Safranin. Vzorky byly následně podrobeny lisování v hydraulickém lisu o tlaku 0,7 MPa a teplotě 120°C po dobu 15 minut. Hloubka proniku lepidla byla určena průměrnou hodnotou z celkem 25 měření podél 1,4 mm dlouhé spáry pro každý snímek mikrotomického řezu. Byl použit Epi-fluorescenční mikroskop Leica DM-LS. Optická soustava se skládala z excitačního filtru o vlnové délce 450 nm, dichromatického zrcadla o vlnové délce 510 nm a emisního filtru o vlnové délce 515 nm.

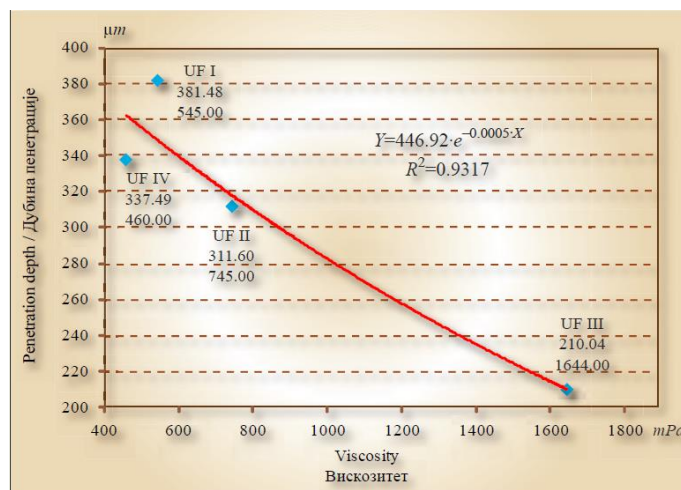
Byly použity 4 druhy močovino-formaldehydových pryskyřic s různým stupněm polykondenzace. Výsledkem experimentu je zjištění, zdali je *hloubka proniku adheziva závislá na viskozitě lepidla*. Naměřené a dosažené údaje pro močovino-formaldehydové lepidlo jsou uvedeny v následující tabulce č. 7:

Tab. č. 7: Hloubka proniku adheziva v závislosti na jeho viskozitě

	hloubka proniku (μm)	viskozita (mPa)
UF I	381,5	545,0
UF II	311,6	745,0
UF III	210,0	1644,0
UF IV	337,5	460,0



Obr. č. 14: Radiální pronik adheziva do bukového dřeva [18]



Obr. č. 15: Závislost hloubky proniku adheziva na jeho viskozitě graficky [18]

Rezorcín formaldehydové lepidlo

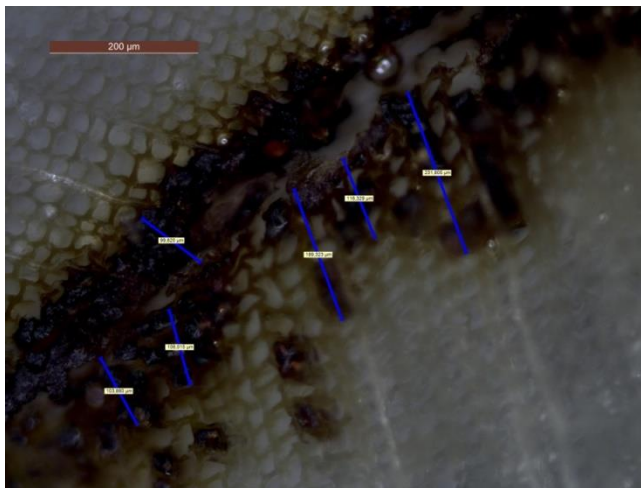
Jednalo se o radiální pronik do smrkového dřeva. Nejdříve byly vzorky ponechány vodnímu uložení za účelem snazšího odebrání mikrotomických tenkých řezů. Po zhruba 15 minutách jsme vzorky vyndali a byly připraveny tenké řezy. Ty se poté umístily na podložní sklíčka a opatřily se glycerinem. Poté byly podrobeny mikroskopické analýze, s ohledem na typické tmavší zbarvení tvrdidla nebylo použito žádné barvivo. Kontrast lepidla byl určen právě barevnou diferenciací lepidla v procházejícím světle. Pro tento účel bylo použito univerzálního mikroskopu Leica DM4000 M LED, který je blíže definován v kapitole 6.2.4.

Pro rezorcín formaldehydové lepidlo byly naměřeny hloubky proniku, které jsou uvedeny v tabulce č. 8.

Tab. č. 8: Hodnoty proniku lepidla do struktury smrkového dřeva v radiálním směru

Č. Měření	Hloubka proniku (μm)		
	spára 1	spára 2	spára 3
1	142,0	178,8	175,5
2	127,3	189,3	200,6
3	230,7	116,3	220,9
4	242,4	231,8	221,5
5	224,2	224,2	241,4
6	203,0	293,9	148,2
7	287,9	203,0	143,0
8	160,6	196,1	150,5
9	112,9	107,0	202,7

Č. Měření	Hloubka proniku (μm)		
	spára 1	spára 2	spára 3
10	184,2	109,1	184,5
Průměr	191,5	185,0	184,5
Max	287,9	293,9	241,4
Min	112,9	107,0	143,0
Sm.odch.	53,3	57,2	32,6



Obr. č. 16: *Radiální pronik adheziva do smrkového dřeva*

U močovino formaldehydového lepidla byl prokázán sestupný trend hloubky proniku lepidla do struktury dřeva se zvyšující se hodnotou viskozity. Pro další hodnocení s ohledem na stavu bukového dřeva lze porovnávat s našimi výsledky epoxidu do buku, kdy jsme zjistili vyšší hodnoty hloubky penetrace. To znamená, že epoxidové lepidlo i s daleko nižší viskozitou je schopno řádného proniku do struktury dřeva.

U rezorcín formaldehydového lepidla jsme z hlediska druhu použitého lepidla u hloubky penetrace nepozorovali výrazné rozdíly.

B) Hledisko typu dřeviny a směru proniku

Druh dřeviny: Vyšší hloubka proniku lepidla do struktury dřeva byla zjištěna u bukového dřeva. Toto je zapříčiněno specifickou buněčnou strukturou dřevin s roztroušené pórovitou stavbou letokruhu, která vykazuje vyšší podíl pórů a větší podíl mezikapilárního systému umožňujícím lepší permeabilitu lepidla ve struktuře dřeva.

Směr proniku: Z hlediska směru proniku lepidla byla úroveň hloubky penetrace vyšší v radiálním směru pro buk. U smrku rozdíl mezi radiálním a tangenciálním pronikem nebyl nijak výrazný. U bukového dřeva byl tento trend dosažen převážně otevřenější pórovitější strukturou dřeva, výrazně proniku lepidla napomohly dřeňové paprsky orientovány v radiálním směru. Naopak u smrku dřeňové paprsky nevykázaly markantní vliv na pronik v radiálním směru. Naopak rozdíl byl u smrku pozorován v proniku lepidla v místě jarního a letního letokruhu. V letním letokruhu byl pronik lepidla daleko menší. Tato skutečnost je dána mikrostrukturální diferenciací buněčné struktury jehličnanů, kde jarní dřevo má buněčnou stěnu výrazně užší a širší lumen, čímž je dosaženo snadnějšího vyplnění lumenu a proniku lepidla přes ztenčeniny v buněčných stěnách.

.

10. Závěr:

Z dosažených výsledků vyplývá, že u bukové dřeviny vykazují výsledky *hloubky proniku epoxidového lepidla* větší v radiálním směru. Tento fakt lze vysvětlit orientací letokruhů a zvláště dřeňových paprsků. Pokud jde o vzájemné porovnání dřevin, tak u buku jsme zaznamenali rozdíl mezi radiálním a tangenciálním pronikem daleko výraznější než u smrku. Tento fakt je důsledkem mikroskopické struktury dané listnaté dřeviny. U buku se jedná o roztroušeně pórovitou strukturu, která umožnila lepidlu zátok do vzdálenějších míst v okolí lepené spáry. Byly vyplněny nejenom mikropóry, ale byly vyplněny i libriformní vlákna v blízkosti lepené spáry. Nutno je brát v úvahu i ten fakt, že ve dřevě se nacházejí mezibuněčné prostory a trhliny, které lepidlu umožní daleko snazší pronik dále do struktury dřevěného adherendu. V tangenciálním řezu se lepená spára vytvořila rovnoměrnější a s daleko lepší úrovní prostorového uspořádání oproti radiálnímu. Při bližším zkoumání buněk jsme došli k závěru, že vlivem lisovacího tlaku docházelo k jejich deformaci a pozdějšímu dotvarování. Ve většině případů byly detekovány v daném rozlišení pouze lumeny buněk, pro případnou identifikaci přítomnosti lepidla v buněčné stěně by bylo nutné provést jiný způsob optické analýzy.

U močovino-formaldehydové pryskyřice – hloubka proniku tohoto adheziva činila pro nejnižší viskozitu 545,0 mPa 381,5 μm . Lze konstatovat, že tyto hodnoty se od experimentálně zjištěných hodnot zkoumaného epoxidu výrazně neliší.

Pro rezorcín-formaldehydové lepidlo činila hloubka penetrace v průměru 188,5 μm . Lze tedy opět říci, že bylo dosaženo obdobných hodnot jako u epoxidové pryskyřice.

Tímto jsme dokázali, že **u epoxidového lepidla byla řádná vytvořena mechanická vazba** a námi zvolená metodika je správná a použitelná pro zjištění hloubky penetrace adheziva. I přesto, že se tyto tři výše uvedené metodiky a postupy stanovení od sebe výrazně liší, naměřené hodnoty vykazují až na drobné odchylky stejný charakter.

Úplným závěrem lze konstatovat, že návrh metodiky s použitím Rhodaminu byl správný a lze jej využít pro zjištění hloubky penetrace adheziv. Je však nejdůležitější zohlednit faktor okamžitých fyzikálně mechanických vlastností adherendu, čili použité dřeviny. S tím pak volíme vhodné lepidlo s takovými parametry, které jsou pro daný dřevěný materiál nejvhodnější. Musíme brát též na zřetel, v jakém prostředí bude materiál působit a jací činitelé

jej budou v pozdějším časovém období ovlivňovat. Nejvýraznějšími činiteli jsou změny způsobené s kolísáním obsahu vlhkosti, které vyvolávají napětí v lepené spáře. Dochází k narušení jak buněčné struktury dřeva, tak i ke znehodnocení použitého lepidla, které ztrácí svoje užité vlastnosti a neplní námi požadovanou funkci.

11. LITERATURA:

- [1] KUKLÍK, Petr. *Dřevěné konstrukce*. 1. vyd. Praha: Informační centrum ČKAIT, 2005, 171 s. ISBN 80-867-6972-0.
- [2] OSTEN, Miloš. *Práce s lepidly a tmely*. 3. vyd. Praha1: SNTL, 1986. 285 s.
- [3] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery - výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 3., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2011, 276 s. ISBN 978-80-7080-788-0.
- [4] http://www.abclepidla.cz/Files/file/files/Teorie_lepeni.pdf
- [5] ROWELL, Roger M. *Handbook of wood chemistry and wood composites*. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2005, 485 p. ISBN 0849315883.
- [6] VICK, Charles B., *Adhesive Bonding of Wood Materials*, FromForest Products Laboratory. 1999. Wood handbook Wood as an engineering material. Gen. Tech. Rep. FPL–GTR–113. Madison, WI: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory. 463 p.
- [7] HEJTMÁNEK, Milan. *Úvod do světelné mikroskopie*. 3. přeprac. a dopl. vyd. Olomouc: Vydavatelství University Palackého, 1993. 65 s. ISBN 80-7067-308-7.
- [8] LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3rd ed. New York: Springer, 2006. ISBN 9780387463124.
- [9] LEPIL, Oldřich, Milan BEDNAŘÍK a Radmila HÝBLOVÁ. *Fyzika pro střední školy I. 5.*, přeprac. vyd. Praha: Prometheus, 2012, 253 s. Učebnice pro střední školy (Prometheus). ISBN 978-80-7196-428-5.
- [10] SELBO, M. *Adhesive bonding of wood*. New York: Drake, 1978, v, 122 p.
- [11] http://www.chembiolupol.cz/data/xinha/31_pdfsam_vyuziti_mikroskopie_cenklova_2013.pdf
- [12] <http://web.natur.cuni.cz/~parazit/parpages/mikroskopickatechnika/fluorescencni.htm>
- [13] http://www.are.cz/data/file/zakladni_metody_svetelne_mikroskopie.pdf
- [14] <http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/pub-files/realizovane-klicove-aktivity/2012-2013/h2mp/index/vyuziti-a-princip-fluorescencni-mikroskopie2.pdf>
- [15] <http://www.sita-process.com/information-service/process-parameter-surface-tension/overview/>

[16] BALABÁN, Karel. *Nauka o dřevě: (anatomie dřeva)*. 2. rozš. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1953, 185 s.

[17] <http://www.adhesionbonding.com/2012/03/19/plastics-surface-energy-wetting-test-methods/>

[18] <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0353-4537/2008/0353-45370898039G.pdf>

[19] <http://www.admas.eu/vybaveni/mikrostruktura-stavebnich-hmot/leica-dm4000-m-led/>

[20] Kúš, P. a kol. (2008): *Moderná mikroskopia a digitálne zpracovanie obrazu*. Skripta, Bratislava. ISBN: 978-80-89186-37-2.

Použité normy:

ČSN EN ISO 9142 Lepidla-Směrnice k výběru laboratorních podmínek stárnutí pro hodnocení lepených spojů

ČSN EN 14080 (732831) Dřevěné konstrukce - Lepené lamelové dřevo – Požadavky

ČSN EN 302-1 (668531) Lepidla pro nosné dřevěné konstrukce. Zkušební metody. Část 1: Stanovení podélné smykové pevnosti lepeného spoje

ČSN EN 302-2 (668531) Lepidla pro nosné dřevěné konstrukce - Zkušební metody - Část 2: Stanovení odolnosti proti delaminaci

ASTM D5574-97 Standard Test Methods for Establishing Allowable Mechanical Properties of Wood-Bonding Adhesives for Design of Structural Joints

12. Seznam použitých zkratk:

DGEBA	bifenol A diglycidyl eter
DAPI	di aminido fenyl indol
FITC	fluorescein isokyanát
TRITC	tetra methyl rhodamine
pKa	disociační konstanta
UF	Urea-formaldehyde
Sm. odch.	Směrodatná odchylka