

ANALÝZA ORGANICKÝCH BARVIV A PIGMENTŮ POUŽÍVANÝCH V UMĚLECKÝCH DÍLECH POMOCÍ LASEROVÉ DESORPČNÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

IVA KRÍŽOVÁ^a, MARIE STÝBLOVÁ^a, LUCIE COUFALOVÁ^a, RADOVAN HYNEK^a a ŠTĚPÁNKA KUČKOVÁ^{a,b}

^a Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, ^b Katedra chemie a didaktiky chemie, Pedagogická fakulta, Univerzita Karlova v Praze, M. D. Rettigové 4, 116 39 Praha 1
Iva.Krizova@vscht.cz

Došlo 1.11.12, přepracováno 31.1.13, přijato 1.3.13.

Klíčová slova: organická barviva a pigmenty, laky, sodné a draselné adukty, hmotnostní spektrometrie

Úvod

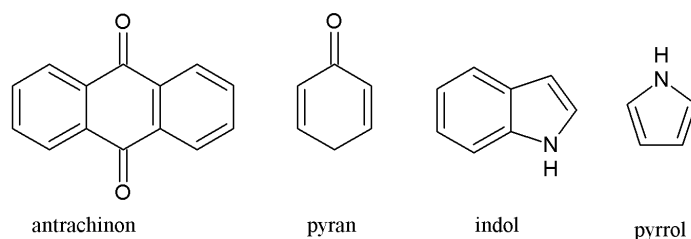
Člověk od nepaměti využíval přírodní barviva a pigmenty pro zlepšení estetické úrovně svého okolí. Vytvářel jeskynní malby (nejstarší pochází z doby přibližně 40 tisíc let před naším letopočtem a nachází se v jeskyni El Castillo ve Španělsku¹) a barevně si zdobil své pracovní nástroje a šperky. Pomocí přírodních barviv, která si např. připravil smícháním rostlinných šťáv se zvířecím tukem, si zkrášloval i své tělo. Barviva našla také značné uplatnění při vzniku prvních tkanin, jejichž výrobu a použití popisují egyptské hieroglyfy (5000 př. n. l.)² a samozřejmě nesmíme opomenout jejich využití ve výtvarném umění. Používání přírodních organických barviv v malířství se v hojně míře udrželo až do 19. století, kdy začala být postupně nahrazována syntetickými, a to jak z důvodu snadnější dostupnosti, tak i jejich výroby ve velkém množství za nižší cenu³.

Nejpoužívanější organická barviva v oblasti výtvarného umění byla získávána z rostlin nebo živočichů. Podle chemické klasifikace můžeme tyto barviva rozdělit do několika skupin: 1) antrachinonová barviva (alizarin, emodin, karmínová kyselina, purpurin) poskytující sloučeniny žluté, červené, hnědé až černé barvy; 2) barviva pyranová, především flavonoidová (apigenin, baicalein, chrysin, flavanon, flavon, isorhamnetin, kvercetin, morin, rhamnetin), která jsou bezbarvá, světle žlutá, žlutá až oranžovohnědá a 3) indolová barviva (indigo, purpur), která patří mezi nejstarší používané modře a fialové. Mezi nejpoužívanější organická, ale uměle připravená barviva, řadíme například modrý ftalocyanin měďnatý, který patří do skupiny pyrrolových barviv⁴. Strukturální vzorce antrachinonu, flavonoidu, indolu a pyrrolu jsou na obr. 1.

Identifikace organických barviv a pigmentů v komplexních vzorcích odebraných z uměleckých děl stále zůstává nedořešenou otázkou, přestože jejich určení může být klíčové při ověřování jejich pravosti. Údaje o složení organických barviv nejsou vždy známy a navíc většina analytických metod vyžaduje rozpuštění analyzované látky, což je velmi problematické z hlediska stability barviv v různých organických rozpouštědlech a jejich citlivosti na změny pH. Dosud nejpoužívanějšími metodami pro provedení identifikace barviv jsou vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) a hmotnostní spektroskopie s elektrosprejem (ESI MS), pro které je ale nezbytné vzorek rozpustit, jak bylo zmíněno výše⁵.

V naší laboratoři na VŠCHT v Praze byla k identifikaci organických barviv ve směsích s olejovými a proteinovými pojivy poprvé použita metoda LDMS (laserová desorpční hmotnostní spektroskopie), která pracuje s pevnými vzorky a umožňuje rozlišení povrchové analýzy nepatrného množství materiálu (přibližně desetin mikrogramů) s rozlišením až do 10 μm.

LDMS by mohla být vhodnou metodou používanou pro průzkum uměleckých děl před jejich restaurováním či konzervováním. Umožňuje totiž zkoumat organická barviva a pigmenty přímo z nejsvrchnější vrstvy barevného průřezu a identifikovat jak pigment samotný, tak i směs pigmentů. Tato technika má samozřejmě i svá omezení, jako je limitovaný rozsah a specifita laserového odběru, a proto její nejvhodnější použití by bylo v kombinaci s jinou analytickou metodou, jako je např. kapalinová chromatografie nebo optická mikroskopie⁶.



Obr. 1. Strukturální vzorce antrachinonu, pyranu, indolu a pyrrolu

Experimentální část

Modelové vzorky samotných laků a laků v organických pojivech použitých k identifikaci metodou LDMS byly připraveny v analytické laboratoři na Ústavu anorganické chemie AV ČR, v.v.i.

Alizarinový lak

4 g kamence ($\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) bylo smícháno s 200 ml vody a 2 ml zahřátého roztoku amoniaku (NH_3). Roztok byl ponechán 10 min vařit. 125 mg alizarinu bylo rozmícháno v 50 ml vody se 2 ml NH_3 a vše bylo přidáno do předešlého roztoku. Celá směs byla 10 min povařena, ponechána zchladnout a druhý den přefiltrována.

Purpurinový lak

125 g purpurinu se 3 ml NH_3 bylo přidáno do roztoku kamence a čpavku. Celá směs byla 10 min povařena a nechána zchladnout do druhého dne a poté přefiltrována.

Kvercetinový lak

91 mg kvercetin hydrátu bylo rozpuštěno ve 4 l horké vody, 1 g CaCO_3 , 1 g PbCO_3 a 0,5 g kamence ($\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$). Celá směs byla 10 min povařena a ponechána do druhého dne vychladnout a poté přefiltrována.

Modelové vzorky barviv v oleji

Příprava laků v oleji spočívala ve smíchání každého modelového laku s lněným olejem tak, aby bylo dosaženo správné konzistence, ve které by bylo možné laky aplikovat na umělecké dílo.

Modelové vzorky barviv v temperě

Proteinové pojivo (žloutková tempera) bylo připraveno smícháním vaječného žloutku s lněným olejem zahuštěným na slunci a vodou v poměru 3 : 1–2 : 1. Do našlehaného scezeného žloutku byla přidána voda a postupně přimícháván lněný olej⁷. Příprava laku v temperě spočívala ve smíchání modelového laku se žloutkovou temperou, tak aby bylo dosaženo správné konzistence.

Tabulka I

Hlavní charakteristické ionty zjištěné při analýze antrachinonových barviv pomocí metody LDMS v pozitivním a negativním módu

Antrachinonová barviva/ Mr	$\text{M}^{+}/\text{M}^{-}$ základní píky [m/z]	$[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ [m/z]	$[\text{M}+\text{K}]^{+}$ [m/z]	dimer analytu [m/z]
Alizarin / 240,21	240,2	263	–	–
Emodin / 270,24	270,2	293	–	540
Karmínová kyselina / 492,39	492,4	–	–	–
Purpurin / 256,21	256,2	279	295	–

Odebrané vzorky uměleckého díla

Z obrazu – oleje na plátně od autora Josefa Čapka s názvem *Procházka*, který byl datován do roku 1936, byly z různých míst odebrány dva vzorky modrých pigmentů. Z datování obrazu bylo možné ve vzorcích očekávat přítomnost indiga.

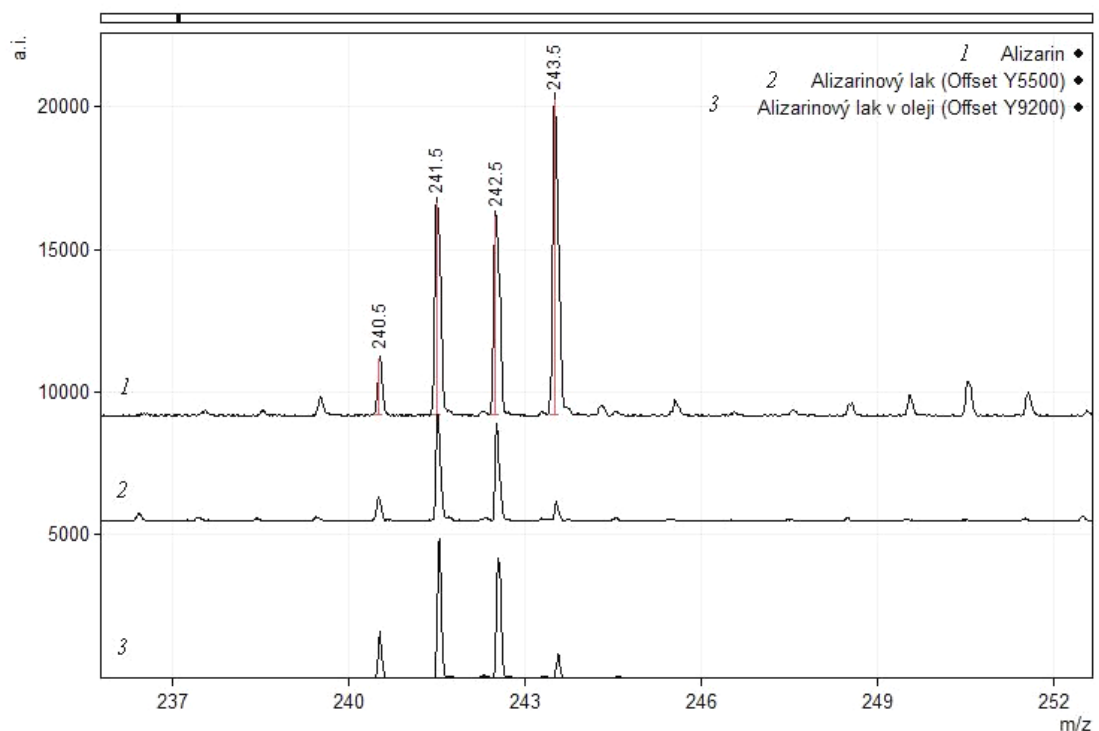
Příprava vzorků a analýza pomocí LDMS

Na ocelovou měřicí destičku byl aplikován 1 μl destilované vody, do kterého bylo přidáno několik zrnek analyzované látky a vše bylo ponecháno zaschnout. Ocelová deska byla vložena do hmotnostního spektrometru Bruker-Daltonics Biflex IV MALDI-TOF vybaveným dusíkovým laserem o vlnové délce 337 nm. Měření byla provedena při napětí 19 kV na přístroji a 15,05 kV na elektrodě deflektoru. Naměřená spektra byla zpracována softwarem Bruker Flex III a Bruker Xtof. Samotné měření probíhalo v pozitivním a negativním reflektorovém módu při napětí 20 kV a intenzitě laseru 50–60 % a s přesností měření $\pm 0,2$ Da. Pro kvadratickou kalibraci byly používány dvě standardní směsi peptidu M-Pep a Pepmix⁸. Výsledná spektra byla vyhodnocována počítačovým programem mMass verze 2.4. (cit.⁹).

Výsledky a diskuse

Antrachinonová barviva a pigmenty

Experimentálně bylo zjištěno, že antrachinonová barviva jsou velmi stabilní díky struktuře antrachinonového kruhu, a proto byla všechna antrachinonová barviva (alizarin, emodin, kyselina karmínová, purpurin) spolehlivě identifikována dle svých molekulových hmotností (tab. I). V negativním módu se u emodinu vyskytovaly málo intenzivní píky s jeho molekulovou hmotností, ale v oblasti 540 m/z byl nalezen dimer tohoto barviva. U kyseliny karmínové nebylo možné v pozitivním módu spolehlivě detegovat základní pík (492,39 m/z), protože zde pravděpodobně dochází k fragmentaci molekuly. Mezi nejčastěji se vyskytující píky patří hodnoty 448 (ztráta CO_2)¹⁰, 386, 364 a 322 m/z . U alizarinu, purpurinu a emodinu byly zjištěny sodné adukty $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ v oblastech 263



Obr. 2. Porovnání hmotnostních spekter s isotopovým rozlišením alizarinu (1), alizarinového laku (2) a alizarinového laku v oleji (3). Spektra byla změněna v negativním módu

Tabulka II

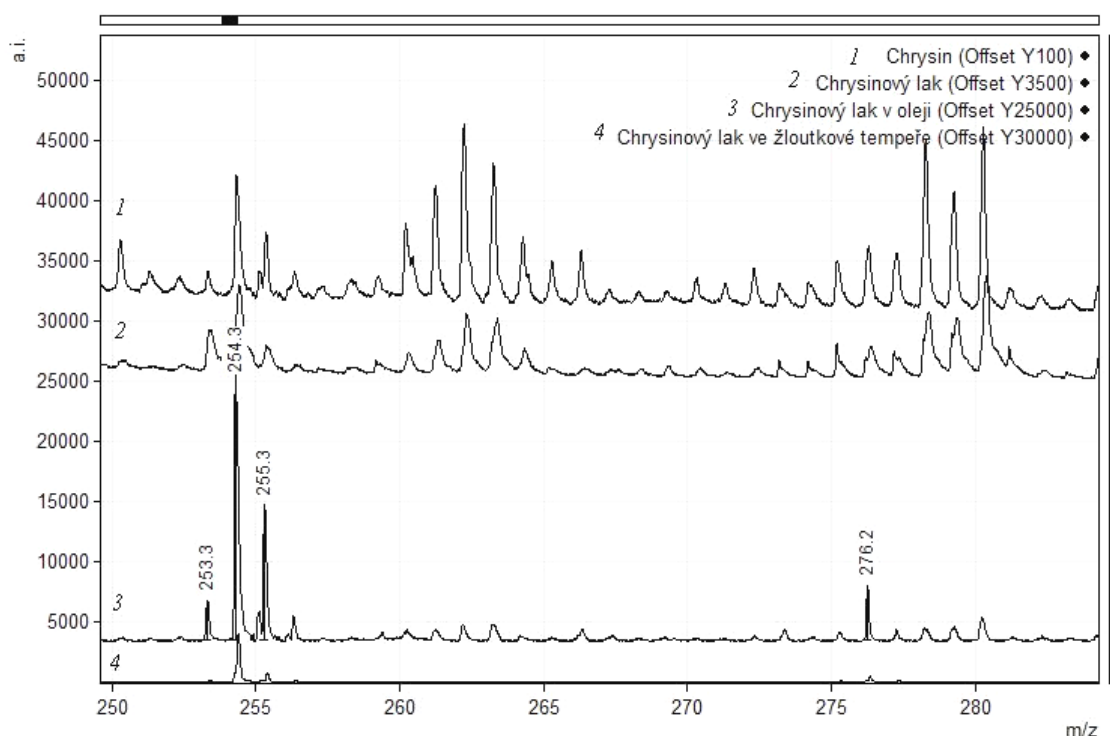
Vyjadřuje hlavní charakteristické ionty při zkoumání pyranových barviv pomocí LDMS v pozitivním a negativním módu

Pyranová barviva/ Mr	M^{+}/M^{-} základní píky (m/z)	$[M+Na]^{+}$ (m/z)	$[M+K]^{+}$ (m/z)	dimer analytu (m/z)
Apigenin / 270,24	270,2	293	–	540
Baicalein / 270,24	270,2	293	–	–
Chrysin 254,24	254,2	277	–	–
Chromon / 146,14	146,1	–	–	–
Flavanon / 224,25	224,3	–	–	–
Flavon / 222,24	222,2	245	261	444
Isorhamnetin / 316,26	316,3	339	–	–
Kvercetin / 302,24	302,2	325	341	–
Morin hydrát / 302,24	302,2	325	–	–
Rhamnetin / 316,26	316,3	339	355	–
Xanthon / 196,21	196,2	–	–	392

a 292 m/z . Purpurin také tvořil draselné adukty $[M+K]^{+}$ v oblasti 294 m/z . Molekulové adukty byly identifikovány pouze v pozitivním módu. Výskyt sodných a draselných aduktů koresponduje s největší pravděpodobností s alkalickými ionty navázanými v oblasti laserové ablace.

Pomocí LDMS byly zkoumány modelové vzorky alizarinových a purpurinových laků. Samotný alizarin

(240 m/z) byl v negativním módu nalezen jak v samotném alizarinovém laku, tak i alizarinovém laku pojeném olejem (obr. 2). V pozitivním módu se podařilo barvivo stanovit pouze v samostatném laku, ale byly zde detegovány sodné a draselné adukty v oblastech 262 a 278 m/z . Zatímco alizarin byl snadno identifikovatelný, v případě purpurinu v purpurinových vzorcích (purpurinový lak, purpurinový



Obr. 3. Srovnání hmotnostních spekter s isotopovým rozlišením chrysinu (1) s píky v oblasti 253–255 m/z , chrysinového laku (2), chrysinového laku v oleji (3) a chrysinového laku v tempeře (4). Ve spektru chrysinového laku je označen sodný adukt o velikosti 276 m/z . Spektra byla změřena v pozitivním módu

lak v oleji a purpurinový lak v tempeře) to téměř nebylo možné. Podařilo se identifikovat pouze sodný adukt v oblasti 278 m/z při pozitivním módu.

Pyranová barviva a pigmenty

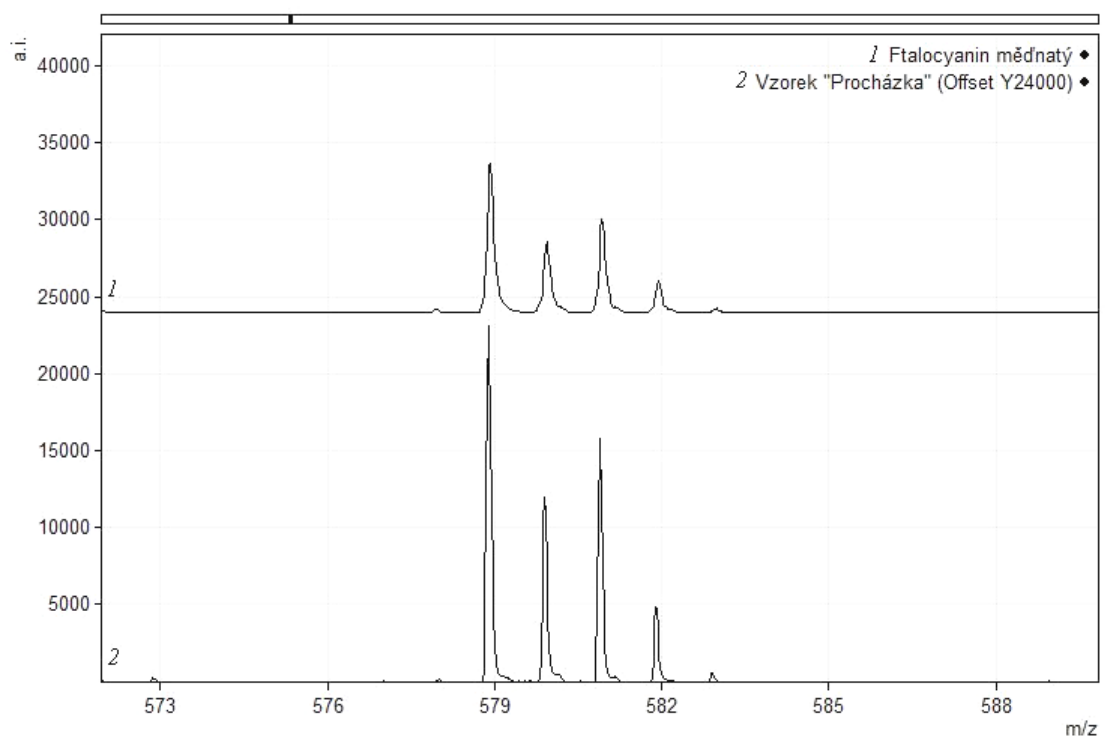
Pyranová barviva jsou ve své molekulové struktuře stabilní, a proto se všechny měřené vzorky (apigenin, baicalein, flavanon, flavon, chromon, chrysin, isorhamnetin, kvercetin, morin, rhamnetin a xantin) podařilo v pozitivním módu identifikovat pomocí příslušných molekulových hmotností (tab. II). U každého vzorku byly zaznamenány radikály – základní píky, jen u chromonu se vyskytoval v pozitivním módu malý signál základního píku. U vzorků flavonu a flavonolu byly nalezeny sodné adukty a u flavonu, kvercetinu a rhamnetinu také adukty draselné v oblasti 260, 340 a 354 m/z , které byly zaznamenány v pozitivním módu měření. U vzorků xanthonu, flavonu a apigeninu se tvořily také dimery.

Modelové vzorky pyranových barviv byly zastoupeny chrysinovými laky (chrysinový lak, chrysinový lak v oleji, chrysinový lak v tempeře) a kvercetinovými laky (kvercetinový lak, kvercetinový lak v oleji, kvercetinový lak v tempeře). V pozitivním módu byl identifikován podle své relativní molekulové hmotnosti chrysin

v chrysinovém laku, v chrysinovém laku v oleji a v tempeře byly také nalezeny sodné adukty v oblasti 276 m/z (obr. 3). Kvercetin bylo možné nalézt v samotném kvercetinovém laku a v kvercetinovém laku v oleji. U kvercetinového laku byly také identifikovány sodné a draselné adukty v oblastech 324 a 340 m/z v pozitivním módu měření. U kvercetinového laku v tempeře nebylo možné nalézt žádné spektrální projevy.

Indolová a pyrrolová barviva a pigmenty

Při měření vzorků z obrazu Procházka z roku 1936 od Josefa Čapka bylo restaurátory předpokládáno, že obraz obsahuje organické barvivo indigo, které bylo nejrozšířenějším modrým organickým barvivem v té době. Porovnáním hmotnostních spekter odebraných vzorků a indiga (obr. 4), bylo zjištěno, že se spektra vzorků neshodují se spektrem přírodního indiga, zato se ale shodují s hmotnostním spektrem modrého pigmentu ftalocyaninu měďnatého. Tento syntetický pigment byl ale poprvé představen na výstavě v Londýně roku 1935 a jeho rozšíření do uměleckých kruhů nastalo teprve od roku 1938 (cit.¹¹). Ze získaných výsledků tedy vyplývá, že zkoumaný obraz nemohl být originálním uměleckým dílem, nýbrž falzem.



Obr. 4. Porovnání hmotnostních spekter s isotopovým rozlišením vzorku odebraném z obrazu s ftalocyaninen měďnatým. Spektra byla změřena v negativním módu

Závěr

Pomocí metody LDMS bylo možné spolehlivě identifikovat vybraná organická barviva a pigmenty s relativní molekulovou hmotností iontů do 500 Da. Výjimku tvořila pouze kyselina karmínová s molekulovou hmotností $492,39 \text{ g mol}^{-1}$. Podařilo se ovšem detegovat ftalocyanin měďnatý i přes svoji relativně vysokou molekulovou hmotnost (576,07), což možná souvisí s jeho dobrou ionisovatelností a hlavně stabilitou. Při měření vzorků barviv byly zaznamenány sodné a draselné adukty, pouze ale v pozitivním módu.

V hmotnostních spektrech bylo možné také pozorovat dimery některých analytů. Z antrachinonových barviv tvořil dimer jenom emodin, u pyranových barviv xantin, flavon, apigenin a z indolových barviv indigo. Barviva či pigmenty v modelových vzorcích laků již ale dimery netvořila.

LDMS je rychlá a spolehlivá metoda pro identifikaci vzorků organických barviv a pigmentů bez chemických a časově náročných předběžných ošetření. Tato metoda může být také využita k ověření pravosti uměleckých děl a pro materiálový průzkum před samotným restaurováním uměleckých objektů, protože je považována za téměř nedestruktivní metodu, která k analýze potřebuje velmi malé množství vzorku (desetiny mikrogramu).

Za přípravu a poskytnutí modelových vzorků (laků a laků v organických pojivech) k identifikaci pomocí metody LDMS děkujeme panu RNDr. Tomáši Matysovi Grygarovi, CSc. a analytické laboratoři na Ústavu anorganické chemie AV ČR, v.v.i.

Za poskytnutí vzorků z obrazu Procházka z roku 1936 od Josefa Čapka děkujeme paní akademické malířce Zuzaně Polákové.

LITERATURA

1. Pike A. W. G., Hoffmann D. L., Garcia-Diez M., Pettitt P. B., Alcolea J., De Balbin R., Gonzalez-Sainz C., de las Heras C., Lasheras J. A., Montes R., Zilhao J.: *Science* 336, 1409 (2012).
2. Holečková M.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2010.
3. <http://www.jergym.hiedu.cz/~canovm/barva/a/b.html>. staženo 14. října 2012.
4. Zahradník M.: *Barviva používaná v technické praxi*. SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha 1986.
5. Kučková Š., Němec I., Hynek R., Hradilová J., Grygar T.: *Anal. Bioanal. Chem.* 382, 275 (2005)
6. Wyplosz N.: *Disertační práce*. FOM Institute for Ato-

- mic and Molecular Physics, Amsterdam 2003.
- Slánský B.: *Technika malby. Díl I.: malířský a konservační materiál*. SNKLHU, Praha 1953.
 - Khadem S., Marles R. J.: *Molecules* 17, 191 (2012).
 - Strohalm M., Kavan D., Novák P., Volný M., Havlíček V.: *Anal. Chem.* 82, 4648 (2010).
 - Lech K., Jarosz M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 3241 (2011).
 - Šimůnková E., Bayerová T.: *Pigmenty*. STOP Praha, Praha 1999.

I. Křížová^a, M. Stýblová^a, L. Coufalová^a, R. Hynek^a, and Š. Kučková^{a,b} (^a *Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague,* ^b *Charles University in Prague, Department of Teaching and Didactics of Chemistry, Prague*): **Analysis of Organic Dyes and Pigments Used in Works of Art by Laser Desorption Mass Spectrometry**

The subject of the article is the identification of some natural organic dyes and pigments by the title method (LDMS). The advantage of LDMS is a rapid and reliable identification of low-molecular-weight dyes or pigment without chemical modification of samples. This method can be used for analysis of works of art or verification of their authenticity. The method was tested on organic dyes and pigments (e.g. alizarin, apigenin, baicalein, flavone, xanthone), four laks (alizarin, purpurin, chrysin, quercetin laks) and laks mixed with organic binders.