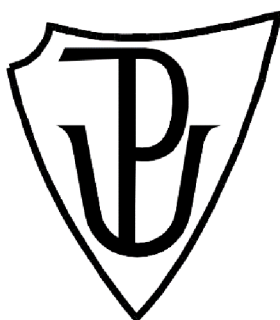


# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta  
Katedra analytické chemie



## Charakterizace olejových pojiv maleb pomocí iontové mobility s hmotnostní spektrometrií

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	<b>Matěj Rousek</b>
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Chemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	<b>prof. RNDr. Karel Lemr Ph.D.</b>
Konzultant:	<b>M.Sc. Marianna Nytko</b>
Rok:	2023

## **Bibliografická identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Matěj Rousek

Název práce: Charakterizace olejových pojiv maleb pomocí iontové mobility s hmotnostní spektrometrií

Typ práce: bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.

Konzultant: M.Sc. Marianna Nytko

Rok odevzdání práce: 2023

### **Anotace:**

Pigmenty a pojiva lidstvo doprovází již od pravěku a je to důležitá součást našeho každodenního života. Pojiva jsou jednou ze základních složek barvy a ovlivňují například její kryvost, světlostalost a index lomu. Již od středověku existovala jakási paleta tří základních druhů pojiv, a to proteinová, polysacharidová pojiva a vysychavé oleje, jejichž analýze se věnuje předkládaná práce.

Teoretická část práce se zaměřuje na analýzu pojiv s přehledem užívaných metod, následovaným literární rešerší zaměřenou na užívání iontové mobility (IMS) s hmotnostní spektrometrií (MS) v analýze olejových pojiv.

Pro měření bylo vybráno 19 různých olejů, celkem z šesti druhů rostlin – lněné, ořechové (z vlašských ořechů), makové, saflorové a po jednom vzorku z olivového a konopného oleje. Vzorky byly kromě základního měření hmotnostních spekter a iontové mobility analyzovány se zaměřením na triacylglyceroly (TAG). Po jejich izolaci iontovou mobilitou bylo využito iontové mobilitní separace s třemi cykly, což umožnilo dosáhnout vyšší rozlišovací schopnosti a odlišit některé isomerní oxidační produkty. Výsledky předkládané práce ukazují na možnost spojení iontové mobility a hmotnostní spektrometrie při odlišení různých olejů využívaných jako pojiva.

Klíčová slova: pojiva, olejová pojiva, rostlinné oleje, iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií, umělecká díla, obrazy

Počet stran: 85

Počet příloh: 2

Jazyk: Český

## **Bibliographical identification:**

Name and surname of the author: Matěj Rousek

Title of thesis: Characterization of oil binders of paintings using ion mobility with mass spectrometry

Type of thesis: bachelor's

Department: Analytical Chemistry

Supervisor: prof. RNDr Karel Lemr, Ph.D.

Consultant: M.Sc. Marianna Nytko

The year of submission: 2023

### **Annotation:**

Pigments and binders have been with mankind since prehistoric times and are an important part of our daily lives. Binders are one of the basic components of paint and affect, for example, its opacity, lightness and refractive index. Since the Middle Ages there has been a variety of three basic types of binders, namely protein binders, polysaccharide binders and drying oils, the analysis of which is the focus of the present work.

The theoretic part of the thesis focuses on the analysis of binders with an overview of the methods used, followed by a literature search focused on the use of ion mobility spectrometry (IMS) with mass spectrometry (MS) in the analysis of oil binders.

Nineteen different oils were selected for measurement, from a total of six plant species – linseed, walnut, poppy, safflower and one sample each of olive and hemp oil. The samples were analysed for triacylglycerols (TAGs), in addition to basic mass spectra and ion mobility measurements. After their isolation by ion mobility, a three-cycle ion mobility separation was used, which allowed to achieve higher resolution and to distinguish some isomeric oxidation products. The results of the present work show the possibility of combining ion mobility and mass spectrometry in the differentiation of different oils used as binders.



Keywords: binders, oil binders, vegetable oils, ion mobility with mass spectrometry,  
artwork, paintings

Number of pages: 85

Number of attachments: 2

Language: Czech

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci

.....

Podpis

## PODĚKOVÁNÍ

*Rád bych poděkoval vedoucímu své bakalářské práce, prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph. D., za odborné vedení mé práce, za jeho trpělivost, četné rady a všechny čas, který mi věnoval. Také chci poděkovat M.Sc. Marianně Nytko za její pomoc při provádění experimentů.*

*V neposlední řadě bych také rád poděkoval svým rodičům za podporu během bakalářského studia.*

# Obsah

Obsah.....	8
Seznam použitých zkratk .....	9
1. Úvod.....	11
2. Teoretická část .....	12
2.1. Materiálová analýza uměleckých předmětů .....	12
2.1.1. Studium materiálů uměleckých děl .....	12
2.1.2. Neinvasivní metody .....	14
2.1.3. Invasivní metody.....	17
2.2. Analýza pojiv .....	18
2.3. Olejová pojiva.....	23
2.4. Analýza olejů spojením iontové mobility a hmotnostní spektrometrie.....	26
3. Experimentální část.....	30
3.1. Přístroje a pomůcky.....	30
3.2. Použité chemikálie .....	30
3.3. Pracovní postup:.....	32
4. Výsledky a diskuse.....	33
4.1. Hmotnostní spektra studovaných olejů .....	33
4.2. Mobilogramy studovaných olejů .....	45
4.3. Detailnější pohled na profily triacylglycerolů studovaných olejů .....	49
5. Závěr.....	52
6. Literatura .....	53
7. Přílohy .....	60
7.1. Seznam Příloh .....	60
7.2. Příloha č. 1 – Mobilogramy analyzovaných olejů .....	60
7.3. Příloha č. 2 – Mobilogramy a spektra pro oblast triacylglycerolů.....	67

## Seznam použitých zkratek

**APCI** – chemická ionizace za atmosférického tlaku

**CZE** – kapilární zónová elektroforéza

**DAG** – diacylglyceroly

**DEMS** – hmotnostní spektrometrie s přímým vystavením vzorku

**DTA** – diferenční termická analýza

**DTA-TG-MS** – propojení diferenční termické analýzy, termogravimetrie a hmotnostní spektrometrie

**DTMS** – přímá hmotnostní spektrometrie s teplotním rozlišením

**ESI-IMS-MS** – Kombinace iontové mobility s hmotnostní spektrometrií

**EVOO** – extra panenský olivový olej

**FAME** – methylestery mastných kyselin

**FTIR** – infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací

**GC** – plynová chromatografie

**HPLC** – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

**HRMS** – Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením

**HTGC** – Plynová chromatografie za vysokých teplot

**ICP-MS** – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

**IM** – iontová mobilita

**MIRS** – střední infračervená

**MS** – hmotnostní spektrometrie

**NIRS** – blízká infračervená infračervená spektrometrie

**NMR** – nukleární magnetická resonance

**LC** – kapalinová chromatografie

**LOO** – lampantový olivový olej

**TAG** – triacylglycerol

**TD** – termální desorpce

**TG** – termogravimetrie

**TIMS** – iontová mobilita se záchytem iontů

**TOF-MS** – hmotnostní spektrometrie doby letu

**UHPSFC** – ultraúčinná superkritická fluidní chromatografie

**UV-IMS** – iontová mobilita se zdrojem ultrafialového záření

**VOO** – panenský olivový olej

**ZIC-HILIC** – hydrofilní interakční chromatografie s zwitteriontovým sorbentem

# 1. Úvod

Kromě svého širokého uplatnění například v průmyslu, medicíně, farmacii, zemědělství a mnoha dalších odvětví má analytická chemie též nezastupitelnou roli při zkoumání historických artefaktů a materiálů používaných pro jejich tvorbu napříč dějinami – od přírodních pigmentů, obsažených v nástěnných malbách, po syntetické polymery, užívané v moderním umění. Kvůli rozsahu analyzovaných materiálů, které jsou součástí uměleckých děl je též zapotřebí velká škála analytických metod, každá více, či méně vhodná pro dané typy materiálů a vzorků. Protože nám znalosti o jednotlivých složkách poskytují vzácné informace nejen o stavu daného předmětu, ale též o technikách použitých daným umělcem, je analýza pojiv, které jsou podstatnou součástí maleb, velmi důležitou oblastí. K významným pojivům patří rostlinné oleje, jejichž analýze spojením iontové mobility s hmotnostní spektrometrií je věnována předkládaná práce.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Materiálová analýza uměleckých předmětů

#### 2.1.1. Studium materiálů uměleckých děl

Materiálová analýza uměleckých děl zahrnuje širokou paletu různých metod, neboť zkoumá široké spektrum artefaktů – od obrazů, textilií a kovových předmětů až po rozsáhlé systémy nástěnných maleb v jihoamerických pralesích <sup>[1]</sup>. Množství metod je dáno také širokou paletou analyzovaných látek (materiálů) a tím, že se metody materiálové analýzy neustále vyvíjejí, ať už mezioborovou spoluprací při tvorbě nových metod, či zdokonalováním metod stávajících.

Význam analytické chemie spočívá v poznání materiálového složení uměleckého díla, což je důležitá podmínka pro jeho ochranu a správnou péči, která jej pomůže zachovat do budoucna. Ochrana a péče o kulturní dědictví pak spočívá v odhalování degradačních procesů a v předcházení těmto procesům správnou konzervací a umístěním artefaktů, neboť tyto procesy většinou probíhají mezi původními látkami a okolním prostředím daného artefaktu.

Analytické metody lze užít též k získání informací o použitých materiálech, s cílem odhalování padělků. Jako příklad lze uvést průzkum mauricijských poštovních známek Ramanovou mikroskopií, která od sebe dovedla odlišit originály z roku 1847 a falza z let 1858-1862 na základě rozdílnosti užitých pigmentů <sup>[2]</sup>.

Z pohledu používaných materiálů jsou umělecká díla tvořena barvivy, pigmenty, pojivy a dalšími složkami. Tato díla jsou naší významnou kulturní součástí již od pravěku. Pravěcí lidé malovali na zdi jeskyní, na vlastní těla či pod svou kůži během aplikace tetování – nejstarší zdokumentovaná tetování lze nalézt na ledovcovém muži Ötzim <sup>[3]</sup>, který zemřel zhruba 3300 př. n. l. s desítkami tetováními. U jeskynních maleb se používaly různé pigmenty jako rozličné hlinky, dřevěné uhlí a uhlí z kostí, kalcit, limonit a hematit. Poslední zmíněné minerály chodili pravěcí lidé těžít dlouhé kilometry na osvědčená naleziště. Pigmenty byly smíseny s pojivem z rozličných tekutin, které byly tehdy k dispozici. Například zvířecí tuk, sliny, krev, vaječný bílek a rostlinné



šťávy. Tehdy šlo ale o poměrně jednoduchý proces barvení, který vykazoval omezenou barevnou stálost. Jeho pozůstatky byly nalezeny pouze ve velmi vzácných případech <sup>[4]</sup>.

Jedním z nejstarších používaných přírodních barviv je indigo <sup>[4]</sup>. Po úpravě močí a následné fermentaci rostliny *Indigofera tinctoria* se barvení provádělo tak, že se vlákna (například oblečení) ponořila do bezbarvé barvivové lázně. Po vyjmutí se sušila na slunci a získala požadované modré zbarvení tvorbou nerozpustné modré barvy na povrchu vláken.

Když začala vznikat rozsáhlá centra obchodu s mnohými komoditami, včetně barviv a pigmentů, začaly například ve Fénicii, na východních březích Středozemního moře, starověké civilizace rozvíjet technologické postupy pro přípravu barviv a pigmentů. Pravděpodobně nejznámějším barvivem v této lokaci byl týrský nach (v angličtině Tyrian purple, Phoenician red, Phoenician purple), získávaný z mukózního sekretu hypobranchiální žlázy jednoho z několika druhů mořského mlže *Bolinus brandaris* <sup>[5]</sup>.

Zhruba před 250 lety, pravděpodobně omylem, vytvořil William Henry Perkin první syntetické organické barvivo – mauvein <sup>[4]</sup> smísením anilinu, p-toluidinu a o-toluidinu v poměru 1:1:2 v kyselině sírové a vodě (nutno přidat i dichroman draselný).

Pravděpodobně první lidmi uměle vyráběný pigment na světě však pochází ze starověkého Egypta. Popsal jej chemik Sir Humphry Davy <sup>[6]</sup> při analýze jednoho z hrnců původem z Pompejí. Jednalo se o egyptskou modř ( $\text{CaCuSi}_4\text{O}_{10}$ ), vyvinutou za účelem podstatného snížení ceny modré barvy, která byla v té době velmi drahá (protože se vyráběla z tehdy těžko dostupného lazuritu). Egyptská modř byla vyráběna z pouštního písku ze specifických oblastí, drceného vápence, natronu a úlomků bronzu nebo mědi, které byly zahřívány a roztaveny při teplotách mezi 850 °C a 1000 °C a výsledný materiál se rozemlel na prášek <sup>[6]</sup>.

Při analýze uměleckých děl se téměř výlučně jedná o pevné vzorky, což do jisté míry předurčuje volbu analytických metod a postupů.

Analytické metody je možno rozdělit na neinvasivní/invasivní a nedestruktivní/destruktivní <sup>[7]</sup>. Metody jsou děleny v závislosti na tom, zda je třeba odebrat vzorek. Pokud ano, jedná se o metody invasivní, pokud vzorek není potřeba odebrat, jsou tyto metody neinvasivní. Dále lze metody invasivní rozdělit na destruktivní a nedestruktivní. Pokud samotnou analýzou odebraný vzorek zničíte, jde o

metody destruktivní. Pokud je vzorek zachován a je možné na něm po použití provést další analýzu, jedná se o metody nedestruktivní.

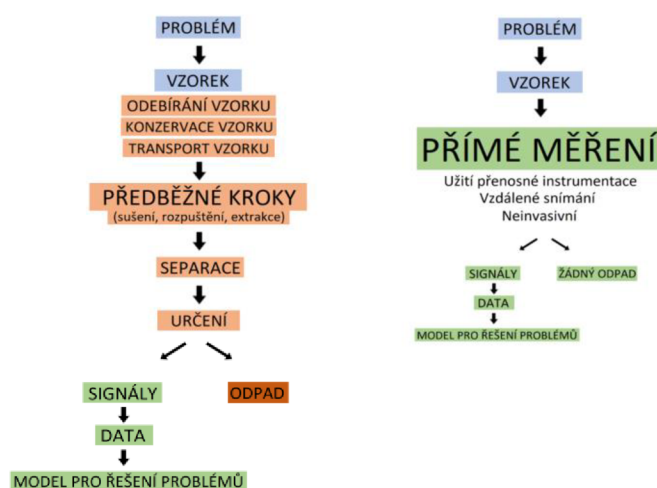
V praxi probíhá analýza nejčastěji tak, že je pro prvotní zkoumání užito neinvasivních metod. Výsledky mohou mimo jiné určit i vhodná místa pro odběr vzorku. Měření neinvasivními metodami jsou poté následována metodami nedestruktivními a nakonec destruktivními.

### 2.1.2. Neinvasivní metody

Neinvasivní metody jsou dnes upřednostňovány. Invasivní metody, destruktivní či nedestruktivní však mohou poskytnout informace o studovaném díle, které nelze získat metodami neinvasivními. Ty bývají často využité v prvním sledu před kaskádou invasivních metod – je-li to pro zamýšlený účel potřebné, a především přijatelné pro ochranu zkoumaného díla.

Kromě respektu k samotnému dílu hrála roli v rozšíření neinvasivních metod i zelená analytická chemie. Neinvasivní metodou obecně snižujeme zátěž životního prostředí, neboť je vynechána předúprava vzorku [8].

Mezi další výhody neinvasivních metod patří zlevnění pracovních postupů tím, že není třeba zmíněná předúprava vzorku k analýze, ale také rozvojem možnosti analýzy přímo v terénu. Snižuje se rovněž riziko kontaminace nebo ztráty analytu. Na obr. č. 1 lze vidět výhody přímé (neinvasivní) analýzy oproti analýze nepřímé (invasivní).



Obr. č. 1: Výhody přímé (neinvasivní) analýzy oproti invasivní, převzato a přeloženo z cit. [8]

Mezi neinvazivní metody patří například přenosné verze Ramanovy spektrometrie, UV-Vis spektrometrie a fluorimetrie, rentgenové fluorescence, vibrační spektrometrie (blízká infračervená (NIRS) a střední infračervená (MIRS)), nukleární magnetické resonance (NMR) a další.

Ramanovu spektrometrii uměleckých děl pomocí přenosných přístrojů (Obr. č. 2) lze provádět v terénu, například přímo na freskách a jiných objektech, ze kterých není možné (není přípustné) odebrat vzorek.



Obr. č. 2: Přenosný Ramanův spektrometr firmy Bruker, převzato z cit. <sup>[9]</sup>

Ramanova spektrometrie se v oblasti analýzy uměleckých předmětů užívá kratší dobu než některé jiné techniky (např. FT-IR), a nemá proto tak rozsáhlou databázi komparativních spekter <sup>[10]</sup>. Přesto je však užívána v archeologické a uměnovědní praxi, vzhledem ke své praktičnosti, citlivosti k drobným strukturálním změnám, úzkým píkům a vysokému povrchovému rozlišení Ramanovy mikroskopie <sup>[11]</sup>. Kvůli složitosti svého instrumentálního uspořádání (např. oproti IR spektrometrii) se Ramanova spektrometrie mimo výzkumné laboratoře začala používat později než například infračervená spektrometrie <sup>[12]</sup>.

V oblasti analýzy hydratovaných archeologických nálezů, jako jsou různé bavlněné a lněné oblečení či lidské ostatky, je upřednostňována Ramanova spektrometrie oproti IR spektrometrii, neboť analýzu neruší přítomnost vody (poměrně malá intenzita rozptylu vody a hydroxylových skupin v Ramanově efektu oproti silné absorpci v infračerveném spektru) <sup>[10]</sup>. Konkrétně byla Ramanova spektrometrie v

archeologii užita například při analýza nejstaršího nalezeného mozku (přes 2600 let) z Heslingtonu nebo 4000 let starých ostatků muže z Gristhorpe. Důvod pro její oblíbenost při zkoumání obrazů je ale jiný. Vzhledem k přístupnosti oblastí nižších vlnočtů (méně než  $500 \text{ cm}^{-1}$ ) je možné lépe a snáze než jinými technikami analyzovat nejrůznější anorganické pigmenty <sup>[10]</sup>.

V souvislosti s tím, že byla Ramanova spektrometrie uvedena do oblasti výzkumu uměleckých děl později než některé jiné spektrální techniky, je vhodné zmínit, že úplně poprvé došlo k použití přenosného Ramanova spektrometru k *in situ* měření skalních maleb jen několik let zpět, a to když v roce 2017 zkoumal tým jihoamerických vědců jeskynní malby v argentinské Patagonii <sup>[11]</sup>. Kvůli své nepřenositelnosti jsou skalní malby díla, při jejichž analýze je nejvyšší potřeba přenosných analytických přístrojů. Přenosný Ramanův spektrometr byl úspěšně využit k charakterizaci substrátů, inkrustací, produktů degradace a velké většiny pigmentů, které byly součástí maleb <sup>[11]</sup>.

Dobře přenositelné přístroje jsou také k dispozici pro měření rentgenové fluorescence. Přes některé zápory má tato technika mnoho předností <sup>[13]</sup>. Mezi tyto přednosti patří například to, že rentgenové paprsky dovolují analyzovat i vrstvy pod povrchem, krátká doba analýzy a relativní finanční dostupnost vybavení. Mezi nevýhody patří nižší rozlišení oproti nepřenosné verzi nebo skutečnost, že pomocí přenosného XRF prakticky nelze získat kvantitativní informace o materiálu obrazů <sup>[14]</sup>.

Přestože nukleární magnetická resonance obecně nepatří mezi nejčastěji užívané techniky neinvasivní analýzy, lze na příkladu zkoumání obrazu Guilia Turcata z roku 1965 dobře demonstrovat prolínání jednotlivých variant NMR. Moderní materiály, užívané od minulého století, mohou být podstatně náchylnější k degradaci než materiály používané v dávnějších dobách. Přírodní materiály, jako je zlato, bronz, některé přírodní pigmenty, stříbro, kámen atd., se obvykle do budoucna uchovají mnohem jednodušeji než materiály moderní <sup>[15]</sup>.

Mnoho materiálů, dnes využívaných pro umění, je tvořeno polymerními řetězci, a právě pro studium polymerních řetězců je NMR jedna z nejvhodnějších technik <sup>[16]</sup>. Při zkoumání Turcatova obrazu se uplatnily různé přístupy (přenosná NMR, NMR v pevné fázi a NMR v roztoku) <sup>[15]</sup>. Nejprve bylo kromě materiálu třeba určit i stav degradace obrazu. Přenosná NMR na obraze odlišila oblasti s vyšším a nižším

relaxačním časem, které byly později detekovány jako tvrdá fáze (polyuretan, obsahující toluen diisokyanát) a měkká fáze (blokový kopolymer – polypropylenglykol zakončený polyethylenglykolem). Tvrdá fáze byla identifikována NMR v pevné fázi, zatímco pro určení mikrostruktury měkké fáze byla vhodnější NMR v roztoku.

### 2.1.3. Invasivní metody

Mezi často užívané nedestruktivní metody patří například infračervená spektrometrie, Ramanova spektrometrie, rentgenová fluorescence, či metoda barvení průřezů. K destruktivním se řadí mimo jiné tyto metody: chromatografie, elektroforéza a hmotnostní spektrometrie. Kromě spojení separačních metod a hmotnostní spektrometrie se využívá i přímá ionizace vzorku bez předchozí separace jako je DEMS (hmotnostní spektrometrie s přímým vystavením vzorku) <sup>[17]</sup>.

Jednou z významných metod zkoumání struktury vzorků barvy je studium jejich souvrství (nábrusu). Zkoumat se dá různě, od mikroskopie a barvení až po použití laserové ablace-ICP-MS (laserová ablace-hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem), rentgenové fotoelektronové spektrometrie a jiných technik. Barvení souvrství s optickou mikroskopií patří k nejstarším technikám analýzy uměleckých děl. Oproti ostatním technikám nabízí několik výhod, jako je například možnost pozorovat jednotlivé vrstvy zvlášť nebo jednoduchost bez nároků na složitou instrumentaci <sup>[18]</sup>. Mezi její nevýhody patří to, že se jedná o techniku invazivní, byť jen v malém rozsahu a náročnost na přípravu vzorku.

Stejně jako u všech jiných analytických technik je potřeba velká dávka preciznosti, související s nutností fixovat vzorek ve vhodném médiu a pečlivě jej vyhladit tak, aby byl naprosto plochý. Jako médium se používají syntetické pryskyřice jako polyestery, kyanoakryláty, silikony, vosky a další <sup>[18]</sup>. Pro samotnou analýzu souvrství je pak nejčastěji využíváno optických mikroskopů, přičemž se předmět pozoruje v oblasti viditelného záření nebo při osvětlení UV zářením, byť lze užít i složitějších metod.

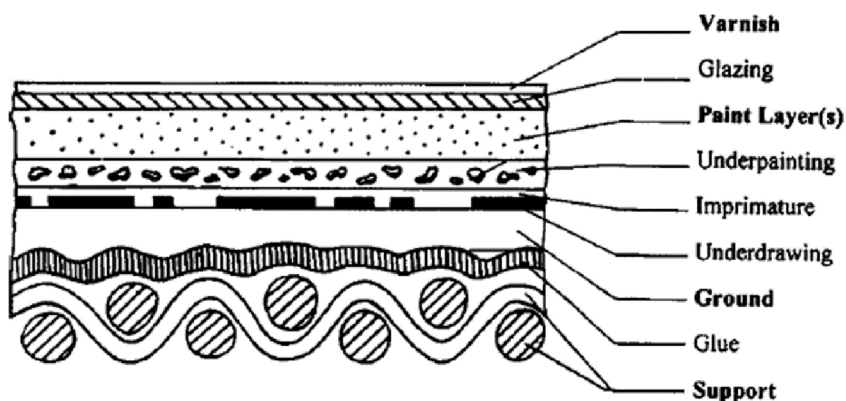
Výhoda této techniky je dle Plesterse – jednoho z jejích průkopníků – dvojitá. 1) Z malého vzorku (v té době zhruba 1x1mm, dnes je to již podstatně méně) o něm lze získat množství důležitých informací. 2) Vzhledem k malé velikosti vzorku lze na vzorcích testovat efekty rozličných reakčních činidel, pokud například hledáme vhodné

čínidlo pro odstranění svrchní vrstvy barvy nebo laku <sup>[19]</sup>. Naproti tomu vyjmenovává Plesters následující dva omezující faktory. Zaprvé existuje riziko, že analýza pouze malého vzorku z celého obrazu nebude věrně reprezentovat celkovou strukturu obrazu a to i navzdory tomu, že výsledky z historicky hodnotných obrazů byly velice konzistentní. Za druhé zkoumání umělcova stylu a techniky jistě vyžaduje mnoho vzorků a jejich dostupnost může být omezena. Některé galerie například poskytují takové vzorky pouze při restaurování a péči o obrazy.

Mikroskopická analýza souvrství stále patří k základním krokům průzkumu uměleckých děl, ale k významným nástrojům takového průzkumu se též řadí široká paleta instrumentálních analytických metod, včetně metod chromatografických. Ty například patří mezi nejužívanější metody identifikace přírodních pojiv. <sup>[20]</sup> (viz strany 25-26)

## 2.2. Analýza pojiv

Alespoň co se maleb týče, mají umělecké předměty jednotlivé vrstvy, jsou stratifikované. Odkrytí jednotlivých vrstev nám může říci mnohé o autorovi a jeho technice malby. Malby se většinou skládají ze základní, podpůrné vrstvy (plátno, papír, dřevo atd.), poté zpravidla následuje vrstva primárního nátěru (priming), na kterou je nanášena jedna či vícero vrstev, ve kterých je pigment v pojivu, tím je poté dosaženo příslušné barevnosti <sup>[21]</sup>. Na vrstvy pigmentu je poté možné aplikovat laky a glazování. Případně jsou zmiňovány i další vrstvy <sup>[22]</sup> (Obr. č. 3).



Obr. č. 3: Stratifikace maleb, převzato z cit. <sup>[22]</sup>

Již od starověku se snažili malíři využít řadu organických materiálů jakožto pojiva a dali tím tak základ pro tvorbu jakési palety přírodně dostupných pojiv. V Evropě se užívala proteinová, polysacharidová pojiva a vysychavé oleje (siccative oils).

Bílkovinná pojiva, a to především kolagenní lepidla extrahovaná ze zvířecích kůží, spolu s pojivy z kostí, vajec, či mléka, byla používána především v technice zvané tempera<sup>[21]</sup>. Tato pojiva lze samozřejmě smísit též s pojivy na olejové bázi, technika je poté nazývána tempera grassa. Nejčastěji byla jako bílkovinná pojiva pro svou dostupnost užívána vejce, ale lze nalézt i mnoho příkladů použití pojiv na bázi kaseinu. Například kaseinát amonný byl užíván především jako pojivo v nástěnných malbách<sup>[21]</sup>, zatímco použití kaseinátu vápenatého tkvělo v restaurování maleb a obrazů.

Během identifikace nejenom těchto pojiv, ale i organických složek barvy lze narazit na několikero obtíží<sup>[21]</sup>:

- Denaturace starších proteinů a jejich obtížná rozpustnost ve vodě a organických rozpouštědlech;
- Přítomnost několika organických látek v jedné vrstvě;
- Přítomnost produktů degradace původních složek, především v důsledku stárnutí;
- Fakt, že v menších heterogenních vzorcích barvy ( $\ll 1\text{mg}$ ) lze zpravidla nalézt jen poměrně nízké obsahy proteinů (nanejvýš 0,1 mg proteinu)

Většinu výše zmíněných problémů lze vyřešit užitím chromatografických technik, často se užívá ale i množství jiných postupů: metody barvení průřezů, CZE (kapilární zónová elektroforéza), spektroskopické techniky, jako je FTIR (infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací), DTA (diferenční termická analýza) a hmotnostní spektrometrie DTMS (přímá hmotnostní spektrometrie s teplotním rozlišením), či analýza imunochemickými technikami<sup>[21]</sup>.

Mezi přírodní zdroje polysacharidových pojiv patří především rostlinné gumy, typicky arabská guma, tragant a ovocné gumy. Ve vzorcích malby se často objevuje vícero druhů pojiv a kontaminantů. Nejčastěji užívaná pojiva jsou ta na bázi proteinů, proto Lluveras-Tenorio a kol.<sup>[23]</sup> zkoumali profily sacharidů, které lze získat, pokud jsou ve vzorku kromě sacharidů též pojiva proteinová. Výsledkem této studie bylo, že

proteiny, rostlinná pletiva (jako například dřevo, přítomné především v podpůrné vrstvě obrazu) a anorganické materiály v průběhu let ovlivňují výsledné profily sacharidů, a to jak kvantitativně, tak kvalitativně (Tab. č. 1). Konkrétní vybrané výsledky jsou následující<sup>[23]</sup>:

- Arabinosa, fukosa, galaktosa, xylosa a mannosu jsou relativně stabilní, byť se jejich obsah může proměňovat v závislosti na obsahu pigmentu a době stárnutí.
- Xylosa může být přítomná ve vyšších množstvích v rostlinných pletivech, a to může mít za následek kontaminaci obrazu – poté již nelze užít její analýzu k rozeznání arabské gummy od gummy z ovocných stromů a tragantu. Mannosu též nelze užít jakožto marker gummy z ovocných stromů.

guma	materiál s proteiny	profil cukru	xylosa	arabinosa	rhamnosa	fucosa	k. galakturonová	k. glukuronová	glukosa	mannosa	galaktosa
arabská	vejce	teoretický	0,0	23,5	11,4	0,0	0,0	10,6	1,8	7,2	45,5
		experimentální	0,0	32,1	14,8	0,0	0,0	10,6	0,5	2,0	40,8
	živočišné lepidlo	teoretický	0,0	25,9	12,5	0,0	0,0	11,6	0,6	0,0	49,4
		experimentální	0,0	35,6	15,2	0,0	0,0	11,6	0,1	0,2	35,2
	mléko	teoretický	0,0	22,4	10,8	0,0	0,0	10,1	5,7	0,5	50,6
		experimentální	0,0	30,5	14,3	0,0	0,0	10,8	8,7	0,0	35,7
tragant	vejce	teoretický	16,5	28,5	1,9	6,0	12,0	0,7	12,4	10,5	11,6
		experimentální	20,7	33,1	1,1	4,0	2,0	0,6	12,1	16,8	9,8
	živočišné lepidlo	teoretický	18,9	32,6	2,1	6,9	13,7	0,9	12,0	0,0	12,9
		experimentální	22,0	37,4	1,8	6,3	3,0	0,5	12,6	0,1	16,3
	mléko	teoretický	15,3	26,4	1,7	5,6	11,1	0,7	17,0	0,7	21,5
		experimentální	3,8	6,2	0,2	1,1	1,4	0,5	46,2	0,4	40,2
ovocný strom	vejce	teoretický	6,5	37,9	1,8	0,0	0,0	4,4	2,1	10,4	37,0
		experimentální	15,5	45,3	1,2	0,0	0,0	5,2	1,4	6,5	25,1
	živočišné lepidlo	teoretický	7,2	42,1	2,0	0,0	0,0	4,9	0,7	2,3	40,8
		experimentální	14,7	45,2	1,7	0,0	0,0	5,7	1,4	2,3	29,2
	mléko	teoretický	6,1	35,8	1,7	0,0	0,0	4,2	6,4	2,2	43,6
		experimentální	5,8	21,0	0,5	0,0	0,0	2,7	21,7	1,3	46,9

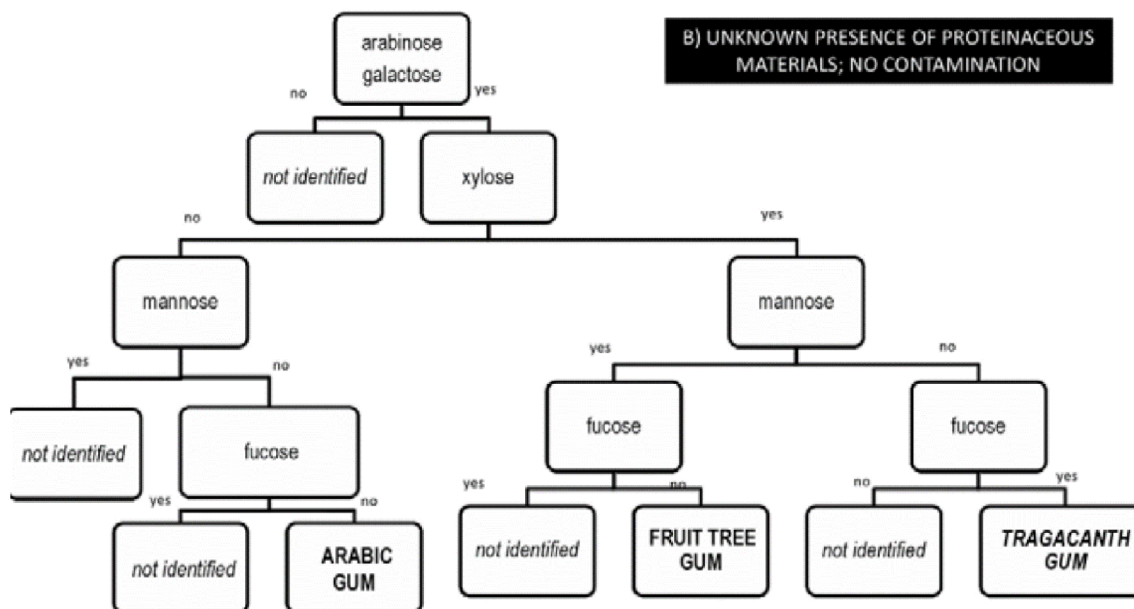
Tab. č. 1: Porovnání teoretického a experimentálního zastoupení (v %) cukrů ze směsi pojiv na bázi sacharidů a bílkovin 1:1, převzato z cit. <sup>[23]</sup>

Na základě těchto poznatků byl vyvinut nový model pro analýzu sacharidových pojiv, který je až o 45% efektivnější v rozeznávání zdrojů sacharidů (52 % pozitivní identifikace zdroje konkrétního sacharidu oproti předchozím 7 %) <sup>[23]</sup>. Tento model předkládá čtyři rozhodovací kritéria, kdy je pro každé z nich předloženo rozhodovací schéma, dle kterého je možné od sebe zdroje sacharidů odlišit (pro příklad rozhodovacího schématu viz obr. č. 4). Schémata zahrnují následující čtyři situace:

- Nejsou přítomny materiály obsahující proteiny a vzorek není kontaminován rostlinnými pletivy
- Nemá jasně, zda vzorek obsahuje materiály obsahující proteiny a vzorek není kontaminován rostlinnými pletivy



- Materiály obsahující proteiny jsou přítomny a vzorek není kontaminován rostlinnými pletivy
- Podkladovým materiálem je dřevo či papír, nebo je zjevně přítomná kontaminace sacharidy z rostlinných pletiv



Obr. č. 4: Schéma modelu pro odlišení zdrojů sacharidů – konkrétně schéma pro vzorek bez kontaminace s nejasnou přítomností materiálů obsahujících proteiny, převzato z cit. [23]

K důležitým technikám v analýze pojiv patří hmotnostní spektrometrie, často ve spojení s chromatografií [24, 25]. Protože hmotnostní spektrometrie využívá množství rozdílných ionizačních technik [25], je uplatnitelná v různých analýzách (Tab. č. 2).

Jednou z nejvhodnějších technik pro analýzu organických látek obsažených v uměleckých předmětech a jejich degradačních produktů je spojení hmotnostní spektrometrie a plynové chromatografie, především díky své vysoké citlivosti [26]. Proto se tato technika často používá též při analýze sacharidových pojiv. Specifikum této analýzy je větší množství kroků pro přípravu vzorku oproti jiným technikám [27].

*Tab. č. 2: Přehled některých ionizačních technik hmotnostní spektrometrie, přeloženo převzato z cit. [25]*

<b>Metoda</b>	<b>Analyzované sloučeniny</b>	<b>Typické povrchové rozlišení</b>	<b>Sensitivita</b>	<b>Možné aplikace</b>
ESI MS	50-100.000		Vysoká	Proteiny, peptidy, lipidy, organické molekuly
MALDI TOF	500-500.000	75 μm (Bowman et al. 2020; Martin. Lorenzo et al., 2014; Smith et al. 2019)	Vysoká	Proteiny, peptidy, polymery
AP MALDI	500-500.000	30 μm (Guenther et al. 2011; Jackson et al., 2018, Keller et al. 2018)	Vysoká	Proteiny, peptidy
TOF SIMS	0-1000 Da	<1 μm (Carado et al., 2008; Gunnarsson et al., 2010; Long et al., 2020)	Vysoká	Aminokyseliny, malé organické molekuly
ICP	10-250		Střední	Prvky, kromě organického uhlíku a prvků ve vzduchu (kyslík, dusík, argon atd.)
DART	50-1000 Da	1000 μm (Ynl et al., 2021)	Střední	Malé organické molekuly, analýza papíru, inkoust
PAPA	50-500 Da	100 μm (Shelley et al., 2005)	Střední	Malé organické molekuly, aminokyseliny
DESI	0-1000 Da	100 μm (Kertesz & Van Berkel, 2008)	Střední	Malé organické molekuly, lipidy, peptidy
GC MS	20-1000 Da		Vysoká	Malé organické molekuly
PyOC MS	20-1000 Da		Vysoká	Malé organické molekuly

Dále lze pro analýzu sacharidových pojiv použít CZE, hmotnostní spektrometrii a kromě plynové chromatografie také další chromatografické techniky, jako například UHPSFC (ultravysokoúčinná superkritická fluidní chromatografie) [28].

### 2.3. Olejová pojiva

Kořeny olejových pojiv sahají až do 15. století, kdy začaly vytlačovat techniku zvanou tempera, z důvodů technických i uměleckých. Mezi tyto důvody patří především to, že se s rychle usychající temperou nedá dosáhnout tak jemných přechodů jako s pomaleji schnoucími olejovými barvami. Tyto přechody byly žádoucí pro trojrozměrný efekt maleb [29] (Obr. č. 5).



Obr. č. 5: Rozdíl v tempeře a olejomalbě: Nalevo Martiniho Gabriel namalovaný temperou, po pravé straně Campinova olejomalba, převzato z cit. [29]

Oleje mohou být vysychavé, semi-vysychavé a nevysychavé [30]. Vysychavé oleje tvoří při styku se vzduchem a světlem pevný film. Důvodem této postupné přeměny kapalného oleje na pevnou a elastickou vrstvu je kaskáda radikálových reakcí. Tato přeměna sestává prakticky ze dvou fází – oxidace a polymerace. Po počátečním působení přírodních antioxidantů totiž olej absorbuje velká množství kyslíku a tím se začnou tvořit peroxidové sloučeniny. Protože se oxidace odehrává především na dvojných vazbách, jedná se tak v první fázi vysoušení konkrétně o hydrogenperoxydy, či

cyklické peroxidy <sup>[31]</sup>. Samotnou polymeraci potom tvoří intermolekulární spojování radikálů, vzniklých dekompozicí relativně nestabilních peroxidových skupin.

Čím více linolenové kyseliny daný vysychavý olej obsahuje, tím spíše byl v minulosti využíván jako pojivo, protože se rychleji vysoušel <sup>[32]</sup>. Tab. č. 3 uvádí obsah kyseliny linolenové v přírodních olejích.

Olej	Palmitová	Stearová	Olejová	Linolová	Linolenová
Lněný	6-7	3-6	14-24	14-19	48-60
Ořechový	3-7	0,5-3	9-30	57-76	2-16
Makový	10	2	11	72	5
Tungový	3	2	11	15	3

Tab. č. 3: Procentuální obsah mastných kyselin v některých vysychavých olejích, převzato z cit. <sup>[32]</sup>

V uměnovědné a archeologické praxi existuje mnoho různých kategorií lipidů, se kterými je možné se setkat. (Tab. č. 4)

Kategorie	Materiály	Použití
Rostlinné oleje	Len, vlašský ořech, mák sója, palmový olej, ricinový olej řepka, kokosový olej	Pojiva, laky, jídlo, přísady do kosmetických, farmaceutických a rituálních přípravků
Alkydové pryskyřice	Polyestery z polyolů a rostlinné oleje	Pojiva a laky
Zvířecí tuky	Vepřový tuk, kraví a kozí mléko, vaječný žloutek	Jídlo, Pojiva, lepidla, nátěry, přísady do kosmetických a farmaceutických přípravků
Vosky	Vosky ze zvířat a rostlin	Pojiva, přísady do kosmetických a farmaceutických přípravků

Tab. č. 4: Druhy lipidů v archeologické a uměnovědné praxi, převzato z cit. <sup>[33]</sup>

Mezi nejužívanější metody analýzy přírodních pojiv patří metody chromatografické <sup>[20]</sup>, jsou tak velmi často využívány i pro analýzu pojiv olejových.

Tradiční technikou vhodnou pro analýzu pojiv v malbách je spojení plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem, jakožto detektorem <sup>[20]</sup>. Vzhledem k chemickému charakteru pojiv je nutné provádět hydrolyzu a následnou derivatizaci s cílem získat dostatečně těkavé produkty vhodné pro plynovou chromatografií. Pro olejová pojiva je často využívána alkalická hydrolyza a následná esterifikace <sup>[33]</sup>. Získávají se informace o zastoupení mastných kyselin a oxidačních produktů, které mohou napomoci při identifikaci konkrétního olejového pojiva a vyhodnocení jeho změn v průběhu stárnutí materiálu. Je dosahováno potřebných limitů detekce a kvantifikace, aby byla spotřeba vzorku přijatelná s ohledem na nutnost jeho odběru ze studovaných uměleckých děl. Zjednodušení zpracování vzorku umožňuje pyrolýzní plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií <sup>[33]</sup>. Nejběžnější technikou je samotná GC/MS a pyrolýzní GC/MS, případně je možno užít též plynovou chromatografií za vysokých teplot (HTGC-MS) <sup>[33]</sup>.

Jak již bylo zmíněno výše, GC/MS následuje po předúpravě vzorku, kterou u olejů tvoří zpravidla alkalická hydrolyza esterových vazeb a následná derivatizace polárních karboxylových, či hydroxylových skupin, nebo transesterifikační reakce vedoucí ke zvýšení těkavosti analytu. Je dobré mít na paměti, že pro množství různých aplikací GC/MS existuje též i množství různých předúprav <sup>[34]</sup>. Podstatné je, že GC/MS umožňuje dosáhnout dostatečně nízkých mezí detekce pro analýzu lipidů (i ostatních pojiv) v mikrovzorcích odebraných z uměleckých děl <sup>[35]</sup>.

Blaško a kol. <sup>[36]</sup> použil GC/MS pro analýzu několika olejů, často užívaných v malbách (lněný, makový, ořechový a slunečnicový), temperových barev, modelových vzorků barev a vzorků odebraných ze tří historických obrazů (pocházejících až ze 17. století). Systém sestávající z polární kolony DB-23 a MS detekce se záznamem celého hmotnostního spektra měl velmi dobré separační vlastnosti a adekvátní rozlišení. Oleje a pojiva byly rozlišeny pomocí zastoupení methylesterů mastných kyselin (FAME) a poměrů mezi methylestery kyseliny palmitové a stearové. Bylo tak zjištěno, že hlavním pojivem ve všech třech obrazech je pravděpodobně lněný olej.

Na rozdíl od GC/MS (spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie) využití HPLC/MS (spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie) přípravu vzorku nejen zjednodušuje, ale rovněž poskytuje

informaci o lipidovém profilu <sup>[33]</sup>. Nedochází k dekompozici triacylglycerolů, jejichž zastoupení může být charakteristické pro analyzované pojivo, a lze sledovat jejich změny v souvislosti se stárnutím zkoumaného materiálu (malby).

Zároveň je vhodné zmínit, že některé oleje tvoří na povrchu díla pevnou vrstvu, a proto může být pro HPLC/MS techniky náročné je analyzovat. V tomto případě bývá užito jiných metod, například GC/MS.

Obecně, nejen v uměnovědní praxi, je z chromatografických technik pro separaci a analýzu jednotlivých acylglycerolů v olejích a tuku pravděpodobně nejvhodnější HPLC s obrácenými fázemi <sup>[37]</sup>. Vzhledem k možnosti rozdělit jednotlivé acylglyceroly se dnes již používá i k analýze uměleckých děl. I přes množství jiných možných detektorů bývá kapalinová chromatografie, stejně jako plynová, nejčastěji spojována s hmotnostní spektrometrií. Spojení HPLC a MS (ESI-MS) se uplatnilo například při analýze lipidů a jejich degradačních produktů v poměrně čerstvých (200 dní) i starších (až 62 let) olejových barvách <sup>[38]</sup>. Touto metodou byly identifikovány triacylglyceroly, diacylglyceroly, monoacylglyceroly, volné mastné kyseliny a oxidované mastné kyseliny. Na základě vnitřních poměrů píků bylo možné určit typ použitého oleje a stupeň oxidace a hydrolyzy.

V analýze olejových pojiv je též možno užít i kapilární zónovou elektroforézu (CZE). I přes některé nevýhody, jako je nízká citlivost detekce, způsobená velmi malým objemem separační kapiláry, je s ní tak možné efektivně analyzovat olejová pojiva (stejně tak i proteinová a sacharidová), jak bylo demonstrováno na analýze pojiv ze vzorků barviva z varhan a sochy svatého, pocházejících ze 17. a 18. století <sup>[39]</sup>, případně též na analýze olejomaleb z 19. století <sup>[40]</sup>.

## 2.4. Analýza olejů spojením iontové mobility a hmotnostní spektrometrie

Iontová mobilní spektrometrie (IMS) separuje ionty v plynné fázi, v prostředí driftového plynu. Počátky jejího významnějšího aplikačního uplatnění sahají do sedmdesátých let minulého století, kdy ji americká a britská vláda využívaly pro detekci

vojenských aktivit ve vietnamských džunglích<sup>[41]</sup>. Poté jí bylo zpočátku osmdesátých věnováno více pozornosti kvůli jejím nízkým detekčním limitům, robustnosti, rozumné selektivitě a v neposlední řadě pro potenciál její miniaturizace, což se později ukázalo jako správný odhad <sup>[41]</sup>.

IMS má velmi rozsáhlé využití: kontrola kvality ovzduší, detekce explozivních látek, monitoring chemických zbraní, kontrola kvality jídla, bezpečnost na letišti, environmentální analýza, diagnostika v medicíně, proteomické analýzy, biologické a klinické analýzy, detekce drog, forenzní vyšetřování a další. Dnes se iontová mobilita často spojuje s MS <sup>[42]</sup>.

Pro analýzu olejů je možné užít hmotnostní spektroskopii samostatně, či v kombinaci s jinými technikami. Jak již bylo zmíněno, často bývá spojována s GC, nebo LC <sup>[43]</sup>. Samotné fyzikálně chemické a nutriční vlastnosti olejů a tuků (lipidů) určují molekuly TAG <sup>[44]</sup>, které se mohou lišit a) celkovým uhlíkovým číslem (CN – carbon number); b) délkou řetězce a stereospecifickými pozicemi na glycerolové struktuře; c) stupni nenasycenosti (DB – double bond number); a d) umístěním a konfigurací dvojných vazeb. Příkladem užití hmotnostní spektrometrie bez dalších spojených technik je práce Maoyin Li a kol. <sup>[45]</sup>, kdy se podařilo úspěšně kvantifikovat různé druhy TAG v semenech sóji pomocí ESI-MS/MS. K tomu bylo zapotřebí mnoha korekcí pomocí vnitřních standardů a přímé infuze vzorku. Též je možné analyzovat oleje pomocí MS<sup>3</sup> <sup>[46]</sup>.

Také samotnou iontovou mobilitu lze využít k analýze olejů, a to v jednoduchém provedení, bez dalších spojených technik, nebo spolu s technikami komplementárními.

IMS v jednoduchém provedení byla použita například pro analýzu olivových olejů a jejich jakosti <sup>[47]</sup>. V této práci bylo užito dvou variant IMS – IMS v jednoduchém provedení (s UV zdrojem) a IMS ve spojení s GC. Správnou jakost se podařilo určit pomocí UV-IMS v 86,1 % případů, zatímco při analýze GC-IMS se jednalo o 100 % případů. Spolu s dalšími technikami byla IMS nejčastěji užita právě v kombinaci s chromatografií, především pak s GC <sup>[48]</sup>.

Velmi důležitým olejem je kaméliový olej, získávaný především ze dvou druhů kamélií *c. oleifera* a *c. chekiangoleosa*, pěstovaných hlavně v jižních oblastech Číny. Jeho významnost spočívá především v tom, že jsou profily jeho mastných kyselin a fyzikálně chemické vlastnosti velmi podobné oleji olivovému. Kaméliový olej též

obsahuje velké množství přírodních antioxidantů, vitamínů a dalších zdraví prospěšných látek. Pomocí přenosné IMS se podařilo rozlišit každý z 64 vzorků olivového oleje a 79 vzorků oleje kaméliového <sup>[49]</sup>.

Především pro své kladné účinky na lidské zdraví je olivový olej nejocenovanější rostlinný olej na světě. Dle způsobu výroby a od toho se odvíjejících nutričních kvalit a ceny je dělen do tří kategorií: extra panenský olivový olej (EVOO), panenský olivový olej (VOO) a lampantový olivový olej (LOO). Kombinace iontové mobility s hmotnostní spektrometrií (ESI-IMS-MS) je vhodným nástrojem pro identifikaci jednotlivých jakostí olivového oleje a kontrolu jeho kvality <sup>[50]</sup>. Postup je založený na detekci těkavých a netěkavých látek poměrně krátkou analýzou. Ta byla prováděna na 30 vzorcích se dvěma variantami předúpravy vzorků – extrakce kapalina-kapalina (LLE) a zředěním vzorků, kde byly LOO oleje odlišeny s 89 %, respektive 67% úspěšností. Při kombinaci obou metod předúpravy se ale podařilo odlišit EVOO od olejů nižších kvalit (LOO a VOO) ve 100 % případů. Pro zpracování dat bylo užito analýzy hlavních komponent a ortogonální diskriminační analýzy nejmenších čtverců.

Kontrola kvality olejů se věnoval též C. M. Potter a kol. <sup>[51]</sup>, kteří analyzovali 37 methylesterů mastných kyselin technikou GC-APCI (chemická ionizace za atmosférického tlaku)-IMS-TOF-MS (hmotnostní spektrometr s analyzátozem doby letu). Týmu se podařilo od sebe úspěšně oddělit 36 ze 37 analytů. Navržená metoda se může uplatnit při zkoumání původu a pravosti potravin (především pak určení jakosti), nebo při výzkumu nemocí souvisejících s mastnými kyselinami.

S určením kvality EVOO souvisí též technika LC-TIMS (iontová mobilita se záchytem iontů)-HRMS. Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRMS) se ukazuje jako velmi dobrý nástroj pro detekci a identifikaci fenolických sloučenin v olivovém oleji <sup>[52]</sup>. Sama o sobě však není schopná vždy odseparovat isomerní látky (např. isomery aglykonu ligstrosidu a isomery aglykonu oleuropeinu). Proto je v této práci spojena s TIMS, poměrně mladou technikou, poprvé představenou v roce 2011. Pomocí TIMS se isomery aglykonu ligstrosidu a isomery aglykonu oleuropeinu podařilo identifikovat. LC-TIMS-HRMS je tak velmi slibnou technikou právě pro identifikaci isomerů v komplexních maticích.



Za pozornost stojí též využití kombinace výsledků získaných samostatně pomocí MS a IMS. Pro analýzu olivového oleje bylo užito jako primární techniky laserové desorpce spojené s plynovou chromatografií s IMS. Pokud však byly identifikovány neznámé signály (dosud neuvedené v GC/IMS databázi), bylo nutno vzorky analyzovat dalším měřením pomocí termální desorpce, plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (TD-GC-MS) <sup>[53]</sup>.

Iontová mobilita (iontová mobilitní spektrometrie) spojená s hmotnostní spektroskopií dle literární rešerše dosud nebyla použita k analýze olejových pojiv. Jediná publikovaná práce příbuzná k tomuto tématu byla práce Pauka a kol. <sup>[54]</sup>, týkající se analýzy pigmentu indiga z různých přírodních zdrojů. Tento pigment byl přidán do různých pojiv pro simulaci proteinových nástěnných maleb a právě olejomaleb. Šlo však o analýzu pigmentu v olejovém pojivu, nikoli pojiva.

V následující části bakalářské práce jsou popsány experimenty související s analýzou rostlinných olejů, využívaných jako pojiva, pomocí iontové mobility spojené s hmotnostní spektrometrií.

### 3. Experimentální část

#### 3.1. Přístroje a pomůcky

Pro měření vzorku olejů byl použit přístroj SELECT SERIES Cyclic IMS (Waters, Wilmslow, UK). Byla využita ionizace elektrosprejem (ESI) v kladném módu. Parametry měření byly následující (Tab. č. 5):

Parametr (jednotka)	Hodnota parametru
Průtok pomocného plynu kónusem (l/h)	30
Sprejovací napětí (kV)	2
Průtok desolvatačního plynu (l/h)	600
Teplota desolvatačního plynu (°C)	280
Průtok zmlžujícího plynu (PSI)	6
Teplota zdroje (°C)	100
Napětí na kónusu (V)	10
Průtok helia (ml/min)	120
Průtok driftového plynu (dusíku) (ml/min)	40
Výška vlny v IMS cele (V)	15
Rychlost vlny v IMS cele (m/s)	375

Tab. č. 5: Parametry přístroje SELECT SERIES Cyclic IMS zvolené pro kladný mód

K vyhodnocení naměřených dat byl využit software MassLynx v 4.2 (Waters, Wilmslow, UK). Navažování vzorků olejů bylo prováděno na vahách Mettler Toledo XSE205 Dual Range (Mettler-Toledo, Praha, České republiky).

#### 3.2. Použité chemikálie

Byl použit propan-2-ol, dodávaný firmou Biosolve (Dieuze, Francie). Dále methanol LC/MS Grade a voda LC/MS Grade, dodávané firmou Fisher Scientific (Pardubice, Česká Republika).

Použito bylo též následujících 19 olejů (Tab. č. 6):

Číslo vzorku	Číslo oleje v databázi	Olej	Výrobce
1	a27/e	Bělený lněný olej	Lukas
2	a26/d	Za studena lisovaný lněný olej	Rublev colours
3	a26/e	Za studena lisovaný lněný olej	Schmincke
4	a27/f	Bělený lněný olej	Winsor & Newton
5	a26/c	Za studena lisovaný lněný olej	Kremer Pigmente
6	a27/c	Bělený lněný olej	Aurelio
7	a27/d	Bělený lněný olej	Rublev colours
8	a166/b	Ořechový olej ztužený na slunci	Kremer
9	a166/c	Ořechový olej ztužený na slunci	Rublev colours
10	a182	Ořechový olej	Solio
11	a28/c	Makový olej	Umton
12	a28/e	Makový olej	Schmincke
13	a28/f	Makový olej	Sennelier
14	a28/d	Makový olej	Solio
15	a169/b	Olivový olej	Sigma
16	a33/b	Saflorový olej	Gama a. s.
17	a33/c	Saflorový olej	Umton
18	a33/e	Saflorový olej	Sennelier
19	a183	Konopný olej	Solio

*Tab. č. 6: Přehled analyzovaných vzorků olejů*

### 3.3. Pracovní postup:

Nejprve bylo naváženo 10 mg daného oleje, ten byl poté rozpuštěn v 10 ml propan-2-olu. Po rozpuštění oleje byl 1  $\mu$ l roztoku oleje (o koncentraci 1 mg/ml) smíchán s 999  $\mu$ l směsi methanol:voda (80:20, v/v), výsledná koncentrace vzorků tak byla 1  $\mu$ g/ml.

Tyto roztoky byly přímo zaváděny do iontového zdroje průtokem 5  $\mu$ l/min. První sada experimentů zahrnovala proměření celých hmotnostních spekter v rozsahu m/z 50-1200.

Při druhé sadě experimentu byla využita iontová mobilita, kdy byly ionty nejprve separovány jedním průchodem cyklickou mobilitní celou a následně proměřováno celé hmotnostní spektrum v rozsahu m/z 50-1200.

Třetí sada experimentů zahrnovala v prvním kroku iontově mobilitní separaci TAG od ostatních složek (jeden průchod mobilitní celou) a jejich izolaci právě s využitím IM. Následně izolované ionty byl znovu separovány IM s využitím tří průchodů. Po separaci iontovou mobilitou bylo měřeno celé hmotnostní spektrum v rozsahu m/z 50-1200.

## 4. Výsledky a diskuse

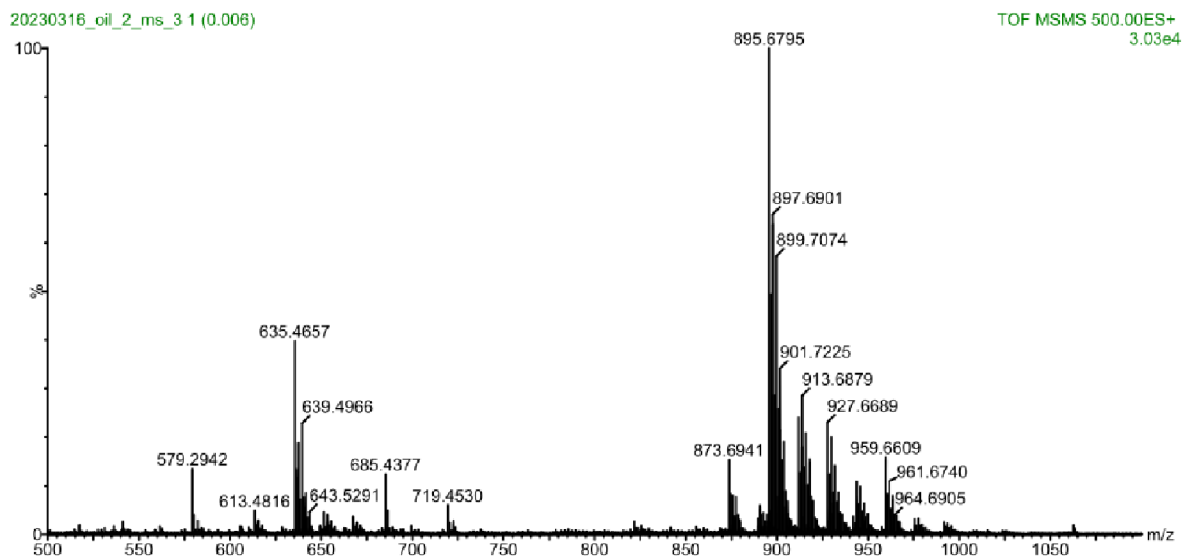
### 4.1. Hmotnostní spektra studovaných olejů

Typickými složkami olejů jsou TAG (triacylglyceroly), případně menší množství DAG (diacylglyceroly). V hmotnostních spektrech olejů můžeme při ionizaci elektrosprejem pro tyto látky pozorovat protonované molekuly a adukty se sodnými kationty. Je třeba poznamenat, že signály DAG mohou mít původ ve fragmentaci TAG. Nárůst hmotnosti v oblasti TAG (popřípadě DAG) lze přisoudit oxidaci těchto látek. Oblast diacylglycerolů je zhruba kolem  $m/z$  640, triacylglycerolů okolo  $m/z$  890 a oblast oxidovaných triacylglycerolů při hodnotách  $m/z$  zhruba 915-970) <sup>[55]</sup>.

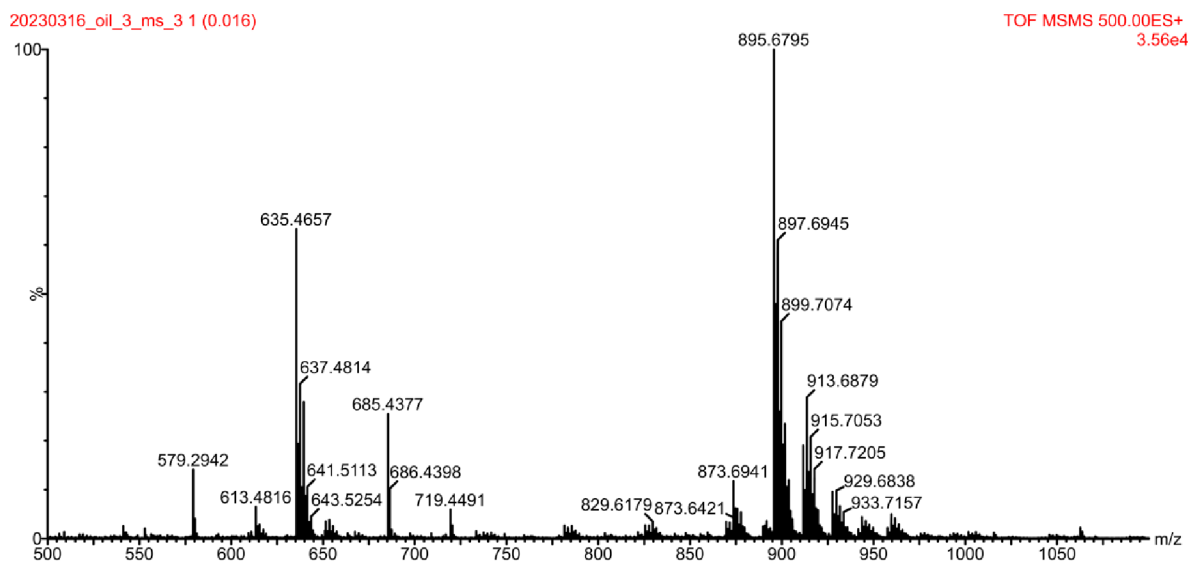
Lněný olej obsahuje triacylglyceroly se třemi acyly nenasycených mastných kyselin nebo se dvěma acyly nenasycených a jedním acylem nasycené mastné kyseliny. Uváděné zastoupení mastných kyselin je následující <sup>[56]</sup>: nenasycené mastné kyseliny  $\alpha$ -linolenová (51,9-55,2 %), olejová (18,5-22,6 %), linolová (14,2-17 %) a nasycené kyseliny palmitová (asi 7 %) a stearová (3,4-4,6 %).

Hmotnostní spektrum zastudena lisovaných lněných olejů (Obr. č. 6 až 8) vykazují základní pík při  $m/z$  895,68. Tento ion lze přisuzovat aduktu trilinoleninu se sodíkem, nesoucím jeden kladný náboj. V oblasti DAG je dominantní ion  $m/z$  635,47. Vzájemný poměr těchto iontů se však pro jednotlivé vzorky lněného oleje lisovaného za studena lišil. U analyzovaných vzorků relativní intenzita iontu  $m/z$  635,47 klesala s rostoucím zastoupením oxidovaných TAG reprezentovaných např. ionty v oblasti nad  $m/z$  920 (Obr. č. 6 versus 7). U vzorků bělených lněných olejů byly rovněž významné signály pro ionty  $m/z$  895,68 a 635,47 (Obr. č. 9), ale spektra vykazují vzájemně značné odlišnosti. Vzorky a27/e (Obr. č. 9) a a27/c (Obr. č. 11) se svými spektry podobají vzorkům lněného oleje lisovaného za studena. Výrazně odlišný vzhled spektra byl zjištěn pro vzorky bělených olejů a27/d (Obr. č. 12) a a27/f (Obr. č. 10). U obou vzorků odpovídá základní pík iontu  $m/z$  635,47. Je také patrné významně vyšší zastoupení oxidovaných TAG, a to jak v porovnání se vzorky olejů lisovaných za studena, tak se dvěma vzorky bělených olejů (Obr. č. 9 a 11). Vyšší obsah oxidovaných forem může být dán způsobem přípravy, ale také stářím daného oleje. Z pohledu porovnání lněných olejů lisovaných za studena oproti běleným se ukazuje, že více zoxidované vzorky sice

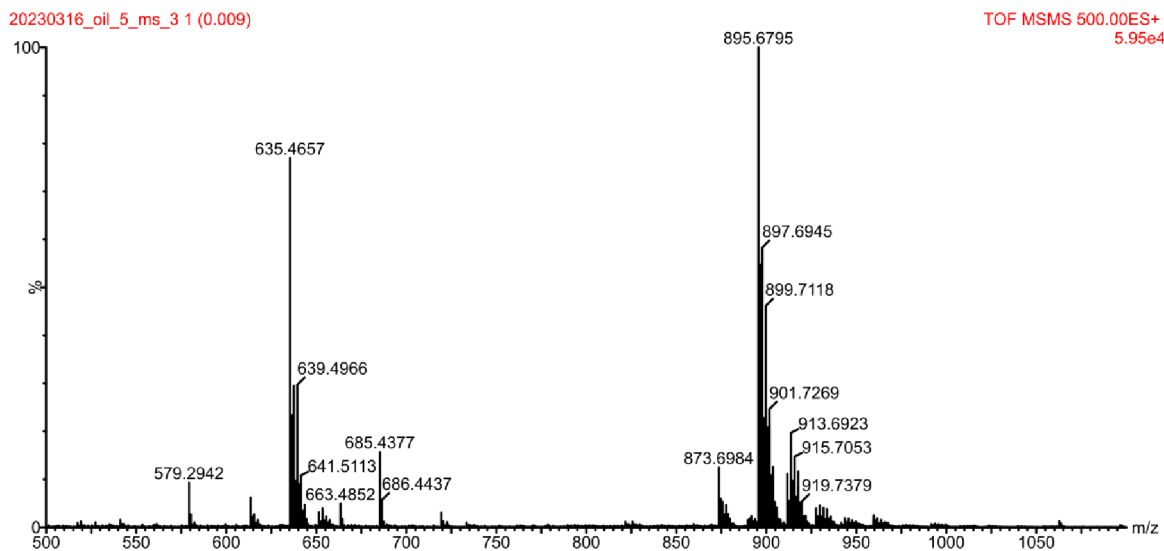
lze odlišit, ale to nenastává pro všechny bělené oleje. Méně oxidované vzorky jsou velmi podobné olejům lisovaným neběleným.



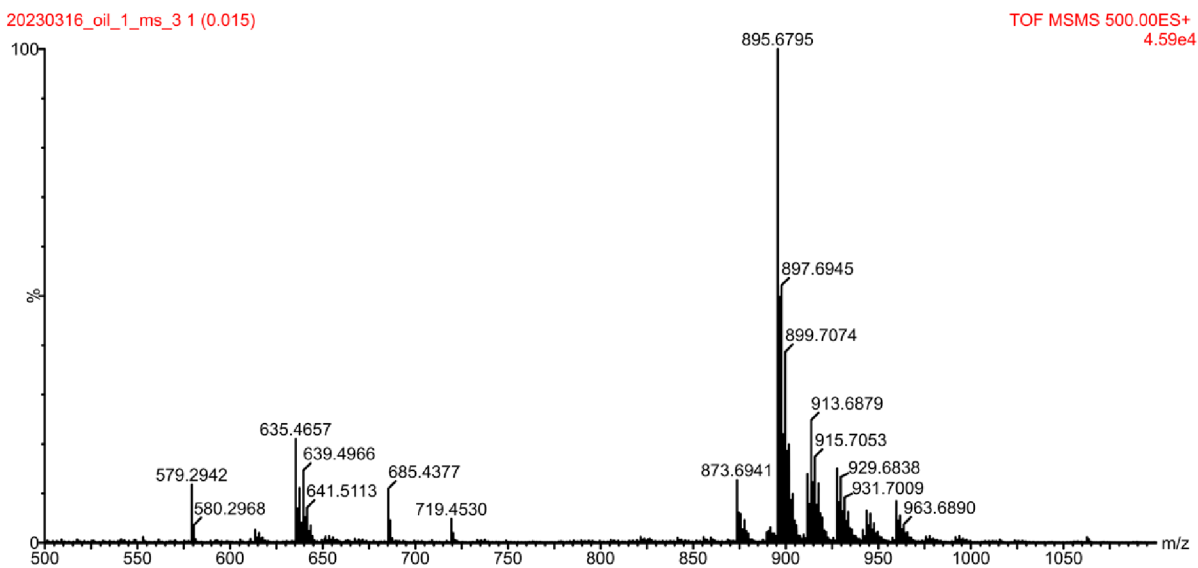
Obr. č. 6 – Hmotnostní spektrum lněného oleje lisovaného za studena a26/d



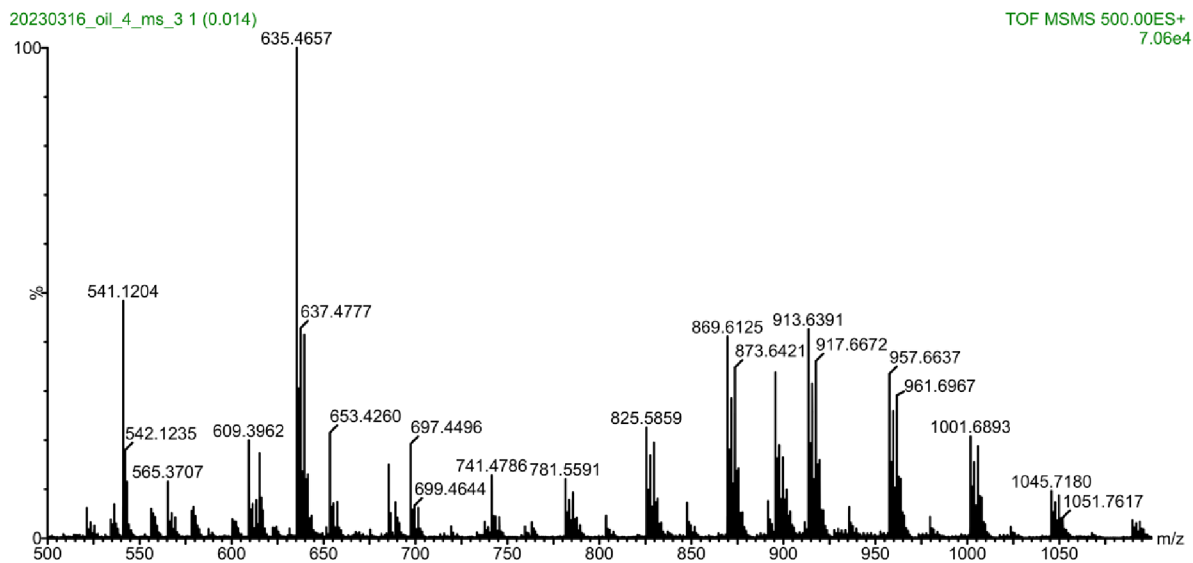
Obr. č. 7 – Hmotnostní spektrum lněného oleje lisovaného za studena a26/e



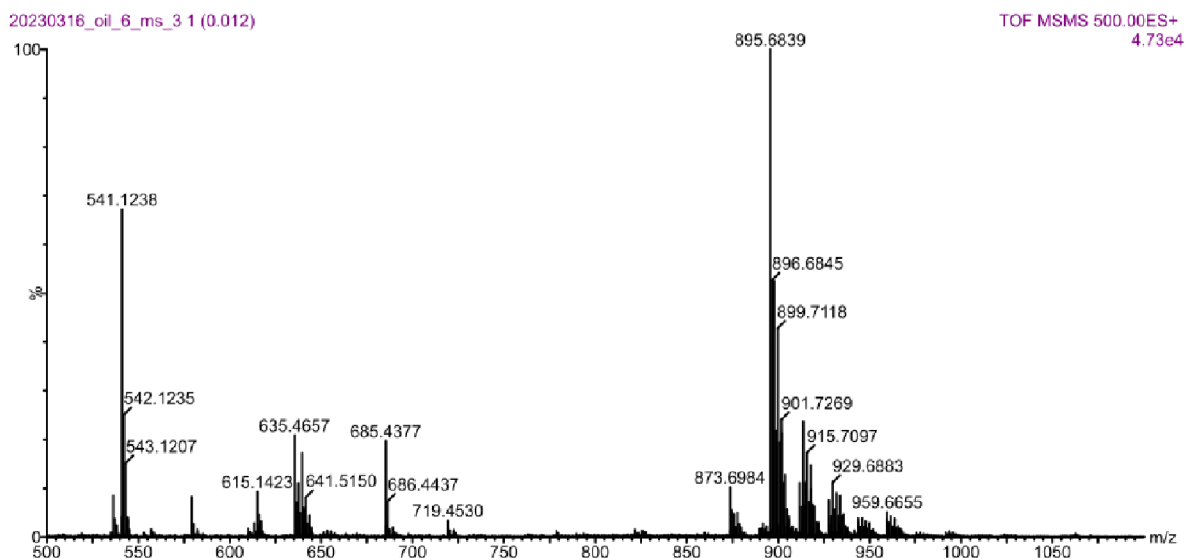
Obr. č. 8 – Hmotnostní spektrum lněného oleje lisovaného za studena a26/c



Obr. č. 9 – Hmotnostní spektrum lněného běleného oleje a27/e

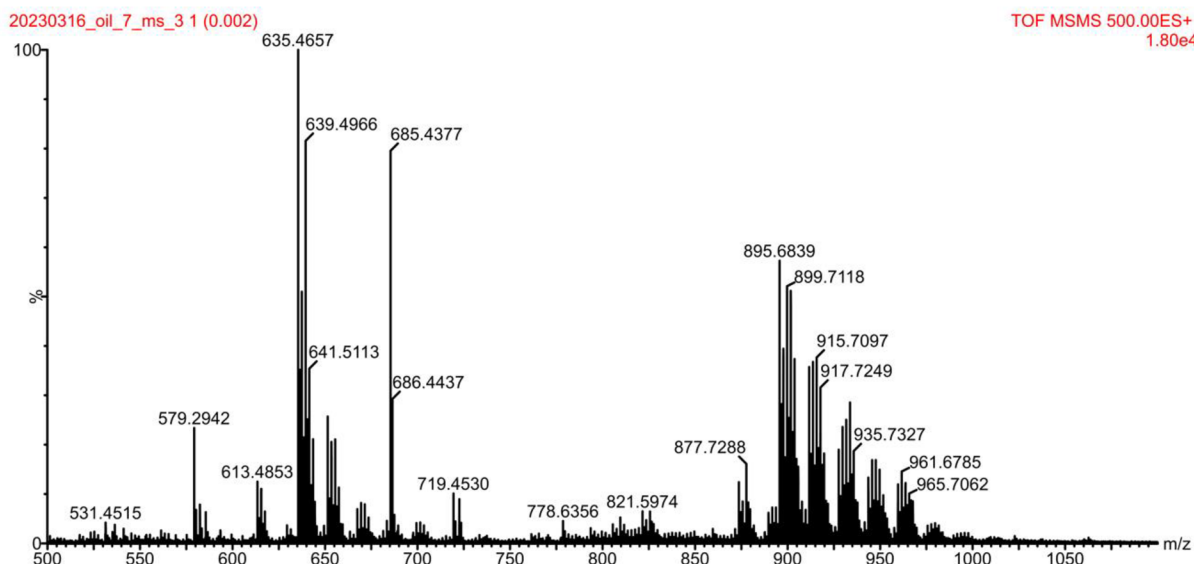


Obr. č. 10 – Hmotnostní spektrum Iněného běleného oleje a27/f



Obr. č. 11 – Hmotnostní spektrum Iněného běleného oleje a27/c

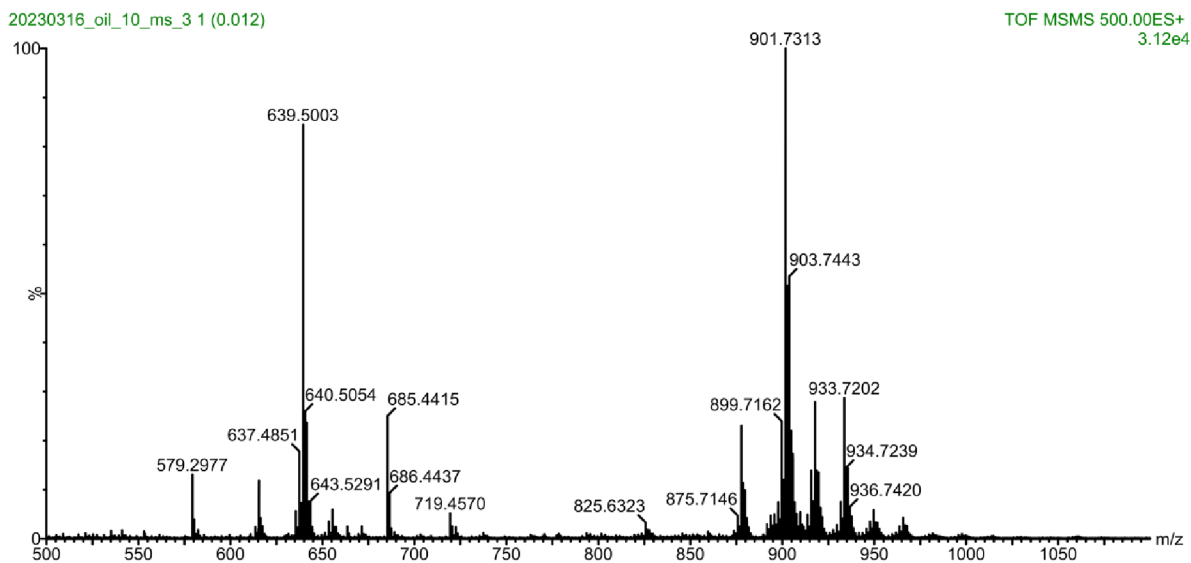




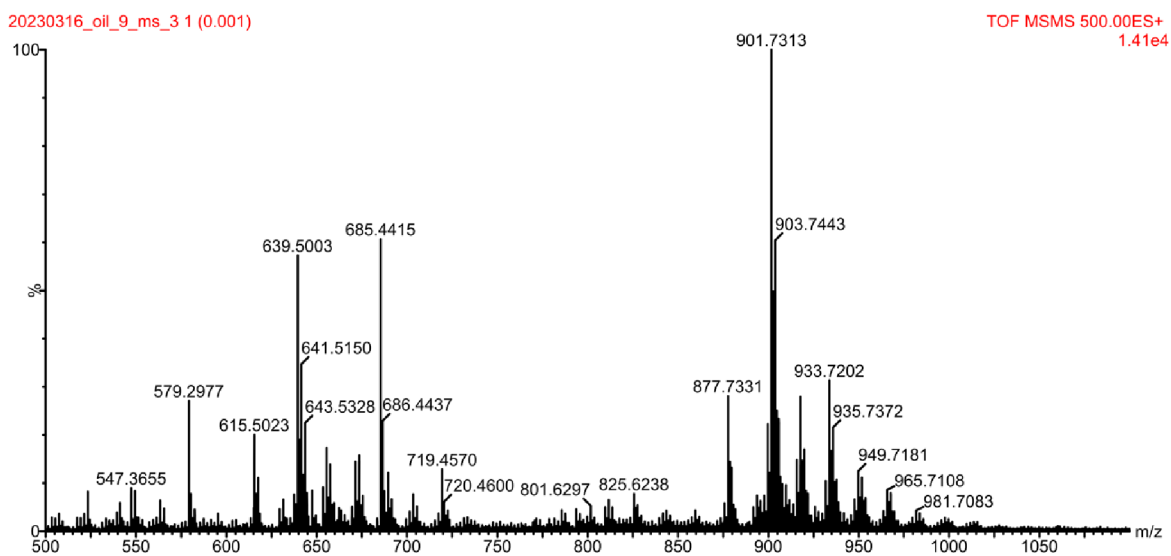
Obr. č. 12 – Hmotnostní spektrum lněného běleného oleje a27/d

Pro ořechový olej, který je vyráběn z vlašských ořechů, je uváděno následující zastoupení mastných kyselin <sup>[57]</sup>: kyselina linolová (60,42-65,77 %), kyselina olejová (13,21-19,94 %), kyselina linolenová (7,61-13 %).

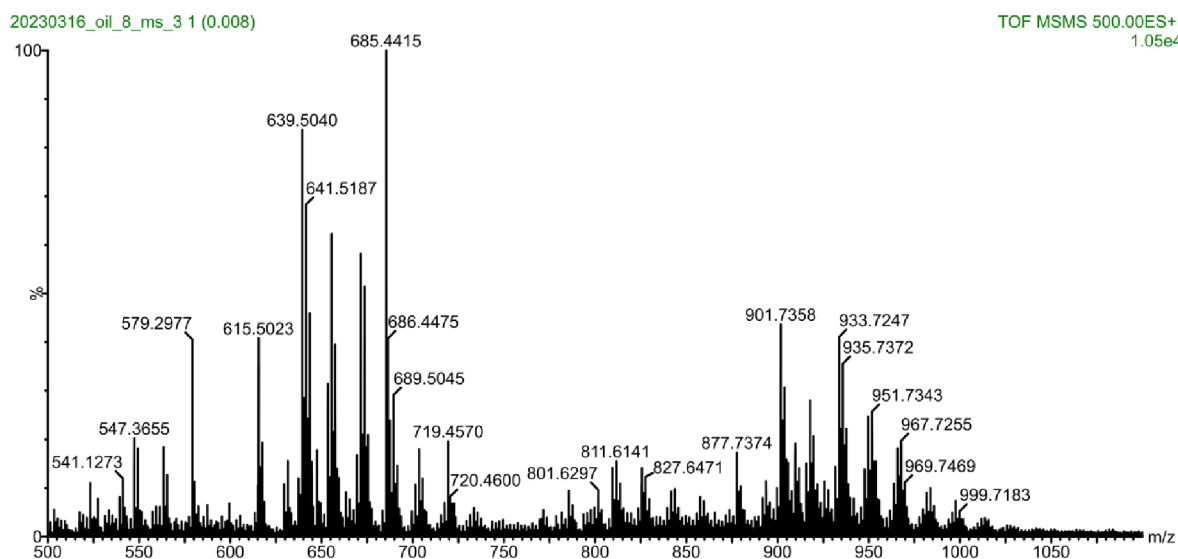
Hmotnostní spektra ořechových olejů vykazují základní pík při  $m/z$  901,73 (Obr. č. 13 a 14) oproti 895,67 u spekter lněných olejů. Jedná se o posun o šest hmotnostních jednotek, což lze přisuzovat šesti atomům vodíku v TAG. Tato skutečnost je v souladu s větším zastoupením kyseliny linolové, jejíž molekula obsahuje o dva vodíky více než molekula kyseliny linolenové (ta je více zastoupena u lněných olejů). Mohlo by se tedy jednat o TAG, které se liší ve třech acylech, které odpovídají uvedeným kyselinám. V oblasti DAG je dominantní ion  $m/z$  639,50 oproti 635,47 u spekter lněných olejů), což by odpovídalo záměně dvou acylů výše zmíněných kyselin. Vzájemný poměr těchto iontů se pro jednotlivé vzorky ořechových olejů lišil podobně jako pro oleje lněné. U analyzovaných vzorků relativní intenzita iontu  $m/z$  639,50 též klesala s rostoucím zastoupením oxidovaných TAG reprezentovaných např. ionty v oblasti nad  $m/z$  920 (Obr. č. 13 versus 14). Spektrum ořechového oleje ztuženého na slunci a166/b (Obr. č. 15) je ale odlišné, vykazuje základní pík při  $m/z$  685,44 a množství oxidovaných TAG.



Obr. č. 13 – Hmotnostní spektrum ořechového oleje a182



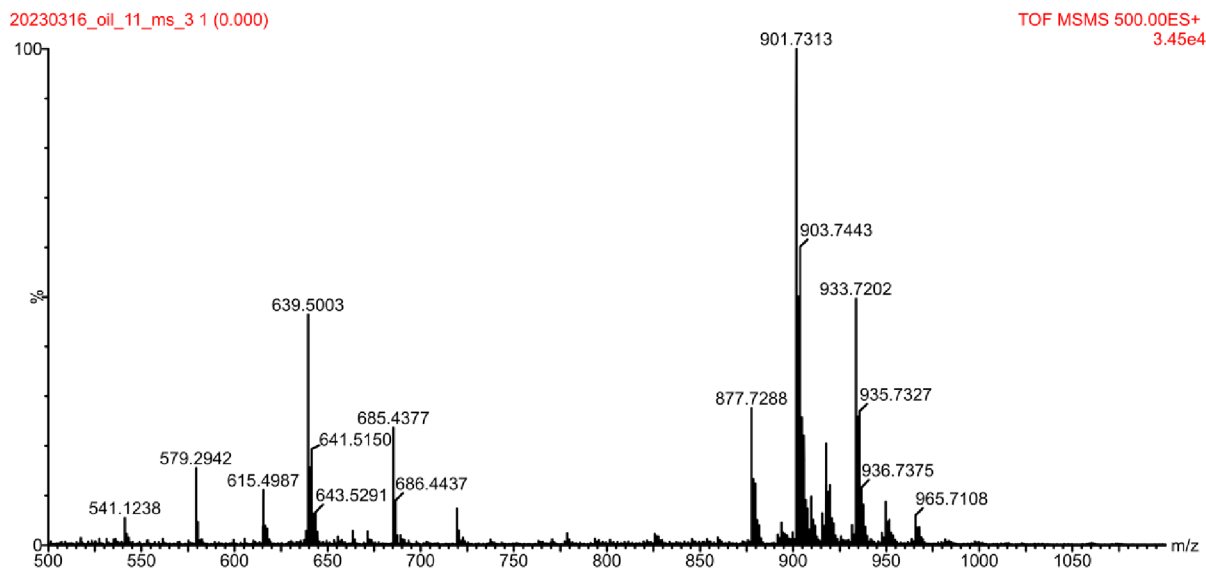
Obr. č. 14 – Hmotnostní spektrum ořechového oleje ztuženého na slunci a166/c



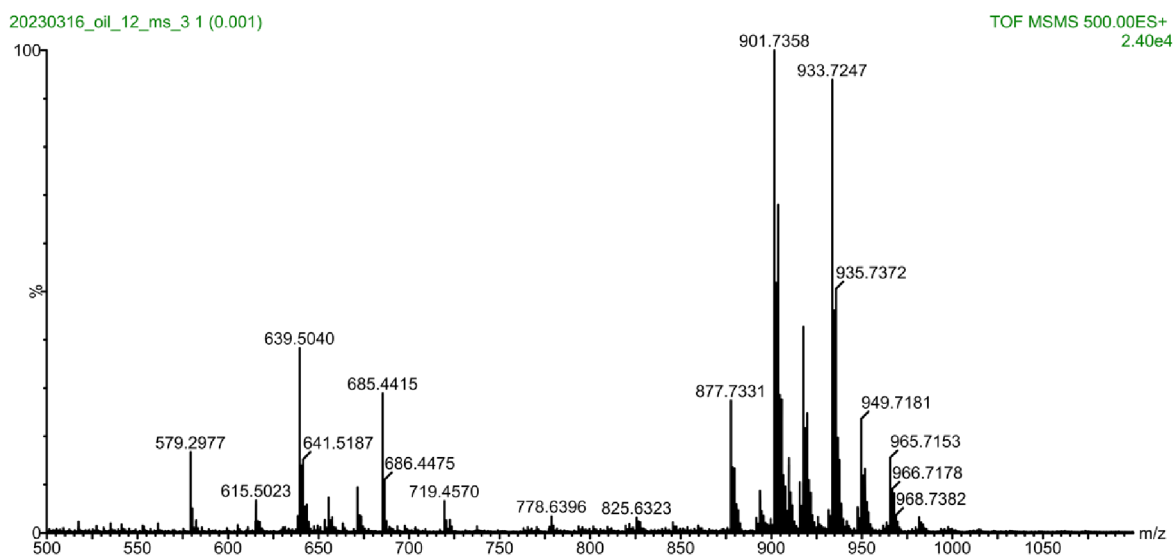
Obr. č. 15 – Hmotnostní spektrum ořechového oleje ztuženého na slunci a166/b

Uváděné zastoupení mastných kyselin v makovém oleji je následující [58]: kyselina linolová (71,41–74,02 %), kyselina olejová (12,35–15,51 %) a kyselina palmitová (8,95–10,29 %).

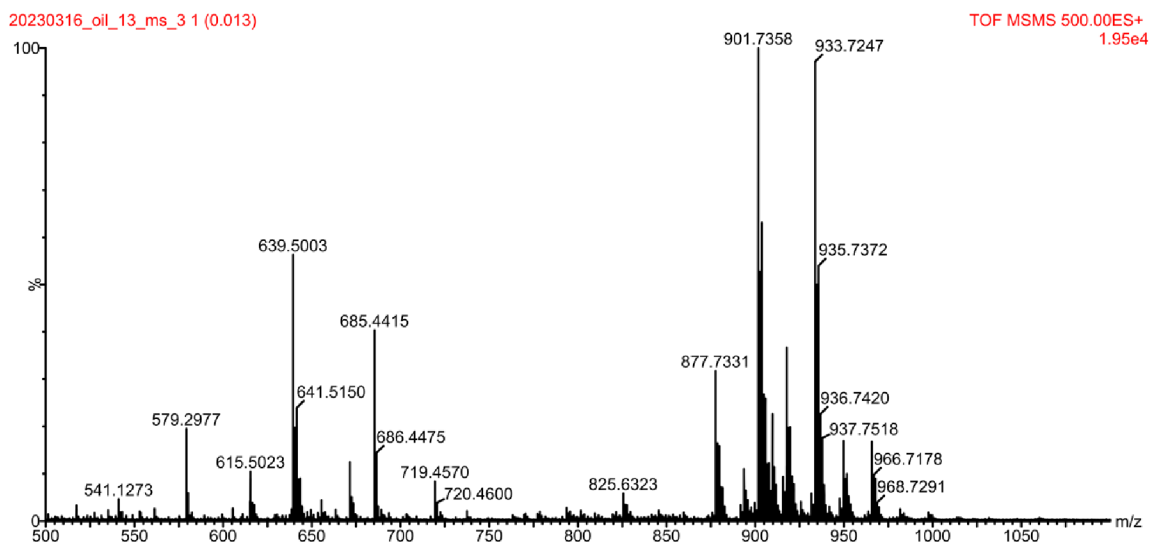
Hmotnostní spektra všech analyzovaných makových olejů (Obr. č. 16 až 19) vykazují intenzivní pík v oblasti triacylglycerolů při  $m/z$  901,73, což je hodnota shodná se spektry ořechových olejů a odpovídá sodnému aduktu trilinoleinu. Též dominantní pík v oblasti DAG o  $m/z$  639,50 je shodný. Markantním rozdílem mezi spektry makových olejů je intenzita píku v oblasti oxidovaných TAG při  $m/z$  933,72 (odpovídá 901,73 plus dva atomy kyslíku). Pro makový olej a28/c (Obr. č. 16) má pík 933,72 zhruba poloviční intenzitu základního píku, zatímco pro oleje a28/e a a28/f (Obr. č. 17 a 18) jsou intenzity pro oba píky téměř shodné a pro olej a28/d (Obr. č. 19) dokonce platí, že má pík 933,72 zhruba o polovinu větší intenzitu než pík 901,73.



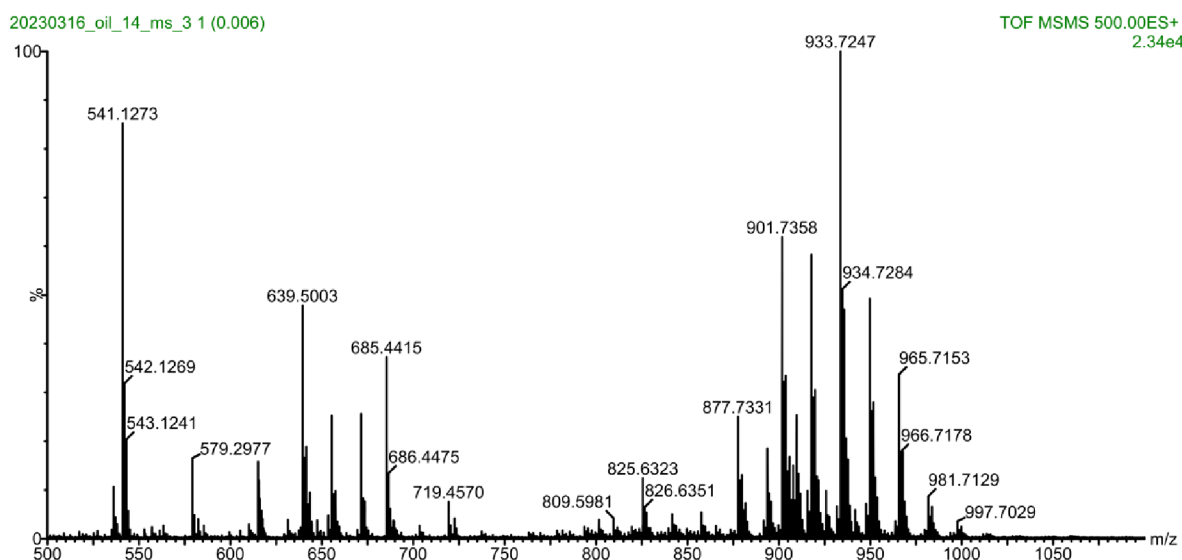
Obr. č. 16 – Hmotnostní spektrum makového oleje a28/c



Obr. č. 17 – Hmotnostní spektrum makového oleje a28/e



Obr. č. 18 – Hmotnostní spektrum makového oleje a28/f

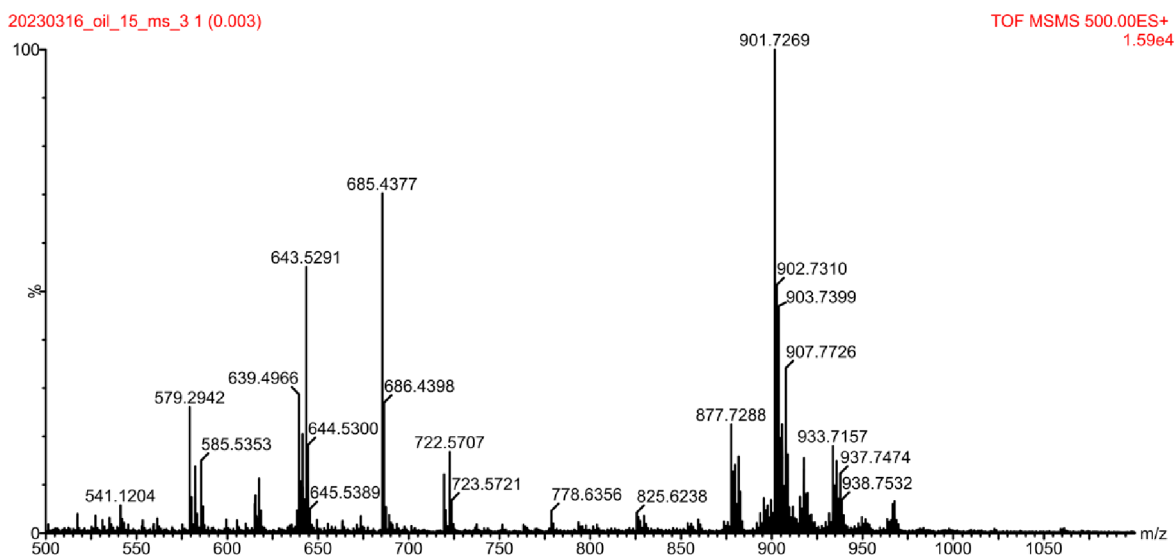


Obr. č. 19 – Hmotnostní spektrum makového oleje a28/d

Uváděné zastoupení mastných kyselin v olivovém oleji je následující <sup>[59]</sup>: kyselina olejová (55,0 až 83,0 %), kyselina palmitová (7,5 až 20,0 %) a kyselina linolová (3,5 až 21,0 %).

Hmotnostní spektrum olivového oleje a169/b (Obr. č. 20) vykazuje v oblasti DAG pík při m/z 639,50, shodně jako pro spektra makových olejů. Následuje jej intenzivnější pík m/z 643,53, u kterého lze předpokládat, že se jedná o diacylglycerol,

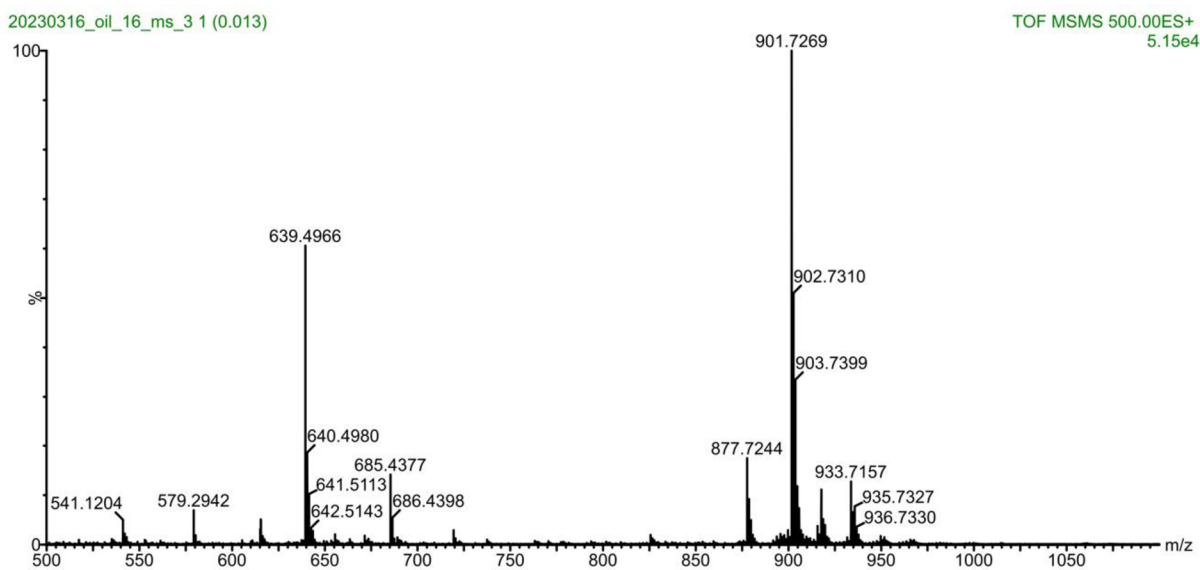
tvořený dvěma řetězci kyseliny olejové. Kyselina olejová má totiž o dva atomy vodíku více než kyselina linolová. V oblasti TAG by vyššímu zastoupení kyseliny olejové odpovídal signál při  $m/z$  907,77 (Obr. č. 20), dominantním píkem je signál při  $m/z$  901,73, shodně s makovými oleji.



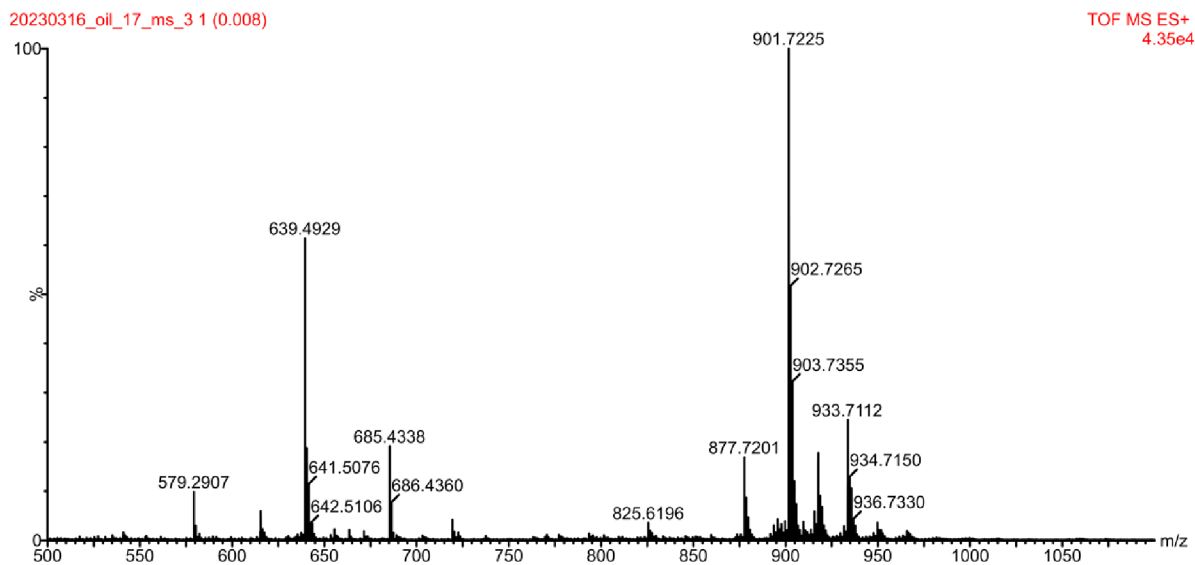
Obr. č. 20 – Hmotnostní spektrum olivového oleje a169/b

Uváděné zastoupení mastných kyselin v saflorovém oleji je následující <sup>[60]</sup>: kyselina linolová (74-78 %), kyselina olejová (12-16%) a kyselina palmitová (6-7%).

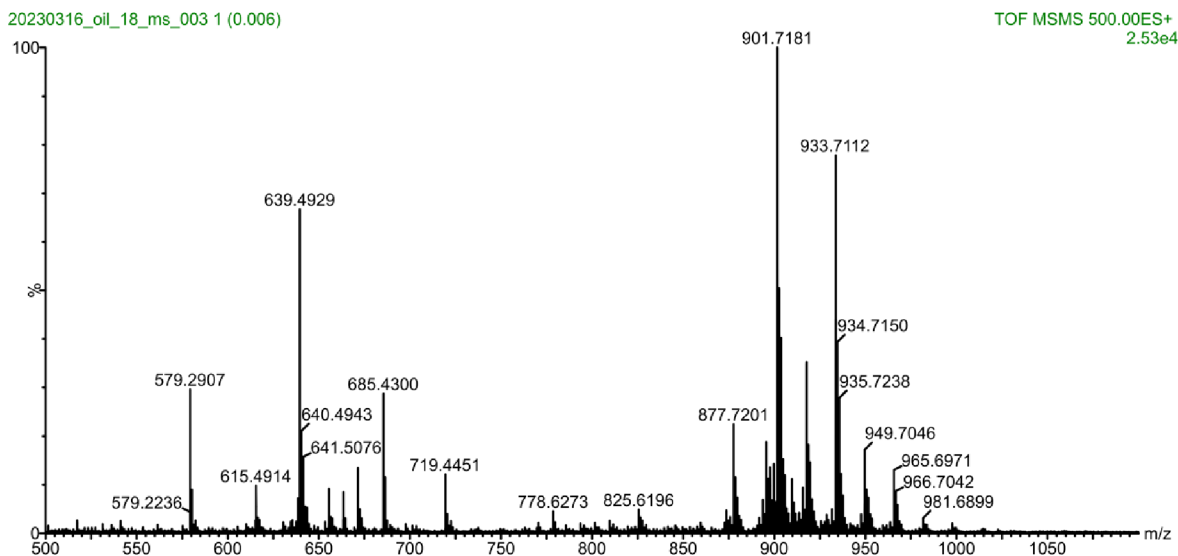
Hmotnostní spektra saflorových (Obr. č. 21 až 23) olejů jsou podobná spektrům ořechovým a makovým olejům. Hlavní rozdíl je v tom, že oproti makovým obsahují výrazně méně oxidovaných triacylglycerolů, což ale neplatí pro saflorový olej a33/e (Obr. č. 23). Může to tak být dáno pouze rozdíly v oxidaci konkrétních analyzovaných vzorků.



Obr. č. 21 – Hmotnostní spektrum saflorového oleje a33/b



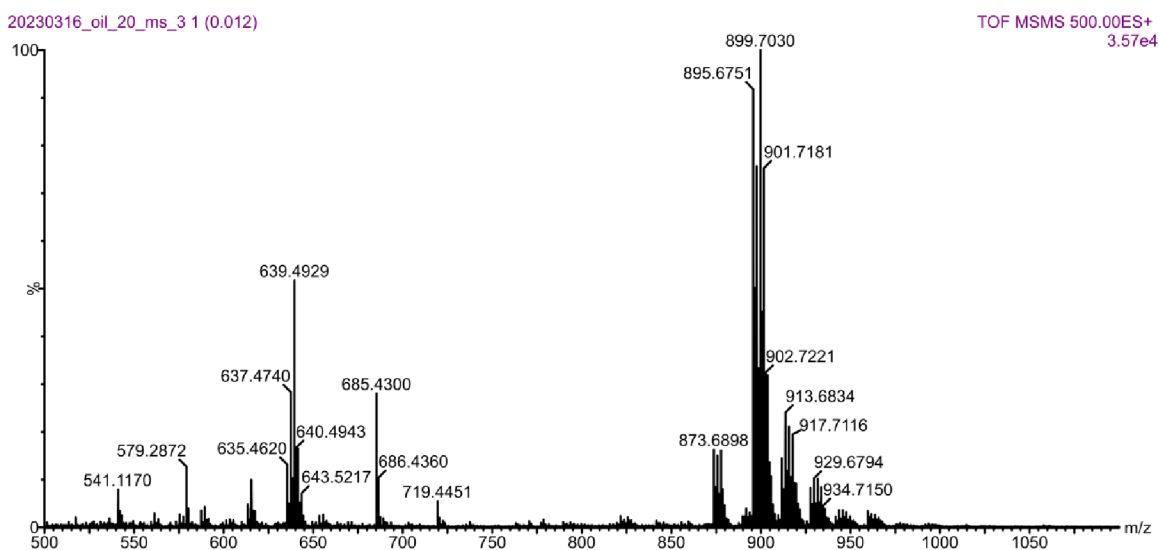
Obr. č. 22 – Hmotnostní spektrum saflorového oleje a33/c



Obr. č. 23 – Hmotnostní spektrum saflorového oleje a33/e

Uváděné zastoupení majoritních mastných kyselin v konopném oleji je <sup>[61]</sup>: kyselina linolová (54 %), kyselina  $\alpha$ -linolenová (17%), kyselina olejová (9%) a kyseliny palmitová (6%) a  $\gamma$ -linolenová (5%).

Konopný olej (Obr. č. 24) se od ostatních odlišuje množstvím intenzivních píků v oblasti m/z 895-900. Pík 899,70 by mohl odpovídat TAG se dvěma řetězci kyseliny linolové a jedním řetězce kyseliny  $\alpha$ -linolenová, zatímco pík 895,68 by byl v souladu s výhradním zastoupením kyseliny  $\alpha$ -linolenová v molekule TAG.



Obr. č. 24 – Hmotnostní spektrum konopného oleje a183

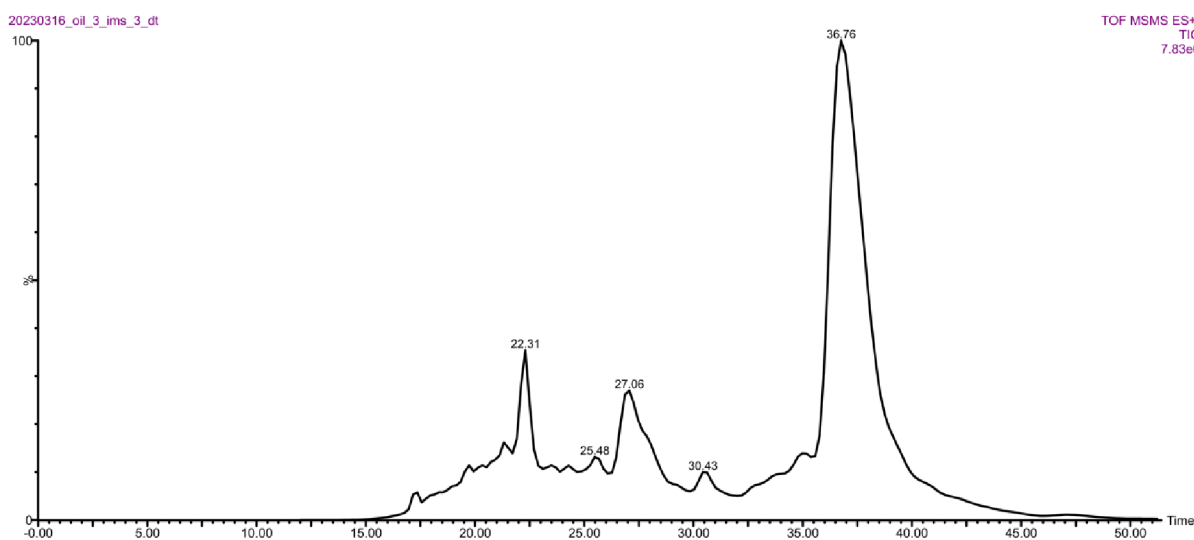


Získaná hmotnostní spektra olejů odrážejí očekávané zastoupení mastných kyselin a ukazují na rozdíly, které by mohly sloužit k odlišení olejů. Větší rozdíly však může způsobovat rovněž oxidace oleje, kdy jsou spektra olejů stejného rostlinného původu velmi odlišná (např. Obr. č. 6 a 8). K charakterizaci či odlišení olejů by mohla dále přispět iontová mobilita.

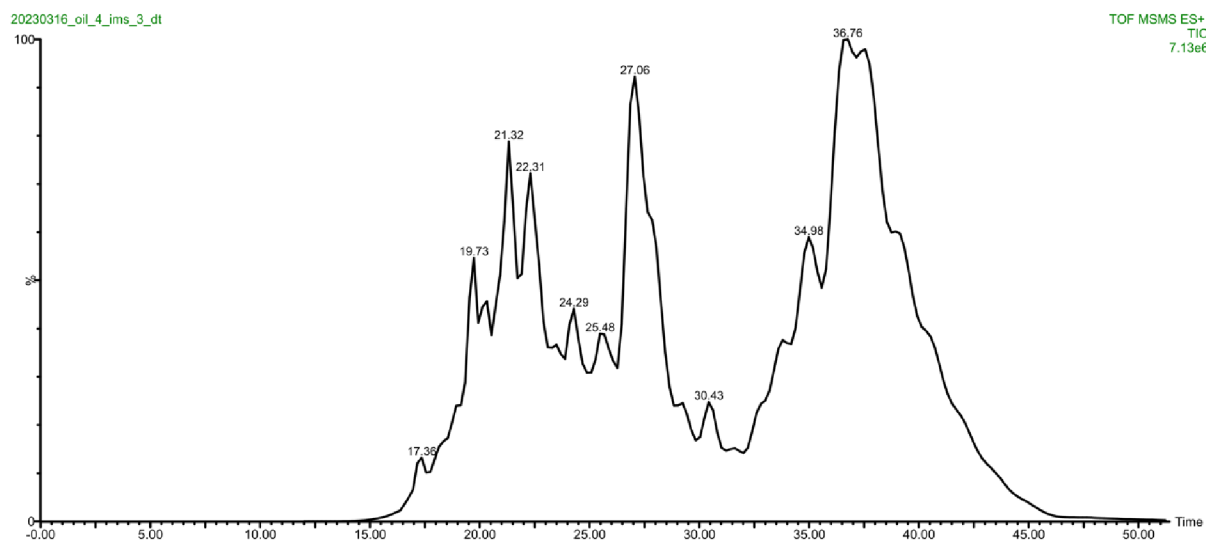
## 4.2. Mobilogramy studovaných olejů

Profily mobilogramů zobrazených pro celkový iontový proud ukazují podobné souvislosti jako hmotnostní spektra diskutovaná v předchozí kapitole. Je například vidět významný rozdíl mezi vzorky lněného oleje lisovaného za studena (a26/e) (Obr. č. 25) a běleného lněného oleje (a27/f) (Obr. č. 26) s významným podílem produktů oxidace v oblasti TAG (driftového času kolem 37 ms, viz Obr. č. 26). Menší, ale stále patrné rozdíly v mobilogramech lze pozorovat také pro vzorky, které se nelišily v hmotnostních spektrech tak výrazně jako dva uvedené lněné oleje. Například mobilogramy saflorových olejů (Obr. č. 27-29) vykazují odlišnost kolem driftového času 34 ms (a33/b, a33/c versus a33/e).

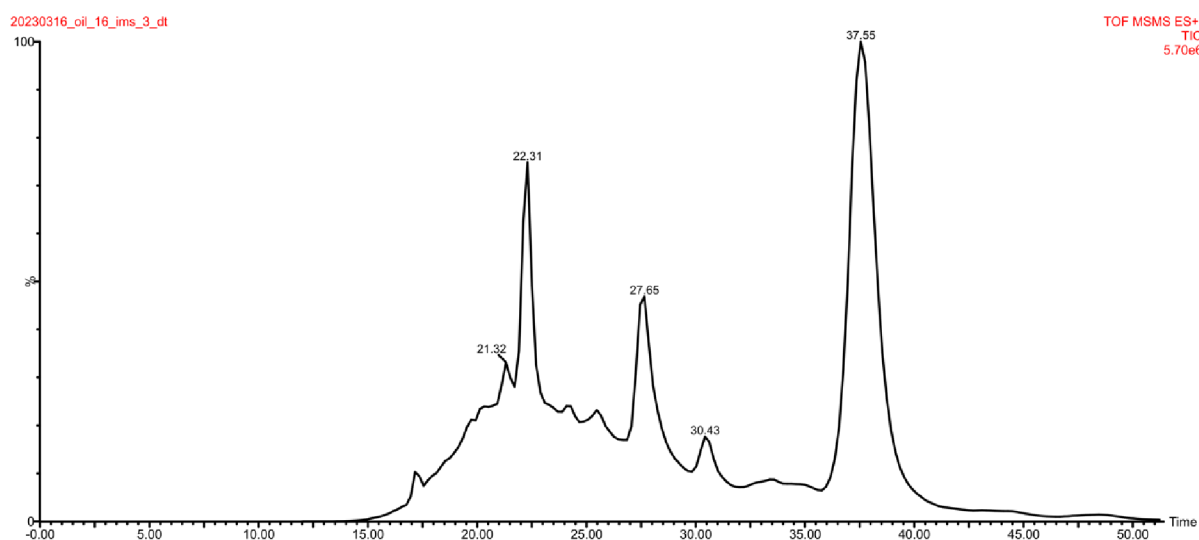
U olejů lze porovnávat také oblast DAG (kolem 27 ms). Rovněž v této oblasti, stejně jako v oblasti TAG, se uvedené vzorky lněných olejů významně liší (Obr. č. 25 a 26). Výsledky nejsou překvapivé, neboť se jedná o projev stejných složek vzorku, které byly diskutovány v předchozí kapitole.



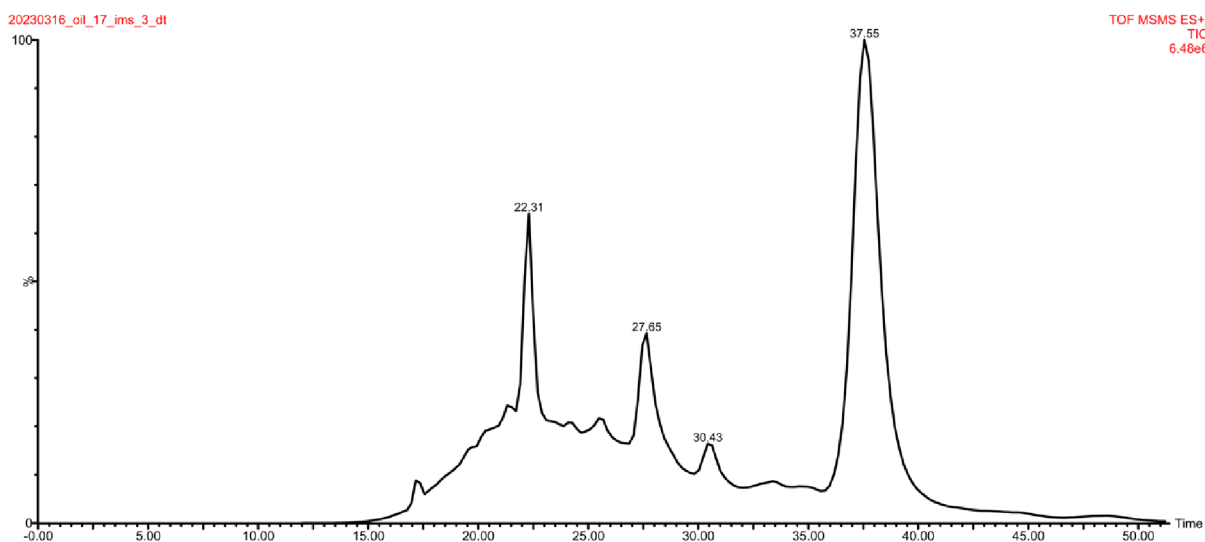
Obr. č. 25 – Mobilogram lněného oleje lisovaného za studena a26/e



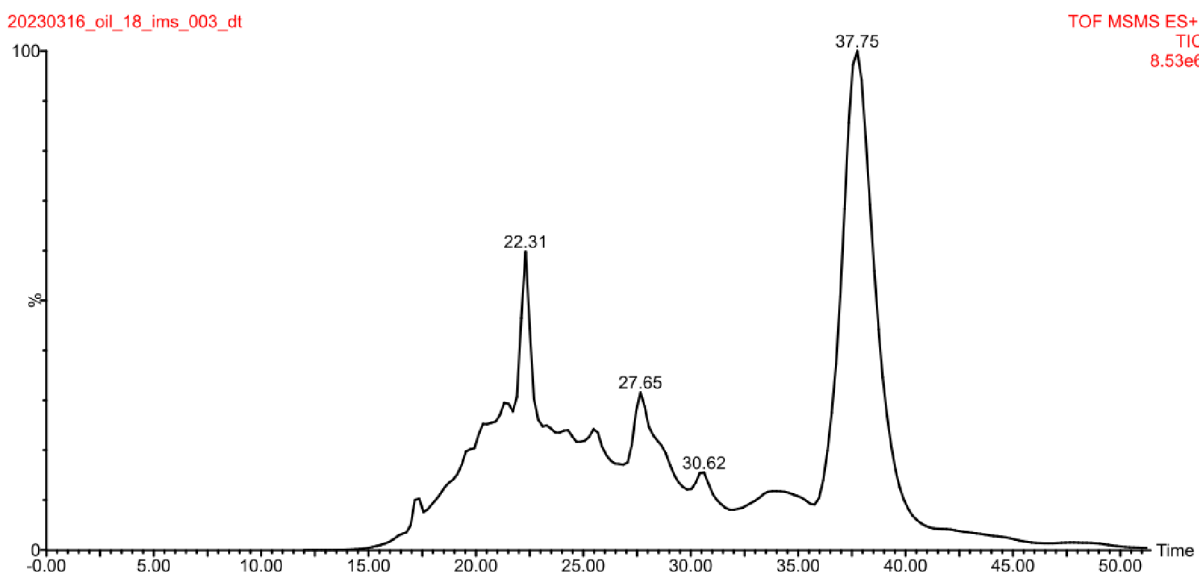
Obr. č. 26 – Mobilogram lněného běleného oleje a27/f



Obr. č. 27 – Mobilogram saflorového oleje a33/b

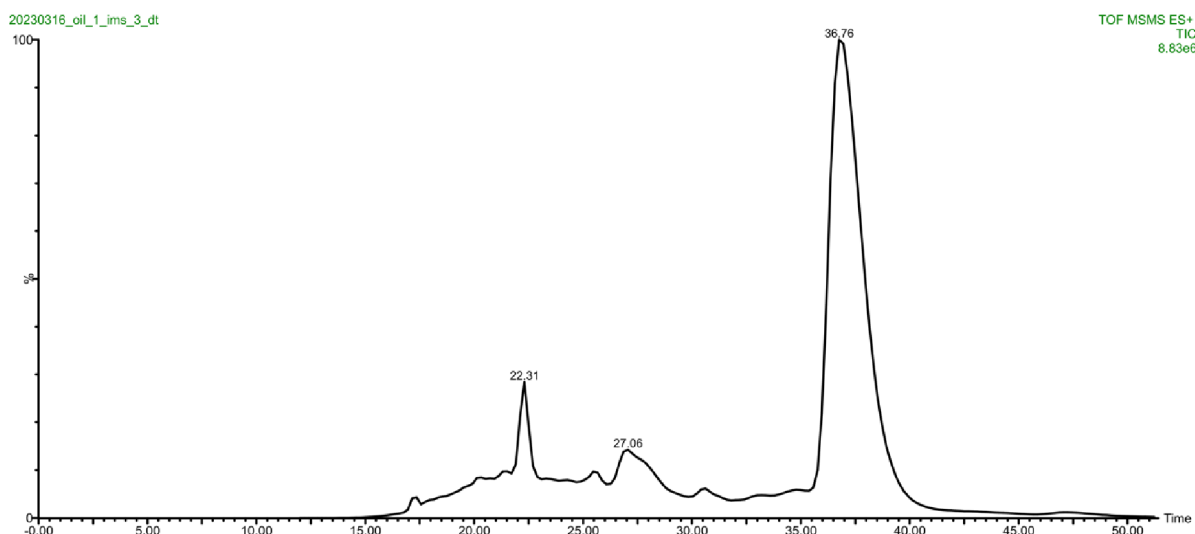


Obr. č. 28 – Mobilogram saflorového oleje a33/c

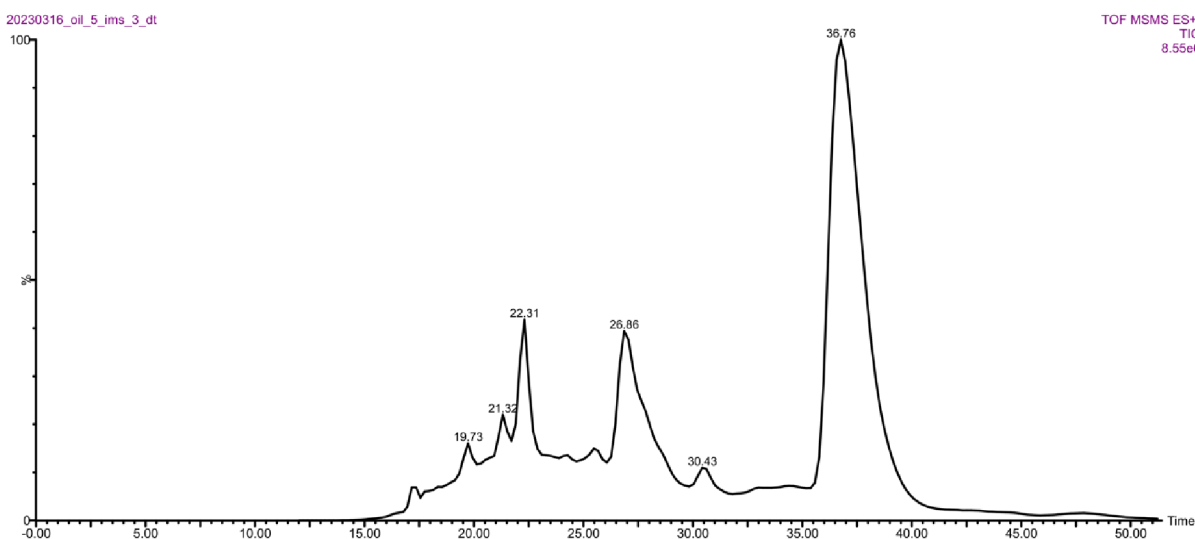


Obr. č. 29 – Mobilogram saflorového oleje a33/e

Mobilogramy také potvrdily rozdíly mezi vzorky, které se nepříliš lišily svými hmotnostními spektry v oblasti TAG, ale v oblasti DAG ano. Tyto rozdíly lze sledovat v rozsahu driftového času 25-30 ms, kdy je kromě zvětšení signálu v oblasti DAG, patrný i jiný profil mobilogramu. (Obr. č. 30 a 31). Obr. ostatních mobilogramů jsou k prohlédnutí v příloze (Obr. č. A1-A15).



Obr. č. 30 – Mobilogram lněného běleného oleje a27/e



Obr. č. 31 – Mobilogram lněného oleje lisovaného za studena a26/c

Mobilogramy odpovídají celkovému složení analyzovaných vzorků a je v nich patrný i signál iontů pozadí (např.  $m/z$  441, cca 22 ms). Tyto ionty byly i v hmotnostních spektrech, která jsou však pro přehlednost zobrazena pouze od hodnoty  $m/z$  500. Mobilogramy tak, jak byly naměřeny, nepřinesly dodatečné informace, a proto byla testována izolace a separace triacylglycerolů iontovou mobilitou, o čemž pojednává následující kapitola.

### 4.3. Detailnější pohled na profily triacylglycerolů studovaných olejů

Další experiment nabízí podrobnější pohled na složení triacylglycerolů. TAG v něm byly po jednom cyklu iontově mobilitní separace izolovány a proběhla další separace ve třech cyklech. Profily mobilogramů odráží rozdíly popsané v části věnované hmotnostním spektrům.

Detailnější analýzou dat byly zjišťovány konkrétní driftové časy pro jednotlivé signály, a to při  $m/z$ : 685,44; 895,68; 901,73; 933,72, 915,71. První čtyři píky měly pro různé oleje prakticky shodné driftové časy v následujících intervalech:

144,67 – 144,87 ms (pro  $m/z$  685,44)

143,68 – 143,88 ms (pro  $m/z$  895,68)

146,65 – 146,85 ms (pro  $m/z$  901,73)

147,64 – 147,84 ms (pro  $m/z$  933,72)

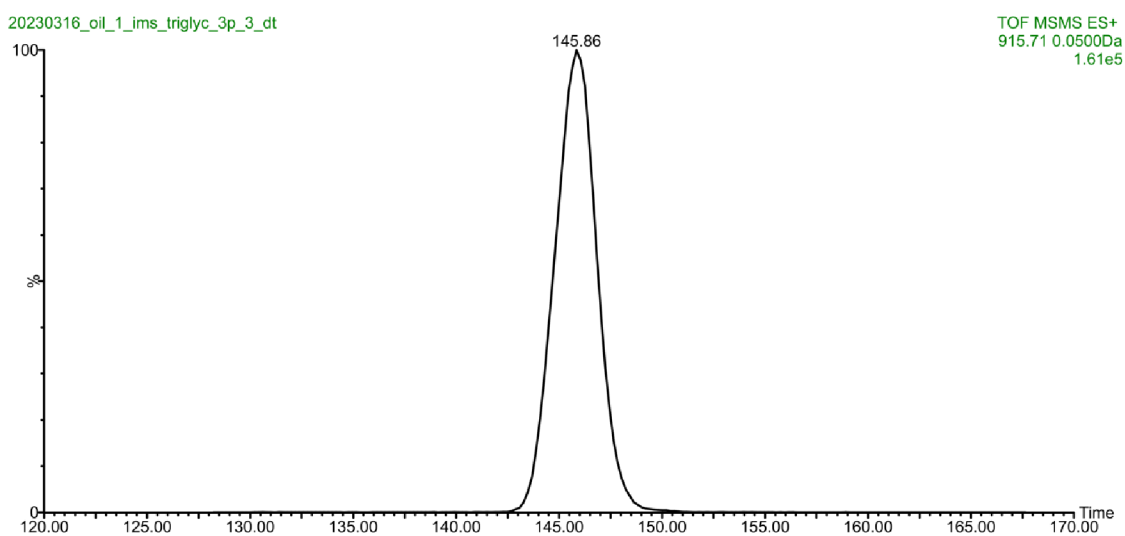
Nebylo tak prokázáno více rozdílných struktur se stejnou hodnotou  $m/z$ .

Pro ion  $m/z$  915,71 byly pozorovány dvě různé hodnoty driftových časů. Pro první část vzorků se driftový čas pohyboval v rozmezí 145,86-146,05 ms (Obr. č. 32). Jednalo se o tyto oleje: lněné oleje a27/e, a26/d, a26/e, a27/f, a26/c, a27/c, a27/d, ořechový olej a182 a konopný olej a183 (Obr. č. 6-14 a č. 24). Pro druhou část vzorků se interval driftových časů pohyboval v rozmezí 146,45-146,85 ms (Obr. č. 33). Do této skupiny patřily tyto oleje: ořechové oleje ztužené na slunci a166/b a a166/c, makové oleje a28/c, a28/e, a28/f, a28/d, olivový olej a169/b a saflorové oleje a33/b, a33/c a a33/e (Obr. č. 14-23). To ukazuje na rozdílné prostorové uspořádání jednotlivých TAG se stejnou hodnotou  $m/z$ . V tabulce č. 7 jsou některé možné sumární vzorce iontu s  $m/z$  915,71, s tím, že jako nejpravděpodobnější se jeví první možnost  $C_{57}H_{96}O_7Na$ . Ta by odpovídala produktu oxidace látky, poskytující ion při  $m/z$  899,7105 se sumárním vzorcem  $C_{57}H_{96}O_6Na$ . Poslední tři navržené vzorce se pro TAG nedají předpokládat. Pro jejich vyloučení mluví i velký počet atomů kyslíku, který se u tohoto vzorku neočekává. Podobně byl pozorován rozdíl i pro ionty při  $m/z$  931,71 a 963,71. Pravděpodobně se jedná o produkty rozsáhlejší oxidace oproti iontu  $m/z$  915,71. Pro ion  $m/z$  931,7049 byl pozorován největší rozdíl driftových časů mezi lněným olejem a27/c (Obr. č. 11) a olivovým olejem a169/b (Obr. č. 20) – 146,65 ms a 147,44 ms. Zatímco pro ion při  $m/z$  963,71 byl pozorován největší rozdíl mezi ořechovým olejem a166/b

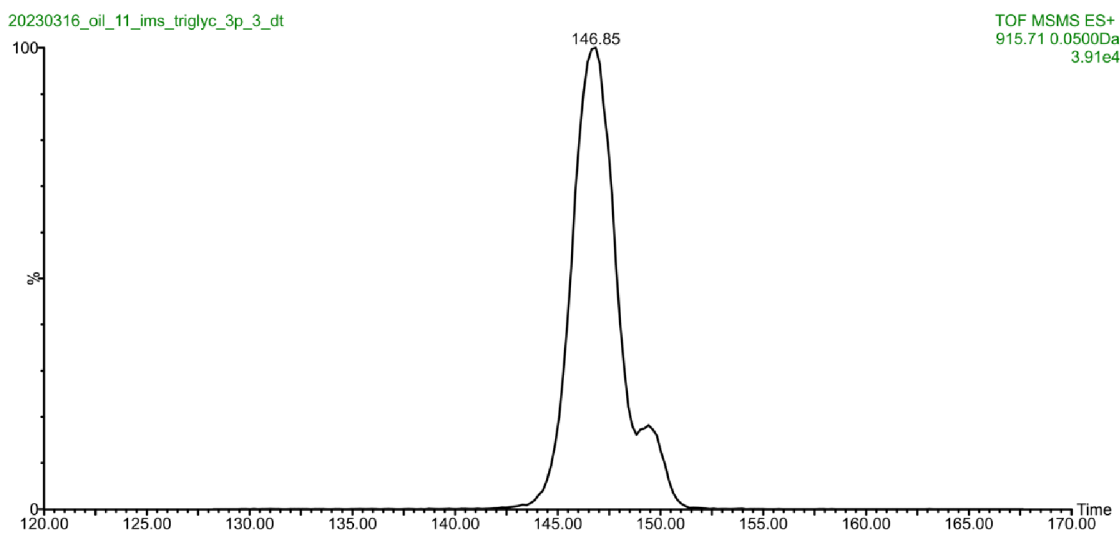
(Obr. č. 15) a olivovým olejem a169/b (Obr. č. 20) – 148,03 ms a 148,83 ms. Výsledky naznačují, že k odlišení jednotlivých olejů může přispět iontová mobilita jejich oxidačních produktů.

Hodnota m/z	Sumární vzorec	Chyba (ppm)
915.7054	C57 H96 O7 Na	-0,5
915.7078	C59 H95 O7	-2,9
915.7112	C50 H100 O12 Na	-6,3
915.6984	C48 H99 O15	6,5
915.7137	C52 H99 O12	-9,6

Tab. č. 7 – Možné sumární vzorce pro ion při m/z 915,7049



Obr. č. 32 – Mobilogram iontu při m/z 915,71 pro vzorek lněného běleného oleje a27/e



*Obr. č. 33 – Mobilogram iontu při  $m/z$  915,71 pro vzorek makového oleje a28/c*

Obrázky ostatních mobilogramů a hmotnostních spekter pro TAG jsou k prohlédnutí v příloze (Obr. č. B1-B38).

## 5. Závěr

Identifikace a analýza pojiv je velice důležitá pro ochranu a péči o naše kulturní dědictví. Pomocí analýzy pojiv a dalších součástí maleb je možné odhalit degradační procesy a předejít jim, například správným uchováváním uměleckého předmětu.

V předkládané práci byly dle literární rešerše poprvé analyzovány rostlinné oleje používané jako pojiva pomocí spojení IMS a MS. Hmotnostní spektra prokázala rozdíly ve složení jednotlivých druhů olejů. Mobilogramy potvrdily rozdíly mezi některými oleji, které se příliš nelišily svými hmotnostními spektry v oblasti TAG, ale vykazovaly patrnější rozdíly v oblasti DAG. To platí například pro odlišení lněného oleje lisovaného za studena a26/c a lněného běleného oleje a27/e (Obr. č. 30 versus 31).

V poslední části experimentu byly pomocí iontové mobility izolovány triacylglyceroly a následně separovány s vyšší rozlišovací schopností, což umožnilo detailnější zkoumání signálů těchto látek. Ačkoli u většiny vybraných iontů (685,44; 895,68; 901,73 a 933,72) nebyly iontovou mobilitou prokázány různé struktury, pro ion  $m/z$  915,71 byly pomocí iontové mobility zaznamenány dva různé driftové časy v rozmezí 145,86-146,05 ms a 146,45-146,85 ms. Uvedený ion dle sumárního vzorce náleží oxidovanému TAG a odlišnosti v driftových časech naznačují různé struktury produktů oxidace. Podobně byly rozdíly v driftových časech zjištěny pro další dva ionty ( $m/z$  931,71 a 963,71), které lze přisoudit produktům oxidace. Ačkoli ne všechny oxidační produkty s danou hodnotou  $m/z$  vykazují různé driftové časy, mohou být zjištěné rozdíly zajímavé z pohledu odlišení olejů.

Získané výsledky naznačují možnosti spojení iontové mobility a hmotnostní spektrometrie při odlišení různých olejů. Pozornost by si v budoucnu zasloužilo komplexnější vyhodnocení dat například pomocí analýzy hlavních komponent.



## 6. Literatura

- [1] A. Rousaki, C. Vázquez, V. Aldazábal, et al, The first use of portable Raman instrumentation for the in situ study of prehistoric rock paintings in Patagonian sites, *J. Raman Spectrosc.* 48 (2017) 1459-1467.
- [2] M. D. Luque De Castro, A. Jurado-Lopéz, The role of analytical chemists in the research on the cultural heritage, *Talanta* 205 (2019) 120106.
- [3] <https://www.si.edu/stories/ancient-ink-iceman-otzi-has-worlds-oldest-tattoos>, staženo 16. června 2023.
- [4] A. Gurses, M. Acikyildiz, K. Gunes a M. S. Gurses, *Dyes and pigments*, Springer International Publishing, New York 2016, str. 4-7.
- [5] I. T. Ziderman, Purple Dyes Made from Shellfish in Antiquity, *Color. Technol.* 16 (1986) 46-52.
- [6] <https://edu.rsc.org/resources/egyptian-blue/1625.article>, staženo 11. června 2023.
- [7] C. Miliani, F. Rosi, B. G. Brunetti, A. Sgamellotti, In Situ Noninvasive Study of Artworks: The MOLAB Multitechnique Approach, *Accounts Chem. Res.* 43 (2010) 728-738.
- [8] S. Garrigues, M. de la Guardia, Non-invasive analysis of solid samples. *TrAC – Trends Anal. Chem.* 43 (2013) 161-173.
- [9] <https://www.bruker.com/fr/products-and-solutions/infrared-and-raman/raman-spectrometers.html>, staženo 11. června 2023.
- [10] H. G. M. Edwards, *IR and Raman Spectroscopies, The Study of Art Works*, v knize: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, Elsevier, Amsterdam 2017, str. 378-393.

- [11] X. Zhu, T. Xu, Q. Lin a Y. Duan, Technical Development of Raman Spectroscopy: From Instrumental to Advanced Combined Technologies. *Appl. Spectrosc.* 49 (2013) 64-82.
- [12] K. Baert, W. Meulebroeck, A. Ceglia, The potential of Raman spectroscopy in glass studies, The potential of Raman spectroscopy in glass studies. *Proc. SPIE – Int. Soc. Opt. Eng.* 8422 (2012) 842207-1.
- [13] C. Namowicz, K. Trentelman, C. McGlinchey, XRF of cultural heritage materials: Round-robin IV—paint on canvas, *Powder Diffr.* 24 (2009) 124-129.
- [14] E. S. Uffelman, E. Court, J. Marciari, A. Miller, L. Cox, Handheld XRF Analyses of Two Veronese Paintings, v knize: Patricia L. Lang, Ruth Ann Armitage (ed.), Collaborative Endeavors in the Chemical Analysis of Art and Cultural Heritage Materials, American Chemical Society, Washington, DC 2012, str. 51-73.
- [15] N. Proietti, V. di Tullio, D. Capitani, R. Tomassini, M. Guiso, Nuclear magnetic resonance in contemporary art: the case of “Moon Surface” by Turcato, *Appl. Phys.* 113 (2013) 1009-1017.
- [16] A. Adams, Analysis of solid technical polymers by compact NMR, *TrAC – Trends Anal. Chem* 83 (2016) 107-119.
- [17] I. Degano, E. Ribechini, F. Modugno, M. P. Colombini, Analytical Methods for the Characterization of Organic Dyes in Artworks and in Historical Textiles, *Appl. Spectrosc.* 44 (2009) 363-410.
- [18] I. C. A. Sandu, S. Schaefer, D. Magrini, S. Bracci a C. A. Roque, Cross-Section and Staining-Based Techniques for Investigating Organic Materials in Painted and Polychrome Works of Art: A Review, *Microsc. Microanal.* 18 (2012) 860-875.
- [19] J. Plesters, Cross-Sections and Chemical Analysis of Paint Samples, *Stud. Conserv.* 2 (1956) 110-157.
- [20] I. Zadrożna, K. Połec-Pawlak, I. Głuch, M. A. Ackacha, M. Mojski, J. Witowska-Jarosz, M. Jarosz, Old master paintings – A fruitful field of activity for analysts: Targets, methods, outlook, *J. Sep. Sci.* 26 (2003) 996-1004.

[21] M. P. Colombini, F. Modugno, Characterisation of proteinaceous binders in artistic paintings by chromatographic techniques, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 147-160.

[22] M. Schreiner, B. Fruhmann, D. Jembrih-Simburger, R. Linke, X-rays in art and archaeology: An overview, *Powder Diffr.* 19 (2004) 3-11.

[23] A. Lluveras-Tenorio, J. Mazurek, A. Restivo, M. P. Colombini, I. Bonaduce a N. M. Neves, The Development of a New Analytical Model for the Identification of Saccharide Binders in Paint Samples. *PLoS ONE* 7 (2012) e49383.

[24] A. Chambery, A. Di Maro, C. Sanges, V. Severino, M. Tarantino, et al., Improved procedure for protein binder analysis in mural painting by LC-ESI/ Q-q-TOF mass spectrometry: detection of different milk species by casein proteotypic peptides. *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (2009) 2281-2291.

[25] M. Smoluch, J. Sobczyk, I. Szewczyk, P. Karaszewicz, J. Silberring, Mass spectrometry in art conservation – With focus on paintings. *Mass Spectrom. Rev.* (2021), doi: 10.1002/mas.21767.

[26] M. P. Colombini, A. Andreotti, I. Bonaduce, F. Modugno, E. Ribechini, Analytical Strategies for Characterizing Organic Paint Media Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *Acc. Chem. Res.* 43 (2010) 715-727.

[27] A. I. Ruiz-Matute, O. Hernández-Hernández, S. Rodríguez-Sánchez, M. L. Sanz, I. Martínez-Castro. Derivatization of carbohydrates for GC and GC–MS analyses, *J Chromatogr. B* 879 (2011) 17-18.

[28] V. Pauk, T. Pluháček, V. Havlíček, K. Lemr, Ultra-high performance supercritical fluid chromatography-mass spectrometry procedure for analysis of monosaccharides from plant gum binders, *Anal. Chim. Acta* 989 (2017) 112-120.

[29] P. J. E. Davies, W. B. Denny, F. F. Hofrichter, J. F. Jacobs, A. S. Roberts, D. L. Simon, *Janson's History of Art: The Western Tradition*, 8th Edition, Pearson, Londýn 2010, str. 479.

[30] P. Ulrich, *Drying Oils and Related Products*, v knize: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 7th Edition, Wiley, Weinheim 2011, str. 621-634.

- [31] H. Wexler, Polymerization of Drying Oils, *Chem. Rev.* 64 (1964) 591-611.
- [32] M. Lazzari, O. Chiantore, Drying and oxidative degradation of linseed oil, *Polym. Degrad. STab.* 65 (1999) 303-313.
- [33] J. La Nasa, F. Modugno, I. Degano, Liquid chromatography and mass spectrometry for the analysis of acylglycerols in art and archeology, *Mass Spectrom. Rev.* 40 (2021) 381-407.
- [34] J. Kaluzna-Czaplinskaja, A. Rosiak, M. Kwapińska, W. Kwapiński, Different analytical procedures for the study of organic residues in archeological ceramic samples with the use of gas chromatography/mass spectrometry, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 46 (2016) 67–81.
- [35] M. P. Colombini, A. Andreotti, I. Bonaduce, F. Modugno, E. Ribechini, Analytical strategies for characterizing organic paint media using gas chromatography/mass spectrometry, *Acc. Chem. Res.* 43 (2010) 715–727.
- [36] J. Blasko, R. Kubinec, B. Husová, P. Prikryl, V. Pacáková, K. Stulík, J. Hradilová, Gas chromatography/mass spectrometry of oils and oil binders in paintings. *J. Sep. Sci.* 31 (2008) 1067-1073.
- [37] O. Otlowska, M. Ślebioda, M. Wachowiak, M. Śliwka-Kaszyńska, A multi-analytical approach to the characterization of natural organic dyestuffs and inorganic substrates present in the 19th-century artistic oil paints manufactured by a French art materials supplier Richard Aines, *Anal. Methods* 9 (2017) 94–102.
- [38] E. P. van Dam, K. J. van den Berg, A. N. Proaño Gaibor, M. van Bommel, Analysis of triglyceride degradation products in drying oils and oil paints using LC–ESI-MS, *Int. J. Mass spectrom.* 413 (2017) 33-42.
- [39] M. Mazanek et al., Capillary Electrophoresis: An Alternative to Chromatography for Analysis of Natural Organic Binders, *Stud. Conserv.* 51 (2006) 139–151.
- [40] I. Surowiec, I. Kaml, E. Kenndler, Analysis of drying oils used as binding media for objects of art by capillary electrophoresis with indirect UV and conductivity detection. *J. Chromatogr. A* 1024 (2004) 245-254.

[41] R. Cumeras, E. Figueras, C. E. Davis, J. I. Baumbach, I. Gràcia, Review on ion mobility spectrometry. Part 1: current instrumentation, *Analyst* 140 (2015) 1376-1390.

[42] V. Gabelica, E. Marklund, Fundamentals of ion mobility spectrometry, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 42 (2018) 51-59.

[43] S. Xu, F. Wei, Y. Xie, X. Lu, X. Dong, H. Chen, Research advances based on mass spectrometry for profiling of triacylglycerols in oils and fats and their applications, *Electrophoresis* 39 (2018) 1558-1568.

[44] I. Degano, J. La Nasa, E. Ghelardi, F. Modugno, M. P. Colombini, Model study of modern oil-based paint media by triacylglycerol profiling in positive and negative ionization modes, *Talanta* 161 (2016) 62-70.

[45] M. Li, E. Butka, X. Wang, Comprehensive Quantification of Triacylglycerols in Soybean Seeds by Electrospray Ionization Mass Spectrometry with Multiple Neutral Loss Scans, *Sci. Rep.* 4 (2014) 1-11.

[46] C. Louterier-Bourhis, O. Zovi, L. Lecamp, C. Bunel, C. M. Lange, Contribution of two approaches using electrospray ionization with multi-stage mass spectrometry for the characterization of linseed oil, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 3743-3752.

[47] R. Garrido-Delgado, F. Mercader-Trejo, S. Sielemann, W. de Bruyn, L. Arce, M. Valcarcel, Direct classification of olive oils by using two types of ion mobility spectrometers, *Anal. Chim. Acta* 696 (2011) 108-115.

[48] Z. Karpas, Applications of ion mobility spectrometry (IMS) in the field of foodomics, *Food Res. Int.* 54 (2013) 1146-1151.

[49] L. Liu, C. Hu, L. Liu, S. Zhang, K. Chen, D. He, Rapid Detection and Separation of Olive Oil and Camellia Oil Based on Ion Mobility Spectrometry Fingerprints and Chemometric Models: Rapid separation of olive oil and camellia oil by IMS, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 119 (2016) 1500463.

[50] M. Pinero, M. Amo-González, R. D. Ballesteros, L. R. Pérez, G. F. de le Mora, L. Arce, Chemical Fingerprinting of Olive Oils by Electrospray Ionization-Differential Mobility Analysis-Mass Spectrometry: A New Alternative to Food Authenticity Testing, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 31 (2020) 527-537.

- [51] C. M. Potter, G. R. Jones, S. Barnes, D. L. Jones, Quantitative and qualitative analysis of edible oils using HRAM MS with an atmospheric pressure chemical ionisation (APCI) source. *J. Food Compos. Anal.* 96 (2021) 103760.
- [52] S. K. Drakopoulou, D. E. Damalau, C. Baessman, N. S. Thomaidis, Trapped Ion Mobility Incorporated in LC–HRMS Workflows as an Integral Analytical Platform of High Sensitivity: Targeted and Untargeted 4D-Metabolomics in Extra Virgin Olive Oil, *J. Agric. Food Chem.* 69 (2021) 15728–15737.
- [53] S. Liedtke, L. Seifert, N. Ahlmann, C. Hariharan, J. Franzke, W. Vautz, Coupling laser desorption with gas chromatography and ion mobility spectrometry for improved olive oil characterisation, *Food Chem.* 255 (2018) 323-331.
- [54] V. Pauk, J. Michalčáková, K. Jagošová, K. Lemr, Origin of indigo colorants revealed by ion mobility spectrometry coupled to mass spectrometry followed by supervised classification. *Dyes Pigments* 197 (2022) 109943.
- [55] S. Tirat, I. Degano, J. Echard, A. Lattuati-Derieux, A. Lluveras-Tenorio, A. Marie, S. Serfaty, J. Le Huerou. Historical linseed oil/colophony varnishes formulations: Study of their molecular composition with micro-chemical chromatographic techniques. *Microchem. J.* 126 (2016) 200-213.
- [56] A. G. Vereshchagin, G. V. Novitskaya, The triglyceride composition of linseed oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 42 (1965) 970-974.
- [57] I. Bouabdallah, I. Bouali, E. Martinez-Force, A. Albouchi, M.C. Perez Camino, S. Boukhchina, Composition of fatty acids, triacylglycerols and polar compounds of different walnut varieties (*Juglans regia* L.) from Tunisia, *Nat. Prod. Res.* 28 (2014) 1826-1833.
- [58] M. Satranský, A. Fraňková, P. Kuchtová, K. Pazderů, I. Capouchová, Oil content and fatty acid profile of selected poppy (*Papaver somniferum* L.) landraces and modern cultivars, *Plant Soil Environ.* 67 (2021) 579-587.
- [59] P. K. Revelou, M. Xagoraris, A. Alexandropoulou, C. D. Kanakis, G. K. Papadopoulos, C. S. Pappas, P. A. Tarantilis, Chemometric Study of Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oil from Four Widespread Greek Cultivars, *Molecules* 26 (2021) 4151.

[60] M. Vosoughkia, M. Ghavamib, M. Gharachorloo, M. Sharrifmoghaddasi, Lipid composition and oxidative stability of oils in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed varieties grown in Iran, *Adv. Environ. Biol.* 5 (2011) 897-902.

[61] P. Cerino, C. Buonerba, G. Cannaza, et al., A Review of Hemp as Food and Nutritional Supplement. *Cannabis Cannabinoid Res.* 6 (2021) 19-27.

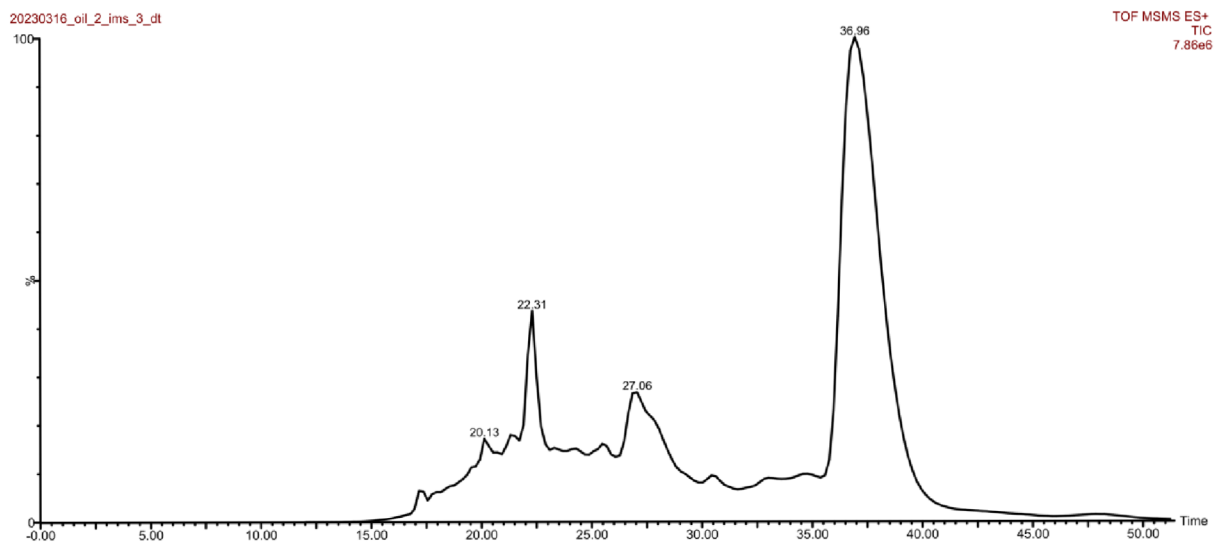
## 7. Přílohy

### 7.1. Seznam Příloh

Příloha č. 1 – Mobilogramy analyzovaných olejů

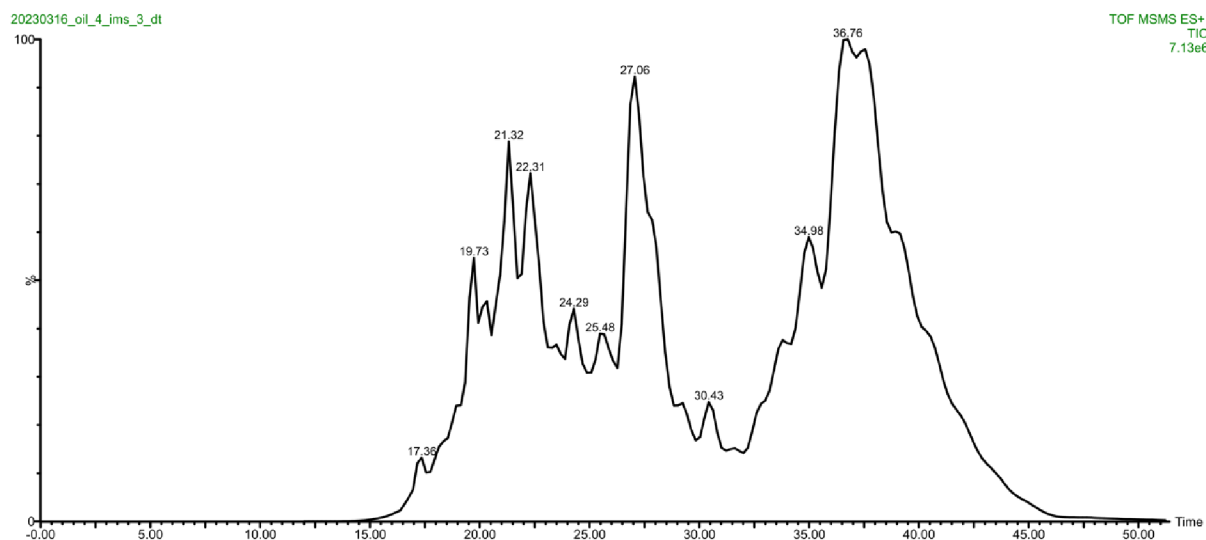
Příloha č. 2 – Mobilogramy a spektra pro oblast triacylglycerolů

### 7.2. Příloha č. 1 – Mobilogramy analyzovaných olejů

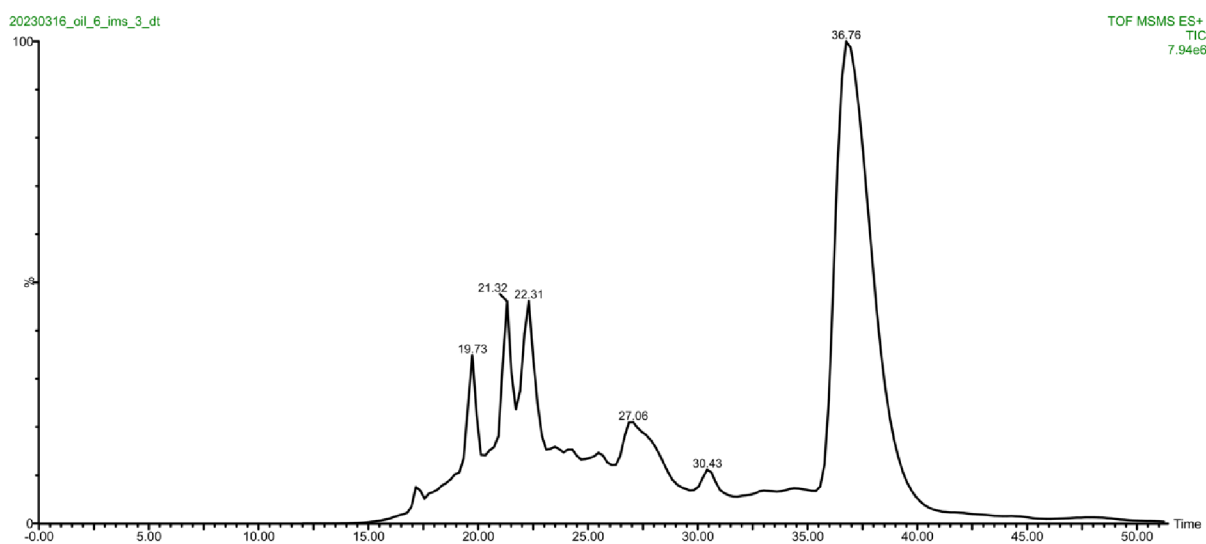


Obr. č. A1 – Mobilogram lněného oleje lisovaného za studena a26/d

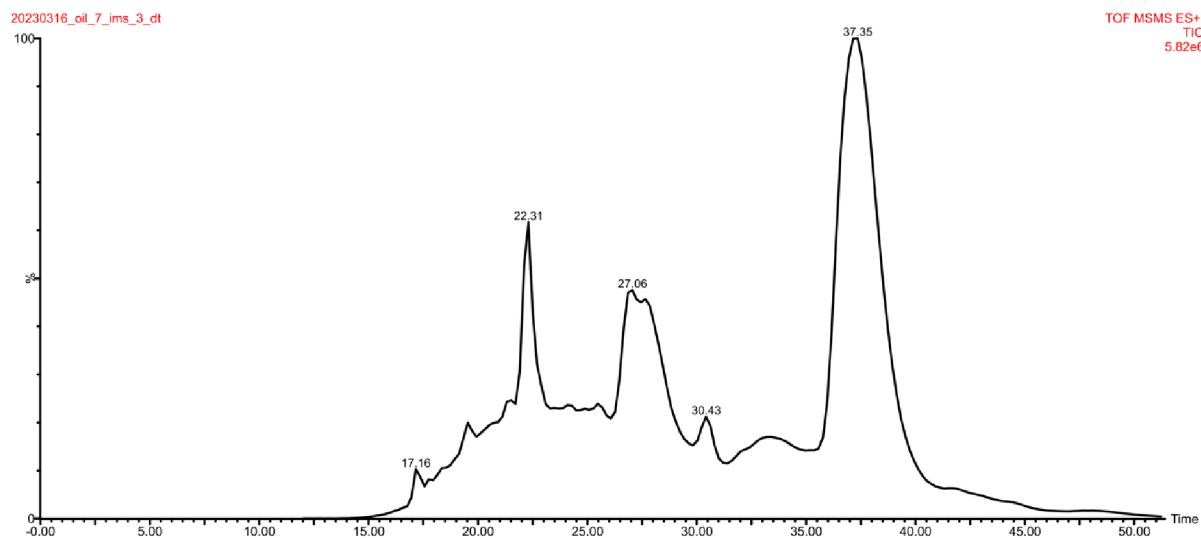




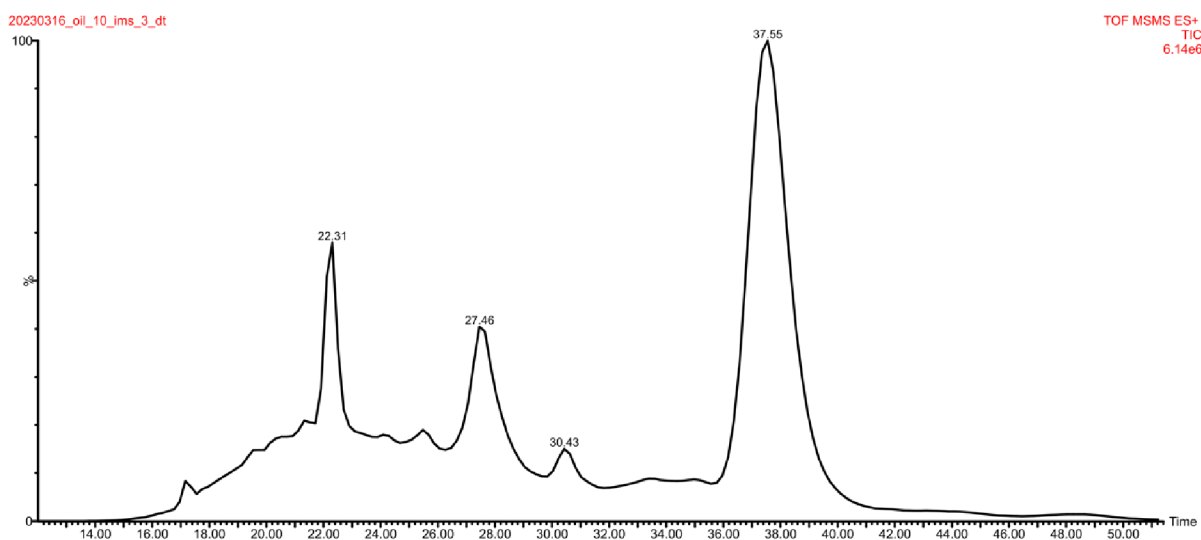
Obr. č. A2 – Mobilogram lněného běleného oleje a27/f



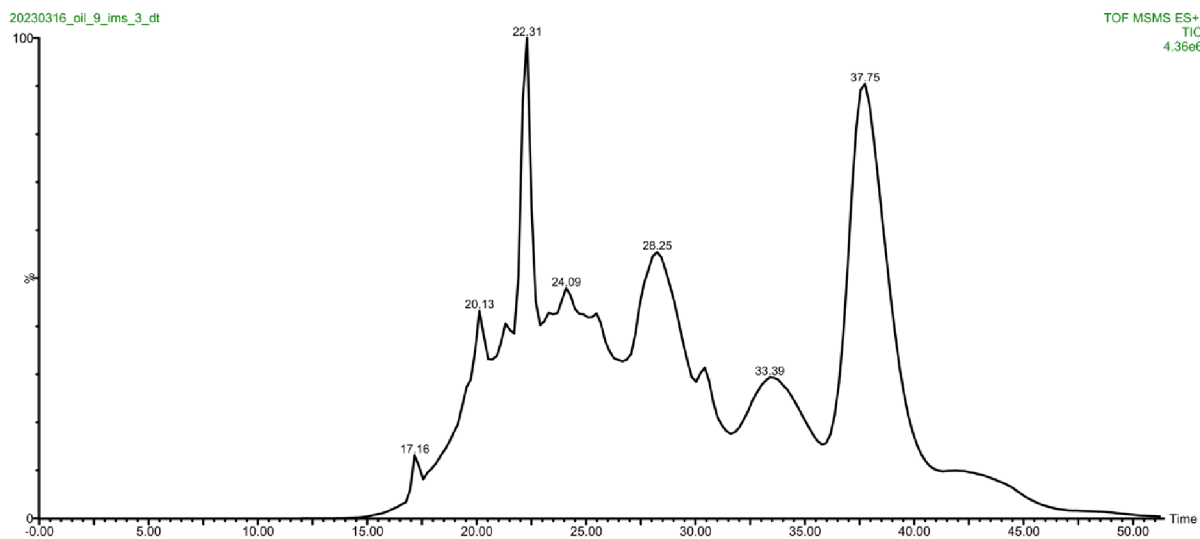
Obr. č. A3 – Mobilogram lněného běleného oleje a27/c



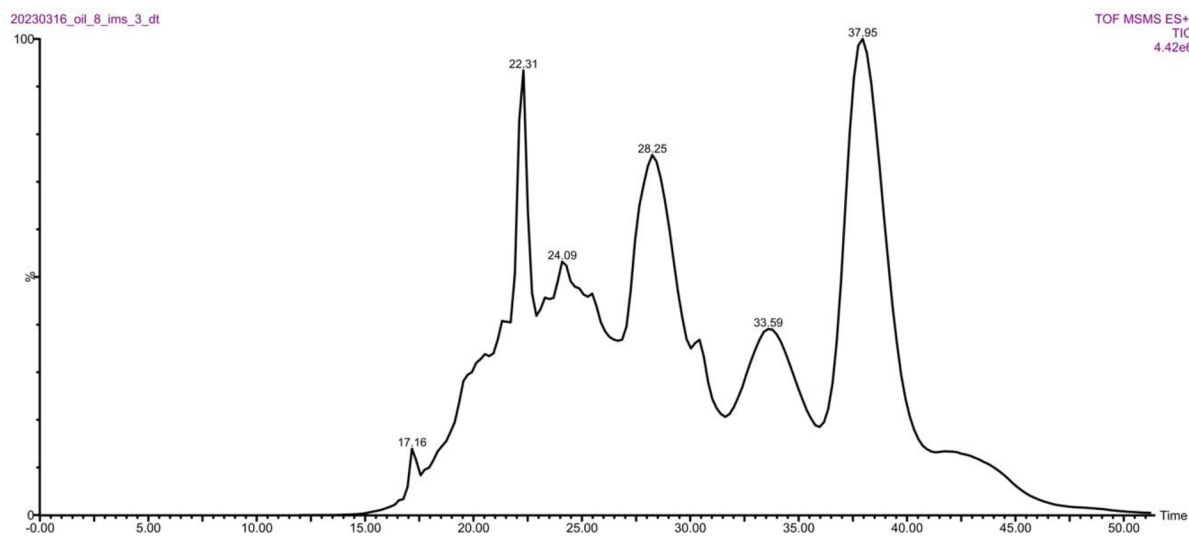
Obr. č. A4 – Mobilogram lněného běleného oleje a27/d



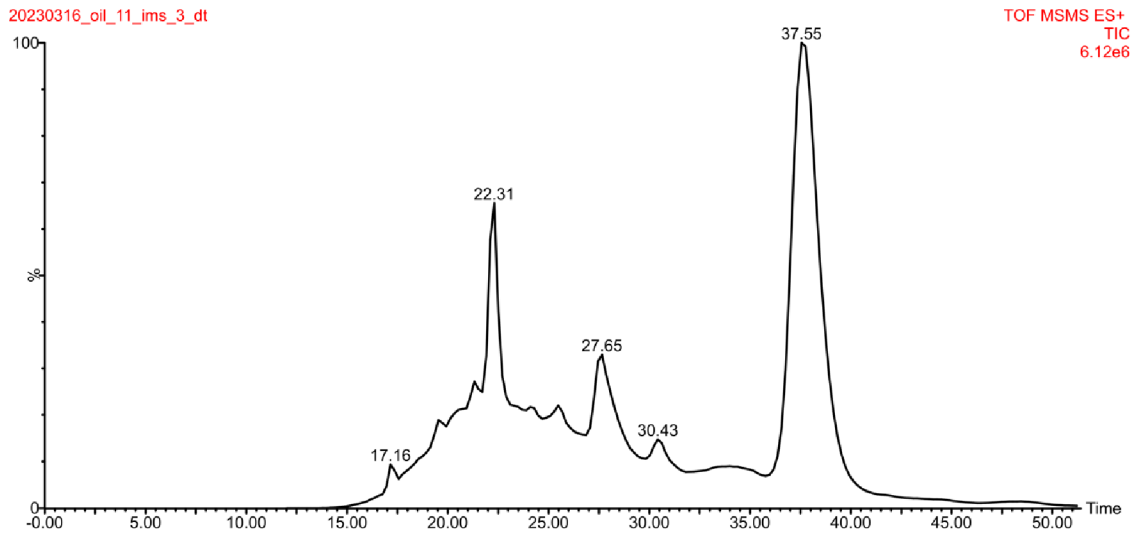
Obr. č. A5 – Mobilogram vlašského oleje a182



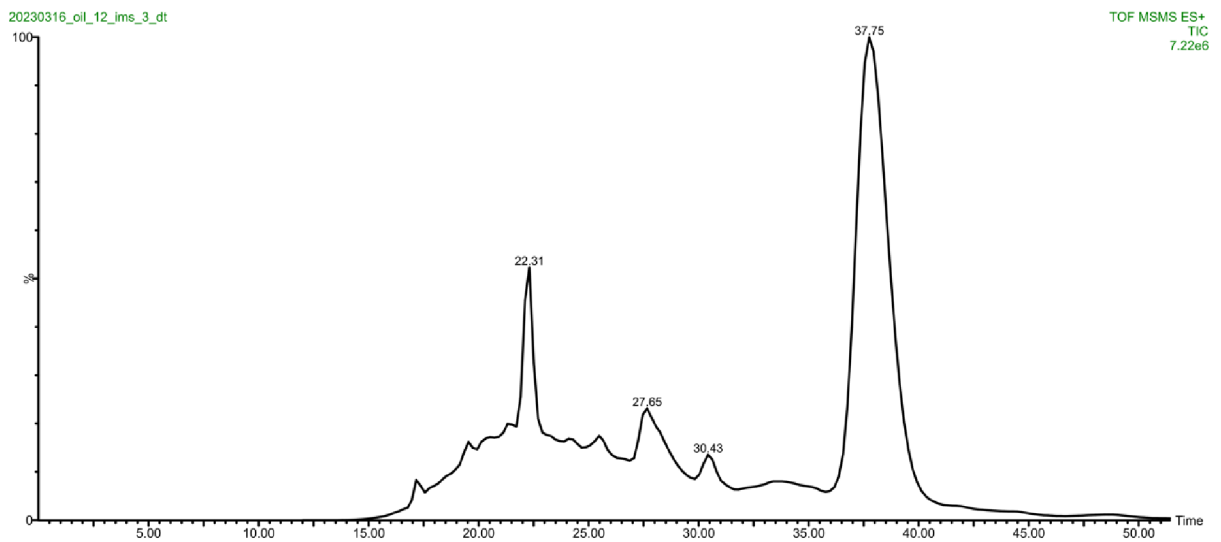
Obr. č. A6 – Mobilogram vlašského oleje ztuženého na slunci a166/c



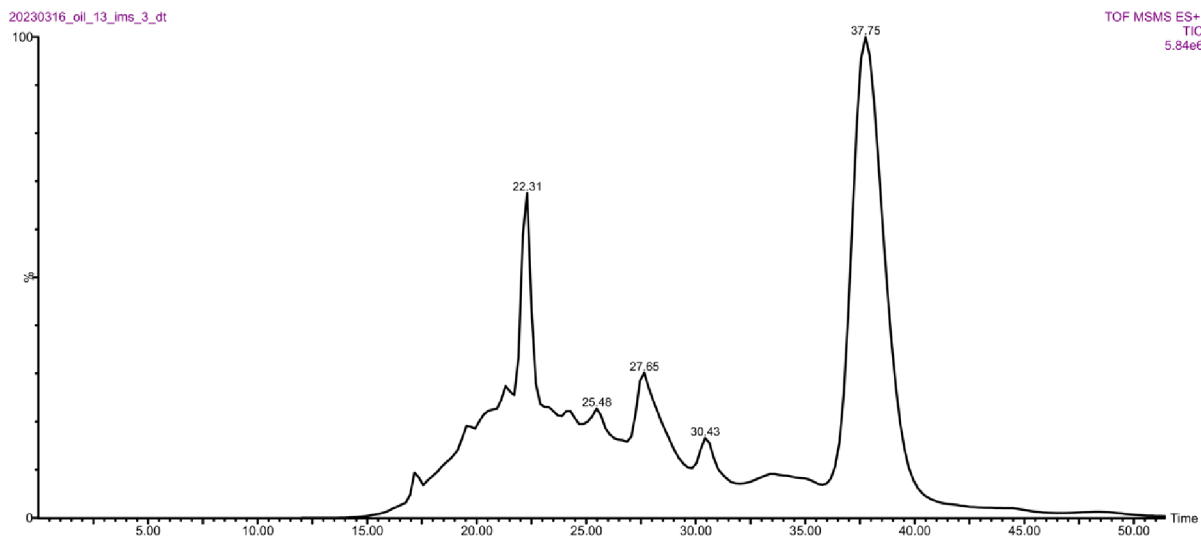
Obr. č. A7 – Mobilogram vlašského oleje ztuženého na slunci a166/b



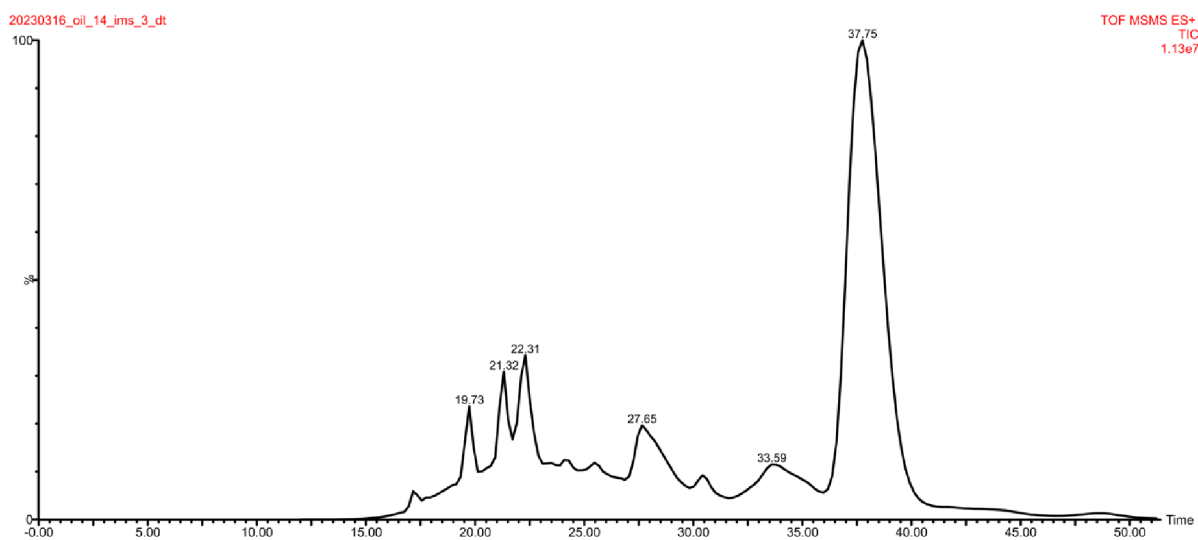
Obr. č. A8 – Mobilogram makového oleje a28/c



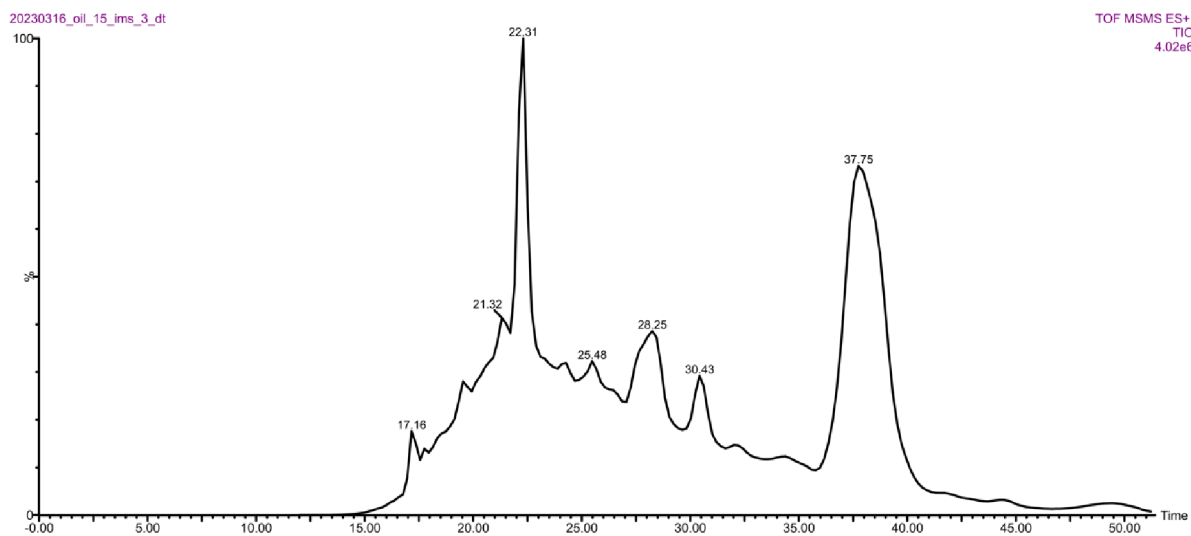
Obr. č. A9 – Mobilogram makového oleje a28/e



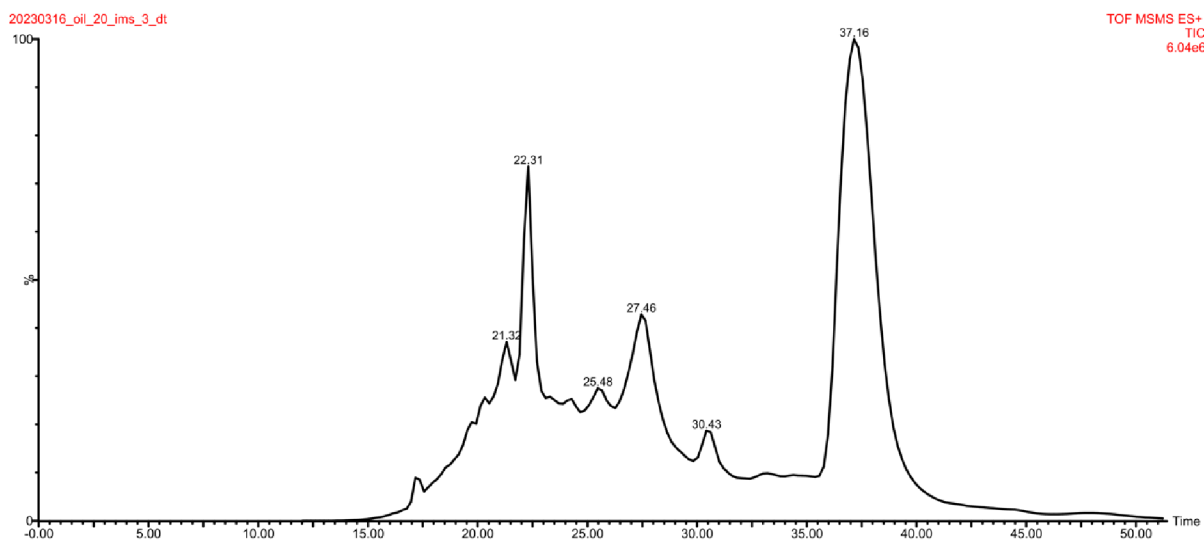
Obr. č. A10 – Mobilogram makového oleje a28/f



Obr. č. A11 – Mobilogram makového oleje a28/d

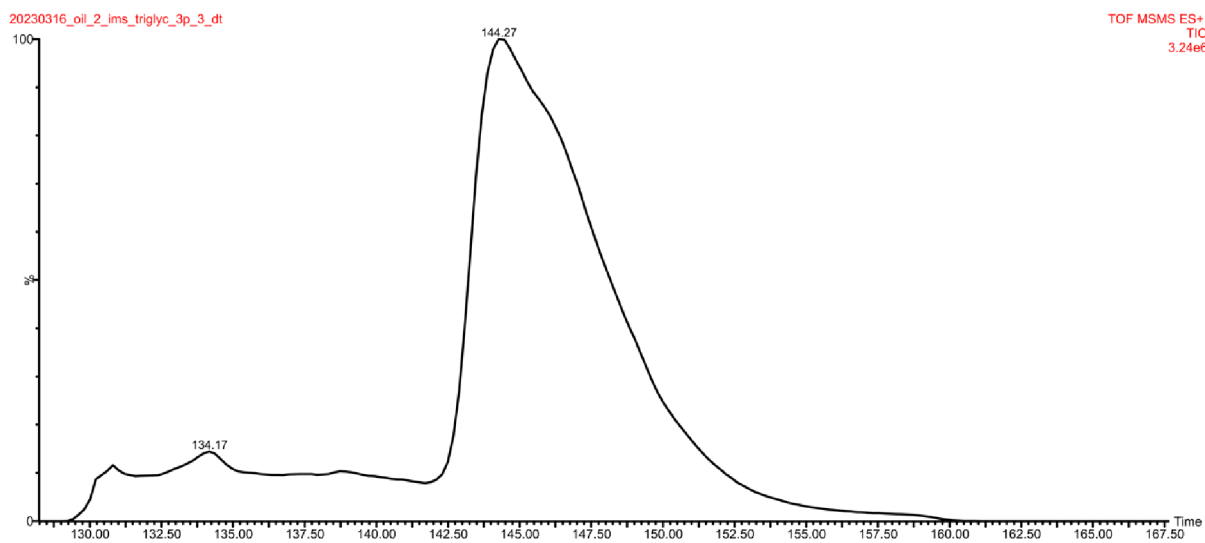


Obr. č. A13 – Mobilogram olivového oleje a169/b

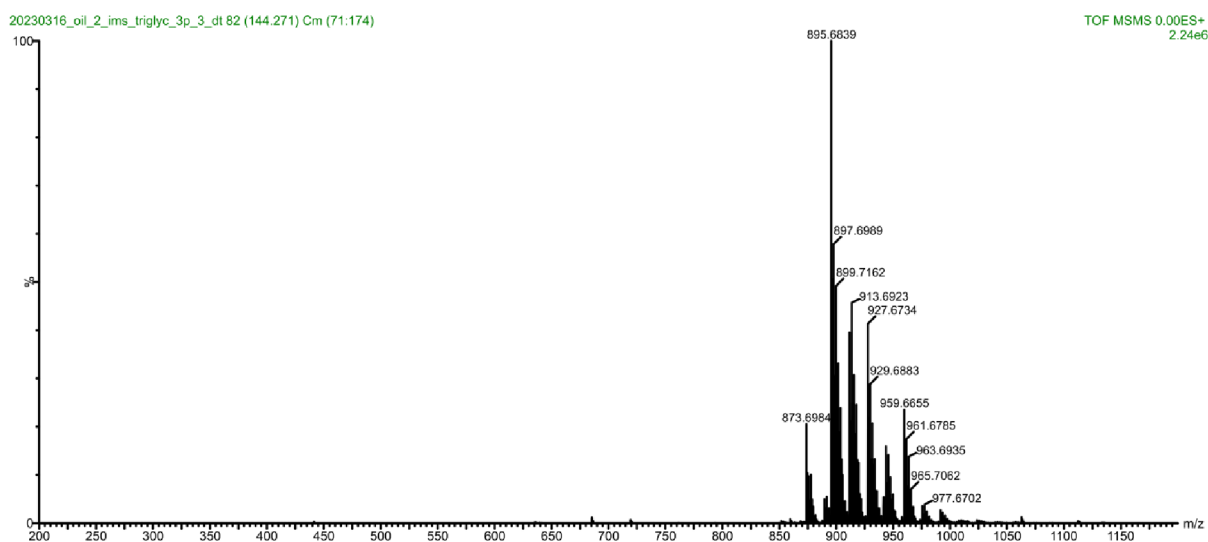


Obr. č. A14 – Mobilogram konopného oleje a183

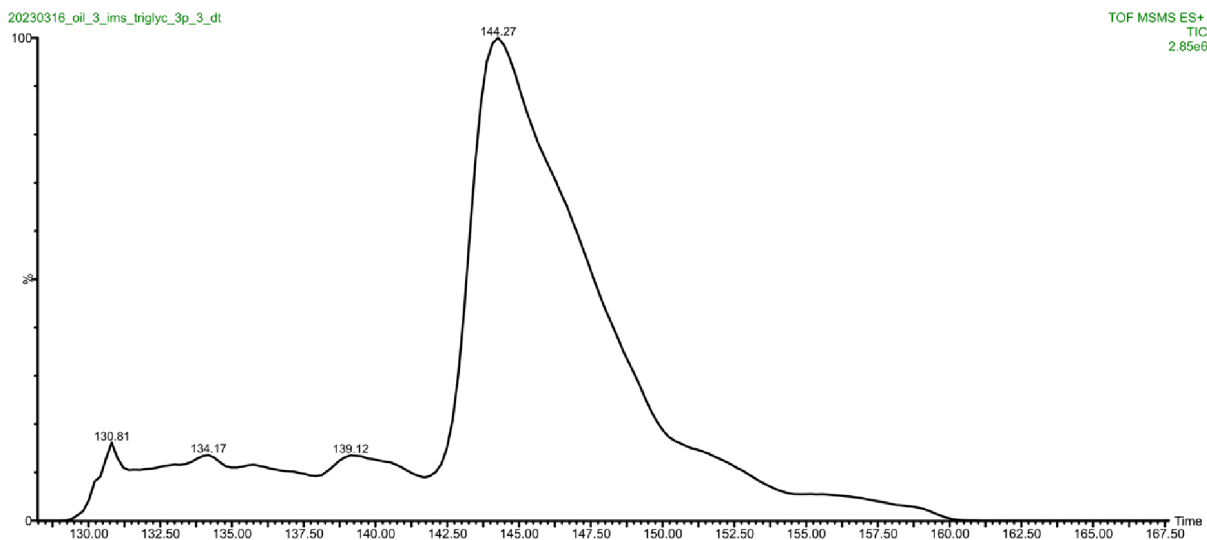
### 7.3. Příloha č. 2 – Mobilogramy a spektra pro oblast triacylglycerolů



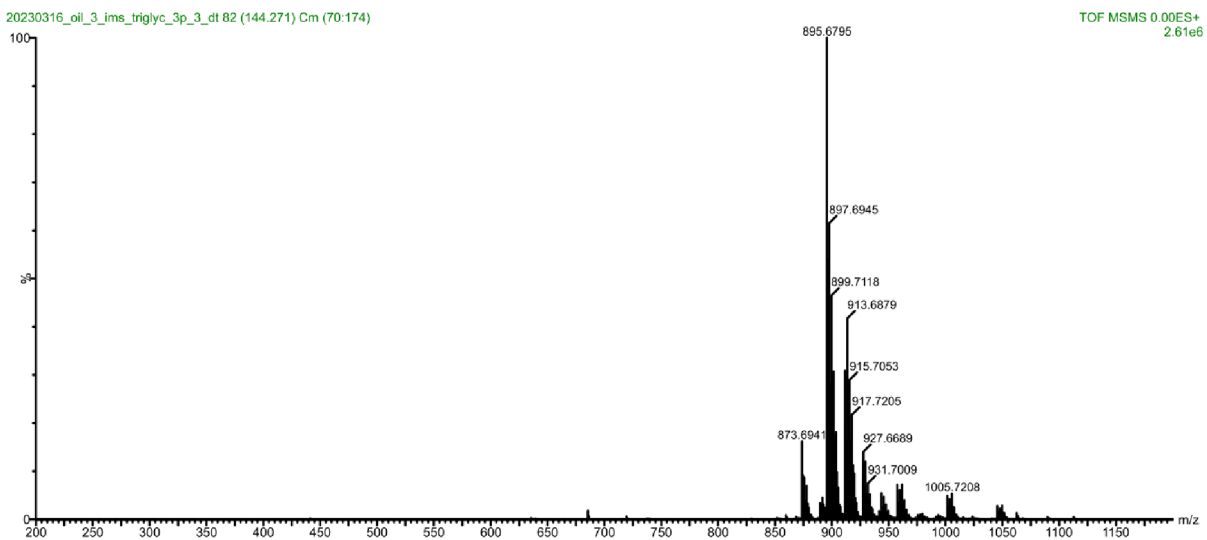
Obr. č. B1 – Mobilogram TAG lněného oleje lisovaného za studena a26/d



Obr. č. B2 – Hmotnostní spektrum lněného oleje lisovaného za studena a26/d

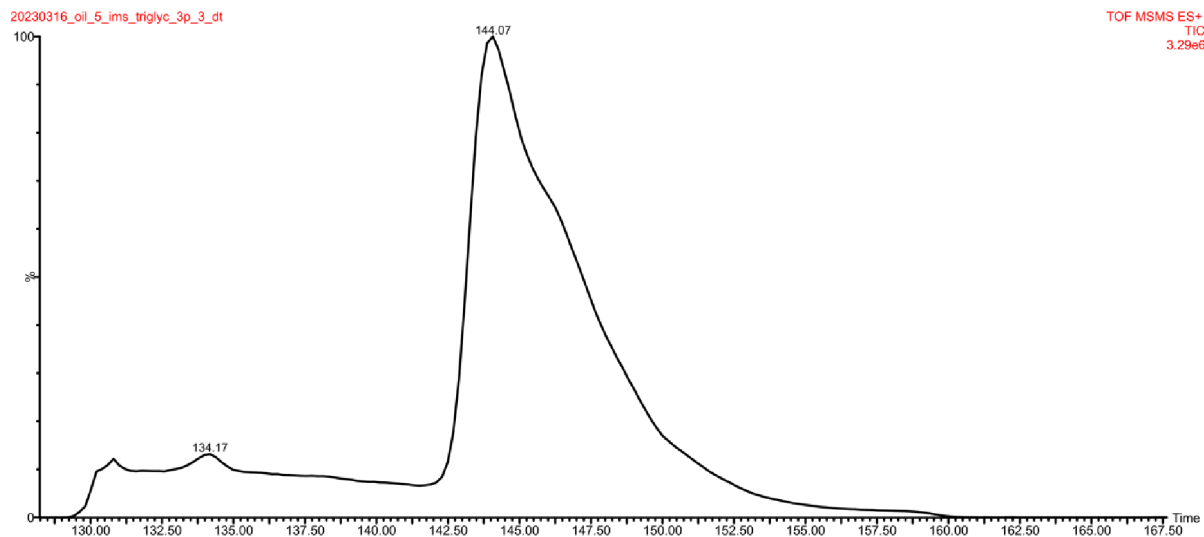


Obr. č. B3 – Mobilogram TAG lněného oleje lisovaného za studena a26/e

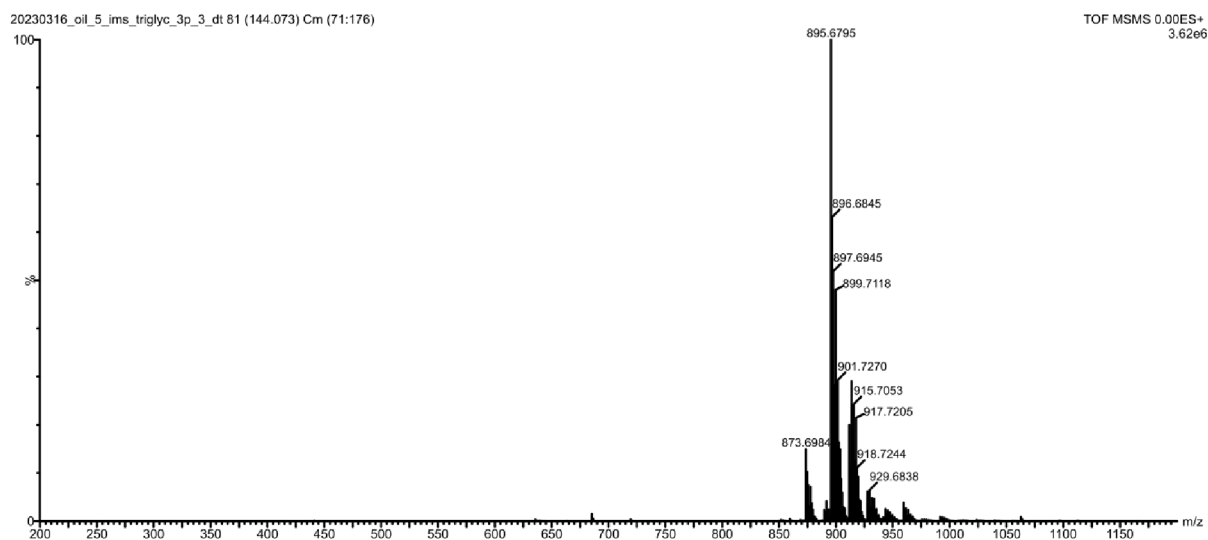


Obr. č. B4 – Hmotnostní spektrum TAG lněného oleje lisovaného za studena a26/e

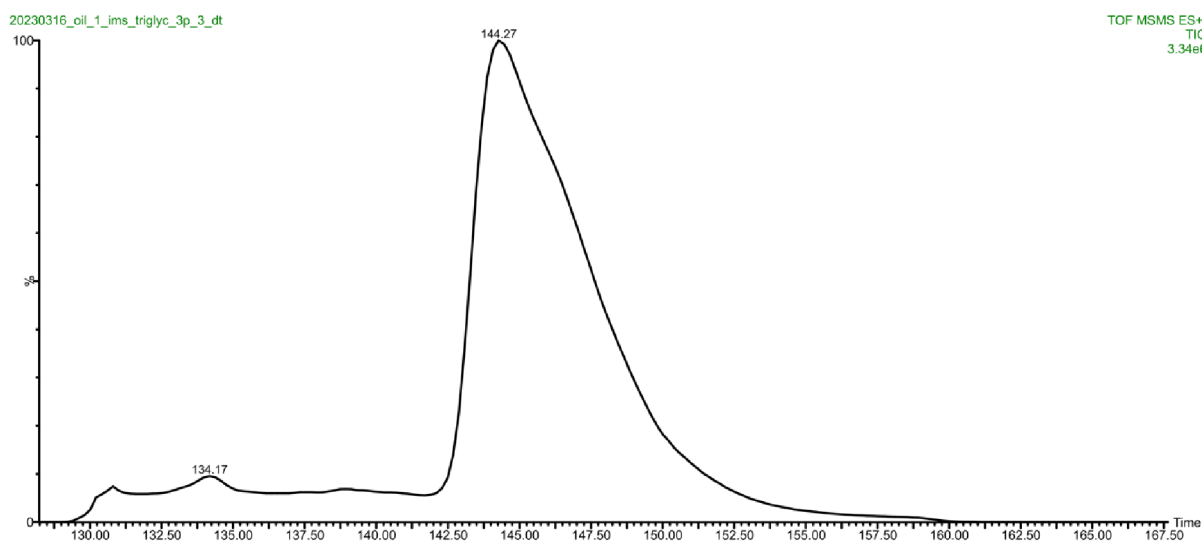




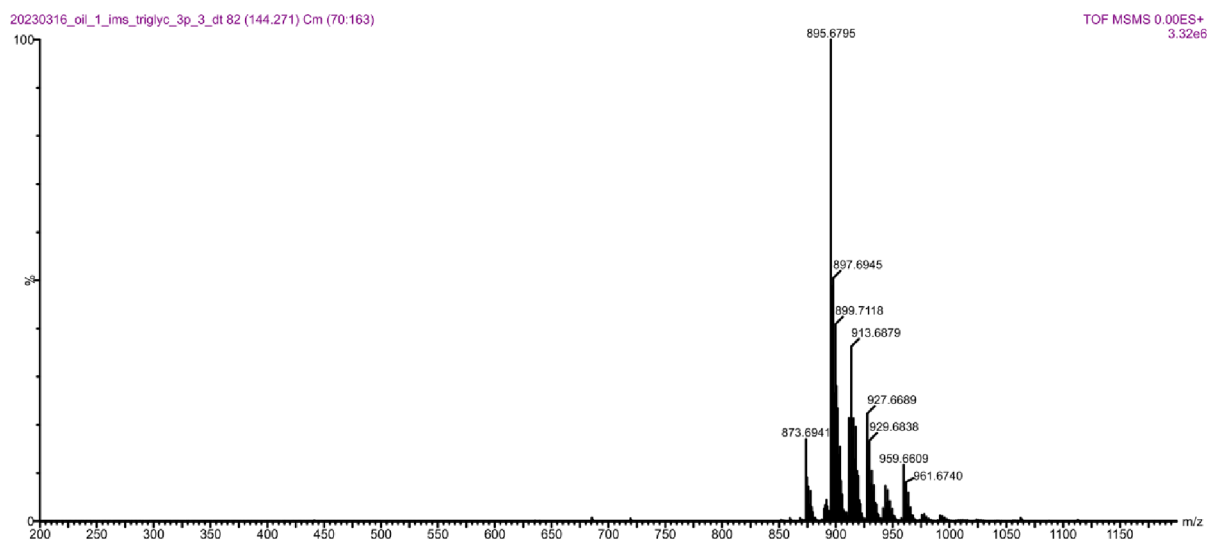
Obr. č. B5 – Mobilogram TAG lněného oleje lisovaného za studena a26/c



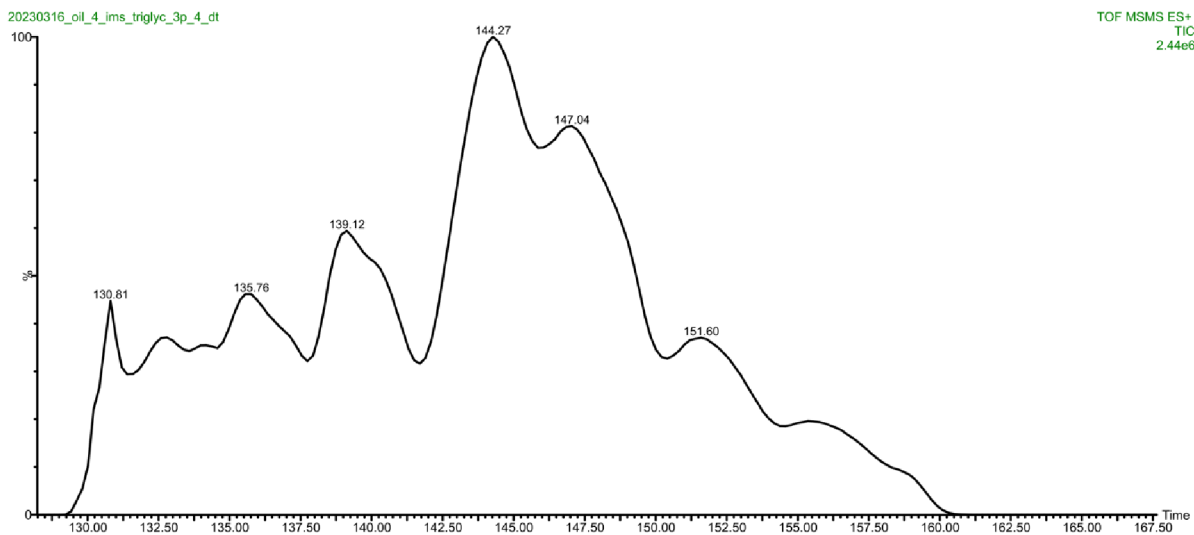
Obr. č. B6 – Hmotnostní spektrum TAG lněného oleje lisovaného za studena a26/c



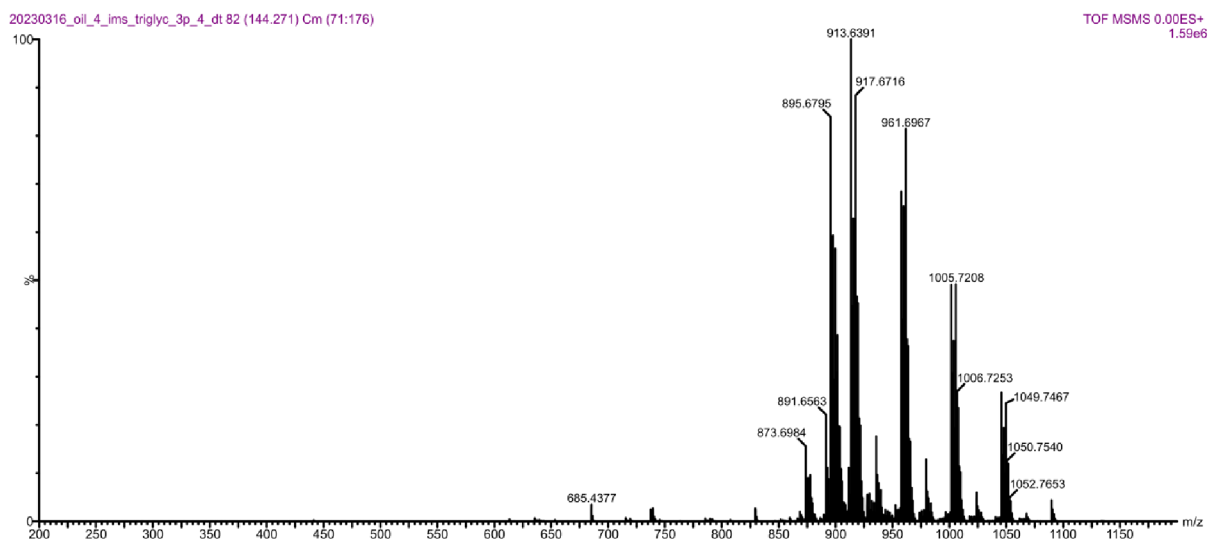
Obr. č. B7 – Mobilogram TAG lněného běleného oleje a27/e



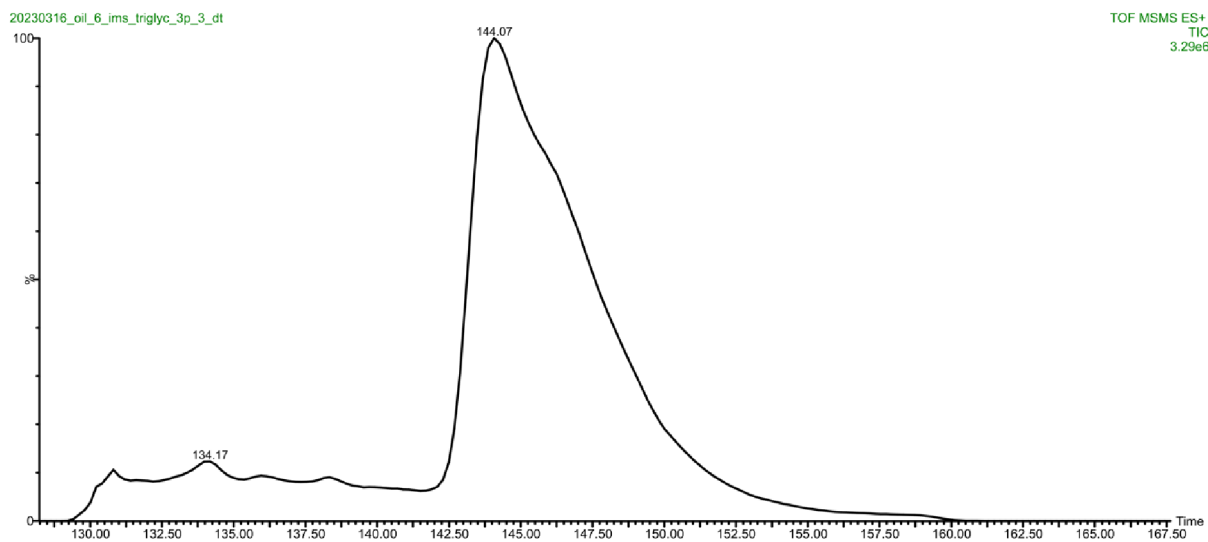
Obr. č. B8 – Hmotnostní spektrum TAG lněného běleného oleje a27/e



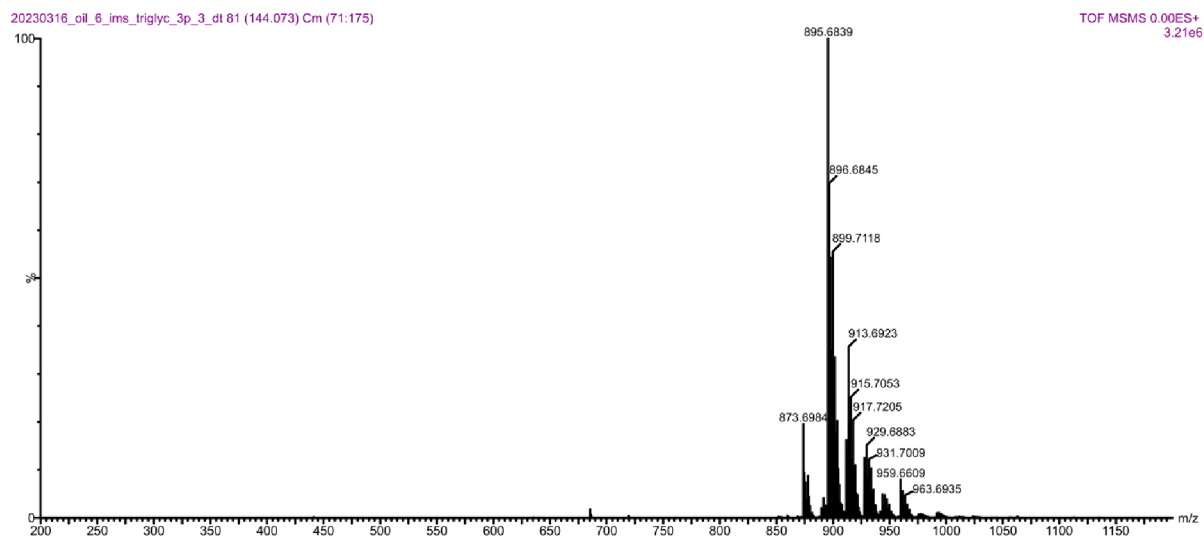
Obr. č. B9 – Mobilogram TAG lněného běleného oleje a27/f



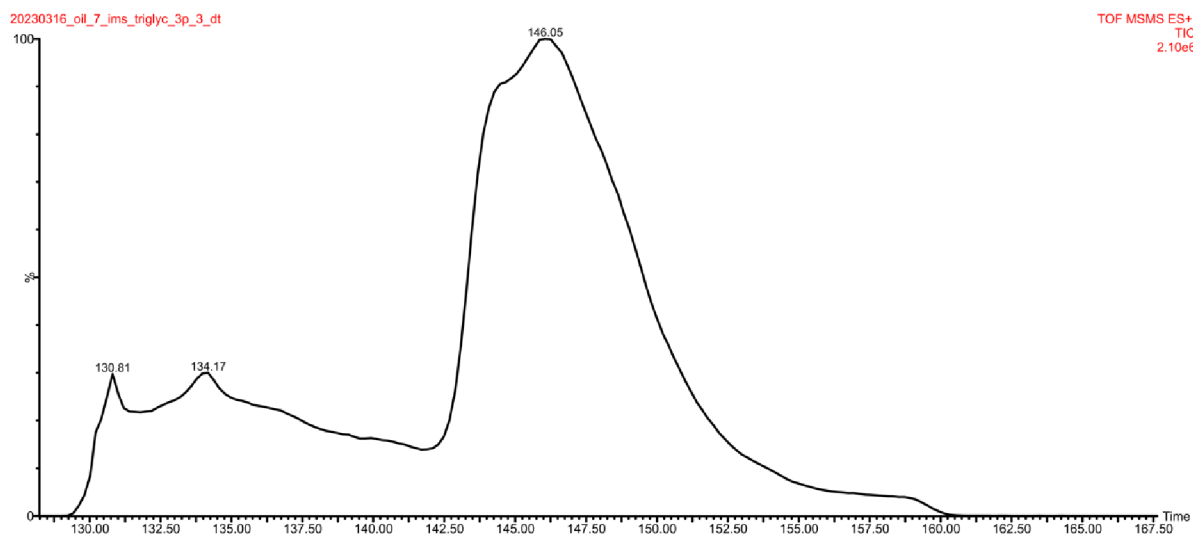
Obr. č. B10 – Hmotnostní spektrum TAG lněného běleného oleje a27/f



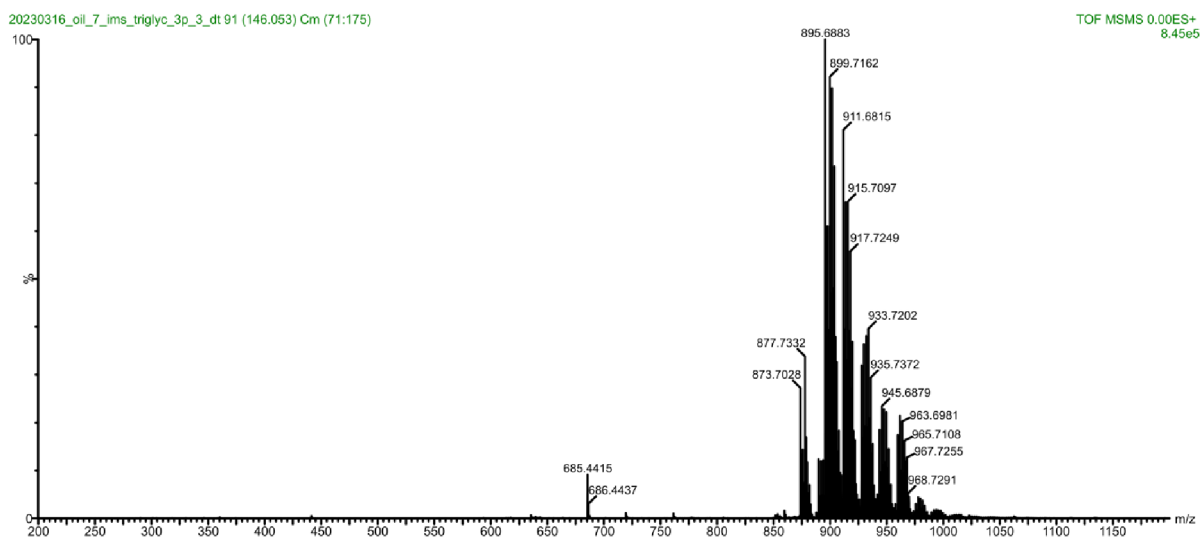
Obr. č. B11 – Mobilogram TAG lněného běleného oleje a27/c



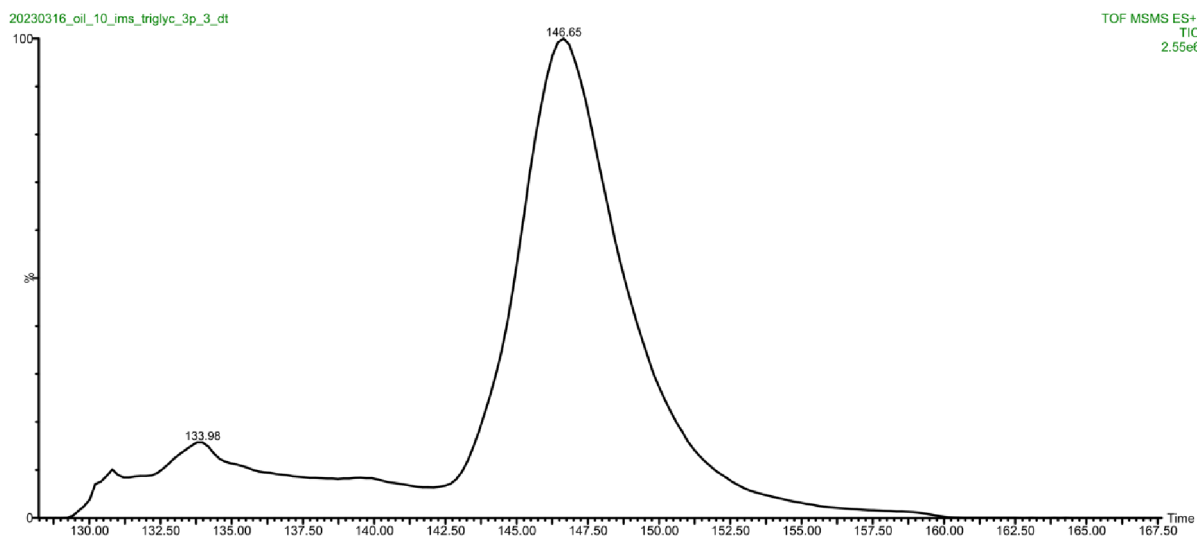
Obr. č. B12– Hmotnostní spektrum TAG lněného běleného oleje a27/c



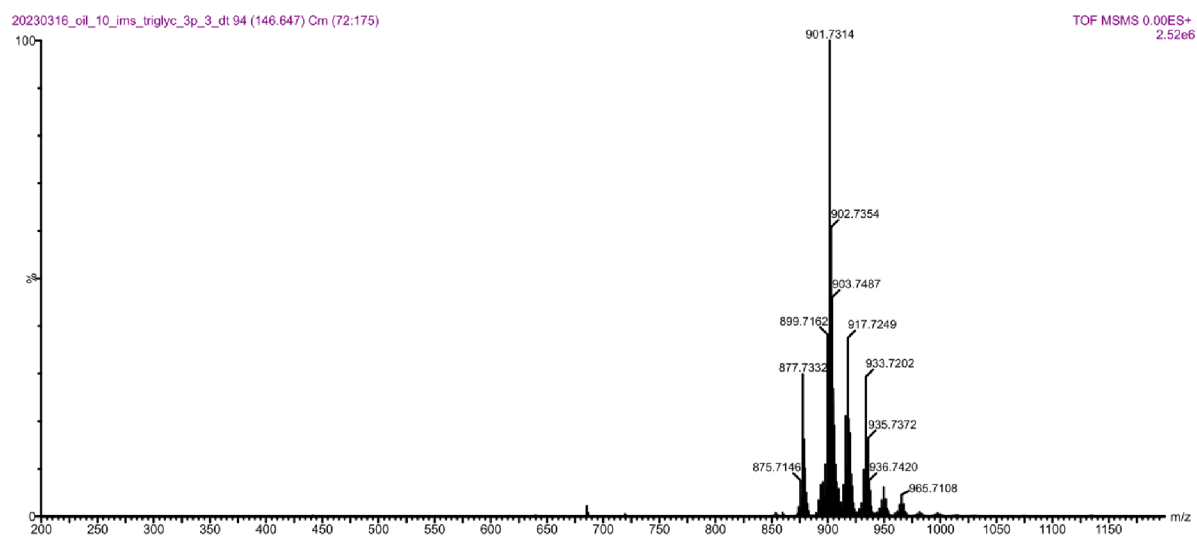
Obr. č. B13 – Mobilogram TAG lněného běleného oleje a27/d



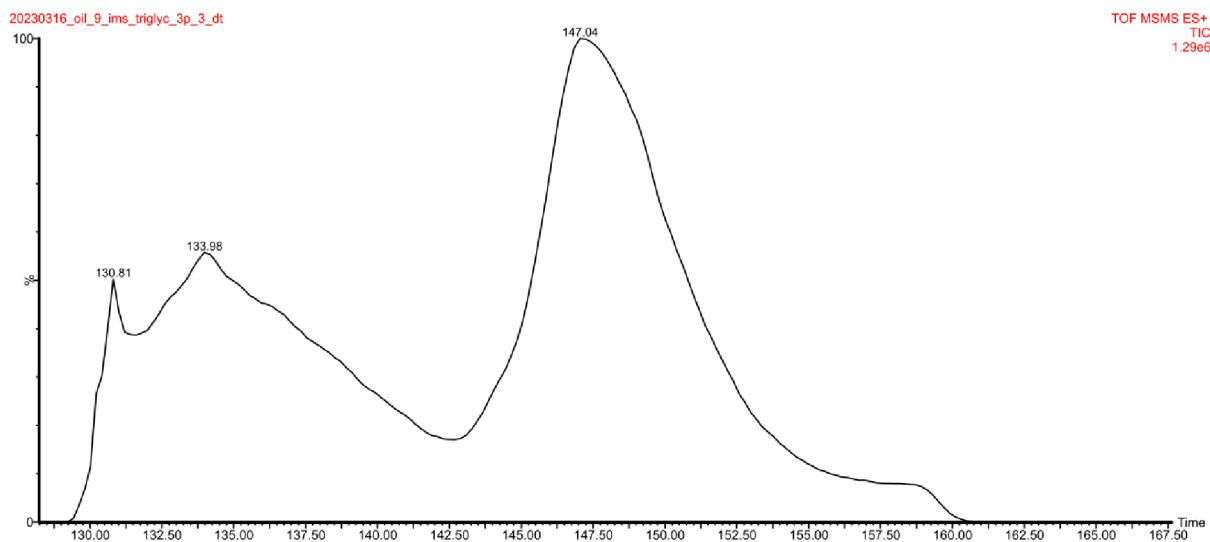
Obr. č. B14 – Hmotnostní spektrum TAG lněného běleného oleje a27/d



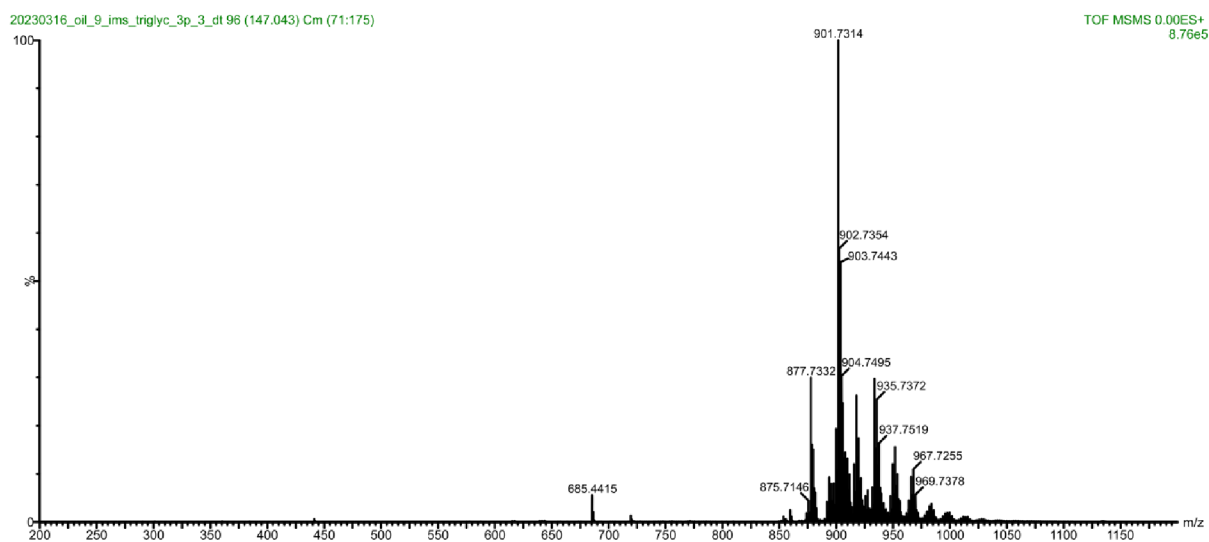
Obr. č. B15 – Mobilogram TAG vlašského oleje a182



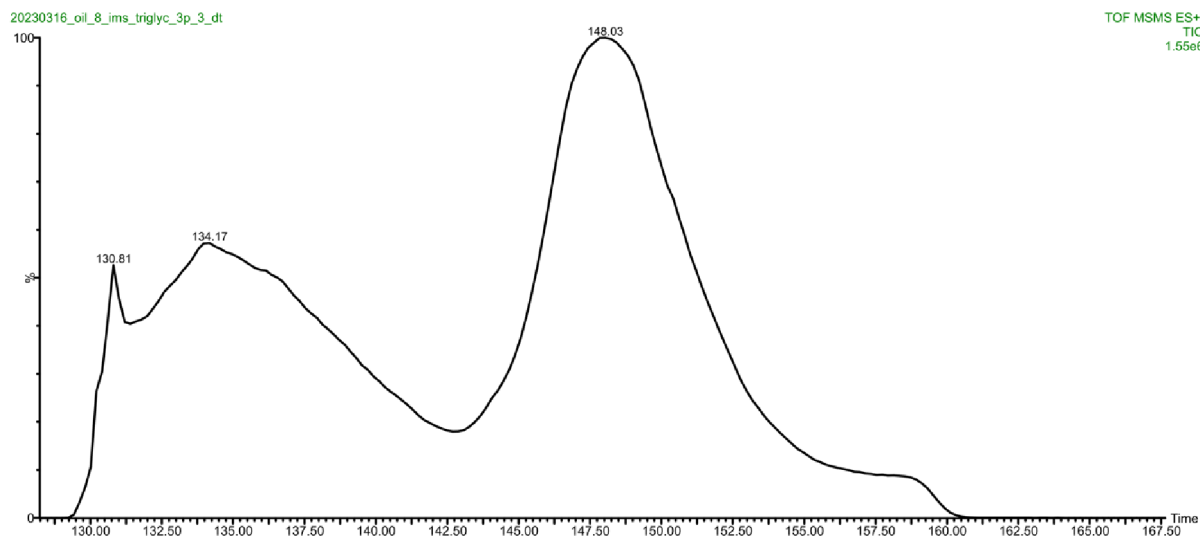
Obr. č. B16 – Hmotnostní spektrum TAG ořechového oleje a182



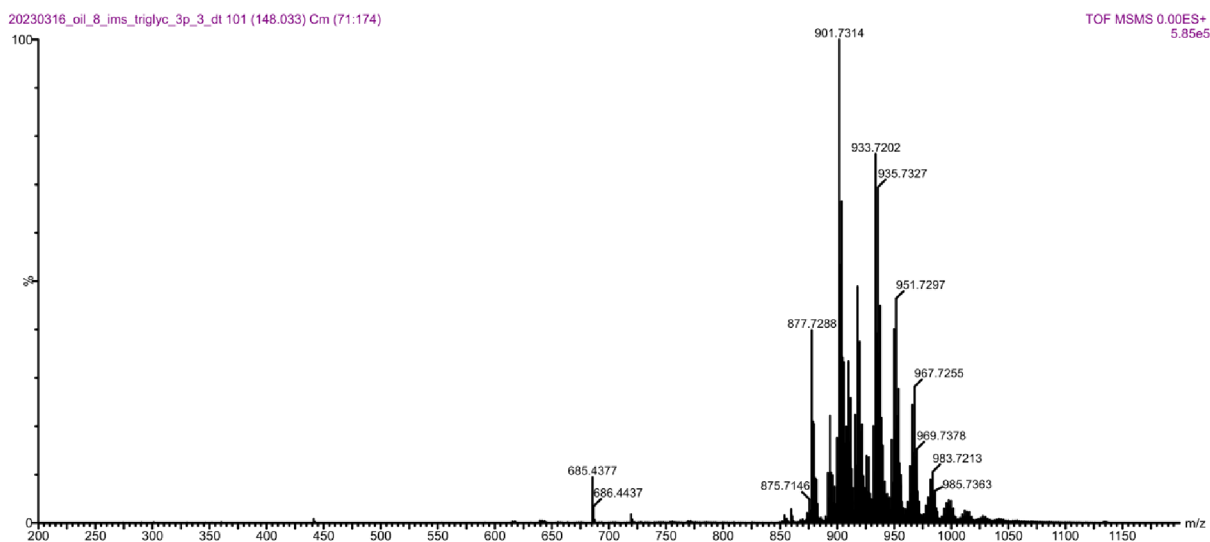
Obr. č. B17 – Mobilogram TAG vlašského oleje ztuženého na slunci a166/c



Obr. č. B18 – Hmotnostní spektrum TAG ořechového oleje ztuženého na slunci a166/c

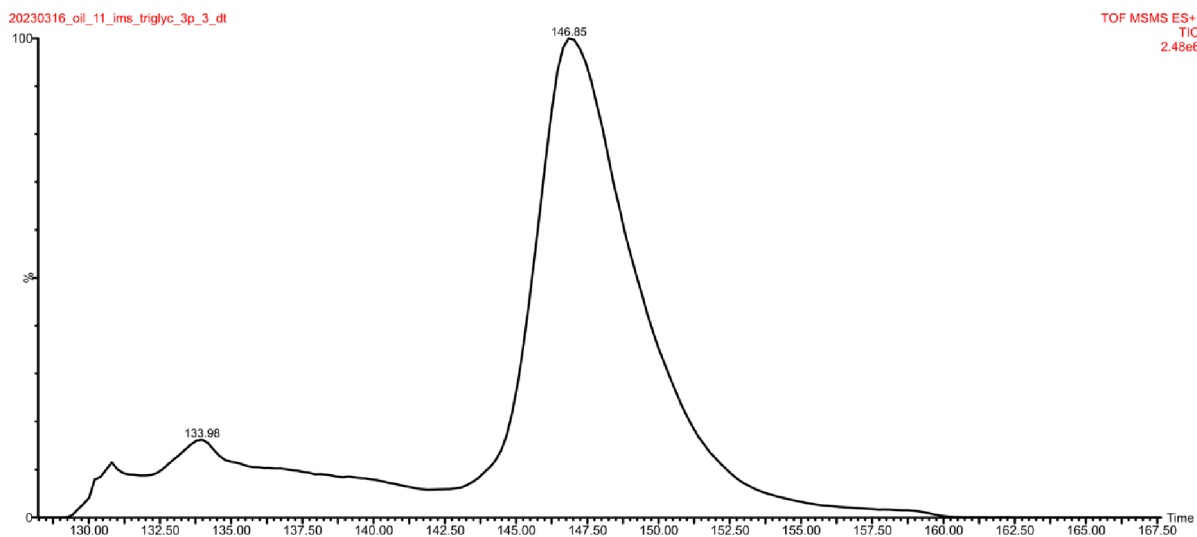


Obr. č. B19 – Mobilogram TAG vlašského oleje ztuženého na slunci a166/b

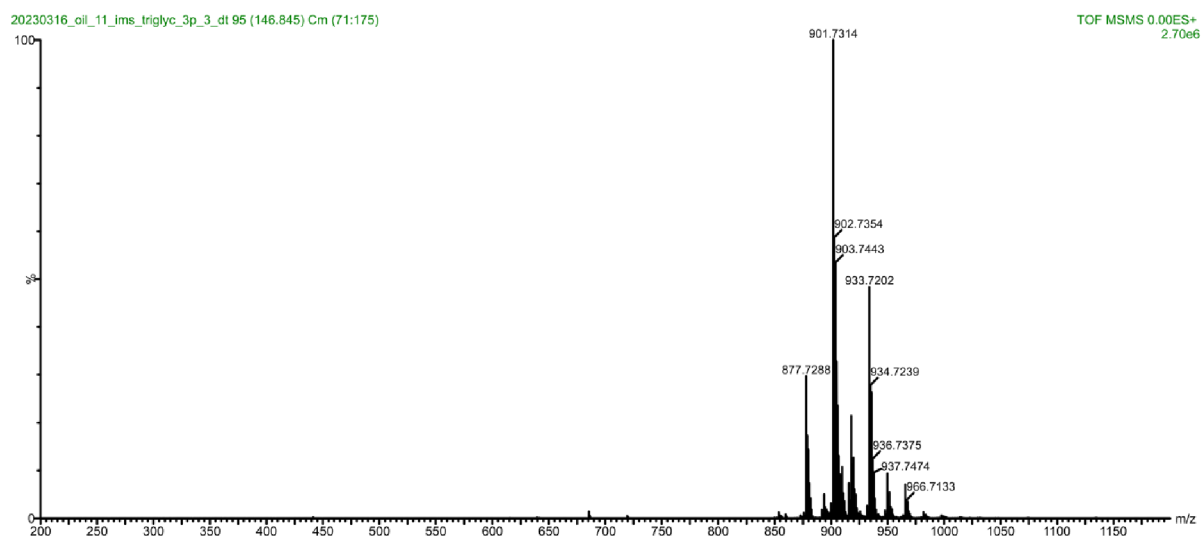


Obr. č. B20 – Hmotnostní spektrum TAG ořechového oleje ztuženého na slunci a166/b

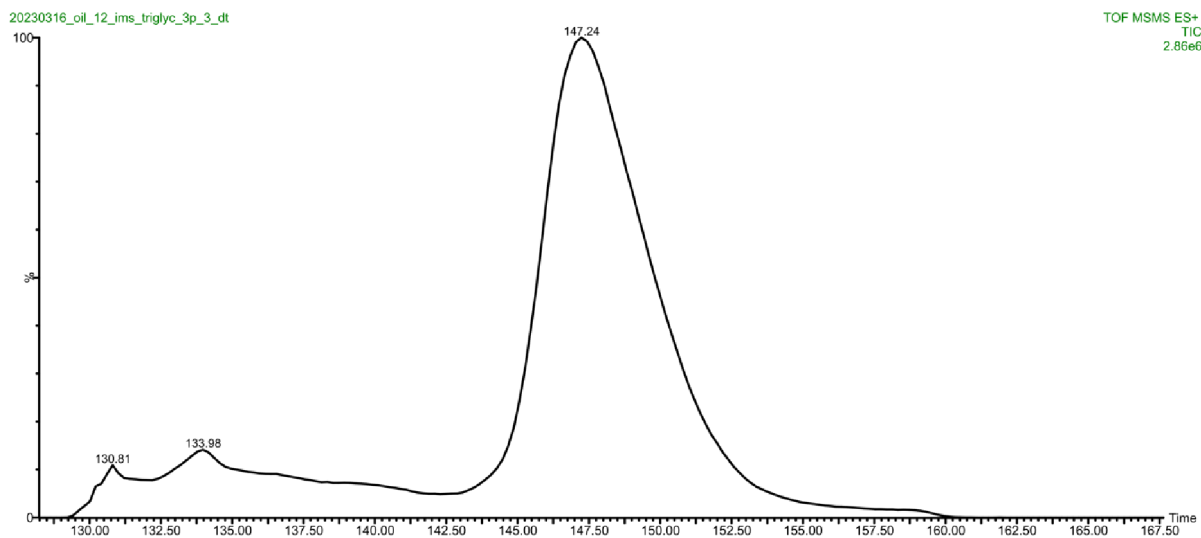




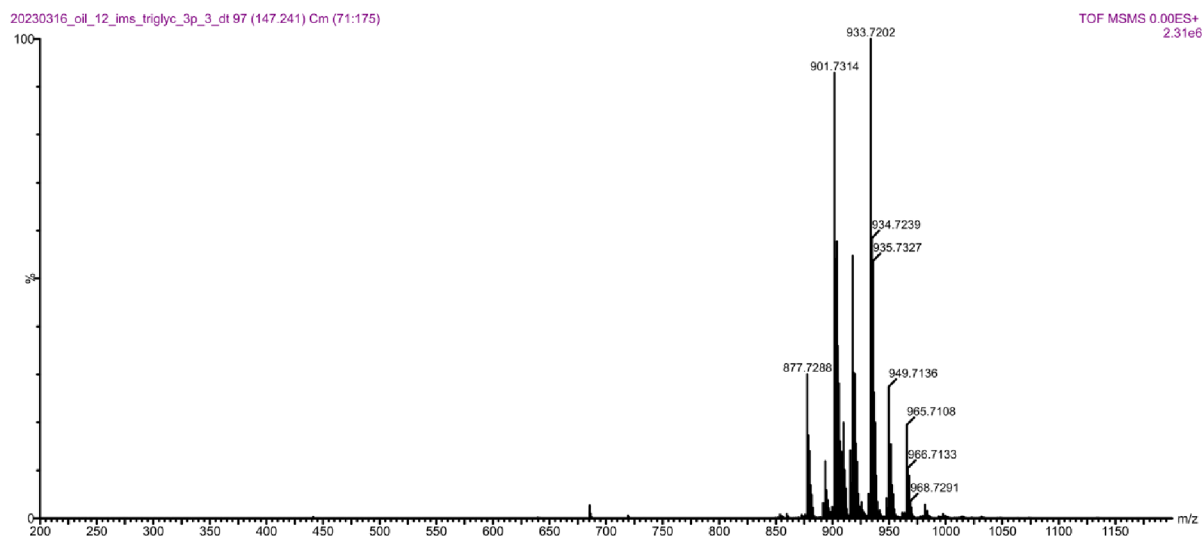
Obr. č. B21 – Mobilogram pro TAG makového oleje a28/c



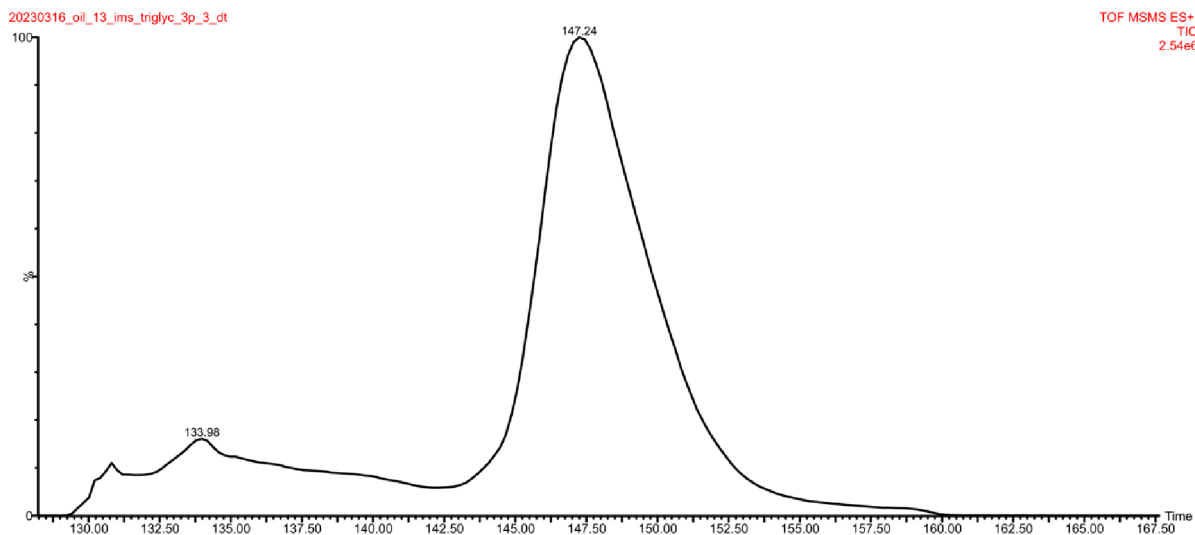
Obr. č. B22 – Hmotnostní spektrum pro TAG makového oleje a28/c



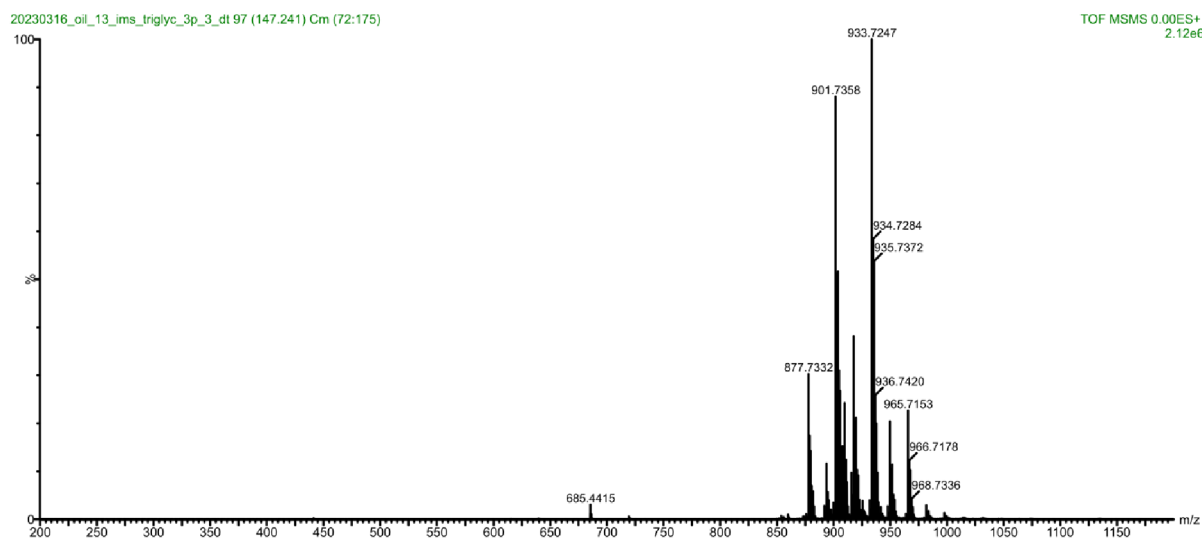
Obr. č. B23 – Mobilogram TAG makového oleje a28/e



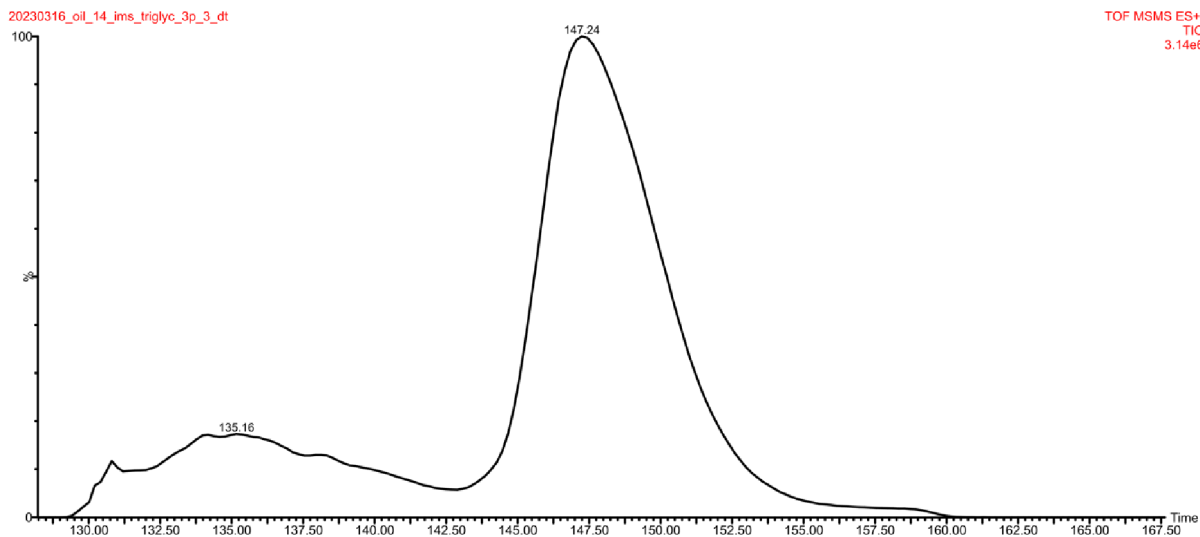
Obr. č. B24 – Hmotnostní spektrum TAG makového oleje a28/e



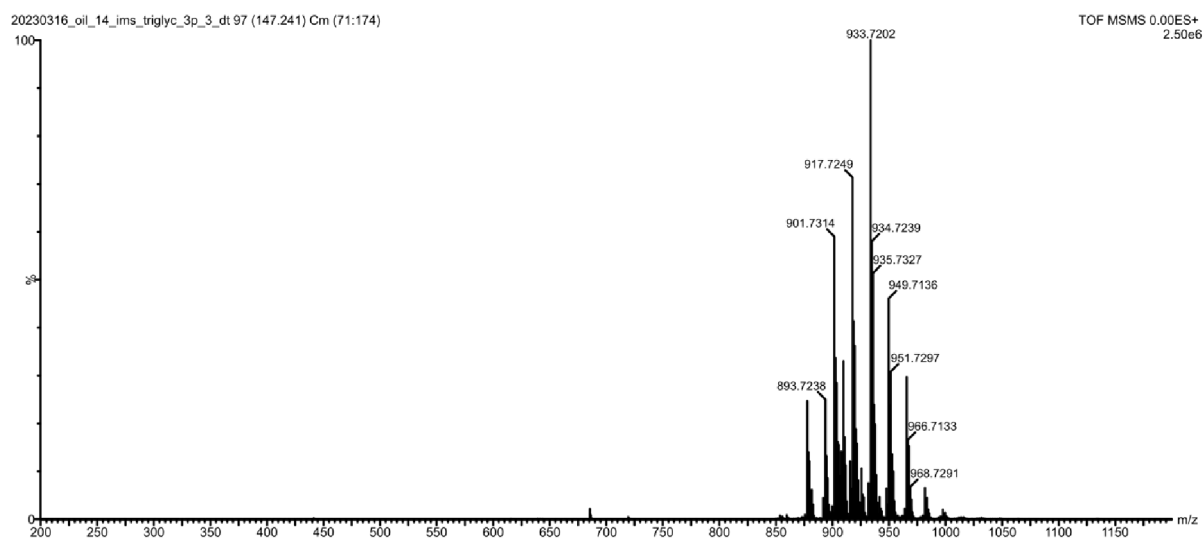
Obr. č. B25 – Mobilogram TAG makového oleje a28/f



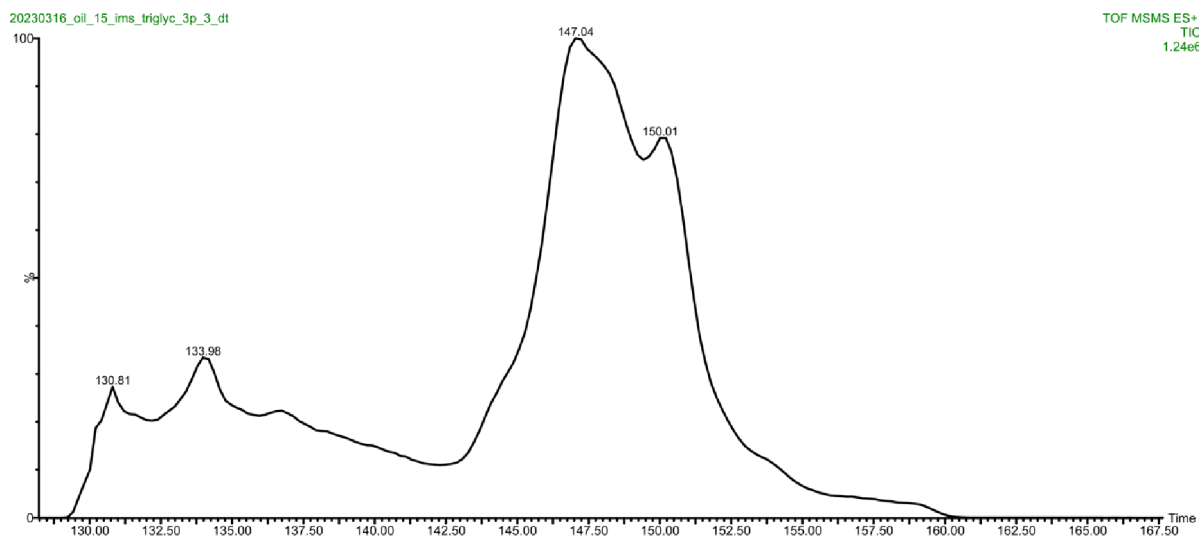
Obr. č. B26 – Hmotnostní spektrum TAG makového oleje a28/f



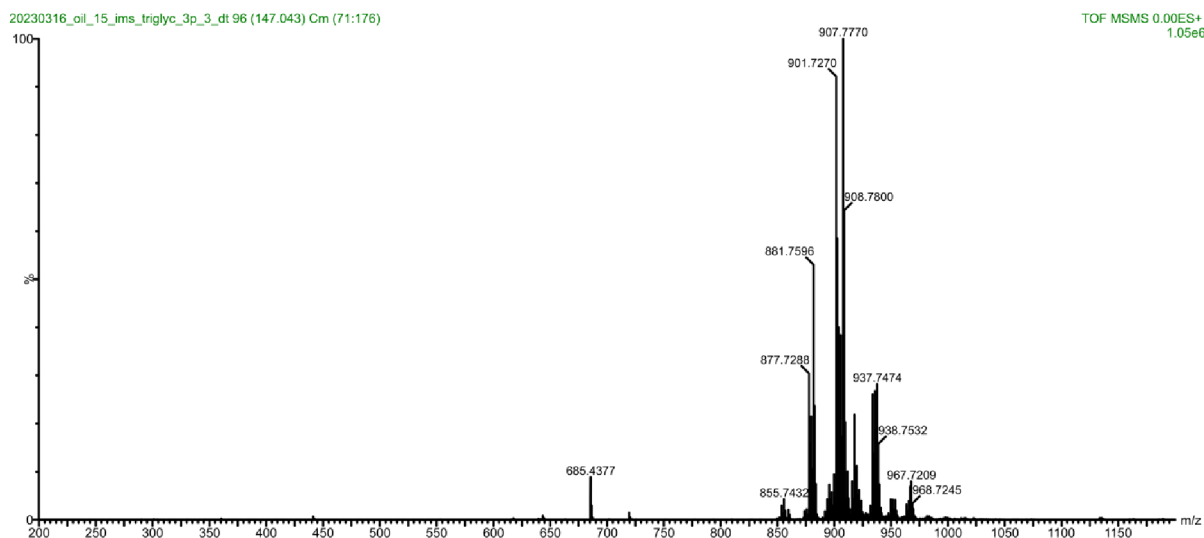
Obr. č. B27 – Mobilogram TAG makového oleje a28/d



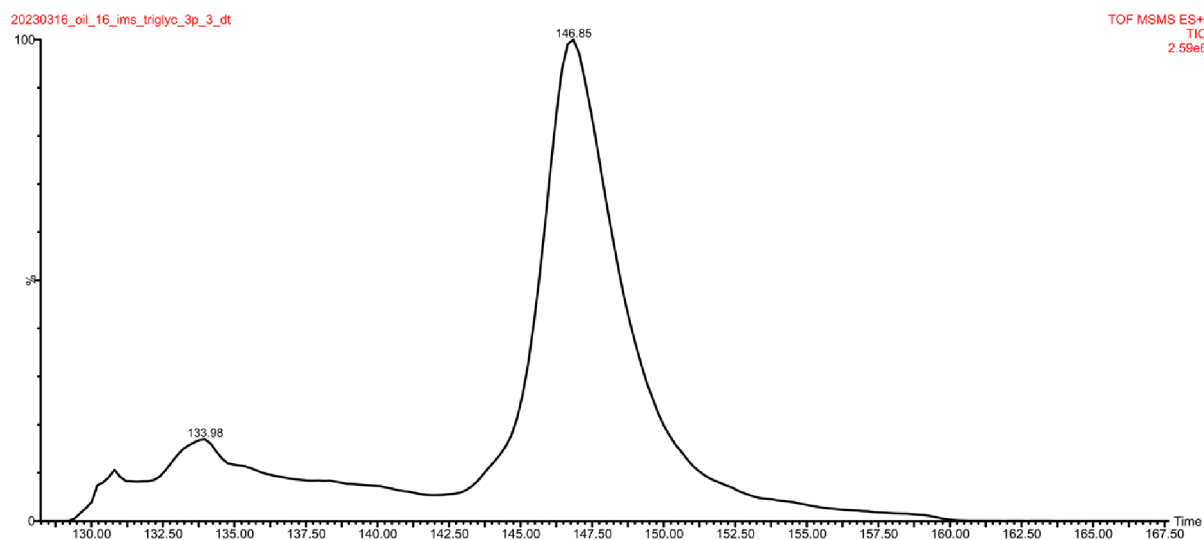
Obr. č. B28 – Hmotnostní spektrum TAG makového oleje a28/d



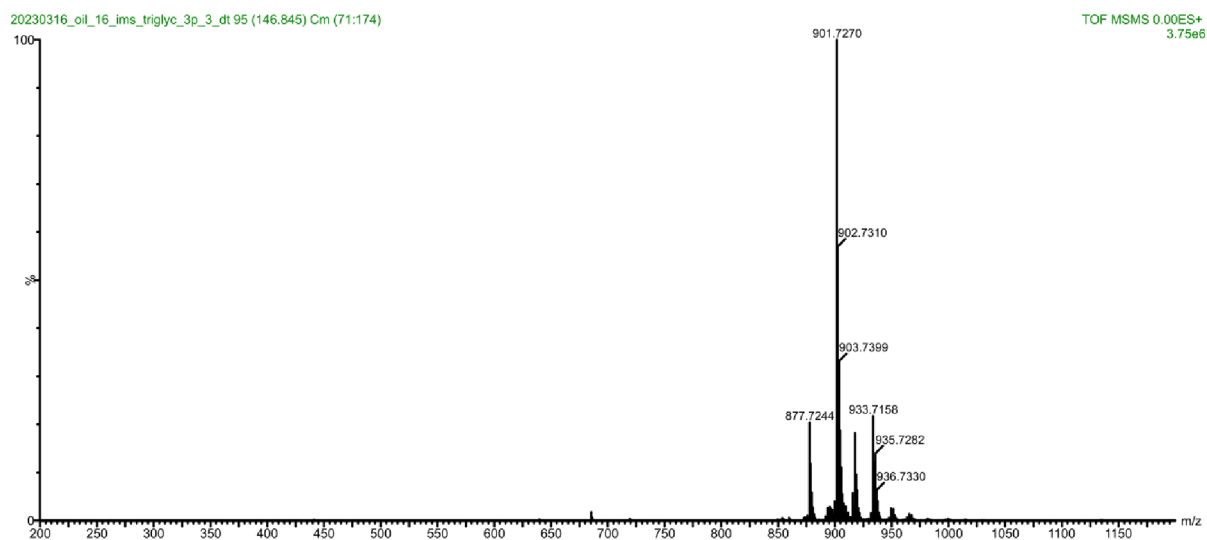
Obr. č. B29 – Mobilogram TAG olivového oleje a169/b



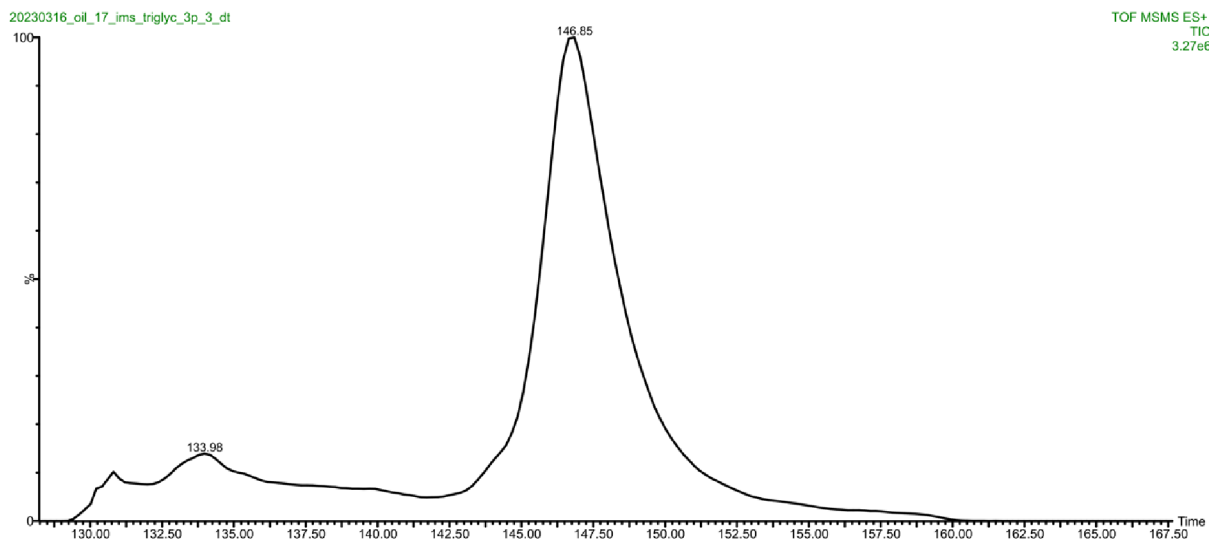
Obr. č. B30 – Hmotnostní spektrum TAG olivového oleje a169/b



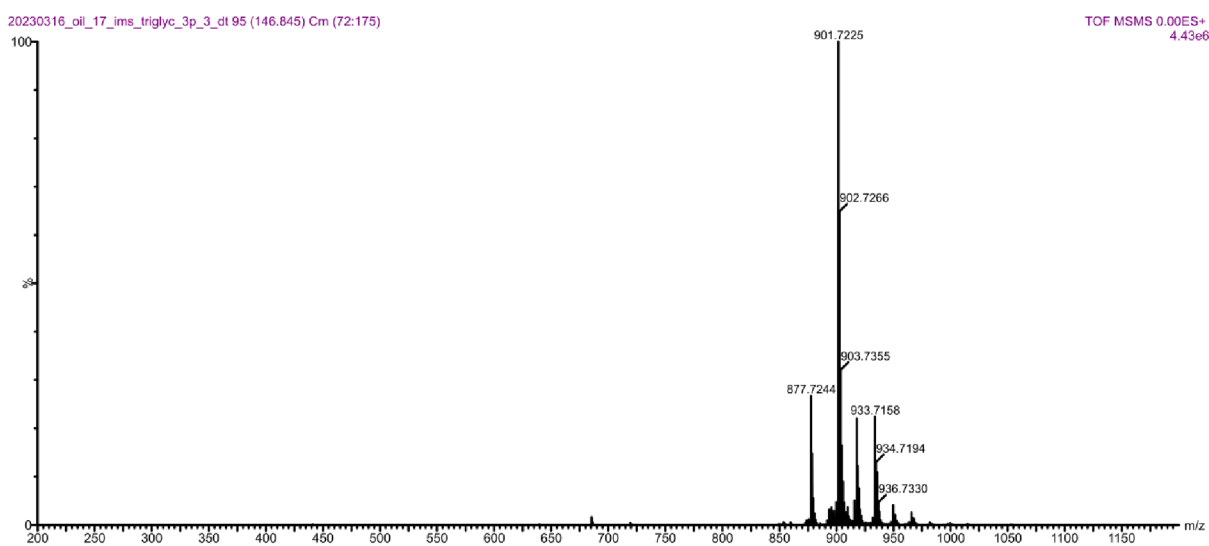
Obr. č. B31 – Mobilogram TAG saflorového oleje a33/b



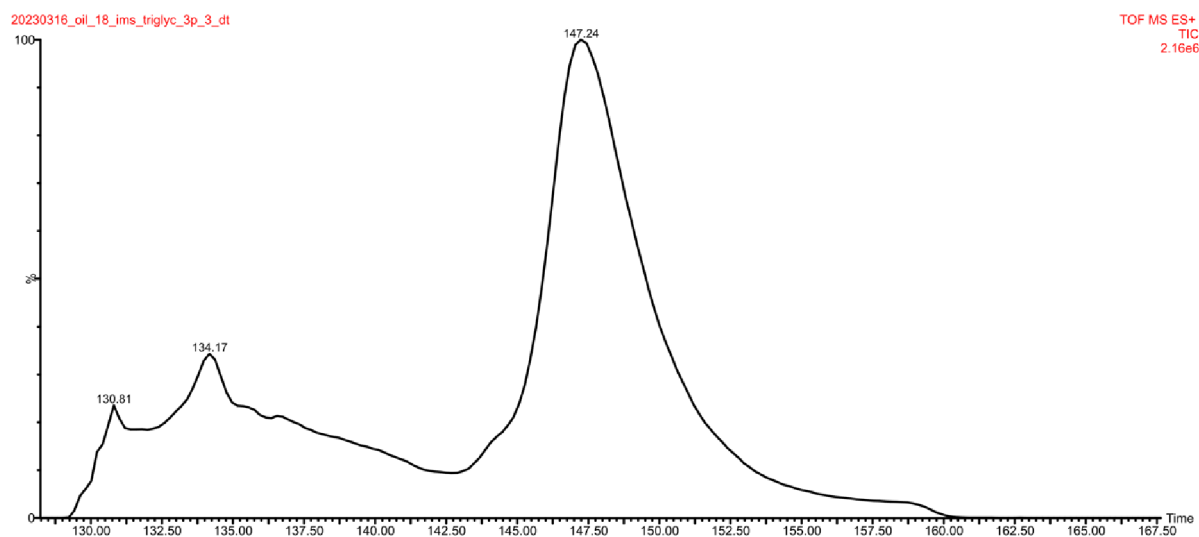
Obr. č. B32 – Hmotnostní spektrum TAG saflorového oleje a33/b



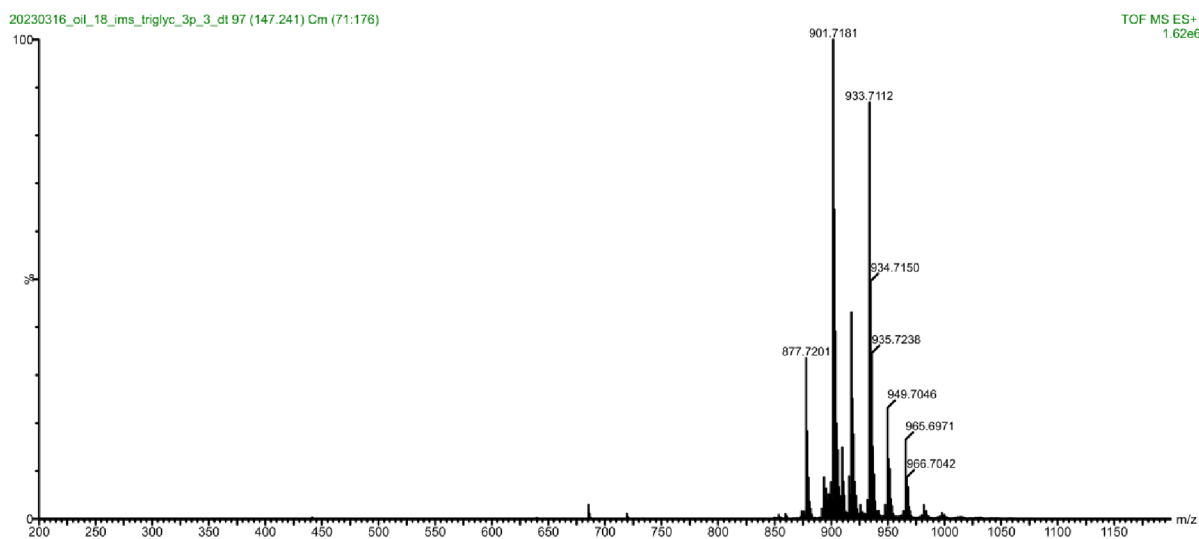
Obr. č. B33 – Mobilogram TAG saflorového oleje a33/c



Obr. č. B34 – Hmotnostní spektrum TAG saflorového oleje a33/c

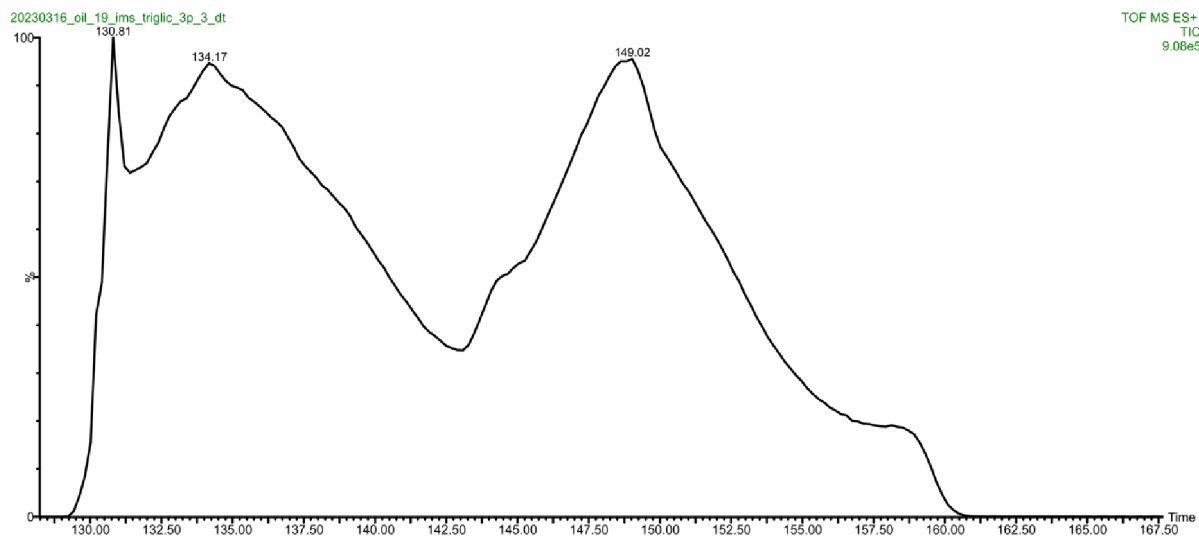


Obr. č. B35 – Mobilogram TAG saflorového oleje a33/e

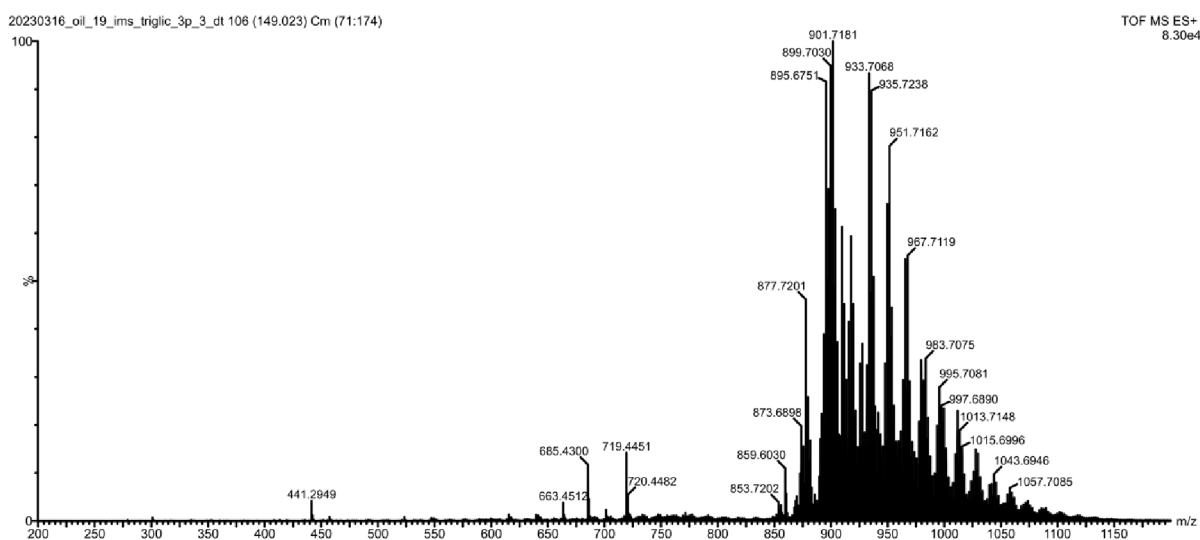


Obr. č. B36 – Hmotnostní spektrum TAG saflorového oleje a33/e





Obr. č. B37 – Mobilogram TAG konopného oleje a183



Obr. č. B38 – Hmotnostní spektrum TAG konopného oleje a183