

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Olomouc 2020

Zbyněk Žingor

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Studium materiálů pro přenos látek z archeologických objektů
k chemické analýze

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:	Zbyněk Žingor
Studijní obor:	Analytická chemie
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.
Konzultant:	RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

Olomouc 2020

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Zbyněk Žingor

Název práce: Studium materiálů pro přenos látek z archeologických objektů k chemické analýze

Typ práce: diplomová

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

Rok odevzdání práce: 2020

Anotace:

Tato práce tematicky navazuje na mou bakalářskou práci, ve které byla představena nová metoda chemické charakterizace povrchu archeologických předmětů po přenosu analytů polymerním nosičem k analýze.

V této diplomové práci jsem se zaměřil na studium barevných látek (barviv a pigmentů), jenž je možné nalézt na archeologických a uměleckých předmětech. Dále je diskutován vliv příměsí polymerního nosiče na ionizaci a desorpci barviv z povrchu polymeru. Jako modifikátor polymeru akrylonitril-butadien-styrenu (ABS), který je používán na 3D-tisk polymerního nosiče, bylo vyzkoušeno aktivní uhlí a termoplastický polyurethan.

Pro povrchové zobrazování látek otisknutých z povrchu studovaného vzorku byla použita Ramanova mikroskopie a hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí-ionizací za účasti matrice (MALDI-MS). Pomocí těchto technik bylo možno ze stejného polymerního nosiče analyzovat anorganické i organické látky.

Byl vytvořen modelový vzorek obsahující vybraná barviva a pigmenty. Pro vytvoření otisku analytů byl použit přístroj TSA (z angl. Thermo-chemical Stamp for Archaeometry), jenž byl zkonstruován na Katedře analytické chemie. Jako vhodný polymerní materiál pro 3D-tisk se osvědčil ABS s příměsí termoplastického polyurethanu. Postup umožňuje multimodální analýzu. Otisk látek z objektu bylo možno nejprve nedestruktivně analyzovat pomocí Ramanova mikroskopu a následně proměřit pomocí MALDI-MS. Mezi deponovanými anorganickými pigmenty byl nalezen masikot. Z deponovaných organických barviv byl nalezen safranin, oenin a kvercetin.

Vyvinutý postup byl testován na autentickém historickém vzorku malované dřevěné truhly z 19. století. Ve spektrech byly nalezeny dva signály, které mohou mít souvislost s rozložením barviv, pojiv nebo laků na povrchu truhly.

Klíčová slova: archeometrie, barviva, hmotnostní spektrometrie, laserová desorpce-ionizace, polymery, Ramanova mikroskopie, 3D-tisk

Počet stran:

Počet příloh: 0

Jazyk: český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Zbyněk Žingor

Title: Study of materials for the transfer of substances from archaeological objects to chemical analysis.

Type of thesis: diploma's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: doc. RNDr. Petr Bednář, Ph.D.

Consultant: RNDr. Lukáš Kučera, Ph.D.

The year of submission: 2020

Annotation:

This work thematically follows up on my bachelor thesis in which a new method for surface chemical characterization of archaeological objects after transfer of analytes using a polymeric carrier for analysis.

In this diploma thesis I focused on the study of colorants (dyes and pigments) which can be found on archaeological and artistic objects. The effect of polymer carrier modification on ionization and desorption of dyes from the polymer surface is discussed. Activated carbon and thermoplastic polyurethane have been tested as polymer modifiers of acrylonitrile-butadiene-styrene (ABS), which is used as common polymer for 3D printing.

Raman microscopy and matrix assisted laser desorption-ionization mass spectrometry (MALDI-MS) were used for surface imaging of imprint of transferred substances from the sample surface. Using these techniques, it was possible to analyse inorganic and organic compounds from the same polymeric carrier.

A model sample containing selected dyes and pigments was created. A Thermochemical Stamp for Archaeometry (TSA), that was developed at Department of Analytical chemistry, was used to create the imprint of analytes. The ABS with thermoplastic polyurethane modifier has proven to be a suitable polymer for 3D printing. The developed procedure allows multimodal analysis. Imprint of analytes from the studied object was analysed first using a Raman microscope and then by MALDI-MS imaging. Among deposited inorganic pigments massicot was found. Safranin, oenin and quercetin were found among deposited organic dyes.

Finally, this method was verified on an authentic historical sample of a painted wooden chest from the 19th century. Two signals were found in the spectra which may be related to the distribution of dyes, binders or varnishes on the surface of the chest.

Keywords: archaeometry, colorants, mass spectrometry, laser desorption-ionization, polymers, Raman microscopy, 3D printing

Number of pages:

Number of appendices: 0

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 dne

Podpis

Poděkování:

Toto poděkování bych chtěl věnovat svému vedoucímu diplomové práce doc. RNDr. Petru Bednářovi, Ph.D. za věcné rady a připomínky. Dále bych chtěl poděkovat svému konzultantovi RNDr. Lukáši Kučerovi Ph.D. za trpělivost a dobré rady při práci v laboratoři.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině, přítelkyni a přátelům za podporu a vytvoření ideálních podmínek ke studiu.

Celá práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky (č.: 17-17346S) a grantu Univerzity Palackého v Olomouci (IGA_PrF_2018_027). Děkuji Vlastivědnému muzeu v Olomouci za svolení k odběru vzorku z předmětu z jejich depozitáře.

Obsah

1 Úvod.....	12
2 Chemické analýzy v archeologii.....	13
2.1 Analytická chemie pigmentů a barviv	13
2.1.1 Analyty organického původu	14
2.1.2 Anorganické analyty – pigmenty	27
2.2 Pojiva, laky a další doprovodné látky nacházející se na uměleckých dílech.....	32
2.3 Nejčastější techniky pro analýzu historických pigmentů a barviv	35
2.3.1 Zobrazovací techniky	35
2.3.2 Infračervená spektroskopie	36
2.3.3 Ramanova spektroskopie.....	36
2.3.4 Rentgenové metody.....	37
2.3.5 Hmotnostní spektrometrie	39
2.4 Materiály vhodné k přenosu analytu	41
3 Experimentální část	42
3.1 Chemikálie.....	42
3.2 Polymery.....	42
3.3 Vzorky – pigmenty a barviva	42
3.4 Parametry měření na hmotnostním spektrometru Synapt G2-S	43
3.5 Metodika měření pomocí Ramanova mikroskopu.....	44
3.6 MALDI-MS analýza organických barviv z polymerního nosiče	44
3.7 Příprava modifikovaných polymerních nosičů.....	45
3.8 MALDI-MS analýza barviv a pigmentů z modifikovaných polymerních nosičů .	46
3.9 Popis a použití zařízení TSA (Thermo-chemical Stamp for Archaeometry)	47
3.10 Ramanova spektrometrie standardů pigmentů	47
3.11 MALDI-MS zobrazování otisku na polymerním nosiči.....	48
3.11.1 MALDI holder – držák podložních sklíček.....	50
3.12 Analýza autentického historického vzorku.....	50
3.12.1 Odběr vzorku.....	51
4 Výsledky a diskuse	53
4.1 Chemické pozadí použitých polymerů	53
4.2 Ionizace vybraných látek na polymerních nosičích.....	54
4.3 Ramanova mikroskopie vybraných pigmentů	68

4.4 Modelový vzorek.....	77
4.5 Analýza autentického historického objektu.....	80
5 Závěr.....	83
6 Seznam použité literatury.....	85

Seznam použitých zkratk:

ABS	Akrylonitril-butadien-styren
ABS-C	Akrylonitril-butadien-styren modifikovaný příměsí aktivního uhlí
ABS-TPU	Akrylonitril-butadien-styren modifikovaný příměsí termoplastického polyurethanu
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization (Chemická ionizace za atmosférického tlaku)
APPI	Atmospheric pressure photoionization (fotoionizace za atmosférického tlaku)
ATR	Attenuated total reflection (zeslabený totální odraz)
CHCA	kyselina α -kyano-4-hydroxyisobutyrátová
CI	Chemical ionization (chemická ionizace)
CT	Charge-transfer (přenos náboje)
DAD	Diode-array detector (detektor diodového pole)
DESI	Desorption electrospray ionization (desorpční elektrosprej)
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDS	Energy dispersive spectroscopy (energieově disperzní spektroskopie)
EDXRF	Energy dispersive X-ray fluorescence (energieově disperzní rentgenová fluorescence)
EI	Electron ionization (ionizace elektronem)
Er:YAG laser	Erbium dopovaný yttrium aluminium granátový laser
ESEM	Environmental scanning electron microscope (Environmentální rastrovací elektronová mikroskopie)
ESI	Electrospray ionization (ionizace elektrosprejem)
EVA	Ethylvinylacetát
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací)
GALDI	Graphite-assisted laser desorption/ionization (grafitem asistovaná laserová desorpce/ionizace)
GC	Gas chromatography (plynová chromatografie)
HPLC	High-performance liquid chromatography (Vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
ICP-OES	Inductively coupled plasma – optical emission spectrometry (optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem)
ICR	Ion cyclotron resonance (iontová cyklotronová rezonance)
IČ	Infračervená oblast spektra, infračervená spektrometrie

IR	Infračervená spektrometrie
IT	Ion trap (iontová past)
LA-ICP-MS	Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (laserová ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou)
LC	Liquid chromatography (kapalinová chromatografie)
LDI-MS	Laser desorption/ionization mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací)
MA-XRF	Macroscopic X-ray fluorescence (makroskopické skenování rentgenovou fluorescencí)
MALDI	Matrix-assisted laser desorption/ionization (laserová desorpce/ionizace za účasti matrice)
MeOH	Metanol
μ -XRF	Micro X-ray fluorescence (rentgenová fluorescenční mikroskopie)
MRM	Multiple reaction monitoring (sledování více reakcí)
MS	Mass spectrometry (hmotnostní spektrometrie)
MSI	Mass spectrometry Imaging (zobrazovací hmotnostní spektrometrie)
MS/MS	Tandem mass spectrometry (tandemová hmotnostní spektrometrie)
Nd:YAG-laser	Yttrium aluminium granátový laser obohacený neodymem
PIGE	Particle-induced gamma-ray emission (částicemi indukovaná emise gama záření)
PIXE	Particle induced X-ray emission (částicemi indukovaná rentgenová emise)
PLA	Polylactic acid (kyselina polyléčná)
Q-TOF	Quadrupole Time-of-flight (kvadrupól s analyzátozem doby letu)
RP	Reverse phase (reverzní fáze)
RRUFF	Raman research used for fun
SEM	Scanning electron microscopy (skenovací elektronová mikroskopie)
SERS	Surface-enhanced Raman scattering (povrchem zesílená Ramanova spektroskopie)
SR-XRF	Synchrotron radiation X-ray fluorescence (rentgenová fluorescence synchrotronového záření)
THS	Tandemová hmotnostní spektrometrie
Thz	Terahertz
TOF	Time of flight analyzer (analyzátor doby letu)

TPIS	Terahertz pulse imaging and spectroscopy (Terahertzové pulzní zobrazování a spektroskopie)
TPU	termoplastický polyuretan
TSA	Thermochemical stamp for archaeometry (termochemické razítko pro archeometrii)
UHPLC	Ultra-high-performance liquid chromatography (Ultra vysoce účinná kapalinová chromatografie)
UV	Ultrafialová oblast spektra
VIS	Viditelná oblast spektra
XRD	X-ray diffraction (rentgenová difraktometrie)
XRF	X-ray fluorescence (rentgenová fluorescence)

1 Úvod

Analytická chemie dnes poskytuje silné nástroje pro získání informací téměř z každého objektu, na který si vzpomeneme. Využití našla i při analýze archeologických a uměleckých objektů. Hlavním cílem při analýze archeologických objektů je poznání materiálu, z jakého objekt pochází, z jakého období a jak byl používán. Získání těchto informací spolu s poznatky z ostatních vědních oborů poskytuje celkový obraz společnosti a období, ve kterých objekt vznikl nebo byl vytvořen. Každý takový poznatek je malým střípkem vědění, které se samo o sobě nemusí zdát důležité, ale společně s ostatními informacemi i z jiných (nepřírodovědných) oborů tvoří dokonalou mozaiku pro porozumění lidským dějinám. Analýzy nám navíc mohou poskytnout informace, jak archeologické objekty a umělecká díla zachovat a udržet jejich historický odkaz pro budoucí generace.

Společný kontakt více vědních oborů samozřejmě není bezproblémový. Jednou z největších překážek při analýze archeologických objektů a uměleckých děl je míra invazivity analytických metod, kterou mohou kurátoři sbírek povolit. U velmi cenných objektů většinou není možný žádný větší zásah nebo odběr vzorků a často jsme omezeni na techniky neinvazivní nebo nejvýše mikro-invazivní. Vhodný moment pro mikro-odběr vzorku u takto cenných předmětů může nastat při restaurátorském zásahu.

Cílem této práce bude ověření nové metody studia uměleckých děl pomocí metody nepřímého zobrazování, která byla již představena v předchozí práci [1] a která myšlenkově vychází z práce kolektivu autorů z týmu prof. Righettiho [2, 3]. Metoda popisovaná v této diplomové práci zahrnuje Ramanovu spektrometrii a MALDI-MS. Použití metod v tomto pořadí umožňuje vzhledem k neinvazivitě Ramanovy mikroskopie multimodální analýzu otisků povrchů vzorků. Je výhodné, že tyto techniky umožňují analyzovat jak organické, tak i anorganické látky. Testovaná metoda byla vyzkoušena na modelovém vzorku obsahujícím organická i anorganická barviva a pigmenty. Dále bylo prostudováno použití různých modifikátorů, které by měly usnadnit ionizaci analytu z povrchu polymerního nosiče. Nakonec byla tato metoda otestována na autentickém historickém vzorku, což ukazuje možnou využitelnost navrhovaného konceptu v reálné situaci.

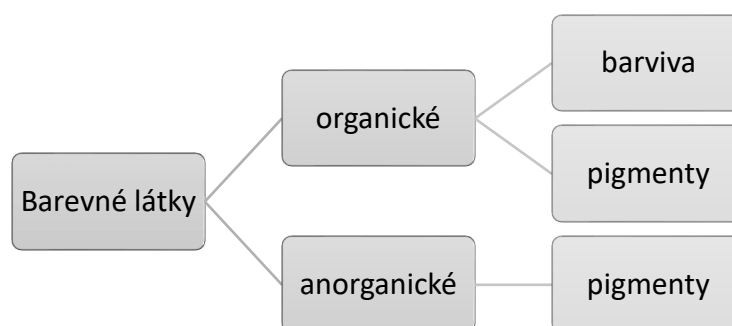
2 Chemické analýzy v archeologii

V průběhu času byla chemická analýza využita pro charakterizaci prakticky všech typů historických nálezů. Nejčastěji studované archeologické materiály jsou keramika, sklo, smaltované předměty, drahokamy, minerály, obrazy na plátně, dřevomalby, fresky, kosti, pryskyřice, zbytky textilu a předměty z kovu [4].

2.1 Analytická chemie pigmentů a barviv

Jednou z hlavních skupin látek zkoumaných na povrchu historických objektů jsou barviva a pigmenty. Tyto látky byly používány k barvení látek, keramiky nebo předmětů umělecké povahy jako jsou sochy, obrazy nebo tapiserie. Barevnost předmětů vypovídá mnoho o jejich vzniku a lidech, kteří je vytvořili a užívali. Vlastnictví různě barevné látky mohlo vypovídat o společenské příslušnosti, povolání nebo společenském postavení nositele [5].

Vývoj nové metody pro analýzu barviv se stal hlavním cílem této práce. Materiály používané k barvení lze rozdělit na organická barviva a pigmenty a anorganické minerální pigmenty (rozdělení na Obr. 1; převzato z [6]). Vybrané látky z těchto skupin byly využity při testování nové metody pro přenos analytu na polymerním nosiči a následném MALDI-MS experimentu. Anorganické pigmenty budou detailně popsány v kapitole 2.1.2. Analýza deponovaných anorganických pigmentů byla prováděna pomocí Ramanovy mikrospektroskopie.



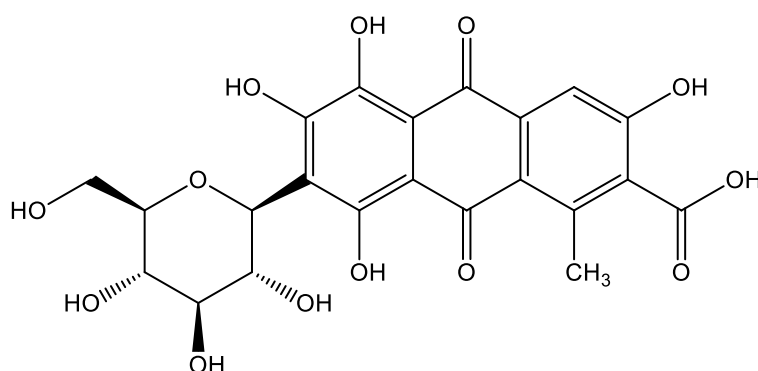
Obr. 1 Rozdělení barevných látek

2.1.1 Analyty organického původu

Organická barviva a pigmenty byly získávány z přírodních zdrojů od pradávna. Tyto látky jsou produkovány rostlinami nebo živočichy. Přírodní barviva dělíme do pěti základních kategorií: pyrrolová, karotenoidní, chinonová, indolová a pyranová barviva. Úplný výčet těchto barviv a pigmentů by značně přesáhl rozsah této práce, a proto níže uvádím pouze ty, které jsou využívány v experimentální části.

Kyselina karmínová (košenila)

Kyselina karmínová patří mezi chinonová barviva. Struktura kyseliny karmínové je uvedena na Obr. 2. Přírodním zdrojem košenily je samička brouka Červce nopálového (*Dactylopius coccus*). Sušením a mletím těchto brouků vzniká červené barvivo – košenila, ve které je kyselina karmínová významnou složkou [7]. Dále rozeznáváme barvivo kermes, což je nepravé karmínové barvivo získávané z těl samic červce *Kermes vermilio* a košenilu polskou a arménskou, které se získávají z těl červců *Porphyrophora polonica* a *Porphyrophora hameli*. Kermes neobsahuje kyselinu karmínovou. Poslední dva druhy se liší obsahem kyseliny karmínové, kyseliny kermesové a kyseliny flavokermesové. Dále se pod termínem „karmín“ někdy vyskytuje barvivo s přesnějším označením Laka, které se získává z výměšků indického brouka červce lakového (*Kerria lacca*, dříve také *Coccus laccae*). Barvivo Laka obsahuje především kyselinu lakaovou A [8]. Vzorec kyseliny karmínové je zobrazen níže.



Obr. 2 Struktura kyseliny karmínové; $C_{22}H_{20}O_{13}$

Kyselina karmínová byla identifikována například na soše Panny Marie z Copacabany. Tato socha byla zdobena technikou „esgrafiado“, kdy je pozlacení překryto barvivem a poté je do něj vyryt ozdobný vzor. Tato technika byla oblíbená ve Španělsku mezi 15. až 18. stoletím. Tomasini a kol. [9] analyzovali dva vzorky z této sochy, každý o velikosti kolem

1x1,5 mm. Při analýze červeného vzorku pomocí Ramanovy spektrometrie zjistili přítomnost charakteristických pásů 469, 570, 1110, 1256, 1315, 1485 a 1645 cm^{-1} . Přítomnost kyseliny karmínové potvrdili pomocí HPLC-DAD, kde UV spektrum látky eluované v píku ve 14,25 minutě obsahovalo absorpční pásy při 275, 311, 495 a 531 nm. Toto se shodovalo se spektrem standardu kyseliny karmínové. Jako zdroj tohoto barviva označili autoři červce *Dactylopius coccus*.

Dále byla kyselina karmínová nalezena na oinochoe (Obr. 3, převzato z [10]) ze starověkého Řecka, která pochází ze 4. až 3. století před naším letopočtem. Pro analýzu této nádoby na víno použili Dyer a kol. [11] vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii s detekcí hmotnostním spektrometrem (s ionizací elektrosprejem a hybridním analyzátozem využívajícím kvadrupól a detektor doby letu, ESI-Q-TOF). Z pěti odebraných vzorků tři obsahovaly kyselinu karmínovou. Dyer a kol. uvádí, že pro správné určení zdroje karmínu jsou důležité minoritní markery, kterými jsou: kyselina kermesová, kyselina flavokermesová a kyselina lakaová. V analyzovaném vzorku byla jako majoritní zjištěna kyselina flavokermesová. Kyseliny lakaová A, kyselina karmínová a kyselina kermesová byly zastoupeny v menším množství.



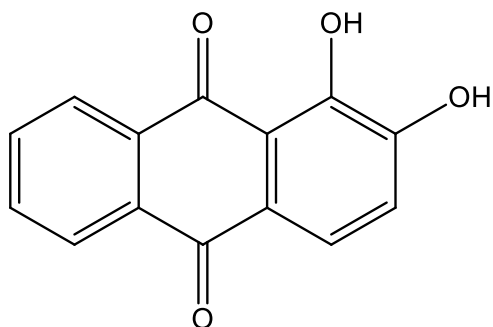
Obr. 3 Oinochoe, se sochou Nike

Autoři uvažují, že jako zdroj červeného barviva mohl být použit kermes (črvec *Kermes vermilio*) ve směsi s košenilou anebo polská košenila, která avšak není pro tuto dobu typická. Přítomnost kyseliny lakaové A, která je typická pro Červce lakového (*Kerria Lacca*), je klíčová, protože velmi snadno podléhá acidolýze za vzniku kyseliny kermesové a flavokermesové (lakaové D), což vysvětluje pozorovaný majoritní obsah kyseliny flavokermesové. Autoři se proto domnívají, že jako nejpravděpodobnější zdroj košenilového barviva byl Črvec lakový.

Dále byla karmínová barviva využívána k barvení látek. Pravá košenila i kermes byly nalezeny ve vzorcích tkanin z kolekce Fill-Trevisiol [12]. Tato kolekce obsahuje asi 200 vzorků egyptských látek z 2. až 10. století našeho letopočtu.

Alizarin

Mezi základní zdroje barviv patřila již od starověku mořena barvířská (*Rubia tinctorum*) a ostatní rostliny z čeledi mořenovitých (*Rubiaceae*). Tyto rostliny obsahují antrachinonová barviva – alizarin, purpurin, rubiadin a deriváty těchto látek, které jsou známé červeným zbarvením. Alizarin, stejně jako kyselina karmínová, náleží mezi chinonová barviva. Struktura alizarinu je zobrazena na Obr. 4.



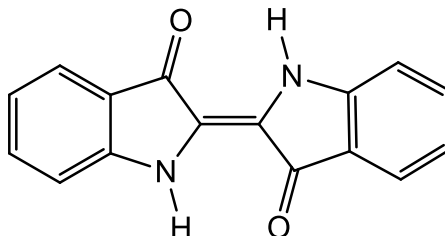
Obr. 4 Struktura alizarinu; $C_{14}H_8O_4$

Stopy alizarinu byly nalezeny například v částech starověké keramiky nalezené v jižním Ománu. Ribechinim a kol. tyto artefakty analyzovali pomocí LDI-TOF, přičemž v negativním modu identifikovali u tří ze dvanácti vzorků pík s m/z 239 a méně intenzivní pík s m/z 255, které přísluší deprotonovaným molekulám alizarinu a purpurinu. Autoři se domnívají, že se mohlo jednat o přísadu potřebnou k dosažení požadovaného odstínu fialové barvy. Také mohlo jít o nánosy barviv z různých dob, přičemž některé tyto analyzované nádoby mohly být používány k barvení pomocí fialového i červeného barviva [13]. Další práce aplikovaly především povrchově zesílenou Ramanovu spektrometrii (SERS), u které poskytuje alizarin velmi dobrou odezvu [14, 15].

Indigo

Indigo (indigotin) bylo dalším často užívaným barvivem. Struktura je uvedena na Obr. 5. Přírodním zdrojem indiga je boryt barvířský (*Isatis tinctoria*) nebo indigovník pravý (*Indigofera tinctoria*). Používalo se především k barvení látek, kterým propůjčovalo různé odstíny modré nebo purpurové barvy. Purpurové zbarvení se získalo smísením indiga s jinou látkou červené barvy, např. s alizarinem získaným z mořeny barvířské. Tato směs se používala hlavně kvůli nedostatku pravého purpurového barviva, které bylo velmi drahé a špatně dostupné, protože se pracně získávalo z mořských plžů z čeledi ostrankovitých

(*Muricidae*). Právě purpurové barvivo, nazývané také Tyrský purpur nebo císařský purpur, patří mimo jiné taky mezi indolová barviva. Hlavním zdrojem purpurové barvy zde je 6,6'-dibromindigo, triviálně punicin [16].



Obr. 5 Struktura indigotinu; $C_{16}H_{10}N_2O_2$

Indigo bylo detekováno i v archeologických vzorcích nalezených na našem území, které studoval Kohout a kol. Vzorky, které studovali, pocházely z archeologického naleziště na Novém Městě pražském. Celkem studovali 172 vzorků z textilních fragmentů. Malou část vzorku (0,1-10 mg) nejdříve extrahovali směsí rozpouštědel MeOH : CH₂Cl₂ : HCOOH (70:25:5) v ultrazvukové lázni, a poté byl extrakt separován pomocí RP-HPLC. Nástrík činil 20 μl, jako kolona byla použita C18 Hypersil Gold s velikostí částic 1,9 μm s předkolonou (velikost částic 3 μm) vyhřívaná na 35 °C. Pro separaci byla použita lineární gradientová eluce (A: H₂O s 0,1% HCOOH (v/v), B: MeOH s 0,1% HCOOH (v/v); 0 min – 50 % A a 50% B, 3-5 min – 50%-5 % A a 50%-95 % B; 7-10 min 5%-50 % A a 95%-50 % B). Pro detekci byla použita vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie s negativní ionizací elektrospřejem. Výskyt indigotinu z borytu zjistili u 50 vzorků, přičemž 19 z nich obsahovalo kombinaci borytu a mořeny, což může právě znamenat výše zmiňovanou snahu o napodobení purpurové barvy. Prává purpurová barviva nebyla ve vzorcích zjištěna [5].

I další práce se zabývaly zkoumáním textilií barvených indigem pomocí HPLC. Ve větším počtu se vyskytovaly práce, ve kterých byl použit detektor diodového pole (DAD), některé práce používaly kapalinovou chromatografii i ve spojení s hmotnostní spektrometrií [17–19]. Za zmínku stojí práce Ribechiniho a kol., ve které používají hmotnostní spektrometrii s laserovou desorpčí/ionizací pro studium organických pigmentů. Jejich vzorky pocházely z ománského přístavu Sumhuram, který ležel na Kadidlové stezce, což byla ve starověku důležitá obchodní cesta mezi Asií a Evropou. Ribechini a kol. studovali vzorky keramiky se zbytky fialovo-růžové látky a jejich cílem bylo najít bromované deriváty indiga, které přísluší purpurovým pigmentům pocházejícím z ostranek. Při měření standardu indiga našli v negativním modu ve spektru pík m/z 261 odpovídající

jeho deprotonované molekule. V pozitivním modu našli při měření standardu radikál-kation m/z 262 a sodný a draselný adukt (m/z 285 a m/z 301). Sledování výše zmíněných signálů bylo použito při analýze reálných vzorků. Pík m/z 261 byl nalezen v negativním modu u některých vzorků. V pozitivním modu byly nalezeny píky protonovaného indigotinu (m/z 263) nebo jeho aduktů. Pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole (HPLC-DAD) provedli autoři semikvantitativní analýzu. Autoři stanovili relativní poměr obsahu jednotlivých indolových barviv. Indigo našli v osmi z dvanácti analyzovaných vzorků [20].

Luteolin

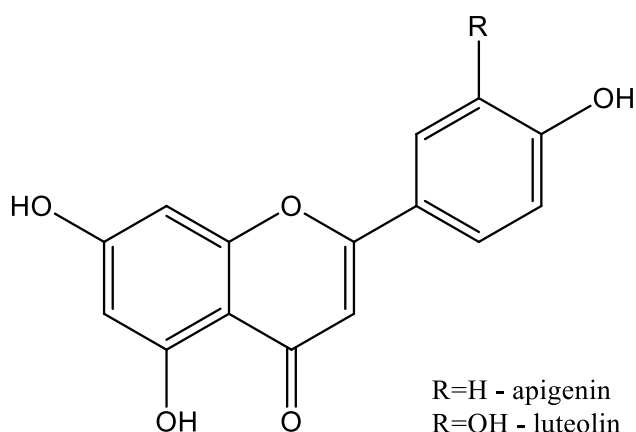
Další tradiční rostlinou, ze které se získávalo barvivo, je rýt barvířský (*Reseda luteola*). Z této rostliny extrahovali flavonoid luteolin a jeho deriváty, pomocí kterých získávaly různé odstíny žluté. Dalším zdrojem luteolinu může být kručinka barvířská (*Genista tinctoria*) anebo srpice barvířská (*Serratula tinctoria*). Určit zdroj tohoto barviva je někdy nemožné, protože markery (antrachinony a další flavonoidy) doprovázející luteolin rychle degradují nebo jsou ve vzorcích pod limitem detekce [21].

Analýzou barevných tkanin a vláken z provincie Xinjiang se zabýval X. Zhang a kol. Extrakcí a následnou analýzou pomocí HPLC-DAD-MS potvrdili přítomnost luteolinu a jeho derivátu luteolin-7-glykosidu ve žlutých látkách a vláknech [22]. Starověké pozůstatky látek z oblasti Xinjiang a Yingpan zkoumal i Liu a kol., kteří pomocí HPLC-DAD také identifikovali přítomnost luteolinu jako žlutého barviva na vlněných látkách. Domnívají se, že tato žlutá barviva mohla být do starověké Číny dovážena ze západní Asie nebo Středního Východu po hedvábné stezce, protože nebyly nalezeny žádné důkazy o pěstování rostlin poskytujících luteolin v samotné starověké Číně [23]. Dalším archeologickým nálezem původem z Číny, na kterém byla analyzována barevná vlákna, byla nástěnná vyšívaná látka z 8. století zachycující Buddhistický námět „*Sakyamuni kázající na supím vrchu*“. Toto dílo studoval Tamburini a kol. s pomocí HPLC ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií využívající Q-TOF detektor s ionizací elektrosprejem. V různých vzorcích identifikovali několik organických barviv. Mezi nimi našli i luteolin a jeho deriváty: luteolin-4'-O-glukosid, luteolin-7-glukosid a luteolin-glukuronid. Tyto analyty byly nalezeny na hedvábných vláknech zbarvených do žluta, červeno-oranžova, růžova a zelena. Tamburini a kol. označili za možný zdroj barviv rýt

barvířský (*Reseda luteola*) na základě přítomnosti chrysoeriolu (3'-methoxyapigeninu), což je jeden z biomarkerů rýtu [24, 25].

Apigenin

Rostliny, které obsahují luteolin, obsahují také barvivo apigenin a jeho deriváty např: apigenin-O-glykosid. Toto barvivo také patří mezi flavonoidy stejně jako luteolin. Molekula apigeninu se liší od molekuly luteolinu pouze nepřítomností jedné OH skupiny na benzenovém jádře B na pozici 3'. Ve výše zmíněné práci od Tamburiniho a kol. byl identifikován ve stejných vzorcích jako luteolin [24]. Struktura apigeninu/luteolinu je uvedena na Obr. 6.

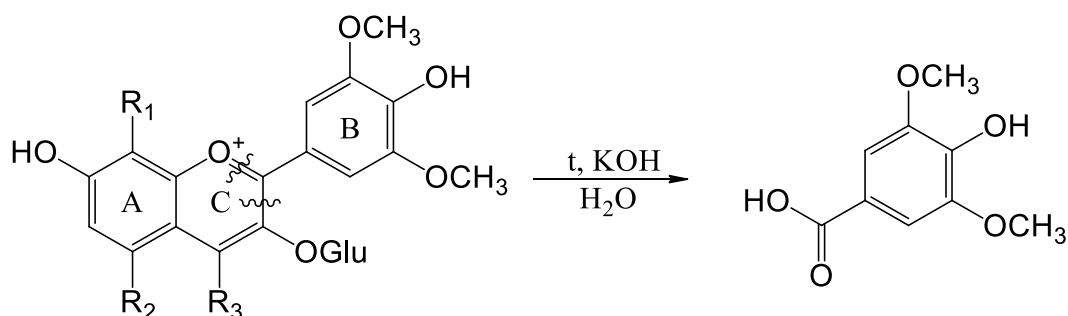


Obr. 6 Struktura luteolinu ($C_{15}H_{10}O_6$) a apigeninu ($C_{15}H_{10}O_5$)

Oenin

Oenin (malvidin-3-glukosid) je červený pigment náležící do skupiny anthokyaninů, které také patří strukturně k flavonoidům. Oenin se nachází přirozeně například v červeném víně. Přítomnost vína v archeologických objektech byla prokázána například Guasch-Janéovou a kol. při analýze keramických nádob z Tutanchamonovy hrobky ze starověkého Egypta. Guasch-Jané a kol. identifikovali v extraktech kyselinu syringovou a kyselinu vinnou, které vznikají degradací z polymerizované struktury anthokyaninových barviv. Pro převedení anthokyaninových barviv v keramice na kyselinu syringovou použili hydroxid draselný. Jako analytickou koncovku byla pro vysokou selektivitu a citlivost použita LC/MS/MS. Hmotnostní spektrometr pracoval v MRM módu. Jako prekurzorový ion byl použit ion s m/z 197 a jako produktový ion byl vybrán ion s m/z 182, tento ion

odpovídá fragmentu $C_8H_6O_5 (M-H-CH_3)^-$ [26, 27]. Identitu kyseliny syringové potvrdilo i srovnání retenčního času se standardem. Touto studií byli autoři studie schopni dokázat, že některé keramické nádoby, datované do doby starověkého Egypta, obsahovaly červené víno [26].

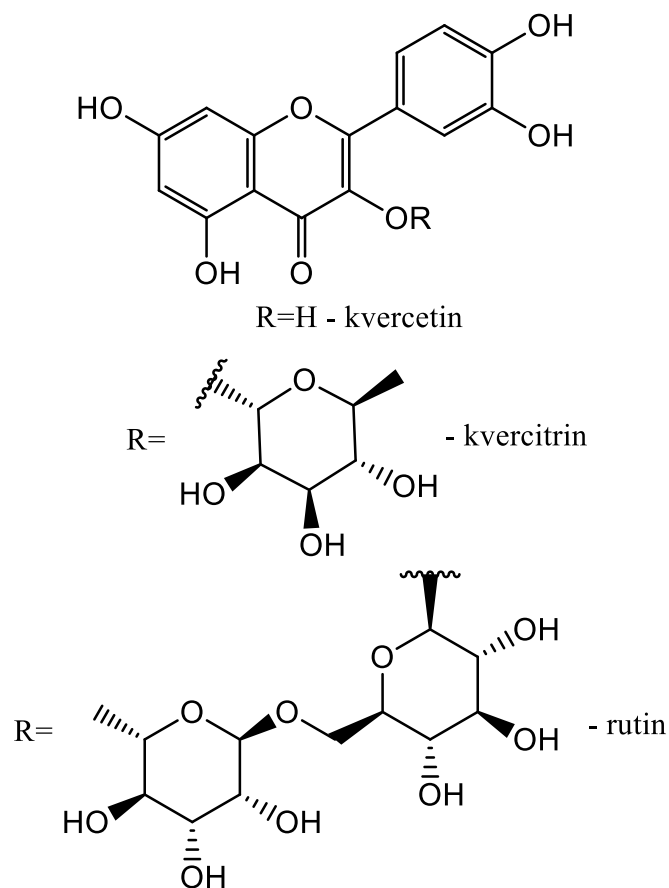


Obr. 7 Schéma vzniku kyseliny syringové z malvidin-3-glukosidu po rozštěpení kruhu C; z kruhu A vzniká 2,4,6-trihydroxybenzaldehyd [26]

Kvercetin a kvercitrin

Kvercetin a kvercitrin (kvercetin-3-rhamnosid) jsou další barevné látky, které patří mezi flavonoidy. Přírodním zdrojem těchto látek je např. škumpa (*Rhus*), kůra dubu sametového (*Quercus velutina*) nebo květy a pupeny jerlínu japonského (*Sophora japonica*) [5, 28, 29]. Velké množství kvercetinu obsahují také slupky z cibule [30]. Struktura kvercetinu a kvercitrinu je uvedena na Obr. 8.

Obsah kvercetinu a jeho glykosidu, kvercitrinu, byl zkoumán v extraktech ze starověkých čínských textilií pocházejících ze 16. až 19. století. Zhang a kol. podrobili analýze pomocí UHPLC-ESI-Q-TOF extrakt z pupenů a květů jerlínu japonského, ze kterého se podle původních dokumentů barvivo připravovalo. Nalezli intenzivní pík m/z 303,050, který z fragmentačních spekter přiřadili kvercetinu. Tento ion fragmentoval za vzniku iontů s m/z 257,043; m/z 229,049 a m/z 153,019. Při analýze vzorků tento pík nebyl nalezen. Autoři uvádí, že se původní barvivo před aplikací na tkaniny zahřívalo, čímž se deaktivoval enzym glykosidáza, který převáděl světlostálý rutin na nestálý kvercetin [29]. Tento závěr potvrzuje také Tamburini, který uvádí, že se kvercetin a jeho glykosidy vyskytují ve velké míře v čerstvě připravených barvivech. Poté z těchto látek stárnutím vzniká 3,4-dihydroxybenzoová a 4-hydroxybenzoová kyselina [31].



Obr. 8 Struktura kvercetinu ($C_{15}H_{10}O_7$), kvercitrinu ($C_{21}H_{20}O_{11}$)
a rutinu ($C_{27}H_{30}O_{16}$)

Rutin

Rutin je 3-rutinosid kvercerinu. Jeho zdrojem je světlice barvířská (*Carthamus tinctorius*), jerlín japonský (*Styphnolobium japonicum*, také *Sophora japonica*), pohanka setá (*Fagopyrum esculentum*) a mnoho dalších rostlin [16, 31]. Struktura rutinu je uvedena na Obr. 8.

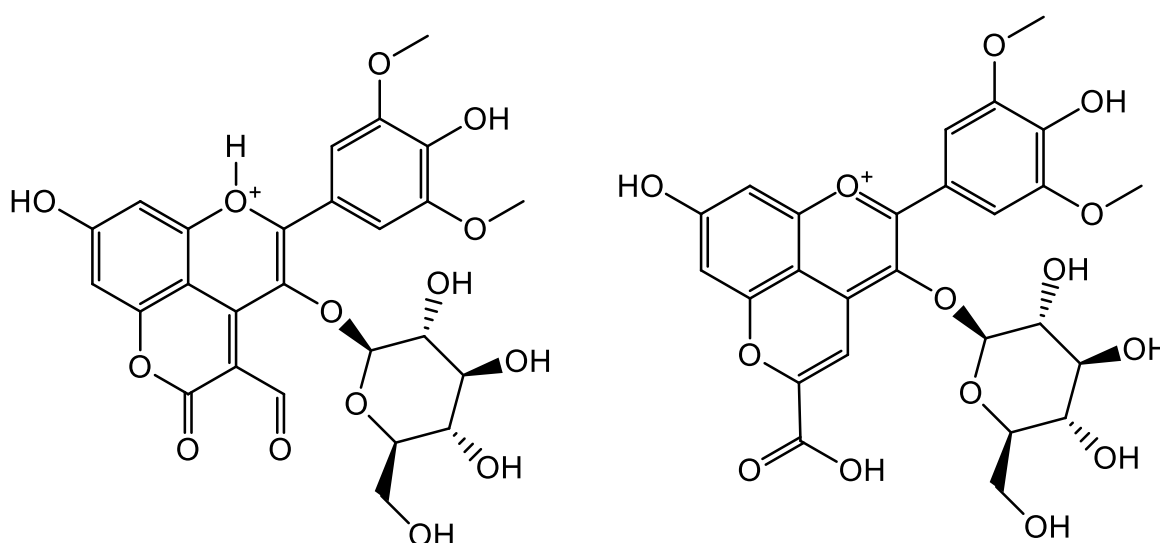
Rutin byl ve větším množství nalezen v hedvábných látkách ze 7. až 10. století z oblasti Dunhuang v Číně. V tomto smyslu je významná studie Tamburiniho a kol., kteří jej identifikovali pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Všechny látky, ve kterých byla prokázána přítomnost rutinu, měly žlutou nebo zelenou barvu. Zelená barva byla dosažena přidávkem indiga. Analýza vláken probíhala ve dvou krocích, kdy nejdříve byla provedena šetrná extrakce látek ze 2-3 mm kousku hedvábného vlákna pomocí dvou roztoků – DMSO a směsi methanol/aceton/voda/0.5M kyselina šťavelová 30:30:40:1 (v/v/v/v). Nejdříve bylo přidáno 200 μ l DMSO, extrakční směs byla zahřívána na 80 °C a po 10 minutách byla provedena

centrifugace. K supernatantu bylo přidáno 200 μ l extrakčního roztoku obsahujícího kyselinu šťavelovou a znovu byla teplota zvýšena na 80 $^{\circ}$ C. Po 15 min se rozpouštědlo nechalo odfoukat dusíkem, a nakonec bylo rekonstituováno ve 200 μ l směsi MeOH/H₂O 1:1 (v/v). Následně byly oba extrakty smíchány, centrifugovány a supernatant byl použit na nástřík. Poté byla provedena analýza pomocí HPLC-ESI-Q-TOF. Ve vláknech byla také zjištěna přítomnost kyseliny 3,4-dihydroxybenzoové a 4-hydroxybenzoové, což jsou známé degradační produkty taninů a flavonoidů. Jako rostlinný zdroj barviva určil tým Tamburiniho jerlín japonský (*Sophora japonica*) [31].

Rutin se rozkládá deglykosylací na méně stálý kvercetin [29]. Kvercetin, rutin a kvercitrin mají velmi podobná spektra v SERS, avšak glykosidy kvercetinu mají nižší absorpci a spektra nižší spektrální kvalitu, jak dokládá práce Leona a kol. [28]. Identifikace pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie proto poskytuje lepší možnosti pro analýzu glykosidů kvercetinu než SERS [29].

Vitisin A

Vitisin A, jehož publikované struktury jsou uvedeny na Obr. 9, je hlavní zástupce pyranoantokyaninů, které vznikají například při fermentaci a zrání červeného vína [32]. Vitisin A vzniká reakcí malvidin-3-glukosidu s kyselinou pyrohroznovou. Navázání kyseliny pyrohroznové způsobí hypsochromní posun, což má za následek oranžovější barvu tohoto pyroantokyaninu oproti jeho prekurzoru malvidin-3-glukosidu. Poprvé byl izolován, identifikován a spolehlivě charakterizován až v roce 1997 [33, 34].



Obr. 9 Publikované struktury vitisinu A; $C_{26}H_{25}O_{14}^{+}$

Neexistuje žádný doklad toho, že by se vitisin A používal v minulosti za účelem barvení látek nebo předmětů. Asenstorfer a kol. však poukázali na vyšší stabilitu vitisinu A oproti jeho prekurzoru, což implikuje hypotézu, že vitisin A by mohl ve velmi starých materiálech být přítomen spíše než jeho prekurzor. Autoři řešili v této práci vliv různých dubových sudů na přítomnost a množství Vitisinu A ve víně [32]. Dále Waterhouse a Zhu upozornili na vliv různých vinných kvasinek na produkci vitisinu A [33].

Doprovodné látky flavonoidních barviv

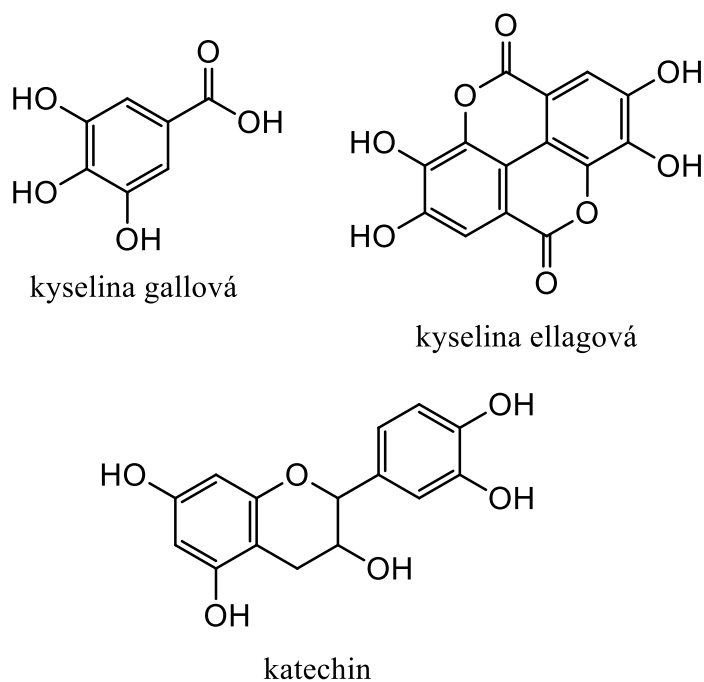
Kyselina ellagová je polyfenol nacházející se v rostlinách, který vzniká hydrolyzou taninů. Výskyt kyseliny ellagové byl například potvrzen ve vzorcích pocházejících z Wawelské katedrály, která se nachází v Krakově [35]. Lech a Jarosz analyzovali červená, zelená a fialová vlákna pocházející nejspíše z italských sametových brokátů z 15. století. Analýza byla provedena pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV-VIS a hmotnostní detekcí. V negativním modu byl detekován ion m/z 301, který indikoval přítomnost kyseliny ellagové ve vzorku extraktu červeného vlákna. Přítomnost kyseliny ellagové byla dále potvrzena pomocí retenčního času. Dále byla kyselina ellagová nalezena v extraktech historických textilií pocházejících z 16. až 20. století, které zkoumal Mantzouris a kol. [36].

Kyselina gallová je další polyfenol, který byl použit v experimentální části. Také se jedná o marker taninu. Společně s kyselinou ellagovou a salicylovou byla nalezena na výše zmiňované nádobě oinochoe ze 3. až 4. století před naším letopočtem [11]. Kyselinu gallovou zde autoři našli v negativním modu jako ion $[M-H]^-$ s m/z 169,0142.

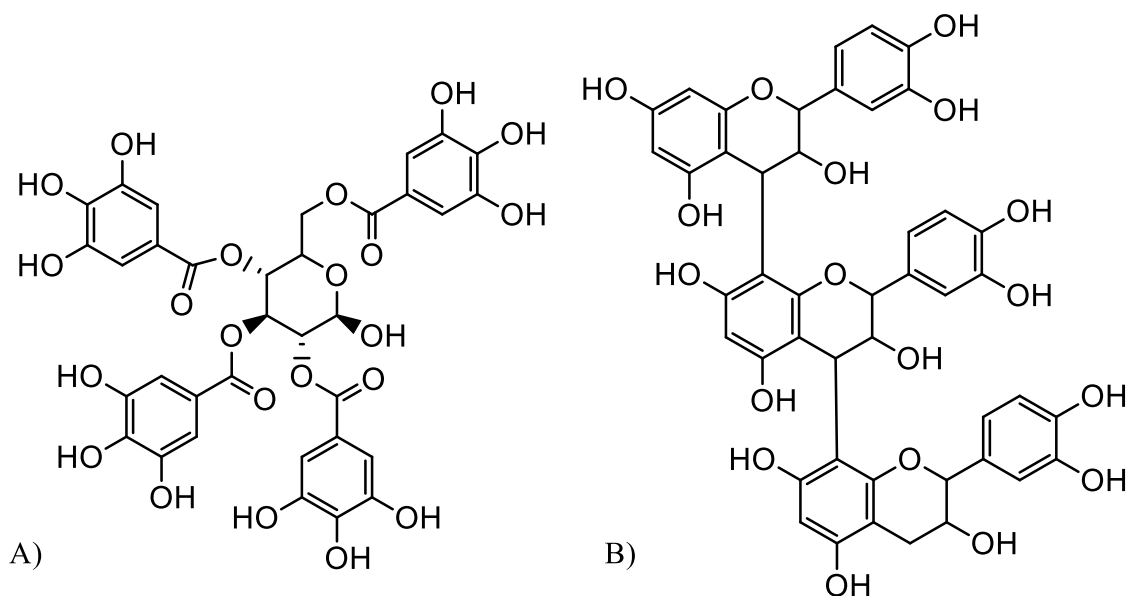
Katechin je látka, která strukturně náleží do skupiny flavonoidů. Katechin má čtyři diastereoizomery. Dva cis izomery se nazývají epikatechin. Různé deriváty (epi)katechinu se obecně označují jako katechiny a patří sem: katechin, epikatechin, epigallokatechin, epikatechin-3-gallát a epigallokatechin gallát [37]. Kondenzací více jednotek katechinů vznikají trísloviny (taniny), které dávají například vínu jeho svíravou chuť. Výskyt volného (epi)katechinu v archeologických objektech zatím příliš nebyl zkoumán. Čopíková a kol. popisují katechin jako světle růžovou látku, která na vzduchu hnědne, a proto se používal jako levné hnědé barvivo [16]. Struktura katechinu, kyseliny gallové a ellagové je zobrazena na Obr. 10.

Taniny, na Obr. 11, patří mezi sekundární metabolity rostlin a řadíme je k polyfenolickým látkám vznikajícím kondenzací flavonu, katechinu nebo navázáním

kyseliny gallové, popř. ellagové na jednotku sacharidu esterovou vazbou. Jejich častý výskyt znemožňuje určit zdroj taninu bez zjištění dalších markerů. Tamburini a kol. popisují výskyt taninů především ve spojení s hnědými barvivy, které mohou pocházet z „moření železem“ nebo barvení nahnědo pomocí číšky žaludu [24].



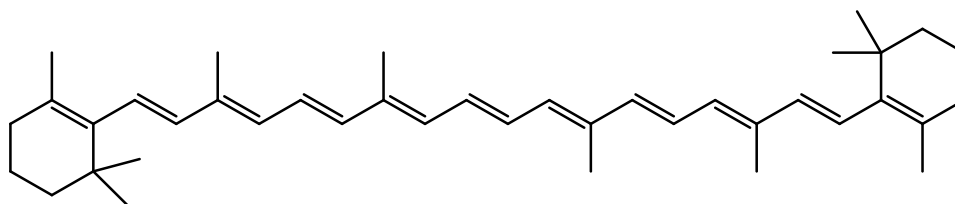
Obr. 10 Struktura kyseliny gallové ($C_7H_6O_5$), kyseliny ellagové ($C_{14}H_6O_8$) a katechinu ($C_{15}H_{14}O_6$)



Obr. 11 Příklad taninů A) hydrolyzovatelný, B) kondenzovaný

Beta-karoten

Beta-karoten je karotenoidní polyenové barvivo oranžové barvy. Polyenová barviva jsou typická trans-konjugace několika dvojných vazeb. Významným zdrojem beta-karotenu je mrkev obecná (*Daucus carota*). Polyenová barviva jsou velmi rozsáhlou skupinou látek, do které patří například i lykopen, což je hlavní barvivo rajčete. Rovněž sem patří oranžovo-žlutý rhodoxanthin, který doplňuje barvu podzimního listí. Další příklady uvádí Čopíková a kol. [16]. Struktura beta-karotenu je zobrazena na Obr. 12.



Obr. 12 Struktura Beta-karotenu; $C_{40}H_{56}$

Morillas a kol. [38] analyzovali piktogramy nalezené v jeskyni Inkaterra v oblasti Machu Picchu. Piktogramy zkoumali pomocí XRD analyzátoru, SEM-EDS analyzátoru a Ramanova mikroskopu. Laser Ramanova spektrometru pracoval při vlnové délce 785 a 514 nm, výkon laseru nepřesahoval hodnotu 1 mW, což by na základě předchozích měření mělo zaručovat, že vzorek nebude zničen. Ramanova spektrometrie prokázala přítomnost beta-karotenu. Spektrum obsahovalo charakteristické pásy při 880, 960, 1003, 1154, 1190, 1212, 1284, 1447, 1513 a 1580 cm^{-1} . Dále byly ve vzorcích nalezeny pásy charakteristické pro hematit a uhlík. Nalezený beta-karoten, však nebyl použit při vytváření piktogramů, vznikl až později biologickými procesy v nalezených mikroorganismech, což potvrdily snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu.

Tento druh biologického vzniku beta-karotenu byl popsán i v případě růžového zbarvení stěn katedrály Évora v jižním Portugalsku, kterou zkoumali Rosado a kol [39]. Mikrovzorky ze zdi zkoumali pomocí SEM-EDS a Ramanovy mikrospektroskopie. V této studii byly použity lasery Ramanova spektroskopu operující při 638 a 785 nm při. Shoda standardu beta-karotenu se vzorkem byla potvrzena třemi pásy při 1008, 1154 a 1514 cm^{-1} . Autoři izolovali a charakterizovali mikroorganismy, které byly zodpovědné za produkci beta-karotenu. Kvasinky z rodu *Rhodotorula* označili autoři za hlavní zdroj beta-karotenu a také jako příčinu růžovo-oranžového zbarvení stěn v katedrále Évora.

Synteticky připravená organická barviva/pigmenty

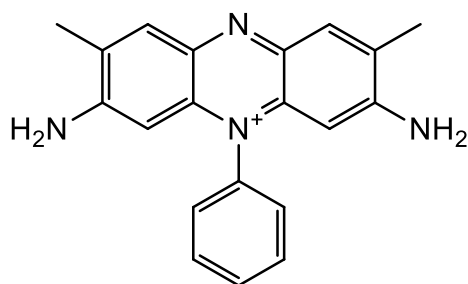
Syntetická barviva nejsou hlavním cílem studia této práce, avšak hrají výraznou roli při analýze uměleckých děl. Jejich přítomnost může vypovídat o neoriginalitě uměleckých děl, o dodatečných úpravách nebo (často) neodborných restaurátorských zásazích.

Prudký rozvoj syntetických barviv nastal po Perkinově syntéze anilinového purpuru v roce 1856 a objevu možnosti využití kopulace a diazotace [7]. Zvláštní postavení mezi uměle připravenými pigmenty měla pruská modř, nebo také berlínská modř s chemickým vzorcem $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$. Tento výrazně modrý pigment byl připraven poprvé v roce 1704 [40] a za svou výraznou barevnost vděčí intervalečním CT přechodům. Konkrétně v případě pruské modři se jedná o CT mezi atomy s různým oxidačním stavem Fe (II) \rightarrow Fe (III) [7].

Pruská modř byla nalezena na padělcích egyptských papyrů. Burgio a Clark našli na jednom papýru modré barvivo, která poskytovalo v Ramanových spektrech vibraci při 2154 cm^{-1} , která je charakteristická pro pruskou modř a je spojena s vibrací $\text{C}\equiv\text{N}$ [41].

Pauk a kol. [42] provedli analýzu mikrovzorků ze dvou olejomalb (20. století) a malby Ukřižování z kaple sv. Šebestiána v Mikulově (datované do 16. století), aby blíže charakterizovali modrou barvu, která se zde nacházela. Pro restaurátorské účely je důležité odlišit syntetickou pruskou modř od přírodního indiga. K analýze použili hmotnostní spektrometr (Q-TOF) s ionizací elektrosprejem. Kvůli špatné rozpustnosti pruské modři v rozpouštědlech vhodných pro elektrosprej, museli autoři převést pruskou modř na hexakynoželeznatan a hydroxid železitý. Pruská modř pak v negativním módu poskytovala ionty: $[\text{Fe}(\text{CN})_3]^-$ m/z 133,9445; $[\text{Fe}(\text{CN})_2]^-$ m/z 107,9418 a $[\text{Fe}(\text{CN})_4]^-$ m/z 159,9484. Na základě analýzy těchto mikrovzorků došli autoři k závěru, že jedna olejomalba obsahuje pouze indigo a druhá pouze pruskou modř. Dále vzorek malby Ukřižování obsahuje pruskou modř, což zpochybňuje uvedené datování, avšak autoři dodávají, že uvedená malba obsahuje více barevných vrstev, a proto není možné bez dalších analýz určit stáří díla.

Významným barevným polyfenolem, které je využíváno v experimentální části je safranin (jinak také basic red 2). Struktura je uvedena zobrazena na Obr. 13. Toto červené barvivo je také umělého původu a řadíme ho mezi azinová barviva. Struktura safraninu je podobná Perkinově anilinové purpuře. Tato azinová barviva byla velmi důležitá při postupném vývoji průmyslového odvětví syntetických barviv, ale především kvůli špatné stálosti na světle byla později nahrazena azo a antrachinonovými barvivy [43]. Dnes se safranin používá převážně na barvení histologických preparátů [44].



Obr. 13 Struktura safraninu; $C_{20}H_{19}N_4^+$

2.1.2 Anorganické analyty – pigmenty

Pigmenty jsou v pojivu nerozpustné látky, které se nanáší ve formě suspenze. Pigmenty mohou být jak organického, tak i anorganického původu. Anorganické pigmenty tvoří velkou většinu všech pigmentů [6]. Některé pigmenty byly známy již v dobách antiky, jiné byly syntetizovány až v 18. nebo 19. století. Mezi ty nejdéle známé patří například rumělka (vermilion), orpiment, malachit, lapis lazuli a hematit. Mezi pigmenty, které byly syntetizovány až po roce 1700 patří například kadmiová červeň, kadmiová žluť, Scheeleova zeleň, kobaltová zeleň, chromová žluť nebo titanová běloba. Datování pigmentů se stalo velmi užitečným nástrojem při studiu uměleckých děl [45].

Podle Gürse a kol. [6] můžeme anorganické pigmenty jednoduše dělit na bílé pigmenty, černé pigmenty, barevné pigmenty a různé ostatní pigmenty. Dále budou podrobněji popsány barevné anorganické pigmenty, které byly použity v experimentální části.

Červený Bolus

Červený bolus, také arménský bolus, je červenohnědá hlina. Bolus má proměnlivé chemické složení s bohatým zastoupením oxidů železa (hematit – Fe_2O_3 a goetit – $FeO(OH)$) a oxidu křemičitého a hlinitého. V Ramanových spektrech má charakteristické absorpční pásy při 1320, 610, 501, 411, 295, 226 a 145 cm^{-1} a s použitím 780 nm laseru [46]. Je známý již od antiky, dříve byl také používán jako léčivý přípravek. Největší využití našel jako podkladový pigment například pro zdobení zlatem [47].

Realgar

Realgar je oranžovočervený až oranžovožlutý pigment s chemickým složením As_4S_4 , který se získává z minerálu se stejným jménem již od starověku [40]. Byl nacházen ve stříbrných a olověných rudách společně s auripigmentem (As_2S_3) a cinabaritem (HgS) [48, 49]. Pro své chemické složení je velmi toxický [48]. Na světle degraduje na svůj polymorf pararealgar. Reaguje s jinými pigmenty obsahující olovo nebo měď. Pro tyto své vlastnosti se již běžně nepoužívá [50]. V Ramanových spektrech při použití 780 nm laseru dává absorpční pásy při 370, 354, 342, 220, 192, 182, 169, 143 a 57 cm^{-1} [46].

Realgar byl spolu s pararealgarem nalezen na polychromovaných egyptských papýrech, nebo na ozdobách v makedonských hrobkách [49, 50].

Kobaltová žlut' – Aureolin

Tento intenzivně žlutý pigment s chemickým vzorcem $\text{K}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ byl objeven roku 1831 N. W. Fischerem, ale používán byl od 50. let 19. století [51]. Tento pigment našel svoje využití především v malbě akvarelem a při barvení keramiky a skla. Jeho vyšší cena a nevhodnost pro olejomalbu nedovolila většímu rozšíření tohoto pigmentu. Dalším negativem byla nestabilita při smísení kobaltové žlutí s organickými pigmenty, kdy docházelo k hnědnutí tohoto pigmentu [51].

V Ramanových spektrech má charakteristické pásy u 112, 182, 274, 304, 820, 835, 1257, 1325, 1398, 2147 a 2645 cm^{-1} při použití 785 nm laseru. Interpretovatelná spektra dává i při použití 532 nm laseru [52].

Neapolská (citronová) žlut'

Chemicky se jedná o antimonitan-antimoničnan olovnatý, $\text{Pb}(\text{SbO}_2)_2 \cdot \text{Pb}_3(\text{SbO}_4)_2$ [53]. Tento žlutý pigment je jedním z nejdéle uměle vyráběných pigmentů. Je známý od 16. století před našim letopočtem. Od 17. století je v Evropě známý jako Neapolská žlut' [53].

Stopy toho pigmentu byly nalezeny na skleněných předmětech v egyptském městě Veset z doby faraonů Amenhotepa II a III. Dále byla tato žlut' používána jako přísada do glazur kolem roku 1000 před našim letopočtem v oblasti Mezopotámie. Začátkem našeho letopočtu četnost jejího použití klesala. Objevuje se v Byzantské keramice ve 12. – 14. století. Poté se objevuje v 15. století na ostrově Mallorca, kde byla používána jako glazura na keramiku - majoliku [54]. Největší obliby se dočkal od poloviny 17. do poloviny 19. století [40], poté byla nahrazena jinými levnějšími a bezpečnějšími syntetickými

pigmenty, např. sulfidem kademnatým a chromanem olovnatým [54]. Roku 1941 byla jeho výroba obnovena [53]. Při analýze Neapolské žluti Ramanova spektrometru je možné pracovat při různých vlnových délkách laseru. Pro laser pracující při 785 nm jsou udávány následující absorpční pásy v Ramanových spektrech: 135, 257, 326, 446, 505, 594 a 714 cm^{-1} [52].

Olovnato-cínčitá žlut'

Olovnato-cínčitou žlut' dělíme na dva typy. Typ I je oxid olovnato-cínčitý se vzorcem $2\text{PbO}\cdot\text{SnO}_2$ (Pb_2SnO_4). Typ II má složení blízké vzorci $\text{PbO}\cdot 2\text{SnO}_2\cdot\text{SiO}_2$ ($\text{PbSn}_2\text{SiO}_7$) a vzniká při tavení typu I s křemičitým pískem na 800-950 °C [53, 55]. Olovnato-cínčitá žlut' byla nejvíce používaná mezi lety 1300 až 1750. Poté došlo k útlumu a znovu se začala vyrábět až po roce 1940 [55]. Typ I se převážně používal k olejomalbě a tempeře, typ II našel využití při glazuře, barvení skla, ale pro temperu a olejomalbu byl používán rovněž [40].

Olovnato-cínčitá žlut' typ I poskytuje při měření pomocí 780 nm laseru tyto signály v Ramanových spektrech: 526, 458, 380, 293, 275, 197, 130, 80 a 60 cm^{-1} [46]. Pro měření typu I i typu II jsou vhodné lasery s vlnovou délkou 532, 638 i 785 nm. Typ I, typ II i Neapolská žlut' poskytují podobná Ramanova spektra s maximem kolem 135 cm^{-1} [52].

Vandenabeele a kol. [56] použili přenosný Ramanův spektrometr, který umožňuje měření při dvou vlnových délkách - 532 a 785 nm, k proměření pigmentů na kopii středověkém manuskriptu *De Civitate Dei* (O Boží obci) z poloviny 15. století. Autoři identifikovali několik pigmentů včetně olovnato-cínčité žlutě typu I, kterou byly vybarvené některé světle žluté oblasti.

Masikot

Masikot je sírově žlutý pigment s chemickým složením PbO . Minerál masikot krystalizuje v ortorombické soustavě. Druhým polymorfem oxidu olovnatého je klejt, který má červenou barvu a krystalizuje v tetragonální soustavě.

Při použití Ramanovy spektrometrie poskytuje výrazné charakteristické signály při 145, 287, 383 cm^{-1} [52]. Pásy při 286 a 383 cm^{-1} identifikovali i Castro a kol. [57] při analýze mapy ze 17. století, čímž potvrdili přítomnost masikotu. V tomto případě zde byl masikot ve směsi s miniem (Pb_3O_4) a také s atakamitem ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$), takže sloužil k vytvoření jiného barevného odstínu.

Zelená země

Zelená země je pigment tvořený hlinitokřemičitany a ionty oxidů železa. Chemické složení je blízké vzorci $K[(Al,Fe^{3+}), (Fe,Mg^{2+})](AlSi_{3-4})O_{10}(OH)_2$ [46]. Tento zelený až zelenošedý pigment se těží ve více oblastech. Známý je také pod označením *terra verde* či *Veronská zeleň*, protože nejvýznamnější naleziště se nacházelo poblíž Verony. Další naleziště byla v Čechách, Polsku, Německu, na Kypru, ve Francii, v Pobaltí a Rusku [53].

Mineralogicky se jedná o směs glaukonitu, seladonitu a některých dalších minerálů. Žiháním vzniká „země zelená pálená“, která má teple hnědý odstín. V olejomalbě vyznačuje nízkou kryvostí, a proto byla nahrazena jinými pigmenty. Oblíbená byla ve freskové malbě. Používá se od starověku [53]. Záznamy o používání zelené země máme již od 1. století před naším letopočtem. Byla nalezena v keramice z Pompejí a Říma. Dále se o ní zmiňuje několik středověkých pramenů. V té době byla používána pro iluminace knih, ale hlavně jako podkladová barva pro malbu kůže. Zelená země se vyrábí dodnes s hlavním nalezištěm na Kypru [58].

V Ramanových spektrech tohoto pigmentu jsou při použití 780 nm laseru přítomny tyto signály: 1021, 694, 548, 378, 264 a 112 cm^{-1} [46]. Caggiani a kol. [52] poukazují na to, že Ramanova spektra zelené země jsou špatně interpretovatelná. Nejlepších výsledků je dosaženo při použití 532 nm laseru. Při použití tohoto laseru poskytovala zelená země pásy při 145, 180, 275, 345, 405, 556 a 667 cm^{-1} . Autoři uvádí, že signály při 180, 275, 556 a 667 cm^{-1} jsou typické pro seladonit, což je jeden z hlavních nerostů zelené země.

Epidot

Epidot je křemičitan hlinito-vápenato-železitý s chemickým vzorcem: $Ca_2(Al_2Fe^{3+})[Si_2O_7][SiO_4]O(OH)$. Z tohoto minerálu se vyrábí pistáciově zelený pigment. Řadíme ho mezi zelené země a v rané gotice byl často využíván pro malbu luk [59]. Ramanova spektra epidotu jsou přítomna v databázích RRUFF (z ang. Raman Research Used For Fun; online volná databáze Ramanových spekter minerálů) [60] a liší se místem těžby [60]. Wopenka a kol. [61] zjistili přítomnost epidotu na keramických střepích které byly datovány do 3. až 2. století před našim letopočtem.

Azurit

Azurit je modrý pigment s chemickým vzorcem $2\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$. Azurit byl dobře známý již ve starověku, ale největší obliby se těšil ve středověku a v období renesance. Těžil se v Maďarsku, Německu a na Dálném Východě. Od 17. století byl připravován syntetický azurit [62]. Používal se v temperě, nástěnné malbě, oleji a k iluminacím knih [40].

Při měření pomocí Ramanovy spektroskopie poskytuje nejlepší spektra při použití 532 nm laseru [46, 52]. Pomocí Ramanovy mikroskopie byl nalezen azurit na povrchu sochy archanděla Gabriela z 15. století [63] nebo na manuskriptech z 18. století [64]. Pomocí SR-XRF je možné rozlišit mezi jednotlivými geologickými zdroji azuritu na základě přítomnosti stopových elementů [65].

Lapis lazuli – ultramarin

Lapis lazuli je název pro modrý kámen, ze kterého se získával tmavě modrý pigment ultramarin, či lazurit. Tento pigment má chemické složení $\text{Na}_{8-10}(\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24})\text{S}_{2-4}$. Jméno ultramarin získal, neboť se musel dovážet „přes moře“ z hlavního naleziště v Afghánistánu [66]. Lapis lazuli byl známý již ve starověku [67], ale jako pigment začal být používán až mnohem později. V Evropě se rozšířil až po zavedení extrakčních technik, které umožňovaly vytvořit velmi čistý ultramarin. Toto nastalo po roce 1200. Největší oblibě se ultramarin těšil ve 14. a 15. století. Kvůli složité dopravě a velmi náročné úpravě kamene na pigment byl ultramarin velmi drahý. Pro svou vysokou cenu se používal velmi omezeně. V malbě byl vyhrazen především pro vybarvení roucha panny Marie a Ježíše Krista [66]. Roku 1828 byla objevena výroba umělého ultramarinu J. B. Guimetem. Od roku 1830 se průmyslově vyrábí z kaolinu, sodné soli, křemičitého písku a síry [53]. Ultramarin je velmi stálý na světle, dobře odolává teplu a louhům. V přítomnosti kyselin bledne – probíhá rozklad za vzniku sirovodíku [66]. V Ramanových spektrech ultramarinu je charakteristický pás vibrací chromoforu polysulfidového radikál-aniontu při 548 cm^{-1} [52].

Egyptská modř

Egyptská modř je modrý uměle vyráběný pigment, který byl vyráběn již ve starověku. Chemické složení je totožné s nerostem s názvem kuprorivait, $\text{CaCuSi}_4\text{O}_{10}$ [68]. První důkazy o použití egyptské modře pochází z doby vlády čtvrté staroegyptské dynastie kolem roku 2600 před naším letopočtem a výroba egyptské modře pokračovala až do konce římské říše [68]. Tato modř nebyla pouze egyptskou záležitostí, ale byla používána i ve starověkém

Řecku, na Kypru a v Itálii [69]. Postup výroby egyptské modři byl znovu objeven až v 19. století. [68].

Po chemické stránce je egyptská modř velmi stabilní, a proto se zachovala na mnoha egyptských památkách. Rozkládá se až po zahřátí nad teplotu 1050 °C. Obsahuje příměsi jako je SiO₂, CaSiO₃, CuO a Cu₂O [68]. Při použití 532 nm laseru poskytuje Egyptská modř v Ramanových spektrech čtyři charakteristické signály: 375, 430, 475 a 1084 cm⁻¹ [52]. Egyptská modř byla nalezena např. při studiu nástěnných římských maleb z jihu Španělska [70]. Tyto malby byly datovány do 3. až 4. století. Autoři provedli pomocí Ramanova mikroskopu analýzu tří vzorků, které byly pokryty zbytky pigmentů. Analyzovaný modrý pigment obsahoval signály typické pro kuprorivait a křemen, což je znakem použití egyptské modře.

Manganová violeť

Manganová violeť, nebo také Norimberská violeť, je syntetický pigment se vzorcem NH₄MnP₂O₇. Poprvé ji připravil Leykauf v roce 1868. Komerčně dostupná byla od roku 1890 [71]. V přítomnosti silných bází a kyselin se rozkládá [72]. Calza a kol. [71] našli manganovou violeť na obrazu “Bad News“, který namaloval brazilský malíř Rodolfo Amoedo v roce 1895. Autoři použili pro analýzu obrazů přenosný EDXRF analyzátor.

2.2 Pojiva, laky a další doprovodné látky nacházející se na uměleckých dílech

Většina pigmentů a barviv je nacházena na předmětech v doprovodu dalších látek. Mezi tyto látky patří vosky, pryskyřice, glycerolipidy, proteiny, polysacharidy atd. Malbu můžeme vnímat jako trojrozměrné těleso seskládané z několika vrstev. Typický obraz můžeme stratigraficky rozdělit na čtyři části: podložku, podklad, pigmentovou vrstvu (malbu) a průhledný lak. Tyto vrstvy se mohou lišit u jednotlivých technik a umělců [4].

Podložka je bývá nejčastěji dřevěná deska, kámen nebo plátno. Mezi podložkou a podkladovou vrstvou byla nanášena vrstva připravovaná z želatiny, pryskyřice anebo laků. Tato vrstva snižovala savost, chránila podložku před vnikáním pojiv do podložky a podporuje soudržnost mezi podložkou a podkladem. Dále byl nanášen podkladový nátěr, který se skládá z inertního materiálu a pojiv. Jako inertní materiál byly použity křída, sádra, olověná běloba, zinková běloba atd [4]. Jako pojivo byl použit klič, vajíčko anebo oleje.

Jako izolace, která zabraňovala průniku pojiv do podkladu, byla použita tenká vrstva želatiny, pryskyřice nebo olejového laku. Někdy na tuto vrstvu byla nanášena tzv. imprimatura, což byla tenká barevná vrstva, která snižovala světlost podkladu. Poté se nanášela hlavní barevná vrstva. Tato vrstva se skládá z podmalby, samotné malby a lazury. Použitím určitého pojiva v této vrstvě rozlišujeme jednotlivé techniky: akvarel, olejomalbu, temperu a některé další [73]. Poslední byla nanášena vrstva laku, která malbu chránila a dodávala jí jednotný vzhled. Byla tvořena nejčastěji pryskyřicí rozpuštěnou v oleji nebo samotným olejem [4]. U některých technik tato vrstva zcela chyběla (např. akvarel) [73]. Tyto vrstvy obsahují různé charakteristické proteiny, lipidy polysacharidy a další látky. Těchto látek můžeme využít při analýze uměleckých děl.

Proteiny

Proteiny (bílkoviny) jsou tvořeny aminokyselinami spojenými peptidickou vazbou. Počet a uspořádání aminokyselin udává vlastnosti proteinu. Stárnutím degradují – denaturují. V archeologických podmínkách jsou velmi rychle rozložena mikroorganismy. U uměleckých děl se proteiny dobře zachovávají lépe. Mezi nejčastěji se vyskytující se patří bílkoviny z vajíčka a mléka a klihu [74]. Vajíčko bylo oblíbené pro přípravu vaječné tempéry a mělo zde úlohu emulgátoru. Mléko obsahuje protein kasein, který zde působí jako emulgátor tuků. Slánský uvádí, že mléko se ve starověku přidávalo do omítek [73]. Klih byl vyráběn vařením kostí, chrupavek a kůží zvířat a obsahoval velké množství kolagenu [74].

Glycerolipidy

Tuky a oleje obsahují především triacylglyceroly, estery mastných kyselin a trojsytného alkoholu – glycerolu. Živočišné a rostlinné tuky se liší přítomností nenasycených vazeb. Ve starověku byla známá řada rostlinných olejů, např. slunečnicový, olivový, makový, mandlový. Degradací triacylglycerolů vznikají volné mastné kyseliny a monoacylglyceroly a diacylglyceroly. Tyto látky můžeme nalézt při analýze archeologických předmětů [74].

Pro umělecká díla je důležitá přítomnost vysoce nenasycených rostlinných olejů. Tyto vysychavé oleje stárnutím oxidují a polymerizují, čímž vzniká jednotná vrstva. Stárnutí olejů je ovlivněno prostředím. Identifikace původu oleje je poměrně těžký úkol, neboť se často jednalo směsi různých olejů. Velmi dobře identifikovatelný je ricinový olej, protože obsahuje kyselinu ricinolejovou a tvoří charakteristický degradační produkt 9,12-

dihydroxyoktadekanovou kyselinu [74]. Tyto látky byly přítomny například v balzámu, který se používal k mumifikaci [75]. Jiné oleje a tuky mohou být identifikovány na základě poměru kyseliny stearové a palmitové nebo obsahu mastných kyselin s dlouhým řetězcem [74].

Vosky

Vosky jsou estery mastných kyselin a vyšších alkoholů s velkou molární hmotností. Vosky jsou tuhé a mají hydrofobní vlastnosti. Dělíme je na vosky živočišného původu (včelí vosk, ovčí vosk – lanolin, vorvaňovina), rostlinného původu (kandelilový vosk, japonský vosk, karnaubský vosk) a fosilní vosky (parafín). Včelí vosk se ve starověku používal především jako ochrana před vlhkostí, mechanická ochrana a pro zvýšení lesku maleb [74].

Pryskyřice

Přírodní pryskyřice jsou směsí terpenů a fenolických látek. Pryskyřice najdeme na površích stromů jako smolu, kde slouží jako ochrana před vysycháváním a proti napadení organismy. Mají vysokou viskozitu a jsou nerozpustné ve vodě. Pomocí di a triterpenů můžeme identifikovat zdroj pryskyřice [74].

Z borovicové pryskyřice se získávala kalafuna, která obsahuje diterpeny kyselinu abietovou a pimarovou. Používala se především jako lak. Ve starověku byly velmi významné pryskyřice obsahující rostlinné gummy a triterpeny. K těmto látkám patřila myrha, mastix a kadidlo. Všechny tyto látky byly využívány již ve starověku jako balzámy nebo laky. Z pryskyřic živočišného původu byl nejznámější šelak, který je produkován samičkami červce lakového (*Kerria lacca*). V Evropě se rozšířil až na konci 16. století. [74].

Polysacharidy

Polysacharidy jsou tvořeny více sacharidovými jednotkami spojenými glykosidovou vazbou. Mezi nejběžnější polysacharidy patří škrob, celulóza, rostlinné slizy a gummy. Celulóza tvoří základní pletiva rostlin a je tedy přítomna v podložce (plátno, dřevo). Škrob je zásobní polysacharid rostlin, využíval se při výrobě papíru a na přípravu pojidel do vodových barev [73, 74]. Používal se již v antice. Byly nalezeny i škrobem lepené dokumenty ze 4. století. Dále byl používán při přípravě podkladu u malby na plátno [73].

Rostlinné gummy jsou polysacharidy, které vytékají z rostlinných pletiv. Skládají se z monosacharidů – aldopentóz, aldohexóz a kyseliny močové. Mezi nejznámější zástupce patří arabská guma, guma ovocných stromů (třešňová), karobová guma, tragantová guma, guarová guma a indická guma ghatti. Obsah typických monosacharidových jednotek nám může pomoci jednotlivé zdroje rostlinných gum identifikovat, např. fukóza je charakteristická jen pro tragantovou gumu [74]

2.3 Nejčastější techniky pro analýzu historických pigmentů a barviv

Použití moderních chemických, fyzikálních, biochemických a biologických metod v archeologii a historii umění zkoumá archeometrie. Tento obor vyplňuje mezeru mezi přírodními a humanitními vědami. Použitím analytických metod a technik se zabývá analytická archeometrie. Analytické metody jsou používány a upravovány tak, aby dokázaly odpovídat na otázky, jež jsou kladeny restaurátory, kurátory a historiky [76].

Vhodnou analytickou metodu vybere analytik na základě vlastností hledaného analytu a matrice. Základní archeometrické metody můžeme rozdělit na zobrazovací, vibrační, rentgenové, elektrochemické, separační techniky a hmotnostní spektrometrii [4]. Kompletní detailní výčet jednotlivých metod uvádím v bakalářské práci [1]. V další části se zaměřím na nejčastější techniky spojené s analýzou archeologických a umělecko-historických předmětů, u kterých byla analyzována barevnost.

2.3.1 Zobrazovací techniky

Metody zobrazování jsou základní metody pro ohledání zkoumaných objektů. Řadíme sem zobrazování ve viditelné oblasti, zobrazování v blízké infračervené oblasti, zobrazování v blízké ultrafialové oblasti, fluorescenční zobrazování, krátkovlnnou infračervenou reflektografii, rentgenovou radiografii, zobrazování pomocí terahertzových vln a multispektrální zobrazování [4].

UV-fluorescenční a NIR zobrazování mohou poskytnout informace o retuších, změnách kompozice nebo podmalbě na analyzovaných obrazech [77, 78]. Terahertzová pulzní spektroskopie a imaging (TPIS) je rozvíjející se metoda využívající záření s vlnovou délkou umístěnou mezi infračervenou a mikrovlnnou oblastí. Toto záření je neškodné, neionizující a dobře proniká nekovovými a nepolárními materiály. Takto proniká lépe než infračervené záření a také je zvláště citlivé na vlhkost. Pomocí Thz vln je možné

vytvořit 2D i 3D zobrazení a tomografii [79]. Tato metoda byla několikrát použita na mumifikované pozůstatky pocházející ze starověkého Egypta [80, 81]. Dále byl Thz spektroskopie použita pro zobrazení inkoustů z poškozených papyrů [82], analýzu nástěnných maleb, dřevomaleb a maleb na plátně [79].

2.3.2 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR) je nedílnou součástí moderní analytické laboratoře. Principem vzniku infračervených spekter je interakce infračerveného záření se vzorkem, při kterém dochází ke změně dipólového momentu molekuly. Známe tři základní techniky měření IČ spekter. Měření v transmisním módu má dobrou citlivost, ale je nutné odebrat malé množství vzorku. Pro měření v reflexi není nutný odběr vzorků, ale poskytuje horší spektra. Poslední možností pro získání IČ spekter je technika zeslabeného úplného odrazu (z angl. „Attenuated Total Reflexion“ = ATR), která poskytuje kvalitní spektra a je neinvazivní [76]. Technika ATR je založena na několikanásobném úplném odrazu záření na fázovém rozhraní mezi vzorkem a krystalem s vysokým indexem lomu. Tímto způsobem charakterizujeme jen povrchové vrstvy vzorku, řádově jednotky μm [83]. Pomocí přenosného ATR-FTIR je možné analyzovat vzorky *in situ*. Pomocí FTIR mikroskopu můžeme realizovat velmi detailní mapping [84–86].

2.3.3 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je založena na neelastickém rozptylu laserového paprsku na vzorku. Při této interakci dochází s malou pravděpodobností k vyzáření fotonu s vyšší (Stokesovy fotony) anebo nižší vlnovou délkou (anti-Stokesovy fotony), které nesou analytickou informaci. Míra intenzity vibračních pásů v Ramanových spektrech závisí na míře polarizovatelnosti molekuly. Vibrační pásy intenzivní v IČ spektrech nejsou intenzivní v Ramanových spektrech a naopak [87].

Ramanova spektroskopie je velmi vhodná pro měření anorganických pigmentů. Naopak pro měření organických materiálů je vhodná méně, neboť jsou vibrační pásy Ramanovy spektroskopie často překryty fluorescenční emisí [87]. Množství vzniklé fluorescence je především závislé na vlnové délce použitého laseru a je možné ji částečně odstranit použitím jiného laseru (jiné vlnové délky). Běžně se používají lasery emitující záření s vlnovou délkou odpovídající viditelnému světlu (532 nm) anebo blízké infračervené

oblasti (785 a 1064 nm) [88]. Největšími výhodami Ramanovy spektroskopie je nedestruktivnost, neinvazivnost a možnost *in situ* měření pomocí přenosných ručních přístrojů. Ramanova spektroskopie se v archeometrii používá pro analýzu maleb, manuskriptů, nástěnných maleb, jeskyních maleb, keramiky, skla a dalších [88].

Objev Ramanovy spektroskopie vedl k vytvoření celé skupiny dalších speciálních technik. Ramanova mikroskopie, nebo také mikro-Ramanova spektrometrie, je spojením Ramanovy spektroskopie a optické mikroskopie, umožňující analýzu velmi malých oblastí, popř. vyhotovení Ramanova zobrazování [87].

Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie (SERS) je technika vyznačující se výrazným zlepšením citlivosti oproti běžné Ramanově spektroskopii. Zlepšení citlivosti je způsobeno přítomností nanočástic stříbra nebo zlata. Molekula adsorbovaná na povrchu kovové vrstvy zvyšuje svoji polarizovatelnost a dále se zvyšuje intenzita Ramanova rozptylu díky povrchové plasmonové rezonanci. Tato technika je zvláště výhodná pro měření organických látek, protože při ní dochází ke zhášení fluorescence. Pro analýzu je potřeba odběru jen velmi malého vzorku – jednoho zrna pigmentu, nebo plochy 20x20 μm [89]. V archeometrii byla využita k analýze antrachinonových, flavonoidních, neoflavonoidních, alkaloidních, indigoidních a kurmuminoidních barviv [90].

2.3.4 Rentgenové metody

Mezi rentgenové techniky řadíme ty techniky, které využívají pro získání analytické informace rentgenové záření. Rentgenové záření má vlnovou délku v rozmezí 10 nm až 10 pm a dělíme ho na tvrdé a měkké. Zdroj rentgenového záření může být přírodní nebo umělý, např. rentgenka. Mezi často používané rentgenové metody využívané pro archeometrii patří rentgenová fluorescence, částicemi indukovaná rentgenová emise, rentgenová difrakce a energiově disperzní spektrometrie [4].

Rentgenová fluorescence (XRF)

XRF je běžná technika používaná pro elementární analýzu. Je založena na interakci primárního rentgenového záření s hmotou, při které dochází k vyražení elektronu z vnitřní elektronové hladiny. Následuje přeskok elektronu z vyšší hladiny do vakance. Tento děj je provázen vyzářením rentgenového záření s nižší energií. Atomy jednotlivých prvků vyzářují charakteristické rentgenové záření. Rozlišujeme vlnově disperzní a energiově disperzní

fluorescenční spektrometry. Energiově disperzní rentgenová fluorescence (EDXRF) se při analýze archeologických vzorků používá častěji [4]. Výhodou EDXRF je především možnost *in situ* neinvazivního měření pomocí přenosného ručního zařízení. Nevýhodou těchto zařízení je nižší citlivost pro lehčí prvky a problematické měření velmi tenkých vrstev barev [91].

V posledních letech je XRF používáno k elementárnímu mapování (MA-XRF) [92] a elementární mikroanalýze průřezů barevných vrstev (μ -XRF) [93]. Nedestruktivní hloubkové profilování je možné provést pomocí konfokálního μ -XRF spektroskopu [94].

Částicemi indukovaná rentgenová emise (PIXE)

PIXE je technika, která zkoumá prvkové složení analytu, využívající paprsek urychlených částic (nejčastěji protonů nebo alfa-částic). Prolétávající částicí je vyražen elektron z jedné ze základních energetických hladin. Po zaplnění této vakance elektronem z vyšší hladiny dojde k vyzáření pro daný prvek charakteristického záření. Pro zvýšení citlivosti pro lehká jádra se kombinuje s PIGE (částicemi indukovaná gama emise) [95].

Tato technika se může provádět ve vakuu i při atmosférickém tlaku a dosahuje dobré citlivosti pro všechny prvky od sodíku až po uran. Nevýhoda PIXE je vysoká pořizovací cena oproti relativně levným XRF spektrometrům [96]. Další problémy mohou být spojeny s provozem zařízení s radioaktivním materiálem, neboť jako zdroj alfa-částic bývá používáno ^{210}Po [97]. Přenosný PIXE spektrometr byl použit při analýze barevných smaltovaných nádob ze 16. a 17. století [97] nebo černé glazury antických nádob z 5. století před. naším letopočtem [98].

Skenovací elektronová mikroskopie s energiově disperzní spektrometrií (SEM-EDS)

Skenovací elektronová mikroskopie nám umožňuje dosáhnout na zobrazení detailnějších a menších předmětů, než je tomu u klasické optické mikroskopie. Při kombinaci s energiově disperzním spektrometrem jsme schopni přímo analyzovat elementární složení vzorku. Pro menší vzorky představuje SEM-EDS neinvazivní a nedestruktivní metodu [4]. SEM-EDS byla úspěšně použita na analýzu barvené keramiky [99], jeskyních maleb [38], nástěnných maleb [100] smaltu a skla [101].

2.3.5 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie se dnes již stala běžným vybavením analytických laboratoří a stále více proniká i do analýzy archeologických předmětů. Pro získání důležitých informací je nutné dobré pochopení této techniky.

Hmotnostní spektrometr se skládá z iontového zdroje, iontové optiky, analyzátoru a detektoru. Ionty se v hmotnostním spektrometru separují na základě hodnoty m/z (poměr hmotnosti ku náboji). Ion je veden z iontového zdroje do hmotnostního analyzátoru, kde probíhá separace iontů na základě jejich fyzikálních vlastností. Mezi hmotnostní analyzátory řadíme: kvadrupól (Q), průletový analyzátor (TOF), iontová past (IT), elektrostatická orbitální past (Orbitrap), magnetický sektorový analyzátor a iontová cyklotronová rezonance (ICR). Iontové zdroje dělíme na tvrdé a měkké podle toho, jak moc jsou ionty po průchodu iontovým zdrojem fragmentovány. Mezi nejpoužívanější ionizační zdroje patří: ionizace elektrosprejem (ESI), ionizace elektronem (EI), chemická ionizace (CI), chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI), desorpce elektrosprejem (DESI) a laserová desorpce/ionizace (LDI) [102].

Použití měkkých ionizačních technik jako je ionizace elektrosprejem a laserová desorpce/ionizace je výhodné, protože poskytuje s vysokým výtěžkem molekulární ion a tím informaci o molekulové hmotnosti analytu. Na druhou stranu, v MS spektrech chybí signály fragmentů, které jsou významné pro určení struktury. Tento problém řeší tandemová hmotnostní spektrometrie (THS). Pomocí THS je možné vybrat prekurzorový (mateřský) ion, fragmentovat jej a poté sledovat vzniklé fragmenty [103].

Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací (LDI-MS)

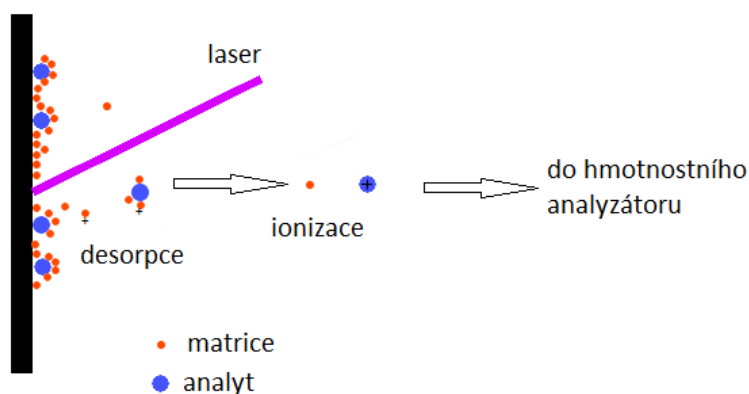
LDI je technika využívající působení laseru na vzorek, který je nanesen na MALDI destičce. Jedná se o měkkou ionizační techniku. Nejčastěji je používán Nd:YAG a dusíkový laser pro UV oblast. Pro IČ oblast se používají CO₂ a Er:YAG lasery. Výhodou LDI-MS oproti jiným ionizačním technikám je možnost vytvoření hmotnostního obrazu na povrchu vzorku (zobrazování, MSI, Mass Spectrum Imaging). Od LDI-MS jsou odvozeny další techniky, jako je MALDI-MS a GALDI-MS.

Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací poskytovala dobré výsledky např. při analýze keramických částí nádob, které byly vevnitř pokryty zbytky fialových barviv [13]. Tato práce již byla zmíněna výše. Elslande a kol. [104] analyzovali pomocí LDI-MS tři růžové práškové pigmenty, které se používaly v antickém Řecku a Římě

pro kosmetické účely. Autoři našli ve spektrech signály purpurinu, pseudopurpurinu a jejich aduktů se sodíkem a draslíkem. Dále autoři popsali „fenomén spektrálního potlačení“, který se objevil u jednoho vzorku obsahující olovo. V tomto případě klastry olova maskovaly signály antrachinonových barviv, které autoři zkoumali.

Hmotnostní spektrometrie s ionizací laserovou desorpčí/ionizací za účasti matrice (MALDI-MS)

Hlavním rozdílem oproti LDI-MS je přítomnost matrice u MALDI-MS. Matrice je nízkomolekulární látka s konjugovaným systémem vazeb, které dobře absorbují energii laseru. Po desorpci z povrchu dokáže matrice předat analytu náboj v plynné fázi, Obr. 14 [105]. Nejpoužívanější matrice pro UV-MALDI je 2,4,6-trihydroxyacetofenon, kyselina sinapová a α -kyano-4-hydroxyskořicová kyselina. Pro IR-MALDI se používá kyselina jantarová a glycerol. Výběr správné matrice je stěžejní pro dobrý výsledek měření. Jako hmotnostní analyzátor se nejčastěji používá průletový analyzátor, který je vhodný pro pulzní techniky. MALDI-MS má široké pole působnosti. Je možné ji za vhodně volených experimentálních podmínek použít pro analýzu barviv, vysýchavých olejů, proteinových pojiv a laků [106].



Obr. 14 Princip MALDI [105]

2.4 Materiály vhodné k přenosu analytu

Dnešní archeometrie upřednostňuje použití mikro-invazivních a neinvazivních metod. Jedna z možností, jak udělat z destruktivní a invazivní metody jakou je (MA)LDI-MS, metodu významně méně invazivní (mikroinvazivní) je přenos analytu ze vzorku pomocí nosiče z vhodného materiálu, např. polymerů [1].

Manfredi a kol. [2] jako první použili polymerní film k přenosu analytu k chemické analýze. Jejich práce je zaměřena na stanovení malých molekul a proteinů pomocí LC-MS/MS. Původně Ethyl-vinyl-acetátový (EVA) film vylepšili přidáním C8, silného katexu a anexu. Při syntéze EVA-filmu použili 30 % polymeru EVA a 70 % směsi ionexů a C8. Vzniklý materiál byl vytlačován extruderem do podoby velmi tenkého filmu s tloušťkou 150-200 μm . Povrch filmu byl charakterizován pomocí ESEM-EDS. Poté byl EVA-film smočen destilovanou vodou a přiložen na zkoumaný povrch vzorku po dobu 30 minut. Poté byl polymerní film extrahován 1M roztokem octanu amonného, čímž byly extrahovány proteiny. Následně byly extrahovány barviva 500 μl směsí 0,1% roztoku kyseliny mravenčí a methanolu. Autoři tuto metodu nejdříve vyzkoušeli na replice malby, dřevomalby a nástěnné malby (fresco a secco). Funkčnost metody ověřili na dvou freskách ze 16. století a dřevomalbě ze 14. století. Autoři identifikovali beta-kasein, alfa-S1-kasein, kappa-kasein a kyselinu karmínovou. Jako důležitou vlastnost EVA-filmu uvádí autoři, že nedochází k ulpívání částecek z polymeru na fresce a příliš velké extrakci materiálu na povrch polymeru. Barberis a kol. [3] pokračovali ve vývoji této metody. V jejich práci se zaměřili na malby na plátně a dřevomalby. Dokázali identifikovat některé složky pojiv a laků.

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie

Při práci byly použity tyto chemikálie: aceton (p.a., Lach-ner s.r.o., Neratovice, CZ), n-hexan (p.a., Lach-ner s.r.o., Neratovice, CZ), methanol (HPLC, Honeywell International, Inc., Morris Plains, NJ, USA), redestilovaná voda (deionizační stanice Millipore, Molsheim, Francie), acetonitril (HPLC, VWR International, LLC., Wayne, PA, USA), aktivní uhlí (p.a., Penta s.r.o., Praha, CZ)

3.2 Polymery

Při práci byly využity polymery, které se používají jako materiály pro 3D tisk: kyselina polymléčná pro tisk pomocných konstrukcí (polylactic acid, PLA; Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ), akrylonitrilbutadienstyren pro tisk polymerního nosiče (ABS; Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ), termoplastický polyuretan jako modifikátor (Flexfill 98A; TPU; Fillamentum, Parzlich s.r.o., Hulín, CZ).

3.3 Vzorky – pigmenty a barviva

Pro pokusy byly vybrány následující látky (barviva a pigmenty): kyselina karmínová (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA), alizarin (R. Schering, Berlin, Německo), indigo (aus Waid, Kremer Pigmente GmbH & Co. KG, Německo), kvercetin (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA), safranin (Lachema, CZ), beta-karoten (Fluka – Honeywell International, Inc., Morris Plains, NJ, USA), kvercitrin (HWI ANALYTIK GmbH, Rülzheim, Německo), rutin (Sigma-Aldrich), oenin chlorid (Applichem GmbH, Darmstadt, Německo), kyselina ellagová (dihydrogen, Sigma-Aldrich), katechin (hydrát, Sigma-Aldrich), luteolin (Fluka – Honeywell International, Inc., Morris Plains, NJ, USA), kyselina gallová (Sigma-Aldrich), apigenin (Fluka – Honeywell International, Inc., Morris Plains, NJ, USA), vitisin A (purified HPLC, izolovaný preparativní chromatografií Dr. Petrem Marholem v Laboratoři biotransformací, Mikrobiologický ústav Akademie věd České Republiky), červený Bolus (Zecchi Colori Belle arti, Itálie), Realgar (Kremer Pigmente), kobaltová žluť (Kremer Pigmente), Neapolská citronová žluť (Kremer Pigmente), olovnato-cínčitá žluť (typ I, Kremer Pigmente), Masikot (Kremer Pigmente), země zelená německá (Kremer Pigmente), Epidot extra zelený (Kremer Pigmente), Azurite (Zecchi), egyptská modř (Zecchi), Lapis lazuli (naleziště Afgánistán, Zecchi), Azurit přírodní tmavý (Kremer Pigmente), Manganová violeť (Kremer Pigmente).

3.4 Parametry měření na hmotnostním spektrometru Synapt G2-S

Měření probíhalo na vysokorozlišujícím tandemovém hmotnostním spektrometru Synapt G2-S (Waters) vybaveným vakuovým MALDI iontovým zdrojem. Měření látek na nemodifikovaném a modifikovaném ABS probíhalo v pozitivním modu v rozsahu 50 – 2000 Da a energie laseru byla nastavena na 250 arbitrárních jednotek. Kolizní energie byla na Trap kolizní cele nastavena na 4 eV a na kolizní cele Transfer na 2 eV. Délka skenu byla nastavena na 1 s a frekvence laseru na 1000 Hz. Jako matrice byla použita α -kyano-4-hydroxyskořicová kyselina (CHCA, Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA). Roztok matrice byl připraven rozpuštěním 10 mg CHCA v 1 ml směsi acetonitrilu a destilované vody (1:1, v/v). Úplného rozpuštění matrice bylo dosaženo použitím ultrazvukové lázně.

Byla provedena kalibrace a „lock mass“ měření pomocí na MALDI destičku nanesené suspenze červeného fosforu. Tato suspenze byla připravena navážením 1 mg červeného fosforu (Sigma-Aldrich; St. Louis, MI, USA) a jeho dispergováním v 1 ml acetonu. Tímto bylo zajištěno měření přesné a správné hodnoty m/z. Matrice byla nanесena sprejováním pomocí zařízení SunCollect (SunChrom, Friedrichsdorf, DE). Matrice byla nanесena v pěti vrstvách. První vrstva byla nanесena rychlostí 20 μ l/min, zbylé čtyři byly nanесeny rychlostí 10 μ l/min.

Pro experimenty s MALDI zobrazováním byl jako matrice zvolen roztok CHCA. Matrice byla nanесena stejným způsobem jako u předchozích experimentů. Měření probíhalo v pozitivním modu v rozsahu 50 – 2 000 Da. Energie laseru byla nastavena na 350 arbitrárních jednotek, kolizní energie byla na Trap kolizní cele nastavena na 4 eV a na kolizní cele Transfer na 2 eV. Velikost jednoho pixelu byla nastavena na 150x150 μ m. Data byla vyhodnocena v programu HDI v1.5 (Waters Corporation, MA, USA).

Dále bylo provedeno MALDI-MS zobrazování odebraných otisků z malované truhly (detaily o tomto autentickém objektu jsou uvedeny dále). Jako matrice byl zvolen roztok CHCA. Matrice byla nanесena stejným způsobem jako u předchozích experimentů. Měření probíhalo v pozitivním modu v rozsahu 50 – 2 000 Da. Energie laseru byla nastavena na 300 arbitrárních jednotek, kolizní energie byla na Trap kolizní cele nastavena na 4 eV, na kolizní cele Transfer na 2 eV a velikost jednoho pixelu byla 200x200 μ m. Data byla dále vyhodnocena v programu HDI v1.5.

3.5 Metodika měření pomocí Ramanova mikroskopu

Měření Ramanových spekter bylo provedeno na přístroji DXR2 (Thermo Scientific, MA, USA), který umožňuje vytvoření 1D („line scan“) nebo 2D zobrazení povrchu. Laser pracoval při 785 nm. Energie laseru byla 1, 5, 10 a 20 mW. Pokud docházelo k viditelnému pálení vzorku, pak byla energie pálení způsobující vynechána. Každé měření sestávalo z 16 expozičních a každá expozice trvala 2 s. Clona měla šířku štěrbinu 50 μm , zvětšení bylo použito 10x a byl použit termoelektricky chlazený CCD detektor. Vyhodnocení naměřených spekter bylo uskutečněno pomocí softwaru OMNIC, který dovoluje vyhledávání v knihovných spekter.

3.6 MALDI-MS analýza organických barviv z polymerního nosiče

Roztoky vybraných organických barviv byly připraveny rozpuštěním 1 mg dané látky v 1 ml rozpouštědla. Kyselina karmínová, alizarin, oenin, kyselina ellagová, katechin, luteolin, kyselina gallová, apigenin a vitisin A byly rozpuštěny ve směsi MeOH/H₂O v poměru 1:1 (v/v). Indigo, kvercetin, kvercitrin a rutin byly rozpuštěny v MeOH. Beta-karoten byl rozpuštěn v hexanu. Safranin byl rozpuštěn ve vodě.

Polymerní nosič, vytištěný na 3D-tiskárně podle [1], byl nastříhán na malé kousky o velikosti asi 2x2 mm. Tyto čtverečky ABS byly s využitím oboustranné lepicí pásky nalepeny na MALDI destičku. Poté bylo pomocí mikropipety na každý kousek polymeru nakápnuto 1,5 μl roztoku.

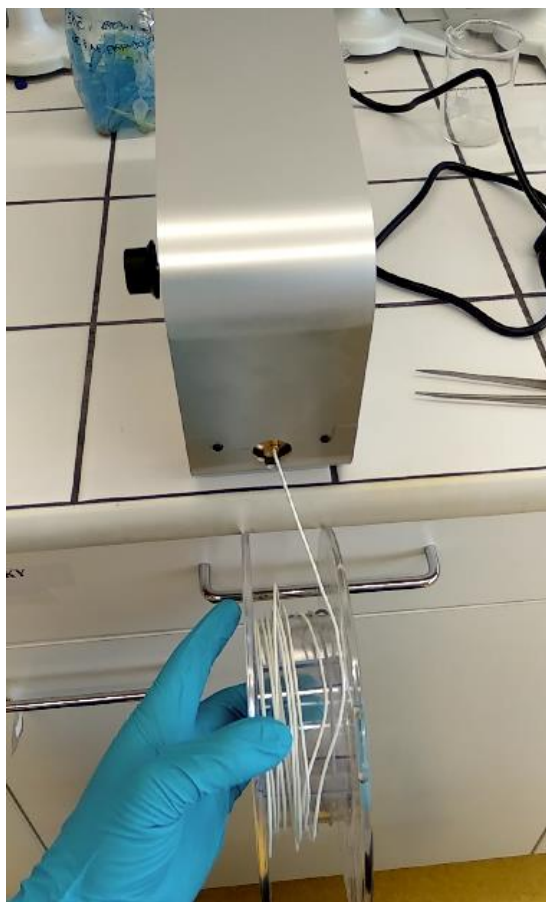
3.7 Příprava modifikovaných polymerních nosičů

Polymer ABS byl modifikován přidáním modifikátoru pro zvýšení ionizace na MALDI [107, 108] (aktivní uhlí, polymer termoplastický polyurethan) Modifikátor byl přidán do směsi při výrobě filamentu. Příprava filamentu probíhala na extruderu Felfil EVO (Felfil srl, Torino, Itálie) při 210 °C a 9 rpm. Tento extruder byl sestaven z dodaných komerčně dostupných dílů a otestován v rámci této diplomové práce.

Byly připraveny dvě modifikované formy ABS. První s přídavkem 10 % (w/w) termoplastického polyurethanu Flexfill TPU 98A a druhý s přídavkem 1 % (w/w) aktivního uhlí. Filament Flexfill TPU 98A byl nejdříve nastříhán na menší kousky, které byly poté naváženy a ručně homogenizovány s vypočteným množstvím granulovaného ABS. Tato směs byla přesypána do zásobníku extruderu a po vyhřátí polymeru a jeho vytlačení tryskou byla připravena struna pro 3D tiskárnu.

Aktivní uhlí bylo naváženo a přidáno ke granulátu ABS. Směs byla promíchána v kádince. Aktivní uhlí se vlivem elektrostatických sil nalepilo na granule ABS. Další postup byl stejný jako u předešlé modifikace.

Z těchto modifikovaných polymerů bylo pomocí 3D tiskárny TRILAB DeltiX (TriLAB Group s.r.o., Brno, CZ) připraveno několik polymerních nosičů (3D návrh byl vytvořen v aplikaci Tinkercad (Autodesk, Inc.) a poté zpracován freeware softwarem KISSlicer (Keep It Simple Slicer, autor: Jonathan Dummer, volně k stažení z: <http://www.kisslicer.com/>)).



Obr. 15 Navíjení filamentu vyrobeného extruderem Felfil EVO

3.8 MALDI-MS analýza barviv a pigmentů z modifikovaných polymerních nosičů

Pro tento experiment byly použity stejné látky jako v případě nemodifikovaného ABS. Provedení analýzy se taktéž shodovalo s experimentem popsáním výše. MALDI destička se vzorky je zobrazena na Obr. 16.

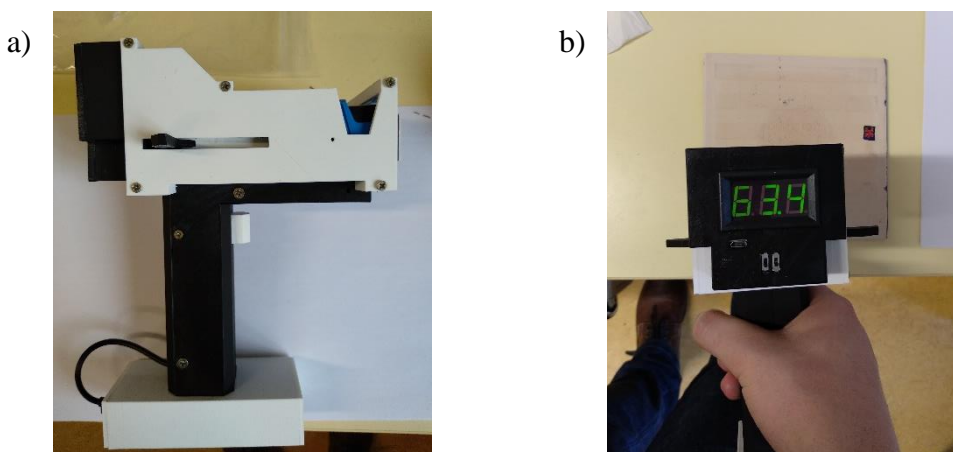


Obr. 16 MALDI destička se vzorky barviv a pigmentů na polymerech: ABS – řada A a B; ABS-TPU – řada C a D; ABS-C – řada E a F; A1/C1/E1 – čistý polymer; pozice A2/C2/E2 – kys. karmínová; pozice A3/C3/E3 – alizarin; A4/C4/E4 – indigo; pozice A6/C6/E6 – safranin; pozice A7/C7/E7 – kvercetin; pozice A8/C8/E8 – beta-karoten; pozice A9/C9/E9 – kvercitrin; pozice A10/C10/E10 – rutin; pozice A11/C11/E11 – oenin chlorid; pozice A12/C12/E12 – kys. ellagová; pozice B1/D1/F1 – katechin; pozice B2/D2/F2 – luteolin; pozice B3/D3/F3 – vitisin A; pozice B4/D4/F4 – kys. gallová; pozice B5/D5/F5 – apigenin

3.9 Popis a použití zařízení TSA (Thermo-chemical Stamp for Archaeometry)

Pro odběr vzorků z keramické kachle a autentického historického objektu (malovaná truhla) byl použit přístroj TSA, který byl vyvinut na katedře analytické chemie Univerzity Palackého v Olomouci. Hlavní komponentou je odporová destička napájená baterií. Přístroj se vybavený displejem, na kterém se zobrazuje dosažená teplota.

Polymerní nosič se upevní pomocí metalické lepicí pásky. Pomocí buničiny nebo vatové tyčinky se na polymerní nosič nanese malé množství acetonu a po krátkém působení rozpouštědla se přístroj přiloží do kontaktu se vzorkem. Poté se stiskem spouště zahájí zahřívání polymerního nosiče, který je celou dobu v kontaktu se vzorkem. Tímto dojde k extrakci/adsorpci malého množství analytu na povrch polymeru. Po dosažení určené délky expozice při nastavené teplotě se přístroj opatrně odejme od zkoumaného povrchu a polymerní nosič se odstraní z odporové destičky. Takto odebraný vzorek je připraven na měření. Přístroj TSA je zobrazen na Obr. 17.



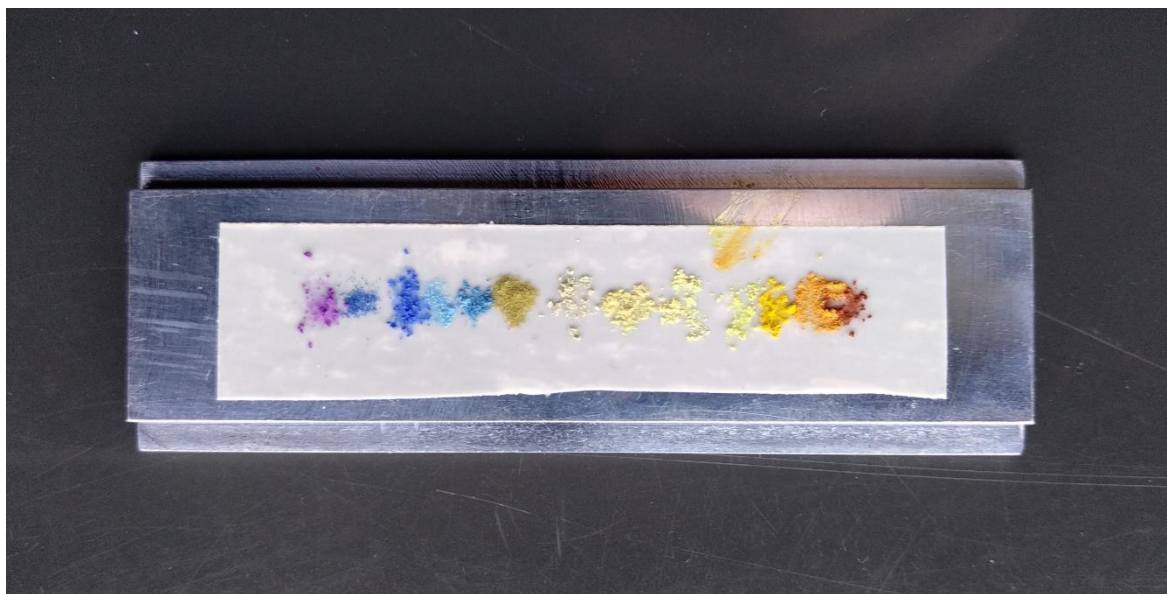
Obr. 17 TSA a) boční pohled na přístroj TSA, b) TSA při aplikaci na keramické kachli

Jeden z cílů této práce bylo otestovat funkčnost tohoto zařízení a popřípadě navrhnout možné úpravy pro zlepšení jeho funkčnosti.

3.10 Ramanova spektrometrie standardů pigmentů

Ramanova spektroskopie byla použita pro proměření standardů vybraných pigmentů a barviv. Na duralovou destičku (Obr. 18) byla přilepena oboustranná lepicí páska. Na tuto pásku bylo pomocí špachtle nanese malé množství každého pigmentu. Duralová destička

byla umístěna do přístroje a postupně byla proměřena spektra všech látek. Pomocí vestavěné kamery byla sledována destruktivita při zvyšující se energii laseru. Poté byl proveden „line-scan“, při energii 1 mW. Tato energie laseru se jevila jako nejlepší pro získání kvalitních spekter, a přitom nezpůsobila žádné viditelné poškození krystalů pigmentů.



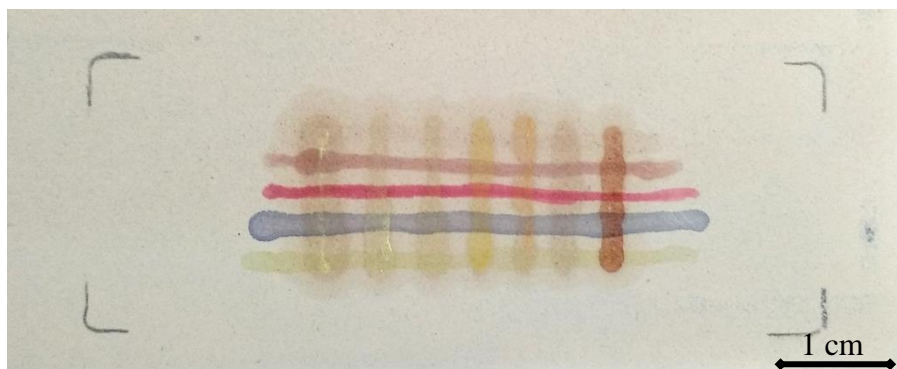
Obr. 18 Duralová destička s nalepenou oboustrannou páskou a vzorky (zprava) – červený Bolus, Realgar, Kobaltová žluť, Neapolská citronová žluť, Olovnato-cínčitá žluť, Masicot, Země zelená německá, Epidot, Azurit, Egyptská modř, Lapis lazuli, Azurit přírodní tmavý, Manganová violet

3.11 MALDI-MS zobrazování otisku na polymerním nosiči

Dalším experimentem bylo získání otisku z keramické dlaždice (výrobce HOB, Horní Bříza a. s., CZ). K provedení tohoto experimentu byly použity především červené až žluté pigmenty a organická barviva. Na rubovou stranu dlaždice byl namalován jednoduchý vzor pomocí roztoku pěti organických barviv. Byly použity stejné roztoky jako v kapitole 3.6 . Pomocí mikropipety byly postupně nanесeny roztoky kyseliny karmínové, alizarinu, safraninu, oeninu a kvercetinů.

Dále byly připraveny suspenze těchto pigmentů: Bolo Armeno, Realgar genuine, Cobalt yellow, Naples yellow lemon, Lead tin yellow deep, Massicot, Epidote greenish extra. 1 mg pigmentu bylo dispergováno ve 100 μ l běleného lněného oleje (Natural pigments

LLC, Willits, USA). Pigmenty dispergované ve lněném oleji byly nanесeny pomocí mikropipety na rubovou stranu dlaždice. Výsledný obrazec je prezentován na Obr. 19.



Obr. 19 Obrazec vytvořený na rubové straně dlaždice z roztoků barviv a suspenzí pigmentů

Z rubové strany této dlaždice byl poté odebrán otisk pomocí zařízení TSA. Byly použity všechny tři polymerní nosiče – ABS, ABS-TPU a ABS-C. Polymery byly před použitím zvlhčeny acetonem. Při snímání otisku byla použita teplota 60 °C.

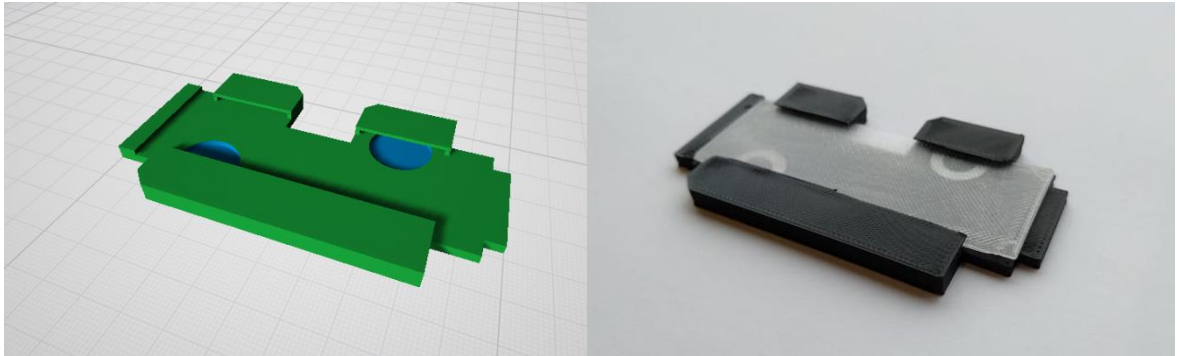


Obr. 20 Polymer ABS s 1 % přídavkem aktivního uhlí po odběru vzorku

Na Obr. 20 je zobrazen polymerní nosič ABS-C (ABS modifikované aktivním uhlím) po odběru vzorku. U tohoto typu se vyskytl problém s kroucením polymeru po navlhčení acetonem a následném zahřátí. Zkroucený polymer nelze použít k MALDI zobrazování. Řešení tohoto problému je popsáno v kapitole 3.11.1 .

3.11.1 MALDI holder – držák podložních sklíček

Pro potřeby upevnění polymerního nosiče během měření na přístroji Synapt G2-S byl na 3D tiskárně vytvořen držák. Model držáku byl připraven v programu 3D Builder (Microsoft Corporation) a vytištěn z PLA na 3D tiskárně TRILAB DeltiX.



Obr. 21 Návrh MALDI držáku v programu 3D Builder (vlevo); vytištěný model připravený na měření (vpravo)

Dále model obsahuje kovové podložky, které jsou nutné k upevnění vzorku do přístroje. Tento držák je také kompatibilní s Ramanovým mikroskopem.

3.12 Analýza autentického historického vzorku

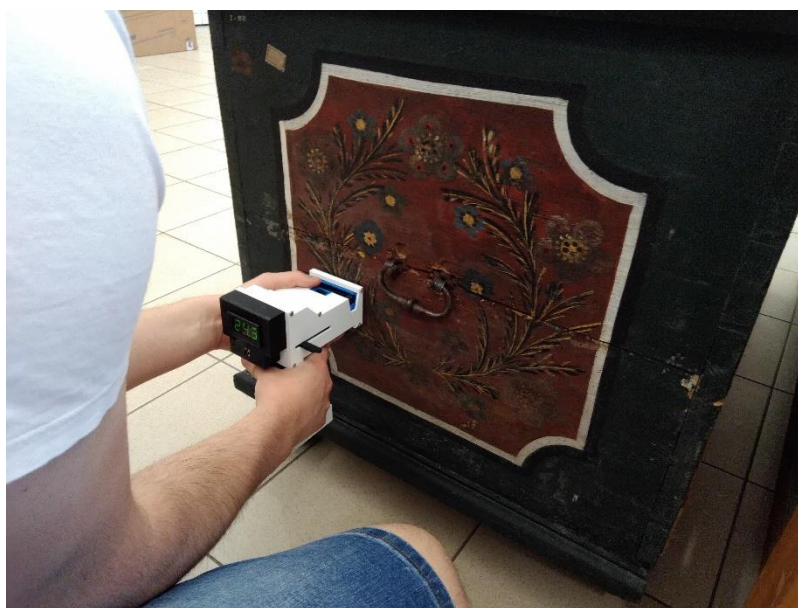
Dále byl odebrán vzorek z reálného historického předmětu. Z restaurátorské dílny Vlastivědného muzea v Olomouci byl získán souhlas k odběru vzorku z truhly (No.: E5173). Fotka truhly je na Obr. 22. Jedná se o dřevěnou truhlu s malovanými barevnými květinovými vzory. Tato truhla pochází ze střední Moravy a je datována do 19. století.



Obr. 22 Fotka truhly

3.12.1 Odběr vzorku

Odběr vzorku byl proveden pomocí přístroje TSA. K odběru byly použity polymerní nosiče z ABS. Odběr byl proveden na dvou místech – z víka a z boční strany truhly.



Obr. 23 Odběr vzorku z truhly pomocí TSA

Polymer byl připevněn metalickou lepicí páskou k TSA a zvlhčen acetonem, poté byl přitisknut k truhle na předem vybraném místě pro odběr vzorku. Oblast odběru byla vyznačena bílou papírovou maskou (Obr. 24), která sloužila k přesnějšímu zaměření odběrové oblasti při vyhotovování MS zobrazování. Během tří minut bylo dosaženo 60 °C, pak byl TSA opatrně oddálen od truhly. Po zchladnutí byl odebrán polymerní nosič a připraven k měření.

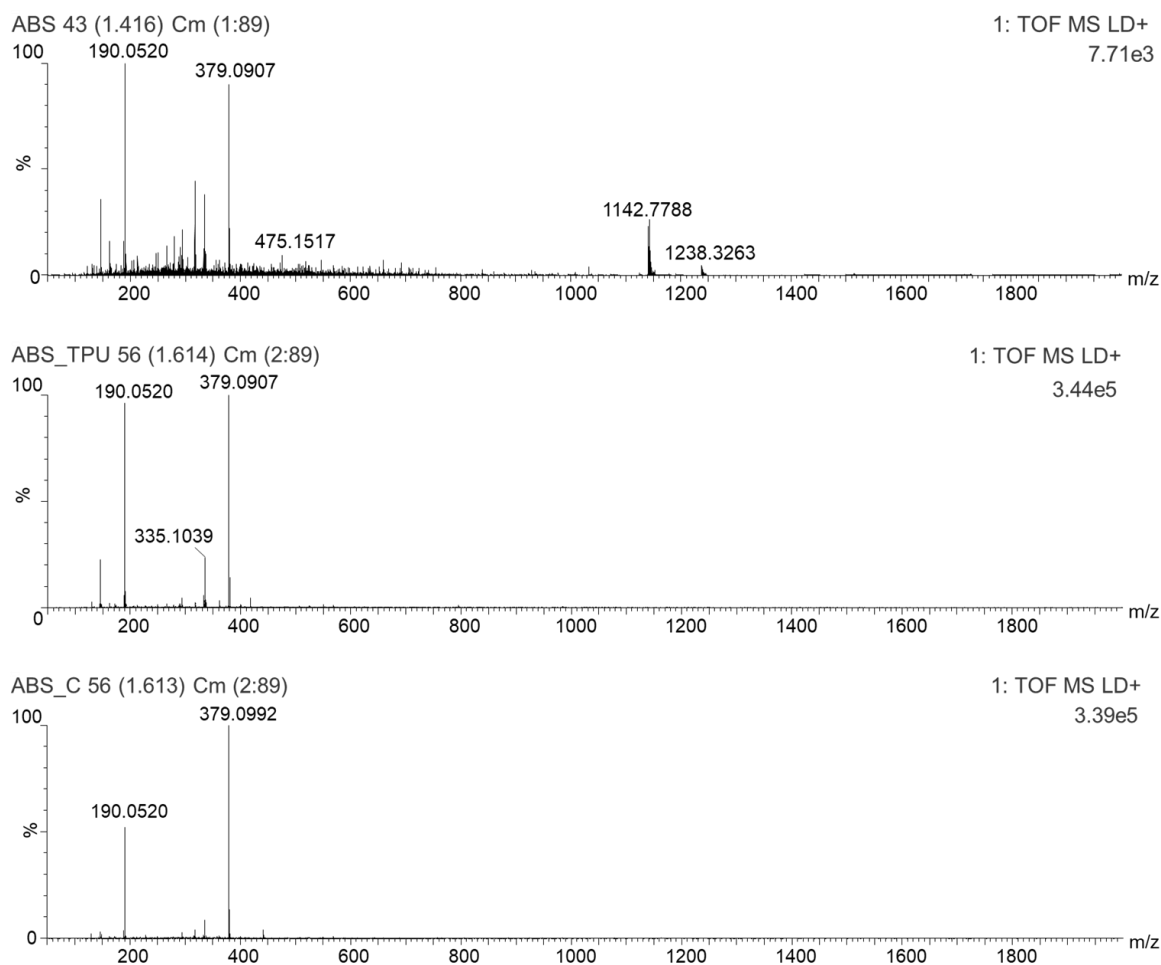


Obr. 24 Odběrové místo: a) na boční straně truhly; b) z víka truhly

4 Výsledky a diskuse

4.1 Chemické pozadí použitých polymerů

Nejdříve bylo provedeno měření samotných polymerů. Spektra polymeru ABS a dvou připravených modifikací: ABS-TPU a ABS-C byla porovnávána na základě intenzity signálů ve spektru. Tato měření ukazuje Obr. 25.



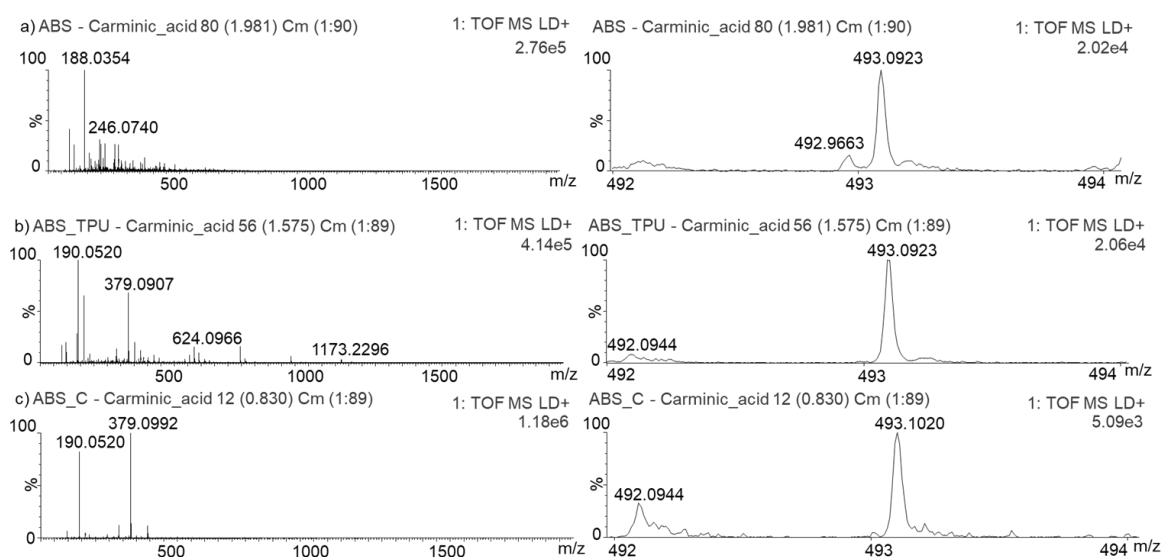
Obr. 25 Pozadí ABS, ABS-TPU a ABS-C

Nejnižší intenzita pozadí byla získána u obvyčejného nemodifikovaného ABS. Polymer modifikovaný pomocí aktivního uhlí (ABS-C) měl nižší pozadí než druhý polymer modifikovaný TPU (ABS-TPU). Tento rozdíl je dobře patrný v oblasti od m/z 100 do m/z 350, kde mají tyto signály asi o polovinu nižší intenzitu u ABS-C oproti ABS-TPU. Signály vznikající z polymerního nosiče nebyly v rámci práce identifikovány.

4.2 Ionizace vybraných látek na polymerních nosičích

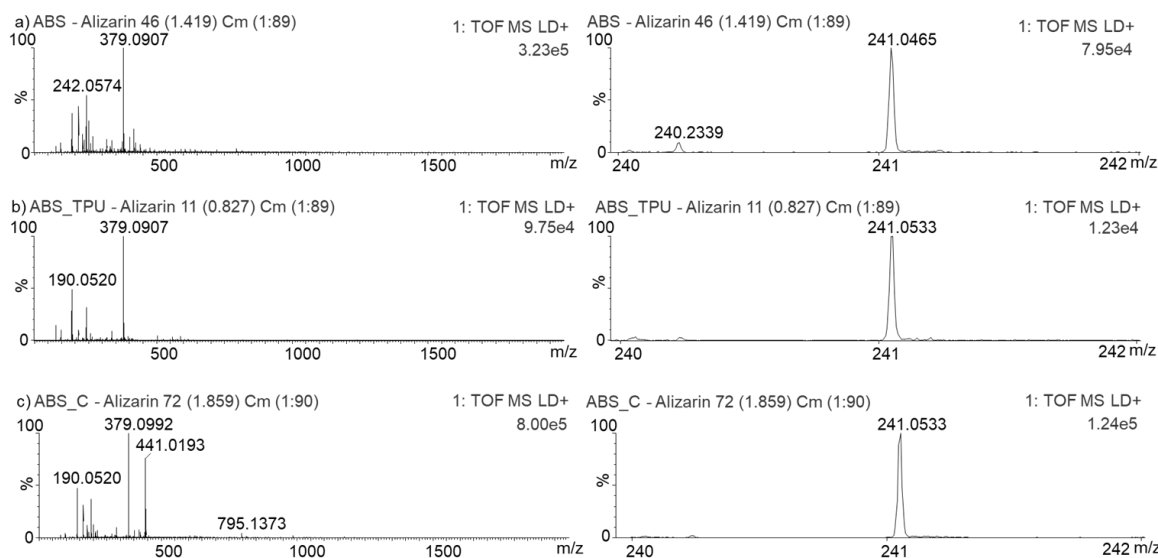
Pro zjištění vlivu modifikátoru na intenzitu sledovaných organických látek byly na polymer a jeho směsi s modifikátorem nanoseny vzorky organických barviv. Ty byly měřeny MALDI technikou v pozitivním modu. Jednalo se o: kyselinu karmínovou, alizarin, indigo, safranin, kvercetin, beta-karoten, kvercitrin, rutin, oenin chlorid, kyselinu ellagovou, katechin, luteolin, vitisin A, kyselinu gallovou a apigenin.

Na Obr. 26 jsou zobrazena spektra kyseliny karmínové v pozitivním módu a detaily z těchto spekter (zoom v oblasti signálu rodičovského iontu) pro hmotu m/z 493,0923.



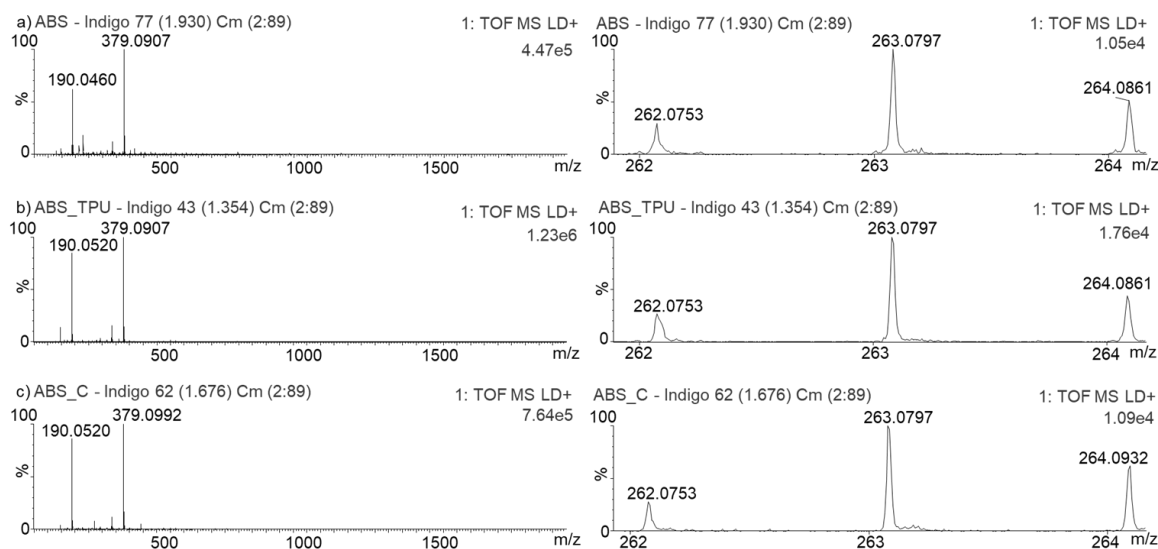
Obr. 26 Hmotnostní spektra kyseliny karmínové na a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C a detaily pro m/z 493,0923

Signál kyseliny karmínové nebyl dominantním signálem ve spektru (Obr. 26). Pozadí polymerů mělo řádově vyšší intenzitu. Lepší výsledky měření by mohly být dosaženy v negativním modu, což by naznačovala práce Maiera a kol. [109]. Nejvyšší intenzita analytu byla dosažena s ABS-TPU. O málo nižší intenzitu má signál kyseliny karmínové při použití ABS. Zhruba dvakrát nižší signál byl pozorován při použití ABS-C. Odchylka od přesné hmoty byla v případě ABS-C 8,79 ppm, v případě ABS-TPU a nemodifikovaného ABS -10,88 ppm.



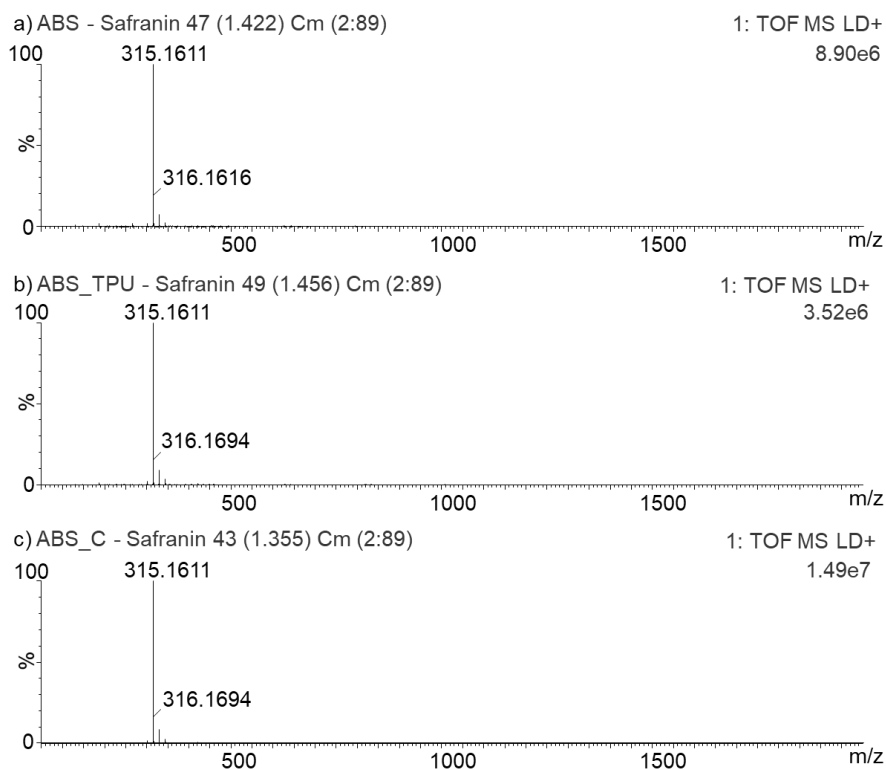
Obr. 27 Hmotnostní spektra alizarinu na a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C a detail těchto spekter v oblasti m/z 241

Na Obr. 27 je zobrazeno spektrum alizarinu. Na detailu tohoto spektra v oblasti m/z 241 vidíme signál alizarinu. Nejvyšší intenzitu má signál alizarinu při použití ABS-C. Odchylka od přesné hmoty činila -12,59 ppm u ABS, resp. 15.62 ppm v případě ABS-TPU a ABS-C.



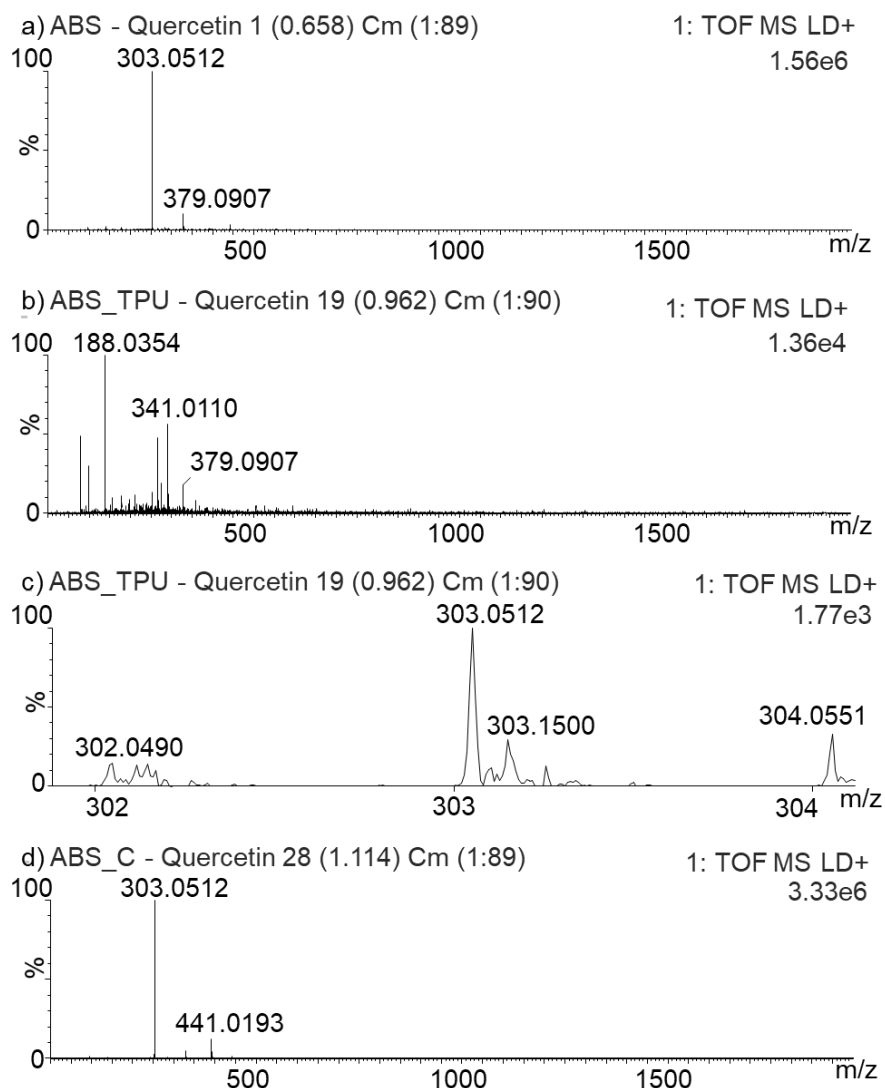
Obr. 28 Hmotnostní spektra indiga na ABS, ABS-TPU, ABS-C

Na Obr. 28 je zobrazeno spektrum indiga. Nejintenzivnější signály, m/z 190,0520 a m/z 379,0907, mají spojitost s polymerem ABS. Na detailu je patrný signál $[\text{indigo}+\text{H}]^+$ m/z 263,0797 s odchylkou od přesné hmoty -6,86 ppm. Nejintenzivnější signál byl získán pomocí ABS-TPU.



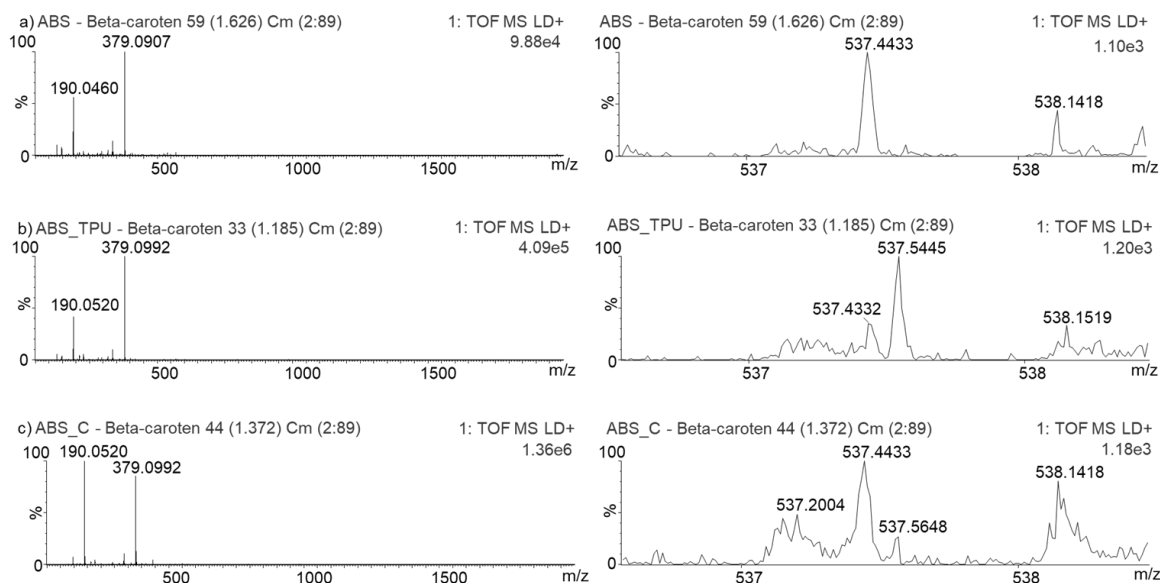
Obr. 29 Spektrum safraninu měřeného z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C

Spektrum safraninu (Obr. 29) chloridu obsahuje dominantní signál m/z 315,1611, který náleží kationtu safraninu M^+ . Odchylka od přesné hodnoty m/z je 2,15 ppm. Nejvyšší intenzitu má ion safraninu desorbovaný z polymeru s aktivním uhlím ABS-C.



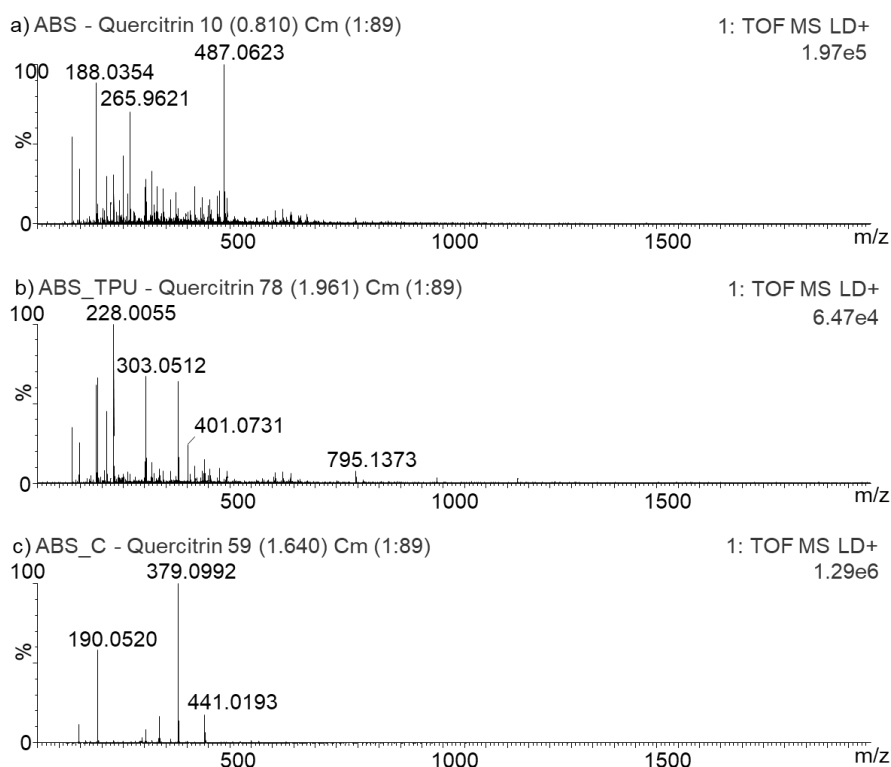
Obr. 30 Spektra kvercetinu a) použití ABS, b) použití ABS-TPU, c) detail ABS-TPU pro m/z 303,0512, d) použití ABS-C

Ve spektrech na Obr. 30 lze vidět signál m/z 303,0512, který odpovídá iontu $[\text{kvercetin}+\text{H}]^+$ s odchylkou od teoretické hodnoty m/z 4,19 ppm. Nejintenzivnější signál poskytoval kvercetin nanesený na ABS-C. V případě ABS-TPU spektrum obsahovalo také fragmenty kvercetinu.

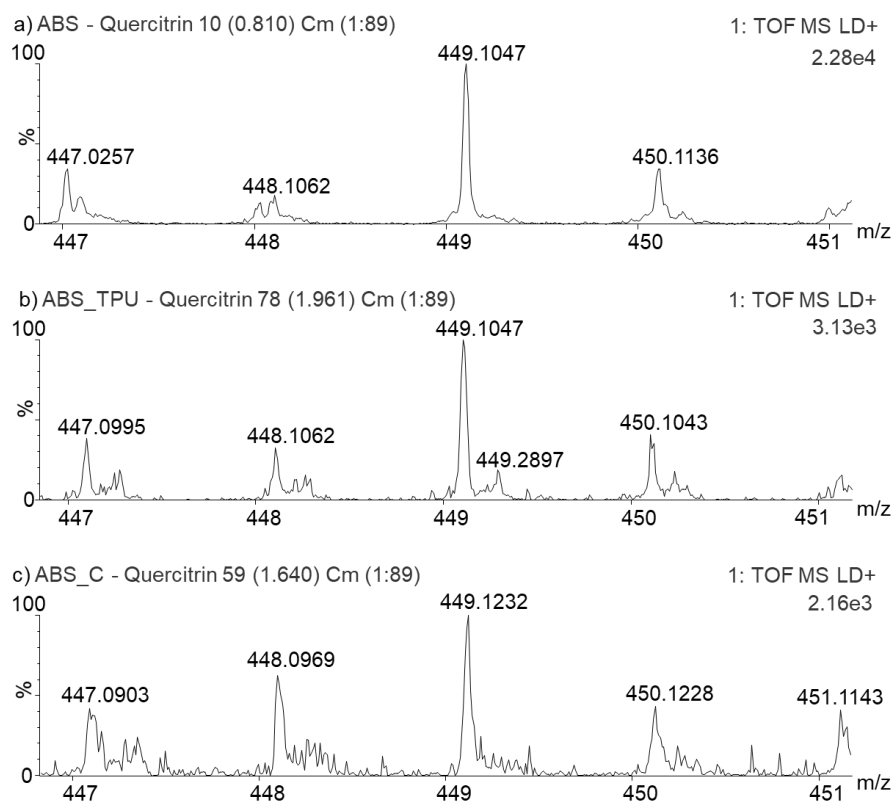


Obr. 31 Spektra betakarotenu měřeného z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C. Vlevo je zobrazeno celé spektrum, vpravo detail pro m/z 537.

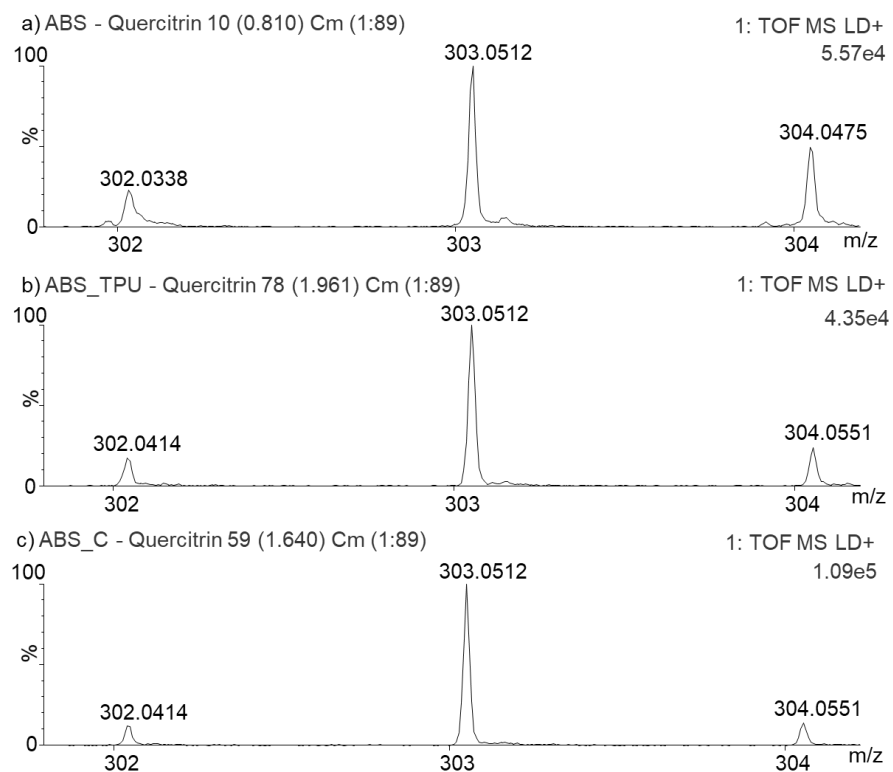
Na Obr. 31 vidíme spektrum beta-karotenu. V tomto spektru jsou dominantní signály polymerního pozadí. Na detailu je patrný signál betakarotenu m/z 537,4433 s odchylkou od přesné hodnoty m/z -4,05 ppm. Nejvyšší intenzitu má tento karotenoid ve spektrech pořízených z ABS a ABS-C, přestože i zde je signál betakarotenu na úrovni meze detekce.



Obr. 32 Spektra kvercitrinu měřeného z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C

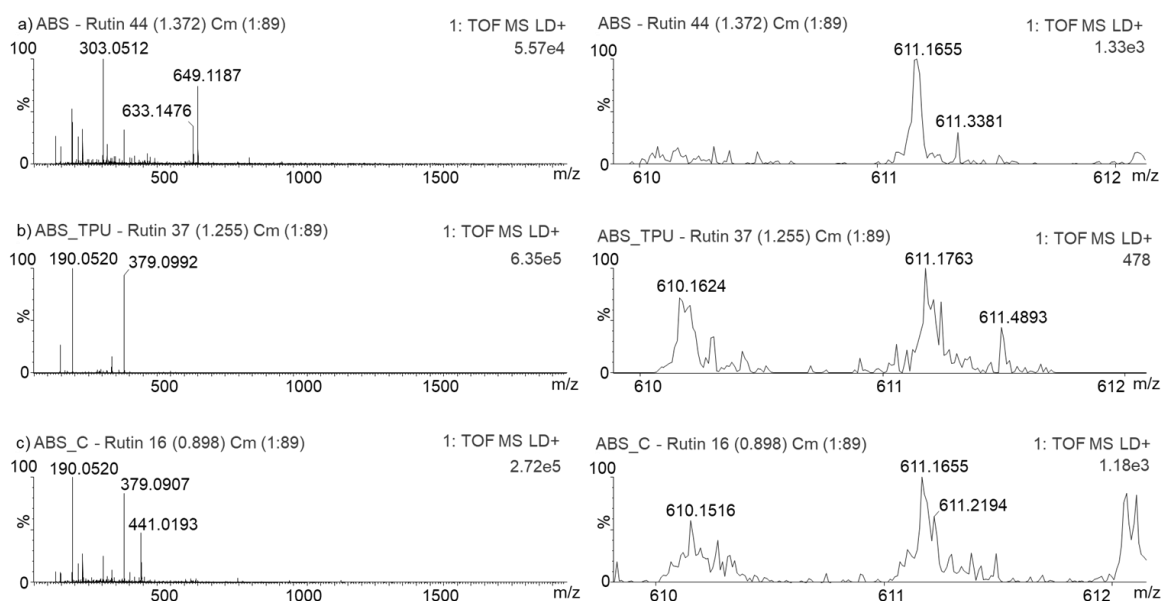


Obr. 33 Detail pro m/z 449 ve spektrech kvercitrinu: a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C



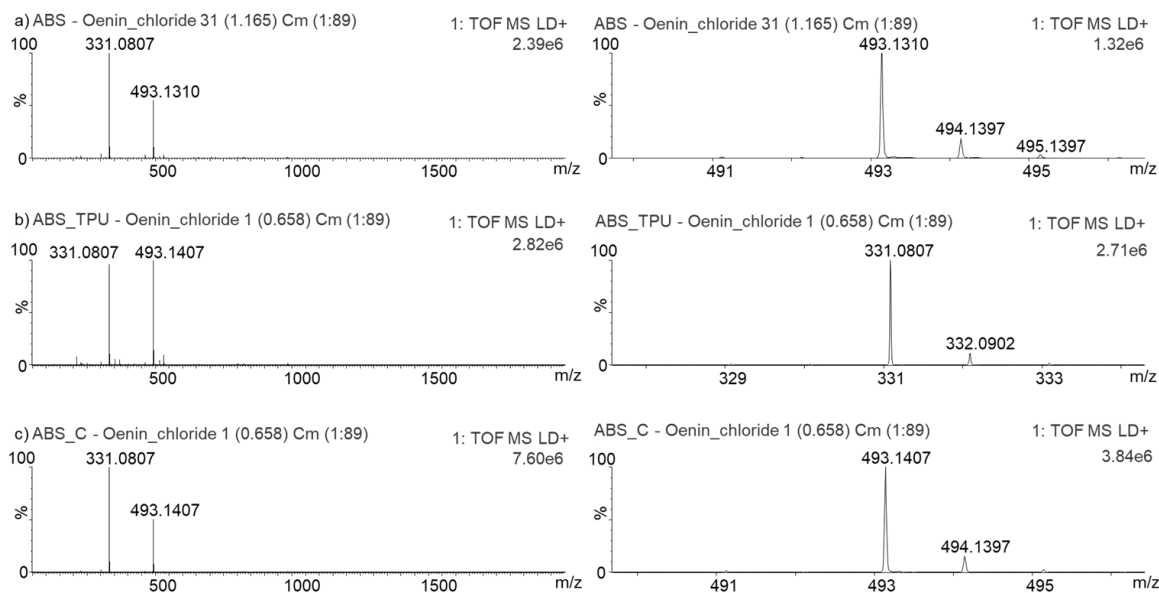
Obr. 34 Detail aglykonu kvercitrinu m/z 303: a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C

Byla získána spektra kvercitrinu, což je rhamnosid kvercetin (Obr. 32, Obr. 33 a Obr. 34). Ve spektru byl identifikován ion s m/z 449,1047 ($d = -6,99$ ppm), resp. m/z 449,1232 ($d = 34,21$ ppm) v případě ABS-C. Ve spektrech byl intenzivnější jeho aglykon s m/z 303,0512 a odchylkou od přesné hmoty 4,19 ppm. Nejvyšší intenzitu poskytoval kvercitrin při měření z ABS. Jeho aglykon (kvercetin) poskytoval největší intenzitu při měření z povrchu ABS-C.



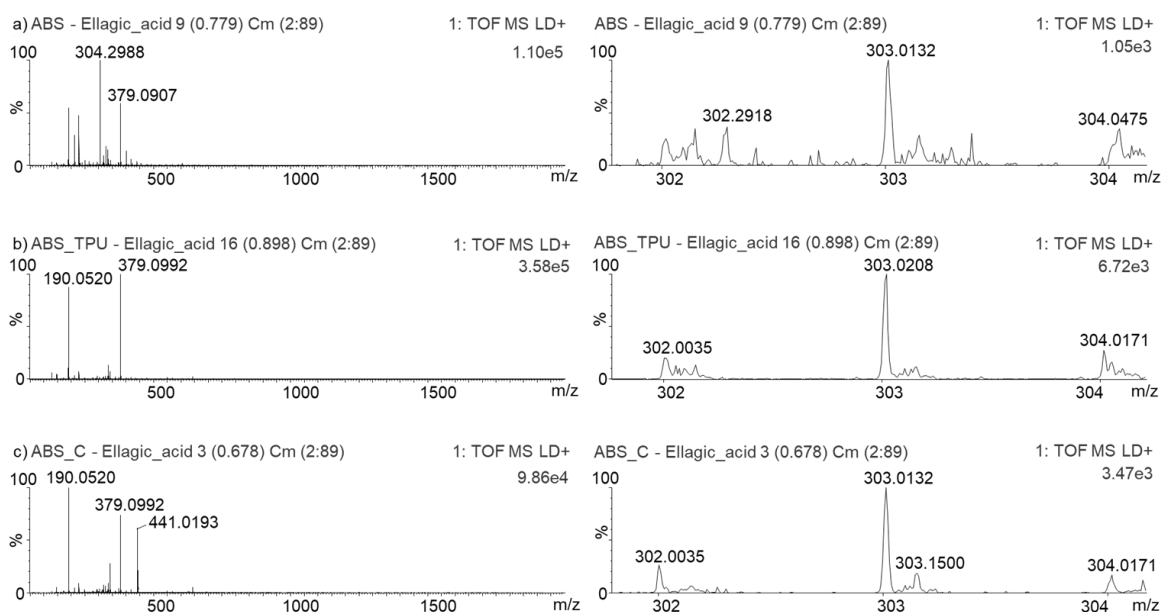
Obr. 35 Hmotnostní spektra rutinu měřeného z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C a detail pro m/z 611 pro každý materiál

Dále byla získána spektra rutinu (Obr. 35). Jeho aglykon je taktéž kvercetin, na který je navázán cukr rutinosa. Při měření s ABS měl rodičovský ion signál při m/z 611,1655 ($d = 7,92$ ppm), s ABS-TPU při m/z 611,1763 ($d = 25,59$ ppm) a s ABS-C při m/z 611,1655 ($d = 7,92$ ppm). Rodičovský ion dával nejvyšší intenzitu při měření z ABS. Ve spektrech byl identifikován také aglykon s m/z 303,0512 ($d = 4,19$ ppm). Tento aglykon dával nejvyšší intenzitu při měření z polymeru ABS-C. Dále byly identifikovány dva signály, které náleží aduktům rutinu s alkalickými kovy. Prvním z nich je $[M+Na]^+$ m/z 633,1479 s odchylkou od teoretické hodnoty m/z 7,89 ppm. Druhým je $[M+K]^+$ m/z 649,1187 s odchylkou od teoretické hodnoty 3,32 ppm. Oba jsou dobře pozorovatelné ve spektru měřeném z povrchu ABS. Sodný adukt je patrný i ve spektrech ABS-TPU a ABS-C, m/z 633,1479 ($d = 7,89$ ppm). Draselný adukt je dále patrný pouze u ABS-C m/z 649,1298 ($d = 20,42$ ppm).



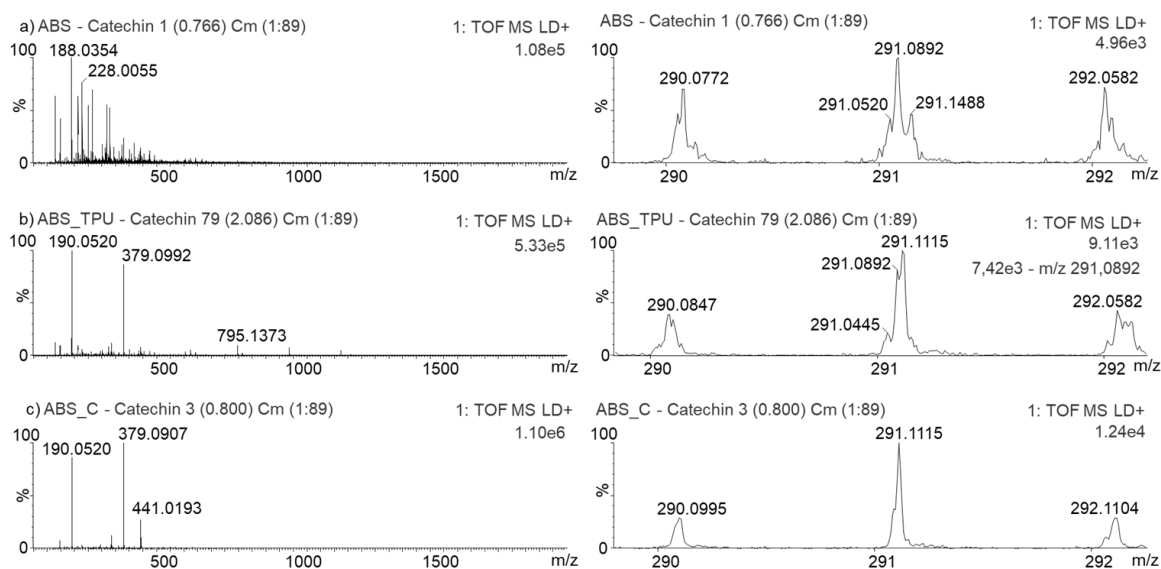
Obr. 36 Hmotnostní spektra oeninu měřeného z povrchu a) ABS s detailem pro m/z 493, b) ABS-TPU s detailem pro m/z 331, c) ABS-C s detailem pro m/z 493

Ve spektrech oeninu (Obr. 36) při měření ze všech materiálů byly nalezeny dva dominantní signály: rodičovský ion s m/z 493 a fragment po odštěpení glukosy s m/z 331. Tyto signály jsou pro oenin (malvidin-3-glukosid) charakteristické. Největší signál poskytuje ABS-C. Při použití ABS byly nalezeny signály s m/z 331,0807 ($d = -1,60$ ppm) a 493,1310 ($d = -6,19$ ppm). Při měření s ABS-TPU byly signály rodičovského iontu m/z 493,1407 ($d = 13,48$ ppm) a fragmentu m/z 331,0807 ($d = -1,60$ ppm) a při měření s ABS-C signály rodičovského iontu m/z 493,1407 ($d = 13,48$ ppm) a fragmentu m/z 331,0807 ($d = -1,60$ ppm).



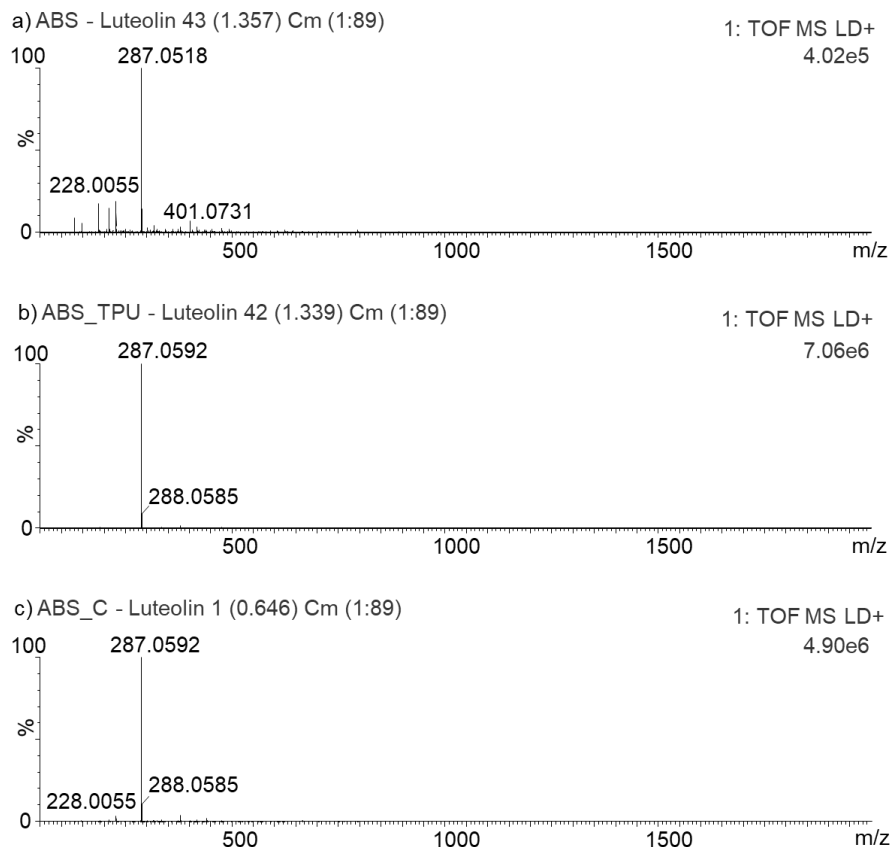
Obr. 37 Spektra kyseliny ellagové měřené z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C a detaily jednotlivých spekter v oblasti m/z 303

Další měřenou látkou byla kyselina ellagová. Spektra pro tuto látku jsou zobrazena na Obr. 37. Nejintenzivnější signály ve spektrech kyseliny ellagové pocházely z polymerního nosiče, např. m/z 190,0520 a m/z 379,0992 a signál kyseliny ellagové (m/z 303) je minoritní. Nejintenzivnější byl ion kyseliny ellagové měřený z ABS-TPU. Ve všech spektrech je signál kyseliny ellagové spolehlivě identifikován (ABS: ion s m/z 303,0132 ($d = -1,14$ ppm), ABS-TPU: m/z 303,0208 ($d = 23,95$ ppm) a ABS-C: m/z 303,0132 ($d = -1,14$ ppm)).



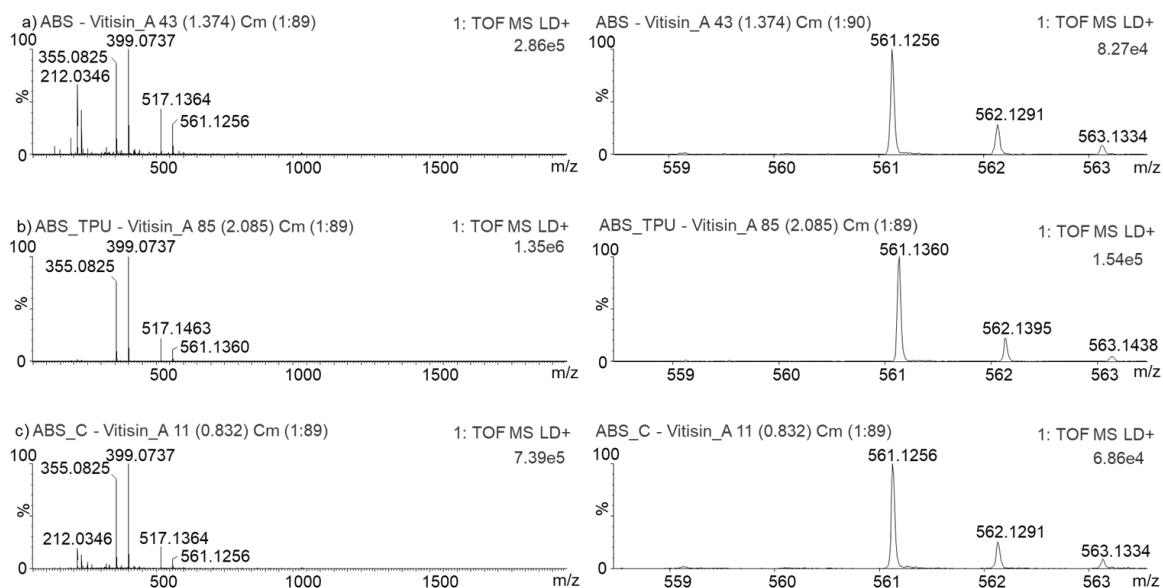
Obr. 38 Hmotnostní spektrum katechinu měřeného z povrchu ABS, ABS-TPU a ABS-C

Z hmotnostních spekter katechinu (Obr. 38) je patrné, že tato látka poskytuje velmi nízký signál v porovnání s pozadím polymeru. Nejvyšší intenzitu poskytuje v případě ABS-TPU. Na detailu vidíme signál katechinu m/z 291,0892 ($d = 9,91$ ppm). U vzorku ABS-C je již příliš nízká intenzita signálu katechinu a tento signál je zde překryt jiným signálem (m/z 291,1115).



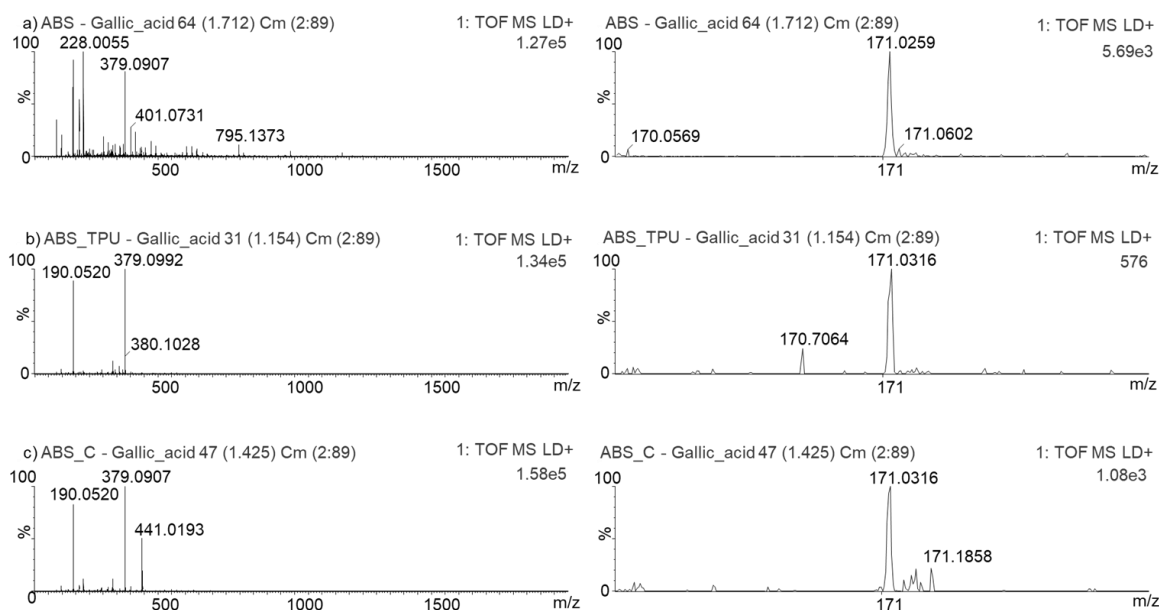
Obr. 39 Hmotnostní spektrum luteolinu měřeného z povrchu: a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C

Dominantním signálem při měření luteolinu je ve spektrech ze všech polymerních materiálů rodičovský ion s m/z 287 (Obr. 39). Nejvyšší intenzitu poskytoval luteolin měřený z povrchu polymeru ABS-TPU. Ve všech spektrech je signál kyseliny luteolinu spolehlivě identifikován (ABS: ion s m/z 287,0518 ($d = -11,20$ ppm), ABS-TPU: m/z 287,0592 ($d = 14,58$ ppm) a ABS-C: m/z 287,0592 ($d = 14,58$ ppm).



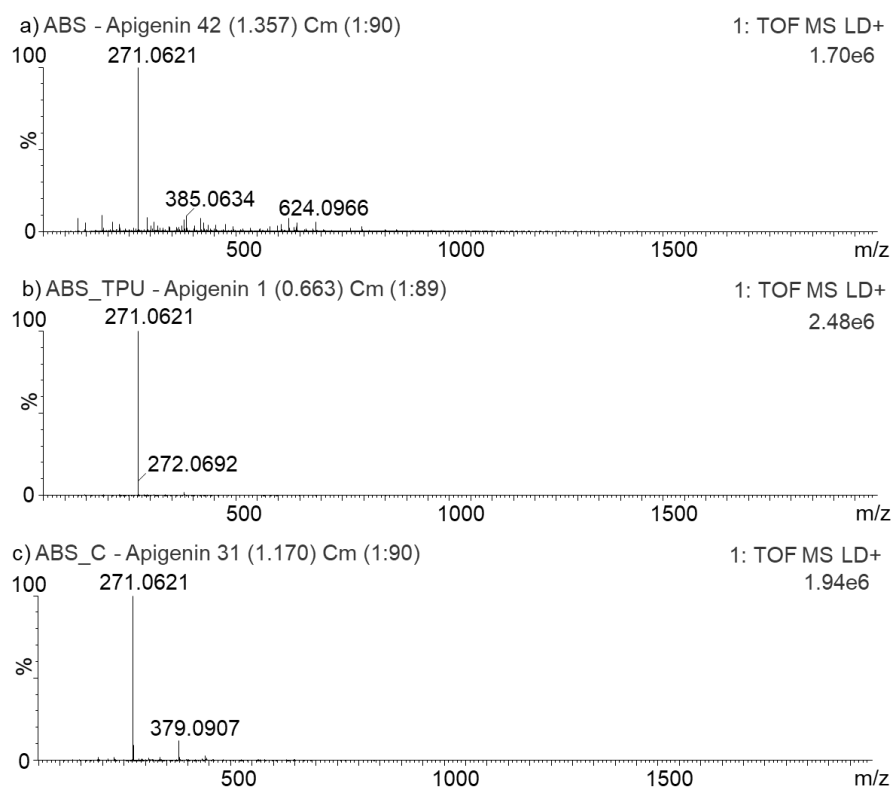
Obr. 40 Hmotnostní spektra vitisinu A měřeného z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C s detaily pro oblast m/z 561

Na obrázku Obr. 40 je zobrazeno hmotnostní spektrum vitisinu A. Ve spektru lze pozorovat signály rodičovského iontu m/z 561 a fragmentů po ztrátě glukosy (m/z 399) a následné ztrátě karboxylové skupiny (m/z 355). Vitisin A je karboxypyrananthokyanin, pro který je proces ztráty karboxylové skupiny ve formě oxidu uhličitého charakteristický. Tyto signály mají nejvyšší intenzitu při měření z povrchu ABS-TPU. Ve všech spektrech je signál vitisinu spolehlivě identifikován (ABS: ion s m/z 561,1256 ($d = 3,06$ ppm), ABS-TPU: m/z 561,1360 ($d = 3,77$ ppm) a ABS-C: m/z 561,1256 ($d=3,06$ ppm).



Obr. 41 Hmotnostní spektrum kyseliny gallové měřené z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU c) ABS-C a detaily těchto spekter v oblasti m/z 171

Dále byla získána hmotnostní spektra kyseliny gallové (m/z 171, Obr. 41). Zde byly nalezeny dominantní píky spojené s polymerním pozadí. Samotný signál kyseliny gallové měl řádově nižší intenzitu a v případě ABS-TPU byla jeho intenzita blízka šumu hmotnostního analyzátoru. Nejvyššího signálu bylo dosaženo při použití ABS bez další modifikace. Lepších výsledků by mohlo být dosaženo v případě použití negativního modu. Toto měření ale nebylo v rámci diplomové práce provedeno a je předmětem další plánované studie. Ve všech spektrech je signál kyseliny gallové, i přes méně vhodný ionizační mod detekován a identifikován (ABS: ion s m/z 171,0259 ($d = -16,96$ ppm), ABS-TPU: m/z 171,0316 ($d = 16,37$ ppm) a ABS-C: m/z 171,0316 ($d = 16,37$ ppm).



Obr. 42 Hmotnostní spektrum apigeninu měřeného z povrchu a) ABS, b) ABS-TPU, c) ABS-C

Obr. 42 ukazuje spektra apigeninu. Zde byl dominantním signálem m/z 271, který náleží protonizované molekule apigeninu. Nejvyšší intenzita byla získána při měření na ABS-TPU a u tohoto spektra byly také nízké intenzity polymerního pozadí. Ve všech spektrech je signál apigeninu spolehlivě identifikován (ABS: ion s m/z 271,0621 ($d = 7,38$ ppm), ABS-TPU: m/z 271,0621 ($d = 7,38$ ppm) a ABS-C: m/z 271,0621 ($d = 7,38$ ppm)).

Přehled hodnot všech intenzit uvádí následující tabulka.

Tabulka 1 Intenzity jednotlivých barviv měřených z povrchu polymerů

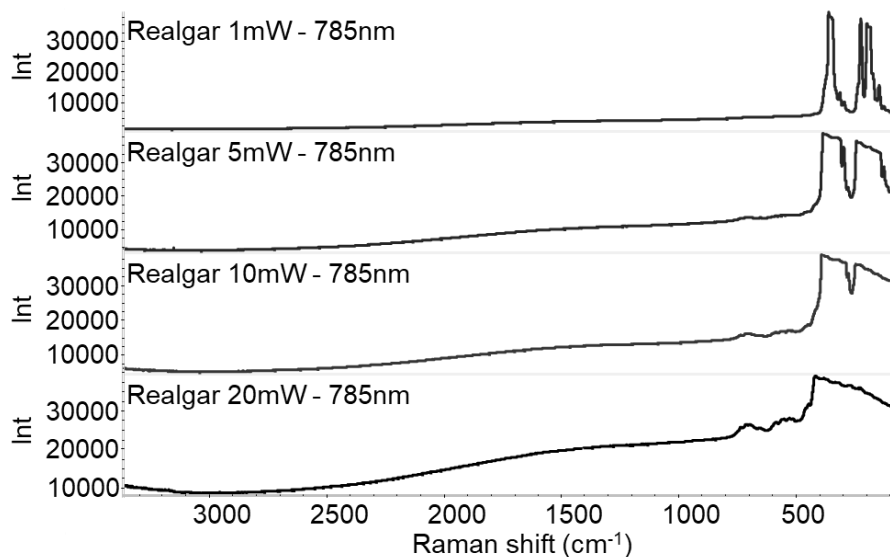
Látka	Teoretická m/z	ABS	ABS-TPU	ABS-C
Karmínová kyselina	493,097667	$1,99 \cdot 10^4$	$2,06 \cdot 10^4$	$5,09 \cdot 10^3$
Alizarin	241,049535	$8,49 \cdot 10^4$	$1,23 \cdot 10^4$	$1,17 \cdot 10^5$
Indigo	263,081504	$1,05 \cdot 10^4$	$1,76 \cdot 10^4$	$1,09 \cdot 10^4$
Safranin	315,160423	$8,90 \cdot 10^6$	$3,52 \cdot 10^6$	$1,49 \cdot 10^7$
Kvercetin	303,049929	$1,56 \cdot 10^6$	$1,77 \cdot 10^3$	$3,33 \cdot 10^6$
Beta-karoten	537,445478	$1,10 \cdot 10^3$	$4,26 \cdot 10^2$	$1,18 \cdot 10^3$
Kvercitrin	449,107838; 303,049929 aglykon	$2,28 \cdot 10^4$; $5,57 \cdot 10^4$	$3,13 \cdot 10^3$; $4,35 \cdot 10^4$	$2,16 \cdot 10^3$; $1,09 \cdot 10^5$
Rutin	611,160661; 303,049929 aglykon	$1,30 \cdot 10^3$; $5,45 \cdot 10^4$	406; $1,02 \cdot 10^4$	$1,11 \cdot 10^3$; $6,65 \cdot 10^4$
Oenin chlorid	493,134053; 331,081229 aglykon	$1,32 \cdot 10^6$; $2,39 \cdot 10^6$	$2,82 \cdot 10^6$; $2,82 \cdot 10^6$	$3,84 \cdot 10^6$; $7,60 \cdot 10^6$
Ellagová kys.	303,013544	$1,06 \cdot 10^3$	$6,72 \cdot 10^3$	$3,47 \cdot 10^3$
Katechin	291,086315	$4,96 \cdot 10^3$	$7,42 \cdot 10^3$	-
Luteolin	287,055014	$4,02 \cdot 10^5$	$7,06 \cdot 10^6$	$4,90 \cdot 10^6$
Vitisin A	561,123882; 399,071058 aglykon	$8,16 \cdot 10^4$; $2,86 \cdot 10^5$	$1,54 \cdot 10^5$; $1,35 \cdot 10^6$	$6,86 \cdot 10^4$; $7,39 \cdot 10^5$
Gallová kys.	171,028800	$5,69 \cdot 10^3$	576	$1,08 \cdot 10^3$
Apigenin	271,060100	$1,69 \cdot 10^6$	$2,48 \cdot 10^6$	$1,94 \cdot 10^6$

V tabulce výše jsou uvedeny hodnoty m/z charakteristické pro jednotlivé látky. Každá hodnota m/z zde má přiřazenou její absolutní intenzitu pro všechny tři typy polymeru ABS. Z naměřených dat je zřejmé, že modifikovaný polymer poskytuje vyšší signály studovaných analytů než nemodifikovaný ve čtrnácti případech z osmnácti. Mezi jednotlivými modifikacemi nelze rozhodnout, který lépe pomáhá ionizaci analytu. Hmotnostní spektrum měřené z ABS modifikovaným přídavkem polymeru TPU má vyšší intenzitu v případě kyseliny karmínové, indiga, kyseliny ellagové, luteolinu, vitisinu A, aglykonu vitisinu A a apigeninu. Intenzita hmotnostního spektra měřeného z polymeru s přídavkem aktivního uhlí byla nejlepší v případě safraninu, kvercetinu, beta-karotenu, aglykonu kvercitrinu, aglykonu rutinu, oeninu a aglykonu oeninu.

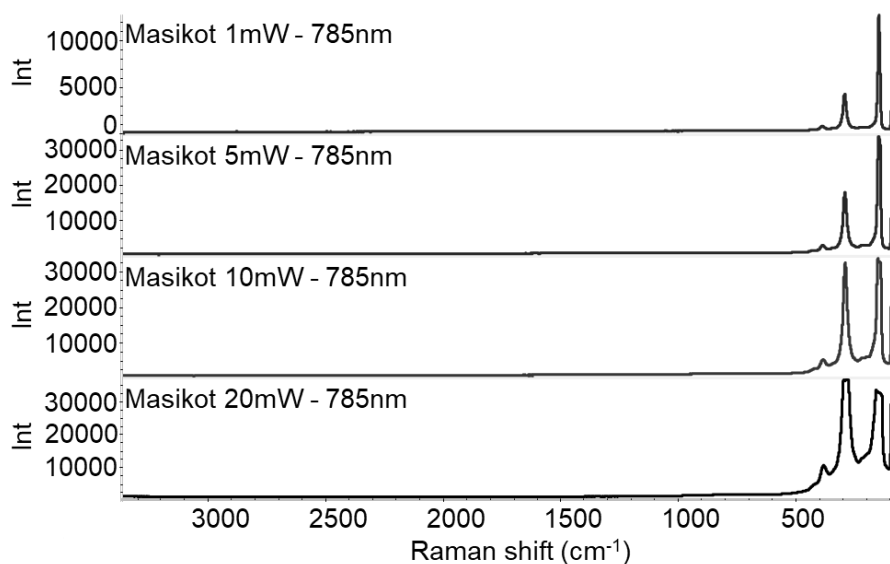
Naopak nemodifikovaný polymer poskytoval nejvyšší intenzity při měření alizarinu, kyseliny gallové, kvercitrinu a rutinu.

4.3 Ramanova mikroskopie vybraných pigmentů

Byla získána Ramanova spektra jednotlivých anorganických pigmentů při použití 1, 5, 10 a 20 mW laseru. Spektrum Realgaru je zobrazeno na Obr. 43. Zde je dobře patrné, že při zvyšování energie dochází k nárůstu fluorescence a oříznutí vyšších intenzit. Oba tyto jevy jsou nežádoucí pro správnou identifikaci spektra.

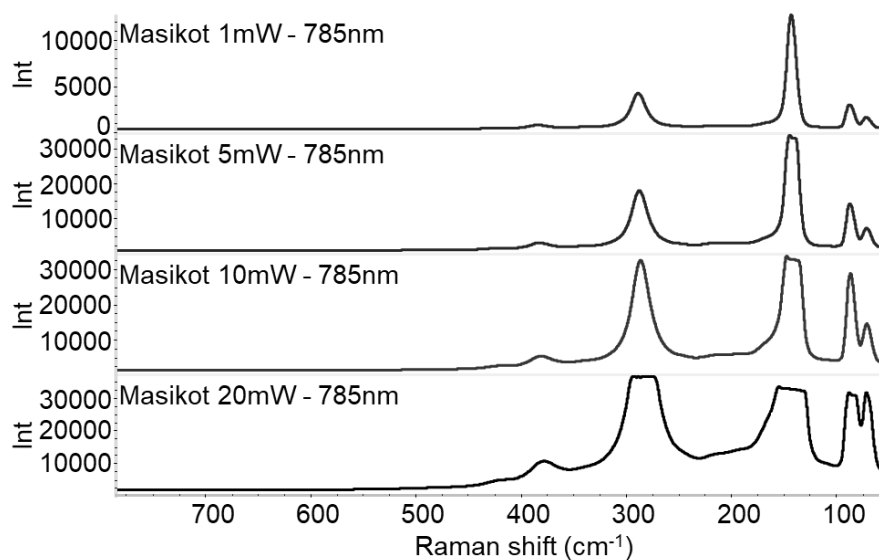


Obr. 43 Ramanovo spektrum Realgaru měřené při energiích laseru 1, 5, 10 a 20 mW

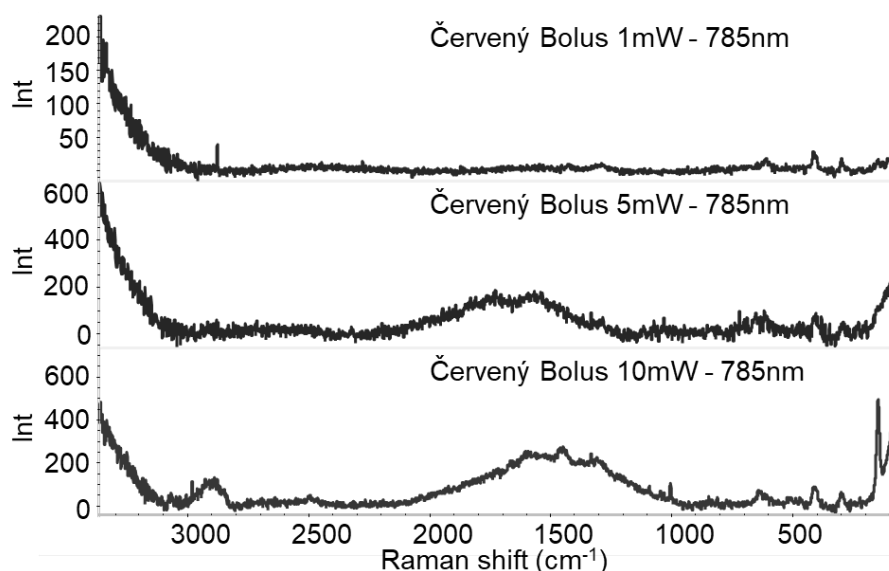


Obr. 44 Ramanovo spektrum Masikotu měřeného při energii laseru 1, 5, 10 a 20 mW.

Na Obr. 44 vidíme spektrum Masikotu. Stejně jako v případě Realgaru je patrná deformace spektra při vyšší energii laseru, viz detail na Obr. 45.



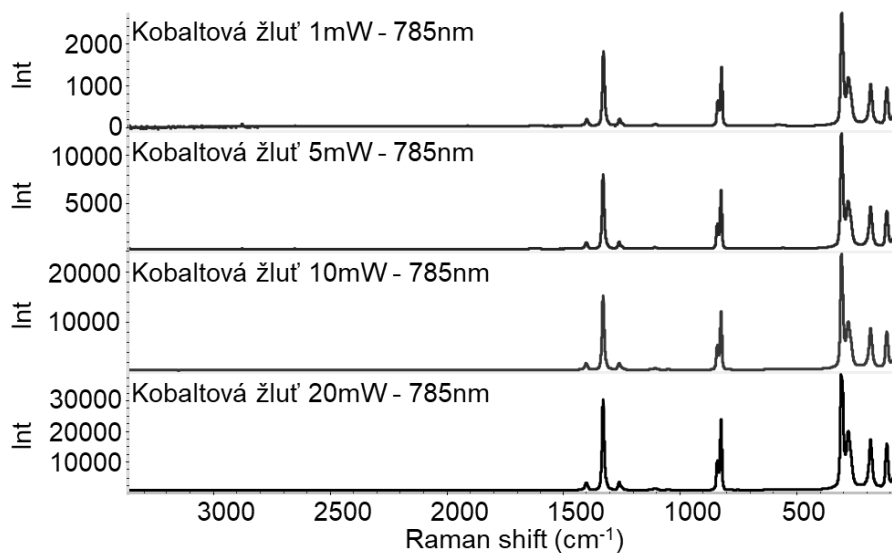
Obr. 45 Detail Ramanova spektra Masikotu v oblasti 800-50 cm^{-1}



Obr. 46 Ramanova spektra červeného Bolu měřeného při energiích laseru 1, 5 a 10 mW po korekci na fluorescenci

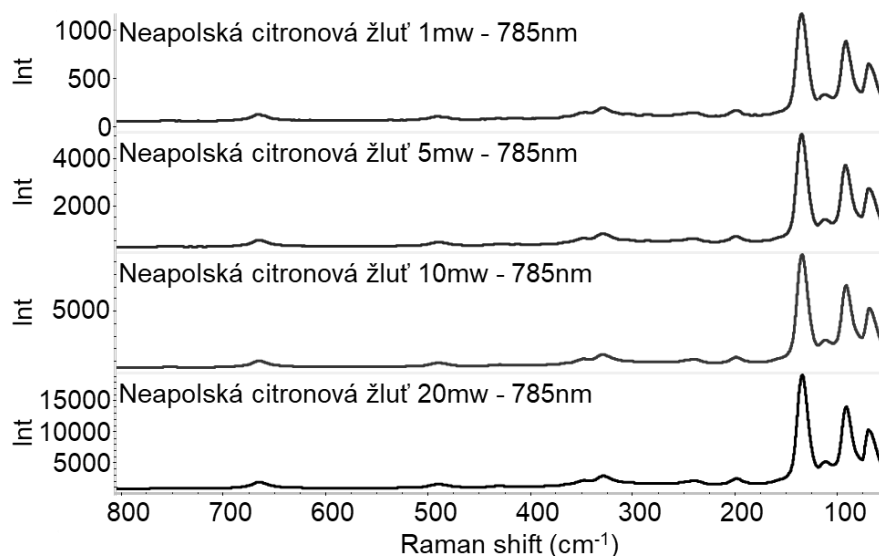
Dále byla získána Ramanova spektra červeného Bolu při energiích 1, 5 a 10 mW (Obr. 46). Nejvyšší energie byla vynechána, neboť docházelo k pálení pigmentu. Ze spekter bolu není jasné, při které energii laseru jsou signály nejintenzivnější, neboť je zde výrazná fluorescence vzorku pigmentu. Po odstranění fluorescence se jeví jako nejlepší ten pořízený při 1 mW.

Ze spekter kobaltové žluti je patrné, že se jednotlivá spektra příliš neliší (Obr. 47). Tento pigment dává dobré signály v širokém rozsahu energií. Se zvyšující se energií klesá intenzita pozadí a zvyšuje se intenzita jednotlivých pásů.



Obr. 47 Ramanova spektra kobaltové žluti měřené při energii laseru 1, 5, 10 a 20 mW

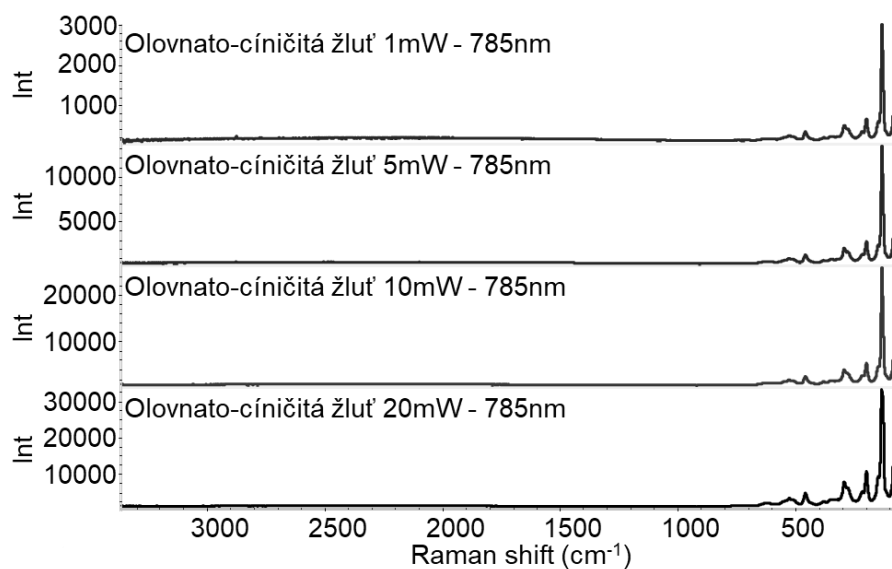
Spektra Neapolské citronové žluti (Obr. 48) jsou podobná jako v předešlém případě. Všechna spektra mají dobré rozlišení, nízký šum a fluorescenci. Také zde pozorujeme vyšší intenzitu jednotlivých pásů při zvyšující se energii laseru.



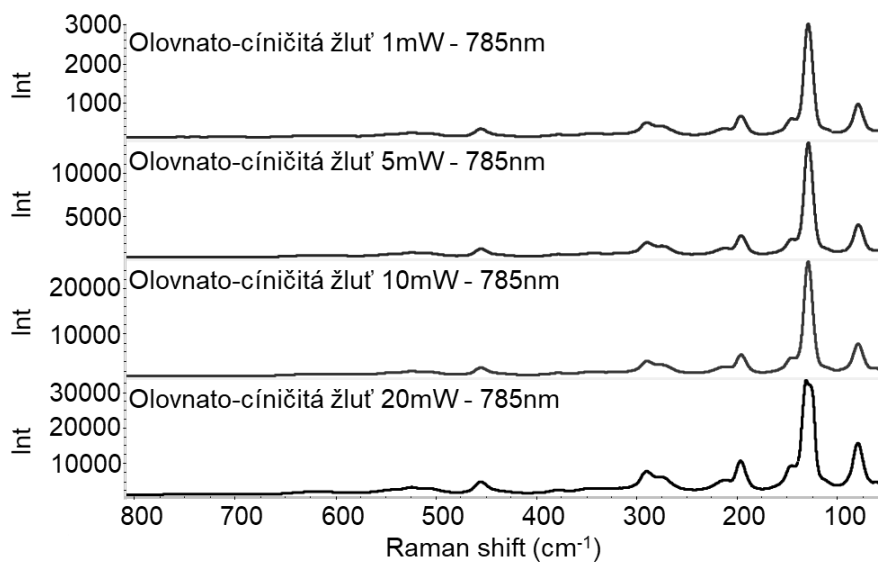
Obr. 48 Ramanova spektra Neapolské citronové žluti měřené při energiích 1, 5, 10 a 20 mW

Olovnato-cínčitá žluť (Obr. 49) dávala podobné výsledky jako předchozí dva žluté pigmenty. Nejintenzivnější signály byly zaznamenány v případě nejvyššího výkonu laseru.

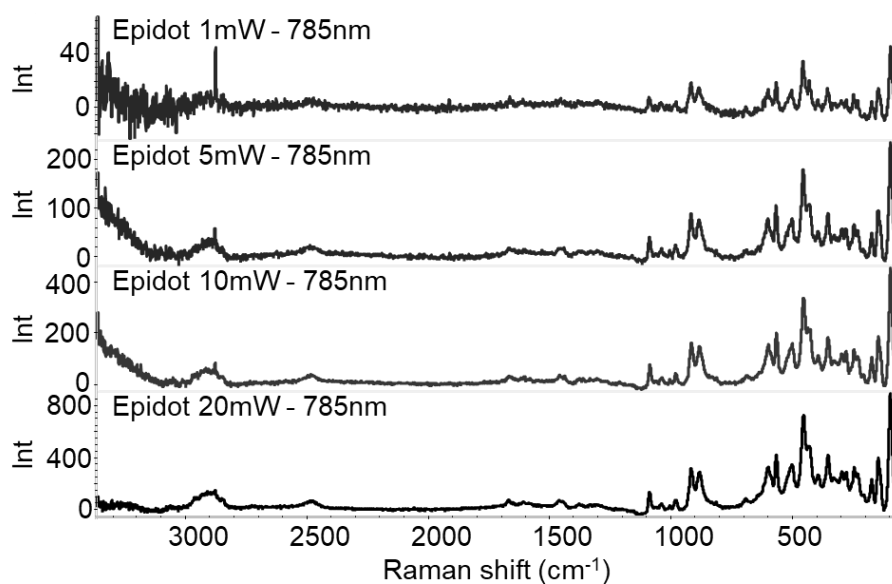
Z detailu na Obr. 50 je patrné, že pro tuto žlut' charakteristické pásy, které se nachází od 100 do 500 recipročných centimetrů, nejsou příliš ovlivněny energií laseru.



Obr. 49 Ramanova spektra olovato-cíničité žluti měřené při energiích laseru 1, 5, 10 a 20 mW

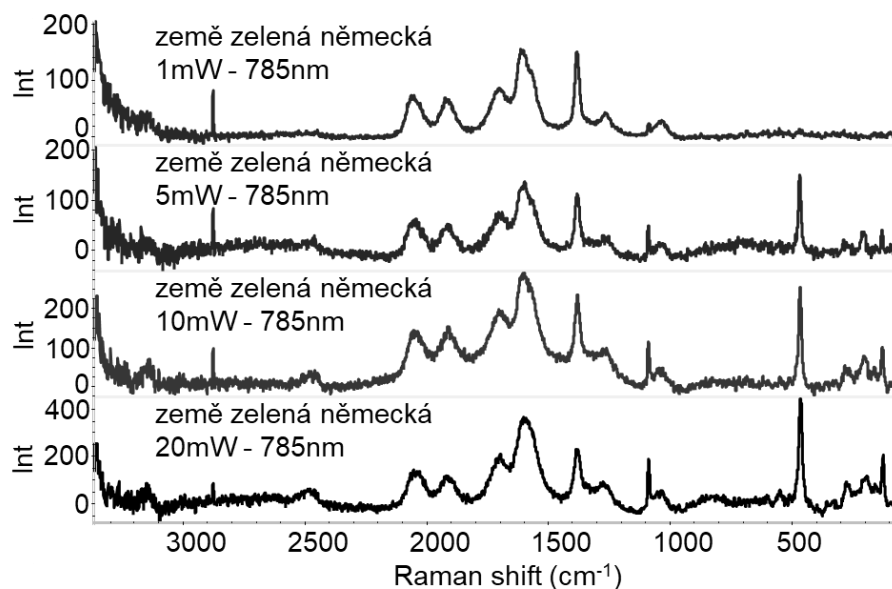


Obr. 50 Detail Ramanova spektra olovato-cíničité žluti v oblasti 800-50 cm^{-1}



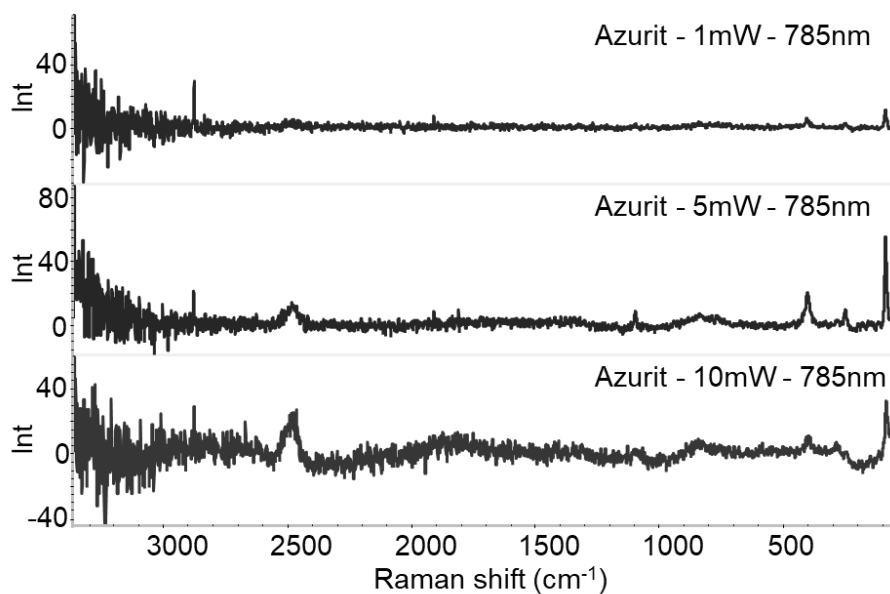
Obr. 51 Ramanova spektra Epidotu měřeného při energii laseru 1, 5, 10 a 20 mW při použití korekce na fluorescenci

Ramanova spektra Epidotu jsou zobrazena na obrázku Obr. 51. Z tohoto obrázku je patrné, že při vyšších energiích laseru (5, 10 a 20 mW) dostáváme kvalitnější spektra. Nejvýraznější je toto patrné v oblasti od 1500 do 3000 recipročných centimetrů.

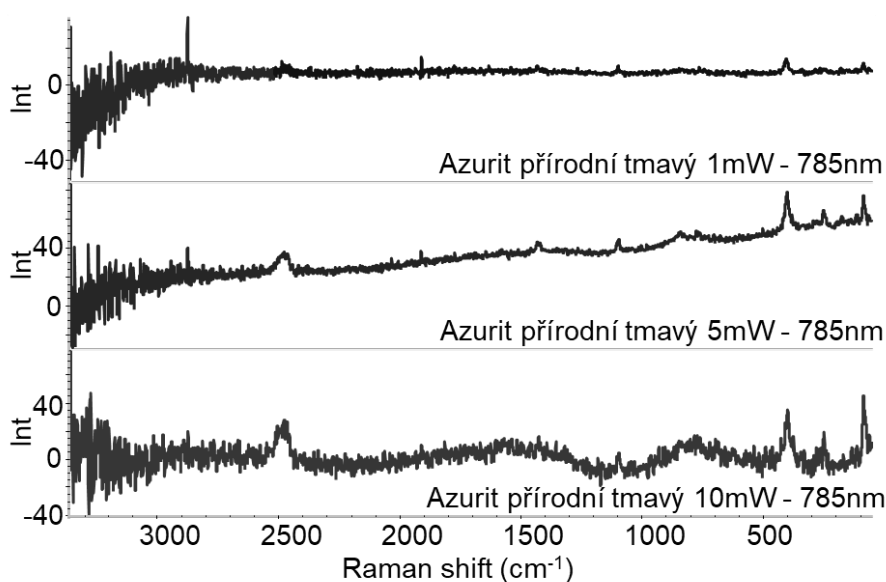


Obr. 52 Ramanova spektra zelené země německé měřené při energiích laseru 1, 5, 10 a 20 mW při použití korekce na fluorescenci

Spektra země zelené německé (Obr. 52) nevykazovaly výrazné zlepšení při zvyšování energie laseru. Spektrum měřené při 20 mW dosahuje dvojnásobné intenzity oproti tomu měřenému při 1 mW. Při zvýšení energie nad 1 mW se ve spektrech objevuje pás u 500 recipročných centimetrů.

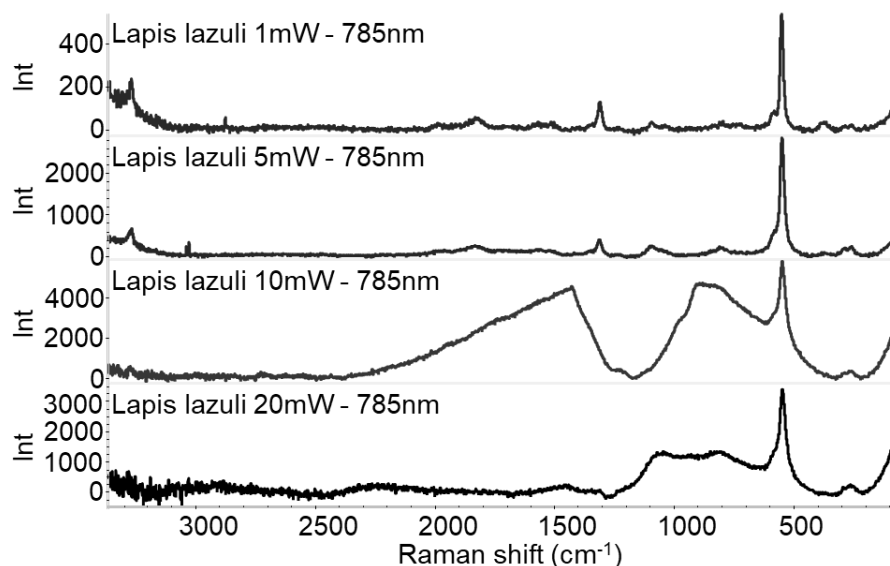


Obr. 53 Ramanova spektra Azuritu měřeného při 1, 5, 10 a 20 mW s použitou korekcí na fluorescenci



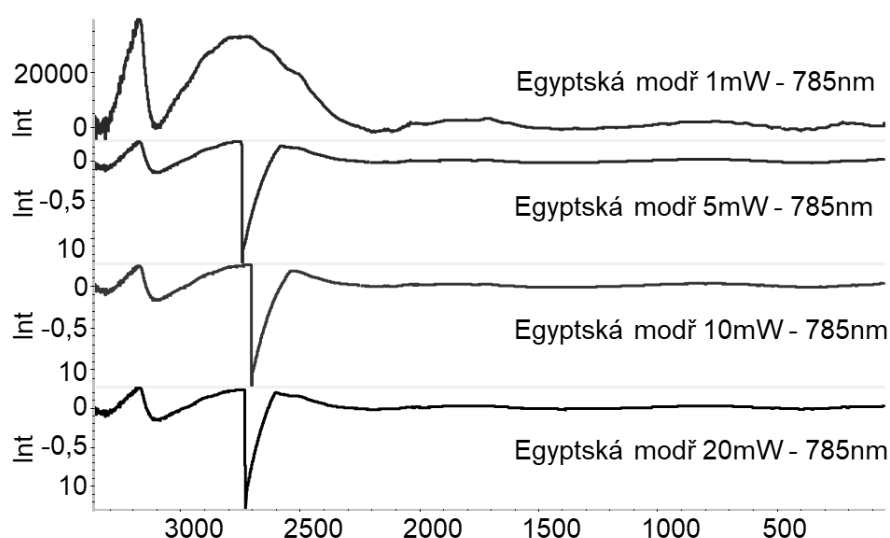
Obr. 54 Ramanova spektra pro Azurit přírodní tmavý, měřený při energiích laseru 1, 5, 10 a 20 mW

Dále byla získána Ramanova spektra dvou azuritových pigmentů, které se lišily výrobcem (Zecchi, Kremer Pigmente) (Obr. 53 a Obr. 54). Oba pigmenty poskytovaly podobná spektra. U obou pigmentů bylo nejlepších výsledků dosaženo při 5 mW. Při této energii byla tato spektra méně rušena šumem a spektrální pásy byly nejintenzivnější.



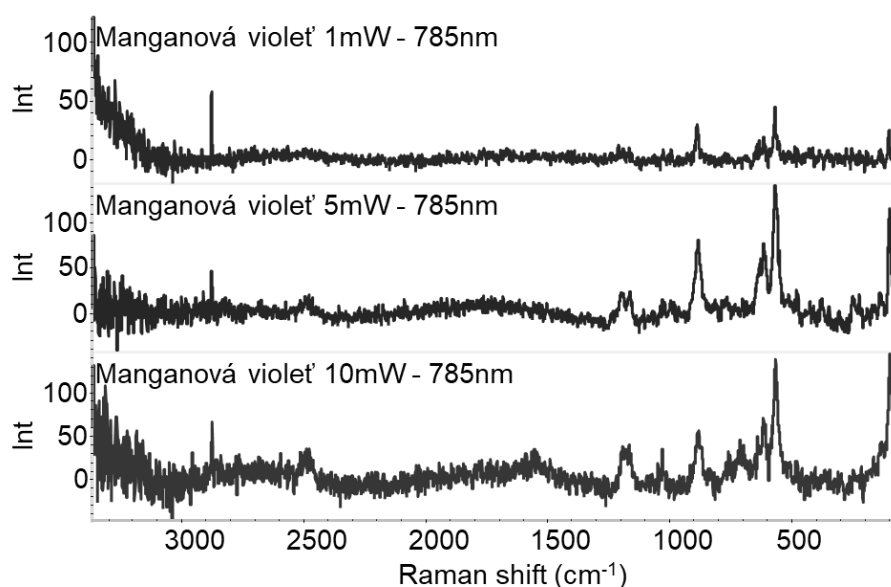
Obr. 55 Ramanova spektra Lapis Lazuli měřeného při energiích laseru 1, 5, 10 a 20 mW s použitím korekce na fluorescenci

Dále byla získána spektra lapis lazuli (přírodní ultramarín, Obr. 55). Nejlepší spektra byla získána při 1 a 5 mW. Při použití vyšších energií laseru dochází k nárůstu fluorescence a ke změnám ve struktuře pigmentu.



Obr. 56 Ramanova spektra pro egyptskou modř měřenou při energiích laseru 1, 5, 10 a 20 mW s použitou korekcí na fluorescenci

Spektra egyptské modři jsou uvedena na Obr. 56. Do 2500 cm^{-1} nejsou patrné žádné charakteristické pásy kvůli přesycení detektoru a výrazné fluorescenci. Podle literatury by zde měly být patrné čtyři pásy – 375 , 430 , 475 a 1084 cm^{-1} [52]. Podle stejného zdroje není 785nm laser pro analýzu egyptské modři příliš vhodný, což tyto výsledky potvrzují, viz výše zobrazené spektrum.



Obr. 57 Ramanova spektra pro manganovou violeť pro energie laseru 1, 5 a 10 mW s korekcí na fluorescenci

Posledním zástupcem anorganických pigmentů, u kterých byly získány Ramanova spektra při různých energiích laseru, je manganová violeť (Obr. 57). Při vyšších energiích laseru jsou jednotlivé pásy intenzivnější. Jako ideální se jeví 5 mW. Při 10 mW se podstatně zvýšil šum. Při 20 mW docházelo k pálení pigmentu.

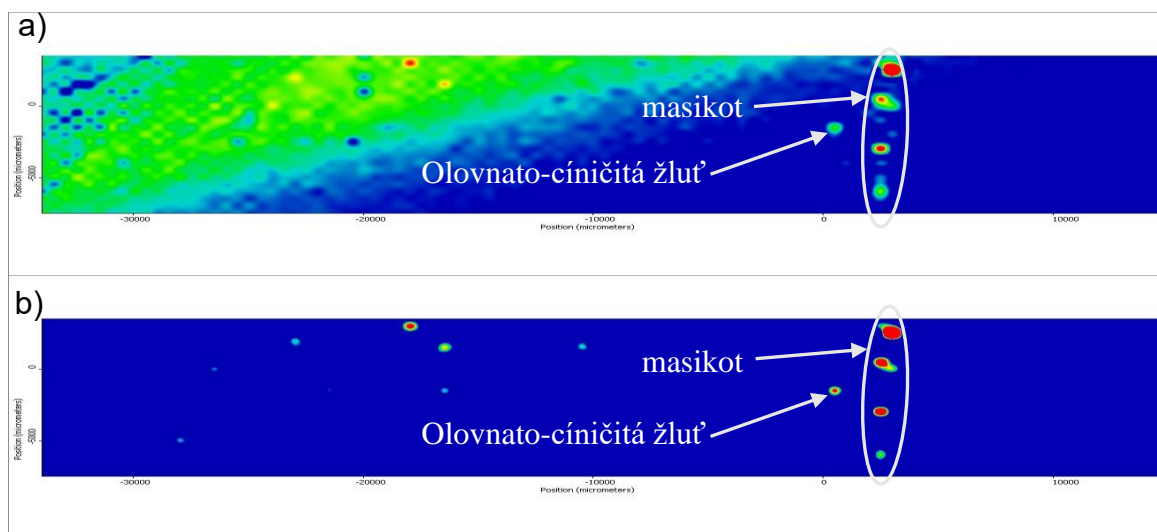
Výběr vhodné energie laseru pro Ramanovu mikroskopii jsme omezili na 1, 5 a 10 mW. Při vyšších energiích docházelo k pálení některých pigmentu, čímž by byla znemožněna další analýza stejného vzorku pomocí MALDI-MS. Se zvyšující se energií laseru byly získávány kvalitnější spektra. Toto platilo především u žlutých pigmentů a Epidotu. Na druhou stranu u červeného bolu docházelo při použití nejvyšší energie k pálení vzorku a v případě realgaru a masikotu zvyšování energie vedlo k zvyšování intenzity fluorescence. Spektra modrých pigmentů měla nejvyšší kvalitu při použití 1 a 5 mW. Některé pigmenty (azurit a egyptská modř) by bylo lepší měřit při jiné vlnové délce laseru, neboť jejich spektra byla zašuměná a těžce interpretovatelná. Doplňkově by šlo provést jedno

měření navíc s laserovým zdrojem pracujícím při vlnové délce 532 nm, jenž by měla být pro některé pigmenty vhodnější [52]. Toto měření však nebylo v rámci diplomové práce provedeno. Tyto poznatky vedou k závěru, že bude výhodné používat pro další experimenty energii laseru 1 mW, která plně dostačuje k získání odpovídajících vibračních pásů v Ramanových spektrech.

4.4 Modelový vzorek

Modelový vzorek (připravený v kapitole 3.11 nanesený na zadní (porezní, neglazurované) straně keramické kachle obsahoval organická i anorganická barviva. Anorganická barviva byla dispergována ve lněném oleji, který zde funguje jako pojivo a takto jsou i běžně na umělecká díla aplikována. Jako polymerní nosič byl zvolen ABS-TPU. ABS-C nebyl použit kvůli špatným mechanickým vlastnostem. Při měření na Ramanově mikroskopu došlo ke zkroucení polymeru. Při budoucích měřeních těmto změnám zabrání držák představený v kapitole 3.11.1

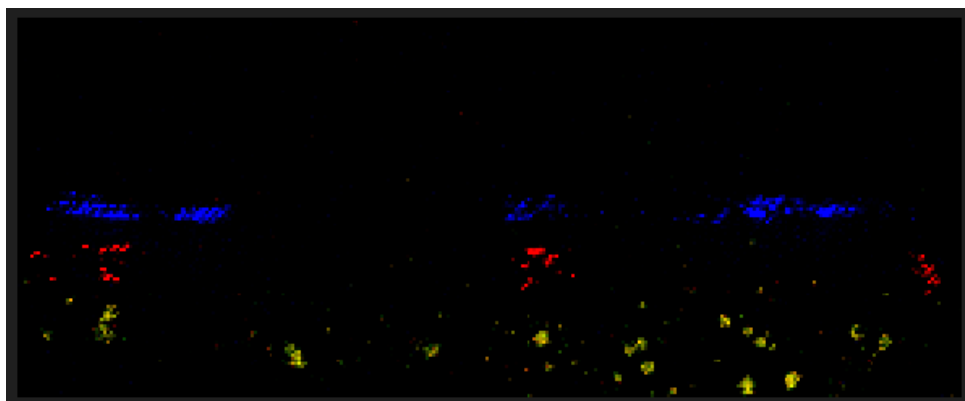
V rámci analýzy anorganických pigmentů nejprve provedeno měření na Ramanově mikroskopu. Tento experiment je méně destruktivní než měření na MALDI-MS, a proto předcházelo měření na hmotnostním spektrometru. Cílem bylo získat spektra adsorbovaných pigmentů na polymerním nosiči. Z použitých pigmentů byl identifikován masikot (Obr. 58) mezi 0 a 5000 mikrometry (vyjadřují pozici v Ramanovském obraze pro signál při 143 i 289 cm^{-1}). Dále vlevo od signálu masikotu je náznak signálu olovnato-cíníčitě žlutě, na Obr. 58 u 0 mikrometrů.



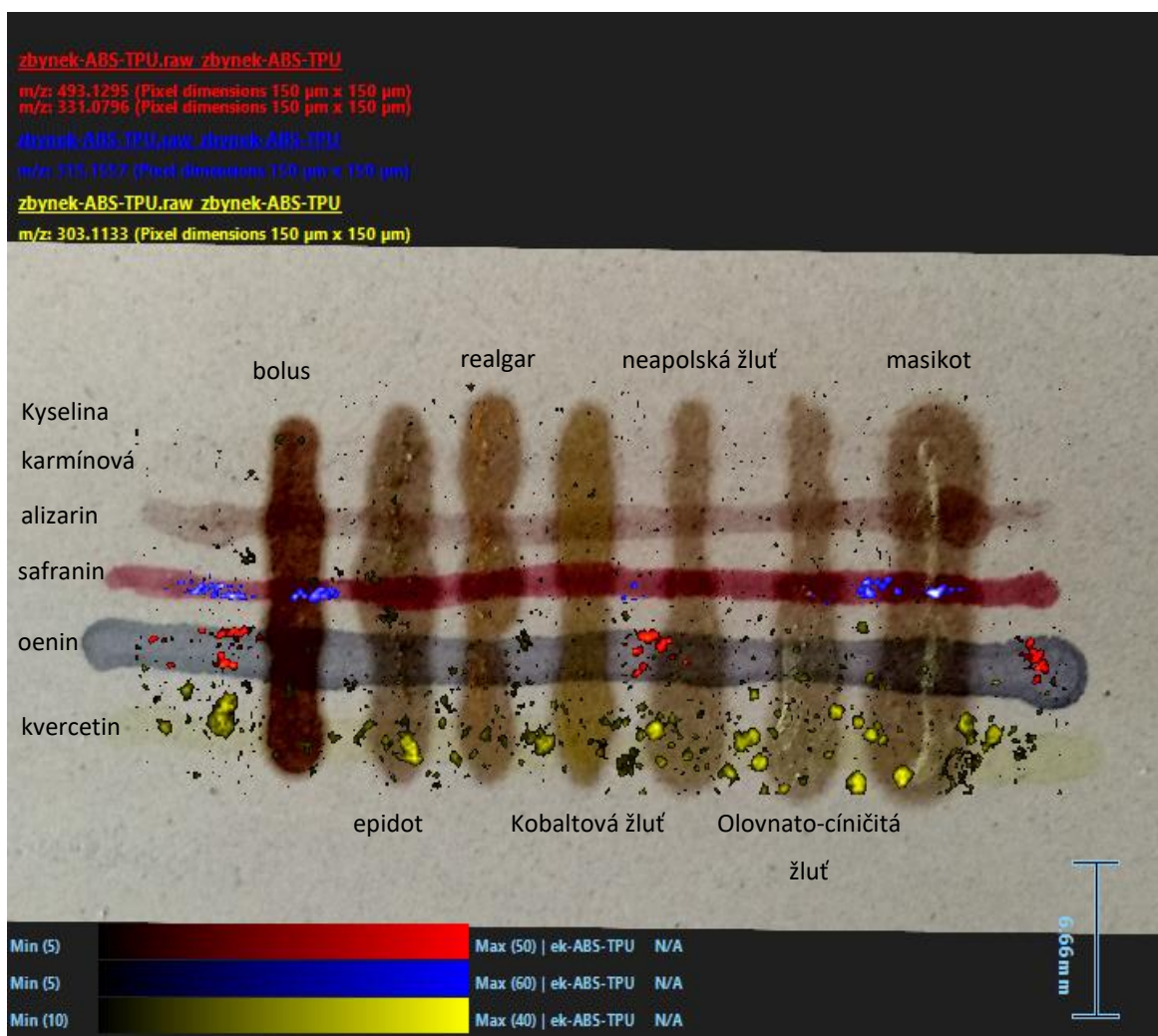
Obr. 58 Ramanovo zobrazování pro vlnočty a) 143 cm^{-1} a b) 289 cm^{-1} při použití korekce na fluorescenci

Na obrázku níže (Obr. 59) je ukázán výsledek MALDI-MS měření ve zobrazovací módu (imaging). Barevně jsou odlišena jednotlivá barviva. Modře je zobrazena hmota m/z 315,1557, která odpovídá iontu safraninu ($d = -14,98$ ppm). Červeně je společně zobrazena m/z 493,1295 a m/z 331,0796, která odpovídá oeninu ($d = -9,23$ ppm) a jeho aglykonu (fragmentu) malvidinu ($d = -4,92$ ppm). Žlutě je zobrazen signál s m/z 303,1133

odpovídající kvercetin (d = 209.11 ppm). Dále byly v hmotnostním spektru objeveny klastry olova, které polohou odpovídaly umístění pigmentu masikotu.

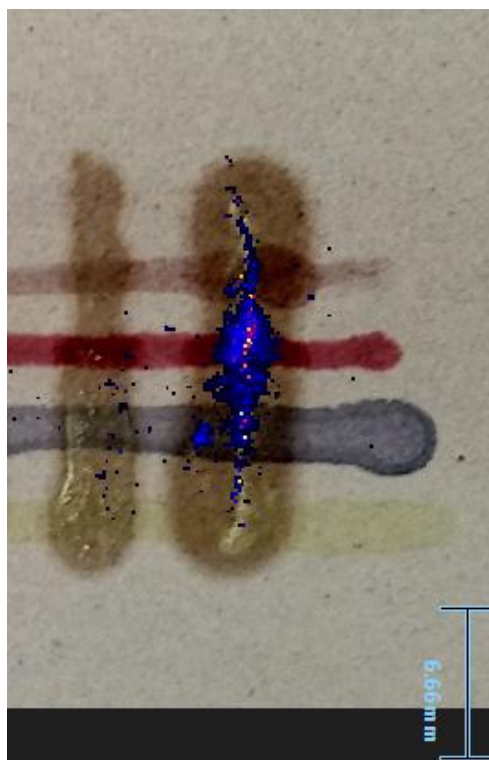


Obr. 59 MALDI-MS zobrazení barviv na ABS-TPU; modře – safranin, červeně – oenin, žlutě – kvercetin



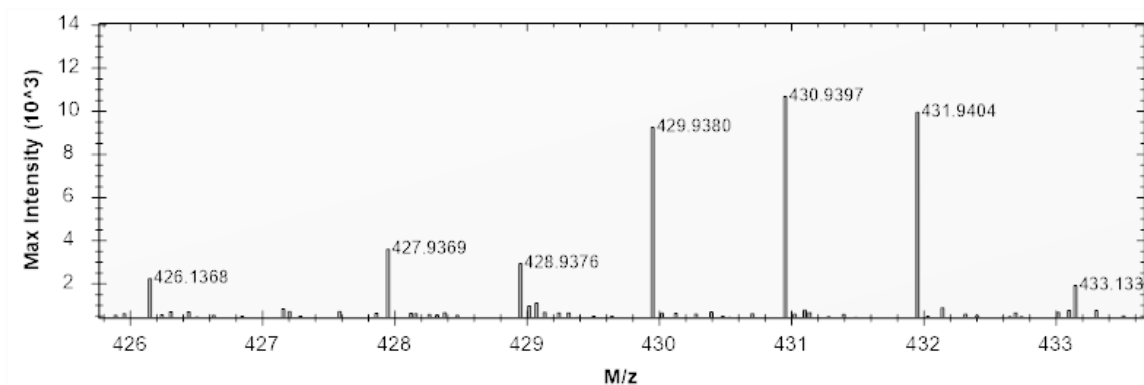
Obr. 60 Překryv MALDI-MS zobrazování a původní předlohy

Na Obr. 60 je zobrazen překryv MALDI-MS zobrazování a optické fotografie předlohy. Z původního zobrazování bylo odstraněno černé pozadí a byl zvýšen práh intenzity. Z překryvu na Obr. 60 je patrné, že se signály ze zobrazení shodují s namalovanými liniemi safraninu, oeninu a kvercetinu. Rozložení jednotlivých barev nedává ucelené linie. Na druhou stranu nedochází ani k velkému „rozpítí“ barviv. Pouze u kvercetinu pozorujeme některé signály pod nebo nad hranicí předlohy. Dále byl zkoumán vliv lněného oleje a/nebo pigmentů na detekci organických barviv. Na obrázku výše je jasně patrný signál safraninu v místě překryvu tohoto barviva s masikotem nebo s červeným bolem (pigmenty byly nanесeny jako suspenze ve lněném oleji). V tomto případě nebyl patrný významný vliv překrytí barviva pigmentem v oleji na detekci barviv. Kyselina karmínová a alizarin nebyly při tomto pokusu vůbec detekovány.



Obr. 61 Klastry Pb překrývající se s umístěním masikotu na předloze

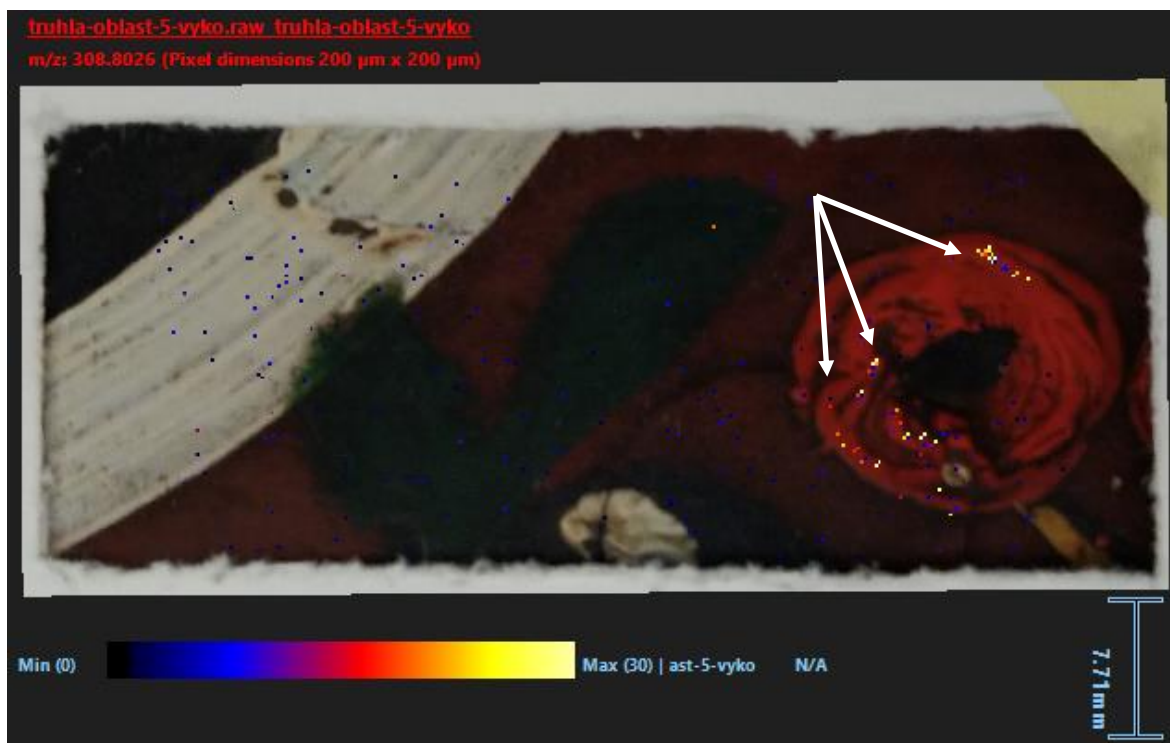
Z anorganických pigmentů byl pomocí MALDI-MS detekovány pouze klastry olova. Signály těchto klastrů se překrývaly s umístěním masikotu na předloze, jak to jde vidět na Obr. 61. V tomto zobrazení byly pozorovány hmoty m/z 427,9369, m/z 428,9376, m/z 429,9380, m/z 430,9397 a m/z 431,9404. Tyto hodnoty m/z odpovídají izotopickému profilu Pb_2O^+ , viz spektrum na Obr. 62.



Obr. 62 Izotopický profil klastru Pb_2O^+

4.5 Analýza autentického historického objektu

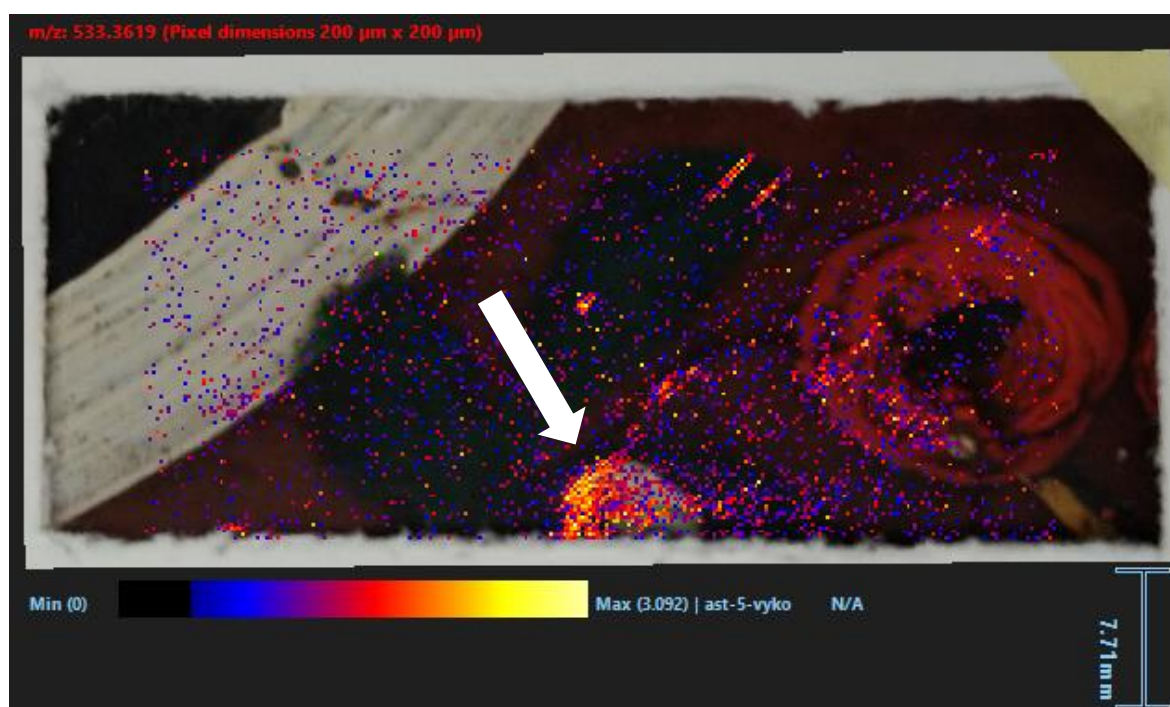
TSA v kombinaci s polymerním nosičem (ABS) byl testován na reálném vzorku malby na historické dřevěné truhle. Níže jsou uvedeny výsledky analýzy MALDI-MS ve zobrazovacím experimentu. Byla provedena analýza ze dvou míst na malovaném povrchu truhly, a to na boční straně truhly a na jejím víku. Při těchto měřeních byl použit polymerní materiál ABS. Při měření otisku z boční strany nebylo možné najít žádný marker, který by souvisel s některým barvivem nebo pigmentem. Toto může být způsobeno vrstvami laku, které se za dlouhou dobu na truhle nashromáždily a zabraňují přímému kontaktu molekul barviv s polymerním nosičem.



Obr. 63 MALDI-MS imaging pro m/z 308,8026

Při měření otisku z víka truhly byly odhaleny dva ionty, které mohou mít souvislost s povrchovou distribucí pigmentů, barviv nebo pomocných látek na studovaném objektu. Prvním je signál iontů s m/z 308,8026 (Obr. 63). Zvýšená intenzita tohoto signálu je pozorovaná na části výrazného červeného květu v pravé části vzorkové oblasti. Stejnou distribuci má ion s m/z 326,8138. Rozdíl odpovídá ztrátě molekuly vody.

Druhý zajímavý signál je zvýšený v dolní části malby v oblasti světlého motivu (patrně bílého barviva označeného šipkou). Jedná o signál iontů s m/z 533,3619 (Obr. 64). Zvýšený signál v této oblasti může být vysvětlen použitím jiného barviva/pigmentu, anebo pojiva v této části, případně pozdější domalbou. Signály doposud nebyly identifikovány, a jsou předmětem další studie.



Obr. 64 MALDI-MS imaging pro m/z 533,3619

Zvýšené signály nekorrespondují zcela s barevnými obrazci na truhle. Je pravděpodobné, že za tyto signály mohou být vedle pigmentů odpovědny i složky pojiv používaných pro nanášení pigmentů a/nebo laky použité pro nanášení ochranných vrstev. Tato hypotéza otevírá do budoucna možnost využití navrhovaného přenosu analytů právě pro analýzu opticky „neviditelných“ složek maleb, což může přinášet cenné informace před restaurátorským zásahem. Dalším důvodem může být nedostatečná doba kontaktu polymeru se vzorkem. To je parametr, který zasluhuje v dalších studiích pečlivou optimalizaci. Posledním důvodem malého počtu signálů a relativně malých intenzit může být absence

organických barviv nebo jejich minoritní množství. Toto může vést k hypotéze, že většina vzorů na truhle je namalovaná pomocí anorganických pigmentů. Pomocí rentgenofluorescenční analýzy bylo dokázáno, že červený květ byl namalovaný pomocí rumělky (HgS) a bílá plocha byla vymalovaná zinkovou bělobou (ZnO). Možným vysvětlením pozorovaných signálů je vznik aduktů tohoto barviva s jinými složkami přítomnými na povrchu malby (právě pojiva nebo složky laků).

5 Závěr

Chemická analýza je velmi cenný nástroj pro získávání informací o archeologických a historických předmětech. Jde často o složité úkoly a celá oblast vyžaduje neustálé zdokonalování analytických technik a postupů. Vzhledem k unikátnosti a historickému významu studovaných objektů je kritickým bodem analytického postupu odběr vzorků. Důraz je kladen na techniky neinvazivní a v případě kde tyto techniky selhávají a je třeba komplexnější informace, je možno využít technik mikroinvazivních.

Analyty, které můžeme nalézt na historických předmětech, jsou velmi často barviva a pigmenty. Paleta barev, s nimiž lidé barvili své předměty, se rozšiřovala od paleolitu až do příchodu moderních syntetických barev, a proto tvoří chemicky velmi pestrá směs. Popis běžně používaných pigmentů a barviv byl uveden v první části této práce. Následně byly uvedeny v dnešní době nejběžněji používané analytické techniky (vhodné pro analýzu barviv a pigmentů) v archeologickém výzkumu.

V praktické části byla testována nová metoda charakterizace povrchu pomocí polymerního nosiče. Tato metoda byla představena již dříve skupinou Righettiho [1], ale pouze na moderních syntetických barvivech. V této práci bylo provedeno testování nových polymerních materiálů na historicky užívaných barvivech. K vytvoření otisku byl úspěšně použit přístroj TSA, který byl navrhnut a vytvořen na katedře analytické chemie Univerzity Palackého v Olomouci. Byla vyzkoušena modifikace polymerního nosiče pomocí aktivního uhlí a termoplastického polyurethanu. Obě modifikované varianty poskytovaly pro většinu studovaných barviv intenzivnější hmotnostní spektra než původní materiál a provedená studie poskytuje důležitou bázi poznatků pro systematickou optimalizaci transferových postupů.

Byla vyzkoušena analýza Ramanovým mikroskopem ze stejného polymerního nosiče, jako analýza MALDI-MS v zobrazovacím módu. Měření Ramanovým mikroskopem z polymerního materiálu jsou v řadě případů zatíženy fluorescencí. Patrně z tohoto důvodu byly v Ramanových spektrech zachyceny jen dva pigmenty (Masikot, náznak olovnatocíníčité žluti) ze sedmi použitých na původním obrazci. Hledání možností zlepšení možností měření úpravou polymerního materiálu (a způsobu provedení transferu analytů) je předmětem dalších plánovaných studií.

V hmotnostních spektrech byl nalezen m/z 315,1557 odpovídající iontu safraninu, m/z 493,1295 a m/z 331,0796 odpovídající oeninu a jeho aglykonu malvidinu a nakonec m/z 303,1133 patřící kvercetin. Zpětně byla rekonstruována distribuce barviv na povrchu

použitého modelového vzorku pomocí nalezených signálů, která odpovídá pozicím nanesených barviv. Dále byly v hmotnostním spektru nalezeny píky související s klastry olova, které je součástí masikotu. Tento výsledek poukazuje na potenciální využitelnost MALDI-MS pro analýzu anorganických pigmentů právě ve formě klastrů.

Experimenty byly završeny odběrem vzorku pomocí polymerního nosiče (ABS) z malované dřevěné truhly z 19. století. Ve hmotnostním spektru byly nalezeny píky m/z 308,8026 a m/z 533,3619, které mohou mít spojitost s povrchovou distribucí pigmentů a/nebo pomocných látek (pojiv a laků) na povrchu truhly. Detailnější výzkum těchto signálů je předmětem připravované studie.

6 Seznam použité literatury

- [1] Z. ŽINGOR, Využití hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací v archeologickém výzkumu, bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2018.
- [2] M. Manfredi, E. Barberis, F. Gosetti, E. Conte, G. Gatti, C. Mattu, E. Robotti, G. Zilberstein, I. Koman, S. Zilberstein, E. Marengo, P. G. Righetti, Method for noninvasive analysis of proteins and small molecules from ancient objects, *Anal. Chem.* 89 (2017) 3310–3317.
- [3] E. Barberis, S. Baiocco, E. Conte, F. Gosetti, A. Rava, G. Zilberstein, P. G. Righetti, E. Marengo, M. Manfredi, Towards the non-invasive proteomic analysis of cultural heritage objects, *Microchem. J.* 139 (2018) 450–457.
- [4] H. G. M. Edwards, P. Vandenabeele, *Analytical Archaeometry: Selected Topics*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2012.
- [5] D. Kohout, I. Viden, J. Chudoba, H. Březinová, Identifikace přírodních barviv extrahovaných z archeologických textilií pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí, *Chem. Listy.* 110 (2016) 818–827.
- [6] A. Gürses, M. Açıkyıldız, K. Güneş, M. S. Gürses, *Dyes and Pigments*, Springer, Cham 2016.
- [7] M. V. Orna, *The chemical history of color*, Springer, Berlin 2013.
- [8] E. Svobodová, *Aplikace analytických metod pro analýzu barviv využívaných v uměleckých dílech*, disertační práce, Univerzita Karlova v Praze, Praha 2011.
- [9] E. P. Tomasini, F. Marte, V. P. Careaga, C. R. Landa, G. Siracusano, M. S. Maier. Virtuous colours for Mary. Identification of lapis lazuli, smalt and cochineal in the Andean colonial image of Our Lady of Copacabana (Bolivia), *Philos. Trans. R. Soc. A* 374 (2016) 20160047.
- [10] Oinochoe – The British Museum.
https://www.britishmuseum.org/collection/object/G_1846-0925-26-a,
staženo 20. května 2020.
- [11] J. Dyer, D. Tamburini, S. Sotiropoulou, The identification of lac as a pigment in ancient Greek polychromy – The case of a Hellenistic oinochoe from Canosa di Puglia, *Dyes Pigm.* 149 (2018) 122–132.
- [12] I. Karapanagiotis, Ch. Verhecken-lammens, P. Kamaterou, Identification of dyes in Egyptian textiles of the first millennium ad from the collection Fill-Trevisiol, *Archaeol. Anthropol. Sci.* 11 (2019) 2699–2710
- [13] E. Ribechini, J. Pérez-Arantegui, A. Pavan, I. Degano, M. Zanaboni, M. P. Colombini, First evidence of purple pigment production and dyeing in southern

- Arabia (Sumhuram, Sultanate of Oman) revealed by mass spectrometric and chromatographic techniques, *J. Cult. Herit.* 19 (2016) 486–491.
- [14] N. D. Bernardino, D. L. A. De Faria, A. C. V. Negrón, Applications of Raman spectroscopy in archaeometry: An investigation of pre-Columbian Peruvian textiles, *J. Archaeolog. Sci. Rep.* 4 (2015) 23–31.
- [15] P. Rosina, H. Gomes, H. Collado, M. Nicoli, L. Volpe, C. Vaccaro, Micro-Raman spectroscopy for the characterization of rock-art pigments from Abrigo del Águila (Badajoz – Spain), *Opt. Laser Technol.* 102 (2018) 274–281.
- [16] J. Čopíková, M. Uher, O. Lapčík, J. Moravcová, P. Drašar, Přírodní barevné látky, *Chem. Listy* 99 (2005) 802–816.
- [17] I. Degano, M. Biesaga, M. P. Colombini, M. Trojanowicz, Historical and archaeological textiles: An insight on degradation products of wool and silk yarns, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 5837–5847.
- [18] M. Gulmini, A. Idone, E. Diana, D. Gastaldi, D. Vaudan, M. Aceto, Identification of dyestuffs in historical textiles: Strong and weak points of a non-invasive approach, *Dyes Pigm.* 98 (2013) 136–145.
- [19] H. M. Niemeyer, C. Agüero, Dyes used in pre-Hispanic textiles from the Middle and Late Intermediate periods of San Pedro de Atacama (northern Chile): New insights into patterns of exchange and mobility, *J. Archaeolog. Sci.* 57 (2015) 14–23.
- [20] E. Ribechini, J. Pérez-arantegui M. P. Colombini, Positive and negative-mode laser desorption/ionization-mass spectrometry (LDI-MS) for the detection of indigoids in archaeological purple, *J. Mass Spectrom.* 48 (2013) 384–391.
- [21] W. Nowik, S. Desrosiers, I. Surowiec, M. Trojanowicz, The analysis of dyestuffs from first- to second-century textile artefacts found in the Martres-de-Veyre (France) excavations, *Archaeometry* 47 (2005) 835–848.
- [22] X. Zhang, I. Good, R. Laursen, Characterization of dyestuffs in ancient textiles from Xinjiang, *J. Archaeolog. Sci.* 35 (2008) 1095–1103.
- [23] J. Liu, D. Guo, Y. Zhou, Z. Wu, W. Li, F. Zhao, X. Zheng, Identification of ancient textiles from Yingpan, Xinjiang, by multiple analytical techniques, *J. Archaeolog. Sci.* 38 (2011) 1763–1770.
- [24] D. Tamburini, C. R. Cartwright, M. Pullan, H. Vickers, An investigation of the dye palette in Chinese silk embroidery from Dunhuang (Tang dynasty), *Archaeol. Anthropol. Sci.* 11 (2019) 1221–1239.
- [25] D. A. Peggie, A. N. Hulme, H. McNab, A. Quye, Towards the identification of characteristic minor components from textiles dyed with weld (*Reseda luteola* L.) and those dyed with Mexican cochineal (*Dactylopius coccus* Costa), *Microchim. Acta* 162 (2008) 371–380.

- [26] M. R. Guasch-Jané, M. Ibern-Gómez, C. Andrés-Lacueva, O. Jáuregui, R. M. Lamuela-Raventós, Liquid chromatography with mass spectrometry in tandem mode applied for the identification of wine markers in residues from ancient Egyptian vessels, *Anal. Chem.* 76 (2004) 1672–1677.
- [27] H. Barnard, A. N. Dooley, G. Areshian, B. Gasparyan, K. F. Faull, Chemical evidence for wine production around 4000 BCE in the Late Chalcolithic Near Eastern highlands, *J. Archaeolog. Sci.* 38 (2011) 977–984.
- [28] M. Leona, J. Stenger, E. Ferloni, Application of surface-enhanced Raman scattering techniques to the ultrasensitive identification of natural dyes in works of art, *J. Raman Spectrosc.* 37 (2006) 981–992.
- [29] L. Zhang, K. Tian, Y. Wang, J. Zou, Z. Du, Characterization of ancient Chinese textiles by ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole-time of flight mass spectrometry, *Int. J. Mass Spectrom.* 421 (2017) 61–70.
- [30] H. Sim, Y. Park, Flavonol-quercetin functionalized silk dyeing under different liquid fermentation conditions, *Indian J. Fibre Text. Res.* 45 (2020) 90–95.
- [31] D. Tamburini, Investigating Asian colourants in Chinese textiles from Dunhuang (7th-10th century AD) by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry – Towards the creation of a mass spectra database, *Dyes Pigm.* 163 (2019) 454–474.
- [32] R. E. Asenstorfer, A. J. Markides, P. G. Iland, G. P. Jones, Formation of vitisin A during red wine fermentation and maturation, *Aust. J. Grape Wine Res.* 9 (2003) 40–46.
- [33] A. L. Waterhouse, J. Zhu, A quarter century of wine pigment discovery, *J. Sci. Food Agric. B.m.* (2019) 109226.
- [34] P. Vyslyšelová, Chromatografická frakcionace rostlinných extraktů, diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2012.
- [35] K. Lech, M. Jarosz, Novel methodology for the extraction and identification of natural dyestuffs in historical textiles by HPLC-UV-Vis-ESI MS. Case study: Chasubles from the Wawel Cathedral collection, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 3241–3251.
- [36] D. Mantzouris, I. Karapanagiotis, L. Valianou, C. Panayiotou, HPLC-DAD-MS analysis of dyes identified in textiles from Mount Athos, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 3065–3079.
- [37] P. Rudolfová, Vliv katechinů na toxicitu vybraných léčiv, diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze. Praha 2013
- [38] H. Morillas, M. Maguregui, J. Bastante, G. Huallparimachi, I. Marcaida, C. García-Florentino, F. Astete, J. M. Madariaga, Characterization of the Inkaterra rock shelter

- paintings exposed to tropical climate (Machupicchu, Peru), *Microchem. J.* 137 (2018) 422–428.
- [39] T. Rosado, A. Reis, J. Mirão, A. Candeias, P. Vandenabeele, A. Teresa Caldeira, Pink! Why not? On the unusual colour of Évora Cathedral, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 94 (2014) 121–127.
- [40] B. A. Hřebíčková, *Recepty starých mistrů aneb Malířské postupy středověku*, Computer Press, Praha 2006.
- [41] L. Burgio, R. J. H. Clark, Comparative pigment analysis of six modern Egyptian papyri and an authentic one of the 13th century BC by Raman microscopy other techniques, *J. Raman Spectrosc.* 31 (2000) 395–401.
- [42] V. Pauk, V. Havlíček, B. Papoušková, P. Sulovský, K. Lemr, Simultaneous identification of historical pigments Prussian blue and indigo in paintings by electrospray mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* 48 (2013) 927–930.
- [43] R. E. Smith, Azine Dyes, v knize: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken 2013, str. 1–9.
- [44] P. Ommen, N. Zobek, R. L. Meyer, Quantification of biofilm biomass by staining: Non-toxic safranin can replace the popular crystal violet, *J. Microbiol. Methods* 141 (2017) 87–89.
- [45] P. Vandenabeele, H. G. M. Edwards, Pigments and dyes, v knize: *Analytical Archaeometry: Selected Topics*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2012, str. 345–360.
- [46] R. Šefců, K. Hricková, M. Kmoníčková, V. Antušková, *Specializovaná databáze pigmentů a barviv*, Národní Galerie v Praze, Praha 2017.
- [47] D. Hradil, J. Hradilová, P. Bezdička, C. Serendan, Late Gothic/early Renaissance gilding technology and the traditional pigment material “Armenian bole”: Truly red clay, or rather bauxite? *Appl. Clay Sci.* 135 (2017) 271–281.
- [48] Master Pigments – Attila Gazo. <https://www.masterpigments.com/realgar-pigments/>, staženo 24. května 2020.
- [49] L. Avlonitou, Pigments and colours: An inside look at the painted decoration of the Macedonian funerary monuments, *J. Archaeolog. Sci. Rep.* 7 (2016) 668–678.
- [50] V. Daniels, B. Leach, The occurrence and alteration of realgar on ancient Egyptian papyri, *Stud. Conserv.* 49 (2004) 73–84.
- [51] M. Cornman, Cobalt Yellow (Aureolin). V knize: R. R. Feller (ed.) *Artists’ Pigments. Volume 1*. National Gallery of Art, Washington 2012.
- [52] M. C. Caggiani, A. Cosentino, A. Mangone, Pigments Checker version 3.0, a handy set for conservation scientists: A free online Raman spectra database, *Microchem. J.* 129 (2016) 123–132.

- [53] B. A. Hřebíčková, *Chemie a historie výtvarných materiálů*, B.m., Praha 2017.
- [54] I. N. M. Wainwright, J. M. Taylor, R. D. Harley, Lead Antimonate Yellow. V knize: R. L. Feller (ed.), *Artists' Pigments. Volume 1*, National Gallery of Art, Washington 2012, str. 219–254.
- [55] H. Kühn, Lead-Tin Yellow. V knize: A. Roy (ed.), *Artists' Pigments. Volume 2*. National Gallery of Art, Washington 2012, str. 83–112.
- [56] D. Lauwers, V. Cattersel, L. Vandamme, A. Van Eester, K. De Langhe, L. Moens, P. Vandenaabeele, Pigment identification of an illuminated mediaeval manuscript *De Civitate Dei* by means of a portable Raman equipment, *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 1266–1271.
- [57] K. Castro, S. Pessanha, N. Proietti, E. Princi, D. Capitani, M. L. Carvalho, J. M. Madariaga, Noninvasive and nondestructive NMR, Raman and XRF analysis of a Blaeu coloured map from the seventeenth century, *Anal. Bioanal. Chem.* 391 (2008) 433–441.
- [58] C. A. Grissom, Green Earth. V knize: R. R. Feller (ed.), *Artists' Pigments, Volume 1*. National Gallery of Art, Washington 2012, str. 141–168.
- [59] KREMER pigmente: Epidote greenish extra. <https://www.kremer-pigmente.com/media/pdf/11150-11151e.pdf>, staženo 25. května 2020.
- [60] B. Downs, H. Yang, RRUFF Project. <https://rruff.info/>, staženo 25. května 2020.
- [61] B. Wopenka, R. Popelka, J. D. Pasteris, S. Rotroff, Understanding the Mineralogical Composition of Ancient Greek Pottery through Raman Microprobe Spectroscopy, *Appl. Spectrosc.* 56 (2002) 1320–1328.
- [62] R. J. Gettens, E. West Fitzhugh, Azurite and Blue Verditer. V knize: A. Roy, (ed.) *Artists' Pigments. Volume 2*. National Gallery of Art, Washington 2012, str. 23–36.
- [63] D. Cosano, D. Esquivel, C. M. Costa, C. Jiménez-Sanchidrián, J. R. Ruiz, Identification of pigments in the Annunciation sculptural group (Cordoba, Spain) by micro-Raman spectroscopy, *Spectrochim. Acta, Part A* 214 (2019) 139–145.
- [64] E. A. Carter, F. R. Perez, J. M. Garcia, H. G. M. Edwards, Raman spectroscopic analysis of an important Visigothic historiated manuscript, *Philos. Trans. R. Soc. A* 374 (2016) 1364503X.
- [65] L. M. Smieska, R. Mullett, L. Ferri, A. R. Woll, Trace elements in natural azurite pigments found in illuminated manuscript leaves investigated by synchrotron x-ray fluorescence and diffraction mapping, *Appl. Phys. A* 123 (2017)14320630.
- [66] J. Plesters, Ultramarine Blue, Natural and Artificial, v knize: A. Roy (ed.) *Artists' Pigments. Volume 2*. National Gallery of Art, Washington 2012, str. 37–66.

- [67] C. Brøns, S. B. Hedegaard, J. Bredal-Jørgensen, D. Buti, G. Pastorelli, The rarest blue: exceptional find of lapis lazuli in the polychromy of a funerary portrait from ancient Palmyra, *Archaeometry* 62 (2020) 506–520.
- [68] J. Riederer, Egyptian Blue, v knize: E. West Fitzhugh (ed.) *Artists' Pigments*. Volume 3, National Gallery of Art, Washington 2012, str. 23–46.
- [69] S. Gasanova, S. Pagès-Camagna, M. Andrioti, Sorin Hermon, Non-destructive in situ analysis of polychromy on ancient Cypriot sculptures, *Archaeol. Anthropol. Sci.* 10 (2018) 83–95.
- [70] L. D. Mateos, D. Cosano, M. Mora, I. Muñiz, R. Carmona, C. Jiménez-Sanchidrián, J. R. Ruiz, Raman microspectroscopic analysis of decorative pigments from the Roman villa of El Ruedo (Almedinilla, Spain), *Spectrochim. Acta, Part A* 151 (2015) 16–21.
- [71] C. Calza, A. Pedreira, R. T. Lopes, Analysis of paintings from the nineteenth century Brazilian painter Rodolfo Amoedo using EDXRF portable system, *X-Ray Spectrom.* 38 (2009) 327–332.
- [72] Manganese violet. http://cameo.mfa.org/wiki/Manganese_violet, staženo: 26. května 2020.
- [73] B. Slánský, *Technika v malířské tvorbě: Malířský a restaurátorský materiál*, 1. vydání, SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha 1973.
- [74] M. P. Colombini, F. Modugno, *Organic Materials in Art and Archaeology*, v knize: M. P. Colombini, F. Modugno (ed.), *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*. first edit. B.m., John Wiley & Sons, Ltd, New York 2009.
- [75] A. Tchapla, P. Méjanelle, J. Bleton, S. Goursaud, Characterisation of embalming materials of a mummy of the Ptolemaic era. Comparison with balms from mummies of different eras, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 217–234.
- [76] I. Kopecká, E. Svobodová, *Metody průzkumu historických materiálů*, Grada publishing, Praha 2019.
- [77] S. H. Rodriguez, C. R. Appoloni, P. H.o.v. Campos, B. Gonçalves, E. A.m. Kajiya, R. Molari, M. A. Rizzutto, C. Winter, Non-Destructive and portable analyses helping the study and conservation of a Saraceni copper plate painting in the São Paulo museum of art, *Microchem. J.* 155 (2020), 104787.
- [78] J. K. Delaney, G. Trumpy, M. Didier, P. Ricciardi, K. A. Dooley, A high sensitivity, low noise and high spatial resolution multi-band infrared reflectography camera for the study of paintings and works on paper, *Herit. Sci.* 5 (2017) 32.
- [79] A. Cosentino, *Terahertz and Cultural Heritage Science: Examination of Art and Archaeology*, *Technologies* 4 (2016) 6.

- [80] J. B. Jackson, J. Labaune, R. Bailleul-Lesuer, L. D'Alessandro, A. Whyte, J. W. Bowen, M. Menu, Gerard Mourou, Terahertz pulse imaging in archaeology, *Front. Optoelectron.* 8 (2015) 81–92.
- [81] E. M. Stübling, A. Rehn, T. Siebrecht, Y. Bauckhage, L. Öhrström, P. Eppenberger, J. C. Balzer, F. Rühli, M. Koch, Application of a robotic THz imaging system for sub-surface analysis of ancient human remains, *Sci. Rep.* 9 (2019) 3390.
- [82] J. Labaune, J. B. Jackson, S. Pagès-Camagna, I. N. Duling, M. Menu, G. A. Mourou, Papyrus imaging with terahertz time domain spectroscopy, *Appl. Phys. A* 100 (2010) 607–612.
- [83] D. Harvey, *Modern Analytical Chemistry*, McGraw-Hill Companies, New York 2000.
- [84] E. Noake, D. Lau, P. Nel, Identification of cellulose nitrate based adhesive repairs in archaeological pottery of the University of Melbourne's Middle Eastern archaeological pottery collection using portable FTIR-ATR spectroscopy and PCA, *Herit. Sci.* 5 (2017) 3.
- [85] S. Sotiropoulou, G. Sciutto, A. L. Tenorio, J. Mazurek, I. Bonaduce, S. Prati, R. Mazzeo, M. Schilling, M. P. Colombini, Advanced analytical investigation on degradation markers in wall paintings, *Microchem. J* 139 (2018) 278–294.
- [86] M. Lebon, A. Zazzo, I. Reiche, Screening in situ bone and teeth preservation by ATR-FTIR mapping, *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 416 (2014) 110–119.
- [87] H. Mitsutake, R. Poppi, M. Breitreitz, Raman Imaging Spectroscopy: History, Fundamentals and Current Scenario of the Technique, *J. Braz. Chem. Soc.* 30 (2019) 2243–2258.
- [88] P. Vandenabeele, H. G. M. Edwards, J. Jehlička, The role of mobile instrumentation in novel applications of Raman spectroscopy: archaeometry, geosciences, and forensics, *Chem. Soc. Rev.* 43 (2014) 2628.
- [89] Š. Kučková, E. Hamidi-Asl, I. Matulková, R. Hynek, K. De Wael, J. Sanyova, K. Janssens, Techniky a aplikace povrchově zesílené Ramanovy spektroskopie se zaměřením na umělecká díla, *Chem. Listy* 112 (2018) 312–316.
- [90] F. Pozzi, M. Leona, Surface-enhanced Raman spectroscopy in art and archaeology, *J. Raman Spectrosc.* 47 (2016) 67–77.
- [91] I. Liritzis, N. Zacharias, *Portable XRF of Archaeological Artifacts: Current Research, Potentials and Limitations*, *Z knihy: X-Ray Fluorescence Spectrometry (XRF) in Geoarchaeology*, Springer New York 2011, str. 109–142.
- [92] F. Vanmeert, W. De Nolf, S. De Meyer, J. Dik, K. Janssens, Macroscopic X-ray powder diffraction scanning, a new method for highly selective chemical imaging of works of art: Instrument Optimization, *Anal. Chem.* 90 (2018) 6436–6444.

- [93] R. P. Freitas, V. S. Felix, M. O. Pereira, R. S. Santos, A. L. Oliveira, E. A. S. Gonçalves, D. S. Ferreira, A. R. Pimenta, L. O. Pereira M. J. Anjos, Micro-XRF analysis of a Brazilian polychrome sculpture, *Microchem. J.* 149 (2019) 104020.
- [94] R. Prokeš, V. Antušková, R. Šefců, T. Trojek, Š. Chlumská, T. Čechák, Investigation of color layers of Bohemian panel paintings by confocal micro-XRF analysis, *Radiat. Phys. Chem.* 151 (2018) 59–64.
- [95] PIXE, PIGE and PESA. <http://neutron.ujf.cas.cz/cs/lnam/item/81-pixe>, staženo 2. června 2020.
- [96] O.J.O. Wilberforce, Review of principles and application of AAS, PIXE and XRF and their usefulness in Environmental Analysis of Heavy Metals, *IOSR J. Appl. Chem.* 9 (2016) 15–17.
- [97] H. C. Santos, C. Caliri, L. Pappalardo, R. Catalano, A. Orlando, F. Rizzo, F. P. Romano, Identification of forgeries in historical enamels by combining the non-destructive scanning XRF imaging and alpha-PIXE portable techniques, *Microchem. J.* 124 (2016) 241–246.
- [98] L. Pappalardo, S. Barresi, G. Biondi, C. Caliri, F. Caruso, R. Catalano, G. Lamagna, G. A. Manenti, G. Monterosso, A. Orlando, F. Rizzo, F. P. Romano, H. C. Santos, PIXE-alpha non-destructive and in situ compositional investigation of black gloss on ancient pottery, *X-Ray Spectrom.* 45 (2016) 258–262.
- [99] A. Bintintan, M. Gligor, I. D. Dulama, S. Teodorescu, R. M. Stirbescu, C. Radulescu, ATR-FTIR and SEM-EDS analyses of lumea noua painted pottery from Alba Iulia-Lumea Noua Neolithic site, *Rev. Chim.* 68 (2017) 847–852.
- [100] G. Fioretti, S. Raneri, D. Pinto, M. Mignozzi, D. Mauro, The archaeological site of St. Maria Veterana (Triggiano, Southern Italy): Archaeometric study of the wall paintings for the historical reconstruction, *J. Archaeol. Sci. Rep.* 29 (2020) 102080.
- [101] M. C. Caggiani, P. Acquafredda, P. Colomban, A. Mangone, The source of blue colour of archaeological glass and glazes: The Raman spectroscopy/SEM-EDS answers, *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014) 1251–1259.
- [102] G. Giorgi, Overview of mass spectrometric based techniques applied in the cultural heritage field, V knize: M. P. Colombini, F. Modugno (ed.), *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*, John Wiley & Sons, Ltd, New York 2009.
- [103] M. Sadílek, Úvod do tandemové hmotnostní spektrometrie, *Chem. Listy.* 144 (2020) 133–144.
- [104] E. Van Elslande, V. Guérineau, V. Thirioux, G. Richard, P. Richardin, O. Laprévotte, G. Hussler, P. Walter, Analysis of ancient Greco–Roman cosmetic materials using laser desorption ionization and electrospray ionization mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 390 (2008) 1873–1879.

- [105] L. Zapletalová, Studium nekovalentních interakcí protein-ligand pomocí hmotnostní spektrometrie, diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2016.
- [106] G. Spoto, G. Grasso, Spatially resolved mass spectrometry in the study of art and archaeological objects, *Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 856–863.
- [107] A. Maus, R. Mignon, F. Basile, Enhanced protein identification using graphite-modified MALDI plates for offline LC-MALDI-MS/MS bottom-up proteomics, *Anal. Biochem.* 545 (2018) 31–37.
- [108] L. Peng, G. R. Kinsel, Improving the sensitivity of matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry by using polyethylene glycol modified polyurethane MALDI target, *Anal. Biochem.* 400 (2010) 56–60.
- [109] M. S. Maier, S. D. Parera, A. M. Seldes, Matrix-assisted laser desorption and electrospray ionization mass spectrometry of carminic acid isolated from cochineal, *Int. J. Mass Spectrom.* 232 (2004) 225–229.