

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDĚCKÁ FAKULTA

KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE

AMBIENTNÍ IONIZAČNÍ TECHNIKY PŘI ANALÝZE UMĚLECKÝCH DĚL

DIPLOMOVÁ PRÁCE

| | |
|-------------------|-------------------------------|
| Autor: | Adam Studený |
| Vedoucí práce: | prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D. |
| Konzultant práce: | Marianna Nytko, M.Sc. |
| Studijní program: | Analytická chemie |
| Studijní obor: | Analytická chemie |
| Typ studia: | Prezenční |

Olomouc 2021

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré informace a podkladové materiály, které jsem při práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Vlastnoruční podpis

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce prof. RNDr. Karlovi Lemrovi, Ph.D. za jeho ochotu, vstřícnost, cenné připomínky a rady k mé práci. Rovněž bych velice rád zmínil Mariannu Nytku, M.Sc., které děkuji za její čas a odborné připomínky při měření experimentálních dat k mé práci, a také RNDr. Lukáše Kučeru, Ph.D., kterému také děkuji za cenné rady při přípravě modelových vzorků.

Poděkování taktéž patří mé rodině za jejich podporu po celou dobu mého studia.

Poděkování za finanční podporu výzkumu patří projektu ERDF OA ITI - ARTECA (CZ.02.1.01/0.0/0.0/17_048/0007378) Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky a také projektům IGA_PrF_2020_030 a IGA_PrF_2021_021 Univerzity Palackého v Olomouci.

Bibliografická identifikace:

| | |
|---------------------|---|
| Autor: | Adam Studený |
| Název práce: | Ambientní ionizační techniky v analýze uměleckých děl |
| Typ práce: | Magisterská |
| Pracoviště: | Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta UP |
| Vedoucí práce: | prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D. |
| Konzultant práce: | Marianna Nytko, M.Sc. |
| Rok obhajoby práce: | 2021 |

Abstrakt: Analýza uměleckých děl je komplexní záležitost, která zahrnuje analýzu pigmentů, barviv, pojiv a dalších složek uměleckého díla. Teoretická část této práce se věnuje základním instrumentálním metodám, které se v analýze uměleckých děl používají. V jejím závěru jsou představeny některé ambientní techniky, jako například desorpční elektrosprej (DESI) založený na přímé ionizaci vzorku za atmosférického tlaku a dále využívaný v experimentální části práce. Pro něj byla nalezena vhodná sprejovací kapalina.

Z osmi různých a běžně používaných sprejovacích kapalin byla vybrána jedna (methanol + voda 98:2), která poskytuje dostatečné informace v kladném i záporném módu. Tato sprejovací kapalina byla použita pro analýzu modelových vzorků, které obsahovaly olejová pojiva, vaječný žloutek a pigment. Do dvou vzorků byla přidána kyselina azelaová, což je důležitý degradační produkt mastných kyselin. Pomocí vybrané sprejovací kapaliny se podařilo v modelových vzorcích detegovat triacylglyceroly, fosfolipidy a také kyselinu azelaovou, která byla potvrzena fragmentací. Pomocí hmotnostně spektrometrického zobrazování byly úspěšně odlišeny použité olejová pojiva od vaječného žloutku a taktéž zobrazena kyselina azelaová. Získané výsledky dobře dokumentují možnosti využití ambientní ionizační techniky DESI a hmotnostně spektrometrického zobrazování v analýze uměleckých děl.

Klíčová slova: ambientní ionizační techniky, desorpční elektrosprej, hmotnostní spektrometrie umělecká díla, olejová pojiva, vaječný žloutek

| | |
|---------------|-------|
| Počet stran: | 79 |
| Počet příloh: | 8 |
| Jazyk: | Český |

Bibliographical identification:

Author: Adam Studeny

Title: Ambient ionization techniques in analysis of arts

Type of thesis: Master's

Department: Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science,
Palacký University, Czech Republic

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

Consultant: Marianna Nytko, M.Sc.

The year of presentation: 2021

Annotation: Analysis of artworks is a complex task, which includes analysis of pigments, dyes, binders and other components. The theoretical part is devoted to overview of basic instrumental methods which are used in analysis of artworks. This part also covers the description of desorption electrospray ionization based on direct ionization at atmospheric pressure. Spray liquid composition belongs to essential experimental parameters influencing ionization by this technique.

One spray liquid (methanol:water, 98:2) providing required ionization of compounds of interest was selected from eight studied possibilities. It is suitable for positive and negative mode. This spray liquid was used for the analysis of mock-up samples, which contained different oil binders, yolk and pigment. Two mock-up samples were spiked by azelaic acid as an important degradation product of lipid binders. Using the selected spray liquid, triacylglycerols, phospholipids, and azelaic acid were ionized. The presence of azelaic acid was confirmed by fragmentation spectra. Mass spectrometry imaging allowed us to distinguish oil binders from egg yolk and to reveal azelaic acid in the samples. Obtained results demonstrate the usefulness of DESI and mass spectrometry imaging in analysis of artworks.

Keywords: ambient ionization techniques, desorption electrospray, mass spectrometry, artwork, oil binders, egg yolk

Number of pages: 79
Number of appendices: 8
Language: Czech

OBSAH

| | |
|--|----|
| 1. ÚVOD | 1 |
| 2. TEORETICKÁ ČÁST | 2 |
| 2.1 Analytická chemie a tajemství historie uměleckých předmětů | 2 |
| 2.2 Historie analýzy uměleckých děl | 2 |
| 2.3 Analytické metody při analýze uměleckých děl | 3 |
| 2.3.1 Přehled analytických metod v analýze uměleckých děl | 3 |
| 2.3.2 Mikroskopické metody | 4 |
| 2.3.3 Separační a spektrální metody | 7 |
| 2.3.4 Elektrochemické metody | 26 |
| 2.4 Hmotnostní spektrometrie - ambientní ionizační techniky | 26 |
| 2.4.1 Představení ambientních ionizačních technik | 26 |
| 2.4.2 Ambientní ionizační techniky při analýze uměleckých děl | 30 |
| 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 36 |
| 3.1 Chemikálie a vzorky | 36 |
| 3.2 Přístrojové vybavení a nastavení parametrů experimentu | 36 |
| 3.2.1 Pracovní postupy | 37 |
| 4. VÝSLEDKY A DISKUZE | 41 |
| 4.1 Testování sprejovací kapaliny pro DESI-MS | 41 |
| 4.2 Analýza modelových vzorků vybranou sprejovací kapalinou | 48 |
| 4.3 Hmotnostně spektrometrické zobrazování modelových vzorků | 60 |
| 5. ZÁVĚR | 69 |
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 71 |
| SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ | 78 |
| PŘÍLOHY | I |

1. ÚVOD

Prudký rozvoj se v současné době projevuje ve všech sférách života, včetně analytické chemie. K analytickým technikám, které zažívají intenzivní rozvoj řadíme i hmotnostní spektrometrii, která v dnešní době nabízí stále širší spektrum aplikací a nezůstává tak pouze na poli klasické analytické chemie. Zajímavou aplikací je uplatnění ambientních ionizačních technik v analýze uměleckých děl. K výhodám, kterými tyto techniky disponují, řadíme možnost jejich využití při přímých analýzách povrchů za atmosférického tlaku, a to vše s minimální nebo dokonce žádnou předúpravou vzorku. K těmto ambientním ionizačním technikám řadíme desorpční elektrosprej (DESI), ionizace využívající sondu pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku (ASAP), přímá analýza v reálném čase (DART) a mnohé další. Jejich aplikace byly popsány na poli farmacie, analýzy potravin, životního prostředí, forenzní analýze, ale také v oblasti analýzy uměleckých děl. Na využití techniky DESI v analýze uměleckých děl se zaměřuje tato diplomová práce. Po vhodně vybrané sprejovací kapalině je sledována přítomnost složek pojiv (žloutku, olejů) případně degradačních produktů, např. kyseliny azelaové, v modelových vzorcích nástěnných maleb. Detekce je založena na získání hmotnostních spekter po přímé desorpci a ionizaci ze zkoumaného povrchu uměleckého díla. Provedeno je taktéž hmotnostně spektrometrické zobrazování uměleckých vzorků ukazující distribuci pojiv v modelových vzorcích.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Analytická chemie a tajemství historie uměleckých předmětů

V minulosti může mnoho lidí hledat vysvětlení pro události probíhající v současnosti, pátrat po svých kořenech, nalézat poučení, ale i informace a podněty do jejich životů. Tajemství předmětů, které pochází z minulosti, tkví v tom, že pojednávají o svém vzniku, technice vzniku, zvycích lidí a jejich putování časem.

V minulosti nebyly analýzy tak náročné, a tak na vše stačil jeden člověk (umělec i technolog současně). V současné době se však musí spojit několik různých oborů lidské činnosti, umění a věda. Umělci, vědci a řada specializovaných profesí (malíři, sochaři, řemeslníci, historici, restaurátoři, archiváři, jazykovědci, fyzici, chemici, geologové i biologové) musí velmi úzce spolupracovat, aby se umělecká díla a předměty prozkoumaly, zdokumentovaly, konzervovaly, restaurovaly a nakonec vystavily v celé kráse. Analytická chemie se tak postupně stává jedním z kamínek mozaiky trpělivé práce.

Průzkum a zachování historických a uměleckých děl je oborem stále více sledovaným a tak lákavým, že je třeba velmi opatrně a kriticky hodnotit všechny získané informace a čas od času je znovu ověřit s použitím nově objevených metod a postupů moderní vědy.

Vynalézavost lidí je nesmírně vysoká, touha po vlastnictví bezbřehá a padělatelé se činili již v době starověkých civilizací a činit budou i nadále. Jedním z nejproslulejších padělatelů obrazů působících ve 20. století je Holanďan Han van Meegeren, na jehož odhalení měla svůj nemalý podíl i bouřlivě se rozvíjející analytická chemie využívající nové metody analýzy.^[1]

2.2 Historie analýzy uměleckých děl

První datovaná studie geologického zkoumání archeologických a uměleckých objektů pochází z roku 1720 od vědce astronoma Edmonda Halleyho, jenž charakterizoval pravěké kameny známé jako Stonehenge. Analýza pigmentů a pojiv pochazejících z egyptského sarkofágu, pod vedením německého vědce Johanna Friedricha Gmelina

v roce 1781, je první analytickou prací zabývající se uměleckými objekty. Před tím byla k dispozici jen řada technických zkoušek, archeologických a uměleckých předmětů založených na stíracích testech.^[2]

Kvalitativní analýza historických pigmentů byla poprvé publikována v roce 1826 francouzským chemikem LouiSEM NicolASEM VauquelinEM.^[2] Mezi další vědce, kteří se zabývali analýzou historických předmětů, patřil například Michael Faraday nebo Sir Humphry Dave s analýzou pigmentů nástěnných maleb.^[3] Většina těchto analýz byla založena na mikrochemických testech, např. reakce vzorku na teplo, test rozpustnosti.^[2]

První zmínka o použití zvětšovacích čoček pro pozorování reakce vzorku a činidla pochází z roku 1786 a jejím autorem je malíř miniaturních soch a obrazů Christopher Barber.^[2] Tento umělec rovněž v roce 1783 popisuje metodu pro vložení uměleckého vzorku do bloku vosku za účelem následného nábrusu a pozorování jednotlivých vrstev. Nicméně příprava vzorku pro analýzu jeho vrstev byla v moderním slova smyslu zveřejněna až v roce 1914 skotským chemikem A. P. Lauriem.^[4] Ve výzkumu německého architekta a kritika Gottfrieda Sempera je uveden odkaz na použití mikroskopu pro zkoumání vzorku barvy na stropě Hefaistova chrámu v Aténách.^[2] V roce 1888 byla zřízena první laboratoř, která spolupracovala s muzeem (Chemická laboratoř Královského muzea v Berlíně), jehož prvním ředitelem byl Friedrich Rathgen. Jeho lze považovat za prvního, který využíval vědu pro zacházení s muzejními předměty. Na počátku 19. století pak začaly postupně vznikat další vědecké laboratoře s podobným zaměřením.^[5]

2.3 Analytické metody při analýze uměleckých děl

2.3.1 Přehled analytických metod v analýze uměleckých děl

Analytických metod používaných při analýze uměleckých děl existuje v současné době nepřehledné množství a stále vznikají nové přístupy k řešení otázek v souvislosti s uměleckými díly.

Mezi analytické metody jejichž výstupem je obraz řadíme například optickou mikroskopii, skenovací elektronovou mikroskopii, UV fotografii, IR reflektoskopie.

K metodám poskytujícím informace o prvkovém složení vzorku uměleckého díla patří rentgenofluorescenční analýza, prášková RTG difrakce, atomová absorpční spektrometrie, optická emisní spektrometrie, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, částicemi indukovaná rentgenová emise, spektrometrie laserem buzeného plazmatu.

V případě potřeby zkoumání organického složení je často užívána separační metoda ve spojení s hmotnostní spektrometrií (např. GC/MS, LC/MS), ale i s jinými způsoby detekce. Uplatňují se spektrální metody jako například infračervená spektrometrie, Ramanova spektrometrie a UV/VIS spektrometrie.

Z méně užívaných elektromigračních metod lze uvést kapilární zónovou elektroforézu nebo gelovou elektroforézu.^[6]

2.3.2 Mikroskopické metody

Nezastupitelné místo při analýze uměleckých děl má mikroskopie, která odhaluje velké množství informací o struktuře obrazu na malé ploše. Často pouhé setiny milimetrů stačí k tomu, aby byly získány nové poznatky o uměleckém díle.

Mikroskopie je invazivní metoda, ovšem jakmile je vzorek malby vložen do pryskyřice, lze jej opakovaně zkoumat řadou přístrojů. Průřezová analýza vrstev malby zobrazuje pracovní metodu umělce, a to od počátečních přípravných vrstev přes vrstvy barvy a laku.

Optická mikroskopie

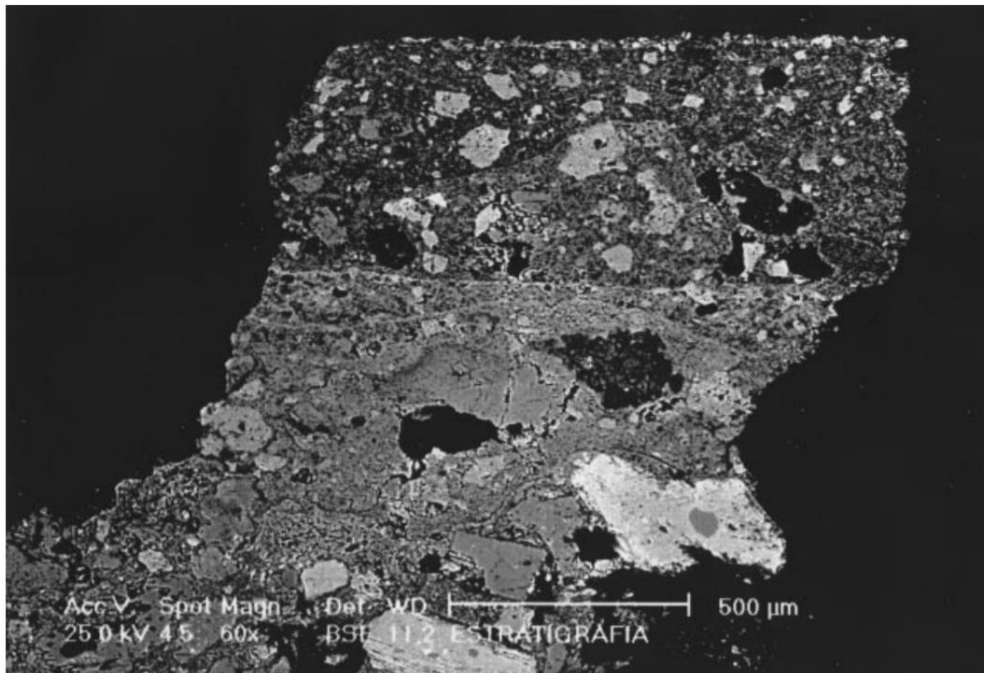
Nejjednodušší metodou mikroskopie je optická mikroskopie, která umožňuje sledovat tvar a velikost zrn pigmentů a sled jednotlivých vrstev. Běžné je zobrazování pomocí optické mikroskopie ve viditelné oblasti spektra, ovšem lze také nahlížet pomocí ultrafialového záření (*Obrázek č. 1*) či s použitím různých filtrů. Tímto způsobem mohou být snáze rozlišeny různé vrstvy uměleckého díla, např. podkladová vrstva, jednotlivé vrstvy malby, případně i vrstva laku.^[7]



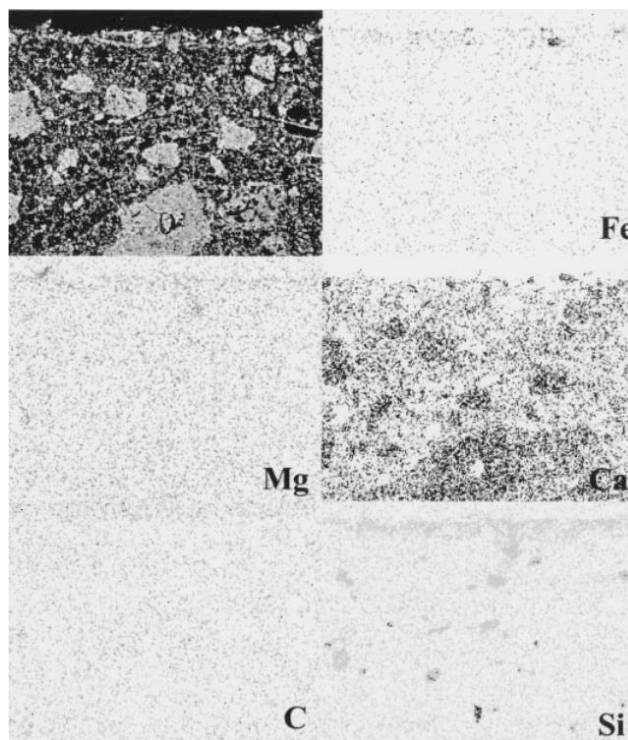
Obrázek č. 1: Vlevo umělecké dílo, vpravo nahoře zobrazení vrstev pod UV zářením, vpravo dole zobrazení vrstev pod viditelným zářením (převzato a upraveno z [7])

Skenovací elektronová mikroskopie

Za účelem získání informací o složení jednotlivých vrstev v řezu mohou být vzorky analyzovány **skenovacím elektronovým mikroskopem** (SEM Scanning Electron Microscopy), kdy pomocí paprsku elektronů dochází k vytvoření obrazu při extrémně velkém zvětšení (až 100 000 krát). Kromě toho s využitím **energiově disperzní spektrometrie** (EDS Energy Dispersive Spectrometry) je to pomocná metoda při identifikaci chemických prvků přítomných v každé vrstvě nebo dokonce v jednotlivých pigmentových částicích, což umožňuje identifikaci pigmentů v každé vrstvě malby.^[7] Na *Obrázku č. 2* můžeme vidět typické zobrazení vzorku nástěnné malby v průřezu pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Zobrazení umožňuje ukázat různé komponenty omítky, štukatury a pigmentu. Na *Obrázku č. 3* je pak elementární mapování stejného průřezu vzorkem. Další analýzy pomocí **Rentgenové difrakce** (XRD X-Ray Diffraction) a **Elektronové mikroskopie s vysokým rozlišením** (HREM High Resolution Electron Microscopy) potvrdili jako hlavní složku díla kalcit a dále pak minerál palygorskit, který byl součástí pigmentu mayská modř, hematit, který byl součástí červeného pigmentu na díle a další.^[8]



Obrázek č. 2: Zobrazení nástěnné malby v průřezu pomocí skenovací elektronové mikroskopie (převzato a upraveno z [8])



Obrázek č. 3: Elementární mapování prvků v průřezu pomocí skenovací elektronové mikroskopie (převzato a upraveno z [8])

2.3.3 Separační a spektrální metody

Hmotnostní spektrometrie

Laserová desorpční hmotnostní spektrometrie (LDMS Laser Desorption Mass Spectrometry) je jedna z metod, která byla použita při analýze organických barviv a anorganických pigmentů. Tato metoda totiž mimo jiné umožňuje zkoumat organická barviva a pigmenty přímo z nejsvrchnější vrstvy barevného souvrství a identifikovat tak jak pigment samotný, tak i směsi pigmentů. Barviva, která se podařilo takto identifikovat, shrnuje *Tabulka č. 1* pro antrachinonová barviva a *Tabulka č. 2* pro pyranová barviva.^[9]

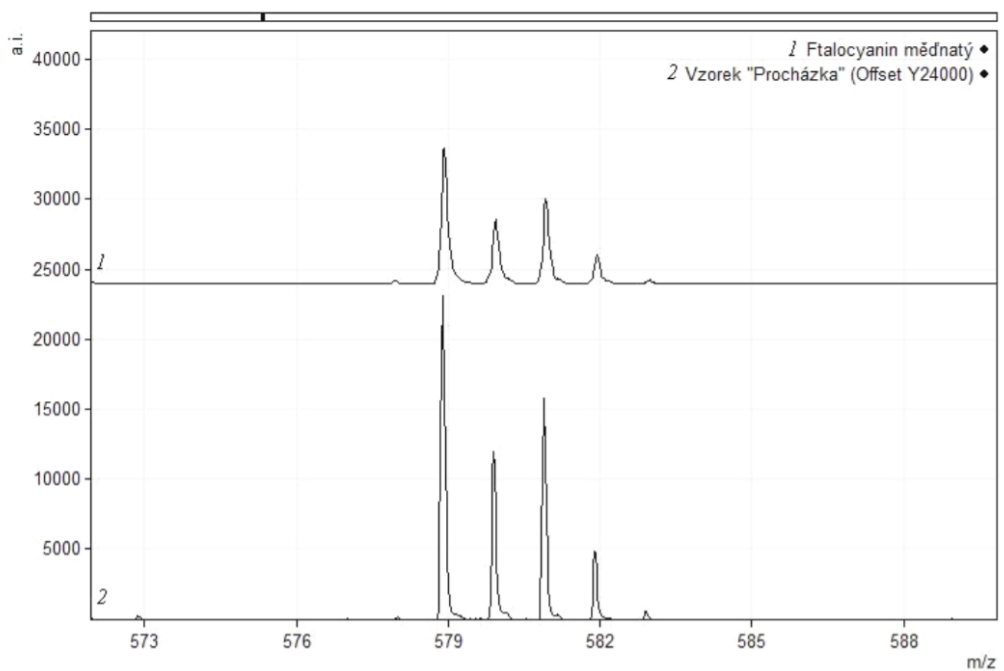
| Antrachinonová barviva/ Mr | M ⁺ /M ⁻ základní píky [m/z] | [M+Na] ⁺ [m/z] | [M+K] ⁺ [m/z] | dimer analytu [m/z] |
|-----------------------------|--|---------------------------|--------------------------|---------------------|
| Alizarin / 240,21 | 240,2 | 263 | – | – |
| Emodin / 270,24 | 270,2 | 293 | – | 540 |
| Karminová kyselina / 492,39 | 492,4 | – | – | – |
| Purpurin / 256,21 | 256,2 | 279 | 295 | – |

Tabulka č. 1: Hlavní charakteristické ionty zjištěné při analýze antrachinonových barviv pomocí LDMS v kladném i záporném módu. (převzato a upraveno z ^[9])

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

Tabulka č. 2: Hlavní charakteristické ionty zjištěné při analýze pyranových barviv pomocí LDMS v kladném i záporném módu. (převzato a upraveno z ^[9])

Na *Obrázku. č. 4* můžeme pozorovat přítomnost barviva ftalocyaninu na vzorku z uměleckého díla ve srovnání se standardem ftalocyaninem měďnatým.

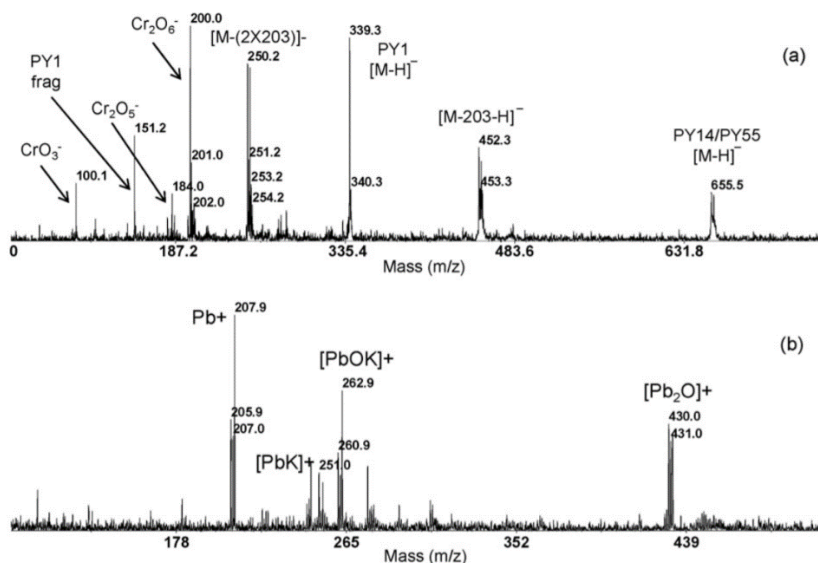


Obrázek č. 4: Porovnání hmotnostních spekter vzorku odebraného z obrazu s ftalocyaninem měďnatým. U obou spekter je pozorován charakteristický isotopový profil. Měřeno v záporném módu. (převzato a upraveno z ^[9])

Jako další příklad využití LDMS v analýze organických i anorganických pigmentů lze uvést analýzu obrazu s názvem Dream House od Jamese Castlea (Obrázek č. 5 a 6). Netradičností tohoto díla je, že bylo namalováno na kartonový papír od zmrzliny.



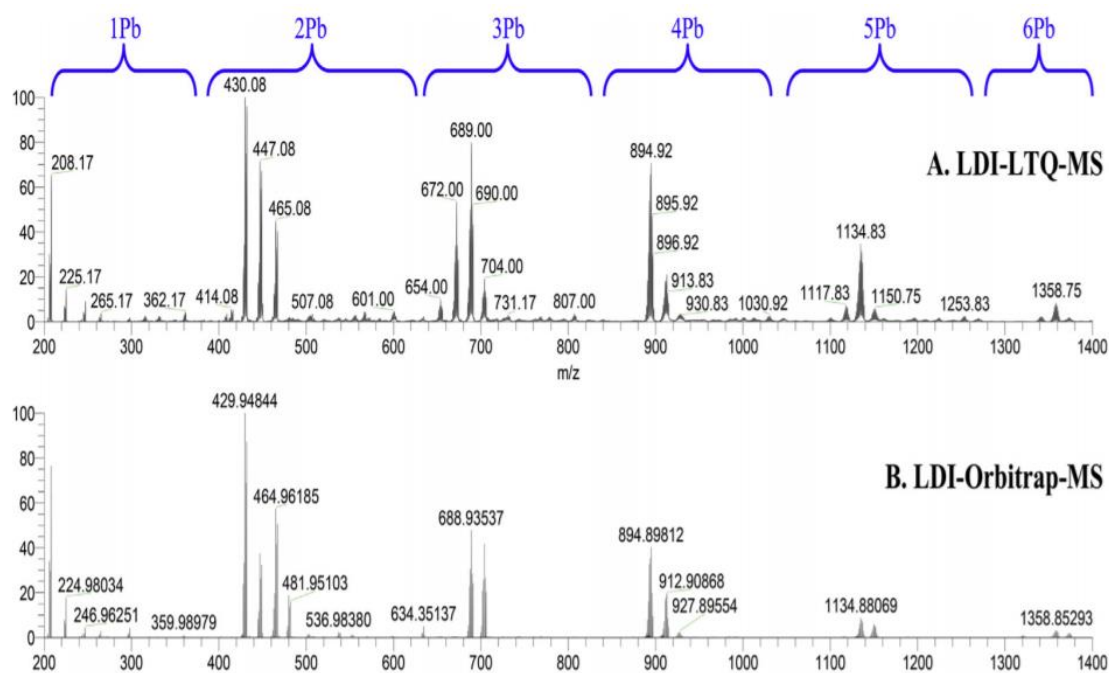
Obrázek č. 5: James Castle – Dream house (převzato a upraveno z ^[10])



Obrázek č. 6: a) LDMS spektrum ze žluté plochy v záporném módu; b) LDMS spektrum ze žluté plochy v kladném módu (převzato a upraveno z [10])

K analýze byla vzata žlutá vlákna kartonu (oblast žluté cesty). V záporném módu (Obrázek č. 6a) jsou pozorovány nejen ionty, které odpovídají organickým barvivům (diazobarvivo PY14), ale současně také anorganické ionty, např. olovo a chrom, které pochází z pigmentu chromová žluť PbCrO₄. Důvodem, proč byla pro tento vzorek zvolena právě technika LDMS, je také ten, že FTIR nedokázala žádný z těchto pigmentů a barviva (olověná žluť, diazobarviva) detegovat.

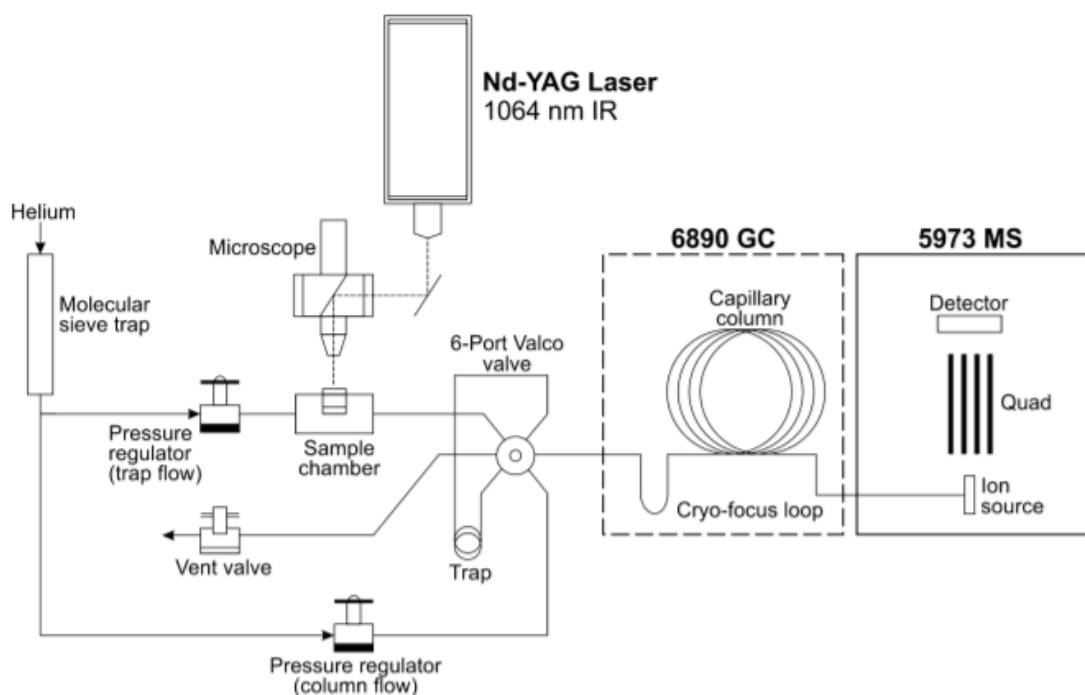
Dalším příkladem využití techniky LDMS byla analýza pigmentu s názvem olověná běloba Pb(CO₃)₂·Pb(OH)₂ za účelem analýzy tohoto pigmentu bez předchozí úpravy vzorku či použití fragmentace. Tomu předcházelo určit počet atomů olova v klastrech (Obrázek č. 7), dále určit složení těchto klastrů, a to pomocí klasických hmotnostních spekter s nízkým i vysokým rozlišením a tandemových hmotnostních spekter. Při těchto analýzách byly použity dva různé hmotnostní analyzátoři – LDI/LTQ/MS (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací a lineární pastí), LDI/Orbitrap/MS (hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací a orbitální pastí).



Obrázek č. 7: Hmotnostní spektrum olovené běloby měřeno dvěma analyzátoři v kladném módu (převzato a upraveno z^[11])

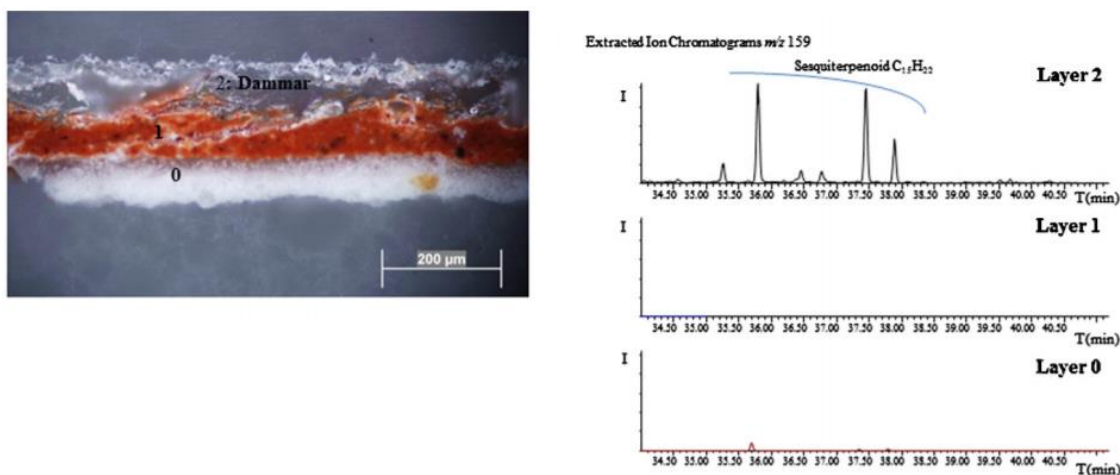
Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí

Jelikož je umělecké dílo velmi komplexní vzorek s poměrně složitou maticí, je v určitých případech zapotřebí užít separační krok, který předchází samotné detekci. Hmotnostní spektrometrii, může předcházet **pyrolýza laserem ve spojení s plynovou chromatografií**, (**LaPy/GC-MS** Laser Pyrolysis Gas Chromatography Mass Spectrometry). Na *Obrázku č. 8* pak můžeme vidět všechny náležitosti této spojené techniky.



Obrázek č. 8: Pyrolýza laserem ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní detekcí - schéma (převzato a upraveno z^[12])

Tuto techniku lze využít pro charakterizaci celé řady chemických substancí (vysychavé oleje, přírodní pryskyřice, vosky, proteiny, polysacharidy, organická barviva, syntetické polymery apod.) užívaných na poli umění.^[12] Mikroskopem je možno laserový paprsek zafokusovat až na 2 μm .^[13] Pomocí LaPy/GC-MS byla lokalizována (v uměleckém vzorku) a identifikována celá řada organických komponent (laky, pojiva, barviva).^[14] Tento analytický nástroj umožňuje zjišťovat přítomnost a zastoupení látky v různých vrstvách studovaného materiálu a je tedy vhodný k jejímu profilování v různých místech uměleckého díla. *Obrázek č. 9* tuto skutečnost dokumentuje přítomností seskviterpenů ve svrchní vrstvě. Na základě přítomnosti různých seskviterpenů lze touto technikou rozeznat například mezi dvěma typy pryskyřic, a to dammar a mastichu. Charakteristická hodnota m/z pro dammar je 159. *Obrázek č. 9* vpravo.^[15]



Obrázek č. 9: Fotomikrografický obraz řezu modelového uměleckého vzorku (vlevo); přítomnost seskviterpenu v různých vrstvách vzorku (vpravo) (převzato z [15] upraveno)

Py/GC-MS (pyrolýza může probíhat v pícce nebo laserem) analýza byla rovněž provedena při charakterizaci a identifikaci organických složek barev, jako jsou pojiva, barviva a aditiva přítomná v komerčních barvách. Mezi aditiva řadíme UV absorbéry, optické zjasňovače (např. 2,3,5-trimethylkumarin), antioxidanty (např. 2,3,5-trimethylfenol), biocidy (např. H-imidazol-4-karboxylová kyselina)^[16] a tenzidy (polyethoxylát, oktylfenylpolyethoxyethanol)^[17,18,19], které mají využití při polymerizačních reakcích při tvorbě nátěru, neboť dochází k tvorbě micel nutných pro tvorbu částic polymeru. Tyto „nebarevné“ komponenty pak mohou hrát roli v interakcích s barevnou složkou barvy.^[16]

Mikroextrace tuhou fází s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (SPME/GC-MS Solid Phase Micoextraction Gas Chromatography Mass Spectrometry) se jeví jako výborná neinvazivní a nedestrukční metoda pro systematický monitoring průběhu degradace uměleckých děl s polymerními materiály, a to na základě emise těkavých organických sloučenin ze studovaného díla.^[20] Nejznámější příklad se nazývá octový syndrom (vinegar syndrome) a souvisí s postupným uvolňováním kyseliny octové v důsledku degradace acetátu celulosy.^[21, 22] Mezi další látky, které se touto metodou podařilo detegovat, patří diethylftalát a dimethylftalát, přičemž obě tyto látky se používají jako změkčovadla,^[23, 24] a fenol, což může být degradační produkt trifenylofosfátu, což je rovněž změkčovadlo.^[25]

Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí

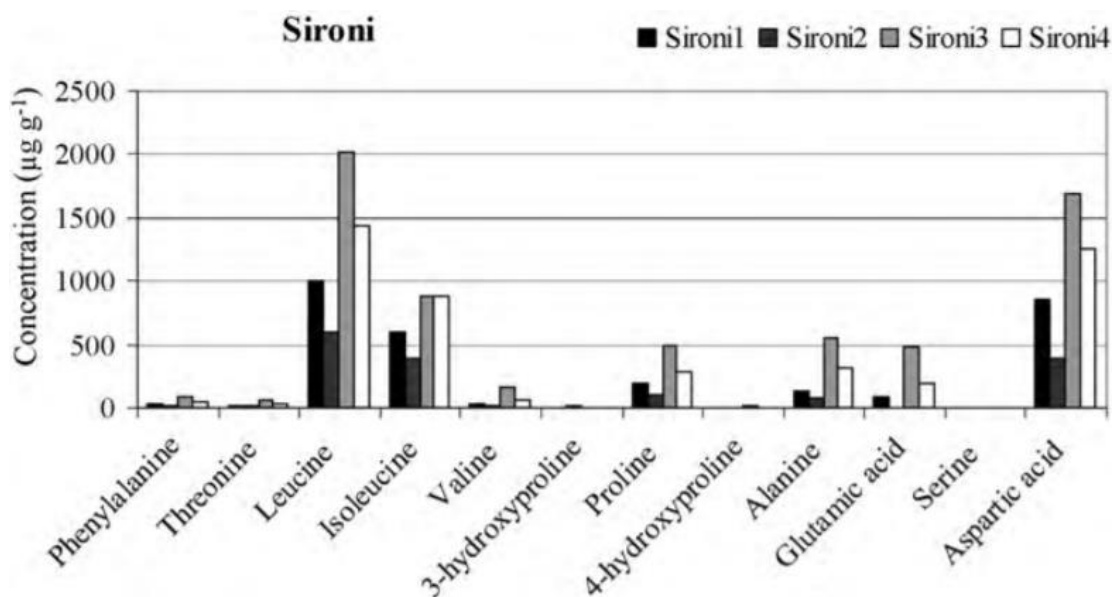
V některých případech (např. termolabilita analytu) je nutno užít jako separační techniku **kapalinovou chromatografií mnohdy ve spojení s hmotnostní detekcí (LC-MS Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)**. Mezi nejčastější způsoby ionizace patří elektrosprejová ionizace (ESI), která nabízí širokou škálu využití, od nízkomolekulárních látek po například proteiny. Rovněž záběr techniky LC-MS v analýze uměleckých děl je značný. Například se pomocí této techniky podařilo v souvislosti s uměleckými díly identifikovat v pojivech triglyceridy pocházející ze slunečnicového oleje^[26], diglyceridy, profily různých pryskyřic^[27], dále řadu peptidů z proteinů (ovalbumin, ovotransferin) vaječného bílku nebo z vaječného žloutku, např. vitellogenin-2, apolipoprotein B.^[28]

Taktéž byla tato metoda použita při analýze aminokyselin (po předchozí hydrolyze proteinů) v temperových barvách, ve kterých se nachází proteinová pojiva. Důvodem jejich analýzy bylo rozpoznat a odlišit od sebe malířské techniky nástěnných maleb (*Obrázek č. 10*) dvou umělců – Mario Sironi a Mario DeLuigi.^[29]

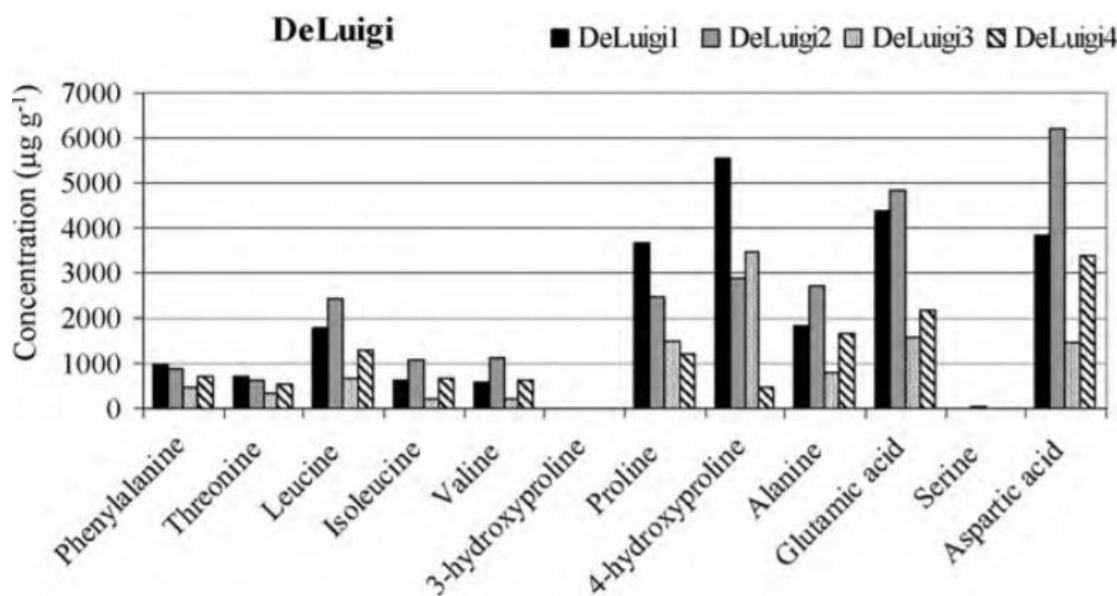


Obrázek č. 10: Nástěnná malba „Venezia l'Italia e gli studi“ Sironiho (vlevo), nástěnná malba a) „La scuola“ b) „I primordi di Roma“ DeLuigiho (vpravo) (převzato z^[29] a upraveno)

Na základě porovnání výsledků analýz (*Obrázek č. 11 a 12*) lze usoudit, že v porovnání s jinými aminokyselinami Sironiho nástěnná malba obsahuje vyšší obsahy leucinu, isoleucinu a asparagové kyseliny, zatímco DeLuigiho malba (*Obrázek č. 12*) vyšší obsahy prolinu, 4-hydroxyprolinu, glutamové a asparagové kyseliny. Na základě těchto rozdílů lze díla rozlišit mezi sebou.



Obrázek č. 11: Průměrné zastoupení aminokyselin ve vzorcích nástěnné malby Sironiho (převzato z [29] a upraveno)

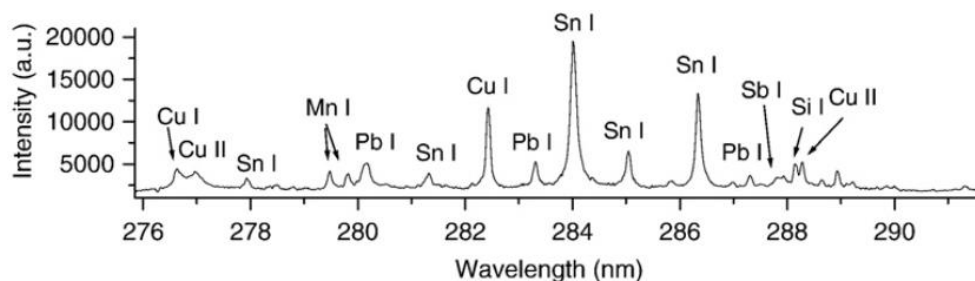


Obrázek č. 12: Průměrné zastoupení aminokyselin ve vzorcích nástěnné malby DeLuigiho (převzato z [29] a upraveno)

Spektrometrie laserem indukovaného plazmatu

Další technikou, která našla své místo při analýze nástěnných maleb, je **spektrometrie laserem indukovaného plazmatu (LIBS Laser-induced Breakdown Spectroscopy)**. Tato technika je vhodná pro speciaci kovů, což může být klíčovým vodítkem při identifikaci anorganického pigmentu. Často se tato technika skvěle doplňuje

s například Rammanovou spektrometrií. LIBS byla použita pro určení elementárního složení (*Obrázek. č. 13*) souboru starověkých bronzových děl (ze 7. století před naším letopočtem) pocházejícího z archeologického naleziště Minervo Murge v jižní Itálii. Výsledky analýzy charakterizují použitý materiál.

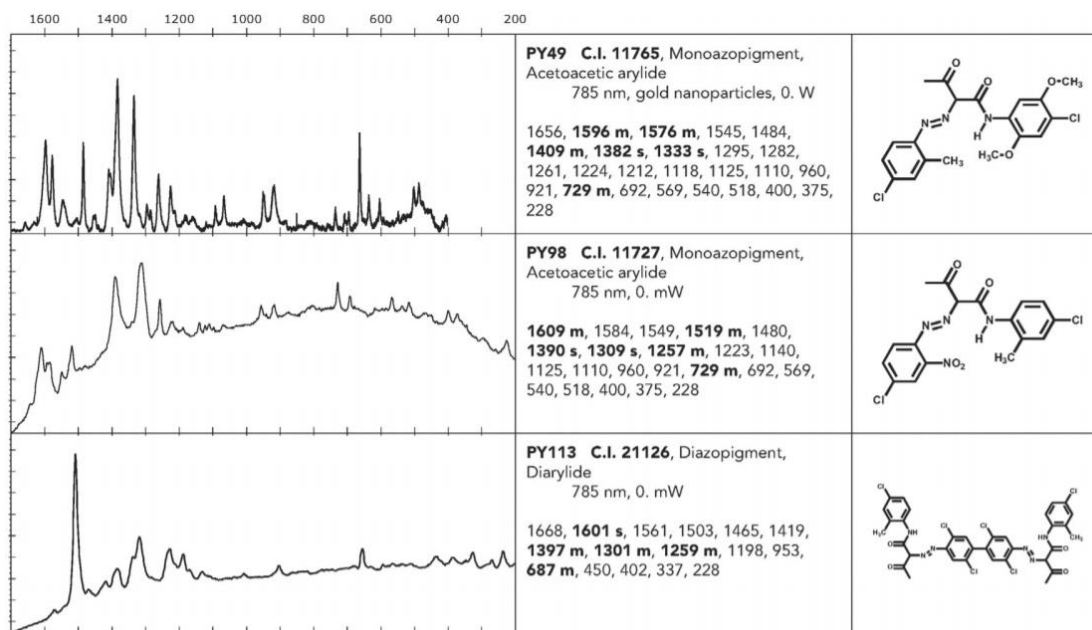


Obrázek č. 13: Spektrum bronzu získané spektrometrií laserem buzeného plazmatu (převzato z [30] upraveno)

Infračervená a Ramanova spektrometrie

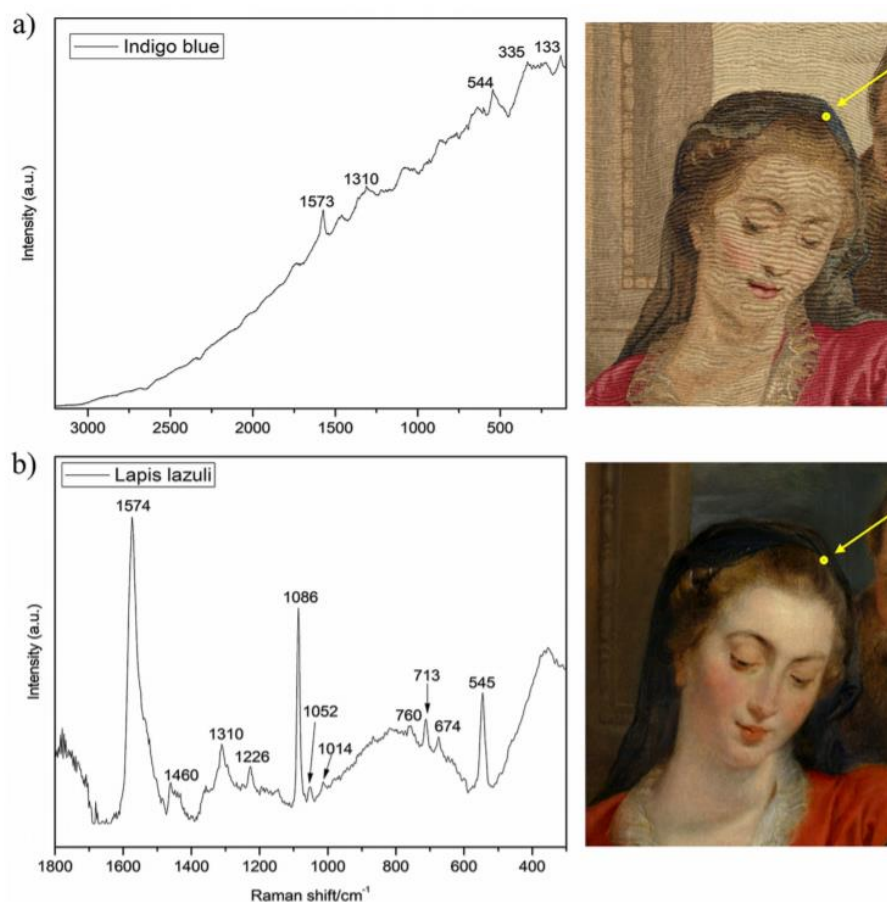
Infračervená a Ramanova spektrometrie s Fourierovou transformací FT-IR a FT-Ramanova spektrometrie (Fourier Transform - Infrared Spectroscopy ; Fourier Transform - Raman Spectroscopy) jsou techniky, které spolu velmi úzce spolupracují a jsou komplementární. Hrají významnou roli při analýze uměleckých děl, a to například při charakterizaci pravých a falešných artefaktů. Jsou také zdrojem informací pro restaurátory, vědecké pracovníky, dále pak přináší informaci o působení klimatických podmínek na degradaci uměleckého díla a v neposlední řadě slouží k identifikaci pigmentů.^[31]

Obrovskou výhodou těchto technik je rychlost analýzy, nedestruktivnost a téměř žádná předúprava vzorku. Lze je použít neinvazivně *in situ*. Jejich zajímavou aplikací byla analýza historických azobarviv, které se v současné době již nepoužívají. Ta vzhledem ke své rozmanité struktuře mohou mít nejružnější zbarvení a také infračervená a Ramanova spektra, která mohou být následně použita pro charakterizaci těchto barviv. Pro ilustraci na *Obrázku. č. 14* byla vybrána tři Ramanova spektra různých historických azobarviv. Důvodem zájmu o tato historická azobarviva byla skutečnost, že nejsou již dlouhou dobu vyráběna a nebyla k dispozici jejich Rammanova spektra. Bylo nutné je znovu syntetizovat a vytvořit knihovnu spekter, která poslouží k jejich identifikaci v reálných vzorcích. Z hlediska historie jejich identifikace přispěje k určení období, ze kterého dílo může či nemůže pocházet, což hraje významnou roli při odhalování falzifikátů.



Obrázek č. 14: Ramanova spektra různých azobarviv (převzato z ^[32] upraveno)

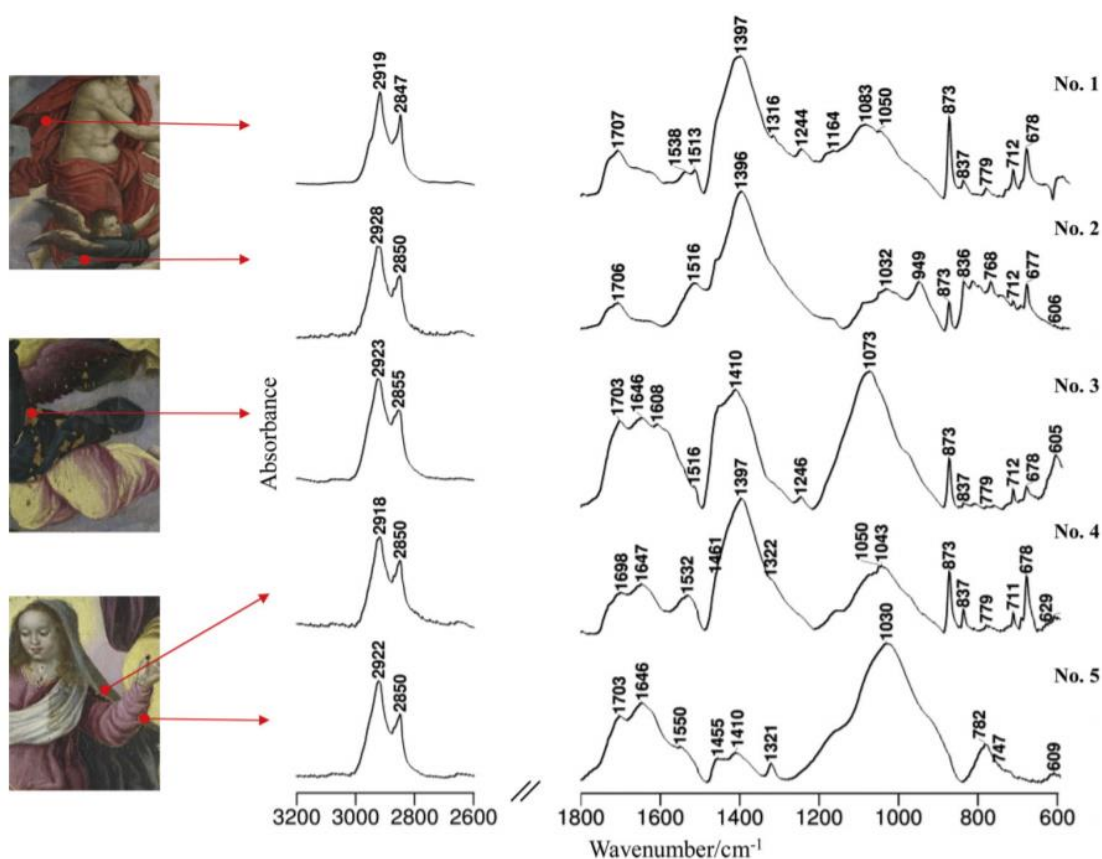
Ramanova spektrometrie byla použita při analýze dvou uměleckých děl, která jsou svým vznikem oddělena 39 lety. Jedno dílo je tapisérie a druhé olejomalba. Tapisérie byla namalována Févèrem mezi lety 1652 a 1654 a obecně se věří, že byla založena právě na olejomalbě z roku 1615, která byla namalována Rubensem. Z analýzy je možno usuzovat, v čem se díla liší nebo jsou stejná.^[33] Na *Obrázku č. 15* je v horní části vidět tapisérii, v dolní části pak olejomalbu. V obou případech byla analýza provedena na stejném místě, ovšem s různým výsledkem. V případě tapisérie bylo zjištěno indigo, v případě olejomalby lapis lazuli.



Obrázek č. 15: Ramanova spektra z vyznačených míst uměleckých děl a) indigo, b) lapis lazuli (převzato z ^{34]} upraveno)

Další technikou z oblasti spektrometrie, která je schopna poskytnout bohaté analytické informace je **infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací v módu zeslabeného totálního odrazu (ATR-FT-IR Attenuated Total Reflection - Fourier Transform - Infrared Spectroscopy)** ve spojení s optickou mikroskopií. Mezi její nesporné výhody se řadí nedestruktivnost, malé množství vzorku nutné k analýze a rovněž žádná předúprava vzorku, což dohromady poskytuje možnost analýzy opakovat bez další invaze do uměleckého díla. Spojení s optickou mikroskopií umožňuje provádět mapování, a to jak povrchové, tak i hloubkové, a zjistit tak distribuci jednotlivých komponent v různých hloubkách uměleckého díla.^[35] Molekulární charakterizace jednotlivých vrstev malby je neocenitelný nástroj pro lepší porozumění malířským technikám, historii restaurování a přisuzování uměleckých děl konkrétním umělcům. ATR přístupy jsou běžně používány ve FT-IR spektrometrii kvůli schopnosti studovat menší oblasti vzorku.^[36-41]

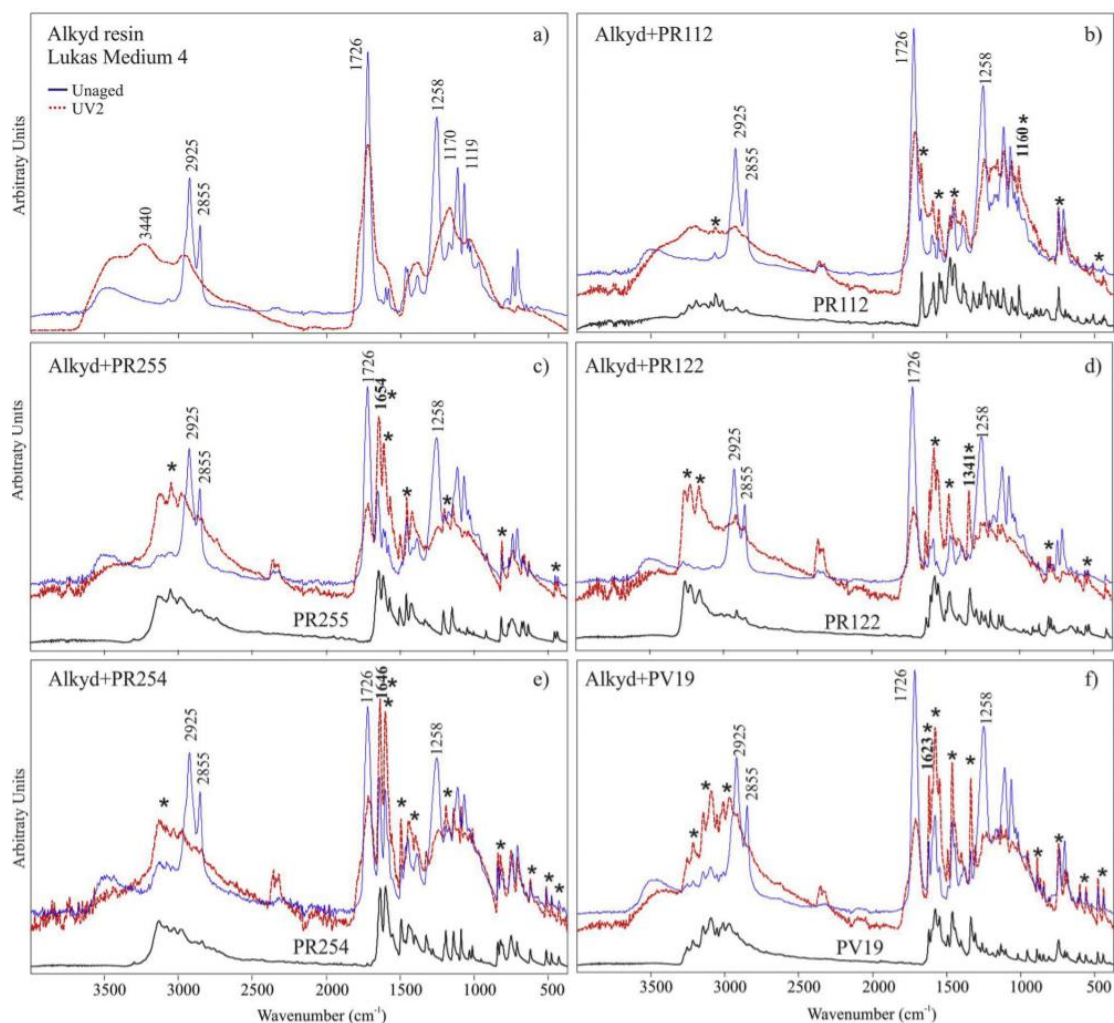
Pomocí této metody byla zjištěna kompozice a distribuce pigmentů a pojiv na díle s názvem „The Coronation and Assumption of the Blessed Virgin Mary“ od neznámého autora. Analýzy potvrdily přítomnost složek pojiv (proteiny, triglyceridy, mastné kyseliny, pryskyřičné kyseliny), degradační produkty včetně whewelitu (monohydrát šťavelanu vápenatého), moolooitu (hydratovaný šťavelan měďnatý) a olověných mýdel. Na *Obrázku č. 16* můžeme vidět charakterizaci práškových vzorků z různých částí uměleckého díla. Pomocí charakteristického složení právě těchto pigmentů bylo možné dílo datovat. Pigmenty v něm použité jsou totiž charakteristické pro přelom 16. století.^[35]



Obrázek č. 16: Práškové vzorky měřené ATR-FT-IR No.1 (olověná běloba, křída, triglyceridy, whewelit), No.2 (azurit, olověná běloba, křída, smalt, mastné kyseliny), No.3 (křída, olověná běloba, pryskyřičné kyseliny, proteiny, mýdlo, silikáty, ultramarin?), No.4 (křída, olověná běloba, proteiny), No.5 (olověná běloba, smalt, mastné kyseliny, proteiny, whewelit/moolooit) (převzato z ^[35])

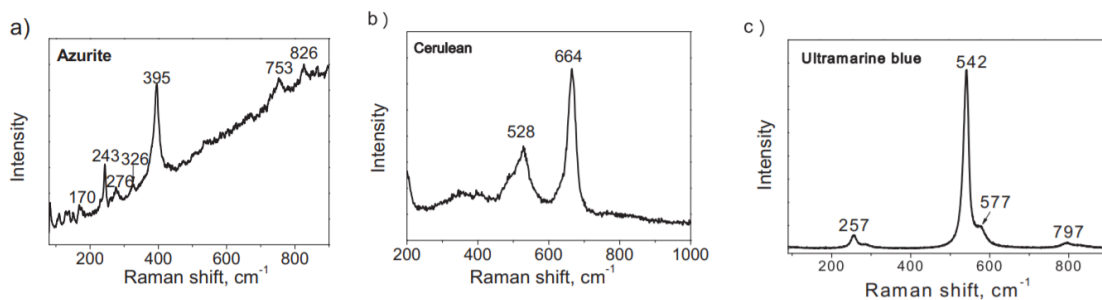
ATR-FT-IR- metodu lze také použít ke zjišťování postupné degradace složek uměleckého materiálu vlivem klimatických podmínek (teplota, způsob osvětlení, vlhkost, apod.). Na *Obrázku č. 17* je zobrazeno několik typů vzorků, u nichž byly pozorovány časové vlivy na červené organické pigmenty v alkydových a akrylových barvách, načež bylo zjištěno, že pigmentů se ad hoc degradace netýká, ovšem

alkydových a akrylových pojiv ano. Degradace těchto pojiv vedla k tvorbě nízkomolekulárních těkavých látek na povrchu.



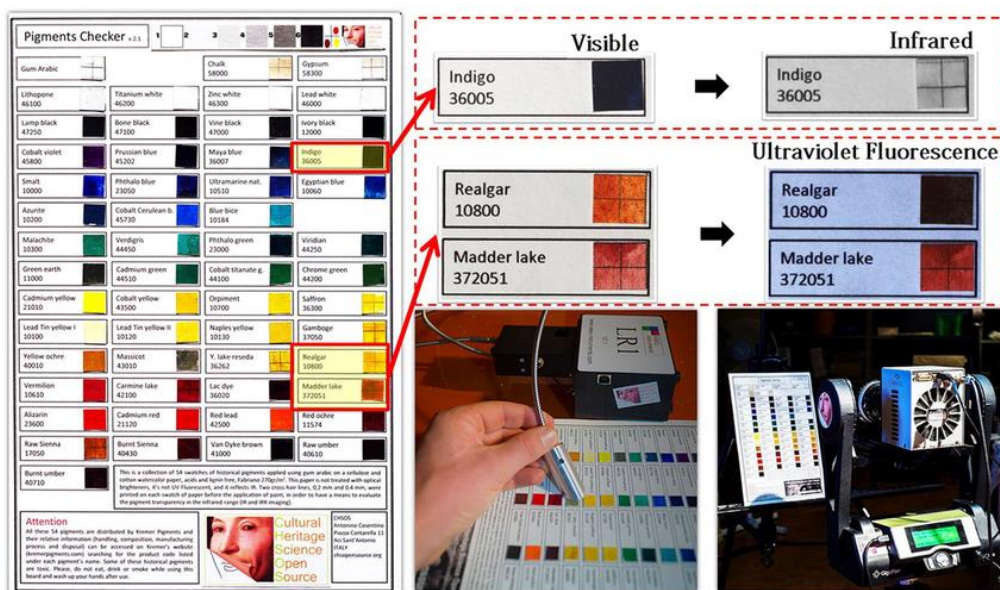
Obrázek č. 17: ATR-FTIR analýza různých barev, modrá křivka – před degradací, červená křivka po degradaci, černá křivka – pigment (převzato z [42])

Spektrometrie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu (SERS Surface-enhanced Raman Scattering) se ukázala jako vhodná pro analýzu anorganických mikrokryalických látek. Bylo provedeno mnoho experimentů, kdy se podařilo identifikovat jednotlivé pigmenty, a to např. cerulean, cinabarit, titaničitan kobaltnatý, malachit, praseodymská žluť, ultramarínová modř, ultramarínová violet, viridian, zinková běloba a řada dalších. Z důvodu zvýšení poměru signálu k šumu je vhodné tyto pigmenty deponovat na zlato či stříbro. Zlato však má tento poměr ve většině případů větší. Technikou mikro-SERS za účasti nanočástic zlata byly odlišeny a identifikovány tři modré pigmenty (Obrázek č. 18).^[43]



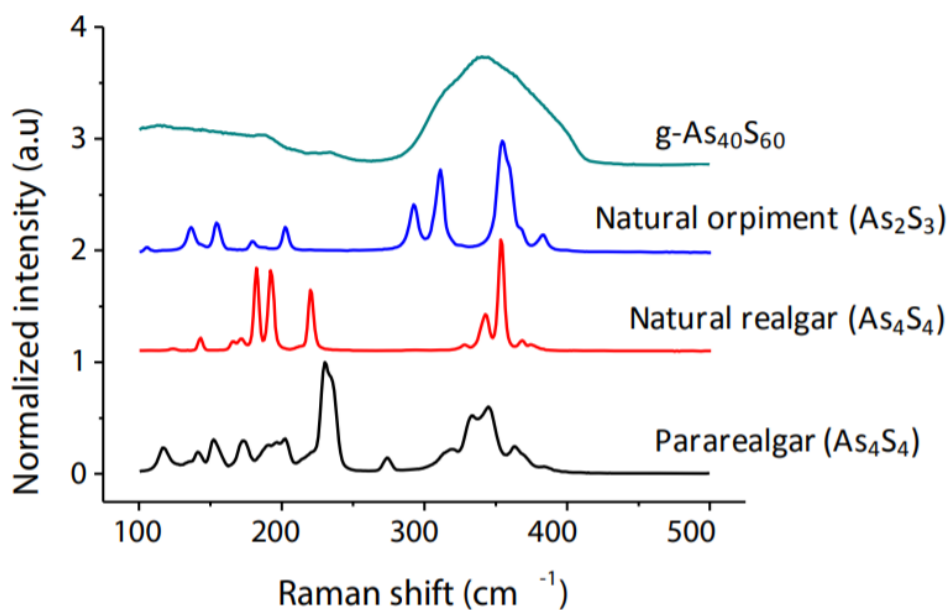
Obrázek č. 18: Mikro-SERS Ramanova spektra a) azurit, b) cerulean, c) ultramarínová modř, excitační vlnová délka 488 nm (převzato z [43], upraveno)

Pomocí Ramanovy spektrometrie lze ověřovat, zda se jedná o konkrétní pigment. K tomu slouží volně přístupná databáze (Obrázek č. 19) s názvem Pigments Checker Free Spectra Database, což je sbírka vzorníků jak historických, tak moderních pigmentů, které jsou k dostání pro malíře. Tento nástroj je vhodný nejen pro vědce, kteří se zabývají analýzou pigmentů pomocí spektrometrických metod, ale rovněž pro fotografy nebo restaurátory obrazů. [44]



Obrázek č. 19: Pigment checker pro identifikaci pigmentů (převzato z [44])

Tak například byla popsána analýza pigmentu sulfidu arsenitého As_2S_3 (v různých formách) ve vzorcích z uměleckého díla, který vykazuje dostatečný Ramanův rozptyl a lze jej studovat pomocí Ramanovy spektrometrie. Identifikovány byly amorfní sulfidy arsenité (g- As_4S_6), přírodní auripigment (As_2S_3), přírodní realgar (As_4S_4) a pararealgar (As_4S_4) (Obrázek č. 20). Tato Ramanova spektra byla poté použita pro charakterizaci forem sulfidu arsenitého v díle „The Holy Family“ a „Festoon of Flowers and Insects“ [45-49]



Obrázek č. 20: Ramanova spektra různých forem sulfidu arsenitého (převzato z ^[50])

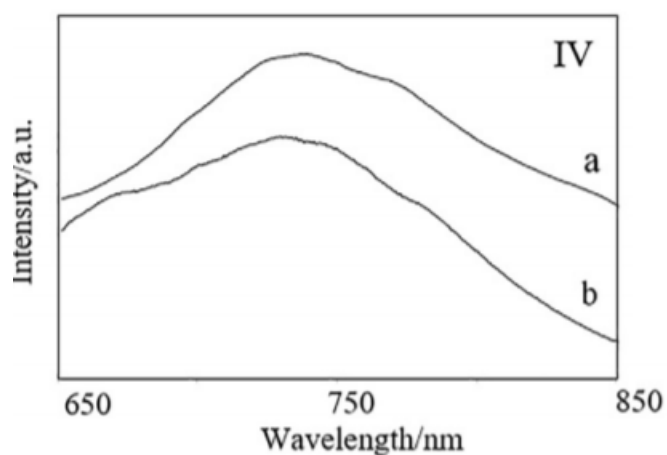
Spektrofluorimetrie

Fluorimetrie je metoda, která také našla uplatnění při analýze uměleckých děl. Podobně jako jiné spektrální metody se vyznačuje nedestruktivností vzorku a možným neinvazivním měřením, což je v případě uměleckých vzorků velmi vhodné.^[51]

Mezi známé syntetické pigmenty, které byly pomocí fluorimetrie identifikovány patří například kadmiová žlutá, kadmiová oranž, ftalocyaninová modř, ultramarínová modř, pruská modř, dioxazinová violeť (Obrázek č. 22) a mnoho dalších. Pro ilustraci byl vybrán syntetický pigment dioxazinová violeť, která byla nejprve analyzována v modelových vzorcích a následně byla její přítomnost potvrzena na uměleckém díle s názvem „Addetta a Zoate“ z roku 2011 od G. Faraone (Obrázek č. 21).^[51,53]



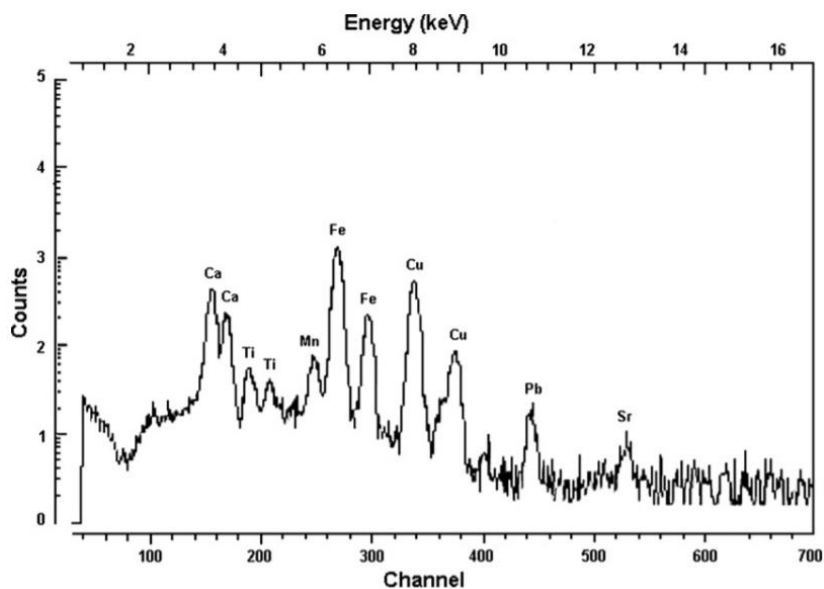
Obrázek č. 21: Analyzovaná místa na uměleckém díle *Addetta a Zoate*. (převzato z ^[51], upraveno)



Obrázek č. 22: Emisní spektra dioxazionvé violeti a) modelový vzorek, b) vzorek z uměleckého díla (bod 7), ($\lambda_{exc} = 562 \text{ nm}$) (převzato z ^[51], upraveno)

K dalším spektrálním metodám, které už nejsou v oblasti uměleckých analýz tak často užívané jako například Ramanova spektrometrie či infračervená spektrometrie, patří částicemi indukovaná rentgenová emise **PIXE** (Particle Induced X-Ray Emission). PIXE byla použita pro prvkovou analýzu a k následnému nalezení prvku, který je zodpovědný pro barevnost zkoumaného pigmentu. Pro další upřesnění analýzy byly v tomto případě využity elektronová paramagnetická rezonance **EPR** (Electron

Paramagnetic Rezonance) a rentgenová difrakce **XRD** (X-Ray Diffraction). Kombinace technik umožnila objasnit složení modrého pigmentu, který byl spojován s objekty nalezenými na území Aztéků. Prvotní analýzou byl potvrzen kalcit. Po purifikaci bylo těmito metodami zjištěno, že za modré zbarvení mohou být zodpovědné dva prvky, a to Fe a Cu, které jsou v PIXE spektru viditelné (*Obrázek č. 23*).^[54]



Obrázek č. 23: PIXE spektrum purifikovaného pigmentu (převzato z^[54])

PIXE také pomohla při analýze oboustranného obrazu od italského malíře Maria Sioriniho, kdy jedna strana je klasická olejomalba namalovaná na plátno a druhá strana olejomalba na dřevě. Pomocí PIXE byly identifikovány pigmentové podobnosti obou stran díla, což později přispělo k rozhodnutí, že malby jsou od téhož autora.^[55]

Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie, konkrétně **atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (GFAAS Graphite Furnance Atomic Absorption Spectrometry)** je metoda vhodná pro stanovení kovů, které jsou součástí mnoha pigmentů. Jedná se sice o destrukční metodu, ovšem tuto nevýhodu vyvažují nízká množství vzorků potřebná k měření.

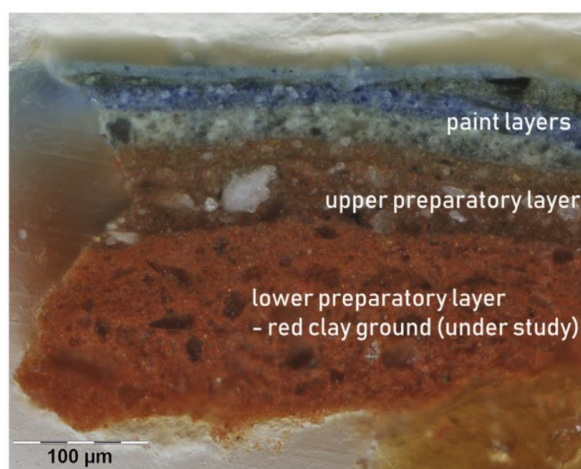
GFAAS sama o sobě k identifikaci pigmentu pochopitelně nestačí, proto je nutné užít jako potvrzující metodu Ramanovu spektrometrii nebo infračervenou spektrometrii, kdy obě mohou čerpat z nejrůznějších knihoven a databází pigmentů. GFAAS v tomto případě slouží spíše ke zúžení oblasti možných pigmentů. Jako příklad lze uvést analýza

obrazu „Redwoods“, kdy GFAAS určila přítomnost těchto kovů - Zn, Cr, Cu. Ramanova spektrometrie pak na základě těchto skutečností snáze a rychleji potvrdila přítomnost pigmentů: čínská bílá ZnO, chromitá zeleň Cr₂O₃ a ftalocyaninová zeleň CuC₃₂Cl₁₆N₈.^[56]

Laserová ablace s indukčně vázaným plazmatem ve spojení s hmotnostním spektrometrem

Laserová ablace s indukčně vázaným plazmatem ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LA-ICP-MS Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) je analytickou metodou, mezi jejíž nesporné výhody při analýze uměleckých děl řadíme schopnost analyzovat stopová množství prvků ve vzorku. Stejně jako AAS je LA-ICP-MS vhodná analýzu anorganických pigmentů (olověná běloba, chromová žlut, ultramarín, malachit, kadmiová žlut, křída, aj.), ale stejně jako v případě AAS je nutné užít další metodu k přesné identifikaci pigmentů, např. Ramanovu spektrometrii.^[57]

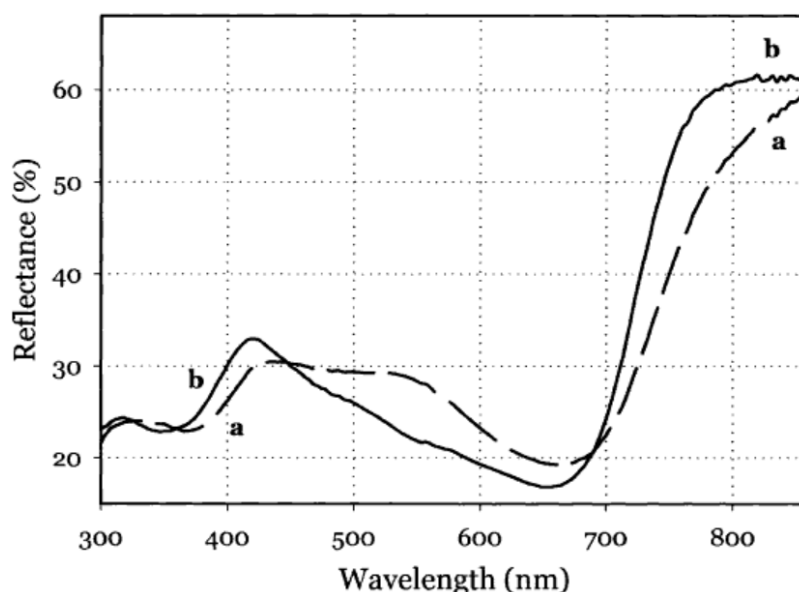
LA-ICP-MS byla využita při odhalení původu červeného pigmentu na bázi jílu v barevném souvrství (*Obrázek č. 24*). Jíly pocházející ze tří lokalit v Evropě (Hořensko – Česká republika, Sardinie a Troschenreuth – Bavorsko) byly zkoumány z důvodu jejich významnosti v malířství v 18. století. Studován byl obraz s názvem *Portrait of a horse Amy* od autora J. G. De Hamilton. Pomocí LA-ICP-MS na základě prvkového složení bylo úspěšně potvrzeno, že červený jíl na uměleckém díle pochází z oblasti Troschenreuth v Bavorsku. Jíl je dokonce i v současnosti stále komerčně dostupný.^[58]



Obrázek č. 24: Průřez mikrovzorkem s analyzovanou vrstvou jílu (převzato a upraveno z ^[58])

UV/VIS spektrometrie

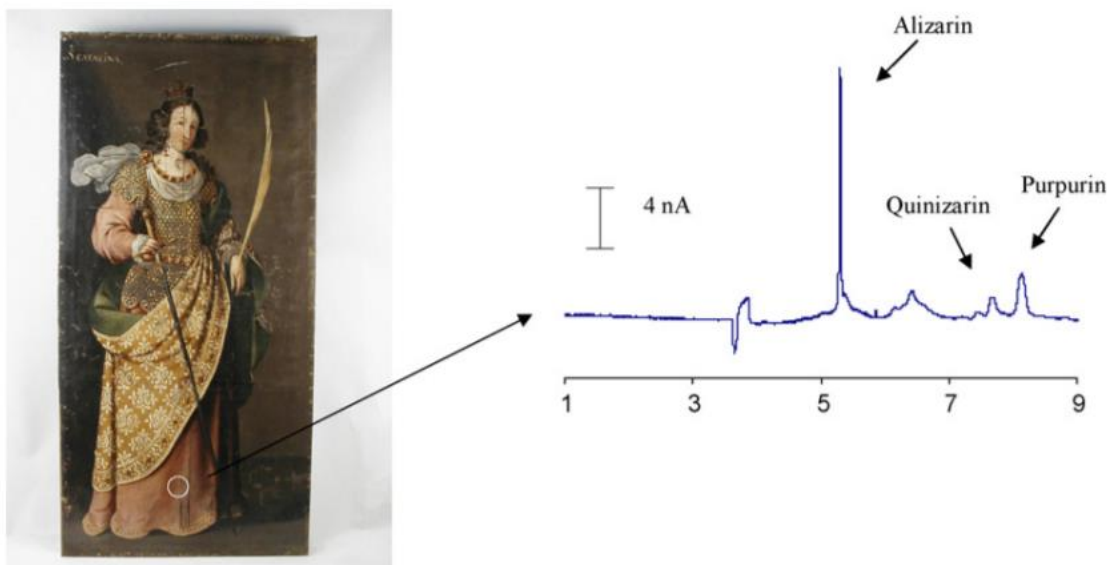
Ke studiu uměleckých děl lze použít i **spektrometrii v ultrafialové a viditelné oblasti (UV/VIS Ultraviolet/Visible Spectrometry)**. Našla své využití při identifikaci předkolumbijského pigmentu zvaného Mayská modř pocházejícího z nástěnné malby v Mexico City. Na *Obrázku č. 25* můžeme vidět spektrum Mayské modři a indiga, která byla součástí nástěnné malby a bylo potřeba je mezi sebou rozlišit. Využití UV/VIS spektrometrie však není tak časté jako například Ramanova spektrometrie či IR spektrometrie, a to z důvodu omezené informace, kterou je schopna podat.^[59]



Obrázek č. 25: UV/VIS reflektanční spektrum a) Mayská modř, b) indigo (převzato z ^[59])

Micelární elektrokinetická chromatografie

Micelární elektrokinetická chromatografie (**MEKC** Micelar Electrokinetic Chromatography) je elektroforetická metoda, která byla užita při separaci a následné identifikaci organických barviv na základě jejich migračních časů. Byly separovány a identifikovány: alizarin, purpurin, quinizarin, kyselina karmínová, brazilin a další. Všechny pocházely z bezejmenné olejomalby ze 17. století od neznámého autora. Na *Obrázku č. 26* lze vidět separaci organických barviv, která byla pomocí MEKC dokonce rychlejší než při srovnávané HPLC separaci, a to o 20 minut. Metoda sice není neinvazivní, ovšem spotřeba vzorku pro analýzu se pohybuje v řádu nanogramů.



Obrázek č. 26: MEKC separace alizarinu, quinizarinu a purpurinu ve vzorku odebraného z vyznačeného místa olejomalby (převzato z^[60])

2.3.4 Elektrochemické metody

Cyklická voltametrie s elektrochemickými imunosenzory

Elektrochemické imunosenzory v analýze uměleckých děl našly uplatnění při zjišťování přítomnosti ovalbuminu. Ovalbumin je protein, který se nachází ve vaječném bílku používaném v malířství. Na základě této elektrochemické metody bylo možno rozhodnout o přítomnosti či nepřítomnosti ovalbuminu v reálných vzorcích a zjistit tak užitečné informace o malířských technikách dané doby.^[61]

2.4 Hmotnostní spektrometrie - ambientní ionizační techniky

2.4.1 Představení ambientních ionizačních technik

Mezi hlavní charakteristiky ambientních ionizačních technik patří přímá ionizace vzorku za laboratorních podmínek, tzn. tlaku a teploty, kdy je vzorek často dostupný pro přímou manipulaci s ním. Výhodou těchto ionizačních technik je žádná nebo jen minimální předúprava vzorku, z čehož pramení rychlost analýz.^[62]

Mezi další výhody řadíme selektivitu, citlivost, možnost ionizace široké škály látek z různých povrchů a matic a také jednoduchost a poměrně nízké náklady. Tyto

parametry však záleží nejen na použité ionizační technice, ale významně i na charakteru analyzovaného materiálu. [63]

Ambientních ionizačních technik existuje celá řada (v současné době přes 80) a neustále se vyvíjejí nové. Výčet některých ukazuje *Tabulka č. 1*. Většina z nich pracuje na principu desorpce a následné ionizace, k čemuž dochází v plynné fázi. [62]

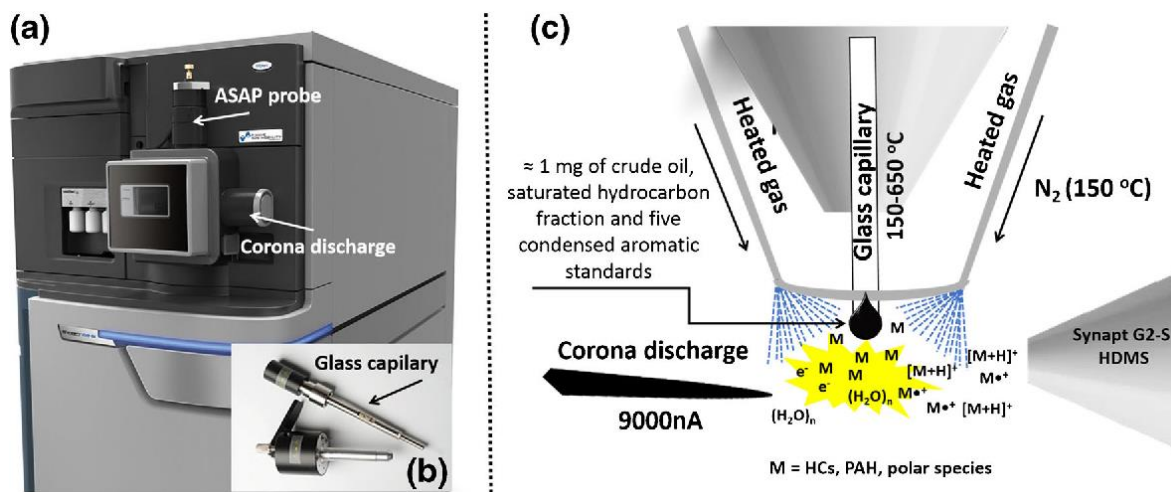
| Zkratka | Název | Rok první zmínky |
|----------|--|------------------|
| DESI | Desorption electrospray ionization | 2004 |
| DAPPI | Desorption atmospheric-pressure photoionization | 2007 |
| DART | Direct analysis in real-time | 2005 |
| ASAP | Atmospheric solid analysis probe | 2005 |
| DAPCI | Desorption atmospheric-pressure chemical ionization | 2005 |
| MALDESI | Matrix-assisted laser desorption electrospray ionization | 2006 |
| nanoDESI | Nanospray desorption electrospray ionization | 2010 |
| LDI | Laser desorption ionization | 2011 |

Tabulka č. 3: Výčet některých ambientních ionizačních technik (převzato z [64], upraveno)

V této práci se budeme věnovat třemi ambientními ionizačními technikami, a to ASAP, DESI a nanoDESI [71], které jsou dostupné na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Poslední zmíněnou nezaměňovat s nanoDESI z roku 2010 v *Tabulce č. 3*, obě nesou stejné zkratky.

Sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku (ASAP Atmospheric solids analysis probe) je ionizační technika představena profesorem McEwenem a kolektivem v roce 2005 [65] a v roce 2006 začala být užívána jako iontový zdroj pro rychlou analýzu hmotnostní spektrometrií. [66] Jedná se o užitečnou techniku, která je efektivním nástrojem pro rychlou a přímou analýzu těkavých a polotěkavých, pevných i kapalných, vzorků užívající ionizace za atmosférického tlaku. Technika ASAP používá přehřátý dusík k odpaření vzorku a koronový výboj k ionizaci vzorku (*Obrázek č. 27*). Výhodou této metody je možná analýza komplexních směsí bez potřeby úpravy vzorku nebo

chromatografické separace, pokud ovšem je dostatečná selektivita samotné hmotnostní spektrometrie.^[67]

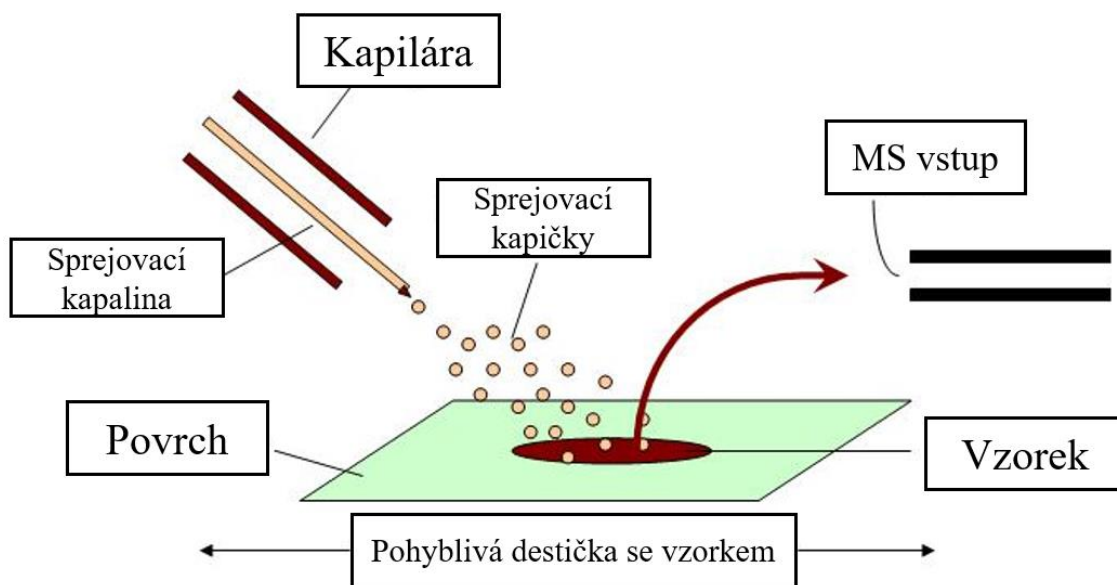


Obrázek č. 27: a) pohled na hmotnostní spektrometr Synapt G2-S s ASAP sondou; b) ASAP sonda; c) průběh ionizace u metody ASAP (převzato z cit.^[68])

Využití ionizační techniky ASAP v hmotnostní spektrometrii je poměrně širokospektré, může být užita např. při přímé analýze léčiv, tkání, polymerů, ropy a ropných destilátů, nukleosidů, atd.^[69,70]

Desorpční elektrosprej (DESI Desorption Electrospray Ionization) byl uveden v roce 2004 R.G Cooksem a spolupracovníky a v současné době je to jedna z nejpoužívanějších ambientních technik. Využití desorpčního elektrospreje nacházíme například ve forenzní chemii při analýze výbušnin (TNT, oktogen, hexogen), metabolomice, nejrůznějších toxických látek či bojových chemických látek.^[71]

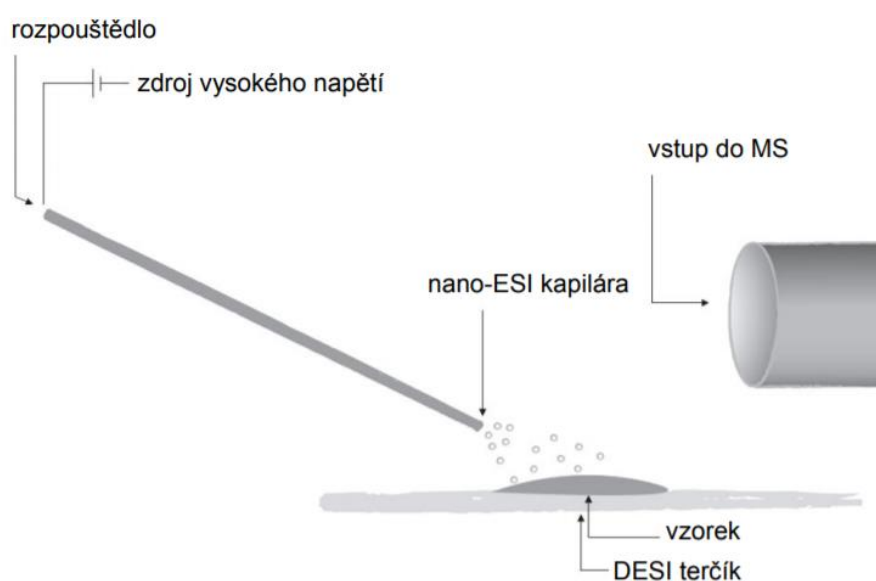
Princip desorpčního elektrospreje je vidět na *Obrázku č. 28*, kdy pomocí vysokého napětí dochází k rozprašování sprejovací kapaliny na povrch s analyzovaným vzorkem. Po dopadu nabitých kapiček z kapiláry dochází k desorpci a vzniku iontů, které postupují dále do analyzátoru hmotnostního spektrometru.^[71]



Obrázek č. 28: Schéma ambientní ionizační techniky DESI (převzato z [72])

Desorpční nanoelektrosprej (nanoDESI) Desorption nanoElectrospray Ionization) je ambientní ionizační technika, která byla vyvinuta na Katedře analytické chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci a popsána v roce 2007. Z hlediska konstrukce vychází z nanoelektrospreje a jedná se o zmenšenou modifikaci desorpčního elektrospreje. Výhodou snížení průtoku sprejovací kapaliny oproti DESI je snížení rozmytí analytu. Obrázek č. 29 popisuje princip nanoDESI.

Mezi aplikace nanoDESI patří například analýza anthokyaninů v červeném víně^[71] a screening chirálních léčivých látek (efedrin)^[73].

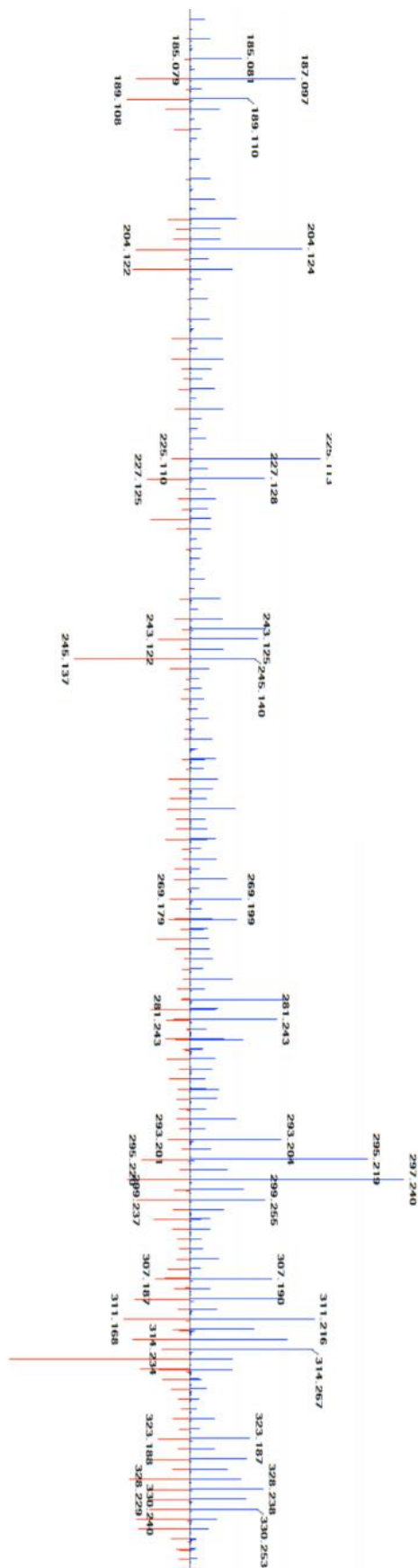


Obrázek č. 29: Schéma ambientní ionizační techniky nanoDESI (převzato z [71])

2.4.2 Ambientní ionizační techniky při analýze uměleckých děl

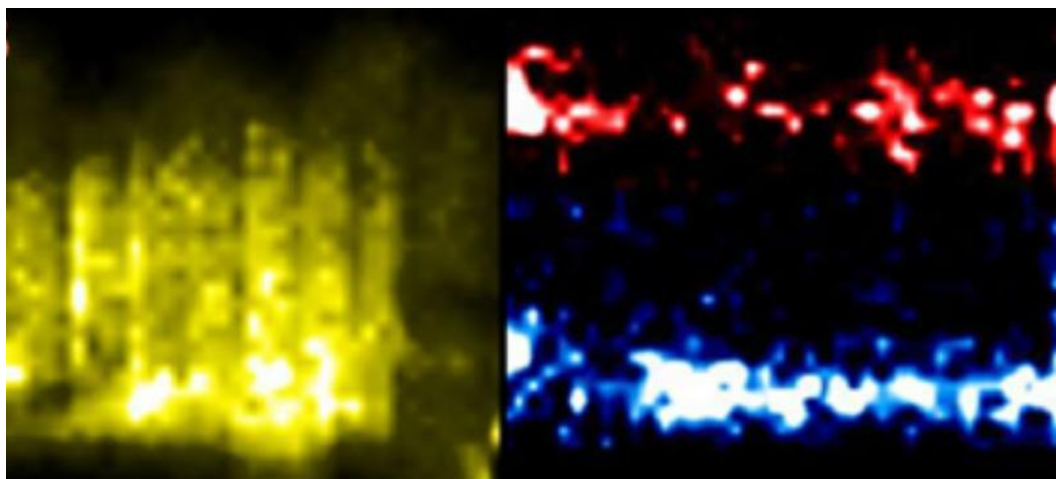
Použití ambientních ionizačních technik při analýze uměleckých děl s sebou přináší zajímavé možnosti, jako je přímá desorpce látek ze vzorku bez jeho převádění do roztoku nebo hmotnostně spektrometrické zobrazování. Doposud však není příliš časté, a také proto jsou jejich aplikace v analýze uměleckých děl předmětem našeho výzkumu. Mezi ambientní ionizační techniky, které se dosud použily při analýze uměleckých děl patří DART, DESI a ne přímo ambientní, ale přímá ionizace technikou nanoESI.

Přímá analýza v reálném čase (DART Direct Analysis in Real-Time) našla uplatnění při zkoumání postupných změn pojiva s časem. Konkrétně se jednalo o lněný olej, který se používá buď sám, nebo v kombinaci s jinými pojivy. Olej byl smíchán s kobaltovou modří a tato barva po časových intervalech analyzována (*Obrázek č. 30*). Analýzou oleje byl prokázán jeho charakteristický profil degradace, a to i v kombinaci s kobaltovou modří. Výsledky analýzy mohou být použity například pro potvrzení či vyvrácení přítomnosti daného oleje ve vzorku uměleckého díla. DART umožňuje rovněž identifikovat barviva, pigmenty a pryskyřičné laky.^[74]



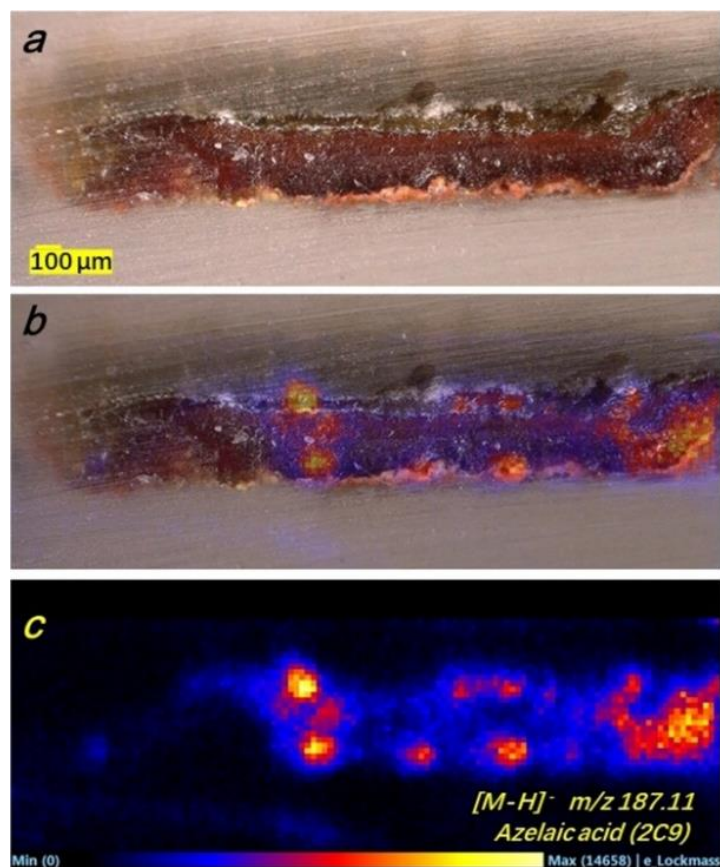
Obrázek č. 30: Spektrum nahoře lněný olej, 254 hodin starý; spektrum dole komerční lněný olej s kobaltovou modří 281 hodin starý (převzato z [74], upraveno)

Desorpční elektrosprej byl použit ke studiu a zobrazení příčných průřezů jednotlivých vrstev ze vzorků barokní malby ze 17. století. Pomocí DESI bylo prováděno rastrování kolmo k vrstvám. Z těchto rastrovacích skenů byly následně pomocí isobarických hmotnostních map získány informace o jednotlivých vrstvách v řezu. Žlutá barva na *Obrázku č. 31* patří surfaktantu oktylfenyl ethoxylátu, který byl potvrzen na základě hodnoty m/z 621 a je ve formě $[M + Na]^+$. Červená a modrá barva patří kyselině olejové o m/z 281 ve formě $[M-H]^-$, která je přítomná v obou těchto vrstvách, avšak s různým pigmentem. Metoda dokázala rozlišit mezi lipidovými pojivy a akrylových medií. Rovněž ukázala schopnost monitorovat a identifikovat pojiva v průřezu, v jednotlivých vrstvách.^[75]



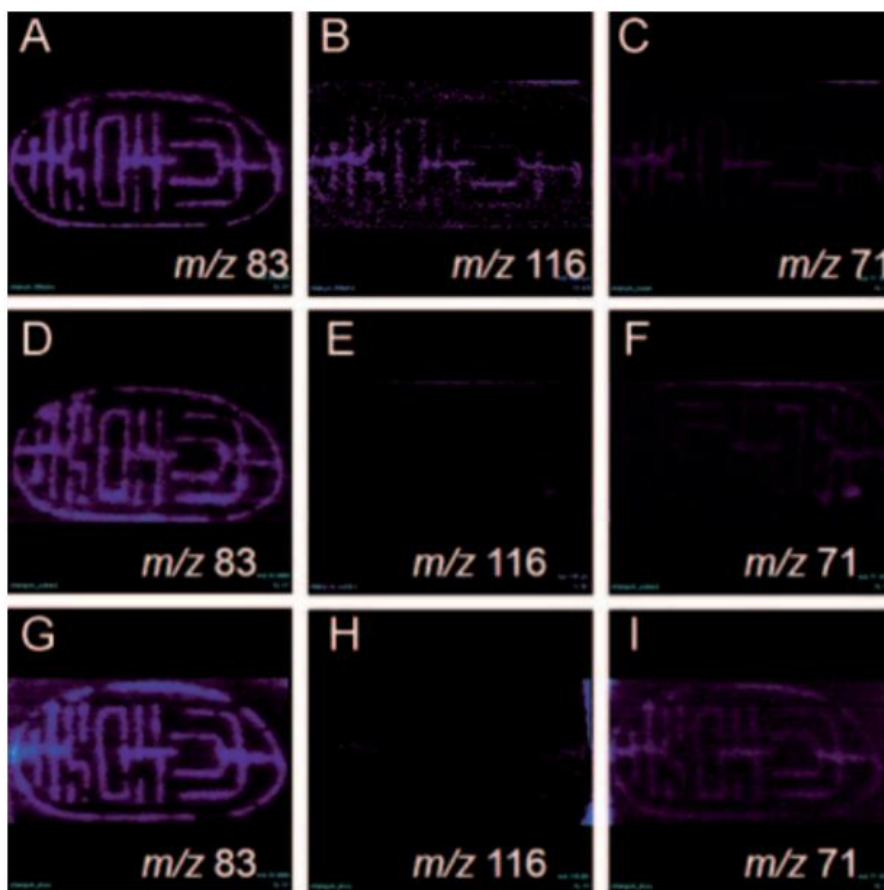
Obrázek č. 31: DESI-MS zobrazování, žlutá – ion surfaktantu, červená a modrá – kyselina olejová ve dvou vrstvách (převzato z ^[75], upraveno)

Pomocí DESI-MS a MS zobrazování (hmotnostně spektrometrické zobrazování) byla analyzována jeskynní malba, kde byla zjištěna přítomnost (mimo dalších) i dikarboxylové kyseliny azelaové (*Obrázek č. 32*), což je degradační produkt olejů, které se mnohdy používají jako pojiva.^[76]



Obrázek č. 32: Zobrazení distribuce kyseliny azelaové – a) jen řez vzorkem, b) s využitím pozadí vzorku, c) bez pozadí vzorku (převzato z ^[76], upraveno)

Mezi další zobrazovací metody řadíme také **zobrazovací hmotnostní spektrometrii s užitím nízkoteplotního plazmatu (IMS-LTP Imaging Mass Spectrometry – Low-Temperature Plasma)**. Mezi její hlavní výhody patří, že neporušuje a nekontaminuje vzorek při ionizaci, protože při ionizaci se neuvádí žádný solvent či matrice, ale mikroplazma o nízké teplotě. Metoda byla použita při odhalování padělků (napodobenin) kaligrafických vzorů. Na *Obrázku č. 33* je pozorován ion m/z 116, který dokládá pravost. V napodobeninách tento ion není pozorován.



Obrázek č. 33: Zobrazování s užitím LTP. A-C pravá kaligrafie, D-F napodobenina č.1, G-I napodobenina č. 2 (převzato a upraveno z [77])

PSI - MS (Paper Spray Ionization-Mass Spectrometry)

Ionizace papírovým sprejem (PSI – MS Paper Spray Ionization-Mass Spectrometry) je ionizační technika, která je podobná elektrospreji. PSI-MS byla použita při analýze stárnutí papíru. Jedním z projevů stárnutí papíru je jeho žloutnutí, za což jsou zodpovědné tzv. chromofory. Jedním z klíčových chromoforů je 2,5-dihydroxyacetofenon, který se touto technikou (po jeho derivatizaci) podařilo detegovat. Tvorba těchto chromoforů je zapříčiněna faktory jako jsou například teplota, vlhkost, dále záření, přítomnost oxidačních činidel, ale i přítomnost iontů železa (součást některých inkoustů).^[78]

nanoESI (Nano-Electrospray Ionization)

Nanoelektrosprej byl použit po předchozí extrakci vzorku vodou k analýze koncových skupin aditiva polyethylenglykolu, které je součástí různých malířských barev. Na základě složení polyethylenglykolu ve vodném extraktu barev pak můžeme v některých případech usuzovat na značku barvy, kterou malíř použil.^[79]

Výše uvedený přehled analytických technik využívaných v materiálové analýze uměleckých děl dokládá jejich význam pro studium a ochranu těchto děl. Současně ukazuje, že dosavadní využití ambientních ionizačních technik je dosti omezené, byť některé z nich nabízejí možnost zobrazování distribuce složek malby v jednotlivých vrstvách či částech díla. Cílem předložené diplomové práce tak bylo studovat využití desorpčního elektrospreje ve spojení s hmotnostním spektrometrem s vysokou rozlišovací schopností v analýze pojiv (oleje, vaječný žloutek) využívaných v uměleckých malbách. Testována byla možnost detegovat lipidy, fosfolipidy, zjistit přítomnost volných mastných kyselin, především azelaové kyseliny jako produktu degradace olejů.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie a vzorky

V experimentech byly použity tyto chemikálie: methanol pro HPLC (Honeywell, Hannover, Německo), ultračistá voda pro UHPLC/MS (Biosolve Chimie, Dieuze, Francie), octan amonný p.a. (Sigma Aldrich, Praha, Česká republika), trichlormethan (Lachner, Neratovice, Česká republika), kyselina mravenčí, p.a. (Honeywell, Hannover, Německo), kyselina azelaová p.a. (Sigma Aldrich, Praha, Česká republika), kyselina palmitová p.a. (Lachema, Brno, Česká republika), kyselina stearová p.a. (Lachema, Brno, Česká republika), lněný olej (lisovaný za studena), ořechový olej (zahuštěný na slunci) (obojí, Rublev Colours, Willits, Kalifornie, USA), bílé hašené vápno Čerták (Vápenka Čertovy schody, Česká republika), boloňská křída (Krustashop, Litultovice, Česká republika), červený pigment (Fe_2O_3) Bolo Armeno (Zecchi, Firenze FI, Itálie), žlutý pigment (PbO) Massicot (Kremer Pigmente, Aichstetten, Německo).

3.2 Přístrojové vybavení a nastavení parametrů experimentu

K analýze olejových poživ (lněný - LN a ořechový olej - OŘ) a vaječného žloutku přímo z povrchu vzorku byl použit *tandemový hmotnostní spektrometr s cyklickou iontovou mobilitou (Select Series Cyclic IMS Q-TOF)* s iontovým zdrojem DESI (vše Waters, Manchester, Velká Británie). *Tabulka č. 4* shrnuje nastavení parametrů iontového zdroje.

| Parametr | Hodnota v kladném módu | Hodnota v záporném módu |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Sprejovací napětí | 0,5 kV | 0,5 kV |
| Napětí kónusu | 20 V | 20 V |
| Teplota | 150 °C | 150 °C |
| Tlak zmlžujícího plynu | 1,72 bar | 1,72 bar |
| Průtok sprejovací kapaliny | 3,4 $\mu\text{l}/\text{min}$ | 3,4 $\mu\text{l}/\text{min}$ |

Tabulka č. 4: Nastavení parametrů iontového zdroje DESI

Parametr RF transfer byl pro kladný mód nastaven na hodnotu 800 V a pro záporný mód na hodnotu 300 V. Sprejovací úhel byl 80 ° a vzdálenost vstupní kapiláry od povrchu vzorku byla ~ 0,25 mm, ovšem z důvodů nerovností na povrchu zde mohou být odchylky.

Ovládání hmotnostního spektrometru bylo zajištěno softwarem MassLynx 4.2, hmotnostně spektrometrické zobrazování vzorků pomocí softwaru HDI 1.5 (vše Waters, Manchester, Velká Británie). Hmotnostní spektra byla sbírána po dobu jedné minuty, a to z různých míst jedné vrstvy stejného složení. V případě hmotnostně spektrometrického zobrazování byla doba různá v závislosti na ploše a kvalitě rozlišení. Každý vzorek byl měřen jak v kladném módu (pro získání informací o triglyceridech a fosfolipidech), tak v záporném módu (pro získání informací o přítomnosti mastných kyselin a fosfolipidů). Všechna níže uvedená hmotnostní spektra byla získána technikou DESI-MS.

3.2.1 Pracovní postupy

Analýza modelových vzorků, které svým materiálovým složením imitovaly umělecké dílo, byla provedena dle následujících postupů:

A) V první fázi experimentu byly připraveny modelové vzorky. Nejprve byla připravena samotná omítka, a to smícháním bílého hašeného vápna s boloňskou křídou v poměru 1:1 s množstvím vody pro optimální tekutost. Tato hmota byla nalita do připravené formy, která byla 19 cm dlouhá, 1 cm široká a 3 mm hluboká (*Obrázek č. 34a*). Pomocí špachtle byly vytvořeny zářezy k vymezení plochy omítky o rozměrech 1 x 1 cm pro jednotlivé vzorky (*Obrázek č. 34b*). Takto připravená omítka se nechala 7 dní zaschnout. Poté byly připraveny nátěrové hmoty, a to tak, že se smíchal pigment (žlutý nebo červený) s malým množstvím vody a tato hmota se smíchala jednotlivě s vybranými oleji nebo vaječným žloutkem. Následně se namalovala jedna vrstva, která se nechala nejméně 7 dní schnout (*Obrázek č. 34c*). Tato vrstva pak byla zčásti přetřena druhou vrstvou nátěru. Druhá vrstva se rovněž nechala nejméně 7 dní schnout (*Obrázek č. 34d*). V případě vzorků č. 13, 14, 15 a 16 byla předem do obou olejů přidána kyselina azelaová, palmitová a stearová, a to v množství 10 mg každé kyseliny na 1 g oleje. Přehled složení jednotlivých modelových vzorků použitých pro analýzu popisuje *Tabulka č. 5*.

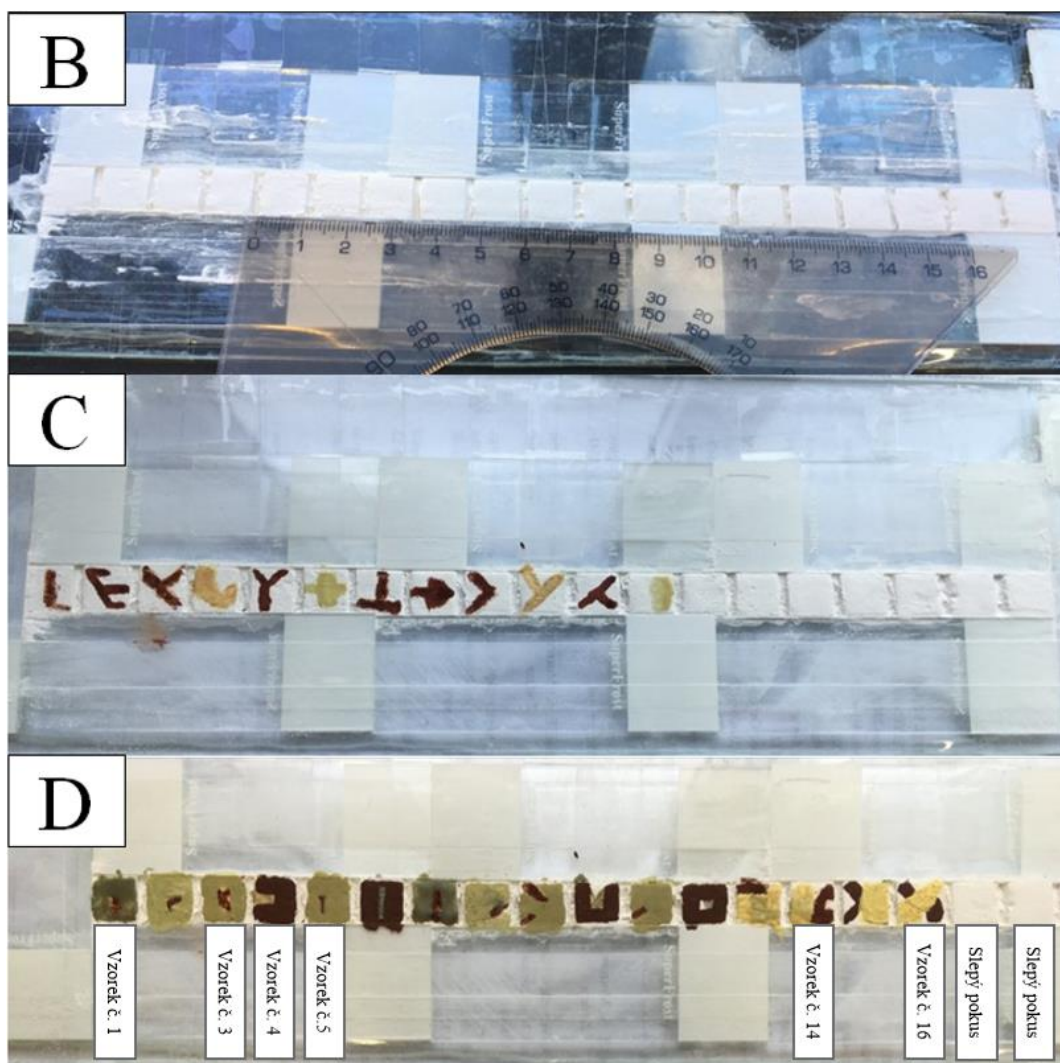
| Vzorek | První vrstva (pojivo + pigment) | Druhá vrstva (pojivo + pigment) |
|--------|-----------------------------------|--|
| 1 | Červený pigment + LN | Žlutý pigment* + OŘ |
| 3 | Červený pigment + LN | Žlutý pigment + vaječný žloutek |
| 4 | Žlutý pigment + LN | Červený pigment + vaječný žloutek |
| 5 | Červený pigment + OŘ | Žlutý pigment + vaječný žloutek |
| 14 | Červený pigment + LN | Žlutý pigment* + OŘ (přidání kyseliny palmitové, stearové, azelaové) |
| 16 | Červený pigment + vaječný žloutek | Žlutý pigment + LN (přidání kyseliny palmitové, stearové, azelaové) |

Tabulka č. 5: Složení jednotlivých vzorků analyzovaných pomocí DESI-MS

* po čase došlo ke změně barvy ze žluté na zelenou

LN – lněný olej, OŘ – ořechový olej

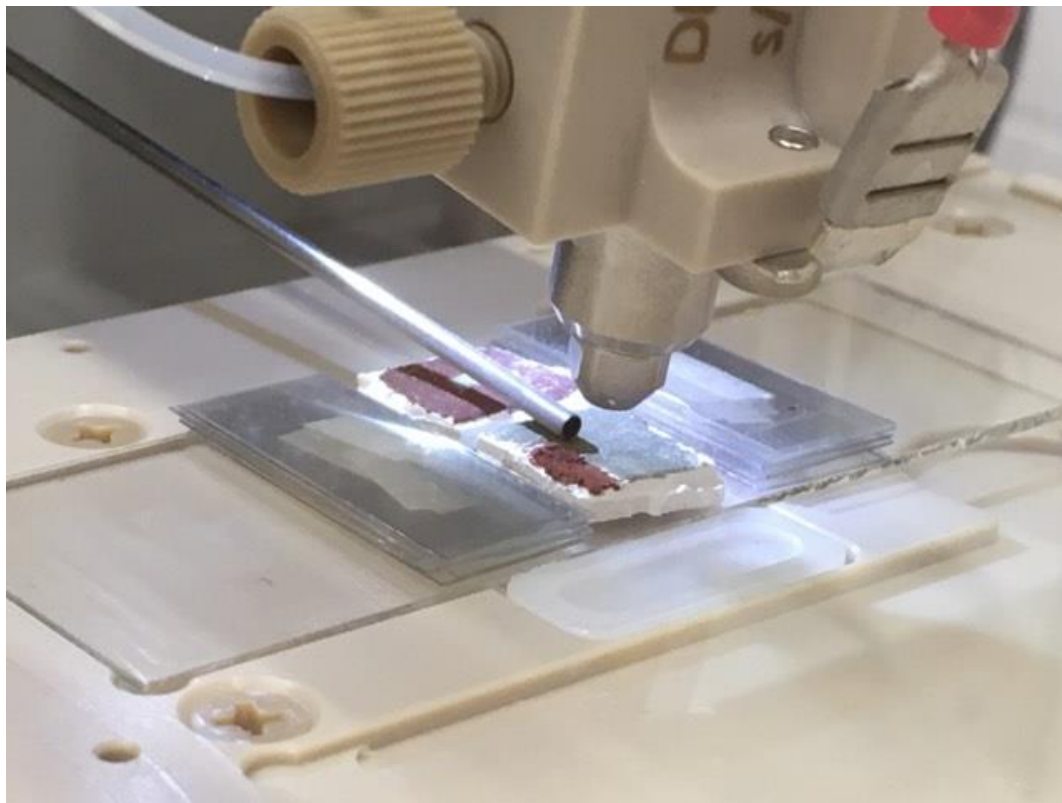




Obrázek č. 34: A) příprava omítky, B) vymezení omítky pro jednotlivé vzorky, C) první vrstva malby, D) druhá vrstva malby

- B) Po přípravě modelových vzorků bylo nutné hledat pro ně vhodnou sprejovací kapalinu. Testovány byly: methanol, methanol a voda (1:1), methanol a voda (1:1) s 0,01 % octanu amonného, methanol a trichlormethan (3:1) s 5 mmol/l octanu amonného, methanol a voda (98:2), methanol s 0,01 % kyseliny mravenčí, methanol a voda (98:2) s 0,01 % kyseliny mravenčí, methanol a voda (1:1) s 0,01 % kyseliny mravenčí. Po testování všech sprejovacích kapalin v kladném i záporném módu byl použit vzorek č. 1. Následně po zhodnocení všech výsledků byla vybrána jedna sprejovací kapalina.
- C) Ve třetí fázi experimentu byla vybraná sprejovací kapalina (methanol a voda (98:2)) použita pro bodovou analýzu ostatních modelových vzorků s různými kombinacemi pojiv a pigmentů v různých vrstvách (Obrázek č. 35). V této fázi bylo rovněž

provedeno zobrazování vybraných vzorků a také potvrzení přítomnosti kyseliny azelaové pomocí fragmentace.



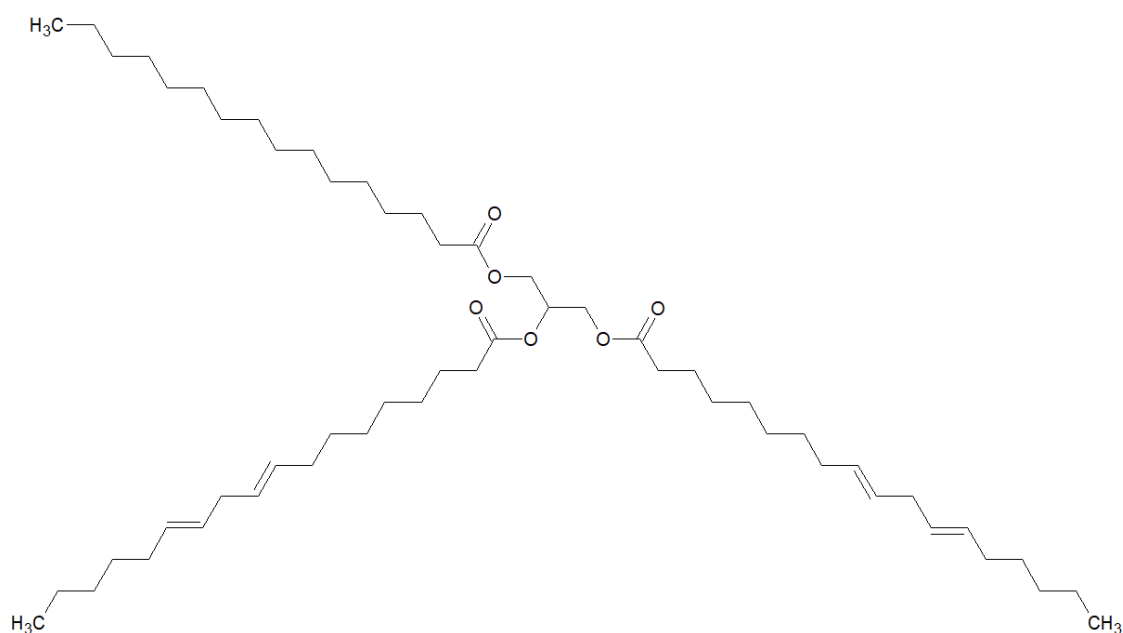
Obrázek č. 35: Měření modelového vzorku pomocí DESI-MS

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

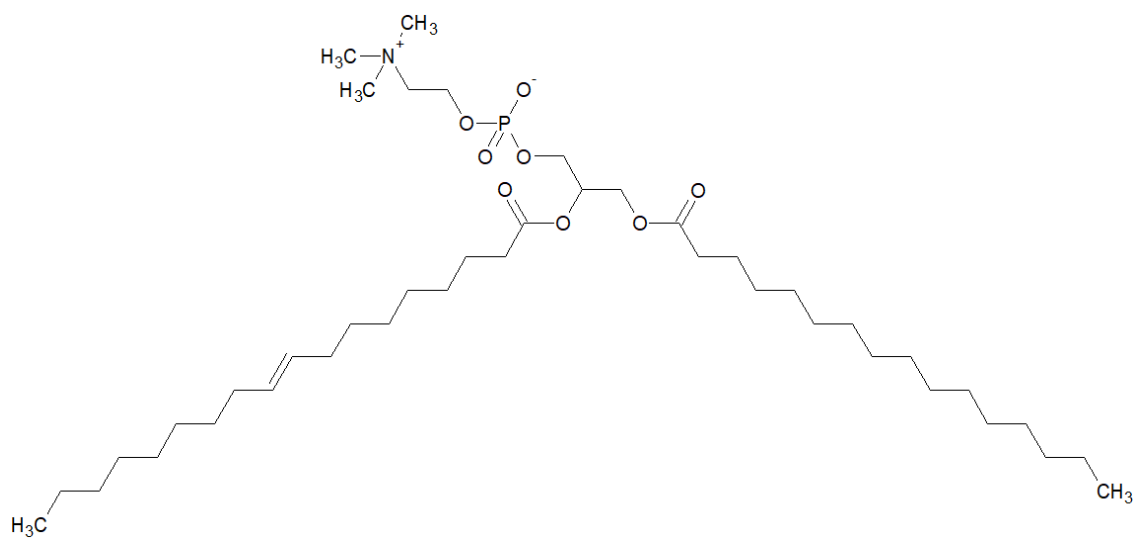
Náplní této diplomové práce bylo ověřit použitelnost DESI-MS pro hmotnostně spektrometrické zobrazování pojiv obsažených v nástěnných malbách, zkoumat možnosti odlišení jednotlivých pojiv na základě získaných hmotnostních spekter, přičemž na analýzu může mít vliv kromě samotných analytů charakter analyzovaného povrchu, v tomto případě omítky s malbou.

4.1 Testování sprejovací kapaliny pro DESI-MS

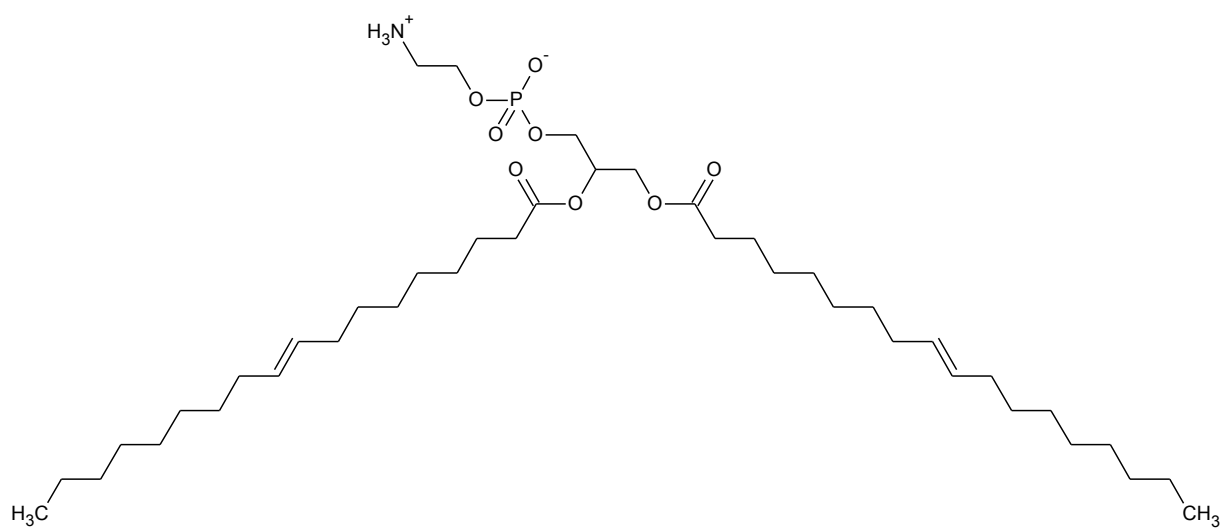
Volba sprejovací kapaliny pro DESI je určována vlastnostmi analyzovaných (ionizovaných) látek, kdy musí dojít k jejich uvolnění z povrchu (desorpci) a ionizaci. Na tento proces má také vliv analyzovaný povrch. Všechny sprejovací kapaliny byly postupně testovány s parametry uvedenými na str. 36 a 37 (3.2.1 Pracovní postupy B). Proměření vzorku č. 1 (Obrázek č. 39) byla získána hmotnostní spektra pro jednotlivé sprejovací kapaliny. Ve spektrech byly hledány signály příslušející látkám obsaženým ve studovaných pojivech. V případě olejů se hledaly zejména v kladném módu triacylglyceroly (TAG), příklad uvádí Obrázek č. 36, v případě vaječného žloutku pak v obou módech fosfolipidy (FL), příklad pro kladný mód uvádí Obrázek č. 37 a pro záporný mód Obrázek č. 38.



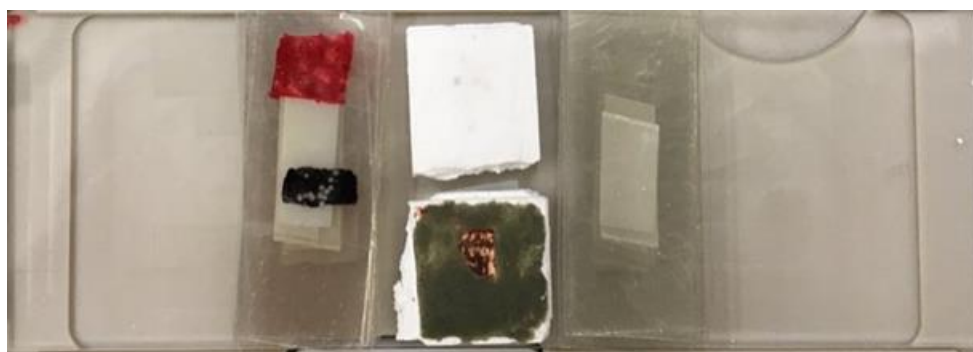
Obrázek č. 36: Molekula jednoho z možných TAG: 1,2-dilinoleoyl-3-palmitoylglycerol



Obrázek č. 37: Molekula fosfatidylcholinu: 1-oleoyl-2-palmitoyl-fosfatidylcholin



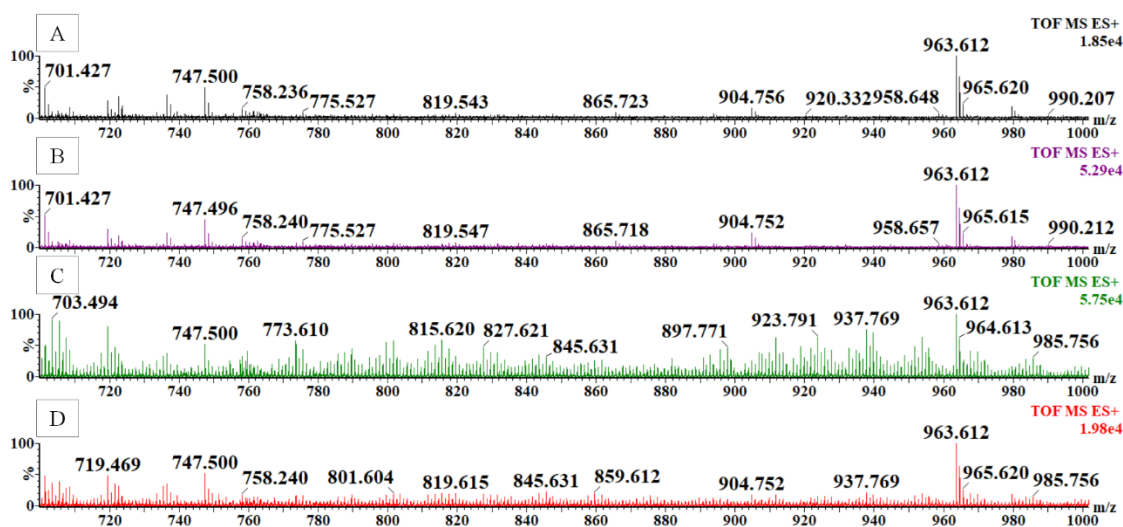
Obrázek č. 38: Molekula fosfatidylethanolaminu: 1,2-dioleoyl-fosfatidylethanolamin



Obrázek č. 39: Nahoře – slepý pokus, čistá omítka, dole – vzorek č. 1 (červená LN, žlutá OŘ).

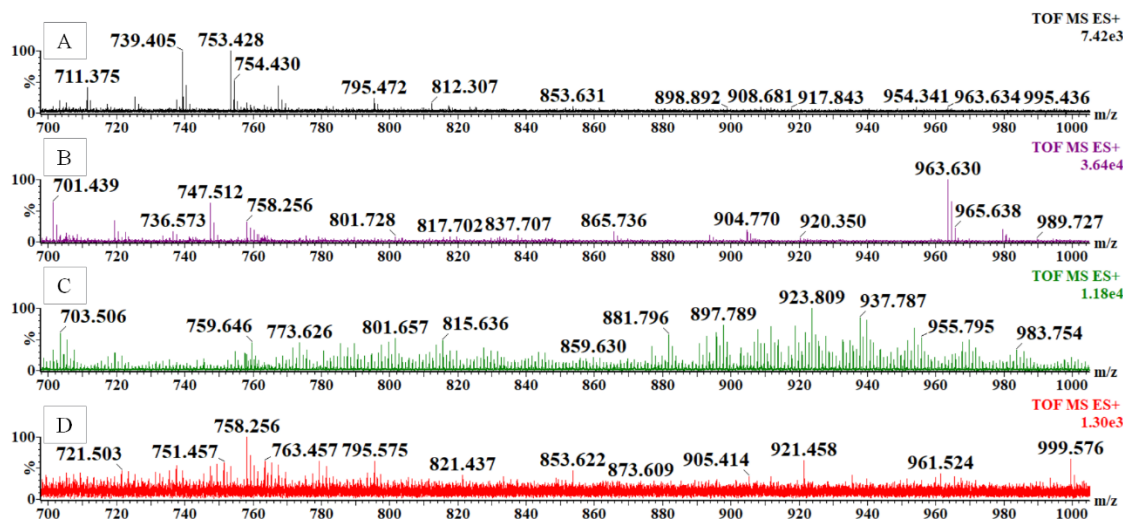
Při výběru vyhovující sprejovací kapaliny hrálo roli několik faktorů. Hlavní byla možnost zaznamenat relevantní signál mezi $700\ m/z$ – $1000\ m/z$ v kladném módu, protože se jedná o oblast, kde dochází k ionizaci TAG v případě olejů. Vyhovující se z tohoto pohledu jevil methanol (Obrázek č. 40), methanol/voda 1:1 (Obrázek č. 41), methanol/voda 98:2 (Obrázek č. 44), případně methanol + 0,01 % kyseliny mravenčí (Obrázek č. 45). Ostatní jsou nevhodné z důvodu absence nebo velmi nízkého signálu pro TAG či vysokého pozadí ve slepém pokusu. Dále byla vyřazena sprejovací kapalina methanol + 0,01 % kyseliny mravenčí (Obrázek č. 45) z důvodu nízké informace v oblasti TAG (ve srovnání s methanolem a methanol/voda 98:2) a také potřebě nezavádět do vzorku další látky (např. soli, kyseliny), které mohou proces ionizace zkomplikovat tvorbou aduktů. Okyselení sprejovací kapaliny nebylo zvoleno také s ohledem na potřebu ionizace v záporném módu (detekce volných mastných kyselin, některých fosfolipidů). V dalším kroku byla vyřazena sprejovací kapalina methanol/voda 1:1 z důvodu nižší odezvy (Obrázek č. 41 C v porovnání se 44 C). Nakonec byla vybrána sprejovací kapalina methanol/voda 98:2, a to z důvodu vyšší intenzity signálu pro oblast TAG (v porovnání s čistým methanolem). Kompletní pohled na spektra (v obou módech) při testování sprejovacích kapalin lze nalézt v příloze této práce (Příloha I – VIII).

Methanol



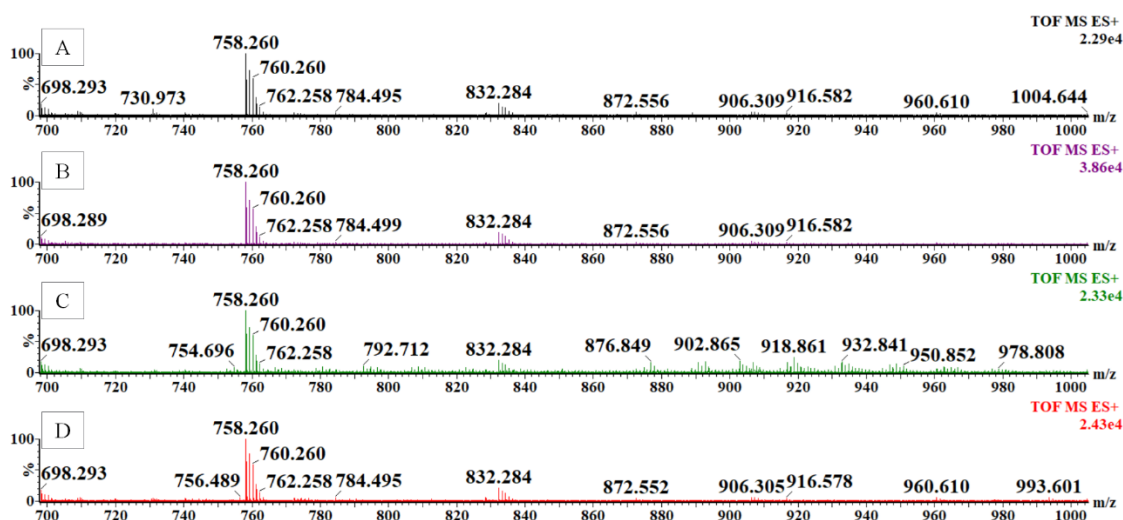
Obrázek č. 40: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

Methanol/voda (1:1)



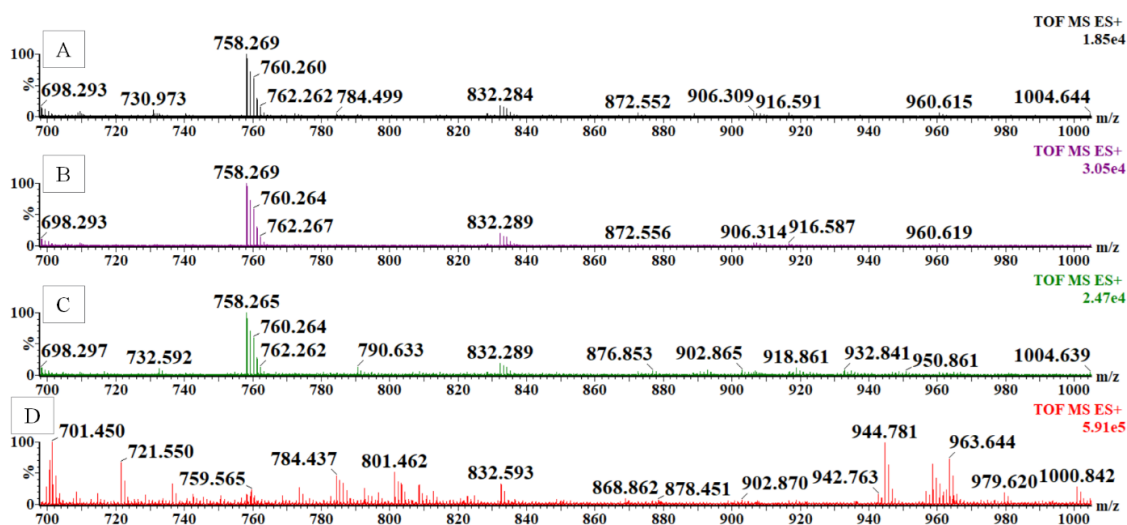
Obrázek č. 41: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

Methanol/voda + 5 mmol octan amonný



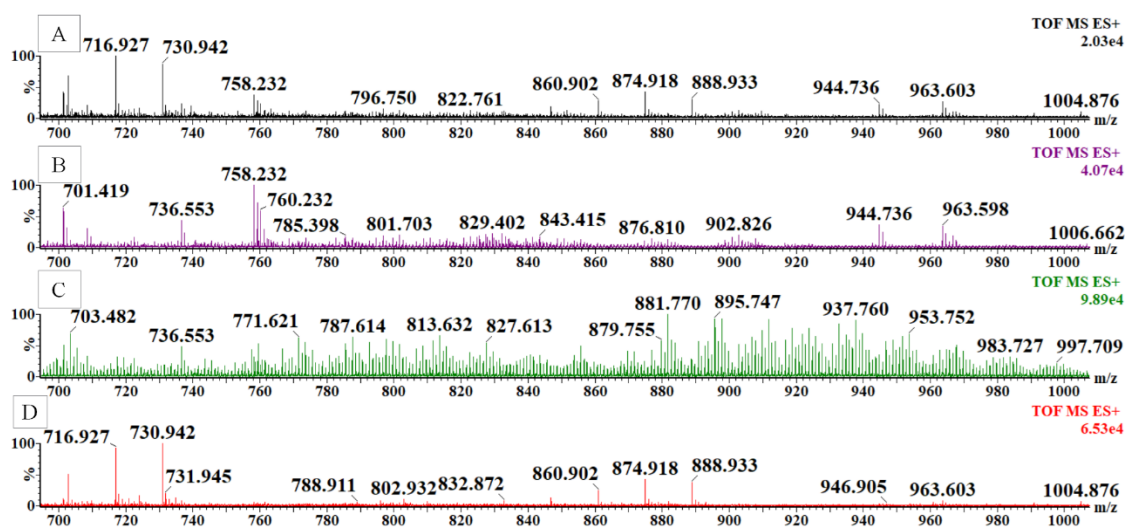
Obrázek č. 42: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

Methanol/trichlormethan (3:1)



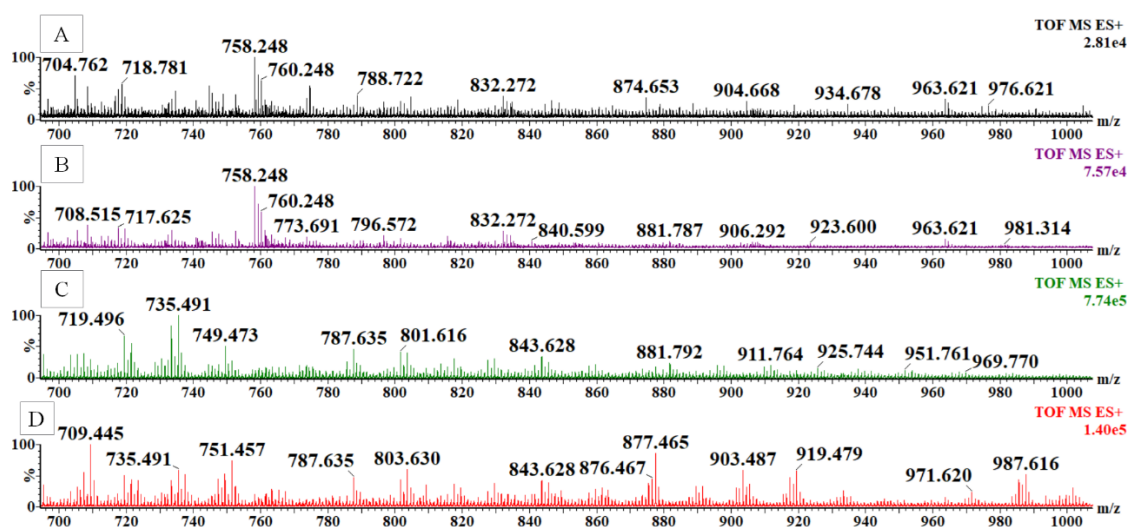
Obrázek č. 43: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

Methanol/voda (98:2)



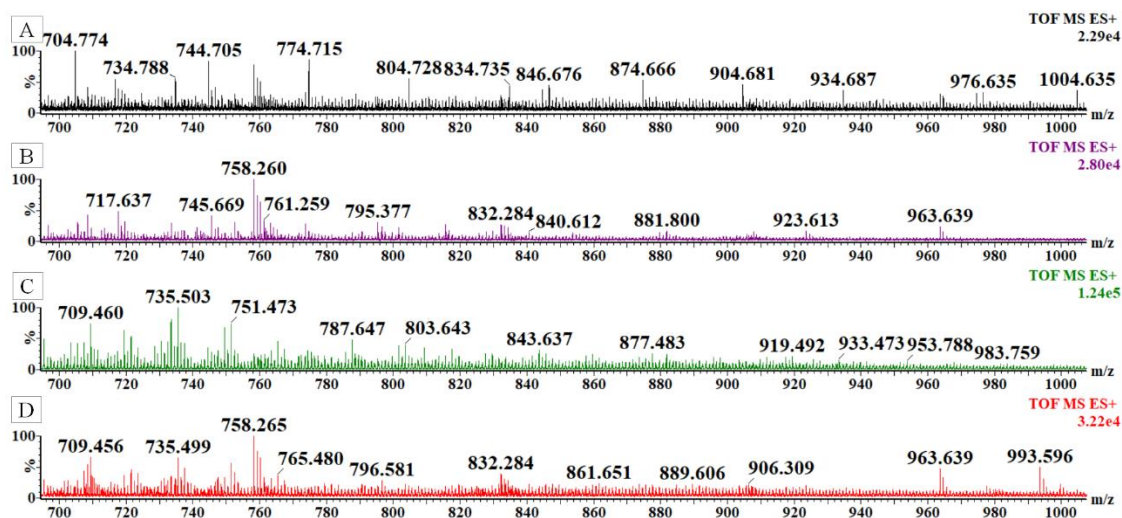
Obrázek č. 44: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

Methanol + 0,01 % kyselina mravenčí



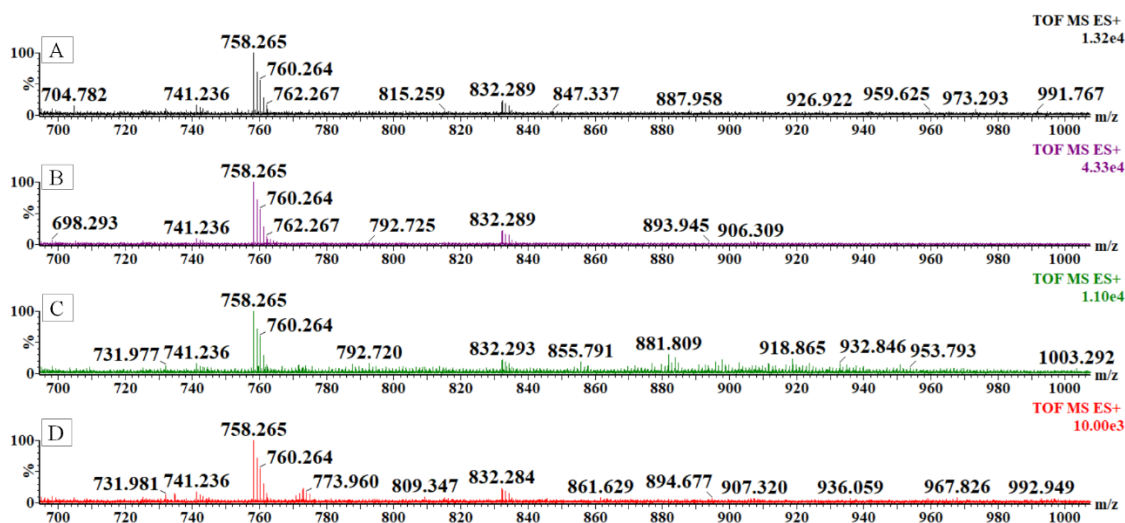
Obrázek č. 45: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

Methanol/voda (98:2) + 0,01 % kyseliny mravenčí



Obrázek č. 46: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

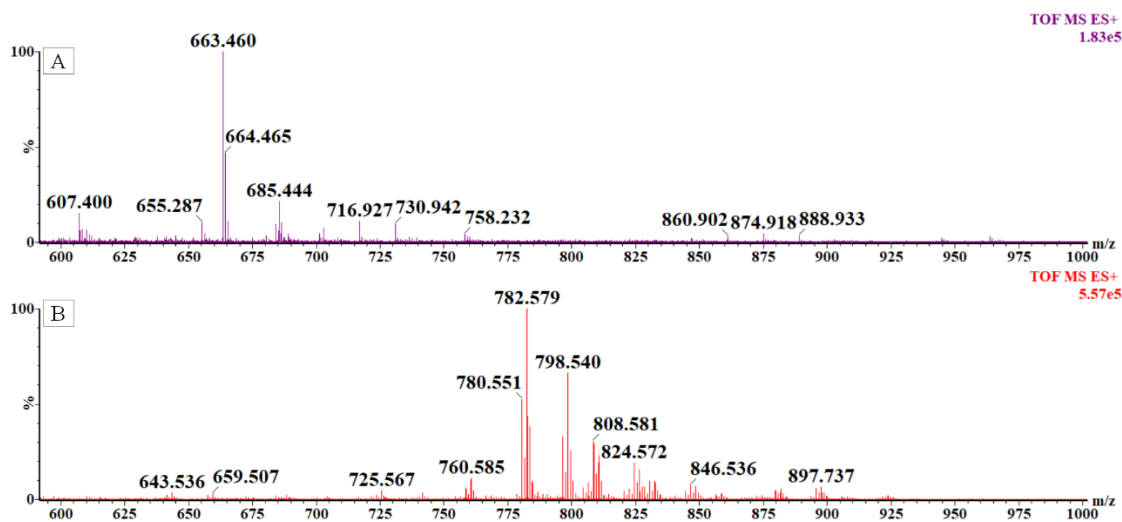
Methanol/voda (1:1) + 0,01 % kyseliny mravenčí



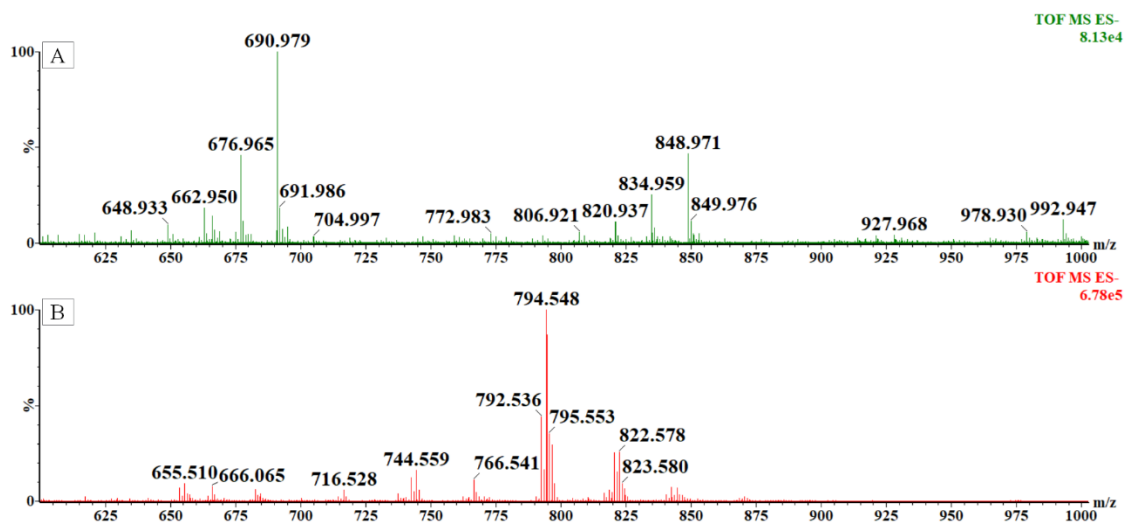
Obrázek č. 47: A) MS spektrum slepý vzorek – DESI podstavec, B) MS spektrum (slepý vzorek) – čistá omítka, C) MS spektrum vzorku č. 1, (žlutá, OŘ), D) MS spektrum vzorku č. 1, (červená, LN)

4.2 Analýza modelových vzorků vybranou sprejovací kapalinou

Standard vaječného žloutku s pigmentem



Obrázek č. 48: DESI-MS: A) čistá omítka, B) vaječný žloutek s červeným pigmentem, kladný mód



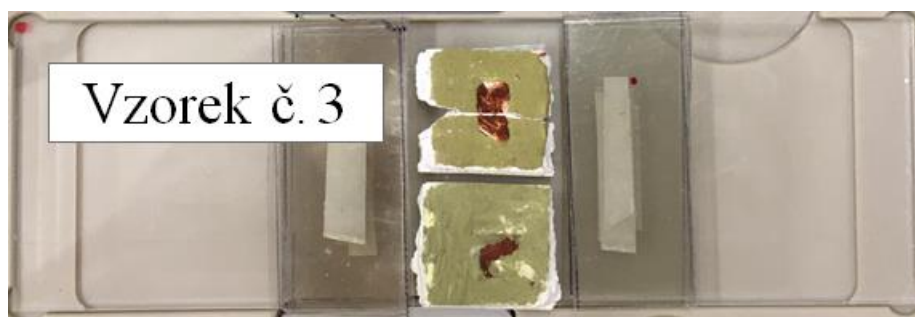
Obrázek č. 49: DESI-MS: A) čistá omítka, B) vaječný žloutek s červeným pigmentem, záporný mód

| Pojivo | Vybrané pozorované ionty |
|-----------------|--------------------------|
| Lněný olej | 877,596 TAG |
| | 897,746 TAG |
| Ořechový olej | 893,595 TAG |
| | 899,767 TAG |
| Vaječný žloutek | (+) |
| | 760,581 FL |
| | 782,563 FL |
| | (-) |
| | 763,608 FL |
| | 794,548 FL |
| | 744,555 FL |

Tabulka č. 6: Vybrané ionty pozorované ve spektrech pro lněný a ořechový olej a vaječný žloutek

Pomocí vybrané sprejovací kapaliny byly analyzovány tyto modelové vzorky.

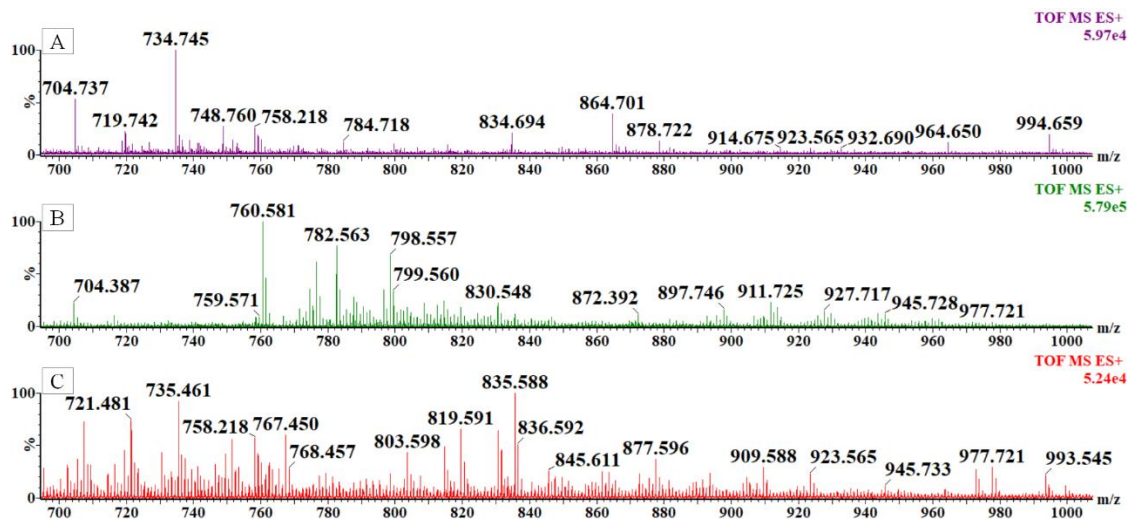
Modelový vzorek č. 3



Obrázek č. 50: Vzorek č. 3, žlutá oblast – žlutý pigment + žloutek, červená oblast – červený pigment + LN

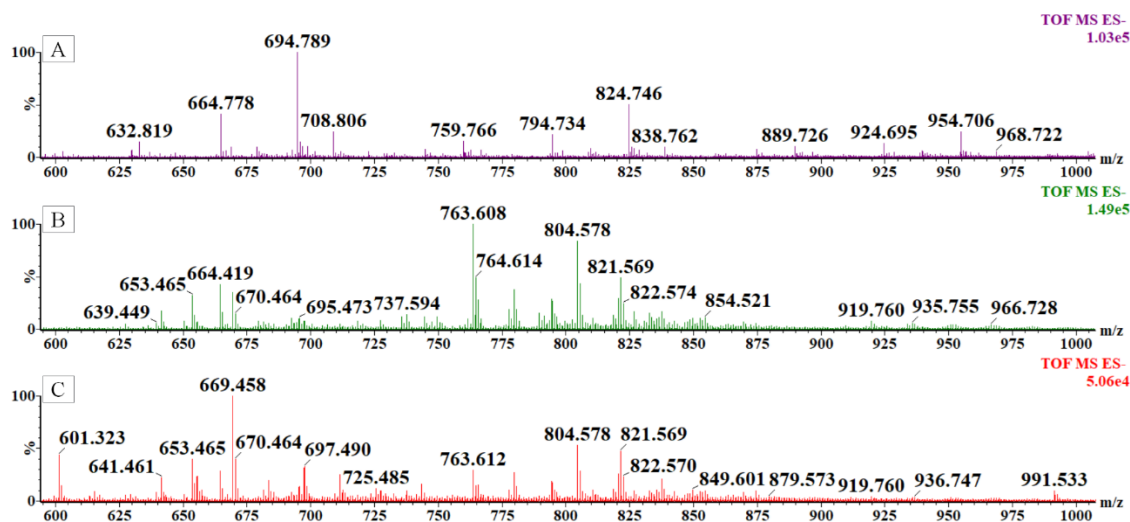
V červené vrstvě vzorku č. 3 obsahující lněný olej byly v kladném módu nalezeny TAG (např. iont 877,596; 897,746) (Obrázek č. 51 C). Dále se ve spektru nacházejí produkty

štěpení TAG.^[80,81] V případě vaječného žloutku (Obrázek č. 51 B) vidíme charakteristické ionty pro FL (např. ionty 760,581; 782,563)^[85,86,87].



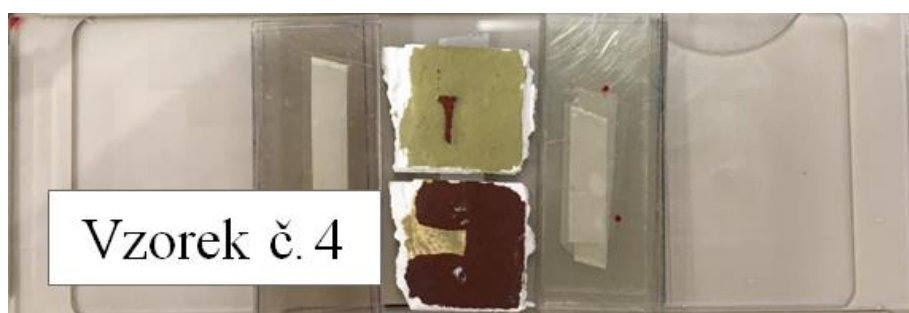
Obrázek č. 51: DESI-MS: A) čistá omítka, B) žlutá oblast – žloutek, C) červená oblast – LN

Ve vzorku č. 3 byly v záporném módu žluté vrstvy se žloutkem nalezeny FL (Obrázek č. 52 B). Tyto FL odpovídají těm, které se nacházejí ve standardu vaječného žloutku (763,608;794,548;822,574) (Obrázek č. 49). FL lze pozorovat v obou vrstvách, což svědčí o průsaku vaječného žloutku do vrstvy se lněným olejem.



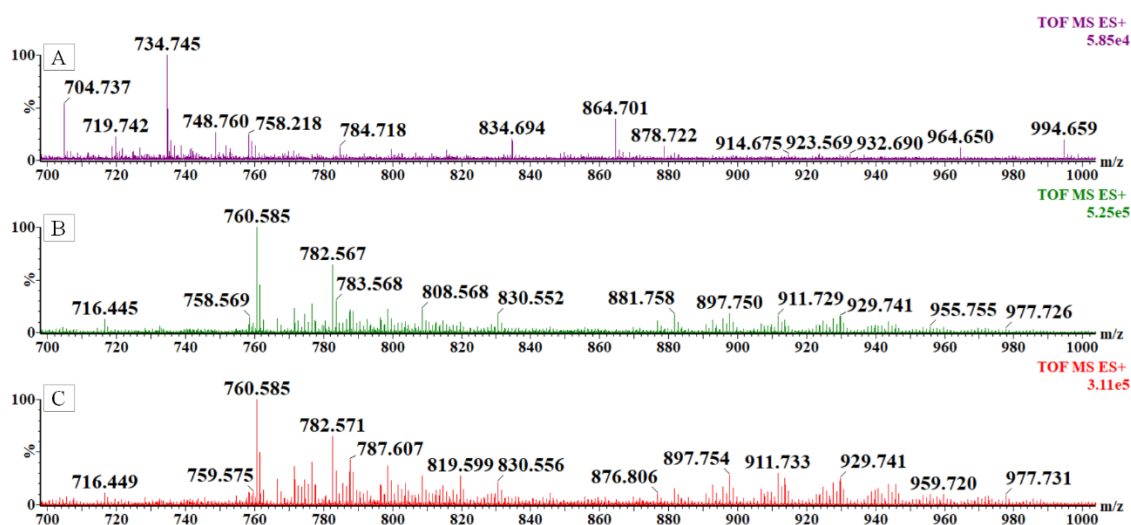
Obrázek č. 52: DESI-MS: A) čistá omítka, B) žlutá oblast – žloutek, C) červená oblast – LN

Modelový vzorek č. 4



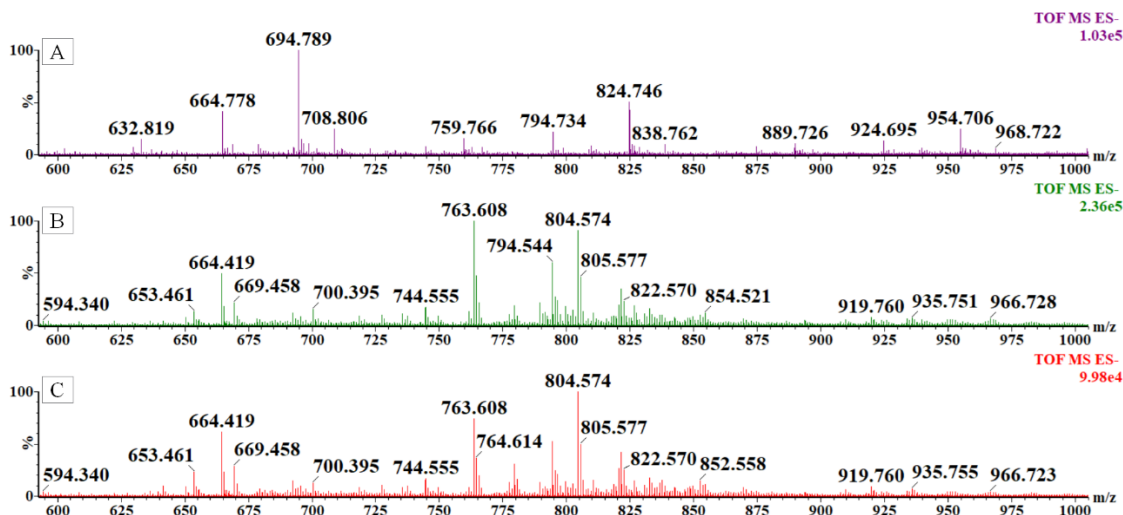
Obrázek č. 56: Vzorek č. 4, žlutá oblast – žlutý pigment + LN, červená oblast – červený pigment + žloutek

Při analýze vzorku č. 4 se v kladném módu rovněž podařilo detegovat TAG a FL (Obrázek č. 54).^[80,81,85,86,87] Spektra jsou velmi podobná, což může být způsobeno tím, že při nanášení druhé vrstvy došlo k proniknutí analytů vzájemně mezi obě vrstvy. Jsou totiž pozorovány jak ionty typické pro TAG (897,750), tak ionty typické pro vaječný žloutek, tedy FL (760,585; 782,571).



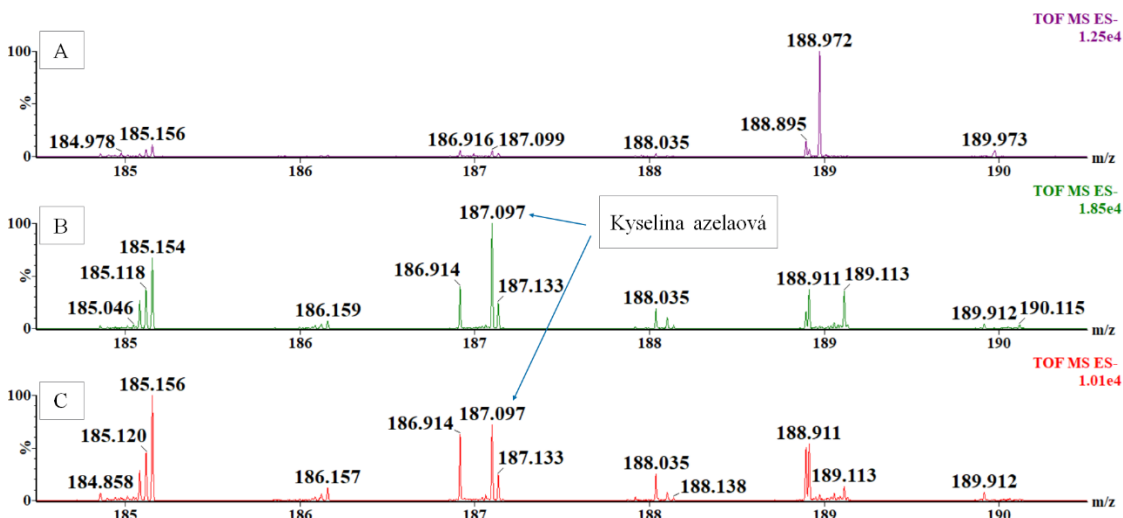
Obrázek č. 54: DESI-MS: A) čistá omítka, B) žlutá oblast – LN, C) červená oblast – žloutek

V záporném módu byl důkaz o prosaku vaječného žloutku do vrstvy se lněným olejem jednoznačný. V obou vrstvách došlo k ionizaci FL s charakteristickými ionty (744,555; 763,608; 794,544; 822,578) (Obrázek č. 55).^[85,86,87]



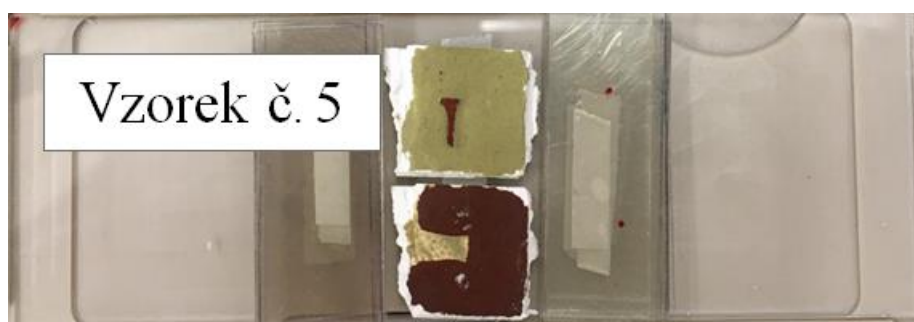
Obrázek č. 55: DESI-MS: A) čistá omítka, B) žlutá oblast – LN, C) červená oblast – žlutek

V záporném módu se v tomto vzorku rovněž podařilo potvrdit přítomnost důležitého degradačního produktu – kyseliny azelaové, která byla přítomna v obou vrstvách vzorku (Obrázek č. 56 B, C). Ve spektru byla pozorována ve formě iontu $[M-H]^-$. Její potvrzení bude dále v textu diskutováno.



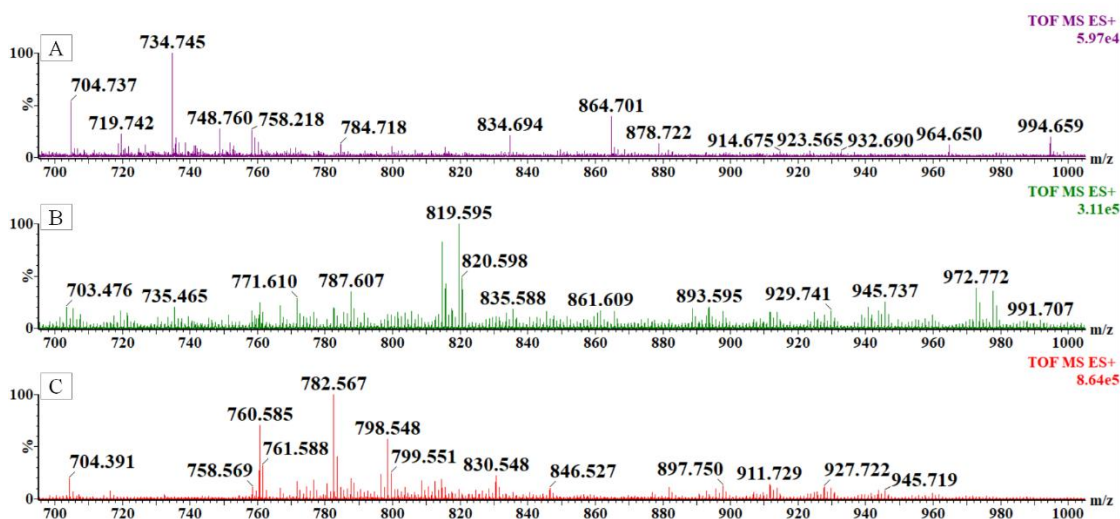
Obrázek č. 56: MS spektrum iontu 187: A) čistá omítka, B) žlutá oblast – LN, C) červená oblast – žlutek

Modelový vzorek č. 5



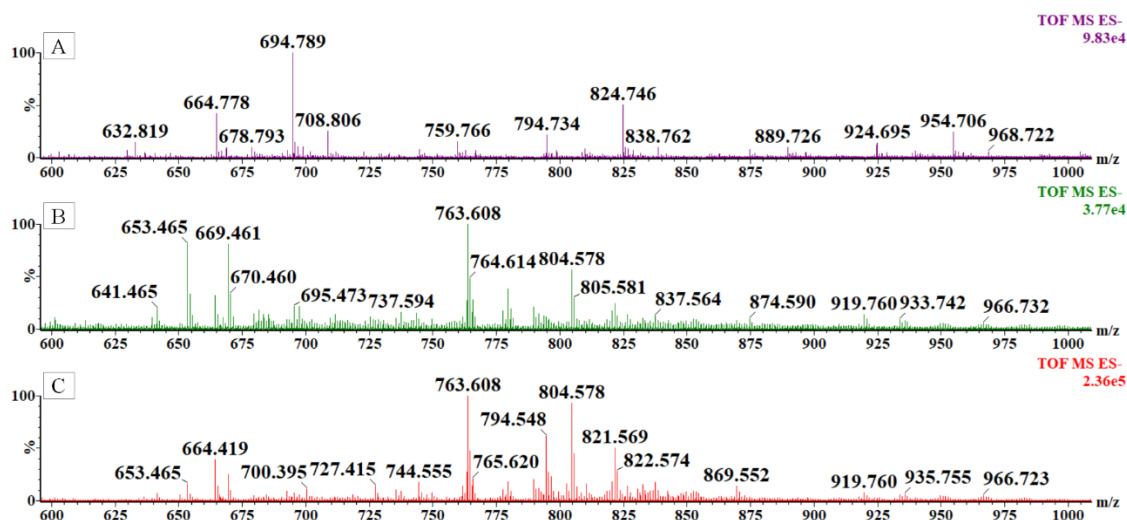
Obrázek č. 57: Vzorek č. 5, žlutá oblast – žlutý pigment + žloutek, červená oblast – červený pigment + OŘ

Ve vzorku č. 5 byly v kladném módu přítomny TAG (893,595; 897,750; 899,767) a také produkty štěpení TAG, např. ion 819,595 (Obrázek č. 58 B).^[80,81] Ve vaječném žloutku jsou pozorovány typické ionty pro FL (760,585; 782,567; 798,548).^[85,86,87]



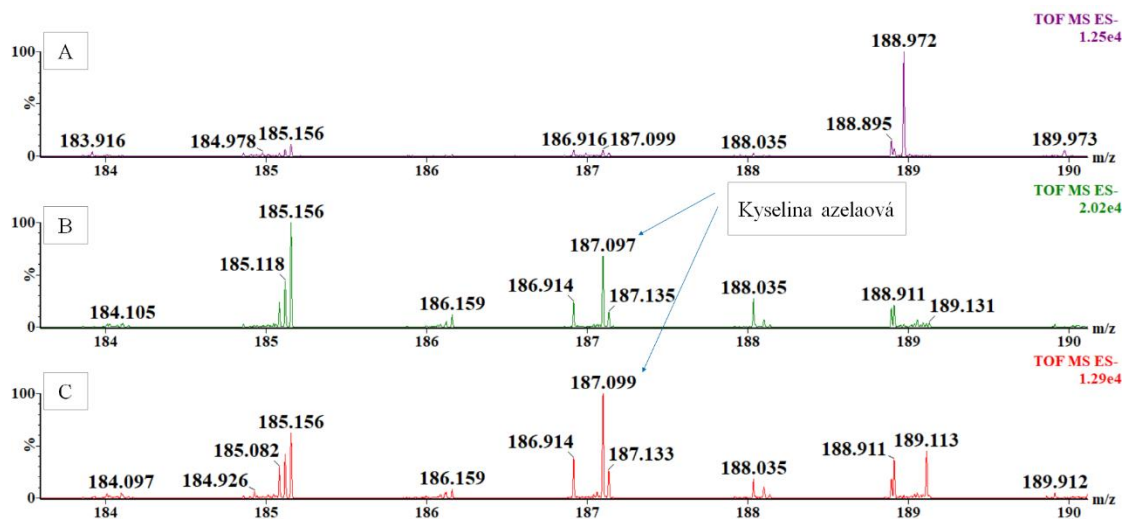
Obrázek č. 58: DESI-MS: A) čistá omítka, B) červená oblast – OŘ, C) žlutá oblast - žloutek

V záporném módu byl prosak vaječného žloutku do vrstvy s ořechovým olejem potvrzen. V obou vrstvách došlo k ionizaci FL s charakteristickými ionty (744,555; 763,608; 794,548; 822,574) (Obrázek č. 59).^[85,86,87]



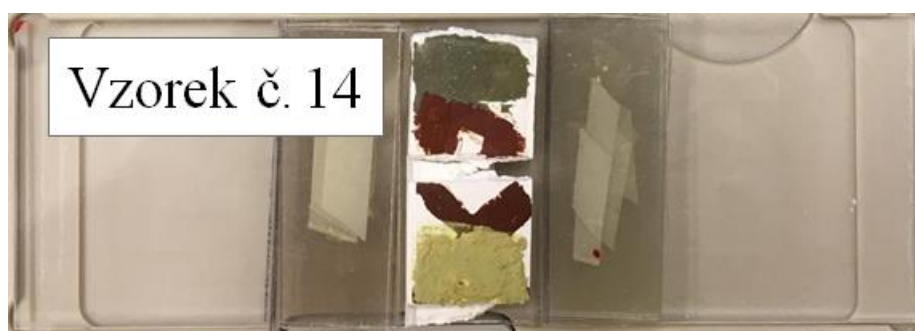
Obrázek č. 59: DESI-MS: A) čistá omítka, B) červená oblast – OŘ, C) žlutá oblast – žloutek

Rovněž ve vzorku č. 5 se podařilo v obou vrstvách vzorku prokázat přítomnost kyseliny azelaové (Obrázek č. 60, B, C).



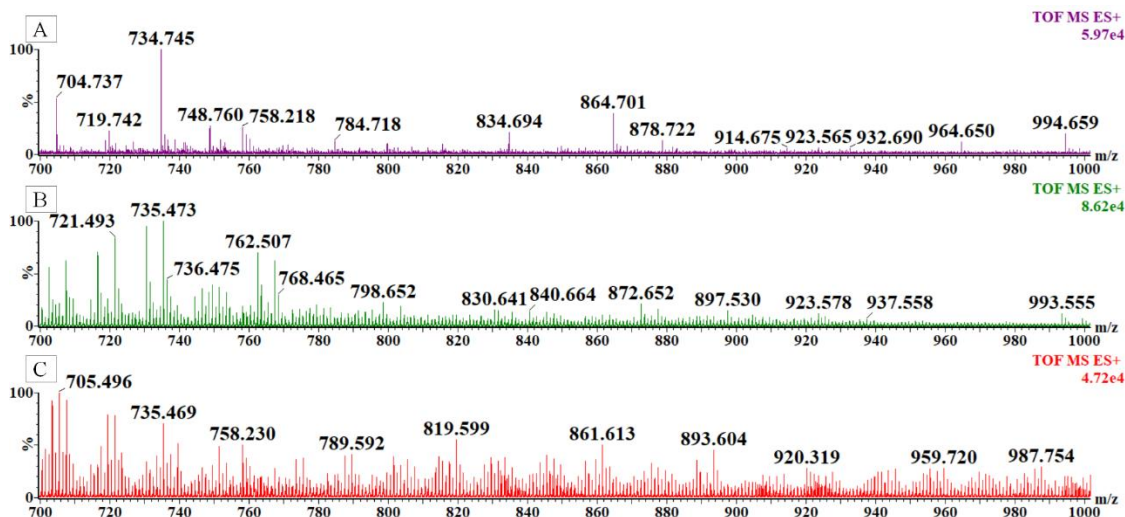
Obrázek č. 60: MS spektrum iontu 187: A) čistá omítka, B) červená oblast – OŘ, C) žlutá oblast – žloutek

Modelový vzorek č. 14



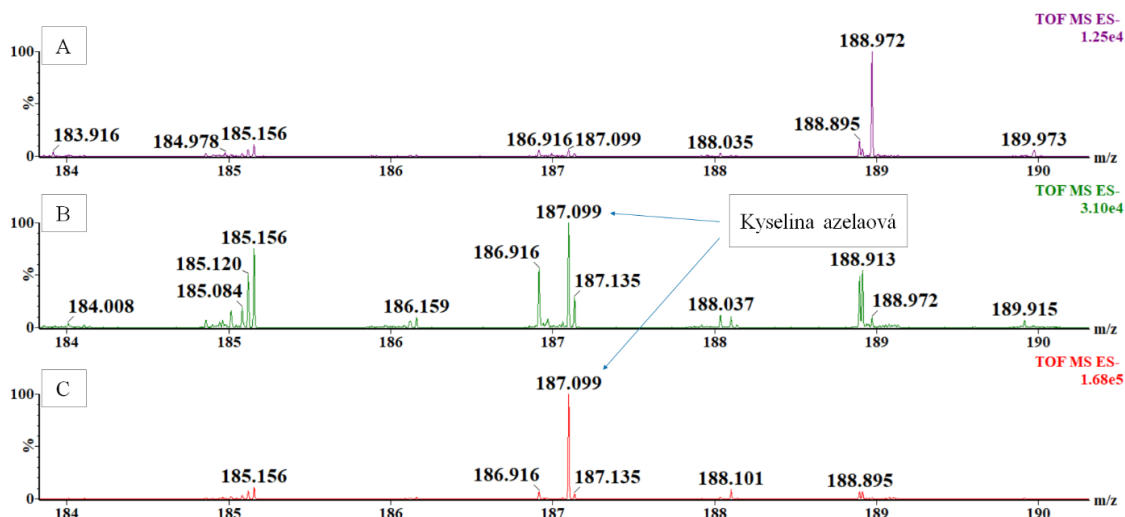
Obrázek č. 61: Vzorek č. 14, žlutá oblast – žlutý pigment + OŘ s přidavkem kyseliny azelaové, červená oblast – červený pigment + LN

Ve vzorku č. 14 se v kladném módu podařilo v obou vrstvách zjistit přítomnost TAG u obou použitých olejů (873,575; 877,609; 897,530) a také produkty štěpení TAG (819,599; 841,587) (Obrázek č. 62 B, C).^[80,81] Na základě získaných dat není možné od sebe oba oleje odlišit. Ve spektrech obou olejů jsou zastoupeny stejné ionty. Není ani možné brát v úvahu aspekt nižší intenzity v případě lněného oleje. Důvodem nižší intenzity může totiž být například silnější sorpce první vrstvy malby na materiálu omítky, tedy červené vrstvy se lněným olejem, než druhé vrstvy malby s ořechovým olejem.



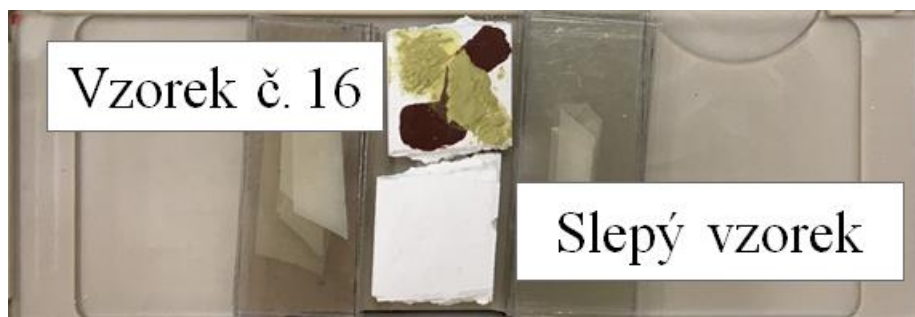
Obrázek č. 62: DESI-MS: A) čistá omítka, B) červená oblast LN, C) žlutá oblast OŘ

V záporném módu byla potvrzena přítomnost kyseliny azelaové, která je ve spektru (Obrázek č. 63 B, C) ve formě iontu $[M-H]^-$. Nachází se v obou vrstvách nátěru, ačkoliv by se měla nacházet pouze v žluté vrstvě, do které byla přidána, což je v souladu s tím, že byla pozorována i u vzorků bez přidavku jejího standardu.



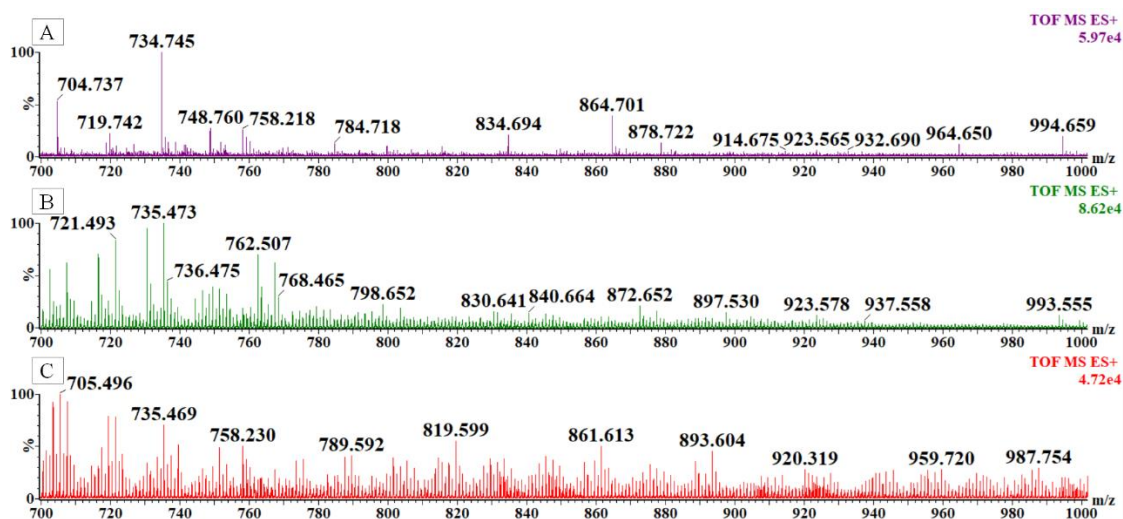
Obrázek č. 63: MS spektrum iontu 187: A) čistá omítka, B) žlutá oblast OŘ, C) hnědá oblast LN

Modelový vzorek č. 16



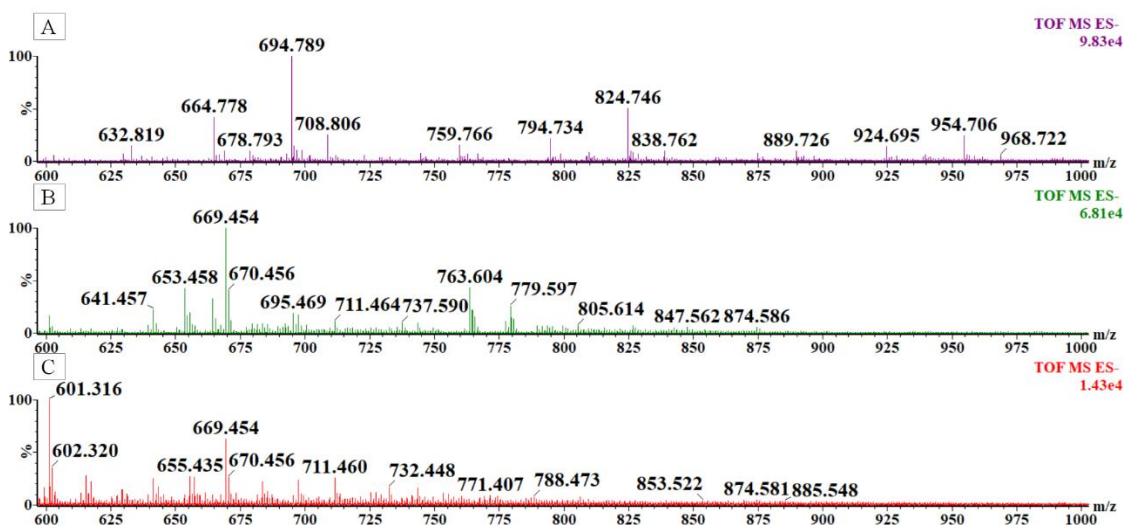
Obrázek č. 64: Vzorek č. 16, zelená oblast – žlutý pigment + LN s přidavkem kyseliny azelaové, červená oblast – červený pigment + žloutek

Ve vzorku č. 16 se v kladném módu podařilo ve vrstvě s vaječným žloutkem (Obrázek č. 65 B) zaznamenat ionty pro FL (798,652). Ve vrstvě se lněným olejem (Obrázek č. 65 C) ionty TAG typické pro olejové pojivo (893,604; 897,530) a produkty štěpení TAG (819,599; 877,575).^[80,81]



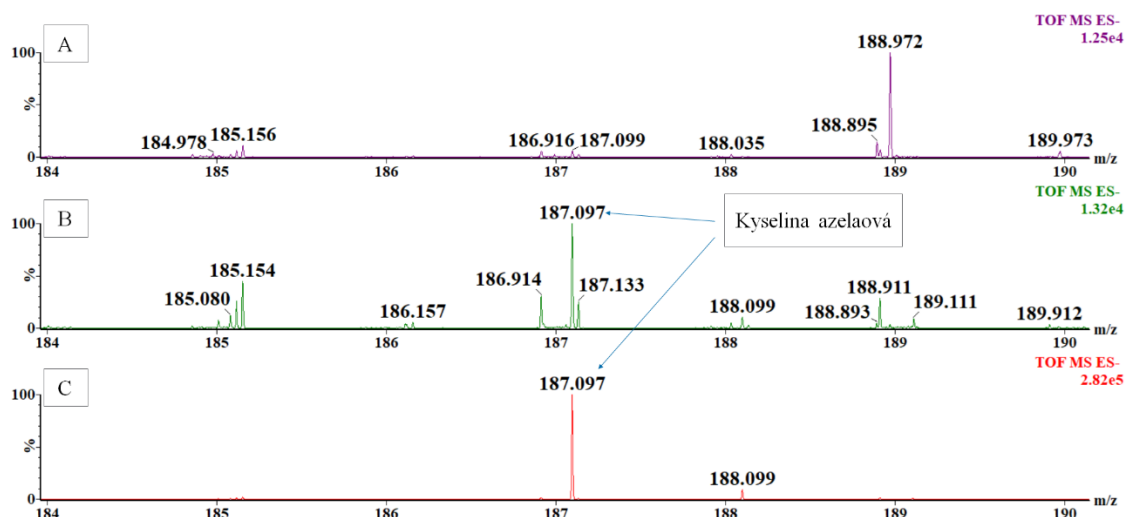
Obrázek č. 65: DESI-MS: A) čistá omítka, B) červená oblast – žlutek, C) žlutá oblast – LN

V záporném módu u vzorku č. 16, byly typické ionty (763,604) pro FL nalezeny pouze ve vrstvě se žlutkem (Obrázek č. 66 B). V olejové vrstvě (Obrázek č. 66 C) není tento ion vůbec pozorován.



Obrázek č. 66: DESI-MS: A) čistá omítka, B) červená oblast – žlutek, C) žlutá oblast – LN

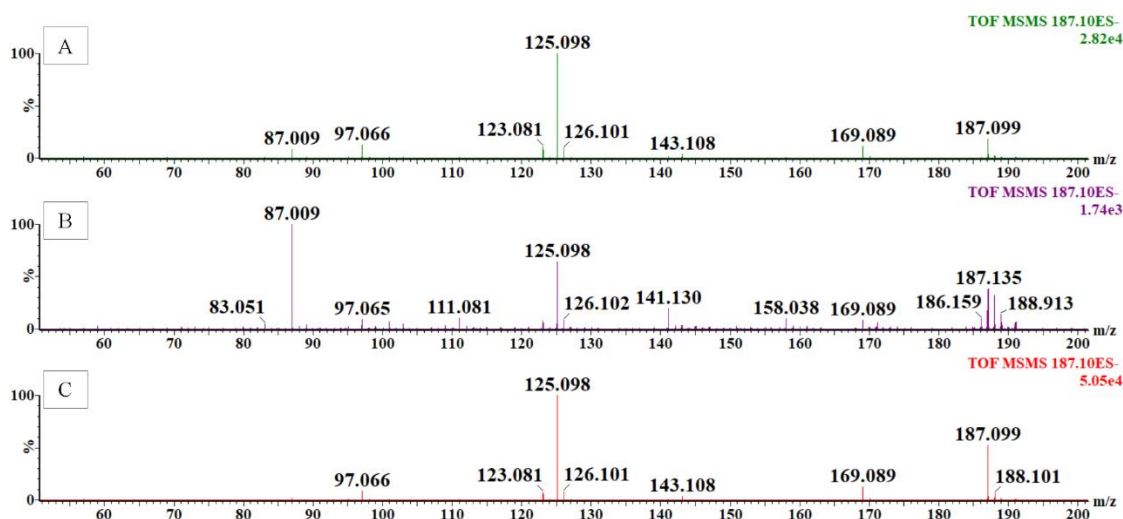
V záporném módu byla potvrzena přítomnost kyseliny azelaové, která je ve spektru (Obrázek č. 67 B, C) ve své deprotonované formě $[M-H]^-$. Nachází se v obou vrstvách nátěru, ačkoliv byla přidána pouze do žluté vrstvě.



Obrázek č. 67: MS spektrum pro iont 187: A) čistá omítka, B) červená oblast – žloutek, C) žlutá oblast – LN

Fragmentace kyseliny azelaové

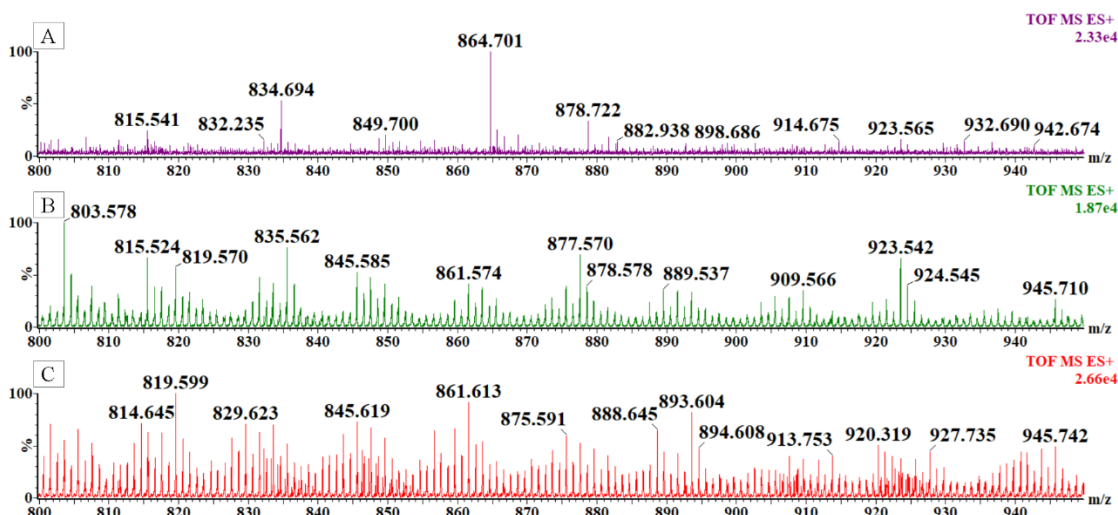
Pro potvrzení přítomnosti kyseliny azelaové byla provedena její fragmentace. Kolizní energie byla pro všechny případy 20 V (výrobce používá termín kolizní energie, i když je vkládáno napětí ve voltech). Na *Obrázku č. 68 A* byla omítka potřísněna roztokem standardu kyseliny azelaové bez použití pigmentu. Na *Obrázku č. 68 B* byl použit vzorek č. 5, ve kterém se kyselina azelaová objevila. Na *Obrázku č. 68 C* byl standard kyseliny azelaové nanesen na sklíčko používané pro podklad vzorku. Koncentrace standardu kyseliny azelaové byla 5 mg/ml. Jako rozpouštědlo byla použita sprejovací kapalina (methanol:voda 98:2). Fragmentační spektrum kyseliny bylo nalezeno taktéž v knihovně spekter.^[82,83,84]



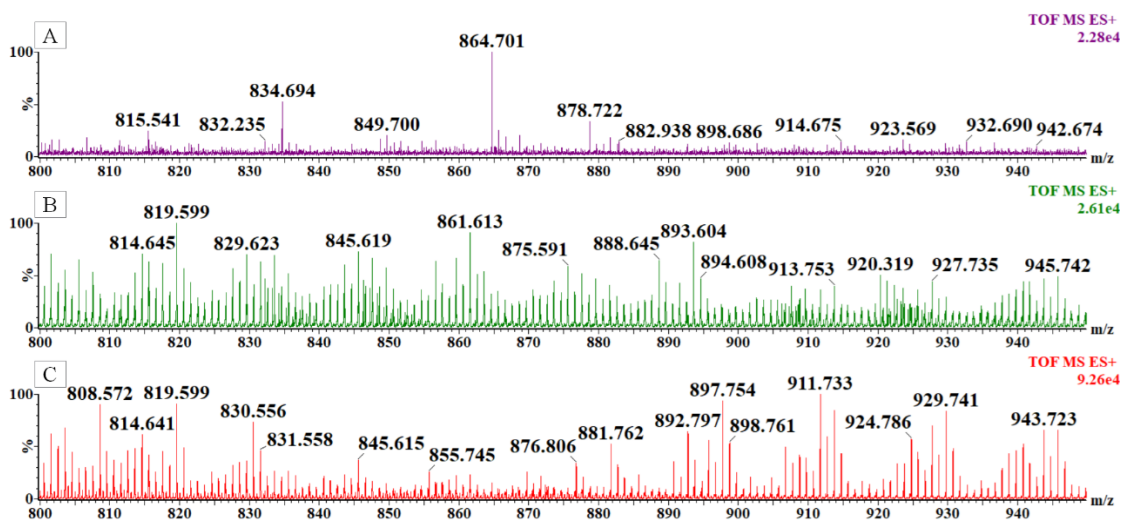
Obrázek č. 68: Fragmentační spektra kyseliny azelaové A) standard na čisté omítce, B) ve vzorku č. 5, C) standard na podložním sklíčku

Odlišení ořechového a lněného oleje

Získané výsledky nedovolují vzájemně odlišit ořechový a lněný olej. Při srovnání spekter na *Obrázku č. 69* a *70* není možné vyvozovat jakékoliv závěry pouze na základě nižší intenzity ve spektru, např. *Obrázek č. 70 C* ve srovnání s *Obrázkem č. 69 B* (oblasti mezi 840 – 880 m/z), protože na vzhledu spektra se podílí celá řada faktorů a jedním z nich je, zda je malba první vrstvou či druhou. U první vrstvy malby může docházet k silnější sorpci olejových pojiv na materiálu omítky, což může mít za následek znesnadnění procesu desorpce a ionizace analytu. Možné odlišení olejů by bylo možné dále studovat s využitím statistických metod (např. analýza hlavních komponent). Takovéto postupy však vyžadují větší soubor vzorků olejů.



Obrázek č. 69: A) čistá omítka, B) vzorek č. 16, žlutá oblast LN, C) vzorek č. 14, žlutá oblast OŘ



Obrázek č. 70: A) čistá omítka, B) vzorek č. 14, žlutá oblast OŘ, C) vzorek č. 4, žlutá oblast LN

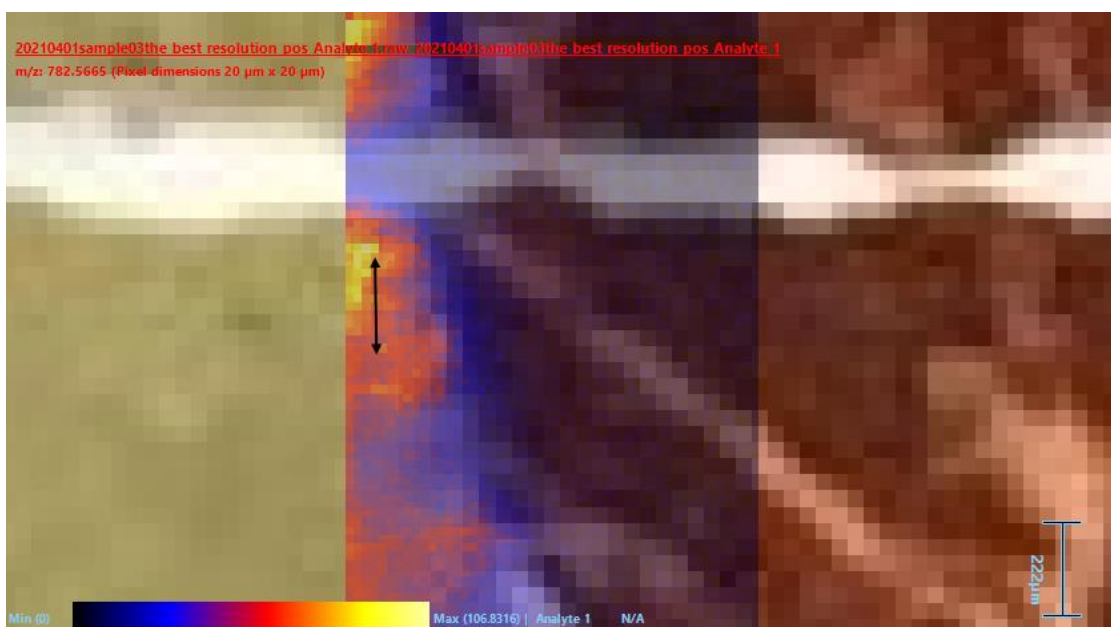
4.3 Hmotnostně spektrometrické zobrazování modelových vzorků

Hmotnostně spektrometrické zobrazování bylo provedeno za stejných přístrojových podmínek jako analýza vybraných modelových vzorků a byly k němu použity stejné modelové vzorky jako v podkapitole 4.2. Cílem zobrazování bylo ověřit možnosti odlišení oblastí malby s různými pojivy.

Modelový vzorek č. 3

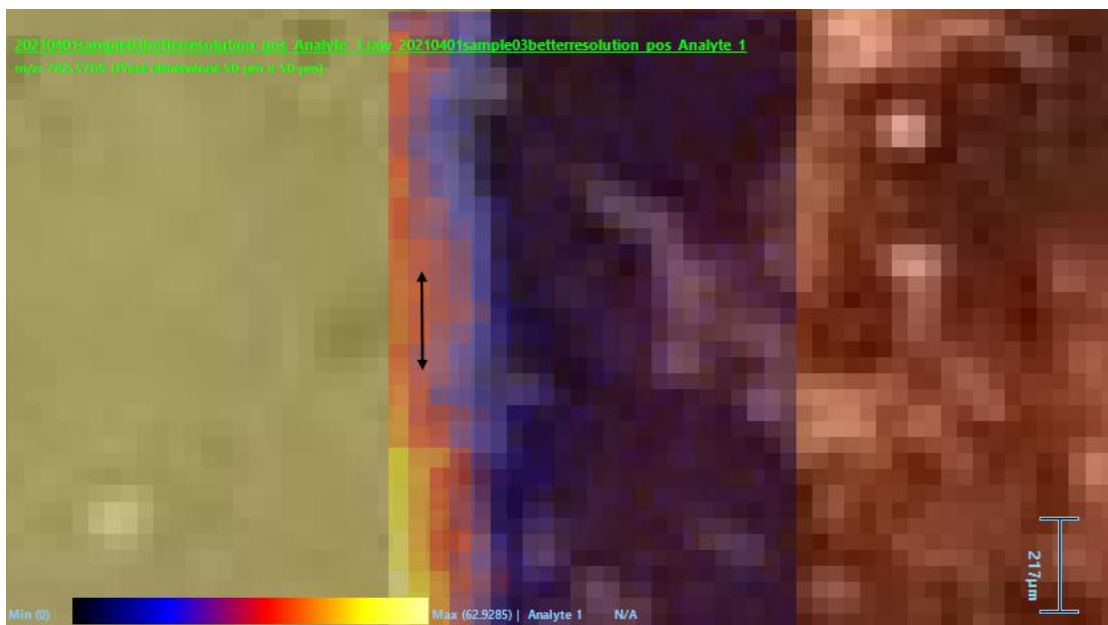
Modelový vzorek č. 3 byl vybrán pro demonstraci použitého povrchového rozlišení, kdy se na různých místech vzorku provedlo hmotnostně spektrometrické zobrazování vybraného iontu FL (782,5665) s různým rozlišením. Různá místa byla vybrána proto, aby se předešlo vyčerpání analytu z povrchu modelového vzorku.

V případě vysokého povrchového rozlišení (20 μm x 20 μm) bylo možné jasně pozorovat, že vybraný ion je přítomen pouze ve žluté vrstvě vzorku (Obrázek č. 71) obsahující vaječný žloutek. Šipka uvnitř měřené plochy odpovídá vždy měřítku uvedenému vpravo dole. Doba analýzy pro toto rozlišení byla 100 minut.



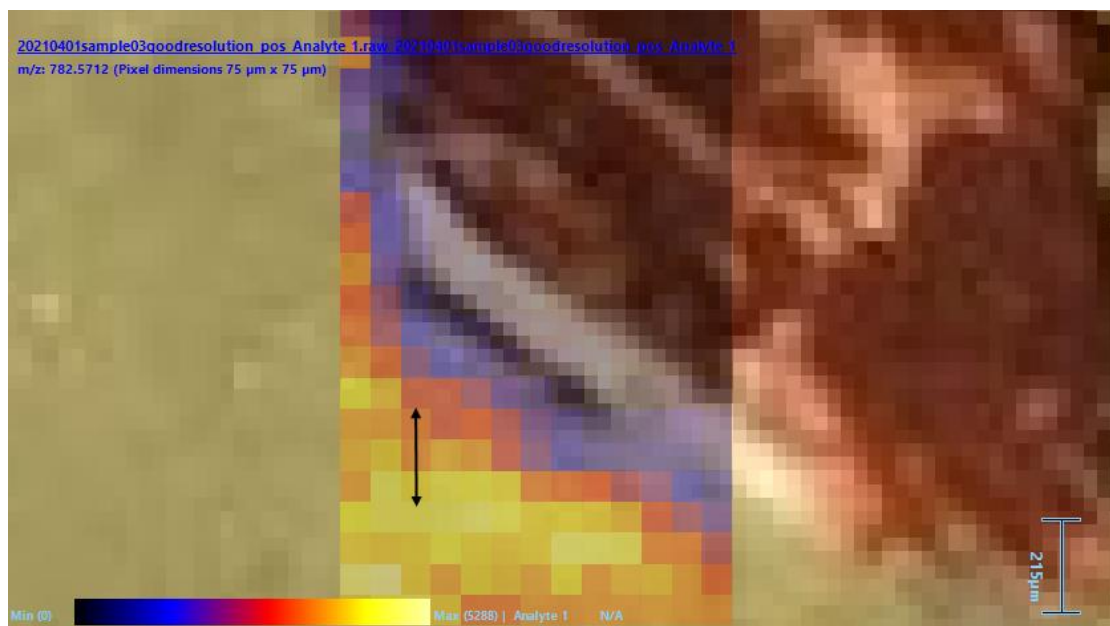
Obrázek č. 71: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 782,5665, vysoký stupeň rozlišení, kladný mód

V případě středního stupně rozlišení ($50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$), které je použito pro všechny ostatní vzorky, byl tento ion taktěž snadno pozorovatelný pouze ve vrstvě s vajíčkem (Obrázek č. 72). Tento stupeň rozlišení je pro měření výhodný, neboť poskytuje potřebné analytické informace a oproti vysokému rozlišení zkracuje dobu trvání samotné analýzy. Doba analýzy pro toto rozlišení byla 20 minut.



Obrázek č. 72: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 782,5665, střední stupeň rozlišení, kladný mód

Taktéž v případě nízkého stupně rozlišení ($75\ \mu\text{m} \times 75\ \mu\text{m}$) bylo možné jednoznačně rozlišit, že ion 782,5712 se nachází pouze ve vrstvě s vaječným žloutkem a ne ve vrstvě s olejovým pojivem (Obrázek č. 73). Z porovnání Obrázku č. 72 a 73 je zřejmé, že rozlišení ($50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$) poskytuje prokreslenější přechod mezi jednotlivými vrstvami. Při nízkém rozlišení by bylo měření nejrychlejší, ale zvolené střední rozlišení lze považovat za vhodný kompromis mezi časovou náročností měření a rozlišením jednotlivých vrstev malby. Doba analýzy pro toto rozlišení byla 8 minut.



Obrázek č. 73: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 782,5712, kladný mód

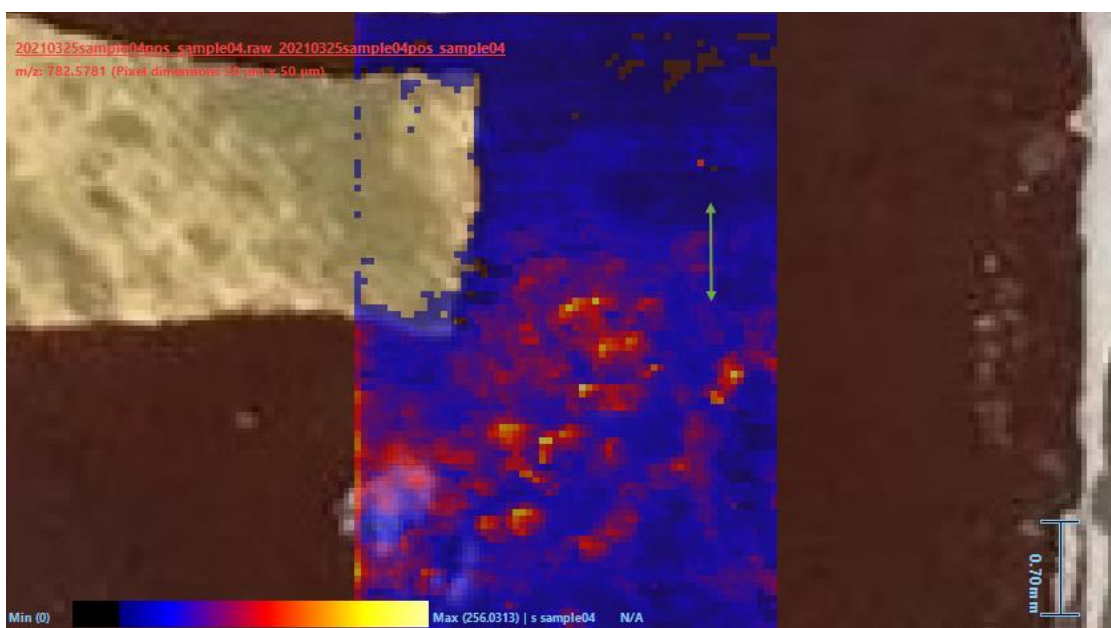
Pro vzorek č. 3 byl rovněž zobrazen záporný ion o m/z 187,0976, který přísluší kyselině azelaové. Vyšší intenzita byla pozorována v hnědé oblasti malby (Obrázek č. 74, obdélník ohraničuje celou měřenou plochu), která obsahuje lněný olej. Ve žluté oblasti (obsahuje vaječný žloutek) je zastoupení kyseliny azelaové nerovnoměrné. Překryv spodní vrstvy horní žlutou vrstvou nemusel být všude dostatečný a mohlo k desorpci dojít i ze spodní vrstvy malby. Výskyt azelaové kyseliny v měřených vzorcích by si zasloužil v budoucnu pozornost v souvislosti se studiem jejich degradace po delším časovém období.



Obrázek č. 74: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 187,0976, záporný mód

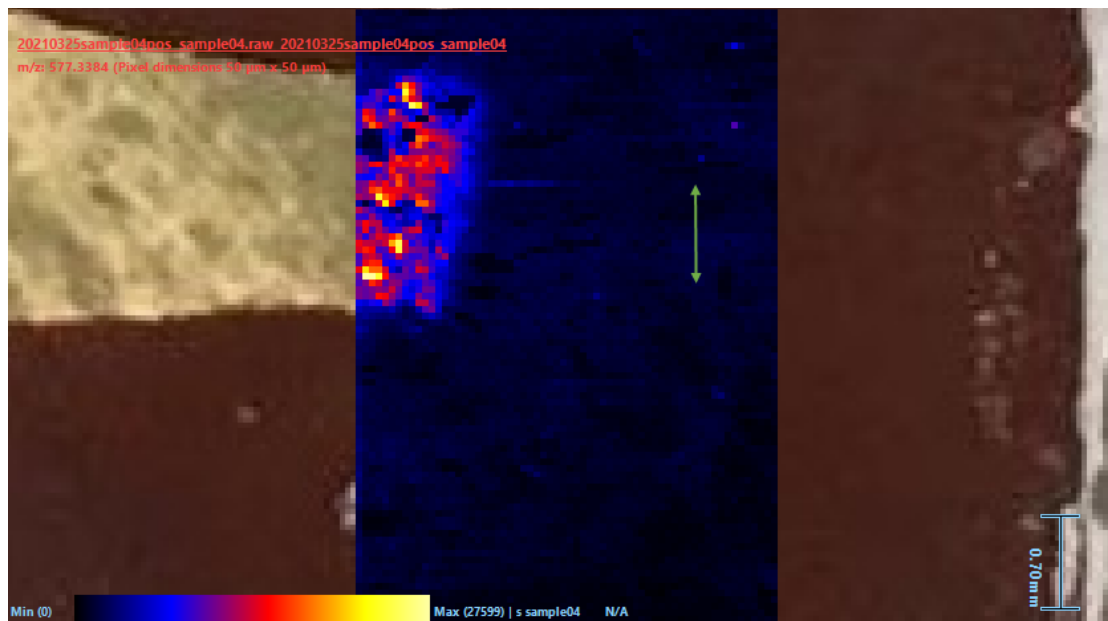
Modelový vzorek č. 4

V případě vzorku č. 4 byl taktéž vybrán ion 782.5781, který se nachází ve vaječném žloutku (červená vrstva) (Obrázek č. 75) a není pozorován ve žluté vrstvě obsahující jako pojivo lněný olej.



Obrázek č. 75: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 782,5781 kladný mód

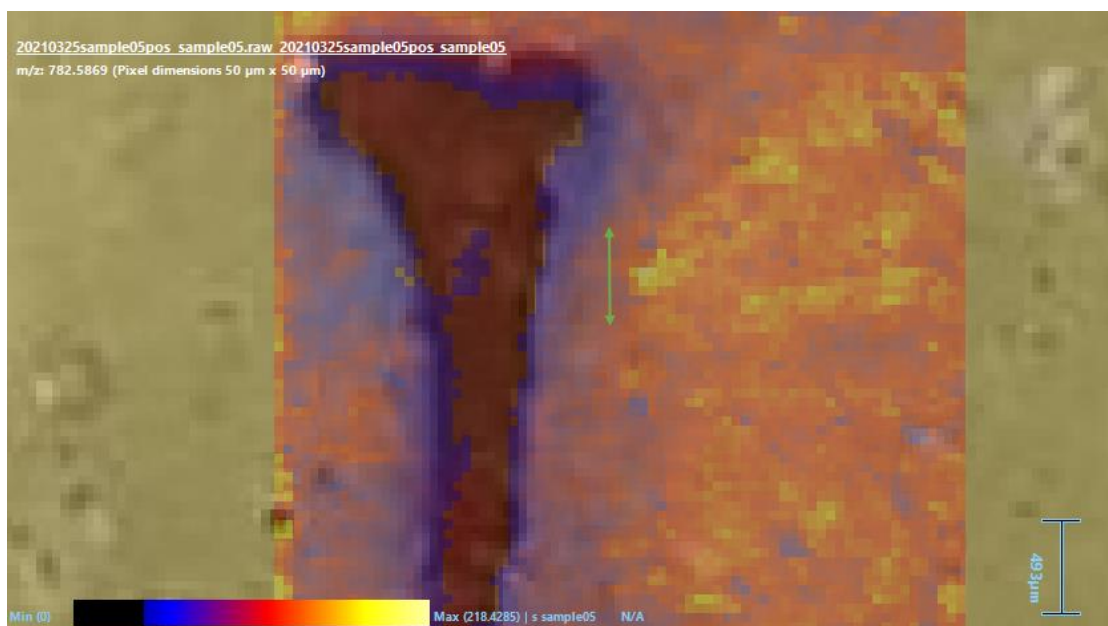
Jako další identifikační ion olejové vrstvy byl vybrán (mimo dalších) ion 577,3384, který se ve vaječném žloutku (červená vrstva) nenachází (Obrázek č. 76).



Obrázek č. 76: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 577,3384, kladný mód

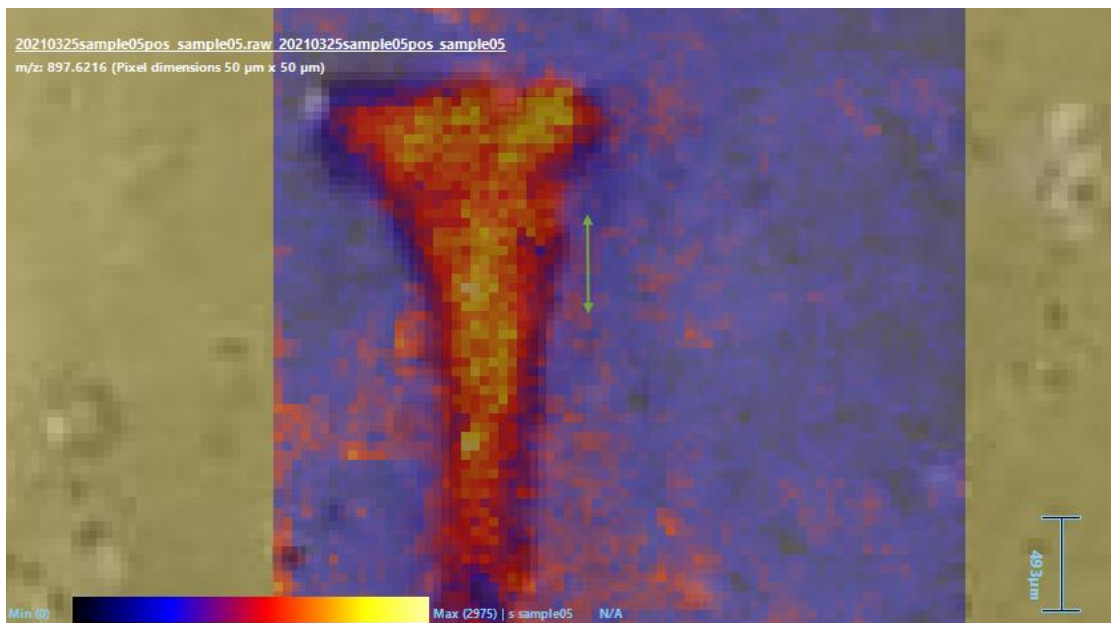
Modelový vzorek č. 5

U vzorku č. 5 byl taktéž vybrán ion 782,5869, který se nachází ve vaječném žloutku (Obrázek č. 77), avšak oproti vzorku č. 4 je součástí vrstvy se žlutým pigmentem. Červená oblast obsahuje OŘ.



Obrázek č. 77: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 782,5869, kladný mód

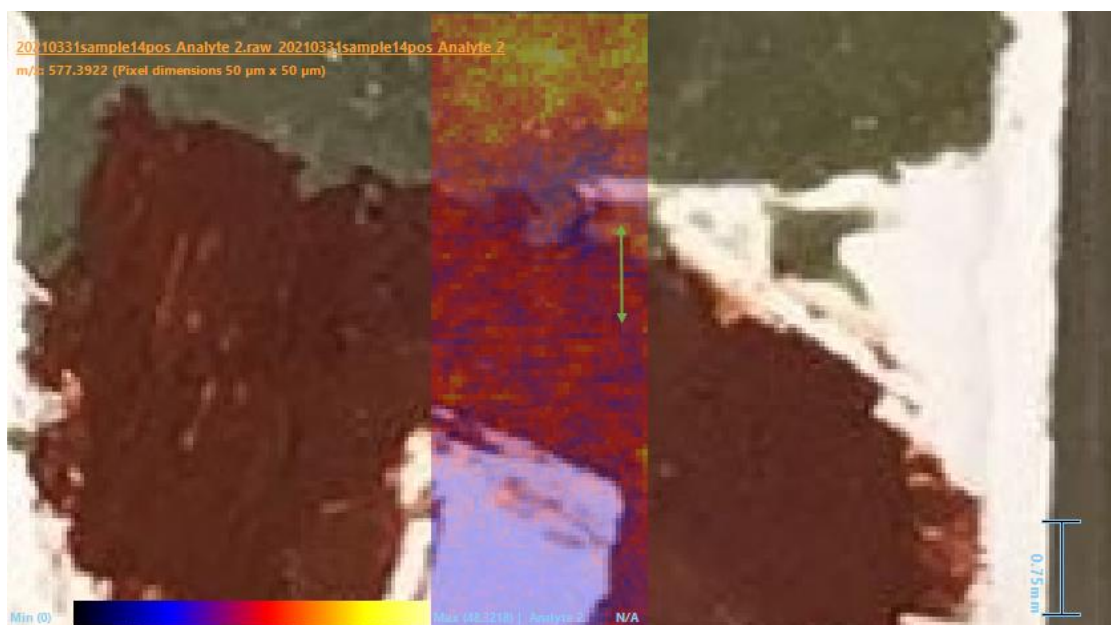
V souvislosti s předchozím obrázkem lze pozorovat ion 897,6216 (Obrázek č. 78), který je typický pro olejová pojiva a nachází se pro změnu v červeném pigmentu.



Obrázek č. 78: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 897,6216, kladný mód

Modelový vzorek č. 14

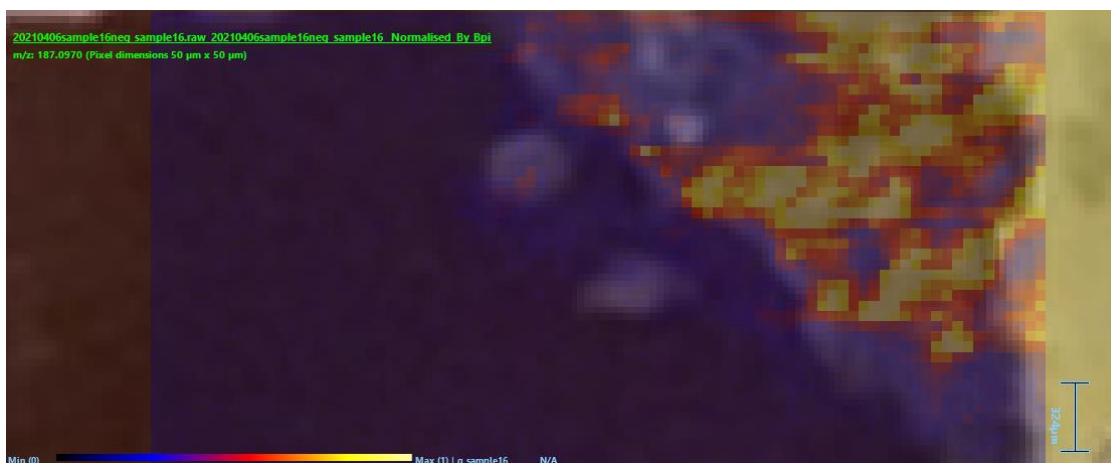
Ve vzorku č. 14 se (stejně jako ve vzorku č. 4) nachází ion 577,3922, a to v obou pojivech (Obrázek č. 79) (v tomto případě LN a OŘ) a v obou použitých pigmentech.



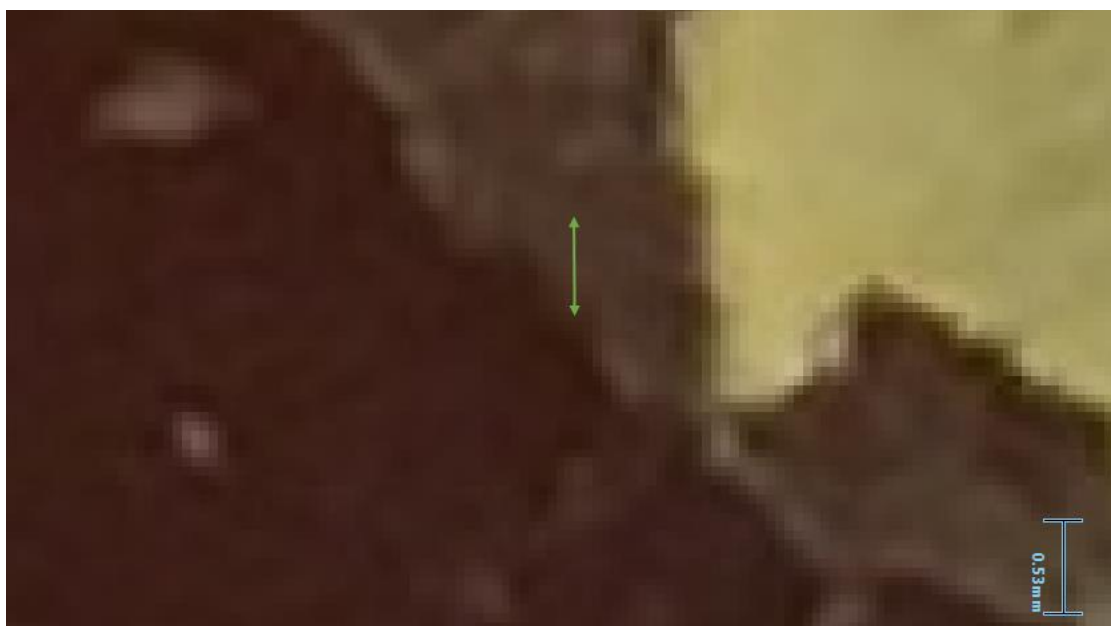
Obrázek č. 79: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 577,3922, kladný mód

Modelový vzorek č. 16

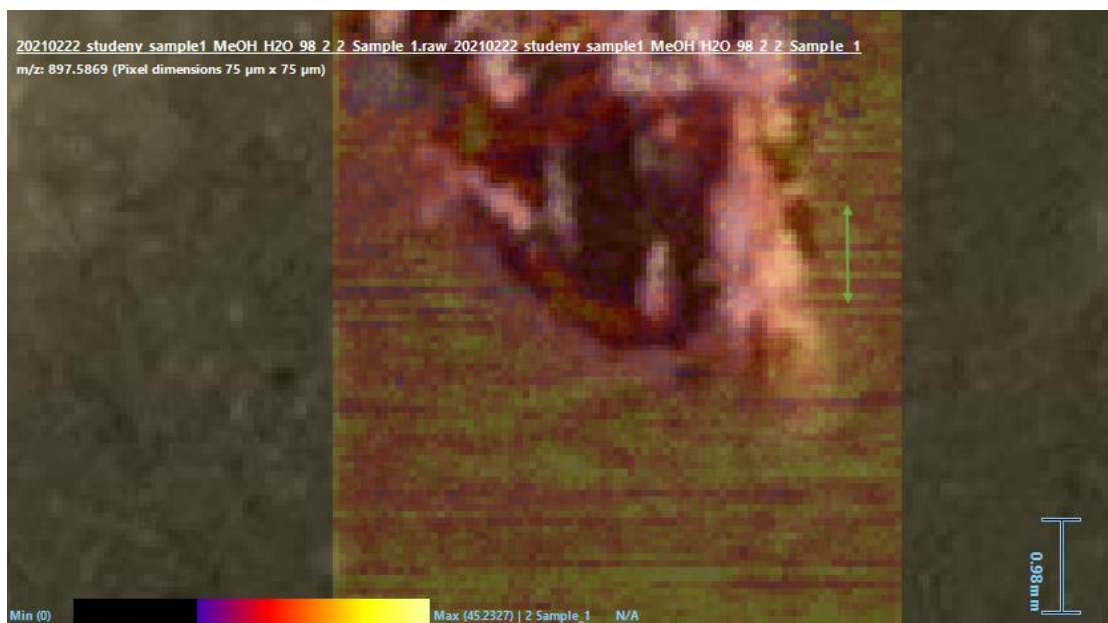
V modelovém vzorku č. 16 se podařilo zobrazit kyselinu azelaovou (Obrázek č. 80), která byla do žluté vrstvy malby přidána jako standard. Obrázek č. 81 je uveden pro lepší orientaci v přechodech jednotlivých vrstev.



Obrázek č. 80: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 187,0970, záporný mód



Obrázek č. 81: Přibližná analyzovaná plocha vzorku č. 16



Obrázek č. 82: Hmotnostně spektrometrické zobrazení pro ion 897,5869, kladný mód, vzorek č. 1

Rovněž pomocí hmotnostně spektrometrického zobrazování se podařilo od sebe úspěšně odlišit olejová pojiva od vaječného žloutku. Na posledním zobrazení (*Obrázek č. 82*) je vzorek č. 1 tvořený olejovými pojivy v obou vrstvách. Lze pozorovat, že pokud se malba nachází v tenké primární vrstvě, dochází patrně v důsledku sorbce pojiv do omítky ke snížení signálu (ion 897 pochází z olejového pojiva a měl by se vyskytovat v obou vrstvách stejnoměrně). Ze zobrazení na *Obrázku č. 78 a 82* lze usoudit, že na pozorování iontu 897 z TAG nemá vliv pigment, ve kterém se nachází. Totéž platí pro identifikační ion 577 (*Obrázek č. 76 a 79*), který je detegovatelný bez ohledu na použitý pigment.

5. ZÁVĚR

Při analýze uměleckých děl se významně uplatňují analytické metody. Pomocí nich je možné umělecký vzorek studovat jako celek nebo na povrchu či v průřezu. Základní přehled možných aplikací analytických metod, které se běžně uplatňují v této oblasti, je zpracován v teoretické části. Ta dokládá, že existuje široká paleta analytických metod používaných při studiu uměleckých děl, při zjišťování použitých pigmentů, barviv, pojiv a dalších složek. Díky komplexnosti vzorku uměleckého díla se analytické metody často kombinují, neboť se vzájemně dobře doplňují. Velký důraz je v této oblasti kladen na neinvazivní postup nebo na minimální odběr vzorku k analýze.

Pro potřeby povrchové analýzy byla v rámci diplomové práce studována hmotnostní spektrometrie s ionizační technikou DESI (Desorption Electrospray Ionization, desorpce a ionizace elektrosprejem). Nejprve byla ověřována vhodnost sprejovací kapaliny pro analýzu modelových vzorků uměleckého. Z celkem osmi běžně používaných sprejovacích kapalin pro desorpční elektrosprej byla na základě použitelnosti v kladném a záporném módu a analytické informace, kterou lze získat, vybrána jedna sprejovací kapalina, a to methanol + voda (98:2). Ta byla využita pro veškeré další analýzy. Při analýze modelových vzorků se ve spektrech objevovaly složky olejových pojiv – triacylglyceroly (TAG) v kladném módu, u vaječného žloutku pak fosfolipidy (FL), a to jak v kladném, tak i záporném módu. Kyselinu palmitovou a stearovou se nepodařilo detegovat z důvodu přítomnosti stejných iontů v čisté omítce. Předmětem této práce nebylo zjistit, o jaké konkrétně TAG a FL se jedná, nicméně v literatuře^[85,86,87] byly nalezeny a popsány tyto možnosti: a) TAG 877,596 [PLL + Na]⁺ nebo [LnLL + H]⁺, 897,746 [LnLnL + Na]⁺, 899,767 [LnLL + Na]⁺, b) FL 760,581 [PC(34:1) + H]⁺, 782,563 [PC(34:1) + Na]⁺, kde P je palmitoyl, L linoleoyl, Ln linolenoyl, PC fosfatidylcholin. U vzorku č. 4, 5, 14 a 16 byl detegován významný degradační produkt – kyselina azelaová, která byla ve spektru ve své deprotonované formě [M-H]⁻. Pomocí hmotnostně spektrometrického zobrazování se úspěšně podařilo odlišit použitá olejová pojiva na základě složek v nich obsažených (TAG) od vaječného žloutku (FL) a taktéž zobrazit degradační produkt kyselinu azelaovou. Z důvodu velmi podobného složení ořechového a lněného oleje se je touto metodou nepodařilo od sebe odlišit. Vhodné by bylo provést analýzu hlavních komponent pro použité oleje, která by mohla napomoci jejich vzájemnému odlišení. To by však vyžadovalo rozsáhlejší soubor

vzorků olejů. Z pohledu povrchového rozlišení hmotnostně spektrometrického zobrazování se jako vhodný kompromis jevílo použití středního rozlišení (50 μm x 50 μm), kdy je dostatečně prokresleno rozhraní vrstev, současně však doba analýzy je kratší než při vysokém rozlišení (25 μm x 25 μm).

Dosažené výsledky demonstrují aplikovatelnost desorpčního elektrospreje při studování olejových pojiv a vaječného žloutku v malbách. Analýza je poměrně rychlá (záleží však na velikosti analyzované oblasti vzorku), provádí se bez jakýchkoliv předúprav vzorku. Na provedenou studii mohou navázat další práce rozšiřující například testované sprejovací kapaliny, zaměřené na další typy pojiv, případně na studium širšího spektra bariv a pigmentů a jejich vlivů na ionizace pojiv.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] <https://clanky.rvp.cz/clanek/c/GVEB/12803/CHEMICKA-ANALYZA-HISTORICKYCH-MATERIALU-A-OBJEKTU-KULTURNIHO-DEDICTVI.html/?print=1>, staženo 5. března 2020
- [2] Nadolny J., The first century of published scientific analyses of the materials of historical painting and polychromy, circa 1780–1880. *Rev Conserv* 4:39–51, 2003.
- [3] Rees-Jones, S. G., Early experiments in pigment analysis. *Stud. Conserv.*, 35:93–101, 1990.
- [4] Plesters J., Cross-sections and chemical analysis of paint samples. *Stud. Conserv.*, 2:110–157, 1956.
- [5] Gilberg M., Friedrich Rathgen: the father of modern archaeological conservation. *J. Am. Inst. Conserv.*, 26:105–120, 1987.
- [6] Kopecká I., Svobodová E., Metody průzkumu historických materiálů
- [7] <http://www.webexhibits.org/pigments/intro/microscopy.html>, staženo 6. srpna 2020.
- [8] Ortega-Avilés M., San-Germán C. M., Mendoza-Amaya D., Morales D., José-Yacamán M., Characterization of mural paintings from Cacaxtla, *J. Mater. Sci.*, 36(9), 2227–2236, 2001
- [9] Křížová I., Stýblová M., Coufalová L., Hynek R., Kučová Š., Analýza organických barviv a pigmentů používaných v uměleckých dílech pomocí laserové desorpční hmotnostní spektrometrie, *Chem. Listy* 108, 604–609, 2014.
- [10] Kirby P. D., Khandekar N., Sutherland K., Price A. B., Applications of laser desorption mass spectrometry for the study of synthetic organic pigments in works of art, *Int. J. Mass. Spectrom.*, 284, 115–122, 2009.
- [11] Napolitano P. M., Conaway P. C. M., Kuo P.-C., Arslanoglu J., Yost A. R., High resolution/accurate mass tandem MS of isotopically complex cluster ions from the artists' pigment lead white, *Int. J. Mass. Spectrom.*, 439, 19–26, 2019.
- [12] Chiavari G., Prati S., Analytical pyrolysis as diagnostic tool in the investigation of works of art, *Chromatographia* 58, 543–554, 2008.
- [13] Volk H., Fuentes D., Fuerbach A., Miese C., Koehler W., Baersch N., Barcikowski S., First on-line analysis of petroleum from single fluid using ultrafast laser ablation, *Org. Geochem.*, 41,74–77, 2010.
- [14] Mazzeo R., Joseph E., Prati S., Millemaggi A., Attenuated total reflection–Fourier transform infrared microspectroscopic mapping for the characterisation of paint cross-sections, *Anal. Chim. Acta*, 599, 107–117, 2007.
- [15] Prati S., Fuentes D., Sciutto G., Mazzeo R., The use of laser pyrolysis–GC–MS for the analysis of paint cross section, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 105, 327–334, 2014.
- [16] Fardi T., Pintus V., Kampasakali E., Pavlidou E., Schrenier M., Kyriacou G., Analytical characterization of artist's paint system based on emulsion polymers and synthetic organic pigments, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 135, 231–241, 2018.
- [17] Chiantore O., Scaroni D., Learner T., Characterization of artists' acrylic emulsion paints, *Int. J. Pol. Anal. Charact.*, 8 67–82, 2003.

- [18] Pintus V., Wei S., Schreiner M., UV ageing studies: evaluation of lightfastness declarations of commercial acrylic paints, *Anal. Bional. Chem.*, 402 1567–1584, 2012.
- [19] Silva M.F., Doménech–Carbó M.T., Osete–Cortina L., Characterization of additives of PVAc and acrylic waterborne dispersions and paints by analytical pyrolysis–GC–MS and pyrolysis–silylation–GC–MS, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 113 606–620, 2015.
- [20] Kearney M., Townsend H. J., Parkin P. I., Hidalgo M., Curran K., Factors affecting the practicality of solid-phase microextraction VOC analysis of artworks featuring polymeric materials in open environment.
- [21] Curran K., Strlic M., Polymers and volatiles : using VOC analysis for the conservation of plastic and rubber objects, *Stud. Conserv.*, 0, 1–14, <https://doi.org/10.1179/2047058413Y.0000000125>, 2014.
- [22] Allen N.S., Edge M., Appleyard J.H., Jewitt T.S., Horie C.V., Francis D., Degradation of historic cellulose triacetate cinematographic film: the vinegar syndrome, *Polym. Degrad. Stab.*, 19, 379–387, [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(89\)90067-0](https://doi.org/10.1016/0141-3910(89)90067-0), 1987.
- [23] Wypych G., Plasticizers use and selection for specific polymers, *Handb. Plast.*, 273–379, <https://doi.org/10.1016/B978-1-895198-50-8.50013-8>, 2004.
- [24] Shinagawa Y., Murayama M., Sakaino Y., Investigation of the archival stability of cellulose triacetate film: the effect of additives to CTA support, *Postprints Polym. Conserv.*, 138–150, 1992.
- [25] Tsang J., Madden O., Coughlin M., Maiorana A., Watson J., Little N.C., Speakman R.J., Degradation of “Lumarith” cellulose acetate: examination and chemical analysis of a salesman's sample kit, *Stud. Conserv.*, 54, 90–105, 2009.
- [26] La Nasa J., Moretti P., Maniccia E., Pizzimenti S., Colombini P. M., Miliani C., Modugno F., Carnazza P., De Luca D., Discovering Giuseppe Capogrossi: Study of the Painting Materials in Three Works of Art Stored at Galleria Nazionale (Rome), *Heritage*, 3(3), 965–984, 2020.
- [27] La Nasa J., Degano I., Modugno F., Colombini P. M., Alkyd paints in art: Characterization using integrated mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 797, 64–80, 2013.
- [28] Levy K. I., Tauil N. R., Valacco P. M., Moreno S., Siracusano G., Maier S. M., Investigation of proteins in samples of a mid-18th century colonial mural painting by MALDI-TOF/MS and LC-ESI/MS (Orbitrap), *Microchem. J.*, 143, 457–466, 2018.
- [29] Zangrandoa R., Piazza R., Cairns L. R. W., Izzo C. F., Vianello A., Zendri E., Gambaro A., Quantitative determination of un-derivatised amino acids in artistic mural paintings using high-performance liquid chromatography/electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta.*, 675, 1–7, 2010.
- [30] De Giacomo A., Dell’Aglia M., Pascale De O., Gaudiuso R., Santagata A., Teghil R., Laser Induced Breakdown Spectroscopy methodology for the analysis of copper-based-alloys used in ancient artworks, *Spectrochim. Acta, Part B.*, 63, 585–590, 2008.
- [31] Howel G.M.E., Art Works Studied Using IR and Raman Spectroscopy, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Second Edition)*, 23–38, 1999.

- [32] Lomax Q.S., Lomax F.J., Graham K.T., Moore T.J.T., Knapp G.C., Historical azo pigments: Synthesis and characterization, *J. of Cultural Heritage*, 35, 218–224, 2019.
- [33] Fontana R., Gambino M.C., Greco M., Marras L., Materazzi M., Pampaloni E., Pelagotti A., Pezzati L., Poggi P., Sanapo C., 2D and 3D optical diagnostic techniques applied to madonna dei fusi by leonardo da vinci, *Proc. SPIE* 5857, 166–176, 2005.
- [34] Dal Fovo A., Striova J., Pampaloni J., Fedele A., Morita M.M., Amaya D., Grazzi F., Cimò M., Cirrincione C., Fontana R., Rubens' painting as inspiration of a later tapestry: Non-invasive analyses provide insight into artworks' history, *Microchem. J.*, 153, 104472, 2020.
- [35] Pięta E., Olszewska-Świetlik J., Paluszkiewicz C., Zajac A., Kwiatek M.W., Application of ATR-FTIR mapping to identification and distribution of pigments, binders and degradation products in a 17th century painting, *Vibrational Spectroscopy*, 103, 102928, 2019.
- [36] Mazzeo R., Joseph E., Prati S., Millemaggi A., Attenuated total reflection–Fourier transform infrared microspectroscopic mapping for the characterisation of paint cross-sections, *Anal. Chim. Acta*, 599, 107–117, 2007.
- [37] Willneff E.A., Ormsby B.A., Stevens J.S., Jaye C., Fischer D.A., Schroader S.L.M., Conservation of artists' acrylic emulsion paints: XPS, NEXAFS and ATR-FTIR studies of wet cleaning methods, *Surf. Interface Anal.* 46, 776–780, 2014.
- [38] De Fonjaudran C.M., Nevin A., Pique F., Cather S., Stratigraphic analysis of organic materials in wall painting samples using micro-FTIR attenuated total reflectance and a novel sample preparation technique, *Anal. Bioanal. Chem.*, 392, 77–86, 2008.
- [39] Rizzo A., Progress in the application of ATR-FTIR microscopy to the study of multilayered cross-sections from works of art, *Anal. Bioanal. Chem.* 392, 47–55, 2008.
- [40] Spring M., Ricci C., Peggie D.A., Kazarian S.G., ATR-FTIR imaging for the analysis of organic materials in paint cross sections: case studies on paint samples from the National Gallery, London, *Anal. Bioanal. Chem.*, 392, 37–45, 2008.
- [41] Lewis L., Sommer A.J., Attenuated total internal reflection microspectroscopy of isolated particles: an alternative approach to current methods, *Appl. Spectrosc.*, 53, 375–380, 1999.
- [42] Anghelone M., Stoystchew V., Jembrih-Simbürger D., Schreiner M., Spectroscopic methods for the identification and photostability study of red synthetic organic pigments in alkyd and acrylic paints, *Microchem. J.*, 139, 155–163, 2018.
- [43] Shabunya-Klyachkovskaya E.V., Kulakovich O.S., Gaponenko S.V., Surface enhanced Raman scattering of inorganic microcrystalline art pigments for systematic cultural heritage studies, *Spectrochim. Acta Part A*, 222, 117235, 2019.
- [44] Caggiani M.C., Cosentino A., Mangone A., Pigment Checker version 3.0, a handy set for conservation scientist: A free online Raman spectra database, *Microchem. J.*, 129, 123–132, 2016.
- [45] Burgio L., Clark R.J.H., Comparative pigment analysis of six modern Egyptian papyri and an authentic one of the 13th century BC by Raman microscopy and other

- techniques, *J. Raman Spectrosc.*, 31, 395–401. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-4555\(200005\)31:53.0.CO;2-E](http://dx.doi.org/10.1002/1097-4555(200005)31:53.0.CO;2-E), 2000.
- [46] Casadio F., Heye E., Manchester K., From the molecular to the spectacular: a statue of Osiris through the eyes of a scientist, a conservator, and a curator, *Mus. Stud.*, 31, 8–15, 2006.
- [47] Ernst R.R., In situ Raman microscopy applied to large Central Asian paintings, *J. Raman Spectrosc.*, 41, 84–275. <http://dx.doi.org/10.1002/jrs.2443>, 2010.
- [48] Trentelman K., Stodulski L., Pavlosky M., Characterization of pararealgar and other light-induced transformation products from realgar by Raman microspectroscopy, *Anal. Chem.*, 68, 61–1775, <http://dx.doi.org/10.1021/ac951097o>, 1996.
- [49] Forneris R., The infrared and Raman spectra of realgar and orpiment, *Am. Mineral*, 54, 74–1062, 1969.
- [50] Vermeulen M., Saverwyns S., Coudray A., Janssens K., Sanyova J., Identification by Raman spectroscopy of pararealgar as a starting material in the synthesis of amorphous arsenic sulfide pigments, *Dyes Pigm.*, 149, 290–297, 2018.
- [51] Longoni M., Feschi A., Cicala N., Bruni S., Non-invasive identification of synthetic organic pigments in contemporary art paints by visible–excited spectrofluorimetry and visible reflectance spectroscopy, *Spectrochim. Acta, Part A*, 229, 1–11, 117907, 2020.
- [52] Gulmini M., Idone A., Diana E., Gastaldi D., Vaudan D., Aceto M., Identification of dyestuffs in historical textiles: strong and weak points of a non-invasive approach, *Dyes Pigm.*, 98, 136–145, 2013.
- [53] Zaffino C., Bertagna M., Guglielmi V., Dozzi M.V., Bruni S., In-situ spectrofluorimetric identification of natural red dyestuffs in ancient tapestries, *Microchem. J.*, 139, 77–82, 2018.
- [54] Solís C., Mondragón M.A., Isaac-Olivé K., Gleason R., Pina C., Sánchez del Río M., Rocha M., López-Aguilar F., Multianalytical characterization of a blue pigment used in art-crafts from Central Mexico, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B*, 266, 1411–1415, 2008.
- [55] Rizzutto M.A., Moro M.V., Silva T.F., Trindade G.F., Added N., Tabacniks M.H., Kajija E.M., Campos P.H.V, Magalhães A.G., Barbosa M., External-PIXE analysis for the study of pigments from a painting from the Museum of Contemporary Art, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B*, 332, 411–414, 2014.
- [56] Goltz D.M., Coombs J., Marion C., Cloutis E., Gibson J., Attas M., Choo-Smith L.-P., Collins C., Pigment identification in artwork using graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 63, 609–614, 2004.
- [57] Wagner B., Kępa L., Dontena M., Wrzosek B., Żukowski G.Z., Lewandowska A., Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry appointed to subserve pigment identification, *Microchem. J.*, 146, 279–285, 2019.
- [58] Pospíšilová E., Hradil D., Holá M., Hradilová J., Novotný K., Kanický V., Differentiation of clay-based pigments in paintings by means of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Spectrochim. Acta, Part B*, 158, 105639, 2019.

- [59] Leona M., Bacci M., Casadio F., Marcello P., Identification of the Pre-Columbian Pigment Maya Blue, *J. Am. Inst. Conserv.*, 43(1), 39–54, 2004.
- [60] Maguregui M.I., Alonso R.M., Barandiaran M., Jimenez R.M., García N., Micellar electrokinetic chromatography method for the determination of several natural red dyestuff and lake pigments used in art work, *J. Chromatogr. A*, 1154, 429–436, 2007.
- [61] Gaetani C., Gheno G., Borroni M., De Wael K., Moretto L.M., Ugo P., Nanoelectrode ensemble immunosensing for the electrochemical identification of ovalbumin in works of art, *Electrochim. Acta*, 312, 72–79, 2019.
- [62] Javanshad R., Venter A.R., Ambient ionization mass spectrometry: real-time, proximal sample processing and ionization, *Anal. Methods*, 34(9), 2017.
- [63] Li L., Hsieh H., Hsu C., Clinical Application of Ambient Ionization Mass Spectrometry, *Mass Spectrometry* 6(2), 1–12, 2017.
- [64] Monge M.E, Fernández F.M., Ambient Ionization Mass Spectrometry, 1–22, ISBN: 978-1-78262-802-6, 2014.
- [65] McEwen C.N., McKay R.G., Larsen B.S., Analysis of Solids, Liquids, and Biological Tissues Using Solids Probe Introduction at Atmospheric Pressure on Commercial LC/MS Instruments, *Anal. Chem.*, 77(23), 7826–7831, 2005.
- [66] Barrere C., Maire F., Afonso C., Giusti P., Atmospheric Solid Analysis Probe–Ion Mobility Mass Spectrometry of Polypropylene, *Anal. Chem.*, 84, 9349–9354, 2012.
- [67] Tose L.V., Murgu M., Vaz B.G, Romão W., Application of Atmospheric Solids Analysis Probe Mass Spectrometry (ASAP-MS) in Petroleomics: Analysis of Condensed Aromatics Standards, Crude Oil, and Paraffinic Fraction, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 28(11), 2401–2407, 2017.
- [68] [https://www.selectscience.net/products/atmospheric-solids-analysis-probe-\(asap\)?prodID=196078](https://www.selectscience.net/products/atmospheric-solids-analysis-probe-(asap)?prodID=196078), staženo 7. srpna 2020.
- [69] McEwen C.N., Atmospheric-Pressure Solid Analysis Probe (ASAP). In *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (eds R. A. Meyers and R. A. Meyers).doi:10.1002/9780470027318.a9045, USA, 2010.
- [70] Ferrerio-Gonzales M., Ayuso J., Álvarez J. A., Palma M., Application of HS-MS for the detection of ignitable liquids from fire debri, *Talanta*, 142, 150–156, 2015.
- [71] Ranc V., Havlíček V., Bednář P., Lemr K., Desorpční elektrosprej: Moderní metoda analýzy organických povrchů, *Chem. Listy*, 101, 524–529, 2007.
- [72] https://en.wikipedia.org/wiki/Desorption_electrospray_ionization#/media/File:DESI_ion_source.jpg, staženo 7. srpna 2020.
- [73] HARTMANOVÁ, L., Vývoj a aplikace desorpčního nanoelektrospreje. Olomouc, disertační práce (Ph.D.), UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI, Přírodovědecká fakulta, 2014.

- [74] DePhillips H., Talcott S., The application of Analytical Techniques in Art Conservation, dostupné na: https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:CwayvO_TaBYJ:https://www.culturalheritage.org/docs/default-source/annualmeeting/2015am_poster_1.pdf%3Fsfvrsn%3D2+&cd=2&hl=cs&ct=clnk&gl=cz&client=firefox-b-d
- [75] Watts K.E., Lagalante A., Method Development for Binding Media Analysis in Painting Cross-Sections by Desorption Electrospray Ionization-Mass Spectrometry (DESI-MS), *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 32(16), 1324–1330, 2018.
- [76] Zhou Z., Shen L., Wang N., Ren X., Yang J., Shi Y., Zhang H., Identification of Organic Materials Used in Gilding Technique in Wall Paintings of Kizil Grottoes, *Chem. Sel.*, 5(2), 818–822, 2020.
- [77] Liu Y., Ma X., Lin Z., He M., Han G., Yang C., Xing Z., Zhang S., Zhang X., Imaging Mass Spectrometry with a Low-Temperature Plasma Probe for the Analysis of Works of Art, *Angew. Chem. Ed.* 49, 4435–4437, 2010.
- [78] Schedl A., Zweckmair T., Kikul F., Henniges U., Rosenau T., Potthast A., Aging of paper – Ultra-fast quantification of 2,5-dihydroxyacetophenone, as a key chromophore in cellulosic, by reactive paper spray-mass spectrometry, *Talanta*, 167, 672–680, 2017.
- [79] Hoogland F.G., Boon J.J., Analytical mass spectrometry of poly(ethylene glycol) additives in artists' acrylic emulsion media, artists' paints, and microsamples from acrylic paintings using MALDI-MS and nanospray-ESI-MS, *Int. J. Mass Spectrom.*, 284, 72–80, 2009.
- [80] Tirat S., Degano I., Echard J-P, Lattuati-Derieux A., Lluveras-Tenorio A., Marie A., Serfaty S., Huerou J-Y, Historical linseed oil/colophony varnishes formulation: Study of their molecular composition with micro-chemical chromatographic techniques, *Microchem. J.*, 126, 200–213, 2016.
- [81] Schiller J., Süß R., Petković M., Arnold K., Thermal stressing of unsaturated vegetable oils: effects analysed by MALDI-TOF mass spectrometry, ^1H and ^{31}P NMR spectroscopy, *Eur Food Res Technol*, 215, 282–286, 2002.
- [82] http://www.t3db.ca/spectra/ms_ms/4665, staženo 7. dubna 2021.
- [83] Wishart D., Arndt D., Pon A., Sajed T., Guo AC., Djoumbou Y., Knox C., Wilson M., Liang Y., Grant J, Liu Y., Goldansaz SA., Rappaport SM., T3DB: the toxic exposome database, *Nucleic Acids Res.*, 43(Database issue):D928-34, 2015.
- [84] Lim E., Pon A., Djoumbou Y., Knox C., Shrivastava S., Guo AC., Neveu V., Wishart DS. T3DB: a comprehensively annotated database of common toxins and their targets. *Nucleic Acids Res.*, 38(Database issue):D781-6, 2010.
- [85] Calvano C. D., van der Werf I. D., Palmisano F., Sabbatini L., Fingerprinting of egg and oil binders in painted artworks by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry analysis of lipid oxidation by-products, *Anal. Bioanal. Chem.*, 400, 2229–2240, 2011.
- [86] Zhao Y-Y., Xiong Y., Curtis M. J., Measurement of phospholipids by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry:

The determination of choline containing compounds in foods, *J. Chromatogr. A*, 1218, 5470–5479, 2011.

- [87] Cífková E., Holčapek M., Lísa M., Ovčáčíková M., Lyčka A., Lynen F., Sandra P., Nontargeted Quantitation of Lipid Classes Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Mass Spectrometry with Single Internal Standard and Response Factor Approach, *Anal. Chem.*, 84, 10064–10070, 2012.

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

- ASAP** – atmospheric solids analysis probe, sonda pro analýzu vzorku za atmosférického tlaku
- ATR** – attenuated total reflection, zeslabený totální odraz
- DAG** – diacylglycerol, diacylglycerol
- DART** – direct analysis in real-time, přímá analýza v reálném čase
- DESI** – desorption electrospray ionization, desorpce a ionizace elektrosprejem
- EDS** – energy dispersive spectrometry, energiově disperzní spektrometrie
- EPR** – electron paramagnetic resonance, elektronová paramagnetická rezonance
- FL** – fosfolipidy
- FT-IR** – Fourier transform-infrared spectroscopy, infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
- GC** – gas chromatography, plynová chromatografie
- GFAAS** – graphite furnace atomic absorption spectrometry, atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
- HREM** – high resolution electron microscopy, elektronová mikroskopie s vysokým rozlišením
- HPLC** – high-performance liquid chromatography, vysokoúčinná kapalinová chromatografie
- IMS** – imaging mass spectrometry, zobrazovací hmotnostní spektrometrie
- SPME** – solid-phase microextraction, mikroextrakce tuhou fází
- ICP** – inductively coupled plasma, indukčně vázané plazma
- LA** – laser ablation, laserová ablace
- LaPy** – laser pyrolysis, pyrolýza laserem
- LDMS** – laser desorption mass spectrometry, laserová desorpční hmotnostní spektrometrie
- LIBS** – laser induced breakdown spectroscopy, spektroskopie laserem buzeného plazmatu
- LN** – lněný olej
- LTP** – low temperature plasma, nízkoteplotní plazma
- LTQ** – linear trap quadrupole, lineární kvadrupólová past
- MEKC** – micellar electrokinetic chromatography, micelární elektrokinetická chromatografie
- nanoDESI** – desorption nanoelectrospray ionization, desorpční nanoelektrosprejem
- nanoESI** – nano-electrospray ionization, ionizace nanoelektrosprejem
- OŘ** – ořechový olej
- PIXE** – particle induced X-Ray emission, částicemi indukovaná rentgenová emise
- PSI** – paper spray ionization, ionizace papírovým sprejem

RTG – rentgen, rentgenová

SEM – scanning electron microscopy, skenovací elektronová mikroskopie

SERS – surface-enhanced Raman scattering, povrchem zesílený Ramanův rozptyl

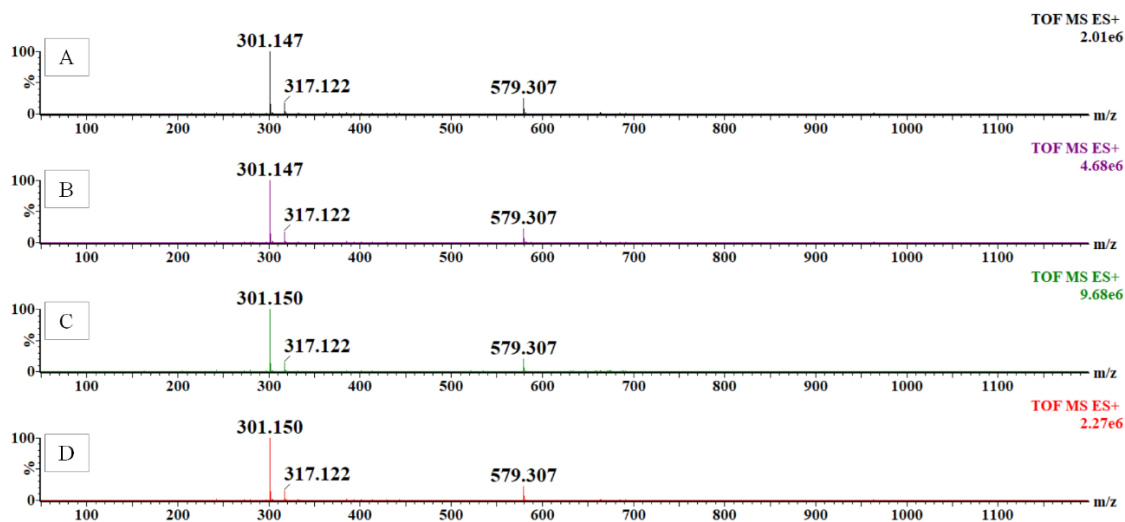
TAG – triacylglycerol, triacylglycerol

UV/VIS – ultraviolet/visible spectroscopy, spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti spektra

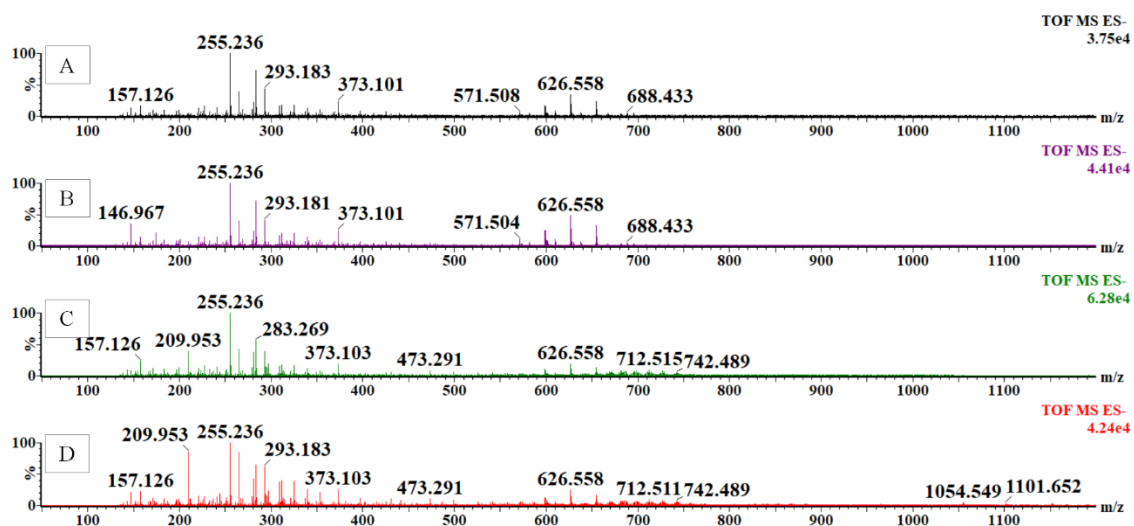
XRD – X-Ray Diffraction, rentgenová difrakce

PŘÍLOHY

Methanol

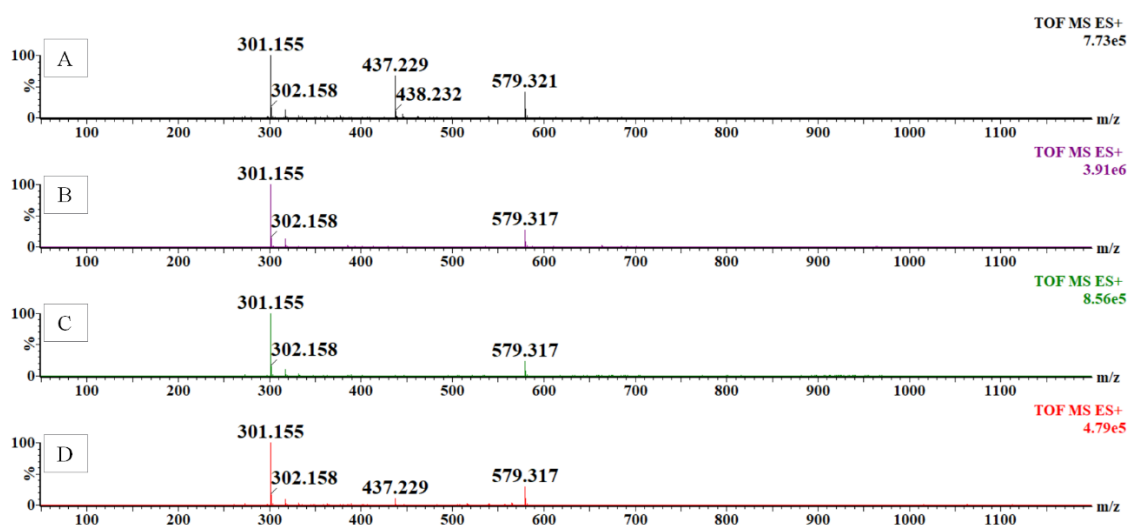


Obrázek č. I: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

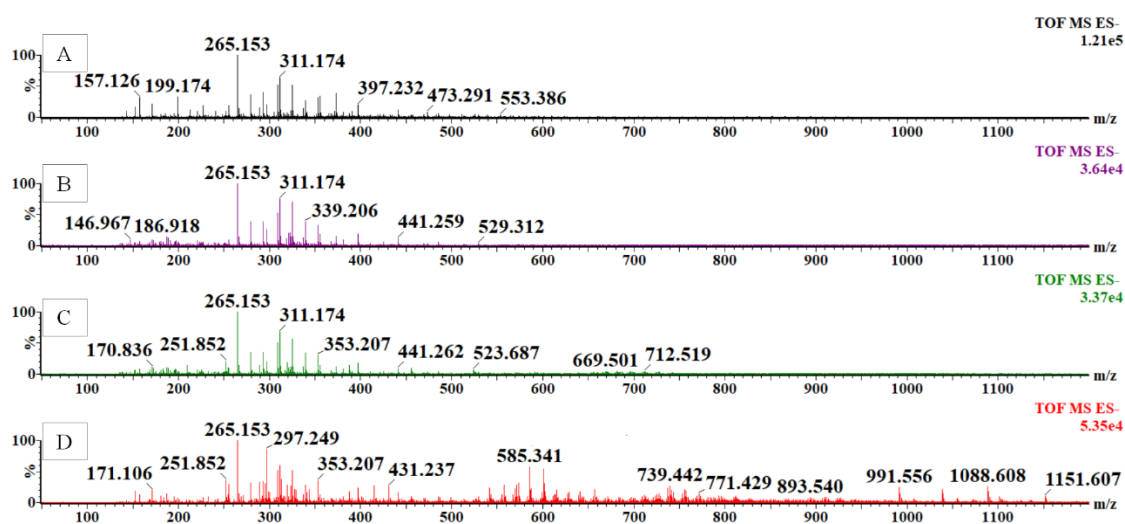


Obrázek č. II: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol/voda (1:1)

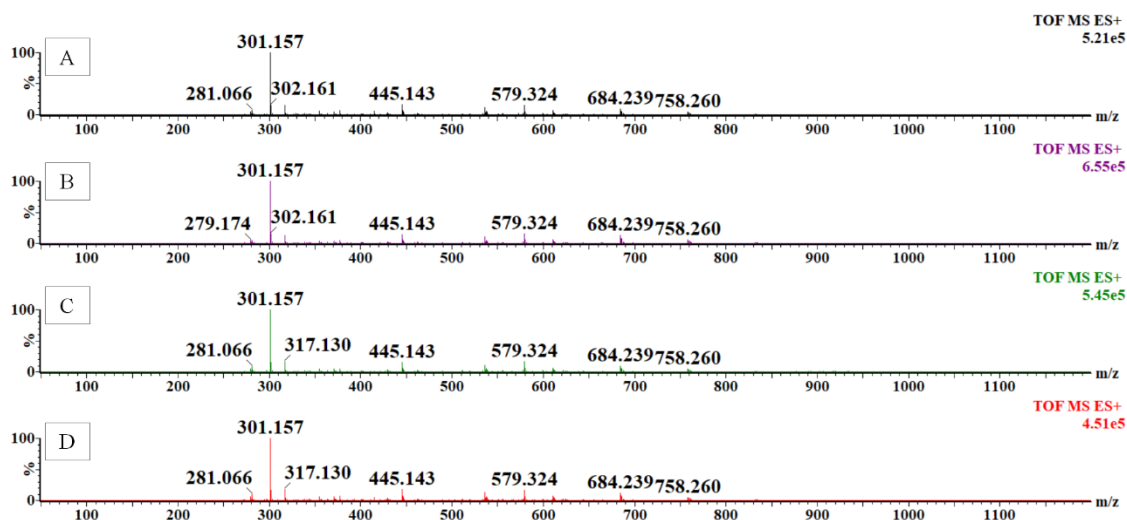


Obrázek č. III: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

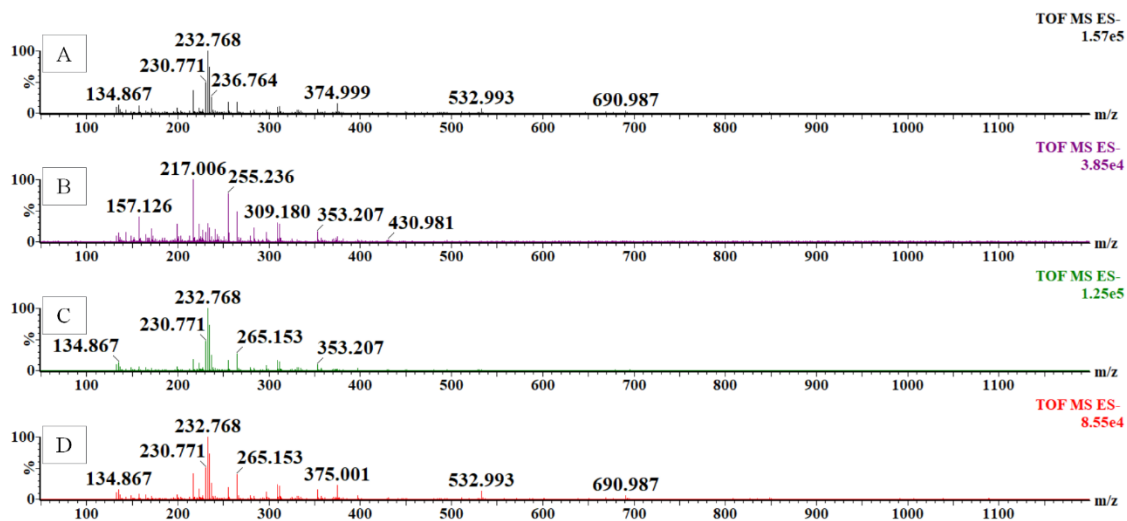


Obrázek č. IV: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol/voda + 5 mmol octan amonný

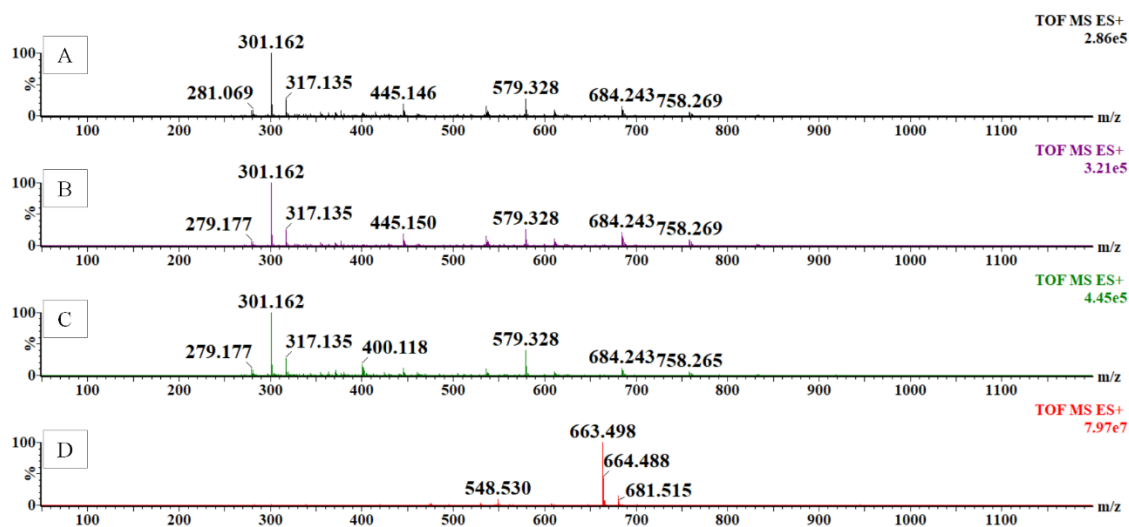


Obrázek č. V: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

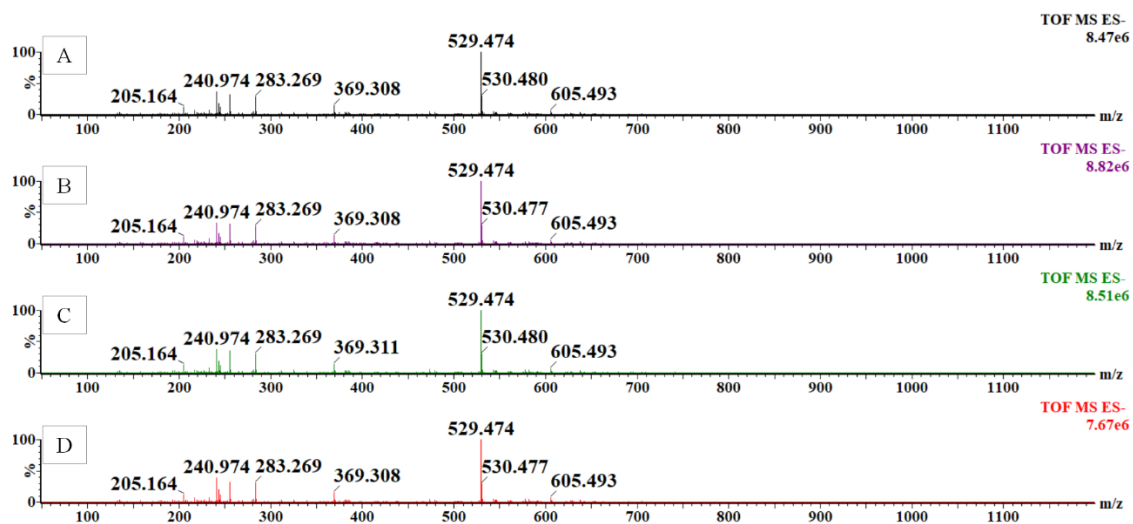


Obrázek č. VI: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol/trichlormethan (3:1)

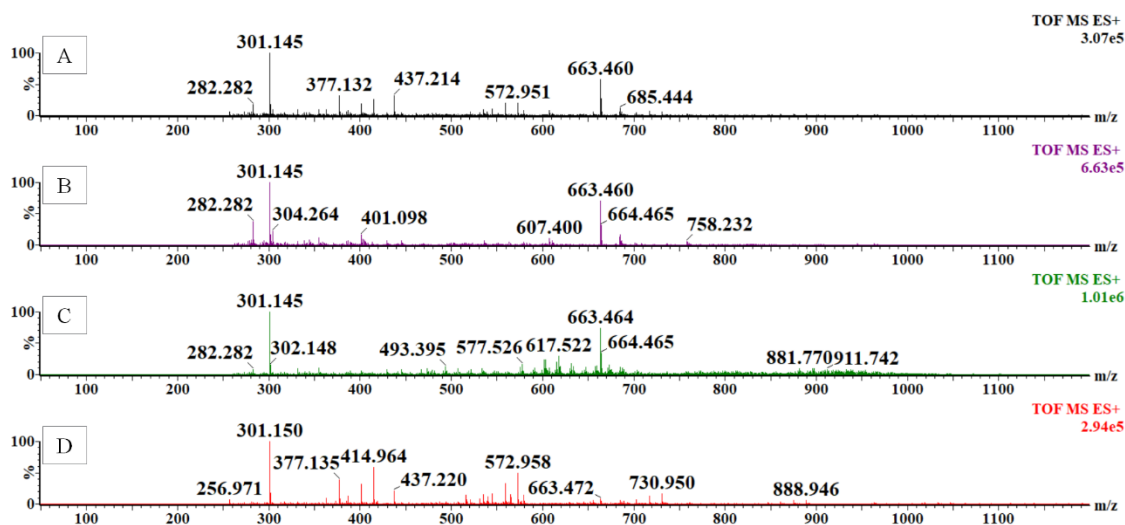


Obrázek č. VII: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

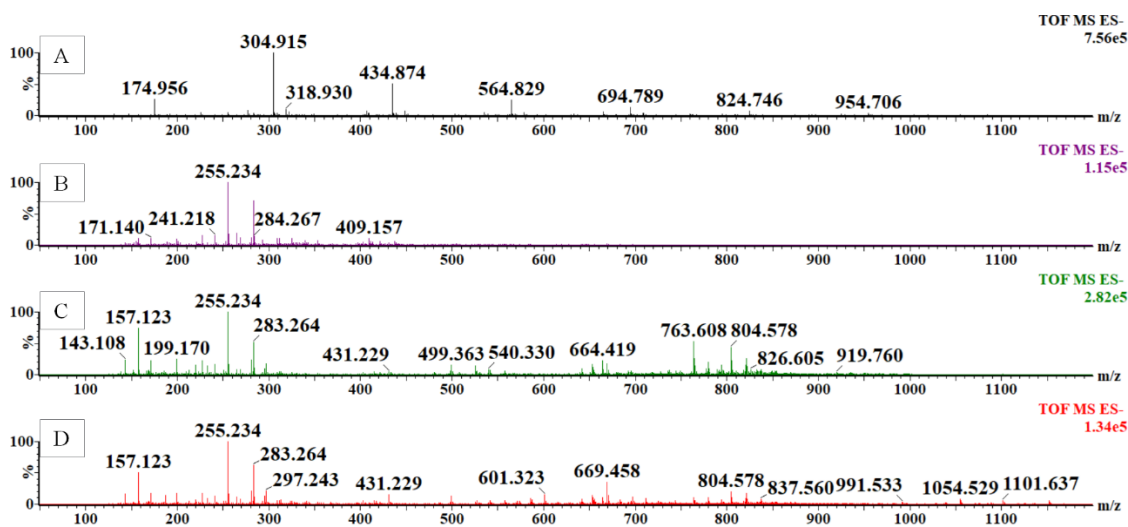


Obrázek č. VIII: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol/voda (98:2)

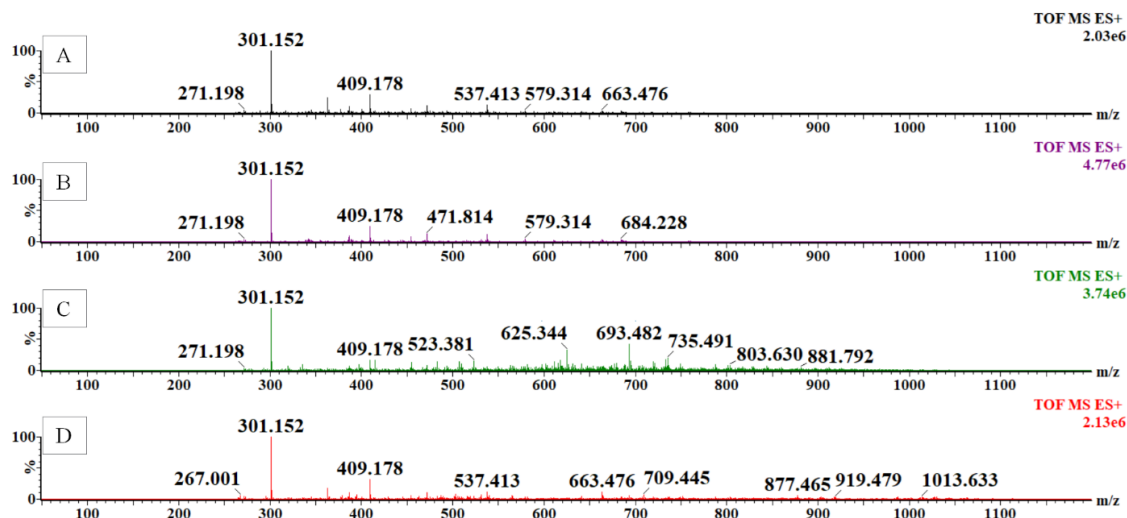


Obrázek č. IX: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

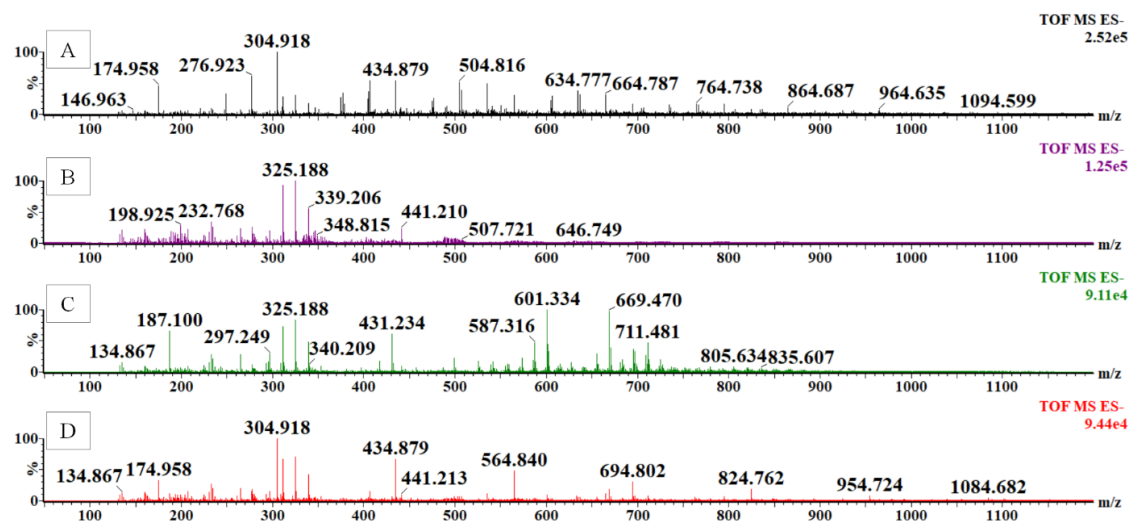


Obrázek č. X: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol + 0,01 % kyselina mravenčí

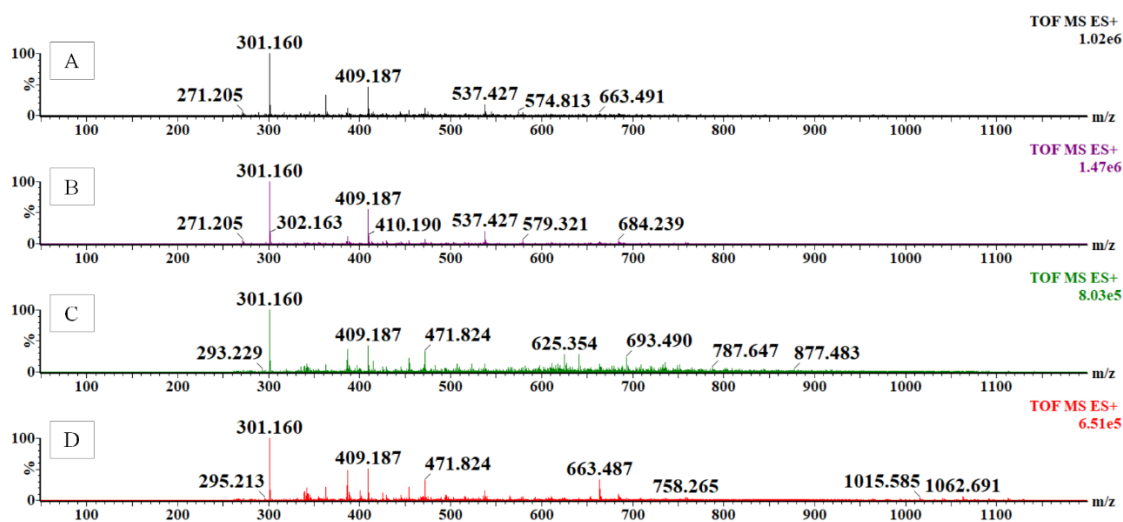


Obrázek č. XI: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

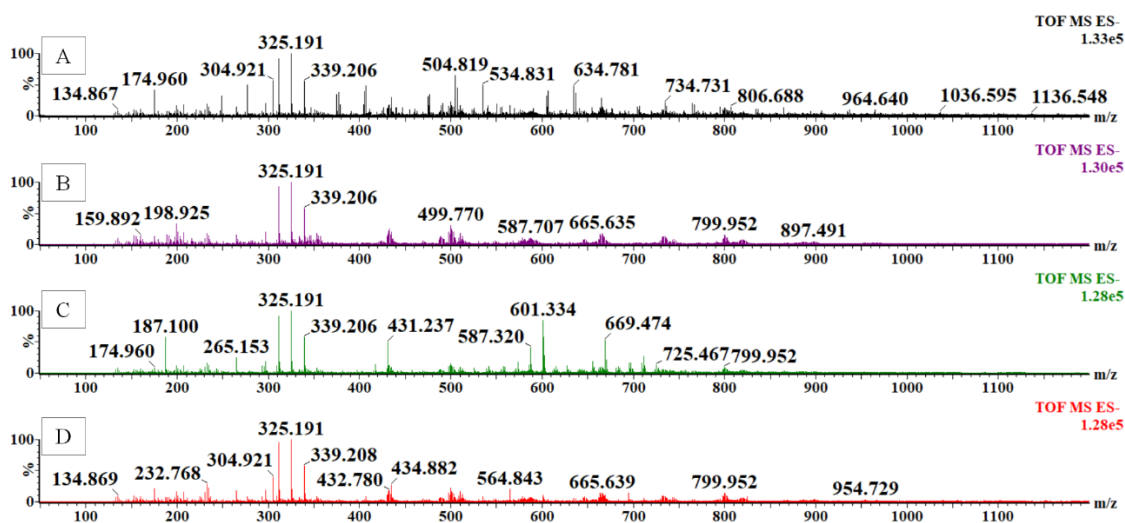


Obrázek č. XII: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol/voda (98:2) + 0,01 % kyseliny mravenčí

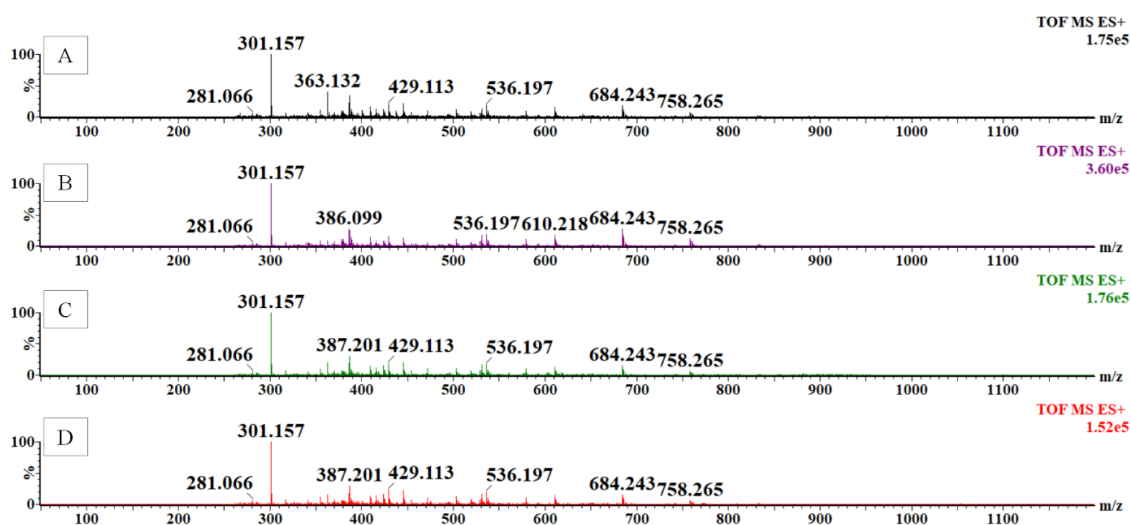


Obrázek č. XIII: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód

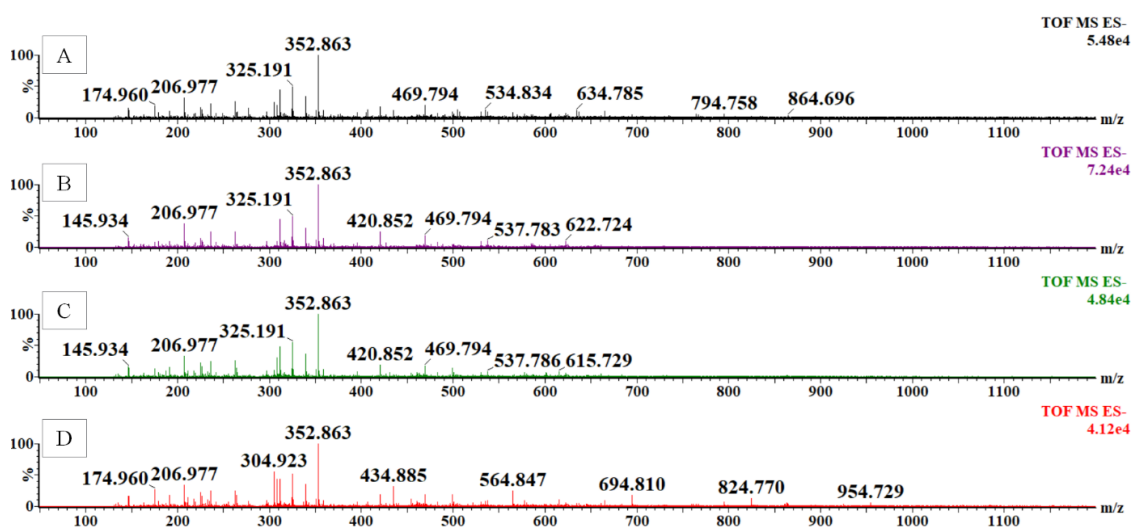


Obrázek č. XIV: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód

Methanol/voda (1:1) + 0,01 % kyseliny mravenčí



Obrázek č. XV: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, kladný mód



Obrázek č. XVI: DESI-MS: A) čistá omítka, B) slepý pokus – DESI podklad, C) žlutý pigment + OŘ, D) červený pigment + LN, záporný mód