

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie



Změny organických barviv v historických materiálech

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Dominik Halman
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Chemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	prof. RNDr. Karel Lemr, Ph.D.
Konzultant:	Mgr. Štěpán Dostál
Rok:	2022

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora: Dominik Halman

Název práce: Změny organických barviv v historických materiálech

Typ práce: bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

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

Konzultant: Mgr. Štěpán Dostál

Rok odevzdání práce: 2022

Anotace:

Barva představuje důležitou vlastnost historických materiálů, v obrazech ji vyvolávají především pigmenty, naopak textilie jsou obarveny organickými barvivy. Nejdůležitější skupiny organických barviv v historických textiliích jsou anthrachinony, indigoidy, flavonoidy a taniny. Tato barviva však podléhají nežádoucí degradaci vlivem velkého množství faktorů, což způsobuje např. blednutí textilie. Při degradaci vznikají charakteristické degradační produkty barviv. Jejich analýza může sloužit k identifikaci původního barviva a poznání degradačních procesů, což je důležité pro ochranu cenných historických předmětů. V této práci je testována ozonolýza k degradaci alizarinu, purpurinu a indigotinu. K nedestruktivnímu měření byla využita Ramanova a infračervená spektrometrie. Pro destruktivní měření vzorků barviv byla využita iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií, dle literární rešerše vůbec poprvé k analýze alizarinu a purpurinu.

Klíčová slova: barviva, alizarin, purpurin, indigotin, umělecké dílo, umělé stárnutí, ozonolýza, iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií, Ramanova spektrometrie, infračervená spektrometrie

Počet stran: 58

Počet příloh: 3

Jazyk: český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Dominik Halman

Title: Changes of organic dyes in historical materials

Type of thesis: bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

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

Consultant: Mgr. Štěpán Dostál

The year of submission: 2022

Annotation:

Colour represents a significant feature of historical materials. Pigments are typically used in wall paintings, whereas textiles are dyed with organic dyes. The most prominent classes of organic dyes in historical textiles are anthraquinones, indigoids, flavonoids and tannins. These dyes undergo undesirable degradation caused by a large variety of factors, which results in the fading of textile. Characteristic degradation products are formed. Their analysis can be useful in identifying the used dye and understanding the degradation processes which is important for the protection of valuable historical artefacts. Ozonolysis was tested to degrade alizarin, purpurin and indigotin. Raman and Infrared spectrometry were utilized as nondestructive methods. As destructive method, ion mobility with mass spectrometry was employed for the analysis of dyes' samples, to the best knowledge for the first time in the analysis of alizarin and purpurin.

Keywords: dyes, alizarin, purpurin, indigotin, artwork, artificial aging, ozonolysis, ion mobility with mass spectrometry, Raman spectrometry, infrared spectrometry

Number of pages: 58

Number of appendices: 3

Language: Czech

Prohlášení:

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

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

V Olomouci

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych touto cestou poděkoval svému vedoucímu bakalářské práce, prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph. D., za jeho trpělivost, cenné rady, pomoc při vypracování a veškerý čas, který věnoval mé práci. Dále bych rád poděkoval svému konzultantovi, Mgr. Štěpánu Dostálovi, za rady a odborný přístup při zpracování experimentální část. Děkuji také M.Sc. Marianně Nytko za její ochotu, čas a cenné připomínky při zpracování experimentů iontové mobility s hmotnostní spektrometrií. Poděkování taktéž patří RNDr. Tomáši Pluháčkovi, Ph.D. za poskytnutí přístupu k přístroji SYNAPT G2-S.

V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za podporu při průběhu bakalářského studia.

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1. Pigmenty a barviva v historických materiálech	9
2.1.1. Historický přehled barvicích složek.....	9
2.1.2. Chemická podstata barevnosti látek.....	10
2.1.3. Klasifikace barvicích složek	12
2.2. Pigmenty v historických materiálech	13
2.3. Organická barviva používaná v historických materiálech	15
2.3.1 Nejdůležitější organická barviva historie.....	15
2.3.2. Aplikace organických barviv na textil	21
2.4. Degradace organických barviv v historických materiálech	23
2.5. Analytické metody pro analýzu organických barviv v historických materiálech	25
2.5.1. Odběr a příprava vzorků.....	25
2.5.2. Přehled instrumentálních metod pro analýzu barviv v historických materiálech.....	26
2.5.3 Sledování degradačních produktů barviv pomocí instrumentálních metod	27
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
3.1. Přístroje a pomůcky	29
3.2. Použité chemikálie	29
3.3. Pracovní postup	29
3.3.1. Příprava standardních roztoků barviv	29
3.3.2. Příprava sklíček s barvivy	30
3.3.3. Umělá degradace modelových vzorků pomocí ozonolýzy.....	30
3.3.4. Měření modelových vzorků pomocí Ramanovy a infračervené spektrometrie.....	30
3.3.5. Příprava pracovních roztoků pro iontovou mobilitu s hmotnostní spektrometrií.....	32
3.3.6. Měření modelových vzorků pomocí iontové mobility s hmotnostní spektrometrií	32
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	35
4.1. Výsledky z měření Ramanovou a infračervenou spektrometrií	35
4.1.1 Degradace alizarinu.....	35
4.1.2. Degradace purpurinu	38
4.1.3. Degradace indigotinu	40
4.2. Výsledky z měření iontové mobility s hmotnostní spektrometrií	41
4.2.1. Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie alizarinu.....	41

4.2.2. Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie purpurinu	47
4.2.3. Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie indigotinu	50
5. ZÁVĚR	55
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	57
7. LITERATURA	59
8. PŘÍLOHY	66
8.1 Ramanova spektra standardů	66
8.2 Infračervená spektra standardů	67
8.3. Iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií pro nečistotu (purpurin)	69

1. ÚVOD

Barva představuje důležitou součást lidského vjemu, umožňující vyjadřovat či vyvolávat emoce. Každé barvě jsou historicky a kulturně připisovány určité vlastnosti, např. černá barva obvykle představuje smutek či smrt, bílá barva bývá považována za symbol míru a čistoty, naopak červená barva symbolizuje násilí či teplo. Umělci si po celá staletí byli vědomi této schopnosti barev a snažili se ji využívat. Volbou správné kombinace a kompozice barev se pokoušeli zachytit své prchavé emoce či vyvolávat emoce u obdivovatelů uměleckých děl. Barva, jako každý lidský vjem, má svůj původ. Barvu uměleckým dílům zapůjčují pigmenty a organická barviva. Tyto látky však podléhají nežádoucí degradaci způsobující změnu samotné barvy. Aby dílo vypadalo stále stejně a neztrácelo s časem na své kvalitě a vzhledu, je nutné díla skladovat ve vhodných podmínkách. Každý z nás si jistě pamatuje téměř nedýchatečný vzduch v muzeích, který by měl zpomalit či zamezit předčasnou degradaci předmětu. Přes všechny tyto pokusy jsou však po určité době potřebné vnější zásahy restaurátorů. K tomu je nezbytná znalost barvicí složky použité autorem a míra jeho degradace. K tomuto účelu je využívána široká paleta analytických metod.

V předkládané práci jsou kombinovány nedestruktivní Ramanova a infračervená spektrometrie s destruktivní hmotnostní spektrometrií. Ta je navíc spojena s iontovou mobilitou, což je v oblasti materiálové analýzy kulturního dědictví zatím omezeně využívaná technika. Na vzorcích samotných organických barviv a barviv vystavených působení ozonu bylo ověřováno použití uvedených technik, především s cílem posoudit vhodnost spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií pro uvedený typ analýz. Rozšiřování portfolia analytických technik využívaných při zkoumání o ochraně uměleckých děl, jako důležité součásti lidské kultury, přispívá k jejich zachování pro budoucnost.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Pigmenty a barviva v historických materiálech

2.1.1. Historický přehled barvicích složek

Barvy vždy byly důležitou součástí lidského života, a to již od samotného počátku lidské civilizace. První náznaky cíleného využívání barev vidíme již v pravěku, kdy lidé využívali extrakty z rostlin, kořenů, semen, lišejníků, bobulí a rozdrcené měkkýše či hmyz. Používané byly anorganické pigmenty získané rozdrcením minerálů na jemný prášek, který byl poté smíchán s pojivem. Jednalo se o okry (především oxidy železa) poskytující červenou, žlutou nebo hnědou barvu.^[1-3] Pro získání bílého či černého pigmentu bylo využíváno pálení kostí, kdy při nepřístupu vzduchu je produkována kostní čern, naopak při aerobních podmínkách vzniká kostní běloba.^[3] Tyto přírodní barvy se využívaly k zdobení těla, barvení oblečení a k vytváření jeskynních maleb.^[1, 2]

Ve starověku můžeme pozorovat rozmach barvířství, objevuje se první syntetický pigment, tzv. Egyptská modř ($\text{CaCuSi}_4\text{O}_{10}$). Využití se dostává vysoce toxickým nerostům arsenu a síry – zlatožlutý auripigment (As_2S_3) a oranžový realgar (As_4S_4). Dále se využívají nerosty mědi – zelený malachit a modrý azurit. Přichází cílená produkce olovnaté běloby ($2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$) reakcí olova s párami kyseliny octové a oxidem uhličitým.^[3] Přichází nová organická rostlinná barviva, jako jsou indigo, poskytující tmavě modrou barvu. Na trhu se objevuje týrský (císařský) purpur, fialové barvivo extrahované ze schránek měkkýšů. Toto barvivo se díky své náročné a drahé výrobě stalo symbolem bohatství a moci po desítky století.^[2,3] Důležitým zdrojem červeného barviva se stávají červeci. Z rostlinných zdrojů červených barviv je třeba zmínit evropskou rostlinu mořenu barvířskou (*Rubia tinctorium*) či jihoamerický strom sapan ježatý (*Paubrasilia echinata*).^[3]

Uměle připravená organická barviva byla poprvé syntetizována až v polovině 19. století (konkrétně v roce 1856), když Sir William Henry Perkin připravil tzv. Perkinovu violet (na trhu také známou pod názvem anilinová fialová či mauvein). Započala tak syntetická éra organických barviv. Následovala další anilinová barviva, např. anilinová žlut (4-aminoazobenzen) připravená v roce 1861, poté následoval chrysoidin a Orange I-IV. Největší výhody těchto syntetických barviv byly nízká cena a snazší průmyslová výroba než výroba přírodních barviv. Téměř 50 let po objevu anilinové fialové se azobarviva stala dominantními textilními barvivy a téměř 90 % všech textilních barev tvořila syntetická

barviva.^[4]

V první polovině 20. století byly poprvé syntetizovány ftalokyaniny, důležité organické pigmenty poskytující intenzivní zelené a modré barvy.^[2,4] Za zmínku stojí syntéza barviv s 1,3,5-triazinylovou skupinou v roce 1954. Tato skupina barviv je specifická tvorbou kovalentní vazby mezi barvivem a celulosovými vlákny, což zajišťuje vysokou odolnost vůči praní. V druhé polovině 20. století se rychlý nárůst nových barviv zpomalil, neboť trh s nimi byl nasycen a uspět s novým produktem již bylo náročné. Nicméně významným příspěvkem je syntéza nového chromoforu, a to diketopyrrolpyrrolu. S nástupem a vývojem výpočetní chemie přišla možnost navrhnout strukturu molekuly o určitých vlastnostech. Technika dovoluje zjistit vlnovou délku absorpčního maxima, z čehož vyplývá barva látky, a molární absorpční koeficient (intenzita zbarvení). U takto navržených nových barviv je barva látky známá před její syntézou.^[4]

2.1.2. Chemická podstata barevnosti látek

Barva je fyzikální vlastností látek, kterou jsme schopni pozorovat naším zrakem. Přesto, že určení barvy je subjektivní záležitost každého pozorovatele,^[5] může představovat důležitou vlastnost při kvalitativní analýze, neboť příčinu barevnosti látek je třeba hledat v její struktuře.^[4] Je důležité zmínit existenci objektivního měření barev, např. kolorimetrické metody^[6] a reflexní spektrofotometrie.^[7] Těmto metodám však není v této práci věnována významná pozornost, neboť nebyly využity při měření.

Vlastnost látky způsobující její barevnost je absorpce viditelného záření, tedy elektromagnetického záření v rozmezí vlnových délek 380-780 nm. Absorbující látka se nazývá chromogen a jeví se v doplňkové barvě oproti barvě absorbovaného záření.^[2,4] Absorbované záření a k nim doplňkové barvy jsou uvedeny v Tabulce č.1.

Tabulka č.1: Vztah doplňkových barev k absorbovanému záření^[4]

Rozsah vlnových délek (nm)	Barva absorbovaného záření	Komplementární barva
400-435	Fialová	Zelenožlutá
435-480	Modrá	Žlutá
480-490	Zelenomodrá	Oranžová
490-500	Modrozelená	Červená

500-560	Zelená	Fialová
560-580	Žlutozelená	Purpurová
580-595	Žlutá	Modrá
595-605	Oranžová	Zelenomodrá
605-750	Červená	Modrozelená

Uskupení atomů zodpovědné za absorpci viditelného záření se nazývají chromofory. Obecně u těchto uskupení dochází k excitaci elektronů, obvykle z orbitalů HOMO do orbitalů LUMO. Může se jednat o skupiny s násobnými vazbami (excitace π -elektronů) či ne vazebnými elektronovými páry (excitace volných elektronů), např. C=C, C \equiv C, C=O, N=N, C \equiv N atd. Toto platí pro organická barviva. Avšak samotné násobné vazby nebo volné elektronové páry obvykle nestačí k tomu, aby se látky jevily jako barevné. Vlnová délka absorpčního maxima (λ_{\max}) obvykle leží v UV oblasti elektromagnetického záření (většinou 150-330 nm), tudíž se látka pro lidské oko nejeví jako barevná. Vlnovou délku absorpčního maxima látky lze ovlivnit pozměním struktury látky či zavedením nové funkční skupiny. Jestliže se absorpční maximum posouvá k delším vlnovým délkám, hovoří se o bathochromním (červeném) posunu, jestliže dochází k posunu ke kratším vlnovým délkám jde o hypsochromní (modrý) posun. Prvním faktorem, který silně ovlivňuje barevnost, je konjugace, protože konjugací dvojných vazeb dochází k delokalizaci (rezonanci) elektronů, což má za následek snížení energie (zvýšení λ_{\max}) potřebné k excitaci elektronů. Druhým faktorem jsou auxochromní skupiny, které ovlivňují absorpci chromoforů. Jedná se především o skupiny s mezomerním efektem, který způsobuje posun π -elektronů nebo ne vazebných elektronových párů ve struktuře látky, a v důsledku zvyšuje λ_{\max} .^[2,4]

U pigmentů je za barevnost zodpovědný přechod d-elektronů. Pigmenty jsou komplexní sloučeniny, tudíž u nich dochází k energetickému štěpení d-orbitalů vlivem krystalového pole na dvě a více podhladin (o počtu podhladin rozhoduje geometrický tvar komplexu). Elektron z orbitalu o nižší energii přechází vlivem absorpce do energeticky výše položených orbitalů. Výsledkem je slabé zbarvení látky. Silnější zbarvení poskytují komplexy s organickými ligandy, které mají v struktuře π -elektrony. Přenos elektronu mezi kovem ve dvou různých oxidačních číslech se uplatňuje u pruské (berlínské) modři.^[4]

2.1.3. Klasifikace barvicích složek

Barvicí látky (angl. colorants) dělíme na barviva (angl. dyes) a pigmenty (angl. pigments). Barviva jsou většinou organické látky alespoň částečně rozpustné v médiu, ve kterém se nanášejí. To obvykle bývají vysychající oleje, voda či organická rozpouštědla. Na rozdíl od toho pigmenty jsou v rozpouštědle zcela nerozpustné.^[2,4,8,9] Jedná se ve většině případech o anorganické látky na bázi kovů, existují však i organické pigmenty např. ftalokyaniny.^[2]

Barviva jsou obvykle aplikována z vodného roztoku a v minulosti našli hojně uplatnění u barvení textilu. Naopak pigmenty jsou využívány ve formě disperze a využívány byly ve velké míře u nástěnných obrazů.^[4,8] Z organických barviv je možné připravit pigmenty, a to navázáním na bílý nerostný pigment, např. hydroxid hlinitý či sádrovec, čímž dojde k omezení rozpustnosti barviva.^[9]

Přírodní organická barviva jsou směsí několika látek, které se dělí především podle chromoforu (chemické struktury) do několika skupin (Kapitola 2.3.1.). Z vlastností chromoforu vyplývá aplikační metoda a především barevné spektrum dané skupiny barviv.^[2,4,9] Barviva je možné dále dělit podle původu na přírodní a syntetická nebo z hlediska metody aplikace na textil (Kapitola 2.3.2.). V minulosti byla využívána především přírodní organická barviva, avšak vlivem vývoje průmyslové výroby po roce 1856 (Perkinova příprava mauveninu) byla přírodní barviva postupně nahrazována svými syntetickými analogy.^[2,4] Nárůst dostupnosti syntetických barviv na trhu dokonce koncem 19. století způsobil kolaps trhu přírodních barviv v Evropě a později po celém světě.^[10]

Vzhledem k rostoucímu množství syntetických pigmentů a barviv bylo třeba zavést jejich jednotné pojmenování. Používané je názvosloví podle Color indexu, kdy je název složen z aplikačního typu, barvy a identifikačního čísla. U barvicích komponent, které jsou na trhu dlouho se však toto označení příliš neuchytilo a používá se označení pomocí barvy, jména objevitele, místa objevení či charakteristické vlastnosti (např. chromová žluť, berlínská modř či Perkinova violet').^[4]

2.2. Pigmenty v historických materiálech

Pigmenty je možné dělit podle barev nebo podle původu na anorganické a organické. Rozdělení pigmentů podle barev s vybranými zástupci je uvedeno v Tabulce č.2. Anorganické pigmenty se vyskytují v přírodě v podobě minerálů (lapis lazuli, malachit, azurit, hematit atd.), které byly mlety, prosévány a plaveny za účelem vytvoření jemných malých částic pigmentu. Postupně však byly přírodní pigmenty kvůli omezené stálosti nahrazeny pigmenty syntetickými s lepšími vlastnostmi.^[8] Organické pigmenty vykazují oproti anorganickým pigmentům zářivější a intenzivnější barvy. Známé jsou azopigmenty a měďnaté ftalokyaniny, které jsou nejdůležitějšími zelenými a modrými pigmenty. Ftalokyaniny jsou makrocyclické látky s vysoce konjugovaným systémem π -elektronů, z čehož vyplývá absorpční maximum v rozmezí 650-750 nm, ale taktéž vysoká teplotní a chemická odolnost. Ftalokyaninová jednotka tvoří koordinační komplexy s atomy kovu (Obrázek č.1), s Cu, Fe a dalšími.^[4]

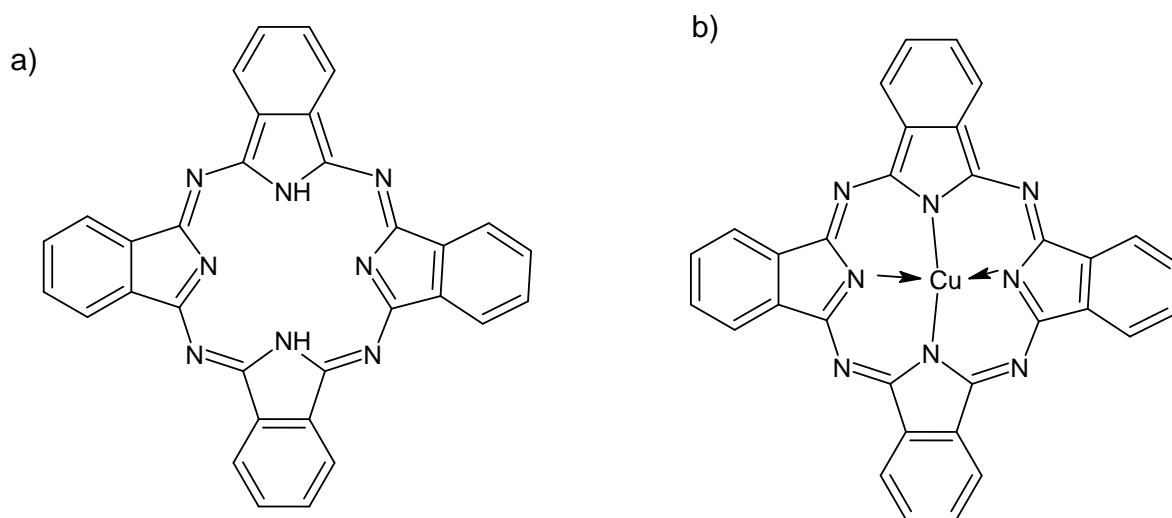
Tabulka. č.2: Vybrané pigmenty podle barvy^[8]

Barva pigmentu	Název pigmentu (popř. chemický vzorec)
Bílá	Olovnatá běloba ($2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$), zinková běloba, titanová běloba (TiO_2), křída (CaCO_3)
Oranžová	Okry (směsi sloučenin Fe, Si a Al), kadmiová žluť (CdS), barytová žluť (BaCrO_4)
Červená	Červené hlínky (oxidy železa a hlinitokřemičitany), červený bolus, benátská a anglická červeň, kadmiová červeň (CdS a CdSe), cinabarit (HgS), suřík (Pb_3O_4)
Modrá	Kobalt, hlinitan kobaltnatý ($\text{CoO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$), pruská modř $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, ultramarin, azurit ($2\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$), egyptská modř
Zelená	Zelené hlínky, oxid chromitý bezvodý (Cr_2O_3), oxid chromitý ohnivý [Cr_2O

	(OH) ₄], kobaltová zeleň (CoO.ZnO), měděnka
Hnědá	Kasselská hněď, sepie, bistr (dehet, pryskyřice)
Černá	Slonová čern, lampová čern, železitá čern

Aplikace pigmentů u nástěnných obrazů je založená na rozmíchání pigmentu v pojivech (oleje, vaječné žloutky). Aglomeráty či shluky pigmentu se tak rozdělí na primární částice, následně dochází k tuhnutí barvy vlivem odpařování pojiva či polymerizací.^[8]

Důležitou vlastností pigmentů je krycí mohutnost, kterou definujeme jako schopnost zakrýt barvu podkladu, je přímo úměrná indexu lomu částic tvořících pigment. U barev je výsledná krycí mohutnost závislá na rozdílu indexu lomu pigmentu a pojiva. Druhou vlastností, kterou je dobré zmínit, je zrnitost pigmentu. Ta se pohybuje od 1 μm pro velmi malá zrna do 10 μm pro velmi velká zrna. Nejmenší zrnitostí se vyznačují pigmenty připravené vyloučením z roztoku, např. chromová či kadmiová žlut, naopak největší zrnitost je u pigmentů získaných mletím či částečným tepelným rozkladem, např. lapis lazuli, azurit či malachit.^[8]



Obrázek č.1: a) Struktura ftalokyaninu b) komplex ftalokyaninový s navázaným kationtem kovu^[2]

2.3. Organická barviva používaná v historických materiálech

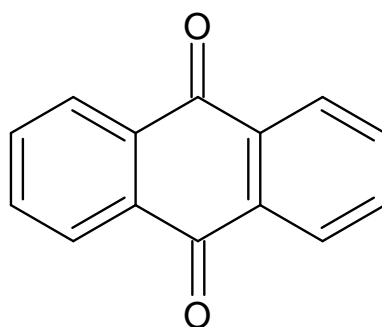
2.3.1 Nejdůležitější organická barviva historie

2.3.1.1. Anthrachinony

Antrachinony tvoří jednu z nejpoužívanějších skupin barviv, mají přírodní zástupce a jejich používání má dlouhou historii (některé předměty s těmito barvivy mají stáří až 4000 let). V minulosti měli obrovské použití jako červená barviva. Mezi přírodní zdroje těchto barviv patří bakterie, houby, lišejníky a rostliny, ale také hmyz.^[2]

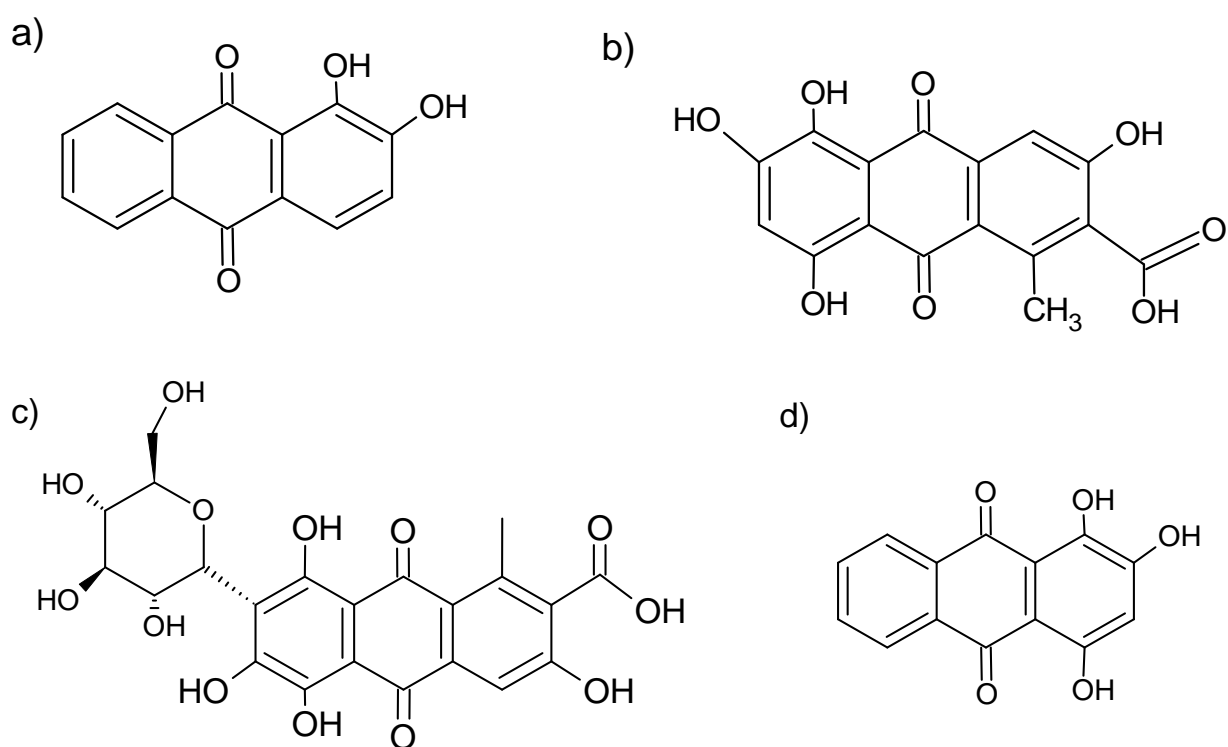
Skupinu barviv lze rozdělit na přírodní a syntetická, přírodní se dále dělí podle původu na rostlinná a živočišná. Z přírodních zdrojů byly v minulosti hojně využívány kořeny mořeny barvířské (*Rubia tinctorium*). Uplatnění našla už ve starověkém Egyptu, Římě a Řecku. Hlavní složkou barviva získaného z této rostliny je alizarin, dále obsahuje purpurin, pseudopurpurin aj. Dalším zdrojem může být např. svízel syřišťový (*Galium verum*), jehož hlavní složka je alizarin, nebo mařinka barvířská (*Asperula tinctoria*) s lucidinem. Právě obsah hlavních a vedlejších složek rozlišuje jednotlivé druhy rostlin.^[9] Mezi živočišné zdroje řadíme především hmyz čeledi puklicovitých (*Coccidae*). Historicky byl v Evropě využíván červec kermesový (*Kermes vermilion*), z Indie ve středověku přišlo barvivo z červce lakového (*Kerria lacca*). Mezi nejznámější patří barvivo karmín pocházející z červce nopálového (*Dactylopius coccus*), který byl domestikován v Jižní a Střední Americe. První používání barviva bylo zdokumentováno u Aztéku už 700 let př.n.l. Aztékové dokonce tento hmyz považovali za krev božských bytostí. Není divu, že Španělé po ovládnutí Aztécké říše dlouho výrobní proces barviva uchovávali v tajnosti. Za svou pronikavou červenou barvu barvivo vděčí kyselině karmínové.^[3]

Z chemického hlediska je základem těchto barviv anthra-9,10-chinon (Obrázek č.2). Ze struktury vyplývá, že všechny atomy uhlíku jsou v hybridizaci sp^2 , tudíž molekula je planární. Anthra-9,10-chinon je slabě barevná látka, neboť vlnová délka jeho absorpčního maxima je 325 nm. Barevnost je způsobena batochromním posunem vlivem substituentů na aromatických jádrech.^[4]



Obrázek č.2: Struktura anthra-9,10-chinonu^[4]

Alizarin (Obrázek č.3) obsahuje dvě hydroxylové skupiny, které jsou donory elektronů do aromatického systému, tím způsobují bathochromní posun a výsledná barva je oranžovočervená.^[4] Syntetický alizarin je známý pod jménem CI Mordant Red 11^[4] a poprvé ho připravili Carl Graebe a Carl Liebermann v roce 1868 z antracenu získaného z uhlého dehtu. Struktura alizarinu byla popsána až v roce 1874. Tento objev odstartoval přípravu nových barviv z černouhelného dehtu.^[11]



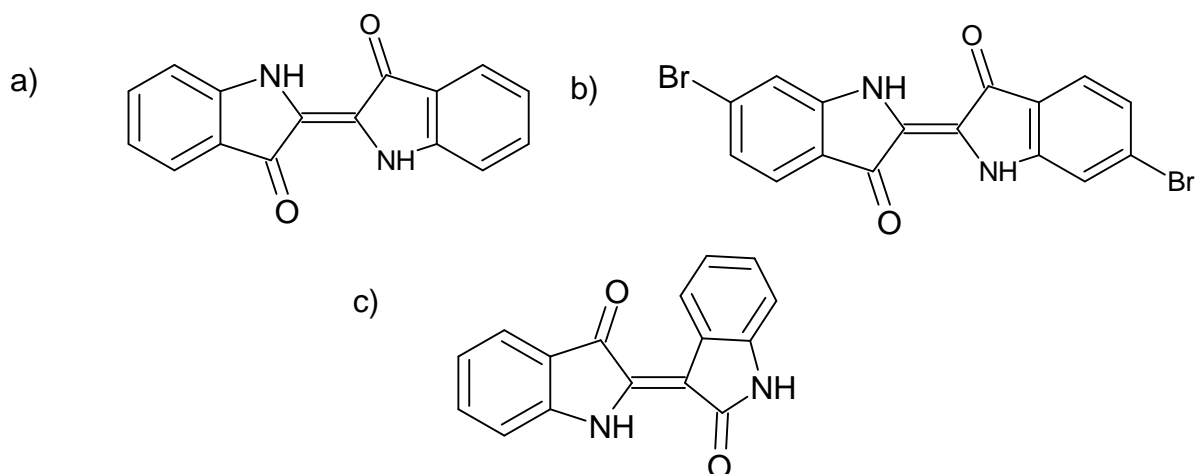
Obrázek č.3: Struktura vybraných anthrachinonových barviv a) alizarin b) kyselina kermesová c) kyselina karmínová d) purpurin^[12]

2.3.1.2. Indigoidní barviva

Indigoidní barviva vděčí za svůj název modrému barvivu indigo, jehož extrakce je lidem známa již přes 5000 let.^[3, 13] V Asii indigo bylo po několik tisíciletí získáváno fermentací listů indigovníku pravého (*Indigofera tinctoria*) ve vodném alkalickém prostředí. V Evropě byly využívány listy borytu barvířského (*Isatis tinctoria*) k produkci barviva - woad.^[3,4,9] Indigo a woad obsahují indigotin (modré zbarvení), indirubin (načervenalé zbarvení) a další vedlejší komponenty,^[9] např. zbylé prekursory ve formě glykosidů.^[14] Opět platí, že poměr těchto složek může napomoci při odlišení, zda je barvivo syntetického či přírodního původu,^[15] ale také rozlišení druhu rostliny^[16, 17] a způsobu přípravy.^[14] Není překvapením, že s rozmachem chemie v druhé polovině 19. století bylo indigo syntetizováno (v roce 1880) a začátkem 20. století se začala vytrácet jeho přírodní výroba,^[3] což je trend, který lze pozorovat u většiny přírodních barviv minulosti. Syntetické indigo je známé pod názvem CI Vat Blue 1.^[4]

Indigotin (Obrázek č.4) se skládá ze dvou indoxylových skupin, které vznikají při fermentaci z indikanu (glykosidická forma indoxylu). Indoxyly následně podléhají oxidativní dimerizaci a vzniká (E) – izomer. Zajímavou vlastností indiga je významná změna jeho zbarvení vlivem prostředí, ve kterém se nachází. V plynné fázi má červené zbarvení, v nepolárních rozpouštědlech se jeví jako fialové, v polárních roztocích a v pevné formě nabývá svého typického modrého zbarvení. Tento fenomén lze vysvětlit na základě intermolekulárních vodíkových vazeb mezi molekulami barviva a molekulami rozpouštědla, resp. mezi molekulami indiga u pevných vzorků. Tím lze také vysvětlit špatnou rozpustnost barviva.^[4]

Další významný zástupce této skupiny je týrský (císařský) purpur. Ve starověku byl vyráběn ve Fénicii ve městě Tyr (odtud pochází dané pojmenování). Zdrojem prekursoru barviva byla ostranka jaderská (*Bolinus brandaris*),^[3,9] konkrétně její hypobranchiální žláza.^[18] Jeden jedinec ve výsledku poskytl jednu kapku barviva. To mělo za následek vysokou cenu barviva a mohli si ho tak dovolit pouze ti nejbohatší.^[3] Hlavní složkou je 6,6'-dibromindigotin (Obrázek č.4), který je příčinou fialového zbarvení.^[9,18]



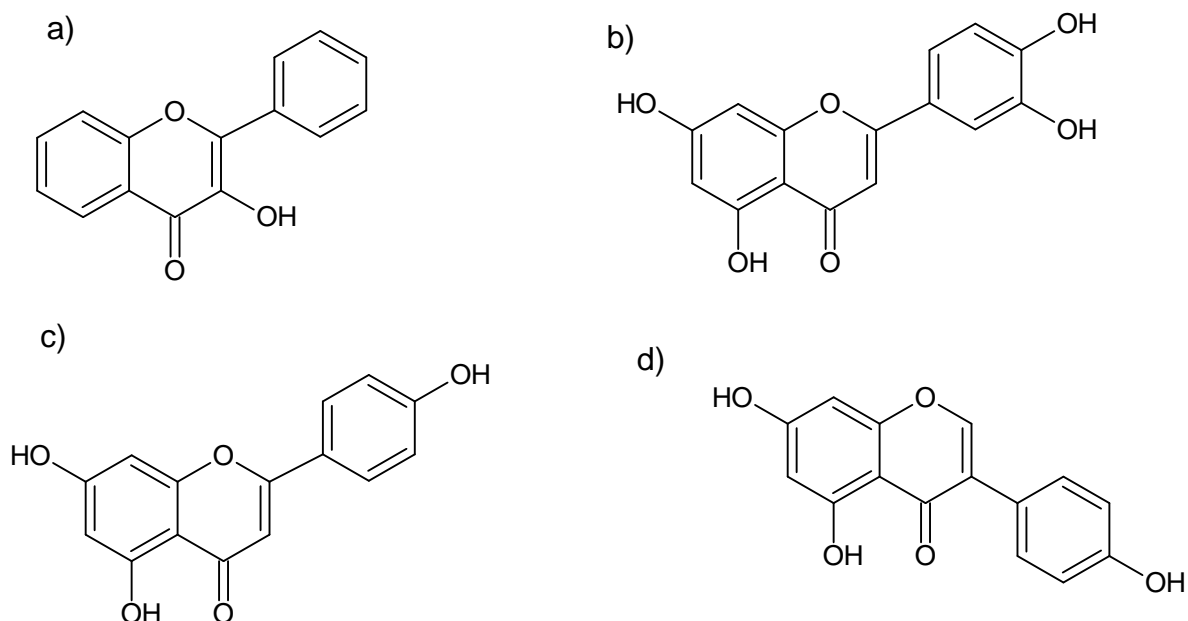
Obrázek č.4: Struktura vybraných složek indigoidních barviv a) indigotin b) 6,6'-dibromindigotin c) indirubin^[9]

2.3.1.3. Flavonoidní barviva

Flavonoidy představují rozsáhlou skupinu žlutých barviv. Základním chromoforem těchto barviv jsou flavon a flavonol (3-hydroxyflavon) (Obrázek č.5). Vlivem substituce lze získat i zbarvení červené, modré či fialové. V přírodě se vyskytují především ve formě glykosidů u velkého množství rostlin. Z tohoto důvodu je v této skupině obrovské množství barviv, která našla uplatnění podle původního výskytu rostliny.^[9] Značnou nevýhodou této skupiny je náchylnost k fotooxidačním degradačním procesům, v historických materiálech je tedy obvykle jejich obsah nízký.^[19]

V minulosti byl v Evropě hojně využíván rýt barvířský (*Reseda luteola*). Jako hlavní komponenty obsahuje luteolin (Obrázek č.5) a jeho glykosidy.^[20] Dalšími využívanými rostlinami byly - srpice barvířská (*Serratula tinctoria* L. Gaud.), která obsahuje luteolin a apigenin,^[21] kručinka barvířská (*Genista tinctoria* L.) s látkami – luteolin, apigenin a genistein,^[22] ruj vlasatá (*Cotinus coggygria* Scop.) obsahující jako hlavní komponenty fustin, myricetin a fustin.^[23]

Z barviva rýtu barvířského je možné připravit jezerní pigment – arzica. Vzhledem k průhlednosti lze pigment využít jako součást glazury. Ve středověku byl často kombinován s modrými barvivy/pigmenty pro získání zelených odstínů.^[3]

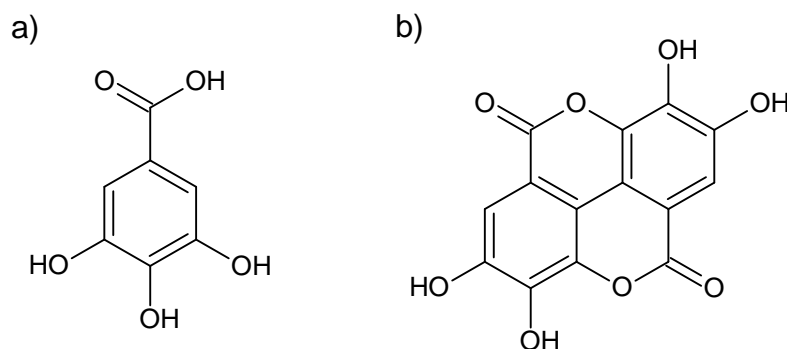


Obrázek č.5: Struktura důležitých složek flavonoidních barviv a) flavonol b) luteolin
 c) apigenin d) genistein^[12]

2.3.1.4. Taniny

Taniny, někdy také třísloviny, představují polyfenolické látky široce zastoupené v rostlinné říši. Pro tuto skupinu je typická vyšší relativní molekulová hmotnost barviv, např. u gallotaninů. Následkem rozsáhlé struktury jsou tmavé barvy – hnědá a černá. Skupinu tvoří hydrolyzovatelné taniny (gallotaniny a ellagitaniny), které se ve vodě rozkládají za uvolnění kyseliny gallové, resp. kyseliny ellagové (Obrázek č.6). Dále sem patří proantokyanidiny (kondesované taniny). Rostliny produkují velké množství taninů, které se liší složením podle části rostliny.^[9]

Gallotaniny jsou tvořeny kyselinou gallovou navázanou na látku s velkým množstvím alkoholových skupin (polyol), typicky glukosa.^[9] Sbírány byly např. hálky ze stromů, což jsou útvary kulovitěho tvaru, které strom tvoří jako ochranu při napadení hmyzem. Poskytují intenzivní černé barvivo, které bylo v Evropě od 5. století používáno jako inkoust na psaní. Dalším zdrojem byly seschlé černé slupky z vlašských ořechů, které byly extrahovány a výsledkem bylo tmavě hnědé barvivo. V historii bylo barvivo používáno např. pro barvení textilií.^[3]

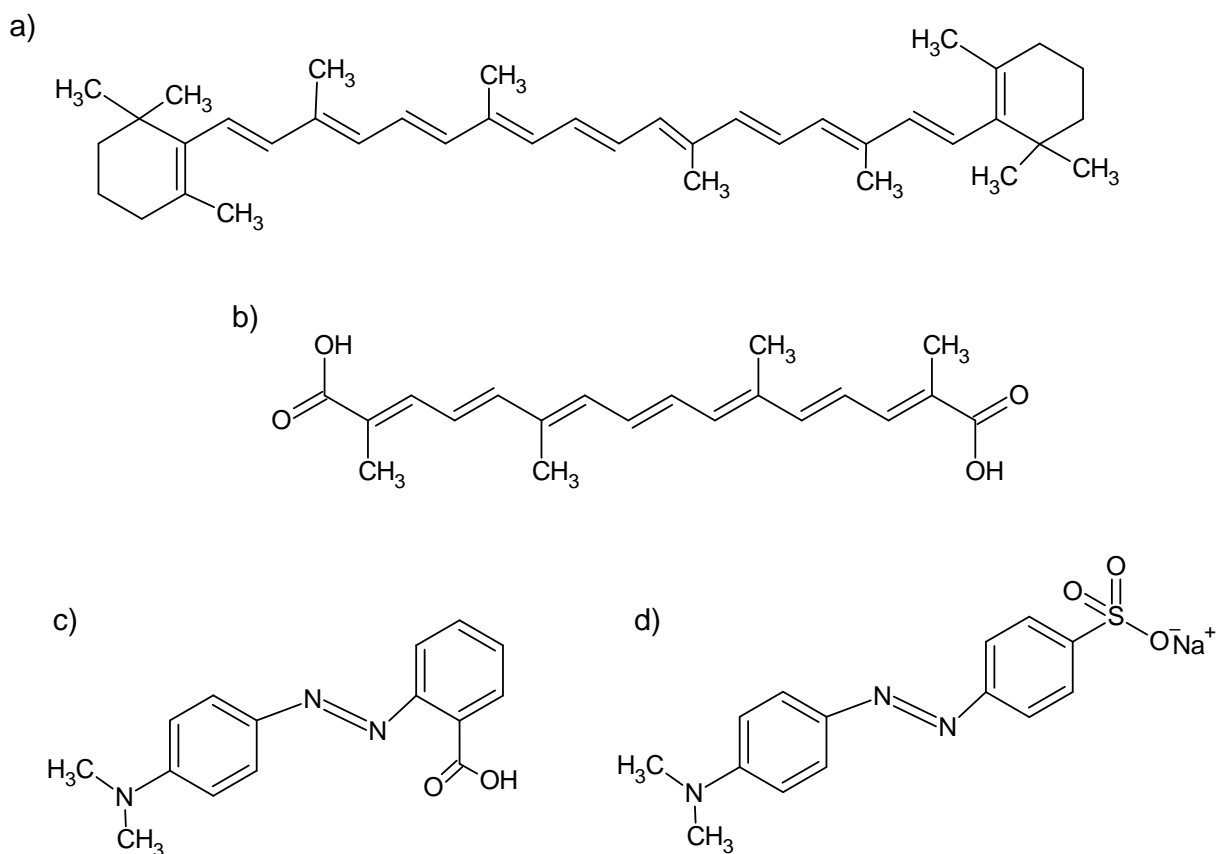


Obrázek č.6: Struktura látek uvolňujících se hydrolyzou taninů a) kyselina gallová
b) kyselina ellagová^[9]

2.3.1.5. Další organická barviva v historických materiálech

Důležitou přírodní skupinou jsou barviva s konjugovaným systémem dvojných vazeb v trans orientacích. Nejznámějšími zástupci jsou karotenoidy, např. β -karoten (Obrázek č.7a) obsahuje 11 konjugovaných dvojných vazeb a vykazuje absorpční maximum kolem 460 a 480 nm, což způsobuje jeho oranžové zbarvení.^[4] Přírodní karotenoidy nejsou pouze barvivem rostlin či plodů, ale vykazují také biochemické vlastnosti, jako jsou antioxidační vlastnosti, či protinádorová aktivita, která je jim v poslední době připisována.^[24] Do této skupiny se řadí crocetin (Obrázek č.7b), hlavní složka barviva šafránu setého (*Crocus sativus*).^[9] Šafrán byl využíván už od starověku pro barvení textilu, jako přísada do jídla či kosmetiky.^[3]

V neposlední řadě je důležité zmínit azobarviva (Obrázek č.7c,d), která sice nemají rozsáhlou historii, avšak v dnešní době představují široce využívanou skupinu barviv. Tvoří až 60 % všech používaných textilních barviv. Největší využití mají v této skupině barviva žlutá, oranžová a červená.^[2,4] Azobarviva jsou zcela syntetické povahy, existují však případy polosyntetické přípravy z fenolických přírodních látek.^[25] Azobarviva se mohou vyskytovat v předmětech, které vznikly až po druhé polovině 19. století. Dostala název od své chromoforní azo-skupiny (R-N=N-R). Substituenty R mohou být stejné nebo rozdílné, avšak vždy je alespoň jeden z nich aromatický. Vyznačují se snadno reprodukovatelnou průmyslovou výrobou, která zahrnuje dva reakční kroky - diazotaci a kopulaci. Mají výborné vlastnosti (intenzita, jasnost, odolnost vůči světlu, teplu a vodě).^[4] V novodobé historii je často zmiňován jejich negativní dopad na životní prostředí, především jejich toxicita pro vodní živočichy.^[26] Vzniká velká řada studií zabývajících se nalezením nových metod pro snížení jejich množství v odpadních vodách.^[27-29]



Obrázek č.7: Struktura vybraných zástupců barviv a) β -karoten b) crocetin c) methylčerveně d) methylořanž^[2, 9, 12]

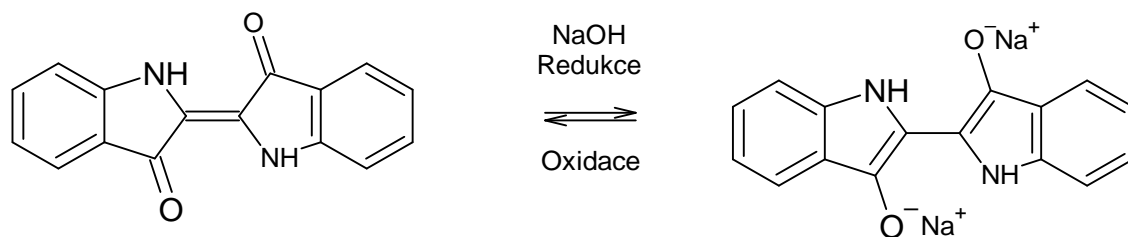
2.3.2. Aplikace organických barviv na textil

Z hlediska aplikace či navázání barviva na textil se rozlišují tři hlavní skupiny – přímá, mořidlová a vatová. Přímá barviva jsou rozpustná ve vodě a vážou se přímo na vlákno, což má za následek pouze slabé interakce a nízkou odolnost vůči praní.^[12] Barvení obvykle probíhá v lázni s elektrolytem za postupně se zvyšující teploty.^[2]

Mořidlová barviva ke své aplikaci vyžadují použití mořidla, často ho představuje sůl kovu (např. hliník, měď, železo, zinek nebo cín). Role iontu kovu je vytvořit koordinačně kovalentní vazbu s vláknem a barvivem, a dát tak vznik komplexním sloučeninám.^[12] Tímto způsobem navázání dochází ke zlepšení odolnosti barviva vůči praní či světlu.^[2] V minulosti byla tato skupina barviv často využívána pro tvorbu tzv. jezerních pigmentů, kdy docházelo k vysrážení barviva (např. u antrachinonů, flavonoidů a taninů).^[9]

Poslední skupinou jsou vatová barviva, která se za normálních okolností nerozpouštějí v rozpouštědlech. Jejich aplikace spočívá v redukci nerozpustného pigmentu v alkalickém prostředí (Obrázek č.8), kdy vzniká ve vodě rozpustná bezbarvá leuko

forma^[2,12] s afinitou k vláknu (vodíkové vazby a van der Waalsovy síly).^[30] Na vzduchu poté dochází k oxidaci barviva a navrácení původní barvy a nerozpustnosti.^[2,12,30] Do této skupiny spadají indigoidní barviva - indigo, woad a týrský (císařský) purpur.^[12]



Obrázek č.8: Oxidovaná (nerozpustná) a redukováná (rozpustná) forma indigotinu^[12]

2.4. Degradace organických barviv v historických materiálech

Umělci se po celá staletí snažili využívat pigmenty a barviva té nejlepší kvality, především nejstabilnější, aby jejich díla mohly obdivovat generace za několik stovek let. To se ve většině případech nepodařilo a kvalita historického materiálu tak začala s časem upadat. Pravost historických předmětů byla jednou z prvních zkoumaných vlastností po rozmachu analytické chemie. Důležitou vlastností historických materiálů je jejich stáří, neboť stárnutím všech předmětů dochází k nevyhnutelné a samovolné degradaci některých složek.^[31] Lze pozorovat např. blednutí textilie vlivem rozkladu barviv,^[32] ale také degradace textilie samotné (interakce aminokyselin s UV zářením).^[33] U nástěnných obrazů je pozornost věnována prasklinám / trhlinám v malbě^[34] a dochází i ke změně zbarvení částí obrazu. U textilií je zdokumentována změna zeleného zbarvení na modré.^[35,36]

Určení či ověření stáří předmětu, však není tak přímočaré, jak se z počátku může zdát. Degradace artefaktu je komplexní a závisí na různých faktorech, které se dají rozdělit do tří hlavních skupin: 1) složení barvy, 2) povaha materiálu vzorku, 3) skladovací podmínky. U skladovacích podmínek to je přístup vzduchu (kyslíku) a vzdušné vlhkosti, teplota, vystavení světlu, nečistoty a přítomnost mikroorganismů schopných degradovat složky historického materiálu.^[31,36,37] Dalším důležitým parametrem je obsah těkavých organických sloučenin (VOCs) ve vzduchu. Jedním zástupcem VOCs je kyselina octová, která vzniká degradací plastů či acetylované celulosy a může přispívat k degradaci okolních materiálů.^[38] Následkem rozdílných podmínek uložení díla je, že podobně staré předměty či části jednoho předmětu mohou být v různých fázích degradace.^[36] U každého jednotlivého faktoru je závislost rozdílná, z toho vyplývá složitost problému určení stáří předmětu.^[37]

U složení barvy má velký vliv druh použitého barviva (především skupina), např. žlutá barviva blednou rychleji než barviva červená či modrá.^[19,36] Velký vliv má symetrie molekuly barviva. Symetričtější molekuly jsou stabilnější, a proto jsou indigoidní barviva stabilnější než anthrachinonová.^[31] U anthrachinonů byl vypořádan trend, kdy s rostoucím počtem navázaných hydroxylových skupin klesá stabilita vůči degradaci, a tudíž purpurin degraduje ochotněji než alizarin.^[32] Na stabilitu má vliv velikost částic barviva, se stoupající velikostí částic klesá povrch náchylný k reakci se vzdušným kyslíkem a stoupá stabilita.^[31] Mořidlový ion obecně zvyšuje stálost barviva. U různých iontů je závislost odlišná.^[39]

Z hlediska textilních artefaktů pozorujeme rozdílnou rychlost degradace barviv u různých textilií, např. u hedvábí a vlny.^[36,40]

Skupinou exogenních faktorů jsou skladovací podmínky. Při studiu degradace barviv

v inkoustu bylo prokázáno, že rozdíl mezi modelovým vzorkem osvětleným a uchovaným bez přístupu světla byl po stejnou dobu degradace markantní. Záření urychluje degradaci barviva, přičemž důležitý vliv měla, jak intenzita, tak doba vystavení záření. V letních měsících barvivo degradovalo rychleji. Rozsáhlost degradace autoři klasifikovali podle relativní plochy píku barviva (RPA), kterou počítali jako podíl plochy píku při m/z barviva a celkové plochy všech píků.^[37] Vliv záření lze vysvětlit tím, že pro excitované molekuly se snáze překoná energická bariéra pro vznik produktů.^[31] Druhým významným faktorem je přístup vzduchu ke vzorku, konkrétně přístup kyslíku. Výsledek studie věnované mimo jiné degradaci alizarinu a purpurinu ukázal, že přítomnost kyslíku způsobuje významnější pokles barevného jasu (blednutí), který autoři posuzovali pomocí kolorimetrických metod.^[32] M. Koperska a kol. se zabývali srovnáním vlivu kyslíkové atmosféry na různá barviva. Vlivy vyhodnocovali podle změn tvaru a intenzity pásů v Ramanových a infračervených spektrech, které měřili s pomocí techniky zeslabeného úplného odrazu (ATR). Zjistili, že bezkyslíková atmosféra u indiga, kurkuminu a dračí krve způsobila méně významné změny ve spektrech než kyslíková atmosféra. Naopak u antrachinonových barviv vystavených bezkyslíkové atmosféře byly pozorovány rozsáhlejší změny v Ramanových spektrech.^[31]

Rychlost degradace roste s teplotou, což bylo pozorováno u alizarinu ve vodném roztoku.^[41] Teplotní degradace barvené složky (bazická violet' 4) byla pozorována u inkoustu na papíře, zde však byl nárůst degradace barviva mírný.^[37]

Srovnání různých podmínek poskytuje stěžejní informace pro ochranu kulturního dědictví.^[31] Optimalizace skladovacích podmínek pak snižuje frekvenci restaurátorských zásahů, což je jeden z důvodů, proč se zkoumá degradace včetně urychlené degradace v kontrolovaných laboratorních podmínkách. Hlavní výhodou urychlené degradace je doba stárnutí předmětu. Narozdíl od samovolné degradace, které byl předmět vystaven po několik desítek, set až tisíce let, umělým stárnutím lze celý proces urychlit na dobu hodin, dnů, týdnů, popř. měsíců.^[31-33,39-41] Experiment spočívá v přípravě modelových vzorků ve formě roztoků,^[41] suspenzí^[42] či obarvených textilií,^[32] které bývají vystavené různým podmínkám. U takto upravených vzorků se sledují a charakterizují degradační produkty barviv. K tomu jsou potřeba vhodné analytické metody, které umožňují identifikovat barviva i jejich degradační produkty.

2.5. Analytické metody pro analýzu organických barviv v historických materiálech

2.5.1. Odběr a příprava vzorků

Analýza organických barviv v historických materiálech vždy představovala náročný úkol pro analytické chemiky. Důležitým faktorem značně ztěžujícím analýzu je množství vzorku, které je možné odebrat z materiálu, aby nebyl cenný předmět poškozen. Odebírány bývají vlákna textilie či odlomky zaschlé barvy z obrazu. Moderní je odebrání barviva pomocí obtisknutí na materiál s vhodným rozpouštědlem, čímž se lze vyvarovat odebírání vzorku pomocí skalpelu.^[12] Hmotnost vlákna či barvy obvykle nepřesahuje jednotky miligramů.^[12,43] Množství organického barviva v původním materiálu je potom ještě nižší. Analýzu ztěžuje i zmíněná degradace, která ještě více snižuje množství barviva.^[12,43,44] Z těchto důvodů je nutné pro analýzu využívat vysoce selektivní a citlivé instrumentální techniky.

Po odběru vzorku následuje měření nedestruktivními metodami (Kapitola 2.5.2.), a pak je barvivo extrahováno. Nejpoužívanější jsou 3 extrakční metody: 1) hydrolýza s HCl ve vodě a methanolu, 2) extrakce s komplexujícím činidlem (např. EDTA), 3) extrakce za využití organických rozpouštědel (např. DMSO, DMF a pyridin). Každá extrakční metoda má své výhody a nevýhody. Extrakce pomocí HCl umožňuje rozrušit vazbu mezi kovem a barvivem u mořidlových barviv (anthrachinony). Její nevýhodou je hydrolýza vazeb náchylných vůči kyselé hydrolýze, např. glykosidické vazby.^[12] To představuje problém např. u flavonoidů, neboť z aglykonů není možné určení rostlinného původu barviva. Možné řešení spočívá ve využití jemnějších extrakčních podmínek, např. kyseliny mravenčí v methanolu, nebo EDTA v methanolu a acetonitrilu.^[45] Obě metody nejsou vhodné pro extrakci málo rozpustných indigoidních barviv. U této skupiny se používají extrakce pomocí organických rozpouštědel (DMSO, DMF a pyridinu), v ostatních rozpouštědlech jsou barviva rozpustná ve velmi omezené míře. Extrakce bývá prováděna za mírně zvýšené teploty, následně je extrakt odfoukán do sucha a reziduum je opětovně rozpuštěno ve vhodném rozpouštědle.^[12] Takto připravený extrakt je nachystaný pro analýzu pomocí instrumentálních metod.

2.5.2. Přehled instrumentálních metod pro analýzu barviv v historických materiálech

Analytické metody lze rozdělit na invazivní a neinvazivní. Invazivní metody potřebují odebrání vzorku. Neinvazivní techniky umožňují měřit historický materiál na místě (*in situ*), nevyžadují žádný odběr vzorku, poskytují výsledky v reálném čase a zamezí se tak rizikům spojenými s transportem objektu.^[46] Právě u neinvazivních metod je důležité věnovat pozornost matici artefaktu, jeho vlivu na analýzu organických barviv. Invazivní metody se rozlišují na destruktivní a nedestruktivní. Jak název napovídá, destruktivní metody ničí vzorek, nedestruktivní metody umožňují měření bez poškození vzorku.

Typickým postupem při analýze vzorků kulturního dědictví je využití neinvazivních metod pro prvotní analýzu, ve snaze minimalizovat množství odebraného vzorku. Neinvazivní metody spolu s vizuální analýzou identifikují místa pro odebrání vzorku. Poté následují nedestruktivní a nakonec destruktivní, resp. mikrodestruktivní metody.^[44]

Rentgenová fluorescenční spektrometrie (XRF) je nedestruktivní (v přenosném provedení i neinvazivní) metodou poskytující informaci o prvkovém složení materiálu. Ukázala se efektivní pro analýzu pigmentů v obrazech.^[34,47,48] Pro analýzu barviv není tato technika vhodná,^[12] může však sloužit k určení mořidlového iontu,^[49] nebo identifikaci barviva obsahujícího specifický ion, např. týrský purpur.^[50] Dále může technika odlišit způsoby přípravy textilií nebo použitou extrakční metodu.^[51]

Dalšími neinvazivními metodami jsou UV-Vis spektrometrie a fluorimetrie. Tyto metody se dají využít pro analýzu pigmentů nebo analýzu barviv s charakteristickými fluorescenčními spektry.^[46,51] Nevýhodou je omezená selektivita a často nedostatečná informace o struktuře.^[12] Pro identifikaci barviva bývají obvykle třeba spektra referenčních materiálů.^[52]

FTIR našla uplatnění při analýze pojiv a pigmentů.^[46] Pro analýzu barviv v historických materiálech je uplatnění minimální,^[53] a to vzhledem k silné interferenci matrice.^[54] Spolu s Ramanovou spektrometrií je tato technika užitečná při studiu degradace barviv, kde jsou pozorovány změny intenzit charakteristických pásů barviv.^[41,42]

Ramanova spektrometrie představuje rychle se rozvíjející metodu, která je komplementární k IR spektrometrii. Pro analýzu barviv byla tato metoda využita pouze zřídka. Problémy nastávají u barviv se silnou fluorescencí,^[53] navíc může docházet k zahřívání a fotodegradaci materiálu. To se dá do jisté míry vyřešit využitím laseru v infračervené oblasti (1064 nm).^[55] Povrchem zesílená Ramanova spektrometrie (SERS) poskytuje zesílený signál navázáním na koloidy,^[56] to však vyžaduje složitější přípravu

vzorku.

Bezkonkurenčně nejpoužívanější technikou pro analýzu barviv v historických materiálech se stala vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), která překonala dříve používanou tenkovrstvou chromatografii (TLC). Pro analýzu barviv poprvé HPLC použil J. Wouters v roce 1985, kdy se věnoval antrachinonům v textilích.^[57] Později analyzoval taniny, flavonoidní a indigoidní barviva.^[58] V roce 2003 M. Akacha a kol. prokázali efektivitu spojení HPLC s hmotnostní spektrometrií (MS). Výhodou tohoto spojení byla vyšší selektivita oproti UV-VIS detektorům a přibližně desetkrát nižší meze detekce.^[59] Pro potvrzení přítomnosti a kvantifikaci barviva je však stále velmi používaný UV-VIS detektor s diodovým polem (DAD). MS detektory jsou výhodnější pro analýzu neznámých složek barviv či látek, kde mohou poskytnout stěžejní informace pro identifikaci degradačních produktů barviv.^[53]

Plynová chromatografie vzhledem k vysoké molekulové hmotnosti analytů vyžaduje derivatizaci předcházející analýze (obvykle silylačními činidly)^[60] nebo využití pyrolýzy.^[38,43]

Iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií (IMS-MS) byla použita při analýze potravinářských barviv. Při analýze tří azobarviv se podařilo autorům dosáhnout meze detekce 0,05-0,2 µg/l. Největší výhodou však byl čas analýzy, který byl pod 1 minutu a byl tak mnohem kratší oproti HPLC či plynové chromatografii (GC).^[61] V roce 2020 byla srovnána účinnost přístrojů SYNAPT G2-S a SELECT SERIES Cyclic IMS. Autorovi se podařilo prokázat přenositelnost výsledků iontové mobility mezi přístroji pro měření různých potravinářských barviv. Přínos metody pro analýzu barviv v potravinách byl potvrzen detekcí kurkuminu v komerčně dostupných bonbonech.^[62] V roce 2022 byla publikována práce zabývající se rozlišením rostlinného původu indiga podle obsahu charakteristických složek pomocí IMS-MS.^[17] Jiné využití iontové mobility v analýze barviv používaných v historických materiálech či jejich degradačních produktů však nebylo v literatuře nalezeno.

2.5.3 Sledování degradačních produktů barviv pomocí instrumentálních metod

Co se týče výzkumu degradace pomocí umělého stárnutí, drtivá většina studií je zaměřena na sledování rychlosti blednutí a faktorů ovlivňujících tyto procesy. Velmi málo studií je zaměřeno na identifikaci degradačních produktů organických barviv v modelových vzorcích podrobených umělému stárnutí.

Nejvíce byla věnována pozornost degradaci flavonoidů.^[33,63,64] Ferreira a kol. studovali fotodegradaci morinu a quercetinu. Pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) a referenčních materiálů byla identifikována 3,4-dihydroxybenzoová kyselina jako degradační produkt quercetinu a 2,4-dihydroxybenzoová kyselina jako degradační produkt morinu. Dále autoři zjistili, že extrakce pomocí HCl v methanolu způsobila metylaci dihydroxybenzoových kyselin a dekarboxylaci druhého degradačního produktu – 2,4,6-trihydroxybenzoové kyseliny.^[63] V roce 2004 byly pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) identifikovány čtyři degradační produkty alizarinu vystaveného aerobním degradačním podmínkám. Při termální degradaci vznikaly jako hlavní degradační produkty kyselina benzoová a 2,4-ditercbutylfenol, při vystavení UV/H₂O₂ pak ftalanhydrid a dimethylftalát.^[41] Později se podařilo dokázat důležitou roli ozonu při degradaci alizarin karmínu (alizarin s sulfonovou skupinou) v plasmatu DBD reaktoru. Byla prokázána tvorba $\cdot\text{OH}$, $\text{HO}_2\cdot$, $\cdot\text{O}_2^-$ a $\cdot\text{O}_3^-$ radikálů zprostředkávajících degradaci.^[65] V roce 2015 byl proveden výzkum indigoidů, kdy se autorům podařila identifikace primárních a některých sekundárních degradačních produktů indigotinu vznikajících fotooxidací. Vzorky byly měřeny pomocí μ -HPLC UV-Vis MS/MS. Navrhli 10 degradačních produktů, včetně jejich pravděpodobného vzniku. Podařilo se odlišit indigo, isoindigo a indirubin pomocí umělého stárnutí a analýzy degradačních produktů.^[66]

Z literatury je zřejmé, že výzkum v této oblasti je s ohledem na velké množství barviv, jejich komponent a možnou variabilitu degradačních podmínek probádán pouze v malé míře. Přítomnost charakteristických degradačních produktů (markerů) v historických textiliích může sloužit k identifikaci skupiny barviva nebo barviva samotného.^[36,67] Znalost použitého barviva je důležitá pro restaurátory, poskytuje informaci o původu materiálu a může (spolu s dalšími faktory) pomoci při odhalení případných padělků.

Jak při analýze samotných barviv, tak při sledování jejich degradace může v budoucnu hrát významnější roli spojení iontové mobility s hmotností spektrometrií. Pilotní experimenty s využitím této techniky zaměřené na analýzu vybraných barviv jsou popsány v další části bakalářské práce.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Přístroje a pomůcky

K měření vzorků barviv byl využit přístroj DXR2 Raman (Thermo Scientific, Madison, Wisconsin USA) s laserem o vlnové délce 785 nm. Proměření IR spekter bylo provedeno na přístroji Thermo Scientific Nicolet iS50 (Thermo Scientific, Madison, Wisconsin USA) v ATR modu. Hmotnostní spektra byla pořízena na přístroji SYNAPT G2-S (Waters, Manchester, USA). Byla využita ionizace elektrosprejem (ESI). Přístroj je vybaven kvadrupólem a analyzátozem doby letu (ToF), mezi něž je zařazena lineární iontová mobilita s putující vlnou. Navažování látek bylo prováděno na vahách Mettler Toledo XSE205 Dual Range (Mettler-Toledo, Praha, Česká republika). Pro ozonolýzu roztoků byl použit ozonový generátor PROFIZON X (UVC Servis, Praha, Česká republika) doplněný teflonovou reakční komůrkou vyrobenou na Katedře analytické chemie PŘF UP. Při přípravě roztoků byl využit ultrazvuk S40H Elmasonic (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Německo).

3.2. Použité chemikálie

Alizarin ($C_{14}H_8O_4$) a purpurin ($C_{14}H_8O_5$) byly zakoupeny od Cayman Chemical (Ann Arbor, USA) a jejich čistota je minimálně 95 %. Indigotin ($C_{16}H_{10}N_2O_2$, čistota min. 95 %) a dimethylsulfoxid (min. 99,7 %) byly dodány firmou Sigma Aldrich (Praha, Česká republika). Chloroform (min. 99,88 %) byl zakoupen od firmy Lach-ner, methanol (min. 99,9 %) od firmy Honeywell. Voda potřebné kvality byla připravena pomocí přístroje Millipore Direct Q 3 UV (Merck, Praha, Česká republika).

3.3. Pracovní postup

3.3.1. Příprava standardních roztoků barviv

Standardní roztoky barviv v DMSO byly připraveny navážením přibližně 5 mg standardů barviv do vialek o objemu 10 ml. Toto množství barviv bylo rozpuštěno v 5 ml DMSO. Roztoky byly umístěny do ultrazvukové lázni na dobu 15 minut při teplotě 30-35 °C.

Pro purpurin a alizarin bylo připraveno 5 ml nasycených roztoků barviva v chloroformu. Roztoky byly v ultrazvukové lázni po dobu 30 minut při teplotě 30-40 °C.

3.3.2. Příprava sklíček s barvivy

Standardní roztoky alizarinu a purpurinu v DMSO byly nanесeny na sklíčka s teflonovou vrstvou. Sklíčka se nechala schnout na okně při laboratorních podmínkách po dobu jednoho dne.

Dále byly standardní roztoky barviv v DMSO a chloroformu nanесeny na mikroskopická sklíčka (jeden roztok barviva na jedno sklíčko). Pro roztoky DMSO byl nanášen objem 1 ml a sklíčka se nechala schnout do sucha při laboratorní teplotě po dobu 5 dnů. Pro roztoky chloroformu byl nanášen objem 0,25 ml celkem 10-krát, jednotlivé vrstvy byly nanášenы vždy až po zaschnutí té předchozí. Doba schnutí jedné vrstvy byla přibližně 5 minut.

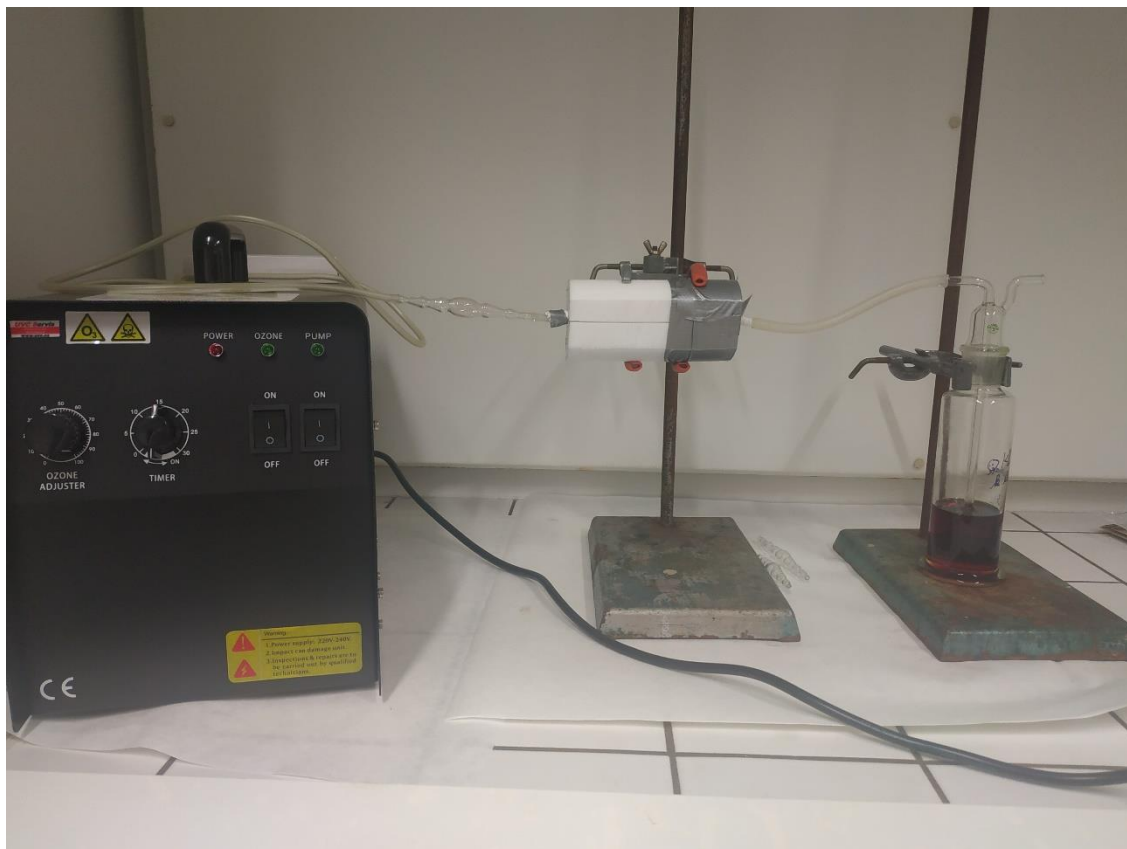
3.3.3. Umělá degradace modelových vzorků pomocí ozonolýzy

Barviva na sklíčku byla postupně umístěna do teflonové reakční komůrky, která byla utěsněna a připojena ke generátoru ozonu pomocí teflonové hadičky a skleněné trubičky. Přebytný ozon byl veden do promývačky s roztokem KI o koncentraci 3 mol/l. Aparatura je zobrazena na Obrázku č.9. Barviva byla ozonolyzována po dobu 2 hodin (kvůli nestálému proudění vzduchu z centrálního systému nebylo možné nastavit stabilní průtok vzduchu do přístroje, a tedy ozonu do nádobky, opakovaně bylo nutné provádět regulaci).

3.3.4. Měření modelových vzorků pomocí Ramanovy a infračervené spektrometrie

Ze zaschlých barviv na mikroskopických sklíčkách před ozonolýzou bylo pomocí skalpelu odebráno malé množství, které bylo analyzováno pomocí Ramanovy spektrometrie a infračervené spektrometrie (FTIR-ATR). U Ramanovy spektrometrie bylo seškrábnuté barvivo umístěno přímo na duralovou destičku. Pevně nastavené parametry přístroje jsou uvedeny v Tabulce č.3. Proměnnými parametry byly počet skenů, výkon laseru a šířka štěrbin, kterou prochází světelný paprsek. Parametry byly voleny tak, aby výsledná spektra byla hladká a odezva detektoru se pohybovala v rozmezí 1000-10000. Spektra barviv byla silně zatížena fluorescencí, tudíž byla využita korekce pomocí polynomické funkce šestého řádu. U FTIR-ATR pak bylo barvivo umístěno na ATR nástavec (diamant). Obdobný postup byl proveden se sklíčky po jejich degradaci ozonem. Zaschlá barviva na teflonovém povrchu byla měřena Ramanovým spektrometrem. Měření IČ u teflonových sklíček nebylo možné, neboť sklíčko s teflonem se nepodařilo dostatečně přitisknout ke krystalu.

U obou technik nebylo možné analyzovat konstantní množství barviva. U Ramanova spektrometru se navíc měření lišila výkonem laseru. Z těchto důvodů byl vyhodnocován pouze rozdíl relativních intenzit pásů ve spektrech nedegradovaných a degradovaných barviv.



Obrázek č.9: Aparatura použitá pro ozonolýzu vzorků (zleva generátor ozonu, uprostřed teflonová komůrka se sklíčkem s barvivem, vpravo promývačka s roztokem KI)

Tabulka č.3: Konstantní parametry Ramanova spektrometru

Vlnová délka laseru	785 nm
Mřížka	400 linií/mm
Odhadované rozlišení	2,3 – 4,3 cm^{-1}
Odhadovaná velikost spotu	3,1 μm
Rozsah	3383 – 32 cm^{-1}
Objektiv mikroskopu	MPlan 10x/0,25 BD

3.3.5. Příprava pracovních roztoků pro iontovou mobilitu s hmotnostní spektrometrií

Pracovní roztoky nedegradovaných barviv byly připraveny odpipetováním 1 μ l standardního roztoku barviva (koncentrace přibližně 1 mg/ml) v DMSO do 999 μ l směsi methanol (MeOH) a voda (1:1, v/v). Roztoky byly promíchány na vortexu a následně analyzovány.

Pracovní roztoky degradovaných barviv byly připraveny seškrábnutím ozonolyzovaného barviva z mikroskopických sklíček a rozpuštěním v 1 ml DMSO. Z takto připravených roztoků (koncentrace <0,2 mg/ml) bylo odpipetováno 10 μ l do 990 μ l směsi MeOH a voda (1:1, v/v). Roztoky byly promíchány na vortexu a podrobeny analýze.

3.3.6. Měření modelových vzorků pomocí iontové mobility s hmotnostní spektrometrií

Přístroj IMS-MS byl na začátku měření kalibrován roztokem mravenčanu sodného o koncentraci 5 mmol/l. Rozsah kalibrace byl 50 – 1200 Da.

Pracovní roztoky byly zaváděny do přístroje přímou infuzí s průtokem 5-10 μ l/min. Všechny pracovní roztoky byly měřeny v pozitivním i negativním modu. Parametry zvolené pro měření na přístroji SYNAPT G2-S jsou v Tabulkách č.4-č.7.

Tabulka č.4: Parametry zvolené pro měření alizarinu a purpurinu na přístroji SYNAPT G2-S pro pozitivní mód

Parametr (jednotka)	Zvolená hodnota
napětí na sprejovací kapiláře (kV)	1,8
teplota zdroje (°C)	100
napětí na kónusu (V)	30
offset zdroje (V)	80
desolvatační teplota (°C)	400
průtok plynu kónusem (l/h)	46
průtok desolvatačního plynu (l/h)	600
rychlost putující vlny (m/s)	400
výška vlny (V)	40

Tabulka č.5: Parametry zvolené pro měření alizarinu a purpurinu na přístroji SYNAPT G2-S pro negativní mód

Parametr (jednotka)	Zvolená hodnota
napětí na sprejovací kapiláře (kV)	1,8
teplota zdroje (°C)	100
napětí na kónusu (V)	40
offset zdroje (V)	100
desolvatační teplota (°C)	600
průtok plynu kónusem (l/h)	100
průtok desolvatačního plynu (l/h)	600
rychlost putující vlny (m/s)	800
výška vlny (V)	40

Tabulka č.6: Parametry zvolené pro měření indigotinu na přístroji SYNAPT G2-S pro pozitivní mód

Parametr (jednotka)	Zvolená hodnota
napětí na sprejovací kapiláře (kV)	1,8
teplota zdroje (°C)	100
napětí na kónusu (V)	30
offset zdroje (V)	80
desolvatační teplota (°C)	400
průtok plynu kónusem (l/h)	30
průtok desolvatačního plynu (l/h)	600
rychlost putující vlny (m/s)	400
výška vlny (V)	40

Tabulka č.7: Parametry zvolené pro měření indigotinu na přístroji SYNAPT G2-S pro negativní mód

Parametr (jednotka)	Zvolená hodnota
napětí na sprejovací kapiláře (kV)	3
teplota zdroje (°C)	100

napětí na kónusu (V)	40
offset zdroje (V)	100
desolvatační teplota (°C)	600
průtok plynu kónusem (l/h)	100
průtok desolvatačního plynu (l/h)	600
rychlost putující vlny (m/s)	700
výška vlny (V)	40

Teoretické hodnoty m/z barviv v pozitivním a negativním módu jsou uvedeny v Tabulce č.8.

Tabulka č.8: Teoretické hodnoty m/z barviv

Barvivo	Pozitivní mód [MH]⁺	Negativní mód [M-H]⁻
Alizarin	241,0501	239,0344
Purpurin	257,0450	255,0293
Indigotin	263,0821	261,0664

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

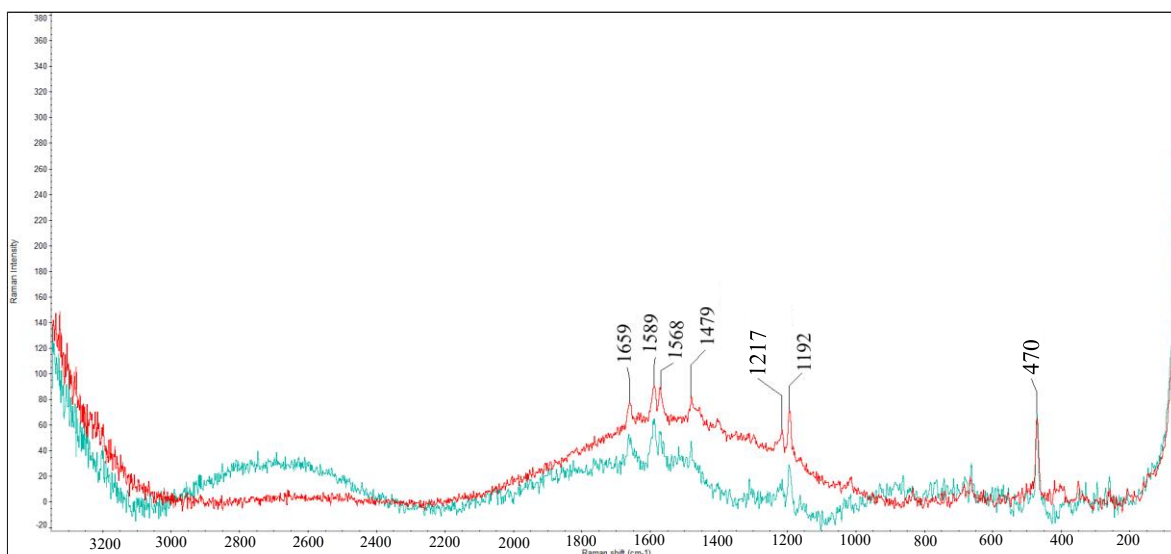
4.1. Výsledky z měření Ramanovou a infračervenou spektrometrií

4.1.1 Degradace alizarinu

Ramanova spektra barviva na teflonu byla silně ovlivněna Ramanovým rozptylem teflonu a nebylo možné pozorovat pásy barviva. Teflon tedy není vhodný podkladový materiál pro Ramanovu spektrometrii, a tudíž byl postup s měřením teflonových sklíček opuštěn a měření probíhalo pouze pro seškrábnutá barviva.

Ramanova spektra alizarinu nanášeného na sklíčka jako roztok v DMSO před stárnutím a po stárnutí jsou uvedena na Obrázku č.10. Ramanova spektra alizarinu při použití chloroformu jsou na Obrázku č.11.

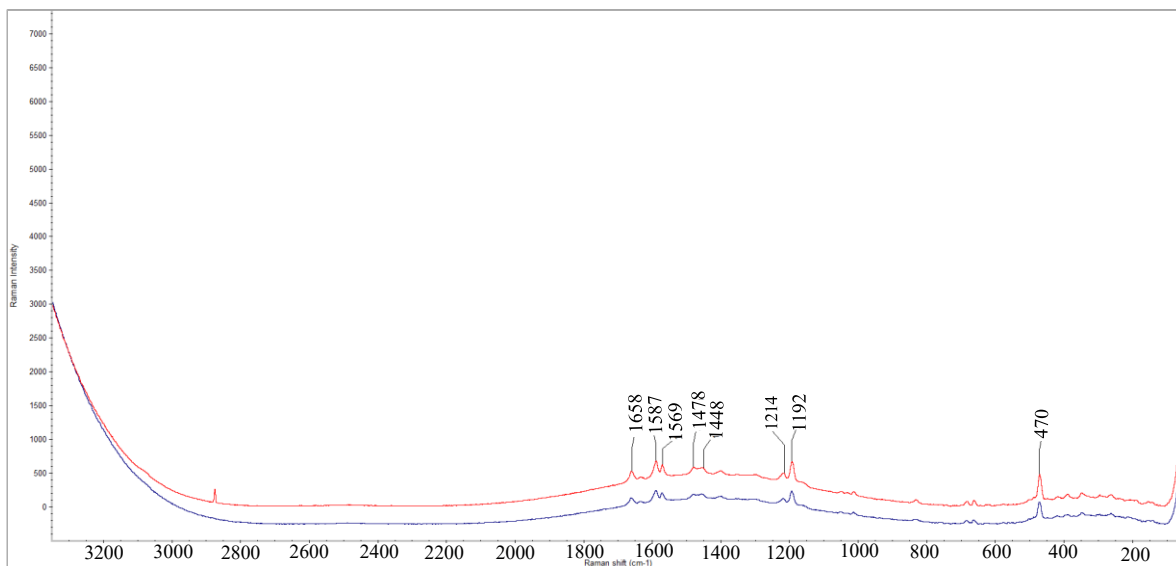
Naměřená infračervená spektra alizarinu (DMSO) jsou na Obrázku č.12, spektra alizarinu (chloroform) jsou na Obrázku č.13.



Obrázek č.10: Ramanovo spektrum alizarinu (DMSO) (červeně nedegradovaný, tyrkysově degradovaný)

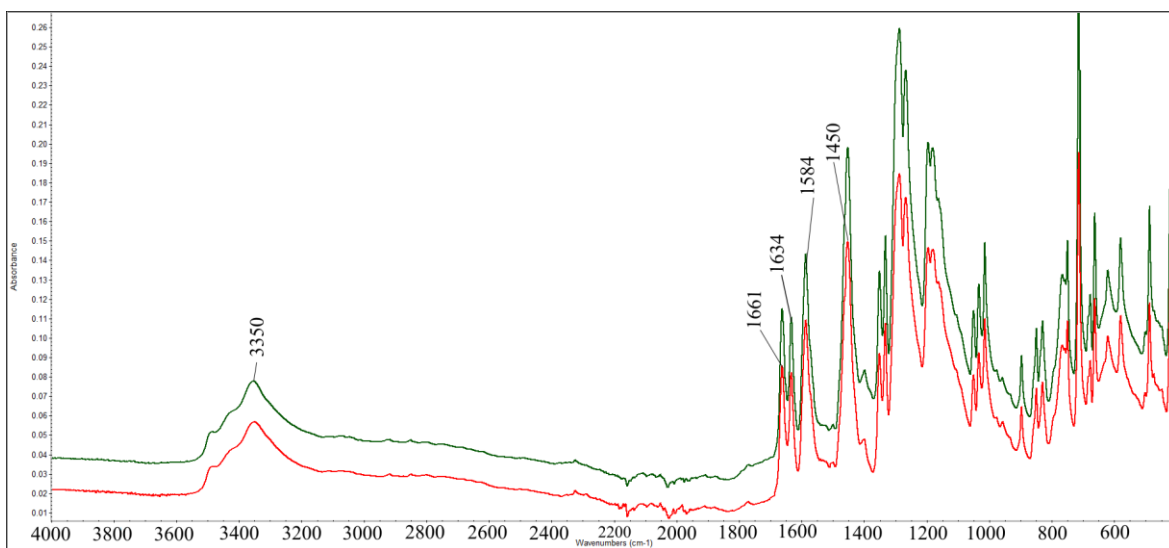
U Ramanových spekter alizarinu jsou viditelné pásy při 1659 (1658) naznačující přítomnost keto skupiny, 1589 (1587), 1568 (1569) a 1479 (1478) odpovídají aromatickým kruhům.

Spektra se přibližně shodují se spektry z literatury^[68] a spektrem standardu (Příloha - Obrázek č.A1). U žádného z pásů nenastaly pozorovatelné změny vlivem degradace.

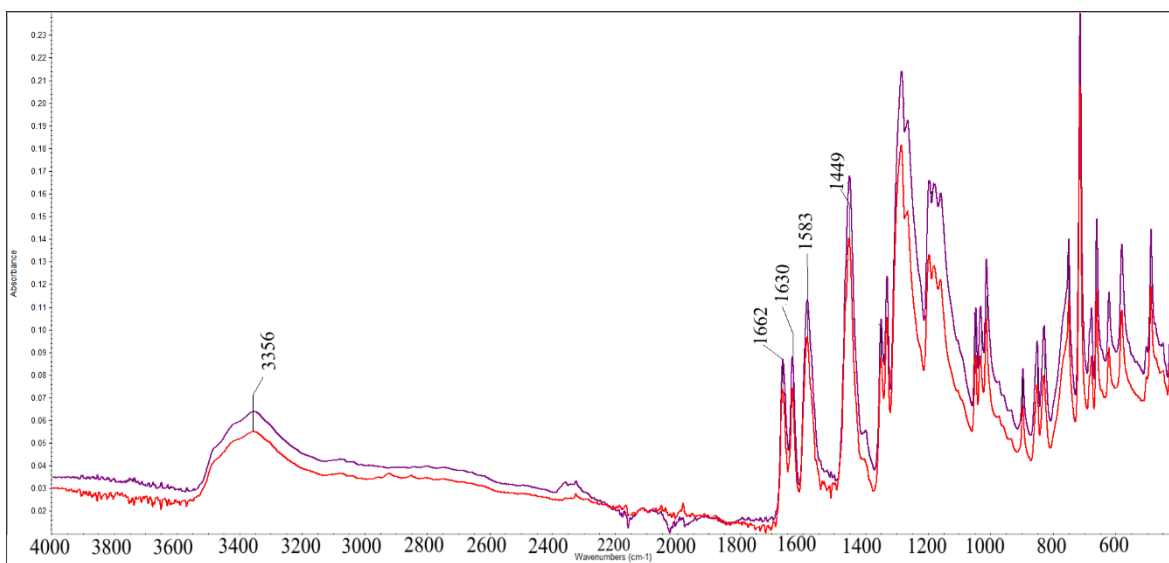


Obrázek č.11: Ramanovo spektrum alizarinu (chloroform) (červeně nedegradovaný, modře degradovaný)

U FTIR-ATR spekter nedegradovaného alizarinu lze vidět vibrace při 3350 (3356) cm⁻¹, jedná se o valenční vibraci hydroxy skupin alizarinu. Vodíková vazba je zodpovědná za široký charakter pásu. Pásky při vlnočtech 1661 (1662) cm⁻¹ a 1634 cm⁻¹ (1630 cm⁻¹) jsou valenční vibrace karbonylových skupin anthrachinonů. Pásky při 1584 (1583) a 1450 (1449) cm⁻¹ odpovídají valenčním vibračním vazeb C=C v aromatických kruzích. Spektra se shodují s těmi dostupnými v literatuře^[69,70] a se spektrem standardu (Příloha – Obrázek č.B1). Spektrum degradovaného a nedegradovaného alizarinu se příliš neliší. Nebyl pozorován očekávaný pokles pásu -OH skupiny, ani vznik nového pásu při 1625 cm⁻¹ a zánik dvou pásů karbonylových skupin, jak tomu bylo v předešlé studii.^[70]

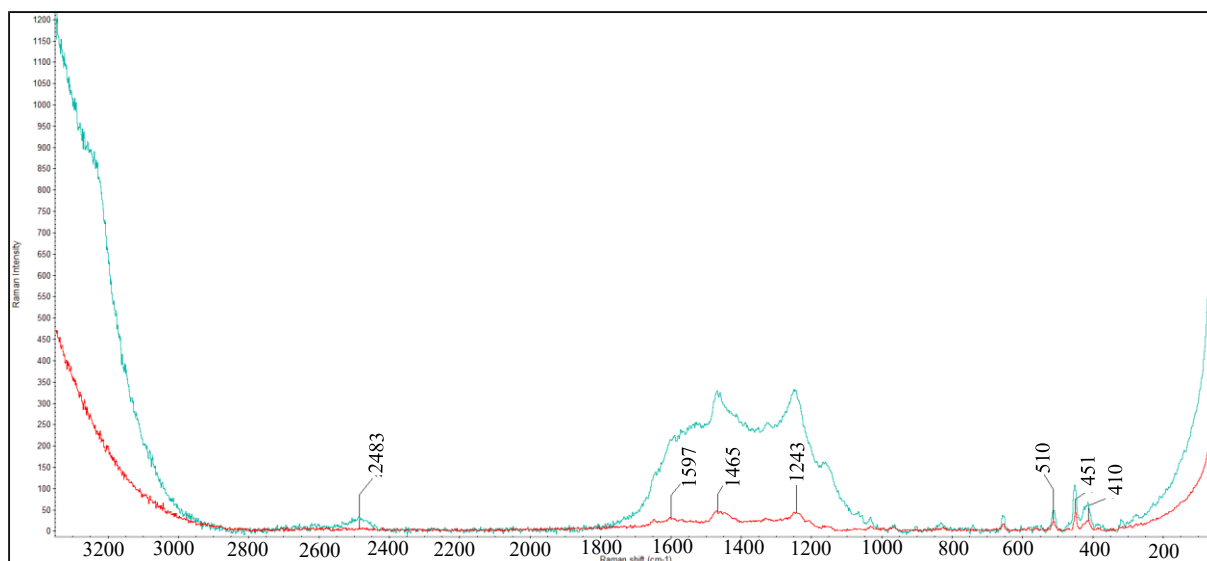


Obrázek č.12: FTIR-ATR spektrum alizarinu (DMSO) (červeně nedegradovaný, zeleně degradovaný)

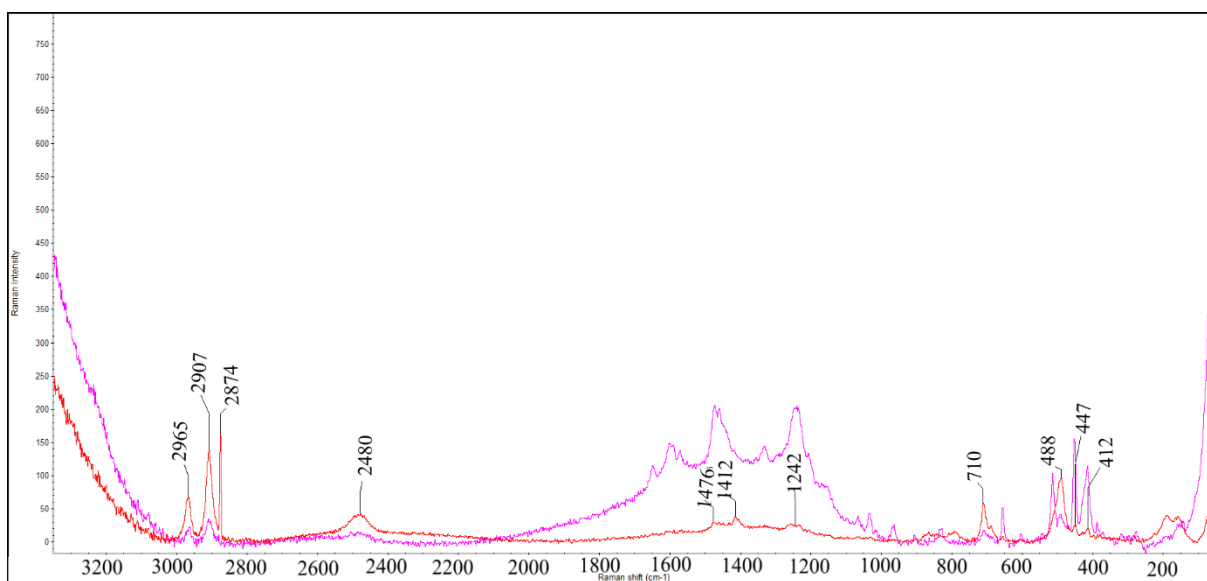


Obrázek č.13: FTIR-ATR spektrum alizarinu (chloroform) (červeně nedegradovaný, fialově degradovaný)

4.1.2. Degradace purpurinu



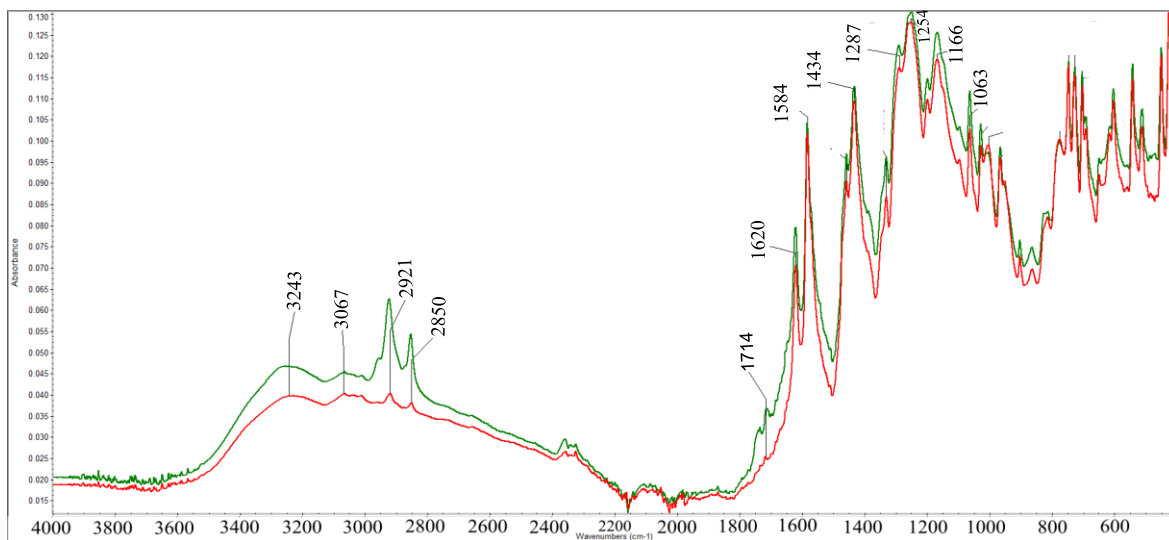
Obrázek č.14: Ramanovo spektrum purpurinu (DMSO) (červeně nedegradovaný, modře degradovaný)



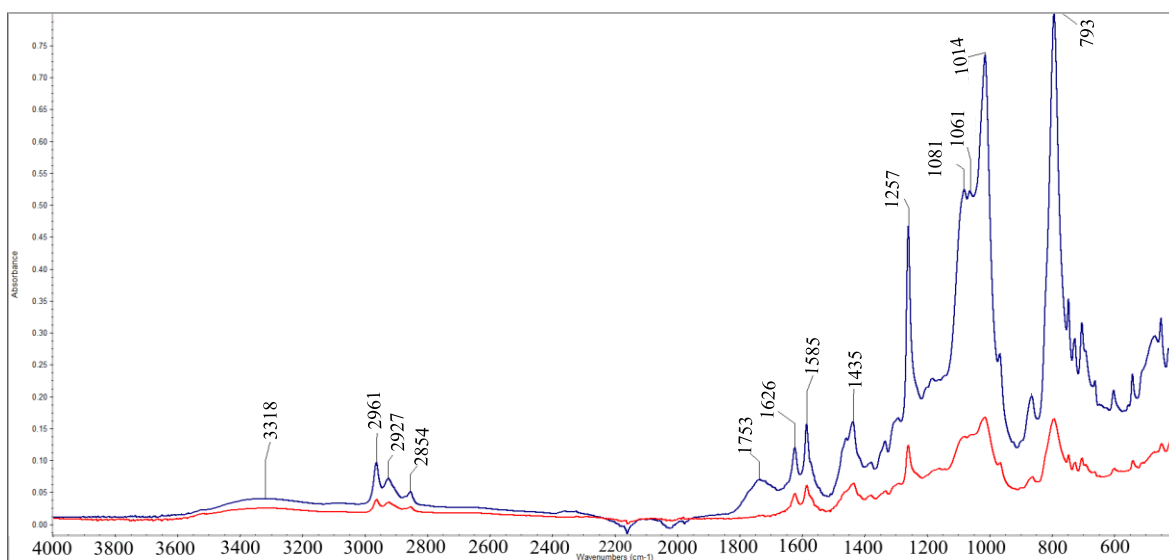
Obrázek č.15: Ramanovo spektrum purpurinu (chloroform) (červeně nedegradovaný, fialově degradovaný)

Narozdíl od alizarinu jsou u Ramanových spekter purpurinu v různých rozpouštědlech viditelné rozdíly v oblasti $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ (Obrázek č.14 a č.15) Po srovnání obou spekter s literaturou^[69] a spektrem prášku purpurinu (Příloha - Obrázek č.A2) odpovídá purpurinu spektrum při použití DMSO. Vzorek purpurinu v chloroformu byl pravděpodobně kontaminován. U Ramanových spekter purpurinu vidíme po degradaci významný nárůst

intenzity při 1800 -1200 cm^{-1} , což však mohlo být způsobeno větší vrstvou vzorku. V této oblasti jsou pásy karbonylové skupiny a aromátů.



Obrázek č.16: FTIR-ATR spektrum purpurinu (DMSO) (červeně nedegradovaný, zeleně degradovaný)

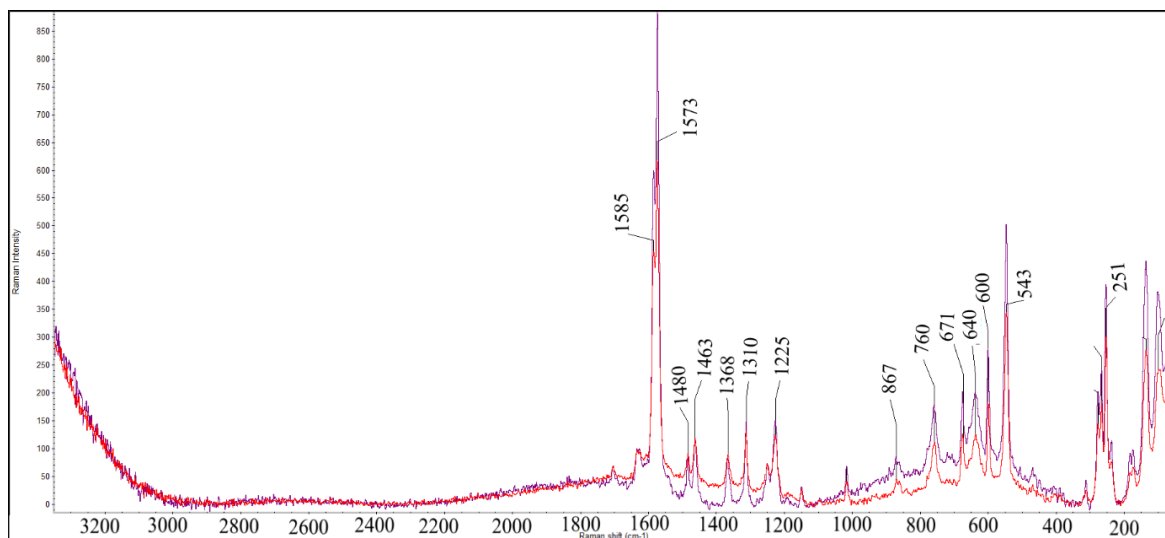


Obrázek č.17: FTIR-ATR spektrum purpurinu (chloroform) (červeně nedegradovaný, modře degradovaný)

U infračervených spekter purpurinu (Obrázky č.16 a č.17) jsou vibrace při vlnočtech 3243 cm^{-1} (hydroxy skupiny), 3067, 2921 a 2850 cm^{-1} . Dále jsou přítomny pásy aromatických kruhů -1620, 1584, 1434 cm^{-1} . Po degradaci vidíme nárůst pásů C-H vazeb a nárůst pásu při 1714 (1753) cm^{-1} . Za předpokladu, že purpurin a alizarin budou podléhat analogické degradaci (důsledek podobné struktury), nárůst intenzity pásu při 1714 (1753)

cm^{-1} by mohl naznačovat vznikající karboxylovou kyselinu.^[41,70] Je důležité podotknout, že pás karbonylu je přítomný i ve spektru standardu (Příloha – Obrázek č.B2).

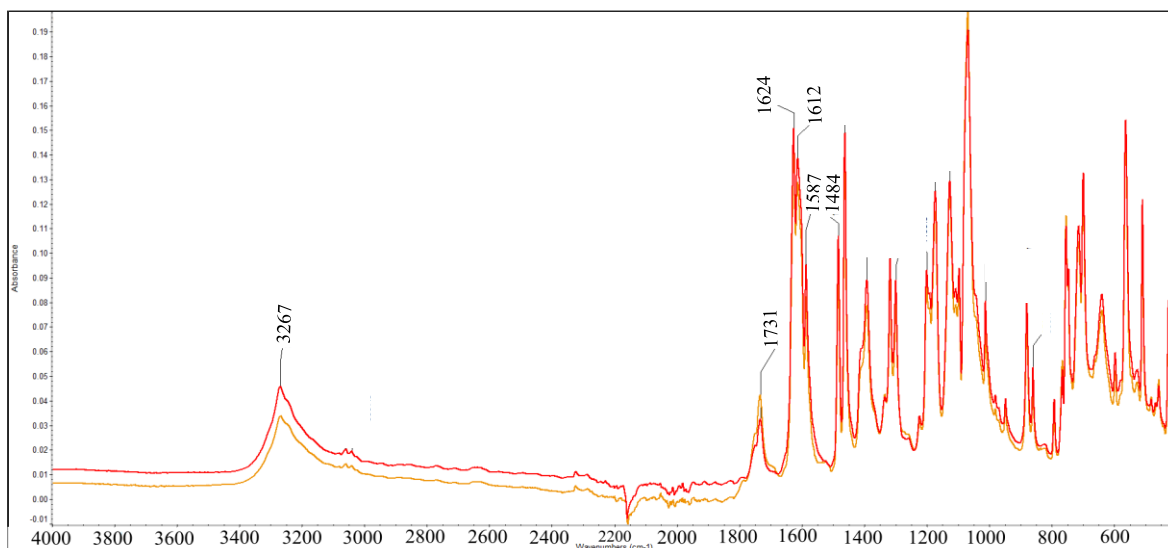
4.1.3. Degradace indigotinu



Obrázek č.18: Ramanovo spektrum indigotinu (DMSO) (červeně nedegradovaný, fialově degradovaný)

U Ramanových spekter indigotinu (Obrázky č.18) jsou pozorovány nejintenzivnější pásy při vlnočtech 1585 a 1573 cm^{-1} odpovídající aromatickým kruhům a heterocyklům. Konjugovaný systém C=C, C=O, N-H je zodpovědný i za vibraci při 1368 cm^{-1} .^[71] Spektrum standardu je uvedeno v Příloze - Obrázek č.A3. Žádné změny ve spektru vlivem degradace nebyly pozorovány.

U FTIR- ATR spekter barviva (Obrázek č.19) jsou pozorovatelné pásy při vlnočtu 3267 (amino skupina), 1731 cm^{-1} (karbonylová skupina) a 1587 cm^{-1} a 1484 cm^{-1} (aromatický kruh).^[71] Spektrum standardu je uvedeno v Příloze – Obrázek č.B3. Nejsou pozorovány žádné rozsáhlé změny ve spektru v důsledku degradace. To koreluje s výsledky autorů, zabývajících se mimo jiné degradací indiga v kyslíkové a bezkyslíkové atmosféře. Autoři u vzorků indiga nepozorovali téměř žádné změny v Ramanových a FTIR-ATR spektrech barviva. Také to odpovídá poznatku o rostoucí stabilitě vlivem symetrie molekuly.^[31]



Obrázek č.19: FTIR-ATR spektrum indigotinu (DMSO) (červeně nedegradovaný, oranžově degradovaný)

Z výsledků pro alizarin a purpurin je patrné, že nezáleží na použitém rozpouštědle při přípravě standardních roztoků. Ani u jednoho z barviv nebyla zaznamenána změna ve spektrech, kterou by bylo možné přisoudit k degradaci barviv.

4.2. Výsledky z měření iontové mobility s hmotnostní spektrometrií

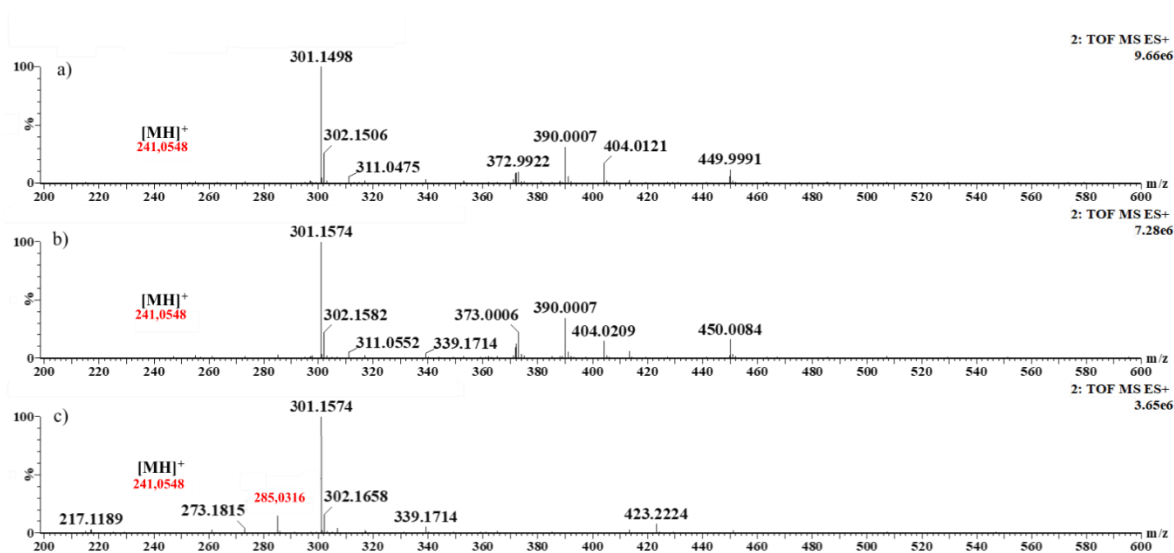
4.2.1. Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie alizarinu

Ačkoliv lze očekávat efektivnější ionizaci alizarinu v záporném módu,^[72] s ohledem na snahu zachytit degradační produkty byla prováděna ionizace v obou módech, kladném i záporném. Ze stejného důvodu byl v obou módech měřen purpurin a indigotin.

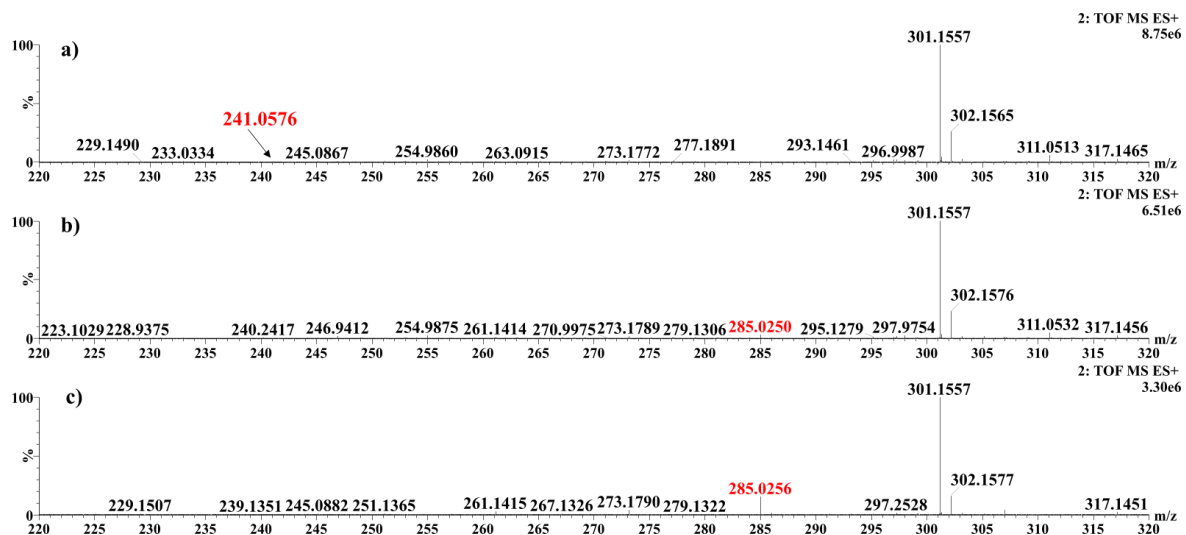
V pozitivním módu alizarin (teoretická hodnota m/z 241,0501) dává velmi nízký signál (Obrázek č.20). Základní pík při m/z 301 lze přisoudit kontaminaci ftalátem (adukt dibutylftalátu se sodným kationtem).^[73]

Ve spektrech degradovaného alizarinu je vidět pouze jediný relevantní signál při m/z 285,0316, který by mohl odpovídat degradačnímu produktu (Obrázek č.20c). Tento ion se liší od iontu alizarinu o 44 (přesněji ze spekter vyplývá diference 43,9674 pro experiment s DMSO a 43,9680 při použití CH_3Cl). Uvedené rozdíly byly vypočteny ze spekter na Obrázku č.21, kdy po jejich vycentrování byl ion 301,1557 použit jako interní standard pro m/z („lock mass“) umožňující vzájemné porovnání hodnot m/z těchto spekter. Hodnota m/z pro ion alizarinu (241,0576) byla získána ze spektra na Obrázku č.21a, hodnoty pro ion 285 (285,0250 a 285,0256) ze spekter na Obrázku č.21b,c. Není-li uvedeno, spektra na obrázcích

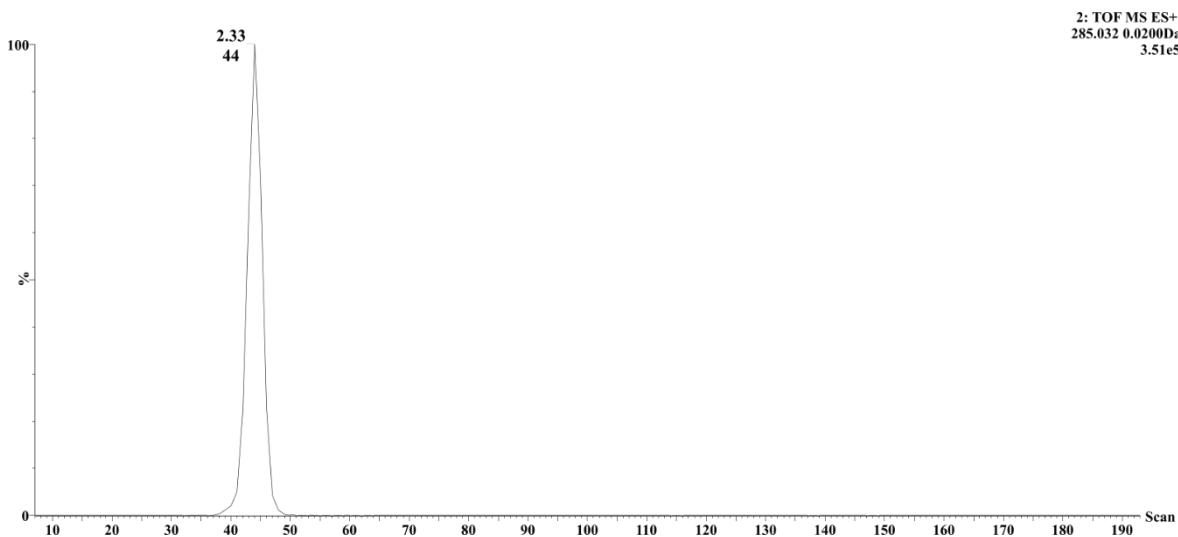
jsou vždy uváděna necentrována a bez korekce na interní standard. Zjištěné difference se liší od teoretické hodnoty pro CO₂ (43,9898) o 22 mDa. Jinou možností může být nahrazení dvou protonů v molekule alizarinu dvěma sodnými kationty (+2Na-2H). Tomu by odpovídala teoretická difference 43,9638. Experimentální hodnoty se od ní liší o 4 mDa. Je pravděpodobnější, že se u iontu 285 nejedná o produkt degradace, ale o ion alizarinu, kdy dva protony jsou nahrazeny sodnými kationty. Uvedený příklad dokládá, že při interpretaci dat je nutná obezřetnost, a v tomto případě také to, že vysoká rozlišovací schopnost přístroje umožňuje předejít chybným závěrům o studovaných procesech. Mobilogram iontu (m/z 285,0316) je uveden na Obrázku č.22, detail spekter srovnávající efekt mobilitní separace (Obrázek č.23) dokládá možnost zlepšení **selektivity**. Očekávané degradační produkty^[41] – ftalanhydrid (m/z 149,01239), dimethylftalát (m/z 195,0657), popř. benzoová kyselina (m/z 123,0446) a 2,4-ditercbutylfenol (m/z 207,1749) nebyly detekovány.



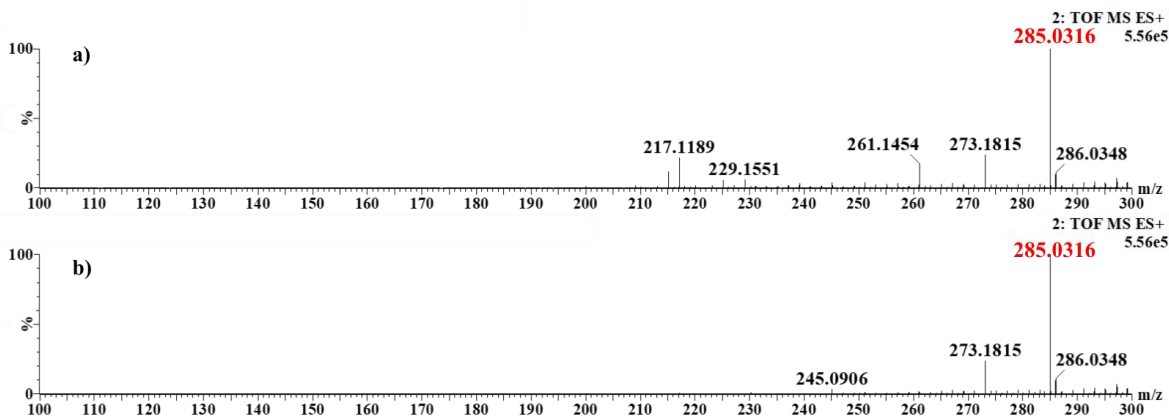
Obrázek č.20: Hmotnostní spektrum alizarinu v pozitivním módu a) nedegradovaný
b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)



Obrázek č.21: Hmotnostní spektrum alizarinu v pozitivním módu v rozsahu m/z 220-320 po vycentrování píků a aplikaci korekce hodnot m/z pomocí interního standardu (m/z 301,1557) a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)



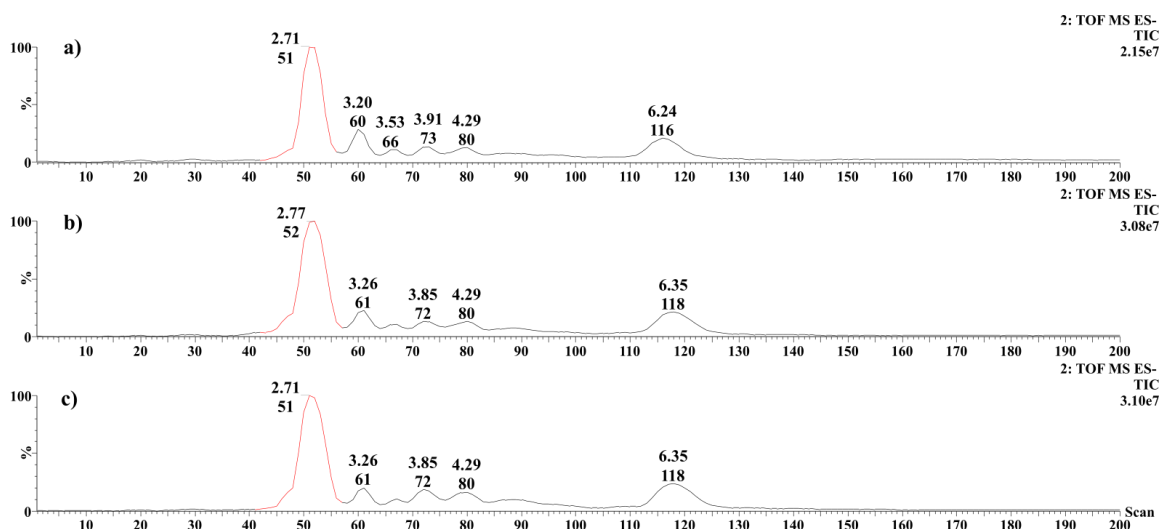
Obrázek č.22: Mobilogram iontu pozorovaného v pozitivním módu při m/z 285,0316 ze vzorku alizarinu (CHCl_3)



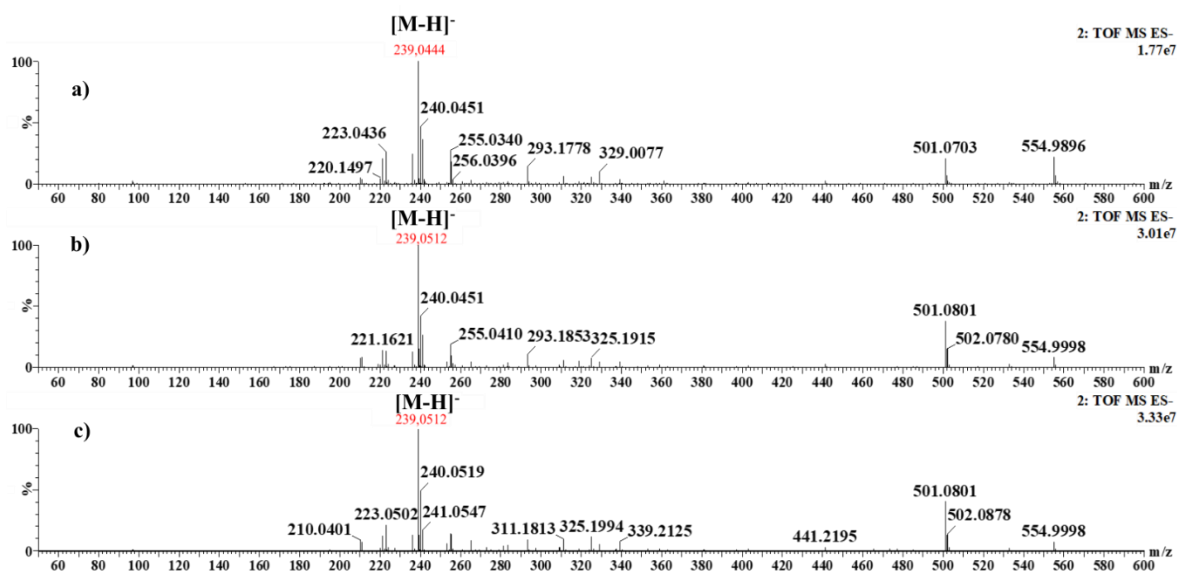
Obrázek č.23: a) Hmotnostní spektrum alizarinu (degradovaný - chloroform) v pozitivním módu bez mobilní separace v rozsahu m/z 100-300 b) spektrum pro mobilní pík iontu (285,0316) v pozitivním módu v rozsahu m/z 100-300

V negativním módu byl alizarin snadno detekován v nedegradovaném (m/z 239,0444) i degradovaném (m/z 239,0512) barvivu. V mobilogramech zobrazených pro celkový iontový proud je pík alizarinu nejintenzivnější (driftový čas 2,71 (2,77) ms, Obrázek č.24), ve spektrech je jeho ion základním iontem ve spektru (Obrázek č.25). Je zřejmé, že ionizace v negativním módu je dle očekávání výhodnější než v pozitivním. Pro ion barviva (m/z 239) byl vykreslen mobilogram (Obrázek č.26). Ion m/z 239 byl izolován v kvadrupólu a fragmentován v kolizní cele za iontovou mobilitou při 45 V. Fragmentační hmotnostní spektrum s naznačenou ztrátou je na Obrázku č.27. Ztráta 28 odpovídá odštěpení CO. Ionty při m/z 211, 210, 167, 155, 127 a 101 se shodují s fragmenty v literatuře.^[66, 74] Je potvrzeno, že ion při m/z 239,0444 (239,0512) náleží alizarinu.

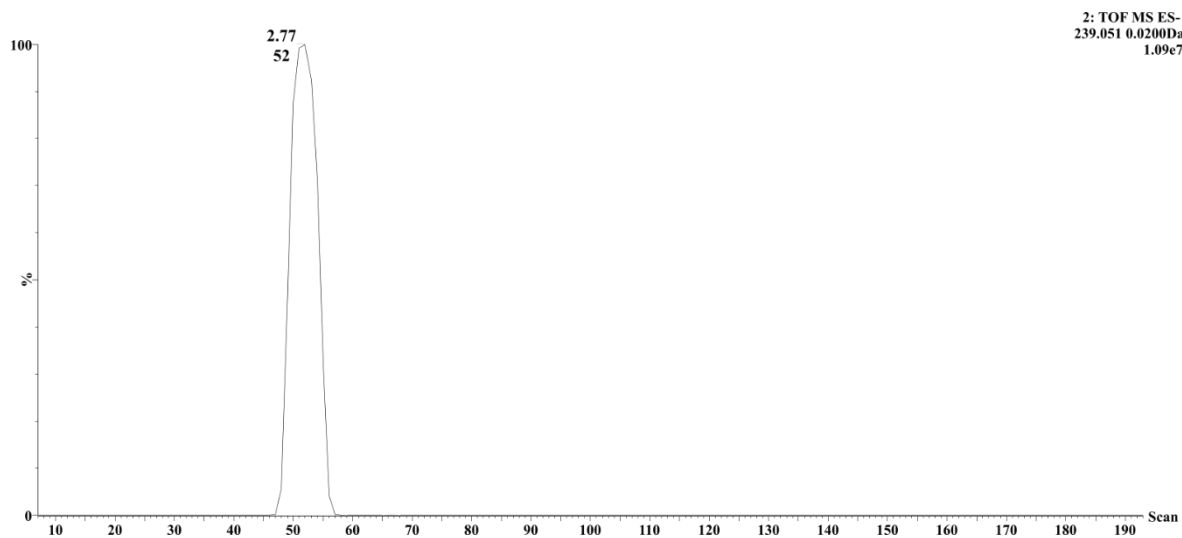
Změny v hmotnostním spektru vlivem degradace nebyly pozorovány, což rovněž naznačuje, že ion při m/z 285 v kladném módu nebude degradační produkt. Diference CO₂ (viz výše) by ukazovala na přítomnost karboxylu, který by měl být dobře ionizovatelný v záporném módu. Signály v literatuře popsanych produktů rovněž nebyly viditelné.^[41]



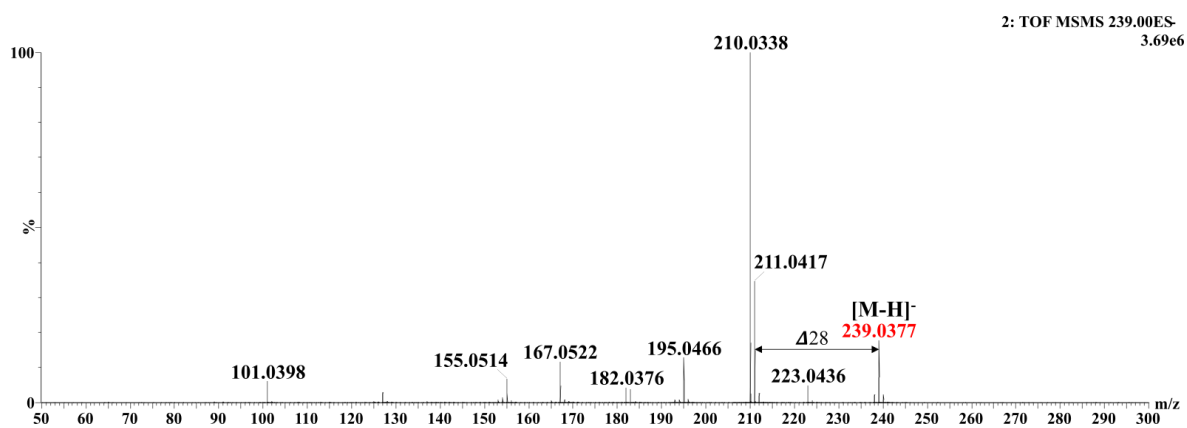
Obrázek č.24: Mobilogram pracovních roztoků alizarinu (červeně) v negativním módu pro celkový iontový proud a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)



Obrázek č.25: Hmotnostní spektrum pracovních roztoků alizarinu v negativním módu a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)



Obrázek č.26: Mobilogram pro ion alizarinu v negativním módu (m/z 239,0512) pro vzorek alizarinu (CHCl_3)

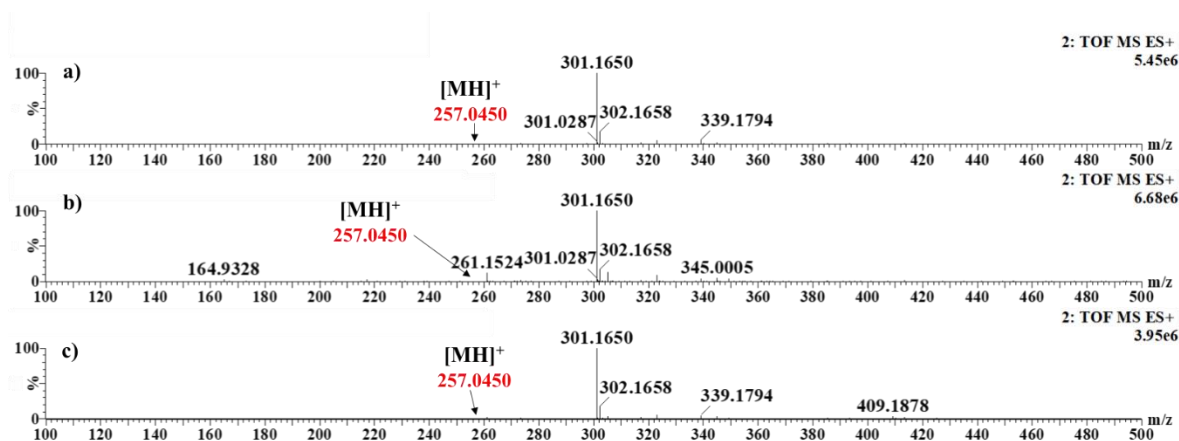


Obrázek č.27: Fragmentace alizarinu (nedegradovaný vzorek) v negativním módu (izolován ion m/z 239) při napětí kolizní cely 45 V

4.2.2. Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie purpurinu

V pozitivním módu purpurin neposkytoval signál s dostatečným odstupem od pozadí (Obrázek č.28), což ukazuje na podobné chování s alizarinem.

K purpurinu nebyly v literatuře nalezeny degradační produkty. Ve spektrech degradovaného barviva nebyly nalezeny signály, které by naznačovaly přítomnost degradačních produktů.

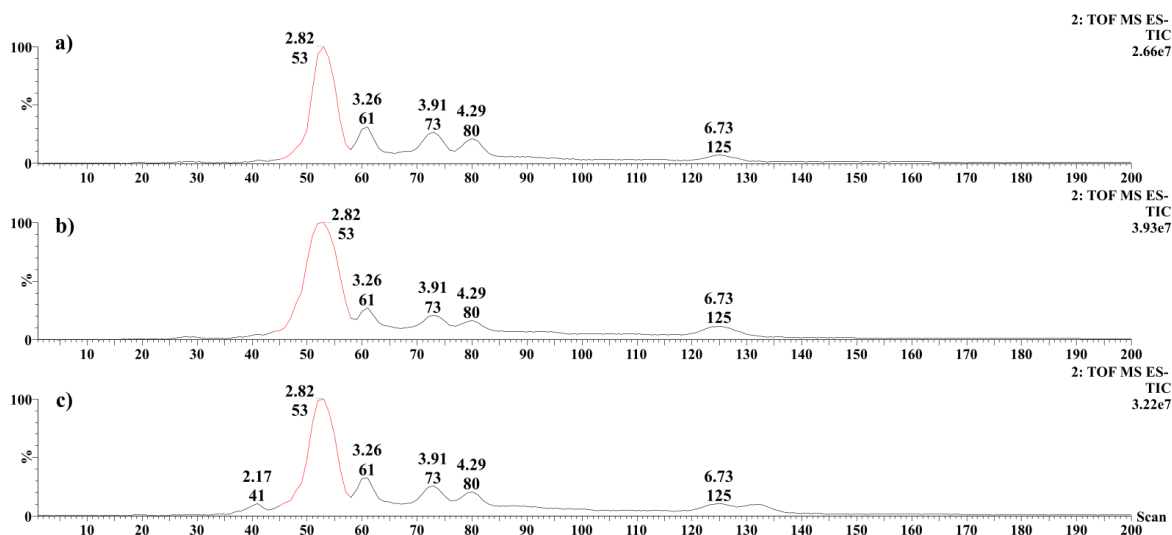


Obrázek č.28: Hmotnostní spektrum pracovního roztoku purpurinu v pozitivním módu
a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)

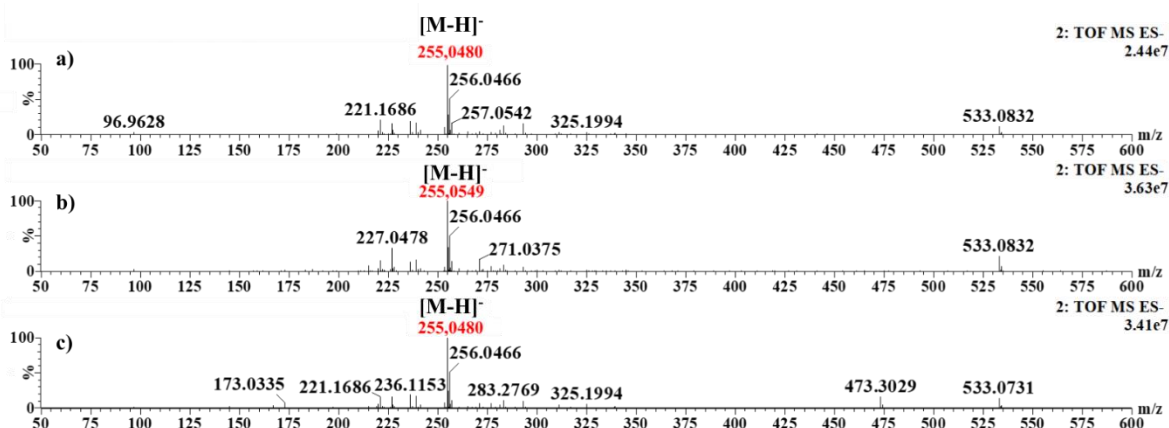
V negativním módu byl purpurin detekován, jak v nedegradovaném, tak v degradovaných vzorcích. Na mobilogramu (Obrázek č.29, driftový čas 2,82 ms) i ve spektrech poskytoval nejintenzivnější pík (Obrázek č.30, m/z 255,0480, 255,0549 (DMSO), 255,0480 (chloroform)). Pro ion barviva (255 m/z) je znázorněn mobilogram na Obrázku č.31, ze kterého lze odečíst odpovídající driftový čas. Fragmentace izolovaného iontu barviva v kolizní cele za iontovou mobilitou při 40 V poskytla spektrum (Obrázek č.32) v dobré shodě s literaturou^[66, 74] (ionty s m/z 227, 183, 171, 143, 129 a 101), což dokládá identitu látky.

V hmotnostním spektru (Obrázek č.30) se neprojeví významné změny v souvislosti s degradací. Pozorován byl slabý nárůst intenzity píku při m/z 271,0375. Mohlo by se jednat o navázání další hydroxy skupiny na aromatické jádro, výsledná látka by měla m/z 271,0243 (teoretická hodnota). Mobilogram iontu (271,0375) je uveden na Obrázku č.33. Je důležité podotknout, že pík je přítomný i ve spektru nedegradovaného barviva. Využití iontu purpurinu jako interního standardu pro m/z („lock mass“) poskytlo hodnotu m/z pro diskutovaný signál 271,0161 (Obrázek č.34). Od teoretické hodnoty se liší o 8 mDa, chyba je tak 30 ppm. Takováto hodnota neumožňuje potvrdit hypotézu o hydroxy derivátu

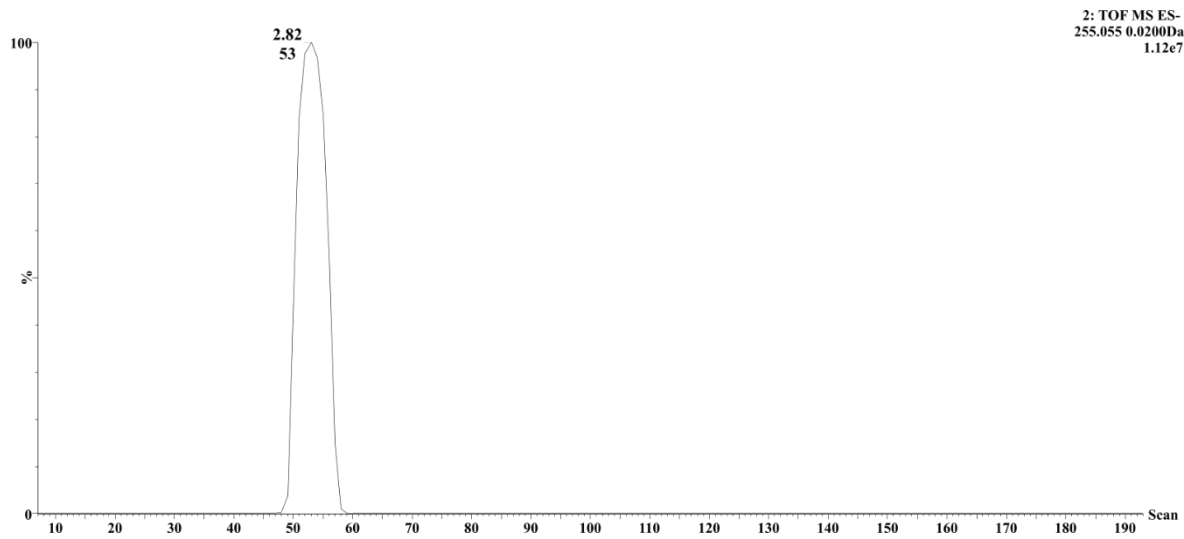
purpurinu. Není tedy zřejmé, zda k nárůstu intenzity píku došlo vlivem degradace. Další rozdílný pík je při m/z 473,3029. Jedná se pravděpodobně o kontaminaci, která se projevila už v Ramanově a infračerveném spektru purpurinu při použití chloroformu. Při pokusu o fragmentaci iontu k ní docházelo při napětí 60 V. Mobilogram a fragmentace nečistoty jsou uvedeny v příloze (Obrázek č.C1 a Obrázek č.C2). Produkty analogické k degradačním produktům alizarinu^[41] ve spektru nebyly detekovány.



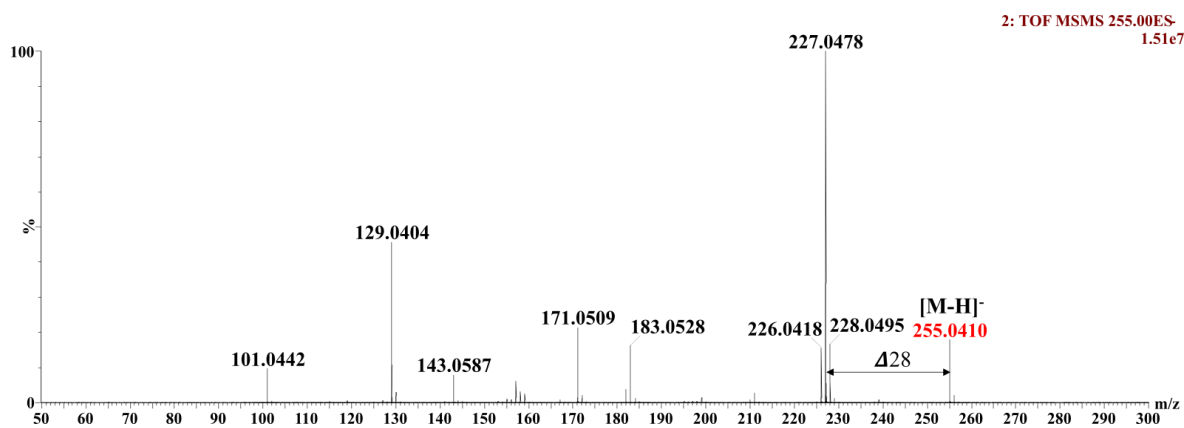
Obrázek č.29: Mobilogram pracovních roztoků purpurinu (červeně) v negativním módu pro celkový iontový proud a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)



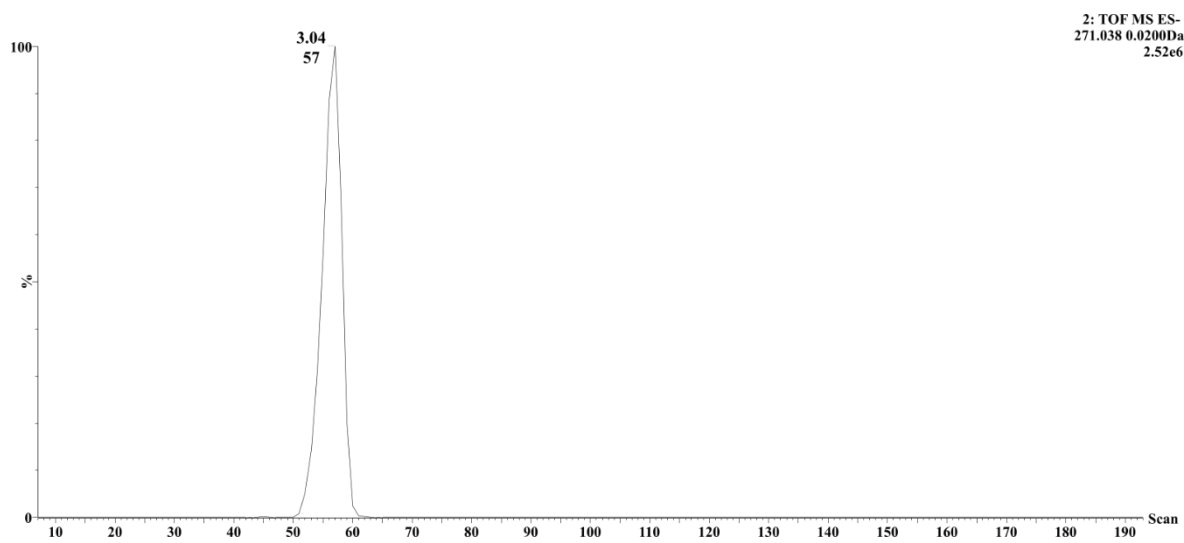
Obrázek č.30: Hmotnostní spektrum pracovních roztoků purpurinu v negativním módu a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)



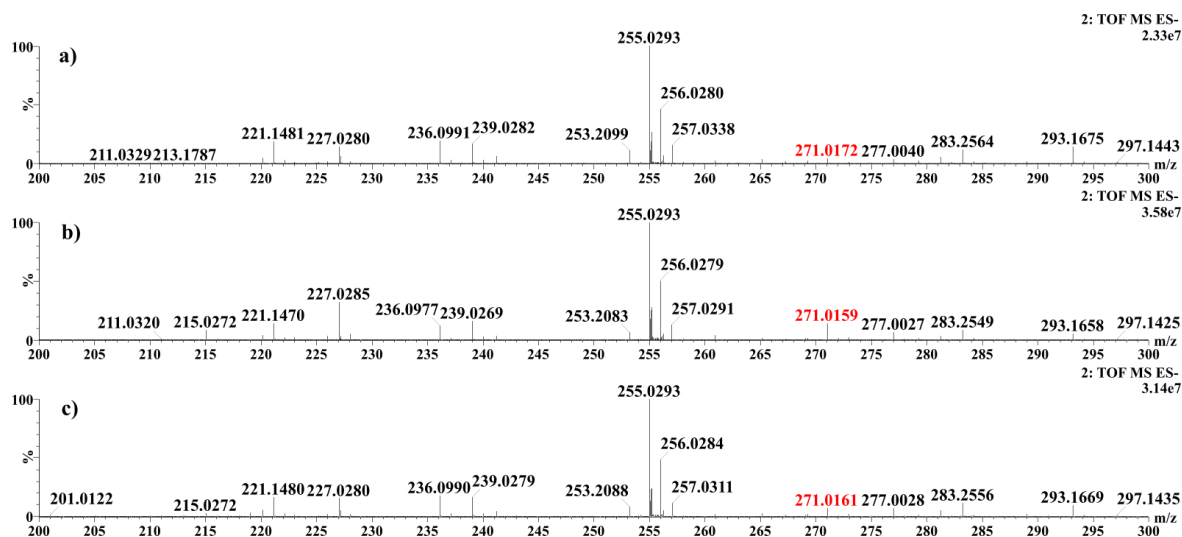
Obrázek č.31: Mobilogram purpurinu (DMSO) v negativním módu (m/z 255,0549)



Obrázek č.32: Fragmentace purpurinu (nedegradovaný vzorek) v negativním módu (izolován m/z 255) s napětím v kolizní cele 40 V



Obrázek č.33: Mobilogram iontu při m/z 271,0375 v negativním módu ze vzorku purpurinu (DMSO)

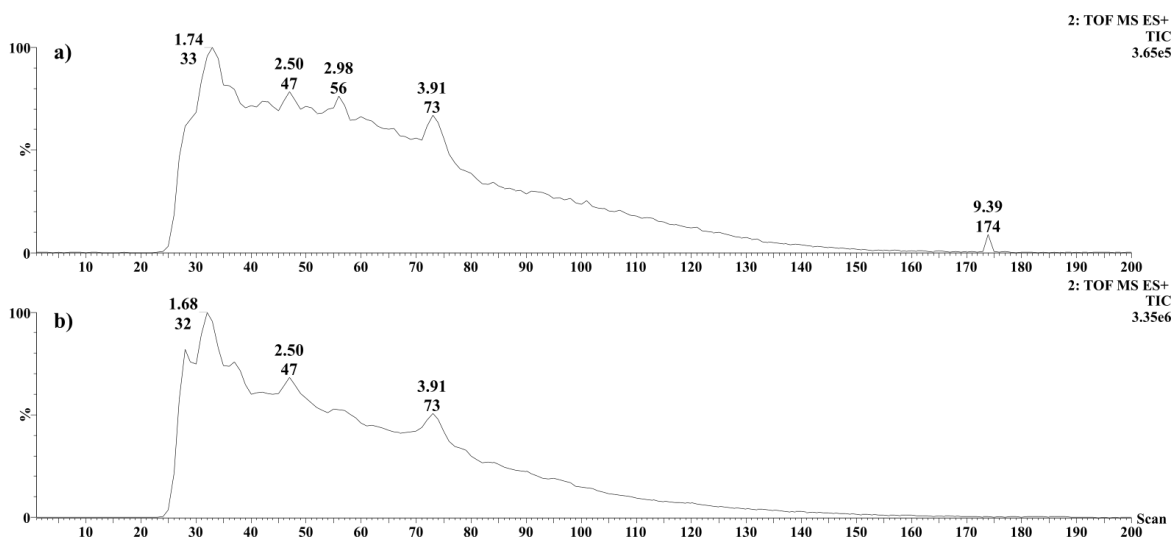


Obrázek č.34: Hmotnostní spektrum purpurinu v negativním módu v rozsahu m/z 200-300 po vycentrování píků a aplikaci korekce hodnot m/z interního standardu (m/z 255,0293)
a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO) c) degradovaný (chloroform)

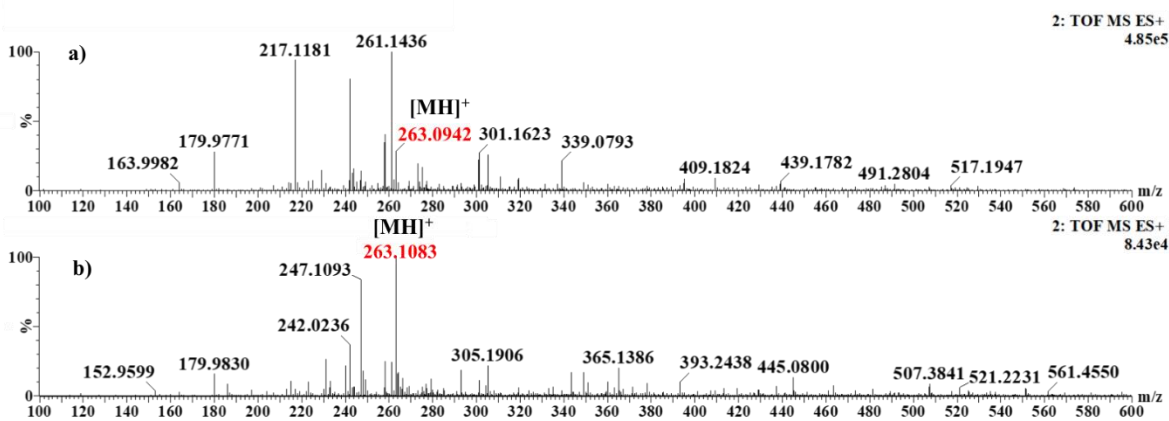
4.2.3. Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie indigotinu

Indigotin byl detekován v pozitivním módu v nedegradovaném i degradovaném vzorku (Obrázek č.35 a 36). Pro ion barviva o m/z 263 byl znázorněn mobilogram (Obrázek č.37) dokládající driftový čas indigotinu 1,79 ms. Fragmentace izolovaného iontu barviva za mobilitní celou při napětí 40 V je na Obrázku č.38. Fragmenty při m/z 235, 219, 206, 132 a 77 odpovídají fragmentům uváděným v literatuře.^[66] Zajímavé je, že ve fragmentačním spektru je vidět signál odpovídající degradačnímu produktu indigotinu při m/z 235, který byl popsán v literatuře.^[66] V tomto případě fragmentace a degradace vedou patrně ke stejnému iontu, což bylo mohlo komplikovat identifikaci degradačních produktů, pokud by k fragmentaci docházelo například již v iontovém zdroji. Degradační produkt indigotinu (m/z 235) v hmotnostním spektru však nebyl pozorován. Pravděpodobná struktura iontu degradačního produktu (235 m/z) je zobrazena na Obrázku č.39. Ion podlehá fragmentaci se ztrátou 18, odpovídající ztrátě H₂O, vzniklý ion (m/z 217) dále fragmentuje se ztrátou 27 (HCN). Druhou ztrátou iontu při m/z 235 je 29, což odpovídá ztrátě CHO.^[66]

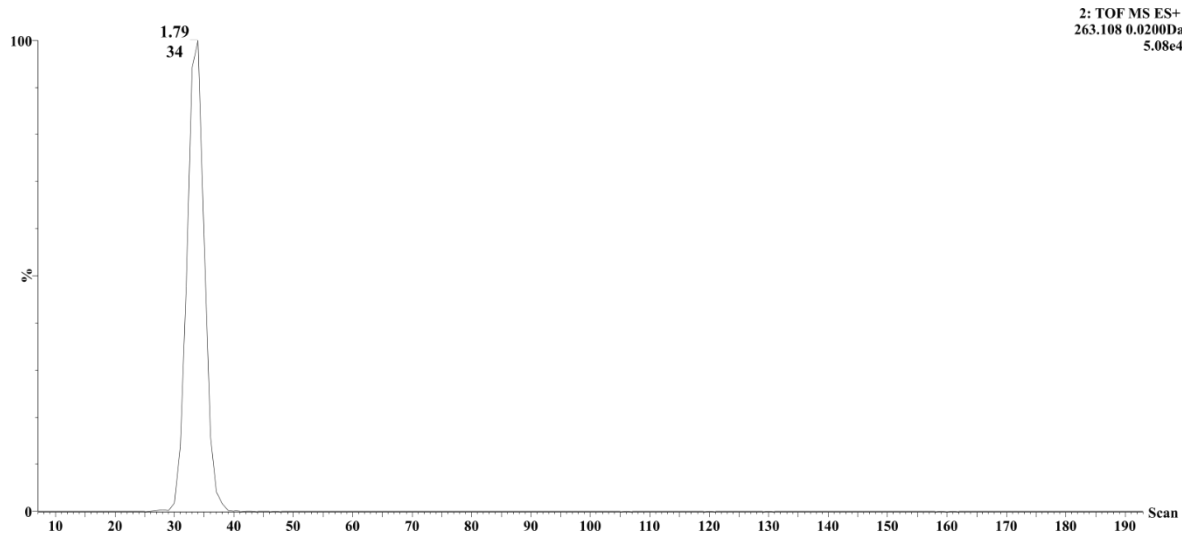
V hmotnostním spektru nebyly, a to také vzhledem k vysokému pozadí pozorovány nové signály.



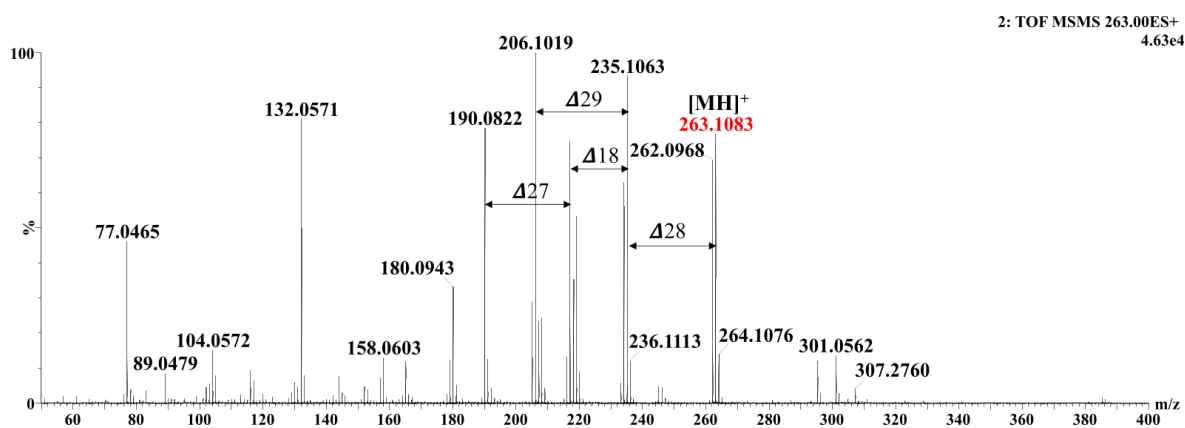
Obrázek č.35: Mobilogram pracovních roztoků indigotinu v pozitivním módu pro celkový iontový proud a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO)



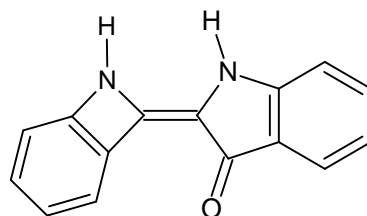
Obrázek č.36: Hmotnostní spektrum pracovních roztoků indigotinu v pozitivním módu a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO)



Obrázek č.37: Mobilogram iontu barviva (m/z 263) v pozitivním módu pro degradovaný indigotin (DMSO)



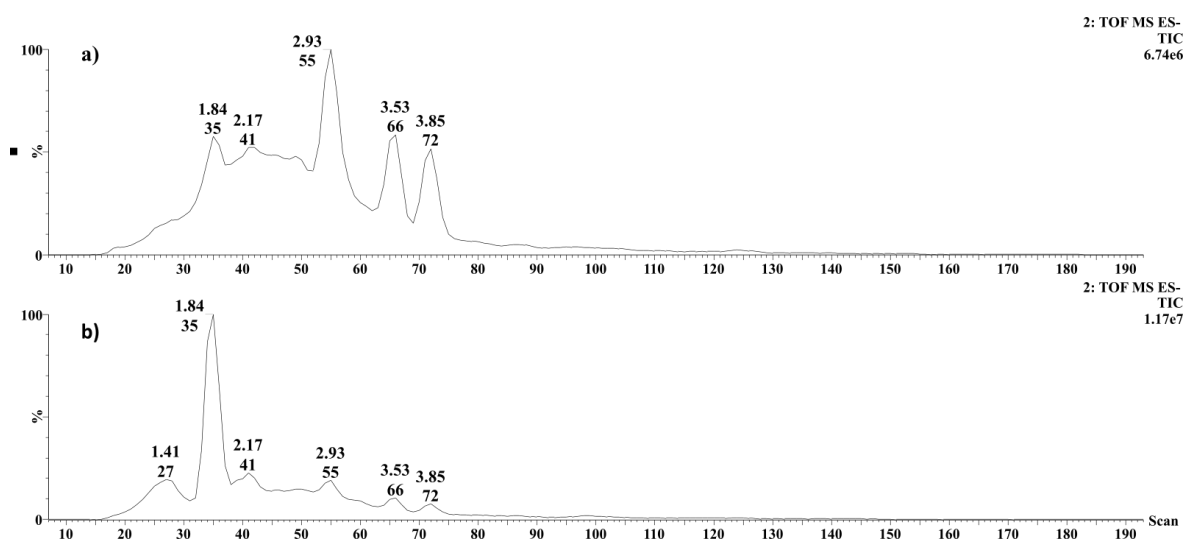
Obrázek č.38: Fragmentace iontu indigotinu (nedegradovaný vzorek, m/z 263) v pozitivním módu při napětí 40 V



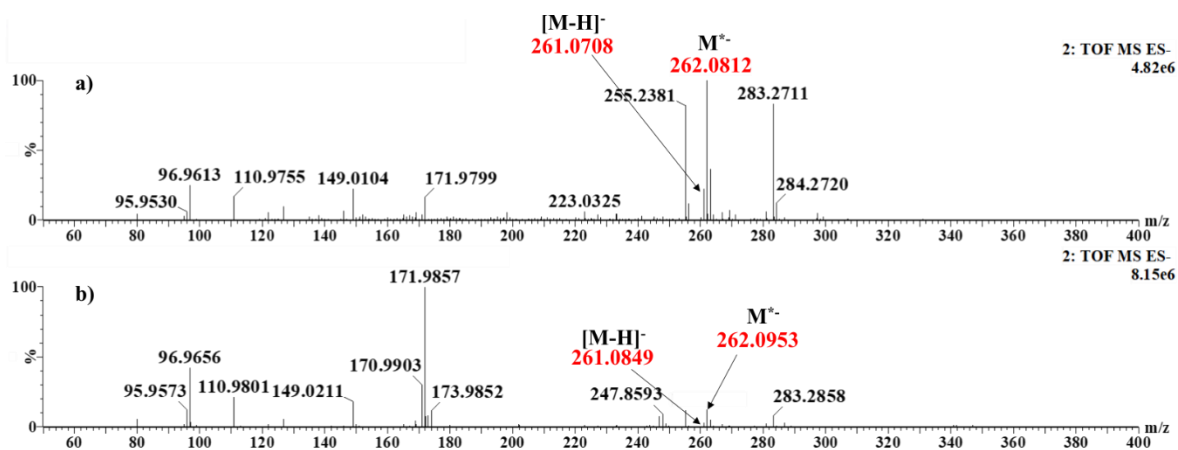
Obrázek č.39: Struktura degradačního produktu (m/z 235)^[66]

Indigotin se podařilo detekovat v negativním módu (Obrázek č.40 a č.41). V pracovním roztoku nedegradovaného i degradovaného barviva je vidět majoritní ion barviva při m/z 262, odpovídající anion radikálu ($M^{\bullet-}$). Naopak očekávaný ion při m/z 261 ($[M-H]^-$) je pouze minoritní a v roztoku degradovaného barviva je intenzita jeho signálu nízká. Pro oba ionty (m/z 261 a 262) byl pořízen mobilogram (Obrázek č.42). Je patrné, že ionty mají stejný driftový čas, jedná se o stejnou látku, pouze jiný ion. Dále byla provedena fragmentace iontu s m/z 261 (Obrázek č.43). Fragmenty s m/z 233, 217 a 156 se shodují s fragmenty z literatury. Autoři článku použili fotoionizaci za atmosférického tlaku (APPI) v negativním módu.^[75]

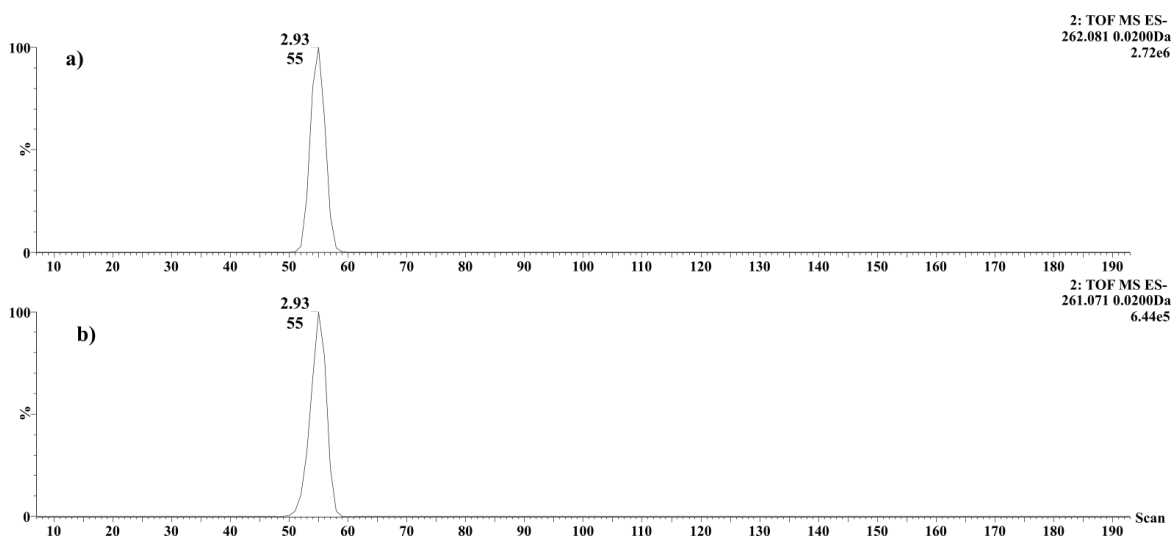
V hmotnostním spektru jsou viditelné změny ve spektru, avšak žádný z iontů nepředstavuje relevantní degradační produkt indigotinu. Nebyl pozorován ani jeden ze sedmi degradačních produktů indigotinu uváděných v literatuře.^[66]



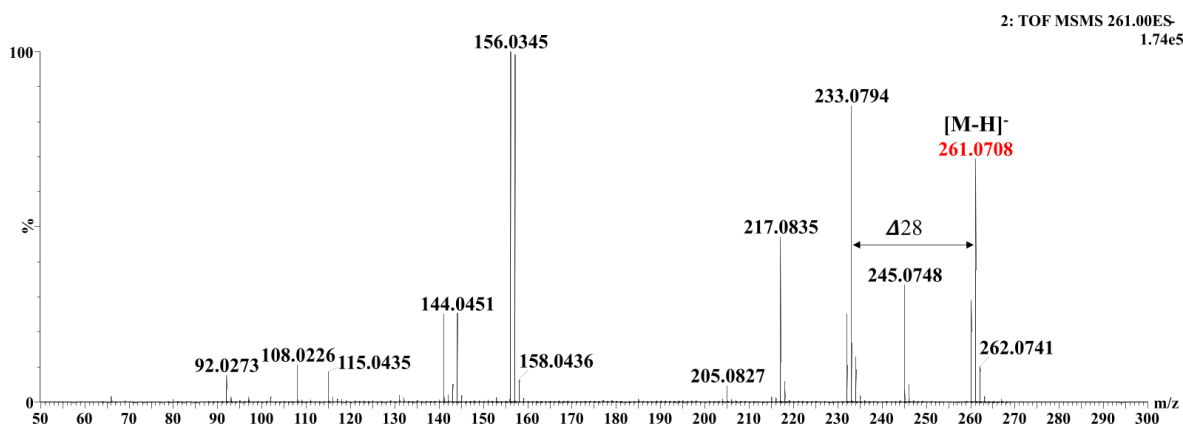
Obrázek č.40: Mobilogram pracovních roztoků indigotinu v negativním módu pro celkový iontový proud a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO)



Obrázek č.41: Hmotnostní spektrum pracovních roztoků indigotinu v negativním módu
a) nedegradovaný b) degradovaný (DMSO)



Obrázek č.42: Mobilogram pro ionty indigotinu (nedegradovaný vzorek)
v negativním módu a) m/z 262 b) m/z 261



Obrázek č.43: Fragmentace iontu indigotinu (nedegradovaný vzorek, m/z 261)
v negativním módu při napětí 40 V

5. ZÁVĚR

Stačí pouhých několik sekund na uvědomění si, v jak barevném světě žijeme. Existuje nepřehledné množství barev, a tudíž i organických barviv, které za nimi stojí. S barvivy jsou nerozlučně svázány degradační produkty, jejichž zkoumání a identifikace je nepostradatelnou součástí ochrany kulturního dědictví.

K analýze barviv a degradačních produktů jsou nezbytné moderní, vysoce selektivní a citlivé analytické metody. Bezesporně nejpoužívanější technikou v tomto odvětví je vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, která je destruktivní a vyžaduje optimalizaci chromatografických podmínek. K neinvazivním resp. nedestruktivním technikám patří v analýze uměleckých děl využívaná Ramanova a infračervená spektrometrie. Takovéto techniky jsou z pohledu minimalizace zásahů do díla výhodnější, ale ne vždy poskytnou potřebné informace. K získání požadovaných informací je často nezbytné použít různé typy technik.

V předkládané práci jsou kombinovány uvedené dvě spektrální metody s technikou destruktivní, a to iontovou mobilitou spojenou s hmotnostní spektrometrií při analýze alizarinu, purpurinu a indigotinu. Při nedestruktivních experimentech vyvstal problém s interferencí, jejíž příčinou byl podkladový materiál vzorku (teflon). Tento problém by se dal vyřešit rozsáhlejšími zkoumáním vhodných podkladových materiálů. Další zlepšení by mohlo nastat při využití techniky SERS, která by zesílila sledovaný signál, a tudíž umocnila rozdíly mezi žádaným signálem a interferencí. Nakonec získaná Ramanova a infračervená spektra dobře charakterizovala studovaná barviva. Po degradaci pozorovaná změna v Ramanově spektru byla přisouzena nečistotě, signály degradačních produktů nebyly zjištěny.

Při analýze iontovou mobilitou ve spojení s hmotnostní spektrometrií byly pozorovány signály, které by při využití přístroje s nedostatečným rozlišením mohly vést k chybnému označení jako signály degradačních produktů. Diference 44 by mohla být přisouzena elementárnímu složení CO_2 , což by mohlo ukazovat na degradační produkt, ale experimentální data získaná hmotnostním spektrometrem s vysokou rozlišovací schopností ukazují na nahrazení dvou protonů dvěma sodnými kationty v iontu alizarinu. Iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií se ukázala jako výhodná pro analýzu studovaných barviv. Degradační produkty nebyly zjištěny. Zvolený postup degradace ozonolýzou nebyl dostatečně účinný a zde se otevírá prostor pro další výzkum zaměřený na postupy laboratorní degradace studovaných barviv. Spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií může v

budoucnosti představovat základní stavební pilíř pro metody zabývající se analýzou barviv a jejich degradačních produktů. Nabízí se především spojení s desorpčními technikami, např. ionizace desorpčním elektrosprejem (DESI), což by dovolilo selektivní analýzu barviv a jejich degradačních produktů přímo z povrchu vzorku. Studium možností tohoto spojení (DESI-IMS-MS) při výzkumu degradace barviv může navázat na získané poznatky a bude mu věnována intenzivní pozornost v následujících letech.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

APPI – atmospheric pressure photoionization, fotoionizace za atmosférického tlaku

ATR – attenuated total reflection, zeslabený úplný odraz

DAD – diode array detector, detektor diodového pole

DESI – desorption electrospray ionization, ionizace desorpčním elektrosprejem

DESI-IMS-MS – desorption electrospray ionization – ion mobility spectrometry – mass spectrometry, ionizace desorpčním elektrosprejem s iontovou mobilitou a hmotnostní spektrometrií

DBD – dielectric barrier discharge, dielektrický bariérový výboj

DMSO – dimethylsulfoxid

DMF - dimethylformamid

EDTA – ethylendiamintetraacetic acid, kyselina ethylendiamintetraoctová

ESI – electrospray ionization, ionizace elektrosprejem

FTIR – Fourier transform infrared (spectrometry) – infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací

FTIR-ATR – Fourier transform infrared (spectrometry) – attenuated total reflectance, infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací – technika zeslabeného úplného odrazu

GC – gas chromatography, plynová chromatografie

GC-MS – gas chromatography – mass spectrometry, plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

HOMO – highest occupied molecular orbital, energeticky nejvyšší obsazený molekulový orbital

HPLC – high performance liquid chromatography, vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IMS-MS – ion-mobility spectrometry – mass spectrometry, spektrometrie iontové pohyblivosti s hmotnostní spektrometrií

IR – infrared, infračervené

LC-MS – liquid chromatography – mass spectrometry, kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

LUMO – lowest unoccupied molecular orbital, energeticky nejnižší neobsazený molekulový orbital

MS – mass spectrometry, hmotnostní spektrometrie

MS/MS – tandem mass spectrometry, tandemová hmotnostní spektrometrie

RPA – relative peak area, relativní plocha píku

SERS – surface enhanced Raman spectrometry, povrchem zesílená Ramanova spektrometrie

TLC – thin layer chromatography, tenkovrstvá chromatografie

ToF – time of flight, doba letu

UV – ultraviolet, ultrafialové

UV-Vis – ultraviolet – visible, ultrafialová – viditelná (např. oblast spektra)

VOCs – volatile organic compounds, těkavé organické sloučeniny

XRF – X-ray fluorescence, rentgenová fluorescenční spektrometrie

7. LITERATURA

- [1] M. V. Orna, *The Chemical History of Color*, Springer, Heidelberg 2013.
- [2] A. Gürses, M. Açıkyıldız, K. Güneş, M. S. Gürses, *Dyes and Pigments*, Cham: Springer International Publishing 2016.
- [3] D. Coles, A. Lander, *Chromatopia: An Illustrated History of Color*, Thames & Hudson New York 2018.
- [4] R. M. Christie, *Colour Chemistry*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2015.
- [5] G. Harman, Explaining Objective Color in Terms of Subjective Reactions, *Philos. Issues* 7 (1996) 1-17.
- [6] R. E. Vetter, V. R. Coradin, E. C. Martino, Jose A. A. Camargos, Wood Colour – A Comparison Between Determination methods, *IAWA Bulletin* 11 (1990) 429-439.
- [7] M. Vallari, Y. Chryssoulakis, J.M. Chassery, In situ colour measurement on works of fine art using a non-destructive methodology, *J. Soc. Dye. Colour* 113 (1997) 237-243
- [8] B. Slánský, *Technika malby I*, Státní nakladatelství krásné literatury, hudby a umění, Praha 1953.
- [9] T. Bechtold, R. Mussak, *Handbook of Natural Colorants*, Wiley, Chichester 2009.
- [10] L. Jian, Y. Zhou, F. Zhao, Z. Peng, S. Wang, Identification of early synthetic dyes in historical Chinese textiles of the late nineteenth century by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection and mass spectrometry, *Color. Technol.* 132 (2016) 177-185.
- [11] A. S. Travis, Chemical Modeling: From Paul Ehrlich's Dyes to β -Blockers—A Brief History, *J. Comput. Biol.* 26 (2019) 726-734.
- [12] V. Pauk, P. Barták, K. Lemr, Characterization of natural organic colorants in historical and art objects by high-performance liquid chromatography, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 3393-3410.
- [13] R. Prasad, Indigo – The Crop that Created History and then Itself Became History, *Indian J. Hist. Sci.* 53 (2018) 296-301.

- [14] C. Oberthur, B. Schneider, H. Graf, M. Hamburger, The Elusive Indigo Precursors in Woad (*Isatis Tinctoria L.*) – Identification of the Major Indigo Precursor, Isatan A, and a Structure Revision of Isatan B, *Chem. Biodivers.* 1 (2004) 174-182.
- [15] P. Vandenaabeele, L. Moens, Micro-Raman spectroscopy of natural and synthetic indigo samples, *Analyst* 128 (2003) 187-193.
- [16] A. Baran, A. Fiedler, H. Schulz, M. Baranska, *In situ* Raman and IR spectroscopic analysis of indigo dye, *Anal. Methods* 2 (2010) 1372-1376.
- [17] V. Pauk, J. Michalčáková, K. Jagošová, K. Lemr, Origin of indigo colorants revealed by ion mobility spectrometry coupled to mass spectrometry followed by supervised classification, *Dyes Pigment.* 197 (2022) 109943.
- [18] Ch. J. Cooksey, Tyrian purple: 6,6'-Dibromindigo and Related Compounds, *Molecules* 6 (2001) 736-769.
- [19] E. S. B. Ferreira, A. N. Hulme, H. McNab, A. Quye, The natural constituents of historical textile dyes, *Chem. Soc. Rev.* 33 (2004) 329-336
- [20] D. Cristea, I. Bateau, G. Vilarem, Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (*Reseda luteola L.*), *Dyes Pigment.* 57 (2003) 267-272.
- [21] I. V. Verghe, Dye analysis of Archaeological Textile Objects, *Dyes in History and Archeology*, Brusel, Prosinec 1999, *Dyes Hist. Archaeol.* 13 (1994) 59-73.
- [22] L. R. Troalen, A. S. Phillips, D. A. Peggie, P. E. Barran, A. N. Hulme, Historical textile dyeing with *Genista tinctoria L.*: a comprehensive study by UPLC-MS/MS analysis, *Anal. Methods* 6 (2014) 8915-8923.
- [23] L. Valianou, K. Stathopoulou, I. Karapanagiotis, P. Magiatis, E. Pavlidou, A. L. Skaltsounis, Y. Chryssoulakis, Phytochemical analysis of young fustic (*Cotinus coggygria* heartwood) and identification of isolated colourants in historical textiles, *Anal. Bioanal. Chemistry* 394 (2009) 871-882.
- [24] H. Nishino, M. Murakoshi, H. Tokuda, Y. Satomi, Cancer prevention by carotenoids, *Arch. Biochem. Biophys.* 483 (2009) 165-168.
- [25] A. B. Pawar, S. P. More, R. V. Adivarekar, Dyeing of Polyester and Nylon with Semi-synthetic Azo Dye by Chemical Modification of Natural Source Areca Nut, *Nat. Product. Bioprospecting* 8 (2018) 23-29.

- [26] N. Puvaneswari, J. Muthukrishnan, P. Gunasekaran, Toxicity assesment of microbial degradation of azo dyes, *Indian J. Exp. Biol.* 44 (2006) 618-626.
- [27] K. Balapure, N. Bhatt, D. Madamwar, Mineralization of reactive azo dyes present in simulated waste water using down flow microaerophilic fixed film bioreactor, *Bioresour. Technol.* 175 (2015) 1-7.
- [28] I. K. Konstantinou, T. A. Albanis, TiO₂ – asissted photocatalytic degradation of azo dyes in aqueous solution: kinetic and mechanistic investigations: A review, *Appl. Catal. B- Environ.* 49 (2004) 1-14.
- [29] N. Rahman, Z. Abedin, M. Ali Hossain, Rapid Degradation of Azo Dyes Using Nano-scale Zero Valent Iron, *Am. J. Environ. Sci.* 10 (2014) 157-163.
- [30] G. D. Considine, *Van Nostrand's Scientific Encyclopedia*, Tenth Edition, Wiley-Interscience, New York 2008.
- [31] M. Koperska, T. Lojewski, J. Lojewska, Vibrational spectroscopy to study degradation of natural dyes. Assessment of oxygen-free cassette for safe exposition of artefacts, *Anal. Bioanal. Chemistry* 399 (2011) 3271-3283.
- [32] C. Clementi, W. Nowik, A. Romani, F. Cibin, G. Favaro, A spectrometric and chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorium* L.) dyestuff on wool, *Anal. Chim. Acta* 596 (2007) 46-54.
- [33] I. Degano, M. Biesafa, M. P. Colombini, M. Trojanowicz, Historical and archaeological textiles: An insight on degradation products of wool and silk yarns, *J. Chromatogr. A*, 1218 (2011) 5837-5847.
- [34] G. D. Smith, J. F. Hamm, D. A. Kushel, C. E. Rogge, What's wrong with this Picture? The Techincal Analysis of a Known Forgery, P. L. Lang (ed.), R. A. Armitage (ed.), *Collaborative Endeavors in the Chemical Analysis of Art and Cultural Heritage Materials*, American Chemical Society, Washington, DC, Chapter 1 (2012) 1-21.
- [35] A. Manhita, L. Balcaen, F. Vanhaecke, T. Ferreira, A. Candeias, C. B. Dias, Unveiling the colour palette of Arraiolos carpets: Material study of carpets from the 17th to 19 th century period by HPLC-DAD-MS and ICP-MS, *J. Cult. Herit.* 15 (2014) 292-299.

- [36] H. de La Codre, C. Marembert, P. Claisse, F. Daniel, R. Chapoulie, L. Servant, A. Mounier, Non-invasive characterization of yellow dyes in tapestries of the 18th century: Influence of composition on degradation, *Color Res. Appl.* 46 (2021) 613-622.
- [37] C. Weyermann, B. Spengler, The potential of artificial aging for modelling of natural aging processes of ballpoint ink, *Forensic Sci. Int.* 180 (2008) 23-31.
- [38] I. Bonaduce, E. Ribechini, F. Modugno, M. P. Colombini, Analytical Approaches Based on Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS) to Study Organic Materials in Artworks and Archaeological Objects, *Top. Curr. Chem.* 374 (2016) 1-37.
- [39] A. Manhita, V. Santos, H. Vargas, A. Candeias, T. Ferreira, C. B. Dias, Ageing of brazilwood dye in wool – a chromatographic and spectrometric study, *J. Cult. Herit.* 14 (2013) 471-479.
- [40] A. Vasileiadou, I. Karapanagiotis, A. Zotou, UV-induced degradation of wool and silk dyed with shellfish purple, *Dyes Pigment.* 168 (2019) 317-326.
- [41] Ch. Ahn, S. Kay Obendorf, Dyes on Archaeological Textiles: Analyzing Alizarin and Its Degradation Products, *Text. Res. J.* 74 (2004) 949-954.
- [42] L. Legan, K. Retko, P. Ropret, Vibrational spectroscopic study on degradation of alizarin carmine, *Microchem J.* 127 (2016) 36-45.
- [43] Analytical Methods Committee, Analysis of historical dyes in heritage objects, Royal Society of Chemistry, *Anal. Methods* 13 (2021) 558-562.
- [44] I. Degano, E. Ribechini, F. Modugno, M. P. Colombini, Analytical Methods for the Characterization of Organic Dyes in Artworks and in Historical Textiles, *Appl. Spectrosc. Rev.* 44 (2009) 363-410.
- [45] X. Zhang, R. A. Laursen, Development of Mild Extraction Methods for the Analysis of Natural Dyes in Textiles of Historical Interest Using LC-Diode Array Detector-MS, *Anal. Chem.* 77 (2005) 2022-2025.
- [46] C. Miliani, F. Rosi, B. G. Brunetti, A. Sgamellotti, In Situ Noninvasive Study of Artworkds: The MOLAB Multitechnique Approach, *Accounts Chem. Res.* 43 (2010) 728-738.

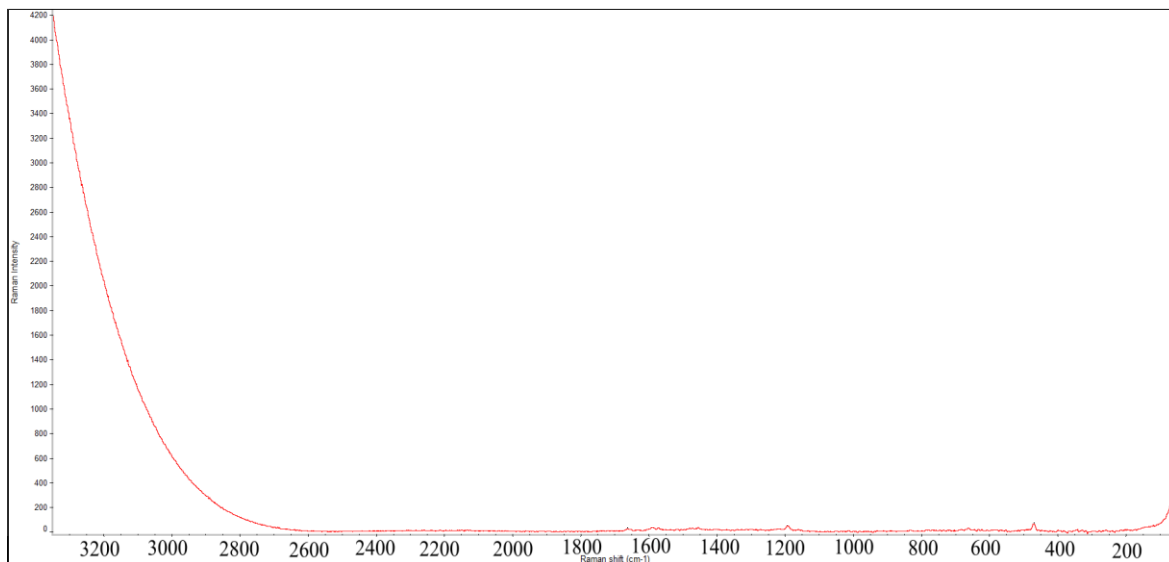
- [47] L. P. Bradley, S. Meloni, E. S. Uffelmann, J. L. Mass, *Scientific Examination and Treatment of a Painting by Gijsbert Gillisz d'Hondecoeter in the Mauritshuis*, P. L. Lang (ed.), R. A. Armitage (ed.), *Collaborative Endeavors in the Chemical Analysis of Art and Cultural Heritage Materials*, American Chemical Society, Washington, DC, Chapter 2 (2012) 23-49.
- [48] E. S. Uffelmann, E. Court, J. Marciari, A. Miller, L. Cox, *Handheld XRF Analyses of Two Veronese Paintings*, P. L. Lang (ed.), R. A. Armitage (ed.), *Collaborative Endeavors in the Chemical Analysis of Art and Cultural Heritage Materials*, American Chemical Society, Washington, DC, Chapter 3 (2012) 51-73.
- [49] O. Otlowska, M. Slebioda, M. Wachowiak, M. Sliwka-Kaszynska, *A multi-analytical approach to the characterization of natural organic dyestuff and inorganic substrates present in the 19th-century artistic oil paints manufactured by a French art materials supplier Richard Aines*, *Anal. Methods* 9 (2017) 94-102.
- [50] M. Aceto, A. Idone, A. Agostino, G. Fenoglio, M. Gulmini, P. Baraldi, F. Crivello, *Non-invasive investigation on a VI century purple codex from Brescia, Italy*, *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* 117 (2017) 34-41.
- [51] C. Clementi, B. Doherty, P. I. Gentili, C. Miliani, A. Romani, B. G. Brunetti, A. Sgamellotti, *Vibrational and electronic properties of painting lakes*, *Appl. Phys. A-Mater. Sci. Process.* 92 (2008) 25-33.
- [52] A. Mounier, G. Le Bourdon, C. Aupetit, S. Lazare, C. Biron, J. Pérez-Arantegui, D. Almazán, J. Aramendia, N. Prito-Taboada, S. Fdez-Ortiz de Vallejuelo, F. Daniel, *Red and blue colours on 18th-19th century Japanese woodblock prints: In situ analyses by spectrofluorimetry and complementary non-invasive spectroscopic methods*, *Microchem J.* 140 (2018) 129-141.
- [53] M. Shahid, J. Wertz, I. Degano, M. Aceto, M. I. Khan, A. Quye, *Analytical methods for determination of anthraquinone dyes in historical textiles: A review*, *Anal. Chim. Acta* 1083 (2019) 58-87.
- [54] R. D. Gillard, S. M. Hardman, R. G. Thomas, D. E. Watkinson, *The Detection of dyes by FTIR Microscopy*, *Stud. Conserv.* 39 (1994) 187-192.

- [55] G. N. Andeev, B. Schrader, H. Schulz, R. Fuchs, S. Popov, N. Hanjieva, Non-destructive NIR-FT-Raman analyses in practice. Part 1. Analyses of plants and historical textiles, *J. Anal. Chem.* 371 (2001) 1009-1017.
- [56] L. Bellot-Gurlet, S. Pages-Camagna, C. Coupry, Raman Spectroscopy in Art and Archaeology, *J. Raman Spectrosc.* 37 (2006) 962-965.
- [57] J. Wouters, High Performance Liquid Chromatography of anthraquinones: Analysis of plant and insect extracts and dyed textiles, *Stud. Conserv.* 30 (1985) 119-128.
- [58] J. Wouters, Dye Analysis of pre-Columbian Peruvian Textiles with High-Performance Liquid Chromatography and Diode-Array Detection, *J. Am. Inst. Conserv.* 31 (1992) 237-255.
- [59] M. A. Ackacha, K. Polec-Pawlak, M. Jarosz, Identification of anthraquinone coloring matters in natural red dyestuff by high performance liquid chromatography with ultraviolet and electrospray mass spectrometric detection, *J. Sep. Sci.* 26 (2003) 1028-1034.
- [60] I. Surowiec, Application of high-performance separation techniques in archaeometry, *Microchim. Acta*, 162 (2008) 289-302.
- [61] J. Jiao, J. Wang, M. Li, J. Li, Q. Li, Q. Quan, J. Chen, Simultaneous determination of three azo dyes in food products by ion mobility spectrometry, *J. Chromatogr. B* 1025 (2016) 105-109.
- [62] Š. Dostál, Iontová mobilita a hmotnostní spektrometrie v analýze barviv, diplomová práce, Univerzita Palackého, Olomouc 2020.
- [63] E. S. B. Ferreira, A. Quye, H. McNab, A. Hulme, Photo-oxidation Products of Quercetin and Morin as Markers for the Characterisation of natural Yellow Dyes in Ancient Textiles, *Dyes in History and Archeology*, Brusel, Leden 1999, *Dyes Hist. Archaeol.* 18 (2002) 63-72.
- [64] I. Surowiec, B. Szostek, M. Trojanowicz, HPLC-MS of anthraquinoids, flavonoids, and their degradation products in analysis of natural dyes in archeological objects, *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 2070-2079.
- [65] J. Xue, L. Chen, H. Wang, Degradation mechanism of Alizarin Red in hybrid gas-liquid phase dielectric barrier discharge plasmas: Experimental and theoretical examination, *Chem. Eng. J.* 138 (2008) 120-127.

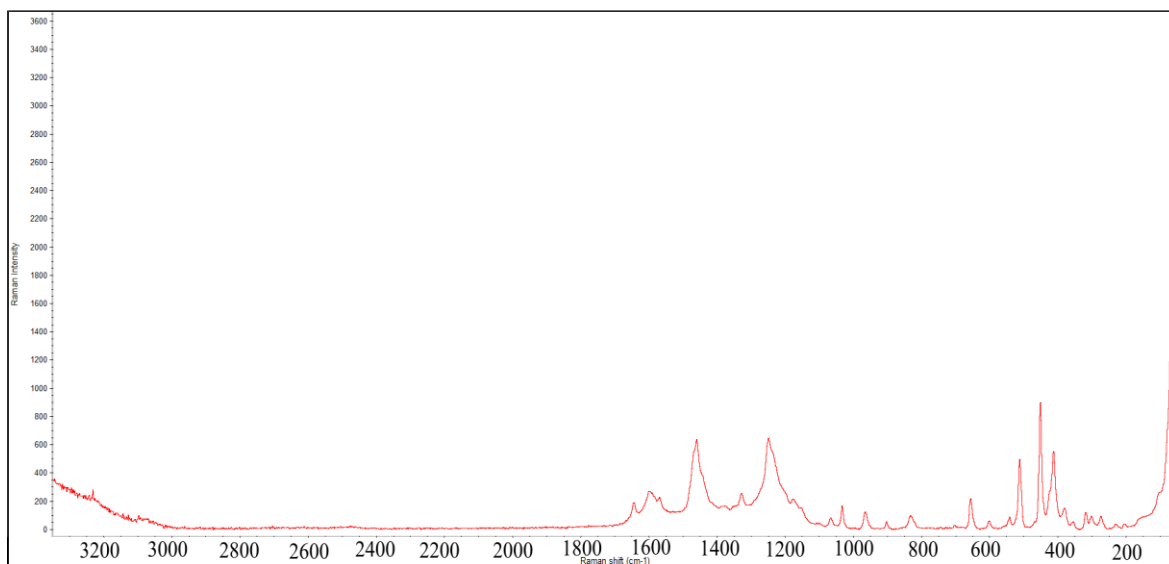
- [66] Katarzyna Witkoś, Katarzyna Lech and Maciej Jarosz, Identification of degradation products of indigoids by tandem mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* 50 (2015) 1245-1251.
- [67] O. Otlowska, M. Ślebioda, A. Kot-Wasik, J. Karczewski, M. Śliwka-Kaszyńska, Chromatographic and Spectroscopic Identification and Recognition of Natural Dyes, Uncommon Dyestuff Components, and Mordants: Case Study of a 16th Century Carpet with Chintamani Motifs, *Molecules* 23 (2018).
- [68] F. Pozzi, J. Lombardi, M. Leona, Winsor & Newton original handbooks: a surface-enhanced Raman scattering (SERS) and Raman spectral database of dyes from modern watercolor pigments, *Herit. Sci.* 1 (2013) 1-8.
- [69] E. Svobodová, Z. Bosáková, M. Ohlídalová, M. Novotná, I. Němec, The use of infrared and Raman microspectroscopy for identification of selected red organic dyes in model colour layers of works of art, *Vib. Spectrosc.* 63 (2012) 380-389.
- [70] E. Ortiz, H. Solis, L. Norena, S. Loera-Serna, Degradation of Red Athraquinone Dyes: Alizarin, Alizarin S and Alizarin Complexone by Ozonation, *Int. J. Environ. Sci. Dev.* 8 (2017) 255-259.
- [71] A. Rygula, A. Krahmer, H. Schulz, M. Baranska, In situ Raman and IR spectroscopic analysis of indigo dye, *Anal. Methods* 2 (2010) 1372-1376.
- [72] R. A. Armitage, C. Day, K. A. Jakes, Identification of anthraquinone dye colourants in red fibres from Ohio Hopewell mound site by direct analysis in real time mass spectrometry, *Sci. Technol. Archaeol. Res.* 1 (2015) 1-10.
- [73] B. O. Keller, J. Sui, A. B. Young, R. M. Whittal, Interferences and contaminants encountered in modern mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 627 (2008) 71-81.
- [74] R. A. Armitage, K. Jakes, C. Day, Direct analysis in real time-mass spectroscopy for identification of red dye colourants in Paracas Necropolis Textiles, *Sci. Technol. Archaeol. Res.* 1 (2015) 60-69.
- [75] N. Allen, A. McMahon, L. Naegel, Analysis of Indigo-type compounds in natural dyes by negative ion atmospheric pressure photoionization mass spectrometry, *Dyes Pigment.* 92 (2012) 1192-1198.

8. PŘÍLOHY

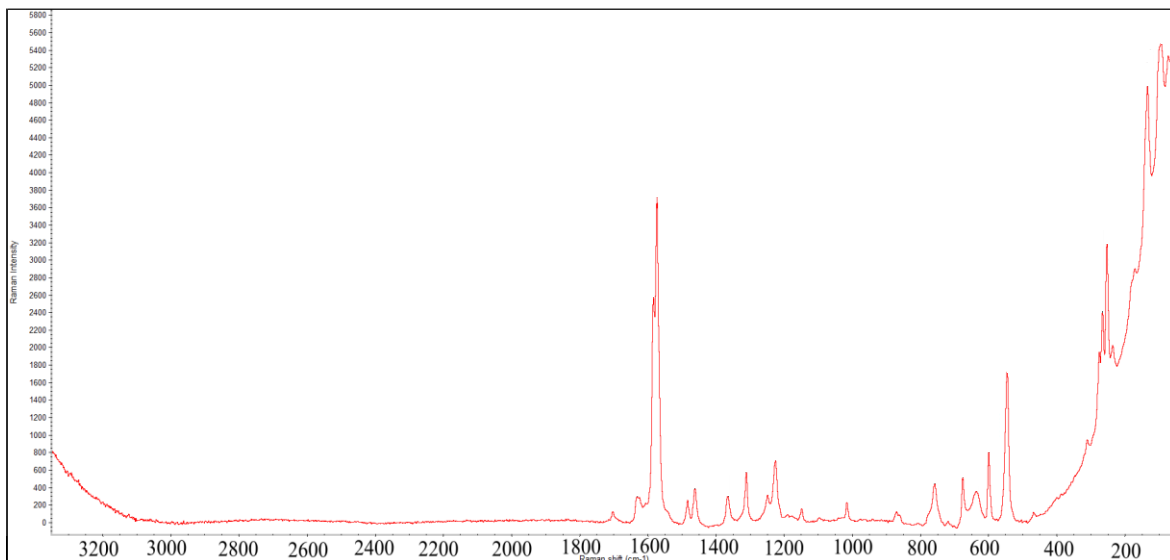
8.1 Ramanova spektra standardů



Obrázek č.A1: Ramanovo spektrum alizarinu (standard – prášek)

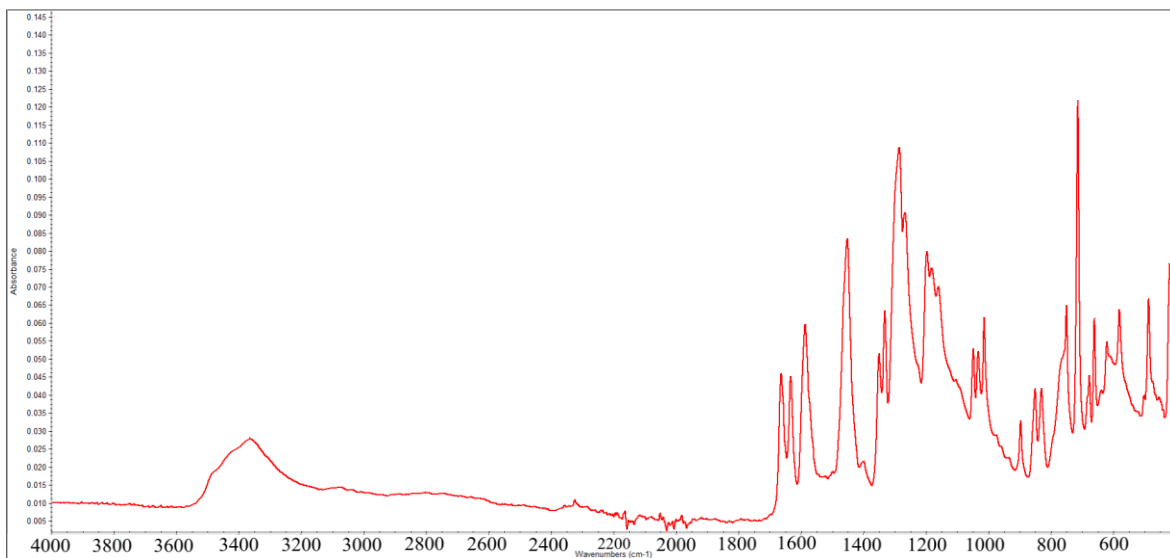


Obrázek č.A2: Ramanovo spektrum purpurinu (standard – prášek)

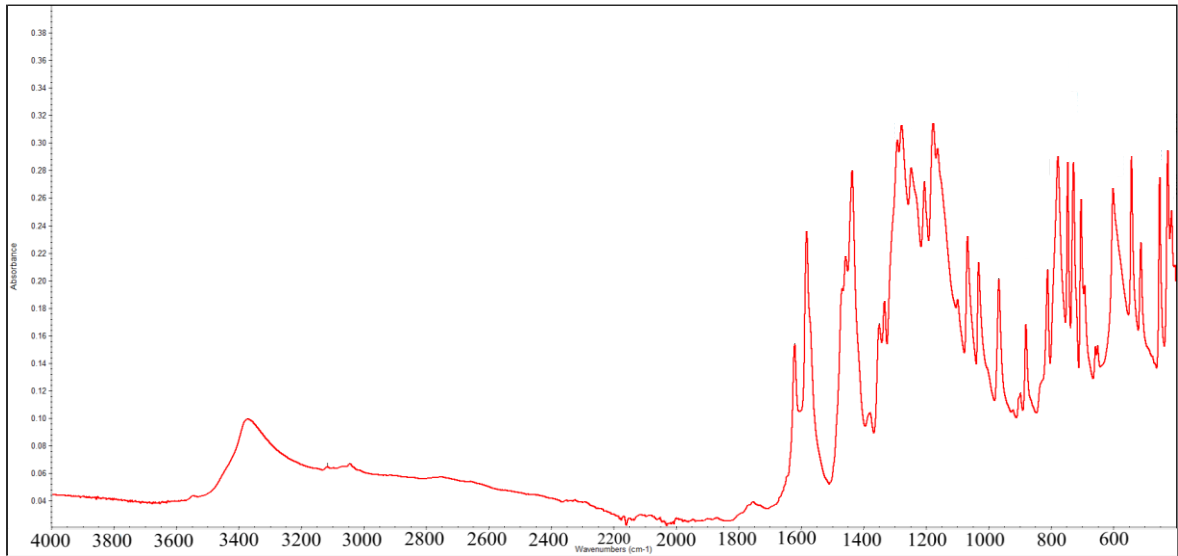


Obrázek č.A3: Ramanovo spektrum indigotinu (standard – prášek)

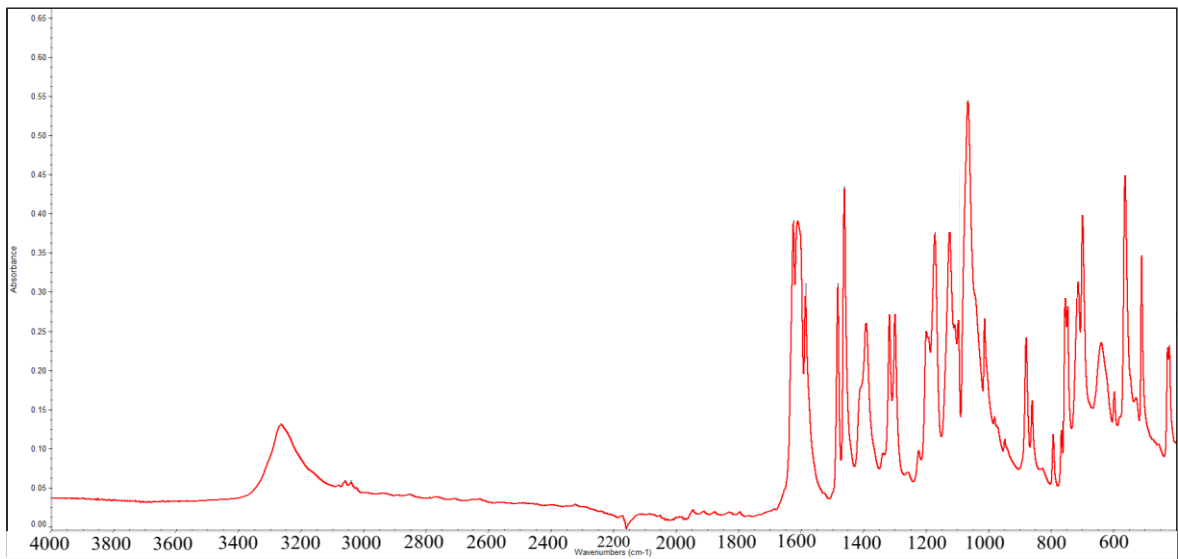
8.2 Infračervená spektra standardů



Obrázek č.B1: FTIR-ATR spektrum alizarinu (standard - prášek)

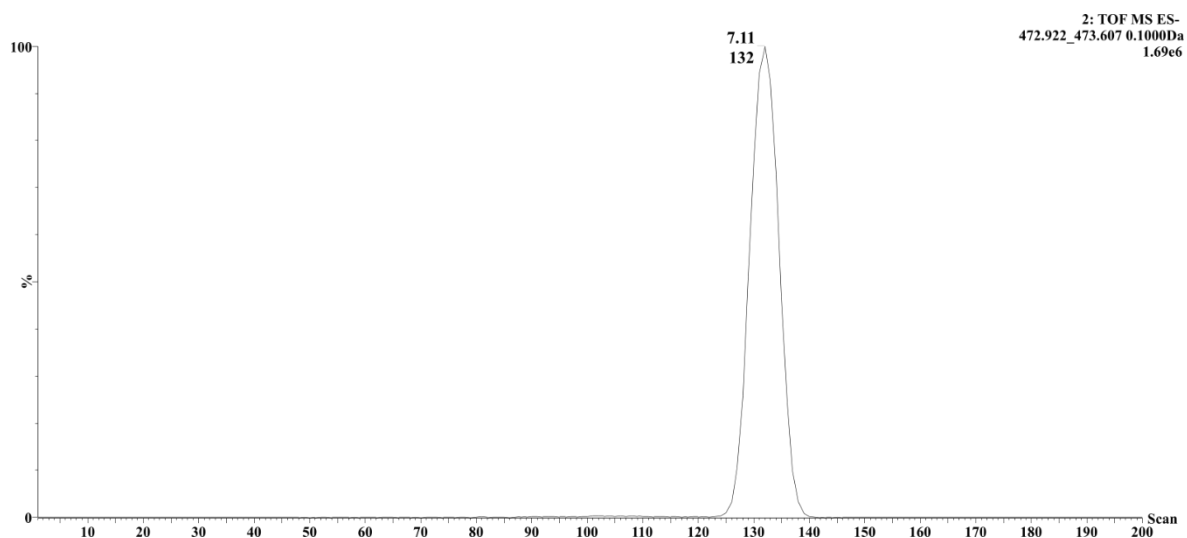


Obrázek č.B2: FTIR-ATR spektrum purpurinu (standard - prášek)

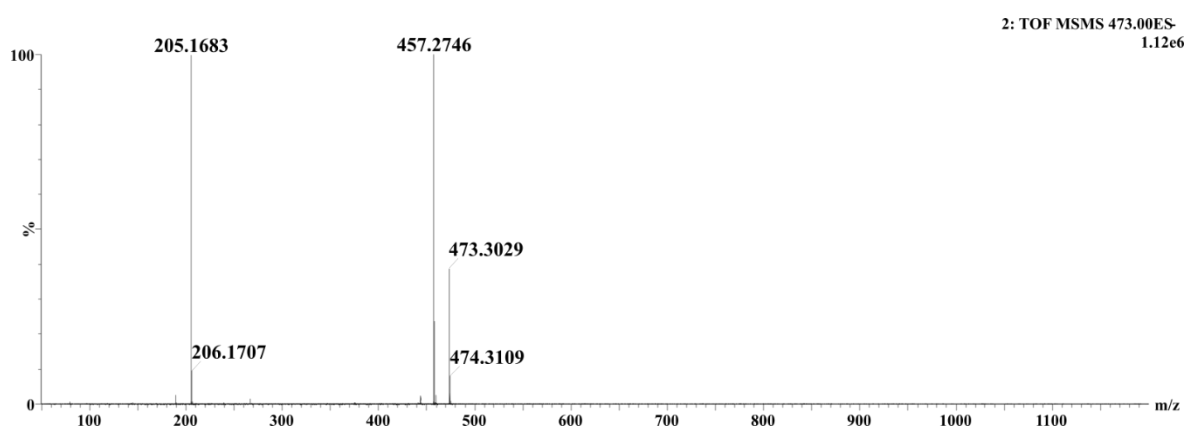


Obrázek č.B3: FTIR-ATR spektrum indigotinu (standard - prášek)

8.3. Iontová mobilita s hmotnostní spektrometrií pro nečistotu (purpurin)



Obrázek č.C1: Mobilogram nečistoty z degradovaného purpurinu (chloroform)



Obrázek č.C2: Hmotnostní spektrum fragmentace iontu (m/z 473,3029) z degradovaného purpurinu (chloroform) při napětí 60 V