

M. M. Cejtlina, Natasza Kożuch

Zastosowanie metody luminescencyjnej do badania związków białkowych spoiw malarskich

Ochrona Zabytków 43/1 (168), 48-50

1990

Artykuł został zdigitalizowany i opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

ZASTOSOWANIE METODY LUMINESCENCYJNEJ DO BADANIA ZWIĄZKÓW BIAŁKOWYCH SPOIW MALARSKICH

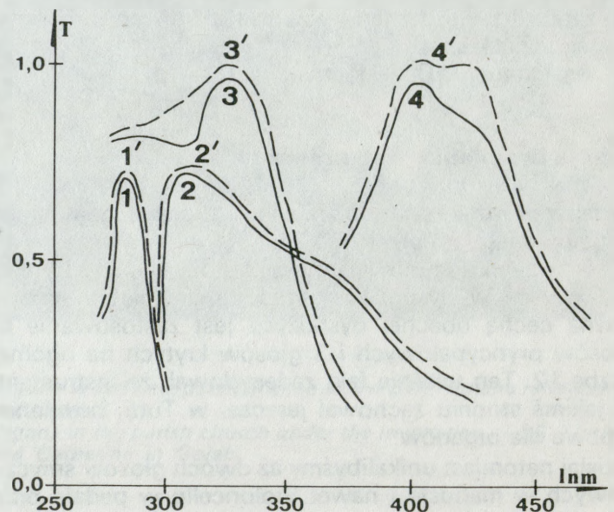
Podstawą badań organicznych materiałów malarskich (spoiw warstw malarskich, gruntu oraz laków) w pierwszej połowie XX w. były proste reakcje mikrochemiczne i reakcje na rozpuszczalność. W latach pięćdziesiątych naszego wieku zastosowano metody efektywniejsze, takie jak chromatografia bibułowa, cienkowarstwowa i gazowa, spektroskopia w podczerwieni, elektroforeza, analiza spoiw białkowych za pomocą analizatora aminokwasów itp., co pozwoliło ze względny sukcesem rozwiązać problem identyfikacji organicznych składników materiałów malarskich. Jednakże te metody z wielu przyczyn (mała czułość, złożoność metodyki badawczej, trudności z interpretacją wyników i in.) nie znalazły zastosowania w niedużych muzeach i pracowniach konserwatorskich. W Laboratorium Chemicznym „Bielorestauracji” w Mińsku (Białoruska SRR) podjęto próbę zbadania możliwości zastosowania analizy luminescencyjnej jako względnie czulej i stosunkowo prostej metody analizy związków białkowych spoiw malarskich.

Pierwsze doświadczenia w dziedzinie analizy luminescencyjnej olejów, żywic, wosków i laków wykonano jeszcze w latach dwudziestych. Eibner kontynuując te prace stwierdził, że niektóre spoiwa w stanie czystym posiadają luminescencję o różnej barwie i intensywności. Jednakże wbrew swojemu stwierdzeniu, że „*podstawowe znaczenie światła nadfioletowego dla materiałów malarskich zawarte jest w określeniu materiału spoiwa*”, jego praca nie przyniosła specjalnych efektów¹. Podstawową tego przyczyną była niedokładność metod luminescencyjnych stosowanych ówczesznie.

Na odbywającej się w 1972 r. w Lizbonie konferencji Międzynarodowego Instytutu Konserwacji, Mills w re-

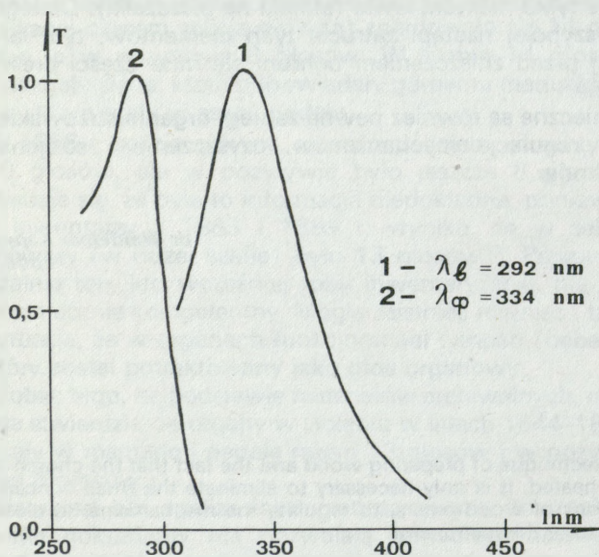
feracie pt. *Identyfikacja spoiw malarskich* omówił publikacje na ten temat, ale przedstawione w nich wyniki badań postawił pod znakiem zapytania. Analizując stosowane metody Mills wskazał na możliwość rozróżniania białek za pomocą techniki fluorescencyjnej analizy przeciwciał, która to metoda dopiero zaczynała się rozwijać².

1 i 1' - $\lambda_{\text{p}} = 310 \text{ nm}$ 3 i 3' - $\lambda_{\text{p}} = 420 \text{ nm}$
2 i 2' - $\lambda_{\text{p}} = 280 \text{ nm}$ 4 i 4' - $\lambda_{\text{p}} = 330 \text{ nm}$



2. Widma wzbudzenia fluorescencji i fluorescencja wodnych roztworów klejów kostnego (linia przerywana) i skórniego (linia ciągła)

2. Spectrums of fluorescence activation and fluorescence of aqueous solutions of bone glue (broken line) and skin glue (continuous line)



1. Widma wzbudzenia fluorescencji i fluorescencja wodnego roztworu białka jajka kurzego

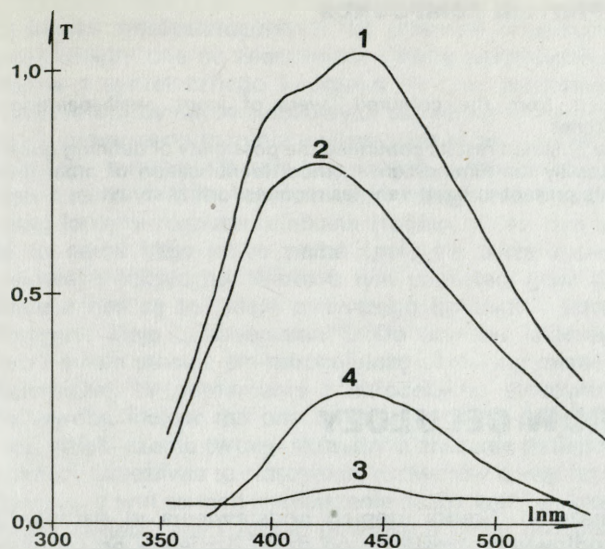
1. Spectrums of fluorescence activation and fluorescence of aqueous egg-white solution

W latach 1950–1960 następuje szybki rozwój analizy luminescencyjnej. Ukazuje się duża liczba opracowań na temat badań luminescencji białek. Tił i Weber, a także Władimirow i Konew badali fluorescencję w nadfiolecie białek³ i stwierdzili, że fluorescencja ta była wywołana głównie aromatycznymi aminokwasami: tryptofanem, tyrozyną i fenyloalaniną. Maximum widma fluorescencyjnego tych aminokwasów znajduje się odpowiednio przy 348, 303 i 282 nm. Fluorescencja fenyloalaniny jest obserwowana tylko w nieobecności tyrozyny i trypto-

¹ J. I. Grenbiereg, *Oczerki istorii techniko-technologiceskich ussledowanij ziwopisy*. Soobsczenija WCMJŁKR 1971, T. 27, s. 60.

² J. S. Mills, *Identifikacija swiazujuszczich ziwopisy*. Bwedienije. Restawracija i chranienije myz. chud. cennoczej, 1974, wyp. 4/7/.

³ J. A. B. Władimirow, *Fotochimija i lominiescencija bielkow*. 1965; S. W. Koniew, *Elektronnowozbuzenije sostojanija biopolimerow*. Mińsk 1965.



3. Widma fluorescencji wodnych roztworów warstw malarskich: 1 — grunt polichromowanego drewnianego ołtarza cerkwi Paraskewi Piatnicy (Bierieżna); 2 — grunt ikony „Św. Stefana”; 3 — różowa (cyanober) warstwa z fresku Wielkiego Soboru Bielizickiego Monasteru (Połock); 4 — różowa (ochra) warstwa z fresku Uspienskiego Soboru (Mścisław)

3. Spectrums of fluorescence of aqueous solutions of paint layers: 1 — undercoat of polychromed wooden altar of Paraskewa Piatnitsa Orthodox Church (the village of Berezhnoye); 2 — undercoat of „St. Stephen” icon; 3 — pink (vermillion) layer from fresco of the Belchitskiy Monastyr Great Orthodox Church (Polock); 4 — pink (ochre) layer from fresco of Uspienskiy Orthodox Church (Mstislaw)

fanu, a fluorescencja tyrozyny w nieobecności w tym samym białku tryptofanu. Białka zawierające tryptofan mają widma fluorescencji charakterystyczne dla tego aminokwasu (widma bardzo silnie zmieniają się u białek naturalnych λ maks = 328 + 342 nm).

Przeprowadziliśmy badania widm luminescencji wodnych roztworów modelowych systemów (białek i żółtek jajka kurzego, kazeiny i klejów glutynowych), a także próbek malowideł ściennych i sztalugowych ze zbiorów muzealnych Białorusi. Praca była przeprowadzona za pomocą spektrofluorymetru Fica-55 MK-II. Wodne roztwory próbek materiałów malarskich przedtem termostatowano w temperaturze + 40°C. W widmach fluorescencyjnych białka i żółtka jajka oraz kazeiny występuje pasmo z maks. przy $\lambda_{\phi} = 338-334$ nm i przy wzbudzaniu w rejonie 290–300 nm (rys. 1). Jest ono wywołane fluorescencją tryptofanu wchodzącego w skład aminokwasów podanych białek.

Luminescencja kleju glutynowego, w skład którego wchodzi tryptofan, powinna być podobna do luminescencji tyrozyny i fenyloalaniny. Jednakże rezultaty praktycznych badań widmowych własności klejów glutynowych znacznie odbiegają od teoretycznych przewidywań. Na rys. 2 przedstawiono widma wzbudzenia promieniowania i fluorescencji klejów skórnoego i kostnego. Te widma są identyczne: w widmie fluorescencji istnieje maks. przy $\lambda = 308-310$ nm i w obrębie 415–435 nm, odpowiednio przy wzbudzeniu długością fali 280 nm i 330 nm. Pasma świecenia z maks. λ przy 308–310 nm może być wyjaśnione fluorescencją tyrozyny. Widmo fluorescencji przy wyższych długościach fali ma strukturę złożoną: maks. λ przy 415–420 nm i przy 435 nm.

Strukturami chromoforowymi mającymi luminescencję w danym obszarze widma mogą być produkty typu bityrozyny⁴ powstające przy starzeniu białek kolagenowych, a także przy działaniu na nie światła nadfioletowego, wysokich temperatur i ciśnień niektórych agresywnych cieczy (zasad), a także zasad Schiffa tworzącymi się w procesie oddziaływania białko — lipid⁵.

W zarejestrowanych widmach luminescencyjnych próbek wodnych malarstwa ściennego z klasztoru Uspienskiego (Mstisław, XVIII w.), gruntu pod polichromią drewnianego ołtarza cerkwi Paraskeni Piatnicy (Bierieżna, XVIII–XIX w.), a także gruntu ikon z kolekcji muzeów białoruskich występuje maks. w obszarze 415–435 nm przy wzbudzeniu falą $\lambda = 330$ nm. Może to świadczyć o istnieniu w próbkach kleju glutynowego. Luminescencji wodnych roztworów warstw malarskich fresków z Soboru Sofijskiego (Połock, XII w.), Roźdiestwiańskiego Soboru (Bieliniezi, XVIII w.), Wielkiego Soboru Bielizickiego Monasteru (Połock, XII w.), Roźdiestwiańskiego Soboru (Sławgorod, koniec XVIII w.) przy wzbudzeniu $\lambda = 330$ nm nie udało się zarejestrować, co świadczy o nieobecności kleju glutynowego w składzie spoiwa. Wyniki metody analizy luminescencyjnej potwierdzono metodą chromatografii jonowymiennej. Chromatografię jonowymienną prowadzono na płytkach Fiksion 50 × 8 węgierskiej firmy Fiksion⁶.

W widmach luminescencyjnych warstw barwnych ikon Św. Stefan (XVIII w.) i Matka Boska Smoleńska (XVI w.) zaobserwowano bardzo słabą luminescencję w obszarze 330–350 nm przy wzbudzeniu światłem w obszarze 290–300 nm. Metodą chromatografii cienkowarstwowej wysokiej rozdzielczości⁷ stwierdzono obecność żółtka jaja kurzego w składzie spoiw. Niską intensywność i nieobecność wyraźnego maks. charakterystyczną dla świeżo przygotowanego związku modelowego można wyjaśnić rozpadem tryptofanu w czasie pod wpływem tlenu, światła UV i tworzeniem produktów o strukturze podobnej do kinureniny⁸. Jednakże konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań na temat stwierdzenia produktów chromoforowych dających luminescencję w danym obszarze, a także nad starzeniem białek.

Na podstawie uzyskanych wyników uważamy za możliwe określenie klejów glutynowych metodą luminescencji⁹. Identyfikacja innych białek występujących w spoiwach wymaga dalszych badań i ulepszenia metody luminescencyjnej jako metody mającej istotną przewagę nad stosowanymi dotychczas metodami, tj. wysoką czułość, pewność i prostotę stosowania.

Natasza Kozuch
M. M. Cejtłina
Mińsk, BSRR

⁴ S.O. Andersen, *Acta Physical Seand.* 1966, v. 66, s. 263.

⁵ V.G. Malshet, A.L. Tappel, *Lipids.* 1973, v. 8, ss. 194–198.

⁶ T. Dewieni, J. Gergij, *Aminokisloty, peptycy, bielki.* 1976.

⁷ W.W. Christie, *Lipid analysis: Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids.* Oxford etc: Pergamon Press 1982.

⁸ D. Crud, *Photoctum and Photobiology.* 1984, v. 39, nr 4, s. 537.

⁹ G.G. Kozłowa, N.M. Kozuch, N.P. Mielnikow, M.M. Cejtłina, G.W. Koniew a.s nr 1337738. (Sposob luminescownogo analiza). Biuł 1987, nr 34.

In the „Belorestauratsya” Chemical Laboratory in Minsk (Belorussian SSR) the luminescent analysis was tried out as a relatively sensitive and simple method of analyzing protein compounds of paint vehicles.

Studies were carried out on numerous samples taken, among

others from the coloured layers of icons, wall paintings, frescoes.

The obtained results confirmed the possibility of defining gluten glues by the luminescent method. Identification of other proteins present in paint vehicles requires further study.

JERZY CIABACH

WŁAŚCIWOŚCI I ZASTOSOWANIE ESTRÓW CELULOZY

Celuloza jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych wielocukrów, stanowiącym prawie połowę materiału, z którego zbudowane są komórki roślin. Ma budowę włóknistą, częściowo krystaliczną. Jej masa cząsteczkowa, zależnie od pochodzenia i obróbki surowca, wynosi od kilkuset tysięcy do kilku milionów. Nie rozpuszcza się w pospolitych rozpuszczalnikach i mimo budowy liniowej w niczym nie przypomina polimerów termoplastycznych. Każde ogniwo łańcucha celulozy ma trzy grupy wodorotlenowe zdolne do reakcji z kwasami, alkoholami i innymi substancjami chemicznymi. Pozwala to na modyfikację właściwości celulozy przez przeprowadzenie jej w odpowiednie estry, etery, hydroksyetyery itp. Najcenniejszą cechą pochodnych celulozy jest ich rozpuszczalność w cieczach organicznych lub w wodzie, pozwalająca używać je do wyrobu farb, lakierów, klejów itp. Właściwości pochodnych celulozy zależą od rodzaju i ilości podstawników oraz średniej masy cząsteczkowej. O tym ostatnim decyduje pochodzenie i sposób przygotowania celulozy. W zależności od rodzaju podstawników, pochodne celulozy można podzielić na estry i etery. Do tych pierwszych należą azotany, octany, ksantogeniany oraz estry mieszane, np. octanomaślan celulozy. Azotany określa się zwyczajowo mianem nitrocelulozy, natomiast octany mianem acetylcelulozy. Ksantogeniany są solami niepełnego estru kwasu dwutlenowego, ważnymi półproduktami powstającymi w trakcie wytwarzania celulozy regenerowanej, znanej w postaci włókien (jedwab wiskozowy) lub folii (celofan). Spośród eterów celulozy największe znaczenie mają etery alkoholu metylowego (metyloceluloza), etylowego (etyloceluloza) oraz benzylowego (benzylceluloza). Niemniej ważne są hydroksyetyery: hydroksymetylowy, hydroksyetylowy, hydroksypropylowy czy też eter mieszany: hydroksypropylometylowy. Do eterów celulozy zalicza się także sól sodową karboksymetylocelulozy, zwaną potocznie karboksymetylocelulozą¹.

Azotany celulozy (nitroceluloza)

Azotany celulozy, nazywane zwyczajowo nitrocelulozą powstają w wyniku działania na celulozę mieszaniny stężonego kwasu azotowego ze stężonym kwasem siarkowym² lub innym środkiem wiążącym powstającą w reakcji wodę, np. kwasem o-fosforowym. Produkty handlowe są mieszaniną związków o różnym stopniu podstawienia — od nieprzereagowanej celulozy aż po produkt całkowitego podstawienia grup wodorotlenowych:

trójazotan. Średni stopień podstawienia w gatunkach handlowych określa się po dzień dzisiejszy procentową zawartością azotu. Rozróżnia się dwa zasadnicze gatunki handlowe: nitrocelulozę niskoazotową (11–12% azotu), odpowiadającą w przybliżeniu dwuazotanowi oraz nitrocelulozę wysokoazotową (13–14% azotu), odpowiadającą w przybliżeniu trójazotanowi. Nitroceluloza niskoazotowa (koloksylin, bawełna kolodionowa) rozpuszcza się w wielu cieczach organicznych, takich jak aceton, cykloheksanon, metanol, pirydyna, estry kwasu octowego, nitrobenzen i kwas octowy. Miesza się także z wieloma zmiękczacami tworzyw sztucznych, np. ftalanem butylu, fosforanem fenylu, kamforą i olejem rycynowym. Kamfora była pierwszym zmiękczacem pierwszego w historii tworzywa sztucznego. Właśnie bowiem w tej postaci dwuazotan celulozy znany jest od 1867 r. pod nazwą handlową celoid. Tworzywo to odegrało ważną rolę w przemyśle lotniczym i motoryzacyjnym (pierwsze nietłukące się szyby), było powszechnie używane do produkcji wyrobów galanteryjnych i zabawek oraz zrewolucjonizowało technikę fotograficzną. Miękkie, elastyczne i nietłukące się podłoża fotograficzne z celoidu zostały wprowadzone przez Eastmana Kodaka w sierpniu 1889 r. i były produkowane aż do roku 1951³. Obecnie z dwuazotanu celulozy produkuje się przede wszystkim kleje oraz lakiery, farby i emalie. Kleje nitrocelulozowe były pierwszymi klejami syntetycznymi i w stosunkowo krótkim czasie wyparły z wielu zastosowań kleje roślinne i zwierzęce. Klejono nimi papier, drewno, skórę, specjalnie w tym celu preparowaną gumę, szkło, porcelanę i metale. Pierwotnie były to roztwory celoidu w acetonie, później zaczęto stosować wiele innych zmiękczaczy i rozpuszczalników oraz mieszać nitrocelulozę z innymi żywicami syntetycznymi. Głównym odbior-

¹ *Technologia tworzyw sztucznych*. Warszawa 1981; *Związki wielocząsteczkowe w przemyśle skórzanym*. Warszawa 1970.

² Jest to mieszanina stosowana do otrzymywania nitrozwiązków, takich jak nitrobenzen lub trójnitrotoluen (trotyl). Jej działanie estryfikujące w 1883 r. nie było znane i tylko z tego powodu produkt oddziaływania celulozy z mieszaniną nitrującą nazwano nitrocelulozą. Omyłka ta została szybko dostrzeżona, ale pierwsze tworzywo sztuczne tak się rozprzestrzeniło i upowszechniło, że żadne sprostowania nie przyniosły i nie przyniosą rezultatów. Dla wielu nadal mało istotne jest to, że w nitrozwiązkach azot wiąże się z węglem bezpośrednio, a w azotanach zawsze za pośrednictwem tlenu.

³ S. Puglia, *A short guide to nitrate negatives: history, care, and duplication*. Technical Report. Northeast Document Conservation Center, Andover [USA] 1986.