

**Irmina Zadrozna, Zygmunt Matacz,
Piotr Rudniewski**

**Zastosowanie chromatografii w
połączeniu ze spektrometrią masową
(GC-MS) do analizy spoiw
stosowanych w malarstwie**

Ochrona Zabytków 50/3, 308-314

1997

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 CHROMATOGRAFII W POŁĄCZENIU ZE SPEKTROMETRIĄ MASOWĄ (GC-MS) DO ANALIZY SPOIW STOSOWANYCH W MALARSTWIE

Analiza spoiw stosowanych w malarstwie (sztalugowym, ściennym, tablicowym), rzeźbie polichromowej i w iluminowanych rękopisach jest jednym z najtrudniejszych problemów w konserwacji zabytków. Niewątpliwie jest to związane z stosowaniem do spoiw mieszanin związków pochodzenia naturalnego, tj. węglowodanów, białek, olejów, wosków, żywic itp. Związki naturalne należą do związków wielkocząsteczkowych z różnymi grupami funkcyjnymi i stanowią zawsze mieszaninę indywidualów chemicznych. Zatem spoiwa stanowią skomplikowaną mieszaninę różnych składników, należących do różnych klas związków organicznych. Identyfikacja tych składników jest czasochłonna i skomplikowana, gdyż wymaga przeprowadzenia związków wielkocząsteczkowych w znane i łatwe do analizy substancje pochodne.

Dodatkowym poważnym utrudnieniem jest zjawisko starzenia się czyli zmiany spoiw spowodowane długotrwałym działaniem czynników atmosferycznych, czyli wpływem światła i składników powietrza na użyte materiały. Tlen i para wodna, szczególnie w obecności światła powodują daleko idące zmiany w wyjściowych materiałach spoiw. Zmiany w spoiwach mogą być również spowodowane porażeniem przez mikroorganizmy. Mogą one spowodować nie tylko rozkład enzymatyczny substancji, ale również wprowadzać metabolity, np. w przypadku grzybów — steroidy. Również zabiegi konserwatorskie, jakim dzieła sztuki były poddawane w przeszłości, mogą komplikować identyfikację spoiw użytych przez twórców badanych obiektów.

Do charakterystyki środków malarskich zaproponowano kilka różnych technik analitycznych¹.

Najstarszą z nich jest analiza kroplowa, z nowszych metod instrumentalnych stosuje się podczerwień, techniki chromatograficzne i analizę termiczną.

Z technik chromatograficznych do identyfikacji białek stosowano wysokociśnieniową chromatografię cieczową (HPLC)² oraz chromatografię gazową — hydrolizując białko kwasowym wymienniczym jonowym³ lub roztworem kwasu solnego⁴ i derywatyzując je na drodze przeprowadzenia aminokwasów w estry. Stosowano również do tego celu pirolizę (PY-GC)⁵ i pirolizę z analizą rozdzielonych składników za pomocą spektrometru mas (PY-GC-MS)⁶.

W ostatnich latach ukazało się kilka publikacji⁷ dotyczących identyfikacji niektórych rodzajów spoiw stosowanych w warstwie malarskiej i zaprawie metodą chromatografii gazowej, czasem połączonej z spektrometrią masową (GC-MS). Próbkę warstwy malarskiej poddaje się hydrolizie, a następnie derywatyżacji, czyli przeprowadza się trudno lotne lub nielotne produkty hydrolizy w łatwe do analizy pochodne. Porównanie wyników analiz chromatograficznych badanego materiału z analizami znanych spoiw pozwala zidentyfikować składniki.

Kleje naturalne

Kleje naturalne⁸ dzielimy na dwie grupy: kleje pochodzenia roślinnego (gumy, skrobia, dekstryny) i kleje pochodzenia zwierzęcego. Podstawowymi związkami chemicznymi klejów roślinnych są polisacharydy (zarówno heteropolisacharydy jak i homopolisacharydy). Gumy roślinne jako złożone polisacharydy, w których sładzie chemicznym występują węglowodany proste, połączenia węglowodanów ze związkami innego typu (np. glikoproteidy, glikozydy i inne) ulegają w kwasach mineralnych hydrolizie, w wyniku której otrzymuje się cukry proste. Podstawowymi substancjami klejów zwierzęcych zaś są białka zwierzęce — wiel-

1. L. Masschelein-Kleiner, *Analysis of paint media. Varnishes and adhesives*, „Pact. Journal of the European Study Group on Physical, Chemical and Mathematical Techniques. Applied to Archeology” 1986, nr 13, s. 185–206.

2. S. M. Halpine, *Amino acid analysis of proteinaceous media from Cosimo Tura's „The Annunciation with Saint Francis and Saint Louise of Tolouse”*, „Studies in Conservation” 1992, nr 31, s. 22–38.

3. E. Kenndler, K. Schmidt-Beiwil, F. Mairinger, M. Pohm, J. Frensenins, *Identification of proteinaceous binding media of easel paintings by gas chromatography of the amino acid derivatives after catalytic hydrolysis by a protonated cation exchanger*, „Journal of Analytical Chemistry” 1995, nr 342, s. 135.

4. A. Casoli, P. Mirti, G. Palla, *Characterization of medieval proteinaceous painting media using gas chromatography and gas chromatography — mass spectrometry*, „Journal of Analytical Chemistry” 1995, nr 352, s. 372.

5. A. M. Shedrinsky, T. P. Wampler, N. Indictor, N. S. Baer, *Application of analytical pyrolysis to problems in art and archeology a review*, „Journal of Analytical and Applied Pyrolysis” 1989, nr 15, s. 393–412.

6. G. Chiavari, P. Bocchini, G. C. Galletti, „Science and Technology for Cultural Heritage” 1992, nr 1, s. 153.

7. A. Casoli, P. Mirti, G. Palla, op. cit.; M. R. Schilling, H. P. Khanjan, *Gas Chromatographic Analysis of Amino Acids as Ethyl Chloroformate Derivatives (w:) ICOM-CC, Preprints of 11th Triennial Meeting, Edinburg, 1–6 September 1996*, London 1996; M. R. Schilling, H. P. Khanjan, *Gas Chromatographic Determination of the Fatty Acid and Glycerol content of Lipids*, tamże.

8. P. Murray, L. Murray, *Dictionary of Art and Artists*, London 1989.

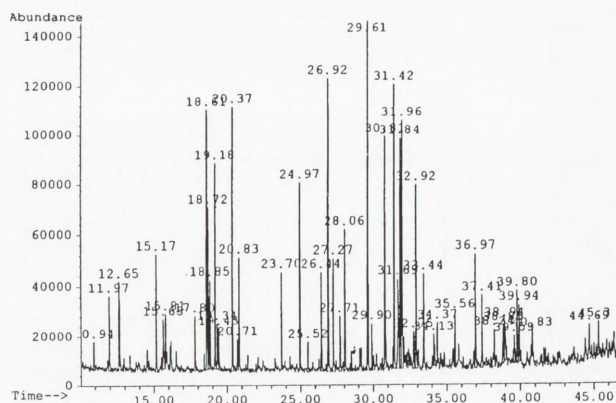
kocząsteczkowe związki naturalne złożone z łańcuchów α -aminokwasów połączonych wiązaniami peptydowymi. Pod wpływem hydrolizy chemicznej lub enzymatycznej białka rozpadają się początkowo na mniejsze fragmenty — peptydy, a w końcu na substancje podstawowe α -aminokwasy. Budowa białek jest bardzo skomplikowana i w wielu przypadkach dotąd nie ustalona. Białka dzieli się na białka proste (proteiny) zbudowane tylko z aminokwasów i na białka złożone składające się z części białkowej i z części niebiałkowej zwanej czynną grupą prostetyczną. Kolejna grupa związków stosowana jako składnik spoiw malarzkich to oleje (lipidy) — estry gliceryny i wyższych kwasów tłuszczowych. W zależności od budowy różniamy oleje schnące, produkty pochodzenia roślinnego złożone z mieszanin estrów gliceryny i wyższych kwasów tłuszczowych, z których znaczna część jest nienasycona; następnie woski — estry wyższych kwasów tłuszczowych z wyższymi alkoholami jednowodorotlenowymi, zawierające również węglowodory parafinowe i ich pochodne: alkohole, ketony, estry i etery. Żywyce zaś są złożonymi mieszaninami kwasów żywiczych, alkoholi, estrów, węglowodorów i olejków lotnych. Głównymi składnikami większości żywic są terpeny oraz ich pochodne tlenowe (alkohole, aldehydy i ketony).

Chromatografia gazowa w połączeniu z spektrometrią masową (GC-MS)⁹

Fizyczne metody analizy służące do określenia struktury nie nadają się z reguły do układów wieloskładnikowych. Dlatego też spektroskopia w podczerwieni i ultrafiolecie, magnetyczny rezonans jądrowy i inne metody pomiarowe są przydatne w rozwiązywaniu problemów analitycznych tylko dla indywidualów chemicznych. Chromatografia gazowa jest doskonałą metodą rozdzielania nawet skomplikowanych mieszanin na poszczególne składniki; jednak dopiero skonstruowanie spektrometru mas, mogącego być detektorem w chromatografii gazowej, stworzyło znakomite narzędzie analityczne, łączące zalety chromatografii gazowej (możliwość rozdzielania skomplikowanych mieszanin) i spektrometrii masowej (widma masowe jednoznacznie określają strukturę analizowanego związku). Podobne możliwości posiada również wprowadzana ostatnio technika GC-FTIR, czyli zastosowanie spektrofotometru w podczerwieni jako detektora chromatografu. Połączenie chromatografii gazowej i spektrometrii mas może być bardzo skuteczne dzięki następującym wspólnym cechom:

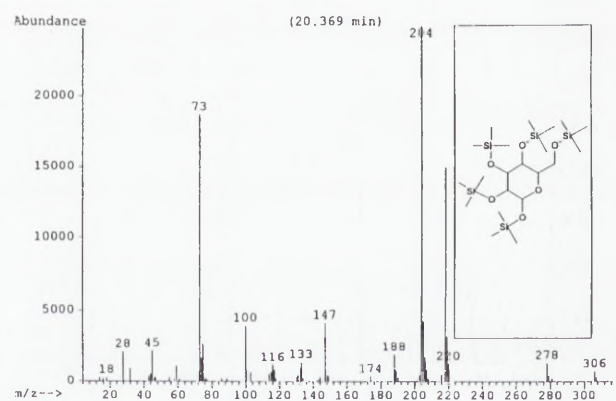
— badanie próbki następuje w stanie gazowym,

9. W. Rödel, G. Wölm, *Chromatografia gazowa*, Warszawa 1992; W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Warszawa 1996; W. Zieliński, A. Rajcy, *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, Warszawa 1996.



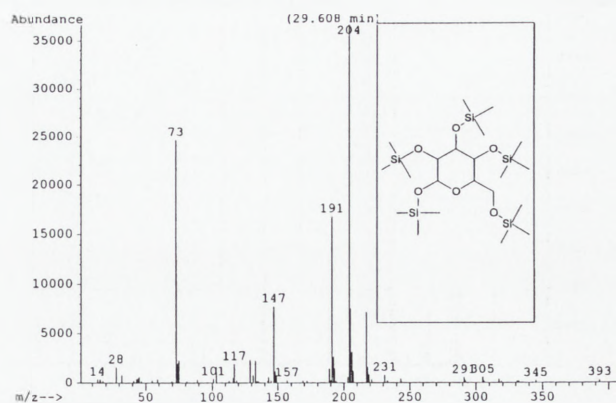
1. Przykład analizy chromatograficznej produktów kwasowej hydrolizy białka i gumy arabskiej

1. An example of a chromatographic analysis of the products of an acid hydrolysis of protein and arabic gum



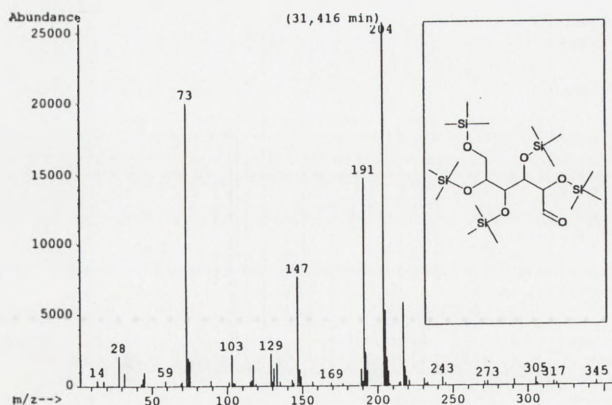
2. Widmo masowe pikę 20,37 min. odpowiadające 1,2,3,4,6-penta-trimetylo-sililo-galaktopiranozie

2. Mass spectrum of 20,7 min. peak corresponding to 1,2,3,4,6-penta-tri-methylsilylo-galactopyranoside



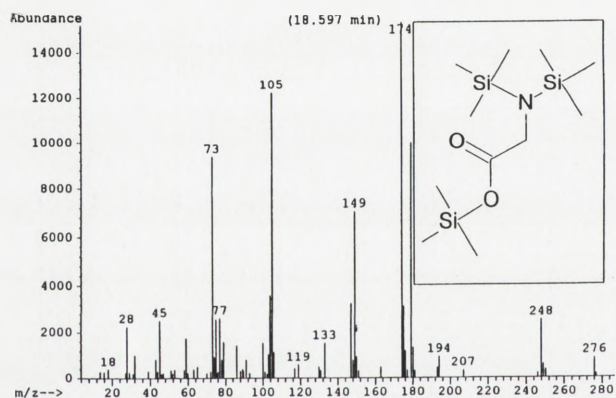
3. Widmo masowe pikę 29,61 min. odpowiadające 1,2,3,4,6-penta-trimetylo-sililo-mannopiranozie

3. Mass spectrum of 29,61 min. peak corresponding to 1, 2, 3, 4, 6-penta-tri-methylsilylo-mannopyranoside



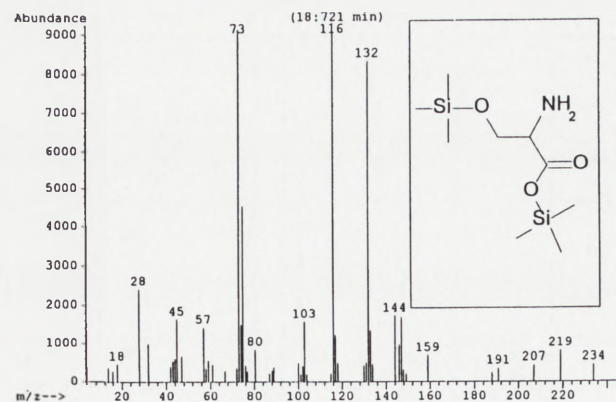
4. Widmo masowe piksu 31,42 min. odpowiadające 2,3,4,5,6-penta-trimetylo-sililo-D-glukozie

4. Mass spectrum of 31,42 min. peak corresponding to 1, 2, 3, 4, 6-tri-methylsilylo-D-glucose



5. Widmo masowe piksu 18,61 min. odpowiadające tri-trimetylosililo-glicynie

5. Mass spectrum of 18,61 peak corresponding to 1, 2, 3, 4, 6-tri-methylsilylo-glycin



6. Widmo masowe piksu 18,72 min. odpowiadające di-trimetylosililo-serynie

6. Mass spectrum of 18,72 min. peak corresponding to 1, 2, 3, 4, 6-di-methylsilylo-serine

- obie metody cechuje duża czułość detekcji,
- obie metody mają porównywalne szybkości.

Procedury derywatacji

Chromatografia gazowa pozwala rozdzielać mieszaniny związków, które w warunkach analizy występują w stanie gazowym. Wiele związków organicznych, szczególnie produktów naturalnych, nie spełnia tych wymagań. Do takich związków należą białka i aminokwasy, polisacharydy i cukry proste, oleje, tłuszcze, woski i in. Chromatografia gazowa może być użyta do analiz tego typu związków po ich chemicznej modyfikacji, czyli przekształceniu w lotne pochodne. Oznacza to w zasadzie rozpad na składniki o mniejszej masie cząsteczkowej i bardzo często odpowiednie przekształcenie polarnych grup funkcyjnych w grupy niepolarne. Rozkład wielkocząsteczkowych związków na pochodne niskocząsteczkowe oznacza najczęściej hydrolizę, bardzo rzadko utlenianie lub redukcję. Przekształcanie polarnych grup funkcyjnych w niepolarne dotyczy najczęściej grup hydroksylowych i karboksylowych, rzadziej aminowych i tiolowych. Dostatecznie reaktywnymi odczynnikami, stosowanymi do tego celu są bezwodniki (rzadziej chlorki) kwasowe, w tym najczęściej bezwodnik kwasu trifluorooctowego oraz odczynniki silylujące. Znanych i stosowanych jest cały szereg czystych odczynników silylujących i ich mieszanin. Najtańszą jest mieszanina trimetylochlorosilanu i heksametylodisilazanu w pirydynie, trietyloaminie lub dimetyloformamidzie, jednak najbardziej reaktywnymi są N, O-bis(trimetylosililo)acetamid — BSA oraz N, O-bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid — BSTFA. Obydwa odczynniki reagują praktycznie z wszystkimi grupami silylowanymi szybko w temperaturze pokojowej nie powodując jednocześnie reakcji ubocznych jak np. izomeryzacja. Inne, rzadziej stosowane metody derywatacji zostaną omówione przy poszczególnych klasach związków.

Kwasy tłuszczowe. Wyższe kwasy tłuszczowe można przekształcać w estry, najczęściej metylowe lub pochodne trimetylosililowe. Do estryfikacji stosuje się diazometan, metanolowy roztwór HCl, BF₃ lub BCl₃. Reakcje nie zawsze są ilościowe; pierwszy wymieniony reagent wymaga kilku godzin. Ostatnio coraz szersze zastosowanie zdobywają wodorotlenki trimetyloaryloamoniowe, mogące również hydrolizować pochodne kwasów karboksylowych (oleje, tłuszcze, woski) i przekształcające kwasy tłuszczowe w estry metylowe w dozowniku aparatu.

Aminokwasy. Lotne pochodne aminokwasów, zwykle otrzymane w wyniku kwasowej hydrolizy białek, wymagają na ogół przekształcenia zarówno grupy karboksylowej jak i aminowej. Proces ten może zachodzić wieloetapowo lub w jednej operacji. W procesach wieloetapowych grupę karboksylową przekształca się w estrową (metylową, izopropylową lub butylową)

a aminową poddaje amidowaniu, najczęściej bezwodnikiem kwasu trifluorooctowego. Proces jednoetapowy to sililowanie a jedynie BSA i BSTFA są wystarczająco reaktywne, by ilościowo przereagowały zarówno grupy karboksylowe jak i aminowe.

Cukry. Pierwsze rozdzielanie cukrów za pomocą chromatografii gazowej zostało opisane przez Mc Innesa w 1958 roku. Zastosował on estry metylowe jako lotne pochodne cukrów. Do analizy cukrów zaleca się przekształcanie ich w pochodne trimetylosililowe, estry kwasu octowego lub trifluorooctowego oraz nadal etery metylowe. Sililowanie na ogół zachodzi łatwo i z wieloma cukrami zachodzi ilościowo. Zalecanym odczynnikiem sililującym jest mieszanina trimetylochlorosilanu i heksametylodydisilazanu.

Steroidy. Bezpośrednia analiza steroidów jest możliwa, jednak wymaga wysokich temperatur. Pochodne, najczęściej trimetylosililowe pozwalają obniżyć temperaturę analizy, zmniejszają jednocześnie ryzyko degradacji termicznej.

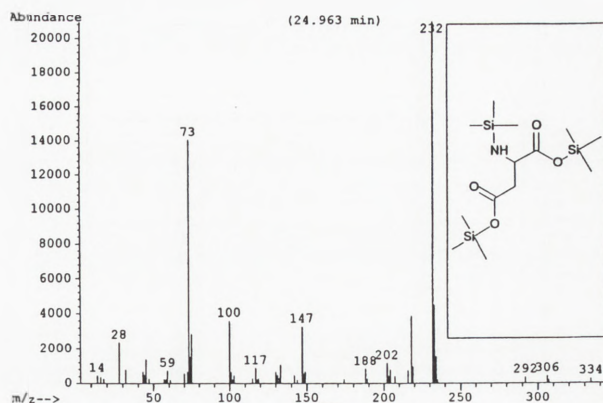
Założenia pracy badawczej

W badaniach jako główny cel przyjęto znalezienie uniwersalnej metody lub metod służących do identyfikacji składników wiążących w różnych materiałach malarskich. Wiadomo, że jako spoiwa stosowane są oleje, białka, węglowodany, woski, żywice i inne związki wielkocząsteczkowe o różnej i złożonej budowie chemicznej.

Dane literaturowe potwierdzają, że najlepszą metodą analityczną złożonych mieszanin jest chromatografia gazowa w połączeniu z spektrometrią masową, gdyż chromatografia gazowa z wykorzystaniem kolumn kapilarnych pozwala rozdzielać na składniki mieszaniny zawierające nawet setki indywidualów, a spektrometr masowy rejestrując widmo pozwala na jednoznaczную identyfikację związku. Dlatego też do analizy spoiw została wybrana właśnie ta metoda jako najbardziej dokładna i skuteczna. Wymaga ona jednak odpowiedniego przygotowania próbki do badań. Ponieważ związki stosowane jako materiały wiążące należą do różnych klas związków organicznych i niejednokrotnie używane są w technice malarskiej obok siebie jako np. spoiwa temperowe, emulsyjne, tłuste itp., należało znaleźć uniwersalną procedurę analityczną, skuteczną dla wszystkich potencjalnych składników spoiwa.

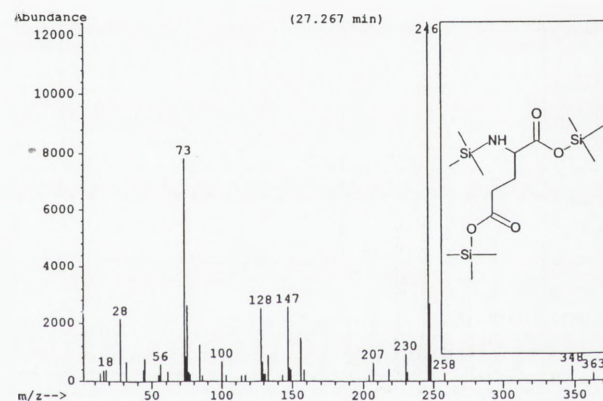
Casoli i współpracownicy¹⁰ spoiwa białkowe poddawali hydrolizie 20% kwasem solnym w temp. 100°C w ciągu 6 godz. i następnie hydrolizat derywatyzowali bezwodnikiem kwasu trifluorooctowego.

Wiadomo, że do identyfikacji substancji złożonych przy zastosowaniu chromatografii gazowej konieczne jest dokonanie hydrolizy materiału badanego. Otrzymane produkty hydrolizy po derywatyzacji mogą już



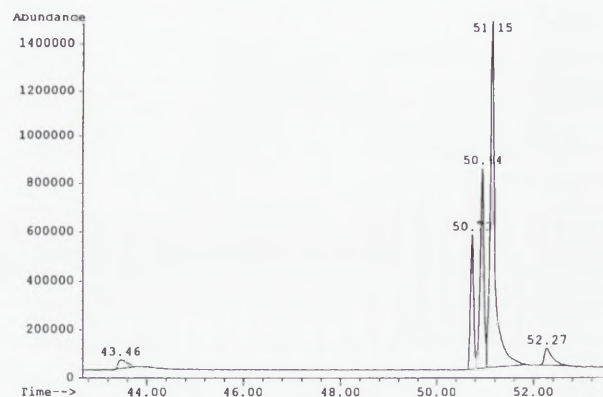
7. Widmo masowe pików 24,97 min. odpowiadające tri-trimetylosililowej pochodnej kwasu asparaginowego

7. Mass spectrum of 24,97 min. peak corresponding to 1, 2, 3, 4, 6-tri-methylsilyl derivative of aspartic acid



8. Widmo masowe pików 27,27 min. odpowiadające tri-trimetylosililowej pochodnej kwasu glutaminowego

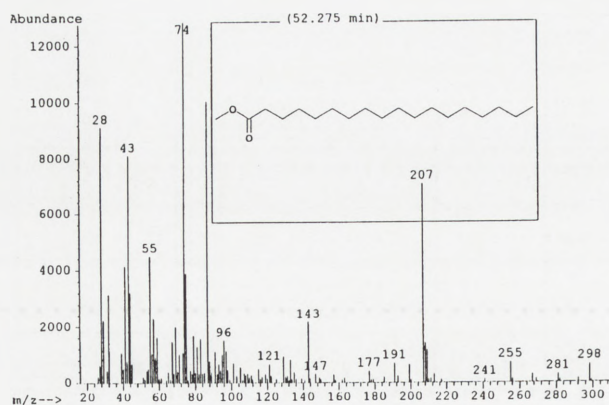
8. Mass spectrum of 27,27 min. peak corresponding to 1, 2, 3, 4, 6-tri-methylsilyl derivative of glutamic acid



9. Chromatogram produktów alkalicznej hydrolizy oleju lnianego

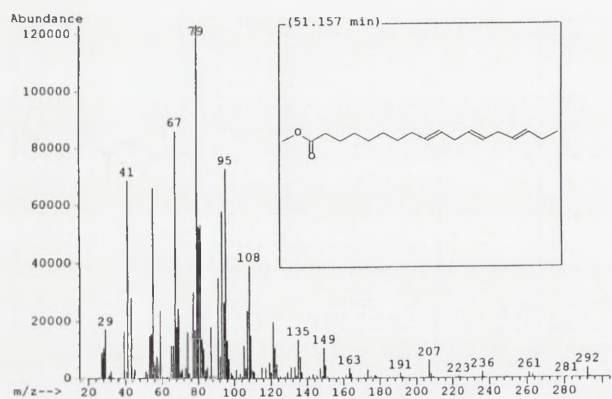
9. A chromatogram of products of an alkaline hydrolysis of linseed oil

10. A. Casoli, P. Mirti, G. Palla, op. cit.



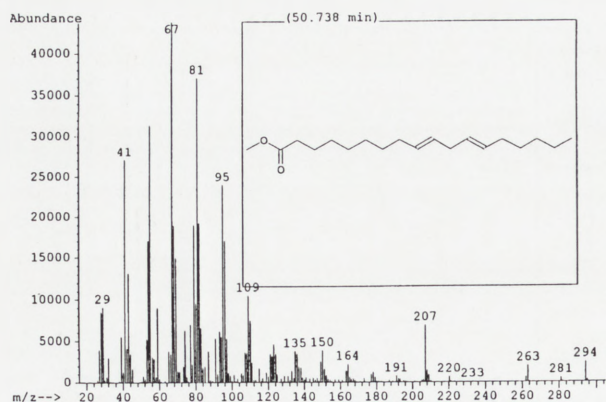
10. Widmo masowe piku 52,27 min. odpowiadające estrowi metylo-
wemu kwasu stearynowego

10. Mass spectrum of 52,27 min. peak corresponding to a methyl
ester of stearic acid



11. Widmo masowe piku 51,15 min. odpowiadające estrowi metylo-
wemu kwasu linolenowego

11. Mass spectrum of 51,15 min. peak corresponding to a methyl
ester of linolenic acid



12. Widmo masowe piku 51,73 min. odpowiadające estrowi metylo-
wemu kwasu linolowego

12. Mass spectrum of 51,73 min. peak corresponding to a methyl
ester of linoleic acid

być analizowane metodą GC-MS. W wyniku hydroli-
zy kwasowej otrzymuje się odpowiednio: z białek —
aminokwasy, z polisacharydów i gum — cukry proste,
z olejów i tłuszczów — nasycone i nienasycone kwasy
tłuszczowe (oraz glicerynę), z wosków — alkohole
i kwasy tłuszczowe, z żywic — m.in. odpowiednie
kwasy i inne związki organiczne, zależne od rodzaju
żywicy¹¹. Hydroliza zasadowa może być użyta do roz-
kładu olejów, tłuszczów, żywic i wosków, jest jednak
całkowicie zawodna do polisacharydów; białka hydro-
lizują bardzo opornie. Jednak zasadowa hydroliza mo-
że być bardzo użyteczna do analiz spoiw zawierających
oleje, żywice i woski, szczególnie przy użyciu wodorotlen-
ków trimetyloaryloamoniowych. W wyniku prostej
operacji hydrolizy i derywatywacji w dozowniku
chromatografu wymienione składniki próbki są iden-
tyfikowane jako estry metylole odpowiednie kwasów
organicznych (i ewentualnie nieorganicznych).

Najbardziej oporne na hydrolizę kwasową są wią-
zania peptydowe (białka), zwykle stosuje się wielogo-
dzinne ogrzewanie z mocnymi kwasami mineralnymi
o odpowiednim stężeniu (solny, siarkowy). Z kolei
wiązania glikozydowe w homo- i heteropolisachary-
dach ulegają hydrolizie bardzo łatwo; jednak wielogo-
dzinne ogrzewanie cukrów w roztworach kwasów mi-
neralnych może powodować ich izomeryzację lub roz-
kład. Zatem warunki niezbędne do hydrolizy jednej
grupy składników mogą powodować degradację innej
klasy związków.

Znalezienie możliwie uniwersalnej metody pozwa-
lającej na dokonanie analizy różnorodnych spoiw ma-
larskich było inspiracją do rozpoczęcia badań w celu
rozwiązania tego problemu. Wykonano szereg ekspe-
rymentów zarówno dla surowców jednoskładnikowy-
ch, tzn. białko i żółtko jaja kurzego, oleje — lniany
i makowy, guma arabska i tragancka, szelak, kalafonia,
mastyks, sandarak i in., jak i dla mieszanin wzorcowy-
ch, zawierających różne składniki. Podczas wstęp-
nych badań hydrolizę prowadzono 4N-kwasem sol-
nym w atmosferze argonu w ciągu 1–24 godz. w tem-
peraturze wrzenia. Stwierdzono, że warunki zapewnia-
jące hydrolizę białek, czyli minimum 6 godz. ogrzewa-
nia, są wystarczające do hydrolizy wszystkich pozosta-
łych składników próbki. Badano również hydrolizę
żywic i olejów metanolowym roztworem wodorotlen-
ku trimetyloaryloamoniowego i tetrametyloamoni-
owego. Alkaliczna hydroliza tych składników zachodzi
ilościowo w ciągu ok. 1 godz. Pierwsze eksperymenty
kwasowej hydrolizy, zgodnie ze sposobami opisanymi
w literaturze sugerowały, że nie są to warunki najlep-
sze. Po hydrolizie, zarówno kwasem solnym jak i szcze-
gólnie roztworem kwasu siarkowego, obserwowano
znaczny ilość ciemnobrunatnego, aż do czarnego, osadu
na ściankach. Świadczy to o rozkładzie części ba-

11. R. T. Morrison, R. N. Boyd, *Chemia organiczna*, Warszawa
1994; K-P. C. Vollhardt, *Organic Chemistry*, New York 1987.

danego materiału; najbardziej prawdopodobne jest, że rozkładowi ulegają mono- lub oligosacharydy, związki bardzo istotne dla identyfikacji badanych spoiw. Zmodyfikowano więc warunki hydrolizy, dobierając odpowiednią mieszaninę kwasów, mogących hydrolizować wszystkie składniki badanego materiału w temperaturze pokojowej. Sacharydy w tych warunkach nie ulegały rozkładowi. Również inne składniki spoiw nie rozkładały się. Po kwasowej hydrolizie badaną próbkę odparowywano do sucha na wyparce obrotowej pod zmniejszonym ciśnieniem, ewentualne resztki wody usuwano destylacją azeotropową z ksylenem również pod zmniejszonym ciśnieniem. Na koniec przeprowadzano derywatyzację, czyli silylowanie dodając 0,5–1 ml BSA lub BSTFA w 0,5 ml czystego toluenu. Próby silylowania innymi, opisanymi w literaturze mieszaninami silylującymi, nie gwarantują silylowania grup aminowych aminokwasów. Po alkalicznej hydrolizie badanych próbek bez dalszej ich obróbki lub po kwasowej hydrolizie i silylowaniu próbki były chromatografowane. Analizy chromatograficzne prowadzono przy użyciu chromatografu gazowego Hewlett–Packard z kolumną kapilarną Ultra 2 (odpowiednik DB–5) i spektrometru masowego HP–5971. Gaz nośny — hel 1 ml/min. Temperatura dozownika — 270°C dla próbek silylowanych i 350°C dla mieszanin hydrolizowanych wodorotlenkiem amoniowym. Temperatura początkowa 50°C przez 5 min., 5°C/min. do 300°C i w tej temperaturze wygrzewano kolumnę przez 5 min. Próbki duże, zawierające minimum kilkadziesiąt miligramów materiału organicznego dozowano techniką *split*, próbki małe — techniką *splitless*¹². Otrzymane chromatogramy i zarejestrowane widma masowe odpowiednich pików najczęściej porównywano z widmami w posiadanej bibliotece widm (biblioteka NIST, 75 tys. widm). W razie wątpliwości poddawano widma własnej interpretacji. W pewnych przypadkach (nielicznych, z powodu posiadania tylko niewielkiej ilości związków wzorcowych) porównywano czasy retencji z czasami retencji analizowanych mieszanin wzorcowych.

Wybrane wyniki zamieszczone są na rysunkach.

12. *Split* i *splitless* są to określenia dotyczące sposobu dozowania próbek do iniektora chromatografu. Chromatografy z kolumnami kapilarnymi wymagają bardzo niewielkich ilości analizowanych związków, dlatego dla znacznych stężeń stosuje się technikę *split*, czyli podział. Niewielka część analizowanego roztworu, wprowadzonego do dozownika chromatografu wchodzi do kolumny kapi-

Podsumowanie

Próbka spoiw poddana działaniu odpowiedniej mieszaniny kwasów w ciągu kilkunastu godzin w temperaturze pokojowej ulega hydrolizie do związków prostych bez widocznego rozkładu lub tylko z minimalnymi zmianami. Zarówno roztwór kwasu solnego jak i siarkowego w temperaturze wrzenia powodują widoczny rozkład niektórych przynajmniej składników próbek. Po odparowaniu kwasów i wody pod zmniejszonym ciśnieniem i azeotropowym usunięciu resztek wody związki proste poddaje się silylowaniu BSA lub BSTFA również w temperaturze pokojowej.

Pozostawienie próbki zawierającej olej, tłuszcz, żywicę lub wosk w metanolewym roztworze odpowiedniego wodorotlenku amoniowego powoduje hydrolizę spoiwa; mieszaninę poreakcyjną dozuje się do dozownika chromatografu bez dalszej obróbki. Kwasowe składniki próbki identyfikuje się jako estry metylowe.

Sądzymy, że minimalna ilość spoiwa potrzebna do badań wynosi około 5 mg, z czego trzeba przygotować przynajmniej dwie próbki analityczne (lepiej trzy):

a) Część próbki poddać kwasowej hydrolizie odpowiednią mieszaniną kwasów, powodującą hydrolizę wszystkich składników spoiwa. Po usunięciu kwasów i wody oraz silylowaniu składniki można identyfikować jako pochodne trimetylosilylowe.

b) Pozostałą część próbki poddać alkalicznej hydrolizie metanolewym roztworem wodorotlenku tetrametyloamoniowego lub trimetyloaryloamoniowego. Tak przygotowany hydrolizat pozwala identyfikować niezależnie różnego rodzaju kwasy organiczne i nieorganiczne jako estry metylowe.

c) Ewentualną trzecią część próbki poddać hydrolizie rozcieńczonym roztworem kwasu solnego w temperaturze pokojowej. Jest to propozycja kontrolnego analizowania obecności sacharydów; związki te w warunkach jak w punkcie a) mogą ulegać rozkładowi.

d) Zastosowanie chromatografii gazowej — spektroskopii masowej (GC–MS) do analizy spoiw pozwala na identyfikację wszystkich składników analizowanych spoiw oraz na ilościową ocenę zawartości poszczególnych składników.

larnej a przeważająca część jest usuwana na zewnątrz nadmiarem gazu nośnego przez odpowiednio skonstruowane odpowietrzenie. Przy technice *splitless*, czyli bez podziału, zawór tego odpowietrzenia jest zamknięty i praktycznie cała wstrzyknięta próbka jest wprowadzana do kolumny kapilarnej. Tę metodę stosuje się dla roztworów rozcieńczonych.

The Application of Gas Chromatography Combined with Mass Spectrometry (GC–MS) for an Analysis of Bindings Used in Painting

An analysis of bindings used in painting, polychromy sculpture and illuminated manuscripts is one of the most difficult problems in the conservation of historical monuments. Undoubtedly, this situation is connected with the

application for bindings of mixtures of compounds of natural origin with assorted functional groups which are always a mixture of individual chemicals. The identification of those components is time-consuming and complex because it calls

for the transition of multi-molecule compounds into simple substances, well-known and easily analysed. Literature data confirmed that the best analytical method of composite mixtures is gas chromatography combined with mass spectrometry since the former, which makes use of capillary columns, makes it possible to divide mixtures containing even hundreds of individual chemicals into components, while the mass spectrometer which registers the spectrum, allows unambiguous identification of the compound. This is the reason why precisely this method was chosen for an analysis of bindings as most precise and effective. It requires, however, a suitable preparation of a sample for subsequent examination. Due to the fact that compounds used as binding material belong to different classes of organic compounds and are frequently applied in painting technique alongside each other, it was necessary to discover the universal analysis procedure, effective for all potential components of the binding.

A sample of the painting layer is subjected to hydrolysis and then derivatisation, in other words, volatile or less vola-

tile products of hydrolysis are transformed into easily analysed derivatives. A comparison of the outcome of chromatographic analyses of the examined material with analyses of known bindings makes it possible to identify components. Part of the sample is subjected to acid hydrolysis with a suitable mixture of acids, which causes a hydrolysis of all components of the binding. After the removal of acids and water as well as silification, the components can be identified as trimethylsilyl derivatives. The remaining part of the sample is subjected to alkaline hydrolysis by means of a methanol solution of tetramethylene ammonium or trimethylene aryl ammonium. The hydrolyzate prepared in this way allows us to identify independently various types of organic and non-organic acids as methyl esters.

The application of gas chromatography and mass spectroscopy (GC-MS) for analysing bindings facilitates the identification of all the components of the bindings and a quantitative assessment of the contents of particular components.