

Andrzej Wawrzeńczak

Zastosowanie cienkowarstwowej analizy chromatograficznej do identyfikacji spoiw malarskich

Ochrona Zabytków 27/3 (106), 218-224

1974

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 CIENKOWARSTWOWEJ ANALIZY CHROMATOGRAFICZNEJ DO IDENTYFIKACJI SPOIW MALARSKICH

Jednym z niezwykle istotnych zagadnień technologii sztuk plastycznych jest problem spoiw malarskich, decydujących niejednokrotnie o charakterze plastycznym obiektu. Różnorodność technik malarskich, eksperymenty twórców, a także późniejsze zabiegi poprawiania oraz właściwe konserwacje powodują dodatkowe utrudnienia przy identyfikacji spoiw. Przy ustalaniu rodzaju spoiwa, występującego zarówno w warstwach malarskich, zaprawach, jak i w pobiałach leżących pod polichromią ścienną, można posługiwać się — poza innymi metodami — również analizą chromatograficzną, której wielką zaletą jest stosunkowo wysoka czułość, jak również nieskomplikowana metodologia badań.

W Laboratorium Naukowo-Badawczym PKZ w Warszawie prowadzone są od pewnego czasu badania, których celem jest adaptacja cienkowarstwowej chromatografii rozdzielczej do identyfikacji spoiw malarskich w badaniach technologicznych. Badania te, mające charakter prób wstępnych, ograniczyły się do zagadnień związanych ze spoiwami białkowymi i częściowo polisacharydowymi. Nie wykonano badań dotyczących gum roślinnych, gumożywic, jak również spoiw olejnych. Tematyka ta zostanie uwzględniona w dalszym etapie pracy.

Ponieważ analizy przy użyciu metody chromatografii rozdzielczej wykonywane są coraz częściej, dla łatwiejszego zrozumienia zjawisk zachodzących w czasie przebiegu procesu, w artykule przedstawiono w skrócie teoretyczne podstawy chromatografii rozdzielczej oraz omówiono rezultaty dotychczasowych prac w tej dziedzinie prowadzonych w wielu placówkach konserwatorskich.

TEORETYCZNE PODSTAWY CHROMATOGRAFII ROZDZIELCZEJ

Chromatografia jest to technika rozdzielania mieszanin substancji na poszczególne składniki lub grupy składników; służy celom analitycznym lub preparatywnym. Opiera się na

zasadzie podziału poszczególnych składników badanej mieszaniny pomiędzy dwie nie mieszające się fazy układu rozwijającego, z których jedna jest fazą ciekłą, nieruchomą, zatrzymywaną na podłożu zwanym nośnikiem (bibuła, żel krzemionkowy, proszek celulozowy, tlenek glinu), a druga — ruchomą, przepływającą przez podłoże.

Technika wykorzystująca ciecz jako fazę ruchomą nosi nazwę chromatografii rozdzielczej i jest najczęściej stosowana, aczkolwiek ostatnio coraz większe zastosowanie mają też i inne metody.

Różnica zdolności poszczególnych składników do absorpcji znalazła zastosowanie w chromatografii absorpcyjnej, różnica trwałości osadów tworzących się ze składników mieszaniny z odczynnikami, którym zaimpregnowano podłoże — w chromatografii osadowej, natomiast różnica powinowactwa poszczególnych składników do jonitów, przez które przepuszcza się mieszaninę — w chromatografii jonitowej.

Dodatkowym czynnikiem zwiększającym zdolności rozdzielcze poszczególnych układów może być przyłożenie pola elektrycznego, powodującego dodatkową migrację jonów (elektrochromatografia, elektroforeza)¹, oraz stosowanie zmiany temperatury wzdłuż kolumny, w której prowadzi się proces rozdziału (termochromatografia).

Pod względem techniki wykonania rozróżnia się chromatografię bibułową, cienkowarstwową, gazową i kolumnową.

Układ odpowiednio dobranych rozpuszczalników decyduje w chromatografii rozdzielczej o rozdziale poszczególnych składników badanej mieszaniny. W celu wykazania różnic w migracji różnych substancji stosuje się współ-

¹ Zastosowanie chromatografii w fotochemii, praca zbiorowa, PWRiL, Warszawa 1967; J. Opińska-Blauth, A. Smockiewiczowa, *Vademecum chromatograficzne*, PWN, Warszawa 1968.

czynnik podziału R_f , określający stosunek szybkości przesuwania się czoła pasma do szybkości przesuwania się czoła rozpuszczalnika, a w praktyce wyrażający się ilorazem odległości środka plamy od miejsca naniesienia (startu) substancji badanych w stosunku do odległości czoła fazy organicznej od miejsca startu².

Wartości współczynnika R_f poszczególnych składników badanej mieszaniny wyrażają w dużym przybliżeniu stosunki ich podziału między fazy danego układu rozpuszczalników. Stosując pewne przybliżenie, bez wdawania się w szczegółowe rozważania dotyczące teorii chromatografii, w praktyce należy kierować się zasadą, która mówi, że współczynnik R_f danego związku jest wprost proporcjonalny do jego rozpuszczalności w ruchomej fazie układu. Ponieważ aminokwasy, małowczątkowe peptydy i polisacharydy są rozpuszczalne w H_2O , zatem ich wartości R_f w każdym układzie rozpuszczalników wzrastają w miarę zwiększania się zawartości wody w układzie.

Wielkość współczynnika R_f uzależniona jest od gatunku, stopnia czystości i stanu nasycenia nośnika przez fazę organiczną, rodzaju solventu, jego czystości i wieku, temperatury rozwijania chromatogramów, stanu wysycenia komory fazą organiczną, budowy cząsteczki substancji analizowanej i szybkości przepływu fazy ruchomej. Ponieważ na wartość współczynnika R_f składa się tak wiele elementów, a utrzymanie jednakowych warunków doświadczalnych przy powtarzających się analizach jest niezwykle trudne, analizę chromatograficzną przeprowadza się w obecności substancji wzorcowych, które pozwalają na identyfikację substancji badanych. Rozdzielone substancje, szczególnie po traktowaniu chromatogramów barwnymi testami, tworzą plamy, które przy dobrym podziale mają regularny kształt. Rozmieszczenie rozdzielonych substancji można również określać na podstawie zjawiska fluorescencji wywołanej promieniami ultrafioletowymi.

² Chromatografia, praca zbiorowa, PWN, 1957, s. 47; K. Ronderath, *Thin Layer Chromatography*, Academic Press, New York, London 1963.

³ J. S. Mills, A. E. A. Werner, *Paper Chromatography of Natural Resins*, „Natur”, t. CLXIX, 1952, s. 1064; K. Macek, H. Hamsik, *Papírová chromatografie — nová metoda určování pojidel*, „Umění”, II, 1, 1954, s. 58.

⁴ K. Macek, H. Hamsik, o.c.

⁵ M. Hey, *The Analysis of Paint Media by Paper Chromatography*, „Studies in Conservation”, t. III, nr 4, 1958, ss. 183—193.

⁶ G. N. Tomaszewicz, *Raspredelitel'naja chromatografija na bumagie v analizie uglewodosodierżaszczich wieszczestw wstreczajuszczichsja w praktike restauracii proizwiedienij isskustwa i pamiatnikow materialnoj kultury*, „Soobszczenija”, 14, 1965, ss. 5—32.

ROZWÓJ METOD ANALIZY CHROMATOGRAFICZNEJ DO IDENTYFIKACJI SPOIW MALARSKICH

Pierwsze badania spoiw malarskich za pomocą chromatografii prowadzili J. S. Mills i K. Macek; stosowali oni technikę chromatografii bibułowej³.

K. Macek i H. Hamsik identyfikowali nieznane spoiwa białkowe na podstawie porównań chromatogramów tych spoiw z chromatogramami wzorców zawierających hydrolizaty spoiwa temperowego, kleju glutynowego oraz kleju kazeinowego⁴. Identyfikacja uwzględniała tylko podobieństwa lub różnice pomiędzy próbkami poddawanyymi analizie a próbkami wzorcowymi.

Przedmiotem badań prowadzonych przez M. Hey, stosującą również chromatografię na bibule, była analiza substancji białkowych i produktu hydrolizy olejów — gliceryny⁵. Twierdząc, że do XV w. w technologiach malarskich najczęściej stosowanymi substancjami wiążącymi były substancje białkowe: kleje glutynowe i spoiwa jajowe, pominęła ona w swoich badaniach węglowodany, które stanowiły również część składową spoiw malarskich.

Chromatografia jako jedna ze szczególnie czułych metod mikroanalitycznych adaptowana została szybko do potrzeb konserwatorskich w wielu krajach.

W ZSRR pierwsze prace omawiające badania spoiw o charakterze węglowodanowym wykonano w technice chromatografii bibułowej w 1963 r.⁶

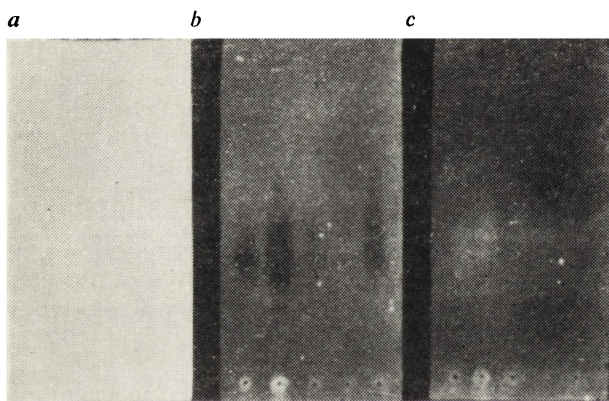
W Polsce stosowanie analizy chromatograficznej dla potrzeb konserwatorskich zapoczątkował Z. Brochwicz⁷. Opierając się na gruntownej znajomości materiałoznawstwa konserwatorskiego, stosuje on analizę chromatografii bibułowej, często połączoną z elektroforezą i pomiarami densytometrycznymi. Określa w ten sposób technikę i budowę technologiczną malo-

⁷ Z. Brochwicz, *Zastosowanie analizy chromatograficznej do identyfikacji cukrowców w zaprawach i polichromiach*, „Materiały Zachodnio-Pomorskie” t. VII, 1961, ss. 667—732; tenże, *Gumy roślinne jako spoiwa malarskie w świetle dawnych traktatów malarskich, ich właściwości oraz ich identyfikacja w zabytkowych polichromiach*, „Materiały Zachodnio-Pomorskie”, t. IX, 1963, ss. 487—575; tenże, *Analiza chromatograficzna klejów roślinnych w zabytkowych malowidłach ściennych*, „Materiały Zachodnio-Pomorskie”, t. X, 1964, ss. 427—536; tenże, *Zastosowanie bibułowej chromatografii rozdzielczej do badań zabytkowych dzieł sztuki*, „Materiały Zachodnio-Pomorskie”, t. XI, 1965, ss. 759—792; tenże, *Badania nad identyfikacją spoiw białkowych w malarstwie ściennym*, „Biblioteka Muzealnictwa i Ochrony Zabytków”, ser. B, t. 34, 1973, ss. 119—127; tenże, *Kleje roślinne w polichromiach ściennych i ich identyfikacja*, „Biblioteka Muzealnictwa i Ochrony Zabytków”, ser. B, t. 11, 1973, ss. 79—95.

wideł ściennych, sztalugowych i rzeźby polichromowanej⁸.

Na szczególną uwagę zasługuje też praca A. Lewandowskiego, w której autor przedstawił metodę ilościowego oznaczania srebra i miedzi w obiektach zabytkowych⁹.

W 1961 r. wprowadzono do chromatografii technikę rozdzielania substancji na płytkach szklanych powleczonych cienką warstwą adsorbentu. Technika ta nosi nazwę chromatografii cienkowarstwowej¹⁰. Rolę nośnika zastępującego bibułę odgrywa tu cienka warstwa adsorbentu naniesionego na płytkę szklaną. W zależności od składników badanych mieszanin stosuje się różne adsorbenty, produkowane obecnie na skalę przemysłową. Żelu krzemionkowego używa się najczęściej do rozdzielania związków o charakterze kwasowym, celulozy



1. Płytki szklane pokryte warstwą żelu krzemionkowego; a — płytka fabryczna, b — płytka z naniesionymi aminokwasami, wywołana testem izatynowym, c — płytka traktowana testem Ehrlicha, po którym znikają wszystkie plamy aminokwasów z wyjątkiem hydroksyproliny

1. Glass plates coated with silica gel; a — a brand new ex-works plate, b — plate with amino acids on its surface developed by isatin test, c — plate treated with Ehrlich test after which are disappearing all amino acid stains except for those of hydroxyproline

⁸ Z. Brochwicz, M. B. Wołkowa, *Budowa technologiczna XVII-wiecznych malowideł ściennych w cerkwi Św. Jerzego w Wielkim Tyrnowie (Bułgaria)*, „Ochrona Zabytków”, XXV (1972), nr 3, ss. 143—159; Z. Brochwicz, *Znaczenie badań technologicznych w identyfikacji technik malarzkich i diagnostyce konserwatorskiej*, „Biblioteka Muzealnictwa i Ochrony Zabytków”, ser. B, t. 34, 1973, ss. 140—150.

⁹ *Zastosowanie chromatografii w fitochemii*, praca zbiorowa, PWRiL, Warszawa 1967, s. 55.

¹⁰ A. Lewandowski, M. Tomińska, *Mikrochromatograficzne oznaczenie ilościowe srebra i miedzi w obiektach zabytkowych*, „Ochrona Zabytków”, XVI (1963), nr 1, ss. 17—20.

¹¹ L. Maschelein-Kleiner, *Perspectives de la chimie des liants picturaux anciens*, „Bulletin de l'Institut Royal du Patrimoine Artistique”, VI, 1963, ss. 109—126; L. Maschelein-Kleiner, R. Kléber, *Contribution a l'analyse des composés résineux*

i tlenku glinu w wypadku związków o charakterze zasadowym, a ziemi okrzemkowej w wypadku związków obojętnych.

Na odpowiednio przygotowaną płytkę nanosi się roztwór badanej mieszaniny i zanurza krzewdzą w układzie rozpuszczalników, zwanym układem rozwijającym lub solwentem. Roztwór ten, przesuwając się wzdłuż płytki z nośnikiem, powoduje rozdzielanie składników badanej mieszaniny, posuwających się z różną prędkością, zależnie od ich współczynnika podziału pomiędzy wodą zaadsorbowaną na nośniku a rozpuszczalnikiem organicznym solwentu.

Zaletą tej metody w porównaniu do chromatografii bibułowej jest kilkakrotnie krótszy czas rozwijania, lepszy podział i rozdzielanie badanych mieszanin, mała powierzchnia chromatogramów oraz uzyskiwanie mniejszych, nie rozlewających się i pozbawionych „ogonów” plam.

Bardzo wszechstronne badania spoiw malarzkich, występujących zarówno w malarstwie ściennym, jak i sztalugowym, prowadzi od dłuższego czasu L. Maschelein-Kleiner wraz ze współpracownikami¹¹. Badania te oprócz chromatografii cienkowarstwowej obejmują analizę spektralną w ultrafiolecie i w podczerwieni. Uzyskane pozytywne rezultaty pozwoliły na powszechne stosowanie metody chromatografii cienkowarstwowej w badaniach technologicznych w Institut Royal du Patrimoine Artistique w Brukseli¹².

Adaptacja techniki chromatografii cienkowarstwowej została omówiona również w pracy Z. M. Żeleńskiej, która objęła badaniami zarówno spoiwa białkowe, jak i węglowodanowe¹³.

Ze względu na dużą czułość analizy oraz minimalną ilość materiału potrzebnego do oznaczeń metoda ta znalazła również zastosowa-

utilisés dans des ceuvres d'art, „Bulletin de l'Institut Royal du Patrimoine Artistique”, VII, 1964, ss. 196—218; L. Maschelein-Kleiner, F. Tricot-Marckx, *La détection de polisaccharides dans les matériaux constitutifs des oeuvres d'art*, „Bulletin de l'Institut Royal du Patrimoine Artistique”, VIII, 1965, ss. 180—192.

¹² R. Kléber, F. Tricot-Marckx, *Essai d'identification d'une colle animale utilisée par Rubens*, „Bulletin de l'Institut Royal du Patrimoine Artistique”, VI, 1963, ss. 57—62; R. Kléber, F. Tricot-Marckx, *Identification d'un vernis moderne recouvrant la Descente de croix de Rubens*, „Bulletin de l'Institut Royal du Patrimoine Artistique”, VI, 1963, ss. 63—68.

¹³ Z. M. Żeleńska, *Prisposoblenije metoda tionkoslojnoj chromatografii dla analiza białkowych i uglewodosodierzaszczich swiazuszczich ispolzujemych w żiwopisu*, „Soobszczenija”, 26, 1970, ss. 3—23.

nie do badania spoiw w iluminowanych rękopisach ¹⁴.

Bardzo ciekawą pracę na temat wyzyskania chromatografii cienkowarstwowej steroli do identyfikacji spoiw malarskich opublikowano w USA ¹⁵. Jej autorzy stwierdzili, że dysponując prostymi metodami ekstrakcji steroli z próbek malarskich można uzyskać za pomocą chromatografii cienkowarstwowej identyfikację środków wiążących, a szczególnie olejów schnących. Dużo łatwiej jest stosować sterole jako element identyfikacyjny aniżeli opierać się na frakcjach olejów, ponieważ problem sprowadza się do prostego jakościowego określania steroli w odróżnieniu od ilościowych różnic między składem olejów.

Do identyfikacji spoiw malarskich zawierających proteiny posłużono się również ilościową analizą aminokwasów ¹⁶. Metoda polegająca na rozdziale aminokwasów w kolumnach zawierających żywice jonowymienne wykonywana była na automatycznym analizatorze aminokwasów.

W przeciwieństwie do zagranicznych ośrodków konserwatorskich, gdzie metodyka chromatografii cienkowarstwowej stosowana jest powszechnie, a badania prowadzone są przy udziale współpracujących ze sobą chemików i technologów malarstwa, w Polsce do chwili obecnej analizy przy użyciu tej techniki wykonywane były wyłącznie w placówkach naukowo-badawczych, nie związanych bezpośrednio z ośrodkami konserwatorskimi ¹⁷.

METODYKA BADAŃ

Metodykę badań prowadzonych w Laboratorium Naukowo-Badawczym PKZ w Warszawie oparto wyłącznie na chromatografii cienkowarstwowej, posługując się początkowo szwajcarskim zestawem firmowym CAMAG do powlekania szklanych płytek, a następnie fabrycznie przygotowanymi płytkami szklanymi, pokrytymi warstwą żelu krzemionkowego „Kieselgel 60 F₂₅₄” o grubości 0,25 mm i celulozą „Cellulose F” o grubości warstwy 0,1 mm. Płytki te, o wymiarach 20×20 cm, wykonane w firmie MERCK — NRF, można dowolnie przycinać, zależnie od wymiarów komory chromatograficznej.

¹⁴ F. Flieder, *Mise au point des techniques d'analyse des liants contenus dans la couche picturale des enluminures de manuscrits*, „Studies in Conservation”, 13, 1968, ss. 49—86.

¹⁵ M. Johnson, H. E. Rosenberg, R. P. Skowroński, *Thin-Layer Chromatography of Sterols on Magnesium Trisilicate*, „Studies in Conservation”, 16, 1971, ss. 165—167.

¹⁶ S. Keck, T. Peters, *Identification of Protein —*

Ponieważ analiza chromatograficzna znajduje zastosowanie przy związkach podstawowych, substancje białkowe oraz wielocukry należało w trakcie badań przekształcić w formę związków prostych, będących składnikami polizwiązków. W tym celu wykonywano hydrolizę, tzn. rozszczepienie polizwiązków na związki proste pod wpływem kwasów. Proces ten wykonywano w zatopionych probówkach, w których znajdowała się badana substancja oraz kwas, najczęściej siarkowy. Na intensyfikację procesu hydrolizy wpływa stężenie kwasu, temperatura i czas trwania zabiegu. W naszym przypadku we wszystkich badaniach stosowano temperaturę $t=105^{\circ}\text{C}$, natomiast zmieniano stężenie kwasu od 1n do 6n oraz czas trwania hydrolizy. Polisacharydy traktowano najczęściej kwasem 2n w czasie około 6 godzin; związki białkowe kwasem o wyższym stężeniu (4n i 6n) w czasie około 24 godzin.

Pozostałość po hydrolizie neutralizowano BaCO_3 do $\text{pH}=7$, przesączano oddzielając osad, natomiast przesącz poddawano odparowaniu w $t=50^{\circ}\text{C}$. Nie dysponując wymiennicami jonowymi typu Amberlit JR—120, Dowex 50, nie poddawano odsoleniu próbek malarskich zawierających spoiwa, co częściowo spowodowało pewne trudności w interpretacji wyników.

W wypadku aminokwasów suchą pozostałość rozpuszczano w 0,5 ml 75% $\text{C}_2\text{H}_5\text{CH}$ i w 0,5 ml H_2O destylowanej, natomiast w wypadku spoiw węglowodanowych stosowano rozpuszczanie w alkoholu etylowym i w pirydynie.

Tak przygotowane roztwory badanych spoiw oraz substancji wzorcowych наносono na płytki szklane pokryte nośnikiem. Nośnik przygotowywano po wymieszaniu z wodą destylowaną, zgodnie z instrukcją firmową, i наносono na płytki szklane za pomocą powlekania według projektu Stahla. Zwracano szczególną uwagę, aby cała powierzchnia płytki była pokryta jednakowej grubości warstwą nośnika, ponieważ wpływa to na wynik analizy. Wysuszone płytki poddawano aktywacji, umieszczając je na 2 godziny w suszarce w $t=50^{\circ}\text{C}$.

Przygotowano kilka rodzajów układów rozwijających. Spośród układów stosowanych do

Containing Paint Media by Quantitative Amino Acid Analysis, „Studies in Conservation”, 14, 1969, ss. 75—82.

¹⁷ W. Szyszko, *Badania technologiczne trzech nagrobnych stel egipskich na podłożu drewnianym z Muzeum Narodowego w Krakowie* (część I), „Ochrona Zabytków”, XXV (1972), nr 3, ss. 178—180; G. Korpal, *Badania technologiczne sześciu italskich malowideł ściennych z Muzeum Narodowego w Krakowie* (część II), „Ochrona Zabytków”, XXV (1972), nr 3, ss. 249—250.

rozwijania cukrów:

- 1) izopropanol — octan etylu — woda (27:3,5:1)
- 2) izopropanol — octan etylu — woda (23,5:6,5:11,5)
- 3) benzen — kwas octowy (1:1:2)
- 4) octan etylu — pirydyna — woda (2:1:2)
- 5) metyloetyloketon — kwas octowy — alkohol metylowy (3:1:1)
- 6) metyloetyloketon — kwas octowy — alkohol metylowy (1:1:2)

Najlepszy okazał się solwent nr 5, gdyż proces rozwijania przebiegał najszybciej, uzyskiwano wyraźny rozdział cukrów, a plamy pozbawione były „ogonów”.

W analizie aminokwasów stosowano jeden układ rozwijający, składający się z n-butanolu — kwasu octowego i wody destylowanej w stosunku objętościowym 30:3,5:12,5. Układ ten pozwolił na uzyskiwanie dobrego rozdziału aminokwasów.

W celu sprawdzenia granic wykrywalności aminokwasów i cukrów wybrano kilka zapraw wzorcowych, zawierających oprócz kredy — odgrywającej rolę wypełniacza — spoiwa białkowe i polisacharydowe: klej skórny, żółtko kurze, karuk i miód. W zaprawach tych udział spoiwa w stosunku do wypełniacza i pigmentu był różny. Na płytki, które pokrywano żelem Silica Gel — TLC firmy CAMAG, nanoszono około 10% rozpuszczonej pozostałości po odparowaniu próbki. Płytki po rozwinięciu i wysuszeniu spryskiwano testem izatynowym (0,2% acetonowy roztwór izatyny zawierający 4% dodatek kwasu octowego), po którym pojawiły się barwne plamy aminokwasów. Następnie płytki traktowano odczynnikami Ehrlicha, składającym się z 1 g aldehydu paradwumetyloaminobenzoowego, rozpuszczonego w 10 ml stężonego kwasu solnego rozcieńczonego acetonem. Obserwując zmiany kolorystyczne w plamach aminokwasów, zwrócono szczególną uwagę na plamę hydroksyproliny, która po działaniu odczynnika Ehrlicha przybiera charakterystyczne karminowofioletowe zabarwienie.

W zaprawie wykonanej z kredy i kleju stolarskiego, w której zawartość kleju wynosiła 7%, bez względu na ilość naniesionego na płytkę spoiwa uzyskano wyraźny rozdział aminokwasów (tab. 1).

Tabela 1

Zaprawa kredowo-klejowa

Nr próbki	1	2	3	4	5	6
Ilość zaprawy poddanej hydrolizie w mg	50	40	30	20	10	5
Ilość spoiwa w próbce zaprawy w mg	3,5	2,8	2,1	1,4	0,7	0,35
Ilość spoiwa naniesionego na płytkę w mg	0,35	0,28	0,21	0,14	0,07	0,035

Wykonano również dwie zaprawy z dodatkiem pigmentów: malachitu i glejty. W pierwszej zaprawie, w której malachit stanowił 22,5% wagowych, a czysty klej 3,25% wagowych, wyraźny rozdział plam aminokwasów uzyskano dla trzech pierwszych próbek; pozostałe dwie dały słabo czytelne plamy, natomiast nie uzyskano rozdziału przy naniesieniu na płytkę 0,016 mg kleju (tab. 2). W wypadku zaprawy

Tabela 2

Zaprawa kredowo-klejowa z dodatkiem malachitu

Nr próbki	1	2	3	4	5	6
Ilość zaprawy z malachitem poddanej hydrolizie w mg	50	40	30	20	10	5
Ilość spoiwa w próbce w mg	1,625	1,3	0,975	0,65	0,325	0,162
Ilość spoiwa naniesionego na płytkę w mg	0,16	0,13	0,097	0,065	0,032	0,016

z glejtą, stanowiącą 36,5% wagowych zaprawy, w której klej stanowił 2,7% wagowych, dobrze czytelne plamy aminokwasów pozbawione „ogonów” uzyskano wyłącznie w wypadku czterech pierwszych próbek, natomiast spoiwo naniesione w ilości poniżej 0,03 mg nie dało plam (tab. 3).

Tabela 3

Zaprawa kredowo-klejowa z dodatkiem glejty

Nr próbki	1	2	3	4	5	6
Ilość zaprawy z glejtą poddanej hydrolizie w mg	50	40	30	20	10	5
Ilość spoiwa w próbce w mg	1,35	0,94	0,81	0,54	0,27	0,13
Ilość spoiwa naniesionego na płytkę w mg	0,135	0,094	0,081	0,054	0,027	0,013

W wypadku zapraw zawierających klej skórny można wyraźnie stwierdzić, że czułość reakcji identyfikacyjnej wynosi 0,03 mg; spoiwo naniesione w zbyt małej ilości nie dało plam aminokwasów.

We wszystkich próbkach zaprawy zawierającej żółtko kurze (czysty klej stanowił tu 3,9%) uzyskano rozdział aminokwasów; trzy pierwsze dały wyraźne plamy, natomiast pozostałe były słabo widoczne. Czułość reakcji można określić na około 0,02 mg (tab. 4).

Tabela 4

Zaprawa kredowo-temperowa (żółtko kurze)

Nr próbki	1	2	3	4	5	6
Ilość zaprawy poddanej hydrolizie w mg	50	40	30	20	10	5
Ilość spoiwa w próbce w mg	1,95	1,56	1,17	0,78	0,38	0,19
Ilość spoiwa naniesionego na płytkę w mg	0,195	0,156	0,117	0,078	0,038	0,019

Ponieważ w warstwach malarskich na podłożu drewnianym, szczególnie przy ikonach, jako spoiwo często występuje klej rybi — karuk, wykonano również badania określające czułość analizy chromatograficznej w wypadku tego spoiwa. Zawartość czystego kleju w przygotowanej zaprawie kredowo-karukowej wynosiła 6,10%. Wszystkie próbki po naniesieniu na płytkę dały plamy aminokwasów (tab. 5).

Tabela 5

Zaprawa kredowo-karukowa

Nr próbki	1	2	3	4	5	6
Nadwaga zaprawy kredowo-karukowej w mg	50	40	30	20	10	5
Ilość spoiwa w próbce w mg	3,05	2,44	1,83	1,22	0,61	0,305
Ilość spoiwa naniesionego na płytkę w mg	0,305	0,244	0,183	0,122	0,061	0,03

W identyfikacji spoiw białkowych oparto się głównie na doświadczeniach M. Hey, która w swojej metodyce badań wyzyskała fakt, że w kazeinie i w spoiwach jajowych nie spotyka się hydroksyproliny, naturalnego aminokwasu występującego wyłącznie w klejach glutynowych. Pozwala to łatwo identyfikować kleje glutynowe, bowiem obecność hydroksyproliny jest niezbitym dowodem ich występowania jako spoiwa w malowidłach ściennych, sztalugowych i w rzeźbie polichromowanej. W przyszłości w celu precyzyjniejszego określenia rodzaju spoiw białkowych, m.in. rozróżnienia kazeiny od spoiw jajowych, badania zostaną uzupełnione analizą stosunków ilościowych proliny do grup aminokwasów, podobnie jak to czyni Z. Brochwicz¹⁸.

Przygotowano również próbki monochromii wzorcowych, zawierające jako główne spoiwo —

substancje białkowe z niewielkim dodatkiem miodu. Wykonano analizy chromatograficzne hydrolizatorów próbek o następujących składach wagowych (w gramach):

1) klej skórny	3	3) klej skórny	2,5
kreda	15	gips	25
H ₂ O dest.	25	miód	1
miód	0,8	H ₂ O dest.	45
2) klej skórny	1	4) żółtko kurze	9,5
ZnO	4,5	kreda	15
H ₂ O dest.	18	H ₂ O dest.	25
miód	0,4	miód	1

Uzyskano wyraźny rozdział aminokwasów oraz cukrów, będących składnikiem miodu, z tym że plamy nie były wyraźne — występowały charakterystyczne „ogony”.

Wykonywane oznaczenia opierały się w zasadzie na porównywaniu wizualnym i ocenie rodzaju oraz wielkości plam uzyskanych po ich wywoływaniu testami barwnymi. Porównywano również wielkości R_f plam próbek wzorcowych zawierających hydrolizaty spoiwa kazeinowego, temperowego i klejów glutynowych (skórny i rybi) z wielkościami R_f plam aminokwasów odpowiednich badanych spoiw. Ponieważ jednak na wielkość R_f ma wpływ wiele czynników, porównania takie odnosi się mogą tylko do ściśle określonych warunków wykonywanej analizy, dotyczącej zarówno substancji wzorcowych, jak i badanych próbek zawierających nie znane spoiwa.

Aby uzyskać wyniki w pełni przekonujące, należałoby uzupełnić metodykę chromatografii cienkowarstwowej pomiarami densytometrycznymi. Również zastosowanie analizy spektralnej w ultrafiolecie i w podczerwieni niewątpliwie uzupełniłoby wyniki badań chromatograficznych.

Przedstawiona technika chromatografii cienkowarstwowej znalazła zastosowanie praktyczne m.in. przy identyfikacji spoiw tynków i zapraw malowideł ściennych w kaplicy Św. Trójcy w Lublinie. Oprócz tej metody, która wykazała obecność kazeiny z niewielką bliżej nie określoną substancją białkową, posłużono się tu również różnicową analizą termiczną, polegającą na rejestracji efektów cieplnych zachodzących w czasie ogrzewania badanej substancji, związanych z pochłanianiem ciepła¹⁹. Zarówno próbki tynków i zapraw oryginalnych, jak i wzorcowa zaprawa kazeinowo-wapienna wykazały efekt endotermiczny z maksimum w zakresie temperatur 310—340°C, związany z rozkładem spoiwa organicznego. Na podstawie ubytków masy, towarzyszących rozkładowi za-

¹⁸ Z. Brochwicz, O. Kozanecka, *Badania nad identyfikacją spoiw kazeinowych i jajowych w malowidłach ściennych przy pomocy bibulowej chromatografii rozdzielczej metodą krążkową*, „Materiały Zachodnio-Pomorskie”, t. XVI, 1970, ss. 601—636.

¹⁹ *Badanie próbek tynków, zapraw i cegły pochodzącej z kaplicy zamkowej — opracowanie wykonane w Laboratorium Naukowo-Badawczym PKZ w Warszawie, 1973.*

chodzącym w czasie analizy termicznej, został również określony przybliżony stosunek spoiwa organicznego do spoiwa mineralnego — węgla-
nu wapnia, wynoszący 1:27,6.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych w Laboratorium Naukowo-Badawczym PKZ w Warszawie badań dotyczących zastosowania cienkowarstwowej analizy chromatograficznej do identy-

fikacji spoiw malarskich można stwierdzić, że przyjęta metoda ze względu na wysoką czułość, szybkość wykonania oraz minimalną ilość próbki pobieraną z malowidła winna znaleźć szerokie zastosowanie w tego typu badaniach technologicznych. Celowe jednak wydaje się jej uzupełnienie badaniami densytometrycznymi i analizą spektralną.

mgr inż. Andrzej Wawrzeńczak
PP PKZ — Warszawa

APPLICATION OF THE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY FOR IDENTIFICATION OF BINDERS USED IN PAINTINGS

In the above article reported are the results of investigations carried out in research laboratory of the state-owned Ateliers for Conservation of Cultural Property, Warsaw with the purpose to adapt the thin-layer partition chromatography to identification of binders used in paintings. These investigations, preliminary as to their character, were confined to problems connected chiefly with protein and to some extent also with polysaccharide binders. No investigations have been conducted of plant gums, gum resins or oil-based binders. All these problems will be included to the other part of the present work.

As the analyses using partition chromatography are conducted more and more often, to make the phenomena occurring during the process more easily understandable, dealt with briefly within the article are also the theoretical backgrounds of partition chromatography and discussed the results obtained until recently from investigations carried out in several conservation laboratories.

The methods adopted in investigations dealt with were based on those typical for thin-layer chromatography with the use of the manufacturer's set "CAMAG" for coating the glass plates with a carrier layer of Swiss make, then with the use of ex-works glass plates coated with silica gel (Kieselgel 60 F₂₅₄) layer 0.25 mm thick and "Cellulose F" layer 0.1 mm thick. The above plates manufactured by MERCK Co. (West Germany) and having standard size of 20×20 cm can be readily cut to measure, according to the size of chromatographic chamber.

The samples were subjected to acid hydrolysis at 105°C with simultaneous changes of both sulphuric acid concentration and duration of hydrolysis. The hydrolytic residue was neutralized with BaCO₃ to pH=7 then filtered with precipitation of deposit and, finally, the filtrate was evaporated at 50°C.

To have settled the limits of detectability of amino acids and saccharides a certain number of model binders was prepared containing, in addition to chalk playing the role of a filler, the protein and polysaccharide binders as, e.g. hige glue, egg yolk, egg white, isinglass and honey. Proportion of the binder proper to filler in the above binders varied within a comparatively wide range. While identifying the protein binders were chiefly utilized the results of experiments carried out by M. Hey who based her methods on the fact that nor in casein neither in egg-based binders can be found hydroxyproline being a natural amino acid present exclusively in gluten containing glues. Also the model monochromatic samples were prepared containing, in addition to protein binders, quite negligible admixture of honey.

The results of investigations carried out have shown that in view of its high sensitivity, the speed with which it can be carried out and quite negligible amount of samples required for analysis the method basing on the thin-layer chromatography should find its as wide as possible application in technological tests. However, to obtain the entirely satisfactory results the above method should necessarily be supported by densitometric technique whose results are fully satisfying the needs.