

**STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**  
**pt. „Zastosowanie nowoczesnych metod rozdzielania sprzężonych ze spektrometrią mas do identyfikacji barwników organicznych”**

promotor: dr hab. Inż. Katarzyna Lech

Rozprawa doktorska pt. „Zastosowanie nowoczesnych metod rozdzielania sprzężonych ze spektrometrią mas do identyfikacji barwników organicznych” jest poświęcona opracowaniu postępowań analitycznych służących do identyfikacji barwników organicznych wykorzystywanych do barwienia obiektów historycznych.

Dzieła sztuki, takie jak obrazy czy barwione tkaniny, są jednymi z najcenniejszych i najważniejszych obiektów dziedzictwa kulturowego człowieka. Pomyślnie przeprowadzanie ich procesów konserwacji oraz renowacji wymaga m.in. poznania dokładnej struktury oraz składu chemicznego zastosowanych do barwienia związków.

Dzieła sztuki retrospektywnie badane są z wykorzystaniem dwóch grup technik – niszczących oraz nieniszczących. Zaletą technik nieniszczących jest fakt, że nie wymagają ingerencji w dzieła sztuki, jednak nie dostarczają też szczegółowych informacji o składzie chemicznym i strukturze użytych związków. Ze względu na ten fakt konieczne jest, w uzasadnionych przypadkach, użycie metod niszczących. Chcąc zminimalizować ingerencję w badany obiekt, dąży się do opracowania metod analitycznych charakteryzujących się jak największą czułością i wykorzystujących tym samym jak najmniejszą ilość badanego materiału.

Celem badań było opracowanie metod analitycznych, które w przyszłości mogą zostać wykorzystane do badania związków barwiących w dziełach sztuki, z wykorzystaniem nowoczesnych rozwiązań analitycznych bazujących na różnych wariantach wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) połączonej z detekcją tandemowej spektrometrii mas z jonizacją poprzez elektrozpraszanie (ESI MS/MS). Ze względu na wartość obiektów i ograniczony dostęp do próbek rzeczywistych, metody te rozwinięto z wykorzystaniem wzorcowych związków barwiących oraz barwników pozyskanych ze źródeł roślinnych. Opracowane metody pozwalają na rozdzielenie i detekcję związków barwnych przynależnych do różnych grup chemicznych, a co za tym idzie na identyfikację użytych barwników organicznych (pochodzenia naturalnego i syntetycznego), umożliwiając jednocześnie ograniczenie niezbędnej objętości badanych roztworów (np. ekstraktów z próbek pobranych z obiektów zabytkowych) do absolutnego minimum, nawet rzędu 1  $\mu$ L. Dzięki temu możliwe



będzie zmniejszanie ilości materiału niezbędnego do badań bez strat dla jakości uzyskiwanych informacji analitycznych.

Badania alkaloidowych związków barwiących występujących w trzech żółtych barwnikach pochodzenia roślinnego prowadzono z zastosowaniem kapilarną wysokosprawną chromatografię cieczową połączoną z tandemową spektrometrią mas z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie  $\mu$ HPLC-DAD-ESI MS/MS. Z braku właściwych substancji wzorcowych identyfikację 11 związków barwiących, w tym berberyny, jatrorozyzny, magnofloryny, przeprowadzono na podstawie widma mas tych substancji. Określono również, które spośród nich biorą udział w procesie barwienia włókien jedwabiu i wełny oraz wytypowano tzw. markery, mogące posłużyć do określenia proveniencji barwników alkaloidowych zastosowanych w próbkach rzeczywistych. W efekcie opracowano metodę analityczną rozdzielania i identyfikacji protoberberyn pozwalającą obniżyć objętości badanego ekstraktu do 1  $\mu$ L przy jednoczesnej detekcji analitów na poziomie stężeń rzędu pojedynczych  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Zminiaturyzowany układ nanoprzepływowy *Chip-Cube*-HPLC, zaprojektowany w konwencji *lab-on-chip* oraz składający się z dwóch kolumn, zateżającej i analitycznej, zastosowano do badania rozcieńczonej mieszaniny barwników syntetycznych. Przeprowadzono proces zateżania *on-line* analitów znajdujących się we wprowadzanej próbce, a następnie dokonano ich analizy za pomocą spektrometrii mas. Mimo, że nie uzyskano satysfakcjonującej rozdzielczości chromatograficzna względem badanych związków, to wykazano, że wysoka selektywność detektora MS/MS w trybie dynamicznego monitorowania wielu reakcji fragmentacji (dMRM) oraz niskie granice detekcji barwników syntetycznych (poniżej 0,1  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), jakie oferuje układ *Chip-Cube*-HPLC-ESI MS/MS, rekompensują niepełne rozdzielenie analitów. Opracowana metoda może być stosowana do identyfikacji wczesnych barwników syntetycznych w obiektach zabytkowych, nawet jeśli występują w nich one na śladowym poziomie lub ilość dostępnego do badań materiału jest bardzo ograniczona.

Ponadto przy pomocy klasycznego układu HPLC-UV-Vis-ESI MS/MS, wykorzystując kolumnę wykonaną w technologii rdzeń-powłoka, opracowano metodę pozwalającą w krótkim czasie (niepełna 30 minut) rozdzielić i zidentyfikować jednocześnie ponad 50 związków barwnych z takich grup, jak flawonoidy, antrachinony, indygooidy, taniny czy protoberberyny. Metoda ta może posłużyć do przesiewowej detekcji różnych grup barwników w próbkach rzeczywistych pobranych z obiektów zabytkowych. Zauważono, że niepolarne związki z grupy apokarotenoidów nie ulegają jonizacji poprzez elektrorozpraszanie w warunkach zaproponowanych w metodzie. Dlatego w oparciu o dodatkowe badania wykazano, że

modyfikując warunki rozdzielania tych związków możliwa jest ich detekcja za pomocą ESI MS, co świadczy o szerokiej wszechstronności tej techniki jonizacji.

Opracowane w tej pracy metody analityczne pozwalają identyfikować barwniki organiczne w próbkach rzeczywistych. Z powodzeniem zastosowano nowoczesne warianty chromatografii cieczowej, uzyskując jednocześnie niskie granice wykrywalności związków barwiących dla wszystkich metod, tym samym przyczyniając się, do przyszłego ograniczenia ilości pobieranych materiałów z dzieł sztuki.

Damian Doboski