



You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Zastosowanie chromatografii gazowej do badania naturalnego procesu starzenia się papierów pochodzących z Biblioteki Jasnogórskiej

Author: Agnieszka Bangrowska

Citation style: Bangrowska Agnieszka. (2015). Zastosowanie chromatografii gazowej do badania naturalnego procesu starzenia się papierów pochodzących z Biblioteki Jasnogórskiej. "Camera Separatoria" (Vol. 7, nr. 2 (2015) s. 159-178).



Uznanie autorstwa - Na tych samych warunkach - Licencja ta pozwala na kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie, przedstawianie i wykonywanie utworu tak długo, jak tylko na utwory zależne będzie udzielana taka sama licencja.



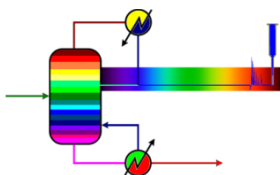
UNIwersYTET ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego



Agnieszka BANGROWSKA (BAKALARZ)

Laboratorium Ochrony i Konserwacji Zbiorów Bibliotecznych
Uniwersytet Śląski, Katowice

*Autor do korespondencji, e-mail: bakalarzadr@poczta.onet.pl

Zastosowanie chromatografii gazowej do badania naturalnego procesu starzenia się papierów pochodzących z Biblioteki Jasnogórskiej

Streszczenie: *Całkowicie niezbadanym obszarem badawczym są oddziaływania składników zawartych w substancjach pomocniczych papieru na mechanizm i kinetykę jego starzenia się. Stąd zainteresowanie substancjami klejącymi, stosowanymi w technologii wytwarzania historycznego papieru drukowego. Podstawowym celem pracy było zastosowanie wybranych technik chromatograficznych do oznaczania naturalnych składników zawartych w klejach z zabytkowych materiałów bibliotecznych i produktów ich przemian, jako kolejnego elementu naturalnego procesu jego starzenia się. Znajomość tych danych pozwoliła na opracowanie podstaw mechanizmu tego procesu i jego wpływu na strukturalne i mechaniczne parametry zabytkowego materiału bibliotecznego. Taka wiedza ułatwia podjęcie decyzji o zakresie ingerencji konserwatorskiej i doborze właściwych materiałów lub neutralnych współczesnych substytutów.*

Słowa kluczowe: *zbiory biblioteczne, papier, kwasy tłuszczowe, chromatografia gazowa*

Application of Gas Chromatography to Study the Natural Aging Process of Papers from the Library of Jasna Góra

Abstract: *A completely unexplored area of research is constituted by the impact of secondary substances of paper on the mechanism and kinetics of paper's aging. Hence the interest in the adhesive substances used in the manufacturing technology of historical printing paper. The main goal of the experiment was the usage of selected chromatographic techniques to mark natural ingredients in the historic library materials and the products of their reactions as yet another element of the natural process of aging. Learning the data allowed to create basic mechanism of this process and its influence on the structural and mechanical parameters of the historical library material. Such knowledge makes the decision about the degree of conservator's interference easier as well as allows to choose appropriate materials or neutral contemporary substitutes.*

Key words: *library collections, paper, fatty acids, gas chromatography*

**1. Wprowadzenie
(Introduction)**

Biblioteka Jasnogórska gromadzi około 10252 pozycji najcenniejszych zabytkowych zbiorów bibliotecznych, w tym 2534 woluminów pochodzących z polskich oficyn drukarskich i nakładczych, inkunabuły oraz najwcześniejsze wydania z zakresu etyki chrześcijańskiej. Przewagę jednak stanowi wiek XVII i XVIII. Do zbiorów z XVI i początku XVII wieku zalicza się dzieła naukowe z zakresu medycyny, matematyki i astronomii wydane przede wszystkim w Bazylei, a później także w Amsterdamie i Lejdzie. Na wiek XVIII składają się druki pochodzące z oficyn jezuickich, szczególnie z Poznania, Kalisza, i Wilna oraz z oficyny pijarskiej z Warszawy [1].

Biblioteka Jasnogórska gromadzi zbiory biblioteczne, które są w bardzo dobrym stanie fizykochemicznym i od ponad 400 lat nie doświadczyła żadnych zalań czy pożarów ponieważ są przechowywane w warunkach ciągłego monitoringu, zapewniającego warunki stałe czyli stałą równowagę kinetyczną (fizykochemiczną i mikrobiologiczną). Ponadto dostęp czytelnika do zbiorów jest ograniczony, z uwagi na unikatowość oraz każdy egzemplarz jest przechowywany w futerale co ogranicza narażenie książki na promieniowanie, kurz czy powietrze [2]. Konserwatorska ingerencja w zabytkową książkę wymaga podstawowej wiedzy na temat fizykochemicznej i mechanicznej kondycji materiału z którego jest zbudowana. Najczęściej podstawą do podjęcia decyzji o zakresie ingerencji konserwatorskiej jest subiektywna ocena stanu zachowania obiektu. Rozwój instrumentalnych technik chromatograficznych stwarza możliwości do realizacji badań, przydatnych w praktyce konserwatorskiej. W przypadku zabytkowego materiału bibliotecznego wszelkie badania nie mogą nieodwracalnie niszczyć pobranego materiału, muszą umożliwić jego regenerację i ponowne włączenie do restaurowanego obiektu. Takie warunki spełniają techniki chromatograficzne, w zakresie materiałoznawstwa konserwatorskiego, a prezentowana tematyka badań jest próbą wprowadzenia metod chromatograficznych do praktyki konserwatorskiej zabytkowego materiału bibliotecznego[3].

2. Charakterystyka materiału badawczego (*The characteristics of research material*)

Przedmiotem badań były wybrane fragmenty kolekcji książek zabytkowych z Biblioteki Jasnogórskiej od roku 1478 do 1698, w których badano papier w jego części zadrukowanej i marginesach (tab. 1). Papier z woluminów Biblioteki Jasnogórskiej uważać można za wzorcowy materiał do badań, biorąc pod uwagę dynamikę procesu jego naturalnego starzenia się. Ważnym czynnikiem dla wiarygodności jakichkolwiek pomiarów fizykochemicznych jest brak wiedzy na temat zmiennej losowej, związanej z przemieszczaniem się zbioru oraz katastrofami bibliotecznymi. Wszystkie badania realizowane w papierach zabytkowych zmierzają do określenia bezpiecznego zakresu ingerencji konserwatorskiej.

Tab. 1. Charakterystyka materiału badawczego

Tab.1. Characteristics of the research material

Nr inw. Inv.	Nazwa oficyny Name outbuildings	Miejsce druku Place print	Data druku Date print
1	2	3	4
3416 23 7881 6112 927 990 94 2683 2718 661 6024 7926 4807 2748	Johann Zainer Anton Koberger Anton Koberger Typographus Jordanus Martin Flach Johann Prüss Otaviano Scoto Michael Wenssler Boneto Locatello Martin Flach Anton Koberger Typographus Jordanus Plato de Benedictis Wolfgang Stoeckel	Ulm Norymberga Norymberga Strasburg Strasburg Strasburg Wenecja Bazylea Wenecja Strasburg Norymberga Strasburg Bologna Lipsk	1478 1479 1481 1483 1488 1489 1490 1490 1490 1493 1493 1493 1495 1500
4675 449 4316 1652 3223 5906	Bartolomeo Zani Alexandro Bindoni Melchiore Sessa Giovantonio Volpini Vincento Valgrisi Michael Tremezino	Wenecja Wenecja Wenecja Wenecja Wenecja Wenecja	1516 1519 1532 1540 1546 1549
4093 3305 4166 6075 5835 5770 5306 5209 2836	Nicolaus Brylinger Heinrich Petri Heinrich Petri Peter Perma Sixtus Henriperi Thomas Guarin Thomas Guarin Conrad Waldkirch Conrad Waldkirch	Bazylea Bazylea Bazylea Bazylea Bazylea Bazylea Bazylea Bazylea Bazylea	1551 1556 1566 1568 1571 1572 1577 1592 1599
1129 7798 3376 471 493	Joannes Moretus Balthasar Moretus Balthasar Moretus Joannes Meurs Petrus Beller	Antwerpia Antwerpia Antwerpia Antwerpia Antwerpia	1613 1629 1635 1640 1648

2215	Johann Busseu	Kolonia	1664
2463	Hermann Demen	Kolonia	1673
1403	Herman Demen	Kolonia	1676
183	Balthasar Egmond	Kolonia	1682
1708	Balthasar Egmond	Kolonia	1683
5934	Herman Demen	Kolonia	1688
3016	Johann Lauer	Kolonia	1692
1482	Arnold Metternich	Kolonia	1696
3676	Servanti Noethen	Kolonia	1698

3. **Metodyka przygotowania próbek do analizy** (*Methodology of sample preparation*)

Ekstrakcja lipidów z papieru do fazy stałej

W prezentowanej pracy do przeprowadzenia lipidów zawartych w zabytkowych papierach do fazy ciekłej wystarczyła ekstrakcja wspomagana promieniowaniem ultradźwiękowym. Problemem była nie tyle efektywność, co selektywność ekstrakcji. W obszarze zainteresowań naukowych były przede wszystkim mono- di- i triglicerydy, dobrze rozpuszczalne w *n*-heksanie. Dlatego też *n*-heksan był czynnikiem ekstrahującym lipidy do fazy ciekłej. Próbkę papieru ekstrahowano w 100 cm³ heksanu w łaźni ultradźwiękowej przez 45 minut. Do izolacji i wzbogacania próbki zastosowano technikę ekstrakcji do fazy stacjonarnej *Solid Phase Extraction* – SPE. W tej technice surowy ekstrakt przeprowadza się przez mikrokolumnę wypełnioną fazą stacjonarną (niekiedy osadzoną na nośniku). Zatrzymane na sorbencie substancje są następnie wymywane niewielką objętością rozpuszczalnika. W tej procedurze mamy do czynienia z oddziaływaniami, zachodzącymi pomiędzy:

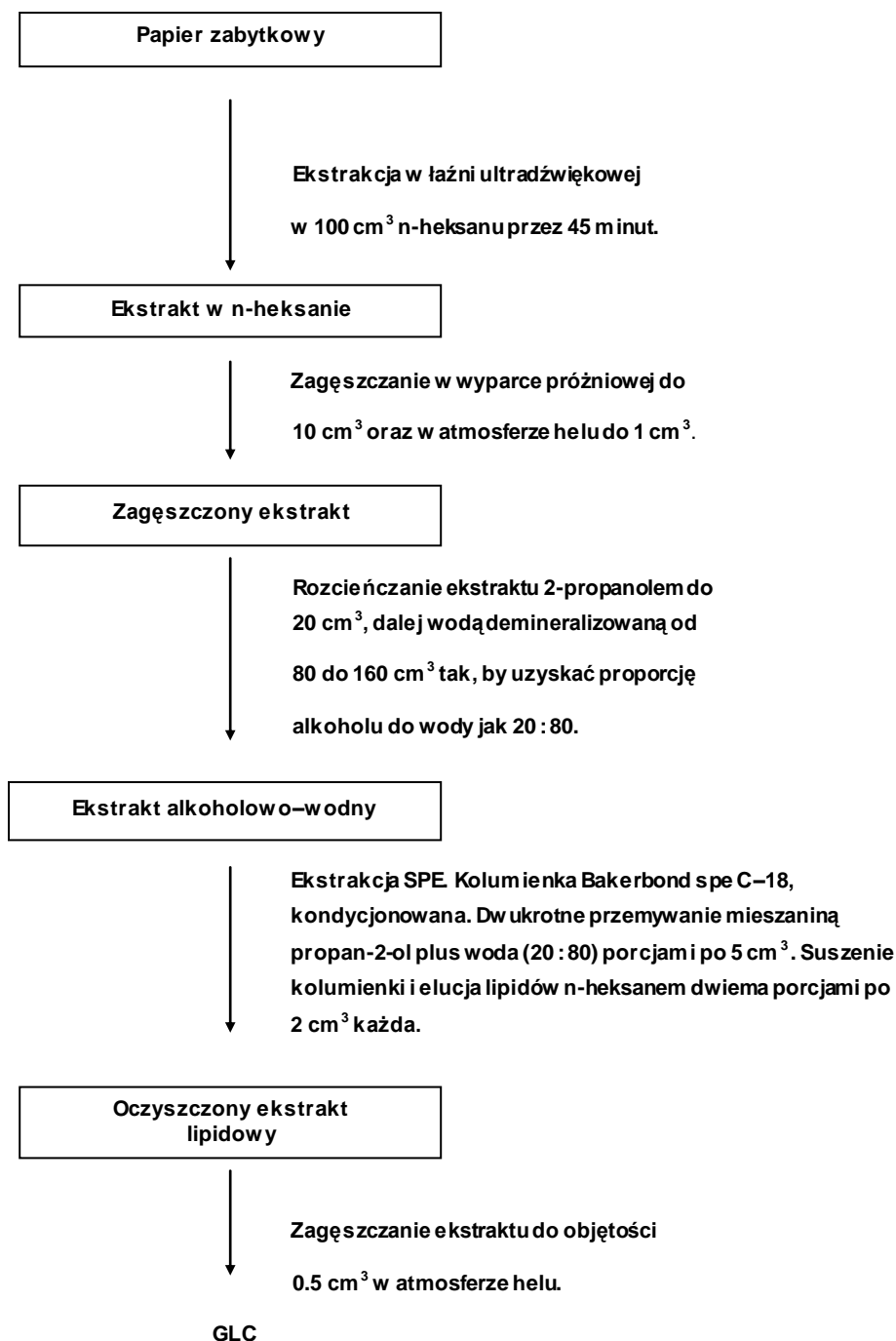
- rozpuszczalnikiem lub fazą ciekłą matrycy, a izolowanymi składnikami,
- rozpuszczalnikiem lub fazą ciekłą matrycy, a sorbentem,
- wydzielanymi składnikami i sorbentem.

Równie istotny jest etap wymywania z kolumny, w którym mają miejsce kolejne oddziaływania pomiędzy:

- sorbentem i izolowanymi substancjami,
- sorbentem i czynnikiem wymywającym,
- izolowanymi składnikami i czynnikiem wymywającym.

Metoda ekstrakcji do fazy jw. pozwala na eksperymentalny wybór sorbentu oraz eluentu, w zależności od chemicznych własności wzbogaconych i izolowanych substancji, poziomu ich stężenia matrycy. W przypadku sorbentu kryterium wyboru opiera się na skali hydrofobowości. Niepolarne fazy stacjonarne to takie, w których żel krzemionkowy modyfikowany jest przez układy oktadecylowe, oktylowe, cykloheksylowe i fenyłowe. Charakteryzują się podziałowym mechanizmem rozdziału, a sam żel krzemionkowy spełnia funkcję mechanicznego nośnika. Dla takiego materiału rozdzielczego niepolarny heksan jest silnym środkiem eluującym, a metanol, izopropanol i woda to rozpuszczalniki słabszej mocy. Stacjonarne fazy polarne to żele krzemionkowe, dodatkowo modyfikowane grupami cyjanowymi, diolowymi i aminowymi, a także trójtlenek glinu i florisil. Do oczyszczania i zagęszczania kwasów tłuszczowych techniką SPE korzystano z faz stacjonarnych, modyfikowanych grupami aminopropylowymi. Pozwalały one na zatrzymanie na kolumnie fosfolipidów, przy zastosowaniu chloroformu jako eluentu. W prezentowanej pracy zdecydowano się na selektywną izolację substancji tłuszczowych z surowego ekstraktu techniką SPE w układzie ciecz – faza stała, którą był żel krzemionkowy, modyfikowany chemicznie wspomnianymi grupami niepolarnymi, szczególnie oktadecylowymi. Podziałowy mechanizm rozdzielania jest w tym przypadku oparte na mechanizmie rozdzielania znanym z układów faz odwróconych LC. Badania koncentrowały się na problemie maksymalizacji odzysku substancji tłuszczowych z fazy stacjonarnej, po uprzednim usunięciu innych substancji interferujących. Glicerydy mieszczą się w tym samym przedziale polarności w stosunku do zastosowanej fazy stałej. Ewentualne różnice zmieniają się liniowo z zależności od liczebności grup metylenowych w łańcuchu, a także liczebności podwójnych wiązań i ich położenia. W praktyce heksanowy ekstrakt z zabytkowego papieru zagęszczano z zastosowaniem wyparki próżniowej do objętości 10 cm³, a następnie w atmosferze helu do 1 cm³. Ekstrakt rozcieńczano izopropanolem do objętości 20 cm³, a następnie wodą demineralizowaną do takiej objętości, aby w konsekwencji uzyskać proporcję alkoholu do wody jak 20 : 80. Przygotowanie kolumnienek C-18 do SPE to przede wszystkim ich kondycjonowanie. W tym

celu kolumnienki były przemywane dwukrotnie mieszaniną izopropanol - woda w stosunku objętościowym 20 : 80. W obydwu operacjach zwracano uwagę na to, aby nie dopuścić do wysuszenia kondycjonowanych kolumnienek. Bezpośrednio przed ekstrakcją, na kolumnienki wprowadzano po 5 cm³ mieszaniny izopropanol - woda (20: 80) przesączając ją bez użycia próżni. Zwracano szczególną uwagę na to, aby w kolumnienkach nie było widocznych banieczek powietrza. W dalszej kolejności na szczyt kolumny wprowadzano badany ekstrakt i sączono przy użyciu próżni z wydajnością 4–6 cm³/min. Po przesączeniu całej próbki kolumnienka była przemywana mieszaniną izopropanol plus woda (20 : 80) w ilości jednej objętości kolumnienki, a następnie suszona do dwóch godzin w warunkach podciśnienia. Po wykonaniu tych operacji mono-, di- oraz triglicerydy, a także niższe kwasy mono- i dikarboksyłowe oraz ich formy estrowe były eluowane z kolumnienek poprzez dwukrotne przemywanie heksanem porcjami po 2 cm³ (rys.1) [4].



Rys. 1. Schemat ekstrakcji do fazy stałej
Fig. 1. Scheme solid phase extraction

Sprzęt i materiały (Equipment and materials)

Estry metylowe kwasów tłuszczowych rozdzielano stosując kolumny kapilarnie typu WCOT (faza jest naniesiona bezpośrednio na ściany kolumny), a faza stacjonarna jest polimerem, dostarczonych przez Hewlett Packard: HP Ultra-2 o wymiarach 25 m x 0.32 lub 0.20 mm x 0.33 lub 0.52 μm . Do badań wykorzystano chromatograf gazowy model 5890 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) oraz detektorem masowym model 5971 (Hewlett-Packard, USA). Do zapisywania danych i obróbki widm używano oprogramowania firmy Hewlett-Packard typu ChemStation G 1034 C.

Ponadto na etapie przygotowania próbki używano następującej aparatury:

- waga analityczna Sartorius PRL TAB,
- zestaw do ekstrakcji do fazy stałej SPE z kolumnami Bakerbond SPE,
- łaźnia ultradźwiękowa DECON FS Minor 8158,
- strzykawki 5, 10 μl firmy Hamilton Syringes.

Do identyfikacji i obliczeń ilościowych badanych substancji wykorzystano substancje wzorcowe estrów metylowych nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych, od C-10 do C-24, a także wybranych kwasów dikarboksylogowych firmy Sigma-Aldrich, natomiast wszystkie rozpuszczalniki firmy E. Merck były czystości chromatograficznej [5].

Estry metylowe rozdzielano z zastosowaniem kolumn kapilarnych stosując chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) oraz detektorem masowym (MS). Detektor masowy był wyposażony w źródło jonów typu EI (Electron Impact) o maksymalnej energii jonizacji rzędu 70 eV. Pracował w trybie zbierania pełnego widma *full scan*, monitorując wartość masy do masy ładunku (m/z) od 50 do 480. O optymalizacji rozdzielania oraz ustalenia danych retencyjnych korzystano z detektora płomieniowo-jonizacyjnego oraz z mieszanin wzorcowych jakościowych i ilościowych, zawierających następujące sekwencje estrów kwasów monokarboksylogowych:

- mieszanina wzorcowa (1) : od C-8:0 do C-18:0
- mieszanina wzorcowa (2) : od C-16:0 do C-24:0
- mieszanina wzorcowa (3) : od C-12:1 do C-24:1
- mieszanina wzorcowa (4) : C-18:0 + C-18:1 + C-18:2 + C-18:3

Optymalizację warunków transestryfikacji metanolowym roztworem wodorotlenku fenylotrimetyloamoniowym (TMAH) wykonano wykorzystując w tym celu olej słonecznikowy. Jednocześnie, rozdzielone w ten sposób estry metylowe kwasów tłuszczowych uzupełniły dane retencyjne uzyskane w analizie roztworów wzorcowych. Optymalizacja warunków reakcji, przy założeniu stałej temperatury odparowania, obejmowała określenie stosunku objętościowego ekstraktu heksanowego badanej próbki, w tym wypadku oleju słonecznikowego i czynnika metylującego. Wykonano ją dla detektora płomieniowo-jonizacyjnego. Historyczne papiery były powierzchniowo przeklejane substancjami klejącymi, których zawartość dochodziła do 30%. Z różnicy mas przed i po ekstrakcji wynika, że należy oczekiwać ilości substancji lipidowych w granicach od 2 do 10 mg. Optymalizację parametrów pracy spektrometru przeprowadzono dla standardowych pików masowych m/z 69, 219 i 502. Do wykonania automatycznej optymalizacji parametrów pracy spektrometru mas (autotune) wykorzystano perfluorotributyloaminę (PFTBA). Do chromatograficznego rozdzielania w przypadku stosowania detektora FID korzystano z kolumny kapilarnej HP Ultra-2 o wymiarach: 25 m x 0.32 mm x 0.52 μm . Dla detektora MS średnica wewnętrzna kolumny wynosiła 0.20 mm, a grubość filmu 0.33 μm . Analizę kwasów tłuszczowych z trójglicerydów prowadzono w systemie dozowania próbki typu *splitless*. Temperatura dozownika wynosiła 260°C a detektora FID 280°C. Temperatura początkowa przez pierwsze dwie minuty to 60°C, dalej następuje programowany jej wzrost do 280°C, dla przyrostu 8°C/min. Granicę oznaczalności wyznaczono dla estru metylowego kwasu stearynowego, ponieważ historyczne papiery były powierzchniowo przeklejane substancjami klejącymi, których zawartość dochodziła do 30%. Z różnicy mas przed i po ekstrakcji wynika, że należy oczekiwać mg ilości substancji lipidowych w granicach od 2-10 mg. Wartość granicy oznaczalności oszacowano jako dwukrotność wyznaczonej wartości granicy wykrywalności $LOQ = 2 * LOD$, gdzie LOD, to wartość granicy wykrywalności, którą określa się jako dwukrotność wartości sygnału do szumu dla analizy ślepej próby. Granica ta w systemie GC-MS wynosiła 0.1-0.3 ng, w warunkach dozowania *splitless* i temperatury linii transferu z GC do MS wynoszącej 300°C [6, 7].

4. Wyniki i dyskusja (Results and Discussion)

Chromatograficzne i spektroskopowe dane identyfikacyjne (Spectroscopic and Chromatographic Identification Data)

Analizę identyfikacyjną prowadzono przez porównanie wartości czasu retencji substancji wykrywanych i wzorcowych oraz widm masowych, uzyskanych dla wzorców i analizowanych składników danego ekstraktu. W

widmach masowych ustalano położenie jonów molekularnych oraz charakterystycznych dla danego estru jonów fragmentacyjnych. W przypadku braku substancji wzorcowych posiłowano się biblioteką widm masowych lub katalogowym piśmiennictwem widm masowych. Najczęściej interpretację widm masowych ograniczano do procedury, według której po stwierdzeniu obecności jonów molekularnych poddawano analizie także jony fragmentaryczne, przypisując je do odpowiednich pochodnych lipidowych. Wykorzystywane w analizie identyfikacyjnej chromatograficzne dane retencyjne pozyskiwano nie tylko poprzez rozdzielanie składników z roztworów wzorcowych. W tym celu analizowano także naturalne produkty tłuszczowe, w tym olej słonecznikowy (rys. 2,3,4). Dla określonej odważki tego oleju wykonano optymalizację stężenia katalizatora transestryfikacji, a także potwierdzono sekwencję danych retencyjnych dla estrów metylowych kwasu stearynowego i jego pochodnych nienasyconych. Stwierdzono, że w przypadku stosowania 0,5 M metanolowego roztworu wodorotlenku trimetylofenyloamoniowego (TMAH), wprowadzenie do analizy mieszaniny ekstraktu z papieru i katalizatora w stosunku objętościowym 1:1 stanowi wystarczający nadmiar katalizatora, zapewniający przeprowadzenie transestryfikacji z ilościową wydajnością. Dla kwasów dikarboksylogowych oraz innych produktów naturalnych przemian substancji lipidowych w zabytkowych papierach, w tym kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla, korzystano z informacji jakie dostarczają fragmentacje widm masowych oraz biblioteki tych widm. Po ustaleniu danych retencyjnych dla kwasów tłuszczowych od C-10 do C-24, możliwe staje się określenie przedziałów wartości czasu retencji, w których należy oczekiwać pików kwasów tłuszczowych nie objętych wzorcowaniem. W przypadku kwasów dikarboksylogowych uzyskano dane retencyjne dla homologów, zawierających od czterech do ośmiu grup metylenowych. Dysponowano substancjami wzorcowymi tych kwasów, o parzystej liczbie grup metylenowych (tab. 2). Niektóre z tych substancji na podstawie otrzymanych widm masowych identyfikowano w sposób nie budzący wątpliwości w ekstraktach z zabytkowych papierów czerpanych. Dotyczy to przede wszystkim interesujących przypadków kwasów o nieparzystej liczbie atomów węgla, takich jak kwas pimelinowy i azelainowy (rys. 5).

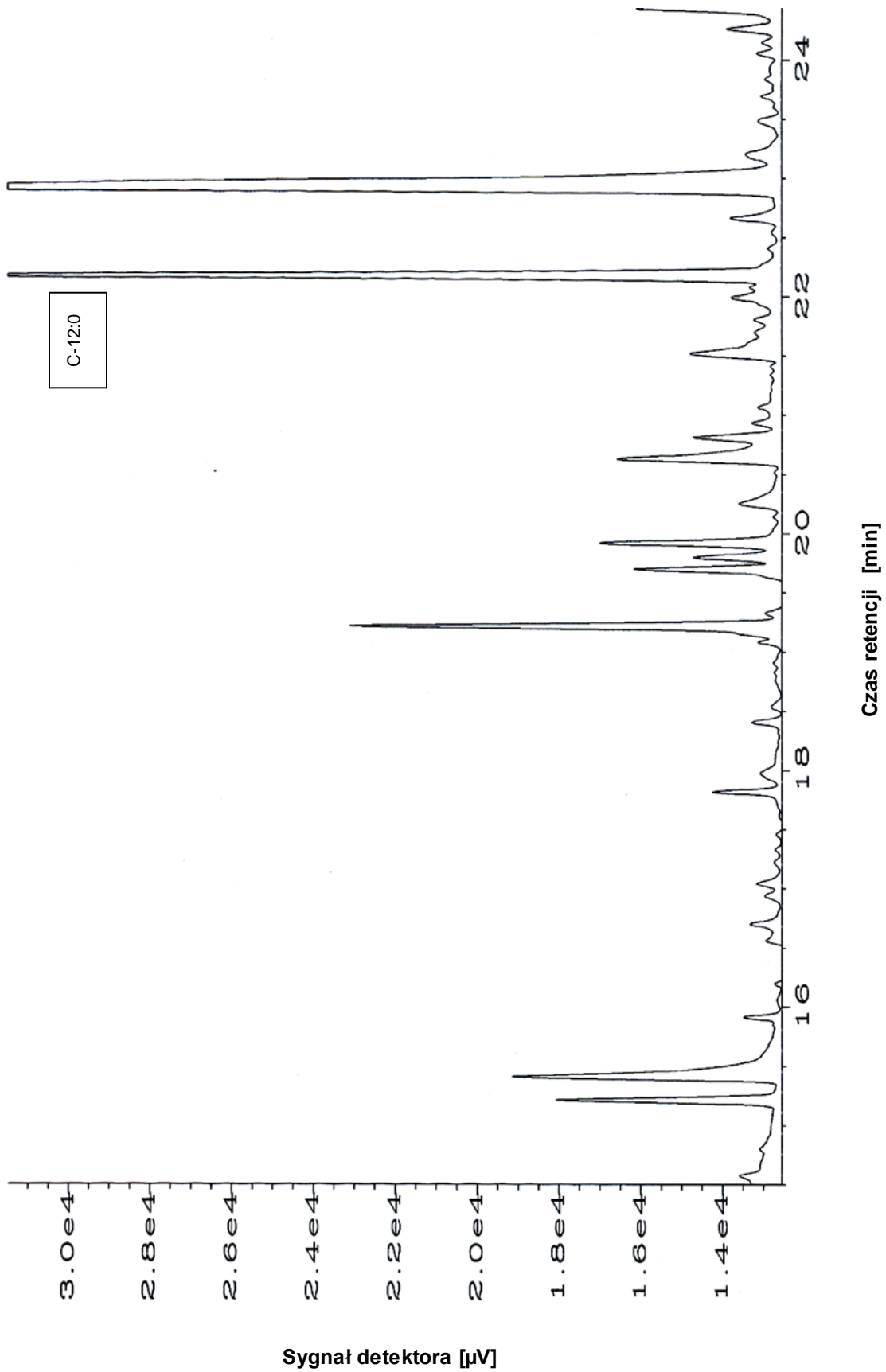
Tab. 2. Dane retencyjne dla wzorcowych kwasów tłuszczowych (FID).

Tab. 2. Data retention for reference of fatty acids (FID).

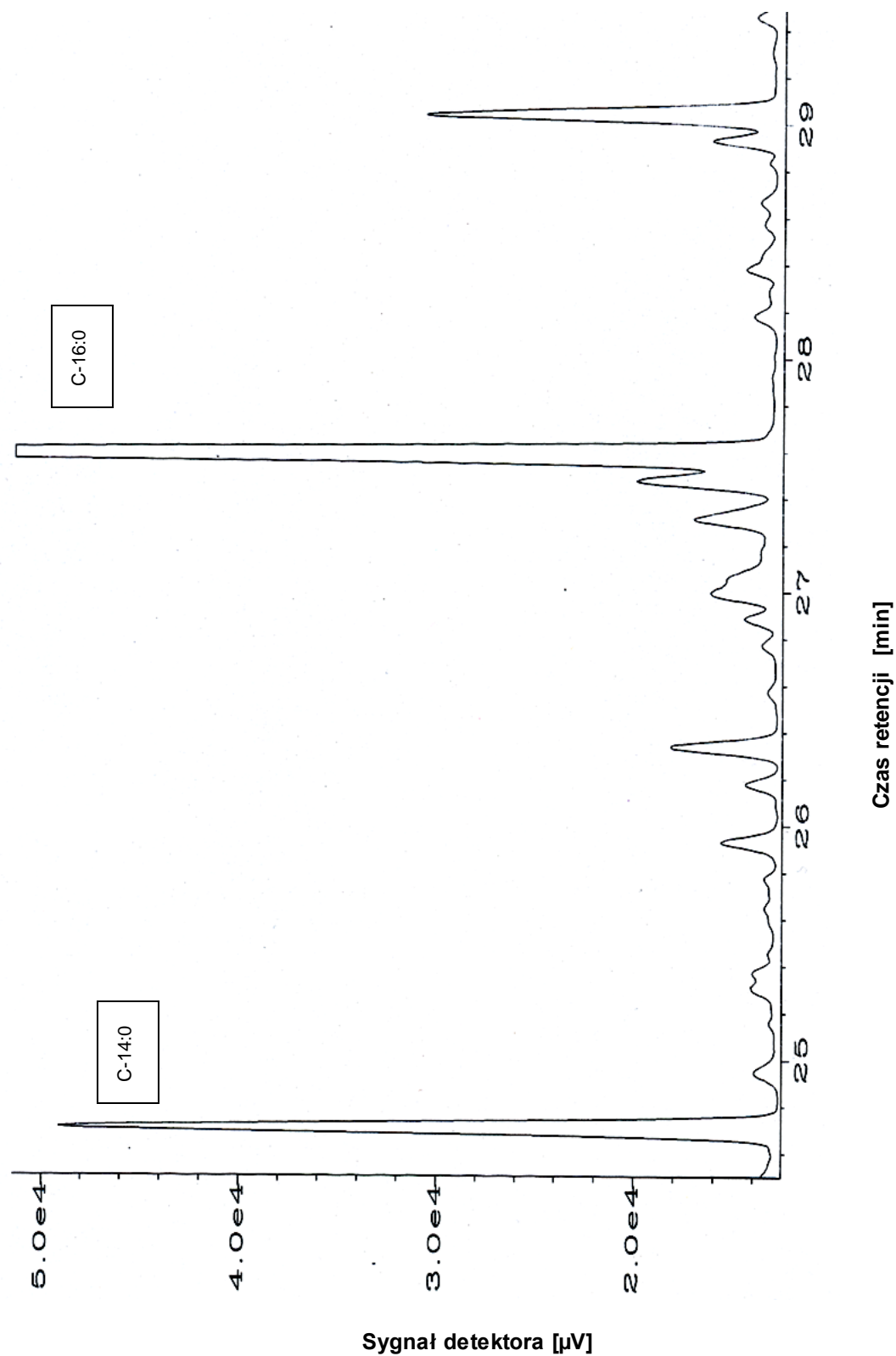
Nazwa systematyczna Systematic name	Nazwa zwyczajowa Common name	Liczba atomów węgla The number of atoms coal	Całkowity czas retencji (t_R)* [min] Total retention time (t_R)* [min]	Względny czas retencji (t'_R)** [%] Relative retention time (t'_R)* [%]
oktadekanowy	kaprylowy	C-8:0	13.982	46.0
dekanowy	kaprynowy	C-10:0	18.028	59.3
dodekanowy	oleolaurynowy	9-C-12:1 (n-3)	21.179	69.7
dodekanowy	laurynowy	C-12:0	21.678	71.4
tetradekanowy	oleomirystynowy	9-C-14:1 (n-5)	24.471	80.6
tetradekanowy	mirystynowy	C-14:0	24.886	81.9
heksadekanowy	oleopalmitynowy	9-C-16:1 (n-7)	27.347	90.0
heksadekanowy	palmitynowy	C-16:0	27.765	91.4
octadecatrienoic	linolenowy	9,12,15-C-18:3	28.945	95.3
octadecadienoic	linolowy	9,12-C-18:2	29.432	96.9
oktadekanowy	oleinowy	9-C-18:1 (n-9)	29.988	98.7
octadecanoic	stearynowy	C-18:0	30.376	100.0
eikosenowy	gadoleinowy	11-C-20:1 (n-9)	32.437	106.8
eikosanowy	arachidowy	C-20:0	32.804	108.0
dokosenowy	erukowy	13-C-22:1 (n-9)	35.372	116.6
dokosanowy	behenowy	C-22:0	35.697	117.5
tetrakosenowy	nerwonowy	15-C-24:1 (n-9)	39.193	129.0
tetrakosanowy	lignocerylony	C-24:0	39.694	130.7

*Całkowity czas retencji (t_R) to czas liczony od momentu wprowadzenia próbki do momentu pojawienia się na chromatogramie maksimum pików (momentu pojawienia się na wyjściu z kolumny maksymalnego stężenia wymywanego związku).

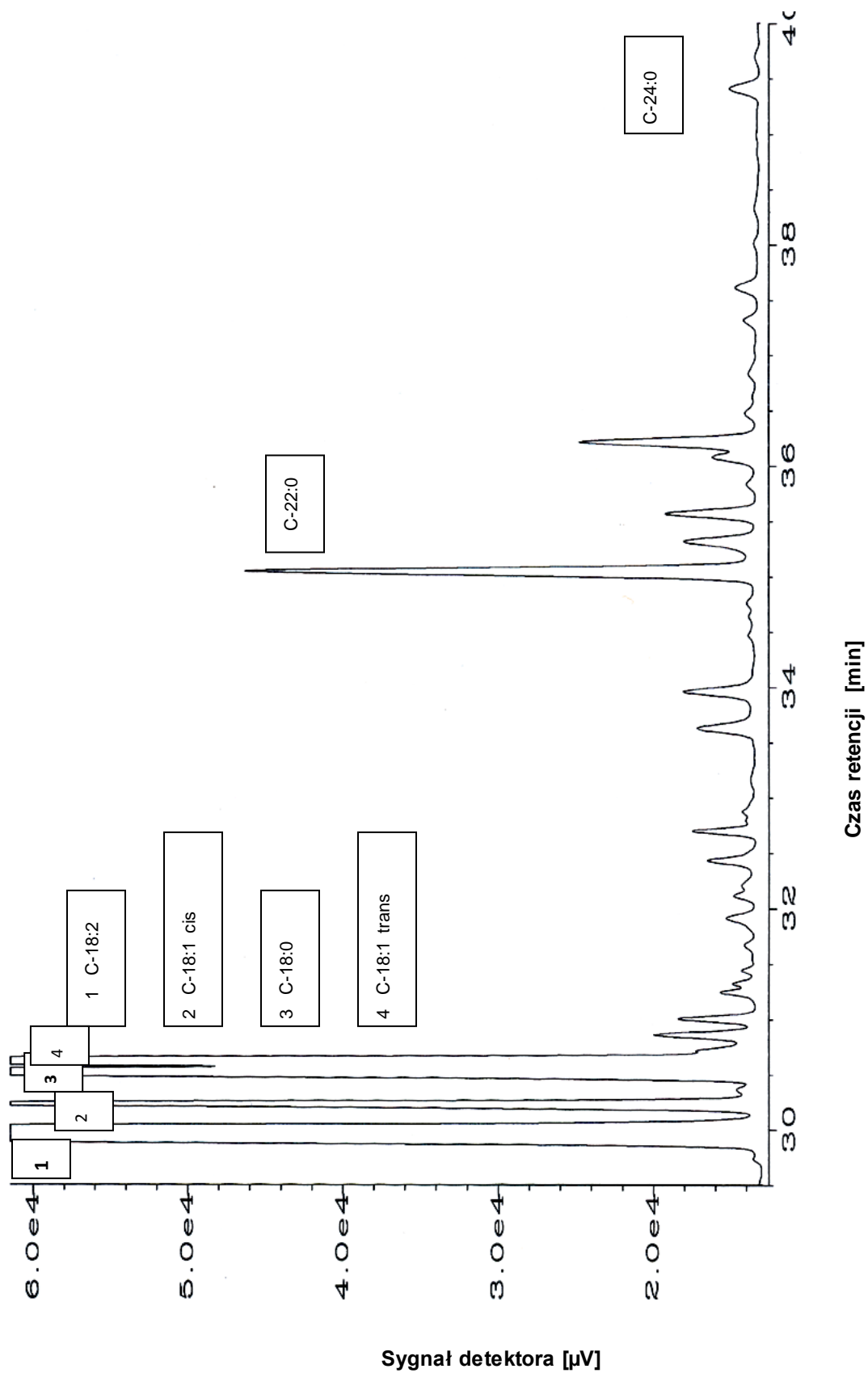
**Względny czas retencji (t'_R) - wyznaczono wg wzoru: $t'_R = \frac{t_R[\text{kwas oznaczany}]}{t_R[\text{kwas stearynowy}]} \times 100\%$



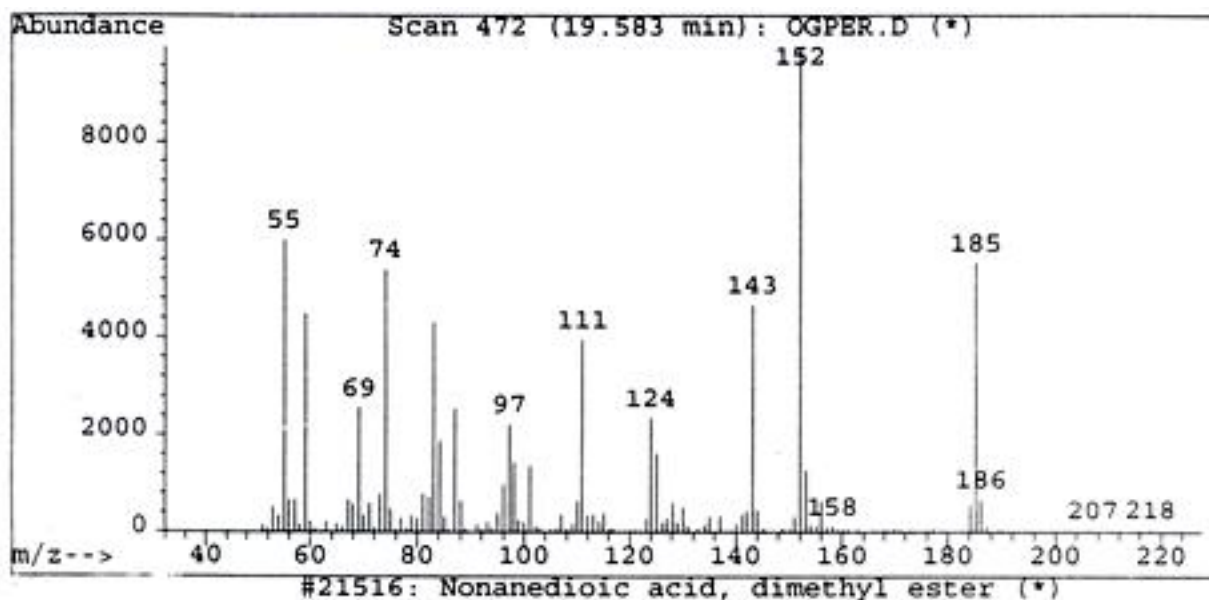
Rys. 2. Przykład chromatogramu GC-FID rozdzielania składników z oleju słonecznikowego (15-24 min).
Fig. 2. Example chromatogram GC-FID for separating the components of sunflower oil (15-24 min).



Rys. 3. Przykład chromatogramu GC-FID rozdzielania składników z oleju słonecznikowego (24-29 min).
Fig. 3. Example chromatogram GC-FID for separating the components of sunflower oil (24-29 min).

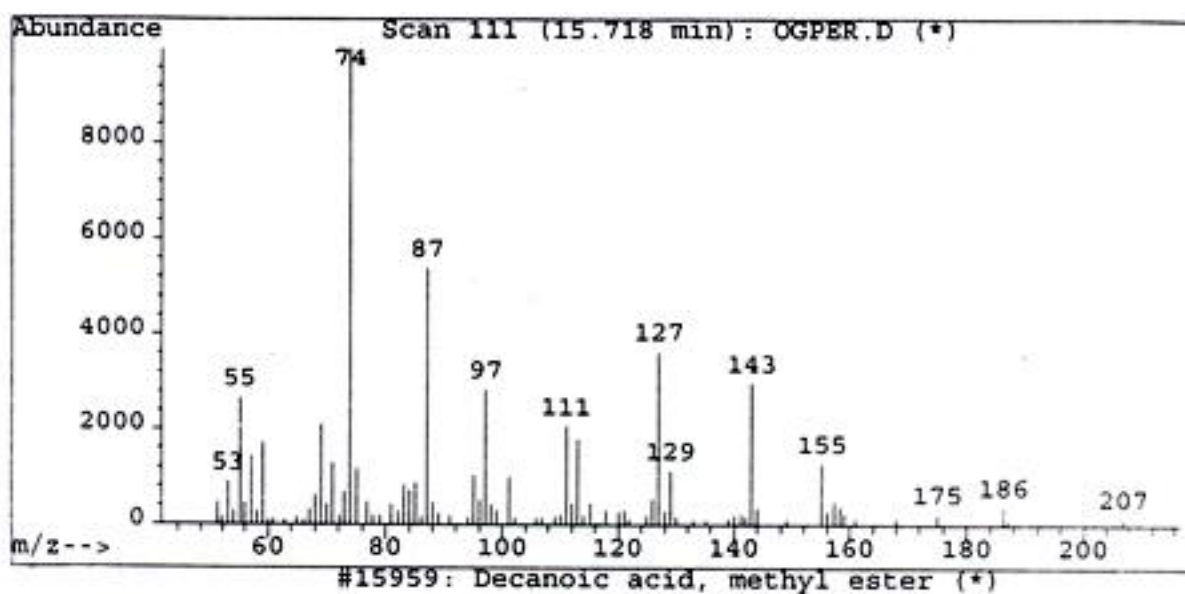


Rys. 4. Przykład chromatogramu GC-FID rozdzielania składników z oleju słonecznikowego (29–40 min).
 Fig. 4. Example chromatogram GC-FID for separating the components of sunflower oil (29–40 min).

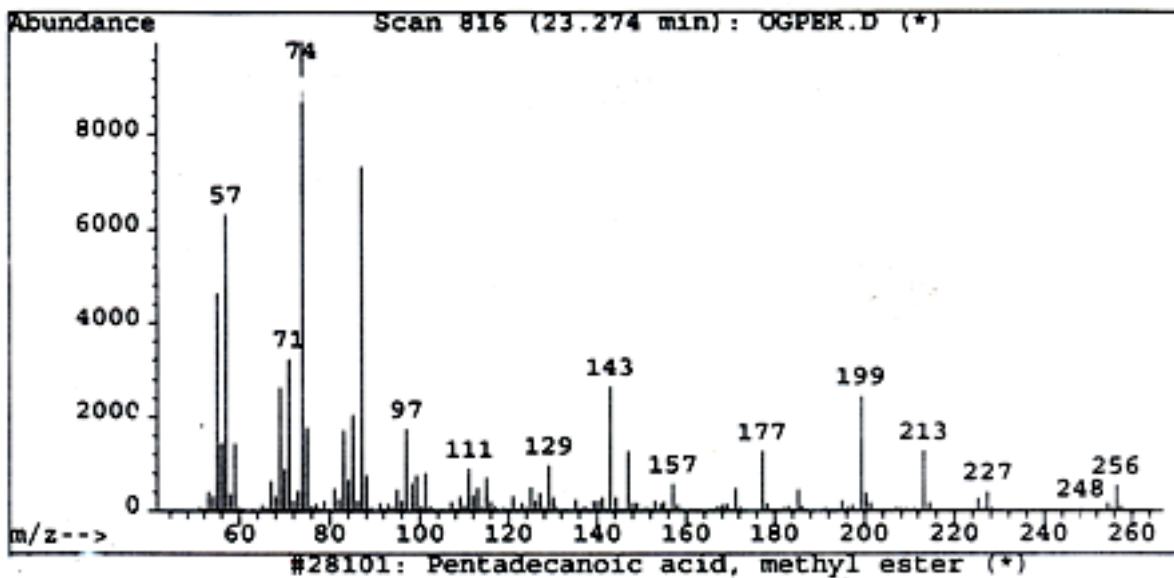


Rys. 5. Widmo masowe estru dimetylowego kwasu azelainowego.
 Fig. 5. Mass spectrum of dimethyl ester of azelaic acid.

W zbliżonym przedziale wartości czasu retencji rejestrowano także monokarboksylowe niższe kwasy alifatyczne: od kapronowego C-6:0 do kaprynowego C-10:0 (rys. 6). W ekstraktach z zabytkowych papierów drukowych występowały one zawsze obok kwasów dikarboksylowych. Identyfikowano także kwasy monokarboksylowe o nieparzystej liczbie atomów węgla, od kwasu pelargonowego C-9:0 do pentadekanowego C-15:0 (rys. 7)

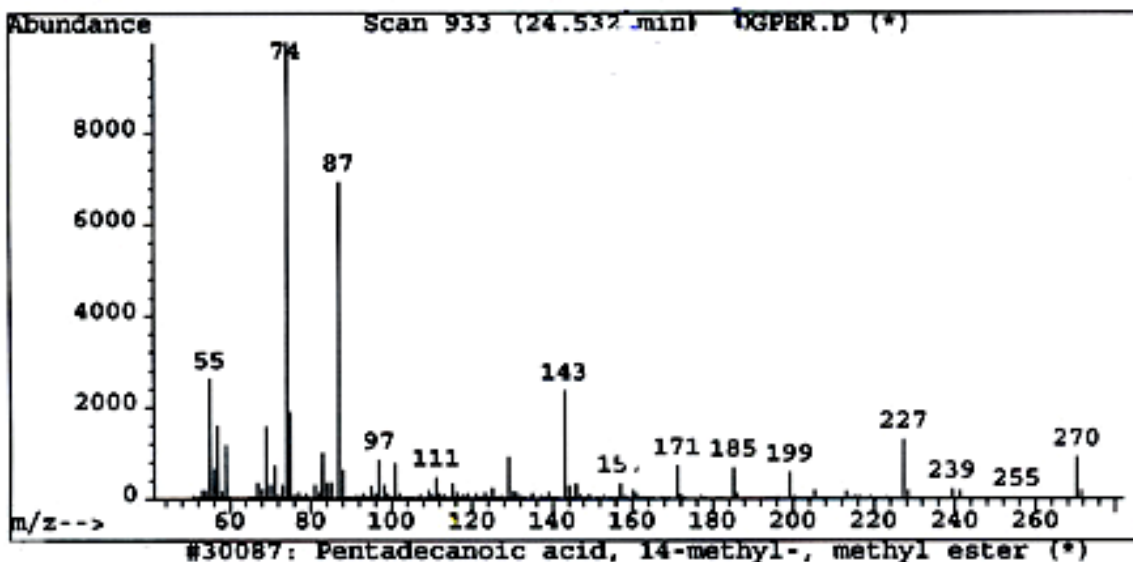


Rys. 6. Widmo masowe estru metylowego kwasu kaprynowego.
 Fig. 6. Mass spectrum of methyl ester of capric acid.



Rys. 7. Widmo masowe estru metylowego kwasu pentadekanowego C-15:0.
 Fig. 7. A mass spectrum of methyl ester of pentadecanoic acid C-15:0.

W ekstraktach spotykane są również rozgałęzione izomery kwasów tłuszczowych. Wszystkie jednak zamykają się w liczbie 16 lub 18 atomów węgla w cząsteczce. Rozpoczynając numeracją łańcucha od atomu węgla karboksylowego, izomeryczne rozgałęzienie ma miejsce w pozycjach parzystych: 4, 8, 12 itp. W przypadku rozgałęzienia pojedynczego, występuje ono na końcu łańcucha, najczęściej w pozycji typu *izo*-metylowej. Widmo masowe estru metylowego kwasu tłuszczowego *izometylowego* jest podobne do nasyconego prostolańcuchowego analogu, poza wyróżniającą się przerwą ubytku jonu fragmentacyjnego 28 j.m.a. w miejscu rozgałęzienia, co odpowiada eliminacji ostatniego w łańcu chu atomu węgla łącznie z grupą metylową. W widmie tym charakterystyczne jest podwyższenie względnej intensywności jonów przyległych do miejsca rozgałęzienia (rys. 8).

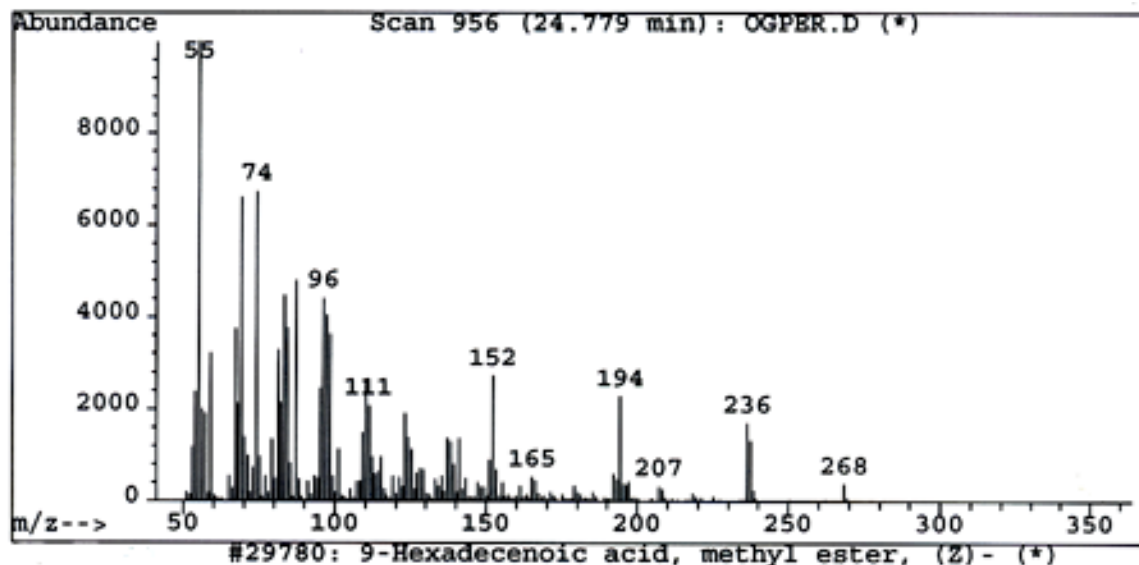


Rys. 8. Widmo masowe estru metylowego kwasu 14-metylopentadekanowego.
 Fig. 8. Mass spectrum of methyl ester of 14-methylpentadecanoic acid.

W identyfikacji mononienasyconych kwasów tłuszczowych problemem analitycznym jest prawidłowa lokalizacja w łańcuchu węglowym podwójnego wiązania. Podobnie jak w widmie kwasu nasyconego wyraźny jest tutaj jon molekularny, którego masa jest o dwie jednostki mniejsza w stosunku do analogu nasyconego. Następną konsekwencją eliminacji zestryfikowanej grupy karboksylowej, a dalsze, jednostek metylenowych z łańcucha węglowego. Ustalenie wiązania podwójnego jest możliwe w przypadku prawidłowej lokalizacji w ubytku jonu fragmentacyjnego o wartości 26 j.m.a. Powyżej wiązania podwójnego wszystkie jony mają m/z o dwie jednostki mniejszą w stosunku do nasyconych kwasów tłuszczowych, podczas gdy jony o niższych masach występują na normalnych pozycjach. Powyżej miejsca z wiązaniem

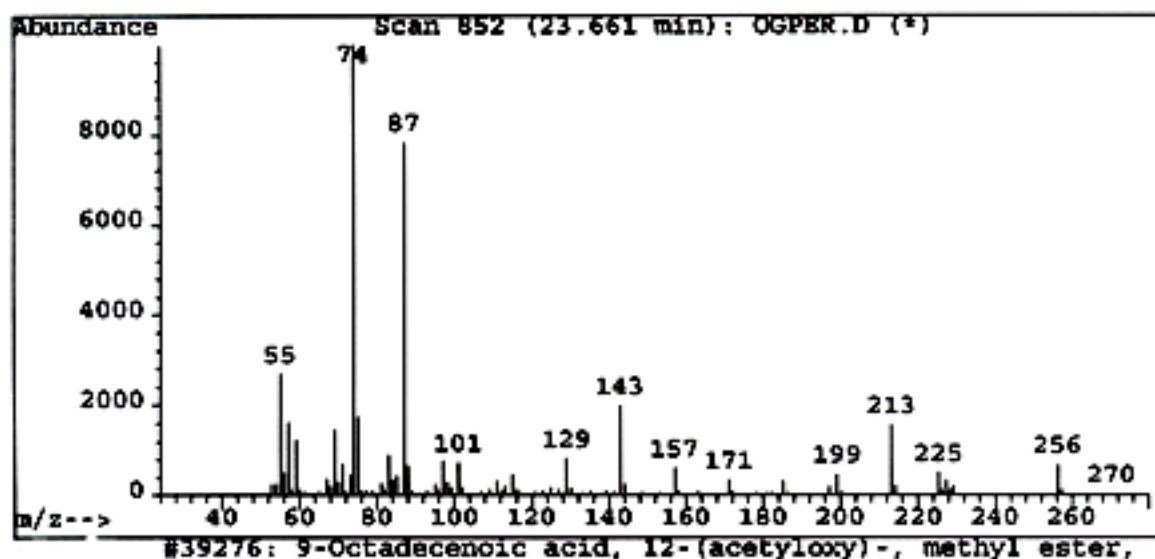
podwójnym, po dwóch i trzech jednostkach metylenowych fragmentacja zawsze wykazuje obecność dwóch jonów o wyraźnie podwyższonej intensywności (rys. 9).

Stwierdzono, że w ekstraktach heksanowych z zabytkowych papierów drukowych identyfikowano wyłącznie pośrednie acylowe formy kwasów tłuszczowych (rys. 10). [8, 9].



Rys. 9. Widmo masowe estru metyloвого kwasu oleinowego C-18:1.

Fig. 9. Mass spectrum of methyl ester of hexadecenoic acid C-18:1.



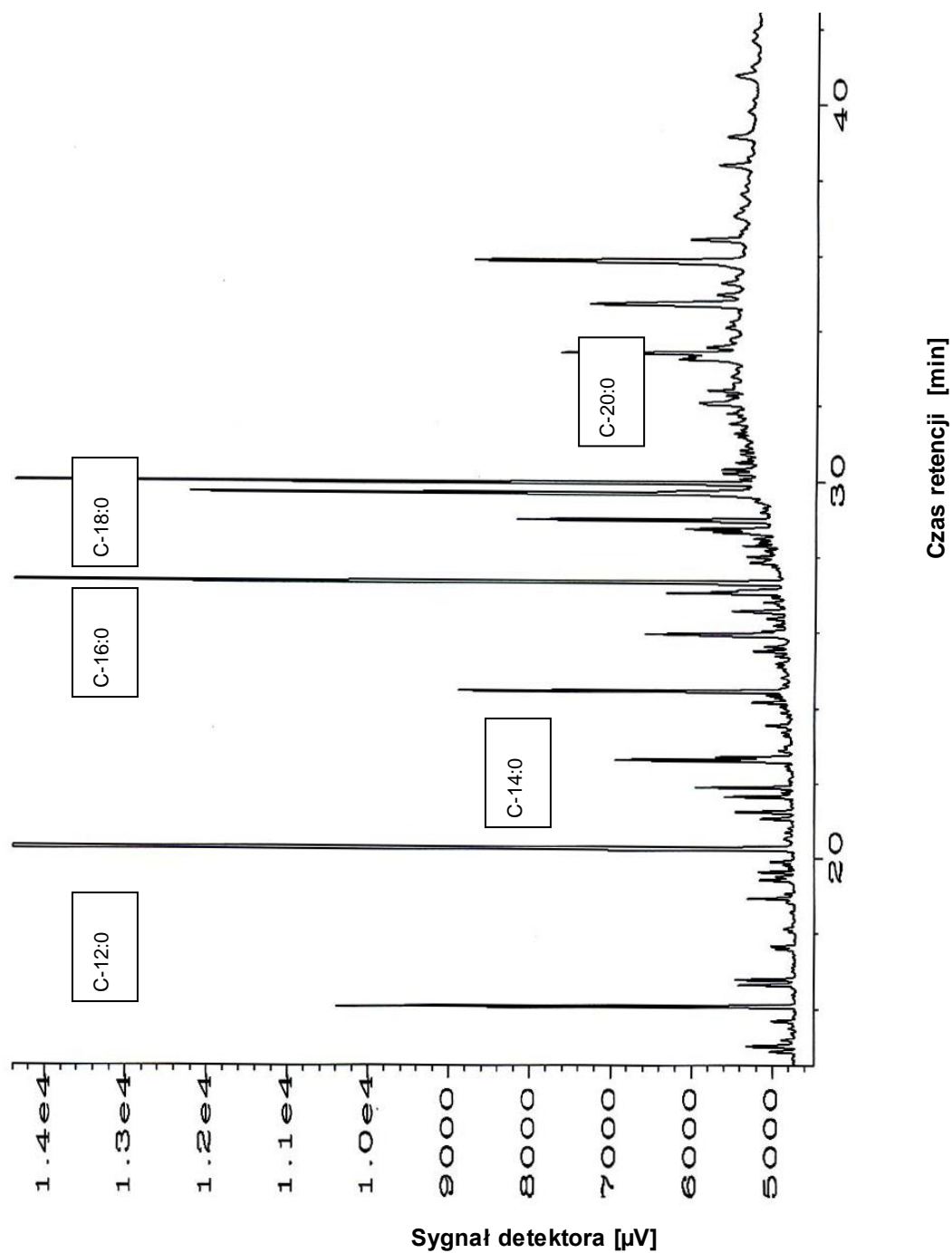
Rys. 10. Widmo masowe hydroksylowej pochodnej kwasu tłuszczowego C-18:1

Fig. 10. Mass spectrum of hydroxy fatty acid derivative (C) – 18:1

Profile kwasów tłuszczowych w papierach zabytkowych (Profile of fatty acids in the historic papers)

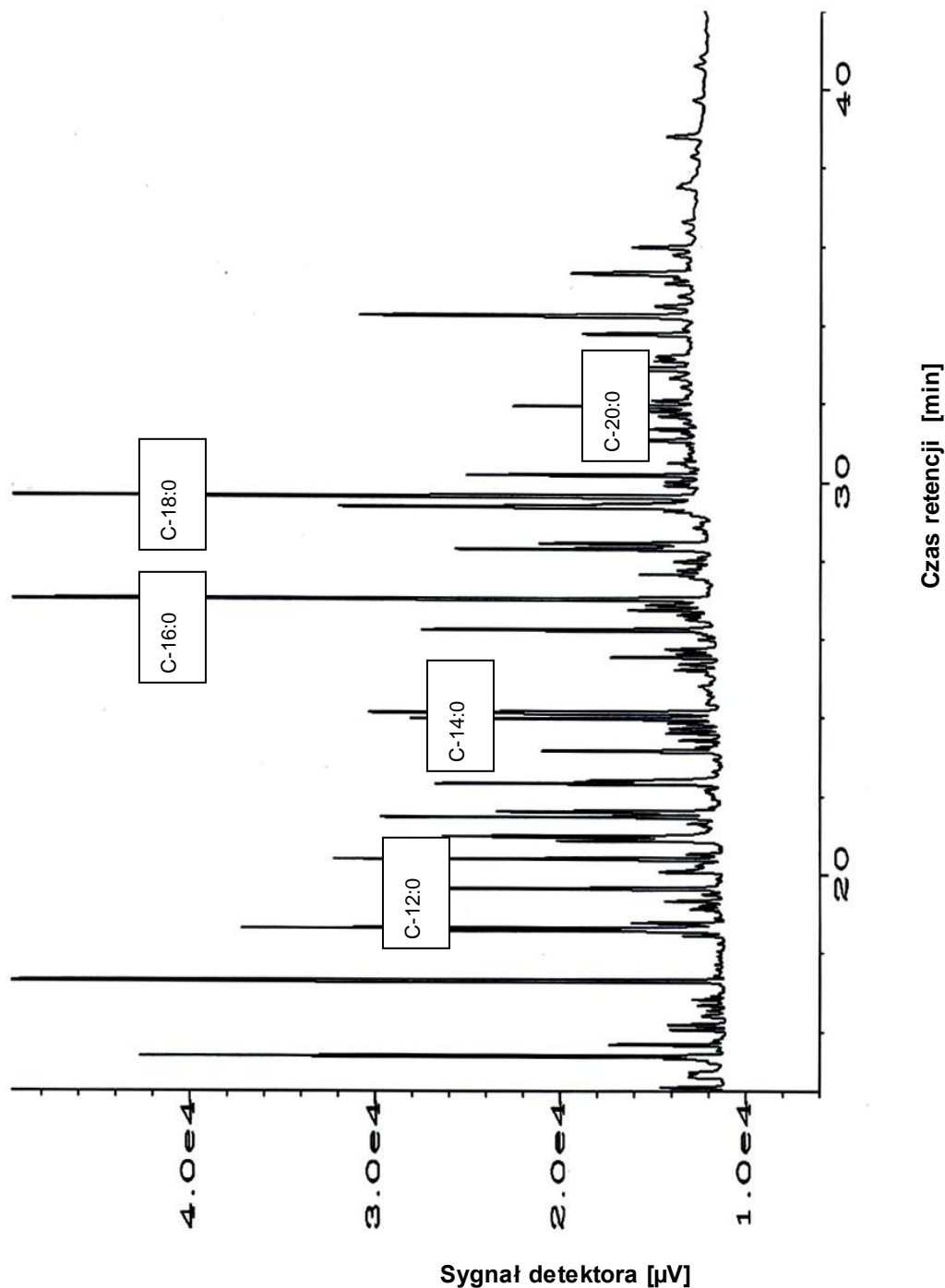
Na podstawie uzyskanych chromatogramów oraz wydruków komputerowych dokonano oznaczeń ilościowych, wyrażonych procentową zawartością kwasów tłuszczowych, w przeliczeniu na sumę powierzchni zarejestrowanych pików. Ponadto z różnicy mas kleju przed i po ekstrakcji ustalono zawartość substancji ekstrahowalnych. W przypadku zastosowania heksanu jako czynnika ekstrahującego powinny stanowić je przede wszystkim tłuszcze, w nieznacznym zakresie fosfolipidy i sterole. Te ostatnie dwie grupy substancji w skuteczny sposób usuwane są w samym procesie technologicznym otrzymywania klejów, prowadzonym początkowo w środowisku silnie kwasowym a następnie alkalizowanym do odczynu obojętnego. W przypadku oznaczanych trójglicerydów ich obecność w kleju jest także technologicznym zanieczyszczeniem, pożądanym jednak ze względu na właściwości emulgujące. W przypadku papierów

włoskich dysponowano trzema próbkami, pochodzącymi z inkunabułów wytłoczonych w oficynach Wenecji i Bolonii. Analiza jakościowa i ilościowa na obecność kwasów tłuszczowych w tych trzech próbkach nie ujawniła istotnych różnic, stąd prezentowane wyniki ograniczono do jednego reprezentatywnego przykładu, za który uznano papier z *Mszału Rzymskiego*, wydanego w 1490 roku przez Otaviano Scoto w Wenecji (rys.11). Papiery z Europy północnej reprezentowało jedenaście próbek, pochodzących z inkunabułów wydanych w oficynach w Strasburgu, Norymberdze, Bazylei, Ulm i w Lipsku. Również i w tym przypadku, poza zróżnicowanym stopniem przeklejenia papierów, nie stwierdzono istotnych dysproporcji jakościowych i ilościowych na obecność kwasów tłuszczowych, występujących w poszczególnych badanych obiektach. W prezentacji wyników ograniczono się więc do jednego przykładu, reprezentatywnego dla wszystkich jedenastu próbek, który wyróżniał średni stopień wypełnienia rzędu 15% kleju w papierze. Taką cechą prezentowały papiery z inkunabułów wytłoczonych w Strasburgu (rys.12). Najwyższym stopniem przeklejenia, dochodzącym do 20 % zawartości kleju, charakteryzowały się papiery w inkunabułach z oficyny Antrona Kobergera z Norymbergi. Tak więc próbkę papieru z inkunabułowego druku ze Strasburga z 1483 roku wybrano do zaprezentowania procesu starzenia się najstarszych papierów drukowych, pochodzących z Europy północnej. Różnice w obrazie profilu nasyconych kwasów tłuszczowych jakie ujawniają najstarsze papiery włoskie i niemieckie wynikają z faktu, że papiernicy stosowali kleje pergaminowe, które różniły się sposobem wytworzenia oraz użytym surowcem. Pergamin południowy *charta italica* jak się okazuje był jednak innym produktem niż pergamin północny *charta teutonica*, stąd te różnice, szczególnie widoczne w zmianie sekwencji zawartości kwasu palmitynowego i stearynowego (tab.3).



Rys. 11. Przykład chromatogramu GC-FID rozdzielania składników kwasów tłuszczowych z papieru południowego – Wenecja 1490.

Fig. 11. Example chromatogram GC-FID separating components of fatty acids from a southern paper - Venice 1490.



Rys. 12. Przykład chromatogramu GC-FID rozdzielania składników kwasów tłuszczowych z papieru północnego – Strasburg 1483.

Fig. 12. Example chromatogram GC-FID separating components of fatty acid paper north - Strasbourg 1483.

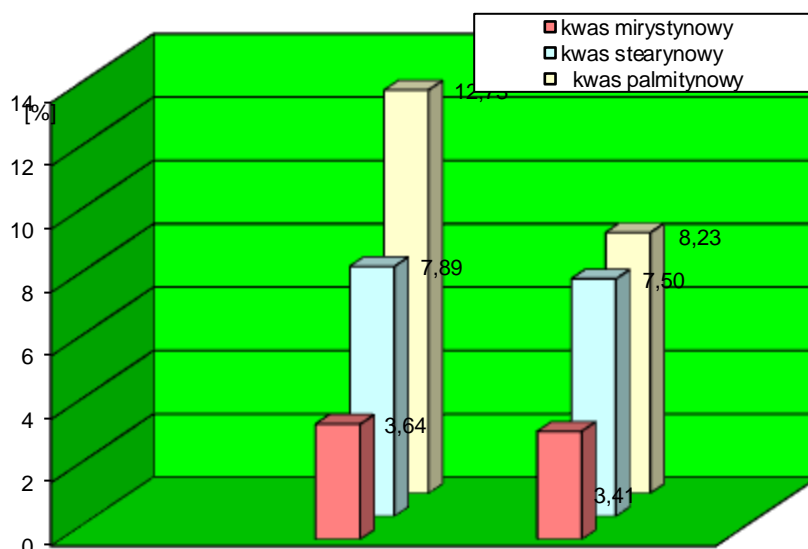
Tab. 3. Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z papierów inkunabułowych po oczyszczaniu techniką SPE w [%].

Tab. 3. The fatty acid content in the hexane extracts of these securities incunabula from the treatment of SPE technique in [%].

Oznaczone kwasy tłuszczowe [%] Determination of fatty acids [%]	Papier południowy Paper southern	Papier północny Paper North
kaprylowy	3.23	3.65
kaprynowy	0.45	3.10
oleolaurynowy	0.94	2.51
laurynowy	6.85	2.35
oleomirystynowy	0.32	2.42
mirystynowy	3.64	3.41

oleopalmitynow y	1.36	0.84
palmitynow y	12.73	8.23
linolenow y	0.94	2.00
linolow y	2.74	1.56
oleinow y	5.53	4.64
stearynow y	7.89	7.50
gadoleinow y	•	•
arachidow y	1.19	1.66
erukow y	•	•
behenow y	3.02	4.18
nerw onow y	•	•
lignocerylow y	•	•
suma % zaw artości kw asów	50.83	48.05

Z prezentowanych danych wynika, że profile nasyconych kwasów tłuszczowych w papierach inkunabułowych z druków z oficyn włoskich i niemieckich są wypadkową zawartości tych kwasów w klejach zwierzęcych, użytych do ich wypełnienia. Podobnie jak w kleju pergaminowym, w papierze południowym procentowa zawartość kwasu palmitynowego do stearynowego wyraża się stosunkiem jak 3 do 2. W przypadku papieru północnego, obydwa kwasy są w procentowej równowadze, analogicznie jak to ma miejsce w kleju skórnym. W obydwu przykładach suma kwasu palmitynowego i stearynowego wyrażona w procentach jest zdecydowanie niższa niż w odpowiednich klejach zwierzęcych. W kleju pergaminowym i w papierze południowym wynosi średnio 50% i 20%, a w kleju skórnym i papierze północnym 35% i 16%. Tak więc w wielowiekowym przedziale czasowym nasycone kwasy tłuszczowe w najstarszych papierach drukowych ulegają wyraźnym jakościowym przemianom, które przekładają się na ich zmiany ilościowe. Wykazane różnice w zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych w klejach i papierach inkunabułowych przedstawiono na wykresie (rys.13).



Rys.13. Profil nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z papierów inkunabułowych północnych (prawa strona) i południowych (lewa) po oczyszczeniu techniką SPE w [%].

Fig. 13. Profile in saturated fatty acids in the hexane extracts of these securities inkunabul north and south after cleaning technique SPE in [%]

Przedstawione wyniki charakteryzują papiery druków inkunabułowych z XV wieku, które otrzymywano poprzez rozlewanie czepakiem na sito zawiesziny celulozowej. Uzyskiwanie w miarę równych grubością arkuszy papieru wymagało od papiernika wprawy i doświadczenia. Papiery z tego okresu były więc strukturalnie i wymiarowo zróżnicowane i dodatkowo w wysokim stopniu wypełniane powierzchniowo klejami zwierzęcymi. W wieku XVI wprowadzono zanurzeniową formę osadzania włókien celulozowych na sitach, przez co papiery pochodzące z różnych młynów stały się cieńsze i jakościowo porównywalne. Na poziomie około 10% w stosunku do masy celulozowej ustabilizował się również stopień zaklejania papieru.

W dalszych badaniach dla przedziału lat 1501–1550 korzystano z papierów weneckich, a dla przedziału 1551–1600 z papierów bazyłejskich. Obydwa ośrodki drukarskie i papiernicze uchodziły w XVI wieku za dominujące w Europie. Papiery weneckie reprezentowało sześć, a bazyłejskie dziewięć próbek.

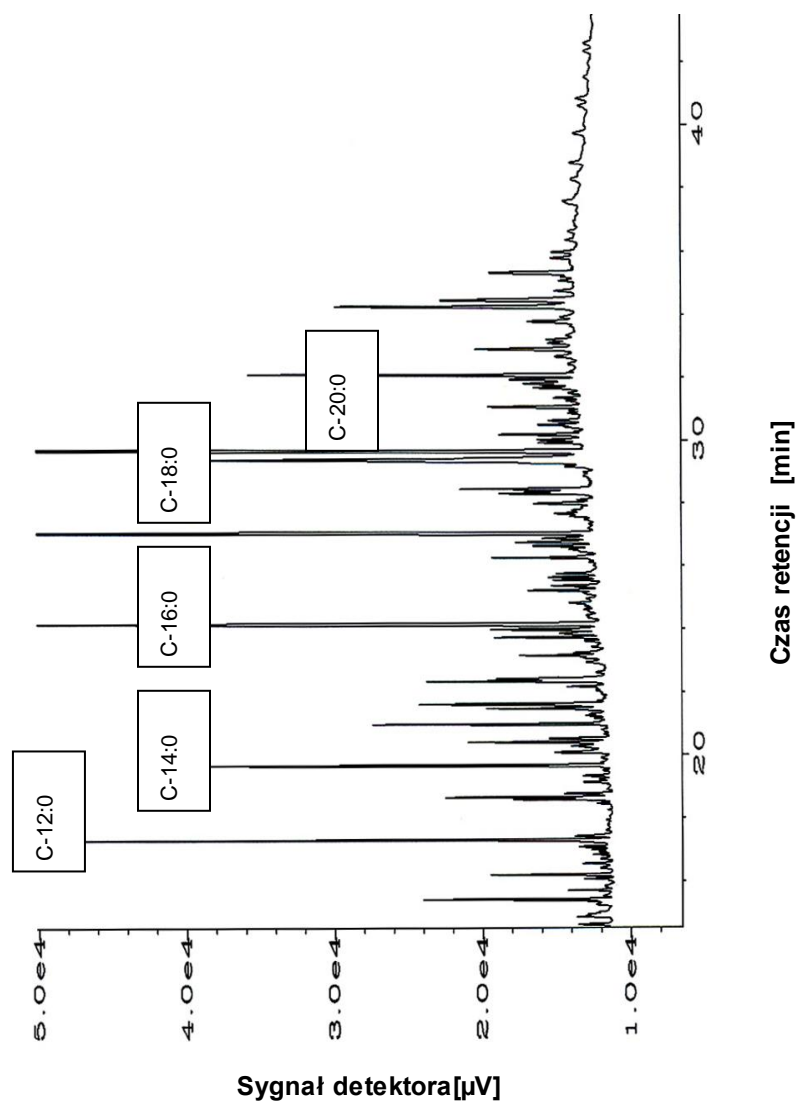
Analiza chromatograficzna ekstraktów z tych papierów na obecność kwasów tłuszczowych nie dostarczyła nowych informacji poza tymi, które ujawniła analiza papierów inkunabułowych. Potwierdziła fakt obniżenia stopnia przeklejenia tych papierów, co przełożyło się na konieczność podniesienia wzmocnienia sygnału detektora chromatograficznego. Chromatogramy także prezentowały zróżnicowany skład jakościowy w stosunku do analiz wzorcowych klejów zwierzęcych ale zachowywały profile kwasu palmitynowego i stearynowego, charakterystyczne dla kleju którym papiery zostały wypełnione .

Badane papiery z XVII wieku pochodziły z Antwerpii i Kolonii (tab.4). Przedział lat 1601–1650 to pięć próbek papieru z druków oficyn antweperskich, a dziewięć próbek papieru z przedziału czasowego 1651–1700 pochodziło z druków oficyn kolońskich. Chromatogramy ekstraktów heksanowych z tych papierów potwierdziły niektóre niepewne informacje historyczne, świadczące o tym, że klej rybi wprowadzony został do europejskiego piernictwa już w początkach XVII wieku przez papierników z historycznej Brabancji. Świadczy o tym specyficzna sekwencja kwasów tłuszczowych, która charakteryzowała papier druku antweperskiego z 1640 roku. W późniejszym okresie, szczególnie pod koniec XVII wieku, stosowanie kleju rybiego nie było już incydentalne. Przykładowo na dziewięć próbek papierów z druków kolońskich, trzy z nich wypełnione zostały tym klejem (rys.13, 14) .

Tab. 4. Zawartość kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych papierów z XVII wieku po oczyszczeniu techniką SPE.

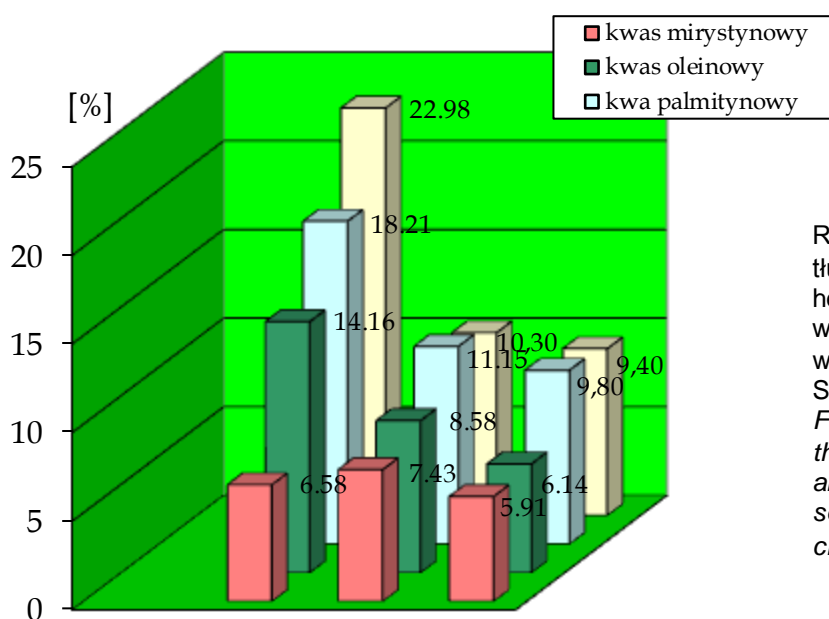
Tab. 4. The fatty acid content in the hexane extracts of papers from the seventeenth century after cleaning technique SPE.

Oznaczone kwasy tłuszczowe Determination of fatty acids	Antwerpia (1640) Antwerp (1640) [%]	Kolonia(1682) Cologne (1682)
kaprylowy	1.10	1.01
kaprynowy	3.84	2.78
oleolaurynowy	0.94	1.28
laurynowy	3.64	1.02
oleomirystynowy	0.96	1.32
mirystynowy	7.43	5.91
oleopalmitynowy	1.05	0.97
palmitynowy	11.15	9.80
linolenowy	0.80	1.00
linolowy	1.25	1.79
oleinowy	8.58	6.14
stearynowy	10.30	9.40
gadoleinowy	•	•
arachidowy	1.19	1.50
erukowy	•	•
behenowy	2.42	2.25
nerwonowy	•	•
lignocerylowy	•	•
suma % zawartości kwasów	54.65	46.17



Rys. 13. Przykład chromatogramu GC-FID rozdzielania składników kwasów tłuszczowych z papieru północnego – Antwerpia 1640.

Fig. 13. Example chromatogram GC-FID separating components of fatty acid paper north - Antwerpen 1640.



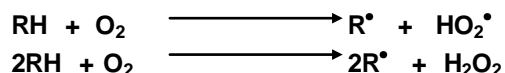
Rys. 14. Profil kwasów tłuszczowych w ekstraktach heksanowych z kleju rybiego i wybranych papierów z XVII wieku po oczyszczeniu techniką SPE.

Fig. 14. The fatty acid profile in the hexane extracts of fish glue and selected papers from the seventeenth century after cleaning technique SPE.

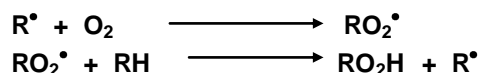
Mechanizm fizykochemicznych przemian składników papieru zabytkowego (*Physico-chemical mechanism of changes of historical paper's components*)

Dotychczas realizowane badania nad mechanizmem procesu naturalnego starzenia się papieru ograniczają się do celulozy, jako podstawowego składnika tego materiału. Jest poza spekulacją fakt, że w warunkach wieloletniego przechowywania celuloza z papieru ulega hydrolizie, katalizowanej w środowisku kwasowym. Procesowi temu towarzyszy depolimeryzacja łańcucha oraz utlenianie hydrolizatów. W konsekwencji w papierach zabytkowych bez trudu identyfikowane są produkty przemian, zawierające grupy funkcyjne hydroksylowe, aldehydowe, ketonowe i karboksylowe. Stwierdzono, że reakcja ta posiada charakter łańcuchowy i wolnorodnikowy, a podstawowymi produktami generującymi jej przebieg są substancje o charakterze nadtlenuków i wodoronadtlenków (rys. 15). Takie produkty identyfikowano jodometrycznie w ekstraktach chloroformowych z papierów zabytkowych [10].

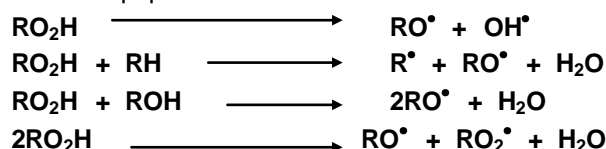
Inicjowanie łańcucha:



Wzrost łańcucha:



Wzrost łańcucha poprzez rozkład nadtlenuku:

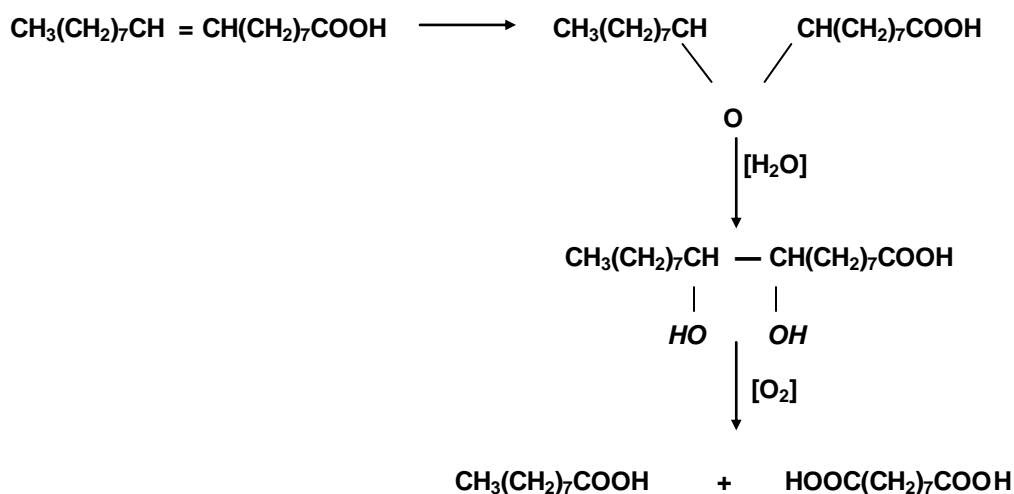


Rys. 15. Mechanizm wolnorodnikowy reakcji.

Fig. 15. The mechanism of free radical of reaction.

Zakończenie reakcji wolnorodnikowej ma miejsce w przypadku zderzenia się dwóch rodników. W efekcie powstają stabilne chemicznie produkty utleniania, nie będące wolnymi rodnikami.

Dotychczas całkowicie niezbadanym obszarem jest mechanizm procesu naturalnego starzenia się papieru o obszarze substancji pomocniczych, do których zaliczają się stosowane przez historycznych papierników kleje zwierzęce. Także i w tym przypadku mamy do czynienia z utlenianiem tlenem z powietrza składników kleju, szczególnie tych, które posiadają charakter nienasycony. Zaliczyć do nich należy przede wszystkim wszelkie struktury lipidowe, w których tworzeniu biorą udział nienasycone kwasy tłuszczowe. W klejach zwierzęcych dominują jednak substancje lipidowe o charakterze nasyconym, stąd wolnorodnikowa reakcja utleniania nie jest dominująca. Ten fakt pośrednio potwierdza analiza identyfikacyjna produktów, zawartych w ekstraktach heksanowych z papierów zabytkowych. Tlenowe pochodne kwasów tłuszczowych identyfikowano incydentalnie, w zależności od użytego kleju zwierzęcego i zawartości w nim kwasu oleinowego (rys.16).



Rys. 16. Mechanizm reakcji wolnorodnikowych zachodzących w substancjach pomocniczych stosowanych do produkcji papieru.

Fig. 16. The mechanism of free radical reactions occurring in the excipients used in the manufacture of paper.

Znaczna zawartość w produktach przemian substancji pomocniczych niższych kwasów alifatycznych oraz dikarboksylowych sugeruje, że utlenianie kwasów nienasyconych i hydroliza powstałych połączeń epoksydowych nie jest jedynym źródłem ich pochodzenia [11, 12].

Przeprowadzone badania wykazały, że uciążliwy defekt materiału bibliotecznego, objawiający się brunatnym jego zabarwieniem oraz obniżeniem parametrów wytrzymałości mechanicznej, nie ma charakteru mikrobiologicznego. Wolnorodnikowy charakter procesów naturalnego starzenia się papieru sprawia, że prace konserwatorskie powinny uwzględniać konieczność całkowitej wymiany kleju pochodzenia zwierzęcego na syntetyczny substytut. W przeciwnym przypadku obraz druku oraz sam papier ulegną całkowitej degradacji. W tej sytuacji propozycje wymiany klejów zwierzęcych na metylocelulozę są merytorycznie uzasadnione. Ujawnienie fizykochemicznego mechanizmu tego procesu stwarza szansę na skuteczną renowację obiektów zabytkowych, wykazujących takie objawy destrukcji.

Literatura (References)

- [1] J. Pach, W. Robak, J. Tomziński, *Jasna Góra. Sanktuarium Matki Bożej. Przewodnik*, Wydawnictwo Zakonu Paulinów, Częstochowa 2001, s.1-2.
- [2] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s.35-37.
- [3] L. Ogierman, *Konserwatorska ochrona zabytkowego zbioru bibliotecznego Zakonu Paulinów na Jasnej Górze w Częstochowie*, Wyd. Biblioteka Śląska, Katowice 2001, s. 3-24.
- [4] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s. 7.
- [5] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s. 32.
- [6] N. Gurnagul, *Model to the Degradation of Papers of Various Origins*, Journal of Pulp and Paper Science, 2003, nr 19, s. 139.
- [7] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s. 33.
- [8] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s. 40.
- [9] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s. 41-46.
- [10] D. Harvey, *Mass spectrometry of picolinyl and other nitrogen-containing derivatives of lipid*, Advances in Lipid Methodology, 1992, s. 19–80.
- [11] J. Łojewska, A. Lubańska, *Kinetic Approach to Degradation of Paper. In Situ FTIR Transmission Studies on Hydrolysis and Oxidation*, Preservation Science, 2005, nr 2, s. 1-11.
- [12] A. Bakalarz, *Chromatografia w badaniu książki zabytkowej*, Wyd. Uniwersytet Śląski, Katowice 2013, s. 59-65.