

ДОКАЗВАНЕ НА СТИПЦОВИ БАГРИЛА ОТ АВТЕНТИЧНИ ОБЕКТИ ПО VIS-СПЕКТРИТЕ ИМ В БУФЕРНИ РАЗТВОРИ

Диана Николова¹, Боряна Михайлова², Иван Гошев²

Въведение

Идентификацията на багрилата в автентични текстилни и кожени предмети, и в следи от такива в археологически обекти, е от съществено значение – те са носители на обективна информация за техниеския и общия уровень на древните общества. Въз основа на тях се добива представа за технологията на обработка, за художествено-декоративната украса, за присъщия на епохата и древните етноси идеал за красота, за културните влияния и търговските връзки между тях, за социалния статус на погребания.

Багрилата, използвани в древността са били от естествен произход. Те принадлежат към два основни класа – 1) кюпни багрила: индиго, извлечено от растения и античен пурпур – добивано от мекотели, обитаващи Източното Средиземноморско крайбрежие и 2) стипцови багрила, извлечени от растения и инсекти. Стипцовите багрила се свързват към влакната чрез органичен компонент – танин или посредством метален хидроокис като вида на металния йон, т.н. стипцовка, е определяща за цвета [1].

Изолирането и пречистването на анализиранияте багрила от автентични обекти се осъществява чрез тънкослойна хроматография (TLC). Тя дава възможност и за начална идентификация чрез сравняване на R_f -стойностите им с тези на съответните стандарти и по поведението им при осветяване на TLC-плаките с UV-светлина [2].

Днес обаче, категорично доказателство за вида на автентичните багрила се постига чрез прилагане на инструментални методи за анализ и преди всичко чрез спектрофотометрия във видимата област [3, 4]. VIS-спектрите на стипцовите багрила се заснемат в техни разтвори в конц. сярна киселина, тъй като при тези условия багрилата и стандартите им се привеждат в съпоставими структури [4].

Характерно за стипцовите багрила е, че те са с хиноидни структури, силно влияещи се от рН, което рефлектира върху цвета на разтворите им, т.е. те проявяват индикаторни свойства. Типичен индикатор сред тях, използван в аналитичната химия, е ализаринът. Отгук и идеята за пости-

¹ Национален исторически музей, София 1618, ул. Витошко лале 16, кв. Бояна

² Институт по органична химия с ЦФ-БАН, София 1113, ул. Акад. Г. Бончев, бл. 9

гане на съпоставимост на VIS-спектрите на тези багрила и стандартите им чрез привеждане в една и съща конформация постигана посредством разтваряне на анализирания багрила в буферни разтвори.

Целта на настоящото изследване е да се намери възможност за доказване на стипцови багрила по VIS-спектрите им в буферни разтвори. Обект на изследването са едни от най-широко използваните в миналото стипцови багрила, които с Al^{3+} багрят в червено.

Материали и методи

Използвани са: фосфатно-цитратни ($0.2M Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ и $0.1M$ лимонена киселина) буфери с $pH = 8.0$ и $pH = 12.0$ [5] и фосфатно-алкален буфер- $0.2M Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ и $0.1 N NaOH$ до $pH 13.0$.

VIS-спектрите на багрилата бяха заснети на двулъчев спектрофотометър Shimadzu 3000 (Япония) спрямо съответните разтворители. Използвани са редуцирани кювети с обем $1 mL$.

Анализирания багрила – хематеин, хематоксилин, ализарин и бразилеин са продукти на Fluka (Швейцария).

Брош е набавен от аптечната мрежа в страната.

Всички останали химикали са закупени от фирма Валерус (България).

Багрилото от коженото уплътнение е екстрахирано с $CHCl_3$ (хлороформ) след третиране на анализиранията проба с $3\% HCl$ (солна киселина).

Резултати и дискусия

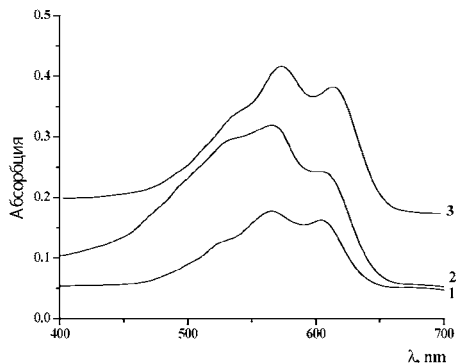
Използваните в изследването багрила са едни от най-често срещани-

те в автентичните обекти. Всички те са стипцови багрила и с Al^{3+} багрят в червено. Екстрактът от корени на брош е смес от ализарин, пурпурин и псевдопурпурин. По-особено място заема хематоксилинът сред избраниците багрила. Първоначално от кората на кампешево дърво се екстрахира хематоксилин. Разтворът, съгласно технологиите, [6,7] се оставя да престои известно време, т.н. „съзряване“, при което хематоксилинът се окислява до хематеин. След това разтворът се използва за багрене. Той багри и много по-силно от хематоксилина. Последният е включен в изследването, тъй като днес той се използва в други области, за които резултатите в настоящето изследване биха били от интерес.

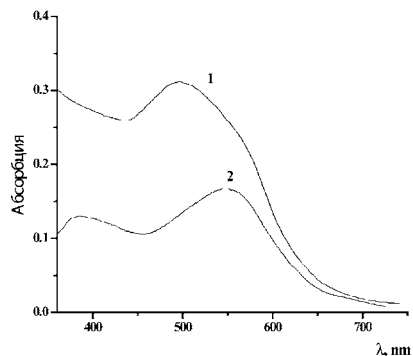
В таблица 1 са дадени растителни източници, от които са се добивали в древността анализирания багрила.

Изборът на подходящи буферни разтвори е определен в зависимост от поведението на ализарина при различни pH -стойности. Съгласно литературните данни [8] в кисела среда разтворите му са жълти, между $pH 6.8 - 10.1$ те са червени, а при pH над 10.1 стават виолетови ($\lambda_{max} = 568$ и $610 nm$).

На фиг. 1 са представени VIS-спектрите на ализарин с $pH 12.0$ (2), 13.0 (3) и в $2.5 N NaOH$ ($pH 14.0$) – спектър 1, заснети в обхват $0 - 0.5$. Вижда се, че с най-добре изразени пикове е VIS-спектърът при $pH 13.0$. Аналогичен резултат бе получен и за хематеина (фиг. 2). Установено бе, че репрезентативен спектър за ализарина се наблюдава и при $pH 8.0$.



Фиг. 1. VIS-спектри на ализарин в буфери с $pH = 12.0$ (2), $pH = 13.0$ (3) и в $2.5 M NaOH$ (1)

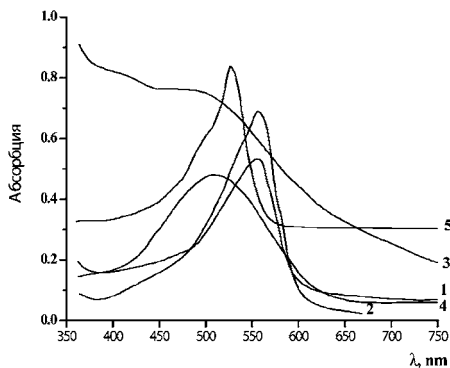


Фиг. 2. VIS-спектри на хематеин в буфери с $pH = 12.0$ (1) и $pH = 13.0$ (2)

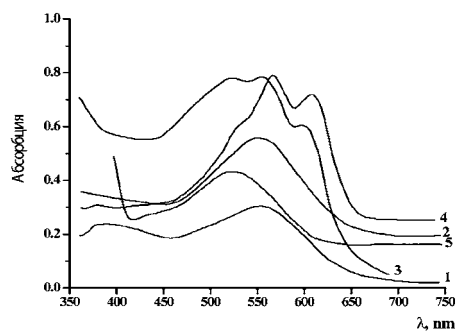
Таблица 1. Източници на най-често използваните в миналото растителни багрила, багреци в червено със стипцовка Al^{3+}

№	Багрила	Растителни източници
1	Хематеин (окислена форма на хематоксилин)	Дървесина от синьо (кампешево) дърво – <i>Haematoxilin campechianum</i>
2	Хематоксилин	
3	Пурпурин, Псевдопурпурин	<i>Rubia tinctoria</i> – брош
4	Ализарин	<i>Asperula</i> (<i>Asperula odorata</i> – лазаркия) <i>Galium sp.</i> (<i>Galium verum</i> – еньовче) <i>Morinda sp.</i> , <i>Relbunium sp.</i>
5	Бразилеин	Дървесина на бразилско (червено, фернамбуково) дърво – <i>Caesalpina crista</i> и други видове <i>Caesalpina</i>

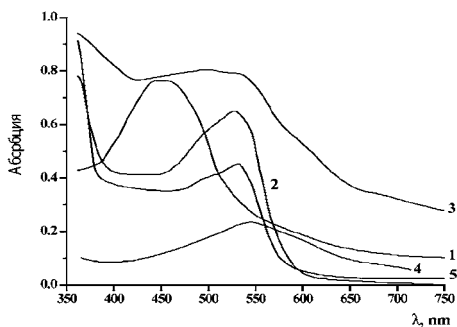
Забележка: Практически е багрено с хематеин, тъй като първоначално екстрахираният хематоксилин бързо се окислява до хематеин под влияние на въздуха.



Фиг. 3. VIS-спектри на изследваните багрила в буфер с рН = 8.0 (1 – хематеин; 2 – хематоксилин; 3 – брош; 4 – ализарин; 5 – бразилеин)



Фиг. 4. VIS-спектри на изследваните багрила в буфер с рН = 13.0 (1 – хематеин; 2 – хематоксилин; 3 – брош; 4 – ализарин; 5 – бразилеин)



Фиг. 5. VIS-спектри на изследваните багрила в к. H_2SO_4 (1 – хематеин; 2 – хематоксилин; 3 – VIS брош; 4 – ализарин; 5 – бразилеин)

Бяха заснети VIS – спектрите на избраните багрила в тези два буфера – с рН=8.0 и рН=13.0. Резултатите са представени на фиг. 3 и фиг. 4. За сравнение са представени и спектрите им в к. H_2SO_4 (фиг. 5) в съответствие с възприетата практика.

Вижда се, че в буферните разтвори багрилата имат също както и в к. H_2SO_4 изявиени, разграничаващи се пикове, което дава възможност за досто-

верна идентификация. Стойностите за λ_{max} , характеризиращи всяко едно от багрилата са представени в таблица 2.

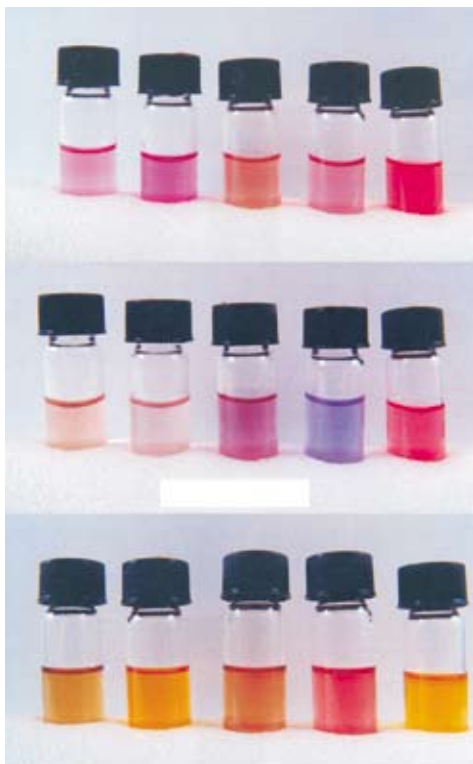
Всяка една рН стойност на буферен разтвор фиксира точно определена конформация на багрилата, с която се свързва строго определен цвят. Така че освен възпроизводимост и съпоставимост на VIS-спектрите на буферните разтвори на багрилата, по цвета на разтворите може да се направи начален извод за вида на багрилото (фиг. 6).

Пример за приложение на предлаганите условия за идентификация на стипцови червени багрила

Анализираният обект е кожено уплътнение на шлем от могилно погребение край с. Златиница, Ямболско (IV–III в.пр.н.е.) (фиг. 7). На фиг. 8 е представена TLC-хроматограмата на излираното от обекта багрило (1) и екстракт от корени на брош (2). Двете петна са с еднакви R_f -стойности. Във

Таблица 2. Абсорбционни максимуми (λ_{max}) на анализираните багрила при различни рН

Багрило	№ на спектъра	λ_{max} (nm)		
		Фосфатен буфер, рН 8.00	Фосфатен буфер, рН 13.00	к. H ₂ SO ₄
Хематеин	1	560	554	432
Хематоксилин	2	557	558	485
Брош	3	Плато	548,560,603	Плато
Ализарин	4	520	568,610	498
Бразилеин	5	538	562	489



Фиг. 6. Цвет на багрилата в буферни разтвори с рН = 8.0, рН = 13.0 и в к. H₂SO₄ (1 – хематеин; 2 – хематоксилин; 3 – брош; 4 – ализарин; 5 – бразилеин)



Фиг. 7. Коженото уплътнение на шлем от могилно погребение край с. Златиница, Ямболско (IV – III в. пр. н. е.) – общ вид



Фиг. 8. Тънкослойна хроматограма на изолираното багрило от коженото уплътнение (1) и на екстракт от корени на брош (2)

видимата светлина петното на пробата е жълто, докато петното на броша се състои от насложено червено върху жълто петно. В корените на броша освен ализарин се съдържат пурпурин и псевдопурпурин. Насложеното червено петно в TLC-хроматограмата отговаря на последните две багрила. От този начален етап в идентификацията следва, че най-вероятно се касае за ализарин. При същите условия бе проведена препаративна тънкослойна хроматография, с което бе получено пречистено багрило за спектрофотометричното му доказване. VIS-спектрите на багрилото от коженото уплътнение в буфери с рН 8.0 и рН 13.0, сравнени със стандарт ализарин са представени на фиг. 9 и фиг. 10. Те потвърждават предположението, че кожената ивица е била багрена с ализарин. Багрилото се среща в растителните източници в смес с пурпурин и псевдопурпурин, като съотношението зависи от вида, възрастта, периода

на бране на съответното растение, а също и от условията на екстрахиране [1]. Очевидно определено съчетаване на посочените фактори е позволявало получаването на екстракт, съдържащ основно и само ализарин.

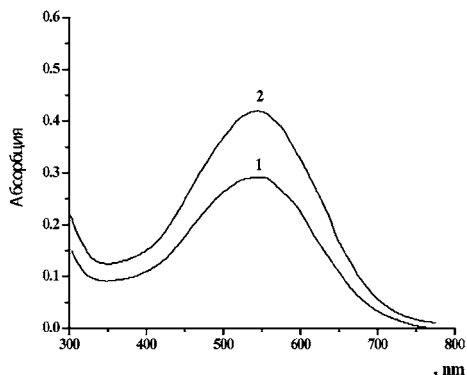
Заклучение

1. Идентификацията на стипцови багрила багрещи в червено с Al^{3+} по VIS-спектрите им в буферни разтвори дава репрезентативни и възпроизводими резултати.

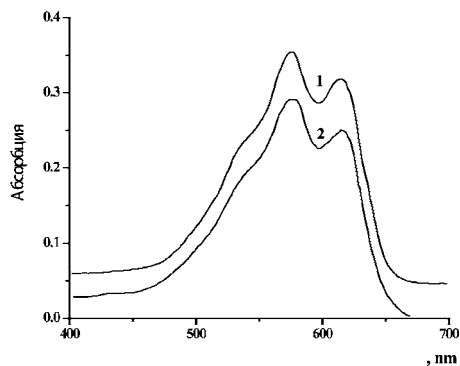
2. Същият подход може да бъде приложен при всички багрила, структурата на които силно се влияе от рН на водните им разтвори.

3. Цветът на буферните разтвори на багрилата дава ориентация за вида им.

4. Работата с буферни разтвори е безопасна в сравнение с традиционното използване на разтвори на багрилата в к. сярна киселина за идентификацията им по техните VIS-спектри.



Фиг. 9. VIS-спектри на изолираното и пречистено чрез TLC багрило (1) и ализарин (стандарт) (2) във фосфатен буфер с рН = 8.0



Фиг. 10. VIS-спектри на изолираното и пречистено чрез TLC багрило (1) и ализарин (стандарт) (2) във фосфатен буфер с рН = 13.0

ЛИТЕРАТУРА

1. Mills, J., R. White, *The organic chemistry of Museum Objects*, London, Butterworths, 1987, 75–76.
2. Kharbade, B.V., O.P. Agrawal, *Analysis of Natural Dyes in Indian Historic Textiles, Studies in Conservation*, 33, no. 1, 1988, 1–8.
3. Nikolova, D.P., M.P. Velcheva, *Ascertainment of the Original Technology for Manufacturing Leather Used for Gospel-Book Binding, Restaurator*, 17, 1996, 203–213.
4. Saltzman, M., *Identifying Dyes in Textiles, American Scientist*, 80, 1992, 474–481.
5. Справочник Химика, Издательство „Химия”, т. III, 1964, 168–178.
6. Мутафчиев, А., *Фабрикация на шефра, велур и боксове, кожи за ръкавици и лакове*, София, 1933, 38–40.
7. *Большая Медицинская Энциклопедия*, II издание, Медицинская литература, Москва, том 6, 1958, 661.
8. Aldrich, *Catalogue – Handbook of Fine Chemicals*, Germany, № 12277-7, 1999-2000, 46.

MODIFICATION OF THE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF 4-HYDROXYPROLINE FOR THE PURPOSE OF THE CONSERVATION ANALYSIS

Diana Nikolova, Ivan Goshev, Boryana Mihaylova

Summary

The paper concerns a modification of the spectrophotometric determination by *p*-dimethylaminobenzaldehyde. The suggested modification is grounded on the fact that the colour reaction of the pyrrol formation, resulting from oxidation of the imene-acid with the reagent of Erlich is accelerated by heating. The essence of the modification is reduced to identical dropping of the sample and marker substance and to measuring the absorbance of the sample compared to the marker at 556 nm before (A1556) and after heating (A2556). The difference between A2556 and A1556 is proportional to the 4-hydroxyproline available in the analyzed samples. The suggested modification has been applied to determine the presence of destructed leather strips with strung bronze spirals from an archaeological site – a symbolic burial of a Thracian priest in the surroundings of the Belish village, the Troyan district (8th-7th century BC).