

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА СВЪРЗВАТЕЛИТЕ В ПОКРИВНА БОЯ НА КОЖА ОТ ЧАНТА ОТ ВТОРАТА ЧЕТВЪРТ НА ХХ ВЕК

Диана Николова,¹ Иван Гошев²

1) Лаборатория по консервация и реставрация при Национален исторически музей, бул. Витоша 2, София 1000, България

2) Институт по органична химия с Център по фитохимия, БАН – ул. “Акад. Г. Бончев”, блок 9, София – 1113, България

I. ВЪВЕДЕНИЕ

При музейни предмети от кожа почти винаги изниква въпросът за заздравяване и общо изравняване на цвета на лицевата повърхност на кожата. Това изисква отговор на редица въпроси: било ли е нанесено цветно покритие върху кожата или тя е багрена повърхностно и с какви багрила; ако е нанесено покритие какъв е съставът му и т.н.

Апретурането на кожата е заключителна операция в тяхната обработка. Тя се изразява в нанасяне на покритие върху лицевата част на кожата с цел придаване на хубав външен вид и защита от външни влияния. Основни компоненти на апретурите са филмообразуващите вещества, оцветяващи вещества – пигменти и багрила, пластификатори и антисептици за водните апретури. Прозрачни апретури – неочветени или оцветени само с багрила, могат да се прилагат само върху идеално равномерно обаргена кожа. В болшинството случаи в апретурите се използват пигменти или смес от пигменти и багрила, тъй като в този случай покритията са плътни и прикриват дефекти

върху лицето на кожата. Поради това често тези плътни апретури се наричат покривни бои.

До към края на 17 век цветни покрития са били нанасяни върху кожата с декоративна цел, като са били използвани маслени бои. Традиционният метод за цялостна защита на лицевата повърхност на кожата от външни влияния се свеждал до нанасяне на мазнини и восъци.

От 18 век започва нанасянето на защитно лаково покритие върху кожата на база ленено масло – първоначално само ленено масло, после с добавка на пигменти, като начало сажди. Към тези смеси някои добавяли битумни вещества [1]. От края на 19 век започва прилагането на нитроцелулозни апретури [1, 2].

От началото на 20^{ти} век е добре познато използването освен на нитроцелулоза, също на шеллак и казеин като свързватели в кожарски апретури. Към края на 20^{ти} години на този век казеинът вече е утвърден като основен компонент на водните финиши [1]. Освен казеинът във водните апретури се включват и други

белтъчни вещества като албумин, желатин, а понякога и шеллак [3].

Що се отнася до цвета на покривните бои, до края на първата световна война той е бил сравнително органичен. Най-употребявани са били саждите. Използвали са се, разбира се, и природни, и синтетични багрила. Избухването на Първата световна война задържа усъвършенстването в това направление, както и в други области. След края на тази война, с развитието на синтетичната химия, в кожарската практика започва масовото навлизане на покривни бои в широка гама от цветове и постепенно въвеждане на първите синтетични свързватели в тях. Например Corialgrund A – кополимер на етилакрилат и акрилова киселина се въвежда през 1933 г. [1, 4].

От особен интерес са съставите на покривни бои на кожи от Първата половина на XX век, тъй като те отразяват прехода от старите към съвременните технологии, съответно изместването на природните от синтетичните продукти в рецептите за тяхното приготвяне.

Липсата на детайлна информация в специализираната литература, отразяваща подходите в разработването на проби от такива обекти и идентификацията на отделните компоненти, провокира интереса ни в това направление.

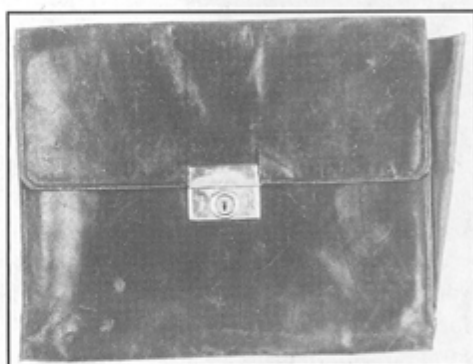
Съответно първата публикация от 1996 г. [5] бе посветена на разшифроването състава на нитроцелулозна покривна боя на кожа, датирана също от първата половина на това столетие.

Настоящата статия отразява част от анализирането на черна покривна боя на кожа. Тя включва разработването на оригиналната

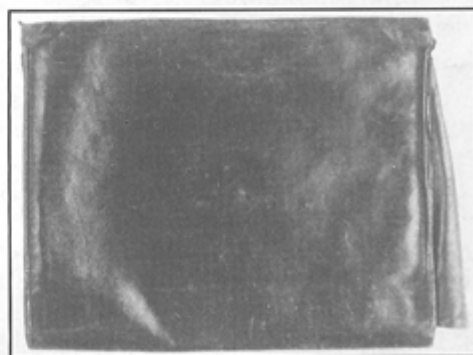
проба и идентифициране на белтъчните вещества, включени като свързвател на покритието.

II. ИЗСЛЕДВАН ОБЕКТ

Предмет на изследването е покривна боя в черен цвят върху растително дъбена кожа, използвана за изработването на ръчна чанта [фиг. 1-А, фиг. 1-В]. Предметът принадлежи към сбирка от лични



Фиг. 1 – А



Фиг. 1 – В

Фиг. 1 – А и В. Общ вид на изследвания обект преди консервация – ръчна чанта с най-вероятна датировка – 20-те – 30-те години на XX век.

вещи на видния български учен-историк проф. Васил Златарски (1866 – 1935). Предметът е собственост на Националния исторически музей – София; заведен е под N НИМ-16385.

III. СХЕМА ЗА РАЗРАБОТВАНЕ НА ПРОБАТА ОТ ОБЕКТА, МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ НА АНАЛИЗ

Повърхността на запазените, неизтрети от употреба на предмета участъци имаха силен блясък, указание за нанесен транспарентен финиш върху покривната боя. При водните покривни бои, след засъхването им, е било практика да се нанася транспарентен финиш, съдържащ казеин или казеин и албумин, за фиксиране на покривната боя и придаване на силен блясък на повърхността. Заздравяването на този финиш, наричан още лустро, се извършвало чрез напръскване с разтвор на формалин [3]. Микроскопският оглед потвърди направеното предположение. В гънките на повърхността се виждаше ясно стеклото се в тях лустро. Също така по повърхността на кожата бе установено наличие на зрънца от лустро, получени при засъхването му или недобре разтворени компоненти. Внимателно, с намокряна с амонячна вода игла, бе събрана проба от лустрото за следващия етап на изследването.

Тоталната проба от покривната боя за изследването бе взета от няколко участъка от обекта с размери около 0,5 см² с добре запазена повърхност, главно от подгъвите и откъм вътрешната част на чантата след отстраняване на лустрото. Местата за

вземане на проба бяха почистени от прах. Лустрото бе отнето много внимателно с тампон, омокрен с амонячна вода и добре изцеден. След това покривната боя бе отнемана с памучни тампони, напоени в дестилирана вода, алкализирани с амоняк (pH=9,0) и изцедени. За тампоните бе използван предварително обезмаслен с органични разтворители памук.

Отделните тампони бяха събрани заедно. Покривната боя бе отнета от тях чрез няколкократно промиване с малки количества амонячна вода. Това бе извлекът на тотална проба от покривната боя, подложен на изследване. В него боята не бе напълно разтворена.

Схемата, разработена от авторите за третиране на така получения извлек от покривната боя, включва следните процедури и анализи:

1. Центрофугиране на извлека 15 мин. при 6 000 об./мин. и стайна температура на центрофуга T-23D (Janetzki, Germany).

2. Вземане на проба от утайката след центрофугиране и определяне на основните типове субстанции в покривната боя с прилагане на качествени микрохимически реакции (2-5 µl обем на капките) и отчитане на резултатите под микроскоп (25x до 100x увеличение). Използван бе стереозум-микроскоп на Carl Zeiss, Jena, Germany.

3. Пълно разтваряне на утайката след центрофугирането с амонячна вода при разбъркване и t=30° C.

4. Обединяване на супернатантата след центрофугирането с разтворената утайка.

5. Филтруване на разтвора на покривната боя през мембранен

филтър с пропускливост 0,45 μ (MILLIPORE, USA), монтиран на спринцовка с подходящ адаптер.

6. Форс-диализа на част от разтвора за получаване на форс-диализат с обем около 500 μ l (диализен шлаух с пропускливост 6 000-8 000 Da на Serva, Feinbiochemica GmbH & Co. KG, Germany). Определяне на някои йони във форс-диализата.

7. Ультрафилтрация на разтвора на покривната боя през мембрана с пропускливост 10 kDa (производство на ДПП "Мембранна техника" към ДФ "Спартак", Бургас, България). Използвана бе ультрафилтрационна клетка с обем 50+8 ml на AMICON, USA, при максимално налягане на съгъстения азот 1,5-2,0 атм.

8. Концентриране на вакуум-изпарител и обезсоляване на разтвора чрез гел-хроматография върху колона със Sephadex G-25.

9. Ре-хроматография на сборните белтъчини елуати след обезсоляване върху Sephadex G-75.

Гел-хроматографиите бяха проведени върху колона с размери: $\varnothing=1$ см и $h=14,5$ см с елуент дестилирана вода с добавка на к. NH_4OH до рН 9,5, скорост на елуиране 2,5 ml/5 min. Сефадексите бяха набавени от Pharmacia (Uppsala, Sweden). Спектралните измервания бяха извършени на UV-VIS спектрофотометър Cary 100 (VARIAN - Varian Optical Spectroscopy Instruments, 679 Springvale Road, Mulgrave, Victoria 3170, Australia).

10. Идентификация на компонентите в обединените белтъчни елуати след ре-хроматографията.

В хода на изолирането и пречистването на протеините от

покривната боя при всички процедури бе поддържано рН на разтворите над 7,0.

Приложени бяха следните качествени реакции:

- Определяне на Fe^{+2} с калиев феррицианид $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, на Fe^{+3} с KCNS , на SO_4^{2-} с BaCl_2 , на Cl^- с AgNO_3 съгласно [6].

- Фосфатни аниони PO_4^{3-} бяха определяни по модифицирания от King метод на Fiske-Subba Row [7] при 40 пъти по-малки обеми на реагентите.

- За определянето на хидроксипролин бе приложен микровариант на реакцията на Ерлих (8), като първоначално пробата бе поставена в конична епруветка и изпарена почти до сухо. Определянето на свободни сулфхидрилни групи (-SH) в протеини за доказване на албумин бе проведено по метода на Ellman [9] със следната модификация, отнасяща се до количествата на пробата и реагентите: Изследваната проба с обем 450 μ l се поставя в конична епруветка ($h=10$ cm). Изпарява се до сухо на вакуум-изпарител. Добавят се 5 μ l фосфатен буфер с рН=8,0 за разтваряне на пробата и 5 μ l разтвор на 5,5-дитиобис-2-нитробензоена киселина (DTNB).

- Разграничаване на протеини от шеллак в смесена проба с алкален 0,05%-ен разтвор на бромкрезол пурпур [8, 10], получен, като към водния разтвор на багрилото на капки се добавя 0,1N NaOH до промяна на цвета на разтвора от жълт във виолетов.

• Доказване на задържан шеллак в ултрафилтрационните мембрани:

В алкален разтвор шеллакът се оцветява в розово [11, 12]. При закапване на к. NH_4OH върху мембраните те се оцветяват в розово, ако в порите им има шеллак.

Стандартите от казеин и яйчен албумин бяха продукти съответно на Reanal (Hungary) и BIOMED (Poland), а желатинът бе закупен като продукт за хранителни цели.

Всички останали неопоменати реагенти, използвани в изследването, бяха с висока степен на чистота, продукти на MERCK (Germany) или FLUKA (Switzerland).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

След накапване на слаб амонячен разтвор върху лицевата повърхност на кожата третираният участък става леплив. Това е най-тривиалното указание за наличието на протеинов свързвател в покритието на кожата. Микроскопският оглед на утайката от неразтворена покривна боя съгласно процедура 2, посочена в раздел III, показва, че тя е черно оцветена пихтиеста маса, която при закапване с амонячна вода с температура около 30°C набъбва с времето. Това предполага наличие на белтъчни вещества. След добавяне на капка от 5N NaOH пробата преминава в жълто оцветен разтвор, в който отсъстват пигменти частици. Оттук следва, че оцветяването на коженото покритие е постигнато с багрила. По-нататък извършените обработки на проби от утайката, приложените качествени микрохимически реакции и резултатите от тях

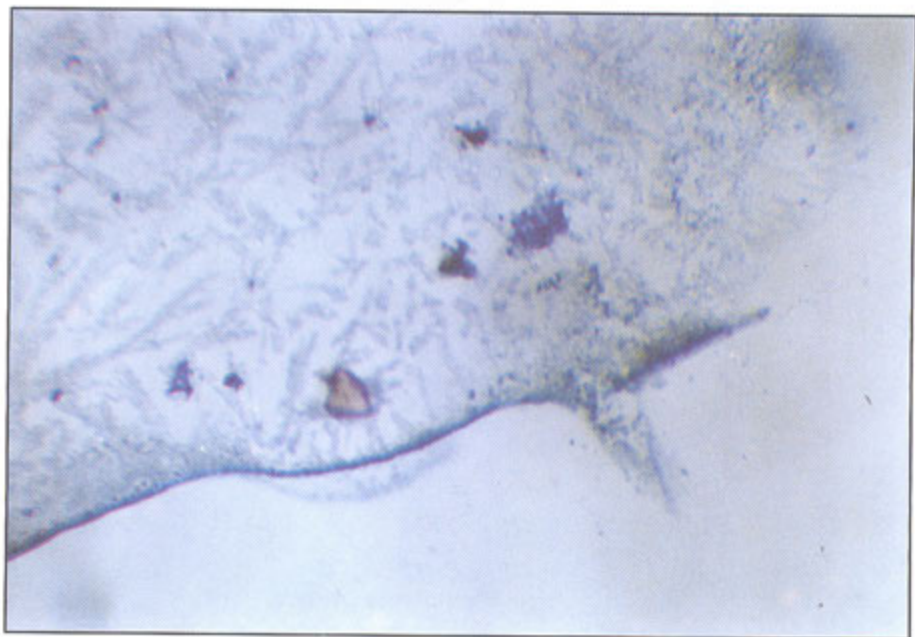
са подробно представени в таблица 1 и на фиг. 2. Изследването до тук съгласно тези резултати показва, че покривната боя е смес от протеини, шеллак и багрила. Очевидно е присъствието на природно стипцово багрило под формата на хелатен комплекс с Fe^{+3} . Тривалентното желязо е било получено за тази цел с използването на зелен камък – FeSO_4 . Последният лесно се окислява на въздуха. Още по-бързо процесът протича в алкална среда [13]. Такава среда именно е била осигурявана при подготвяне на белтъчни покривни бои, тъй като и традиционно използваният в тях казеин, и шеллакът са се разтваряли с прибавянето на амоняк или боракс към разтворите [3], така че получените на този етап резултати са в съответствие с литературните данни.

Във форсдиализата от пробата бяха установени отново SO_4^{2-} , а също така Cl^- и PO_4^{3-} . Наличието на Cl^- и PO_4^{3-} подсказва вероятната частична употреба на говежда кръв или мляко, като източници на казеин или албумин.

Остатъкът в диализното черво бе върнат обратно към разтвора на пробата. Целта на последвалата ултрафилтрация бе отделяне на шелака от разтвора. Както установихме, през ултрафилтрационната мембрана преминават протеините, а шеллакът остава в порите ѝ. След първото преминаване на разтвора през мембраната клетката бе промивана леко, като разтворът със задържаните върху мембраната протеини бе добавян към ултрафилтратата. Този сборен разтвор бе подлаган отново на ултрафилтрация през нова

ОБРАБОТКИ	РЕЗУЛТАТИ	ЗАКЛЮЧЕНИЯ
Проба 1 от утайката + H ₂ O → поливане Филтърната хартия ↑ + KCNS ↑ + K ₃ [Fe(CN) ₆] ↑ + BaCl ₂	— синьо оцветяване бяла утайка	няма Fe ³⁺ или свободно Fe ²⁺ наличие на Fe ²⁺ наличие на SO ₄ ²⁻
Проба 2 от утайката + 2N HCl → поливане Филтърната хартия след поливането → + H ₂ SO ₄ → + KCNS	филтърната хартия се оцветява жълто червено оцветяване червено оцветяване	наличие на природно багрито, синтетично или и двете - наличие на Fe ²⁺ като морфант на природно багрито
Проба 3 от утайката + 2N HCl → поливане → промиване → поливане → + алкален разтвор на Bromoresol purgle	Наблюдава се: - малки зрънца, контур на изсушената проба и орсол в небесно-син цвят; - Жълти орсол и малки жълти зрънца във виолетов контур;	наличие на протеини наличие на шелаак

Табл. 1 Обработки, анализи и резултати за доказване на основните групи компоненти в покривната боя чрез микрохимически реакции и микроскопски наблюдения.



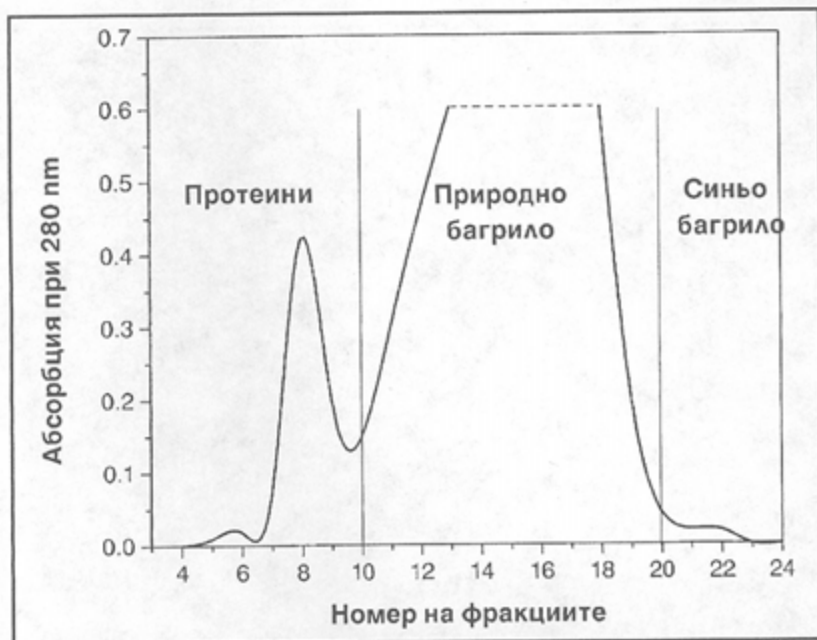
Фиг. 2 Разграничаване на основните типове свързватели в покривната боя с бромрезол пурпур съгласно обработката на проба 3, посочена в таблица 1: жълтата частица с виолетов контур е шеллак, а синьооцветените частици и синият контур на засъхналата проба са доказателство за наличие на протеини.

мембрана. Процедурата бе повторена 3 пъти, след което се постигна пълно извличане на шеллака. Контролът по извличането на шеллака бе извършен със закапване на конц. NH_4OH върху мембраните след промиване на клетката за вземане на задържащите протеини. След третата ултрафилтрация съответната мембрана не се оцвети в характерния розов цвят. При втората мембрана този ефект бе много слаб, а най-изразен – след първата ултрафилтрация.

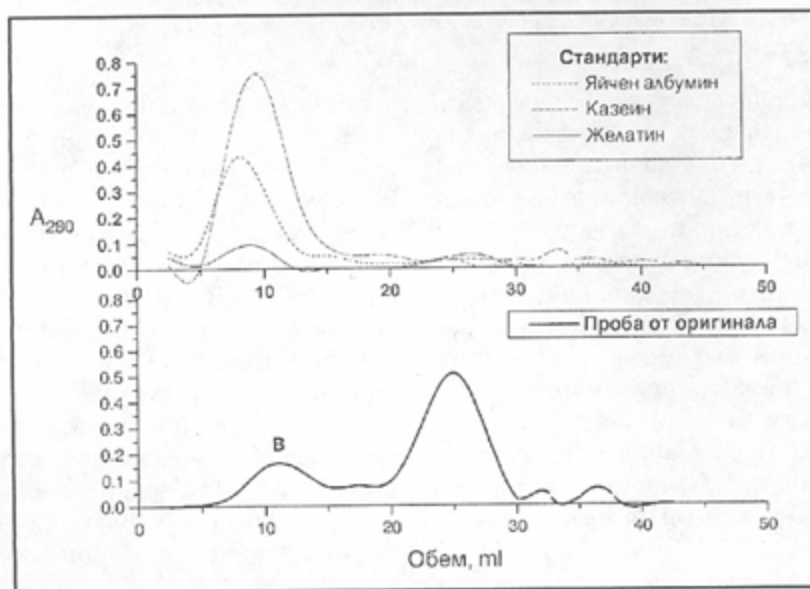
Гел-хроматографията върху Sephadex 6-25 (фиг. 3) позволи не само обезсоляване на белтъчните компоненти в пробата, но също и разделянето на протеините, природното и синтетичното багрило. Елуатите

с предполагаемото природно багрило показаха поглъщане при 280 nm и бяха жълто оцветени. Заснетите от нас спектри на ализарин, хематеин и хематоксилин в UV-региона показаха, че тези багрила имат наистина поглъщане при 280 nm. Твърде вероятно е фракциите на природното багрило да съдържат и протеини с по-ниски молекулни маси. Както е известно, традиционните в покривните бои протеини – казеин, желатин, яйчен албумин, са нехомогенни и съдържат отделни фракции с молекулни маси в диапазона 30 000 – 100 000 Da [14, 15, 16].

Основната част от протеините в пробата обаче отговаря на А пик в елуационната крива от фиг. 3.



Фиг. 3 Гел-хроматография на концентрирания разтвор на пробата от покривна боя върху Sephadex G-25.



Фиг. 4 Ре-хроматография върху Sephadex G-75 на протеините изолирани от покривната боя след хроматографията върху Sephadex G-25, както и на стандарти желатин, казеин и яйчен албумин.

С цел допълнително почистване от примеси на багрилото и евентуално ефект на разделяне по молекулярна маса обединените протеинови елуати след гел-хроматографията бяха подложени на ре-хроматография върху Sephadex G-75 (фиг. 4). За сравнение на същата фигура са дадени и елуационните криви на казеин, яйчен албумин и желатин (съответно 5,13 mg, 2,5 mg, 3,1 mg), хроматографирани върху същата колона при същите условия. Вижда се, че употребата на Sephadex G-75 е удачна и води до изолиране в максимална степен на белтъчните компоненти от пробата на покривната боя.

Сумарното белтъчно съдържание в заделените елуати, отговарящи на пик В от фиг. 4, бе изчислено на 1,2224 mg по UV-спектъра [17]. Разтворът, след обединяване на посочените елуати, бе концентриран на вакуум-изпарител до обем 1,28 ml. Този разтвор бе разделен на части, съдържащи по 450 µg, 450 µg и 320 µg протеин, използвани съответно за доказване на албумин, желатин и казеин.

Повечето протеини се състоят от един и същ вид аминокиселини. Само колагенът и неговата денатурирана форма – желатинът, съдържат специфичната иминокиселина хидроксипролин. Затова само желатинът може да бъде открит в белтъчна смес с инструментални методи, доказващи хидроксипролин.

Всеки протеин обаче има своя специфика, кодирана в неговата първична структура. Различията в първичните структури на желатин, казеин и албумин [11] са базата за идентифицирането им. Те позволяват

това да се постигне чрез прилагането на строго специфични реакции с висока чувствителност. Специфичните характеристики на посочените протеини, използвани в белтъчните кожни покрития, са посочени в таблица 2. В таблица 3 са представени съответните идентификационни реакции и резултатите от прилагането им към изолираната от покривната боя на изследвания музейен обект протеинова смес. Както се вижда от данните в таблица 3, протеиновата смес на свързващата среда в покривната боя включва казеин и албумин. Използваните белтъчни количества за отделните анализи са много по-високи от чувствителността на качествените реакции, тъй като тези реакции бяха приложени не към единични вещества, а към протеинови смеси с неизвестно съотношение на отделните компоненти. Тези количества бяха определени в съответствие с чувствителността на тези качествени реакции и съотношения на казеин, албумин и желатин в покривни бои за кожа, взети от оригинални рецепти от 30^{-те} години на века [3].

По отношение на албумина не е възможно да се докаже дали е яйчен или серумен. Позовавайки се на историческата справка и съдържанието на фосфатни и хлорни йони, би могло да се предположи, че е бил използван яйчен албумин с добавка на прецедена говежда кръв.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Свързващата среда в изследваната покривна боя за кожа е смес от албумин, казеин и шеллак. Наличието на Cl^- и PO_4^{3-} е указание за частично използване на говежда

ПРОТЕИН	Вид на протеиновия разтвор	Фосфопротеид	Наличие на хидроксипролин	Наличие на 1/2 цистин (-SH групи)
КАЗЕИН	опалесциращ	+	-	-
ЖЕЛАТИН	прозрачен	-	+	-
АЛБУМИН	прозрачен	-	-	+

Табл. 2 Специфични характеристики на казеин, желатин и албумин.

Приложена реакция	Идентификация на	Цвет при положителна реакция	Използвано количество протеин	Резултат	Изход
Реакция на Ehrlich	хидроксипролин	розово-червено	450 µg	отрицателен	няма желатин
Реакция на Ellman	-SH групи	жълто	450 µg	положителен	наличие на албумин
Реакция на Fiske - Subba Row	естерно свързан фосфор	синьо	320 µg	положителен	наличие на казеин

Вид на анализирания протеинов разтвор - опалесциращ

Табл. 3 Идентификация на протеините, изолирани от покривната боя на кожата чрез микроварианти на специфични цветни реакции.

кръв или мляко като източници на казеин и албумин.

Установено бе, че цветът на покривната боя е постигнат чрез добавяне на природно багрило под формата на хелатен комплекс с Fe^{3+} към свързващата среда. За целта е бил използван зелен камък FeSO_4 . Двувалентното желязо в него се окислява лесно до тривалентно при условията на приготвяне на покривните кожарски

бои. Вторият цветен компонент се оказа синьо, най-вероятно синтетично багрило.

Получените резултати са в съответствие с оригинални рецепти на покривни бои за кожи от втората четвърт на XX век.

Идентификацията на багрилата и компонентите на лустрото върху покривната боя са обект на предстоящо изследване.

БЕЛЕЖКИ

1. Thomson, R. S. Surface coatings & finishes In: Calnan, C. & Haines B., eds. Leather-its composition and changes with times. Northampton: The Leather Conservation Centre, 1991.
2. Шапиро, А. Е. Покривные краски и их применение в кожпромышлености, Легкая промышленность, М., 1933.
3. Мутафчиев, А. Фабрикация на шефра, велур и боксове и кожи за ръкавици и лакове, С., 1933.
4. Otto, G. Leder, 7, (1956), 252.
5. Nikolova, D. P., M. P. Velcheva. Ascertainment of the original technology for manufacturing leather used for gospel-book binding, Restaurator, 17, (1996), 203-213.
6. Загорчев, Б. Н. Аналитична химия, Техника, С., 1972.
7. Стамболова, И., Т. Чомонева, Т. Аргирова. Ръководство за практически занятия по биохимия, Наука и изкуство, С., 1978.
8. Ненов, Н. Практикум по химични проблеми в консервацията, Наука и изкуство, С., 1984.
9. Ellman, G. L. Tissue Sulfhydryl Groups, Archives of Biochemistry and Biophysics, 82 (1959), 70-77.
10. Diagnostics kits and reagents. In: SIGMA catalogue, (1996), 2414.
11. Mills, J. S., R. White. The organic chemistry of museum objects, Butherwords ed., London, 1987.
12. Vollman, H. Identification of shellac, J. Oil Colour Chem. Assoc., 40 (1957), 175-185.
13. Глинка, Н. Л. Общая химия, Госхимиздат, М., 1958.
14. Большая медицинская энциклопедия, М., 11 (1960), 1158-1159.
15. Ibid., (14), 1 (1960), 839.
16. Ibid., (14), 2 (1960), 1059-1096.
17. Cantor, C. R., P. R. Schimmel. Biophysical Chemistry Part II: Techniques for the study of biological structure and function, W. H. Freeman and company ed., San Francisco, 1980.

IDENTIFICATION OF THE BINDING MEDIUM IN THE LEATHER COATING
FROM A HANDBAG DATED SECOND QUARTER OF THE XX CENTURY

- Diana P. Nikolova – Laboratory of Conservation, National Museum of History,
2 Vitosha Str., Sofia – 1000, Bulgaria
Ivan G. Goshev – Institute of Organic Chemistry & Centre of Phytochemistry,
Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bontchev Str.,
Block 9, Sofia – 1113, Bulgaria

(Summary)

A protein mixture (casein and albumin) and shellac were found out as binding media in the coating of an vegetable tanned leather. The leather had been used for manufacturing of a handbag during the beginning of the second quarter of this century. The procedure of the group separation and the identification of the individual components of the coating is represented. It is based on biochemical separation methods and microvariants of specific reactions. Reactions distinguishing albumin, casein and gelatine in their mixture were applied for the ascertainment of the proteinaceous combination in the analysed leather coating. The total protein content of the samples used for detection of the individual substances was: for casein – 320 µg, for albumin – 450 µg and for gelatine – 450 µg. These quantities were determined in accordance with the sensitivity of the applied reactions and original protein compositions of leather coatings from 1900 – 1945.