



Identyfikacja barwników naturalnych i syntetycznych

Katarzyna Lech

Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Analitycznej,

Barwniki i barwiarstwo

Stosowanie barwników było związane z początkiem historii ludzkości. Za kolebkę sztuki farbiarskiej uznaje się południową Azję, znaną z bogatej roślinności, która dawała możliwość tworzenia szerokiego wachlarza barw i ich odcieni¹. Nie mniej jednak również w starożytnym Egipcie farbiarstwo stało na wysokim poziomie², a wiedzę tę wkrótce przejęli Izraelici i Fenicjanie, a także starożytni Grecy i Rzymianie. Zainteresowanie barwnymi tkaninami następowało tam stopniowo, w miarę podnoszenia się zamożności miast i zwiększania się wpływów Wschodu, lubującego się w jaskrawych kolorach.

Po upadku Cesarstwa Rzymskiego większość starożytnych warsztatów uległa zniszczeniu w okresie wielkiej wędrówki ludów, przez co przepadło niemal całe doświadczenie farbiarskie. Część wiedzy zachowała się w Bizancjum i na Bliskim Wschodzie³. Gdy stosunki polityczne w Europie zaczęły się stabilizować nastąpiło powolne odrodzenie tego rzemiosła, a fachowe informacje na ten temat docierały z krajów arabskich głównie do Hiszpanii, a dzięki wyprawom krzyżowym także do miast włoskich⁴.

W VIII i IX w. wśród barwników coraz większą rolę odgrywała marzana. Przy jej pomocy barwiono tkaniny przeznaczone na płaszcze rycerzy, a także znaki na płaszcach krzyżowców. Oprócz marzany najbardziej cenionymi preparatami aż do XV w. były urzet oraz czerwiec polski, a ich uprawa miała wymiar przemysłowy. Plantacje urzetu prowadzono głównie w Turyngii, na Śląsku i we Francji, natomiast marzany głównie w Niemczech, skąd eksportowano je do krajów nadbałtyckich, Holandii, Anglii oraz na Węgry⁵. Mimo że Marco Polo na początku XIV w. zwrócił uwagę na dużo lepszej jakości indygo wschodnie, to wysokie koszty jego transportu sprawiły, że farbiarze pozostali wierni rodzimym roślinom indygodajnym⁶. Inaczej przedstawiało się barwienie czerwienią zwierzęcą. Początkowo na znacznych obszarach Europy stosowano kermes, sprowadzany ze Wschodu, Półwyspu Iberyjskiego bądź północnej Afryki. W późniejszych wiekach średnich rynek został zdominowany przez czerwiec, którego hodowlę prowadzono szeroko w Niemczech, na Ukrainie oraz w Polsce (głównie na terenie Mazowsza, Małopolski, Wielkopolski, Podola i Rusi Czerwonej). W początkach XIV w. roczna produkcja

¹ E. Trepka, *Historia kolorystyki*, Warszawa 1960.

² H. E. Ahmed, *History of Natural Dyes in North Africa 'Egypt'*, [w:] *Handbook of Natural Colorants*, red. T. Bechtold, R. Mussak, Chichester 2009.

³ W. Tuszyńska, *Farbowanie barwnikami naturalnymi*, Warszawa 1986.

⁴ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.

⁵ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.

⁶ J. S. Turski, B. Więclawek, *Barwniki roślinne i zwierzęce*, Warszawa 1952.





tego barwnika wynosiła około 190 ton, a eksportowany był on do krajów całej Europy, również do Włoch, które to większość barwników, w tym marzanę, sprowadzały ze Wschodu⁷.

Znaczną rolę w handlu barwnikami oraz w rozwoju nowożytnego farbiarstwa odegrała Wenecja, która utrzymywała ścisłe stosunki z Bizancjum. Razem z Florencją i Genuą stanowiły one centralny ośrodek sztuki farbiarskiej w Europie, z którego wiedza dotycząca barwienia tkanin rozchodziła się na cały kontynent⁸. Niektóre preparaty znane w starożytności odkryto na nowo, w skutek czego u progu ery renesansu do barwienia używano już (choć na mniejszą skalę) orselię, janowiec barwierski, rezedę, jagody kruszyny, krokosz, szafran oraz mchy, a z Azji importowano także niewielkie ilości drzewa czerwonego i sandałowego oraz czerwień z szelaku⁹.

Okrycie Ameryki w roku 1492 pozwoliło docenić wysoki poziom tamtejszego farbiarstwa, szczególnie w kulturach meksykańskiej i peruwiańskiej. Nowa, bogata roślinność okazała się być źródłem szeregu dotychczas nieznanymi Europejczykom barwników. Podbój nowego kontynentu, a także odkrycie szlaku morskiego do Indii Wschodnich, zmieniło dotychczas panujące stosunki handlowe na świecie. Na rynek europejski zaczęto wprowadzać większe ilości azjatyckiego indygo, a z Ameryki środkowej importowano kampsesz, drzewo czerwone, drzewo fustykowe, orlean oraz koszenilę¹⁰. Ta ostatnia po raz pierwszy została sprowadzona na stary kontynent w roku 1518 i ze względu na dużą zawartość substancji barwiących szybko została doceniona przez europejskich farbiarzy, zastępując rodzime preparaty¹¹. Jednak dopiero w roku 1630 zastosowanie zaprawy cynowej dającej z koszenilą meksykańską żywe i trwałe wybarwienia spowodowało ostateczne wyparcie z użytku innych czerwonych barwników zwierzęcych. Handel czerwcem polskim ustał niemalże całkowicie w połowie XVI w.¹², zabierając krajom takim jak Polska zyski z jego eksportu i ograniczając dalszą rolę tego barwnika jedynie do zastosowań regionalnych¹³. W kolejnych wiekach czerwiec hodowany w krajach Europy środkowej obok szelaku i kermesu stosowano jedynie jeszcze na terenie Imperium Osmańskiego, mimo że również tam dotarła już koszenila Amerykańska. Największym uznaniem spośród czerwonych barwników cieszyła się tam jednak marzana, która była uprawiana na szeroką skalę w Anatolii, Persji i Egipcie¹⁴. W 1700 r. eksport *Rubia tinctorum* z samej Turcji pokrywał dwie trzecie światowego zapotrzebowania¹⁵. Dominacja tego surowca znalazła swoje odzwierciedlenie

⁷ S. H. P., *Czerwiec polski*, „Przyjaciel Ludu, czyli Tygodnik potrzebnych i pożytecznych wiadomości” 1835, nr 13, s. 102–103; *Starożytności polskie*, t. 1, Poznań, 1842; E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.; T. Świątki, *Opis starożytnej Polski*, t. 1, Warszawa, 1816; K. Szajnocha, *Jadwiga i Jagiełło. 1374–1413. Opowiadanie historyczne*, t. 2, Lwów 1861.

⁸ J. Balfour-Paul, *Indigo*, London 1998.

⁹ H. Zollinger, *Color Chemistry. Syntheses, Properties, and Applications of Organic Dyes and Pigments*, Weinheim 2003.

¹⁰ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.; D. Cardon, *Natural Dyes. Sources, Tradition, Technology and Science*, London 2007.

¹¹ J. H. Hofenk de Graaff, *The Colourful Past. Origins, Chemistry and Identification of Natural Dyestuffs*, London 2004.

¹² E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.; S. H. P., *Czerwiec polski...*, dz. cyt.; E. Phipps, *Cochineal Red: the Art History of a Color*, Nowy Jork 2010.

¹³ K. Kortum, *Historia naturalna o czerwcu*, „Pamiętnik Warszawski”, Warszawa 1810, t. 1, nr 1, s. 3–40.

¹⁴ R. T. Marchese, *The Fabric Of Life: Cultural Transformations In Turkish Society*, Nowy Jork 2005.

¹⁵ Y. Doğan, S. Başlar, H. H. Mert, G. Ay, *Plants Used as Natural Dye Sources in Turkey*, „Economic Botany” 2003, nr 57, s. 442-453.





w produkcji tzw. „czerwieni tureckiej” odznaczającej się piękną barwą i nadzwyczajną trwałością, choć proces jej uzyskania był bardzo żmudny i pracochłonny – trwał około 4 miesiące¹⁶.

Rozwój farbiarstwa sprawił, że stosowano coraz więcej barwników roślinnych. Największe znaczenie na rynku europejskim obok koszenili zyskały marzana, indygo, kampsz i katechu¹⁷. Na terenie Imperium Osmańskiego licznych ośrodkach farbiarskich, takich jak Bursa, Istambuł, Edirne, Tokat, Kayseri i Konya, oprócz marzany powszechnie używano galasówkę, krokosza, indygo, szakłak, alkanę, łupiny granatów, ale także rezedę i janowiec. Co więcej, Anatolia, jako lądowy łącznik między wschodem i zachodem, stanowiła ważne ogniwo w handlu tymi barwnikami z Europą¹⁸. W Polsce natomiast dużym powodzeniem cieszyły się rezeda, krokosz, berberys, brzoza, olcha, kruszyna, farbownik, rumianek i marzana oraz sprowadzane z Ameryki Południowej i Indii indygo, barwne drzewa, sandał, kwercytron i orlean¹⁹.

W XVIII w. rozpoczynający się burzliwy rozwój przemysłu, przede wszystkim włókienniczego, spowodował wzrost zapotrzebowania na barwniki, które odpowiadałyby cenowo masowo produkowanym, coraz tańszym wyrobom tekstylnym. Zastąpienie drogich barwników naturalnych tanimi i dostępnymi barwnikami syntetycznymi stawało się zadaniem niecierpiącym zwłoki. Już w roku 1771 w wyniku reakcji kwasu azotowego z indygo Peter Woulfe otrzymał kwas pikrynowy, który był zdolny do barwienia wełny i jedwabiu na żółto. Na skalę przemysłową zaczęto go jednak produkować dopiero w połowie XIX w.²⁰

Zainteresowanie naturą chemiczną preparatów barwiących przyczyniło się do rozwoju chemii organicznej. W roku 1826 wydzielono pierwszy naturalny barwnik – alizarynę, ustalając budowę tego związku. Za pierwszy właściwy barwnik syntetyczny uznaje się jednak moweinę (purpurę anilinową) uzyskaną przez Williama Perkina w roku 1856²¹. W wyniku nieudanej syntezy chininy przez utlenienie aniliny technicznej Perkin otrzymał czerwono-fioletową substancję, która potrafiła intensywnie barwić jedwab. Szybko docenił tę właściwość i już rok później w Greenford Green niedaleko Londynu zorganizował jego wytwórnię. Nowa fabryka o nazwie *Perkin&Sons* z czasem stała się miejscem produkcji innych barwników syntetycznych, dając tym samym początek przemysłowi farbiarskiemu²². To właśnie w niej opracowano pierwszą technologię barwienia jedwabiu barwnikami syntetycznymi²³.

Innym przełomowym wydarzeniem w historii barwników syntetycznych było otrzymanie fuksyny, jednak szczegóły dotyczące jej odkrycia pozostają sporne. Niektóre źródła za jej odkrywcę uznają polskiego chemika Jakuba Natansona, który w roku 1855, pół roku przed odkryciem Perkina, uzyskał ją w wyniku ogrzewania aniliny z dichloroetanem. Nowy związek o czerwonej barwie był zdolny do barwienia wełny i jedwabiu na kolor czerwony o odcieniu ładniejszym niż karminowy²⁴. Najczęściej

¹⁶ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.; R. T. Marchese, *The Fabric ...*, dz. cyt.

¹⁷ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.

¹⁸ R. T. Marchese, *The Fabric ...*, dz. cyt.

¹⁹ H. Drozdowski, *Rośliny użyteczne dla farbiarstwa*, „Chemik Polski” 1911, nr 22, s. 505-509.

²⁰ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.

²¹ R. M. Christie, *Colour Chemistry*, Cambridge 2001.

²² W. Czajkowski, *Nowoczesne barwniki dla włókiennictwa*, Łódź 2006.

²³ J. P. Murmann, *Knowledge and Competative Advantage: Coevolution of Firms, Technology, and National Industrie*, Cambridge 2003.

²⁴ R. Nietzki, *Chemistry of the Organic Dyestuffs*, Londyn 1892; J. Szadkowski, *Polski wkład w rozwój chemii barwników w XIX wieku*, „Informator Chemika Kolorysty” 2007, nr 9, s. 9-15.





jednak odkrycie to jest przypisywane francuskiemu chemikowi z Lyonu – François Emanuela Verguina, który w roku 1858 otrzymał barwnik w skutek utleniania aniliny z domieszką toluidyny²⁵.

Następne lata obfitowały w nowe odkrycia, skutkujące dalszym rozwojem przemysłu farbiarskiego, m.in. opracowanie reakcji diazowania oraz otrzymanie na drodze syntezy chemicznej związków barwiących występujących w naturze²⁶. Doprowadziło to do stworzenia nowych klas barwników, które nie miały analogów wśród barwników naturalnych. Trwałe i tanie barwniki syntetyczne masowo produkowane w pełnych coraz doskonalszych gamach kolorystycznych spowodowały prawie całkowity zanik technik naturalnego barwienia. Wiedzę o starych metodach dostarczają dziś jedynie przekazy lub doświadczenia ludów żyjących w sposób tradycyjny w izolacji od współczesnej cywilizacji.

Budowa i klasyfikacja barwników

Pierwsze podziały barwników nie opierały się na budowie chemicznej związków barwiących, która w owym czasie nie była jeszcze znana, lecz bazowały na kolorze uzyskiwanych wybarwień lub pochodzeniu preparatu. Ponieważ wszystkie barwniki pozyskiwano ze źródeł naturalnych, podział uwzględniał jedynie substancje pochodzenia mineralnego, roślinnego i zwierzęcego.

Klasyfikacja techniczna barwników

Na przestrzeni wieków ważnymi kryteriami podziału były fizyczne i chemiczne właściwości barwników decydujące o sposobie barwienia określonymi preparatami i możliwościach ich zastosowania. Klasyfikacja techniczna (użytkowa) uwzględniała budowę chemiczną, rozpuszczalność i zachowanie się substancji barwiących w stosunku do barwionych powierzchni²⁷. Na podstawie tej klasyfikacji wśród barwników naturalnych można wyróżnić barwniki: bezpośrednie, zaprawowe, kadziowe, kwasowe, a także jeden barwnik kationowy²⁸.

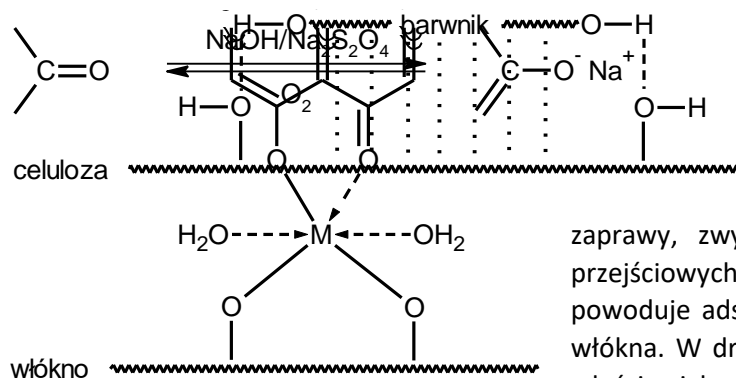
²⁵ E. Trepka, *Historia...*, dz. cyt.; M. Fort, L. L. Lloyd, *The Chemistry of Dyestuffs: a Manual for Students of Shemistry and Dyeing*, Cambridge 1919.

²⁶ R. Nietzki, *Chemistry of ...*, dz. cyt.; M. Fort, L. L. Lloyd, *The Chemistry...*, dz. cyt.; H. Zollinger, *Color Chemistry...*, dz. cyt.

²⁷ B. I. Stiepanow, *Podstawy chemii technologii barwników organicznych*, Warszawa 1980.

²⁸ W. Zieliński, A. Rajca, *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, Warszawa 2000.





Rysunek 1. Kompleks metalu na trzecim stopniu utlenienia z barwnikiem zaprawowym na włóknie

Janowiec, szakłak, drzewo filetowe, drzewo brazylijskie) i antrachinonowe (marzana, czerwiec polski, koszenila, kermes, szelak).

Barwniki bezpośrednie stanowią niewielką grupę, w której skład wchodzi głównie kurkuma, orlean i szafran, a także orselka i krokosz. Zawarte w nich związki barwiące wiążą się z włóknem celulozowym na skutek występowania dwóch typów oddziaływań: polarne grupy substancji barwiących tworzą wiązania wodorowe z grupami hydroksylowymi włókna, podczas gdy niepolarne i płaskie części cząsteczki są zatrzymywane w miejscu przez siły van der Waalsa (rysunek 2)³⁰.

Rysunek 2. Wiązania wodorowe (- - -) i dyspersyjne (.....) pomiędzy celulozą a barwnikiem bezpośrednim

Barwniki zaprawowe mogą łączyć się z włóknem, do którego nie wykazują powinowactwa. Proces barwienia przebiega dwuetapowo. W pierwszej kolejności włókno jest traktowane odpowiednim roztworem

zaprawy, zwykle soli glinu ($KAl(SO_4)_2$) lub metali przejściowych ($K_2Cr_2O_7$, $FeSO_4$, $CuSO_4$, $SnCl_2$), co powoduje adsorpcję kationów metali na powierzchni włókna. W drugim etapie włókno jest farbowane we właściwej kąpeli barwiącej, w skutek czego kationy metali łączą się z substancją barwiącą tworząc kompleks chelatowy (rysunek 1), co znajduje odbicie w zmianie barwy²⁹. Dopiero po zakończeniu procesu uzyskuje się finalny kolor farbowanego włókna. Do tej grupy należą głównie barwniki flawonoidowe (rezeda,

do siebie, tworząc powiązane ze sobą agregaty³¹. Uzyskane w ten sposób wybarwienia są odporne na działanie światła, ale nie na czynniki mokre.

Do barwników kadziowych zalicza się jedynie barwniki indygoide, tj. purpurę tyryjską, urzet oraz indygo. W procesie farbowania związki barwiące przeprowadzone w rozpuszczalną formę *leuko* dyfundują z roztworu w głąb włókna, a następnie utleniają się w jego wnętrzu tlenem z powietrza tworząc nierozpuszczalny pigment wyjściowy (rysunek 3). Jego ograniczona rozpuszczalność sprawia,

Rysunek 3. Przemiany barwnika kadziowego w procesie barwienia

że barwniki te wykazują dużą odporność na pranie, jednak są podatne na wycieranie wraz z włóknem³².

²⁹ B. I. Stiepanow, *Podstawy chemii...*, dz. cyt.; A. Timar-Balazsy, D. Easto, *Chemical Principles of Textile Conservation*, Oxford 2000.

³⁰ W. Czajkowski, *Nowoczesne barwniki...*, dz. cyt.; H. Zollinger, *Color Chemistry...*, dz. cyt.; A. Timar-Balazsy, D. Easto, *Chemical principles of textile conservation*, Oxford 2000.

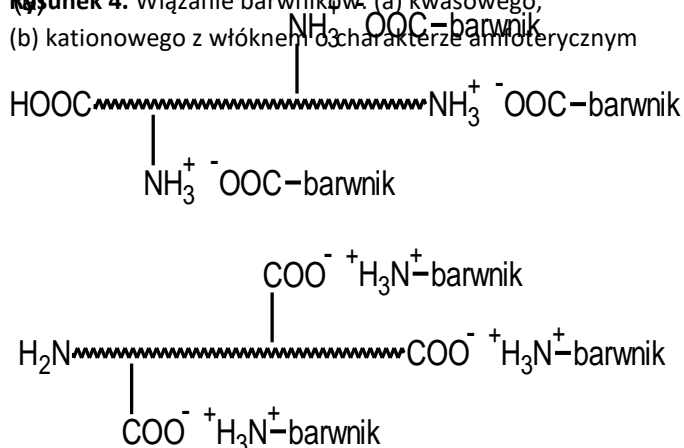
³¹ J. Mielecki, *Barwniki do włókien syntetycznych*, [w:] *Barwniki i barwienie włókien syntetycznych*, red. F. Kacprzak, Warszawa 1968.

³² A. Timar-Balazsy, D. Easto, *Chemical principles...*, dz. cyt.





Rysunek 4. Wiązanie barwników: (a) kwasowego, (b) kationowego z włóknem o charakterze amfoterycznym



Barwniki kwasowe i zasadowe w roztworze wodnym ulegają dysocjacji tworząc jony, które następnie łączą się ze zjonizowanymi grupami włókna białkowego (rysunek 4). Aniony barwników kwasowych oddziałują ze sprotonowanymi w środowisku kwaśnym grupami aminowymi, natomiast kationy barwników zasadowych z deprotonowanymi w środowisku zasadowym grupami karboksylowymi³³. Tę grupę barwników stanowią przede wszystkim barwniki syntetyczne.

Klasyfikacja chemiczna barwników

Do powstania pierwszej chemicznej klasyfikacji barwników organicznych doszło wraz z rozwojem wiedzy na temat barwników syntetycznych oraz po powstaniu teorii budowy związków organicznych. Zgodnie z nią zdolność związków organicznych do absorpcji światła zależy przede wszystkim od struktury elektronowej substancji, a także od obecności grup chromoforowych z wiązaniami nienasyconymi (np. grupy karbonylowej, nitrowej, karboiminowej, azowej, układ sprzężonych wiązań wielokrotnych)³⁴. Obecność całych układów chromoforowych, a więc tego elementu struktury, który w decydujący sposób wpływa na barwę, stanowi podstawę tworzonej od 1925 roku międzynarodowej bazy barw, powszechnie znanej jako *Color Index*, prowadzonej wspólnie przez *Society of Dyers and Colourists* oraz *American Association of Textile Chemists and Colorists*. Obejmuje ona wszystkie używane w handlu i przemyśle barwniki pogrupowane według układów chromoforowych, określa ich indywidualną nazwę oraz oznaczenie w postaci numeru CI (tabela 1)³⁵. Opracowana baza pozwala na poruszanie się w gąszczu nazw handlowych, często nadawanych w sposób prawie dowolny tym samym barwnikom przez różne firmy. Nazwy handlowe zwykle składają się z trzech części: (1) nazwy nadanej przez producenta, (2) koloru oraz (3) oznaczenia literowego określającego odcień barw (R – *red/rot*, B – *blue/blau*, G – *green/gelb*) i liczbowego określającego intensywność przesunięcia barwy³⁶.

Tabela 1. Podział barwników organicznych i zakresy numerów CI według struktury chemicznej

Barwniki	Chromofor	Zakres numerów CI	Przykład
nitrozowe	-NO	10000–10299	trwała zieleń O
nitrowe	-NO ₂	10300–10999	żółcień Martiusa
azowe	-N=N-		
monoazowe		11000–19999	żółcień metanilowa, chryzoina
diazowe		20000–29999	oranż metylowy

³³ W. Czajkowski, *Nowoczesne barwniki...*, dz. cyt.; B. I. Stiepanow, *Podstawy chemii...*, dz. cyt..

³⁴ B. I. Stiepanow, *Podstawy chemii...*, dz. cyt.; W. Zieliński, A. Rajca, *Spektroskopowe metody...*, dz. cyt.

³⁵ *Colour Index*, vol. 4, 3rd edition., Bradford 1971-1982.

³⁶ W. Czajkowski, *Nowoczesne barwniki...*, dz. cyt.





Barwniki	Chromofor	Zakres numerów CI	Przykład
triazowe		30000–34999	difenyłowa zieleń 3G
poliazowe		35000–36999	oranż azowy R
azoikowe	>N–Ar	37000–40000	rapidogen G
stylbenowe	Ar–C=C–Ar	40000–40999	diaminowy szybki brąz GB
difenyłometanowe	(Ar) ₂ C=N–	41000–41999	auramina O
trifenyłometanowe	(Ar) ₂ C=Ar	42000–44999	błękit turkusowy G, zieleń malachitowa, błękit Wiktorii B
ksantenowe	C ₁₃ H ₁₀ O	45000–45999	rodamina B, poronina B
akrydynowe	C ₁₃ H ₉ N	46000–46999	flaweozyjna, aurazyjna G, fosfina E
chinolinowe	C ₉ H ₇ N	47000–47999	żółcień chinolonowa
metinowe	–CH=C<	48000–48999	żółcień indolonowa
tiazolowe	pierścień tiazolowy	49000–49399	prymulina
indaminowe	–N=C ₆ H ₄ =N–	49400–49699	błękit fenylenowy
indofenolowe	–N=C ₆ H ₄ =O	49700–49999	indofenol
azynowe	pierścień pirolinowy	50000–50999	moweina, fiolet rodulinowy
oksazynowe	pierścień oksazynowy	51000–51999	gallocyjanina, błękit krystaliczny BBS
tiazynowe	pierścień tiazynowy	52000–52999	błękit metylenowy
siarkowe	–S–S– lub =S=O	53000–55000	czerni sulfanilowa G
laktonowe	pierścień δ-laktonowy	55000–55999	rezoflawina W
aminoketonowe	>C=O i >N–	56000–56999	mureksyd
hydroksyketonowe	>C=O i –OH	57000–57999	żółcień alizatywna C
antrachinonowe	O=C ₆ H ₄ =O	58000–72999	alizaryna, czerwień alizarynowa S
indygotynowe	–(C=O)–C=C–(C=O)–	73000–73999	<i>indygotyna, karmin indygowy</i>
ftalocyjaninowe	tetrabenzoporfirazyjna	74000–74999	jasny błękit
naturalne		75000–75999	kurkumina, apigenina, purpuryna

Związki barwiące pochodzenia naturalnego

Związki w praktyce wykorzystywane do barwienia można odnaleźć zarówno w królestwie zwierząt, roślin, jak i grzybów, a nawet wśród porostów (załącznik I). Najczęściej stosowane są preparaty roślinne. Do celów farbiarskich znalazły zastosowanie również niektóre mięczaki oraz owady³⁷.

Większość związków barwiących jest zbudowana jedynie z atomów węgla, wodoru i tlenu. W barwnikach roślinnych azot występuje stosunkowo rzadko. Jest on obecny w indygotynie i berberynie (jedynym naturalnym barwniku kationowym) oraz w ich nielicznych izomerach i pochodnych. Azot wchodzi w skład większości kwasów laktainowych, jednak są to związki

³⁷ J. H. Hofenk de Graaff, *The Colourful ...*, dz. cyt.; D. Cardon, *Natural Dyes...*, dz. cyt.





występujące jedynie w barwnikach zwierzęcych. Do związków obecnych w lakmusie i orselii azot wprowadzany jest wtórnie, w wyniku reakcji amoniaku z prekursorem, orcyną³⁸.

Związki barwiące obecne w preparatach naturalnych mogą występować zarówno w stanie wolnym, jak i w postaci glikozydów³⁹. Jeśli jedna lub kilka grup hydroksylowych aglikonu łączy się z cząsteczką cukru z utworzeniem wiązania glikozydowego O-C, to powstaje O-glikozyd. Glikozylacja może także zachodzić w wyniku bezpośredniego połączenia cukru z aglikonem za pomocą wiązania C-C, co prowadzi do utworzenia C-glikozydu⁴⁰. Wśród najczęściej przyłączanych cukrów są heksozy (Hex) takie jak glukoza (Glc) i galaktoza (Gal), rzadziej pentozy, np. ksyloza (Xyl) i arabinoza (Ara), detoksycukry jak ramnoza (Rha), czy kwasy uronowe, takie jak kwas glukuronow (GlaA) oraz kwas galakturonowy (GalA)⁴¹.

Wśród związków barwiących obecnych w naturalnych preparatach stosowanych do barwienia tkanin można wyróżnić flawonoidy, antrachinony, indygoity oraz apokarotenoidy (tabela 2)⁴². Mniej liczne są kurkuminoidy, chinochalkony, naftochinony, alkaloidy czy fenoksazyny⁴³.

³⁸ J. S. Turski, B. Więclawek, *Barwniki roślinne...*, dz. cyt.

³⁹ J. H. Hofenk de Graaff, *The Colourful ...*, dz. cyt.; D. Cardon, *Natural Dyes...*, dz. cyt.

⁴⁰ B. Abad-García, L. A. Berrueta, S. Garmón-Lobato, B. Gallo, F. Vicente, *A General Analytical Strategy for the Characterization of Phenolic Compounds in Fruit Juices by High-performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection Coupled to Electrospray Ionization and Triple Quadrupole Mass Spectrometry*, „Journal of Chromatography A” 2009, nr 1216, s. 5398-5415.

⁴¹ K. R. Markham, *Techniques of Flavonoid Identification*, London 1982; T. Iwashina, *The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants*, „Journal of Plant Research” 2000, nr 113, s. 287-299.

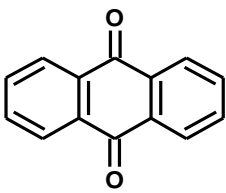
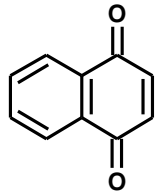
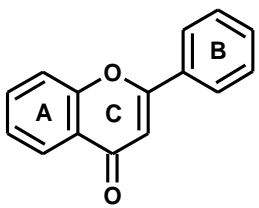
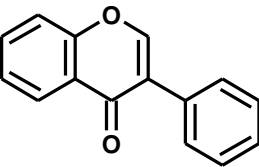
⁴² B. I. Stiepanow, *Podstawy chemii ...*, dz. cyt.; J. S. Turski, B. Więclawek, *Barwniki roślinne...*, dz. cyt.; D. Cardon, *Natural Dyes...*, dz. cyt.; T. Bechtold, R. Mussak, *Handbook of Natural Colorants*, Chichester 2009; B. Abad-García, L. A. Berrueta, S. Garmón-Lobato, B. Gallo, F. Vicente, *A General Analytical Strategy...*, dz. cyt.; E. Breitmaier, *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmace, Pheromones*, Weinheim 2006; T. Cserhati, *Liquid Chromatography of Natural Pigments and Synthetic Dyes*, Amsterdam 2006.

⁴³ D. Cardon, *Natural Dyes...*, dz. cyt.



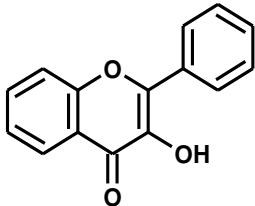
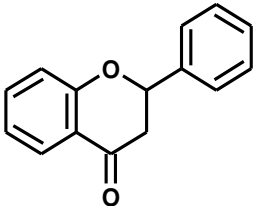
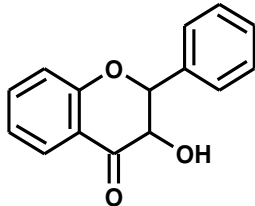
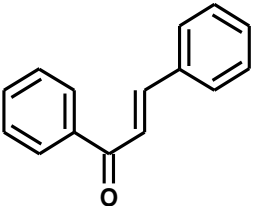
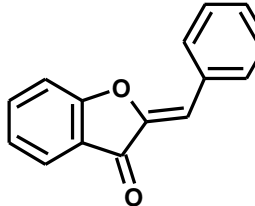
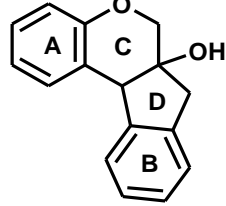
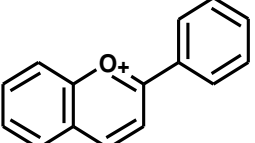
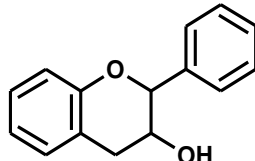


Tabela 2. Podział i charakterystyka naturalnych związków barwiących

Klasa związków	Występowanie	Charakterystyka	Właściwości
Antrachinony 	<ul style="list-style-type: none"> - korzenie, łodygi (prawdopodobnie w przestrzeni międzykomórkowej) - samice pluskwiaków (tuż przed złożeniem jaj) 	<ul style="list-style-type: none"> - pochodna antracenu zawierająca dwie grupy karbonylowe w położeniach 9 i 10 o wzorze $C_{14}H_8O_2$ - barwniki roślinne i zwierzęce - w roślinie występują w formie glikozydów; w insektach w stanie wolnym lub jako C-glikozydy 	<ul style="list-style-type: none"> - barwa: od żółtej do czerwonej - dobrze lub bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie i alkoholach
Naftochinony 	<ul style="list-style-type: none"> - korzenie, ale także liście, gałęzie i kora 	<ul style="list-style-type: none"> - związki pochodzenia roślinnego - diketonowe pochodne naftalenu zawierająca dwie grupy karbonylowe w położeniu 1 i 4 o wzorze $C_{10}H_6O_2$ 	<ul style="list-style-type: none"> - barwa: od żółtej do czerwonej - słabo rozpuszczalne w wodzie, dobrze rozpuszczalne w alkoholach i innych polarnych rozpuszczalnikach organicznych
Flawonoidy <ul style="list-style-type: none"> • flawony  <ul style="list-style-type: none"> • izoflawony 	<ul style="list-style-type: none"> - powszechne w roślinach, przede wszystkim w kwiatach (flawonole) i częściach zielonych (związki barwne występują głównie w wakuolach, pozostałe w soku komórkowym i międzykomórkowym) 	<ul style="list-style-type: none"> - związki pochodzenia roślinnego - polifenole; trójpierścieniowa struktura (pierścienie A, C, B), która powstaje z piętnastowęglowego szkieletu C6-C3-C6 - główne różnice ich właściwości wynikają z odmiennej budowy pierścienia C (na czym opiera się ich podział) - ponad 7000 przedstawicieli - w roślinie występują w stanie wolnym oraz jako O- lub C-glikozydy; flawanole, w przeciwieństwie do flawonoli nie występują w formie cukrowej - odpowiadają za żółtą barwę kwiatów i jesiennych liści - flawonole i chalkony obecne w kwiatach absorbują promieniowanie UV 	<ul style="list-style-type: none"> - barwa: żółta (z wyjątkiem antocyjanydiny, katechin i neoflawonoidów) - rozpuszczalne w wodzie, alkoholu, rozcieńczonych kwasach i alkaliach

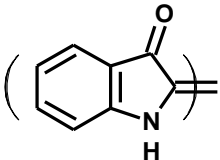
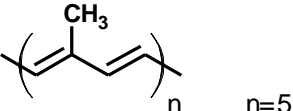
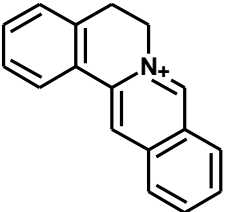




Klasa związków	Występowanie	Charakterystyka	Właściwości		
<ul style="list-style-type: none">• flawonole 	<ul style="list-style-type: none">• flawanony 	<ul style="list-style-type: none">• flawanonole 	<ul style="list-style-type: none">• chalkony 	<ul style="list-style-type: none">• aurony 	<ul style="list-style-type: none">• neoflawonoidy 
<ul style="list-style-type: none">• antocyjanidyny 	<ul style="list-style-type: none">- kwiaty, jagody (w komórkach epidermy płatków i subepidermy liści)	<ul style="list-style-type: none">- w roślinie występują w postaci glikozydów (antocyjanin)- nadają barwę wielu owocom i kwiatom	<ul style="list-style-type: none">- barwa: czerwona – w roztworach kwaśnych, fioletowe – w obojętnych, niebieskie – w alkalicznych (charakter związków amfoterycznych, wrażliwe na zmiany pH)- rozpuszczalne w wodzie i innych rozpuszczalnikach protonowych; nierozpuszczalne w rozpuszczalnikach aprotowych		
<ul style="list-style-type: none">• katechiny 	<ul style="list-style-type: none">-	<ul style="list-style-type: none">- składniki oligomerycznych i polimerycznych tanin skondensowanych, w których cząsteczki są połączone wiązaniami C-C nie ulegającymi hydrolizie			
Indygoidy	prekursory obecne w:	<ul style="list-style-type: none">- barwniki roślinne i zwierzęce			





Klasa związków	Występowanie	Charakterystyka	Właściwości
 Indygoideiny	<ul style="list-style-type: none">- liściach- gruczołach hypobranchialnych mięczaków	<ul style="list-style-type: none">- występują w organizmach żywych w postaci prekursorów; indygoideiny roślinne otrzymywane są na drodze fermentacji i utleniania, indygoideiny zwierzęce powstają w wyniku hydrolyzy enzymatycznej	<ul style="list-style-type: none">- barwa: od żółtej do niebieskiej- nierozpuszczalne w wodzie- słabo rozpuszczalne w aprotowych polarnych rozpuszczalnikach organicznych- ulegają redukcji z utworzeniem rozpuszczalnych <i>leuko</i>-form
Apokarotenoidy 	<ul style="list-style-type: none">- kwiaty, liście, nasiona, owoce, pyłek kwiatowy (występują w chloroplastach, chromoforach, a związki rozpuszczalne w wodzie także w wakuolach)	<ul style="list-style-type: none">- pomarańczowe barwniki roślinne- posiadają łańcuch węglowodorowy z układem wiązań sprzężonych (C<40)- pełnią pomocniczą rolę w procesie fotosyntezy oraz fototropizmu; absorbują promieniowanie świetlne z określonych zakresów (niebieski, fioletowy) i zapobiegają fotoutlenianiu- w liściach ich barwa jest maskowana przez zieloną barwę chlorofilu, uwidoczniają się jesienią, kiedy rozpada się chlorofil (żółte jesienne liście)	<ul style="list-style-type: none">- barwa: od żółtej do pomarańczowej- część rozpuszczalna w wodzie, pozostałe słabo rozpuszczalne w alkoholach, za to dobrze rozpuszczalne w tłuszczach
Alkaloidy izochinolinowe • protoberberyny 	<ul style="list-style-type: none">- korzenie, drewno, kora	<ul style="list-style-type: none">- związki pochodzenia roślinnego- związki o charakterze zasadowym, na bazie izochinolin (cechujące się obecnością atomu azotu w cząsteczce i układu heterocyklicznego)- w tkankach roślinnych występują często w postaci soli kwasów organicznych	<ul style="list-style-type: none">- barwa: od żółtej do pomarańczowej, czasami bezbarwne- słabo rozpuszczalne w wodzie, bardzo dobrze rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych





Klasa związków	Występowanie	Charakterystyka	Właściwości
• tetrahydroprotoberberyny	• aporfiny	• benzylotetrahydroizochinoliny	• bisbenzylotetrahydroizochinoliny
Fenoksazyny, Orseiny	prekursor (orcynol) obecne w: - porostach	- występują w organizmach żywych w postaci prekursorów - otrzymywane są na drodze reakcji z amoniakiem (w tradycyjnych przepisach jako źródło amoniaku używano moczu) i powietrzem	- barwa: od czerwonej po niebieską - nierozpuszczalne w wodzie, bardzo dobrze rozpuszczalne w alkoholu, kwasie octowym, roztworach alkaliów





Kierunki w analizie organicznych związków barwiących

Ekstrakcja związków barwiących z zabytkowych tkanin jest pierwszym i najważniejszym etapem na drodze do identyfikacji stosowanego barwnika. Skład chemiczny otrzymanego ekstraktu zależy od wielu czynników: pochodzenia barwnika, sposobu jego otrzymywania, przechowywania, narażenia na czynniki degradacji i starzenia oraz od warunków ekstrakcji.

Podstawowym czynnikiem decydującym o wyborze ekstrahenta jest rozpuszczalność substancji barwiących w odpowiednim medium. Do ekstrakcji związków dobrze rozpuszczalnych w wodzie najczęściej stosuje się roztwory wodno-alkoholowe. Antrachinony i flawonoidy są obecne w roślinach głównie w postaci polarnych glikozydów. Jako że związki te są składnikami barwników zaprawowych, uwolnienie ich z włókien wymaga w pierwszej kolejności zniszczenia wiązań występujących w kompleksach (pomiędzy związkami barwiącymi, kationem metalu i włóknem). W tym celu ekstrakcję mieszaniną wody i metanolu łączy się z hydrolizą kwasową. Zastosowanie nawet niewielkiej ilości kwasu chlorowodorowego powoduje rozpad glikozydowych pochodnych, przez co w ekstrakcie uzyskuje się jedynie ich aglikony. Takie postępowanie powoduje często utratę znacznej części informacji na temat składu mieszaniny barwiącej, a wskutek tego uniemożliwia poprawną identyfikację barwnika. Dlatego sięga się po łagodne metody ekstrakcji, z użyciem np. roztworów kwasu mrówkowego⁴⁴. W podobny sposób ekstrahuje się barwniki bezpośrednio, które z włóknem związane są za pomocą słabych oddziaływań van der Waalsa oraz wiązań wodorowych. W przypadku barwników trudno rozpuszczalnych w wodzie i alkoholach stosuje się aprotone rozpuszczalniki polarne.

Identyfikację barwników organicznych, zarówno naturalnych, jak i syntetycznych, w zabytkowych tkaninach najczęściej prowadzi się z użyciem technik, które wymagają pobrania próbki do analizy. Szczególne znaczenie ma tu połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorami spektroskopowymi, które dostarczając kompletnej informacji o składzie mieszaniny pozwala na rozdzielenie i identyfikację zawartych w niej związków barwnych.

Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) pozwala rozdzielać składniki ciekłych mieszanin na poszczególne związki na skutek ich różnych oddziaływań pomiędzy dwiema fazami, fazą stacjonarną, która jest ciałem stałym wypełniającym kolumnę, a fazą ruchomą (eluentem), która jest cieczą przepuszczoną przez kolumnę pod wysokim ciśnieniem. Najbardziej rozpowszechnionym rodzajem HPLC stosowanym do analizy związków barwiących jest tzw. chromatografia w odwróconym układzie faz (RPLC), gdzie polarna powierzchnia fazy stacjonarnej jest modyfikowana grupami niepolarnymi, najczęściej C18, rzadziej grupami C8, fenyłowymi, pentafluorofenyłowymi lub cyjanowymi. Fazę ruchomą w takim układzie stanowi mieszanina dwóch lub więcej polarnych rozpuszczalników, tj. wody lub wodnych buforów i polarnych rozpuszczalników organicznych, takich jak metanol czy acetonitryl, zdolnych do rozpuszczania analitów. Różny czas migracji poszczególnych związków przez kolumnę wynika z różnych równowag ich podziału pomiędzy fazę ruchomą i stacjonarną. W efekcie chromatografia cieczowa z odwróconą fazą ma zastosowanie do rozdzielania

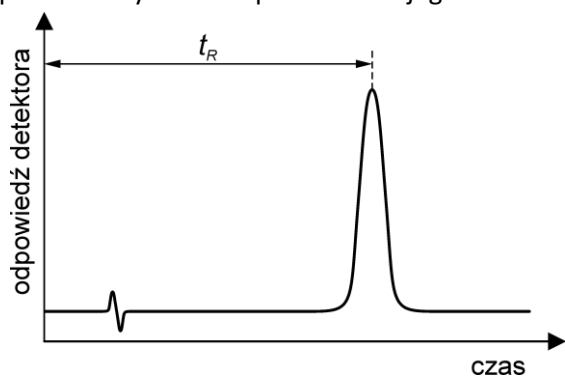
⁴⁴ X. Zhang, R.A. Laursen, *Development of Mild Extraction Methods for the Analysis of Natural Dyes in Textiles of Historical Interest Using LC-Diode Array Detector-MS*, „Analytical Chemistry” 2005, nr 77, s. 2022-2025; X. Zhang, R. Boytner, J.L. Cabrera, R. Laursen, *Identification of Yellow Dye Types in pre-Columbian Andean Textiles*, „Analytical Chemistry” 2007, nr 79, s. 1575-1582; L. Valianou, I. Karapanagiotis, Y. Chrystsoulakis, *Comparison of Extraction Methods for the Analysis of Natural Dyes in Historical Textiles by High-performance Liquid Chromatography*, „Analytical and Bioanalytical Chemistry” 2009, nr 395, s. 2175-2189.





bardzo szerokiego zakresu niepolarnych i polarnych substancji, które eluują w kolejności malejącej hydrofobowości analitów.

Podstawowe układ HPLC składa się z pompy (z mieszalnikiem), dozownika (ręcznego lub automatycznego), kolumny (serca chromatografu) i detektora połączonych ze sobą za pomocą wężyków o małej średnicy wewnętrznej (w celu zminimalizowania rozszerzalności pasma), a także urządzenia do zbierania danych, którego zadaniem jest wizualizacja sygnał detektora w postaci chromatogramu. Każdy zarejestrowany pik odpowiadaj pojedynczemu składnikowi próbki, a jego pozycja jest określana czasem retencji (t_R) definiowanym jako czas, który upłynął od zadozowania próbki do pojawienia się maksimum pik (rysunek 5). A zatem retencja jest miarą prędkości, z jaką substancja rozpuszczona przemieszcza się w układzie chromatograficznym. Identyfikacja analitu polega przede wszystkim na porównaniu jego czasu retencji z czasem uzyskanym dla roztworu wzorcowego,



Rysunek 5. Chromatogram

ale często także wymaga porównania innych informacji jakościowych, takich jak masa cząsteczkowa, absorpcja lub reemisja promieniowania elektromagnetycznego, które mogą być dostarczane przez różne detektory. W badaniach barwników wysokosprawna chromatografia cieczowa jest stosowana głównie w połączeniu z dwoma detektorami, często sprzęganymi szeregowo: detektorem spektrofotometrycznym z zakresu UV-Vis i detektorem spektrometrii mas (MS)⁴⁵.

Spektrofotometria opiera się na charakterystycznej absorpcji promieniowania ultrafioletowego i/lub widzialnego przez związki zawierające chromofory (najczęściej fragment cząsteczki zawierający wiązania wielokrotne, takie jak C=C, C=O lub C=N, lub układ sprzężonych wiązań nienasyconych, który może ulec wzbudzeniu). Z tego powodu detektor UV-Vis jest użyteczny zwłaszcza do wykrywania związków barwiących, które absorbują promieniowanie nie tylko w zakresie UV, ale również w zakresie widzialnym.

Spektrometria mas jest techniką pozwalającą na detekcję cząstek obdarzonych ładunkiem w związku z czym działanie spektrometrów mas opiera się na jonizacji obojętnych cząsteczek próbki oraz rozdzielaniu otrzymywanych jonów zgodnie ze stosunkiem ich masy do ładunku (m/z). Z uwagi na to, że analizatory mas wymagają stosowania wysokiej próżni, przy połączeniu z HPLC pojawiają się trudności wynikające z potrzeby przeniesienia analitów z roztworu do fazy gazowej. Problem dużych objętości rozpuszczalnika rozwiązano stosując odpowiednie moduły łączące działające pod ciśnieniem atmosferycznym, takie jak jonizacja po-

⁴⁵ J. H. Hofenk de Graaff, *The Colourful ...*, dz. cyt.; E. Rosenberg, *Characterisation of Historical Organic Dyestuffs by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*, „Analytical and Bioanalytical Chemistry” 2008, nr 391, s. 33-57; K. Lech, K. Połec-Pawlak, M. Jarosz, *Mass Spectrometry in Identification of Color Components of Natural Organic Dyestuffs Used in Art*, „Chemia Analityczna” 2008, nr 53, s. 479-509; K. Lech, K. Połec-Pawlak, M. Jarosz, *Characterization of Arganic Natural Dyes by Mass Spectrometry Coupled with HPLC or Capillary Electrophoresis*, [w:] red. M. P. Colombini, F. Modugno, *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*, Chichester 2009.





przez elektrorozpraszanie (ESI) umożliwiającą rozpylenie cieczy i utworzenie aerozolu składającego się z drobnych, naładowanych kropli, z których po odparowania rozpuszczalnika jony są uwalniane do fazy gazowej⁴⁶.

W procesie jonizacji poprzez elektrorozpraszanie generowane są głównie jony pseudocząsteczkowe protonowane $[M+H]^+$ (tworzone w trybie dodatnim przez przyłączenie protonu) lub deprotonowane $[M-H]^-$ (w trybie ujemnym). Na podstawie wartości m/z jonów pseudocząsteczkowych można łatwo określić masę cząsteczkową związków. Naturalne związki barwiące, a także wczesne barwniki syntetyczne zawierają w swej strukturze grupy hydroksylowe, karboksylowe, sulfonowe i aminowe, co sprawia, że ze szczególną łatwością ulegają jonizacji za pomocą elektrorozpraszania⁴⁷. Ten sposób generowania jonów jest obecnie najczęściej stosowany w analizie barwników przy użyciu techniki LC-MS⁴⁸.

Opracowania metod analitycznych do identyfikacji barwników naturalnych z użyciem techniki łączonej HPLC-UV-Vis-ESI MS sprowadzają się do określenia markerów poszczególnych preparatów barwiących. Nieoceniana jest tu tandemowa spektrometria mas (MS/MS), która umożliwia bezwzorcową identyfikację rozdzielonych substancji w oparciu o informacje strukturalne uzyskane na drodze charakterystycznych dla związku fragmentacji.

Tandemowy spektrometr mas jest najczęściej zbudowany z dwóch szeregowo połączonych analizatorów kwadrupolowych, między którymi znajduje się cela kolizyjna pozwalająca na prowadzenie kontrolowanych reakcji fragmentacji w wyniku zderzeń z cząsteczkami gazu obojętnego⁴⁹. Szeregowo połączone analizatory w takich układach mogą pracować niezależnie od siebie w różnych trybach filtrowania mas. W badaniach barwników organicznych wykorzystuje się głównie dwa z nich. Tryb przemiatań jonów potomnych (ang. *Product Ion Scan*), pozwala na fragmentację jednego jonu macierzystego, wybranego w kwadrupolu Q1, a następnie na rejestrację za pomocą kwadrupola Q3 wszystkich jonów powstałych w wyniku jego rozpadu. Wariant ten daje możliwość identyfikacji nieznanymi związków na podstawie otrzymanych fragmentów. Rozpad związków zachodzi na drodze rozerwania najsłabszych wiązań w cząsteczce, najczęściej wiązań w obrębie grup funkcyjnych lub łączących je ze szkieletem węglowym (szczególnie jeśli ten jest trwałym układem wiązań sprzężonych). W najprostszym wariantcie dochodzi do oderwania małej cząsteczki obojętnej, jednak fragment tracony w trybie dodatnim i ujemnym może być różny, z uwagi na inny przebieg reakcji fragmentacji w obu trybach. Poza tym kation parzystoelektronowy, jako wyżej energetyczny, zazwyczaj generuje więcej fragmentów niż analogiczny anion.

Tryb śledzenie wybranych reakcji fragmentacji (ang. *Multiple Reaction Monitoring*, MRM) pozwala na obserwację układów „jon macierzysty-jon potomny” wybranych w oparciu o wcześniej uzyskane widma MS/MS. W kwadrupolu Q1 następuje wybór określonych jonów macierzystych, które następnie są kolejno fragmentowane w celi kolizyjnej, a w kwadrupolu Q3 prowadzona jest obserwacja jedynie wybranych produktów tego rozpadu. Jest to analiza

⁴⁶ W. Zieliński, A. Rajca, *Spektroskopowe metody...*, dz. cyt.; E. Hoffmann, V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester 2007; C. Poole, *The Essence of Chromatography*, Amsterdam 2002; T. R. Covey, B. A. Thomson, B. B. Schneider, *Atmospheric Pressure Ion Sources*, „Mass Spectrometry Reviews” 2009, nr 28, s. 870-897.

⁴⁷ C. Poole, *The Essence of...*, dz. cyt.

⁴⁸ K. Lech, K. Połęcz-Pawlak, M. Jarosz, *Mass Spectrometry...*, dz. cyt.; K. Lech, K. Połęcz-Pawlak, M. Jarosz, *Characterization of...*, dz. cyt.

⁴⁹ C. Poole, *The Essence of...*, dz. cyt.; R. E. Ardrey, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: an Introduction*, Chichester 2003; J. H. Gross, *Mass Spectrometry*, Berlin 2004.





nastawiona na identyfikację konkretnych, przewidywanych analitów, która zarazem w najlepszy sposób maksymalizuje czułości detektora MS⁵⁰.

Zastosowana metoda analityczna

Nici ekstrahowano w dwojaki sposób w zależności od koloru włókna stosując różne warunki ekstrakcji i mieszaniny ekstrahentów. Włókna niebieskie, zielone, brązowe i fioletowe ekstrahowano przez zanurzenie ich w 50 μL dimetylosulfotlenku (DMSO). Roztwory poddawano działaniu ultradźwięków przez 10 minut, następnie ogrzewano je w temperaturze 60°C przez 25 min. Ekstrakty oddzielono od nici i dodano do nich 80 μL metanolu. Włókna po ekstrakcyjne jak i nici żółte, czerwone i pomarańczowe poddano drugiej ekstrakcji przy pomocy 50 μL mieszaniny metanolu, wody i kwasu mrówkowego w stosunku objętościowym 9:8:3. Roztwory poddawano działaniu ultradźwięków przez 15 minut, następnie ogrzewano je w temperaturze 60°C przez 25 min. Ekstrakty oddzielono od nici i rozcieńczono przez dodanie 80 μL mieszaniny metanolu i wody w stosunku objętościowym 9:8.

Analizę wyekstrahowanych związków barwiących prowadzono w ustalonych warunkach z zastosowaniem wcześniej opracowanej metody. Rozdzielanie realizowano za pomocą HPLC z użyciem kolumny z fazą stacjonarną modyfikowaną grupami fenyłowymi oraz gradientowej metody elucji z użyciem mieszaniny wody z dodatkiem 0,15% kwasu mrówkowego oraz metanolu. Identyfikacji dokonano stosując układ dwóch połączonych szeregowo detektorów: spektrofotometrycznego UV-Vis oraz tandemowego spektrometru mas z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie ESI MS/MS. Chromatogramy otrzymywane za pomocą detektora spektrofotometrycznego rejestrowano przy różnych długościach fal z zakresu UV (280 nm) oraz Vis (400, 450, 480, 550, 600 nm) dobieranych w zależności od koloru włókien, a co za tym idzie spodziewanych substancji barwnych (żółtych pomarańczowych, czerwonych, fioletowych, niebieskich). Detekcja UV-Vis pełniła głównie funkcję kontrolną i informowała o obecności związków barwnych w rozdzielonych mieszaninach. Identyfikację opierano jednak przede wszystkim na porównaniu czasów retencji wyekstrahowanych z włókien związków z czasami retencji odpowiednich substancji wzorcowych rejestrowanymi za pomocą detektora MS/MS trybie monitorowania wybranych reakcji fragmentacji (MRM) jonów dodatnich lub ujemnych. Stosowana metoda obejmowała około 190 związków naturalnych i 50 związków syntetycznych. Ponadto związki o nieznanym budowie identyfikowano w oparciu o wartościach m/z zarejestrowanych jonów pseudocząsteczkowych ($[M\pm H]^\pm$) oraz ich widma MS/MS otrzymywane w trybie jonów potomnych.

Dyskusja wyników

Za pomocą metody HPLC-UV-Vis-ESI MS/MS przeprowadzono analizę ekstraktów 340 nici pobranych z ponad 200 obiektów należących do 20 kościołów i klasztorów na terenie Krakowa. W analizowanych próbkach zidentyfikowano szereg związków barwiących (czasy retencji poszczególnych związków w załączniku II). Większość z nich, tj. antrachinony, flawonoidy i kwasy organiczne, była obserwowana w ujemnym trybie jonizacji, natomiast indygooidy, orseiny, a nawet niektóre karotenoidy w trybie jonów dodatnich. Uzyskane wyniki pozwoliły zidentyfikować przeważającą większość barwników, którymi były barwione badane włókna. Dodatkowo rozpoznano szereg związków syntetycznych, głównie kationowych, których użyto do wtórnego podfarbowania tkanin.

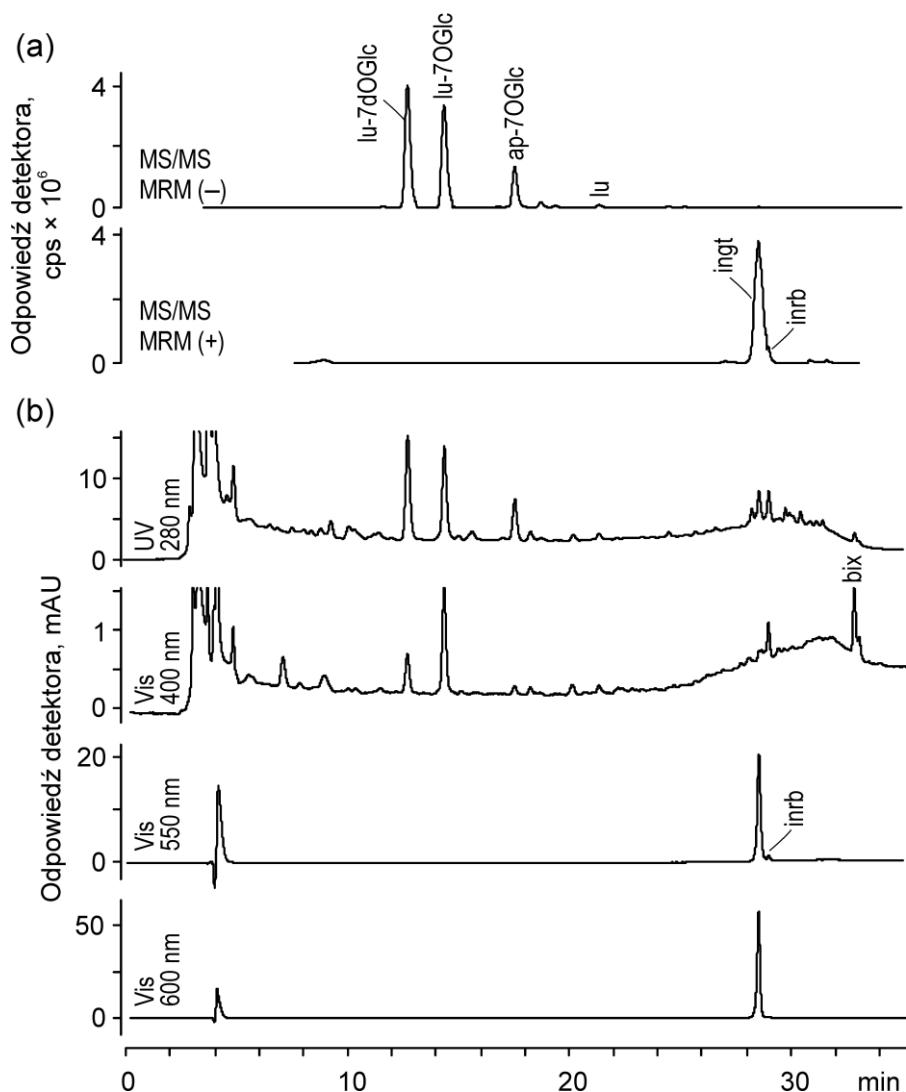
⁵⁰ C. Poole, *The Essence of...*, dz. cyt.; E. Hoffmann, V. Stroobant, *Mass Spectrometry...*, dz. cyt.; B. M. Ham, *Even electron mass Spectrometry with Biomolecule Applications.*, New Jersey 2008.





Wybarwienia niebieskie

W ekstraktach nici niebieskich zidentyfikowano przede wszystkim indygotynę (t_R 28,7 min). Była ona obserwowana na chromatogramach zarejestrowanych za pomocą detektora ESI MS/MS w trybie jonów dodatnich, a także przy długościach fali 280 i 600 nm (rysunek 6). We wszystkich ekstraktach stwierdzono również obecność izatyny (t_R 8,8 min) będącej produktem fotodegradacji indygotyny, a w części z nich również indyrubiny (t_R 29,2 min), izomeru indygotyny. Ta ostatnia była rejestrowana nie tylko przez detektor MS/MS, ale również przez detektor spektrofotometryczny przy długości fali 550 nm (co jest wynikiem jej fioletowej barwy).



Rysunek 6. Chromatogeamy ekstraktów z próbki nr 34 z Klasztoru Dominikanów zarejestrowane za pomocą detektora MS (a) i UV-Vis (b); ap-7OGlc – 7-*O*-glukozyd apigeniny, bix – biksyna, ingt – indygotyna, inrb – indyrubina, Lu – luteolina, lu-7dOGlc – 7-di-*O*-glukozyd luteoliny, lu-7OGlc – 7-*O*-glukozyd luteoliny

Obecność indygotyny jednoznacznie wskazuje, że do barwienia badanych nici zastosowano indygo (tabela 3), jednak jego proveniencja (określenie czy barwnik ten został wyprodukowany z





rośliny z rodziny *Indigofera*, *Isatis* czy innej) jest niemożliwa do ustalenia w oparciu o uzyskane wyniki. Jako że indygo jest syntezowane z prekursorów w procesie fermentacji roślin indygowidowych skład chemiczny barwnika zależy od warunków tego procesu, a nie od użytego materiału roślinnego.

Indygo z urzetu barwierskiego (*Isatis tinctoria* L.) jako rośliny rodzimej było stosowane w Europie od starożytności. Dopiero po odkryciu drogi morskiej do Indii na stary kontynent sprowadzono indygo ekstrahowane z indygowca barwierskiego (*Indigofera tinctoria* L.), jednak z uwagi na rzekomo 'diabelskie pochodzenie' jego stosowanie zostało początkowo całkowicie zakazane. Pod koniec XVI wieku zaczęto jednak importować coraz więcej azjatyckiego indygo i w XVII wieku zastąpiło ono niemal całkowicie indygo z urzetu.

W wielu ekstraktach zidentyfikowano orseliny. Ich obecność świadczyła o użyciu orselki barwierskiej, tj. filetowego barwnika bezpośredniego (patrz *Wybarwienia fioletowe*), który mógł być stosowany wspólnie z indygo w celu uzyskania głębszej, lepszej jakości niebieskiej barwy nici. W podobnym celu mogły być dodane barwniki czerwone (patrz *Wybarwienia czerwone*), zarówno pochodzenia zwierzęcego (np. koszenila czy czerwce), jak i roślinnego (np. z rodziny marzanowatych). Dodatek niewielkich ilości barwników żółtych, takich jak rezeda (*Reseda luteola* L.), janowiec barwierski (*Genista tinctoria* L.) czy szafran (*Crocus sativus* L.), stwierdzono w oparciu o obecność określonych flawonoidów i karotenoidów (patrz *Wybarwienia żółte*). Znaczna zawartość dodatkowych barwników czerwonych i żółtych mogła wpłynąć na kolor wybarwień i w konsekwencji nadać niebieskim niciom odcień fioletowy lub zielony.

Tabela 3. Barwniki zidentyfikowane w niciach niebieskich

	Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Cystersi	3/1	niebieski		indygo/urzet + orselka	
	3/2	niebieski		indygo/urzet + orselka	
	3/3	niebieski		indygo/urzet + orselka	
Dominikanie	10	niebieski		indygo/urzet + dzika marzana + orselka + ślady szafranu	
	26	niebieski		indygo/urzet + orselka	
	27	niebieski		indygo/urzet + rezeda	
	29	czerwony	niebieski	indygo/urzet + ślady rezedy	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	30	niebieski		indygo/urzet	
	34	niebieski		indygo/urzet + rezeda + orlean	
	35	niebieski		indygo/urzet	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne	
38	niebieski		indygo/urzet + orselka		
41	niebieski		indygo/urzet		
49	niebieski		indygo/urzet + ślady orselki		
63p1/l	niebieski		indygo/urzet + ślady janowca	ślady barwniki syntetyczne (zieleń malachitowa, rodamina B i fuksyna lub fuksyna karbolowa)	
66	niebieski		indygo/urzet + orselka		
Franciszkanie	12/1=13/1	niebieski	indygo/urzet		
	12/2=13/2	niebieski	indygo/urzet + koszenila amerykańska		
	12/3=13/3	niebieski	indygo/urzet		
	24=23	niebieski	indygo/urzet + orselka + dzika marzana + szafran + ślady koszenili (prawdopodobnie amerykańskiej)		
	35	niebieski	indygo/urzet + rezeda + ślady orselki		
Kameduli	6	niebieski	indygo/urzet		
	8	niebieski	indygo/urzet		
	18	niebieski	indygo/urzet + orselka		
Kapucyni	8	zielono-żółty	indygo/urzet		
	10	niebieski	indygo/urzet		
Klaryski	2	niebieski	indygo/urzet		
	13/1	niebieski	indygo/urzet		
Kościół św. Anny	2/2	żółty/naturalny	naturalny lub jasnoniebieski	ślady indygo/urzetu	ślady barwnika syntetycznego (rodamina B)





Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Kościół św. Marka	2B	niebieski		indygo/urzet + ślady marzany (nieznanego pochodzenia)	
	4	niebieski		indygo/urzet + ślady marzany (nieznanego pochodzenia)	
Kościół św. Piotra i Pawła	1a	niebieski		janowiec + indygo/urzet + ślady koszenili (nieznanego pochodzenia)	
Kościół św. Wojciecha	4/2	niebieski		indygo/urzet	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny i fuksyna lub fuksyna karbolowa)

Wybarwienia czerwone

Większość czerwonych nici była barwiona preparatami zwierzęcymi uzyskanymi z pluskwiaków z nadrodziny Coccoidea (tabela 4). Wskazywała na to wysoka zawartość w ekstraktach kwasu karminowego (t_R 11,2 min), którego pik obserwowano na chromatogramach MS/MS rejestrowanych w trybie jonów ujemnych oraz przy długości fali 480 i 500 nm. Wśród czerwonych barwników zwierzęcych zdecydowanie najczęściej identyfikowano koszenilę amerykańską z rodzaju *Dactylopius* (najprawdopodobniej *D. coccus* Costa, ewentualnie inne, np. *D. ceylonicus* Green lub *D. confusus* Cockerell). Świadczyła o tym obecność niewielkich ilości pochodnej kwasu karminowego oraz jego izomerów (dcIV i dcVII), jak również kwasu kermesowego, flawokermesowego i dcII. Co prawda podobną grupę związków znaleziono również w kilku próbkach barwionych czerwcem z rodziny *Porphyrophora*, jednak w tym przypadku zawartość kwasu flawokermesowego (t_R 23,4 min), a przede wszystkim kermesowego (t_R 24,1 min) była wyraźnie większa przy jednoczesnym niemal całkowitym braku dcII. W oparciu o uzyskane chromatogramy nie udało się jednak określić szczegółowo gatunku użytych czerwców. Na podstawie wiedzy historycznej można założyć, że badane nici były barwione czerwcem polskim (*P. polonica* L), który był szeroko stosowany w krajach śródziemnomorskich przed sprowadzeniem do Europy koszenili amerykańskiej, choć jednocześnie nie można wykluczyć, że użyto czerwca armeńskiego (*P. hamelii* L).

Identyfikacja pozostałych dwóch barwników zwierzęcych nie budziła żadnych wątpliwości. Pierwszym z nich był kermes (*Kermes vermilio* Planchon), którego ekstrakty charakteryzowały się wysoką zawartością kwasu kermesowego i flawokermesowego oraz niemalże całkowitym brakiem kwasu karminowego. W badanych próbkach barwnik ten był każdorazowo używany wspólnie z orselką, czerwono-fioletowym preparatem uzyskiwanym z porostów z rodzaju *Rocella* (patrz *Wybarwienia fioletowe*). Choć kermes wywodzi się z Bliskiego Wschodu był dobrze znany i stosowany w Europie od czasów starożytnych. W XIII wieku farbowano nim tkaniny na południu Francji i we Włoszech, a po upadku Konstantynopola z rozkazu papieża zastąpił on purpurę tyryjską w uzyskiwaniu tzw. kardynalskiej purpury. Kermes był uznawany za barwnik ekskluzywny i bardzo drogi. Po wprowadzeniu na rynek koszenili amerykańskiej stosowano go już głównie w krajach muzułmańskich.





Ostatnim zidentyfikowanym barwnikiem pochodzenia zwierzęcego była czerwień z szelaku (*Kerria lacca* Kerr lub *K. chinensis* Mahdihassan), którą barwionych było trzynaście badanych włókien. O użyciu tego barwnika świadczyła obecność w ekstraktach szeregu kwasów lakkainowych, w tym przede wszystkim kwasu lakkainowego A i B. Co więcej w przypadku sześciu próbek zidentyfikowano również indygotynę, indyrubinę oraz izatynę, których obecność dowodziła, że do ich barwienia użyto również indygo nieznanego pochodzenia (patrz *Wybarwienia niebieskie*).

W odróżnieniu od kermesu szelak nie był tak szeroko stosowany w Europie. Ten pochodzący z Indii barwnik był bardziej znany w krajach muzułmańskich. Na starym kontynencie w okresie średniowiecza stosowano go jedynie sporadycznie, a popularność zdobył dopiero w drugiej połowie XVIII wieku. Badania dowodzą jednak, że szelak wykorzystywano w Imperium Osmańskim do uzyskiwania karmazynowej czerwieni.

Barwniki z grupy marzanowatych zidentyfikowano w zaledwie pięciu próbkach w tym w jednym przypadku był on mieszany z barwnikiem zwierzęcym otrzymywanym z rodzaju *Porphyrophora*. Może to dziwić zważywszy, że marzana barwierska (*Rubia tinctorum* L.) była w Europie barwnikiem bardzo polarnym, rodzimym dla tych terenów. Może to dziwić zważywszy, że marzana barwierska (*Rubia tinctorum* L.) jako rodzimy barwnik europejski była szeroko uprawiana na kontynencie, zwłaszcza na terenie Francji i Holandii, była ona jednak stosowana głównie do barwienia wełny, znacznie rzadziej jedwabiu. Mimo to różna kompozycja antrachinonów uwidoczniła na zarejestrowanych chromatogramach pozwoliła wyróżnić trzy profile związków barwiących. Obecność wysokiego sygnału odpowiadającego alizarynie (t_R 26,4 min), purpurynie (t_R 28,4 min) i nordamnakantolowi (t_R 30,6 min) świadczy o użyciu korzeni marzany barwierskiej, podczas gdy brak nordamnakantalu może sugerować też użycie jednego z gatunków przytuliny (rodzaj *Galium*). Wysoka zawartość rubiadyny (t_R 29,2 min) przy niemal całkowitym braku alizaryny wskazuje, że próbki były prawdopodobnie barwione dziką marzaną (*Rubia peregrina* L.), z tym że barwnik ten był stosowany razem z orselką, podobnie jak drzewo brazylijskie (prawdopodobnie z rodzaju *Caesalpinia*), krokosz barwierski (*Carthamus tinctorius* L.) czy rezeda (*Reseda luteola* L.) i indygo. Mieszanki takie stanowiły jednak pojedyncze przypadki.

Częściej czerwone wybarwienia uzyskiwano za pomocą drzewa brazylijskiego stosowanego samodzielnie lub w połączeniu z koszenilą amerykańską. Barwnik ten był znany w Europie na długo przed odkryciem Ameryki, gdyż jego azjatycki gatunek (brezylkę sappan *Caesalpinia sappan* L.) importowano już w średniowieczu. W praktyce używano głównie drewno pozyskiwane z wewnętrznej części pnia brezylki sappan pochodzącą z południowej Azji, a w późniejszym okresie również z brezylki ciernistej (*C. echinata* L.) i modrzejca (*Haematoxylum brasiletto* Karst.) z Ameryki Południowej. Drzewo brazylijskie zostało zidentyfikowane w kilku próbkach na podstawie charakterystycznego profilu chromatograficznego obserwowanego za pomocą detektora MS/MS w trybie jonów ujemnych. Ekstrakty nici barwionych tym preparatem zawierały brazylinę lub jej izomery, brazyleinę (t_R 7,1 min), protosappaninę B (t_R 6,8 min) oraz tzw. caesC (t_R 13,7 min) i caesD (t_R 9,3 min), tj. związki o nieznaney budowie typowe dla rodzaju *Caesalpinia*.

W części badanych włókien stwierdzono również użycie innych preparatów, na przykład barwników taninowych (patrz *Wybarwienia brązowe*), flawonoidowych czy karotenoidowych (patrz *Wybarwienia żółte i pomarańczowe*). Orlean w XVII i XVIII wieku często był stosowany w celu rozjaśnienia wybarwień uzyskanych przy użyciu koszenili.





Tabela 4. Barwniki zidentyfikowane w niciach czerwonych

Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Bernardynki	5	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	6	czerwony		koszenila amerykańska	
	7i9	czerwony		koszenila amerykańska	
	8	czerwony		koszenila amerykańska	
	11	czerwony		koszenila amerykańska	
Cystersi	4	czerwony		koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu	
	8	czerwony		koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu i orselki	ślady barwnika syntetycznego (rodamina B)
Dominikanie	1	czerwony		koszenila amerykańska	
	2/1	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
	2/2	czerwony		koszenila amerykańska	
	2/3	czerwony		kermes + orselka	
	2/4	czerwony		koszenila amerykańska	
	3dl/1	czerwony		koszenila amerykańska	
	3dll/2	czerwony		koszenila amerykańska + ślady drzewa brazylijskiego + ślady indygo/urzetu	
	5d/1	czerwony		koszenila amerykańska	
	5d/2	czerwony		koszenila amerykańska	
	6/1	czerwony		koszenila amerykańska	
	6/2	czerwony		kermes + orselka	
7/1	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny i fuksyna lub nowa fuksyna)	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
7/2	czerwony		koszenila amerykańska	
7/3	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny i fuksyna lub nowa fuksyna)
8/3	czerwony		koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu	
9	czerwony		koszenila amerykańska	
13/1	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny i fuksyna lub nowa fuksyna)
13/2	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwniki syntetyczne (fiolet krystaliczny, eozyna i fuksyna lub nowa fuksyna)
13/3	czerwony		koszenila amerykańska	
15A	czerwony		koszenila amerykańska	
15B	czerwony		koszenila amerykańska	
16d/1	czerwony		czerwiec polski lub czerwiec armeński	
16d/2	czerwony		koszenila amerykańska	
17B/1	czerwony		kermes + orselka	
17B/3	czerwony		kermes + orselka	
18	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny, rodamina B i fuksyna lub nowa fuksyna)
20	czerwony	czerwony	czerwiec polski lub czerwiec armeński + ślady indygo/urzetu	barwnik syntetyczny (rodamina B)
22/1	fioletowy	czerwony lub fioletowy	dzika marzana + orselka + ślady szafranu	barwniki syntetyczne (eozyna, fiolet krystaliczny i fuksyna lub nowa fuksyna)





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
22/II	fioletowy	czerwony lub fioletowy	dzika marzana + orselka + ślady koszenili (prawdopodobnie amerykańskiej)	barwniki syntetyczne (eozyna, fiolet krystaliczny i fuksyna lub nowa fuksyna)
24	czerwony		koszenila amerykańska	
28	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny i eozyna)
39	fioletowy	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny	barwnik syntetyczny (fiolet krystaliczny)
44	czerwony		koszenila amerykańska	
45a	czerwony		koszenila amerykańska	
46	czerwony		koszenila amerykańska	
47	czerwony		koszenila amerykańska	
48	czerwony		czerwiec polski lub czerwiec armeński	
50	czerwony	czerwony lub pomarańczowy	drzewo brazylijskie	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
51	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
54a/1	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
54a/2	czerwony / fioletowy	czerwony	koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński	barwnik syntetyczny (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
54a/3	czerwony / fioletowy	czerwony	koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński	barwnik syntetyczny (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
55a/1	czerwony		koszenila amerykańska	
56a	czerwony		koszenila amerykańska	
58	czerwony		szelak + ślady indygo/urzetu	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
60p	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
62f	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
63p1/II	czerwony		koszenila amerykańska	
64	czerwony		drzewo brazylijskie	
65f	czerwony		koszenila amerykańska	
71	czerwony		koszenila amerykańska	
72/1	czerwony		koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński	
72/2	czerwony		koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński	
Franciszkanie				
3	czerwony		koszenila amerykańska	
3a	czerwony		koszenila amerykańska	
4	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
5	czerwony		koszenila amerykańska	
6/1	czerwony		koszenila amerykańska	
6/2	czerwony		koszenila amerykańska + ślady drzewa brazylijskiego	
7/1	czerwony		koszenila amerykańska	
7/2	czerwony		koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu	ślady barwnika syntetycznego (fuksyna lub nowa fuksyna)
8/1	czerwony		koszenila amerykańska	
8/2	czerwony		koszenila amerykańska	
8/3	czerwony		koszenila amerykańska	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
9	czerwony		koszenila amerykańska	
10/1	czerwony	naturalny, jasny różowy lub fioletowy	brak lub być może koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński	barwniki syntetyczne (fiolet krystaliczny i fuksyna lub fuksyna karbolowa) + nieznaną żółty barwnik syntetyczny
10/2	czerwony	naturalny, jasny różowy lub fioletowy	brak lub być może koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński	barwniki syntetyczne (fiolet krystaliczny i fuksyna lub fuksyna karbolowa) + nieznaną żółty barwnik syntetyczny
11/2	czerwony		koszenila amerykańska	
17/1	czerwony		koszenila amerykańska	
17/2	czerwony		koszenila amerykańska	
18	czerwony		orselka + rezeda + indygo/urzet	
21	czerwony		orselka + indygo/urzet + ślady koszenili (nieznanego pochodzenia) i prawdopodobnie rezedy	
22	czerwony		drzewo brazylijskie	
26	czerwony		koszenila amerykańska	
27	czerwony		koszenila amerykańska, czerwiec polski lub czerwiec armeński + ślady janowca, indygo/urzet	ślady barwników syntetycznych (zieleń malachitowa i fuksyna lub nowa fuksyna)
29	czerwony		koszenila amerykańska	
31	czerwony		kermes + orselka	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
32	czerwony		koszenila amerykańska	
Kameduli	3	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
	7	czerwony	koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu	
	16/1	czerwony	koszenila amerykańska + orselka + indygo/urzet	
Kapucyni	1	czerwony	koszenila amerykańska	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
	3	czerwony	koszenila amerykańska + ślady elagotanin	
	9	czerwony	koszenila amerykańska	
Karmelici na Piasku	1	czerwony / fioletowy	koszenila amerykańska	
	2/1	czerwony	koszenila amerykańska + ślady drzewa brazylijskiego i prawdopodobnie szafranu	
	2/2	czerwony	koszenila amerykańska	
	2/3	czerwony	koszenila amerykańska	
	2/4	czerwony	koszenila amerykańska	
	5	czerwony	koszenila amerykańska	
	6	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny	
	9	czerwony / fioletowy	koszenila amerykańska	
	10	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny	
	11	czerwony	koszenila amerykańska	
	12/1	czerwony / fioletowy	koszenila amerykańska	
	15	czerwony	koszenila amerykańska	
	16	czerwony	koszenila amerykańska	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne	
Klaryski	1	czerwony	marzana (prawdopodobnie barwierska) + ślady drzewa brazylijskiego		
	2/2	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
	7	czerwony		koszenila amerykańska + elagotanimy	
	8	czerwony		koszenila amerykańska	
	9	czerwony		koszenila amerykańska + elagotanimy	
	10	czerwony		koszenila amerykańska	
	12b/2	czerwony		koszenila amerykańska + orlean	
	13/2	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwniki syntetyczne (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
	14/2	czerwony		drzewo brazylijskie + koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu	
	15/2	czerwony		koszenila amerykańska + elagotanimy	
	16	czerwony		koszenila amerykańska	
	17	czerwony		koszenila amerykańska + elagotanimy	
	20	czerwony		marzana (prawdopodobnie barwierska) + ślady drzewa brazylijskiego	
	21	czerwony		koszenila amerykańska + elagotanimy	
	22	czerwony		koszenila amerykańska	
Kościół Bożego Ciała	1/2	czerwony	koszenila amerykańska + janowiec		





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
2=17	czerwony / fioletowy		szelak	
3/1	czerwony		koszenila amerykańska + elagotaniny	
3/2	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwnika syntetycznego (rodamina B)
4/1	czerwony		szelak	
4/2	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fiolet krystaliczny)
4/3	czerwony		szelak	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fiolet krystaliczny)
5	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska + drzewo brazylijskie	barwnik syntetyczny (rodamina B)
6/1	czerwony / fioletowy		kermes + orselka	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
6/2	czerwony		kermes + orselka	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
7	czerwony		koszenila amerykańska + elagotaniny + prawdopodobnie szafran	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fiolet krystaliczny)
8	fioletowy	czerwony	szelak	barwniki syntetyczne (rodamina B i fiolet krystaliczny lub jego pochodna)
12	czerwony		koszenila amerykańska	
12/1	czerwony		koszenila amerykańska	
12/2	czerwony		koszenila amerykańska	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne	
	12/4	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny		
	19=20	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny		
Kościół Bożego Miłosierdzia	1/2	czerwony	szelak + ślady indygo/urzetu		
	1/3	czerwony	szelak + ślady indygo/urzetu		
	1/4	czerwony	szelak + ślady indygo/urzetu		
	1/6e	czerwony	szelak + indygo/urzet		
	2	czerwony	szelak + ślady indygo/urzetu		
	3e	czerwony	koszenila amerykańska + ślady indygo/urzetu		
Kościół św. Anny	4	czerwony	koszenila amerykańska		
	5	czerwony	koszenila amerykańska		
Kościół św. Katarzyny	1/1	czerwony	koszenila amerykańska		
	1/2	czerwony	koszenila amerykańska + ślady drzewa brazylijskiego		
Kościół św. Marka	5	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny		
	5/3	czerwony	koszenila amerykańska		
	6	czerwony	czewiec polski lub czewiec armeński		
	7	czerwony	drzewo brazylijskie		
	8/2	czerwony	drzewo brazylijskie + orlean		
	11	czerwony	koszenila amerykańska		
Kościół św. Piotra i Pawła	2	czerwony	czerwony	prawdopodobnie czewiec polski lub czewiec armeński	barwnik syntetyczny (rodamina B)





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
3	czerwony	czerwony lub pomarańczowy	drzewo brazylijskie + orselka + szafran + koszenila (nieznanego pochodzenia)	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
3c	czerwony		koszenila amerykańska	
4	czerwony	czerwony lub pomarańczowy	krokosz + orselka + szafran	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
5	czerwony		koszenila amerykańska	
6	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwniki syntetyczne (fuksyna lub nowa fuksyna i rodamina B)
7	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska + ślady drzewa brazylijskiego	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
8	czerwony		koszenila amerykańska	
11	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
14f	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
16/1	czerwony		drzewo brazylijskie + koszenila (pochodzenie nieznanne, możliwy czerwec polski lub czerwec armeński) + orlean	
16/2	czerwony		koszenila amerykańska + ślady orselki	
17	czerwony		koszenila amerykańska + elagotaniny + ślady indygo/urzetu	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)
manipularz	czerwony		koszenila amerykańska + elagotaniny	
ornat	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)





Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
	stula	czerwony	czerwony	koszenila amerykańska + elagotaniny	barwniki syntetyczne (fuksyna lub nowa fuksyna i rodamina B)
Kościół św. Szczepana	1/1	czerwony		koszenila amerykańska	
	1/2	czerwony		koszenila amerykańska	
	3/1	czerwony		koszenila amerykańska	
	4	czerwony		koszenila amerykańska	
	6/1	czerwony		koszenila amerykańska	
	6/2	czerwony		koszenila amerykańska	
	8	czerwony		koszenila amerykańska	
Kościół św. Wojciecha	2	czerwony		czerwiec polski lub czerwiec armeński + ślady marzany (prawdopodobnie barwierskiej) lub przytuliny	
Misjonarze	2	czerwony		koszenila amerykańska	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fuksyna lub nowa fuksyna)
	3	czerwony	czerwony	szelak	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	4	czerwony		koszenila amerykańska	
	5	fioletowy	czerwony	koszenila amerykańska	barwniki syntetyczne (fuksyna lub nowa fuksyna i ślady fioletu krystalicznego)
Paulini na Skalce	1	czerwony		koszenila amerykańska	
	2/3/1	czerwony		czerwiec polski lub czerwiec armeński	
	2/3/2	czerwony		szelak	
	3/2	czerwony		szelak	
	5	czerwony		koszenila amerykańska	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Reformaci	1	czerwony	koszenila amerykańska	

Wybarwienia fioletowe

Głównym barwnikiem identyfikowanym we fioletowych włóknach (tabela 5) była orselka, czerwono-fioletowy barwnik bezpośredni pozyskiwany z porostów z rodzaju *Rocella* (prawdopodobnie *Rocella tinctoria* DC. lub *Rocella phycopsis* Ach., *Rocella fuciformis* DC., *Rocella phycopsis* Ach.). O jej użyciu świadczyła obecność na chromatogramach MS/MS otrzymanych w trybie jonów dodatnich szeregu orsein, związków o szkieletcie 10H-fenoksazyny, które nie są jednak syntezowane bezpośrednio przez porosty lecz powstają na skutek reakcji ich prekursorów z amoniakiem. Orselka nie była jednak stosowana samodzielnie lecz w mieszaninach z innymi barwnikami, głównie indygo (patrz *Wybarwienia niebieskie*), ale również koszenili amerykańskiej (rodzaj *Dactylopius*), drzewa kampezesowego (*Haematoxylum campechianum* L.) czy janowca barwierskiego (*Genista tinctoria* L.) (patrz *Wybarwienia żółte*). Tylko w ekstrakcie jednej nici fioletowej nie odnotowano obecności orsein. W tym przypadku fioletowa barwa została otrzymana przez połączenie błękitu indygo z czerwienią koszenili amerykańskiej (patrz *Wybarwienia czerwone*).

Orselka była stosowana w Europie w starożytności, jednak wiedza na jej temat zniknęła wraz z upadkiem cesarstwa zachodniorzymskiego. Barwnik ten wrócił do użytku dopiero na przełomie XIII i XIV wieku, choć ze względu na jego niską odporność na światło w drugiej połowie XVII wieku ograniczono jego stosowanie we francuskich ośrodkach barwierskich. Zabieg ten jednak nie wyeliminował orselki z rynku europejskiego.

Tabela 5. Barwniki zidentyfikowane w niciach fioletowych

Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Dominikanie	19	fioletowy	indygo/urzet + koszenila amerykańska + orselka	
Kameduli	5	fioletowy	indygo/urzet + orselka	
	13/1	fioletowy	indygo/urzet + orselka + ślady drzewa kampezesowego	
Kościół Bożego Ciała	13	niebieski z odcieniem fioletu	fioletowy orselka + koszenila amerykańska + indygo/urzet	barwniki syntetyczne (rodamina B, fiolet krystaliczny i/lub nieznan barwnik niebieski)
Kościół Bożego Miłosierdzia	1/1	fioletowy	indygo/urzet + orselka + koszenila amerykańska + ślady janowca	





Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
	1/5	fioletowy		indygo/urzet + orselka + janowiec	
Kościół św. Barbary	5	niebieskofioletowy		indygo/urzet + orselka	
Kościół św. Marka	1	fioletowy		koszenila amerykańska + indygo/urzet	

Wybarwienia żółte i pomarańczowe

Wybarwienia żółte i pomarańczowe były uzyskiwane za pomocą wielu barwników stosowanych głównie w różnych kombinacjach (tabela 6). Przypadków stosowania pojedynczych preparatów było niewiele. Na podstawie profili chromatograficznych zarejestrowanych za pomocą spektrometru mas w trybie monitorowania jonów ujemnych zidentyfikowano głównie barwniki flawonoidowe, na przykład żółcień z rezedy, żółcień z janowiec, drzewo fizetowe, krokosz czy drzewo brazylijskie. Ten ostatni, mimo że znane głównie jako barwnik czerwony (patrz *Wybarwienia czerwone*), był stosowane również do uzyskiwania żółtobrązowych wybarwień, co znajduje odzwierciedlenie w wielu badaniach. Najczęściej jednak towarzyszył on innym żółtym barwnikom, zarówno flawonoidowym, jak i karotenoidowym.

Rezeda (*Reseda luteola* L.) jest jednym z najstarszych żółtych barwników europejskich. Była szeroko stosowana na całym kontynencie. Zawiera ona przede wszystkim luteolinę (t_R 21,1 min) oraz jej glikozydowe pochodne, m.in. 7-O-glukozyd luteoliny (t_R 14,1 min) i 3',7-di-O-glukozyd luteoliny (t_R 12,3 min), a także apigeninę (t_R 24,2 min), diosmetynę (t_R 25,0 min) i 7-O-glukozyd apigeniny (t_R 17,3 min). Podobny profil chromatograficzny jest obserwowany w przypadku janowca barwierskiego (*Genista tinctoria* L.), jednak jego skład jest wzbogacony o genisteinę (t_R 21,6 min) i genistynę (t_R 12,5 min) przy jednoczesnym braku 3',7-di-O-glukozyd luteoliny.

Innym barwnikiem flawonoidowym jest żółcień pozyskiwana z twardej drzewa fustykowego (*Cotinus coggygria* Scop.). Ten europejski preparat był często używany do barwienia nie tylko na żółto, ale także do otrzymywania kolorów mieszanych. Zawiera on głównie sulfuretinę (t_R 19,6 min), a także fizetynę (t_R 16,3 min), fustynę (t_R 9,3 min), a w niektórych przypadkach także heksozyd sulfuretiny (t_R 13,2 min).

Krokosz barwierski (*Carthamus tinctorius* L.) w starożytności był znany i stosowany głównie w Azji. Do Europy dotarł w czasach nowożytnych przez Egipt. Barwnik ten może być używany do uzyskiwania wybarwień czerwonych, ale w Europie znacznie częściej był stosowany do barwienia włókien na żółto lub pomarańczowo. Efekt taki uzyskiwano przez zastosowanie prostej kąpieli wodnej z kwiatów krokosza zawierającej jedynie żółte związki barwiące z grupy chalkonów o nieznanym budowie strukturalnej oznaczane jako ct1-ct6. Kartamina, główny czerwony związek barwiący występujący w płatkach krokosza, nie jest rozpuszczalny w wodzie, zatem nie jest obecny w kąpieli wodnej, a jego ekstrakcja z płatków krokosza wymaga zastosowania roztworów alkaliów.

Oprócz barwników flawonoidowych zarejestrowano również sygnały pochodzące od żółtych związków karotenoidowych, składowych barwników bezpośrednich. Barwniki te nie były jednak stosowane pojedynczo, a jedynie w mieszaninach z innymi preparatami. W nielicznych próbkach





zidentyfikowano krocetynę (t_R 30,4 min) świadczącą o użyciu szafranu (*Crocus sativus* L.) i biksynę (t_R 32,8 min) wskazującą na to, że nić była barwiona orleanem (*Bixa orellana* L.). Ekstrakcja tych związków z włókien jest jednak bardzo trudno z uwagi na sposób w jaki wiążą się one z włóknem. Ponadto ich budowa strukturalna sprawia, że jedynie w niewielkim stopniu ulegają one jonizacji poprzez elektrorozpraszanie, co przekłada się na niską intensywność pików.

W badanych niciach zidentyfikowano też różne inne barwniki, na przykład czerwone (koszenilę czy szelak) lub niebieskie (indygo), wpływające na uzyskiwany odcień wybarwień.

Tabela 6. Barwniki zidentyfikowane w niciach żółtych i pomarańczowych

Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne	
Bernardynki	3	żółty	rezeda + koszenila amerykańska + szelak		
	4	pomarańczowy	krokosz + orlean + ślady indygo/urzetu		
Dominikanie	12	żółty	janowiec + drzewo fizetowe		
	33	żółty	drzewo fizetowe	ślady barwnika syntetycznego (błękit metylenowy)	
	52e/3/II	żółty	janowiec + orlean + drzewo fizetowe		
	53f	czerwony	pomarańczowy	drzewo brazylijskie + krokosz	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	55a/2	czerwony	czerwony lub pomarańczowy	drzewo brazylijskie + orlean	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	61	czerwony	czerwony lub pomarańczowy	drzewo brazylijskie + krokosz + szafran	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	68	żółty		janowiec + ślady drzewa fizetowego	
	69a	żółty		rezeda	
Franciszkanie	11/1	żółty	krokosz		
	11/3	żółty	drzewo brazylijskie + orlean		
	25/1	żółty	drzewo brazylijskie + drzewo fizetowe		





Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
	28	żółty		drzewo brazylijskie	
	37	żółty		drzewo brazylijskie + rezeda + szafran + elagotaniny	
Kapucyni	4	pomarańczowy		drzewo brazylijskie + krokosz	
	6	pomarańczowy		drzewo brazylijskie	ślady barwnika syntetycznego (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
	7	pomarańczowy		drzewo brazylijskie + krokosz	
Karmelici na Piasku	7	pomarańczowy		drzewo brazylijskie	
Klaryski	12b	pomarańczowy		krokosz + ślady drzewa fizetowego i być może nieznanego żółtego barwnika flawonoidowego	
Kościół Bożego Ciała	9	niebieski	żółty	janowiec	barwniki syntetyczne (rodamina B, fiolet krystaliczny i/lub nieznanym barwnik niebieski)
Kościół św. Anny	7e	pomarańczowy		drzewo brazylijskie + orlean	
Kościół św. Barbary	2	czerwono- pomarańczowy		krokosz	
	4	pomarańczowy		drzewo brazylijskie + janowiec	
	9	pomarańczowy		krokosz	
Kościół św. Piotra i Pawła	9	żółty		janowiec + indygo/urzet	
Misjonarze	7	fioletowy	żółty lub pomarańczowy	drzewo brazylijskie + rezeda + drzewo fizetowe + ślady koszenili (nieznanego pochodzenia)	barwniki syntetyczne (fuksyna lub nowa fuksyna i barwnika podobnego do fioletu krystalicznego)





Wybarwienia zielone

Wszystkie zielone wybarwienia były uzyskane za pomocą mieszaniny barwników, niebieskiego i żółtego (tabela 7). Na podstawie uzyskanych chromatogramów w każdej z nici zidentyfikowano indygo (patrz *Wybarwienia niebieskie*) oraz inny żółty barwnik flawonoidowy. Najczęściej była to rezeda oraz janowiec barwierski (patrz *Wybarwienia żółte i pomarańczowe*), dwa najbardziej popularne żółte barwniki europejskie. Niektóre nici były jednak barwione z użyciem ziela sierpika barwierskiego (*Serratula tinctoria* L.). Świadczył o tym charakterystyczny profil chromatograficzny otrzymany w trybie jonów ujemnych, zbliżony do rezedy, jednak obok luteoliny i 7-*O*-glukozydu luteoliny występowały w nim również piki pochodzące od *O*-glukuronidów luteoliny (t_R 14,8 i 17,2 min). W ekstraktach trzech nici zidentyfikowano też związki typowe dla jagód szklaku (z rodzaju *Rhamnus* L.), to jest głównie emodynę (t_R 29,7 min), a także triglikozydy różnych flawonoidów z grupy flawanoli. Zgodnie ze źródłami literaturowymi zarówno sierpik jak i szklak były często stosowane do uzyskiwania kolorów mieszanych, w tym zieleni.

Ponadto stwierdzono użycie trzech nieznanach żółtych barwników flawonoidowych. Kompozycję związków pierwszego z nich (nieznany żółty barwnik flawonoidowy I) stanowiły luteolina, a także jej *O*-glukozyd, *O*-glukuronid oraz *C*-heksozyd. Profil chromatograficzny drugiego z barwników (nieznany żółty barwnik flawonoidowy II) był dość ubogi. Zidentyfikowano jedynie hyperozyd (t_R 12,7 min) oraz niewielki sygnał pochodzący od rutyny (t_R 12,1 min), a także dwa intensywne piki nieznanego pochodzenia. Dodatkowe badania MS/MS oraz analiza ekstraktów zhydrolizowanych za pomocą roztworu kwasu chlorowodorowego wykazały, że prawdopodobnie są to *O*-hesozyd kemferolu i izoramnetyny.

Trzeci barwnik miał najbardziej złożoną kompozycję (nieznany żółty barwnik flawonoidowy III). Podobnie jak poprzednio w ekstraktach zarejestrowano piki pochodzące od rutyny i hyperozydu, ale także szereg innych sygnałów. Wyniki analizy MS/MS dostarczyły informacji na temat ich budowy, ale okazały się nie być wystarczające do ich identyfikacji. Badania wykazały jednak, że pik obserwowany o czasie retencji 21,0 min pochodzi nie od luteoliny lecz od innego związku o tej samej masie cząsteczkowej ($[M-H]^-$ o m/z 285) i częściowo podobnej ścieżce fragmentacji. Potwierdzono również obecność jego etylowanej pochodnej (t_R 27,2 min, $[M-H]^-$ o m/z 299). Badania wykazały też obecność licznych *O*-ramnozydowanych ($[M-H]^-$ o m/z 591, 593 i 621) i *O*-heksozydowanych związków ($[M-H]^-$ o m/z 447) o budowie zbliżonej do flawonoidowej.

Tabela 7. Barwniki zidentyfikowane w niciach zielonych

Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Bernardynki	2	zielony		janowiec + indygo/urzet	
Cystersi	7/2	zielony		janowiec + indygo/urzet	
Dominikanie	4d	zielony		rezeda + indygo/urzet	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
8/3	zielony		janowiec + indygo/urzet	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny i fuksyna lub nowa fuksyna)
20	zielony		janowiec + indygo/urzet	
21	zielony		janowiec + indygo/urzet + ślady orselki	
23	zielony		janowiec + indygo/urzet + ślady orselki	
25	zielony		rezeda + indygo/urzet	
31	zielony		nieznany żółty barwnik flawonoidowy I + indygo/urzet	
36	zielony		szakłak + indygo/urzet	
37	zielony		nieznany żółty barwnik flawonoidowy II + indygo/urzet	
40/1	zielony		rezeda + indygo/urzet	ślady barwnika syntetycznego (fuksyna lub fuksyna karbolowa)
40/2	zielony		rezeda + indygo/urzet	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fuksyna lub nowa fuksyna)
40/3	zielony		rezeda + indygo/urzet + orselka	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fuksyna lub nowa fuksyna)
42	zielony		nieznany żółty barwnik flawonoidowy II + indygo/urzet	
57a	zielony		sierpik + indygo/urzet	
59p	zielony		janowiec + indygo/urzet	
73	zielony		janowiec + indygo/urzet	





Próbka		Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Franciszkanie	00	zielony		nieznany żółty barwnik flawonoidowy III + indygo/urzet + ślady marzany nieznanego pochodzenia	
	14/1	zielony		rezeda + indygo/urzet + ślady orselki	
	14/2	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	15/1	zielony		janowiec + indygo/urzet	
	15/2	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	16	zielony		janowiec + indygo/urzet	
	19	zielony		nieznany żółty barwnik flawonoidowy III + indygo/urzet + ślady marzany nieznanego pochodzenia	
	20	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	20/1	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	20/3	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	25/2	zielony		janowiec + indygo/urzet	
	29	zielony		janowiec + indygo/urzet	
	33	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	33e	zielony		rezeda + indygo/urzet + ślady orselki	
Kameduli	15/1	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	25	zielony		nieznany żółty barwnik flawonoidowy III + indygo/urzet	
Kapucyni	2	zielony		rezeda + indygo/urzet	
	5	zielono-niebieski		szakłak + indygo/urzet	
Karmelici na Piasku	3	zielony		szakłak + indygo/urzet	ślady barwników syntetycznych (fiolet krystaliczny)
	4	zielony		krokosz + indygo/urzet	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne	
	8	zielony	rezeda + indygo/urzet + ślady orselki		
	12/2	zielony	janowiec + indygo/urzet		
Klaryski	14/1	zielony	janowiec + indygo/urzet + ślady orselki		
	15/1	zielony	janowiec + indygo/urzet		
	18	zielony	rezeda + indygo/urzet		
Kościół Bożego Ciała	1/1	zielony	janowiec + indygo/urzet		
	10/2	zielony	janowiec + indygo/urzet		
	11	zielony	rezeda lub janowiec + indygo/urzet		
	11/2	żółtozielony	janowiec + indygo/urzet		
	14	zielony	rezeda + indygo/urzet		
	15	zielony	janowiec + indygo/urzet		
	16=10/1	zielony	janowiec + indygo/urzet		
	18	zielony	janowiec + sierpik + indygo/urzet		
Kościół św. Piotra i Pawła	10	zielony	janowiec + indygo/urzet + koszenila (nieznanego pochodzenia) + drzewo brazylijskie + orselka	ślady barwnika syntetycznego (fiolet krystaliczny)	
	12d	zielony	janowiec + ślady koszenili (nieznanego pochodzenia)	ślady barwników syntetycznych (rodamina B i fiolet krystaliczny)	
	13a	czerwony	zielony	janowiec + koszenila (nieznanego pochodzenia) + indygo/urzet	barwnik syntetyczny (fuksyna lub nowa fuksyna)
	15	zielony	janowiec + indygo/urzet		
	kapa-kaptur	zielony	rezeda + indygo/urzet + orselka + ślady koszenili (nieznanego pochodzenia)		
	kapa-plaszcz	zielony	rezeda + sierpik + indygo/urzet + ślady koszenili (nieznanego pochodzenia)		





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Kościół św. Anny	2/2	zielony	janowiec + indygo/urzet	
	3	zielony	rezeda + indygo/urzet	
	5	zielony	rezeda + indygo/urzet	
Kościół św. Barbary	1	zielony	janowiec + indygo/urzet	
	2	zielony	nieznany żółty barwnik flawonoidowy II + indygo/urzet	
	3A	zielony	janowiec + indygo/urzet + ślady orselki	
	6	zielony	prawdopodobnie rezeda + indygo/urzet	
	7	zielony	sierpik + indygo/urzet + ślady janowca	
Kościół św. Marka	3	zielony	rezeda + indygo/urzet	
	8	zielony	rezeda + indygo/urzet	
Kościół św. Szczepana	5/1	zielony	rezeda + indygo/urzet	
	5/2	zielony	rezeda + indygo/urzet	
	7	zielony	rezeda + janowiec + indygo/urzet	
Kościół św. Wojciecha	1	zielony	sierpik + indygo/urzet	
Misjonarze	1	zielony	zielony	barwnik syntetyczny (żółcień Martiusa, fiolet krystaliczny, nieznany niebieski lub zielony barwnik)
	6	zielony	sierpik + indygo/urzet	
Paulini na Skalce	2/1	niebiesko-zielony	rezeda + indygo/urzet	
	3/1	zielony	rezeda + sierpik + indygo/urzet + ślady orselki	
	4/1	zielony	janowiec + sierpik + indygo/urzet	





Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
4/2	zielony		indygo/urzet + krokosz	

Wybarwienia brązowe

Większość brązowych wybarwień (tabela 8) była uzyskana przez zastosowanie indygo (patrz *Wybarwienia niebieskie*) oraz jakiegoś czerwonego (patrz *Wybarwienia czerwone*) lub żółtego barwnika (patrz *Wybarwienia żółte*), często wraz z orselką (patrz *Wybarwienia fioletowe*). Podobny efekt był też uzyskiwany przez użycie jednego z czerwonych barwników, zarówno zwierzęcych, jak i roślinnych, na odpowiedniej zaprawie, również taninowej.

Tabela 8. Barwniki zidentyfikowane w niciach brązowych

Próbka	Kolor włókna	Kolor oryginalny	Barwniki oryginalny	Barwniki wtórne
Dominikanie	8/1	brązowy	rezeda + indygo/urzet + orselka + szafran	
	8/2	brązowy	koszenila amerykańska + orselka + indygo/urzet + szafran	
	11	brązowy	rezeda + indygo/urzet + orselka	
	17a	brązowy	drzewo fizetowe + ślady indygo/urzetu	
	17B/2	brązowy	drzewo fizetowe	
	32	brązowy	marzana	
	67h	brązowy	elagotaniny (nieznanego pochodzenia) + ślady indygo/urzetu	
Karmelici na Piasku	13	pomarańczowo-brązowy	dzika marzana + elagotaniny	
Kościół św. Anny	6/2	brązowy	koszenila amerykańska + ślady drzewa brazylijskiego	
Kościół św. Szczepana	3/2	brązowoczerwony	kermes + orselka + ślady indygo/urzetu	

Barwniki syntetyczne

Wczesne barwniki syntetyczne zostały zidentyfikowane w 71 badanych próbkach. Były one stosowane na nici oryginalne wcześniej barwione preparatami naturalnymi. O ich obecności informowały charakterystyczne profile chromatograficzne złożone z sekwencji pików odpowiadających



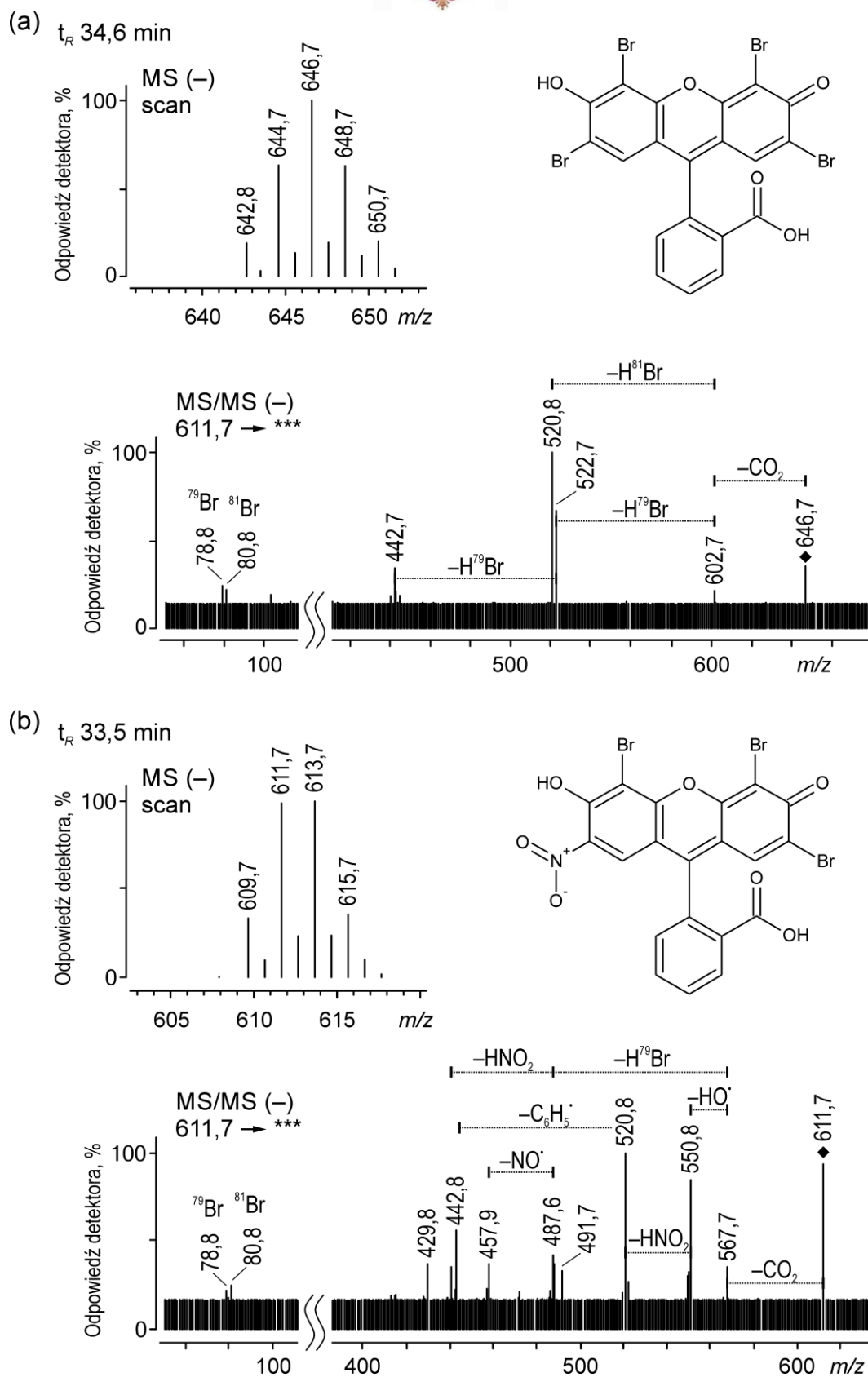


mieszaniu podobnych substancji barwnych. Związki te stanowiły produkty uboczne syntezy właściwych barwników, bądź też powstały na skutek ich fotodegradacji, najczęściej przez utratę kolejnych podstawników z metylowanych lub etylowanych grup aminowych (co znajdowało swoje odzwierciedlenie w ich coraz krótszych czasach retencji). W ten sposób niektóre barwniki, jak na przykład fiolet krystaliczny i błękit metylowy lub fuksyna i nowa fuksyna, składają się z mieszaniny tych samych związków barwiących, przez co ich rozróżnienie w oparciu o profile chromatograficzne jest niemożliwe, zwłaszcza w odniesieniu do próbek historycznych narażonych na wieloletnią ekspozycję na działanie światła.

W badanych włóknach stwierdzono obecność głównie barwników kationowych z grupy triarylometanowych oraz ksantenowych, które z uwagi na budowę chemiczną (występowanie grupy aminowej) były rejestrowane przez detektor MS jedynie w trybie jonów dodatnich. Wśród identyfikowanych barwników były głównie fiolet krystaliczny (CI 42555), fuksyna (CI 42510) bądź nowa fuksyna (CI 42520) oraz rodamina B (CI 45170) często używane w mieszaninach. Były one stosowane głównie do uzyskania wybarwień czerwonych, niebieskich i fioletowych. Oprócz tego dwie próbki były barwione zielenią malachitową (CI 42000), a w jednym przypadku zidentyfikowano ślady błękitu metylenowego (CI 52015), barwnika z grupy związków tiazynowych. Znacznie rzadziej włókna były podbarwiane barwnikami kwasowymi, wśród których stwierdzono użycie jedynie mieszaniny eozyny (CI 45380) i eozyny BMX (CI 45400) należących do grupy barwników ksantenowych oraz żółcieni Martiusa (CI 10315) – barwnika nitrowego. Preparaty te zidentyfikowano bezwzorcowo, jedynie na podstawie danych uzyskanych za pomocą spektrometru mas w trybie jonów ujemnych.

Eozyna została zidentyfikowana wyłącznie w niciach pobranych z obiektów z kolekcji Dominikanów. Charakterystyczny profil izotopowy jonu $[M-H]^-$ na widmach MS eozyny (uzyskane w trybie przemieszczania pełnego zakresu m/z) pozwoliły potwierdzić obecność bromu – czterech atomów w przypadku eozyny (t_R 34,6 min) oraz dwóch w pochodnej I eozyny BMX (t_R 33,5 min). Widma MS/MS jonów pseudocząsteczkowych ukazały różnice w ich fragmentacji (rysunek 7). W przypadku eozyny obserwowano głównie oderwanie się grupy karboksylowej w postaci CO_2 oraz utratę jednej lub dwóch cząsteczek HBr. Na widmach pochodnej I eozyny BMX dodatkowo było widoczne rozerwanie bądź utrata grupy nitrowej (HO^* , NO^* , HNO_2).



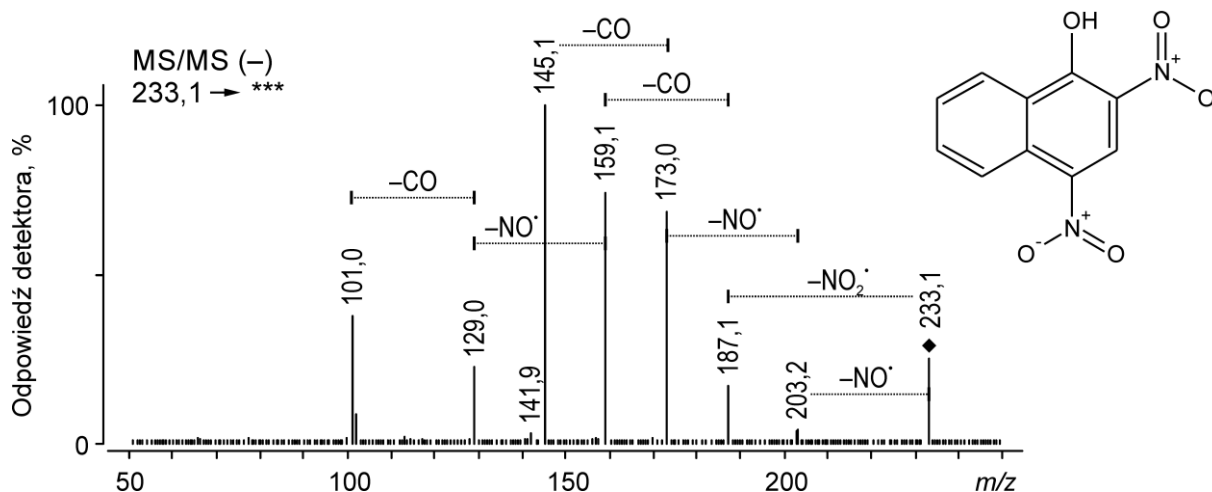


Rysunek 7. Widma MS eozyny (a) i pochodnej I eozyny BMX (b) zarejestrowane w trybie pełnego przemiatania jonów ujemnych z powiększonym profilem izotopowym jonu $[\text{M}-\text{H}]^-$ oraz widma MS/MS wybranego sygnału z tego profilu





W przypadku żółcieni Martiusa obserwowano tylko jeden pik o czasie retencji 27,9 min. Widmo MS/MS otrzymane dla jonu $[M-H]^-$ o m/z 233,1 (rysunek 8) ukazało utratę tlenków azotu (NO^* , NO_2^*) wskazującą na obecność dwóch grup nitrowych oraz utratę cząsteczki CO sugerującą obecność grupy hydroksylowej lub karbonylowej. Obserwacje te pozwoliły ustalić budowę związku.



Rysunek 8. Widmo MS/MS żółcieni Martiusa zarejestrowane w trybie jonów ujemnych dla jonu $[M-H]^-$ o m/z 233,1

Ponadto obok żółcieni Martiusa w badanej próbce stwierdzono również użycie innego barwnika syntetycznego. Na chromatogramach otrzymanych za pomocą detektora spektrofotometrycznego zauważono dwa piki o t_R 6,5 i 8,0 przy długości fali 550 i 600 nm min, które wskazywały na to, że odpowiadające im związki są prawdopodobnie barwy niebieskiej lub zielonej. Obecność innego niebieskiego barwnika (t_R 30,9 min) wykryto w dwóch niciach pochodzących z paramentów z Bazyliki Bożego Ciała. W oparciu o chromatogramy wysunięto przypuszczenie, że barwnik ten może być pochodną fioleto krystalicznego, jednak podobnie jak w poprzednim przypadki nie udało się ustalić jego budowy.

BIBLIOGRAFIA

Colour Index, vol. 4, 3rd edition., Bradford 1971-1982.

Starożytności polskie, t. 1, Poznań, 1842.

Abad-García B., Berrueta L. A., Garmón-Lobato S., Gallo B., Vicente F., *A General Analytical Strategy for the Characterization of Phenolic Compounds in Fruit Juices by High-performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection Coupled to Electrospray Ionization and Triple Quadrupole Mass Spectrometry*, „Journal of Chromatography A” 2009, nr 1216, s. 5398-5415.

Ahmed H. E., *History of Natural Dyes in North Africa 'Egypt'*, [w:] *Handbook of Natural Colorants*, red. T. Bechtold, R. Mussak, Chichester 2009.



NARODOWY PROGRAM
ROZWOJU HUMANISTYKI



Uniwersytet Papieski
Jana Pawła II
w Krakowie



- Ardrey R. E., *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: an Introduction*, Chichester 2003.
- Balfour-Paul J., *Indigo*, London 1998.
- Bechtold T., Mussak R., *Handbook of Natural Colorants*, Chichester 2009.
- Breitmaier E., *Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmace, Pheromones*, Weinheim 2006.
- Cardon D., *Natural Dyes. Sources, Tradition, Technology and Science*, London 2007.
- Christie R. M., *Colour Chemistry*, Cambridge 2001.
- Covey T. R., Thomson B. A., Schneider B. B., *Atmospheric Pressure Ion Sources*, „Mass Spectrometry Reviews” 2009, nr 28, s. 870-897.
- Cserhati T., *Liquid Chromatography of Natural Pigments and Synthetic Dyes*, Amsterdam 2006.
- Czajkowski W., *Nowoczesne barwniki dla włókiennictwa*, Łódź 2006.
- Doğan Y., Başlar S., Mert H. H., Ay G., *Plants Used as Natural Dye Sources in Turkey*, „Economic Botany” 2003, nr 57, s. 442-453.
- Drozdowski H., *Rośliny użyteczne dla farbiarstwa*, „Chemik Polski” 1911, nr 22, s. 505-509.
- Fort M., Lloyd L. L., *The Chemistry of Dyestuffs: a Manual for Students of Chemistry and Dyeing*, Cambridge 1919.
- Gross J. H., *Mass Spectrometry*, Berlin 2004.
- Ham B. M., *Even Electron Mass Spectrometry with Biomolecule Applications.*, New Jersey 2008.
- Hofenk de Graaff J. H., *The Colourful Past. Origins, Chemistry and Identification of Natural Dyestuffs*, London 2004.
- Hoffmann E., Stroobant V., *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester 2007.
- Iwashina T., *The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants*, „Journal of Plant Research” 2000, nr 113, s. 287-299.
- Kortum K., *Historia naturalna o czerwcu*, „Pamiętnik Warszawski”, Warszawa 1810, t. 1, nr 1, s. 3–40.
- Lech K., Połec-Pawlak K., Jarosz M., *Mass Spectrometry in Identification of Color Components of Natural Organic Dyestuffs Used in Art*, „Chemia Analityczna” 2008, nr 53, s. 479-509.
- Lech K., Połec-Pawlak K., Jarosz M., *Characterization of Arganic Natural Dyes by Mass Spectrometry Coupled with HPLC or Capillary Electrophoresis*, w: M. P. Colombini, F. Modugno (ed.) „Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology”, Chichester 2009.
- Marchese R. T., *The Fabric Of Life: Cultural Transformations In Turkish Society*, Nowy Jork 2005.
- Markham K. R., *Techniques of Flavonoid Identification*, London 1982.
- Mielecki J., *Barwniki do włókien syntetycznych*, [w:] *Barwniki i barwienie włókien syntetycznych*, red. F. Kacprzak, Warszawa 1968.





- Murmann J. P., *Knowledge and Competitive Advantage: Coevolution of Firms, Technology, and National Industries*, Cambridge 2003.
- Nietzki R., *Chemistry of the Organic Dyestuffs*, Londyn 1892.
- Phipps E., *Cochineal Red: the Art History of a Color*, Nowy Jork 2010.
- Poole C., *The Essence of Chromatography*, Amsterdam 2002.
- Rosenberg E., *Characterisation of Historical Organic dyestuffs by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*, „Analytical and Bioanalytical Chemistry” 2008, nr 391, s. 33-57.
- S. H. P., *Czerwiec polski*, „Przyjaciół Ludu, czyli Tygodnik potrzebnych i pożytecznych wiadomości” 1835, nr 13, s. 102–103.
- Stiepanow B. I., *Podstawy chemii technologii barwników organicznych*, Warszawa 1980.
- Szadkowski J., *Polski wkład w rozwój chemii barwników w XIX wieku*, „Informator Chemika Kolorysty” 2007, nr 9, s. 9-15.
- Szajnocha K., *Jadwiga i Jagiełło. 1374–1413. Opowiadanie historyczne*, t. 2, Lwów 1861.
- Święcki T., *Opis starożytnej Polski*, t. 1, Warszawa, 1816.
- Timar-Balazsy A., Easto D., *Chemical Principles of Textile Conservation*, Oxford 2000.
- Trepka E., *Historia kolorystyki*, Warszawa 1960.
- Turski J. S., Więclawek B., *Barwniki roślinne i zwierzęce*, Warszawa 1952.
- Tuszyńska W., *Farbowanie barwnikami naturalnymi*, Warszawa 1986.
- Valianou L., Karapanagiotis I., Chrysoulakis Y., *Comparison of Extraction Methods for the Analysis of Natural Dyes in Historical Textiles by High-performance Liquid Chromatography*, „Analytical and Bioanalytical Chemistry” 2009, nr 395, s. 2175-2189.
- Zhang X., Boytner R., Cabrera J.L., Laursen R., *Identification of Yellow Dye Types in pre-Columbian Andean Textiles*, „Analytical Chemistry” 2007, nr 79, s. 1575-1582.
- Zhang X., Laursen R.A., *Development of Mild Extraction Methods for the Analysis of Natural Dyes in Textiles of Historical Interest Using LC-Diode Array Detector-MS*, „Analytical Chemistry” 2005, nr 77, s. 2022-2025.
- Zieliński W., Rajca A., *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*, Warszawa 2000.
- Zollinger H., *Color Chemistry. Syntheses, Properties, and Applications of Organic Dyes and Pigments*, Weinheim 2003.

