

Brochwicz, Zbigniew / Krause, Janusz

Identyfikacja klejów glutynowych w zabytkowych papierach za pomocą bibułowej chromatografii rozdzielczej

Acta Universitatis Nicolai Copernici. Zabytkoznawstwo i Konserwatorstwo 6 (77), 119-126

1977

Artykuł został opracowany do udostępnienia w internecie przez Muzeum Historii Polski w ramach prac podejmowanych na rzecz zapewnienia otwartego, powszechnego i trwałego dostępu do polskiego dorobku naukowego i kulturalnego. Artykuł jest umieszczony w kolekcji cyfrowej bazhum.muzhp.pl, gromadzącej zawartość polskich czasopism humanistycznych i społecznych.

Tekst jest udostępniony do wykorzystania w ramach dozwolonego użytku.

*Zakład Technologii
i Techniki Sztuk Plastycznych
Zakład Konserwacji Elementów
i Detali Architektonicznych*

Zbigniew Brochwicz, Janusz Krause

IDENTYFIKACJA KLEJÓW GLUTYNOWYCH
W ZABYTKOWYCH PAPIERACH
ZA POMOCĄ BIBUŁOWEJ CHROMATOGRAFII ROZDZIELCZEJ

Istotny wpływ na zachowanie materiałów archiwalnych, bibliotecznych oraz wszystkich innych, w których podstawowym tworzywem jest papier, mają kleje, stosowane przy produkcji papieru. Wiele z nich — szczególnie kleje zwierzęce, w tym również i kleje glutynowe — charakteryzują się małą odpornością na wpływy atmosferyczne, bakterie, pleśnie, owady oraz na działanie czynników fizykochemicznych¹. I tak na przykład pod wpływem układów enzymatycznych bakterii i pleśni — wykazujących działanie hydrolityczne — wielkocząsteczkowe substancje białkowe i węglowodanowe ulegają degradacji do związków o mniejszej cząsteczce. Procesy te powodują również zmiany właściwości wszystkich substancji klejących, aż do utraty ich siły wiązania włącznie. W ramach zabiegów konserwatorskich, związanych z zabezpieczeniem materiałów archiwalnych i bibliotecznych, ważnym przeto wydaje się określenie rodzaju kleju, zastosowanego przy produkcji papieru. Stwierdzenie takie pozwala również na rozszerzenie ogólnych wiadomości o dawnej technologii papierów czerpanych.

Czynnikiem w dużym stopniu decydującym o trwałości papieru jest jego pH, które z kolei uzależnione jest od występującego w nim kleju. Wiadome jest, że kleje zwierzęce wpływają na zakwaszenie papieru. Analogicznie zresztą oddziałują również i kleje skrobiowe, które w ściśle określonych warunkach ulegają rozkładowi, z wydzieleniem produktów degradacji o od-czynnie kwaśnym².

¹ R. Kowalik, *Konserwacja papieru*, Przegląd Papierniczy, 10/1952, s. 286—291,

² J. Krause, *Badania nad oznaczaniem pH materiałów archiwalnych i bibliotecznych*, Zeszyty Naukowe UMK, Zabytkoznawstwo i Konserwatorstwo V, Toruń 1974.

Jak z powyższego wynika, określenie rodzaju kleju pozwala dodatkowo na wyciągnięcie wniosków przy oznaczaniu pH dla danego papieru, a przez to — na określenie odpowiedniego toku postępowania, mającego na celu zabezpieczenie tego czy innego dokumentu przed zniszczeniem.

Najstarszymi klejami, stosowanymi do produkcji papieru, były kleje roślinne — skrobiowe³.

Już starożytni Egipcjanie do produkcji papiirusu stosowali kleje skrobiowe. Była to najprawdopodobniej skrobia jęczmienna. Odkrycia Sven Hadina i Steina z 1907 r. wykazały, że Chińczycy do przeklejania papieru stosowali skrobię ryżową. Było to oczywiście przeklejanie powierzchniowe, wykonywane na gotowym już produkcie. Tego rodzaju proces technologiczny kontynuowany był później przez długie stulecia, aż do początku XIX w. (1807 r.), kiedy to po raz pierwszy zastosowano klejenie papieru w całej masie. Arabowie przeklejali papier kleikiem skrobiowym, który często podbarwiano szafranem. Uzyskiwano w ten sposób papiery mniej lub więcej tonowane. Wszystko wskazuje na to, że papiery pochodzące z pierwszej europejskiej papierni na terenie Hiszpanii (Xativa, obecnie San Filipe) w pierwszym okresie produkowane były na wzorach technologicznych, przejętych bezpośrednio od Arabów. W 1337 r. we włoskiej papierni w miejscowości Fabriano po raz pierwszy użyto do przeklejania powierzchniowego klej zwierzęcy. Polskie papiery klejone były najczęściej klejem zwierzęcym otrzymywanym z gotowanych nówek cielęcych lub owczych. Po roku 1807 Niemiec Illig wprowadza żywice do technologii klejenia papieru w masie.

1. JAKOŚCIOWE WYKRYWANIE KLEJU ZWIERZĘCEGO

Według dotychczasowych metod analitycznych, zalecanych przez Centralne Laboratorium Celulozowo-Papiernicze⁴, jakościowe wykrywanie kleju zwierzęcego prowadzi się w oparciu o klasyczne metody analityczne, przy użyciu reakcji, z których żadna właściwie nie jest specyficzna dla klejów glutynowych.

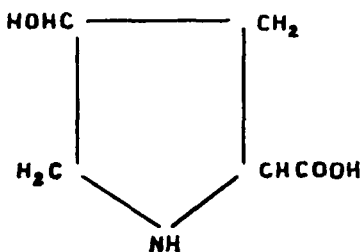
Zarówno reakcja z tanią i reakcja biuretowa, jak i reakcja z odczynnikiem Millona i Schmidta są typowe dla białek w ogóle. Nie można ich natomiast stosować jako reakcje wybiórcze, przy pomocy których udałoby się odróżnić kleje glutynowe od pozostałej grupy substancji białkowych.

Niniejsza praca jest próbą adaptacji metody chromatograficznej, szeroko stosowanej do tych celów w innych dziedzinach badawczych. Od wielu lat metodę tę stosuje się między innymi do identyfikacji klejów glutynowych

³ R. Kowalik, Z. Czerwińska, *Kleje stosowane w papiernictwie — ich zniszczenia i konserwacja*, Blok Notes Muzeum Mickiewicza, 1/1959, s. 153; R. Kowalik, *Historia papiernictwa*, Blok Notes..., 1/1959, s. 157.

⁴ Projekt normy, zgłoszony do PKN V/6/2 G z dnia 10 V 1948 r. („Oznaczenie kleju zwierzęcego”), stosowanej w przemyśle papierniczym.

w zabytkowych obiektach malarstwa sztalugowego i ściennego. Identyfikacja ta polega na wykrywaniu aminokwasu hydroksyproliny, która jest składnikiem charakterystycznym wyłącznie dla klejów glutynowych. Aminokwas ten nie występuje ani w kazeinie, ani w glutenie — białku roślinnym, które występuje między innymi w mące pszennej. Hydroksyprolinę aminokwas o wzorze:



identyfikuje się na chromatogramie po hydrolizie klejów glutynowych. Do wywołania hydroksyproliny stosuje się dwa odczynniki: roztwór izotyny; roztwór aldehydu p-dwumetyloaminobenzoesowego.

Pod wpływem tych dwóch odczynników hydroksyprolina pojawia się na chromatogramie jako różowo-fioletowa plama, natomiast inne aminokwasy, jakie pojawiają się po pierwszym wywołaniu, zanikają w drugiej kąpieli wywołującej. Reakcja ta jest bardzo czuła i pozwala — na podstawie obecności hydroksyproliny — wykryć śladowe ilości kleju glutynowego. Zaletą tej metody jest to, że do przeprowadzenia identyfikacji kleju glutynowego potrzebna jest niewielka próbka papieru.

2. MATERIAŁ BADAWCZY

Do badań pobrano 29 próbek papieru zabytkowego, pochodzących z okresu XVI—XIX w. Rodzaj próbek papierów, użytych do badań, ilustruje poniższe zestawienie:

- próbka nr 1 — księga sądowa ze wsi Konopnicy z okresu 1521—1555 r.,
- próbka nr 2 — akta m. Świdnicy (1541—1570 r.),
- próbka nr 3 — akta z archiwum m. Cieszyna (1577 r.),
- próbka nr 4 — akta m. Wrocławia (1595 r.),
- próbka nr 5 — księga m. Chełmna (1619—1627 r.),
- próbka nr 6 — akta m. Świdnicy (1632—1672 r.),
- próbka nr 7 — akta z archiwum m. Cieszyna (1646 r.),
- próbka nr 8 — wypis z akt m. Przemyśla (1655 r.),
- próbka nr 9 — skrypt wydany przez Z. Ossolińskiego w Lublinie (1656 r.),
- próbka nr 10 — wypis z ksiąg lwowskich (grodzkich) — 1657 r.,
- próbka nr 11 — akta z archiwum m. Cieszyna (1692 r.),
- próbka nr 12 — akta z archiwum m. Cieszyna (1695 r.),
- próbka nr 13 — akta z majątku Hochbergów w Książnie, pow. Wałbrzych (pocz. XVIII w.),
- próbka nr 14 — akta z majątku Hochbergów w Książnie, pow. Wałbrzych (pocz. XVIII w.),

- próbka nr 15 — akta z majątku Hochbergów w Książnie, pow. Wałbrzych (1719—1721 r.),
- próbka nr 16 — akta z archiwum m. Cieszyna (1722 r.),
- próbka nr 17 — akta z archiwum m. Cieszyna (1722 r.),
- próbka nr 18 — księga z archiwum m. Lublina (1725 r.),
- próbka nr 19 — akta z majątku Hochbergów w Książnie, pow. Wałbrzych (1741 r.),
- próbka nr 20 — akta z archiwum m. Cieszyna (1780 r.),
- próbka nr 21 — księga z Opola Lubelskiego (1788—1809 r.),
- próbka nr 22 — księga z archiwum m. Lublina (1792 r.),
- próbka nr 23 — księga z archiwum m. Kazimierza n. Wisłą (1792—1795 r.),
- próbka nr 24 — próbka papieru kancelaryjnego z Zielonej Góry (koniec XVIII w.),
- próbka nr 25 — księga z archiwum m. Kazimierza n. Wisłą (1801—1808 r.),
- próbka nr 26 — próbka papieru kancelaryjnego z Zielonej Góry (pocz. XIX w.),
- próbka nr 27 — akta ordynacji Zamoyskich w Zwierzyńcu (1818 r.),
- próbka nr 28 — akta Urzędu Gubernialnego Lubelskiego (1830 r.),
- próbka nr 29 — akta z Zielonej Góry (1859 r.).

3. EKSTRAKCJA KLEJU GLUTYNOWEGO

Klej glutynowy z zabytkowych papierów ekstrahowano przy pomocy 0,5% kwasu octowego⁵. Przed ekstrakcją pobrane próbki — w ilości po 0,5 g — oczyszczano eterem naftowym, w celu usunięcia ewentualnych śladów pochodzenia tłuszczowego. Próbki papieru cięto na małe kwadraciki, o boku mniej więcej 3—5 mm. Odważki przesypywano następnie do dużych probówek i zadawano 10 ml 0,5% kwasu octowego. Zakorkowane probówki pozostawiano następnie w temperaturze pokojowej ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) na okres 24 godzin. Po upływie tego czasu roztwór zlewano do małych zlewek (50 ml) i odparowywano do sucha w temperaturze 50°C .

4. HYDROLIZA SUCHYCH PRODUKTÓW EKSTRAKCJI

Suchą pozostałość zadawano 5 ml 4n H_2SO_4 i uzyskany roztwór przenoszono do probówek, które następnie zamykano przez zatopienie. Hydroлизę przeprowadzano w 110°C w ciągu 24 godzin w suszarce. Po upływie tego czasu probówki otwierano i roztwór zobojętniano przy pomocy BaCO_3 do pH około 7. Zobojętnione hydrolizaty przesączano przez twarde sączki, odparowywano do sucha w temp. 50°C i suchą pozostałość rozpuszczano w 0,5 ml 80% alkoholu etylowego.

5. ANALIZA CHROMATOGRAFICZNA

Do analizy chromatograficznej użyto bibułę Whatmana nr 1. Przygotowywano wielopaskowe arkusze, zawierające kolejno na czterech paskach badane hydrolizaty oraz na piątym — ostatnim pasku, jako wzorzec — hydroksyprolinę. Linię startu wyznaczano 4 cm od dolnego brzegu paska. Sze-

⁵ Ekstrakcję przeprowadzono wg Schulze i Riegera (M. Struszyński, *Jakościowa analiza organiczna*, Warszawa 1960, s. 691).

rokość poszczególnych pasków wynosiła 4 cm, natomiast długość całego wielopaskowego arkusza — 49 cm.

Wszystkie alkoholowe roztwory ekstraktów po hydrolizie наносono w jednakowej ilości, a mianowicie po 0,2 ml. Hydroksyprolinę jako wzorzec наносono w ilości po 20 mikrogramów. Chromatogramy rozwijano w układzie n-butanol + kwas octowy + woda (60 : 15 : 25). Proces rozwijania trwał 60 godzin. Rozwijano techniką wstępującą. Chromatogramy wysuszone w temperaturze pokojowej wywoływano następnie w podwójnej kąpieli ⁶:

a) wywoływanie pierwsze:

chromatogramy zanurzano w 0,2% acetonowym roztworze izotyny z dodatkiem 4% kwasu octowego (v : v), następnie suszono je w temperaturze pokojowej, a potem ogrzewano w temperaturze 80°C w ciągu 10 minut w suszarce. Po upływie tego czasu stwierdzono na chromatogramach wielobarwne plamy grup aminokwasowych.

b) wywoływanie drugie:

chromatogramy wywołane w pierwszym odczynniku zanurzano następnie w drugiej kąpieli wywołującej, sporządzonej w następujący sposób: 1 g aldehydu p-dwumetyloaminobenzoowego rozpuszczano w 10 ml stęż. HCl, a następnie rozcieńczano czterokrotnie acetonem. Tym razem chromatogramy wywoływano na zimno. W miejsce jasnoniebieskiej plamy, odpowiadającej położeniu hydroksyproliny, pojawiała się różowofioletowa plama, natomiast pozostałe wielobarwne plamy grup aminokwasowych zanikały. R_f hydroksyproliny w tym układzie rozpuszczalników wynosi 0,25.

Test ten jest charakterystyczny dla hydroksyproliny, występującej stosunkowo w dość dużej ilości w klejach glutynowych. Według A. E. Cziczibabina ⁷ hydroksyprolina występuje w żelatynie w ilości około 14,5%. Należy zaznaczyć, że odczynnik drugi jest nietrwały i dlatego powinien być zawsze świeżo przygotowywany przed każdym wywołaniem chromatogramów.

Uzyskane wyniki ilustruje poniższe zestawienie:

- próbka nr 1 — wyraźne ślady hydroksyproliny, widoczne w świetle białym,
- próbka nr 2 — jak wyżej,
- próbka nr 3 — bardzo wyraźna, intensywna plama hydroksyproliny o zabarwieniu różofioletowym,
- próbka nr 4 — wyraźna różowofioletowa plama, nieco mniej intensywna od plamy w próbce nr 3,
- próbka nr 5 — mniej więcej jak w próbce nr 4,
- próbka nr 6 — słabo widoczna plama hydroksyproliny, intensywniejsza niż w próbkach nr 1 i 2,
- próbka nr 7 — różowofioletowa plama hydroksyproliny, mniej intensywna niż w próbce nr 5,
- próbka nr 8 — analogicznie jak w próbce nr 7,

⁶ M. Hey, *Studies in Conservation*, t. 3, 4/1958.

⁷ A. E. Cziczibabin, *Podstawy chemii organicznej*, Warszawa 1957.

- próbka nr 9 — analogicznie jak w próbce nr 3,
 próbka nr 10 — analogicznie jak w próbce nr 5,
 próbka nr 11 — brak wyraźnych śladów,
 próbka nr 12 — brak wyraźnych śladów,
 próbka nr 13 — b. niewyraźne ślady,
 próbka nr 14 — b. niewyraźne ślady,
 próbka nr 15 — b. niewyraźne ślady,
 próbka nr 16 — wyraźne ślady, analogicznie jak w próbkach nr 1 i 2,
 próbka nr 17 — jak wyżej,
 próbka nr 18 — brak wyraźnych śladów,
 próbka nr 19 — plama intensywniejsza niż w próbkach nr 16 i 17,
 próbka nr 20 — jak wyżej,
 próbka nr 21 — brak wyraźnych śladów,
 próbka nr 22 — analogicznie jak w próbkach nr 1 i 2,
 próbka nr 23 — b. słabe ślady,
 próbka nr 24 — jak wyżej,
 próbka nr 25 — analogicznie jak w próbkach nr 1 i 2,
 próbka nr 26 — jak wyżej,
 próbka nr 27 — brak wyraźnych śladów,
 próbka nr 28 — brak wyraźnych śladów,
 próbka nr 29 — b. słabe ślady.

Mimo wykrycia hydroksyproliny w wielu próbkach zabytkowych papierów, stwierdzono na chromatogramach pewną deformację plam, spowodowaną prawdopodobnie obecnością innych substancji towarzyszących. Do tych zaliczyć można przede wszystkim związki nieorganiczne, bądź też ewentualnie substancje węglowodanowe.

6. DEMINERALIZACJA HYDROLIZATÓW PRZY POMOCY JONITÓW

W celu wyeliminowania powyższych zakłóceń zastosowano demineralizację hydrolizatów przy pomocy kationitu Amberlit IR-120, przygotowanego w formie wodorowej⁸.

Badania przeprowadzono na próbce papieru nr 3 (akta z archiwum m. Cieszyna — 1577 r.). Ekstrakcję kleju glutynowego oraz hydrolizę przeprowadzono w analogiczny sposób jak poprzednio. Po zubożeniu hydrolizatu za pomocą BaCO_3 i przesączeniu, uzyskany roztwór wymieszano z osuszonym kationitem i pozostawiono na okres 1 godziny, po czym roztwór z nad kationitu zlano i odrzucono. Aminokwasy, zaadsorbowane na kationicie, eluowano w ciągu 1 godziny 10% NH_4OH , przy czym w tym okresie zlewki zatykano dużymi korkami, aby w ten sposób uniknąć wyparowywania amoniaku. Po upływie 1 godziny roztwór, zawierający aminokwasy, przesączano przez twarde sączki, a kationit przemywano jeszcze małymi porcjami amoniaku. Uzyskany przesącz odparowywano do sucha w temperaturze 50°C. Suchą pozostałość rozpuszczano następnie w 0,5 ml 80% alkoholu etylowego i наносzono na bibułę chromatograficzną What-

⁸ Kationit przemywano najpierw 3n HCl w kolumnie, a następnie wodą do reakcji ujemnej na jon Cl^- .

mana nr 1 w ilości 0,2 ml. Rozwijanie chromatogramów oraz ich wywołanie przeprowadzono w sposób analogiczny, jak to już opisano wyżej. Stwierdzono, że plama hydroksyproliny jest owalna, bardziej zwarta i nierozmyta. Na podstawie tych wyników można ostatecznie stwierdzić, że demineralizacja hydrolizatów jest zabiegiem koniecznym, bowiem tylko w ten sposób można uzyskać chromatogramy z wyraźnie odgranieczoną i ostrą plamą hydroksyproliny. Eliminacja związków nieorganicznych jest w tym procesie całkowita.

7. UKŁADY ROZWIJAJĄCE

Zastosowanie układu rozwijającego — n-butanol + kwas octowy lod. + woda (60 : 15 : 25) w procesie chromatografowania hydroksyproliny ma wiele dodatnich cech. Do nich zalicza się przede wszystkim dość duża trwałość układu, stosować go można bowiem około trzech tygodni. Zmiany w wartościach R_f hydroksyproliny są w tym czasie nieznaczne. Drugą cechą dodatnią jest to, że składniki tego układu mieszają się całkowicie z sobą, a więc przygotowanie układu nie wymaga uprzedniego wytrząsania w rozdzielaczu. Po wymieszaniu wszystkich składników układ jest gotowy do użycia natychmiast. Pewną cechą ujemną tego układu jest to, że proces rozwijania chromatogramów trwa stosunkowo dość długo, bo około 60 godzin (na paskach długości 49 cm).

Poza wymienionym wyżej układem stosowano jeszcze dodatkowo układ drugi, a mianowicie n-propanol + amoniak + woda (60 : 30 : 10). Wszystkie składniki tego układu — podobnie jak w pierwszym przypadku — mieszają się całkowicie ze sobą, jego trwałość jest jednak znacznie mniejsza i wahania w wartościach R_f bardzo wyraźne, dlatego też wielu autorów zaleca, aby do każdego rozwijania chromatogramów stosować zawsze świeżo przygotowany układ. Ponieważ w tym przypadku chodzi zawsze tylko o identyfikację jednego aminokwasu, a mianowicie hydroksyproliny, można z powodzeniem układ ten — jak wykazała nasza praktyka — stosować w ciągu 5—6 dni, pod warunkiem jednak, że badany hydrolizat rozwijać się będzie zawsze w towarzystwie standardowego wzorca hydroksyproliny. Czas rozwijania chromatogramów w tym układzie (paski 49 cm długości) trwa 48 godzin, a R_f hydroksyproliny wynosi 0,36.

8. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Z przeprowadzonych badań wynika, że bibułą chromatografię rozdzielczą można z dużym powodzeniem zastosować do identyfikacji klejów glutynowych w zabytkowych papierach. Ilość próbki papieru — jak wykazały nasze badania — waha się w dość szerokim zakresie od 0,05 do 0,5 g. Są to dane uzyskane z badań próbki nr 3, gdzie klej występuje w dość dużej ilości. W trakcie badań nasunęła się uwaga, że w przypadku występo-

wania na chromatogramach hydroksyproliny w śladowych ilościach należałoby badania powtórzyć, biorąc do ekstrakcji większą naważkę papieru niż 0,5 g. W przypadku papierów dość silnie przeklejonych (próbka nr 3), naważka papieru w ilości 0,05 g okazała się zupełnie wystarczająca, aby zidentyfikować hydroksyprolinę.

Wydaje się, że ilość próbki papieru będzie można jeszcze wydatnie zmniejszyć, jeśli do badań zastosuje się chromatografię cienkowarstwową.

Badania nasze wykazały ponadto, że badaną próbkę papieru można przeznaczyć do ekstrakcji w całości, bez rozdrabniania jej przez cięcie na drobne kwadraciki. W ten sposób istnieje jeszcze możliwość ewentualnego wykorzystania próbki papieru po ekstrakcji i wstawienia jej z powrotem w miejsce, skąd została pobrana do badań. Zabieg ten wykonać może jedynie odpowiednio wysokokwalifikowany konserwator. Identyfikację hydroksyproliny można jeszcze uprościć przez wyeliminowanie z całego procesu żmudnego i stosunkowo czasochłonnego zabiegu hydrolizy za pomocą kwasu siarkowego. Próbné badania, jakie w tym zakresie zostały przez nas przeprowadzone wykazały, że w miejscach dotychczasowej hydrolizy kwasowej, można zastosować hydrolizę ekstraktu przy pomocy kationitu Amberlit IR-112. Dotychczas uzyskane wyniki są zachęcające, dlatego też badania będą w dalszym ciągu kontynuowane.

Zbigniew Brochwicz, Janusz Krause

IDENTIFICATION OF GLUTEN ADHESIVES
IN ANTIQUE PAPERS
WITH THE HELP OF BLOTTING PAPER PARTITION CHROMATOGRAPHY

(Summary)

The gluing substances are the main components of all library and archival materials, which are mostly made of paper. However the glues are not proof against weather, bacteria, moulds, insects as well as against the influence of chemical and physical factors. Therefore it seems to be very important if we can define — in the course of preservation measures — the sort of adhesive being used in the production of paper. Not all from the methods enabling the identification of the gluing substances can be adopted to the preservation's purposes.

The present paper deals with the chromatographic method employed in the identification of gluten adhesives in the antique papers. The experiments carried by the authors of this paper confirm the usefulness of the blotting paper partition chromatography in the process of identification of gluten adhesives in antique papers. The great advantage of that method is the fact, that for the identification of glue it is enough to investigate the minimum amount of paper — crisa 0,05—0,5 g. Moreover any sample of paper taken for extraction can be examined in the whole, without the necessity of greaking it up into the small squares.

The described method enables the utilization of the sample of paper for experimental purposes and the same sample of paper can also be put back into the place where it was taken from.