

مروری بر روش‌های شناسایی رونا‌س و ترکیبات آن در منسوجات و آثار هنری

سعیده گرجی کندی^{۱*}، کمال الدین قرنجیگ^۲، علیرضا محمودی نهندی^۳

۱- استادیار، شیمی نساجی، گروه نمایش رنگ و پردازش تصویر، پژوهشگاه علوم و فناوری رنگ، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۷۶۵-۶۵۴

۲- دانشیار، شیمی نساجی، گروه پژوهشی مواد رنگزای آلی، پژوهشگاه علوم و فناوری رنگ، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۷۶۵-۶۵۴

۳- کارشناس پژوهشی، گروه نمایش رنگ و پردازش تصویر، پژوهشگاه علوم و فناوری رنگ، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۷۶۵-۶۵۴

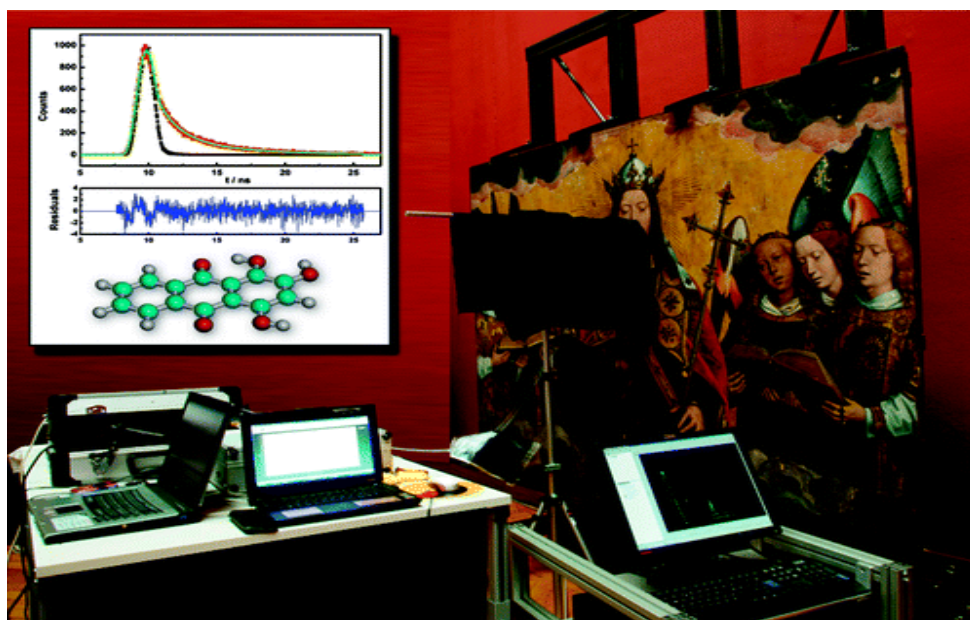
تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۱۷

چکیده

اطلاعات میکروسکوپی و مولکولی و همچنین توزیع و پراکندگی ترکیب شیمیایی مواد رنگزای به کار برده شده در آثار نفیس هنری می‌تواند در یافتن پاسخ برای روش خلق اثر، اصل بودن اثر، اصل بودن آن و همچنین تخمین شرایط فیزیکی و محیطی مناسب برای نگهداری اثر کمک نماید. از اینرو شناسایی ترکیبات به کار رفته در تابلوهای نقاشی و آثار هنری به منظور تعیین قدمت، بازسازی و نگهداری از آنها، مورد توجه قرار گرفته است. در این میان رونا‌س از دیرباز به عنوان یک ماده رنگزای طبیعی، در بسیاری از منسوجات ارزشمند قدیمی، تابلوهای نقاشی و آثار هنری به کار گرفته شده است و هنوز هم مورد استفاده قرار می‌گیرد. دستیابی به روشی مطلوب برای شناسایی مواد رنگزای رونا‌س همواره مطرح بوده است. روش‌های کروماتوگرافی با عملکرد عالی، میکرواسپکتروفلورومتری، میکروسکوپی، ولتامتری، طیف‌سنجی رامان سطحی بهبود یافته و اسپکتروفتومتری مرئی و IR، الکتروفوروسیس لوله موئین و اسپکتروفلورومتری اشعه X روش‌هایی هستند که برای شناسایی رونا‌س موجود در آثار هنری مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مقاله مروری بر روش‌های یاد شده ارائه گردیده است.

واژه‌های کلیدی

رونا‌س، شناسایی، آلزارین، پورپورین، دندانه.



۱- مقدمه

مورخان بر این عقیده هستند که قسمت عمده رنگ‌های به کار رفته قرمز آلی در قرون وسطی کمپلکس فلزی مواد رنگزایی است که از یک رنگزای گیاهی استخراج می‌شده است [۳]، هرچند که می‌باید در نظر داشت که رنگدانه‌های معدنی نیز می‌توانند برای تولید فام قرمز در آثار هنری و منسوجات به کار رفته باشند [۴]. جدول ۲ فهرست رنگدانه‌های قرمز معدنی به کار رفته در آثار هنری را نمایش می‌دهد [۵].

روناس منشا بسیاری از مواد رنگزای آنتراکینونی در ریشه و ساقه گیاه است. ترکیباتی نظیر دی و تری هیدروکسی آنتراکینون^۱ آلزارین^۲، پورپورین^۳ و مشتقات آنها نظیر روبروتیریک اسید^۴، لوسیدین^۵، شبه پورپورین^۶، لوسیدین پرایموروساید^۷ روبیادین^۸، مانجستین^۹، کینیزارین^{۱۰} نیز در ریشه این گیاه یافت شده است [۱،۲]. شکل ۱ ساختار شیمیایی برخی از ترکیبات یاد شده را نمایش می‌دهد [۲]. اگر چه روناس به عنوان یک منبع تولید رنگ قرمز در آثار هنری مورد استفاده واقع می‌شده است ولی به همراه این ماده چندین رنگزای قرمز دیگر نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند. لیست رنگزاهای قرمز به کار رفته در آثار هنری (عمدتاً نقاشی) توسط لانگ^{۱۱} [۳] ارائه شده است. جدول ۱ فهرست این رنگزاهای نام علمی شیمیایی و همچنین گیاه و یا جانوری که این رنگزاهای قرمز از آنها استخراج می‌شده‌اند، را نمایش می‌دهد. قابل ذکر است که این فهرست مربوط به آثار هنری آسیای غربی قرون وسطی می‌باشد. در هر حال

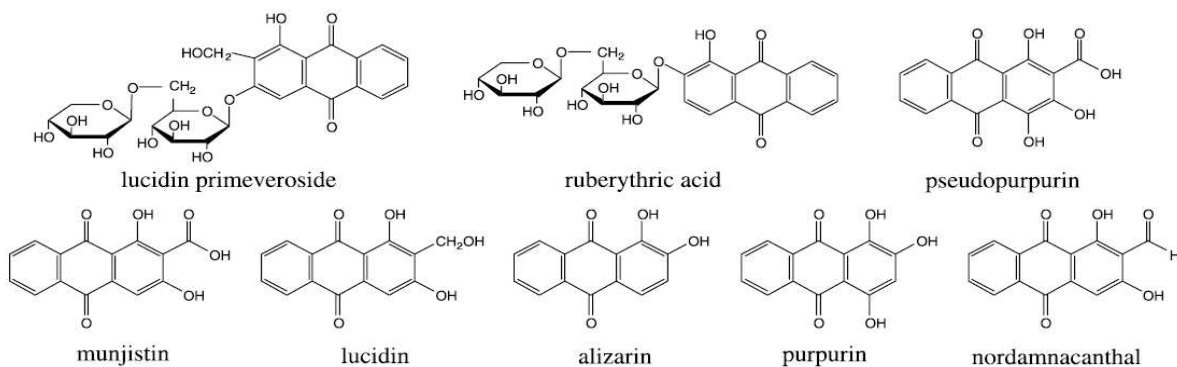
- ¹ Di- and trihydroxyanthraquinones
- ² Alizarin
- ³ Purpurin
- ⁴ Ruberythric acid (alizarin-primeveroside)
- ⁵ Lucidin
- ⁶ Pseudopurpurin
- ⁷ Lucidin-primeveroside
- ⁸ Rubiadin
- ⁹ Munjistin
- ¹⁰ Quinizarin
- ¹¹ Lang

جدول ۱- رنگ‌های قرمز به کار رفته در آثار هنری آسیای غربی [۳].

| نام عمومی | رنگزای اصلی موجود در ترکیب | نام منبع گیاهی و یا حیوانی |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Cochineal /Polish Kermes Polish | Kermesic and carminic acid | Margarides plonicus |
| Kermes | Kermesic acid | Kermococcus vermillus |
| Armenian Red | Carminic acid | Porphyrophera hameli |
| Lac | Laccaic acid A,B,C,D | Lashadia spp. |
| Madder | Alizarin and purpurin | Rubida tinctorium |
| Safflower | Carthamin | Carthamus tinctorium |
| Brasilwood | Braxilin | Caesalpinia sappan |

جدول ۲- رنگزاهای قرمز معدنی به کار رفته در آثار هنری [۵].

| رنگدانه | نام شیمیایی | فرمول | تاریخ |
|------------------------------|----------------------------------|---|--------------------------------|
| Cadmium red | Cadmium (II) selenide | CdSe | Ca 1910 |
| Chrome red | Basic lead (II) chromate | PbCrO ₄ Pb (OH) ₂ | Early 19 th c. |
| Litharge | Lead (II) oxide | PbO | Antiquity |
| Mercury scarlet ^a | Mercury (II) iodide | HgI ₂ | Ca 1814 |
| Realgar | Arsenic (II) sulfide | As ₂ S ₄ | Mineral |
| Red lead (minium) | Lead (II,IV) oxide | Pb ₃ O ₄ | Antiquity |
| Red ochre | Iron (III) oxide + clay + silica | Fe ₂ O ₃ H ₂ O + clay + silica | Mineral |
| Vermilion (cinnabar) | Mercury (II) sulfide | HgS | Mineral and synthetic(13th c.) |



شکل ۱- ساختار شیمیایی برخی از رنگزاهای موجود در روناس [۲].

۲- روش‌های شناسایی ترکیبات موجود در روناس

اگر چه ترکیبات موجود در روناس مشخص گردیده است اما در روناس‌های استحصال شده از مکان‌های متفاوت ترکیبات متفاوتی یافت شده است. به دلیل اینکه روناس مخلوطی از چند رنگ‌زا است بنابراین به منظور شناسایی آن می‌بایستی که چندین ترکیب (عمدتاً آلیزارین و پورپورین) جستجو گردند. همچنین همواره می‌باید در نظر داشت که منبع طبیعی رنگ قرمز به کار رفته چیزی جز روناس می‌تواند بوده باشد، بنابراین روش‌های مورد استفاده برای شناسایی این ترکیبات در شناسایی روناس مورد توجه خواهند بود. روش‌های بسیاری به منظور بررسی ترکیبات روناس در آثار هنری به کار رفته است که از آن جمله می‌توان به HPLC، اسپکتروفلورومتری، میکروسکوپی^۱، ولتامتری^۲، اسپکتروسکوپی رامان سطحی بهبود یافته^۳، اسپکتروفوتومتری مرئی و IR^۴، الکتروفوروسیس لوله موئین^۵ و اسپکتروفلورومتری پرتو x^۶ اشاره نمود.

۱-۲- کروماتوگرافی با عملکرد عالی (HPLC)

کروماتوگرافی با عملکرد عالی روشی است که برای جداسازی ترکیبات موجود در یک مخلوط به کار می‌رود. در کروماتوگرافی انواع مختلفی از فازهای ثابت استفاده می‌شود. معمولاً در انتهای کروماتوگرافی از یک آشکارساز^۷ استفاده می‌شود (به عنوان مثال آشکارساز UV/VIS). زمان ماندگاری ترکیبات در ستون کروماتوگرافی بسته به تمایل ترکیب با فاز ثابت متفاوت است. همچنین این زمان به ترکیب حلال‌های به کار رفته و سرعت عبور حلال بستگی دارد. ترکیبات مختلف با سرعت‌های متفاوتی در ستون حرکت می‌کنند و معمولاً زمانی را که یک ترکیب از ابتدای ستون به انتهای آن می‌رسد را زمان ماندگاری^۸ می‌نامند. معمولاً ترکیب اجزای تشکیل دهنده حلال در طی زمان شناسایی متفاوت است که به این نوع کروماتوگرافی "فاز متحرک گرادینتی"^۹ گفته می‌شود. این تغییر بدین صورت است که مثلاً در ابتدای شناسایی درصد متانول ۵ درصد بوده و تدریجاً در طی ۲۵ دقیقه به صورت خطی تا ۵۰ درصد افزایش می‌یابد [۶]. اگر چه روش‌های کروماتوگرافی بسیار دقیق هستند ولی از معایب آنها می‌توان به طولانی بودن مدت زمان استخراج ترکیبات و آماده‌سازی طولانی نمونه، کالیبراسیون دستگاه، انتخاب حلال و شرایط کروماتوگرافی اشاره نمود. همچنین این روش به ۰/۱ تا ۱ میلی‌گرم از نمونه نیاز دارد که این در آثار هنری و دست نوشته‌های قدیمی به معنای ایجاد تخریب قسمتی از یک اثر است [۳] فریزاده^{۱۱} [۷]، با استفاده از TLC^{۱۲} روناس

نشان داد که فاکتور تاخیر^{۱۳} ترکیبات آلیزارین، پورپورین و کینیزارین به ترتیب ۰/۴۴ و ۰/۱۷ و ۰/۹۷ است که این با نتایج درکسن^{۱۴} [۲] تطبیق دارد. همچنین نتیجه گرفت که عمده ترکیبات موجود در روناس مورد استفاده توسط او، پورپورین، آلیزارین ۱، ۴-دی هیدروکسی آنتراکینون (کینیزارین) است. همچنین او نشان داد که افزایش دما و زمان استخراج می‌تواند حجم آلیزارین و پورپورین استخراج شده را افزایش دهد. او بالاتر رفتن میزان آلیزارین و پورپورین استخراج شده را تنها به دما ارتباط داد و تبدیل شبه پورپورین به پورپورین که در کسن آن را تنها به زمان ارتباط داده بود، را در نظر نگرفت [۲،۷]. برای بررسی ترکیبات موجود در روناس توسط روش HPLC اولین گام استخراج این ترکیبات توسط حلال است. ساده‌ترین روش شناسایی کمی و کیفی ترکیبات موجود در روناس عبارت است از اندازه‌گیری مقدار جذب محلول استخراج شده از روناس با اتانول در طول موج ۴۳۴ نانومتر (جذب بیشینه آلیزارین) است. افزودن محلول هیدروکسید پتاسیم ۵٪ به حلال و اندازه‌گیری مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر به منظور اندازه‌گیری کمی، پیشنهاد شده است. استفاده از HPLC-UV جهت شناسایی آنتراکینون‌های موجود در روناس توسط درکسن به جهت عدم توانایی شناسایی تمام آنتراکینون‌های موجود در روناس مورد انتقاد واقع شده است [۲]. کلمنتی و همکارانش^{۱۵} حلال DMSO در شرایط شدید اسیدی را به جای ترکیب متانول و آب جهت استخراج آلیزارین و پورپورین پیشنهاد کردند [۱] در بررسی انجام شده توسط درکسن در خصوص استخراج دو آنتراکینون پرایمورساید^{۱۶} و روبروتیریک اسید توسط گوردینا و همکارانش نشان داده شد که در استخراج اولیه توسط حلال بیش از ۹۵٪، و پس از استخراج دوم ۹۹٪ ترکیبات یاد شده از روناس استخراج شدند. بررسی‌ها نشان داد که تقلیل وزن نمونه روناس از ۲.۵ گرم به ۱.۲۵ گرم باعث عدم تکرارپذیری نتایج حاصل از استخراج می‌شود. همچنین تغییر نسبت حجم حلال به وزن نمونه روناس مورد استفاده در استخراج می‌تواند موجب تغییر نتیجه حاصل از HPLC گردد. شکل ۲ نتایج بدست آمده در خصوص حجم حلال مورد استفاده در استخراج ترکیبات روناس را نمایش می‌دهد [۲]. روناس مورد استفاده به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب هم‌زده شده است [۲]. همچنین به دلیل سهولت کربوکسیل‌زدایی^{۱۷} شبه پورپورین و تبدیل آن به پورپورین، می‌بایستی که در تخمین مقدار پورپورین موجود در روناس این مطلب لحاظ گردد. کروماتوگرام HPLC روناس که توسط دو روش استخراج بدست آمده‌اند در شکل ۳ نمایش داده شده‌اند. بنیانی^{۱۸} و همکارانش جهت بررسی خواص ضد سرطانی آلیزارین و پورپورین، ترکیبات موجود در روناس تغییر یافته ژنتیکی را از نظر کیفی و کمی مورد بررسی قرار دادند. اگر چه متداول است که جهت جداسازی و تشخیص بهتر در HPLC از فازهای متحرک متفاوت استفاده شود اما استفاده از یک فاز متحرک استونیتریل و آمونیم فرمات، تفکیک کمی و

1 Microscopy

2 Voltametry

3 Surface Enhanced Raman Spectroscopy

4 Visible and IR spectroscopy

5 Capillary electrophoresis

6 X-ray fluorescence

7 High-pressure liquid chromatography (HPLC)

8 Detector

9 Retention time

10 Gradient elution

11 Farizadeh

12 Thin layer chromatography

13 Retardation factor

14 Derksen

15 Clementi et. al.

16 Primeveroside

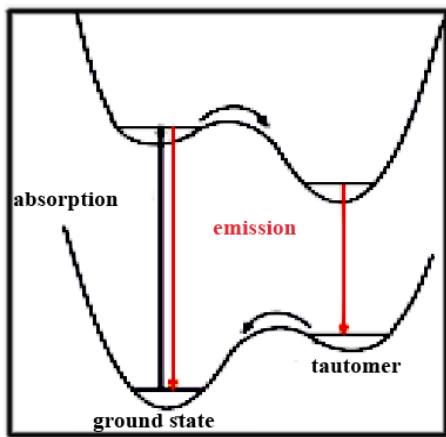
17 Decarboxylation

18 Banyani

ایزوترم‌های جذب این نوع رنگینه‌ها بر روی پشم به خدمت گرفته شد. همچنین TLC توسط گریگار به همراه روش ولتامتری جهت شناسایی رنگزای آلی مورد استفاده قرار گرفت [۷, ۹].

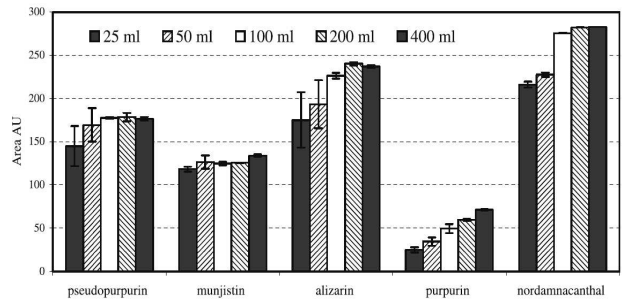
۲-۲- اسپکتروفلورومتری

رومانی^۲ و همکارانش [۱۰] اسپکتروسکوپی فلوروسنس^۳ رنگزاهای آلی را بهترین گزینه جهت بررسی و شناسایی آثار هنری معرفی نمودند. در میان رنگزاهای آلی قرمز، رنگزاهای بر پایه هیدروکسی آنتراکینونی‌ها مهم‌ترین رنگزاهای قرمز برای این منظور معرفی شده‌اند. در این دسته از رنگزاهای تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و همچنین محیط پیرامون آنها به شدت به روی خواص فلوروسنس تاثیر می‌گذارد. در این مولکول‌ها برآیند عوامل یاد شده از طریق انتقال پروتون برون مولکولی در حالت برانگیخته انتقال پروتون^۴، موجب ایجاد فلوروسنس دوگانه^۵ می‌شود. اثر فلوروسنس ایجاد شده می‌تواند به دلیل پروتون‌زدایی^۶، تجمع رنگزا^۷ و یا تعامل با سایر مولکول‌ها و یون‌ها برای ایجاد کمپلکس‌های مولکولی باشد. حالت برانگیخته انتقال پروتون می‌تواند از طریق تبدیل یک گروه OH به گروه کربونیل در حالت اورتو انجام شود که یک تبدیل توتومریک را به همراه خواهد داشت. در شکل ۵ دو دره حداقل انرژی وجود دارد. بعد از جذب انرژی مولکول آنتراکینونی تابش را به همراه یک شیفت باتوکرومیک شدید انجام خواهد داد. رخداد حالت برانگیخته انتقال پروتون برای آلیزارین - نه پورپورین - این موضوع را تایید می‌کند. اگر چه فلوروسنس رخ داده برای آلیزارین اغلب بسیار ضعیف است اما با افزایش pH به علت افزایش پایداری یون‌های منفی تشکیل شده - شدید شده و به سمت قرمز شیفت پیدا می‌کند (شکل ۶).

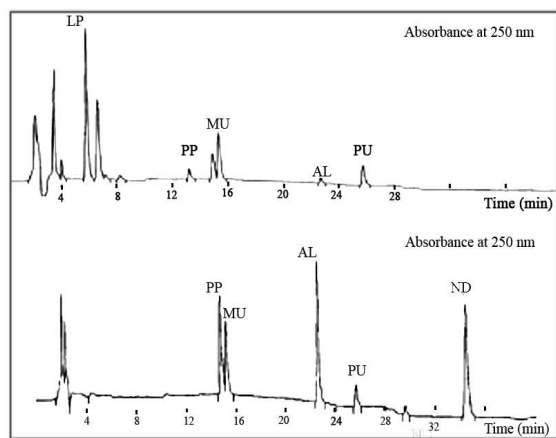


شکل ۵- حالت توتومری ایجاد شده [۱۰].

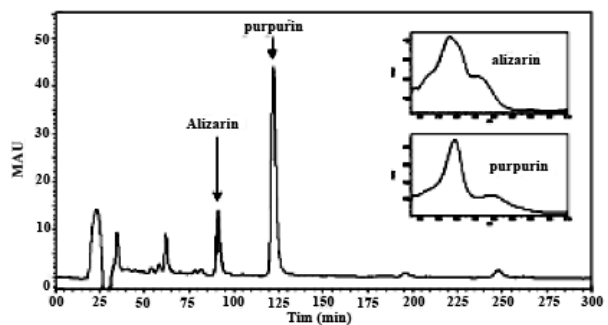
کیفی خوبی حاصل نمود. شکل ۴ نتایج کروماتوگرام بدست آمده در این بررسی را نمایش می‌دهد [۸].



شکل ۲- نتایج تغییرات حجم حلال مورد استفاده (مخلوط تتراهیدروفوران-آب-اسید فورمیک (۰/۰۵:۱:۱) در مقدار آنتراکینون موجود در روناس [۲].



شکل ۳- کروماتوگرام HPLC روناس. پیک‌های مشاهده شده عبارتند از: LP (لوسیدین پرایموروساید)، RA (روبروتریک اسید)، PP (شبه پورپورین)، MU (مانجیتسین)، AL (آلیزارین)، PU (پورپورین)، ND (نوردمناکانتال) [۲].



شکل ۴- کروماتوگرام بدست آمده از روناس- پیک‌های مربوط به پورپورین و آلیزارین کاملاً مشخص هستند [۸].

² Romani et. al.

³ Fluorescence

⁴ Excited State Proton Transfer (ESPT)

⁵ Dual fluorescence

⁶ Deprotonation

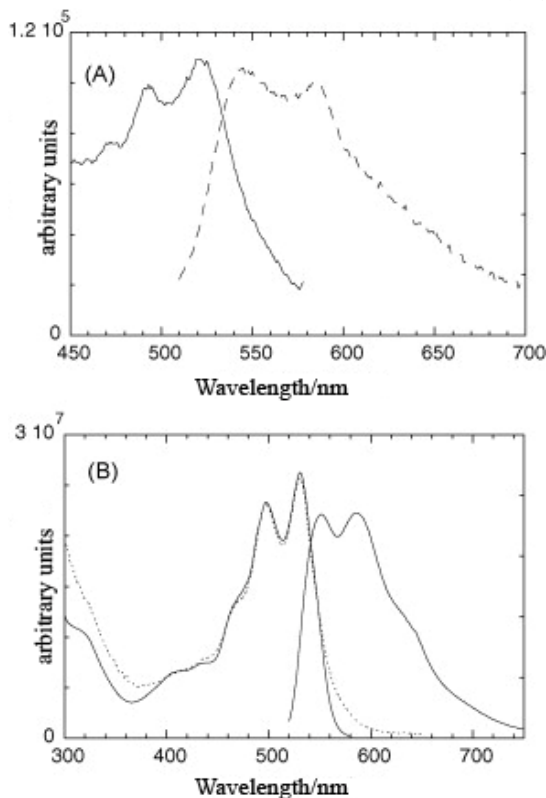
⁷ Self aggregation

¹ Nordamnacanthal

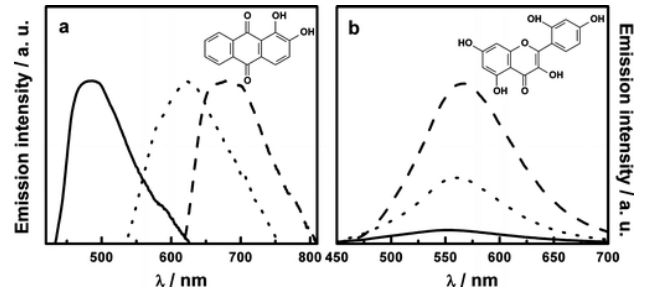
اسپکتروفلورومتری نشان داد که دو ترکیب پورپورین و شبه پورپورین در این پارچه‌ها وجود دارند. او نشان داد که این نتایج با نتایج حاصل از HPLC-DAD تطبیق دارد. در روش اسپکتروفلورومتری معمولاً طیف تهییج و نشر^۵ با نمونه استاندارد مقایسه می‌شود. شکل ۸ طیف تهییج و نشر را در مورد ماده شبه پورپورین و پورپورین نمایش می‌دهد. از مزایای این روش امکان نمونه‌برداری از تمام قسمت‌های نمونه، حجم نمونه پایین و عدم نیاز به آماده سازی مقدماتی است [۱۱].

۲-۳- میکروسکوپی

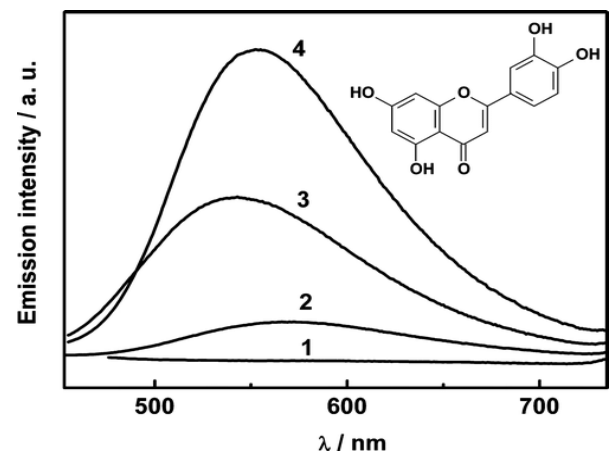
از آنجا که ترکیبات آنتراکینونی قسمت عمده رناس را تشکیل می‌دهند و استفاده از دندان فلزی یکی از روش‌های مرسوم برای رنگرزی پشم با استفاده از رناس است بنابراین استفاده از SEM-EDS و SEM-EDX به عنوان راه شناسایی این رنگزا شناخته شده‌اند [۱، ۱۱]. کلارو^۶ و همکارانش از SEM-EDX^۷ جهت شناسایی دندان آلومینیم در ساختار رنگزای به کار رفته در رنگرزی پارچه‌های پشمی استفاده نمودند. همچنین برای شناسایی سرب و آلومینیم در رنگ‌های به کار رفته در نقاشی‌های قدیمی از این روش استفاده شد [۵]. در کار انجام شده توسط عمر عبدالکریم و همکارانش^۸ [۱۲].



شکل ۸- طیف نشر و تهییج شبه پورپورین (A) و لیک پورپورین (B) بدست آمده از منسوجات آندین در حلال آب اتانول (۷۵٪ / ۲۵٪).



شکل ۶- چپ: مثالی از شیفت قرمز فلوروسنس، ایجاد شده به دلیل پروتون‌زدایی (طیف‌ها نرمالایز شده‌اند): حالت خنثی (-) و $pH=2$ ، حالت مونو آنیون (... و $pH=9$ و دی آنیون (---) و راست: مثالی از بهبود اثر فلوروسنس به دلیل پروتون‌زدایی حالت خنثی (-) و $pH=7/5$ ، حالت مونو آنیون (...) و دی آنیون (---) و $pH=10$ [۱۰].



شکل ۷- طیف نشری لوتالین با افزایش غلظت یون‌های آلومینیم افزایش می‌یابد. (۱) $[Al^{3+}] = 0$ (۲) $[Al^{3+}] = 5 \times 10^{-6}$ (۳) $[Al^{3+}] = 2/5 \times 10^{-5}$ و (۴) $[Al^{3+}] = 4 \times 10^{-4}$ مول بر لیتر [۱۰].

چیلاسیون^۱ با فلزات (دندان دادن) نیز می‌تواند اثری شبیه به پروتون‌زدایی در ایجاد اثر فلوروسنس داشته باشد. به عنوان مثال در ترکیب ۴، ۳، ۷، ۵ - تتراهیدروکسی فلاون، اثر فلوروسنس که در حالت آزاد مولکول وجود ندارد در اثر چیلاسیون با آلومینیم ایجاد خواهد شد (شکل ۷). روش میکرواسپکتروفلوریمتری به عنوان یکی از روش‌های غیر مخرب برای شناسایی رنگرهای به کار رفته در منسوجات و نقاشی‌های قدیمی به کار رفته است. در این روش یک اسپکتروفلوریمتر با یک میکروسکوپ جفت شده که این کار باعث می‌شود که مقدار نمونه مورد نیاز برای شناسایی تا چند دهم میلی‌گرم کاهش یابد. این روش در مورد آثار هنری ونگوک و نمونه‌های نساجی قدیمی آندین^۲ توسط کلارو و همکارانش به کار گرفته شدند [۱۱]. وجود لیک‌های^۳ ترکیباتی نظیر پورپورین و اوسین^۴ با استفاده از میکرو اسپکتروفلوریمتری و مقایسه طیف این ترکیبات با بانک اطلاعاتی موجود تشخیص داده شد. نتایج بدست آمده از طیف

⁵ Excitation and emission spectra

⁶ Claro

⁷ Scanning Electron Microscope/Energy Dispersive Using X-Ray

⁸ Omar Abdel-kareem et al.

¹ Chelation

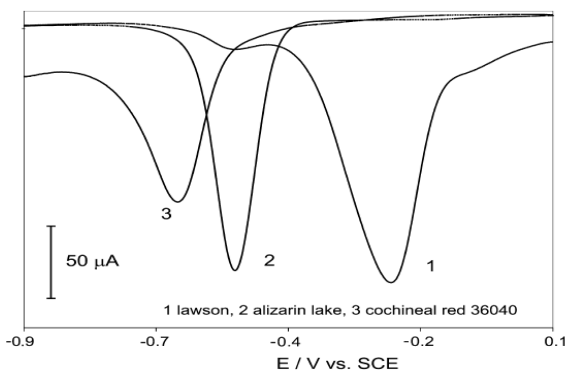
² Andean

³ Lake

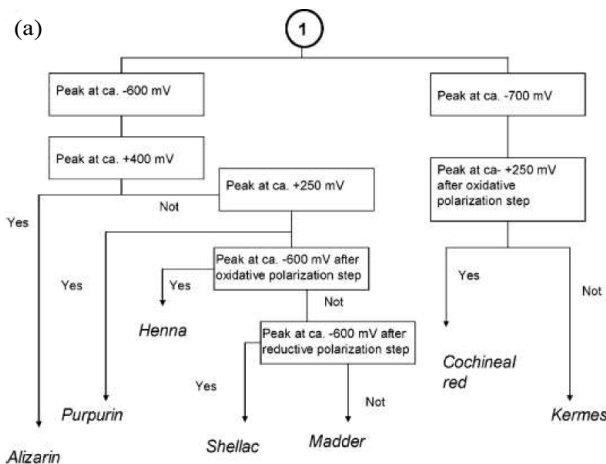
⁴ Eosin

متریک روش موج مربعی نسبت به روش خطی نوارهای قابل شناسایی تری تولید می‌کند [۹]. در شکل ۹ منحنی‌های کاتودیک سه ترکیب آلیزارین، لاسون^۸ و قرمز کوچینیل^۹ ترسیم شده است. مقدار نمونه مورد نیاز برای انجام ولتامتری در حد ۱ میلی‌گرم است و نیاز به هیچ‌گونه آماده‌سازی اولیه ندارد. این روش بر خلاف انواع روش‌های کروماتوگرافی نیاز به استخراج ماده رنگزا از درون نمونه نداشته و بنابراین خطر تخریب ساختار ماده رنگزا را به همراه نخواهد داشت [۹].

دومنگ کاربو^{۱۰} و همکارانش عنوان نمودند که با استفاده از ولتامتری ترتیبی^{۱۱} می‌توان از طریق ایجاد ترکیبات واسط ناشی از اکسیداسیون و احیای ترکیبات اصلی، روشی موثر برای شناسایی ترکیباتی ایجاد نمود که پتانسیل احیای نزدیک به هم دارند. روش وی در شکل ۱۰ به صورت شمایی نحوه شناسایی آلیزارین و پورپورین و همچنین روناس را نمایش می‌دهد [۱۷].



شکل ۹- منحنی‌های ولتامتری موج مربعی برای سه رنگزای کینونی لاسون، آلیزارین و قرمز کوچینیل [۹].



شکل ۱۰- نحوه شناسایی روناس، آلیزارین و پورپورین با استفاده از روش ولتامتری ترتیب [۱۷].

از آزمون EDX به منظور حضور عناصر سدیم، منیزیم، آلومینم، سیلیسیم، فسفر، گوگرد، کلسیم، تیتانیم و آهن در منسوجات پشمی کپتیک^۱ مصری استفاده نمودند. وی عنوان نمود که برای بررسی حضور دندانه‌های آلوم^۲ می‌بایست نسبت وزنی عنصر اصلی تشکیل دهنده دندانه به گوگرد ۲ به ۱ باشد که در مورد فام‌های زرد و قرمز نمونه‌های کپتیک این نسبت وجود داشت، در صورتیکه در فام آبی این نسبت مشاهده نگردد. در مورد دندانه آهن به علت پایین بودن این نسبت (عنصر دندانه به گوگرد)، وی نتیجه گرفت که این دندانه در رنگزاهای زرد و آبی و قرمز موجود در منسوجات قدیمی کپتیک وجود ندارد [۱۲]. همچنین وی نتیجه گرفت که در بیشتر منسوجات قدیمی کپتیک مصری دندانه مورد استفاده آلوم است [۱۳]. کلمنتی و همکارانش برای تشخیص فلزات دندانه در پشم رنگزایی شده با روناس از SEM-EDS^۳ استفاده نمودند. نتایج نشان داد که در مورد پشم رنگزایی نشده تنها گوگرد در این آزمون تشخیص داده می‌شود. این در حالی بود که در حضور دندانه، ترکیب گوگرد و آلومینم را نشان داد. برخلاف انتظار این آزمون فلز پتاسیم موجود در کرم تارتر (جهت دندانه دادن پشم) را نشان نداد که این امر به شباهت سیگنال پتاسیم به سیگنال زمینه نسبت داده شد [۱]. در کار انجام شده توسط کواستلر و همکارانش^۴ برای تشخیص دندانه‌های فلزی مختلف پتاسیم آلومینیم سولفات، سولفات مس، سولفات آهن، کلرید قلع، دی کرومات پتاسیم از EDS استفاده شد. نتایج نشان دادند که به علت حساسیت این روش به نایک‌نواختی، تشخیص کیفی عناصر موجود در دندانه‌ها به حجم نمونه مصرفی نیز بستگی دارد. نتایج نشان دادند که در مورد دندانه‌های آلوم، سولفات مس تنها با استفاده از یک لیف پشمی قابل تشخیص هستند این در حالی است که دندانه آهن و کروم با استفاده از یک لیف پشمی قابل شناسایی نبودند [۱۴]. وابستگی توانایی تشخیص روش SEM-EDS به حجم نمونه به کار رفته در مورد نمونه‌های پشمی دندانه داده شده با ۱۲ دندانه مختلف توسط ایندیکتور و همکارانش^۵ نیز گزارش شده است [۱۵].

۲-۴- ولتامتری

روش ولتامتری موج مربعی^۶ یکی از روش‌های مورد استفاده در شناسایی ترکیبات است که در خصوص شناسایی رنگ‌های به کار رفته در آثار هنری توسط گریگار و همکارانش به کار رفته است [۹]. این روش بر اساس اندازه‌گیری اختلاف پتانسیل بین الکتروود مرجع^۷ و الکتروود ثانویه استوار است. اندازه‌گیری پتانسیل واکنش اکسیداسیون و احیا و مقایسه آن با داده‌های استاندارد برای شناسایی ترکیب مبنای این روش است. همچنین روش ولتامتری موج مربعی می‌تواند به صورت موج خطی نیز انجام گیرد [۱۶]. نتایج بررسی‌های گریگار و همکارانش نشان دادند که پیک‌های ولتا

¹ Coptic

² Alum

³ Scanning electron microscopy-energy dispersive spectroscopy

⁴ R. J. Koestler et al.

⁵ Indictor et. al.

⁶ Square wave voltametry

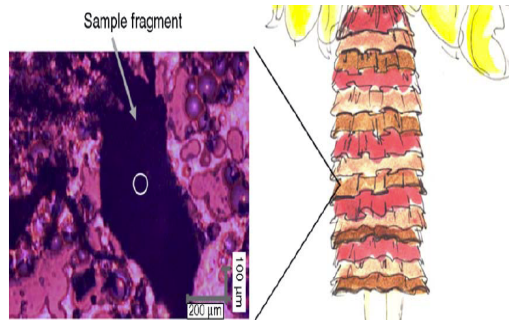
⁷ Reference electrode

⁸ lawson

⁹ Cochineal red

¹⁰ Doménech-Carbó

¹¹ Sequential votametry



شکل ۱۲- جز بسیار کوچک میکروسکوپی که برای روش SERS مورد نیاز است. اگر چه ابعاد نمونه جدا شده در حد چند دهم میلی‌متر مربع است، ابعاد نمونه در حد دایره کوچک ترسیم شده برای انجام این آزمون کفایت می‌کند [۱۹].

در شکل ۱۳ طیف معمولی رامان نمونه حاوی آلیزارین و همچنین طیف SERS همین نمونه نمایش داده شده است. به‌وضوح دیده می‌شود که استفاده از SERS نه تنها اثر سیگنال‌های رامان را تقویت می‌کند بلکه کاملاً اثر فلوروسنس نمونه را از بین برده است. در واقع نقطه ضعف طیف‌سنجی رامان معمولی همین اثر فلوروسنس است که لانگ نیز به این موضوع اشاره نموده است [۹]. پیک‌های SERS که شاخصه ترکیب آلیزارین هستند عبارتند از: 1061 ، 1553 ، 1588 ، 1600 ، 1629 ، 1640 ، 1650 و 1664 cm^{-1} اگر چه اندازه‌گیری مکان‌های متفاوت در SERS، به دلیل عدم توزیع یکنواخت رنگزا در مکان‌های مختلف نمونه تغییراتی را در شدت پیک‌ها نمایش می‌دهد اما خصوصیات و مکان‌های پیک‌ها تفاوتی نمی‌کند. در کار انجام شده توسط کلارک و همکارانش^۸ [۴] از نوعی طیف‌سنجی رامان موسوم به رامان NIR-FT، به منظور شناسایی آثار کاغذی و منسوجات دارای فام قرمز (۹ نمونه) به جای مانده از چین باستان، استفاده شد. وجود رنگزای معدنی سینابار^۹ (سولفید جیوه) در نمونه‌ها با استفاده از رامان NIR-FT و انطباق نتایج با داده‌های XRF تایید شد. رامان NIR-FT دارای پاسخ سریع‌تر از طیف‌سنجی رامان بوده و به دلیل استفاده از طول موج تهییج در ناحیه NIR حساسیت کمتری را در مقابل فلوروسنس تولید شده دارد [۴]. در هر حال به دلیل استفاده از تابش لیزر جهت تهییج در طیف‌سنجی، در صورت عدم استفاده صحیح از دستگاه طیف سنج رامان، خطر تخریب نمونه وجود خواهد داشت. وی نتیجه گرفت که در مورد نمونه‌هایی که در آنها سولفید جیوه مشاهده نشد، با توجه قدمت و مکان استحصال نمونه‌ها، احتمالاً از رونس برای ایجاد فام قرمز استفاده شده است.

۲-۶- اسپکتروفوتومتری مرئی و IR

روش‌های اسپکتروفوتومتری مرئی و IR بر روی ترکیبات حاوی آنتراکینون برای شناسایی ترکیبات قرمز رنگ در برخی آثار هنری به کار گرفته شده است. کبیری^{۱۰} عنوان نمود که با استفاده از طیف مرئی، رنگزاهای قرمز با پایه گیاهی کاملاً قابل تفکیک از رنگزاهای قرمز با پایه جانوری هستند.

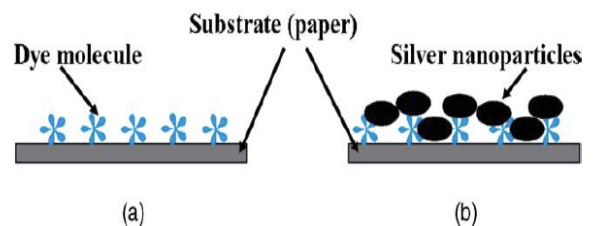
^۸ Robin J. H. Clark et al.

^۹ Cinnabar

^{۱۰} Kibry

۲-۵- اسپکتروسکوپی رامان سطحی بهبود یافته

اسپکتروسکوپی رامان سطحی بهبود یافته (SERS) روش اسپکتروسکوپی است که از طریق افزایش پاشش رامان^۱ مولکول‌های جذب شده روی سطح یک بستر فلزی ناصاف، امکان شناسایی مولکول‌های مجزا را فراهم می‌آورد. مبنای شناسایی مولکول‌ها در این روش تهییج پلاسمون‌های محلی (تئوری الکترو مغناطیس) است [۱۸]. روش اسپکتروسکوپی رامان یک روش موثر برای شناسایی ماده رنگزا است. این روش دارای تفکیک^۲ مکانی و طیفی^۳ بالا بوده و به عنوان یک روش غیر مخرب شناخته می‌شود و در صورت وجود میکروسکوپ رامان^۴ تنها نیاز به ابعاد میکروسکوپی دارد. در هر حال این روش تنها در مورد رنگ‌هایی کاربرد دارد که سیگنال رامان بالا داشته و خاصیت فلوروسنسی خوبی از خود بروز می‌دهند. برای فائق آمدن به این مشکل از روش SERS استفاده می‌شود. این روش با استفاده از جذب مولکول‌های رنگ به روی یک سطح فلزی ناصاف (از نقطه نظر اتمی)^۵ برای ایجاد اثر SERS استفاده می‌شود. با استفاده از این روش می‌توان اثر سیگنال معمولاً ضعیف رامان را از طریق رزونانس با پلاسمون فلزی تا ۷ برابر تقویت نمود. این روش می‌تواند اثرات فلوروسنس را تا حد زیادی از بین ببرد که از نظر دقت در شناسایی ترکیبات حائز اهمیت است. از آنجا که معمولاً آماده‌سازی نمونه در محیط آبی با استفاده از لایه نشانی نقره و یا پلیمرهای Zr-Osmosil^۶ فعال شده برای SERS^۷ انجام می‌شود، کوئی چن و همکارانش^۷ [۱۹] روشی را برای استفاده از SERS برای نمونه‌های آثار هنری بدون نیاز به آماده‌سازی در محیط آبی ارائه نمودند. روش پیشنهادی در شکل ۱۱ نمایش داده شده است. همچنین ابعاد نمونه مورد استفاده در شکل ۱۲ نمایش داده شده است. آرایش در فضایی مختلف آلیزارین جهت نمایش برهم‌کنش بین مولکول‌های رنگینه و نانو ذرات نقره نمایش داده شده است [۱۹].



شکل ۱۱- نمایش شمایی آنالیز مستقیم ماده رنگزا توسط روش SERS. یک لایه نقره به روی سطح ایجاد می‌شود تا اثر SERS القا گردد.

^۱ Raman scattering

^۲ Resolution

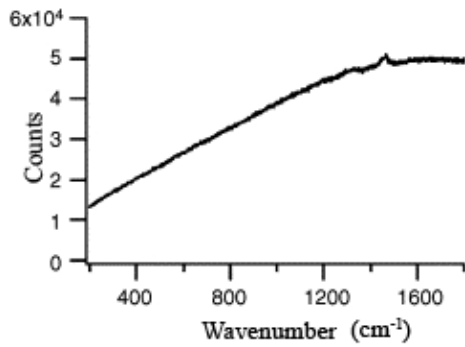
^۳ Spatial and spectral resolution

^۴ Raman microscope

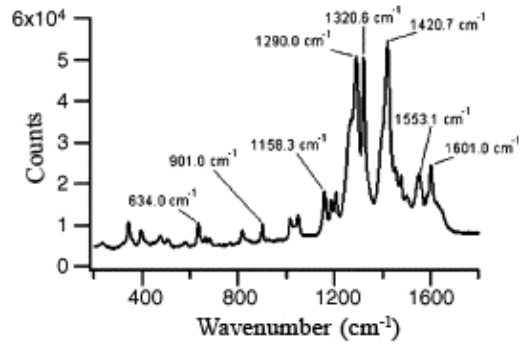
^۵ Atomically rough surface

^۶ SERS active zr-osmosil polymers

^۷ Kui chen et. al



(a) Alizarin



شکل ۱۳- طیف رامان معمولی (سمت چپ) و طیف SERS نمونه حاوی آلیزارین (سمت راست) [۱۹].

شده که از طریق خاصیت مویبندی نمونه وارد لوله مویب می‌شود و سپس لوله مویب به محفظه منبع برگردانده می‌شود. پس از این مهاجرت یونها از داخل لوله مویب بر اثر جریان الکتریکی برقرار شده بین آند و کاتد، آغاز می‌شود. معمولاً در انتهای لوله مویب یک آشکارساز قرار داده می‌شود. اطلاعات خروجی این آزمون به صورت الکتروفوروگرام است که پاسخ آشکارساز را به صورت تابعی از زمان مشخص می‌کند. هر یک از مواد شیمیایی جداسازی شده به صورت پیک‌هایی در الکتروفوروگرام ظاهر می‌شود. اساس عملکرد این روش در شکل ۱۴ نمایش داده شده است. جداسازی ترکیبات در روش الکتروفوروسیس لوله مویب بر اساس توانایی مهاجرت متفاوت ترکیبات در اثر اعمال میدان الکتریکی است. توانایی تفکیک این روش از HPLC بیشتر بوده و دقت اندازه‌گیری غلظت نیز در حد روش HPLC است.

حجم نمونه مورد استفاده در آن کمتر از HPLC است. ضعف این روش در مقایسه با HPLC، دقت پایین‌تر حسگرهای UV-Vis آن است [۲۰]. در کار انجام شده توسط آنا- لویز مونتس و همکارانش^۱ توانایی روش الکتروفوروسیس لوله مویب در جداسازی رنگ‌های طبیعی کارمین^۲، نیل^۳، زعفران، گمبوژ^۴ و روناس مورد استفاده واقع شد و

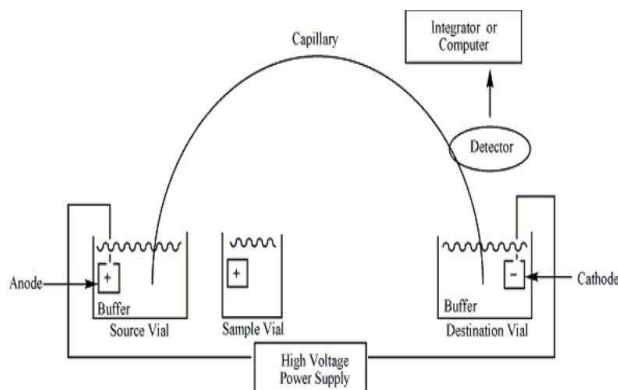
نتایج بررسی‌های وی در جدول ۲ ارائه شده است. همانطور که از جدول مشخص است، دو گونه گیاهی روناس و برزیل وود^۱ کاملاً قابل تفکیک از ترکیبات قرمز پایه جانوری لیک کوچینیل^۲، لیک کرمز^۳ و لیک لک^۴ هستند. علاوه بر طیف سنجی مرئی طیف سنجی در محدوده IR نیز در شناسایی رنگدانه‌های موجود در آثار هنری مورد استفاده واقع شده‌اند. اگرچه تفکیک اجزای طیفی^۵ روشی قابل توجه برای تفکیک و شناسایی رنگرها است ولی عموماً استفاده از اسپکتروسکوپی IR نمی‌تواند به عنوان یک روش کامل برای تفکیک اجزا مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این طیف IR برخی از لیک‌های رنگدانه‌های قرمز نوارهای وسیع طیفی را تولید می‌کند که این موضوع حتی شناسایی ترکیبات را سخت‌تر نیز می‌کند [۳].

جدول ۲- بیشینه‌های طیف مرئی رنگرهای قرمز طبیعی [۳].

| Red lake | Maxima(nm) | |
|---|------------|-----|
| Cochineal lake(Dactylopius coccus) | 525 | 560 |
| Kermes lake(Kermes lilicis L.) | 520 | 550 |
| Lac lake (kerria lacca) | 525 | 560 |
| Madder lake (Rubia tinctorium L.) | 505 | 535 |
| Brazilwood lake (caesalpinia echinata Lam.) | 515 | 540 |

۷-۲- الکتروفوروسیس لوله مویب

الکتروفوروسیس لوله مویب برای جداسازی یونها بر اساس بار آنها و شعاع هیدرودینامیکی به کار می‌رود. در الکتروفوروسیس متداول آنالیت‌هایی^۶ در یک مایع هادی تحت تاثیر یک میدان الکتریکی حرکت می‌کنند. اصلی‌ترین اجزای این سیستم عبارتند از: الکترودها، محفظه نمونه^۷، محفظه منبع^۸ و مقصد^۹ و لوله مویب که توسط الکترولیت پر شده‌اند. برای تغذیه نمونه به سیستم ابتدا سر لوله مویب به داخل محفظه نمونه برده



شکل ۱۴- الکتروفوروسیس لوله مویب [۲۰].

نهایتاً صحت روش توسط HPLC مورد آزمایش قرار گرفت. تاثیر pH، دما، اختلاف پتانسیل برقرار شده بین آند و کاتد، نوع حلال و غلظت بافر مورد

- 1 Brazilwood
- 2 Cochineal lake
- 3 Kermes lake
- 4 Lac lake
- 5 Spectral subtraction
- 6 Analyte
- 7 Sample vial
- 8 Source vial
- 9 Destination vial

اگر چه حدس‌های اولیه در خصوص رنگزای طبیعی به کار رفته با این دندانه، معطوف به روناس و برزیل وود بود، اما مقایسه طیف مرئی و UV رنگزا و همچنین نتایج بدست آمده از روش TLC نشان دادند که رنگزای طبیعی قرمز مورد استفاده ریواس^۱ بوده است [۱۰]. همچنین در کار انجام شده توسط کلینر و همکارانش^۹ از روش XRF برای شناسایی دندانه استفاده شده است [۱۵].

۹- نتیجه گیری

روش‌های متعددی برای شناسایی رنگزاهای طبیعی در آثار هنری و منسوجات مورد استفاده واقع شده‌اند. به علت پیچیدگی و تعدد ترکیبات موجود در رنگزاهای طبیعی عموماً از ترکیب روش‌های یاد شده در شناسایی این رنگزا استفاده می‌شود. در نظر داشتن حجم نمونه مورد استفاده در مورد آثار هنری و ارزشمند از عامل‌های حائز اهمیت است و بایستی روش‌های غیر تخریبی و روش‌هایی که حداقل حجم نمونه مصرفی را دارند مد نظر قرار گیرند به دلیل وجود چندین ترکیب در گیاه روناس استفاده از روش‌هایی که انعطاف پذیری بالاتری نسبت به حضور هم‌زمان چندین ترکیب رنگزا داشته باشند، ضروری به نظر می‌رسد.

۱۰- تشکر و قدردانی

این تحقیق در راستای انجام طرح پژوهشی " امکان بررسی بکارگیری روش‌های غیر مخرب دستگاهی تشخیص رنگ‌های طبیعی از رنگ‌های مصنوعی بر روی فرش دستباف (فاز اول : فام قرمز)" مصوب مرکز ملی فرش وابسته به وزارت صنعت، معدن و تجارت و تحت حمایت مالی سازمان مذکور انجام شده است که نویسنده بدین وسیله کمال تشکر خود را اعلام می‌دارد.

¹ Ana lopez-montes et. al.

² Carmine

³ Indigo

⁴ Gamboge

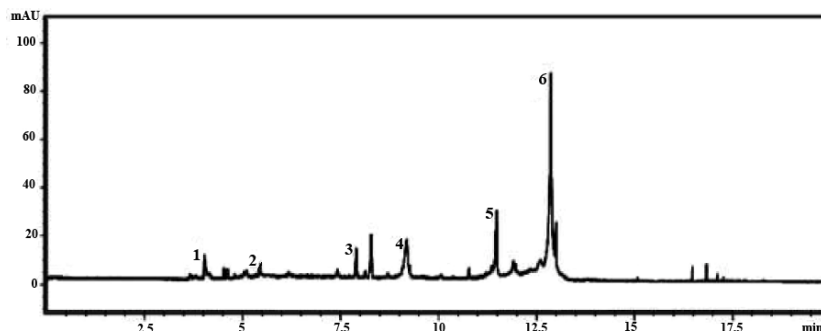
⁵ Indigotin

⁶ Carminic acid

⁷ Scott et. al

⁸ Rhubarb

⁹ Kleiner et. al.



شکل ۱۵- منحنی الکتروفوروگرام مخلوط چند رنگزای طبیعی که تحت شرایط بهینه ($pH=9.2$ غلظت بافر ۴۰ میلی مولار سدیم تترابورات، دمای ۲۵ درجه و اختلاف پتانسیل ۳۰ کیلو ولت) بدست آمده‌اند. پیک‌ها به ترتیب عبارتند از: ۱: آلیزارین، ۲: پورپورین، ۳: ایندیگوتین، ۴: کارمینیک اسید، ۵: کروسنتین، ۶: گمبوژیک اسید [۲۱].

1. C. Clementi, W. Nowikb, A. Romani, F. Cibin, G. Favaro, "A spectrometric and chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) dyestuff on wool" , *Analytica Chimica Acta* 596, 46-54, **2007**.
2. C. Goverdina, H. Derksen, G. P. Lelyveld, A. Teris, V. Beek, A. Capelle, A. Ede de Groot , "Two validated hplc methods for the quantification of alizarin and other anthraquinones in *rubia tinctorum* cultivars", *Phytochem. Anal.*, 15, 397-406, **2004**.
3. L. Patricia Lang, M. Virginia Orna, L. J. Richwine, T. F. Mathews, R. S. Nelson, "The visible and infrared microspectroscopic characterization of organic red pigments removed from three medieval byzantine manuscripts", *Microchem. J.*, 46, 232-248, **1992**.
4. R. J. H. Clark, P. J. Gibbs, K. R. Seddon, N. M. Brovenko, Y. A. Petrosyan, "Non-Destructive in SITU identification of cinnabar on Ancient chinese manuscripts", *J. Raman Spectrosc.*, 28, 91-94, **1997**.
5. R. J. H. Clark, "Pigment identification by spectroscopic means: An arts science interface", *C. R. Chimie*, 5, 7-20, **2002**.
6. High-performance liquid chromatography, Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Highperformance_liquid_chromatography, (**Accessed: 5th June 2011**).
7. K. Farizadeh, M. Montazer, M. Esmail Yazdanshenas, Abosaeid Rashidi, Reza M. A. Malek, "Extraction, identification and sorption studies of dyes from madder on wool", *J. Appl. Polym. Sci.*, 113, 3799-3808, **2009**.
8. P. Ba'nyai, I. N. Kuzovkina, L. Kursinszki, E. 'Szoke', "HPLC analysis of alizarin and purpurin produced by *Rubia tinctorum* L. Hairy Root Cultures", *Chromatographia*, 63, 111-114, **2006**.
9. T. Grygar, S. Kuckova, D. Hradil, D. Hradilova, "Electrochemical analysis of natural solid organic dyes and pigments", *J. Solid State Electrochem*, 7, 706-713, **2003**.
10. A. Romani, C. Clementi, C. Miliari, G. Favaro, "Fluorescence spectroscopy: A powerful technique for the noninvasive characterization of artwork", *Acc. Chem. Res.*, 6, 837-846, **2010**.
11. Claro, M. J. Melo, J. Sérgio Seixas de Melo, Klaas Jan van den Berg, Aviva Burnstock, Meredith Montague, Richard Newman , "Identification of red colorants in van Gogh paintings and ancient Andean textiles by microspectrofluorimetry", *J. cultural heritage*, 11, 27-34, **2010**.
12. O. Abdel-Karim, K. El. Negar, "Non destructive methods to investigate the deterioration extent of coptic egyptian textiles", *J. Textile and Apparel Technology and management*), **2005**, 4, Available at: [HYPERLINK"http://www.tx.ncsu.edu/volume4issue4/.../Abdelkreem_full_121_04.pdf"](http://www.tx.ncsu.edu/jtatm/volume4issue4/.../Abdelkreem_full_121_04.pdf) www.tx.ncsu.edu/jtatm/volume4issue4/.../Abdelkreem_full_121_04.pdf, (**Accessed: 10 July 2011**).
13. O. M. A. Abdel-Kareem, J. Szostak-Kotowa, W. Barabasz, I. Pasmionka, A. Galus, "Fungal biodeterioration of ancient egyptian textiles part i: Survaying study for the most dominant fungi on ancient egyptian textiles", in *Drobnousroej W Środowisku Występowanie, Aktywność i Znaczenie*, Wyd. AR Kraków, 279-290, **1997**.
14. R. J. Koestler, R. Sheryll, N. Indictor, "Identification of dyeing mordants and related substances on textile fibers: A preliminary study using energy dispersive x-ray spectrometry", *Studies in Conservation*, 2, 58-62, **1985**.
15. N. Indictor, R. J. Koestler, R. Sheryll , "The detection of mordants by energy dispersivex -rays pectrometry", *J. Am institute for conservation*, 24, 104-109, **1985**.
16. Staircase voltammetry ,Available at:[http:// en.wikipedia .org /wiki /Staircase_voltammetry](http://en.wikipedia.org/wiki/Staircase_voltammetry), (**Accessed: 5 June 2011**).
17. A. Doménech-Carbó, M. T. Doménech-Carbó, M. Calisti, V. Maiolo, "Sequential identification of organic dyes using the voltammetry of microparticles approach", *Talanta*, 81, 404-411, **2010**.
18. Surface enhanced Raman spectroscopy ,Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/Surface_enhanced_Raman_spectroscopy, (**Accessed: 5th June 2011**).
19. K. Chen, K. Chi V. Dinh, F. Yan, B. M. Wabuye, T. Vo-Dinh, "Direct identification of alizarin and lac dye on painting fragments using surface-enhanced Raman scattering", *J. Cultural Heritage*, 11, 27-34, **2010**.
20. Electrophoresis ,Available at:<http://en.wikipedia.org/wiki/Electrophoresis>, (**Accessed: 2 July 2011**).
21. A. Lpez-Montesl, R. Blanc Garcia, T. Espejo, J. F. Huertas-Perez, A. Navalon, J. L. Vilchez, "Simultaneous identification of natural dyes in the collection of drawings and maps from The Royal Chancellery Archives in Granada (Spain) by CE", *Electrophoresis*, 28, 1243-1251, **2007**.
22. X-ray fluorescence, Available At:[http:// en.wikipedia.org /wiki /X-ray_fluorescence](http://en.wikipedia.org/wiki/X-ray_fluorescence), (**Accessed: 10 July 2011**).
23. S. Shirono, Y. Hayakawa, "Identification of painting materials used for mural paintings by image analysis and XRF", *International Center for Diffraction Data*, **2006**, Available at: http://www.icdd.com/resources/axa/vol49/V49_31.pdf, (**Accessed: 10 July 2011**).