

Konzervacija biološkog materijala i FTIR-ATR tehnika

Marić, Anamaria

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:892311>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Anamaria Marić

**Konzervacija biološkog materijala i FTIR-ATR
tehnika**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Analitička kemija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Centru za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“, Ministarstva unutarnjih poslova (MUP) Republike Hrvatske pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Jasne Jablan uz komentorstvo dr.sc. Ivane Bačić, dipl. ing.

Hvala mojoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Jasni Jablan, na ugodnoj suradnji i stručnom vodstvu. Njoj i komentorici dr. sc. Ivani Bačić zahvaljujem na pomoći u izvedbi i pisanju ovoga rada.

Najveća zahvala ide mojim roditeljima, Šimi i Jelici, i bratu Anti što su me svojim strpljenjem, poukom i neizmjernom ljubavlju poticali da prvo postanem dobar čovjek, a onda mi i svojim trudom i podrškom omogućili da ustrajem u cijelom svom školovanju.

Hvala i mojim dragim prijateljima, posebice Kristini i Sanji, koji su mi svaki na svoj način donosili svjetlo kad mi se sve činilo mračnim, na brojnim me kavama i pivama razveseljavali te me Božjom riječju ohrabrivali. Posebna zahvala mojim kolegicama, Aniti, Mariji i Mateji, što su sa mnom dijelile skripte i šale te trenutke uspjeha i napora ovoga studija.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Pribijeni kruh	2
1.1.1 Umjetničko djelo	2
1.1.2 Analiza prikladnosti konsolidanta	4
1.2 Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR)	5
1.2.1 Infracrvena spektroskopija	5
1.2.2 Instrumenti za infracrvenu spektroskopiju	6
2. OBRAZLOŽENJE TEME	14
3. MATERIJALI I METODE	16
3.1 Materijali	17
3.1.1 Kemikalije	17
3.1.2 Laboratorijski pribor i posuđe	17
3.1.3 Radni instrument	17
3.1.4 Uzorci	17
3.2 Metode	18
3.2.1 Priprema uzoraka.....	18
3.2.2 Ubrzano starenje.....	20
3.2.3 Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom s potpunom prigušenom refleksijom (FTIR-ATR)	21
4. REZULTATI I RASPRAVA	22
4.1 Utjecaj konsolidanta na vanjski izgled umjetničkog djela	23
4.2 Utjecaj vlage, temperature i svjetlosti	24
4.3 FTIR-ATR analiza	24
5. ZAKLJUČCI	32
6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA	34
7. LITERATURA	36
8. SAŽETAK/SUMMARY	40
9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

1.1 Pribijeni kruh

1.1.1 Umjetničko djelo

“Pribijeni kruh” umjetničko je djelo autora Dragoljuba Raše Todosijevića iz 1973. Ovo djelo konceptualne umjetnosti dio je stalnog postava Muzeja suvremene umjetnosti (MSU) u Zagrebu te je prema zanimanju publike jedno od najintragantnijih djela stalnog postava. Umjetnik je u stvaranju koristio materijale iz svakodnevnog života, tako se djelo sastoji od kruha na drvenoj dasci koji je proboden trima čavlima (Slika 1). Iako sam kruh čini materijal od kojeg je izrađeno umjetničko djelo, on također daje i značenje ovom djelu jer asocira na osnovnu prehrambenu namirnicu i Kristovo razapinjanje na križ, čime razbija prepreku između života i umjetnosti. Uz svoju umjetničku vrijednost, djelo se pokazalo i kao zanimljiv konzervatorsko-restauratorski projekt, nakon što su primijećeni prvi znakovi njegovog raspadanja 2010. godine. Nakon izgradnje nove zgrade MSU-a 2009. godine, djelo je premješteno te postavljeno u stalni postav. Kako se stalni postav tijekom vremena rotira u prostoru, 2010. godine djelo je postavljeno u blizini drugih djela izrađenih od organskog materijala, kao što je „Pijanino za spavanje“ umjetnika Philipa Cornera iz 1999., koje je izrađeno od klavira, sijena i kape. Vjeruje se da je ovakav smještaj doprinio tomu da se, nakon gotovo 40 godina od nastanka djela, kruh počeo sušiti, pucati i mrviti te je, stoga, započet projekt njegova konzerviranja (Pavić i sur., 2022).



Slika 1. Pribijeni kruh, Dragoljub Raša Todosijević, 1973., Muzej suvremenih umjetnosti, Zagreb (preuzeto iz Pavić i sur., 2022; fotografirao Jovan Kliska).

U razgovoru s autorom djela, ispostavilo se da je on u više prilika koristio kruh kao materijal za svoja umjetnička djela te da nije niti bio upoznat s mogućnošću konzerviranja kruha, zbog čega je prethodno predložio da donira novi komad kruha. Postojanje drugih djela izrađenih od istog materijala, dodatno je potaknulo konzervatore na istraživanje mogućnosti konzerviranja i restauriranja ovakvog materijala. Uz suglasnost autora, 2010. godine pristupilo se konzervatorskom radu te je kruh rastavljen na dijelove na koje se prirodnim procesima prethodno raspao (Slika 2). Mali raspadnuti dijelovi su uklonjeni, a čavli su očišćeni i presvučeni antikorozivnom tekućinom. U dijelove kruha injektirana je 6%-tna otopina etilmetakrilatnog kopolimera Paraloida B-72 u etanolu te su dijelovi kruha njime spojeni nakon 24-satnog sušenja. Ovaj konsolidant odabran je preliminarnim ispitivanjima koja su provedena na uzorku osušenog kruha dobivenog od iste vrste brašna. Uzorak je pokazao stabilnost u usporedbi s nekonzerviranim uzorkom, a stabilnost je nakon nanošenja ispitana ispuštanjem uzoraka s visine na pod. Organski je materijal zatim podvrgnut dezinfekciji zračenjem gama zrakama (2 kGy) na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu. Ovako konzervirano umjetničko djelo očuvalo se bez vidljivih promjena sve do 2018. godine kad su ponovo opaženi manji znakovi raspadanja te prisustvo manjih letećih insekata (Pavić i sur., 2022).



Slika 2. Pribijeni kruh tijekom konzerviranja 2010. godine (preuzeto iz Pavić i sur., 2022; fotografirala Mirta Pavić).

1.1.2 Analiza prikladnosti konsolidanta

Zbog novih znakova raspadanja prethodno konzerviranog organskog materijala od kojeg je djelo sastavljeno, konzervatorsko-restauratorski tim odlučio je dodatno analizirati učinkovitost drugih potencijalnih konsolidanata koji bi se mogli primijeniti za istu svrhu te ih usporediti s prethodno korištenim konsolidantom. Kako bi se potencijalni konsolidant mogao primijeniti u svrhu konzerviranja ovakvog materijala, treba zadovoljiti sljedeće zahtjeve: i) ne smije dovesti do vizualnih promjena materijala; ii) topljiv u otapalu koje ne razgrađuje škrob i brzo isparava, kako ne bi došlo do dodatnog oštećenja materijala; iii) odgovarajuća stabilnost; iv) rezistentnost na parazite. Za ispitivanje su odabrana četiri različita konsolidanta koji su svi sintetske smole topljive u lako otparavajućem otapalu: polivinilacetat homopolimer (Mowilith 50), 3-poli-(2-etil-2-oksazolin) (Aquazol 200 i Aquazol 500) i Paraloid B-72 (Pavić i sur., 2022).

Aquazol 200 i Aquazol 500 su polimeri različite molekulske mase. Aquazol 500 ima snažnije svojstvo vezanja, dok Aquazol 200 pokazuje bolju mogućnost penetracije (Arslanoglu i Tallent, 2003). Kako bi se nadoknadila njegova slabija mogućnost penetracije, Aquazol 500 može se pripremiti u obliku razrijeđene otopine te nanijeti u više premaza. Zbog svoje niske viskoznosti, Aquazol 500 može pomoći i kod popunjavanja sitnih praznina u materijalu (Arslanoglu, 2004). Viskoznost otopina u vodi je manja od otopina polivinilacetata, a još je niža viskoznost otopina u alkoholu (Arslanoglu i Tallent, 2003). Aquazol je topljiv u vodi, metanolu, etanolu, acetonu, metilen kloridu i kloroformu (Chiu i sur., 1986). Dobra topljivost omogućuje konzervatorima uklanjanje viška konsolidanta te jednostavnu reaktivaciju, a završni izgled može dosta ovisiti o otapalu (Lechuga, 2011). Otopine Aquazola u alkoholu pokazuju dobra svojstva penetracije, brzo se suše i donekle plastificiraju čak i boju. Prednosti ove smole su njezina termostabilnost i termoplastičnost, nepodržavanje rasta plijesni u vodi, bolja transparentnost od otopina polivinilacetata i bolja svojstva starenja (Arslanoglu, 2004). Aquazol ne mijenja boju niti pod uvjetima ubrzanog starenja, nije toksičan te je kao adheziv odobren od Američke agencije za hranu i lijekove (FDA) (Wolbers i sur., 1994). Prilikom sušenja, dolazi do čistog povlačenja dijelova materijala jednog prema drugome, za razliku od sušenja Paraloida B-72 i emulzija polivinilacetata koji mogu utjecati na položaj malih dijelova materijala i nakupljati se u spojevima. Problem može stvoriti to što Aquazol 500 može nakon sušenja dati sjajni izgled (Arslanoglu, 2004). Slaba strana ove smole je utjecaj velike relativne vlažnosti koja može dovesti do gubitka svojstva adhezivnosti i promjene konzistencije smole, a također ima i svojstvo hidroskopsnosti, što je problem kod korištenja u organskim materijalima (Arslanoglu, 2004; Lechuga, 2011).

Mowilith 50 je homopolimer polivinilacetata (PVA), koji se najdulje od svih sintetičnih smola koristi u konzervaciji umjetničkih djela (Bria, 1986). Uz Mowilith 50, u toj liniji smola postoje još i 20, 30, 40 i 60, a one se razlikuju po molekularnoj masi, koja raste povećanjem broja linije, a time i čvrstoći vezanja i viskoznost (Alderson i sur., 2019). PVA ima veću stabilnost od prirodnih smola prilikom izlaganja sunčevim zrakama te u tim uvjetima zadržava svoju dobru topljivost u raznim organskim otapalima i transparentnost (Thomson, 1957). U smoli ne dolazi do stvaranja ukriženih veza među molekulama u uvjetima prirodnog i ubrzanog starenja, što bi u suprotnom dovelo do promjena u karakteristikama smole nakon otparavanja otapala (Thomson, 1961). Mowilith 50 može vrlo dobro penetrirati te ima dobra svojstva sušenja. Može se koristiti na različitim materijalima kao što su drvo, tekstil, papir, koža, staklo, plastika i metal (Pavić i sur., 2022). Prednosti PVA su dobra adhezivnost, bezbojnost i mogućnost reverzibilnosti, a glavni nedostaci su ograničena otpornost na vlagu i temperature te podržavanje rasta plijesni (Unger i sur., 2001).

Paraloid B-72 je prozirna, bezbojna sintetska smola koja posjeduje svojstvo visoke stabilnosti. Po kemijskom sastavu je kopolimer etil-metakrilata (70%) i metil-akrilata (30%), a analizom je utvrđeno i da sadrži 2% butil metakrilata (Chiantore i Lazzari, 1996). Snažan je adheziv, a da pritom nije krt, stoga se često koristi kao adheziv i konsolidant. Zbog niske temperature staklastog prijelaza na visokim temperaturama dolazi do smanjenja čvrstoće vezanja, koja se povećava na nižim temperaturama (Alexiou i sur., 2013). Prednosti Paraloida B-72 su njegova fleksibilnost, dugotrajnost, ali i činjenica da ne žuti s vremenom (Pavić i sur., 2022). Često se upotrebljava na različitim materijalima, kao što su metal, kamen, drvo, staklo i keramika, zbog svoje dobre stabilnosti (rezistencija na oksidaciju, svjetlost i hidrolizu), mehaničke čvrstoće i reverzibilnosti. Najbolje se otapa u acetonu, a kompatibilan je i s etanolom. Otopine Paraloida B-72 s do 40% alkohola koriste se za konzervacijske radove u kojima je potrebno duže vrijeme sušenja, a pokazale su se dobrima u uvjetima viših temperatura (Koob, 1986; Vincotte, 2019).

1.2 Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR)

1.2.1 Infracrvena spektroskopija

Infracrvena spektroskopija (IR) je analitička tehnika razvijena 1940-ih godina te od tada predstavlja jednu od najkorisnijih tehnika zbog velikog broja različitih uzoraka koji se njome mogu analizirati. IR je vibracijska tehnika koja se temelji na propuštanju infracrvenog zračenja

kroz uzorak, pri čemu dolazi do apsorpcije, ako se radi o energiji koja odgovara energiji vibracije veze. Infracrveno zračenje je zračenje valne duljine od 0,78 do 1000 μm , a u infracrvenoj spektroskopiji najčešće se koristi zračenje valne duljine iz srednjeg infracrvenog spektra (2,5-50 μm). Kako energija infracrvenog zračenja nije dovoljna za prijelaz u više energetske stanje, apsorbirana energija može dovesti do vibracija i rotacija veza što zahtijeva manju energiju. Zbog postojanja krutih struktura u molekulama, utjecaj rotacija veza u molekuli je malen (Stuart, 2004; Skoog i sur., 1999; Skoog i sur., 2018).

Kako bi promjena vibracije bila vidljiva na IR-spektru, ona mora uzrokovati promjenu u raspodjeli naboja u molekuli, odnosno u molekuli mora doći do promjene dipolnog momenta. Vibracije se očituju kao simetrična ili asimetrična istežanja i savijanja veza. Kako je ovo uvjet za IR, jedine molekule koje ne možemo analizirati IR-om su homonuklearne molekule, poput O_2 , N_2 ili Cl_2 . Kod višeatomskih molekula, veze koje vibriraju na istoj valnoj duljini dovode do pojačavanja signala, a susjedne veze mogu dovesti do sprežanja čime se spektar dodatno komplicira, ali i postaje jedinstven za određenu molekulu. Sprežanje se očituje kao promjena položaja apsorpcijskog maksimuma veze, do kojeg dolazi zbog preklapanja vibracija bliskih veza. Zbog međusobnog utjecaja veza, ova tehnika se može koristiti kao “fingerprint” tehnika za jednoznačnu kvalitativnu analizu. Zbog složenosti spektara, uskih apsorpcijskih vrpca te ograničenja instrumenata rijetko se koristi za kvantitativnu analizu, unatoč svojoj selektivnosti i širokom spektru uzoraka koji se njome mogu odrediti (Stuart 2004; Skoog i sur., 1999).

Rezultat IR-a je spektar koji pokazuje odnos transmitancije (%) i valnog broja (μm^{-2}). Valni broj predstavlja recipročnu vrijednost valne duljine te je proporcionalan energiji zračenja. Prema preporuci Međunarodne unije za čistu i primijenjenu kemiju (IUPAC) vrijednosti na x-osi idu od većih prema manjima. Spektre je teško interpretirati, zbog čega se za identifikaciju koriste spektri iz zbirke spektara koji služe za usporedbu s dobivenim spektrima. Na spektru se može razaznati regija funkcionalnih skupina, u području od 3600 do 1250 cm^{-1} i fingerprint regija, u području od 1200 do 600 cm^{-1} (Barth, 2007; Skoog i sur., 1999).

1.2.2 Instrumenti za infracrvenu spektroskopiju

1.2.2.1 Disperzivni instrumenti

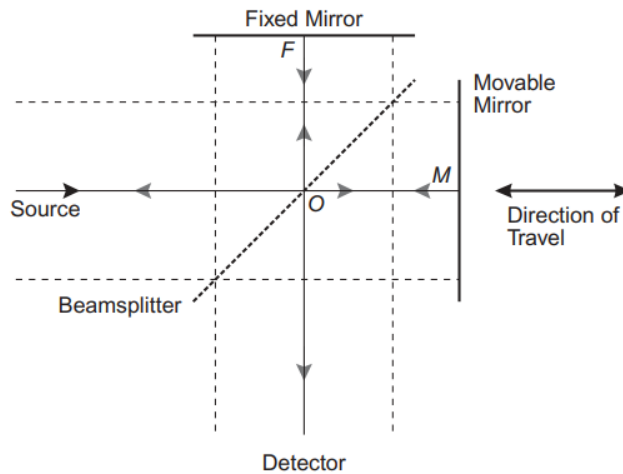
Osnovni dijelovi prvih infracrvenih spektrometara bili su izvor infracrvenog zračenja, optika za fokusiranje zračenja na uzorak, uzorak, optika za fokusiranje zračenja na monokromator,

monokromator te detektor. Za izvor zračenja koristio se Globar, izrađen od silikonskih karbida, kao i Nernstova lampa, koja je mješavina oksida cirkonija, erbija i itrija. Kao monokromator se na početku koristila prizma izrađena od materijala kao što je natrijev klorid, a kasnije je prizma zamijenjena optičkom rešetkom. Monokromator je bio smješten iza uzorka kako bi se smanjio utjecaj toplinske energije na signal na detektoru. Kako bi se uklonio utjecaj apsorpcije atmosfere, koristi se i metoda dvostruke zrake, u kojoj se zračenje izvora dijeli na dvije zrake od kojih jedna prolazi kroz uzorak, a druga kroz referentni materijal (atmosferu). Rezultat se onda iznosi kao omjer rezultata zrake koja je prošla kroz uzorak i referentne zrake. Većina detektora ovih uređaja sastoji se od termoparova različitih karakteristika. Disperzivni instrumenti se više danas ne koriste u rutinskoj analizi, zbog velikog omjera šuma i signala te zbog dugotrajnosti analize, jer se svaka valna duljina posebno mjerila (Stuart, 2004; Barth, 2007).

1.2.2.2 Fourierove transformacije

Do napredovanja ove tehnike došlo je uvođenjem interferometra umjesto monokromatora. Interferometar je uređaj koji omogućuje dobivanje jedne zrake interferencijom dviju zraka svjetlosti, a rezultat je zračenje čiji se intenzitet na detektoru dobiva korištenjem složenih matematičkih funkcija pod nazivom Fourierove transformacije, koje obavlja računalo (Stuart, 2004).

Michelsonov interferometar je najčešće korišten interferometar, a sastoji se od dva okomita zrcala, od kojih je jedno zrcalo pomično. Dijagonalno između dva zrcala nalazi se razdvajač zrake (*beamsplitter*), koji lomi zračenje izvora tako da dio dolazi do stacionarnog, a dio do pomičnog zrcala (Slika 3). Refleksijom na zrcalima zrake zatim ponovno prolaze kroz razdvajač zraka te dio zračenja obje zrake izlazi u smjeru detektora, dovodeći do međusobne interferencije koja može biti konstruktivna ili destruktivna. Kod idealnog razdvajača zrake dolazi do refleksije pola zrake, dok se druga polovica transmitira, a kod idealnog zrcala dolazi do refleksije pola zrake. Pomično ogledalo mijenja valnu duljinu odbijene zrake, ovisno o njegovoj udaljenosti od razdvajača zrake. Pomično zrcalo može se pomicati konstantnom brzinom (neprekidno skenirajući interferometar) ili se zadržavati na jednako udaljenim pozicijama zadani kratki period (isprekidano skenirajući interferometar). Rezultat interferencije tih dviju zraka naziva se interferogram. Dolaskom do detektora analogni se signal pretvara u digitalni pomoću analogno-digitalnog pretvarača (Stuart, 2004; Barth, 2007; Dutta, 2017).



Slika 3. Michelsonov interferometar (preuzeto iz Griffiths i de Haseth, 2007).

Ako se zrcalo interferometra pomiče konstantnom brzinom, tada signal na detektoru varira sinusoidalno. U idealnom slučaju s monokromatskim izvorom koji proizvodi beskonačno usku paralelnu zraku svjetlosti jednažba intenziteta zračenja glasi:

$$I(\delta) = 0,5 I(\tilde{\nu}_0) \left(1 + \cos 2\pi \frac{\delta}{\lambda_0}\right)$$

ili

$$I(\delta) = 0,5 I(\tilde{\nu}_0) (1 + \cos 2\pi \tilde{\nu}_0 \delta)$$

$I(\delta)$ označava intenzitet zračenja na detektoru te je funkcija ovisnosti o faktoru promjene (δ), a $I(\tilde{\nu}_0)$ označava intenzitet zrake na izvoru. Faktor promjene označava razliku optičkog puta dviju zraka koje interferiraju. Kada taj faktor daje cjeloviti umnožak s valnom duljinom zrake na izvoru, na detektoru se očitava maksimum. Promjenjivi dio jednažbe $0,5 I(\tilde{\nu}_0) \cos 2\pi \tilde{\nu}_0 \delta$ naziva se interferogram za monokromatski izvor zračenja (Stuart, 2004; Griffiths i de Haseth, 2007).

U stvarnosti se ipak ne može dobiti idealan interferogram te je jednažbu potrebno prilagoditi ograničenjima uređaja. Nije moguće imati idealan razdvajač zraka, zbog čega se faktor $I(\tilde{\nu}_0)$ množi s varijablom efikasnosti razdvajača zrake, koja ovisi o valnoj duljini zračenja izvora. Također, ni detektor ni pojačivač signala nemaju jednak odgovor na zračenja svih valnih duljina. Uzimajući ovo u obzir, jednažba intenziteta signala glasi:

$$S(\delta) = 0,5 H(\tilde{\nu}_0)G(\tilde{\nu}_0)I(\tilde{\nu}_0)\cos 2\pi\tilde{\nu}_0 \delta$$

ili pojednostavljeno

$$S(\delta) = B(\tilde{\nu}_0)\cos 2\pi\tilde{\nu}_0 \delta$$

$G(\tilde{\nu}_0)$ – odziv detektora i pojačivača

$H(\tilde{\nu}_0)$ – efikasnost razdvajajuća zrake

$$B(\tilde{\nu}_0) = 0,5 H(\tilde{\nu}_0)G(\tilde{\nu}_0)I(\tilde{\nu}_0)$$

$S(\delta)$ predstavlja kosinus Fourierove transformacije od $B(\tilde{\nu}_0)$. U stvarnosti, ne koristi se monokromatski izvor, nego izvor emitira zračenje raspona valnih duljina. U tom slučaju interferogram je rezultanta interferograma svih valnih duljina. Tada jednadžba interferograma glasi ovako:

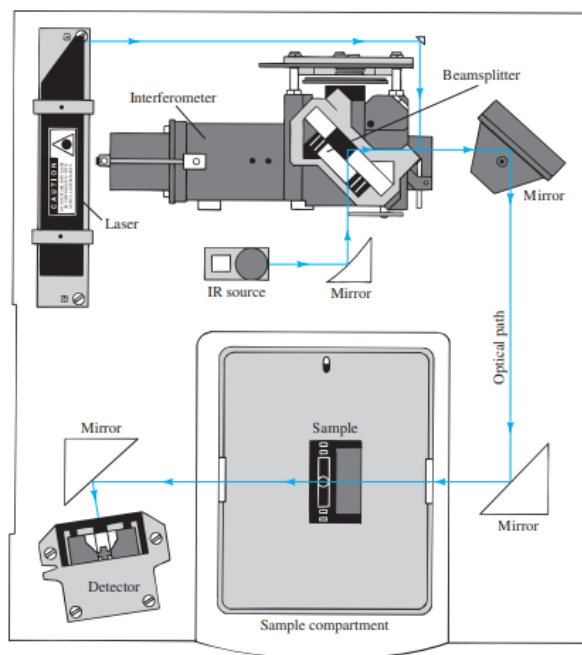
$$S(\delta) = \int_{-\infty}^{+\infty} B(\tilde{\nu}_0)\cos 2\pi\tilde{\nu}_0 \delta$$

i

$$B(\tilde{\nu}_0) = \int_{-\infty}^{+\infty} S(\delta)\cos 2\pi\tilde{\nu}_0 \delta$$

Ove dvije jednadžbe čine par kosinusa Fourierove transformacije. Iz njih se pomoću složenih matematičkih funkcija, koje izvodi računalo, dobiva spektar (Griffiths i de Haseth, 2007).

FTIR (Slika 4) je superioran drugim izvedbama infracrvenog spektrometra jer je doveo do ubrzanja metode (rezultati dostupni u sekundi) te do povećanja osjetljivosti i preciznosti. Dvije prednosti FTIR-a nad disperzivnim instrumentima su Fellgettova i Jacquinotova prednost. Fellgettova prednost očituje se u multiplicitetu, odnosno mogućnosti istovremenog analiziranja na svim valnim duljinama infracrvenog područja. Jacquinotova prednost, s druge strane, govori o mogućnosti propuštanja većeg intenziteta zračenja kroz uređaj, čime se postiže veća osjetljivost (Dutta, 2017; Griffiths i de Haseth, 2007).

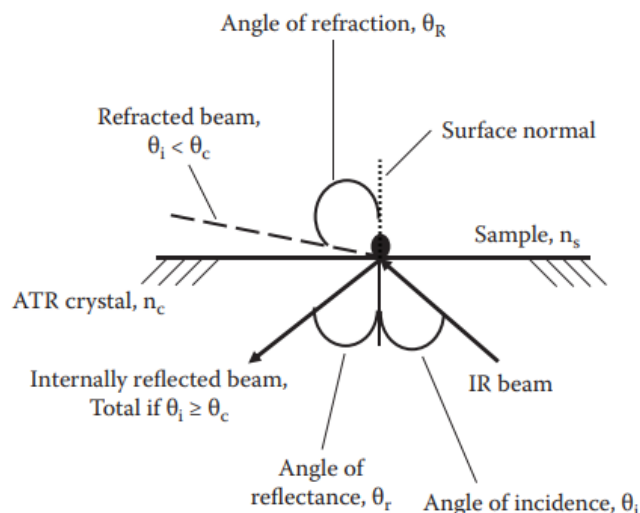


Slika 4. Dijagram jednostavnog FTIR spektrometra (preuzeto iz Skoog i sur., 2018).

1.2.2.3 Prigušena potpuna refleksija (ATR)

Kvaliteta spektra uvelike ovisi o pripremi uzorka i stručnosti analitičara u toj pripremi. Postoji više načina pripreme uzorka, a izbor pravog načina pripreme ovisi o prirodi uzorka. U IR-u možemo pratiti intenzitet reflektiranog, apsorbiranog, transmitiranog ili raspršenog zračenja, a koji će od tih intenziteta biti najveći za neki uzorak ovisi o njegovoj morfologiji, kristalnom obliku, kutu upadne zrake i razlici indeksa loma između uzorka i okoline. U reflektivnoj tehnici najčešće su metode pripreme uzorka metoda prigušene potpune refleksije (ATR) i FTIR spektroskopija difuzne refleksije (DRIFTS) (Larkin, 2011).

ATR je kontaktna metoda uzorkovanja koja uključuje kristal visokog indeksa loma i odličnog svojstva transmitiranja IR-a. U ovoj metodi kristal visokog indeksa loma postavlja se uz uzorak te se kroz kristal propušta zračenje. Kada zraka dođe do granice između kristala i uzorka, ona se djelomično lomi i prelazi u uzorak, a djelomično reflektira i vraća nazad u kristal prateći zakon refleksije (Slika 5).



Slika 5. Optički proces koji se odvija kada IR zračenje prolazi kroz kristal visokog indeksa loma (n_c) i nailazi na uzorak nižeg indeksa loma (n_s). θ_i je kut upada, θ_r kut refleksije, a θ_R kut loma (preuzeto iz Smith, 2011).

Kako uzorak ima manji indeks loma od kristala, prema Snelliusovu zakonu kut loma je veći od kuta upada:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2$$

n_1 – indeks loma kristala

θ_1 – upadni kut zrake

n_2 – indeks loma uzorka

θ_2 – kut loma zrake

Kut upada koji dovodi do lomljenja zrake pod kutom loma od 90° naziva se kritični kut (θ_c):

$$\theta_c = \sin^{-1} \left(\frac{n_2}{n_1} \right)$$

Ako je kut upada jednak ili veći od kritičnog kuta, sve se zračenje reflektira te sve zračenje ostaje unutar kristala, a ta se pojava naziva potpuna unutarnja refleksija. Kako u stvarnosti upadna i reflektirana zraka okupiraju isti volumen, u mjestu potpune refleksije pod zadovoljavajućim uvjetima dolazi do njihove konstruktivne interferencije. Amplituda koja nastaje na granici kristala i uzorka probija u uzorak te se ova pojava naziva evanescentni val ili ponekad „hot spot“. Dio zračenja evanescentnog vala apsorbira uzorak, a ostatak zračenja je zatim fokusiran na detektor. Kako uzorak apsorbira dio zračenja, intenzitet je manji, nego kada

uzorak nije prisutan, pa se iz tog razloga ova metoda naziva prigušena potpuna refleksija (Larkin, 2011; Smith, 2011).

Intenzitet evanescentnog vala eksponencijalno opada s udaljenošću od „hot spota“, a udaljenost na kojoj intenzitet postigne 36,8% ($\frac{1}{e}$, gdje je e baza prirodnog logaritma) inicijalnog intenziteta naziva se dubina penetracije (DP):

$$DP = 1/[2\pi W n_c (\sin^2 \theta - n_{sc}^2)^{1/2}]$$

W – valni broj

n_c – indeks loma ATR kristala

θ – upadni kut zrake

$$n_{sc} = \frac{n_{uzorka}}{n_{kristala}}$$

DP je važan faktor duljine puta zrake koji utječe na osjetljivost i kvalitetu dobivenog spektra. DP obrnuto proporcionalno ovisi o valnom broj zračenja, indeksu loma kristala i uzorka te upadnom kutu zrake. Na DP također može utjecati i pritisak kojim se uzorak prislanja uz kristal, ali on nije uvijek prisutan za sve uzorke te ne mora utjecati linearno, a može se regulirati pomoću ATR steznika s mjeračem pritiska (Smith, 2011).

Ova metoda iziskuje dobar kontakt između kristala i uzorka, stoga se najlakše može upotrijebiti za tekućine i meke krutine, a za čvrste krutine, polimere i praške potrebno je upotrijebiti stezaljku. U prošlosti su ATR kristali bili u obliku dugih, tankih poluga i načinjeni od cinkovog selenida, silikona i germanija. Zbog ovakvog oblika, ovi su kristali davali više „hot spotova“, a dubine penetracija su se jednostavno zbrajale, čime su duljina puta i posljedično osjetljivost bili veći. U noviji vrijeme, umjesto navedenih kristala, koristi se dijamant, a zbog njegove se cijene većinom koristi manji kristal koji rezultira samo jednim „hot spotom“ (Smith, 2011). Ipak, dijamant je izvrstan ATR kristal jer ima identičan indeks loma kao cinkov selenid, zbog čega se spektri dobiveni pomoću njih poklapaju. Dijamant je također kemijski inertan te ga uzorci ne mogu ogrebat, jer je on najčvršći poznati materijal. Zbog njegove čvrstoće može se koristiti i jaka sila za prislanjanje uzorka na kristal bez da se kristal polomi. Gotovo se za sve uzorke uz pomoć dijamanta može dobiti spektar, zbog čega neki znanstvenici tehniku zovu i dijamantna prigušena potpuna refleksija (DATR) (Smith, 2011).

Spektri dobiveni ATR-om trebaju se uspoređivati samo sa spektrima iz baze ATR spektara, jer se ovisno o metodi pripreve intenziteti na spektrima međusobno razlikuju (Smith, 2011). Ova se metoda često koristi jer je brza, nedestruktivna i ne zahtijeva nikakvu prethodnu pripravu uzorka (Larkin, 2011). Plinovi su jedini uzorak koji nije moguće analizirati ovom metodom, jer se plin ne može jednostavno prisloniti uz kristal. Problem kod ATR-a je što kristal mora biti potpuno čist i bez ogrebotina, stoga je kristalom potrebno vrlo nježno baratati. Također, mnogi ATR kristali apsorbiraju u srednjem IR području (dijamant između 2200 i 2000 cm^{-1} , a cinkov selenid ispod 700 cm^{-1}) te maskiraju svojstva uzorka. Ovaj se problem može riješiti kombiniranjem dva kristala koji imaju komplementarna područja apsorpcije pa će njihovo preklapanje dati cijeli spektar. Nedostaci su i visoka cijena tehnike, kao i niska osjetljivost zbog malog DP (može biti manji od 1, a rijetko je veći od 10 mikrona), zbog čega se mogu detektirati jedino molekule prisutne u koncentraciji većoj od 0,1% (Smith, 2011).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

U zbirkama gotovo svakog muzeja suvremene i moderne umjetnosti diljem svijeta nalaze se umjetnički predmeti izrađeni od organskog i biološkog materijala što predstavlja veliki izazov za konzervatorsko-restauratorsku zajednicu u održavanju i čuvanju takvih djela u izvornom obliku. Umjetničko djelo “Pribijeni kruh” izrađeno je od organskog materijala, zbog čega je s vremenom došlo do njegovog raspadanja, što je potaknulo istraživanje ovog istovremeno i jednostavnog, ali i vrlo izazovnog materijala. Cilj konzervatorsko-restauratorskog rada nije bio samo poništiti prethodne vizualne znakove raspadanja i time prekriti znakove starosti umjetničkog djela, nego spriječiti daljnje raspadanje kruha.

Prethodnim ispitivanjima već je utvrđena učinkovitost Paraloida B-72 u konzervaciji ovog umjetničkog djela, međutim vremenom je ipak došlo do naknadnog raspadanja kruha. Usljed znakova dezintegracije materijala, 2018. godine se krenulo u ponovni proces konzerviranja pri čemu su odabrana četiri različita konsolidanta (Paraloid B-72, Aquazol 200 i 500 te Mowilith 50) za tu primjenu. Cilj je bio odrediti koji od ispitivanih konsolidanata pokazuje najbolja svojstva konzerviranja ovakvog materijala. Odabrani konsolidanti su na isti način injektirani u testne uzorke približno iste veličine. Na taj način volumen uvedenog konsolidanta u materijal bio je približno jednak. Dobiveni rezultati istraživanja iz 2018. godine pokazali su kako svi ispitani konsolidanti daju slične rezultate odnosno nisu doveli do kemijskih promjena škroba kao glavnog sastojka kruha niti do njihove ugradnje u strukturu polimera. Nadalje, svi konsolidanti pokazali su nehomogenu raspodjelu unutar samog uzorka kruha uzrokovanu najvjerojatnije načinom aplikacije što čini potencijalni problem primjene ovih konsolidanata za konzerviranje ove vrste biološkog materijala te može dovesti do prijevremenog raspadanja samog uzorka.

Dobiveni rezultati potaknuli su novo istraživanje s kojim se krenulo u 2020. godini. Glavni cilj bio je istražiti prednosti i nedostatke različitih načina aplikacije odabranih konsolidanata za njihovu primjenu u konzervaciji biološkog materijala, kruha. Također, pripremljeni uzorci ispitani su metodom ubranog starenja uz različite utjecaje vlage, temperature i svjetlosti kako bi se ispitaio utjecaj klimatskih uvjeta na očuvanje konzerviranog biološkog materijala uz primjenu određenog konsolidanta.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Materijali

3.1.1 Kemikalije

- Etanol (Merck, Njemačka)
- Konsolidanti:
 - Aquazol 500 – 3-poli-(2-etil-2-oksazolin) (Polymer Chemistry Innovations, Inc., SAD)
 - Aquazol 200 – 3-poli-(2-etil-2-oksazolin) (Polymer Chemistry Innovations, Inc., SAD)
 - Paraloid B-72 – kopolimer etil-metakrilata (Polymer Chemistry Innovations, Inc., SAD)
 - Mowilith 50 – polivinilacetat homopolimer (Polymer Chemistry Innovations, Inc., SAD)

3.1.2 Laboratorijski pribor i posude

- Skalpel
- Plastični spremnici
- Vakuum sustav
- Bireta
- Stakleni lončić za filtriranje
- Šprica i igla za injektiranje
- Predmetna stakalca

3.1.3 Radni instrument

- klimatska kapsula (Votsch 018) (Soumac Assembly Services Ltd, Velika Britanija)
- peć za sušenje (Binder ED) (Sigma-Aldrich, SAD)
- Suntest (CPS+) (Solar Light Company, LLC , SAD)
- FTIR-ATR (Bruker Alpha, Njemačka)

3.1.4 Uzorci

Uzorci kruha iste kvalitete kao original (kruh od bijelog pšeničnog brašna) kupljeni su tijekom lipnja 2020. godine u lokalnim trgovinama, osušeni na zraku te izrezani na približno jednake veličine (3 x 3 cm). Svi uzorci sastoje se i od vanjskog (kore) i od unutarnjeg (sredine) dijela kruha.

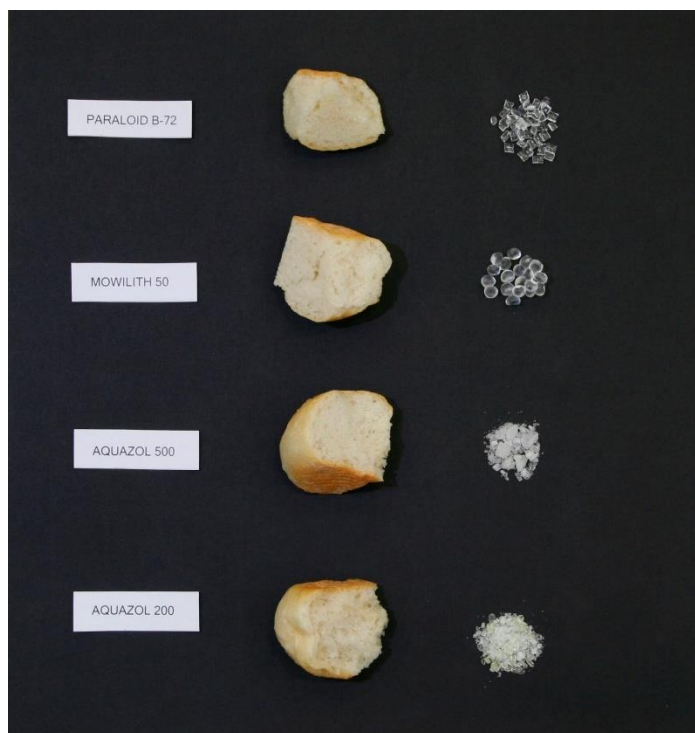
Za izvođenje eksperimenata ne koristi se direktno uzorak umjetničkog djela, jer bi se time nepovratno izgubio dio djela, nego se koristi kruh napravljen od istog materijala.

3.2 Metode

3.2.1 Priprema uzoraka

Uzorci su pripremljeni u lipnju 2020. godine na Zavodu za analitičku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svi ispitani konsolidanti (Paraloid B-72, Aquazol 200, Aquazol 500 i Mowilith 50) aplicirani su na tri načina u testne uzorke kruha:

1. *Umakanje* – uzorak kruha se uroni u otopinu konsolidanta te ostavi da stoji u njoj kroz 15 min, 30 min, 1 h i 24 h (n = 16).
2. *Primjena vakuum sustava* – otopinom konsolidanta napuni se bireta te se brzinom protoka od 60 kapi/minuti ispušta volumen od 10 mL ili 25 mL na uzorak kruha koji se nalazi na staklenom lončiću za filtriranje. Pomoću vakuum sustava određeni volumen otopine konsolidanta koji se ispušta iz birete aplicira se u kruh (n = 12).
3. *Injektiranje* – pomoću šprice se ubrizgava otopina konsolidanta na različita mjesta testnog uzorka dok god uzorak upija otopinu (n = 4) (Slika 6).



Slika 6. Uzorci obrađeni injektiranjem s četiri različita konsolidanta (preuzeto iz Pavić i sur., 2022; fotografirala Mirta Pavić).

Uzorci su raspoređeni u 4 seta. Prvi set sastoji se od 12 uzoraka, koji su pripremljeni umakanjem u konsolidantu kroz 15 min, 30 min ili 1 h. Drugi set sastoji se od uzoraka koji su pripremljeni umakanjem kroz 24 h u konsolidantu te uzoraka koji su pripremljeni ispuštanjem dva različita volumena konsolidanta iz birete (10 mL ili 25 mL) te njihovim apliciranjem u uzorke kruha pomoću vakuum sustava (Slika 7).



Slika 7. Drugi set pripremljenih uzoraka.

Treći set sastoji se samo od uzoraka koji su pripremljeni ispuštanjem 10 mL konsolidanta iz birete te njegovim apliciranjem u uzorak kruha pomoću vakuum sustava. Zadnji set sastoji se od uzoraka pripremljenih metodom injektiranja konsolidanta u uzorak pomoću šprice s iglom. Svi pripremljeni uzorci s pripadajućim oznakama prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Priprema uzoraka primjenom različitih načina apliciranja konsolidanata.

Priprema uzorka	Umakanje				Vakuum			Injektiranje
	15 min	30 min	1 h	24 h	10 mL (oznaka A)	25 mL (oznaka B)	10 mL (oznaka SA)	
Aquazol 500	A 500 15'	A 500 30'	A 500 1h	A 500 24 h	A 500 A	A 500 B	S A 500 A no.2	A 500 i
Aquazol 200	A 200 15'	A 200 30'	A 200 1 h	A 200 24 h	A 200 A	A 200 B	S A 200 A no.2	A 200 i
Paraloid B-72	P 15'	P 30'	P 1 h	P 24 h	P A	P B	S P A no.2	P i
Mowilith 50	M 15'	M 30'	M 1 h	M 24 h	M A	M B	S M A no.2	M i
Uzorci	set 1			set 2			set 3	set 4

3.2.2 Ubrzano starenje

Svi pripremljeni uzorci podvrgnuti su metodi ubrzanog starenja (Tablica 1) na Fakultetu kemije i kemijske tehnologije Sveučilišta u Ljubljani, Zavod za analitičku kemiju. Pripremljeni uzorci podijeljeni u četiri seta korišteni su za ispitivanje utjecaja vlage, temperature i svjetlosti.

3.2.2.1 Utjecaj vlage i temperature

Utjecaj vlage i temperature ispitan je na uzorcima koji pripadaju skupini set 1 i set 2. Uzorci iz oba seta podijeljeni su u tri grupe te je svaka grupa bila podvrgnuta drugačijim uvjetima (Uvjeti 1, Uvjeti 2 i Uvjeti 3). Uzorci su postavljeni u klimatsku kapsulu i sušionik. Relativna vlažnost se mijenjala svakih 24 sata (Tablica 2).

Tablica 2. Uvjeti za ubrzano starenje u klimatskoj kapsuli i sušioniku.

	Vrijeme (tjedni)	temperatura (°C)	relativna vlažnost 1 (%)	relativna vlažnost 2 (%)
Uvjeti 1	13	30	24 do 30	80
Uvjeti 2	9	30	24 do 30	50 do 55
Uvjeti 3	3	55	ispod 5	27 do 32

3.2.2.2 Utjecaj svjetlosti

Utjecaj svjetlosti ispitan je na uzorcima seta 3 procesom ubrzanog starenja te na uzorcima seta 4 putem prirodnog starenja. Uzorci seta 3 podijeljeni su u dvije grupe. Prva grupa bila je izložena svjetlosti u Suntestu s filtrom s 9000 kJ/m^2 (CPS+), dok druga grupa nije bila izložena svjetlosti. Eksperimentalni uvjeti za obje grupe uzoraka prikazane su u Tablici 3 i Tablici 4. Uzorci su izlagani svjetlosti u 22 ciklusa po 5 sati (jedan ciklus/dan). Uzorci izloženi prirodnom starenju stavljeni su na prozorsku dasku unutar laboratorija te su na taj način bili izloženi dnevnom svjetlu.

Tablica 3. Uvjeti ubrzanog starenje uzoraka pod utjecajem svjetlosti u Suntestu (CPS+).

	vrijeme (sat)	temperatura (°C)	relativna vlažnost (%)
Uvjeti 1 (izlaganje svjetlosti)	22 x 5	40 do 43	20 do 22
Uvjeti 2 (bez izlaganja svjetlosti)		20 do 22	55 do 60

Tablica 4. Uvjeti prirodnog starenje uzoraka.

	vrijeme (tjedni)	temperatura (°C)	relativna vlažnost (%)
Uvjeti	22	22 do 24	40 do 45

3.2.2.3 Utjecaj konsolidanta na vanjski izgled umjetničkog djela

Kako se ispitivanje radi u svrhu očuvanja izgleda umjetničkog djela, bitno je ispitati i utjecaj pojedinih konsolidanata na vanjski izgled samog djela. Ispitan je izgled konsolidanata pripremljenih u obliku otopine (smjesa etanola i vode), nakon sušenja u sušioniku te podvrgnutom utjecaju vlage i svjetlosti. Mala količina konsolidanta se nanese na stakleno stakalce te promatra izgled.

3.2.3 Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom s potpunom prigušenom refleksijom (FTIR-ATR)

FTIR-ATR spektri snimljeni su korištenjem uređaja Bruker Alpha (Njemačka) FTIR spektrometar s dijamantnom ATR tehnikom jednostruke refleksije, u rasponu valnih brojeva od 4000 do 400 cm^{-1} , uz rezoluciju od 4 cm^{-1} . Uzorke nije bilo potrebno prethodno dodatno pripremati. Svaki uzorak snimljen je na 13 različitih pozicija.

4. REZULTATI I RASPRAVA

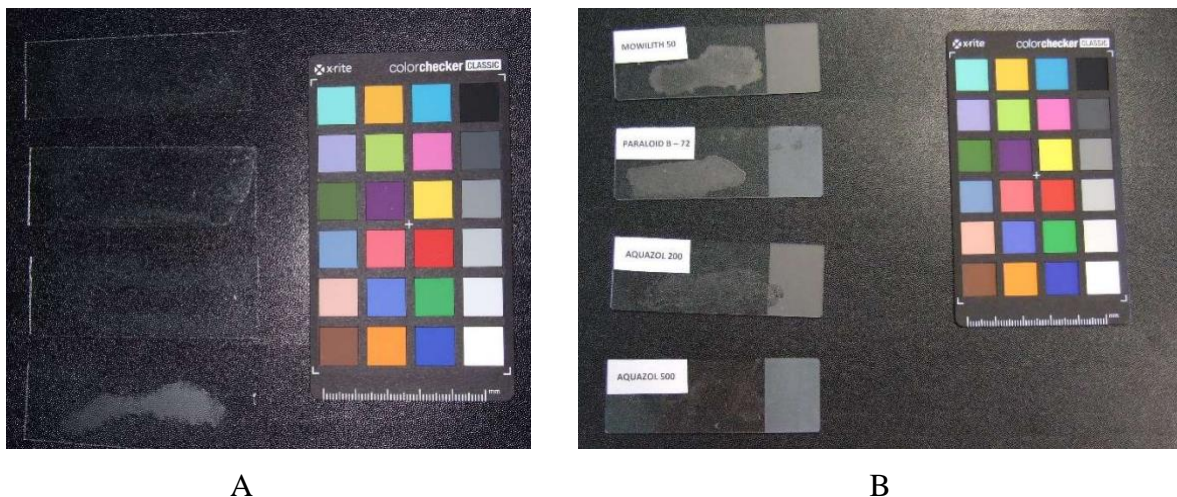
Zbog potrebe konzerviranja umjetničkog djela prvi je put otopina Paraloida B-72 injektirana direktno u izvorni kruh na način da se otopina konsolidanta dodavala sve dok god je kruh upijao otopinu. Uslijed znakova dezintegracije materijala 2018. godine krenulo se u ponovni proces konzerviranja pri čemu su ispitana svojstva četiri različita konsolidanta (Paraloid B-72, Aquazol 200 i 500 te Mowilith 50) za tu primjenu. Rezultati ispitivanja pokazala su da je glavni problem kod ovakve primjene konsolidanta nehomogena raspoređenost kroz cijeli uzorak te može biti uzrok prijevremenog raspadanja samog uzorka. U ovom radu su ispitani isti konsolidanti, ali aplicirani na različite načine kako bi se istražio utjecaj aplikacije konsolidanta na raspodjelu kroz uzorak. Uzorci su podvrgnuti i procesu ubrzanog starenja kako bi se pokazao utjecaj klimatskih uvjeta na očuvanje biološkog materijala uz primjenu određenog konsolidanta.

4.1 Utjecaj konsolidanta na vanjski izgled umjetničkog djela

Prilikom odabira konsolidanta za konzerviranje mora se voditi računa da on ispunjava određene zahtjeve (vidi 1.1.2). U ovom istraživanju prvo se ispitaio utjecaj odabranih konsolidanata na vanjski izgled umjetničkog djela. Utjecaj procesa starenja na izgled konsolidanta ispitan je usporedbom izgleda konsolidanta pripremljenog u obliku otopine te nakon primijenjenih procesa ubrzanog starenja (Tablica 5). Aquazol 200 i Aquazol 500 pokazali su najmanju osjetljivost na izloženost različitim uvjetima (vlaga, svjetlost) te da najmanje estetski utječu na uzorak na koji se primjenjuju (Slika 8A i 8B).

Tablica 5. Izgled konsolidanata podvrgnutih različitim uvjetima

konsolidant	otopina	sušenje u sušioniku	utjecaj vlage	utjecaj svjetlosti
Aquazol 00	prozirno	prozirno	prozirno	prozirno
Aquazol 200	prozirno	prozirno	prozirno	prozirno
Paraloid B-72	neprozirno	prozirno	neprozirno	prozirno
Mowilith 50	prozirno	neprozirno	neprozirno	neprozirno



Slika 8. Konsolidanti aplicirani na predmetnom stakalcu nakon ubrzanog starenja
 A) uzorci nakon ubrzanog starenja u Suntestu
 B) uzorci nakon ubrzanog starenja u klimatskoj komori i sušioniku

4.2 Utjecaj vlage, temperature i svjetlosti

Nakon provedenog ispitivanja utjecaja vlage i temperature pod različitim uvjetima (Tablica 3) na svim uzorcima nisu uočene vidljive pukotine. Razlog tome može biti mala veličine samog ispitivanog uzorka (3x3 cm). Nadalje, to može biti i posljedica pripreme samog uzorka koji se prvotno izreže na male komade pa suši pri čemu je već došlo do popuštanja mehaničke napetosti.

Utjecaj svjetlosti ispitivan je procesom ubrzanog starenja kao i prirodnim starenjem. Kod svih testnih uzoraka podvrgnutih ili ubrzanom ili prirodnom starenju uočeno je izbjeljivanje jezgre pod utjecajem svjetla. Ovo opažanje može biti posljedica prisutnosti prirodnih pigmenta u bijelom brašnu, poput karotenoida, koji su relativno nestabilni i njihova razgradnja se može ubrzati svjetlom.

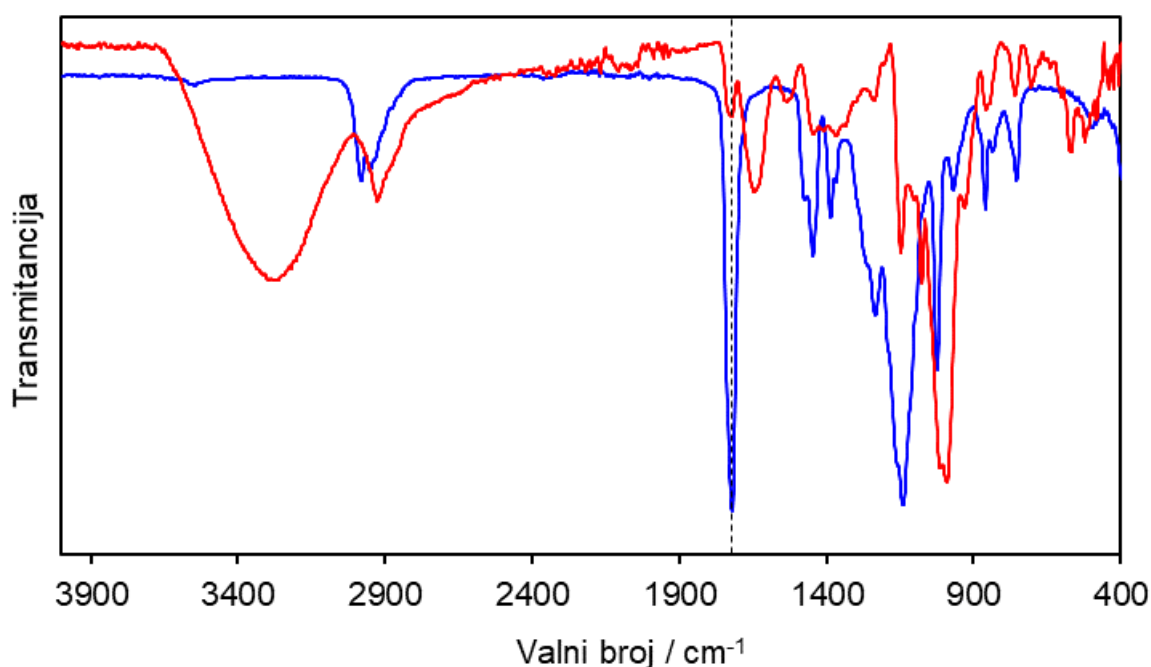
4.3 FTIR-ATR analiza

FTIR-ATR tehnikom snimljeni su spektri čistih konsolidanata te spektri pripremljenih uzoraka na 13 različitih pozicija. Slika 9 je shematski prikaz pozicija na uzorku gdje su snimljeni FTIR spektri. Tamnija boja označava poziciju bliže kori kruha, a što je svjetlija radi se o poziciji snimanja spektra više prema sredini kruha.

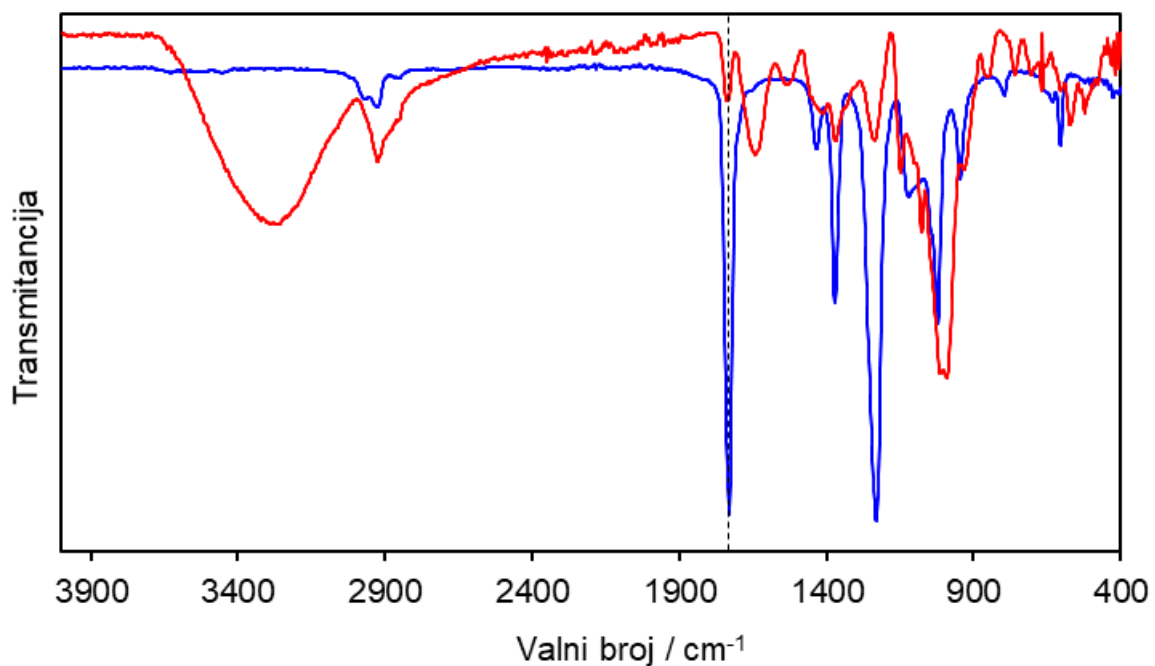
		5		
	2	6	11	
1	4	7	10	13
	3	8	12	
		9		

Slika 9. Shematski prikaz pozicija na uzorku gdje su snimljeni FTIR spektri.

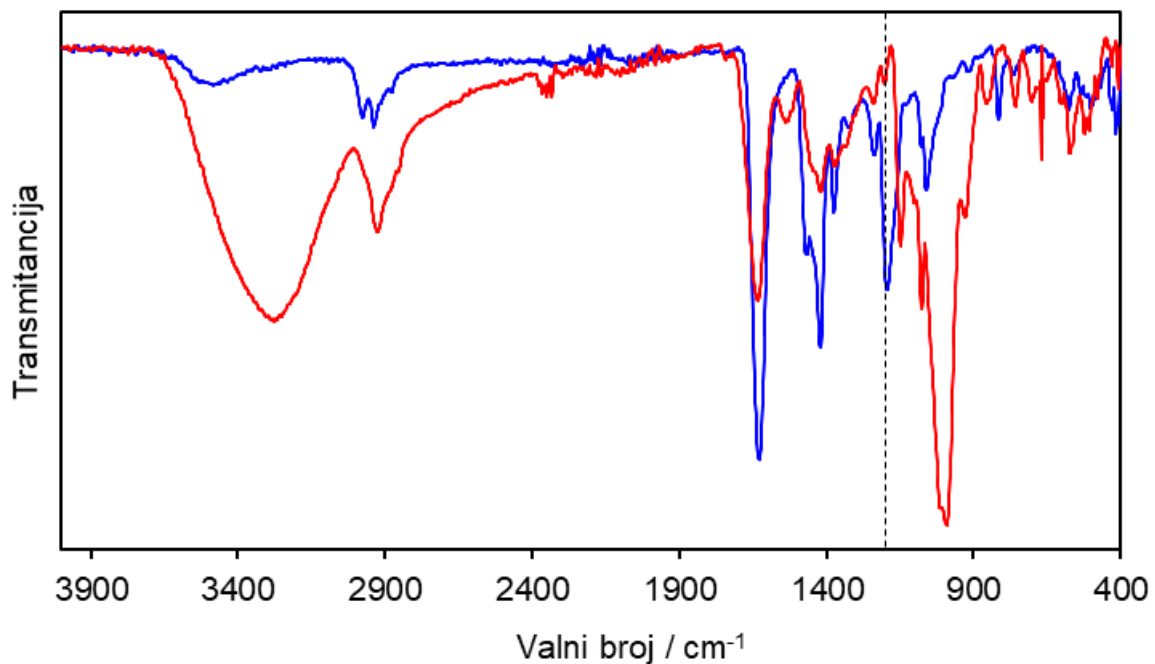
U FTIR-ATR analizi kao marker prisutnosti Paraloida-B72 i Mowilitha 50 služila je apsorpcijska vrpca na 1723 cm^{-1} (Slika 10 i 11), koja je povezana s istežanjem C=O veze karakteristične za ove konsolidante, dok je marker prisutnosti Aquazola 200 i Aquazola 500 bila apsorpcijska vrpca na 1195 cm^{-1} (Slika 12 i 13), za koju se smatra da je povezana s rastežanjem C-C veze. Spektri svih uzoraka nisu prikazani u ovom radu.



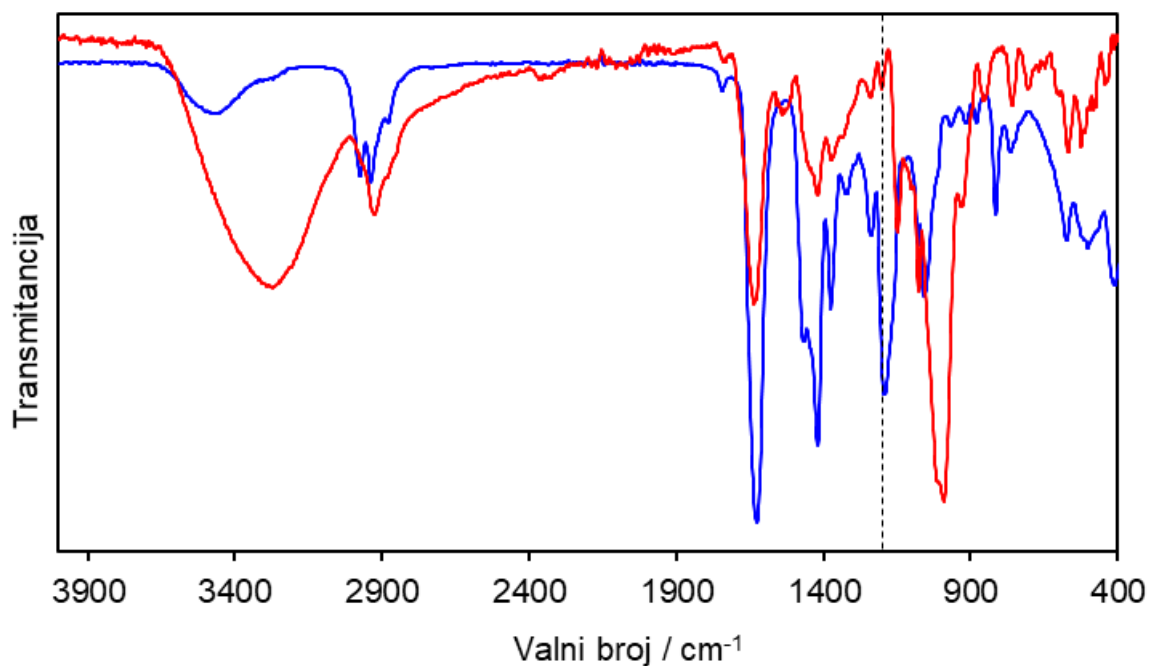
Slika 10. FTIR spektri Paraloida-B72 (plavo) i uzorka kruha natopljenog 15 minuta Paraloidom-B72 (crveno).



Slika 11. FTIR spektri Mowilitha 50 (plavo) i uzorka kruha natopljenog 15 minuta Mowilithom 50 (crveno).



Slika 12. FTIR spektri Aquazola 200 (plavo) i uzorka kruha natopljenog 15 minuta Aquazolom 200 (crveno).



Slika 13. FTIR spektri Aquazola 500 (plavo) i uzorka kruha natopljenog 15 minuta Aquazolom 500 (crveno).

Usporedbom dobivenih spektara, odnosno veličina karakterističnih apsorpcijskih vrpca čistog konsolidanta s ispitivanim uzorcima, odredio se % sadržaja konsolidanta na svakoj pojedinoj poziciji snimanja. Dobivene vrijednosti za sve ispitivane konsolidante i za sve različite načine pripreme uzoraka prikazane su na Slikama 14, 15 i 16.

	A-200-15 minuta					A-200-30 minuta					A-200-1h					A-200-24h						
	10,88					22,05					17,50					15,10						
	5,23	7,29	6,90			27,52	8,05	2,16			24,54	7,53	23,01			9,35	3,26	4,89				
7,14	8,82	5,94	9,11	30,20		11,79	12,22	4,60	7,81	12,13		8,34	17,93	4,46	7,19	5,32		26,61	10,02	4,94	7,29	9,68
	3,98	7,29	2,73			9,83	2,21	4,31				8,15	2,83	2,73					22,96	8,15	11,89	
	48,51					2,92					15,10					16,35						
	A-500-15 minuta					A-500-30 minuta					A-500-1h					A-500-24h						
	3,62					8,71					12,27					6,66						
	4,03	3,13	3,65			4,15	3,27	3,80			4,18	8,09	2,34			7,89	4,79	9,96				
6,25	3,30	5,00	2,81	2,86		6,60	3,89	3,54	3,83	2,75		23,00	4,76	5,73	3,59	4,79		28,87	3,86	9,06	8,50	6,08
	3,16	2,78	2,95			5,17	2,86	7,60				7,33	7,07	3,16					8,12	4,59	6,08	
	2,75					2,81					9,03					5,11						
	M-50-15 minuta					M-50-30 minuta					M-50-1h					M-50-24h						
	6,27					11,35					9,19					2,36						
	4,12	2,69	8,92			4,61	3,24	4,38			4,46	6,61	6,81			5,09	2,57	4,25				
5,43	1,98	3,08	3,62	5,74		3,39	2,48	2,82	3,76	9,39		7,81	4,67	3,18	4,08	4,46		8,54	6,33	8,24	5,78	7,07
	4,78	8,57	1,73			3,99	2,13	9,54				5,79	5,29	4,48					10,59	5,17	5,40	
	6,31					4,58					6,07					13,02						
	P-872-15 minuta					P-872-30 minuta					P-872-1h					P-872-24h						
	7,00					4,96					7,60					8,27						
	13,72	5,24	4,21			3,50	4,80	3,61			2,79	1,68	4,85			6,04	5,20	4,72				
5,72	4,29	2,24	4,10	22,36		17,32	3,82	1,91	3,40	6,01		2,64	4,40	1,21	2,60	4,16		8,34	3,58	6,63	6,31	7,38
	3,84	8,70	7,76			3,96	1,01	2,57				4,94	4,57	3,25					8,81	4,86	6,86	
	8,81					10,43					4,53					14,82						

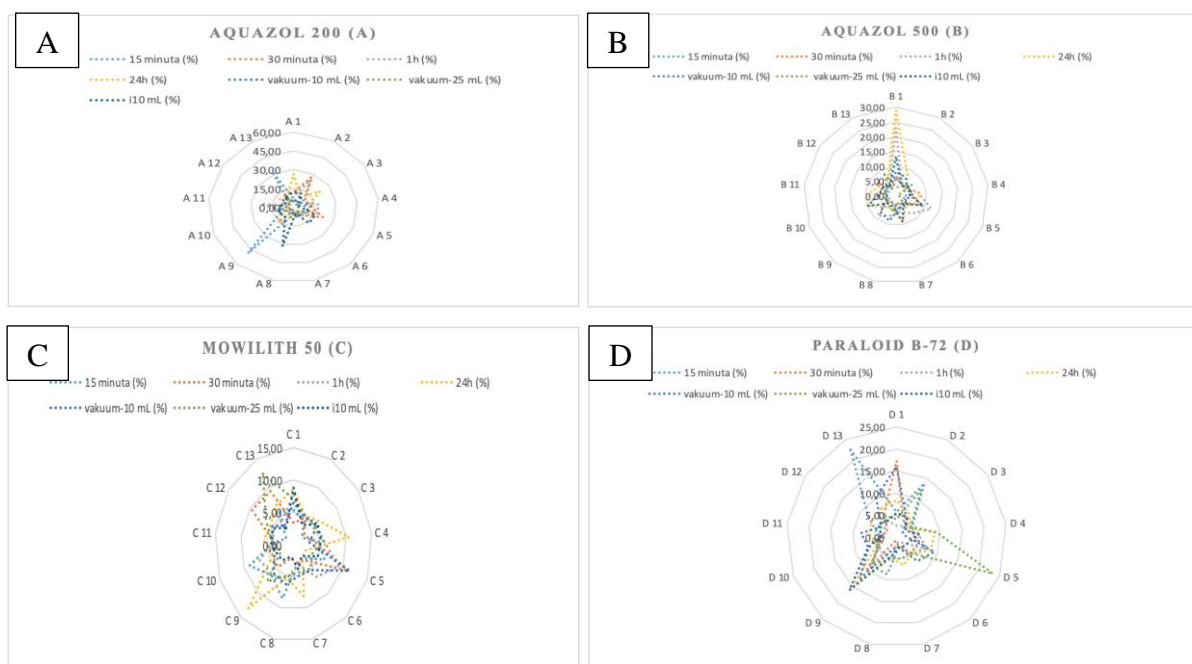
Slika 14. Izračunati % konsolidanta na pozicijama 1-13 koristeći metodu umakanja kroz 15 min, 30 min, 1h i 24h za apliciranje konsolidanta.

A-200-A- vakuum-10 mL					A-200-B- vakuum-25 mL					
			9,30				2,68			
		11,07	4,70	8,10			2,49	4,75	5,42	
	4,36	12,32	7,62	11,27	8,96	4,65	3,26	3,31	7,09	7,57
		6,62	4,94	9,40			4,51	8,10	4,22	
			2,01				4,36			
A-500-A- vakuum-10 mL					A-500-B- vakuum-25 mL					
			3,48				3,24			
		6,93	4,38	3,39			3,36	2,48	3,13	
	8,09	4,56	4,38	3,01	3,65	2,78	6,31	2,72	3,54	8,18
		5,52	8,88	5,08			0,61	5,14	3,51	
			7,48				3,80			
M-50-A- vakuum-10 mL					M-50-B- vakuum-25 mL					
			11,37				3,89			
		4,74	5,20	3,80			5,01	4,87	2,48	
	6,59	5,71	4,80	3,92	3,42	7,19	4,99	4,41	4,04	12,44
		3,08	6,23	4,95			5,89	4,93	6,38	
			5,76				7,45			
P-872-A- vakuum-10 mL					P-872-B- vakuum-25 mL					
			9,27				23,42			
		4,93	7,26	6,79			12,16	4,78	4,31	
	16,04	1,69	2,59	8,14	10,12	4,04	4,02	5,05	4,05	5,47
		2,19	2,73	4,20			9,29	4,96	4,16	
			12,47				8,18			

Slika 15. Izračunati % konsolidanta na pozicijama 1-13 koristeći metodu vakuum sustava za apliciranje konsolidanta.

M-50-i10 mL					A-500-i10 mL					A-200-i10 mL					A-200-i10 mL								
				4,95				9,56					16,54				16,54						
			3,44	2,30	3,52			3,92	3,57	9,64			12,46	16,49	11,27			12,46	16,49	11,27			
	8,84	5,63	3,82	4,41	2,91		13,35	5,20	9,21	5,35	4,21		12,61	3,74	4,89	9,25	9,92	12,61	3,74	4,89	9,25	9,92	
		5,31	1,83	4,64				4,09	3,71	5,00			4,84	31,45	6,47			4,84	31,45	6,47			
														8,96							8,96		

Slika 16. Izračunati % konsolidanta na pozicijama 1-13 koristeći metodu injektiranja za apliciranje konsolidanta.

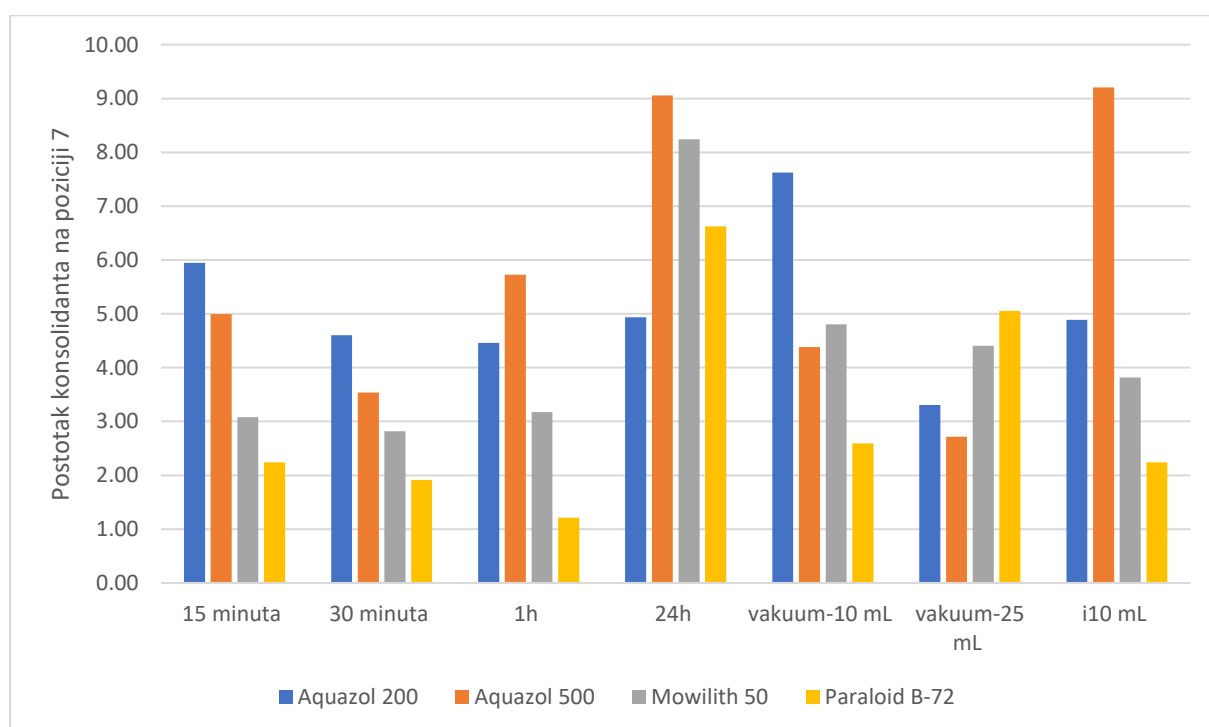


Slika 17. Grafički prikaz raspodjele konsolidanta u uzorku u ovisnosti o načinu aplikacije te poziciji snimanja FTIR spektra. A) Aquazol 200; B) Aquazol 500; C) Mowilith 50; D) Paraloid B-72.

Na Slici 17 može se vidjeti raspodjela svakog pojedinog konsolidanta u ovisnosti o načinu aplikacije te poziciji snimanja FTIR spektra. Kod svih pripremljenih uzoraka, intenziteti vrpca dobivenih na različitim lokacijama u uzorku bili su različiti pa su tako i dobivene vrijednosti za postotak konsolidanta koji je apliciran u uzorak varirale značajno u pojedinim slučajevima što se može objasniti razlikama u gustoći i poroznosti samog uzorka, odnosno kruha, odnosno pozicije snimanja. Iako su uočene razlike u postotku konsolidanta na različitim mjestima u uzorku, može se zaključiti da Aquazol 200 i Aquazol 500 daju najbolje rezultate jer je postotak oba ova konsolidanta proporcionalan i u sredini kruha, kao i bliže površini, što mu osigurava bolju homogenu raspodjelu za razliku od Paraloida B-72 i Mowilitha 50.

Na Slici 18 prikazana je usporedba dobivenog postotka konsolidanta uz različite načine aplikacije snimanjem FTIR spektra na poziciji 7 (sredina kruha). Pokazalo se da kod svih ispitanih konsolidanata nije dobivena značajna razlika u % konsolidanta u uzorku s duljim vremenom umakanja osim u slučaju umakanja kroz 24 h. Kod 15 min, 30 min i 1 h umakanja, kao i kod primjene vakuum sustava za propuštanje 10 mL konsolidanta kao načina aplikacije, najveći postotak određen je u slučaju primjene Aquazola 200, dok je kod umakanja kroz 24 h te injektiranjem najveći postotak pokazao Aquazol 500. U slučaju primjene vakuum sustava za

propuštanje 25 mL konsolidanta kao načina aplikacije nisu dobivene značajne razlike kod svih ispitivanih konsolidanata. Iz dobivenih rezultata moglo se zaključiti kako su Aquazol 200 i Aquazol 500 pokazali najbolju raspodjelu kroz uzorak te bi bili konsolidanti izbora. Nadalje, iako je Aquazol 500 bio u većem postotku apliciran nakon umakanja kroz 24 h, kao najbolji način aplikacije konsolidanta može se smatrati metoda umakanja kroz 15 minuta što je dovoljno vrijeme za konzerviranje te se postiže zadovoljavajuća homogenost konsolidanta kroz uzorak. U tom bi slučaju Aquazol 200 bio konsolidant izbora. Prilikom odabira postupka aplikacije konsolidanta treba se uzeti u obzir jednostavnost postupka, kao i potrebno vrijeme za konzerviranje.



Slika 18. Usporedba dobivenog postotka konsolidanta uz različite načine aplikacije snimanjem FTIR spektra na poziciji 7 (sredina kruha).

Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti da je od svih ispitivanih konsolidanata Aquazol 200 pokazao najbolja svojstva, kako u postotku konsolidanta koji se zadržao u kruhu, tako i u njegovoj homogenoj raspoređenosti kroz uzorak. Nadalje, kao najbolja metoda načina aplikacije konsolidanta pokazala se metoda umakanja kroz 15 minuta jer je postignuta bolja homogenost konsolidanta kako unutar, tako i na površini tretiranog organskog materijala, a time i veća vjerojatnost za učinkovitije konzerviranje ovakvog materijala. Dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima ispitivanja utjecaja konsolidanta na izgled samog umjetničkog djela.

5. ZAKLJUČCI

Nakon što se prethodnim ispitivanjima zaključilo da su uz Paraloid-B72 u konzerviranju djelotvorni i konsolidanti Aquazol 200, Aquazol 500 i Mowilith 50, a da im je zajednički problem nejednaka raspodjela u kruhu, ovim je istraživanjem nastavljena potraga za najprikladnijim načinom konzerviranja umjetničkog djela. Isti konsolidanti ispitani su prema njihovom djelovanju na vanjski izgled materijala nakon njihove aplikacije, promjeni koja potencijalno može nastati u uvjetima ubrzanog starenja te njihovoj raspodjeli u materijalu korištenjem triju različitih metoda apliciranja. Od svih konzervansa najmanje su na izgled djela, čak i nakon procesa ubrzanog starenja, djelovali Aquazol 200 i Aquazol 500. Ispitivanjem postotka konsolidanta na 13 različitih pozicija u uzorcima pomoću FTIR-ATR tehnike primijećeno je da najbolje zadržavanje konsolidanta u materijalu i najbolju raspodjelu u uzorcima postiže Aquazol 200 apliciran metodom umakanja u konsolidantu kroz 15 minuta. Ova je metoda jednostavna i ne zahtijeva skupu opremu, stoga su se ovaj konsolidant i ova metoda apliciranja pokazali najprikladnijima u konzerviranju umjetničkog djela „Pribijeni kruh“.

6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

$\tilde{\nu}_0$ – valni broj zračenja izvora
 n_c, n_1 – indeks loma ATR kristala
 n_s, n_2 – indeks loma uzorka
 n_{sc} – omjer indeksa loma uzorka i ATR kristala
 θ_R, θ_2 – kut loma
 θ_c – kritični kut
 θ_i, θ_1 – kut upada
 θ_r – kut refleksije
 λ_0 – valna duljina zračenja izvora
 ATR – prigušena potpuna refleksija
 $B(\tilde{\nu}_0) = 0,5H(\tilde{\nu}_0)G(\tilde{\nu}_0)I(\tilde{\nu}_0)$
 DATR – dijamantna prigušena potpuna refleksija
 DP – dubina penetracije
 DRIFTS – FTIR spektroskopija difuzne refleksije
 FDA – Američka agencija za hranu i lijekove
 FTIR – infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom
 FTIR-ATR – infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom s potpunom prigušenom refleksijom
 $G(\tilde{\nu}_0)$ – odaziv detektora i pojačivača
 $H(\tilde{\nu}_0)$ – efikasnost razdvajajuća zrake
 $I(\tilde{\nu}_0)$ – intenzitet zračenja na izvoru
 $I(\delta)$ – intenzitet zračenja na detektoru
 IR – infracrvena spektroskopija
 MSU – Muzej suvremene umjetnosti
 PVA – polivinilacetat
 $S(\tilde{\nu}_0)$ – kosinus Fourierove transformacije od $B(\tilde{\nu}_0)$
 W – valni broj
 δ – faktor promjene

7. LITERATURA

Alderson S, Down JL, Maines CA, Williams RS, Young GS. Potential substitutes for discontinued poly(vinyl acetate) resins used in conservation. *J. Am. Inst. Conserv.*, 2019, 58, 158-179.

Alexious K, Müller NS, Karatasios I, Kilikoglou V. The performance of different adhesives for archaeological ceramics under mechanical stress. *Appl. Clay Sci.*, 2013, 82, 10-15.

Arslanoglu J. Aquazol as Used in Conservation Practice. *WAAC Newsletter*, 2004, 26, 10-15.

Arslanoglu J, Tallent C. Evaluation of the Use of Aquazol as an Adhesive in Paintings Conservation. *WAAC Newsletter*, 2003, 25, 12-18.

Barth A. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.*, 2007, 1767(9), str. 1073–1101.

Bria CF. The History of the Use of Synthetic Consolidants and Lining Adhesives. *WAAC Newsletter*, 1986, 8, 7-11.

Chiantore O, Lazzari M. Characterization of Acrylic Resins. *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, 1996, 2, 395-408.

Chiu TT, Thill BP, Fairchok WJ. Poly(2-ethyl-2-oxazoline): A New Water- and Organic-Soluble Adhesive. U: Water-Soluble Polymers. Glass JE, urednik, Fargo, American Chemical Society, 1986, str. 425-433.

Dutta A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. U: Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization. Thomas S i sur., urednici, Elsevier, 2017, 4, str. 73–93.

Griffiths PR, de Haseth JA. Fourier transform infrared spectrometry. Hoboken, John Wiley & Sons, Inc., 2007, str. 19-30.

Koob SP. The use of Paraloid B-72 as an adhesive: its application for archaeological ceramics and other materials. *Stud. Conserv.*, 31, 7-14.

Larkin PJ. IR and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation. The USA, Elsevier, 2011, str. 33-41.

Lechuga K. Aquazol-Coated Remoistenable Mending Tissues. Canadian Conservation Institute Symposium - Adhesives and Consolidants for Conservation, Ottawa, 2011, 116-127.

Pavić M, Jablan J, Bačić I, Fitzek H. A Crumb(ling) Display: Conserving Bread in the Collection of the Museum of Contemporary Art, Zagreb. *Living Matter*, 2022, 21, str. 212-221.

Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Principles of Instrumental Analysis. SAD, Cengage Learning, 2018, str. 389-432.

Skoog DA, West DM, Holler FJ. Osnove analitičke kemije. Zagreb, Školska knjiga, 1999, str. 567-572.

Smith BC. Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Second Edition. USA, Taylor and Francis Group, 2011, str. 129-146.

Stuart B. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Sydney, Wiley, 2004, str. 1-44.

Thomson G. New picture varnishes. *Stud. Conserv.*, 1961, 6, 176-184.

Thomson G. Some picture varnishes. *Stud. Conserv.*, 1957, 3(2), 64-79.

Unger A, Schniewind AP, Unger W. Adhesives and Gap Fillers. U: Conservation of Wood Artifacts. Herrmann B, Wagner GA, urednici, New York, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2001, str. 541-560.

Vinçotte A, Beauvoit E, Boyard N, Guilminot E. Effect of solvent on PARALOID® B72 and B44 acrylic resins used as adhesives in conservation. *Heritage Sci.*, 2019, 7, 42.

Wolbers RC, McGinn M, Duerbeck D. Poly(2-Ethyl-2-Oxazoline): A New Conservation Consolidant. U: Painted Wood: History and Conservation. Dorge V, Hault FC, urednici, Los Angeles, Getty Conservation Institute, 1994, str. 514-517.

8. SAŽETAK/SUMMARY

Umjetničko djelo „Pribijeni kruh“ autora Dragoljuba Raše Todosijevića načinjen je od organskog materijala – kruha. Nakon gotovo 40 godina te postavljanjem u blizini drugog umjetničkog djela izrađenog od organskog materijala počeo se sušiti i raspadati. Kako bi očuvali djelo, restauratori su 2010. godine u kruh injektirali konsolidant prethodno potvrđene djelotvornosti - Paraloid B-72, i pričvrstili dijelove u početnu formu. Nakon 8 godina ponovno su primijećeni znakovi raspadanja te su znanstvenici procijenili učinkovitost drugih potencijalnih konsolidanata (Aquazol 200, Aquazol 500 i Mowilith 50) i ustanovili da su jednako učinkoviti u konzerviranju kruha, ali i da problem predstavlja neravnomjerna raspodjela svih ispitivanih konsolidanata u materijalu, što je i dovelo do ponovnog raspadanja kruha. Cilj ovog istraživanja bio je ustanoviti koji se od ranije spomenutih konsolidanata i kojom metodom apliciranja najbolje raspoređuje unutar materijala. U pripremi uzoraka korištene su metode injektiranja, umakanja u različitim vremenskim okvirima te apliciranja pomoću vakuum sustava. Za određivanje raspoređenosti konsolidanata u uzorku koristila se metoda snimanja spektara pomoću FTIR spektrometra s dijamantnom ATR tehnikom jednostruke refleksije na 13 različitih pozicija u uzorcima. Apsorpcijske vrpce u dobivenim spektrima uspoređeni su s apsorpcijskim vrpcoma čistog konsolidanta čime se dobio postotak konsolidanta u određenom dijelu uzorka. Prema dobivenim rezultatima metoda umakanja konsolidanta kroz 15 minuta pokazala se kao najdjelotvornija metoda apliciranja, a najbolji postotak zadržavanja u kruhu i najhomogeniju raspoređenost pokazao je Aquazol 200.

The artwork "Nailed Bread", whose author is Dragoljub Raša Todosijević, is made of organic material - bread. After 40 years and by positioning it near other artworks made of organic material, it began to dry and fall apart. In 2010., with the intention of preserving the artwork, the conservators injected Paraloid B-72, consolidant with previously confirmed efficacy, and glued the pieces together in their former form. After 8 years, new signs of degradation were observed, leading the scientists to investigate the effectiveness of other potential consolidants (Aquazol 200, Aquazol 500, and Mowilith 50) and confirm that they were all equally effective, but the problem with all of them was their inhomogeneous distribution, which led to new signs of degradation. The aim of this study was to find out which of the previously mentioned consolidants and which application method achieved the best distribution in the material. Injection methods, soaking for different periods of time, and application through a vacuum system were used to prepare the samples. FTIR spectrometry with diamond ATR technique was used to determine the distribution of consolidants in the samples by measuring the spectra at 13 different positions in the samples. The absorption bands of the obtained spectra were compared with the absorption bands of the pure consolidant, thus calculating the percentage of consolidant in a certain part of the sample. According to the results, the method of immersion in the consolidant for 15 minutes proved to be the most effective, and Aquazol 200 showed the highest percentage of retention in the bread and the most homogeneous distribution.

9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za analitičku kemiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

KONZERVACIJA BIOLOŠKOG MATERIJALA I FTIR-ATR TEHNIKA

Anamaria Marić

SAŽETAK

Umjetničko djelo „Pribijeni kruh“ autora Dragoljuba Raše Todosijevića načinjen je od organskog materijala – kruha. Nakon gotovo 40 godina te postavljanjem u blizini drugog umjetničkog djela izrađenog od organskog materijala počeo se sušiti i raspadati. Kako bi očuvali djelo, restauratori su 2010. godine u kruh injektirali konsolidant prethodno potvrđene djelotvornosti - Paraloid B-72, i pričvrstili dijelove u početnu formu. Nakon 8 godina ponovno su primijećeni znakovi raspadanja te su znanstvenici procijenili učinkovitost drugih potencijalnih konsolidanata (Aquazol 200, Aquazol 500 i Mowilith 50) i ustanovili da su jednako učinkoviti u konzerviranju kruha, ali i da problem predstavlja neravnomjerna raspodjela svih ispitivanih konsolidanata u materijalu, što je i dovelo do ponovnog raspadanja kruha. Cilj ovog istraživanja bio je ustanoviti koji se od ranije spomenutih konsolidanata i kojom metodom apliciranja najbolje raspoređuje unutar materijala. U pripremi uzoraka korištene su metode injektiranja, umakanja u različitim vremenskim okvirima te apliciranja pomoću vakuum sustava. Za određivanje raspoređenosti konsolidanata u uzorku koristila se metoda snimanja spektara pomoću FTIR spektrometra s dijamantnom ATR tehnikom jednostruke refleksije na 13 različitih pozicija u uzorcima. Apsorpcijske vrpce u dobivenim spektrima uspoređeni su s apsorpcijskim vrpcaama čistog konsolidanta čime se dobio postotak konsolidanta u određenom dijelu uzorka. Prema dobivenim rezultatima metoda umakanja konsolidanta kroz 15 minuta pokazala se kao najdjelotvornija metoda apliciranja, a najbolji postotak zadržavanja u kruhu i najhomogeniju raspoređenost pokazao je Aquazol 200.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 42 stranica, 18 grafičkih prikaza, 5 tablica i 23 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Aquazol 200, Aquazol 500, FTIR-ATR, konzervacija, Mowilith 50, Paraloid B-72, Pribijeni kruh

Mentor: **Dr. sc. Jasna Jablan**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Komentor: **Dr. sc. Ivana Bačić, dipl. ing.**, *glavni vještak za požare i eksplozije, Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Jasna Jablan**, *izvanredni profesor/ redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Ivana Bačić, dipl. ing., *glavni vještak za požare i eksplozije, Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“.*

Dr. sc. Maja Bival Štefan, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: studeni 2022.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of analytical chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

CONSERVATION OF BIOLOGICAL MATERIAL AND FTIR-ATR TECHNIQUE

Anamaria Marić

SUMMARY

The artwork "Nailed Bread", whose author is Dragoljub Raša Todosijević, is made of organic material - bread. After 40 years and by positioning it near other artworks made of organic material, it began to dry and fall apart. In 2010, with the intention of preserving the artwork, the conservators injected Paraloid B-72, consolidant with previously confirmed efficacy, and glued the pieces together in their former form. After 8 years, new signs of degradation were observed, leading the scientists to investigate the effectiveness of other potential consolidants (Aquazol 200, Aquazol 500, and Mowilith 50) and confirm that they were all equally effective, but the problem with all of them was their inhomogeneous distribution, which led to new signs of degradation. The aim of this study was to find out which of the previously mentioned consolidants and which application method achieved the best distribution in the material. Injection methods, soaking for different periods of time, and application through a vacuum system were used to prepare the samples. FTIR spectrometry with diamond ATR technique was used to determine the distribution of consolidants in the samples by measuring the spectra at 13 different positions in the samples. The absorption bands of the obtained spectra were compared with the absorption bands of the pure consolidant, thus calculating the percentage of consolidant in a certain part of the sample. According to the results, the method of immersion in the consolidant for 15 minutes proved to be the most effective, and Aquazol 200 showed the highest percentage of retention in the bread and the most homogeneous distribution.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 42 pages, 18 figures, 5 tables and 23 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Aquazol 200, Aquazol 500, conservation, FTIR-ATR, Mowilith 50, Nailed bread, Paraloid B-72

Mentor: **Jasna Jablan, Ph.D.**, *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Co-mentor: **Ivana Bačić, Ph.D.**, *Chief Expert for Fire and Explosions, Forensic Science Centre „Ivan Vučetić“*

Reviewers: **Jasna Jablan, Ph.D.**, *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Ivana Bačić, Ph.D., *Chief Expert for Fire and Explosions, Forensic Science Centre „Ivan Vučetić“*

Maja Bival Štefan, Ph.D., *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: November 2022.